

人工纳米材料对海洋微藻的毒性研究进展

陈晓华, 张 偲, 谭丽菊, 王江涛

(中国海洋大学 海洋化学理论与工程技术教育部重点实验室, 山东 青岛 266100)

摘要:近年来随着纳米技术的飞速发展,人工纳米材料已广泛应用于各行各业。人工纳米材料的大量生产与使用,导致越来越多的人工纳米材料进入到水环境中,其毒性效应及对水环境可能造成的生态风险日趋严重。本文综述了近年来人工纳米材料对海洋微藻毒性效应的研究成果,着重介绍了人工纳米材料对微藻的单一毒性、复合毒性及致毒机理,并对未来人工纳米材料毒性效应的研究进行了展望。

关键词:人工纳米材料;海洋微藻;毒性效应;致毒机理

中图分类号: X171.5 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2017)06-0134-10
DOI: 10.11759/hyxx20161227001

近年来纳米科学作为一门新兴学科发展迅速,相应的纳米技术也日趋成熟^[1]。纳米材料因其特有的结构具有许多特殊的性能(如表面效应,体积效应,量子尺寸效应和隧道效应等)^[2],也正因为纳米材料具有常规材料所不具备的性能,使其在食品、电子、医药、化工、纺织、水处理等众多领域得到了广泛的应用^[3]。2008年,纳米银的全球产量就超过500 t。2010年全球纳米新材料市场规模达22.3亿美元,年增长率为14.8%^[4]。据《2013-2017年中国纳米材料行业发展前景与投资预测分析报告》预测,到2017年我国纳米材料的市场规模将超过70亿元(<http://www.qianzhan.com/analyst/detail/220/131203-8978bb65.html>)。大量的人工纳米材料在生产、使用和废弃的过程中必然会进入到自然环境中,2005年,各国就开始关注纳米材料对人类健康和自然生态系统造成的风险,并启动了一系列的项目进行相关的研究^[5],表明纳米材料具有一定的毒性效应,自然环境中废弃的人工纳米材料已逐渐成为一种新兴污染物,然而目前对于纳米材料在环境中迁移转化和毒性效应了解的依然很少^[6-8]。

纳米材料在自然环境中迁移转化,最终会进入近岸海域,使近海变为人工纳米材料的“汇”,危害海洋生物^[9],从而对海洋生态系统产生影响。微藻作为海洋中的初级生产者,是海洋生物食物链不可或缺的一环,对于维持海洋生态系统平衡具有重要的意义,且微藻具有个体小,生长周期短,容易培养,对毒物较为敏感等特点,可作为一种模式生物研究纳米材料的毒性效应,评价纳米材料的生态风险^[10-11]。

1 人工纳米材料在自然界中的环境行为

由于技术条件的限制,人工纳米材料在自然界中的含量测定非常困难,但仍有部分研究给出了环境中纳米材料的浓度。如Kägi等^[12]利用膜分离与离心等技术测定了瑞士某涂料厂旁河流中纳米氧化钛,浓度达到了13.4 μg/L。Fabrega等^[13]估测2009年纳米银在欧洲表层水体中的浓度可达到0.5~2 ng/L。Gottschalk等^[14]测定了欧洲河流的纳米氧化钛浓度为3~1.6 μg/L。Van Koetsem等^[15]测定了比利时河流沉积物中的纳米银和纳米氧化铈,其浓度高达2 mg/L和8 mg/L。人工纳米材料作为一种新兴污染物在环境中逐渐积累,且最终会汇聚到近岸海域^[9],影响海洋生态系统,但海水中人工纳米材料的浓度,目前仍未有研究给出具体的范围。

纳米材料进入自然环境后,其环境行为极为复杂,会像其他污染物一样在大气、土壤、水体和生物体中迁移转化^[1]。纳米材料因具有较小尺寸,易在自

收稿日期: 2016-12-27; 修回日期: 2017-03-16

基金项目: 近岸海域微纳米颗粒的生物生态效应评估技术及示范应用(201505034); 全球变化与海气相互作用专项(GASI-03-01-02-01)

[Foundation: Evaluation of biological and ecological effect of micro and nano particles in coastal waters, techniques and their applications, No.201505034; the National Programme on Global Change and Air-Sea Interaction, No.GASI-03-01-02-01]

作者简介: 陈晓华(1991-),女,山东潍坊人,硕士研究生,研究方向:应用化学,电话: 18306485330, Email: xhchenss@163.com; 王江涛(1967-),通信作者,男,教授,博士生导师, Email: jtawang@ouc.edu.cn

自然界中发生团聚,从而改变自身粒径。一些环境因素同样会影响纳米材料的产生、分散和团聚,从而影响其毒性。针对纳米材料在水体中的分布与团聚,目前研究主要集中在不同环境条件(pH,离子强度,离子组成和溶解性有机物)对纳米材料在水中稳定性的影响,基本都利用 DLVO 胶体稳定理论来解释其行为^[16-18]。吴其圣等^[19]研究表明 pH 越大,纳米氧化钛的稳定性越好;离子强度的增加会降低纳米氧化钛在水体中的稳定性,而溶解有机物的加入则会增加纳米氧化钛的稳定性。张瑞昌等^[20]研究表明 pH 接近中性时,纳米氧化锌的稳定性最好,pH 增大或者减小都会降低纳米氧化锌的稳定性;同纳米氧化钛相似,离子强度的增加会降低纳米氧化锌的稳定性。由于海水复杂的组分和较多的干扰因素,目前仍未见专门针对纳米材料在自然海水中稳定性的研究。

2 人工纳米材料对海洋微藻的单一毒性效应

由于微藻具有污染物毒性评价的特殊优势,已经有较多的研究利用微藻的生长抑制实验来评价人工纳米材料的毒性效应。实验多参照 OECD 201 与 GB/T21805-2008 标准,进行约 72~96 h 的藻生长抑制实验,通过观察藻密度、叶绿素的变化以及计算其急性毒性参数半数效应浓度(EC₅₀)等定性定量地描述人工纳米材料的毒性效应。目前对微藻纳米毒性研究主要集中在几种单一纳米材料上,如纳米金属、纳米金属氧化物、碳纳米管以及量子点等,并且取得了一定的研究进展。结果发现,人工纳米材料对藻类的生长率、细胞结构、光合作用以及酶活性等均能产生影响。

2.1 纳米金属及金属氧化物的毒性效应

目前纳米金属藻类毒性实验主要包括纳米金、银、铜以及零价铁等,发现纳米金属抑制了微藻的生长以及光合作用,并对微藻造成不同程度的氧化损伤,其毒性主要来源于金属离子的释放^[21-24]。Oukarroum 等^[21]研究表明 50 nm 粒径的纳米银会显著抑制盐藻(*Dunaliella salina*)的生长,减少盐藻叶绿素含量,造成藻细胞的氧化损伤。Navarro 等^[22]研究发现纳米银可以降低莱茵衣藻(*chlamydomonas reinhardtii*)光子产率从而降低微藻的光合作用。傅凤等^[23]研究了纳米铜和铁对四种微藻的毒性效应,

结果发现纳米铜粉对微藻产生不同程度的抑制作用,且浓度越大抑制作用越大;纳米铁粉对微藻生长的抑制作用不明显。李芳芳等^[24]研究了纳米铜粉对中肋骨条藻(*Skeletonema costatum*)的毒性效应,发现纳米铜粉释放的自由铜离子对藻细胞产生的损伤是主要致毒机制。

纳米金属氧化物作为应用最广泛的纳米材料之一,广泛应用于食品、化妆品、涂料等方面,以纳米氧化钛、纳米氧化锌、纳米氧化铜、纳米氧化镍、纳米氧化铈、纳米氧化硅等为典型代表^[25-32],在微藻毒性研究中的应用也比较多。Li 等^[25]研究了纳米二氧化钛对中肋骨条藻的毒性,发现纳米二氧化钛可以进入藻体内,造成藻细胞的氧化损伤,进而抑制中肋骨条藻的生长,其 72 h-EC₅₀ 为 7.37 mg/L。Aravantinou 等^[26]研究了纳米氧化锌对盐藻和一种绿藻(*Tetraselmis suecica*)的毒性效应,结果表明不同的培养基会影响纳米氧化锌的毒性,但纳米氧化锌均显著抑制藻的生长,其 96 h-EC₅₀ 均小于 2.57 mg/L。Zhang 等^[27]研究了纳米氧化锌对中肋骨条藻的毒性,TEM 显示纳米氧化锌可以通过细胞膜直接进入细胞内,对藻细胞产生损伤。Wei 等^[28]研究了不同浓度的纳米氧化硅悬浮液对斜生栅藻(*scendesmus obliquus*)的毒性作用,在设定的浓度范围内(50~200 mg/L),纳米氧化硅吸附在微藻细胞表面,显著降低了斜生栅藻叶绿素的含量,但并不影响类胡萝卜素的含量。Iswarya 等^[29]利用扫描电镜观察到纳米氧化钛附着在小球藻(*chlorella pyrenoidosa*)表面,改变小球藻细胞壁的通透性,使污染物更易进入小球藻。Saison 等^[30]研究了 6 h 内纳米氧化铜对莱茵衣藻的毒性效应,发现纳米氧化铜影响微藻的叶绿素含量,抑制光合作用中的电子传递,从而影响莱茵衣藻的光合作用。Sadiq 等^[31]发现纳米氧化铝对小球藻和斜生栅藻的生长和光合作用产生抑制,72h-EC₅₀ 分别是 45.4 mg/L 和 39.35 mg/L。王丽艳^[32]研究了不同浓度纳米氧化铜对小球藻的氧化胁迫,发现在设定的浓度范围内超氧化歧化酶(SOD)的活性显著增强,以抵抗纳米氧化铜造成的氧化损伤,过氧化氢酶(CAT)与过氧化物酶(POD)的活性均为先增强后降低,过量的纳米氧化铜抑制了抗氧化酶的活性。梁长华等^[33]研究了纳米氧化镍对小球藻的氧化损伤,在纳米氧化镍浓度低于 10 mg/L 时,过氧化氢酶(CAT)与超氧化歧化酶(SOD)的活性均显著增强,以抵御纳米材料造成的氧化损伤。

2.2 碳纳米材料的毒性效应

碳纳米材料主要包括多壁碳纳米管、单壁碳纳米管、石墨烯、氧化石墨烯、C60 以及富勒烯等。随着碳纳米材料的广泛应用,碳纳米材料对微藻的毒性研究也得到了重视。Wei 等^[34]的研究发现多壁碳纳米管能抑制盐藻的生长,其 96 h-EC₅₀ 为 0.82 mg/L。朱小山等^[35]研究了三种碳纳米材料多壁碳纳米管、单壁碳纳米管以及 C60 对斜生栅藻的毒性,发现三种纳米材料毒性 96 h-EC₅₀ 分别是 15.5、22.6 和 13.1 mg/L,同 TiO₂(EC₅₀=15.3 mg/L)毒性大致相当。Long 等^[36]研究发现三种不同粒径的碳纳米管对小球藻有毒性作用,且毒性作用随浓度增加而增加,遮光效应、接触物理损伤和氧化损伤三种主要毒性机制对碳纳米管藻类毒性的相对贡献值随碳纳米管管径和浓度变化,其中氧化损伤对毒性的贡献随碳纳米管管径和浓度增加而减少,接触物理损伤对毒性的贡献随碳纳米管浓度增加而增加。Nogueira 等^[37]研究氧化石墨烯对月牙藻(*Raphidocelis subcapitata*)的毒性,发现膜损伤以及 ROS 产生是其主要的毒性机制,同时遮光效应也有一定的抑制作用。

2.3 量子点的毒性效应

量子点是准零维的纳米材料,因其在生命科学、半导体器件等方面的优势使得量子点得到了广泛的应用,因此不可避免地进入到自然环境中,对生物产生毒性影响。钟秋^[38]研究了硫化镉量子点对斜生栅藻的毒性,发现随着量子点浓度增加,藻细胞颜色会逐渐变浅,量子点可能影响细胞内色素的合成。Morelli 等^[39]研究半导体量子点 CdSe/ZnS 对三角褐指藻(*Phaeodactylum triconutum*)和盐藻的毒性效应,发现量子点浓度为 1~2.5 nmol/L 就会显著抑制三角褐指藻的生长;而对于盐藻,在 0.5~2 nmol/L 的浓度范围内未观察到量子点对盐藻生长造成影响。Zhang 等^[40]的研究则表明半导体量子点 CdSe 对海链藻(*Thalassiosira pseudonana*)产生有限的毒性。

综上所述,在纳米材料对微藻的急性毒性研究中,不同种类的纳米材料对同一种微藻的毒性具有差异,同一种纳米材料对不同种的微藻毒性也不相同,甚至不同的培养基和环境条件也会影响纳米材料对微藻的毒性。筛选出对纳米材料敏感的海洋微藻也是目前急性毒性研究的目标之一,仍需要大量的研究来积累相关毒性数据,从而利用微藻进行纳米材料的毒性评价。

3 人工纳米材料对微藻的复合毒性效应

人工纳米材料进入水环境后会发生复杂的迁移转化,其自身也会吸附环境中其他物质,或者附着在环境中其他物种上形成络合物等复合物,此外微藻也可以分泌出一些物质与纳米颗粒物发生反应改变纳米颗粒物的毒性^[41],研究这些复合物的毒性更能真实地反应人工纳米材料在自然环境中对藻的毒性效应。

3.1 人工纳米材料与有机物的复合毒性效应

海水中的有机物如腐殖酸、抗生素等,会与纳米材料相互吸附来改变纳米材料的毒性。研究发现不同的有机物与纳米材料复合可能会对微藻的毒性造成不同的影响,如 Wang 等^[42]在纳米氧化铜对铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)的毒性实验中发现,富里酸能显著地增加纳米氧化铜的毒性,而 Tang 等^[43]发现腐殖酸可以显著降低纳米氧化锌的毒性,但不影响锌离子的毒性。造成这种差异的原因可能是由于纳米材料对有机物的不同吸附,但是具体毒性机制目前还不是很清楚。Neale 等^[44]研究了纳米氧化钛和纳米氧化锌对废水中微藻的毒性效应,结果发现向废水中添加有机物可以延迟纳米氧化锌对微藻生长的抑制作用。Wang 等^[45]研究了氟苯尼考存在下,氧化钛和氧化铈对小球藻的毒性,结果发现氟苯尼考增强了两者的毒性,这是由于氟苯尼考在纳米颗粒表面的吸附作用。Hall 等^[46]研究了纳米氧化钛对微藻的毒性,有机碳和高岭土会降低纳米氧化钛的毒性。一些研究发现胞外聚合物会对纳米颗粒的毒性产生影响,如 Adeleye 等^[47]研究了硫或硅修饰的纳米零价铁对浮游植物的影响,水体中有机体分泌的有机物附着在纳米颗粒表面,影响了纳米颗粒的分散转化,从而影响了纳米颗粒对藻细胞的毒性。胞外聚合物增加了铜基纳米粒子的溶解性和稳定性,铜基纳米颗粒溶解产生的 Cu²⁺对浮游生物能产生更大的毒性^[48]。

3.2 人工纳米材料与重金属离子的复合毒性效应

工业排放的废水废料等产生了大量重金属污染,如 Hg、Cd、Pb、Zn、Cr、As、Se、Co、Ni、Mn、V、Ag、Be 等^[49-50],这些重金属离子首先会影响初级生产者藻类,而几乎所有的重金属离子对微藻均会产生毒性效应。人工纳米材料进入水体中会吸附

重金属离子,从而形成复合污染。一般而言,重金属离子的毒性要远远大于纳米材料的毒性,因此纳米材料与重金属离子的复合毒性表现在两方面,一方面重金属的毒性将纳米材料毒性掩蔽,复合毒性符合重金属离子剂量-效应,另一方面表现为纳米材料增强或减弱重金属离子的毒性。如 Dalai 等^[51]认为纳米氧化钛可以减弱六价铬对斜生栅藻的毒性效应,而纳米氧化铝对六价铬的毒性无明显影响。而 Chen 等^[52]发现纳米氧化钛能够减弱铜离子的毒性效应。对于纳米材料与金属离子的复合毒性机制,大多数的研究都认为与纳米材料对重金属离子的吸附有关,由于纳米材料吸附金属离子,造成纳米材料水力半径增大,从而产生絮凝和聚沉等使水体中金属离子浓度降低,进而减弱金属离子对微藻的毒性效应。如 Hartmann 等^[53]发现 2 mg/L 纳米氧化钛与镉离子同时存在时,会将镉离子对月牙藻的 72 h-EC₅₀ 由 44.3 mg/L 提升至 97.4 mg/L,显著降低了镉离子的毒性。纳米氧化钛会吸附镉离子从而降低微藻对镉离子的利用率,降低了镉对月牙藻的毒性。Hu 等^[55]发现氧化石墨烯减弱了铜离子对斜生栅藻的毒性。如果纳米粒子能够进入到微藻细胞内,其吸附的重金属离子会一同进入细胞内,从而增强了重金属离子的毒性,这一结果被 Tang 等^[54]在研究氧化石墨烯和 Cd²⁺对铜绿微囊藻的毒性效应时发现。因此人工纳米材料与重金属离子对微藻的复合毒性效应机理,需根据具体情况具体分析。

3.3 纳米复合材料的毒性效应

纳米复合材料广泛应用于催化剂、传感器、化学化工、电子工业、生物传感、生物医药以及机械制造等方面^[56-57],纳米材料经过改性后,改变了纳米材料的分散性和稳定性、表面活性、物理化学机械性能以及与其他物质的相容性,这些纳米复合材料进入水环境后,会对水生生物产生危害,从而影响纳米材料对微藻的毒性。大多数纳米复合材料与单一的纳米材料相比,对微藻的毒性明显增强。如 Saison 等^[58]在研究纳米氧化铜对莱茵衣藻毒性效应时发现核壳式纳米氧化铜复合材料是常规纳米氧化铜毒性的十倍。Kwok 等^[59]发现纳米银表面负载聚合物稳定剂会影响纳米颗粒的毒性。Schiavo 等^[60]发现纳米银负载 PVP/PEI 后降低了银纳米颗粒的水力半径,促进了银离子的释放从而增强了纳米银颗粒的毒性。纳米复合材料的主要毒性机制一般认为是通

过纳米材料的表面包覆,增加了空间位阻、分散性和稳定性,从而增加了纳米材料与微藻的接触,进而增加了纳米材料的毒性。随着纳米复合材料的广泛应用,进入到水体中的纳米复合材料浓度将逐步增加,纳米复合材料对水生生物的毒性及其毒性机制将越来越受重视。

4 人工纳米材料对微藻的致毒机理

由于人工纳米材料的特殊性能,其对微藻的致毒机理较为复杂,且影响因素较多。如图 1 所示,目前提出的致毒机理主要包括遮蔽效应、团聚损伤、离子释放、氧化损伤、光催化等^[61]。

4.1 遮蔽效应

人工纳米材料会在水体中发生团聚,从而屏蔽部分光照,同时还会附着在微藻细胞表面,吸收或者阻挡部分光照,影响其光合作用,从而对微藻的生长繁殖造成直接或间接的影响。Schwab 等^[65]研究了碳纳米管对小球藻和月牙藻的毒性作用,由于碳纳米管的遮蔽作用,微藻的生长受到了显著的抑制。采用不同的纳米材料,结果可能不尽相同,Aruoja 等^[66]在研究纳米氧化铜、纳米氧化锌和纳米氧化钛对月牙藻的毒性效应时,发现 72 h 的实验中纳米氧化铜和纳米氧化锌的遮蔽作用没有显著影响微藻的生长,即使在高浓度的纳米氧化钛白色悬浊液中也未观察到微藻生长受到显著的抑制,Aruoja 认为遮蔽作用不是人工纳米材料的主要致毒机理。

4.2 团聚损伤

人工纳米材料由于其微小的尺寸,在微藻存在的情况下会与微藻发生团聚,造成微藻的自团聚和机械损伤,或者团聚吸附在微藻细胞表面造成细胞壁和细胞膜的破损。Schwab 等^[65]研究认为一定浓度的碳纳米管会造成微藻团聚,从而影响微藻的正常生长。Ji 等^[67]认为纳米氧化锌和纳米氧化钛的团聚作用阻碍了小球藻细胞的运动,并起到包裹隔离的作用,使小球藻的生长繁殖受到了影响。Peng 等^[68]研究了不同形状的纳米氧化锌对两种硅藻的毒性作用,发现纳米氧化锌的形状并不影响纳米氧化锌对硅藻的毒性,但是其团聚状态和溶解状况则影响了纳米氧化锌对微藻的毒性。

4.3 离子释放

人工纳米材料尤其是纳米金属和纳米金属氧化

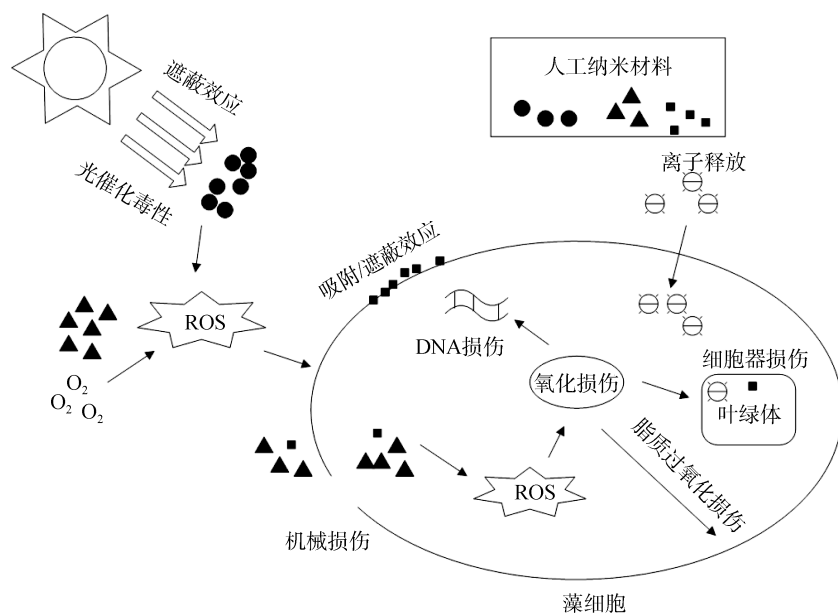


图1 人工纳米材料的致毒机理^[7, 62-64]

Fig. 1 Toxic mechanism of manufactured nanomaterials

物在水体环境中会释放金属离子，从而对微藻产生毒性作用，其中，金属离子的毒性贡献程度一直是人工纳米材料毒性研究的热点。有些研究者认为离子释放决定了纳米材料的毒性效应，Kittler等^[69]发现随着时间的增加纳米银能释放自身约90%质量的银离子到水环境中，纳米银的毒性主要由释放的银离子造成。Sørensen等^[70]研究纳米银对月牙藻的毒性效应，发现添加纳米银的时间越长，溶解出来的银离子的量越大，从而显著抑制了月牙藻的生长。Röhder等^[71]研究纳米氧化铈对莱茵衣藻的毒性，发现纳米氧化铈会释放出铈离子，铈离子会抑制莱茵衣藻的光合作用，并造成氧化损伤。Wong等^[72]研究了纳米氧化锌对5种海洋生物(包括两种硅藻)的毒性，认为纳米氧化锌溶解释放出的锌离子起到主要毒性作用。Franklin等^[73]认为纳米氧化锌在pH约为7.6的培养基中对月牙藻产生毒性，其毒性主要来源于纳米氧化锌溶解释放的锌离子。

也有些研究者认为离子释放并不能完全决定纳米材料的毒性。Hoecke等^[74]进行了纳米氧化铈对4种水生生物的毒性实验，结果发现月牙藻对纳米氧化铈毒性最为敏感，仅靠溶解的铈离子，并不能解释纳米氧化铈对月牙藻的毒性。Ji等^[67]研究发现在较高的浓度下，纳米氧化锌对小球藻的毒性要高于锌离子，认为纳米氧化锌的毒性不完全取决于释放的锌离子的量。Manzo等^[9]研究了纳米氧化锌及非纳米级氧化锌颗粒对盐藻的毒性效应，发现两种氧化

锌产生的锌离子量相似，但纳米氧化锌的毒性显著高于非纳米级氧化锌，表明纳米氧化锌的毒性不能完全用锌离子释放来解释。

4.4 氧化损伤

微藻体内的氧化应激反应是微藻保护自身抵御氧化损伤的保护系统，主要由超氧化歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽巯基转移酶(GST)和过氧化物酶(POD)等一系列抗氧化酶组成。当纳米材料浓度较低或者毒性较小时，微藻体内酶活性会增加抵御氧化损伤，随着人工纳米材料浓度增大，毒性增强会显著抑制酶活性。人工纳米材料由于其独特的性能，能在水中使氧分子形成氧自由基，正常的微藻细胞体内具有抗氧化酶体系，随着纳米材料浓度增加，毒性增强，抗氧化酶的活性被抑制，就会对微藻细胞造成氧化损伤。这是目前研究者比较认可的人工纳米材料的致毒机理。Wang等^[75]研究了半导体量子点和纳米氧化钛对莱茵衣藻的毒性，发现半导体量子点的毒性要大于纳米氧化钛，通过基因转录表达分析得出两种纳米材料会诱导微藻脂质的过氧化反应，对藻细胞造成氧化损伤。Xia等^[76]研究发现纳米氧化锌可以造成细胞的氧化损伤。付玲^[77]研究了锐钛矿型和金红石型纳米氧化钛对近头状伪蹄形藻(*Pseudokirchneriella subcapitata*)的生态毒性，结果表明锐钛矿型纳米氧化钛毒性大于金红石型纳米氧化钛，纳米氧化钛在紫外光的催化下会产生活

性氧簇(ROS),对微藻细胞造成氧化损伤。钟秋^[38]研究发现在7d的纳米氧化铈对斜生栅藻实验中,纳米氧化铈会诱导脂质的过氧化反应,对细胞造成氧化损伤。

4.5 光催化

近年来,越来越多的研究开始关注人工纳米材料的光催化毒性,像纳米氧化锌和纳米氧化钛均有一定紫外吸收,常作为防晒霜的原料。微藻的培养均需要一定的光照条件,光照能否诱导纳米材料的毒性也成为研究的热点,但研究结果却不尽相同。Miller等^[78]的研究认为紫外照射会诱导纳米氧化钛对海洋浮游植物的氧化损伤,没有紫外照射则纳米氧化钛不会对浮游植物产生氧化损伤。Bhuvaneshwari等^[79]研究了在紫外、黑暗和可见光照条件下纳米氧化锌对斜生栅藻的毒性效应,结果发现在紫外光照射条件下会明显提升纳米氧化锌的毒性,光照条件是影响纳米氧化锌毒性的重要条件之一。但是Lee等^[80]的研究却表明在设置的浓度范围内纳米氧化锌和纳米氧化钛对微藻均产生了毒性效应,但无论在可见光还是紫外光的条件下,均不会增强两者的毒性。

5 存在问题与展望

尽管人工纳米材料对海洋微藻的毒性研究取得了一定进展,但依然存在很多问题。针对这些问题仍有许多工作需要进行。

(1) 由于纳米材料种类繁多,实验藻种不同以及实验条件不一致,得到的毒性实验结果存在很多矛盾之处,因此探索统一的实验条件和标准是今后发展探究的一个方向。

(2) 虽然已有的研究对人工纳米材料的致毒机理取得了一定进展,仍然存在很多不清楚之处,因此对已有的纳米材料毒性进行验证,消除毒理上的分歧,探索人工纳米材料新的致毒机理成为未来纳米材料毒性实验的重点。

(3) 目前对于纳米材料复合毒性及其致毒机理的研究仍不充分,尤其是两种或两种以上纳米材料之间的相互作用研究较少,今后的研究应该更多的关注人工纳米材料的相互作用以及在自然界中的真实状态,进行纳米材料对微藻复合毒性的探索。

(4) 目前的研究水平仍大多停留在细胞个体水平,如藻密度等,应当从分子水平展开纳米材料毒性的研究。

(5) 目前的毒性研究仍然停留在单一营养级上,今后的研究应该从食物链和多营养级等方面来研究纳米材料的毒性,综合考虑水体环境保护。

(6) 目前的关注点停留在纳米材料对微藻毒性的毒理学层面上,今后的研究重点应该从整个生态系统出发,控制水体中纳米材料浓度,规避生态风险。

参考文献:

- [1] 林道辉,冀静,田小利,等. 纳米材料的环境行为与生物毒性[J]. 科学通报, 2009 (23): 3590-3604.
Lin Daohui, Ji Jing, Tian Xiaoli, et al. Environmental behavior and toxicity of engineered nanomaterials[J]. Chinese Sci Bull (Chinese Ver), 2009(23): 3590-3604.
- [2] 翟秀静,张楠. 纳米金属材料的研究进展[J]. 材料导报, 1999, 13(6): 22-24.
Zhai Xiujing, Zhang Nan. Research development of nanometer metal materials[J]. Materials Review, 1999, 13(6): 22-24.
- [3] 朱世东,徐自强,白真权,等. 纳米材料国内外研究进展——纳米材料的应用与制备方法[J]. 热处理技术与装备, 2010, 31(4): 1-8.
Zhu Shidong, Xu Ziqiang, Bai Zhenquan, et al. Research of the nano-materials at home and abroad—the applications and preparation of nanomaterial[J]. Heat Treatment Technology and Equipment, 2010, 31(4): 1-8.
- [4] Gao J, Powers K, Wang Y, et al. Influence of Suwannee River humic acid on particle properties and toxicity of silver nanoparticles[J]. Chemosphere, 2012, 89(1): 96-101.
- [5] 王博,潘进芬,徐婷,等. 海洋环境中纳米金属的生物吸收及生物效应[J]. 生态毒理学报, 2014, 6: 001.
Wang Bo, Pan Jinfen, Xu Ting, et al. Bioaccumulation of nanometals in marine organisms and the ecotoxicology[J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2014, 6: 001.
- [6] Ma H, Williams P L, Diamond S A. Ecotoxicity of manufactured ZnO nanoparticles—a review[J]. Environmental Pollution, 2013, 172: 76-85.
- [7] Navarro E, Baun A, Behra R, et al. Environmental behavior and ecotoxicity of engineered nanoparticles to algae, plants, and fungi[J]. Ecotoxicology, 2008, 17(5): 372-386.
- [8] Klaine S J, Alvarez P J J, Batley G E, et al. Nanomaterials in the environment: behavior, fate, bioavailability, and effects[J]. Environmental Toxicology and Chemistry, 2008, 27(9): 1825-1851.
- [9] Manzo S, Miglietta M L, Rametta G, et al. Toxic effects of ZnO nanoparticles towards marine algae *Dunaliella tertiolecta*[J]. Science of the Total Environment, 2013, 445: 371-376.
- [10] OECD 201(Organization for Economic Co-operation

- and Development). OECD guidelines for testing of chemicals[M]. Paris: OECD Publishing, 1998.
- [11] GB/T 21805-2008 Chemicals-Alga growth inhibition test (化学品藻类生长抑制试验)[S].
- [12] Kāgi R, Ulrich A, Sinnet B, et al. Synthetic TiO₂ nanoparticle emission from exterior facades into the aquatic environment[J]. Environmental Pollution, 2008, 156(2): 233-239.
- [13] Fabrega J, Luoma S N, Tyler C R, et al. Silver nanoparticles: behaviour and effects in the aquatic environment[J]. Environment International, 2011, 37(2): 517-531.
- [14] Gottschalk F, Sun T Y, Nowack B. Environmental concentrations of engineered nanomaterials: review of modeling and analytical studies[J]. Environmental Pollution, 2013, 181: 287-300.
- [15] Van Koetsem F, Geremew T T, Wallaert E, et al. Fate of engineered nanomaterials in surface water: Factors affecting interactions of Ag and CeO₂ nanoparticles with (re)suspended sediments[J]. Ecological Engineering, 2015, 80: 140-150.
- [16] Jiang J, Oberdörster G, Biswas P. Characterization of size, surface charge, and agglomeration state of nanoparticle dispersions for toxicological studies[J]. Journal of Nanoparticle Research, 2009, 11(1): 77-89.
- [17] Glover R D, Miller J M, Hutchison J E. Generation of metal nanoparticles from silver and copper objects: nanoparticle dynamics on surfaces and potential sources of nanoparticles in the environment[J]. ACS Nano, 2011, 5(11): 8950-8957.
- [18] Hotze E M, Phenrat T, Lowry G V. Nanoparticle aggregation: challenges to understanding transport and reactivity in the environment[J]. Journal of environmental quality, 2010, 39(6): 1909-1924.
- [19] 吴其圣, 杨琛, 胡秀敏, 等. 环境因素对纳米二氧化钛颗粒在水中沉降性能的影响[J]. 环境科学学报, 2012, 32(7): 1596-1603.
Wu Qisheng, Yang Chen, Hu Xiumin, et al. Influences of environmental factors on aggregation of titanium dioxide nanoparticles[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2012, 32(7): 1596-1603.
- [20] 张瑞昌, 章海波, 涂晨, 等. pH、离子强度及电解质种类对纳米氧化锌聚集和溶解的影响[J]. 环境化学, 2014, 11: 1821-1827.
Zhang Ruichang, Zhang Haibo, Tu Chen, et al. Influence of pH, ionic strength, and electrolyte type on the aggregation and dissolution of zinc oxides nanoparticles[J]. Environment Chemistry, 2014, 11: 1821-1827.
- [21] Oukarroum A, Bras S, Perreault F, et al. Inhibitory effects of silver nanoparticles in two green algae, *Chlorella vulgaris* and *Dunaliella tertiolecta*[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2012, 78: 80-85.
- [22] Navarro E, Piccapietra F, Wagner B, et al. Toxicity of silver nanoparticles to *Chlamydomonas reinhardtii*[J]. Environmental Science & Technology, 2008, 42(23): 8959-8964.
- [23] 傅凤. 纳米金属对四种微藻抑制效应的初步研究[D]. 广州: 暨南大学, 2007.
Fu Feng. Pilot study on the growth of microalgae under metal nanoparticles[D]. Guangzhou: Jinan University, 2007
- [24] 李芳芳, 潘容, 张偲, 等. 纳米铜粉对中肋骨条藻的毒性效应[J]. 中国环境科学, 2015, 9: 2874-2880.
Li Fangfang, Pan Rong, Zhang Cai, et al. Inhibition effects of copper nanoparticles on the growth of *Skeletonema costatum*[J]. China Environmental Science, 2015, 9: 2874-2880.
- [25] Li F, Liang Z, Zheng X, et al. Toxicity of nano-TiO₂ on algae and the site of reactive oxygen species production[J]. Aquatic Toxicology, 2015, 158: 1-13.
- [26] Aravantinou A F, Tsarpali V, Dailianis S, et al. Effect of cultivation media on the toxicity of ZnO nanoparticles to freshwater and marine microalgae[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2015, 114: 109-116.
- [27] Zhang C, Wang J, Tan L, et al. Toxic effects of nano-ZnO on marine microalgae *Skeletonema costatum*: Attention to the accumulation of intracellular Zn[J]. Aquatic Toxicology, 2016, 178: 158-164.
- [28] Wei C, Zhang Y, Guo J, et al. Effects of silica nanoparticles on growth and photosynthetic pigment contents of *Scenedesmus obliquus*[J]. Journal of Environmental Sciences, 2010, 22(1): 155-160.
- [29] Iswarya V, Bhuvaneshwari M, Alex S A, et al. Combined toxicity of two crystalline phases (anatase and rutile) of *Titanium nanoparticles* towards freshwater microalgae: *Chlorella* sp.[J]. Aquatic Toxicology, 2015, 161: 154-169.
- [30] Saison C, Perreault F, Daigle J C, et al. Effect of core-shell copper oxide nanoparticles on cell culture morphology and photosynthesis (photosystem II energy distribution) in the green alga, *Chlamydomonas reinhardtii*[J]. Aquatic Toxicology, 2010, 96(2): 109-114.
- [31] Sadiq I M, Pakrashi S, Chandrasekaran N, et al. Studies on toxicity of aluminum oxide (Al₂O₃) nanoparticles to microalgae species: *Scenedesmus* sp. and *Chlorella* sp.[J]. Journal of Nanoparticle Research, 2011, 13(8): 3287-3299.
- [32] 王丽艳. 纳米 CuO 对小球藻的毒性效应研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2013.
Wang Liyan. Toxic effects of nano-CuO on *Chlorella* sp. [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2013.
- [33] 梁长华. 纳米 NiO 对小球藻的生物毒性及致毒机制

- 研究[D]. 大连: 大连海事大学, 2010.
- Liang Changhua, Research on biotoxicity and toxic mechanism of NiO nanoparticles on *Chlorella vulgaris*[D]. Dalian: Dalian Maritime University, 2010.
- [34] Wei L, Thakkar M, Chen Y, et al. Cytotoxicity effects of water dispersible oxidized multiwalled carbon nanotubes on marine alga, *Dunaliella tertiolecta*[J]. Aquatic Toxicology, 2010, 100(2): 194-201.
- [35] 朱小山. 几种人工纳米材料的生态毒理学研究[D]. 天津: 南开大学, 2007.
- Zhu Xiaoshan. Aquatic ecotoxicities of several manufactured nanomaterials[D]. Tianjin, Nankai University, 2007.
- [36] 龙志峰. 纳米碳管对小球藻的毒性效应与致毒机理[D]. 杭州: 浙江大学, 2012.
- Long Zhifeng. Toxicity and its mechanisms of carbon nanotubes to *Chlorella* sp.[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2012.
- [37] Nogueira P F M, Nakabayashi D, Zucolotto V. The effects of graphene oxide on green algae *Raphidocelis subcapitata*[J]. Aquatic Toxicology, 2015, 166: 29-35.
- [38] 钟秋. 纳米二氧化铈和硫化镉量子点对水生生物的毒性研究[D]. 武汉: 华中师范大学, 2013.
- Zhong Qiu. The Toxicity of nano cerium dioxide and cadmium sulfide quantum dots to two aquatic organisms[D]. Wuhan: Central China Normal University, 2013.
- [39] Morelli E, Salvadori E, Bizzarri R, et al. Interaction of CdSe/ZnS quantum dots with the marine diatom *Phaeodactylum tricornutum* and the green alga *Dunaliella tertiolecta*: A biophysical approach[J]. Biophysical Chemistry, 2013, 182: 4-10.
- [40] Zhang S, Jiang Y, Chen C S, et al. Ameliorating effects of extracellular polymeric substances excreted by *Thalassiosira pseudonana* on algal toxicity of CdSe quantum dots[J]. Aquatic Toxicology, 2013, 126: 214-223.
- [41] Quigg A, Chin W C, Chen C S, et al. Direct and indirect toxic effects of engineered nanoparticles on algae: role of natural organic matter[J]. ACS Sustainable Chemistry & Engineering, 2013, 1(7): 686-702.
- [42] Wang Z, Li J, Zhao J, et al. Toxicity and internalization of CuO nanoparticles to prokaryotic alga *Microcystis aeruginosa* as affected by dissolved organic matter[J]. Environmental Science & Technology, 2011, 45(14): 6032-6040.
- [43] Tang Y, Li S, Lu Y, et al. The influence of humic acid on the toxicity of nano ZnO and Zn²⁺ to the *Anabaena* sp.[J]. Environmental Toxicology, 2015, 30(8): 895-903.
- [44] Neale P A, Jämting Å K, O'Malley E, et al. Behaviour of titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles in the presence of wastewater-derived organic matter and implications for algal toxicity[J]. Environmental Science: Nano, 2015, 2(1): 86-93.
- [45] Wang Z, Wang S, Peijnenburg W J G M. Prediction of joint algal toxicity of nano-CeO₂/nano-TiO₂ and florfenicol: Independent action surpasses concentration addition[J]. Chemosphere, 2016, 156: 8-13.
- [46] Hall S, Bradley T, Moore J T, et al. Acute and chronic toxicity of nano-scale TiO₂ particles to freshwater fish, cladocerans, and green algae, and effects of organic and inorganic substrate on TiO₂ toxicity[J]. Nanotoxicology, 2009, 3(2): 91-97.
- [47] Adeleye A S, Stevenson L M, Su Y, et al. Influence of phytoplankton on fate and effects of modified zerovalent iron nanoparticles[J]. Environmental Science & Technology, 2016, 50(11): 5597-5605.
- [48] Adeleye A S, Conway J R, Perez T, et al. Influence of extracellular polymeric substances on the long-term fate, dissolution, and speciation of copper-based nanoparticles[J]. Environmental Science & Technology, 2014, 48(21): 12561-12568.
- [49] 陈必链, 吴松刚. 钝顶螺旋藻对 7 种重金属的富集作用[J]. 福建师范大学学报: 自然科学版, 1999, 15(1): 81-85.
- Chen Bilian, Wu Songgang. Accumulation of 7 Heavy metal in *Spirulina platensis*[J]. Fujian Teachers University: Natural Science Edition, 1999, 15(1): 81-85.
- [50] Pohl C, Croot P L, Hennings U, et al. Synoptic transects on the distribution of trace elements (Hg, Pb, Cd, Cu, Ni, Zn, Co, Mn, Fe, and Al) in surface waters of the Northern and Southern East Atlantic[J]. Journal of Marine Systems, 2011, 84(1): 28-41
- [51] Dalai S, Pakrashi S, Bhuvaneshwari M, et al. Toxic effect of Cr (VI) in presence of *n*-TiO₂ and *n*-Al₂O₃ particles towards freshwater microalgae[J]. Aquatic Toxicology, 2014, 146: 28-37.
- [52] Chen J, Qian Y, Li H, et al. The reduced bioavailability of copper by nano-TiO₂ attenuates the toxicity to *Microcystis aeruginosa*[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2015, 22(16): 12407-12414.
- [53] Hartmann N B, Von der Kammer F, Hofmann T, et al. Algal testing of titanium dioxide nanoparticles—testing considerations, inhibitory effects and modification of cadmium bioavailability[J]. Toxicology, 2010, 269(2): 190-197.
- [54] Tang Y, Tian J, Li S, et al. Combined effects of graphene oxide and Cd on the photosynthetic capacity and survival of *Microcystis aeruginosa*[J]. Science of the Total Environment, 2015, 532: 154-161.
- [55] Hu C, Hu N, Li X, et al. Graphene oxide alleviates the ecotoxicity of copper on the freshwater microalga *Scenedesmus obliquus*[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2016, 132: 360-365.

- [56] 陈平, 左芳, 董星龙, 等. 聚合物-金属纳米复合材料的制备与应用[J]. 高分子通报, 2006 (2): 18-23.
Chen Ping, Zuo Fang, Dong Xinglong, et al. Preparation and applications of polymer-metal nanocomposites[J]. Chinese Polymer Bulletin, 2006 (2): 18-23.
- [57] 黎雪莲. 纳米复合材料的制备、性质及其在生物分析中的应用[D]. 重庆: 西南大学, 2013.
Li Xuelian. Fabrication of nanocomposites and their applications in bioanalysis[D]. Chongqing: Southwest University, 2013.
- [58] Saison C, Perreault F, Daigle J C, et al. Effect of core-shell copper oxide nanoparticles on cell culture morphology and photosynthesis (photosystem II energy distribution) in the green alga, *Chlamydomonas reinhardtii*[J]. Aquatic Toxicology, 2010, 96(2): 109-114.
- [59] Kwok K W H, Auffan M, Badireddy A R, et al. Uptake of silver nanoparticles and toxicity to early life stages of Japanese medaka (*Oryzias latipes*): effect of coating materials[J]. Aquatic Toxicology, 2012, 120: 59-66.
- [60] Schiavo S, Duroudier N, Bilbao E, et al. Effects of PVP/PEI coated and uncoated silver NPs and PVP/PEI coating agent on three species of marine microalgae[J]. Science of The Total Environment, 2017, 577: 45-53.
- [61] 郭庆亮, 林瑞, 周作明. 纳米氧化物对藻类致毒性研究进展[J]. 环境科学与管理, 2013, 38(3): 41-46.
Guo Qingliang, Lin Rui, Zhou Zuoming. Research progress on toxic effects of nano - oxides on algae[J]. Environmental Science and Management, 2013, 38(3): 41-46.
- [62] Von Moos N, Slaveykova V I. Oxidative stress induced by inorganic nanoparticles in bacteria and aquatic microalgae—state of the art and knowledge gaps[J]. Nanotoxicology, 2014, 8(6): 605-630.
- [63] 王震宇, 赵建, 李娜, 等. 人工纳米颗粒对水生生物的毒性效应及其机制研究进展[J]. 环境科学, 2010, 31(6): 1409-1418.
Wang Zhenyu, Zhao Jian, Li Na, et al. Review of ecotoxicity and mechanism of engineered nanoparticles to aquatic organisms[J]. Environmental Science, 2010, 31(6): 1409-1418.
- [64] Nel A, Xia T, Mädler L, et al. Toxic potential of materials at the nanolevel[J]. Science, 2006, 311(5761): 622-627.
- [65] Schwab F, Bucheli T D, Lukhele L P, et al. Are carbon nanotube effects on green algae caused by shading and agglomeration?[J]. Environmental Science & Technology, 2011, 45(14): 6136-6144.
- [66] Aruoja V, Dubourguier H C, Kasemets K, et al. Toxicity of nanoparticles of CuO, ZnO and TiO₂ to microalgae *Pseudokirchneriella subcapitata*[J]. Science of the Total Environment, 2009, 407(4): 1461-1468.
- [67] Ji J, Long Z, Lin D. Toxicity of oxide nanoparticles to the green algae *Chlorella* sp.[J]. Chemical Engineering Journal, 2011, 170(2): 525-530.
- [68] Peng X, Palma S, Fisher N S, et al. Effect of morphology of ZnO nanostructures on their toxicity to marine algae[J]. Aquatic Toxicology, 2011, 102(3): 186-196.
- [69] Kittler S, Greulich C, Diendorf J, et al. Toxicity of silver nanoparticles increases during storage because of slow dissolution under release of silver ions[J]. Chemistry of Materials, 2010, 22(16): 4548-4554.
- [70] Sørensen S N, Baun A. Controlling silver nanoparticle exposure in algal toxicity testing—A matter of timing[J]. Nanotoxicology, 2015, 9(2): 201-209.
- [71] Röhder L A, Brandt T, Sigg L, et al. Influence of agglomeration of cerium oxide nanoparticles and speciation of cerium (III) on short term effects to the green algae *Chlamydomonas reinhardtii*[J]. Aquatic Toxicology, 2014, 152: 121-130.
- [72] Wong S W Y, Leung P T Y, Djurišić A B, et al. Toxicities of nano zinc oxide to five marine organisms: influences of aggregate size and ion solubility[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2010, 396(2): 609-618.
- [73] Franklin N M, Rogers N J, Apte S C, et al. Comparative toxicity of nanoparticulate ZnO, bulk ZnO, and ZnCl₂ to a freshwater microalga (*Pseudokirchneriella subcapitata*): the importance of particle solubility[J]. Environmental Science & Technology, 2007, 41(24): 8484-8490.
- [74] Hoecke K V, Quik J T K, Mankiewicz-Boczek J, et al. Fate and effects of CeO₂ nanoparticles in aquatic ecotoxicity tests[J]. Environmental Science & Technology, 2009, 43(12): 4537-4546.
- [75] Wang J, Zhang X, Chen Y, et al. Toxicity assessment of manufactured nanomaterials using the unicellular green alga *Chlamydomonas reinhardtii*[J]. Chemosphere, 2008, 73(7): 1121-1128.
- [76] Xia T, Kovochich M, Liang M, et al. Comparison of the mechanism of toxicity of zinc oxide and cerium oxide nanoparticles based on dissolution and oxidative stress properties[J]. ACS Nano, 2008, 2(10): 2121-2134.
- [77] 付玲. 绿藻毒性数据评价及纳米 TiO₂ 对近头状伪蹄形藻的生态毒性[D]. 长春: 东北师范大学, 2014.
Fu Ling. Evaluation of toxicity data to green algae and ecotoxicity of TiO₂ nanoparticles on *Pseudokirchneriella subcapitata*[D]. Changchun: Northeast Normal University, 2014.
- [78] Miller R J, Bennett S, Keller A A, et al. TiO₂ nanoparticles are phototoxic to marine phytoplankton[J]. PLoS One, 2012, 7(1): e30321.
- [79] Bhuvaneshwari M, Iswarya V, Archana S, et al. Cytotoxicity of ZnO NPs towards fresh water algae *Scenedesmus*

obliquus at low exposure concentrations in UV-C, visible and dark conditions[J]. *Aquatic Toxicology*, 2015, 162: 29-38.

[80] Lee W M, An Y J. Effects of zinc oxide and titanium

dioxide nanoparticles on green algae under visible, UVA, and UVB irradiations: no evidence of enhanced algal toxicity under UV pre-irradiation[J]. *Chemosphere*, 2013, 91(4): 536-544.

Research progress in toxicity of nanomaterials manufactured on microalgae

CHEN Xiao-hua, ZHANG Cai, TAN Li-ju, WANG Jiang-tao

(Key Laboratory of Marine Chemistry Theory and Technology, Ministry of Education, Ocean University of China, Qingdao 266100, China)

Received: Dec. 27, 2016

Key words: manufactured nanomaterials, microalgae, toxic effects, toxic mechanism

Abstract: With the rapid development of nanotechnology in recent years, manufactured nanomaterials are being widely applied in all aspects of life. Nanomaterials are increasingly input into the aquatic environment due to the extensive production and use of manufactured nanomaterials, which has led to an increasing toxic threat to the ecological balance of the aquatic environment. In this paper, we summarize research achievements related to the toxic effects of nanomaterials manufactured on microalgae, especially regarding single toxicity, combined toxicity, and the mechanism of toxication. Finally, we highlight the prospects for further research into the toxic effects of manufactured nanomaterials.

(本文编辑: 康亦兼)