



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Fate, accumulation and impact of metallic nanomaterials in the terrestrial environment

Wu, J.

Citation

Wu, J. (2021, December 16). *Fate, accumulation and impact of metallic nanomaterials in the terrestrial environment*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/3247158>

Version: Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/3247158>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Samenvatting

De snel toenemende commerciële toepassing van metallische nanodeeltjes (NPs) in productenzal onvermijdelijk de ongewenste emissies van deze NPs richting het milieu vergroten. Naar verwachting zal een groot deel van de vrijgekomen NPs zich ophopen in de bodem, wat leidt tot een toenemende bezorgdheid over de negatieve effecten op de bodemecosystemen. Kennis over het gedrag, de accumulatie en de effecten van NPs in planten is van cruciaal belang voor het begrijpen van de risico's van NPs in het bodemecosysteem. De meeste effect-onderzoeken worden gedaan middels korte blootstelling, meestal met planten in een vroeg groeistadia waarbij de blootstelling via de wortels plaats vindt. Of dit inzage geeft over de lange termijnreacties van planten op NPs is dan een grote vraag. Er zijn weinig studies uitgevoerd naar de impact van gemanipuleerde nanomaterialen op planten via blootstelling van de bovengrondse delen, de zogenaamde blad-contact blootstelling. En dat terwijl de meeste nano-gebaseerde landbouwchemicaliën worden aanbevolen voor gebruik door bladbesproeiing.

Het is bekend dat NPs tijdens de blootstelling dynamische processen ondergaan, zoals aggregatie, sedimentatie en/of oplossen. Hierdoor verandert de effectieve blootstellingsdosis in de loop van de tijd. Desalniettemin rapporteert het merendeel van de gepubliceerde onderzoeksrapporten een experimentele blootstellingsdosis die is verkregen door gebruik te maken van een statische meting van de start concentratie, en waarbij in het beschrijven van de blootstelling van de NM de dynamische veranderingen van de effectieve dosis dus niet worden meegenomen. Het is in dit verband vooral belangrijk om rekening te houden met het feit dat metallische NPs in nano-suspensies langzaam oplossen. Dit leidt tot het gelijktijdig voorkomen van nanodeeltjes en ionische vormen van metalen. Beide vormen zullen aan de toxiciteit bijdragen.. Ondanks talrijke onderzoeken naar de effecten van metallische NM op planten, is het nog steeds onbekend of de toxiciteit afkomstig is van de nanodeeltjes zelf of wordt veroorzaakt door de vrijgekomen ionen. Bovendien is het de vraag of NPs het potentieel hebben zich door de voedselketen te bewegen om daardoor potentie te hebben om in consumenten terecht te komen. In dit proefschrift richten wij ons op het onderzoeken van de toxiciteit en accumulatie van metallische NM in

planten bij langdurige blootstelling, waarbij we de blootstellingsroutes en blootstellingsdynamiek van NPs integreren met het experimenteel bepalen van de opname, translocatie en fytotoxiciteit. Verder onderzochten we de lange-termijn effecten van NPs op de rhizosfeer-bodem bacteriële gemeenschap en de mogelijke overdracht en biomagnificatie in de voedselketen.

In hoofdstuk 2 kwantificeerden we de opname, translocatie en biodistributie van Ag en verschillende fytotoxische eindpunten in de sla-plant. Hiervoor werd de sla-plant gedurende 15 dagen bloot gesteld aan AgNPs-suspensies via het blad danwel via de wortel. We ontdekten dat de blootstellingsroute de opname, translocatie en fytotoxiciteit van AgNPs in sla significant beïnvloedt. Blootstelling via de wortel veroorzaakte hogere fytotoxiciteit, dan blootstelling via de bladeren. Dit bleek voornamelijk uit de verminderde biomassa van planten, hogere oxidatieve stress, en uit veranderingen van de activiteiten van enzymatische antioxidanten in planten. Ook accumuleerden de planten meer Ag na blootstelling via de wortels in vergelijking met blootstelling via de bovengrondse delen. Interessant is dat de translocatie van Ag in de planten van het blootgestelde deel naar het niet-blootgestelde deel efficiënter is na blootstelling aan het blad dan na blootstelling aan de wortels. Dit was te zien aan de hogere overdracht (transfer)factoren. De verschillen die zijn waargenomen voor blootstelling aan wortels en bladblootstelling zijn waarschijnlijk te wijten aan verschillende mechanismen die verband houden met de opname en translocatie van de nanodeeltjes. Nanodeeltjes kunnen worden opgenomen door stomatale openingen en/of de was-laag die planten beschermt tegen uitdrogen (de cuticula). De deeltjes passeren vervolgens via floëem-laadmechanismen naar andere delen van planten te worden getransporteerd. Voor wortelopname en translocatie moeten nanodeeltjes door de celwanden en de epidermale lagen migreren om verder omhoog te worden getransporteerd via xyleem laadmechanismen.

In hoofdstuk 3 hebben we de impact van vorm, grootte en coating bepaald op het gedrag, de accumulatie en fytotoxiciteit van AgNPs in sla. Hierbij is alleen gekeken naar de blootstelling via de wortels. Ten eerste vonden we dat het oplossen van AgNPs in het plantengroei medium (Hoagland-oplossing) afhankelijk was van de vorm en van de coating van de deeltjes. Het percentage ionen dat vrijkomt uit AgNPs

(ongeveer 30%) was veel hoger dan het percentage ionen dat vrijkwam uit alle geteste Ag-nanodraden (AgNW, <15%). De mate van oplossing en de oplosnelheid van de niet-gecoate AgNW (HAR-AgNW: 39 nm diameter x 8,4 μ m lengte) waren beiden hoger in vergelijking met de met PVP gecoate AgNW (LAR-AgNW: 43 nm diameter \times 1,8 μ m lengte, en MAR-AgNW: 65 nm diameter x 4,4 μ m lengte). Bovendien was de tijds-gewogen blootstellingsconcentratie van AgNW 2 tot 4,5 keer die van AgNPs wanneer ze een vergelijkbare vermindering van de biomassa van planten induceerden. Dat geeft aan dat AgNPs meer effect induceren dan AgNW. De opname en translocatie van AgNPs in planten waren ook vormafhankelijk. Blootstelling aan AgNW resulteert in meer Ag-opname door de wortel van planten, maar minder Ag-translocatie naar bovengrondse delen in vergelijking met blootstelling aan AgNPs. Verder waren de fytotoxiciteit, de opnamesnelheidsconstanten en de bioaccumulatiefactoren van het met PVP beklede AgNW (43 nm diameter \times 1,8 μ m lengte) en het niet-gecoate AgNW (39 nm diameter \times 8,4 μ m lengte) vergelijkbaar, maar beiden waren hoger dan die van de PVP-gecoate AgNW met de grotere diameter (65 nm diameter x 4,4 μ m lengte). De bevindingen impliceren dat de diameter in plaats van de lengte en coating van de AgNW voornamelijk de toxiciteit en de Ag-accumulatie van nanodraden in planten bepaalt. Onze resultaten benadrukken dat de intrinsieke kenmerken van NPs in overweging moeten worden genomen bij het onderzoeken van de interacties tussen metalen NPs en planten.

Gebruikmakend van het respons-additie model hebben we de relatieve bijdrage gekwantificeerd van nanodeeltjesvormen (NPs(deeltje)) en de vrijgekomen ionen (NPs(ion)) aan de algehele fytotoxiciteit van AgNPs-suspensies en Ag-accumulatie in planten. Zoals de resultaten in hoofdstuk 2 en 3 onthullen, beschrijft het Ag-deeltje voor 65% de toxiciteit en Ag-accumulatie in de planten en het opgelost Ag dus 35% ongeacht de vorm, grootte en coating van AgNPs. Echter, de relatieve bijdrage van NPs(deeltje) versus NPs(ion) aan de totale effecten werd beïnvloed door de blootstellingsconcentratie en de mate van oplossen van AgNPs. We ontdekten dat de bijdrage van NPs(ion) aan de algehele effecten in AgNPs met een hoge oplosbaarheid hoger was dan in het geval van AgNW met een lage oplosbaarheid. De verschillen in de bijdragen van de deeltjesvorm en de ion-vorm aan de algehele toxiciteit kunnen worden weerspiegeld door hun verschillende werkingsmechanismen, waarvan is

aangetoond dat de deeltjestoxiciteit afkomstig is van de accumulatie van Ag in planten door interne blokkades, terwijl ionentoxiciteit waarschijnlijk te wijten is aan de inductie van overtollige ROS-productie.

In Hoofdstuk 4 hebben we de kennis over de interactie tussen biota en NPs verder uitgebreid door de oplosdynamiek (de opgeloste Ag-concentraties bepaald als de DTPA-extraheerbare Ag-concentraties) en accumulatie van AgNPs te onderzoeken middels een microkosmos bestaande uit een bodem-sla- -rhizosfeer-bacteriegemeenschap.. Onze resultaten lieten zien dat de extraheerbaarheid van Ag in bodem waaraan AgNPs waren toegevoegd, concentratie-afhankelijk was en in de loop van de tijd ook nog eens veranderde als gevolg van het continu oplossen en de continue opname van AgNPs door de planten. Bovendien toonden de resultaten aan, gebruikmakend van een Spearman-correlatie, dat de hoeveelheid Ag die zich ophoopte in de plantenwortel en de scheuten positief gecorreleerd was met de hoeveelheid DTPA-extraheerbaar Ag in de grond. Deze resultaten tonen de belangrijke rol van het oplossen van AgNPs in de bodem bij het beïnvloeden van hun biologische beschikbaarheid. Bovendien bleken de veranderingen in de structuur en samenstelling van de bacteriële gemeenschap in de rhizosfeer tijdsafhankelijk te zijn. Voor de korte-termijn blootstelling (7d) hebben we geen significante impact van AgNPs op de bacteriële gemeenschap van de rhizosfeer waargenomen, ongeacht de blootstellingsconcentratie. Echter, na langdurige blootstelling (63 dagen) aan 50 mg/kg AgNPs was de bacteriële gemeenschap veranderd ten opzichte van de controle gemeenschap; in totaal werden 16 significant veranderde taxa waargenomen. De veranderingen in de rhizosfeer-bodembacteriële gemeenschap waren mogelijk geassocieerd met de abundance-veranderingen in de bacteriegroepen die verband houden met element (bijvoorbeeld N en S) cycli en stresstolerantie.

In hoofdstuk 5 hebben we de trofische overdracht van AgNPs en TiO₂NPs en hun combinatie onderzocht. Hiervoor is sla blootgesteld en gevoerd aan slakken. We ontdekten dat zowel Ag als Ti konden worden overgedragen van slabladeren naar slakken met trofische overdrachtsfactoren van 0,2 tot 1,1 voor Ag en 3,8 tot 47 voor Ti wanneer sla werd blootgesteld aan Ag⁺/AgNPs of TiO₂NP via de wortel. Ag in de vorm van het ion wordt gemakkelijker geassimileerd en verplaatst naar andere

organen van slakken dan de deeltjesvorm. Het grootste deel van het geassimileerde Ag werd door de slakken uitgescheiden via feces. Rond de 70 % van het aanwezige Ti werd terug gemeten in de spijsverteringsklier van slakken. De gedragsreacties van slakken op de trofische overdracht van AgNP en TiO₂NP verschilden. Behandeling van slakken met bladeren die met TiO₂NPs waren opgeladen had een sterke invloed op de uitscheiding van hun feces, terwijl AgNPs de voortbewegingsactiviteit van de slakken sterk beïnvloedde. De gelijktijdige toepassing van AgNP en TiO₂NP had geen invloed op de bioaccumulatie en biodistributiepatronen van Ag of Ti in slakken in vergelijking met de enkelvoudige blootstellingen. De mengsel blootstelling induceerde echter een sterkere remming van de groei en activiteit van slakken dan in het geval van toepassing van AgNP's of TiO₂NP alleen. Onze resultaten verbeteren het begrip van de trofische overdracht van het mengsel van metalen NPs binnen terrestrische voedselketens. Dit is uiterst waardevol voor het beoordelen van hun mogelijke risico's voor het milieu en de gezondheid van ecosystemen.

Concluderend bevordert de in dit proefschrift beschreven nieuwe kennis het begrip in 1) de verschillen in accumulatie en fytotoxiciteit van AgNPs via blad-contact blootstelling en wortelblootstelling; 2) de kenmerken van AgNPs die het lot, biologische beschikbaarheid en fytotoxiciteit van deze deeltjes domineren; 3) welke vormen van Ag in suspensies van AgNPs een invloed uitoefenen op groene bladplanten en de verschillende werkingsmechanismen van deeltjesvormig en ionisch Ag bij het induceren van fytotoxiciteit; 4) de lange-termijn effecten van de oplossingsdynamiek van AgNP op Ag-accumulatie in planten en effecten op de bacteriegemeenschap in de rhizosfeer; 5) de mogelijkheid van de overdracht van een mengsel van meerdere NP's via de voedselketen en de bijbehorende potentiële risico's naar organismen van een hoger trofisch niveau. Bovendien benadrukken de resultaten de intrinsieke eigenschappen van de NPs' die hierbij een rol spelen en is duidelijk geworden dat rekening gehouden dient te worden met dynamiek van de blootstelling van planten aan NPs-blootstelling om ook op langere tijdsschalen nauwkeurige beoordeling van hun ecotoxicologische effecten op het bodemecosysteem te kunnen uitvoeren. Over het algemeen verbeteren onze resultaten de kennis over de interacties tussen NPs en terrestrische biota, evenals de beoordeling van de risico's die voortkomen uit de blootstelling van terrestrische

ecosystemen aan NPs. Dergelijke informatie helpt bij de ontwikkeling van "Safe by Design" van NPs, die kunnen helpen om een evenwicht te vinden tussen de toepassingen van nanomaterialen en ongewenste implicaties voor het milieu en voor de landbouw.