

# 新型表面活性剂改性粘土去除赤潮藻研究\*

吴萍 俞志明 杨桂朋 宋秀贤

(中国科学院海洋研究所海洋生态与环境科学重点实验室 青岛 266071;

山东理工大学化学工程学院 淄博 255049; 中国海洋大学化学化工学院 青岛 266003)

(中国科学院海洋研究所海洋生态与环境科学重点实验室 青岛 266071)

(中国海洋大学化学化工学院 青岛 266003)

**摘要** 以赤潮异弯藻为主要研究对象, 对其在有机高岭土和有机膨润土作用下的去除情况进行了研究。结果表明, 以新型阳离子表面活性剂双烷基聚氧乙烯基三季铵盐改性后的粘土用量为 0.03g/L 时, 在 24h 内对赤潮异弯藻的去除率可以达到 100%, 而未经改性的同样用量的粘土并没有对赤潮异弯藻表现出去除作用, 这表明改性后的粘土对赤潮异弯藻的去除能力得到了显著的提高。同时还对改性粘土去除赤潮异弯藻的絮凝动力学及其对养殖生物日本对虾仔虾的生态毒性情况进行了研究, 发现粘土的种类、用量, 改性剂的用量及溶液的 pH 值等因素都能够影响体系的絮凝沉降速率, 通过分析各种影响因素发现在粘土体系中引入有机改性剂是提高其除藻能力的主要因素。另外, 毒性实验发现所用改性剂对养殖生物的毒性较小, 半致死浓度约为 61.9mg/L, 比传统的季铵盐的毒性降低了 50 倍左右, 是一种较为安全有效的粘土有机改性剂。

**关键词** 赤潮异弯藻, 双烷基聚氧乙烯基三季铵盐, 改性粘土, 去除率, 絮凝动力学, 半致死浓度

**中图分类号** X55

近年来随着工农业的迅猛发展, 大量污水排入海洋, 水体富营养化程度日益严重, 导致全球性的海洋赤潮灾害爆发的频率越来越高(陈善文等, 2004; 王修林等, 2005), 影响面积也越来越大, 对海水养殖业乃至整个海洋生态系统及人类的身体健康造成极大危害和威胁, 所以治理赤潮的研究越来越引起人们的广泛关注(白希尧等, 2004; 崔廷伟等, 2005)。用粘土矿物去除赤潮生物是目前国际上备受关注的方法之一(Shiota 1989; Anderson 1997; Han *et al.* 2001; Archambault *et al.* 2002)。但是如何提高粘土矿物对赤潮生物的去除能力, 减少粘土的用量, 一直是该方法存在的主要问题。为此, 赤潮专家们展开了粘土的改性及增效研究(Shiota 1989; Yu *et al.* 1999; 曹西华等, 2003)。本文作者在以上研究成果的基

础上, 引入新型绿色环保产品阳离子表面活性剂双烷基聚氧乙烯基三季铵盐对粘土的表面性质进行改性, 并以赤潮异弯藻为主要研究对象, 实验了改性后的粘土对其去除作用, 并对其絮凝动力学和同时有可能对养殖生物造成的生态毒性情况进行了研究。

## 1 实验部分

### 1.1 实验材料

双烷基聚氧乙烯基三季铵盐(dialkylpolyoxyethenylquatamary ammonium compound, 为了方便文中简称: DRQAC), 河南省道纯化工技术有限公司生产。

高岭土, 取自江苏吴县白泥厂。过筛, 取 200—300 目用于实验。

\* 国家重点基础研究发展规划资助项目, 2001CB409710 号; 国家杰出青年科学基金项目, 400025614 号和青岛市自然科学基金资助项目, 02-2-kjyk-32 号。吴萍, 博士, E-mail: wuping@sdu.edu.cn

收稿日期: 2005-08-15, 收修改稿日期: 2006-04-12

膨润土,取自山东淄博,过筛,取 200目用于实验。

赤潮异弯藻 (*Heterosigma akashiwo*, 简称 *H.A.*), 取自胶州湾水域, 经分离、纯化, 在  $20 \pm 1^\circ\text{C}$ 、3000lx光照和 12h光暗循环条件下, 在不加硅酸盐的 *f/2*培养液中培养。

## 1.2 实验方法

**1.2.1 赤潮异弯藻的去除率实验** 移取一定量指数生长期的赤潮异弯藻 (*Heterosigma akashiwo*  $5 \times 10^4 - 1 \times 10^5$  cell/ml) 藻液于 50ml 的比色管中, 按比例加入已经配制好的粘土溶液和有机改性剂溶液, 同时设空白对照样品 (原藻液), 迅速摇匀后, 静置于微藻培养室中, 24h 后用虹吸法取上层约 40ml 水体混匀后, 用 Lugol 碘液固定样品, 光学显微镜下用血小板计数法进行计数, 跟原藻液比较计算其去除率。

**1.2.2 絮凝沉降速率的测定** 移取一定量指数生长期的赤潮异弯藻藻液于 50ml 的比色管中, 按比例加入已经配制好的粘土溶液和有机改性剂溶液, 同时设空白对照样品 (原藻液), 迅速摇匀后, 在  $20^\circ\text{C}$ 、420nm 波长下测定不同时间的透光率, 并取中间液层溶液测定细胞密度, 依此判断沉降速率。

**1.2.3 有机改性剂生态毒性实验** 在容积为 4L 的方形玻璃缸内加入 3L 过滤后的天然海水, 随机选取生长良好的日本对虾仔虾 20 尾进行实验。在预实验的基础上按浓度的对数均匀间距选取 7 个浓度进行实验, 同时设空白对照组, 并每个浓度设一个平行对照组, 48h 后观察仔虾的存活情况, 计算其半致死浓度。

## 2 结果与讨论

DPQAC 是一种新型阳离子表面活性剂, 跟传统的阳离子表面活性剂相比, 具有链亲和力小, 易生物降解, 低毒、低刺激, 对环境的污染较小, 所以实验中选用其作为粘土的有机改性剂, 针对改性后的粘土对赤潮异弯藻的去除情况进行系统的研究。

### 2.1 粘土对赤潮异弯藻的去除效果

图 1 为两种不同种类的粘土单独使用时对赤潮异弯藻的去除效果, 从该图中可以看出高岭土和膨润土对赤潮异弯藻的去除效果随粘土用量的提高而提高, 在实验粘土用量范围内, 其最大去除率为 60% 左右, 由此可见并不是只要无限提高粘土用量就可以达到有效地去除赤潮藻的

目的, 所以应该考虑应用别的方法来提高粘土矿物对赤潮藻的去除率。另外, 从实验中还可以看出, 高岭土对赤潮异弯藻的去除效果略高于膨润土, 这与作者以往得出的结论是一致的 (俞志明等, 1994)。

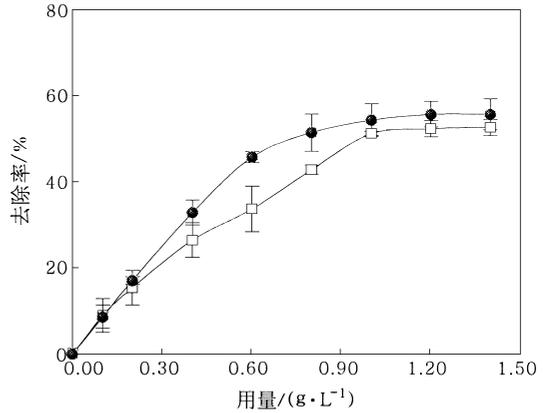


图 1 不同种类的粘土对赤潮异弯藻的去除效果

Fig. 1 Removal efficiency of clays against *Heterosigma akashiwo*

图中圆表示高岭土; 方框表示膨润土

### 2.2 有机改性粘土对赤潮异弯藻的去除效果

实验中发现 DPQAC 对赤潮异弯藻的灭杀效果很好, 其浓度为 3mg/L 时, 灭杀率可以达到 90% 以上, 但是藻细胞死亡后的沉降速率很慢, 不能达到预期的目的, 为了提高藻细胞的去除率和去除速率考虑将有机改性剂 DPQAC 与粘土结合使用。图 2 为粘土与 DPQAC 联合使用的除藻效果, 实验中固定 DPQAC 的用量为 3mg/L, 改变粘土的用量, 希望能够根据实验结果得到粘土与改性剂的最佳用量。由图 2 可见, 使用膨润土时去除率的变化范围为 60%—100%, 而使用高岭土时去除率的变化范围为 30%—100%, 其中在用量低于 30mg/L 时高岭土的改性体系对赤潮异弯藻的去除情况要好于膨润土, 而在用量高于 30mg/L 时则正好相反, 但是两种粘土都在用量为 30mg/L 时, 去除率最高。由此可以得到 DPQAC 与粘土的最佳比例为: 1:10。

### 2.3 有机改性粘土对赤潮异弯藻的絮凝沉降动力学研究

由于絮凝沉降是一个动力学过程, 所以研究粘土矿物对赤潮生物的去除作用不仅要考虑其去除率, 而且还要考虑其去除速率。根据碰撞理

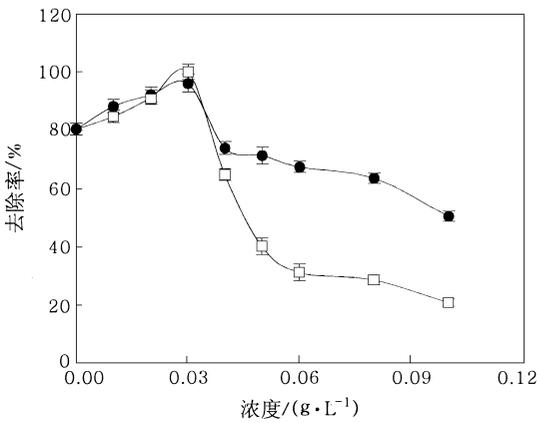


图 2 两种有机改性粘土对赤潮异弯藻的去除效果  
 Fig. 2 Removal efficiency of organo-clays against *Heterosigma akashiwo*  
 —□—有机改性高岭土; —●—有机改性膨润土

论, 溶胶的聚沉是靠分子间的碰撞来实现的, 所以粘土颗粒与赤潮生物间的絮凝过程可以用双分子反应来处理。在实验中采用  $\lambda = 420\text{nm}$  处的透光度的变化来表示体系中颗粒物数目的变化。由于其透光度  $T\%$  的变化不仅仅是由于粘土-细胞间的絮凝所致, 而且还包含由于粘土颗粒自身的絮凝引起的变化, 所以  $T\%$  的变化反映的是体系中总的颗粒物数目的变化。因此可以通过透光度  $T\%$  随时间的变化反映其絮凝速率的大小, 从而为絮凝动力学的研究提供一个简便、有效的实验方法。

**2.3.1 粘土种类、用量对沉降速率的影响** 图 3 所示为  $30\text{mg/L}$  (其中 DPQAC 的浓度为  $3\text{mg/L}$ ) 的有机高岭土和有机膨润土体系对沉降速率的影响, 从图 3 中可见有机改性粘土对赤潮藻的絮凝沉降速率比较慢, 两种粘土体系的透光率变化都是在最初的半小时最为明显, 这主要是由粘土的沉降导致的。从总体趋势可以看出高岭土体系的沉降速率要略高于膨润土体系。

图 4 是有机高岭土在不同用量时对沉降速率的影响, 实验中固定 DPQAC 的浓度为  $3\text{mg/L}$ , 选择高岭土的浓度变化范围为  $30\text{--}120\text{mg/L}$ 。由该图可见, 随着粘土浓度的增加, 絮凝沉降速率明显加快。这可能是因为粘土的用量增加使得粘土颗粒与细胞间碰撞几率增加, 同时也增加了粘土颗粒本身的絮凝速率。虽然粘土的用量不同, 但是体系最终的透光率却相差不大, 并且粘土用量越大, 体系最终的透光率反而更小, 这说

明仅靠增加粘土用量来提高其对赤潮生物的去除速率和去除效果并不是最有效的方法。

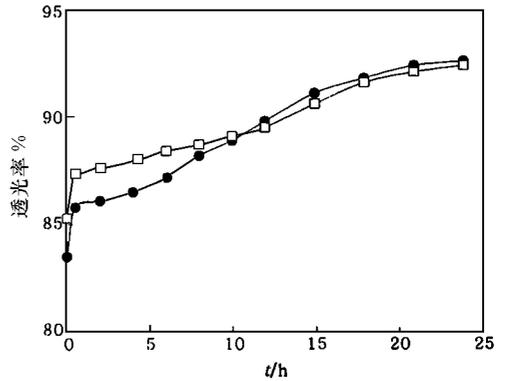


图 3 不同种类的有机粘土对赤潮异弯藻沉降速率的影响

Fig. 3 The effect of various organo-clays on coagulation rate of *Heterosigma akashiwo*  
 —●—高岭土; —□—膨润土

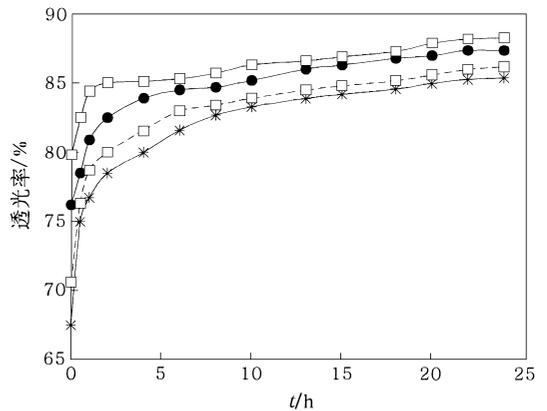


图 4 高岭土的用量对赤潮异弯藻沉降速率的影响  
 Fig. 4 The effect of kaolin concentration on coagulation rate of *Heterosigma akashiwo*

—□—  $30 \times 10^{-6}$ ; —●—  $60 \times 10^{-6}$ ;  
 —○—  $90 \times 10^{-6}$ ; —\*—  $120 \times 10^{-6}$

**2.3.2 改性剂用量对沉降速率的影响** 图 5 所示是固定高岭土用量为  $30\text{mg/L}$ , 改变 DPQAC 的浓度时沉降速率的影响情况。从图 5 中可以看出, DPQAC 的用量对沉降速率影响的情况比较复杂, 呈先升后降的趋势。当其用量在  $0\text{--}4\text{mg/L}$  时, 沉降速率随用量的增加而增加, 但是当用量继续增加至  $6\text{--}8\text{mg/L}$  时, 透光率在前半个小时还有所上升, 然后就基本上不再变化甚至还有所

下降。这主要是由于当改性剂的用量达到一定程度时,藻细胞在半小时之内就能够破裂,释放出叶绿素,导致藻液呈现透明的绿色,使整个体系的透光率下降。

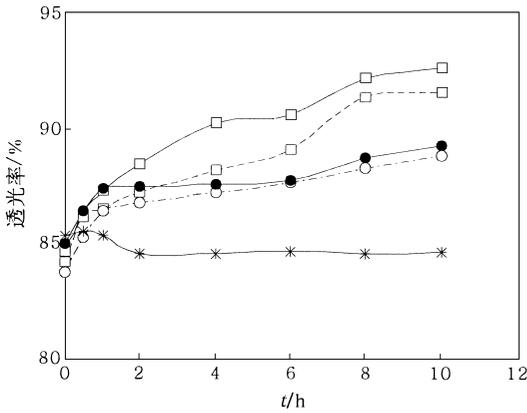


图 5 改性剂用量对赤潮异弯藻沉降速率的影响  
Fig 5 The effect of various concentrations of DPQAC on coagulation rate of *Heterosigma akashiwo*  
—○—  $0 \times 10^{-6}$ ; —□—  $2 \times 10^{-6}$ ; —□—  $4 \times 10^{-6}$ ;  
—●—  $6 \times 10^{-6}$ ; —\*—  $8 \times 10^{-6}$

**2.3.3 pH 值对沉降速率的影响** 为了判断 pH 值的变化对沉降速率的影响,实验中固定有机高岭土的用量为 30mg/L(其中 DPQAC 的用量为 3mg/L),在不同的 pH 值的条件下,测定其沉降速率。从图 6 可以看出,絮凝沉降速率随 pH 值的升高而提高,去除率也相应的提高,这可能是

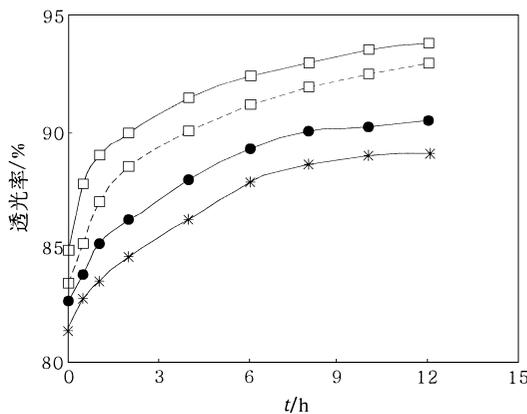


图 6 pH 值对赤潮异弯藻沉降速率的影响  
Fig. 6 The effect of pH on coagulation rate of *Heterosigma akashiwo*  
—\*— 6.70 —●— 7.65 —□— 8.60  
—□— 9.25

因为 pH 值升高使得海水中的钙、镁等金属离子容易形成絮状物沉淀,在其沉降的过程中容易携带其他粒子一起沉降下去,导致絮凝速率加快。虽然在实际应用中用调节海水的 pH 值的方法来达到高的去除率和沉降速率基本上是不可行的,但是通过这一实验现象可以得到许多启发,为将来进行这方面的研究奠定基础。

**2.4 有机改性剂的生态毒性研究**

**2.4.1 双烷基聚氧乙烯基三季铵盐对养殖生物的急性毒性实验** 表 1 是不同浓度的双烷基聚氧乙烯基三季铵盐对养殖生物日本对虾仔虾的毒性情况,根据所得实验数据,以有机物浓度的对数与仔虾的致死率作图,运用直线内插法可以求出使试验仔虾死亡 50% 的有机物的浓度,即半致死浓度 ( $LC_{50}$ ) 为 61.9mg/L。由此可见,实验中所用的有机改性剂 DPQAC 是一种毒性较小的有机物,与传统的季铵盐类化合物(曹西华等, 2003)相比,其半致死浓度提高了大约 50 倍。另外当其与粘土结合使用时其毒性作用还会显著降低,这大大降低了其在治理赤潮过程中对海洋生物的毒副作用和有可能会对海洋生态系统的破坏。

表 1 双烷基聚氧乙烯基三季铵盐对养殖生物的毒性情况

Tab. 1 The toxicity of DPQAC to the larvae of *Penaeus japonicus*

有机物浓度 C (mg/L)	12.5	25	40	50	63	79	100
Lg C	1.1	1.4	1.6	1.7	1.8	1.9	2.0
仔虾的死亡尾数	4	7	8	9	10	11	12
致死率 (%)	20	35	40	45	50	55	60

**2.4.2 室内模拟去除赤潮生物对养殖生物的影响** 通过上述实验发现 DPQAC 单独使用时对日本对虾仔虾的毒性较小,为了了解这种有机改性粘土用于赤潮治理时可能产生的毒副作用,在室内进行了在赤潮生物和养殖生物同时存在的情况下的毒性实验。选取锥状斯氏藻和强壮前沟藻两种常见的甲藻为赤潮生物,将体长约 1cm 的日本对虾仔虾放养在处在指数生长期的赤潮藻液中,正常通气,3000lx 光照,两种藻液中分别加入改性剂双烷基聚氧乙烯基三季铵盐 4mg/L,膨润土 30mg/L,同时每种赤潮藻设一空白对照,

不加粘土和改性剂, 观察 48h 后水体中对虾仔虾的存活情况, 实验结果如表 2。

表 2 有机改性粘土用于赤潮治理时对  
养殖生物的毒性情况

Tab. 2 The toxicity of organo-clays to the larvae  
of *Penaeus japonicus*

实验赤潮藻种	锥状斯氏藻		强壮前沟藻	
	对照组	添加有机粘土	对照组	添加有机粘土
试验对虾尾数	15	15	15	15
致死率 (%)	0	0	53.3	33.3

从表 2 中可见, 在锥状斯氏藻的对照组和实验组中仔虾的死亡率都是 0 这说明实验中所用的有机改性粘土在治理由锥状斯氏藻引起的赤潮时不会同时对海洋养殖生物产生毒性效应。但是在强壮前沟藻的对照组和实验组中仔虾却分别有不同程度的死亡率, 在对照组中 15 尾仔虾死了 8 尾, 死亡率为 53.3%; 在实验组中 15 尾仔虾死了 5 尾, 死亡率为 33.3%。这种现象说明, 在强壮前沟藻液中仔虾的死亡并不是因为有机改性剂作用, 而是藻液本身的毒性作用。有文献 (McLaughlin *et al.*, 1957; Thurberg *et al.*, 1973) 表明, 强壮前沟藻是一种能够产生毒素的双鞭毛甲藻, 这种毒素对鱼和大鼠都能够产生毒性作用。在实验中发现, 这种毒素也能够对日本对虾仔虾产生较为严重的毒性作用。在实验组中由于加入了有机粘土, 强壮前沟藻的藻密度降低, 产生的毒素降低, 对对虾仔虾的毒性作用相应的也降低了, 所以实验组的仔虾死亡率反而低于对照组。由此可见, 实验中所用的改性剂不但可以用来治理由有毒藻引起的赤潮, 而且可以降低有毒藻产生的毒性。

### 3 结论

(1) DPQAC 改性后的粘土对赤潮异弯藻的去除能力有了显著的增强, 在用量为 0.03g/L 时, 去除率就可以达到 100%, 而原土在相同用量时没有表现出明显的去除作用。

(2) 从絮凝动力学研究中可以看出, 改性粘土体系对赤潮异弯藻的絮凝沉降速率较慢, 且沉降速率受很多因素的影响, 其中包括粘土的种类、用量, 改性剂的用量以及溶液的 pH 值等。

(3) 高岭土体系的沉降速率略高于膨润土体

系; 沉降速率随着粘土用量的增加而升高, 但是最终体系的透光率相差不大; 改性剂用量对沉降速率的影响比较复杂, 在低浓度范围内, 随用量的增加沉降速率升高, 而改性剂用量大于一定值之后, 由于藻细胞的破裂, 致使体系的透光率不再发生变化或者还有所降低; 溶液的 pH 值对沉降速率的影响也很明显, 随着 pH 值的升高而升高。

(4) 双烷基聚氧乙烯基三季铵盐对养殖生物日本对虾仔虾的半致死浓度 ( $LC_{50}$ ) 为 61.9mg/L, 与传统的季铵盐类化合物相比, 其半致死浓度提高了大约 50 倍。

### 参 考 文 献

- 王修林, 孙 霞, 韩秀荣等, 2004. 2002 年春、夏季东海赤潮高发区营养盐结构及分布特征的比较. 海洋与湖沼, 35(4): 323—331
- 白希尧, 白敏冬, 吕吉斌等, 2004. 海上围隔羟基治理赤潮试验研究. 海洋与湖沼, 35(6): 513—518
- 陈善文, 高亚辉, 杜 虹等, 2004. 双环海链藻 (*Thalassiosira diporocyclus* Hasle) 赤潮. 海洋与湖沼, 35(2): 130—137
- 俞志明, 邹景钟, 马锡年, 1994. 一种去除赤潮生物更有效的粘土种类. 自然灾害学报, 3(2): 105—109
- 曹西华, 俞志明, 2003. 有机改性粘土去除有害赤潮藻的研究. 应用生态学报, 14(7): 1169—1172
- 崔廷伟, 张 杰, 马 毅等, 2005. 基于地物光谱的赤潮优势种识别研究. 海洋与湖沼, 36(3): 277—283
- Anderson D M, 1997. Turning back the harmful red tide Nature, 388: 513—514
- Archambault M C, Bricej V M, Grant J *et al.*, 2002. Effects of clay used to control harmful algal blooms on juvenile *Mercenaria mercenaria*. J Shellfish Res 21(1): 395—396
- Han M Y, Kim W, 2001. A theoretical consideration of algal removal with clays. Microchemical Journal 68: 157—161
- McLaughlin J J A, Provasoli L, 1957. Nutritional requirements and toxicity of two marine *Amphidinium*. J Protozool (suppl) 4: 7
- Shiota A, 1989. Red tide problem and countermeasure. Int J Aqua Fish Technol: 195—223
- Thurberg F P, Sasner J J Jr, 1973. Biological activity of a cell extract from the dinoflagellate *Amphidinium carterii*. Chesapeake Sci 14: 48—51
- Yu Z-M, Sun X-X, Song X-X, 1999. Clay surface modification and its coagulation of red tide organisms. Chi Sci Bull 44(7): 617—620

## REMEDIATION FROM HARMFUL ALGAE BLOOM WITH ORGANO-CLAY PROCESSED SURFACTANT

WU Ping, YU Zhiming, YANG Guipeng, SONG Xi-Xian

(Key Laboratory of Marine Ecology and Environmental Science, Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao, 266071; College of Chemical Engineering, Shandong University of Technology, Zibo 255049; College of Chemistry and Chemical Engineering, Ocean University of China, Qingdao, 266003)

(Key Laboratory of Marine Ecology and Environmental Science, Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao, 266071)

(College of Chemistry and Chemical Engineering, Ocean University of China, Qingdao, 266003)

**Abstract** Harmful algal blooms (HABs), commonly known as red tide, occurred frequently in recent years in many coastal waters, which has caused serious environmental problems with its toxin to aquaculture. To effectively put off the HAB damage, scientists have tried many different countermeasures to remedy the environment. Spreading clay was therefore considered as one of the measures. In this paper, two types of clays, kaolinite and bentonite, were tested to remove a red tide organism *Heterosigma akashiwo*, a major HAB member in China's coastal waters. However, application of natural clays did not produce a satisfactory result as the coagulation rate was very slow. In order to enhance the capability of remediation, the clays were processed with a new type of surfactant—dialkylpolyoxyethylene-quaternary ammonium compound (DPQAC).

Before application, the removal rate of the organo-clays was examined. The DPQAC-treated clays showed excellent performance against the red tide organisms (in concentration of  $5 \times 10^4 - 1 \times 10^5$  cell/ml), reaching nearly 100% of killing in 24 hours with clay concentration of 0.03g/L (in which the DPQAC concentration was 3mg/L), while the same concentration of untreated clay did not have such high capability under the same condition.

The kinetics of red tide organism coagulation with clays was also studied. The effects of different concentrations of the treated and untreated clays and various pH values of culture medium on the coagulation rate were examined. The results showed that the algae coagulation rate of kaolinite was faster than that of bentonite, and increasing clay concentration could accelerate the coagulation, but adding DPQAC in clays could considerably improve the algal removal efficiency.

Moreover, the toxicity of DPQAC and the influence of organo-clays on mariculture animals were tested. Shrimp *Penaeus japonicus* was chosen to be the animal. The results showed that the toxicity of DPQAC was 50 times lower than traditionally used hexadecyltrimethylammonium bromide; the  $LC_{50}$  concentration (lethal to 50% of test organisms) was about 61.9mg/L. Combined with clays, the DPQAC toxicity were decreased obviously. The application of DPQAC-treated clays could not only increase algal removal efficiency but also decrease the toxicity of the surfactant in aquaculture.

Adding DPQAC to the clays was proved to be an effective countermeasure for remedying HAB, which provides an alternative in real case application in future for enhancing greatly the performance of HAB prevention in aquaculture.

**Key words** *Heterosigma akashiwo*, Dialkylpolyoxyethylene-quaternary ammonium compound, Surfactant-treatment of clay, HAB remediation, Coagulation kinetics