

類胡蘿蔔素消失了！蝦子亢奮了！

投稿類別：生物類

篇名：

類胡蘿蔔素消失了！蝦子亢奮了！

作者：

陳子恩。私立景文高中。三年四班。

王凱翰。私立景文高中。三年三班。

羅啟豪。私立景文高中。三年四班。

指導老師：胡峻毓 老師

## 壹●前言

「環境荷爾蒙」又稱為「內分泌干擾素（Endocrine disrupter substance 簡稱 EDS）」，指干擾負責維持生物體內恆定、生殖、發育或行為的內生荷爾蒙之外來物質。目前已知之環境荷爾蒙約 70 多種，若不當排放到河川，可能在生物體內脂肪開始累積，再經「生物累積」作用，環境荷爾蒙的濃度將放大數千倍，甚至數萬倍之多。本實驗藉由日常生活中常見的 PVC 保鮮膜，以其遇熱後所釋放出來的環境荷爾蒙，飼養溪流中常見的多齒新米蝦和水蘊草，尋找長期暴露在環境荷爾蒙中的水生動植物，可能發生的行為或生理上的改變（註一）。

環境汙染是現階段全世界都在注重的問題，而台灣在民國 60 年代工業有了快速的發展，未經處理過的工業廢水大量排入河川，造成環境汙染。行政院環保署指出台灣有 118 條河川水系，其中 24 條河川水系提供台灣民眾 85% 的生活用水水源，因此，河川水質是影響國民健康的關鍵因素，也是反映國民生活品質的重要指標。台灣的河川汙染包括工業廢水、農業廢水、畜牧廢水、家庭廢水等等。所排放的汙染物是否對河川中的生物造成影響，而經由食物鏈傳達自的人體內，並且引發相關疾病，危害人們的健康（註二）。

多齒新米蝦（*Neocaridina denticulate*）分類地位為：動物界（Animalia），節肢動物門（Arthropoda），軟甲綱（Malacostraca），十足目（Decapoda），匙指蝦科（Atyoidae）（註三）。陸封性淡水蝦，終生生活於淡水中，不需入海繁殖下一代。通常棲息於溪流、河川、池塘底質為石塊或沙石之溪流中游及上游，湖泊及水庫亦有發現，多隱藏於水草叢中、落葉堆及石塊下，攝食有機碎屑及生物屍體。（註四）。

水蘊草（*Elodea densa*）分類地位為：植物界（Plantae），被子植物門（Magnoliophyta），單子葉植物綱（Liliopsida），澤瀉目（Alismatales），水蘊科（Hydrocharitaceae）（註五）。原產地在南美洲，約 20 年前引進台灣，非常適應台灣各地低海拔環境，歸化後成為在溝渠、池塘、稻田、河等地方的野生水草。屬沉水性植物，多年生草本植物，莖呈圓柱形，直立或橫生於水中，葉子很薄，為 3~6 枚輪生，呈長披針狀線形，具細鋸齒緣，有一主脈。具淨化及美化水質的功能，常作為觀賞、養魚的材料（註六）。

由於鄰苯二甲酸酯類廣泛被添加於聚氯乙烯（polyvinyl chlorides），作為塑膠製品的增塑劑（註七），舉凡在日常生活中所使用的 PVC 保鮮膜在一般家庭中都會拿來覆蓋食品器皿，以免食物直接接觸到空氣而導致食物腐壞或變質。而 PVC 保鮮膜在使用時，易直接與食物接觸，於高溫中使用有釋放環境荷爾蒙之慮，故以 PVC 保鮮膜作為實驗材料。多齒新米蝦和水蘊草在河川與池塘都能發現，所以選擇此兩種生物作為實驗對象。

## 貳●正文

### 一、實驗環境操作：

(1)對照組：環境部分用 2000ml 的燒杯作為容器飼養，內部放 225g 的黑金砂與兩個優益菌陶瓷環和三株水蘊草（總長 100cm），飼養水的部分用水質穩定劑與硝化菌以 0.1ml 比 1000ml 的比例調配 1800ml 的飼養水飼養，且每天更換 500ml 的飼養水，換水時會於剩餘的飼養水中取 500ml，利用錐形瓶跟布式漏斗來過濾排泄物，過濾完畢後再將飼養水倒回容器中。

(2)實驗組：環境部分用與對照組相同，飼養水的部分先將水加熱至 96°C 後停止加熱並將剪好的保鮮膜放置水中浸泡 30 分鐘（圖一）並將鍋蓋蓋上，浸泡完畢取出保鮮膜將水放置旁邊冷卻，在冷卻時會利用冰塊隔水降溫至 23°C 後，再用水質穩定劑與硝化菌以 0.1ml 比 1000ml 的比例，調配 1800ml 的飼養水，並且每天更換 500ml 的保鮮膜浸泡液，以確保水中保鮮膜浸泡液的濃度，不會因時間而自然降解，飼養水是每天於換水前，重新煮一份，在換水時會將容器中所剩餘的飼養水取 500ml，過濾其排泄物與對照組同，過濾完畢後再將飼養水倒回容器中。



圖一、以 96°C 的熱水浸泡保鮮膜。

### 二、實驗步驟：

(1)對照組：以三個 2000ml 燒杯作飼養容器，當實驗環境準備完成後，開始飼養多齒新米蝦，為對照組的三個重複，每天換水前，先記錄脫殼數以及完成視覺反應實驗，換水時先將前一天未吃完的飼料清除，以免腐壞而影響水質，換水完畢後再放入四顆水晶蝦飼料。

類胡蘿蔔素消失了！蝦子亢奮了！

(2)實驗組：準備九個 2000ml 的燒杯作為飼養容器，三組各三重複

實驗組 A：以長 100cm 寬 30cm 的保鮮膜浸泡熱水，以保鮮膜浸泡液飼養多齒新米蝦，濃度為 3000cm<sup>2</sup>/1800ml。

實驗組 B：以長 200cm 寬 30cm 的保鮮膜浸泡熱水，以保鮮膜浸泡液飼養多齒新米蝦，濃度為 6000cm<sup>2</sup>/1800ml。

實驗組 C：以長 300cm 寬 30cm 的保鮮膜浸泡熱水，以保鮮膜浸泡液飼養多齒新米蝦，濃度為 9000cm<sup>2</sup>/1800ml。

(3)當實驗環境準備完成後，開始飼養多齒新米蝦，每天於換水前會先記錄脫殼數，及進行視覺反應實驗，完成後開始準備換水，在換水時同樣會清除未吃完的飼料，換畢後再倒入四顆水晶蝦飼料。

(4)實驗組與對照組一共飼養三個禮拜，實驗最後將水蘊草取出，進行水蘊草之葉片觀察與色層分析。

三、動物反應與植物觀察的實驗進行方式：

多齒新米蝦 (*Neocaridina denticulate*):

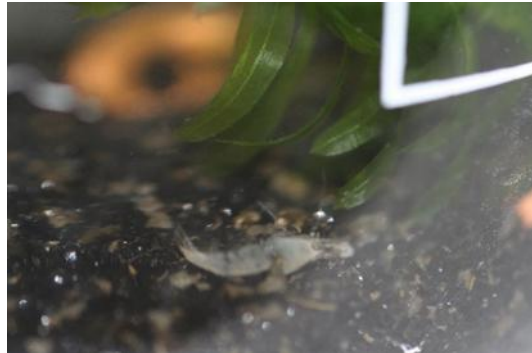
(1)視覺反應研究：當多齒新米蝦呈現靜止狀態時，利用手電筒的燈光照向多齒新米蝦 (圖二)，觀察其行為變化，在拍攝時會關閉實驗室的其他燈源。



圖二、以強光刺激多齒新米蝦。

類胡蘿蔔素消失了！蝦子亢奮了！

(2)脫殼率：紀錄多齒新米蝦的脫殼數量（圖三），於每天換水前紀錄，紀錄完畢會將脫下來的殼移除，避免重複紀錄。



圖三、多齒新米蝦所脫下來的殼。

(3)外觀觀察：將對照組與實驗組的多齒新米蝦放置解剖顯微鏡下觀察對照組與實驗組之多齒新米蝦在外觀上的差異性。

水蘊草 (*Elodea densa*)：

(1)水蘊草之葉片觀察：從每組的水蘊草中隨機剪下 20 片葉片，分別放置解剖顯微鏡下觀察其葉片的生常狀況。

(2)水蘊草的色層分析：取 5cm 的水蘊草放入鉢中，然後加入 5ml 的乙醇加以磨碎後，再利用毛細管吸取葉綠素點在長條濾紙起點線的正中間，每一張一共點 25 次，每組進行三張，起點線高度為 2cm，終點線高度為 12cm，當準備完成後放入量筒，量筒中倒入正己烷 4ml，當液面到達終點時，將長條濾紙取出觀察水蘊草色層分析的顏色變化。

四、研究結果：

多齒新米蝦 (*Neocaridina denticulate*)

(1)視覺反應實驗結果：在多齒新米蝦之行為表現，一共找出六種標準行為作為參考，分為沒反應、微動、爬走、向後退、游走、彈走，依照反應的程度作為判斷的依據，將行為分成兩大類，一種是沒有強烈反應包括沒反應跟微動，這兩種屬於沒有強烈反應，另一種是有強烈反應包括爬走、向後退、游走、彈走，這四種屬於有強烈反應，然後細分有強烈反應之動作（表一）。

表一、多齒新米蝦於強光刺激後，有無強烈反應之動作（單位：隻/次）

組別	對照組	實驗組 A	實驗組 B	實驗組 C
爬走	143/187	261/495	448/819	361/846
向後退	25/187	109/495	161/819	139/846
游走	16/187	85/495	133/819	203/846
彈走	3/187	40/495	77/819	143/846
統計有強烈反應	187/900	495/900	819/900	846/900

(2)脫殼數：由脫殼數發現，長期暴露在環境荷爾蒙的實驗組較對照組，脫殼數有明顯的減少，濃度越高脫殼越少（表二）。

表二、多齒新米蝦於實驗過程中，脫殼數統計表（單位：隻次）

組別	對照組	實驗組 A	實驗組 B	實驗組 C
累計脫殼數	44	17	13	10

(3)外觀觀察：將多齒新米蝦拿至解剖顯微鏡下觀察，對照組無法清楚看到其消化道（圖四），而實驗組 A 的多齒新米蝦在解剖顯微鏡下，可以觀察到較為明顯的消化道，不過仍不是很完整（圖五），於實驗組 B、C 的觀察結果，消化道清晰可見，而且完整（圖六、七）。



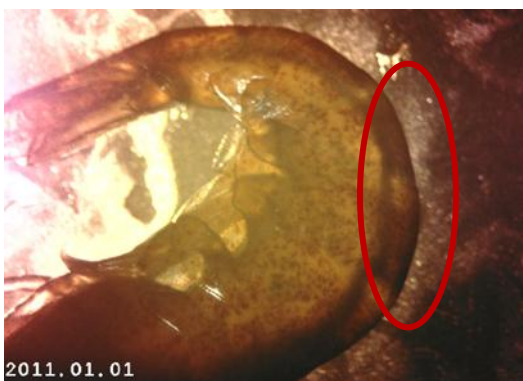
圖四、對照組多齒新米蝦側面圖



圖五、實驗組 A 多齒新米蝦側面圖



圖六、實驗組 B 多齒新米蝦側面圖

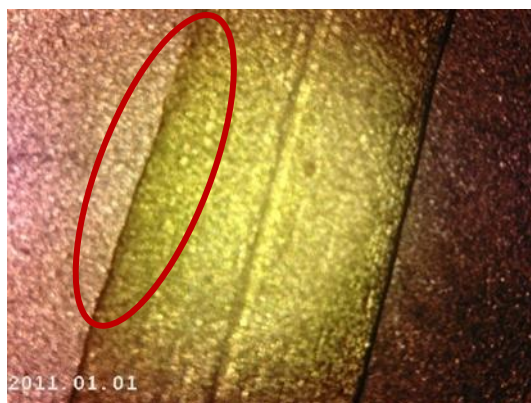


圖七、實驗組 C 多齒新米蝦側面圖

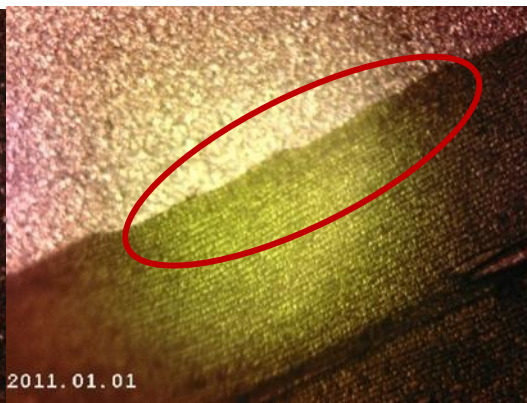
類胡蘿蔔素消失了！蝦子亢奮了！

水蘊草 (*Elodea densa*):

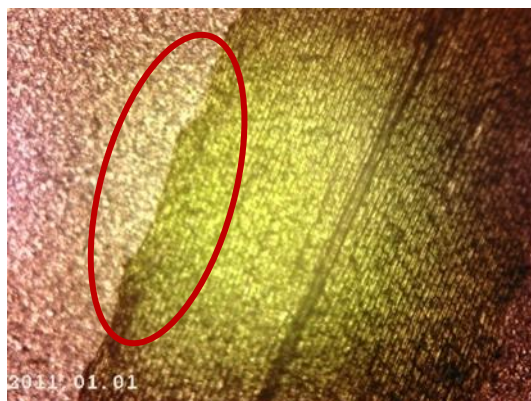
(1)葉片形狀觀察：經由水蘊草的葉片觀察，發現對照組的水蘊草葉片邊緣的生長形狀較為平整（圖八），相較之下實驗組的水蘊草葉片邊緣生長形狀為波浪狀（圖九、十、十一）。



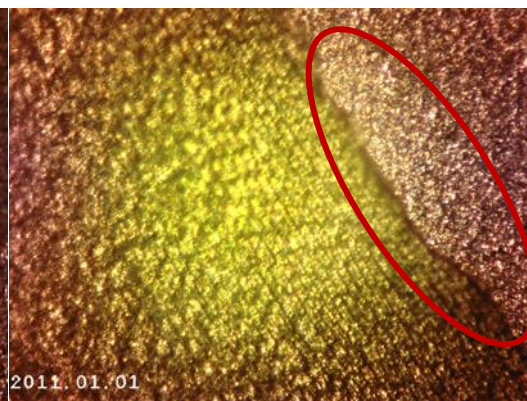
圖八、對照組之水蘊草葉片



圖九、實驗組 A 之水蘊草葉片

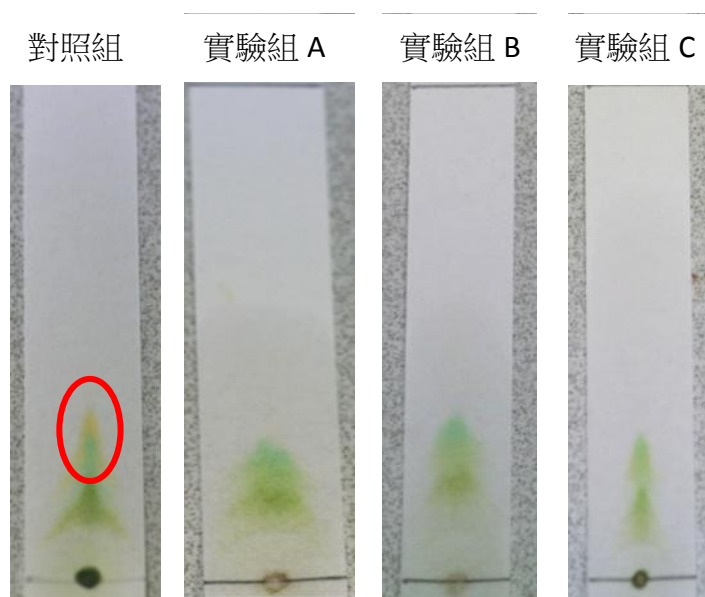


圖十、實驗組 B 之水蘊草葉片



圖十一、實驗組 C 之水蘊草葉片

(2)色層分析：利用色層分析發現，對照組在葉綠素的分層有葉綠素、葉黃素、類胡蘿蔔素三種（圖十二 a），但實驗組在葉綠素的分層中只出現葉綠素跟葉黃素，並沒有發現類胡蘿蔔素（圖十二 b.c.d）。



圖十二、水蘊草的色層分析圖

## 五、討論：

### 多齒新米蝦 (*Neocaridina denticulate*)

(1)視覺反應實驗：由結果發現，對照組經由燈照檢驗後，所反應出來的動作多半是沒反應或微動，這兩種動作都屬於沒有強烈反應，而以保鮮膜浸泡液所飼養的實驗組，隨著濃度增加具有強烈反應的行為次數也跟著增加，尤其是實驗組 C 的有強烈反應中，其游走與彈走比例是所有組中最高的，顯示多齒新米蝦長期暴露在環境荷爾蒙中，其神經系統應該已受到明顯的影響，造成多齒新米蝦在行為反應較正常狀況敏感許多。

(2)生長速率的影響：藉由紀錄多齒新米蝦之脫殼數發現，長期暴露在保鮮膜浸泡液所釋出的環境荷爾蒙中，多齒新米蝦在脫殼數方面有明顯的差異，對照組在總脫殼數明顯多於各濃度的實驗組，證明長期暴露在此環境的多齒新米蝦，生長速率較正常環境慢上許多，依脫殼數來看都少了一半以上，濃度最高的實驗組 C 甚至不到 1/4，顯示多齒新米蝦的生長速率嚴重受到影響。

(3)消化系統的差異：經由解剖顯微鏡觀察，實驗組中多齒新米蝦消化道較為明顯的原因，可能的三種假設如下：

假設一：保鮮膜浸泡液所釋出的環境荷爾蒙，改變多齒新米蝦的進食量，導致實驗組在進食量方面比對照組多，所以才導致實驗組的多齒新米蝦的消化道清晰可見。



類胡蘿蔔素消失了！蝦子亢奮了！

假設二： 保鮮膜浸泡液所釋出的環境荷爾蒙，直接影響多齒新米蝦的消化系統，使其消化速度減慢，導致飼料無法快速消化吸收，才讓消化道變得明顯。

假設三： 所餵食的水晶蝦飼料，因與保鮮膜浸泡液所釋出的成分而受到污染，使飼料本身產生變質，才導致多齒新米蝦吃進變質的水晶蝦飼料，影響飼料在消化道中的消化狀況。

水蘊草 (*Elodea densa*) :

(1)葉片形狀的改變:水蘊草長期暴露在保鮮膜浸泡液所釋出的環境荷爾蒙中，出現葉片邊緣生長形狀呈現較不規則的現象，以波浪狀為主，而對照組的水蘊草葉片生長形狀較為平整。

(2)色層分析:經由色層分析結果發現，環境荷爾蒙影響水蘊草中的類胡蘿蔔素生成，但由於目前尚無相關文獻與資料，無法佐證環境荷爾蒙影響類胡蘿蔔素的原因，有待後續相關實驗證明。

未來發展：

目前檢驗環境中是否有殘留環境荷爾蒙的方法，為利用質譜儀去分析所採樣的物質中，是否有環境荷爾蒙的成分，這種方法雖然準確但耗費成本，以致不太容易普遍檢驗，若可以用現存於溪流中的生物直接觀察，至少可以作出初步探討，對未來的環境保育勢必有不小的幫助。

### 參●結論

根據本研究的成果可以得知，保鮮膜所產生的環境荷爾蒙的確會影響許多動植物的生理機能，將實驗結果歸納如下：

- 一、多齒新米蝦神經反應的敏感性提升。
- 二、多齒新米蝦的生長速率下降。
- 三、水蘊草葉片的健康狀況下降。
- 四、水蘊草的類胡蘿蔔素消失。
- 五、多齒新米蝦消化道的變化狀況，有待日後相關研究再行驗證。

### 肆●參考資料

註一、李澄岳、黃光霆。淺探環境荷爾蒙 (2009)。2014 年 3 月 18 日取自：  
<http://www.shs.edu.tw/works/essay/2009/11/2009111322075045.pdf>

註二、行政院環保署（2009）河川流域經營管理方案。2013 年 11 月 12 日取自：  
<http://www.epa.gov.tw>

註三、維基百科多齒米蝦。2014 年 1 月 14 日取自：  
<http://zh.m.wikipedia.org/wiki/%E9%94%AF%E9%BD%BF%E6%96%B0%E7%B1%B3%E8%99%BE>

註四、經濟部水利署河川生態主題網。2014 年 1 月 12 日取自：  
[http://www.e-river.tw/e\\_Ecology/p3-1-1.aspx?serial=35](http://www.e-river.tw/e_Ecology/p3-1-1.aspx?serial=35)

註五、維基百科水蘊草。2014 年 3 月 19 日取自：  
<http://zh.wikipedia.org/zh-tw/%E6%B0%B4%E8%98%8A%E8%8D%89>

註六、北市麗山國小－水蘊草。2014 年 3 月 19 日取自：  
<http://www.lnps.tp.edu.tw/plants/水蘊草.htm>

註七、環境荷爾蒙－塑膠添加物（鄰苯二甲酸酯類）之環境流布。2014 年 3 月 18 日取自：  
<http://www.niea.gov.tw/analysis/newtech/month/38/38th2-2.htm>

註八、環境資訊中心-雙酚 A 風險又一樁：影響腦部發育（2013）。2013 年 11 月 15 日取自：<http://e-info.org.tw/node/84100>

註九、環境資訊中心-河川雙酚 A 含量高，愛河為最（2012）。2013 年 11 月 15 日取自：<http://e-info.org.tw/node/81409>

註十、植物色素的色層分析與定量。2014 年 3 月 18 日取自：  
<http://openinfo.npust.edu.tw/agriculture/npus12/II/agr12exp12.pdf>

註十一、光合色素的色層分析。2014 年 3 月 18 日取自：  
<http://www.ck.tp.edu.tw/~bio/pdf/02020004.pdf>

註十二、黃景義、許朝凱、祝瑞霜、陳立奇、李婉嬪、姜郁美、林奇宏。臺北市塑化劑污染食品檢測結果（2012）。2013 年 11 月 15 日取自：  
[www.fda.gov.tw/tc/includes/GetFile.ashx?id=104&chk=](http://www.fda.gov.tw/tc/includes/GetFile.ashx?id=104&chk=)

註十三、行政院環保署-認識環境荷爾蒙（2010）。2013 年 11 月 13 日取自：  
[http://flora2.epa.gov.tw/\\_ToxicWeb/Comic/index1.html](http://flora2.epa.gov.tw/_ToxicWeb/Comic/index1.html)

類胡蘿蔔素消失了！蝦子亢奮了！

註十四、李美慧（2012）。環境荷爾蒙與嬰幼兒健康。科學發展。470期：58-63  
頁。