

銅、鎘、鋅、鉛四種重金屬在角毛矽藻之蓄積試驗

楊國仟·丁雲源

Accumulation of Copper, Cadmium, Zinc, Lead in

Chaetoceros gracilis.

Gwo-Chian Yang and Yun-Yuan Ding

Copper, Cadmium, Zinc and Lead were used as accumulative material in this experiment for *Chaetoceros gracilis*. The treated concentration of each group were 0.01, 0.1, 1 ppm. Collecting the cultured Alga at the fifth day and tenth day respectively, then analysed the Alga with Atomic Absorption Spectrophotometer (Hitachi Model 170-30).

The accumulative concentration of Cu group after experiment were 0.05313ppm for 0.01 ppm group, 0.09375 ppm for 0.1 ppm group, 0.12709 ppm for 1ppm group at the fifth day, and 0.06666 ppm for 0.01 ppm group, 0.10784 ppm for 0.01 ppm group, 0.17744 ppm for 1 ppm group at the tenth day. In Cd group, the accumulative concentration were 0.05563 ppm, 0.06280 ppm, 0.07588 ppm for 0.01 ppm, 0.1 ppm, 1 ppm group respectively at the fifth day, and 0.05555 ppm, 0.08851 ppm, 0.23333 ppm for each group respectively at the tenth day. And Zinc group, 0.05295, 0.07040, 0.07746 ppm, and 0.05412, 0.07975, 0.11733 ppm at the fifth and tenth day, respectively. Lead group were 0.07619, 0.10477, 0.14762 ppm, and 0.8222, 0.15238 0.23810 ppm at the fifth and tenth day, respectively.

It showed that the bio-accumulation of *Chaetoceros gracilis* are very great. It was a problem worth of studying how to utilize this Alga for industrial waste water treatment.

前 言

角毛矽藻 *Chaetoceros gracilis* (圖 1), 對環境的變化具有很高的適應力, 且易於培養, 亦可做為蝦貝類幼生之初期餌料, 因此是一種深具發展性之藻類。

然而, 近年來工廠廢水排放、農藥噴灑、石油污染、放射性元素等未經處理之任何廢液, 流入海洋, 使得培養用水重金屬之含量偏高, 以致於造成水生生物之毒性, 甚至經由食物鏈, 貯存於人體, 產生慢性毒害。重金屬銅為生物體內不可缺的酶活性, 如牡蠣缺乏銅時不易附着¹⁾ (蔣等, 1980), 香魚對於銅相當敏感, 有 14g 重之香魚, 其 24 小時之 TLm (半致死濃度) 為 9 ppb, 48 小時之 TLm 為 8.6 ppb²⁾ (陳等, 1979); 如果人畜食鎘量高的貝類, 也會有中毒現象, 由於人體累積不易排泄, 目前尚無治療法, 鎘主要累積動物體內之肝、腎臟及甲狀器官³⁾ (Hung et al, 1974)

，鎘對於比目魚之毒性雖大，但作用很慢，並不立即死亡，而是等到放回清潔水中才開始死亡，」（Eisler, 1971），但對杓蝦 *Crangon* 之毒性大且作用迅速，」（Portmann et al, 1971）；鋅能破壞蝦類之鰓部組織，使氣體交換功能停止而改死，低濃度時，危害神經系統之正常功能或抑制某些酵素之正常作用¹⁰⁾（Skidmore, 1970）；鉛在人體沉積過多，會阻礙紅血球之生長，長期鉛中毒引起腎炎，」（Forstner et al, 1979）。微量之重金屬水生生物之生成有益，但過量則造成毒性，因此，為確定生產之藻類，做為魚蝦類之餌料生物的安全性，及探討用 *Chaetoceros gracilis* 來處理重金屬含量高之工業廢水的可行性，本實驗即針對銅、鎘、鋅、鉛四種重金屬，使用含量高出安全標準之水¹⁾（水污染防治法，1975），培養後探討其蓄積情形，以供推廣時參考。

材料與方法

一、玻璃器皿之處理程序如下：

- (1) 10% 濃硫酸溶液浸泡一夜後洗淨；
- (2) 100 ppm E. D. T. A 溶液浸泡一夜後洗淨；
- (3) 200°C，1 小時處理；
- (5) 75% 酒精消毒後以蒸餾水沖洗，倒置涼乾後，以鋁鉑紙封口備用。

二、原種之保存：

原種接種於經殺菌及過濾之培養液後，置於恆溫箱，溫度控制 20°C，照度 3,000 Lux 下保存，每天振盪一次，每隔二週重新接種一次。

三、培養與蓄積

於 250 ml 三角瓶中置入 200 ml 之基本培養液（如表 1），但於銅、鋅組之培養液中不加 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 及 $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ，且各組皆不加 E. D. T. A，以避免吸附添加之過量的銅、鎘、鋅、鉛，而無法為藻體吸收。蓄積期定為十天，每一重金屬各種三種濃度，三重覆。分四組，各組處理如表 2。分第五天及第十天兩次收集，並以血球計數盤（Hemocytometer，AO Scientific Instrumeats）算出藻液內每毫升之細胞個數。

四、收集與分解：

- (一) 取藻液 50ml，經 5,000 rpm，10 分鐘高速離心後，倒去上清液；
- (二) 加入 50ml 之蒸餾水，經 5,000 rpm，十分鐘離心後，倒去上清液，反覆操作三次。
- (三) 沉澱物經 60°C，8 小時烘乾後放入分解瓶，分別滴入 0.5ml 之 98% Conc. H_2SO_4 及 1ml 之 33% Conc. HNO_3 ，以分解爐分解之，分解期間緩緩滴入 33% 之 Conc. HNO_3 ，直至分解液透明為止。

四 每個分解瓶分解完畢後，蓋上瓶蓋靜置冷卻，俟冷卻後，每瓶加蒸餾水至容積 50ml，加蓋以備分析。

五、分析：

分解後之樣品以原子吸光分析儀（Atomic Absorption Spectrophotometer，Hitachi Model 170-30）測定各樣品之重金屬含量，其程序如次。

- (一) 以重金屬標準溶液配成所需範圍內之數點濃度；
- (二) 以原子吸光分析儀測出標準溶液之吸光度，並繪成濃度與吸光度之間的標準曲線；
- (三) 以原子吸光分析儀測出樣品之吸光度；
- (四) 於標準曲線上找出樣品之濃度，即為藻體蓄積濃度。

表1 角毛矽藻的基本培養液
Table 1 The basal medium solution of *Chaetoceros gracilis*.

Components 組成分	Concentration added (ppm) 添加濃度
NaNO ₃	80.0
NaH ₂ PO ₄ · 2H ₂ O	1.5
Na ₂ SiO ₃ · 9H ₂ O	10.0
FeCl ₃ · 6H ₂ O	1.5
EDTA-Na ₂	2.0
CuSO ₄ · 5H ₂ O	10 ⁻³
ZnSO ₄ · 7H ₂ O	2 · 10 ⁻²
CoCl ₂ · 6H ₂ O	10 ⁻²
MnCl ₂ · 4H ₂ O	0.2
Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O	5 · 10 ⁻³
Thiamine HCl	0.1
Vitamin B12	5 · 10 ⁻⁴
Biotin	5 · 10 ⁻⁴

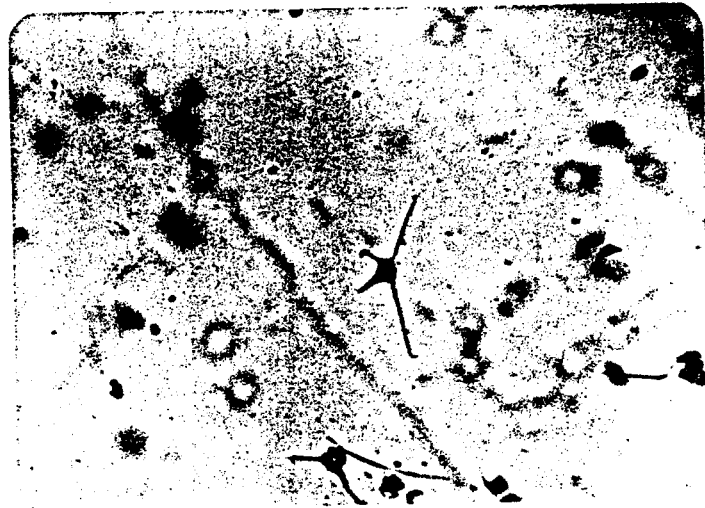


圖1 角毛矽藻的細胞體
Fig.1 The cell of *Chaetoceros gracilis*.

結果與討論

實驗結果，銅、鎘、鋅、鉛各組之蓄積情形如表3所示。各組之蓄積濃度隨添加濃度之增加而增加，且隨蓄積時間之延長而增加，運用複因子試驗（Factorial experiment）²¹（李著，統計推論，1980）的變方分析結果如表4所示，由表可知，不同添加濃度之間的蓄積濃度具顯着差異性；且兩次收集之間的蓄積濃度具顯着差異性；不同重金屬之間的蓄積濃度具顯着差異性。另外做各組變方分析所得之F值²²如表5所示，各組在不同濃度處理下的蓄積情形具顯着差異性，由表6之最小顯着差異值（Least significant difference）²³可知各組中，使用濃度1 ppm者與0.01 ppm及對照組之間的均質差較具顯着差異性，亦即使用濃度愈高，其蓄積濃度愈高。對照組雖無添加重金屬，但皆有蓄積之情形發生，乃因培養液中含重金屬Cu, Cd, Zn, Pb濃度分別為0.0625, 0.06125, 0.05349, 0.2368 ppm之故。兩次收集時，藻液的細胞個數如表7所示，由複因子試驗之變方分析結果如表8所示，可知不同添加濃度之間的細胞數目具顯着差異性；且不同重金屬之間的細胞數亦具顯着差異性；不同收集時間之細胞數亦有顯着差異。由各組變方分析所得之F值及L.S.D值，分別如表9及表10所示，由表可知各組所添加濃度為1 ppm與0.01 ppm或與對照組之間的細胞數較具顯着差異性，亦即使用濃度愈高，對藻體之毒害愈大，尤以銅之毒害較甚。而各組添加0.01 ppm時，其細胞數與對照組之間無顯着差異，亦即添加0.01 ppm時，並不造成毒害。鋅、鎘、鉛三種重金屬，即使添加1 ppm，雖能累積於藻體，但不如銅毒害之巨。第十天收集之細胞數皆比第五天者少，此乃第一次收集之藻體大都處於對數期（Exponential stage），而第二次收集時，則接近死亡期（dead stage）之故。

討 論

由於重金屬易與蛋白質成黏液結合，而抑制酵素之活性，造成生物體缺氧而死²⁴（Pringle et al, 1968）。重金屬之影響除了急速毒性外，還有慢性的生理影響，如攝食量，氧氣消耗量，生長及生殖等。因此，如何以最經濟，最簡便的方法處理重金屬含量高的水域，是當前重要的課題。由本實驗可知，本藻種以銅、鎘、鋅、鉛等重金屬處理之下，其蓄積濃度分別可高達處理濃度之91.94%，77.96%，85.24%，45.24%。即使處理濃度高達1 ppm時，藻種並未死亡，其細胞數仍可達每毫升 10^6 個，其蓄積比例亦可達16.70%，21.99%，11.14%，19.25%。因此，以本藻種來處理重金屬含量高之水域，極其可行性。由於本藻種對銅、鎘、鋅、鉛四種重金屬之蓄積濃度很高，因此若以含量高的藻體投餵蝦貝類幼生，亦能造成急速毒性，所以藻類的培養用水之安全性選擇，亦是水產類育苗成敗之關鍵。而有關本藻種對重金屬蓄積之機制作用，及其用來處理工業廢水之價值性以及處理方法，有待更進一步之研究與探討。

摘 要

重金屬為海洋三大污染之一，為了解培養之藻類做為水產類之初期餌料的安全性，以及探討用角毛矽藻來處理工業廢水之可行性，因此本實驗即以銅、鎘、鋅、鉛四種重金屬添加於培養液內，培養後探討其蓄積情形。茲將所得結果列述如次：

- 一、各組之蓄積濃度隨添加濃度之增加而升高。
- 二、各組之蓄積濃度隨時間之延長而升高。
- 三、各組添加濃度愈高，對藻種之毒害愈大，尤以銅最為顯着。添加濃度為0.01 ppm者對藻體並不造成毒性。
- 四、第一次與第二次收集之間，藻體個數有顯着差異，乃因第一次收集時，正為藻體之對數期，而第二

表2 各組重金屬的處理濃度

Table 2 Treatment of concentration in each group of heavy metal.

Concentration (ppm) 濃度	Group 組				
		A	B	C	D
Heavy metal 重金屬					
Cu		0.01	0.1	1	0
Cd		0.01	0.1	1	0
Zn		0.01	0.1	1	0
Pb		0.01	0.1	1	0

表3 銅、鎘、鋅、鉛各組的平均蓄積濃度

Table 3 The average accumulative concentration of each group in Cu, Cd, Zn, Pb.

Concentration (ppm) 濃度	Metal 金屬				
		Cu	Cd	Zn	Pb
Group 組					
A ₁		0.05513	0.05563	0.05295	0.07619
B ₁		0.09375	0.06280	0.07040	0.10477
C ₁		0.12709	0.07588	0.07746	0.14762
D ₁		0.04688	0.05181	0.04968	0.06667
A ₂		0.06666	0.05555	0.05412	0.08222
B ₂		0.10784	0.08857	0.07975	0.15238
C ₂		0.17744	0.23333	0.11733	0.23810
D ₂		0.05196	0.05229	0.05132	0.07619

A₁: Experiment group concentration 1; collected at the fifth day.

實驗組濃度 1 ; 第五天收集

B₁: Experiment group concentration 2; collected at the fifth day.

實驗組濃度 2 ; 第五天收集

C₁: Experiment group concentration 3; collected at the fifth day.

實驗組濃度 3 ; 第五天收集

D₁: Control group; collected at the fifth day.

對照組 ; 第五天收集

A₂: Experiment group concentration 1; collected at the tenth day.

實驗組濃度 1 ; 第十天收集

B₂: Experiment group concentration 2; collected at the tenth day.

實驗組濃度 2 ; 第十天收集

C₂: Experiment group concentration 3; collected at the tenth day.

實驗組濃度 3 ; 第十天收集

D₂: Control group; collected at the tenth day.

對照組 ; 第十天收集

表4 各組蓄積濃度經複因子試驗之變方分析

Table 4 The analysis of Variance by Anova Factorial Experiment for accumulative concentration in each group.

	DF	SUM OF SQUARE	MEAN SQUARE	F-VALUE
E	3	0.1316	0.04386	450.66**
F	3	0.0302	0.01007	103.48**
G	1	0.0211	0.02107	216.46**
EF	9	0.0137	0.00152	15.66**
EG	3	0.0256	0.00854	87.76**
FG	3	0.0042	0.00141	14.52**
EFG	9	0.0101	0.00112	11.52**
ERROR	62	0.0060	0.00010	1.0
TOTAL	95	0.2436	0.00256	25.36**

$$F \frac{0.05}{(1.62)} = 4.0012 ; F \frac{0.05}{(3.62)} = 2.7581 ; F \frac{0.05}{(9.62)} = 2.0401$$

$$F \frac{0.01}{(1.62)} = 7.0771 ; F \frac{0.01}{(3.62)} = 4.1259 ; F \frac{0.01}{(9.62)} = 2.7185$$

E : Added concentration group : A, B, C, D group.

添加濃度組：A, B, C, D組

F : Heavy metal group : Cu, Cd, Zn, Pb group.

重金屬組：銅、鎘、鋅、鉛組

G : Time group : 5th & 10th day group.

時間組：第五及第十天組

** Highly significant.

高顯着差異

表5 各組蓄積濃度經變方分析所得之F值

Table 5 F-value by the analysis of Variance for accumulative concentration in each group.

	Cu		Cd		Zn		Pb	
	1st	2nd	1st	2nd	1st	2nd	1st	2nd
F - value	*19.227	*236.750	16.000*	243.667*	27.000*	*282.000	330.250*	47.306*
F _(3.8) ^{0.01}	7.591							

1st : Collected at the fifth day.

第五天收集

2nd : Collected at the tenth day.

第十天收集

" * " Significant.

顯着差異

表6 各組蓄積濃度之最小顯着差異

Table 6 The least significant difference for accumulative concentration in each group.

	Cu		Cd		Zn		Pb	
	1st	2nd	1st	2nd	1st	2nd	1st	2nd
L.S.D _{0.01}	0.04063	0.01732	0.01500	0.02599	0.01225	0.00866	0.0300	0.05197
L.S.D _{0.05}	0.02793	0.01191	0.01031	0.01786	0.00842	0.00595	0.0206	0.03572

L.S.D : Least significant difference.

最小顯着差異

表7 銅、鎘、鋅、鉛各組每毫升之平均細胞數

Table 7 The average cell number per ml of each group in Cu, Cd, Zn, Pb.

Cell number ($\times 10^6$) 細胞數	Metal 金屬	Cu	Cd	Zn	Pb
A ₁		9.275	9.275	9.417	9.333
B ₁		2.875	7.450	7.908	7.575
C ₁		1.792	6.625	6.808	6.375
D ₁		9.283	9.283	9.283	9.283
A ₂		5.400	5.600	5.908	5.442
B ₂		2.150	4.208	4.408	4.542
C ₂		1.375	3.425	3.425	3.458
D ₂		5.350	5.350	5.350	5.350

表8 各組細胞數經複因子試驗之變方分析

Table 8 The analysis of Variance by Anova Factorial Experiment for cell number in each group.

	DF	SUM OF SQUARE	MEAN SQUARE	F-VALUE
E	3	191.4550	63.81830	1856.66**
F	3	57.0415	19.01380	553.17**
G	1	244.8020	244.80200	7121.99**
EF	9	52.1360	5.79289	168.53**
EG	3	10.0593	3.35311	97.55**
FG	3	7.3726	2.45752	71.50**
EFG	9	8.8328	0.98142	28.55**
ERROR	62	2.1311	0.03437	1.00
TOTAL	95	573.9030	6.04108	175.75**

$$F_{(1,62)}^{0.05} = 4.0012 ; F_{(3,62)}^{0.05} = 2.7581 ; F_{(9,62)}^{0.05} = 2.0401$$

$$F_{(1,62)}^{0.01} = 7.0771 ; F_{(3,62)}^{0.01} = 4.1259 ; F_{(9,62)}^{0.01} = 2.7185$$

E : Added concentration group : A, B, C, D group.

添加濃度組 : A, B, C, D 組

F : Heavy metal group : Cu, Cd, Zn, Pb group.

重金屬組 : 銅, 鎘, 鋅, 鉛組

G : Time group : 5th & 10th day group.

時間組 : 第五及第十天組

** Highly significant.

高顯著差異

表9 各組細胞數變方分析所得之F值

Table 9 F-value by the analysis of Variance for cell number in each group.

	Cu		Cd		Zn		Pb		
	1st	2nd	1st	2nd	1st	2nd	1st	2nd	
F-value	1801.697*	342.359*	207.143*	*91.917	213	118**	*102.031	*108.143	75.989*
F _(3.8) ^{0.01}	7.591								

表10 各組細胞數之最小顯著差異

Table 10 The least significant difference for cell number in each group.

	Cu		Cd		Zn		Pb	
	1st	2nd	1st	2nd	1st	2nd	1st	2nd
L.S.D _{0.01}	0.4509	0.5410	0.4408	0.5021	0.4017	0.4322	0.6540	0.5939
L.S.D _{0.05}	0.3099	0.3718	0.3030	0.3451	0.2761	0.2971	0.4495	0.4082

次收集時大都接近死亡期之故。

五各組蓄積濃度可高達培養液濃度之 91.94%，77.96%，85.24%，45.24%，而添加濃度為 1 ppm 時，亦可蓄積 16.70%，21.99%，11.14%，19.25%。

由實驗可知，本藻種對四種重金屬有很高的蓄積能力，且不致死亡，細胞個數仍可達每毫升 10^6 個，因此以本藻種來處理重金屬含量高之水域，極其可行性。而以蓄積濃度高的角毛矽藻投餵蝦貝類幼生，將造成毒害。

謝 辭

本報告承呂伯瑜先生提供最新資料，周賢鏘先生提供生統上之寶貴意見，受惠良多，至為感激。實驗期間承鹿港中學陳碧燕小姐多方協助，及分所同仁之鼓勵，在此一併誌謝。

參考文獻

1. 水污染防治法，1975.
2. 李景仁著、汪永祺譯，1980：統計推論.
3. 陳建初、莊世彪、洪文慶，1979：重金屬對於淡水水生動物之光致死影響。中國水產，325期，pp 5~11.

4. 蔣萬福、洪楚璋、李智隆，1980 臺灣西南沿岸貝類含重金屬汞、鎘、鉛、銅之研究。海洋彙刊—生物專刊，Vol. 26.
5. Eisler, R. 1971. Cadmium Poisoning in *Fundulus heteroclitus* (Pisces : Cyprinodontidae) and Other Marine Organisms. *J. Fish. Res. Bd. Can.* 28, 1225 - 1234.
6. Forstner, U. and G.T.W. Wittmann (1979) . *Metal Pollution in the Aquatic Environment*. pp1-3. Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York.
7. Hung, T.C., Y.H. Li, D.C.Wu, Y. M. Chiang, T. H. Tan, H. T. Chang and P.C. Chu (1974) , The Aquatic Environment and Ecology of the Kashiung Harbor. Inst. Oceanogr. *National Taiwan University Spec. Pub.* No.5.
8. Portmann, J.E. and K. L. Wilson 1971. The Toxicity of 140 Substances to the Brown Shrimp and Other Marine Animals. *M.A.F. Shellfish Information Leaflet*, No. 22.
9. Pringle, B.H., D.E. Hissong, E.L. Katz and S.T. Mulawka 1968. Trace Metal Accumulation by Estuarine Molluscs. *J. Sanit. Engng Div. Amer. Soc. Civ. Engrs.* 94, 455 - 475.
10. Skidmore, j.f. 1970. Respiration and Osmoregulation in Rainbow Trout with Gills Damaged by Zinc Sulphate. *J. Exp. Biol.* 52, 481 - 494.