

纳米 TiO₂ 对海洋生源要素含量及威氏海链藻生长的影响

蔡舒婕¹, 李顺兴^{1,2}, 蔡添寿¹, 金东明¹

(1. 漳州师范学院 化学与环境科学系, 福建 漳州 363000; 2. 漳州师范学院 现代分离分析科学与技术福建省高校重点实验室, 福建 漳州 363000)

摘要: 探讨不同质量浓度纳米 TiO₂(0, 4, 8, 12, 16, 20 mg/L)对海洋生源要素(N, P, Si, Fe)含量及威氏海链藻(*Thalassiosira weissflogii*)生长的影响。实验结果表明: 随纳米二氧化钛浓度增大, 对海洋生源要素的吸附率有不同程度的提高, 海洋生源要素含量下降, 对磷和铁的影响最为明显; 纳米二氧化钛吸附对氮磷比和硅磷比影响很大, 氮磷比为 68~126, 硅磷比为 74~135, 而对硅氮比影响很小基本维持在 1。纳米二氧化钛对威氏海链藻生长有明显抑制, 并存在剂量—效应关系, 与海洋生源要素含量影响存在相关性。

关键词: 纳米二氧化钛; 海洋生源要素; 海洋生态毒理学; 硅藻; 纳米污染

中图分类号: P593

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2012)05-0053-04

纳米 TiO₂ 在食品、电子、电磁学、光学、生物医学、药学、化妆品、能源、传感器、催化以及材料学等各个领域应用广泛。全世界已经有十几家公司生产纳米 TiO₂, 总生产能力估计在 6 000 ~ 10 000 t/a, 单线生产能力一般为 400~500 t/a^[1]。研究、生产、运输、使用及废物处理等过程中的间接或直接释放, 是纳米材料进入环境的主要途径^[2]。纳米技术的广泛应用, 对整个生物系统的影响将是非常巨大的^[3-4]。

我国已开始关注“纳米污染”问题, 主要研究亚细胞——分子水平上的纳米物质的分布、输送、与生物靶器官等的结合, 以及对生物和生理产生的影响。国外, 对纳米 TiO₂ 及其相似纳米颗粒的毒性研究局限于毒性的表征, 对其毒性机制的分析相对较为薄弱。大量的研究工作集中在研究纳米 TiO₂ 的皮肤渗透性、细胞毒性和 DNA 损伤等方面^[4]。目前, 纳米 TiO₂ 对藻类的影响研究都以纳米 TiO₂ 的光化学反应为研究对象, 如纳米 TiO₂ 包被的中空玻璃球对蓝藻(*Anabaena*)和硅藻(*Melosira*)光合作用的抑制^[5]效应、纳米 TiO₂ 复合半导体光催化对抑制蓝藻生长的抑制作用^[6-7]。

纳米 TiO₂ 可通过各种途径汇入大海, 吸附海洋生源要素, 使其在海水中的浓度降低, 对近海海洋环境和海藻生长产生不利影响。目前未见关于纳米 TiO₂ 对海洋生源要素及其引发的海洋浮游植物生长的影响研究。硅藻是海洋中分布最为广泛的藻类^[8],

本实验选用海洋硅藻的模式种——威氏海链藻(*Thalassiosira weissflogii*), 研究不同浓度纳米 TiO₂ 对海洋生源要素(N, P, Si, Fe)含量及威氏海链藻生长的影响。

1 材料与方法

1.1 藻种及海水来源

威氏海链藻(*Thalassiosira weissflogii*)来自厦门大学海洋环境科学国家重点实验室。海水取自厦门海域近海, 陈化 3 个月, 氮、磷、铁、硅浓度分别为 40.20、0.59、1.03、43.60 μmol/L。

1.2 实验材料

1.2.1 实验仪器

Agilent 7500cx ICP-MS(美国安捷伦科技公司); UV-7502PCS 紫外可见分光光度计(上海欣茂仪器有限公司); 双人单面超净工作台(苏州净化设备有限公司); PYX-250Z-C 振荡培养箱(厦门精益兴业科技有限公司); 电子天平(北京赛多利斯天平有限公司);

收稿日期: 2011-06-12; 修回日期: 2011-09-15

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(40506020; 20977074; 21175115); 教育部新世纪优秀人才支持计划资助项目(教技函[2011]95号); 福建省杰出青年基金项目(2010J06005)

作者简介: 蔡舒婕(1986-), 女, 福建漳州人, 硕士研究生, 主要从事环境分析化学研究; 李顺兴, 通信作者, 博士, 教授, 研究方向为微量金属形态与生物可给性, E-mail: lishunxing@fjzs.edu.cn

Leica DM LB2 徕卡显微镜(德国徕卡仪器有限公司); 320-S pH 计(Mettler-Toledo Instrument Co.); 0.1mL 浮游植物计数板(中国科学院水生生物研究所); 磁力搅拌器; 可调试移液器(Thermo, 10~100、100~1000、1~5 mL); 铜锅柱(厦门大学化工学院); 蠕动泵驱动器 Yz2515x(保定兰格流泵有限公司); Milli-Q 净水器(美国, Millipore 公司); 塑料容量瓶、移液管等器皿均为聚丙烯材料, 三角瓶等器皿均为聚甲基丙烯酸戊烯酯材料(NALGENE)。

1.2.2 实验药品

纳米 TiO₂(金红石型: 20%, 锐态型: 80%, 粒径:10~20nm, 由武汉大学化学与分子科学学院提供); 以硝酸钾配制 N 标准贮备液(10.00 mmol/L); 以磷酸二氢钾配制 P 标准贮备液(2.00 mmol/L); 以氟硅酸钠配制 Si 标准贮备液(5.00 mmol/L); 10 mg/L Fe 标准贮备液(美国安捷伦)。除盐酸(Merck Co., 优级纯)、硝酸(Merck Co., 优级纯), 其他药品均为分析纯, 溶液均以超纯水配制。

1.3 实验方法

1.3.1 纳米 TiO₂ 的预处理

用超纯水多次洗涤纳米 TiO₂, 于磁力搅拌器充分搅拌 30 min, 用滤膜(孔径 0.22 μm)抽滤, 纳米 TiO₂ 于 105℃ 烘干, 备用。

1.3.2 海水的预处理

将 0.22 μm 滤膜用 1mol/L 盐酸溶液浸泡 6 h, 用超纯水多次清洗, 直到清洗液的 pH=7.0 为止。用处理过的滤膜抽滤海水, 除去海水中的微生物(包括细菌)和颗粒物, 调 pH 至 8.0, 紫外光照射, 供以下实验使用。

1.3.3 海洋生源要素测定方法

应用分光光度法(UV)^[9-11]与电感耦合等离子体-质谱法(ICP-MS)^[12], 分别测定纳米 TiO₂ 对海水中海洋生源要素(N、P、Si、Fe)吸附前后浓度。

1.3.4 藻培养条件

在预处理的海水中添加无菌 f/2 培养基, 并加入不同浓度的纳米二氧化钛, 光照强度为 10 000 lx; 光暗比为 12 h : 12 h; 温度为(20±1)℃; pH 为 8.0±0.1。

1.3.5 藻细胞密度的测定

取 0.98 mL 藻液, 加 0.02 mL 卢格氏碘液固定, 摇匀, 取 0.1 mL 于浮游植物计数板上在生物显微镜下计数, 得出每毫升样品中的细胞个数。对于藻密度较大时, 可相应用超纯水稀释处理。

2 结果与讨论

2.1 纳米 TiO₂ 对海水中氮、磷、硅吸附及 N/P、Si/N、Si/P 的影响

海水中氮、磷、硅的浓度分别为 40.20、0.59、43.60 μmol/L, pH=8.0, t=20℃。于 6 个 500 mL 锥形瓶中加入 500 mL 海水, 分别加入 0, 2, 4, 6, 8, 10 mg 纳米二氧化钛, 在磁力搅拌器上搅拌 30 min, 抽滤, 取滤液 100.0 mL 测定氮、磷、硅浓度, 结果如图 1、表 1 所示。

由图 1 可知随着纳米 TiO₂ 的浓度不断增大, 氮、磷、硅的浓度不断降低, 吸附率不断增大。因为近海海水中氮、硅含量较高(分别为 40.20、43.60 μmol/L), 纳米 TiO₂ 对氮、硅的吸附率较低。氮、硅的最大吸附率分别为 2.49%、4.13%, 因而对氮、硅浓度的影响较小。而近海海水中磷含量较低(仅 0.59 μmol/L), 所以 TiO₂ 的吸附对磷浓度影响显著。

由表 1 可知通过纳米 TiO₂ 的吸附, 海水中的 N/P、Si/P 变化很大, 二者比值均大于 64; Si/N 由于 N、Si 在近海海水中浓度大, 其变化很小, 其比值维持在 1。

目前营养盐限制因子是海洋科学研究关注的焦点, 氮限制、磷限制、硅限制、铁限制各执一说^[10]。Justic 1995 年总结营养盐浓度限制浮游植物的生长

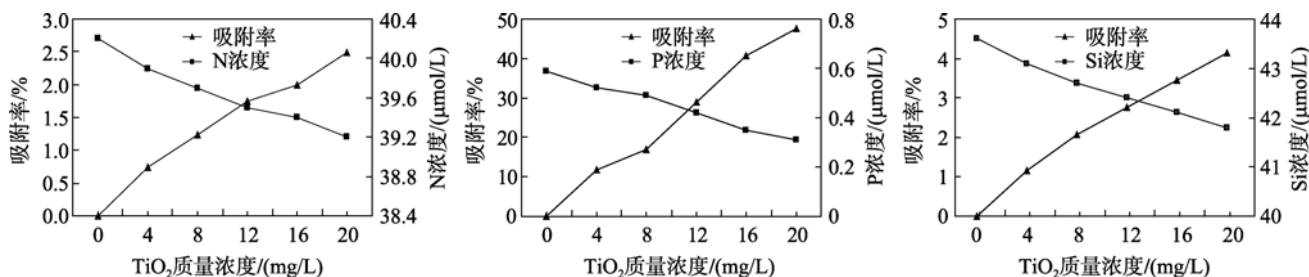


图 1 纳米 TiO₂ 浓度对海水中氮、磷、硅的吸附影响

Fig. 1 Influence of the concentrations of nanometer size TiO₂ on the adsorption of nitrogen, phosphorus, and silicon in seawater

表 1 纳米 TiO₂ 吸附对 N/P、Si/N、Si/P 的影响

Tab. 1 Influence of the adsorption by nanometer size TiO₂ on the ratio of N/P, Si/N, and Si/P

纳米 TiO ₂ 质量浓度(mg/L)	0	4	8	12	16	20
N/P	68	77	81	94	112	126
Si/N	1	1	1	1	1	1
Si/P	74	82	87	101	120	135

的阈值: 溶解 Si = 2 μmol/L, N = 1 μmol/L 和 P = 0.1 μmol/L, 这个法则称为营养盐浓度的绝对限制法则^[13]。同时 Justic 1995 年提出的化学计量限制的评估法则: a) P 限制, Si/P > 22 和 N/P > 22; b) N 限制, N/P < 10 和 Si/N > 1; c) Si 限制, Si/P < 10 和 Si/N < 1。这个法则称为营养盐浓度的相对限制法则^[13]。要确定浮游植物生长限制的营养盐元素, 必须要绝对限制法则和相对限制法则同时满足^[13]。在高营养盐条件下, 李顺兴^[10]提出了高营养盐限制的唯一因子论。N、P、Si 三种主营养盐、海洋生源要素都有可能构成限制浮游植物生长的唯一性, 即只有一种营养盐起限制浮游植物生长的主要作用^[10]。鉴于近海海水 P 浓度较低, 纳米 TiO₂ 的吸附对其浓度影响较大, 可对近海浮游植物的生长造成很大的影响, 甚至成为生长的限制因子。N/P 大于 22 与 Si/P 大于 22 时, 表明 P 的浓度是限制威氏海链藻在高营养盐条件下生长的唯一因子^[10, 13], P 作为浮游生物不可替代的营养要素, 直接影响着海域的初级生产力^[14]。通过现场调查和实验室培养实验发现, 春季厦门港、九龙江口生物吸收 P 和排泄 P 的最大速率分别为 0.191 h⁻¹ 与 0.063 h⁻¹。台湾海峡属于低磷海区, 溶解无机磷 (DIP) 含量 < 0.8 μmol/L, 氮磷比值较高 (> 30), 浮游植物的生长可能主要受到磷的限制^[15]。海洋浮游植物按 Redfield 系数 (N/P = 16) 自海水中吸收营养盐, 营养盐摩尔比值偏离 Redfield 系数过高或过低, 对海洋生态系统影响显著^[13]。

2.2 纳米 TiO₂ 对海水中铁的吸附影响

海水中铁的浓度为 1.03 μmol/L; pH=8.0; t=20°C; 于 6 个 500 mL 的塑料锥形瓶中加入 500 mL 海水, 分别加入 0, 2, 4, 6, 8, 10 mg 纳米 TiO₂, 在磁力搅拌器上搅拌 30 min, 抽滤, 取 15.0 mL 滤液测定铁的含量。结果如图 2。

结果表明: 随着纳米 TiO₂ 浓度不断增大, 铁的含量不断降低, 其吸附率不断增大, 鉴于近海海水中铁含量较低(仅 1.03 μmol/L), 所以 TiO₂ 的吸附对铁浓度影响显著。

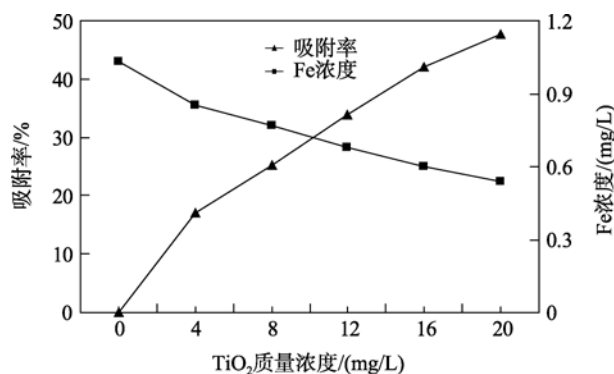


图 2 纳米 TiO₂ 浓度对海水中铁的吸附影响

Fig. 2 Influence of the concentrations of nanometer size TiO₂ on the adsorption of iron in seawater

2.3 纳米 TiO₂ 对威氏海链藻生长的影响

于 6 个 500 mL 的塑料锥形瓶中准确称取 0, 2, 4, 6, 8, 10 mg 纳米 TiO₂ 分别加入其中, 按藻培养条件接入威氏海链藻 (*Thalassiosira weissflogii*), 海藻接种密度为 10⁴ 个/mL。每天定时摇动藻液, 培养海藻 7 d, 实验结果见图 3。

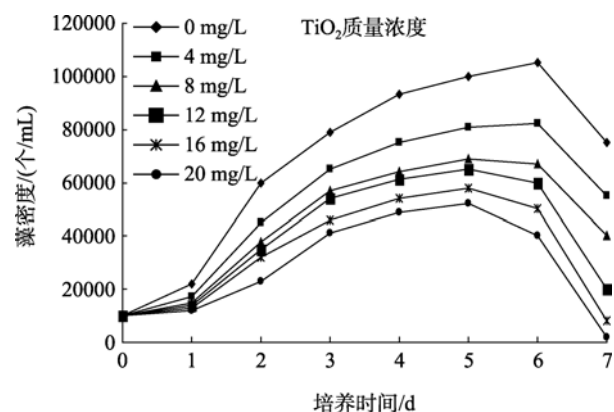


图 3 纳米 TiO₂ 浓度对威氏海链藻生长的影响

Fig. 3 Effect of the concentrations of Nano-TiO₂ on the growth of *Thalassiosira weissflogii*

结果表明: 威氏海链藻的培养过程中, 随着纳米二氧化钛的浓度增大, 威氏海链藻的生长受抑制情况越明显。在纳米 TiO₂ 20 mg/L 的浓度下, 威氏海链藻的受抑制情况最大, 即威氏海链藻在生长过程中, 随

着纳米二氧化钛的浓度增大,其生长速率变慢,呈剂量—效应关系。威氏海链藻在衰退过程中,同样随着纳米 TiO₂ 的浓度增大,衰退速率变快。在纳米 TiO₂ 浓度达到 8 mg/L 后,威氏海链藻的生长期由原来的 6 d 变为 5 d, 生长时间缩短 1d。造成上述现象的原因有:(1) 纳米 TiO₂ 对海洋生源要素的吸附,特别是磷和铁的浓度随纳米 TiO₂ 投加量增加而急剧下降,从而影响威氏海链藻的生长;(2)不同浓度纳米 TiO₂ 改变 N/P 和 Si/P,进而影响威氏海链藻的生长^[10, 13];(3)不同浓度纳米 TiO₂ 产生不同程度的光化学反应,生成的羟基自由基,可能抑制威氏海链藻的生长^[6]。

参考文献:

- [1] 魏绍东. 纳米二氧化钛的现状与发展[J]. 中国涂料, 2005, 20(2): 9-16.
- [2] 章军, 杨军, 朱心强. 纳米材料的环境和生态毒理学研究进展[J]. 生态毒理学报, 2006, 4(1): 350-354.
- [3] 魏绍东, 袁良正, 李全伟. 纳米二氧化钛的工业化生产[J]. 涂料工业, 2006, 36(8): 52-54.
- [4] 应贤平, 仲伟鉴. 纳米二氧化钛颗粒毒理学进展[J]. 毒理学杂志, 2006, 20(5): 334-336.
- [5] Kim S C, Lee D K. Preparation of TiO₂-coated hollow glass beads and their application to the control of algal growth in eutrophic water [J]. Microchem J, 2005, 80: 227-232.
- [6] 尹海川, 林强, 涂学炎, 等. 纳米二氧化钛复合半导体光催化抑制蓝藻生长[J]. 昆明理工大学学报(理工版), 2005, 30(1): 52-56.
- [7] Linsebigler A L, Lu G, Yates J T. Environmental applications of semiconductor photocatalysis[J]. Chemical Reviews, 1995, 95: 69-96.
- [8] 朱明, 张学成, 茅云翔, 等. 温度、盐度及光照强度对海链藻(*Thalassiosira* sp.)生长的影响[J]. 海洋科学, 2003, 27(12): 58-61.
- [9] Li S X, Hong H S, Zheng F Y, et al. Influence of nitrate on metal sorption and bioaccumulation in marine phytoplankton, *Dunaliella salina*[J]. Environ Toxicol, 2007, 22(6): 582-586.
- [10] 李顺兴, 郑凤英, 洪华生, 等. 氮磷营养盐与有机汞联合作用对海链藻生长的影响[J]. 海洋科学, 2005, 29(10): 36-39.
- [11] 潘文静, 邵秘华, 许自舟. 海水中硅酸盐快速测定的实验研究[J]. 大连海事大学学报, 2006, 32(2): 114-116.
- [12] Niemela M, Peramaki P, Kola H, et al. Determination of arsenic, iron and selenium in moss samples using hexapole collision cell, inductively coupled plasma-mass spectrometry[J]. Anal Chim Acta, 2003, 493(1): 3-12.
- [13] 杨东方, 张经, 陈豫. 营养盐限制的唯一因子探究[J]. 海洋科学, 2001, 25(12): 49-51.
- [14] 罗延馨, 宋金明. 生源要素的海洋生物地球化学过程研究进展[C]//中国科学院海洋研究所. 海洋科学集刊(41). 北京: 科学出版社, 1999: 41: 65-68.
- [15] 吴丽云, 阮五崎, 陈然. 台湾海峡磷的地球化学行为 II. 磷的补充和循环[C]//中国海洋学文集(7). 北京: 海洋出版社, 1997: 107-113.

Influence of nanometer size titanium dioxide on the content of marine biogenic elements and the growth of *Thalassiosira weissflogii*

CAI Shu-jie¹, LI Shun-xing^{1, 2}, CAI Tian-shou¹, JIN Dong-ming¹

(1. Department of Chemistry & Environmental Science, Zhangzhou Normal University, Zhangzhou 363000, China; 2. Fujian Province University Key Laboratory of Modern Analytical Science and Separation Technology, Zhangzhou Normal University, Zhangzhou 363000, China)

Received: Jun., 12, 2011

Key words: nanometer size TiO₂; marine biogenic element; marine ecological toxicology; diatom; Nano-pollution

Abstract: The influences of the concentrations of nanometer size TiO₂ (0, 4, 8, 12, 16, 20 mg/L) on the content of marine biogenic elements (N, P, Si, Fe) and the growth of *Thalassiosira weissflogii* were investigated. The results showed that with the increase of the TiO₂ concentration, the contents of marine biogenic elements were all decreased and the adsorption ratios were all increased. The influences of TiO₂ addition on the content of P and Fe were more significant than those on N and Si. The TiO₂ adsorption significantly affected the N/P and the Si/P ratios, but not much on Si/N ratio. The N/P and Si/P ratios were varied obviously, ranging from 68 to 126, and 74 to 135, respectively, while Si/N ratio was kept at 1. The nanometer size TiO₂ could inhibit the growth of *T. weissflogii* concentration-dependently, which has relationship with the variations of marine biogenic element contents.

(本文编辑: 张培新)