

用于水污染生物检测的恒流稀释装置的 调节及计算方法

李辛夫

(中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072)

提 要

本文根据恒流稀释装置的工作原理, 对其运行中的各种因素及其相互关系进行了理论分析。提出了关于稀释因数、系列浓度、各种流量和试液更新时间的计算方法, 推荐了合理化的调节操作程序。

关键词 生物检测, 毒性试验, 恒流稀释装置, 系列稀释器

在水生生物的毒性试验中, 有两大类基本方法可供选用。一种是静水式, 这种方法适用于持续时间较短、被试物质相对稳定、挥发性小、且不过量耗氧的毒性试验。另一种是流水式, 它适用于不稳定或挥发性大的毒物及 BOD 负荷高的水样。由于试液是不断流动更新的, 所以, 它不但能保证溶氧含量充足和毒物浓度稳定, 还可将代谢产物连续排出, 不至于积累高浓度的氨和二氧化碳。此外, 它的实验条件也接近于鱼类所习惯的自然生活条件。由于免除了频繁的人工换水, 它特别适合于持续时间长的慢性试验。因此, 流水式毒性试验及恒流稀释系统的使用, 在国内外越来越广泛。

系列稀释器是恒流稀释装置的一种。与比量稀释器相比较, 它的制造和操作较为复杂。近年来, 国内许多环境保护工作者已在使用这种稀释器^[1]。本文试图对系列稀释器运行中的各种因素进行理论分析, 以便找出规律, 化繁为简, 这对于实验操作是非常有益的。

系列稀释器的工作原理

系列稀释器的主体结构 and 阀门控制系统是各种各样的, 容量也有大有小, 但是工作原理是一样的(图 1)。

为了使稀释器有效而方便地工作, 可按三个基本原则控制流量: (1) 使各级试液的流量 R 都彼此相等。(2) 使第 2—5 级稀释水的流量也彼此相等, 且都等于试液的流量, 即 $W_2 = W_3 = W_4 = W_5 = R$ 。(3) 使第 1 级稀释水的流量大于试液流量 (从而也大于第 2—5 级稀释水的流量), 即 $W_1 > R$ 。

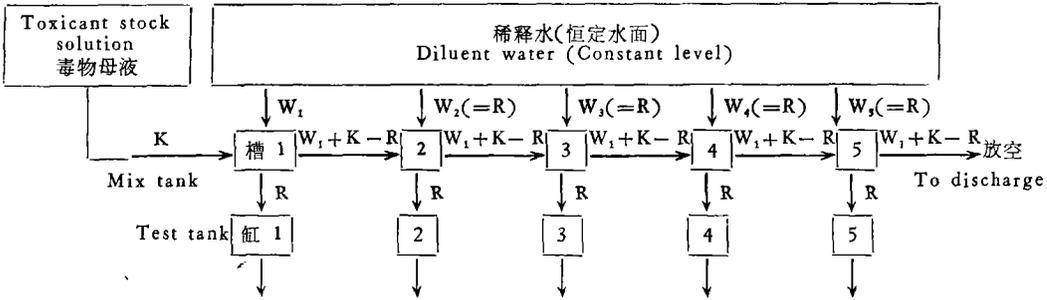


图 1 系列稀释器的基本工作原理

Fig. 1 The cardinal principles of the serial diluter

K 为毒物母液流量 (ml/min); W_1 为第 1 级稀释水流量; R 为配制好的试液输向试验缸的流量, 即试液流量; $W_2 - W_5$ 分别为第 2-5 级稀释水的流量

如图 1 所示, 第 1 级稀释水和毒物母液在混合槽 1 中充分混合, 获得第 1 级试液 (即最高浓度试液)。部分试液被分流, 输进第 1 试验缸, 流量为 R。由于 $W_1 > R$, 必有多余的第 1 级试液 (其流量为 $W_1 + K - R$) 进入混合槽 2。与此同时, 第 2 级稀释水也进入槽 2, 流量为 R。两者充分混合, 获得第 2 级试液 (即次高浓度)。第 2 级试液也被分流出一部分, 进入第 2 试验缸。由于 $(W_1 + K - R + R) > R$, 因此也必将有多余的第 2 级试液进入混合槽 3……, 如此类推, 直到获得最低浓度试液 (一般至少是 5 级)。稀释器就是这样地以连续稀释的原理不断地配制出不同浓度的试液并供给各级试验缸。显而易见, 只要保持 $W_2 = W_3 = W_4 = W_5 = R$, 稀释器可被调节控制的 可变因素就只有 4 个。这 4 个因素是: 第 1 级稀释水的流量 W_1 , 各级试液流量 R, 毒物母液流量 K, 毒物母液浓度 C_k 。正确调节这 4 个因素, 就可以获得毒性试验中关于试验溶液的两个基本参数, 即各级试液的浓度和浓度间距。

在使用稀释器时, 浓度间距用稀释因数这个概念来反映。稀释因数被定义为每一个较低浓度对与之相邻的较高浓度的比值。比值愈大, 表明浓度之间的间隔愈小, 实验的精度就愈高。至于各级试液的浓度, 是通过所设计的第 1 级试液的浓度加上合理的稀释因数来获得。下面让我们分析这些因素与欲获得的参数之间的关系。

稀 释 因 数

由图 1 可知, 各级试液的浓度可以表示为:

$$C_1 = \frac{C_k \cdot K}{W_1 + K}$$

$$C_2 = \frac{C_1 \cdot (W_1 + K - R)}{W_1 + K - R + R} = C_k \cdot K \cdot \frac{W_1 + K - R}{(W_1 + K)^2}$$

$$C_3 = \frac{C_2 \cdot (W_1 + K - R)}{W_1 + K - R + R} = C_k \cdot K \cdot \frac{(W_1 + K - R)^2}{(W_1 + K)^3}$$

同理,

$$C_4 = C_k \cdot K \cdot \frac{(W_1 + K - R)^3}{(W_1 + K)^4}$$

$$C_5 = C_k \cdot K \cdot \frac{(W_1 + K - R)^4}{(W_1 + K)^5}$$

稀释因数用符号 D_f 表示, 所以

$$\begin{aligned} D_f &= \frac{C_5}{C_4} = \frac{C_k \cdot K \cdot (W_1 + K - R)^4}{(W_1 + K)^5} \cdot \frac{(W_1 + K)^4}{C_k \cdot K \cdot (W_1 + K - R)^3} \\ &= 1 - \frac{R}{W_1 + K} \end{aligned}$$

同理,

$$\frac{C_4}{C_3} = \frac{C_3}{C_2} = \frac{C_2}{C_1} = 1 - \frac{R}{W_1 + K}$$

$$\text{即 } D_f = 1 - \frac{R}{W_1 + K} \quad (1)$$

(1)式表明, 稀释因数只与试液流量对第 1 级稀释水流量 (加上母液流量) 的比值有关, 与毒物母液的浓度无关。由于母液流量通常是很小的, 因此实际上试液流量与第 1 级稀释水流量的比值愈小, 稀释因数就愈大, 浓度间距就愈小, 实验的精度就愈高。同时, 按照本文所介绍的方法调节流量, 获得的各级浓度的对数是等间距的。若恰当地选定 D_f 值, 从理论上说, 可以得到等对数间距表上不同精度的系列浓度。

试液流量与试液更新

如上所述, 试液流量与第 1 级稀释水流量的不同比值决定稀释因数。除此以外, 试液流量还决定试验缸内试液的更新时间, 所以它是一个至关重要的量。为了操作方便, 试液流量可在试液更新时间的要求范围内先行确定, 然后再计算第 1 级稀释水流量。简单的数学分析表明, 当试液的更新率为定值时, 试液更新时间决定于试验缸容积对试液流量的比值, 关系式为:

$$T = -\frac{V}{R} \ln(1 - P) \quad (2)$$

式中, T 为试验缸内试液的更新时间 (min)

V 为试验缸容积 (ml)

R 为试液流量 (ml/min)

P 为试液更新率 (例如 50%, 75%, 90%, 95%)

上述各量也可以用另一套单位表示, 例如 T —h, V —l, R —l/h

现以图 2 为例, 分析推导上面的关系式。

假定试验缸内装满了试液。显然, 液面永远不会超过溢流口所在的平面。当新鲜试液从进水口以一定的流速连续输入时, 溢流口也以相同的流量把陈旧试液与新鲜试液的混合液连续排出。直到缸内某一百分比的容积被新鲜试液占据。它所需要的时间就是更新时间。

缸内陈旧试液的含量随时间 t 不断减少, 且减少的速率随陈旧试液含量的减少而变小。设在 t 时刻内缸内陈旧试液的含量为 $Q(t)$, 在时间间隔 $(t, t + dt)$ 内从排水口排

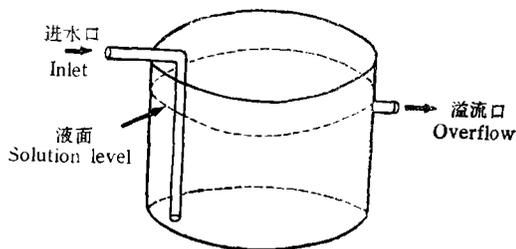


图2 试验缸试液更新示意图

Fig. 2 Solution replacement in the experimental tank

出的混合液量为 $R \cdot dt$ ，其中含陈旧试液为 $\frac{Q(t)}{V} \cdot Rdt$ ，这就是缸内陈旧试液的改变量，故得微分方程

$$dQ(t) = -\frac{R}{V} Q(t)dt$$

负号表示陈旧试液的改变量是减小的。

$$\text{分离变量, } \frac{dQ(t)}{Q(t)} = -\frac{R}{V} dt$$

$$\text{两边积分, 得 } \ln Q(t) = -\frac{R}{V} t + C \quad (C \text{ 为常数})$$

$$\text{所以 } Q(t) = C_1 \cdot e^{-\frac{R}{V}t} \quad (\text{常数 } C_1 = e^C)$$

由于在初始时刻缸内全为陈旧试液，即 $t = 0$ 时， $Q(t) = V$ ，所以 $C_1 = V$ ，由此

$$Q(t) = Ve^{-\frac{R}{V}t}$$

设 T 为缸内陈旧试液更新率达 P 时所需要的时间，则 $(1 - P)V = Ve^{-\frac{R}{V}T}$ ，所以，我们有 $T = -\frac{V}{R} \ln(1 - P)$

上式是更新时间与更新率的普遍关系式。在毒性试验中，通常以 90% 更新时间最常用。90% 更新时间可用更方便的公式求得：

$$T = \frac{V}{R} \ln 10 \quad \left(\text{或 } T = 2.303 \times \frac{V}{R} \right) \quad (3)$$

95% 更新时间可用下式求得：

$$T = \frac{V}{R} \ln 20 \quad \left(\text{或 } T = 2.996 \times \frac{V}{R} \right) \quad (4)$$

Sprague (1969)^[2] 的评论曾引用过关于试液流量与更新时间关系的坐标图，但对其数学处理过程未加说明。应用本文所介绍的这一公式进行实例计算，所得结果与该图完全吻合。这个公式简明易记，计算简单，结果比查图精确，速度比查图还快，非常方便实用。

第 1 级稀释水流量

由于
$$D_f = 1 - \frac{R}{W_1 + K}$$

所以
$$W_1 = \frac{R}{1 - D_f} - K \quad (5)$$

上式中的母液流量 K 是很小的, 可调范围不大。试液流量 R 又往往需要先行决定, 所以第 1 级稀释水流量的大小主要决定于所选定的稀释因数 D_f , D_f 愈大, 要求第 1 级稀释水流量愈大。

第 1 级试液浓度

显然, 第 1 级试液浓度 C_1 只与母液浓度、母液流量和第 1 级稀释水流量有关, 即

$$C_1 = \frac{C_k \cdot K}{W_1 + K} \quad (6)$$

由(6)式可知, 当母液流量 K 被实测, 第 1 级稀释水流量被调准后, 欲得到所希望的最高浓度, 只需配制合适的母液浓度就可以了。

母液浓度

由于
$$C_1 = \frac{C_k \cdot K}{W_1 + K}$$

所以
$$C_k = \frac{W_1}{K} \cdot C_1 + C_1 \quad (7)$$

由上式可知, 在母液流量被实测和第 1 级稀释水流量被确定后, 所需的母液浓度可由所设计的最高浓度算出。当然, 毒物母液浓度要保持在毒物的溶解度范围之内。

按等对数间距设计各级浓度

选择等对数间距表(表 1)上某一纵列的最高数值, 除以 10 后, 作为稀释因数 D_f , 再选择该纵列或该纵列之前的任一数值作为最高浓度, 即可得到等对数间距表上的系列浓度。它所反映的实验精度就是该纵列代表的精度。现以实例证明之:

假设选定对数间距表第 4 纵列的最高数值 7.5, 除以 10, 得 0.75, 以此作为稀释因数 D_f , 再选定第 4 纵列或该纵列之前的任一浓度, 例如 10mg/l 作为最高浓度。由于 $C_2 = C_1 \cdot D_f$, 所以

$$C_1 = 10\text{mg/l}$$

$$C_2 = 10\text{mg/l} \times 0.75 = 7.5\text{mg/l}$$

$$C_3 = 7.5\text{mg/l} \times 0.75 = 5.6\text{mg/l}$$

$$C_4 = 5.6\text{mg/l} \times 0.75 = 4.2\text{mg/l}$$

$$C_5 = 4.2\text{mg/l} \times 0.75 = 3.2\text{mg/l}$$

上例的结果与等对数间距表完全吻合。当然,这只是理论计算。但实际上,能否得到这样的浓度,取决于流量控制是否精确和稳定,而精确地控制流量是不容易的。

表 1 等对数间距表

Tab. 1 A list of concentration with equi-interval logarithmic value

I	II	III	IV	V	VI
10					10
				8.7	8.7
			7.5		7.5
				6.5	6.5
		5.6			5.6
				4.9	4.9
			4.2		4.2
	3.2			3.7	3.7
				2.8	2.8
			2.4		2.4
				2.1	2.1
		1.8			1.8
				1.55	1.55
			1.35		1.35
				1.15	1.15
1					1

调 节 程 序

如上所述,调节 4 个因素(试液流量,第 1 级稀释水流量,母液流量,母液浓度)之间的关系,可以得到实验所要求的两个参数(各级试液浓度,浓度间距)。但正确掌握调节的方法是很重要的。使一部分可变量成为定值,并使调节程序合理化,可以获得事半功倍的效果。建议按下列顺序进行操作:

1. 根据实验所要求的精度(即浓度间距)及浓度范围,结合考虑稀释器的工作能力,选定一个合适的最高浓度 C_1 和稀释因数 D_f , 各级浓度可以根据最高浓度 C_1 和稀释因数 D_f 逐一算出。

2. 根据所希望的 90% 更新时间和试验缸容积,结合考虑稀释器的工作能力,选定试液流量 R (可以是一个整数,例如 50ml/min), 并逐个调准,固定下来。也把第 2—5 级稀释水流量调节得与它相同。

3. 也可将实测母液流量 K 适当调节到一个合适的值,固定下来。实测和调节时,可用稀释水代替母液。

4. 根据关系式 $W_1 = \frac{R}{1 - D_f} - K$, 计算应有的第 1 级稀释水流量 W_1 , 并调准。

5. 根据关系式 $C_k = \frac{W_1}{K} \cdot C_1 + C_1$, 计算应配制的母液浓度 C_k 。

6. 如果实验证明各级浓度不尽合适, 需要改动, 则另外选定最高浓度 C_1 和 D_t , 重新调节流量。但此时不必改动试液流量 R 和母液流量 K 。只改动第 1 级稀释水流量 W_1 或母液浓度 C_k 就可以了。

在此要强调指出, 先固定合适的试液流量, 再据此调节第 1 级稀释水流量则是至关重要的。这不仅因为试液流量受到试验缸容积和更新时间的一定制约, 不宜变动太大, 而且更因为调节试液流量时, 工作量太大, 不宜频繁进行。假定稀释器由 5 级混合槽构成, 则有 5 个通向各试验缸的试液管, 加上第 2—5 级稀释水, 共有 9 个流量要保持一致, 牵一发而动全身。显然, 频繁地变动这个流量是非常麻烦的。

在一定范围内, 试液流量是一个可以主观确定的量。因为某一毒物或废水所要求的更新时间并非很严格。一般来说, 试液的总输入在 24h 之内不少于 6 个试验缸容积, 就可以满足要求了。这意味着在 9.2h 之内, 试验缸内的试液有 90% 的更新。更新时间更短些也是可以的。如果试液不稳定, 或挥发性强, 或 BOD 负荷高, 更需要缩短更新时间。

试液流量一旦被确定下来, 花费比较多的时间把它逐一调准是很值得的。因为在同一试验中不会轻易再予以改动。

在实际操作中, 把流量调准并使其稳定不变, 并非易事。最好对各级浓度进行实测。对于不易实测的化学品和废水, 或测试手段不具备时, 只有尽量提高各种流量的精确性。流量是否精确, 既受到流量控制单元的精度的限制, 又受到测量误差的影响。测量时间长一些, 或采用称重法代替容量法, 可以减少测量误差。至于流量在中途变动, 多半是由于水中微粒的阻塞或附在管壁上, 要设法定期除去。

示 例

假设稀释因数定为 0.75, 试液最高浓度定为 10mg/l, 试验缸有效容积为 9 l, 希望试液在缸内的 90% 更新时间为 7h, 母液流量为 2ml/min。试计算可以选定的试液流量及相应的第 1 级稀释水流量和应配制的母液浓度 (姑且不考虑稀释器工作能力和毒物溶解度)。

计算步骤:

1. 由公式 $T = -\frac{V}{R} \ln(1-P)$, 得 $R = -\frac{V}{T} \ln(1-P)$, 代入相应数值, 得试液流量 $R = -\frac{9\text{l}}{7\text{h}} \ln(1-90\%) = 2.96\text{ l/h} \doteq 3\text{ l/h} = 50\text{ ml/min}$ 。

2. 由公式 $W_1 = \frac{R}{1-D_t} - K$, 代入相应数值, 得第 1 级稀释水流量 $W_1 = \frac{50\text{ ml/min}}{1-0.75} - 2\text{ ml/min} = 198\text{ ml/min}$ 。

3. 由公式 $C_k = \frac{W_1}{K} \cdot C_1 + C_1$, 代入相应数值, 得出应配制的母液浓度

$$C_k = \frac{198\text{ ml/min}}{2\text{ ml/min}} \times 10\text{ mg/l} + 10\text{ mg/l} = 1\ 000\text{ mg/l}$$

参 考 文 献

- [1] 贺锡勤、陈锡涛、杨云霞,1986。用于水污染生物检测的恒流稀释装置。环境科学学报, 6(4): 487--490。
- [2] Sprague, J. B., 1969. Measurement of pollutant toxicity to fish. 1. Bioassay methods for acute toxicity. *Water Research*, 3: 793--821.

CALCULATION METHODS AND REGULATION OF CONSTANT-FLOW DILUTER FOR AQUATIC BIOASSAY

Li Xinfu

(*Institute of Hydrobiology, Academia Sinica, Wuhan 430072*)

Abstract

The various parameters and relationships between them in the operation of constant-flow diluter were analysed theoretically, based on the cardinal principles of the diluter. Methods were proposed for the calculation of dilution factor, serial concentration, flow rate and time for partial replacement of solution in test tanks. In addition, a rationalized procedure for the operation of the serial diluter was recommended.

Key words Bioassay, Toxicity test, Constant-flow dilution apparatus, Serial diluter