

人工纳米颗粒对水生生物的毒性效应及其机制研究进展

王震宇¹, 赵建¹, 李娜¹, 李锋民¹, XING Bao-shan^{1,2*}

(1. 中国海洋大学环境科学与工程学院, 青岛 266100; 2. Department of Plant, Soil and Insect Sciences, University of Massachusetts, Amherst MA01003, USA)

摘要:随着纳米科技的飞速发展和纳米产品的普及,人工纳米颗粒(NPs)的生物毒性效应研究逐渐成为国内外关注的热点.以水环境和水生生物为对象,综述了近几年来 NPs 对水生生物的毒性效应、毒性机制等方面的研究进展.文中按 NPs 的分类总结了 NPs 对微生物、藻类、原生动物和鱼类等水生生物的毒性效应,着重论述了 NPs 的可能毒性机制及其与 NPs 的独特物理化学性质之间的关系,并在细胞和分子水平上探讨了 NPs 的摄取、跨膜运输等方面的可能机制.在自然水体中,NPs 因其化学行为受水化学条件等影响而表现出不同于实验室研究中的生物毒性效应,本文也对这方面的研究进行了讨论和总结.最后分析了目前水生生物纳米毒性研究中的瓶颈和方法、技术方面的问题,并对以后应注重开展的研究进行了展望.

关键词:纳米毒性;水环境;毒性机制;氧化损伤;环境行为;天然有机质

中图分类号:X171.5 文献标识码:A 文章编号:0250-3301(2010)06-1409-10

Review of Ecotoxicity and Mechanism of Engineered Nanoparticles to Aquatic Organisms

WANG Zhen-yu¹, ZHAO Jian¹, LI Na¹, LI Feng-min¹, XING Bao-shan^{1,2}

(1. College of Environmental Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266100, China; 2. Department of Plant, Soil and Insect Sciences, University of Massachusetts, Amherst, MA 01003, USA)

Abstract: With the rapid development of nanotechnology and widespread use of nanoproducts, ecotoxicity of engineered nanoparticles (NPs) attracts increasing attention and research. This paper reviews the ecotoxicity and mechanisms of NPs to aquatic organisms systematically. Toxic effects of different classes of NPs to bacteria, algae, invertebrates and fish in aquatic environments were firstly summarized, possible toxicity mechanisms were then expounded and the relationship between toxicity mechanisms and unique physicochemical properties of NPs was also analyzed. The processes of NPs uptake and membrane penetration at the cell and molecular level were discussed and presented. In the natural water, NPs behaviors are influenced by water chemistry conditions, so toxic effect to aquatic organisms is different from that in laboratory conditions, which should be paid with increased attention and effort. Finally, bottle-necks and challenges of NPs ecotoxicity research and existing problems of test and analytical methods were analyzed and the future directions of research were suggested.

Key words: nanotoxicity; aquatic environment; toxicity mechanism; oxidative damage; environmental behavior; natural organic matter

按照美国试验与材料协会(the American Society for Testing and Materials)和英国标准学会(the British Standards Institution)的定义,纳米材料(nanomaterial)为至少一维在1~100 nm的材料;纳米颗粒(nanoparticle, NPs)为至少有2维在1~100 nm的材料^[1].人工合成 NPs 根据其化学组成的不同可分为5类:碳 NPs、金属氧化物、零价(zero-valent)金属、量子点(quantum dot, QDs) NPs 和有机聚合物等其它 NPs^[2].这些人工合成 NPs 因其纳米粒径而具有独特的机械性能、接触反应活性、光学性质和电学传导性等特性,并已逐渐在光电、生物医药、化妆品、能源及催化等领域得到广泛应用,在过去10 a里纳米产品呈指数增长,范围及种类也不断

扩展,估计在2011~2020年间将增加到58 000 t^[1,3].美国Woodrow Wilson国际学者中心2009年发布的“纳米技术消费品清单”列出了目前最常见的纳米材料依次为银、富勒烯和碳纳米管、氧化锌、二氧化硅、二氧化钛等^[4].

然而,纳米材料在被广泛应用的同时,其潜在

收稿日期:2009-11-20;修订日期:2009-12-18

基金项目:教育部新世纪优秀人才计划项目(NCET-06-0599);教育部“长江学者”讲座教授基金项目;国家科技支撑计划项目(2006BAC01A13)

作者简介:王震宇(1969~),男,博士,教授,主要研究方向为土水环境中污染物质的迁移转化过程及污染修复与控制, E-mail: wang0628@ouc.edu.cn

* 通讯联系人, E-mail: bx@pssci.umass.edu

的生物环境效应不容忽视. 自 2003 年 Service^[5]和 Brumfiel^[6]分别在 Science 和 Nature 上就纳米材料生物效应问题展开探讨开始, 人工合成 NPs 的环境生物毒性效应研究逐渐成为当今国际上的研究热点; 2005 年, 国际上召开了多达 16 次纳米安全性会议, 英、美等国均成立了专家组, 制订并启动了 NPs 环境行为与生态效应的研究计划; 2009 年 6 月起, 在 NPs 的安全性尚不明确的情况下, 美国和欧盟已经分别加强了对碳纳米管的控制和 NPs 在化妆品行业中应用的管理^[7]; 2009 年 8 月 Song 等^[8]发现, 2 名工人由于长期处在 NPs 的工作环境中, 导致肺部损伤而死亡, 其余工人也患有严重肺部疾病, 这是首次 NPs 致人死亡的报道, Gilbert^[9]对此也进行了专门的讨论.

NPs 在生产、消费和废弃过程中必将进入环境, 经迁移和运输最终中止于水体和土壤中(图 1). 相对于土壤, 水体中的 NPs 迁移能力更强、影响范围更广, 亦更容易受到外界环境因素(如风速、pH 和人类活动)的干扰. 在水体环境中, NPs 通过吸附/解析、悬浮/沉降等一系列复杂的过程, 会对水生生态系统产生潜在的影响. 迄今为止, NPs 的环境行为研究主要集中于水环境, 针对水生生物的研究更是几乎涉及 NPs 的全部种类. 因此, 对这方面的最新研究成果进行及时总结十分必要. 本文扼要介绍了不同种类的 NPs 对水生生物的生物毒性效应, 详细分析了 NPs 的致毒机制, 重点阐述水环境因素对 NPs 生物毒性效应的影响, 并就目前研究中存在的问题和今后的研究方向进行了展望.

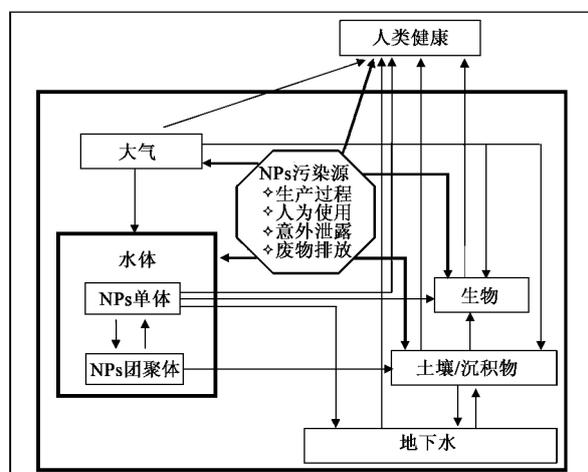


图 1 NPs 进入环境的途径及其生物地球化学过程
(根据文献[10]修改而得)

Fig. 1 Pathways and biogeochemical processes of NPs

1 纳米颗粒对水生生物的生物毒性效应及其机制

1.1 纳米颗粒的水生生物毒性效应

表 1 总结了近几年富勒烯(C_{60})和碳纳米管(CNTs)、金属氧化物、零价金属、量子点和有机聚合物等人工 NPs 对水生生物的生物毒性效应. 这些研究成果主要表现出以下特点: ① 针对细菌、藻类和鱼类的毒性研究均已开展并进行了深入研究, 但是涉及大型水生植物和海洋生物的研究较少, 仅有一篇对真菌的毒性研究的报道^[33]; ② 毒性研究多为急性实验, 半致死浓度多处于“mg/L”级别甚至更低, 表明人工 NPs 具有潜在的生物毒性作用; ③ 不同 NPs 毒性差异较大, 具有特殊结构或性能的 NPs 表现出更强的毒性效应, 即使同种 NPs 也会因其粒径、表面特征等的不同而具有较大差异; ④ 生物物种之间并没有表现出显著的毒性差异, 这可能和复杂的致毒机制相关; ⑤ 由于人工 NPs 是一种新型的潜在毒物, 很多研究中将其与传统毒物进行了对比. 例如, 在研究 CNTs 毒性时可以选择石棉作为对比, 金属或金属氧化物 NPs 毒性常与重金属离子的毒性联系在一起. 含重金属元素的 ZnO 等 NPs 的毒性低于对应的 Zn 离子毒性^[35], 但是 SiO_2 和 TiO_2 等 NPs 毒性可能高于其离子形态. 目前判断 NPs 与传统毒物的毒性强弱为时尚早, 需要进一步系统全面的研究. 可以预见, 随着纳米产品的普及, NPs 极有可能成为威胁水生生态系统稳定的新型污染物.

1.2 毒性机制

目前 NPs 的毒性机制还不十分清楚, 可能的致毒机制主要包括细胞膜完整性破坏、氧化胁迫、线粒体等重要细胞器损伤、蛋白质氧化和变性并丧失功能、基因毒性、毒性物质的释放等(图 2), 这些致毒机制主要由 NPs 的自身性质决定.

粒径是 NPs 最显著的特征, 也是进入生物体并产生生物毒性效应的关键因素. 一方面, 大多数生物大分子和活性物质都处于纳米级, 细胞膜孔径、核膜孔径和离子通道等也在这一范围^[55]. 当 NPs 粒径小到一定程度, 就可以直接穿过细胞膜进入细胞, 反之, 要穿过细胞膜就会对膜的完整性产生损伤, 或者通过其它方式如吞噬作用^[56, 57]和主动运输^[58]等进入细胞. 当 NPs 进入细胞后, 可能会在细胞质中失去它们精巧的表面结构或者与细胞内物质(如生物大分子)发生结合^[59]. 另一方面, 当一种材料处于纳米级就会具有尺寸效应, 其表面活性、电子稳定性、溶解性和光学性质等均会发生变化,

表 1 不同类型 NPs 的生物毒性效应及其机制
Table 1 Bio-toxicity and mechanism of different classes of NPs

纳米颗粒	受试生物	毒性效应及机制	文献
C ₆₀ 及其衍生物	大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、假单胞菌	毒性依浓度和细胞类型,最小抑制浓度为 0.5~3.0 mg/L。没有发现活性氧产生和过氧化损伤,膜结构发生变化,流动性增加	[11~13]
	绿藻,衣藻,斜生栅藻 (<i>Scenedesmus obliquus</i>)	毒性取决于暴露时间和粒径,C ₆₀ 能沿食物链累积	[14~16]
	水稻	C ₇₀ 能导致水稻开花推迟结实率下降,C ₇₀ 能够进入植物组织和细胞中	[17]
	水蚤、斑马鱼、鲫鱼	毒性受控于 C ₆₀ 的悬浮方式,48 h 半致死浓度(LC ₅₀)为 0.5~7.9 mg/L,C ₆₀ 能够延缓斑马鱼胚胎和幼鱼的发育,降低存活率。可通过过氧化损伤致毒	[15,18~20]
单壁碳纳米管(SWCNT)和多壁碳纳米管(MWCNT)	大肠杆菌、沙门氏菌	强烈的抑菌作用,直接和细胞接触导致细胞膜的损伤和代谢能力下降并引起核酸的外泄。能否导致细菌基因突变存在争议	[21~23]
	斜生栅藻 (<i>Scenedesmus obliquus</i>)	SWCNT 和 MWCNT 对斜生栅藻的 96 h EC ₅₀ 值分别为 22.6 mg/L和 15.5 mg/L	[16]
	水稻	MWCNT 都能导致水稻开花推迟结实率下降,但未发现进入植物组织中	[17]
	水蚤、斑马鱼、贻贝棘尾虫 (<i>Stylynychia mytilus</i>)、深海桡脚类动物 (<i>Meiobenthic copepod</i>)、夹杂带丝蚓 (<i>Lumbriculus variegates</i>)、虹鳟鱼	毒性依赖于直径、表面特征和浓度。SWCNT 能够造成深海桡脚类动物生殖系统损伤,虹鳟鱼鳃病变、粘液增多,但不会造成脑损伤;MWCNT 可造成贻贝棘尾虫线粒体,细胞核和细胞膜损伤	[14,25~28]
金属氧化物 TiO ₂ 、ZnO、Fe ₂ O ₃ 、Al ₂ O ₃ 、SiO ₂	大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、假单胞菌	抑菌作用取决于粒径、表面特性和溶解性。毒性机制包括产生 ROS,造成过氧化损伤;细胞膜破坏,渗透性增加;释放金属离子	[29~32]
	酿酒酵母 (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>)	TiO ₂ 没有毒性,CuO 毒性存在粒径效应,并且释放的离子贡献 50% 毒性	[33]
	绿藻,衣藻、羊角月芽藻、微藻 (<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>)	浓度效应和粒径效应因材料不同而异。致毒机制包括过氧化损伤、释放离子 (ZnO)、刺激基因表达 (TiO ₂)	[14,34~37]
	水蚤 (<i>Daphnia magna</i>)、线虫 (<i>Caenorhabditis elegans</i>)、斑马鱼、鲤鱼 (<i>Cyprinus carpio</i>)	毒性效应依赖于悬浮方式、粒径和溶解性。不同研究结果中 LC ₅₀ 差别较大,ZnO 表现出最强毒性,TiO ₂ 对鲤鱼具有氧化损伤	[18,29,34,38~41]
零价金属 Ag、Cu、Au、Fe、Ni、Al、Co 等	大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、葡萄状球菌、酵母菌、硝化细菌	毒性效应依赖于粒径、表面特征、溶解性及细菌类型。Ag 表现出强烈的抑菌效应。毒性机制主要是产生氧自由基,造成过氧化损伤和释放金属离子	[31,42~45]
	羊角月芽藻 (<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>) 斜生栅藻、椭圆小球藻、四列藻	毒性效应明显依赖于粒径。48 h LC ₅₀ , Ag、Cu、Al、Ni 分别为 0.19、0.54、8.30、0.35 mg/L; Co 没有毒性; 2.0 mg/L 的 Cu 可完全抑制藻的生长	[34,46]
	水蚤、斑马鱼	Ag 和 Cu 对水蚤毒性最强,48 h LC ₅₀ 可达 0.05 mg/L。NPs 能通过布朗运动进出斑马鱼的胚胎;导致斑马鱼鳃形态和基因表达的改变;金属离子的释放也能产生毒性作用	[1,34,47]
量子点(QDs)和其他 NPs CdSe、CdTe、CdSe/ZnS、壳聚糖和聚苯乙烯颗粒	枯草芽孢杆菌、大肠杆菌、猪霍乱沙门氏菌、葡萄球菌	毒性效应依赖于粒径、表面特征、电荷和细胞类型等。致毒机制包括直接破坏细胞膜功能、过氧化损伤、金属离子释放等	[48~51]
	水蚤、淡水贻贝 (<i>Elliptio complanata mussel</i>)、斑马鱼、青鳉 (<i>O. latipes</i>)	毒性效应依赖于粒径、表面特征和电荷等。毒性机制包括干扰细胞中电子和能量传递、过氧化损伤、DNA 损伤、金属离子释放等。聚苯乙烯颗粒能够通过血脑屏障进入大脑,并主要在脂肪中储存	[52~54]

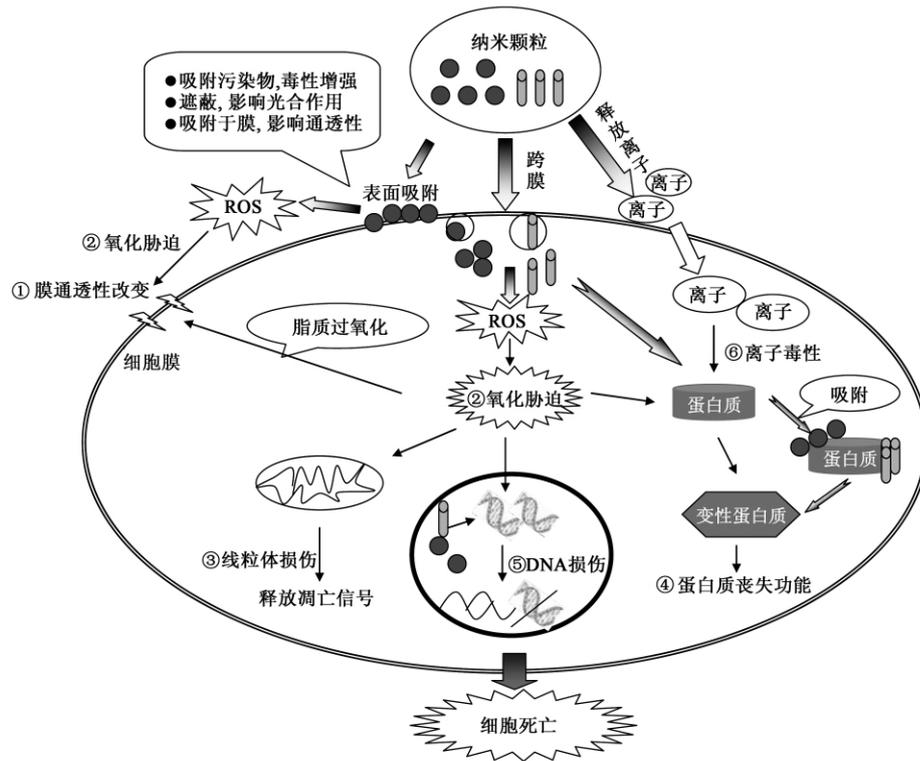


图2 NPs对水生生物的可能致毒机制

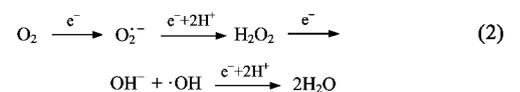
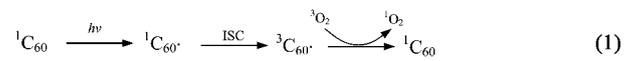
Fig. 2 Possible toxicity mechanisms of NPs to aquatic organisms

随之带来与常规尺寸的材料截然相反的生物毒性效应。Ag NPs对细菌的毒性效应就与颗粒的粒径密切相关,粒径越小抑菌作用越强, < 5 nm的Ag NPs毒性最强^[45];对藻类毒性的研究也发现,25 nm直径的TiO₂能够明显抑制藻类生长,而大颗粒的TiO₂几乎没有毒性^[60];笔者研究发现,纳米TiO₂能够进入鲤鱼(*Cyprinus carpio*)体内,造成鳃和肝的病理学变化并产生氧化损伤^[38];Kashiwada^[53]研究了橡胶NPs对青鳉及其鱼卵的毒性,发现纳米粒径越小,其在体内累积越多;但是也有报道指出,炭黑颗粒对动物免疫细胞的毒性效应不依赖于颗粒尺寸^[61],这可能是NPs在水体或者其它培养液中可能产生团聚和沉淀,从而使得尺寸效应不明显。因此,反映团聚体大小的水力半径是表征水体中纳米颗粒的一个重要参数。

NPs具有高比表面积和较强的吸附能力,是潜在的优质吸附剂。NPs能够吸附于植物细胞表面,从而产生遮蔽效应,影响植物的光合作用;NPs还能附着在细胞膜表面,堵塞细胞壁、膜和离子通道,干扰营养物质的运输和离子交换^[62,63]。当NPs进入细胞后,能够吸附于线粒体等细胞器上或者与生物大分子结合,中断电子和能量转换或引起蛋白质

的变性,从而产生毒性效应^[64]。NPs对重金属^[40,65]、多环芳烃^[66]和内分泌干扰物^[67]等均具有较强的吸附能力,从而产生协同作用。与常规颗粒相比,具有高比表面积的金属和金属氧化物NPs能够快速、高效地释放金属离子,提高生物毒性作用^[68]。

一些NPs具有较强的表面活性。这些NPs可以在吸收能量或者接触生物体内电子供体时产生活性氧(reactive oxygen species, ROS)。例如, C₆₀、TiO₂和ZnO等NPs在光照射下可以通过如下的反应式(1)产生ROS^[69];还原态NPs如零价Fe、Cu等可以提供电子,通过反应式(2)产生ROS^[45];聚苯乙烯等NPs还可以在生物体内通过干扰电子传输链而产生ROS^[57]。



ROS主要包括¹O₂、O₂^{·-}、H₂O₂和·OH等种类,其大量累积且不能被及时去除就会对生物体产生氧化胁迫,造成生物毒性效应。ROS能够对几乎所有

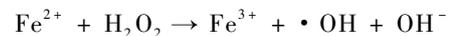
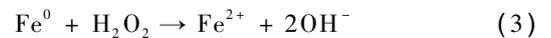
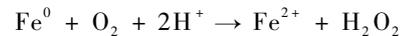
的细胞造成损伤,这一过程可以分为3个阶段:①低水平的氧化胁迫,转录因子 Nrf2 调节抗氧化酶、解毒酶等组成的抗氧化防御系统,抵抗过氧化胁迫;②高水平的氧化胁迫,ROS 刺激细胞中敏感性的酶,发出保护性的促炎反应;③最高水平的氧化胁迫,膜脂质过氧化、线粒体损伤,细胞功能丧失,直至引起细胞的凋亡^[57]。其他的毒性机制,如蛋白质变性、DNA 损伤等也可能是由 ROS 造成的氧化损伤引起的^[71]。值得注意的是,一些自身产生 ROS 的 NPs (如 TiO₂) 对细胞可能没有毒性作用或者毒性不大,而一些自身不产生 ROS 的 NPs (如胺基聚苯乙烯)在与细胞接触后可能会产生强烈的细胞毒性作用^[72],这可能是因为后者能够激活促炎因子或者 NADPH,产生过多的 ROS,从而造成过氧化胁迫。氧化损伤机制已经成为纳米毒性的主要的可能机制之一,但是这一机制并不能解释所有的毒性现象。例如 Lyon 等^[12]的研究发现,C₆₀对大肠杆菌的抑制作用不是由氧化损伤引起的;TiO₂能产生 ROS,但暴露 72 h 后对小胶质细胞不产生毒性作用^[73]。因此,不同的 NPs 对生物造成的氧化损伤机制可能不同,氧化损伤和毒性效应之间是否具有直接关系,有待深入研究。

NPs 所带的电荷与其毒性效应密切相关。大多数 NPs 如 C₆₀、CNTs、TiO₂ 等表面都带有负电荷^[62]。Xia 等^[57]研究发现带负电的聚苯乙烯对肺泡上皮细胞没有毒性作用,当键合胺基带正电后就会产生强烈的毒性作用。Orr 等^[58]和 Nabiev 等^[74]的研究也发现,当所带电荷不同,细胞对其摄取方式是完全不同的。Du 等^[49]在研究 NPs 的抑菌作用时发现抑菌能力和颗粒所带电荷成正比。因此,NPs 所带电荷的正负和电量大小都会影响其对生物体的毒性效应。此外,带负电的 NPs 能够键合阳离子污染物例如金属离子等,从而扩大毒性效应^[40]。溶液的 pH、缓冲液种类和微生物环境等都会对 NPs 的电荷造成影响^[74]。

多数含金属 NPs (ZnO、Fe₂O₃、Ag、Cu、QDs 等)在水相中都具有一定的溶解性,能够释放金属离子。Vogelsberger 等^[75]研究了金属氧化物在水相中的溶解动力学,结果表明 NPs 在水相中的溶解性与颗粒大小、表面张力和颗粒浓度等有关。较大的表面积使得 NPs 在水体中释放金属离子的能力大大增强,1 mg/L 的金属 NPs 能释放大约 1 μg 的金属离子^[68]。因此在评价这些 NPs 的毒性效应时,释放离子的影响是一个不可忽略的因素。Franklin 等^[35]

在研究 ZnO NPs 对藻类毒性时发现,ZnO 的毒性效应主要是由 Zn²⁺ 造成的。量子点经光照、氧化或者与生物体接触后能够降解,其中的 Cd、Zn 等重金属元素泄露后进入细胞和生物体中造成生物毒性效应^[76]。Male 等^[77]也发现,QDs (CdSe)对纤维原细胞 V79 具有直接的细胞毒性,主要归因于 Cd 的毒性作用,而 Se 也具有一定的毒性作用。

NPs 对生物体的毒性效应往往不是由单一因素造成的,而是由上述多重原因所致。例如,Fe⁰ 的毒性效应可以由以下反应式(3)表示^[31],这一反应过程既有离子的释放又有 ROS 的产生。因此当分析一种 NPs 的毒性作用时要对可能影响的因素进行综合考虑。此外,在环境中 NPs 也会受到非生物因素(如 pH、盐度、水体硬度、温度、水体中可溶性有机物等)的影响。然而,迄今为止,在这方面还缺乏系统的毒理学研究^[68]。



有一些 NPs 的毒性机制的研究结果还存在争议。Yang 等^[78]研究了 Al NPs 对植物生长的影响,粒径为 13 nm 的 Al 颗粒在 2 000 mg/L 时能够抑制 5 种不同植物根的生长,但是大粒径(200 ~ 300 nm)的 Al 颗粒却没有毒性作用,作者认为是由于 NPs 表面羟自由基存在引起的。但是 Murashov^[79]认为这种植物毒性作用是由 Al NPs 的溶解引起的。总的来说,NPs 的毒性机制还缺少直接的实验数据来加以证明。

2 环境因素对水生生物纳米毒性效应的影响

上述针对水生生物的毒性研究均是以客观评价 NPs 对水生生态系统以及人类的安全性为目的的。而现今绝大多数水生生物毒性研究都是在简化的实验室条件中进行的,实验用水基本不含天然有机质(NOM),pH 稳定,离子强度极低且离子种类单一。因此,这些研究结果并不能完全代表 NPs 在自然水体中的毒性效应。

在自然水体中,NPs 迁移能力和化学行为复杂程度,会随着环境因素的改变而发生变化。NPs 的行为大多属于胶体化学行为的范畴,主要受水化学条件、光照、水流、风速等环境因素的影响。水化学条件(NOM、离子强度和 pH 等)是影响 NPs 悬浮的重要因素。研究表明,NOM 可以增加 C₆₀、CNTs 等

碳 NPs 和氧化铝^[80]、二氧化钛^[81]、铁氧化物^[82]等金属氧化物 NPs 的悬浮性,这主要是因为 NOM 在这些 NPs 上发生吸附,而吸附作用取决于 NPs 的面积^[83]和 NOM 的性质(如 NOM 的芳香性)^[84]。自然水体的离子强度和 pH 增加了 NPs 在水体中悬浮的复杂性。Lyon 等^[11]和 Saleh 等^[85]的研究都表明离子强度的增加能够使 C₆₀和零价 Fe 等 NPs 团聚加剧,悬浮性降低。但是,当 NOM 存在时,离子强度的增加反而会增大 CNTs 的悬浮^[86],这是因为离子强度的增加明显促进了 CNTs 对 NOM 的吸附。Ghosh 等^[80]发现氧化铝 NPs 悬浮液的 pH 接近于其等电点(ZPC)时悬浮性减弱,远离 ZPC 时悬浮性增强,这可能归因于 pH 改变了颗粒之间的静电作用力;水体中 NOM 浓度的增加也可以改变 NPs(铁氧化物等)的 ZPC 和水体 pH 值,从而使 NPs 悬浮状态发生改变^[82]。此外,水温、光照和污染物的排放等都会影响 NPs 在水体中的悬浮和迁移。由此可见,水环境中 NPs 的化学行为必然受上述多种因素的共同作用,搞清 NPs 在水环境中的行为尚需时日。

影响水环境中 NPs 化学行为的这些环境因素又是怎样通过控制 NPs 的化学行为而影响 NPs 的毒性的呢?归纳起来,主要有以下 3 个方面。①通过改变 NPs 的悬浮性来改变其毒性。采用超声、添加表面活性剂等助悬浮方法早已被证明可以显著增大 TiO₂ 和 C₆₀等 NPs 的毒性^[18]。理论上,高 NOM、低离子强度和 pH 远离 NPs 的 ZPC 的水体中,NPs 的悬浮性较强,生物有效性和毒性作用随之增强。Lin 等^[17]研究发现 NOM 的存在显著增大了碳 NPs 的毒性,C₇₀和 MWCNT 能使水稻开花推迟结实率下降 5%~10%,有效地验证了该假说。但是,Kang 等^[87]的研究结果表明 NOM 并不能明显改变 SWCNT 对细菌的毒性。②NPs 的表面性质可能在自然水体中发生改变。NOM 可以吸附于 NPs 上以改变 NPs 表面官能团或形成薄膜,增强其迁移扩散能力。例如,NOM 存在下 C₇₀可以进入水稻的根并运输至茎和叶中^[17],但是 NOM 还可能在与 NPs 接触后将 NPs 包裹,限制有害离子的释放从而降低 NPs 的毒性。生物体膜多带负电,水体 pH 和离子强度可以通过改变 NPs 表面电荷而影响 NPs 与生物体的接触。③NPs 和水体中的其他污染物相互作用,例如金属 NPs(Cu、Fe)对多环芳烃^[66]、碳 NPs 对内分泌干扰物^[67]等都具有较强的吸附能力;TiO₂等 NPs 可以吸附 Cd 等重金属从而在鱼体内的累积

起到放大作用^[40]。此外,含金属 NPs 的溶解性受控于水体 pH 和水温等,光照也能通过改变 NPs 结构影响 NPs(C₆₀)的毒性^[88],这些都是评价 NPs 毒性必须要考虑的因素。

3 问题与展望

目前,NPs 的水化学行为和毒理学研究已取得较大进展。然而,无论在 NPs 与 NOM 的作用机制还是 NPs 的致毒机制等方面都没有被解释清楚,二者之间的具体联系更是需要大量直接的试验数据来加以支撑。除此之外,仍需要进一步深入研究和回答的问题还包括以下 6 个方面。

(1) NPs 的表征。由于制作工艺、表面特征等不同,NPs 之间难以进行横向比较,NPs 在水中的团聚状态也因仪器的不同而存在差异。因此,在今后的实验中需利用多种仪器对其进行充分表征。Domingos 等^[89]利用透射电镜(transmission electron microscopy, TEM)、原子力显微镜(atomic force microscopy, AFM)、动态光散射(dynamic light scattering, DLS)、荧光相关光谱(fluorescence correlation spectroscopy, FCS)和流分离系统(flow field flow fractionation, FIFFF)等测定了 TiO₂ NPs 在水体中的颗粒大小,发现不同仪器得到的粒径差别较大,顺序为 TEM ≈ AFM < FCS ≈ FIFFF < DLS。

(2) 慢性毒性试验和受试生物的选择。纳米级的粒径和特殊的表面性质使得 NPs 较易进入生物体内,当 NPs 累积于生物体内会长期存在,甚至能沿食物链传递^[17],因此其慢性毒性不容忽视。然而目前 NPs 毒理学研究多为急性毒性测试,缺乏足够的慢性毒性实验数据的支撑和沿食物链累积、传递的基础数据。NPs 的毒性效应具有物种差异性。目前,纳米毒性研究多集中于欧美国家,采用的供试生物大多采用国际通用的模式生物如水蚤、斑马鱼等。但也有地区代表性的受试生物的使用,日本主要是将日本青鳉(*O. latipes*)作为受试生物^[53],而我国主要是将鲫鱼^[20]、鲤鱼^[40]等作为受试生物。采用这些具有区域代表性的受试生物有助于人们全面了解 NPs 的潜在危害,为进行安全评价和制定防治策略提供依据。

(3) 完善和标准化 NPs 的毒理学测定和研究方法。NPs 的毒性研究和其他污染物的毒性研究相似,既有间接的反映机体的损伤程度的各种指标,又可以通过直接的现象观察。只有两者有效结合才

能充分反映 NPs 的毒性。同时,在应用常规的毒理学测试方法研究 NPs 的生物毒性时需考虑 NPs 自身独特的物化性质。Worle-Knirsch 等^[90]应用 MTT、WST-1、LDH 等测定细胞活性的方法研究了 SWCNT 的毒性作用,MTT 方法显示 SWCNT 具有细胞毒性,而另 2 种方法则得出相反结果。进一步研究表明,SWCNT 可与 MTT 及其中间产物结合而不能与其他反应的试剂结合,利用电子显微镜观察到 MTT 中间产物(formazan)晶体覆盖了碳纳米管,也就是说 SWCNT 与测试试剂结合干扰了测定方法从而使碳纳米管显示出毒性。笔者在研究不同 NPs 对乙酰胆碱酯酶的抑制作用时也发现,NPs 对酶反应过程中的显色物质发生吸附,从而干扰了酶活性的测定^[91]。另外,使用比色法研究 C₆₀对细菌的过氧化损伤时发现,C₆₀可以和测试试剂反应,使结果呈现假阳性^[12]。因此在进行 NPs 的毒性试验时,对这种新型的材料至少要使用 2 种或者更多独立的测试方法才能保证实验数据的可靠性^[90]。同时建立 NPs 毒性试验都标准化方法也十分必要。

(4) 利用测试仪器直观观察 NPs 的摄取、迁移和细胞损伤对研究 NPs 的毒性效应意义重大。荧光标记是研究 NPs 的细胞摄取的主要方法,如对 NPs 进行荧光标记,可以看到 NPs 可从内脏迁移到脂肪滴中^[1]。但是,这一方法也存在一些缺点,如标记得不稳定、标记过程中导致 NPs 的表面物理化学性质的改变等。应用能量过滤式透射电子显微镜(EFTEM)和共聚焦显微镜对 CNTs 进入人类细胞全过程进行直接观测时发现,CNTs 与细胞碳纤维极为相似,应用普通 TEM 无法分辨,EFTEM 却可清晰分辨^[55]。使用电子 X 线断层摄影术(electron cryotomography)和原子力显微镜可以研究脂质双分子层和 NPs 穿刺细胞膜的过程^[70]。随着新技术和先进仪器的不断发展应用,NPs 的跨膜和毒性机制的研究必将得到极大推动。

(5) NPs 在水环境中的悬浮和迁移对水生生态系统具有潜在危害,因此寻找减轻或者消除这种危害的途径很有必要。已有研究表明,NPs 表面进行氧化处理或者进行表面包被可以降低毒性^[92];较高的离子强度和特定的离子均能够加速 NPs 的团聚和沉降,从而使其从水体中去除^[11];紫外光的照射能够使 C₆₀发生降解^[93];生物降解不失为去除 NPs 潜在污染的好方法,Allen 等^[94]已发现来源于植物的辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase)能够有效降解 SWCNT。

(6) 建立监测 NPs 在环境中分布和对环境危害的预测模型(欧洲曾经预计要在未来的 10 a 内完成^[95])。困难主要在于缺乏大量可靠的基础性数据^[7]。因此,需要纳米产品的生产者、管理者、消费者和毒理学研究人员密切合作,特别是纳米产品的生产者和研究人员要共享数据。最终能建立起一整套相对完整、科学的纳米材料安全性评价标准,有效防范纳米材料产生的生物毒性。

参考文献:

- [1] Klaine S J, Alvarez P J, Batley G E, *et al.* Nanomaterials in the environment: behavior, fate, bioavailability and effects [J]. *Environ Toxicol Chem*, 2008, **27**(9): 1825-1851.
- [2] Ju-Nam Y, Lead J R. Manufactured nanoparticles: an overview of their chemistry, interactions and potential environmental implications [J]. *Sci Total Environ*, 2008, **400**: 396-414.
- [3] Maynard A, Michelson, E. The nanotechnology consumer products inventory [EB/OL]. http://www.euractiv.com/29/images/nano_tcm29-461964.pdf, 2006-03-08.
- [4] Woodrow Wilson International Center for Scholars. The nanotechnology consumer products inventory [EB/OL]. http://pewnanotechproject.org/inventories/consumer/analysis_draft/, 2009-09-11.
- [5] Service R F. Nanomaterials show signs of toxicity [J]. *Science*, 2003, **300**(11): 243.
- [6] Brumfiel G A. Nanotechnology: a little knowledge [J]. *Nature*, 2003, **424**(17): 246-248.
- [7] Maynard A, Rejeski D. Too small to overlook [J]. *Nature*, 2009, **460**: 174.
- [8] Song Y, Li X, Du X. Exposure to nanoparticles is related to pleural effusion, pulmonary fibrosis and granuloma [J]. *Eur Respir J*, 2009, **34**: 559-567.
- [9] Gilbert N. Nanoparticle safety in doubt [J]. *Nature*, 2009, **460**: 937.
- [10] Nowack B, Bucheli T D. Occurrence, behavior and effects of nanoparticles in the environment [J]. *Environ Pollut*, 2007, **150**: 5-22.
- [11] Lyon D Y, Fortner J D, Sayes C M, *et al.* Bacterial cell association and antimicrobial activity of a C₆₀ water suspension [J]. *Environ Toxicol Chem*, 2005, **24**(11): 2757-2762.
- [12] Lyon D Y, Brunet L, Hinkal G W, *et al.* Antibacterial activity of fullerene water suspensions (nC₆₀) is not due to ROS-mediated damage [J]. *Nano Lett*, 2008, **8**(5): 1539-1543.
- [13] Fang J, Lyon D Y, Wiesner M R, *et al.* Effect of a fullerene water suspension on bacterial phospholipids and membrane phase behavior [J]. *Environ Sci Technol*, 2007, **41**: 2636-2642.
- [14] Luo J, Chandler A. Toxicity and bioaccumulation of nanomaterial in aquatic species [EB/OL]. http://www.wef.org/NR/rdonlyres/8A1DD51F-BD1F-4769-A22C-D27DC552400F/0/AZ_Luo.pdf, 2008-03-22.
- [15] Baun A, Sørensen S N, Rasmussen R F, *et al.* Toxicity and bioaccumulation of xenobiotic organic compounds in the presence

- of aqueous suspensions of aggregates of nano-C₆₀ [J]. *Aquat Toxicol*, 2008, **86**: 379-387.
- [16] 朱小山, 朱琳, 田胜艳, 等. 三种碳纳米材料对水生生物的毒性效应 [J]. *中国环境科学* 2008, **28**(3): 269-273.
- [17] Lin S, Reppert J, Hu Q, *et al.* Uptake, translocation, and transmission of carbon nanomaterials in rice plants [J]. *Small*, 2009, **5**: 1128-1132.
- [18] Lovern S B, Klaper R. *Daphnia magna* mortality when exposed to titanium dioxide and fullerene (C₆₀) nanoparticles [J]. *Environ Toxicol Chem*, 2006, **25**: 1132-1137.
- [19] Gimbert L J, Haygarth P M, Beckett R, *et al.* The influence of sample preparation on observed particle size distributions for contrasting soil suspensions using flow field-flow fractionation [J]. *Environ Chem*, 2006, **3**: 184-191.
- [20] 朱小山, 朱琳, 郎宇鹏, 等. 人工纳米材料富勒烯(C₆₀)低剂量长期暴露对鲫鱼的氧化伤害 [J]. *环境科学*, 2008, **29**(4): 855-861.
- [21] Kang S, Pinault M, Pfefferle L D, *et al.* Single-walled carbon nanotubes exhibit strong antimicrobial activity [J]. *Langmuir*, 2007, **23**: 8670-8673.
- [22] Kang S, Herzberg M, Rodrigues D F, *et al.* Antibacterial effects of carbon nanotubes: size does matter [J]. *Langmuir*, 2008, **24**: 6409-6413.
- [23] Miyawaki J, Yudasaka M, Azami T, *et al.* Toxicity of single-walled carbon nanohorns [J]. *ACS Nano*, 2008, **2**: 213-226.
- [24] Zhu Y, Zhao Q, Li Y, *et al.* The interaction and toxicity of multi-walled carbon nanotubes with *Stylonychia mytilus* [J]. *J Nanoscience Nanotechnology*, 2006, **6**: 1357-1364.
- [25] Templeton R C, Ferguson P L, Washburn K M, *et al.* Life-cycle effects of single-walled carbon nanotubes (SWNTs) on an estuarine meiobenthic copepod [J]. *Environ Sci Technol*, 2006, **40**: 7387-7393.
- [26] Petersen E J, Huang Q, Weber W J. Ecological uptake and depuration of carbon nanotubes by *lumbricus variegatus* [J]. *Environ Health Perspect*, 2008, **116**(4): 496-500.
- [27] Gimbert L J, Hamon R E, Casey P S, *et al.* Partitioning and stability of engineered ZnO nanoparticles in soil suspensions using field-flow fractionation [J]. *Environ Chem*, 2007, **4**: 8-10.
- [28] Roberts A P, Mount A S, Seda B, *et al.* In vivo biomodification of a lipid coated carbon nanotube by *Daphnia magna* [J]. *Environ Sci Technol*, 2007, **41**: 3025-3029.
- [29] Adams L K, Lyon D Y, Alvarez P J J. Comparative eco-toxicity nanoscale TiO₂, SiO₂, and ZnO water suspensions [J]. *Water Res*, 2006, **40**: 3527-3532.
- [30] Brayner R, Ferrari-Iliou R, Brivois N, *et al.* Toxicological impact studies based on *Escherichia coli* bacteria in ultrafine ZnO nanoparticles colloidal medium [J]. *Nano Lett*, 2006, **6**(4): 866-870.
- [31] Auffan M, Achouak W, Rose J, *et al.* Relation between the redox state of iron-based nanoparticles and their cytotoxicity toward *Escherichia coli* [J]. *Environ Sci Technol*, 2008, **42**: 6730-6735.
- [32] Jiang W, Mashayekhi H, Xing B. Bacterial toxicity comparison between nano- and micro-scaled oxide particles [J]. *Environ Pollut*, 2009, **157**(5): 1619-1625.
- [33] Kasemets K, Ivask A, Dubourguier H, *et al.* Toxicity of nanoparticles of ZnO, CuO and TiO₂ to yeast *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Toxicol in Vitro*, 2009, **23**: 1116-1122.
- [34] Griffitt R J, Luo J, Gao J, *et al.* Effects of particle composition and species on toxicity of metallic nanomaterials in aquatic organisms [J]. *Environ Toxicol Chem*, 2008, **27**: 1972-1978.
- [35] Franklin M N, 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]. *Environ Sci Technol*, 2007, **41**: 8484-8490.
- [36] 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.
- [37] Aruoja V, Dubourguier H, Kasemets K, *et al.* Toxicity of nanoparticles of CuO, ZnO and TiO₂ to microalgae *Pseudokirchneriella subcapitata* [J]. *Sci Total Environ*, 2009, **407**(4): 1461-1468.
- [38] Hao L, Wang Z, Xing B. Effect of sub-acute exposure to TiO₂ nanoparticles on oxidative stress and histopathological changes in Juvenile Carp (*Cyprinus carpio*) [J]. *J Environ Sci*, 2009, **21**: 1459-1466.
- [39] Wang H, Wick R L, Xing B. Toxicity of nanoparticulate and bulk ZnO, Al₂O₃ and TiO₂ to the nematode *Caenorhabditis elegans* [J]. *Environ Pollut*, 2009, **157**(4): 1171-1177.
- [40] Zhang X, Sun H, Zhang Z, *et al.* Enhanced bioaccumulation of cadmium in carp in the presence of titanium dioxide nanoparticles [J]. *Chemosphere*, 2007, **67**(1): 160-166.
- [41] 张学治, 孙红文, 张稚妍. 鲤鱼对纳米二氧化钛的生物富集 [J]. *环境科学*, 2006, **27**(8): 1631-1635.
- [42] Ruparelia J P, Chatterjee A K, Duttgupta S P, *et al.* Strain specificity in antimicrobial activity of silver and copper nanoparticles [J]. *Acta Biomaterialia*, 2008, **4**: 707-716.
- [43] Yoon K, Byeon J H, Park J, *et al.* Susceptibility constants of *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* to silver and copper nanoparticles [J]. *Sci Total Environ*, 2007, **373**: 572-575.
- [44] Kim J S, Kuk E, Yu K N, *et al.* Antimicrobial effects of silver nanoparticles [J]. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 2007, **3**: 95-101.
- [45] Choi O, Hu Z. Size dependent and reactive oxygen species related nanosilver toxicity to nitrifying bacteria [J]. *Environ Sci Technol*, 2008, **42**: 4583-4588.
- [46] 傅凤, 刘振乾, 陈传红. 纳米铜粉对浮游植物生长的影响 [J]. *生态科学*, 2007, **26**(2): 126-130.
- [47] Hydutsky B W, Mack E J, Beckerman B B, *et al.* Optimization of nano- and microiron transport through sand columns using polyelectrolyte mixtures [J]. *Environ Sci Technol*, 2007, **41**(18): 6418-6424.

- [48] Kloepper J A , Mielke R E , Nadeau J L. Uptake of CdSe and CdSe/ZnS quantum dots into bacteria via purine-dependent mechanisms [J]. Appl Environ Microbiol , 2005 , **71**: 2548-2557.
- [49] Du W , Niu S , Xu Y , et al. Antibacterial activity of chitosan tripolyphosphate nanoparticles loaded with various metal ions [J]. Carbohydr Polym , 2009 , **75**: 385-389.
- [50] Shi Z , Neoh K G , Kang E T , et al. Antibacterial and mechanical properties of bone cement impregnated with chitosan nanoparticles [J]. Biomaterials , 2006 , **27**: 2440-2449.
- [51] Qi L , Xu Z , Jiang X , et al. Preparation and antibacterial activity of chitosan nanoparticles [J]. Carbohydr Res , 2004 , **339**: 2693-2700.
- [52] Gagné F , Auclair J , Turcotte P , et al. Ecotoxicity of CdTe quantum dots to freshwater mussels: impacts on immune system , oxidative stress and genotoxicity [J]. Aquat Toxicol , 2008 , **86**: 333-340.
- [53] Kashiwada S. Distribution of nanoparticles in the see-through Medaka (*Oryzias latipes*) [J]. Environ Health Perspect , 2006 , **114**: 1697-1702.
- [54] King-Heiden T C , Wicinski P N , Mangham A N , et al. Quantum dot nanotoxicity assessment using the zebrafish embryo [J]. Environ Sci Technol , 2009 , **43**(5) : 1605-1611.
- [55] Rortter A E , Gass M , Muller K , et al. Direct imaging of single-walled carbon nanotubes in cells [J]. Nat Nanotechnol , 2007 , **2**: 713-717.
- [56] Maysinger D , Lovrić J , Eisenberg A , et al. Fate of micelles and quantum dots in cells [J]. Eur J Pharm Sci , 2007 , **65**: 270-281.
- [57] Xia T , Kovoichich M , Liang M. Cationic polystyrene nanosphere toxicity depends on cell-specific endocytic and mitochondrial injury pathways [J]. ACS Nano , 2008 , **2**(1) : 85-96.
- [58] Orr G , Panther D J , Phillips J L , et al. Submicrometer and nanoscale inorganic particles exploit the actin machinery to be propelled along microvilli-like structures into alveolar cells [J]. ACS Nano , 2007 , **2**: 463-475.
- [59] Verma A , Uzun O , Hu Y , et al. Surface-structure-regulated cell-membrane penetration by monolayer-protected nanoparticles [J]. Nat Mater , 2008 , **7**: 588-595.
- [60] Hund-Rinke K , Simon M. Ecotoxic effect of photocatalytic active nanoparticles TiO₂ on algae and daphnids [J]. Environ Sci Pollut Res , 2006 , **13**: 225-232.
- [61] Barlow P G , Donaldson K , MacCallum J , et al. Serum exposed to nanoparticle carbon black displays increased potential to induce macrophage migration [J]. Toxicol Lett , 2005 , **155**: 397-401.
- [62] Navarro E , Baun A , Behra R , et al. Environmental behavior and ecotoxicity of engineered nanoparticles to algae , plants , and fungi [J]. Ecotoxicology , 2008 , **17**: 372-386.
- [63] Pramanik S , Banerjee P , Sarkar A , et al. Size-dependent interaction of gold nanoparticles with transport protein: a spectroscopic study [J]. J Lumin , 2008 , **128**: 1969-1974.
- [64] Thill A , Spalla O , Chauvat F , et al. Cytotoxicity of CeO₂ nanoparticles for *Escherichia coli*: a physico-chemical insight of the cytotoxicity mechanism [J]. Environ Sci Technol , 2006 , **40**: 6151-6156.
- [65] Muller J , Huaux F , Fonseca A , et al. Structural defects play a major role in the acute lung toxicity of multiwall carbon nanotubes: toxicological aspects [J]. Chem Res Toxicol , 2008 , **21**: 1698-1705.
- [66] Fang J , Shan X , Wen B , et al. Sorption and desorption of phenanthrene onto iron , copper , and silicon dioxide nanoparticles [J]. Langmuir , 2008 , **24**: 10929-10935.
- [67] Pan B , Lin D , Mashayekhi H , et al. Adsorption and hysteresis of aiphenol A and 17 α -ethinyl estradiol on carbon nanomaterials [J]. Environ Sci Technol , 2008 , **42**(15) : 5480-5485.
- [68] Handy R D , Kammer F , Lead J R , et al. The ecotoxicology and chemistry of manufactured nanoparticles [J]. Ecotoxicology , 2008 , **17**: 287-314.
- [69] Lee J , Fortner J D , Hughes J B , et al. Photochemical production of reactive oxygen species by C₆₀ in the aqueous phase during UV irradiation [J]. Environ Sci Technol , 2007 , **41**(7) : 2529-2535.
- [70] Xia T , Rome L , Nel A. Particles slip cell security [J]. Nat Mater , 2008 , **7**: 519-520.
- [71] Kahru A , Dubourguier H , Blinova I , et al. Biotests and biosensors for ecotoxicology of metal oxide nanoparticles: a minireview [J]. Sensors , 2008 , **8**: 5153-5170.
- [72] Xia T , Kovoichich M , Brant J , et al. Comparison of the abilities of ambient and manufactured nanoparticles to induce cellular toxicity according to an oxidative stress paradigm [J]. Nano Lett , 2006 , **6**(8) : 1794-1807.
- [73] Long T C , Tajuba J , Sama P , et al. Nanosize titanium dioxide stimulates reactive oxygen species in brain microglia and damages neurons *in vitro* [J]. Environ Health Perspect , 2007 , **115**: 1631-1637.
- [74] Nabiev I , Mitchell S , Davies A , et al. Nonfunctionalized nanocrystals can exploit a cell's active transport machinery delivering them to specific nuclear and cytoplasmic compartments [J]. Nano Lett , 2007 , **7**: 3452-3461.
- [75] Vogelsberger W , Schmidt J , Roelofs F. Dissolution kinetics of oxidic nanoparticles: the observation of an unusual behaviour [J]. Colloids Surf A , 2008 , **324**: 51-57.
- [76] Hardman R. A toxicologic review of quantum dots: toxicity depends on physicochemical and environmental factors [J]. Environ Health Perspect , 2006 , **114**(2) : 165-172.
- [77] Male K B , Lachance B , Hrapovic S , et al. Assessment of cytotoxicity of quantum dots and gold nanoparticles using cell-based impedance spectroscopy [J]. Anal Chem , 2008 , **80**: 5487-5493.
- [78] Yang L , Watts D J. Particle surface characteristics may play an important role in phytotoxicity of alumina nanoparticles [J]. Toxicol Lett , 2005 , **158**: 122-132.
- [79] Murashov V. Comments on "Particle surface characteristics may play an important role in phytotoxicity of alumina nanoparticles" [J]. Toxicol Lett , 2006 , **164**: 185-187.

- [80] Ghosh S, Mashayekhi H, Pan B, *et al.* Colloidal behavior of aluminum oxide nanoparticles as affected by pH and natural organic matter [J]. *Langmuir*, 2008, **24**: 12385-12391.
- [81] Domingos R F, Tufenkji N, Wilkinson K J. Aggregation of titanium dioxide nanoparticles: role of a fulvic acid [J]. *Environ Sci Technol*, 2009, **43**: 1282-1286.
- [82] Baalousha M. Aggregation and disaggregation of iron oxide nanoparticles: influence of particle concentration, pH and natural organic matter [J]. *Sci Total Environ*, 2009, **407**: 2093-2101.
- [83] Yang K, Xing B S. Adsorption of fulvic acid by carbon nanotubes from water [J]. *Environ Pollut*, 2009, **157**: 1095-1100.
- [84] Hyung H, Kim J. Natural organic matter (NOM) adsorption to multi-walled carbon nanotubes: effect of NOM characteristics and water quality parameters [J]. *Environ Sci Technol*, 2008, **42**: 4416-4421.
- [85] Saleh N, Kim H, Phenrat T, *et al.* Ionic strength and composition affect the mobility of surface-modified Fe⁰ nanoparticles in water-saturated sand columns [J]. *Environ Sci Technol*, 2008, **42**: 3349-3355.
- [86] Wang S G, Liu X W, Gong W X, *et al.* Adsorption of fulvic acids from aqueous solutions by carbon nanotubes [J]. *J Chem Technol Biotechnol*, 2007, **82**: 698-704.
- [87] Kang S, Mauter M S, Elimelech M. Microbial cytotoxicity of carbon-based nanomaterials: implications for river water and wastewater effluent [J]. *Environ Sci Technol*, 2009, **43** (7): 2648-2653.
- [88] Lee J, Cho M, Fortner J D, *et al.* Transformation of aggregated C₆₀ in the aqueous phase by UV irradiation [J]. *Environ Sci Technol*, 2009, **43**: 4878-4883.
- [89] Domingos R F, Baalousha M A, Ju-Nam Y, *et al.* Characterizing manufactured nanoparticles in the environment: multimethod determination of particle sizes [J]. *Environ Sci Technol*, 2009, **43**: 7277-7284.
- [90] Worle-Knirsch J M, Pulskamp K, Krug H F. Oops they did it again! Carbon nanotubes hoax scientists in viability assays [J]. *Nano Lett*, 2006, **6**: 1261-1268.
- [91] Wang Z, Zhao J, Li F, *et al.* Adsorption and inhibition of acetylcholinesterase by different nanoparticles [J]. *Chemosphere*, 2009, **77**: 67-73.
- [92] Jarvie H P, Al-Obaidi H, King S M, *et al.* Fate of silica nanoparticles in simulated primary wastewater treatment [J]. *Environ Sci Technol*, 2009, **43**: 8622-8628.
- [93] Hou W C, Jafvert C T. Photochemistry of aqueous C₆₀ clusters: evidence of ¹O₂ formation and its role in mediating C₆₀ phototransformation [J]. *Environ Sci Technol*, 2009, **43**: 5257-5262.
- [94] Allen B L, Kichambare P D, Gou P, *et al.* Biodegradation of single-walled carbon nanotubes through enzymatic catalysis [J]. *Nano Lett*, 2008, **8** (11): 3899-3903.
- [95] Rickerby D G, Morrison M. Nanotechnology and the environment: a European perspective [J]. *Sci Tech Adv Mater*, 2007, **8**: 19-24.