

Effects of Humic Acid on Aqueous Physicochemical Properties and Ecological Toxicity of Nano-Zirconium Oxide

Se Wang^{1,2}, Zhirao Li², Shuwen Wang², Hao Fang^{1,2}, Ding Zhu^{1,2}, Zhuang Wang^{1,2*}

¹Jiangsu Collaborative Innovation Center of Atmospheric Environment and Equipment Technology, Nanjing University of Information Science and Technology, Nanjing Jiangsu

²School of Environmental Science and Engineering, Nanjing University of Information Science and Technology, Nanjing Jiangsu

Email: *zhuang.wang@nuist.edu.cn

Received: Nov. 22nd, 2017; accepted: Dec. 6th, 2017; published: Dec. 13th, 2017

Abstract

Humic acid (HA), ubiquitous in natural water, can interact with engineered nanomaterials (ENMs), but studies on HA affecting on aquatic behavior and ecological toxicity of nano-zirconium oxide (nZrO₂) are still limited. Herein, we investigated the effects of a HA analogy on the physicochemical properties of nZrO₂ and growth inhibition toxicity to freshwater algae. Results show that increasing the mass concentration of HA decreased the zeta potentials and hydrodynamic diameters, implying that HA significantly enhanced the dispersion stability of nZrO₂ in the aquatic media. It was also found that the mass concentration of HA was higher, the stability extent was greater. This process was independent on the time of settling. Furthermore, increasing the mass concentration of HA increased the growth inhibition toxicity of nZrO₂ at a low concentration to *Scenedesmus obliquus*, whereas decreased the growth inhibition toxicity of nZrO₂ at a high concentration. The intensities of the HA effects mainly correlated with the shading of HA and the alleviation of particle-induced oxidative stress. This paper highlights the important roles of natural organic matters on the behavior and effect of ENMs in the environment.

Keywords

Nano-Zirconium Oxide, Humic Acid, Water Environment Behavior, Ecological Toxicity

腐殖酸对纳米氧化锆水相物化性质及生态毒性的影响

*通讯作者。

文章引用: 王瑟, 李智饶, 王枢文, 方昊, 朱丁, 王壮. 腐殖酸对纳米氧化锆水相物化性质及生态毒性的影响[J]. 环境保护前沿, 2017, 7(6): 476-483. DOI: 10.12677/aep.2017.76061

王瑟^{1,2}, 李智饶², 王枢文², 方昊^{1,2}, 朱丁^{1,2}, 王壮^{1,2*}

¹南京信息工程大学, 江苏省大气环境与装备技术协同创新中心, 江苏 南京

²南京信息工程大学, 环境科学与工程学院, 江苏 南京

Email: *zhuang.wang@nuist.edu.cn

收稿日期: 2017年11月22日; 录用日期: 2017年12月6日; 发布日期: 2017年12月13日

摘要

环境中普遍存在的腐殖酸(HA)可与工程纳米材料(ENMs)发生相互作用, 而有关HA对纳米氧化锆($n\text{ZrO}_2$)颗粒物的水环境行为及生态毒理效应的影响却鲜有报道。本文考察了一种HA类似物对 $n\text{ZrO}_2$ 在水相介质中物化性质和淡水绿藻生长抑制毒性的影响。研究发现在有HA存在时, $n\text{ZrO}_2$ 在水相介质中的表面电位越负, 同时其悬浮颗粒的水动力学直径越小, 表明HA的存在显著地提高了 $n\text{ZrO}_2$ 的水相分散稳定性。此外, HA浓度越高, $n\text{ZrO}_2$ 在水相中越趋于稳定, 且该现象不依赖于时间的延长。另外, 随着HA浓度的增加, 低浓度的 $n\text{ZrO}_2$ 对斜生栅藻的生长抑制毒性逐渐增加, 而高浓度的 $n\text{ZrO}_2$ 对斜生栅藻的生长抑制毒性显著降低。HA影响 $n\text{ZrO}_2$ 藻毒性的机理与HA自身的遮光效应及抑制颗粒物诱导的氧化损伤效应有关。本文强调了天然有机质在影响ENMs的环境行为和毒理效应方面起着十分重要的作用。

关键词

纳米氧化锆, 腐殖酸, 水环境行为, 生态毒性

Copyright © 2017 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

随着纳米技术的迅速发展, 工程纳米材料(ENMs)的大量生产和广泛使用势必给人类健康和生态环境带来潜在的压力[1] [2]。有关 ENMs 的环境行为与毒理效应研究已受到环境科研人员的普遍关注[3] [4] [5]。纳米陶瓷材料具有优良的绝缘和导电性能, 被广泛应用于现代各种新兴技术中[6] [7]。纳米氧化锆($n\text{ZrO}_2$)是代表性的纳米陶瓷材料[6]。尽我们所知, 有关 $n\text{ZrO}_2$ 的水环境行为及生态毒性研究仍十分有限。

溶解性有机质(DOM)是天然水环境中普遍存在的一类物质, 它对 ENMs 在环境中的迁移[8] [9] [10]、转化[11]及生物有效性[12] [13]都有显著的影响。前人研究表明 DOM 可增加 ENMs (例如纳米二氧化铈[8] [14]、纳米二氧化钛[14]、纳米零价铁[10])在水环境中的稳定性, 并可减轻 ENMs (例如纳米二氧化铈[14]、纳米二氧化钛[14] [15]、纳米银[12])对水生生物的毒性。因此, 在探究 $n\text{ZrO}_2$ 在水环境中的行为及生态毒性时, 考虑 DOM 的影响效应是十分必要的。本研究旨在通过物化性质的表征以及以斜生栅藻为模式生物的生态毒性测试, 揭示腐殖酸(HA)对 $n\text{ZrO}_2$ 的水相行为与生态毒性的影响规律。

2. 材料与方法

2.1. 实验材料

粉体 $n\text{ZrO}_2$ 购自德国 PlasmaChem 公司, 纯度 > 97.2%, 原始粒径为 5~25 nm, 比表面积为 130 ± 20

m^2/g 。HA 类似物(黄腐酸 FA $\geq 90\%$)购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司。本文选取的水相介质为绿藻培养液,制备方法依据国际经济合作与发展组织(OECD)制订的藻类生长抑制实验准则[16]。

2.2. 物化性质分析

nZrO_2 储备液配置于盛有高纯水的避光 Pyrex 玻璃瓶中, 随即在超声池(25°C ; 150 W, 40 kHz)连续超声 30 min。使用微量进样器从储备液中量取一定体积的 nZrO_2 悬浮液加入到正在搅拌的 HA 溶液中, 并通过 0.1 M NaOH 或 HCl 溶液将所测试的悬浮液 pH 值调至 7.8 ± 0.2 。使用透射电镜(TEM, FEI-Tecna G2F20, Hillsboro, OR, USA)表征 nZrO_2 在测试介质中的形貌。使用马尔文激光粒度仪(ZetaSizer Nano ZS90, Malvern Instruments Ltd., Worcestershire, UK)对 nZrO_2 在测试介质中的零点电势(ZP)和水动力学直径(D_H)进行表征。通过电感耦合等离子体质谱(ICP-MS, Thermo Fisher iCAP-Q, Germany)确定 nZrO_2 溶解部分的浓度(检测限为 $1 \mu\text{g}/\text{L}$)。

2.3. 生物毒性测试

斜生栅藻(*Scenedesmus obliquus*)购自中国科学院武汉水生生物研究所。将指数生长的绿藻重新悬浮在新鲜 OECD 培养基中, 以获得 3×10^5 个细胞/mL 的最终细胞密度(包括对照实验), 以确保观察到的效应与暴露的测试物质相关。将含有各种浓度测试物质的锥形瓶用绿藻接种并培养 96 h。在不存在或存在三种浓度的 HA (1, 10 和 40 mg/L)的情况下, 绿藻分别暴露于低(1 mg/L)和高浓度(50 mg/L)的 nZrO_2 悬浮液中。在 96 h 后测定藻细胞密度, 以提供细胞数并计算绿藻生长率(%)。取 10 mL 测试藻液(96 h), 并以 4500 rpm 离心 30 min。将沉淀物重新悬浮于 1 mL 磷酸盐缓冲液(pH = 7.2)中, 并通过超声波破碎细胞。超声处理后, 通过高速冷冻离心机(D3024, Scilogex, Rocky Hill, CT, USA)在 15,000 rpm 下离心 15 min 后除去细胞碎片, 并提取上清液用于生物化学测定。使用购自南京建城生物工程研究所(中国南京)的商业试剂盒进行超氧化物歧化酶(SOD)活性的测定。

3. 结果与讨论

3.1. HA 对 nZrO_2 在水相中物化性质的影响

图 1 展示了在有/无 HA 存在时 nZrO_2 在测试介质中的形貌特征。 nZrO_2 颗粒呈类球状。 nZrO_2 加入测试介质中出现较严重的聚集现象(图 1(A)), 而当有 HA 存在时, nZrO_2 在测试介质中的聚集现象有所减缓(图 1(B))。TEM 结果说明 HA 的存在可减小 nZrO_2 在水相介质中的聚集性。

图 2 展示了在不同时刻不同浓度的 HA 对不同悬浮浓度的 nZrO_2 在水相介质中表面电位的影响。由图 2(A)可见, 在不加 HA 的情况下, 在测试时间内(0~96 h), 1 mg/L nZrO_2 在测试介质中的 ZP 值处在 -18.1 与 -20.4 mV 之间。当有 1 mg/L HA 存在时, 在测试时间内(0~96 h), nZrO_2 的 ZP 值处在 -21.9 与 -23.7 mV 之间; 当有 10 mg/L HA 存在时, nZrO_2 的 ZP 值处在 -22.2 与 -23.5 mV 之间; 当有 40 mg/L HA 存在时, nZrO_2 的 ZP 值处在 -23.3 与 -24.5 mV 之间。通过比较分析可得出, 在有 HA 存在时 1 mg/L nZrO_2 在测试介质中的 ZP 值比无 HA 存在时的 ZP 值更负。同时, 随着 HA 浓度的增加, nZrO_2 的 ZP 值越负。

由图 2(B)可见, 在不加 HA 的情况下, 在测试时间内(0~96 h), 50 mg/L nZrO_2 在测试介质中的 ZP 值处在 -19.0 与 -20.6 mV 之间。当有 1 mg/L HA 存在时, 在测试时间内(0~96 h), nZrO_2 的 ZP 值处在 -23.0 与 -23.8 mV 之间; 当有 10 mg/L HA 存在时, nZrO_2 的 ZP 值处在 -24.8 与 -28.2 mV 之间; 当有 40 mg/L HA 存在时, nZrO_2 的 ZP 值处在 -25.9 与 -27.9 mV 之间。通过比较分析明显可得出, 在有 HA 存在时 50 mg/L nZrO_2 在测试介质中的 ZP 值比无 HA 存在时的 ZP 值更负, 且随着 HA 浓度的增加, nZrO_2 的 ZP 值越负。总体而言, HA 的存在增加了 nZrO_2 在测试介质中的表面电荷, 且增加程度与 HA 的浓度有关。另外, 该

影响规律并不依赖于时间的延长。

在不同浓度的 HA 存在下, nZrO₂ 悬浮颗粒物经 96 h 后的尺度变化如图 3 所示。由图 3(A)可见, 在不加 HA 的情况下, 在测试时间内(0~96 h), 1 mg/L nZrO₂ 在测试介质中的 D_H 值处在 315 与 366 nm 之间。当有 1 mg/L HA 存在时, 在测试时间内(0~96 h), nZrO₂ 的 D_H 值处在 246 与 260 nm 之间; 当有 10 mg/L HA 存在时, nZrO₂ 的 D_H 值处在 237 与 256 nm 之间; 当有 40 mg/L HA 存在时, nZrO₂ 的 D_H 值处在 233 与 245 nm 之间。通过比较分析可得出, 在有 HA 存在时 1 mg/L nZrO₂ 在测试介质中的 D_H 值比无 HA 存在时的 D_H 值要小。同时, 随着 HA 浓度的增加, nZrO₂ 的 D_H 值逐渐向小尺度方向移动。由图 3(B)可见, 在不加 HA 的情况下, 在测试时间内(0~96 h), 50 mg/L nZrO₂ 在测试介质中的 D_H 值处在 260 与 307 nm 之间。当有 1 mg/L HA 存在时, 在测试时间内(0~96 h), nZrO₂ 的 D_H 值处在 219 与 238 nm 之间; 当有 10 mg/L HA 存在时, nZrO₂ 的 D_H 值处在 217 与 235 nm 之间; 当有 40 mg/L HA 存在时, nZrO₂ 的 D_H 值处在 217 与 233 nm 之间。通过比较分析亦可得出, 在有 HA 存在时 50 mg/L nZrO₂ 在测试介质中的 D_H 值比无 HA 存在时的 D_H 值要小, 同时发现 HA 在不同浓度时对 nZrO₂ 的 D_H 值影响差别较小。

总体而言, HA 的存在减小了 nZrO₂ 在测试介质中的聚集尺度, 也意味着 HA 的存在减轻了 nZrO₂ 在水相中的聚集程度, 这与 TEM 表征结果一致。另外, 该影响规律并不依赖于时间的延长。如前所述, HA 以浓度依赖的方式减小了 nZrO₂ 在水相中的表面电位, 说明 HA 提高 nZrO₂ 在水相中的分散稳定性的

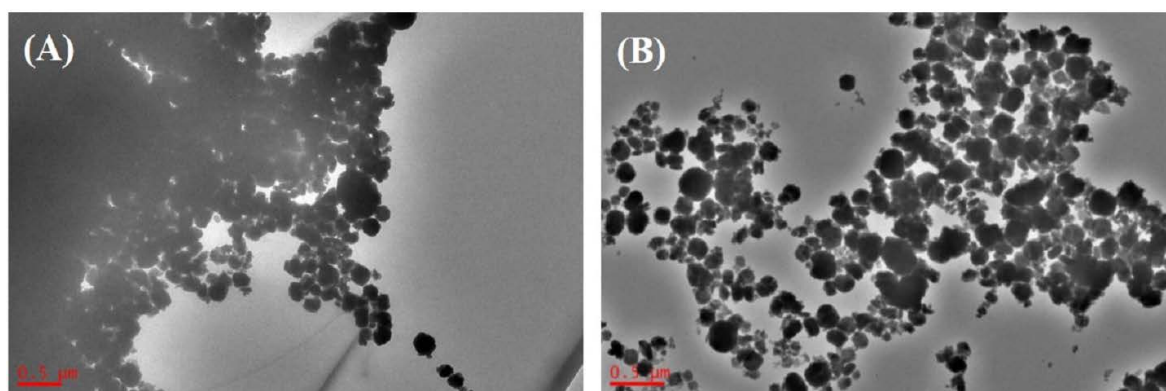


Figure 1. TEM images of nZrO₂ without (A) and with HA (B) in the algal culture medium

图 1. 在有/无腐殖酸(HA)存在下 nZrO₂ 在绿藻培养基中的形貌

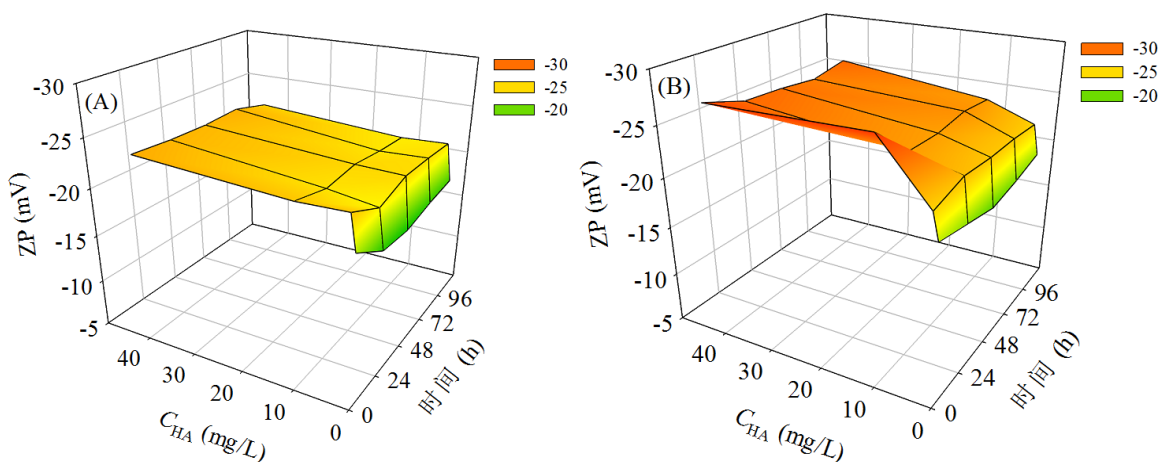


Figure 2. Effects of different concentrations of humic acid (HA, 1, 10 and 40 mg/L) on zeta potential (ZP) of 1 (A) and 50 (B) mg/L nZrO₂ at different time points

图 2. 在不同时刻不同浓度的腐殖酸(HA, 1, 10 和 40 mg/L)对 1 (A)和 50 (B) mg/L nZrO₂ 零点电位(ZP)的影响

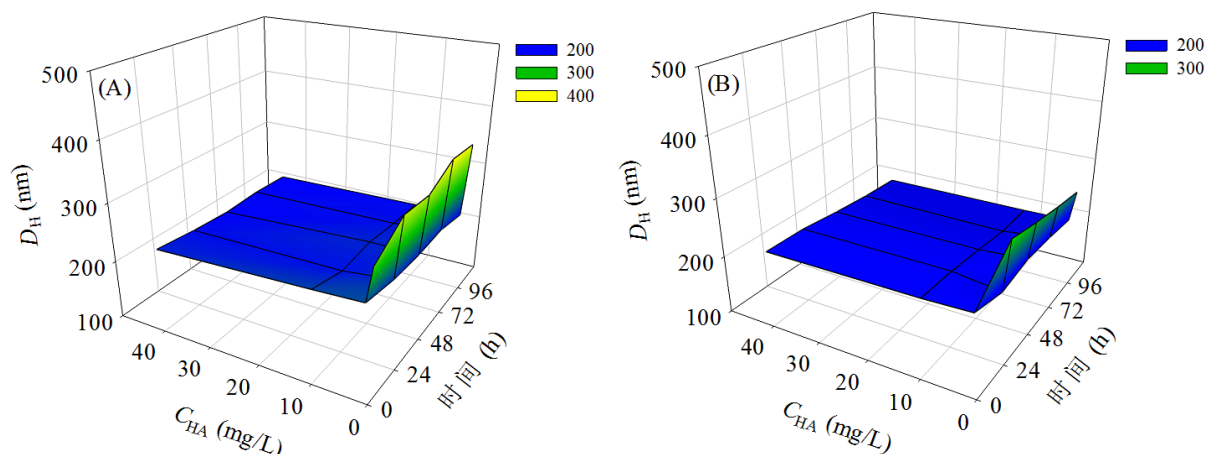


Figure 3. Effects of different concentrations of humic acid (HA, 1, 10 and 40 mg/L) on hydrodynamic diameters (D_H) of 1 (A) and 50 (B) mg/L nZrO₂ at different time points

图 3. 在不同时刻不同浓度的腐殖酸(HA, 1, 10 和 40 mg/L)对 1 (A)和 50 (B) mg/L nZrO₂ 水动力学直径(D_H)的影响

机理为静电作用。尺度分析结果表明 HA 也以浓度依赖的方式明显减小了低浓度 nZrO₂ 在水相中的粒径大小, 说明空间位阻效应也贡献了 HA 减轻颗粒物聚集性而提高其水相分散稳定性的作用机理。

3.2. HA 对 nZrO₂ 斜生栅藻生长抑制毒性的影响

图 4 展示了在有/无 HA 存在下 nZrO₂ 对斜生栅藻的生长抑制毒性。如图 4 所示, 1 mg/L nZrO₂ 刺激了绿藻的生长, 而 50 mg/L nZrO₂ 对绿藻生长抑制率达到 45%, 说明 nZrO₂ 对绿藻的生长抑制毒性依赖于颗粒物的浓度。ICP-MS 的分析结果表明 nZrO₂ 在测试介质中的溶解部分的浓度均低于检测线(1 μg/L), 说明颗粒物的溶解部分并不是 nZrO₂ 产生毒性的原因。当有 1 mg/L HA 存在时, nZrO₂ 对绿藻的生长抑制率与未有 HA 存在时比并无显著性的差异。当有 10 mg/L HA 存在时, 1 mg/L nZrO₂ 对绿藻的生长抑制率明显升高, 而 50 mg/L nZrO₂ 对绿藻的生长抑制率显著的降低, 且处理组与单独 10 mg/L HA 存在时相比生长抑制率并无显著性的差异。类似于 1 mg/L HA 存在时的规律, 当有 40 mg/L HA 存在时, 1 mg/L nZrO₂ 对绿藻的生长抑制率也明显升高, 而 50 mg/L nZrO₂ 对绿藻的生长抑制率亦显著的降低。

整体而言, 随着 HA 浓度的增加, 1 mg/L nZrO₂ 对绿藻的生长抑制率逐渐升高, 表明 HA 以浓度依赖的方式提高了 ZrO₂ 对绿藻的毒性。对于 50 mg/L nZrO₂ 而言, 在有 10 mg/L HA 存在时的颗粒物对绿藻的生长抑制程度明显要高于有 40 mg/L HA 存在的条件下。生长抑制毒性测试结果表明 HA 显著地影响了 ZrO₂ 对绿藻的毒性, 且影响程度与 HA 和颗粒物的浓度均有关。另外, 物化性质表征结果表明 HA 的存在可提高 ZrO₂ 在水相介质中的稳定性, 但 HA 提高低浓度 ZrO₂ 对绿藻的生长抑制率与 HA 自身诱导的对绿藻的生长抑制率无显著性的差异(图 4), 说明 ZrO₂ 分散稳定性的提高并不是引起该毒性增加的原因。同时发现, 虽然有 HA 的存在, 高浓度的 ZrO₂ 分散稳定性也明显提高, 但相对未有 HA 存在时, ZrO₂ 的毒性明显降低。这可能是由于 HA 与 ZrO₂ 颗粒物相互作用的增加减少了绿藻细胞对颗粒物的摄取能力。ZrO₂ 在水相介质中表面电位表征结果也证实 HA 浓度越高, 颗粒物的表面电位就越负, 而斜生栅藻细胞的表面电位小于零。因此, 我们推测在有 HA 存在时, 颗粒物与藻细胞以斥力作用为主, 进而减少了细胞对颗粒物的摄取量。

为了进一步阐明 HA 对 ZrO₂ 毒性影响的作用机理, 我们测定了 SOD 的活性变化。SOD 可使细胞中活性氧物种(ROS)保持稳态水平, 并保护细胞免受 ROS 的不利影响[17]。如图 5 所示, 与对照相比, 本文所研究的不同浓度的 HA 并未引起 SOD 活性有显著的变化, 说明 HA 对斜生栅藻的毒性与 ROS 的产

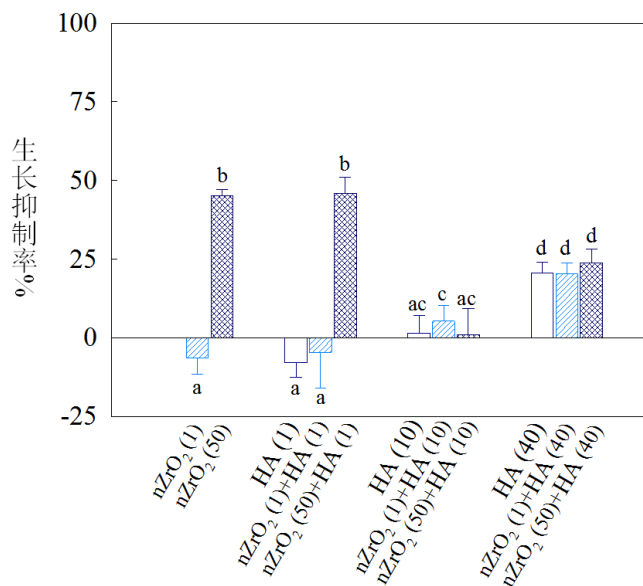


Figure 4. Algal growth inhibition rates of *S. obliquus* exposed to 1 and 50 mg/L nZrO₂ at the concentration of 1 and 50 mg/L of suspensions, in the absence and presence of three different humic acid (HA) concentrations (1, 10, and 40 mg/L). Data within all columns in each figure with a letter in common are not significantly different at $p < 0.05$ level

图 4. 在不同浓度的腐殖酸(HA, 1, 10 和 40 mg/L)存在下 1 和 50 mg/L nZrO₂ 对斜生栅藻的生长抑制率。相同字母代表数据间无显著性差异(显著性水平 $p < 0.05$)

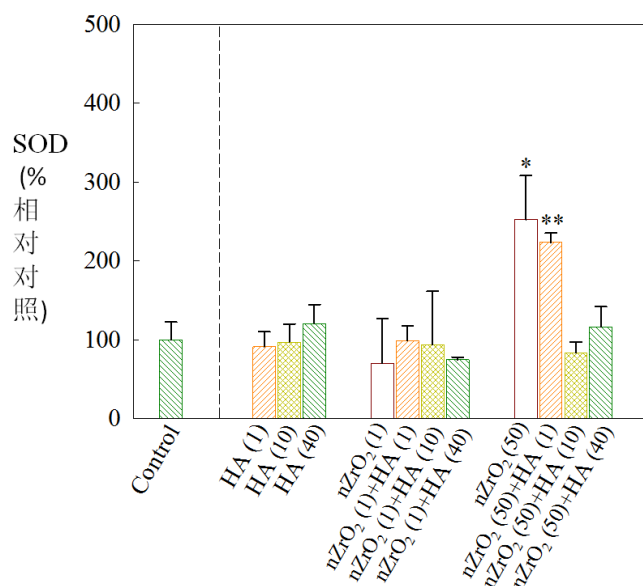


Figure 5. Activities of SOD in *S. obliquus* after 96 h of exposure to 1 and 50 mg/L nZrO₂ at the concentration of 1 and 50 mg/L of suspensions, in the absence and presence of three different HA concentrations (1, 10, and 40 mg/L). Statistical significance versus control group: * $p < 0.05$ and ** $p < 0.001$

图 5. 在不同浓度的腐殖酸(HA, 1, 10, and 40 mg/L)存在下 1 和 50 mg/L nZrO₂ 对斜生栅藻的 SOD 活性。处理组与对照组进行统计上的显著性差异比较(显著性水平 * $p < 0.05$ 和 ** $p < 0.001$)

生无关。同时,生长抑制毒性测试的结果发现较高浓度(10和40 mg/L)的HA对绿藻有生长抑制作用,结合SOD的分析结果可得出HA对绿藻的毒性与其自身的遮光效应有关。此外,发现1 mg/L nZrO₂对SOD活性没有显著性的影响,而50 mg/L nZrO₂显著性地提高了SOD的活性($p < 0.05$),说明nZrO₂可通过诱导产生ROS引起绿藻细胞的氧化应激效应,进而产生了生长抑制毒性作用。当有HA存在时,1 mg/L nZrO₂对SOD活性亦没有显著性的影响,这说明HA提高nZrO₂的生长抑制毒性与氧化应激效应无关,只与HA自身产生的毒性作用有关。当有1 mg/L HA存在时,50 mg/L nZrO₂依然显著地提高了SOD活性,而当有10和40 mg/L HA存在时,50 mg/L nZrO₂对SOD活性并没有显著性的影响,说明高浓度HA的存在显著地降低了高浓度nZrO₂诱导的SOD活性。这也说明HA可通过减轻高浓度nZrO₂诱导的绿藻细胞氧化应激效应而降低颗粒物的细胞毒性作用。综上,HA可显著地影响nZrO₂对斜生栅藻的毒性,且影响机理与HA自身的遮光效应和其可调节颗粒物诱导的氧化应激作用有关。

4. 结论

研究发现HA以浓度依赖的方式降低了nZrO₂在水相介质中的表面电位。同时HA的存在降低了悬浮颗粒的水动力学直径大小。物化性质分析表明整个实验过程中HA显著地提高了nZrO₂的水相稳定性。另外,HA的存在增加了低浓度的nZrO₂对斜生栅藻的生长抑制毒性,而降低了高浓度的nZrO₂对斜生栅藻的生长抑制毒性。HA影响nZrO₂绿藻毒性的机理与HA自身的遮光效应及抑制颗粒物诱导的氧化损伤效应有关。

基金项目

本文得到国家自然科学基金(41601519; 21407080)、江苏省自然科学基金(BK20150891; BK20140987)及南京信息工程大学人才启动经费(2015r011)资助。

参考文献 (References)

- [1] Peijnenburg, W.J.G.M., Baalousha, M., *et al.* (2015) A Review of the Properties and Processes Determining the Fate of Engineered Nanomaterials in the Aquatic Environment. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, **45**, 2084-2134. <https://doi.org/10.1080/10643389.2015.1010430>
- [2] Handy, R.D., von der Kammer, F., *et al.* (2008) The Ecotoxicology and Chemistry of Manufactured Nanoparticles. *Ecotoxicology*, **17**, 287-314. <https://doi.org/10.1007/s10646-008-0199-8>
- [3] Nowack, B. and Bucheli, T.D. (2007) Occurrence, Behavior and Effects of Nanoparticles in the Environment. *Environmental Pollution*, **150**, 5-22. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2007.06.006>
- [4] Baun, A., Hartmann, N.B., *et al.* (2008) Ecotoxicity of Engineered Nanoparticles to Aquatic Invertebrates: A Brief Review and Recommendations for Future Toxicity Testing. *Ecotoxicology*, **17**, 387-395. <https://doi.org/10.1007/s10646-008-0208-y>
- [5] Skjolding, L.M., Sørensen, S.N., *et al.* (2016) Aquatic Ecotoxicity Testing of Nanoparticles—The Quest for Disclosing Nanoparticle Effects. *Angewandte Chemie International Edition*, **55**, 15224-15239. <https://doi.org/10.1002/anie.201604964>
- [6] Zhao, Y., Sugiyama, S., *et al.* (2008) Nanoceramics for Blood-Borne Virus Removal. *Expert Review of Medical Devices*, **5**, 395-405. <https://doi.org/10.1586/17434440.5.3.395>
- [7] Miao, X. and Goring, N.M. (2009) Nanoceramics and Nanoceramic Composites for Biomedical Applications. In: Tseng, T.-Y. and Nalwa, H.S., Eds., *Handbook of Nanoceramics and Their Based Nanodevices*, American Scientific Publishers, Stevenson Ranch, CA.
- [8] Quik, J.T., Lynch, I., *et al.* (2010) Effect of Natural Organic Matter on Cerium Dioxide Nano Particles Settling in Model Fresh Water. *Chemosphere*, **81**, 711-715. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.07.062>
- [9] Wang, Z., Chen, J., *et al.* (2011) C₆₀-DOM Interactions and Effects on C₆₀ Apparent Solubility: A Molecular Mechanics and Density Functional Theory Study. *Environment International*, **37**, 1078-1082. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2011.02.016>

- [10] Johnson, R.L., Johnson, G.O., *et al.* (2009) Natural Organic Matter Enhanced Mobility of Nano Zerovalent Iron. *Environmental Science and Technology*, **43**, 5455-5460. <https://doi.org/10.1021/es900474f>
- [11] Lowry, G.V., Gregory, K.B., *et al.* (2012) Transformations of Nanomaterials in the Environment. *Environmental Science and Technology*, **46**, 6893-6899. <https://doi.org/10.1021/es300839e>
- [12] Wang, Z., Quik, J.T., *et al.* (2015) Humic Substances Alleviate the Aquatic Toxicity of Poly Vinylpyrrolidone-Coated Silver Nanoparticles to Organisms of Different Trophic Levels. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **34**, 1239-1245. <https://doi.org/10.1002/etc.2936>
- [13] Wang, Z., Li, J., *et al.* (2011) Toxicity and Internalization of CuO Nanoparticles to Prokaryotic Alga *Microcystis aeruginosa* as Affected by Dissolved Organic Matter. *Environmental Science and Technology*, **45**, 6032-6040. <https://doi.org/10.1021/es2010573>
- [14] Cerrillo, C., Barandika, G., *et al.* (2016) Towards the Standardization of Nanoecotoxicity Testing: Natural Organic Matter “Camouflages” the Adverse Effects of TiO₂ and CeO₂ Nanoparticles on Green Microalgae. *Science of the Total Environment*, **543**, 95-104. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.10.137>
- [15] Seitz, F., Rosenfeldt, R.R., *et al.* (2016) Quantity and Quality of Natural Organic Matter Influence the Ecotoxicity of Titanium Dioxide Nanoparticles. *Nanotoxicology*, **10**, 1415-1421. <https://doi.org/10.1080/17435390.2016.1222458>
- [16] OECD (2011) Guidelines for the Testing of Chemicals. Section 2: Effects on Biotic Systems. Test No. 201: Freshwater Alga and Cyanobacteria, Growth Inhibition Test. Organization for Economic Co-Operation and Development, Paris. http://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-201-alga-growth-inhibition-test_9789264069923-en
- [17] Weckx, J.E.J. and Clijsters, H.M.M. (1996) Oxidative Damage and Defense Mechanisms in Primary Leaves of *Phaseolus vulgaris* as a Result of Root Assimilation of Toxic Amounts of Copper. *Physiologia Plantarum*, **96**, 506-512. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1996.tb00465.x>

知网检索的两种方式:

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>
下拉列表框选择: [ISSN], 输入期刊 ISSN: 2164-5485, 即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>
左侧“国际文献总库”进入, 输入文章标题, 即可查询

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱: aep@hanspub.org