

北京PM₁₀的生物活性与微量元素的相关性研究*

吕森林^{①②**} 邵龙义^② 吴明红^① T. Jones^③ L. Merolla^④ R. J. Richard^④

(① 上海大学环境与化学工程学院射线应用研究所, 上海 201800; ② 中国矿业大学(北京)资源与地球科学系, 北京 100083; ③ Department of Earth, Ocean and Planetary Sciences, Cardiff University, Cardiff, CF10 3YE, UK; ④ School of Biosciences, Cardiff University, Cardiff, CF10 3US, UK)

摘要 在使用质粒 DNA 评价法对北京 PM₁₀ 的生物活性进行研究的基础上, 结合 PM₁₀ 中微量元素分析结果, 探讨了 PM₁₀ 对质粒 DNA 产生损伤的原因. 研究表明北京不同季节、不同地区 PM₁₀ 对 DNA 的氧化性损伤有明显的差别. 冬季市区和对照点 PM₁₀(全样)的 TM50 分别是 900 和 74 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 水溶组分的 TM50 分别是 540 和 86 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$; 夏季市区和对照点 PM₁₀(全样)的 TM50 分别是 116 和 210 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 水溶组分的 TM50 分别是 180 和 306 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$; 北京 PM₁₀ 的生物活性的差别主要来自 PM₁₀ 中微量元素含量的不同. PM₁₀(全样)中 Pb, Zn 和 As 三种元素对质粒 DNA 氧化性损伤能力较强; 而 PM₁₀ 水溶组分中 Mn, V, Zn 同 TM50 的相关性较高; Zn 元素可能是导致 PM₁₀ 具有氧化性损伤能力的主要微量重金属元素.

关键词 PM₁₀ 生物活性 微量元素 质粒 DNA

空气污染对人体健康的影响已成为环境科学研究领域的最前沿课题之一. 研究表明, 影响最大的污染因子是 PM₁₀, PM_{2.5} 和 TSP, 其次是 SO₂, 而 NO_x 的影响相对较弱^[1]. 流行病学研究已经显示颗粒物与疾病发病率和死亡率的上升有关, 尤其是心脏和肺部疾病^[2]. 目前认为细颗粒物可能通过氧化、炎症刺激及对遗传物质的作用对肌体造成损伤, 但颗粒物的致病机制仍不很清楚. 目前一种被广泛接受的观点是颗粒物氧化性损伤假说^[3-8], 氧化性损伤是形成组织和器官纤维化的重要原因^[9]. 对导致颗粒物氧化性损

伤的机理目前还不是很清楚, 但有研究显示, 颗粒物表面的生物可利用的(bioavailable)过渡金属离子所产生的自由基 (OH) 是颗粒物能够产生氧化性损伤的原因^[10]. Richards等^[11]指出, 导致肺损伤的是颗粒物中可溶的锌而非不可溶的锌; Adamson等^[12]也曾识别出大气颗粒物中的可溶性锌是产生肺细胞损伤的活性成分; 其它生物可利用的金属元素, 特别是铁的含量被认为同氧化损伤有因果关系^[6,13-16].

虽然国内外学者已经开展了一些有关大气颗粒物健康效应的研究, 但在分子水平对于大气颗粒物

收稿日期: 2005-05-23; 接受日期: 2005-11-04

* 国家自然科学基金项目(批准号: 40275040)和上海市重点学科建设项目(T0105)资助

** E-mail: senlinlv@staff.shu.edu.cn

毒理学研究还很少, 而质粒 DNA 评价法(Plasmid DNA assay)是一种测量活性氧对质粒 DNA 的氧化性损伤能力的体外(*in vitro*)方法, 这种方法已经被用来评价细粒和超细 TiO₂^[3]、纤维^[17]、碳黑(Carbon Black)^[6]、柴油机动车尾气颗粒物(DEP)^[7]等多种颗粒物以及城市大气颗粒物的生物活性(Bioreactivity). 它的基本原理是基于颗粒物表面携带的自由基会对超螺旋 DNA (Supercoiled DNA)产生损伤^[3], 最初的损伤是引起超螺旋 DNA 松弛(Relaxed); 进一步的损伤表现为使之线化 (Linearized). 这种损伤变化可以引起 DNA 在电泳仪中的电泳淌度(Electrophoretic mobility)的变化, 利用这一原理可以将这些不同形态的 DNA 在琼脂糖凝胶中分离开来, 然后使用灵敏的显像测密术(densitometry)测量线状的和松弛状(被破坏的)DNA 在所有 DNA 中占的比例, 就可得出颗粒物对质粒 DNA 破坏的程度, 从而可以定量评价颗粒物对质粒 DNA 造成的损伤.

本次研究的目的是利用质粒 DNA 评价法查明北京 PM₁₀ 对质粒 DNA 造成破坏达到 50%(TM50)所需要的颗粒物的剂量, 并结合北京 PM₁₀ 中微量重金属元素的实验结果, 分析出北京 PM₁₀ 对质粒 DNA 产生损伤的微量重金属元素.

1 采样与实验

1.1 采样

采样点设在北京海淀区学院路路边的中国矿业大学(北京)综合楼五楼平台, 离地面高度为 18.5 m,

对照点选择距北京市区北约 80 km 的怀柔水库, 将青岛崂山公司 KB120-E 型采样泵流量调为 30 L min⁻¹, 使用英国产 Negretti 采样头采集 PM₁₀, 每个样品的采样时间均为 12 h, 选用聚碳酸酯滤膜(Millipore, UK, pore size 0.6 μm)采集样品, 其优点是表面平整, 易于颗粒物的剥离.

实验中, 将采集的滤膜一分为二, 一半用于 DNA 损伤实验, 另一半用于微量元素分析; 在实验过程中发现从一张滤膜剥离下来的颗粒物的质量很难完成 DNA 损伤实验, 因此, 将 5 张滤膜合并处理, 目的是获取足够多的颗粒物, 样品信息列于如表 1.

1.2 实验方法

1.2.1 质粒 DNA 评价

(1) 样品制备

① 剪下滤膜的 1/4, 计算出剪下滤膜上颗粒物的质量; ② 把 5 张滤膜剪下的部分分成一组, 共放于 10 mL 的试管中, 加入 1 mL 无菌 HPLC 级 H₂O (doubly deionized, 17.8 MΩ), 用超声震荡仪将颗粒物从滤膜上剥离下来; 计算溶液中颗粒物的浓度, 即是 PM₁₀(全样)的浓度; 从全样中取出 0.5 mL 放入试管中, 将试管置于离心机中离心使不溶部分沉降下来, 再用孔径为 0.2 μm 的滤膜对离心后的溶液过滤, 从而得出 PM₁₀ 样品的可溶部分; ③ 取 6 个 eppendorf 管, 按顺序排列好, 使用移液枪将经过计算得到的原始溶液移到 eppendorf 管中, 再加入高纯无菌水将溶液稀释到 85.5 μL. 一次实验准备 5 个浓度等级, 按照

表 1 实验所用样品信息一览表

样品号	质量浓度/ μg·m ⁻³	采样日期	采样时间	样品号	质量浓度/ μg·m ⁻³	采样日期	采样时间		
市区夏季	20606	70.47	2002-06-13	7:00~19:00	Pc 0312	402.68	2003-02-17/18	19:00~7:00	
	20608	71.27	2002-06-14	7:00~19:00	Pc 0313	143.23	2003-02-18	7:00~19:00	
	20610	124.72	2002-06-15	7:00~19:00	Pc 0316	93.83	2003-02-19	7:00~19:00	
	20612	146.92	2002-06-16	7:00~19:00	Pc 0318	240.2	2003-02-20	7:00~19:00	
	20614	225.44	2002-06-17	7:00~19:00	Pc 0319	243.2	2003-02-21	7:00~19:00	
对照点	样品号	质量浓度/μg·m ⁻³	采样日期	对照点	样品号	质量浓度/μg·m ⁻³	采样日期		
怀柔夏季	TEF22	92.06	2002-07-23	7:00~19:00	Pc 47	85.35	2002-12-16	7:00~19:00	
	TEF23	95.03	2002-07-23/24	19:00~7:00	Pc 48	82.21	2002-12-16/17	7:00~19:00	
	TEF24	130	2002-07-24	7:00~19:00	Pc 49	80.18	2002-12-17	7:00~19:00	
	TEF25	68.3	2002-07-24/25	19:00~7:00	Pc 50	142.74	2002-12-17/18	19:00~7:00	
	怀柔冬季	TEF26	62.36	2002-07-25	7:00~19:00	Pc 66	120.2	2002-12-20/21	19:00~7:00

其浓度从高到底排列. 例如, 如果原始颗粒物的浓度是 750 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 可分 750, 375, 187.5, 93.75 和 46.75 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 五个等级, 但这需要根据实际情况调整, 每个实验等级分别准备两份; ④ 将不同浓度的溶液 (85.5 μL) 分 4 次均等地分在 4 个 eppendorf 管中, 每个管中的溶液量均为 19 μL ; ⑤ 在每一个 eppendorf 管 (19 μL 溶液) 中加入 1 μL 浓度为 200 $\text{ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$ 的 $\phi\text{X174-RF DNA}$ (Promega, London, UK), 并使它们充分混合; ⑥ 将每一个 eppendorf 管封口, 置于涡旋振荡器 (Scientific Industries, Vortex Genie 2) 上在室温下轻轻震荡 6 h.

(2) 凝胶制备

在大约 5 小时 30 分钟后, 开始制备凝胶. ① 称 2.93 g 琼脂糖, 放入 500 mL 的锥形瓶中; ② 取出 450 mL 的 TBE 缓冲液 (1x), 加入到锥形瓶中并混合; ③ 将锥形瓶放入微波炉, 并将微波炉设置为“高”档, 定时 2 min, 2 min 后取出锥形瓶, 搅动溶液, 然后再放入微波炉, 定时 1 min; ④ 1 min 后, 每隔 30 s 观察一次, 直到溶液完全清澈; ⑤ 取出锥形瓶进行冷却直到使用溶液冷却到 60 $^{\circ}\text{C}$ 左右为止; ⑥ 向锥形瓶中加入 10 μL 溴乙锭, 轻轻混合; ⑦ 用高压灭菌胶带 (autoclave tape) 封住凝胶浅槽的两侧, 将两个梳子放入合适的位置, 将锥形瓶中的溶液倒入凝胶浅槽, 将溶液中的气泡赶走, 让其自然冷却; ⑧ 向电泳槽中注入 TBE 缓冲液 (1x), 直到距电泳槽的顶部约 5 cm 为止; ⑨ 观察凝胶是否凝固, 如果凝固了, 轻轻将梳子从凝胶中取出, 撕掉胶带, 将凝胶浅槽放入电泳槽 (注意将有孔的一头朝向负极, DNA 向正极运动), 再加入 TBE 缓冲液 (1x) 直到缓冲液能够填充到孔中.

(3) 向凝胶中注入样品

① 样品在涡旋振荡器上震荡 6 h 以后, 取下样品, 在每一个样品中加入 3.5 μL 溴酚蓝/丙三醇染色剂; ② 用移液器向每个孔中注入 20 μL 样品、 $\phi\text{X174-RF DNA}$ 和染色剂混合物, 每一个试管中的混合溶液分装到 4 个孔中, 每加完不同浓度的溶液要更换移液器的枪头 (tip); ③ 连接两个电极到电源上; ④ 将电压调节到 100 V, 检查电源组是否工作, 如果工作, 则调节到 30 V, 通电 16 h.

(4) 凝胶成像和 DNA 损伤的定量分析

① 16 h 后, 从电泳槽中取出凝胶, 将凝胶放入紫外凝胶成像系统中, 确认紫外光 (UV) 工作正常. ② 使用紫外凝胶成像系统 (Synoptics Ltd., Cambridge, UK) 对凝胶成像, 调整成像的质量, 保存图片; ③ 用 Syngene Genetools 软件 (Synoptics Ltd.) 对凝胶中不同形态 DNA 的光密度进行定量, 从而对不同浓度下颗粒物对超螺旋 DNA 的损伤情况进行定量分析; ④ 最后进行统计时, 所有不同浓度对 DNA 的损伤值要减去 H₂O 对 DNA 的损伤值.

1.2.2 微量元素分析

使用电感耦合等离子体质谱仪 (ICP-MS) 对 PM₁₀ 中的微量元素分析. 实验步骤包括: ① 剪下聚碳酸酯滤膜的 1/4, 使用精度为万分之一的天平称量剪下的滤膜上颗粒物的质量. ② 对全样 (W) 中微量元素含量的测定: 将样品放入微波容器, 加入纯硝酸, 将容器放入微波消解系统 (CEM, MDS-2000) 中使之全部溶解, 如果样品不能全部溶解, 重复上述步骤. ③ 取出盛放样品的微波容器, 加入 2 mL 浓度为 10% 的硝酸进行稀释后, 再加入去离子水使溶液体积达到 20 mL 供分析使用. ④ 对水溶部分 (S) 微量元素的测量: 将滤膜放置于 10 mL HPLC 级水 (doubly deionized, 17.8 M Ω) 中, 使用涡旋混合器 (Scientific Industries, Vortex Genie 2) 震荡 16 h; 然后使用 0.2 μm 孔径的聚碳酸酯滤膜 (Millipore) 过滤, 即得到样品的水溶部分. ⑤ 从制备好的溶液中取出 1 mL, 与 0.5 mL 的 50 ppb 铊标准液混合, 并加入 2% 硝酸至 5 mL; 使用 ICP-MS (Perkin Elmer Elan 5000) 实验系统对样品进行化学成分分析.

质粒 DNA 损伤的实验在英国 Cardiff 大学生命科学学院肺与颗粒物研究中心完成, 微量元素分析在 Cardiff 大学地球、海洋和宇宙科学系完成.

2 结果与讨论

2.1 北京 PM₁₀ 对质粒 DNA 的损伤

2.1.1 市区夏季 PM₁₀ 对质粒 DNA 的损伤

北京市夏季 (2002 年 6 月) PM₁₀ 的质量浓度平均

为 $112 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$, 能够达到国家空气质量二级标准, 但大气化学反应较为活跃, PM_{10} 中有新物相生成¹⁾. 市区夏季样品(全样)的浓度在 $25 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时对质粒 DNA 开始产生损伤, 随着样品浓度的增加, 颗粒物对质粒 DNA 的损伤加剧, 该样品的 TM50 是 $116 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. 样品的浓度与质粒 DNA 损伤率之间有较强的相关性, 线性回归系数(R^2)达到 0.9943(表 2). 时宗波²⁾使用 2000 年 7 月在同一地点采集的 PM_{10} 样品进行质粒 DNA 损伤实验时得出即使样品的浓度在 $500 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 也没有对 DNA 产生明显的损伤的结论, 这可能表示不同时间段采集的样品, 生物活性存在较大的差异, 其中的原因有待做进一步的研究.

而夏季样品可溶部分的 TM50 为 $180 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 这意味着夏季样品中可溶部分的生物活性比全样的差, 也就是说夏季 PM_{10} (全样)对 DNA 氧化性损伤的能力更强.

2.1.2 市区冬季 PM_{10} 对质粒 DNA 的损伤

北京市区冬季(2003 年 2 月份) PM_{10} 的质量浓度

高达 $240.11 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$, 空气污染严重, 但冬季 PM_{10} 样品(全样)的 TM50 却在 $900 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 表明该样品的生物活性并不强. 而时宗波²⁾对北京冬季(所用样品为 2000 年 11 月采集) PM_{10} 的 DNA 氧化性损伤研究后认为, 冬季 PM_{10} 表现出较强的氧化性, 有一个样品在 $500 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的浓度下对 DNA 产生了 53% 的损伤. 与之相比, 本次研究结果可能表示北京在实施锅炉改造, 取消燃煤改用燃气供暖等一系列措施后, PM_{10} 中的有害组分有所降低, 从而导致其有较低的生物活性.

冬季 PM_{10} 的水溶部分的 TM50 是 $540 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 表明冬季 PM_{10} 的水溶组分比其全样对质粒 DNA 有更强的氧化性.

2.1.3 对照点夏季 PM_{10} 对质粒 DNA 的损伤

对照点(怀柔水库) PM_{10} 的质量浓度较低¹⁾, 年平均值为 $101 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$, 夏季为 $74 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$, 北京环境公报^[18]报道怀柔地区的空气质量浓度在全市范围内最低, 因此, 对照点 PM_{10} 生物活性的研究将有助于判别不同地区 PM_{10} 生物活性的差异. 从结果分析, 对

表 2 北京 PM_{10} 对质粒 DNA 的损伤结果

	市区夏季				市区冬季			
	全样(W)		水溶(S)		全样(W)		水溶(S)	
	浓度/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	损伤率%± 标准偏差	浓度/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	损伤率%± 标准偏差	浓度/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	损伤率%± 标准偏差	浓度/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	损伤率%± 标准偏差
	25	3±0	37.5	15±1	75	7±1	37.5	9±1
	50	5±1	75	16±1	150	7±0	75	10±1
	75	9±1	150	43±2	300	13±1	150	11±1
	100	19±1	300	63±2	600	47±4	300	18±2
	125	76±2	600	71±1	900	49±3	600	63±2
TM50	116		180		900		540	
R^2	0.9943		0.9783		0.9986		0.9998	
	对照点夏季				对照点冬季			
	全样(W)		水溶(S)		全样(W)		水溶(S)	
	浓度/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	损伤率%± 标准偏差	浓度/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	损伤率%± 标准偏差	浓度/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	损伤率%± 标准偏差	浓度/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	损伤率%± 标准偏差
	37.5	16±3	37.5	12±2	20	10±0	20	7±1
	75	12±1	75	12±1	40	13±0	40	9±1
	150	36±1	150	18±0	60	16±2	60	11±2
	300	61±1	300	48±2	80	66±4	80	46±5
	600	67±1	600	57±1	100	74±2	100	65±2
TM50	210		306		74		86	
R^2	0.975		1		0.933		0.9667	

1) 吕森林. 北京市大气 PM_{10} 的矿物学特征及质粒 DNA 损伤的研究. 中国矿业大学(北京)博士学位论文, 2003

2) 时宗波. 北京市大气 PM_{10} 和 $\text{PM}_{2.5}$ 的物理和化学特征及生物活性研究. 中国矿业大学(北京)博士学位论文, 2003

照点 PM₁₀(全样)的 TM50 为 210 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 水溶部分的 TM50 为 306 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 而北京市区夏季 PM₁₀(全样)和水溶部分的 TM50 分别是 116 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和 180 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 从两地样品的 TM50 相比可以看出, 对照点样品对质粒 DNA 的氧化性损伤要比市区 PM₁₀ 对 DNA 的损伤偏低。

2.1.4 对照点冬季 PM₁₀ 对质粒 DNA 的损伤

对照点冬季 PM₁₀ 样品, 无论 PM₁₀ 的全样部分还是水溶组分都表现出对质粒 DNA 有较强的氧化性损伤。PM₁₀(全样)的剂量在 20 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时就表现出对 DNA 有损伤, 它的 TM50 为 74 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。这一剂量是市区冬季 PM₁₀(全样)TM50(900 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)的 12 倍, 显示出对照点冬季样品(全样)比市区样品(全样)的生物活性要强的多; 对照点冬季 PM₁₀(水溶部分)的 TM50 为 86 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 是市区冬季 PM₁₀(水溶部分) TM50 (540 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)的 6 倍多, 因而也显示出较强的生物活性。但从对照点和市区冬季 PM₁₀ 的质量浓度看, 市区冬季 PM₁₀ 的质量浓度为 240 $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ (2003 年 2 月),

对照点冬季 PM₁₀ 的质量浓度为 82 $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ (2002 年 12 月), 市区 PM₁₀ 的质量浓度要比对照点 PM₁₀ 的质量浓度高, 为什么质量浓度高的 PM₁₀ 样品对质粒 DNA 的损伤还要小呢? 微量元素分析的结果将能解释这个问题。

2.2 北京 PM₁₀ 中微量元素含量

为了解 PM₁₀ 样品中微量金属元素含量, 作者使用电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)对市区、对照点夏季和冬季 PM₁₀ 样品的全样和水溶部分做了分析, 得出了 Ti, V, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, As, Mo, Sn, Ce, Pt, Hg 和 Pb 等 15 种微量元素的质量浓度结果(表 3)。总的看来, PM₁₀ 全样中微量元素的含量都高于相应水溶部分中微量元素的含量, 其中 Fe, Co, Cu, As, Mo, Sn 和 Pb 等元素在全样中的含量比在水溶部分中的含量要高出 90%以上, 表明这些元素绝大部分是非可溶元素, 与之相比, Zn 元素在水溶部分中却表现出有较高的含量。

表 3 北京市区和对照点 PM₁₀ 中微量元素含量(单位: $\mu\text{g/g}$)^{a)}

样品号	Ti	V	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	As	Mo	Sn	Ce	Pt	Hg	Pb
F1	ND	28.37	60.93	245.91	4044.19	ND	2052.80	7423.72	202.33	9851.16	129.77	2.33	9.30	ND	635.81
F1B	59.07	11.16	71.63	194.93	2294.88	ND	2056.74	3837.67	126.51	5432.56	150.23	2.33	6.05	ND	380.00
F1 _{ave}	59.07	19.77	66.28	220.42	3169.53	ND	2054.77	5630.70	164.42	7641.86	140.00	2.33	7.67	ND	507.91
F2	ND	8.89	132.93	45.66	209.49	ND	3037.17	5487.07	177.17	354.75	68.89	3.84	2.22	ND	763.23
F2B	ND	2.63	52.73	61.60	123.23	ND	651.72	3044.65	102.63	134.75	38.79	0.81	1.21	ND	417.98
F2 _{ave}	ND	5.76	92.83	53.63	166.36	ND	1844.44	4265.86	139.90	244.75	53.84	2.32	1.72	ND	590.61
F3	193.33	21.56	257.11	115.62	191.78	ND	20.00	4031.33	95.11	86.44	88.89	11.56	4.00	21.11	661.11
F3 _{ave}	193.33	21.56	257.11	115.62	191.78	ND	20.00	4031.33	95.11	86.44	88.89	11.56	4.00	21.11	661.11
F4	44.96	5.01	59.79	26.89	44.60	3253.23	4.65	937.52	22.12	20.10	20.67	2.69	0.93	4.91	153.75
F4B	ND	1.55	118.50	22.51	223.20	ND	5.99	655.87	18.40	ND	11.47	0.83	0.26	0.62	84.86
F4 _{ave}	ND	3.28	89.15	24.70	133.90	?	5.32	796.69	20.26	20.10	16.07	1.76	0.59	2.76	119.30
FS1	95.74	0.65	23.67	4.10	1.98	214.60	219.60	418.14	28.00	ND	5.53	0.42	0.07	2.70	56.70
FS1B	7.21	0.05	29.88	0.56	2.23	61.56	243.26	417.67	29.07	ND	58.23	0.40	ND	1.14	63.23
FS1 _{ave}	51.48	0.35	26.78	2.33	2.10	138.08	231.43	417.91	28.53	ND	31.88	0.41	0.07	1.92	59.97
FS2	2.85	1.36	43.91	ND	0.94	ND	76.17	544.34	17.08	ND	3.64	0.20	ND	0.41	37.34
FS2B	4.75	1.43	44.42	ND	0.89	ND	79.38	589.49	17.24	ND	2.26	0.15	ND	0.23	34.95
FS2 _{ave}	3.80	1.40	44.17	ND	0.91	ND	77.78	566.92	17.16	ND	2.95	0.18	ND	0.32	36.15
FS3	1.21	1.31	41.99	0.32	0.39	10.69	64.40	301.89	9.12	ND	1.53	0.12	ND	0.14	28.36
FS3B	1.91	1.21	43.46	0.85	0.48	11.67	47.44	304.22	8.39	ND	1.47	0.13	ND	0.03	28.83
FS3 _{ave}	1.56	1.26	42.72	0.59	0.43	11.18	55.92	303.06	8.76	ND	1.50	0.13	ND	0.09	28.59
FS4	0.04	0.21	7.63	0.05	0.83	49.07	26.07	144.81	5.25	ND	0.26	0.02	ND	0.01	11.83
FS4B	ND	0.21	7.57	ND	0.81	42.45	30.23	154.94	5.15	ND	0.28	0.02	ND	ND	11.51
FS4 _{ave}	0.04	0.21	7.60	0.05	0.82	45.76	28.15	149.87	5.20	ND	0.27	0.02	ND	0.01	11.67

a) F1-对照点夏季样品(全样); F2-对照点冬季样品(全样); F3-市区夏季样品(全样); F4-市区冬季样品。FS-样品水溶组分, B-第二次实验, ND-低于检测线。F_{ave}, FS_{ave}-样品的平均值

Zn 是一种被认为可能具有生物活性的元素^[11,12], 它可以影响生物体中酶的形成^[19]. 北京 PM₁₀ 样品中 (全样) Zn 的浓度在对照点夏季样品最大, 为 5630.70 μg/g, 在市区冬季样品中最小, 为 796.69 μg/g; 水溶组分中 Zn 的浓度在对照点冬季样品最大, 为 566.92 μg/g, 在市区冬季样品中最小, 为 149.87 μg/g. 时宗波对北京 PM₁₀ 中 Zn 的含量分析后认为, PM₁₀ 全样中 Zn 元素浓度的最大值出现在马路边的样品中, 这似乎支持了“Zn 元素是一种可能的汽车尾气颗粒物的标识元素^[20]”的结论, 但从本次实验的结果分析, 对照点(怀柔水库)周围并没有太多的车辆行驶, 但样品中 Zn 的含量却很高, 结合王纬等¹⁾第 6 部分中因子分析的结果, 笔者认为, Zn 元素的来源除了汽车尾气以外, 可能还来自其他人为污染源, 如垃圾和废物焚烧以及工业排污等人为过程.

Cu 元素在大气中的增加被认为与使用柴油取代燃煤作为取暖燃料有关^[21], PM₁₀ 全样中 Cu 元素和可溶部分中 Cu 元素的浓度在对照点夏季样品中最大, 分别为 2054.77 和 231.43 μg/g, 在市区冬季样品中最小, 分别为 28.15 和 5.32 μg/g. 这种含量上的差异可能与对照点周围有居民使用劣质柴油当作农用车燃料有关.

As 常常被当作燃煤来源颗粒物的标识元素¹⁾[22], 它是一种典型的污染元素, 具有潜在的生物活性. 从表 3 可知, PM₁₀ 全样中 As 和可溶组分中 As 元素的浓度最大值出现在对照点夏季样品中, 分别为 164.42 和 28.53 μg/g; 最小值出现在市区冬季样品中, 分别为 20.26 和 5.20 μg/g, 这可能与对照点周边居民仍然使用煤炭有关.

Pb 元素是被世界卫生组织(WHO)、欧盟(EU)和美国 EPA 唯一规定质量浓度标准的污染物^[23], 它在大气中的含量被认为与使用含铅汽油当作燃料有关, 为此, 世界许多国家都改用无铅汽油, 北京也与 1999 年规定使用无铅汽油. PM₁₀ 全样中 Pb 元素的浓度最大值出现在市区夏季样品中, 为 661.11 μg/g, 最小值在市区冬季样品中, 为 119.30 μg/g; 水溶部分中 Pb 元素的最大值出现在对照点夏季样品中, 为 59.97

μg/g, 最小值在市区冬季样品中, 为 11.67 μg/g. 总的看来, Pb 元素在 PM₁₀ 中的含量除在市区冬季样品中的含量较少外, 在其余样品中的含量差别不大, 表明铅元素在不同季节和不同地区 PM₁₀ 中的含量较为稳定. 尽管北京市区 PM₁₀ 中铅的含量相对其他元素的含量已经很低, 但大气中依然有一定数量的含 Pb 颗粒物.

Fe 是常见的地壳来源的元素, 它在 PM₁₀ 全样中的含量明显要高于在水溶部分中的含量, 表明 PM₁₀ 中的 Fe 多呈为不可溶状态. 庄国顺等^[24]报道沙尘暴颗粒中可溶二价铁 Fe(II) 仅占总铁的 1.4%~2.6%, 这与本次的实验结果相吻合. PM₁₀ 全样中 Fe 元素的最大值为 220.42 μg/g, 而可溶组分中 Fe 的最大值仅为 2.33 μg/g, 它们均出现在对照点夏季的样品中. Mo 和 Pt 等元素在市区的样品中低于检测限, 仅在对照点样品中有微小的含量; Hg 元素的含量在北京 PM₁₀ 中的含量亦很少. 其他的微量元素, 如 Ti, V, Mn, Co, Cu, Sn 和 Ce 等, 在对照点样品中的含量均高于市区样品中的含量.

总之, 从微量元素分析的结果可以看出, 虽然对照点 PM₁₀ 的质量浓度较低, 但样品中微量金属元素的浓度却相对很高, 因此, 相对“清洁”地区的空气质量并不“清洁”.

2.3 PM₁₀ 对质粒 DNA 的损伤与样品中微量元素含量的相关分析

如果说大气颗粒物对质粒 DNA 的损伤来自金属离子产生的自由基, 那么, 分析 PM₁₀ 的全样和可溶部分中微量金属元素同 TM50 之间的关系就显得非常重要. 作者就北京 PM₁₀ 中 V, Mn, Fe, Cu, Zn, As 和 Pb 等有害元素的含量与 TM50 浓度之间的关系作了相关分析, 结果列于表 4. 对 Ti, Co, Ni, Mo, Sn, Ce, Pt 和 Hg 等元素, 由于它们的含量很低或在样品中的浓度低于检测限, 笔者不对它们和 TM50 之间的关系加以讨论.

2.3.1 PM₁₀(全样)中元素与 TM50 之间的相关性

北京 PM₁₀(全样)中 Pb, Zn 和 As 三种元素与

1) 王玮, 张晶, 汤大钢. 可吸入颗粒物(IP)源解析. 中国环境科学研究院, 国家环境保护局科技发展计划科研课题报告. 1999

表 4 TM50 和 PM₁₀ 中微量元素的线性回归系数(R^2 , 显著水平 $\alpha=0.05$)

	V	Mn	Fe	Cu	Zn	As	Pb
全样	0.3360	0.1067	0.2345	0.2884	0.7798	0.7152	0.9650
可溶组分	0.8240	0.9725	0.0012	0.0149	0.7073	0.1061	0.1792

TM50 的剂量有明显的相关性(显著水平 $\alpha=0.05$), 线性回归系数 R^2 分别为 0.9650, 0.7798 和 0.7152, 表明这三种元素, 尤其是 Pb 对 DNA 产生的损伤较为明显; 而其他元素 V, Mn, Fe 和 Cu 与 TM50 的剂量没有明显的相关性, 表明它们对 DNA 的损伤较小. 从表 4 中的结果可知, 市区冬季 PM₁₀ 样品为什么要在高达 900 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的剂量才对质粒 DNA 产生明显的损伤, 而对照点冬季样品只需 74 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的剂量就能够对质粒 DNA 产生明显的损伤, 因为 Zn, Pb 和 As 三种元素的含量在市区冬季样品中的含量明显要比对照点冬季样品中的含量低, 而这三种元素在对照点冬季样品中的含量却分别是市区冬季样品中的 5.4, 4.96 和 6.95 倍. 相反, 这三种元素在对照点和市区夏季的样品中的含量却较为接近, 致使这两地夏季样品的 TM50 较为接近.

2.3.2 PM₁₀ 水溶组分中元素与 TM50 之间的相关性

为了评价哪些元素在 PM₁₀ 水溶组分的生物活性更大, 笔者对对照点(怀柔水库)和市区的冬季、夏季 PM₁₀ 样品中的水溶组分的浓度与 TM50 的相关性做了分析, 结果见表 4.

从结果分析, 元素 V, Mn 和 Zn 与 TM50 剂量之间有较明显的相关性(显著水平 $\alpha=0.05$), 线性回归系数 R^2 分别为 0.824, 0.9723 和 0.7075, 而 Fe, Cu, As 和 Pb 元素的线性回归系数 R^2 分别为 0.0012, 0.0149, 0.1061 和 0.1792, 表明这些元素在 PM₁₀ 的水溶组分中没有对 DNA 产生明显的损伤, 而水溶组分中的 Mn, V 和 Zn 元素对质粒 DNA 的损伤较为明显.

3 讨论

从 PM₁₀ 对质粒 DNA 氧化性损伤能力来分析(表 2), 除了市区冬季 PM₁₀(全样)和水溶组分对质粒 DNA 的损伤差别较大以外, 其余样品的全样和水溶组分对质粒 DNA 损伤的程度都较接近, 结合 ICP-MS

化学元素分析的结果(表 3)和 TM50 与微量元素的相关性(表 4)进行分析, 不难发现, 可溶组分中微量元素(V, Mn, Fe, Cu, Zn, As 和 Pb)的含量与 PM₁₀(全样)中的含量差别相当大, PM₁₀ 全样中的元素含量远高于其水溶组分中相同元素的含量, 如元素 Zn 在 PM₁₀(全样)中的平均含量为 3681 $\mu\text{g}/\text{g}$, 而在水溶部分中的含量仅为 359 $\mu\text{g}/\text{g}$; 因此, PM₁₀ 对质粒 DNA 的损伤主要来自其水溶组分, 这也支持了时宗波¹⁾的结论.

同时, 从上述的讨论中不难发现 PM₁₀ 中的各种微量重金属元素对质粒 DNA 损伤的作用有所不同, Pb($R^2=0.9650$)和 As($R^2=0.7152$)元素只是在 PM₁₀ 全样中同 TM50 才有明显的相关性, 而在 PM₁₀ 的水溶组分中不明显, 这说明尽管 PM₁₀ 中的不溶组分的含量比较低, 同样可以对质粒 DNA 产生损伤. 我们的结论同 Imrich 等^[25]得出的有关浓缩的大气颗粒物中的不可溶部分可以引起肺泡巨噬细胞(alveolar macrophage, AM)的生物反应结论是一致的. Mn 和 V 在 PM₁₀ 的水溶组分中同 TM50 的相关性明显, 但这两种元素的质量浓度平均值的总和也只有 31.12 $\mu\text{g}/\text{g}$, 不到 Zn 平均值质量浓度的 10%, 考虑到 Zn 在水溶组分中同样与 TM50 有较高的相关性, 因此, Mn 和 V 在 PM₁₀ 对 DNA 产生损伤的过程中并不是主要的因素.

在所有分析的元素中, Zn 元素无论在 PM₁₀ 的全样中($R^2=0.7798$)还是在其水溶组分($R^2=0.7073$)中与 TM50 的相关性都较强, 加上它的含量在所有分析的重金属元素中是最高的, 所以, PM₁₀ 中的 Zn 元素可能是对质粒 DNA 产生损伤主要的元素.

鉴于北京 PM₁₀ 中的微量金属元素众多, 且各自的含量差别较大, 加之颗粒物的致毒机理是个复杂的过程, 受较多的因素影响, 因此, 对北京 PM₁₀ 生物活性与所含有害元素关系的探讨还需要有更多的实验加以验证.

1) 同第 780 页脚注 2)

4 结论

(1) 北京不同季节、不同地区大气颗粒物对 DNA 的氧化性损伤有明显的差别, 冬季市区和对照点 PM₁₀ 全样的 TM50 分别是 900 和 74 μg·mL⁻¹, 水溶组分的 TM50 分别是 540 和 86 μg·mL⁻¹; 夏季市区和对照点 PM₁₀ 全样的 TM50 分别是 116 和 210 μg·mL⁻¹, 水溶组分的 TM50 分别是 180 和 306 μg·mL⁻¹.

(2) 大气颗粒物中的微量金属元素是造成 DNA 氧化性损伤的主要原因, 北京不同季节、不同地区大气颗粒物样品中微量元素的含量差别很大.

(3) 北京 PM₁₀ 的生物活性在不同地区和不同季节差别较大, 这种差别主要来自 PM₁₀ 中微量元素含量的变化. PM₁₀ 对质粒 DNA 的损伤主要来自颗粒物的水溶组分; PM₁₀(全样)中 Pb, Zn 和 As 三种元素对质粒 DNA 氧化性损伤能力较强; 而 PM₁₀ 水溶组分中 Mn, V 和 Zn 同 TM50 的相关性较高; Zn 元素可能是导致 PM₁₀ 具有氧化性损伤能力的主要微量重金属元素.

参 考 文 献

- 魏复盛, Chapman R S. 空气污染对呼吸健康影响研究. 北京: 中国环境科学出版社, 2001. 5—22
- Chapman R S, Watkinson W P, Dreher K L, et al. Ambient particulate matter and respiratory and cardiovascular illness in adults: particle-borne transition metals and the heart-lung axis. *Environ Toxicol Pharmacol*, 1997, 4: 331—338 [DOI]
- Donaldson K, Beswick P H, Gilmour P S. Free radical activity associated with the surface of particles: a unifying factor in determining biological activity? *Toxicol Lett*, 1996, 293—298
- Donaldson K, Brown D M, Mitchell C, et al. Free radical activity of PM₁₀: iron-mediated generation of hydroxyl radicals. *Environ Health Perspect*, 1997, 105(S5): 1285—1289
- Donaldson K, Li X, MacNee W. Ultrafine (Nanometer) particle mediated lung injury. *J Aerosol Sci*, 1998, 29: 553—560 [DOI]
- Li X, Gilmour P S, Donaldson K, et al. In Vivo and in Vitro proinflammatory effects of particulate air pollution (PM₁₀). *Environ Health Perspect*, 1997, 105(S5): 1279—1283
- Greenwell L L, Moreno T, Jones T P, et al. Particle-induced oxidative damage is ameliorated by pulmonary antioxidants. *Free Radic Biol Med*, 2002, 32: 898—905 [DOI]
- Greenwell L L, Moreno T, Richard R J. Pulmonary antioxidants exert differential protective effects against urban and industrial particulate matter. *J Biosci*, 2003, 28(1): 101—107
- Poli G, Parola M. Oxidative damage and fibrogenesis. *Free Radic Biol Med*, 1996, 22: 287—305 [DOI]
- Costa D L, Dreher K L. Bioavailable transition metals in particulate matter mediate cardiopulmonary injury in healthy and compromised animal models. *Environ Health Perspect*, 1997, 105(Suppl. 5): 1053—1060
- Richards R J, Atkins J, Marrs T C, et al. The biochemical and pathological changes produced by the intraacheal instillation of certain components of zinc hexachloroethane smoke. *Toxicol Lett*, 1989, 54: 79—88
- Adamson I Y R, Prieditis H, Hedgecock C, et al. Zinc is the toxic factor in the lung response to an atmospheric particulate sample. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2000, 166: 111—119 [DOI]
- 王玉秋, 张林, 戴树桂, 等. 可吸入颗粒物上铁介导的活性氧产生及其对肺损伤的影响. *环境科学进展*, 1999, 增刊: 118—123
- Valavanidis A, Sali0ka A, Theodoropoulou A. Generation of hydroxyl radicals by urban suspended particulate air matter: the role of iron ions. *Atmos Environ*, 2000, 34: 2379—2386 [DOI]
- Ambroz H B, Bradshaw T K, Kemp T J, et al. Role of iron ions in damage to DNA: influence of ionizing radiation, UV light and H₂O₂. *J Photochem Photobiol A: Chem*, 2000, 142: 9—18 [DOI]
- Kim B Y, Han M J, Chung A S. Effects Of Reactive Oxygen Species On Proliferation Of Chinese Hamster Lung Fibroblast (V79) Cells. *Free Radic Biol Med*, 2001, 30(6): 686—698 [DOI]
- Gilmour P S, Brown D M, Beswick P H, et al. Free radical activity of industrial fibers: role of iron in oxidative stress and activation of transcription factors. *Environ Health Perspect*, 1997, 105(S5): 1313—1317
- 北京市环境保护局. 北京市环境质量报告书(1996—2000 年). 2001
- 常辉, 杨绍晋, 董金泉, 等. 大气气溶胶中元素种态研究. *环境化学*, 2000, 19(6): 485—499
- Huang X, Olmez I, Aras N K, et al. Emissions of trace elements from motor vehicles: Potential marker elements and source composition profile. *Atmos Environ*, 1994, 28: 1385—1391 [DOI]
- 张仁健, 徐永福, 韩志伟. ACE-Asia 期间北京 PM_{2.5} 的化学特征及其来源分析. *科学通报*, 2003, 48(7): 730—733
- 谢骅, 王庚辰, 任丽新, 等. 北京市大气细粒态气溶胶的化学成分研究. *中国环境科学*, 2001, 21: 432—435
- 德利克·埃尔森. 烟雾警报. 北京: 科学出版社, 1999. 32—75
- 庄国顺, 郭敬华, 袁蕙, 等. 大气海洋物质交换中的铁硫耦合反馈机制. *科学通报*, 2003, 48(4): 313—319
- Imrich A, Ning Y Y, Kobzik L. Insoluble components of concentrated air particles mediated alveolar macrophage responses in Vitro. *Toxi Applied Pharmacol*, 2000, 167: 140—150 [DOI]