

学校编码: 10384

分类号_____ 密级_____

学号: 33120140153989

UDC_____

厦 门 大 学

博 士 学 位 论 文

**原位研究典型多环芳烃在红树植物根表皮
赋存及向组织内部迁移的过程**

In situ investigate typical polycyclic aromatic
hydrocarbons (PAHs) distributed on the root epidermis and
its processes transported into tissues

李锐龙

指导教师姓名: 张 勇 教授

专 业 名 称: 环 境 科 学

论文提交日期: 2017 年 9 月

论文答辩时间: 2017 年 9 月

2017 年 9 月

厦门大学学位论文原创性声明

本人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()课题(组)的研究成果,获得()课题(组)经费或实验室的资助,在()实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

本人声明该学位论文不存在剽窃、抄袭等学术不端行为,并愿意承担因学术不端行为所带来的一切后果和法律责任。

声明人 (签名):

指导教师 (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

缩略词表

缩略词	英文	中文
1-M-Flu	1-methyl-Fluorene	1-甲基芴
<i>A. corniculatum</i>	<i>Aegiceras corniculatum</i>	桐花树
<i>A. marina</i>	<i>Avicennia marina</i>	白骨壤
ANOVA	Analysis of Variance	变异数分析法
Ant	Anthracene	蒽
<i>B. gymnorhiza</i>	<i>Bruguiera gymnorhiza</i>	木榄
B[a]P	Benzo[a]pyrene	苯并[a]芘
Car	Carbazole	咔唑
DBF	Dibenzofuran	二苯并呋喃
DBT	Dibenzothiophene	二苯并噻吩
D-LITRF	Derivative LITRF	导数激光诱导纳秒 时间分辨荧光光谱
DSFS	Derivative synchronous fluorescence spectroscopy	导数同步荧光光谱
Fla	Fluoranthene	荧蒽
FLIM	Fluorescence lifetime imaging microscopy	荧光寿命成像
<i>K. obovata</i>	<i>Kandelia obovata</i>	秋茄
LIF	Laser induced fluorescence spectroscopy	激光诱导荧光光谱
LITRF	Laser induced nanosecond time-resolved fluorescence spectroscopy	激光诱导纳秒时间 分辨荧光光谱
MCR-ALS	Multivariate curve resolution-alternating least square	多元曲线分辨结合 交替最小二乘迭代 法
Nap	Naphthalene	萘
N-PLS	N-way partial least square	多维偏最小二乘法
NTFS	Nanosecond time-resolved fluorescence spectroscopy	纳秒时间分辨荧光 光谱

缩略词表

PAHs	Polycyclic aromatic hydrocarbons	多环芳烃
PALM	Photoactivation Localization Microscopy	光激活定位显微镜技术
Phe	Phenanthrene	菲
PLAM	Photoactivated localization microscopy	光激活定位显微技术
POPs	Persistent organic pollutants	持久性有机污染物
Pyr	Pyrene	芘
<i>R. stylosa</i>	<i>Rhizophors stylosa</i>	红海榄
RCFs	Root concentrations factors	根吸收系数
SFS	Synchronous fluorescence spectroscopy	同步荧光光谱
Solid state ¹³ C-NMR	Solid state ¹³ C- Nuclear magnetic resonance	固态核磁共振
SSF	Solid surface fluorimetry	固体表面荧光光法
SSIM	Saturated structure illumination microscopy	饱和结构照明显微镜
STED	Stimulated emission depletion	受激发射损耗
STORM	Stochastic Optical Reconstruction Microscopy	随机光学重建显微镜
TGA	Thermogravimetric analysis	热重分析
TPLCSM	Two-photon laser confocal scanning fluorescence microscopy	双光子激光共聚焦 荧光显微镜
Unfolded-PLS	Unfolded partial least square	展开偏最小二乘法

目 录

摘 要.....	I
Abstract.....	IV
第一章 绪 论	1
1.1 植物去除 PAHs 的研究概述.....	1
1.1.1 植物根际微生物降解土壤/沉积物中 PAHs	1
1.1.2 植物去除环境 PAHs 的过程	3
1.2 红树林湿地中 PAHs.....	7
1.3 红树植物去除 PAHs 的研究进展.....	7
1.3.1 红树林生态系统去除 PAHs 的研究概述	8
1.3.2 红树植物根际微生物降解土壤/沉积物中 PAHs	9
1.3.3 红树植物叶片去除气相 PAHs 过程的研究进展	9
1.3.4 红树植物根去除沉积物相中 PAHs 过程的研究进展	10
1.4 原位研究吸附于植物体表皮 PAHs 向组织内部迁移的方法进展.....	12
1.4.1 基于激发-发射、同步、导数及三维荧光光谱技术的 PAHs 原位分析方法 的研究进展	12
1.4.2 基于（双光子）激光共聚焦荧光显微系统、荧光寿命成像技术的原位可 视化分析 PAHs 方法的研究进展.....	14
1.5 论文设想.....	17
参考文献.....	20
第二章 LITRF 法原位研究红树植物根表皮 Phe、Pyr 或 B[a]P 赋存情 况及向组织内部迁移的过程	36
2.1 引 言.....	36
2.2 材料与方 法.....	36
2.2.1 仪器与试剂.....	36
2.2.2 红树植物样品采集及培养	37

2.2.3 自制应用于红树植物根表面 PAHs 的 LITRF 测定的样品台支架	37
2.2.4 建立测定吸附于 <i>K. obovata</i> 根表皮 Phe、Pyr 或 B[a]P 的 LITRF 原位分析方法	38
2.2.5 实验方法	38
2.2.6 盐度实验条件的控制	39
2.3 结果与讨论	39
2.3.1 原位测定吸附于 <i>K. obovata</i> 根表皮 Phe、Pyr 或 B[a]P 的最佳条件	39
2.3.2 吸附于 <i>K. obovata</i> 根表皮 Phe 的 LITRF 光谱	41
2.3.3 所建 LITRF 法的分析特性	44
2.3.4 吸附于 <i>K. obovata</i> 根表皮的 Phe、Pyr 或 B[a]P 向组织内部迁移过程	46
2.3.5 盐度对吸附于 <i>K. obovata</i> 根表皮的 Phe、Pyr 或 B[a]P 向组织内部迁移过程的影响	49
2.4 本章小结	52
参考文献	53
第三章 LITRF 法原位研究 Flu、1-M-Flu、DBT、Car 或 DBF 在红树植物根表皮的赋存情况及向组织内部迁移过程	58
3.1 引言	58
3.2 材料与方法	59
3.2.1 仪器与试剂	59
3.2.2 红树植物样品采集及培养	59
3.2.3 实验部分	60
3.2.4 红树植物根组成表征	61
3.3 结果与讨论	61
3.3.1 赋存于红树植物根表皮与进入组织内部 Flu、1-M-Flu、DBT、Car 或 DBF 的等温分配曲线	61
3.3.2 赋存于红树植物根表皮 Flu、1-M-Flu、DBT、Car 或 DBF 与红树植物根组成的相关性分析	68
3.3.3 赋存于红树植物根表皮 Flu、1-M-Flu、DBT、Car 或 DBF 的分布情况	70

3.4 本章小结.....	77
参考文献.....	78
第四章 D-LITRF 法原位研究红树植物根表皮 Phe 和 Fla 混合组分的	
赋存情况及向组织内部迁移的过程	81
4.1 引言.....	81
4.2 材料与方法.....	81
4.2.1 仪器与试剂.....	81
4.2.2 红树植物样品采集、培养和脂质含量测定	81
4.2.3 建立同时测定吸附于红树植物根表皮 Phe 和 Fla 混合组分的 D-LITRF 原	
位分析方法	82
4.2.4 Phe 和 Fla 混合组分暴露实验条件的控制.....	82
4.3 结果与讨论.....	83
4.3.1 原位测定吸附于红树植物根表皮 Phe 和 Fla 的 D-LITRF 的最佳条件....	83
4.3.2 吸附于红树植物根表皮 Phe 和 Fla 混合组分的 LITRF 光谱.....	83
4.3.3 D-LITRF 法的分析特性.....	85
4.3.4 吸附于红树植物根表的 Phe 和 Fla 混合组分向组织内部的迁移过程.....	89
4.3.5 温度对吸附于红树植物根表皮 Phe 和 Fla 向组织内部迁移过程的影响..	91
4.4 本章小结.....	95
参考文献.....	95
第五章 原位可视化定量研究 Nap、Ant 或 B[a]P 在红树植物根表皮微	
区的赋存情况、迁移过程及受老化作用的影响	99
5.1 引言.....	99
5.2 材料与方法.....	99
5.2.1 仪器与试剂.....	99
5.2.2 Nap、Ant 或 B[a]P 污染沉积物的制备	100
5.2.3 实验方法.....	100
5.2.4 MFSA 仪器条件、实验条件的控制	101
5.3 结果与讨论.....	101

5.3.1 吸附于红树植物根表皮 Nap、Ant 或 B[a]P 的 MFSA 光谱及图像	101
5.3.2 MFSA 法分析特性	102
5.3.3 Nap、Ant 或 B[a]P 在红树植物根表皮微区的赋存情况及向组织内部迁移过程	104
5.3.4 老化作用对 Nap、Ant 或 B[a]P 在红树植物根表皮微区的赋存情况及向组织内部迁移过程影响	105
5.4 本章小结	107
参考文献	107
第六章 总结与展望	110
6.1 研究成果及结论	110
6.2 研究展望	112
攻读博士学位期间发表的学术论文	115
致谢	117

Contents

Abstract in Chinese	I
Abstract in English.....	IV
Chaper 1 Introduction	1
1.1 The outline of PAHs depured by plant	1
1.1.1 The degradation of PAHs in soil or sediment by rhizosphere microorganisms	1
1.1.2 The depuration of PAHs in environment by plant.....	3
1.2 The content of PAHs in mangrove sediment.....	7
1.3 The reseach progress of the depuration of PAHs by mangrove plant	7
1.3.1 The research outline of the depuration of PAHs by mangrove ecosystems	8
1.3.2 The depuration of PAHs by the rhizosphere microorganisms	9
1.3.3 The depuration of PAHs in gas by mangrove plant leaf	9
1.3.4 The depuration of PAHs in sedimentt by mangrove plant root.....	10
1.4 Research progres of the <i>in situ</i> investigate the PAHs adsorbed onto root	
epidermis tranport to tissues method.....	12
1.4.1 Research progress of the PAHs <i>in situ</i> analytical method based on the	
excitation-emission, synchronous, derivative and 3D fluorecence spectra	
tecchniqus	12
1.4.2 Research progress of the PAHs <i>in situ</i> visualization method based on the	
(two-photon) laser confocal fluorecence microscopy and fluorecence lifetime	
imaging microscopy technique.....	14
1.5 The proposals of dissertation	17
References	20
Chaper 2 <i>In situ</i> investigation of the Phe, Pyr or B[a]P distributed on the	
root epidermis and its processes transported into tissues by LITRF	
method.....	36
2.1 Introduction	36

2.2 Materials and methods	36
2.2.1 Apparatus and reagent	36
2.2.2 The collection and cultivation of mangrove plant sample	37
2.3.3 The sample holder of the determination of PAHs located on the epidermis of mangrove root by LITRF method.....	37
2.2.4 Established an <i>in situ</i> analytical method determined Phe, Pyr or B[a]P adsorbed onto <i>K. obovata</i> root epidermis.....	38
2.2.5 Experiment	38
2.2.6 The control of salinity conditions.....	39
2.3 Results and discussion	39
2.3.1 The optimal conditions of <i>in situ</i> determined Phe, Pyr or B[a]P adsorbed onto root epidermis	39
2.3.3 The LITRF spectra of Phe adsorbed onto <i>K. obovata</i> root epidermis.....	41
2.3.4 The analytical parameters of the LITRF method	44
2.3.5 The Phe, Pyr or B[a]P adsorbed onto root epidermis transport to tissues processes.....	46
2.3.6 Effects of salinity on the Phe, Pyr or B[a]P adsorbed onto root epidermis transport to tissues processes.....	49
2.4 Summary	52
References.....	53
Chapter 3 <i>In situ</i> investigation of the Flu, 1-M-Flu, DBT, Car or DBF distributed on the root epidermis and its processes transported into tissues by LITRF method.....	58
3.1 Introduction	58
3.2 Materials and methods	59
3.2.1 Apparatus and reagents	59
3.2.2 The collection and cultivation of mangrove plants	59
3.2.3 Experiment	60

3.2.4 The characterization of mangrove root	61
3.3 Results and discussion.....	61
3.3.1 The isothermal distribution curve of the Flu, 1-M-Flu, DBT, Car or DBF adsorbed onto root epidermis and enter into root tissues	61
3.3.2 The correlation analysis of the concentration of Flu, 1-M-Flu, DBT, Car or DBF and root composition	68
3.3.3 The distribution of Flu, 1-M-Flu, DBT, Car or DBF retained on mangrove root epidermis	70
3.4 Summary	77
References	78
 Chapter 4 <i>In situ</i> investigation of the mixtures of Phe and Fla distributed on the root epidermis and its processes transported into tissues by D-LITRF method	
	81
4.1 Introduction	81
4.2 Materials and methods	81
4.2.1 Apparatus and reagent	81
4.2.2 The collection and cultivation of mangrove plants and the determination of root lipid content.....	81
4.2.3 Established an <i>in situ</i> analytical method simultaneously determined Phe and Fla adsorbed onto mangrove root epidermis	82
4.2.4 The mixtures of Phe and Fla distributed on the root epidermis and its processes transported into tissues	82
4.3 Results and discussion	83
4.3.1 The optimal conditions of D-LITRF method <i>in situ</i> determined the mixture of Phe and Fla adsorbed onto root epidermis	83
4.3.2 The LITRF spectra of the mixtures of Phe and Fla adsorbed onto mangrove root epidermis.....	83
4.3.3 The analytical parameters of the D-LITRF method	85

4.3.4 The mixtures of Phe and Fla adsorbed onto root epidermis transport to tissues processes.....	89
4.3.5 Effects of temperature on the mixture of Phe and Fla adsorbed onto root epidermis transport to tissues processes	91
4.4 Summary	94
References	95
Chapter 5 <i>In situ</i> quantitative and visual investigation of the distribution and transportation of Nap, Ant or B[a]P on the micro-zoned of epidermis of mangrove root and its implication by aging	99
5.1 Introduction.....	99
5.2 Materials and methods	99
5.2.1 Apparatus and reagent.....	99
5.2.2 The preparation of Nap, Ant or B[a]P contaminated sediment.....	100
5.2.3 Experiment	100
5.2.4 The control of instrument and experiment conditions of MFSA	101
5.3 Results and discussion.....	101
5.3.1 The images and fluorescence spectra of Nap, Ant or B[a]P adsorbed onto mangrove root epidermis.....	101
5.3.2 The analytical merits of the established MFSA method	102
5.3.3 The distribution and transportation of Nap, Ant or B[a]P on micro-zone of mangrove root epidermis.....	104
5.3.4 The implication of aging on the distribution of Nap, Ant or B[a]P on the epidermis of mangrove root.....	105
5.4 Summary	107
References	107
Chapter 6 Conclusions and prospects.....	110
6.1 Results and conclusion.....	110
6.2 Research prospects	112

Papers published during the course of study for PhD degree.....115

Acknowledgement117

厦门大学博硕士论文摘要库

摘 要

红树植物根去除外界环境（气相、沉积物相和水相）中多环芳烃（PAHs）是环境中 PAHs 的重要去除途径。因此，大量研究围绕解决环境中（大气、水和沉积物）PAHs 进入植物体的途径、在植物体内的迁移路径、赋存情况等一系列相关问题展开。然而，因缺乏合适的红树植物根表皮 PAHs 的原位分析方法，对于 PAHs 在红树植物根表皮赋存情况及向组织内部迁移这一红树植物根去除 PAHs 步骤尚不清楚。鉴于此，本文开展了相关研究，分别构建了激光诱导纳秒时间分辨荧光光谱法（LITRF）、导数激光诱导纳秒时间分辨荧光光谱法（D-LITRF）以及显微荧光光谱法（MFSA）法实现了红树植物根表单/双组分 PAHs 的原位定量测定，并初步探讨了 PAHs 在红树植物根表的赋存情况及向组织内部的迁移过程。主要的研究结果如下：

（1）与红树植物叶片不同，红树植物根为圆柱形状。因而，在进行秋茄（*K. obovata*）根表皮上的菲（Phe）、芘（Pyr）或苯并[a]芘（B[a]P）的 LITRF 的原位测定时，难于确保每次测定红树植物根均处于同一位置。为减少误差、最大限度的保障原位测定的重现性，首先自制了用于 LITRF 技术原位测定红树植物根表皮 Phe、Pyr 或 B[a]P 的样品架。应用此样品架后，*K. obovata* 根样品上 Phe 最大发射峰位置的荧光信号测定值（ $\lambda_{\text{ex}} = 266 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 368 \text{ nm}$ ）的相对标准偏差（RSD）由 10.26 % 降至 2.63 %（ $n=9$ ），重现性显著提高。

利用配有自制样品架的 LITRF 仪，新建定量测定吸附于 *K. obovata* 根表皮 Phe、Pyr 或 B[a]P 的原位分析方法。所建分析方法的线性范围为：Phe: 1.5-1240.5 ng/g、Pyr: 1.0-1360.4 ng/g、B[a]P: 5.2-1220.2 ng/g。检出限分别为：Phe: 0.2 ng/g、Pyr: 0.1 ng/g、B[a]P: 0.1 ng/g。与 LIF 相比，所建方法消除了红树植物根表本底荧光信号对红树植物根表皮 Phe、Pyr 或 B[a]P 测定的干扰。继而，利用该方法进行吸附于 *K. obovata* 根表皮的 Phe、Pyr 或 B[a]P 的赋存情况及向根组织内部迁移过程研究。结果显示，快、慢和极慢的三阶段动力学迁移模型较一阶段或两阶段动力学模型可更好的描述吸附于 *K. obovata* 根表皮的 Phe、Pyr 或 B[a]P 向组织内部迁移的过程。其中，吸附于 *K. obovata* 根表皮的 Phe、Pyr 或 B[a]P 向内部迁移过程快阶段的迁移速率主要取决于被动扩散，而慢、极慢两阶段的迁移速率则由被动扩散和主动吸收共同决定；被动扩散是吸附于 *K. obovata* 根表皮

B[a]P 向组织内部迁移的主要机制。此外，低盐度条件下，植物根主动运输能力较强，可促进吸附于 *K. obovata* 根表皮的 Phe、Pyr 或 B[a]P 向组织内部的迁移。

(2) 将(1)中已建立的 LITRF 法拓展至原位定量研究母环 PAHs(芴(Flu))、烷基化 PAHs(1-甲基-芴(1-M-Flu))和 N/O/S 杂环 PAHs(二苯并噻吩(DBT)、咔唑(Car)或二苯并呋喃(DBF))在红树植物根表的赋存情况及向组织内部的迁移过程。结果显示，三类 PAHs 的赋存情况存在明显差异。对于母环 PAHs(Flu)和烷基化 PAHs(1-M-Flu)来说，其 K_{oc} 值与植物根表皮极性(N+O)/C 值呈显著负相关($p < 0.05$)，相关系数分别为 0.99 和 0.98，说明不仅母环 PAHs，烷基化 PAHs 亦较难穿透植物细胞壁、进而通过跨膜作用进入根表皮细胞，烷基化 PAHs 赋存和向组织内部迁移过程主要取决于其与根表皮之间的分子间作用力大小，而非空间位阻效应；N/O/S 杂环 PAHs(DBT、Car 或 DBF)与植物根表皮极性的无显著相关性($p > 0.05$)，说明 N/O/S 杂环 PAHs 孤对电子与植物根表皮之间形成的 $n-\pi$ 和氢键是决定其赋存量和向组织内部迁移过程的重要因素。

(3) 在 LITRF 法的基础上结合导数荧光光谱技术，建立同时测定吸附于 *K. obovata*、木榄(*B. gymnorhiza*)和桐花树(*A. corniculatum*)根表皮 Phe 和荧蒽(Fla)的原位分析方法(D-LITRF 法)。该方法的选择性较 LITRF 法明显改善，可有效区分荧光发射光谱严重重叠的 Phe 和 Fla，实现 Phe 和 Fla 的同时测定，所建方法的线性范围分别为：5.3-700.2 ng/g 和 1.1-350.3 ng/g；检出限分别为：0.2 ng/g 和 0.1 ng/g。继而，利用所建方法原位研究红树植物根表皮 Phe 和 Fla 混合组分赋存情况及向植物根组织内部迁移的过程。结果表明，吸附于红树植物根表皮的 Phe 和 Fla 向内部迁移的速率常数与植物根的脂质含量呈现良好的线性关系，而共存时的抑制率则与脂质含量无显著相关性($p > 0.05$)。进一步研究显示，吸附于红树植物根表皮的 Phe 和 Fla 相互作用抑制了二者向组织内部迁移的速率，抑制程度在慢和极慢迁移阶段最为明显。

(4) 红树植物根表皮结构复杂，不同区域 PAHs 的赋存情况和迁移过程可能存在显著差异。利用结合荧光光谱和显微荧光技术的显微荧光光谱系统建立原位可视化定量分析红树植物根表皮微区吸附 PAHs 的 MFSA 法。所建 MFSA 法测定吸附于 *K. obovata* 根表皮萘(Nap)、蒽(Ant)和 B[a]P 的线性范围分别为：600.1-1500.2 ng/g、450.4-3000.4 ng/g 和 350.6-4200.8 ng/g，回收率分别为：

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 for delivery details.

厦门大学博硕士学位论文摘要库