

行政院國家科學委員會專題研究計畫成果報告

以五種水中生物測試不同事業廢水之毒性

計劃編號: NSC88-2621-B-041-004

計劃執行時間: 民國 87 年 8 月 1 日至 88 年 7 月 31 日

主持人: 陳健民 嘉南藥理學院環境工程衛生系副教授

共同主持人: 李孫榮 嘉南藥理學院環境工程衛生系副教授

研究人員: 喻世青、陳登鼎、沈義富、曾慶祥 嘉南藥理學院環境工程衛生系

一. 中文摘要

本計劃延續去年之研究，利用青魚將魚、吳郭魚、水蚤、及 Microtox™ 為測試生物，檢測不同事業排放水之毒性。測試水樣包括中石化廢水，皮革廠廢水，樹脂廠廢水，大社工業區污水集中處理廠排放水(此處理廠排放水包含各個廠區所排放之廢水收集至此處做集中處理)。結果顯示青魚將魚之幼魚較吳郭魚敏感。中石化廢水對青魚將魚/吳郭魚幼魚，青魚將魚魚卵和水蚤之毒性最強。皮革廢水對於青魚將魚和吳郭魚幼魚，青魚將魚卵及水蚤不具急毒性，但於 Microtox™ 試驗中卻有抑制螢光菌發光的作用。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。樹脂廢水對 4 種測試法皆無反應，而大社工業區對其中三種測試方法無反應(Microtox™ 未進行測試)。另外，同種水樣之毒性會因採樣時間不同而有差異。這些放流水皆符合政府之放流水標準，雖然有些不具急毒性，但其慢毒性仍未評估。對水中生物而言，其影響仍可能存在。最後，中石化廢水急毒性甚強，其直接排入承受水體所造成的影響有必要進行進一步的調查。

關鍵字: 急毒性試驗，吳郭魚，青魚將魚，水蚤，工業廢水

Abstract

In this study, we used Japanese medaka (*Oryzias latipes*), tilapia (*Oreochromis mossambicus*), daphnia (*Daphnia silinis*), and Microtox™ assay to determine the toxicity of tannery, chemical manufacturing, resin manufacturing, and central wastewater treatment facility effluents. Results showed that medaka was more sensitive than tilapia in responding to SDS and CdCl₂. The

chemical manufacturing effluent was the most toxic in all effluents tested. Rest of the effluents were not toxic. However, in Microtox™ assay, the tannery effluent inhibited the luminance of photobacteria. We also observed that different species had different sensitivity toward different effluents, and that also depended on the sampling time.

Although some of these effluents met governmental requirements for releasing into receiving water, and were not acutely toxic to the aquatic organisms tested in this study, their subacute and chronic effects were not evaluated. Finally, the effluent from the chemical manufacturing plant was extremely toxic, and its impact on local water system should be further investigated.

Keywords: Acute toxicity test, tilapia, 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、BOD₅、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。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。另外，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；最後，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 BOD₅ 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 promela* 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。

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*)，青魚將魚(Japanese medaka, *Oryzias latipes*)及 Microtox 法(利用鹽水性發光細菌 *Vibrio fischeri*)。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。計劃選取的測試水樣包括中石化廢水、皮革廠廢水、樹脂廠廢水和大社工業區污水集中處

理廠排放水。

三.結果與討論

本計劃選擇不同之水中生物及毒性終點以測試四種排放水之毒性強度，結果列於表 1 至表 4。淡水馴化之純種吳郭魚及青魚將魚之幼魚對不同廢水之反應具有差別(表 1)，顯示中石化集中排放口廢水毒性最強，而兩種魚類對此廢水之 LC₅₀ 則介於 15~25%之間。中石化廠主要是製造丙烯腈,此廠所排放之廢水中氰化物含量小於 0.01ppm (該廠檢測值)，而一般魚類對氰化物毒性的反應皆不盡相同。根據 Sarkar [5]之檢測結果，氰化鈉對吳郭魚之 LC₅₀ 為 0.3 2ppm，然而氰化物對青魚將魚之毒性則缺乏相關數據。如果本計劃實驗所用魚種對氰化物之敏感範圍與 Sarka[5]研究所用吳郭魚魚種相同，則中石化廢水中之氰化物對吳郭魚的存活僅造成部分影響，而可能另有造成吳郭魚死亡的原因存在。其他廢水對吳郭魚和青魚將魚幼魚皆不具毒性。

青魚將魚之魚卵試驗為水中毒理研究中常用的測試毒性物質之方法之一。本研究結果顯示青魚將魚魚卵為相當敏感之測試物種。SDS 及 CDCl₂ 之 LC₅₀ 分別為 23.1ppm、0.66ppm(見表二)。然而，SDS 結果與去年所測得的數值約有四倍之差距，造成此差異性的原因有可能是：1.死亡率之計算方式不同；去年是以實驗結束前魚體死亡數的比率來計算死亡率，若魚卵孵化者，則皆考慮為存活，而今年則是以孵化後三天未存活者來計算死亡率；2. 去年實驗是以八組數據平均而得，而此次實驗則是用四次數據之平均值。

不同排放水當中，以中石化廢水對青魚將魚魚卵之毒性最強，其 LC₅₀ 則低至原水的 2.2%及 5.4%稀釋比例。由中石化生物槽排放出的廢水對青魚將魚卵之 LC₅₀ 為原水的 7.75%之稀釋比例。而中石化排放口水樣最低的 LC₅₀ (2.2%)約為生物槽水樣 LC₅₀ (7.8%)的 1/3。排放口是指集中整個中石化廠區(包括生物槽)所有廢水之出口，經廠內其他排放水和雨水稀釋後，此處水樣的毒性應較直接由生物槽(經二級

處終沈池之排放口)所排出廢水的毒性低，但本實驗結果卻顯示排放口廢水毒性較強。所以，可能有來自廠區其他地區的廢水亦具有毒性，進而造成前述現象。在魚卵孵化過程中我們發現中石化排放口廢水對青鯊魚卵發展造成影響，所觀察到的影響有：魚卵發展緩慢，血液流動不明顯，且在心臟四周有水腫的現象。另外， CdCl_2 與中石化生物槽水樣對青鯊魚卵則產生無正常鮮紅色的脾臟、卵黃突出於卵膜外並導致魚卵死亡等現象。但於中石化排放口廢水的試驗觀察中並無此發現。其他廢水對青鯊魚卵之孵化則無影響。

在魚卵孵化試驗中，SDS 對魚卵孵化之 EC_{50} 為 24.4ppm，此值與魚卵存活率之 LC_{50} 相近(見表 2、表 3)。中石化排放口之 EC_{50} 為 1.4% 的稀釋比例，而生物槽排放口之 EC_{50} 為 8.2%。此結果與魚卵存活率之 LC_{50} 亦相當接近。魚卵孵化對參考毒物 CdCl_2 的反應不穩定，而無法經由統計方式求得 EC_{50} 及 NOEL。在魚卵孵化率試驗中，暴露於中石化排放口廢水的魚卵所孵出之幼魚有活動力明顯不足的現象；例如：無游泳能力，常沈在觀察瓶底部等。

水蚤為常用之水中節肢動物，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_2 之毒性反應皆相當穩定，其 LC_{50} 則分別為 15.5mg/l 及 28.8 $\mu\text{g/l}$ (0.0288 mg/l)。中石化廢水在第三次試驗之 LC_{50} 大於第一次和第二次之 LC_{50} ，其原因有可能是採樣時間不同所造成的結果。最後一種測試方法為美國 Microbics 公司發展出之 Microtox™。標準參考毒物酚 (Phenol) 之 15 分鐘 EC_{50} 為 24.5±7.8mg/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。在 Microtox™ 試驗當中，大社和中石化廢水，其 I_0 值不穩定導致無法求出 IC_{50} 。造成此現象可能原因為測試用之螢光菌老化、螢光燈使用年限過久或實驗程序受污染。皮革廢水於不同

採樣時間所得的二個水樣的 15 分鐘 IC_{50} 分別為 87.9%、65.0% 原水稀釋比例。此結果顯示皮革廢水對 Microtox™ 之螢光菌有發光抑制作用。值得一提的是皮革廢水對其他生物測試方法皆無反應(不具毒性)。

總結本計劃之結果如下：

1. 青鯊魚之幼魚較吳郭魚之幼魚敏感，此結果與去年[6]相同。
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。
3. 在水蚤存活率試驗中，中石化廢水之 LC_{50} 為 13.4~47.1%(見表 4)，此值範圍大於魚卵存活率(LC_{50} =2.2%，5.4%)和魚卵孵化率試驗(LC_{50} =1.38%，9.9%)，顯示其為較不敏感之測試方法。
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。中石化廢水對青鯊魚、吳郭魚幼魚存活試驗、青鯊魚卵存活及孵化率、水蚤存活率皆具有毒性，而皮革廢水對上述實驗皆無反應，但對 Microtox 之螢光菌有抑制發光作用。
5. 同種水樣之毒性會因採樣時間不同而有差異。

由以上結論可知，雖然這些廢水皆符合政府之放流水標準，但對水中生物而言，仍具有毒性。因此以生態保育的觀點而論，單以化學分析的標準是無法實際確保承受水體中的生物(如中石化廢水之例子)，唯有輔助以水中生物之毒性測試所得結果方能正確評估放流水對其造成整體之衝擊。

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. 吳郭魚成魚需長時間培養，若實驗所需魚體之數量較多，將導致無法順利進行多次重複試驗，因此建議如果須進行類似實驗則可利用本計畫使用之青鯊魚，因其穩定性佳並於實驗室養殖容易。原計劃擬定使用的羅漢魚，因無法大量繁殖以產生足夠數量，而無法進行測試。

2. 生物測試雖較無特殊技術性，但各程序皆須投入大量時間及人力(例如魚卵獲取與觀察)，若無相關之人力支援，則將影響計劃執行之延續性。
3. 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，而無法再增加取樣次數。

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_{50} 或 EC_{50} 得知，而所得結果對未來放流水標準之訂定或毒理研究皆有助益。

五.參考文獻

[1] Dinnel, P.A., and Stober, Q.J. 1987.

表 1. 幼魚 96 小時存活率試驗所求得 LC_{50} 及 NOEL，

水樣		皮革		樹脂		大社		中石化排 放 口	
		1	2	1	2	1	2	1	2
吳郭魚	LC_{50}	NT	NT	NT	NT	NT	NT	17.3	26.4
	NOEL							10	10
青鰐魚	LC_{50}	NT	NT	NT	NT	NT	NT	12.2	6.9
	NOEL							1	1

表 2. 青鰐魚卵存活率試驗之 LC_{50} 及 NOEL，標準毒物 SDS 為 4 次試驗之平均值及標準偏差。CdCl₂ 為 2 次試驗之平均值。

水樣	SDS (mg/l)	CdCl ₂ (mg/l)	皮革				樹脂		大社		中石化		
			1	2	3	4	1	2	1	2	排放口		生物槽
											1	2	
LC_{50}	23.1± 6.4	0.66	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	2.2	5.4	7.8
NOEL	10	0.5									0.1	0.1	0.5

表 3. 青鰐魚卵孵化率試驗之 LC_{50} 及 NOEL，標準毒物 SDS 之 LC_{50} 為 3 次試驗平均值及標準偏差。

水樣	SDS (mg/l)	SDS (mg/l)	皮革				樹脂		大社		中石化		
			1	2	3	4	1	2	1	2	排放口		生物槽
											1	2	
LC_{50}	24.4± 9.8	NA	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	1.4	9.9	8.2
NOEL	10										0.1	1	1

表 4. 水蚤(*Daphnia similis*)48 小時存活率試驗所求得之 LC_{50} 及 NOEL-

水樣	SDS (mg/l)	CdCl ₂ (mg/l)	皮革			樹脂		大社		中石化		
			1	2	3	1	2	1	2	1	2	3
LC_{50}	15.5	0.0288	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	13.4%	28.4%	47.1%
NOEL	10	0.01								10%	10%	10%

表 5. Microtox™ (*Vibrio fischeri*) 急毒性試驗所求得之 EC_{50}

水樣	Phenol (mg/l)	皮革		樹脂		大社		中石化	
		1	2	1	2	1	2	1	2
15min	24.5	87.9%	65%	NT	NT	NA	NA	NA	NA

標準毒物 Phenol 之 EC_{50} 為 2 次試驗之平均值及標準偏差。

Application of sea urchin sperm bioassay to sewage treatment efficiency and toxicity in marine water. *Mar. Environ. Res.* **21**:121-133.

[2] 環保署, 1994. 水樣急毒性試驗方法-水蚤靜水式法.

[3] 環保署, 1994. 水樣急毒性試驗方法-羅漢魚靜水式法.

[4] Sarkar, S.K, 1990, *Sci. Cult.* 56(4):165~168.

[5] 陳健民與李孫榮, 1998, 青鰐魚及其他水生生物測試排放水之毒性, 國科會 1998 專題研究計畫成果報告.

註:以上各表廢水之 LC_{50} 或 EC_{50} 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)或其僅具微毒性無法求得 LC_{50} 或 EC_{50} , 而 NA 表示未測試或無法求得。

