

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第33卷 第2期

Vol.33 No.2

2012

中国科学院生态环境研究中心 主办
科学出版社 出版



目次

基于人体健康风险的水污染事件污染物安全阈值研究 郑丙辉, 罗锦洪, 付青, 秦延文, 胡林林 (337)

基于人体健康风险的水污染事件遗传性致癌物安全浓度研究 罗锦洪, 郑丙辉, 付青, 黄民生 (342)

湿地水环境健康评价方法及案例分析 李玉凤, 刘红玉, 郝敬锋, 郑因, 曹晓 (346)

北运河下游典型河网区水体中氮磷分布与富营养化评价 单保庆, 菅宇翔, 唐文忠, 张洪 (352)

漳卫南运河流域水质时空变化特征及其污染源识别 徐华山, 徐宗学, 唐芳芳, 于伟东, 程燕平 (359)

黄河三角洲浅层地下水化学特征及形成作用 安乐生, 赵全升, 叶思源, 刘贯群, 丁喜桂 (370)

沉积物扰动持续时间对悬浮物中磷形态数量分布的影响 李大鹏, 黄勇, 李勇, 潘杨 (379)

沉水植物生长期对沉积物和上覆水之间磷迁移的影响 王立志, 王国祥, 俞振飞, 周贝贝, 陈秋敏, 李振国 (385)

长寿湖表层沉积物氮磷和有机质污染特征及评价 卢少勇, 许梦爽, 金相灿, 黄国忠, 胡文 (393)

洪泽湖沉积物中营养盐和重金属的垂向分布特征研究 张文斌, 余辉 (399)

降雨对农家堆肥氮磷流失的影响及其面源污染风险分析 彭莉, 王莉玮, 杨志敏, 陈玉成, 乔俊婧, 赵中金 (407)

浅水湖泊水动力过程对藻型湖区水体生物光学特性的影响 刘笑菡, 冯龙庆, 张运林, 赵林林, 朱梦圆, 时志强, 殷燕, 丁艳青 (412)

基于半分析模型的太湖春季水体漫衰减系数 K_d (490) 估算及其遥感反演 刘忠华, 李云梅, 李瑞云, 吕恒, 檀静, 郭宇龙 (421)

基于 QAA 算法的巢湖悬浮物浓度反演研究 张红, 黄家柱, 李云梅, 徐伟凡, 刘忠华, 徐昕 (429)

好氧/厌氧潜流湿地结构工艺优化 李锋民, 单时, 李媛媛, 李扬, 王震宇 (436)

邻苯二甲酸二丁酯对短裸甲藻活性氧自由基的影响 别聪聪, 李锋民, 李媛媛, 王震宇 (442)

Rac-及 S-异丙甲草胺对 2 种微藻毒性特征影响研究 蔡卫丹, 刘惠君, 方治国 (448)

羟基自由基致死船舶压载水海洋有害生物研究 白敏冬, 张拿慧, 张芝涛, 陈操, 孟祥盈 (454)

天然菱铁矿改性及强化除砷研究 赵凯, 郭华明, 李媛, 任燕 (459)

零价铁降解 4-氯硝基苯动力学研究 廖娣劫, 杨琦, 李俊琦 (469)

水体中氧氟沙星的光化学降解研究 邵萌, 杨桂朋, 张洪海 (476)

阿替洛尔在硝酸根溶液中的光降解研究 季跃飞, 曾超, 孟翠, 杨曦, 高士祥 (481)

吡啶在紫外光辐射下的生物降解 方苗苗, 阎宁, 张永明 (488)

蜜环菌漆酶对蒽醌类染料的脱色条件优化 朱显峰, 秦仁炳, 余晨晨, 范书军 (495)

ϵ -聚赖氨酸生产废菌体对六价铬吸附影响的研究 曹玉娟, 张扬, 夏军, 徐虹, 冯小海 (499)

丝状菌污泥致密过程的强化条件研究 李志华, 孙玮, 姬晓琴, 王晓昌 (505)

亚硝化颗粒污泥对温度变化的响应特性研究 罗远玲, 杨朝晖, 徐峥勇, 周玲君, 黄毓, 肖勇, 曾光明, 汪理科 (511)

我国典型工程机械燃油消耗量及排放清单研究 李东玲, 吴焯, 周昱, 杜让, 傅立新 (518)

北京市 PM_{10} 自动监测网络优化研究 齐玲, 赵越, 谢绍东 (525)

道路绿化带对街道峡谷内污染物扩散的影响研究 徐伟嘉, 幸鸿, 余志 (532)

Fe^{II} (EDTA) 络合协同 RDB 去除 NO 废气效能及过程分析 陈浚, 杨宣, 於建明, 蒋轶锋, 陈建孟 (539)

UV-B 辐射对亚热带森林凋落叶氮、磷元素释放的影响 宋新章, 张慧玲, 江洪, 余树全 (545)

干热河谷林地燥红土固碳特征及“新固定”碳表观稳定性 唐国勇, 李昆, 孙永玉, 张春华 (551)

九龙江河口表层水体及沉积物中甲烷的分布和环境控制因素研究 郭莹莹, 陈坚, 尹希杰, 孙治雷, 邵长伟 (558)

秋季黄河口滨岸潮滩湿地系统 CH_4 通量特征及影响因素研究 姜欢欢, 孙志高, 王玲玲, 牟晓杰, 孙万龙, 宋红丽, 孙文广 (565)

我国典型非木浆造纸二噁英排放研究 王志芳, 丁琼, 王开祥, 吴昌敏, 曲云欢, 赵晓冬 (574)

典型电器工业区河涌沉积物中的多溴联苯醚空间和垂直分布 邱孟德, 邓代永, 余乐洹, 孙国萍, 麦碧娴, 许玫英 (580)

电子废物拆解区农业土壤中多氯联苯的污染特征 王学彤, 李元成, 张媛, 缪绎, 孙阳昭, 吴明红, 盛国英, 傅家谟 (587)

北京科教园区绿地土壤中多环芳烃的残留特征与潜在风险 彭驰, 王美娥, 欧阳志云, 焦文涛, 陈卫平 (592)

上海城市样带土壤重金属空间变异特征及污染评价 柳云龙, 章立佳, 韩晓非, 庄腾飞, 施振香, 卢小遮 (599)

海河流域北部地区河流沉积物重金属的生态风险评价 尚林源, 孙然好, 王赵明, 汲玉河, 陈利顶 (606)

三峡库区消落带不同水位高程土壤重金属含量及污染评价 王业春, 雷波, 杨三明, 张晟 (612)

超声波促进好氧/缺氧污泥消化过程中细菌群落结构分析 叶运弟, 孙水裕, 郑莉, 刘宝健, 蔡明山, 许燕滨, 占星星 (618)

大庆聚驱后油藏内源微生物群落结构解析与分布特征研究 赵玲侠, 高配科, 曹美娜, 高梦黎, 李国强, 朱旭东, 马挺 (625)

不同碳源刺激对老化污染土壤中 PAHs 降解研究 尹春芹, 蒋新, 王芳, 王聪颖 (633)

应用电致化学发光分子探针技术对微小原甲藻的检测 朱霞, 甄毓, 米铁柱, 于志刚, 池振明, 路兴岚 (640)

软骨藻酸直接竞争 ELISA 方法的建立及优化 王茜, 程金平, 高利利, 董宇, 席磊 (647)

固相萃取-高效液相色谱法同时测定水体中的 10 种磺胺类抗生素 洪蕾洁, 石璐, 张亚雷, 周雪飞, 朱洪光, 林双双 (652)

五氟酚对 HeLa 细胞毒性及 DNA 损伤的研究 金帮明, 王辅明, 熊力, 张晓峰, 刘堰 (658)

建筑陶瓷碳计量与优化模型研究 彭军霞, 赵宇波, 焦丽华, 曾路, 郑为民 (665)

《环境科学》征订启事 (447) 《环境科学》征稿简则 (475) 信息 (524, 586, 605, 624)

五氯酚对 HeLa 细胞毒性及 DNA 损伤的研究

金帮明¹, 王辅明², 熊力¹, 张晓峥¹, 刘堰^{1*}

(1. 西南大学生命科学学院, 淡水鱼类资源与生殖发育教育部重点实验室, 水产科学重庆市市级重点实验室, 重庆 400715; 2. 聊城职业技术学院, 聊城 252000)

摘要: 以人宫颈癌 HeLa 细胞为研究对象, 运用 MTT 法检测 PCP 处理后 HeLa 细胞的增殖抑制率; 通过测定细胞培养液中乳酸脱氢酶(LDH)的漏出率和总超氧化物歧化酶(SOD)的活性, 评价 PCP 的细胞毒性作用; 彗星实验检测 HeLa 细胞经不同浓度 PCP 处理后的 DNA 损伤. 结果表明, PCP 对 HeLa 细胞的半数抑制浓度(IC₅₀)为 66.59 μmol·L⁻¹; HeLa 细胞在 12.5、25、50、100 和 200 μmol·L⁻¹ PCP 染毒条件下, LDH 的漏出率随着染毒时间的增加逐渐增大, 具有明显的时间-效应关系, 在 12.25、17.5 和 25 μmol·L⁻¹ PCP 染毒下, 细胞培养液中 SOD 的活性随着染毒时间的增加逐渐下降, 存在显著的时间-效应关系, 低浓度 PCP(25 μmol·L⁻¹)显著增加细胞培养液中 LDH 的漏出率以及 PCP(12.25 μmol·L⁻¹)显著降低总 SOD 的活性; PCP(实验浓度为 6.25、12.5、25 和 50 μmol·L⁻¹)不会导致 HeLa 细胞 DNA 损伤. 因此 SOD 和 LDH 可作为评价低浓度 PCP 毒性效应的敏感性生物标志物.

关键词: 五氯酚; 细胞毒性; DNA 损伤; 生物标志物; 乳酸脱氢酶; 总超氧化物歧化酶

中图分类号: X171.5 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2012)02-0658-07

Effects of Pentachlorophenol on DNA Damage and Cytotoxicity of HeLa Cells

JIN Bang-ming¹, WANG Fu-ming², XIONG Li¹, ZHANG Xiao-zheng¹, LIU Yan¹

(1. Key Laboratory of Freshwater Fish Reproduction and Development (Ministry of Education), Key Laboratory of Aquatic Science of Chongqing, School of Life Science, Southwest University, Chongqing 400715, China; 2. Liaocheng Vocational and Technical College, Liaocheng 252000, China)

Abstract: Using human cervical carcinoma HeLa cells, the cell viability was determined by MTT assay after pentachlorophenol(PCP) treatment, the cytotoxicity of PCP was evaluated by detecting lactate dehydrogenase (LDH) leakage rate and total superoxide dismutase (SOD) activity in cell culture medium; DNA damage was detected by comet assay. The results indicated that HeLa cells proliferation was inhibited by PCP and the median inhibitory concentration (IC₅₀) was 66.59 μmol·L⁻¹; PCP did not induce DNA damage in the concentration range from 6.25 μmol·L⁻¹ to 50 μmol·L⁻¹; LDH leakage rate increased gradually with the increasing of exposure time when HeLa cells were treated by PCP in the concentration range from 12.5 μmol·L⁻¹ to 200 μmol·L⁻¹; SOD activity decreased gradually as the increasing of exposure time when HeLa cells were treated by PCP at lower concentration of 12.25 μmol·L⁻¹, 17.5 μmol·L⁻¹, 25 μmol·L⁻¹ respectively, LDH leakage rate increased significantly at 25 μmol·L⁻¹ and activity of SOD decreased markedly at 12.25 μmol·L⁻¹ in HeLa cells following PCP-treatment respectively. Results suggested that SOD and LDH might be regarded as candidate sensitive biomarkers for evaluating toxicity of PCP at low concentration on human and wildlife.

Key words: pentachlorophenol(PCP); cytotoxicity; DNA damage; biomarker; lactate dehydrogenase (LDH); superoxide dismutase (SOD)

五氯酚(pentachlorophenol, PCP, 分子式 C₆Cl₅OH), 白色针状结晶物, 易挥发, 难溶于水, 易溶于乙醚、乙醇、丙酮等有机溶剂. 已证实五氯酚是一种典型的环境持久性有机污染物, 早先的研究主要集中在如何降解环境中的 PCP^[1-3], 特别是对 PCP 毒性的分子机制研究较少, 并且就 PCP 的细胞毒性和 DNA 损伤的研究观点各异^[4]. 本研究以 HeLa 细胞系为研究对象, 首次从离体细胞系、酶以及 DNA 分子水平详细分析不同 PCP 浓度下对细胞的毒性和 DNA 损伤的效应; 确定总超氧化物歧化酶(SOD)的活力和乳酸脱氢酶(LDH)的漏出率作为评价低浓度 PCP 毒性效应的敏感生物标志物.

国内外研究表明 PCP 对水生生物、哺乳动物、细菌和植物细胞具有基因毒性和细胞毒性^[5,6]以及免疫毒性^[7], 并且发现小剂量 PCP 及其钠盐具有潜在的遗传毒性, 可引起人畜肝肾损伤及内分泌干扰^[8]. 张民等^[9]以 LDH 为指标研究了 PCP 对鲫鱼淋巴细胞的毒性, 相对于 PCP 对淋巴细胞活性和红细胞溶血而言, LDH 对低浓度五氯酚更敏

收稿日期: 2011-04-10; 修订日期: 2011-10-20

基金项目: 国家自然科学基金项目(21147002); 国家重点基础研究发展规划(973)项目(2010CB134405); 重庆市自然科学基金项目(CSTC.2009BB1131)

作者简介: 金帮明(1986~), 男, 硕士研究生, 主要研究方向为生物化学与分子生物学, E-mail: jinbangming052@yeah.net

* 通讯联系人, E-mail: liuyan@swu.edu.cn

感; Repetto 等^[10]研究发现各浓度 PCP 染毒 RTG-2 虹鳟鱼细胞 24 h, $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ PCP 时细胞 LDH 漏出率开始显著增加; 李伟民等^[11]以 SOD、谷胱甘肽(GSH)、丙二醛(MDA)等为指标研究了 PCP 对鲫鱼肝脏的氧化损伤; 王辅明等^[12]以 SOD、谷胱甘肽(GSH)和热激蛋白 70(HSP70)为生化指标研究 PCP 对生物体的毒性效应, 没有进一步从离体细胞系和分子水平对其毒性进行深入研究. 因此 Stang 等^[13]选择了人淋巴细胞、人成纤维细胞、V79 细胞、HepG2 细胞以及 HeLa 细胞为研究对象, 运用高通量彗星实验技术研究甲磺酸甲酯, 过氧化氢以及 PCP 对 5 种细胞的 DNA 损伤, 试图从 DNA 水平上筛选出对上述可能的致癌物质具有基因毒性敏感的细胞模型; 同时 Fang 等^[14]运用二维电泳技术分析稀有鮟鮟经 PCP 暴露 28 d 前后肝组织中蛋白表达差异, 通过质谱分析期望筛选出具有显著表达差异的蛋白质作为 PCP 生物毒性的典型生物标志物. 研究发现 HeLa 细胞在评估化学污染物细胞毒性方面的实验结果显示了非常好的实验重复性和显著的相关性^[15-17]. 因此本研究利用 MTT 法检测 HeLa 细胞经不同浓度 PCP 染毒不同时间后的细胞活力, 测定不同剂量 PCP 染毒 HeLa 细胞后细胞培养液中 LDH 的漏出率和总 SOD 的活力, 单细胞凝胶电泳实验(SCGE)分析 PCP 对 HeLa 细胞 DNA 的影响, 揭示 PCP 对生物体的细胞毒性和 DNA 的损伤效应, 可快速有效地筛选对低浓度 PCP 敏感的生物标志物, 以期为评价低浓度 PCP 的毒性效应提供实验依据, 有助于预防低浓度 PCP 的危害, 在维护人类健康和生态安全方面具有重要意义.

1 材料与方法

1.1 实验材料

HeLa 细胞购自中国科学院上海生科院生化与细胞所, 磨砂载玻片, 盖玻片.

试剂: 五氯酚(纯度 99.9%, Chemservice 公司,

$$\text{细胞抑制率}(\%) = 1 - \frac{\text{实验组 } D \text{ 均值} - \text{空白对照组 } D \text{ 均值}}{\text{溶剂对照组 } D \text{ 均值} - \text{空白对照组 } D \text{ 均值}} \times 100\%$$

以 PCP 浓度为横坐标, 细胞抑制率为纵坐标作图.

1.4 PCP 染毒对 HeLa 细胞 LDH 漏出率的影响

HeLa 细胞经胰酶消化后, 调整细胞密度为 $1 \times 10^5 \text{ cells}\cdot\text{mL}^{-1}$ 接种于 96 孔板中, 待细胞进入对数生长期时, 加入 200 μL 终浓度分别为 200、100、50、25 和 $12.5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 PCP 溶液, 同时设细胞

美国); DMEM 培养基(Hyclone 公司, 美国); 小牛血清(Hyclone 公司, 美国); 双抗(Hyclone 公司, 美国); 四甲基偶氮唑蓝(MTT)(Sigma 公司, 美国); 二甲基亚砜(DMSO)(Sanland-Chem 公司, 中国); 台盼蓝(Sigma 公司, 美国); 溴化乙锭(ethidium bromide, EB); 正常熔点琼脂糖(上海化学试剂公司); 低熔点琼脂糖(北京经科宏大生物技术有限公司); SOD 检测试剂盒(南京建成生物工程研究所); 氯化硝基四氮唑蓝(NBT)(Amresco 公司, 美国); 氧化型辅酶 I(NAD)(Amresco 公司, 美国).

仪器: CO_2 细胞恒温培养箱(Thermo Scientific 公司, 美国); 荧光倒置显微镜(Nikon 公司, 日本); 微量高速冷冻离心机(Hettich Zentrifugen 公司, 德国); 低速离心机(长沙湘仪离心机仪器有限公司); Spectra Max M2 酶标仪(Molecular Devices 公司, 美国).

1.2 细胞培养

HeLa 细胞培养于含 10% 小牛血清、 $100 \text{ U}\cdot\text{L}^{-1}$ 青霉素, $100 \text{ U}\cdot\text{L}^{-1}$ 链霉素的 DMEM 培养基中(pH 7.2), 37°C , 5% CO_2 恒温培养箱中孵育, 待细胞生长到 80% ~ 90% 时传代, 实验全部选择对数生长期细胞.

1.3 MTT 法检测 PCP 对 HeLa 细胞生长的抑制率

HeLa 细胞经胰酶消化, 调整细胞密度为 $0.8 \times 10^5 \text{ cells}\cdot\text{mL}^{-1}$, 按每孔 100 μL 接种于 96 孔板中, CO_2 孵育箱中培养 24 h, 每孔分别加入 200 μL 终浓度 PCP 溶液: 200、140、98、68.60、48.02、33.61、23.53、16.47、11.53 和 $8.07 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 同时设溶剂对照组(0.01% 乙醇)和空白对照组(DMEM 培养基不含细胞), 每组设 5 个平行孔. 培养 24 h 后弃孔内液体, PBS 洗涤 2 次, 加入 20 μL $5 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的 MTT, 培养 4 h 后弃孔内液体, 加入 150 μL DMSO, 在微量振荡器上振荡 10 min 后, 在 Spectra Max M2 酶标仪于 490 nm 处测定各孔 D 值, 实验重复 3 次取平均值, 按下列公式计算细胞抑制率:

自然释放对照组(DMEM 培养基), 最大释放对照组(0.8% 的 TritonX-100), 每组各设 5 个复孔, 每组实验重复 2 次. 37°C 、5% CO_2 温箱中孵育 12、24、36 和 48 h, 最大释放孔在结束培养前加入终浓度为 0.8% 的 TritonX-100, 作用 45 min. 分别从对应的培养板中取 100 μL 上清加入 ELISA 板中,

37℃ 孵育 10 min 后, 加入新鲜配制的 100 μL LDH 底物溶液, 室温避光反应 15 min, 每孔加入 1

$$\text{LDH 漏出率}(\%) = \frac{\text{实验组 } D \text{ 值} - \text{自然释放对照组 } D \text{ 值}}{\text{最大释放对照组 } D \text{ 值} - \text{自然释放对照组 } D \text{ 值}} \times 100\%$$

1.5 PCP 染毒对 HeLa 细胞培养液 SOD 活性的影响

HeLa 细胞经消化, 计数, 接种于 96 孔板, 待细胞进入对数生长期时加入 200 μL 终浓度分别为 25.0、17.5、12.25、8.575、6.0 和 4.202 μmol·L⁻¹

$$\text{总 SOD 活力}(U \cdot \text{mL}^{-1}) = \frac{\text{对照孔 } D \text{ 值} - \text{测定孔 } D \text{ 值}}{\text{对照孔 } D \text{ 值}} \div 50\% \times \text{反应体系的稀释倍数}$$

1.6 改良彗星实验检测 HeLa 细胞 DNA 损伤

HeLa 细胞经胰酶消化后调整细胞密度为 1 × 10⁵ cells·mL⁻¹, 按每孔 100 μL 接种于 96 孔板内, 待细胞进入对数生长期时分别加入 200 μL 终浓度为 6.25、12.5、25 和 50 μmol·L⁻¹ 的 PCP 溶液, 0.01% 无水乙醇作为溶剂对照组, 培养 24 h 和 36 h; 同时设阳性对照组 2 mmol·L⁻¹ H₂O₂ 染毒 4 h, 分别收获细胞, 加 PBS 制成 1 × 10⁶ cells·mL⁻¹ 的细胞悬液, 冰浴保存用于彗星实验. 实验步骤参照文献[18], 并加以改进. 用荧光显微镜观察, 随机取 50 个细胞进行分析, 彗星图像运用 CASP 软件自动分析, 分析标准采用国际公认的尾部 DNA 百分率 (Tail DNA%) 和尾距 (Tail Moment) 来评价 DNA 损伤程度.

1.7 统计分析

运用 Origin 7.5 软件绘图, SPSS 13.0 分析全部数据, 以平均值 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 暴露组与溶剂对照组之间的差异采用 *t* 检验进行比较, 以 0.05 作为显著性水平, *P* < 0.05 表示差异显著, *P* < 0.01 表示差异极显著.

2 结果

2.1 PCP 对 HeLa 细胞的增殖抑制率

利用 MTT 法测定不同浓度的 PCP 染毒 HeLa 细胞 24 h 对细胞增殖抑制率的影响, 如图 1, 在 8.07 μmol·L⁻¹ 和 11.53 μmol·L⁻¹ PCP 的染毒条件下, PCP 浓度与细胞增殖抑制率关系不明显; 在 16.47 ~ 200 μmol·L⁻¹ PCP 浓度范围内, 细胞增殖抑制率随着 PCP 浓度的增加而增强, 呈明显的浓度-效应关系. 利用 SPSS 13.0 软件计算出 PCP 半数抑制浓度 IC₅₀ 为 66.59 μmol·L⁻¹.

2.2 PCP 染毒对 HeLa 细胞 LDH 漏出率的影响

如图 2 所示, 12.5、25、50、100 和 200

mol·L⁻¹ 柠檬酸终止液 30 μL, 用酶标仪在 490 nm 处读取各孔 *D* 值, 并计算 LDH 漏出率:

的 PCP 溶液, 同时设溶剂对照组 (0.01% 乙醇), 空白对照组 (DMEM 培养基), 每组各设 5 个复孔, 每组实验重复 2 次. 37℃、5% CO₂ 培养箱中孵育 12、24、36 和 48 h 后, 收集上清. 按照 SOD 试剂盒说明书测定细胞培养液中 SOD 的活性:

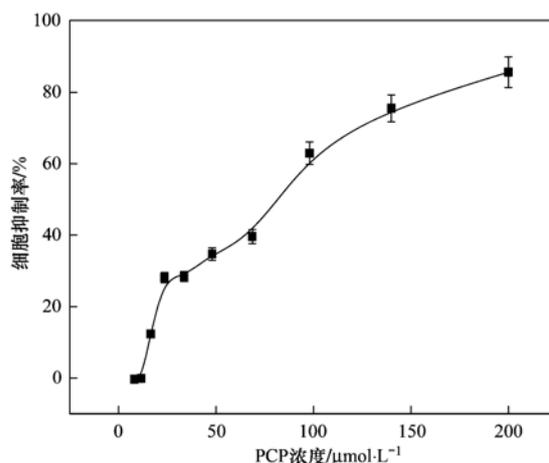


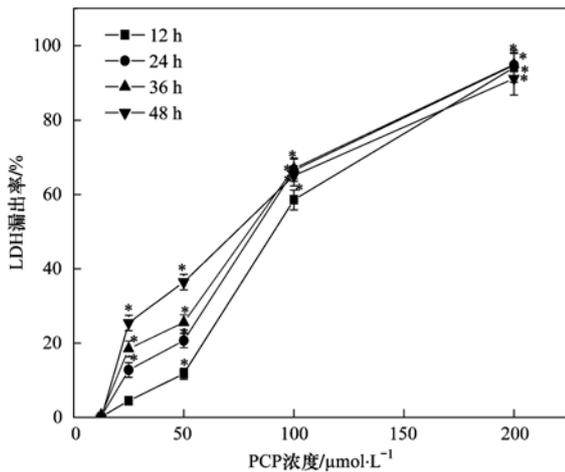
图 1 PCP 处理 HeLa 细胞 24 h 后的浓度效应曲线

Fig. 1 Concentration-response curve after 24 h exposure of HeLa cells to PCP

μmol·L⁻¹ PCP 染毒 HeLa 细胞 12、24、36 和 48 h, 细胞 LDH 漏出率表现出显著的变化. 在这 4 个染毒时间中, 12.5 μmol·L⁻¹ PCP 浓度的细胞 LDH 漏出率很低, 随着 PCP 浓度的增加, 细胞 LDH 漏出率逐渐增大, 并且各 PCP 浓度组与 12.5 μmol·L⁻¹ PCP 浓度组间均存在显著性的差异 (*P* < 0.05), 200 μmol·L⁻¹ PCP 使细胞 LDH 漏出率达到了 90%; 在 25 μmol·L⁻¹ PCP 和 50 μmol·L⁻¹ PCP 染毒浓度下, 随着染毒时间的延长, 细胞 LDH 漏出率依次增大存在显著性的差异 (*P* < 0.05), 具有明显的时间-效应关系, 而在 100 μmol·L⁻¹ PCP 和 200 μmol·L⁻¹ PCP 染毒条件下, 各染毒时间之间的细胞 LDH 漏出率没有显著的变化 (*P* > 0.05).

2.3 PCP 染毒对 HeLa 细胞培养液 SOD 活性的影响

不同浓度 PCP 染毒 HeLa 细胞 12、24、36 和 48 h 对细胞培养液 SOD 活性的影响, 如图 3 所示, 在这 4 个染毒时间中, 4.202、6.0 和 8.575 μmol·L⁻¹



* 表示与 $12.5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ PCP 浓度组相比, $P < 0.05$

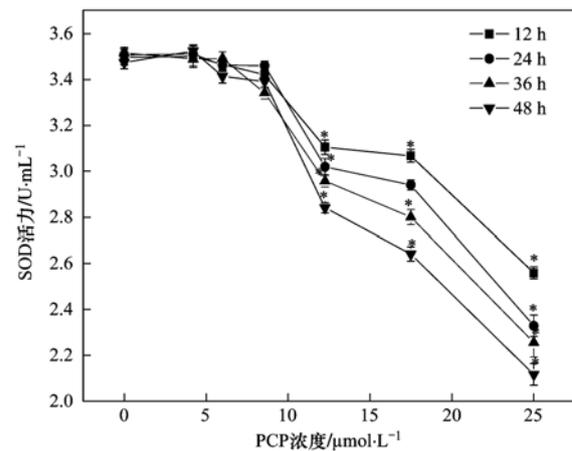
图 2 PCP 染毒对 HeLa 细胞 LDH 漏出率的影响

Fig. 2 LDH leakage rate of HeLa cells exposure to PCP

PCP 浓度组与溶剂对照组相比, 细胞培养液总 SOD 活性没有显著性差异 ($P > 0.05$), 12.25 、 17.5 和 $25 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ PCP 浓度组与溶剂对照组相比, 细胞培养液 SOD 活性存在着显著性差异 ($P < 0.05$), 并且随着 PCP 浓度的增加细胞培养液总 SOD 活性逐渐下降; 4.202 、 6.0 、 8.575 和 $12.25 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ PCP 浓度染毒 HeLa 细胞的 4 个染毒时间的细胞培养液总 SOD 活性没有显著性差异 ($P > 0.05$), $25 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $17.5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ PCP 浓度染毒 HeLa 细胞的 4 个染毒时间的细胞培养液总 SOD 活性具有显著性差异 ($P < 0.05$), 具有明显的时间-效应关系。

2.4 PCP 染毒对 HeLa 细胞 DNA 的损伤

PCP 染毒组和阳性对照组与溶剂对照组相比, 如图 4 所示, 暴露 24 h 和 36 h (未列出) 的 6.25 、 12.5 、 $25 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 与 $50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ PCP 染毒组相同, HeLa 细胞头部 DNA 致密, 边缘光滑, 没有明



* 表示与溶剂对照组相比, $P < 0.05$

图 3 PCP 染毒对 HeLa 细胞培养液 SOD 活性的影响

Fig. 3 SOD activity in culture medium of HeLa cells exposure to PCP

显的尾部或尾部很短, 而阳性对照组 HeLa 细胞呈彗星状, 头部 DNA 集中, 亮度较强, 尾部由 DNA 断片组成, 呈扫帚状, 荧光强度不及头部 [图 4 (c)]. 无论尾部 DNA 百分率还是尾距, 6.25 、 12.5 、 25 和 $50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ PCP 染毒组与溶剂对照组相比, 均没有显著性的差异 ($P > 0.05$), 阳性对照组的尾部 DNA 百分率为 56.23% , 尾距为 72.60% , 与溶剂对照组相比, 存在着极显著的差异 ($P < 0.01$), 表明各剂量 PCP 染毒组并没有对 HeLa 细胞 DNA 造成损伤, 阳性对照组对 HeLa 细胞 DNA 造成了严重的损伤。

3 讨论

3.1 PCP 对 HeLa 细胞毒性作用

首先通过体外实验研究 PCP 对 HeLa 细胞的生长抑制作用, 反应低浓度下 PCP 可能的细胞毒性。已知 PCP 性质稳定不易分解, 易在生物体内富集,

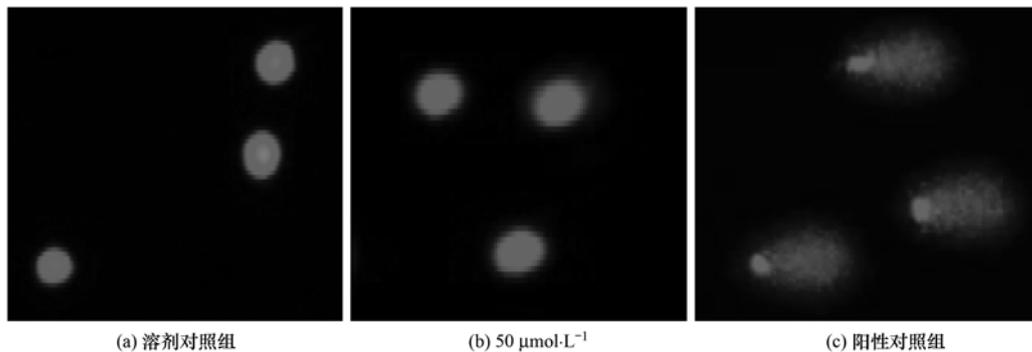


图 4 不同浓度 PCP 染毒 24 h 对 HeLa 细胞 DNA 损伤的影响 (200 倍)

Fig. 4 DNA damage of HeLa cells exposure to different concentrations of PCP for 24 h

并通过食物链进入人体,对人体健康具有潜在危险^[19];Wang等^[20]研究发现PCP对人膀胱癌细胞有很强的细胞毒性作用.MTT比色法可十分灵敏地反映出PCP对细胞造成的毒性损害程度,结果显示,16.47 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ PCP染毒HeLa细胞24 h,细胞增殖抑制显著.已有研究表明PCP细胞毒性作用主要表现为细胞中线粒体被破坏和溶酶体的不稳定^[21],本研究结果显示低浓度PCP已导致线粒体损伤,细胞膜通透性发生改变.在一定的浓度范围,PCP能抑制HeLa细胞生长,染毒浓度与HeLa细胞增殖抑制率呈明显的浓度-效应关系,PCP对HeLa细胞的半数抑制浓度(IC_{50})为66.59 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$.对照文献提供的PCP对水生生物物的半致死量(LD_{50})为1.2~2.887 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$;对小鼠和大鼠经口半致死量(LD_{50})为36~177 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和25~175 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ^[22],提示以HeLa细胞为实验对象,研究低浓度下PCP的毒性作用具有较强的敏感性和可操作性.

其次实验结果显示,25 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的PCP浓度导致HeLa细胞膜完整性破坏,细胞培养液中LDH的漏出率显著增加,在HeLa细胞中LDH对低浓度PCP的毒性更敏感,提示LDH可作为评价低浓度PCP毒性效应的敏感性生物标志物.研究发现^[23],PCP抑制细胞生长乃至死亡,是PCP在细胞内引起细胞急性炎症反应,细胞膨胀、破坏了细胞膜的完整性;Igisu等^[24]研究发现PCP是一种很强的线粒体解偶联剂,可降低质膜流动性,对细胞膜上的乙酰胆碱酯酶有很强的抑制作用.因此在研究PCP对HeLa细胞的毒性时,相对于细胞的活性,PCP对细胞膜通透性的影响更灵敏地反映其对细胞的毒性.在正常情况下LDH存在于细胞浆内,不能透过细胞膜,当细胞受到损伤时,由于细胞膜通透性改变,LDH可以从细胞内释放至培养液中^[25,26],因此测定细胞培养液中LDH漏出率可以评价化学物对培养细胞的损伤程度,LDH可作为细胞受损的一种标志性蛋白,这一观点在本研究中已经得以证实.而SOD是抗氧化酶系统中最重要酶之一,能够清除自由基,在控制膜脂质过氧化、保护生物体正常的生理机能方面扮演着重要的角色,细胞代谢过程中会产生活性氧(reactive oxygen species, ROS),在正常生长和代谢情况下,细胞内活性氧的产生和清除处于一种动态平衡,当活性氧产生与清除失去平衡时,就导致氧化胁迫,活性氧使生物大分子、生物膜遭到可逆及不可逆损伤,严重时可引起细胞

死亡^[27].研究结果显示,12.25 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ PCP浓度组与溶剂对照组相比,细胞培养液中总SOD活性显著下降,说明一定浓度的PCP能够降低HeLa细胞抗氧化酶SOD抵抗超氧阴离子的能力,导致细胞内氧化与抗氧化状态失去平衡,发生氧化应激反应,有研究表明,某些有毒化学物质染毒体外培养的细胞可产生显著的氧化应激^[28].由此判断PCP降低SOD活性从而引起的活性氧可能是PCP产生细胞毒性的原因之一,与王辅明等^[12]的研究结果一致,提示SOD活性可作为评价低浓度PCP毒性效应的敏感性生化指标.

3.2 PCP对HeLa细胞DNA的损伤效应

单细胞凝胶电泳(single cell gel electrophoresis, SCGE)是一种在单细胞水平检测DNA损伤的新技术,是评价环境污染物遗传毒性较敏感的方法.一般来说,一定浓度的受试物染毒后,如果细胞存活率低于70%,则认为细胞毒性过大,在这种情况下,评价受试物对细胞DNA损伤可能会产生较大的误差.MTT法结果可知,16.47 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的PCP染毒24 h已经对HeLa细胞增殖抑制产生了比较显著的影响,所以本实验选取6.25、12.5、25和50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ PCP染毒HeLa细胞24 h和36 h利用单细胞凝胶电泳技术研究PCP对HeLa细胞DNA的损伤.结果表明,无论染毒24 h还是36 h,4个浓度组的PCP均没有造成HeLa细胞尾部DNA百分率和尾距的显著增加,在实验PCP浓度(6.25、12.5、25和50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)下,PCP不会造成HeLa细胞DNA损伤.Wang等^[20]研究了PCP和主要代谢产物四氯对苯二酚(tetrachlorohydroquinone, TCHQ)对体外培养的人膀胱细胞毒性效应,PCP没有引起细胞DNA损伤,只有TCHQ诱导细胞凋亡并造成DNA损伤;Stang等^[13]运用高通量彗星实验技术研究了甲磺酸甲酯,过氧化氢以及PCP对人淋巴细胞、人成纤维细胞、V79细胞、HepG2细胞以及HeLa细胞的DNA损伤,结果发现,不加入S9微粒体时,高达1 000 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的PCP也不会造成HeLa细胞的DNA损伤,当加入S9微粒体后,1 000 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的PCP可轻微诱导HeLa细胞DNA损伤,而甲磺酸甲酯,过氧化氢可诱导以上5种细胞不同程度的DNA损伤,这与本研究结果一致.但最新研究发现,12.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ PCP能改变外周血淋巴细胞的形态、诱导其DNA和蛋白质的损伤^[23];并且微核实验和单细胞凝胶电泳技术的结果显示PCP具有遗传毒性^[29,30];Umamura等^[31]研究发现用添

加有 0.03%、0.06% 和 0.12% PCP 的饲料喂养 B6C3F1 小鼠持续 4 周, 测定 DNA 氧化损伤的代表性指标 8-OHdG, 0.03% PCP 喂养小鼠 2 周以上后, 8-OHdG 水平已经有显著的增加, 表明 PCP 可以造成小鼠 DNA 损伤; 笔者前期的研究发现, PCP 在 $0.15 \sim 0.225 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度下经 1~7 d 暴露稀有鮎鲫可导致其血细胞和肝细胞 DNA 损伤^[30]. 就其原因在于, 当 PCP 暴露细胞并进入细胞体内后, 离体的细胞缺少将低毒性的 PCP 转化成其代谢产物四氯对苯二酚 (tetrachlorohydroquinone, TCHQ) 的酶, 该物质具有高度致突变性, 能打断细胞中双链或单链 DNA 最终造成细胞或机体内 DNA 损伤^[32]; PCP 打破细胞体内的氧化还原平衡而产生大量的羟基自由基, 而羟基自由基又是 PCP 向 TCHQ 转变的主要原因^[23], 因此当加入羟基自由基清除剂后, 由 PCP 诱导人淋巴细胞的 DNA 损伤程度减弱. 实验发现细胞培养液中总 SOD 活性下降, 产生的少量羟基自由基不能将 PCP 转化成 TCHQ. 另外, 研究中采用的实验对象、实验方法及染毒时间不同, PCP 所产生的损伤效应也不完全一致. 不同的研究结果提示我们, PCP 对生物体的遗传毒性具有物种、组织和细胞的特异性, 因此, 在研究 PCP 的 DNA 损伤效应时应选择多物种、多组织以及不同细胞类型从不同水平和层次上对 PCP 基因毒性作更深入剖析.

4 结论

(1) PCP 浓度为 $16.47 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, PCP 可抑制 HeLa 细胞的增值, 其半数抑制浓度 (IC_{50}) 为 $66.59 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$; PCP 浓度与 HeLa 细胞培养液中总 SOD 含量、LDH 漏出率呈现一定的时间-浓度-效应关系; 低浓度 PCP 可造成 HeLa 细胞培养液中总 SOD 活性显著下降和 LDH 漏出率显著增加, 因此 SOD 和 LDH 可作为评价低浓度 PCP 毒性效应的敏感性生物标志物.

(2) PCP 的浓度为 6.25、12.5、25 和 $50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 控制染毒时间为 24 h 和 36 h 后, 彗星实验结果表明, 与阳性对照组比较, HeLa 细胞的 DNA 损伤无显著差异 ($P > 0.05$), 五氯酚在实验浓度 (6.25、12.5、25 和 $50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 下对 HeLa 细胞 DNA 无损伤.

参考文献:

[1] Kiyohara H, Hatta T, Ogawa Y, *et al.* Isolation of *Pseudomonas pickettii* strains that degrade 2, 4, 6-trichlorophenol and their dechlorination of chlorophenols[J]. Applied and Environmental

Microbiology, 1992, **58**(4): 1276-1283.

- [2] Chung N H, Aust S D. Veratryl alcohol-mediated indirect oxidation of pentachlorophenol by lignin peroxidase[J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 1995, **322**(1): 143-148.
- [3] Kazunga C, Aitken M D, Gold A. Primary product of the horseradish peroxidase-catalyzed oxidation of pentachlorophenol[J]. Environmental Science Technology, 1999, **33**(9): 1408-1412.
- [4] Proudfoot A T. Pentachlorophenol poisoning[J]. Toxicological Reviews, 2003, **22**(1): 3-11.
- [5] Pavlica M, Klobucar G I, Vetma N, *et al.* Detection of micronuclei in haemocytes of zebra mussel and great ramshorn snail exposed to pentachlorophenol[J]. Mutation Research, 2000, **465**(1-2): 145-150.
- [6] 宋瑞霞, 阮鸿洁, 景欣月, 等. 五氯酚钠的细胞遗传毒性研究[J]. 癌变·畸变·突变, 2007, **19**(5): 355-357.
- [7] 王芳, 陈亚妍, 林少彬. 水及鱼胆中氯酚的化学测定[J]. 国外医学卫生学分册, 1997, **24**(3): 162-164, 169.
- [8] 胡滨, 陈一资, 胡惠民. 动物性食品中五氯酚钠残留及对人对畜毒害的研究[J]. 肉品卫生, 2005, **1**(2): 27-29.
- [9] 张民, 顾宇飞, 顾颖, 等. 低浓度五氯酚对鲫鱼血液细胞毒性的体外研究[J]. 环境化学, 2005, **24**(3): 302-305.
- [10] Repetto G, Jos A, Hazen M J, *et al.* A test battery for the ecotoxicological evaluation of pentachlorophenol[J]. Toxicology in Vitro, 2001, **15**(4-5): 503-509.
- [11] 李伟民, 尹大强, 周岩, 等. 五氯酚对鲫鱼肝脏的氧化损伤[J]. 农村生态环境, 2003, **19**(1): 40-42.
- [12] 王辅明, 朱祥伟, 马永鹏, 等. 低浓度五氯酚暴露对稀有鮎鲫体内 SOD 活性、GSH 和 HSP70 含量的影响[J]. 生态毒理学报, 2009, **4**(3): 415-421.
- [13] Stang A, Witte I. The ability of the high-throughput comet assay to measure the sensitivity of five cell lines toward methyl methanesulfonate, hydrogen peroxide, and pentachlorophenol[J]. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, 2010, **701**(2): 103-106.
- [14] Fang Y J, Gao X J, Zha J M, *et al.* Identification of differential hepatic proteins in rare minnow (*Gobiocypris rarus*) exposed to pentachlorophenol (PCP) by proteomic analysis[J]. Toxicology Letters, 2010, **199**(1): 69-79.
- [15] Ben Trivedi A, Kitabatake N, Doi E. Toxicity of dimethyl sulfoxide as a solvent in bioassay system with HeLa cells evaluated colorimetrically with 3-(4, 5-dimethyl thiazol-2-yl)-2, 5-diphenyl-tetrazolium bromide[J]. Agricultural and Biological Chemistry, 1990, **54**(11): 2961-2966.
- [16] Wang X F, Ohlin C A, Lu Q H, *et al.* Cytotoxicity of ionic liquids and precursor compounds towards human cell line HeLa[J]. Green Chemistry, 2007, **9**(11): 1191-1197.
- [17] Vlachy N, Touraud D, Heilmann J, *et al.* Determining the cytotoxicity of cationic surfactant mixtures on HeLa cells[J]. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2009, **70**(2): 278-280.
- [18] 卫东. 用彗星试验检测烷基酚对海洋生物血淋巴细胞的 DNA 损伤[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2006. 9-12.

- [19] 江夕夫, 李延平, 王术恩, 等. 人群五氯酚环境暴露、体负荷和健康效应的研究[J]. 中国公共卫生, 1994, **10**(10): 436-439.
- [20] Wang Y J, Ho Y S, Jeng J H, *et al.* Different cell death mechanisms and gene expression in human cells induced by pentachlorophenol and its major metabolite, tetrachlorohydroquinone [J]. *Chemico-Biological Interactions*, 2000, **128**(3): 173-188.
- [21] Fernández Freire P, Labrador F V, Pérez Martín J M, *et al.* Cytotoxic effects in mammalian vero cells exposed to pentachlorophenol[J]. *Toxicology*, 2005, **210**(1): 37-44.
- [22] 中国环保网[EB/OL]. <http://www.ep.net.cn/msds/68.htm>, 2008-6-20.
- [23] Michałowicz J. Pentachlorophenol and its derivatives induce oxidative damage and morphological changes in human lymphocytes (*in vitro*) [J]. *Archives of Toxicology*, 2010, **84**(5): 379-387.
- [24] Igisu H, Hamasaki N, Ikeda M. Highly cooperative inhibition of acetylcholinesterase by pentachlorophenol in human erythrocytes [J]. *Biochemical Pharmacology*, 1993, **46**(1): 175-177.
- [25] Lobner D. Comparison of the LDH and MTT assays for quantifying cell death: validity for neuronal apoptosis? [J]. *Journal of Neuroscience Methods*, 2000, **96**(2): 147-152.
- [26] Shuaib A, Sochocka E, Ishaqzay R, *et al.* Protective effect of hypothermia during ischemia in neural cell cultures [J]. *Neurochemical Research*, 1993, **18**(6): 663-665.
- [27] Mittler R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance[J]. *Trends in Plant Science*, 2002, **7**(9): 405-410.
- [28] Kim Y H, Choi J H, Rim H K, *et al.* 23-hydroxytormentone acid and niga-ichigoside F₁ isolated from *Rubus coreanus* attenuate cisplatin-induced cytotoxicity by reducing oxidative stress in renal epithelial LLC-PK₁ cells[J]. *Biological Pharmaceutical Bulletin*, 2011, **34**(6): 906-911.
- [29] 马永鹏, 王燕, 朱祥伟, 等. 基于 SCGE 的五氯酚对稀有鮡鲫 DNA 损伤的研究[J]. 中国环境科学, 2010, **30**(2): 269-274.
- [30] Pavlica M, Klobucar G I V, Mojaš N, *et al.* Detection of DNA damage in haemocytes of zebra mussel using comet assay [J]. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 2001, **490**(2): 209-214.
- [31] Umemura T, Sai-Kato K, Takagi A, *et al.* Oxidative DNA damage and cell proliferation in the livers of B6C3F1 mice exposed to pentachlorophenol in their diet[J]. *Fundamental and Applied Toxicology*, 1996, **30**(2): 285-289.
- [32] Carstens C P, Blum J K, Wittte I. The role of hydroxyl radicals in tetrachlorohydroquinone induced DNA strand break formation in PM2 DNA and human fibroblasts [J]. *Chemico-Biological Interactions*, 1990, **74**(3): 305-314.

CONTENTS

Safety Value of Contaminant in Water Pollution Accident Based on Human Health Risk	ZHENG Bing-hui, LUO Jin-hong, FU Qing, <i>et al.</i> (337)
Safety Concentration of Genotoxic Carcinogens in Water Pollution Accident Based on Human Health Risk	LUO Jin-hong, ZHENG Bing-hui, FU Qing, <i>et al.</i> (342)
A Quantitative Method and Case Analysis for Assessing Water Health	LI Yu-feng, LIU Hong-yu, HAO Jing-feng, <i>et al.</i> (346)
Temporal and Spatial Variation of Nitrogen and Phosphorus and Eutrophication Assessment in Downstream River Network Areas of North Canal River Watershed	SHAN Bao-qing, JIAN Yu-xiang, TANG Wen-zhong, <i>et al.</i> (352)
Spatiotemporal Variation Analysis and Identification of Water Pollution Sources in the Zhangweinan River Basin	XU Hua-shan, XU Zong-xue, TANG Fang-fang, <i>et al.</i> (359)
Hydrochemical Characteristics and Formation Mechanism of Shallow Groundwater in the Yellow River Delta	AN Le-sheng, ZHAO Quan-sheng, YE Si-yuan, <i>et al.</i> (370)
Impacts of Sediment Disturbance Time on the Distribution of Phosphorus Forms in Suspended Solids	LI Da-peng, HUANG Yong, LI Yong, <i>et al.</i> (379)
Influence of Submerged Macrophytes on Phosphorus Transference Between Sediment and Overlying Water in the Growth Period	WANG Li-zhi, WANG Guo-xiang, YU Zhen-fei, <i>et al.</i> (385)
Pollution Characteristics and Evaluation of Nitrogen, Phosphorus and Organic Matter in Surface Sediments of Lake Changshouhu in Chongqing, China	LU Shao-yong, XU Meng-shuang, JIN Xiang-can, <i>et al.</i> (393)
Vertical Distribution Characteristics of Nutrients and Heavy Metals in Sediments of Lake Hongze	ZHANG Wen-bin, YU Hui (399)
Effects of Rainfall on Nitrogen and Phosphorus Loss from Courtyard Compost and Its Risk of Nonpoint Source Pollution	PENG Li, WANG Li-wei, YANG Zhi-min, <i>et al.</i> (407)
Effects of Hydrodynamic Process on Bio-optical Properties in Algal-Dominated Lake Region of Shallow Lake	LIU Xiao-han, FENG Long-qing, ZHANG Yun-lin, <i>et al.</i> (412)
Estimation and Remote Sensing Inversion of Diffuse Attenuation Coefficient $K_d(490)$ in Lake Taihu in Spring Based on Semi-analytical Model	LIU Zhong-hua, LI Yun-mei, LI Rui-yun, <i>et al.</i> (421)
Monitoring the Total Suspended Matter of Lake Chaohu Based on Quasi-Analytical Algorithm	ZHANG Hong, HUANG Jia-zhu, LI Yun-mei, <i>et al.</i> (429)
Optimization of Aerobic/Anaerobic Subsurface Flow Constructed Wetlands	LI Feng-min, SHAN Shi, LI Yuan-yuan, <i>et al.</i> (436)
Effects of Allelochemical Dibutyl Phthalate on <i>Gymnodinium breve</i> Reactive Oxygen Species	BIE Cong-cong, LI Feng-min, LI Yuan-yuan, <i>et al.</i> (442)
Toxicity Effects of <i>Rac</i> - and <i>S</i> -Metolachlor on Two Algae	CAI Wei-dan, LIU Hui-jun, FANG Zhi-guo (448)
Studies for Killing the Oceanic Harmful Organisms in Ship's Ballast Water Using Hydroxyl Radicals	BAI Min-dong, ZHANG Na-hui, ZHANG Zhi-tao, <i>et al.</i> (454)
Modification of Natural Siderite and Enhanced Adsorption of Arsenic	ZHAO Kai, GUO Hua-ming, LI Yuan, <i>et al.</i> (459)
Kinetic Study of 4-Chloronitrobenzene Degradation by Zero-Valent Iron	LIAO Di-jie, YANG Qi, LEE Chun-chi (469)
Photochemical Degradation of Ofloxacin in Aqueous Solution	SHAO Meng, YANG Gui-peng, ZHANG Hong-hai (476)
Photodegradation of Atenolol in Aqueous Nitrate Solution	JI Yue-fei, ZENG Chao, MENG Cui, <i>et al.</i> (481)
Biodegradation of Pyridine Under UV Irradiation	FANG Miao-miao, YAN Ning, ZHANG Yong-ming (488)
Optimization on Decoloration Conditions of Anthraquinone Dyes by Laccase from <i>Amillariella mellea</i>	ZHU Xian-feng, QIN Ren-bing, YU Chen-chen, <i>et al.</i> (495)
Biosorption of Chromium (VI) by Waste Biomass of ϵ -Poly-L-lysine Fermentation	CAO Yu-juan, ZHANG Yang, XIA Jun, <i>et al.</i> (499)
Investigation on Enhanced Conditions for the Densification of Filamentous Sludge	LI Zhi-hua, SUN Wei, JI Xiao-qin, <i>et al.</i> (505)
Effect of Temperature on the Response Characteristics of Shortcut Nitrification Granular Sludge	LUO Yuan-ling, YANG Zhao-hui, XU Zheng-yong, <i>et al.</i> (511)
Fuel Consumption and Emission Inventory of Typical Construction Equipments in China	LI Dong-ling, WU Ye, ZHOU Yu, <i>et al.</i> (518)
Optimization of PM ₁₀ Monitoring Network in Beijing	QI Ling, ZHAO Yue, XIE Shao-dong (525)
Effect of Greenbelt on Pollutant Dispersion in Street Canyon	XU Wei-jia, XING Hong, YU Zhi (532)
Investigation of Effect and Process of Nitric Oxide Removal in Rotating Drum Biofilter Coupled with Absorption by Fe ^{II} (EDTA)	CHEN Jun, YANG Xuan, YU Jian-ming, <i>et al.</i> (539)
Effect of UV-B Radiation on Release of Nitrogen and Phosphorus from Leaf Litter in Subtropical Region in China	SONG Xin-zhang, ZHANG Hui-ling, JIANG Hong, <i>et al.</i> (545)
Characteristics of Carbon Sequestration and Apparent Stability of New Sequestered Carbon in Forested Torrid Red Soil at Dry-Hot Valley	TANG Guo-yong, LI Kun, SUN Yong-yu, <i>et al.</i> (551)
Spatial Distribution of Methane in Surface Water and Sediment of Jiulongjiang Estuary and the Effect Environment factors of It	GUO Ying-ying, CHEN Jian, YIN Xi-jie, <i>et al.</i> (558)
Methane Fluxes and Controlling Factors in the Intertidal Zone of the Yellow River Estuary in Autumn	JIANG Huan-huan, SUN Zhi-gao, WANG Ling-ling, <i>et al.</i> (565)
Study on Dioxin Emission for Typical Non-Wood Pulp Making in China	WANG Zhi-fang, DING Qiong, WANG Kai-xiang, <i>et al.</i> (574)
Horizontal and Vertical Distribution of Polybrominated Diphenyl Ethers (PBDEs) in River Sediment from a Typical Electrical Equipment Industrial Area	QIU Meng-de, DENG Dai-yong, YU Le-huan, <i>et al.</i> (580)
Characteristics of Polychlorinated Biphenyls in Soils from an Electronic Waste Recycling Area	WANG Xue-tong, LI Yuan-cheng, ZHANG Yuan, <i>et al.</i> (587)
Characterization and Potential Risks of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Green Space Soils of Educational Areas in Beijing	PENG Chi, WANG Mei-e, OUYANG Zhi-yun, <i>et al.</i> (592)
Spatial Variability and Evaluation of Soil Heavy Metal Contamination in the Urban-transect of Shanghai	LIU Yun-long, ZHANG Li-jia, HAN Xiao-fei, <i>et al.</i> (599)
Assessment of Heavy Metal Pollution in Surface Sediments of Rivers in Northern Area of Haihe River Basin, China	SHANG Lin-yuan, SUN Ran-hao, WANG Zhao-ming, <i>et al.</i> (606)
Concentrations and Pollution Assessment of Soil Heavy Metals at Different Water-level Altitudes in the Draw-down Areas of the Three Gorges Reservoir	WANG Ye-chun, LEI Bo, YANG San-ming, <i>et al.</i> (612)
Analysis of Community Structure on Sludge Aerobic/anoxic Digestion After Ultrasonic Pretreatment	YE Yun-di, SUN Shui-yu, ZHENG Li, <i>et al.</i> (618)
Research on Population Structure and Distribution Characteristic of Indigenous Microorganism in Post-polymer-Flooding Oil Reservoir	ZHAO Ling-xia, GAO Pei-ke, CAO Mei-na, <i>et al.</i> (625)
Study on Degradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) with Different Additional Carbon Sources in Aged Contaminated Soil	YIN Chun-qin, JIANG Xin, WANG Fang, <i>et al.</i> (633)
Detection of <i>Proocentrum minimum</i> (Pavillard) Schiller with the Electrochemiluminescence-Molecular Probe	ZHU Xia, ZHEN Yu, MI Tie-zhu, <i>et al.</i> (640)
Development of Direct Competitive Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for the Determination of Domoic Acid	WANG Qian, CHENG Jin-ping, GAO Li-li, <i>et al.</i> (647)
Simultaneous Determination of 10 Sulfonamide Antibiotics in Water by Solid-phase Extraction and High Performance Liquid Chromatography	HONG Lei-jie, SHI Lu, ZHANG YA-lei, <i>et al.</i> (652)
Effects of Pentachlorophenol on DNA Damage and Cytotoxicity of HeLa Cells	JIN Bang-ming, WANG Fu-ming, XIONG Li, <i>et al.</i> (658)
Modeling of Carbon Dioxide Measurement and Optimization on Building Ceramic Industry	PENG Jun-xia, ZHAO Yu-bo, JIAO Li-hua, <i>et al.</i> (665)

《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 汤鸿霄 陈吉宁 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)

2012年2月15日 33卷 第2期

ENVIRONMENTAL SCIENCE

(Monthly Started in 1976)

Vol. 33 No. 2 Feb. 15, 2012

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@reces. 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@reces. 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. sciencep. com	Distributed	by	Science Press Tel: 010-64017032 E-mail: journal@mail. sciencep. 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
CN 11-1895/X

国内邮发代号: 2-821

国内定价: 70.00 元

国外发行代号: M 205

国内外公开发行