

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第33卷 第9期

Vol.33 No.9

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

我国4个WMO/GAW本底站大气CH ₄ 浓度及变化特征	方双喜,周凌晔,许林,姚波,刘立新,夏玲君,王红阳	(2917)
我国东北地区大气降水稳定同位素特征及其水汽来源	李小飞,张明军,马潜,李亚举,王圣杰,汪宝龙	(2924)
2010年广州亚运期间空气质量与污染气象条件分析	李婷苑,邓雪娇,范绍佳,吴兑,李菲,邓涛,谭浩波,蒋德海	(2932)
厦门市冬春季灰霾期间大气PM ₁₀ 中多环芳烃的污染特征及来源分析	钱冉冉,闫景明,吴水平,王新红	(2939)
气溶胶OCEC切割点确定方法改进及应用	王莉华,董华斌,闫才青,曾立民,郑玫,张延君,刘久萌,Weber R J	(2946)
松花江上游夹皮沟金矿土壤与大气汞污染特征	张刚,王宁,王媛,刘特,艾建超	(2953)
河北农居环境颗粒态汞污染特征及健康评估研究	赵亚娟,龚巍巍,栾胜基	(2960)
印刷电路板(PCB)厂挥发性有机物(VOCs)排放指示物筛选	马英歌	(2967)
烹调油烟中挥发性有机物的排放初探	何万清,田刚,聂磊,曲松,李靖,王敏燕	(2973)
生物滴滤塔降解甲苯废气长期运行生物膜相特性研究	胡俊,郑江玲,吴越新,张丽丽,陈建孟	(2979)
分期布液生物滴滤床净化H ₂ S废气性能研究	刘春敬,李坚,刘佳,彭淑婧,李超,陈英,何洪	(2987)
粉煤灰综合利用过程中汞的二次释放规律研究	孟阳,王书肖	(2993)
太湖、巢湖水体总悬浮物浓度半分析反演模型构建及其适用性评价	刘忠华,李云梅,檀静,郭宇龙,周莉,刘阁	(3000)
巢湖水质与流域农业投入的关联性研究	张燕,高翔,张洪	(3009)
巢湖十五里河水花生长区沉积物及间隙水中营养盐的基本特性	李如忠,李峰,周爱佳	(3014)
巢湖沉积物中磷蓄积时空变化及人为污染定量评价	刘恩峰,杜臣昌,羊向东,沈吉	(3024)
巢湖周边表土中有机质、全氮和全磷空间分布及其相关性	陈书琴,储昭升,胡社荣,刘俊,王长春,王曼	(3031)
丹江口水库典型入库支流氮磷动态特征研究	雷沛,张洪,单保庆	(3038)
水温分层对三峡水库香溪河库湾春季水华的影响	刘流,刘德富,肖尚斌,孔松,陈媛媛,方小凤	(3046)
平水期和丰水期殷村港污染物浓度时空变异比较研究	杨晓英,罗兴章,郑正,方淑波	(3051)
江苏西部湖泊沉积物营养盐赋存形态和释放潜力差异性分析	刘涛,胡志新,杨柳燕,肖琳,席北斗,许其功	(3057)
太湖西岸湖滨带沉积物氮磷有机质分布及评价	甘树,卢少勇,秦普丰,金相灿,焦伟,王佩	(3064)
南四湖流域种植业面源污染氮磷源解析研究	刘静,路风,杨廷钊,徐娜,王田妮	(3070)
珠江水体中有机物分布、组成及与消毒副产物生成的关系	何洪威,周达诚,王保强,梁艳红	(3076)
东江流域典型乡镇饮用水源地重金属污染健康风险评价	王若师,许秋瑾,张炯,魏群山,颜昌宙	(3083)
深圳茅洲河表层沉积物卤代多环芳烃污染研究	孙建林,倪宏刚,丁超,曾辉	(3089)
福建罗源湾潮间带沉积物重金属含量空间分布及其环境质量影响	高文华,杜永芬,王丹丹,高抒	(3097)
渤海湾大型底栖生物群落结构变化及原因探讨	蔡文倩,刘录三,乔飞,林岍璇,周娟	(3104)
地下水污染防治区划体系构建研究	王俊杰,何江涛,陆燕,刘丽雅,张小亮	(3110)
北京市平原区地下水污染防治区划不确定性分析	陆燕,何江涛,王俊杰,刘丽雅,张小亮	(3117)
川东平行岭谷区典型岩溶含水系统中NO ₃ ⁻ 的存储和运移	杨平恒,袁道先,任幼蓉,谢世友,贺秋芳,胡晓风	(3124)
改性活性炭对水中PFOS的吸附去除研究	董锡臻,石宝友,解岳,王东升	(3132)
水溶液中臭氧和溴离子的反应研究	俞潇婷,张家辉,潘循哲,张仁熙,侯惠奇	(3139)
HPSEC-UV-TOC联用技术测定有机物相对分子质量分布	张晗,董秉直	(3144)
不同有机基质诱发的水体黑臭及主要致臭物(VOCs)产生机制研究	卢信,冯紫艳,商景阁,范成新,邓建才	(3152)
不同pH下纳米铁镍颗粒对生物降解苯酚的影响	况烨,周琰,王清萍,陈祖亮	(3160)
多级微氧生物流化床预处理高浓度丙烯酸废水	李莎,郑盛之,宋玉栋,周岳溪,朱长军,刘淑玲,潘玲,蒲文晶	(3167)
三级生物膜深度处理腈纶废水生化出水的脱氮研究	徐少阳,蒋进元,周岳溪,崔俊涛,段妮妮	(3172)
改性花生壳对水中镉的动态吸附研究	龙腾,易筱筠,党志	(3177)
硫氰酸根在粒状镁铝复合氧化物上的吸附性能	王秀娟,王海增,孙宝维,韩文军	(3182)
海水生物滤器氨氮沿程转化规律模型	罗荣强,侯沙沙,沈加正,陈珠,刘鹰	(3189)
营养物质缺乏引起的好氧颗粒污泥膨胀及其恢复	张著,高大文,袁向娟,勾倩倩	(3197)
生物表面活性剂强化污泥水解的研究	易欣,罗琨,杨麒,李小明,邓伟光,张植平	(3202)
厌氧氨氧化菌的富集培养与分子鉴定	刘冬英,邱艳玲,袁宪正,师晓爽,郭荣波	(3208)
阿特拉津降解菌株的分离、鉴定及降解特性研究	李绍峰,朱静,李铁晶	(3214)
农业废物堆肥中高产漆酶新菌株的分离鉴定及酶学性质研究	任秀娟,范长征,鲁伦慧,王聪,曾光明	(3220)
糖蜜酒精废水脱色微生物的筛选及鉴定	李必金,刘幽燕,贺锴,滕芳明,何熙璞,李青云	(3228)
餐厨垃圾乳酸发酵过程中的微生物多样性分析	刘建国,汪群慧,王爽,孙晓红,仇天雷,李焕	(3236)
共价功能化对单壁碳纳米管产生DNA损伤和活性氧的影响研究	吴仁人,陶雪琴,党志,李开明,蔡美芳	(3241)
<i>Geobacter sulfurreducens</i> 对汞的甲基化及其影响因素研究	邹嫣,司友斌,颜雪,陈艳	(3247)
单一与复合胁迫下油菜对镉、铅的吸收效应	武文飞,南忠仁,王胜利,赵转军,周婷	(3253)
金铜矿下游农户家养番鸭体内重金属分布特征及其评价	杭小帅,梁斌,王文林,王霞,李维新	(3261)
环境激素氯菊酯对萼花臂尾轮虫繁殖的影响	董学兴,杨家新,吕林兰,赵卫红,於叶兵	(3266)
地聚物固化生活垃圾焚烧飞灰固化体抗氧化硫杆菌腐蚀性能的研究	金漫彤,孙鑫,董海丽,金赞芳	(3272)
焚烧飞灰高温过程中重金属的挥发及其氯转化特征	刘敬勇,孙水裕	(3279)
城市废弃物处理温室气体排放研究:以厦门市为例	于洋,崔胜辉,林剑艺,李飞	(3288)
NPEOs及其代谢产物在城市污水处理厂中的归趋分析	连静,刘俊新	(3295)
《环境科学》征订启事(3037)	《环境科学》征稿简则(3151)	信息(2999,3030,3096,3227)

共价功能化对单壁碳纳米管产生 DNA 损伤和活性氧的影响研究

吴仁人^{1,2}, 陶雪琴³, 党志², 李开明¹, 蔡美芳¹

(1. 环境保护部华南环境科学研究所, 广州 510655; 2. 华南理工大学环境科学与工程学院, 广州 510006; 3. 仲恺农业工程学院环境科学与工程学院, 广州 510225)

摘要: 以质粒 DNA 评价法表征了不同程度共价功能化单壁碳纳米管(SWNTs)的生物毒性,并在近红外-可见光光谱、拉曼光谱和活性氧(ROS)表征的基础上研究了共价功能化对其物理结构和化学活性的影响. 结果表明,共价功能化增强了碳纳米管对质粒 DNA 的损伤程度,3 种不同类型的碳纳米管对 DNA 损伤的强度为羧基功能化 SWNTs (SWNT-COOH) > 聚乙二醇功能化 SWNTs (SWNT-PEG) > 非共价功能化 SWNTs (uSWNTs). 随着共价功能化程度的加深,碳纳米管表面石墨晶格的 sp^2 结构受损程度逐渐增高,以致使其反应活性增大. 共价功能化后 SWNTs 可作为电子转移中间体将 NADH 中的电子转移至 O_2 并生成 ROS 从而对 DNA 造成损伤.

关键词: 单壁碳纳米管; 共价功能化; DNA 损伤; NADH; ROS

中图分类号: X171.5 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2012)09-3241-06

Effect of Covalent Functionalization on DNA Cleavage Activity and ROS Formation of Single-Walled Carbon Nanotubes

WU Ren-ren^{1,2}, TAO Xue-Qin³, DANG Zhi², LI Kai-ming¹, CAI Mei-fang¹

(1. South China Institute of Environmental Sciences, Ministry of Environmental Protection, Guangzhou 510655, China; 2. School of Environmental Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510006, China; 3. School of Environmental Science and Engineering, Zhongkai University of Agriculture and Engineering, Guangzhou 510225, China)

Abstract: Biototoxicity of selected covalent functionalized single-walled carbon nanotubes (SWNTs) was investigated by plasmid DNA cleavage assay. The effect of covalent functionalization on the physical structural and chemical activity of SWNTs was also studied by Vis-NIR spectroscopy, Raman spectroscopy and ROS assay. The DNA cleavage intensity was promoted by covalent functionalization, and the intensity of DNA damage caused by the three types of carbon nanotubes in a descending order was found to be carboxylated SWNTs (SWNT-COOH) > polyethyleneglycol-lated SWNTs (SWNT-PEG) > uncovalent functionalized SWNTs (uSWNTs). SWNTs were efficient intermediate to trigger electron transfer from electron donor to O_2 in dark condition which lead to superoxide radical ($O_2^{\cdot-}$) formation. The electron transfer intensity caused by selected SWNTs was also SWNT-COOH > SWNT-PEG > SWNTs. The reason is that defect sites which changed from sp^2 -hybridized carbon atom on the side wall of carbon nanotubes were more reactive than the perfect ones.

Key words: single-walled carbon nanotubes (SWNTs); covalent functionalization; DNA cleavage; NADH; ROS

随着碳纳米管制备技术的成熟、产量逐年增长和应用潜力的开发,人们直接或间接地接触碳纳米管的机会也随之增加,随之而来的碳纳米管生物安全性也逐渐引起广泛的重视. 目前已有许多文献就碳纳米管的生物毒性、机制和影响因素进行了报道. 但由于碳纳米管尺度、结构、形貌、制备方式以及对其进行化学修饰的方式等都会导致其细胞生物效应的差异,以致至今对于碳纳米管是否具有细胞毒性仍存在很多争议^[1].

单壁碳纳米管(SWNTs)是由单层石墨平面卷曲而成,并且由于其特殊的光学、力学和电学性能而成为人们的研究焦点之一^[2]. 然而 SWNTs 几乎不溶于任何溶剂,在溶液中易聚集束,妨碍了对其

进行分子水平研究,也大大限制了其在各方面的应用^[3]. 功能化可提高 SWNTs 的溶解度、有助于纯化,并可引入新的性能^[4]. 根据功能化过程中化学键的作用方式可分为共价功能化与非共价功能化. 最初的共价功能化方法是基于 SWNTs 的酸氧化,其末端或缺陷密度大的位点连上羧基,增加其水溶性,或继续与其它的化学试剂发生反应. 如果进一步功能化,将使羧基再接上极性或非极性基团,从而可溶

收稿日期: 2011-11-29; 修订日期: 2012-01-12

基金项目: 工业聚集区污染控制与生态修复教育部重点实验室开放基金项目;国家自然科学基金项目(41101299);国家水体污染控制与治理科技重大专项(2009ZX07528-001)

作者简介: 吴仁人(1982~),男,博士,主要研究方向为污染物环境行为、生物降解和水污染控制, E-mail: wurenren@scies.org

于水溶液或有机溶剂^[3],或其增加相应性能^[5].

但由于 SWNTs 的离域 π 电子系统非常稳定,相对于纳米氧化铁、纳米氧化锌、半导体量子点等纳米材料,具有相对较小的毒性和较高的生物相容性^[6]. 然而共价功能化是直接与碳纳米管石墨晶格结构作用,从而可部分破化了 SWNTs 的物理特性. 目前,共价功能化对碳纳米管生物毒性及环境化学行为的具体影响并不清楚. 本研究以质粒 DNA 评价法为表征手段,分析了不同程度共价功能化 SWNTs 对 DNA 损伤的影响,并结合物理光谱表征和活性氧表征等方法,对其生物毒性进行机制分析.

1 材料与方法

1.1 实验材料

本研究所使用的碳纳米管有:原型 SWNTs (pSWNTs)、羧基功能化 SWNTs (SWNT-COOH) 和聚乙二醇功能化 SWNTs (SWNT-PEG). 这些材料均购自于美国 Carbon Solution 公司. pSWNTs 为粗制电弧放电法 SWNTs 经空气氧化纯化及去除金属

催化剂后制得^[7], SWNT-COOH 是 pSWNTs 经过浓酸氧化开口,使其末端或(和)侧壁的缺陷位点带上羧基而制得. SWNT-PEG 是 SWNT-COOH 经过进一步的化学修饰,使其发生取代反应而制得. 具体信息可见表 1.

1.2 碳纳米管溶液制备

pSWNTs 不溶于水,可使用表面活性剂破除碳纳米管的疏水界面从而使其稳定分散于水相中. 本实验参考并改进了 Arnold 等^[8]的方法制备非共价功能化 SWNTs (uSWNTs) 溶液,具体为:取 5 mg pSWNTs 放置于 100 mL 20 g·L⁻¹ 胆汁酸钠(SC)溶液中,然后超声 2 h 使其均匀分散. 所得溶液即为 50 mg·L⁻¹ 的 uSWNTs 溶液. 该溶液在静置条件下可稳定悬浮数天. 取 SWNT-COOH 10 mg,将其置于放置于 100 mL 去离子水中,然后用超声 2 h 使其均匀分散. 超声后所得的溶液即为 100 mg·L⁻¹ 的 SWNT-COOH 溶液,该溶液在静置条件下能稳定至少 3 周. SWNT-PEG 溶液的制备方法与 SWNT-COOH 相同.

表 1 不同类型 SWNTs 的特征

Table 1 Description of selected SWNTs

类型	描述	管长/ μm	管径/nm	碳含量/%	金属含量/%	水溶性
pSWNTs	酸纯化,功能化程度低	0.5 ~ 1.5	4 ~ 5	>90	4 ~ 7	不溶于水
SWNT-COOH	已羧基化,功能化程度高	0.5 ~ 1.5	4 ~ 5	>90	5 ~ 8	略溶于水
SWNT-PEG	已聚乙烯醇功能化,其中 SWNTs 含量约为 75% ~ 85%	0.5 ~ 0.6	4 ~ 5	>90	4 ~ 7	溶于水

1.3 质粒 DNA 评价法

准确吸取 50 ng· μL^{-1} 的 bluescript 质粒 DNA 5 μL , 2 mmol·L⁻¹ 的 NADH 溶液 5 μL , 然后分别加入 50 mg·L⁻¹ 的 uSWNTs、SWNT-COOH 和 SWNT-PEG 水溶液 5 μL , 最后加入 35 μL Tris 缓冲溶液 (10 mmol·L⁻¹, pH 7.0) 于 Eppendorf 管中,使最终体积为 50 μL . 充分混均并常温避光保存 4 h 后,准确快速地吸取各样品溶液 10 μL , 然后每个取出的样品加入 2 μL 的上样缓冲溶液,充分混均后加样至电泳小槽. 加样后的凝胶板立即通电进行电泳,电压 120 V. 待样品电泳 90 min 后停止.

1.4 碳纳米管的光谱表征

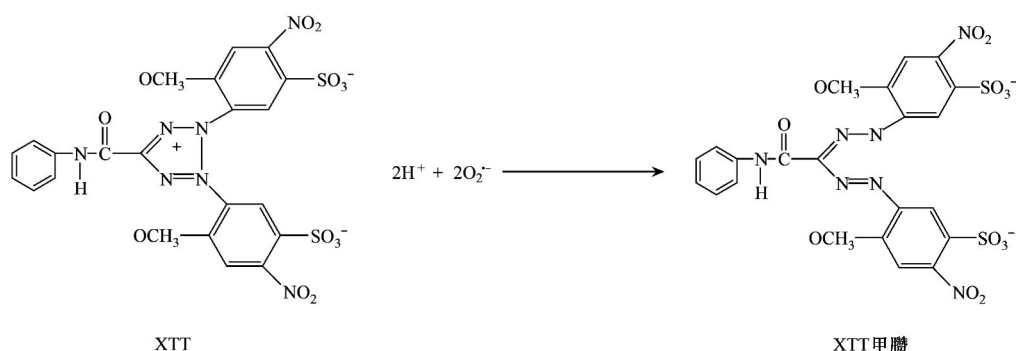
分别取制备好的 uSWNTs、SWNT-COOH、SWNT-PEG 水溶液并置于 1 cm 的石英比色皿内,使用 Jasco V570 UV-Vis-NIR 分光光度计测试样品在波长 400 ~ 1 300 nm 范围内的吸收光谱,表征功能化对 SWNTs 光电结构的影响.

分别取 pSWNTs、SWNT-COOH、SWNT-PEG 的固体粉末少许并固定在载玻片上,使用激光拉曼光谱仪 (Bruker Optics Inc., Billerica, MA) 在波长为 532 nm 的激光光源激发,获得该波长下的激光拉曼光谱,研究纯化及功能化对碳纳米管表面性质的影响.

1.5 活性氧的检测

超氧自由基 ($\text{O}_2^{\cdot-}$) 是基态氧接受电子后形成的第一个氧自由基,故本研究以 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 为 ROS 的代表物. 最常见的 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 检测方法为 NBT 检测法,它可将 NBT 还原并生成甲臌化合物^[9],该反应所生成的甲臌化合物为非水溶性,所有在对 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 生成定位上具有一定的优势,但却不利于 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 的定量测量^[10]. XTT 可与 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 反应生成可溶性甲臌化合物. 反应原理如下:

具体为:将 0.2 mmol·L⁻¹ 的 XTT 加入到初始溶液中,根据不同的反应体系在特定时间内取样并测量吸收峰位置 (470 nm) 的吸光度.



2 结果与讨论

2.1 碳纳米管对质粒 DNA 的损伤

质粒 DNA 评价法是一种测量物质所携带或产生的活性氧对超螺旋 DNA 的氧化性损伤能力的体外方法。图 1 为 uSWNTs、SWNT-COOH、SWNT-PEG 这 3 种不同程度共价功能化类型的碳纳米管对质粒 DNA 的损伤。其中第一泳道为未经任何处理的 bluescript 质粒 DNA 电泳图,可以看出该样品主要为超螺旋质粒 DNA,但仍有少量带切口的 DNA,可能是由于 DNA 的自身不稳定性而在保存的过程中部分分解,或是在质粒 DNA 提取过程中仍含有其它杂质 DNA。第二泳道为 NADH 对质粒 DNA 的影响图,该泳道与第一泳道相比并无显著变化,说明 NADH 对质粒 DNA 的损伤并不明显。第三、四、五泳道分别为 NADH 存在下 uSWNTs、SWNT-COOH 和 SWNT-PEG 对质粒 DNA 损伤的影响。与第一泳道相比,第三泳道也无显著变化,即未共价功能化之前的 SWNTs 生物毒性不明显。但第四、五泳道却产生了带切口的 DNA,说明共价功能化后碳纳米管对质粒 DNA 损伤的程度明显增强。然而随着共价功能化程度的加深,SWNT-PEG 对 DNA 损伤的强度却小于 SWNT-COOH。可知这 3 种不同类型的碳纳米管对 DNA 损伤的强度为 SWNT-COOH > SWNT-PEG > uSWNTs。

很多研究都证实了碳纳米管的生物毒性,它可

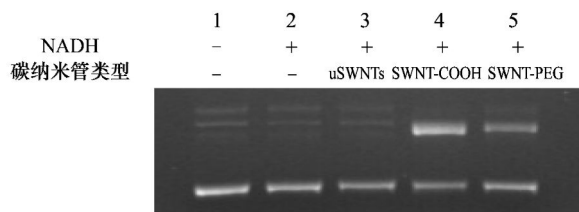


图 1 在 NADH 存在下 uSWNTs、SWNT-COOH、SWNT-PEG 对 DNA 的损伤

Fig. 1 Effect of uSWNTs, SWNT-COOH, SWNT-PEG on DNA cleavage activities in the presence of NADH

以穿过细胞膜进入细胞并分布在内涵体中。这些分布在内涵体中的 SWNTs 或是逐步聚集成更大的颗粒,或是通过外排作用排出细胞^[11,12]。也有研究表明,碳纳米管还能够进入到巨噬细胞^[13]或 Hela 细胞核^[14]中。通常认为:碳纳米管进入细胞后,能够降低细胞的黏附能力,提高细胞内氧化应激水平,使体内活性氧自由基产生过多,氧化程度超出细胞清除氧化物的能力,阻碍细胞周期^[15]。但由于碳纳米管尺度、结构、制备方式以及对其进行化学修饰的方式等都会导致其细胞生物效应的差异,以致目前对碳纳米管的毒性程度仍有很大争议。因此本研究将 uSWNTs、SWNT-COOH、SWNT-PEG 这 3 种不同程度共价功能化类型的碳纳米管进行比较,以质粒 DNA 评价法为模型,可更好地对比碳纳米管的化学修饰对其生物毒性的影响,同时也为解释目前碳纳米管生物毒性的分歧提供依据。

碳纳米材料对质粒 DNA 损伤的研究也有一定的报道,如 Yamakoshi 等^[16]发现富勒烯 C₆₀在可见光及 NADH 存在的下可造成质粒 DNA 的损伤。进一步通过 EPR 检测发现,光照下激发态的 C₆₀^{*}在电子供体 NADH 的作用下转变为 C₆₀⁻,然后将不饱和电子转移至氧气以生成 O₂⁻,最后经过一系列的反应生成羟基自由基(HO·)以致对 DNA 造成损伤。

目前关于碳纳米材料对质粒 DNA 损伤的研究对象主要为 C₆₀或 C₇₀,在碳纳米管日益受到关注的情况下,非常有必要对其生物毒性进行相关的研究。且已有报道中 C₆₀或 C₇₀对 DNA 的损伤均需要在光照的情况下,使其先转化成激发态进而发生一系列连续的反应。而本研究中 SWNTs 不需要进行光照激发,可在黑暗条件下造成 DNA 的损伤,说明了 SWNTs 具有更大的潜在生物毒性,这现象在前人的研究中也未有报道。

2.2 共价功能化对碳纳米管物理结构的影响

图 2 为碳纳米管可见光-近红外光谱图。从中可以看出,所有样品在 1016 和 704 nm 处都观察到

了碳纳米管的特征吸收. 前一个来源于半导体性纳米管的第二间带电子跃迁(S_{22}), 后一个来源于金属性纳米管的第一间带电子跃迁(M_{11})^[17]. 共价功能化后的光谱图发生了明显的变化, 其半导体性纳米管的第二间带电子跃迁(S_{22})和金属性纳米管的第一间带电子跃迁(M_{11})均显著减弱. 主要是因为这类共价功能化方法直接与 SWNTs 的石墨晶格结构作用, 破坏了 SWNTs 功能化位点的 sp^2 结构, 从而部分破坏了 SWNTs 的电子及化学特性. SWNT-COOH 及 SWNT-PEG 的吸收峰则很类似, 是因为在近一步功能化的过程中 PEG 取代了羧基中的羟基, 但是, 碳纳米管表面的 sp^2 结构并没有进一步被破坏.

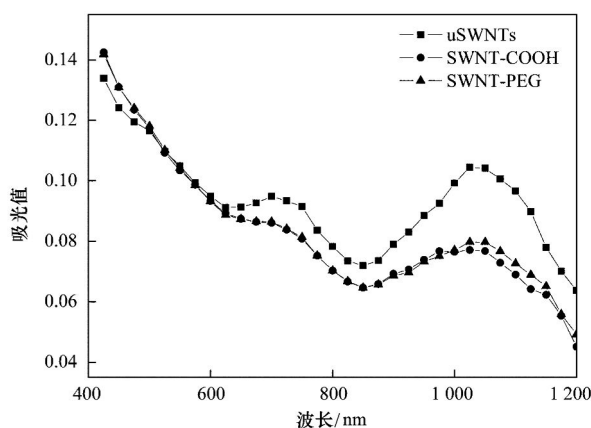


图2 uSWNTs、SWNT-COOH 及 SWNT-PEG 的可见-近红外吸收光谱

Fig. 2 Vis-NIR Absorption spectra of uSWNTs, SWNT-COOH and SWNT-PEG

在碳纳米管的拉曼光谱中, 切向振动模式 G 模反映的是碳纳米管中 $C=C$ 键的切向伸缩振动, 它来源于石墨平面的 E_{2g} 振动模, 其波数范围为 $1500 \sim 1650 \text{ cm}^{-1}$. 双共振拉曼模式 D 模位于 $1250 \sim 1400 \text{ cm}^{-1}$ 处, 它是碳纳米管中石墨片层的空位、原子取

代等缺陷所诱导产生的碳纳米管的拉曼模式^[18]. 由于碳纳米管拉曼 D 模与碳纳米管的结构缺陷相关, 因此 D 模的相对强度大小反映了碳纳米管的缺陷程度: 即 D 模的相对强度越大, 碳纳米管中的缺陷就越多; 反之缺陷就少^[19]. 通常情况下, SWNTs 拉曼光谱中 G 模与 D 模的强度比(I_G/I_D) 可用来表征碳纳米管的石墨化程度高低以及表面功能化碳纳米管中引入的新的官能团^[20].

图 3 是不同功能化碳纳米管 (pSWNTs、SWNT-COOH、SWNT-PEG) 的拉曼光谱比较. 结果显示 [图 3(a)] G 模的强度变化为 $I_{pSWNTs} > I_{SWNT-COOH} > I_{SWNT-PEG}$, 且羧基功能化后 G 模强度减弱要明显于 PEG 功能化后 G 模强度的减弱. D 模的强度变化为 $I_{SWNT-PEG} > I_{SWNT-COOH} > I_{pSWNTs}$ [图 3(b)], 羧基功能化后 D 模强度增强要明显于 PEG 功能化后 D 模强度的增强. 即反映了功能化破坏了碳纳米管功能化位点的 sp^2 结构, 且由于羧基功能化直接作用于碳纳米管的侧壁或管底部等部位, 而进一步 PEG 功能化主要是在羧基化的基础上发生取代反应接入其它基团, 所以羧基功能化对碳纳米管管壁 sp^2 结构的破坏更为明显. 由表 2 可知 I_G/I_D (pSWNTs) $> I_G/I_D$ (SWNT-COOH) $> I_G/I_D$ (SWNT-PEG), 更直观地反映出碳纳米管随着功能化的不断加深, 其表面 sp^2 结构受损程度也就越高.

2.3 功能化对碳纳米管产生活性氧的影响

$HO\cdot$ 是已知氧化能力最强的自由基, 它反应性极强, 在水溶液中的存在时间仅为 10^{-6} s . $O_2^{\cdot-}$ 是基态氧接受电子后形成的第一个氧自由基. 与 $HO\cdot$ 相比 $O_2^{\cdot-}$ 不是很活泼, 在水溶液中的生命周期可达 1 s ^[21]. 然而正是由于 $O_2^{\cdot-}$ 的生命周期很长, 使其能够从生成位置扩散到较远距离达到靶位置, 且它是 $HO\cdot$ 的前身, 可经过一系列的反应转化为其它活性

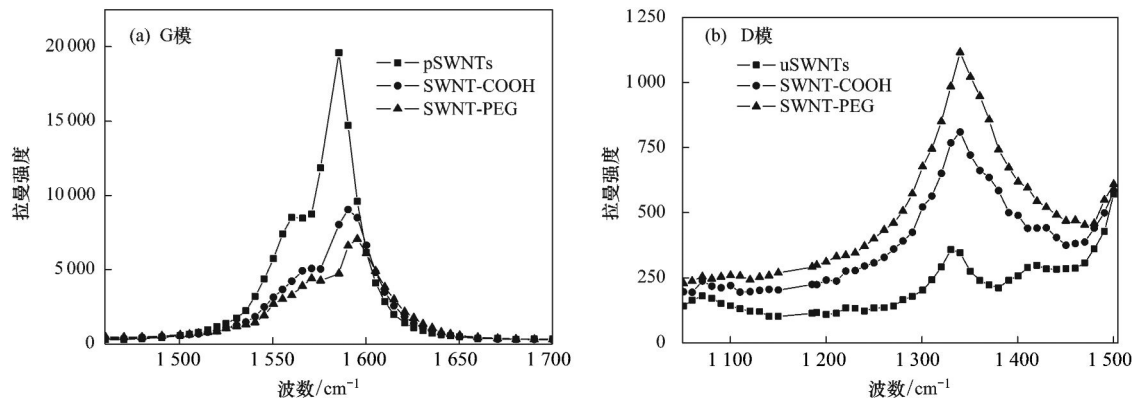


图3 不同功能化碳纳米管的拉曼光谱图

Fig. 3 Raman spectra G band and D band of pSWNTs, SWNT-COOH and SWNT-PEG

更高的氧自由基,从这种意义上讲, $\text{O}_2^{\cdot-}$ 具有很大的危险性. 故本研究以 $\text{HO}\cdot$ 的前导物 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 为对象研究 共价功能化对碳纳米管产生 ROS 的影响,以阐明碳纳米管对质粒 DNA 损伤的机制.

表 2 不同功能化碳纳米管 $I_{\text{G/D}}$ 对比

碳纳米管的类型	G 峰		D 峰		G/D
	波数	拉曼强度	波数	拉曼强度	
pSWNTs	1 336. 8	367. 7	1 584. 0	20 059. 6	54. 6
SWNT-COOH	1 343. 3	816. 7	1 592. 2	9 128. 8	11. 2
SWNT-PEG	1 340. 1	1 116. 0	1 593. 8	7 143. 1	6. 4

图 4 为不同功能化碳纳米管对 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 生成量的影响. 从中可以看出 SWNT-COOH 作为电子转移中间体对 NADH 中的电子转移效率最高,SWNT-PEG 次之,uSWNTs 相对最慢. 而 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 可在生物体内通过 Fenton 和 Harber-Weiss 反应产生 $\text{HO}\cdot$,从而攻击细胞成分引发一系列的毒性效应,造成对细胞的氧化胁迫作用,对生物体产生危害. 与 2. 1 节中碳纳米管对 DNA 损伤的强度类似,3 种不同类型的碳纳米管产生 ROS 的强度为 $\text{SWNT-COOH} > \text{SWNT-PEG} > \text{uSWNTs}$,印证了碳纳米管产生 ROS 氧化胁迫是造成质粒 DNA 损伤的主要途径. 反应途径可见图 5.

由于 SWNTs 在共价功能化的过程中表面的电子特性发生了明显的变化,并使其管壁出现由 2 个五元环和七元环组成的 Stone-Wales (SW) 缺陷^[22]. 该现象的产生使缺陷处的碳原子具有一些特殊的性能. 含有 SW 缺陷的碳原子与羧基的结合能要明显大于管壁上正常碳原子,而与此同时管壁碳原子的频带隙能量 (band gap energy) 由正常管壁的 0. 73 eV 下降为 SW 缺陷碳原子的 0. 36 eV,以致 SW 缺陷处碳原子的反应活性显著增大^[23]. 在 SWNTs 羧基功能化过程中,管壁的缺陷碳原子增多,所以 SWNT-COOH 的反应活性要大于 uSWNTs. 同时从马利肯布居数分析 (Mulliken population analysis)^[23] 可知,SWNT-COOH 结构中的羧基中的碳原子带一定量的正电荷,以致 SWNT-COOH 能捕获更多的电子,所以 SWNT-COOH 获得电子的能力要强于

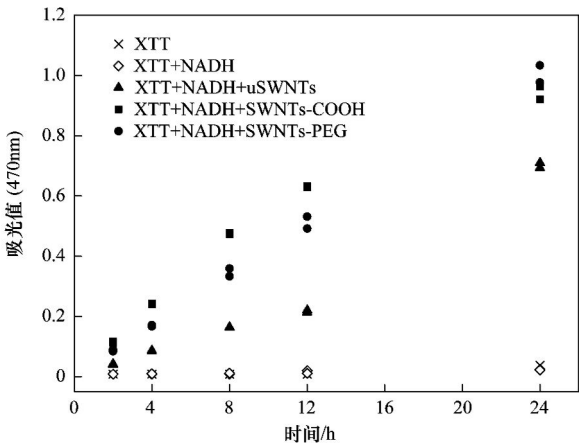


图 4 不同功能化 SWNTs 溶液对 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 产量的影响
Fig. 4 Time course of $\text{O}_2^{\cdot-}$ generation by uSWNTs, SWNT-COOH and SWNT-PEG

SWNT-PEG.

从另外一个角度分析,不同功能化的碳纳米管作为电子转移中间体,它转移电子的能力可能与其在水中的聚积状态有关. 如 Lee 等^[24]发现,当 C_{60} 以分子形态被 TX100 胶束包裹而均匀地分散在水中的条件下产生 $\text{O}_2^{\cdot-}$,但相同反应条件下以聚集态形式存在的 C_{60} (Son/ C_{60}) 却不能产生 $\text{O}_2^{\cdot-}$. 原因为聚集态 C_{60} 对 $\text{C}_{60}^{\cdot-}$ 有一定的猝灭作用,以致 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 的产生受到了限制. 与之类似,本实验中 SWNT-COOH 有一定的水溶性并可均匀分散于水溶液中,而 uSWNTs 却由于其强烈的疏水性需借助于 SC 等表

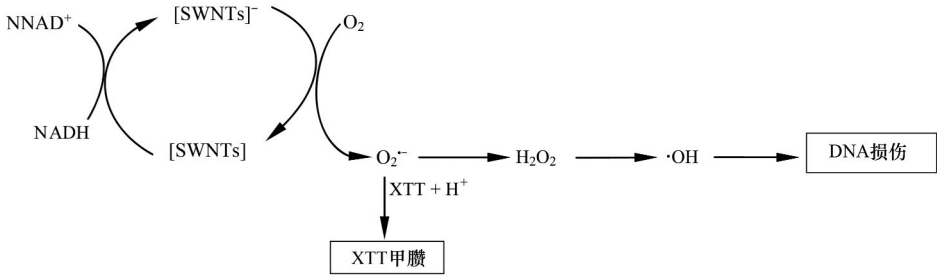


图 5 碳纳米管作用下 ROS 的生成途径及对质粒 DNA 的损伤
Fig. 5 Overall reaction processes of ROS formation and DNA cleavage by SWNTs

面活性剂才能稳定分散于水中,且在水溶液中多以聚集态的形式存在. 故在电子转移过程中,可能由于碳纳米管的猝灭作用使部分电子转移受到抑制,从而其活性要低于 SWNT-COOH.

3 结论

(1) 共价功能化后碳纳米管对质粒 DNA 损伤的程度增强. 3 种不同类型的碳纳米管对 DNA 损伤的强度为 SWNT-COOH > SWNT-PEG > SWNTs.

(2) 通过 Vis-NIR 光谱和拉曼光谱表征可知,随着共价功能化程度的加深,碳纳米管表面石墨晶格的 sp^2 结构受损程度逐渐增高.

(3) 共价功能化后碳纳米管可作为电子转移中间体将 NADH 中的电子转移至 O_2 并生成活性氧从而对 DNA 造成损伤.

参考文献:

- [1] Smart S K, Cassady A I, Lu G Q, *et al.* The biocompatibility of carbon nanotubes[J]. Carbon, 2006, **44**(6): 1034-1047.
- [2] Baughman R H, Zakhidov A A, De Heer W A. Carbon nanotubes-the route toward applications[J]. Science, 2002, **297**(5582): 787-792.
- [3] 肖素芳, 王宗花, 罗国安. 碳纳米管的功能化研究进展[J]. 分析化学, 2005, **339**(2): 261-266.
- [4] 米红宇, 张校刚, 吕新美, 等. 碳纳米管的功能化及其电化学性能[J]. 无机化学学报, 2007, **23**(1): 159-163.
- [5] Stevens J L, Huang A Y, Peng H, *et al.* Sidewall amino-functionalization of single-walled carbon nanotubes through fluorination and subsequent reactions with terminal diamines[J]. Nano Letters, 2003, **3**(3): 331-336.
- [6] Soto K, Garza K M, Murr L E. Cytotoxic effects of aggregated nanomaterials[J]. Acta Biomaterialia, 2007, **3**(3): 351-358.
- [7] Itkis M E, Perea D E, Niyogi S, *et al.* Purity evaluation of as-prepared single-walled carbon nanotube soot by use of solution-phase near-IR spectroscopy[J]. Nano Letters, 2003, **3**(3): 309-314.
- [8] Arnold M S, Green A A, Hulvat J F, *et al.* Sorting carbon nanotubes by electronic structure using density differentiation[J]. Nature Nanotechnology, 2006, **1**(1): 60-65.
- [9] Bielski B, Richter H. A study of the superoxide radical chemistry by stopped-flow radiolysis and radiation induced oxygen consumption[J]. Journal of the American Chemical Society, 1977, **99**(9): 3019-3023.
- [10] Bartosz G. Use of spectroscopic probes for detection of reactive oxygen species[J]. Clinica Chimica Acta, 2006, **368**(1-2): 53-76.
- [11] Kam N W S, Jessop T C, Wender P A, *et al.* Nanotube molecular transporters; Internalization of carbon nanotube protein conjugates into mammalian cell[J]. Journal of the American Chemical Society, 2004, **126**(22): 6850-6851.
- [12] Jin H, Heller D A, Strano M S. Single-particle tracking of endocytosis and exocytosis of single-walled carbon nanotubes in NIH-3T3 cells[J]. Nano Letters, 2008, **8**(6): 1577-1585.
- [13] Poter A E, Gass M, Muller K, *et al.* Direct imaging of single-walled carbon nanotubes in cells[J]. Nature Nanotechnology, 2007, **2**(11): 713-717.
- [14] Pantarotto D, Singh R, McCarthy D, *et al.* Functionalized carbon nanotubes for plasmid DNA gene delivery[J]. Angewandte Chemie International Edition, 2004, **116**(39): 5354-5358.
- [15] 刘元方, 刘佳蕙, 王海芳. 未修饰碳纳米管的细胞毒性机理及其影响因素[J]. 上海大学学报(自然科学版), 2010, **16**(5): 447-459.
- [16] Yamakoshi Y, Umezawa N, Ryu A, *et al.* Active oxygen species generated from photoexcited fullerene (C_{60}) as potential medicines: $O_2^{\cdot-}$ versus 1O_2 [J]. Journal of the American Chemical Society, 2003, **125**(42): 12803-12809.
- [17] Niyogi S, Hamon M A, Hu H, *et al.* Chemistry of single-walled carbon nanotubes[J]. Accounts of Chemical Research, 2002, **35**(12): 1105-1113.
- [18] Osswald S, Flahaut E, Gogotsi Y. In situ Raman spectroscopy study of oxidation of double- and single-wall carbon nanotubes[J]. Chemistry of Materials, 2006, **18**(6): 1525-1533.
- [19] Pimenta M A, Jorio A, Brown S D, *et al.* Diameter dependence of the Raman D-band in isolated single-wall carbon nanotubes[J]. Physical Review B, 2001, **64**(4): 7-10.
- [20] Strano M S, Dyke C A, Usrey M L, *et al.* Electronic structure control of single-walled carbon nanotube functionalization[J]. Science, 2003, **301**(5639): 1519-1522.
- [21] Leff R E. The organic chemistry of superoxide[J]. Chemical Society Reviews, 1976, **6**(2): 195-214.
- [22] Nardelli M B, Yakobson B I, Bernholc J. Mechanism of strain release in carbon nanotubes[J]. Physical Review B, 1998, **57**(8): 4277-4280.
- [23] Wang C, Zhou G, Liu H, *et al.* Chemical functionalization of carbon nanotubes by carboxyl groups on Stone-Wales defects: a density functional theory study[J]. The Journal of Physical Chemistry B, 2006, **110**(21): 10266-10271.
- [24] Lee J, Yamakoshi Y, Hughes J B, *et al.* Mechanism of C_{60} photoreactivity in water: fate of triplet state and radical anion and production of reactive oxygen species[J]. Environmental Science and Technology, 2008, **42**(9): 3459-3464.

CONTENTS

CH ₄ Concentrations and the Variation Characteristics at the Four WMO/GAW Background Stations in China	FANG Shuang-xi, ZHOU Ling-xi, XU Lin, <i>et al.</i> (2917)
Characteristics of Stable Isotopes in Precipitation over Northeast China and Its Water Vapor Sources	LI Xiao-fei, ZHANG Ming-jun, MA Qian, <i>et al.</i> (2924)
Study on Air Quality and Pollution Meteorology Conditions of Guangzhou During the 2010 Asian Games	LI Ting-yuan, DENG Xue-jiao, FAN Shao-jia, <i>et al.</i> (2932)
Characteristics and Sources of PM ₁₀ -bound PAHs During Haze Period in Winter-Spring of Xiamen	QIAN Ran-ran, YAN Jing-ming, WU Shui-ping, <i>et al.</i> (2939)
Improvement and Application of the Method for Determination of OCEC Split	WANG Li-hua, DONG Hua-bin, YAN Cai-qing, <i>et al.</i> (2946)
Characteristics of Mercury Pollution in Soil and Atmosphere in Songhua River Upstream Jia-pi-gou Gold Mining Area	ZHANG Gang, WANG Ning, WANG Yuan, <i>et al.</i> (2953)
Pollution Characteristics and Health Assessment of Particulate Mercury in Hebei Rural Households	ZHAO Ya-juan, GONG Wei-wei, LUAN Sheng-ji (2960)
Composition and Characteristics of Volatile Organic Chemicals Emission from Printed Circuit Board Factories	MA Ying-ge (2967)
Preliminary Study Concerning Emissions of the Volatile Organic Compounds from Cooking Oils	HE Wan-qing, TIAN Gang, NIE Lei, <i>et al.</i> (2973)
Characteristics of Biofilm Phase During the Long-term Degradation of a Toluene-contaminated Gas Stream Using BTF	HU Jun, ZHENG Jiang-ling, WU Yue-xin, <i>et al.</i> (2979)
Performance of Cross Flow Trickling Filter for H ₂ S Gas Treatment	LIU Chun-jing, LI Jian, LIU Jia, <i>et al.</i> (2987)
Study on Mercury Re-emissions During Fly Ash Utilization	MENG Yang, WANG Shu-xiao (2993)
Construction of Semi-analytical Model for Inversing Total Suspended Matter in Lake Taihu and Assessment of Its Applicability	LIU Zhong-hua, LI Yun-mei, TAN Jing, <i>et al.</i> (3000)
Association Study Between Water Quality of Chaohu Lake and Resources Input in Agriculture of Basin	ZHANG Yan, GAO Xiang, ZHANG Hong (3009)
Sediment and Pore Water Nutrient Characteristics in Growing Zones of <i>Alternanthera philoxeroides</i> in the Shiwuli River, Chaohu Lake	LI Ru-zhong, LI Feng, ZHOU Ai-jia (3014)
Enrichment Characteristic of Phosphorus in Surface and Core Sediments of Chaohu Lake and the Pollution Quantification	LIU En-feng, DU Chen-chang, YANG Xiang-dong, <i>et al.</i> (3024)
Spatial Distribution Characteristics and Correlation Analysis of Organic Matter, Total Nitrogen and Total Phosphorus in Topsoil Around Chaohu Lake	CHEN Shu-qin, CHU Zhao-sheng, HU She-rong, <i>et al.</i> (3031)
Dynamic Characteristics of Nitrogen and Phosphorus in the Representative Input Tributaries of Danjiangkou Reservoir	LEI Pei, ZHANG Hong, SHAN Bao-qing (3038)
Effects of Thermal Stratification on Spring Blooms in Xiangxi Bay of the Three Gorges Reservoir	LIU Liu, LIU De-fu, XIAO Shang-bin, <i>et al.</i> (3046)
Explore the Spatial and Temporal Patterns of Water Pollution in the Yincungang Canal of the Lake Taihu Basin, China	YANG Xiao-ying, LUO Xing-zhang, ZHENG Zheng, <i>et al.</i> (3051)
Analysis on the Forms and Release Potential of Nutrients in Sediments from Lakes in the West Jiangsu Province	LIU Tao, HU Zhi-xin, YANG Liu-yan, <i>et al.</i> (3057)
Spatial Distribution and Evaluation of Nitrogen, Phosphorus and Organic Matter in Surface Sediments from Western Lakeside Belt of Lake Taihu	GAN Shu, LU Shao-yong, QIN Pu-feng, <i>et al.</i> (3064)
Source Apportionment of Nitrogen and Phosphorus from Cropping Non-point Source Pollution in Nansi Lake Basin	LIU Jing, LU Feng, YANG Yan-zhao, <i>et al.</i> (3070)
Relationship Between Dissolved Organic Carbon and DBP in the Pearl River Water	HE Hong-wei, ZHOU Da-cheng, WANG Bao-qiang, <i>et al.</i> (3076)
Health Risk Assessment of Heavy Metals in Typical Township Water Sources in Dongjiang River Basin	WANG Ruo-shi, XU Qiu-jin, ZHANG Xian, <i>et al.</i> (3083)
Halogenated Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Surface Sediments of Maozhou River, Shenzhen	SUN Jian-lin, NI Hong-gang, DING Chao, <i>et al.</i> (3089)
Distribution Patterns of Heavy Metals in Surficial Sediment and Their Influence on the Environment Quality of the Intertidal Flat of Luoyuan Bay, Fujian Coast	GAO Wen-hua, DU Yong-fen, WANG Dan-dan, <i>et al.</i> (3097)
Study on the Changes of Macrobenthos Communities and Their Causes in Bohai Bay	CAI Wen-qian, LIU Lu-san, QIAO Fei, <i>et al.</i> (3104)
Construction of Groundwater Contamination Prevention Mapping System	WANG Jun-jie, HE Jiang-tao, LU Yan, <i>et al.</i> (3110)
Uncertainty Analysis of Groundwater Protection and Control Zoning in Beijing Plain	LU Yan, HE Jiang-tao, WANG Jun-jie, <i>et al.</i> (3117)
Nitrate Storage and Transport Within a Typical Karst Aquifer System in the Paralleled Ridge-valley of East Sichuan	YANG Ping-heng, YUAN Dao-xian, REN You-rong, <i>et al.</i> (3124)
Adsorption of Perfluorooctanesulfonate (PFOS) onto Modified Activated Carbons	TONG Xi-zhen, SHI Bao-you, XIE Yue, <i>et al.</i> (3132)
Investigation of the Oxidation Reaction of O ₃ with Bromide Ion in Aqueous Solution	YU Xiao-ting, ZHANG Jia-hui, PAN Xun-xi, <i>et al.</i> (3139)
Determination of the Distribution of Relative Molecular Mass of Organic Matter by High Pressure Size Exclusion Chromatography with UV and TOC Detectors	ZHANG Han, DONG Bing-zhi (3144)
Black Water Bloom Induced by Different Types of Organic Matters and Forming Mechanisms of Major Odorous Compounds	LU Xin, FENG Zi-yan, SHANG Jing-ge, <i>et al.</i> (3152)
Effect of Fe and Fe/Ni Nanoparticles on the Biodegradation of Phenol by BFN at Different pH Values	KUANG Ye, ZHOU Yan, WANG Qing-ping, <i>et al.</i> (3160)
Pretreatment of High-Concentration Acrylic Acid Wastewater by the Multi-Stage Microaerobic Biological Fluidized Bed Reactor	LI Sha, ZHENG Sheng-zhi, SONG Yu-dong, <i>et al.</i> (3167)
Denitrification on Secondary Effluent of Acrylic Fiber Wastewater by Tri-Stage Biofilm Advanced Reactor	XU Shao-yang, JIANG Jin-yuan, ZHOU Yue-xi, <i>et al.</i> (3172)
Dynamic Adsorption of Cadmium (II) in Water on Modified Peanut Shells	LONG Teng, YI Xiao-yun, DANG Zhi (3177)
Adsorption Properties of Thiocyanate Anion on Granular Mg/Al Mixed Oxides	WANG Xiu-juan, WANG Hai-zeng, SUN Bao-wei, <i>et al.</i> (3182)
Model of Regularity of Ammonia Transformation Along Marine Biological Aerated Filter	LUO Rong-qiang, HOU Sha-sha, SHEN Jia-zheng, <i>et al.</i> (3189)
Aerobic Granular Sludge Bulking Due to the Lack of Nutrient and Its Recovery	ZHANG Zhu, GAO Da-wen, YUAN Xiang-juan, <i>et al.</i> (3197)
Enhanced Hydrolysis of Waste Activated Sludge by Biosurfactant	YI Xin, LUO Kun, YANG Qi, <i>et al.</i> (3202)
Enrichment and Identification of Anaerobic Ammonium Oxidation Bacteria	LIU Dong-ying, QIU Yan-ling, YUAN Xian-zheng, <i>et al.</i> (3208)
Isolation, Identification and Characterization of an Atrazine Degrading Bacterium	LI Shao-feng, ZHU Jing, LI Tie-jing (3214)
Isolation, Identification and Enzymological Characterization of a New Fungal with High Laccase Production from Agricultural Waste Composting	REN Xiu-juan, FAN Chang-zheng, LU Lun-hui, <i>et al.</i> (3220)
Screening and Identification of Microorganisms for Decolorization of Molasses Spent Wash	LI Bi-jin, LIU You-yan, HE Kai, <i>et al.</i> (3228)
Analysis of Microbial Community Structure in Lactic Acid Fermentation from Kitchen Waste	LIU Jian-guo, WANG Qun-hui, WANG Shuang, <i>et al.</i> (3236)
Effect of Covalent Functionalization on DNA Cleavage Activity and ROS Formation of Single-Walled Carbon Nanotubes	WU Ren-ren, TAO Xue-Qin, DANG Zhi, <i>et al.</i> (3241)
Research on Mercury Methylation by <i>Geobacter sulfurreducens</i> and Its Influencing Factors	ZOU Yan, SI You-bin, YAN Xue, <i>et al.</i> (3247)
Uptake Effect of Cd and Pb by Rape Under Single Cd/Pb and Cd-Pb Combined Stress	WU Wen-fei, NAN Zhong-ren, WANG Sheng-li, <i>et al.</i> (3253)
Distribution Characteristics and Risk Assessment of Heavy Metals in Farming Domestic Muscovy Duck Originated from Au/Cu Mining and Smelting Activities	HANG Xiao-shuai, LIANG Bin, WANG Wen-lin, <i>et al.</i> (3261)
Effects of the Environmental Hormone Cypermethrin on the Reproduction of <i>Brachionus calyciflorus</i>	DONG Xue-xing, YANG Jia-xin, LÜ Lin-lan, <i>et al.</i> (3266)
Research on Anti-Corrosion of <i>Thiobacillus</i> for the Geopolymer Solidification MSWI Fly Ash	JIN Man-tong, SUN Xin, DONG Hai-li, <i>et al.</i> (3272)
Chlorination Transformation and Volatilization of Heavy Metals in Fly Ash from the Incineration During the Disposal Process with Higher Temperature	LIU Jing-yong, SUN Shui-yu (3279)
Study on Greenhouse Gas Emissions from Urban Waste Disposal System; A Case Study in Xiamen	YU Yang, CUI Sheng-hui, LIN Jian-yi, <i>et al.</i> (3288)
Fate Analysis of NPEOs and Their Metabolites in Municipal Wastewater Plants	LIAN Jing, LIU Jun-xin (3295)

《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9月15日 33卷 第9期

ENVIRONMENTAL SCIENCE

(Monthly Started in 1976)

Vol.33 No.9 Sep. 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@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.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

国内外公开发行人