

DOI: 10.7524/AJE.1673-5897.20170629002

石清清, 邓代莉, 颜椿, 等. 纳米金属氧化物对土壤酶活性的影响研究进展[J]. 生态毒理学报, 2018, 13(2): 47-56

Shi Q Q, Deng D L, Yan C, et al. Review on effects of engineered nano-metal oxide particles on soil enzyme activities [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2018, 13(2): 47-56 (in Chinese)

纳米金属氧化物对土壤酶活性的影响研究进展

石清清^{1,2}, 邓代莉^{1,2}, 颜椿^{1,2}, 蒲生彦^{1,2,3,*}

1. 地质灾害防治与地质环境保护国家重点实验室(成都理工大学), 成都 610059

2. 国家环境保护水土污染协同控制与联合修复重点实验室, 成都 610059

3. 香港理工大学土木及环境工程学系, 中国香港

收稿日期: 2017-06-29 录用日期: 2017-08-23

摘要: 纳米金属氧化物的大量生产和广泛应用使其不可避免地进入环境中, 土壤是其释放到环境中主要的汇。纳米颗粒由于尺寸效应, 具有许多独特的物理化学性质, 其进入环境后潜在的生态和健康风险问题日益受到研究者的关注。土壤酶是土壤生物化学过程的主要参与者, 也是生态系统物质循环和能量流动过程中最活跃的生物活性物质。土壤酶活性的变化能反映土壤中生化反应的情况, 可作为评价土壤中纳米材料污染状况的生物学指标。本文较系统地回顾和总结了纳米金属氧化物对土壤酶活性的影响及可能的影响途径, 探讨了纳米金属氧化物作用于土壤酶的主要影响途径, 并展望了未来研究主要发展方向。

关键词: 纳米金属氧化物; 纳米颗粒; 土壤酶; 酶活性; 环境风险

文章编号: 1673-5897(2018)2-047-10 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

Review on Effects of Engineered Nano-metal Oxide Particles on Soil Enzyme Activities

Shi Qingqing^{1,2}, Deng Daili^{1,2}, Yan Chun^{1,2}, Pu Shengyan^{1,2,3,*}

1. State Key Laboratory of Geohazard Prevention and Geoenvironment Protection, Chengdu University of Technology, Chengdu 610059, China

2. State Environmental Protection Key Laboratory of Synergetic Control and Joint Remediation for Soil & Water Pollution, Chengdu University of Technology, Chengdu 610059, China

3. Department of Civil and Environmental Engineering, The Hong Kong Polytechnic University, Hong Kong, China

Received 29 June 2017 accepted 23 August 2017

Abstract: Due to the mass production and widespread applications, metal oxide nanoparticles inevitably invaded the environment and the soil has been the main field. Furthermore, as a result of size effect, metal oxide nanoparticles have many outstanding physicochemical properties, meanwhile the uncertainty of their potential risks has widely aroused public concerns. As the main participants in soil biochemical processes and the most active bioactivator in material cycling and energy flow, soil enzyme transformations could precisely reflect the status of soil biochemical reaction, hence it could be served as a biological indicator to evaluate the nanomaterial pollution in soil. In this

基金项目: 国家自然科学基金(51408074); 国家环境基准委托业务费择优资助项目(2016-BZ-003-W-17)

作者简介: 石清清(1996—), 在读硕士研究生, 研究方向为土壤环境基准及毒理效应, E-mail: shi1542278367@gmail.com

* 通讯作者 (Corresponding author), E-mail: pushengyan@gmail.com

paper, the impacts of metal oxides nanoparticles on soil enzyme activities and the main influencing factors have been systematically discussed and summarized, and future development directions have been introduced.

Keywords: nanometal oxide; nanoparticles; soil enzyme; enzyme activity; environmental risk

近年来,伴随纳米技术的飞速发展,人工纳米金属氧化物 (engineered nanometal oxide particles, ENOPs, 其尺度界定为 1~100 nm), 如纳米 TiO₂、ZnO、Al₂O₃、Fe₂O₃、CeO₂ 等, 在电子、生物医药、化工催化和新材料开发等各个领域得到了广泛的应用^[1]。由于 ENOPs 在环境中的暴露程度, 其是否具有生物毒性引起了各领域专家学者的广泛关注^[2]。ENOPs 在生产、运输和使用过程中会不可避免地释放到土壤环境中, 与土壤介质中的各种组分发生物理、化学或生物反应, 这些迁移转化过程会改变纳米颗粒的团聚程度、溶解速率、粒径大小或形状、表面积、表面电荷和表面化学性质等特征, 从而影响纳米颗粒的环境行为及生物毒性^[3]。

土壤酶是一种具有生物催化能力和蛋白质性质的高分子活性物质^[4]。土壤酶参与土壤中各种化学反应和生物化学过程, 与有机物质矿化分解、矿质营养元素循环、能量转移等密切相关^[5-6]。土壤酶活性不仅能反映土壤微生物活性高低、表征土壤养分转化和运移能力强弱^[4]、评价土壤肥力^[7]和土壤环境质量^[8], 也可作为评价 ENOPs 土壤污染的生物学指标。ENOPs 的小尺寸、高比表面积等特性会增强其在土壤中的扩散程度与迁移能力并促进与土壤游离酶或底物的接触和作用, 从而可能对土壤酶的活性产生影响^[2]。

本文通过大量文献调研和分析, 较系统地回顾和总结了 ENOPs 对土壤酶活性的影响相关研究, 并对未来研究方向和重点做了展望, ENOPs 与土壤酶活性间的剂量-效应关系可支撑相关环境基准的研究。

1 纳米金属氧化物概述 (Nano-metal oxide particles overview)

1.1 纳米氧化物的性质与用途

纳米金属氧化物颗粒具有表面效应、小尺寸效应、量子尺寸效应和宏观量子隧道效应, 表现出与同组成的微米晶体材料完全不同的热学性能、磁学性能、电学性能、光学性能、力学性能及化学活性等^[9]。由于具备上述诸多特性, ENOPs 已广泛应用于催化剂、遮光剂、传感器及化妆品等领域, 备受研究者的关注^[10]。目前常见的 ENOPs 主要有 SiO₂、TiO₂、

ZnO、CuO、CeO₂、Fe₃O₄、Al₂O₃ 等。比如, TiO₂ NPs 由于具备特殊的光学性质和良好的化学稳定性、热稳定性被广泛应用于抗紫外材料、纺织、光催化触媒、防晒霜、涂料、食品包装材料、造纸及航天工业中^[11]; ZnO NPs 则由于其高效的 UV 吸收能力及对可见光的透过能力而常用于个护用品及遮光材料的制作^[12]; CuO NPs 由于其高温超导能力、电子相关效应及动态旋转能力被广泛应用于半导体制作、催化剂及细胞显影技术^[13]。

1.2 ENOPs 在土壤中的环境行为

土壤是包括 ENOPs 在内的各种污染物进入环境后的主要归宿, 又是环境污染链中重要的传递环节。纳米金属氧化物可通过多种途径进入土壤中, 如大气中 ENOPs 的沉降, 含纳米材料工业废渣、城市垃圾的填埋、弃置, 含纳米材料废水和污水灌溉等。ENOPs 进入环境后, 在环境介质中发生迁移转化, 与环境及环境中的生物体相互作用并被吸收富集, 直接或间接威胁生态系统及人类健康^[4]。由于 ENOPs 具有广谱抑菌作用, 且对生物体毒性远大于碳纳米材料, 其生物安全性问题日益受到关注^[15]。ENOPs 在土壤中发生的主要物理变化是聚集或团聚。化学转化包括氧化还原、离子溶出、硫化与磷酸化、大分子物质或有机/无机配体的修饰。此外, 土壤环境中活性最高、成分最复杂的微生物亦会对纳米颗粒的形态及环境效应产生影响。

2 对土壤酶活性的影响研究 (Effects of ENOPs on soil enzyme activity)

2.1 对土壤酶活性的影响

土壤酶主要涉及氧化还原酶类、水解酶类、转移酶类与裂解酶类, 来源于土壤微生物活动分泌、植物根系分泌和植物残体以及土壤动物分解, 是研究土壤生态系统不可或缺的关键性指标^[7,16-17]。ENOPs 进入土壤环境后, 会与土壤介质中的各种组分发生物理、化学或生物反应, 这些转化过程会不同程度影响土壤中的生化反应进程及土壤中酶活性^[18-19]。根据以往研究报道, 典型 ENOPs 如 ZnO NPs、TiO₂ NPs、CuO NPs、CeO₂ NPs 及铁系纳米氧化物等对土壤酶活性的影响主要聚焦在脲酶、蔗糖酶和过氧化氢酶的活性变化上, 具体见表 1 所示。

表 1 人工纳米金属氧化物 (ENOPs) 对土壤酶活性的影响
Table 1 Effects of engineering nanometal oxide particles (ENOPs) on soil enzyme activity

纳米金属氧化物 ENOPs	土壤 Soil	有机质(碳) Organic matter	暴露剂量(mg·kg ⁻¹) Exposure dosage(mg·kg ⁻¹)	土壤酶 Soil enzyme	试验周期/d Time/d	作用类型 Action type	参考文献 Reference
ZnO NPs	壤质黏土 (江苏常熟) Loam clay (Changshu, Jiangsu)	有机碳 4.6% Organic carbon 4.6%	45.4	过氧化氢酶、过氧化物酶、 蛋白酶 Catalase, peroxidase, protease	14	显著抑制 Significant inhibition	[2]
ZnO NPs	褐土 (北京) Cinnamon soil (Beijing)	总碳 1.4% Total carbon 1.4%	1, 5, 10	荧光素二乙酸酯水解酶、 脱氢酶 Fluorescein diacetate hydrolase, dehydrogenase	7	显著抑制 Significant inhibition	[20]
CuO NPs	粉砂壤土 (稻田土) Silty loam (Paddy soil)	总碳 6.4% Total carbon 6.4%	1 000	脲酶、磷酸酶、脱氢酶 Urease, phosphatase, dehydrogenase	60	显著抑制 Significant inhibition	[21]
CuO NPs	乌栅土 (江苏常熟) Wukong soil (Changshu, Jiangsu)	0.76% Total carbon 0.76%	1 ~ 1 000	脲酶 Urease	/	显著抑制 Significant inhibition	[22]
CuO NPs	红壤 (江西鹰潭) Red soil (Yingtan, Jiangxi)	4.57% Total carbon 4.57%	1 ~ 1 000	脲酶 Urease	/	极显著抑制 Very significant inhibition	[22]
TiO ₂ NPs	壤质黏土 (江苏常熟) Loam clay (Changshu, Jiangsu)	有机碳 4.6% Organic carbon 4.6%	90.9	过氧化氢酶、 过氧化物酶、 脲酶 Catalase, peroxidase, urease	14	显著抑制 Significant inhibition 显著抑制 Significant inhibition 显著促进 Significantly promoted	[2]
TiO ₂ NPs	粉砂壤土 (稻田土) Silty loam (Paddy soil)	总碳 6.4% Total carbon 6.4%	1 000 1 000 0, 10, 100, 500, 1 000	脲酶、 磷酸酶、 脱氢酶 Urease, phosphatase, dehydrogenase	60	显著促进 Significantly promoted 显著抑制 Significant inhibition 浓度升高抑制减弱 Concentration increased, inhibition reduced	[21]

续表1

纳米金属氧化物 ENOPs	土壤 Soil	有机质(碳) Organic matter	暴露剂量(mg·kg ⁻¹) Exposure dosage(mg·kg ⁻¹)	土壤酶 Soil enzyme	试验周期/d Time/d	作用类型 Action type	参考文献 Reference
CuO NPs	耕地土 (波兰)	总碳 沙土:0.6 g·kg ⁻¹ 黏土:1.2 g·kg ⁻¹	10、100、1 000	脱氢酶(显著抑制) 脲酶、酸性磷酸酶	24	显著抑制	[23]
	Farmland (Poland)	Total carbon Sand: 0.6 g·kg ⁻¹ Clay: 1.2 g·kg ⁻¹		Dehydrogenase (significantly inhibited) Urease, acid phosphatase		Significant inhibition	
ZnO NPs	耕地土 (波兰)	总碳 沙土:0.6 g·kg ⁻¹ 黏土:1.2 g·kg ⁻¹	10、100、1 000	脱氢酶、 脲酶、 酸性磷酸酶	24	显著抑制	[23]
	Farmland (Poland)	Total carbon Sand: 0.6 g·kg ⁻¹ Clay: 1.2 g·kg ⁻¹		Dehydrogenase, urease, acid phosphatase		Significant inhibition	
Cr ₂ O ₃ NPs	耕地土 (波兰)	总碳 沙土:0.6 g·kg ⁻¹ 黏土:1.2 g·kg ⁻¹	10、100、1 000	脲酶、 酸性磷酸酶	24	显著促进	[23]
	Farmland (Poland)	Total carbon Sand: 0.6 g·kg ⁻¹ Clay: 1.2 g·kg ⁻¹		Urease, acid phosphatase		Significantly promoted	
Fe ₃ O ₄ NPs	菜园土 (江苏宜兴)	/	0、420、840、1 260	脲酶、 转化酶	30	显著促进	[24]
γ-Fe ₂ O ₃ NPs	Vegetable garden soil (Yixing, Jiangsu)			Urease, converting enzyme		Significantly promoted	
Fe ₃ O ₄ NPs	壤土 (江西鹰潭)	/	80 000	淀粉酶、脲酶、中性磷酸酶、过氧化氢酶、 Amylase, urease, neutral phosphatase, catalase	7	显著促进	[25]
	Loam (Yingtian, Jiangxi)					Significantly promoted	
SiO ₂ NPs	玉米地 Corn field	/	0.42、0.84、1.26	脲酶、 FDA 水解酶、 过氧化氢酶	/	显著促进	[24]
				Urease, FDA hydrolase, catalase		Significantly promoted	

2.2 影响土壤酶活性的主要途径

ENOPs 对土壤酶活性的影响主要通过 3 种途径:释放有毒金属离子、改变土壤中酶或对应底物的形态结构、损伤生物体细胞,如图 1 所示。ENOPs 对土壤酶活性的影响可能是单一途径,也可能是 2 种或 3 种途径的共同作用。

2.2.1 释放有毒金属离子

不同类型 ENOPs 进入土壤环境后发生的物理化学反应不同,其致毒机理也有所差异,造成的土壤酶活性变化也不同。Brunner 等^[26]观察了多种纳米金属氧化物颗粒(Fe_2O_3 、 ZnO 、 CeO_2 、 TiO_2 和 ZrO_2)的细胞毒性,发现由纳米颗粒溶解释放的金属离子至少部分地对纳米颗粒细胞毒性产生贡献并作用于土壤酶。这些金属离子对土壤酶的影响主要表现为重金属对蛋白质的作用,分为 3 种类型^[27-28]:1) 重金属的加入能促进酶活性中心与底物间的配位结合,改变酶催化反应的平衡性质和酶蛋白的表面电荷,从而可增强酶活性,即有激活作用。Joško 等^[23]研究发现,纳米 Cr_2O_3 刺激了脲酶的活性,纳米 ZnO 刺激了酸性磷酸酶的活性,使其增强。2) 重金属占据了酶的活性中心,或与酶分子的巯基、胺基和羧基结合,导致酶活性降低,即有抑制作用。Xu 等^[21]在研究氧化物纳米颗粒对稻田土微生物生态作用机制时发现不同

浓度 CuO NPs 处理均显著抑制了土壤酶活性,且具有明显的剂量效应关系。这可能与 CuO NPs 的金属特性有关,即 CuO NPs 进入土壤环境后溶出铜离子。有研究认为锌离子释放是纳米 ZnO 表现毒性作用的主要原因^[23]。Du 等^[2]在小麦土壤的原位试验中发现,纳米 ZnO 作为外源加入土壤后发生了溶解,并抑制了土壤蛋白酶、过氧化氢酶以及过氧化物酶的活性。另有研究同样表明,纳米 ZnO 抑制了葡萄糖苷酶、过氧化氢酶、脱氨酶、磷酸酶和超氧化物酶^[3]。3) 重金属与土壤酶没有专一性对应关系,酶活性没有受到影响。土壤中 ZnO NPs 浓度为 $1 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 时, FDAH 活性与对照无显著差异($P=0.149$)^[20]。

ENOPs,特别是一些易于释放出有毒金属离子的纳米材料(如 ZnO 、 CuO 纳米颗粒),主要通过释放金属离子影响土壤酶活性。一般情况下,ENOPs 进入土壤环境后金属离子并不会完全溶出,以纳米形式存在的 ENOPs 与释放的有毒金属离子对土壤酶活性影响的贡献率尚不清楚。

2.2.2 改变酶或底物的形态结构

土壤酶催化功能通过蛋白质分子间相互作用来实现,由于 ENOPs 结构和尺寸与蛋白质分子相似,可能会引起生物学识别、反应的混淆和异常,使土壤酶的结构和功能紊乱。

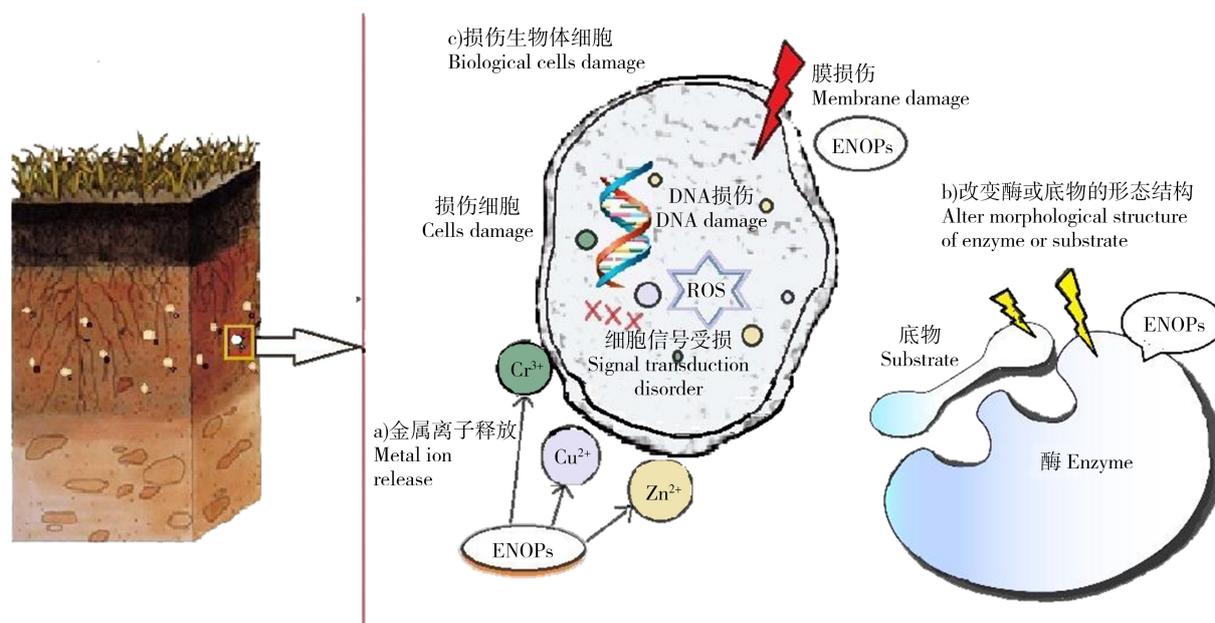


图 1 ENOPs 对土壤酶的作用途径

注:a) 释放有毒金属离子;b) 改变酶或底物的形态结构;c) 损伤生物体细胞。

Fig. 1 Effects of ENOPs on soil enzyme

Note: a) the release of toxic metal ions; b) alteration of the morphological structure of the enzyme or substrate; c) damage to the organism cells.

ENOPs 进入土壤后,在难以溶出金属离子且不损伤土壤生物体的情况下则认为 ENOPs 通过改变酶或底物的形态结构作用于土壤酶。ENOPs 如 TiO_2 NPs、 CeO_2 NPs、 Fe_3O_4 NPs 等在土壤中分散性好、颗粒尺寸小、比表面积大,难以溶出且具有较高的活性,容易与底物结合并发生相互作用。Du 等^[2]进行原位实验时发现,外源添加纳米 TiO_2 ,土壤的钛离子含量几乎无变化,土壤蛋白酶、过氧化氢酶以及过氧化物酶受到抑制,土壤脲酶活性显著增强。有研究表明, TiO_2 NPs 处理浓度高达 $1\ 000\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,脲酶活性显著提高,磷酸酶的活性受到严重抑制^[21]。在刘启明等^[29]的研究中,纳米 TiO_2 也对蛋白酶活性有抑制作用,且添加剂量越高,抑制程度越大。有研究发现实验室培养添加纳米 TiO_2 后,激活了抗氧化酶活性,如过氧化氢酶、过氧化物酶和超氧化物歧化酶等;添加纳米 CeO_2 后,抑制了脲酶、过氧化氢酶和 FDA 酶的活性,并且存在剂量效应关系^[30]。方国东等^[25]在向土壤施加了纳米 Fe_3O_4 颗粒后,脲酶活性增强,并存在显著剂量效应关系。这种现象是由于脲酶是一种分子量为 48 万道尔顿的金属酶,含有微量的顺磁性镍等过渡金属原子或离子,起着辅基、辅酶或活性中心等作用^[31],当添加 Fe_3O_4 NPs 后,脲酶分子构相在 Fe_3O_4 NPs 磁性作用下会发生变形和扭曲,结构和功能被改变,从而激活了自身酶活性。

ENOPs 容易与酶分子活性中心结合,妨碍酶与底物的识别与相互作用。对于 TiO_2 NPs、 CeO_2 NPs 等在土壤中不易溶出金属离子且活性较高的纳米颗粒,与土壤中的酶分子或底物分子结合改变其形态结构,阻止酶与底物的特异性识别是这类纳米氧化物影响土壤酶活性的主要途径。

2.2.3 损伤生物体细胞

ENOPs 可通过直接接触或诱导活性氧产生造成膜损伤、DNA 损伤和细胞信号受阻,这些方式会直接损伤微生物或动植物体细胞,进而影响微生物或动植物分泌释放土壤酶^[32]。

ENOPs 造成生物体过氧化损伤是最为普遍接受的一种毒性机制^[33],过氧化损伤是由活性氧引起的膜通透性改变及膜损伤^[34]。Park 等^[35]发现,细胞核周围存在纳米 TiO_2 颗粒时,会诱导该区域活性氧的产生;活性氧的产生与细胞活性有很好的 consistency,可以指示细胞毒性。韩爽等^[36]报道了氧化铜纳米颗粒会引起细菌、藻类、酵母、老鼠及人体细胞氧化应激及 DNA 损伤。Applerot 等^[37]发现纳米 CuO 能促

进微生物体内产生大量活性氧,迅速消耗腺嘌呤核苷三磷酸(adenosine triphosphate, ATP)使细胞信号传导受阻,从而导致大量微生物死亡。金属氧化物颗粒进入土壤环境后,通过产生活性氧簇(ROS),增加氧化压力,经细胞内陷、膜离子通道、细胞吞噬作用等进入细胞内部对植物根系和微生物细胞产生毒害作用^[38]。细胞膜或细胞器及 DNA/RNA 受损后,细胞合成酶的功能受损,土壤中相应酶的合成和释放减少,进而影响其中生化反应过程。

ENOPs 可以聚集在土壤微生物膜上使细胞壁凹陷,从而导致细胞膜渗透性改变。ENOPs 还可能改变土壤微生物膜电位,使其细胞内自由基数量增加,影响代谢过程与土壤中酶的合成与分泌^[39-40]。

3 土壤酶活性的主要调控因子 (Main regulators of soil enzyme activity)

ENOPs 的土壤酶活效应受颗粒本身和环境因素的影响。环境因素包括生物因子和非生物因子,生物因子主要是指土壤中的微生物和植物;非生物因子主要是指土壤的理化性质,如有机质含量、pH、水分含量等。

3.1 纳米金属氧化物的性质

ENOPs 兼具金属和纳米的双重性质,已有大量研究表明,多种纳米氧化物材料具有抗菌作用^[41-42],对土壤微生物量及群落结构产生较大的扰动,影响土壤酶的合成分泌过程。

ENOPs 的小尺寸效应使得酶或底物的形态结构发生变化或生物体细胞受损,从而强烈影响了土壤酶的活性。在 Josko 等^[23]的研究中,对于脱氢酶,在其他测试参数一定的情况下,2 种不同类型土壤中纳米颗粒对酶活性的抑制作用远远高于微米颗粒。金盛杨等^[22]在研究 CuO 的尺寸大小对土壤中脲酶的生态毒性的影响时发现, CuO NPs 对土壤脲酶活性具有微米态和离子态所没有的毒性效应。这说明 ENOPs 的毒性效应比微米态或离子态金属氧化物强,对土壤酶活性的影响程度也更强烈。金属纳米氧化物在土壤中溶出金属离子后,会表现出金属的性质,促进酶和底物的配位结合或占据酶的活性中心,从而影响土壤酶的活性。孙影等^[43]的研究表明,在 15~60 d 培养期间的每个取样时间下,随着黑土中纳米 TiO_2 添加剂量的升高,溶出的 Ti 离子浓度增加,对脲酶活性的抑制率显著升高($P<0.05$)。ENOPs 在土壤中金属离子的溶出量越大,对土壤酶活性的影响越强。

ENOPs 独特的物理化学性质, 如比表面、尺寸效应等会影响土壤酶的活性, 但不是所有的纳米氧化物与土壤酶之间都存在显著的剂量-效应关系, 应明确不同纳米氧化物的敏感酶活指标。

3.2 土壤自身理化性质

由于 pH、有机质组成及含量、粘土含量及矿物质等均会对纳米颗粒的环境行为及酶活性本身造成影响, 土壤的物理化学性质对纳米氧化物颗粒的土壤酶活起着调控作用^[43-45]。

相同 ENOPs 添加到不同类型土壤后, 由于土壤理化性质的差异, 纳米氧化物对土壤酶的影响也有所不同。孙影等^[43]发现, 将纳米 TiO_2 添加到沙土、黑土、草炭土中后, 微生物、酶、氮素含量在沙土中受到的影响最大, 在草炭土中受到的影响最小, 出现这种现象的原因是沙土中的有机质含量比黑土和草炭土低, 进入土壤的 TiO_2 NPs 不易团聚和被有机质吸附, 游离的 TiO_2 NPs 更易对土壤微生物和土壤酶活性造成影响。纳米材料分散介质中的电解质种类可以调控 CeO_2 NPs 的抗菌性^[46], 不同土壤中的电解质种类有所差异, 也会影响 CeO_2 NPs 在土壤中的微生物及酶活效应。ENOPs 施加进入土壤内后, 会在一定程度上改变土壤理化性质, 间接影响土壤酶活性。金盛杨等^[47]研究发现, 将土壤温室培养 60 d 后, 纳米四氧化三铁(Fe_3O_4 NPs)和纳米氧化铁(Fe_2O_3 NPs)处理显著降低了乌栅土铵态氮和红壤有效磷的含量, 略微降低了土壤 pH。

土壤理化性质, 如 pH、有机质含量等会影响 ENOPs 在土壤中的迁移转化过程, 进而影响土壤中纳米颗粒的生物有效性和生物毒性。在评价 ENOPs 对土壤酶活性的影响过程中, 需结合不同土壤的理化性质加以考量。

3.3 土壤中的生物活动

土壤中的植物及微生物活动会影响 ENOPs 的聚集状态和运移过程, 间接改变其生物有效性和酶活效应^[48-49]。

纳米氧化物进入土壤后, 影响土壤微生物活动分泌与植物根系分泌, 从而影响微生物数量与群落结构, 进而间接影响土壤酶的活性^[50]。方国东等^[25]研究发现, 纳米 Fe_3O_4 对红壤中的细菌和放线菌存在激活作用, 且随纳米 Fe_3O_4 投加量的增加, 激活效应逐渐增强; 对红壤中的真菌有抑制作用, 抑制率与纳米 Fe_3O_4 投加量呈正相关, 从而激活了土壤中的淀粉酶、中性磷酸酶、脲酶和过氧化氢酶。根系分泌

物是植物根系分泌或溢泌的各种离子和大量有机物质, 其组成和含量随着环境而发生变化^[51-52]。Xu 等^[53]认为由于水稻根系发达, 根际土壤中存在大量的植物残体可为水解纤维素提供丰富的底物, 从而促进细菌生长, 缓解 CuO NPs 对微生物细胞的毒害作用。

特定种类植物或微生物菌剂能在一定程度上减弱 ENOPs 对土壤中酶活性的影响, 缓解其对生物细胞的毒害作用。对于 ENOPs 富集程度较高的土壤, 可以考虑植物修复或微生物修复方式。

4 结语与展望 (Conclusion and prospect)

目前针对 ENOPs 环境行为和生物毒性的研究是一个新兴活跃的研究领域, 很多研究尚处于起步阶段, 理论基础也相对缺乏, 研究广度与深度急需拓展与加强。关于 ENOPs 在水环境中的行为与生物毒性的研究已较为充足, 而针对土壤环境及陆生植物的相关研究还较少并亟待开展。已有的 ENOPs 对土壤酶活性的影响多表现为抑制作用, 但具体作用类型及程度受 ENOPs 的性质、土壤理化性质以及土壤生物活动三者的调控。研究纳米氧化物与土壤酶间的剂量-效应关系可为相关环境基准的研究提供理论依据, 为环境标准的建立提供理论支撑。土壤酶作为土壤中几乎所有反应的参与者, 研究 ENOPs 对土壤酶活性的影响对评估纳米氧化物生态效应和土壤环境质量具有重要意义。现有 ENOPs 在生物毒性和土壤微生物效应方面的研究为评价纳米氧化物在土壤中的环境风险积累了一定的基础。已有的研究结论主要针对某些种类的 ENOPs, 并且依赖于实验室模拟或建模的结果, 而非针对实际现有工程的研究。

随着对 ENOPs 生物毒性研究逐步深入, 其对土壤酶活性的影响应在以下几个方面进一步完善和发展。1) 深入污染地块进行原位实验以弥补室内模拟实验数据的差异性, 研究真实环境下 ENOPs 对土壤酶的作用机理。2) 建立 ENOPs 与土壤酶活性之间的剂量-效应关系, 将不同纳米材料的剂量与其对土壤的污染程度对应起来, 并筛选对 ENOPs 敏感性较强的土壤酶, 构建出更加科学合理的土壤酶学指标, 更全面准确地反映纳米氧化物对土壤酶的毒性效应。3) ENOPs 在土壤中的团聚会影响土壤酶活性的变化, 但不同团聚程度对其影响机理尚不清楚, 针对 ENOPs 团聚特性及其对土壤酶活性影响的研究亟待开展。4) 考虑到土壤作为 ENOPs 释放到环

境中的汇,其污染具有复合性,未来的研究应涉及多种人工纳米材料复合污染对土壤酶的影响。5) ENOPs 是一种环境背景值相对缺失的新兴土壤污染物,尚待建立相关的环境基准和质量标准。

通讯作者简介:蒲生彦(1981—),男,博士(后),教授,香江学者,四川省千人计划特聘专家。目前主要从事水土污染协同控制、土壤地下水污染风险预警及环境基准相关的工作与教学工作。

参考文献 (References):

- [1] Xin G, Xiao H, Ma Y H, et al. Quantifying the distribution of ceria nanoparticles in cucumber roots: The influence of labeling [J]. RSC Advances, 2001, 5(6): 4554-4560
- [2] Du W, Sun Y, Ji R, et al. TiO₂ and ZnO nanoparticles negatively affect wheat growth and soil enzyme activities in agricultural soil [J]. Journal of Environmental Monitoring, 2011, 13(4): 822-828
- [3] Han C, Jun Y, Jing S, et al. The effect of metal oxide nanoparticles on functional bacteria and metabolic profiles in agricultural soil [J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 2015, 94(4): 490-495
- [4] Liu S J, Xia X, Chen G M, et al. Study progress on functions and affecting factors of soil enzymes [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2011, 27(21): 1-7
- [5] Yao X, Min H, Lü Z, et al. Influence of acetamiprid on soil enzymatic activities and respiration [J]. European Journal of Soil Biology, 2006, 42(2): 120-126
- [6] 李兆君, 徐建明, 梁永超, 等. 甲磺隆结合残留对土壤酶活性的影响[J]. 生态毒理学报, 2008, 3(5): 499-506
Li Z J, Xu J M, Liang Y C, et al. Effects of bound residues of metsulfuron-methyl on soil enzymatic activities [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2008, 3(5): 499-506 (in Chinese)
- [7] Luo L, Meng H, Gu J D. Microbial extracellular enzymes in biogeochemical cycling of ecosystems [J]. Journal of Environmental Management, 2017, 197: 539-549
- [8] 孙翠玲, 郭玉文, 佟超然, 等. 杨树混交林地土壤微生物与酶活性的变异研究[J]. 林业科学, 1997, 33(6): 488-497
Sun C L, Guo Y W, Tong C R, et al. A study on the soil microbes and soil enzyme activities in various poplar mixed stands [J]. Scientia Silvae Sinicae, 1997, 33(6): 488-497 (in Chinese)
- [9] Wan Y L, Ding L, Yao C J, et al. Toxic effects of metal oxide nanoparticles and their underlying mechanisms [J]. Science China Materials, 2017, 60(2): 93-108
- [10] Suresh A K, Pelletier D A, Wang W, et al. Silver nanocrystallites: Biofabrication using *Shewanella oneidensis*, and an evaluation of theft comparative toxicity on gram-negative and gram-positive bacteria [J]. Environmental Science and Technology, 2010, 44(13): 5210-5215
- [11] Godwin H A, Chopra K, Bradley K A, et al. The University of California center for the environmental implications of nanotechnology [J]. Environmental Science and Technology, 2009, 43: 6453-6457
- [12] Rousk J, Rousk J, Ackermann K, et al. Comparative toxicity of nanoparticulate CuO and ZnO to soil bacterial communities [J]. PloS One, 2012, 7(3): 1-8
- [13] Trujilloreyes J, Majumdar S, Botez C E, et al. Exposure studies of core-shell Fe/Fe₃O₄ and Cu/CuO NPs to lettuce (*Lactuca sativa*) plants: Are they a potential physiological and nutritional hazard? [J]. Journal of Hazardous Materials, 2014, 267(3): 255-263
- [14] Klaine S J, Fernandes T F, Handy R D, et al. Nanomaterials in the environment: Behavior, fate, bioavailability, and effects [J]. Environmental Toxicology and Chemistry, 2008, 27(9): 1825-1851
- [15] Simondeckers A, Loo S, Maynel' Hermite M, et al. Size-, composition- and shape-dependent toxicological impact of metal oxide nanoparticles and carbon nanotubes toward bacteria [J]. Environmental Science and Technology, 2009, 43(21): 8423-8429
- [16] Reddy M V, Venkataiah B. Influence of microarthropod abundance and climatic factors on weight loss and mineral nutrient contents of Eucalyptus leaf litter during decomposition [J]. Biology & Fertility of Soils, 1989(8): 319-324
- [17] 徐雁, 向成华, 李贤伟, 等. 土壤酶的研究概况[J]. 四川林业科技, 2010, 31(2): 14-20
Xu Y, Xiang C H, Li X W, et al. Advances in soil enzymology [J]. Journal of Sichuan Forestry Science and Technology, 2010, 31(2): 14-20 (in Chinese)
- [18] Stone V, Nowack B, Baun A, et al. Nanomaterials for environmental studies: Classification, reference material issues, and strategies for physico-chemical characterisation [J]. Science of The Total Environment, 2010, 408(7): 1745-1754
- [19] Lowry G V, Gregory K B, Apte S C, et al. Transformations of nanomaterials in the environment [J]. Environmental Science and Technology, 2012, 46(13): 6893-6899
- [20] 侯珍, 陈卓, 沈肇怡, 等. 纳米氧化锌对土壤微生物酶活性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2014, 33(6): 1153-1158
Hou Z, Chen Z, Shen Z Y, et al. Effects of zinc oxide

- nanoparticles on enzyme activities of soil microorganisms [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2014, 33(6): 1153-1158 (in Chinese)
- [21] Xu C, Peng C, Sun L, et al. Distinctive effects of TiO₂ and CuO nanoparticles on soil microbes and their community structures in flooded paddy soil [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2015, 86: 24-33
- [22] 金盛杨, 王玉军, 汪鹏, 等. 纳米与微米 CuO 及 Cu²⁺ 对土壤脲酶的生态毒性比较研究 [J]. *生态毒理学报*, 2010, 5(6): 835-841
- Jin S Y, Wang Y J, Wang P, et al. Comparative ecotoxicity of nanometer-micrometer-sized CuO and ionic copper to soil urease [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2010, 5(6): 835-841 (in Chinese)
- [23] Josko I, Oleszczuk P, Futa B. The effect of inorganic nanoparticles (ZnO, Cr₂O₃, CuO and Ni) and their bulk counterparts on enzyme activities in different soils [J]. *Geoderma*, 2014, 232-234: 528-537
- [24] He S Y, Feng Y Z, Ren H X, et al. The impact of iron oxide magnetic nanoparticles on the soil bacterial community [J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2011, 11(8): 1408-1417
- [25] 方国东, 司友斌. 纳米 Fe₃O₄ 对红壤微生物数量、酶活性及 2,4-D 降解的影响 [J]. *中国农业科学*, 2011(6): 1165-1172
- Fang G D, Si Y B. Effects of nanoscale Fe₃O₄ on microbial communities, enzyme activities and 2,4-D degradation in red soil [J]. *Scientia Agricultural Sinica*, 2011(6): 1165-1172 (in Chinese)
- [26] Brunner T J, Wick P, Manser P, et al. *In vitro* cytotoxicity of oxide nanoparticles: Comparison to asbestos, silica, and the effect of particle solubility [J]. *Environmental Science and Technology*, 2006, 40(14): 4374-4381
- [27] 周东美, 孙瑞娟, 郝秀珍, 等. 土壤中草甘膦与镉的交互作用对 3 种土壤酶活性的影响 [J]. *生态毒理学报*, 2006, 1(1): 58-63
- Zhou D M, Sun R J, Hao X Z, et al. Effects of glyphosate and Cd interaction on the activities of several soil enzymes [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2006, 1(1): 58-63 (in Chinese)
- [28] 高秀丽, 邢维芹, 冉永亮, 等. 重金属积累对土壤酶活性的影响 [J]. *生态毒理学报*, 2012, 7(3): 331-336
- Gao X L, Xing W Q, Ran Y L, et al. Effects of accumulation of heavy metals in soils on enzyme activities [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2012, 7(3): 331-336 (in Chinese)
- [29] 刘启明, 吴泽恩, 朱艺贞, 等. 纳米 TiO₂ 对耕作红壤土壤微生物活性的影响 [J]. *生态环境学报*, 2014(5): 859-863
- Liu Q M, Wu Z Z, Zhu Y Z, et al. Effect of Nano-TiO₂ on red soil microbial activity [J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2014(5): 859-863 (in Chinese)
- [30] Masaki S, Shiotsu H, Ohnuki T, et al. Effects of CeO₂ nanoparticles on microbial metabolism [J]. *Chemical Geology*, 2015, 391: 33-41
- [31] Caldwell B A. Enzyme activities as a component of soil biodiversity: A review [J]. *Pedobiologia*, 2005(49): 637-644
- [32] 孙耀琴, 申聪聪, 葛源, 等. 典型纳米材料的土壤微生物效应研究进展 [J]. *生态毒理学报*, 2016, 11(5): 2-13
- Sun Y Q, Shen C C, Ge Y, et al. Review on microbiological effects of typical nanomaterials in soil ecosystem [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2016, 11(5): 2-13 (in Chinese)
- [33] Nel A, Xia T, Madler L, et al. Toxic potential of materials at the nanolevel [J]. *Science*, 2006, 311(5761): 622-627
- [34] Hsu Y C, Lee P H, Lei C C, et al. Nitric oxide donors rescue diabetic nephropathy through oxidative-stress-and nitrosative-stress-mediated Wnt signaling pathways [J]. *Journal of Diabetes Investigation*, 2015, 6(1): 24-34
- [35] Park E, Yi J, Chung K, et al. Oxidative stress and apoptosis induced by titanium dioxide nanoparticles in cultured BEAS-2B cells [J]. *Toxicology Letters*, 2008, 180(3): 222-229
- [36] 韩爽, 李庆宁, 夏天, 等. 医用金属及金属氧化物纳米材料的毒性研究 [J]. *生物物理学报*, 2012(10): 805-814
- Han S, Li Q N, Xia T, et al. Research on toxicity of medical metal and metallic oxides nanomaterials [J]. *Acta Biophysica Sinica*, 2012(10): 805-814 (in Chinese)
- [37] Applerot G, Lellouche J, Lipovsky A, et al. Understanding the antibacterial mechanism of CuO nanoparticles: Revealing the route of induced oxidative stress [J]. *Small*, 2012, 8(21): 3326-3337
- [38] 陈安伟, 曾光明, 陈桂秋, 等. 金属纳米材料的生物毒性效应研究进展 [J]. *环境化学*, 2014(4): 568-575
- Chen A W, Zeng G M, Chen G Q, et al. Advance in research on toxicity of metal nanomaterials [J]. *Environmental Chemistry*, 2014(4): 568-575 (in Chinese)
- [39] 赵宇亮, 柴之芳. 纳米科学与技术: 纳米毒理学——纳米材料安全应用的基础 [M]. 北京: 科学出版社, 2015
- [40] 张智勇. 纳米毒理学研究方法与技术 [M]. 北京: 科学出版社, 2014
- [41] Lok C N, Ho C M, Chen R, et al. Proteomic analysis of the mode of antibacterial action of silver nanoparticles [J]. *Journal of Proteome Research*, 2006, 5(4): 916-924
- [42] Kuang Y, He X, Zhang Z, et al. Comparison study on the

- antibacterial activity of nano-or bulk-cerium oxide [J]. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 2011, 11(5): 4103-4108
- [43] 孙影, 李琳慧, 郭平, 等. 纳米 TiO₂ 对土壤中氮转化相关细菌活性的影响[J]. *科学技术与工程*, 2016, 16(20): 295-300
Sun Y, Li L H, Guo P, et al. Effect of Nano-TiO₂ on bacteria activity for nitrogen transform in soil [J]. *Science Technology and Engineering*, 2016, 16(20): 295-300 (in Chinese)
- [44] 线郁, 王美娥, 陈卫平. 土壤酶和微生物量碳对土壤低浓度重金属污染的响应及其影响因子研究[J]. *生态毒理学报*, 2014, 9(1): 63-70
Xian Y, Wang M E, Chen W P, et al. Response of enzyme activity and microbial biomass carbon content to low soil heavy metal pollution and soil properties [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2014, 9(1): 63-70 (in Chinese)
- [45] 谷盼妮, 王美娥, 陈卫平. 环草隆与镉复合污染对城市绿地重金属污染土壤有机氮矿化量、基础呼吸和土壤酶活性的影响[J]. *生态毒理学报*, 2015, 10(4): 65-87
Gu P N, Wang M E, Chen W P, et al. Combined effects of siduron and cadmium on organic nitrogen mineralization, basal respiration and enzyme activities in heavy metal polluted urban soil [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2015, 10(4): 65-87 (in Chinese)
- [46] He X, Kuang Y, Li Y, et al. Changing exposure media can reverse the cytotoxicity of ceria nanoparticles for *Escherichia coli* [J]. *Nanotoxicology*, 2012, 6(3): 233-240
- [47] 金盛杨, 王玉军, 汪鹏, 等. 不同培养基中纳米氧化铜对小麦毒性的影响 [J]. *生态毒理学报*, 2010, 5(6): 842-848
Jin S Y, Wang Y J, Wang P, et al. Influence of culture media on the phytotoxicity of CuO nanoparticles to wheat (*Niticum aestivum* L) [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2010, 5(6): 842-848 (in Chinese)
- [48] Castiglione M R, Cremonini R. Nanoparticles and higher plants [J]. *Caryologia*, 2009, 62(2): 161-165
- [49] Horst A M, Neal A C, Mielke R E, et al. Dispersion of TiO₂ nanoparticle agglomerates by *Pseudomonas aeruginosa* [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2010, 76(21): 7292-7298
- [50] 王斐, 黄益宗, 王小玲, 等. 铜胁迫对农田土壤酶活性、细菌和古菌数量的影响[J]. *生态毒理学报*, 2014, 9(4): 707-714
Wang F, Huang Y Z, Wang X L, et al. Effects of Cu stress on enzyme activity, bacteria and archaea quantity in soils [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2014, 9(4): 707-714 (in Chinese)
- [51] 李德生, 孟丽, 李海茹, 等. 重金属污染对土壤酶活性的影响研究进展[J]. *天津理工大学学报*, 2013, 29(2): 60-64 (in Chinese)
Li D S, Meng L, Li H R, et al. Progress of influence on soil enzyme activities under heavy metal contamination [J]. *Journal of Tianjin University of Technology*, 2013, 29(2): 60-64 (in Chinese)
- [52] 范晓季, 宋昊, 孙立伟, 等. 禾草灵对水稻生长和典型土壤酶活性的影响[J]. *生态毒理学报*, 2017, 12(3): 20-31
Fang X J, Song H, Sun L W, et al. The effects of diclofop-methyl on rice growth and typical soil enzyme activities [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2017, 12(3): 20-31 (in Chinese)
- [53] Xu C, Chen X, Duan D, et al. Effect of heavy-metal-resistant bacteria on enhanced metal uptake and translocation of the Cu-tolerant plant, *Elsholtzia splendens* [J]. *Environmental Science and Pollution Research International*, 2015, 22(7): 5070-5081 ◆