

水源与饮用水保障

汪小雄, 杨楠, 高静思. 聚苯乙烯纳米塑料对铜绿微囊藻生长的毒性效应[J]. 净水技术, 2026, 45(1): 35-44.

WANG X X, YANG N, GAO J S. Toxic effect of polystyrene nanoplastics on growth of *Microcystis aeruginosa* [J]. Water Purification Technology, 2026, 45(1): 35-44.

聚苯乙烯纳米塑料对铜绿微囊藻生长的毒性效应

汪小雄*, 杨 楠, 高静思

(深圳职业技术大学材料与环境工程学院, 广东深圳 518055)

摘要 【目的】本文研究聚苯乙烯纳米塑料(PS-NPs)对铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)生长的影响,认识PS-NPs对铜绿微囊藻的胁迫和毒理作用,以及为淡水生态系统保护和修复提供理论依据。【方法】本文选择含不同浓度PS-NPs的培养基开展了铜绿微囊藻的培养试验,分析PS-NPs对铜绿微囊藻的生长、光合特性、抗氧化系统和细胞表面形态的影响。【结果】在PS-NPs对铜绿微囊藻的15 d暴露试验中发现,藻的生长速率、光合作用效率以及氧化损伤作用强度与PS-NPs浓度呈正相关关系。在试验第10 d,PS-NPs质量浓度大于50 mg/L时,藻细胞叶绿素a(Chl-a)浓度的抑制率高达70%以上。PS-NPs主要通过抑制藻类光反应的电子传递降低藻细胞光能利用和光合作用的效率,并导致藻细胞出现丙二醛(MDA)的积累和脂质过氧化。扫描电镜发现,PS-NPs可在藻细胞表面聚集,并出现裂纹,较高浓度的PS-NPs暴露造成的藻细胞损伤更为严重。【结论】PS-NPs在较高的浓度下,PS-NPs通过抑制藻类光反应的电子传递,限制了能量的正常传递,从而影响藻类的正常生长。PS-NPs促进微囊藻的活性氧的增加,从而破坏其生理平衡。PS-NPs与微囊藻细胞易发生异质聚集,使其表面结构发生紊乱和变形。

关键词 纳米塑料 铜绿微囊藻 光合特性 抗氧化系统 毒性效应

中图分类号: X703 **文献标志码:** A **文章编号:** 1009-0177(2026)01-0035-10

DOI: 10.15890/j.cnki.jsjs.2026.01.005

Toxic Effect of Polystyrene Nanoplastics on Growth of *Microcystis aeruginosa*

WANG Xiaoxiong*, YANG Nan, GAO Jingsi

(School of Materials and Environmental Engineering, Shenzhen Polytechnic University, Shenzhen 518055, China)

Abstract [Objective] This paper investigates the effects of polystyrene nanoplastics (PS-NPs) on the growth of *Microcystis aeruginosa*, understands the stress and toxic effects of PS-NPs on *Microcystis aeruginosa*, and provides theoretical basis for the protection and restoration of freshwater ecosystems. [Methods] This paper conducted cultivation experiments on *Microcystis aeruginosa* using culture medium containing different concentrations of PS-NPs, and analyzed the growth, photosynthetic characteristics, antioxidant system, and cell surface morphology of *Microcystis aeruginosa* by PS-NPs. [Results] Under the 15 day exposure experiment, it was positively correlated with the concentration of PS-NPs for the growth rate, photosynthetic efficiency, and oxidative damage intensity of *Microcystis aeruginosa*. The inhibition rate was over 70% of chlorophyll-a (Chl-a) concentration when the concentration was more than 50 mg/L of PS-NPs on the 10th day of the experiment. PS-NPs mainly reduced the efficiency of algal cell light energy utilization and photosynthesis by inhibiting the electron transfer of algal photoreaction, and led to the accumulation of malondialdehyde (MDA) and lipid peroxidation in algal cells. Scanning electron microscopy revealed that PS-NPs could aggregate on the surface of algal cells and cracks. Especially at higher concentrations. [Conclusion] PS-NPs could limit the normal transfer of energy by inhibiting the electron transfer in algal photoreaction, thereby affecting the normal growth of algae at higher concentrations.

[收稿日期] 2024-12-25

[基金项目] 国家自然科学基金(51978415);广东省教育厅重点领域专项(2022ZDZX4100);深圳职业技术大学科技项目(6020320001K0)

[通信作者] 汪小雄(1972—),男,研究员,主要从事水源水质保障及有害藻类控制研究等工作,Email: wangxiaoxtong20@szpu.edu.cn。

PS-NPs can promote reactive oxygen species in *Microcystis aeruginosa*, thereby disrupting its physiological balance. PS-NPs are prone to heterogeneous aggregation with algal cells, leading to surface structure disorder and deformation.

Keywords nanoplastic *Microcystis aeruginosa* photosynthetic characteristic antioxidant system toxic effect

塑料在全球范围的使用,带来了经济效益,也产生了一系列环境问题。研究^[1-3]表明,废弃的塑料在经历机械损伤、化学分解和生物降解后,最终分解为微米/纳米级别的颗粒。纳米塑料由于尺寸微小和在水环境中的流动性,对水环境破坏作用更大^[4-6],它们可吸附环境中的其他污染物,如重金属和有机物,形成复合型污染物,影响到水生动物的摄食和繁殖等过程^[7-8]。此外,纳米塑料可通过迁移行为,在其他环境中传播更为广泛^[9-11],并随着食物链的传递在人体内积累,并对人类健康产生更大的威胁^[12-14]。近年来,由于管理不善,塑料降解后形成的微/纳米颗粒对水生生物的毒害更加突出,并日益受到环保工作者的广泛关注^[15]。

微藻在淡水等水体中生长发育,作为初级生产者对维护水环境,以及自然界的生态起着重要作用,任何有害物质都可能影响其正常的繁殖和生长,进而影响营养级较高的生物,并破坏了食物链,因此被广泛用作生态毒理学评估的目标生物^[16]。铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)是一种常见的淡水微藻,由于其较短的生长周期、易于培养和试验以及容易受到水环境中各种污染物的影响并对污染物高度敏感^[17-18],已被广泛用作生物模型来评估纳米塑料的胁迫作用^[19]。因此,阐明纳米塑料对微藻生长的毒性效应,并分析其对淡水环境的影响很有必要。

近年来,聚苯乙烯纳米塑料(PS-NPs)被广泛应用于化妆护肤领域^[20],本试验以PS-NPs为污染物,研究评估PS-NPs对铜绿微囊藻的生长、光合活性、氧化应激能力和细胞表面形态结构的影响。研究将揭示PS-NPs对淡水环境中的生产者构成的潜在威胁,为生态系统的保护提供理论依据和技术指导。

1 材料与方法

1.1 PS-NPs材料和表征

尺寸为500 nm的PS-NPs由中科雷鸣公司(中国北京)提供,采用BG-11培养基配制5 000 mg/L的储备液。扫描电镜(SEM)观察PS-NPs表面形貌,使用溴化钾压片法,傅里叶红外光谱仪(FTIR)观察PS-NPs表面官能团^[21]。

1.2 藻种及培养

试验的藻种为铜绿微囊藻,由中国科学院水生生物研究所(中国武汉)提供。PS-NPs悬浮液置于超声浴(KQ-100,中国昆山)中超声30 min,得到分散良好的颗粒。BG-11培养基^[22]经高压蒸汽灭菌锅在121 °C条件下进行灭菌30 min处理,将藻接种后放置于光照培养箱培养;培养条件设置如下:光强约为30 μmol/(m²·s);培养温度为(26±1) °C,光照黑暗比为12 h:12 h;定时摇晃次数为1~2次/d。

1.3 纳米塑料暴露试验

PS-NPs浓度设置1个对照组和4个质量浓度梯度组(12.5、25.0、50.0、100.0 mg/L),浓度参照文献^[23]并修改。锥形瓶内加入100 mL BG-11培养基,接种1 mL处于对数期的微囊藻,初始藻叶绿素a(Chl-a)质量浓度约为30 μg/L,加入适量PS-NPs悬浮液并均匀分散至藻液中,调节PS-NPs浓度至设定值,并用BG-11培养基定容到相同体积,每个浓度梯度设置3个平行样。于试验第1、4、7、10、13、15 d分别取样,进行藻的Chl-a浓度生物量测定,并依据式(1)计算藻的抑制率(I_R)。根据计算得到的 I_R ,采用Excel绘制成散点图,并非线性回归拟合得到方程,Y值取50%时,反自然对数计算浓度值,即得到半抑制浓度(EC₅₀)。

$$I_R = (1 - C_t / C_0) \times 100\% \quad (1)$$

其中: I_R ——抑制率;

C_t —— t 时刻测定的Chl-a质量浓度,

μg/L;

C_0 ——初始的Chl-a质量浓度,μg/L。

1.4 叶绿素荧光参数测定

采用浮游植物荧光分类仪(Phyto-PAM, Walz,德国)测量藻的叶绿素荧光参数。藻液先暗适应6 min后再进行试验测定,最大光合作用效率(F_v/F_m)和藻细胞生物量Chl-a浓度可在荧光仪上直接读出。根据测量的藻的电子相对传递速率对应光照强度绘成图,可得到快速光曲线,由于其测量时间短,对光合状态影响小,能反映细胞水平上样品的光合活性。参照Platt等^[24]的方法,通过拟合快速光

反应曲线,可得到光合作用参数的 F_v/F_m 、光能利用效率(α)和最大电子相对传递速率($E_{r,max}$)。

1.5 抗氧化系统测定

第 2、5、8、11、14 d, 分别收集藻细胞悬浮液, 取 10 mL 放入离心管, 在 7 000 g 离心力和 4 ℃ 温度下离心 10 min 再收集细胞, 移除上部清液 5 mL, 然后加入 5 mL 的磷酸盐缓冲液(PBS)悬浮细胞, 利用超声细胞破碎仪(JY92-IIIN, SCIENTZ, 中国)破碎 6 min(超声时间为 5 s, 间歇时间为 5 s, 功率为 300 W, 冰水浴), 破碎好的样品在 6 000 g 的离心力下离心 10 min^[25], 收集 2 mL 上清液用于试验。

使用 Bradford 蛋白试剂盒测定样品可溶性蛋白浓度。将待测样品和试剂移取到 96 孔板中, 在酶标仪下(Epoch, BioTek, 美国)测定 595 nm 波长下吸光度(A)值。丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)等试剂盒由南京建成生物工程研究所提供(中国南京), 分别参照说明书在 532、450、405 nm 处测定 A 值。

1.6 藻细胞形态结构观测

取 10 mL 藻液在 5 000 r/min、4 ℃ 条件下离心 10 min, 吸除上部清液并加入 10 mL 2.5% 戊二醛溶

液, 置于 4 ℃ 冰箱中固定 24 h 后在 5 000 r/min、4 ℃ 条件下离心 10 min, 除去上部清液, 用 PBS(0.1 mol/L, pH 值 = 7.0)润洗 3 次(每次离心 5 min), 分别用浓度梯度乙醇溶液脱水, 每个浓度静置 20 min 后离心 5 min。去掉上部清液后冷冻真空干燥, 采用乙醇和乙酸异戊酯(体积比为 1 : 1)处理干燥后样品, 时间为 30 min, 然后采用纯乙酸异戊酯处理, 时间为 1 h。冷冻真空干燥样品后, 溅射金, SEM(JSM-IT800, JEOL, 日本)观察藻细胞形态变化。

1.7 统计分析

SPSS 13.0 软件包进行统计分析, PS-NPs 浓度和胁迫时间作为双因子自变量, 对结果进行统计分析。统计概率(P)<0.05 表示有差异, $P<0.01$ 表示差异显著, $P<0.001$ 表示差异显著, 采用双因子方差分析对结果进行统计分析。

2 结果与讨论

2.1 PS-NPs 的物理特性

PS-NPs 的物理特性如图 1 所示, 由 SEM 图可知, 试验采用的 PS-NPs 粒径均匀, 约为 500 nm, 表面光滑[图 1(a)、图 1(b)]。FTIR 图片可以看出, 3 441 cm⁻¹ 归属于水分子中羟基的震动峰, 3 082 cm⁻¹

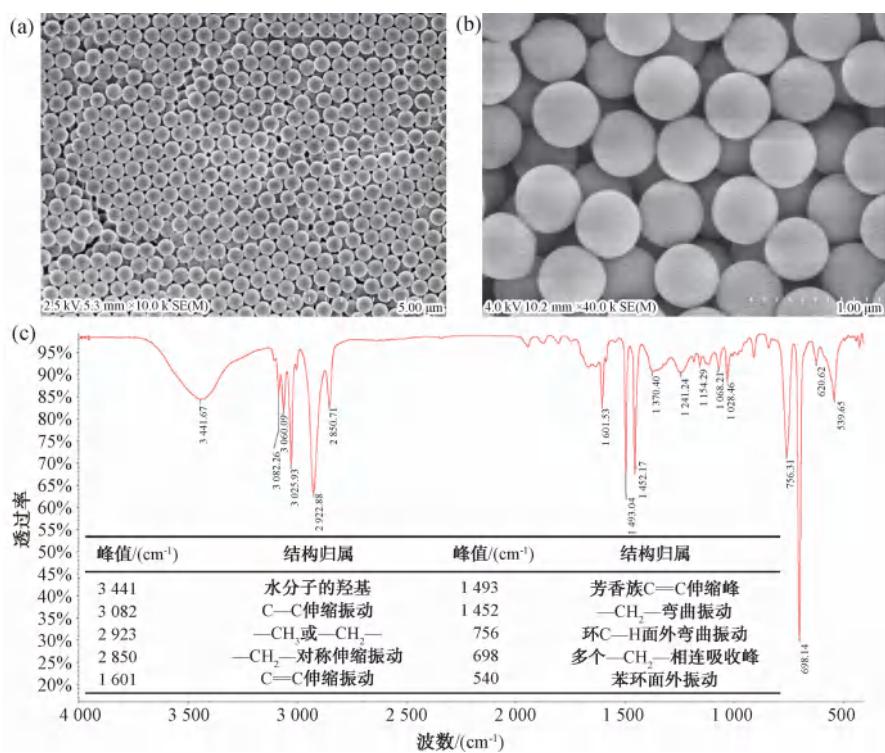


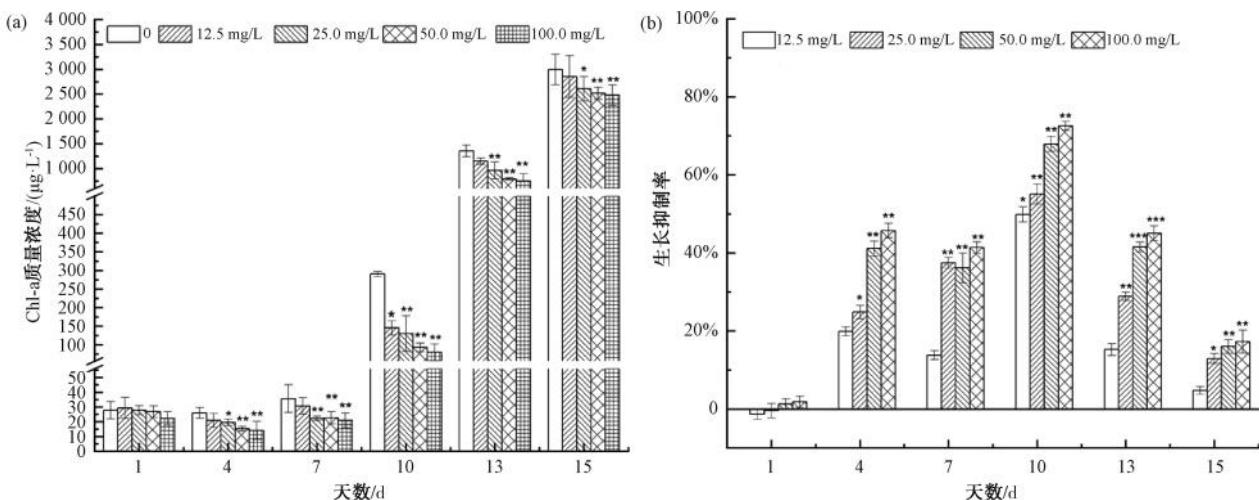
图 1 PS-NPs 的(a~b)SEM 图;(c) FTIR 图

Fig. 1 (a~b) SEM Image; (c) FTIR Image of PS-NPs

是 C—C 的伸缩振动, $2\ 923\text{ cm}^{-1}$ 为甲基($-\text{CH}_3$)或亚甲基($-\text{CH}_2$)的伸缩振动, $2\ 850\text{ cm}^{-1}$ 为 $-\text{CH}_2-$ 的对称伸缩振动, $1\ 601\text{ cm}^{-1}$ 为 $\text{C}=\text{C}$ 伸缩振动吸收峰, $1\ 493\text{ cm}^{-1}$ 为芳香族环的 $\text{C}=\text{C}$ 伸缩峰, $1\ 452\text{ cm}^{-1}$ 为 $-\text{CH}_2-$ 位置的弯曲振动峰, 756 cm^{-1} 为苯环上 $\text{C}-\text{H}$ 键的面外弯曲振动, 698 cm^{-1} 归属于多个 $-\text{CH}_2-$ 结构相连时的特征吸收峰, 540 cm^{-1} 为苯环的面外弯曲振动^[26] [图 1(c)]。

2.2 PS-NPs 对藻细胞生长的影响

采用不同浓度的 PS-NPs 处理铜绿微囊藻, 对藻的生长进行了 15 d 的监测。用 Chl-a 浓度和抑制率表征 PS-NPs 对铜绿微囊藻的抑制程度(图 2)。结果发现:处理组在第 1 d 时藻的生长没有多大的变化, 并没有受到明显抑制。经 PS-NPs 处理的铜绿微囊藻的 Chl-a 浓度在第 1 d 时, 处理组和对照组 Chl-a 质量浓度均分布在 $21\sim30\ \mu\text{g/L}$, 无显著差异 ($P>0.05$) [图 2(a)]。第 10 d 时, PS-NPs 质量浓度为 50.0 、 $100.0\ \mu\text{g/L}$ 时, Chl-a 质量浓度分别约为 93 、 $80\ \mu\text{g/L}$, 对照组为 $290\ \mu\text{g/L}$, 藻类的生长受到明显抑制, 具有显著性差异 ($0.01 < P < 0.05$)。然而, 第 15 d 时, 对照组 Chl-a 质量浓度约为 $2\ 996\ \mu\text{g/L}$, 各 PS-NPs 浓度处理组的 Chl-a 浓度有所回升, 抑制效率趋于下降。



注: * 表示 $P<0.05$; ** 表示 $P<0.01$; *** 表示 $P<0.001$, 下同。

图 2 不同浓度 PS-NPs 处理后藻细胞 (a) Chl-a 浓度和 (b) 生长抑制率的变化

Fig. 2 Changes in (a) Chl-a Concentration; and (b) Growth Inhibition Rate of Algal Cells Treated with Different Concentrations of PS-NPs

EC_{50} 指能引起 50% 最大效应的半数效应浓度。表 1 为微囊藻在 PS-NPs 胁迫下, 得到的

同理, 铜绿微囊藻的生长抑制率随着 PS-NPs 浓度的增加, 藻的生长抑制率增加[图 2(b)]。第 1~10 d, 质量浓度为 50.0 、 $100.0\ \mu\text{g/L}$ PS-NPs 处理组对藻类的生长抑制率分别由第 1 d 的 1.3% 和 1.8% 提高到 67.9% 和 72.6% (第 10 d), 表现出最高的生长抑制率, 与对照组相比, 具有显著性差异 ($0.01 < P < 0.05$)。第 10~15 d 时, 藻的生长抑制率与前 10 d 相比有所减弱, 上述 2 种浓度处理组的生长抑制率在第 15 d 分别为 16% 和 17.3% 。铜绿微囊藻暴露于 PS-NPs 后, Chl-a 浓度均呈下降趋势, PS-NPs 浓度越大, 下降趋势更明显^[27]。研究表明: PS-NPs 对铜绿微囊藻的毒性, 短期内具有显著的抑制作用。试验后期, 各浓度组的藻细胞均显示出一定的恢复, 表明抑制作用并非持久性的^[28]。同时, 试验表明: PS-NPs 在短期内对藻类的影响较大, 尤其是高浓度处理组($50.0\ \mu\text{g/L}$ 和 $100.0\ \mu\text{g/L}$), 第 10 d 后, 藻类生长抑制率可达 70% 。以往的研究^[29]也表明: 纳米塑料对藻的毒性影响与其暴露时间、剂量和培养基成分等因素相关。此外, 本研究中采用的浓度比较实际环境偏高, 更有利于探索 PS-NPs 毒性机制, 但对于实际环境中是否能达到上述最大浓度和达到的毒性程度需要进一步调研。

EC_{50} 浓度, 由表 1 可知, 在第 1 d 时, EC_{50} 最大, 表明 PS-NPs 对藻的毒性最小, 可能是 PS-NPs 的

毒性还没有表现,或还没有影响到藻的生物量减少的原因,在第 7 d 时 EC_{50} 最小,代表此时毒性最大,对藻生长抑制能力最强,随着时间的延长, EC_{50} 逐渐增大,后期阶段微囊藻的 EC_{50} 值稍微有区别,可能 PS-NPs 与微囊藻发生异质聚集造成培养液中 PS-NPs 浓度降低,微囊藻对 PS-NPs 的适应性增强或微囊藻的子细胞不断增殖等原因所造成的。以上研究表明:通过比较 EC_{50} 值,可评估 PS-NPs 对铜绿微囊藻的毒性,从而了解 PS-NPs 对铜绿微囊藻在不同时间段的毒性影响,在初期影响较小,可能藻类与 PS-NPs 之间有个拮抗过程,因此 EC_{50} 值比较大,而在后期毒性逐渐显现出来, EC_{50} 值变小。

表 1 铜绿微囊藻在 1、4、7、10、13 d 和 15 d 的 EC_{50} 值

Tab. 1 EC_{50} Values of *Microcystis aeruginosa* Exposed to PS-NPs after 1, 4, 7, 10, 13 d and 15 d

检测项目	$EC_{50}/(mg\cdot L^{-1})$					
	1 d	4 d	7 d	10 d	13 d	15 d
Chl-a 质量浓度	39.10	3.22	2.38	5.71	3.67	4.65

2.3 PS-NPs 对藻细胞光合特性的影响

F_v/F_m 、 α 和 $E_{r,max}$ 已经常被作为浮游植物光适应状态的参数,用于评价藻类生长状态^[30-31]。试验测量出的光合电子相对传递速率与光强度值作图,可得到快速光曲线,并由此获得光合活性参数,包括

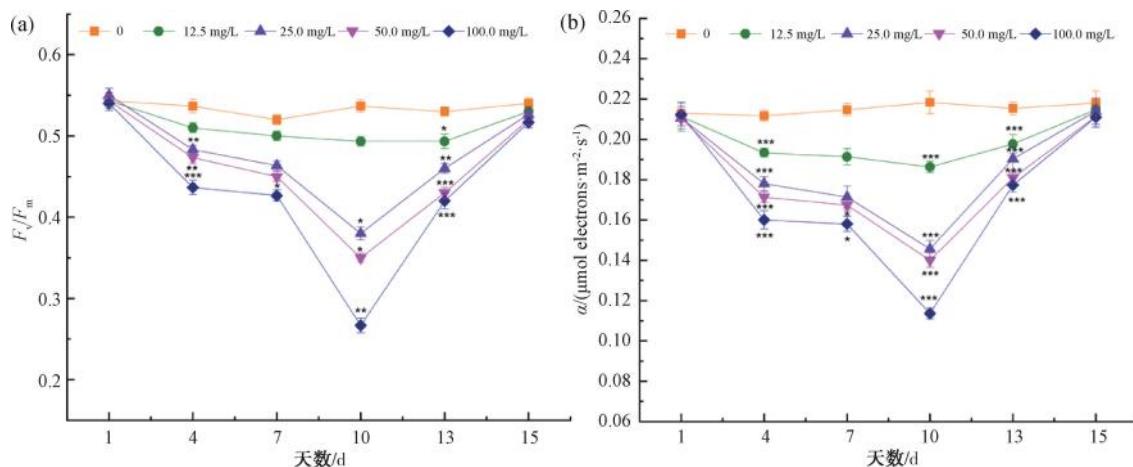


图 3 不同浓度 PS-NPs 暴露后铜绿微囊藻(a) F_v/F_m 和(b) α 的变化

Fig. 3 Time-Course of (a) F_v/F_m ; and (b) α of *Microcystis aeruginosa* Exposed to Different Concentrations for PS-NPs

电子传递速率与光合作用的光反应密切相关,通过测定藻类的 $E_{r,max}$,可研究 PS-NPs 对藻类光反应的胁迫,试验获得的藻细胞 $E_{r,max}$ 的变化如图 4 所示。试验开始阶段,对照组和处理组的 $E_{r,max}$ 相

F_v/F_m 、 α 和 $E_{r,max}$ 。经 12.5、25.0、50.0 mg/L 和 100.0 mg/L 不同质量浓度 PS-NPs 处理后,微囊藻细胞的 F_v/F_m 和 α 变化趋势如图 3 所示。在第 1 d 对照组和处理组的 F_v/F_m 均在 0.5 左右,第 4 d 后, F_v/F_m 值开始下降,第 4~10 d 期间,各处理组 F_v/F_m 值的逐渐降低,在第 10 d,对照组 F_v/F_m 值为 0.54,最低值为 0.27(PS-NPs 为 100 mg/L),与对照组相比,具有显著性差异($0.01 < P < 0.05$)。第 10 d 后, F_v/F_m 开始呈上升趋势,第 15 d 试验组和对照组 F_v/F_m 值基本恢复到 0.5 以上[图 3(a)]。

快速光曲线显示,各处理组藻细胞暴露于不同浓度 PS-NPs 后, α 值与 F_v/F_m 值的变化趋势具有相似性[图 3(b)]。第 1 d 对照组和处理组的 F_v/F_m 均在 0.2 左右,第 4 d 处理组的藻细胞 α 开始下降。第 7 d 时,100 mg/L 的 PS-NPs 处理组中,藻细胞 α 值为 $0.16 \mu\text{mol e}^- / (\text{m}^2 \cdot \text{s})$,对照组为 $0.21 \mu\text{mol e}^- / (\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 。 100 mg/L 的 PS-NPs 组中(第 10 d),藻细胞 α 值为 $0.11 \mu\text{mol e}^- / (\text{m}^2 \cdot \text{s})$,对照组为 $0.22 \mu\text{mol e}^- / (\text{m}^2 \cdot \text{s})$,具有极显著性差异($P < 0.001$)。显示高浓度 PS-NPs 处理组藻细胞的 α 受到强烈抑制,约为对照组的 50%。然而,试验结束后,藻类的 α 值与对照组相差不大,未显示出明显的抑制作用,可能随着藻细胞密度增长,抑制效果减弱。

差不大,处理组对藻类的 $E_{r,max}$ 有较弱的促进作用,第 4 d 时,出现较明显的抑制作用,第 10 d 时,PS-NPs 高浓度处理组的 $E_{r,max}$ 值分别为 $82 \mu\text{mol e}^- / (\text{m}^2 \cdot \text{s})$ (50 mg/L) 和 $62 \mu\text{mol e}^- / (\text{m}^2 \cdot \text{s})$ (100 mg/L)。表明 PS-NPs 对藻类光合电子传递速率有抑制作用,且抑制程度随 PS-NPs 浓度增加而增加,但抑制作用在试验结束时有所缓解。

mg/L),对照组为 $156 \mu\text{mol e}^-/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 分别约为对照组的 53% 和 40%, PS-NPs 对藻类的电子传递抑制作用明显, 具有极显著性差异 ($P < 0.001$)。然而, 第 10 d 以后, PS-NPs 对藻类的电子传递抑制作用逐渐减弱。试验结束, 100 mg/L 处理组, 藻类 $E_{r,\max}$ 值为 $164 \mu\text{mol e}^-/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ [对照组为 $181 \mu\text{mol e}^-/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$]。

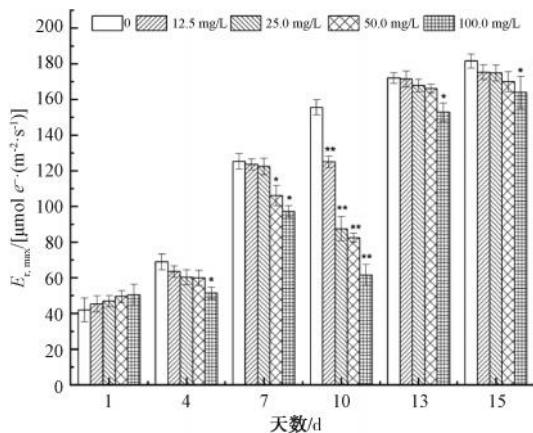


图 4 不同浓度 PS-NPs 暴露后铜绿微囊藻 $E_{r,\max}$ 的改变

Fig. 4 $E_{r,\max}$ Changes of *Microcystis aeruginosa* Exposed to Different Concentrations of PS-NPs

利用浮游植物荧光分类仪能有效测定光系统 II (PS II) 对其生长影响的生理学机制^[32-33]。光量子产生效率的下降将导致电子转移和电荷分离量降低, 并影响到腺嘌呤核苷三磷酸 (ATP) 的形成和二氧化碳的固定^[34]。通过研究铜绿微囊藻对 PS-NPs 的暴露试验发现: PS-NPs 可以在一定程度上影响藻细胞的光合作用, 如藻细胞光合作用的 F_v/F_m 、 α 和 $E_{r,\max}$ 的参数, 尤其是在早期阶段(前 10 d), 高浓度的 PS-NPs 对藻细胞上述调控更为显著, 对藻类光合作用造成损害, 参数 F_v/F_m 、 α 和 $E_{r,\max}$ 降低明显。PS-NPs 通过抑制藻类光反应的电子传递, 影响能量的正常传递, 降低藻细胞光能利用和光合作用的效率。此外, PS-NPs 的暴露对藻细胞的 $E_{r,\max}$ 也产生了明显影响。初始阶段, 藻细胞暴露于 PS-NPs 后的 $E_{r,\max}$ 略高于对照组, 这可能是由于藻细胞产生了应激反应, 促进了光合作用活性^[35]。随后, PS-NPs 对藻细胞的 $E_{r,\max}$ 抑制作用逐渐增强, 第 10 d, 抑制能力达到峰值。综上所述, 高浓度 PS-NPs 的暴露, 降低了藻细胞光合作用中的电子传递速率, 从而影响了藻类光合作用的光反应, 并抑制了藻类的生长。随着试验的进行和藻细胞数量的增加, PS-

NPs 的抑制能力减弱, 可能是微藻或者 PS-NPs 与藻类产生聚集或异质沉降等原因, 导致上清液 PS-NPs 浓度降低, 最终微囊藻生长恢复或者抑制能力减弱^[36]。

2.4 微囊藻抗氧化系统的变化

PS-NPs 对铜绿微囊藻细胞 MDA 的影响如图 5 所示。在 PS-NPs 持续暴露后, 藻细胞的 MDA 含量发生了一定的变化, 在试验的第 5 d, 藻细胞出现轻微的脂质氧化反应, 对照组 MDA 含量比较稳定, 表明未受脂质过氧化的明显影响且生长状态良好。第 8 d 和第 11 d 各处理组的 MDA 含量升高, 并且脂质氧化程度与 PS-NPs 浓度呈正相关, 高质量浓度组 (100.0 mg/L) 藻细胞 MDA 摩尔浓度为 $9.1 \mu\text{mol}$ (以每 g 蛋白计, 下同), 对照组摩尔浓度为 $5.43 \mu\text{mol}$, 约为对照组的 1.74 倍, 显著高于对照组, 具有极显著性差异 ($P < 0.001$), 出现了严重的脂质氧化现象。低浓度组 (12.5、25.0 mg/L) 藻细胞的脂质氧化现象同样可见, 例如, 低浓度组 12.5 mg/L 处理组的 MDA 含量略高于对照, 出现了较轻微的脂质氧化现象。

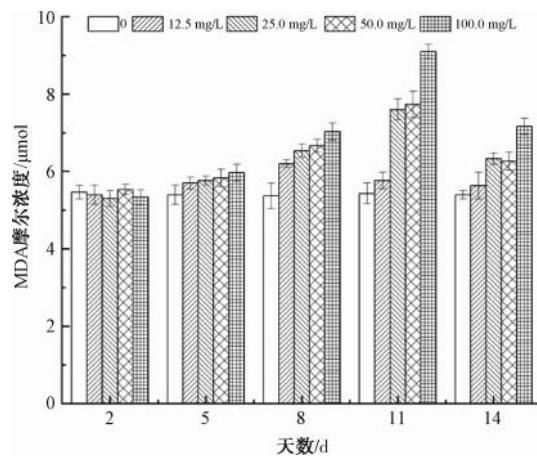


图 5 PS-NPs 对铜绿微囊藻 MDA 含量变化的影响

Fig. 5 Changes in MDA Content of *Microcystis aeruginosa* Exposed to Different Concentrations of PS-NPs

生物抗氧化系统能维持细胞生理稳定, 藻细胞为防止被氧化损伤, 由外界应激引起的活性氧 (ROS) 能够被抗氧化系统及时清除^[37]。MDA 为细胞膜过氧化后的产物, 其含量升高, 藻细胞膜脂质过氧化加剧。不同浓度的 PS-NPs 处理组, 藻细胞均出现了 MDA 的积累, 说明藻细胞发生膜脂过氧化^[38]。脂质氧化是由氧化应激引起的重要结果, 较高的氧化水平最终会显著抑制藻细胞的生长。试验

中 MDA 含量随 PS-NPs 暴露浓度的升高而增加,造成微囊藻脂质过氧化,增加了藻细胞 ROS 的含量^[39],导致了细胞 MDA 含量的增加。PS-NPs 对藻类的后期应激效应减弱,如在试验的第 14 d,MDA 含量逐渐恢复到正常水平,表明脂质氧化过程是可逆的,这与前述的藻类生物量水平,以及光反应相关参数在试验后期的研究结果较一致。

抗氧化系统对于生物细胞的生理平衡非常关键,当藻细胞抗氧化系统受损时,将影响 ROS 的清除,引发细胞脂质氧化^[40]。试验中,PS-NPs 暴露后,藻细胞的 SOD 和 CAT 的活性发生一定的变化(图 6)。在试验早期,浓度较高的 PS-NPs 刺激了藻细胞的抗氧化反应,导致 SOD 和 CAT 活性略有升高,与对照组相比,无显著性差异($P>0.05$)(最

高浓度组除外),以应对 ROS 的增加。随着时间的延长,高浓度 PS-NPs 组藻细胞的 SOD 和 CAT 活性明显下降,而低浓度组的变化不明显,显著高于对照组,具有显著性差异($0.01 < P < 0.05$)。第 5 d 和第 8 d,在 PS-NPs 质量浓度为 100 mg/L 的条件下,SOD 的活性分别为 11.47 U(以每 mg 蛋白计,下同)和 4.37 U,而对照组均为 15.47 U,分别约为对照组的 74% 和 28%,具有极显著性差异($P < 0.001$);同样对于 CAT,其活性分别为 4.03 U 和 1.6 U,对照组分别为 5.1 U 和 5.2 U,约为对照的 79% 和 31%,具有极显著性差异($P < 0.001$)。试验结束后,藻细胞的 SOD 和 CAT 活性逐渐恢复到正常水平,表明藻细胞的抗氧化系统受损是可逆的。

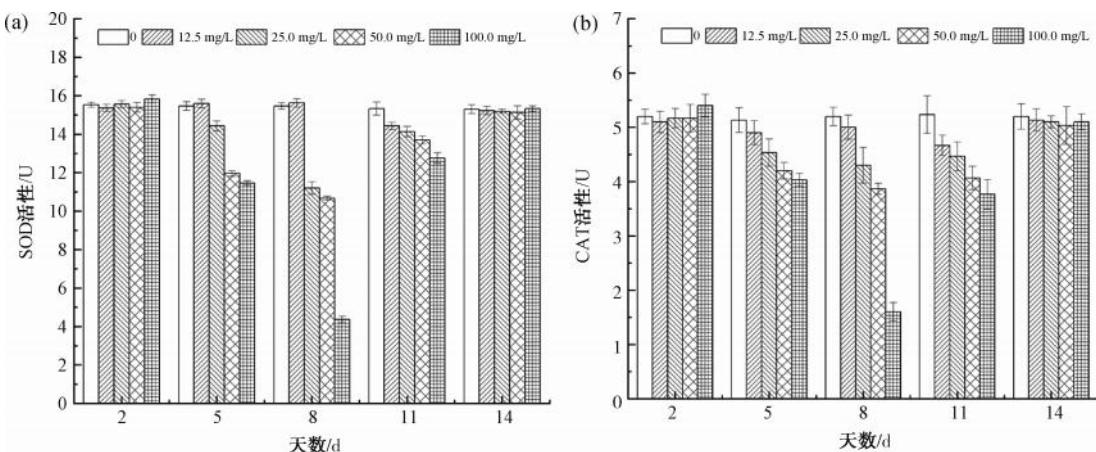


图 6 不同浓度 PS-NPs 暴露下铜绿微囊藻(a) SOD 活性和(b) CAT 活性的改变

Fig. 6 (a) SOD; and (b) CAT Activities Changes of *Microcystis aeruginosa* Exposed to PS-NPs under Different Concentrations

SOD 和 CAT 是抗氧化系统的关键性酶,通过清除 ROS 以维持藻细胞生理上的平衡。当受到环境胁迫时,藻体中的 SOD 和 CAT 执行清除过量的 ROS 以维持生理平衡^[40]。研究表明:低浓度的 PS-NPs 并不能持续胁迫藻细胞产生过量的 ROS,仅会使抗氧化系统的酶更加活跃地去清除 ROS,造成轻微的脂质氧化。这说明了在试验初期,低浓度 PS-NPs 处理组的 SOD 和 CAT 活性略高于对照的原因。高浓度的 PS-NPs 产生过量的 ROS,藻细胞若不能及时清除过量的 ROS,将加剧藻细胞的脂质氧化,导致 MDA 含量不断增加,使藻细胞最终因氧化损伤而失活^[39]。同时,暴露中期引起微囊藻 ROS 水平的显著升高,导致细胞膜的脂质过氧化现象,使细胞膜形态和功能发生改变。试验后期,虽然在 PS-NPs 暴露下,藻细胞 ROS 水平高于对照组,但较中

期有所下降(第 8 d),说明后期 PS-NPs 对藻细胞膜的损伤对于中期有所改善。

2.5 PS-NPs 对藻细胞形态的影响机制

为进一步探究 PS-NPs 对铜绿微囊藻表面形态的影响,结果如图 7 所示。研究发现,在试验第 10 d 和 13 d,对照组藻细胞呈现独立、完整、饱满的正常的形态[图 7(a)~图 7(b)];在 50 mg/L PS-NPs 质量浓度的暴露下,藻细胞发生凹陷变化,细胞结构表现不同程度的损伤。此外,部分藻细胞与 PS-NPs 发生异质聚集,出现物理损伤和细胞凋亡现象[图 7(c)~图 7(d)];当质量浓度增加至 100 mg/L,藻细胞损伤更为严重,大部分藻细胞被包裹在 PS-NPs 聚集体中,形态明显改变,并呈现凋亡特征[图 7(e)]。值得注意的是,到第 13 d 时,PS-NPs 暴露组可观察到异质聚集现象,但大部分藻细胞形态保持

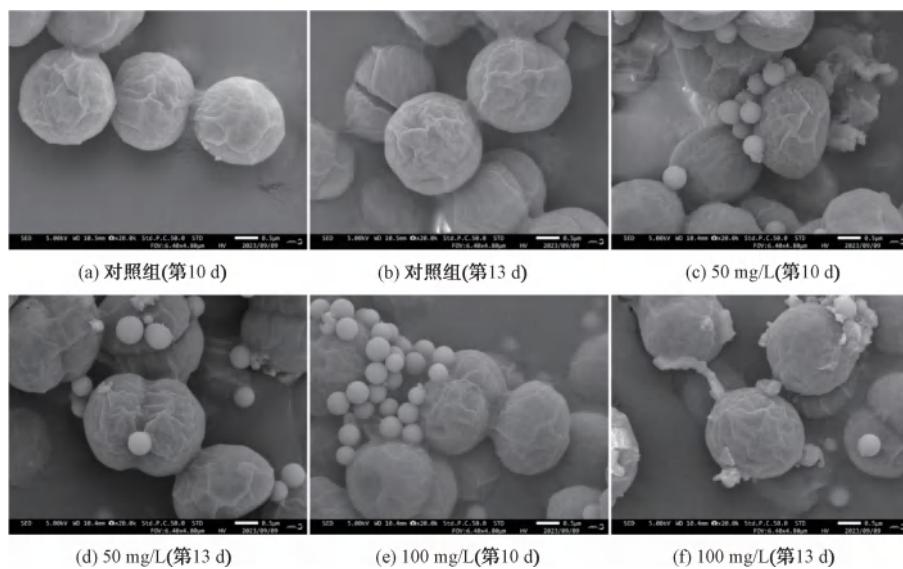


图 7 不同浓度 PS-NPs 暴露下藻细胞的 SEM 图

Fig. 7 SEM Images of Algae Cells Exposed to PS-NPs at Different Concentrations

完整,这可能是因为携带纳米塑料的死亡藻细胞与新生藻细胞分离,有利于新生藻细胞的正常生长[图 7(f)]。

铜绿微囊藻暴露于不同浓度的 PS-NPs 后,细胞膜出现了脂质过氧化现象,SEM 观测进一步揭示了 PS-NPs 对藻形态结构产生了影响,PS-NPs 被吸附到藻细胞表面后,在高浓度 PS-NPs 下,藻细胞更容易变形,导致藻细胞的结构发生紊乱,可能是藻类的毒性反应是由 PS-NPs 与微藻的相互作用导致的。基于以上原因,推测 PS-NPs 毒性是由于其附着于藻细胞表面,从而影响到藻类相关代谢的主要

机制,导致微囊藻细胞的 Chl-a 浓度下降、物理损伤、形态改变、细胞内氧化损伤,最终影响到藻类的正常生长^[41]。此外,附着在藻类细胞表面的 PS-NPs 会引起遮光,抑制藻类的光反应,异质聚集同时也加剧阻碍了藻细胞与外界物质传输通道,影响细胞内外物质与能量的交换,如细胞内的氧气和二氧化碳含量减少、有害物质不能及时排出等,从而加速了藻细胞的死亡^[39](图 8)。以后的研究中,应重点将纳米塑料暴露在藻细胞整个生长周期内,关注 PS-NPs 与微藻胞外聚合物的作用,进而全方位地了解其对藻细胞的影响。同时,应实时动态地研究光

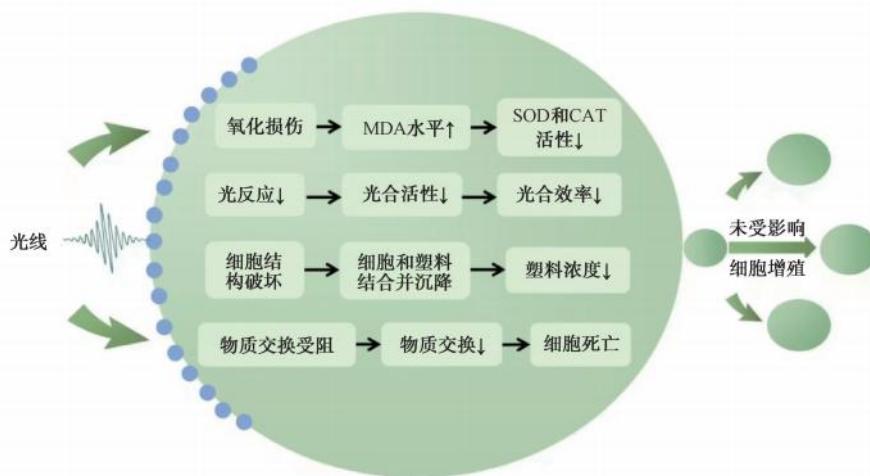


图 8 PS-NPs 对铜绿微囊藻的毒性机理

Fig. 8 Toxicity Mechanism of PS-NPs on *Microcystis aeruginosa*

系统损伤及调控机制,揭示纳米塑料对藻类光反应的影响机制。

3 结论

(1) PS-NPs 对藻细胞的毒性效应随着暴露时间的延长呈先增强后减弱的趋势。

(2) PS-NPs 通过抑制藻类光反应的电子传递,限制了能量的正常传递,降低藻细胞光能利用效率和光合作用效率,从而影响藻类的正常发育。

(3) 不同浓度的 PS-NPs 暴露的藻细胞均出现 MDA 的积累,表明对藻细胞造成脂质过氧化。

同时,高浓度 PS-NPs 组藻细胞的 SOD 和 CAT 活性的下降更为明显。试验结束,藻细胞的 SOD 和 CAT 活性恢复到正常水平。

(4) SEM 发现,PS-NPs 被吸附在藻细胞表面,PS-NPs 在较高的浓度下,更容易与藻细胞发生异质聚集,导致藻细胞表面结构发生紊乱和变形,影响藻细胞与外界的物质交换。

参考文献

- [1] BOUWMEESTER H, HOLLMAN P C H, PETERS R J B. Potential health impact of environmentally released micro- and nanoplastics in the human food production chain: Experiences from nanotoxicology [J]. Environmental Science & Technology, 2015, 49(15) : 8932–8947.
- [2] GIGAULT J, TER HALLE A, BAUDRIMONT M, et al. Current opinion: What is a nanoplastic? [J]. Environmental Pollution, 2018, 235(4) : 1030–1034.
- [3] HALLE A T, LADIRAT L, GENDRE X, et al. Understanding the fragmentation pattern of marine plastic debris [J]. Environmental Science & Technology, 2016, 50(11) : 5668–5675.
- [4] LOWE M A, MATHES F, LOKE M H, et al. Bacillus subtilis and surfactant amendments for the breakdown of soil water repellency in a sandy soil [J]. Geoderma, 2019, 344(2) : 108–118.
- [5] LI D, LUO Y H, CAI Y N, et al. Bacterial composition and nutrient removal with a novel PIA-A (2)/O sewage treatment [J]. Water Science & Technology, 2016, 73(11) : 2722–2730.
- [6] WANG Q, LIU W T, ZEB A, et al. Toxicity effects of polystyrene nanoplastics and arsenite on *Microcystis aeruginosa* [J]. Science of the Total Environment, 2023, 874(5) : 162496–162505.
- [7] BOTTERELL Z L R, BEAUMONT N, DORRINGTON T, et al. Bioavailability and effects of microplastics on marine zooplankton: A review [J]. Environmental Pollution, 2018, 245(2) : 98–110.
- [8] ANDERSON J C, PARK B J, PALACE V P. Microplastics in aquatic environments: Implications for Canadian ecosystems [J]. Environmental Pollution, 2016, 218(11) : 269–280.
- [9] FREE C M, JENSEN O P, MASON S A, et al. High-levels of microplastic pollution in a large, remote, mountain lake [J]. Marine Pollution Bulletin, 2014, 85(1) : 156–163.
- [10] DA COSTA J P, NUNES A R, SANTOS P S M, et al. Degradation of polyethylene microplastics in seawater: Insights into the environmental degradation of polymers [J]. Journal of Environmental Science and Health, 2018, 53(9) : 866–872.
- [11] GUO X, WANG J L. The chemical behaviors of microplastics in marine environment: A review [J]. Marine Pollution Bulletin, 2019, 142(5) : 1–14.
- [12] SILVA-CAVALCANTI J S, SILVA J D B, DE FRANCA E J, et al. Microplastics ingestion by a common tropical freshwater fishing resource [J]. Environmental Pollution, 2017, 221(2) : 218–226.
- [13] OGONOWSKI M, GERDES Z, GOROKHOVA E. What we know and what we think we know about microplastic effects—A critical perspective [J]. Current Opinion in Environmental Science & Health, 2018, 1(2) : 41–46.
- [14] RECEL M, CHÂTEL A, MOUNEYRAC C. Micro (nano) plastics: A threat to human health? [J]. Current Opinion in Environmental Science & Health, 2018, 1(2) : 17–23.
- [15] 章敏, 薄军, 郑榕辉, 等. 微(纳米) 塑料对海洋渔业水域中重要饵料藻类的生态风险评估研究 [J]. 生态毒理学报, 2022, 17(6) : 287–300.
- ZHANG M, BO J, ZHENG R H, et al. Ecological risk assessment of micro (nano) plastics to important bait algae in marine fishery waters [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2022, 17(6) : 287–300.
- [16] YANG W F, GAO X X, WU Y X, et al. The combined toxicity influence of microplastics and nonylphenol on microalgae *Chlorella pyrenoidosa* [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2020, 195(6) : 110484. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2020.110484.
- [17] LIU W H, MING Y, HUANG Z W, et al. Impacts of florfenicol on marine diatom *Skeletonema costatum* through photosynthesis inhibition and oxidative damages [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2012, 60(3) : 165–170.
- [18] SHI P, GENG S, FENG T, et al. Effects of *Ascophyllum nodosum* extract on growth and antioxidant defense systems of two freshwater microalgae [J]. Journal of Applied Phycology, 2018, 30(2) : 851–859.
- [19] CHEN J Q, GUO R X. Access the toxic effect of the antibiotic cefradine and its UV light degradation products on two freshwater algae [J]. Journal of Hazardous Materials, 2012, 209(3) : 520–523.

- [20] KWON B G, CHUNG S Y, PARK S S, et al. Qualitative assessment to determine internal and external factors influencing the origin of styrene oligomers pollution by polystyrene plastic in coastal marine environments [J]. Environmental Pollution, 2018, 234: 167–173. DOI: 10.1016/j.envpol.2017.11.046.
- [21] GAO Z, WANG S, ZHANG Y, et al. Single and combined toxicity of polystyrene nanoplastics and copper on *Platymonas helgolandica* var. *tsingtaoensis*: Perspectives from growth inhibition, chlorophyll content and oxidative stress [J]. Science of the Total Environment, 2022, 829(7): 154571–154579.
- [22] RIPPKA R, DERUELLES J, WATERBURY J B, et al. Generic assignments, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria [J]. Journal of General Microbiology, 1979, 111(1): 1–61.
- [23] 陈足音,洪喻,郝丽翀,等.老化微塑料对三角褐指藻生长及光合活性的影响 [J].环境科学与技术,2020,43(3):30–37.
- CHEN Z Y, HONG Y, HAO L H, et al. Effects of aging microplastics on the growth and photosynthetic physiology of *Phaeodactylum tricornutum bohlin* [J]. Environmental Science & Technology, 2020, 43(3): 30–37.
- [24] PLATT T, GALLEGOS C L, HARRISON W G. Photoinhibition of photosynthesis in natural assemblages of marine phytoplankton [J]. Journal of Marine Research, 1980, 38(4): 687–701.
- [25] YANG W W, TANG Z P, ZHOU F Q, et al. Toxicity studies of tetracycline on *Microcystis aeruginosa* and *Selenastrum capricornutum* [J]. Environmental Toxicology and Pharmacology, 2013, 35(2): 320–324.
- [26] SALOMON W, ROCH-MARCHAL C, MIALANE P, et al. Immobilization of polyoxometalates in the Zr-based metal organic framework UiO-67 [J]. Chemical Communications, 2015, 51(1): 2972–2975.
- [27] BHATTACHARYA P, LI S J, TURNER J P, et al. Physical adsorption of charged plastic nanoparticles affects algal photosynthesis [J]. Journal of Physical Chemistry C, 2010, 114(39): 16556–16561.
- [28] YOKOTA K, WATERFIELD H, HASTINGS C, et al. Finding the missing piece of the aquatic plastic pollution puzzle: Interaction between primary producers and microplastics [J]. Limnology and Oceanography Letters, 2017, 2(4): 91–104.
- [29] 杨东红,王飞,周北海,等.典型工程纳米材料对微藻的毒性效应研究进展 [J].地球与环境,2022,50(2):304–317.
- YANG D H, WANG F, ZHOU B H, et al. Research progress on toxicity effects of typical engineering nanomaterials on algae [J]. Earth and Environment, 2022, 50(2): 304–317.
- [30] WANG S B, WANG Y N, MA X X, et al. Effects of garlic and diallyl trisulfide on the growth, photosynthesis, and alkaline phosphataseactivity of the toxic cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* [J]. Environmental Science and Pollution Research, 2016, 23(6): 5712–5720.
- [31] LI N C, TONG M M, GLIBERT P M. Effect of allelochemicals on photosynthetic and antioxidant defense system of *Ulva prolifera* [J]. Aquatic Toxicology, 2020, 224(5): 105513. DOI: 10.1016/j.aquatox.2020.105513.
- [32] BARRINGTON D J, GHADOUANI A. Application of hydrogen peroxide for the removal of toxic cyanobacteria and other phytoplankton from wastewater [J]. Environmental Science & Technology, 2008, 42(23): 8916–8921.
- [33] OU H, GAO N Y, DENG Y, et al. Immediate and long-term impacts of UV-C irradiation on photosynthetic capacity, survival and microcystin-LR release risk of *Microcystis aeruginosa* [J]. Water Research, 2012, 46(4): 1241–1250.
- [34] GRZYMSKI J, ORRICO C, SCHOFIELD O. Monochromatic ultraviolet light induced damage to Photosystem II efficiency and carbon fixation in the marine diatom *Thalassiosira pseudonana* (3H) [J]. Photosynthesis Research, 2001, 68(3): 181–192.
- [35] FAN G, HONG L, ZHENG X, et al. Growth inhibition of *Microcystis aeruginosa* by metal-organic frameworks: Effect of variety, metal ion and organic ligand [J]. Royal Society of Chemistry Advance, 2018, 8(61): 35314–35326.
- [36] BERGAMI E, PUGNALINI S, VANNUCCINI M L, et al. Long-term toxicity of surface-charged polystyrene nanoplastics to marine planktonic species *Dunaliella tertiolecta* and *Artemia franciscana* [J]. World Mycotoxin Journal, 2017, 10(2): 159–169.
- [37] ZHU X, DAO G, TAO Y, et al. A review on control of harmful algal blooms by plant-derived allelochemicals [J]. Journal of Hazardous Materials, 2021, 401(1): 123403–123413.
- [38] ZHANG S, ZHANG B, DAI W, et al. Oxidative damage and antioxidant responses in *Microcystis aeruginosa* exposed to the allelochemical berberine isolated from golden thread [J]. Journal of Plant Physiology, 2011, 168(7): 639–643.
- [39] 赵建英,陈哲华,胡长伟.微塑料与镉对斜生栅藻的联合毒性效应 [J].环境科学与技术,2023,46(s2): 68–73.
- ZHAO J Y, CHEN Z H, HU C W. Combined toxicity of microplastics and cadmium on the microalga *Scenedesmus obliquus* [J]. Environmental Science & Technology, 2023, 46(s2): 68–73.
- [40] LIU M H, SONG X K, LIU C, et al. Nanoplastics increase the adverse impacts of lead on the growth, morphological structure and photosynthesis of marine microalga *Platymonas helgolandica* [J]. Marine Environment Research, 2024, 193: 106259–106268. DOI: 10.1016/j.marenres.2023.106259.
- [41] 何艺欣,唐炳然,张丽雪,等.老化聚苯乙烯纳米塑料对铜绿微囊藻的影响 [J].中国环境科学,2022,42(12): 5877–5884.
- HE Y X, TANG B R, ZHANG L X, et al. Effects of aged polystyrene nanoplastics to *Microcystis aeruginosa* [J]. China Environmental Science, 2022, 42(12): 5877–5884.