ISSN 0250-3301 CODEN HCKHDV

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第39卷 第8期

Vol.39 No.8

2018

中国科学院生态环境研究中心 主办

科学出版社 出版

中国期刊方阵 双奖期刊 中华人民共和国新闻出版总署

环境科学
(HUANJING KEXUE)
ENVIRONMENTAL SCIENCE
第 39 卷 第 8 期
2018 年 8 月 15 日

目 次

我国城市 $PM_{2.5}$ 污染的健康风险及经济损失评价 …… 李惠娟,周德群,魏永杰(3467)
冬季电力行业对长江中游城市群空气质量影响 …… 孙晓伟, 郭秀锐, 程水源(3476)
基于区域传输矩阵和 $PM_{2.5}$ 达标约束的大气容量计算方法 …… 李敏辉, 廖程浩, 杨柳林, 曾武涛, 唐喜斌(3485)
利用 SPAMS 研究天津市夏季环境空气中细颗粒物化学组成特征 …… 温杰,史旭荣,田瑛泽,徐娇,史国良,冯银厂(3492)
重庆市北碚城区气溶胶中有机碳和元素碳的污染特征 …… 彭小乐, 郝庆菊, 温天雪, 吉东生, 刘子锐, 王跃思, 陈建博, 江长胜(3502)
杭甬地区大气中含碳气溶胶特征及来源分析 …… 徐宏辉, 徐婧莎, 何俊, 浦静姣, 齐冰, 杜荣光(3511)
城市生活垃圾露天焚烧 $PM_{2.5}$ 及其组分排放特征 …… 王艳, 郝炜伟, 程轲, 支国瑞, 易鹏, 樊静, 张洋(3518)
民用燃煤排放分级颗粒物中碳组分排放因子 …… 杨国威, 孔少飞, 郑淑睿, 吴剑, 郑明明, 郑煌, 严沁, 刘海彪, 王伟, 吴方琪, 程溢(3524)
大连地区夏季非甲烷烃(NMHC)特征及其来源解析 …… 纪德钰(3535)
“十三五”挥发性有机物总量控制情景分析 …… 张嘉妮, 陈小方, 梁小明, 柯云婷, 范丽雅, 叶代启(3544)
浙江省包装印刷行业挥发性有机物排放特征及排放系数 …… 王家德, 吕建璋, 李文娟, 顾震宇, 缪孝平(3552)
有机溶剂使用企业挥发性恶臭有机物排放特征及特征物质识别 …… 翟增秀, 孟洁, 王亘, 翟友存, 曹阳, 邹克华(3557)
基于 MODIS_C006 的乌鲁木齐 10 年气溶胶光学厚度变化特征 …… 胡俊, 亢燕铭, 陈勇航, 刘鑫, 李霞, 刘琼(3563)
基于路网车流量的北京城市副中心机动车污染控制情景 …… 樊守彬, 郭津津, 李雪峰(3571)
北京典型跑步区域空气污染特征及跑步者呼吸暴露 …… 陶双成, 高硕晗, 熊新竹, 姚嘉林, 邓顺熙(3580)
丹江口水库调水前后表层沉积物营养盐和重金属时空变化 …… 李冰,王亚,郑钊,许信,辛英督,黄进,郭诗君,毕升阁,胡兰群,陈兆进,李玉英(3591)
太湖北部湖区春、冬季节天然有机质的荧光特征及环境意义 …… 吕伟伟, 姚昕, 张保华(3601)
太湖重点区域水环境中邻苯二甲酸酯的污染水平及生态风险评价 … 朱冰清, 高占啟, 胡冠九, 王骏飞, 于南洋, 韦斯(3614)
台风强降雨输入水源水库悬浮泥沙的氮磷吸附特性 …… 姚玲爱, 赵学敏, 马千里, 梁荣昌, 夏北成, 卓琼芳(3622)
珠江三角洲高砷地下水赋存环境特征及成因分析 …… 张昌延, 何江涛, 张小文, 倪泽华(3631)
有机污染物对杭州湾海域浮游细菌群落的影响 …… 宣丽霞, 戴文芳, 郁维娜, 周素明, 欧昌荣, 熊金波(3640)
澜沧江流域浮游细菌群落结构特征及驱动因子分析 …… 程豹, 望雪, 徐雅倩, 杨正健, 刘德富, 马骏(3649)
碧流河水库细菌群落结构特征及其关键驱动因子 …… 王欢, 赵文, 谢在刚, 魏杰, 姜洋(3660)
浑河底泥反硝化厌氧甲烷氧化菌群落多样性的时空分布特征及其与环境因子关系分析 …… 张亚迪, 宋永会, 彭剑峰, 张剑桥, 张盼月, 刘瑞霞, 石国强(3670)
人类活动对河流沉积物中反硝化厌氧甲烷氧化菌群落特征的影响 …… 刘洋, 陈永娟, 王晓燕, 许康利(3677)
外源氮输入对不同土地利用排水沟底泥反硝化和 N_2O 排放影响 …… 佘冬立, 陈心逸, 高雪梅, 张文娟, 夏永秋(3689)
雨水管道沉积物沉淀特性及主要污染物含量分布 …… 尚宇, 周毅, 廖安意, 方正(3696)
水体中Cr(Ⅵ)对不同混凝剂混凝过程的影响 …… 高倩, 张大为, 徐慧, 徐建坤, 张崇淼, 王东升(3704)
$Co_3O_4/BiVO_4$ 复合阳极活化过一硫酸盐强化光电催化降解双酚 A …… 李蒋, 王雁, 张秀芳, 赵旭(3713)
海藻酸钙/生物炭复合材料的制备及其对Pb(Ⅱ)的吸附性能和机制 …… 于长江, 董心雨, 王苗, 林强(3719)
磁性生物炭对水中 CIP 和 OFL 的吸附行为和机制 …… 赵华轩, 郎印海(3729)
污水中新精神活性物质的分析方法优化及验证 …… 陈培培, 杜鹏, 周子雷, 徐泽琼, 高婷婷, 李喜青(3736)
臭氧-CNT 膜改性联用工艺对 PVDF 中空纤维膜污染进程的缓解 …… 关羽琪, 王凯伦, 祝学东, 董丹, 薛小雷, 马艳林, 栾桂荣, 郭瑾(3744)
阴离子交换树脂生物再生去除硝酸盐氮 …… 叶婷, 张光, 王珂, 双陈冬, 李爱民(3753)
普鲁士蓝@酵母菌催化剂的合成及其 Fenton 性能 …… 陈思, 白波, 王洪伦, 索有瑞(3759)
PN/A 双菌层系统的构建及其脱氮性能 …… 许静怡, 杜俊, 杨一烽, 吕锋, 夏四清(3767)
苯酚对 EBPR 系统除磷性能的抑制作用 …… 马娟, 王谨, 俞小军, 周猛, 李光银, 孙洪伟(3775)
反硝化-短程硝化-厌氧氨氧化工艺处理晚期垃圾渗滤液的脱氮除碳性能 …… 王凡, 陆明羽, 殷记强, 李祥, 黄勇(3782)
好/厌氧条件下反硝化细菌脱氮特性与功能基因 … 康鹏亮, 陈胜男, 黄廷林, 张海涵, 商潘路, 钊珍芳, 王跃, 谭欣林(3789)
苯并[a]芘厌氧降解的苯酚共基质协同作用与污泥微生物特性 …… 吴海珍, 胡肖怡, 王鸣, 韦景悦, 范一文, 韦朝海, 钟练文, 彭亚环(3797)
污泥超高温堆肥过程中 DOM 结构的光谱分析 …… 刘晓明, 余震, 周普雄, 罗海林, 王跃强, 廖汉鹏, 周顺桂(3807)
生物炭对华北农田土壤 N_2O 通量及相关功能基因丰度的影响 …… 刘杏认, 赵光昕, 张晴雯, 田秀平(3816)
设施菜田土壤 N_2O 产生对 O_2 的响应 …… 陈吉吉, 宋贺, 曹文超, 王乙然, 王敬国(3826)
利用 μ-XRF 和 XANES 研究铅锌矿区土壤铅形态及其生物有效性 …… 孙晓艳, 柳检, 罗立强(3835)
南京市铅锌矿采矿场土壤重金属污染评价及优势植物重金属富集特征 …… 李俊凯, 张丹, 周培, 刘群录(3845)
Fe-Al 改性硅藻土的制备及其对土壤 Cd 污染固定化效果 …… 杨雨中, 朱健, 肖媛媛, 谭蓉, 王平, 陈润华, 徐海音, 杨雄(3854)
基于稳定碳同位素技术的干旱区绿洲土壤有机碳向无机碳的转移 …… 李杨梅, 贡璐, 安申群, 孙力, 陈新(3867)
生境过滤驱动庞泉沟华北落叶松林土壤真菌群落的构建过程 …… 赵鹏宇, 李毳, 柴宝峰(3876)
转 *cry1Ab* 和 *epsps* 基因玉米 C0030.3.5 对土壤固氮细菌丰度和群落结构的影响 …… 王蕊, 朱珂, 李刚, 刘惠芬, 王晶, 修伟明, 赵建宁, 杨殿林(3885)
脱硫石膏对稻田 CH_4 释放及其功能微生物种群的影响 …… 胡翔宇, 向秋洁, 木志坚(3894)
长期施肥对不同深度稻田土壤碳氮水解酶活性的影响特征 …… 杜林森, 唐美铃, 祝贞科, 魏亮, 魏晓梦, 周萍, 葛体达, 王久荣, 邹冬生, 吴金水(3901)
黄河口滨岸潮滩湿地泥沙沉积及外源镉 Cd 输入对碱蓬物质量分配及抗氧化酶活性的影响 …… 宋红丽, 王立志, 郁万妮, 吴希媛(3910)
黄河下游开封段引黄灌区小麦中重金属污染特征及健康风险评价 …… 康国华, 张鹏岩, 李颜颜, 杨丹, 庞博, 何坚坚, 闫宇航(3917)
氧化石墨烯对邻苯二甲酸二丁酯藻毒性的影响 …… 涂海峰, 刘成, 王宇擎, 储祺, 侯晓冬, 李锋民(3927)
有机物对厌氧氨氧化微生物燃料电池脱氮产电性能的影响 …… 祖波, 马兰, 刘波, 卢培利, 许君(3937)
中国氢燃料电池车燃料生命周期的化石能源消耗和 CO_2 排放 …… 林婷, 吴烨, 何晓旖, 张少君, 郝吉明(3946)
气溶胶水相反应生成二次有机气溶胶研究进展 …… 叶招莲, 瞿珍秀, 马帅帅, 盖鑫磊(3954)
《环境科学》征订启事(3543) 《环境科学》征稿简则(3570) 信息(3600, 3728, 3844)

氧化石墨烯对邻苯二甲酸二丁酯藻毒性的影响

涂海峰[1], 刘成[1], 王宇擎[1], 储祺[1], 侯晓冬[2], 李锋民[1*]

(1. 中国海洋大学环境科学与工程学院, 海洋生态与环境教育部重点实验室, 青岛 266100; 2. 中国科学院地球化学研究所, 贵州 550002)

摘要: 以海洋微藻青岛大扁藻(*Platymonas helgolanidica* var. *tingtaoensis*)为受试对象, 研究了氧化石墨烯(graphene oxide, GO)与邻苯二甲酸二丁酯(dibutyl phthalate, DBP)单独及共同对青岛大扁藻的急性毒性效应, 考察了藻细胞的生长状况, 光合色素产量, 细胞通透性, 氧化应激指标及扫描电镜, 以探讨 GO 的加入对 DBP 藻毒性的影响. 结果表明, 低浓度 GO(0.1 ~ 10 mg·L^{-1})对青岛大扁藻的藻密度和叶绿素产量无明显影响, 但藻细胞通透性随 GO 浓度升高显著增加($P < 0.05$), 10 mg·L^{-1}时达到空白组的 2.2 倍. DBP 对青岛大扁藻的 $EC_{50,96\ h}$为(11.14 ± 0.80) mg·L^{-1}, 其毒性远大于 GO($EC_{50,96\ h}$大于 100 mg·L^{-1}). 1 mg·L^{-1}GO 的加入使 DBP 的 $EC_{50,96\ h}$降低到(4.93 ± 2.14) mg·L^{-1}, 低浓度 GO 对 DBP 藻毒性表现出一定的增强作用. 1 mg·L^{-1}的 GO 加入时, 对低浓度 DBP 组(0.1 ~ 2 mg·L^{-1})的藻密度、叶绿素产量、细胞通透性水平没有显著性影响, 但加剧了高浓度 DBP 组(4 mg·L^{-1})对藻密度、叶绿素产量的抑制, 使单个藻细胞内 ROS 和 SOD 平均增加了 21% 和 7%. 扫描电镜结果发现 GO 对藻细胞具有覆盖, 包裹及聚集作用, 这些可能是 DBP 藻毒性增强的主要原因. 该结果为揭示新型污染物碳纳米材料对海洋生物的风险提供了数据支持.

关键词: 氧化石墨烯; 邻苯二甲酸二丁酯; 藻毒性; 青岛大扁藻; 细胞通透性

中图分类号: X171.5 **文献标识码**: A **文章编号**: 0250-3301(2018)08-3927-10 **DOI**: 10.13227/j.hjkx.201711228

Effect of Graphene Oxide on Algal Toxicity of Dibutyl Phthalate

TU Hai-feng[1], LIU Cheng[1], WANG Yu-qing[1], CHU Qi[1], HOU Xiao-dong[2], LI Feng-min[1*]

(1. Key Laboratory of Marine Ecology and Environment, College of Environmental Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266100, China; 2. Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Sciences, Guizhou 550002, China)

Abstract: Marine microalgae, *Platymonas helgolondica* var. *tsingtaoensis*, were used as experimental subjects to study the acute toxic effects of graphene oxide (GO) and dibutyl phthalate (DBP), both individually and together. The growth of algae cells, production of photosynthetic pigments, cell permeability, and oxidative stress were investigated. The effects of GO on the algal toxicity of DBP were evaluated. The results showed that low concentrations of GO (0.1-10 mg·L^{-1}) had no significant effect on algae density and chlorophyll production of *Platymonas helgolondica* var. *tsingtaoensis* ($P < 0.05$). However, the algae cell permeability increased significantly with GO concentration ($P < 0.05$) and reached 2.2 times that of the control group at 10 mg·L^{-1}. The $EC_{50,96\ h}$ value of DBP for *Platymonas helgolondica* var. *tsingtaoensis* was (11.14 ± 0.80) mg·L^{-1}, which, in terms of toxicity, was much higher than that of GO ($EC_{50,96\ h}$ > 100 mg·L^{-1}). At a GO concentration of 1 mg·L^{-1}, the $EC_{50,96\ h}$ value of DBP decreased to (4.93 ± 2.14) mg·L^{-1}, showing that low concentrations of GO enhanced the algae toxicity of DBP. When 1 mg·L^{-1} of GO was added, low concentrations of DBP (0.1-2 mg·L^{-1}) did not have any significant effect on algae density, chlorophyll production, cell permeability, ROS, and SOD. However, the inhibitory effects of high concentrations of DPB (4 mg·L^{-1}) on algae density and chlorophyll production were enhanced by GO, thereby increasing the average ROS and SOD in algae cells by 21% and 7%, respectively. SEM images showed that GO was the primary factor responsible for increasing the coverage and packing of, and the aggregation effect on, algae cells, which could be the reasons for the increased toxicity of DBP. The results of our study can provide data to reveal the risk of novel carbon nanomaterial pollutants to marine organisms.

Key words: graphene oxide; dibutyl phthalate; algal toxicity; *Platymonas helgolanidica* var. *tsingtaoensis*; cell permeability

邻苯二甲酸酯类(phthalate esters, PAEs)在日常及工业上被广泛使用, 其中邻苯二甲酸二(2-乙基已基)酯(DEHP)的用量最大, 其次是邻苯二甲酸二丁酯(DBP). DBP 作为环境激素的一种, 对生物生存、生态平衡以及人体健康有着巨大的威胁. 有研究表明其对水体中藻类(短凯伦藻、短裸甲藻、杜氏盐藻、角毛藻等)有较强的毒性[1~3].

氧化石墨烯(graphene oxide, GO)因其独特的机械、电学、光学及热性能等性质被广泛用于各个领域. 一些研究表明, GO 进入环境接触生物时, 在基因、细胞、器官、个体尺度上会表现出一定的负

收稿日期: 2017-11-25; **修订日期**: 2018-01-29

基金项目: 国家自然科学基金项目(51378480); 国家自然科学基金委-山东省联合基金项目(U1606404); 国家高技术研究发展规划(973)项目(2015CB453301)

作者简介: 涂海峰(1993 ~), 男, 硕士研究生, 主要研究方向为海洋生态污染, E-mail: 18355318823@163.com

* 通信作者, E-mail: lifengmin@ouc.edu.cn

面影响，毒性机制受尺寸、受试生物种类、部位等因素的影响. GO 相关纳米材料在一定条件下有一定的细胞毒性，能改变基因表达，介导 DNA 损伤，影响细胞周期和代谢[4,5]，导致氧化应激[5~8]、细胞凋亡[5,7]、免疫毒性[8]、抗菌性[9,10]、藻抑制性[11,12]、遗传毒性[13]等. 也有一些研究表明，GO 对一些生物没有表现出毒性效应或毒性很小. 一定浓度的 GO 对斑马鱼个体没有明显的急性毒性[8]，对人红细胞和皮肤成纤维细胞[14]、Hela 细胞[15]、A549 细胞表现较低的毒性作用[16]. 环境中 GO 与污染物的接触过程复杂，对生物体的共同作用不能轻视. 研究显示，HA 的存在抑制了 GO 或 rGO 对 PAEs 的吸附，增强解吸附作用，意味着 GO 能通过吸附环境中的污染物释放到生物体内[17]；GO 减少了 PCB-52 对 human-hamster hybrid AL 细胞的生长毒性和基因毒性等[18]；在 GO 与 Cu^{2+} 的联合毒性实验中，因 GO 的吸附作用减少大型溞体内 Cu^{2+} 的富集量，从而减缓 Cu^{2+} 对大型溞的毒性[19].

新型纳米材料类污染物进入海洋环境后，与原本存在的传统有机污染物共同作用于海洋生物，对海洋生态造成潜在危害. GO 与污染物对水生生物的联合毒性效应现象多样，机制尚不明确. 青岛大扁藻系单细胞海洋微藻，海洋中分布广泛，易被海产珍品幼体摄食，在海洋生态环境评价中具有代表性和易操作性. 本实验以青岛大扁藻为研究对象，结合藻细胞生长状况、光能利用、细胞通透性、以及氧化胁迫指标，分析低浓度 GO 存在时对 DBP 藻毒性的影响，以揭示 GO 存在对海洋生物的风险.

1 材料与方法

1.1 实验材料

青岛大扁藻（*Platymonas helgolanidica var. tingtaoensis*）购自中科院海洋所藻种库. 藻种培养：采用 f/2 培养基于人工智能光照培养箱（GXZ-500Z 江南仪器公司，宁波）中培养. 培养条件为：光暗比为 14 h∶10 h，昼夜温度比为 24℃∶22℃，白天光照强度为6 000 lx，每天摇晃藻液 2 次，正式实验前藻液预培养至对数生长期. 纳米材料：高纯度试剂级氧化石墨烯粉末（JCGO-99-1-2）购自南京吉仓纳米科技有限公司.

1.2 实验方法

1.2.1 氧化石墨烯分散液

分析天平称取 0.005 g 氧化石墨烯粉末于 100 mL 容量瓶，用灭菌海水配置的培养液定容，振荡混匀，配置50 mg·L^{-1}的 GO 母液. 将母液冰水浴超声 40 min 后，慢速磁力搅拌 2 h，放置4℃冰箱黑暗条件保存待用. 使用前需再超声分散 30 ~ 40 min，以保证充分分散，并置于紫外灯下灭菌 30 min.

1.2.2 各毒性指标的测定

（1）藻密度的测定 用血球计数板在普通光学显微镜下计数，每个实验样品计数 3 次取平均值.

（2）叶绿素 a 的测定 取 4 mL 藻液于 5 mL 的离心管中，离心（7500*g*，10 min，10℃），去上清液，重复 1 ~ 3 次. 然后向藻泥中加入 4 mL 95% 乙醇，置于黑暗条件下提取 18 ~ 24 h，测量 665 nm 和 649 nm 波长下吸光度值（D_{665} 和 D_{649}），用公式计算叶绿素 a、叶绿素 b 的浓度（C_{Chla} 和 C_{Chlb}），叶绿素 a 与叶绿素 b 的加和作为总叶绿素含量，单位：mg·L^{-1}.

$$C_{Chla} = 13.95D_{665} - 6.88D_{649}$$

$$C_{Chlb} = 24.96D_{649} - 7.32D_{665}$$

（3）细胞通透性的测量方法 乙二酸荧光素（FDA）是一种非极性非荧光的酯化有机物，可以穿过细胞膜，自由进入细胞. 通过 FDA 可以在活细胞中酯酶的作用下分解释放出荧光素的特性，可以利用其荧光强度间接反映细胞膜的通透性[20]. 具体实验操作：取 4 mL 藻液于 10 mL 的离心管中，离心（7500*g*，10min，15℃），去上清液，重复 1 ~ 3 次得到藻泥，向藻泥中加入 FDA 0.7 mL，黑暗条件下培养 20 min，每隔 3 ~ 5min 摇动一次. 充分反应后用磷酸盐缓冲溶液（PBS，pH = 7.0）清洗多余 FDA，重复 1 ~ 3 次，定容到 10 mL，用分子荧光光度计（激发波长 485 nm，发射波长 521 nm）测荧光强度.

（4）SOD、ROS 的测定方法 取 4 mL 藻液于 5 mL 离心管中，离心（7500*g*，5 min，4℃），去上清液，重复 1 ~ 3 次得到藻泥，向藻泥中入加 PBS 至 1 mL，在超声波细胞破碎仪中冰水浴超声破碎（5 min，间隔 30 s），得到粗酶液. 然后严格按照 SOD、ROS 试剂盒（南京建成）说明书进行操作，测得 SOD、ROS 值.

1.2.3 GO 暴露对青岛大扁藻的影响

将青岛大扁藻藻液按每瓶 100 mL 分装到 200 mL 锥形瓶中. 置于光照培养箱中适应 24 h，后进行暴露实验. GO 浓度设置：0、0.1、0.2、0.5、1.0、2.0、5.0、10.0 mg·L^{-1}，每组浓度设 3 个平行，然后分别在 0、24、48、72、96 h 测定藻液的藻密度、叶绿素含量和细胞通透性.

1.2.4　GO 对 DBP 藻毒性的影响

将青岛大扁藻藻液按每瓶 100 mL 分装到 200 mL 锥形瓶中. 置于光照培养箱中适应 24 h, 后开始暴露实验. DBP 浓度设置:0.1、0.5、1.0、2.0、4.0 mg·L^{-1}, GO 根据单独暴露实验结果选择 1 mg·L^{-1}作为联合暴露实验浓度, 每个浓度设定 DBP 单独组和 GO 添加组, 分别表示为 D0.1、D0.5、D1.0、D2.0、D4.0 和 GD0.1、GD0.5、GD1.0、GD2.0、GD4.0, 每组设 3 个平行. 然后分别在 0、24、48、72、96 h 测定藻液的藻密度、叶绿素含量、细胞通透性、ROS 和 SOD.

1.2.5　青岛大扁藻的扫描电镜(SEM)

将污染物暴露 96 h 后的青岛大扁藻样品, 取 10 mL 离心分离(9000*g*, 10 min, 4℃), 抽滤, 经冷冻干燥后, 用扫描电镜检测(JSM-6390LV, JEOL, Japan).

1.3　分析方法

青岛大扁藻生长抑制率 IR 按公式计算,

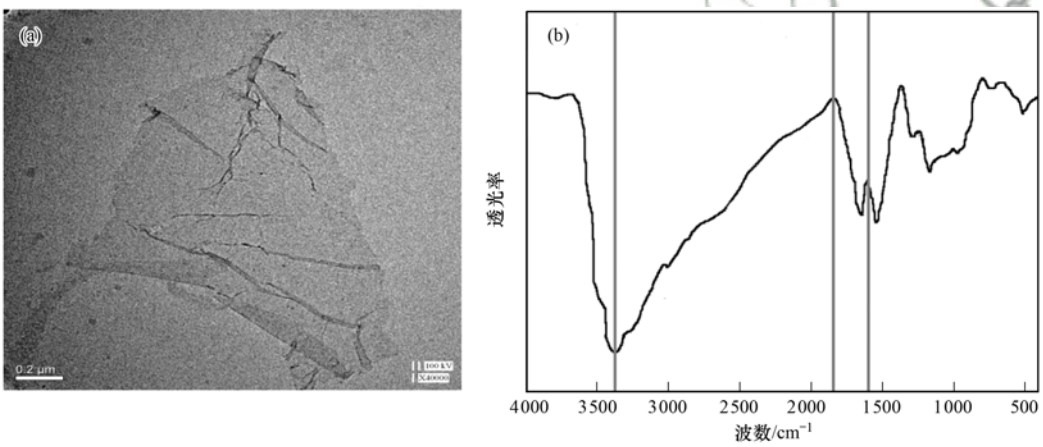
$$IR = [1 - (N_x/N_0)] \times 100\%$$

式中, N_x 是观测时实验组的藻密度, cell·L^{-1}; N_0 为观测时对照组的藻密度, cell·L^{-1}. 利用 Origin 9.1 和 SPSS 19.0 软件进行数据分析和方差分析(ANOVA).

2　结果与讨论

2.1　GO 的表征

其 TEM 和 FTIR 表征如图 1. 从氧化石墨烯的 TEM 结果可以看出, 本实验所用的 GO 是一类只有一个维度在纳米级的纳米材料, 其大小尺寸为 1 ~ 5 μm, 厚度为 0.8 ~ 1.2 nm. 氧化石墨烯的红外曲线出现了大量含氧官能团的特征峰, 如 1717 cm^{-1}处出现羧基(C ═O)的特征峰, 3 404 cm^{-1}处特征峰代表着羟基(—OH)的伸缩振动, 1 587 cm^{-1}处特征峰代表着羟基的弯曲振动, 表明本实验所用氧化石墨烯中氧化基团主要是羟基和水分子.



(a)GO 分散液的透射电镜图, (b)氧化石墨烯粉末的 FTIR 图

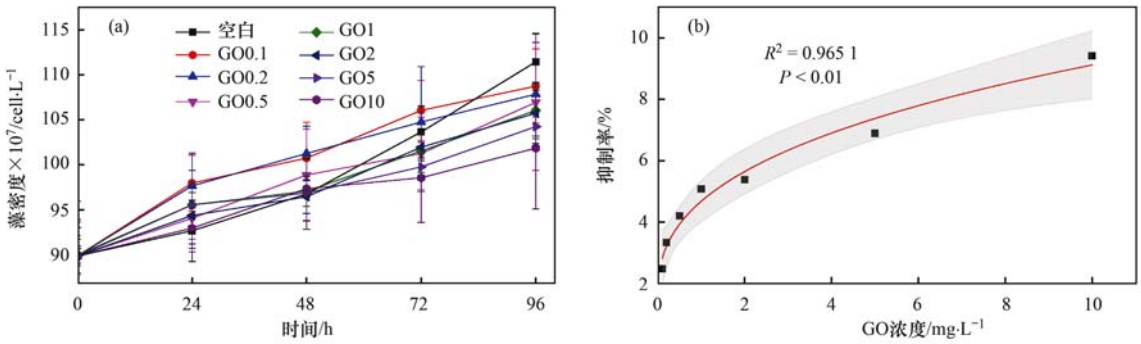
图 1　GO 材料的表征

Fig. 1　Characterization of GO

2.2　GO 对青岛大扁藻的单独毒性

2.2.1　GO 对青岛大扁藻藻密度的影响

图 2 中显示了青岛大扁藻在 0.1 ~ 10 mg·L^{-1} GO 的单独作用下的 0 ~ 96 h 藻密度变化曲线以及 96 h EC_{50}的拟合评估. GO 对青岛大扁藻的生长在 72 h 前表现出略微的刺激作用, 藻密度高于空白组, 整个暴露过程对青岛大扁藻生长没有表现出明显的抑制作用. 96 h 剂量-抑制率图显示 0.1 ~ 10 mg·L^{-1}GO 对青岛大扁藻的藻密度的抑制率均低于 10%, $EC_{50,96\ h}$ > 100 mg·L^{-1} (R^2 = 0.965, P < 0.01), 说明 GO 对青岛大扁藻毒性很小. 之前的研究表明, 石墨烯对斜生栅藻(*Scenedesmus obliquus*)的 72 h IC_{50}为 150 mg·L^{-1}左右, 其所用的石墨烯与本实验使用的 GO 尺寸相近, 结果也相近, 10 mg·L^{-1}时对藻的生长抑制低于 10%[21]. GO 对羊角月牙藻(*Raphidocelis subcapitata*)的 96 h EC_{50}为 20 mg·L^{-1}, 其平均尺寸大小(粒径 120 ~ 200 nm, 厚 3.5 nm)比本实验所用的 GO(粒径 1 ~ 5 μm, 厚 0.8 ~ 1.2 nm)小得多, 表现出的毒性比青岛大扁藻大[22]. 与 Tang 等[23]的研究结果相近, 其研究表明 10 mg·L^{-1}以下 GO(粒径 588 nm)对铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)的生长没有抑制作用, 但两者作用机制是否相同仍需进一步研究. 本实验表明在 96 h 内没有观察到明显的生长抑制, Hu 等[12]的研究显示 GO(粒径 1 ~ 5 μm, 厚 0.8 ~ 1 nm)对小球藻(*Chlorella vulgaris*)的生长抑制出现在 144 h.



(a) 0~96 h 各组藻细胞生长情况；(b)GO 暴露 96 h 的抑制率-浓度曲线；红线为拟合曲线，灰色部分为 95% 置信区间

图 2 GO 对青岛大扁藻的生长抑制作用

Fig. 2 Effect of GO on the cell density and growth inhibition in algae

2.2.2 GO 对青岛大扁藻叶绿素产量的影响

光合色素是客观反映藻类利用光照能力的一类重要物质，藻类的光合色素会随着环境的改变和生长发育阶段的不同而发生变化，其含量的高低可以表征藻类的存活情况和生物量的大小. 图 3 显示了 0~96 h 青岛大扁藻在 GO 暴露组和空白组叶绿素 a、叶绿素 b、总叶绿素的含量变化情况，以及 96 h 不同浓度 GO 暴露组相对空白组的叶绿素 a 含量水平. 图 3(a)~3(c)显示了叶绿素 a、叶绿素 b、总叶绿素含量与藻的生长状况一致，整个暴露过程，叶绿素 a、叶绿素 b、总叶绿素的含量相比空白组没有明显差异. 图 3(d)可以看到 96 h GO 的暴露对叶绿素 a 的含量有略微的抑制，抑制率在 10% 以内，但是相对于空白组没有显著的差异. 与 Tang 等[23]的研究结果相似，其结果表明 GO 浓度在低于 10 mg·L^{-1}时对铜绿微囊藻的光合作用参数(电子产率，叶绿素 a 产量，光合作用效率，最大电子转移量)没有显著性影响. 向昆仑等[24]研究了高毒性污染物双酚 A 对青岛大扁藻的影响，发现双酚 A 能明显抑制青岛大扁藻的光合色素产量. 这说明 0.1~10 mg·L^{-1}GO 对青岛大扁藻的光合作用没有明显影响，也反映了 GO

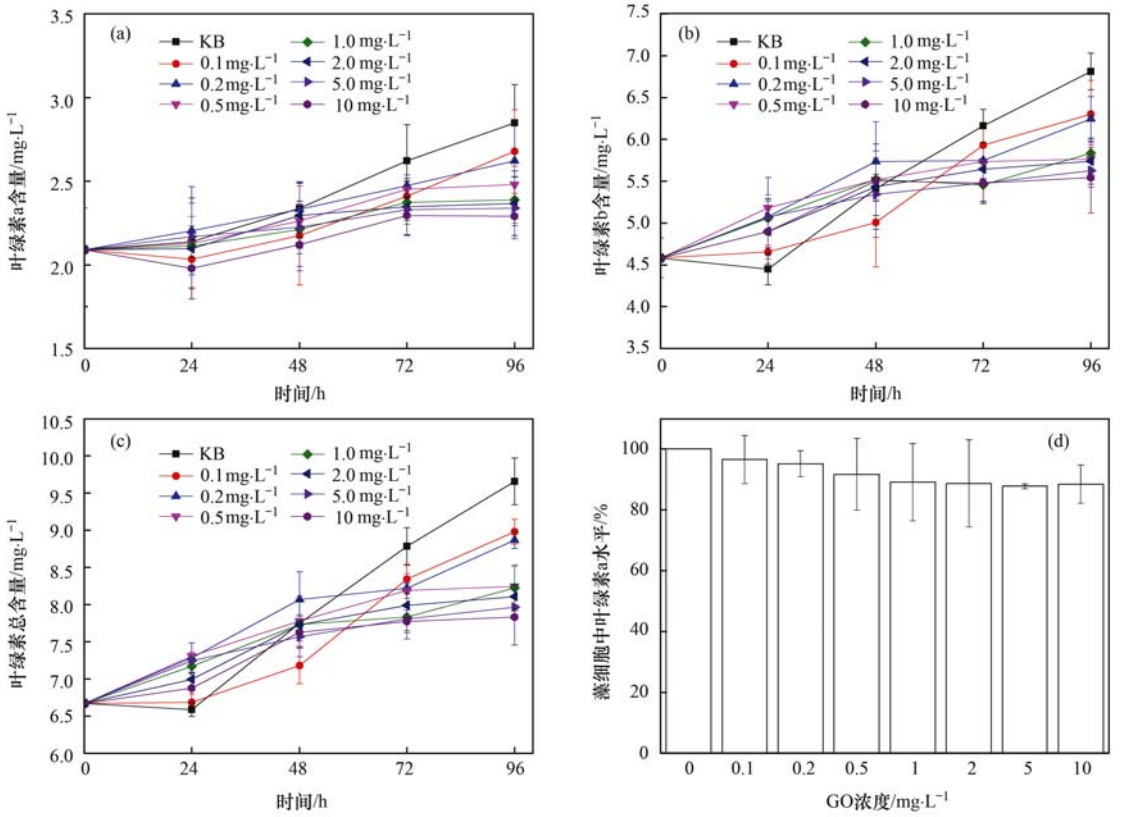


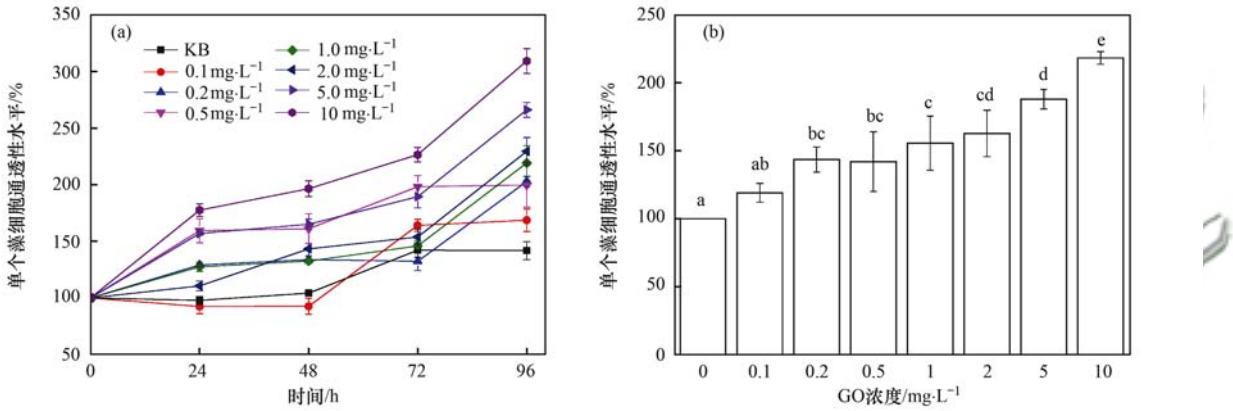
图 3 GO 对青岛大扁藻光合色素的影响

Fig. 3 Effect of GO on the photosynthetic pigments of algae

对青岛大扁藻的低毒性.

2.2.3　GO 对青岛大扁藻细胞通透性的影响

GO 作为一种 2D 材料，多项研究发现其独特的片层结构可能对细胞膜造成物理性的割伤、刺破等损害，导致细胞通透性改变. 实验中的细胞通透性在一定程度上可以反映细胞膜的完整性，为消除细胞密度变化的影响，以 FDA 法实测荧光强度与藻细胞数的比值作为单个细胞通透性水平. 图 4 显示了 0 ~ 96 h 在 GO 暴露的情况下单个藻细胞通透性水平(初始空白组为 1)的变化情况以及 96 h 单个藻细胞通透性水平(空白组为 1)随 GO 浓度的变化. 图 4(a)中 GO 暴露组藻细胞通透性水平随时间呈现升高的趋势，空白组变化不明显，5 $mg\cdot L^{-1}$ 和 10 $mg\cdot L^{-1}$ GO 暴露组藻细胞通透性一直保持较高水平，最高时分别达到初始空白组的 2.6 和 3.2 倍，说明 GO 的暴露造成青岛大扁藻细胞通透性改变，且时间越长，影响越大. 图 4(b)中显示了 96 h 不同浓度 GO 暴露单个藻细胞通透性水平随浓度的增加显著升高($P < 0.05$)，0.1 ~ 10 $mg\cdot L^{-1}$ 分别增加到空白组的 1.2 ~ 2.2 倍. GO(厚度约为 0.8 ~ 1 nm)的锋利边缘结构在与细胞的相互接触过程中，会直接对细胞产生一定的物理性损伤(划破细胞壁，刺穿细胞膜等)，影响细胞通透性[9]. GO 浓度越高，在培养体系中与藻细胞接触的概率越大，培养过程中摇晃混匀也可能对此造成影响. Ouyang 等[20]的研究也发现 1 和 10 $mg\cdot L^{-1}$ 的片状 GO(粒径 1 ~ 5 μm，厚 0.8 ~ 1 nm)和 0.01 ~ 10 $mg\cdot L^{-1}$ 的量子点 GO (粒径 20 ~ 50 nm，厚 4.8 ~ 5.2 nm)暴露后显著改变了小球藻细胞通透性. 细胞表面物理损伤是导致藻密度和叶绿素产量略微抑制的主要原因，但低浓度 GO 引起的物理性损伤对藻种群的生长没有明显的影响.



(a)单个藻细胞细胞通透性水平相对于空白组 0 ~ 96 h 变化情况；(b)96 h 时不同浓度 GO 组藻细胞通透性水平比较；不同小写字母表示各组间的差异，$P < 0.05$

图 4　GO 对青岛大扁藻细胞通透性的影响

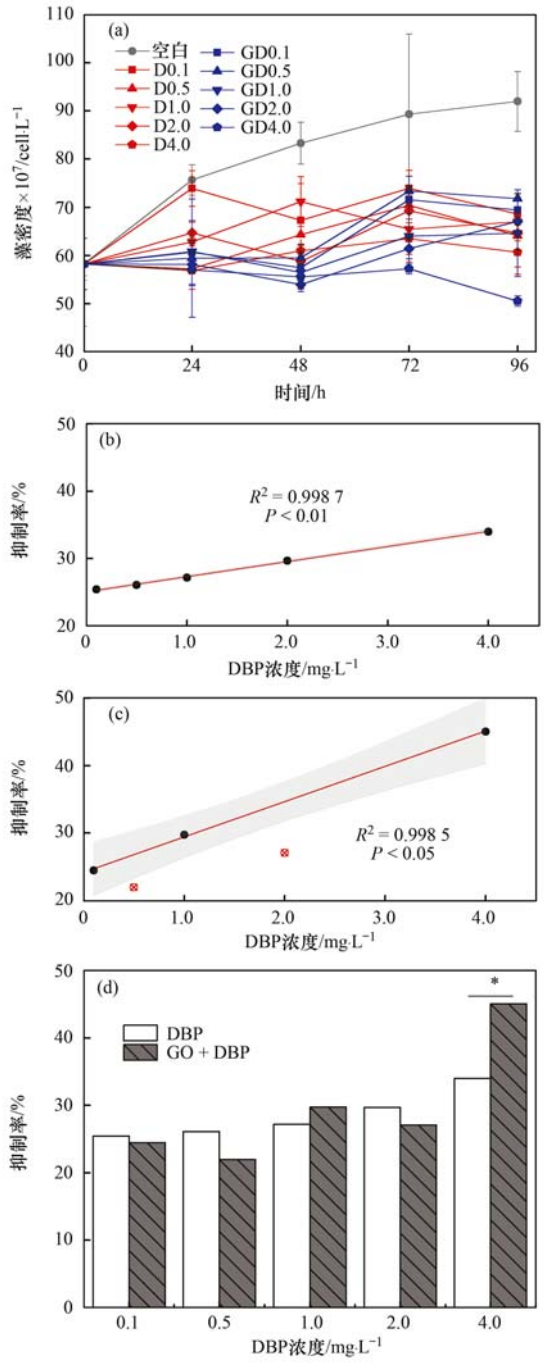
Fig. 4　Effect of GO on the cell permeability in algae cell

2.3　GO 对 DBP 藻毒性的影响

2.3.1　对青岛大扁藻生长抑制的影响

GO 单独暴露的实验表明 0.1 ~ 10 $mg\cdot L^{-1}$ GO 对青岛大扁藻的生长无明显影响，本实验选择 1 $mg\cdot L^{-1}$ 的 GO 与不同浓度的 DBP 联合暴露，以观察低浓度 GO 的加入对 DBP 藻毒性的影响. 如图 5 所示，显示了 DBP 单独及与 1 $mg\cdot L^{-1}$ GO 同时存在时，青岛大扁藻 0 ~ 96 h 藻密度变化情况以及 DBP 浓度变化对藻生长抑制作用的影响. 图 5(a)可以看出 DBP 单独及与 1 $mg\cdot L^{-1}$ GO 同时存在时，相比于空白组，青岛大扁藻在 0 ~ 96 h 藻密度受到明显抑制，DBP 对青岛大扁藻表现出较高的毒性作用. 图 5(b)中拟合了 96 h DBP 的浓度-抑制率曲线，得到 DBP 对青岛大扁藻的 EC_{50} 为(11.14 ± 0.80) $mg\cdot L^{-1}$. 不同的藻类对 DBP 的耐受程度不同，文献中显示 DBP 对淡水藻斜生栅藻和小球藻的 96h EC_{50} 分别为 15.3 $mg\cdot L^{-1}$ 和 3.14 $mg\cdot L^{-1}$[25]. 对比 96 h DBP 单独及与 1 $mg\cdot L^{-1}$ GO 同时存在的抑制率[图 5(c)]，发现在低浓度 DBP(0.2 ~ 2 $mg\cdot L^{-1}$)组，1 $mg\cdot L^{-1}$ GO 的加入对青岛大扁藻的生长抑制作用没有明显的差异，在高浓度 DBP(4 $mg\cdot L^{-1}$)组，1 $mg\cdot L^{-1}$ GO 的加入对藻的 96 h 生长抑制作用有显著的增强作用($P < 0.05$)，抑制率从 34% 增加到 45%. 1 $mg\cdot L^{-1}$ GO 的加入使 DBP 的 96h EC_{50} 从(11.14 ± 0.80) $mg\cdot L^{-1}$ 下降到(4.93 ± 2.14) $mg\cdot L^{-1}$，Tang 等[23]在研究 GO 和 Cd 联合下对铜绿微囊藻的毒性效应时，发现低浓度(1 $mg\cdot L^{-1}$) GO 作用下没有表现出毒性效应，但是

GO 的存在加剧了 Cd 的毒性. Yu 等[26]的研究表明, GO 的细胞毒性除了传统的物理损伤和氧化应激等, 还可能是由于 GO 中的含氧官能团与铁结合导致含铁代谢受阻而引起抑制, 可以通过测量培养体系中的 Fe 含量研究此过程.



(a)为 0 ~ 96 h 各组藻密度的变化情况; (b)、(c)分别为 96 h DBP 与 GO + DBP 组藻密度的抑制率-浓度曲线(红线为拟合线, 灰色部分为 95% 置信区间); (d)为 96 h DBP 与 GO + DBP 组藻抑制率对比(空白组为 1), * 表示显著差异, $P < 0.05$, 下同

图 5 有无 GO 添加时 DBP 对青岛大扁藻密度的影响

Fig. 5 Effect of DBP, with and without the addition of GO, on algae density

2.3.2 对青岛大扁藻叶绿素产量的影响

图 6 中显示了计算得到的 DBP 单独及与 1 mg·L^{-1} GO 同时存在时, 培养体系中藻细胞产生叶绿素 a, 叶绿素 b 和总叶绿素含量的变化情况, 以及 96 h 不同浓度 DBP 有无 GO 加入相对于空白组单个藻细胞叶绿素 a 水平对比. 图 6(a) ~ 6(c)可以看出, DBP 组和 GO + DBP 组藻细胞中叶绿素 a、叶绿素 b 和总叶绿素含量要明显少于空白组, 且其变化趋势与藻密度一致. 对比 GO 组与 GO + DBP 组 0 ~ 96 h 藻细胞中叶绿素 a、叶绿素 b 和总叶绿素含量, 没有显著性差异. 图 6(d)中显示了各组 96 h 单个藻细胞叶绿素含量水平随 DBP 浓度变化情况(空白组为 1), DBP 浓度在 0.1 ~ 4 mg·L^{-1}时, 均表现出对叶绿素 a 无差异的高抑制性, 除了 4 mg·L^{-1} DBP 组, 其抑制率为 21.48%. 0.1 ~ 2 mg·L^{-1} DBP 组对藻叶绿素 a 含量的抑制率分别为 85.15%、75.65%、76.79%、66.71%, 平均抑制率为 76.08%. 0.1 ~ 4 mg·L^{-1} GO + DBP 组对藻叶绿素 a 含量的抑制率分别为 72.4%、82.24%、56.29%、68.03%、63.35%, 平均抑制率为 68.46%. 对比 DBP 组和 GO + DBP 组, GO 的加入显著增强了高浓度 DBP(4 mg·L^{-1})对单个藻细胞产生叶绿素 a 的抑制效应($P < 0.05$), 这与 GO 对高浓度 DBP(4 mg·L^{-1})藻密度的增强抑制效应一致. 李芳芳等[27]研究纳米铜颗粒(10 ~ 30 nm)和微米铜颗粒(46 μm)对中肋骨条藻的毒性中发现, 铜离子、铜纳米颗粒微米铜颗粒都会抑制藻的光合作用, 且纳米铜颗粒对藻的毒性主要是浸出的铜离子造成的.

2.3.3 对青岛大扁藻细胞通透性的影响

图 7 显示了 DBP 单独及与 1 mg·L^{-1} GO 同时存在时青岛大扁藻细胞通透性的变化情况. 从图 7(a)中可以看出, 0 ~ 96 h DBP 单独及与 1 mg·L^{-1} GO 同时暴露下藻细胞通透性随时间呈现上升趋势, 在 48 h 后均高于空白组, DBP 的暴露使青岛大扁藻的细胞通透性升高, 可能是由于 DBP 对细胞膜的破坏, 细胞内含物流出[25]. 图 7(b)可以看出 96 h 暴露后 DBP 组与 GO + DBP 组的藻细胞通透性均明显高于空白组, 0.1 ~ 4 mg·L^{-1}DBP 组藻细胞通透性分别为空白组的 2.2、1.8、2.6、1.1、2.3 倍, 平均升高到空白组的 2.0 倍, 0.1 ~ 4 mg·L^{-1} GO + DBP 组藻细胞通透性分别为空白组的 1.9、1.6、1.6、1.4、1.6 倍, 平均升高到空白组的 1.6

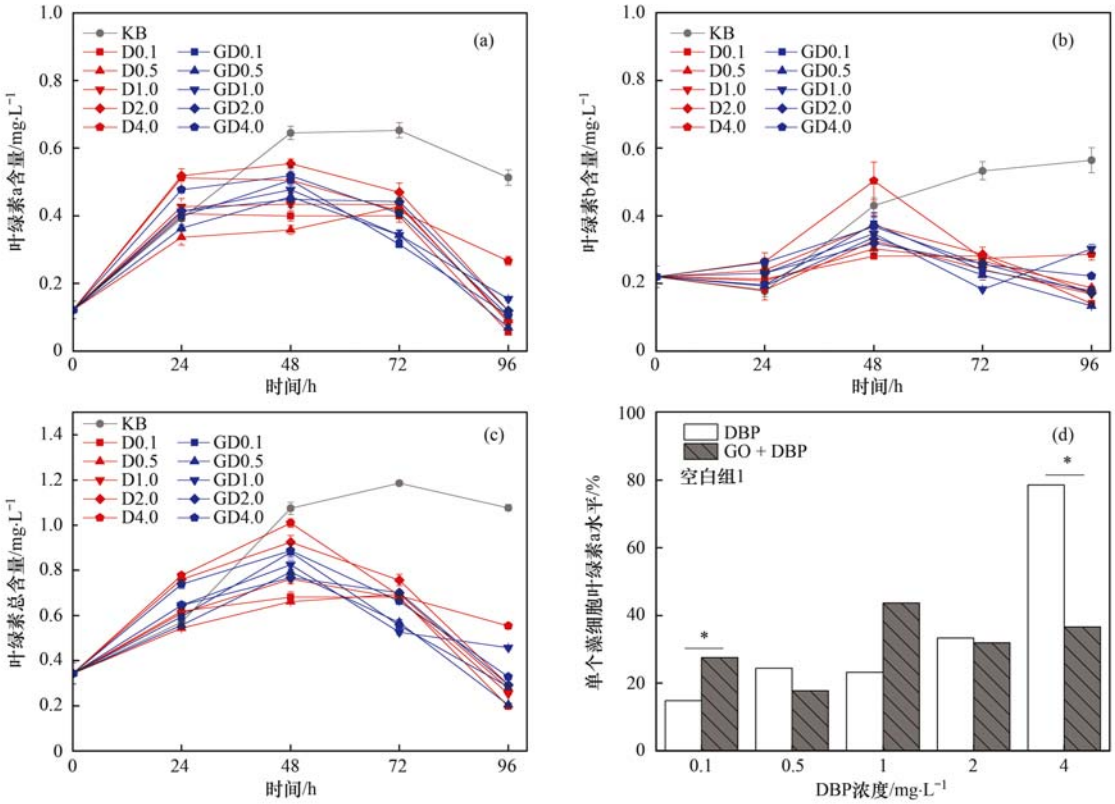


图 6　有无 GO 添加时 DBP 对青岛大扁藻光合色素的影响

Fig. 6　Effect of DBP, with and without the addition of GO, on the photosynthetic pigments of algae

倍. 在 DBP 浓度为 0.1、1 和 4 mg·L^{-1}时, GO 的加入对 DBP 表现出显著的藻细胞通透性减小作用(P <0.05), 在 DBP 浓度为 0.5 mg·L^{-1}和 2 mg·L^{-1}时没有显著性影响. GO 和 DBP 单独作用于青岛大扁藻时都能使藻细胞通透性增加, 但二者的作用机制不同, DBP 对藻细胞通透性的影响主要是通过干扰细胞代谢造成膜损伤, 而 GO 对藻细胞通透性的影响主要是通过相互接触产生的物理性损伤[28]. 实验结果显示 GO 的加入减轻了 DBP 对藻细胞通透性的增高作用, 可能是由于藻类的胞外分泌物[29]及 GO 的吸附作用[19], 增强藻细胞间或与 GO 的相互积聚, 使藻细胞通透性比单独 DBP 作用时低.

2.3.4　对青岛大扁藻 ROS 和 SOD 的影响

氧化胁迫是解释有毒物质对生物组织或细胞造成毒性危害机制的主要理论之一. 毒性物质进入生物活细胞后会导致大量的自由基产生, ROS 含量上

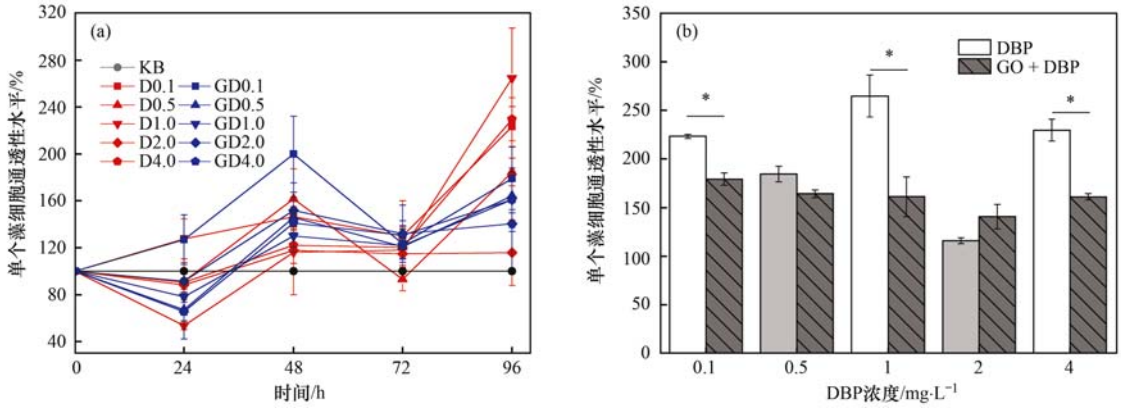


图 7　有无 GO 添加时 DBP 对青岛大扁藻细胞膜通透性的影响

Fig. 7　Effect of DBP, with and without the addition of GO, on cell permeability

升，造成氧化胁迫. SOD 即总超氧化物歧化酶是一类高诱导酶，是清除 O_2^- 自由基等系列反应中的关键酶，能够将 O_2^- 自由基等底物转化为过氧化氢等过氧化物. 为了探讨 GO 的加入是否能影响 DBP 对藻细胞中 ROS 和抗氧化系统损伤，实验中考察了有无 GO 添加情况下，DBP 暴露 96 h 后，藻细胞内 ROS 和 SOD 的变化，结果如图 8 所示. DBP 的暴露使 ROS 和 SOD 的水平明显升高，DBP 组的 ROS 分别升高到空白组的 1.5、1.9、1.3、1.3、1.7 倍，平均升高 1.5 倍. GO + DBP 组的 ROS 分别升高到空白组的 1.5、1.4、2.2、2.1、2.0 倍，平均升高 1.9 倍，说明 GO 的加入使 ROS 的产量增加. DBP 组的 SOD 分别升高到空白组的 1.2、1.2、1.5、1.3、1.4 倍，平均升高 1.3 倍，GO + DBP 组的 SOD 分别升高到空白组的 1.4、1.2、1.4、1.2、1.9 倍，平均升高 1.4 倍，说明 GO 的加入也使 SOD 的产量增加. 在低浓度 DBP 组(0.1 ~ 2 $mg \cdot L^{-1}$)，GO 的加入对 SOD 水平无明显影响，对 ROS 水平有明显增加，但在高浓度 DBP 组(4 $mg \cdot L^{-1}$)，GO 的加入显著地提高了 SOD 水平，而对 ROS 水平没有明显影响. 细胞内 ROS 和 SOD 是一对相互反馈的变量，当藻细胞内 ROS 升高时，为了维持代谢平衡，细胞中的 SOD 等抗氧化酶会被激活，用于清除过量的 ROS；当 SOD 产量增加时，藻细胞内的 ROS 会在短时间内被清除，导致 ROS 含量下降. 上述现象表明 GO 的加入，会促进藻细胞体内 ROS 和 SOD 的产生，这可能是 GO 对藻细胞的物理损伤能造成细胞表面的 ROS 升高[30]，DBP 对藻细胞内部结构的损伤导致细胞内 ROS 的升高，两者共同作用导致氧化应激作用增强[25,31].

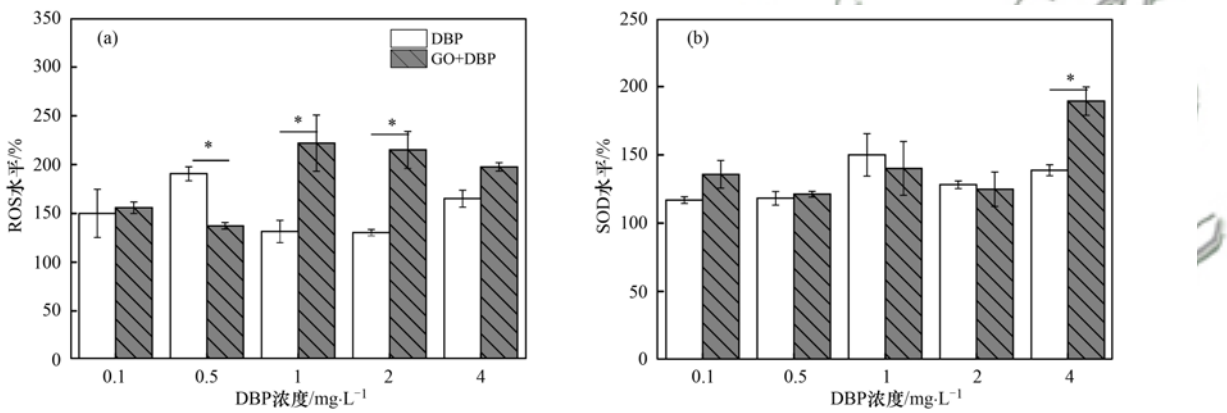
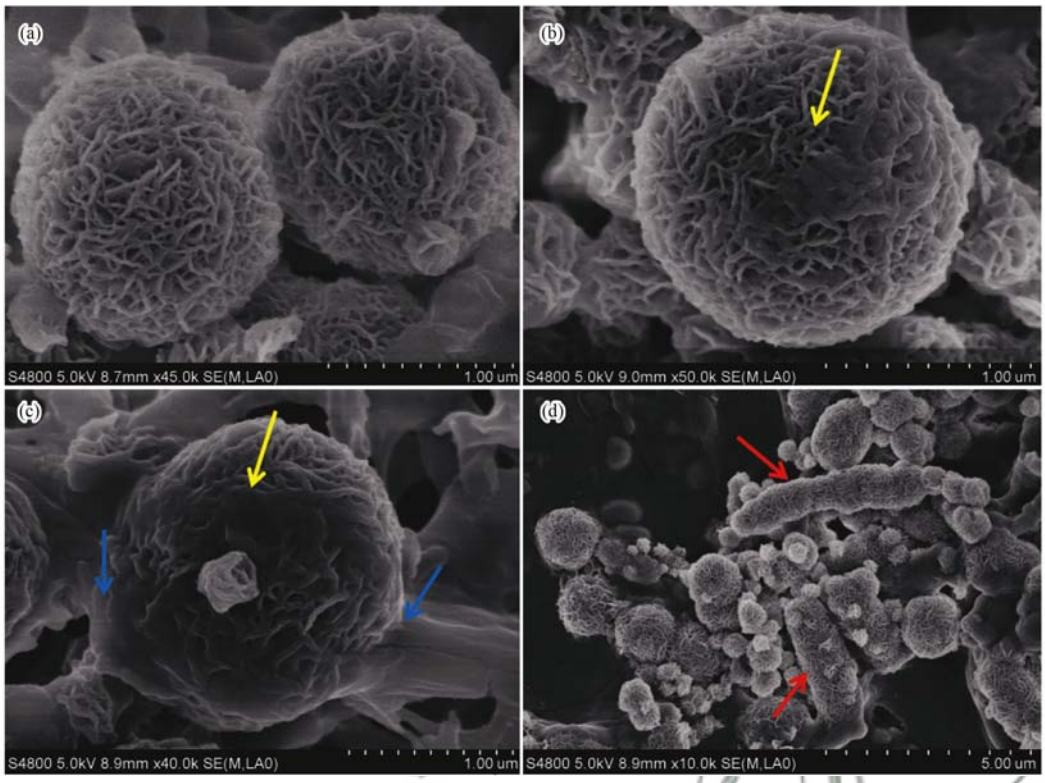


图 8 有无 GO 添加时暴露 96 h DBP 对青岛大扁藻 ROS 和 SOD 的影响

Fig. 8 Effect of DBP, with and without the addition of GO, on the ROS and the SOD level in algae after exposure for 96 h

2.3.5 对青岛大扁藻的覆盖和聚集作用

图 9 中显示了 GO 及 DBP 暴露下青岛大扁藻的 SEM 照片，从图 9(b) ~ 9(c)可以看出 GO 的加入对青岛大扁藻有一定的覆盖和包裹作用，图中分别用黄色和蓝色箭头表示. 前文中发现低浓度 GO 对青岛大扁藻的增长没有明显的影响，但是对藻细胞通透性有显著影响，随浓度的升高细胞通透性越高. 由于浓度越高，GO 与藻细胞的接触概率越大，被划伤切割的概率也越大，平均每个藻细胞通透性则增大. 可以从藻密度、光合色素含量、SOD 及 ROS 的变化中看出，藻细胞的通透性增强，使得 DBP 更容易进入藻细胞，是导致 DBP 毒性增强的重要原因. Hu 等[12]在对 GO 与小球藻相互作用的研究中，所使用的 GO 在尺寸和浓度设定上与本实验相近，他们发现 GO 在藻细胞表面形成泡状、薄膜、垂直嵌入、桥状等微型结构，这些现象均能够改变藻细胞通透性. 前文中提到，GO 的加入减轻了 DBP 对藻细胞通透性的增强，从图 9(d)中可以看出，DBP 对青岛大扁藻的生长不仅有高抑制性，还能导致青岛大扁藻畸形，图中红色箭头所示，畸变藻细胞比空白组藻细胞长 3 ~ 7 倍，并且 GO 的存在使藻细胞容易发生图中类似的聚集. GO 能对细胞膜产生应力，影响细胞膜的生成[30]，畸形藻细胞或死亡后的藻细胞残留物均能与 GO 相互聚集，聚集后覆盖在一些活细胞表面，抑制藻细胞的运动，影响物质的进出，进而减小活细胞通透性，改变藻细胞对营养物质的运输和摄取或相关代谢活动，例如，研究发现 GO 的存在可以抑制细胞中与 Fe 相关的代谢[26].



(a)为空白组青岛大扁藻；(b)为 1 mg·L^{-1} GO 单独作用组；(c)和(d)为 1 mg·L^{-1} GO 与 4 mg·L^{-1} DBP 共同作用组；图中黄色箭头表示 GO 覆盖在藻细胞表面，蓝色箭头表示 GO 对藻细胞的包裹作用，红色箭头表明藻体异常现象

图 9　GO 及 DBP 暴露下青岛大扁藻的 SEM 图

Fig. 9　SEM images of the algae cells after exposure to DBP and GO

3　结论

(1)低浓度 0.1 ~ 10 mg·L^{-1} GO 对青岛大扁藻的生长藻密度和光合色素产量无明显影响，但 GO 的暴露能显著影响藻细胞通透性，且随浓度升高而升高，主要原因是 GO 与藻细胞的相互接触过程中造成的物理性伤害，GO 浓度越高相互接触概率越大，损伤也越大.

(2)1 mg·L^{-1} GO 的加入使 DBP 的 $EC_{50,96\ h}$ 从(11.14 ± 0.80) mg·L^{-1} 降低到(4.93 ± 2.14) mg·L^{-1}，1 mg·L^{-1}GO 对 DBP 藻毒性表现出一定的增强作用.

(3)1 mg·L^{-1} GO 的加入对低浓度 DBP 组(0.1 ~2 mg·L^{-1})暴露 96 h 后的藻密度、叶绿素、细胞通透性水平没有显著性影响，但对高浓度 DBP 组(4 mg·L^{-1})的藻密度、叶绿素 a 抑制有显著的增强作用；GO 的加入还使单个藻细胞氧化应激水平增加；还发现 GO 的加入能减缓 DBP 造成的藻细胞通透性增加，主要原因是 GO 的存在促进藻细胞团聚，影响细胞运动和物质运输，其分子机制仍需进一步研究.

参考文献：

[1] Liu N, Wen F L, Li F M, *et al*. Inhibitory mechanism of phthalate esters on *Karenia brevis* [J]. Chemosphere, 2016, **155**: 498-508.

[2] 别聪聪，李锋民，李媛媛，等. 邻苯二甲酸二丁酯对短裸甲藻活性氧自由基的影响[J]. 环境科学，2012，**33**(2)：442-447.
Bie C C, Li F M, Li Y Y, *et al*. Effects of allelochemical dibutyl phthalate on *Gymnodinium breve* reactive oxygen species [J]. Environmental Science, 2012, **33**(2): 442-447.

[3] Gao J, Chi J. Biodegradation of phthalate acid esters by different marine microalgal species[J]. Marine Pollution Bulletin, 2015, **99**(1-2): 70-75.

[4] Liu Y Y, Luo Y, Wu J, *et al*. Graphene oxide can induce *in vitro* and *in vivo* mutagenesis[J]. Scientific Reports, 2013, **3**: 3469.

[5] Li Y P, Wu Q L, Zhao Y L, *et al*. Response of microRNAs to *in vitro* treatment with graphene oxide[J]. ACS Nano, 2014, **8**(3): 2100-2110.

[6] Hu C W, Wang Q, Zhao H T, *et al*. Ecotoxicological effects of graphene oxide on the protozoan *Euglena gracilis* [J]. Chemosphere, 2015, **128**: 184-190.

[7] Souza J P, Baretta J F, Santos F, *et al*. Toxicological effects of graphene oxide on adult zebrafish (*Danio rerio*)[J]. Aquatic Toxicology, 2017, **186**: 11-18.

[8] Chen M J, Yin J F, Liang Y, *et al*. Oxidative stress and immunotoxicity induced by graphene oxide in zebrafish [J]. Aquatic Toxicology, 2016, **174**: 54-60.

[9] Akhavan O, Ghaderi E. Toxicity of graphene and graphene oxide nanowalls against bacteria[J]. ACS Nano, 2010, **4**(10): 5731-5736.

[10] Hu W B, Peng C, Luo W J, *et al*. Graphene-based antibacterial paper[J]. ACS Nano, 2010, **4**(7): 4317-4323.

[11] Pretti C, Oliva M, Di Pietro R, *et al*. Ecotoxicity of pristine graphene to marine organisms [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2014, **101**: 138-145.

[12] Hu X G, Lu K C, Mu L, *et al*. Interactions between graphene oxide and plant cells: Regulation of cell morphology, uptake, organelle damage, oxidative effects and metabolic disorders[J]. Carbon, 2014, **80**: 665-676.

[13] 段伟艳, 杜永祥, 孟范平, 等. 氧化石墨烯对双壳类动物文蛤的亚致死毒性研究[J]. 中国环境科学, 2017, **37**(7): 2755-2764.
Duan W Y, Du Y X, Meng F P, *et al*. The sublethal toxicity of graphene oxide to bivalve *Meretrix meretrix* [J]. China Environmental Science, 2017, **37**(7): 2755-2764.

[14] Liao K H, Lin Y S, Macosko C W, *et al*. Cytotoxicity of graphene oxide and graphene in human erythrocytes and skin fibroblasts[J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2011, **3**(7): 2607-2615.

[15] Zhang H, Peng C, Yang J Z, *et al*. Uniform ultrasmall graphene oxide nanosheets with low cytotoxicity and high cellular uptake [J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2013, **5**(5): 1761-1767.

[16] Chang Y L, Yang S T, Liu J H, *et al*. In vitro toxicity evaluation of graphene oxide on A549 cells[J]. Toxicology Letters, 2011, **200**(3): 201-210.

[17] Lu L, Wang J, Chen B L. Adsorption and desorption of phthalic acid esters on graphene oxide and reduced graphene oxide as affected by humic acid [J]. Environmental Pollution, 2018, **232**: 505-513.

[18] Liu Y, Wang X, Wang J, *et al*. Graphene oxide attenuates the cytotoxicity and mutagenicity of PCB 52 via activation of genuine autophagy[J]. Environmental Science & Technology, 2016, **50**(6): 3154-3164.

[19] 倪凌峰, 李轶, 郭燕飞. 氧化石墨烯存在下铜离子对大型溞的毒性研究[J]. 生态毒理学报, 2016, **11**(5): 71-78.
Ni L F, Li Y, Guo Y F. Toxicity of copper ions on *Daphnia magna* in the presence of graphene oxide[J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2016, **11**(5): 71-78.

[20] Ouyang S H, Hu X G, Zhou Q X. Envelopment-Internalization synergistic effects and metabolic mechanisms of graphene oxide on single-cell *Chlorella vulgaris* are dependent on the nanomaterial particle size[J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2015, **7**(32): 18104-18112.

[21] 张鹏. 石墨烯对植物的毒性效应及机制研究[D]. 杭州: 浙江工商大学, 2015. 19-30.
Zhang P. Mechanisms of graphene toxicity to plants [D]. Hangzhou: Zhejiang Gongshang University, 2015. 19-30.

[22] Nogueira P F M, Nakabayashi D, Zucolotto V. The effects of graphene oxide on green algae *Raphidocelis subcapitata* [J]. Aquatic Toxicology, 2015, **166**: 29-35.

[23] Tang Y L, Tian J L, Li S Y, *et al*. Combined effects of graphene oxide and Cd on the photosynthetic capacity and survival of *Microcystis aeruginosa* [J]. Science of the Total Environment, 2015, **532**: 154-161.

[24] 向昆仑, 王晶晶, 唐思, 等. 双酚 A 对青岛大扁藻的干扰效应[J]. 生态毒理学报, 2015, **10**(3): 262-267.
Xiang K L, Wang J J, Tang S, *et al*. Interference effects of bisphenol A on *Platymonas helgolanidica*[J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2015, **10**(3): 262-267.

[25] Gu S R, Zheng H, Xu Q Q, *et al*. Comparative toxicity of the plasticizer dibutyl phthalate to two freshwater algae[J]. Aquatic Toxicology, 2017, **191**: 122-130.

[26] Yu Q L, Zhang B, Li J R, *et al*. Graphene oxide significantly inhibits cell growth at sublethal concentrations by causing extracellular iron deficiency[J]. Nanotoxicology, 2017, **11**(9-10): 1102-1114.

[27] 李芳芳, 潘容, 张偲, 等. 纳米铜粉对中肋骨条藻的毒性效应[J]. 中国环境科学, 2015, **35**(9): 2874-2880.
Li F F, Pan R, Zhang C, *et al*. Inhibition effects of copper nanoparticles on the growth of *Skeletonema costatum*[J]. China Environmental Science, 2015, **35**(9): 2874-2880.

[28] Johnston H J, Hutchison G R, Christensen F M, *et al*. Identification of the mechanisms that drive the toxicity of TiO_2 particulates: the contribution of physicochemical characteristics [J]. Particle and Fibre Toxicology, 2009, **6**(1): 33.

[29] Iswarya V, Sharma V, Chandrasekaran N, *et al*. Impact of tetracycline on the toxic effects of titanium dioxide (TiO_2) nanoparticles towards the freshwater algal species, *Scenedesmus obliquus*[J]. Aquatic Toxicology, 2017, **193**: 168-177.

[30] Song C, Yang C M, Sun X F, *et al*. Influences of graphene oxide on biofilm formation of gram-negative and gram-positive bacteria[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2018, **25**(3): 2853-2860.

[31] 刘春晓, 王平, 李海燕, 等. DBP 对铜绿微囊藻生长和抗氧化酶的影响[J]. 环境科学与技术, 2015, **38**(2): 7-12.
Liu C X, Wang P, Li H Y, *et al*. Effects of dibutyl phthalate on growth and enzymatic antioxidants of *Microcytis aeruginosa*[J]. Environmental Science & Technology, 2015, **38**(2): 7-12.

HUANJING KEXUE

Environmental Science (monthly)

Vol. 39 No. 8

Aug. 15, 2018

CONTENTS

An Assessment of $PM_{2.5}$-Related Health Risks and Associated Economic Losses in Chinese Cities ····· LI Hui-juan, ZHOU De-qun, WEI Yong-jie (3467)
Impact of the Electric Power Industry on Air Quality in Winter of Urban Agglomerations Along the Middle Reaches of the Yangtze River ··· SUN Xiao-wei, GUO Xiu-rui, CHENG Shui-yuan (3476)
Capacity Simulation Method Based on Regional Transfer Matrix and $PM_{2.5}$ Concentration Target Constraint ····· LI Min-hui, LIAO Cheng-hao, YANG Liu-lin, *et al.* (3485)
Analysis of Chemical Composition of the Fine Particulate Matter in Summer in Tianjin City via a Single Particle Aerosol Mass Spectrometer (SPAMS) ····· WEN Jie, SHI Xu-rong, TIAN Ying-ze, *et al.* (3492)
Pollution Characteristics of Organic Carbon and Elemental Carbon in Atmospheric Aerosols in Beibei District, Chongqing ····· PENG Xiao-le, HAO Qing-ju, WEN Tian-xue, *et al.* (3502)
Characteristics and Source Analysis of Atmospheric Carbonaceous Aerosols in the Cities of Hangzhou and Ningbo ····· XU Hong-hui, XU Jing-sha, HE Jun, *et al.* (3511)
Emission Characteristics and Chemical Components of $PM_{2.5}$ from Open Burning of Municipal Solid Waste ····· WANG Yan, HAO Wei-wei, CHENG Ke, *et al.* (3518)
Size-resolved Emission Factors of Carbonaceous Particles from Domestic Coal Combustion in China ····· YANG Guo-wei, KONG Shao-fei, ZHENG Shu-rui, *et al.* (3524)
Characteristics and Source Analysis of Non-methane Hydrocarbons(NMHC) in Dalian ····· JI De-yu (3535)
Scenario Analyses of the Volatile Organic Compound Emission Allowance and Allocation in the 13th Five-Year Period ····· ZHANG Jia-ni, CHEN Xiao-fang, LIANG Xiao-ming, *et al.* (3544)
Pollution Characteristics and Emission Coefficients of Volatile Organic Compounds from the Packaging and Printing Industry in Zhejiang Province ····· WANG Jia-de, LÜ Jian-zhang, LI Wen-juan, *et al.* (3552)
Emission Characteristics and Characteristic Substance Identification of Volatile Odorous Organic Compounds in Industries Using Organic Solvents ····· ZHAI Zeng-xiu, MENG Jie, WANG Gen, *et al.* (3557)
Analysis of Aerosol Optical Depth Variation Characteristics for 10 years in Urumqi Based on MODIS_C006 ····· HU Jun, KANG Yan-ming, CHEN Yong-hang, *et al.* (3563)
Motor Vehicle Pollution Control Scenarios of Beijing Subsidiary Administrative Center Based on Road Traffic Flow ····· FAN Shou-bin, GUO Jin-jin, LI Xue-feng (3571)
Air Pollution Characteristics and Jogger Inhalation Exposure in Typical Running Area of Beijing ····· TAO Shuang-cheng, GAO Shuo-han, XIONG Xin-zhu, *et al.* (3580)
Temporal and Spatial Changes in Sediment Nutrients and Heavy Metals of the Danjiangkou Reservoir Before and After Water Division of the Mid-route Project ····· LI Bing, WANG Ya, ZHENG Zhao, *et al.* (3591)
Fluorescence Characteristics and Environmental Significance of Organic Matter in the Northern Part of Lake Taihu in Spring and Winter ····· LÜ Wei-wei, YAO Xin, ZHANG Bao-hua (3601)
Contamination Levels and Ecological Risk Assessment of Phthalate Esters (PAEs) in the Aquatic Environment of Key Areas of Taihu Lake ····· ZHU Bing-qing, GAO Zhan-qi, HU Guan-jiu, *et al.* (3614)
Nitrogen and Phosphorous Adsorption Characteristics of Suspended Solids Input into a Drinking Water Reservoir via Typhoon Heavy Rainfall ····· YAO Ling-ai, ZHAO Xue-min, MA Qian-li, *et al.* (3622)
Geochemical Characteristics and Genesis Analyses of High-arsenic Groundwater in the Pearl River Delta ····· ZHANG Chang-yan, HE Jiang-tao, ZHANG Xiao-wen, *et al.* (3631)
Effects of Organic Pollutants on the Bacterioplankton Community in Hangzhou Bay ····· XUAN Li-xia, DAI Wen-fang, YU Wei-na, *et al.* (3640)
Bacterioplankton Community Structure in the Lancang River Basin and the Analysis of Its Driving Environmental Factors ····· CHENG Bao, WANG Xue, XU Ya-qian, *et al.* (3649)
Bacterial Community Structure Characteristics in the Biliuhe Reservoir and Its Key Driving Factors ····· WANG Huan, ZHAO Wen, XIE Zai-gang, *et al.* (3660)
Analysis of the Temporal and Spatial Distribution of the Diversity of the Denitrifying Anaerobic Methane-Oxidizing Bacterial Community in the Sediments of the Hunhe River and Its Relationship with Environmental Factors ····· ZHANG Ya-di, SONG Yong-hui, PENG Jian-feng, *et al.* (3670)
Influences of Anthropogenic Activities on the Community Structure of N-DAMO Bacteria in the North Canal ····· LIU Yang, CHEN Yong-juan, WANG Xiao-yan, *et al.* (3677)
Impact of Exogenous Nitrogen Import on Sediment Denitrification and N_2O Emissions in Ditches Under Different Land Uses ····· SHE Dong-li, CHEN Xin-yi, GAO Xue-mei, *et al.* (3689)
Sedimentation Characteristics and Pollutant Content Distribution of Storm Drainage Sediments ····· SHANG Yu, ZHOU Yi, LIAO An-yi, *et al.* (3696)
Effect of Cr(Ⅵ) on Coagulation Process of Different Coagulants ····· GAO Qian, ZHANG Da-wei, XU Hui, *et al.* (3704)
Enhancement of Photoelectrocatalytic Degradation of Bisphenol A with Peroxymonosulfate Activated by a $Co_3O_4/BiVO_4$ Composite Photoanode ····· LI Jiang, WANG Yan, ZHANG Xiu-fang, *et al.* (3713)
Preparation and Characterization of a Calcium Alginate/Biochar Microsphere and Its Adsorption Characteristics and Mechanisms for Pb(Ⅱ) ····· YU Chang-jiang, DONG Xin-yu, WANG Miao, *et al.* (3719)
Behaviors and Mechanisms of CIP and OFL Adsorption by Magnetic Biochar ····· ZHAO Hua-xuan, LANG Yin-hai (3729)
Optimization and Validation of the Analytical Method to Detect New Psychoactive Substances in Wastewater ····· CHEN Pei-pei, DU Peng, ZHOU Zi-lei, *et al.* (3736)
Effect of Hybrid Process of Pre-ozonation and CNT Modification on Hollow Fiber Membrane Fouling Control ····· GUAN Yu-qi, WANG Kai-lun, ZHU Xue-dong, *et al.* (3744)
Bioregeneration of Anion Exchange Resin Used in Nitrate Removal ····· YE Ting, ZHANG Guang, WANG Ke, *et al.* (3753)
Preparation of Prussian Blue@Yeast Catalyst and Its Heterogeneous Fenton Performance ····· CHEN Si, BAI Bo, WANG Hong-lun, *et al.* (3759)
Nitrogen Removal of Double-bacteria-layer System via PN/A Process ····· XU Jing-yi, DU Jun, YANG Yi-feng, *et al.* (3767)
Inhibitory Effect of Phenol on Phosphorus Removal Performance of an EBPR System ····· MA Juan, WANG Jin, YU Xiao-jun, *et al.* (3775)
Treatment of Old Landfill Leachate via a Denitrification-Partial Nitritation-ANAMMOX Process ····· WANG Fan, LU Ming-yu, YIN Ji-qiang, *et al.* (3782)
Denitrification Characteristics and Functional Genes of Denitrifying Bacteria Under Aerobic or Anaerobic Conditions ····· KANG Peng-liang, CHEN Sheng-nan, HUANG Ting-lin, *et al.* (3789)
Characteristic of Benzo[a]pyrene Anaerobic Degradation by Phenol Co-substrate and Microbial Communities from Two Types of Sludge ····· WU Hai-zhen, HU Xiao-yi, WANG Ming, *et al.* (3797)
Spectroscopic Characterization of DOM During Hyperthermophilic Composting of Sewage Sludge ····· LIU Xiao-ming, YU Zhen, ZHOU Pu-xiong, *et al.* (3807)
Effects of Biochar on Nitrous Oxide Fluxes and the Abundance of Related Functional Genes from Agriculture Soil in the North China Plain ····· LIU Xing-ren, ZHAO Guang-xin, ZHANG Qing-wen, *et al.* (3816)
Nitrous Oxide Production in Response to Oxygen in a Solar Greenhouse Vegetable Soil ····· CHEN Ji-ji, SONG He, CAO Wen-chao, *et al.* (3826)
Comprehensive Study of Lead Speciation and Its Bioavailability in Soils From a Lead/Zinc Mining Area by Micro X-Ray Fluorescence and X-Ray Absorption Near-Edge Structure ····· SUN Xiao-yan, LIU Jian, LUO Li-qiang (3835)
Assessment of Heavy Metal Pollution in Soil and Its Bioaccumulation by Dominant Plants in a Lead-Zinc Mining Area, Nanjing ····· LI Jun-kai, ZHANG Dan, ZHOU Pei, *et al.* (3845)
Preparation of Iron-Aluminum Modified Diatomite and Its Immobilization in Cadmium-Polluted Soil ····· YANG Yu-zhong, ZHU Jian, XIAO Yuan-yuan, *et al.* (3854)
Transfer of Soil Organic Carbon to Inorganic Carbon in Arid Oasis Based on Stable Carbon Isotope Technique ····· LI Yang-mei, GONG Lu, AN Shen-qun, *et al.* (3867)
Environmental Filters Drive the Assembly of the Soil Fungal Community in the *Larix principis-rupprechtii* Forests of the Guandi Mountains ····· ZHAO Peng-yu, LI Cui, CHAI Bao-feng (3876)
Effects of Transgenic Maize with *cry1Ab* and *Epsps* Genes C0030.3.5 on the Abundance and Community Structure of Soil Nitrogen-fixing Bacteria ····· WANG Rui, ZHU Ke, LI Gang, *et al.* (3885)
Effects of Gypsum on CH_4 Emission and Functional Microbial Communities in Paddy Soil ····· HU Xiang-yu, XIANG Qiu-jie, MU Zhi-jian (3894)
Effects of Long-term Fertilization on Enzyme Activities in Profile of Paddy Soil Profiles ····· DU Lin-sen, TANG Mei-ling, ZHU Zhen-ke, *et al.* (3901)
Effects of Sediment Burial and Exogenous Cd Input on Biomass Allocation and Antioxidative Enzyme Activities of *Suaeda salsa* in the Coastal Wetland of the Yellow River Delta ····· SONG Hong-li, WANG Li-zhi, YU Wan-ni, *et al.* (3910)
Pollution Characteristics and Health Risk Assessment of Heavy Metals in Wheat Grains Cultivated in Kaifeng Irrigation Area of the Yellow River ····· KANG Guo-hua, ZHANG Peng-yan, LI Yan-yan, *et al.* (3917)
Effect of Graphene Oxide on Algal Toxicity of Dibutyl Phthalate ····· TU Hai-feng, LIU Cheng, WANG Yu-qing, *et al.* (3927)
Effects of Organic Substrates on ANAMMOX-MFC Denitrification Electrogenesis Performance ····· ZU Bo, MA Lan, LIU Bo, *et al.* (3937)
Well-to-Wheels Fossil Energy Consumption and CO_2 Emissions of Hydrogen Fuel Cell Vehicles in China ····· LIN Ting, WU Ye, HE Xiao-yi, *et al.* (3946)
Secondary Organic Aerosols from Aqueous Reaction of Aerosol Water ····· YE Zhao-lian, QU Zhen-xiu, MA Shuai-shuai, *et al.* (3954)