

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第37卷 第11期

Vol.37 No.11

2016

中国科学院生态环境研究中心 主办
科学出版社 出版



目次

承德市大气污染源排放清单及典型行业对 PM _{2.5} 的影响	陈国磊,周颖,程水源,杨孝文,王晓琦 (4069)
浙江省木制品行业挥发性有机物排放特征及排放系数	姚轶,王浙明,何志桥,徐志荣,顾震宇 (4080)
山西省人为源 VOCs 排放清单及其对臭氧生成贡献	闫雨龙,彭林 (4086)
某化工区典型高污染过程 VOCs 污染特征及来源解析	高松,崔虎雄,伏晴艳,高爽,田新愿,方方,衣学文 (4094)
加油 VOCs 排放因子测试方法研究与应用	黄玉虎,常耀卿,任碧琪,秦建平,胡玮,刘明宇 (4103)
北京市生活垃圾填埋场氨排放特征研究	崔彤,李金香,杨妍研,程刚 (4110)
西安市人为源大气氨排放清单及特征	苏航,闫东杰,黄学敏,宋文斌,王惠琴,宋雪娟 (4117)
佛山市冬夏季非甲烷烃污染特征研究	周雪明,项萍,段菁春,贺克斌,马永亮,邓思欣,司徒淑婷,谭吉华 (4124)
天津市道路环境大气颗粒物水溶性无机离子分析	赵梦雪,吴琳,方小珍,杨志文,李凤华,毛洪钧 (4133)
戴云山国家级自然保护区大气氮沉降特点	袁磊,李文周,陈文伟,张金波,蔡祖聪 (4142)
青岛近海冬季大气生物气溶胶中微生物活性研究	孟祥斌,李孟哲,李鸿涛,高冬梅,祁建华 (4147)
玉米秸秆烟尘中正构脂肪酸的分子与碳同位素组成	刘刚,孙丽娜,徐慧,李久海,李中平,李立武 (4156)
极低风速条件下水-气界面甲烷气体传输速率分析	张成,吕新彪,龙丽,张军伟,穆晓辉,李迎晨,王圣瑞,张文丽,肖尚斌 (4162)
典型水库型湖泊中 CDOM 吸收及荧光光谱变化特征: 基于沿岸生态系统分析	陈雪霜,江韬,卢松,白薇扬,张成,王定勇,魏世强 (4168)
西苕溪支流河口水体营养盐的特征及源贡献分析	陈诗文,袁旭音,金晶,李正阳,许海燕 (4179)
周村水库主库区热分层初期氮素降低的驱动因子分析	张春华,黄廷林,方开凯,周石磊,夏超 (4187)
太湖湖泛易发区沉积物中有机磷形态分布特征	董丹萍,章婷曦,张丁予,王巧云,李德芳,王国祥 (4194)
多重扰动对湖泊内源磷迁移转化的影响	蔡顺智,李大鹏,王忍,刘焱见,徐垚,于胜楠,黄勇 (4203)
丹江口库区覆膜耕作土壤氮素淋失随夏玉米生长期的变化	王伟,于兴修,汉强,刘航,徐苗苗,任瑞,张家鹏 (4212)
营养盐恢复对氮磷饥饿铜绿微囊藻生长的影响	岳冬梅,李洁,肖琳 (4220)
氯灭活地下水源中 3 种优势真菌的效能与机制	文刚,朱红,黄廷林,赵建超,任崑,徐向前 (4228)
净水工艺对饮用水中微生物多重耐药性的影响与分析	马晓琳,陆洋,王钰,侯誉,白晓慧 (4235)
单过硫酸氢钾复合粉在饮用水消毒过程中的副产物生成特性及遗传毒性变化	敖秀玮,李豪杰,刘文君,余京儒 (4241)
三维有序介孔 Co ₃ O ₄ 非均相活化单过硫酸氢钾降解罗丹明 B	冯善方,邓思萍,杜嘉雯,马晓雁,卢遇安,高乃云,邓靖 (4247)
调控絮体形态强化电絮凝减缓膜污染	赵凯,杨春风,孙境求,李静,胡承志 (4255)
初始 pH 值对序批式 CANON 工艺脱氮效果和 N ₂ O 释放的影响	付昆明,王会芳,苏雪莹,周厚田 (4261)
3DBER-S-Fe 同步脱氮除磷及去除邻苯二甲酸酯的工艺特性	张娅,郝瑞霞,徐鹏程,徐忠强 (4268)
基于反硝化脱氮的硫铁复合填料除磷机制	范军辉,郝瑞霞,李萌,朱晚霞,万京京 (4275)
基于 ABR-MBR 组合工艺优化反硝化除磷性能的研究	程朝阳,赵诗惠,吕亮,吴鹏,沈耀良 (4282)
中常温变化对 PN-ANAMMOX 联合工艺脱氮效果的影响	袁砚,朱亮 (4289)
生物活性炭对不同 C/N 比废水同步硝化反硝化脱氮效果的影响	崔延瑞,邱鑫,张庆荣,王琦,吴青,孙剑辉 (4296)
ANAMMOX 菌利用零价铁还原硝酸盐脱氮研究	周健,完颜德卿,黄勇,刘忻,袁怡,李祥,姚鹏程,杨朋兵,薛鹏程 (4302)
间歇曝气 SBR 与传统 SBR 处理养猪沼液的比较研究	董宝刚,宋小燕,刘锐,川岸朋树,张永明,陈吕军 (4309)
应用解蛋白菌生物预水解剩余污泥	何晶晶,王颖,胡洁,吕凡,邵立明 (4317)
应用环境多介质逸度模型研究废旧电器拆解区多溴联苯醚的迁移及归趋	薛南冬,陈宣宇,杨兵,秦普丰,龙雨 (4326)
南宁市多环境介质中多环芳烃分布特征	苗迎,孔祥胜 (4333)
杭州城区室内灰尘中多溴联苯醚的含量及人体暴露水平	金漫彤,滕丹丹,郑艳霞,胡张璇,沈学优,金赞芳 (4341)
应用线性自由能关系估算药用活性化合物的生物碳质-水吸附系数	王佳怡,毕二平 (4349)
表流湿地细菌群落结构特征	魏佳明,崔丽娟,李伟,雷茵茹,于菁菁,秦鹏,穆泳林,梁钊瑞 (4357)
城市污水中硝化菌群落结构与性能分析	于莉芳,杜倩倩,傅学焘,张茹,李文江,彭党聪 (4366)
DNA 和 cDNA 水平对比研究施肥对稻田土壤细菌多样性的影响	王聪,吴讷,侯海军,汤亚芳,沈健林,秦红灵 (4372)
培养条件下双酚 A 对稻田土壤微生物群落特征的影响	刘畅,黄雅丹,张莹,靳振江,梁月明,宋昂,王腾,郭佳怡,李强 (4380)
1 株兼具好、厌氧汞甲基化能力细菌的分离鉴定	陶兰兰,向玉萍,王定勇,黄曼琳,申鸿 (4389)
北京地区菜田土壤抗生素抗性基因的分布特征	张兰河,王佳佳,哈雪姣,邱孟超,高敏,仇天雷,王旭明 (4395)
梅花鹿养殖场抗生素抗性基因分布特征	黄福义,安新丽,陈青林,任红云,苏建强 (4402)
几种高硅质矿物细颗粒的 A549 细胞毒性对比	霍婷婷,董发勤,邓建军,张青碧,贺小春,孙东平 (4410)
添加复合吸附剂对土壤吸附菲和 Cr(VI) 的影响	李文斌,孟昭福,吴琼,许绍娥,刘泽 (4419)
生物炭对西北黄土吸附壬基酚的影响	张振国,蒋煜峰,慕仲峰,孙航,周琦,展惠英 (4428)
集雨种植下不同沟垄比对土壤呼吸的影响及其对水热因子的响应	王昌江,施成晓,冯帆,陈婷,张磊,吕晓康,王伟,廖允成 (4437)
秸秆还田与化肥减量配施对稻-菜轮作下土壤养分及酶活性的影响	黄容,高明,万毅林,田冬,陶睿,王芳丽 (4446)
《环境科学》征稿简则 (4161)	《环境科学》征订启事 (4365)
信息 (4123,4132,4409)	

几种高硅质矿物细颗粒的 A549 细胞毒性对比

霍婷婷^{1,2}, 董发勤^{2*}, 邓建军^{3,4}, 张青碧⁴, 贺小春², 孙东平¹

(1. 南京理工大学化工学院, 南京 210094; 2. 西南科技大学固体废物处理与资源化教育部重点实验室, 绵阳 621010; 3. 绵阳 404 医院检验科, 绵阳 621010; 4. 西南医科大学公共卫生系, 泸州 646000)

摘要: 以大气颗粒物成分中主要矿物相: 石英、绢云母、钠长石和蒙脱石这 4 种高硅质矿物细颗粒为研究对象, 检测其对 A549 细胞存活率、膜损伤及炎症因子释放的影响, 旨在对比分析几种高硅质矿物细颗粒的毒性大小, 并从颗粒物物理化学性质角度阐述其细胞毒性作用机制。结果表明, 几种硅质细颗粒对 A549 细胞存活率的影响: 蒙脱石 > 绢云母 ≥ 石英 > 钠长石。细胞存活率与矿物颗粒样品的 SiO₂ 含量之间相关性较差, 与 Fe₂O₃ 含量存在较好相关性, Fe₂O₃ 含量越高毒性越大。高硅质矿物颗粒共培养环境中 H₂O₂ 释放量与样品中 Fe₂O₃ 含量呈正相关关系。蒙脱石组细胞受 H₂O₂ 影响最大, 石英和钠长石组细胞受粉体释放 H₂O₂ 影响较小。所检测的几种高硅质矿物颗粒不同程度地造成细胞膜损伤, 且均可触发 A549 细胞释放 TNF-α 或 IL-6, 进一步激发免疫反应的产生, 但不同类型的高硅质矿物颗粒促发炎症反应不同。高硅质矿物细颗粒的成分结构并不是影响其生物活性的唯一因素, 粉体的外在形态、表面活性基团、溶解性、吸附和离子交换特性等对细胞的存活率、细胞膜损伤、液相自由基的释放及炎症反应的影响同样不容忽视。

关键词: 石英; 绢云母; 钠长石; 蒙脱石; A549 细胞; 毒性效应

中图分类号: X171.5 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2016)11-4410-09 DOI: 10.13227/j.hjxx.201603169

Comparison of Toxic Effect of Silicious Mineral Dusts on Lung Epithelial A549 Cells

HUO Ting-ting^{1,2}, DONG Fa-qin^{2*}, DENG Jian-jun^{3,4}, ZHANG Qing-bi⁴, HE Xiao-chun², SUN Dong-ping¹

(1. School of Chemical Engineering, Nanjing University of Science and Technology, Nanjing 210094, China; 2. Key Laboratory of Solid Waste Treatment and Resource Recycle, Ministry of Education, Southwest University of Science and Technology, Mianyang 621010, China; 3. Clinical Laboratory, Mianyang 404 Hospital, Mianyang 621010; 4. School of Public Health, Southwest Medical University, Luzhou 646000, China)

Abstract: Considering the high contents of minerals and the potential health risk of mineral dusts to human and the environment, this paper was aimed to figure out the toxic effect and mechanism of four common mineral particles (quartz, albite, sericite, and montmorillonite). Cytotoxicity assays for cell viability (MTT assay), membrane integrity (LDH assay), oxidative stress (H₂O₂ assay) and inflammatory cytokines (TNF-α and IL-6 assay) were applied. The results showed the influence of these mineral particles on A549 cell viability followed the order of montmorillonite > sericite ≥ quartz > albite. There was no obvious relation between cell viability and the content of SiO₂, however, good linear correlation with the content of iron, and the cytotoxicity of mineral dusts was strengthened with increasing iron content. Mineral dusts generated H₂O₂ in cell or cell-free systems. In particular, H₂O₂ exhibited a linear correlation with the iron content, which meant that iron in the mineral dusts played an important role in the generation of reactive radical. Among those samples, oxidative stress induced by montmorillonite was distinctly stronger, while there was negligible influence induced by quartz and albite. Besides, all the tested samples induced damage to A549 cell membrane, and triggered the release of TNF-α or IL-6, but differed by the kinds of mineral dusts. In conclusion, composition and structure directly affected, but were not the only factors that contributed to the biological activity of mineral dusts, the evaluation of cell viability, membrane damage, free radicals and inflammatory reaction induced by mineral dusts should take the external morphology, surface active groups, solubility, adsorption and ion exchange properties into consideration.

Key words: quartz; sericite; albite; montmorillonite; A549 cells; toxic effect

矿物尘粒是对流层大气颗粒物的重要来源和组成部分, 且其在大气化学中的作用不容忽视。国内外许多学者对亚洲沙尘颗粒的总体化学组成、来源和沉降进行了研究。张学磊等^[1]对我国沙尘路径城市拉萨市大气颗粒物进行分析, 指出富硅类颗粒数量占总颗粒数的 52.4%, 而高硅颗粒占富硅颗粒的 28.2%, 并从颗粒能谱图上得出颗粒主要成分为石

英、钠长石及黏土类矿物。唐杨等^[2]的研究指出华北地区 10 个采样点的降尘样品中半数包含石英、

收稿日期: 2016-03-22; 修订日期: 2016-06-08

基金项目: 国家自然科学基金项目 (41130746, 41472046, 41572025); 国家重点基础研究发展规划 (973) 项目 (2014CB846003)

作者简介: 霍婷婷 (1987 ~), 女, 博士研究生, 主要研究方向为新生污染物安全与控制, E-mail: huotting@163.com

* 通讯联系人, E-mail: fqdong@swust.edu.cn

长石、蒙脱石矿物相。有课题组研究了北京等大城市大气环境 $\text{PM}_{2.5}$ 的组分和特征^[3-5]。吕森林等^[6]指出北京北三环附近大气 PM_{10} 中黏土含量高达 11%~49%。Miller-Schulze 等^[7]对中亚地区沙尘颗粒物进行了研究,表明矿物颗粒占颗粒物约占 PM_{10} 总成分的 30%,占 $\text{PM}_{2.5}$ 的 20% 左右。Satsangi 等^[8]指出硅酸盐颗粒约占大气 $\text{PM}_{2.5}$ 总矿物颗粒的 52%。Awadh^[9]对西南亚沙尘的研究表明其主要矿物成分为石英(49.2%)、长石(4.9%)、方解石(38%)等。由此可见,高硅粉尘,尤其是石英、长石、蒙脱石、云母等在大气颗粒中具有重要角色。

鉴于环境细颗粒物引发的环境与健康威胁,大气 PM_{10} 或 $\text{PM}_{2.5}$ 的生物安全性研究备受关注。然而提出的有关颗粒物的致病性假说或机理多基于颗粒物有机成分及负载重金属离子^[10,11],忽略颗粒物本身矿物成分的重要作用。矿物颗粒本身结构和特殊表面性质使其具有不同于一般颗粒的性质^[12],因此,对大气环境常见矿物颗粒的毒性研究势在必行。本实验选用石英、钠长石、蒙脱石和绢云母这 4 种常见高硅质矿物为研究对象,以 A549 细胞为模式细胞,检测硅质矿物细颗粒对 A549 细胞增殖和炎性反应的影响,探索大气环境中不同硅质矿物颗粒的细胞毒性效应差异,以期对矿物源颗粒物的毒性作用机制及安全性评价提供依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 高硅质矿物细颗粒

石英粉体(KWC-Q)、绢云母粉体(KWC-S)、钠长石粉体(KWC-A)、蒙脱石粉体(KWC-M)的 $D_{90} \leq 2.5 \mu\text{m}$ (表 1)。X 射线衍射(XRD,X'pert PRO 荷兰帕纳科公司)、X 射线荧光(XRF,PW1404 荷兰 Philips 公司)对样品的主要物相、化学成分进行分析,结果如图 1 和表 2 所示。KWC-Q 中 SiO_2 含量为 97.00%,石英相含量达到 95% 以上;KWC-S 中 SiO_2 含量为 74.96%,除主相绢云母外,约含 16% 的石英相;KWC-A 中 SiO_2 含量为 74.96%,除主相钠长石外,掺杂石英相约为 18% 左右;KWC-M 中蒙脱石矿物占 96% 以上, SiO_2 含量为 61.55%。KWC-Q、KWC-S、KWC-A 和 KWC-M 4 种硅质粉体在 $\text{pH} = 7.4$ 的磷酸盐缓冲液中 ζ 电位值分别为 -33.03、-30.07、-29.2 和 -34.57 mV。

暴露实验前称取 0.01 g 高硅质矿物粉体于 15 mL 离心管中高压蒸汽灭菌(121℃,30 min),采用无

血清 RPMI 1640 培养基配制粉体悬液,超声分散 10 min 后立即稀释至使用浓度,粉体悬液现配现用。

表 1 高硅质矿物细颗粒的粒径分布

Table 1 Size distribution of silicious mineral dusts				
粒径/ μm	KWC-Q	KWC-S	KWC-A	KWC-M
$D_{10}^{1)}$	0.420	0.188	0.076	0.113
D_{25}	0.489	0.218	0.097	0.137
D_{50}	0.607	0.265	0.131	0.180
D_{70}	0.785	0.334	0.185	0.247
D_{90}	1.013	0.429	0.253	0.332

1) 颗粒的累积粒度分布数达到 10% 所对应的粒径值,以下类推

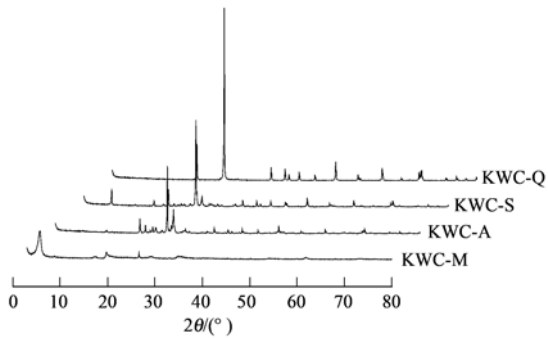


图 1 高硅质矿物细颗粒样品的 XRD 谱图

Fig. 1 XRD spectra of silicious mineral dusts

表 2 4 种高硅质矿物细颗粒样品的化学组成分析/%

Table 2 Chemical composition of silicious mineral dusts (mass fraction)/%				
类型	KWC-Q	KWC-S	KWC-A	KWC-M
SiO_2	97.000	74.960	74.050	61.550
Al_2O_3	0.286	12.680	14.010	15.260
Fe_2O_3	0.120	1.030	0.302	3.640
MgO	0.044	0.723	0.199	2.140
CaO	0.718	1.690	1.120	0.701
Na_2O	0.071	2.110	5.100	2.190
K_2O	0.084	3.220	2.960	1.750
MnO	0.013	0.059	0.019	0.053
TiO_2	0.009	0.187	0.021	0.637
P_2O_5	0.009	0.025	0.014	0.068
LOI	1.620	3.230	2.190	12.000
SUM	99.974	99.914	99.985	99.989

1.1.2 细胞培养

A549 细胞由西南医科大学附属医院中心实验室馈赠,含 10% 胎牛血清(FBS)、1% 青霉素-链霉素的改良型 PRMI 1640 培养液培养细胞。测试前调整对数期的细胞浓度,接种于培养板或培养瓶,置于 37℃,5% CO_2 培养箱培养,细胞于每 2 d 进行传代和换液。

改良型 PRMI 1640 培养基、FBS 购自美国 Hyclone; 噻唑蓝(MTT)、青霉素-链霉素、0.25% 胰

酶消化液和二甲基亚砷(DMSO)购自碧云天生物技术有限公司;乳酸脱氢酶(Lactic dehydrogenase, LDH)和过氧化氢(H_2O_2)测定试剂盒购自南京建成生物科技有限公司;TNF- α (Tumor necrosis factor- α , TNF- α)和IL-6 (Interlukins-6, IL-6) ELISA 测定试剂盒购自上海西唐生物科技有限公司. 其他试剂均为分析纯.

1.2 测试方法

1.2.1 细胞存活率的检测

实验选取处于对数期的细胞,调整细胞浓度为 $1 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$ 接种于96孔板,每孔200 μL ,置 37°C , 5% CO_2 培养箱分别培养24 h,每组设定3个复孔. 细胞贴壁后弃去培养液,分别加入不同浓度的硅质矿物粉体悬液(50、100、200、400、800 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)进行暴露实验. A549细胞与粉体悬液共孵育24 h后,于每孔加入10 μL MTT试剂继续孵育4 h,然后小心弃去培养上清液,加入200 μL DMSO溶解生成的甲瓩,振荡10 min,490 nm波长处测定 D 值. 为消除矿物粉体对吸光光度的影响,设置矿物粉体空白对照组,对照组仅加入矿物粉体悬液不接种细胞;阴性对照组加入不含FBS的细胞培养液. 细胞存活率以相对吸光光度表示,按照下式计算.

细胞存活率 =

$$\frac{\text{矿物粉体暴露组 } D - \text{矿物粉体对照组 } D}{\text{阴性对照组 } D}$$

1.2.2 共培养环境下 A549 细胞各生化指标的测定

选取处于对数期的细胞,调整细胞浓度为 $1 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$ 接种于6孔板,置 37°C , 5% CO_2 培养箱培养24 h. 细胞贴壁后弃去培养液,加入200 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的粉体悬液,分别作用3、6、18、24 h后收集细胞培养液以及粉体空白对照组培养液,1000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心10 min. 取上清测定其中LDH、TNF- α 、IL-6含量,并测定作用24 h时培养液中 H_2O_2 的含量,具体操作步骤遵循试剂盒说明书.

1.3 实验数据处理

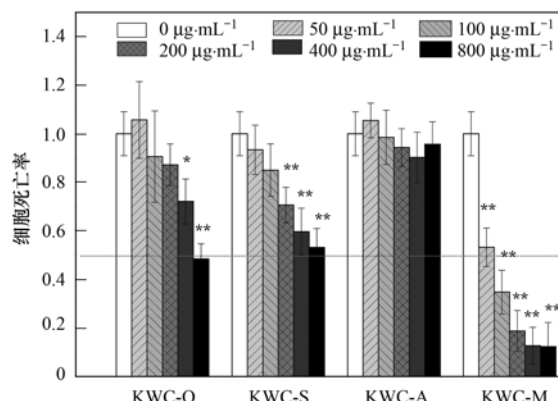
采用EXCEL和SPSS 19.0数据处理和统计软件对实验数据进行计算和统计学分析,实验结果以平均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示;细胞毒性数据采用单因素ANOVA分析方法进行分析比较; $P \leq 0.05$ 为显著性差异, $P \leq 0.01$ 为极显著性差异.

2 结果与分析

2.1 高硅质矿物粉体对 A549 细胞存活率的影响

不同浓度高硅质矿物粉体与 A549 细胞作用 24

h, A549 细胞存活率如图2所示. 与对照组($0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)相比,不同浓度KWC-A对细胞存活率无显著性影响;KWC-Q和KWC-S组A549细胞存活率随着暴露浓度的增加呈现递减趋势,且有明显的线性关系. KWC-Q浓度-A549细胞存活率线性关系曲线为: $y = -0.6583 \times 10^{-4}x + 1.00619$, $R^2 = 0.9854$. KWC-S粉体浓度-A549细胞存活率线性关系曲线为: $y = -0.00005287x + 0.9008$, $R^2 = 0.7535$; KWC-M对A549细胞的存活率影响明显,50 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时细胞的死亡率已高达46.8%,200 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,细胞存活率仅为18.7%. 经线性拟合分析,KWC-Q、KWC-S和KWC-M的半数致死浓度(LC_{50})分别为768.996、757.585和68.091 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$.



* 表示 $P \leq 0.05$, ** 表示 $P \leq 0.01$, 参比对照组, $n = 3$

图2 不同浓度矿物粉体暴露下 A549 细胞的存活率

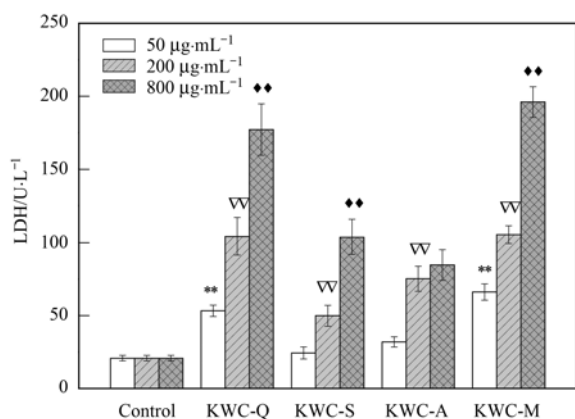
Fig. 2 Cell viability of A549 after exposed to siliceous mineral dusts

4种高硅质矿物粉体对A549细胞存活率的影响: $\text{KWC-M} \gg \text{KWC-S} \geq \text{KWC-Q} > \text{KWC-A}$,且随暴露粉体浓度增高,对细胞产生的增殖抑制作用增强. 高硅质矿物粉体对A549细胞的存活率影响呈现两种趋势:粉体浓度 $\leq 400 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,细胞存活率与作用浓度线性相关性较好,当作用浓度较高时,粉体对细胞的存活率影响差异逐渐减小.

2.2 高硅质矿物粉体对 A549 细胞 LDH 泄漏的影响

A549细胞与不同浓度高硅质矿物粉体作用24 h后LDH的释放情况如图3. 除KWC-S、KWC-A低浓度组($50 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)外,几种粉尘均引起细胞LDH泄漏的显著增加($P \leq 0.01$). 随暴露浓度的增加,其余各粉体浓度组间LDH含量呈显著增加($P \leq 0.01$).

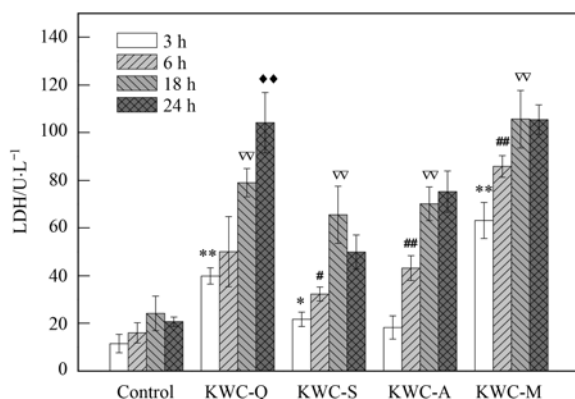
A549细胞在高硅质矿物粉体中暴露3、6、18、24 h后,细胞LDH的泄漏情况如图4所示. 检测时间范围内,对照组LDH未出现随时间的显著波动



* * 表示 $P \leq 0.01$, 参比对照组, $n = 3$; $\nabla \nabla$ 表示 $P \leq 0.01$, 参比同种粉体作用浓度为 $50 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, $n = 3$; $\blacklozenge \blacklozenge$ 表示 $P \leq 0.01$, 参比同种粉体作用浓度为 $200 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, $n = 3$

图3 A549 细胞与硅质矿物粉体作用 24 h LDH 的释放

Fig. 3 LDH release of A549 cell after incubated with silicious mineral dusts for 24 h



* 表示 $P \leq 0.05$, * * 表示 $P \leq 0.01$, 参比对照组 3 h, $n = 3$; # 表示 $P \leq 0.05$, ## 表示 $P \leq 0.01$, 参比同种粉体 3 h, $n = 3$; ∇ 表示 $P \leq 0.05$, $\nabla \nabla$ 表示 $P \leq 0.01$, 参比同种粉体 6 h, $n = 3$; $\blacklozenge$ 表示 $P \leq 0.05$, $\blacklozenge \blacklozenge$ 表示 $P \leq 0.01$, 参比同种粉体 18 h, $n = 3$

图4 A549 细胞与硅质矿物粉体 ($200 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 作用不同时间 LDH 的释放

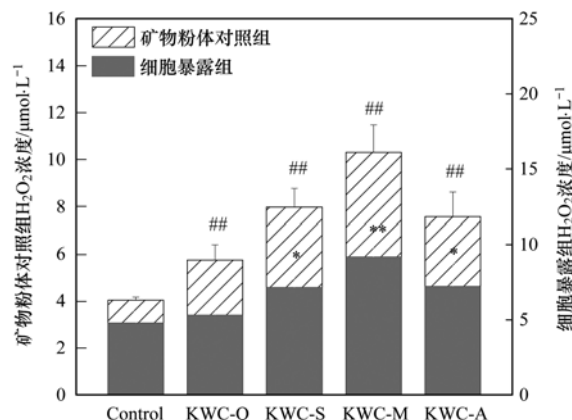
Fig. 4 LDH release of A549 cells exposed to silicious mineral dusts for different time ($200 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)

($P > 0.05$). KWC-Q 组细胞泄漏的 LDH 与作用时间呈现正相关关系, 且除少数时间暴露组外, 相邻作用时间组 LDH 泄漏量显著增加 ($P \leq 0.05$). KWC-S、KWC-A 和 KWC-M 这 3 组高硅质矿物粉体细胞泄漏的 LDH 在 18 h 内呈显著增加趋势 ($P \leq 0.01$), 但在 24 h 未显示出与 18 h LDH 含量的显著差异 ($P > 0.05$).

2.3 高硅质矿物粉体与细胞共培养环境中 H_2O_2 含量分析

A549 细胞与 $200 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的高硅质矿物粉体

悬液作用 24 h 后, 细胞粉体暴露组和粉体对照组上清液中 H_2O_2 的含量如图 5 所示. 高硅质矿物粉体在 RPMI 1640 培养液中均能显著释放或促进生成 H_2O_2 ($P \leq 0.05$), 悬液中 H_2O_2 的含量约为 $5 \sim 12 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$. 粉体对照组 H_2O_2 含量 $\text{KWC-M} > \text{KWC-S} > \text{KWC-A} > \text{KWC-Q}$. 细胞共培养体系各组 (除 KWC-Q 外), H_2O_2 的含量与对照组相比均显著升高 ($P \leq 0.05$). 细胞共培养体系各组 H_2O_2 含量均值略低于同种粉体对照组, 与矿物对照组相比无统计学意义上的差异性.



* 表示 $P \leq 0.05$, * * 表示 $P \leq 0.01$, 参比细胞对照组, $n = 3$; # 表示 $P \leq 0.05$, ## 表示 $P \leq 0.01$, 参比粉体对照组, $n = 3$

图5 高硅质矿物粉体对照组 ($200 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 和细胞暴露组上清液 H_2O_2 含量

Fig. 5 Content of H_2O_2 in suspensions of cell exposure groups and silicious mineral dusts control groups ($200 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)

2.4 高硅质矿物粉体引起 A549 细胞炎性因子的释放

4 种硅质矿物粉体 ($200 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 与 A549 细胞作用 3、6、24 h 时, A549 细胞培养上清液中 $\text{TNF-}\alpha$ 的含量如图 6 所示. 随作用时间增加, 对照组细胞分泌 $\text{TNF-}\alpha$ 略有增加, 24 h 时培养上清液中的 $\text{TNF-}\alpha$ 为 $(32.43 \pm 1.33) \text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$ 与 6 h 时差异不大 ($P > 0.05$); 与对照组相比, KWC-Q 在 3 h 即引起 A549 细胞释放 $\text{TNF-}\alpha$ 的显著升高 ($P \leq 0.05$), 作用 24 h 后出现与 6 h 时 $\text{TNF-}\alpha$ 释放量的显著降低 ($P \leq 0.05$); 暴露时间为 6 h 时, 除 KWC-M 外各组硅质矿物粉体均引起与 3 h 相比 $\text{TNF-}\alpha$ 释放量增加. KWC-S 和 KWC-A 组细胞 $\text{TNF-}\alpha$ 释放量随作用时间延长呈递增趋势, KWC-S 组与对照组相比表现出差异性 ($P \leq 0.05$), KWC-A 组与对照组仅在作用 24 h 后才显现出比对照组显著增加 ($P \leq 0.05$). KWC-M 组则在 3 h 内先表现出 $\text{TNF-}\alpha$ 的显著降低 ($P \leq$

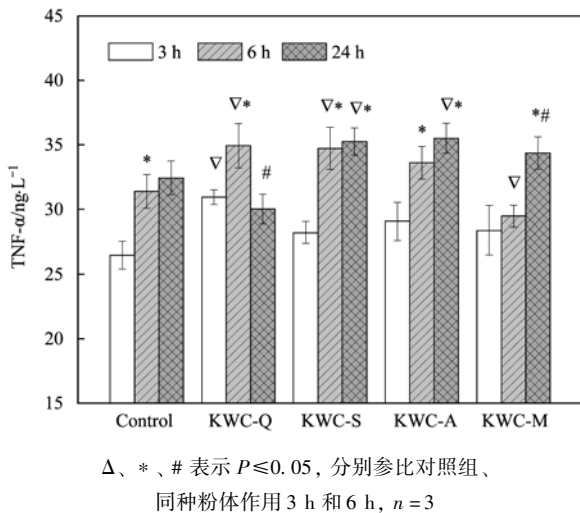


图 6 与矿物粉体悬液 ($200 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) 不同作用时间后 A549 细胞培养液上清液中 TNF- α 的含量

Fig. 6 Content of TNF- α in A549 cells culture media supernatants after exposed to silicious mineral dusts ($200 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)

0.05), 而后略微升高, 但未显示出与对照组 24 h TNF- α 释放量的显著差异 ($P > 0.05$).

A549 细胞暴露于不同矿物粉体悬液中 24 h, 细胞 IL-6 的分泌量如图 7 所示. KWC-Q、KWC-M 和 KWC-S 均引起 A549 细胞与对照组相比分泌 IL-6 的显著增加; 不同浓度 KWC-Q 和 KWC-S 组 A549 细胞 IL-6 分泌量与对照组相比显著增加 ($P \leq 0.05$), 且 KWC-S 组 A549 细胞 IL-6 释放量随作用浓度增加显著增高; KWC-A 未引起细胞分泌 IL-6 含量显著差异 ($P > 0.05$), 且不同浓度粉体作用下 A549 细胞培养上清液中 IL-6 含量相比亦无显著差异 ($P > 0.05$). $50 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ KWC-M 作用于 A549 细胞 24 h 后, 共培养上清液中 IL-6 的含量即升高为

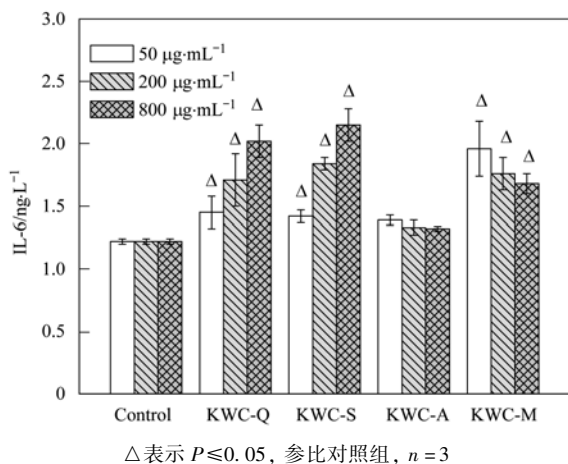


图 7 高硅质矿物粉体引起 A549 细胞释放 IL-6 的含量 (24 h)

Fig. 7 Content of IL-6 in A549 cell media after exposed to silicious mineral dusts for 24 h

对照组的 1.61 倍, 然而随暴露浓度增加, IL-6 含量呈现下降趋势, 相邻浓度组间并未表现出统计学意义上的差异性 ($P > 0.05$).

3 讨论

3.1 高硅质矿物粉体结构成分与细胞存活率之间的关联性

矿物的基本性质, 如组成、结构等在矿物粉体引起的对细胞的影响中起重要作用, 不同矿物的细胞活性不同. Michel 等^[13]的研究表明黏土类矿物 (云母、高岭石) 对细胞的毒性明显高于架状硅酸盐矿物 (石英和长石) 的毒性, 推测与黏土矿物粒径小, 比表面积大相关, 矿物的毒性顺序与本文结果一致. 此处着重讨论高硅质矿物粉体结构及其 SiO_2 和 Fe_2O_3 含量与细胞存活率之间的关联性.

几种硅质矿物均含 Si—O 四面体结构单元, SiO_2 含量 $\text{KWC-Q} > \text{KWC-S} \approx \text{KWC-A} > \text{KWC-M}$. 由于矿物晶体结构、结构单元之间的结合能和结构单元原子间的价键能不同, 破碎后表面键磨损和断裂程度不均一, 出现不饱和离子和官能团数量不同. 载有不饱和官能团和离子键的表面具有很高的表面能, 尤其是矿物粉体表面的 Si—O—Si 键断裂形成 Si—O·与 Si·, 水化后形成 Si—OH 是矿物粉体表面的活性官能团之一^[14]. 粉体的表面活性位点数在一定程度上决定了能够与细胞发生活性反应的程度. 本实验高硅质矿物粉体 SiO_2 含量与细胞存活率之间相关性较差 [图 8(a), $R^2 = 0.1957$], 可能是 SiO_2 含量与 Si—O 活性基团数量上的不匹配造成.

硅质矿物粉体样品含少量铁元素, 以不同的价态形式存在于矿物结构中. KWC-M 中铁含量最高, 占总质量分数的 3.64% (以 Fe_2O_3 为计), KWC-S 的铁含量为 1.95% (以 Fe_2O_3 为计). 高硅质矿物粉体样品中 Fe_2O_3 含量与细胞存活率之间存在较好相关性 [图 8(b), $R^2 = 0.9691$], 以 Fe_2O_3 含量最高的蒙脱石的细胞毒性最大, 反之毒性较小. 粉体在液相环境中会有部分元素溶出, 溶出效率与元素占据晶体结构中的位点相关. 石英粉体中的铁主要来源于包裹体及裂隙. 钠长石粉体中的铁主要来源于对 $[\text{AlSiO}_4]$ 四面体中 Al 或 Si 的取代或者由杂质矿物引入. 蒙脱石和绢云母的铁主要来源于硅铝八面体片配位体中对 Al^{3+} 的类质同象替代^[15,16]. Al—O 八面体中的铁较易在酸性环境中溶出, 微碱环境中溶出的铁离子则易与大分子发生螯合并发生沉淀反

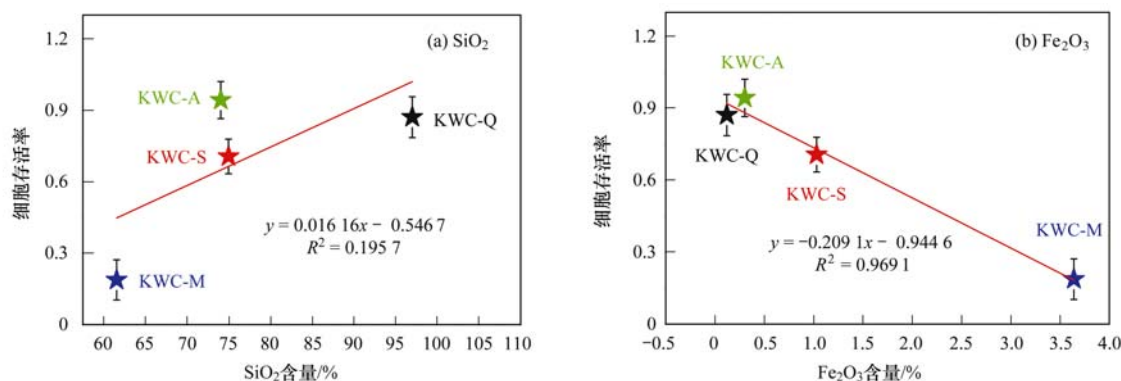
图8 矿物粉体 SiO₂ 和 Fe₂O₃ 含量与细胞存活率的相关性分析

Fig. 8 Relativity analysis between the content of SiO₂/Fe₂O₃ in siliceous mineral dusts and cell viability

应。几种硅质矿物粉体对培养环境 pH 干扰较小,同等条件下,由于蒙脱石的片层结构以及高比表面能,溶出的铁浓度较绢云母高,而两种黏土矿物溶出的铁较石英和钠长石的高。铁离子催化 H₂O₂ 转化为反应活性极强的·OH^[17,18],对细胞造成严重影响。因此,粉体中 Fe₂O₃ 含量越高,对细胞的存活率影响越大。

3.2 高硅质矿物粉体对 A549 细胞膜的损伤

高硅质粉体颗粒经超声分散后,表面水化惰性结构被破坏,活性位被激活,颗粒物内部结构发生位移,内能增加。本实验检测的几种高硅质颗粒表面均具有 Si—O·和 Si—OH 等活性基团,当被分散于细胞体系中,粉体倾向于吸附溶液中的氨基酸等生物分子以降低粉体的表面能。而未被掩盖的活性基团即选择性地^[19]与细胞膜磷脂分子的极性头部,如甘油、鞘氨醇、磷酸及胆碱等的季铵离子和磷酸根离子发生静电吸引,抑或形成氢键,发生比较稳定的键合或吸附作用,破坏细胞膜的结构和功能,从而产生细胞毒性。实验各组别共培养上清液中 LDH 含量 KWC-M > KWC-Q > KWC-S > KWC-A,与细胞存活率所反映的规律相似。粉体在 pH = 7.4 时 ζ 电位值 KWC-A > KWC-S > KWC-Q > KWC-M。带负电的粉尘进入机体可与细胞膜上的生物大分子物质发生电性作用,破坏细胞膜的完整性,使其崩解,或中和生物大分子如蛋白质表面的电荷,使分子的电性发生改变,易于相互凝聚沉淀而失去活性^[20],粉体表面的电荷越负,对细胞膜的损伤越严重。KWC-Q 组细胞膜的破损与时间和细胞死亡率均呈现正相关关系,认为 KWC-Q 引起的细胞死亡与细胞膜通透性破坏直接相关[图 9(a)]。KWC-S 在暴露时间内引起细胞死亡与细胞膜损伤的相关性较好 ($R^2 =$

0.830 8),然而与 KWC-Q 相比 LDH 释放量少,诱导的细胞死亡率较高[图 9(b)],认为 KWC-S 导致的细胞膜损伤并非是 KWC-S 诱导细胞死亡的唯一原因。KWC-A 化学性质稳定,对共培养环境影响小,且 ζ 电位相对于其他几种矿物较高,不易与生物分子发生吸附作用。KWC-A 造成细胞膜损伤可能是由于粉体的机械刺激作用随时间累积而致,细胞存活率变化不明显[图 9(c)]。KWC-M 具有较强的表面负电位,离子交换和吸附能力,更倾向于包覆在细胞膜表面^[21],引起细胞生长微环境改变,致使细胞呼吸链电子传递受阻,引起细胞存活率降低。因此 KWC-M 在短时间内即引起 A549 细胞膜破坏,胞内的 LDH 大量外泄。然而随着作用时间的延长,蒙脱石表面也吸附了培养环境中的 LDH 或活性蛋白,造成 KWC-M 诱导的细胞死亡与培养环境中 LDH 含量相关性较差[图 9(d)], $R^2 = 0.300 9$ 。Michel 等^[13]发现石英、长石、云母和高岭石均能被细胞吞噬,且相对石英和钠长石,云母和高岭石更容易被细胞吞噬而富集在细胞内,而造成的细胞膜损伤高岭石明显高于石英、长石和云母。因此,细胞内吞作用,也可能造成细胞膜的损伤。

3.3 高硅质矿物粉体引起的细胞脂质过氧化

H₂O₂ 是众多活性氧自由基中较为稳定的一种,在机体内的稳态维持方面具有重要作用。矿物表面的断键或裸露的变价金属在液相环境中与 O₂ 或 H₂O 发生反应激发自由基的产生,其中变价金属包括 Fe、Cu、Cr、Ni、Zn 等。以矿物中可溶解的 Fe 为例^[18],一方面 Fe²⁺ 离子可以与 O₂ 反应生成 (O₂·)⁻,继而在 H⁺ 存在的条件下生成 H₂O₂; 另一方面,Fe³⁺ 被 H₂O 还原生成·OH 和 Fe²⁺,随后 2 分子的·OH 生成 H₂O₂。高硅质矿物粉体样品表面活

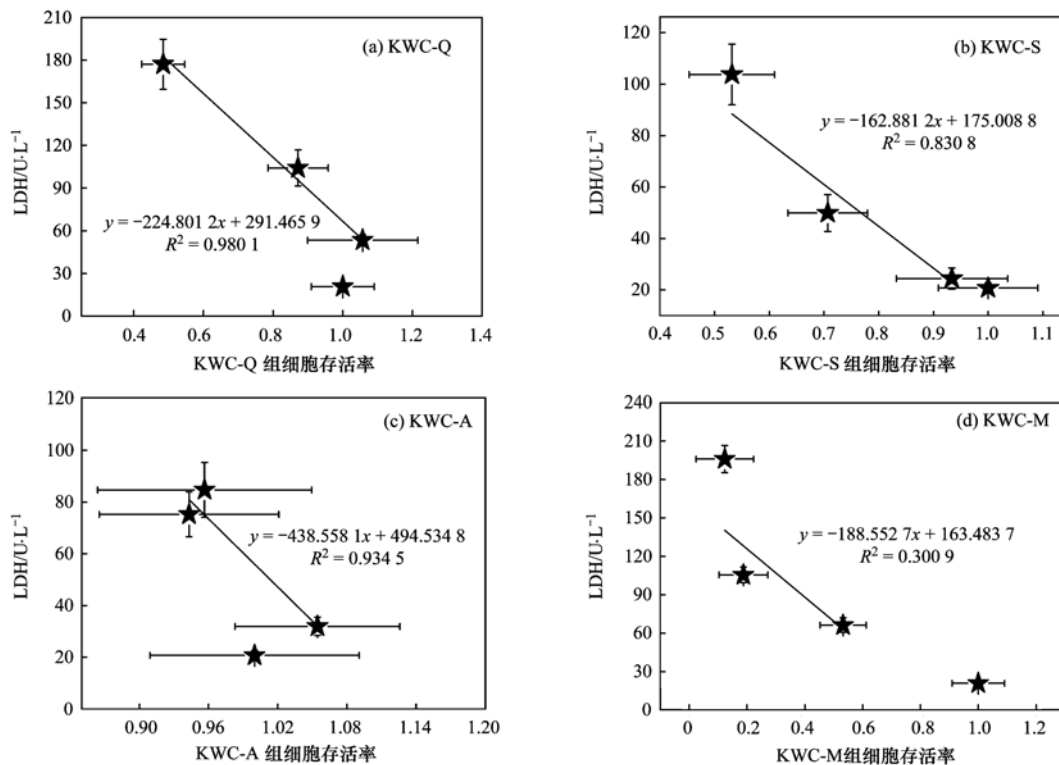


图9 高硅质矿物粉体引起细胞死亡与细胞膜破损之间的相关性分析

Fig. 9 Relativity analysis between the cell membrane breakage and cell death induced by siliceous mineral dusts

性及其在培养环境中的液相行为不同, H_2O_2 释放量不同. 本研究中几种高硅质矿物粉体释放 H_2O_2 量: $KWC-M > KWC-S > KWC-A > KWC-Q$, 与几种矿物中 Fe 元素水平高低顺序一致, 认为矿物粉体中过渡金属元素在 ROS 的形成中起重要作用, 且矿物所含的 Fe 元素越高, 水相释放 H_2O_2 越高^[18,22]. 矿物释放的 H_2O_2 、 $(O_2 \cdot)^-$ 、 $\cdot OH$ 等活性氧自由基可攻击细胞膜不饱和脂肪酸的亚甲基碳, 将不饱和脂肪酸氧化降解为短链的丙二醛^[23], 与膜蛋白、膜脂上的一 NH_2 交联而形成 Schiff's 碱, 致使细胞膜的通透性屏障丧失使细胞的正常功能受到损害^[22]. 对比各组矿物粉体共培养环境下细胞损耗的 H_2O_2 , KWC-M 组细胞受活性氧影响最大, 而 KWC-Q 和 KWC-A 组细胞受粉体释放 H_2O_2 影响较小. 此外, 粉体刺激作用还诱导胞内活性氧分子产生^[24], 根据已有研究结果几种矿物诱导胞内 ROS 水平: 云母 $>$ 长石 $>$ 石英^[13]. ROS 直接干扰氧化和抗氧化系统的平衡^[25], ROS 水平越高对细胞的损伤越严重^[26].

3.4 高硅质矿物粉体诱发细胞炎症反应

不同毒性作用的高硅质矿物粉体呈现的诱导 A549 细胞 TNF- α 和 IL-6 释放规律不同. KWC-A 能

诱发 TNF- α 明显增加, 但未能引起细胞释放 IL-6 的明显增加; 其余 3 种硅质粉体能引起 TNF- α 和 IL-6 的升高. 文献[27]表明大气 $PM_{2.5}$ 与 PM_{10} 作用于 RAW 264.7 细胞 5 h, 诱导细胞释放 TNF- α 、IL-6 升高, 作用 24 h 后释放的 TNF- α 降低. 此结果与本实验得出部分高硅质矿物颗粒 (KWC-Q) 引起的 TNF- α 在作用时间内先增加后降低的趋势一致. Hetland 等^[28]研究表明细颗粒诱导 A549 和肺泡 II 型细胞释放的 IL-6 较多, 而针对 IL-8 两种颗粒比较无显著性差异, 两种细胞诱导产生的 IL-6 和 IL-8 的规律不同. 此外, 颗粒表面的生物活性物质能够刺激前炎症因子的释放, 产生的炎症反应与其所携带的内毒素物质直接相关^[27,29], 颗粒的组分尤其是颗粒上负载的重金属也是驱动颗粒物生化反应的直接因素^[30]. 当采用多粘菌素 B 屏蔽颗粒表面吸附的活性物质后, 颗粒诱导 A549 细胞释放的 IL-6 明显降低^[31]. 共培养环境中颗粒表面断键和活性基团可与培养基质、膜表面分子之间产生静电引力或者范德华力吸引作用^[32], 小分子能在颗粒表面形成“corona”, 屏蔽颗粒表面电荷, 并增强颗粒表面空间位阻^[33]. 带有正电荷较多的颗粒与细胞表面负电荷吸附作用较强, 易发生颗粒细胞内在化, 触发细胞毒性效应, 从而导致细胞对粉体颗粒的免疫响应不

同^[34,35]. 几种高硅质矿物的主要成分一致,但是组分含量、表面基团、晶体结构及诱发活性氧产生等区别可能促使细胞的吞噬作用差别,炎症反应不同^[36,37].

4 结论

(1)4 种高硅质矿物细颗粒对 A549 细胞存活率的影响: 蒙脱石 > 绢云母 ≥ 石英 > 钠长石. 细胞存活率与高硅质矿物样品 SiO₂ 含量之间相关性较差,与 Fe₂O₃ 含量存在较好相关性,Fe₂O₃ 含量最高的蒙脱石的细胞毒性越大,反之毒性较小.

(2)4 种高硅质矿物细颗粒共培养环境中 H₂O₂ 含量: 蒙脱石 > 绢云母 > 钠长石 > 石英,与样品中 Fe₂O₃ 含量呈正相关关系. 蒙脱石组细胞受活性氧影响最大,石英组和钠长石组细胞受粉体释放 H₂O₂ 影响较小.

(3)4 种高硅质矿物细颗粒不同程度的造成细胞膜损伤: 蒙脱石造成细胞膜的损伤最为严重,钠长石虽引起细胞内 LDH 的外泄,但并未造成细胞死亡的升高; 绢云母和石英引起的细胞膜损伤与细胞死亡率直接相关.

(4)4 种高硅质矿物细颗粒均可触发 A549 细胞释放 TNF-α 或 IL-6,进一步激发免疫反应的产生,但不同类型的高硅质矿物颗粒促发的炎症反应不同.

参考文献:

- [1] 张学磊, 郭光剑, 岳雅慧, 等. 拉萨市夏季大气降尘单颗粒矿物组成及其形貌特征[J]. 岩石矿物学杂志, 2011, **30**(1): 127-134.
- [2] 唐杨, 韩贵琳, 徐志方. 北京及其北部地区大气自然降尘矿物组成特征[J]. 矿物岩石地球化学通报, 2011, **30**(2): 150-155, 233.
- [3] 陈雁菊, 时宗波, 贺克斌, 等. 北京市沙尘天气中矿物单颗粒的物理化学特征[J]. 环境科学研究, 2007, **20**(1): 52-57.
- [4] 岑世宏, 邵龙义, 宋晓焱, 等. 北京西北城区 2010 年春季一次沙尘暴过程 PM₁₀ 特征研究[J]. 科技信息, 2011, (5): 50-52.
- [5] Li W J, Shao L Y, Zhang D Z, *et al.* A review of single aerosol particle studies in the atmosphere of East Asia: morphology, mixing state, source, and heterogeneous reactions[J]. Journal of Cleaner Production, 2016, **112**: 1330-1349.
- [6] 吕森林, 邵龙义. 北京市可吸入颗粒物(PM₁₀)中单颗粒的矿物组成特征[J]. 岩石矿物学杂志, 2003, **22**(4): 421-424.
- [7] Miller-Schulze J P, Shafer M, Schauer J J, *et al.* Seasonal contribution of mineral dust and other major components to particulate matter at two remote sites in Central Asia[J]. Atmospheric Environment, 2015, **119**: 11-20.
- [8] Satsangi P G, Yadav S. Characterization of PM_{2.5} by X-ray diffraction and scanning electron microscopy-energy dispersive spectrometer: its relation with different pollution sources[J]. International Journal of Environmental Science and Technology, 2014, **11**(1): 217-232.
- [9] Awadh S M. Geochemistry and mineralogical composition of the airborne particles of sand dunes and dust storms settled in Iraq and their environmental impacts[J]. Environmental Earth Sciences, 2012, **66**(8): 2247-2256.
- [10] Naimabadi A, Ghadiri A, Idani E, *et al.* Chemical composition of PM₁₀ and its in vitro toxicological impacts on lung cells during the Middle Eastern Dust (MED) storms in Ahvaz, Iran[J]. Environmental Pollution, 2016, **211**: 316-324.
- [11] He M, Ichinose T, Kobayashi M, *et al.* Differences in allergic inflammatory responses between urban PM_{2.5} and fine particle derived from desert-dust in murine lungs[J]. Toxicology and Applied Pharmacology, 2016, **297**: 41-55.
- [12] Stone E A, Yoon S C, Schauer J J. Chemical characterization of fine and coarse particles in Gosan, Korea during springtime dust events[J]. Aerosol and Air Quality Research, 2011, **11**(1): 31-43.
- [13] Michel C, Herzog S, de Capitani C, *et al.* Natural mineral particles are cytotoxic to rainbow trout gill epithelial cells *in vitro*[J]. PLoS One, 2014, **9**(7): e100856.
- [14] Guthrie Jr G D. Mineral properties and their contributions to particle toxicity[J]. Environmental Health Perspectives, 1997, **105**(S5): 1003-1011.
- [15] 王德强, 郭九皋, 王辅亚, 等. 蒙脱石中铁的赋存状态的研究[J]. 矿物学报, 1996, **16**(1): 62-65.
- [16] 赵韧, 尹琳, 赵连泽, 等. 滁州绢云母矿物中铁赋存状态的研究[J]. 矿物学报, 2004, **24**(3): 309-314.
- [17] Weidinger A, Kozlov A V. Biological activities of reactive oxygen and nitrogen species: oxidative stress *versus* signal transduction[J]. Biomolecules, 2015, **5**(2): 472-484.
- [18] Nooshabadi A J, Rao K H. Formation of hydrogen peroxide by sulphide minerals[J]. Hydrometallurgy, 2014, **141**: 82-88.
- [19] Kendall M, Brown L, Trought K. Molecular adsorption at particle surfaces: a PM toxicity mediation mechanism[J]. Inhalation Toxicology, 2004, **16**(S1): 99-105.
- [20] 董发勤, 刘明学, 耿迎雪, 等. 超细大气矿物颗粒物界面反应及生物活性研究新进展[J]. 中国测试, 2013, **39**(2): 59-63.
- [21] Baek M, Lee J A, Choi S J. Toxicological effects of a cationic clay, montmorillonite *in vitro* and *in vivo*[J]. Molecular & Cellular Toxicology, 2012, **8**(1): 95-101.
- [22] Yin H Y, Xu L B, Porter N A. Free radical lipid peroxidation: mechanisms and analysis[J]. Chemical Reviews, 2011, **111**(10): 5944-5972.
- [23] Girotti A W, Korytowskib W. Reactions of singlet oxygen with membrane lipids: lipid hydroperoxide generation, translocation, reductive turnover, and signaling activity[A]. In: Nonell S, Flors C (Eds.). Singlet Oxygen: Applications in Biosciences and Nanosciences[M]. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2016, **1**: 409.
- [24] Wang T, Wang L C, Moreno-Vinasco L, *et al.* Particulate matter air pollution disrupts endothelial cell barrier via calpain-mediated tight junction protein degradation[J]. Particle and Fibre Toxicology, 2012, **9**(1): 35.
- [25] 王菲菲, 王先良, 刘芳盈, 等. 燃煤 PM_{2.5} 不同组分对血管内

- 皮细胞的氧化损伤效应[J]. 中国环境科学, 2014, **34**(3): 780-785.
- [26] 张睿, 吕森林, 尚羽, 等. 上海大气超细颗粒物和工业纳米颗粒的表征及细胞毒性的比较研究[J]. 环境科学, 2012, **33**(5): 1431-1437.
- [27] Pozzi R, De Berardis B, Paoletti L, *et al.* Inflammatory mediators induced by coarse ($PM_{2.5-10}$) and fine ($PM_{2.5}$) urban air particles in RAW 264.7 cells[J]. *Toxicology*, 2003, **183**(1-3): 243-254.
- [28] Hetland R B, Cassee F R, Refsnes M, *et al.* Release of inflammatory cytokines, cell toxicity and apoptosis in epithelial lung cells after exposure to ambient air particles of different size fractions[J]. *Toxicology in Vitro*, 2004, **18**(2): 203-212.
- [29] Schins R P F, Lightbody J H, Borm P J A, *et al.* Inflammatory effects of coarse and fine particulate matter in relation to chemical and biological constituents [J]. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2004, **195**(1): 1-11.
- [30] Thomson E M, Breznan D, Karthikeyan S, *et al.* Cytotoxic and inflammatory potential of size-fractionated particulate matter collected repeatedly within a small urban area[J]. *Particle and Fibre Toxicology*, 2015, **12**(1): 24.
- [31] Camatini M, Corvaja V, Pezzolato E, *et al.* PM_{10} -biogenic fraction drives the seasonal variation of proinflammatory response in A549 cells[J]. *Environmental Toxicology*, 2012, **27**(2): 63-73.
- [32] El Badawy A M, Silva R G, Morris B, *et al.* Surface charge-dependent toxicity of silver nanoparticles [J]. *Environmental Science & Technology*, 2011, **45**(1): 283-287.
- [33] Walkey C D, Chan W C W. Understanding and controlling the interaction of nanomaterials with proteins in a physiological environment[J]. *Chemical Society Reviews*, 2012, **41**(7): 2780-2799.
- [34] Kurtz-Chalot A, Klein J P, Pourchez J, *et al.* Adsorption at cell surface and cellular uptake of silica nanoparticles with different surface chemical functionalizations: impact on cytotoxicity[J]. *Journal of Nanoparticle Research*, 2014, **16**(11): 2738.
- [35] Bhattacharjee S, Rietjens I M C M, Singh M P, *et al.* Cytotoxicity of surface-functionalized silicon and germanium nanoparticles: the dominant role of surface charges [J]. *Nanoscale*, 2013, **5**(11): 4870-4883.
- [36] Prasad B R, Mullins G, Nikolskaya N, *et al.* Effects of long-term exposure of gelatinated and non-gelatinated cadmium telluride quantum dots on differentiated PC12 cells[J]. *Journal of Nanobiotechnology*, 2012, **10**(1): 4.
- [37] Sun B B, Pokhrel S, Dunphy D R, *et al.* Reduction of Acute inflammatory effects of fumed silica nanoparticles in the lung by adjusting silanol display through calcination and metal doping [J]. *ACS Nano*, 2015, **9**(9): 9357-9372.

CONTENTS

Air Pollutant Emission Inventory and Impact of Typical Industries on PM _{2.5} in Chengde	CHEN Guo-lei, ZHOU Ying, CHENG Shui-yuan, <i>et al.</i> (4069)
Pollution Characteristics and Emission Coefficient of Volatile Organic Compounds from Woodwork-making Industry in Zhejiang Province	YAO Yi, WANG Zhe-ming, HE Zhi-qiao, <i>et al.</i> (4080)
Emission Inventory of Anthropogenic VOCs and Its Contribution to Ozone Formation in Shanxi Province	YAN Yu-long, PENG Lin (4086)
Characteristics and Source Apportionment of VOCs of High Pollution Process at Chemical Industrial Area in Winter of China	GAO Song, CUI Hu-xiong, FU Qing-yan, <i>et al.</i> (4094)
Study and Application of Test Method for VOCs Emission Factor of Refueling in Service Station	HUANG Yu-hu, CHANG Yao-qing, REN Bi-qi, <i>et al.</i> (4103)
NH ₃ Emission Characteristics in Landfill Sites in Beijing	CUI Tong, LI Jin-xiang, YANG Yan-yan, <i>et al.</i> (4110)
Inventory and Characteristics of Anthropogenic Ammonia Emission in Xi'an	SU Hang, YAN Dong-jie, HUANG Xue-min, <i>et al.</i> (4117)
Pollution Characteristics of Non-methane Hydrocarbons During Winter and Summer in Foshan City	ZHOU Xue-ming, XIANG Ping, DUAN Jing-chun, <i>et al.</i> (4124)
Water-soluble Inorganic Ions in the Road Ambient Atmospheric Particles of Tianjin	ZHAO Meng-xue, WU Lin, FANG Xiao-zhen, <i>et al.</i> (4133)
Characteristics of Nitrogen Deposition in Daiyun Mountain National Nature Reserve	YUAN Lei, LI Wen-zhou, CHEN Wen-wei, <i>et al.</i> (4142)
Microbial Activity in Bioaerosols in Winter at the Coastal Region of Qingdao	MENG Xiang-bin, LI Meng-zhe, LI Hong-tao, <i>et al.</i> (4147)
Molecular and Carbon Isotopic Compositions of <i>n</i> -Alkanoic Acids in Smoke from Maize Straw Combustion	LIU Gang, SUN Li-na, XU Hui, <i>et al.</i> (4156)
Gas Transfer Velocity of CH ₄ at Extremely Low Wind Speeds	ZHANG Cheng, LÜ Xin-biao, LONG Li, <i>et al.</i> (4162)
Spectral Characteristics of Chromophoric Dissolved Organic Matter (DOM) from a Typical Reservoir Lake from Inland of Three Gorges Reservoir Areas: In the View of Riparian Ecosystem Analysis	CHEN Xue-shuang, JIANG Tao, LU Song, <i>et al.</i> (4168)
Characteristics and Pollution Source Analysis of Nutrients in Tributary Outlets of Xitaoxi Watershed	CHEN Shi-wen, YUAN Xu-yin, JIN Jing, <i>et al.</i> (4179)
Analysis of Driving Factors on the Nitrogen Decrease in the Early Stage of the Thermal Stratification in Main Area of Zhoucun Reservoir	ZHANG Chun-hua, HUANG Ting-lin, FANG Kai-kai, <i>et al.</i> (4187)
Characteristics of Organic Phosphorus Fractions in the Sediments of the Black Water Aggregation in Lake Taihu	DONG Dan-ping, ZHANG Ting-xi, ZHANG Ding-yu, <i>et al.</i> (4194)
Impacts of Multiple Disturbance on Migration and Transformation of Endogenous Phosphorus in Lake	CAI Shun-zhi, LI Da-peng, WANG Ren, <i>et al.</i> (4203)
Change of Soil Nitrogen Leaching with Summer Maize Growing Periods Under Plastic Film Mulched Cultivation in Danjiangkou Reservoir Area, China	WANG Wei, YU Xing-xiu, HAN Qiang, <i>et al.</i> (4212)
Nutrients Recovery on the Growth of Nitrogen and Phosphorus Starved <i>Microcystis aeruginosa</i>	YUE Dong-mei, LI Jie, XIAO Lin (4220)
Inactivation Efficiency and Mechanism of Three Dominant Fungal Spores in Drinking Groundwater by Chlorine	WEN Gang, ZHU Hong, HUANG Ting-lin, <i>et al.</i> (4228)
Effect of Water Treatment Process on the Bacterial Multidrug Resistance in Drinking Water	MA Xiao-lin, LU Yang, WANG Yu, <i>et al.</i> (4235)
Characteristics of Disinfection By-products and Genotoxicity During Drinking Water Disinfection with Potassium Monopersulfate Compound Powder	AO Xiu-wei, LI Hao-jie, LIU Wen-jun, <i>et al.</i> (4241)
Heterogeneous Activation of Peroxymonosulfate with Three-dimensional Ordered Mesoporous Co ₃ O ₄ for the Degradation of Rhodamine B	FENG Shan-fang, DENG Si-ping, DU Jia-wen, <i>et al.</i> (4247)
Enhanced Mitigation of Membrane Fouling by Regulations on Floc Morphology in Electrocoagulation	ZHAO Kai, YANG Chun-feng, SUN Jing-qiu, <i>et al.</i> (4255)
Effect of Initial pH on Nitrogen Removal Performance and N ₂ O Emission of a Sequencing Batch CANON Reactor	FU Kun-ming, WANG Hui-fang, SU Xue-ying, <i>et al.</i> (4261)
Operational Characteristics of the Simultaneous Nitrogen and Phosphorus Removal and Removal of Phthalate Esters by Three-dimensional Biofilm-electrode Coupled with Iron/Sulfur Reactor	ZHANG Ya, HAO Rui-xia, XU Peng-cheng, <i>et al.</i> (4268)
Phosphorus Removal Mechanism of Sulfur/Sponge Iron Composite Fillers Based on Denitrification	FAN Jun-hui, HAO Rui-xia, LI Meng, <i>et al.</i> (4275)
Optimization of Denitrifying Phosphorus Removal Performance Based on ABR-MBR Combined Process	CHENG Chao-yang, ZHAO Shi-hui, LÜ Liang, <i>et al.</i> (4282)
Effect of Moderate and Room Temperature on Nitrogen Removal in PN-ANAMMOX Process	YUAN Yan, ZHU Liang (4289)
Influence of Biological Activated Carbon on Simultaneous Nitrification and Denitrification in Inflow with Different C/N Ratios	CUI Yan-ni, QIU Xin, ZHANG Qing-rong, <i>et al.</i> (4296)
Biotransformation of Nitrate to Nitrogen Gas Driven by ANAMMOX Microbes via Zero-valent Iron Under Anaerobic Conditions	ZHOU Jian, WANYAN De-qing, HUANG Yong, <i>et al.</i> (4302)
A Comparative Study on Performance of an Intermittent Aeration SBR and a Traditional SBR for Treatment of Digested Piggery Wastewater	DONG Bao-gang, SONG Xiao-yan, LIU Rui, <i>et al.</i> (4309)
Biological Pre-treatment of Surplus Sludge Using the Protease-secreting Bacteria	HE Pin-jing, WANG Ying, HU Jie, <i>et al.</i> (4317)
Transfer and Fate of Polybrominated Diphenyl Ethers in an Electrical Equipment Dismantling Area Using a Multimedia Fugacity Model	XUE Nan-dong, CHEN Xuan-yu, YANG Bing, <i>et al.</i> (4326)
Distribution Characteristics of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Environmental Media in Nanning City	MIAO Ying, KONG Xiang-sheng (4333)
PBDEs Levels in House Dust and Human Exposure to PBDEs via Dust Ingestion in Hangzhou	JIN Man-tong, TENG Dan-dan, ZHENG Yan-xia, <i>et al.</i> (4341)
Evaluating Biochar-Water Sorption Coefficients of Pharmaceutically Active Compounds by Using a Linear Free Energy Relationship	WANG Jia-yi, BI Er-ping (4349)
Characteristics of Bacterial Communities in Surface-flow Constructed Wetlands	WEI Jia-ming, CUI Li-juan, LI Wei, <i>et al.</i> (4357)
Community Structure and Activity Analysis of the Nitrifiers in Raw Sewage of Wastewater Treatment Plants	YU Li-fang, DU Qian-qian, FU Xue-tao, <i>et al.</i> (4366)
Effects of Fertilization on Soil Microbial Abundance and Community Structure at DNA and cDNA Levels in Paddy Soils	WANG Cong, WU Ne, HOU Hai-jun, <i>et al.</i> (4372)
Effects of Bisphenol A on Characteristics of Paddy Soil Microbial Community Under Different Cultural Conditions	LIU Chang, HUANG Ya-dan, ZHANG Ying, <i>et al.</i> (4380)
Identification of a Facultative Bacterium Strain with the Ability to Methylate Mercury Under Both Aerobic and Anaerobic Conditions	TAO Lan-lan, XIANG Yu-ping, WANG Ding-yong, <i>et al.</i> (4389)
Distribution Characteristics of Antibiotic Resistance Genes in Vegetable Soils in Beijing	ZHANG Lan-he, WANG Jia-jia, HA Xue-jiao, <i>et al.</i> (4395)
Distribution Characteristics of Antibiotic Resistance Genes in Sika Deer Farm	HUANG Fu-yi, AN Xin-li, CHEN Qing-lin, <i>et al.</i> (4402)
Comparison of Toxic Effect of Siliceous Mineral Dusts on Lung Epithelial A549 Cells	HUO Ting-ting, DONG Fa-qin, DENG Jian-jun, <i>et al.</i> (4410)
Effect of Adding Compound Adsorbent on Phenanthrene and Cr(VI) Absorption by Lou Soil	LI Wen-bin, MENG Zhao-fu, WU Qiong, <i>et al.</i> (4419)
Effect of Biochar on Adsorption Behavior of Nonylphenol onto Loess Soil in Northwest China	ZHANG Zhen-guo, JIANG Yu-feng, MU Zhong-feng, <i>et al.</i> (4428)
Soil Respiration in Response to Different Ridge/Furrow Ratios and Its Relationship with Soil Moisture and Temperature Under Ridge-Furrow Planting Patterns	WANG Chang-jiang, SHI Cheng-xiao, FENG Fan, <i>et al.</i> (4437)
Effects of Straw in Combination with Reducing Fertilization Rate on Soil Nutrients and Enzyme Activity in the Paddy-Vegetable Rotation Soils	HUANG Rong, GAO Ming, WAN Yi-lin, <i>et al.</i> (4446)

《环境科学》第6届编辑委员会

主 编: 赵进才

副主编: 赵景柱 郝吉明 田 刚

编 委: (按姓氏笔画排序)

万国江 王华聪 王凯军 王绪绪 田 刚 田 静 史培军
朱永官 刘志培 刘 毅 汤鸿霄 孟 伟 周宗灿 林金明
赵进才 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)

2016年11月15日 第37卷 第11期

ENVIRONMENTAL SCIENCE

(Monthly Started in 1976)

Vol. 37 No. 11 Nov. 15, 2016

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	赵进才	Editor-in -Chief		ZHAO Jin-cai
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	中国国际图书贸易集团有限公司 (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: 120.00元

国外发行代号: M 205

国内外公开发行