

稀土氧化物奈米材料的生態毒性研究

張智勇 何瀟 馬宇輝 張鵬 趙宇亮 柴之芳*

中國科學院高能物理研究所核分析技術重點實驗室、納米生物效應與
安全性重點實驗室，北京 100049

摘要

稀土氧化物奈米材料具有廣泛的應用前景，尤其是奈米二氧化鈾，能夠有效地提高柴油在發動機中的燃燒效率，從而節約能源並大量減少碳氫化合物與微粒的排放。但目前對稀土氧化物奈米材料進入環境後的生態效應瞭解還很少。本實驗室針對氧化鈾、氧化釷、氧化釷和氧化釷 4 種典型稀土氧化物奈米材料，研究了其對高等植物、微生物、水生脊椎動物和陸生無脊椎動物的毒性效應。結果表明稀土氧化物奈米材料的生態毒性與其自身化學組成、實驗方法和實驗物種相關。

關鍵詞：奈米材料、稀土氧化物、生態環境、毒性

Ecotoxicity of Rare Earth Oxide Nanomaterials

ZhangZhiyong, He Xiao, Ma Yuhui, ZhangPeng, Zhao Yuliang, Chai Zhifang

Key Laboratory for Biomedical Effects of Nanomaterials and Nanosafety, and Key Laboratory of Nuclear Analytical Techniques, Institute of High Energy Physics, the Chinese Academy of Sciences. Beijing 100049

Abstract

Rare earth oxide nanomaterials (REO NMs) have broad application prospects. Especially, cerium oxide (ceria) can effectively reduce the fuel consumption as well as the emission of soot particles of diesel engines. However, it is still little known regarding environmental toxicity arising from the release of the NMs into the environment. In our laboratory, we evaluate the effects of REO NMs on plants, bacteria, aquatic vertebrates, and terrestrial invertebrates. The results indicate that the ecotoxicity of REO NMs is dependent on factors such as the physicochemical properties of the materials, toxicity test methods, test organisms, etc.

Keywords: nanomaterials, rare earth oxides, environment, toxicity

1. 前言

稀土元素由於其內層4f電子數從0到14逐個填充所形成的特殊組態而帶來在光、電、磁等方面的特殊性能。稀土奈米材料結合了奈米材料的小尺寸效應、量子效應、表面效應和介面效應與稀土元素獨特的電子層結構特點，在力、光、電、磁方面可開發出很多不同用途的新材料，更大限度地發揮稀土材料的優異性能，在催化、光電子、磁記錄介質等領域得到廣泛使用。稀土奈米材料在生產、使用和處置過程中，將不可避免地進入環境，其環境行為及對生態系統的影響引起了人們的關注。奈米稀土氧化物是稀土納米材料的重要組成部分，本實驗室以4種典型稀土氧化物奈米材料為研究對象，評價了其對陸生植物、微生物（細菌）、水生脊椎動物（魚）和陸生無脊椎動物（線蟲）的毒性效應。

2. 材料和方法

2.1 實驗材料

選用的稀土氧化物奈米材料為氧化銻（7 nm）、氧化鑷（22 nm）、氧化釷（23 nm）和氧化鎳（12 nm）。其中氧化銻是最重要的稀土奈米材料，銻為+4價。氧化鑷、氧化釷和氧化鎳分別代表輕、中和重三類+3價稀土氧化物。

2.2 實驗方法

2.2.1 植物毒性實驗^[1-3]

不同濃度的氧化銻、氧化鑷、氧化釷和氧化鎳奈米材料處理植物種子（蘿蔔、油菜、番茄、小麥、圓白菜、黃瓜和生菜），觀察對植物種子萌發和根生長的影響。透射電鏡、同步輻射X射線掃描透射顯微術分析材料化學形態變化。放射性同位素示蹤研究植物對奈米二氧化銻的吸收和運輸。

2.2.2 抑菌實驗^[4]

大腸桿菌 *Escherichia coli* PBR 322 懸浮於 K-media（每升含 2.4 g KCl，3.1 g NaCl），加入奈米材料懸浮液，搖勻。檢測 *E.coli* 存活率、外膜穩定性和細胞內活性氧變化。採用透射電鏡、基於同步輻射的分析方法等檢測材料化學形態的變化。

2.2.3 斑馬魚胚胎發育實驗^[5]

在24孔板的每個孔中加入2 ml奈米材料懸浮液或空白培養液，收集斑馬魚（*Dania rerio*）的受精卵置於孔中，每孔1卵。觀察的毒理學終點包括：死亡率、腸胚發育、尾分離、眼點發育、耳石形成、20 s自發運動、循環系統、心率、色素沉著、聽軟骨囊、孵化率、畸形和幼魚體長。

2.2.4 線蟲壽命實驗^[6]

秀麗隱杆線蟲（*Caenorhabditis elegans* Wild type N2）蟲採用固體培養方法進行培養。將L1期幼蟲轉移至含有不同濃度7 nm二氧化銻的新鮮食物板內，每板30-60條幼蟲，20°C培養。觀察的毒理學指標包括壽命、脅迫抵抗、體內活性氧。

3. 結果與討論

濃度為2000 mg/L奈米的氧化鑷、氧化釷和氧化鎳對7種植物的種子萌發沒有顯著影響，但強烈抑制了植物根的生長。奈米二氧化銻只對7種植物中的生菜的根生長有抑制作用（圖1）。體外模擬實驗和根切片的透射電鏡和同步輻射X射線掃描

透射顯微術的分析結果表明，奈米氧化釷、氧化釷和氧化鐳在根表面與有機酸作用，釋放出稀土離子。稀土離子在根細胞間隙以磷酸鹽形式大量沉積（圖2），推測這3種奈米材料的植物毒性主要來自於稀土離子而不是奈米材料本身。放射性示蹤實驗證實奈米二氧化鈾能夠被植物根吸收和運輸，一旦進入中柱導管即可快速轉運到地上部。

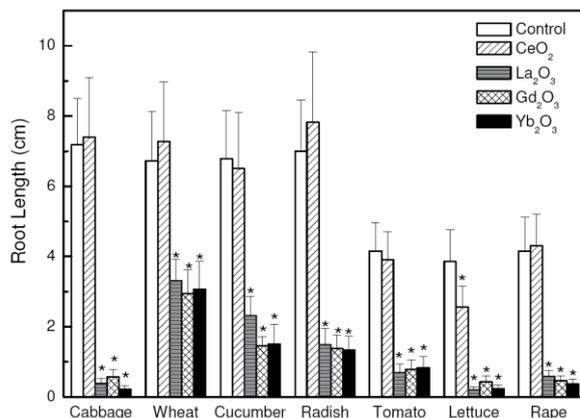


圖1. 2000mg/L的不同種類稀土納米氧化物對植物根長的影響。與對照相比，顯著性差異用“*”表示。

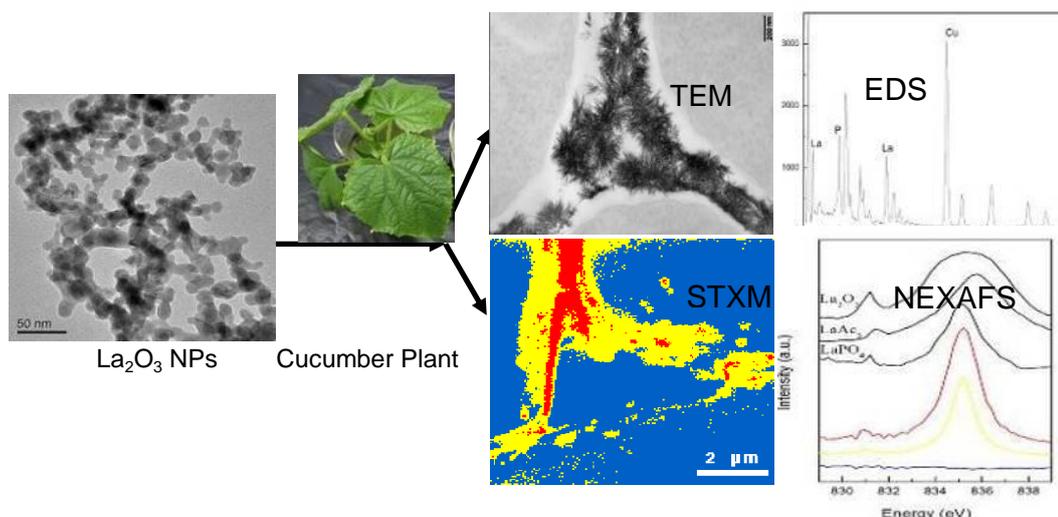


圖2. nano-La₂O₃在黃瓜根細胞的分佈和生物轉化

四種稀土氧化物奈米材料都有明顯的抑菌作用，但作用機制明顯不同。奈米氧化釷、氧化釷和氧化鐳有較強的反應活性，抑菌的機制與植物毒性機制相似，可能主要源於釋放的稀土離子。而奈米二氧化鈾在實驗條件下未發生形態轉化，其抑菌機制並不清楚。我們還發現，改變暴露介質能夠改變奈米二氧化鈾對大腸桿菌的毒性。在K-media中，奈米二氧化鈾表面吸附大量陽離子，電荷為正，與表面帶負電的大腸桿菌相互接觸，產生毒性。而在磷酸緩衝液中，表面電荷為負，與大腸桿菌相互排斥，不產生毒性（圖3）。

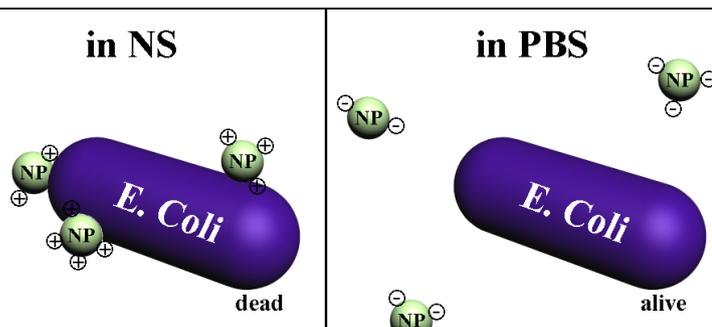


圖3. 在生理鹽水 (NS) 和磷酸緩衝液 (PBS) 中大腸桿菌與納米二氧化鈰的相互作用

稀土氧化物奈米材料對斑馬魚胚胎發育的影響較小，奈米氧化釧、氧化釷和氧化鐿的濃度分別達到3 g/L、5 g/L和5 g/L才會對胚胎72 h孵化率產生負面影響，而奈米二氧化鈰的濃度即使達到5 g/L，也沒有明顯的負面作用。

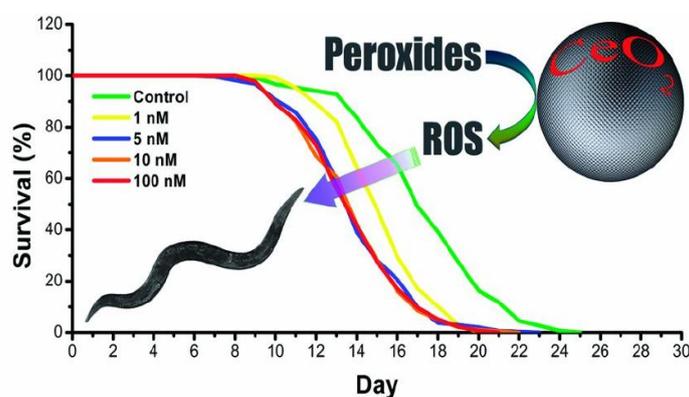


圖4. 納米二氧化鈰對線蟲壽命的影響

奈米二氧化鈰能夠顯著縮短線蟲的壽命，即使暴露濃度僅為1 nM，壽命縮短達12 %。通過攝食進入線蟲體內的奈米二氧化鈰能夠引起活性氧物種積累，進而誘導氧化損傷，最終導致線蟲壽命縮短。體外實驗顯示，在過氧化氫存在的條件下奈米二氧化鈰能夠催化產生活性氧自由基，這可能是奈米二氧化鈰的體內毒性效應作用機制。

4. 結論

我們的實驗結果表明，稀土氧化物奈米材料的生態毒性與多種因素相關，主要包括：(1) 材料自身的物理化學特性。三價稀土奈米氧化物性質活潑，在弱酸作用下易於釋放出稀土離子，毒性主要來自於離子的作用。而四價稀土氧化物二氧化鈰性質穩定，不易釋放離子，對陸生植物、斑馬魚胚胎表現出無毒或毒性很低；(2) 暴露介質。不同培養基可以使奈米二氧化鈰表面帶不同的電荷，導致對大腸桿菌不同的毒性效應；(3) 物種。如奈米二氧化鈰對斑馬魚胚胎發育沒有影響，對7種模式植物無毒或毒性較弱，但對秀麗隱杆線蟲即使在環境相關濃度也會產生明顯毒性。奈米材料對環境生物的影響複雜，其作用機制有待進一步研究。

參考文獻

1. Ma YH, Kuang LL, He X, Bai W, Ding YY, Zhang ZY, Zhao YL, Chai ZF. Effects of rare earth oxide nanoparticles on root elongation of plants. *Chemosphere*, 2010, 78: 273-279
2. Zhang ZY, He X, Zhang HF, Ma YH, Zhang P, Ding YY, Zhao YL. Uptake and distribution of ceria nanoparticles in cucumber plants. *Metallomics*, 2011, 3: 816-822
3. Zhang P, Ma YH, Zhang ZY, He X, Guo Z, Tai RZ, Ding YY, Zhao YL, Chai ZF. Comparative toxicity of nanoparticulate/bulk Yb_2O_3 and YbCl_3 to cucumber (*Cucumis sativus*). *Environ Sci Technol*, 2012, 46: 1834-1841
4. He X, Kuang YS, Li YY, Zhang HF, Ma YH, Bai W, Zhang ZY, Wu ZQ, Zhao YL, Chai ZF. Changing exposure media can reverse the cytotoxicity of ceria nanoparticles for *Escherichia coli*. *Nanotoxicology*, 2012, 6: 233-240
5. Bai W, Zhang ZY, Tian WJ, Zhao YL, Chai ZF, Liu NQ. Developmental toxicity of zinc oxide nanoparticles to zebrafish embryo: a physicochemical study of toxicity mechanism. *J Nanopart Res*, 2010, 12: 1645-1654
6. Zhang HF, He X, Zhang ZY, Zhang P, Li YY, Ma YH, Kuang YS, Zhao YL, Chai ZF. Nano- CeO_2 exhibits adverse effects at environmental relevant concentrations. *Environ Sci Technol*, 2011, 45: 3725-3730