

常见海洋细菌对纳米二氧化钛的响应

陈嘉祥^{1,2}, 王兆守^{1,2*}, 邵宗泽^{2*}

(1. 厦门大学化学化工学院, 福建 厦门 361005; 2. 国家海洋局第三海洋研究所,
国家海洋局海洋生物遗传资源重点实验室, 福建 厦门 361005)

摘要: 选择 6 种常见海洋细菌, 包括非光合细菌海杆菌(*Marinobacter* sp.)、盐单胞菌(*Halomonas* sp.)、交替单胞菌(*Alteromonas* sp.)、副溶血弧菌(*Vibrio parahaemolyticus*)以及光合细菌聚球藻(*Synechococcus* sp.) XM-24 和 299, 并以模式菌大肠杆菌(*Escherichia coli*)和枯草芽胞杆菌(*Bacillus subtilis*)作为参照, 通过测定生长曲线和生物量来表征纳米 TiO₂ (0.1, 1, 10, 100 mg/L) 对其生长的影响, 并通过测定叶绿素 a 含量来指示聚球藻的光合能力。结果显示: 在低质量浓度下 (0.1 和 1 mg/L) 纳米 TiO₂ 对所试细菌的生长影响不显著 ($p > 0.05$), 而在高质量浓度下 (10 和 100 mg/L) 纳米 TiO₂ 则会显著抑制其生长 ($p < 0.01$), 并且浓度越大抑制效果越明显; 100 mg/L 纳米 TiO₂ 对聚球藻 299 的叶绿素 a 合成也有抑制作用; 纳米 TiO₂ 对非光合细菌生长的抑制作用一般在 18 h 后显著显现 ($p < 0.05$), 而对 2 种聚球藻生物量的影响则在 6 d 之后较为显著 ($p < 0.05$)。研究结果将为进一步评估纳米 TiO₂ 对海洋生态环境安全造成的影响提供参考。

关键词: 纳米 TiO₂; 海洋细菌; 聚球藻; 毒性效应

中图分类号: Q 938.8

文献标志码: A

文章编号: 0438-0479(2018)03-0329-08

纳米材料因具有小尺寸效应、表面效应、界面效应和量子隧道效应等独特的物理性质, 表现出很多优异、全新的功能, 进而被大量生产并广泛应用于各个领域^[1-2]。TiO₂ 具有良好的光催化特性, 可杀灭细菌, 还具有良好的热稳定性和耐化学腐蚀性, 因此, 被广泛应用于杀菌、颜料、涂料、化妆品、电子材料、食品添加剂、药品以及生物医学和工业生产等领域^[3-5]。纳米 TiO₂ 是商业化生产最早、产量最高、应用范围最广的纳米材料之一, 2011—2014 年世界商业生产的纳米 TiO₂ 每年超过 1 万 t^[6]。由于其高产量和高使用频率, 不可避免地会进入到海洋水体等生态环境中, 其潜在的生态风险和对人类健康的影响已引起人们的广泛关注。尽管目前有关环境中纳米 TiO₂ 污染的研究还比较少, 但已有研究表明纳米 TiO₂ 可通过浸出和排放等形式进入地表水^[6]。

纳米 TiO₂ 对部分水生生物有毒性作用。Ozaki 等^[7]在研究纳米 TiO₂ 对人造水系沉积物中细菌群落丰度、活性和群落组成的影响后发现, 纳米 TiO₂ 的添

加会导致细菌群落丰度快速下降。Zheng 等^[8]研究了纳米 TiO₂ 颗粒对活性污泥的长期影响, 发现活性污泥的表面结构没有破损, 这可能是活性污泥分泌的胞外多糖起到了保护作用, 但是污水中 50 mg/L 的纳米 TiO₂ 颗粒显著改变了活性污泥微生物的多样性并且显著降低了硝化菌的数量。另外, 有学者研究了纳米 TiO₂ 对大肠杆菌(*Escherichia coli*)^[9]、微藻^[10]、水蚤、轮虫和植物细胞^[11]的毒性影响, 然而纳米 TiO₂ 对常见海洋细菌的影响尚未有系统的研究报道。为此, 本文中选择了 6 种常见海洋细菌, 研究其对纳米 TiO₂ 的响应, 以为环境和生态系统的安全提供早期的预警, 为应对水产品安全及资源环境问题提供科学支撑。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 菌株及培养基

本研究所用的菌株: 海杆菌 (*Marinobacter* sp.)

收稿日期: 2017-05-02 录用日期: 2017-11-10

基金项目: 厦门南方海洋研究中心项目 (14CZP034HJ08); 国家海洋局海洋生物遗传资源重点实验室开放研究基金 (HY201505)

* 通信作者: wzs@xmu.edu.cn (王兆守); shaozz@163.com (邵宗泽)

引文格式: 陈嘉祥, 王兆守, 邵宗泽. 常见海洋细菌对纳米二氧化钛的响应[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 2018, 57(3): 329-336.

Citation: CHEN J X, WANG Z S, SHAO Z Z. Responses of common marine bacteria to nano titanium dioxide[J]. J Xiamen Univ Nat Sci, 2018, 57(3): 329-336. (in Chinese)



MCCC 1A00092, 与 *M. hydrocarbonoclasticus* 相似性为 94.64%, 分离自泉州市近海海域; 盐单胞菌 (*Halomonas* sp.) MCCC 1A00533, 与 *H. meridiana* 相似性为 100%, 分离自东太平洋海域; 交替单胞菌 (*Alteromonas* sp.) MCCC 1A00576, 与 *A. australica* 相似性为 99.69%, 分离自东太平洋海域; 副溶血弧菌 (*Vibrio parahaemolyticus*) MCCC 1A02609, 分离自日本海域。均在中国海洋微生物菌种保藏中心(MCCC)保存。聚球藻 (*Synechococcus* sp.) XM-24 和 299, 分别分离自厦门市近海海域和台湾岛近海海域, 由厦门大学海洋与地球学院郑强博士提供。枯草芽胞杆菌 (*Bacillus subtilis*) MCCC 1A00693 和大肠杆菌 CICC 10389, 作为革兰氏阳性和阴性模式菌, 分别由 MCCC 和陈新华研究员课题组提供。

大肠杆菌采用 LB 培养基, 聚球藻 XM-24 与 299 采用 BG11 培养基^[12], 其余细菌均采用 2216E 培养基。

1.1.2 试剂及仪器

纳米 TiO_2 (粒径 25 nm, Acros, 美国), T25 细胞培养瓶、50 mL 离心管和 0.22 μm 滤膜(美吉公司, 上海)。

能谱(EDS)分析仪和扫描电子显微镜(SEM) (Zeiss Sigma, 德国), 微生物生长曲线测定仪(AB Ltd, 芬兰), 核酸蛋白测定仪(Biorad, 美国), 荧光显微镜(Nikon, 日本)。

1.2 实验方法

1.2.1 纳米 TiO_2 母液的配制及表征

配制 10 mg/mL 的纳米 TiO_2 母液: 称取纳米 TiO_2 粉末, 加入一定量超纯水, 121 $^{\circ}\text{C}$ 高压灭菌 20 min 后, 超声 30 min。

表征: 取一定量的纳米 TiO_2 粉末加入到 5 mL 超纯水中, 经超声分散后用毛细吸管吸取少量溶液滴加在洁净的硅片上, 在 60 $^{\circ}\text{C}$ 烘箱中干燥, 然后进行 EDS 和 SEM 分析。

1.2.2 菌体的活化与培养及生长指标的测定

1) 非光合细菌

将保存的菌种转接到液体培养基中, 适宜条件下培养 24 h, 取一定量菌液在固体培养基上活化培养 24 h, 再将新平板中单菌落挑取至相应液体培养基, 适宜条件下培养至对数生长期, 待用。在锥形瓶中各加 100 mL 培养基, 灭菌后加菌液使其初始浓度约为 $1 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$, 再添加纳米 TiO_2 母液, 使纳米 TiO_2 终质量浓度分别为 0(对照组), 0.1, 1, 10, 100 mg/L, 每个质量浓度设 6 个重复。在适宜温度下(海杆菌和枯草芽胞杆

菌为 28 $^{\circ}\text{C}$, 盐单胞菌和交替单胞菌为 20 $^{\circ}\text{C}$, 副溶血弧菌为 30 $^{\circ}\text{C}$, 大肠杆菌为 37 $^{\circ}\text{C}$), 转速 120 r/min, 分别在无光照和光照 1 000 ~ 1 500 lx 的条件下振荡培养。

光照条件下培养的细菌, 每隔 6 h 取样, 以相应质量浓度的纳米 TiO_2 (不含菌体) 溶液为空白对照, 采用核酸蛋白测定仪测定其在 600 nm 下的吸光度 (A_{600})^[13], 并在光学显微镜下利用血球计数板进行计数。采用微生物生长曲线测定仪测定无光照条件下培养的细菌的生长曲线(以 A_{600} 表示)。

2) 光合细菌

将 5 mL 聚球藻液加入到含 30 mL BG11 培养基的 T25 细胞培养瓶中, 光照 1 000 ~ 1 500 lx, 室温 25 $^{\circ}\text{C}$, 光周期为 12 h 光照/12 h 黑暗, 培养 7 d。在每天早 10:00 和晚 10:00 各摇匀 2 次, 培养藻液至对数生长期, 待用^[14]。通过 A_{680} 值进行估算, 将藻液稀释至约 $5 \times 10^7 \text{ mL}^{-1}$, 取 1 mL 加入到 50 mL BG11 培养基中, 加入纳米 TiO_2 母液使纳米 TiO_2 终质量浓度分别为 0(对照组), 0.1, 1, 10, 100 mg/L, 每个质量浓度设 3 个重复, 在上述光照及温度下连续培养。每隔 3 d 取样 1 次, 共 4 次。每瓶每次取藻液 1 mL 用于测定 A_{680} , 取 500 μL 用于荧光显微镜计数, 剩余藻液用于测定叶绿素 a 含量^[15-16]。

1.3 统计与分析

采用 R 软件对实验结果进行单因素方差分析 (One-way ANOVA), $p < 0.05$ 表示差异显著, $p < 0.01$ 表示差异极显著。

2 结 果

2.1 纳米 TiO_2 的表征

图 1 为对纳米 TiO_2 元素组成和粒径大小的表征结果。由图 1(a) 可知, 样品含有 Ti、O、C 3 种元素, 其中少量的 C 可能是制备纳米 TiO_2 过程中钛酸四正丁酯 ($\text{Ti}(\text{OC}_4\text{H}_9)_4$) 水解产生的残余。如图 1(b) 的 SEM 结果所示, 该纳米 TiO_2 的粒径约为 25 nm。

2.2 纳米 TiO_2 对海杆菌生长的影响

在光照培养下, 纳米 TiO_2 对海杆菌生长影响的实验结果如图 2(a) 和 (b) 所示: 经过 18 h 的光照培养, 海杆菌对照组的生物量最高, 其余各处理组的菌体生长受到极显著抑制 ($p < 0.01$); 经过 24 h 的光照培养, 100 mg/L 处理组的生物量最低, 菌体生长受到明显抑制, 与对照组和其余各处理组的差异极显

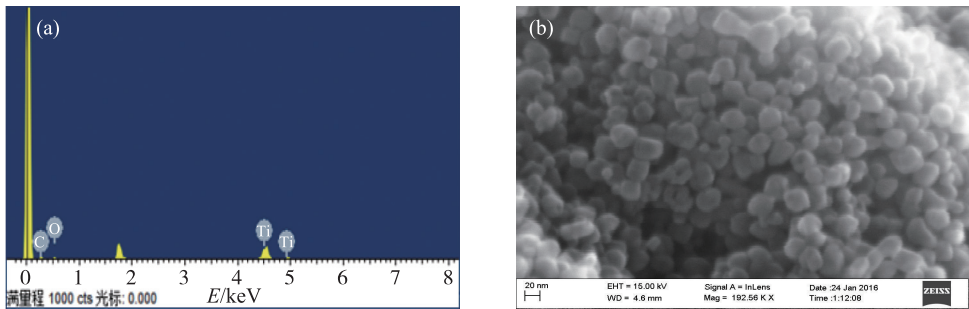
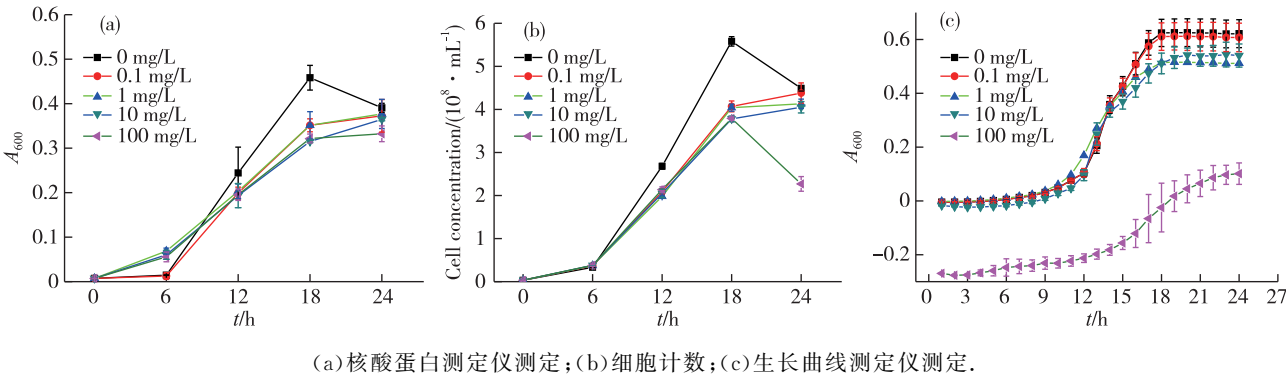


图 1 纳米 TiO₂ 的 EDS(a)和 SEM(b)图
Fig. 1 EDS spectrum(a) and SEM image(b) of nano-TiO₂



(a)核酸蛋白测定仪测定;(b)细胞计数;(c)生长曲线测定仪测定。
图 2 纳米 TiO₂ 对海杆菌生长的影响
Fig. 2 Effect of nano-TiO₂ on the growth of *Marinobacter* sp.

著($p<0.01$)。

如图 2(c)所示,在无光照培养下,取 15 h(对数期)生长速率和 20 h(稳定期)生物量增加量的数据进行统计学检验,可见 100 mg/L 处理组海杆菌的菌体生长受到极显著抑制($p<0.01$)。由于纳米 TiO₂ 常温下不溶于水,会产生光吸收,当纳米 TiO₂ 质量浓度较高时,细胞可能与 TiO₂ 相互吸附、沉降,导致吸光度下降;而在数据分析时以相应质量浓度纳米 TiO₂ 溶液(不含菌体)的光密度为空白对照,导致生长曲线中处理组在细菌生长停滞期的光密度为负值。

2.3 纳米 TiO₂ 对盐单胞菌生长的影响

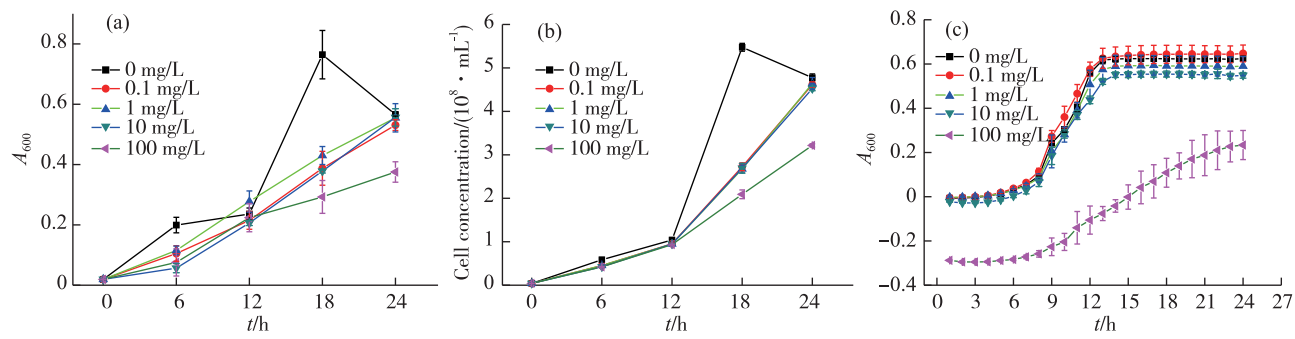
纳米 TiO₂ 对盐单胞菌生长影响的实验结果见图 3。如图 3(a)和(b)所示:经过 18 h 的光照培养,盐单胞菌生物量以对照组最高,各处理组的菌体生长受到显著抑制($p<0.05$);经过 24 h 的光照培养,100 mg/L 处理组的菌体生长受到极显著抑制($p<0.01$)。如图 3(c)所示,在无光照培养下,分析对数期(10 h)生长速率和稳定期(22 h)生物量增加量,可见 100 mg/L 处理组的盐单胞菌生长受到极显著抑制($p<0.01$)。

2.4 纳米 TiO₂ 对交替单胞菌生长的影响

纳米 TiO₂ 对交替单胞菌生长影响的实验结果见图 4。如图 4(a)和(b)所示:经过 18 h 的光照培养,各处理组的菌体生长受到极显著抑制($p<0.01$);经过 24 h 的光照培养,100 mg/L 处理组的生物量最低,菌体生长受到极显著抑制($p<0.01$)。如图 4(c)所示,在无光照培养下,100 mg/L 处理组的交替单胞菌对数期(5 h)的生长速率最低,可见菌体生长受到极显著抑制($p<0.01$)。

2.5 纳米 TiO₂ 对副溶血弧菌生长的影响

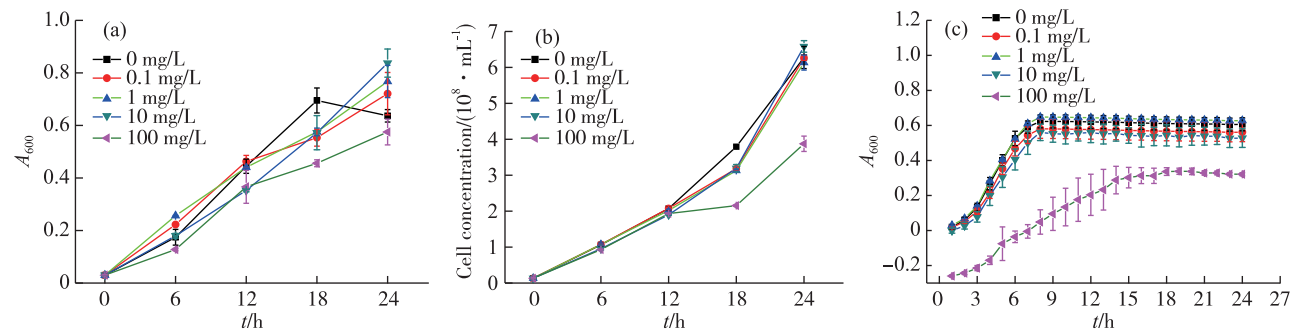
纳米 TiO₂ 对副溶血弧菌生长影响的实验结果见图 5。如图 5(a)和(b)所示:分别经过 6 和 12 h 的光照培养,100 mg/L 处理组的副溶血弧菌生物量与其他处理组出现显著差异,菌体生长受到极显著抑制($p<0.01$);0.1 mg/L 的纳米 TiO₂ 对副溶血弧菌的生长不但没有抑制作用,反而有一定的促进作用(图 5(a));经过 24 h 的光照培养,高质量浓度(10 和 100 mg/L)处理组的菌体生长受到极显著抑制($p<0.01$)(图 5(b))。如图 5(c)所示,在无光照培养下,稳定期(15 h)时 10 和 100 mg/L



(a)核酸蛋白测定仪测定;(b)细胞计数;(c)生长曲线测定仪测定.

图 3 纳米 TiO₂ 对盐单胞菌生长的影响

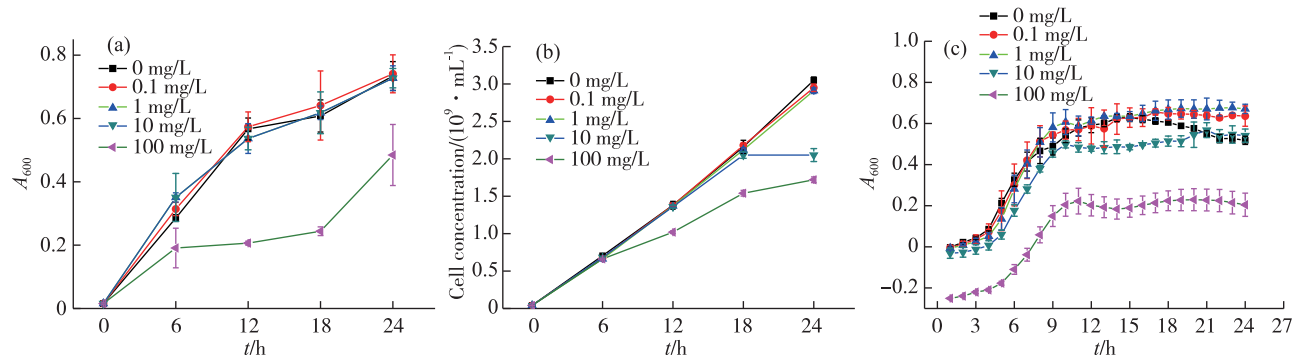
Fig. 3 Effect of nano-TiO₂ on the growth of *Halomonas* sp.



(a)核酸蛋白测定仪测定;(b)细胞计数;(c)生长曲线测定仪测定.

图 4 纳米 TiO₂ 对交替单胞菌生长的影响

Fig. 4 Effect of nano-TiO₂ on the growth of *Alteromonas* sp.



(a)核酸蛋白测定仪测定;(b)细胞计数;(c)生长曲线测定仪测定.

图 5 纳米 TiO₂ 对副溶血弧菌生长的影响

Fig. 5 Effect of nano-TiO₂ on the growth of *V. parahaemolyticus*

处理组的副溶血弧菌生物量增加量均降低,可见菌体生长受到显著抑制($p<0.05$).

2.6 纳米 TiO₂ 对大肠杆菌生长的影响

纳米 TiO₂ 对大肠杆菌生长影响的实验结果见图

6.如图 6(a)和(b)所示:经过 18 h 的光照培养,100 mg/L 处理组的大肠杆菌生物量最低,菌体生长受到显著抑制($p<0.05$),10 mg/L 处理组的菌体生长也受到显著抑制($p<0.05$);经过 24 h 的光照培养,100 mg/L 处理组的菌体生长受到极显著抑制($p<0.01$).

如图 6(c)所示,在无光照培养下,对数期(5 h)处理组的生物量与对照组无显著差异($p>0.05$);稳定期(15 h)100 mg/L 处理组的菌体生长受到显著抑制($p<0.05$).

2.7 纳米 TiO₂ 对枯草芽胞杆菌生长的影响

纳米 TiO₂ 对枯草芽胞杆菌生长影响的实验结果见图 7.如图 7(a)和(b)所示:经过 18 h 的光照培养,1 mg/L 处理组的枯草芽胞杆菌生物量最高,此时纳米 TiO₂ 不但没有抑制作用,反而有显著促进菌体生长的作用($p<0.05$);经过 24 h 的光照培养,对照组的生物量最高,各处理组的菌体生长受到显著抑制($p<0.05$),其中 100 mg/L 处理组的生物量最低,菌体生长受到极显著抑制($p<0.01$).如图 7(c)所示,在无光照培养下,无论处于对数期(12 h)或稳定期(20 h),100 mg/L 处理组的菌体生长均受到极显著抑制($p<0.01$).

2.8 纳米 TiO₂ 对聚球藻生长的影响

纳米 TiO₂ 对聚球藻 299 生长影响的实验结果见图 8.经过 6 d 的培养,处理组与对照组、各处理组间均存在显著差异($p<0.05$)(图 8(a));经过 9 d 的培养,

高质量浓度(10 和 100 mg/L)处理组的菌体生长受到显著抑制($p<0.05$);经过 12 d 的培养,100 mg/L 处理组的菌体生长受到极显著抑制($p<0.01$);此外,在培养的中后期(9~12 d),0.1 mg/L 的纳米 TiO₂ 对聚球藻 299 的生长不但没有抑制作用,反而有显著促进生长的作用($p<0.05$)(图 8(b)).

通过测定叶绿素 a 含量(图 8(c))发现:经过 6 d 的培养,0.1 mg/L 处理组菌体的叶绿素 a 含量显著升高($p<0.05$);经过 9 d 的培养,100 mg/L 处理组菌体的叶绿素 a 含量显著降低($p<0.05$);经过 12 d 的培养,各处理组间菌体叶绿素 a 含量无显著差异($p>0.05$).可见低质量浓度纳米 TiO₂ 处理在短时间内会促进叶绿素 a 的合成,但当聚球藻 299 逐渐适应该质量浓度纳米 TiO₂ 时,叶绿素 a 的合成反而略被抑制,因此其含量降低.

与纳米 TiO₂ 对聚球藻 299 生长影响的结果类似,纳米 TiO₂ 对聚球藻 XM-24 生长影响的实验结果见图 9.如图 9(a)和(b)所示,经过 6 d 的培养,处理组聚球藻 XM-24 的生物量随纳米 TiO₂ 质量浓度的升高而显著降低($p<0.05$);经过 9~12 d 的培养,高质

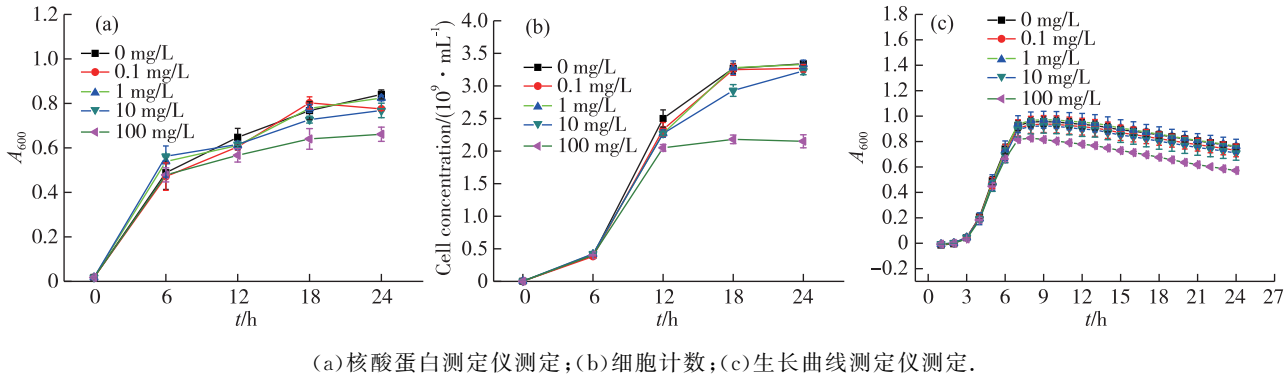


图 6 纳米 TiO₂ 对大肠杆菌生长的影响
Fig. 6 Effect of nano-TiO₂ on the growth of *E. coli*

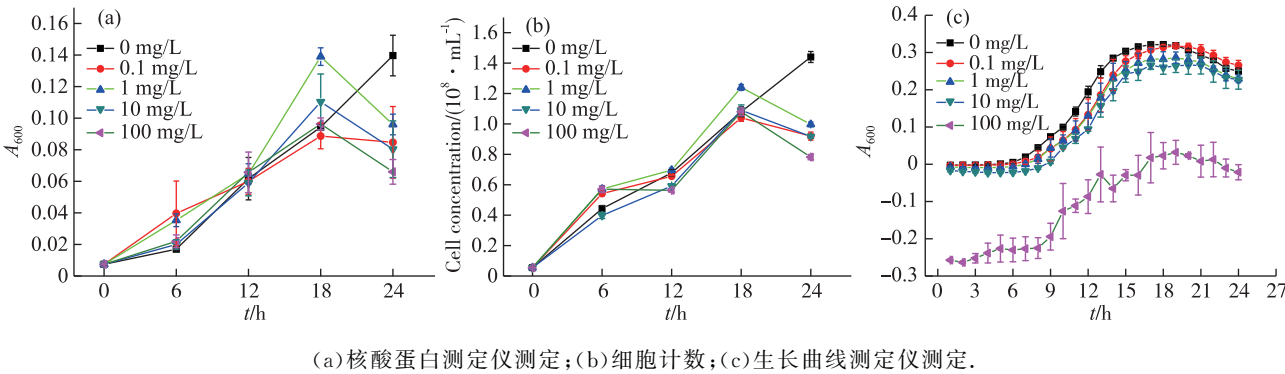


图 7 纳米 TiO₂ 对枯草芽胞杆菌生长的影响
Fig. 7 Effect of nano-TiO₂ on the growth of *B. subtilis*

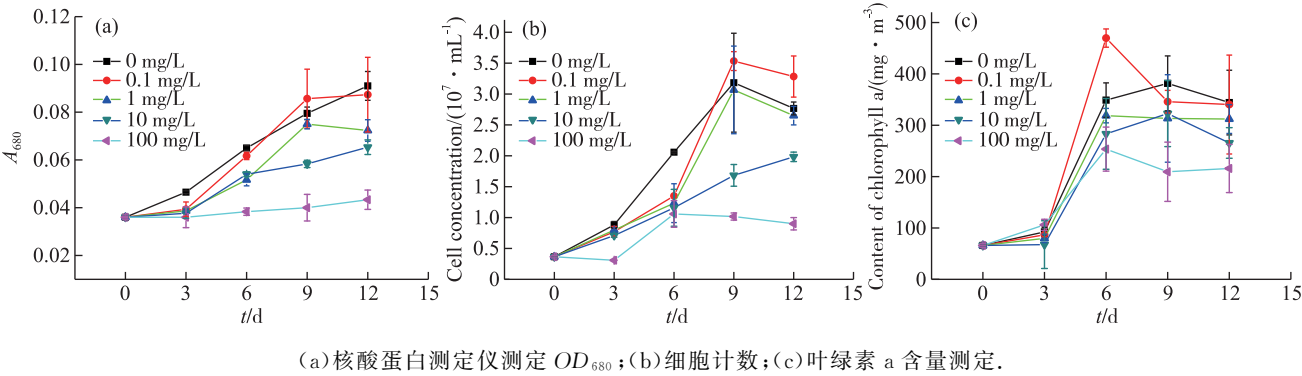


图 8 纳米 TiO_2 对聚球藻 299 生长的影响
Fig. 8 Effect of nano- TiO_2 on the growth of *Synechococcus* sp. 299

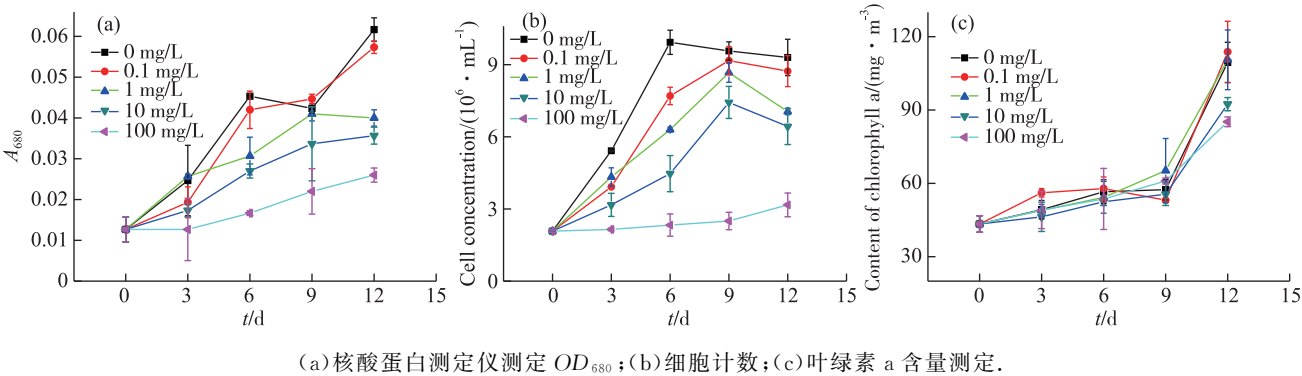


图 9 纳米 TiO_2 对聚球藻 XM-24 生长的影响
Fig. 9 Effect of nano- TiO_2 on the growth of *Synechococcus* sp. XM-24

量浓度(10 和 100 mg/L)处理组的菌体生长受到显著抑制($p < 0.05$).在培养后期(12 d),高质量浓度(10 和 100 mg/L)处理组的叶绿素 a 含量显著降低($p < 0.05$)(图 9(c)).

3 讨 论

本研究表明,高质量浓度(100 mg/L)纳米 TiO_2 对海杆菌、盐单胞菌、交替单胞菌、副溶血弧菌 4 种常见海洋非光合细菌,光合细菌聚球藻 XM-24 和 299 以及枯草芽胞杆菌和大肠杆菌 2 种模式细菌的生长均产生显著的抑制作用($p < 0.05$);而低质量浓度(0.1 和 1 mg/L)纳米 TiO_2 未有显著抑制作用,其中,0.1 mg/L 纳米 TiO_2 对聚球藻 299 和副溶血弧菌的生长有一定促进作用,1 mg/L 纳米 TiO_2 对枯草芽胞杆菌的生长有一定促进作用.纳米 TiO_2 对非光合细菌生长的抑制一般在 18 h 后显著显现($p < 0.05$);而对 2 种聚球藻生物量的影响则在 6 d 之后较为显著($p <$

0.05). Erdem 等^[17]研究表明,纳米 TiO_2 毒性与其粒径大小有关,粒径小于 40 nm 时其抑菌能力较强,且粒径越小抑菌效果越明显.Priyanka 等^[18]提出纳米材料抑菌作用是在光照条件下完成的.本研究结果显示,无论光照与否,在一定质量浓度范围内,纳米 TiO_2 对细菌均有一定抑制作用,这表明光照并非是纳米材料抑菌的必要条件.但本文中并未比较光照与非光照条件对细菌抑制作用的大小,这有待进一步研究.

本研究表明,高质量浓度(10 和 100 mg/L)纳米 TiO_2 对常见海洋细菌的影响显著,这与已有的非海洋细菌的研究结果类似.Priyanka 等^[18]的研究表明质量浓度大于 100 mg/L 的纳米 TiO_2 在光照条件下对大肠杆菌 MTCC 443 和枯草芽胞杆菌 MTCC 10619 产生抑制作用.Erdem 等^[17]的研究表明,质量浓度为 100~1 000 mg/L 的纳米 TiO_2 会损伤大肠杆菌 K12 25254 和枯草芽胞杆菌 39706 的细胞膜,有抑菌效果,且抑菌效果随其质量浓度的增大而增大.Pop 等^[19]的

研究结果也表明纳米 TiO_2 的抑菌效果随其浓度的增大而增大。Karunakaran 等^[20]的研究显示,高浓度纳米 TiO_2 会抑制土壤中荧光假单胞菌(*Pseudomonas fluorescens*)和短芽胞杆菌(*B. brevis*)的生长。孔彬彬等^[21]的研究表明,低浓度纳米 TiO_2 对金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、沙门氏菌(*Salmonella*)、乳酸杆菌(*Lactobacillus*)等细菌几乎没有抑制作用。本研究还发现,低质量浓度(0.1 和 1 mg/L)的纳米 TiO_2 对部分海洋细菌生长有一定的促进作用,但是,一定时间后,当细菌逐渐适应该质量浓度纳米 TiO_2 时,其生长反而会被抑制,因此其生物量会下降。低质量浓度纳米 TiO_2 对某些细菌生长有促进作用的原因有待进一步研究。

聚球藻作为海洋中常见光合细菌的代表,叶绿素 a 含量的变化可反映出细胞代谢活力的变化。因此,选用测定叶绿素 a 含量作为衡量细胞活性的方法之一。从本研究结果来看,纳米 TiO_2 对聚球藻 XM-24 叶绿素 a 的含量并未有显著影响;对聚球藻 299,在培养中后期也只有 100 mg/L 纳米 TiO_2 才使叶绿素 a 含量显著降低($p < 0.05$),但在培养中期(6 d),0.1 mg/L 纳米 TiO_2 对叶绿素 a 的合成有显著促进作用($p < 0.05$)。这表明纳米 TiO_2 的抑菌作用可能不影响叶绿素 a 的合成,并且可能因细菌种类而异。陈宇婷等^[15]研究表明,低质量浓度纳米氧化铁对聚球藻生长并无抑制作用,对细胞内物质不表现刺激作用。而本研究表明,低质量浓度纳米 TiO_2 对聚球藻生长并无抑制作用,甚至还有一定的促进作用。这与非海洋微生物的研究结果一致:成婕等^[22]研究表明,低质量浓度(< 5 mg/L)纳米 TiO_2 可促进斜生栅藻(*Scenedesmus obliquus*)生长并促进叶绿素 a 的合成,而高质量浓度(> 10 mg/L)则具有抑制作用。纳米材料的抑菌机制,可能是由纳米材料释放出活性氧破坏细胞壁和细胞膜所致;或者纳米材料直接进入细胞,通过释放金属离子,产生氧化胁迫作用,并对 DNA 产生损害,进而起到抑菌的作用^[19]。目前国内外对不同纳米材料的抑菌机制还没有定论,有待于进一步深入研究。

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] LEE J, MAHENDRA S, ALVAREZ P J J. Nanomaterials in the construction industry: a review of their applications and environmental health and safety considerations [J]. ACS Nano, 2010, 4(7): 3580-3590.
- [3] YADAV H M, KIM J S, PAWAR S H. Developments in photocatalytic antibacterial activity of nano TiO_2 : a review [J]. Korean Journal of Chemical Engineering, 2016, 33(7): 1989-1998.
- [4] 刘晓闰, 唐萌. 纳米二氧化钛的毒性研究与安全性展望 [J]. 东南大学学报(医学版), 2011, 30(6): 945-952.
- [5] 窦瑶, 尹国强. 纳米二氧化钛的应用研究进展 [J]. 广州化工, 2011, 39(14): 4-6.
- [6] 陈小娟. 纳米二氧化钛对水体微型生物影响研究进展 [J]. 环境科学与技术, 2013, 36(9): 81-87.
- [7] OZAKI A, ADAMS E, BINH C T, et al. One-time addition of nano- TiO_2 triggers short-term responses in benthic bacterial communities in artificial streams [J]. Microbial Ecology, 2016, 71(2): 266-275.
- [8] ZHENG X, CHEN Y, WU R. Long-term effects of titanium dioxide nanoparticles on nitrogen and phosphorus removal from wastewater and bacterial community shift in activated sludge [J]. Environmental Science & Technology, 2011, 45(17): 7284-7290.
- [9] TONG T, BINH C T, KELLY J J, et al. Cytotoxicity of commercial nano- TiO_2 to *Escherichia coli* assessed by high-throughput screening: effects of environmental factors [J]. Water Research, 2013, 47(7): 2352-2362.
- [10] GUNAWAN C, SIRIMANOONPHAN A, TEOH W Y, et al. Submicron and nano formulations of titanium dioxide and zinc oxide stimulate unique cellular toxicological responses in the green microalga *Chlamydomonas reinhardtii* [J]. Journal of Hazardous Materials, 2013, 260: 984-992.
- [11] CLÉMENT L, HUREL C, MARMIER N. Toxicity of TiO_2 nanoparticles to cladocerans, algae, rotifers and plants: effects of size and crystalline structure [J]. Chemosphere, 2013, 90(3): 1083-1090.
- [12] JIANG Y L, ZHANG W, WANG J F, et al. Utilization of simulated flue gas for cultivation of *Scenedesmus dimorphus* [J]. Bioresource Technology, 2013, 128: 359-364.
- [13] 牟凤伟. 不同类型的碳纳米管对斜生栅藻的毒性效应研究 [D]. 长沙: 中南林业科技大学, 2013: 15-20.
- [14] WANG K, ZHANG D M, XIONG J B, et al. Response of bacterioplankton communities to cadmium exposure in coastal water microcosms with high temporal variability [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2015, 81(1): 231-240.
- [15] 陈宇婷, 王长海, 吴明珠, 等. 纳米氧化铁对聚球藻生长及生理代谢的影响 [J]. 烟台大学学报(自然科学与工程版), 2016, 29(2): 146-150.

- [16] 郝艳玲. 黄河口水体生物光学性质逐时变化的静止海洋水色卫星遥感探测研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2012:18.
- [17] ERDEM A, METZLER D, CHA D K, et al. The short-term toxic effects of TiO₂ nanoparticles toward bacteria through viability, cellular respiration, and lipid peroxidation[J]. Environmental Science and Pollution Research International, 2015, 22(22):17917-17924.
- [18] PRIYANKA K P, SUKIRTHA T H, BALAKRISHNA K M, et al. Microbicidal activity of TiO₂ nanoparticles synthesized by sol-gel method[J]. IET Nanobiotechnol, 2015, 10(2):81-86.
- [19] POP C S, HUSSIEN M D, POPA M, et al. Metallic-based micro and nanostructures with antimicrobial activity[J]. Current Topics in Medicinal Chemistry, 2015, 15(16):1577-1582.
- [20] KARUNAKARAN G, SURIYAPRABHA R, MANIVASAKAN P, et al. Impact of nano and bulk ZrO₂, TiO₂ particles on soil nutrient contents and PGPR[J]. Journal of Nanoscience and Nanotechnology, 2013, 13(1):678-685.
- [21] 孔彬彬. 纳米材料抑菌作用及机理的研究[D]. 济南: 山东轻工业学院, 2009:43-56.
- [22] 成婕, 谢尔瓦妮古丽·苏来曼, 邓祥元, 等. 纳米二氧化钛对斜生栅藻的毒性效应研究[J]. 江西农业大学学报, 2014, 36(1):238-242.

Responses of Common Marine Bacteria to Nano Titanium Dioxide

CHEN Jiaxiang^{1,2}, WANG Zhaoshou^{1,2*}, SHAO Zongze^{2*}

(1.College of Chemistry and Chemical Engineering, Xiamen University, Xiamen 361005, China; 2.Key Laboratory of Marine Biogenetic Resources, The Third Institute of Oceanography, State Oceanic Administration, Xiamen 361005, China)

Abstract: In order to evaluate the effects of nanometer materials on marine ecological environment, we investigated the effect of nano-TiO₂ (25 nm) on the growth of six common marine bacteria, including *Marinobacter* sp., *Halomonas* sp., *Alteromonas* sp., *Vibrio parahaemolyticus*, and two marine cyanobacterial strains, *Synechococcus* sp. XM-24 and *Synechococcus* sp. 299, with two model strains, *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*, as controls. Growth curve and biomass were measured to assess the effect of different concentrations of nano-TiO₂ (0.1, 1, 10, 100 mg/L) on the growth of tested bacteria. The chlorophyll a content of *Synechococcus* sp. was measured to test the photosynthetic activity. The results showed that low concentrations (0.1, 1 mg/L) of nano-TiO₂ had little effect ($p > 0.05$) on marine bacteria, in both light and dark conditions, while high concentrations (10, 100 mg/L) of nano-TiO₂ inhibited the growth of marine bacteria. The inhibition effects became more remarkable as the concentration of nano-TiO₂ increased, and 100 mg/L nano-TiO₂ had inhibitory effect on the synthesis of chlorophyll a of *Synechococcus* sp. 299. The inhibitory effect of nano-TiO₂ on the non-photosynthetic bacteria showed significant difference ($p < 0.05$) after 18 h, while the same effect was shown for *Synechococcus* sp. after 6 d ($p < 0.05$). This study can provide basic knowledge for assessing the effect of nano-TiO₂ on marine ecological safety.

Key words: nano-TiO₂; marine bacteria; *Synechococcus* sp.; toxic effect