

國立臺灣大學生物資源暨農學院生物環境系統工程學研究所

碩士論文

Graduate Institute of Bioenvironmental Systems Engineering

College of Bioresources & Agriculture

National Taiwan University

Master Thesis

以農業廢棄物浸液抑制小球藻增生之效益研究

The Growth Inhibitory Effects of Aqueous Leachates from  
Agricultural Wastes on *Chlorella vulgaris*

姚怡君

Yi-Chun Yao

指導教授：侯文祥 博士

Advisor: Wen-Shang Hou, Ph.D.

中華民國 106 年 7 月

July, 2017





國立臺灣大學（碩）博士學位論文  
口試委員會審定書

以農業廢棄物浸液抑制小球藻增生之效益研究

The Growth Inhibitory Effects of Aqueous  
Leachates from Agricultural Wastes on *Chlorella*  
*vulgaris*

本論文係 姚怡君 君（學號：R03622036）在國立臺灣大  
學生物資源暨農學院生物環境系統工程學系、所完成之碩（博）  
士學位論文，於民國 106 年 7 月 18 日承下列考試委員審查通  
過及口試及格，特此證明。

口試委員：

張文祥

（簽名）

（指導教授）

謝正豪

廖文亮

系主任、所長

林金村

（簽名）

（是否須簽章依各院系所規定）





## 誌謝

在充滿扶持與歡樂的 512 研究室，時間過得飛快，去年才剛參加完學長姊的口試，今年就輪到自己；能完成這份論文研究，首先最感謝我的恩師 侯教授文祥，謝謝老師接納非專業領域的我，從研究的基礎理論到實務操作，不厭其煩事必躬親的指導，也謝謝老師在國際志工這個領域，完美體現保護地球環境的精神與內涵，讓我更加了解如何利用自己原本的專業，發揮對地球環境應有的作為。

其次感謝的是內政部營建署的長官及同仁，在這段求學期間的包容與支持，除了讓我心無罣礙的進行研究，同時也協助我完成署內第一個統包工程「內政部消防署訓練中心宿舍、教室及餐廳等工程」(已於 106 年 6 月 5 日順利完工)，何其幸運能遇到這樣的好長官及好同事，夫復何求？

再來就是謝謝 512 研究室全體成員，謝謝以容學姊平時的照顧，也謝謝鴻開、世麒、楷傑在論文期間給我的建議及分析，以及在翡翠水庫進行研究時，一同歡笑流汗的同伴（哲一、志成、慎芸、宜樺、宜珍及大學長大學姊...等）。

最後，謝謝我最親愛的家人，雖然我從小不愛念書也不聽話，沒照著父親的期望去念外語系或考外交官，一意孤行選擇了整天熬夜、整天被罵、跑工地做粗活、CP 值最低的建築師工作，接著跳到生物環境工程領域繼續做著又曬太陽又熬夜的研究，但全家人還是鼎力支持我，尤其是患有多發性硬化症、無法自理生活的姊姊，因為她在攻讀碩士時發病，所以常偷偷觀察我有沒有相同的病徵病兆，唯恐我也生病，有時體力與精神都接近耗弱邊緣，是我母親一直鼓勵我，讓我能在半工半讀下順利完成論文研究。

感恩之情溢於言表，謝謝大家幫助我成就這本論文。

怡君 敬上





## 摘要



我國農林廢棄物因產源分散、缺乏集中收集及回收處理機制不完善，一般多在產地直接堆置、堆肥或焚燒等，為解決農林廢棄物回收管道不足及分解性剩餘資材過剩之問題，選用大葉欖仁落葉、稻蒿與茶渣等 3 種台灣常見的農林生質廢棄物為材料，經紫外線 (UV-C 237.5 nm) 消毒殺菌、熱風乾燥並剪碎 ( $\phi \leq 10\text{mm}$ )，以純水進行不同條件之浸製，每次試驗內容僅涉單因數變量；浸泡後以孔徑 4 $\mu\text{m}$  之定量濾紙過濾浸液，批次培養小球藻 (*Chlorella vulgaris*) 連續進行 96hr，並記錄小球藻濃度、pH 值及 EC 值，利用 GraphPad Prism 及 SPSS 求得回歸方程式、半致死濃度 ( $\text{LC}_{50}$ )。

試驗結果分析得知，大部分農業廢棄物浸液對小球藻增生具有抑制作用。為評估農業廢棄物固體量是否有效降低抑制量，由殘體乾重，換算求得每日降解率，最小為  $0.3152 (\pm 0.08) \% \cdot \text{day}^{-1}$ 、最大為  $2.0712 \pm 0.08 \% \cdot \text{day}^{-1}$ 。

三種農業廢棄物在浸泡過程中，皆對抑制小球藻生長有程度上的影響。其影響效益取決於浸製條件。研究得知，大葉欖仁落葉浸液多數具抑藻效率，平均抑藻率為 33.5%，佔全部有抑藻作用組數之 41.5%；其次為茶渣浸液，平均抑藻率為 1.9%，佔全部有抑藻作用組數之 30.8%；稻蒿浸液對小球藻生長抑制影響不大，平均抑藻率為 -47.5%，佔全部有抑藻作用組別之 27.7%。浸泡比例  $2.017 (\pm 0.043) \times 10^{-3} \text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ，浸泡溫度  $15 \pm 0.9 ^\circ\text{C}$ ，浸泡時間  $21.67 \pm 1.39$  日之浸液對小球藻生長抑制影響最大，此時 EC 差值  $4750.22 \pm 101.94 \mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$ ，pH 差值  $3.01 \pm 0.14$ 。

水蚤毒性試驗之目的是為了篩選目的物種之安全性測試，由劑量-反應模式推估，水蚤半數致死濃度  $\text{LC}_{50}$  約發生在 pH 5.713，以概率單位法 Probit 擬合毒性迴歸線 LC-p line，求出  $\text{IC}_{50}$  約  $51416 \text{mol} \cdot \text{mL}^{-1}$ ， $\text{LogicLC}_{50}$  約  $4.71 \text{mol} \cdot \text{mL}^{-1}$ ，95% 可信賴區間為  $20533 \sim 128624 \text{mol} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。顯示將植物浸液視為天然、低毒性之抑藻劑，是一種可行的方向。

關鍵字：小球藻、水蚤、落葉、稻蒿、茶渣、優養化



## ABSTRACT



Agricultural Wastes due to the sources of scattered, lack of centralized collection and recycling mechanism is not perfect, generally more in the origin of the direct pile, composting or burning, etc., in order to solve the shortage of agricultural waste recycling and decomposition surplus of material problems remaining, enlarging the volume of leaching fallen leaves, rice straw and tea residue with distilled water by the ultraviolet disinfection sterilization (UV-C 237.5 nm), hot air drying and cutting ( $\varphi \leq 10\text{mm}$ ), on the process control, the technologic parameters of leaching temperature, leaching time and dosing ratio. Batch culture *Chlorella vulgaris* for continuous 96hr, the filtrate after leaching was filtered with a quantitative filter paper ( $4\text{ }\mu\text{m}$ ), which the concentration, pH and EC value of *Chlorella vulgaris* were recorded. The regression equation and 50% lethal concentration ( $\text{LC}_{50}$ ) were obtained by GraphPad Prism and SPSS.

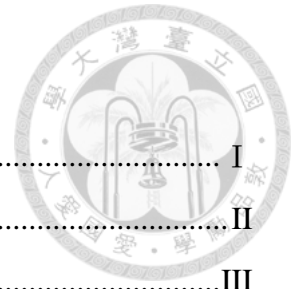
The results showed that most of the aqueous leachates with strong anti-algae had a significant low pH value, but the pH value of the aqueous leachate from *Terminalia catappa* fallen leaves was not significantly lower than that of the other materials, and the total rate of inhibition was still higher than the average, may be caused by plant decay release of secondary metabolites; In addition to changes in the pH value of the water, the plant with different immersion conditions degradation process also releases other substances that inhibit or promote the growth of algae. The results showed that the aqueous leachate of the same plant had a significant effect on the growth inhibitory of *Chlorella vulgaris*, and the effects of leaching temperature, leaching time and dosing rate was significant. The aqueous Leachates from agricultural wastes in the impact of algae growth, is a variety of different factors integrated results.

The relationship between the effective algae concentration and the bioavailability of the aqueous leachates was analyzed by the *Daphnia magna* hydrostatic method. The lethal

concentration of the immersion liquid on the *Daphnia magna* was calculated by using the *Daphnia magna* as the experimental organisms. Using probit mode was used to fit the dose-response curve to find the virulence regression equation to predict the relevant parameters of the effective algae concentration.

Keywords : *Chlorella vulgaris*, *Daphnia magna*, Fallen leaves, Rice straw; Tea dregs.

# 目錄



口委審定書 .....	I
誌謝 .....	II
摘要 .....	III
ABSTRACT .....	IV
目錄 .....	VI
圖目錄 .....	VIII
表目錄 .....	X
符號和縮寫表 .....	XII
<b>第 1 章、緒論 .....</b>	<b>1</b>
1.1 研究動機 .....	1
1.2 研究目的 .....	2
1.3 研究架構 .....	4
<b>第二章、文獻回顧 .....</b>	<b>5</b>
2.1 台灣農業廢棄物概況 .....	5
2.1.1 台灣農業廢棄物之基本性質 .....	6
2.1.2 台灣農業廢棄物之應用 .....	9
2.2 抑（控）制藻類生長研究 .....	11
2.2.1 植物相剋作用 .....	13
2.2.2 植物次階代謝物成分及作用機制 .....	14
2.2.3 應用植物相剋作用於抑藻劑之研究 .....	15
2.2.4 研究材料次階代謝物成分 .....	18
2.3 水體環境毒性試驗 .....	20
2.3.1 毒性試驗方法及危害級別概述 .....	21
2.3.2 毒性試驗物種 .....	21
<b>第三章、試驗設備與研究方法 .....</b>	<b>25</b>
3.1 試驗設備 .....	25
3.2 試驗材料 .....	29
3.3 研究方法 .....	31

3.3.1	藻類生長動力學模型與生長曲線.....	31
3.3.2	毒性回歸分析.....	34
3.4	預備試驗.....	38
3.4.1	小球藻前培養.....	39
3.4.2	初始 pH 值範圍尋找試驗.....	43
3.4.3	LC <sub>50</sub> 濃度範圍尋找試驗.....	47
3.4.4	試驗結果.....	48
3.5	農業廢棄物浸液抑藻試驗.....	51
3.5.1	可溶性物質浸製試驗與分析.....	51
3.5.2	小球藻生長抑制試驗.....	56
3.5.3	生物急毒性試驗－水蚤靜水式試驗.....	57
<b>第 四 章</b>	<b>、結果與討論.....</b>	<b>61</b>
4.1	不同浸製條件對小球藻、水蚤生長影響.....	61
4.1.1	描述統計分析.....	65
4.1.2	常態分佈檢定.....	68
4.1.3	變異數同質性檢定.....	70
4.2	迴歸分析.....	75
4.2.1	回歸模型預測.....	75
4.2.2	逐步迴歸法.....	76
<b>第 五 章</b>	<b>、結論與建議.....</b>	<b>83</b>
5.1	結論.....	83
5.1.1	農業廢棄物減量效率.....	83
5.1.2	浸製條件及不同可溶性物質之抑藻能力.....	83
5.2	建議.....	85
參考文獻.....		87
附錄.....		97



## 圖目錄



圖 1.1 事業廢棄物聯單申報量 .....	1
圖 1.2 垃圾組成統計資料 .....	2
圖 1.3 研究架構圖 .....	4
圖 2.1 生物性廢棄物排放量 .....	5
圖 2.2 農廢資材再利用種類 .....	5
圖 2.3 近年農耕面積及平均農業廢棄物產生量 .....	6
圖 2.4 PM2.5 污染源排放量組成.....	9
圖 2.5 稻草固體廢棄物利用方式 .....	10
圖 3.1 自製生長箱設計圖及成果 .....	25
圖 3.2 校園大葉欖仁種植處 .....	29
圖 3.3 小球藻培養觀察 .....	30
圖 3.4 水蚤培養觀察 .....	31
圖 3.5 藻類生長曲線示意圖 .....	33
圖 3.6 藻細胞濃度與不同參數之關係 .....	34
圖 3.7 劑量-反應曲線 .....	35
圖 3.8 小球藻培養流程圖 .....	40
圖 3.9 培養過程照片 .....	40
圖 3.10 小球藻培養試驗生長趨曲線圖 .....	41
圖 3.11 小球藻前培養試驗迴歸模型.....	42
圖 3.12 小球藻前培養試驗標準化殘差散布圖 .....	42
圖 3.13 血球計數盤 .....	44
圖 3.14 A 組生物量觀測值.....	45
圖 3.15 B 組生物量觀測值.....	45
圖 3.16 初始 pH 值範圍試驗生長曲線圖.....	46
圖 3.17 各組迴歸模型比較 .....	46
圖 3.18 初始 pH=6.88 之小球藻生長檢量線 .....	47
圖 3.19 水蚤靜水式生物毒性試驗流程示意圖 .....	48
圖 3.20 水蚤運動器官 .....	48

圖 3.21 水蚤 2 種 $LC_{50}$ 模式曲線比較.....	49
圖 3.22 水蚤時間-反應關係圖 .....	50
圖 3.23 農業廢棄物水浸泡液製備流程圖 .....	52
圖 3.24 生物急毒性試驗隨機排列示意圖 .....	57
圖 4.1 大葉欖仁落葉浸液對小球藻生長趨勢圖 .....	61
圖 4.2 稻蒿浸液對小球藻生長趨勢圖 .....	62
圖 4.3 茶渣浸液對小球藻生長趨勢圖 .....	62
圖 4.4 大葉欖仁落葉浸液對水蚤生長趨勢圖 .....	63
圖 4.5 稻蒿浸液對水蚤生長趨勢圖 .....	64
圖 4.6 茶渣浸液對水蚤生長趨勢圖 .....	64
圖 4.7 各組浸液對小球藻、水蚤生長影響統計圖 .....	67
圖 4.8 EC 差值及 pH 差值對小球藻、水蚤生長影響散布圖 .....	71
圖 4.9 浸製條件對抑藻率之標準化殘差 .....	78
圖 4.10 浸製條件之迴歸標準化殘差常態 PP 圖 .....	78
圖 4.11 浸液可溶性物質對抑藻率之標準化殘差.....	81
圖 4.12 浸液可溶性物質之迴歸標準化殘差常態 PP 圖 .....	81

## 表目錄



表 2.1 農業廢棄物組成成分文獻綜整表 .....	7
表 2.2 農業廢棄物化學元素比例文獻綜整表 .....	8
表 2.3 近年國內農業廢棄物資源再利用研究 .....	10
表 2.4 常見之抑（控）藻處理研究彙整表 .....	12
表 2.5 植物次階代謝物釋出途徑 .....	15
表 2.6 植物抑藻相關文獻探討 .....	16
表 2.7 大葉欖仁活性研究彙整表 .....	19
表 2.8 水稻活性研究彙整表 .....	19
表 2.9 茶葉活性研究彙整表 .....	20
表 2.10 常見之淡水水生生物毒性試驗方式 .....	22
表 3.1 試驗設備表 .....	26
表 3.2 花寶 4 號複合肥料成分表 .....	31
表 3.3 試驗環境控制項目 .....	38
表 3.4 試驗物種前培養條件 .....	39
表 3.5 不同初始 pH 值調整表 .....	43
表 3.6 各組水蚤死亡情形 .....	49
表 3.7 常見之植物次階代謝物提取方式 .....	51
表 3.8 大葉欖仁落葉浸液成分表 .....	53
表 3.9 稻蒿浸液成分表 .....	54
表 3.10 茶渣浸液成分表 .....	55
表 3.11 大葉欖仁落葉浸液對小球藻及水蚤生長影響數據表 .....	58
表 3.12 稻蒿浸液對小球藻及水蚤生長數據表 .....	59
表 3.13 茶渣浸液對小球藻及水蚤生長數據表 .....	60
表 4.1 各因子對小球藻抑制率影響描述統計資料表 .....	65
表 4.2 各因子對水蚤死亡率影響描述統計資料表 .....	66
表 4.3 小球藻抑制影響常態檢定 .....	68
表 4.4 水蚤致死率常態檢定 .....	69
表 4.5 變異數的獨立性檢定 .....	70

表 4.6 浸液對小球藻生長影響對照表 .....	72
表 4.7 浸液對水蚤生長影響對照表 .....	73
表 4.10 描述性統計資料 .....	76
表 4.11 浸製條件逐步迴歸模型摘要（應變數: 抑藻率） .....	77
表 4.12 浸製條件非標準化係數 .....	77
表 4.13 浸液可溶性物質逐步迴歸模型摘要（應變數: 抑藻率） .....	79
表 4.14 浸液可溶性物質非標準化係數 .....	80
表 5.1 農業廢棄物浸泡後降解率比較表 .....	83

## 符號和縮寫表



符號表

符號	符號名稱	單位
IC <sub>50</sub>	50% Inhibition Concentration (半抑制濃度)	mg · L <sup>-1</sup>
EC <sub>50</sub>	50% Effect Concentration (半致影響濃度)	mg · L <sup>-1</sup>
LC <sub>50</sub>	50% Lethal Concentration (半致死濃度)	mg · L <sup>-1</sup>
EC	Electrical Conductivity Value (導電度)	μs · cm <sup>-1</sup>
pH	Potential of Hydrogen (酸鹼度)	pH
X <sub>0</sub>	Algae cell initial density (起始濃度)	cells · mL <sup>-1</sup>
X <sub>n</sub>	Algae cell end-point density (實驗終點濃度)	cells · mL <sup>-1</sup>
t <sub>0</sub>	Initial time (起始時間)	day
t <sub>n</sub>	End-point time (實驗終點時間)	day
μ	Specific growth rate constant (比生長速率)	day <sup>-1</sup>
IR	Inhibition Rate (生長抑制率)	%
K <sub>S</sub>	Relative growth rate (半飽和常數)	cells · mL <sup>-1</sup>
G	Generation time (世代時間)	day
T <sub>g</sub>	Average generation time (平均世代時間)	day
TU <sub>a</sub>	Toxicity Unit (急毒性單位)	—

縮寫表

縮寫	完整名稱
NOEC	No observable effect concentration (無觀察反應濃度)
LOEC	Lowest observable effect concentration (最低作用濃度)
VOCs	Volatile organic compounds (有機化合物)

# 第 1 章、緒論

農業廢棄物 (Agricultural wastes)，因產地分散、產量龐大、缺乏集中收集及回收處理機制不完善，目前處理方式仍以衛生掩埋、焚燒、堆肥、堆置等方式為主，但露天燃燒農業廢棄物不僅使大氣中溫室氣體濃度日趨增加，加遽溫室效應造成全球氣候異常 (Veerabhadran et al., 2007；Szopa et al., 2007)，生質燃燒排放產生的煙霧（粒狀物）、CO、碳氫化合物、CO<sub>2</sub>、和少量的氮氧化物、硫氧化物及不完全燃燒的有機物等污染物質 (Wang et al., 2006)，也使人體健康暴露在風險中。如何使農業生產之剩餘資材回歸農業生產環境，並以生態養分循環之觀點重新再利用，為本研究探討之重點。

## 1.1 研究動機

臺灣由於境內氣候極適合農林木生長，且我國農業技術發展成熟，故每年產出許多木材及農業廢棄物，其衍生之殘體量（如：稻蒿、稻草、花生殼、玉米穗稈、蔗渣等）相當可觀。依行政院環境保護署 [環保署] 2014 年國內事業廢棄物聯單申報量，農業相關廢棄物申報總量達 65 萬公噸，其中植物殘渣約佔 22 萬公噸，茶飲加工所產生之茶渣廢棄物及木材加工後之木材廢棄物，產量亦約有 1 萬餘公噸及 8 萬餘公噸。

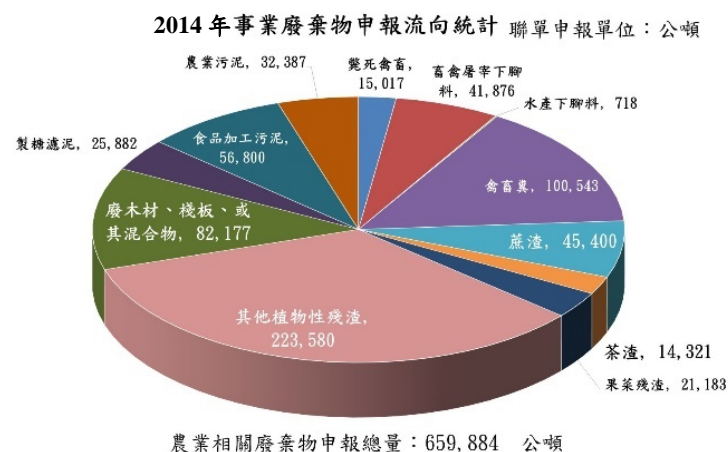


圖 1.1 事業廢棄物聯單申報量

資料部分節錄自：環保署，2014。本研究彙整編修。

由於便利的物質生活，促使「大量生產、大量消費、大量廢棄」(周，2006；陳，2009)的社會產業活絡，生質廢棄物種類也日趨繁多，造成了嚴重的資源損耗及環境污染，國內正積極推動廚餘回收再利用，所回收之廚餘量逐年增加，但北部

地區在 2012 年前每日也約有 200 噸之廚餘缺乏妥當之處理設施（陳等，2009）。截至 2016 年環保署統計顯示，臺灣地區家戶垃圾組成，廚餘（茶渣、果皮、菜根）約佔 36.2% 僅次於紙類，其他高纖維碳水化合物有機物，如林木稻草落葉亦約佔 1.6 %。

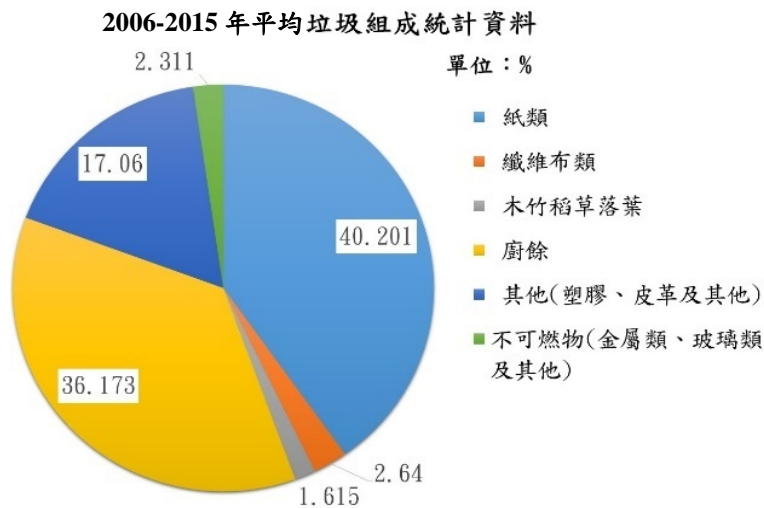


圖 1.2 垃圾組成統計資料

資料部分節錄自：環保署，2016。本研究彙整編修。

## 1.2 研究目的

為提供多元的農業廢棄物再利用方法，改善農廢燃燒等問題，本研究擬將農業生質廢棄物進一步進行資源再利用，以實驗室試驗植物次階代謝物對抑制藻類增生的效益，將浸液分析相關性質後，再進行生物急毒性試驗處理，評估農業廢棄物浸液對於環境影響效應，以期產製在地化、低毒性、簡易型之天然抑藻液，便利農業廢棄物的回收再利用。

參考「農藥理化性及毒理試驗準則」(行政院農業委員會動植物防疫檢疫局[防檢局]，2017)，採用半致影響濃度 ( $EC_{50}$ ) 或半致死濃度 ( $LC_{50}$ ) 作為急毒性測試評估標準，推估生物抑藻劑施用後對環境生態影響，而毒性物質藉由在水生生物體內的生物蓄積作用，即使其在水中濃度甚低，但經長期間之累積仍可產生毒性效應。由於慢毒性試驗的試驗時間較長且花費較高，因此，常會利用急毒性試驗的  $EC_{50}$  或  $LC_{50}$  而獲得 NOEC 或 LOEC (廖，2016)；應用 Probit 模式預測有機化學物質的毒性大小，輔以相關回歸方程式來預測其可能的結果，以作為環境生物體危害或影響評估的標準。

本研究將以 3 種常見之農業廢棄物製備水浸泡液，產製對生物較為無害且專一性高之生物抑藻劑：

- 一、進行分析這 3 種水浸泡液對小型養殖池中藻類生長抑制作用，提供另一種農業廢棄物資源再利用之途徑；
- 二、探討其成分對藻類、無脊椎動物類之毒性影響效應，以作為日後施用頻率及劑量參考；
- 三、建立生物抑藻劑對環境生物安全評估模式，以評估其施用對環境生物的生態風險，作為生物抑藻劑之管理參考。



### 1.3 研究架構

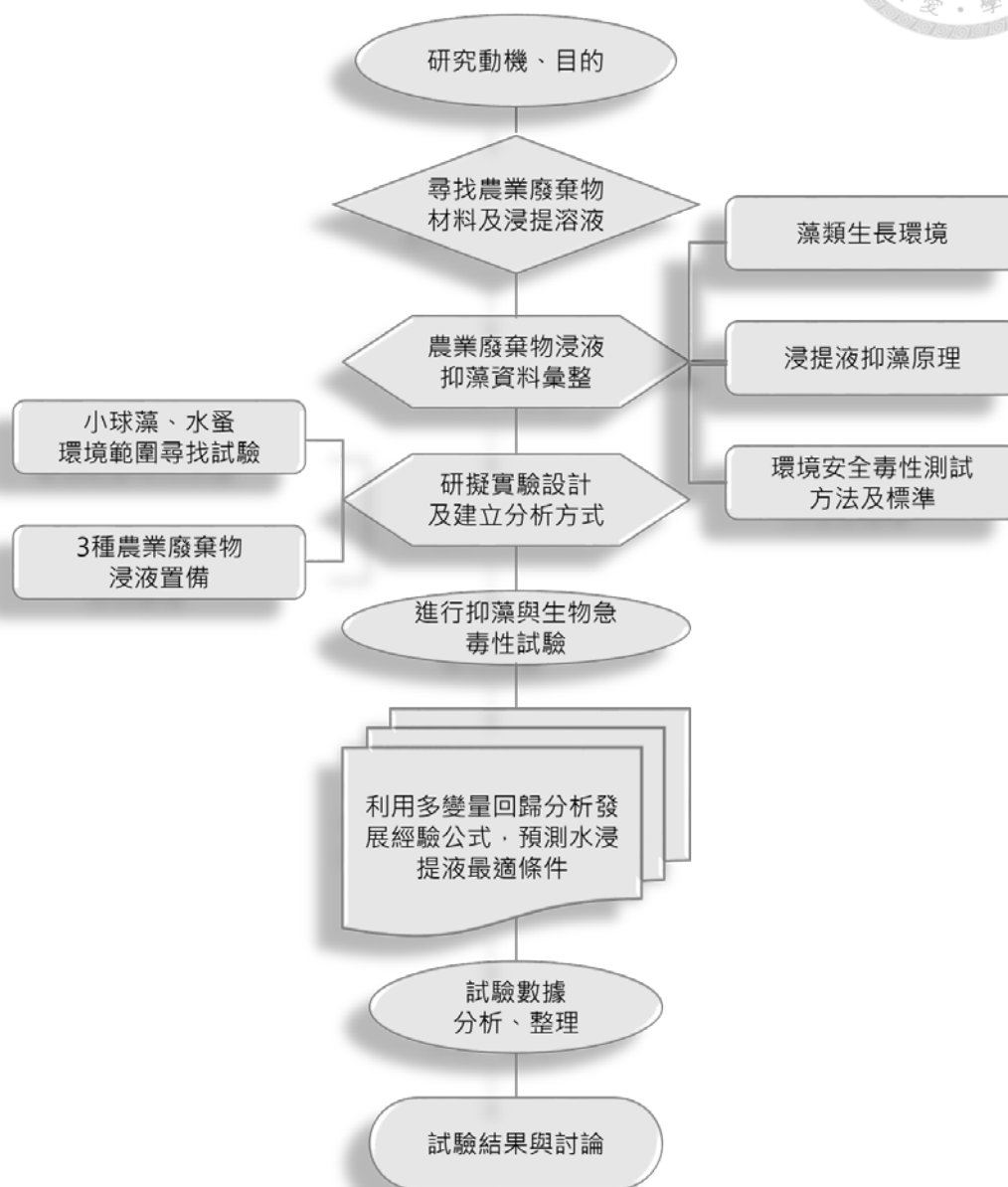


圖 1.3 研究架構圖

## 第二章、文獻回顧

### 2.1 台灣農業廢棄物概況

農業生產所產出之剩餘資材可分為農業標的產品及農業剩餘物，在農業剩餘物方面，依其性質可區分為可分解之生物性廢棄物及較難分解之非生物性廢棄物；行政院農業委員會[農委會]將生物性廢棄物依據其產出之產業又可再細分為農產廢棄物、漁業廢棄物、畜產廢棄物、批發市場廢棄物及食品加工廢棄物等五大類，參考2014年台灣地區生物性廢棄物排放量，以農產廢棄物為大宗約佔48%，其項目包含稻殼、稻蒿及廢棄菇包；其次為畜產廢棄物約佔47%，其項目包含禽畜糞、畜禽屠宰後廢棄物及死廢禽畜。

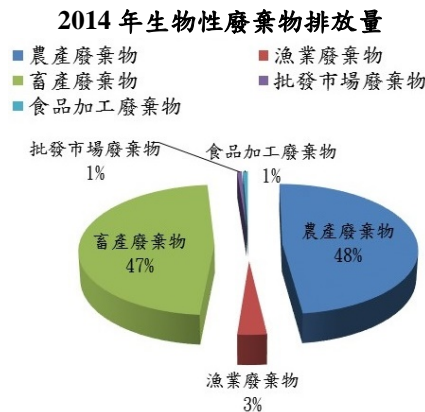


圖 2.1 生物性廢棄物排放量

資料部分節錄自：農委會，2014。本研究彙整編修。

農業與批發市場的廢棄物因不具毒性，可經微生物或化學轉化處理後再利用，因此鼓勵將上述廢棄物中具生物可分解及可資源化、能源化的部分再善加利用。

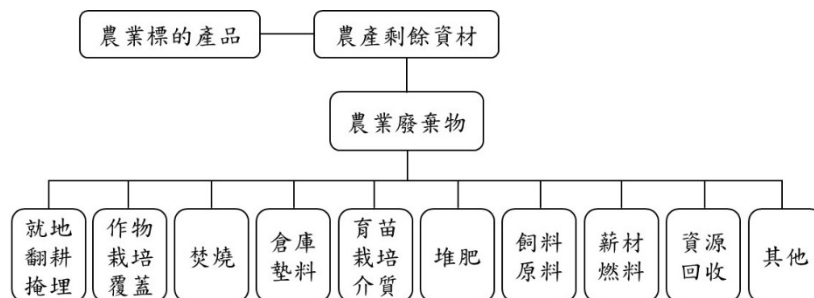


圖 2.2 農廢資材再利用種類

資料部分節錄自：農委會，2014。本研究彙整編修。

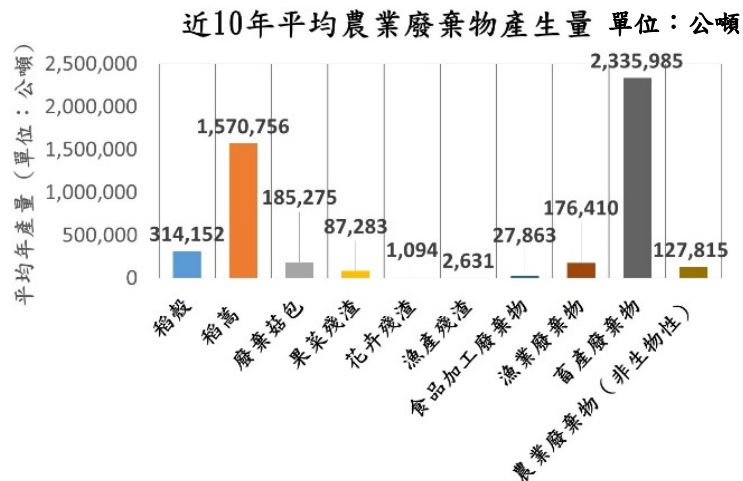
### 2.1.1 台灣農業廢棄物之基本性質

據 2015 年農業統計要覽資料，全台農耕土地面積約有 79 萬公頃，林地面積約 219 萬公頃，而近 10 年農業廢棄物年平均產生量約為 482 萬公噸。我國每年原木消費量 600 萬 m<sup>3</sup> 以上，而樹皮、鋸屑等木質廢棄物產量頗鉅，每年約有 5 萬公噸廢棄物（楊，2003）。分析農業廢棄物之植物性種類，農產方面有稻草、稻殼、玉米穗軸、蔗渣、菜葉和米糠、豆粕、酒渣、果皮渣等農產品加工殘渣；林產方面有落葉、樹皮、木屑、製紙廢渣等（簡，2003）。

農耕土地、林地及魚塭面積 單位：公頃



(a) 2015 年農耕土地面積



(b) 近 10 年平均農業廢棄物產生量

圖 2.3 近年農耕面積及平均農業廢棄物產生量

資料部分節錄自：農委會，2016。本研究彙整編修。

農業廢棄物依化學組成，分為纖維素 (cellulose)、半纖維素 (hemicellulose) 及木質素 (lignin)、萃取物 (extractives) 及灰份 (ash)，前三者屬高分子量的物質，約佔植

物細胞壁 95% 以上；各個組成比例隨植物種屬、成熟程度、早晚材、細胞類型及其形態學部位的不同而有差異。



表 2.1 農業廢棄物組成成分文獻綜整表

文獻	種類	成分 (%)			
		纖維素	半纖維素	木質素	萃取物及灰份
Timell, 1967	松樹	40.1	29.3	27.8	2.8
Cowling & Kirk, 1976	雲杉	46.1	24.6	26.3	3
Ferrara & kling, 1987	桉樹	41.7	15.1	27.2	16
Cowling & Kirk, 1976	樺木	44.9	32.7	19.3	3.1
Wayman & Parekh, 1990	白楊	47.6	27.4	19.8	5.2
Mercy et al., 2011	大葉欖仁	46.64	16.29	31.17	5.9
Rodney et al., 2015	茶葉	13.5	36.5	0.2	49.8
Jackson, 1977	小麥稈	42	32	10	16
Theander et al., 1978	大麥稈	44	27	7	22
Jackson, 1977	稻草	33	26	7	34

本研究彙整編修。

因農業廢棄物含有大量碳、氮及化學成分等特性（王與馮，1993），如果將新鮮有機質材料直接加到土壤中，由於碳/氮比不平衡、或由於含對植物有害之有機成分、或由於含有病原菌、蟲卵、雜草種子等而不適宜直接使用於農地（簡，2003；楊，2011；吳，2014）；陳文卿等（2009）指出該等有機廢棄物的特性是含水量高，因此若以掩埋處理將造成高濃度垃圾滲出水之污染，而若以焚化處理很明顯的是約九成以上的水分將使廢棄物之熱值大為降低，並連帶使焚化爐失去能源回收之效益。

表 2.2 農業廢棄物化學元素比例文獻綜整表

農廢種類	化學元素比例 (%)						直接掩埋缺點
	C	N	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	K <sub>2</sub> O	C/N	水分	
萬 稈 類 ( 乾 基 )	稻殼	52	0.5	0.2	1.3	106	-
	稻草	53	0.8	0.1	2.1	76	-
	玉米稈	55	0.8	0.4	1.6	68	-
	蔗渣	53	0.3	0.1	0.2	204	-
樹 木 類	米糠	50	2-2.2	2-3.9	1.5-1.8	20-22	-
	茶渣	49	3.1	0.5	0.6	16	-
	新鮮木屑	45-50	0.1	0.1	0.1-0.2	>500	10
	樹皮	45-50	0.1	0.1	2.5-3.3	>500	30
蔬 菜 類	松葉	45-50	0.5-1	0.1	0.3-0.5	50-60	60
	杉葉	45-50	1-1.5	0.1	0.1-0.2	40-50	60
	甘藷藤	40-45	2-3	0.3-0.4	0.6-0.8	10-15	70
	蔥葉	40-45	3-4	0.3-0.4	4.2-5	10-15	80
蔬 菜 類	蘿蔔葉	40-45	5-6	0.3-0.4	4.2-5	8-10	90
	甜玉米軸	40-50	3.5-4	0.3-0.4	1.3-1.7	10-15	70

資料部分節錄自：簡，2003；楊，2011；吳，2014。本研究彙整編修。

### 2.1.2 台灣農業廢棄物之應用

近年來由於農村勞力短缺，稻草因收集與運搬工資昂貴，故農民大都採用最簡便迅速的燒燬方法來處理稻草；高德錚（2009）指出就地焚燒稻草產生之濃煙易造成空氣污染、燃燒處之稻草灰會殘餘碳酸鉀及氧化鈣，造成燃燒處有植株矮化、花期提前、單株產量變少等問題；台灣地區對於一、二期稻作收割後衍生之植物性廢棄物，常以露天燃燒等方式處理，根據環保署 2017 年統計，我國農業露天燃燒稻草約佔國內 PM2.5 污染源總量之 5%，嚴重影響我國空氣品質。

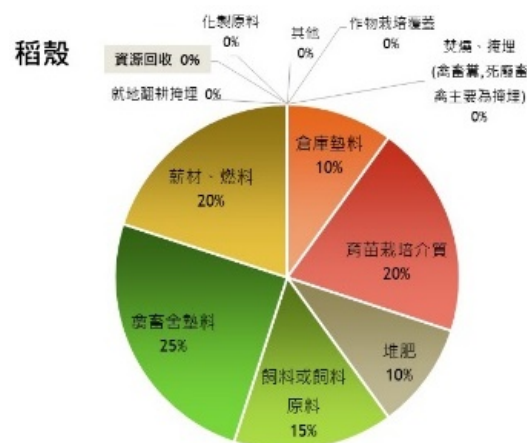
2017 年台灣地區 PM2.5 污染源排放量分類比例  
(以 102 年為基準年所建置的排放量)



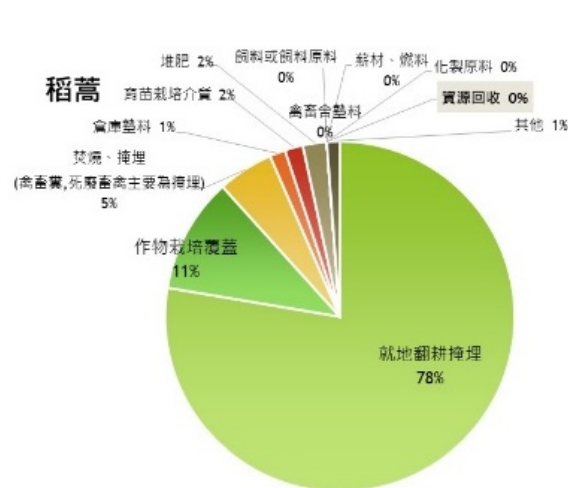
圖 2.4 PM2.5 污染源排放量組成

資料部分節錄自：環保署，2017。本研究彙整編修。

潘淑如（2014）分析農產品具有易腐、笨重、價值低、規模化不易等生物性以及依賴土地之限制下，無法構成經濟運銷單位，使得在通路上相較其他工商業產品長且繁複，運銷上亦需考量運輸到儲存的相關事務，運銷成本相對提高；莊義雄（1996）提到以往我國的農村在水稻收穫後，稻草都被收集供作堆肥、製繩、飼料、燃料、敷蓋、草蓆、草袋及造紙等材料。



(a) 稻殼利用方式



(b) 稻蒿利用方式

圖 2.5 稻草固體廢棄物利用方式

資料部分節錄自：農委會，2015。本研究彙整編修。

為使資源有效利用及開發新的農廢再生途徑，政府近年來積極輔導生質能源產業，因此農委會 2005 年建立「能源作物產銷體系」，將農業廢棄物中所含之纖維素、半纖維素及木質素分離進一步再利用，並選定大豆、玉米與油菜之能源作物進行推廣試種，以發展液態生質燃料、生質酒精與生質柴油（林等，2007）；一些國內研究（林，2015；劉，2013；蕭與林，2008）提到，雖然使用農業廢棄物類的生質能是各國綠色能源重要的發展方向，但發展生質能源仍有以下幾點限制：(1)轉換的成本太貴；(2)沒辦法立即迅速使用；(3)考慮運輸和成本問題；(4)使用地點限制大。

表 2.3 近年國內農業廢棄物資源再利用研究

文獻	來源	種類	處理方式	再生資源
萬與李，2010	生活、農業	都市垃圾、稻稈、泡棉、PE 廢塑膠膜	藉由破碎、分選、乾燥、摻配、造粒等程式，把廢棄物轉化成性質均一且容易儲運的固體燃料。	衍生性燃料，RDF
陳，2015	農業	稻稈、杏鮑菇廢棄木屑	藉由堆肥處理或快速處理將其資源化後各別與椰纖混合，分析其物理、化學性質，找出最適當配方。	育苗及袋耕栽培介質
鄭，2015	農業	甘蔗渣	以聚羥基丁酯戊酯/聚乙烯醇/甘蔗渣為主副原料，添加塑化劑（馬來酸酐、甘油、檸檬酸三乙酯）進行改質。	生物可分解塑膠粒

文獻	來源	種類	處理方式	再生資源
鄧，2013	農業	甘蔗渣纖維	以有機填充材（甘蔗渣纖維），加入聚碳酸酯（PC）、尼龍 6（PA 6）、馬來酸酐接枝聚烯烴彈性體、無機填充材（滑石粉與雲母片）、與耐衝擊改質劑聚丁二酸丁二酯-丙交酯（PBSL）進行改質。	多成分系聚乳酸/甘蔗纖維複合材料
呂，2015	廚餘	家庭廚餘、污泥	以家庭廚餘與污泥進行缺氧共消化。	氫氣、甲烷
許，2012	林業	枯枝落葉	以枯枝落葉製成生物碳，藉由原土加碳、風乾加碳等不同改良方式，探討添加生物碳後對於土壤保肥能力、保水能力及穩定性之影響。	生物碳
黃，2015	廚餘	茶葉渣、咖啡渣	以水熱和直接熱裂解二種方式製成焦炭(char)，並改變活化劑 KOH/ Char 比例製備高表面積活性碳。	高比表面積活性碳

本研究彙整編修。

## 2.2 抑（控）制藻類生長研究

目前常見的抑藻處理方法分為物理處理、化學處理及生物法（武等，2008；陳等，2015；歐陽，2006）。前 2 種方式為國內整治水環境最常見之處理方法，除治理費用高、無長期效果外，對水環境無永續性效益。日本科學技術政策研究所 (National Institute of Science and Technology Policy, NISTEP) 分別於第 8 次與第 9 次的《科技前瞻報告》中提到農業栽培應儘量使用天然的方法來維護作物健康與促進植物生長，將「生物性肥料」與「生物性農藥」兩項農業生物技術的發展列為重要的科學技術課題，並且認為在這一、二十年內應該會達到實用化、普及化的目標。

考量低成本、低污染、零耗能、高效率及改善生態環境，永續經營（武等，2008；張，2016），開發水體生物修復技術，是當前水質管理技術熱點。



表 2.4 常見之抑（控）藻處理研究彙整表

文獻	原理	抑藻方法	優點	缺點
武等， 2008； 歐陽， 2006	化學 處理	1. 加入化學藥劑（明礬、鐵鹽、硫酸銅、高錳酸鹽、固磷等），使營養鹽沉澱或降低生物利用率。 2. 使用殺藻劑，對藻細胞膜及細胞內部造成損傷及破壞。 3. 營養鹽固定法、重金屬固定法等，產生絮凝、沉澱、絡合等化學反應，以達到去除水體中的污染物目的。	1. 短期效果好，治理迅速； 2. 操作簡單。	1. 對長期效果無持續作用，藥劑效果消失，藻類數量即回升； 2. 治理成本高； 3. 對環境產生二次污染的可能性較大。 4. 增加底泥銅的累積量，硫酸銅殘餘毒性易造成魚類死亡； 5. 生態改變及加速水中磷的循環。
武等， 2008； 歐陽， 2006	物理 處理	1. 曝氣法：增加溶氧使底泥表面有機物分解，減少氨氮和溶解磷的產生。 2. 人工/機械撈除：直接將藻類撈除。 3. 遮光法：阻斷光源，讓藻類自然死亡。 4. 換水法、過濾法：去除水中營養鹽類及藻類。	1. 減緩藻類生長速度； 2. 不具二次污染； 3. 操作簡單。	1. 人工處理費用高； 2. 有範圍限制，不適用大面積的水域； 3. 對於水體品質無法長期保持。
武等， 2008； 張， 2016 陳等， 2015； 歐陽， 2006	生物 處理	1. 微生物法：培養有效微生物群，移除水中氨氮、葉綠素 a； 2. 養殖食藻性生物：利用水生生物食物鏈的關係； 3. 種植水生植物：利用植物生存競爭，降低水中營養鹽類； 4. 投加植物次階代謝物：利用化學物質直接或間接抑藻。	1. 治理費用較低； 2. 不具二次污染； 3. 可長期維持水體品質。	1. 此法對不當培養生物、破壞生態平衡上有不確定性； 2. 生物之食物鏈或生存競爭，有其針對性物種，應審慎選擇物種、族群結構比例及設置地點； 3. 種植水生植物自然淨化效率速度過慢，以致影響生態保育。

本研究彙整編修。



### 2.2.1 植物相剋作用

植物（或微生物）在演化的過程中，為了對抗逆境、抗病蟲和生長調節釋出化學物質 (phytotoxins)，以對自身或周遭其他植物產生直接或間接的影響 (Chou, 1998、1999、2010; Chou & Chung, 1974；Kuo，1983)。Theophrastus (300 B.C.) 由捲心菜試驗觀察到，植物物種對某些鄰近植物會產生抑制效應 (Willis, 1985)。Molish (1937) 將此效應定義為「所有植物（包含微生物）之間其生化物質的相互作用」，涵蓋了促進或抑制作用兩方面 (Molish, 1937; Putnam & Duke, 1978；Kelton et al., 2012)；周昌弘（1973）將 Allelopathy 譯為「相剋作用」，具有相剋作用的化學物質，稱之為相剋化合物 (Allelochemical)；Rice (1984) 稱此作用為相生相剋作用或是化感作用 (Allelopathy)。

國際相剋作用學會 (International Allelopathy Society, IAS) 定義相剋作用：「由植物、藻類、細菌和真菌產生的次階代謝物，導致農業和生物系統的生長、發育受到影響的過程」，初階代謝物 (primary metabolites) 是維持生物合成或生長過程中所需的代謝物，次階代謝物 (secondary metabolites) 對生命的維持不具明顯的功能，但在植物防被食防衛方面起著重要的作用 (Kruidhof, 2008; 袁，2016)。

Einhellig (1994) 從植物提取特定化學化合物的生物測定試驗證實，某些物種逆境下確實會產生抑制植物萌發、根生長、植株的發育及開花乃至結果的生物化學物質；植物所釋出的有毒物質即為生長階段產生的次階代謝物，過去被視為植物的廢棄物而排出體外 (王，1982；王，1965；周，1973；Muller, 1966; Tukey, 1969; Whittaker & Feeny, 1971)；現今，此種相生相剋的現象及活性化合物，逐漸被開發為作物保護的資材，包括利用植物次階代謝物研發為植物源除草劑等 (孔，2003；袁，2016)。

參考前人研究 (Rose et al., 1983; Leadir et al., 1997; 袁，2016)，植物次階代謝物有以下項特性：(1) 次階代謝物參與植物對逆境的防禦機制和生長調節系統；(2) 次階代謝物對植物的作用機制與參與反應的濃度有關，常呈現低濃度 (0.25 mM) 為促進作用、高濃度 (1.0 mM) 為抑制作用 (Leadir et al., 1997)；(3) 次階代謝物之間存在加成性、協同性或拮抗性的作用效果。



## 2.2.2 植物次階代謝物成分及作用機制

已有越來越多的次階代謝產物由植物中被分離，並開發為天然除菌劑及除蟲劑，相對於高毒性及高污染之人工合成農藥藥劑，天然抗菌及抗蟲劑易於分解可減少環境的污染（周，2006）；謝廷芳與黃鴻章（2009）指出植物源抑藻劑係由於生物之相剋作用影響，在推薦劑量下施用較不易造成水中生物族群結構改變，對環境造成的傷害，遠少於合成化學抑藻劑；以植物產製抑藻劑具有安全、易取得、成本低等特徵，是近年來國外極為重視及推廣的生物處理法；其中有效成分包括生物鹼、配醣體、揮發油、鞣質等（謝與黃，2009）。

利用植物相剋作用 (allelopathy) 的理論以發展天然農藥 (bio-agrochemical) 成為不可或缺的當務之急（周，2006）。Wu *et al.* (2005) 研究相思樹 (*Acacia confuse*) 樹皮乙醇抽出物之各可溶部，除了正己烷可溶部之外，其餘皆具有極佳清除 DPPH 自由基之能力；楊寧蓀與林天仁（2014）從大花鹹豐草 (*Bidens pilosa*) 酒精萃取物 (BP-E) 發現可顯著降低腫瘤轉移率及顯著提高老鼠存活率；黃振文（2014）採用高麗菜殘渣、菸渣、S-H 混合物及荷格蘭氏養液，開發具有防病與忌蟲效果的 CH100 植物健素；王惠亮等（2004）表示，近年來，應用有機質、腐質酸、海草粉、植物營養液等方式，也可以有效地建立無毒病蟲害的防治系統。

次階代謝物主要包含三大類：(1)芳香類 (aromatic compounds)；(2)萜類 (terpenes compounds)；(3)其他；前兩類為揮發性有機化合物 (volatile organic compounds, VOCs)，在植物間資訊傳遞上及環境適應上都扮演著重要作用。

一、芳香類化合物 (aromatic compounds)：包括酚類及其衍生物 (phenolics and derivatives)、酚酸 (phenolic acid)、類黃酮 (flavonoids)、香豆酸 (coumarins)、單寧 (tannins)、植物鹼 (alkaloids)、醌類及其衍生物 (quinones and derivatives)、肉桂酸及其衍生物 (cinnamic acid derivatives) 等 8 種（洪與潘，2006）；酚類化合物被證實是相剋活性較強的一類物質 (Whittaker & Feeny, 1971; 袁，2016; 袁與蔣，2016)。

二、萜類 (terpenes)：分為單萜、雙萜及聚萜，具有特殊氣味（洪與潘，2006）；常見的化合物包括檸檬烯 (dipentene)、香茅醇 (citronellol)、樟腦 (camphor) 及羅勒烯 (ocimene) 等（袁，2016）。萬壽菊 (*Tagetes minuta* L.) 葉片內的羅勒烯會延遲或抑制其伴生植物的發芽 (Lopez *et al.*, 2008; 袁，2016)。

三、其他類：包括脂肪酸 (fatty acid)、脂質 (lipids)、脂肪族化合物 (aliphatic compounds)、不飽和內脂 (unsaturated lactones) 等 (洪與潘，2006)。

此等物質的釋放方式，取決於其化學成分的性質，主要藉由揮發作用 (volatilization)、淋洗作用 (leaching)、根泌作用 (root exudation) 與植物殘株降解作用 (decomposition of plant residues) 等 4 種釋出途徑；釋出的次階代謝物透過破壞細胞膜 (Dayan et al., 1999; Galindo et al., 1999)、破壞光合作用系統、影響生物體的酶活性 (Friebe et al., 1996)、改變核酸代謝 (譚，2003) 等方式抑制細胞分裂、減少細胞數量進而達到抑制生長的目的 (Friebe et al., 1996; 譚，2003; 歐陽，2006)。

表 2.5 植物次階代謝物釋出途徑

節錄文獻	釋出途徑	作用機制
Putnam et al, 1978; 周，1990; Chou, 1998, 1999, 2010; 洪與潘，2006	揮發作用	植物體在氣候較乾旱的地區，植物由莖葉揮發及蒸散作用可將松萜類 (terpenoids) 之次階代謝物釋出，抑制其他植物生長。
Olofsdotter, 1998; 洪與潘，2006; 周，1990; Chou, 1998, 1999, 2010	淋洗作用	雨水淋洗枯落物或葉片，會使植物組織間隙或液胞裡的次階代謝物隨水分釋放至組織外，從而對其他植物產生抑制作用；以水溶性的酚酸化合物、氨基酸及呈配醣體的類黃素或植物鹼為主。
Olofsdotter, 1998; 周，1990; Chou, 1998, 1999, 2010	根泌作用	植物的根部不只可以吸收養分及水分，還能分泌及過濾代謝物質，而植物體利用主動或是擴散方式將代謝物質經由根部排至體外，此代謝物質會抑制鄰近其他植物的生長。
洪與潘，2006; 袁，2016; 袁與蔣，2016	植物殘株降解作用	植物枯落物經微生物吸收分解後，於腐爛初期會產生大量有機物及酚類化合物，能抑制其他植物生長。

本研究彙整編修。

### 2.2.3 應用植物相剋作用於抑藻劑之研究

當前文獻對利用水生植物相剋作用抑藻的探討較多，Nakai et al. (1999) 透過初始投加及半連續投加試驗，證實植物是以連續釋放化學物質抑藻；Nakai et al. (2010) 在人工浮島上種植水蔥、水柳、黃菖蒲、石菖蒲、蘆葦等植物，結果表明水蔥、黃菖蒲、石菖蒲、蘆葦根部具有抑制銅綠微囊藻生長的物質；李鋒民與胡洪營 (2004) 研究發現蘆葦等 7 種大型水生植物對蛋白核小球藻有抑制作用；Della et al. (1992). 證實鳳眼蓮 (*Eichhornia crassipes*) 根系分泌物可使柵藻葉綠體細胞損傷、藻體黃化、葉綠素 a 含量顯著減少，造成光合放氧能力顯著下降，達到抑制柵藻生長的效果；

劉潔生等(2007)分析秸稈附著微生物及秸稈物理吸附作用對秸稈抑藻活性的影響，試驗結果顯示，一定量的物理破碎稻杆、麥杆及其浸出液均可有效抑制棕囊藻的生長，滅菌與未滅菌秸杆之間抑藻效果相差不大，但不同處理條件的秸杆浸出液總酚含量與抑藻作用間存在很大差異，表示微生物和物理吸附對秸杆抑藻作用的貢獻很小，秸稈中存在的或降解產生的抑藻活性成分是秸稈抑藻的主要原因。

前人利用植物次階代謝物抑制藻類生長的主要方式：(1)投加乾燥植物，利用植物體腐敗降解後釋放的次階代謝物抑藻；(2)從植物中提取次階代謝物，施入水體中抑藻；(3)栽種水生植物至待處理水體，利用活體植物釋放的次階代謝物抑藻（江與郭，2011；李與胡，2004；張、2016）。

表 2.6 植物抑藻相關文獻探討

屬性	節錄文獻	浸泡植物	浸泡方式	抑制藻種	研究結果
陸生	汪，2016	人面子、荔枝、白玉蘭落葉	收集地面樹葉洗淨烘乾後揉碎，以蒸餾水密封浸泡在 26℃ 人工氣候箱內 5 天。	銅綠微囊藻 ( <i>Microcystis aeruginosa</i> )	三種喬木落葉的水浸出液抑藻能力：人面子落葉>荔枝落葉>白玉蘭落葉；水浸出液抑藻的 EC <sub>50</sub> ：人面子落葉<荔枝落葉<白玉蘭落葉；第 15d 時,高濃度(2.0 g·L <sup>-1</sup> )人面子落葉水浸出液，使高比例的藻細胞發生潰縮。
陸生	朱等，2009	稻草	將風乾稻草秸稈剪碎浸泡於去離子水錐形瓶中，1 瓶密封置於 4℃ 低溫浸泡 4 天；1 瓶置於 25℃ 下缺氧浸泡 15 天與 30 天；1 瓶置於 25℃ 下曝氣充氧浸泡 15 天與 30 天。	銅綠微囊藻 ( <i>Microcystis aeruginosa</i> )	結果表明，稻草本身存在液藻活性物質。好氧及缺氧降解稻草浸泡液均可抑藻，隨著稻草降解時間延長，好氧降解處理方法對抑藻作用更為顯著。茶胺類、酯類和酚類，其中最為典型的酯類物質為鄰苯二甲酸二丁酯以及其衍生物。
陸生	李等，2013	小麥麩皮	以小麥麩皮加到去離子後的純水中，再置於	銅綠微囊藻 ( <i>Microcystis aeruginosa</i> )	小麥麩皮水浸泡液對銅綠微囊藻具有較強的抑制作用，結果顯示，當 WBL 濃度為 1.6 與 3.2g·L <sup>-1</sup> 時，微

屬性	節錄文獻	浸泡植物	浸泡方式	抑制藻種	研究結果
			115°C 濕熱蒸氣 滅菌鍋滅菌 15 分鐘，滅菌後離 心，取上清液。		囊藻毒 CHAB-109 單位細胞內葉綠 素 a 含量與類胡蘿蔔素含量顯著低 於對照組。
陸生	歐陽，2006	玉米莖稈、 玉米葉	將收割後的玉 米莖葉分離，洗 淨烘乾後粉碎， 160 目過篩，直 接加入藻液中 進行試驗 6 天。	塔瑪亞歷山大 ( <i>Alexandrium tamarense</i> )	滅菌與未滅菌玉米葉均能抑制藻細 胞的生長，玉米葉的抑藻作用強於 玉米莖稈。0.5 g · L <sup>-1</sup> 的玉米葉對密 度為 1.69 × 10 <sup>6</sup> cells · L <sup>-1</sup> 的塔瑪亞歷 山大藻的生長有明顯的抑制作用， 1.0 g · L <sup>-1</sup> 的玉米葉對藻細胞有去除 作用。推測脂肪酸可能是其中主要 抑藻物質。
陸生	柴等，2010	黃連、白頭 翁、獨活、羅 布麻、薄荷、取中藥乾品， 扁蓄、常山、山豆根、重 樓、防己、貫 眾	100°C 水浴 30min。	蛋白核小球藻 ( <i>Chlorella pyrenoidosa</i> )	浸泡液在低濃度時(1g · L <sup>-1</sup> )，半抑制 效應時間 LT <sub>50</sub> ；防己 < 重樓 < 黃連 < 貫 眾。防己浸泡液在高濃度(2g · L <sup>-1</sup> )處 理 3d，藻細胞幾乎全部死亡。黃連、 重樓、貫眾、防己浸泡液均有抑藻效 應，又以防己效果最好。
陸生	李等，2009	柳樹葉	取新鮮柳樹葉 片，80°C 烘箱中 乾燥 48h，粉碎 機粉碎，SE 培養 基浸泡，於 25°C 恒溫振盪器 48h。	蛋白核小球藻 ( <i>Chlorella pyrenoidosa</i> )	柳樹葉浸泡液對蛋白核小球藻具有 化感作用，低濃度(10 g · L <sup>-1</sup> 、20 g · L <sup>-1</sup> ) 浸泡液有先抑制後促進的特性， 高濃度(30 g · L <sup>-1</sup> ) 浸泡液則始終表現 出抑制效果。
水生	王，2010	蘆葦、香 蒲、紅蓼、過 穗狀狐尾藻	以 80°C 烘乾 48h 後，磨粉 200 目篩， 以蒸餾水置 於 25°C 浸泡 提取 48h。	銅綠微囊藻 ( <i>Microcystis aeruginosa</i> )	試驗表明，蘆葦、紅蓼對微囊 藻細胞數在低濃度促進，高濃 度抑制；香蒲幾乎均為促進； 穗狀狐尾藻幾乎均為抑制。 抑藻強度：蘆葦 > 穗狀狐尾藻 > 紅蓼

屬性	節錄文獻	浸泡植物	浸泡方式	抑制藻種	研究結果
水生	李與胡， 2004	蘆葦莖稈	烘乾蘆葦莖稈後粉碎，以乙醇浸泡提取。	蛋白核小球藻 ( <i>Chlorella pyrenoidosa</i> )	推測蘆葦含有 2-甲基乙醯乙酸乙脂、香豆酸、阿魏酸、沒食子酸等次階代謝物，為有效抑藻物。
水生	Nakai et al., 2000; Nakai et al., 2005	穗狀狐尾藻	將穗狀狐尾藻溶於甲醇，以高壓蒸氣滅菌釜殺菌後過濾 (0.22μm) 提取。	銅綠微囊藻 ( <i>Microcystis aeruginosa</i> )	穗狀狐尾藻釋放之多酚：鞣花酸, 沒食子酸, (+)-兒茶素及焦性沒食子酸, 均可抑藻；穗狀狐尾藻之脂肪酸中，以壬酸抑制效果最強。

本研究彙整編修。

## 2.2.4 研究材料次階代謝物成分

參考我國農業廢棄物生產類別及產量，以大葉欖仁落葉、稻蒿及茶渣作為本研究水浸泡液試驗基材，並參考 United States Environmental Protection Agency [U.S. EPA] 及 Organization for Economic Cooperation and Development [OECD] 試驗方法，以小球藻作為生長試驗受測生物。

### 一、大葉欖仁落葉

本研究以台大校園常見樹木-大葉欖仁 (*Terminalia catappa* L.) 為材料，鄭武燦 (2000) 記載其為使君子科欖仁屬，台灣原生落葉性喬木，秋冬葉轉紅，大葉欖仁適應性強且耐鹽耐旱，廣泛分佈於太平洋諸島、東南亞、中國華南、華西及海南島等地；台灣南部的高雄、屏東、恆春半島及蘭嶼為主要分佈地 (張等，2008；蔡等，1996)。

表 2.7 大葉欖仁活性研究彙整表

文獻	研究結果
林，1990	大葉欖仁果實及葉部的化學成分，主要以加水分解型鞣質為主，包含安石榴磷 (punicalin)、安石榴甙 (punicalagin)、訶子鞣酸 (chebulagic acid)、聯苯鞣質類化合物 (geraniin) 等。
蔡等，1996	蔡玉春等分析大葉欖仁樹之陰乾鮮葉、鮮葉及乾燥落葉之水抽出物中所含安石榴磷及安石榴甙的含量高低為：陰乾鮮葉 > 鮮葉 > 乾燥落葉。
Chen et al., 2000; 陳，2009	大葉欖仁葉部水提取物主要單寧成分為安石榴磷及安石 (continued)
Chen et al., 2000; 陳，2009	大葉欖仁乾燥落葉是台灣預防肝癌和治療肝炎的流行民間藥物。
王，2011	小型觀賞魚養殖業利用大葉欖仁紅葉浸泡液降低水中酸鹼度。
葛，2002	研究顯示，欖仁葉 SC-CO <sub>2</sub> 萃取物具有良好之抗致突變性和抗氧化性。
本研究彙整編修。	

## 二、稻蒿

水稻 (*Oryza sativa* L.) 為禾本科稻屬，分佈於全球（南極洲以外）地區，「蒿」音是指禾本科農作物成熟脫粒後剩餘的莖葉部分；台灣北部蘭陽平原是本省主要稻米產地之一，近來因氣候因素，採一年一作栽培制度。

表 2.8 水稻活性研究彙整表

文獻	研究結果
Mattice et al., 1998	從水稻 PI312777 的根系分泌物中，鑑定出部分具有活性作用的化感物質，如香草酸、安息香酸、阿魏酸、亞麻油酸、2-羥基肉桂酸、4-羥基肉桂酸、水解咖啡鞣酸和 2-羥基苯甲醛等。
Chou, 1998	水稻殘體降解後所產生的阿魏酸、對羥基苯甲酸、順式-4-羥基肉桂酸和鄰羥基苯乙酸 4 種酚酸類物質。
黃，2010、2013、2015	在分解的水稻殘留物水溶性萃取液中發現香草酸、沒食子酸、阿魏酸等；阿魏酸是一種苯基丙烷代謝物且是一種強烈的相剋化合物。
本研究彙整編修。	



### 三、茶渣

茶樹 (*Camellia sinensis* L.) 為山茶科山茶屬，多年生常綠喬木，源於中國，分佈於台灣、印度、越南、柬埔寨、印尼、斯里蘭卡等亞熱帶及熱帶氣候區。林木連等 (2009) 統計台灣以青心烏龍栽種面積最廣，經由不同製程可以做出不同茗茶。Chiu et al. (2015) 從青心烏龍中分離出 SCPL (serine carboxypeptidase-like)，認為有抗老化的效果。

表 2.9 茶葉活性研究彙整表

文獻	研究結果
楊，2009	茶葉所含化學成分主要有兒茶素、咖啡因、礦物質、維生素等。
傅與吳，2011	1. 經提取的茶渣仍殘留 1-2% 的茶多酚、0.1-0.3% 的咖啡鹼、17-19% 的粗蛋白、16-18% 的粗纖維、氨基酸中賴氨酸和蛋氨酸的組成分別為 1.5-2% 和 0.5-0.7%，且茶渣中含有一定量的茶葉蛋白。
	2. 茶渣中含有大量不溶性物質如蛋白質、多醣等，總提取率偏低，有待進一步研究優化提取技術。
彭，2007	1. 綠茶在低濃度 ( $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) 時，有不錯的 DPPH 抗氧化能力 (73%) 及還原力 (0.9%)，其 DPPH 抗氧化能力為樣品中最佳，可能和其含有豐富的多酚類有關。
	2. 綠茶樣品的總酚類化合物含量和 DPPH 清除率呈高度正相關 ( $r=0.88$ )

本研究彙整編修。

## 2.3 水體環境毒性試驗

毒理學之父 Paracelsus (1493-1541) 曾說：「所有的物質都有可能成為毒物，而是否會成為毒物則取決於所暴露的『劑量』」。由於次階代謝物相互間會產生協同 (synergistic)、累加 (addition)、增益 (potentiation) 及拮抗 (antagonistic) 等不同效應作用 (Whittaker & Feeny, 1971; Chou, 1998、1999、2010)，若以植物次階代謝物作為除藻劑時，可能包含多種類別複雜的毒性或抑制性化合物，經由生物直接測試，較能反映出低劑量化學物質對水體環境的實際影響 (U.S. EPA, 1991, 2002)。



### 2.3.1 毒性試驗方法及危害級別概述

U.S. EPA (1991, 2002) 提到水中毒性物質試驗方法包括物理、化學、生物以及預測毒性劑量等範疇，主要探討有毒物質在水環境中之效應；劉鎮宗（1998）在環境毒物學概論中提到，考量毒性物質在環境及食物鏈中之流佈、代謝、生物濃縮以及其對個體及群體產生之不良影響，若僅利用化學分析的方法，並不能完全表達毒性物質對環境或生物所造成的危害程度；參考 U.S. EPA, OECD 試驗方法，透過水中生物作為評估化學物質或水體環境安全性的初級篩選手段，較能反映出毒性物質對水體環境的實際影響。

致毒作用與生物接觸毒性物質的時間長短有密切的關係，我國「農藥理化性及毒理試驗準則」將試驗項目依接觸毒性時間的長短分為急性毒性試驗 (acute toxicity testing)、亞慢性毒性試驗 (subchronic toxicity testing)、慢性毒性試驗 (chronic toxicity testing) 及致變異性 (mutagenicity testing)，惟毒性試驗多半為半定性分析，僅能得知該水樣對水體中生物具危害與否，無法準確說明致毒之原因；劉（1998）提到，慢毒性試驗係指毒性物質對生物長期性的影響，包括死亡率、生長遲緩及繁殖率下降等情形，急毒性試驗是在於特定情況下，短期內（接觸時間 48-96 小時）觀察個體死亡或活動受抑制等立即性之影響；毒性強度以試驗生物的半數致死濃度表示 (LC50; 50% of lethal dose)，此數值越小毒性越強 (Farré & Barceló, 2003)。

### 2.3.2 毒性試驗物種

可用於評估水體環境的試驗物種，包括初級生產者（如藻類）、初級消費者（如動、植物性浮游動物）、次級消費者（如魚類）等 (U.S. EPA, 2002)；選擇試驗物種之條件應考量來源供應容易、成本不高、培養容易且養殖空間不大、對環境具高敏感性、生命週期短、結果再現性高等。

因不同生物之敏感性顯著不同，生物毒性檢測得選定有脊椎動物之羅漢魚、鯉魚（次級消費者）擇一，及水蚤、米蝦（初級消費者）擇一，進行兩種生物檢測（許等，2009）；選擇毒性試驗指標生物的因素，歸納如下（劉，1998）：

- 一、對化學物質敏感性高且對有毒物質種類可測試之範圍廣；
- 二、培養容易繁衍迅速，容易購買，
- 三、為水生食物鏈之初級消費者，不破壞水體生物相。不致造成水體環境污染；

表 2.10 常見之淡水水生生物毒性試驗方式

測試指南	方法	測試物種	測試時間	實驗終點
NIEA B901.14B, 2013; U.S. EPA, 2002; OECD 202, 2004.	水蚤靜 水式	水蚤 ( <i>Daphnia magna</i> ) 	48 小時	1. 48h - LC <sub>50</sub> 或急毒性單位 (acute toxic unit, TUa)。 2. 水蚤第二觸角、胸腳及後腹部等部位明顯不活動，並經輕敲燒杯亦無反應。
NIEA B905.12B, 2011.	米蝦靜 水式	多齒新米蝦 ( <i>Neocaridina denticulate</i> ) 	48 小時	1. 48h - LC <sub>50</sub> 。 2. 觸、鬚及鰓的活動停止；蝦體經輕觸無反應。
NIEA B902.12B, 2011; U.S. EPA, 2002; OECD 203, 1992.	羅漢魚 靜水式	羅漢魚( <i>Pseudorasbora parva</i> ) 	96 小時	1. 96h - LC <sub>50</sub> 。 2. 鰭及鰓的活動停止；輕觸無反應。 (continued) 3. 最低觀察到效應濃度 (LOEC)。 4. 未觀察到效應濃度 (NOEC)。
NIEA B904.12B, 2011; U.S. EPA, 2002; OECD 203, 1992.	鯉魚靜 水式	朱文錦 ( <i>Carassius auratus</i> ) 	96 小時	1. 96h - LC <sub>50</sub> 。 2. 鰭及鰓的活動停止；輕觸無反應。 3. 最低觀察到效應濃度 (LOEC)。 4. 未觀察到效應濃度 (NOEC)。
NIEA B906.10B, 1999; U.S. EPA, 1996; OECD 201, 2006	藻類生 長阻害 試驗	小球藻 ( <i>Chlorella vulgaris</i> ) 	24、72 小 時	1. 72h - EC <sub>50</sub> (OECD 201, 2006); 24h - EC <sub>50</sub> , and NOEC (NIEA B906.10B, 1999)。 2. 化學物對藻類生長性的影響。

國際上常使用之毒性試驗指標生物概述如下：



### 一、水蚤 (*Daphnia magna*)

自 18 世紀生物學研究起，水蚤一直作為環境監測、水生生態毒理學、水產養殖和水生物生態的理想模式生物，Farré & Barceló (2003) 提到這個物種可消除水中微藻，細菌和碎屑；且水蚤在生長環境適合時，均以孤雌生殖，親代子代基因相似，可降低試驗變異性，具一致性及再現性，並且可人工培養繁殖 (劉，1998)；Farré & Barceló 也提到在生物毒性試驗中，常以水蚤 (*Daphnia magna*) 或模糊網紋蚤 (*Ceriodaphnia dubia*) 作為靜水式的生物毒性試驗，試驗時間 24-48 小時，毒性以 EC<sub>50</sub> 表示。

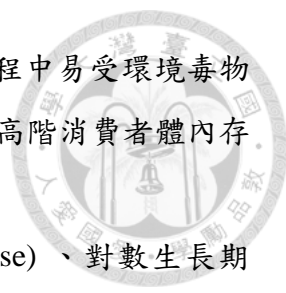
本研究以水蚤 (*Daphnia magna*) 進行試驗，試驗前先馴養水蚤並進行尋找範圍試驗 (Range Finding Test)，之後再進行確定試驗 (Definitive Test)。為了減低生物偵測結果的變異性，皆以單一小球藻餵食。

### 二、魚類

因為魚類毒性試驗已有許多已發表文獻可供比較，馴養與繁殖技術成熟、來源穩定，可自行繁殖供應，是魚類廣泛使用的原因。魚類的毒性試驗常以胖頭鰻 (音：貴) (fathead minnow) 或虹鱒 (rainbow trout) 作為試驗物種，試驗進行 96 小時，並且需要有較大較特定的流水式試驗裝置，毒性以 LC<sub>50</sub> 表示 (Farré & Barceló, 2003)；其中以 fathead minnow 流經急毒性的測試 (flow-through Pimephales acute toxicity) 96h - LC<sub>50</sub> 使用最廣泛，為美國環保署所使用的標準方法之一 (許等，2009；廖，2010)。

### 三、小球藻 (*Chlorella vulgaris*)

由於藻類廣泛生長於天然水體中，因種類繁多、個體小、容易觀察、成本低、生長迅速且對環境具高敏感度，為水體生物食物鏈中初級生產者，藻類種群和數量變化，都將影響其他水生生物的族群發展 (許等，2009；廖，2010)；藻類常被用來測試水體環境內有機化合物的原因，根據前人研究，歸納如下：

- 
- (一).藻類為食物鏈最低階的生產者之一，由於生長過程中易受環境毒物影響，發生生物濃縮作用 (bioconcentration)，造成高階消費者體內存有濃度甚高的毒性物質（謝，2009）。
- (二).藻類生長過程可分成四個階段：遲滯期 (lag phase)、對數生長期 (logarithmic phase)、穩定期 (Stationary phase)、死亡期 (Death phase)（黃，2009）；在毒性試驗過程中，可迅速讓藻類到達指數生長期和穩定期，並且持續一段較長的時間，有利於試驗的進行。
- (三).藻類為單細胞生物，不易因生物體內基因多樣性，而有不同的試驗結果（廖，2010）



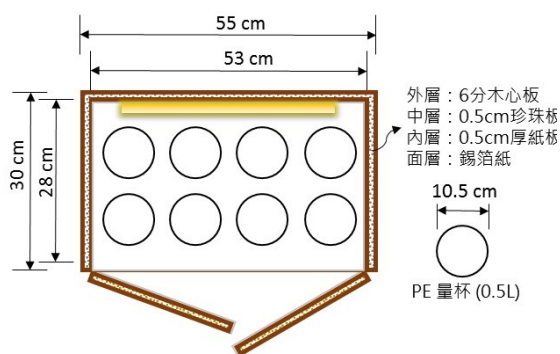
### 第三章、試驗設備與研究方法

#### 3.1 試驗設備

##### 一、自製恆溫浸泡/生長箱

自製恆溫浸泡/生長箱箱體是利用木作層板書架為主體，將書架內部五面先以 0.5 cm 珍珠板覆蓋，於珍珠板表面再貼上 0.5 cm 厚紙板並覆以錫箔紙；箱門以 0.5 cm 厚之紙板 2 片，中間填塞 0.5 cm 珍珠板，門內側用錫箔紙貼面，以便隔熱、保溫、遮光。生長箱內尺寸 55 (L) × 30 (D) × 32 (H) cm<sup>3</sup>，以活動盤架分為 2 層，上層高度約為 16 cm，箱底鋪佈可控溫加熱墊，根據室溫和恆溫箱的保溫程度，將生長箱內溫度維持在試驗所需範圍。

每層裝設 1 具 PL36W、色溫 7200 k 的燈具，以霧面 PC 耐力板遮擋光線避免強光影響藻種生長，用照度計量測光照時各層照度差不超過 500 lux；將電子溫度計探針放置於箱內，顯示面板貼於箱門外側，以方便觀測，並在光週期 16:8 (hr) 下試驗 3 天，每天溫度變化不超過 2℃。控溫器、打氣泵、燈源定時器均由箱門右下鑽孔牽至箱外，並以棉花塞住空隙減少失溫。浸泡環境溫度 5 ± 2℃ 之試驗組，則置於冰箱冷藏處理。



(a) 生長箱平面示意圖



(b) 生長箱 3D 模擬圖



(c) 生長箱內部



(d) 生長箱外觀










(e) 藻種培育中

圖 3.1 自製生長箱設計圖及成果



## 二、其他設備

表 3.1 試驗設備表







編號	品名	功能	品牌及型號	照片
1	血球計數盤	計算細胞數目	Marienfeld Hemocytometer	
2	熱風恆溫烘烤箱	125~250℃	上豪 AX-787M	
3	紫外線消毒烘乾箱	溫度 55 ± 5℃， 紫外線燈管 Philips TUV 6W G6T5，UV-C 237.5nm	Nac Nac UA0013	
4	電子秤	誤差範圍±0.03g，工作溫度 0~40℃，精準度 0.01 g，量測範圍 0.01 ~ 500 g	Superior mini digital platform Scale I-2000	
5	電子式溫度計	誤差範圍±1℃，工作溫度 -5~50℃，解析度 0.1℃，量測範圍 -50 ~ 99℃，濕度 5%~80%，防水探頭	Digital Thermometer	
6	TDS 計/EC 計/溫度計	誤差範圍±2%，工作溫度 0~99℃，量測範圍 TDS:0~9999ppm、EC:0.2μs/cm ~ 19.99 mS/cm	ATC 第 4 代 TDS 三合一測試筆	
7	酸鹼度計	誤差範圍±0.1pH，工作溫度 0~50℃，解析度 0.1pH，量測範圍 0.0~14.0 pH。	ATC 溫度補償 pH 測試筆	




(continued)

編號	品名	功能	品牌及型號	照片
8	電子照度計	量測範圍 1 lux ~ 50,000 lux	GE012LX-1010B	
9	曝氣設備	4000*2 cc./min，壓力 0.25 kg/cm2	Rambo EP-8000	
10	加熱墊	三段式調溫 60°C、40°C、32°C	LP pet	
11	燈具	PL36W, 7200k	Mr. AQUA	
12	LMS 微量離心機	6000 rpm，220V	AL-MCF2360	
13	微型離心管	1.5mL，附蓋	-	

(continued)



編號	品名	功能	品牌及型號	照片
14	定量濾紙	孔徑 4um，厚度 0.21 mm，過濾時間 195 秒，應用於一般定量過濾	TOYO 定量濾紙 NO.5B., CT -05B110	
15	三角錐形瓶	2000 mL，硼矽玻璃	德州儀器，AB-5021663	
16	PP 量杯	500 mL	拓生科技有限公司，G1-1068	
17	固定式 Fixed Volume Pipette	100 µL	Gilson AWE-772025	
18	離子層析儀 (IC 儀)	採用化學抑制法對陰離子或陽離子進行色譜測定	Metrohm 883 Basic IC plus	
19	生物顯微鏡	廣角目鏡 10x，物鏡 x4、x10、x40、x100	Olympus CH2 Biological Medical Microscope	

編號	品名	功能	品牌及型號	照片
20	電子防潮箱	25~55% RH調整,和緩降濕,大面積平衡控濕	收藏家,DX-76 全功能電子防潮箱	
21	PE 儲水桶	儲水用 (附水龍頭), 31 cm (W) * 16 cm (D) * 26 cm (H) , 容量 10000 mL	鐵人牌	
22	定時器	機械式設計,每次定時間隔 15 分鐘	太 星 電 工 , AC110~125V/60Hz	

## 3.2 試驗材料

### 一、農業廢棄物材料試驗材料來源說明

(一).大葉欖仁落葉：2016 年 2 月撿拾自台大校史館前掉落地上之紅葉進行處理。



(a)校史館前



(b)椰林大道旁

圖 3.2 校園大葉欖仁種植處

(二). 稻蒿：試驗稻蒿購自宜蘭縣冬山鄉農會一期稻作，收割後未清洗整理之殘株。

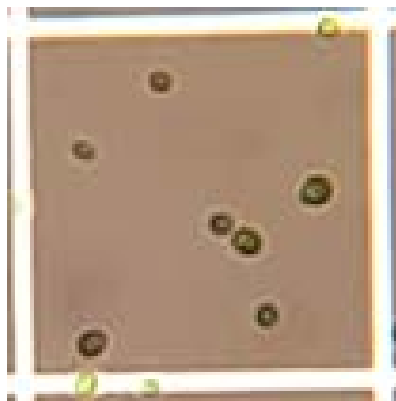
(三). 茶渣：試驗茶葉購自臺北市南港區農會所生產之包種茶，為青心烏龍品種，於茶期八月至九月所採製的秋茶。取茶葉 800 g，以 2000 mL 沸水浸泡 5 分鐘後倒掉茶湯，重複進行 3 次。

## 二、小球藻

本試驗的藻種購自嘉義大學生命科學院檢驗分析及技術推廣服務中心，採用台灣已經有基本培養技術和應用的淡水小球藻；供試小球藻具有葉綠體及細胞壁，屬於綠球藻科 (Family *Chlorellaceae*)、綠球藻屬 (Genera *Chlorella*)，外觀為球型或略為圓球形之單細胞藻類、成群體但不糾結、不能移動，藻細胞大小約 2 - 8  $\mu\text{m}$  (沈，2009；謝，2009)。

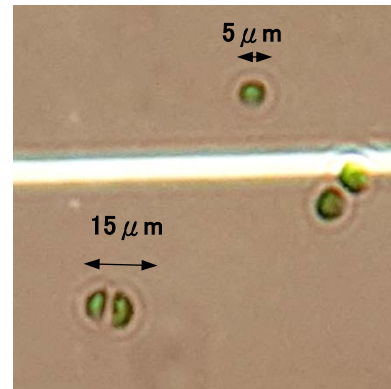


(a) 藻種培育



(b) Biological Microscope

100x 鏡檢



(c) Biological Microscope

400x 鏡檢

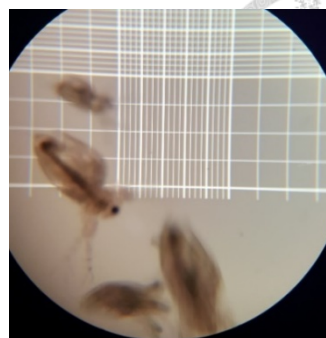
圖 3.3 小球藻培養觀察

## 三、水蚤

為避免低毒性風險的發生，本研究選擇對環境敏感性高、操作方便，具經濟性的水蚤進行毒性測試。試驗使用之乾燥水蚤卵購自蝦樂樂活化石生命教材開發中心，參考環保署生物急毒性檢測方法—水蚤靜水式法之馴養環境，自行孵化、馴養水蚤作為水浸泡液急毒性測試物種。



(a) 育卵盒



(b) 顯微鏡 100x 鏡檢

圖 3.4 水蚤培養觀察

#### 四、培養液

培養基質來源是參考弘榮實業有限公司，秤取花寶 4 號 1 g 加入 1 L 純水溶液配置成  $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  花寶 4 號培養液。

表 3.2 花寶 4 號複合肥料成分表



登記成分	組成比例 (%)
N (內含 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ )	25.0 (4.5)
$\text{P}_2\text{O}_5$	5.0
$\text{K}_2\text{O}$	20.0

註：

- 外觀描述：粉狀、淺紫色；
- 肥料登記證號碼：肥進(複)字 0110025 號；
- 製造商：The HYPONeX Corp., OH, USA；
- 肥料品目：複合肥料。

### 3.3 研究方法

#### 3.3.1 藻類生長動力學模型與生長曲線

微生物的生長週期因其種類不同而異，單細胞微生物與多細胞微生物的群體生長表現出不同的生長動力學特性（謝，2009）；就單細胞微生物而言，在特定的環境中，若將 Y 軸設為每毫升培養液中微生物總細胞數目的對數，X 軸為培養時間，可得微生物之生長曲線，不同種的微生物表現出趨勢相近的生長動力學規律（黃，2009；謝，2009；林與彭，2015）。



## 一、藻類生長動力學模型

動力學研究可以有效的了解基質是否有效的抑制藻類，參考藻類的生長動力學常用之 Monod Equation 公式（黃，2009；鄭，2015；黃，2015），利用比生長速率與基質濃度做圖，以求得相關之動力學參數值。

在批次培養、固定碳源下，小球藻對數生長期及穩定期的比生長速率與非抑制性濃度的關係可由 Monod 方程式求得，將  $\frac{1}{\mu}$  對  $\frac{1}{S}$  作圖，線性擬合後，斜率為  $\frac{K_{max}}{\mu_{max}}$ ，截距為  $\frac{1}{\mu_{max}}$ ：

$$\mu = \left(\frac{1}{X}\right) \left(\frac{dX}{dt}\right) = \frac{\mu_{max} \times S}{K_S + S} \quad (1-1)$$

$$\Rightarrow \frac{1}{\mu} = \frac{K_S}{\mu_{max}} \times \frac{1}{S} + \frac{1}{\mu_{max}} \quad (1-2)$$

其中， $\mu$ ：比生長速度， $\mu = 2.303 \times K_S$ ，單位： $\text{day}^{-1}$ ；

$\mu_{max}$ ：小球藻最大比生長速率，單位： $\text{day}^{-1}$ ；

$X$ ：小球藻藻細胞濃度，單位： $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ；

$S$ ：基質濃度，單位： $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ；

$K_S$ ：半飽和常數，當  $\mu = \frac{\mu_{max}}{2}$  時的基質濃度，單位： $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

$$K_S = \frac{\lg X_n - \lg X_0}{t_n - t_0} \quad (1-3)$$

## 二、生長曲線

單細胞藻類與其所處環境間進行物質與能量交流，以及細胞與環境間相互作用與制約的動態變化，均可以藻細胞濃度或乾重與時間的關係圖表示；由生長曲線圖可觀察藻類生長、代謝特性，生長過程可以分為4個階段（黃，2009；謝，2009），各階段的特性如圖 3.5。



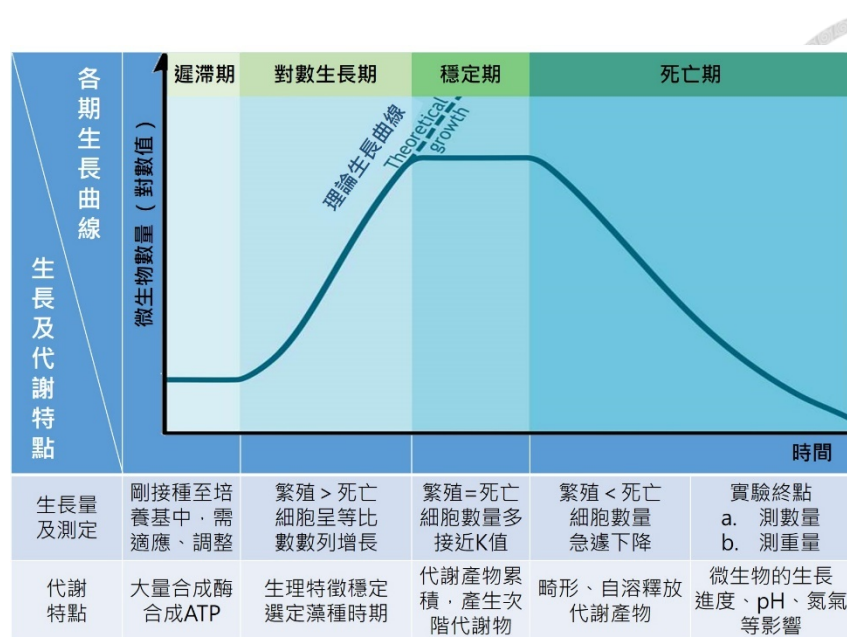


圖 3.5 藻類生長曲線示意圖

資料部分節錄自：黃，2009；謝，2009。本研究彙整編修。

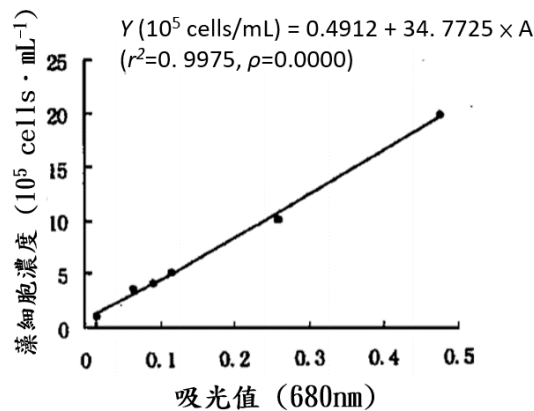
為提高試驗結果的準確度與精密度，在進行抑制藻類增生試驗時應注意以下因素：

#### 一、實驗終點

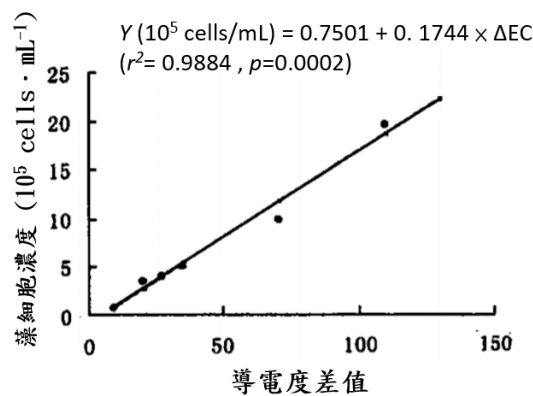
過長的試驗時間，會使得存在於藻液中的營養鹽類不足，使藻類死亡 (Lin et al., 2005)，而非因投加浸液；又因毒化物可能產生降解的情形，如蒸發、水解、分解、反應等，及分解速率、半衰期等，與試驗時間長短有明顯的關聯，使得毒性反應隨試驗時間增長而消失 (Lin et al., 2005)；為解決溶液蒸發的技術問題，藻類培養時間可以少於 4 天 (馬等，2000)。

#### 二、量測方式

量測藻類生長量有下列幾種：細胞密度、細胞總體積、乾重、葉綠素 a、活體內螢光值、營養基濁度、溶氧測定 (Chen et al., 2000)、 $^{14}\text{C}$  輻射標定法、ATP 及 DNA 等等之參數。大部分文獻以不同波長之分光光度計測定藻類光密度法，但光密度法在測定波長的選擇上存在很大分歧，被認為精確度欠佳，只能用於相對定量 (崔等，2012)；Grossmann et al. (1992) 指出，由於藻細胞分解釋放了大量細胞內含物於水體中，導致水體電導率 EC 值增高，因此，也可以用電導率作為指標；馬建義等 (2000) 發現在不同濃度下，顯微鏡計數的藻細胞濃度與電導度差值 ( $\Delta\text{EC}$ ) 呈線性關係。



(a) 吸光值 680 nm



(b) 電導度差值

圖 3.6 藻細胞濃度與不同參數之關係

資料部分節錄自：馬建義等（2000）用蛋白核小球藻 (*Chlorella pyrenoidosa*) 評價除草劑活性的微型篩選方法研究。農藥學學報，2: 31。本研究彙整編修。

### 3.3.2 毒性回歸分析

Crump et al. (1976) 研究以低劑量風險評估 (Low Dose Response Assessment) 致癌過程的生物毒性試驗時，生物體受毒性物質影響或死亡之百分率，會隨著毒性物質濃度的變化，而呈現 S 型曲線形狀，此曲線稱為劑量-反應曲線 (dose-response curve)；在劑量-反應曲線座標中，X 軸代表毒性物質的劑量 (單位：ppm 或  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ )，而 Y 軸代表毒性物質對受測生物體的抑制率或死亡率 (單位：%)。Jeebhay et al. (2007) 在職業毒理學概論提到，劑量-反應曲線的曲線形狀和斜率有助於預測特定物質的毒性劑量。對藻類抑制若能有良好的生長動力模型，將有助於提高浸液抑制效率以及浸泡程序之最佳化。

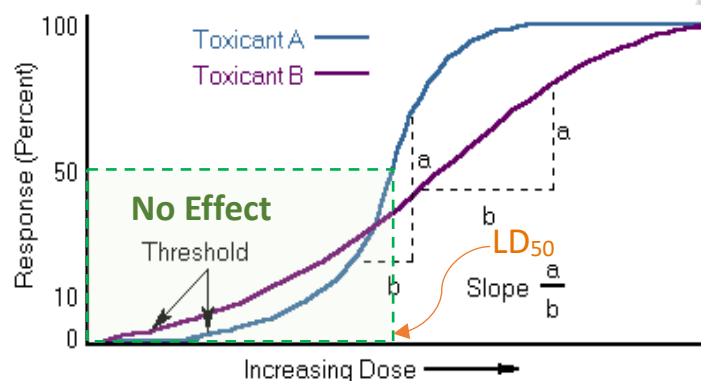


圖 3.7 劑量-反應曲線

- 註：1. 上圖中 Toxicant A 的劑量-反應曲線斜率大於 Toxicant B 表示：Toxicant B 在低劑量下毒性較大，而 Toxicant A 在高劑量下毒性較大。
2. 資料部分節錄自：Jeebhay et al. (2007). Introduction to Occupational Toxicology: TOX 1.9: Toxicodynamics. 本研究彙整編修。

Treva 於 1927 年在毒性試驗過程中，將經由河流或湖水途徑暴露所造成半數受測生物死亡或影響之濃度以  $LC_{50}$  表示，造成半數受測生物受毒性影響時之最小影響濃度以  $EC_{50}$  表示，造成半數受試生物發育速度影響之濃度以  $IC_{50}$  表示；根據受測物種的不同，其  $LC_{50}$ 、 $EC_{50}$  數值亦有不同，單位以 % 或  $g \cdot mL^{-1}$  表示，一般急毒性測試係根據測試生物 48-96 小時毒性測試結果，計算出測試生物之  $LC_{50}$ （鄭，2015）。

U.S. EPA (2002) 建議，依不同試驗結果選擇適當方式計算  $LC_{50}$ ：(1) 全無部分死亡的情形時，採用圖解法 (Graphic Method)；(2) 有 2 個或 2 個以上是部分死亡的情形時，採用概率單位法 (Probit Method)，但要以平方適合度檢定方式，確定 Probit model 是否適用；(3) 若前項不適用或是只有 1 個有部分死亡的情形時，則使用史丕曼-卡伯法 (Spearman-kärber Method) 或史丕曼-卡伯修正法 (Trimmed Spearman-kärber Method)。計算方法概述如下（鄭，2015）：

#### 一、圖解法

(一). 分別以時間、細胞濃度為橫、縱坐標繪製生長曲線，再根據生長抑制曲線所包圍面積，求  $LC_{50}$  生長曲線所包圍面積：

$$A = \frac{(X_1 - X_0)t_1}{2} + \frac{(X_1 - X_2 - 2X_0)(t_2 - t_1)}{2} + \frac{(X_{n-1} - X_n - 2X_0)(t_n - t_{n-1})}{2}$$





式中： $X_0$ ： $t_0$ 時刻藻類起始細胞數，單位： $\text{cells} \cdot \text{mL}^{-1}$ ；

$X_1$ ： $t_1$ 時刻藻類細胞數，單位： $\text{cells} \cdot \text{mL}^{-1}$ ；

$X_n$ ： $t_n$ 時刻藻類細胞數，單位： $\text{cells} \cdot \text{mL}^{-1}$ ；

$t_1$ ：試驗開始後第 1 次測定時間，單位： $\text{hr}$ ；

$t_n$ ：試驗開始後第  $n$  次測定時間，單位： $\text{hr}$ 。

(二). 相應濃度下藻細胞生長抑制率 (inhibition rate, IR)

$$IR = \frac{(A_c - A_t)}{A_c} \times 100 \quad (1-4)$$

式中： $A_c$ ：對照組生長曲線所包圍面積；

$A_t$ ：處理組生長曲線所包圍面積。

## 二、概率單位法

(一). 以對照組生長率  $R$  為 100%，求各處理組的生長百分率  $r$ ，再根據百分比與概率單位對照表，查得經驗概率單位，分別以濃度對數、經驗概率單位為橫、縱坐標製圖，曲線上任選兩點，對應概率單位  $Y_1$ 、 $Y_2$  和劑量對數  $X_1$ 、 $X_2$  相關：

$$\frac{Y_1 - Y}{X_1 - X} = \frac{Y_2 - Y}{X_2 - X} \Rightarrow Y_1 = Y + \frac{(X_1 - X) \times Y_2 - (X_2 - X) \times Y}{X_2 - X}$$

(二). 求出  $a$ 、 $b$  值，代入各劑量對數，求得概率單位計算值，反查表得對照組估計生長率  $R$  及各處理組的生長百分率  $r$ ；

(三). 求卡方值

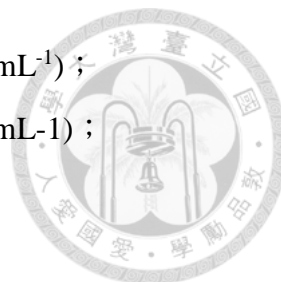
將各處理組的卡方值相加，查卡方值表。若  $P > 0.05$  表示差異不顯著，即可計算  $LC_{50}$ 。

## 三、生長速率法

(一). 藻類生長曲線呈指數型，可以根據比生長速率、生長抑制率、死亡率求抑制率  $IC_{50}$  或死亡率  $LC_{50}$  的相應濃度；

(二). 比生長速率 ( $\mu$ )

$$\mu = \frac{\ln X_n - \ln X_0}{t_n - t_0} \quad (1-5)$$



式中： $X_0$ ：規定時間開始時之藻細胞密度 (cells · mL<sup>-1</sup>)；

$X_n$ ：規定時間結束時之藻細胞密度 (cells · mL<sup>-1</sup>)；

$t_0$ ：測定  $X_0$  時的日期 (day)；

$t_n$ ：測定  $X_n$  時的日期 (day)。

(三). 比生長抑制率 (*IR on specific growth rate*)：單位時間內，處理組與對照組比生長速率之差值，相對於對照組之比生長速率的比值：

$$IR_s = 1 - \left( \frac{\mu_{tox} - \mu_{cg}}{\mu_{cg}} \right) \times 100\% \quad (1-6)$$

式中： $\mu_{cg}$ ：對照組的比生長速率，單位：day<sup>-1</sup>；

$\mu_{tox}$ ：加了測試化合物的比生長速率，單位：。

(四). 相對生長抑制率 (*IR on relative growth rate*)：單位時間內，處理組與對照組之藻細胞濃度差值，相對於對照組與初始濃度之藻細胞濃度差的比值。

$$IR_r = 1 - \left( \frac{X_{tox} - X_{cg}}{X_{cg} - X_0} \right) \times 100\% \quad (1-7)$$

(五). 將測試化合物濃度與生長抑制率作一元線形回歸，求 IC<sub>50</sub> 或 LC<sub>50</sub>。

#### 四、毒性劑量反應迴歸

以概率單位法 Probit 擬合毒性迴歸線 LC-p line，計算水體有毒物質的 LC<sub>50</sub> 及其 95% 可信賴區間，毒性迴歸方程式：

$$f = a(1 - e^{-b(x-c)}) \Rightarrow Y(\text{Probit}) = a + b \times \log_{10}(\text{dose}) \quad (1-8)$$

### 3.4 預備試驗

為評估小球藻及水蚤對浸液次階代謝物的耐受範圍，先進行酸鹼度範圍尋找試驗 (range finding test)，在與確定試驗相同之環境條件 (表 3.4) 中進行預備試驗，以 NaOH 溶液、HCl 溶液與花寶 4 號培養液進行 pH 值濃度調整，觀察 2 種受試生物之生長活性、可承受的最高  $H^+$  濃度和最大生物量，透過多變量迴歸分析各項生長參數值及  $LC_{50}$  濃度，最後由 F test 篩選最佳模式，作為正式試驗的參考。

參考徐崇仁等 (1999) 建議，微藻培養之接種量佔培養水體 5-20 % 為宜，接種處於對數生長期  $\mu \geq 0.72 \text{ d}^{-1} = 0.03 \text{ h}^{-1}$  (環保署, 1999) 的小球藻 (初始密度為  $165 (\pm 10) \times 10^4 \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}$ )，其他相關試驗環境設定如表 3.3：

表 3.3 試驗環境控制項目

環境控制項目	數值	單位
溫度	$28 \pm 2$	$^{\circ}\text{C}$
光源 (冷白螢光源)	7200	k
光強度 (隨機交換位置，減少差異)	$5000 \pm 500$	lux
光週期 (L:D)	16:8	hr
藻種初始投加密度	$165 \pm 10$	$10^4 \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}$
搖瓶次數 (早、晚 7 點各 1 次，至藻類無沉澱)	2	$\text{times} \cdot \text{day}^{-1}$
水體每公升曝氣量	$2000 \pm 200$	$\text{cc} \cdot \text{min}^{-1}$
花寶 4 號培養液 ( $\text{pH} = 6.88 \pm 1$ )	1	$\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$

資料部分節錄自：林與彭，2015；黃，2009；弘榮實業有限公司，2017；徐等，1999。本研究彙整編修。



### 3.4.1 小球藻前培養

試驗所需的藻類購自嘉義大學生命科學院檢驗分析及技術推廣服務中心，依環保署試驗物種前培養條件，進行小球藻前培養，擴大藻源供試驗使用。

表 3.4 試驗物種前培養條件

試驗方法	物種	溫度 (°C)	光照時間 (hr)	前培養時間 (周)
NIEA B906.10B (環保署，1999)	小球藻	25 ± 2	16 (L) : 8 (D)	4
NIEA B901.14B (環保署，2013)	水蚤	25 ± 2	16 (L) : 8 (D)	3

本研究彙整編修。

為使小球藻維持在對數生長期，達到縮短遲滯期時間，快速反應浸液對其生長之影響，試驗設置處理組（半連續式培養，semi-continuous culture）及對照組（批次培養，batch culture），並以 F test 篩選小球藻生長迴歸模型。

#### 一、培養方法

- (一) 取 2000 mL 新的錐形瓶以純水潤洗後，於 UV-C 237.5 nm 紫外線燈箱滅菌 60 min，加入花寶 4 號培養液 1000 mL ( $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ )。
- (二) 接種處於對數生長期  $\mu \geq 0.72 \text{ d}^{-1} = 0.03 \text{ h}^{-1}$  的小球藻 100 mL，接種後小球藻密度約  $15 (\pm 1) \times 10^4 \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}$ （初始密度為  $165 (\pm 10) \times 10^4 \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}$ ）。
- (三) 混合後置於生長箱中，馴養環境同表 3.3 進行 20 天，每 24 小時計算小球藻細胞濃度、pH、EC 值。
- (四) 對照組採批次培養，於試驗開始添加足夠之培養液，試驗開始即不再添加，直到實驗終點。
- (五) 處理組採半連續式培養，當小球藻之比生長速率開始下降時，取出 1/3 - 1/5 原藻液體積（徐等，1999）再補充新鮮培養液至原有體積，保持處理組瓶內的總體積不變。重複上述步驟逐漸擴大培養。
- (六) 剛更換新鮮培養液之藻體不得立即進行試驗。

## 二、培養流程

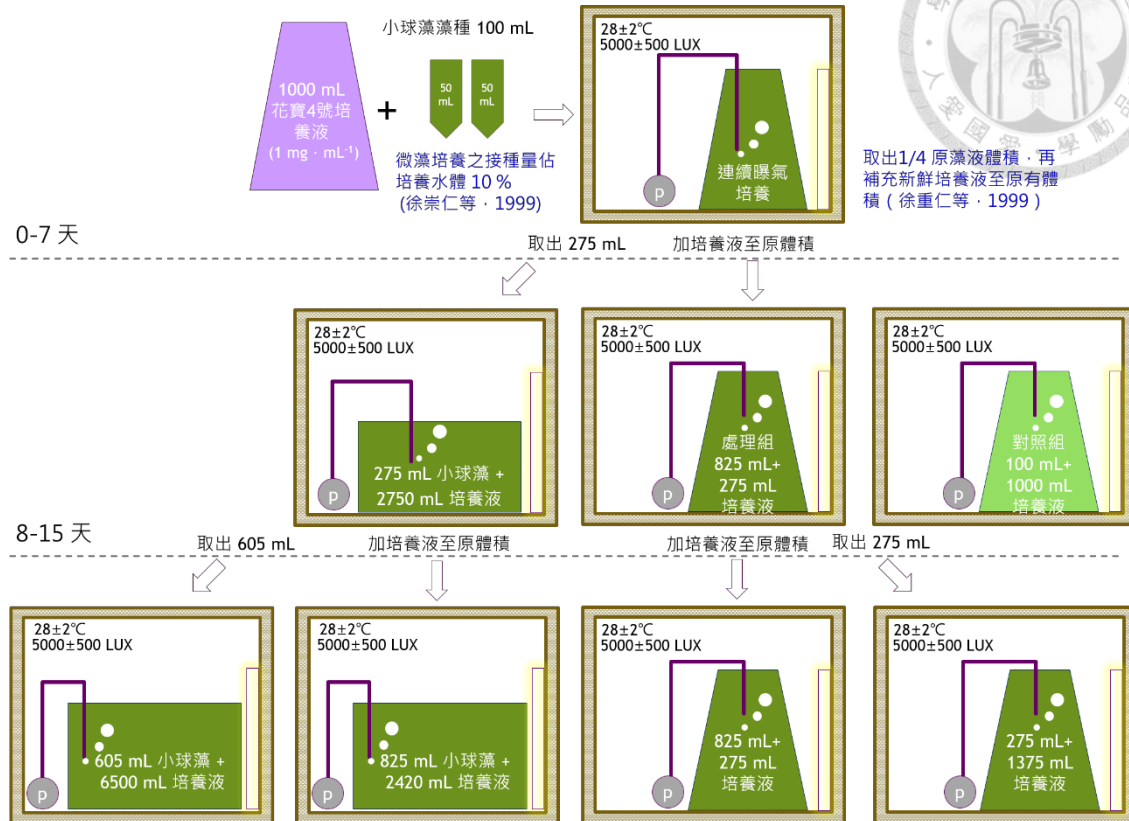


圖 3.8 小球藻培養流程圖



圖 3.9 培養過程照片

## 三、數據分析

試驗結果以各組藻細胞濃度與  $\Delta EC$  表示，各項生長參數值採用 ANOVA 簡單線性迴歸分析，最後由 F test 檢定迴歸模式的統計顯著性。

## 四、試驗結果

實驗終點設計在接種後第 20 日；對照組培養在一定體積的培養基中，不添加額外的培養基。處理組每間隔一段時間，取出部分藻液，然後再添新鮮的培養基補充至原有體積繼續培養。

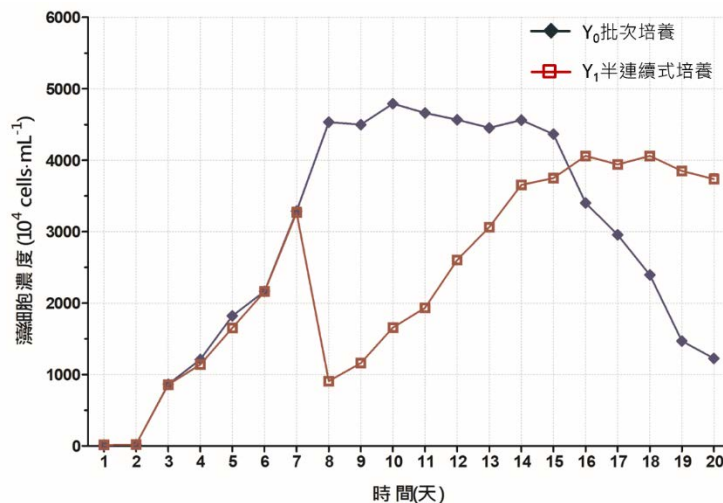


圖 3.10 小球藻培養試驗生長趨曲線圖

對照組（批次培養）培養週期短、於穩定期有較大的生物量，適合做為試驗培養方式；處理組（半連續式培養）培養時間較長，但可持續維持藻細胞的指數生長狀態、縮短遲滯期 (lag phase) 的時間、可多次收穫，適合作為藻種擴大培養。

為評估所建立的迴歸模型是否具預測性，需驗證迴歸模型成立的假設，並檢定迴歸斜率係數是否屬常態性假設：

#### (一) 假設模型

$$Y_i = \beta_0 + \beta_1 X_i + \varepsilon_i$$

其中， $\beta_0$  為迴歸模型的截距， $\beta_1$  為需估計的迴歸係數也就是斜率， $\varepsilon$  為隨機誤差。隨機誤差值需滿足三大假設：

1. 常態性 (normality)：若母體資料呈現常態分配(normal distribution)，則誤差項也會呈現同樣的分配。
2. 獨立性 (independency)：誤差項之間應該要相互獨立。
3. 變異數同質性 (constant variance)：藉由殘差圖 (residual plot) 來檢定變異數是否相等。

#### (二) 迴歸模型的顯著性檢定

利用 Graphpad Prism 計算批次培養的 F 統計值為 11.2968，顯著性 p 值 = 0.0014；半連續性培養的 F 統計值為 591.0352，顯著性 p 值 < 0.0001，拒絕虛無假說，處理組迴歸模型顯著，具預測能力。

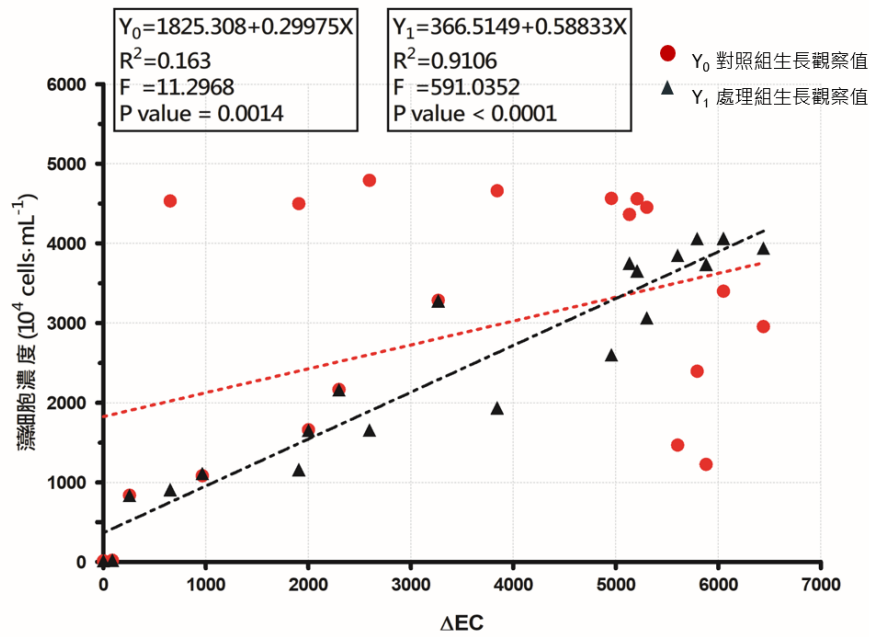


圖 3.11 小球藻前培養試驗迴歸模型

### (三) 變異數同質性檢定

從標準化殘差和預測值的散佈圖，可以發現處理組的殘差值大致上沿著 0 線上下均勻跳動，符合變異數同質性的假設。

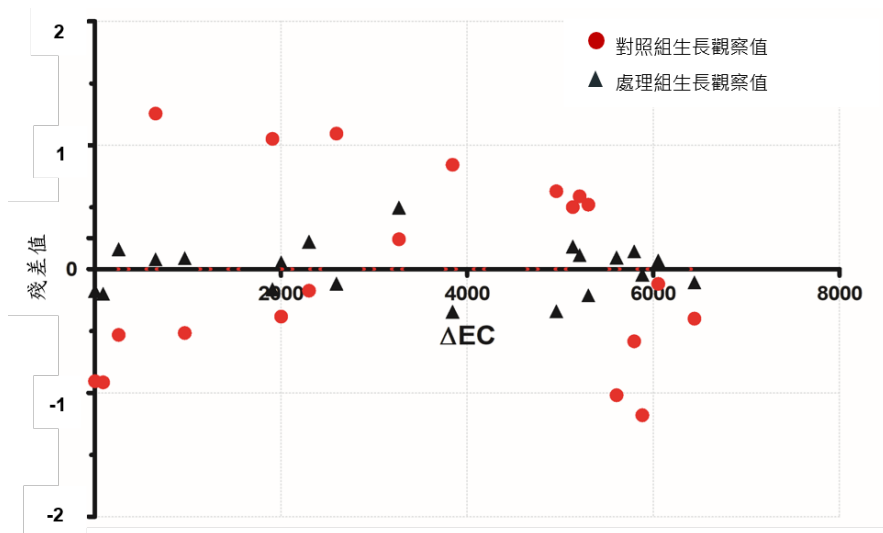


圖 3.12 小球藻前培養試驗標準化殘差散布圖



### 3.4.2 初始 pH 值範圍尋找試驗

#### 一、試驗方法

試驗環境與正式試驗相同（表 3.3），以 NaOH 與 HCl 溶液分別將花寶 4 號培養液調整為不同  $H^+$  濃度，試驗進行 15 日，每 24 小時觀察小球藻細胞濃度、pH、EC 值變化，並以多元線性迴歸分析小球藻生長參數。

#### 二、試驗步驟

- (一). 試驗器材清洗消毒、儀器校正。
- (二). 以兩點校正法校正 pH 計。
- (三). 取 100  $\mu$ L 藻液於血球計數盤，以顯微鏡觀察計數。
- (四). 準備 0.1 M 的 NaOH、HCl 各 100 mL，先以 NaOH 溶液調整 50mL 之 HCl 酸鹼度，製成 A、B、C、D、E、F、G 共 7 組，再倒入 pH = 6.88 之花寶 4 號培養基 ( $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) 300 mL 中，混合後之各項數值如表 3.5。

表 3.5 不同初始 pH 值調整表

編號	NaOH 莫耳數 (0.1M)	HCl 莫耳數 (0.1M)	培養液 (pH)	培養液體積 (mL)	混合液體積 (mL)	$H^+$ 濃度 (mol/mL)	混合後培養液 (pH)
A	4.5	5	6.88	300	304	6.94E-05	4.16
B	4.5	5	6.88	300	300.4	7.14E-06	5.15
C	4.99	5	6.88	300	302.5	9.58E-07	6.02
D	—	—	6.88	300	300	1.32E-07	6.88
E	5.1	5	6.88	300	300.4	8.43E-09	8.07
F	5.1	5	6.88	300	303.5	8.86E-10	9.05
G	5.1	5	6.88	300	340	8.59E-11	10.07

- (五). 取藻液 30 mL ( $165 (\pm 10) \times 10^4 \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) 加入各組 (總體積 = 330 mL)，

接種後培養液中的小球藻細胞濃度為  $15 (\pm 1) \times 10^4 \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

- (六). 使用 500 mL 量杯加蓋輔以連續曝氣的方式培養小球藻，每組通氣量為 1000 cc/min，試驗於自製生長箱中進行 15 天，每天隨機更換位置，環境條件同表 3.3。



(七).每天晚間 9 時觀察小球藻細胞濃度、pH、EC 值變化，試驗數據以試驗結果之 3 次重複平均值呈現。

### 三、計數方法

參考 OECD (1984)、U.S. EPA (1996) 及環保署水樣急毒性檢測方法—藻類靜水式法 (1999)，皆以量測藻類的生物質量 (Biomass) 作為實驗終點的依據。

以微量吸管取藻液 100  $\mu\text{L}$  滴於血球計數盤進行顯微計數，血球計數盤共分為 9 大格 (圖 3.13)，位於中央大格以雙線次分成 25 個中格，取正中及四角的 5 個中格為藻細胞計數室 (counting chambers，共 80 個小格)，中格覆蓋的面積為 0.04  $\text{mm}^2$ ，深度 0.1 mm，位於計數室格線上的藻細胞統一計算每格上方和右方，計數一次樣品要從 5 個小格中分別計得的平均值來計算藻細胞密度  $X$  (單位： $\text{cells} \cdot \text{mL}^{-1}$ )：

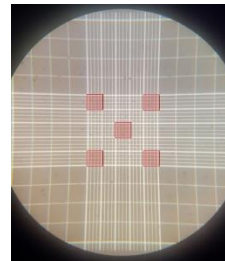
$$X = \frac{(n_1 + n_2 + n_3 + n_4 + n_5)}{80} \times 4 \times 10^6 \times \text{稀釋倍率} \quad (1-9)$$

其中， $X$ ：表示藻細胞密度，單位： $\text{cells} \cdot \text{mL}^{-1}$ ；

$n_i$ ：表示一個中格藻細胞個數，單位： $\text{cells}$ 。



(a) 血球計數盤上視圖



(b) 計數室 (顯微鏡 40 x)

圖 3.13 血球計數盤

### 四、數據分析

運用 SPSS 等統計軟體進行 ANOVA 差異顯著分析，再由 F test 進行最佳模式篩選，並透過多變量迴歸分析生長動力參數值，建立藻細胞濃度和導電度差值 ( $\Delta\text{EC}$ ) 的線性關係。

### 五、試驗結果

由圖 3.14 ~ 圖 3.16、結果顯示，15 天試驗中，A ( $\text{pH}=4.16$ ) 及 B

(pH=5.15) 生長週期最短，分別於第 7 天及第 11 天進入死亡期；C - G 組在實驗終點時，均處於穩定期，第 3 天比生長速率  $\mu$  超過  $0.72 \text{ day}^{-1}$  的組依序為 D (pH=6.88)  $0.91 \text{ day}^{-1} > \text{E (pH=8.07)} 0.87 \text{ day}^{-1} > \text{C (pH=6.06)} 0.84 \text{ day}^{-1} > \text{F (pH=9.05)} 0.69 \text{ day}^{-1} > \text{G (pH=10.07)} 0.6 \text{ day}^{-1} > \text{B (pH=5.15)} 0.19 \text{ day}^{-1} > \text{A (pH=4.16)} 0.04 \text{ day}^{-1}$ ，推測極高或極低之  $\text{H}^+$  濃度會使小球藻生長遲滯期增長，對其生長產生抑制作用；各組最大藻細胞濃度分別為 D  $4910 (10^4 \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}) > \text{E } 4805 (10^4 \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}) > \text{F } 4775 (10^4 \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}) > \text{C } 4745 (10^4 \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}) > \text{G } 3780 (10^4 \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}) > \text{B } 230 (10^4 \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}) > \text{A } 35 (10^4 \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1})$ ，顯示極高之  $\text{H}^+$  濃度比極低之  $\text{H}^+$  濃度對小球藻生長有更強之抑制效果；C、D、E、F、G 自第 8-9 天進入穩定期，表示大部分試驗組之小球藻生長活性最強的時間為接種後 3-7 天。試驗結果與 Monod 方程式 (1- 2) 吻合，顯示小球藻生長活性與基質的  $\text{H}^+$  濃度相關，極高或極低的  $\text{H}^+$  濃度均會影響小球藻生長。

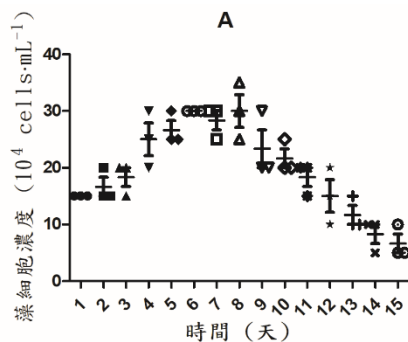


圖 3.14 A 組生物量觀測值

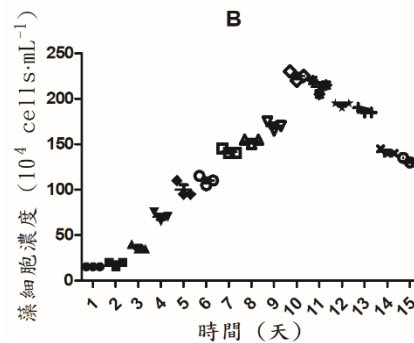


圖 3.15 B 組生物量觀測值

以不同之  $\text{H}^+$  濃度 ( $6.94\text{E-}05 \text{ mol} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $7.14\text{E-}06 \text{ mol} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $9.58\text{E-}07 \text{ mol} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $1.32\text{E-}07 \text{ mol} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $8.43\text{E-}09 \text{ mol} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $8.86\text{E-}10 \text{ mol} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $8.59\text{E-}11 \text{ mol} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) 對小球藻進行試驗，將  $\text{H}^+$  濃度換算為 pH 值後，各組生長曲線如圖 3.16。

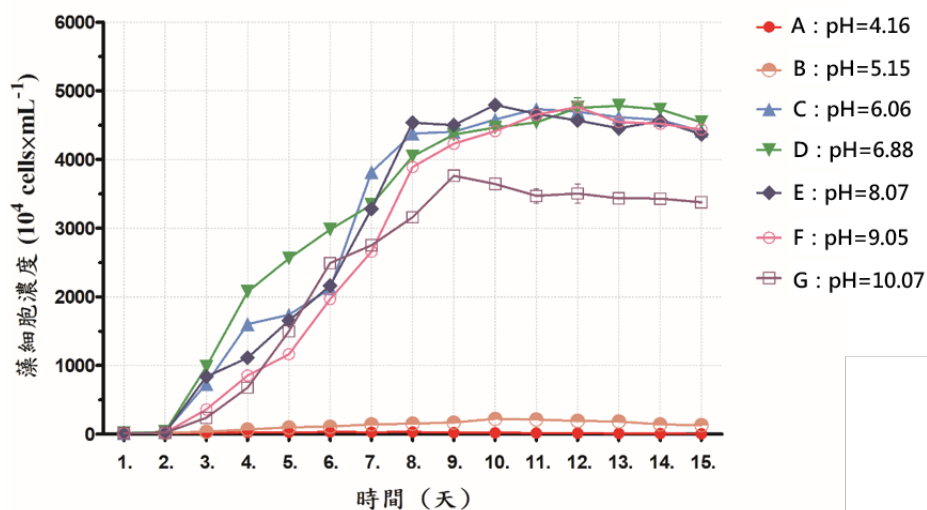


圖 3.16 初始 pH 值範圍試驗生長曲線圖

以各組藻細胞濃度與導電度差值 ( $\Delta EC$ ) 進行 ANOVA 差異顯著分析，再由 F test 進行最佳模式篩選，其中 D 之 F-值 = 252.06、P-value < 0.001 差異顯著：

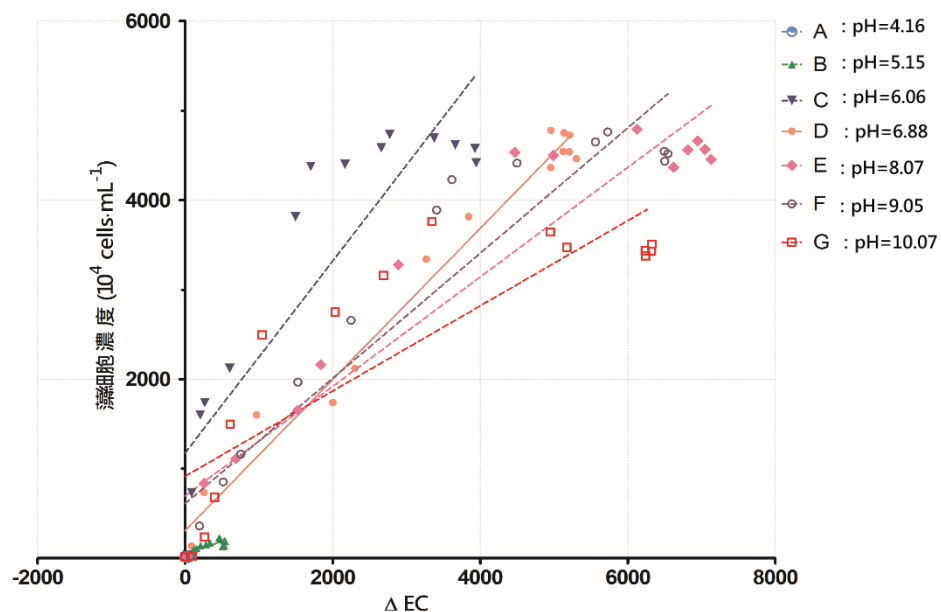


圖 3.17 各組迴歸模型比較

利用  $\Delta EC$  值對應生長量的方式來量化藻類的生長情形，建立藻細胞濃度 ( $Y$ ) 與  $\Delta EC$  值 ( $X$ ) 間的線性關係，推導生長趨勢回歸公式、 $R^2=0.9787$  及檢量線：

$$Y = 308.9677 - 0.8439713X \quad (1-10)$$

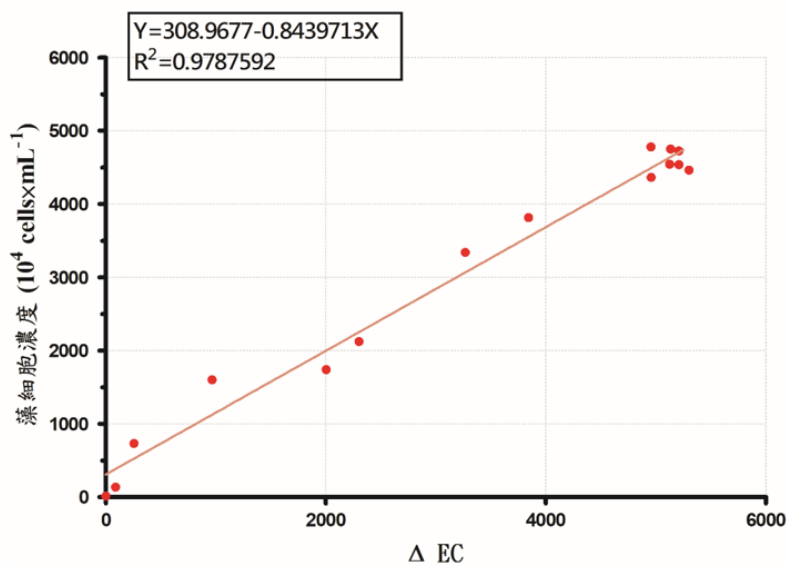


圖 3.18 初始 pH=6.88 之小球藻生長檢量線

### 3.4.3 $LC_{50}$ 濃度範圍尋找試驗

參考環保署水蚤靜水式法 (2013)，透過不同  $H^+$  濃度培養，以了解水蚤對水體  $H^+$  濃度耐受範圍，作為正式試驗參考。

#### 一、試驗步驟

參照表 3.5 將培養液分為 7 組不同濃度之處理組，以廣口滴管（開口  $\phi \geq 4\text{mm}$ ）吸取 20 隻受測生物進行試驗，試驗環境條件同表 3.3 靜水方式進行，試驗期間不餵食，觀察、記錄各濃度受測生物之死亡狀況。

#### 二、試驗方法

- (一).每一濃度之試驗水樣體積  $100 \pm 1 \text{ mL}$ ，盛裝於 500 mL 量杯中，共設置 7 組。
- (二).每一濃度之試驗生物總數均為 20 隻。用廣口滴管將時齡不超 24 小時之水蚤移入試驗容器，每個容器各放 20 隻。
- (三).試驗期間水蚤不須餵食，試驗以靜水方式進行 48 小時，每日隨機更換位置，環境條件依表 3.3。
- (四).每 24 小時記錄水蚤死亡數量，試驗數據以試驗結果之 3 次重複平均值呈現。

### 三、試驗流程

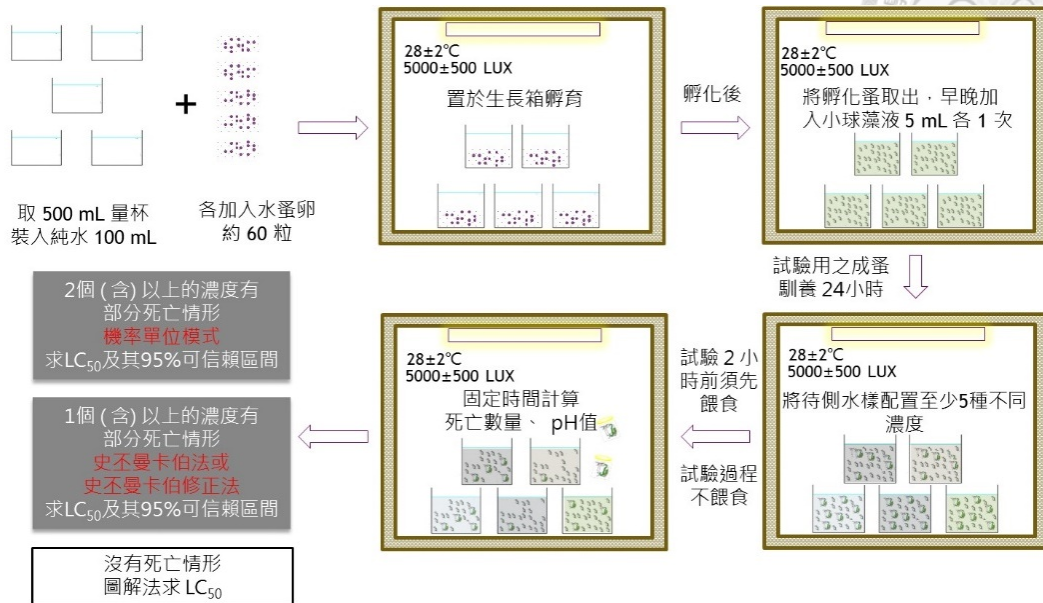


圖 3.19 水蚤靜水式生物毒性試驗流程示意圖

### 四、數據分析

為獲得水蚤劑量-反應模式，在劑量-反應曲線座標中，X 軸代表 pH 值的濃度對數值 (單位：ppm 或  $mg \cdot mL^{-1}$ )，而 Y 軸代表毒性物質對受測生物體的死亡率 (單位：%)，運用 GraphPad Prism 計算生長半致死濃度 ( $LC_{50}$ )， $P < 0.05$  為差異顯著， $P > 0.05$  為差異不顯著。

#### 3.4.4 試驗結果

##### 一、初始 pH 值範圍尋找試驗

##### 二、 $LC_{50}$ 濃度範圍尋找試驗

試驗期間為 48 小時，每 24 小時觀察水蚤死亡數量並記錄。死亡數量之計算方式，係將試驗水樣輕微擾動，觀察水蚤第二觸角、胸腳、及後腹部等明顯不活動，並記錄各試驗組之 pH 值。

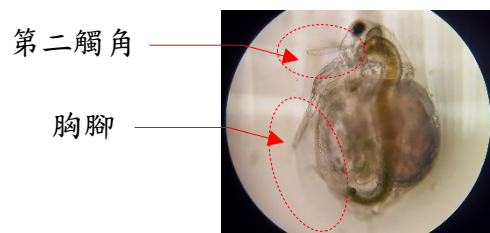


圖 3.20 水蚤運動器官

由表 3.6 各組試驗結果表示，水蚤大多於 A (pH=4.16)、B (pH=5.15) 出現死亡情形，並隨著水體濃度變化而改變，以 GraphPad Prism 繪製劑量-反應曲線（圖 3.21），再以 probit 擬合並計算生長半致死濃度  $LC_{50}$ 。

表 3.6 各組水蚤死亡情形

組別	混合後培養液 (pH)	水蚤死亡率 (%)			Mean	Std. Deviation	Std. Error	Lower 95% CI	Upper 95% CI
		3 次測量值							
A	4.16	65	50	60	55	7.07	5	-8.53	118.53
B	5.15	50	55	35	45	14.14	10	-82.06	172.06
C	6.02	25	25	30	27.5	3.54	2.5	-4.27	59.27
D	6.88	0	10	10	5	7.07	5	-58.53	68.53
E	8.07	0	5	5	2.5	3.54	2.5	-29.27	34.27
F	9.05	5	5	5	5	0	0	5	5
G	10.07	20	20	20	20	0	0	20	20

由圖 3.21，在水蚤劑量-反應模式中，水蚤半數致死濃度  $LC_{50}$  約發生在 pH = 5.713 處，以概率單位法 Probit 擬合毒性迴歸線 LC-p line，求出  $IC_{50} = 51416 \text{ mol} \cdot \text{mL}^{-1}$ ， $Logic50 = 4.711$ ，及其 95% 可信賴區間為 20533 to 128624，毒性迴歸方程式：

$$Y = 8.431 + \frac{49.91}{1 + 10^{(X - \log LC_{50})}} \quad (3-3.1)$$

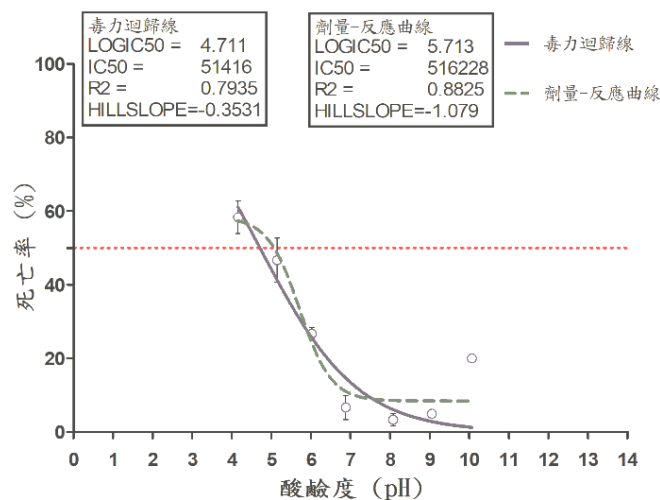


圖 3.21 水蚤 2 種  $LC_{50}$  模式曲線比較



試驗結果顯示，隨著水體中  $H^+$  濃度增加，對水蚤產生生長抑制作用，由水蚤時間－反應關係圖推測，D、E、F 三組為水蚤適合之酸鹼度。

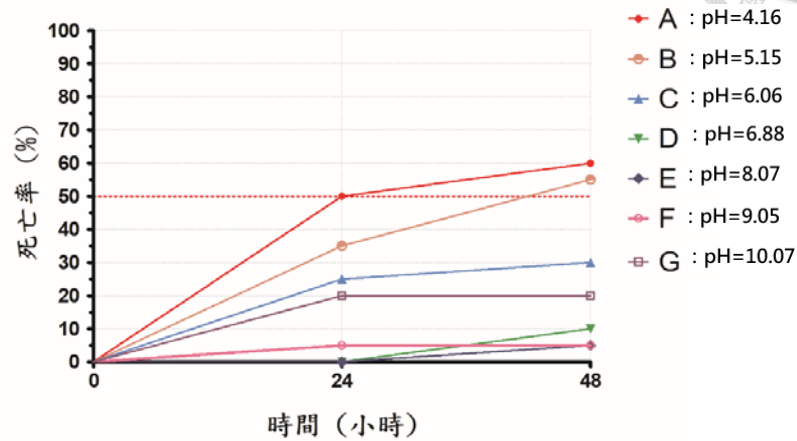


圖 3.22 水蚤時間-反應關係圖

由上述試驗，小球藻以初始 pH=6.88 有最大生長量  $4910 \times 10^4 \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}$ ，比生長速率常數  $\mu = 0.91 \text{ day}^{-1}$ ，小球藻最適生長 pH 值優劣：6.88 > 8.07 > 9.05 > 6.02 > 10.07 > 5.15 > 4.16；水蚤適合生存之 pH 值優劣：8.07 > 9.05 > 6.88 > 10.07 > 6.02 > 5.15 > 4.16，顯示極高或極低之  $H^+$  濃度對小球藻及水蚤均會抑制生長。試驗主要以研究抑制小球藻生長為主，考量水體酸鹼度隨小球藻增生而升高，為使實驗終點之 pH 值仍在受試生物可容忍範圍內，以 pH=6.88 作為正式試驗之初始酸鹼值及控制值。



### 3.5 農業廢棄物浸液抑藻試驗

#### 3.5.1 可溶性物質浸製試驗與分析

次生代謝物為植物體內木質素、纖維素等物質，透過分子鍵結合成之化合物，再利用直接或間接手法將其提取分離，再利用次階代謝物於抑制藻類增生；歸納文獻所述植物次階代謝物之常見的提取方式（江與郭，2011；李與胡，2004）。

表 3.7 常見之植物次階代謝物提取方式

參考文獻	提取方式	優缺點
李與胡，2004	直接從植物中提取次生代謝產物	利用傳統的提取分離方法，直接從植物中提取次生代謝產物，但因為提取過程中，各種影響因素不易控制，使提取之化合物品質不穩定
朱等，2009； 李與胡，2004	微生物發酵產物	微生物具繁殖速度快、生命力強、易培養且生產成本低等優點，可採誘變育種方式來提取內生真菌之次階化合物
江與郭，2011	化學合成模擬	利用化學工業完全合成或半化學合成次階代謝物，但採用化學合成方法有成本高、毒性大及環境易受污染等問題
本研究彙整		

#### 一、試驗方法

試驗參考前人研究（王，2013；朱等，2009；李等，2009；汪，2016），採用缺氧浸製方式，以純水在不同的浸泡條件下浸泡植物殘體，將植物體內過高的硝酸鹽等有害物質，分解轉化成對環境危害較小的產物，再以水為溶劑將浸液中可溶性物質或次階代謝物浸出利用。

#### 二、試驗步驟

- (一).以純水將農業廢棄物殘留泥沙洗除後，分別秤取 2000 g 濕葉放入 125°C 熱風恆溫烘烤箱處理 10 小時，取出以人工將葉片剪碎至 10 mm 以下，再以紫外線消毒烘乾箱 (55°C，UV-C 253.7 nm) 照射殺菌及烘乾 1 小時，處理後之碎屑以夾鏈袋包裝並置於電子防潮箱備用。
- (二).取 10 L 之 PE 儲水桶加入剪碎之農業廢棄物殘體，依殘體乾重：水 = 50 g：5 L（重量百分比濃度 =  $1 \times 10^{-2} \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ），分別置於冰箱冷藏室 ( $5 \pm 1^\circ\text{C}$ )、自製培養箱 ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 、 $35 \pm 1^\circ\text{C}$ ) 之陰暗處，進行缺氧浸泡處理各 5、15、25 天。試驗前，再以定量濾紙（孔徑 4  $\mu\text{m}$ ）過濾並以 6000 rpm



離心 5 分鐘，所蒐集之濾液即為浸液原液。

(三). 浸泡開始前，先確認試驗環境溫度符合設計值，實驗終點時，再量測浸液 pH、EC 值及分析成分。

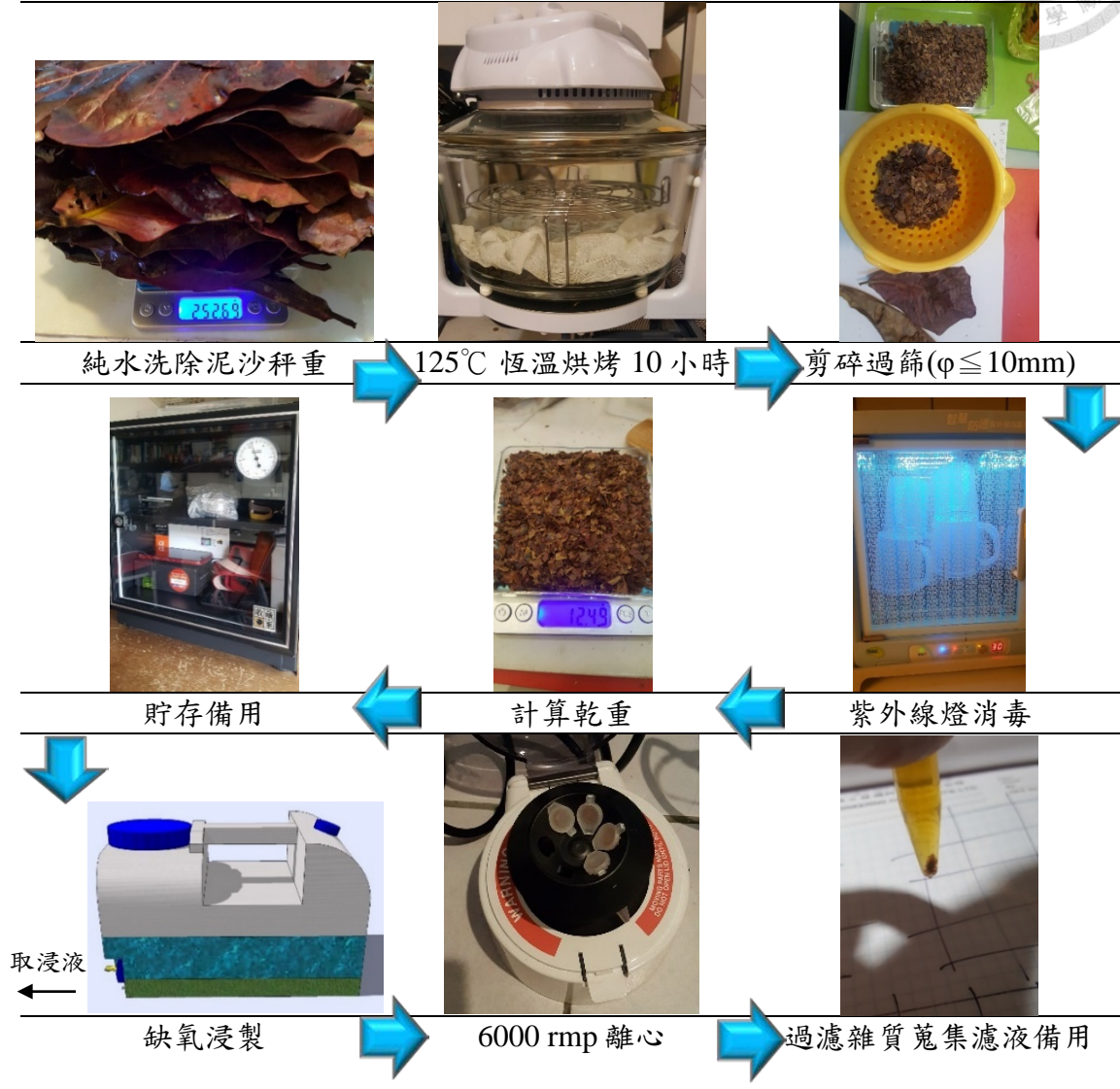


圖 3.23 農業廢棄物水浸泡液製備流程圖

### 三、數據分析

參考前人對影響水中藻類生長之營養鹽類物質(柯, 1999; 武等, 2008; 黃, 2009; 黃, 2015; 張, 2016), 以離子層析儀分析各浸液在不同浸製條件下, 溶液中可溶性物質降解濃度, 各基本數據如表 3.8 ~ 表 3.10。



表 3.8 大葉欖仁落葉浸液成分表

浸泡材料	試驗編號	浸泡時間 (天)	投加比例 (g · mL <sup>-1</sup> )	浸泡溫度 (°C)	pH	EC (μs · cm <sup>-1</sup> )	氯化物 (ppm)	亞硝酸鹽 (ppm)	硝酸鹽 (ppm)	磷酸鹽 (ppm)	硫酸鹽 (ppm)	鈉系(ppm)	銨離子 (ppm)	鉀系(ppm)	鈣離子 (ppm)	鎂離子 (ppm)	鹽度 (mg · L <sup>-1</sup> )
大 葉 欖 仁 落 葉	L1-1	5	0.00155	5	5.72	132	4.83	0	1.87	1.89	4.37	7.64	0.82	43.62	5.11	4.21	89.7
	L1-2	25	0.00155	5	6.54	164.10	4.19	0	1.72	2.70	7.15	8.27	0.68	34.46	6.26	4.00	106.90
	L1-3	35	0.00155	5	5.88	156	4.56	0	1.92	3.84	5.02	6.11	0.22	35.65	4.49	4.06	106.74
	L1-4	5	0.00155	15	6.15	132	4.27	0	1.02	2.33	7.43	14.34	0.86	32.45	4.86	4.15	109.22
	L1-5	25	0.00155	15	6.05	141.62	4.67	0	1.28	2.43	7.45	8.40	0.65	32.46	5.37	4.78	92.25
	L1-6	35	0.00155	15	5.81	93.8	4.45	0	1.36	3.68	8.64	9.03	0.44	44.67	5.90	5.14	90.35
	L1-7	5	0.00155	25	6.11	108	3.63	0	0.56	2.37	7.31	8.02	0.23	33.68	6.67	4.46	138.69
	L1-8	25	0.00155	25	6.25	192	4.61	0	1.72	2.58	7.55	7.56	0.67	33.75	6.39	5.04	138.69
	L1-9	35	0.00155	25	6.44	202	5.16	0	0.03	2.68	7.33	7.08	0.13	22.12	7.52	4.85	154.62
	L2-1	5	0.002	5	5.62	1412	618	1.44	5.02	151.81	105.35	23.20	3.14	161.70	6.70	22.60	1209
	L2-2	25	0.002	5	5.97	2505	624.93	16.60	4.033	130.56	105.28	39.86	8.10	257.63	7.09	46.65	1637
	L2-3	35	0.002	5	5.75	1908	553.28	0.19	4.61	126.88	149.76	35.84	5.37	392.24	6.43	49.22	1127.67
	L2-4	5	0.002	15	6.01	1104	627	1.62	4.07	122.28	106.57	42.11	3.24	296.79	6.37	44.70	2652.82
	L2-5	25	0.002	15	5.91	744.3	639.61	14.20	4.33	132.22	153.12	49.27	8.84	217.43	6.26	35.78	1730.18
	L2-6	35	0.002	15	5.68	1027	587.60	0.02	5.54	125.46	145.53	39.02	46.62	797.21	7.68	45.61	1231.99
	L2-7	5	0.002	25	5.81	2391	367.49	0.06	4.55	154.32	146.80	44.13	25.29	924.81	6.51	45.80	2054.39
	L2-8	25	0.002	25	5.40	1038	547.46	15.16	3	128.35	172.48	49.25	38.77	850.39	6.24	48.65	2842.30
	L2-9	35	0.002	25	5.42	1914	497.50	0.07	4.07	127.4	156.28	47.45	31.17	985.48	5.75	59.15	2948.44
	L3-1	5	0.0025	5	4.53	2718	834.21	0	5.54	171.23	161.70	66.80	12.09	1525.40	144	52.40	1440
	L3-2	25	0.0025	5	4.41	3157	725.04	0	5.32	168.86	144.58	103.10	33.42	987.65	219.99	86.27	2059
	L3-3	35	0.0025	5	5.64	3344.41	864.50	0	5.31	172.46	106.88	100.48	30.72	902.11	292.23	75.55	2181.23
	L3-4	5	0.0025	15	5.91	1846	639.10	0	5.24	176.89	143.39	106.52	27.43	925.91	205.13	68.59	709.14
	L3-5	25	0.0025	15	5.81	1725	929.29	0	5.53	157	109.37	100.48	33.48	578.46	211.96	79.55	1383.18
	L3-6	35	0.0025	15	4.58	1223	765.17	0	6.36	165.72	105.28	170.60	9.65	239.80	231.4	95.15	2289
	L3-7	5	0.0025	25	4.74	1338	923.35	0	5.18	154.10	113.15	96.01	7.24	246.84	205.97	99.12	1364
	L3-8	25	0.0025	25	4.68	2223	737.76	0	6.28	169.06	89.59	99.05	8.85	649.06	256.06	86.98	1577.17
	L3-9	35	0.0025	25	4.99	2433	792.80	0	5.78	168.59	80.33	107.51	9.89	388.29	276.67	62.65	1637.77

註：3次重複平均值



表 3.9 稻蒿浸液成分表

浸泡材料	試驗編號	浸泡時間 (天)	投加比例 (g · mL <sup>-1</sup> )	浸泡溫度 (°C)	pH	EC (μs · cm <sup>-1</sup> )	氯化物 (ppm)	亞硝酸鹽 (ppm)	硝酸鹽 (ppm)	磷酸鹽 (ppm)	硫酸鹽 (ppm)	鈉泵(ppm)	鉍離子 (ppm)	鉀泵(ppm)	鈣離子 (ppm)	鎂離子 (ppm)	鹽度 (mg · L <sup>-1</sup> )
稻 蒿	R1-1	5	0.00155	5	4.23	797.27	2.73	0	1.29	1.86	5.38	6.73	2.30	65.78	70.08	28.15	591.39
	R1-2	25	0.00155	5	4.22	862.00	4.74	0	1.50	18.75	5.40	12.75	2.87	66.57	78.35	35.03	562
	R1-3	35	0.00155	5	4.49	952.79	6.51	0	1.37	14.71	4.04	18.73	3.70	60.79	72.77	21.47	747.38
	R1-4	5	0.00155	15	4.41	866.87	3.89	0	1.57	1.44	5.55	8.89	2.71	66.83	73.24	24.18	615.71
	R1-5	25	0.00155	15	4.49	919.18	4.83	0	2.18	25.06	6.41	19.48	3.07	68.14	81.12	37.05	788.66
	R1-6	35	0.00155	15	4.81	1018.71	6.23	0	2.18	25.19	4.10	19.55	3.72	56.78	74.91	25.55	988.83
	R1-7	5	0.00155	25	4.59	936.39	3.30	0	2.20	1.42	5.77	9.98	3.15	54.32	71.34	18.52	948.62
	R1-8	25	0.00155	25	4.89	1115.22	4.23	0	2.07	14.53	5.64	19.35	3.27	69.93	70.48	25.53	978.87
	R1-9	35	0.00155	25	4.99	1402.52	6.52	0	2.12	14.64	5.22	19.48	4.03	475.75	73.21	25.49	1057.48
	R2-1	5	0.002	5	4.41	1666.86	186.91	0	2.27	50.56	22.22	20.24	12.66	292.98	90.35	40.98	1065.89
	R2-2	25	0.002	5	4.41	2373.00	449	0	3.02	141.88	23.69	48.82	13.29	241.75	114.23	65.92	1548
	R2-3	35	0.002	5	4.94	2470.38	449.92	0	4.11	156.07	36.75	43.43	13.64	270.34	128.55	64.68	1981.61
	R2-4	5	0.002	15	4.65	1871.46	363.94	0	3	61.24	36.48	23.37	12.31	295.48	105.90	47.55	1430.43
	R2-5	25	0.002	15	4.72	2576.00	489.10	0	4.83	145.59	30.88	48.49	12.66	278.23	111.06	66.07	2002.82
	R2-6	35	0.002	15	5.15	3181.47	562.73	0	3.69	142.38	36.48	45.58	13.29	281.36	112.99	68.83	2018.27
	R2-7	5	0.002	25	4.92	1891.88	222.33	0	4.47	76.89	25.70	20.71	12.11	298.87	81.12	40.04	1857.88
	R2-8	25	0.002	25	4.94	2526.30	351.20	0	3.45	141.19	25.75	41.22	11.70	249.16	85.09	61.12	2267.81
	R2-9	35	0.002	25	5.12	2858.32	561.14	0	4.35	164.84	22.72	43.67	12.91	287.64	99.91	53.11	2866.13
	R3-1	5	0.0025	5	5.12	2978.42	491.70	0	3	123.67	132.41	58.23	120.05	924.07	119.22	85.72	2011.33
	R3-2	25	0.0025	5	5.20	2920.00	655.93	0	5.04	163.01	125.98	105.78	135.66	929.40	196.88	90.46	2570
	R3-3	35	0.0025	5	5.15	3507.54	628.12	0	6.03	216.72	131.70	107.81	137	973.32	170.76	95.82	2584.36
	R3-4	5	0.0025	15	5.20	3044.91	532.32	0	5.77	168.72	102.66	62.15	126.93	993.17	143.59	91.65	2032.54
	R3-5	25	0.0025	15	5.36	3736.43	660.34	0	6.48	249.48	110.35	126.19	112.12	976.60	192.26	120.26	2595
	R3-6	35	0.0025	15	5.40	3883.85	919.12	0	5.77	231.17	117.78	115.11	126.14	967.05	195.63	84.21	2468.18
	R3-7	5	0.0025	25	5.51	3559.57	535.86	0	5.63	162.71	126.13	82.85	120.13	941.15	116.78	94.97	2801.22
	R3-8	25	0.0025	25	5.60	3288.49	720.96	0	5.07	223.51	124.85	135.79	122.68	919.63	190.98	92	3130.51
	R3-9	35	0.0025	25	5.64	4068.06	879.81	0	5.77	272.53	128.20	144.63	125.84	971.13	122.58	94.39	3031.30

註：3次重複平均值



表 3.10 茶渣浸液成分表

浸泡材料	試驗編號	浸泡時間 (天)	投加比例 (g · mL <sup>-1</sup> )	浸泡溫度 (°C)	pH	EC (μs · cm <sup>-1</sup> )	氯化物 (ppm)	亞硝酸鹽 (ppm)	硝酸鹽 (ppm)	磷酸鹽 (ppm)	硫酸鹽 (ppm)	鈉泵(ppm)	鉍離子 (ppm)	鉀泵(ppm)	鈣離子 (ppm)	鎂離子 (ppm)	鹽度 (mg · L <sup>-1</sup> )
茶 渣	T1-1	5	0.00155	5	6.91	559.27	2.10	1.27	0.52	22.95	6.69	11.85	13.77	85.08	3.30	71.61	2867.23
	T1-2	25	0.00155	5	4.36	1462	11.79	2.53	2.67	37.74	15.53	15.83	16.07	88.46	13.65	63.25	950
	T1-3	35	0.00155	5	5.93	2130.12	12.66	1.38	2.55	39.40	18.13	19.42	14.60	92.84	18.26	54.22	1518.57
	T1-4	5	0.00155	15	6.95	382.87	2.62	1.36	1.60	58.79	11.98	7.79	13.01	86.97	3.31	78.28	2371.50
	T1-5	25	0.00155	15	6.97	1559.49	13.10	1.27	2.62	62.95	19.23	11.85	13.77	89.32	12.70	65.34	2867.23
	T1-6	35	0.00155	15	6.91	2428.17	13.60	1.55	2.99	64.29	20.97	14.23	14.00	88.48	18.60	59.14	1390.93
	T1-7	5	0.00155	25	7.76	495.85	3.71	1.32	1.52	118.93	13.42	4.51	12.41	65.76	2.71	63.03	2470.32
	T1-8	25	0.00155	25	6.85	1497.21	14.20	1.30	1.60	109.20	19.34	6.49	10.36	74.28	14.22	56.47	1943.55
	T1-9	35	0.00155	25	8.81	3692.31	15.52	1.45	2.70	103.07	27.38	9.44	8.59	86.42	19.88	46.68	2120.66
	T2-1	5	0.002	5	6.86	796.75	496.10	0	1.67	148.70	64.99	31.08	16.02	180.36	102.70	95.45	1404.40
	T2-2	25	0.002	5	4.01	2484	609	0	3.02	194.45	82.29	56.07	52.67	236.17	141.83	82.85	1617.00
	T2-3	35	0.002	5	5.82	2341.99	607.33	0	3.81	207.50	82.13	71.46	76.20	212.84	158.84	71.61	1492.43
	T2-4	5	0.002	15	6.97	2355.19	526.01	0	2	53.47	73.32	27.94	14.66	254.85	117.32	106.18	2024.16
	T2-5	25	0.002	15	6.94	2264.98	697.64	0	3.52	74.78	96.81	49.34	34.73	214.65	166.19	91.05	3904.13
	T2-6	35	0.002	15	6.87	3790.83	694.18	0	4.91	112.35	165.77	64.41	41.08	249.06	198.26	83.90	2021.43
	T2-7	5	0.002	25	8.46	2142.33	557.73	0	2.94	67.44	86.66	23.33	15.23	193.78	119.63	96.46	3306.54
	T2-8	25	0.002	25	6.71	2855.02	666.44	0	3.52	124.42	93.03	26.87	29.45	244.66	197.14	82.68	3405.15
	T2-9	35	0.002	25	8.40	4943.83	860.14	0	4.27	69.98	182.51	54.59	10.20	271.52	176.34	75.60	1641.20
	T3-1	5	0.0025	5	6.81	346.01	588.58	0	4	156.66	127.29	40.15	146.89	1000.57	134.79	96.15	2440.95
	T3-2	25	0.0025	5	4.83	1550	730.74	0	6.05	197.31	213.98	94.56	209.33	1407.76	276.61	83.42	3620.00
	T3-3	35	0.0025	5	5.72	2191.82	718.16	0	6.59	209.18	174.25	116.62	225	1479.41	283.82	74.71	2785.56
	T3-4	5	0.0025	15	6.98	2114.29	628.65	0	4.47	55.56	142.14	39.90	97.59	1478.32	126.28	138.21	2330.86
	T3-5	25	0.0025	15	6.90	2607.43	752.74	0	6.96	59.14	214.25	86.59	202.54	1315.12	262.22	93.70	1536.66
	T3-6	35	0.0025	15	6.82	2911.82	781.17	0	6.86	59.40	234.54	97.81	165.72	1484.75	268.75	86.55	2785.56
	T3-7	5	0.0025	25	8.48	2993.82	698.75	0	4.88	55.43	189.34	38.87	76.92	1107.88	177.08	97.45	3651.57
	T3-8	25	0.0025	25	5.81	3094.08	741.70	0	7.41	96.22	208.07	48.58	155.93	1112.14	295.01	89	3289.98
	T3-9	35	0.0025	25	6.89	3908.52	1002.77	0	7.33	108.57	279.18	89.66	126.63	1427.43	333.22	78.71	2220.27

註：3次重複平均值



### 3.5.2 小球藻生長抑制試驗

依浸泡條件配置 81 組不同的實驗組各 300 mL，以 2000 mL 錐形瓶預培養小球藻 48 小時後，將藻液依試驗設計比例分別置入 500 mL 量杯，接著採「批次試驗」再進行 96 小時，每 24 小時調查各組小球藻細胞濃度，試驗數據以試驗結果之 3 次重複平均值呈現如表 3.11 ~ 表 3.13。

#### 一、試驗方法

實驗組依浸泡材料、投加比例、浸泡溫度、浸泡時間分為 81 組，同時設置 3 組不加浸液之對照組，接種處於對數生長期的藻液 30 mL（小球藻濃度約  $775 (\pm 10) \times 10^4 \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}$ ），試驗採批次培養，第 24、48、72、96 小時計數 1 次，每次計數前 15 min 先將藻液充分搖勻，取 100  $\mu\text{L}$  於顯微鏡下觀察並紀錄小球藻個數、pH、EC 值，實驗終點為投加浸液後第 96 小時，所得資料以 3 次數值平均計算。

#### 二、試驗步驟

- (一) 先於自製生長箱中培養小球藻，培養環境同表 3.3，在 2000 mL 錐形瓶中接種初始濃度為  $15 (\pm 10) \times 10^4 \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}$  之小球藻液，培養至第 48 小時為  $165 (\pm 10) \times 10^4 \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}$ ，此時比生長速率  $\mu = 0.098 \text{ day}^{-1}$ （指數生長期），可開始進行試驗。
- (二) 取藻液 30 mL 加入 300 mL 不同濃度之浸液（原液濃度： $10^{-2} \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ），使各組（含浸液）最終濃度分別為： $0.00155 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $0.002 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $0.0025 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ，再依各種浸製條件（浸泡材料、投加比例、浸泡溫度、浸泡時間）分為 81 組，同時設置 3 組不加浸液之對照組。
- (三) 試驗開始後，每 24、48、72、96 小時計算小球藻細胞濃度、pH、EC 值。

#### 三、數據分析

獲得的原始資料參照方程式 1-7 轉化為抑制率 (*IR*)，作為浸液抑制作用指標並進行統計分析（胡等，2012）， $IR > 0$  表示抑制作用， $IR < 0$  表示促進作用；以常態分佈檢驗數據之有效性，再以 ANOVA 推估小球藻細胞生長之抑制量，最後由 F test 進行最佳模式篩選， $P < 0.05$  為差異顯著， $P > 0.05$  為差異不顯著，建立浸液因子與小球藻增生抑制關係式。



### 3.5.3 生物急毒性試驗－水蚤靜水式試驗

#### 一、試驗方法

急毒性試驗開始前，水蚤先馴養於室內玻璃材質容器內，馴養期間依照表 3.4 所列之各項條件馴養，減低因生物體本身之健康狀況對毒性反應之影響；達到足夠之馴養時間時，若水蚤無產生冬卵與蚤體變紅之不良狀況，才進行生物急毒性試驗。

#### 二、試驗步驟

- (一) 將 3 種濃度之浸液 ( $0.00155 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $0.002 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $0.0025 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )，依各種浸製條件（浸泡材料、投加比例、浸泡溫度、浸泡時間）分為 81 組進行毒性試驗，同時設置 3 組不加浸液之對照組。
- (二) 對照組和各稀釋濃度之待測水樣分別各取 100 mL，置於 500mL 量杯中，然後進行 48 小時之培養測試。

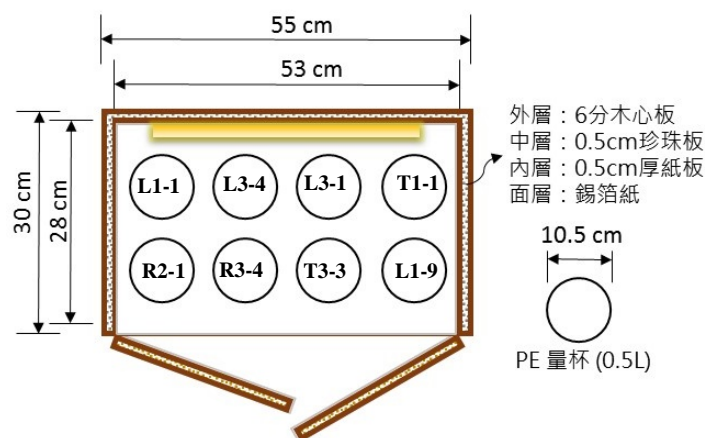


圖 3.24 生物急毒性試驗隨機排列示意圖

- (三) 其他流程參照本研究「第 3.4.3 章 LC<sub>50</sub> 濃度範圍尋找試驗」進行。

#### 三、數據分析

試驗數據以試驗結果之 3 次重複平均值呈現如表 3.11 ~ 表 3.13，為獲得半致死濃度 LC<sub>50</sub>，以 X 軸代表氫離子濃度對數值 (單位: ppm 或  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ )，Y 軸代表水蚤死亡率 (單位: %) 繪製劑量-反應曲線，運用 GraphPad Prism 計算浸液半致死濃度 LC<sub>50</sub>。

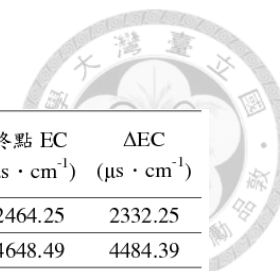


表 3.11 大葉欖仁落葉浸液對小球藻及水蚤生長影響數據表

浸泡材料	試驗編號	浸泡時間 (天)	投加比例 (g · mL <sup>-1</sup> )	浸泡溫度 (°C)	終點藻細胞濃度 (cells · mL <sup>-1</sup> )	小球藻抑 制率(%)	水蚤死亡 數(隻)	水蚤死亡 率(%)	pH	終點 pH	Δ pH	EC (μs · cm <sup>-1</sup> )	終點 EC (μs · cm <sup>-1</sup> )	ΔEC (μs · cm <sup>-1</sup> )
大 葉 欖 仁 落 葉	L1-1	5	0.00155	5	675.00	12.90	2.33	11.67	5.72	8.14	2.42	132	2464.25	2332.25
	L1-2	25	0.00155	5	758.33	2.15	3.00	15.00	6.54	7.30	0.76	164.10	4648.49	4484.39
	L1-3	35	0.00155	5	500.00	35.48	14.33	71.67	5.88	8.00	2.12	156	4161.62	4005.62
	L1-4	5	0.00155	15	708.33	8.60	1.67	8.33	6.15	7.54	1.39	132	4167.28	4035.28
	L1-5	25	0.00155	15	475.00	38.71	3.67	18.33	6.05	7.62	1.57	141.62	4310.21	4168.59
	L1-6	35	0.00155	15	391.67	49.46	8.67	43.33	5.81	8.11	2.30	93.8	2399.40	2305.60
	L1-7	5	0.00155	25	565.00	27.10	4.00	20.00	6.11	9.76	3.65	108	3966.08	3858.08
	L1-8	25	0.00155	25	568.33	26.67	4.33	21.67	6.25	9.50	3.25	192	5404.06	5212.06
	L1-9	35	0.00155	25	510.00	34.19	4.67	23.33	6.44	9.63	3.19	202	5685.07	5483.07
	L2-1	5	0.002	5	650.00	16.13	5.00	25.00	5.62	7.50	1.88	1412	6080.81	4668.81
	L2-2	25	0.002	5	566.67	26.88	14.00	70.00	5.97	7.44	1.47	2505	7951.11	5446.11
	L2-3	35	0.002	5	475.00	38.71	14.00	70.00	5.75	8.03	2.28	1908	6226.47	4318.47
	L2-4	5	0.002	15	433.33	44.09	4.00	20.00	6.01	7.58	1.57	1104	5312.74	4208.74
	L2-5	25	0.002	15	433.33	44.09	5.00	25.00	5.91	7.54	1.63	744.3	6711.28	5966.98
	L2-6	35	0.002	15	433.33	44.09	9.67	48.33	5.68	7.60	1.92	1027	7296.97	6269.97
	L2-7	5	0.002	25	528.33	31.83	4.67	23.33	5.81	9.89	4.08	2391	7247.09	4856.09
	L2-8	25	0.002	25	536.67	30.75	7.67	38.33	5.40	9.64	4.24	1038	5706.69	4668.69
	L2-9	35	0.002	25	453.33	41.51	9.33	46.67	5.42	9.68	4.26	1914	6793.15	4879.15
	L3-1	5	0.0025	5	566.67	26.88	12.67	63.33	4.53	7.50	2.97	2718	8080.81	5362.81
	L3-2	25	0.0025	5	516.67	33.33	16.67	83.33	4.41	7.91	3.50	3157	8067.08	4910.08
	L3-3	35	0.0025	5	450.00	41.94	19.00	95.00	5.64	8.20	2.56	3344.41	9353.95	6009.54
	L3-4	5	0.0025	15	475.00	38.71	4.00	20.00	5.91	7.41	1.50	1846	6886.27	5040.27
	L3-5	25	0.0025	15	400.00	48.39	3.33	16.67	5.81	7.47	1.66	1725	7019.96	5294.96
	L3-6	35	0.0025	15	475.00	38.71	12.67	63.33	4.58	8.13	3.55	1223	6442.63	5219.63
	L3-7	5	0.0025	25	468.33	39.57	5.33	26.67	4.74	9.83	5.09	1338	6117.39	4779.39
	L3-8	25	0.0025	25	486.67	37.20	11.67	58.33	4.68	9.42	4.74	2223	7231.13	5008.13
	L3-9	35	0.0025	25	413.33	46.67	9.33	46.67	4.99	9.57	4.58	2433	8555.37	6122.37

註：3次重複平均值

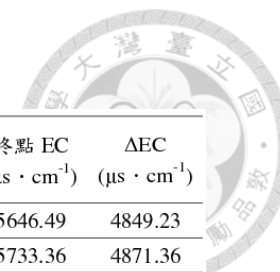


表 3.12 稻蒿浸液對小球藻及水蚤生長數據表

浸泡材料	試驗編號	浸泡時間 (天)	投加比例 (g · mL <sup>-1</sup> )	浸泡溫度 (°C)	終點藻細胞濃度 (cells · mL <sup>-1</sup> )	小球藻抑 制率(%)	水蚤死亡 數(隻)	水蚤死亡 率(%)	pH	終點 pH	Δ pH	EC (μs · cm <sup>-1</sup> )	終點 EC (μs · cm <sup>-1</sup> )	ΔEC (μs · cm <sup>-1</sup> )
稻蒿	R1-1	5	0.00155	5	741.67	4.30	9.00	45.00	4.23	7.4	3.17	797.27	5646.49	4849.23
	R1-2	25	0.00155	5	708.33	8.60	8.33	41.67	4.22	8.19	3.97	862.00	5733.36	4871.36
	R1-3	35	0.00155	5	558.33	27.96	0.67	3.33	4.49	9.1	4.61	952.79	6421.02	5468.22
	R1-4	5	0.00155	15	700.00	9.68	16.67	83.33	4.41	8.4	3.99	866.87	5572.33	4705.46
	R1-5	25	0.00155	15	591.67	23.66	5.33	26.67	4.49	8.18	3.69	919.18	5840.21	4921.04
	R1-6	35	0.00155	15	500.00	35.48	1.00	5.00	4.81	8.5	3.69	1018.71	5869.31	4850.59
	R1-7	5	0.00155	25	3075.00	-296.77	12.67	63.33	4.59	9.74	5.15	936.39	4539.41	3603.02
	R1-8	25	0.00155	25	1000.00	-29.03	7.33	36.67	4.89	9.61	4.72	1115.22	4690.72	3575.50
	R1-9	35	0.00155	25	900.00	-16.13	3.33	16.67	4.99	9.84	4.85	1402.52	5014.97	3612.45
	R2-1	5	0.002	5	600.00	22.58	3.00	15.00	4.41	7.33	2.92	1666.86	6026.27	4359.41
	R2-2	25	0.002	5	525.00	32.26	7.33	36.67	4.41	8.61	4.20	2373.00	6458.60	4085.60
	R2-3	35	0.002	5	508.33	34.41	1.67	8.33	4.94	9.17	4.23	2470.38	8047.89	5577.51
	R2-4	5	0.002	15	566.67	26.88	3.00	15.00	4.65	8.6	3.95	1871.46	5650.72	3779.25
	R2-5	25	0.002	15	458.33	40.86	3.33	16.67	4.72	8.61	3.89	2576.00	8430.21	5854.21
	R2-6	35	0.002	15	383.33	50.54	2.33	11.67	5.15	8.45	3.30	3181.47	9089.91	5908.44
	R2-7	5	0.002	25	983.33	-26.88	6.67	33.33	4.92	9.95	5.03	1891.88	6242.44	4350.56
	R2-8	25	0.002	25	2541.67	-227.96	8.33	41.67	4.94	9.19	4.25	2526.30	8134.35	5608.05
	R2-9	35	0.002	25	4225.00	-445.16	3.00	15.00	5.12	9.68	4.56	2858.32	8777.19	5918.86
	R3-1	5	0.0025	5	575.00	25.81	4.67	23.33	5.12	8.12	3.00	2978.42	8922.85	5944.43
	R3-2	25	0.0025	5	580.00	25.16	3.33	16.67	5.20	8.79	3.59	2920.00	6376.79	3456.79
	R3-3	35	0.0025	5	483.33	37.63	2.33	11.67	5.15	9.32	4.17	3507.54	7052.55	3545.00
	R3-4	5	0.0025	15	563.33	27.31	4.67	23.33	5.20	8.41	3.21	3044.91	7641.84	4596.93
	R3-5	25	0.0025	15	561.67	27.53	4.67	23.33	5.36	8.67	3.31	3736.43	7733.96	3997.53
	R3-6	35	0.0025	15	450.00	41.94	4.00	20.00	5.40	9.21	3.81	3883.85	7906.89	4023.03
	R3-7	5	0.0025	25	1975.00	-154.84	2.67	13.33	5.51	9.8	4.29	3559.57	8139.01	4579.44
	R3-8	25	0.0025	25	2690.00	-247.10	4.33	21.67	5.60	9.27	3.67	3288.49	8793.15	5504.67
	R3-9	35	0.0025	25	3428.33	-342.37	1.33	6.67	5.64	9.55	3.91	4068.06	9152.14	5084.08

註：3次重複平均值



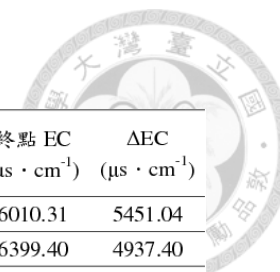


表 3.13 茶渣浸液對小球藻及水蚤生長數據表

浸泡材料	試驗編號	浸泡時間 (天)	投加比例 (g · mL <sup>-1</sup> )	浸泡溫度 (°C)	終點藻細胞濃度 (cells · mL <sup>-1</sup> )	小球藻抑 制率(%)	水蚤死亡 數(隻)	水蚤死亡 率(%)	pH	終點 pH	Δ pH	EC (μs · cm <sup>-1</sup> )	終點 EC (μs · cm <sup>-1</sup> )	ΔEC (μs · cm <sup>-1</sup> )
茶 渣	T1-1	5	0.00155	5	2241.67	-189.25	2.33	11.67	6.91	7.93	1.02	559.27	6010.31	5451.04
	T1-2	25	0.00155	5	1933.33	25.81	5.67	28.33	4.36	9.03	4.67	1462	6399.40	4937.40
	T1-3	35	0.00155	5	1733.33	40.86	5.33	26.67	5.93	9.23	3.3	2130.12	6896.58	4766.46
	T1-4	5	0.00155	15	575.00	-10.75	11.67	58.33	6.95	8.73	1.78	382.87	4388.10	4005.23
	T1-5	25	0.00155	15	583.33	36.56	5.00	25.00	6.97	8.63	1.66	1559.49	5498.10	3938.61
	T1-6	35	0.00155	15	491.67	35.48	1.67	8.33	6.91	8.79	1.88	2428.17	5582.64	3154.47
	T1-7	5	0.00155	25	458.33	-174.84	5.33	26.67	7.76	9.81	2.05	495.85	4820.42	4324.57
	T1-8	25	0.00155	25	475.00	35.48	7.67	38.33	6.85	9.55	2.7	1497.21	5928.50	4431.30
	T1-9	35	0.00155	25	441.67	33.98	5.67	28.33	8.81	9.79	0.98	3692.31	8123.05	4430.74
	T2-1	5	0.002	5	858.33	-149.46	1.33	6.67	6.86	8.11	1.25	796.75	3739.61	2942.86
	T2-2	25	0.002	5	900.00	24.73	7.67	38.33	4.01	9.03	5.02	2484	6847.69	4363.69
	T2-3	35	0.002	5	941.67	38.71	5.33	26.67	5.82	9.28	3.46	2341.99	6711.93	4369.94
	T2-4	5	0.002	15	491.67	-16.13	14.67	73.33	6.97	8.78	1.81	2355.19	6523.45	4168.25
	T2-5	25	0.002	15	450.00	41.94	8.33	41.67	6.94	8.6	1.66	2264.98	6458.60	4193.62
	T2-6	35	0.002	15	416.67	44.09	3.67	18.33	6.87	8.81	1.94	3790.83	7566.68	3775.85
	T2-7	5	0.002	25	500.00	22.58	4.67	23.33	8.46	9.76	1.3	2142.33	6869.31	4726.98
	T2-8	25	0.002	25	433.33	36.13	6.00	30.00	6.71	9.49	2.78	2855.02	6912.54	4057.52
	T2-9	35	0.002	25	375.00	37.63	4.33	21.67	8.40	9.72	1.32	4943.83	9143.55	4199.72
	T3-1	5	0.0025	5	2130.00	-123.66	3.00	15.00	6.81	8.34	1.53	346.01	5074.16	4728.15
	T3-2	25	0.0025	5	600.00	36.56	16.67	83.33	4.83	9.12	4.29	1550	6966.08	5416.08
	T3-3	35	0.0025	5	515.00	43.01	9.00	45.00	5.72	9.37	3.65	2191.82	8514.77	6322.94
	T3-4	5	0.0025	15	500.00	-21.51	17.67	88.33	6.98	8.93	1.95	2114.29	8512.14	6397.85
	T3-5	25	0.0025	15	495.00	46.24	9.00	45.00	6.90	8.65	1.75	2607.43	8253.44	5646.02
	T3-6	35	0.0025	15	545.00	51.61	5.00	25.00	6.82	8.94	2.12	2911.82	8795.62	5883.79
	T3-7	5	0.0025	25	511.67	33.55	3.33	16.67	8.48	9.69	1.21	2993.82	9030.93	6037.11
	T3-8	25	0.0025	25	483.33	29.68	5.33	26.67	5.81	9.72	3.91	3094.08	9879.62	6785.53
	T3-9	35	0.0025	25	441.67	43.01	2.67	13.33	6.89	8.7	1.81	3908.52	9674.76	5766.24

註：3次重複平均值

## 第四章、結果與討論

將試驗數據依描述分析→T 考驗→變異數同質性檢定→迴歸模型分析。

### 4.1 不同浸製條件對小球藻、水蚤生長影響

實驗終點設計在進入指數生長期後第 96 小時，試驗過程中，體積維持不變，不添加額外的培養基，以不同之浸泡條件對小球藻進行試驗，X 軸為試驗進行時間（單位：小時），Y 軸為小球藻細胞濃度（單位： $10^4 \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}$ ），各組浸液對小球藻生長影響如圖 4.1 ~ 圖 4.3。

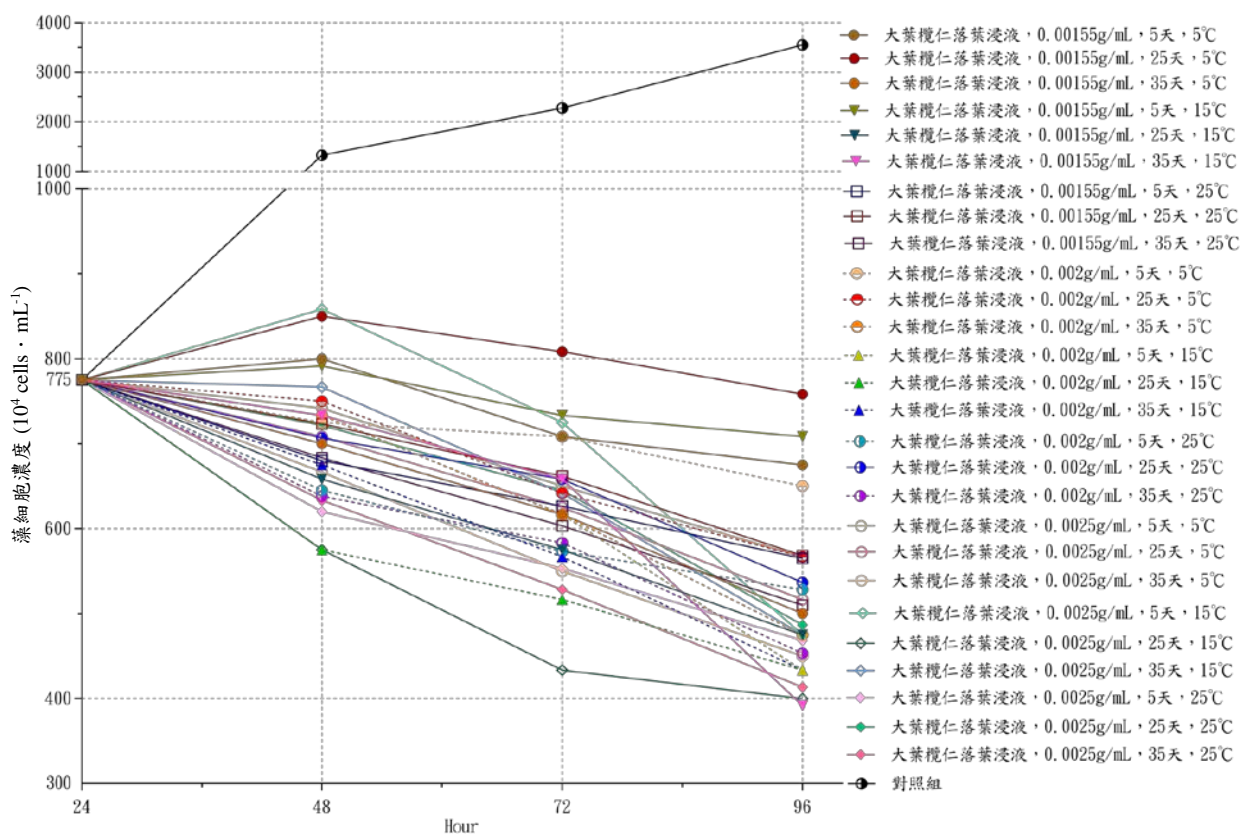


圖 4.1 大葉欖仁落葉浸液對小球藻生長趨勢圖

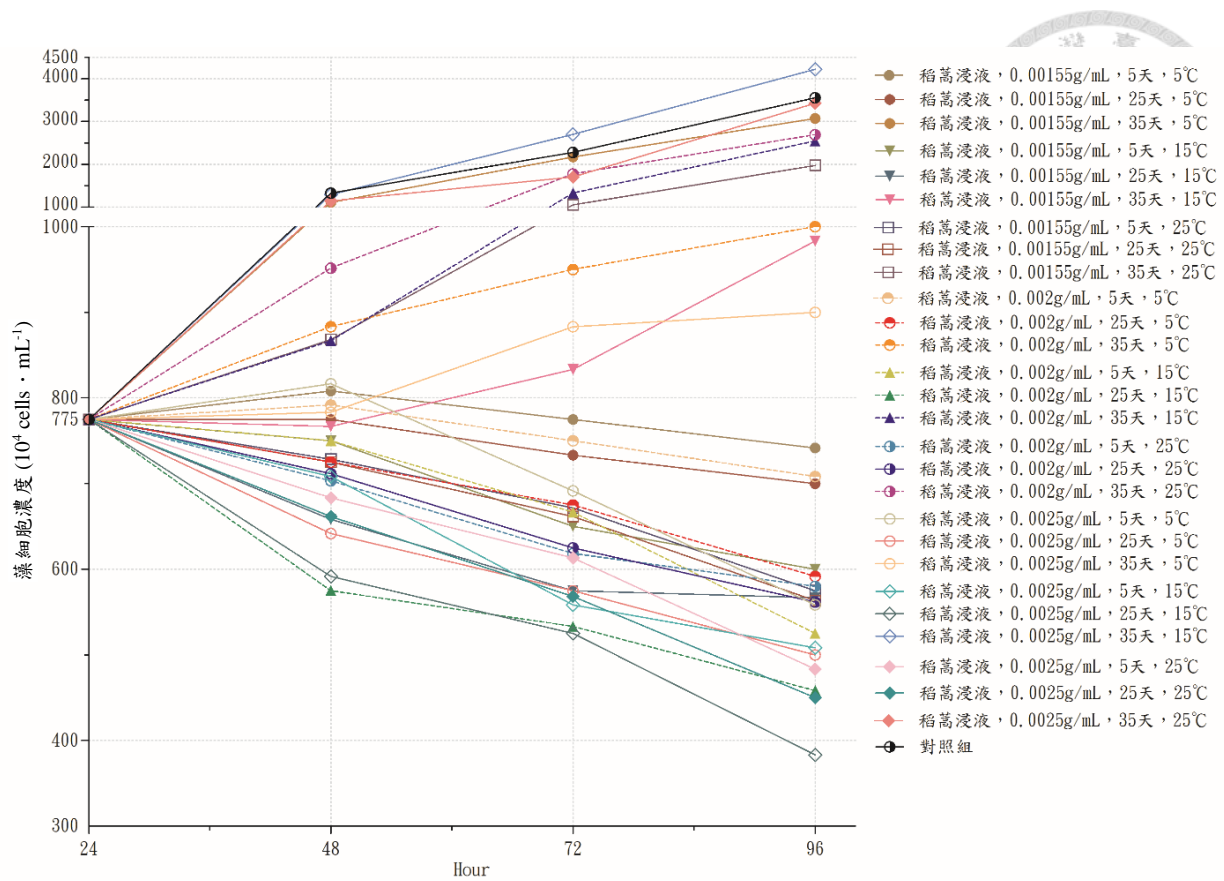


圖 4.2 稻蒿浸液對小球藻生長趨勢圖

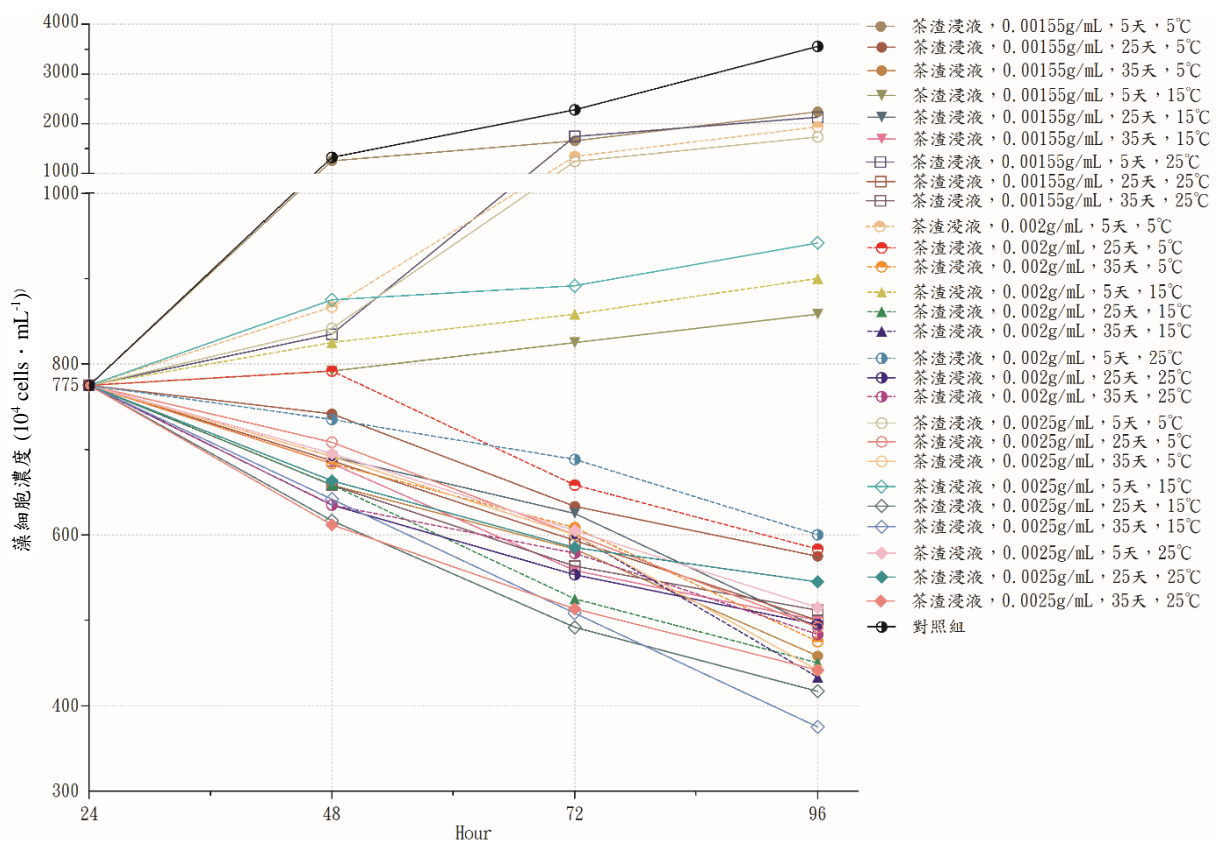


圖 4.3 茶渣浸液對小球藻生長趨勢圖



以不同浸泡條件製作之浸液，對水蚤進行靜水式急毒性試驗進行 48 小時，X 軸為試驗進行時間（單位：小時），Y 軸為水蚤數目(單位：隻)，各組水蚤生長趨勢如圖 4.4 ~ 圖 4.6。

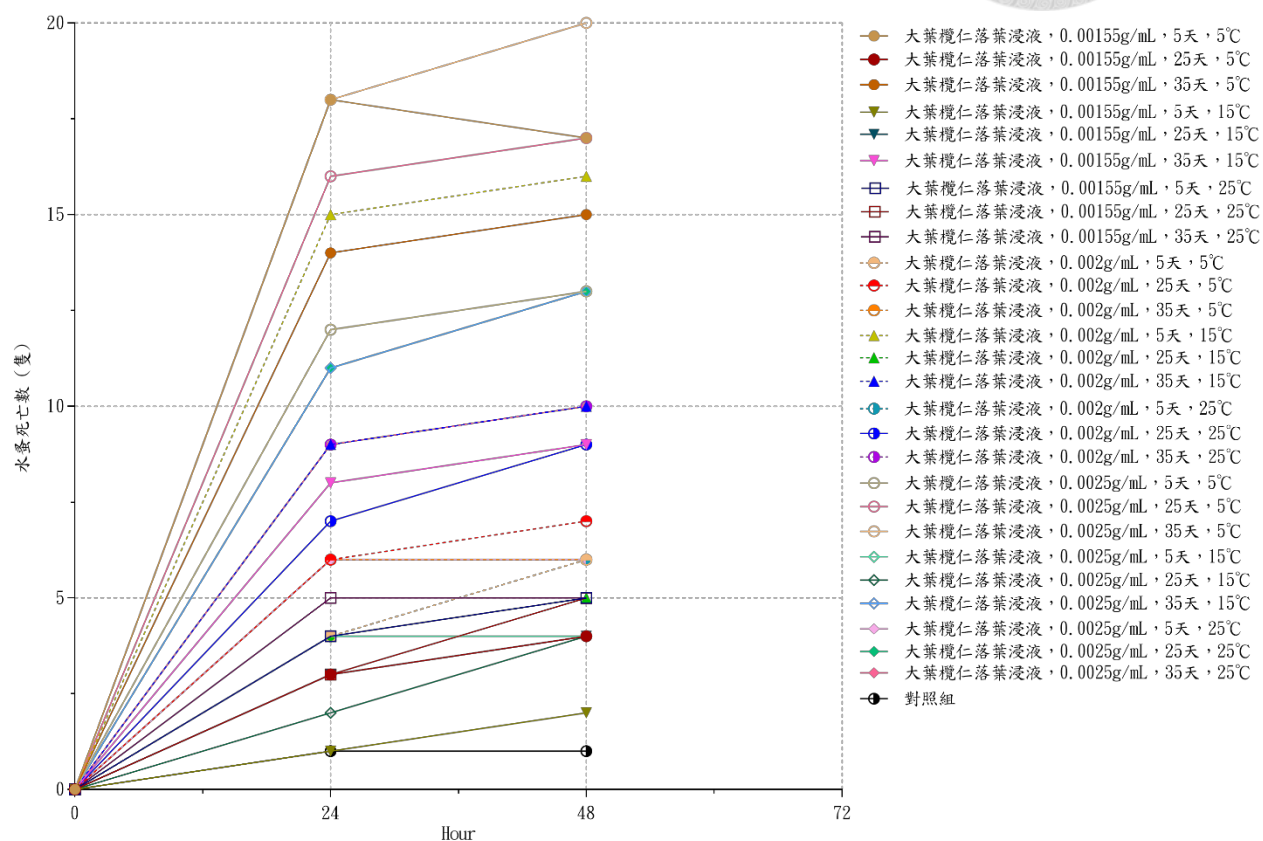


圖 4.4 大葉欖仁落葉浸液對水蚤生長趨勢圖

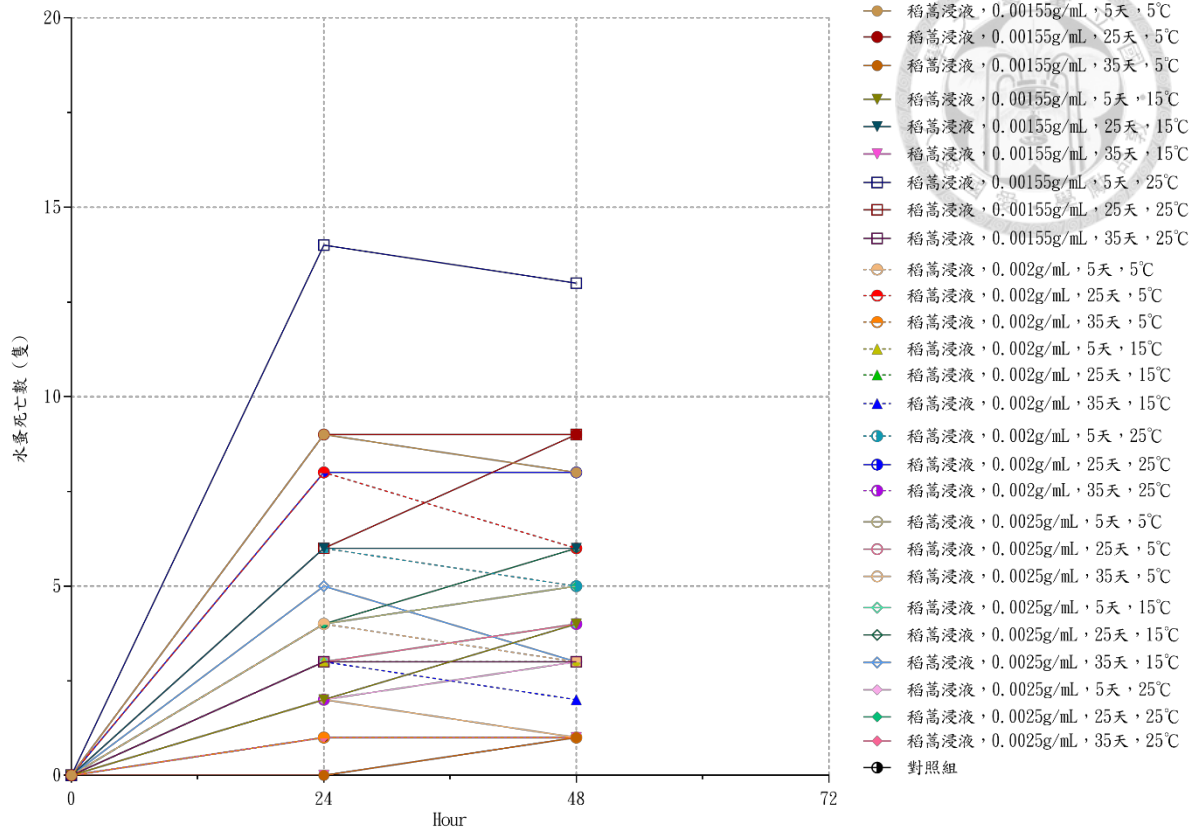


圖 4.5 稻蒿浸液對水蚤生長趨勢圖

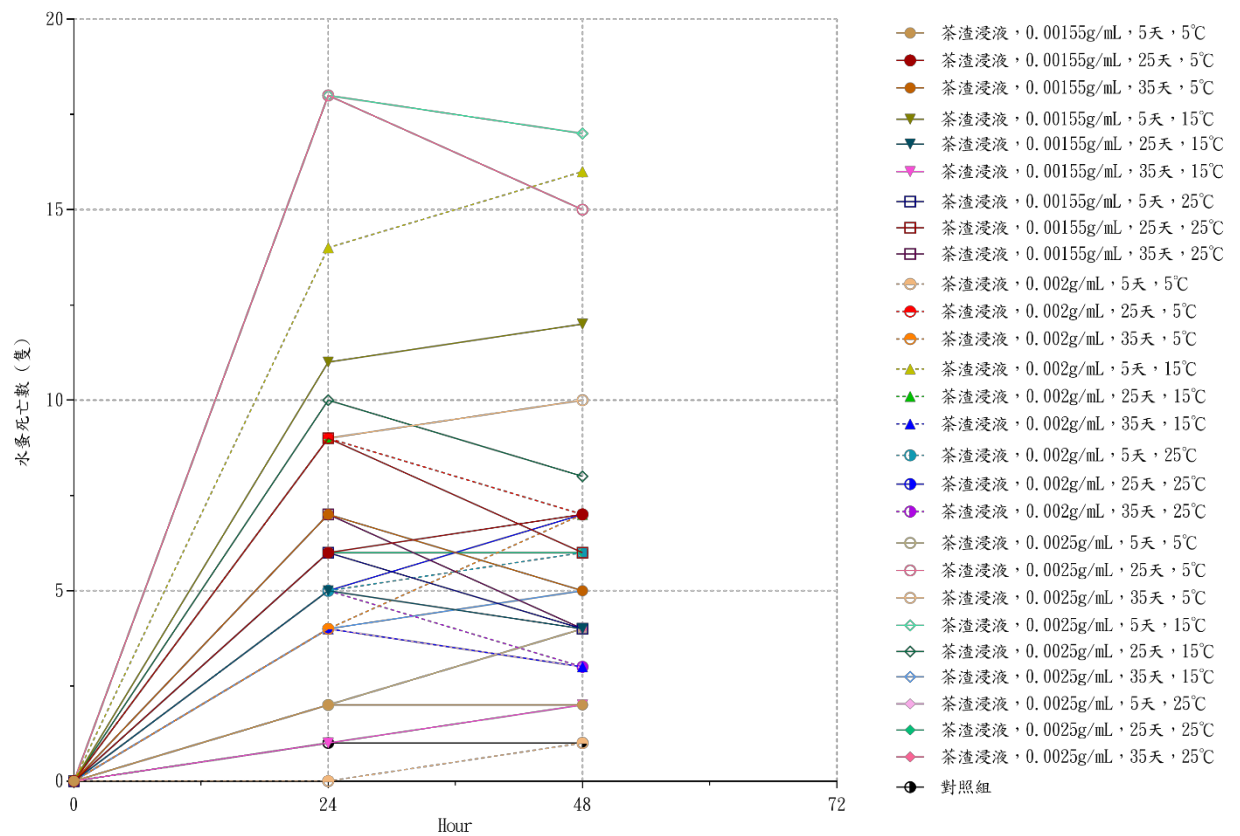


圖 4.6 茶渣浸液對水蚤生長趨勢圖



#### 4.1.1 描述統計分析

根據實驗設計，建立描述資料的統計模式，分析項目主要是針對浸液各項浸製因子（浸泡溫度、浸泡比例、浸泡時間、浸泡材料）對小球藻、水蚤生長影響的統計值，計算各因子平均數、標準差、信賴區間、範圍等，以判斷各因子是否對小球藻、水蚤生長有顯著影響效果，各組浸液的描述統計資料如表 4.1 ~ 表 4.2。

表 4.1 各因子對小球藻抑制率影響描述統計資料表

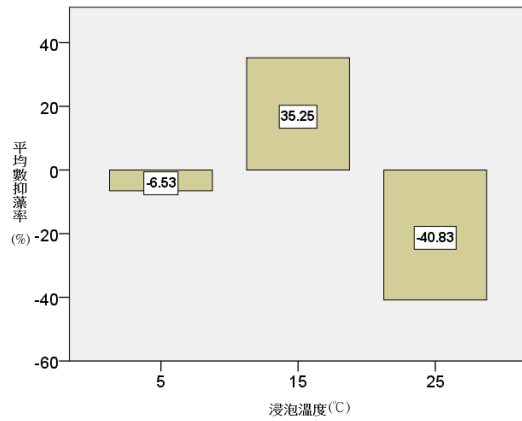
因子	變數	有效 觀察 值	描述性 統計	平均 數	95% 平均數的		5% 修		標準 偏差	最小值	最大值	範圍	內四分 位距	偏斜度	峰度	
					信賴區間		整的平 中位數	變異數								
					上限	下限										均值
浸泡 溫度 (°C)	5	27	統計資料	-6.53	-33.31	20.25	0.77	22.58	4583.23	67.70	-189.25	41.94	231.19	44.08	-1.94	2.52
			標準錯誤	13.03											0.45	0.87
	15	27	統計資料	35.25	30.97	39.54	35.89	36.56	117.18	10.82	8.60	50.54	41.94	16.78	-0.92	0.67
			標準錯誤	2.08											0.45	0.87
	25	27	統計資料	-40.83	-96.99	15.33	-24.91	33.98	20153.96	141.96	-445.16	51.61	496.77	69.89	-1.71	1.78
			標準錯誤	27.32											0.45	0.87
(g · mL <sup>-1</sup> )	0.00155	27	統計資料	-9.25	-42.05	23.56	2.01	24.73	6876.70	82.93	-296.77	49.46	346.23	33.33	-2.37	5.34
			標準錯誤	15.96											0.45	0.87
	0.002	27	統計資料	1.23	-40.00	42.46	20.11	34.41	10862.67	104.22	-445.16	51.61	496.77	27.96	-3.66	14.08
			標準錯誤	20.06											0.45	0.87
	0.0025	27	統計資料	-4.09	-43.79	35.62	10.44	33.98	10073.34	100.37	-342.37	48.39	390.76	12.90	-2.46	5.22
			標準錯誤	19.32											0.45	0.87
浸泡 時間 (日)	5	27	統計資料	-10.47	-44.68	23.73	0.90	25.81	7476.49	86.47	-296.77	44.09	340.86	31.18	-2.26	4.39
			標準錯誤	16.64											0.45	0.87
	25	27	統計資料	0.83	-30.29	31.95	11.75	27.53	6188.03	78.66	-247.10	48.39	295.49	30.11	-2.54	5.56
			標準錯誤	15.14											0.45	0.87
	35	27	統計資料	-2.46	-49.49	44.57	17.66	37.63	14134.97	118.89	-445.16	51.61	496.77	13.33	-3.12	9.25
			標準錯誤	22.88											0.45	0.87
浸泡 材料 (浸液)	大葉欖 仁落葉	27	統計資料	33.51	28.73	38.29	34.29	37.20	146.15	12.09	2.15	49.46	47.31	15.06	-1.09	0.76
			標準錯誤	2.33											0.45	0.87
	稻蒿	27	統計資料	-47.54	-102.27	7.19	-32.26	23.66	19142.29	138.36	-445.16	50.54	495.70	61.29	-1.74	1.89
			標準錯誤	26.63											0.45	0.87
	茶渣	27	統計資料	1.93	-26.36	30.22	9.66	35.48	5114.85	71.52	-189.25	51.61	240.86	51.61	-1.93	2.41
			標準錯誤	13.76											0.45	0.87

表 4.2 各因子對水蚤死亡率影響描述統計資料表

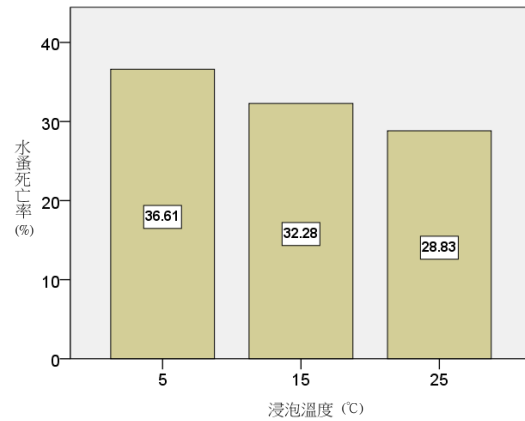
因子	變數	有效 觀察 值	描述性 統計 數	95% 平均數的 5% 修			標準 變異數 偏差	最小值	最大值	範圍	內四分					
				信賴區間		整的平 中位數 均值					偏斜度	峰度				
				下限	上限											
浸泡 溫度 (°C)	5	27	統計資料	36.61	25.87	47.34	35.33	26.67	737.03	27.15	3.33	95.00	91.67	48.33	0.76	-0.67
			標準錯誤	5.22											0.45	0.87
	15	27	統計資料	32.28	23.10	41.46	30.71	23.33	538.45	23.20	5.00	88.33	83.33	28.33	1.17	0.43
			標準錯誤	4.47											0.45	0.87
	25	27	統計資料	28.83	23.39	34.27	28.12	26.67	189.26	13.76	6.67	63.33	56.66	18.33	0.89	0.51
			標準錯誤	2.65											0.45	0.87
浸泡 比例 (g · mL <sup>-1</sup> )	0.00155	27	統計資料	29.88	21.77	37.98	28.53	26.67	419.63	20.48	3.33	83.33	80.00	26.67	1.06	0.72
			標準錯誤	3.94											0.45	0.87
	0.002	27	統計資料	31.11	23.84	38.38	30.15	25.00	337.81	18.38	6.67	73.33	66.66	25.00	1.00	0.44
			標準錯誤	3.54											0.45	0.87
	0.0025	27	統計資料	36.73	26.18	47.28	35.18	23.33	711.14	26.67	6.67	95.00	88.33	41.66	1.01	-0.30
			標準錯誤	5.13											0.45	0.87
浸泡 時間 (日)	5	27	統計資料	31.60	22.21	41.00	29.89	23.33	563.71	23.74	6.67	88.33	81.66	30.00	1.26	0.37
			標準錯誤	4.57											0.45	0.87
	25	27	統計資料	35.74	28.27	43.22	34.23	30.00	357.08	18.90	15.00	83.33	68.33	20.00	1.36	1.46
			標準錯誤	3.64											0.45	0.87
	35	27	統計資料	30.37	21.02	39.72	28.59	23.33	559.05	23.64	3.33	95.00	91.67	35.00	1.13	0.73
			標準錯誤	4.55											0.45	0.87
浸泡 材料 (浸液)	大葉欖 仁落葉	27	統計資料	39.75	30.10	49.40	38.55	26.67	594.79	24.39	8.33	95.00	86.67	43.33	0.68	-0.68
			標準錯誤	4.69											0.45	0.87
	稻蒿	27	統計資料	25.00	17.76	32.24	23.23	20.00	334.60	18.29	3.33	83.33	80.00	23.34	1.60	3.02
			標準錯誤	3.52											0.45	0.87
	茶渣	27	統計資料	32.96	24.54	41.39	31.40	26.67	453.65	21.30	6.67	88.33	81.66	23.34	1.36	1.43
			標準錯誤	4.10											0.45	0.87



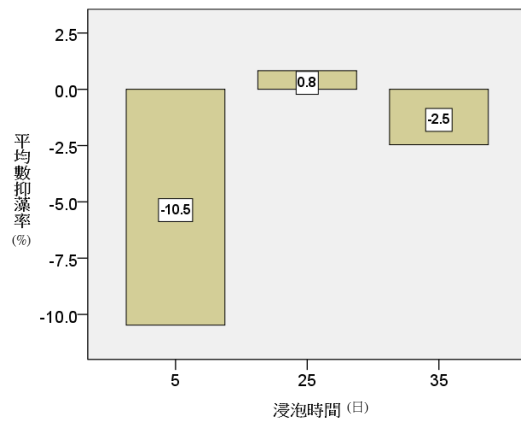
由描述統計資料找出試驗因子的集中趨勢 (central tendency)、相對量數 (percentile value)、差異量數或離散量數 (dispersion)，根據表 4.1 的整體樣本分析，依不同浸製條件統計結果繪製長條圖或常態分佈直方圖；其中浸泡溫度、浸泡時間及浸泡材料 3 種浸製條件為質化變數，常態分佈特徵不明顯，因此以平均數長條圖分析如下：



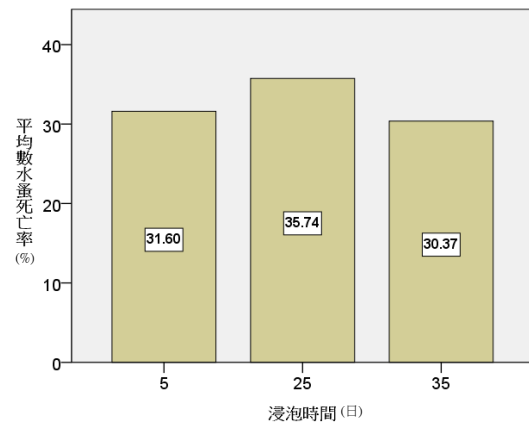
(a) 浸泡溫度對小球藻細胞抑制長條圖



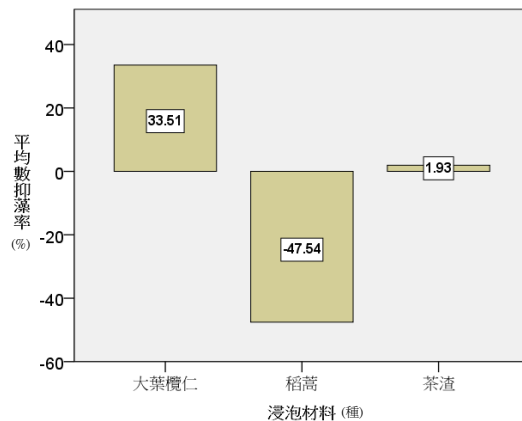
(b) 浸泡溫度對水蚤死亡率長條圖



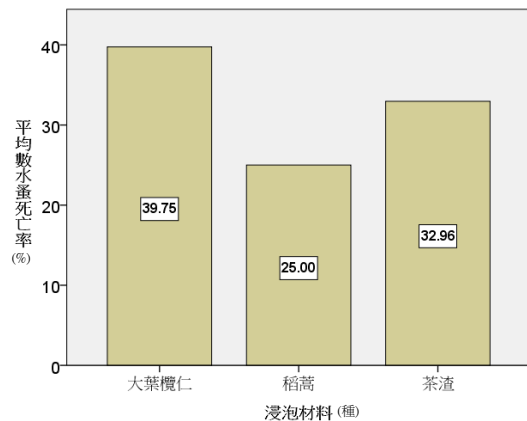
(c) 浸泡時間對小球藻細胞抑制長條圖



(d) 浸泡時間對水蚤死亡率長條圖



(e) 浸泡材料對小球藻細胞抑制長條圖



(f) 浸泡材料對水蚤死亡率長條圖

圖 4.7 各組浸液對小球藻、水蚤生長影響統計圖





一、初步推測各組浸液之浸泡條件對小球藻增生抑制效率如下：

1. 浸泡溫度主要以 15°C 時有最大抑藻效率，抑藻率平均數 35.25 %；
2. 浸泡時間主要以浸製 25 日之浸液對小球藻生長抑制影響最大，抑藻率平均數 0.8 %；
3. 當浸泡材料種類為大葉欖仁落葉時，有最大抑藻率平均數 33.51 %。

二、各組浸液之浸泡條件對水蚤致死影響如下：

1. 浸泡溫度主要以 5°C 時水蚤死亡率最大，死亡率平均數 36.61 %；
2. 浸泡時間主要以浸製 25 日之浸液造成水蚤死亡平均數最大，死亡率平均數 35.74 %；
3. 當浸泡材料種類為大葉欖仁落葉時，有最大死亡率平均數 39.75 %。

#### 4.1.2 常態分佈檢定

為獲得可靠有效的分析結果，各組浸液對抑制藻細胞濃度生長測量數據應滿足常態分佈 (normal distribution)。

表 4.3 小球藻抑制影響常態檢定

檢定 項目	變數	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		統計資料	df	顯著性	統計資料	df	顯著性
浸泡 溫度 (°C)	5	0.261	27	0	0.78	27	0
	15	0.216	27	0.002	0.886	27	0.007
	25	0.281	27	0	0.685	27	0
浸泡 比例 (g · mL <sup>-1</sup> )	0.00155	0.332	27	0	0.639	27	0
	0.002	0.335	27	0	0.462	27	0
	0.0025	0.457	27	0	0.515	27	0
浸泡 時間 (日)	5	0.183	27	0.02	0.835	27	0.001
	25	0.274	27	0	0.789	27	0
	35	0.217	27	0.002	0.841	27	0.001
浸泡 材料 (浸液)	大葉欖仁落葉	0.148	27	0.134	0.906	27	0.018
	稻蒿	0.331	27	0	0.674	27	0
	茶渣	0.354	27	0	0.629	27	0

註：a. Lilliefors 顯著更正

Shapiro-Wilk 統計量用來檢定樣本數在 50 個以下的常態性假設，本研究各變數因子樣本數為 27 個，應使用 Shapiro-Wilk 常態性檢定，結果顯示各組浸液對抑藻率常態化假設未達顯著水準，表示各組樣本在抑藻率的分佈呈現常態分佈。再以同樣方式進行各浸液對水蚤死亡率常態檢定：

表 4.4 水蚤致死率常態檢定

檢定項目	檢定項目	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		統計資料	df	顯著性	統計資料	df	顯著性
浸泡	5	0.175	27	0.033	0.894	27	0.01
溫度	15	0.262	27	0	0.855	27	0.001
(°C)	25	0.155	27	0.095	0.937	27	0.104
浸泡	0.00155	0.197	27	0.009	0.912	27	0.026
比例	0.002	0.151	27	0.117	0.902	27	0.015
(g · mL <sup>-1</sup> )	0.0025	0.277	27	0.000	0.837	27	0.001
浸泡	5	0.286	27	0	0.812	27	0
時間	25	0.192	27	0.012	0.847	27	0.001
(日)	35	0.201	27	0.007	0.885	27	0.006
浸泡	大葉欖仁落葉	0.223	27	0.001	0.904	27	0.016
材料	稻蒿	0.203	27	0.006	0.859	27	0.002
(浸液)	茶渣	0.222	27	0.001	0.859	27	0.002

註：a. Lilliefors 顯著更正

結果顯示 25 °C 時的浸泡溫度常態化假設達顯著水準，表示 25 °C 之樣本在浸泡溫度的分佈呈現非常態的分佈， $R^2 = 0.104 > 0.05$ ，表示反應變數的變異量  $\sum (Y_i - \bar{Y})^2$  有 10.4 % 可以被模型中的解釋變數所解釋；其他各組常態化假設未達顯著水準，表示各組樣本不拒絕虛無假設且在抑藻率的分佈呈現常態分佈。



#### 4.1.3 變異數同質性檢定

以 Levene's 檢定變異數同質性假設，若  $p > 0.05$  視為不顯著，代表不拒絕虛無假設（變異數同質），可直接進行 ANOVA 分析。

表 4.5 變異數的獨立性檢定

		Levene 統計資料	df1	df2	顯著性	
浸泡溫度 (°C)	抑藻率	根據平均值	20.462	2	78	0
		根據中位數	4.793	2	78	0.011
		根據中位數，且含調整的 df	4.793	2	36.437	0.014
		根據修整的平均值	13.864	2	78	0.000
	水蚤死亡 率	根據平均值	6.549	2	78	0.002
		根據中位數	3.283	2	78	0.043
		根據中位數，且含調整的 df	3.283	2	63.371	0.044
		根據修整的平均值	6.014	2	78	0.004
浸泡比例 (g · mL <sup>-1</sup> )	抑藻率	根據平均值	0.201	2	78	*0.818
		根據中位數	0.007	2	78	*0.993
		根據中位數，且含調整的 df	0.007	2	74.619	*0.993
		根據修整的平均值	0.122	2	78	*0.885
	水蚤死亡 率	根據平均值	3.257	2	78	0.044
		根據中位數	0.890	2	78	*0.415
		根據中位數，且含調整的 df	0.890	2	62.351	*0.416
		根據修整的平均值	2.885	2	78	*0.062
浸泡時間 (日)	抑藻率	根據平均值	0.462	2	78	*0.632
		根據中位數	0.070	2	78	*0.932
		根據中位數，且含調整的 df	0.070	2	66.723	*0.932
		根據修整的平均值	0.166	2	78	*0.847
	水蚤死亡 率	根據平均值	1.270	2	78	*0.287
		根據中位數	0.370	2	78	*0.692
		根據中位數，且含調整的 df	0.370	2	73.585	*0.692
		根據修整的平均值	0.888	2	78	*0.416
浸泡材料 (浸液)	抑藻率	根據平均值	19.174	2.000	78.000	0.000
		根據中位數	4.663	2.000	78.000	0.012
		根據中位數，且含調整的 df	4.663	2.000	39.238	0.015
		根據修整的平均值	12.785	2.000	78.000	0.000
	水蚤死亡 率	根據平均值	2.440	2.000	78.000	*0.094
		根據中位數	1.602	2.000	78.000	*0.208
		根據中位數，且含調整的 df	1.602	2.000	74.143	*0.208
		根據修整的平均值	2.508	2.000	78.000	*0.088

註：\* 表示未達顯著水準

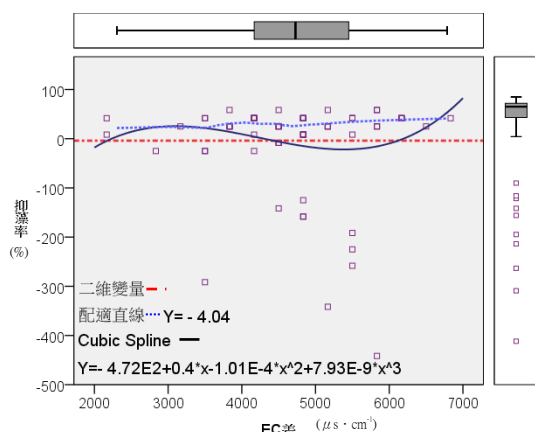
註：\* 表示未達顯著水準



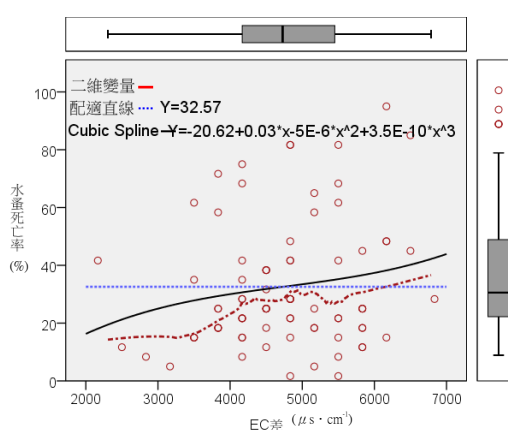
各浸製因子變異數同質性檢定分析：

1. 各浸泡比例的抑藻率、水蚤死亡率之變異數同質性檢定均未達顯著水準，表示不同浸泡比例的變異數為同質
2. 各浸泡時間的抑藻率、水蚤死亡率之變異數同質性檢定均未達顯著水準，表示不同浸泡時間的變異數為同質；
3. 各浸泡溫度的抑藻率、水蚤死亡率之變異數同質性檢定均達顯著水準，表示不同浸泡溫度的變異數為異質；
4. 各浸泡材料的水蚤死亡率之變異數同質性檢定均未達顯著水準，表示不同浸泡材料的變異數為同質。

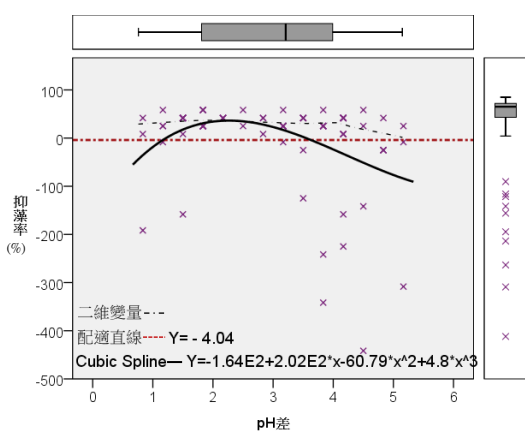
將 pH 差值、EC 差值以散布圖表示：



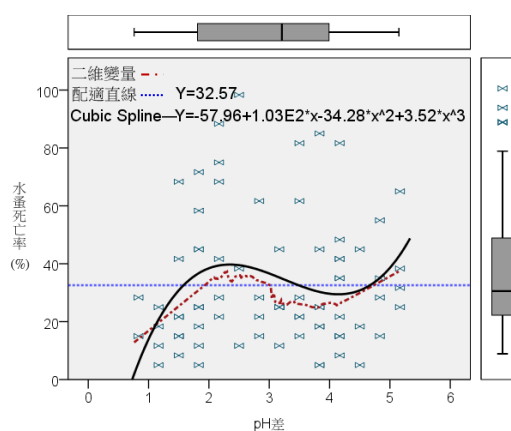
(a) 浸液 EC 差值對小球藻細胞抑制散布圖



(b) 浸液 EC 差值對水蚤死亡率散布圖



(c) 浸液 pH 差值對小球藻細胞抑制散布圖



(d) 浸液 pH 差值對水蚤死亡率散布圖

圖 4.8 EC 差值及 pH 差值對小球藻、水蚤生長影響散布圖

觀察散布圖，若沒有在 0 線上下均勻跳動之趨勢者，表示違反變異數同質性；若有在 0 線上下均勻跳動之趨勢，表示符合變異數同質性。上圖中 pH 差值及 EC 差值對小球藻細胞抑制較符合變異數同質性。

將各組浸液對小球藻生長影響促進或抑制之最大值及最小值結果彙整如下：

表 4.6 浸液對小球藻生長影響對照表

浸製材料	小球藻生長影響		百分比 (%)	實驗編號	浸製條件	組數
大葉 欖仁 落葉	抑制	最大抑制率	49.46	L1-6	0.00155 g · mL <sup>-1</sup> 、35 天、15 °C	1
	作用	最小抑制率	2.15	L1-2	0.00155 g · mL <sup>-1</sup> 、25 天、5 °C	1
	抑制組數小計					27
	促進	最大促進率	—	—	—	0
	作用	最小促進率	—	—	—	0
	促進組數小計					0
	合計					27
稻蒿	抑制	最大抑制率	50.54	R2-6	0.002 g · mL <sup>-1</sup> 、35 天、15 °C	1
	作用	最小抑制率	4.3	R1-1	0.00155 g · mL <sup>-1</sup> 、5 天、5 °C	1
	抑制組數小計					18
	促進	最大促進率	445.16	R2-9	0.002 g · mL <sup>-1</sup> 、35 天、25 °C	1
	作用	最小促進率	16.13	R1-9	0.00155 g · mL <sup>-1</sup> 、35 天、25 °C	1
	促進組數小計					9
	合計					27
茶渣	抑制	最大抑制率	51.61	T2-9	0.002 g · mL <sup>-1</sup> 、35 天、25 °C	1
	作用	最小抑制率	22.58	T3-2	0.0025 g · mL <sup>-1</sup> 、25 天、5 °C	1
	抑制組數小計					20
	促進	最大促進率	189.25	T1-1	0.00155 g · mL <sup>-1</sup> 、5 天、5 °C	1
	作用	最小促進率	10.75	T2-1	0.002 g · mL <sup>-1</sup> 、5 天、5 °C	1
	其他促進組數小計					7
	合計					27
總計						81

表 4.7 浸液對水蚤生長影響對照表

浸液材料	生長影響		百分比 (%)	實驗編號	浸製條件	組數
大葉 欖仁 落葉	半數	最大致死率	95	L3-3	0.0025 g · mL <sup>-1</sup> 、35 天、5 °C	1
	致死	最小致死率	58.33	L3-8	0.0025 g · mL <sup>-1</sup> 、25 天、25 °C	1
	半數致死組數小計					8
	半數	最大影響率	48.33	L2-6	0.002 g · mL <sup>-1</sup> 、35 天、15 °C	1
	致影響	最小影響率	11.67	L1-1	0.00155 g · mL <sup>-1</sup> 、5 天、5 °C	1
半數致影響組數小計						19
合計						27
稻蒿	半數	最大致死率	83.33	R1-4	0.00155 g · mL <sup>-1</sup> 、5 天、5 °C	1
	致死	最小致死率	63.33	R1-7	0.00155 g · mL <sup>-1</sup> 、5 天、25 °C	1
	半數致死組數小計					2
	半數	最大影響率	45	R1-1	0.00155 g · mL <sup>-1</sup> 、5 天、5 °C	1
	致影響	最小影響率	3.33	R1-3	0.00155 g · mL <sup>-1</sup> 、35 天、5 °C	1
半數致影響組數小計						25
合計						27
茶渣	半數	最大致死率	88.33	T3-2	0.0025 g · mL <sup>-1</sup> 、25 天、5 °C	1
	致死	最小致死率	58.33	T1-4	0.00155 g · mL <sup>-1</sup> 、5 天、15 °C	1
	半數致死組數小計					4
	半數	最大影響率	45	T3-3	0.0025 g · mL <sup>-1</sup> 、35 天、5 °C	2
	致影響	最小影響率	6.67	T2-1	0.002 g · mL <sup>-1</sup> 、5 天、5 °C	
半數致影響組數小計						23
合計						27
總計						81



### 一、在小球藻增生抑制方面

1. 由描述性統計資料，大葉欖仁落葉浸液多數具抑藻效率，平均抑藻率為 33.51 %，佔全部有抑藻作用組別之 41.54 %；其次為茶渣浸液，平均抑藻率為 1.93 %，佔全部有抑藻作用組別之 30.77 %；稻蒿浸液對小球藻生長抑制影響不大，平均抑藻率為 -47.54 %，佔全部有抑藻作用組別之 27.69 %；
2. 浸泡比例主要以  $(2.017 \pm 0.043) \times 10^{-3} \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$  之組別對小球藻生長抑制效能表現較平均，佔全部有抑藻作用組別之 32.31 %；
3. 浸泡溫度主要以  $15 \pm 0.91 \text{ }^{\circ}\text{C}$  浸製之浸液具抑藻效率，佔全部有抑藻作用組別之 41.54 %；
4. 浸泡時間主要以浸製  $21.67 \pm 1.39$  日之浸液對小球藻生長抑制影響最大，佔比例 70 %；
5. EC 值變化主要以差值在  $4750.22 \pm 101.94 \text{ } \mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$ ，pH 值變化主要以  $3.01 \pm 0.14$ ，對抑制小球藻有明顯作用。

二、在水蚤生長影響方面，以大葉欖仁落葉為浸泡材料之浸液，有 8 組實驗組造成半數以上水蚤死亡，但全組平均數未達半數死亡量，水蚤平均數死亡率 = 33.51 %，顯示多數浸液毒性對半數以上水蚤無明顯致死影響。

### 三、變異數同質性

1. 各組浸泡比例、浸泡時間的抑藻率、水蚤死亡率之變異數為同質，浸泡材料僅有水蚤死亡率之變異數為同質；
2. 各組浸泡溫度的抑藻率、水蚤死亡率之變異數同質性檢定均達顯著水準，表示不同浸泡溫度的變異數為異質；
3. 各組 pH 差值及 EC 差值的抑藻率、水蚤死亡率，符合變異數同質性；
4. 以浸泡比例、浸泡時間、pH 差值及 EC 差值進行迴歸分析。



## 4.2 迴歸分析

### 4.2.1 回歸模型預測

迴歸分析法 (Regression) 是定量預測方法之一，是由試驗數據內部因素變化的因果關係來預測該研究未來的發展趨勢，考量本研究影響依變數 Y 之獨立變數不只一個，根據檢定樣本資料進行迴歸模式之推估，找到「最佳」的配適線，再透過迴歸方程式得知每個自變數對依變數的影響力及最大的影響變數，以進行統計上和管理意涵的解釋。

簡單迴歸是根據一個自變數去預測一個應變數，通常自變數不只一個，也就是為了使預測更能正確，常會有兩個以上的自變數來預測應變數，此種同時由多個自變數來預測一個應變數的方法稱為逐步迴歸法 (Stepwise estimation)，而逐步迴歸方程式常表達如下式：

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \cdots + \beta_{n-1} X_{n-1} + \beta_n X_n + \varepsilon$$

其中，Y 為應變數； $X_1$ 、 $X_2$ 、...、 $X_n$  為自變數； $\varepsilon$  為誤差項。

試驗資料有數個檢定樣本數，需同時考慮對樣本數的影響，以逐步迴歸分析來替代簡單迴歸分析 (Simple Regression Analysis)。若有 n 個自變數，在逐步迴歸分析模式中，Y 為連續變數，而  $X_1$ 、 $X_2$ 、...、 $X_n$  為 n 個自變數，自變數可為連續變數（亦稱共變量，covariate），或類別變數（即固定因子，Fixed factor）， $\beta_1$ 、 $\beta_2$ 、...、 $\beta_{n-1}$ 、 $\beta_n$  稱為迴歸係數 (Regression Coefficient)；為找到最佳迴歸模式的代表變數，使用逐步迴歸分析法進行多組比較。根據浸製條件、不同可溶性物質對迴歸模式之貢獻預測平均抑藻率 Y。





#### 4.2.2 逐步迴歸法

為找出每個自變數對依變數的解釋力，以觀察何者對小球藻增生抑制及水蚤生長影響最大，使用多元迴歸模型時，所引用的自變數過多，因此以逐步迴歸法 (stepwise estimation)，找出具最大影響力之最少自變數。

相關檢定數值參照表 3.8~表 3.13，將所有可能之迴歸模式皆納入考慮，再依下列準則來選擇變數：(1)  $R^2$ ：愈大愈好；(2)  $R^2_{adj}$ ：愈大愈好，若自變數引入後使  $R^2_{adj}$  增加，則此自變數的引入能增加 Y 變異的解釋能力；(3) Mallows  $C_p$  之  $C_p$  值越小越好，或越接近觀測值總數越好；(4) 假設檢驗的 P 值越小影響越大。

表 4.8 描述性統計資料

	平均數	標準偏差	N
抑藻率	-4.04	95.17	81
氯化物	425.49	329.05	81
亞硝酸鹽	0.78	2.92	81
硝酸鹽	3.73	1.85	81
磷酸鹽	103.77	71.93	81
硫酸鹽	81.84	69.81	81
鈉泵	48.96	39.83	81
銨離子	42.36	57.29	81
鉀泵	473.40	460.01	81
鈣離子	109.15	92.85	81
鎂離子	60.81	31.53	81
鹽度	1785.45	973.59	81
浸泡比例	0.00201667	0.000390432	81
浸泡溫度	15.	8.22	81
浸泡時間	21.67	12.55	81
EC 差	4750.22	917.44	81
pH 差	3.01	1.23	81

註：選取變數方式為全部進入法

逐步分析浸製條件之自變數對抑藻率之影響力：

表 4.9 浸製條件逐步迴歸模型摘要（應變數：抑藻率）

模型	R	R 平方	調整後 R 平方	標準偏斜度 標準錯誤	變更統計資料					Durbin-Watson
					R 平方 變更	F 值 變更	df1	df2	顯著性 F 值 變更	
1	0.015 <sup>a</sup>	0.000	-0.01	95.76135	0.00	0.02	1	79	0.89	
2	0.252 <sup>b</sup>	0.064	0.04	93.27181	0.06	5.27	1	78	0.02	
3	0.300 <sup>c</sup>	0.090	0.05	92.55467	0.03	2.21	1	77	0.14	1.15

a. 預測值：（常數），浸泡比例  
b. 預測值：（常數），浸泡比例, 浸泡溫度  
c. 預測值：（常數），浸泡比例, 浸泡溫度, 浸泡時間

模式摘要顯示，最終模式  $R^2 = 9\%$ ，表示此 3 個變項聯合解釋力達 9%，增加 X1 時，模式增加 0.1% 解釋力，數值過小故不具解釋力，增加 X2 時，模式增加 6.3% 解釋力，增加 X3 時，模式增加 2.6% 解釋力；以 X2 的影響最大，其次依序為  $X2 > X3 > X1$ 。在迴歸模式中， $R^2$  會受到樣本大小的影響而呈現高估現象，樣本愈小愈容易出現高估，觀察調整後的  $R^2$ ，以 X2 及 X3 較具影響力。

表 4.10 浸製條件非標準化係數

模型	非標準化係數		標準 化係 數	T	顯著 性	B 的 95.0% 信賴區間		相關			共線性統 計資料	
	B	標準錯誤				下限	上限	零階	部分	部分	允差	VIF
1	常數	-11.41	56.32	-0.20	.840	-123.50	100.69					
	浸泡 比例 (g · mL <sup>-1</sup> )	3655.17	27422.01	0.02	0.13	.894	-50926.98 58237.33	.015	.015	.015	1.00	1.00
2	常數	32.32	58.06	0.56	.579	-83.28	147.91					
	浸泡 比例 (g · mL <sup>-1</sup> )	3655.17	26709.12	0.02	0.14	.892	-49518.59 56828.94	.015	.015	.015	1.00	1.00
	浸泡 溫度 (°C)	-2.92	1.27	-0.25	-2.30	.024	-5.44 -0.39	-.252	-.252	-.252	1.00	1.00
3	常數	5.74	60.32	0.1	0.92	-114.38	125.85					
	浸泡 比例 (g · mL <sup>-1</sup> )	3655.17	26503.76	0.02	0.14	0.89	-49120.55 56430.90	0.02	0.02	0.02	1.00	1.00
	浸泡 溫度 (°C)	-2.92	1.26	-0.25	-2.31	0.02	-5.42 -0.41	-0.25	-0.26	-0.25	1.00	1.00
	浸泡 時間 (日)	1.23	0.82	0.16	1.488	0.14	-0.42 2.87	0.16	0.17	0.16	1.00	1.00



一、原始迴歸模型：

$$Y(\text{抑藻率}) = 5.74 + 3655.17(\text{浸泡比例}) + (-2.92)(\text{浸泡溫度}) + 1.23(\text{浸泡時間})$$

二、標準化迴歸模型：

$$Y'(\text{抑藻率}) = 0.02(\text{浸泡比例}) + (-0.25)(\text{浸泡溫度}) + 0.16(\text{浸泡時間})$$

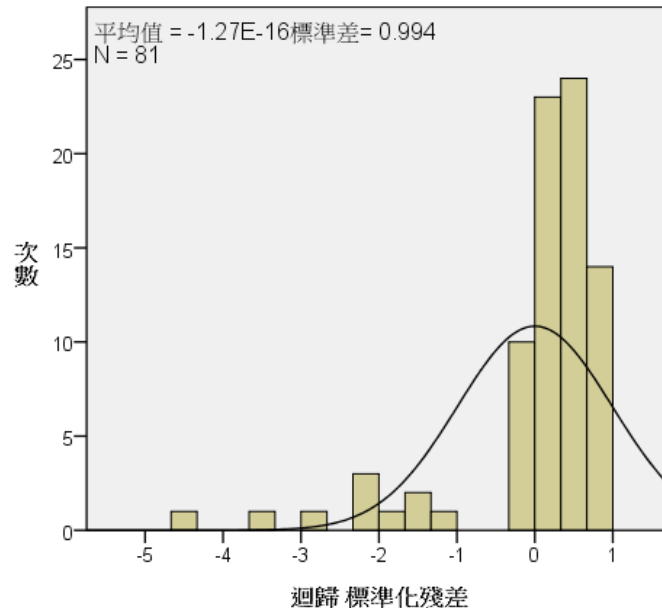


圖 4.9 浸製條件對抑藻率之標準化殘差

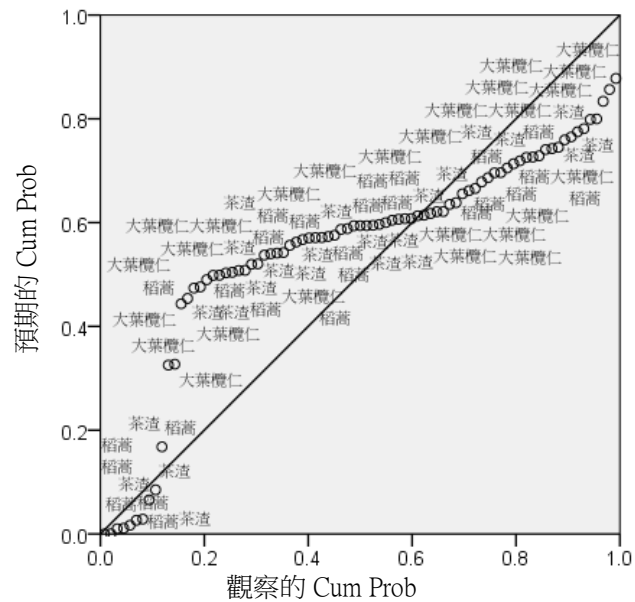


圖 4.10 浸製條件之迴歸標準化殘差常態 PP 圖


進行浸液可溶性物質逐步迴歸模型前，先剔除對模型最不具預測之變數，進行預測器重要性分析後，以氯化物及磷酸鹽最不具預測性。接著再進行逐步分析浸液可溶性物質對抑藻率的影響力：

表 4.11 浸液可溶性物質逐步迴歸模型摘要（應變數: 抑藻率）

模型	R	R 平方	調整後 R 平方	標準偏斜度錯誤	變更統計資料					Durbin-Watson
					R 平方變更	F 值變更	df1	df2	顯著性 F 值變更	
1	0.078 <sup>a</sup>	0.01	-0.01	95.48	0.01	0.48	1	79	0.49	
2	0.119 <sup>b</sup>	0.01	-0.01	95.70	0.01	0.65	1	78	0.42	
3	0.197 <sup>c</sup>	0.04	0.00	95.10	0.02	1.97	1	77	0.16	
4	0.247 <sup>d</sup>	0.06	0.01	94.61	0.02	1.80	1	76	0.18	
5	0.302 <sup>e</sup>	0.09	0.03	93.72	0.03	2.46	1	75	0.12	
6	0.309 <sup>f</sup>	0.10	0.02	94.12	0.01	0.35	1	74	0.56	
7	0.346 <sup>g</sup>	0.12	0.04	93.49	0.02	2.01	1	73	0.16	
8	0.387 <sup>h</sup>	0.15	0.06	92.51	0.03	2.56	1	72	0.11	
9	0.474 <sup>i</sup>	0.22	0.13	88.95	0.08	6.88	1	71	0.01	1.52
a. 預測值：(常數)，亞硝酸鹽										
b. 預測值：(常數)，亞硝酸鹽，硝酸鹽										
c. 預測值：(常數)，亞硝酸鹽，硝酸鹽，硫酸鹽										
d. 預測值：(常數)，亞硝酸鹽，硝酸鹽，硫酸鹽，鈉泵										
e. 預測值：(常數)，亞硝酸鹽，硝酸鹽，硫酸鹽，鈉泵，銨離子										
f. 預測值：(常數)，亞硝酸鹽，硝酸鹽，硫酸鹽，鈉泵，銨離子，鉀泵										
g. 預測值：(常數)，亞硝酸鹽，硝酸鹽，硫酸鹽，鈉泵，銨離子，鉀泵，鈣離子										
h. 預測值：(常數)，亞硝酸鹽，硝酸鹽，硫酸鹽，鈉泵，銨離子，鉀泵，鈣離子，鎂離子										
i. 預測值：(常數)，亞硝酸鹽，硝酸鹽，硫酸鹽，鈉泵，銨離子，鉀泵，鈣離子，鎂離子，鹽度										

最終模式的  $R^2 = 22\%$ ，表示此 9 個變項聯合解釋力達 22%，增加 X1 時，模式增加 1% 解釋力，增加 X2 時，模式增加 1% 解釋力，增加 X3（硫酸鹽）時，模式增加 2% 解釋力，增加 X4（鈉泵）時，模式增加 2% 解釋力，增加 X5（銨離子）時，模式增加 3% 解釋力，增加 X6（鈉泵）時，模式增加 1% 解釋力，增加 X7（鈣離子）時，模式增加 2% 解釋力，增加 X8（鎂離子）時，模式增加 3% 解釋力，增加 X9（鹽度）時，模式增加 8% 解釋力，以 X9（鹽度）的影響最大，其次依序為  $X9 > X8 = X5 > X1 > X7 = X = X3 > X6 = X2 = X1$ 。

表 4.12 浸液可溶性物質非標準化係數



模型	非標準化係數		標準 化係 數	T	顯著 性	B 的 95.0% 信賴區間		相關		共線性統計 資料		
	B	標準 錯誤	Beta			下限	上限	零階	部分	部分	允差	VIF
(常數)	7.81	29.80		0.26	0.79	-51.61	67.24					
亞硝酸鹽	3.22	4.12	0.10	0.78	0.44	-4.99	11.42	0.08	0.09	0.08	0.68	1.47
硝酸鹽	6.66	12.81	0.13	0.52	0.60	-18.89	32.20	0.09	0.06	0.05	0.18	5.66
硫酸鹽	0.67	0.32	0.49	2.06	0.04	0.02	1.31	0.17	0.24	0.22	0.19	5.15
鈉泵	-0.84	0.49	-0.35	-1.71	0.09	-1.82	0.14	-0.02	-0.20	-0.18	0.26	3.84
銨離子	-0.20	0.31	-0.12	-0.63	0.53	-0.82	0.43	-0.04	-0.07	-0.07	0.31	3.22
鉀泵	-0.03	0.05	-0.14	-0.57	0.57	-0.13	0.07	0.04	-0.07	-0.06	0.19	5.35
鈣離子	0.31	0.20	0.30	1.51	0.14	-0.10	0.72	0.10	0.18	0.16	0.27	3.64
鎂離子	0.21	0.58	0.07	0.36	0.72	-0.95	1.37	-0.08	0.04	0.04	0.29	3.41
鹽度	-0.04	0.02	-0.44	-2.62	0.01	-0.08	-0.01	-0.21	-0.30	-0.27	0.38	2.60

## 一、原始迴歸模型：

$$\begin{aligned}
 Y \text{ (抑藻率)} = & 7.81 + 3.22 \text{ (亞硝酸鹽)} + 6.66 \text{ (硝酸鹽)} + 0.67 \text{ (硫酸鹽)} \\
 & + (-0.84) \text{ (鈉泵)} + (-0.2) \text{ (銨離子)} + (-0.03) \text{ (鉀泵)} + 0.31 \text{ (鈣離子)} \\
 & + 0.21 \text{ (鎂離子)} + (-0.04) \text{ (鹽度)}
 \end{aligned}$$

## 二、標準化迴歸模型：

$$\begin{aligned}
 Y' \text{ (抑藻率)} = & 0.1 \text{ (亞硝酸鹽)} + 0.13 \text{ (硝酸鹽)} + 0.49 \text{ (硫酸鹽)} \\
 & + (-0.35) \text{ (鈉泵)} + (-0.12) \text{ (銨離子)} + (-0.14) \text{ (鉀泵)} + 0.3 \text{ (鈣離子)} \\
 & + 0.07 \text{ (鎂離子)} + (-0.44) \text{ (鹽度)}
 \end{aligned}$$

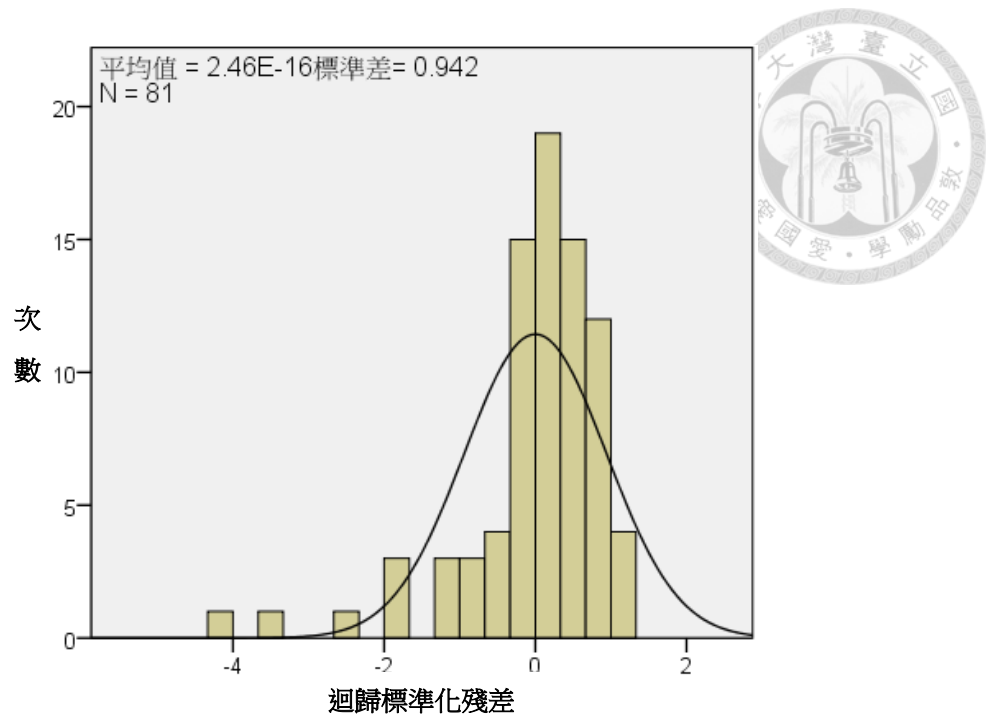


圖 4.11 浸液可溶性物質對抑藻率之標準化殘差

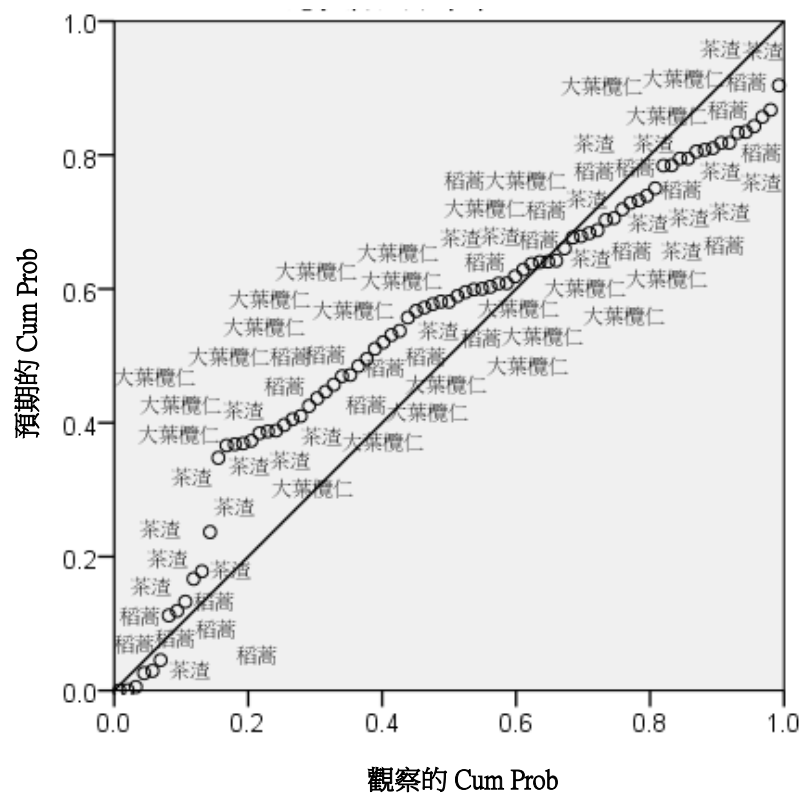


圖 4.12 浸液可溶性物質之迴歸標準化殘差常態 PP 圖



## 第五章、結論與建議



### 5.1 結論

#### 5.1.1 農業廢棄物減量效率

由試驗結果分析得知，大部分農業廢棄物浸液對小球藻增生具有抑制作用，顯示將植物浸液視為天然、低毒性之抑藻劑，是一種可行的方向；為評估農業廢棄物固體量是否有效降低，將浸泡 25 日之 3 種浸料殘渣取出，以 125°C 熱風恆溫烘烤箱處理 10 小時後秤重。

表 5.1 農業廢棄物浸泡後降解率比較表

浸泡材料	浸泡狀態		浸泡前乾重 (g)	浸泡後乾重 (g)	降解率 (%)	每日降解率 (% · day <sup>-1</sup> )
	時間 (日)	溫度 (°C)				
大葉欖仁	25	5	50 ± 1	46.06 ± 1	7.88 ± 0.98	0.3152 ± 0.08
	25	25	50 ± 1	41.22 ± 1	17.56 ± 0.98	0.7024 ± 0.08
	25	35	50 ± 1	40.79 ± 1	18.42 ± 0.98	0.7368 ± 0.08
稻蒿	25	5	50 ± 1	44.07 ± 1	11.86 ± 0.98	0.4744 ± 0.08
	25	25	50 ± 1	39.06 ± 1	21.88 ± 0.98	0.8752 ± 0.08
	25	35	50 ± 1	27.88 ± 1	44.24 ± 0.98	1.7696 ± 0.08
茶渣	25	5	50 ± 1	42.90 ± 1	14.2 ± 0.98	0.568 ± 0.08
	25	25	50 ± 1	34.93 ± 1	30.14 ± 0.98	1.2056 ± 0.08
	25	35	50 ± 1	24.11 ± 1	51.78 ± 0.98	2.0712 ± 0.08

依環保署 2014 年國內事業廢棄物聯單申報量，植物殘渣約佔 22 萬公噸，茶飲加工所產生之茶渣廢棄物約有 1 萬餘公噸，木材廢棄物產量約有 8 萬餘公噸，在理想狀況下若將其製成抑藻劑使用，對於農業廢棄物減量應具有其可行性。

#### 5.1.2 浸製條件及不同可溶性物質之抑藻能力

試驗結果顯示，浸液浸製條件、浸液所含物質與抑藻效能有關，就二方向探討：

- 一、浸製條件：3 種農業廢棄物在水浸泡過程中，皆發生化學及生物作用，對抑制小球藻生長有程度上的影響，其影響效益取決於浸泡比例、浸泡材料、浸泡溫度及浸泡時間，將數據以多元迴歸方程式表示：



$$Y(\text{抑藻率}) = 5.74 + 3655.17(\text{浸泡比例}) + (-2.92)(\text{浸泡溫度}) + 1.23(\text{浸泡時間}) \quad (5.1)$$

由方程式 (5.1) 推估農業廢棄物浸液在「高比例、低溫、浸泡時間較久」的情況下，有較佳的抑藻效能。

二、不同可溶性物質：在缺氧之浸泡環境下，主要以植物腐敗釋放次級代謝物質 (secondary metabolites) 抑藻，不同可溶性物質對抑制小球藻生長之表現不一，以多元迴歸方程式預測抑制趨勢：

$$Y(\text{抑藻率}) = 7.81 + 3.22(\text{亞硝酸鹽}) + 6.66(\text{硝酸鹽}) + 0.67(\text{硫酸鹽}) + (-0.84)(\text{鈉泵}) + (-0.2)(\text{銨離子}) + (-0.03)(\text{鉀泵}) + 0.31(\text{鈣離子}) + 0.21(\text{鎂離子}) + (-0.04)(\text{鹽度}) \quad (5.2)$$

由方程式 (5.2) 推估不同可溶性物質濃度在「高亞硝酸鹽、大量硝酸鹽、少量硫酸鹽、低鈉泵、低銨離子、低鉀泵、少量鈣離子、多量鎂離子、稍低鹽度」的情況下，有最佳的抑藻效能。

除評估各種農業廢棄物浸液對抑制藻類之效力外，另一方面亦須注意水中低劑量毒性的危險

### 三、生物急毒性

水蚤毒性試驗之目的是為了篩選目的物種之安全性測試，由劑量-反應模式推估，水蚤半數致死濃度  $LC_{50}$  約發生在  $pH = 5.713$  處，以概率單位法 Probit 擬合毒性迴歸線  $LC-p$  line，求出  $IC_{50} = 51416 \text{ mol} \cdot \text{mL}^{-1}$ ， $LogicLC_{50} = 4.711 \text{ mol} \cdot \text{mL}^{-1}$ ，及其 95% 可信賴區間為 20533 to 128624，毒性迴歸方程式：

$$Y = 8.431 + \frac{49.91}{1 + 10^{(X - \log LC_{50})}} \quad (5.3)$$

由方程式可得，水蚤存活率隨浸液浸泡比例降低而增大，除考慮浸泡濃度外，未來應將各類植物浸液所含之化學物質分析、建檔，作為評估水體環境低劑量毒性之參考。

試驗結果顯示，大葉欖仁浸液之抑藻能力不受浸液投加量多寡而影響，推測大葉欖仁抑藻方式可能為植物體內的次階代謝物作用；稻蒿浸液之抑藻能力，僅在浸泡 15 天時受投加量多寡影響，浸泡 5 天與浸泡 25 天則無明顯差異，推測可能因浸泡時間過長或過短，造成浸液中揮發性化合物尚未釋出或逸散造成；茶渣浸液在浸泡 25 天時，各組呈現小球藻生長促進作用，推測此時茶葉所含之酚酸類已降解，無法抑制藻類生長。

## 5.2 建議

在比較四項觀測終點參數後得知，大部分抑藻作用強的水浸泡液，pH 值顯著偏低，大葉欖仁落葉浸液之抑藻能力不受浸液投加量多寡而影響，推測大葉欖仁抑藻原理可能是植物釋放的次階代謝物作用；除了水體 pH 值的改變之外，浸泡溫度、浸泡時間、曝氣量的改變，對小球藻生長有顯著影響，表示農業廢棄物浸液在影響藻類生長方面，是多種不同因素綜合表現的結果。

目前有相當多文獻均有分析稻蒿、茶葉所含之次階代謝物，惟有關大葉欖仁之相關研究甚少，建議後續可對大葉欖仁所含之水解丹寧酸（訶子酸、訶黎勒酸）進行定量研究，以提高大葉欖仁抑藻效能之應用。




## 參考文獻



### 中文文獻

- 王岱淇、馮丁樹，1993，農產品廢棄物焚化物性之研究，農業機械學刊，2，1-11。
- 王惠亮、謝廷芳、莊益源，2009，微生物農藥：植物病蟲害的非農藥防治，科學發展，443，42-49。
- 王渭賢，2011，觀賞魚類用藥介紹，國立中興大學獸醫學院獸醫學系。2017年1月13日引用自 <http://www.baphiq.gov.tw/public/Attachment/1341734971.pdf>。
- 王志強，2013，4種水生植物水浸泡液對水華微囊藻的化感抑制作用研究，中國山西大學，碩士論文。
- 汪小雄，2016，三種喬木落葉水浸出液對藍藻化感抑制作用與機理的研究，中國華南理工大學，博士論文。
- 孔垂華、胡飛，2001，植物化感（相生相剋）作用及其應用，中國農業出版社，中國北京。
- 朱擎、馮菁、吳為中、芮克儉、高航，2009，稻草浸泡液的抑藻效果與抑藻活性組分的初步分析，北京大學學報：自然科學版，45，178-182。
- 江中央、郭沛湧，2011，陸生植物對藻類化感抑制作用的研究進展。工業水處理，31，13-17。
- 吳正宗，2014，落葉要歸根－落葉堆肥的理論與實作，國立中興大學土壤環境科學系。
- 李慶華、郭沛湧、田美燕、江中央，2009，柳樹葉浸泡液對蛋白核小球藻的化感作用。生態學雜誌，28，884-888。
- 李鋒民、胡洪營、種雲霄、郭美婷、門玉潔，2007，蘆葦化感物質對藻類細胞膜選擇透性的影響。環境科學，28，2453-2456。
- 李藩、李仁輝、于曉章、邵繼海，2013，小麥麩皮水浸泡液對銅綠微囊藻 (*Microcystis aeruginosa*) 光合色素含量和葉綠素螢光誘導動力學的影響，湖泊科學，25，373-377。
- 沈曉瑄，2009，綠球藻 (*Chlorella*) 的發現，海大養研所。2017年1月13日引用自 <http://ind.ntou.edu.tw/~b0232/chlorella.htm>。

- 
- 周昌弘，1973，植物毒物質在植物生態上之地位，生長與分化研討會論文集，中央研究院生物研究中心專刊，1，205-217。
- 周昌弘，1990，植物生態學，252–265，聯經出版社，臺灣臺北。
- 周昌弘，2006，農業廢棄物之利用與環保：植物相剋作用在永續農業之利用，生物技術與綠色農業研討會專刊，103–116。ISBN：9789860084511。
- 林大楨，1990，使君子科之丹寧及關聯化合物之化學研究，日本國立九州大學，博士論文。
- 林木連、蔡右任、張清寬、陳國任、楊盛勳、陳英玲、張如華、陳玄、賴正南，2009，台灣的茶葉（新版），7–24，遠足文化事業有限公司，臺灣。
- 林明瑞、彭慶仁，2015，小球藻 (*Chlorella vulgaris*) 於模擬煙道氣環境下之最適生長條件探討，科學與工程技術期刊，11，41–52。
- 林俊義、蔡武雄、廖慶樑、簡宣裕、張明輝、劉禎祺，2008，綠色油田在農業永續發展扮演的角色研討會專刊，行政院農業委員會農業試驗所特刊，132。
- 武燕傑、萬紅友、闕靈佳，2008，湖泊富營養化的生物修復及其展望，環保科技，14，45–48。
- 南港區農會，1999，包種茶。2016年9月16日引用自  
<http://www.nkfa.org.tw/characteristic.php>。
- 柯清水，1999，養殖池中藻類過度生長之控制。養魚世界，1999，35–40。養魚世界雜誌社，臺灣。
- 洪昆源、潘富俊，2006，森林下層植物之相剋作用與生物量關係及其在林業上之應用，臺灣林業，32，64–67。
- 徐崇仁、蘇惠美、歐陽又新、朱元南、張明毅、周瑞仁、楊朝麟，1999，餌料生物暨水產種苗生產自動化專輯，3–8、10–15、31–36。
- 柴民偉、石福臣、馬妍、馬俊改，2010，藥用植物浸泡液抑制蛋白和小球藻生長的化感效應。生態學報，30，4960–4966。
- 袁秋英，2016，植物相剋化合物於雜草管理之應用，行政院農業委員會農業藥物毒物試驗所專刊，259，1–20。
- 袁秋英、蔣慕攻，2016，雜草之相剋作用，行政院農業委員會農業藥物毒物試驗所技術專刊，259，1–8。

- 馬建義、陳傑、柴偉綱、李明智、吳聲敢，2000，用蛋白核小球藻 (*C. Chlorella pyrenoidosa*) 評價除草劑活性的微型篩選方法研究，農藥學學報，2，29–34。
- 高德錚，2009，在水稻收割後應用稻草分解菌肥之效益，行政院農委會台中區農業改良場。
- 高穗生、曾經洲、洪巧珍、蔡勇勝、謝奉家，2009，作物診斷與農藥安全使用手冊：生物農藥簡介，46–60，行政院農業委員會農業藥物毒物試驗所生物藥劑組。
- 崔妍、李美芽、施春雷、史賢明，2012，原殼小球藻生物量快速測定方法的對比研究，食品科學，33，253–257。
- 張育森、陳韶妤、賴允慧、梁健群、侯炳丞，2008，臺大自然美：臺大校園植物導覽手冊，國立臺灣大學出版中心，臺灣。
- 張鴻開，2016，不同水生植物吸收營養鹽之研究，國立台灣大學，碩士論文。
- 莊義雄，1996，稻田收穫後稻草處理與利用，花蓮區農業專訊，15，18–19。
- 許國恩、朱敬平、鍾裕仁，2009，放流水生物毒性測試之回顧與評析。中興工程季刊，104，23–29。
- 許靖男，2012，以枯枝落葉製成之生物碳對土壤改良之研究，國立中興大學，碩士論文。
- 陳文卿、鄭幸雄、郭文健、陳文欽、張祖恩、謝炎恭、李松宏、孫世勤、劉宗諭、梁永瑩、李紀瑩、林上滿，2009，推動廚餘、水肥、養豬廢水及生活廢水產生之汙泥集中處理及生質能源再利用可行性評估計畫（核定稿）。
- 陳以容、侯文祥、周楚洋、林懿蘋，2015，結合生物水質管理法與物理曝氣法處理景觀湖水質之研究－以臺灣大學醉月湖為例，農業工程研討會論文集，1016–1027。
- 陳依純，2015，稻稈與杏鮑菇廢棄木屑資源化於蔬菜栽培之研究，國立中興大學，碩士論文。
- 陳國誠，1991，廢水生物處理學，99–102，茂昌圖書有限公司，臺灣臺北。
- 陳國勳，2009，欖仁樹葉萃取物與丹寧酸誘發急性骨髓性白血病細胞凋亡及增強三氧化二砷療效之相關研究，中山醫學大學醫學研究所，學位論文。
- 彭雪萍，2007，魚腥草、雪蓮、綠豆莖和綠茶的抗氧化分析，國立中興大學，碩士



論文。

黃于珊，2015，小球藻對酚降解現象之初步探討，淡江大學，碩士論文。

黃冠茵，2015，茶葉渣與咖啡渣製備高比表面積活性碳之性質與應用，國立聯合大學，碩士論文。

黃浩仁，2010，系統性方法探討相剋作用在植物多樣性之角色 [摘要]，行政院國家科學委員會補助專題研究計畫摘要檢索系統：國立成功大學生命科學系。

黃浩仁，2013，比較基因體探討植物揮發性相剋作用機制 [摘要]，行政院國家科學委員會補助專題研究計畫摘要檢索系統：國立成功大學生命科學系。

黃浩仁，2015，比較基因體探討植物揮發性相剋作用機制 [摘要]，國科會研究報告。

黃毓涵，2009，小球藻最適化連續式培養之研究，國立成功大學，碩士論文。

楊士緯，2009，以超臨界二氧化碳流體萃取茶葉中茶多酚及機能性探討之研究，高苑科技大學，碩士論文。

楊秋忠，2011，落葉資源化，國立中興大學土壤環境科學系。

楊紹榮，農業廢棄物處理與再利用。台南區農業改良場。2016年9月26日引用自 <http://www.tndais.gov.tw/Soil/b1.htm>。

楊寧蓀、林天仁，2014，開發大花鹹豐草植物化合物群 BP-E-F1 抗骨髓衍生抑制細胞擴張及免疫查哨點封阻用以抑制腫瘤轉移活性之研究 (I) [摘要]。行政院國家科學委員會補助專題研究計畫摘要檢索系統：中央研究院農業生物科技研究中心。

萬皓鵬、李宏台，2010，廢棄物衍生燃料的使用，科學發展，450，34-43。

廖庭宇，2014，反應性醛腈與極性麻醉含鹵素取代基苯胺之混合毒性試驗，國立交通大學，碩士論文。

劉潔生、楊維東、高潔、李詩盈，2007，稻、麥秸稈對球形棕囊藻 (*Phaeocystis globosa*) 生長的抑制作用，生態學報，27，4498-4505。

劉鎮宗，1998，環境毒物學概論，國立宜蘭大學環境工程學系。

歐陽好婧，2006，玉米秸稈對赤潮藻的抑制作用及其機制的初步研究，中國暨南大學，碩士論文。

潘淑如，2014，農產品通路與生產者收益之研究-以南投埔裡地區茭白筍為例，大



葉大學，碩士論文。

蔡玉春、林大楨、劉宗榮、何禮剛，1996，欖仁樹鮮葉、陰乾鮮葉及乾燥落葉所含 Punicalin 及 Punicalagin 之高效液相層析法定量分析。中醫藥雜誌，7，187 – 192。

鄧明峰，2012，多成分系聚乳酸/甘蔗纖維複合材料製備與性質探討，長庚大學，碩士論文。

鄭武燦，2000，台灣植物圖鑑（上冊），777，國立編譯館，臺灣臺北。

鄭敦仁，2015，科學工業園區高科技廢水生物急毒性來源之多變量迴歸分析[電子版]，科技部 104 年度科技行政研究發展計畫成果報告。2017 年 2 月 2 日引用自 <https://www.most.gov.tw/most/attachments/21a18f3e-cef4-4e54-8bcb-67d9d0bc77d9>。

鄭麗榛，2015，以 PHBV/PVA/甘蔗渣混煉甘油/TEC/馬來酸酐開發生物可分解塑膠粒最適操作條件之研究，國立中興大學，碩士論文。

謝廷芳、黃鴻章，2009，病害防治與植物健康管理，2009 花卉健康管理研討會專刊，91 – 104。

謝誌鴻，2009，微藻培養與微藻油脂生產之研究，國立成功大學，博士論文。

謝慶芳，1999，天然藥劑與病害控制，興大農業推廣期刊，30，14 – 17。

簡道南，2003，堆肥的製作原理。台肥月刊，44。

譚仁祥，2003，植物成分功能，35 – 63，科學出版社，中國。

#### 英文文獻

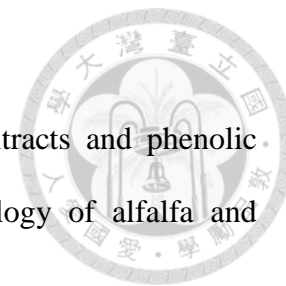
Afkar E., Ababna H., Fathi A.A., 2010. Toxicological response of the green alga *Chlorella vulgaris* to some heavy metals. *American Journal of Environmental Sciences*, 6, 230 – 237.

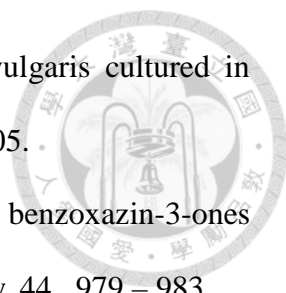
Chen PS, Li JH, Liu TY, Lin TC, 2000. Folk medicine *Terminalia catappa* and its major tannin component, punicalagin, are effective against bleomycin-induced genotoxicity in Chinese hamster ovary cells. *Cancer Lett*, 152, 115 – 22.

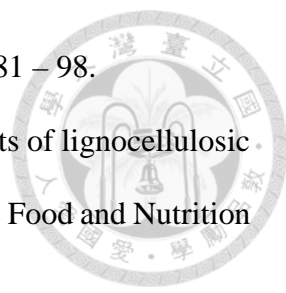
Chiu CH, Chen GH, Tzen JTC, Yang CY, 2015. Molecular identification and characterization of a serine carboxypeptidase-like gene associated with abiotic stress



- in tea plant, *Camellia sinensis* (L.). *Plant Growth Regul.*
- Chon S.U., Choib D.K, Jung S., 2002. Effects of alfalfa leaf extracts and phenolic allelochemicals on early seedling growth and root morphology of alfalfa and barnyard grass. *Crop Prot*, 21 , 1077 – 1082.
- Chou C.H., 1998. Adaptive autointoxication mechanisms in rice. In Olofsdotter M (eds.). *Allelopathy in Rice*, 99 – 116. IRRI, Manila, Philippines.
- Chou C.H., 2010. Role of allelopathy in sustainable agriculture: use of allelochemicals as naturally occurring bio-agrochemicals. *Allelopathy J*, 25, 3 – 16.
- Chou C.H., Chung Y. T., 1974. The allelopathic potential of *Miscanthus floridulus*. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, 15, 14 – 27.
- Chou, C.H., 1999. Roles of allelopathy in plant biodiversity and sustainable agriculture. *Critical Rev. Plant Sci.* 18, 609 – 636.
- Crump K.S., Hoel D.G., Langley C.H., Peto R., 1976. Fundamental Carcinogenic Processes and Their Implications for Low Dose Risk Assessment. *Cancer Research*, 36 , 2973 – 2979.
- Daire Ó hUallacháin, Owen Fenton, 2010. Barley (*Hordeum vulgare*) – induced growth inhibition of algae: a review, *Journal: Journal of Applied Phycology*, 22 , 651.
- Dayan FE, Watson SB, Galindo J CG, et al., 1999. Phytotoxicity of quassinoids: physiological responses and structural requirements. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 65 , 15 – 24.
- Della Greca M, Lanzetta R, Molinaro A, et al., 1992. Phenalene metabolites from *Eichhornia crassipes*. *Bioorg Med Chem Lett*, 2, 311 – 314.
- Farré M, Barceló D., 2003. Toxicity testing of wastewater and sewage sludge by biosensors, bioassays and chemical analysis. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 22 , 299 – 310.



- 
- Feng Y., Li C., Zhang D., 2011. Lipid production of *Chlorella vulgaris* cultured in artificial wastewater medium. *Bioresour Technol*, 102 , 101 – 105.
- Friebe A, Roth U, Kuck P et al., 1996. Effects of 2,4-dihydroxy-1,4 benzoxazin-3-ones on the activity of plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase *Phytochemistry*, 44 , 979 – 983.
- Galindo J CG, Hernandez A, Dayan FE et al., 1999. Dehydrozaluzein C, a natural sesquiterpenolide, causes rapid plasma membrane leakage. *Phytochemistry*, 52, 805 – 813.
- Grossmann K., Berghaus R., Retzlaff G, 1992. *Pestic.Sci*, 35, 283 – 289.
- Jeebhay M, Ehrlich R, Health Sciences UCT., 2007. Introduction to Occupational Toxicology, pp. 8. Postgraduate Diploma in Occupational Health [DOH]. Health Sciences, University of Cape Town, Southern Afr. Retrieved from [https://vula.uct.ac.za/access/content/group/9c29ba04-b1ee-49b9-8c85-9a468b556ce2/DOH/Module%203%20Toxom%20I\\_/toxom1/Tox-RE8.htm](https://vula.uct.ac.za/access/content/group/9c29ba04-b1ee-49b9-8c85-9a468b556ce2/DOH/Module%203%20Toxom%20I_/toxom1/Tox-RE8.htm).
- Kelton J, Price AJ, Mosjidis J, 2012. Allelopathic weed suppression through the use of cover crops. INTECH Open Access Publisher.
- Leadir L.M., Raymond Fries, Pacovsky S., Safir Gene R., Siqueira Jose Oswaldo, 1997. Plant growth and arbuscular mycorrhizal fungi colonization affected by exogenous applied phenolic compounds. *Journal of Chemical Ecology*, 23 , 1755 – 1767.
- Lin, J.H., Kao, W.C., Tsai, K.P., Chen, C.Y., 2005. A novel algal toxicity testing technique for assessing the toxicity of both metallic and organic toxicants. *Water Res.* 39, 18.
- Lopez L., Bonzani N.E., Zygadlo B.N., 2008. Allelopathic potential of *Tagetes minuta* terpenes by a chemical, anatomical and phytotoxic approach. *Biochem. System. Ecol.* 36 , 882 – 890.
- Mattice J., Lavy T., Skulman B., Dilday R, 1998. Searching for allelochemicals in rice that control ducksalad. M. Odofsdotter (Ed.), Workshop on Allelopathy in Rice,

- 
- International Rice Research Institute, Makati City, Philippines, 81 – 98.
- Mercy Badu, Sylvester K. Twumasi, Nathaniel O. Boadi, 2011. Effects of lignocellulosic in wood used as substrate on the quality and yield of mushrooms. *Food and Nutrition Sciences*, 2, 780 – 784.
- Molish H., 1937. Der Einfluss einer pflanze auf die-andere allelopathie. Fisher. Jena, 13 – 20.
- Muller CH, 1966. The role of chemical inhibition (allelopathy) in Vegetational composition. *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, 93 , 332 – 351.
- Nakai S, Inoue Y, Hosomi M, et al., 2000. Myriophyllum spicatum-released allelopathic polyphenols inhibiting growth of blue-green algae *Microcystis aeruginosa*. *Water Research*, 34 , 3026 – 3032.
- Nakai S, Yamada S, Hosomi M., 2005. Anti-cyanobacterial fatty acids released from *Myriophyllum spicatum*. *Hydrobiologia*, 543 , 71 – 78.
- Nakai S, Zou G, Okuda T, et al., 2010. Anti-cyanobacterial allelopathic effects of plants used for artificial floating islands. *Allelopathy Journal*, 26 , 113 – 121.
- Nakai S., Inoue Y., Hosomi M, Murakami A., 1999. Growth inhibition of blue-green algae by allelopathic effects of macrophytes. *Water Science and Technology*, 39 , 47 – 53.
- Rodney J, Sahari J, Mohd Shah M. K., 2015. Physicochemical and mechanical properties of different morphological parts of the tea tree (*Melaleuca alternifolia*) fibres. *FIBRES & TEXTILES in Eastern Europe*, 6 , 31 – 36.
- Rose SL, Perry DA, Pilz D, Schoeneberger MM, 1983. Allelopathic effects of litter on the growth and colonization of mycorrhizal fungi. *Journal of Chemical Ecology*, 9 , 1153 – 1162.
- Silva† Humberto J., Pirt S. John, 1984. Carbon dioxide inhibition of photosynthetic growth of *Chlorella*. *Journal of General Microbiology*, 130, 2833 – 2838.

Szopa S, Hauglustaine D.A., Ciais P., 2007. Relative contributions of biomass burning emissions and atmospheric transport to carbon monoxide interannual variability. *Geophysical Research Letters*, 34, 810.

Veerabhadran Ramanathan, Ramana Muvva V., Gregory Roberts, Kim Dohyeong,

Wang B., Lee S. C., Ho K. F., 2006. Chemical composition of fine particles from incense burning in a large environmental chamber. *Atmospheric Environment*, 40, 7858 – 7868.

Whittaker RH, Feeny PP, 1971. Allelochemicals: chemical interactions between species. *Science*, 171, 757 – 770.

Wu J.H., Tung Y.T., Wang S.Y., Shyur L.F., Kuo Y.H., Chang S.T., 2005. Phenolic antioxidants from the heartwood of *Acacia confusa*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 5917 – 5921.



## 附錄



## 預備試驗原始數據



# 預備試驗原始數值－範圍尋找試驗

培養液 H<sup>+</sup>濃度 調整表

編號	NaOH 莫耳數 (0.1M)	HCl 莫耳數 (0.1M)	反應後溶液體積 (mL)	H <sup>+</sup> (mol/L)	培養液 (pH)	培養液 (mL)	混合液體積 (mL)	H <sup>+</sup> (mol/mL)	混合液 (pH)	F	P value
A	4.5	5.00	95.00	5.2632E-03	6.88	300.00	304.00	6.9382E-05	4.16	10.86184	0.002
B	4.5	5.00	95.00	5.2632E-03	6.88	300.00	300.40	7.1398E-06	5.15	74.68745	< 0.0001
C	4.99	5.00	99.90	1.0010E-04	6.88	300	302.50	9.5801E-07	6.02	204.6949	< 0.0001
D	—	—	—	—	6.88	300	300.00	1.3182E-07	6.88	252.0855	< 0.0001
E	5.1	5.00	101.00	1.0100E-11	6.88	300	300.40	8.4266E-09	8.07	197.3256	< 0.0001
F	5.1	5.00	101.00	1.0100E-11	6.88	300	303.50	8.8592E-10	9.05	315.2938	< 0.0001
G	5.1	5.00	101.00	1.0100E-11	6.88	300	340.00	8.5936E-11	10.07	158.7038	< 0.0001

大型蚤 LC<sub>50</sub> 範圍尋找試驗

氫離子濃度 (mol/mL)	組別	水蚤死亡量 (隻)			水蚤死亡率 (%)			Mean	Std. Deviation	Std. Error	Lower 95% CI	Upper 95% CI
		1	2	3	1	2	3					
6.9382E-05	A	13	10	12	65	50	60	55	7.071068	5	-8.530922	118.5309
7.1398E-06	B	10	11	7	50	55	35	45	14.14214	10	-82.06184	172.0618
9.5801E-07	C	5	5	6	25	25	30	27.5	3.535534	2.5	-4.265461	59.26546
1.3182E-07	D	0	2	2	0	10	10	5	7.071068	5	-58.53092	68.53092
8.4266E-09	E	0	1	1	0	5	5	2.5	3.535534	2.5	-29.26546	34.26546
8.8592E-10	F	1	1	1	5	5	5	5	0	0	5	5
8.5936E-11	G	4	4	4	20	20	20	20	0	0	20	20



預備實驗 A 組 ( $H^+=6.938 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{mL}^{-1}$ )

實驗日期	天數	藻細胞濃度 ( $10^4 \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}$ )			Mean	Std. Deviation	Std. Error	Lower 95% CI	Upper 95% CI	Minimum	Maximum	pH	EC ( $\text{us} \cdot \text{cm}^{-1}$ )	$\Delta\text{EC}$ ( $\text{us} \cdot \text{cm}^{-1}$ )	比生長速率常數 ( $\text{day}^{-1}$ )
1060126	1	15	15	15	15	0	0	15	15	15	15	4	176	0	0
1060127	2	15	15	20	16.66667	2.886751	1.666667	9.495607	23.83772	15	20	4.23	174	-2	0.0458
1060128	3	20	15	20	18.33333	2.886751	1.666667	11.16228	25.50439	15	20	4.44	182	6	0.0436
1060129	4	30	25	20	25	5	2.886751	12.57936	37.42064	20	30	4.44	195	19	0.0739
1060130	5	30	25	25	26.66667	2.886751	1.666667	19.49561	33.83773	25	30	4.63	206	30	0.0625
1060131	6	30	30	30	30	0	0	30	30	30	30	4.51	217	41	0.0602
1060201	7	25	30	30	28.33333	2.886751	1.666667	21.16228	35.50439	25	30	5.17	234	58	0.0460
1060202	8	25	30	35	30	5	2.886751	17.57936	42.42064	25	35	5.64	236	60	0.0430
1060203	9	20	20	30	23.33333	5.773503	3.333333	8.991216	37.67545	20	30	5.53	236	60	0.0240
1060204	10	20	20	25	21.66667	2.886751	1.666667	14.49561	28.83772	20	25	6.16	230	54	0.0177
1060205	11	15	20	20	18.33333	2.886751	1.666667	11.16228	25.50439	15	20	6.2	228	52	0.0087
1060206	12	10	15	20	15	5	2.886751	2.579362	27.42064	10	20	6.32	223	47	0
1060207	13	10	10	15	11.66667	2.886751	1.666667	4.495608	18.83773	10	15	6.3	224	48	-0.0091
1060208	14	5	10	10	8.333333	2.886751	1.666667	1.162274	15.50439	5	10	6.3	224	48	-0.0196
1060209	15	5	5	10	6.666667	2.886751	1.666667	-0.5043925	13.83773	5	10	6.54	220	44	-0.0252

註：3次重複平均值



預備實驗 B 組 ( $H^+=7.14 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{mL}^{-1}$ )

實驗日期	天數	藻細胞濃度 ( $10^4 \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}$ )			Mean	Std. Deviation	Std. Error	Lower 95% CI	Upper 95% CI	Minimum	Maximum	pH	EC ( $\mu\text{s} \cdot \text{cm}^{-1}$ )	$\Delta\text{EC}$ ( $\mu\text{s} \cdot \text{cm}^{-1}$ )	比生長速率常數 ( $\text{day}^{-1}$ )
1060126	1	15	15	15	15	0	0	15	15	15	15	5	176	0	0
1060127	2	15	20	20	18.33333	2.886751	1.666667	11.16228	25.50439	15	20	4.98	182	6	0.0872
1060128	3	35	40	35	36.66667	2.886751	1.666667	29.49561	43.83773	35	40	5.05	228	52	0.1941
1060129	4	65	75	70	70	5	2.886751	57.57936	82.42064	65	75	5.33	286	110	0.2230
1060130	5	95	95	110	100	8.660254	5	78.48682	121.5132	95	110	5.41	295	119	0.2060
1060131	6	110	105	115	110	5	2.886751	97.57936	122.4206	105	115	5.53	335	159	0.1731
1060201	7	145	140	140	141.6667	2.886751	1.666667	134.4956	148.8377	140	145	5.5	385	209	0.1625
1060202	8	155	150	155	153.3333	2.886751	1.666667	146.1623	160.5044	150	155	5.54	459	283	0.1442
1060203	9	175	165	170	170	5	2.886751	157.5794	182.4206	165	175	5.85	511	335	0.1318
1060204	10	225	220	230	225	5	2.886751	212.5794	237.4206	220	230	6.1	637	461	0.1307
1060205	11	215	205	220	213.3333	7.637626	4.409585	194.3605	232.3062	205	220	6.15	651	475	0.1153
1060206	12	195	190	195	193.3333	2.886751	1.666667	186.1623	200.5044	190	195	6.3	707	531	0.1009
1060207	13	185	185	190	186.6667	2.886751	1.666667	179.4956	193.8377	185	190	6.65	721	545	0.0912
1060208	14	145	140	140	141.6667	2.886751	1.666667	134.4956	148.8377	140	145	7.07	707	531	0.0750
1060209	15	130	135	130	131.6667	2.886751	1.666667	124.4956	138.8377	130	135	7.32	683	507	0.0674

註：3次重複平均值



預備實驗 C 組 ( $H^+=9.58 \times 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{mL}^{-1}$ )

實驗日期	天數	藻細胞濃度 ( $10^4 \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}$ )			Mean	Std. Deviation	Std. Error	Lower 95% CI	Upper 95% CI	Minimum	Maximum	pH	EC ( $\text{us} \cdot \text{cm}^{-1}$ )	$\Delta\text{EC}$ ( $\text{us} \cdot \text{cm}^{-1}$ )	比生長速率常數 ( $\text{day}^{-1}$ )
1060126	1	15	15	15	15	0	0	15	15	15	15	6	176	0	0
1060127	2	35	30	35	33.33333	2.886751	1.666667	26.16227	40.50439	30	35	5.89	201	25	0.3468
1060128	3	725	740	735	733.3333	7.637626	4.409585	714.3605	752.3062	725	740	6.11	265	89	0.8446
1060129	4	1600	1610	1595	1601.667	7.637626	4.409585	1582.694	1620.639	1595	1610	6.63	381	205	0.6762
1060130	5	1775	1760	1680	1738.333	51.07185	29.48634	1611.464	1865.202	1680	1775	6.87	442	266	0.5160
1060131	6	2250	2060	2055	2121.667	111.168	64.1829	1845.511	2397.822	2055	2250	7.11	781	605	0.4301
1060201	7	3805	3825	3815	3815	10	5.773503	3790.159	3839.841	3805	3825	7.64	1672	1496	0.4009
1060202	8	4455	4335	4340	4376.667	67.8847	39.19325	4208.032	4545.301	4335	4455	8.04	1880	1704	0.3522
1060203	9	4440	4390	4370	4400	36.05551	20.81666	4310.434	4489.566	4370	4440	8.36	2343	2167	0.3084
1060204	10	4595	4585	4565	4581.667	15.27525	8.819171	4543.721	4619.612	4565	4595	8.85	2835	2659	0.2761
1060205	11	4735	4745	4720	4733.333	12.58306	7.264832	4702.076	4764.591	4720	4745	9	2948	2772	0.2499
1060206	12	4710	4705	4665	4693.333	24.66441	14.24001	4632.064	4754.603	4665	4710	9.47	3552	3376	0.2269
1060207	13	4615	4625	4605	4615	10	5.773503	4590.159	4639.841	4605	4625	9.62	3838	3662	0.2073
1060208	14	4575	4580	4570	4575	5	2.886751	4562.58	4587.42	4570	4580	9.66	4105	3929	0.1911
1060209	15	4410	4430	4405	4415	13.22876	7.637626	4382.138	4447.862	4405	4430	9.51	4122	3946	0.1763

註：3次重複平均值

預備實驗 D 組 ( $H^+=1.3182 \times 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{mL}^{-1}$ )

實驗日期	天數	藻細胞濃度 ( $10^4 \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}$ )			Mean	Std. Deviation	Std. Error	Lower 95% CI	Upper 95% CI	Minimum	Maximum	pH	EC ( $\text{us} \cdot \text{cm}^{-1}$ )	$\Delta\text{EC}$ ( $\text{us} \cdot \text{cm}^{-1}$ )	比生長速率常數 ( $\text{day}^{-1}$ )
1060126	1	15	15	15	15	0	0	15	15	15	15	6.88	176	0	0
1060127	2	35	40	30	35	5	2.886751	22.57936	47.42064	30	40	6.89	265	89	0.3680
1060128	3	980	975	990	981.6667	7.637626	4.409585	962.6938	1000.64	975	990	7.31	432	256	0.9079
1060129	4	2065	2075	2080	2073.333	7.637626	4.409585	2054.36	2092.306	2065	2080	7.53	1142	966	0.7135
1060130	5	2545	2555	2570	2556.667	12.58306	7.264832	2525.409	2587.925	2545	2570	7.64	2178	2002	0.5579
1060131	6	2965	2990	2980	2978.333	12.58306	7.264832	2947.075	3009.591	2965	2990	7.53	2476	2300	0.4596
1060201	7	3345	3330	3340	3338.333	7.637626	4.409585	3319.36	3357.306	3330	3345	8.02	3443	3267	0.3912
1060202	8	4035	4055	4045	4045	10	5.773503	4020.159	4069.841	4035	4055	8.16	4019	3843	0.3473
1060203	9	4450	4335	4305	4363.333	76.53975	44.19025	4173.199	4553.468	4305	4450	8.54	5133	4957	0.3080
1060204	10	4450	4475	4465	4463.333	12.58306	7.264832	4432.076	4494.591	4450	4475	8.85	5478	5302	0.2748
1060205	11	4520	4540	4555	4538.333	17.55942	10.13794	4494.714	4581.953	4520	4555	9	5384	5208	0.2481
1060206	12	4465	4910	4880	4751.667	248.7133	143.5947	4133.831	5369.502	4465	4910	9.12	5310	5134	0.2273
1060207	13	4650	4825	4860	4778.333	112.5093	64.95725	4498.846	5057.821	4650	4860	9.56	5132	4956	0.2086
1060208	14	4660	4750	4770	4726.667	58.59465	33.82964	4581.11	4872.223	4660	4770	9.78	5385	5209	0.1922
1060209	15	4535	4550	4545	4543.333	7.637626	4.409585	4524.361	4562.306	4535	4550	9.89	5301	5125	0.1772

註：3次重複平均值

預備實驗 E 組 ( $H^+=8.427 \times 10^{-9} \text{ mol} \cdot \text{mL}^{-1}$ )

實驗日期	天數	藻細胞濃度 ( $10^4 \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}$ )			Mean	Std. Deviation	Std. Error	Lower 95% CI	Upper 95% CI	Minimum	Maximum	pH	EC ( $\text{us} \cdot \text{cm}^{-1}$ )	$\Delta\text{EC}$ ( $\text{us} \cdot \text{cm}^{-1}$ )	比生長速率常數 ( $\text{day}^{-1}$ )
1060126	1	15	15	15	15	0	0	15	15	15	15	8.3	176	0	0
1060127	2	20	25	20	21.66667	2.886751	1.666667	14.49561	28.83772	20	25	8.29	209	33	0.1597
1060128	3	835	840	835	836.6667	2.886751	1.666667	829.4956	843.8378	835	840	8.76	436	260	0.8732
1060129	4	1115	1115	1105	1111.667	5.773503	3.333333	1097.324	1126.009	1105	1115	8.98	863	687	0.6233
1060130	5	1655	1660	1645	1653.333	7.637626	4.409585	1634.361	1672.306	1645	1660	9.19	1707	1531	0.5106
1060131	6	2160	2160	2165	2161.667	2.886751	1.666667	2154.496	2168.838	2160	2165	9.41	2015	1839	0.4317
1060201	7	3285	3280	3270	3278.333	7.637626	4.409585	3259.36	3297.306	3270	3285	9.67	3065	2889	0.3899
1060202	8	4530	4530	4540	4533.333	5.773503	3.333333	4518.991	4547.676	4530	4540	9.86	4645	4469	0.3543
1060203	9	4405	4555	4535	4498.333	81.44527	47.02245	4296.013	4700.654	4405	4555	10.02	5166	4990	0.3096
1060204	10	4775	4805	4795	4791.667	15.27525	8.819171	4753.721	4829.612	4775	4805	10.11	6301	6125	0.2783
1060205	11	4650	4665	4670	4661.667	10.40833	6.009252	4635.811	4687.522	4650	4670	10.05	7123	6947	0.2492
1060206	12	4550	4570	4580	4566.667	15.27525	8.819171	4528.721	4604.612	4550	4580	9.9	7220	7044	0.2258
1060207	13	4425	4460	4475	4453.333	25.65801	14.81366	4389.596	4517.071	4425	4475	9.65	7304	7128	0.2060
1060208	14	4540	4565	4580	4561.667	20.20726	11.66667	4511.469	4611.864	4540	4580	9.73	6990	6814	0.1910
1060209	15	4330	4375	4390	4365	31.22499	18.02776	4287.433	4442.567	4330	4390	9.46	6797	6621	0.1760

註：3次重複平均值

預備實驗 F 組 ( $H^+=8.859 \times 10^{-10} \text{ mol} \cdot \text{mL}^{-1}$ )

實驗日期	天數	藻細胞濃度 ( $10^4 \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}$ )			Mean	Std. Deviation	Std. Error	Lower 95% CI	Upper 95% CI	Minimum	Maximum	pH	EC ( $\text{us} \cdot \text{cm}^{-1}$ )	$\Delta\text{EC}$ ( $\text{us} \cdot \text{cm}^{-1}$ )	比生長速率常數 ( $\text{day}^{-1}$ )
1060126	1	15	15	15	15	0	0	15	15	15	15	9.1	176	0	0
1060127	2	20	20	25	21.66667	2.886751	1.666667	14.49561	28.83772	20	25	8.3	242	66	0.1597
1060128	3	360	365	355	360	5	2.886751	347.5794	372.4206	355	365	8.16	371	195	0.6901
1060129	4	845	855	860	853.3333	7.637626	4.409585	834.3605	872.3062	845	860	9.47	692	516	0.5850
1060130	5	1155	1175	1160	1163.333	10.40833	6.009252	1137.478	1189.189	1155	1175	8.85	931	755	0.4724
1060131	6	1945	1985	1970	1966.667	20.20726	11.66667	1916.469	2016.864	1945	1985	9	1704	1528	0.4235
1060201	7	2655	2645	2670	2656.667	12.58306	7.264832	2625.409	2687.925	2645	2670	8.89	2425	2249	0.3747
1060202	8	3870	3885	3910	3888.333	20.20726	11.66667	3838.136	3938.531	3870	3910	9.12	3585	3409	0.3448
1060203	9	4220	4225	4240	4228.333	10.40833	6.009252	4202.478	4254.189	4220	4240	9.56	3790	3614	0.3063
1060204	10	4405	4405	4425	4411.667	11.54701	6.666667	4382.982	4440.351	4405	4425	9.47	4673	4497	0.2743
1060205	11	4670	4635	4645	4650	18.02776	10.40833	4605.217	4694.783	4635	4670	9.91	5737	5561	0.2491
1060206	12	4775	4760	4750	4761.667	12.58306	7.264832	4730.409	4792.924	4750	4775	10.51	5903	5727	0.2274
1060207	13	4560	4545	4530	4545	15	8.660254	4507.738	4582.262	4530	4560	10.72	6670	6494	0.2068
1060208	14	4535	4510	4505	4516.667	16.07275	9.279608	4476.74	4556.593	4505	4535	10.81	6718	6542	0.1907
1060209	15	4450	4425	4430	4435	13.22876	7.637626	4402.138	4467.862	4425	4450	10.33	6677	6501	0.1765

註：3次重複平均值

預備實驗 G 組 ( $H^+=8.594 \times 10^{-11} \text{ mol} \cdot \text{mL}^{-1}$ )

實驗日期	天數	藻細胞濃度 ( $10^4 \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}$ )			Mean	Std. Deviation	Std. Error	Lower 95% CI	Upper 95% CI	Minimum	Maximum	pH	EC ( $\text{us} \cdot \text{cm}^{-1}$ )	$\Delta\text{EC}$ ( $\text{us} \cdot \text{cm}^{-1}$ )	比生長速率常數 ( $\text{day}^{-1}$ )
1060126	1	15	15	15	15	0	0	15	15	15	15	10	176	0	0
1060127	2	20	20	25	21.6667	2.8868	1.6667	14.49561	28.83772	20	25	10.26	268	92	0.1597
1060128	3	235	240	240	238.3333	2.8868	1.6667	231.1623	245.5044	235	240	10.34	439	263	0.6005
1060129	4	685	675	680	680	5	2.8868	667.5793	692.4207	675	685	10.47	576	400	0.5521
1060130	5	1490	1495	1510	1498.333	10.4083	6.0093	1472.478	1524.189	1490	1510	10.64	786	610	0.4999
1060131	6	2485	2485	2510	2493.333	14.4338	8.3333	2457.478	2529.188	2485	2510	10.7	1217	1041	0.4441
1060201	7	2745	2755	2750	2750	5	2.8868	2737.579	2762.421	2745	2755	10.75	2208	2032	0.3772
1060202	8	3145	3160	3165	3156.667	10.4083	6.0093	3130.811	3182.522	3145	3165	10.81	2863	2687	0.3319
1060203	9	3760	3775	3750	3761.667	12.5831	7.2648	3730.409	3792.925	3750	3775	11.16	3520	3344	0.2999
1060204	10	3630	3660	3640	3643.333	15.2753	8.8192	3605.388	3681.279	3630	3660	11.54	5125	4949	0.2650
1060205	11	3675	3360	3375	3470	177.6936	102.5914	3028.586	3911.414	3360	3675	11.77	5350	5174	0.2364
1060206	12	3780	3360	3375	3505	238.2751	137.5682	2913.094	4096.906	3360	3780	11.91	6500	6324	0.2153
1060207	13	3565	3360	3375	3433.333	114.2731	65.9756	3149.464	3717.202	3360	3565	12.01	6414	6238	0.1966
1060208	14	3550	3360	3375	3428.333	105.6330	60.9873	3165.927	3690.739	3360	3550	12.23	6496	6320	0.1815
1060209	15	3395	3360	3375	3376.667	17.5594	10.1379	3333.047	3420.287	3360	3395	12.3	6415	6239	0.1680

註：3次重複平均值

