嘉南藥理科技大學專題研究計畫成果報告

以生物毒性試驗探討廢水處理系統放流水之毒性

計畫類別：■個別型計畫　　□整合型計畫
計畫編號：CNEM94-04
執行期間：94 年 1 月 1 日至 94 年 12 月 31 日

計畫主持人：陳健民
計畫參與人員：莊博智

執行單位：環境資源與管理系

中華民國　95　年　2　月　21　日

嘉南藥理科技大學專題研究計畫成果報告

以生物毒性試驗探討廢水處理系統放流水之毒性

計劃執行時間:民國 94 年 1 月 1 日至 94 年 12 月 31 日

主持人:陳健民　環境資源與管理系 教授

一.中英文摘要

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。以傳統之化學分析方法檢測，是無法表示其毒性，也無法得知其對水體所造成的傷害，經由生物毒性試驗才能實際推估放流水進入承受水體所可能造成之生態衝擊或對人類之危害，故建立完整之生物監測系統為管制毒物進入水體之一大利器，也更容易掌握污染來源的特性。

我們計劃使用 Microtox™來進行測試，進行檢測水之急毒性，測試水樣包括生活污水，人工溼地進放流水。這些水樣可能含有微量的毒性，須用水生生物毒性試驗來測試。檢測結果可發現進流水樣普遍存在微量的生物毒性，但經處理後之放流水均無生物毒性反應，可知處理廠有明顯的減毒成效。而且 Microtox™操作使用簡單且快速，所以，已成為快速廢水毒性測試之典型使用方法之一。

水生生物毒性試驗亦可測試其他物質之毒性，包括垃圾滲出水、污泥、底泥、土壤等可能內含毒性物質之介質，國外使用標準化之生物監測方法已行有多年，但可能並不適用於國內環境，因此建立本土性之生物測試方法，使能成為未來訂定排放水“毒性標準”之依據，以保護水生環境,實屬當務之需。

An effluent toxicity can not be simply determined by traditional chemical basis technique. Toxicity has to be determined by toxicity test using living organisms, then estimation can be made to find out the possible impacts of an effluent to the receiving water. To establish biomonitoring system is necessary to control toxic substances releasing to natural water system.

Microtox assay will be used to determine acute and/or chronic toxicity of constructed wetlenad and municipal wastewater treatment plant effluents.

Aquatic toxicity tests can also be applied to determine toxicity of landfill leachate, sludge, contaminated soil or sediment. 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.

關鍵字：急毒性試驗、生活污水、人工溼地放流水、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. 這些有机或無机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 (1987)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(1984)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或毒害,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. 誠然,現行環境法規訂定排放水標準之最終目的，即在保護環境生態免於污染,破壞,以及維護水体之可利用性. 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_5,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;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_5 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”,進而配合化學分析資料，進入所謂之“毒性減少評估”(TRE,Toxicity Recluction Evaluation)程序，最終才能將排放水所可能造成之環境衝擊降至最低.

美國環保署(US EPA, Environmental Protection Agency)曾依淨水法(Clean Water Act),而於 1984 年發布“Policy for the Development of Water Quality-Based Permit Limitions for Toxic Pollutants”(US Federal Register,1984).此政策特別強調使用生物試驗來測試放流水之毒性，以管制毒性物質之進入水體. 自此，EPA 即明定放流水之水中毒性試驗結果應列入申請 NPDES(National Pollutants Discharge Elimination System)許可之要求項目之一. 這些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*;Rainbom 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(*Selenatrum capricornutum*)之生長試驗等. 其他先進國家之生物監測系統有:英國對毒性較低之廢水處理廠排放水進行 Microtox 試驗;加拿大要求其造紙/紙漿廠排放水以彩虹鱒(rainbow trout)進行急毒性試驗. 國內環保署曾提出水蚤(*Daphnia pulex*)(環保署,1993)及羅漢魚(*Pseudorasbora parva*)(環保署,1994)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方式之不足，則為必然之趨勢. 事實上，水中毒物學研究及技術，在近十年中，已經發展相當成熟.然而，使用生物試驗來測試排放水毒性，應先考慮:

1.試驗用生物之地域性及生態重要性. 例如北美水中毒物試驗常用之淡水魚將科魚 mummichog,雖然其相關研究資料豐富,但如使用於國內,則較無實質意義,因其並非本土魚類;
2.試驗物種之相關資料足夠.這些資料包括生理,解剖,形態,生殖,生態,習性,地理分布,行為等;
3.馴化飼養容易,適應力強,不易受感染生病,而以簡單,經濟之設備即能在有限空間,大量繁殖及進行試驗;
4.來源眾多或取得容易.不論是取自野外水域,養殖場或自行培養繁殖,物種來源穩定能確保實驗進行之持續性;
5.標準化之試驗程序能節省時間及大量經費,並增加實驗結果之可靠性.

當然,從事毒性試驗所面臨之最大問題是，各種生物之毒性反應及敏感度皆不盡相同,甚至差異很大. 使用單種生物試驗所得之結果並不能代表所有生物之反應.因此，如果能同時進行一整組之生物試驗，其中包括跨種類之不同種生物，而以所得之綜合結果來評估待測物所可能造成之生態衝擊，則應較為適切.不過本計劃只提出一種類型的生物來進行廢水之毒性測試.是 Microtox 法(利用鹽水性發光細菌)，以下將介紹 Microtox 法(利用鹽水性發光細菌).

商業化的 Microtox，由美國 Microbics 公司所發展出之快速生物毒性檢測法. 其原理是利用海洋發光細菌(*Photobacterium phosphoreum*)之發光強度受水中毒性物質抑制來做為毒性反應之依據. 近年,Microtox 之應用亦相當廣泛. 除針對廢水毒性監測外，亦使用於土壤或底泥之毒性分析，廢棄物掩埋場滲出水之生物檢測,不同毒物之毒性比較等. 如與其他傳統之 48 或 96 小時生物急毒性試驗比較，則其相當快速，操作亦簡易，整個過程僅須 20 分鐘即可完成. 目前 Microtox 在國內之應用仍有限，有使用於對數種有机毒物及其混合物或廢水處理廠放流水之毒性評估(陳秋楊及王宇傑,1995)；石化工業廢水之毒性檢測(陳秋楊,1994)等.

三.結果與討論

利用 Microtox 生物毒性分析之結果，進流水之毒性單位值(TU)分別為圖一、圖二、及圖三，放流水之毒性單位值(TU)分別為圖四、圖五、及圖六。

圖一與圖四為某生活污水處理廠之進流水樣與放流水樣之毒性值，可知，污水處理廠有明顯的減毒效果，

其他兩個採樣點也有一樣的結果。九月份第一次採樣，其毒性值偏高，而且 15 分鐘之毒性值驟減，有可能是因為有機物偏高的原因，導致毒性偏高。其餘採樣點之毒性值都滿接近的，平均值 4.6，可知此污水處理廠之污水來源穩定，5 分鐘與 15 分鐘之毒性值接近，所以若有時間上的考量，此點之毒性檢測，可以 5 分鐘之毒性值來代表。

圖二與圖五分別為某人工濕地處理系統之進流水樣與放流水樣之毒性值，由圖中可發現其毒性偏低，平均值為 0.93，可能是因為此處理系統之生活污水來源簡單，處理量小的原因。

圖三與圖六為某校園污水處理廠之進流水樣與放流水樣之毒性值，八月與九月份因為校園尚未開學，因此此兩個月份並無採樣。由圖中可發現，進流水樣之毒性穩定，而且毒性不高，平均為 3.53，可能是因為校園污水來源穩定、單純。總觀三個地區的毒性大小，可知某污水處理廠之水樣來源毒性較高，有可能是因為所處理的生活污水來源較廣，因此也較複雜。

利用 Microtox 生物毒性檢測可知，此三個地區之毒性值皆不高，可當做前處理程序之毒性依據，可適時的減少前處理之時間，增加處理效果。因此，Microtox 生物毒性試驗為一個簡便、省時、經濟的工具。

四.參考文獻

余廷基，張湧泉. 1988. The acute toxicity of six agricultureal drugs-Orthene, Furadan, MIPC, Hokbal, Unden and Benlate-on tilapias(*Oreochromis sp*.), eels(*Anguilla japonica*) and oysters(*Crassostrea gigas*). *台灣省水產試驗所鹿港分所試驗報告*, pp. 1-6.

陳秋楊，王宇傑. 1995. 利用 Microtox 與 SOUR 評估廢水生物毒性之研究. 第二十屆廢水處理技術研討會論文集. 8.41-4715:1993-2002.

陳秋楊. 1994. Microbial toxicity test and its application to petrochemical wastewater. 行政院國科會成果報告, pp1-86. NSC82-0410-E005-076.

蔡懷禎. 1994. Stage-dependent promoters in transgenic fish embryos. 行政院國科會成果報告, pp. 1-29.NSC81-0209-B002-515.

APHA, AWWA, and WPCF, 1985. Standard methods for the examination of water and wastewater. 16th ed. Ameican Public Health Assoc. Washington, D.C. USA.

Cooper, K.R., Schell, J., Umbreit, T., and Gallo, M. 1993. Fish-embryo toxicity associated with exposure to soils and sediments contaminated with varying concentrations of dioxins and furans. *Mar. Environ. Res*. **35**:177-180.

Eaton, J.G., McKim, J.M., and Holcombe, G.W. 1978. Metal toxicity to embryos and larvae of seven freshwater fish species. I: Cadmium. *Bull. Environ. Contam. Toxicol*. **19**:95-103.

Kirchen, R.V., and West, W.R. 1976. The Japanese medaka, Its care and development. Carolina Biological Co., Burlington, NC. pp. 1-36.

Klaunig, J.E., Barut, B.A., and Goldblatt, P.J. 1984. Preliminary studies on the usefulness of medaka, *Oryzias latipes*, embryos in carcinogenicity testing. NCI Monograph 65: Use of small fish species in carcinogenicity testing, pp155. NIH Publ. No. 84-2653.

McKim, J.M., Arthur, J.W., and Thorslund, T.W. 1975. Toxicity of a linear alkylate sulfonate detergent to larvae of four species of freshwater fish. *Bull. Environ. Contam, Toxicol.* **14**:1-7.

Miller, R.G. 1981. Simultaneous statistical inference. Springer-Verlag, New York. pp. 299.

Mount, D.I., and Norberg, T.J. 1984. A

seven-day life-cycle cladoceran test. *Environ. Toxicol. Chem.* **3**:425-434.

Pickering, Q.H., and Thatcher, T.O., 1970. The chronic toxicity of linear alkylate sulfonate (LAS) to *Pimephales promelas* Refinesque. *J. Water Pollut. Control Fed.* **42**:243-254.

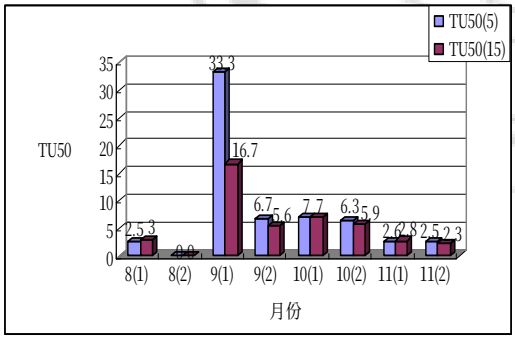
Secholng,L., and Carlson,R.M. 1984. Susceptibility of environmentallyimportant heterocycles to chemical disinfection: reactions with aqueous chlorine, chlorine dioxide, and chloraime. *Environ. Sci. Technol.* **18**:743-748.

Steel, R.G.D. 1959. A multiple comparison rank sum test: treatments versus control. *Biometrics* **15**:560-572.

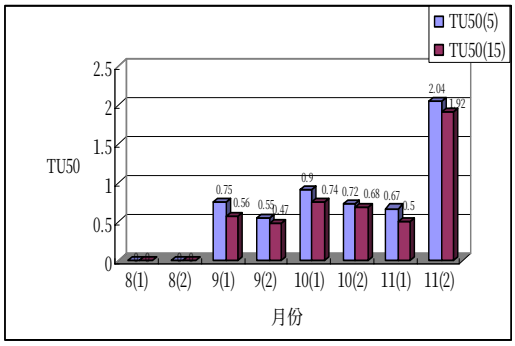
US EPA. 1991. Guidelines for conducting early life stage toxicity tests with Japanese medaka (*Oryzias latipes*). EPA/600/3-91/063.

US Federal Register, 1984. Vol. 49 No. 48, p. 9016-9019.

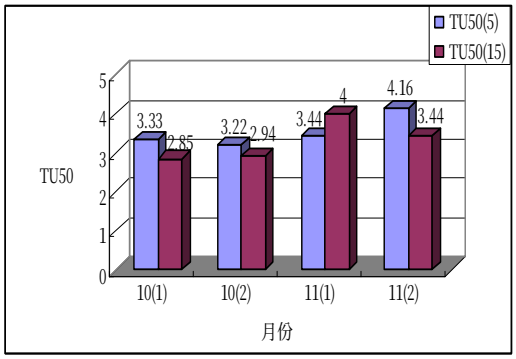
圖一. 某污水處理廠之進流水初濾



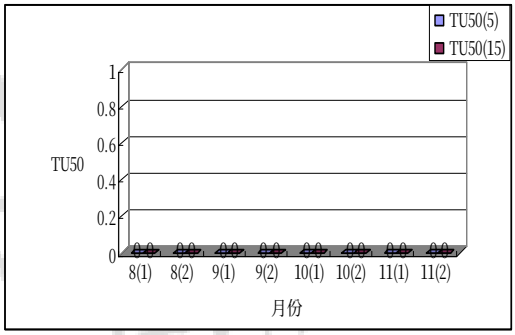
圖二. 某人工濕地處理系統之進流水初濾



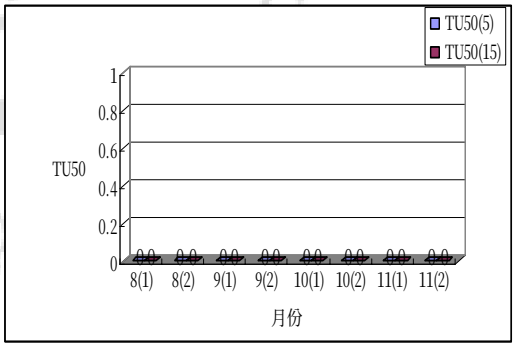
圖三. 某校園污水處理廠之進流原水



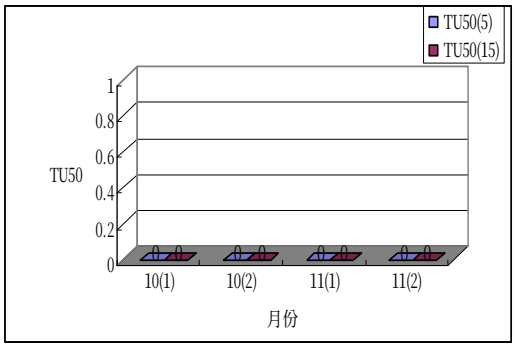
圖四. 某污水處理廠之放流水



圖五. 某人工溼地處理系統之放流水



圖六. 某校園污水處理廠之放流水



嘉南大學