

# 中華民國第 57 屆中小學科學展覽會 作品說明書

---

國中組 生物科

030320

豐年蝦不可承受之「重」

-以豐年蝦作為生物急毒性檢測重金屬之研究

學校名稱：臺中市立豐南國民中學

作者：  國二 胡文淇  國二 張富翔  國二 張懋楷	指導老師：  胥欣宜  洪專富
---	-----------------------------

關鍵詞：豐年蝦、重金屬、半致死濃度

## 摘要

本研究以水產養殖常用的豐年蝦 (*Artemia salina*) 為材料，開發其作為鹹水水質的急毒性生物檢測方法。以 25‰ 食鹽水照光培養，從耐久卵開始孵化，約經 14 天發育為成體，以成體進行毒性測試，研究豐年蝦在含銅離子環境的死亡率、游動能力及卵孵化率。豐年蝦於銅離子處理 24 小時的半致死濃度 (LC<sub>50</sub>) 為 7.647ppm，48 小時處理的半致死濃度為 1.251ppm，環境中的銅離子濃度愈高，豐年蝦的死亡率愈高，卵的孵化率也大幅降低，另外，觀察到豐年蝦的游動能力也受到銅離子的影響而變差。因此提出豐年蝦作為良好鹹水水域的重金屬急毒性生物檢測。此外，在 pH=6 環境下的豐年蝦，死亡率皆高於 pH=8 的環境，顯示酸性環境較不利於豐年蝦的生存。

## 壹、 研究動機

在上課時老師提到聯合國大會將 2017 年訂為「國際永續旅遊發展年」，並於 2016 年 1 月 1 日啟動 17 項永續發展目標議程，其中有一項「海洋生態」的指標特別引起我們的注意。

台灣四周環海，我們從小也被教育要愛護環境，但是最近國際組織重提永續發展議題的舉動，讓我們意識到「連聯合國國際組織都要為此老話題特別訂定一個年？」，讓我重新對此議題的迫切性有所感受。國一下學期自然課本第六章，在探討人類與環境間的問題以及生物累積的概念，而查找資料後發現海水污染中仍然以由陸域進入海域的固態污染物為最大宗，其中的重金屬污染一直受到大家的高度關注，因為重金屬會藉由食物鏈在生物體內累積，對人類的威脅很大。新聞報導更指出，某些工廠會排放未經處理的工業廢水，而這些廢水中，常常含過量的重金屬，對人類及其他生物的生存，更是一大威脅。

所以如何找出快速檢測重金屬濃度的方法，引起我們的興趣，雖然目前已經有許多物理化學的檢測方法，但是使用這些方法測出來的是單純的數值，而除了目前已有的生物檢測方法以外，是否有更方便快速的生物檢測方法可以用做檢驗。因此我們決定選用水產養殖上應用多且廣的豐年蝦，及重金屬污染中常見的銅作為實驗材料。

## 貳、 研究目的

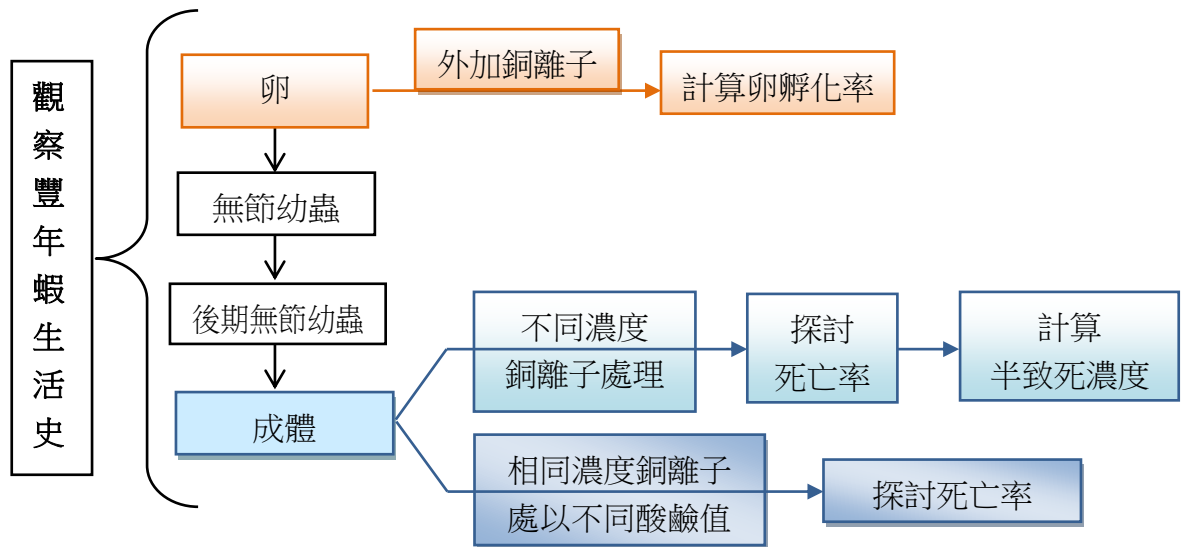
- 一、觀察豐年蝦的生活史。
- 二、探討不同濃度的銅離子對豐年蝦致死率的影響。
- 三、探討銅離子對豐年蝦卵孵化率的影響。
- 四、探討在不同酸鹼值下，有無銅離子對豐年蝦死亡率的影響。

### 參、 研究設備及器材

微量電子天平	顯微照相裝置	pH 計	飼養箱	豐年蝦卵
複式顯微鏡	秤量紙	濾紙	解剖針	氫氧化鈉
燒杯	量筒	培養皿	懸滴玻片	醋酸
試管	滴管	硫酸銅	食鹽	

### 肆、 研究過程或方法

#### 一、研究架構圖



#### 二、豐年蝦飼養條件

- (一) 本實驗中所使用的豐年蝦卵均購自某水族館的同一批耐久卵。
- (二) 預備實驗時，使用不同鹽度的鹽水：15‰、25‰、50‰、90‰，及不同溫度：常溫、28℃水浴槽，飼養豐年蝦。發現豐年蝦於常溫（約 25℃）、25‰食鹽水的生長環境中生長狀況最佳。因此，以下的實驗均以此生長條件進行豐年蝦飼養。

#### 三、觀察豐年蝦的生活史

- (一) 秤量 0.25 克的豐年蝦卵放入 25‰ 的食鹽水中，置於可以照射到陽光的窗邊開始孵化。
- (二) 每天觀察豐年蝦卵的孵化狀況，並以顯微照相裝置攝影，以及紀錄無節幼蟲至成體的發育情況。

#### 四、探討不同濃度的銅離子對豐年蝦死亡率的影響

- (一) 秤取 100mg 的硫酸銅粉末，加入 25‰的食鹽水，配置成 100ppm 的含銅離子食鹽水溶液，再以此溶液進行稀釋，分別配置出 1ppm、2ppm、3ppm、4ppm、5ppm 等不同濃度的溶液。
- (二) 取同一批相同飼養程序的同質性成體豐年蝦，採「米蝦急毒性檢測程序」<sup>(1)</sup>進行豐年蝦急毒性檢測。將 5 隻豐年蝦成體加入配置好的不同濃度銅離子溶液中，於實驗處理 24 及 48 小時後，記錄豐年蝦的死亡數目。
- (三) 運用 SPSS 軟體，利用機率單位分析方法算出「不同濃度銅離子」與「豐年蝦死亡率」的關係，分別計算出豐年蝦在 24 及 48 小時的半致死濃度(Lethal concentration 50%，LC<sub>50</sub>)。

#### 五、探討銅離子對豐年蝦卵孵化率的影響

- (一) 秤取 3mg 豐年蝦卵，並分次將豐年蝦卵倒在濾紙上計算其總數(C)。將計數好的豐年蝦卵放入 30mL 25‰ 的食鹽水中，作為對照組。
- (二) 再秤取一次 3mg 豐年蝦卵，計數後，放入含有銅離子的 30mL 25‰ 食鹽水中。
- (三) 將上述兩組燒杯置於照得到光的窗邊進行孵化。
- (四) 開始孵化 48 小時後，計算孵出的無節幼體數目(N)。
- (五) 計算孵化率， $\text{孵化率} = N/C \times 100\%$
- (六) 運用 SPSS 軟體進行卡方檢定。

#### 六、探討在不同酸鹼值下，銅離子對豐年蝦成體死亡率的影響

- (一) 分別配置出 pH=6 及 pH=8 的溶液，且外加銅離子濃度接近半致死濃度 1.2ppm 的 25‰ 食鹽水溶液，以及 pH=6 及 pH=8，且不含銅離子的 25‰ 食鹽水溶液。
- (二) 取同一批相同飼養程序的同質性豐年蝦成體，分別將 5 隻豐年蝦加入上述六管不同溶液中，於 24 小時及 96 小時後，記錄下豐年蝦的死亡數目。實驗處理如下表。

pH 值 \ 銅離子濃度	pH=8	pH=7	pH=6
1.2ppm CuSO <sub>4(aq)</sub>	n=5	n=5	n=5
無外加銅離子	n=5	n=5	n=5

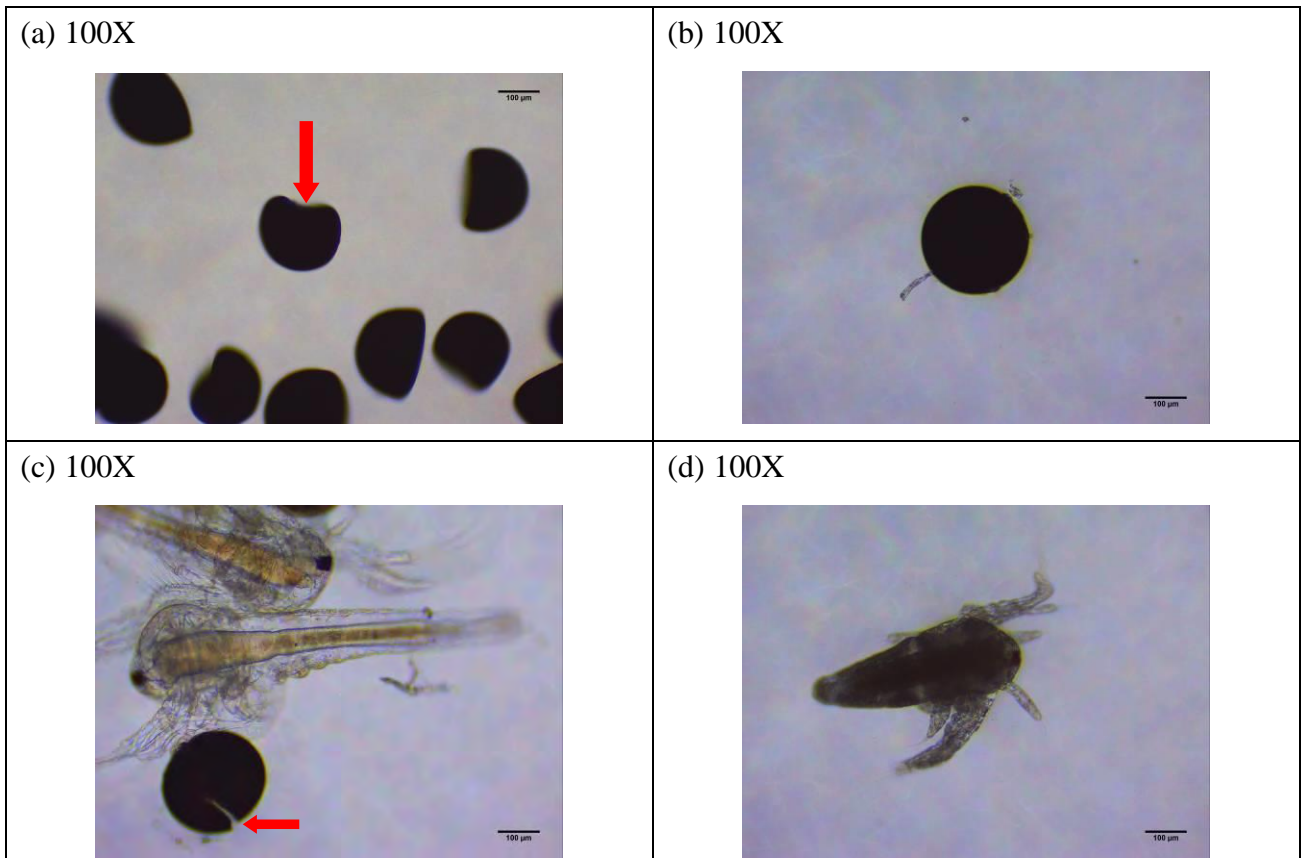
- (三) 進行「酸鹼值」與「豐年蝦成體死亡率」之交叉分析。

## 伍、研究結果

### 一、觀察豐年蝦的生活史

#### (一) 豐年蝦生活史

1. 脫水耐久卵為褐色(圖 1a)，且呈凹陷狀(紅色箭頭處)。
2. 耐久卵吸水後，膨脹為球形，直徑約  $260\mu\text{m}$ (圖 1b)。
3. 孵化前的卵會發生殼裂(紅色箭頭處)(圖 1c)。
4. 經 48 小時後孵化為一齡幼蟲(圖 1d)，此時體長約  $495\mu\text{m}$ 。
5. 第一次蛻皮後為二齡幼蟲(圖 1e)，已經有 1~2 對泳足，體長約  $725\mu\text{m}$ 。
6. 經過多次蛻皮後，成為後期無節幼蟲(圖 1f)，此時已有 6~8 對泳足，且有二個複眼，及中間一個眼點(紅色箭頭處)，體長約  $1.2\text{mm}$ 。
7. 約 14 天後，長為成體，體節延長，且具 12 對泳足，體長約  $3.1\text{mm}$ (圖 1g)。且其尾部岔開為剪刀狀(紅色箭頭處)(圖 1h)。



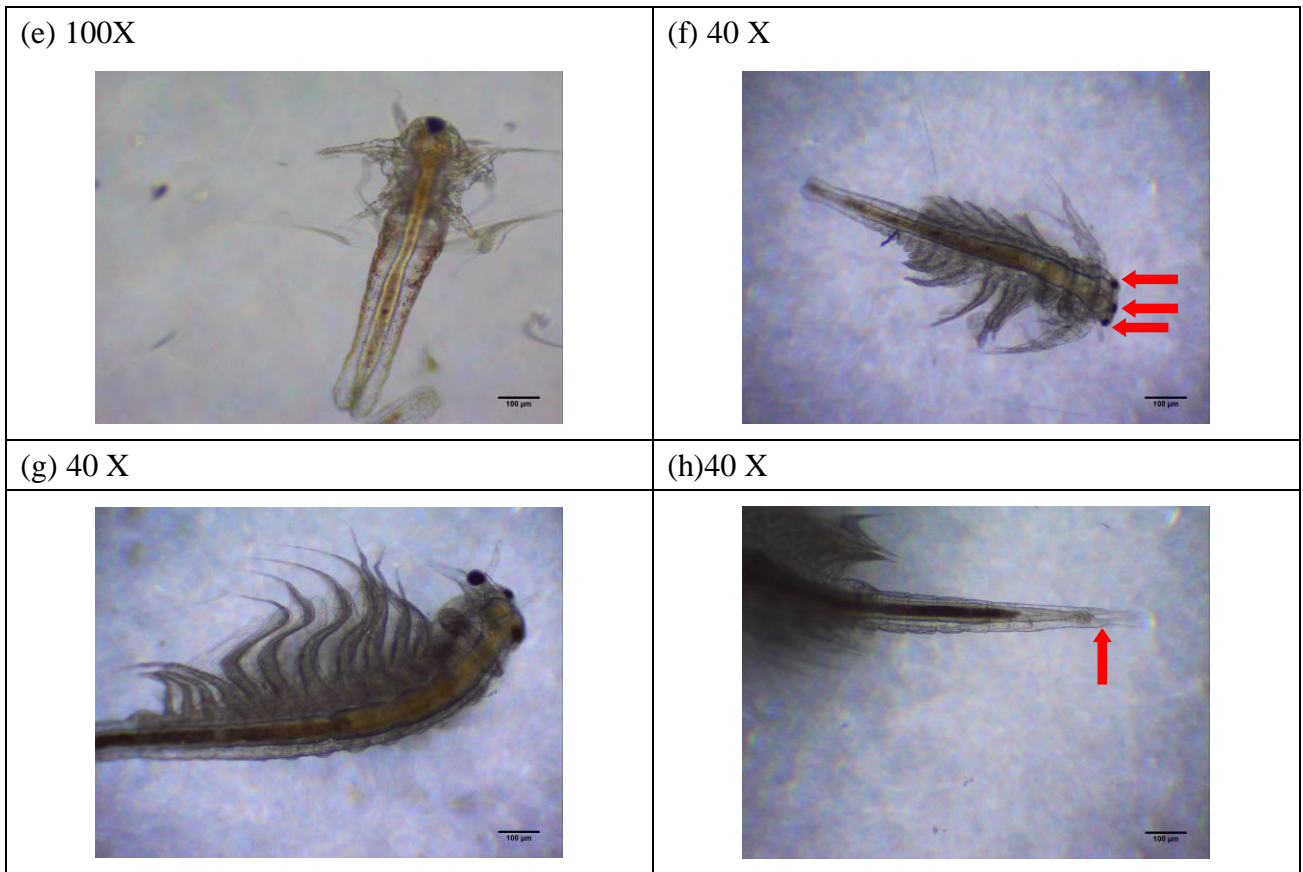


圖 1：豐年蝦生活史。脫水耐久卵(圖 1a)，呈凹陷狀(紅色箭頭處)。吸水耐久卵(圖 1b)。殼裂(圖 1c)。剛孵化的一齡幼蟲(圖 1d)。第一次蛻皮後的二齡幼蟲(圖 1e)。後期無節幼蟲(圖 1f)，雌性成體(圖 1g)，其尾部岔開為剪刀狀(圖 1h)。

## 二、探討不同濃度的銅離子對豐年蝦死亡率及游動能力的影響

(一) 各放五隻豐年蝦成體至不同濃度銅離子溶液中，豐年蝦的死亡數目如表 1：

1. 由表 1 可知，相同處理時間，銅離子濃度愈高，死亡率愈高。若銅離子濃度相同，則處理時間愈長，死亡率愈高。
2. 除了死亡率之外，亦觀察到銅離子會影響豐年蝦的活動能力，銅離子濃度愈高，或實驗處理時間愈長的組別，豐年蝦的活動能力明顯受到影響：
  - (1) 在無外加銅離子時，豐年蝦可游動到水面上層，且游動快速，但在外加銅離子之後，部分豐年蝦受銅的毒性影響，雖然尚未達到死亡標準，但隨著浸泡時間拉長，仍可觀察到銅離子對豐年蝦造成傷害，豐年蝦只會在燒杯底部游動，無法游到燒杯上層。
  - (2) 在無外加銅離子時，豐年蝦前後或上下游動距離卻非常大，但在外加銅離

子之後，部分豐年蝦雖尚未達死亡標準，但其游動距離卻非常小，或甚至只能在原地附近稍稍晃動，無法前進。

表 1：不同濃度的銅離子溶液中，豐年蝦成體的死亡數目

濃度 (ppm)	樣品數 (隻)	經 24 小時豐年蝦死亡狀況		經 48 小時豐年蝦死亡狀況	
		數目(隻)	死亡率(%)	數目(隻)	死亡率(%)
0	5	0	0	0	0
1	5	0	0	4	40
2	5	1	10	7	70
3	5	2	20	9	90
4	5	2	20	10	100
5	5	3	30	10	100

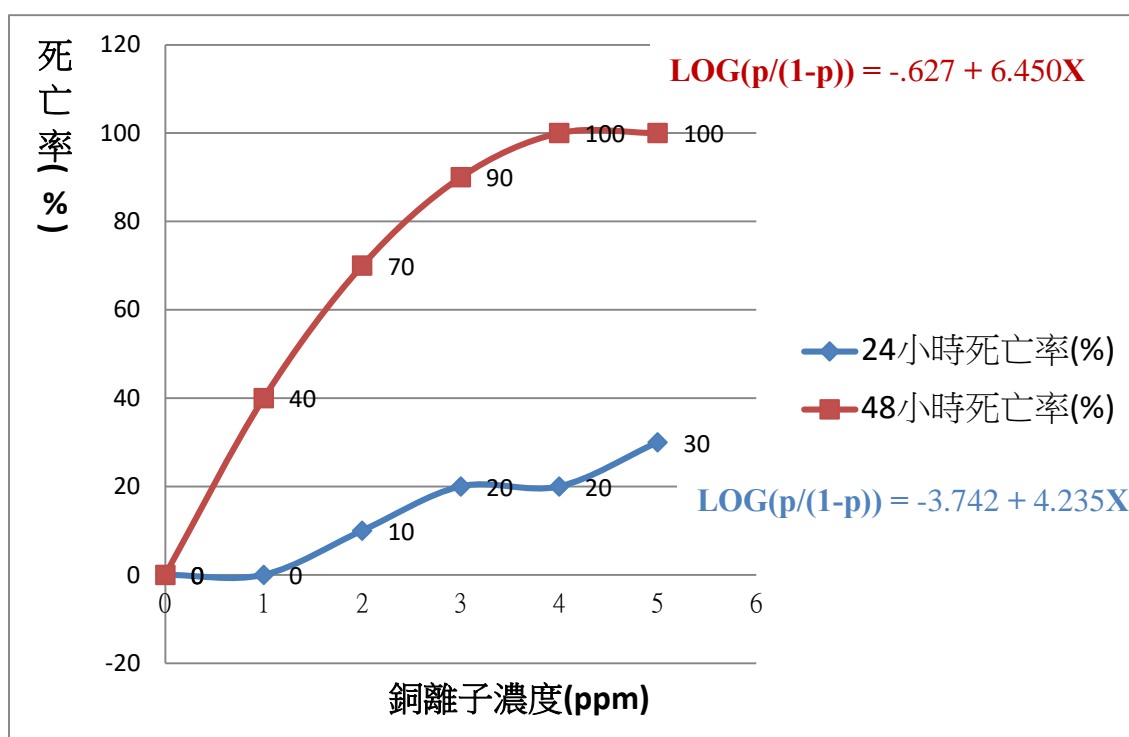


圖 2：經不同濃度銅離子處理，豐年蝦成體死亡率曲線

## (二) 半致死濃度(LC<sub>50</sub>)

將不同濃度的豐年蝦死亡數目輸入 SPSS 統計軟體，計算出會導致 50%死亡率的濃度，即為半致死濃度(LC<sub>50</sub>)。分析所得的致死濃度如表 2 所示：

1. 浸泡 24 小時造成的各致死率的濃度

- (1) 由表 2 可知，浸泡時間為 24 小時，表中的機率.500，代表有 50%的豐年蝦死亡，此時的銅離子濃度為 7.647ppm，此濃度即為豐年蝦 24 小時的半致死濃度(LC<sub>50</sub>)。
- (2) 在預備實驗中曾做過 25ppm、50ppm、100ppm 的實驗處理，實驗結果為所有豐年蝦成體皆死亡，從表 2 中即可看出，這三組濃度的死亡率分別皆達到 90%以上，分別為 90%、97%、大於 99%。

表 2：浸泡 24 小時造成的各死亡率的濃度

機率	濃度 ppm 的 95% 信賴限制			對數 (濃度 ppm) 的 95% 信賴限制 <sup>b</sup>			
	估計	下限	上限	估計	下限	上限	
LOGIT	.010	.629	.001	1.389	-.201	-2.845	.143
<sup>a</sup>	.020	.922	.008	1.738	-.035	-2.104	.240
	.030	1.155	.022	1.990	.063	-1.667	.299
	.040	1.359	.044	2.198	.133	-1.355	.342
	.050	1.543	.077	2.381	.188	-1.111	.377
	.060	1.713	.123	2.549	.234	-.911	.406
	.070	1.874	.182	2.708	.273	-.741	.433
	.080	2.027	.256	2.862	.307	-.592	.457
	.090	2.174	.346	3.014	.337	-.461	.479
	.100	2.316	.453	3.168	.365	-.344	.501
	.150	2.978	1.248	4.090	.474	.096	.612
	.200	3.599	2.265	5.863	.556	.355	.768
	.250	4.208	3.045	9.608	.624	.484	.983
	.300	4.824	3.577	16.303	.683	.554	1.212
	.350	5.462	3.999	27.291	.737	.602	1.436
	.400	6.134	4.374	44.842	.788	.641	1.652
	.450	6.857	4.732	72.715	.836	.675	1.862
	<b>.500</b>	<b>7.647</b>	5.091	117.262	.884	.707	2.069
	.550	8.529	5.461	189.618	.931	.737	2.278
	.600	9.533	5.856	310.263	.979	.768	2.492
	.650	10.707	6.289	519.266	1.030	.799	2.715
	.700	12.122	6.778	901.476	1.084	.831	2.955



.750	13.897	7.354	1656.441	1.143	.867	3.219
.800	16.249	8.065	3327.114	1.211	.907	3.522
.850	19.637	9.009	7748.860	1.293	.955	3.889
.900	25.253	10.424	23847.794	1.402	1.018	4.377
.910	26.903	10.811	31649.668	1.430	1.034	4.500
.920	28.853	11.256	43282.017	1.460	1.051	4.636
.930	31.208	11.776	61487.206	1.494	1.071	4.789
.940	34.134	12.398	91824.249	1.533	1.093	4.963
.950	37.909	13.167	146831.253	1.579	1.119	5.167
.960	43.043	14.159	259273.361	1.634	1.151	5.414
.970	50.614	15.533	535643.920	1.704	1.191	5.729
.980	63.450	17.670	1474097.798	1.802	1.247	6.169
.990	93.002	21.963	8175953.713	1.968	1.342	6.913

## 2. 浸泡 48 小時造成的各死亡率的濃度

- (1) 由表 3 可知，浸泡時間為 48 小時，銅離子濃度為 1.251ppm，會導致 50% 的豐年蝦死亡，此濃度為豐年蝦 48 小時的半致死濃度(LC<sub>50</sub>)。當濃度上升到 2.051ppm 時，死亡率達 80%。濃度為 2.991ppm 時，死亡率為 92%，濃度為 5ppm 時，豐年蝦的死亡率即達 98%，幾乎達 100% 死亡。
- (2) 由表 2 及表 3 可知，浸泡時間愈長，死亡率愈大。如：濃度為 5ppm 時，浸泡 24hr 時，死亡率介於 30%~35% 間，浸泡 48 小時的死亡率則為 98%。

表 3：浸泡 48 小時造成的各死亡率的濃度

機率	濃度 ppm 的 95% 信賴限制			對數 (濃度 ppm) 的 95% 信賴限制 <sup>b</sup>		
	估計	下限	上限	估計	下限	上限
LOGIT <sup>a</sup> .010	.243	.011	.531	-.615	-1.978	-.275
.020	.312	.020	.624	-.506	-1.698	-.205
.030	.362	.029	.687	-.442	-1.533	-.163
.040	.402	.038	.736	-.396	-1.415	-.133
.050	.437	.048	.778	-.359	-1.323	-.109
.060	.468	.057	.814	-.329	-1.247	-.089
.070	.497	.066	.847	-.304	-1.182	-.072
.080	.523	.075	.877	-.282	-1.125	-.057

.090	.548	.084	.904	-.262	-1.074	-.044
.100	.571	.094	.930	-.244	-1.029	-.031
.150	.673	.142	1.043	-.172	-.848	.018
.200	.762	.193	1.140	-.118	-.714	.057
.250	.845	.249	1.230	-.073	-.604	.090
.300	.924	.310	1.318	-.034	-.508	.120
.350	1.003	.377	1.408	.001	-.423	.149
.400	1.082	.451	1.502	.034	-.345	.177
.450	1.164	.534	1.605	.066	-.272	.205
<b>.500</b>	<b>1.251</b>	.627	1.721	.097	-.203	.236
.550	1.344	.731	1.857	.128	-.136	.269
.600	1.445	.849	2.023	.160	-.071	.306
.650	1.560	.980	2.238	.193	-.009	.350
.700	1.692	1.127	2.528	.229	.052	.403
.750	1.851	1.290	2.944	.267	.111	.469
.800	2.051	1.474	3.584	.312	.168	.554
.850	2.323	1.689	4.661	.366	.228	.668
.900	2.740	1.967	6.796	.438	.294	.832
.910	2.857	2.038	7.498	.456	.309	.875
.920	2.991	2.116	8.368	.476	.326	.923
.930	3.149	2.205	9.476	.498	.343	.977
.940	3.340	2.307	10.936	.524	.363	1.039
.950	3.578	2.430	12.952	.554	.386	1.112
.960	3.889	2.583	15.924	.590	.412	1.202
.970	4.326	2.786	20.770	.636	.445	1.317
.980	5.018	3.088	30.173	.701	.490	1.480
.990	6.450	3.655	57.041	.810	.563	1.756

### 三、探討銅離子對豐年蝦卵孵化率的影響

#### (一) 外加銅離子對豐年蝦卵孵化率的影響

1. 秤取 3mg 豐年蝦卵，計數豐年蝦卵總數為 1126 顆，置於無外加銅離子的 25‰ 食鹽水中開始孵化，於 48 小時後終止實驗，結果如表 4 及圖 3，計算孵出的無節幼蟲數目為 928 隻，孵化率為 82.4%。
2. 同樣秤取 3mg 豐年蝦卵，計算豐年蝦卵總數為 994 顆，置於含銅離子的食鹽水

中進行孵化，孵化後 48 小時，結果如表 4 及圖 3，計數孵化的無節幼蟲數目，為 32 隻，孵化率為 3.2%。

表 4：銅離子對豐年蝦卵孵化率的影響

	對照組(無外加銅離子)	實驗組(外加銅離子)
卵的總數(顆)	1126	994
無節幼蟲(隻)	928	32
孵化率(%)	82.4	3.2

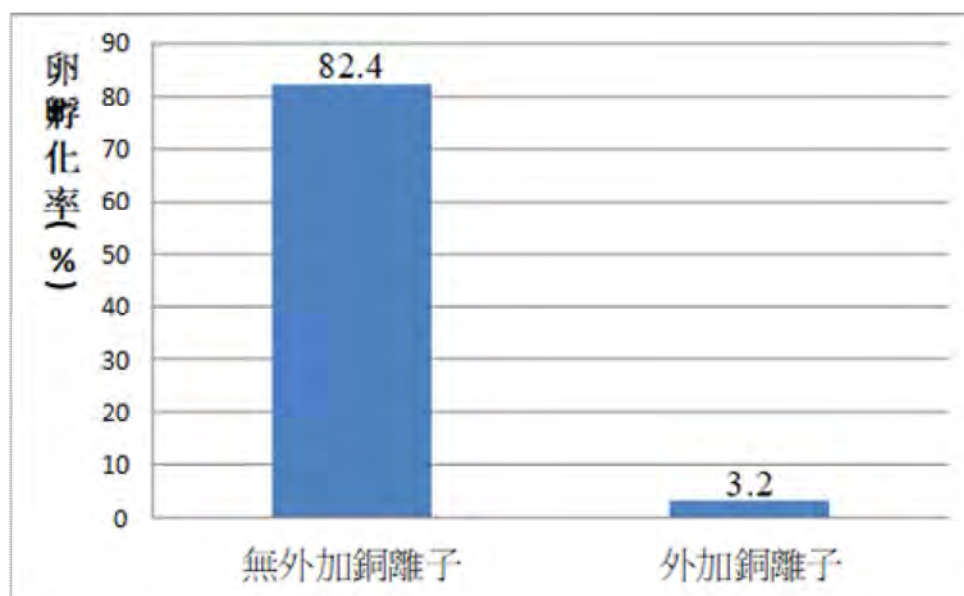


圖 3：有無外加銅離子對豐年蝦卵孵化率的影響

## (二) 使用 SPSS 軟體進行卡方檢定

### 1. 有無外加銅離子與孵化情形之交叉分析：

(1) 進行銅離子與卵孵化率的交叉分析，結果如表 5 所示。沒有外加銅離子的組別，其未孵化卵之比例為 17.6%，成功孵化的卵之比例為 82.4%；而外加銅離子的組別，其未孵化卵之比例為 96.8%，成功孵化卵之比例為 3.2%。

### (2) 卡方檢定

於有無外加銅離子與孵化狀況之卡方檢定結果中，如表 5，卡方值  $\chi^2=1336.415$ ，自由度  $df=1$ ， $p=.000<.05$ ，因此，檢驗出有無外加銅離子和孵化狀況之間的關聯達顯著水準，因此，有無銅離子對豐年蝦卵的孵化率有顯著性影響。

表 5：「有無外加銅離子」與「孵化狀況」之交叉分析

		有無外加銅離子		總計
		沒有外加銅離子	外加銅離子	
孵化 狀況	未孵化數目	198	962	1160
		17.6%	96.8%	54.7%
	孵化的無節幼體數目	928	32	960
		82.4%	3.2%	45.3%
總	計	1126	994	2120
		100.0%	100.0%	100.0%

$$\chi^2=1336.415, p=.000$$

#### 四、探討在不同酸鹼值下，銅離子對豐年蝦成體死亡率的影響

##### (一) 在不同酸鹼值，相同濃度銅離子對豐年蝦成體的致死率

1. 如表 6，各組豐年蝦於浸泡於 pH=6 及 pH=8 的銅離子溶液中，24 小時後，只有 pH=6 且含銅離子這一組出現死亡情形。
2. 如表 6，當浸泡時間拉長至 96 小時後，亦為 pH=6 且有重金屬這一組的死亡率最高。實驗結果顯示，酸性環境對豐年蝦的生存影響甚鉅。

表 6：不同酸鹼值下、以及有無重金屬處理的豐年蝦死亡率

pH 值	pH=8		pH=6	
	有	無	有	無
重金屬				
經 24 小時處理死亡率(%)	0	0	20	0
經 96 小時處理死亡率(%)	40	40	80	60

##### (二) 「酸鹼值」與「豐年蝦成體死亡率」之交叉分析

1. 均有銅離子存在時，弱鹼性(pH=8)的組別，其豐年蝦的死亡率為 40%，存活率為 60%；而弱酸性(pH=6)的組別，其豐年蝦的死亡率為 80%，存活率為 20%(表 7)。在 pH=6 時的死亡率大於 pH=8。

2. 實驗結果顯示，即使是同樣都有銅離子存在的環境下，不同酸鹼值的豐年蝦死亡率也不同，顯示酸鹼值會影響生物急毒性檢測分析的結果。

表7：在1.2ppm銅離子下，「酸鹼值」與「豐年蝦成體死亡率」之交叉分析

		酸鹼值		總計
		pH=8	pH=6	
豐年蝦成體死亡率	存活率	60.0%	20.0%	40%
	死亡率	40.0%	80.0%	60%
總計		100.0%	100.0%	100%

3. 由豐年蝦死亡率折線圖進行比較分析（圖4），亦可發現在沒有外加銅離子時，在pH=6溶液的死亡率大於pH=8。由此可知，即使在沒有重金屬污染的情形下，即使只是環境變酸，豐年蝦的死亡率將提高，顯示酸性環境亦不利豐年蝦的生存。

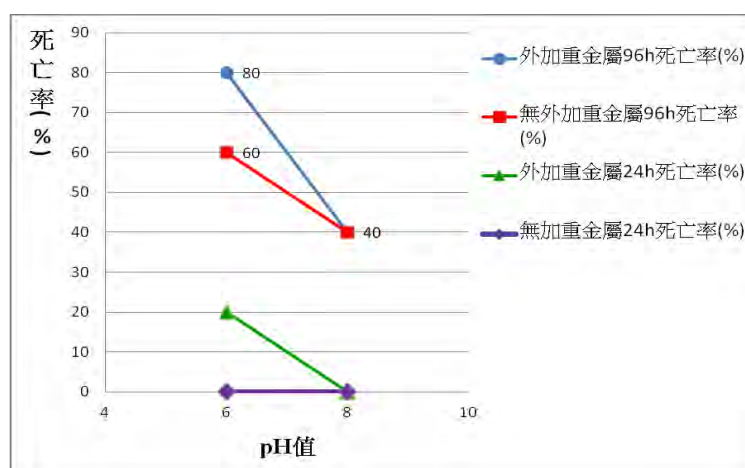


圖4：各個類別組合之豐年蝦死亡率

## 陸、討論

### 一、豐年蝦的生活史及飼養環境

- (一) 豐年蝦脫水耐久卵為凹陷狀，形似凹了一角的乒乓球，泡水之後會膨脹為完整的球形。卵泡水後約48小時，卵會孵化，一開始是卵裂，接著會成為降落傘狀。接著孵化為沒有泳足的無節幼蟲，完全孵化成功的無節幼蟲會開始蛻皮，每蛻一次皮，體節會多一節並長出一對泳足，約14天長為成體，成體有12對泳足，體長更長，最大可以長至約1mm，因此可以利用泳足數目判斷無節幼蟲的年齡。

(二) 根據文獻<sup>(3)</sup>，豐年蝦有趨光性，在有光的環境下會生長較好，因此，我們亦將豐年蝦飼養在有陽光的窗邊，但我們發現，若陽光太強時，可能會導致水溫過高，豐年蝦有集體死亡的現象。

(三) 豐年蝦飼養條件為水溫 25~28°C，鹽度為 15~35‰<sup>(3)</sup>，而我們亦採取此範圍的條件飼養，結果發現，在水溫 25°C 及鹽度為 25‰時，在孵化率及成體數均較好。

## 二、探討不同濃度的銅離子對豐年蝦死亡率的影響

### (一) 開發適用於高鹽度水域的生物急毒性檢測

1. 目前環保署訂定可以用來檢測水中汙染物的生物急毒性檢測的生物有水蚤、米蝦、鯉魚和羅漢魚<sup>(9)</sup>，在進行生物檢測時，可以在水蚤和米蝦之間擇一，以及鯉魚和羅漢魚之間擇一進行兩種生物檢測。
2. 生物檢測方法比一般物理化學檢測方法較能反映整體環境品質，而非僅測得瞬間環境變化值，也可以藉由觀察生物體徵的連續變化，了解汙染物對生物的生理表現或生長狀況的影響，而非只是單純環境監測的數值，換句話說，使用生物檢測相較物理化學方法有較高的靈敏度，因此將有助於了解水質中重金屬含量或種類的變化。
3. 不同生物對環境的耐受度不同，因此隨著檢測情況不同要選用不同的生物進行檢測。目前為止，較少適用於高鹽度環境的檢測生物，因此本研究欲開發可以用於檢測高鹽度的指標生物，但此指標生物亦要能反應水中微量汙染物質。根據環保署公布的放流水標準<sup>(4)</sup>，銅的排放標準為小於 3.0ppm，而由本實驗研究結果得知，以豐年蝦的 LC<sub>50</sub>(48hr)為例，LC<sub>50</sub>(48hr)為 1.251ppm，明顯較標準為低，能反應水中微量銅離子，且豐年蝦易養殖、易觀察、成本低，其嘌呤代謝路徑與哺乳動物相近，很適合作為水中銅離子的生物檢測指標。

### (二) 銅離子對豐年蝦致死率與生理活動的影響

1. 在相同處理時間時，重金屬濃度愈高，豐年蝦的死亡率愈高。如：浸泡時間為 48 小時，銅離子濃度 1.251ppm，死亡率為 50%，銅離子濃度上升到 2.051ppm 時，死亡率為 80%，銅離子濃度為 2.991ppm 時，死亡率為 92%，銅離子濃度為 5ppm

時，豐年蝦的死亡率即達 98%，幾乎達 100% 死亡。

2. 若重金屬濃度相同時，則處理時間愈長，豐年蝦的死亡率愈高。如：銅離子濃度若為 7.647ppm，處理時間為 24 小時，會導致 50% 的豐年蝦死亡。相同濃度，在處理時間為 48 小時，死亡率達 100%。
3. 觀察浸泡在重金屬的豐年蝦的活動，發現豐年蝦的活動力明顯受影響：
  - (1) 活動範圍變小：只能在燒杯底部游動，無法游到燒杯上層。
  - (2) 游動距離變小，不太能前進：雖然其泳足不斷在擺動，但卻只能在原地前後晃動，無法前進。推測這可能與銅的累積毒性有關，影響其神經系統，導致活動能力及範圍受到限制。
  - (3) 部分豐年蝦受銅的毒性影響尚未達到致死劑量，但隨著浸泡時間拉長，銅慢慢於細胞內累積至一定劑量後，仍對豐年蝦造成傷害，最後導致死亡。本實驗是以環保署公布的米蝦急毒性檢測法中的死亡判定標準進行檢測，須符合「活動停止」及「輕輕觸沒反應」才算死亡。
  - (4) 除了死亡判定外，建議可以再增加另一項為急毒性檢測標準，以豐年蝦的游動能力，以快速判斷重金屬劑量是否已達傷害豐年蝦生命體徵。

### 三、探討銅離子對豐年蝦卵孵化率的影響

- (一) 根據圖 3、表 5 可以得知，有無銅離子的存在對豐年蝦卵的孵化率具有顯著差異性影響，有銅離子者的孵化率明顯低於沒有銅離子者。因此，水中重金屬的含量，的確會影響豐年蝦卵的孵化率，推測也可能影響其他節肢動物卵的孵化率，而造成部分物種的數量愈趨減少。
- (二) 即使有部分豐年蝦卵可以在含有重金屬的環境中順利孵化成長，但重金屬不易被生物代謝排除，因此，重金屬會經由豐年蝦這類飼料生物，經由食物鏈的關係，讓重金屬離子進到較高級消費者體內，而造成生物累積作用的情況，影響到更多種生物的發育或生存。

#### 四、探討在不同酸鹼值下，相同濃度銅離子對豐年蝦成體死亡率的影響

- (一) 將豐年蝦置於 pH=6 及 pH=8 的環境中，分析環境酸鹼值對豐年蝦死亡率的影響，如表 7、圖 4，不論環境中有無外加銅離子，在 pH=6 環境下的豐年蝦，死亡率皆高於 pH=8 的環境，顯示酸性環境較不利於豐年蝦的生存。
- (二) 實驗結果顯示（如表 7），酸鹼值此變因對死亡率的影響甚大，進一步比對實驗二中的表 2，顯示當重金屬濃度為 1.2ppm 時，豐年蝦的死亡率為 3%~4%。但在此結果四中，當 pH=6 時，豐年蝦的死亡率為 20%（如表 7），死亡率大為提高。因此，將來運用豐年蝦來進行重金屬急毒性檢測時，亦應注意到水中的酸鹼值，以免影響檢驗結果，而造成檢測誤差。
- (三) 根據文獻指出<sup>(3)</sup>，豐年蝦成長最適合的 pH 值為 7.5-8.5，恰好和本實驗的結果吻合，而豐年蝦卵孵化的最適 pH 值為 8-9，亦是弱鹼性的環境。將來可以在豐年蝦卵孵化時的 pH 值，再做進一步的探討。
- (四) 由實驗四可知，水質酸化對豐年蝦的生存影響甚鉅。而海水酸化是近年來海洋生態面臨的一大問題，現今海洋的 pH 值由原本的 8.4 降至 8.1。因此本實驗建議可以再進一步針對海洋酸化此問題探討對生物的影響，以及找出導致海洋酸化的可能原因為何，才能對此問題進行預防、改善。

#### 五、重金屬對水產生物的毒害機制

- (一) 重金屬與生物體內的蛋白質或鰓部之黏液結合，抑制酵素的活性，干擾代謝功能，使生物體喪失氣體交換功能<sup>(5)</sup>。豐年蝦屬濾食性動物，以鰓呼吸，因此重金屬容易經由水流而累積在生物體內，提高其死亡率。
- (二) 高濃度的重金屬會破壞鰓表皮細胞，導致無法呼吸而死<sup>(5)</sup>。我們的實驗數據顯示，銅離子濃度為 5ppm 時，豐年蝦的死亡率即達 98%。
- (三) 低濃度的重金屬，則危害神經系統及抑制某些酵素的正常功能<sup>(5)</sup>。在本實驗中，亦觀察到豐年蝦在含銅離子的溶液當中，游動能力明顯下降，及游動範圍有縮小的現象，而游動能力是受到神經系統所控制。
- (四) 水域環境中的重金屬亦會影響草蝦的呼吸及游動能力<sup>(5)</sup>，而草蝦和豐年蝦同屬節肢動物門，受影響的機制應該是類似，倘若重金屬污染日益嚴重，對整個水域環境的食物鏈及食物網將會有嚴重的影響，最後經由生物累積作用，回到人類體內。



## 柒、結論

- 一、豐年蝦置於照得到陽光的窗邊，以 25‰食鹽水培養，在弱鹼性的環境下，生長狀況最佳。其生活史為：耐久卵、無節幼蟲、後期無節幼蟲、成體。
- 二、以豐年蝦作為重金屬銅的急毒性檢測，豐年蝦的  $LC_{50}(24h)=7.647ppm$ ， $LC_{50}(48h)=1.251ppm$ 。
  - (一) 銅離子濃度愈高，豐年蝦的死亡率愈高。
  - (二) 浸泡含銅離子溶液的時間愈長，只需低濃度即會對生物體造成傷害，且銅離子慢慢累積會導致豐年蝦游動力變差；因此除了以死亡為檢測毒性的標準外，亦可用豐年蝦的游動能力作為急毒性判定條件。
- 三、水體中有銅離子存在會讓豐年蝦卵的孵化率大幅降低，因此宜注意水中重金屬的含量，避免影響水中生物卵的孵化率，以及避免重金屬透過食物鏈進到較高級消費者體內。
- 四、弱酸性的環境會提高豐年蝦的死亡率，若要以豐年蝦進行急毒性檢測分析，應先確認水中的酸鹼值，以免造成檢驗誤差。
- 五、水質酸化對豐年蝦的生存影響甚鉅，因此須正視酸雨、海水酸化等現象對生態系造成的後續影響。
- 六、豐年蝦具有易飼養、成本低的優勢，此外，豐年蝦孵化率和死亡率對低濃度的銅離子污染靈敏度高，游動能力也易受銅離子的影響，因此我們提出豐年蝦作為良好的鹹水水域急毒性生物檢測。

## 捌、參考資料及其他

1. 大業水族豐年蝦專業網(2016年10月)。取自 <http://daye-artemia.com>
2. 生物急毒性檢測方法—米蝦靜水式法(2013年8月13日)。行政院環保署環境檢驗所。
3. 邱英哲(2015年6月)。淺坪式虱目魚養殖池的多元化利用-豐年蝦養殖。《水試專訊》，50:37-40。
4. 行政院環境保護署。<http://www.epa.gov.tw>
5. 周賢鏘(1985)。重金屬對於草蝦幼苗急速毒性之研究。《Bulletin of Taiwan Fisheries Research Institute》, 38:181-188.
6. 洪昆源(2011)。豐年蝦孵化裝置。《科學發展月刊》，459，38-41。
7. 黃千倫(2005)。探討亞致死濃度銅暴露對吳郭魚仔仔魚與鈣離子平衡之時間效應。《生物學報》40(1):37-42。
8. 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。《科技部104年度科技行政研究發展計畫成果報告》。科技部新竹科學工業園區管理局。
9. 楊喜男(2011年5月4日)。生物急毒性檢測方法—水蚤、米蝦、鯉魚及羅漢魚靜水式法之介紹。行政院環保署。

## 【評語】 030320

1. 本研究以水產養殖常用的豐年蝦為材料，運用簡易的生物檢測方式，來檢驗水質中的重金屬含量是否超標，有應用性。可惜本主題已有諸多研究，欠缺創新性。
2. 所採用的實驗設計及方法大致可行，也有運用統計方法來分析或呈現所得數據。不過，有些實驗並未比較組別之間是否具有顯著差異性。此外，需注意實驗要有重複性，例如三重複。
3. 建議可增加重金屬的種類，例如鉻、鎘及鉛等，以豐富研究內容。
4. 在實驗的樣品數上，僅使用 5 隻豐年蝦來計算死亡率及 LC50 是稍嫌不足的，結果會較不客觀。
5. 在報告書表一處理 48 小時組別中，有好幾組濃度的豐年蝦死亡數目是大於 5 隻的，似乎與實驗樣品數不一致。實驗設計有 pH=7 組別，然而結果並未呈現。
6. 本研究應用豐年蝦作為生物指標，可粗略判斷廢水的銅離子濃度，但對於具有多種成分之工業廢水，也無法判斷酸鹼值造成的影響，常用方法有 pH、EDTA、陽離子交換、沸石等，只做生物急毒性測試，實用性有待商榷。
7. 第 6 頁樣本數量似乎有錯，以 24 小時豐年蝦死亡率只做到 30% 就推論 LC50，似有不妥。
8. 口條清楚，表達具邏輯性。

## 作品海報

## 摘要

本研究以水產養殖常用的豐年蝦為材料，開發其作為**鹹水水質的急毒性生物檢測方法**。以 25‰ 食鹽水、照光培養，從耐久卵開始孵化，約經 14 天發育為成體，以成體進行毒性測試，**研究豐年蝦在含銅離子環境的死亡率、游動能力及卵孵化率**。豐年蝦於銅離子處理 24 小時的半致死濃度為 7.647ppm，48 小時處理的半致死濃度為 1.251ppm；另外觀察到，豐年蝦的游動能力也受到銅離子的影響而變差；且以銅離子處理的豐年蝦卵，其孵化率也顯著降低。因此提出豐年蝦作為良好鹹水水域的重金屬急毒性生物檢測。若進一步考慮環境變因，發現在**不同酸鹼環境下進行的重金屬毒性測試，酸性環境較不利於豐年蝦的生存**，可知，一旦海水不斷酸化，將嚴重威脅海洋生態系。

## 壹、研究動機

在上課時老師提到聯合國大會將 2017 年訂為「國際永續旅遊發展年」，並於 2016 年 1 月 1 日啟動 17 項永續發展目標議程，其中有一項「海洋生態」的指標特別引起我們的注意。

台灣四周環海，我們從小也被教育要愛護環境，而最近國際組織重提永續發展的議題，讓我們意識到「連聯合國國際組織都要為此老話題特別訂定一個年？」。國一下學期自然課本第六章，在探討人類與環境間的問題以及生物累積的概念，而查找資料後發現海水污染中仍然以由陸域進入海域的固態污染物為最大宗，其中的重金屬污染一直受到大家的高度關注，因為重金屬會藉由食物鏈在生物體內累積，對人類的威脅很大。新聞報導更指出，某些工廠會排放未經處理的工業廢水，而這些廢水中，常常含過量的重金屬，對人類及其他生物的生存，更是一大威脅。

所以如何找出快速檢測重金屬濃度的方法，引起我們的興趣，雖然目前已經有許多物理化學的檢測方法，但是使用這些方法測出來的是單純的數值，我們想知道是否有更方便快速的生物檢測方法可以用來做檢驗。因此我們決定選用水產養殖上應用多且廣的豐年蝦，及重金屬污染中常見的銅作為實驗材料。

## 貳、研究目的

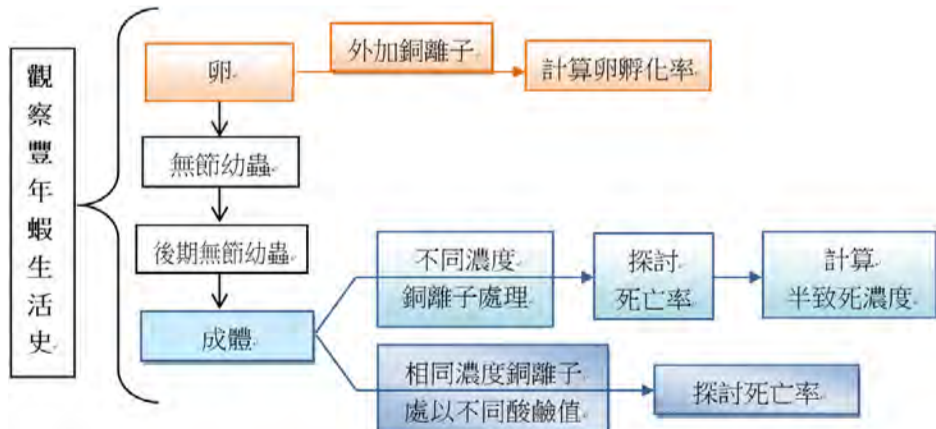
1. 觀察豐年蝦的生活史。
2. 探討不同濃度的銅離子對豐年蝦死亡率的影響。
3. 探討銅離子對豐年蝦卵孵化率的影響。
4. 探討在不同酸鹼值下，有無銅離子對豐年蝦死亡率的影響。

## 參、研究設備及器材

微量電子天平	顯微照相裝置	pH 計	飼養箱
複式顯微鏡	秤量紙	濾紙	解剖針
燒杯	量筒	培養皿	洗滌瓶
懸滴玻片	試管	滴管	硫酸銅
食鹽	醋酸	氫氧化鈉	豐年蝦卵

## 肆、研究過程或方法

### 一、研究架構圖



### 二、豐年蝦飼養條件

- (一)本實驗中使用的豐年蝦卵均購自某水族館的同一批耐久卵。
- (二)預備實驗時，使用不同鹽度的鹽水：15‰、25‰、50‰、90‰，及不同溫度：常溫、28℃ 水浴槽，飼養豐年蝦。發現豐年蝦於常溫（約 25℃）、25‰ 食鹽水的生長環境中生長狀況最佳。因此，以下的實驗均以此生長條件進行豐年蝦飼養。

### 三、觀察豐年蝦的生活史

- (一)秤量 0.25 克的豐年蝦卵放入 25‰ 的食鹽水中，置於可以照射到陽光的窗邊開始孵化。
- (二)每天觀察豐年蝦卵孵化狀況，以顯微照相裝置紀錄發育情況。

### 四、探討不同濃度的銅離子對豐年蝦死亡率的影響

- (一)秤取 100mg 的硫酸銅粉末，加入 25‰ 的食鹽水，配置成 100ppm 的含銅離子食鹽水溶液，再以此溶液進行稀釋，分別配置出 1ppm、2ppm、3ppm、4ppm、5ppm 等不同濃度的溶液。

- (二)取同一批相同飼養程序的同質性豐年蝦成體，採「米蝦急毒性檢測程序」<sup>(1)</sup>進行豐年蝦急毒性檢測。將 5 隻豐年蝦成體加入配置好的不同濃度銅離子溶液中，於實驗處理 24hr、48hr 後，記錄豐年蝦的死亡數目。

- (三)使用 SPSS 軟體，利用機率單位分析方法算出「不同濃度銅離子」與「豐年蝦死亡率」的關係，分別計算出豐年蝦在 24hr、48hr 的半致死濃度(Lethal concentration 50%，LC50)

### 三、探討銅離子對豐年蝦卵孵化率的影響

- (一)秤取 3mg 豐年蝦卵，分次將豐年蝦卵倒在濾紙上計算其總數(C)，將計數好的豐年蝦卵放入 30mL 25‰ 食鹽水中作為對照組。
- (二)再秤取一次 3mg 豐年蝦卵，計數後，放入含有銅離子的 30mL 25‰ 食鹽水中。
- (三)將上述兩組燒杯置於照得到光的窗邊進行孵化。
- (四)開始孵化 48 小時後，計算孵出的無節幼體數目(N)。
- (五)計算孵化率， $\text{孵化率} = N/C \times 100\%$ 。
- (六)運用 SPSS 軟體進行卡方檢定。

### 四、探討在不同酸鹼值下，銅離子對豐年蝦成體死亡率的影響

- (一)分別配置出 pH=6 及 pH=8 且外加銅離子濃度接近半致死濃度 1.2ppm 的 25‰ 食鹽水溶液，以及 pH=6 及 pH=8，不含銅離子的 25‰ 食鹽水溶液。
- (二)取同一批相同飼養程序的同質性豐年蝦成體，分別將 5 隻豐年蝦加入上述四管不同溶液中，於實驗處理 24 小時及 96 小時後記錄下豐年蝦的死亡數目。實驗處理如下表。

銅離子濃度	pH 值	
	pH=8	pH=6
1.2ppm CuSO <sub>4(aq)</sub>	n=5	n=5
無外加銅離子	n=5	n=5

- (三)進行「酸鹼值」與「豐年蝦成體死亡率」之交叉分析。

## 伍、研究結果

### 一、觀察豐年蝦的生活史

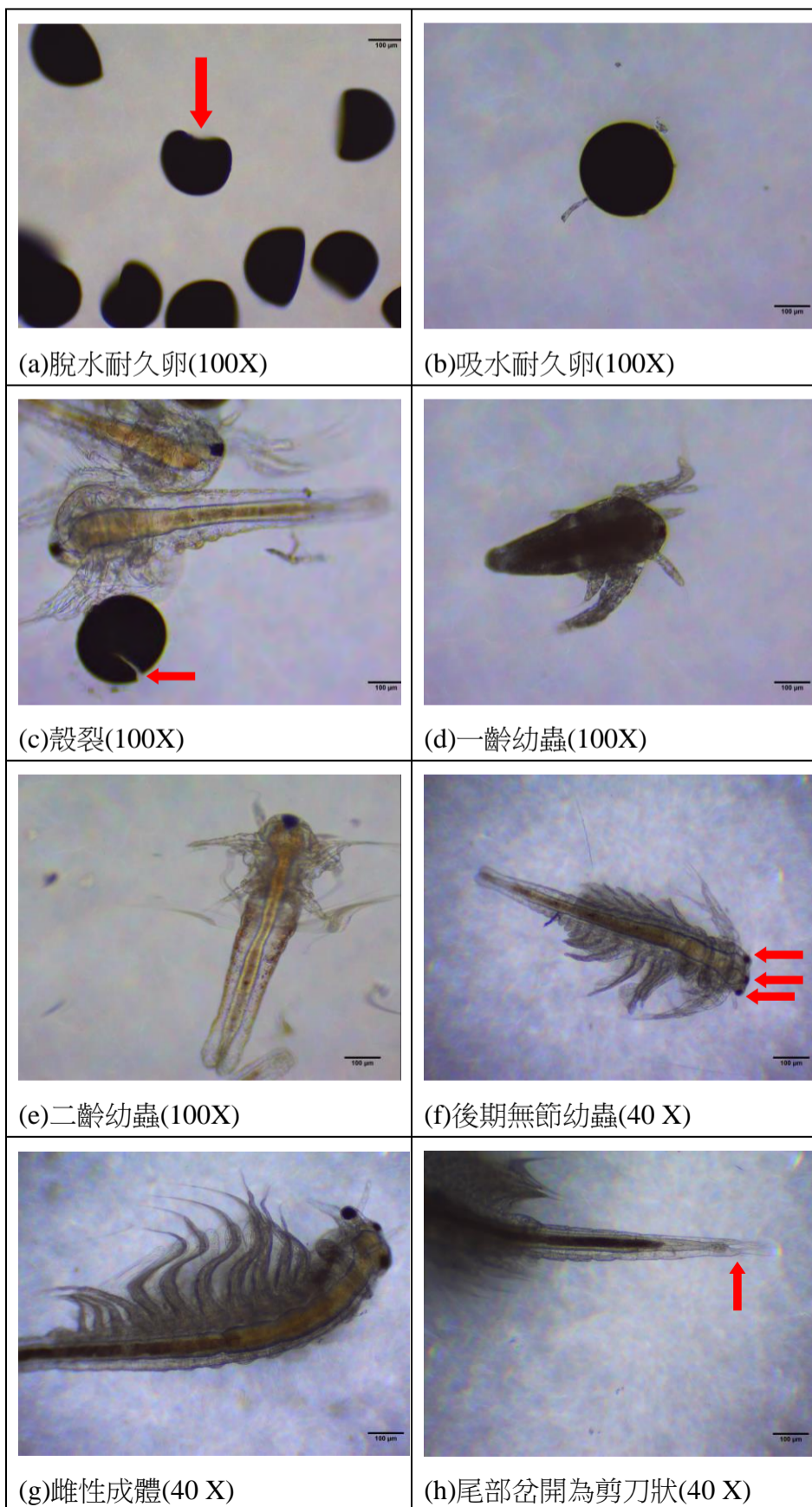


圖 1：豐年蝦生活史

1. 脫水耐久卵為褐色（圖 1a），且呈凹陷狀（紅色箭頭處）。
2. 耐久卵吸水後，膨脹為球形，直徑約 260µm（圖 1b）。
3. 孵化前的卵會發生殼裂（紅色箭頭處）（圖 1c）。

- 經 48 小時後孵化為一齡幼蟲 (圖 1d)，此時體長約 495 $\mu$ m。
- 第一次蛻皮後為二齡幼蟲 (圖 1e)，已經有 1~2 對泳足，體長約 725 $\mu$ m。
- 經過多次蛻皮後，成為後期無節幼蟲 (圖 1f)，此時已有 6~8 對泳足，且有二個複眼，及中間一個單眼 (紅色箭頭處)，體長約 1.2mm。
- 約 14 天後，長為成體，體節延長，且具 12 對泳足，體長約 3.1mm (圖 1g)。且其尾部岔開為剪刀狀 (紅色箭頭處) (圖 1h)。

## 二、探討不同濃度的銅離子對豐年蝦死亡率及游動能力的影響

(一) 豐年蝦成體在不同濃度銅離子溶液，死亡率如表 1、圖 2：

表 1：不同濃度的銅離子溶液中，豐年蝦成體的死亡數目

濃度 (ppm)	樣品數 (隻)	經 24 小時豐年蝦死亡狀況		經 48 小時豐年蝦死亡狀況	
		數目(隻)	死亡率(%)	數目(隻)	死亡率(%)
0	5	0	0	0	0
1	5	0	0	4	40
2	5	1	10	7	70
3	5	2	20	9	90
4	5	2	20	10	100
5	5	3	30	10	100

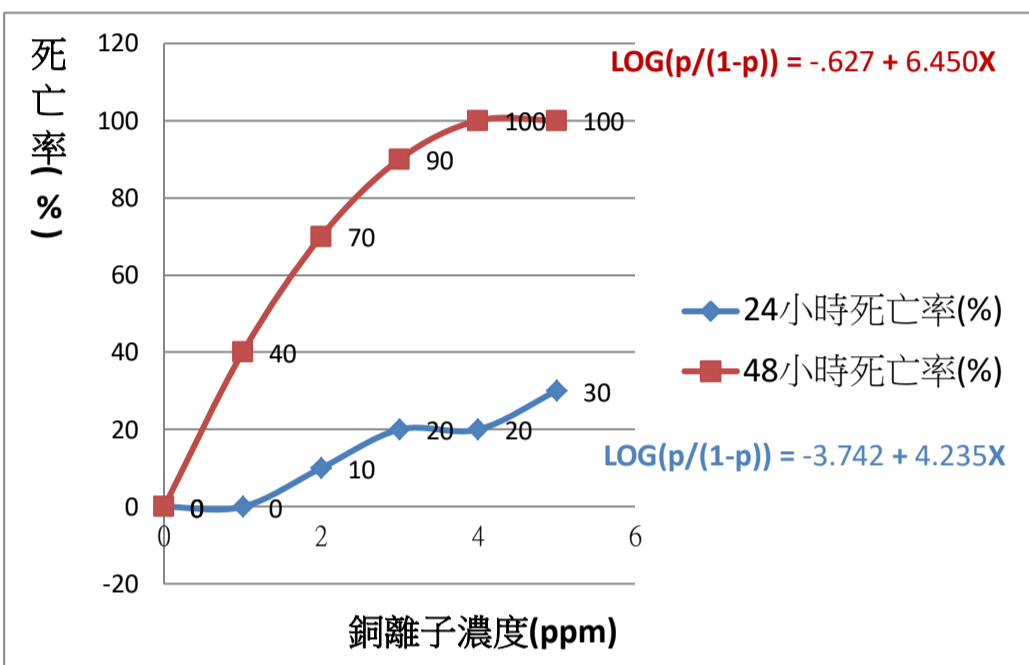


圖 2：經不同濃度銅離子處理，豐年蝦成體死亡率曲線

- 由表 1 可知，相同處理時間，銅離子濃度越高，死亡率越高。若銅離子濃度相同，則處理時間越長，死亡率越高。
- 除了死亡率之外，亦觀察到銅離子會影響豐年蝦的活動能力，銅離子濃度愈高，或實驗處理時間愈長的組別，豐年蝦的活動能力受到影響：
  - (1) 在無外加銅離子時，豐年蝦可游動到水面上層，且游動快速，但在外加銅離子之後，部分豐年蝦受銅的毒性影響，雖然尚未達到死亡標準，但隨著浸泡時間拉長，仍可觀察到銅離子對豐年蝦造成傷害，豐年蝦只會**在燒杯底部游動，無法游到燒杯上層**。
  - (2) 在無外加銅離子時，豐年蝦前後或上下游動距離卻非常大，但在外加銅離子之後，部分豐年蝦雖尚未達死亡標準，但其游動距離卻非常小，或甚至只能在**原地附近稍稍晃動，無法前進**。

### (二) 半致死濃度(LC<sub>50</sub>)

將不同濃度的豐年蝦死亡數目輸入 SPSS 統計軟體，計算出會導致 50% 死亡率的濃度，即為半致死濃度 (LC<sub>50</sub>)。分析實驗處理 24 小時及 48 小時的致死濃度分別如表 2、表 3 所示：

由表 2 及表 3 可知，浸泡時間愈長，死亡率愈大。

- 實驗處理 24 小時的 LC<sub>50</sub> 為 7.647ppm。

表 2：浸泡 24 小時造成的各死亡率的濃度

LOGIT <sup>a</sup>	機率	濃度 ppm 的 95% 信賴限制		
		估計	下限	上限
	.030	1.155	.022	1.990
	<b>.040</b>	<b>1.359</b>	.044	2.198
	.200	3.599	2.265	5.863
	.300	4.824	3.577	16.303
	.400	6.134	4.374	44.842
	<b>.500</b>	<b>7.647</b>	5.091	117.262
	.600	9.533	5.856	310.263
	.700	12.122	6.778	901.476
	.800	16.249	8.065	3327.114
	.900	25.253	10.424	23847.794
	.950	37.909	13.167	146831.253
	.990	93.002	21.963	8175953.713

- 實驗處理 48 小時的 LC<sub>50</sub> 為 1.251ppm。

表 3：浸泡 48 小時造成的各死亡率的濃度

LOGIT <sup>a</sup>	機率	濃度 ppm 的 95% 信賴限制		
		估計	下限	上限
	.030	.362	.029	.687
	.040	.402	.038	.736
	.200	.762	.193	1.140
	.300	.924	.310	1.318
	.400	1.082	.451	1.502
	<b>.500</b>	<b>1.251</b>	.627	1.721
	.600	1.445	.849	2.023
	.700	1.692	1.127	2.528
	.800	2.051	1.474	3.584
	.900	2.740	1.967	6.796
	.950	3.578	2.430	12.952
	.990	6.450	3.655	57.041

## 三、探討銅離子對豐年蝦卵孵化率的影響

(一) 外加銅離子對豐年蝦卵孵化率的影響

表 4：銅離子對豐年蝦卵孵化率的影響

	對照組 (無外加銅離子)	實驗組 (外加銅離子)
卵的總數 (顆)	1126	994
無節幼蟲 (隻)	928	32
孵化率 (%)	82.4	3.2

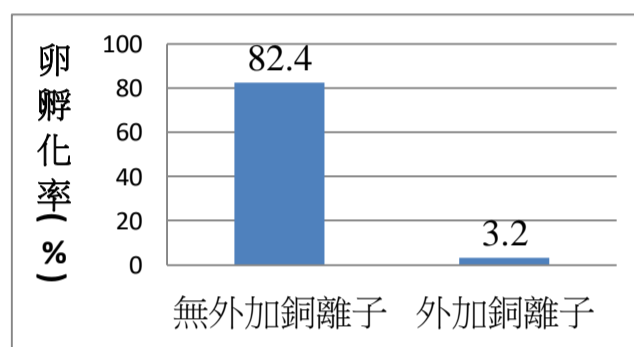


圖 3：有無外加銅離子對豐年蝦卵孵化率的影響

(二) 使用 SPSS 軟體進行卡方檢定

如表 5 所示，卡方值  $\chi^2=1336.415$ ，自由度  $df=1$ ， $p=.000<.05$ ，因此，檢驗出有無外加銅離子和孵化狀況之間的關聯達顯著水準，因此，**有無銅離子對豐年蝦卵的孵化率有顯著性影響**。

表 5：「有無外加銅離子」與「孵化狀況」之交叉分析

		有無外加銅離子		總計
		沒有外加銅離子	外加銅離子	
孵化狀況	未孵化的數目	198	962	1160
		17.6%	96.8%	54.7%
孵化狀況	孵化的無節幼蟲數目	928	32	960
		82.4%	3.2%	45.3%
總計		1126	994	2120
		100.0%	100.0%	100.0%

$\chi^2=1336.415$ ,  $p=.000$

## 四、探討在不同酸鹼值下，銅離子對豐年蝦成體死亡率的影響

(一) 在不同酸鹼值，相同濃度銅離子對豐年蝦成體死亡率的影響

- 如表 6，各組豐年蝦浸泡於 pH=6 及 pH=8 的銅離子溶液中，24 小時後，只有 pH=6 且含銅離子這一組出現死亡情形。
- 如表 6，當浸泡時間拉長至 96 小時後，亦為 pH=6 且有重金屬這一組的死亡率最高。實驗結果顯示，**酸性環境對豐年蝦的生存影響甚鉅**。

表 6：不同酸鹼值下、以及有無重金屬處理的豐年蝦死亡率

pH 值	pH=8		pH=6	
	有	無	有	無
經 24 小時處理死亡率(%)	0	0	20	0
經 96 小時處理死亡率(%)	40	40	80	60

(二) 「酸鹼值」與「豐年蝦成體死亡率」之交叉分析

- 均有銅離子存在時，pH=8 的組別，其豐年蝦的死亡率為 40%，pH=6 的組別，其豐年蝦的死亡率為 80%，實驗結果顯示即使是同樣都有銅離子存在下，不同酸鹼值的豐年蝦死亡率也不同，**顯示酸鹼值會影響生物急毒性檢測分析的結果**。

表 7：在 1.2ppm 銅離子下，酸鹼值與豐年蝦成體死亡率之交叉分析

		酸鹼值		總計
		pH=8	pH=6	
豐年蝦成體死亡率	存活率	60.0%	20.0%	40%
	死亡率	40.0%	80.0%	60%
總計		100.0%	100.0%	100%

- 由豐年蝦死亡率折線圖進行比較分析 (圖 4)，可知在**沒有重金屬**污染下，即使只是環境變酸，豐年蝦的死亡率將提高，**顯示酸性環境亦不利豐年蝦的生存**。

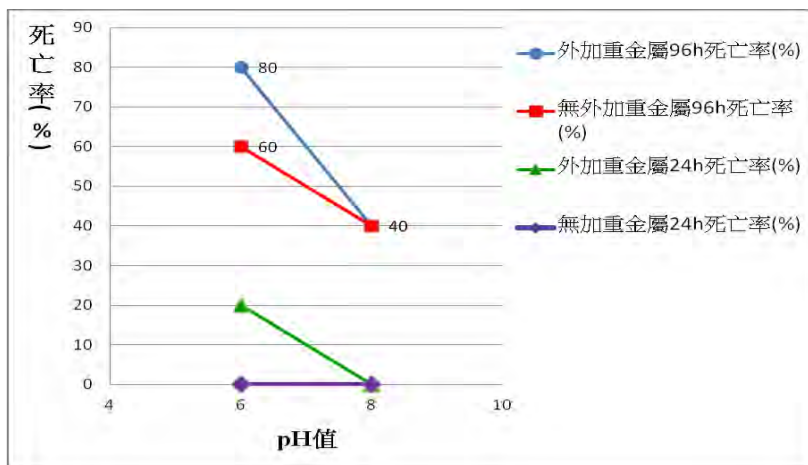


圖 4：各個類別組合之豐年蝦死亡率

## 陸、討論

### 一、豐年蝦的生活史及飼養環境

- (一) 豐年蝦脫水耐久卵為凹陷狀，形似凹了一角的乒乓球，泡水之後會膨脹為完整的球形。卵泡水後約 48 小時，卵會孵化，一開始是卵裂，接著會成為降落傘狀。接著孵化為沒有泳足的無節幼蟲，完全孵化成功的無節幼蟲會開始蛻皮，每蛻一次皮，體節會多一節並長出一對泳足，約 14 天長為成體，成體有 12 對泳足，體長更長，最大可以長至約 1cm，因此可以利用泳足數目判斷無節幼蟲的年齡。
- (二) 根據文獻<sup>(3)</sup>，豐年蝦有趨光性，在有光的環境下會生長較好，因此，我們亦將豐年蝦飼養在有陽光的窗邊，但我們發現，若陽光太強時，可能會導致水溫過高，豐年蝦有集體死亡的現象。

### 二、探討不同濃度的銅離子對豐年蝦死亡率的影響

- (一) 開發適用於高鹽度水域的生物急毒性檢測
  1. 目前環保署訂定的生物急毒性檢測生物有水蚤、米蝦、鯉魚和羅漢魚<sup>(9)</sup>，在進行生物檢測時，可在水蚤和米蝦以及鯉魚和羅漢魚之間擇一進行生物檢測。
  2. **生物檢測方法**比一般物理化學檢測方法較能反映整體環境品質，也可藉由觀察生物體徵的連續變化了解汙染物對生物的生理表現或生長狀況的影響，而非只是單純環境監測的數值，亦即使用生物檢測相較物理化學方法有較高的靈敏度，有助了解水中重金屬含量或種類的變化。
  3. 不同生物對環境的耐受度不同，因此隨檢測情況不同要選用不同的生物進行檢測。截至目前，較少適用於高鹽度環境的檢測生物，因此本研究欲開發可用於檢測高鹽度的指標生物，但此指標生物亦要能反應水中微量汙染物質。根據**環保署公布的放流水標準**<sup>(4)</sup>，銅的排放標準為**小於 3.0ppm**，而由本實驗研究結果得知，以豐年蝦的 LC<sub>50</sub>(48hr)為例，**LC<sub>50</sub>(48hr)為 1.251ppm**，明顯較標準為低，**能反應水中微量銅離子**，且豐年蝦易養殖、易觀察、成本低，很適合作為水中銅離子的生物檢測指標。
- (二) 銅離子對豐年蝦致死率與生理活動的影響
  1. 在相同處理時間時，**重金屬濃度愈高**，豐年蝦的死亡率愈高。如：浸泡時間為 48 小時，銅離子濃度 1.251ppm，死亡率為 50%，銅離子濃度上升到 2.991ppm 時，死亡率為 92%。
  2. 若重金屬濃度相同，則**處理時間愈長**，**豐年蝦的死亡率愈高**。如：銅離子濃度為 7.647ppm，處理時間 24 小時，會導致 50% 的豐年蝦死亡。相同濃度，處理時間為 48 小時，死亡率達 100%。
  3. 觀察浸泡在重金屬的豐年蝦的活動，發現**豐年蝦的活動力明顯受影響**：
    - (1) 活動範圍變小只能在燒杯底部游動，無法游到燒杯上層。
    - (2) 游動距離變小，不太能前進：雖然其泳足不斷在擺動，但卻只能在原地前後晃動，無法前進。推測這可能與銅的累積毒性有關，影響其神經系統，導致活動能力及範圍受到限制。
    - (3) 本實驗是以環保署公布的米蝦急毒性檢測法中的死亡判定標準進行檢測，須符合「活動停止」及「輕輕觸沒反應」才算死亡。但部分豐年蝦受銅毒性影響，雖未達致死劑量，但隨著浸泡時間拉長，其游動能力仍受到影響。因此除了死亡判定外，建議可再增加「**豐年蝦的游動能力**」作為重金屬**是否已達傷害豐年蝦生命體徵的判定條件**。

### 三、探討重金屬對豐年蝦卵孵化率的影響

- (一) 根據圖 3、表 5 可以得知，**有無銅離子的存在對豐年蝦卵的孵化率具有顯著差異性影響**，有銅離子者的孵化率明顯低於沒有銅離子者。因此，水中重金屬的含量，的確會影響豐年蝦卵的孵化率，推測也可能影響其他節肢動物卵的孵化率，而造成部分物種的數量愈趨減少。
- (二) 即使有部分豐年蝦卵可以在含有重金屬的環境中順利孵化成長，但重金屬不易被生物代謝排除，因此，重金屬會經由豐年蝦這類飼料生物，經由食物鏈的關係，讓重金屬離子進到較高級消費者體內，而造成**生物累積作用**的情況，影響到更多種生物的發育或生存。

### 四、探討不同酸鹼值下，相同濃度銅離子對豐年蝦死亡率的影響

- (一) 將豐年蝦置於 pH=6 及 pH=8 的環境中，分析環境酸鹼值對豐年蝦死亡率的影響，如表 7、圖 4，不論環境中有無外加銅離子，在 pH=6 環境下的豐年蝦，死亡率皆高於 pH=8 的環境，顯示酸性環境較不利於豐年蝦的生存。
- (二) 實驗結果顯示(如表 7)，酸鹼值對死亡率的影響甚大，進一步比對實驗二中的表 2，顯示當重金屬濃度為 1.2ppm 時，豐年蝦的死亡率為 3%~4%。但在此結果四中，當 pH=6 時，豐年蝦的死亡率為 20%(如表 7)，死亡率大為提高。因此，將來運用豐年蝦來進行重金屬急毒性檢測時，亦**應注意到水中的酸鹼值**，以免影響檢驗結果，而造成檢測誤差。
- (三) 根據文獻指出<sup>(3)</sup>，豐年蝦成長最適合的 pH 值為 7.5-8.5，恰好和本實驗的結果吻合，而豐年蝦卵孵化的最適 pH 值為 8-9，亦是弱鹼性的環境。將來可以在豐年蝦卵孵化時的 pH 值，再做進一步的探討。
- (四) 由實驗四可知，水質酸化對豐年蝦的生存影響甚鉅。而海水酸化是近年來海洋生態面臨的一大問題，現今海洋的 pH 值由原本的 8.4 降至 8.1。因此本實驗建議可以再進一步針對**海洋酸化**此問題探討對生物的影響，以及找出導致海洋酸化的可能原因為何，才能對此問題進行預防、改善。

### 五、重金屬對水產生物的毒害機制

- (一) 重金屬與生物體內的蛋白質或鰓部之黏液結合，抑制酵素的活性，干擾代謝功能，使生物體喪失氣體交換功能<sup>(5)</sup>。豐年蝦屬濾食性動物，以鰓呼吸，因此重金屬容易經由水流而累積在生物體內，提高其死亡率。
- (二) 高濃度的重金屬會破壞鰓表皮細胞，導致無法呼吸而死<sup>(5)</sup>。我們的實驗數據顯示，銅離子濃度為 5ppm 時，豐年蝦的死亡率即達 98%。
- (三) 低濃度的重金屬，則危害神經系統及抑制某些酵素的正常功能<sup>(5)</sup>。在本實驗中，亦觀察到豐年蝦在含銅離子的溶液當中，游動能力明顯下降，及游動範圍有縮小的現象，而游動能力是受到神經系統所控制。
- (四) 水域環境中的重金屬亦會影響草蝦的呼吸及游動能力<sup>(5)</sup>，而草蝦和豐年蝦同屬節肢動物門，受影響的機制應該是類似，倘若重金屬汙染日益嚴重，對整個水域環境的食物鏈及食物網將會有嚴重的影響，最後經由生物累積作用，回到人類體內。

## 柒、結論

- 一、豐年蝦置於照得到陽光的窗邊，以 25‰食鹽水培養，在弱鹼性的環境下，生長狀況最佳。其生活史為：耐久卵、無節幼蟲、後期無節幼蟲、成體。
- 二、以豐年蝦作為重金屬銅的急毒性檢測，豐年蝦的 LC<sub>50</sub>(24h)=7.647ppm，LC<sub>50</sub>(48h)= 1.251ppm。
  - (一) 銅離子濃度愈高，豐年蝦的死亡率愈高。
  - (二) 浸泡含銅離子溶液的時間愈長，只需低濃度即會對生物體造成傷害，且銅離子慢慢累積會導致豐年蝦游動力變差；因此除了以死亡為檢測毒性的標準外，亦可用豐年蝦的游動能力作為急毒性判定條件。
- 三、水體中有銅離子存在會讓豐年蝦卵的孵化率大幅降低，因此宜注意水中重金屬的含量，避免影響水中生物卵的孵化率，以及避免重金屬透過食物鏈進到較高級消費者體內。
- 四、弱酸性環境會提高豐年蝦的死亡率，若要以豐年蝦進行急毒性檢測分析，應先確認水中的酸鹼值，以免造成檢驗誤差。
- 五、水質酸化對豐年蝦的生存影響甚鉅，因此須正視酸雨、海水酸化等現象對生態系造成的後續影響。
- 六、豐年蝦具易飼養、成本低的優勢，此外，豐年蝦孵化率和死亡率對低濃度的銅離子汙染靈敏度高，游動能力也易受銅離子的影響，因此我們提出豐年蝦作為良好的鹹水水域急毒性生物檢測。

## 捌、參考資料及其他

1. 大業水族豐年蝦專業網。取自 <http://daye-artemia.com>
2. 生物急毒性檢測方法—米蝦靜水式法(2013 年 8 月 13 日)。行政院環保署環境檢驗所。
3. 邱英哲(2015 年 6 月)。淺坪式虱目魚養殖池的多元化利用-豐年蝦養殖。水試專訊 50:37-40。
4. 行政院環境保護署。 <http://www.epa.gov.tw>
5. 周賢鏞(1985)。重金屬對於草蝦幼苗急速毒性之研究。Bulletin of Taiwan Fisheries Research Institute, 38:181-188.
6. 洪昆源(2011)。豐年蝦孵化裝置。科學發展月刊 459:38-41。
7. 黃千倫(2005)。探討亞致死濃度銅暴露對吳郭魚仔仔魚與鈣離子平衡之時間效應。生物學報 40(1):37-42。
8. 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。科技部 104 年度科技行政研究發展計畫成果報告。科技部新竹科學工業園區管理局。
9. 楊喜男(2011 年 5 月 4 日)。生物急毒性檢測方法—水蚤、米蝦、鯉魚及羅漢魚靜水式法之介紹。行政院環保署。