

# 六种选矿药剂对藻类的毒性比较

况琪军 夏宜琤 李植生

(中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072)

## 提 要

本文评价了六种选矿药剂对藻类的毒性效应, 它们对斜生栅藻的毒性大小排列顺序是: 二号油 > Fu > 0145 > Yx > MPA > S-808, 96h-EC<sub>50</sub> 值分别为 41.2, 50.1, 82.0, 177.8, 198.2 和 900ppm。六种选矿药剂对藻类毒性最大的是二号油, 毒性最小的是 S-808。对藻类细胞形态的观察结果表明, 0145 对藻类的细胞形态有轻度的致畸效应, 在其它五种药剂的培养物中, 均未发现畸变细胞。在室温下存放 10d 后 MPA, 0145 和二号油, 毒性明显下降, 其下降速率的顺序是: MPA > 0145 > 二号油。

藻类对 S-808 具有净化脱色作用, 100ppm 浓度的 S-808 溶液经藻类作用 32d 后, 其色度可减少 48%, 作用 62d 和 93d, 色度分别降低 54% 和 58%。0145 抑制藻类的光合放氧, 经 50, 100 和 200ppm 浓度的 0145 处理 4h 后, 与对照相比, 藻类的光合放氧速率分别下降 15, 34 和 36%。

**关键词** 选矿药剂, 急性毒性, 斜生栅藻, 96h-EC<sub>50</sub> 值。

有关浮选药剂对鱼类、溞类和软体动物的毒性研究, 国内已有报道<sup>[1,2,4]</sup>。国外学者也对一些比较常用的浮选药剂的毒性作了较系统的试验研究并取得明显结果<sup>[3-7]</sup>。试验对象主要是实验室条件下的小哺乳动物。浮选药剂对藻类毒性研究的报道尚不多见。藻类是水生态系统的原初生产者, 一种新的浮选药剂对藻类的毒性数据是十分重要的参数, 在选矿废水的排放控制与治理中均有重要的参考价值。

本研究以斜生栅藻 *Scenedesmus obliquus* 为试验材料, 对浮选剂二号油, Fu, 0145, Yx, MPA 和 S-808 的毒性进行了藻类生物测试。比较了这六种浮选药剂对藻类生长的毒性影响; 观察了它们对藻类细胞形态的致畸效应; 测试了二号油、MPA 和 0145 的自然降解能力及藻类对 S-808 的净化脱色作用; 同时还测试了 0145 对藻类光合放氧的影响。

## 材 料 与 方 法

藻种斜生栅藻 *Scenedesmus obliquus* 的琼脂斜面纯种来自本所藻种室。试验容器为 50ml 带塞三角瓶, 水生 4 号 (HB-4) 培养基作标准对照。六种选矿药剂均为原药, 由北京矿冶研究院等单位提供, 其名称与主要化学成份见表 1。用 96h 内引起藻类细胞密度下降一半的浓度评价药剂的毒性。

表 1 六种选矿药剂的化学组成

Tab. 1 Chemical composition of six mineral floatation reagents

药剂名称 Reagents	化 学 组 成 Chemical composition	药 剂 来 源 Source of reagents
0145	8 碳醇类	北京矿冶研究院
No. 2Oil	萜烯类和萜醇类	株洲选矿药剂厂
MPA	6 碳醇类	中国科学院大连化学物理研究所
Yx	C <sub>9</sub> -C <sub>10</sub> 酸和相应的酯类	湖南岳阳石油化工总厂研究院
Fu	C <sub>4</sub> -C <sub>6</sub> 酸类和 20% 煤油	同 上
S-808	磺化粗萘	湖北荆襄磷矿务局设计研究院

**藻种的预培养** 在无菌条件下将琼脂藻种移接到盛有水生 4 号液体培养基的已灭菌 (15 磅, 15min) 的容器中, 置  $24 \pm 2^\circ\text{C}$ , 约 6000lx 光照条件下培养, 96h 移种 1 次, 先后反复 3 次, 使藻类细胞基本上达到同步生长状态, 以此作为试验藻种。

**试验母液的配制** 分别准确称取各试验药剂, 药剂的含量均以 100% 计算。除 S-808 外, 其它 5 种药剂均为浅黄色液体, 用蒸馏水配成浓度为 1000ppm 的母液, 用 CSF-A 型超声波发生器 (上海超声波仪器厂) 处理至充分乳化为止, 母液现配现用。S-808 是黑色块状物, 用蒸馏水溶解后呈酸性, 经  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  溶液调 pH 至 7 后用于试验, 母液浓度也为 1000ppm, 现配现用。

**毒性试验处理溶液的配制与培养** 取试验藻种离心 (3500r/min, 10min), 弃去上清液, 用 15mg/L 的碳酸氢钠溶液将沉积细胞悬浮洗涤, 并再离心, 重复 2 次后, 用 HB-4 培养基悬浮细胞, 制成细胞悬液, 摇匀后取样计算细胞密度, 确定接种量。按试验要求的初始细胞密度, 取一定体积的细胞悬液接入事先配好的不同浓度的各处理溶液中, 同时分别加入与对照等量的营养成分 (HB-4 培养基), 以免因营养状况不同而造成差异。最终用蒸馏水定容至所需体积。试验按等对数间距设置 5 个处理组, 另加一组水生 4 号培养基作空白对照, 每组设 3 个平行样。培养瓶用大小适宜的玻璃或橡皮塞密封, 以防药物挥发。充分摇匀后置  $24 \pm 2^\circ\text{C}$ , 光强约 6000lx, 光暗循环 14:10 的条件下培养 4d, 每天定时人工摇动 3 次, 防止细胞沉淀结块。在 48, 96h 各取样分析一次, 测定光密度, 计算细胞数, 观察细胞形态。用与对照相比的各浓度组的平均生长率确定被试药剂对藻类生长抑制的  $\text{EC}_{50}$  值。所得数据均经  $X^2$  (卡方) 测验法进行数理统计, 确定试验结果的可靠性。

**二号油, 0145 和 MPA 的降解试验** 将配好的母液置室温条件下存放 10d 后, 根据急性毒性试验结果, 在大于 96h  $\text{EC}_{50}$  的几种浓度下, 进行藻类毒性试验, 测定药物毒性的下降情况。各处理浓度的配制仍按母液初配时的浓度计算, 培养条件和取样分析时间以及数据的处理均同上所述。根据先后所得的与对照相比的生长百分率之比确定 3 种药剂的自然降解速率。

**藻类对 S-808 的降解试验** 按毒性试验的配水方法将固体 S-808 配成浓度为 100 ppm 的处理液两组, 其中一组接种藻类, 作为降解试验的处理组, 另一组不接种藻类, 作为对照组, 每组各配 3 瓶, 置于上述试验条件下连续培养, 在第 32, 62 和 93d, 分别各取一瓶

进行光密度的测定。测定前,离心去除处理组的藻类细胞,用 721 型分光光度仪在 410nm 波长 (S-808 溶液的最大吸收光波)下测定其上清液的光密度,用未加藻类的同样浓度的 S-808 溶液作空白对照,计算脱色率。

**0145 对藻类光合放氧的影响试验** 将新鲜配制的母液按不同的处理浓度加入到藻类培养液中,摇匀后置室温条件下静放 4h,使其充分反应,然后在 18℃ 恒温、光照搅拌 (电力磁性搅拌器)和密封的条件下,逐一按浓度分别测定藻类细胞的放氧速率,用自动记录仪记录,然后计算 0145 对藻类光合放氧的抑制百分率。

## 结 果 与 讨 论

### 1. 六种选矿药剂的急性毒性效应

表 2 列举了六种浮选药剂对藻类的 48 和 96h  $EC_{50}$  值,从中可以看出,它们对藻类的毒性大小甚为悬殊。六种选矿药剂对藻类毒性大小的排列顺序是: 二号油 > Fu > 0145 > Yx > MPA > S-808。毒性最大的二号油,96h  $EC_{50}$  值为 41.2ppm; 而毒性最小的 S-808 的 96h  $EC_{50}$  值却高达 900ppm,约相当于二号油的 22 倍。表 2 的试验结果均经  $X^2$  (卡方)检验,MPA 试验的  $P > 0.25$ ,其余试验,  $P$  均大于 0.5,说明试验结果可靠。比较六种不同的浮选药剂,二号油的毒性最大,这和其它作者用鱼和软体动物为试验材料所得到的结果极为一致<sup>[1,4]</sup>。但是大型溞对六种浮选剂中的 MPA 最敏感,其次才是二号油<sup>[2]</sup>,这和用其它水生生物的试验结果又不完全一致。由此可见,同一种浮选药剂对不同的被试生物具有不同的毒性效应;不同的浮选药剂对同一种被试生物的毒性大小也不一样,即各类水生生物对各种选矿药剂的敏感性具有明显的差异。与上述文献所列数据相比,藻类对这些浮选药剂的忍耐力要比其它水生生物的强得多。

表 2 六种选矿药剂对藻类的急性毒性

Tab. 2 Acute toxicities of six mineral floatation agents to algae

药 剂 名 称 Reagents	半数有效浓度 $EC_{50}$ (ppm)	
	48h	96h
No. 2 Oil	45.50	41.20
Fu	100.00	50.10
0145	190.55	82.00
Yx	218.80	177.80
MPA	259.60	198.20
S-808	>900.00	900.00

对藻类细胞形态的观察结果表明,六种浮选药剂对藻类细胞的内含物具有明显的破坏作用,在大于或等于半有效浓度条件下,藻类的细胞内含物均匀性减弱,出现粗颗粒,呈老化状态,藻类培养液的颜色也随药剂浓度的升高而由鲜绿变淡绿,这和作者以往做的城市综合污水对藻类毒性的试验结果极为一致。在浓度为 25—200ppm 0145 中培养的栅藻,48h 后均观察到有极少数的三角形、裤形和巨型畸变细胞,200ppm 以上的处理液中,

藻类的细胞内含物破坏严重。0145 导致藻类细胞畸变的原因有待进一步深入研究。

**2. 二号油, 0145 和 MPA 的降解试验** 表 3 列举了 3 种选矿药剂现配现用和在室温下存放 10d 后对藻类生长抑制的百分率, 从中可以看出, 与现配现用相比, 存放 10d 后的 3 种药剂对藻类的毒性均明显下降。相比之下, MPA 的自然降解速率最快, 其次为 0145, 二号油的自然降解速率最慢。

表 3 0145、二号油和 MPA 的毒性变化  
Tab. 3 Changes in the toxicities of 0145, No. 2 Oil and MPA

药剂名称 Reagents	处理浓度 Concentrations (ppm)	96 小时抑制百分率 (%) 96-hour percent inhibition(%)		毒性下降率(%) Decline rate of toxicity (%)
		现备现用 Fresh	存放 10d 后再用 After ten days	
0145	200	78.00	17.83	77.14
	398	92.00	26.57	71.12
No. 2 Oil	50	59.90	16.67	72.17
	79	71.43	43.42	39.20
MPA	214	56.51	1.5	97.34
	339	37.30	1.5	95.98

比较表 2 和表 3 的结果发现, 药剂的自然降解速率与药剂对藻类的毒性大小成反比, 毒性最大的, 自然降解速率则最慢, 反之亦然。根据李植生等采用毛细色谱-质谱-计算机联用技术<sup>[3]</sup>获得的 3 种选矿药剂定性定量的结果表明: MPA 共有 52 个组份, 已确定其中的 29 个; 二号油有 50 个组份, 已确定的有 27 个; 0145 有 33 个组份, 已确定其中的 12 个。这些已确定的组份表明, MPA 和 0145 主要由醇类化合物组成, 而二号油主要由萜烯类化合物和含氧萜类化合物组成, 还有许多组份未能确定。组份的化学性质及含量不同, 都会影响到药剂的光解, 挥发, 矿化和整个稳定性, 也和药剂的生物可降解性直接相关, 值得进一步深入研究。

3. 藻类对 S-808 的净化脱色作用

表 4 列举了含量为 100ppm 的 S-808 溶液经藻类作用不同天数后, 色度的下降情况, 从中可以看出, 经藻类作用 32d 之后, S-808 的色度减少了 48%, 但作用至 93d, 色素的去除率亦仅有 58%, 可见藻类对 S-808 色素的去除效率随时间的延长而逐渐下降。经藻类作用脱色后的 S-808 溶液, 由原来的深黄褐色变为浅黄色液体。由于只能用色度下降间接说明 S-808 的去除, 而缺乏 S-808 的有效组份的直接测定结果, 所以本试验还不足以提供藻类对 S-808 的降解或去除的精确定量参数。

4. 0145 对藻类光合放氧速率的影响

0145 对藻类的光合放氧有明显的抑制作用, 经药物处理 4h 后, 各处理浓度中藻类的光合放氧速率均较对照组低, 抑制百分率与药物的处理浓度呈正相关性。表 5 列出了不同浓度条件下 0145 对藻类光合放氧的抑制百分率, 由于试验条件的限制, 试验只持续了 4h。根据表 2 毒性试验的结果, 0145 对藻类生长抑制的 96h 半数有效浓度为 82.0ppm, 如果延长放氧试验的处理时间, 各浓度条件下的抑制百分率可能会更高, 这是肯定的。

表 4 藻类对 S-808 的脱色作用

Tab. 4 The decolorization of S-808 by algae

光密度 410 OD <sub>410</sub>	培养天数 Days			
		32	62	93
组别 Groups				
对照 Control		0.84	0.82	0.81
处理 Treatment		0.44	0.38	0.34
下降率 Rate of decline (%)		48	54	58

表 5 0145 对藻类光合放氧速率的影响

Tab. 5 Effects of 0145 on the photosynthetic rate of algae

处 理 浓 度 (ppm) Concentrations (ppm)	50	100	200
抑 制 百 分 率 (%) Percent inhibition (%)	15	34	36

基于上述试验结果,二号油以外的五种新浮选药剂,虽都具有浮选效率高,成本低和原料来源广等特点,但从环境效应的角度来考虑,以 Yx, MPA 和 S-808 的发展前途较大,应用前景更广。

## 参 考 文 献

- [1] 刘保元等,1988. 浮选药剂对软体动物的毒性研究. 水生生物学报,12(3): 283—285.
- [2] 庄德辉等,1989. 浮选药剂对藻类的毒性研究. 水生生物学报,13(3): 240—249.
- [3] 李植生等,1985. 水环境中松油的化学生态学特征. 色谱杂志,2(6): 338—342.
- [4] 张甫英等,1989. 9 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.
- [5] Demeshkevich, N. G., 1968. Toxicity of mixtures of higher aliphatic amines having 16—20 carbon atoms. *Gig. Tr. Prof. Zabol.*, 12(9), 40—46.
- [6] Leduc, G., Ruber, H. & Webb, M., 1973. Toxicity of mine floatation reagents. *Toxic. Mine Floatation Reagents* 10pp.
- [7] Savilov, E. D., Trofimovich, E. M. & Alabuzheva, A. P., 1975. Experimental study of the effects of floatation reagent IM-50 and of C<sub>6</sub>—C<sub>10</sub> hydroxamic acids on the sanitary regime of reservoirs and on warm-blooded animals. *Uch. Zap.-Mosk. Nauchno-Issled. Inst. Gig.* 22:113—117.

## COMPARISON OF THE TOXICITIES OF SIX MINE FLOATATION AGENTS TO ALGAE

Kuang Qijun Xia Yicheng and Li Zhisheng

(Institute of Hydrobiology, Academia Sinica, Wuhan 430072)

### Abstract

The purpose of this study was to investigate the effects of six mine floatation reagents on algae. The acute toxicities are in the order No.2 Oil > Fu > 0145 > Yx > MPA > S-808. The 96-h  $EC_{50}$  for *Scenedesmus obliquus* of the above six reagents are 41.2, 50.1, 82, 177.8, 198.2 and 900 mg/l respectively. No.2 Oil had the highest toxicity, while S-808 had the lowest toxicity. Some deformed cells were found in cultures exposed to 0145 for 48 hr, but in the cultures exposed to the other five reagents, no deformed cells were observed at concentrations higher than  $EC_{50}$ .

The toxicities of No.2 Oil, 0145 and MPA decreased markedly after they had been kept at ambient temperature for 10 days. Chronic tests indicate that the algae can remove S-808. The algae exposed to 100 ppm S-808 caused a 48% reduction in the optical density of the S-808 solution. The reagent 0145 can inhibit algal photosynthesis. The photosynthetic rate of algae exposed to 50, 100 and 200 ppm 0145 for 4 hr decreased by 15, 34 and 36% respectively.

**Key words** Mine Floatation Agents, Acute Toxicity, *Scenedesmus obliquus*, 96h- $EC_{50}$