

行政院國家科學委員會專題研究計劃成果報告
底泥毒性測試方法之建立及應用於評估河川整治成效之研究(一)
“毒性測試方法之建立”

Determination of Sediment Toxicity Test and its Application in Evaluating River Remediation
計畫編號：NSC-90-2313-B-041-002

計畫執行時間：2001年08月01日~2002年07月31日

主持人：李孫榮 嘉南藥理科技大學環境工程衛生系

計畫參與人員：郭錦雯、劉獻詩、李豐旭、吳宗勳

一、中英文摘要

對水體而言底泥是一潛在污染源，故以傳統水體水質指標的變異來評估河川污染的嚴重程度已明顯不足。以重金屬為例，目前國內研究底泥污染的方向大多以總濃度為主要重點，卻減少以生物毒性之角度探討各金屬物種分佈對於生物有效性之關係。由於底泥成分不似水相般均質(homogeneous)，其中常含有許多可與金屬鍵結與錯和之螯合劑，所形成之錯和物不見得具有生物有效性，相對於金屬自由離子對生物所造成之毒性，此類錯和物的產生將明顯降低底泥毒性。目前台灣多數河川污染嚴重，整治行動迫在眉睫，然整治過程中重金屬在底泥中之濃度降低並不意味毒性亦隨之降低。本(第一年)計劃乃以重金屬污染為著眼，針對二仁溪採集底泥，取其原水及間隙水，使用青魚將魚卵孵化率進行檢測底泥之急毒性和短期慢性毒性替代試驗，以建立台灣本土河川底泥生物毒性試驗方法，初步結果已顯示此生物毒性檢測方法之可行，另一方面，以進行 Microtox™ 的生物毒性測試方法，來追加證實建立此生物毒性試驗檢測方法的可利用性，如此可求得一對環境整體而言更為重要、直接的生物毒性數據。

關鍵詞：底泥，急毒性試驗，青魚將魚，水蚤，物種分佈，Microtox?

Abstract

Since sediments are recognized as a potential source of toxic contaminants in the

aquatic environment. The assessment of sediment contaminants must be predictive of pollutant transport and of potential biological effects. The speciation of a metal, rather than its total concentration, will be the key to evaluating its effect on the biota. The toxicity of a river can not be simply determined by traditional chemical basis technique. To establish biomonitoring system is necessary to control toxic substances releasing to a river. Conducting toxicity tests has been required for issuing discharge permits at several developed countries; however established testing methods may not be appropriate for us. Since implementation of such legislation will be in near future in Taiwan, it is necessary to set up our own toxicity testing programs.

Keywords: Sediment, Toxicity Test, Daphnia, Microtox™, Metal speciation

二、緣由與目的

隨著工業的快速發展，造成國內幾條河川如二仁溪、鹽水溪、北港溪、東港溪等嚴重的污染。而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，這些有機污染物及重金屬等毒性物質一旦進入承受水體，即有可能蓄積於河川底部

的沈積物(即底泥)，當底泥中的污染物濃度大時，即有產生毒害之虞。一般而言，河川污染的嚴重程度，可由河川水體水質標準來評估及判定。但若僅由水質的變異情形來評定河川整體的污染情況，仍嫌不足，因為河川底部的沈積物(即底泥)，長久以來蓄積來自河川水體之污染物，亦即扮演著污染物貯存庫(reservoir)的角色，而形成水體另一個潛在污染源。蓄積在底泥中之有機及無機性的污染物，藉由分佈平衡(partitioning equilibrium)現象而釋出至水體，一方面被水生底棲生物所吸收而造成毒害，甚至影響其生存；另一方面，也直接或間接的危害到使用該水體之人類。若以生態之角度考量底泥中的污染，我們應著重於污染物對生物造成之影響，而不是泥中污染物之含量；因為，這些污染物是否會造成毒害與其含量並無直接關係。與危害性有關的應是生物可利用性(bioavailability)。若底泥中之污染物皆藏於底泥中而釋出甚少，則其危害性亦相對的微小。以毒性為考量的觀念已在歐美等先進國家中被接受及肯定。Kelley (1998) 在其所著 "Mining and the Freshwater Environment" 一書中即一再強調：「欲明瞭重金屬對生物之影響，必須著重在它的物種分佈而非其總濃度」。現今對於河川檢測上仍多著重於傳統水質標準之變異，此標準則未能表示出河川底泥之毒性，而河川底泥中所吸附之重金屬毒性因無人重視未能去除，且與水中生物直接接觸，造成長久之影響。所以本研究之目的在於建立一套有效之短期慢毒性試驗方法，檢測底泥中之重金屬毒性，最終目的為建立重金屬物種與毒性之關係模式；因重金屬毒性受到其鍵結型態之不同而有所影響，所以，我們希望能探討出各種不同之重金屬鍵結型態與其毒性關係，建立重

金屬物種與毒性影響程度之模式，以利往後為各界整治受污染之河川的成效建立一較為客觀可靠之評估依據。

三、研究方法

1.底泥的採集及特性分析

(1)泥樣採集

於採樣地點採集底泥後置於冰筒中冷藏帶回實驗室，一部分做特性分析，其他則以 4°C 冷藏，留待生物毒性試驗之用。

(2)孔隙水

原始泥樣利用離心機於 11,000 rpm，離心 20 min 後再通過 0.2 μ m 薄膜得到孔隙水。離心處理過底泥依分析項目的需要，加以風乾或直接進行 AVS 分析。

(3)特性分析

取出已風乾之泥樣，測定其 pH，含水率，總鐵錳等。

(4)AVS 之分析

- (a)將 100mL 蒸餾水加入圓形瓶中，並放入攪拌磁石，
- (b)開啟氮氣瓶，流經洗滌瓶去氧後，進入圓形瓶來脫除水中溶氧，流量控制在 100cm³/min，10min 後調低為 40cm³/min，並開啟磁攪拌器，
- (c)加 10g 底泥進入圓形瓶中，繼續以 40cm³/min 的 N₂ 流通 10min，
- (d)關閉 N₂，加入 20mL，6M 的 HCl，接著以 20cm³/min 的 N₂ 曝氣，並持續磁石攪拌，來 purge H₂S 出來進入吸收瓶。

(5)底泥重金屬鍵結型態分析

利用修正後之 Sequential Extraction Procedure (SEP)法(Tessier A. et al. 1979; Nelson et al. 1982; Keller, C. and Vedy J. C. 1994)進行底泥中重金屬之鍵結型態分析。

2. 生物試驗

(1)青魚將魚卵孵化率試驗:

將魚卵密封於含測試水之小樣本瓶進行試驗，整個測試時間約為兩星期。觀察魚卵孵化率是否受到測試水之影響，於檢測期間，藉由觀察胚胎發育情形是否減緩或受改變。

(2)Microtox™試驗:

此法乃利用螢光細菌之發光強度為毒性反應之依據。若水中含毒性物質則會抑制細菌生長，使其發光強度相對減弱。

四、結果與討論

本計劃主要目標在建立短期慢毒性試驗模式及田野應用調查，目前已成功取得二仁溪、朴子溪、鹽水溪、曾文溪、急水溪以及北港溪等各河川之水樣及其底泥間隙水進行試驗，現階段並已完成生物毒性測試方式之建立，實驗資料顯示，對於河川及其底泥而言，兩者之毒性並非呈現出絕對相關狀態，由圖三即可看出，對於大部分採樣點水體而言，即使採樣點本身之原水毒性影響較大，其底泥中之間隙水所產生之毒性並不一定較強，針對此項結果，我們可以推論，由於表面水體之重金屬負載濃度極易受許多自然(如河水暴漲、乾涸期)及人為(如工廠突然性大量排放重金屬廢液)因素之影響而改變，因此，水體所具有之生物毒性可能隨季節、氣候、水流速度…等不同外在因素而改變，更可能與排入河川水體中之重金屬種類及其性質、甚至與河川底部之底泥性質有關(重金屬是否容易形成螯合?沉澱?底泥之吸附性為何?)，然而，就底泥毒性測試方面，由圖二可看出，於永寧橋段為採樣點所採集之底泥，經由生物試驗所得結果，所造成之魚卵致死率為 100%，而此點乃為二仁溪流域中多數工廠之廢液排放處，理論上而言，的確應為毒性最高之處。然而以河川原水所進行生物毒性試驗之結果卻非如此(如圖一)。因底泥長年累積於河川底部，不若河川之水體般易受外在因素改變，其所產生之生物毒性性質亦可能

與表面水體不盡相同。由圖四可看出，在底泥毒性對於水蚤孵化可能造成之影響方面，經由兩次的重複實驗比較下，其所得到的結果非常相近；當以空白試劑(純培養水)來進行水蚤孵化實驗時，其孵化數(率)最高，若以添加河川底泥之培養水來進行水蚤孵化實驗時，孵化數(率)隨著不同河川的底泥改變，且其孵化數(率)在兩次實驗中，皆少於以空白試劑(純培養水)來進行水蚤孵化實驗，在經過多次實驗過程之後，結果並沒有太大差異。綜合以上所述，可以推斷，以此方法來進行生物毒性試驗是可行的。而對於河川污染之製定標準，也並非只需單純的考量表面水體之負載濃度，除了以現今常用之水體規範標準來做為生物毒性影響評估外，以底泥試驗來進行生物毒性評估是不可或缺的！

表一列出底泥之基本性質，而圖五~七顯示出重金屬鋅、鎳及銅之各種不同鍵結型態及其百分比又圖八和表二為底泥於不同採樣點及深度之 SEM 與 AVS 含量和比值。各採樣點所得樣本經 Microtox™? 測試結果如下：

1. 中路橋：(上游第一點)，孔隙水經過 Microtox™? 試驗所呈現 5 分鐘的急毒性 EC50 >100% (代表不具急毒性)，此區底泥樣本，經 Microtox 內建統計軟體所求得 15 分鐘最高濃度為 27.07%。
2. 二層行橋：(上游第二點)，孔隙水經過 Microtox™? 試驗所呈現在 5 分鐘的最高濃度 15.21%，15 分鐘最高濃度 24.29%，但數據經統計驗證無法求得 EC50。
3. 廢五金區：(中游第三點)，孔隙水經過 Microtox™? 試驗所呈現 5 分鐘的急毒性 EC50 為 67.21%，此區底泥樣本，經 Microtox™ 內建統計軟體所求得 15 分鐘最高濃度 5.495%
4. 永寧橋：(中游第四點)，孔隙水經過 Microtox™? 試驗其 5 分鐘和 15 分鐘之濃度 EC50 無法求得。

5. 南楚橋：(下游第五點)，孔隙水經過 Microtox™? 試驗所呈現在 5 分鐘的最高濃度 25.82%，15 分鐘最高濃度 37.69%，但數據經統計驗證無法求得 EC50。
6. 二仁溪出海口：(下游第六點)，孔隙水經過 Microtox™? 試驗所呈現在 5 分鐘的濃度無法求得 EC50，而 15 分鐘最高濃度 7.414%，但數據經統計驗證無法求得 EC50。

五、計畫成果自評

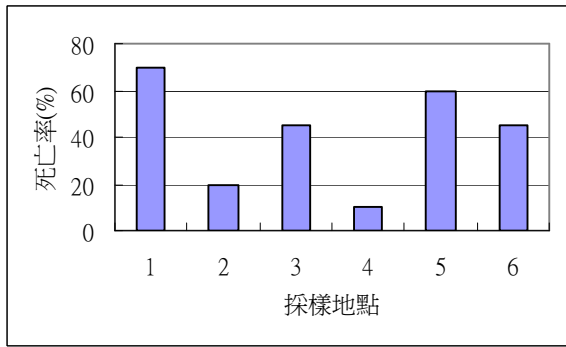
我們可以推斷，對於河川污染之制訂標準，並非只需單純的考量表面水體之負載濃度，除了現今所常用之水體規範標準來做為生物毒性影響之評估外，以底泥試驗來進行生物毒性評估是不可或缺的，對於河道底下之固狀物污泥，因其長時間吸附水體中的重金屬而所可能造成的毒性影響亦需作為我們在進行河川整治時的另一個考量點。為了彌補以傳統化學分析來推估河川(包括底泥)對承受水體可能造成影響之不足，我們建議應速建立完整之生物監測模式，其中青魚將魚本為省產魚種，目前於水中毒物研究中使用繁多，極為適合以此物種發展為排放水毒性測試之標準方法。除此之外，本計劃結果之未來貢獻及所能延續或發展之方向包括：

1. 依水中毒性試驗結果，訂定毒物於河川最大之安全濃度。
2. 作為廢水處理是否正常、或足夠之依據。
3. 成為河川水質評估底泥品質之重要工具。
4. 可測試其他物質之毒性，包括生物處理污泥、垃圾滲出水或污染土壤等…
5. 以底泥毒性評估河川毒性，進而可作為制定底泥品質標準與河川整治之依據。
6. 將測試水以化學分部法(fractionation)，

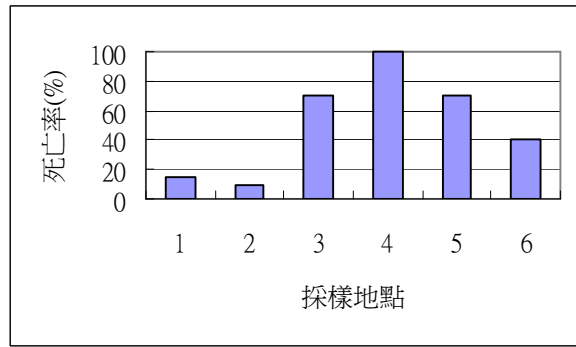
鑑定其毒性來源或特殊部份(如酸/鹼/中性，金屬/非金屬，有機/無機等)，並做為進入“毒性控制評估”(Toxicity Control Evaluation)階段，以減低廢水毒性之依據。

六、參考文獻

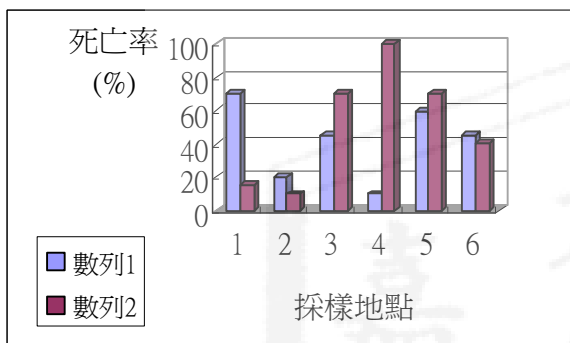
- Allen H.E., G.Fu and B.Deng, 1993, Analysis of Acid Volatile Sulfide (AVS) and Simultaneously Extracted Metals (SEM) for the Estimate of Potential Toxicity in Aquatic Sediments, *Environ. Toxicol. Chem.*, Vol. 12, pp. 1441-1453.
- Ankley, G.T., V.R. Mattso, E.N. Leonard, C.W. West and J.L. Bennett. (1993). Predicting the Acute Toxicity of Copper in Freshwater Sediments: Evaluation of the Role of Acid Volatile Sulfide, *Environ. Toxicol. Chem.*, Vol. 12, pp. 315-320.
- Chapman, P.M. and Wang F. (2001). Assessing sediment contamination in estuaries. *Environ. Toxicol. Chem.*, Vol 20(1): 3-22.
- Di Toro D.M., J.D. Mahony, D.J. Hansen, K.J. Scott, A.R. Carlson and G.T. Ankley, 1992, Acid Volatile Sulfide Predicts the Acute Toxicity of Cadmium and Nickel in Sediments., *Environ. Sci. Technol.*, 26, pp. 96-101.
- Dzombak, D. A., W. Fish and F. M. M. Morel. (1986). "Metal-humate interactions. 1. Discrete ligand and continuous distribution models." *Environ. Sci. Technol.* 20: 669-675
- Elliott, H. A., M. R. Liberti and C. P. Huang. (1986). Competitive Adsorption of Heavy Metals by Soils. *J. Environ. Qual.* 15: 214-219.
- Hansen, D.J. (1996). Predicting the toxic of metal-contaminated field sediments using interstitial concentration of metals and acid-volatile sulfide normalizations, *Environ. Toxicol. Chem.*, vol. 15, no 12, p2080-2094.



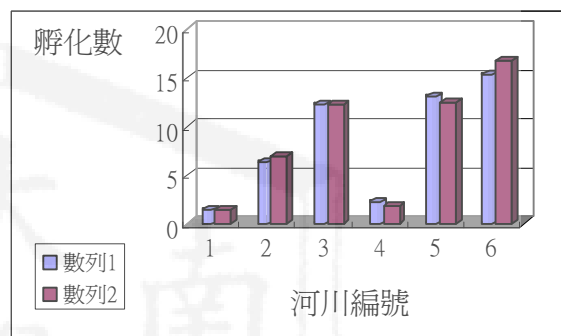
圖一、各採樣點原水毒性對魚卵影響



圖二、各採樣點底泥間隙水毒性對魚卵影響

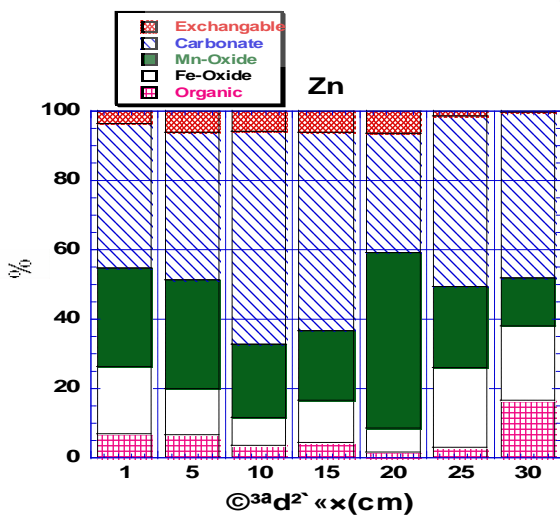


圖三、各採樣點原水毒性與底泥間隙水毒性比較

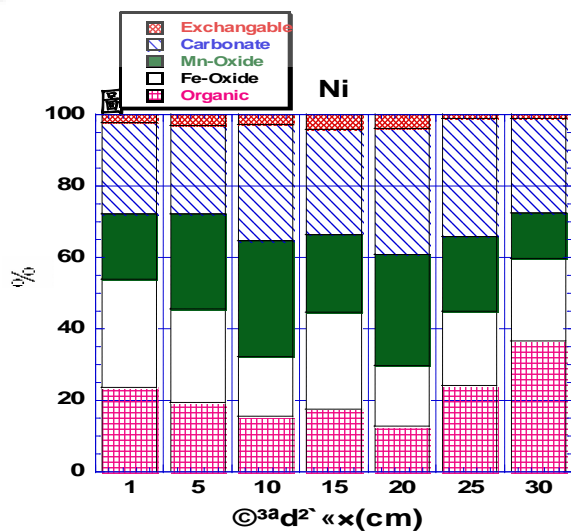


圖四、水蚤孵化試驗比較圖

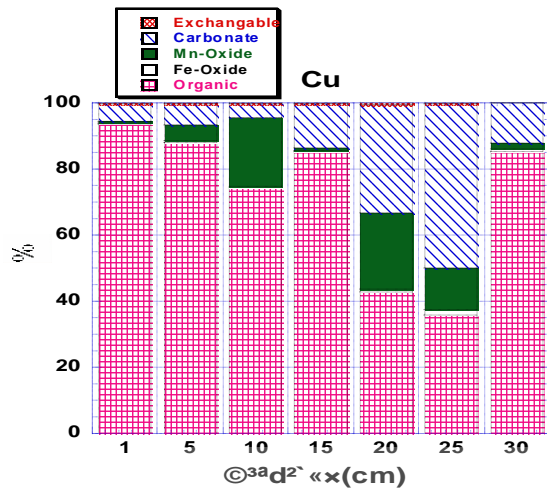
- *1. 中路橋 2. 二層行橋 3. 廢五金區
- 4. 永寧橋 5. 南荳橋 6. 二仁溪出海口
- *數列1：各採樣點原水毒性影響
- 數列2：各採樣點底泥間隙水毒性影響



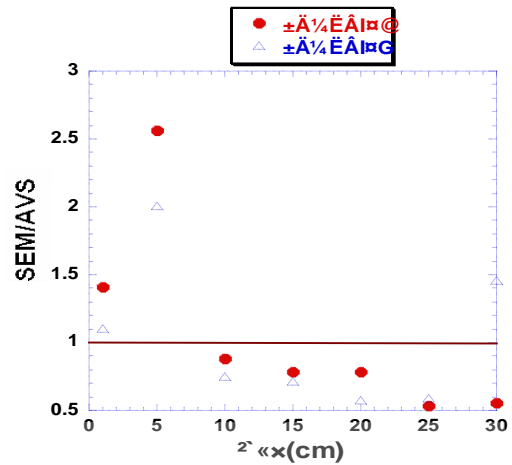
五、鋅之各鍵結型態及百分比



圖六、鎳之各鍵結型態及百分比



圖七、銅之各鍵結型態及百分比



圖八、不同地點及深度 SEM/AVS 比值

表一 底泥基本性質

					Mineral composition			Particle size		
	OM	Carbonates	Fe-oxide	Mn-oxide	Quartz	Chlorite	Illite	D ₁₀	D ₁₅	D _m
pH	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)			(μm)		
7.1	1.56	5.84	0.61	0.03	69.84	19.32	10.84	1.5	5.8	11.3

表二 底泥於不同採樣點及深度之 SEM 與 AVS 含量和比值

深度 (cm)	採樣點一			採樣點二		
	SEM (μmol/g)	AVS (μmol/g)	SEM/AVS	SEM (μmol/g)	AVS (μmol/g)	SEM/AVS
1	8.3	5.9	1.4	28.1	25.4	1.1
5	18.2	7.1	2.6	43.3	21.6	2.0
10	14.5	16.4	0.9	9.2	12.3	0.7
15	11.6	14.8	0.8	5.6	7.8	0.7
20	8.8	11.2	0.8	9.5	16.5	0.6
25	5.1	9.5	0.5	8.4	14.2	0.6
30	7.3	13.2	0.6	12.1	8.3	1.5