

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第36卷 第7期

Vol.36 No.7

2015

中国科学院生态环境研究中心 主办
科学出版社 出版



目次

2013年12月中国中东部地区严重灰霾期间上海市颗粒物的输送途径及潜在源区贡献分析	李莉, 蔡蓓琳, 周敏 (2327)
长三角冬季一次霾过程气溶胶及其水溶性离子的区域分布特征	王曼婷, 朱彬, 王红磊, 薛国强, 何俊, 徐宏辉, 曹锦飞 (2337)
北京城区大气 PM _{2.5} 主要化学组分构成研究	刘保献, 杨懂艳, 张大伟, 陈添, 赵红帅, 陈圆圆, 陆皓昀 (2346)
2014年春季山东省 PM _{2.5} 跨界输送研究	贾海鹰, 程念亮, 何友江, 陈云波, 杜晓惠, 单晓丽 (2353)
燃煤电厂产生和排放的 PM _{2.5} 中水溶性离子特征	马子珍, 李振, 蒋靖坤, 叶芝祥, 邓建国, 段雷 (2361)
南京夏季城市冠层大气 CO ₂ 浓度时空分布规律的观测	高韵秋, 刘寿东, 胡凝, 王淑敏, 邓力琛, 于洲, 张圳, 李旭辉 (2367)
北京市机动车尾气排放因子研究	樊守彬, 田灵娣, 张东旭, 曲松 (2374)
北京不同污染地区园林植物对空气颗粒物的滞纳能力	张维康, 王兵, 牛香 (2381)
长三角地区火电行业主要大气污染物排放估算	丁青青, 魏伟, 沈群, 孙予罕 (2389)
基于区域循环模型 IAP-N 的安徽省农用地 N ₂ O 排放量估算	韩云芳, 韩圣慧, 严平 (2395)
不同源汇信息提取方法对区域 CO ₂ 源汇估算及其季节变化的影响评估	张芳, 周凌晔, 王玉诏 (2405)
实测/预测辽河铬(VI)水生生物基准与风险评估	王晓南, 闫振广, 刘征涛, 张聪, 王伟莉 (2414)
博尔塔拉河河水、表层底泥及河岸土壤重金属的污染和潜在危害评价	张兆永, 吉力力·阿不都外力, 姜逢清 (2422)
岩溶泉水化学性质及 $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$ 影响因素	赵瑞一, 吕现福, 刘子琦, 吕春艳 (2430)
柳江流域柳州断面水化学特征及无机碳汇通量分析	原雅琼, 何师意, 于爽, 孙平安, 王艳雪, 武招云, 李新桂, 谢明鲜, 刘文, 李瑞, 张华生 (2437)
重庆市主城区次级河流总氮总磷污染特征分析及富营养化评价	庆旭瑶, 任玉芬, 吕志强, 王效科, 庞容, 邓睿, 孟龄, 马慧雅 (2446)
三峡库区消落带土壤邻苯二甲酸二丁酯静态释放特征	王法, 王强, 木志坚, 杨志丹, 宋娇艳 (2453)
干湿循环对三峡支流消落带沉积物中可转化态氮及其形态分布的影响	林俊杰, 张帅, 杨振宇, 何立平, 周依, 张倩茹 (2459)
天山天池夏季叶绿素 a 的分布及富营养化特征研究	王斌, 马健, 王银亚, 尹湘江 (2465)
西大海湖沉积物营养盐垂直分布特征变化分析	段木春, 肖海丰, 臧淑英 (2472)
草街水库蓄水后嘉陵江浮游植物群落特征及水质评价	杨敏, 张晟, 刘朔孺 (2480)
宁波三江口水域原核生物群落结构分析	胡安谊, 李姜维, 杨晓永, 王弘杰, 于昌平 (2487)
全氟化合物对表层沉积物中细菌群落结构的影响	孙雅君, 王铁宇, 彭霞薇, 王佩 (2496)
菹草腐解-金鱼藻生长耦合作用对水质及植物生长的影响	马月, 王国祥, 曹勤, 王小云, 马杰 (2504)
生物滞留设施对城市地表径流低浓度磷吸附基质研究	李立青, 龚燕芳, 颜子钦, 单保庆 (2511)
复合填料生物渗滤系统处理城市雨水径流的研究	王晓璐, 左剑恶, 千里里, 邢薇, 缪恒峰, 阮文权 (2518)
3种典型消毒副产物对细菌抗生素抗性的影响	吕露, 张梦露, 王春明, 林惠荣, 于鑫 (2525)
基于透射光法探讨水流流速对 DNAPL 运移分布的影响	高燕维, 郑菲, 施小清, 孙媛媛, 徐红霞, 吴吉春 (2532)
BDD 和 PbO ₂ 电极电化学氧化苯并三氮唑的对比研究	伍娟丽, 张佳维, 王婷, 倪晋仁 (2540)
开放系统下方解石对邻苯二甲酸的吸附	李振炫, 黄利东, 陈艳芳, 缪晔, 刘大刚, 许正文 (2547)
碳纳米管-羟磷灰石对铅的吸附特性研究	张金利, 李宇 (2554)
刚果红分子印迹聚合物纳米微球的合成及吸附性能	常自强, 陈复彬, 张玉, 时作龙, 杨春艳, 章竹君 (2564)
碱热-酸热法合成二氧化钛-钛酸纳米管复合纳米材料对 Cd(II) 和苯酚的同步去除	雷立, 晋银佳, 王婷, 赵泉, 晏友, 刘文 (2573)
固定化菌剂对污水和牛粪中雌二醇和己烯雌酚的去除作用	李欣, 凌婉婷, 刘静娴, 孙敏霞, 高彦征, 刘娟 (2581)
PN-ANAMMOX 一体化反应器处理电子行业 PCB 废水	袁琬, 李祥, 周呈, 陈宗姮 (2591)
Fenton 氧化深度处理石化废水厂二级出水研究	王翼, 吴昌永, 周岳溪, 张雪, 董波, 陈学民 (2597)
制革废水和印染废水的综合毒性评估及鉴别	黄利, 陈文艳, 万玉山, 郑国娟, 赵远, 蔡强 (2604)
不同溶解氧条件下 A/O 系统的除碳脱氮效果和细菌群落结构变化	陈燕, 刘国华, 范强, 汪俊妍, 齐鲁, 王洪臣 (2610)
利用主要缺氧段 ORP 作为连续流单污泥污水脱氮除磷系统调控参数	王晓玲, 宋铁红, 殷宝勇, 李静文, 李紫棋, 余勇 (2617)
连续流态下以实际低基质生活污水培养好氧颗粒污泥及其脱氮性能	姚力, 信欣, 鲁航, 朱辽东, 谢思建 (2626)
广东清远电子垃圾拆解区农田土壤重金属污染评价	张金莲, 丁疆峰, 卢桂宇, 党志, 易筱筠 (2633)
山东省临沂市土壤有机氯农药滴滴涕残留量与空间分布特征	喻超, 王增辉, 王红晋, 代杰瑞, 庞绪贵, 赵西强, 刘华峰 (2641)
金华市萤石矿区土壤氟污染评价	叶群峰, 周小玲 (2648)
土壤碳收支对秸秆与秸秆生物炭还田的响应及其机制	侯亚红, 王磊, 付小花, 乐毅全 (2655)
黄土区果园和刺槐林生态系统土壤有机碳变化及影响因素	李如剑, 王蕊, 李娜娜, 姜继韶, 张彦军, 王志齐, 刘庆芳, 吴得峰, 郭胜利 (2662)
缙云山土地利用方式对土壤轻组及颗粒态有机碳氮的影响	雷利国, 江长胜, 郝庆菊 (2669)
塔里木河上游典型绿洲土壤酶活性与环境因子相关分析	朱美玲, 贡璐, 张龙龙 (2678)
不同部位玉米秸秆对两种质地黑土 CO ₂ 排放和微生物量的影响	刘四义, 梁爱珍, 杨学明, 张晓平, 贾淑霞, 陈学文, 张士秀, 孙冰洁, 陈升龙 (2686)
1株对叔丁基邻苯二酚降解菌的筛选鉴定及响应面法优化其降解	贺强礼, 刘文斌, 杨海君, 彭晓霞, 关向杰, 黄水娥 (2695)
耐高浓度沼液产油小球藻的分离鉴定与特征分析	杨周, 王文国, 马丹炜, 汤晓玉, 胡启春 (2707)
水介质中 C ₆₀ 纳米晶体颗粒与 Cu ²⁺ 对小鼠腹腔巨噬细胞的复合毒性研究	于叶, 卞为林, 张慧敏, 张波, 何义亮 (2713)
地表水体中同时分析 18 种糖皮质激素方法的建立	郭文景, 常红, 孙德智, 吴丰昌, 杨浩 (2719)
《环境科学》征订启事 (2553) 《环境科学》征稿简则 (2640) 信息 (2546, 2609, 2616, 2647)	

水介质中 C_{60} 纳米晶体颗粒与 Cu^{2+} 对小鼠腹腔巨噬细胞的复合毒性研究

于叶, 卞为林, 张慧敏, 张波*, 何义亮

(上海交通大学环境科学与工程学院, 上海 200240)

摘要: 为考察 C_{60} 纳米晶体颗粒和 Cu^{2+} 复合体系的生物毒性, 本文以小鼠腹腔巨噬细胞 RAW264.7 作为受试对象, 研究了 C_{60} 纳米晶体颗粒物 (nC_{60}) 和 Cu^{2+} 对 RAW 264.7 的复合毒性影响. 结果表明, 当单独暴露 nC_{60} 24 h, nC_{60} 浓度为 $6.6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 细胞活性降低了 45%, nC_{60} 浓度为 $9.9 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 细胞活性降低了 70%, 表现出剂量-毒性效应和时间-毒性效应. 水中出现 Cu^{2+} 可以降低 nC_{60} 的细胞毒性, 当 Cu^{2+} 浓度为 $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, nC_{60} 浓度为 $6.6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 细胞的活性降低至 25%, 当 Cu^{2+} 浓度为 $5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, nC_{60} 浓度为 $9.9 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 细胞的活性下降至 15%. 研究表明, nC_{60} 表面能够吸附 Cu^{2+} , 并且吸附符合 Langmuir 吸附等温模型. nC_{60} 纳米晶体颗粒表面对 Cu^{2+} 的吸附, 可能是 nC_{60} 对细胞毒性降低的重要原因.

关键词: C_{60} ; 小鼠腹腔巨噬细胞; Cu^{2+} ; 吸附; 细胞毒性

中图分类号: X171.5 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2015)07-2713-06 DOI: 10.13227/j.hjks.2015.07.051

Coupled Cytotoxicity of C_{60} Nano-Crystal Particle with Cu^{2+} to the Mouse Peritoneal Macrophage RAW 264.7

YU Ye, BIAN Wei-lin, ZHANG Hui-min, ZHANG Bo*, HE Yi-liang

(School of Environmental Science and Engineering, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China)

Abstract: This work evaluated the cytotoxicity effect of nC_{60} nano-crystal particle associated with Cu^{2+} by using mouse peritoneal macrophage RAW264.7 as the test cell line. The results showed that when exposed to nC_{60} of $6.6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ and $9.9 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ for 24h, the cell viability decreased 45% and 70%, respectively, and had obvious time-response and dose-response. It was found that Cu^{2+} could reduce the toxicity of nC_{60} on RAW 264.7. The cell viability reduced to 25% when exposed to $6.6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ nC_{60} with $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Cu^{2+} , and reduced to 15% when exposed to $9.9 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ nC_{60} with $5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Cu^{2+} . The nC_{60} could adsorb Cu^{2+} and the adsorption isotherm was fitted to the Langmuir adsorption isotherm. The adsorption of Cu^{2+} on the surface of nC_{60} may decrease the cytotoxicity nC_{60} on RAW 264.7.

Key words: C_{60} ; mouse peritoneal macrophage; Cu^{2+} ; adsorption; cytotoxicity

在一般的微污染原水中,通常会含有多种天然或人工合成的化学物质,其中包括目前广泛应用的纳米级人造物质. 纳米物质尺寸小,比表面积大,反应活性高,释放到水体中后纳米物质极易作为载体对水体中其它污染物质进行吸附,影响环境中已有污染物质的归宿^[1,2]. 虽然这些污染物的含量很低,但在水处理工艺过程中,这些共存物质之间可能存在复合污染效应,可能发生结构或形态转化而产生新的有毒有害副产物. 不同共存物质间的协同或拮抗作用将直接影响水质的健康风险评价.

C_{60} 是目前被广泛应用的碳纳米材料之一. 纳米 C_{60} 具有强疏水性,难溶于水,但其进入水环境后能够形成稳定的 C_{60} 纳米晶体颗粒物^[3,4]. 对 C_{60} 纳米晶体颗粒的水质风险研究表明,其对细菌、水生生物、细胞等都具有生物毒性^[5-9]. 随着工业发展,水体中的重金属污染日趋严重,对生态系统会造成

生物毒性影响. Cu^{2+} 是常见的典型二价重金属污染物,与不同形态的 P、N 均有联合毒性作用^[10,11]. Cu^{2+} 能很快与羟基及羧基富勒烯达到吸附平衡,且符合 Langmuir 吸附等温线^[12]. 巨噬细胞是外来物侵入到动物体内的第一道防线,因而当纳米级颗粒物进入生物体内时,巨噬细胞会在第一时间对其进行吞噬. 而且巨噬细胞较易培养,已有较多研究以 RAW264.7 小鼠腹腔巨噬细胞作为受试物. 有文献指出纳米颗粒物,像是纳米银、纳米金以及纳米硅等会在细胞内产生氧自由基从而对 RAW264.7 小鼠腹腔巨噬细胞产生毒性^[13-15]. 本文以 RAW

收稿日期: 2014-10-14; 修订日期: 2015-01-25

基金项目: 国家自然科学基金项目(21177084); 国家水体污染控制与治理科技重大专项(2014ZX07206001)

作者简介: 于叶(1990~),女,硕士,主要研究方向为 C_{60} 纳米晶体颗粒物的环境负效应, E-mail: sheila103@sjtu.edu.cn

* 通讯联系人, E-mail: zhangbo214@sjtu.edu.cn

264.7 小鼠腹腔巨噬细胞作为受试细胞,研究 nC_{60} 和 Cu^{2+} 复合体系的生物毒性.

1 材料与方法

1.1 主要材料试剂

纳米 C_{60} (Mer Corporation, Tucson, AZ, 99.9%); 甲苯 (上海凌峰化学试剂, $\geq 99.9\%$); 超纯水 (Millipore 净水装置); 高氯酸镁 (国药集团, AR), RAW 264.7 (ATCC, TIB-71) 细胞株购自中科院上海细胞所; DMEM 高糖培养液、胎牛血清、胰酶、青链霉素和 10XPBS 购自美国 Gibco 公司; WST-1 细胞活性检测试剂 (Cayman. Cat. NO. 10008883), 无水硫酸铜购自国药集团, Cu^{2+} 标准样品购自国家标准样品网.

真空干燥箱 (上海森信实验仪器, D2G-6020); 纳米粒度及 Zeta 电位分析仪 (DelsaNano C, Beckman coulter), 透射电子显微镜 (JEM-2100); 滤膜 (Anotop 25 plus 0.22 μm , Waters); 滤膜 (Anodisc 13, 0.02 μm , 13 mm, Whatman); 旋转蒸发仪 (Buchi Rotavapor System: Rotavapor R-215, Vacuum Controller V-850, Vacuum Pump V-700); 超声清洗机 (昆山禾创超器, KH-300DB); 紫外-可见分光光度计 (Mapada UV-1200). 100 mm 细胞培养皿, 6 孔, 96 孔细胞培养板均购自德国 Greiner 公司; Thermo 8000 二氧化碳细胞培养箱, Beckman AllegraTM X-22R 高速冷冻离心机, Olympus CKX-41 倒置显微镜, 上海上净净化 CA-920-3 单人垂直流超净工作台, RT-2100C 酶标分析仪, HILIP CM-120 高分辨率透射电子显微镜; NovAA350 原子吸收分光光度计.

1.2 C_{60} 纳米晶体颗粒制备及表征

通过在 Andrievsky 等^[16]的制备方法基础上稍加改动, 优化其配比条件, 制备 nC_{60} 水溶液. 具体方法为: 称取 40 mg C_{60} , 置于容器中与 100 mL 甲苯混合, 然后将容器置于摇床上振荡 12 h, 使 C_{60} 完全溶解到甲苯当中, 形成甲苯溶液. 确定 C_{60} 完全溶解后, 再向容器中加入 400 mL 超纯水. 封口膜将瓶口密封, 置于超声器 (昆山禾创超器, KH-300DB) 中超声 (80 KHz) 48 h, 保持水温在 50°C 以下, 使 C_{60} 逐渐从甲苯转移到水相中^[17,18]. 超声结束后, 用旋转蒸发仪 (Buchi Rotavapor System: Rotavapor R-215, Vacuum Controller V-850, Vacuum Pump V-700) 蒸发掉甲苯, 然后使剩余混合液体通过 0.22 μm 滤膜 (Anotop 25 plus 0.22 μm , Waters), 滤除未溶解 C_{60} 固体, 得到黄

色的 nC_{60} 纳米颗粒水悬液. C_{60} 浓度测定参照 Fortner 等^[19]报道方法进行. 采用 JEM-2100 透射电子显微镜 (TEM) 对制备的 nC_{60} 进行外观表征, 纳米粒度及 Zeta 电位分析仪 (DelsaNano C, Beckman coulter) 对其粒径分布及表面电荷进行测定.

为排除甲苯残留的影响, 利用超滤杯 (超滤膜 YM10, 截留分子量, 10 000) 反复过滤冲洗再悬浮, 并采用 GC/MS (日本津岛, QP2010) 检测制备 nC_{60} 中甲苯浓度低于 $1 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$.

1.3 小鼠腹腔巨噬细胞的培养及表征

采用高糖 DMEM 细胞培养液培养小鼠腹腔巨噬细胞 RAW 264.7, 加 5% 胎牛血清, 1% 的双抗. 快速复苏冻存的小鼠腹腔巨噬细胞 RAW 264.7 细胞株, RAW 264.7 属于贴壁细胞, 制备成悬浮液分等份接种于 100 mm 细胞培养皿中, 放入 37°C , 5% CO_2 细胞培养箱 (Thermo 8000) 中培养, 待细胞生长活性符合实验要求, 胰酶消化, 进行相应的实验处理.

1.4 C_{60} 纳米晶体颗粒和 Cu^{2+} 对 RAW 264.7 的复合毒性

调整细胞浓度, 接种 2×10^3 个细胞于 96 孔板当中, 细胞贴壁后, 弃去上清原液, 分别添加含不同浓度 nC_{60} 水悬液的新培养液, 及不同浓度的 Cu^{2+} , 每个剂量组设定 4 个平行孔. nC_{60} 单独作用时的浓度按浓度梯度设置分别为 0、0.21、0.83、1.65、3.3、6.6 和 $9.9 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$; Cu^{2+} 单独作用时浓度按浓度梯度设置为 0、0.5、1、2、4、10、15、20、40 和 $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. 两者联合作用时的浓度分别设置为当 nC_{60} 浓度固定为 $3.3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $6.6 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, Cu^{2+} 浓度为 0、2、5、10 和 $20 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$; 当 Cu^{2+} 浓度固定为 $5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, nC_{60} 浓度为 0、1.65、3.3、6.6 和 $9.9 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. 染毒 12 h 和 24 h 后, 每孔添加 20 μL WST-1 溶液, 细胞培养箱中继续培养 2 h. 在 RT-2100C 酶标分析仪 (RT-2100C) 波长 450 nm 测定光密度 D 值.

$$\text{细胞存活率} = \frac{D_{\text{实验组}} - D_{\text{实验对照孔}}}{D_{\text{空白组}}} \times 100\%$$

1.5 C_{60} 纳米晶体颗粒对 Cu^{2+} 的吸附

C_{60} 纳米晶体颗粒对铜的吸附等温线测定实验在 25°C , $150 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 的恒温振荡器中进行. 实验中设定 nC_{60} 浓度在 $1.8 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 铜离子初始浓度分别设定在 1、2、3、4 和 $5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. pH 设为 6. 吸附 24 h 后取样, 20 nm 膜滤 (Anodisc 13, 0.02 μm , 13 mm, Whatman), 原子吸收分光光度计 (NovAA350) 检测铜离子浓度.

nC₆₀对重金属铜的吸附等温线以吸附容量 q_e 对铜离子被吸附后的平衡浓度 c_e 制得. 为了解 nC₆₀ 对重金属铜的吸附过程, 分别选取 Langmuir 吸附等温方程和 Freundlich 吸附等温方程对其进行描述. Langmuir 吸附等温方程式可用式 (1) 表示, 式中, q_e 为吸附容量; q_m 为单位吸附剂的最大吸附量; c_e 为铜离子被吸附后的平衡浓度; b 为温度的函数.

$$q_e = \frac{q_m \times b \times c_e}{1 + b \times c_e} \tag{1}$$

$$\frac{1}{q_e} = \frac{1}{q_m} + \frac{1}{b \times q_m} \times \frac{1}{c_e} \tag{2}$$

根据式 (2) 中的 $1/c_e$ 对 $1/q_e$ 作图, 可得 nC₆₀ 对铜离子的 Langmuir 吸附等温线. Freundlich 吸附等温方程式可用式 (3) 表示, 其中 k 和 n 为一定温度下的常数. 根据式 (4) 中的 $\lg c_e$ 对 $\lg q_e$ 作图, 可得 nC₆₀ 对铜的 Freundlich 吸附等温线.

$$q_e = k c_e^{\frac{1}{n}} \tag{3}$$

$$\lg q_e = \frac{1}{n} \times \lg c_e + \lg k \tag{4}$$

1.6 数据统计处理

对每组数据进行组内显著性差异检验, 检验方

法为单因子方差分析; 同时还对每组平行样数据进行方差同质性检验, 使用最小显著差异法, 所有数据分析采用 SPSS 18.0 统计分析软件进行.

2 结果与讨论

2.1 nC₆₀ 表征

采用 JEM-2100 型透射式电子显微镜 (TEM) 对新制备的 nC₆₀ (13.2 mg·L⁻¹) 进行外观表征. 透射电子显微镜成像结果如图 1 所示, nC₆₀ 颗粒的单体大多呈现圆形, 粒径分布比较均一 [图 1 (a)], 且有聚集成颗粒粒径更大的团块出现, 颗粒重叠聚集 [图 1 (b)], 粒径分布在几十 nm 至 200 nm 左右.

纳米粒度及 Zeta 电位分析仪测定结果显示, 新制备的 nC₆₀ (13.2 mg·L⁻¹) 平均粒径为 122.3 nm, 平均 Zeta 电位为 -45.24 mV, 使 nC₆₀ 纳米晶体颗粒能稳定悬浮在水溶液中^[20], 而不发生沉降. 由于一些 nC₆₀ 纳米晶体颗粒表面电荷小, 从而导致一些小的 nC₆₀ 纳米颗粒聚集在一起, 形成更大的聚集体 [图 1 (b)].

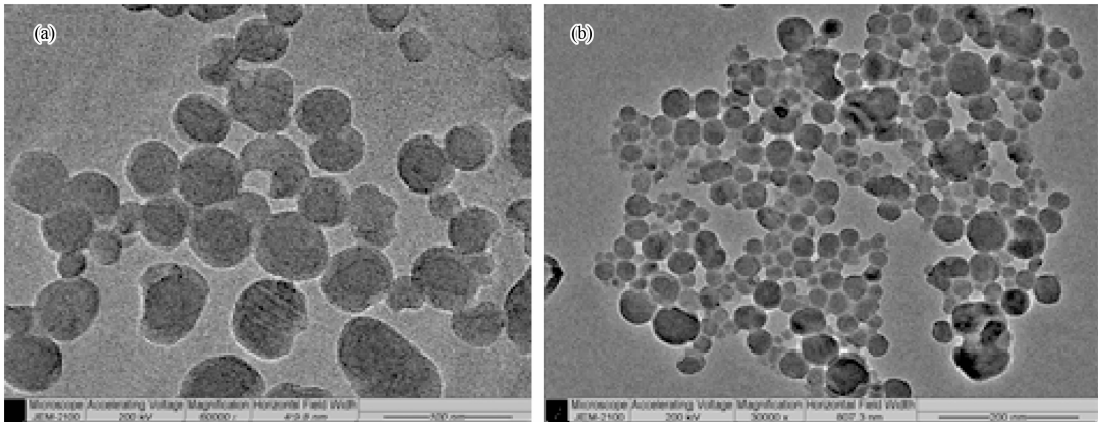


图 1 nC₆₀ 透射电镜表征

Fig. 1 Characterization of nC₆₀ by TEM

2.2 nC₆₀ 及 Cu²⁺ 单独对 RAW 264.7 的毒性

Jia 等^[21] 发现 C₆₀ 在到达 226.00 μg·cm⁻² 的剂量下对肺泡巨噬细胞存在细胞毒性, 并在 3.06 μg·cm⁻² 的剂量下会引起细胞损伤, 本实验中 nC₆₀ 纳米晶体颗粒浓度分别设定为 6.6 mg·L⁻¹ 和 9.9 mg·L⁻¹. nC₆₀ 单独对 RAW 264.7 的毒性如图 2 所示, 实验数据在方差同质性检验中为齐性, 单因子方差分析中组内数据均与对照组数据有显著性差异 ($P < 0.05$). 不管共培育时间是 12 h [图 2 (a)], 还是 24 h [图 2 (b)], 单纯暴露 nC₆₀, RAW 264.7 细胞

都不同程度呈现出细胞活性下降. 并且具有明显的时间-毒性和剂量-毒性效应关系. 当单独给细胞暴露 nC₆₀ 12 h 时, 细胞活性分别相应的减少到了对照组的 70% 和 50%. 当暴露时间为 24 h 时, 细胞活性分别相应减少到了对照组的 60% 和 40% 以上.

单独暴露不同浓度 Cu²⁺ 与 RAW 264.7 共培育 24 h 如图 3 所示, 实验数据在方差同质性检验中为齐性, 单因子方差分析中组内数据均与对照组数据有显著性差异 ($P < 0.05$). 结果表明 Cu²⁺ 对 RAW 264.7 具有细胞毒性, Cu²⁺ 浓度越高, 其毒性作用增

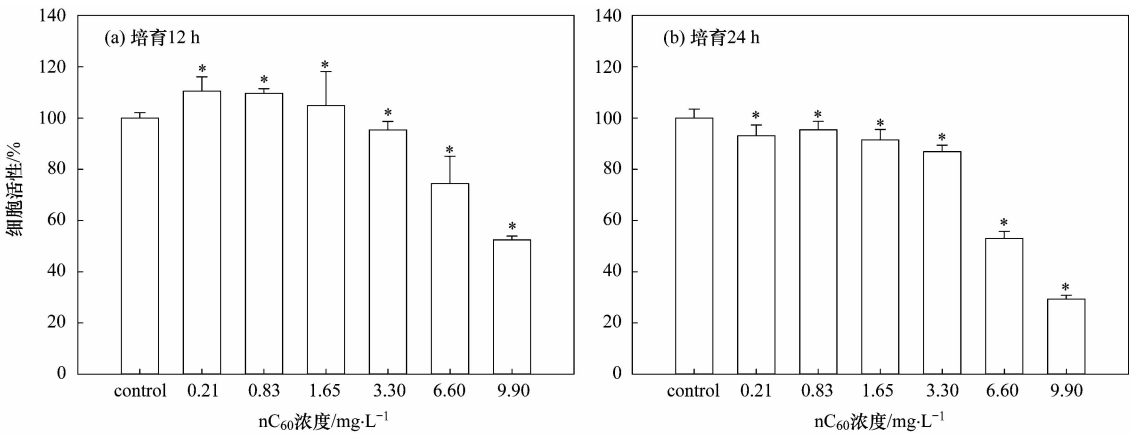


图 2 nC_{60} 对 RAW 264.7 细胞活性影响

Fig. 2 Cell viability of RAW 264.7 cells exposed to nC_{60} for 12 h and 24 h

大. 与对照组比较,暴露 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度的 Cu^{2+} 时,细胞活性降低到对照组的 80%,在暴露 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,RAW 264.7 细胞活性降低到对照组的 50%. 随着 Cu^{2+} 浓度的增加,其毒性效应增加并不明显,当 Cu^{2+} 浓度从 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 增加到 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,细胞活性降低不超过 30%.

2.3 nC_{60} 与 Cu^{2+} 对 RAW 264.7 的复合毒性

2.3.1 Cu^{2+} 浓度对 nC_{60} 对 RAW 264.7 细胞活性的影响

图 4 显示了固定 nC_{60} 浓度,添加不同浓度的 Cu^{2+} 离子对 nC_{60} 对 RAW 264.7 细胞活性的影响. 结果表明,2 ~ 20 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Cu^{2+} 离子浓度变化对 nC_{60} 对 RAW 264.7 细胞活性没有明显影响,两组实验数据在单因子方差分析中均与对照组数据有显著性差异 ($P < 0.05$).

当 nC_{60} 浓度设定为 $3.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, Cu^{2+} 浓度从 $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 增加到 $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,细胞活性降低都保持在 30% ~ 40% 之间,对细胞活性变化影响较小;

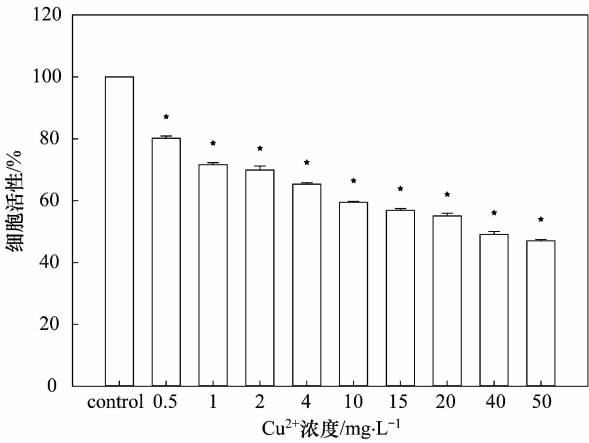


图 3 Cu^{2+} 浓度对 RAW 264.7 细胞活性影响

Fig. 3 Effects of Cu^{2+} concentration on cell viability of RAW 264.7

当 nC_{60} 浓度设定在 $6.6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,细胞活性降低都保持在 25% ~ 30% 之间, Cu^{2+} 浓度变化同样对细胞活性的影响较小.

这与单纯暴露 Cu^{2+} 浓度所测得的结果相同, Cu^{2+} 浓度对细胞活性影响并不明显. 而且研究结果

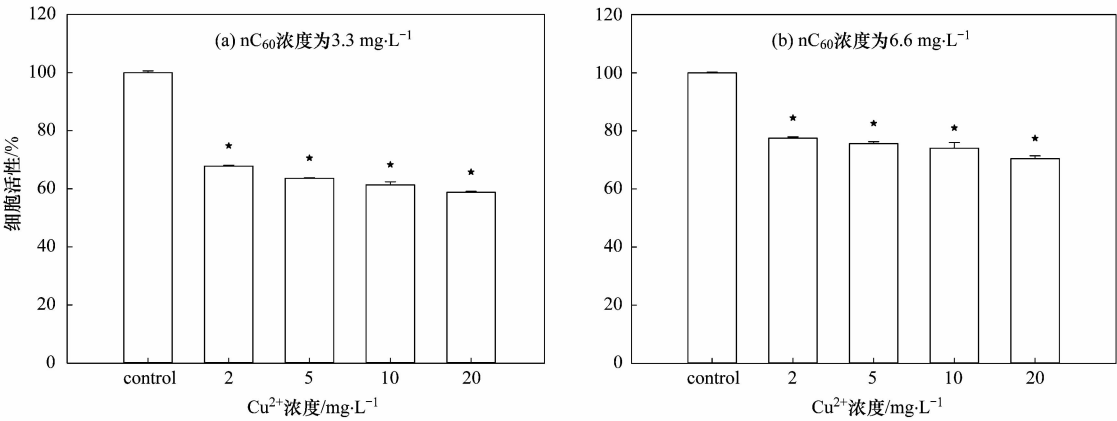


图 4 Cu^{2+} 浓度对 nC_{60} 对 RAW 264.7 细胞活性影响

Fig. 4 Effects of Cu^{2+} concentration on RAW 264.7 cell viability incubated with different concentrations of nC_{60}

发现 Cu²⁺ 能够降低 nC₆₀ 对 RAW 264.7 的细胞活性影响. 当 nC₆₀ (6.6 mg·L⁻¹) 纳米晶体颗粒与细胞共培育 24h, 其细胞活性减少了 45% [图 2(b)], 但是当添加 2 mg·L⁻¹ Cu²⁺ 时, 其细胞活性只减少了 25% [图 4(b)], 当添加 20 mg·L⁻¹ 的 Cu²⁺ 时, 其细胞活性也只减少了 30%, 说明在 nC₆₀ 的纳米晶体颗粒中添加 Cu²⁺, 可明显减少 nC₆₀ 的毒性作用.

2.3.2 nC₆₀ 浓度对 Cu²⁺ 对 RAW 264.7 细胞活性影响

nC₆₀ 浓度对 Cu²⁺ 对 RAW 264.7 细胞活性的影响如图 5 所示, 结果表明, 当溶液中出现 Cu²⁺ 时, 细胞活性降低随 nC₆₀ 浓度变化并不明显, 两组实验数

据在单因子方差分析中均与对照组数据有显著性差异 ($P < 0.05$). 固定 Cu²⁺ 浓度, 再暴露不同浓度 nC₆₀ 纳米晶体颗粒, 共培育 24 h, 随着 nC₆₀ 纳米颗粒浓度的增加, 对细胞活性影响没有明显增加. 如图 5 结果所示, 当固定添加 5 mg·L⁻¹ Cu²⁺ 时, 依次增加暴露的 nC₆₀ 的浓度, 细胞活性降低在 0 ~ 15% 左右, 即使在高浓度 9.9 mg·L⁻¹ nC₆₀ 纳米晶体颗粒下, 细胞活性降低也只在 15% 左右 [图 5(a)], 与单纯的 nC₆₀ 纳米晶体颗粒暴露下得到的结果比较, 其对细胞活性的影响远远减少. 固定添加 10 mg·L⁻¹ Cu²⁺, 均得到相同结果.

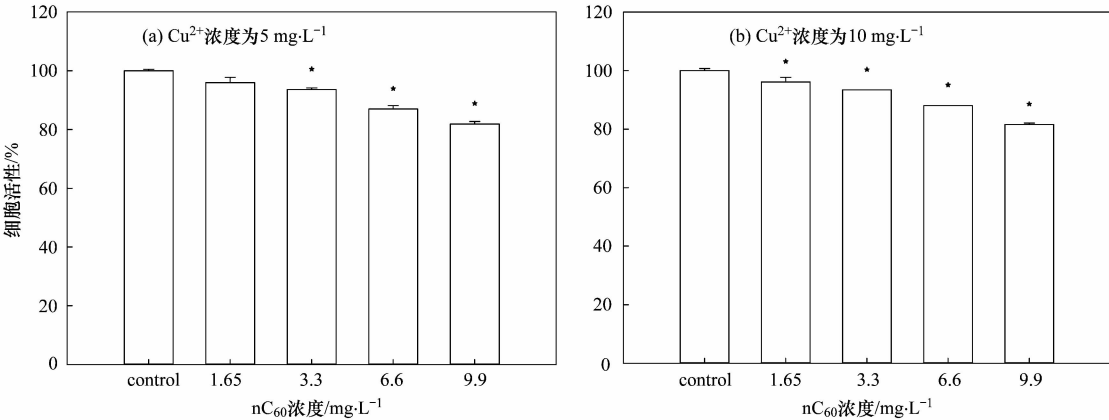


图 5 nC₆₀ 浓度对 Cu²⁺ 对 RAW 264.7 细胞活性影响

Fig. 5 Effects of nC₆₀ on RAW 264.7 cell viability incubated with different concentrations of Cu²⁺

2.4 nC₆₀ 对 Cu²⁺ 的吸附

为探究 Cu²⁺ 降低 nC₆₀ 对 RAW 264.7 细胞活性影响的原因, 本文研究了 nC₆₀ 对 Cu²⁺ 的吸附. nC₆₀ 对 Cu²⁺ 的吸附等温线如图 6 所示. 比较两种模型的线性相关系数 (R^2) 可得, Langmuir 吸附等温方程式对 nC₆₀ 对重金属铜的吸附过程有较好的拟合相关性, 表明 nC₆₀ 对重金属铜的吸附较符合 Langmuir 的理论假设, nC₆₀ 在物理吸附时为低能位吸附, 其吸附热小, 故吸附速度快, 吸附过程在瞬间完成. 随 nC₆₀ 表面吸附位被重金属铜完全占据, 在 15 min 内吸附达到平衡, 吸附机理主要是由于 nC₆₀ 表面负性, 其平均 Zeta 电位为 -45.24 mV.

Usenko 等^[22] 研究发现 C₆₀ 经紫外活化后会产生氧自由基而引起细胞死亡, 而 Brant 等^[23] 的研究指出 C₆₀ 的毒性是由于膜脂质成分的改变及流动, 在细胞膜上累积的氧自由基会使细胞凋亡^[24-26]. 在这些研究基础上笔者认为 Cu²⁺ 的添加可有效降低 nC₆₀ 对小鼠腹腔巨噬细胞的毒性作用, 其主要原因是 nC₆₀ 表面的负电荷, 吸附了相反电荷的 Cu²⁺, 中

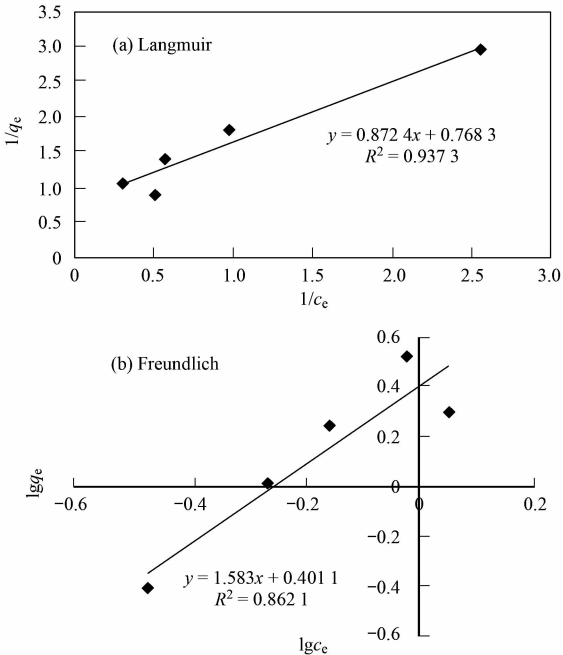


图 6 nC₆₀ 对铜的 Langmuir 和 Freundlich 吸附等温线

Fig. 6 Langmuir and Freundlich adsorption isotherms of Cu²⁺ by nC₆₀ aggregates

和了其表面的负电荷. 当暴露在 RAW 264.7 当中时,不能被吸附到细胞膜表面的带有正电荷基团的诸如 NH_4^+ 的膜蛋白受体上,阻断其凋亡信息的传递,降低对 RAW 264.7 细胞的毒性作用.

3 结论

(1) C_{60} 纳米晶体颗粒存在明显的潜在健康风险,对小鼠腹腔巨噬细胞呈现明显的时间-毒性和剂量毒性效应.

(2) Cu^{2+} 的添加可明显降低 nC_{60} 对 RAW 264.7 的毒性作用.

(3) Cu^{2+} 与 nC_{60} 对 RAW 264.7 的毒性有拮抗作用,原因是由于 nC_{60} 可吸附水溶液中的 Cu^{2+} 后阻止其在细胞膜表面的吸附,吸附模型符合 Langmuir 吸附等温线.

参考文献:

- [1] Phenrat T, Song J E, Cisneros C M, *et al.* Estimating attachment of nano- and submicrometer-particles coated with organic macromolecules in porous media: Development of an empirical model [J]. *Environmental Science & Technology*, 2010, **44** (12): 4531-4538.
- [2] Yan X M, Zha J M, Shi B Y, *et al.* In vivo toxicity of nano- C_{60} aggregates complex with atrazine to aquatic organisms [J]. *Chinese Science Bulletin*, 2010, **55** (4-5): 339-345.
- [3] Dhawan A, Taurozzi J S, Pandey A K, *et al.* Stable Colloidal Dispersions of C_{60} Fullerenes in Water: Evidence for Genotoxicity [J]. *Environmental Science & Technology*, 2006, **40** (23): 7394-7401.
- [4] 方华, 沈冰冰, 荆洁, 等. 水中 C_{60} 纳米颗粒的稳定性研究 [J]. *环境科学*, 2014, **35** (4): 1337-1342.
- [5] Lyon D Y, Fortner J D, Sayes C M, *et al.* Bacterial cell association and antimicrobial activity of a C_{60} water suspension [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2005, **24** (11): 2757-2762.
- [6] Lovern S B, Klaper R. *Daphnia magna* mortality when exposed to titanium dioxide and fullerene (C_{60}) nanoparticles [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2006, **25** (4): 1132-1137.
- [7] Dai J, Wang C, Shang C, *et al.* Comparison of the cytotoxic responses of *Escherichia coli* (*E. coli*) AMC 198 to different fullerene suspensions (nC_{60}) [J]. *Chemosphere*, 2012, **87** (4): 362-368.
- [8] Fujita K, Morimoto Y, Endoh S, *et al.* Identification of potential biomarkers from gene expression profiles in rat lungs intratracheally instilled with C_{60} fullerenes [J]. *Toxicology*, 2010, **274** (1-3): 34-41.
- [9] Park E J, Kim H, Kim Y, *et al.* Carbon fullerenes (C_{60} s) can induce inflammatory responses in the lung of mice [J]. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2010, **244** (2): 226-233.
- [10] 吴永贵, 熊焱, 林初夏, 等. 不同形态 P 对 Cu、Zn、Cd 联合生物毒性效应的影响 [J]. *环境科学学报*, 2006, **26** (12):

2045-2051.

- [11] 吴永贵, 熊焱, 林初夏, 等. 不同氮形态对重金属 Cu、Zn、Cd 生物毒性效应的影响 [J]. *农业环境科学学报*, 2006, **25** (6): 1560-1565.
- [12] Wang J, Li Z, Li S C, *et al.* Adsorption of $\text{Cu}(\text{II})$ on oxidized multi-walled carbon nanotubes in the presence of hydroxylated and carboxylated fullerenes [J]. *PLoS One*, 2013, **8** (8): e72475.
- [13] Park E J, Park K. Oxidative stress and pro-inflammatory responses induced by silica nanoparticles *in vivo* and *in vitro* [J]. *Toxicology Letters*, 2009, **184** (1): 18-25.
- [14] Park E J, Yi J, Kim Y, *et al.* Silver nanoparticles induce cytotoxicity by a Trojan-horse type mechanism [J]. *Toxicology in Vitro*, 2010, **24** (3): 872-878.
- [15] Ma J S, Kim W J, Kim J J, *et al.* Gold nanoparticles attenuate LPS-induced NO production through the inhibition of NF- κ B and IFN- β /STAT1 pathways in RAW264.7 cells [J]. *Nitric Oxide*, 2010, **23** (3): 214-219.
- [16] Andrievsky G V, Kosevich M V, Vovk O M, *et al.* On the production of an aqueous colloidal solution of fullerenes [J]. *Royal Society of Chemistry*, 1995, **12**: 1281-1282.
- [17] Tervonen K, Waissi G, Petersen E J, *et al.* Analysis of fullerene- C_{60} and kinetic measurements for its accumulation and depuration in *Daphnia magna* [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2010, **29** (5): 1072-1078.
- [18] Avanası R, Jackson W A, Sherwin B, *et al.* C_{60} fullerene soil sorption, biodegradation, and plant uptake [J]. *Environmental Science & Technology*, 2014, **48** (5): 2792-2797.
- [19] Fortner J D, Lyon D Y, Sayes C M, *et al.* C_{60} in water: Nanocrystal formation and microbial response [J]. *Environmental Science & Technology*, 2005, **39** (11): 4307-4316.
- [20] Brant J, Lecoanet H, Wiesner M R. Aggregation and deposition characteristics of fullerene nanoparticles in aqueous systems [J]. *Journal of Nanoparticles Research*, 2005, **7** (4-5): 545-553.
- [21] Jia G, Wang H F, Yan L, *et al.* Cytotoxicity of Carbon Nanomaterials: Single-Wall Nanotube, Multi-Wall Nanotube, and Fullerene [J]. *Environmental Science & Technology*, 2005, **39** (5): 1378-1383.
- [22] Usenko C Y, Harper S L, Tanguay R L. *In vivo* evaluation of carbon fullerene toxicity using embryonic zebrafish [J]. *Carbon*, 2007, **45** (9): 1891-1898.
- [23] Brant J A, Labille J, Robichaud C O, Wiesner M. Fullerol cluster formation in aqueous solutions: Implications for environmental release [J]. *Journal of Colloid Interface Science*, 2007, **314** (1): 281-288.
- [24] Li Y, Liu Y, Fu Y J, *et al.* The triggering of apoptosis in macrophages by pristine graphene through the MAPK and TGF- β signaling pathways [J]. *Biomaterials*, 2012, **33** (2): 402-411.
- [25] Thubagere A, Reinhard B M. Nanoparticle-induced apoptosis propagates through hydrogen-peroxide-mediated bystander killing: insights from a human intestinal epithelium *in vitro* model [J]. *ACS Nano*, 2010, **4** (7): 3611-3622.
- [26] Wang L M, Liu Y, Li W, *et al.* Selective targeting of gold nanorods at the mitochondria of cancer cells: implications for cancer therapy [J]. *Nano Letters*, 2011, **11** (2): 772-780.

CONTENTS

Potential Source Contribution Analysis of the Particulate Matters in Shanghai During the Heavy Haze Episode in Eastern and Middle China in December, 2013	Li Li, CAI Jun-lin, ZHOU Min (2327)
Composition and Regional Characteristics of Atmosphere Aerosol and Its Water Soluble Ions over the Yangtze River Delta Region in a Winter Haze Period	WANG Man-ting, ZHU Bin, WANG Hong-lei, <i>et al.</i> (2337)
Chemical Species of PM _{2.5} in the Urban Area of Beijing	LIU Bao-xian, YANG Dong-yan, ZHANG Da-wei, <i>et al.</i> (2346)
Numerical Study on the Characteristics of Regional Transport of PM _{2.5} in Shandong Province During Spring in 2014	JIA Hai-ying, CHENG Nian-liang, HE You-jiang, <i>et al.</i> (2353)
Characteristics of Water-Soluble Inorganic Ions in PM _{2.5} Emitted from Coal-Fired Power Plants	MA Zi-zhen, LI Zhen, JIANG Jing-kun, <i>et al.</i> (2361)
Direct Observation on the Temporal and Spatial Patterns of the CO ₂ Concentration in the Atmospheric of Nanjing Urban Canyon in Summer	GAO Yun-qiu, LIU Shou-dong, HU Ning, <i>et al.</i> (2367)
Emission Factors of Vehicle Exhaust in Beijing	FAN Shou-bin, TIAN Ling-di, ZHANG Dong-xu, <i>et al.</i> (2374)
Adsorption Capacity of the Air Particulate Matter in Urban Landscape Plants in Different Polluted Regions of Beijing	ZHANG Wei-kang, WANG Bing, NIU Xiang (2381)
Major Air Pollutant Emissions of Coal-Fired Power Plant in Yangtze River Delta	DING Qing-qing, WEI Wei, SHEN Qun, <i>et al.</i> (2389)
Estimation of N ₂ O Emission from Anhui Croplands by Using a Regional Nitrogen Cycling Model IAP-N	HAN Yun-fang, HAN Sheng-hui, YAN Ping (2395)
Evaluation on the Impacts of Different Background Determination Methods on CO ₂ Sources and Sinks Estimation and Seasonal Variations	ZHANG Fang, ZHOU Ling-xi, WANG Yu-zhao (2405)
Measured and Predicted Aquatic Life Criteria and Risk Assessment of Chromium (VI) in Liaohe River	WANG Xiao-nan, YAN Zhen-guang, LIU Zheng-tao, <i>et al.</i> (2414)
Pollution and Potential Ecology Risk Evaluation of Heavy Metals in River Water, Top Sediments on Bed and Soils Along Banks of Bortala River, Northwest China	ZHANG Zhao-yong, Jilili Abuduwalili, JIANG Feng-qing (2422)
Influencing Factors for Hydrochemistry and δ ¹³ C _{DIC} of Karst Springs	ZHAO Rui-yi, LÜ Xian-fu, LIU Zi-qi, <i>et al.</i> (2430)
Hydrochemical Characteristics and the Dissolved Inorganic Carbon Flux in Liuzhou Section of Liujiang Basin	YUAN Ya-qiong, HE Shi-yi, YU Shi, <i>et al.</i> (2437)
Characteristics of Total Nitrogen and Total Phosphorus Pollution and Eutrophication Assessment of Secondary River in Urban Chongqing	QING Xu-yao, REN Yu-fen, LÜ Zhi-qiang, <i>et al.</i> (2446)
Static Migration and Release of Dibutyl-Phthalate in the Fluctuating Zone of Three Gorges Reservoir	WANG Fa, WANG Qiang, MU Zhi-jian, <i>et al.</i> (2453)
Effect of Drought and Subsequent Re-wetting Cycles on Transferable Nitrogen and Its Form Distribution in the Sediment of Water Level Fluctuating Zone in the Tributary of Three Gorge Reservoir Areas	LIN Jun-jie, ZHANG Shuai, YANG Zhen-yu, <i>et al.</i> (2459)
Distribution of Chlorophyll-a and Eutrophication State in Tianchi Lake of Tianshan Mountains in Summer	WANG Bin, MA Jian, WANG Yin-ya, <i>et al.</i> (2465)
Vertical Distribution Characteristics and Analysis in Sediments of Xidaihai Lake	DUAN Mu-chun, XIAO Hai-feng, ZANG Shu-ying (2472)
Phytoplankton Community Structure and Water Quality Assessment in Jialing River After the Impoundment of Caojie Reservoir	YANG Min, ZHANG Sheng, LIU Shuo-ru (2480)
Analysis of Prokaryotic Community Structure in River Waters of the Ningbo Sanjiang Mouth	HU An-yi, LI Jiang-wei, YANG Xiao-yong, <i>et al.</i> (2487)
Effects of Perfluoroalkyl Substances on the Microbial Community Structure in Surface Sediments of Typical River, China	SUN Ya-jun, WANG Tie-yu, PENG Xia-wei, <i>et al.</i> (2496)
Coupling Effects of Decomposed <i>Potamogeton crispus</i> and Growing <i>Ceratophyllum demersum</i> on Water Quality and Plant Growth	MA Yue, WANG Guo-xiang, CAO Xun, <i>et al.</i> (2504)
Bioretention Media Screening for the Removal of Phosphorus in Urban Stormwater	LI Li-qing, GONG Yan-fang, YAN Zi-qin, <i>et al.</i> (2511)
Treatment of Urban Runoff Pollutants by a Multilayer Biofiltration System	WANG Xiao-lu, ZUO Jian-e, GAN Li-li, <i>et al.</i> (2518)
Effect of Three Typical Disinfection Byproducts on Bacterial Antibiotic Resistance	LÜ Lu, ZHANG Meng-lu, WANG Chun-ming, <i>et al.</i> (2525)
Laboratory Investigation of DNAPL Migration Behavior and Distribution at Varying Flow Velocities Based on Light Transmission Method	GAO Yan-wei, ZHENG Fei, SHI Xiao-qing, <i>et al.</i> (2532)
Comparative Study of Benzotriazole Electrochemical Oxidation at Boron-doped Diamond and PbO ₂ Anodes	WU Juan-li, ZHANG Jia-wei, WANG Ting, <i>et al.</i> (2540)
Sorption of <i>o</i> -Phthalate onto Calcite in Open-System	LI Zhen-xuan, HUANG Li-dong, CHEN Yan-fang, <i>et al.</i> (2547)
Adsorption Behaviors of Lead on Multi-Walled Carbon Nanotube-Hydroxyapatite Composites	ZHANG Jin-li, LI Yu (2554)
Synthesis and Study on Adsorption Property of Congo Red Molecularly Imprinted Polymer Nanospheres	CHANG Zi-qiang, CHEN Fu-bin, ZHANG Yu, <i>et al.</i> (2564)
Simultaneous Removal of Cd(II) and Phenol by Titanium Dioxide-Titanate Nanotubes Composite Nanomaterial Synthesized Through Alkaline-Acid Hydrothermal Method	LEI Li, JIN Yin-jia, WANG Ting, <i>et al.</i> (2573)
Immobilization of Estrogen-degrading Bacteria to Remove the 17β-estradiol and Diethylstilbestrol from Polluted Water and Cow Dung	LI Xin, LING Wan-ting, LIU Jing-xian, <i>et al.</i> (2581)
Optoelectronic PCB Wastewater Treatment by Partial Nitrification-ANAMMOX Integrative Reactor	YUAN Yan, LI Xiang, ZHOU Cheng, <i>et al.</i> (2591)
Treatment of Petrochemical Treatment Plant Secondary Effluent by Fenton Oxidation	WANG Yi, WU Chang-yong, ZHOU Yue-xi, <i>et al.</i> (2597)
Comprehensive Toxicity Evaluation and Toxicity Identification Used in Tannery and Textile Wastewaters	HUANG Li, CHEN Wen-yan, WAN Yu-shan, <i>et al.</i> (2604)
Carbon/nitrogen Removal and Bacterial Community Structure Change in an A/O Activated Sludge System Under Different Dissolved Oxygen Conditions	CHEN Yan, LIU Guo-hua, FAN Qiang, <i>et al.</i> (2610)
ORP in the Main Anoxic Stage as the Control Parameter for Nitrogen and Phosphorus Removal in the Single Sludge System with a Continuous Flow	WANG Xiao-ling, SONG Tie-hong, YIN Bao-yong, <i>et al.</i> (2617)
Cultivation of Aerobic Granular Sludge with Real Low Concentration Domestic Wastewater and Its Denitrification Performances Under the Continuous Flow	YAO Li, XIN Xin, LU Hang, <i>et al.</i> (2626)
Heavy Metal Contamination in Farmland Soils at an E-waste Disassembling Site in Qingyuan, Guangdong, South China	ZHANG Jin-lian, DING Jiang-feng, LU Gui-ning, <i>et al.</i> (2633)
Residues and Spatial Distribution Characteristics of Organochlorine Pesticides DDTs in Soil of Linyi City, Shandong Province	YU Chao, WANG Zeng-hui, WANG Hong-jin, <i>et al.</i> (2641)
Assessment of Soil Fluorine Pollution in Jinhua Fluorite Ore Areas	YE Qun-feng, ZHOU Xiao-ling (2648)
Response of Straw and Straw Biochar Returning to Soil Carbon Budget and Its Mechanism	HOU Ya-hong, WANG Lei, FU Xiao-hua, <i>et al.</i> (2655)
Changes of Soil Organic Carbon and Its Influencing Factors of Apple Orchards and Black Locusts in the Small Watershed of Loess Plateau, China	LI Ru-jian, WANG Rui, LI Na-na, <i>et al.</i> (2662)
Impacts of Land Use Changes on Soil Light Fraction and Particulate Organic Carbon and Nitrogen in Jinyun Mountain	LEI Li-guo, JIANG Chang-sheng, HAO Qing-ju (2669)
Soil Enzyme Activities and Their Relationships to Environmental Factors in a Typical Oasis in the Upper Reaches of the Tarim River	ZHU Mei-ling, GONG Lu, ZHANG Long-long (2678)
Effects of Different Residue Part Inputs of Corn Straws on CO ₂ Efflux and Microbial Biomass in Clay Loam and Sandy Loam Black Soils	LIU Si-yi, LIANG Ai-zhen, YANG Xue-ming, <i>et al.</i> (2686)
Isolation, Identification of a <i>p</i> - <i>tert</i> -Butylcatechol-Degrading Strains and Optimization for Its Degradation by Response Surface Methodology	HE Qiang-li, LIU Wen-bin, YANG Hai-jun, <i>et al.</i> (2695)
Isolation, Identification and Characteristic Analysis of an Oil-producing <i>Chlorella</i> sp. Tolerant to High-strength Anaerobic Digestion Effluent	YANG Chuang, WANG Wen-guo, MA Dan-wei, <i>et al.</i> (2707)
Coupled Cytotoxicity of C ₆₀ Nano-Crystal Particle with Cu ²⁺ to the Mouse Peritoneal Microphage RAW 264. 7	YU Ye, BIAN Wei-lin, ZHANG Hui-min, <i>et al.</i> (2713)
Simultaneous Analysis of 18 Glucocorticoids in Surface Water	GUO Wen-jing, CHANG Hong, SUN De-zhi, <i>et al.</i> (2719)

《环境科学》第 6 届编辑委员会

主 编：欧阳自远
副主编：赵景柱 郝吉明 田 刚
编 委：（按姓氏笔画排序）

万国江 王华聪 王凯军 王绪绪 田 刚 田 静 史培军
朱永官 刘志培 刘 毅 汤鸿霄 孟 伟 周宗灿 林金明
欧阳自远 赵景柱 姜 林 郝郑平 郝吉明 聂永丰 黄 霞
黄 耀 鲍 强 潘 纲 潘 涛 魏复盛

环 境 科 学

(HUANJING KEXUE)

(月刊 1976 年 8 月创刊)

2015 年 7 月 15 日 第 36 卷 第 7 期

ENVIRONMENTAL SCIENCE

(Monthly Started in 1976)

Vol. 36 No. 7 Jul. 15, 2015

主 管	中国科学院	Superintended	by	Chinese Academy of Sciences
主 办	中国科学院生态环境研究中心	Sponsored	by	Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences
协 办	(以参加先后为序) 北京市环境保护科学研究院 清 华 大 学 环 境 学 院	Co-Sponsored	by	Beijing Municipal Research Institute of Environmental Protection School of Environment, Tsinghua University
主 编	欧 阳 自 远	Editor-in -Chief		OUYANG Zi-yuan
编 辑	《 环 境 科 学 》 编 辑 委 员 会 北京市 2871 信箱 (海淀区双清路 18 号, 邮政编码: 100085) 电话: 010-62941102, 010-62849343 传真: 010-62849343 E-mail: hjkx@ rcees. ac. cn http://www. hjkx. ac. cn	Edited	by	The Editorial Board of Environmental Science (HUANJING KEXUE) P. O. Box 2871, Beijing 100085, China Tel: 010-62941102, 010-62849343; Fax: 010-62849343 E-mail: hjkx@ rcees. ac. cn http://www. hjkx. ac. cn
出 版	科 学 出 版 社 北京东黄城根北街 16 号 邮政编码: 100717	Published	by	Science Press 16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China
印 刷 装 订	北京北林印刷厂	Printed	by	Beijing Bei Lin Printing House
发 行	科 学 出 版 社 电话: 010-64017032 E-mail: journal@ mail. sciencecp. com	Distributed	by	Science Press Tel: 010-64017032 E-mail: journal@ mail. sciencecp. com
订 购 处	全国各地邮电局	Domestic		All Local Post Offices in China
国外总发行	中国国际图书贸易总公司 (北京 399 信箱)	Foreign		China International Book Trading Corporation (Guoji Shudian), P. O. Box 399, Beijing 100044, China

中国标准刊号: ISSN 0250-3301 国内邮发代号: 2-821
CN 11-1895/X

国 内 定 价: 120.00 元 国外发行代号: M 205

国 内 外 公 开 发 行