

新型浮选剂 MPA 对鱼类毒性效应的研究*

张甫英 李植生 周仁珍

(中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072)

提 要

MPA 是一种新型浮选剂, 主要由 29 种醇类化合物组成。测得它的 96 h 的 LC_{50} 值: 草鱼胚胎为 100—200mg/L; 草鱼苗为 75.86mg/L; 草鱼种为 122.77mg/L。引起草鱼胚胎弯体畸形的 EC_{50} 值为 48.98mg/L。弯体不严重的鱼苗在清水中饲养, 能恢复正常。对鱼苗生长没有影响的浓度是 6.65mg/L。浓度为 100mg/L 的 MPA 在水环境中一周能去除一半, 20 天后未检出, 在该浓度内放入的草鱼种, 对其生长没有明显的影响。

关键词 浮选剂, LC_{50} , 胚胎, 鱼苗, 鱼种, 弯体畸形

MPA 是中国科学院大连化学物理研究所研制的一种新型选矿剂。具有浮选效果好, 原料来源广, 对环境影响小等优点。MPA 是浮选有色金属矿的起泡剂, 浮选效果优于 2 号油(该药剂使用了将近半个世纪), 与国外 MIBC 起泡剂相当, 是具有推广应用价值的一种新型药剂, 但是它的生态毒理学评价尚未进行研究, 本文研究了 MPA 对鱼类的毒性效应。

材 料 和 方 法

MPA 的主要化学组份的定性定量测定是采用毛细色谱-质谱-计算机联用技术^[4-6]。

毒性试验采用水生所养殖场提供的草鱼 (*Ctenopharyngodon idellus*) 人工授精卵, 鱼苗和鱼种。试验持续 96 h, 测定其 LC_{50} 值。在胚胎毒性试验过程中, 观察畸形症状并统计畸形率。试验结束后, 把各浓度组的畸形鱼苗转移到清水, 继续饲养 10 天, 观察畸形鱼苗的恢复情况。

草鱼受精卵从养殖场取回实验室后, 待其发育至原肠早期, 然后在解剖镜下挑选健康正常的鱼胚, 每个浓度组放入 50 个鱼胚。鱼苗试验是用孵化出膜后第 4 天的鱼苗。

草鱼胚胎试验和鱼苗试验所采用的容器是高为 6.5cm, 直径为 12cm 的圆形玻璃结晶皿, 盛试液 450ml。鱼种试验采用 19 × 21 × 30cm 的玻璃缸, 盛试液 8L。上午和下午各更换新鲜试液一次。对发育孵化、形态异常及死亡等情况进行详细观察并作记录。试验过程中及时清除死卵、死苗和死鱼, 以防水质变坏。根据试验要求设置若干个浓度组及

* 湖南环保学校实习生朱 勇和刘宇飞参加该项工作。

1987 年 8 月 24 日收到。

表 1 MPA 主要化学组份的定性和定量的结果

Tab. 1 Qualitative and quantitative analyses of the major chemical composition of MPA

组份编号 Component No.	化合物 Compound		分子量 Molecular weight	含量 Content (%)	相对保留值 Relative retention	分子式 Formula	碎片离子峰 Fragmentation peak(m/e)
	英 文 English	中 文 Chinese					
1	2-methyl-2-propanol	2-甲基-2-丙醇	74	0.63	0.13	$C_4H_{10}O$	59,74,41,34
2	4-methyl-2-pentene	4-甲基-2-戊烯	84	7.13	0.15	C_6H_{12}	69,41,84
3	2-methyl-1-pentene	2-甲基-1戊烯	84	2.41	2.16	C_6H_{12}	59,55,41,39, 69,84
4	3-methyl-2-pentene	3-甲基-2-戊烯	84	8.06	0.17	C_6H_{12}	41,69,55,84
5	cyclo-pentanone	环戊酮	84	1.83	0.18	C_5H_8O	55,41,56,84
6	2,3-dimethyl-2-butene	2,3-二甲基-2-丁烯	84	3.12	0.19	C_6H_{12}	41,69,55,84
7	methyl-pentanol	甲基戊醇	102	38.03	0.29	$C_6H_{14}O$	59,57,87,41
8	3-methyl-2-pentanol	3-甲基-2-戊醇	102	4.97	0.38	$C_6H_{14}O$	45,69,57
9	2-methyl-3-pentanol	2-甲基-3-戊醇	102	2.45	0.44	$C_6H_{14}O$	59,55,73,41
10	2-hexanol	2-己醇	102	3.98	0.47	$C_6H_{14}O$	45,69,84,87, 41
11	2-methyl-2-hexanol	2-甲基-2-己醇	116	0.84	0.53	$C_7H_{16}O$	59,41,101,84
12	3-methyl-3-hexanol	3-甲基-3-己醇	116	0.64	0.56	$C_7H_{16}O$	73,45,87,55
13	2,5-dimethyl-2-hexanol	2,5-二甲基-2-己醇	130	0.92	0.79	$C_8H_{18}O$	59,41,55,71
14	3-methyl-3-pentanol	3-乙基-3-戊醇	116	0.28	0.81	$C_7H_{16}O$	87,45,69,41, 52
15	2,3-dimethyl-3-hexanol	2,3-二甲基-3-己醇	130	0.09	0.82	$C_8H_{18}O$	87,48,69,57
16	2,2,4-trimethyl-pentanol	2,2,4-三甲基-戊醇	130	0.24	0.95	$C_8H_{18}O$	59,69,43
17	trimethyl-pentanol	三甲基戊醇	130	2.39	1.00	$C_8H_{18}O$	59,69,43,55
18	2-methyl-3-ethyl-3-pentanol	2-甲基-3-乙基-3-戊醇	130	0.05	1.06	$C_8H_{18}O$	45,87,101, 69,57,58
19	4-methyl-4-octanol	4-甲基-4-辛醇	144	0.55	1.08	$C_9H_{20}O$	87,45,101, 55,69
20	3,5,5-trimethyl-4-octanol	3,5,5-三甲基-4-己醇	144	0.38	1.10	$C_9H_{20}O$	87,45,101, 55,69

续表 1

组份编号 Component No.	化合物 Compound		分子量 Molecular weight	含 量 Content (%)	相对保留值 Relative retention	分子式 Formula	碎片离子峰 Fragmentation peak(m/e)
	英 文 English	中 文 Chinese					
21	2,2,5,5-tetramethyl-3-hexene	2,2,5,5-四甲基-3-己烯	140	0.14	1.13	$C_{10}H_{20}$	69,81,124, 51,41
22	3,4-dimethyl-1-octene	3,4-二甲基-1-辛烯	144	0.39	1.21	$C_{10}H_{20}$	43,57,84,57
23	5-methyl-nonane	5-甲基-壬烷	142	0.39	1.23	$C_{10}H_{20}$	43,84,69,57
24	3-methyl-2,4-diethyl-cyclohexane	3-甲基-2,4-二乙基环己烷	154	0.79	1.25	$C_{11}H_{22}$	69,83,55, 41,125
25	3-methyl-1,2-diethyl-cyclohexane	3-甲基-1,2-二乙基环己烷	154	0.58	1.26	$C_{11}H_{22}$	69,83,111, 125,41
26	1-ethyl-2-propyl-cyclohexane	乙基环己烷	154	0.56	1.28	$C_{11}H_{22}$	69,83,111, 55,125,14
27	2-buty1-1-octanol	2-丁基-1-辛醇	168	4.38	1.31	$C_{12}H_{26}O$	43,85,69,55
28	methoxy-ethoxy-cylohexane	甲氧基乙氧基-环己烷	158	0.31	1.49	$C_9H_{18}O_2$	59,57,83,41, 69
29	3-tetra-decanol	3-十四碳醇	214	1.45	1.53	$C_{14}H_{30}O$	59,69,85,14

一个对照组。

MPA 的降解试验, 采用直径和高各为 50cm 的白色圆形搪瓷桶, 盛武汉东湖水 40L, 加入 1kg 东湖底泥, 放置 1 星期, 根据试验要求设置几个浓度组及对照组。

毒性试验用的草鱼苗全长为 0.7 ± 0.039 cm, 体重为 21.66 ± 2.42 mg。草鱼种的全长为 4.32 ± 0.17 cm, 体重为 0.93 ± 0.10 g。求取 LC_{50} 值和 EC_{50} 值、95% 的可信限及回归方程。

每天配制的新鲜试验母液, 用 CSF-A 型超声波发生器(上海超声波仪器厂出品)处理 10min, 达到充分乳化, 浓度 1 000 mg/L。然后用经活性炭过滤再静置 24 h 以上的自来水稀释成所设计的一系列实验溶液的浓度。

试验稀释水采用武汉东湖水厂的自来水, 经活性炭过滤后存放 24 h 以上, 其水质情况如下: pH 7.54; 电导 $200 \mu S/cm$; 总硬度 $2.1 mg/L$ (以 $CaCO_3$ 计); 酚酞碱度 $1.7 mg/L$ (以 $CaCO_3$ 计)。

鱼卵和鱼苗的毒性试验的水温为 22 ± 1 °C, 鱼种毒性试验的水温为 26—27°C。

结 果

(一) MPA 的主要化学组份

采用上述的方法, 测得了 MPA 的定性和定量数据(表 1)。

色谱图和总离子流谱图基本一致,显示出 MPA 有 52 个化学组份。将这些由计算机扣除背景后得到的棒状质谱图与标准图谱以及有关文献质谱图相对照^[7,8], 结合计算机检索出化合物定性数据, 确定其中 MPA 的 29 个组份, 表明 MPA 药剂主要由醇类化合物组成。由于缺乏色谱标准品, 未能对所确定的化合物作进一步的验证, 同时定量只得采用面积归一化法。

(二) MPA 对鱼类及其胚胎的毒性效应

1. 草苗的胚胎毒性试验

在胚胎的毒性试验过程中, 鱼卵在各个发育阶段, 其受精率、孵化率都不断有所改变, 因此不容易精确地表达其平均耐受限或 LC_{50} , 所以试验结果只能采用近似值或大概的幅度来表达^[3]。实验求得 MPA 对草鱼卵的 LC_{50} 值为 100—200mg/L。

2. 致畸胎试验

毒物对鱼胚发育的影响不仅表现在对孵化率和孵化时间的影响, 而且还严重地干扰原肠运动, 使胚层物质内卷和外包受阻, 引起胚胎的畸形。表 2 是胚胎毒性试验过程中 96 小时统计出来的畸形率。

表 2 MPA 引起草鱼胚胎的畸形率

Tab. 2 Percentages of abnormal embryos of the grass carp exposed to MPA

浓度 Concentration(mg/L)	100	50	40	30	20	对照 Control
畸形率 Deformity Percentage(%)	100	44	24	12	0	0

求得 EC_{50} 值为 48.98mg/L。95% 的可信限为 54.33—44.16mg/L。回归方程 $Y = 6.25X - 5.563$ 。由表 2 可见, 当浓度在 20mg/L 以下时, 对草鱼胚胎发育才是安全的。MPA 引起草鱼胚胎的畸形主要表现为弯体畸形(图 1)。



图 1 MPA 引起畸形的草鱼胚胎

1. 正常鱼苗; 2. 弯体鱼苗

Fig. 1 Abnormal embryos of the grass carp exposed to MPA

1. Normal fry; 2. Kyphotic fry

3. 鱼苗试验

MPA 对草鱼苗的毒性影响(表 3)。

求得 96 h 的 LC_{50} 值为 75.86mg/L。95% 可信限为 86.20—66.76mg/L。回归方

表 3 96h 草鱼苗的死亡百分率

Tab. 3 Mortality of the grass carp fry over the 96h exposure period

浓度 Concentration(mg/L)	100	90	80	70	60	40	对照 Control
死亡率 Mortality(%)	75	70	50	40	35	10	0

表 4 96 h 草鱼种的死亡率

Tab. 4 Mortality of the fingerlings of grass carp over the 96h exposure period

浓度 Concentration(mg/L)	135	100	87	75	对照 Control
死亡率 Mortality(%)	50	20	10	0	0

程 $Y = 5X - 4.4$ 。表 3 中可见, 浓度在 40mg/L 时, 对草鱼苗就有明显的影响, 死亡率与浓度之间存在着很好的正相关。

4. 鱼种试验

MPA 对草鱼种的毒性影响(表 4)。

求得 LC_{50} 值为 122.77mg/L。95% 可信限为 136.88—110.12mg/L。回归方程 $Y = 9.26X - 14.35$ 。表 4 中可见, 浓度低于 75mg/L 时, 不会造成鱼种的死亡, 死亡率随着浓度的增高而显著地升高。

(三) 畸形鱼苗的恢复试验

胚胎毒性试验结束以后, 把各浓度组存活下来的弯体畸形鱼苗转移到清水中饲养 10 天, 结果有部分弯体不严重的鱼苗能够恢复正常(表 5)。

表 5 畸形鱼苗在清水中饲养 10 天的恢复情况

Tab. 5 Recovery of the abnormal fry after rearing in MPA-free water for 10 days

试验浓度 Test concentration(mg/L)	150	100	50	40	30
恢复百分率 Recovery percentage(%)	20.0	21.2	40.9	50.0	66.6
死亡百分率 Mortality(%)	60.0	54.5	45.5	40.0	33.3

由表 5 可见弯体畸形不严重的鱼苗经过一段时间的清水饲养, 能使其恢复正常, 其恢复的百分率随着浓度的增高而呈现出很明显的负相关。部分畸形十分严重的个体不能恢复正常而出现不断死亡, 其死亡百分率随浓度的增加而呈现正相关。

(四) 草鱼苗的生长试验

草鱼苗的生长试验共进行 30 天, 试验的第 20 天和第 30 天进行称重和测量长度。试验用的鱼苗来自于同一母体的一批鱼卵, 孵化后一周的鱼苗, 其体重 21.66 ± 2.42 mg, 体长 0.84 ± 0.03 cm。

试验设计的高浓度组 13.3mg/L 在试验开始至半个月左右就全部死亡, 所以没有列入表内。0.665 mg/L 组试验至 25 天出现鱼病而全部死亡, 所以缺 30 天的生长数据。

表 6 MPA 对草鱼苗生长的影响

Tab. 6 Effects of MPA on the growth of the grass carp

浓度 Concentration(mg/L)		6.65	1.33	0.665	对照 Control
30 Days	20 天平均体重 Average body weight over 20 days(g)	0.066±0.027	0.102±0.0595	0.100±0.045	0.0957±0.0506
	平均体重 Average body weight(g)	0.115±0.038	0.119±0.0423		0.1275±0.0495
	平均全长 Average length(cm)	2.233±0.267	2.329±0.361		2.400±0.3905

MPA 对草鱼苗生长影响的生长数据经统计学分析, 20 天和 30 天各试验浓度组的草鱼苗平均体重和平均全长与对照组没有差异, 这表明 MPA 的浓度在 6.65mg/L 时, 对草鱼苗的生长没有影响。

(五) MPA 的降解试验

1. 水样中 MPA 的剖析

MPA 进入水环境后, 由于受物理、化学和生物等因素的影响, 其组份的数目和数量都发生了变化(表 7)。

表 7 MPA 在水环境中的变化

Tab. 7 Change in the content of MPA in water over time

时间 Time (Day)	浓度 Concentration(mg/L)		
	20	50	100
1	11.32 (56.60%)	43.52 (87.04%)	92.18 (92.18%)
3	5.57 (27.85%)	45.32 (90.64%)	90.34 (90.34%)
7	3.13 (15.65%)	13.20 (26.40%)	57.43 (57.43%)
10	未测出	1.76 (3.52%)	38.72 (38.72%)
15	未测出	未测出	14.74 (14.74%)
20	未测出	未测出	未测出

由表 7 可见 MPA 进入水环境一天后, 配制的 20mg/L、50mg/L 和 100mg/L 3 个浓度组的水样测定结果分别为原来配制浓度的 56.6%、87.04% 和 92.18%。3 天后的水样测定结果分别为原配制浓度的 27.85%、90.64% 和 90.34%。20mg/L 浓度组经 10 天, 50mg/L 浓度组经 15 天, 100mg/L 浓度组经 20 天, 其药剂的去除率都达到 95%¹⁾。这

1) 李植生等, 1986。三种选矿浮选剂在水环境中的归趋。环境生物学文集第六集。49—57。

表明了水环境对 MPA 有较好的净化能力。

2. 对草鱼生长的影响

在 MPA 的降解试验的 50mg/L 和 100mg/L 两浓度组中放入草鱼种 30 尾,另设对照组。试验结果见表 8。

表 8 草鱼一个月的生长情况

Tab. 8 The growth of the grass carp during a period of one month

试验浓度 Test concentration(mg/L)	100	50	对照 Control
一个月后的平均体重 Average body weight over one month(g)	0.3244	0.3304	0.3517
一个月后的平均全长 Average length over one month(cm)	3.4141	3.3400	3.4155

生长数据经 F 检验, $P > 0.05$ 。各试验组的草鱼平均体重和平均全长与对照组没有显著差异。试验开始的第 1 天到第 3 天,高浓度组 100mg/L 内的草鱼显得不活跃,少数鱼体有点变黑,摄食量也少。但经一星期后,这些症状都消失了,摄食量与对照组没有差别。

讨 论

1. 许多实验表明,鱼类的不同发育阶段对毒物的敏感性存在着很大的差异^[2]。本实验同样证实了这一论点,MPA 对草鱼胚胎、草鱼苗和草鱼种的 96 h LC_{50} 值分别为 100—200mg/L、75.86mg/L、122.77mg/L。可见草鱼苗对 MPA 的毒性最敏感,因此选择对毒物最敏感的草鱼苗为基础,求其安全浓度。考虑到 MPA 在水环境中容易降解,所以取安全系数为 0.1,这样求得的安全浓度为 7.59mg/L。这和草鱼苗在 MPA 的一个月生长试验求得的安全浓度 6.65mg/L 基本上是一致的。

2. 我们曾做了 9 种选矿药剂对草鱼的毒性比较^[1]。其毒性大小的顺序为 2 号油 $> 0145 > YX > FU > 10$ 号油 $>$ 甘苄油 $>$ 黄药 $>$ MPA。2 号油这种选矿剂使用了近半个世纪,所以我们仅列出 MPA 和 2 号油的毒性进行比较(表 9)。

表 9 二种浮选剂的毒性比较

Tab. 9 Comparison of the toxicity of 2 mineral floating agents

试验材料 Test material	浮选剂 Mineral Floating agent(mg/L)		2 号油与 MPA 毒性的比率 Ratio of toxicity of 2# oil and MPA
	2 号油 2# oil	MPA	
胚 胎 Embryo	10—15	100—200	10—13
鱼 苗 Fry	5.24	75.86	14.5
鱼 种 Fingerling	7.47	122.77	16.4

表中可见,2号油对草鱼胚胎、草鱼苗和草鱼种的毒性分别是 MPA 毒性的 10—13 倍、14.5 倍和 16.4 倍。结果表明, MPA 的毒性大大低于 2 号油, 所以 MPA 在生产上具有推广应用的价值。

3. MPA 进入水环境后, 由于受物理、化学和生物等因素的影响, 很容易降解, 即使 100mg/L 的试验组, 经 1—3 天降解 10%, 经一星期降解 43%, 经半个月降解 85.3%。所以刚开始进行试验放入的草鱼种就呈现游泳不活跃, 反应迟钝, 少数鱼的体色有点发黑, 摄食量减少, 这些都是中毒的表现。但一星期后, 这些症状都消失了, 恢复成正常, 摄食量也增加了, 与对照组没有差别。在鱼种急性试验中, 即使设计的高浓度组 (135mg/L), 仅在试验进行到第 3 天才出现 20% 的死亡率。因此降解试验的高浓度 (100mg/L 组) 不会发生死鱼现象。而且一个月的生长数据, 经统计学分析与对照组没有显著差异。这表明水环境对 MPA 具有很好的净化能力。

4. MPA 对草鱼胚胎的致畸作用, 主要表现为弯体畸形, 其畸形百分率随试验浓度的升高而增加, 呈现很好的相关性。如果试验过程中造成的弯体畸形不甚严重的个体, 而后又不再继续暴露于 MPA, 这种轻度畸形的弯体个体可以逐渐得到恢复并发育成为正常的个体。但是严重畸形的个体就不能恢复正常而逐渐死亡。这种能恢复正常百分率与原来试验浓度成很好的负相关。

5. 用鱼类胚胎作试验材料, 研究毒物的生物效应, 已有 60 多年的历史, 大量的研究工作业已表明, 鱼卵比幼鱼的耐受性要高得多。Eatan 等^[9]用 7 种淡水鱼为材料, 试验了镉对胚胎的毒性。Mckin 等^[10]用 8 种淡水鱼为材料, 试验了铜对胚胎的毒性, 都认为幼鱼或早期仔鱼比胚胎敏感。作者用草鱼为试验材料, 研究了 MPA 的毒性, 同样也证实了这个结论。草鱼苗或早期仔鱼要比鱼卵敏感, 鱼卵在孵化出膜前表现出对毒物有较高的耐受性, 只有在出膜后才出现大量的死亡, 似乎卵膜起了对毒物的一种屏障作用。

参 考 文 献

- [1] 张甫英、李植生、李兴福、周仁珍, 1989。九种选矿剂对鱼类的毒性效应的研究。中国环境科学, 9(4): 271—275。
- [2] 张甫英、周永欣、周仁珍, 1988。两种金属和两种农药对草鱼不同发育阶段的毒性效应。环境科学学报, 8(1): 67—71。
- [3] 尹伊伟、庄德辉、张甫英, 1986。34 种化学物对白鲢鱼种、鱼苗及鱼卵的急性致毒试验的研究。中国环境科学, 6(6): 3—6。
- [4] 李植生、徐 盈、丘昌强, 1985。水环境中松油的化学生态学特征。色谱杂志, 2(6): 388—392。
- [5] Giger, W. and Schaffner, C., 1978. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in the environment by glass capillary gas chromatography. *Anal. Chem.*, 50(2): 243—249.
- [6] Gerasimenko, V. A., Kirilenko, A. V. and Nabivach, V. M., 1981. Capillary gas chromatography of aromatic compounds found in coal tar fractions. *J. Chromatogr.*, 208(1): 9—16.
- [7] Sauter, A. D., Betowski L. D. and Ballard, J. M., 1983. Comparison of priority pollutant response factors for triple and single quadrupole mass spectrometers. *Anal. Chem.*, 55(1): 116—119.
- [8] Heller, S. R. and Milne, G. W. A., 1978. EPA/NZH mass spectral data base, NSRDS, U. S. Government printing office, Washington.
- [9] Eton, J. G., Mckim, J. M. and Holcombe, G. W., 1978. Metal toxicity to embryos and larvae of seven freshwater fish species-1: Cadmium. *Bull. Environm. Contam. Toxicol.*, 19(1): 95—103.
- [10] Mckim, J. M., Eaton, J. G. and Holcombe, G. W., 1978. Metal toxicity to embryos and larvae of eight freshwater fish species-11: Copper. *Bull. Environm. Contam. Toxicol.*, 19(5): 608—616.

TOXIC EFFECTS OF A NEW MINERAL FLOATING AGENT —MPA ON THE GRASS CARP (*CTENOPHARYNGODON IDELLUS*)

Zhang Fuying Li Zhisheng and Zhou Renzhen

(Institute of Hydrobiology, Academia Sinica, Wuhan 430072)

Abstract

MPA is a new mineral floating agent consisting of 29 alcohol components. The 96-h LC₅₀ for the embryos, fry and fingerlings of the grass carp exposed to MPA were 100-200, 75.86 and 122.77 mg/L respectively. The 96-h EC₅₀ causing teratological symptom of the embryo was 48.98 mg/L. Fry with light kyphosis were able to recover after rearing in MPA-free water. Adverse effects on growth were not observed at the concentration of 6.65 mg/L. MPA of the concentration of 100 mg/L in water reduced by half over a week and was not detectable after 20 days. Effects on the growth of grass carp fingerlings were not observed at the concentration of 100 mg/L during a period of one month.

Key words Mineral floating agent, LC₅₀, Embryo, Fry, Fingerling, Kyphosis