



ISSN 0250-3301 CODEN HCKHDV HUANJING KEXUE

- 主办 中国科学院生态环境研究中心
- ■出版科学出版社



2019

Vol.40 No.8 第40卷 第8期

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第40卷 第8期 2019年8月15日

目 次

```
2016年京津冀地区红色预警时段 PM2.5污染特征与浓度控制效果 ……… 张冲,郎建垒,程水源,王晓琦(3397)
北京地区秋冬季大气污染特征及成因分析………………… 徐冉,张恒德,杨孝文,程水源,张天航,江琪(3405)
濮阳市秋冬季大气细颗粒物污染特征及来源解析
ボニョウ、エット、ペットの では、カットの では、カットのでは、カットのでは、カットのでは、カットのでは、カットのでは、カットのでは、カットのでは、カットのでは、カットのでは、カットのでは、カットのでは、カットのでは、カットのでは、カットのでは、カットのでは、カットのでは、カットのでは、カットのでは、カットのでは、カットのでは、カットのでは、カットのでは、カットのでは、カットのでは、カットのでは、カットのでは、カットのでは、カットのでは、カットのでは、カットのでは、カットのでは、カットのでは、カットのでは、カットのでは、カットのでは、カットのでは、カットのでは、カットのでは、カットのでは、カットのでは、カットのでは、カットのでは、カットのでは、カットのでは、カットのでは、カットのでは、カットのでは、カットのでは、カットのでは、カットのでは、カットのでは、カットのでは、カットのでは、カットのでは、カットのでは、カットのでは、カットのでは、カットのでは、カットのでは、カットのでは、カットのでは、カットのでは、カットのでは、カットのでは、カットのでは、カットのでは、カットのでは、カットのでは
   …………… 胡昕怡, 高冰丽, 陈坦, 王洪涛, 金军, 饶竹, 朱雪芹, 王雪郡, 魏抱楷, 战楠, 刘彦廷, 戚敏(3501)
外源输入对底泥疏浚新生表层磷恢复及迁移的影响 ……… 李鑫, 耿雪, 王洪伟, 龚琬晴, 文帅龙, 钟继承, 李大鹏(3539)
新疆喀什三角洲地下水 SO<sub>4</sub><sup>-</sup> 化学特征及来源 …… 魏兴,周金龙,乃尉华,曾妍妍,范薇,李斌(3550)
饮用水快速砂滤池优势微生物群落的代谢功能解析 …… 胡万超,赵琛,王巧娟,刘锐平,柏耀辉(3604)
光催化/活性炭/纳滤组合工艺处理二级出水及对膜污染的控制 草外逊,张守红,张英,吴思婷(3618)
光催化/活性炭/纳滤组合工艺处理二级出水及对膜污染的控制 范科文,李星,杨艳玲,周志伟(3626)
多种材料对水中氨氮的吸附特性 焦巨龙,杨苏文,谢宇,金位栋,闫玉红,徐彬(3633)
不同氨氮浓度对 4 株常见藻株生长及酶活性的影响 常婷,许智慧,程鹏飞,徐继林,周成旭(3642)
缺氧 MBBR 耦合部分厌氧氨氧化强化城市生活污水深度脱氮 …… 杨岚,彭永臻,李健伟,高锐涛,王茗,李夕耀(3668)连续流系统中好氧段及沉淀段对污泥及其缺氧段脱氮能力的影响 …… 薛欢婷,袁林江,刘小博,孙恒锐(3675)
异养硝化细菌 Acinetobacter junii NP1 的同步脱氮除磷特性及动力学分析 ·································
    两种土壤增效剂对稻田氨挥发排放的影响 …………… 周玉玲, 侯朋福, 李刚华, 王绍华, 杨林章, 薛利红, 丁艳锋(3746)
铁锰氧化物在不同水分条件下对土壤 As 的稳定化作用 …………… 周海燕, 邓一荣, 林龙勇, 曹梦华, 钟立荣(3792)
生物质炭对双季稻水稻土微生物生物量碳、氮及可溶性有机碳氮的影响…… 刘杰云, 邱虎森, 汤宏, 沈健林, 吴金水(3799)
有机物料对紫色土微生物量碳、氮及氮素供应的影响 ……………………………………………… 汪月,张名豪,赵秀兰(3808)
土地利用方式对土壤团聚体稳定性和有机碳含量的影响………… 罗晓虹, 王子芳, 陆畅, 黄容, 王富华, 高明(3816)
宁南山区退耕还林还草对土壤氮素组成及其转化酶活的影响 ················高涵,肖礼,牛丹,倪银霞,黄懿梅(3825)不同浸提剂条件下生物炭溶解性有机物的浸出规律 ··············何品晶,张昊昊,仇俊杰,邵立明,吕凡(3833)
基于成组生物毒性测试的 PM<sub>2.5</sub>毒性 ·················· 江晓栋, 薛银刚, 魏永, 许霞, 刘菲, 薛柯, 施昕澜, 顾铭(3840)
《环境科学》征订启事(3587)
                       《环境科学》征稿简则(3595) 信息(3611,3705,3745)
```



基于成组生物毒性测试的 PM2.5 毒性

江晓栋¹, 薛银刚^{1,2*}, 魏永^{1*}, 许霞¹, 刘菲¹, 薛柯¹, 施昕澜², 顾铭³

(1. 常州大学环境与安全工程学院, 常州 213164; 2. 江苏省常州环境监测中心, 江苏省环境保护水环境生物监测重点实验 室,常州 213001;3. 江苏理工学院化学与环境工程学院,常州 213001)

摘要: 为了准确评估 PM,,,的综合生物毒性, 采用发光细菌急性毒性 \斑马鱼胚胎急性毒性和体外人肺腺癌细胞(A549)毒性 试验对常州市冬季雾-霾天、冬季正常天和夏季这3个时间段的PM25进行生物毒性评价,并结合大气理化指标进行分析.结 果表明, 3个时间段的 PM2, 均表现出急性毒性或发育毒性. 冬季雾-霾天、冬季正常天和夏季 PM25 对发光细菌的毒性单位 (toxicity unit, TU) 值分别为 1.74(有毒)、1.19(有毒)和 0.92(微毒);对斑马鱼胚胎的 TU 值从大到小排列为:冬季正常天 (TU=1.14, 有毒)、冬季雾-霾天(TU=0.79, 微毒)和夏季(TU=0, 无毒); 对 A549的 TU 值为:冬季雾-霾天(TU=0.61, 微 毒) > 夏季(TU = 0.38, 微毒) > 冬季正常天(TU = 0.31, 微毒). 在发育毒性方面, 除夏季 PM_{2.5}样品, 其余 2 个时间段的 PM, ¸均对斑马鱼胚胎发育有影响,主要表现出心包囊肿、脊椎弯曲和尾部畸形. 平均毒性(average toxicity, AvTx)、毒性指数 (toxic print, TxPr)和最敏感测试(most sensitive test, MST)综合毒性评价方法表明冬季雾-霾天和冬季正常天 PM,5均表现出 有毒, 夏季则表现出微毒, 以冬季雾-霾天 PM, ,样品的综合毒性最高. 此外, 3 种测试生物对 PM, ,污染物的敏感度排序为发 光细菌 > 斑马鱼胚胎 > A549. 理化指标和生物毒性的相关性分析结果表明, PM25 中所含的污染物对生物毒性效应产生影 响,可为 PM,5生物毒性综合评价和人体健康风险评估提供依据.

关键词:PM,5; 斑马鱼胚胎; 发光细菌; A549; 成组生物毒性

中图分类号: X171.5; X826 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2019)08-3840-09 DOI: 10.13227/j. hjkx. 201812193

Toxicity of PM, 5 Based on a Battery of Bioassays

JIANG Xiao-dong¹, XUE Yin-gang^{1,2*}, WEI Yong^{1*}, XU Xia¹, LIU Fei¹, XUE Ke¹, SHI Xin-lan², GU Ming³ (1. School of Environmental and Safety Engineering, Changzhou University, Changzhou 213164, China; 2. Key Laboratory of Environmental Protection of Water Environment Biological Monitoring of Jiangsu Province, Changzhou Environmental Monitoring Center of Jiangsu Province, Changzhou 213001, China; 3. College of Chemistry and Environmental Engineering, Jiangsu University of Technology, Changzhou 213001, China)

Abstract: To accurately evaluate the biotoxicity of PM2.5, PM2.5 samples from winter fog-haze days, winter normal days, and summer days in Changzhou were selected for evaluation based on the acute toxicity of luminescent bacteria and zebrafish embryos and the cytotoxicity of human lung adenocarcinoma cells in vitro (A549). The three atmospheric conditions and the physical and chemical indicators were also evaluated using correlation analysis. The PM2.5 samples showed either acute or developmental toxicity during all three periods. The toxicity unit (TU) of the luminescent bacteria for the winter fog-haze days, winter normal days, and summer days were 1.74 (toxic), 1.19 (toxic), and 0.92 (slightly toxic), respectively. The maximum TU of the zebrafish embryos was for winter normal days (TU = 1.14, toxic) followed by winter fog-haze days (TU = 0.79, slightly toxic), and summer days (TU = 0, nontoxic). The highest TU of A549 was for winter fog-haze days (TU = 0.61, toxic) followed by summer days (TU = 0.38, toxic) and winter normal days (TU = 0.31, toxic). With respect to developmental toxicity, with the exception of summer day samples, the PM25 samples from the other two periods had detrimental effects on the development of zebrafish embryos, mainly showing pericardial edema, a bent notochord, and tail deformity. The average toxicity (AvTx), toxic print (TxPr), and most sensitive test (MST) indices showed that the PM_{2,5} samples from winter fog-haze days and winter normal days exhibited toxicity, while samples from the summer days showed slight toxicity; PM_{2.5} samples from winter fog-haze days had the highest level of comprehensive toxicity. In addition, luminescent bacteria were the most sensitive to PM2.5 samples, followed by zebrafish embryos and A549. The results of chemical analysis and biological toxicity tests show that the pollutants contained in PM2.5 have a biological toxicity effect, which can provide a basis for the comprehensive assessment of PM2 5 biological toxicity and human health risks.

Key words: PM, 5; zebrafish embryos; luminescent bacteria; A549; a battery of bioassays

近年来,大气污染已成为发展中国家的重大公 共卫生问题, 尤其是由 PM25引发的大气污染问题

是影响人类健康的主要环境问题之一. 我国作为最 大的发展中国家, 近几年来受 PM25 的影响日益严

收稿日期: 2018-12-25; 修订日期: 2019-03-13

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目(21607016);常州市科技局科技支撑(社会发展)项目(CE20175022);环境基准与风险评估 国家重点实验室开放课题项目(SKLECRA20160FP20);上海市大气颗粒物污染防治重点实验室开放课题项目(FDLAP17005);国家环境保护标准项目(2015-9);江苏省"六大人才高峰"项目(JNHB-118)作者简介:江晓栋(1993~),男,硕士研究生,主要研究方向为大气颗粒物毒理学,E-mail;cczujxd@163.com

^{*} 通信作者,E-mail:yzxyg@126.com; weiyong@cczu.edu.cn

重,据报告显示:我国 PM_{2.5}的污染可能会导致每年120 万人过早死亡,并且还会影响 2500 万人的生命健康^[1]. PM_{2.5}粒径小,比表面积大,易吸附有毒有害物质(重金属、有机物、无机离子以及细菌病毒等微生物)^[2-4],且在大气中停留时间长,易进入人体的呼吸系统并沉积在肺泡中,有的甚至能通过肺泡直接进入人体循环系统,可能会导致心血管疾病^[5]. 此外,高浓度 PM_{2.5}还与呼吸及神经系统疾病的病发率有较大关联,甚至可能诱发肺癌和脑肿瘤等疾病^[6-7]. 不仅如此,更有学者发现直径 < 200 nm 的颗粒物还会进入人类大脑造成脑部细胞氧化应激损伤^[8].

国内外许多学者针对 PM_{2.5}的研究主要集中在生物毒性、时空分布和源解析等方面^[9~11]. 而关于生物毒性方面,大多数学者采用不同类型的单一生物毒性测试方法, Palleschi 等^[12]研究得出 PM_{2.5}对A549 细胞活性无影响,而 Zhang 等^[13]则发现 PM_{2.5}对斑马鱼胚胎的死亡率、畸形率和孵化率均有显著影响. 由此可知,不同种类的生物对外界环境具有不同的敏感度和致毒机制,因此应用多种生物组合可以更有效地评价 PM_{2.5}的生物安全性.

斑马鱼及其胚胎是非常理想的水生生物模 型[14], 斑马鱼作为毒理学模式生物具有低成本、易 饲养、易观察、产卵量大、对毒性物质反应灵敏等 特点, 并与人类基因具有 75% 的相似度, 更重要的 是斑马鱼与哺乳动物的组织器官、系统、生理、发 育和代谢高度相似[15,16]. 发光细菌作为1种快速、 灵敏和便捷的生物毒性检测手段,在国际上已被广 泛应用, 主要应用于化学品、污废水、地表水和其 它环境污染物的毒性检测[17~20]. 相比于上述两种 生物毒性测试,体外细胞毒性测试具有重复性好、 试验组间差异小等优点[21],此外肺上皮细胞是颗 粒物主要接触的靶细胞^[22], 因此将 A549 细胞作为 细胞毒性试验的受试对象更能实际反映 PM2.5对人 体的影响. 本研究结合理化因子并利用发光细菌急 性毒性、斑马鱼胚胎急性毒性以及 A549 体外细胞 毒性试验对常州市居住区不同时间段的 PM,,,进行 评价, 以期为今后的 PM2.5综合生物毒性和人体健 康评价的研究提供基础.

1 材料与方法

1.1 试验材料

受试生物:试验用斑马鱼(AB 野生型)购自湖 北省中科院水生所国家斑马鱼资源中心,饲养在自 动水循环的养殖系统中(上海海圣生物试验设备有 限公司,上海),鱼龄为6个月.饲养条件为:水温 (28±1)℃, pH 7~8, 电导率(550±5) μS·cm⁻¹, 光暗比 16:8. 发光细菌费氏弧菌冻干粉购自英国 Mondern Water 公司,初始发光度高于 200 万光子数. A549 细胞由常州大学生物医学工程与健康科学研究院提供.

试验耗材:发光细菌毒性试验用试剂主要有Microtox 稀释液和 Microtox 渗透调节液 (Mondern Water 公司, 英国);体外细胞毒性试验用试剂主要有二甲基亚砜 (DMSO),纯度 \geq 99.7%,购自于Sigma 公司,F-12 培养基、青霉素-链霉素、0.25%胰酶消化液和胎牛血清均购自于 Gibco 公司;斑马鱼胚胎试验用试剂主要有硫酸镁、氯化钾、碳酸氢钠和氯化钙,均为分析纯,购自中国国药有限公司;试验用水均采用 Milli-Q Reference 超纯水系统 (Merck Millipore 公司,德国)制备的去离子水(电阻率为 18.2 $M\Omega \cdot cm$).

1.2 试验方法

1.2.1 PM, 的采集

采用崂应 2050 型智能空气/TSP 综合采样器 (青岛崂应应用技术研究所, 山东省)并配备 PM, 5 切割器进行采集,采样器置于常州市环境监测中心 站内东楼楼顶, 楼高约20 m, 采样器离地面1.5 m, 采样流量为100 L·min⁻¹, 采样时间为20 h. 采集日 期分别为 2018 年冬季雾-霾天:1 月 15 日、1 月 17 日、1月18日、1月20日、1月21日、1月22日; 冬季正常天:2月6日、2月7日、2月8日、2月12 日、2月13日、2月14日;夏季:5月22日、5月 23 日、5月24日、5月28日、5月29日、5月30 日、5月31日、6月1日、6月2日,每天记录天气 情况,期间遇雪天和雨天等恶劣天气则不进行采 样,颗粒物样品采集于 φ90 mm 的石英滤膜 (Pallflexm 公司, 美国)上. 采样前将滤膜置于 450℃的 SX2 型箱式电炉(上海浦东荣丰科学仪器 有限公司,上海)中焙烤4h,去除有机杂质和其它 污染物. PM, 5重量分析参考文献[23], 采样前将滤 膜放入温度为 23℃,湿度为 45% 的 HSX-150 恒温 恒湿箱(杭州蓝天仪器有限公司, 浙江省)中平衡 24 h, 采样后立即利用 AL104 梅特勒万分之一电子 天平(Mettler Toledo 公司, 瑞士)进行称重, 称重两 次,两次重量之差应 < 0.4 mg. 应用下列公式计算 颗粒物的质量浓度:

$$\rho = \frac{w_1 - w_2}{V} \times 1000 \tag{1}$$

式中, ρ 表示 $PM_{2.5}$ 的质量浓度($mg \cdot m^{-3}$); w_2 表示 采样后滤膜的质量,g; w_1 表示空白滤膜的质量,g; V表示已换算成标准状态下(101.325 kPa, 273

K)下的采样体积, m3.

1.2.2 PM25的制备

参考 Duan 等^[24]的试验方法利用酒精消毒后的陶瓷剪刀将滤膜剪成 1 cm × 1 cm 大小的碎片,置于烧杯中并加入 30 mL 纯水,放入 S60H 型超声振荡器(Elmasonic 公司,德国)中并加入冰袋保持水温在 20° 以下,共振荡 3 次,每次 20 min,将超声振荡后的颗粒物和滤膜混合物通过 8 层无菌纱布过滤,得到 $PM_{2.5}$ 洗脱液,放入真空冷冻干燥机(北京博医康试验仪器有限公司,北京)内进行干燥,随后称重得到 $PM_{2.5}$ 粉末的重量,保存于 -20° 下,待试验时取出.

1.2.3 发光细菌急性毒性试验

参考(ISO 11348-3: 2007) [25] 将保存在 - 22℃ 下的发光菌冻干粉用 2 mL 的 Microtox 稀释水(保存于 4℃下)复苏 15 min,用 DeltaTox 毒性检测仪器(SDI 公司,美国)的 ATP 模式测量其发光度,取 0.1 mL 复苏菌液于比色皿中测量其初始发光度.将冬季雾-霾天、冬季正常天和夏季 PM_{2.5}样品分别稀释成:0、70、140、210、280 和 350 μg·mL⁻¹,0、80、160、240、320 和 400 μg·mL⁻¹,0、180、360、540、720 和 900 μg·mL⁻¹,分别取不同质量浓度样品 1 mL 和渗透调节液 0.1 mL 加入比色管中混匀,再取混匀后的样品 0.9 mL 加入 0.1 mL 的复苏菌液中,混匀后用便携式毒性仪 ATP 模式依次测 15 min 发光强度,每个质量浓度设置 3 个重复.

质量控制:发光细菌初始发光度大于 200 万光子数;在 45% B-Tox 中毒性模式下,当硫酸锌标准溶液质量浓度为 $2.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,发光细菌的相对发光度为 50%,其误差不超过 $\pm 10\%$.

1.2.4 斑马鱼胚胎急性毒性和发育毒性试验

参考(ISO 15088: 2007)^[26]进行斑马鱼胚胎收集:挑选健康和性成熟的斑马鱼,以雌雄比1:2放入产卵盒中,用隔板把雌雄鱼分开避光10 h. 第 2 d 光周期开始后,抽掉隔板让雌雄斑马鱼交配产卵,约 30 min 内完成产卵受精. 收集受精卵,清洗2~3次去除残留物,放入28℃的SPX-250B-Z型生化培养箱(上海博讯实业有限公司,上海)中待用.

试验前将24孔板放入稀释水中浸泡30 min 后取出晾干. 随后根据预试验结果利用稀释水配制成上述相同的质量浓度,每个染毒质量浓度设置3组平行,并设置阴性对照,每组10个孔,每孔加入2mL样品. 在XTL-850P体式显微镜(上海光密仪器有限公司,上海)下挑选正常发育的受精胚胎进行暴露试验,每孔放入1枚卵,置于生化培养箱中连续培养72h,每24h观察胚胎发育情况(死亡、孵

化、致畸).

质量控制:胚胎培养 48 h 后 24 微孔板对照组中胚胎不得死亡,阴性对照组胚胎存活率≥90%,阳性对照组胚胎死亡率≥10%.

1.2.5 体外细胞(A549)毒性试验

参考 Deng 等[27] 的试验方法将人肺腺癌 A549 细胞培养在灭活的含10%胎牛血清和双抗(青霉素 和链霉素各 100 U·mL-1)的 F-12 培养基中. 置于 温度 37℃、5% 的 MCO-18A1C 型 CO₂ 培养箱中 (SANYO 公司, 日本). 当细胞融合至 80% 时用 0.25% 胰蛋白酶消化, 在倒置显微镜观察收集对数 生长期的 A549 细胞, 利用培养基配置成 5×104 个·mL⁻¹的细胞悬液, 以 100 μL·孔⁻¹接种于 96 孔 板中(每孔5000个细胞),置于CO,培养箱中培养 24 h 每组设定 5 个复孔,细胞贴壁后弃去培养液, 加入与上述质量浓度梯度相同的颗粒物样品 100 μL 和 100 μL 不含胎牛血清的培养基进行暴露试 验, 以超纯水作为溶剂对照. 染毒 24 h 后加入 MTT 溶液培养 4 h 后弃去上清液, 加入 150 μL 的 DMSO 溶解,用Infinite® F50酶标仪(Tecan公司,瑞士) 在 492 nm 波长下检测吸光度值.

1.3 综合毒性评价指标

目前对生物毒性结果评估的方法主要有 TU、AvTx、TxPr 和 MST 法等^[28]. 因此本研究采用上述 4 种毒性评价方法对 3 种生物进行毒性测试(发光细菌急性毒性、斑马鱼胚胎急性毒性和 A549 细胞毒性),结果进行整合计算,计算公式如下.

TU 值计算^[28]:

$$TU = \frac{100\%}{EC_{50}(LC_{50})}$$
 (2)

式中, EC_{50} 为半数效应浓度即染毒后引起 50% 效应变化的质量浓度, LC_{50} 为半数致死浓度即染毒后引起 50% 死亡率的质量浓度.

若当受试生物暴露于 100% 原水中时, 所导致的计量效应未达到 50%, 从而无法计算 EC_{50} 或 LC_{50} , TU 可以通过下列公式计算得到:

$$TU = RE \times 100 \times 0.02 \tag{3}$$

式中, RE 为经染毒后发光细菌的相对抑制发光强度, 斑马鱼胚胎的死亡率和畸形率及 A549 细胞相对抑制率.

AvTx 值计算^[29]:

$$AvTx = \frac{\sum_{i=1}^{N} T_i}{N}$$
 (4)

式中, T_i 为第 i 个毒性试验的毒性单位; N 为参与评价的毒性试验数.

TxPr 值计算^[29]:

$$TxPr = AvTx \times n \tag{5}$$

式中, n 为生物毒性试验测试结果为阳性的试验数.

MST 为最敏感的测试生物所对应的毒性值,即毒性单位最大值^[29].

1.4 数据统计与分析

采用 SPSS 22.0 版本 Probit 程序计算发光细菌 15 min-EC₅₀ 值和斑马鱼胚胎 72 h-EC₅₀ 值;运用 ANOVA 方差分析暴露组与对照组之间的差异;应用 EXCEL 2013 版本计算平均值与标准偏差;利用 Origin 8.0 版本绘制点线图和柱状堆积图.

2 结果与分析

2.1 理化指标

冬季雾-霾天、冬季正常天和夏季这3个时间 段的基本理化指标平均值见表1,其中自动站数据 由常州市环境监测中心提供.由表可知冬季雾-霾 天空气质量指数(AQI)最高为129,而冬季正常天

和夏季 AQI 分别为 72 和 76, 与冬季雾-霾天相比空 气质量较好. 但3个时间段的PM,5质量浓度均超 过了《环境空气质量标准》(GB 3095-2012)规定的 日均质量浓度限值 75 μg·m⁻³. 冬季雾-霾天可溶性 离子的质量浓度普遍高于冬季正常天和夏季, 其中 NO3 的质量浓度最大, 占冬季雾-霾天 PM2.5质量浓 度的 37.47%, 冬季正常天 12.92% 以及夏季 15.72%. Ca2+质量浓度在3个时间段中占比均最 低, 为 0.31% ~ 0.40%. 在重金属中 Zn 质量浓度 最高, 其中冬季雾-霾天中 Zn 质量浓度最高为 131.97 ng·m⁻³, 是冬季和夏季正常天的 3.65 倍和 3.70 倍; 此外 Cd 质量浓度最低, 3 个时间段排序 为夏季(0.25 ng·m⁻³) <冬季(0.59 ng·m⁻³) <冬 季雾-霾天(2.09 ng·m⁻³). 冬季雾-霾天 OC 和 EC 质量浓度均最高,分别为 19.77 μg·m⁻³ 和 5.48 μg·m⁻³, 均分别高于冬季 OC(6.80 μg·m⁻³)和 EC (3.82 μg·m⁻³) 及夏季 OC (9.54 μg·m⁻³) 和 EC (4. 11 μg·m)

表 1 不同时间段 PM_{2.5}理化指标

-		/ 10		Physical a	nd chemic	al indices of	of PM _{2.5} i	n different	time peri	ods			-771
采样时间	AQI	PM _{2.5} 质量浓度	1	1/8/	WI		自动	站数据/µ	ıg∙m ⁻³	10		1000	
不作时间	AQI	$/\mu g \cdot m^{-3}$	HCl	HNO_2	HNO_3	K +	Ca ^{2 +}	Na +	Mg^{2} +	Cl -	NO_3^-	SO_4^2	NH ₄ ⁺
冬季雾-霾	129	127. 45	0. 19	10.62	1. 27	1.41	0.51	0.50	0. 13	7. 85	47.75	23. 20	24. 16
冬季	72	108.06	0. 12	2. 57	0.84	0.68	0.34	0. 24	0.08	2. 59	13.96	5. 64	6. 65
夏季 //	76	90.88	0. 20	5.31	1. 93	0.34	0. 28	0. 13	0.05	1. 96	14. 29	14. 29	12. 44
采样时间 -	自动站	b数据/μg·m ⁻³	1	0	41	10	重	金属/ng·	m ⁻³	4			
1.0	OC	EC	Zn	Cu	Al	Cr	Mn	Ni	As	Se	Cd	Pb	Sb
冬季雾-霾	19. 77	5. 48	131. 97	16. 22	57. 91	3. 62	42. 43	3.66	6. 94	5. 89	2.09	13.63	5. 55
冬季	6.80	3. 82	85.47	22.49	11.06	3. 45	28.09	4. 54	4. 39	3. 83	0.59	2. 94	3.71
夏季	9. 54	4. 11	84. 30	11.56	6.73	1. 32	17. 95	1.62	3.53	2. 91	0. 25	0. 23	2.74

2.2 生物毒性评价

2.2.1 发光细菌急性毒性结果

随着 $PM_{2.5}$ 质量浓度对数的增加, 3 个时间段的 发光细菌抑制率也随之增大(图 1). 本研究根据中国科学院南京土壤所提出的发光细菌等级划分方法 (L>90, 无毒; $70 < L \le 90$, 低毒; $50 < L \le 70$, 中毒; $30 < L \le 50$, 重毒; $0 < L \le 30$, 高毒; L=0, 剧毒)来判定发光细菌急性毒性 $[^{30}]$. 3 个时间段的 $PM_{2.5}$ 均对发光细菌起抑制作用,其中冬季雾-霾天急性毒性最大,属重毒,其 EC_{50} 值为 200. 91 μ g·mL $^{-1}$, 冬季正常天毒性为中毒, EC_{50} 为 336. 49 μ g·mL $^{-1}$,夏季毒性为低毒, EC_{50} 为 486. 84 μ g·mL $^{-1}$.

2.2.2 斑马鱼胚胎急性毒性和发育毒性结果

图 2 为 3 个时间段 PM_{2.5}斑马鱼胚胎急性毒性,由于夏季 PM_{2.5}未呈现毒性效应,因此夏季数据未给出.从中可以看出,冬季雾-霾天和冬季正常天的

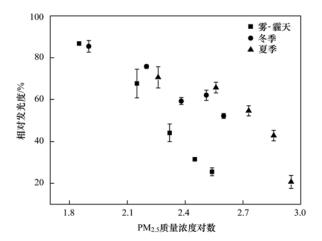


图 1 不同质量浓度 PM_{2.5} 对发光细菌的急性毒性

Fig. 1 Acute toxicity of different concentrations of \$\$ PM_{2.5}\$ to luminescent bacteria

PM_{2.5}质量浓度和斑马鱼胚胎毒性在染毒 72 h 时呈一定的剂量-效应关系. 其中冬季雾-霾天在染毒 24 h 和 48 h 时毒性较小, 在质量浓度为 350 μg·mL⁻¹

和 280 μg·mL⁻¹下胚胎变白死亡,表现为卵凝结 [图 3(F)中 a 处],死亡率均为 10%;在 72 h 时出现致畸效应,主要表现为心包囊肿[图 3(G)],其畸形率在质量浓度 350 μg·mL⁻¹和 280 μg·mL⁻¹下分别为 20% 和 10%.冬季正常天在染毒 24 h 后无毒性效应,但在染毒 48 h 时在高质量浓度 400 μg·mL⁻¹下开始出现致畸效应,畸形率为 10%.当染毒时间为 72 h,胚胎畸形数明显增多,除表现为心包囊肿外

[图 3(H) b 处],还有脊椎弯曲[图 3(H) c 处]和尾部畸形[图 3(I) 和图 3(J)],其中心包囊肿出现次数最多,其次为脊椎弯曲和尾部畸形. 其畸形率在质量浓度 $400~\mu g \cdot m L^{-1}$ 和 $320~\mu g \cdot m L^{-1}$ 下分别为 70% 和 40%. 通过 SPSS 计算得出冬季雾-霾天 $72~h \cdot EC_{50}$ ($442.41~\mu g \cdot m L^{-1}$) >冬季正常天 $72~h \cdot EC_{50}$ ($349.77~\mu g \cdot m L^{-1}$),说明冬季雾-霾天斑马鱼胚胎急性毒性效应与冬季正常天相比较小.

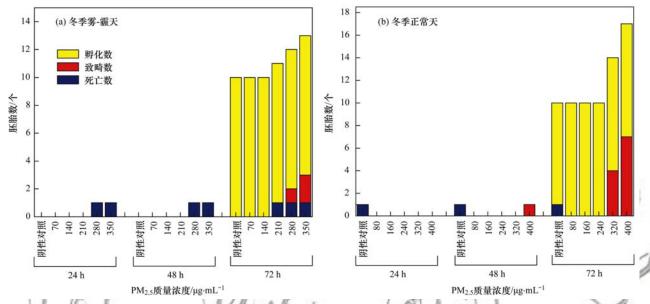
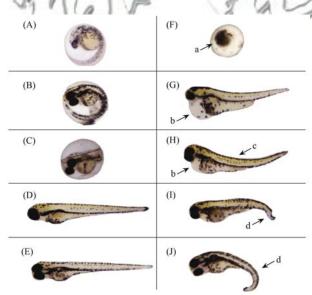


图 2 不同质量浓度 PM_{2.5}对斑马鱼胚胎的急性毒性及发育毒性

Fig. 2 Acute toxicity and developmental toxicity of different concentrations of PM2 5 to zebrafish embryos



(A)24 h 发育正常的胚胎; (B)、(C):48 h 发育正常的胚胎; (D)、(E):72 h 发育正常的胚胎; (F):卵凝结(a 处); (G):心包囊肿(b 处); (H):心包囊肿(b 处)、脊椎弯曲(c 处); (I)、(J):尾部畸形(d 处)

图 3 PM_{2.5}对斑马鱼胚胎早期发育的影响

Fig. 3 Effect of PM_{2.5} on the development of zebrafish embryos

2.2.3 细胞毒性结果

图 4 为 3 个时间段 A549 细胞体外毒性测试结

果. 从中可知, 3 个时间段 $PM_{2.5}$ 与对照组相比均有显著性差异,对 A549 细胞都表现出抑制作用. 其中冬季雾-霾天 $PM_{2.5}$ 在最低质量浓度 210 μ g·mL⁻¹时(体积分数为 60%)表现出细胞毒性效应($P \le 0.05$),当质量浓度达到 280 μ g·mL⁻¹(体积分数为 80%)时细胞毒性较为明显($P \le 0.01$). 与冬季雾-霾天相比,冬季正常天则在 160 μ g·mL⁻¹(体积分数为 40%)时表现出细胞毒性效应($P \le 0.05$),当质量浓度为 240 μ g·mL⁻¹(体积分数为 60%)时则细胞毒性较明显($P \le 0.01$). 相比于上述 2 个时间段,夏季 $PM_{2.5}$ 细胞毒性效应在质量浓度范围为 360~900 μ g·mL⁻¹时均表现较弱($P \le 0.05$).

2.3 PM25综合生物毒性评价

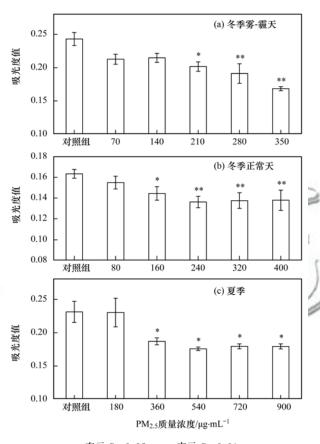
当采用单一生物进行毒性评价时,由于指示生物的敏感度的不同和选择性的差异,毒性评价效果差异较大.如表 2 所示,夏季斑马鱼胚胎的 TU 值为 0,表现为无毒,而对发光细菌以及 A549 细胞均表现出微毒;冬季雾-霾天除发光菌表现出有毒外,其余 2 种受试生物均表现为微毒;冬季正常天仅有 A549 细胞表现出微毒,斑马鱼和发光细菌均表现为有毒.在 3 个时间段中,发光菌 TU 值均大于其

表っ	РМ	毒性当量及不同类型评价指	t ∓1)
तर ४	PIVI	。母性多里及小问尖至许训伯,	[7]N

Table 2 Toxicity unit of PM _{2.5} and different	at evaluation indicators	š
--	--------------------------	---

采样时间	斑马鱼 72 h-EC ₅₀ (95%的置信区间)	发光细菌 15 min-EC ₅₀ (95% 的置信区间)	A549 24 h-EC ₅₀ (95%的置信区间)	TU			AvTx	TxPr	MST
水 件时间	/μg·mL ⁻¹	(93%的重信运用) /µg·mL ⁻¹	(95% 的直信区间) /μg·mL ⁻¹	斑马鱼	发光菌	A549	AVIX	IXII	MSI
冬季雾-霾天	442. 41	200. 91 (156. 07 ~261. 59)	_	0. 79 st	1.74 ^{lt}	0. 61 st	1. 05 ^{lt}	3. 15 ^{lt}	1. 74 ^{lt}
冬季正常天	349. 77 (304. 28 ~ 430. 72)	336. 49 (304. 46 ~ 386. 02)	_	1. 14 ^{lt}	1. 19 ^{lt}	0. 31 st	0.88st	2. 64 ^{lt}	1. 19 ^{lt}
夏季	无抑制	486. 84 (98. 73 ~ 3 922. 09)	_	0^{nt}	0. 92 st	0. 38st	0. 43 st	0.86st	0. 92 st

1) "/"表示无法计算 95% 置信区间; "一"表示未给出 EC50; nt 为无毒, st 为微毒, lt 为有毒



* 表示 *P*≤0.05, **表示 *P*≤0.01 图 4 不同质量浓度的 PM, 5体外细胞毒性

Fig. 4 Cytotoxicity of different concentrations of PM_{2.5} in vitro

余2种受试生物,表明发光细菌对 PM_{2.5}表现出较高敏感性.3个时间段的 AvTx、TxPr 和 MST 评价结果均显示冬季雾-霾天毒性最高,其次为冬季正常天和夏季.其中 TxPr 和 MST 较为敏感,除夏季呈现微毒外,冬季雾-霾天和冬季正常天均显示有毒.

3 讨论

3.1 PM, 5生物毒性评价分析

与常规生物毒性测试相比,成组生物毒性测试 能更全面、有效地反映污染物综合生物毒性,不同 生物对污染物敏感度也不同,单一类型的生物毒性 测试针对某一污染物不能很好地反映其生物毒性效 应^[31]. 从上述结果可以看出,虽然冬季雾-霾天各种理化指标均较高,但在斑马鱼胚胎急性毒性试验结果中与冬季正常天相比致畸效应较低,且在细胞毒性测试中也表现出较弱的毒性效应,只有发光细菌急性毒性与理化指标表现出一致性. 因此利用不同类型的生物进行生物毒性测试,可更加直观地反映出 PM₂, 的综合毒性效应,从而建立适用于 PM₂, 综合生物毒性的评价方法.

本研究选择斑马鱼胚胎、费氏弧菌和 A549 细 胞作为受试生物,对 PM,,的生物毒性进行评价 由上述结果可知冬季雾-霾天、冬季正常天和夏季 均呈现出生物毒性效应, 3 种综合毒性评价结果具 有较好的一致性,适用于 PM25 毒性分析. 本研究 中发光细菌对 PM2.5表现出较高敏感性,已有试验 表明发光细菌适用于 PM2.5综合毒性研究[32]. 由于 不同时间段 PM。组成成分相差较大,导致不同样 品间的发光抑制率差异较大,其中冬季雾-霾天(重 毒)和正常天(中毒)的发光细菌毒性均要高于夏季 (低毒), 这与孙成华等[33]的研究结果相似. 此外, 斑马鱼胚胎急性试验结果同样显示除夏季外冬季 雾-霾天和正常天均表现出急性毒性,与此同时还 出现脊椎弯曲、心包囊肿和尾部畸形等发育毒性症 状. Kim 等[34] 通过对首尔 PM2.5进行生物毒性研究 得出, PM25对斑马鱼胚胎具有急性毒性, 同时还会 引发幼鱼脊椎弯曲. 不仅如此也有学者发现 PM。。 会引发斑马鱼心包囊肿[24],与本试验研究结果相 似. PM。;是1种复杂的混合物,表面含有多种化学 物质,已有研究表明斑马鱼的毒性效应与颗粒物中 的多环芳烃(PAHs)有很大关联^[35]. 但目前尚未有 提出针对斑马鱼胚胎产生畸形的原因, 不过有学者 提出产生脊椎弯曲可能是由于肌球蛋白和肌节合成 减少引起的假设[36],这一假设需进一步研究验证. 与上述两种测试结果相比,不同的是细胞毒性试验 结果(图4)未呈现剂量-效应关系, 高质量浓度下细 胞活性弱于低质量浓度,表现出更大的抑制强度.

焦周光等[37]在对北京大气中的 PM,5进行暴露试验 时同样发现, PM2.5 完全颗粒在高质量浓度下对 A549 细胞抑制作用强度显著高于低质量浓度样本, 并提出造成这样的原因可能是随着暴露时间的增 长,细胞逐渐分解掉部分有毒物质或逐渐适应低质 量浓度剂量的生长环境,而高质量浓度组始终给细 胞营造1种恶劣的生长环境从而抑制细胞生长. 此 外, 从3 种受试生物的 TU 值可以看出, 发光细菌 对 PM,5的敏感性要高于斑马鱼,这与陈文艳等^[28] 的研究结果正好相反,可能是因为斑马鱼和发光细 菌对不同污染物的耐受性不同导致的, 其次为 A549 的敏感性最低. 综合上述 3 种生物毒性试验 结果, 并采用 AvTx、TxPr 和 MST 这 3 种评价指标 分析得出, 冬季雾-霾天毒性最大, 其中 TxPr 指标 反映的综合生物毒性最强,即指标敏感度最大.因 此,由于发光细菌急性毒性测试周期短,可以通过 发光细菌进行 PM25毒性级别的初步筛选,同时结 合斑马鱼胚胎发育毒性做进一步的毒性监测与评 价, 并补充 A549 细胞毒性测试, 最终结合 AvTx、 TxPr 和 MST 这 3 种综合毒性评价指标来分析 PM2.5 综合生物毒性,可为人体健康风险研究提供依据.

3.2 生物毒性试验结果与理化分析结果的相关性 富集在颗粒物上的有机组分(OC、EC、多环芳 烃)和无机组分(金属元素)是对生物产生影响效应 的主要因素[38]. 有研究表明重金属离子会破坏细 胞结构尤其是细胞膜结构, 从而使非极性有机污染 物通过受损的细胞膜进入细胞内产生毒性效 应[39,40],而且还会与鱼类体内生物大分子(蛋白 质、脂肪、核酸和酶)结合对鱼类产生毒性效应[41]. 因此将本文的结果结合之前的研究可知,造成冬季 雾-霾天和冬季正常天斑马鱼幼鱼毒性高于夏季的 原因可能是 PM25中的重金属质量浓度较高导致的. 但重金属质量浓度较高的冬季雾-霾天的斑马鱼胚 胎毒性效应低于冬季正常天,根据邢胜男[42]对5 种重金属毒性研究发现单一重金属对斑马鱼胚胎毒 性的最大为 Cu, 毒性最小的为 Zn, 而冬季雾-霾天 的 Cu 质量浓度小于冬季正常天. 不仅如此邢胜男 还发现 Zn 与 Cu 会产生拮抗作用, 随着 Zn 质量浓 度的增加,对Cu的拮抗作用也随之增大,降低Cu 毒性. 而冬季雾-霾天中的 Zn 质量浓度与冬季正常 天相比较大, 再结合 Cu 质量浓度与冬季正常天相 比较小, 因此可能导致冬季雾-霾天的斑马鱼胚胎 急性毒性小于冬季正常天. 除此之外, 可溶性离子 还会对发光细菌有抑制作用,有研究表明 NO3 和 SO₄ 等污染物和发光细菌的抑制率显著相 关[43,44]. 因此水溶性离子对发光细菌的抑制作用

也是造成发光细菌敏感性较高的原因之一, 另外由 于冬季雾-霾天中可溶性离子质量浓度高于冬季正 常天, 因此也是造成冬季雾-霾天 PM, 5发光细菌急 性毒性大于冬季正常天的原因. 此外夏季可溶性离 子质量浓度与冬季正常天相比较高,但是其发光细 菌急性毒性作用小于冬季正常天, 主要原因可能是 夏季重金属质量浓度较低导致. 在体外细胞毒性测 试方面, Kim 等[45] 发现将 A549 细胞分别暴露于 PM_{2.5}的水溶液和有机溶液中会引发细胞产生活性 氧(ROS),从而产生细胞毒性作用.而硝酸盐、硫 酸盐和重金属是诱导 ROS 产生的主要因素[46]. 此 外在重金属中 Zn 是导致细胞损伤的主要原因[47], 因此通过结合表 1 和 2 可以看出, 夏季 Zn 质量浓 度与冬季正常天相近,但 NO3 和 SO4 质量浓度均 高于冬季正常天,这可能是造成夏季细胞毒性大于 冬季正常天的原因. 与贺擎等[48]的研究发现相一 致. 综上所述, 将生物毒性和理化分析相结合有利 于全面评价 PM, 5综合毒性.

4 结论

- (1)常州3个时间段中冬季雾-霾天的综合生物毒性最大,其次为冬季正常天,夏季表现为最小,并结合理化指标分析说明成组生物毒性适用于PM,5综合生物毒性研究.
- (2) AvTx、TxPr 和 MST 3 种综合生物毒性评价 指标均表明冬季雾-霾天 > 冬季正常天 > 夏季, 说 明利用 AvTx、TxPr 和 MST 可以准确有效评价 $PM_{2.5}$ 综合生物毒性大小.
- (3)在3个时间段中发光细菌 TU 值均表现为最高, 斑马鱼胚胎 TU 值则均大于 A549, 说明发光细菌对 PM_{2.5}敏感度最高, 其次从大到小依次为斑马鱼胚胎和 A549.

致谢:感谢常州大学生物医学工程与健康科学研究院邓林红教授团队的刘磊老师和王佳佳同学提供的帮助.

参考文献:

- [1] Cohen A J, Brauer M, Burnett R, et al. Estimates and 25-year trends of the global burden of disease attributable to ambient air pollution; an analysis of data from the Global Burden of Diseases Study 2015[J]. The Lancet, 2017, 389 (10082): 1907-1918.
- [2] Li J J, Wang G H, Aggarwal S G, et al. Comparison of abundances, compositions and sources of elements, inorganic ions and organic compounds in atmospheric aerosols from Xi'an and New Delhi, two megacities in China and India[J]. Science of the Total Environment, 2014, 476-477; 485-495.
- [3] 高雅琴, 王红丽, 景盛翱, 等. 上海夏季 PM_{2.5}中有机物的组分特征、空间分布和来源[J]. 环境科学, 2018, **39**(5): 1978-1986.
 - Gao Y Q, Wang H L, Jing S A, et al. Chemical

- characterization, spatial distribution, and source identification of organic matter in $PM_{2.5}$ in summertime Shanghai, China [J]. Environmental Science, 2018, **39**(5): 1978-1986.
- [4] Zhang Y Y, Ji X T, Ku T T, et al. Heavy metals bound to fine particulate matter from northern China induce season-dependent health risks: A study based on myocardial toxicity [J]. Environmental Pollution, 2016, 216: 380-390.
- [5] 孙哲琳, 陈重军, 杨令延, 等. PM_{2.5} 水溶性和有机组分对肺上皮细胞损伤及 COPD 相关基因和蛋白表达影响[J]. 环境科学学报, 2016, **36**(11): 4262-4271.

 Sun Z L, Chen C J, Yang L Y, et al. Impact of organic and water-soluble PM_{2.5} on BEAS-2B cell damage and expression of COPD biomarkers[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2016, **36** (11): 4262-4271.
- [6] Kloog I, Ridgway B, Koutrakis P, et al. Long-and short-term exposure to PM_{2, 5} and mortality: using novel exposure models [J]. Epidemiology, 2013, 24(4): 555-561.
- [7] Ljubimova J Y, Braubach O, Patil R, et al. Coarse particulate matter (PM_{2,5-10}) in Los Angeles Basin air induces expression of inflammation and cancer biomarkers in rat brains [J]. Scientific Reports, 2018, 8(1): 5708.
- [8] Maher B A, Ahmed I A M, Karloukovski V, et al. Magnetite pollution nanoparticles in the human brain [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2016, 113(39): 10797-10801.
- [9] Rui W, Guan L F, Zhang F, et al. PM_{2,5}-induced oxidative stress increases adhesion molecules expression in human endothelial cells through the ERK/AKT/NF-κB-dependent pathway[J]. Journal of Applied Toxicology, 2016, 36(1): 48-59.
- Li M R, Hu M, Du B H, et al. Temporal and spatial distribution of PM_{2.5} chemical composition in a coastal city of Southeast China
 J. Science of the Total Environment, 2017, 605-606: 337-346.
- [11] Pirovano G, Colombi C, Balzarini A, et al. PM_{2.5} source apportionment in Lombardy (Italy): Comparison of receptor and chemistry-transport modelling results [J]. Atmospheric Environment, 2015, 106: 56-70.
- [12] Palleschi S, Rossi B, Armiento G, et al. Toxicity of the readily leachable fraction of urban PM_{2.5} to human lung epithelial cells: Role of soluble metals[J]. Chemosphere, 2018, 196: 35-44.
- [13] Zhang Y, Li S Y, Li J J, et al. Developmental toxicity induced by PM_{2.5} through endoplasmic reticulum stress and autophagy pathway in zebrafish embryos [J]. Chemosphere, 2018, 197: 611-621.
- [14] 余若祯,穆玉峰,王海燕,等. 排水综合评价中的生物毒性测试技术[J]. 环境科学研究, 2014, 27(4): 390-397. Yu R Z, Mu Y F, Wang H Y, et al. Review on the aquatic organisms toxicity test in the whole effluent assessment [J]. Research of Environmental Sciences, 2014, 27(4): 390-397.
- [15] 薛银刚,金珊,瞿一清,等. 斑马鱼胚胎在环境监测中的应用研究[J]. 环境科学与管理,2017,42(12):86-89.

 Xue Y G, Jin S, Qu Y Q, et al. Application of Zebrafish embryos in environmental monitoring[J]. Environmental Science and Management, 2017,42(12):86-89.
- [16] 颜慧, 苏瑞斌, 宫泽辉. 利用斑马鱼成鱼建立致幻类化合物 行为评价模型[J]. 中国药理学通报, 2014, . **30**(10): 1464-1468.
 - Yan H, Su R B, Gong Z H. Adult zebrafish as a model organism for assessing the effects of hallucinogenic drugs on behaviors [J]. Chinese Pharmacological Bulletin, 2014, 30(10): 1464-1468.

- [17] Ding S, Wu J W, Zhang M, et al. Acute toxicity assessment of ANAMMOX substrates and antibiotics by luminescent bacteria test[J]. Chemosphere, 2015, 140: 174-183.
- [18] Sonthanasamy R S A, Ahmad W Y W, Fazry S, et al. Transformation of crystalline starch nanoparticles into highly luminescent carbon nanodots: Toxicity studies and their applications[J]. Carbohydrate Polymers, 2016, 137: 488-496.
- [19] 杜丽娜, 杨帆, 穆玉峰, 等. 某制药废水对发光细菌急性毒性的评价研究[J]. 环境科学, 2014, 35(1): 286-291.

 Du L N, Yang F, Mu Y F, et al. Evaluation of the acute toxicity of pharmaceutical wastewater to luminescent bacteria [J]. Environmental Science, 2014, 35(1): 286-291.
- [20] 白晓慧,马良,张晓红,等. 黄浦江水源及净水过程中水质的生物急性毒性分析[J]. 中国给水排水,2008,24(1):1-4
 - Bai X H, Ma L, Zhang X H, et al. Analysis of biological acute toxicity of water from Huangpu River and waterworks[J]. China Water & Wastewater, 2008, 24(1): 1-4.
- [21] Takhar P, Mahant S. In vitro methods for nanotoxicity assessment: advantages and applications [J]. Archives of Applied Science Research, 2011, 3(2): 389-403.
- [22] 徐雯, 江俊康, 杨北平, 等. 不同粒径汽车尾气颗粒物对 A549 细胞毒性作用的比较[J]. 环境科学学报, 2013, 33 (12): 3407-3412.

 Xu W, Jiang J K, Yang B P, et al. Comparison of the toxic effects in A549 cells induced by automobile exhaust particulates with different sizes[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2013, 33 (12): 3407-3412.
- [23] HJ 618-2011, 环境空气 PM_{10} 和 $PM_{2.5}$ 的测定 重量法[S]. HJ 618-2011, Determination of atmospheric articles PM_{10} and $PM_{2.5}$ in ambient air by gravimetric method[S].
- [24] Duan J C, Hu H J, Zhang Y N, et al. Multi-organ toxicity induced by fine particulate matter PM_{2.5}, in zebrafish (Danio rerio) model[J]. Chemosphere, 2017, 180: 24-32.
- [25] ISO 11348-3: 2007, Water quality, Determination of the inhibitory effect of water samples on the light emission of Vibrio fischeri (Luminescent bacteria test). Part 3: Method using freeze-dried bacteria [S].
- [26] ISO 15088: 2007, Water quality-Determination of the acute toxicity of waste water to zebrafish eggs (*Danio rerio*)[S].
- [27] Deng X B, Zhang F, Wang L J, et al. Airborne fine particulate matter induces multiple cell death pathways in human lung epithelial cells [J]. Apoptosis, 2014, 19(7): 1099-1112.
- [28] 陈文艳, 赵远, 郑国娟, 等. 基于斑马鱼和发光细菌评估制 革废水毒性及其削减效率[J]. 生态毒理学报, 2014, **9**(2): 358-366. Chen W Y, Zhao Y, Zheng G J, *et al.* Evaluation of tannery
 - Chen W Y, Zhao Y, Zheng G J, et al. Evaluation of tannery wastewater toxicity and its reduction based on Zebrafish and luminescent bacteria [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2014, 9(2): 358-366.
- [29] Manusadžianas L, Balkelyte L, Sadauskas K, et al. Ecotoxicological study of Lithuanian and Estonian wastewaters: selection of the biotests, and correspondence between toxicity and chemical-based indices[J]. Aquatic Toxicology, 2003, 63(1): 27-41
- [30] 祝威, 沈捷, 黄翔蜂. 生物法/人工湿地工艺处理采油废水及 其生态毒性削减研究[J]. 环境污染与防治, 2009, **31**(11): 53-57, 74.
 - Zhu W, Shen J, Huang X F. Treatment and eco-toxicity reduction of oilfield produced water by biological/constructed wetland process [J]. Environmental Pollution and Control, 2009,

- **31**(11): 53-57, 74.
- [31] 邹叶娜, 蔡焕兴, 薛银刚, 等. 成组生物毒性测试法综合评价典型工业废水毒性[J]. 生态毒理学报, 2012, **7**(4): 381-388.
 - Zhou Y N, Cai H X, Xue Y G, et al. Synthetic evaluation on toxicity of typical industrial effluents using a battery of bioassays [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2012, 7(4): 381-388.
- [32] 奚晔, 胡燕, 杨敏娟, 等. 发光细菌法检测 PM_{2.5} 颗粒物的生物毒性[J]. 中国卫生检验杂志, 2017, **27**(13): 1843-1845. Xi Y, Hu Y, Yang M J, *et al.* Detection of biological toxicity in PM_{2.5} by luminescent bacterium[J]. Chinese Journal of Health Laboratory Technology, 2017, **27**(13): 1843-1845.
- [33] 孙成华, 石爱军, 刘保献, 等. 细颗粒物(PM_{2.5})可溶性提取液对发光细菌的光抑制与组分浓度的相关性分析[J]. 环境科学学报, 2016, **36**(9): 3488-3494.

 Sun C H, Shi A J, Liu B X, et al. Correlation between luminous inhibition rate of water-soluble constituents and composition of PM_{2.5}[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2016, **36**(9): 3488-3494.
- [34] Kim J Y, Lee E Y, Choi I, et al. Effects of the particulate matter_{2.5} (PM_{2.5}) on lipoprotein metabolism, uptake and degradation, and embryo toxicity [J]. Molecules and Cells, 2015, 38(12): 1096-1104.
- [35] Mesquita S R, Van Drooge B L, Oliveira E, et al. Differential embryotoxicity of the organic pollutants in rural and urban air particles [J]. Environmental Pollution, 2015, 206: 535-542.
- [36] Cheng S H, Wai A W K, So C H, et al. Cellular and molecular basis of cadmium-induced deformities in zebrafish embryos [J]. Environmental Toxicology and Chemistry, 2010, 19(12): 3024-3031.
- [37] 焦周光,付绪磊,温占波,等. 北京大气 PM_{2.5}对 A549 细胞炎性因子及 DNA 损伤的毒性[J]. 中国环境科学,2016,36 (5):1579-1588.

 Jiao Z G, Fu X L, Wen Z B, et al. Toxicological study at inflammatory factors and DNA damages effects of Beijing atmospheric PM_{2.5} and its different fractions to pulmonary epithelial cells A549 of human [J]. China Environmental Science, 2016, 36(5):1579-1588.
- [38] Rohr A C, Wyzga R E. Attributing health effects to individual particulate matter constituents [J]. Atmospheric Environment, 2012. 62: 130-152.
- [39] Cabral J P S. Cupric ions induce both an efflux of potassium and

- low molecular mass metabolites in *Pseudomonas syringae* [J]. FEMS Microbiology Letters, 1990, **72**(1-2): 109-112.
- [40] 潘科, 朱艾嘉, 徐志斌, 等. 中国近海和河口环境铜污染的 状况[J]. 生态毒理学报, 2014, **9**(4): 618-631. Pan K, Zhu A J, Xu Z B, *et al.* Copper contamination in coastal and estuarine waters of China [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2014, **9**(4): 618-631.
- [41] 吴丰昌, 冯承莲, 曹宇静, 等. 锌对淡水生物的毒性特征与水质基准的研究[J]. 生态毒理学报, 2011, **6**(4): 367-382.
 - Wu F C, Feng C L, Cao Y J, *et al.* Toxicity characteristic of zinc to freshwater biota and its water quality criteria [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2011, **6**(4): 367-382.
- [42] 邢胜男. 斑马鱼胚胎发育毒性试验评价重金属联合生物毒性 [D]. 上海: 上海师范大学, 2016.
- [43] Ren S J, Frymier P D. Kinetics of the toxicity of metals to luminescent bacteria[J]. Advances in Environmental Research, 2003, 7(2): 537-547.
- [44] Ren S J, Frymier P D. The use of a genetically engineered *Pseudomonas* species (Shk1) as a bioluminescent reporter for heavy metal toxicity screening in wastewater treatment plant influent[J]. Water Environment Research, 2003, **75**(1): 21-29.
- [45] Kim W, Jeong S C, Shin C Y, et al. A study of cytotoxicity and genotoxicity of particulate matter (PM_{2.5}) in human lung epithelial cells (A549) [J]. Molecular & Cellular Toxicology, 2018, 14(2): 163-172.
- [46] Kouassi K S, Billet S, Garçon G, et al. Oxidative damage induced in A549 cells by physically and chemically characterized air particulate matter (PM_{2.5}) collected in Abidjan, Côte d'Ivoire [J]. Journal of Applied Toxicology, 2010, 30(4): 310-320.
- [47] Adamson I Y R, Prieditis H, Hedgecock C, et al. Zinc is the toxic factor in the lung response to an atmospheric particulate sample[J]. Toxicology and Applied Pharmacology, 2000, 166 (2): 111-119.
- [48] 贺擎, 丁文军, 芮魏, 等. 冬季和夏季 PM₁₀和 PM_{2.5}对人肺上皮细胞 A549 毒性的比较[J]. 中国科学院大学学报, 2012, **29**(3): 324-331.
 - He Q, Ding W J, Rui W, et al. Comparative study of cytotoxicity of winter and summer PM₁₀ and PM_{2.5} in A549 cells [J]. Journal of Graduate University of Chinese Academy of Sciences, 2012, **29**(3): 324-331.

HUANJING KEXUE

Environmental Science (monthly)

Vol. 40 No. 8 Aug. 15, 2019

CONTENTS

Characteristics of PM2.5 Pollution and the Efficiency of Concentration Control During a Red Alert in the Beijing-Tianjin-Hebei Region	on, 2016 ·····
2.5	ZHANG Chong, LANG Jian-lei, CHENG Shui-yuan, et al. (3397)
Concentration Characteristics of PM _{2.5} and the Causes of Heavy Air Pollution Events in Beijing During Autumn and Winter	
Elemental Composition Characteristics of PM _{2.5} and PM ₁₀ , and Heavy Pollution Analysis in Hefei	LIU Ke-ke, ZHANG Hong, LIU Gui-jian (3415)
Pollution Characteristics and Source Apportionment of Fine Particulate Matter in Autumn and Winter in Puyang, China	
Pollution Characteristics and Sources of Carbonaceous Components in PM _{2.5} in the Guanzhong Area	
Molecular Composition and Source Apportionment of Fine Organic Aerosols in Autumn in Changchun	WU Xia, CAO Fang, ZHAI Xiao-yao, et al. (3438)
Effects of Urban Expansion and Changes in Urban Characteristics on PM _{2.5} Pollution in China	WANG Gui-lin, ZHANG Wei (3447)
Effect of a Wet Flue Gas Desulphurization System on the Emission of PM _{2,5} from Coal-Fired Power Plants	DENG Jian-guo, MA Zi-zhen, LI Zhen, et al. (3457)
Pollution Characteristics and Emission Coefficients for Volatile Organic Compounds from the Synthetic Leather Industry in Zhejiang F	Province
	XU Jia-qi, WANG Zhe-ming, SONG Shuang, et al. (3463)
Particle Size Distribution and Population Characteristics of Airborne Bacteria Emitted from a Sanitary Landfill Site	
Distribution of Total Microbes in Atmospheric Bioaerosols in the Coastal Region of Qingdao	
Distribution, Sources, and Health Risk Assessment of PAHs in Water Supply Source Regions of Guangzhou	
Distribution of 16 Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Dianchi Lake Surface Sediments After the Integrated Water Environment Con	
2 to 10 to 1	HII Xin-vi GAO Bing-li CHEN Tan et al. (3501)
Distribution Characteristics and Source Analysis of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Salinized Farmland Soil from the Oil Mining	
Distribution conductivities and course stratigue of Polycycle Fromatic Trydocurbons in Culturate Furnitural Conference and Course stratigues of Polycycle Furnitural	
Wind Field Influences on the Spatial Distribution of Cyanobacterial Blooms and Nutrients in Meiliang Bay of Lake Taihu, China	
Spatial and Temporal Distribution Characteristics and the Retention Effects of Nutrients in Xiangjiaba Reservoir	The state of the s
Effects of Exogenous Inputs on Phosphorus Recovery and Transport in Newborn Surface Layers from Sediment Dredging	
Chemical Characteristics and Sources of Groundwater Sulfate in the Kashgar Delta, Xinjiang	
Groundwater Chemistry Characteristics and the Analysis of Influence Factors in the Luochuan Loess Tablelands	
Analysis of River Zooplankton Community Characteristics in Autumn in Beijing	
Benthic Diatom Communities in the Main Stream of Three Gorges Reservoir Area and Its Relationship with Environmental Factors	
Environmental Response and Ecological Function Prediction of Aquatic Bacterial Communities in the Weihe River Basin	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·
Community Composition of nirS-type Denitrifying Bacteria in the Waters of the Lower Reaches of the Fenhe River and Its Relationship	ip with Inorganic Nitrogen ·····
Metabolic Functional Analysis of Dominant Microbial Communities in the Rapid Sand Filters for Drinking Water	
Control Measure Effects on the Effluent Quality from Extensive Green Roofs Based on Stabilized Sludge Recycling	
Impacts of Vegetation on Quantity and Quality of Runoff from Green Roofs	HANG Sun-xun, ZHANG Shou-hong, ZHANG Ying, et al. (3618)
Organic Matter Removal and Membrane Fouling Control of Secondary Effluents Using a Combined Nanofiltration Process	FAN Ke-wen, LI Xing, YANG Yan-ling, et al. (3626)
Adsorption Properties of Ammonia Nitrogen in Aqueous Solution by Various Materials	JIAO Ju-long, YANG Su-wen, XIE Yu, et al. (3633)
Effects of Different Concentrations of Ammonia Nitrogen on the Growth and Enzyme Activity of Four Common Algae Strains	····· CHANG Ting, XU Zhi-hui, CHENG Peng-fei, et al. (3642)
Treatment of Highly Concentrated Swine Wastewater and Its Degradation Processes Using Three Matrix Materials	LIU Ming-yu, XIA Meng-hua, LI Yuan-hang, et al. (3650)
Phosphorus Removal Performance and Mechanism of Modified Zeolite Using Alum Sludge Acidified Extraction Liquid	
Advanced Denitrification of Municipal Wastewater Achieved via Partial ANAMMOX in Anoxic MBBR	
Effect of an Aerobic Unit and a Sedimentation Unit on Sludge and Nitrogen Removal in an Anoxic Unit in a Continuous-flow System	
	···· XUE Huan-ting, YUAN Lin-jiang, LIU Xiao-bo, et al. (3675)
Performance and Mechanisms of Advanced Nitrogen Removal via FeS-driven Autotrophic Denitrification Coupled with ANAMMOX	
Simultaneous Conversion Conditions of Ammonia and Sulfate in ANAMMOX Systems	
Potential Source Environments for Microbial Communities in Wastewater Treatment Plants (WWTPs) in China	
Comparison of the Microbial Community Structure in Nitrifying Processes Operating with Different Dissolved Oxygen Concentrations	
Simultaneous Nitrogen and Phosphorus Removal and Kinetics by the Heterotrophic Nitrifying Bacterium Acinetobacter junii NP1	
Realization of Limited Filamentous Bulking with Type 0092 Filamentous Bacteria as the Dominant Filamentous Bacteria in Shortcut 1	
neanzanon of Limited Fhamemous burking with Type 0022 Fhamemous bacteria as the Dominant Fhamemous bacteria in Shortest 1	
Nitrification, Denitrification, and N ₂ O Production Under Saline and Alkaline Conditions	
Effect of Biochar on Ammonia Volatilization in Saline-Alkali Soil	
Effect of Two Soil Synergists on Ammonia Volatilization in Paddy Fields	
Determination of Heavy Metal Geochemical Baseline Values and Its Accumulation in Soils of the Luanhe River Basin, Chengde · · · ·	
Migration and Source Analysis of Heavy Metals in Vertical Soil Profiles of the Drylands of Xiamen City	
Heavy Metal Pollution Characteristics and Influencing Factors in Baoji Arban Soils	
Stabilizing Effects of Fe-Ce Oxide on Soil As(V) and P	
Stabilization of Arsenic-Contaminated Soils Using Fe-Mn Oxide Under Different Water Conditions	
Effects of Biochar Amendment on Soil Microbial Biomass Carbon, Nitrogen and Dissolved Organic Carbon, Nitrogen in Paddy Soils	
Effects of Organic Amendments on Microbial Biomass Carbon and Nitrogen Uptake by Corn Seedlings Grown in Two Purple Soils \cdots	
Effects of Land Use Type on the Content and Stability of Organic Carbon in Soil Aggregates	LUO Xiao-hong, WANG Zi-fang, LU Chang, et al. (3816)
Effects of Converting Farmland into Forest and Grassland on Soil Nitrogen Component and Conversion Enzyme Activity in the Mountain	ainous Area of Southern Ningxia
	GAO Han, XIAO Li, NIU Dan, et al. (3825)
Leaching Behavior of Dissolved Organic Matter in Biochar with Different Extracting Agents	
Toxicity of PM _{2.5} Based on a Battery of Bioassays ····	····· JIANG Xiao-dong, XUE Yin-gang, WEI Yong, et al. (3840)