

## 第四章 結果與討論

### 4.1 低影響濃度數據結果

本研究主要是針對本實驗室過去所做的 108 種毒性化學物質所做的密閉式藻類毒性試驗數據，其中包括了苯類、烷類、酚類、腈類、醛類、苯胺類、醇類、烯類、酮類、PAHs 以及農藥，目的為求得其  $EC_{10}$ 、NEC、NOEC 以及 LOEC，並加以比較分析，以期能建立一低毒性資料庫，提供大眾做為環境生物體危害或影響評估的標準。

密閉式藻類毒性試驗中，分別會以溶氧增加量 ( $\Delta DO$ )、生物質量 (Biomass, Biopopulation) 及生長率 (Growth rate) 作為實驗參數，三個實驗參數之間的敏感度會隨毒性化學物質不同而有所差異，在 Hsu<sup>[65]</sup> 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<sup>[66]</sup> 以甲苯為毒物的藻類毒性試驗中也發現相同的結果，而在 Lin<sup>[67]</sup> 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<sup>[56]</sup> 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<sup>[68]</sup> 在研究醛類的毒性實驗時，發現醛類以 DO 為參數時較敏感。Yeh<sup>[69]</sup> 在以農藥為毒性物質所作的藻類毒性試驗中，也是以 Final Yield 為敏感的參數，Growth rate 則是最不敏感。以上的結果皆為對於  $EC_{50}$  而言。然而，比較此三個實驗參數對於本研究的 108 種毒性化學物質低影響抑制濃度來說，以生物質量 (Biomass, Biopopulation) 為最敏感的實驗參數。對於 NOEC 來說，三個實驗參數分

別佔了 77.78% ( $\Delta$ DO)、81.48% (Biomass, Biopopulation)、46.3% (Growth rate)。EC<sub>10</sub> 為 27.78% ( $\Delta$ DO)、61.11% (Biomass, Biopopulation)、11.11% (Growth rate)。NEC 則為 18.52% ( $\Delta$ DO)、79.63% (Biomass, Biopopulation)、1.85% (Growth rate)。如圖 4.1.1 所示，所以從中也可得知在本研究中，此三項實驗參數的敏感度關係為生物質量 (Biomass, Biopopulation) > DO > Growth rate。因此，之後皆採用生物質量 (Biomass, Biopopulation) 為實驗參數的計算並且以此討論為主。以生物質量 (Biomass, Biopopulation) 所獲得的結果如表 4.1.1 所示。而表中 NOEC 欄中，括弧內為 DO 較為敏感的值，約佔了 17.6%。

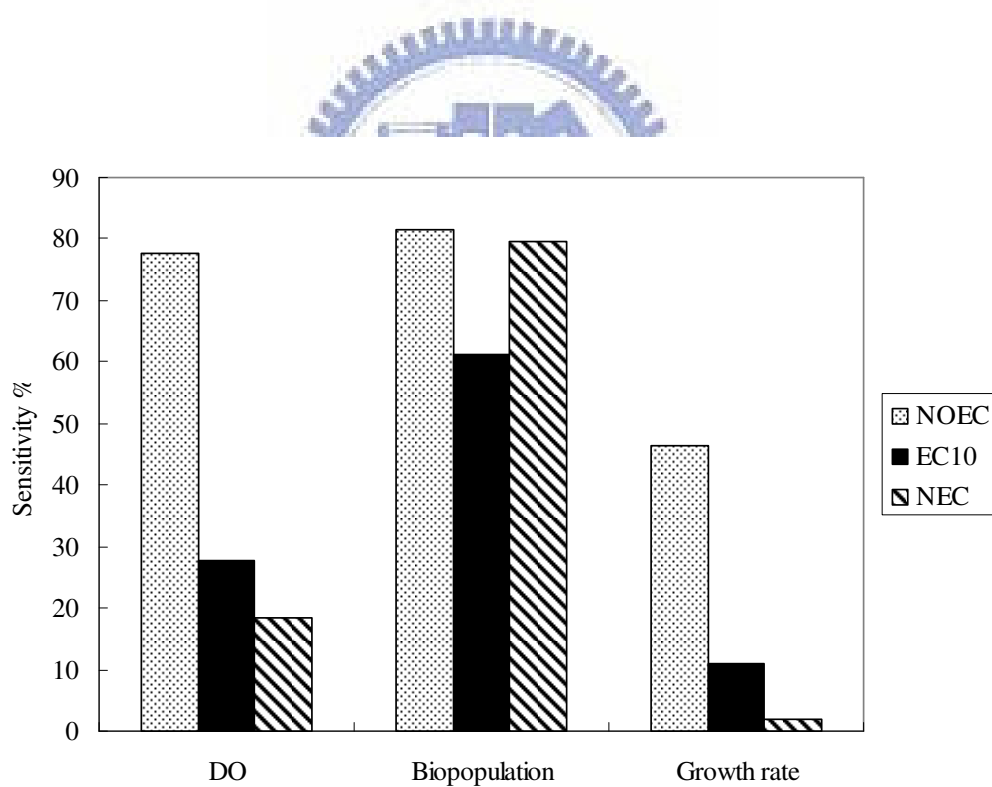


Fig 4.1.1 Compare the sensitivity of DO, biopopulation and growth rate with the endpoint of NOEC, EC<sub>10</sub> and NEC

Table 4.1.1 NOEC,LOEC,EC10 and NEC value

chemical	CAS NO.	EC <sub>50</sub>	NOEC	LOEC	EC <sub>10</sub>	G-test	NEC	cut off	MW <sup>b</sup>	log P	E <sub>LUMO</sub>	
ID		( mg/l )	( mg/l )	(mg/l)	( mg/l )		( mg/l )	value				
Benzene												
1	Benzene	71-43-2	20.1	5.81	11.6	8.51	Weibul	11.7	6.92	78.1	2.13	0.560
2	Chlorobenzene	108-90-7	7.83	3.41	4.87	4.03	Probit	3.88	5.72	113	2.84	0.150
3	1,2-Dichlorobenzene	95-50-1	2.85	<1.42	1.42	1.74	Probit	2.17	7.24	147	3.43	-0.140
4	1,3- Dichlorobenzene	541-73-1	1.87	<0.7	0.7	0.792	Logit	1.11	9.45	147	3.53	-0.160
5	1,4- Dichlorobenzene	106-46-7	2.07	<1.06	1.06	1.07	Logit	1.38	8.68	147	3.44	-0.220
6	1,2,3- Trichlorobenzene	87-61-6	0.848	0.2	0.390	0.301	Probit	0.637	9.56	181	4.05	-0.360
7	1,2,4- Trichlorobenzene	120-82-1	0.638	<0.230	0.230	0.191	Logit	0.352	8.28	181	4.02	-0.470
8	1,3,5- Trichlorobenzene	108-70-3	1.68	<0.730	0.730	0.398	Logit	1.01	5.03	181	4.19	-0.400
9	1,2,3,4- Tetrachlorobenzene	634-66-2	0.572	0.09	0.180	0.216	Logit	0.308	4.73	216	4.6	-0.650
10	1,2,4,5- Tetrachlorobenzene	95-94-3	1.26	-	-	0.406	Probit	0.676	-	216	4.64	-0.730
11	Hexachlorobenzene	118-74-1	0.226	<0.06	0.06	0.0480	Logit	0.0990	5.95	285	5.73	-1.04
12	Ethylbenzene	100-41-4	1.34	<0.660	0.660	0.232	Probit	0.425	2.98	106	3.15	0.530
13	2-Chloro-p-xylene	95-72-7	0.954	0.870	1.90	0.945	Logit	1.41	11.1	141	3.86	0.190
				(<0.870) <sup>a</sup>								
14	Nitrobenzene	98-95-3	13.9	0.780	9.37	3.23	Logit	7.60	22.5	123	1.85	-1.07
				(<0.780) <sup>a</sup>								
15	2-Chlorotoluene	95-49-8	10.7	9.18	11.3	7.37	Probit	8.06	28.7	127	3.42	0.180
				(<4.94) <sup>a</sup>								

chemical	CAS NO.	EC <sub>50</sub> ( mg/l )	NOEC ( mg/l )	LOEC (mg/l)	EC <sub>10</sub> ( mg/l )	G-test	NEC ( mg/l )	cut off value	MW <sup>b</sup>	log P	E <sub>LUMO</sub>
16 Toluene	108-88-3	14.2	3.10	7.23	5.17	Weibul	12.0	7.96	92.1	2.73	0.520
17 4-Chlorotoluene	106-43-4	10.9	5.480 ( $<5.480$ ) <sup>a</sup>	11.0	6.50	Probit	5.96	7.81	127	3.33	0.140
18 2,4-Dichlorotoluene	95-73-8	3.53	$<1.88$	1.88	1.96	Probit	2.04	6.57	161	4.24	-0.150
19 2,6-Dinitrotoluene	606-20-2	2.20	$<0.280$	0.280	0.0410	Logit	2.77	11.2	182	2.1	-1.75
Alkanes											
20 1,1-Dichloroethane	75-34-3	42.9	33.4 ( $<27.8$ ) <sup>a</sup>	38.9	36.5	Probit	38.1	7.24	99.0	1.79	1.79
21 1,2- Dichloroethane	107-06-2	155	640	118	95.8	Probit	113	5.50	99.0	1.48	1.13
22 1,1,1- Trichloroethane	71-55-6	47.45	$<17.6$	17.6	10.0	Logit	27.7	4.51	133	2.49	-0.270
23 1,1,2- Trichloroethane	79-00-5	105	$<39.7$	39.7	54.1	Probit	74.5	8.27	133	2.07	0.320
24 1,1,1,2- Tetrachloroethane	630-20-6	8.05	$<5.31$	5.31	2.60	Logit	3.71	10.5	168	3.03	-0.480
25 1,1,2,2- Tetrachloroethane	79-34-5	13.7	$<4.30$	4.30	4.14	Probit	5.73	10.2	168	2.39	-0.07
26 Pentachloroethane	76-01-7	5.61	1.22	2.44	2.50	Logit	4.28	5.93	202	3.05	-0.680
27 Hexachloroethane	67-72-1	0.469	$<0.170$	0.170	0.107	Logit	0.157	5.24	237	3.82	-0.970
28 Methylene chloride	75-09 2	33.1	$<17.7$	17.7	9.26	Probit	10.8	5.06	84.9	1.25	0.6
29 Chloroform	67-66-3	22.9	$<4.98$	4.98	1.71	Logit	17.5	11.7	119	1.97	-0.3
30 Tetrachloromethane	56-23-5	23.6	$<9.46$	9.46	8.25	Logit	17.4	7.94	154	2.83	-1.12
31 1,2-Dichloropropane	78-87-5	34.4	$<9.82$	9.82	5.65	Logit	27.2	12.5	113	1.98	1.12
32 1,3-Dichloropropane	142-28-9	19.9	0.1	0.940	0.0780	Logit	0.425	15.6	113	2.00	1.02

chemical	CAS NO.	EC <sub>50</sub>	NOEC	LOEC	EC <sub>10</sub>	G-test	NEC	cut off	MW <sup>b</sup>	log P	E <sub>LUMO</sub>	
ID		( mg/l )	( mg/l )	(mg/l)	( mg/l )		( mg/l )	value				
33	1-Chlorobutane	109-69-3	37.6	19.3	29.2	21.0	Logit	27.5	17.5	92.6	2.64	1.51
				(<19.3) <sup>a</sup>								
34	Cis-1,2-Dichloroethylene	156-59-2	59.7	<44.9	44.9	42.0	Logit	51.8	1.92	96.9	1.86	0.380
35	Trans-1,2-Dichloroethylene	156-60-5	36.4	<30.0	30.0	23.6	Logit	31.6	4.01	96.9	2.09	0.340
36	Trichloroethylene	79-01 6	26.2	<9.75	9.75	4.88	Logit	12.5	4.55	131	2.42	-0.060
37	Tetrachloroethylene	127-18-4	10.6	<4.31	4.31	2.20	Probit	3.11	4.51	166	3.40	-0.440
	Phenol											
38	Phenol(P)	108-95-2	10.9	<8.48	8.48	3.89	Probit	3.34	33.48	94.1	1.46	0.4
39	2-Chlorophenol(P)	95-57-8	8.63	4.93	12.3	3.38	Probit	2.87	35.7	129	2.15	0.03
40	4-Chlorophenol(P)	106-48-9	8.81	<50.0	5.00	4.21	Logit	3.14	5.84	128.55	2.39	0.1
41	2,3-Dichlorophenol(P)	576-24-9	1.23	<0.5	0.5	0.413	Logit	0.366	9.84	163	0.366	-0.260
42	2,4-Dichlorophenol(P)	120-83-2	2.43	<0.970	0.970	0.771	Probit	0.457	28.4	163	3.06	-0.240
43	2,4,6-Trichlorophenol(P)	88-06-2	-	<0.5	0.5	-	-	-	50.8	197	3.67	-0.05
44	2,3,4,6-Tetrachlorophenol(P)	58-90-2	0.0120	<0.1	0.1	2.65E-05	Weibul	0.001	49.2	232	4.45	-0.750
45	Pentachlorophenol(P)	87-86-5	0.003	0.001	0.002	0.00100	Probit	0.001	4.43	266	5.12	-0.980
				(<0.001) <sup>a</sup>								
46	2-Nitrophenol(P)	88-75-5	1.09	<0.120	0.120	0.0530	Logit	1.66	2.76	139	1.79	-1.19
47	3-Nitrophenol(P)	554-84-7	6.72	0.990	1.98	2.20	Probit	2.28	6.29	139	2.00	-1.17
48	4-Nitrophenol(P)	100-02-7	0.258	<0.150	0.150	0.07	Logit	0.0990	7.05	139	1.91	-1.07
49	2,4-Dimethylphenol(P)	105-67-9	13.5	<6.27	6.27	3.70	Logit	7.17	1.08	122	2.30	0.400

chemical	CAS NO.	EC <sub>50</sub> ( mg/l )	NOEC ( mg/l )	LOEC (mg/l)	EC <sub>10</sub> ( mg/l )	G-test	NEC ( mg/l )	cut off value	MW <sup>b</sup>	log P	E <sub>LUMO</sub>
50 2,4-Dinitrophenol(P) Aniline	51-28-5	0.941	0.510	1.02	0.388	Logit	0.504	20.5	184	1.67	-1.89
51 3-Chloroaniline(P)	108-42-9	9.61	<5.01	5.01	5.28	Probit	4.77	2.19	128	1.88	-0.02
52 4-Chloroaniline(P)	106-47-8	1.49	<0.990	0.990	0.319	Logit	0.738	4.50	128	1.83	-0.02
53 2,4-Dichloroaniline(P)	554-00-7	3.39	0.509	1.02	1.02	Probit	2.54	5.18	162	2.78	-0.04
54 2,5-Dichloroaniline(P)	95-82-9	5.94	0.990	2.99	2.79	Probit	3.08	4.14	162	2.75	-0.03
55 2,6-Dichloroaniline(P)	608-31-1	13.7	4.00	7.99	6.22	Probit	7.27	8.60	162	2.20	-0.03
56 3,4-Dichloroaniline(P)	95-76-1	2.03	0.398	0.8	0.919	Probit	1.04	7.55	162	2.69	-0.03
57 3,5-Dichloroaniline(P)	626-43-7	4.57	0.975 (<0.975) <sup>a</sup>	4.88	1.71	Probit	1.84	3.53	162	2.90	-0.03
58 2,4,5-Trichloroaniline(P)	636-30-6	1.71	0.190	0.560	0.320	Logit	0.491	14.1	196	3.45	-0.04
59 2,4,6-Trichloroaniline(P)	634-93-5	3.46	0.290 (<0.290) <sup>a</sup>	0.890	0.714	Probit	2.23	4.87	196	3.69	-0.04
60 3,4,5-Trichloroaniline(P)	634-91-3	2.74	0.202	0.870	0.408	Weibul	0.774	9.34	196	3.32	-0.04
61 2,3-Dimethylaniline(P)	87-59-2	45.4	0.973	9.73	8.73	Weibul	21.9	6.91	121	1.81	-0.004
62 3,4-Dimethylaniline(P)	95-64-7	6.94	1.22 (<1.22) <sup>a</sup>	5.45	2.92	Logit	3.53	7.59	121	1.86	-0.005
63 2-Bromoaniline(P)	615-36-1	11.3	<0.990	0.990	3.14	Logit	6.96	7.23	172	2.11	-0.02

chemical ID	CAS NO.	EC <sub>50</sub> ( mg/l )	NOEC ( mg/l )	LOEC (mg/l)	EC <sub>10</sub> ( mg/l )	G-test	NEC ( mg/l )	cut off value	MW <sup>b</sup>	log P	E <sub>LUMO</sub>	
Aldehyde												
64	Formaldehyde(R)	50-00-0	2.55	1.06 (<1.06) <sup>a</sup>	2.02	0.801	Probit	1.08	6.32	30.0	0.350	0.790
65	Acetaldehyde(R)	75-07-0	0.0170	<0.310	0.310	5.54E-6	Probit	0.001	5.49	44.0	-0.220	0.840
66	Propionaldehyde(R)	123-38-6	12.9	<9.31	9.31	4.93	Probit	6.02	7.25	58.1	0.590	0.870
67	Butyraldehyde(R)	123-72-8	0.289	<0.490	0.490	0.001	Probit	1.16	8.77	72.1	0.830	0.870
68	Glutaraldehyde(R)	111-30-8	3.04	<1.25	1.25	0.390	Probit	0.700	5.65	100	-0.610	0.780
69	2-Pyridinecarboxaldehyde(R)	1121-60-4	16.9	6.87	13.7	5.25	Weibul	11.0	8.44	122	1.81	-0.690
70	3-Pyridinecarboxaldehyde(R)	500-22-1	30.0	0.530 (0.120) <sup>a</sup>	1.01	1.08	Weibul	-	10.0	122	1.29	-0.780
71	4-Pyridinecarboxaldehyde(R)	872-85-5	11.5	0.990	4.95	2.37	Weibul	7.50	9.68	122	1.35	-0.740
72	2-Hydroxybenaldehyde(R)	90-02-8	3.78	<0.995	0.995	1.24	Weibul	0.551	5.19	107	0.440	-0.410
73	3-Hydroxybenaldehyde(R)	100-83-4	34.9	12.0 (<12.0) <sup>a</sup>	21.0	11.6	Logit	25.7	14.0	107	0.290	-0.540
74	4-Hydroxybenaldehyde(R)	123-08-0	2.54	0.980 (<0.330) <sup>a</sup>	1.30	0.330	Probit	0.374	10.2	107	0.430	-0.450
Nitrile												
75	Acetonitrile	75-05-8	5.51E+03	<3.17E+03	3.17E+03	2.85E+03	Weibul	3.24E+03	7.01	41.1	-0.390	-0.01
76	Chloroacetonitrile(R)	107-14-2	11.5	<1.60	1.60	2.15	Weibul	5.55	7.44	75.5	0.450	-0.06
77	Dichloroacetonitrile(R)	3018-12-0	1.64	<1.33	1.33	0.425	Probit	0.514	5.32	110	0.930	-0.070

chemical	CAS NO.	EC <sub>50</sub> ( mg/l )	NOEC ( mg/l )	LOEC (mg/l)	EC <sub>10</sub> ( mg/l )	G-test	NEC ( mg/l )	cut off value	MW <sup>b</sup>	log P	E <sub>LUMO</sub>
78 Trichloroacetonitrile(R)	545-06-2	0.0310	0.006	0.0120	0.008	Probit	0.007	10.3	144	2.09	-0.090
79 Bromoacetoitrile(R)	590-17-0	0.07	<0.0250	0.0250	0.0240	Logit	0.0420	10.7	120	0.360	-0.0740
80 Propionitrile	107-12-0	192	14.9	59.7	22.5	Weibul	86.9	33.5	55.1	0.140	-0.01
81 3-Chloropropionitrile(R)	542-76-7	160	64.0	160	114.	Probit	129	17.5	89.5	0.340	-0.03
82 Butyronitrile	109-74-0	610	366	549	213	Probit	381	14.0	69.1	0.660	-0.01
83 Isobutyronitrile	78-82-0	995	(91.4) <sup>a</sup> 186	371	416	Probit	626	7.56	69.1	0.440	-0.01
84 4-Chlorobutyronitrile(R)	628-20-6	569	(<186) <sup>a</sup> 225	449	336	Probit	324	7.38	104	0.560	-0.02
85 Benzotrile	100-47-0	23.3	12.8	21.3	8.35	Weibul	12.4	9.40	103	1.56	-0.07
86 Malonitrile	109-77-3	8.75	0.480	0.970	0.603	Probit	2.76	17.8	66.1	-1.2	-0.03
Alcohol											
87 1-Propanol	71-23-8	4.95E+03	<1.75E+03	1.75E+03	1.77E+03	Probit	2.07E+03	6.65	60.1	0.250	3.63
88 2-Propanol	67-63-0	8.47E+03	3.50E+03	5.00E+03	5.40E+03	Probit	6.42E+03	7.08	60.1	0.0500	3.49
89 1-Octanol	111-87-5	1.85	(<3.50E+03) <sup>a</sup> <0.05	0.05	0.0670	Probit	0.651	8.39	58.1	-0.240	3.34
Ketone											
90 Acetone	67-64-1	5.28E+03	2.52E+03	5.72E+03	3.04E+03	Probit	2.62E+03	3.34	130	3.00	0.84
91 2-Octanone	111-13-7	32.2	10.3	24.7	21.3	Logit	24.8	8.45	128	2.37	0.87



chemical ID	CAS NO.	EC <sub>50</sub> ( mg/l )	NOEC ( mg/l )	LOEC (mg/l)	EC <sub>10</sub> ( mg/l )	G-test	NEC ( mg/l )	cut off value	MW <sup>b</sup>	log P	E <sub>LUMO</sub>
Pesticides											
92 Atrazine(R)	1912-24-9	0.0780	<0.02	0.02	0.0180	Probit	0.0240	11.8	216	2.82	-0.48
93 MCPA(R)	94-74-6	3.12	0.8 (<0.5) <sup>a</sup>	1.60	1.35	Weibul	1.62	8.59	201	2.52	-0.40
94 Parathion(R)	56-38-2	0.930	0.350	0.7	0.0570	Logit	0.305	14.3	291	3.73	-
95 Dichlorvos(R)	62-73-7	0.606	<0.1	0.1	0.175	Probit	0.206	15.7	221	0.600	0.0200
96 Malathion(R)	121-75-5	2.32	1.20 (0.5) <sup>a</sup>	2.00	1.22	Probit	1.25	7.98	330	2.29	-2.64
97 Fenthion(R)	55-38-9	1.05	0.3 (<0.3) <sup>a</sup>	0.6	0.360	Probit	0.472	7.74	278	4.08	-
PAHs											
98 Benzanthrone	82-05-3	0.0480	<0.0138	0.0138	0.005	Probit	0.009	4.13	230	4.81	-1.27
99 Fluoranthene	206-44-0	0.124	<0.0160	0.0160	0.009	Logit	0.0130	4.93	202	4.93	-0.930
100 Anthracene	120-12-7	0.0330	<0.2	0.2	0.106	Probit	0.239	3.69	178	4.45	-0.840
101 Benzo[a]anthrace	56-55-3	0.402	<0.006	0.006	2.33E-04	Logit	0.001	5.57	228	5.53	-0.810
102 Phenanthrene	85-01-8	0.008	<0.06	0.06	0.053	Probit	0.0930	9.58	178	4.35	-0.410
103 Acridine	260-94-6	0.524	<0.380	0.380	0.242	Logit	0.323	4.98	179	3.32	-1.04
104 Benzo[b]fluorene	243-17-4	0.0430	<0.04	0.04	0.002	Logit	0.0110	3.33	216	5.19	-0.490
105 Dibenzo[b,i]anthracene	135-48-8	0.194	0.04 (<0.04) <sup>a</sup>	0.08	0.03	Probit	0.0430	4.96	278	6.32	-1.52

chemical ID	CAS NO.	EC <sub>50</sub> ( mg/l )	NOEC ( mg/l )	LOEC (mg/l)	EC <sub>10</sub> ( mg/l )	G-test	NEC ( mg/l )	cut off value	MW <sup>b</sup>	log P	E <sub>LUMO</sub>
106 Perylene	198-55-0	0.0530	<0.03	0.03	0.003	Logit	0.0110	11.8	252	6.11	-1.15
107 Benzo[b]chrysene	214-17-5	0.005	<0.00125	0.00125	0.001	Logit	0.003	6.64	278	6.54	-0.990
108 Napthalene	91-20-3	2.51	<1.28	1.28	0.855	Logit	1.13	9.03	128	3.32	-0.270

- : no data.

a :() DO

b : Molecular weight

(P) :polar narcosis

(R) :reactive



在 Dunnett's test 所得到的 NOEC 值的部份中，約有 52.78% 的 NOEC 是只能獲得其最大值的，即表示 NOEC 值較實驗時的最低濃度還要來得低。因此，之後的討論若是對於 NOEC 的部份，當其值為較實驗的最低濃度還低時，即採用 LOEC 代替。除此之外，Atrazine (ID92)、MAPC (ID93) 以及 Dichlorvos (ID95) 的 NOEC 值和之前 Yeh<sup>[52]</sup> 過去所顯示的有所不同，是由於這些毒性化學物質的數據是經過重新分析的，所以會有些許的差異性。

比較此研究所有的毒性化學物質，以 LOEC 來看，毒性最高的是 Benzo[b]chrysene (ID107)：0.00125，最低的是 Acetone (ID90)：5719，其之間相差約  $10^7$  倍左右。以  $EC_{10}$  來看，毒性最高的是 Acetaldehyde (ID65)：0.000006，最低的是 Acetone (ID90)：5402.1，其之間相差約  $10^9$  倍左右。以 NEC 來看，毒性最高的是 Acetaldehyde (ID65)：0.001，最低的是 Acetone (ID90)：6419.72，其之間相差約  $10^7$  倍左右。而就毒性化學物質分類來看，PAHs 似乎是不論 LOEC、 $EC_{10}$  以及 NEC 的反應終點中毒性最強的分類。

### 4.1.1 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、Weibul、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 EC<sub>50</sub> 值較穩定且不同模式分析之間差異性較小，但在進行 EC<sub>90</sub> 或 EC<sub>10</sub> 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 EC<sub>50</sub> 值來表示其敏感度。而計算 EC<sub>90</sub> 或 EC<sub>10</sub> 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 EC<sub>10</sub> 之值。而各毒性化學物質所適用的劑量反應模式如表 4.1.1 所示。

而本研究中毒性化學物質未分類情況之下，以 Probit 佔 48.6% 為最佳化模式。若分成非極性麻醉性物質 (Non-polar narcosis)、極性麻醉性物質 (Polar narcosis) 以及反應性 (Reactive) 化學物質來看的話，其分別最佳化模式為 Logit (49.15%)、Probit (40%) 以及 Probit (60.87%)。如圖 4.1.2 所示。而在 Chen<sup>[70]</sup> 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。由於不同的劑量反應模式有不同的假設，在此假設之下，造成其所適合的模式可能和此毒性化學物質的作用特性有關係，而這相關性是目前本研究還無法解釋的。

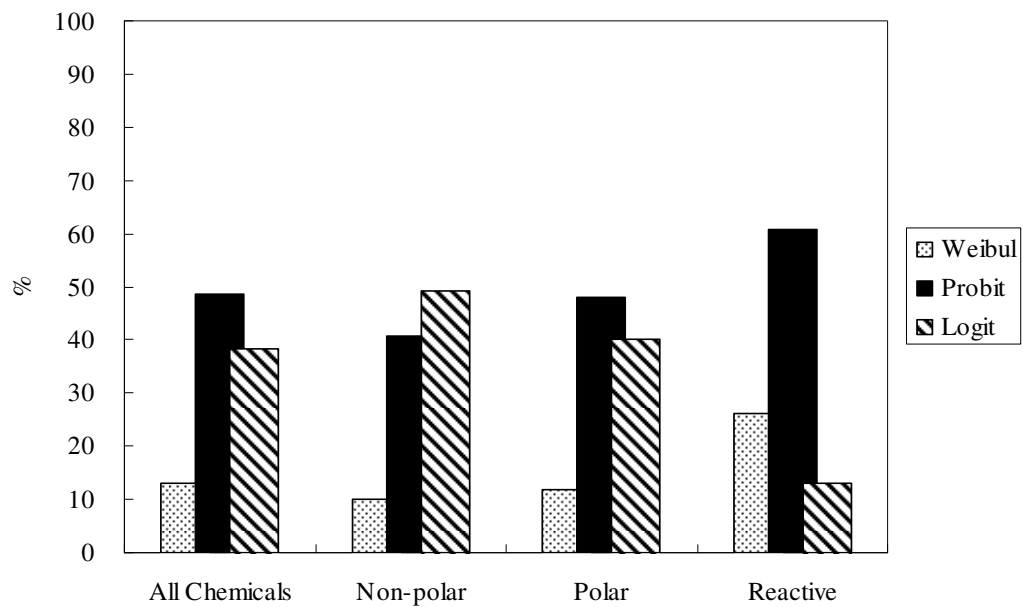


Fig 4.1.2 Compare the G-test with chemicals



## 4.1.2 NOEC 及 cut-off value

由於 NOEC 值的判定通常和實驗濃度的取決、重複組的數量和選定參數有所關聯。一般 NOEC 值是由統計方法中的 Dunnett's test 方法來做分析的，若重複組間的差異變小，與處理組的差距便較為明顯，所求得的 NOEC 值也較為準確，通常較不嚴謹的實驗易出現較高的 NOEC 值。

在表 4.1.1 中除表示 NOEC、LOEC 的值外，另外也顯示出中斷值(cut-off value)。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。利用中斷值我們能夠更嚴謹地判斷藻類受到抑制的顯著性，並使之包含單位的複雜參數與控制組的平均值比較並以抑制的百分率作為單位表示，使其能夠用於不同單位的試驗終點間的比較。

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  $EC_{10}$  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  $EC_{10}$  佳因為 NOEC 所造成之抑制率會比  $EC_{10}$  所造成之 10% 抑制率為低，因此可以提供更好之保護。

而在此這 108 種毒性化學物質中，1,2,3,4- Tetrachlorobenzene (ID10) 為 cut-off value 無法求得，而 Phenol (ID38) : 33.48%、2-Chlorophenol ( ID39 ) : 35.7%、2,4,6-Trichlorophenol ( ID43 ) : 50.8%、2,3,4,6-Tetrachlorophenol (ID44) : 49.18%、Propionitrile (ID80) : 33.49% 則為 cut-off value 過大，並為全部毒性化學物質排名的前 5%。而在整個分

析中，可能會導致如此高變異性的原因包括：

1. 來自於所使用的藻類未達穩定狀態。
2. 試驗過程不夠嚴謹。
3. 毒性物質濃度設定不理想、

以上原因都會產生分析上的偏差。而這五個毒性物質在之後的分析上也有可能因此造成偏差。因此在實驗的過程當中，以上皆是需注意且避免否則實驗所獲得 NOEC 以及 LOEC 唯一變異過大的結果，造成無法提供環境一客觀的保護數據。



### 4.1.3 NOEC、EC<sub>10</sub>及 NEC 之比較

比較 NOEC、EC<sub>10</sub> 及 NEC 三者之間的關係，可由圖 4.1.3 中可看出在會分類的情況下 EC<sub>10</sub> 比 NOEC 的平均值約為 1.16，NEC/NOEC 的平均值則約為 2.28，此兩值皆大於 1。而若將毒性化學物質分類之後，其比值亦全超過 1，只有在極性麻醉性 (Polar narcosis) 的毒性化學物質其比值的 95% 信賴區間較大，造成此的原因可能為此大類為毒性化學物質為酚類及苯胺類，而 Phenol (ID38)：33.48%、2-Chlorophenol (ID39)：35.7%、2,4,6-Trichlorophenol (ID43)：50.8%、2,3,4,6-Tetrachlorophenol (ID44)：49.18% 的中斷值 (cut-off value) 皆為過大的情形，造成 EC<sub>10</sub> 及 NEC 與 NOEC 的比值偏低，在加上苯胺類的比值明顯較分類的高，因而導致 95% 信賴區間的變動較大。

但是從中依然可以看出大致上 NOEC 是較 EC<sub>10</sub> 及 NEC 為敏感，而若對此三個參數的敏感度加以比較後為 NOEC 略低於 EC<sub>10</sub>，而此兩者高於 NEC。全部毒性化學物質的平均中斷值約為 9.92% 比 10% 要低，若去除中斷值為前 5% 排名的化學物質後其值為 8.42% 更明顯較 10%。也就代表著對於毒性化學物質而言，以藻類毒性試驗方法評估低濃度環境影響時，NOEC 較 EC<sub>10</sub> 能提供最佳的保護標準。因此，NOEC 是較良好的參數以做為評估慢毒性影響的使用。



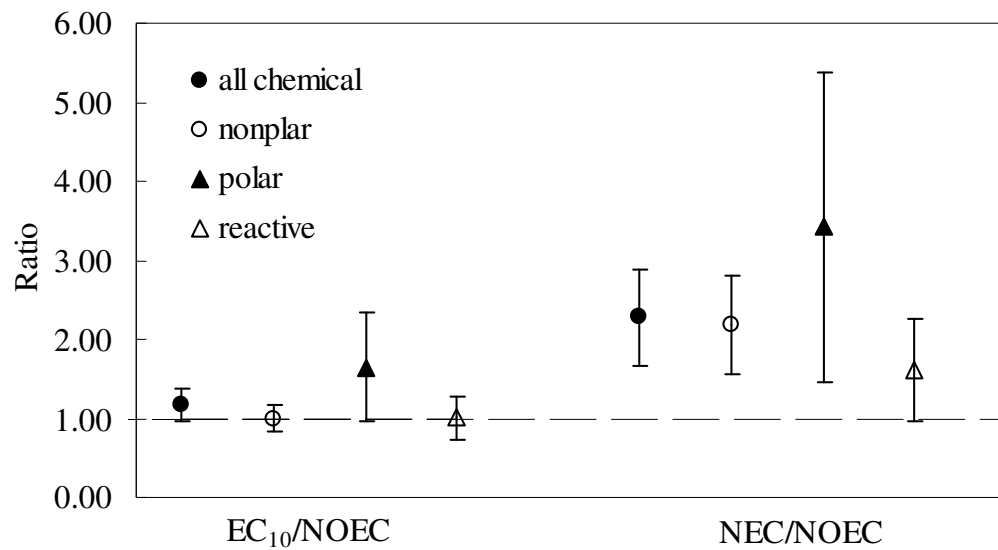


Fig 4.1.3 Compare the difference among EC<sub>10</sub>/NOEC and NEC/NOEC ratio



## 4.2 急慢性比值(Acute and Chronic Ratio, ACR)

在毒性試驗中，由於慢性試驗的時間通常較長，且較費金錢。因此，有許多人就利用一固定因子來得到環境品質的標準，假設在此求得的結果下，對於現地中的影響及環境來說都是安全的，低於此安全的層級之下，毒性化學物質對於自然環境有負面的影響。而固定的因子通常採用 10、100 或 1000 應用到可獲得的  $EC_{50}$  或  $LC_{50}$  以求得最大可接受的危害程級。而急慢性比值 (Acute to chronic ratio, ACR) 即是經由此而發展出來的。因為使用一固定的因子有時可能會低估或高估了毒性化學物質在環境中的慢性影響。

由於本研究的 NOEC 值有大部分無法求的，因此在做 ACR 比較時，只有使用 LOEC。除此之外，亦有對於  $EC_{10}$  於 NEC 和  $EC_{50}$  做比較。並且依其作用機制非極性麻醉性 (Non-polar narcosis)、極性麻醉性 (Polar narcosis) 以及反應性 (Reactive) 討論。結果如表 4.2.1 至表 4.2.3 所示。

**Table 4.2.1 ACR for non-polar narcosis**

Chemical	ACR		
	Non-Polar narcosis		
	LOEC	EC <sub>10</sub>	NEC
Benzene	1.72	2.36	1.72
Chlorobenzene	1.61	1.94	2.02
1,2-Dichlorobenzene	2.00	1.64	1.31
1,3- Dichlorobenzene	2.67	2.36	1.68
1,4- Dichlorobenzene	1.95	1.93	1.50
1,2,3- Trichlorobenzene	2.17	2.82	1.33
1,2,4- Trichlorobenzene	2.78	3.35	1.81
1,3,5- Trichlorobenzene	2.30	4.22	1.67
1,2,3,4- Tetrachlorobenzene	3.18	2.65	1.85
1,2,4,5- Tetrachlorobenzene	-	3.12	1.87
Hexachlorobenzene	3.77	4.67	2.29
Ethylbenzene	2.03	5.78	3.16
2-Chloro-p-xylene	0.500	1.01	0.670
Nitrobenzene	1.48	4.30	1.83
2-Chlorotoluene	0.940	1.45	1.32
Toluene	1.96	2.75	1.18
4-Chlorotoluene	0.990	1.67	1.83
2,4-Dichlorotoluene	1.88	1.80	1.73
2,6-Dinitrotoluene	7.86	53.6 <sup>a</sup>	0.800
1-Propanol	2.83	2.79	2.39
2-Propanol	1.69	1.57	1.32
1-Octanol	37.0 <sup>a</sup>	27.8 <sup>a</sup>	2.84
Acetone	0.92	1.73	2.01
2-Octanone	1.30	1.51	1.30
1,1-Dichloroethane	1.10	1.18	1.13
1,2- Dichloroethane	1.32	1.62	1.37
1,1,1- Trichloroethane	2.69	4.74	1.72
1,1,2- Trichloroethane	2.66	1.95	1.41
1,1,1,2- Tetrachloroethane	1.52	3.10	2.17
1,1,2,2- Tetrachloroethane	3.19	3.32	2.40
Pentachloroethane	2.30	2.25	1.31
Hexachloroethane	2.76	4.38	2.98
Methylene Chloride	1.87	3.57	3.07
Chloroform	4.59	13.3	1.31
Tetrachloromethane	2.49	2.86	1.36
1,2-Dichloropropane	3.51	6.10	1.27
1,3-Dichloropropane	21.2 <sup>a</sup>	255 <sup>a</sup>	46.9 <sup>a</sup>
1-Chlorobutane	1.28	1.79	1.36

Chemical	ACR	Non-Polar narcosis		
		LOEC	EC <sub>10</sub>	NEC
cis-1,2-Dichloroethylene		1.33	1.42	1.15
trans-1,2-Dichloroethylene		1.21	1.54	1.15
Trichloroethylene		2.69	5.38	2.10
Tetrachloroethylene		2.45	4.79	3.39
Benzanthrone		3.48	10.4	5.16
Phenanthrene		2.07	2.32	1.33
Fluoranthene		2.06	3.70	2.64
Anthracene		2.01	3.81	1.68
Benzo[a]anthracene		1.33	19.8	11.7
Acridine		1.38	2.17	1.62
Benzo[b]fluorene		1.06	22.62	3.78
Dibenzo[b,i]anthracene		2.43	6.43	4.49
Perylene		1.77	19.7	4.74
Benzo[b]chrysene		4.00	5.13	1.92
Napthalene		1.96	2.94	2.22
Malonitrile		9.02	14.5	3.17
Acetonitrile		1.74	1.93	1.70
Propionitrile		3.22	8.56	2.21
Butyronitrile		1.11	2.86	1.60
Isobutyronitrile		2.68	2.39	1.59
Benzonitrile		1.10	2.80	1.88
Average ACR		2.32±0.38	4.51±1.24	2.16±0.40

-:no data

a:outliers

**Table 4.2.2 ACR for polar narcosis**

Chemical	ACR	Polar narcosis		
	LOEC	EC <sub>10</sub>	NEC	
3-Chloroaniline	1.92	1.82	2.02	
4-Chloroaniline	1.51	4.68	2.02	
2,4-Dichloroaniline	3.33	3.32	1.34	
2,5-Dichloroaniline	1.99	2.13	1.93	
2,6-Dichloroaniline	1.71	2.20	1.88	
3,4-Dichloroaniline	2.55	2.21	1.95	
3,5-Dichloroaniline	0.940	2.67	2.48	
2,4,5-Trichloroaniline	3.06	5.36	3.49	
2,4,6-Trichloroaniline	3.89	4.85	1.55	
3,4,5-Trichloroaniline	3.16	6.71	3.54	
2,3-Dimethylaniline	4.67	5.20	2.08	
3,4-Dimethylaniline	1.27	2.38	1.96	
2-Bromoaniline	11.4	3.59	1.62	
Phenol	1.28	2.80	3.26	
2-Chlorophenol	0.700	2.55	3.01	
4-Chlorophenol	1.76	2.09	2.80	
2,3-Dichlorophenol	2.47	2.99	3.37	
2-Nitrophenol	9.06	20.3 <sup>a</sup>	0.660	
3-Nitrophenol	3.39	3.06	2.95	
4-Nitrophenol	1.72	3.68	2.60	
2,4-Dimethylphenol	2.15	3.65	1.88	
2,4,6-Trichlorophenol	-	-	-	
2,4-Dichlorophenol	2.50	3.14	5.31	
2,3,4,6-Tetrachlorophenol	0.120 <sup>a</sup>	455 <sup>a</sup>	22.8 <sup>a</sup>	
Pentachlorophenol	1.71	6.33	2.63	
2,4-Dinitrophenol	0.920	2.43	1.87	
Average ACR	2.88±0.98	3.47±0.57	2.42±0.38	

-:no data

a:outliers

**Table 4.2.3 ACR for reactive**

Chemical	ACR	Reactive		
		LOEC	EC <sub>10</sub>	NEC
Formaldehyde		1.26	3.18	2.36
Acetaldehyde		0.0500 <sup>a</sup>	3.00E+03 <sup>a</sup>	27.9 <sup>a</sup>
Propionaldehyde		1.39	2.62	2.15
Butyraldehyde		0.590	251 <sup>a</sup>	0.248 <sup>a</sup>
Glutaraldehyde		2.43	7.80	4.34
2-Pyridinecarboxaldehyde		1.23	3.21	1.53
3-Pyridinecarboxaldehyde		29.7 <sup>a</sup>	27.7	-
4-Pyridinecarboxaldehyde		2.33	4.86	1.54
2-Hydroxybenaldehyde		3.80	3.05	6.87
3-Hydroxybenaldehyde		1.66	3.01	1.36
4-Hydroxybenaldehyde		1.95	7.69	6.78
Chloroacetonitrile		7.16	5.33	2.06
Dichloroacetonitrile		1.23	3.87	3.20
Trichloroacetonitrile		2.60	4.00	4.43
Bromoacetonitrile		2.79	2.89	1.70
3-Chloropropionitrile		1.00	1.40	1.23
4-Chlorobutyronitrile		1.27	1.69	1.76
Atrazine		3.90	4.36	3.22
MCPA		1.95	2.31	1.93
Parathion		1.33	16.41	3.05
Dichlorvos		6.06	3.46	2.94
Malathion		1.16	1.91	1.86
Fenthion		1.75	2.92	2.22
Average ACR		2.33±0.72	5.41±2.72	2.83±0.72

-:no data

a:outliers

非極性麻醉性 (Non-polar narcosis) 的部份，將低毒性影響抑制濃度與  $EC_{50}$  做圖分析如圖 4.2.1 至圖 4.2.3 所示。從圖中以及表 4.2.1 中可看到 1,3-Dichloropropane (ID32) 及 1-Octanol (ID89) 的 ACR 值不論是在 LOEC、 $EC_{10}$  或 NE 的部份皆較大，2,6-Dinitrotoluene (ID19) 則在  $EC_{10}$  的 ACR 值明顯偏高，因而將其去除後再求此類作用機制的平均值 ACR 值。而這些毒性化學物質造成其 ACR 值偏大的原因可能為其劑量反應曲線為較為平緩的一曲線，所以 NOEC，LOEC， $EC_{10}$  及 NEC 差異相當大。或者是實驗時在低濃度的抑制率並無做到百分之十的抑制，雖已用 G-test 選其最佳化的劑量反應曲線模式但其變動性依然很大， $EC_{10}$  靠外差所求得。

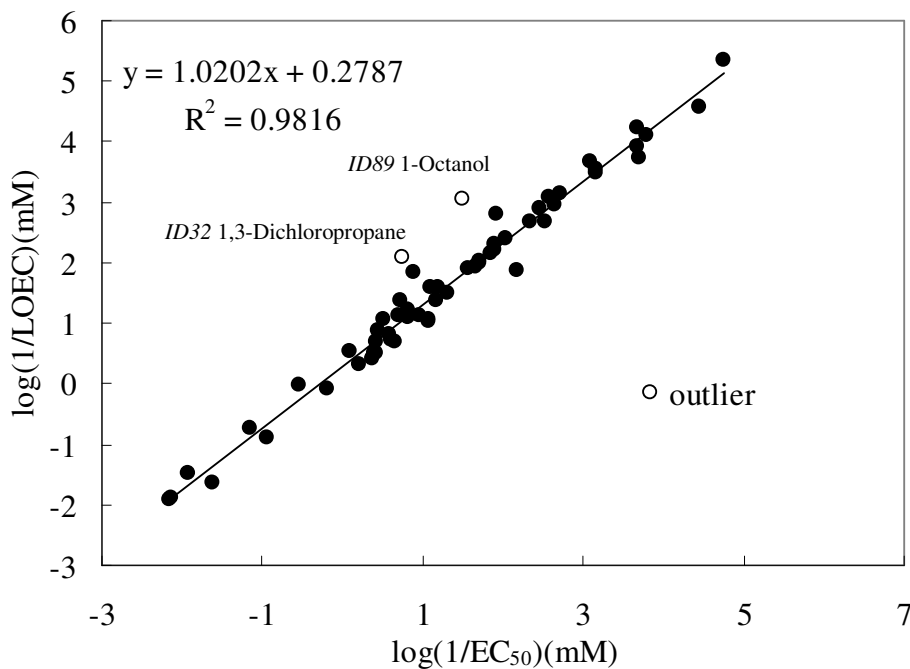


Fig 4.2.1 Acute toxicity( $EC_{50}$ ) versus chronic toxicity(LOEC) concentrations for non-polar narcosis

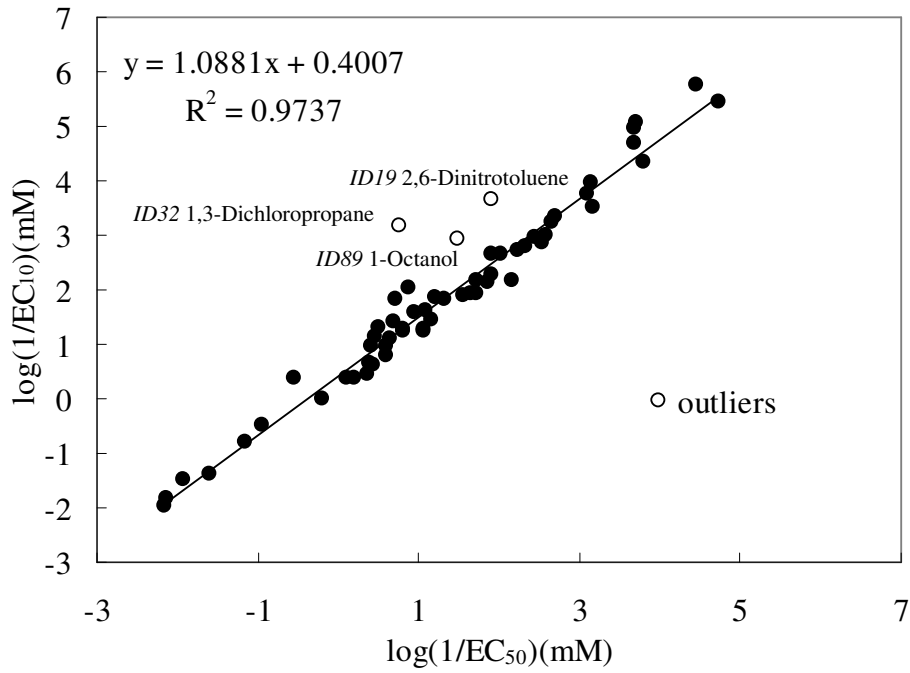


Fig 4.2.2 Acute toxicity( $EC_{50}$ ) versus chronic toxicity( $EC_{10}$ ) concentrations for non-polar narcosis

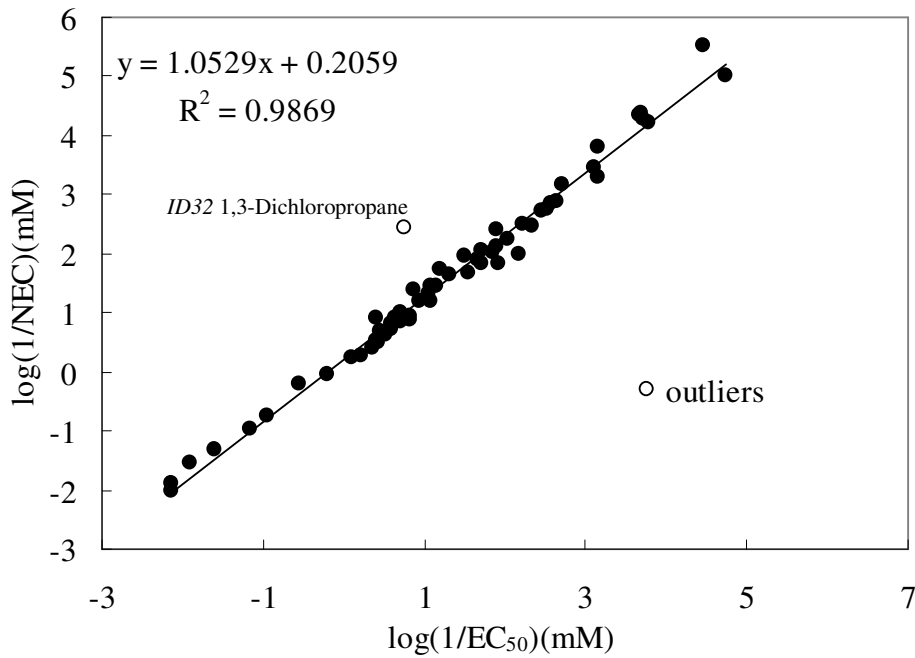


Fig 4.2.3 Acute toxicity( $EC_{50}$ ) versus chronic toxicity(NEC) concentrations for non-polar narcosis



極性麻醉性 (Polar narcosis) 的部份，低毒性影響抑制濃度與  $EC_{50}$  做圖分析如圖 4.2.4 至圖 4.2.6 所示。在圖中以及表 4.2.2 中可見 2,3,4,6-Tetrachlorophenol (ID44) 在 LOEC 的 ACR 值顯示一較低的結果，但在  $EC_{10}$  及 NEC 的部份又明顯的偏大，而其中斷值是之前所提到偏高的其中之一，因此代表此實驗是是一較不嚴謹的實驗，因而會導致其實驗結果的可性度下降，也就可能會造成如此的差異性。而在反應性 (Reactive) 的部份，低毒性影響抑制濃度與  $EC_{50}$  做圖分析如圖 4.2.7 至圖 4.2.9 所示。在圖中以及表 4.2.3 中可見主要為 Acetaldehyde(I65)、Butyraldehyde(ID67) 以及 3-Pyridinecarboxaldehyde (ID70) 的 ACR 值偏大。主要的原因可能和前述的相同。

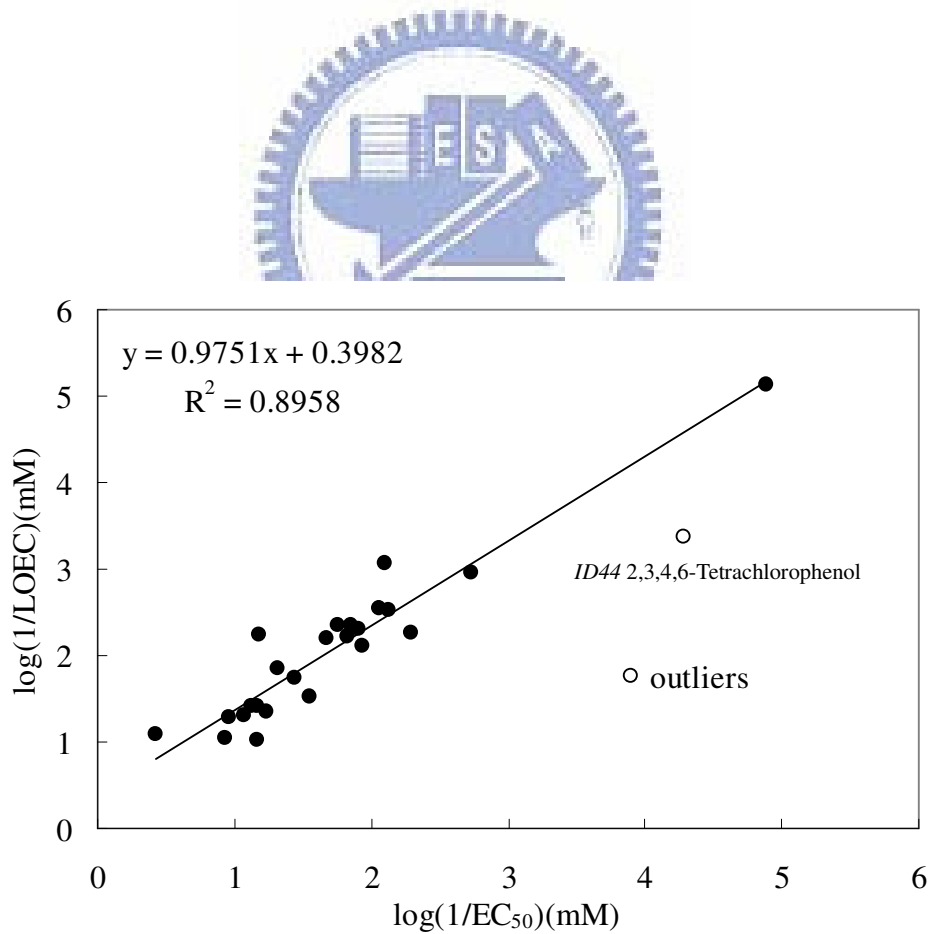


Fig 4.2.4 Acute toxicity( $EC_{50}$ ) versus chronic toxicity(LOEC) concentrations for polar narcosis

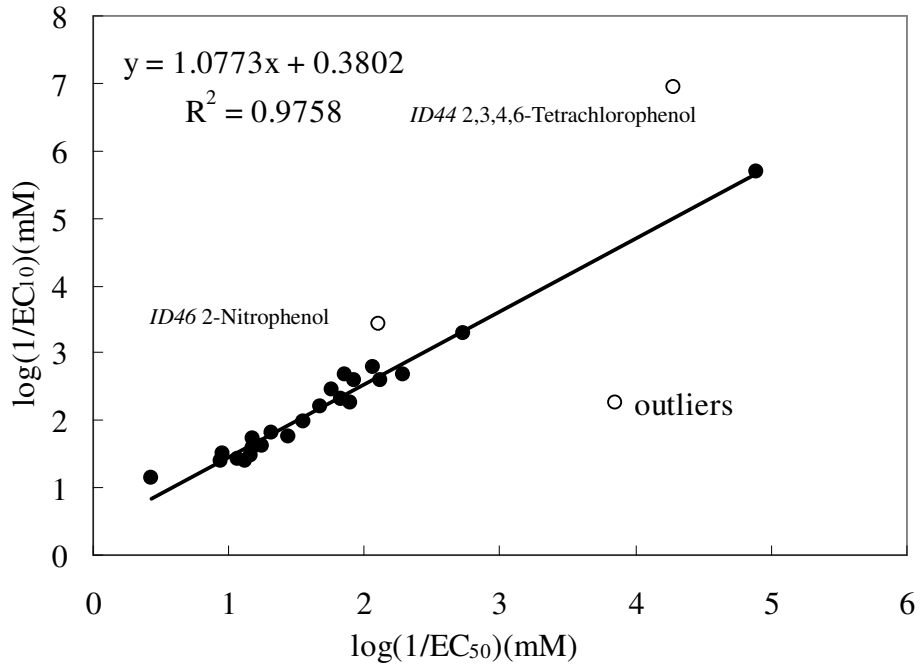


Fig 4.2.5 Acute toxicity( $EC_{50}$ ) versus chronic toxicity( $EC_{10}$ ) concentrations for polar narcosis

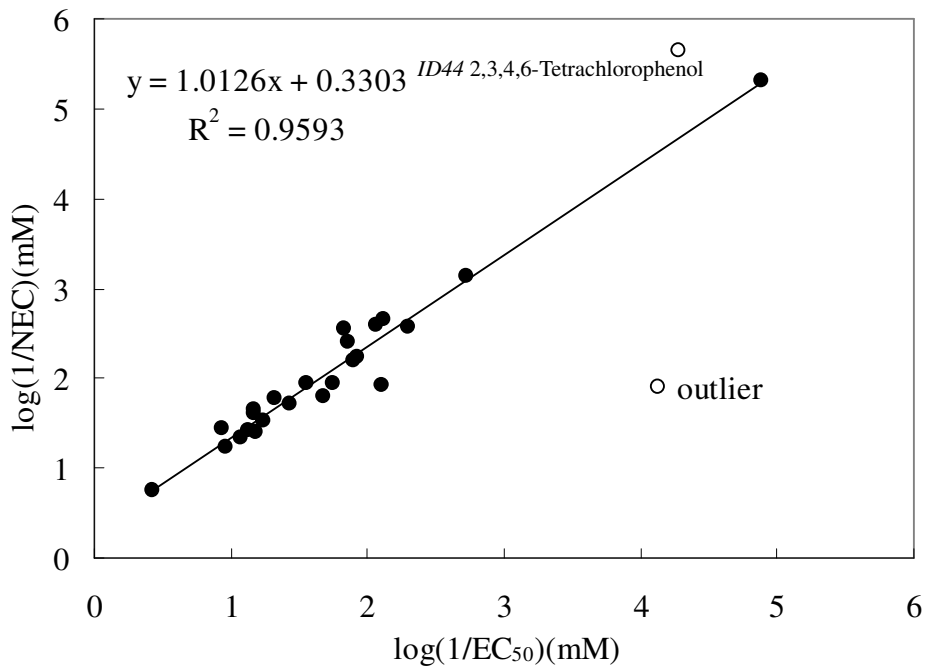


Fig 4.2.6 Acute toxicity( $EC_{50}$ ) versus chronic toxicity(NEC) concentrations for polar narcosis

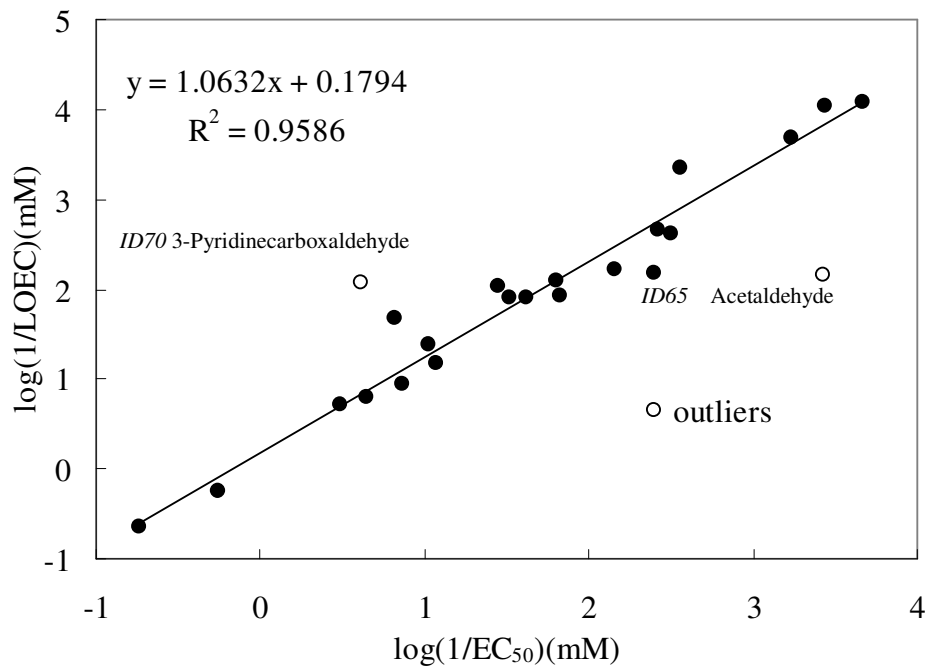


Fig 4.2.7 Acute toxicity( $EC_{50}$ ) versus chronic toxicity( $LOEC$ ) concentrations for reactive

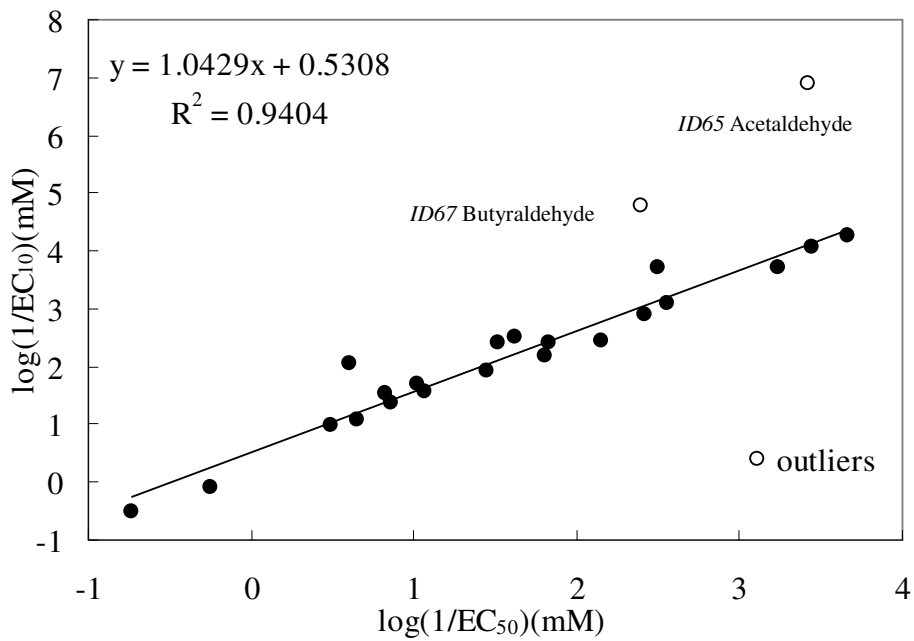


Fig 4.2.8 Acute toxicity( $EC_{50}$ ) versus chronic toxicity( $EC_{10}$ ) concentrations for reactive

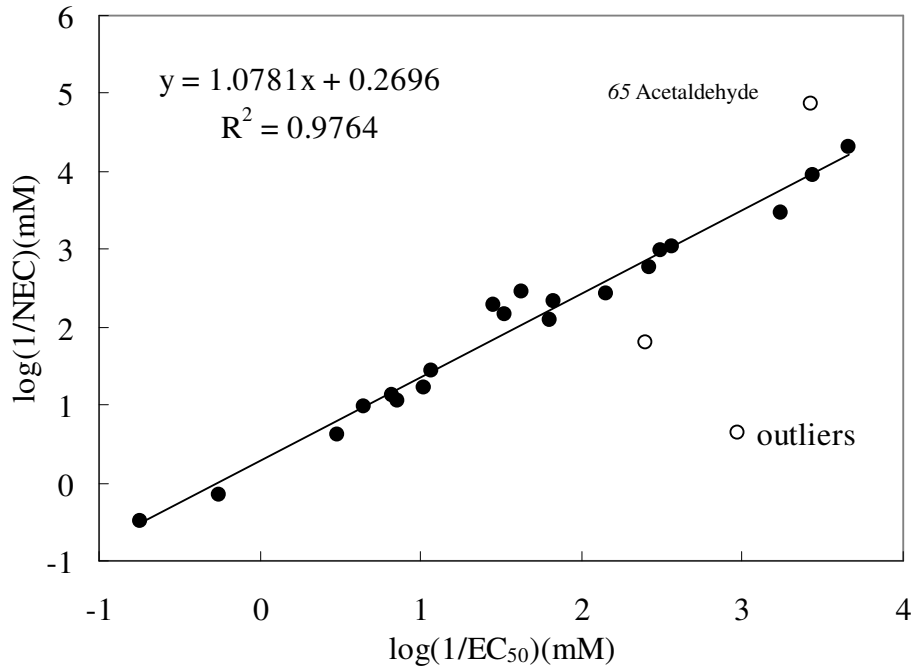


Fig 4.2.9 Acute toxicity( $EC_{50}$ ) versus chronic toxicity(NEC) concentrations for reactive

而去除上述 ACR 變異較大的 outliers 後，可獲得一良好的線性關係。如圖 4.2.1 至 4.2.9 所示。比較不同作用機制分類下，其線性關係的截距、係數以及平均 ACR 的關係，從表 4.2.4 中可以看的出來，LOEC 的部份為極性麻醉性化學物質 ( $2.88 \pm 0.98$ ) 的 ACR 值略大，而非極性麻醉性 ( $2.32 \pm 0.38$ ) 和反應性 ( $2.33 \pm 0.72$ ) 的毒性化學物質則差不多，略小於極性麻醉性化學物質。而  $EC_{10}$  的部份則為反應性 ( $5.41 \pm 2.72$ ) 毒性化學物質 ACR 值最大極性麻醉性，其次為非極性麻醉性毒性化學物質 ( $4.51 \pm 1.24$ )，最後則為極性麻醉性毒性化學物質 ( $3.47 \pm 0.57$ )。最後 NEC 的部分，最大的 ACR 值為反應性毒性化學物質 ( $2.83 \pm 0.72$ )，而極性麻醉性 ( $2.42 \pm 0.38$ ) 及非極性麻醉性 ( $2.16 \pm 0.40$ ) 毒性化學物質則差不多。而從這三個反應終點中，可看出  $EC_{10}$  的敏感度不論是對於極性麻醉性、非極性麻醉性或者反

應性的毒性化學物質皆是明顯高於 LOEC 及 NEC 的，而 LOEC 及 NEC 的敏感度是相似的。此由 ACR 的平均值中可以看的出來。因此，再加上前節 4.1 所提 NOEC 的敏感度是略敏感於  $EC_{10}$ ，由此可知，此四個反應終點參數，其敏感度的關係為  $NOEC \geq EC_{10} > LOEC \approx NEC$ 。

而在過去的文獻中，有提到一般工業用的化學物質，即非極性麻醉性化學物質的 ACR 值應較極性麻醉性化學物質以及反應性的化學物質，例如：殺蟲劑等高<sup>[24]</sup>。而在本研究中此現象並不明顯只有在 LOEC 及 NEC 中可看見。Gray 及 Sova<sup>[71]</sup>曾以 *Pseudokirchneriella subcapitata* 96 小時 population grow 的實驗，對於非極性麻醉性毒性化學物質做出  $IC_{50}$  及 NOEC 進而求出 ACR 約為 3.5，這和本研究以  $EC_{10}$  所作出的 ACR 平均值是相接近的。而 McGrath *et al.*<sup>[72]</sup>亦對於包含三種藻類，*S. capricornutum*，*C. reinhardti* 及 *S. costatum* 以及其他物種做出的非極性麻醉性化學物質平均 ACR 值為  $4.5 \pm 2.5$ ，此結果亦和本研究是相符的。至於極性麻醉性及反應性的毒性化學物質，和 Roex *et al.*<sup>[29]</sup>的結果相比較之下（極性麻醉性： $9.8 \pm 11.8$ 、反應性： $17.31 \pm 26.6$ ，為平均  $ACR \pm$  標準偏差）本研究的值是較低的。造成此結果的原因可能為由於大部分的對於求的 ACR 值的急毒性以及慢毒性的反應結果，其實驗的物種和本研究不同，以及對於急慢毒性分別實驗的天數可能是不相同的，再加上最後觀察的反應終點也不同，而本研究對於藻類的急慢毒性試驗的實驗時間是相同為 48 小時，且皆是以 Biopopulation 為觀測終點，所以可能導致和過去文獻的結果有所差異。而對於所有的機制及反應終點中，可以發現其  $EC_{50}$  和低影響抑制濃度的線性迴歸斜率均皆接近於 1 左右，即代表月芽藻(*Pseudokirchneriella subcapitata*) 的急慢毒性結果在個別的作用機制分類之下 ACR 是一個定值。而將所有的毒性化學物質在不分類的情況下，其平均的 ACR 值分別為 LOEC ( $2.45 \pm 0.35$ )、 $EC_{10}$  ( $4.46 \pm 0.88$ ) 以及 NEC ( $2.36 \pm 0.29$ )。以上不論任何反

應計算終點的平均 ACR 值皆低於 10，因此在環境危害的評估當中，一般所建議的固定因子 10 為一合理的值，可藉由此因子並利用急毒性的結果預測評估慢毒性，獲得的結果可做為預先評估環境低影響抑制濃度的估計值以及環境品質的標準。



**Table 4.2.4 Characteristics of regression lines for different classes of compounds and endpoint**

Mode of action	LOEC					EC <sub>10</sub>					NEC				
	y-intercept	Slope	n	Average ACR <sup>a</sup>	STD <sup>b</sup>	y-intercept	Slope	n	Average ACR <sup>a</sup>	STD <sup>b</sup>	y-intercept	Slope	n	Average ACR <sup>a</sup>	STD <sup>b</sup>
Non-polar narcotics	0.28	1.02	56	2.32±0.38	1.47	0.40	1.09	56	4.51±1.24	4.74	0.21	1.05	58	2.16±0.40	1.57
Polar narcotics	0.40	0.98	25	2.88±0.98	2.49	0.38	1.08	23	3.47±0.57	1.4	0.33	1.01	24	2.42±0.38	0.95
Reactive	0.18	1.06	21	2.33±0.72	1.67	0.53	1.04	19	5.41±2.72	6.05	0.27	1.08	20	2.83±0.72	1.64

a: Average ACR ± 95%confidence

b:Standard Deviation

### 4.3 定量結構活性關係 (Quantitative Structure Activity Relationship, QSAR)

定量結構活性關係(Quantitative Structure Activity Relationship, QSAR)是一可以用來評估有機化學物質毒性的工具。主要即為依據各有機毒性化學物質不同的毒性作用機制下，建立一系列相同或類似毒性化學物質的 QSAR 的模式。

本研究的 108 種毒性化學物質的毒性作用機制的分類，主要即根據文獻中 (Verhaar *et al.* [32]、Russom *et al.* [33] 以及 Akers *et al.* [36]) 的分類機制，分為 3 大類，分別是非極性麻醉性毒性化學物質 (Non-polar narcosis) 五十九種、極性麻醉性毒性化學物質 (Polar narcosis) 二十六種以及反應性毒性化學物質 (Reactive) 二十九種。為了建立本研究月牙藻針對毒性化學物質的良好 QSAR 結果，即較佳的迴歸關係式，必須先去除 outlier 以提高  $R^2$  值以及  $Q^2$ ，且必須選用適當的分子描述參數，以期由參數背後的物化特性來了解有機毒物與生物受體間作用力關係。Akers *et al.* [36] 曾提到以毒性預測式預測的  $EC_{50}$  值與實際觀測得到的  $EC_{50}$  值的比例來歸納 QSAR 迴歸時 outlier 的二種性質，一為超額型毒性 (Excess toxicity)，二為破壞式毒性 (Impaired toxicity)，前者歸納的原因可能為酵素均質化或者為小分子原故而導致的膜穿透率的提升有關，後者原因為膜穿透率被抑制、活性低或者是空間抑制性 (Steric hindrance) 所導致。當比例超過 1 個 order 以上 (10 倍) 在變化時，則斷定毒物毒性來源可能來自其他類型的毒性機制。因此 outliers 的判定則是根據

$$\log Te = \log(\text{Baseline concentrations}) - \log(\text{Observed concentrations})$$

若  $\log Te$  大於一或小於負一，即認定為 outliers。



### 4.3.1 基線毒性(Baseline toxicity)

屬於非極性麻醉性 (Non-polar narcosis) 作用機制的毒性化學物質被 Schultz *et al.*<sup>[73]</sup> 定義為基線毒性 (Baseline toxicity)，主要的原因在於此類作用機制的有機物毒性較其他類型機制來的低，並且發現此類型的毒性機制所造成的毒性與辛醇與水係數 (Log P) 有良好的線性關係。本研究對於五十九種非極性麻醉性化學物質四種反應觀測終點 NOEC、LOEC、EC<sub>10</sub> 以及 NEC 和 Log P 的回歸分析如表 4.3.1 及圖 4.3.1.1 至圖 4.3.1.4 所示。表 4.3.1.1 中的回歸方程式：1、6、11 以及 16。而 outliers 的部份，NOEC 為 Nitrobenzene (ID14)、2,6-Dinitrotoluene (ID19)、1,3-Dichloropropane (ID32)、Propionitrile (ID80)、Malonitrile (ID86)、1-Octanol (ID89)、Acetone (ID90)，LOEC 為 2,6-Dinitrotoluene (ID19)、1,3-Dichloropropane (ID32)、Propionitrile (ID80)、Malonitrile (ID86)、1-Octanol (ID89)、Acetone (ID90)，EC<sub>10</sub> 為 2,6-Dinitrotoluene (ID19)、1,3-Dichloropropane (ID32)、Malonitrile (ID86)、1-Octanol (ID89)、Acetone (ID90)，NEC 為 2,6-Dinitrotoluene (ID19)、1,3-Dichloropropane (ID32)、Malonitrile (ID86)、1-Octanol (ID89)、Acetone (ID90)。而從圖 4.3.1.1 至圖 4.3.1.4 亦可看見，大部份屬於 outliers 的毒性化學物質皆是毒性高過預測毒性的 ( $\log Te < -1$ )，只有 Acetone (ID90) 為實際毒性低於預測毒性 ( $\log Te > 1$ )。

Table 4.3.1 Comparison of QSARs for different classes and describing the relationship of low toxicity to log P and E<sub>LUMO</sub>

NO.	Chemical	End point	QSAR	n	R <sup>2</sup>	R <sub>A</sub> <sup>2</sup>	F	SE	Q <sup>2</sup>	outlier's ID
1	Non-polar narcosis	NOEC	$\log(1/\text{NOEC}) = 0.95 \log P - 1.18$	51	0.91	0.91	504.5	0.48	0.90	14,19,32,(80),86,89,90
2	Polar narcosis		$\log(1/\text{NOEC}) = 0.87 \log P - 0.06$	23	0.76	0.75	65.31	0.46	0.64	46,48,50
3			$\log(1/\text{NOEC}) = 0.69 \log P - 0.79 E_{\text{LUMO}} + 0.36$	26	0.79	0.77	42.21	0.42	0.66	
4	Halogenated nitriles		$\log(1/\text{NOEC}) = -64.25 E_{\text{LUMO}} - 1.67$	6	0.89	0.85	30.95	0.71	0.78	
5			$\log(1/\text{NOEC}) = 0.25 \log P - 60.68 E_{\text{LUMO}} - 1.67$	6	0.89	0.82	12.23	0.8	-	
6	Non-polar narcosis	LOEC	$\log(1/\text{LOEC}) = 0.95 \log P - 1.27$	52	0.9	0.9	455.8	0.51	0.9	19,32,(80),86,89,90
7	Polar narcosis		$\log(1/\text{LOEC}) = 0.92 \log P - 0.5$	22	0.8	0.79	81.61	0.42	0.71	46,48,50,52
8			$\log(1/\text{LOEC}) = 0.84 \log P - 0.661 E_{\text{LUMO}} - 0.3$	26	0.76	0.74	37.34	0.45	0.63	
9	Halogenated nitriles		$\log(1/\text{LOEC}) = -67.6 E_{\text{LUMO}} - 2.02$	6	0.91	0.89	42.56	0.64	0.84	
10			$\log(1/\text{LOEC}) = -0.02 \log P - 67.24 E_{\text{LUMO}} - 2.02$	6	0.91	0.86	15.97	0.74	-	
11	Non-polar narcosis	EC <sub>10</sub>	$\log(1/\text{EC}_{10}) = 0.98 \log P - 1.17$	53	0.87	0.87	344.65	0.63	0.86	19,32,86,89,90
12	Polar narcosis		$\log(1/\text{EC}_{10}) = 1.07 \log P - 0.74$	20	0.84	0.83	94.66	0.4	0.66	(44),46,48,50,52
13			$\log(1/\text{EC}_{10}) = 0.62 \log P - 1.59 E_{\text{LUMO}} - 0.42$	23	0.86	0.84	58.55	0.39	0.77	(44),47
14	Halogenated nitriles		$\log(1/\text{EC}_{10}) = -68.95 E_{\text{LUMO}} - 1.96$	6	0.94	0.93	66.24	0.52	0.89	
15			$\log(1/\text{EC}_{10}) = -0.53 \log P - 73.04 E_{\text{LUMO}} - 1.67$	6	0.89	0.83	15.4	0.74	0.49	
16	Non-polar narcosis	NEC	$\log(1/\text{NEC}) = 0.96 \log P - 1.3$	54	0.89	0.89	414.23	0.56	0.88	19,32,86,89,90
17	Polar narcosis		$\log(1/\text{NEC}) = 0.98 \log P - 0.47$	21	0.76	0.74	59.17	0.46	0.6	(44),48,50,59
18			$\log(1/\text{NEC}) = 0.92 \log P - 0.9 E_{\text{LUMO}} - 0.43$	25	0.77	0.75	37.24	0.56	0.68	
19	Halogenated nitriles		$\log(1/\text{NEC}) = -67.83 E_{\text{LUMO}} - 2.01$	6	0.92	0.9	46.66	0.61	0.84	
20			$\log(1/\text{NEC}) = -0.23 \log P - 67.89 E_{\text{LUMO}} - 1.75$	6	0.88	0.82	65.07	0.75	0.53	

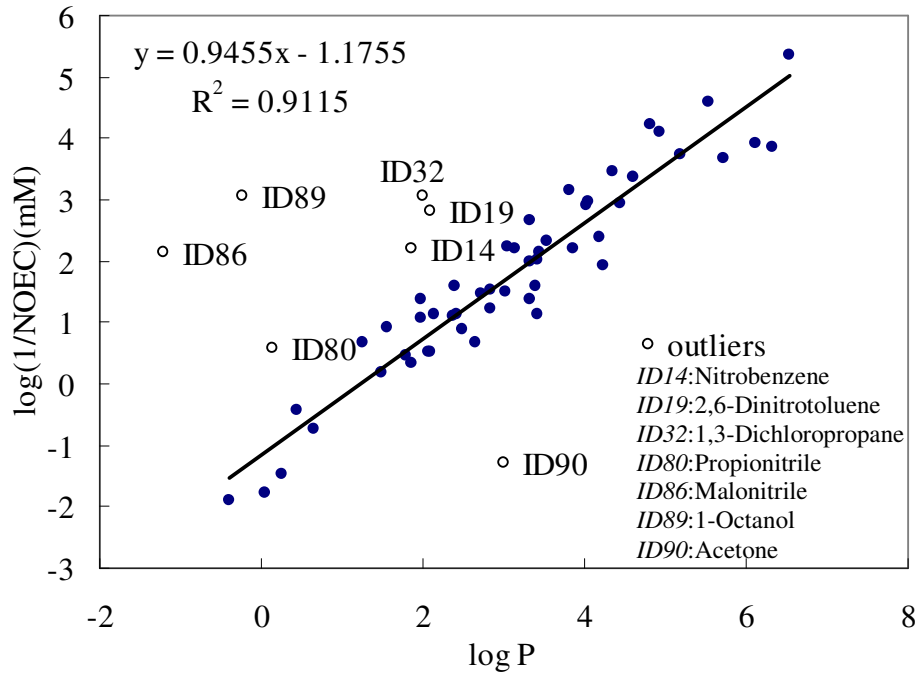


Fig 4.3.1.1 Log P versus log(1/NOEC) for non-polar narcosis and the line represents the baseline toxicity

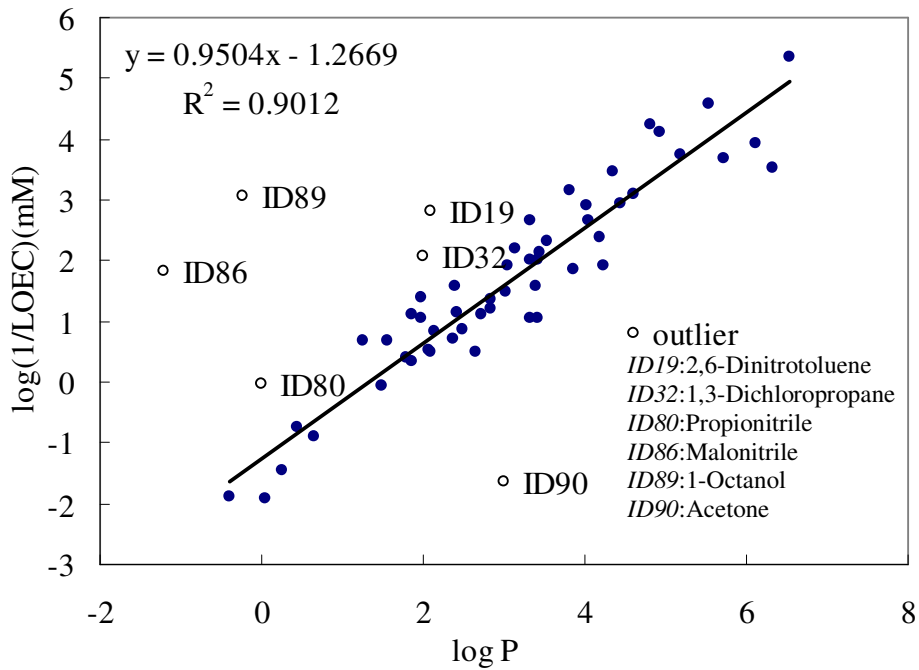


Fig 4.3.1.2 Log P versus log(1/LOEC) for non-polar narcosis and the line represents the baseline toxicity

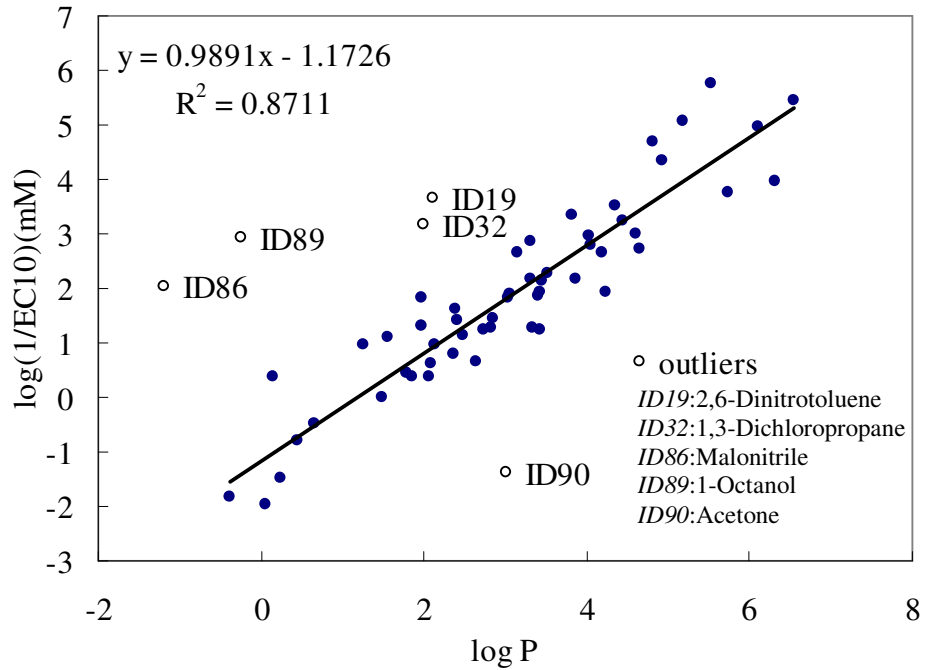


Fig 4.3.1.3 Log P versus log(1/EC<sub>10</sub>) for non-polar narcosis and the line represents the baseline toxicity

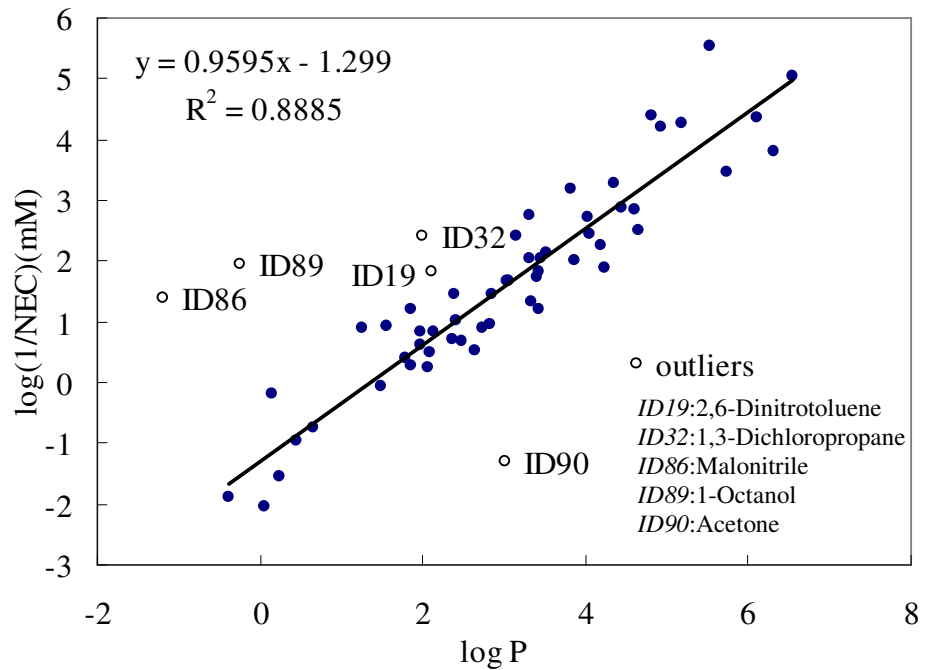


Fig 4.3.1.4 Log P versus log(1/NEC) for non-polar narcosis and the line represents the baseline toxicity

在觀測到的毒性化學物質毒性高過預測毒性的情形中，Propionitrile (ID80) 可能是由於之前提過其中斷值過大，導致其實驗值可能是不可信賴的，而造成 outlier 的出現。Nitrobenzene (ID14)、2,6-Dinitrotoluene (ID19)、1,3-Dichloropropane (ID32)、Malonitrile (ID86) 則是有所謂的超額型毒性 (Excess toxicity) 出現。在過去的文獻中，認為芳香環上接有硝基 (NO<sub>2</sub>) 會擁有強大的拉電子效應 (Electron-withdrawing effect)，使芳香環上的電子密度較低，而造成硝基上的電子較多的原因是由於氧原子的存在。一般而言，含硝基的芳香族化合物會隨著還原反應使得在芳香環上的碳原子的親核性反應增加。而 Nitrobenzene 即為親電性毒性化學物質的代表<sup>[74]</sup>。而含有雙硝基取代基的芳香族化合物，由於其硝基間會互相結合所以親電性參數會遠以疏水性參數重要<sup>[75]</sup>。1,3-Dichloropropane (ID32) 的毒性較高的原因，則可能和其氯原子鍵結位置有關，1,2-Dichloropropane (ID31) 與其為同份異構物，前為間位取代基 (*meta*-) 後為鄰位取代基 (*ortho*-)。它們擁有相近的 log P，但毒性卻相差了 10 倍以上。過去的文獻中，也有對於取代基位置對毒性的影響作討論，其結果發現取代基位於鄰位 (*ortho*-) 上，如：2-Cl、2-Me 及 2-Et 的毒性會較低，即也代表毒性化學物質取代基鍵結的位置會影響其毒性<sup>[76]</sup>。Malonitrile (ID86) 亦有學者將其分類為呼吸抑制作用的反應機制，毒性也會較非極性麻醉性要來的強<sup>[36]</sup>。1-Octanol (ID89) 毒性會較高原因，到目前為止本研究還無法解釋。而唯一實際毒性較預測低的有機物為 Acetone (ID90)，此化學物質在工業上常被使用為溶劑的用途。在微生物的實驗中亦以其為溶劑對於活性污泥、甲烷菌、硝化菌等進行毒性測驗<sup>[77]</sup>。Russom *et al.*<sup>[33]</sup> 以 Fathead minnow 進行毒性試驗，亦發現 Acetone 的 Te 值小於一，與本研究相符合，其毒性小於基線毒性 (Baseline toxicity)。

在判定基線毒性是否具有好的預測性方面，除利用 R<sup>2</sup> 來決定其配適

度 (Goodness of fit) 外，還採用交叉驗證 (Cross-validation) 的留一法 (Leave-one-out) 中的  $Q^2$  來評估其預測能力 (Goodness of prediction)，以上兩值越接近於一，即表示此方程式的合適度及預測能力越佳。從表 4.3.1.1 中亦可看出以 NOEC 及 LOEC 為觀測終點，當去除 outliers 之後回歸方程式其  $R^2$  以及  $Q^2$  皆大於 0.9 以上，以  $EC_{10}$  及 NEC 為觀測終點的回歸方程式，其  $R^2$  以及  $Q^2$  皆大於 0.85 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。並且觀察方程式可發現，斜率的部份都介於 0.95-0.98 之間，此和過去文獻中對於基線毒性中的 Universal narcosis slope(0.945) 是接近的<sup>[71]</sup>。即表示本研究對於月芽藻 (*Pseudokirchneriella subcapitata*) 所建立非極性麻醉性作用機制的基線毒性 (Baseline toxicity) 回歸方程式具有良好的預測性，並可提供大眾作為非極性麻醉性毒性化學物質的低影響抑制濃度的預測。



### 4.3.2 極性麻醉性(Polar narcosis)及反應性(Reactive)作用機制

在極性麻醉性(Polar narcosis)的部份，主要包含的酚類以及苯胺類此兩大類的化合物，總共為酚及其 13 個衍生物以及 13 個苯胺類的毒性化學物質。此類作用機制的化學物質毒性較非極性麻醉性類(Non-polar narcosis)的毒性化學物質要來的高，並且和細胞的親核試劑有強大的電子交互作用。因此，參予回歸的分子描述參數除了 log P 之外，還加上了  $E_{LOMU}$  此項電子參數。回歸結果如表 4.3.1 中，方程式 2、3、7、8、12、13、17 及 18 所示。方程式 2、7、12 以及 17 是只和 log P 回歸的結果，其他則有加上  $E_{LOMU}$ 。而只和 log P 回歸，outliers 的部份，NOEC 為 2-Nitrophenol (ID46)、4-Nitrophenol (ID48)、2,4-Dinitrophenol (ID50)，LOEC 為 2-Nitrophenol (ID46)、4-Nitrophenol (ID48)、2,4-Dinitrophenol (ID50)、4-Chloroaniline (ID52)， $EC_{10}$  為 2,3,4,6-Tetrachlorophenol (ID44)、2-Nitrophenol (ID46)、4-Nitrophenol (ID48)、2,4-Dinitrophenol (ID50)、4-Chloroaniline (ID52)，NEC 為 2,3,4,6-Tetrachlorophenol (ID44)、4-Nitrophenol (ID48)、2,4-Dinitrophenol (ID50)、2,4,6-Trichloroaniline (ID59)。與 LogP 之關係如圖 Fig 4.3.2.1 至 Fig 4.3.2.4 所示。

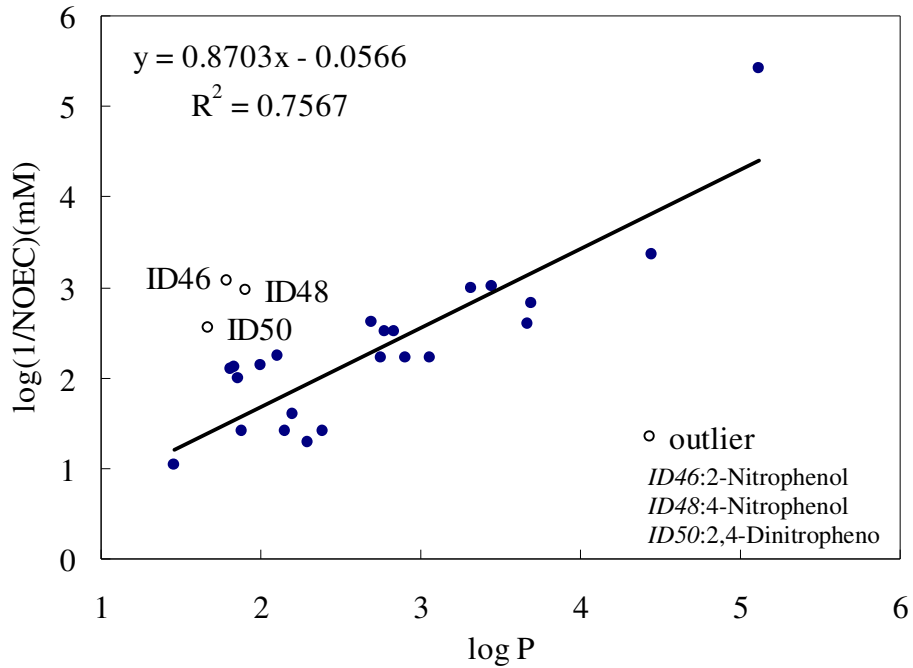


Fig 4.3.2.1 Log P versus log(1/NOEC) for polar narcosis

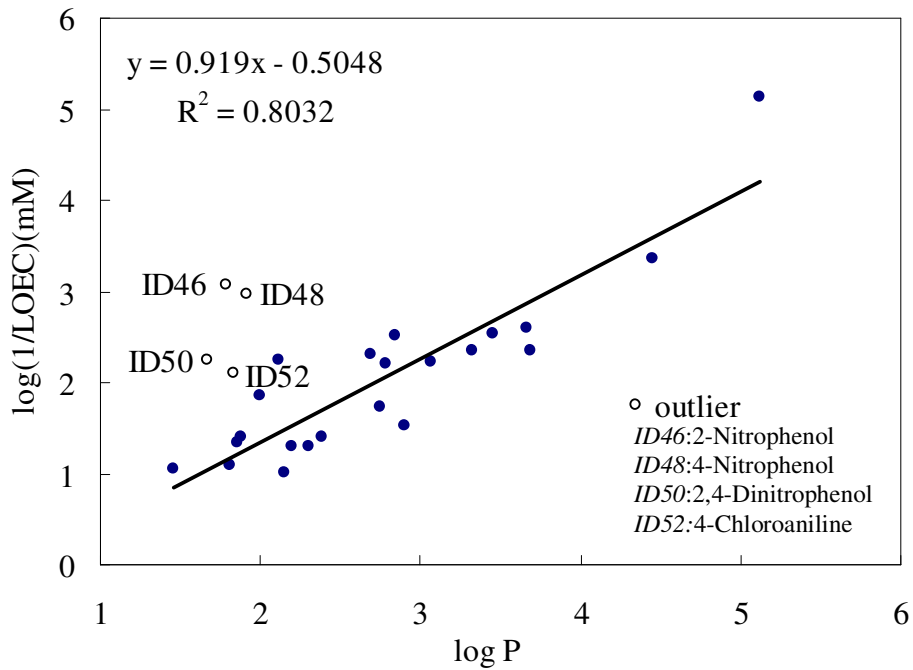


Fig 4.3.2.2 Log P versus log(1/LOEC) for polar narcosis



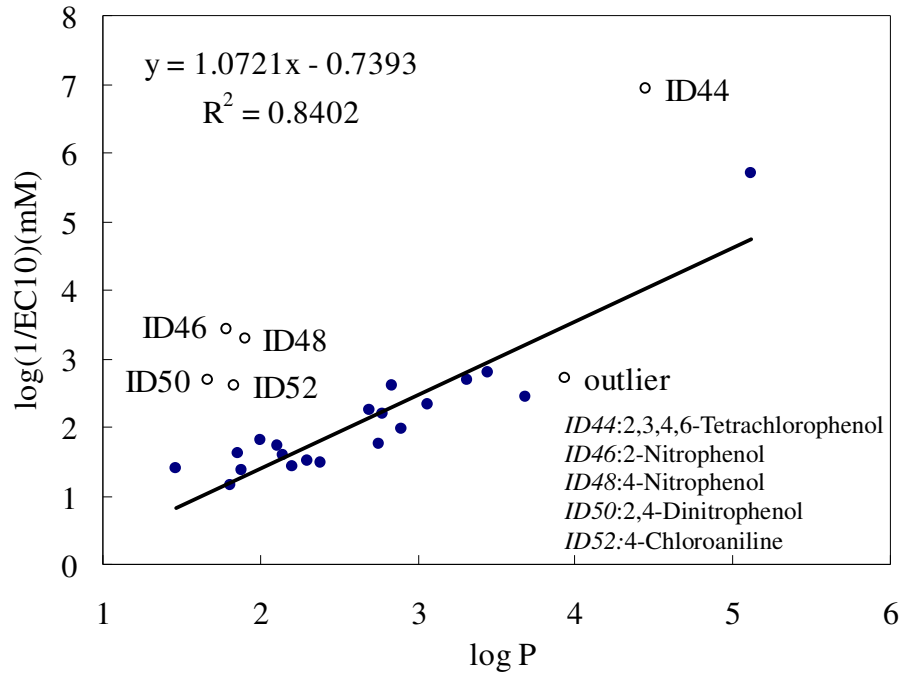


Fig 4.3.2.3 Log P versus  $\log(1/EC_{10})$  for polar narcosis

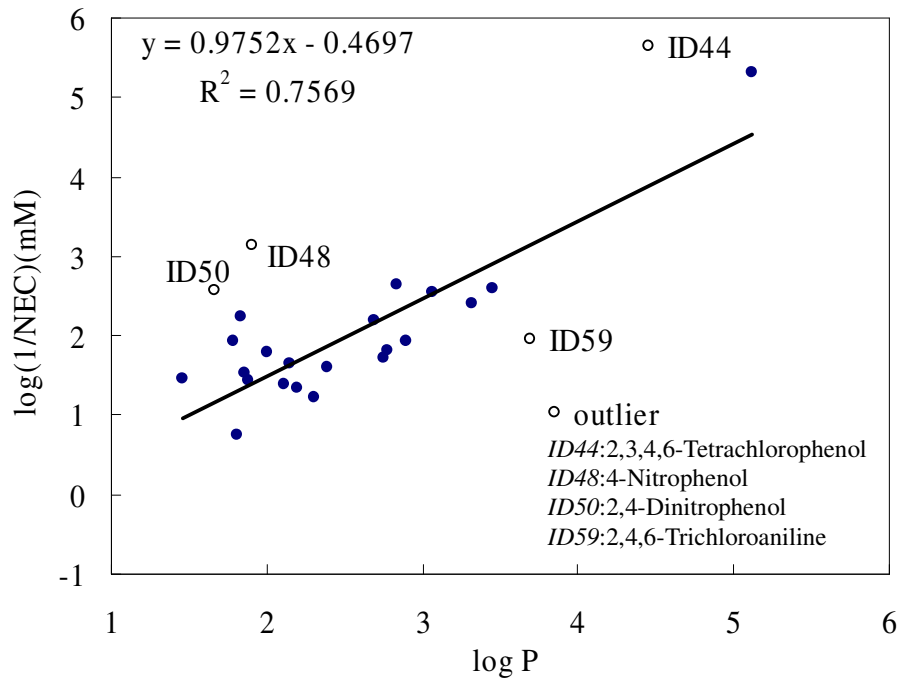


Fig 4.3.2.4 Log P versus  $\log(1/NEC)$  for polar narcosis

在這些 outliers 的部份，其中 2,3,4,6-Tetrachlorophenol (44) 除了其 cut-off value 過大可能造成其結果誤差過大而變異性過大，而在過去的文獻中<sup>[78]</sup>，對於酚類接超過 3 個或 3 個以上的鹵素原子做討論，發現到化學物質的實際毒性會較預測毒性高。主要的原因是由於此類毒性化學物質的作用機制應是屬於弱酸呼吸非偶合 (Weak respiratory uncoupling mechanism)，這類機制下的化學物質毒性會高於麻醉性 (Narcosis)。2-Nitrophenol (ID46)、4-Nitrophenol (ID48) 及 2,4-Dinitrophenol (ID50)，這三個毒性化學物質實際毒性也高於預測毒性的原因是在第二及第四位置上所接的硝基 (Nitro group) 會被氧化成 Quinone，而此化學物質的毒性高於極性麻醉性化學物質 (Polar narcosis)<sup>[79-84]</sup>，而雙硝基取代基 (Dinitro-) 因為其兩硝基會互相結合影響，導致其親電性會遠比疏水性參數來的重要且而當苯環上所接的硝基越多，其親電性越強，造就其有機物的毒性越高，而和 log P 的關係下降，反而和親電性參數、例如： $E_{LUMO}$ ，的回歸關係較好<sup>[75]</sup>。Bearden *et al.*<sup>[85]</sup>曾對於苯胺類以纖毛蟲進行毒性試驗，發現含有對位 (*para*-) 鹵素取代基的苯胺類會出現較高的毒性，在本研究中此亦顯示出 4-Chloroaniline (ID52) 對於月芽藻 (*Pseudokirchneriella subcapitata*) 的毒性較高。至於含有三個氯原子取代基的 2,4,6-Trichloroaniline (ID59)，分子內位在鄰位 (*ortho*-) 取代基的氯原子會遮蔽胺基 ( $NH_2$ ) 使其毒性受到抑制而降低<sup>[86]</sup>。而從表中亦可看出當急性麻醉性作用機制的 QSARs 線性回歸中再加入  $E_{LUMO}$  後，對於  $R^2$  及  $Q^2$  雖無明顯的改善，但原本屬於 outliers 的毒性化學物質，變成非 outliers 的情況，即代表此類作用機制的化學物質毒性是和電子的轉移有關，適合使用親電性的物化參數來描述，並利用此來預測其毒性。

至於反應性作用機制的毒性化學物質，包含了醛類、農藥以及含鹵素取代基的胺類。此類機制下的有機物，毒性是此三種作用機制裡最高的。但由於此三項混在一起的回歸效果並不好，不論是單獨和 Log P 回歸或者是 Log P 以及  $E_{LUMO}$  兩個參數加在一起回歸對於以 NOEC、LOEC、 $EC_{10}$

或 NEC 效果皆不好， $R^2$  都小於 0.3。若分開各別進行回歸效果也不好，最後只有含鹵素取代基的腈類有良好的結果，如表 4.3.1 中，方程式 4、5、9、10、14、15、19 及 20 所示。其中可發現單獨和  $E_{LUMO}$  回歸效果即相當良好， $R^2$  都大於 0.85 且  $Q^2$  都大於 0.75。加入 Log P 後並無改善其回歸效果。即代表反應的化學物質的毒性影響和疏水性參數相關性並不大，在建構定量結構活性關係時，電子性參數反而是較為重要。因此應尋找更佳適當的物化參數，以期能建構包含各式種類的反應性毒性化學物質之劑量結構活性關係。



#### 4.4 藻類與其他毒性試驗物種比較

本研究是針對毒性化學物質在本實驗室的操作條件下 (BOD bottle test) 對於月芽藻低影響抑制濃度的討論，在文獻中提到常用來做為水體生物毒性試驗的物種，主要包含了藻類、原生動物、細菌、後生動物、魚類或兩棲類等，由於這些水生生物體彼此之間在內部構造上有極大的差異；例如：藻類具有其他生物體所缺乏的葉綠體及細胞壁，生殖方法又分為無性生殖與有性生殖，而魚類及兩棲類在分類上已屬於較高等的生物體。以上這些生物在水體生態系統中所扮演的角色亦不同，包含了從最低階的生產者到消費者或是分解者，由於毒性物質在生物體內的生物累積與生物濃縮作用，將使得生物體對於有機毒物的敏感性不同。因此，本節主要的目的即為收集其他物種對於本研究 108 種毒性化學物質 NOEC 的結果，並加以比較討論。

表 4.4.1 是收集其他物種對於本研究的毒性化學物質在不同的實驗狀況下以 NOEC 為觀測反應終點的結果，其他的物種分別包括了和本研究相同的月芽藻 (*Pseudokirchneriella subcapitata*)，水蚤 (*Daphnia magna*) 以及鱒魚 (*Pimephales promelas*)。其中大部分的數據是參考 ECOTOX 網站上，部分則是由文獻中獲得。在表中所獲得的毒性試驗結果單位為 mg/L，將其轉換為 mM 後再取  $\log(1/\text{NOEC})$ ，此值越高即代表此毒性化學物質對此物種越敏感。圖 4.4.1 至圖 4.4.4 為個別不同之物種實驗結果相關性比較結果，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。因此若比較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。由於本研究以及部分收集到月芽藻的 NOEC 值為最大值，即表示 NOEC 值較實驗時的最低濃度還要來得低。因此即採用 LOEC 代替做比較。

Table 4.4.1 Comparisons NOEC of this study and other Species with literature data

ID	Chemical	Species												
		<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>					<i>Daphnia magna</i>				<i>Pimephales promelas</i>			
		Conc. (mg/L) <sup>k</sup>	Conc. (mg/L)	Effect <sup>i</sup>	Duration	Reference <sup>j</sup>	Conc. (mg/L)	Effect <sup>i</sup>	Duration	Reference <sup>j</sup>	Conc. (mg/L)	Effect <sup>i</sup>	Duration	Reference <sup>j</sup>
1	Benzene	5.81	8 <sup>a</sup>							10.2	MOR	7 d	3910	
2	Chlorobenzene	3.41	<100	BC M	96 h	9607	11	REP	9 - 11 d	212				
3	1,2-Dichlorobenzene	<1.42	<10	BCM	96 h	9607	0.63	REP	21 d	847				
4	1,3- Dichlorobenzene	<0.700	32	BCM	96 h	9607	0.5	REP	21 d	847	1	MOR	32 d	12124
5	1,4- Dichlorobenzene	<1.06	5.6	BCM	96 h	9607	0.3	REP	21 d	847	0.57	MOR	32 d	12124
6	1,2,3- Trichlorobenzene	0.200	0.22 <sup>b</sup>				0.03	REP	21 d	847				
7	1,2,4- Trichlorobenzene	<0.230	0.37 <sup>b</sup>				0.2	REP	21 d	56345	0.21	MOR	30 dph	20456
8	1,3,5- Trichlorobenzene	<0.730					0.2	REP	21 d	56345				
9	1,2,3,4-Tetrachlorobenzene	0.0900					0.55 <sup>d</sup>				0.25	MOR	33 d	12124
10	1,2,4,5-Tetrachlorobenzene	-	<3.2	BCM	96 h	9607								
11	Hexachlorobenzene	<0.0600					0.00013	REP	21 d	56378				
12	Ethylbenzene	<0.660	1	BCM	96 h	9607								
13	2-Chloro-p-xylene	0.870												
14	Nitrobenzene	0.780	3.2	BCM	96 h	9607	2.6	REP	21 d/R	847	38.3	MOR	7 d/F	3910
15	2-Chlorotoluene	9.18					0.14	REP	21 d/R	847				
16	Toluene	3.10	10 <sup>c</sup>				1	REP	21 d	847	5.44	MOR	7 d	3910
17	4-Chlorotoluene	5.48												
18	2,4-Dichlorotoluene	<1.88												
19	2,6-Dinitrotoluene	<0.28					0.06	REP	21 d/R	847				
20	1,1-Dichloroethane	33.4												
21	1,2- Dichloroethane	64.0									20 <sup>e</sup>			
22	1,1,1- Trichloroethane	<17.6	<125	BCM	96 h	9607	1.3	MOR	17 d	489				
23	1,1,2- Trichloroethane	<39.7									9.4 <sup>e</sup>			
24	1,1,1,2- Tetrachloroethane	<5.31												
25	1,1,2,2- Tetrachloroethane	<4.30	<10	BCM	96 h	9607					2.4 <sup>e</sup>			

ID	Chemical	Species												
		<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>					<i>Daphnia magna</i>				<i>Pimephales promelas</i>			
		Conc. (mg/L) <sup>k</sup>	Conc. (mg/L)	Effect <sup>i</sup>	Duration	Reference <sup>j</sup>	Conc. (mg/L)	Effect <sup>i</sup>	Duration	Reference <sup>j</sup>	Conc. (mg/L)	Effect <sup>i</sup>	Duration	Reference <sup>j</sup>
26	Pentachloroethane	1.22	10	BCM	96 h	9607					1.1 <sup>g</sup>			
27	Hexachloroethane	<0.17	<5.6	BCM	96 h	9607					0.54 <sup>g</sup>			
28	Methylene chloride	<17.7	56	BCM	96 h	9607								
29	Chloroform	<4.98					6.3	REP	21 d/R	847				
30	Tetrachloromethane	<9.46									37.1	MOR	7 d/R	3783
31	1,2-Dichloropropane	<9.82									81 <sup>g</sup>			
32	1,3-Dichloropropane	0.100	<5.6	BCM	96 h	9607					57 <sup>g</sup>			
33	1-Chlorobutane	19.3												
34	Cis-1,2-Dichloroethylene	<44.9												
35	Trans-1,2-Dichloroethylene	<30.0												
36	Trichloroethylene	<9.75					2.3	REP	21 d/R	56378				
37	Tetrachloroethylene	<4.31	<500	BCM	96 h	9607	0.4	REP	21 d	56345	0.84 <sup>g</sup>			
38	Phenol	<8.48					0.16	GRO	16 d	12872	20.2	MOR	32 d	57532
39	2-Chlorophenol	4.93					0.3	REP	21 d	847				
40	4-Chlorophenol	<5.00	<0.6	BCM	96 h	9607	0.63	REP	21 d	847				
41	2,3-Dichlorophenol	<0.500												
42	2,4-Dichlorophenol	<0.970					0.21	REP	21 d	847	0.29 <sup>h</sup>			
43	2,4,6-Trichlorophenol	<0.500					0.5	REP	21 d	20489	0.97	MOR	30 dph	20456
44	2,3,4,6-Tetrachlorophenol	<0.100					0.25	MOR	21 d					
45	Pentachlorophenol	0.00100	0.04	GRO	96 h	12735	0.05	REP	14 d	8764	0.056	GRO	28 d	14078
46	2-Nitrophenol	<0.120												
47	3-Nitrophenol	0.990												
48	4-Nitrophenol	<0.150	<0.3	BCM	96 h	9607	505.078 <sup>c</sup>							
49	2,4-Dimethylphenol	<6.27									20 <sup>h</sup>			
50	2,4-Dinitrophenol	0.510	<1	BCM	96 h	9607								
51	3-Chloroaniline	<5.01					0.013	REP	21 d	847				
52	4-Chloroaniline	<0.990					0.01	REP	21 d	847				
53	2,4-Dichloroaniline	0.509					0.015	GRO	16 d	12872				
54	2,5-Dichloroaniline	0.990												
55	2,6-Dichloroaniline	4.00												
56	3,4-Dichloroaniline	0.398					0.006	REP	21 d	249				
57	3,5-Dichloroaniline	0.975												
58	2,4,5-Trichloroaniline	0.190												
59	2,4,6-Trichloroaniline	0.290												

ID	Chemical	Species												
		<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>				<i>Daphnia magna</i>				<i>Pimephales promelas</i>				
		Conc. (mg/L) <sup>k</sup>	Conc. (mg/L)	Effect <sup>i</sup>	Duration	Reference <sup>j</sup>	Conc. (mg/L)	Effect <sup>i</sup>	Duration	Reference <sup>j</sup>	Conc. (mg/L)	Effect <sup>i</sup>	Duration	Reference <sup>j</sup>
60	3,4,5-Trichloroaniline	0.202												
61	2,3-Dimethylaniline	0.973				0.1	REP	21 d	847					
62	3,4-Dimethylaniline	1.22				0.01	REP	21 d	847					
63	2-Bromoaniline	<0.990				0.08	REP	21 d	847					
64	Formaldehyde	1.06												
65	Acetaldehyde	<0.310												
66	Propionaldehyde	<9.31												
67	Butyraldehyde	<0.490												
68	Glutaraldehyde	<1.25												
69	2-Pyridinecarboxaldehyde	6.87												
70	3-Pyridinecarboxaldehyde	0.530												
71	4-Pyridinecarboxaldehyde	0.990												
72	2-Hydroxybenzaldehyde	<0.995				0.38	REP	21 d	847					
73	3-Hydroxybenzaldehyde	12.0												
74	4-Hydroxybenzaldehyde	0.980												
75	Acetonitrile	<3.17E+03				160	REP	21 d	13070					
76	Chloroacetonitrile	<1.60												
77	Dichloroacetonitrile	<1.33												
78	Trichloroacetonitrile	0.00600												
79	Bromoacetonitrile	<0.0250												
80	Propionitrile	14.9												
81	3-Chloropropionitrile	64.0												
82	Butyronitrile	366												
83	Isobutyronitrile	186												
84	4-Chlorobutyronitrile	225												
85	Benzonitrile	12.8												
86	Malonitrile	0.480												
87	1-Propanol	<1.75E+03												
88	2-Propanol	3.50E+03												
89	1-Octanol	<0.0500				1	REP	21 d	847	1.19	MOR	7 d	16510	
90	Acetone	2.52E+03				3110	REP	9 - 11 d	212					
91	2-Octanone	10.3												
92	Atrazine	<0.0200	0.076	POP	96 h	69631								



ID	Chemical	Species												
		<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>					<i>Daphnia magna</i>				<i>Pimephales promelas</i>			
		Conc. (mg/L) <sup>k</sup>	Conc. (mg/L)	Effect <sup>i</sup>	Duration	Reference <sup>j</sup>	Conc. (mg/L)	Effect <sup>i</sup>	Duration	Reference <sup>j</sup>	Conc. (mg/L)	Effect <sup>i</sup>	Duration	Reference <sup>j</sup>
93	MCPA	0.800												
94	Parathion	0.350				0.125	MOR	21 d	20061					
95	Dichlorvos	<0.100				0.000109	NOC	21 d	17138	0.07	GRO	28 d	17138	
96	Malathion	1.20				0.0003	REP	21 d	6449					
97	Fenthion	0.300												
98	Benzanthrone	<0.0138												
99	Phenanthrene	<0.0600				0.048	MOR	21 d/R	61182					
100	Fluoranthene	<0.0160	32	BCM	96 h	9607	0.0014	REP	21 d/R	20588	0.0104	MOR	32 d/F	20588
101	Anthracene	<0.200												
102	Benzo[a]anthracene	<0.00600												
103	Acridine	<0.380					0.625	REP	14 d/R	10553				
104	Benzo[b]fluorene	<0.0400												
105	Dibenzo[b,i]anthracene	0.0400												
106	Perylene	<0.0300												
107	Benzo[b]chrysene	<0.00125												
108	Napthalene	<1.28					0.6 <sup>f</sup>				0.45 <sup>g</sup>			



a : Mayer P. *et al.*<sup>[87]</sup>

b : Calamari D *et al.*<sup>[88]</sup>

c : European Commission—Joint Research Centre Institute for Health and Consumer Protection European Chemicals Bureau.<sup>[89]</sup>

d : Hermens *et al.*<sup>[90]</sup>

e : Kühn *et al.*<sup>[91]</sup>

f : European Commission—Joint Research Centre Institute for Health and Consumer Protection European Chemicals Bureau.<sup>[92]</sup>

g : Di Toro DM *et al.*<sup>[93]</sup>

h : Holcombe GW *et al.*<sup>[94]</sup>

i : Effect: BCM=Biochemistry, BEH=Behavior, DVP=Development, GRO=Growth, ITX=Intoxication, MOR=Mortality, NOC=No Effect Coded, PHY=Physiology, POP=Population, REP=Reproduction

j : ECOTOX reference Number

k : BOD bottle test



在圖 4.4.1 中,和其他同是以月芽藻為實驗物種的毒性試驗結果比較可發現,本研究的結果是較為敏感的,主要的原因可能文獻中的所採用的實驗方法為開放式的批次式試驗,或是密閉式空間但仍有 headspace,使得實驗的溶液直接於空氣接觸,容易造成有機物的揮發。而本實驗室的試驗方法是在完全密閉的 BOD 瓶中,並加上水封進行反應,此法可有效的減低毒性化學物質的揮發,而不致於低估了毒性的影響。而比較月芽藻和水蚤之間的敏感性,從圖 4.4.2 及圖 4.4.3 中可發現,水蚤的試驗是比月芽藻要敏感,而鱒魚的敏感度相似於月芽藻。圖 4.4.4 三種物種:水藻、水蚤以及魚類和本研究的比較。

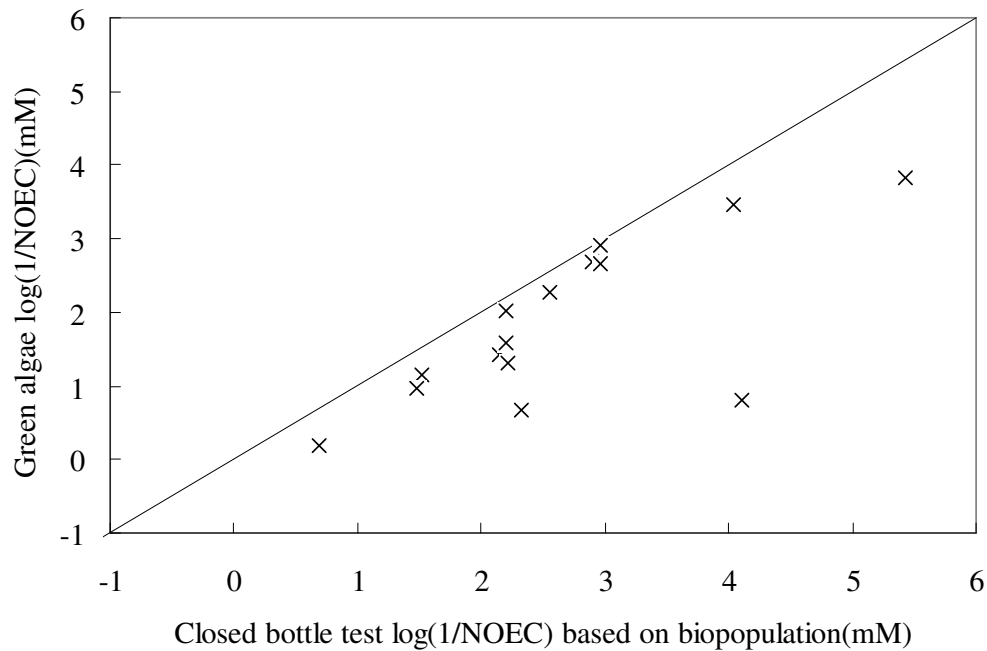


Fig 4.4.1 BOD bottle test versus *P. subcapitata*

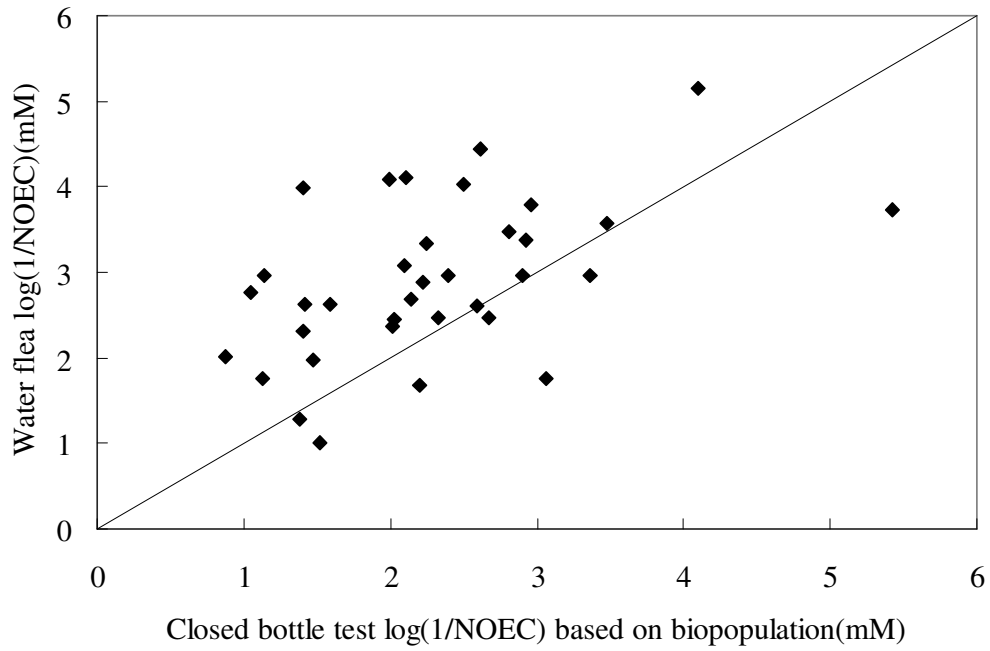


Fig 4.4.2 BOD bottle test versus *D. magna*

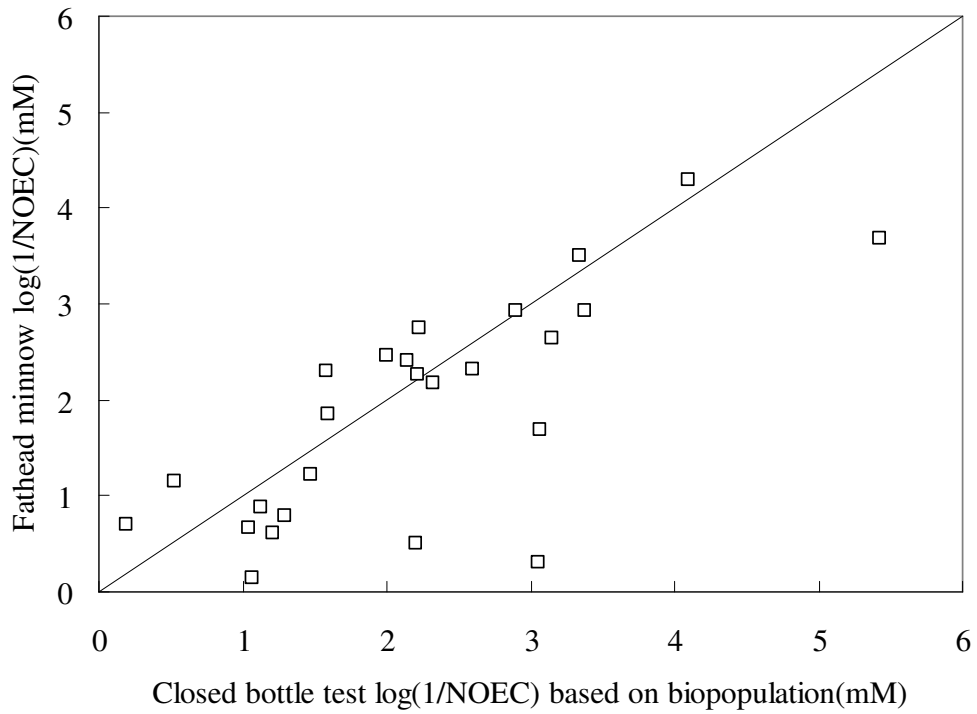


Fig 4.4.3 BOD bottle test versus *P. promelas*

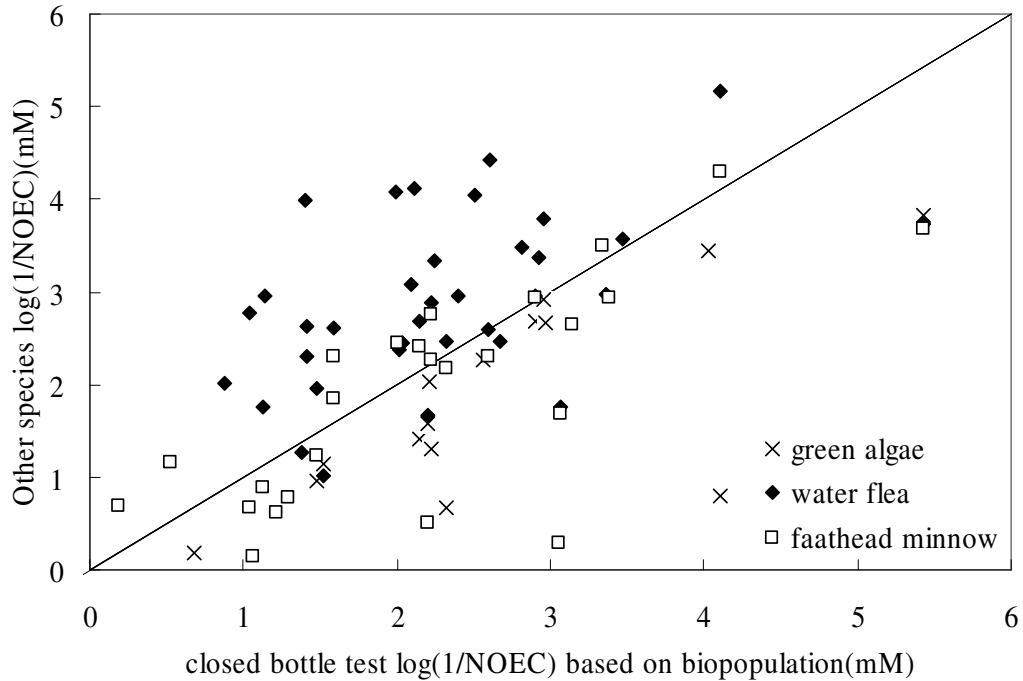


Fig 4.4.4 BOD bottle test versus other species

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，而不同物種間其生物體本身之反應機制亦有所不同。因此，如前段所提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，而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。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對於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。由於本研究所收集到其他物種的數據並不完整，無法將其分作用機制在比較各機制下物種替代的相關性，但就目前所有數據在無分類的情況下，就鱒魚的部份，發現到 Nitrobenzene (ID14)、1,3-Dichloropropane (ID32)、Pentachlorophenol (ID45) 以及 1-Octanol (ID89) 密閉式月芽藻毒性試驗結果是明顯敏感於鱒魚試驗，而這些 outliers 在和其他物種比較後，除對於鱒魚試驗是明顯顯示較

不敏感外，對於文獻中的開放式水藻以及水蚤試驗的結果比較下亦是本研究密閉式藻類毒性試驗的數據較為敏感。NOEC 值相差的倍數分別是 Nitrobenzene (ID14) 為 3-50 倍、1,3-Dichloropropane (ID32) 為 50-500 倍、Pentachlorophenol (ID45) 為 40-56 倍以及 1-Octanol (89) 為 20-25 倍。因此，當去除這些 outliers 後，兩個物種間有一相當良好的線性關係。關係如圖 4.4.5 所示，回歸的結果如下

$$\log(1/\text{NOEC})_{P. promelas} = 0.98 \log(1/\text{NOEC})_{P. subcapitata} + 0.02 \quad R^2 = 0.83$$

從此中可看出月芽藻及鱒魚的相關性很高。因此，在為節省了實驗上的時間與成本的考量之下，可利用月芽藻的慢毒性結果來預測鱒魚毒性以做參考。

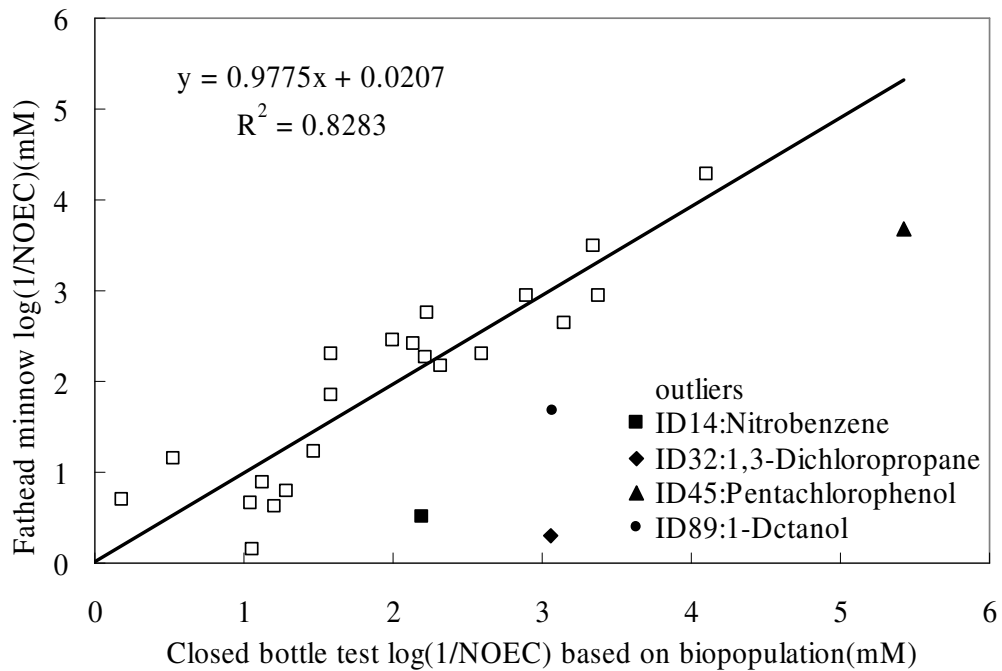


Fig 4.4.5 Regression with BOD bottle test and *P. promelas*