

学校编码: 10384  
学号: 22320141151368

密级\_\_

廈門大學

硕士学位论文

纳米氧化锌对三种浮游动物的生物毒性效应

The biotoxic effect of ZnO nanoparticles on  
three zooplankton

余东林

指导教师姓名: 曹文清教授

林元烧教授

专业名称: 海洋生物学

论文提交日期: 2017年05月

论文答辩时间: 2017年05月

2017年05月

## 厦门大学学位论文原创性声明

本人声明所呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为“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(项目编号:201505034)”课题的研究成果,获得该课题组经费的资助,在(海洋浮游生物生理生态学)实验室完成。

声明人(签名):

年 月 日

## 厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

1.经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，于 年 月 日解密，解密后适用上述授权。

2.不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年 月 日

# 目 录

中文摘要.....	I
Abstract.....	III
第 1 章 绪论.....	1
1.1 纳米材料的定义及分类.....	1
1.2 纳米氧化锌的特性及应用.....	1
1.3 纳米材料在水环境中的行为与分布.....	2
1.4 ZnO-NPs 对水生生物的毒性效应.....	6
1.5 ZnO-NPs 的主要制毒机制.....	8
1.6 三种浮游动物概述.....	10
1.7 选题依据及研究内容.....	13
第 2 章 ZnO-NPs 的表征.....	15
2.1 实验材料与方法.....	15
2.2 结果与分析.....	16
2.3 讨论.....	16
第 3 章 ZnO-NPs 对三种浮游动物的急性毒性效应.....	18
3.1 实验材料.....	18
3.2 主要仪器.....	19
3.3 实验方法.....	20
3.4 数据处理.....	21
3.5 结果与分析.....	22
3.5.1 实验现象.....	22
3.5.2 单种群幼体实验.....	25
3.5.3 多种类混合幼体实验.....	25
3.5.4 单种群成体实验.....	25

3.5.5 多种类混合成体实验.....	26
3.5.6 ZnO-NPs 的生态毒性评估 .....	26
3.6 讨论.....	26
3.6.1 ZnO-NPs 对甲壳动物毒性效应的影响因素 .....	26
3.6.2 ZnO-NPs 对不同种甲壳动物的毒性效应差异 .....	27
3.6.3 多种类混合培养对 ZnO-NPs 毒性效应的影响 .....	28
<b>第 4 章 低剂量 ZnO-NPs 长期暴露对浮游动物的影响.....</b>	<b>29</b>
4.1 实验材料.....	29
4.2 实验方法.....	29
4.3 实验结果与分析.....	31
4.3.1 ZnO-NPs 对三种浮游动物死亡率的影响.....	31
4.3.2 ZnO-NPs 对三种浮游动物生长的影响.....	33
4.3.3 ZnO-NPs 对三种浮游动物发育的影响.....	34
4.3.4 ZnO-NPs 对三种浮游动物性别比的影响 .....	36
4.3.5 ZnO-NPs 对三种浮游动物生殖的影响 .....	36
4.4 讨论.....	39
4.4.1 ZnO-NPs 对存活率的影响 .....	39
4.4.2 ZnO-NPs 对生长与发育的影响 .....	39
4.4.3 ZnO-NPs 对生殖力的影响 .....	40
<b>第 5 章 室内模拟 ZnO-NPs 对种群数量变动的的影响.....</b>	<b>42</b>
5.1 实验装置.....	42
5.2 实验方法.....	42
5.2.1 浮游动物培养方法.....	42
5.2.2 饵料藻的投喂.....	43
5.2.3 试验液的配制及更换.....	43
5.2.4 采样方法.....	43
5.2.5 生物样品处理与统计.....	43
5.2.6 数据分析.....	43
5.3 结果与分析.....	45

5.3.1 ZnO-NPs 对种群数量变动的影响 .....	45
5.3.2 ZnO-NPs 对不同浮游动物体长变化的影响 .....	45
5.3.3 ZnO-NPs 对不同浮游动物发育的影响 .....	48
5.4 讨论 .....	50
5.4.1 pH 对 ZnO-NPs 稳定性的影响 .....	50
5.4.2 浮游动物对 ZnO-NPs 的生物吸收 .....	50
5.4.3 ZnO-NPs 对种群数量变动的影响 .....	51
第 6 章 总结 .....	52
6.1 主要研究成果 .....	52
6.2 创新与局限 .....	53
参考文献 .....	54
在学期间参加的科研项目 .....	66
致谢 .....	67

## Contents

Abstract in Chinese.....	I
Abstract in English.....	III
Chapter 1 Introduction.....	1
1.1 Definition and classification of nanomaterials.....	1
1.2 Characteristics and application of ZnO-NPs .....	1
1.3 Behavior and distribution of nanomaterials in water.....	2
1.4 Toxic effects of ZnO-NPs on aquatic organisms.....	6
1.5 The main toxic mechanism of ZnO-NPs.....	8
1.6 Introduce of three zooplankton.....	10
1.7 Research content and significance.....	13
Chapter 2 Characterization of ZnO-NPs.....	15
2.1 Materials and methods.....	15
2.2 Result and analysis.....	16
2.3 Discussion.....	16
Chapter 3 Acute toxic effects of ZnO-NPs on three zooplankton.....	18
3.1 Research materials.....	18
3.2 Main instrument.....	19
3.3 Methods.....	20
3.4 Data analysis.....	21
3.5 Result and analysis.....	22
3.5.1 Research phenomena.....	22
3.5.2 Individual species larvae research.....	25
3.5.3 Multi-species larvae research.....	25
3.5.4 Individual species adult research.....	25
3.5.5 Multi-species adult research.....	26

3.5.6 Ecotoxicity assessment of ZnO-NPs.....	26
3.6 Discussion.....	26
3.6.1 Factors affecting the toxicity of ZnO-NPs to crustacean.....	26
3.6.2 Toxic effects of ZnO-NPs on different species of crustacean.....	27
3.6.3 Effects of mixed cultivation on the toxicity of ZnO-NPs.....	28
<b>Chapter 4 Long-term effect of low-dose ZnO-NPs on three zooplankton</b>	
4.1 Research material.....	29
4.2 Research method.....	29
4.3 Result and analysis.....	31
4.3.1 Effects of ZnO-NPs on the mortality of three zooplankton.....	31
4.3.2 Effects of ZnO-NPs on the growth of three zooplankton.....	33
4.3.3 Effects of ZnO-NPs on the development of three zooplankton.....	34
4.3.4 Effects of ZnO-NPs on the sex ratio of three zooplankton.....	36
4.3.5 Effects of ZnO-NPs on the reproduction of three zooplankton.....	36
4.4 Discussion .....	39
4.4.1 Effects of ZnO-NPs on survival rate.....	39
4.4.2 Effects of ZnO-NPs on growth and development.....	39
4.4.3 Effects of ZnO-NPs on reproduction.....	40
<b>Chapter 5 Effects of ZnO-NPs on population dynamics in simulating research.....</b>	<b>42</b>
5.1 Research device.....	42
5.2 Research method.....	42
5.2.1 Method for culturing zooplankton.....	42
5.2.2 Algae feeding.....	43
5.2.3 Preparation of solution.....	43
5.2.4 Method of sampling.....	43
5.2.5 Processing and statistics of sample.....	43
5.3 Result and analysis.....	45
5.3.1 Effects of ZnO-NPs on population dynamics.....	45



5.3.2 Effects of ZnO-NPs on body length of different species zooplankton...	45
5.3.3 Effect of ZnO-NPs on development stage of different zooplankton.....	48
5.4 Discussion.....	50
5.4.1 Effect of pH on the stability of ZnO-NPs.....	50
5.4.2 Biosorption of zooplankton on ZnO-NPs.....	50
5.4.3 Effect of ZnO-NPs on number change of species.....	51
Chapter 6 Summary.....	52
6.1 Major result.....	52
6.2 Innovation and limitation.....	53
References.....	54
Acknowledgements.....	67

厦门大学博硕士学位论文摘要

## 中文摘要

纳米氧化锌 (ZnO-NPs) 因其特殊的理化性质而在化妆品、医学抗菌、工业涂料等领域被广泛应用。其通过工业生产、商品使用、空气沉降、运输泄露、地表水径流等途径直接或间接汇入海洋环境, 对海洋的生态系统构成潜在威胁。海洋中的浮游动物可以通过摄食影响或控制初级生产力, 同时它们的种群动态变化又影响许多鱼类和其他动物资源群体的生物量。开展纳米氧化锌对浮游动物的毒性效应研究, 对于了解纳米材料在水体中行为、评价浮游动物对纳米材料的响应、实现纳米材料环境危害性的合理评估具有十分重要的意义。

本研究选取了典型模式种日本虎斑猛水蚤、广泛分布的安氏伪镖水蚤和枝角类代表蒙古裸腹溞这三种浮游动物进行混合培养, 分析 ZnO-NPs 对三类浮游生物存活、生长、发育和繁殖的毒性效应, 旨在评估三类生物对 ZnO-NPs 的敏感程度, 为海区纳米材料的毒理学研究提供基础资料。

本文主要研究成果如下:

1、利用扫描电子显微镜和透射电子显微镜观察, 纯水中 100 mg/L 的 ZnO-NPs 由原来平均粒径  $47.13 \pm 11.08$  nm 絮凝成  $213.90 \pm 49.04$  nm 的团聚体;

2、急性毒性实验中: 混合培养的三种浮游动物日本虎斑猛水蚤、安氏伪镖水蚤和蒙古裸腹溞幼体的 48 h 的  $LC_{50}$  值分别为 1.37 mg/L、0.22 mg/L、1.90 mg/L, 成体 48h 的  $LC_{50}$  值分别为 3.84 mg/L、1.04 mg/L、2.03 mg/L;

3、低剂量长期暴露毒性实验中: 日本虎斑猛水蚤体长增长延迟, 死亡集中出现在  $N_6-C_1$  期, 0.25 mg/L 幼体变态率和成体发育率分别为 79.34%、24.88%, 较对照组 97.25%和 78.60%差异显著 ( $p < 0.05$ ), 内禀增长率  $r_m$  下降至 0.19, 对照组为 0.24。安氏伪镖水蚤受 ZnO-NPs 作用, 体长增长延缓, 死亡集中出现在  $N_2-N_3$  期, 尽管幼体变态率不受影响, 但各浓度组成体发育率均与对照组 94.87% 差异极显著 ( $p < 0.01$ ), 且出现生殖抑制。蒙古裸腹溞受 ZnO-NPs 作用, 生殖力显著降低, 表现为: 产幼前发育期和二次生殖间隔时间均延长, 每窝生殖量下降, 使得内禀增长率在 0.25 mg/L 浓度组中降至 0.19, 对照组为 0.29;

4、室内模拟实验中：受 ZnO-NPs 影响，三种浮游动物的发育均有所延缓。日本虎斑猛水蚤在实验周期内种群数量未见明显变动。安氏伪镖水蚤实验后期 0.2 mg/L 浓度组与对照组中数量差异显著，主要由于前期发育迟缓和后期生殖量差异引起。蒙古裸腹蚤在实验周期内出现了世代重叠，第 8 天后 F<sub>0</sub> 代个体陆续死亡使种群数量下降，但孵化的幼龄蚤发育为成龄蚤后能继续孵化幼蚤补充种群数量。

**关键词：**纳米氧化锌；多类型混合培养；日本虎斑猛水蚤；安氏伪镖水蚤；蒙古裸腹蚤；毒性效应

## Abstract

Zinc oxide nanoparticles is widely used in cosmetics, medical antibacterial, industrial coatings and other fields because of its special physical and chemical properties. It is directly or indirectly imported into the marine environment through industrial production, commodity used, air sedimentation, transport leakage, surface runoff, posing a potential threat to marine ecosystems. The zooplankton in the oceans influence or control primary productivity through ingestion, while the dynamics of their populations also affect the biomass of many fish and other animal resource. It is very important to study the toxic effects of ZnO-NPs on zooplankton because of its function that helping to understand the behavior of nanomaterials in water, evaluate the response of zooplankton to nanomaterials and realize the reasonable assessment of the environmental hazards of nanomaterials.

In this study, we choosed three typical zooplankton species, including *Tigriopus japonicus*, *Pseudodiaptomus annandai* and *Moina monogolica*. Three zooplankton were mixed culture to analyse the toxic effects of ZnO-NPs on the survival, growth and reproduction of zooplankton. The aim is to evaluate the sensitivity of the three organisms to ZnO-NPs and to provide basic data for the toxicologists studies of nanomaterials in the sea area.

The main results of this paper are as follows:

1. Aggregates of 100 mg/L ZnO-NPs in pure water were flocculated from the original average particle size of  $47.13 \pm 11.08$  nm to  $213.90 \pm 49.04$  nm by scanning electron microscopy and transmission electron microscopy.

2. In the acute toxicity experiment, the  $LC_{50}$  values of nauplius of *T.japonicus*, *P.annandalei* and *M.mongolica* were 1.37 mg/L, 0.22 mg/L, 1.90 mg/L, and 48h- $LC_{50}$  of adult were 3.84 mg/L, 1.04 mg/L, 2.03 mg/L, respectively.

3. In the low-dose long-term exposure toxicity experiment, for *T.japonicus*, the

body length was delayed and death occurred in the N<sub>6</sub>-C<sub>1</sub> stage. The larvae metamorphosis rate and adult development rate were 79.34% and 24.88%, respectively, compared with the control 97.25% and 78.60% were significantly different ( $p < 0.05$ ). The intrinsic rate of increase decreased to 0.19, the control group was 0.24. For *P.annandalei*, the body length was delayed and the death occurred in the N<sub>2</sub>-N<sub>3</sub> stage. Although the larvae metamorphic rate was not affected, the adult development rate decreased and the control group was 94.87% ( $p < 0.01$ ), and reproductive inhibition occurs. For *M.mongolica*, the mortality rate was not higher than that of the control group, but the fecundity was significantly decreased. The developmental stage and the second reproductive interval were prolonged, so that the intrinsic rate of growth in the 0.25 mg/L concentration group decreased to 0.19, the control group was 0.29.

4. In the simulating lab experiment, the development of the three zooplankton was delayed by ZnO-NPs. There was no significant change in the number of populations of *T.japonicus* in the experimental period. There were significant difference of the population of *P.annandalei* between the 0.2 mg/L group and control, mainly due to the difference of pre-developmental retardation and reproductive grade. The populations of *M.mongolica* decreased after the 8th day because of the death the F<sub>0</sub> generation, but the number of populations was increased after the offspring hatching.

**Key Words:** Zinc oxide nanoparticles; mixed culture; *Tigriopus japonicus*; *Pseudodiaptomus annandalei*; *Moina mongolica*.; toxicity

## 第 1 章 绪论

### 1.1 纳米材料的定义及分类

#### 1.1.1 定义

纳米材料是指粒子以自由态、聚集态或团聚体形式存在的天然或人造材料中，浓度对数粒径分布有 50% 或以上的粒子在一维或多维的尺寸处在 1-100 nm 大小范围<sup>[1]</sup>。广义上，纳米材料可分为零维材料（纳米微粒），一维材料（尺寸为纳米量级的纤维），二维材料（厚度为纳米量级的薄膜或多层膜），以及由上述低维材料所构成的固体；从狭义上讲，主要包含纳米微粒以及由它所构成的固体（体材料与微粒膜）<sup>[1,2]</sup>。

#### 1.1.2 环境中纳米材料的分类

自然存在的纳米材料：一方面，包括火山爆发、森林火灾和地表侵蚀等自然作用都能产生纳米颗粒。水体中粒径 1-100 nm 范围内颗粒物被分散到液体中可形成胶体，如蛋白质、腐殖酸等大分子有机物、典型的水合离子、锰氧化物等<sup>[3]</sup>。天然存在于土壤中的纳米材料主要包含有机质、黏土和铁氧化合物等。另一方面，随着汽油、柴油各类燃料的需求不断扩增，大气中颗粒物的含量明显增加，而其中纳米颗粒物占颗粒物总量的 36%，许多大城市所经受的雾霾天气诱因之一即在于大气细颗粒物量的剧增<sup>[3]</sup>。

人工合成的纳米材料：主要分 4 类，包括碳纳米材料（碳纳米管、富勒烯、石墨烯等）、半导体纳米材料（Si、CdSe、ZnS、CdTe 等）、聚合纳米材料和金属纳米材料。金属纳米材料包含金属氧化物纳米材料（如二氧化钛纳米颗粒、氧化锌纳米颗粒等）和金属单质纳米材料（如金纳米颗粒、银纳米颗粒等）。

### 1.2 纳米氧化锌的特性及应用

据美国 Project on Emerging Nano Technologies 网站统计<sup>[4]</sup>，截至 2015 年 3

月，全球有明确标注的纳米产品已达 1814 种，比 2005 年增长了 30 多倍，其中儿童用品 23 种，食物与饮料 39 种，健康及健身用品（包括防晒霜、运动用品、衣物、个人护理用品等）达到 505 种。OECD（2009）列出的四种广泛使用且具较高商业价值的纳米金属及其氧化物：氧化铈（ $\text{CeO}_2$ ）、银（ $\text{Ag}$ ），氧化锌（ $\text{ZnO}$ ）和钛、氧化钛（ $\text{TiO}_2$ ）。其中，纳米氧化锌（ $\text{ZnO-NPs}$ ）是颜色呈白色或微黄色的一类新型高功能精细无机材料，由于具有纳米颗粒和传统氧化锌材料的双重特征，应用于抗菌消毒、光、电、磁和催化剂等诸多领域。 $\text{ZnO-NPs}$  的主要特性及应用领域如下：

紫外线照射下， $\text{ZnO-NPs}$  能解离出带负电荷自由移动的电子而留下带正电的空穴（ $\text{h}^+$ ）去激活空气中的氧，使其转变为活性氧，进而与大多数有机物（包括细菌内的有机物）发生氧化反应，因而具备杀菌特性<sup>[5]</sup>。食品行业中常通过在包装中添加  $\text{ZnO-NPs}$ ，起到抑制大肠杆菌和金黄色葡萄球菌等细菌及真菌的效果<sup>[6]</sup>。

$\text{ZnO-NPs}$  对紫外线吸收能力强，能屏蔽太阳光辐射 UVA（320-400 nm）和 UVB（280-320 nm），被普遍用于化妆品的防晒霜<sup>[7]</sup>、防紫外线的涂层玻璃<sup>[8]</sup>等。

由于  $\text{ZnO-NPs}$  可随周围气体组成而发生电学性质—电阻的改变，因此被用于制备气体传感器和压电材料。同时，根据制备条件的差异，可获得导电性能不同的  $\text{ZnO-NPs}$ （光导电性、半导体性和导电性），使用上也有所差异<sup>[9]</sup>。

小粒径的  $\text{ZnO-NPs}$  比表面积大，表面原子配位不齐全，表面键态与颗粒内部不同，这使得表面的活性位点增多，而且参差不齐的原子台阶加大了反应的接触面<sup>[5]</sup>。因此， $\text{ZnO-NPs}$  能成为优良的光催化剂，应用于对空气中  $\text{NO}_x$  等有害物质、废水、金属物质的催化，还能将微生物、细菌分解成  $\text{CO}_2$  和  $\text{H}_2\text{O}$ 。

## 1.3 纳米材料在水环境中的行为与分布

### 1.3.1 纳米材料水环境中的行为

随着纳米材料在社会各领域的广泛应用，纳米颗粒的废弃物将不可避免地产生并进入自然界当中，而水体是纳米污染物的重要归趋，海洋则是最终的“汇”。一方面，通过工业生产、相关商品的使用（如化妆品、催化剂）、废弃垃圾填埋

和污水生产、处理及运输等过程中的意外泄露等途径，纳米材料直接或间接进入水体；另一方面，天然来源的气溶胶、烟尘和金属氧化物等纳米材料广泛存在于自然界中。这些环境中的纳米颗粒可通过直接（空气沉降、污水倾倒、径流）或间接方式（如河流系统）最终汇入海洋环境。

海洋中纳米颗粒易发生团聚、沉降、吸附和转化等过程<sup>[10]</sup>，如图 1.1 所示。纳米材料在水体中的分散状态不同，水环境行为有所差异。团聚后的纳米颗粒相比于单个个体的纳米颗粒流动性更差，更容易沉降而从水体中除去，但仍可能被底栖生物或滤食生物摄食。水生生物扰动和周围环境水化学性质的改变能引起纳米颗粒再悬浮或沉降。稳定性好的纳米颗粒更易在水体中滞留或进行长距离迁移，生物利用度也更高，可通过呼吸或吞咽进入鱼体。纳米颗粒通过吸附以及动物的摄食，还会在水生动植物间通过食物链发生迁移。因此，了解纳米颗粒在环境中的滞留和分布情况及影响因素对研究其暴露途径和评估其暴露浓度十分重要。

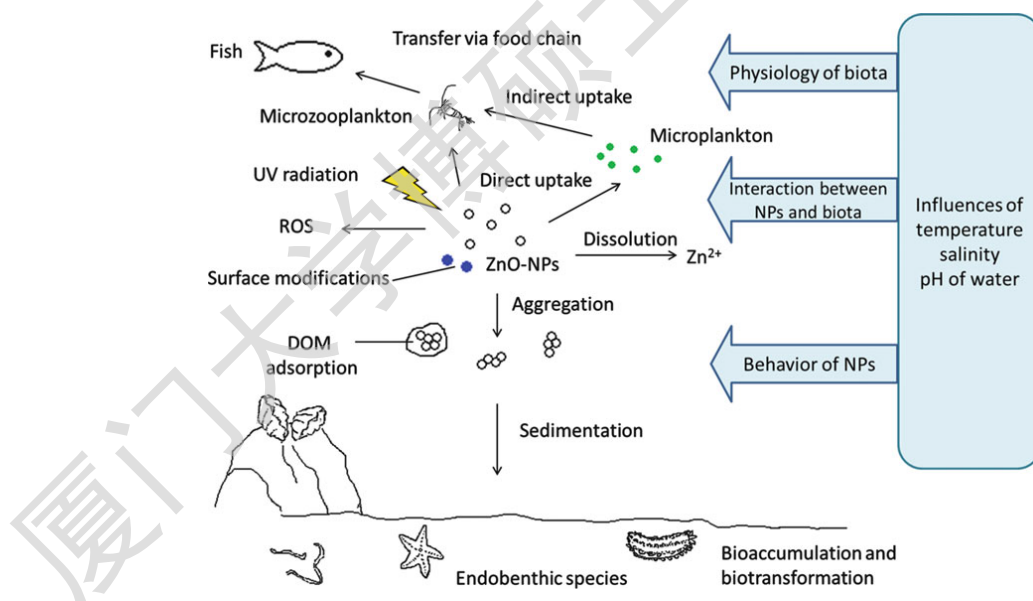


图 1.1 ZnO-NPs 在海洋环境中的行为和迁移（引自 Yung 等<sup>[9]</sup>）

Fig.1.1 Schematic illustration of the behavior and transport of ZnO-NPs in the marine environment (from Yung *et al.*<sup>[9]</sup>)



Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to [etd@xmu.edu.cn](mailto:etd@xmu.edu.cn) for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库