

纳米氧化锌对绿豆芽生长的影响

王振红¹, 罗专溪^{2*}, 颜昌宙², 杨环清³

(1.漳州师范学院化学与环境科学系, 福建 漳州 363000; 2.中国科学院城市环境研究所城市环境与健康重点实验室, 福建 厦门 361021; 3.厦门嵩湖环境技术开发有限公司, 福建 厦门 361008)

摘要 深入研究不同类型的纳米颗粒对不同植物物种具有的独特效应,可提高有关纳米物质对植物安全与风险的认知水平。为了对纳米物质生物效应的深入评估提供科学依据,测定了室温(25℃)浸种培养后绿豆芽的叶绿素、过氧化物酶活性、根长、茎长、鲜重、干重、蛋白质等生理指标及其可食部分的锌含量。结果表明,nano-ZnO和Zn²⁺在较高浓度(50~1 000 mg·L⁻¹)时均可抑制植物的生长,呈现出一定的植物毒性。相同浓度时,nano-ZnO较Zn²⁺更有利于绿豆芽的生长和其可食部分锌的富集。最有利于绿豆芽生长和锌富集的 nano-ZnO 浓度为 50 mg·L⁻¹,而 Zn²⁺浓度则为 20 mg·L⁻¹。在促进生长的浓度范围内(0~50 mg·L⁻¹),绿豆芽可食部分锌含量均小于国家食品锌标准含量值(20 mg·kg⁻¹)。可见,nano-ZnO 可尝试应用于绿豆芽的农业生产活动,但在此之前须进一步开展其存在的环境、生态与人体健康风险研究。

关键词 纳米氧化锌;风险;绿豆芽;叶绿素;酶

中图分类号 Q945.78 **文献标志码** A **文章编号** 1672-2043(2011)04-0619-06

Effects of Nano-ZnO Particles on the Growth of Green Bean Sprouts

WANG Zhen-hong¹, LUO Zhuan-xi^{2*}, YAN Chang-zhou², YANG Huan-qing³

(1.Department of Chemistry and Environment Sciences, Zhangzhou Normal University, Zhangzhou 363000, China; 2.Key Lab of Urban Environment and Health, Institute of Urban Environment, Chinese Academy of Sciences, Xiamen 361021, China; 3.Xiamen Haohu Environment Technology Ltd., Xiamen 361008, China)

Abstract Different types of nanoparticles and plant species need to be examined to clarify nanoparticles uptake by plant and the subsequent effects, which helps to understand deeply the risk of nanomaterials. In this study, some physiological indicators of green bean sprouts such as the content of chlorophyll, peroxidase activity, protein content, root length, grass height, fresh weight and dry weight as well as the content of zinc in its edible parts were determined after cultured in nano-ZnO solution in room temperature (25℃), which will provide insights into the bioeffects of nanomaterials. The results showed that the phytotoxicity of both nano-ZnO and Zn²⁺ with higher concentrations (50~1 000 mg·L⁻¹) occurred, beyond which the growth of green bean sprouts were inhibited. In the same concentrations, the growth of green sprouts and the zinc enrichment in its edible parts were improved more easily by nano-ZnO than by Zn²⁺. Additionally, 50 mg·L⁻¹ of nano-ZnO was the best treatment concentration for the growth of green sprouts and the zinc enrichment in its edible parts, while that of Zn²⁺ was 20 mg·L⁻¹. At the range of 0~50 mg·L⁻¹, the zinc contents of edible parts of green bean sprouts were less than 20 mgZn kg⁻¹ (National zinc standard of food in China). Therefore, nano-ZnO could be applied tentatively into agricultural practices of green bean sprouts. However, it is necessary to understand further the human health, ecological and environmental risks of nano-ZnO, on which were seriously concerned so far.

Keywords nano-ZnO; risk; green bean sprout; chlorophyll; enzyme

纳米颗粒,一种至少 100 nm 或者更小的物质,具有单原子或分子转移以及相应体积材料的转移功能,可很大地改变物质的物理化学性质,可能对生命体产

生正或负面效应^[1-5],因而受到了极大的关注^[6-7]。

近年来,有限的植物研究报道了纳米颗粒对植物具有正、反面的影响效应。据报道,TiO₂ 纳米颗粒能促进菠菜的光合作用和氮的新陈代谢^[3-4],氧化铝纳米颗粒对加利福尼亚红肾豆和黑麦草的生长无负面效应^[8-9]。但另据报道,纳米颗粒抑制了玉米、黄瓜、大豆、卷心菜及胡萝卜^[10]和油菜、萝卜及黑麦草根的延长^[11]。

收稿日期 2010-10-08

基金项目 国家自然科学基金青年科学基金项目(41001331)

作者简介 王振红(1979—),女,河北平山人,硕士,讲师。

*通信作者 罗专溪 E-mail: zlxuo@iue.ac.cn

这些研究有助于进一步了解纳米物质对植物存在的独特效应。但是迄今为止,植物作为一种重要生态受体,其纳米效应(正或负)尚未得到充分研究^[12]。由于目前研究数据还较不全面,对纳米物质的生物效应尚未有明确的结论。更重要的是,当我们讨论纳米物质的生物效应这个问题时,必须明确物质的种类、形态、尺寸(粒径)大小、剂量多少以及作用物种等参数^[13]。因此,深入研究不同类型纳米颗粒和植物物种的需要,明晰各种纳米颗粒对植物物种具有的独特效应,以促进纳米物质安全、风险评价。

因此,本文考察纳米氧化锌对绿豆芽生长的影响及其豆芽可食部分的锌含量,以期促进纳米物质生物效应的深入研究。

1 材料与方法

1.1 实验材料

纳米氧化锌(nano-ZnO)购自中国浙江红尘材料科学与技术公司,纯度 99.5%,颗粒粒径(20±5) nm,比表面积(50±10) m²·g⁻¹。nano-ZnO 悬浮液配制 称取 1.000 g nano-ZnO 于适量超纯水中,然后在超声波破碎仪下进行溶解,后移入 1 000 mL 容量瓶中,以水稀释至刻度,保存备用。采用紫外-可见分光光度法(光源 λ=810 nm)测定分散性,结果表明 nano-ZnO 分散效果良好^[14]。绿豆种子购自漳州某超市。

1.2 实验方法

在室温(25℃)条件下,分别随机取饱满、大小均匀的绿豆 200 粒洗净,分别投加 0、10、20、50、100、200、1 000 mg·L⁻¹ 的 nano-ZnO 溶液浸种培养(共 4 d),每日补充适量对应浓度的 nano-ZnO 溶液,观察种子的发芽生长情况。同时,采用 Zn²⁺溶液(ZnSO₄)作对照。实验结束后,测定绿豆芽根长、茎长、鲜重与干重等形态指标、各项生理指标以及豆芽可食部分的锌含量。

干重和鲜重的测定:绿豆种子培养的第 2 d 开始,每日选取 5 粒均匀、长势较好的绿豆,将其用滤纸吸干其中的水分,用电子天平称其鲜重,然后再将其放入烘箱烘 24 h,再称其干重。直至实验结束。

根长、茎长测定:采用卷尺测量经浸种培养后绿豆芽的根长和茎长。

豆芽可食部分的锌含量测定 取豆芽可食部分洗净晾干,充分切碎或打碎混匀。称取 10.00~20.00 g 置于瓷坩埚中,加入 1 mL 磷酸(1+10),小火炭化至无烟后移入马弗炉中,(500±25)℃灰化约 8 h 后取出坩

埚,冷却后再加入少量混合酸,小火加热,不使干涸,必要时加少许混合酸,如此反复处理,直至残渣中无炭粒,待坩埚稍冷,加 10 mL 盐酸(1+1),溶解残渣并移入 50 mL 容量瓶中,再用盐酸(1+1)反复洗涤坩埚,洗液并入容量瓶中,并稀释至刻度,采用火焰原子吸收光度计测定(GBC932)。

1.3 各项生理指标的测定方法^[15]

可溶性蛋白的制备 取适量豆芽可食部分(约 1.5 g),加入 8 mL 0.02 mol·L⁻¹ pH7.5 磷酸缓冲液为提取介质缓冲液,加碳酸钙捣匀成匀浆,4 000 r·min⁻¹ 离心 10 min,上清液供测定用。蛋白质采用考马斯亮兰 G-250 法测定。

过氧化物酶(POD)的测定 取一定量豆芽可食部分(约 1.5 g),加入 8 mL 0.05 mol·L⁻¹ 磷酸盐缓冲液(pH=6.0),研磨匀浆。匀浆液全部转入离心管中,以 4 000 r·min⁻¹ 离心 10 min,上清液置于 4℃环境中,供测定酶活力用。POD 测定采用愈创木酚氧化法。

叶绿素的测定:取新鲜叶片,用蒸馏水洗净、揩干,称取 0.5 g 放入研钵中,采用乙醇提取、分光光度法测定。

以上所有试验设置 3 个平行。采用独立样本 t-检验法检验 nano-ZnO 和对照组(Zn²⁺)的差异性,可信度为 95%。

2 结果与分析

2.1 Nano-ZnO 对绿豆芽叶绿素含量的影响

叶绿素是植物吸收太阳光进行光合作用的重要物质,叶绿素的含量直接影响植物有机物质的积累,进而影响植物的生长速度。Nano-ZnO 对绿豆芽叶绿素含量的变异趋势如图 1 所示。

Nano-ZnO 处理和 Zn²⁺对照中的绿豆芽叶绿素含量随浓度增高均呈先增加后减少的趋势(图 1)。Nano-ZnO 溶液处理下的绿豆芽叶绿素含量在 50 mg·L⁻¹ 中最高,而 Zn²⁺对照组的绿豆芽叶绿素含量在 20 mg·L⁻¹ 中最高,说明绿豆芽更耐受 nano-ZnO 的影响。另外,nano-ZnO 处理的绿豆芽叶绿素含量高于 Zn²⁺对照组(P<0.01),说明同样浓度下,nano-ZnO 可能较 Zn²⁺对照组更有利于绿豆芽的生长,所具有的植物毒性也较小。

2.2 Nano-ZnO 对绿豆芽过氧化物酶活性的影响

过氧化物酶(POD)是抗氧化系统中酶促子系统的重要保护酶,能清除植物体内的活性氧,有利于植物维持体内活性氧产生和淬灭的动态平衡,使脂质的

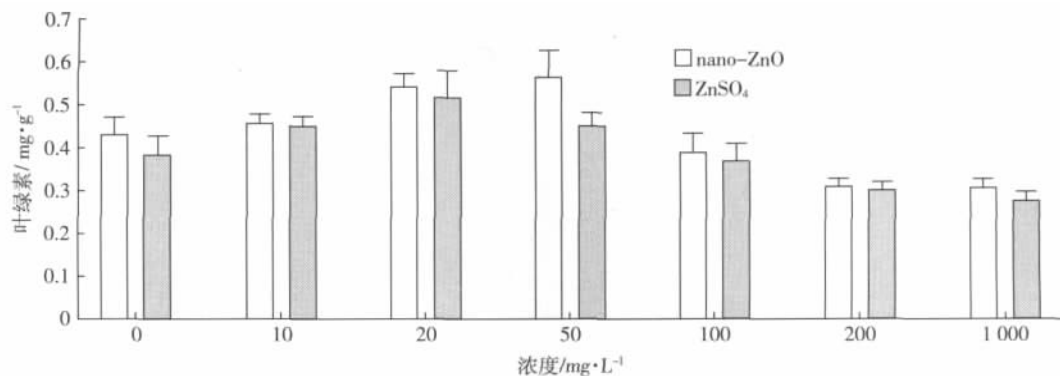


图1 不同锌溶液处理下绿豆芽叶绿素的变异趋势

Figure 1 Variability of chlorophyll of the green bean sprouts under different Zn solution treatments

过氧化物转变成正常的脂肪酸,从而阻止脂质过氧化物的积累而引起的细胞中毒。POD在植物体内主要作用是催化 H_2O_2 与酚类和胺类物质发生氧化还原反应,使底物脱下的氢将 H_2O_2 还原成水,减少 H_2O_2 对膜质的过氧化作用,稳定膜的选择透过性。POD活性的提高有利于植物生长发育。Nano-ZnO处理和 Zn^{2+} 对照中的绿豆芽POD活性随浓度增高均呈先增加后减少的趋势(图2)。其中,nano-ZnO溶液处理下的绿豆芽过氧化物酶活性在 $50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 中最高,而 Zn^{2+} 对照组绿豆芽过氧化物酶活性则是在 $20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 中最高(图2)。另外,nano-ZnO处理的绿豆芽的POD活性均明显大于 Zn^{2+} 对照组($P<0.01$)。这说明nano-ZnO较 Zn^{2+} 在催化过氧化氢氧化酚类和胺类化合物及消除过氧化氢和酚类、胺类毒性作用方面均更优^[15],可更好地防止生物膜的过氧化损伤。

2.3 Nano-ZnO对绿豆芽根长、茎长的影响

Nano-ZnO处理和 Zn^{2+} 对照中的绿豆芽根长、茎长均呈先增加后减少的趋势,其中,nano-ZnO溶液处理下的绿豆芽根长、茎长在 $50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 中最长,而 Zn^{2+} 对照组绿豆芽根长、茎长则是在 $20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 中最长(图

3)。在相同浓度下,经nano-ZnO处理的绿豆芽的根长、茎长略高于 Zn^{2+} 对照组($P<0.05$,图3),说明nano-ZnO较 Zn^{2+} 更易促进绿豆芽的生长,所具有的植物毒性较小。

2.4 Nano-ZnO对绿豆芽鲜重与干重的比例影响

Nano-ZnO处理和 Zn^{2+} 对照中的绿豆芽鲜重与干重的比例均呈先增加后减少的趋势,并分别在 $50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (nano-ZnO)、 $20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (ZnSO_4)时达到最大值(图4)。这表明 $50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的nano-ZnO溶液较有利于绿豆芽水分的吸收,而对于 Zn^{2+} 溶液较有利于绿豆芽水分吸收的浓度则为 $20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。另外,nano-ZnO处理下绿豆芽鲜重/干重均高于对照组($P<0.05$,图4),说明nano-ZnO较 Zn^{2+} 更有利于绿豆芽水分的吸收,所具有的植物毒性较小。

2.5 Nano-ZnO对绿豆芽蛋白质含量的影响

蛋白质是植物的重要组成部分,也是农产品品质中最重要的成分,它的含量会随着外界条件和本身的特性变化而变化,蛋白质含量成为衡量农产品品质和营养价值最重要的指标。Nano-ZnO处理和 Zn^{2+} 对照中的绿豆芽蛋白质含量均呈先增加后减少的趋势,其

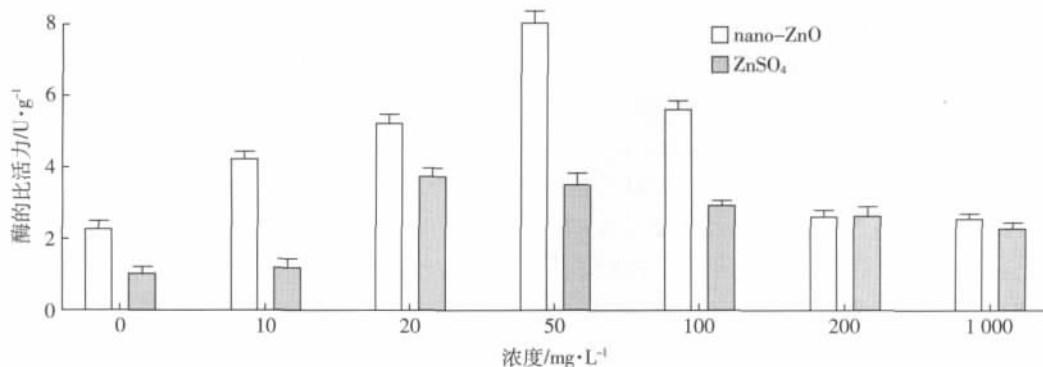


图2 不同锌溶液处理下绿豆芽过氧化物酶活性的变异趋势

Figure 2 Variability of peroxidase activity of the green bean sprouts under different Zn solution treatments

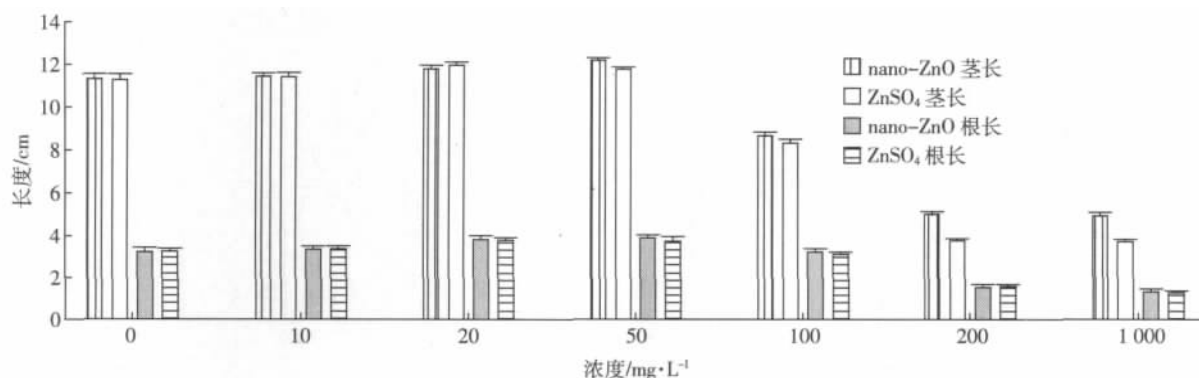


图 3 不同锌溶液处理下绿豆芽茎长、根长的变异趋势

Figure 3 Variability of root length and stem length of the green bean sprouts under different Zn solution treatments

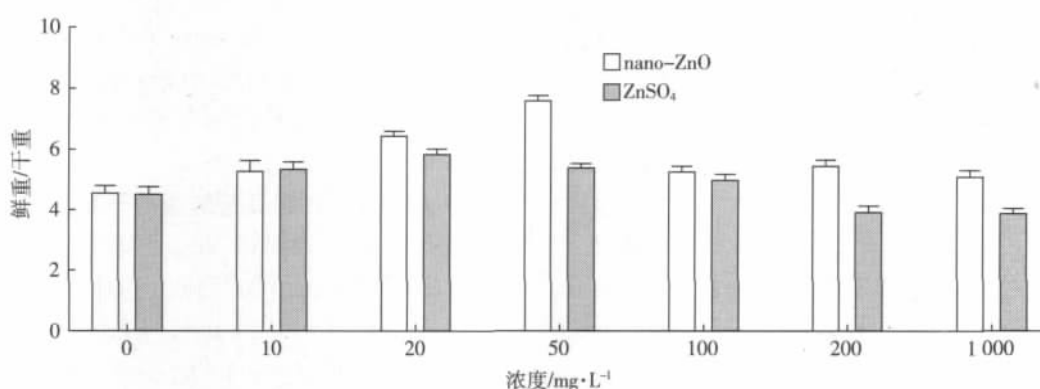


图 4 不同锌溶液处理下绿豆芽鲜重/干重的变异趋势

Figure 4 Variability of the ratio of fresh weight and dry weight of the green bean sprouts under different Zn solution treatments

中, nano-ZnO 溶液处理下的绿豆芽蛋白质含量在 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 中最高, 而对照组 (Zn^{2+} 溶液) 绿豆芽蛋白质含量则是在 $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 中最高 (图 5)。这表明 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 nano-ZnO 溶液较有利于绿豆芽蛋白质的累积, 而对于 Zn^{2+} 溶液较有利于绿豆芽蛋白质累积的浓度则为 $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。另外, nano-ZnO 溶液的绿豆芽蛋白质含量较对照组低 ($P < 0.01$, 图 5), 说明 nano-ZnO 较 Zn^{2+} 更易抑制绿豆芽蛋白质的累积。

2.6 Nano-ZnO 对绿豆芽中锌的富集效果

Nano-ZnO 处理和 Zn^{2+} 对照中的绿豆芽可食部分锌含量均呈先增加后减少的趋势, 其中, nano-ZnO 溶液处理下的绿豆芽锌含量在 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 中最高, 而对照组 (Zn^{2+} 溶液) 绿豆芽锌含量则是在 $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 中最高 (图 6)。另外, 小于 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 nano-ZnO 溶液的绿豆芽可食部分锌含量较对照组高 ($P < 0.05$), 说明在较小浓度时, nano-ZnO 较 Zn^{2+} 更易被绿豆芽吸收、富集。采用强化度指标^[16]来评价两种锌在绿豆芽中的富集效果, 结果如表 1 所示。在 $0 \sim 50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 范围内, nano-ZnO 更有利于绿豆芽可食部分锌的富集。因而, nano-ZnO 较 Zn^{2+} 更有利于绿豆芽的生长和锌的

表 1 绿豆芽可食部分锌的强化度

Table 1 Strengthening degree of Zn in edible parts of green bean sprouts

处理浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	nano-ZnO	ZnSO_4
0	1	1
10	1.48	1.28
20	1.87	1.49
50	2.58	1.58

富集。

3 讨论

一般认为含锌量 $> 400 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时, 植物就会出现中毒症状。在本研究实验中, nano-ZnO 在 $0 \sim 50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 范围可促进绿豆芽的生长, 但在 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 以上则抑制绿豆芽的生长, Zn^{2+} 在 $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 范围可促进绿豆芽的生长, 但在 $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 以上则抑制绿豆芽的生长。先前许多研究表明 Zn^{2+} 存在植物毒性^[17-18], 基本表现为抑制植物的生长, 导致植物矮小^[17]。本研究中, nano-ZnO 和 Zn^{2+} 在较高浓度时均可抑制植物的生长 (如绿

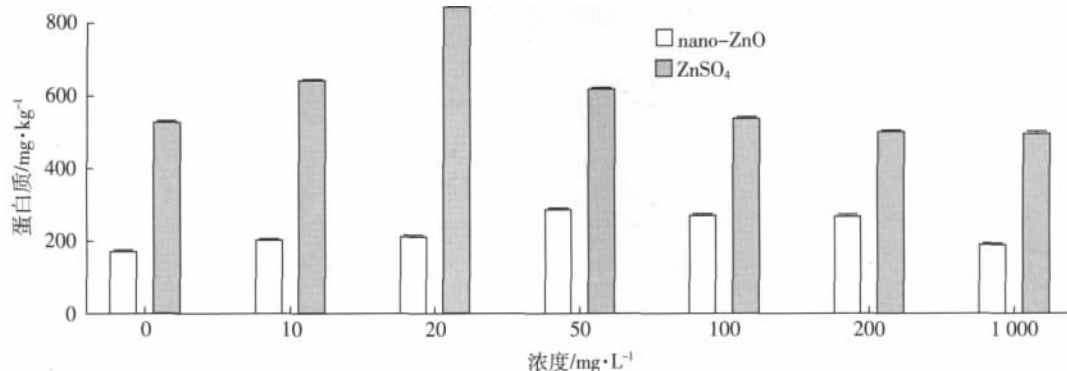


图5 不同锌溶液处理下绿豆芽蛋白质含量的变异趋势

Figure 5 Variability of the protein content of green bean sprouts under different Zn solution treatments

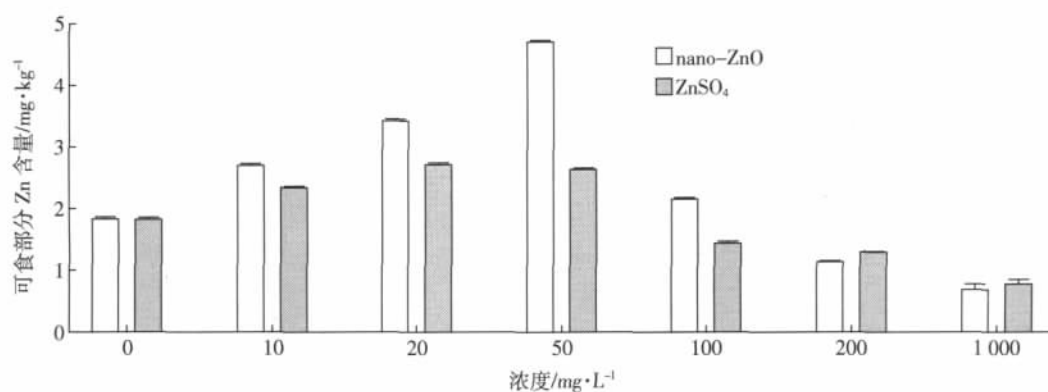


图6 不同锌溶液处理下绿豆芽锌含量的变异趋势

Figure 6 Variability of zinc content of the green bean sprouts under different Zn solution treatments

豆芽根、茎的短小,叶绿素、过氧化物酶活性、鲜重与干重比等偏小),表现出一定的植物毒性。

另外,本研究中 nano-ZnO 较 Zn^{2+} 更易促进绿豆芽的生长,一方面原因可能是 ZnO 纳米颗粒激发植物多种生理功能造成的^[19]。纳米颗粒和植物细胞点接触会增加体内的过氧化反应,导致其体内自由基含量的升高^[2]。对高等植物而言,自由基有可能作为一种信号,激发植物的多种生理功能,促进植物的生长,这对维持植物的正常健康生长与对自然界环境因素变化的应答都是必需的,但当环境胁迫过强时,大量的自由基超过了抗氧化系统的清除能力,自由基将直接攻击蛋白质、DNA、脂类等多种生物大分子,损伤有机体,抑制植物生长,甚至造成植物的死亡^[19]。本研究中 nano-ZnO 较 Zn^{2+} 使绿豆芽产生更多的过氧化物酶,因而 nano-ZnO 促使绿豆芽能够更好地消除体内过量的活性氧,并促进自身的生长。但正由于各种生理功能的激发和生长的促进(如水分的吸收、光合作用等),绿豆芽生理代谢活动亦较为旺盛,导致绿豆芽体内蛋白质累积减少,从而使得 ZnO 纳米颗粒的绿豆芽蛋白质含量低于 Zn^{2+} 的绿豆芽蛋白质含量。另一方

面原因也可能是 Zn^{2+} 比 ZnO 纳米颗粒对绿豆芽的植物毒性更高^[2]导致的。

在本实验促进生长的浓度范围内(0~50 $mg \cdot L^{-1}$),绿豆芽可食部分锌含量均小于 20 $mg \cdot kg^{-1}$ 的国家食品锌标准含量值^[20]。目前纳米物质经食物进入人体后的迁移转化和归趋规律尚未科学探明。有报道称纳米物质可威胁人体健康,具有一定的风险^[1]。因而,nano-ZnO 可尝试运用于豆芽的农业生产活动中,但须细致开展其存在的环境、生态与人体健康风险研究。

4 结论

(1) 相同浓度下,nano-ZnO 较 Zn^{2+} 更有利于绿豆芽的生长和其可食部分锌的富集。最有利于绿豆芽生长和锌富集的 nano-ZnO 溶液浓度为 50 $mg \cdot L^{-1}$,而 Zn^{2+} 溶液浓度则为 20 $mg \cdot L^{-1}$ 。

(2) Nano-ZnO 和 Zn^{2+} 二者在较高浓度(50~1 000 $mg \cdot L^{-1}$) 时均可抑制植物的生长,都呈现出一定的植物毒性。

(3) 在促进生长的浓度范围内(0~50 $mg \cdot L^{-1}$),绿豆芽可食部分锌含量均小于 20 $mg \cdot kg^{-1}$ 的国家食品

锌标准含量值。因而 nano-ZnO 可尝试运用于豆芽的农业生产活动中。考虑到纳米颗粒对人体健康和环境存在的风险,将来须细致开展 ZnO 纳米物质存在的人体健康、生态、环境的风险研究。

参考文献:

- [1] Nel A, Xia T, Madler L, et al. Toxic potential of materials at the nanolevel[J]. *Science*, 2006, 311 (5761): 622–627.
- [2] Lin D H, Xing B S. Root uptake and phytotoxicity of ZnO nanoparticles[J]. *Environ Sci Technol*, 2008, 42 (15): 5580–5585.
- [3] Hong F, Zhou J, Liu C, et al. Effect of nano-TiO₂ on photochemical reaction of chloroplasts of spinach[J]. *Biological Trace Element Research*, 2005, 105 (1–3): 269–279.
- [4] Yang F, Hong F S, You W J, et al. Influences of nano-anatase TiO₂ on the nitrogen metabolism of growing spinach[J]. *Biol Trace Elem Res*, 2006, 110 (2): 179–190.
- [5] 苏爱华, 林匡飞, 张卫, 等. 纳米 TiO₂ 对油菜种子发芽与幼苗生长的影响[J]. *农业环境科学学报*, 2009, 28 (2): 316–320.
- SU Ai-hua, LIN Kuang-fei, ZHANG Wei, et al. Effect of Nano-TiO₂ on the germination and growth of rape seed[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2009, 28 (2): 316–320.
- [6] Nowack B, Bucheli T D. Occurrence, behavior and effects of nanoparticles in the environment[J]. *Environ Pollut*, 2007, 150 (1): 5–22.
- [7] Maynard A D, Aitken R J, Butz T, et al. Safe handling of nanotechnology[J]. *Nature*, 2006, 444 (7117): 267–269.
- [8] Doshi R, Braida W, Christodoulatos C, et al. Nano-aluminum: Transport through sand columns and environmental effects on plants and soil communities[J]. *Environ Res*, 2008, 106 (3): 296–303.
- [9] Lin D H, Xing B S. Phytotoxicity of nanoparticles: Inhibition of seed germination and root growth[J]. *Environ Pollut*, 2007, 150 (2): 243–250.
- [10] Yang L, Watts D J. Particle surface characteristics may play an important role in phytotoxicity of alumina nanoparticles[J]. *Toxicology Letters*, 2005, 158 (2): 122–132.
- [11] Lin D H, Xing B S. Root uptake and phytotoxicity of ZnO nanoparticles[J]. *Environ Sci Technol*, 2008, 42 (15): 5580–5585.
- [12] Ma X M, Geiser-Lee J, Deng Y, et al. Interactions between engineered nanoparticles (ENPs) and plants: Phytotoxicity, uptake and accumulation[J]. *Science of the Total Environment*, 2010, 408 (16): 3053–3061.
- [13] 王冰, 丰伟悦, 赵宇亮, 等. 纳米材料生物效应及其毒理学研究进展[J]. *中国科学 B 辑化学*, 2005, 35 (1): 1–10.
- WANG Bing, FENG Wei-yue, ZHAO Yu-liang, et al. Bioeffects of nanomaterials and their advances in toxicology[J]. *Science in China Ser. B Chemistry*, 2005, 35 (1): 1–10.
- [14] Zhang Y, Chen Y S, Westerhoff P, et al. Stability of commercial metal oxide nanoparticles in water[J]. *Water Research*, 2008, 42 (8–9): 2204–2212.
- [15] 张志良, 瞿伟菁. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 2003.
- ZHANG Zhi-liang, QU Wei-jing. Experimental guidance of plant physiology[M]. Beijing: High Education Press, 2003.
- [16] 赵树兰, 王修鲁, 刘秀美. 大豆芽强化铁锌钙的实验研究[J]. *天津师范大学学报*, 2003, 23 (2): 23–25.
- ZHAO Shu-lan, WANG Xiu-lu, LIU Xiu-mei. Experimental study on soybean sprouts (*Glycine max*) strengthening Fe³⁺, Zn²⁺, Ca²⁺[J]. *Journal of Tianjin Normal University (Natural Science Edition)*, 2003, 23 (2): 23–25.
- [17] EL-Ghamery A A, EL-Kholy M A, Abou EL-Yousser M A. Evaluation of cytological effects of Zn²⁺ in relation to germination and root growth of *Nigella sativa* L. and *Triticum aestivum* L.[J]. *Mutation Research-Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 2003, 537 (1): 29–41.
- [18] Paschke M W, Perry L G, Redente E F. Zinc toxicity thresholds for reclamation for species[J]. *Water Air and Soil Pollution*, 2006, 170 (1–4): 317–330.
- [19] 陆长梅, 张超英, 温俊强, 等. 纳米材料促进大豆萌芽、生长的影响及其机理研究[J]. *大豆科学*, 2002, 21 (3): 168–171.
- LU Chang-mei, ZHANG Chao-ying, WEN Jun-qiang, et al. Research of the effect of nanometer materials on germination and growth enhancement of *Glycine Max* and its mechanism[J]. *Soybean Science*, 2002, 21 (3): 168–171.
- [20] 中国预防医学科学院标准处. 食品卫生国家标准汇编[M]. 北京: 中国标准出版社, 2001.
- Standard Department, Chinese Academy of Preventive Medicine. Compilation of national standard of food and sanitation[M]. Beijing: China Standard Press, 2001.