DOI: 10.7524/j.issn.0254-6108.2017081506

章哲超,胡佶,刘淑霞,等.纳米二氧化硅与汞(Hg²⁺)对中肋骨条藻(Skeletonema costatum)的联合毒性效应[J].环境化学,2018,37(4): 661-669.

ZHANG Zhechao, HU Ji, LIU Shuxia, et al. Effect of nano-SiO₂ on the toxicity of Hg^{2+} to *Skeletonema costatum* [J]. Environmental Chemistry, 2018, 37(4):661-669.

纳米二氧化硅与汞(Hg^{2+})对中肋骨条藻 (*Skeletonema costatum*)的联合毒性效应^{*}

章哲超¹ 胡 信¹ 刘淑霞² 张 偲¹ 刘小涯¹ 叶陈军¹ 潘建明^{1**}

(1. 国家海洋局第二海洋研究所,国家海洋局海洋生态系统与生物地球化学重点实验室,杭州,310012;2. 青岛海洋科学与技术国家实验室,海洋渔业科学与食物产出过程功能实验室,青岛,266071)

摘 要 随着纳米材料在日常生产生活中的广泛应用,部分纳米颗粒物不可避免地会通过废弃物排放等途径 进入海洋.当纳米颗粒物与海洋中的污染物(如与重金属)共存时,因其独特的物化特性往往会成为污染物的 良好载体并在生物体内累积,从而增加已有污染物和生物的相互作用,对海洋环境构成潜在的生态风险.已有 的研究更多关注单一纳米材料的生态毒性效应,有关纳米颗粒物与污染物的复合生物效应的研究较少.因此,本文研究了已广泛应用的纳米 SiO₂与常见的重金属污染物 Hg²⁺ 对东海常见海洋微藻-中肋骨条藻 (*Skeletonema costatum*)的联合毒性效应.结果表明,Hg²⁺会抑制中肋骨条藻的生长,24 h-EC_{s0}、48 h-EC_{s0}和 72 h-EC_{s0}值分别为 56.3 μ g·L⁻¹、58.6 μ g·L⁻¹和 36.8 μ g·L⁻¹;低浓度的纳米 SiO₂(1 mg·L⁻¹和 5 mg·L⁻¹)未对中 肋骨条藻的生长产生抑制作用,而较高浓度的纳米 SiO₂(≥10 mg·L⁻¹)会显著(P<0.05)抑制中肋骨条藻的生长,并且提升微藻超氧化物歧化酶 SOD 的活性,影响微藻的抗氧化系统.添加 1 mg·L⁻¹纳米 SiO₂会增强 Hg²⁺ 对中肋骨条藻的生长抑制作用,Hg²⁺的 24 h-EC_{s0}和 48 h-EC_{s0}分别下降至 41 μ g·L⁻¹和 43 μ g·L⁻¹,虽然 1 mg·L⁻¹纳米 SiO₂本身没有对中肋骨条藻产生生长抑制作用,但是能够明显增强 Hg²⁺对中肋骨条藻的毒性. 纳米 SiO₂对 Hg²⁺有着较强的吸附能力,在 60 min 时,100 mg·L⁻¹纳米 SiO₂对 100 μ g·L⁻¹的 Hg²⁺的吸附率为 90.08%,最大吸附量为 5.92 mg·g⁻¹.吸附了 Hg²⁺的纳米 SiO₂在中肋骨条藻内的累积可能是造成这种协同毒性 的主要原因.

关键词 纳米二氧化硅, 汞, 中肋骨条藻, 联合毒性, 重金属.

Effect of nano-SiO₂ on the toxicity of Hg^{2+} to Skeletonema costatum

ZHANG Zhechao¹ HU Ji¹ LIU Shuxia² ZHANG Cai¹ LIU Xiaoya¹ YE Chenjun¹ PAN Jianming^{1**}

(1. Second Institute of Oceanography, Hangzhou, 310012, China; 2. Laboratory for Marine Fisheries Science and Food Production Processes, Qingdao National Laboratory for Marine Science and Technology, Qingdao, 266071, China)

* * 通讯联系人, Tel:0571-81963220, E-mail:jmpan@sio.org.cn

Corresponding author, Tel:0571-81963220, E-mail:jmpan@sio.org.cn

²⁰¹⁷年8月15日收稿(Received: August 15, 2017).

^{*}国家自然科学基金青年基金(21307019),海洋公益性行业科研专项(201505034),国家重点研发计划重点专项(2016YFC1402405) 和青岛海洋科学与技术国家实验室海洋渔业科学与食物产出过程功能实验室开放课题(2016LMFS-B19)资助.

Supported by the National Natural Science Foundation of China (21307019), the Public Science and Technology Research Funds Projects of Ocean(201505034), the National Key Research and Development Program(2016YFC1402405) and Laboratory for Marine Fisheries Science and Food Production Processes, Qingdao National Laboratory for Marine Science and Technology (2016LMFS-B19).

Abstract: With the wide application of nanomaterials in our life, a certain amount of nanoparticles (NPs) will be released into the ocean inevitably through waste discharge. When these released NPs interact with contaminants such as heavy metals in the ocean, they can act as efficient carriers of contaminants and accmulate in organisms to increase interaction between contaminants and organisms, which poses potential ecological risks to marine environment. Most previous reports focused on eco-toxic effects of single nanomaterials. There are few reports about the joint effects of nanometer particles existed with other pollutants. Therefore, effects of nano-SiO₂ on the toxicity of Hg²⁺ to Skeletonema costatuma were studied in this work. Results showed that Hg²⁺ inhibited the growth of Skeletonema costatum. The EC₅₀ of Hg²⁺ after 24 h, 48 h, and 72 h was 56.3 μ g·L⁻¹, 58.6 $\mu g \cdot L^{-1}$ and 36.8 $\mu g \cdot L^{-1}$, respectively. Nano-SiO₂ of low concentration (1 mg $\cdot L^{-1}$ and 5 mg·L⁻¹) did not inhibit the growth of *Skeletonema costatum*. However, nano-SiO₂ of high concentration (10 mg \cdot L⁻¹ or higher) significantly (P<0.05) inhibited the growth of Skeletonema costatum and promoted activity of superoxide dismutase (SOD) to affect antioxidant system of the marine microalgae. The inhibition of Hg²⁺ to the growth of Skeletonema costatum increased with the addition of $(mg \cdot L^{-1})$ nano-SiO₂ which lowed 24 h-EC₅₀ and 48 h-EC₅₀ of Hg²⁺ to 41 $\mu g \cdot L^{-1}$ and 43 μ g·L⁻¹, respectively. Nano-SiO₂ of 1 mg·L⁻¹ did not inhibit the growth of algae but enhanced the toxicity of Hg²⁺ to Skeletonema costatum. Nano- SiO₂ had strong adsorption capacity for Hg²⁺. The adsorption rate of 100 μ g · L⁻¹ Hg²⁺ to 100 mg · L⁻¹ nano-SiO₂ in 60 min was 90.08%, with the maximum adsorption capacity of 5.92 mg \cdot g⁻¹. Accumulation of nano-SiO₂ adsorbed with Hg²⁺ inside the micro algae might be the main reason for the joint effects.

Keywords: nano-SiO₂, Hg²⁺, Skeletonema costatum, joint effect, heavy metal.

近年来,随着纳米技术的日趋成熟和纳米材料的产业化水平逐步提升,我国纳米材料行业迎来了一 个飞速发展阶段.在众多纳米材料中,纳米 SiO₂被广泛应用于工业生产,如复合材料改性、陶瓷材料增 韧、以及新型涂料改性等,除此之外在医药、化妆品、食品、农业等领域也有巨大的应用潜力^[1-2].然而,不 论是在生产、使用、废弃的任何一个阶段中,部分纳米 SiO₂会不可避免得进入到环境中,经过空气携带、 雨水冲刷和地表径流而最终汇入海洋^[3].纳米 SiO₂不同于常规的 SiO₂,它在三维空间中至少有一维处于 纳米尺度范围(1—100 nm),比表面积大,一般可以达到 640—700 m²·g⁻¹,同时还具有独特的尺寸效应、 体积效应和量子隧道效应^[4-5].当纳米 SiO₂进入海洋之后,由于其独特的导电性、光学特性和反应活性, 可能会对浮游生物产生毒性,并且通过食物链进行传递,最终对海洋生态系统造成一定程度的危害^[6]. 已有研究表明,纳米二氧化硅(nSiO₂)会显著抑制斑马鱼胚胎发育,其 48 h 的 LC₅₀值为 240 mg·L^{-1[7]}.纳 米二氧化硅(nSiO₂)还会对大型蚤产生明显的毒性效应,其 24 h 的 EC₅₀值为 148.9 mg·L^{-1[8]}.除此之外, 纳米二氧化硅(nSiO₂)还会明显影响秀丽隐杆线虫的生长发育,使其后代出现发育和运动异常(*P*<

海洋环境中往往存在多种污染物,如重金属、有机污染物等,进入海洋中的纳米颗粒物可能会与其 它污染物产生联合毒性效应^[10].目前,纳米材料与其它污染物的联合毒性效应的研究主要集中在淡水 生物,针对海洋生物的研究报道相对较少,例如:纳米碳能够降低三丁基锡对大型溞的毒性效应,48 h 的 EC_{s0} 值从 1.6—3.2 mg·L⁻¹提高到了 6.7—9.3 mg·L^{-1[11]}.复合纳米碳管却能够增强卡巴呋喃对罗非鱼的 毒性效应,96 h 的 LC_{s0} 值由 2.4 mg·L⁻¹降低至 0.5 mg·L^{-1[12]}.纳米 ZnO 能够提高 Cd²⁺和 Pb²⁺在银合欢籽 苗细胞内的累积,分别从 1253.1 mg·kg⁻¹和 1026.8 mg·kg⁻¹提升到 1863.5 mg·kg⁻¹和 1343.4 mg·kg^{-1[13]}. 除此之外,也有研究证实纳米 Al₂O₃可以降低 Cu²⁺对斜生栅藻的毒性效应的影响,实验结果显示尤其是 在高浓度 Cu²⁺条件下(0.2 mg·L⁻¹和 0.5 mg·L⁻¹),纳米 Al₂O₃可以显著(P < 0.05)降低 Cu²⁺对斜生栅藻 的生长抑制^[14].由此可见,纳米颗粒物和其他污染物的联合毒性效应结果受纳米材料种类、共存污染物 的性质、受试生物的种类、实验条件及环境设定等多种因素的影响.目前针对纳米颗粒物和重金属对海 洋浮游植物联合毒性的有关研究工作报道较少.

本文以中国东部沿海常见的海洋微藻中肋骨条藻作为受试生物,选取具有潜在海洋生态风险的重 金属 Hg^{2+[15]}和纳米 SiO,进行联合毒性研究,并对其相互作用和毒性机理进行初步探究.

1 材料与方法(Materials and methods)

1.1 实验材料

1.1.1 试剂溶液

Hg 单元素标准溶液(1000 ± 2 mg·L⁻¹)购自国家有色金属及电子材料分析测试中心;纳米 SiO₂(纯度 99.5%,粒径 15 nm).

1.1.2 藻液培养

中肋骨条藻(*Skeletonema costatum*),购自中国科学院海洋研究所.海水取自南大洋的开阔海域,盐度为 34‰,用孔径 0.22 µm 的滤膜过滤后,121 ℃高压蒸汽灭菌.f/2 培养液中的 EDTA 能与重金属发生络 合反应,会影响重金属的毒性效应^[16],因此本实验中采用改进之后的 f/2 培养液,NaNO₃最终浓度为 1.10×10^{-4} mol·L⁻¹和 NaH₂PO₄为 0.45×10^{-5} mol·L⁻¹,无 EDTA 组分.培养条件为:温度 20±0.5 ℃,明暗周 期 12 h;12 h,光照强度 4000 lux.

1.2 实验方法

1.2.1 Hg²⁺和纳米 SiO₂单独对中肋骨条藻毒性测定

(1)实验设置

实验前选择处于指数生长期的中肋骨条藻,将其用改进培养液清洗若干次后在 JB/T6823 光照培养 箱(上海博讯实业有限公司医疗设备厂)中进行预培养.取预培养后的藻进行毒性实验,Hg²⁺的暴露浓度 分别为 0、1、5、10、50、100、150 μg·L⁻¹,纳米 SiO₂的暴露浓度分别为 0、1、5、10、20、50 mg·L⁻¹.实验设置 3 组平行样,每天早中晚各摇匀 1 次,每隔 24 h 使用 7230G 可见分光光度计(上海仪电分析仪器有限公 司)测定藻密度,并绘制出生长曲线.

(2)纳米 SiO₂对中肋骨条藻抗氧化系统影响

取培养72h的藻液,使用南京建成生物研究所试剂盒和Multiskan FC型酶标仪(赛默飞世尔上海仪器有限公司)进行蛋白浓度(BCA),超氧化物歧化酶(SOD),还原型谷胱甘肽(GSH),细胞丙二醛(MDA)测定.

1.2.2 纳米 SiO₂对 Hg²⁺的吸附

(1)纳米 SiO₂海水中形态观察

制备纳米 SiO₂悬浊液,使用 scientz-IID 超声波细胞粉碎机(宁波新芝生物科技股份公司)超声破碎 5 min,用扫描电子显微镜观察并拍照.

(2)纳米 SiO₂对 Hg²⁺的吸附速率测定

配制一系列 Hg^{2+} 与 SiO₂的混合溶液,单个样品体积为 100 mL,溶液中 Hg^{2+} 的初始浓度为 150 μ g·L⁻¹,纳米 SiO₂浓度为 100 mg·L⁻¹.在室温 20 ℃,转速 135 r·min⁻¹下振荡混合,分别隔 0、5、10、 20、30、60、120 min 从样品中抽样,采用 Z326K 冷冻型高速离心机(德国 Hermle 公司)12000 r·min⁻¹离心 15 min,吸取上层清液 1 mL 转移至 50 mL 容量瓶定容,依据海洋监测规范(GB 17378.4—2007)中的原子荧光分光光度法使用 AFS200 原子荧光光谱仪(江苏天瑞仪器公司)测定 Hg^{2+} 含量.实验设 3 组平 行样.

(3) Hg²⁺在纳米 SiO₂上的吸附

配制一系列 Hg^{2+} 与 SiO_2 的混合溶液,单个样品体积为 100 mL,溶液中 Hg^{2+} 溶液浓度为 0、1、5、10、 50、100、500、1000、2000 $\mu g \cdot L^{-1}$,纳米 SiO_2 浓度为 100 mg · L⁻¹,在室温 20 ℃,转速 135 r · min⁻¹下振荡混合 3 h,剩余操作步骤同 1.2.2 节(2).

1.2.3 纳米 SiO₂和 Hg²⁺对中肋骨条藻联合毒性

配制一系列 Hg^{2+} 与 SiO₂的混合溶液,体积为 100 mL,培养液中 Hg^{2+} 暴露浓度为 0、1、5、10、50、 150 $\mu g \cdot L^{-1}$,纳米 SiO₂暴露浓度为 1 mg $\cdot L^{-1}$.实验设置 3 组平行样,每天早中晚各摇匀 1 次,每隔 24 h 使用可见分光光度计测定藻密度,并绘制成生长曲线.

1.3 数据处理和计算

使用 SPSS19.0 统计软件对最终数据进行单因素方差分析(one-way ANOVA),使用 Origin8.0 对等温 吸附曲线进行拟合.

2 结果与讨论(Results and discussion)

2.1 不同浓度 Hg²⁺对中肋骨条藻生长的影响

如图 1 所示,随着 Hg²⁺浓度的增加,中肋骨条藻的生长抑制率逐渐增大,当 Hg²⁺浓度在 100 µg·L⁻¹ 及以上时,中肋骨条藻的生长受到明显抑制甚至完全停止生长并出现死亡.根据单因素方差分析,在 24 h和 48 h,添加 1 µg·L⁻¹和 5 µg·L⁻¹Hg²⁺的实验组相对于不添加 Hg²⁺的对照组,没有显著性差异(*P*> 0.05);在 72 h,添加 1 µg·L⁻¹和 5 µg·L⁻¹Hg²⁺的实验组相对于不添加 Hg²⁺的对照组,表现出显著性差异 (*P*<0.05).72 h 1 µg·L⁻¹的 Hg²⁺对中肋骨条藻的生长起到了一定的促进作用,而较高浓度(\geq 5 µg·L⁻¹) 的 Hg²⁺对中肋骨条藻的生长起到了一定的抑制作用.当 Hg²⁺浓度的浓度较高时,藻细胞的超微结构会受 到影响,细胞膜的正常通透性被破坏,细胞内的酶失去活性,从而使得藻细胞无法进行正常的生长、生殖 活动^[17-18].24、48、72 h 对应的 EC₅₀值分别为 56.3、58.6、36.8 µg·L⁻¹,与已有研究测得的 Hg²⁺对中肋骨条 藻 96 hEC₅₀值 31 µg·L⁻¹较为接近^[19].

2.2 不同浓度纳米 SiO₂对中肋骨条藻生长的影响

如图 2 所示,在添加 1 mg·L⁻¹和 5 mg·L⁻¹纳米 SiO₂的实验组相比于对照组的生长情况没有显著差 异(P>0.05);当纳米 SiO₂浓度在 10 mg·L⁻¹及以上时,对应的中肋骨条藻的生长情况与对照组相比表现 出显著差异(P<0.05),且随着纳米 SiO₂浓度升高,中肋骨条藻受抑制程度越明显.已有研究也证实,纳米 SiO₂会对球等鞭金藻造成明显的生长抑制,当纳米 SiO₂浓度为 15、30、50、80、100 mg·L⁻¹时,对球等鞭金 藻生长的平均抑制率分别为 34.1%、43.6%、63.8%、82.2%和 106.7%^[20].



如图 3 所示,添加低浓度 1 mg·L⁻¹和 5 mg·L⁻¹的纳米 SiO₂的实验组与对照组相比,SOD、GSH、MDA 值没有显著性差异(*P*>0.05).表明添加低浓度 1 mg·L⁻¹和 5 mg·L⁻¹的纳米 SiO₂不会对中肋骨条藻藻细胞的抗氧化系统和细胞膜产生损伤.Chang 等通过细胞增殖实验证明低剂量(0.82%)的纳米 SiO₂对成纤维细胞和肿瘤细胞是无毒的^[21],Alsharif 等也证实了经过烷基修饰的纳米 SiO₂对人类肿瘤细胞不具有

4期

明显的体外毒性^[22].而添加 20 mg·L⁻¹和 50 mg·L⁻¹的纳米 SiO₂的实验组与对照组相比,SOD 活力值表 现出了显著性差异(P<0.05),SOD 活力分别升高了 81.2%和 93.2%.



图 3 SOD 活性,GSH 和 MDA 含量随纳米 SiO₂浓度的变化(*代表 P<0.05) Fig.3 Change of SOD activity and GSH and MDA content with nano-SiO₂ concentration(* indicates P<0.05)

2.3 不同浓度 Hg^{2+} 与 1 $mg \cdot L^{-1}$ 纳米 SiO₂ 对中肋骨条藻联合毒性效应

由实验 2.2 结果可知,1 mg·L⁻¹的纳米 SiO₂对中肋骨条藻的生长没有明显的抑制作用,并且不会对 藻细胞的抗氧化系统和细胞膜产生损伤.因此,在联合毒性实验中纳米 SiO₂的浓度选择为 1 mg·L⁻¹(见 图 4).比较图 1 和图 4,以及通过统计软件 SPSS 的独立样本 t 检验比较,在 24 h 和 48 h,添加 1 mg·L⁻¹ 纳米 SiO₂和 10 μ g·L⁻¹Hg²⁺的实验组与只添加 10 μ g·L⁻¹Hg²⁺的实验组对比,纳米 SiO₂显著(*P*<0.05) 增 强了 Hg²⁺对中肋骨条藻的毒性,抑制率分别从 22.2%和 16.61% 增长至 28.34%和 25.31%,同比增幅为 27.5%和52.4%.而在 72 h 时,添加 1 mg·L⁻¹纳米 SiO₂对 Hg²⁺对中肋骨条藻的毒性效应没有显著影响. 24、48、72 h 复合毒性对应的 Hg²⁺的 EC₅₀值分别为 41.2、43.3、36.9 μ g·L⁻¹.与只添加 Hg²⁺的实验组对比, 24 h 和 48 h 的 EC₅₀值显著降低,分别下降了 36.7%和 35.3%.纳米 SiO₂明显增强了 Hg²⁺对中肋骨条藻的 毒性,这两种物质表现出协同作用.

本实验中,1 mg·L⁻¹纳米 SiO₂能够显著增强 Hg²⁺对中肋骨条藻的毒性.由于纳米颗粒物和污染物发 生复合毒性的具体机理比较复杂,目前存在多种解释.首先,纳米颗粒作为污染物传递的载体,与污染物 以复合物的形式进入细胞中,随后复合污染物释放出污染物,提升了胞内可利用污染物浓度,例如高浓 度多壁碳纳米管(5 mg·g⁻¹和 50 mg·g⁻¹)显著增强了 Cd²⁺对铜锈环棱螺的氧化胁迫,且呈现良好的浓度 -剂量效应^[23];其次,纳米颗粒物可以破坏细胞膜的结构,提升了细胞对污染物的吸收,从而提高了污染 物的毒性,例如石墨烯和单层石墨烯会破坏细胞膜的结构和流动性,影响转运蛋白功能,增强了百草枯 和 AsO₃⁻⁻ 对人类肝细胞的毒性^[24],同时也有研究表明纳米 MgO 会覆盖在藻细胞表面,通过与藻细胞鞭 毛的相互作用使细胞聚集成团,影响细胞的正常游动及其对光能、营养物质的吸收利用和气体的交 换^[25];再次,纳米颗粒物还可以吸附了大量污染物,导致可利用污染物浓度降低,从而降低了污染物的 毒性,例如 1、10、100 mg·L⁻¹的纳米 TiO₂对 Cd²⁺的最大吸附量分别为 31.9、177.1、242.2 mg·g⁻¹,纳米 TiO₂能够显著得降低 Cd²⁺对衣藻的毒性效应^[26];此外,还有可能是因为纳米颗粒物能够提高细胞膜或 者细胞壁的渗透能力从而促进污染物在细胞内的累积,例如纳米二氧化钛能够通过和细胞膜形成一种

有细胞型的渗透能力,从而促进 Cd²⁺在细胞内的累积^[27].并且纳米颗粒物还可能引起共存污 复合物,提升了细胞的渗透能力,从而促进 Cd²⁺在细胞内的累积^[27].并且纳米颗粒物还可能引起共存污 染物的转化和降解而改变污染物毒性,例如纳米 TiO₂可以对四环素进行降解,减弱四环素对发光细菌的 生长抑制^[28].



图 4 中肋骨条藻在不同浓度 Hg²⁺和 1 mg·L⁻¹纳米 SiO₂条件下 72 h 生长曲线



2.4 纳米 SiO₂在改进培养液中的形态

纳米 SiO₂在改进培养液中发生了明显的团聚(图 5),这与纳米颗粒物表面分子之间存在的范德华 力和静电引力有关^[29].且与文献中描述的裸露状态下无修饰的纳米 TiO₂极易在水生环境下发生团聚情 况相符合^[10].有研究表明,Cd²⁺会使得腐殖酸 HA 负载型纳米 TiO₂发生团聚,同时团聚后的纳米 TiO₂对 Cd²⁺的吸附作用也会增强^[30].还有研究表明纳米 ZnO 在发生团聚之后,更容易被藻细胞吸附^[31].大尺寸 聚合物的形成会加速纳米 SiO₂在培养基中的沉降,从而可能导致其对生物暴露的减少.



图 5 纳米 SiO₂在改进培养液中形态扫描电镜图 Fig.5 Transmission electron microscopy (TEM) image of nano- SiO₂ in culture medium

2.5 纳米 SiO₂对 Hg²⁺的吸附

纳米 SiO₂对重金属有着较强的吸附能力,已有研究表明 40 mg·L⁻¹的纳米 SiO₂对铁(0.412 μ g·L⁻¹) 的吸附在 30 min 内就能达到吸附平衡,且吸附容量较大,为9.52 mg·L^{-1[20]}.为了进一步探究纳米 SiO₂对 Hg²⁺的吸附,本文对纳米 SiO₂对 Hg²⁺的吸附速率和吸附容量进行研究.

由图 6 可知,在 30 min 前,随着时间增加,100 mg·L⁻¹纳米 SiO₂对 100 μg·L⁻¹Hg²⁺的吸附率迅速增加,在 60 min 时达到峰值,此时的吸附率为 90.08%.60 min 之后,吸附时间继续增加,而吸附率趋于平稳.在图 7 中,用 Langmuir 方程对等温吸附曲线进行了拟合,拟合程度很好(*R*²=0.996),100 mg·L⁻¹的纳米 SiO₂最大吸附量为 5.92 mg·g⁻¹.结果说明,溶液中的 Hg²⁺会快速吸附到纳米 SiO₂上,并且可能会以纳

米 SiO₂为载体在藻细胞中累积.

根据纳米 SiO₂对 Hg²⁺的吸附实验,可以看出纳米 SiO₂能够在短时间内快速吸附 Hg²⁺且具有较大的 吸附容量.并且已有研究证实,纳米颗粒物可以通过胞吞作用或胞饮作用进入藻细胞内,比如通过观察 电镜照片可以发现中肋骨条藻藻细胞能够累积细长的纳米 ZnO 微粒^[32],通过单细胞 ICP—MS 技术发 现卵形隐藻对纳米颗粒态金的摄取量随着培养时间的增加而增加,且经过长时间培养后,单个细胞内可 以存在 1 个、2 个或 3 个纳米颗粒^[33];并且有研究表明,在低于 1 μ g·L⁻¹ Cd²⁺浓度下,纳米 TiO₂和 Cd²⁺复合物可以直接进入四膜虫体内,且纳米 TiO₂和 Cd²⁺复合物会将 Cd²⁺脱附下来,使得四膜虫体内 Cd²⁺升高,增强 Cd²⁺对四膜虫的毒性^[34].所以我们推测,在 24 h 和 48 h,1 mg·L⁻¹纳米 SiO₂能够显著增强 Hg²⁺ 对中肋骨条藻的毒性最大可能原因是,纳米 SiO₂作为 Hg²⁺的载体,在纳米 SiO₂进入细胞内后,吸附的 Hg²⁺会逐渐脱附下来,导致细胞内的生物可利用 Hg²⁺浓度增加,从而增强了 Hg²⁺对中肋骨条藻的生长抑制作用.



3 结论(Conclusion)

本文对纳米 SiO₂和汞对中肋骨条藻的联合毒性进行了研究,得出以下结论:(1)1 mg·L⁻¹和 5 mg·L⁻¹的纳米 SiO₂对中肋骨条藻的生长抑制与对照组相比没有表现出显著性差异(P>0.05),且不会 对藻细胞的抗氧化系统和细胞膜造成损伤;(2)1 mg·L⁻¹的纳米 SiO₂能够显著增强 Hg²⁺对中肋骨条藻的 毒性,其 24 h、48 h 对应的 EC₅₀值与只添加 Hg²⁺的实验组对比,分别下降了 36.7%和 35.3%;(3)纳米 SiO₂能够显著增强 Hg²⁺对中肋骨条藻的毒性的最大可能是,纳米 SiO₂能够吸附 Hg²⁺进入细胞内部,且进入细胞内部后,吸附在纳米 SiO₂上的 Hg²⁺会随培养时间延长而逐渐脱附下来,导致细胞内生物可利用的 Hg²⁺浓度增加,从而增强了 Hg²⁺对中肋骨条藻的生长抑制作用.

因此,在评估纳米颗粒物对海洋生态系统带来的潜在风险时,不仅仅需要研究纳米颗粒物带来的直 接影响,更应该关注在由于纳米颗粒物与共存的有机或者无机污染物发生复合作用导致的间接影响,因 为低浓度下无毒或者低毒的纳米颗粒物,能够增强游离重金属离子对海洋浮游植物的毒性效应,而这些 间接影响又可能会产生更加严重的危害.

参考文献(References)

[1] 张密林,丁立国,景晓燕,等. 纳米二氧化硅的制备、改性与应用研究进展[J]. 应用科技, 2004, 31(6): 64-66.
 ZHANG M L, DING L G, JING X Y, et al. Preparation, modification and application of nanoscale SiO₂[J]. Applied Science and

Technology.2004,31(6):64-66(in Chinese).

[2] 张中太,林元华,唐子龙,等.纳米材料及其技术的应用前景[J].材料工程,2000,11(3):42-48.

ZHANG Z T, LIN Y H, TANG Z L, et al. Nanometer materials&nanotechology and their application prospect[J]. Materials Engineering. 2000, (3): 42-48(in Chinese).

[3] 杨柳燕,姚莹,陈军,等.纳米材料的环境风险评估及相关环境标准的建议[C].中国环境科学学会环境标准与基准专业委员会 2010 年学术研讨会, 2010.

YANG L Y, YAO Y, CHEN J, et al. Environmental risk assessment on nano-materials and Proposal for Environmental quality standard [C]. Environmental standards and benchmarks professional committee of Chinese Society For Environmental Sciences for academic seminar in 2010,2010(in Chinese).

- [4] 张立德, 牟季美.纳米材料和纳米结构[M]. 北京:科学出版社, 2017. ZHANG L D, MOU J M. Nano materials and nano structure [M]. Beijing; Science Press, 2017(in Chinese).
- [5] 王永康,王立. 纳米材料科学与技术[M]. 杭州:浙江大学出版社,2002:1-2.
 WANG Y K, WANG L. Nanometer material Science and Technology[M]. Hangzhou: Zhejiang University Press, 2002:1-2(in Chinese).
- [6] NEL A, XIA T, MDLER L, et al. Toxic potential of materials at the nanolevel[J]. Science, 2006, 311(5761): 622-627.
- [7] 玉晓微,赵占克,韩冰,等.纳米二氧化硅对斑马鱼胚胎发育毒性的初步研究[J]. 生态毒理学报,2009,4(5):675-681.
 YU X W, ZHAO Z K, HAN B, et al. Preliminary study on the toxicity of nanosized silicon dioxide on embryonic development of *Zebrafish embryos*[J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2009, 4(5): 675-681(in Chinese).
- [8] 杨尚悦. 纳米二氧化硅和常规二氧化硅的水生态毒性初步研究[D]. 武汉:华中师范大学, 2015.
 YANG S Y. The preliminary study of nano-silicon dioxide and normal sized silicon dioxide on aquatic ecotoxicology[D]. Wuhan; Central China Normal University, 2015(in Chinese).
- [9] 孔璐, 张婷, 王大勇, 等. 纳米二氧化硅对秀丽线虫的毒性作用研究[J]. 生态毒理学报, 2011, 6(6): 655-660. KONG L, ZHANG T, WANG D Y, et al. Toxicity of SiO₂ nanoparticles to *Caenorhabditis Elegans*[J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2011, 6(6): 655-660(in Chinese).
- [10] YANG W W, LI Y, MIAO A J, et al. Cd²⁺ toxicity as affected by bare TiO₂ nanoparticles and their bulk counterpart[J]. Ecotoxicology & Environmental Safety, 2012, 85(3): 44-47.
- [11] FANG L, BORGGAARD O K, HOLM P E, et al. Toxicity and uptake of Tri- and dibutyltin in *Daphnia magna* in the absence and presence of nano-charcoal [J]. Environmental Toxicology & Chemistry, 2011, 30(11): 2553-2561.
- [12] CAMPOS-GARCIA J, MARTINEZ D S T, ALVES O L, et al. Ecotoxicological effects of carbofuran and oxidised multiwalled carbon nanotubes on the freshwater fish Nile tilapia: Nanotubes enhance pesticide ecotoxicity[J]. Ecotoxicol Environ Saf, 2015, 111(111): 131-137.
- [13] VENKATACHALAM P, JAYARAJ M, MANIKANDAN R, et al. Zinc oxide nanoparticles (ZnO NPs) alleviate heavy metal-induced toxicity in Leucaena leucocephala seedlings: A physiochemical analysis[J]. Plant Physiology & Biochemistry, 2016, 110: 59-63.
- [14] LI X, ZHOU S, FAN W. Effect of nano-Al₂ O₃ on the toxicity and oxidative stress of copper towards scenedesmus obliquus [J]. International Journal of Environmental Research & Public Health, 2016, 13(6): 575-577
- [15] 刘成, 王兆印, 何耘, 等. 环渤海湾诸河口潜在生态风险评价[J]. 环境科学研究, 2002, 15(5): 33-37. LIU C, WANG Z Y, HE Y, et al. Evalution on the potential ecological risk for the river mouths around bohai bay [J]. Research of Environmental Sciences, 2002, 15(5): 33-37(in Chinese).
- [16] SUNDA W G. Trace metal interactions with marine phytoplankton [J]. Biological Oceanography, 1988, 6(5-6): 411-442.
- [17] 胡金朝,郑爱珍.重金属胁迫对植物细胞超微结构的损伤[J].商丘师范学院学报,2005,21(5):132-134.
 JIN-ZHAO H U, ZHENG A Z. The damage of heavy metal stress on plant cell ultrastructure[J]. Journal of Shangqiu Teachers College, 2005, 21(5): 132-134(in Chinese).
- [18] 李冲杰, 綦晓青, 安美玲, 等. Hg²⁺对南极冰藻 ChlorophyceaeL-4 生长和抗氧化系统的影响及藻体富集 Hg²⁺的规律[J]. 微生物学 通报, 2015, 42(1): 24-33.
 LI C J, QI X Q, AN M L, et al. Influence of Hg²⁺ on the growth and the antioxidant system of Antarcticalgae Chlorophyceae L-4 and the feature of itsaccumulating Hg²⁺[J]. Microbiology China, 2015, 42(1): 24-33(in Chinese).
- [19] 战玉杰,杨茹君,王修林,等.Hg(Ⅱ)和Pb(Ⅱ)对海洋单细胞藻的急性毒性效应[J].生态毒理学报,2011,06(5):523-531. ZHAN Y J, YANG R J, WANG X L, et al. Acute toxic effect of Hg(Ⅱ) and Pb(Ⅱ) on marine unicellular algae[J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2011, 6(5):523-531(in Chinese).
- [20] 马春宇. 纳米二氧化硅和氧化锌在海水中的物化行为及致毒效应[D]. 厦门.厦门大学, 2013.
 MA C Y. The physical and chemical behaviour of nano-SiO₂ and nano-ZnO, and their toxic effect[D]. Xiamen: Xiamen university, 2013 (in Chinese).
- [21] CHANG J S, CHANG K L, HWANG D F, et al. In vitro cytotoxicitiy of silica nanoparticles at high concentrations strongly depends on the metabolic activity type of the cell line[J]. Environmental Science & Technology, 2007, 41(6): 2064-2068.
- [22] ALSHARIF N H, BERGER C E M, VARANASI S S, et al. Alkyl-capped silicon nanocrystals lack cytotoxicity and have enhanced

intracellular accumulation in malignant cells via cholesterol-dependent endocytosis[J]. Small, 2009, 5(2): 221-225

[23] 王萌,刘珊珊,龙奕,等. 沉积物中不同浓度多壁碳纳米管对 Cd 和 BDE-47 生态毒性的影响[J]. 环境科学学报, 2015, 35(12): 4150-4158

WANG M, LIU S S, LONG Y. et al. Impacts of multi-walled carbon nanotubes on ecotoxicity of Cd and BDE-47 in sediments [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2015, 35(12);4150-4158(in Chinese).

- [24] LIU S, JIANG W, WU B, et al. Low levels of graphene and graphene oxide inhibit cellular xenobiotic defense system mediated by efflux transporters[J]. Nanotoxicology, 2016, 10(5): 597-599.
- [25] 吴明珠,何梅琳,邹山梅, et al. 纳米 MgO 对斜生栅藻的毒性效应及致毒机理[J]. 环境化学, 2015, 34(7): 1259-1267.
 WU M Z, HE M L, ZOU S M, et al. Toxicities and mechanisms of MgO nanoparticles to Scenedesmus musobliquus[J]. Environmental Chemistry, 2015, 34(7):1259-1267(in Chinese).
- [26] YANG W W, MIAO A J, YANG L Y. Cd²⁺ Toxicity to a green alga *Chlamydomonas reinhardtii* as influenced by its adsorption on TiO₂ engineered nanoparticles [J]. Plos One, 2012, 7(3): e32300.
- [27] LAMELAS C, PINHEIRO J P, SLAVEYKOVA V I. Effect of humic acid on Cd(II), Cu(II), and Pb(II) uptake by freshwater algae: Kinetic and cell wall speciation considerations[J]. Environmental Science & Technology, 2009, 43(3): 730-735.
- [28] ZHU X D, WANG Y J, SUN R J, et al. Photocatalytic degradation of tetracycline in aqueous solution by nanosized TiO₂ [J]. Chemosphere, 2013, 92(8): 925-932.
- [29] 崔洪梅,刘宏,王继扬,等. 纳米粉体的团聚与分散[J]. 机械工程材料, 2004, 28(8): 38-41.
 CUI H M, LIU H, WANG J Y, et al. Allomeration and disperasion of nana-scale powders [J]. Materials for Mechanical Engineering, 2004, 28(8): 38-41(in Chinese).
- [30] 谭凌艳,杨柳燕,缪爱军.人工纳米颗粒对重金属在水生生物中的富集与毒性研究进展[J].南京大学学报(自然科学),2016,52 (4):582-589.
 TAN L Y, YANG L Y, MIAO A J, et al. Engineered nanoparticle effects on heavy metal bioaccumulationand toxicity in aquatic ecosystem

TAN L Y, YANG L Y, MIAO A J, et al. Engineered nanoparticle effects on heavy metal bioaccumulationand toxicity in aquatic ecosystem [J]. Journal of Nanjin University(Natural Science), 2016, 52(4): 582-589(in Chinese).

- [31] 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 & Bioanalytical Chemistry, 2010, 396(2): 609-618.
- [32] 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.
- [33] Ruth Merrifield, Jamie Leda, Chady Stephan. 单细胞 ICP-MS 技术分析水中藻类的纳米颗粒摄入[J]. 环境化学, 2016, 35(10): 2223-2225.

Ruth Merrifield, Jamie Leda, Chady Stephan. Uptake of nanoparticles by fresh water algae using single cell ICP-MS[J]. Environmental Chemistry, 2016, 35(10):2223-2225(in Chinese)

[34] YANG W W, WANG Y, HUANG B, et al. TiO₂nanoparticles act as a carrier of Cd bioaccumulation in the ciliate *Tetrahymena thermophila* [J]. Environmental Science & Technology, 2014, 48(13): 7568-7570.