

# 行政院國家科學委員會專題研究計畫成果報告

## 以青 魚及其他水生生物測試排放水之毒性

### Determination of effluent toxicity by Japanese medaka(*Oryzias latipes*) and other aquatic organisms

計畫編號: NSC 87-2621-B-041-003

執行期限: 民國 86 年 8 月 1 日至 87 年 7 月 31 日

主持人: 陳健民 嘉南藥理學院環境工程衛生系 [mcctox@chna.chna.edu.tw](mailto:mcctox@chna.chna.edu.tw)

共同主持人: 李孫榮 嘉南藥理學院環境工程衛生系 [mszlee@chna.chna.edu.tw](mailto:mszlee@chna.chna.edu.tw)

#### 一. 中文摘要

本計劃使用青 魚, 吳郭魚, 水蚤, 及 Microtox™ 為測試生物, 檢測排放水之毒性. 測試水包括電鍍廠廢水, 染整廠廢水, 造紙/紙漿廠廢水, 學校污水處理廠排放水. 結果顯示青 魚之幼魚較吳郭魚敏感. 電鍍廢水對青 魚/吳郭魚幼魚, 青 魚魚卵和水蚤之毒性最強, 而第二次染整水樣之毒性對 Microtox™ 之螢光菌則反而較電鍍廢水為強. 而不同廢水之毒性對不同測試物種或觀察之毒性終點皆不同. 最後, 學校廢水對 4 種測試法皆無反應. 而同種水樣之毒性會因採樣時間不同而有差異. 雖然這些放流水皆符合政府之放流水標準, 但對水中生物而言, 其毒性仍然存在. 因此, 唯有以水中生物之毒性測試所得結果方能評估放流水對水生生態系統造成之衝擊.

**關鍵字:** 急毒性試驗, 吳郭魚, 青 魚, 水蚤, 工業廢水

#### Abstract

In this study, we used Japanese medaka (*Oryzias latipes*), tilapia (*Oreochromis mossambicus*), daphnia (*Daphnia silimis*), and Microtox™ assay to determine the toxicity of paper/pulp mill, textile, and college wastewater treatment plant effluents. Results showed that medaka is more sensitive than tilapia in responding to SDS and CdCl<sub>2</sub>. The electroplating effluent was the most toxic in all effluents tested. However, in Microtox™ assay, the

paper/pulp mill effluent was more toxic than the electroplating effluent. We also observed that different species had different sensitivity toward different effluents, and that also depended on the sampling time. The school effluent had not been detected toxicity by different assays.

Although these effluents met governmental requirements for releasing into receiving water, they were still toxic to aquatic animals, based on the results of this study. Thus, bioassays are necessary in order to evaluate the impact of these effluents on the aquatic ecosystem.

**Keywords:** Acute toxicity test, tilapia, Japanese medaka, daphnia, industrial effluent, Microtox™

#### 二. 緣由與目的

工業廢水或都市污水處理廠排放水中, 通常含有許多化學物質, 其中有些對水中生物具有突變性, 致癌性, 生殖毒性或其他慢毒性; 而有些在高濃度時, 則具有急毒性甚至造成生物死亡. 這些有機或無機之毒性物質可能是原存在於廢水中而無法被一般之處理程序移除; 亦或可能為處理過程之產物. 例如 Dinnel 及 Stober[1] 即指出二級處理之廢水經氯化後, 即產生對海膽之生殖毒性; 而 Secholng 及 Carlson[2] 則分析出二級處理廢水中所含突變物質來自氯化過程, 而並非原本存在於處理水中. 不論其來源為

何,這些毒性物質一旦隨排放水進入承受水體,即有可能一方面對水体之生物造成毒害,甚至影響其生存;另一方面,直接或間接的危害到使用該水体之人類。目前國內法規仍依賴化學分析方法之檢測,來管制放流水中之毒性物質。其中包括 pH, BOD<sub>5</sub>, COD, 特定金屬, 殺蟲劑, 酚類...等項目測定。然而,我們認為基於化學分析是無法充分推估及了解排放水之毒性而達到標準訂定之目的。其原因為:

1. 唯一能顯示毒性的,只有生物本身;以化學參數推測毒性影響是不足的。
2. 放流水內含許多化學物質是無法由傳統 BOD 或 COD 測得的,但卻能具強毒性,何況分析鑑定這些物質於複雜之放流水中,已相當困難;
3. 放流水之毒性(如果有的話),除受水體之化學,物理因子影響外,存在於水中之不同物質亦可能產生交互作用(協助性或拮抗性),進而改變其對生物體之最終混合毒性。

因此,依賴傳統化學性之水質指標(如 BOD<sub>5</sub> 等)來保護水中生物免受毒害是明顯的不足,而必須以實際之生物毒性試驗來獲得放流水之“生物特性”,並配合化學分析資料,將排放水所可能造成之環境衝擊降至最低。

常用之水中毒性試驗包括浮游性節肢動物(*Daphnia* 水蚤, *mysid* 糠蝦, *shrimp* 蝦類)及魚類 (*Fathead minnow*, *Pimephales promelas*; *Rainbow trout*, *Oncorhynchus mykiss*; *Brook trout*, *Salvelinus fontinalis*; *Sheephead minnow*, *Cyprinodon variegatus* 等)之急毒性試驗,而以存活率為毒性觀察終點。另外,為了檢測放流水之慢毒性,短期有效的替代試驗亦相繼被提出。其中包括 *fathead minnow* 之幼魚生長,存活試驗,及其魚卵孵化存活和畸胎性試驗;水蚤 (*Ceriodaphnia dubia*)之成長及生殖試驗;海藻 (*Selenastrum capricornutum*)之生長試驗等。國內環保署曾提出水蚤 (*Daphnia*

*silimis*)[3]及羅漢魚(*Pseudorasbora parva*)[4]之急毒性靜水式試驗標準方法。

雖然目前在國內之水污染防治法中,並未要求排放者進行生物監測,而仍以傳流之化學分析為管制依據,但水中毒性試驗施行以彌補現行管理之不足,則為必然之趨勢。本計劃提出以整組包含四種不同類型之生物來進行廢水之毒性測試。其中包括:水蚤 (*daphnia*, *Daphnia silimis*), 吳郭魚 (*tilapia*, *Oreochromis mossambicu*), 青魚 (*Japanese medaka*, *Oryzias latipes*) 及 Microtox 法(利用鹽水性發光細菌)。本研究計劃除急毒性試驗測試廢水之毒性外,亦包含以短期之幼期發展階段(Early-Life-Stage, ELS)試驗及卵存活率試驗來測試排放水之亞急毒性。

### 三.結果與討論

本計劃選擇不同之水中生物以測試四種廢水之毒性強度,結果列於表 1 至表 4。淡水馴化之純種吳郭魚 (*Oreochromis mossambicu*)及青魚之幼魚對標準毒物 SDS 及 CdCl<sub>2</sub> 之反應有明顯之差別(表 1)。尤其是青魚對 CdCl<sub>2</sub> 之 LC<sub>50</sub>(2.23mg/l)竟僅為吳郭魚 LC<sub>50</sub>(29.6mg/l)之約十分之一,此表示青魚為較敏感之魚種。而對此兩種魚類之幼魚, CdCl<sub>2</sub> 之毒性是比 SDS 為強。對不同廢水測試結果(見表 1)顯示電鍍廠之排放水毒性甚強,兩次水樣經稀釋測試後,對兩種魚種之 LC<sub>50</sub> 皆低於 10%。具高色度染整廢水之第一次水樣經篩選試驗後顯示其不具急毒性,但第二次水樣則可測出其對吳郭魚及青魚之 LC<sub>50</sub> 分別為 76.4%及 55.3%。據了解,該染整廠於我們第一次採樣後,即以次氯酸鈉處理其排放水以解決其高色度問題,故第二次水樣之毒性增加,可能是因強氧化反應所產生氯化衍生物之故。至於造紙/紙漿廠及學校污水處理廠之排放水對使用之兩種幼魚皆無急毒性。

青魚之魚卵試驗為水毒物學中廣為使用於測試毒性物質之方法之一。本研究結果顯示青魚魚卵為相當敏感之測試物種。其對 SDS 及 CdCl<sub>2</sub> 之 LC<sub>50</sub> 則僅分別

為其幼魚之 1/2 及 1/7(見表一及表二)。不同排放水當中，以電鍍廢水之毒性最強，其 LC<sub>50</sub> 則低至原水 1.13% 之稀釋比例。同樣的是，第一次染整水樣對青魚魚卵不具毒性，但第二次之水樣則毒性頗強。此現象已於前述討論。至於紙業廢水，第一次水樣對魚卵之 LC<sub>50</sub> 為 48.8%，而 NOEL 為 20.0%，但同樣之水樣卻對青魚幼魚則無礙(見表一)。第二次水樣經篩選試驗結果顯示其亦具毒性，但由於魚卵數量不足而無法進行確定試驗以求得 LC<sub>50</sub> 及 NOEL。

水蚤為常用之節肢動物，本研究使用環保署公告之 *Daphnia silimis* 標準測試方法[3]，結果則列於表 3。Daphnia 對 SDS 及 CdCl<sub>2</sub> 之毒性反應皆相當穩定，其 LC<sub>50</sub> 則分別為 2.54mg/l 及 23.3 μg/l (0.0233 mg/l)。此結果則與公告標準法之數據相差不多[3]。水蚤對電鍍廢水相當敏感，其 LC<sub>50</sub> 經兩次測試結果分別為原水之 2.9% 及 7.9% 稀釋比例。染整廢水之毒性則同樣的是第二次水樣(LC<sub>50</sub>=24.5%)較第一次水樣(LC<sub>50</sub>=83.5%)為高。兩次製紙業廢水之水樣對水蚤則皆具有急毒性，然而學校廢水則對水蚤無影響。

最後一種測試方法為 Microbics 發展出之 Microtox™。標準參考毒物酚(Phenol)之五分鐘 EC<sub>50</sub> 為 17.9±5.0 mg/l。此值則介於 Microtox™ 手冊建議之 13~26 mg/l 之間。Microtox™ 所使用之螢光菌對不同廢水之急毒性測試結果則列於表 4。其中染整廢水之毒性為最強(4.6%)，此與其它他測試法之結果不同，而電鍍廢水兩次水樣之 Microtox™ 毒性，則有明顯之差異，分別為 7.2% 及 18.5%。紙業廢水與學校廢水則對螢光菌無發光抑制作用。

總結本計劃之結果如下：

1. 青魚之幼魚較吳郭魚之幼魚敏感。
2. 針對參考毒物 SDS，最敏感之測試法為水蚤 48 小時存活率試驗，而對 CdCl<sub>2</sub>，則為青魚魚卵存活率試驗。
3. 電鍍廢水對青魚/吳郭魚幼魚，青魚魚卵和水蚤之毒性最強，而第二次染整水樣之毒性對 Microtox™ 之螢光菌則反而較電鍍廢水為強。

4. 不同廢水之毒性對不同測試物種或觀察之毒性終點皆不同。如紙業廢水於幼魚急毒性測試未顯現毒性，但魚卵及水蚤試驗皆有反應。
5. 學校廢水對 4 種測試法皆無反應。
6. 同種水樣之毒性會因採樣時間不同而有差異。

因此，由以上結論可明顯得知，雖然使用化學方法處理是可以提昇水質或可符合政府之放流水標準，但對水中生物而言，則適得其反(如染整廢水之例子)。唯有以水中生物之毒性測試所得結果方能評估放流水對其造成之衝擊。

#### 四.計劃成果自評

本計劃執行上與原計劃有出入或缺失處及原因探討以下幾點說明：

1. 原計劃測試之廢水，因石化業水樣取得有困難，而以染整廢水取代。
2. 青魚因部份感染疾病而致魚卵產量減少，導致部份廢水無法進行確定試驗。由此可見從事生物試驗第一要點之“穩定生物族群”之重要性。
3. 生物測試雖較無特殊技術性，但各程序皆須投入大量時間，若無相關之人力支援，則將影響計劃執行之延續性。
4. 同種水樣之毒性因採樣時間而產生之差異性須增加採樣次數方能確定，但相對的是試驗時間之增加。本計劃因須同時執行多種測試及水樣種類較多，而無法再增取樣次數。

本次計劃之測試物種具相當高之穩定性。此可由其對標準參考毒物之 LC<sub>50</sub> 或 EC<sub>50</sub> 得知。而所得結果對未來放流水標準之訂定或毒理研究皆可有助益。

#### 五.參考文獻

- [1] Dinnel, P.A., and Stober, Q.J. 1987. Application of sea urchin sperm bioassay to sewage treatment efficiency and toxicity in marine water. *Mar. Environ. Res.* **21**:121-133.
- [2] Secholng, L., and Carlson, R.M. 1984. Susceptibility of environmentally important

heterocycles to chemical disinfection:  
reactions with aqueous chlorine, chlorine  
dioxide, and chloraime. *Environ. Sci.*  
*Technol.* **18**:743-748.

蚤靜水式法.

[4] 環保署, 1994. 水樣急毒性試驗方法-羅  
漢魚靜水式法.

[3] 環保署, 1994. 水樣急毒性試驗方法-水

表 1. 幼魚 72 小時存活率試驗所求得之  $LC_{50}$  及 NOEL

水樣		SDS (mg/l)	$CdCl_2$ (mg/l)	電鍍		染整		紙業		學校廢水	
				1	2	1	2	1	2	1	2
吳郭 魚	$LC_{50}$	19.7±	29.6±	5.57%	9.43%	NT	76.4%	NT	NT	NT	NT
	NOEL	10.63	15.3	1.25%	2.5%		12.5%				
青 魚	$LC_{50}$	12.48±	2.23±	2.32%	4.26%	NT	55.3%	NT	NT	NT	NT
	NOEL	5.88	1.15	0.25%	0.25%		12.5%				

標準毒物 SDS 及  $CdCl_2$  之  $LC_{50}$  為 4 次試驗之平均值及標準偏差。其他廢水之  $LC_{50}$  及 NOEL 則以原水之稀釋百分比表示。NT 表示該廢水不具急毒性(not toxic)。

表 2. 青 魚魚卵存活率試驗之  $LC_{50}$  及 NOEL

水樣	SDS (mg/l)	$CdCl_2$ (mg/l)	電鍍		染整		紙業		學校廢水	
			1	2	1	2	1	2	1	2
$LC_{50}$	5.83±	0.34±	1.13%	NA	NT	11.5%	48.8%	NA	NT	NT
NOEL	2.78	0.11	0.25%			5.0%	20.0%			

標準毒物 SDS 及  $CdCl_2$  之  $LC_{50}$  為 3 次試驗之平均值及標準偏差。其他廢水之  $LC_{50}$  及 NOEL 則以原水之稀釋百分比表示。NT 表示該廢水不具毒性(not toxic)，而 NA 表示該廢水(未經稀釋)具毒性但其  $LC_{50}$  及 NOEL 未測試，因魚卵數量不足之故。

表 3. 水蚤(*Daphnia silimisis*)48 小時存活率試驗所求得之  $LC_{50}$  及 NOEL

水樣	SDS (mg/l)	$CdCl_2$ ( $\mu$ g/l)	電鍍		染整		紙業		學校廢水	
			1	2	1	2	1	2	1	2
$LC_{50}$	2.54±	23.3±	2.9%	7.9%	83.5%	24.5%	33.8%	82.8%	NT	NT
NOEL	1.31	4.73	0.5%	2.0%	50.0%	12.5%	12.5	50.0%		

標準毒物 SDS 及  $CdCl_2$  之  $LC_{50}$  為 8 次試驗之平均值及標準偏差。其他廢水之  $LC_{50}$  及 NOEL 則以原水之稀釋百分比表示。NT 表示該廢水不具急毒性(not toxic)。

表 4. Microtox™ (*Photobacterium phosphoreum*) 急毒性試驗所求得之  $EC_{50}$

水樣	Phenol (mg/l)	電鍍		染整		紙業		學校廢水	
		1	2	1	2	1	2	1	2
5min	17.9±5.0	7.2%	18.5%	NA	4.6%	NT	NT	NT	NT
15min	10.2±3.1	3.94	11.9%	NA	1.8%	NT	NT	NT	NT

標準毒物 Phenol 之  $EC_{50}$  為 4 次試驗之平均值及標準偏差。其他廢水之  $EC_{50}$  則以原水之稀釋百分比表示。NT 表示該廢水不具 Microtox™ 急毒性(not toxic)或其僅具微毒性無法求得  $EC_{50}$ ，而 NA 表示未測試或無法求得。