

DOI:10.3969/j.issn.1003-5060.2025.11.013

# 聚苯乙烯纳米塑料对烟草植株的毒性评价

朱春萌, 王峰, 康圣美

(合肥工业大学 食品与生物工程学院, 安徽 合肥 230601)

**摘要:**为探究塑料对植物生长的影响,文章通过微型乳液聚合法合成了表面带不同电荷的聚苯乙烯(PS)纳米塑料:带正电的 $\text{NH}_2\text{-PS}$ 和带负电的 $\text{SO}_3\text{H-PS}$ 。采用不同质量浓度梯度(50、100、200  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )来模拟环境中PS的残留,通过植株表型、叶绿素量、叶绿素荧光相关参数、活性氧、脂质过氧化物积累和抗氧化相关酶活性来评价PS对烟草生长的影响。结果表明,与对照组相比,暴露于不同电荷PS的烟草均出现植株整体变小、叶片发黄等症状,并且 $\text{SO}_3\text{H-PS}$ 的抑制作用要强于 $\text{NH}_2\text{-PS}$ ;叶绿素量和叶绿素荧光参数表明,2种PS纳米塑料均不同程度地抑制叶片叶绿素合成和光合作用,导致植株叶片发黄;对叶片过氧化氢、丙二醛量积累及抗氧化相关酶活性测定表明,2种PS纳米塑料均会造成 $\text{H}_2\text{O}_2$ 和丙二醛(MDA)的积累,激活烟草的抗氧化酶活性,导致超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)酶活性的提高。该研究结果可为研究大气中常见的PS纳米塑料对植物生长的影响提供一定的参考。

**关键词:**纳米塑料;带电性;烟草;光合作用;抗氧化酶活性

**中图分类号:**X173

**文献标志码:**A

**文章编号:**1003-5060(2025)11-1520-06

## Evaluation of the toxicity of polystyrene nanoplastics on tobacco plants

ZHU Chunmeng, WANG Feng, KANG Shengmei

(School of Food and Biological Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230601, China)

**Abstract:** In order to investigate the effects of plastics on plant growth, this paper synthesized polystyrene(PS) nanoplastics with different surface charges by microemulsion polymerization: positively charged  $\text{NH}_2\text{-polystyrene}(\text{NH}_2\text{-PS})$  and negatively charged  $\text{SO}_3\text{H-polystyrene}(\text{SO}_3\text{H-PS})$ . Different mass concentration gradients(50, 100, 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) were used to simulate PS residues in the environment, and the effects of PS on tobacco growth were evaluated by plant phenotype, chlorophyll amount, chlorophyll fluorescence-related parameters, reactive oxygen species, lipid peroxides accumulation and antioxidant-related enzyme activities. The results showed that tobacco exposed to different charges of PS exhibited reduced plant size and leaf yellowing compared with the control group, and the inhibitory effect of  $\text{SO}_3\text{H-PS}$  was stronger than that of  $\text{NH}_2\text{-PS}$ . The results of chlorophyll amount and chlorophyll fluorescence parameters indicated that both PS nanoplastics inhibited leaf chlorophyll synthesis and photosynthesis to varying degrees, resulting in yellowing of the leaves of the plants. The measurements of leaf hydrogen peroxide, malondialdehyde(MDA) accumulation and antioxidant-related enzyme activities showed that both PS nanoplastics caused the accumulation of  $\text{H}_2\text{O}_2$  and MDA, activated the antioxidant enzyme activities of tobacco, and led to the increase of SOD, POD, and CAT enzyme activities. The results of the study can be useful for investigating the effects of common PS nanoplastics in the atmosphere on plant growth.

**收稿日期:**2023-11-06;**修回日期:**2023-11-23

**基金项目:**国家自然科学基金资助项目(31971314);安徽省重点研究与开发计划国际合作专项资助项目(202104b11020015)

**作者简介:**朱春萌(1999—),女,安徽舒城人,合肥工业大学硕士生;

王峰(1983—),男,安徽合肥人,博士,合肥工业大学教授,博士生导师,通信作者, E-mail: fengw420@hfut.edu.cn.

**Key words:** nanoplastics; charge; tobacco; photosynthesis; antioxidant enzyme activity

## 0 引言

塑料无处不在地存在于环境中,人类的各种活动都可能造成塑料对环境的污染。研究表明,含有塑料的污水、污泥被广泛应用于农业用地,农田上覆盖的塑料薄膜和垃圾填埋场中的塑料废弃物是主要的塑料污染源<sup>[1]</sup>。这些大的塑料碎片在环境中会被破碎形成微塑料,甚至纳米塑料。虽然由于技术的限制尚不能确定纳米塑料在环境中的具体含量,但微塑料到纳米塑料的分解过程不会停止<sup>[2]</sup>。根据目前的研究,微纳米塑料不仅存在于水生和陆地生态系统,空气中也发现了塑料碎片,其中聚苯乙烯(PS)是最富集的微纳米塑料之一<sup>[3]</sup>。文献<sup>[4]</sup>研究表明,多种植物(如水稻、小麦等)可以吸收微纳米塑料至体内,影响植物的光合作用、抗氧化系统和代谢系统。

当前,关于微纳米塑料对陆生植物生长的影响研究主要集中在土壤中的微纳米塑料污染物如何通过根部运输至植物体内,从而对植物生长产生影响,而对于大气中的微纳米塑料如何通过叶面气孔途径作用于植物的研究却很少。就聚合物类型而言,聚苯乙烯、聚乙烯和聚丙烯是植物表面最常吸附的 3 种塑料聚合物<sup>[5]</sup>。其中,PS 基塑料占相关研究的所有塑料碎片的 95% 以上,且带正电的氨基修饰的 PS 纳米颗粒最常被选作模型。

本文首先采用微型乳液聚合法分别合成氨基修饰的带正电的 PS 以及磺酸基修饰的带负电的 PS,模拟环境中存在的 PS 纳米塑料碎片;其次,以烟草植株为模型,喷洒 2 种不同质量浓度 PS 纳米塑料 14 d 后测定烟草植株的根长、鲜重,叶片的叶绿素量和光合作用相关参数,叶片的活性氧、脂质过氧化物积累及抗氧化相关酶活性,整体评估 2 种纳米塑料对烟草植株生理水平上的毒性。这项工作对大气中常见的 PS 纳米塑料对植物生长的影响具有借鉴作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

烟草(*Nicotiana benthamiana*)种子由本实验室提供,实验前所有烟草种子密封在牛皮纸袋中,在 4~8 °C 黑暗条件下储存。苯乙烯和十二烷基硫酸钠购于国药集团化学试剂有限公司;过硫酸钾购于上海迈瑞尔生化科技有限公司;2,2'-偶氮

双(2-甲基丙酰胺)二盐酸盐(AIB)、十二胺盐酸盐(DACI)、2-氨基乙基甲基丙烯酸酯盐酸盐均购于上海阿拉丁生化科技股份有限公司;实验用水均为超纯水。

实验所用仪器:BI1-3 型温度显示磁力搅拌器;KQ-100E 台式超声波清洗器;Centrifuge 5430-R 台式高速冷冻离心机;DHG-9101-0A 型电热恒温鼓风干燥箱;Yaxin-1161G 便携式荧光仪;Infinite M PLEX 多功能微孔板检测仪(酶标仪)。

### 1.2 不同电荷 PS 纳米塑料的合成

按照文献<sup>[6]</sup>的微型乳液聚合法合成 2 种 PS 纳米塑料。NH<sub>2</sub>-PS 和 SO<sub>3</sub>H-PS 的合成组分见表 1 所列。合成步骤为:先在水中加入苯乙烯、乳化剂(十二烷基硫酸钠或十二胺盐酸盐),在磁力搅拌下乳化 1 h;50 °C 下,在水溶液中加入引发剂(过硫酸钾或 AIB);在氮气吹扫、80 °C 条件下,混合反应溶液反应 5 h;使用 1 kDa 透析袋透析 3~5 d,去除未反应完的杂质,取出部分烘干称其质量,得到储液,4 °C 冰箱保存备用。

表 1 2 种不同带电性 PS 纳米塑料合成组分

塑料类型	组分	质量分数/%
NH <sub>2</sub> -PS	苯乙烯	5
	过硫酸钾	6
	十二烷基硫酸钠	2
	水	90
SO <sub>3</sub> H-PS	苯乙烯	5
	AIB	3
	DACI	6
	2-氨基乙基甲基丙烯酸酯盐酸盐	20
	水	90

### 1.3 材料表征

利用 JEM-2100F 透射电子显微镜观察样品的形貌及大小;利用 Nano ZS90 激光粒度分析仪测定样品表面电势。

### 1.4 烟草的培养及材料喷洒实验设计

将干燥种子播种于浸湿的盆栽花盆里,盖上保鲜膜,在 23 °C 恒温、60%湿度的人工气候室培养,周期为 16 h 光照和 8 h 黑暗。选取 42 株生长到 3~4 周龄的烟草植株,将其平均分成 7 组,具体分组处理如下:对照组、50 μg/mL NH<sub>2</sub>-PS 组、100 μg/mL NH<sub>2</sub>-PS 组、200 μg/mL NH<sub>2</sub>-PS、50 μg/mL SO<sub>3</sub>H-PS 组、100 μg/mL SO<sub>3</sub>H-PS 组和 200 μg/mL SO<sub>3</sub>H-PS 组。对照组每天喷洒等

量的超纯水。喷壶用于各处理组植物的纳米塑料污染暴露。为防止土壤污染,保证纳米塑料的暴露途径是由大气至叶片,用吸墨纸将土壤保护起来。喷洒暴露在每天同一时间进行,连续喷洒 14 d。在整个 14 d 期间,喷洒量控制在每盆植物 5 mL。每天更换吸墨纸。

### 1.5 烟草植株毒性评价

#### 1.5.1 烟草植株表型评价

连续喷洒不同质量浓度的 2 种 PS 纳米塑料 14 d 后,选择各处理组中生长相对一致的植株进行数码相机拍摄,观察不处理下烟草植株的形态差异。将不同处理组的烟草植株从培养基中拔出,以防根部受损。清洗根部表面以去除附着的基质,分离地上部分和地下部分,称量地上部分鲜质量,测量地下部分根部的长度。

#### 1.5.2 烟叶叶绿素量测定

称取 0.5 g 叶片样品放入研钵中,加少量石英砂及 3 mL 95%乙醇将叶片研成匀浆,提取叶片叶绿素;用装有滤纸的漏斗过滤匀浆,期间用 95%乙醇冲洗滤纸;最后用 95%乙醇定容至 10 mL。以 95%乙醇为空白参比调零,用酶标仪在波长 665、649 nm 处分别比色测定提取液的吸光度。得到结果后根据 Arnon 公式计算提取液中叶绿素 a 和叶绿素 b 的质量浓度,最后计算出叶片组织中叶绿素 a 和叶绿素 b 的量。

#### 1.5.3 烟叶叶绿素荧光相关参数测定

处理 14 d 后,从 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$  处理组活体幼苗中随机抽取 3 片叶子,测定叶绿素荧光参数。将烟草叶片置于黑暗中处理 20 min,使用 Yaxin-1161G 便携式荧光仪在光照强度 600  $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$  下测量叶绿素荧光动力学参数,包括最大荧光产率  $F_m$ 、光系统 II 最大光化学量子产率  $F_v/F_m$ 、光系统 II 活性  $F_v/F_0$ 、光化学淬灭系数  $qP$  和非光化学淬灭系数  $qN$ 。

#### 1.5.4 烟叶活性氧代谢测定

叶片组织中的脂质过氧化程度是通过硫代巴比妥酸(TBA)反应,用 Heath 和 Packer 改良的方法检测丙二醛(MDA)的量来分析的<sup>[7]</sup>。叶片中过氧化氢的量是通过硫酸钛反应,测量过氧化物钛复合物黄色沉淀量来测量的。超氧化物歧化酶(SOD)的酶活性测定采用经典方法,利用 SOD 抑制氮蓝四唑(NBT)在光的还原作用来确定<sup>[8]</sup>。过氧化物酶(POD)的酶活性是通过邻甲氧基苯酚反应,测量 4-邻甲氧基苯酚的红棕色来测定。过氧化氢酶(CAT)的酶活性可根据反应过程中

过氧化氢消耗量来确定,过氧化氢在波长 240 nm 处具有吸收峰,间接反映过氧化氢酶的活性。所有检测均在室温下使用酶标仪进行测量。

### 1.6 数据处理

采用 Prism8.0 对数据进行 t 检验分析,显著水平  $P < 0.05$  (\*),  $P < 0.01$  (\*\*),  $P < 0.001$  (\*\*\*)。

## 2 实验结果与分析

### 2.1 2 种 PS 纳米塑料的合成与表征

本文以微乳液聚合法合成  $\text{NH}_2\text{-PS}$  和  $\text{SO}_3\text{H-PS}$  2 种 PS 纳米塑料,使用透射电子显微镜表征其微观结构,如图 1 所示。由图 1 可知,合成的 PS 纳米塑料外观为球形,尺寸均在 100 nm 以下,大小均一,分散性良好。同时,在水溶液中测得 2 种 PS 纳米塑料的 Zeta 电位分别为 52.0、-55.2 mV,表明成功合成了带正电的  $\text{NH}_2\text{-PS}$  纳米塑料和带负电的  $\text{SO}_3\text{H-PS}$  纳米塑料。

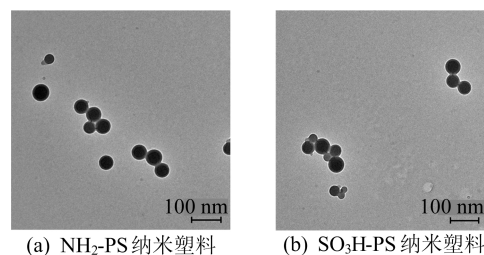
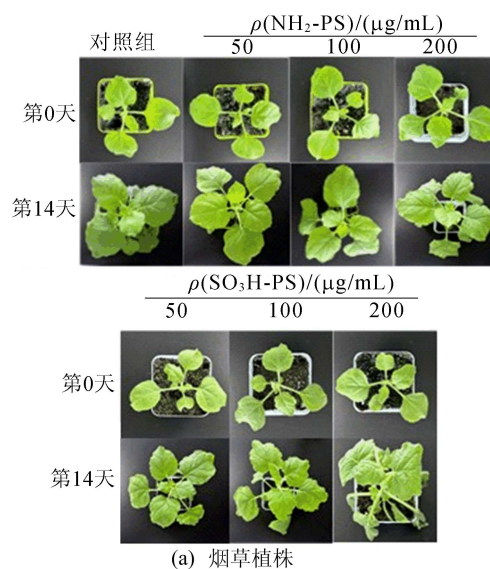


图 1 PS 纳米塑料微观结构

### 2.2 暴露于纳米塑料后对烟草生长的抑制作用

生长抑制是植物在胁迫下最直观的表现之一。喷洒不同质量浓度 PS 纳米塑料对烟草植株表型的影响如图 2 所示。



(a) 烟草植株

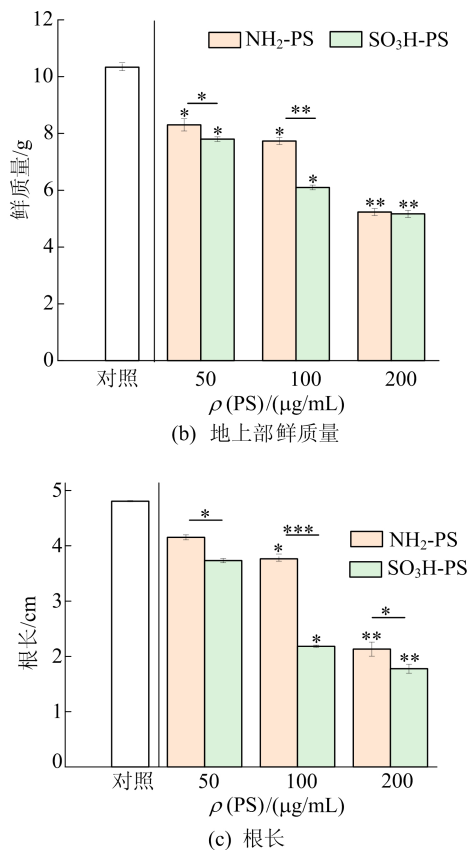


图 2 喷洒 PS 纳米塑料对烟草表型的影响

由图 2a 可知:暴露于 NH<sub>2</sub>-PS 和 SO<sub>3</sub>H-PS 后,烟草植株的整体生长比对照组弱,叶片变小、变黄,特别是能观察到一些老叶枯萎;同时,烟草植株在 SO<sub>3</sub>H-PS 胁迫下的生长状态比 NH<sub>2</sub>-PS 胁迫下的更差。由图 2b、图 2c 可知,通过测量植株的地上部鲜质量以及根部长度可知,PS 纳米塑料同样显示出质量浓度依赖的毒性,且 SO<sub>3</sub>H-PS 的毒性更强。

### 2.3 暴露于纳米塑料后对叶绿素合成的影响

暴露于 NH<sub>2</sub>-PS 和 SO<sub>3</sub>H-PS 后,烟草叶片变黄,猜测主要是由于叶绿素量减少造成的。文献 [9] 的研究表明,与单独邻苯二甲酸酯暴露相比, NH<sub>2</sub>-PS 与邻苯二甲酸酯协同作用会使玉米幼苗的叶绿素量显著降低。NH<sub>2</sub>-PS 和 SO<sub>3</sub>H-PS 会诱导拟南芥叶绿素量的减少 [10], 本文研究结果与其一致。喷洒 PS 纳米塑料对烟草叶片叶绿素量的影响如图 3 所示。由图 3 可知,将烟草分别暴露于 NH<sub>2</sub>-PS 和 SO<sub>3</sub>H-PS 后,叶绿素 a 和叶绿素 b 量的变化趋势有所不同。对叶绿素 a 量而言,与对照组相比,暴露于 NH<sub>2</sub>-PS 的下降幅度大于暴露于 SO<sub>3</sub>H-PS, 叶绿素 b 量的变化则恰好相反,即烟叶中的叶绿素 a 对 NH<sub>2</sub>-PS 更敏感,而暴露 SO<sub>3</sub>H-PS 则主要抑制叶绿素 b 的合成。

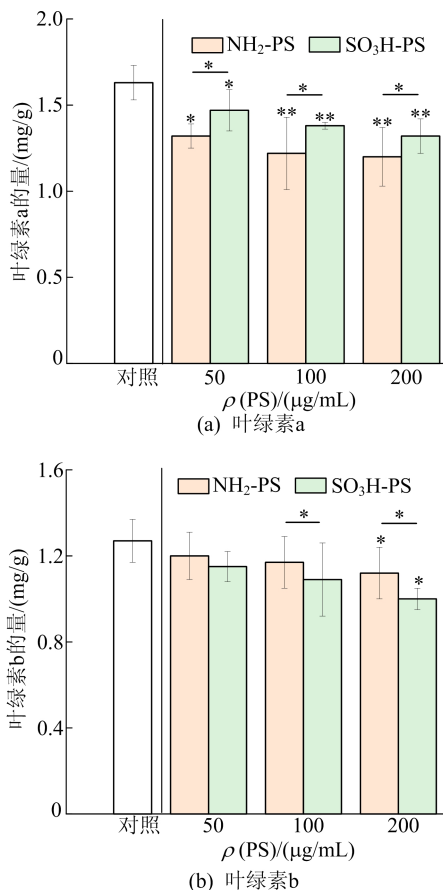


图 3 喷洒 PS 纳米塑料对烟叶中叶绿素量的影响

### 2.4 暴露于纳米塑料后对烟叶光合作用的影响

暴露于 NH<sub>2</sub>-PS 和 SO<sub>3</sub>H-PS 均会导致烟叶中叶绿素量的降低,而叶绿素量的减少将直接影响植物对光能的捕获。喷洒 PS 纳米塑料对烟草叶片叶绿素荧光参数的影响如图 4 所示。

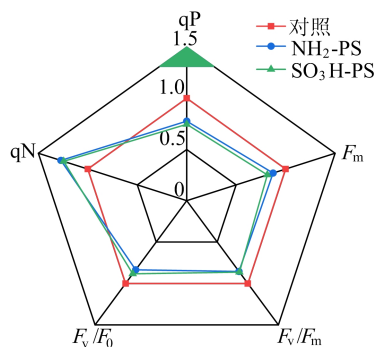


图 4 喷洒 PS 纳米塑料对烟叶叶绿素荧光参数的影响

从图 4 可以看出,与对照组相比,2 种纳米塑料处理降低了叶绿素荧光参数 F<sub>m</sub>、F<sub>v</sub>/F<sub>0</sub>、F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub> 和 qP,同时增加了 qN。

由于光合作用和叶绿素荧光存在着密切联系,这些结果表明,纳米塑料对植物光合作用产生

负面影响,文献[11]的研究表明,外源聚乙烯微塑料会由于根系吸收而加剧对莴苣光合作用的负面影响,与本文研究结果一致。产生该现象的原因可能是纳米塑料的存在阻碍了光合产物的运输和干物质的积累,通过降低光合色素的量削弱了叶片捕获光能的能力。因此,纳米塑料加剧了对烟叶光系统 II 反应中心的破坏,导致叶片光合作用的紊乱,从而对烟草植株生长产生胁迫。

## 2.5 暴露于纳米塑料后对烟叶代谢的影响

活性氧的过度积累会导致植物的氧化损伤<sup>[12]</sup>。NH<sub>2</sub>-PS 纳米塑料可诱导番茄和水稻幼苗中的 MDA 积累,并增加水稻根部中的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 量<sup>[13-15]</sup>,本研究也得出了类似的结论。喷洒 PS 纳米塑料对烟草叶片活性氧代谢的影响如图 5 所示。

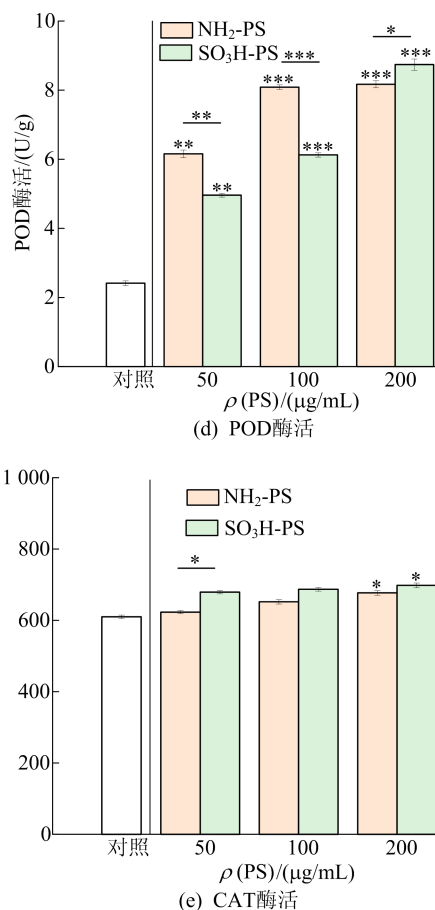
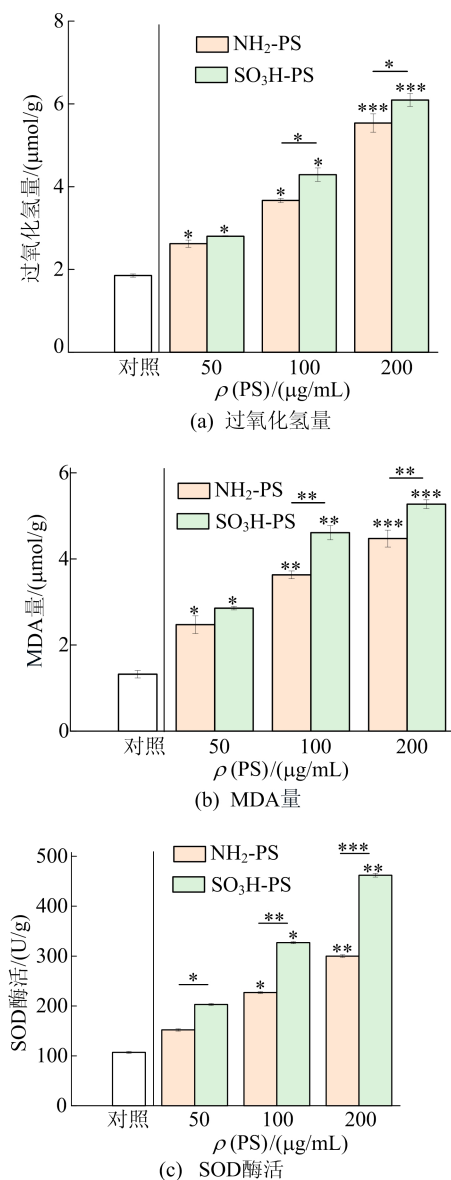


图 5 喷洒 PS 纳米塑料对烟草叶片活性氧代谢的影响

由图 5a、图 5b 可知,与对照组相比,暴露于 NH<sub>2</sub>-PS 纳米塑料和 SO<sub>3</sub>H-PS 纳米塑料会导致烟叶中 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 和 MDA 的量显著增加,且 SO<sub>3</sub>H-PS 纳米塑料对烟草叶片的氧化损伤大于 NH<sub>2</sub>-PS 纳米塑料。植物体内清除过量 ROS 的酶主要包括 SOD、POD、CAT 等,在众多酶中,SOD 是第一防御系统,主要负责将 O<sub>2</sub><sup>-</sup>·歧化为 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>。由图 5c 可知,暴露于 NH<sub>2</sub>-PS 纳米塑料和 SO<sub>3</sub>H-PS 纳米塑料后,烟草叶片的 SOD 活性明显高于对照组。植物体内过量的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 主要由 POD 和 CAT 以及 AsA-GSH 循环中的关键酶(如 APX 和 GPX)清除,其可以直接还原 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>。由图 5d、图 5e 可知,暴露于 NH<sub>2</sub>-PS 纳米塑料和 SO<sub>3</sub>H-PS 纳米塑料后,烟草叶片中 POD、CAT 的活性明显提高。

综上,抗氧化酶活性的增加可能是烟草防止暴露于 NH<sub>2</sub>-PS 纳米塑料和 SO<sub>3</sub>H-PS 纳米塑料引起过度氧化损伤的重要适应机制之一。

## 3 结 论

本文通过微乳液聚合法合成了 2 种带电性的

PS 纳米塑料,研究发现喷洒  $\text{NH}_2$ -PS 纳米塑料和  $\text{SO}_3\text{H}$ -PS 纳米塑料都会抑制烟草植株的生长,其中  $\text{SO}_3\text{H}$ -PS 纳米塑料的影响更为显著。虽然  $\text{NH}_2$ -PS 纳米塑料和  $\text{SO}_3\text{H}$ -PS 纳米塑料都降低了烟草叶片中叶绿素的量,但  $\text{NH}_2$ -PS 纳米塑料主要抑制了叶绿素 a 的合成, $\text{SO}_3\text{H}$ -PS 纳米塑料主要抑制了叶绿素 b 的合成。长期暴露于  $\text{NH}_2$ -PS 纳米塑料和  $\text{SO}_3\text{H}$ -PS 纳米塑料均会对烟草产生胁迫的同时激活抗氧化系统,具体表现为脂质过氧化物质(MDA)和活性氧物质( $\text{H}_2\text{O}_2$ )量的增加,以及抗氧化酶(SOD、POD、CAT)活性的提高。本文对大气中的纳米塑料通过叶面途径对陆生植物生长产生何种影响作一个参考,后续还需进一步研究其转运途径和转运机制。

### [参 考 文 献]

- [1] GALLOWA Y T, SCOL E, MLEWI S C. Interactions of microplastic debris throughout the marine ecosystem[J]. *Nature Ecology & Evolution*, 2017, 1(5): 0116.
- [2] SHEN M, ZHANG Y, ZHU Y, et al. Recent advances in toxicological research of nanoplastics in the environment: a review[J]. *Environmental Pollution*, 2019, 252: 511-521.
- [3] DUIS K, COORS A. Microplastics in the aquatic and terrestrial environment: sources (with a specific focus on personal care products), fate and effects[J]. *Environmental Sciences Europe*, 2016, 28(1): 1-25.
- [4] WU X, LIU Y, YIN S, et al. Metabolomics revealing the response of rice (*Oryza sativa* L.) exposed to polystyrene microplastics[J]. *Environmental Pollution*, 2020, 266: 115159.
- [5] ISARI E, APAPAIOANNOUS D, KALAVROUZOTIS I K, et al. Microplastics in agricultural soils: a case study in cultivation of watermelons and canning tomatoes[J]. *Water*, 2021, 13(16): 2168.
- [6] ZHANG M, ELLIS E A, CISNEROS-ZEVALLOS L, et al. Uptake and translocation of polymeric nanoparticulate drug delivery systems into ryegrass[J]. *RSC Advances*, 2012, 2: 9679-9686.
- [7] KHAN I, RAZA M A, AWAN S A, et al. Amelioration of salt induced toxicity in pearl millet by seed priming with silver nanoparticles (AgNPs): the oxidative damage, antioxidant enzymes and ions uptake are major determinants of salt tolerant capacity[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2020, 156: 221-232.
- [8] ALBQMI M, YAGHOUBI KHANGHAHI M, SELIM S, et al. Positive interaction of selenium nanoparticles and olive solid waste on vanadium-stressed soybean plant[J]. *Agriculture*, 2023, 13(2): 426.
- [9] SUN H, LEI C, YUAN Y, et al. Nanoplastic impacts on the foliar uptake, metabolism and phytotoxicity of phthalate esters in corn (*Zea mays* L.) plants[J]. *Chemosphere*, 2022, 304: 135309.
- [10] SUN X D, YUAN X Z, JIA Y, et al. Differentially charged nanoplastics demonstrate distinct accumulation in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Nature Nanotechnology*, 2020, 15(9): 755-760.
- [11] GAO M, LIU Y, SONG Z. Effects of polyethylene microplastic on the phytotoxicity of di-n-butyl phthalate in lettuce (*Lactuca sativa* L. var. *ramosa* Hort) [J]. *Chemosphere*, 2019, 237: 124482.
- [12] ZHANG H H, LI X, XU Z S, et al. Toxic effects of heavy metals Pb and Cd on mulberry (*Morus alba* L.) seedling leaves: photosynthetic function and reactive oxygen species (ROS) metabolism responses[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2020, 195: 110469.
- [13] SHI R Y, LIU W T, LIAN Y H, et al. Phytotoxicity of polystyrene, polyethylene and polypropylene microplastics on tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) [J]. *Journal of Environmental Management*, 2022, 317: 115441.
- [14] WU J N, LIU W T, ZEB A, et al. Polystyrene microplastic interaction with *Oryza sativa*: toxicity and metabolic mechanism[J]. *Environmental Science: Nano*, 2021, 8(12): 3699-3710.
- [15] LU S Y, HUO Z Q, NIU T T, et al. Molecular mechanisms of toxicity and detoxification in rice (*Oryza sativa* L.) exposed to polystyrene nanoplastics[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2023, 199: 107605.

(责任编辑 吴 亮)