

# 改性粘土去除赤潮生物及其对养殖生物的影响

曹西华<sup>1,2</sup>, 宋秀贤<sup>1</sup>, 俞志明<sup>1\*</sup>

(1. 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; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100039)

**摘要:**研究了阳离子表面活性剂(HDTMA)对东海原甲藻的去除效果及其对日本对虾幼体的急性毒性作用,并利用该表面活性剂对天然粘土进行了有机改性.实验发现,HDTMA对东海原甲藻有较强的灭杀效果,添加粘土能显著降低HDTMA对对虾幼体的毒性效应.室内模拟实验表明,有机改性土用量为0.03g/L时对东海原甲藻的去除率为100%;对赤潮异弯藻有效抑制时的有机改性土用量为0.09g/L.同时结果显示,在有效去除东海原甲藻和赤潮异弯藻的剂量下,有机改性土对水体中的对虾幼体的存活没有明显影响,存活率为100%.在室内实验的基础上,于2003年4~5月在我国东海海域赤潮多发区进行了船基围隔试验,比较了各种粘土的除藻效果.初步结果表明,与未经处理的原土相比较,无机改性土复合体系和有机改性土都能有效地去除东海原甲藻赤潮.

**关键词:**改性粘土;去除;赤潮生物;生物影响

中图分类号:X55 文献标识码:A 文章编号:0250-3301(2004)05-0148-05

## Removal Efficiency of Red Tide Organisms by Modified Clay and Its Impacts on Cultured Organisms

CAO Xi-hua<sup>1,2</sup>, SONG Xiu-xian<sup>1</sup>, YU Zhi-ming<sup>1</sup>

(1. Key Laboratory of Marine Ecology & Environmental Sciences, Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China; 2. Graduate School of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China)

**Abstract:** Removal efficiencies of *Prorocentrum donghaiense* (*Prorocentrum dentatum*) by Hexadecyltrimethylammonium (HDTMA) bromide and organo-clay modified by HDTMA were identified. Moreover the toxicity of the unbound HDTMA and HDTMA plus clay to aquacultural organisms, *Penaeus japonicus*, was also tested. The results suggested that ①The unbound HDTMA had an excellent ability to remove the red tide organisms. However, its strong toxicity to *Penaeus japonicus* would restrict its practical use in red tide control. ②The toxicity of HDTMA could be remarkably decreased by addition of clay and the organo-clay complex had a good ability to remove red tide organisms. At the same time the availability of organo-clay to remove the red tide of *P. donghaiense* and *Heterosigma akashiwo* in the lab imitated cultures were studied. The results indicated that the organo-clay complex could remove 100% *P. donghaiense* at the dosage of 0.03g/L and effectively control *H. akashiwo* at 0.09g/L while the survival rate of *Penaeus japonicus* larvae, which were cultured in the red tide seawater, is kept 100%. According to the results in laboratory, the mesocosm tests (CEPEX) in East China Sea were conducted in April and May of 2003. The removal efficiencies of original clay, organic clay and inorganic clay were compared during the CEPEX tests. The results revealed that both inorganic clay and organic clay could remove red tide organisms more effectively than the original clay.

**Key words:** modified clay; removal; red tide organism; eco-effect

近年来,在我国东海海域几乎每年都爆发大面积的以东海原甲藻为优势种的赤潮.赤潮爆发时水体中的藻细胞密度最高可达到 $36 \times 10^7 \text{ L}^{-1}$ ,影响面积达到几百至上千 $\text{km}^2$ <sup>[1]</sup>,如何有效地控制有害赤潮的发生和防止由其产生的危害,成为目前赤潮研究的重点之一.已报道的赤潮防治方法有许多种,利用粘土絮凝赤潮生物、抑制赤潮的发生是首选方法<sup>[2]</sup>.该方法具有价廉易得、方便使用、对海洋生物没有明显的毒害影响,以及能够吸附去除海水中过量的营养盐、抑制有毒赤潮生物的毒素排放等优点<sup>[3,4]</sup>,所以被认为是目前最有应用前景的方法之一.

早在20世纪60年代日本的小岛禎男利用粘土

为增重剂来消除贮水池中产生的大量浮游植物<sup>[5]</sup>,后来日本研究者又将粘土应用于海水条件下的藻类凝聚试验中,发现粘土矿物对赤潮生物的凝聚作用与其种类、结构和表面性质等因素有关<sup>[6,7]</sup>.20世纪90年代初,俞志明等分别以PACS、MMH等为表面活性剂,制备出无机改性粘土,大大提高了粘土矿物对赤潮生物的去除效果和絮凝速率<sup>[8,9]</sup>.

收稿日期:2003-12-24;修订日期:2004-02-23

基金项目:国家杰出青年基金资助项目(40025614);国家重点基础研究发展规划项目(2001CB409710);国家自然科学基金重点资助项目(50339040)

作者简介:曹西华(1975-),男,博士研究生,主要研究方向为海洋环境科学.

\* 通讯联系人,Email:zyu@ms.qdio.ac.cn

本研究在此基础上,选择了有机改性试剂十六烷基三甲基铵(HDTMA)的溴盐,分别研究了该化合物和由该化合物改性的有机改性粘土对赤潮生物东海原甲藻(*Prorocentrum donghaiense*,又称具齿原甲藻 *Prorocentrum dentatum*)和赤潮异弯藻(*Heterosigma akashiwo*)的去除效果以及它们对养殖生物日本对虾幼体的急性毒性作用,并在东海赤潮爆发现场进行了船基围隔治理实验,比较了不同种类改性土的除藻效果,为进一步的现场应用提供参考和依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

实验赤潮生物种类包括东海原甲藻和赤潮异弯藻,其培养方法及计量方式同前文<sup>[10]</sup>。

养殖生物为取自青岛双埠、体长约为1cm的健康日本对虾(*Penaeus japonicus*)幼体,实验前在20℃±1℃水温,3.0‰±0.1‰盐度条件下暂养。

### 1.2 实验方法

(1) 有机粘土的制备及其除藻实验 有机改性粘土制备及其除藻实验见文献<sup>[10]</sup>。其中有机改性粘土在制备时老化时间为10min,无干燥过程。所得改性粘土以理论上原土中可交换阳离子总量被HDTMA阳离子置换的分数表示。例如,0.5CEC HDTMA改性高岭土表示高岭土中可交换阳离子有50%被HDTMA置换。制备时将1g高岭土加入到1.344mmol/L的50mL HDTMA溶液中,混匀,反应一定时间,可得0.5CEC改性的HDTMA改性粘土的悬浊液产品。

(2) HDTMA对养殖生物的急性毒性实验 在容积为4L的方形玻璃缸内加入3L过滤后的自然海水,随机选取活性良好的日本对虾幼体进行实验,每缸20尾。加入一定体积的400mg/L HDTMA储备液,使实验水体最终浓度分别为0.49、0.78、1.23、1.95、3.11、4.92mg/L,3000lx光照、通气,观察48h后对虾幼体的存活情况,计算HDTMA对对虾幼体的 $LC_{50}$ ,考察HDTMA(在以下文中都以十六烷基三甲基溴化铵中的阳离子基团十六烷基三甲基铵(HDTMA)计量该化合物)对日本对虾幼体存活率的影响。

(3) 粘土对HDTMA毒性的影响 取6个方形玻璃缸,每缸中放养20尾健康的日本对虾幼体,每缸中添加HDTMA至浓度依次为0.6、1.9、6.9、18.9、60.2、190.8mg/L;随即添加粘土,使其浓度分

别为0.0316、0.10、0.316、1.00、3.16、10g/L。在同一容器中HDTMA的用量相当于粘土的阳离子交换量的1/2。对照样中粘土和HDTMA都不添加。观察48h后对虾幼体的存活情况,考察添加粘土对HDTMA毒性的影响。

(4) 室内模拟去除赤潮生物时对养殖生物的影响 选择东海原甲藻、赤潮异弯藻两种常见赤潮藻为目标生物,体长约为1cm的健康日本对虾幼体作为养殖生物,将对虾幼体放养在处于指数增长长期的赤潮藻液中,正常通气,3000lx光照。在东海原甲藻和赤潮异弯藻水体中加入0.5CEC有机改性粘土,使其浓度为0.03g/L,24h后在赤潮异弯藻水体中追加该有机改性粘土使其浓度达到0.09g/L。对照虾组培养在藻液中,不添加任何粘土。分别于24h、48h后测定水体中的藻密度、叶绿素浓度;观察48h后水体中对虾幼体的存活情况。

(5) 现场围隔去除实验 2003年4月27日、5月11日分别在东海海域(N29°27.49′、E122°41.119′海区, N29°0.035′、E122°24.49′海区)发现以东海原甲藻为优势种(占90%以上)的大面积赤潮,利用船载自吸泵采集赤潮水体,在容积约为200L的水箱(75cm×55cm×50cm)中进行围隔实验。其中4月27日水样进行了营养盐加富培养,24h后开始去除实验;5月11日水样取水后直接进行去除实验。在4月27日的实验中分别添加了0.1g/L的有机改性土、无机改性土;5月11日还作了0.1g/L的原土去除赤潮藻的效果实验,实验过程中对照样不添加任何试剂。在水体中添加各种粘土后,轻轻搅匀,定时取样,测定水体中叶绿素变化,考察对赤潮生物的去除效果。

## 2 结果与讨论

### 2.1 游离HDTMA及有机改性粘土的除藻效果

图1是不同用量HDTMA对东海原甲藻去除效果的影响。结果表明,当HDTMA用量为0.3mg/L时,对东海原甲藻的去除率达到95%。以前的研究表明,HDTMA能够有效地去除赤潮异弯藻等赤潮藻<sup>[11]</sup>,与之比较,HDTMA对东海原甲藻的去除效果更高,表明HDTMA是一种广谱性杀藻试剂,其杀藻能力与藻细胞本身的表面结构及生理生化习性等因素有关。

图2是利用HDTMA改性粘土后对东海原甲藻的去除效果。结果表明,利用HDTMA改性的有机粘土具有较强的除藻能力。随着粘土中HDTMA

含量的增加,对东海原甲藻的去除率逐渐提高(图 2a).0.5CEC 的有机改性粘土用量为  $0.015\text{ g/L}$  时,能够去除 80 % 以上的东海原甲藻(图 2b),而相同用量下的未经改性土没有表现出对该种藻的去除效果.

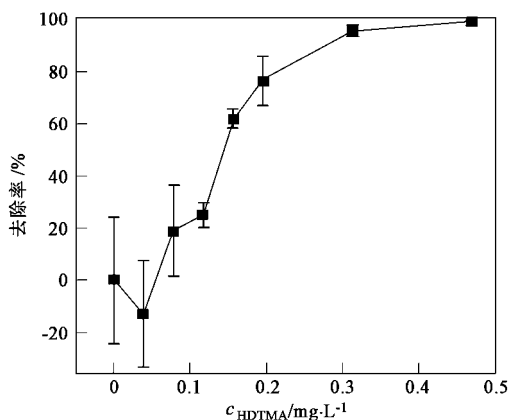
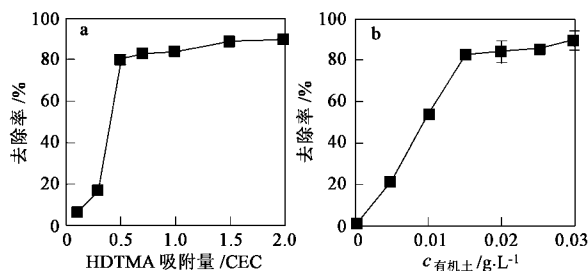


图 1 不同浓度 HDTMA 对东海原甲藻去除效果的影响

Fig.1 Effect of HDTMA concentration on the removal efficiency of *P. donghaiense*



a. 有机改性粘土中 HDTMA 含量对去除东海原甲藻的影响

(有机粘土  $0.02\text{ g/L}$ )

b. 有机粘土用量对去除东海原甲藻的影响

(HDTMA 改性用量  $0.5\text{ CEC}$ )

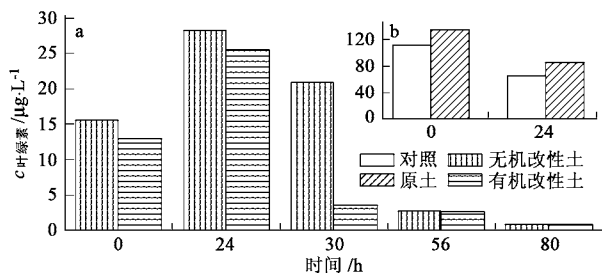
图 2 各种有机改性粘土对东海原甲藻的去除效果

Fig.2 Removal efficiency of different organo clay against *P. donghaiense*

以上述工作为基础,在东海赤潮发生区进行了船基围隔试验,比较了有机改性土与无机改性土及未经改性处理的原土去除东海原甲藻的效果,结果如图 3 所示.

由图 3b 可以看出,未经处理的原土对以东海原甲藻为优势种的赤潮水体中的叶绿素没有明显的去除效果.图 3 还表明,对照组的叶绿素浓度 24h 后也降低,这可能是由于环境条件的变化而引起部分藻细胞的自然沉降,或者是该水体中的赤潮藻已进入消亡期等原因所致.2003 年 4 月 27 日的赤潮水体

中优势种(东海原甲藻)细胞密度较低,所以进行了营养盐加富培养(添加了 f/2 培养液),发现处于指数增长期的东海原甲藻的藻密度迅速增加(图 3a 中 24h).24h 后在容器中分别喷洒了无机改性土和有机改性土,使其最终浓度都达到  $0.1\text{ g/L}$ .喷洒 6h 后(图 3a 中 30h)分别采样.叶绿素测定结果表明添加有机改性土的藻液中叶绿素浓度迅速降低,说明有机改性土能够迅速有效地去除东海原甲藻赤潮生物.对于添加无机改性土的藻液经过一段时间的絮凝沉降后,叶绿素浓度也有明显的降低(图 3a 中 56h).随着时间的延长,水体中的叶绿素浓度都进一步降低,没有出现赤潮藻复发的现象.初步的实验结果表明, $0.1\text{ g/L}$  的有机改性粘土和无机改性粘土都能有效地去除东海原甲藻赤潮.比较而言,有机改性粘土的絮凝速率高于无机改性粘土,二者对赤潮生物的去除机制不同:无机改性粘土对赤潮生物的去除作用一般是表面吸附和静电引力共同作用絮凝沉降的结果;而有机改性粘土表面吸附的有机分子除了对赤潮生物具有较强的吸附作用外,还具有直接的灭杀作用,因此能更快速有效地去除赤潮生物.更深入地去除机制研究还有待于进一步的实验探讨.



a. 有机改性土与无机改性土去除赤潮藻的效果

b. 原土的除藻效果与对照

图 3 不同粘土去除东海原甲藻的现场船基围隔实验

Fig.3 Removal efficiency of *P. donghaiense* by different clays in CEPEx

## 2.2 游离 HDTMA 对养殖生物急性毒性作用

游离 HDTMA 对日本对虾幼体 48h 急性毒性实验结果如图 4 所示.结果表明,一定浓度的 HDTMA 对幼虾具有一定的毒性,其半致死浓度 ( $\text{LC}_{50}$ ) 为  $1.482\text{ mg/L}$ .根据生物毒理学原理,常用的安全系数为 100,在此条件下 HDTMA 对日本对虾幼体的安全浓度大约是  $0.015\text{ mg/L}$ .由实验可知(如图 1)东海原甲藻去除率为 95 % 时需要 HDTMA 用量为  $0.3\text{ mg/L}$ ,说明在完全有效去除该赤潮藻时,HDTMA 对日本对虾幼体可能会产生一定的毒

性效应.由此可见,游离 HDTMA 不适合在养殖水体中单独应用.

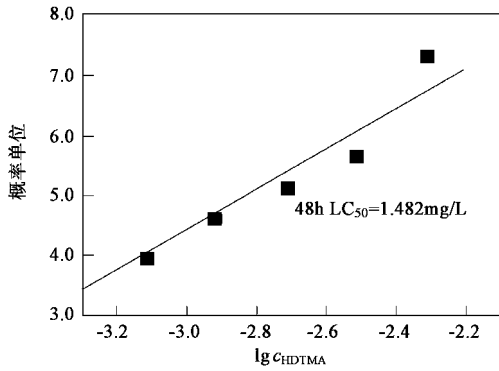


图 4 HDTMA 对日本对虾幼虾的 48h 急性毒性作用  
Fig. 4 Acute toxicity of HDMTA to the larvae of *Penaeus japonicus* in 48h

2.3 粘土对 HDTMA 毒性的影响

粘土对水体中 HDTMA 毒性的影响见图 5.结果表明:粘土能够显著降低 HDTMA 对对虾幼体的急性毒性作用.当 HDTMA 用量达到 190 mg/L 时(相当于游离 HDTMA 48h  $LC_{50}$  的 130 倍),加入 10 g/L 的粘土后日本对虾幼虾的成活率仍可达 60 % 左右,这说明粘土能够显著降低 HDTMA 对幼虾的毒性.

笔者等先前的研究表明,当 HDTMA 的量仅相当于粘土阳离子交换总量的 50 % 时,其在粘土表面的吸附是个快速过程,并且形成的复合物具有较强的稳定性.文献[12]表明,在一定条件下,随着溶液中电解质的浓度增大,特别是高价离子的增多,HDTMA 在粘土上的吸附量加大.因此在离子强度高的海水中,HDTMA 在粘土颗粒表面的憎水吸附大大加强.增强的憎水吸附能力进一步促进了 HDTMA 在粘土表面的吸附速度和稳定性.根据

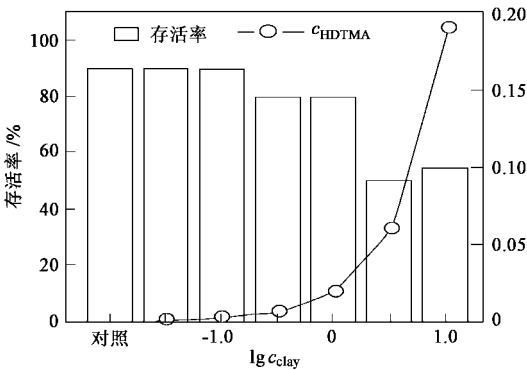


图 5 粘土对 HDTMA 毒性的影响  
Fig. 5 Effect of clay on the toxicity of HDMTA

Nye 等人的研究结果,吸附在粘土颗粒表面阳离子交换位置上的 HDTMA 的毒性会显著降低,而且通过憎水力吸附在粘土表面的 HDTMA 的毒性也会逐渐降低<sup>[13]</sup>,所以在 HDTMA 溶液中加入粘土后,HDTMA 对对虾幼体的毒性被显著降低.

另外, Yang 等的研究结果表明,适量的 HDTMA 能够增强粘土的絮凝沉降能力<sup>[14]</sup>.因此,在赤潮治理研究中,利用 HDTMA 改性的有机粘土代替毒性较强的游离 HDTMA 絮凝去除赤潮生物,一方面能够促进粘土矿物絮凝作用,提高对赤潮生物的去除能力,另一方面可以降低 HDTMA 对水生生物的毒性效应,有利于保护生态环境.

2.4 有机改性土去除赤潮生物时对养殖生物的影响

上述毒性实验是在没有赤潮生物存在条件下进行的,在两者都存在条件下,进行了室内小型的模拟试验,以检测 HDTMA-粘土复合物的效果.

在放养日本对虾幼虾的赤潮水体(东海原甲藻和赤潮异弯藻,都达到了赤潮密度)中投加了一定浓度的有机改性粘土,定时测定水体中的叶绿素、藻密度变化.图 6 为水体中藻密度随时间的变化情况,图 7 是水体中叶绿素浓度随时间的变化.结果表明,0.03 g/L 的 0.5CEC 有机改性粘土能够抑制东海原甲藻的增殖,随着实验时间的延长,抑制程度增强,藻细胞密度逐渐降低直至为 0.初始时东海原甲藻的藻密度约为  $7 \times 10^4 \text{ mL}^{-1}$ ,加入有机改性土后,细胞密度迅速降低,在 24h 时降为  $2 \times 10^4 \text{ mL}^{-1}$ ,到 36h 时水体中已基本检测不到活体细胞(图 6).比较而言,东海原甲藻比赤潮异弯藻更容易受到有机改性粘土的抑制作用,加入有机粘土的浓度为 0.03

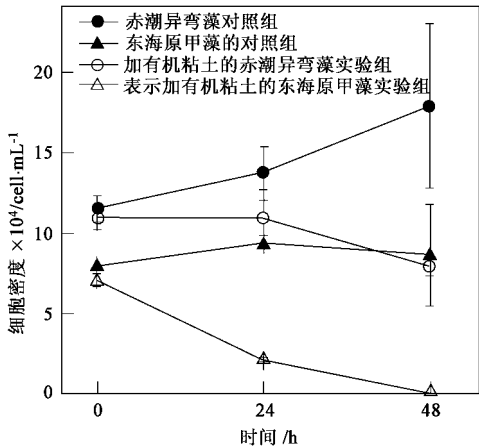


图 6 藻密度随时间的变化  
Fig. 6 Time course of cell density in cultures

g/L 时,在 24h 内仅能部分抑制其增殖,而叶绿素在 24h 内还稍有提高,增加量为  $0.142\mu\text{g}/(\text{L}\cdot\text{h})$ ,但远低于对照组的增加量  $1.41\mu\text{g}/(\text{L}\cdot\text{h})$ .在 24h 时追加有机改性粘土至  $0.09\text{g}/\text{L}$  后,赤潮异弯藻的增殖明显受到抑制,藻细胞密度降低(图 6),由 24h 到 48h 时叶绿素逐渐降低,其变化速率为  $-2.1\mu\text{g}/(\text{L}\cdot\text{h})$ .

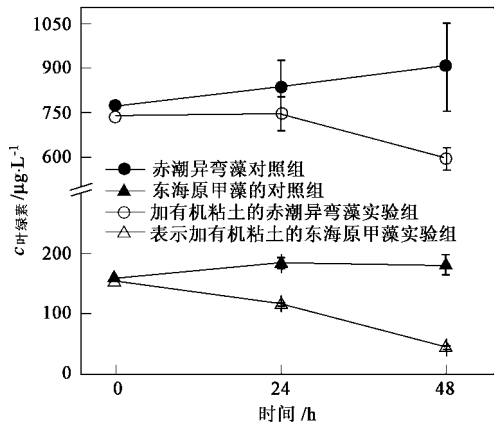


图 7 叶绿素浓度随时间的变化

Fig.7 Time course of chlorophyll in cultures

表 1 是室内模拟实验时赤潮水体中日本对虾幼虾的存活情况.实验结果证明,无论是在东海原甲藻还是赤潮异弯藻的实验藻液中,日本对虾幼虾的存活率都与其相应的对照组相同,存活率都为 100%,这表明有机改性粘土在有效去除赤潮藻的用量下(见图 6,图 7),对该养殖生物没有明显的毒害作用,说明粘土有机改性是一种在养殖区赤潮防治中具有应用前景的方法和途径.

表 1 日本对虾幼体的存活率

Table 1 Survival rate of the larvae of *P. japonicus*

| 水体中与对虾同培养的藻类 | 东海原甲藻 |           | 赤潮异弯藻 |           |
|--------------|-------|-----------|-------|-----------|
|              | 对照组   | 添加有机粘土试验组 | 对照组   | 添加有机粘土试验组 |
| 实验对虾个体数/个    | 20    | 20        | 20    | 20        |
| 实验对虾存活率/%    | 100   | 100       | 100   | 100       |

3 结论

(1) HDTMA 是一种较强的去除赤潮藻的杀藻剂,单独使用时,在较高浓度下对养殖生物有一定的毒性作用.

(2) 粘土矿物能够有效地降低 HDTMA 对养殖生物的毒性,而且 HDTMA 与粘土形成的复合物对

赤潮藻仍具有较强的去除能力.

(3) 室内模拟实验表明,在对养殖生物没有明显毒害作用下,有机改性土能够有效地去除赤潮异弯藻、东海原甲藻等常见赤潮生物.

(4) 现场实验进一步验证了有机改性和无机改性都能够有效提高粘土的除藻能力,其中有机改性粘土的除藻效率高于无机改性粘土.

致谢:感谢国家海洋局一所李瑞香教授、朱明远教授在船基围隔实验过程中给予的指导和帮助,同时感谢 973 赤潮项目 2003 MC-02 航次的全体科学工作者及中国海监 47 船全体工作人员提供的工作支持和生活帮助.

参考文献:

[ 1 ] Lu D-D, Goebel J, Qi Y-Z, Zou J-Z, Gao Y-H. *Prorocentrum donghaiense* a high biomass bloom-forming species in the East China Sea[ J ]. Harmful Algae News, 2002, 23: 4~5.

[ 2 ] Anderson M D. Turning back the harmful red tide[ J ]. Nature, 1997, 388: 513~514.

[ 3 ] 俞志明, D V Subba Rao. 粘土矿物对尖刺拟菱形藻多列型生长和藻毒素产生的影响[ J ]. 海洋与湖沼, 1998, 29(1): 47~52.

[ 4 ] 俞志明, 马锡年, 谢阳. 粘土矿物对海水中主要营养盐的吸附研究[ J ]. 海洋与湖沼, 1995, 26(2): 208~214.

[ 5 ] 小岛祐男. プランクトン藻類の凝集処理(1)凝集処理の室内実験[ J ]. 水処理技術, 1961, 2(1): 21~27.

[ 6 ] 代田昭彦. 赤潮防治策(特集), 海洋污染[ J ]. 产业と环境, 1977, 6: 37~42.

[ 7 ] 代田昭彦. 赤潮——发生机构と対策[ M ]. 东京:恒星社厚生阁, 1980. 105~124.

[ 8 ] 俞志明, 邹景忠, 马锡年. 一种提高粘土矿物去除赤潮生物能力的新方法[ J ]. 海洋与湖沼, 1994, 25(2): 226~232.

[ 9 ] Yu Z-M, Sun X-X, Song X-X, Zhang B. Clay surface modification and its coagulation of red tide organisms[ J ]. Chinese Science Bulletin, 1999, 44(7): 617~620.

[ 10 ] 曹西华, 俞志明. 有机改性粘土去除有害赤潮藻的研究[ J ]. 应用生态学报, 2003, 14(7): 1169~1172.

[ 11 ] 曹西华, 俞志明. 季铵盐类化合物灭杀赤潮异弯藻的实验研究[ J ]. 海洋与湖沼, 2003, 34(2): 201~207.

[ 12 ] Xu S-H, Boyd A-S. Cationic surfactant sorption to vermiculitic subsoil via hydrophobic bonding[ J ]. Environmental Science and Technology, 1995, 29: 312~320.

[ 13 ] Nye V-J, Guerin F-W, Boyd A-S. Heterotrophic Activity of Microorganisms in Soils Treated with Quaternary Ammonium Compounds[ J ]. Environmental Science and Technology, 1994, 28: 944~951.

[ 14 ] Yang L-Y, Jiang L-J, Zhou Z, Chen Y-G, Wang X-R. The sedimentation capabilities of hexadecyltrimethylammonium modified montmorillonites [ J ]. Chemosphere, 2002, 48: 461~466.