碳纳米材料与共存污染物的联合毒性

姚欢¹, 魏永鹏¹, 尹双¹, 曹雪松¹, 党永辉¹, 计永博¹, 侯瑞锋¹, 徐立娜¹, 代燕辉¹, 王震宇^{2*}, 赵建^{1*}

1. 中国海洋大学, 海洋环境与生态教育部重点实验室, 青岛 266100

2. 江南大学环境与土木工程学院, 无锡 214122

*通讯作者, E-mail: wang0628@jiangnan.edu.cn; jzhao@ouc.edu.cn

收稿日期: 2018-01-15; 接受日期: 2018-03-27; 网络版发表日期: 2018-05-03

国家自然科学基金(编号: 41530642, 41573092)、山东省海外泰山学者计划(编号: tshw20130955)、山东省自然科学基金(编号: JQ201805)和中央高校基本科研业务费专项(编号: 201841010)资助项目

摘要 碳纳米材料(carbon nanomaterials, CNMs)具有广泛的应用, 其产量飞速增长, 并在纳米产品的消费过程中不可避免地被释放到环境中. 环境中的CNMs能够与共存污染物(如有机污染物、重金属和其他纳米颗粒)相互作用, 影响彼此的归趋及毒性效应. 因此在评价CNMs的环境风险时, CNMs与环境中共存污染物的联合毒性不容忽视. 本文首先归纳了CNMs对生物体的直接及间接致毒机制, 随后着重探讨了CNMs与有机污染物、重金属等环境污染物的联合毒性, 从CNMs与其他污染物的作用方式入手, 探究了联合毒性与单一毒性发生差异(增强或抑制)的机制, 最后对目前CNMs与共存污染物联合毒性的评价方法、研究水平以及面临的挑战进行了分析和展望, 为准确评估并深入理解CNMs的环境风险提供一定的理论基础.

关键词 碳纳米材料, 有机污染物, 重金属污染物, 联合毒性

1 引言

碳纳米材料(carbon nanomaterials, CNMs)是由碳元素组成, 在三维尺度上至少有一维在1~100 nm的材料, 主要包括石墨烯、碳纳米管(carbon nanotubes, CNTs)、富勒烯(fullerene)及其衍生物(图1)^[1,2]. 石墨烯类CNMs因其独特的二维结构和优异的性能, 如导电性、导热性、巨大的比表面积等, 被广泛地研究和应用^[3,4]. 根据含氧官能团的种类和数量, 通常将其分为石墨烯(graphene, G)、氧化石墨烯(graphene oxide, GO)和还原型氧化石墨烯(reduced graphene

oxide, rGO)等^[5]. 石墨烯类CNMs含有大量共轭的 π 区域位点和含氧官能团位点, 从而对环境污染物有很好的吸附能力^[6]. CNTs可以看作是由石墨烯两边接合形成的上下直径相同的圆筒状结构, 由单层石墨烯组成的CNTs被称为单壁碳纳米管(single-walled carbon nanotubes, SWCNTs), 由多层石墨烯同轴层层围绕形成的被称为多壁碳纳米管(multi-walled carbon nanotubes, MWCNTs)^[7]. CNTs具有优良的导电性能和高比表面积^[8], 常被应用于电容器制造和作为药物载体^[9,10], 当其释放到环境中, CNTs的外表面、间隙孔隙、内腔和外周槽为环境污染物提供了大量的吸附位点^[7]. 富勒

引用格式: Yao H, Wei Y, Yin S, Cao X, Dang Y, Ji Y, Hou R, Xu L, Dai Y, Wang Z, Zhao J. Joint toxicity of carbon nanomaterials and coexisting pollutants. *Sci Sin Chim*, 2018, 48: 491–503, doi: 10.1360/N032018-00004

图1 CNMs的结构模型(网络版彩图)

Figure 1 Structures of CNMs (color online).

烯是1985年发现的碳的第三种同素异形体,具有五元和六元碳环组成的类似球体的结构,其中足球烯 C_{60} 是最典型的代表之一^[11,12]。优良的性质使得富勒烯和它的衍生物被广泛应用于癌症治疗、药物传送、电脑传感器等^[13~16],间隙和孔隙是其主要吸附位点。

CNMs自从20世纪90年代被发现以来^[17,18],因其质量轻、机械强度高,又兼具耐腐蚀、耐高温、导电性强等性质,被广泛地应用于催化剂载体、光学产品、生物医药和环境修复等领域^[19]。随着CNMs研究的广泛开展和大量应用,在生产、运输、使用、排放过程中不可避免地进入环境中^[20,21]。与此同时,环境中存在着一系列污染物,包括有机污染物(organic pollutants, OPs),如多环芳烃(polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs)、抗生素、农药、重金属(heavy metals, HMs)以及其他纳米材料等,释放到环境中的CNMs会与这些共存污染物相互作用,尤其在河口和沿海地区,污染物浓度大且种类复杂^[22]。CNMs与其他共存污染物间通过物理或者化学作用形成的新的复合体因形态和性质等的差异会改变CNMs和共存污染物的毒性效应,所以评估CNMs与共存污染物的联合毒性就显得尤为重要。本文首先归纳了CNMs的致毒机制,随后着重探讨了CNMs与OPs、HMs以及其他纳米材料的联合毒性差异机制,并对目前的研究现状进行了归纳和总结,最后对未来的研究方向进行了展望和建议。

2 碳纳米材料的致毒机制

目前,关于CNMs对生物(细菌及动植物等)的毒性研究层出不穷,而CNMs的致毒机制也因材料、受试生物、暴露方式等的不同而存在差异。总体来说,

CNMs的致毒机制可概括为直接毒性和间接毒性,如图2所示。

2.1 CNMs的直接毒性

(1) 尺寸效应(图2,过程①)。CNMs的小尺寸产生的巨大的比表面积和良好的吸附性能为CNMs与生物体接触创造了良好条件,从而造成细胞毒性^[23]。一些研究表明,尺寸小的CNMs毒性更高,如Kang等^[24]指出100~200 nm的CNTs会通过笼形蛋白包裹的小泡或依赖细胞膜形成的小窝进入细胞。Chatterjee等^[25]发现长度和直径最小的MWCNTs(长度为0.5~2.0 μm ,直径为8~15 nm)引起的细胞急性毒性最大;但也有研究存在相反结论,如Liu等^[26]指出横向尺寸更大的GO片层相比尺寸小的片层抗菌活性更高,它可以覆盖在大肠杆菌(*Escherichia coli*)细胞表面,导致细胞无法增殖乃至细胞失活。

(2) 物理损伤(图2,过程②)。CNMs的形态多样化导致了其产生不同形式的物理损伤。呈片层结构的G和GO等CNMs,与细胞直接接触,其锋利的边缘可以破坏细胞膜^[27],造成物理损伤;Akhavan等^[28]指出rGO纳米壁锋利的边缘与细胞直接接触会损伤细胞膜。另外,呈针状的CNTs可以通过纵向的穿刺作用破坏细胞膜结构。Kang等^[24]指出50 nm的CNTs通过直接穿刺细胞膜造成物理损伤。进入细胞中的CNTs会引起磷脂提取、膜通透性增大、组织蛋白酶B的释放和细胞凋亡^[29]。

(3) CNMs因自身氧化还原活性在体外产生活性氧(reactive oxygen species, ROS, 图2,过程③)。CNMs的纳米尺寸会导致颗粒表面晶格破损,产生活性位点,这些活性位点与 O_2 通过电子与能量的传递产生羟基自

图 2 CNMs的致毒机制(网络版彩图)

Figure 2 Toxicity mechanisms of CNMs (color online).

由基、超氧自由基等ROS^[30], 对生物体造成氧化胁迫^[31,32], 进而引起磷脂过氧化和细胞膜损伤。

(4) 破坏蛋白质的二级结构, 干扰生物信号或基因信息的传递(图2, 过程④)。Matsuura等^[33]报道指出蛋白溶解酶和牛血清蛋白暴露到CNTs环境中后, 会被吸附在CNTs表面, 导致溶菌酶和牛血清白蛋白发生变性, 原因是蛋白质内部的疏水基团暴露出来, 与CNTs发生非共价结合。

2.2 CNMs的间接毒性

(1) CNMs悬浮在水体中会降低水体透光性, 或附着在藻细胞上产生遮蔽效应, 从而降低水生植物和藻的光合作用(图2, 过程⑤)。例如, rGO附着在斜生栅藻(*Scenedesmus obliquus*)细胞表面, 抑制藻细胞的光合作用^[34]; Hu等^[35]报道指出培养基中的GO黏附在原生动物眼虫(*Euglena gracilis*)表面, 降低了眼虫对光的利用率, 进而产生毒性效应。

(2) CNMs黏附在生物体上造成阻塞, 使生理活动受限, 甚至引起个体死亡。研究发现, 根表面存在的纳米片可以改变根的表面化学性质, 并对根际微生物产生毒性, 影响微生物与根的相互作用, 进而影响根部对营养物质的吸收^[36]; 进入大型水蚤(*Daphnia magna*)肠道的MWCNTs可以形成团聚体, 堵塞肠道, 影响大型水蚤的正常摄食, 进而产生毒性效应^[37]。Warheit

等^[38]通过给小鼠注射浓度为5 mg/kg的SWCNTs, 发现在24 h即引起15%的死亡率, 原因是CNTs机械阻塞小鼠肺部支气管上呼吸道并产生炎症和细胞损伤效应, 导致小鼠猝死; SWCNTs团聚并黏附在大型水蚤体表, 降低其生物活性并最终导致死亡^[39]。

(3) CNMs能够吸附培养基中的营养元素, 造成生物体养分耗竭(图2, 过程⑥)。Zhao等^[40]的研究表明, GO、rGO和多层石墨烯(multilayered graphene, MG)暴露到蛋白核小球藻(*Chlorella pyrenoidosa*)培养基中, GO显著减少了Mg、Ca、N和P元素的含量, rGO显著减少了Mg和Ca元素的含量, 而MG显著减少了N和P元素的含量, 导致小球藻产生营养耗竭, 藻细胞蛋白质和DNA的合成以及光合作用均受到抑制, 其中由营养耗竭引起的间接毒性分别为总毒性的53%、35%和27%。

(4) CNMs的杂质引起的毒性(图2, 过程⑦)。Liu等^[41]的研究表明, CNTs残留着在生产过程中使用的金属催化剂, 在F-CNTs上发现钴(Co), SF-CNTs上存在镍(Ni), 并且这些残留的金属即使使用硝酸洗涤也很难去除^[42]。通过化学气相沉积法生产的CNTs上含有30%金属杂质(Ni、Fe、Y), 这些金属杂质是导致细胞毒性的重要原因^[43]。Yue等^[44]用GO处理人脐静脉内皮细胞(HUVEC), 发现GO上的锰(Mn)杂质显著增大细胞膜损伤, 降低细胞代谢活性, 相比不含Mn的GO处理, 细胞活性下降了70%; Hull等^[43]指出低纯度富勒烯和金

属富勒烯的废固体的沥出液可以引起黑呆头鱼(*Pimephales promelas*)和网纹蚤(*Ceriodaphnia dubia*)的急性毒性,而这种毒性作用可以通过加入EDTA消除,表明沥出液中的二价过渡金属(即杂质)是其产生毒性的主要原因。

(5) CNMs会引起细胞内的氧化应激,促使细胞产生氧化胁迫(图2,过程⑧)。例如,直径为4 nm的rGO量子点在浓度大于200 $\mu\text{g/mL}$ 时,造成人体单核血细胞内产生大量的ROS,使得线粒体膜电位改变,引起线粒体活性受限,导致细胞损伤^[45]。Akhavan等^[46]指出rGO引起人骨髓间充质干细胞(hMSCs) DNA片段化和染色体畸变,从而产生基因毒性。Chang等^[31]指出GO在高浓度(200 $\mu\text{g/mL}$)时,引起A549细胞氧化应激、细胞活力轻微丧失。

3 碳纳米材料与有机污染物的联合毒性

环境中的CNMs与OPs相互作用的方式主要包括 π 键作用、疏水作用和氢键作用,其中 π 键作用包括 π - π 作用和 n - π 作用, π - π 作用发生在带有C=C或苯环的有机分子(如PAHs、DNA和蛋白质等)与CNMs苯环或C=C之间^[47]; n - π 作用发生于CNMs上的电子空穴位点与带有孤对电子的含氧或含氮的有机分子(如茶酚、茶胺)之间^[48];疏水作用主要发生在疏水性OPs与含有疏水性表面的G、rGO、CNTs和C₆₀之间;氢键作用主要发生于带有含氧官能团的GO或经过含氧官能团修饰的CNTs和同样带有含氧官能团的有机物之间^[49]。CNMs与OPs之间通过一系列的相互作用会造成生物有效性、生物积累、转运以及毒性发生改变^[50],进而导致不同的联合毒性效应。

3.1 碳纳米材料增强有机污染物的毒性

当CNMs和OPs共存时,CNMs不但可以直接作为OPs的“汇”,造成浓缩效应,使OPs局部浓度增大,还可以作为运载体增加OPs与生物的直接接触甚至内化,增加OPs的生物可利用性;另外,CNMs能够通过破坏细胞结构,增加细胞膜的通透性,产生氧化损伤及影响细胞活性,间接导致生物个体敏感性增强,从而增加OPs的毒性,表1^[50-61]归纳了目前CNMs增强OPs毒性效应的研究,具体分析如下。

(1) CNMs可以作为OPs的“汇”。首先,CNMs通过

对OPs的吸附作用使得CNMs-OPs复合体上OPs浓度一般高出环境浓度几个数量级^[62];其次,CNMs和OPs共存时与细胞接触,CNMs通过对OPs吸附作用增大OPs与细胞接触的边界层的暴露浓度,污染物毒性效应被放大(图3,过程①)。敌草隆(herbicide diuron)在CNTs存在时对小球藻(*C. vulgaris*)的毒性增大,CNTs吸附敌草隆与藻细胞接触时,细胞膜-污染物接触界面上敌草隆对藻细胞的局部暴露浓度增大^[51];当C₆₀和菲共同作用于羊角月牙藻(*Pseudokirchneriella subcapitata*)时,联合毒性相比于单独作用增大了1.6倍,藻的细胞壁上观察到负载有菲的C₆₀团聚体,且C₆₀对菲的吸附率高达85%,提高了藻细胞对菲的生物可利用性,加入C₆₀后菲的EC₅₀从720 $\mu\text{g/L}$ 降至430 $\mu\text{g/L}$ ^[63]。因此,CNMs-OPs复合污染物一旦在生物或者细胞体内发生解吸附,会造成低浓度的污染物短时间内局部浓度增大,从而增大生物毒性^[7]。

(2) 环境中的OPs可以吸附于CNMs上,通过CNMs运输作用以自由分子(或离子)或复合颗粒污染物的形式进入生物体内,类似于特洛伊木马效应(图3,过程②)^[64]。OPs进入生物体内,经代谢过程进入血管,能够被运输到不同的组织和器官中,造成更大的毒性。Baun等^[63]研究了C₆₀和菲对大型水蚤(*D. magna*)的联合毒性表明,发现C₆₀作为载体负载菲被大型水蚤摄入,当假设溶解的菲是唯一的生物可用形式时,菲对大型水蚤的毒性增大了10倍,表明部分被吸附的菲仍然具有生物可利用性。Su等^[52]研究菲和SWCNTs对日本青鳉(*Japanese medaka*)的联合毒性表明,进入鱼消化道的菲-SWCNTs复合物经过体内代谢,经血管运输到其他的组织和器官,甚至可以穿过血脑屏障。Shen等^[53]的研究表明,摇蚊幼虫(*Chironomus plumosus*)摄入土壤沉积物中PAHs的主要来源为孔隙水,而在加入修复材料MWCNTs后,通过 π - π 作用吸附会形成MWCNTs-PAHs复合物,使摇蚊幼虫通过内吞作用摄入复合物,造成其对PAHs的沉积富集因子从0.018增大到0.119,并且与MWCNTs暴露浓度正相关。

(3) CNMs造成细胞的敏感性增强,降低生物对OPs的耐受性(图3,过程③)。黏附在细胞膜上的CNMs团聚体通过提高细胞膜的通透性,促进了吸附在其上的OPs的细胞膜转运。例如,MWCNTs吸附菲后黏附在羊角月牙藻(*P. subcapitata*)表面,提高了菲的生物可利用性,通过细胞膜进入藻细胞内部的菲增多,毒性增

表 1 CNMs增强OPs的毒性及作用机制

Table 1 Enhanced toxicity mechanisms of OPs by CNMs

CNMs	污染物	受试生物	联合毒性效应	文献
CNTs	敌草隆(herbicide diuron)	普通小球藻(<i>C. vulgaris</i>)	吸附上敌草隆的CNTs与藻细胞接触, 接触界面上局部暴露浓度增大	[51]
CNTs	菲(phenanthrene)	大型蚤(<i>Daphnia magna</i>)	CNTs吸附菲被摄食进入体内在消化道发生解吸附	[55]
SWCNTs	菲(phenanthrene)	日本青鳉(<i>Oryzias latipes</i>)	共同暴露增加了菲在鱼消化道中的积累, 在肝、脑中菲浓度增加	[52]
SWCNTs	全氟辛烷磺酸(perfluorooctane sulfonate, PFOS)	斑马鱼(<i>Danio rerio</i>)	联合暴露使PFOS的生物积累量下降, 但SOD酶、CAT酶和AChE酶活性升高, 总体上毒性增大	[56]
MWCNTs	全氟化合物(perfluorochemicals)	摇蚊幼虫(<i>C. plumosus</i>)	MWCNTs的比表面积越大, 全氟化合物的含量越高, 生物-沉积物富集因子越小	[57]
MWCNTs	壬基苯酚(nonylphenol)	赤子爱胜蚓(<i>Eisenia fetida</i>)	MWCNTs增强了蚯蚓对壬基苯酚的生物可利用性, 增加了壬基苯酚的毒性作用	[54]
MWCNTs	五氯酚钠(pentachlorophenol sodium, PCP-Na)	赤子爱胜蚓(<i>E. fetida</i>)	MWCNTs缓解了PCP-Na的毒性, 浸泡接触实验中联合毒性增大	[58]
MWCNTs, Chars	多环芳烃(polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs)	摇蚊幼虫(<i>C. plumosus</i>)	幼虫通过颗粒摄取MWCNTs-PAHs进入体内进而PAH被生物体吸收	[53]
HNO ₃ -MWCNTs	虫螨威(carbofuran)	罗非鱼(<i>Oreochromis niloticus</i>)	HNO ₃ -MWCNTs使虫螨威的急性毒性增大	[59]
C ₆₀	苯并[a]芘(benzo[a]pyrene, BaP)	斑马鱼(<i>D. rerio</i>) 肝细胞系(hepatocyte cell lineage)	C ₆₀ 将BaP带入细胞内, 增大其细胞摄入量, 毒性增加	[60]
C ₆₀	乙酰苯(acetophenone), 苯甲醛(benzaldehyde), 苯甲醇(benzylalcohol), 间甲苯酚(<i>m</i> -cresol), 甲苯(toluene)	人单核白血病细胞系(THP-1)	C ₆₀ 增强了目标有机污染物对健康的影响, 有机物进入C ₆₀ 团聚体被细胞摄入后释放在细胞中	[50]
G, GO	百草枯(paraquat)	人肝癌细胞株HepG2	G和GO使细胞对百草枯的敏感性增强, 增加其细胞毒性	[61]

图 3 CNMs与OPs和HMs的联合毒性(网络版彩图)

Figure 3 Joint toxicity of CNMs and Ops/HMs (color online).

大^[65]; MWCNTs会刺破肠黏膜细胞, 使Na⁺、K⁺-ATP酶活性受到抑制^[54], 从而破坏细胞膜上的离子传输和能量代谢过程; 另外CNMs本身会造成氧化胁迫, 吸附在CNMs上的壬基苯酚(nonyl phenol)发生解吸附, 使细胞的抗氧化防御系统酶(谷胱甘肽、谷胱甘肽还原酶)分泌增多, 导致细胞的抗逆性降低, 并进一步引起DNA损伤, 使OPs的毒性增大^[54].

3.2 碳纳米材料抑制有机污染物的毒性

当CNMs和OPs共存时, CNMs一方面可以通过吸附OPs, 或者CNMs-OPs复合物在体内稳定存在, 难以解吸附, 降低环境中OPs的生物可利用性; 另一方面还可以通过调动细胞内部的毒性响应机制, 间接导致个体对OPs的自我防御增强, 降低OPs的毒性, 表2^[65-73]归纳了CNMs抑制OPs毒性效应的研究, 具体分析如下.

(1) CNMs与OPs通过疏水作用和 π - π 作用发生吸附^[74], 减少水体中游离的OPs, 降低细胞对暴露介质中OPs的生物可利用性, 从而使毒性降低, 前提是CNMs-污染物复合物不会被生物摄入(图3, 过程I). SWCNTs

与菲通过 π - π 作用和疏水作用发生吸附, 降低环境中游离的菲浓度, 使其对羊角月牙藻(*P. subcapitata*)的EC₅₀从438.4 μ g/L增大至528.4 μ g/L, 生长抑制作用减小^[65]; 与之一致, MWCNTs-30和SWCNTs与菲联合暴露于大型水蚤时, 吸附作用导致水体中游离的菲减少, 降低了通过被动运输到达大型水蚤体内的菲含量, 从而减轻菲的毒性作用^[55];

(2) 生物体内CNMs-OPs复合物上OPs的不完全解吸附减轻OPs的毒性(图3, 过程II). 17 α -炔雌醇(EE2)是一种环境雌激素, 暴露浓度越大, 引起细胞的雌激素活性越高, 毒性越强. 当它单独作用于人乳腺癌细胞系时, 细胞内的雌激素活性是91%, 但当EE2与羧基化单壁碳纳米管(cf-SWCNTs)形成的cf-SWCNTs-EE2团聚体作用于细胞时, 细胞内的雌激素活性降为22.1%~55.1%. 检测细胞内从cf-SWCNTs-EE2团聚体上解吸下来的EE2小于0.2%, cf-SWCNTs与EE2吸附形成的团聚体进入细胞后稳定且难解吸附, 很大程度上减小了EE2与细胞中的雌激素受体蛋白发生特异性结合, 进而降低EE2引起的细胞毒性^[66];

表 2 CNMs抑制OPs的毒性及作用机制

Table 2 Suppressed toxicity mechanisms of OPs by CNMs

CNMs	污染物	受试生物	联合毒性效应	文献
CNTs	菲(phenanthrene)	羊角月牙藻(<i>P. subcapitata</i>)	SWCNTs吸附菲, 使其毒性减小	[65]
pCNTs, cCNTs	氨基酰氮草(carbamazepine)	甘蓝(<i>Brassica oleracea</i>)	CNTs在水培和土壤体系中吸附作用使卡马西平在甘蓝中积累减少	[67]
Cf-SWCNTs	17 α 乙炔基雌二醇(17 α -ethynylestradiol)	人乳腺癌细胞株 (MCF-7 cells)	EE2被cf-SWCNTs吸附进入细胞后难以解吸附, 减少了与雌激素受体蛋白的结合, 毒性降低	[66]
C ₆₀	苯并[a]芘(benzo[a]pyrene)	人乳腺癌细胞株(MCF-7 cells), 虹鳟鱼(<i>Oncorhynchus mykiss</i>)的鳃细胞	低剂量的C ₆₀ 促进了苯并[a]芘的毒性, 高剂量抑制了苯并[a]芘的毒性	[68]
C ₆₀	阿特拉津(atrazine), 菲(phenanthrene), 甲基对硫磷(methylparathion), 五氯苯酚(pentachlorophenol)	羊角月牙藻(<i>P. subcapitata</i>)	C ₆₀ 和菲的联合毒性增大, 吸附团聚体与细胞接触被动运输到细胞内, C ₆₀ 对五氯苯酚吸附量低, 从而减小五氯苯酚的毒性	[63]
C ₆₀	17 α 乙炔基雌二醇	斑马鱼 (<i>D. rerio</i>) 盐水虾(<i>Artemia sp.</i>)	C ₆₀ 和EE2在盐水虾体内形成的团聚体被斑马鱼摄入仍保持完整, 同时减少了斑马鱼对EE2的摄入	[69]
C ₆₀	17 α 乙炔基雌二醇	斑马鱼 (<i>D. rerio</i>)	C ₆₀ 降低了EE2的生物可利用性	[70]
C ₆₀	dichlorodiphenyldichloroethylene (<i>p,p'</i> -DDE)	南瓜(<i>Cucurbita pepo</i>) 赤子爱胜蚓(<i>E. fetida</i>)	蚯蚓和植物共存时, C ₆₀ 的存在减少了DDE在植物根部的积累	[71]
纳米碳(nano-charcoal)	三丁基锡(tributyltin, TBT), 二丁基锡(dibutyltin, DBT)	大型蚤(<i>D. magna</i>)	纳米碳吸附TBT被大型水蚤摄食进入肠道, 毒性减小, 游离的DBT和TBT是主要致毒原因	[72]
GO	多氯化联苯(polychlorinated biphenyls, PCBs)	人仓鼠杂交细胞	用GO预处理的细胞显著减小PCBs引起的细胞毒性和CD59基因突变	[73]

(3) CNMs调动细胞内部的毒性响应机制、有效降低OPs引起的基因突变,从而减小毒性. Liu等^[6]的研究表明,用GO预处理人-仓鼠杂交细胞可以有效地抑制由PCB52 (polychlorinated biphenyls)引起的细胞毒性,抑制与调节细胞自我保护及免疫活动相关的CD59基因突变,降低PCB52的基因毒性;此外,CNMs可以通过增强细胞的防御机制来抑制OPs的毒性(图3,过程III).细胞的自噬作用是保护细胞免受外源性物质入侵、保存细胞功能以及维持细胞内稳态的重要功能.GO能够促进人-仓鼠杂交细胞的自噬作用,通过加速受损细胞器、长寿蛋白和PCB52本身的降解,建立防御屏障,提高PCB52入侵前细胞的抗逆性^[6].

4 碳纳米材料与重金属污染物的联合毒性

HMs是一类普遍存在、不可生物降解的环境污染物,主要来源包括冶金、采矿、金属加工和机器制造等行业废水、废渣和废气的排放.低剂量(0.001 mg/L)的HMs即可产生毒性效应,并且具有蓄积性强、不可逆、易于沿食物链传递的特点^[75].当环境中CNMs与HMs共存时,CNMs的巨大比表面积和优良的吸附特性增大了两者相互作用的机会.特别是CNMs衍生物表面的含氧官能团能提供更多的吸附位点,如用HNO₃、H₂O₂、KMnO₄等强氧化剂可以氧化去除CNTs上的无定形碳,产生更多的孔洞,增加孔体积,并产生丰富的含氧官能团,从而增强其对HMs的吸附能力.CNMs与HMs的相互作用包括阳离子- π 作用、路易斯酸碱作用和静电作用.CNMs上的 π 电子和金属离子(如Pb²⁺)发生阳离子- π 作用^[74];含有可以交换电子的官能团(如-OH、-COOH、-NH₂)的CNMs(如GO)^[76]与HMs之间会发生路易斯酸碱作用;另外带负电的CNMs和HMs发生静电吸引,形成螯合或络合物^[77].CNMs与HMs的相互作用会使得两者的生物有效性、生物积累、转运以及毒性发生改变,从而产生不同的联合毒性效应.对于目前CNMs与HMs联合毒性效应的研究归纳见表3^[78-90].

4.1 碳纳米材料增强重金属污染物的毒性

当CNMs和HMs共存时,联合毒性效应增强的机制与CNMs-OPs相类似,主要是由于CNMs吸附HMs

后,作为HMs的运载体,增加其生物可利用性;CNMs自身的生物毒性效应;CNMs通过氧化还原反应使HMs转化为毒性更强的形态.具体分析如下.

(1) CNMs作为运载体携带吸附在其表面的HMs进入到细胞内,类似于特洛伊木马效应使毒性增加(图3,过程②).例如,MWCNTs经HNO₃处理后,其表面的含氧官能团(主要为-COOH)增加,Pb²⁺与MWCNTs的-COOH发生静电吸引,形成螯合物并内化,增加对Pb²⁺的吸收,导致Pb²⁺对罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)的毒性增大了5倍^[78];Wang等^[79]的研究表明,在pH=6的条件下,带正电荷的OH-MWCNTs通过静电吸引可以携带更多的As(V)和As(III)进入大型水蚤的肝脏,导致As的毒性显著升高.

(2) CNMs能破坏细胞壁或细胞膜结构,增大细胞膜通透性,使HMs更易进入细胞,进而增大HMs毒性(图3,过程③).Hu等^[80]用GO和As(V)联合暴露给小麦,GO引起小麦细胞膜结构损伤和电解质泄漏,使细胞对GO和As(V)的摄取增加,联合毒性增强.Wang等^[81]发现CNTs能够刺穿磷脂双分子层,引起细胞质渗漏,而Cr⁶⁺通过破损处进入细胞,造成毒性增强;CNMs进入细胞后产生胞内ROS(图3,过程③),包括超氧阴离子自由基(O₂⁻)、过氧化氢(H₂O₂)以及羟基自由基($\cdot$ OH)等,氧化细胞中的关键组分,破坏细胞中的生化过程,降低了细胞对外源性污染物的抵抗能力,从而增强HMs的生物毒性^[81].

(3) CNMs通过调节细胞中基因表达和有关酶的活性,促进HMs的转运和转化,使其毒性增大(图3,过程④).例如,GO在低、中浓度(0.1和1 mg/L)时可以提高砷酸还原酶活性,并使磷酸盐转运蛋白基因的表达上调,二者的作用分别是使As(V)转化为毒性更高的As(III)以及将As(III)通过质膜转运到细胞内,造成在小麦根细胞中的积累增加^[80].

(4) CNMs-HMs共同暴露会抑制膜转运蛋白的活性,使污染物的外排受阻,从而增大生物毒性效应(图3,过程⑤).目前与纳米材料膜转运相关的蛋白主要有两大类,一类是ABC家族(ATP-binding cassette),依赖三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)提供能量将细胞的外源性化学物质泵出细胞体外.例如,GO和单原子层G在低于最低致毒浓度100倍和400倍时仍会抑制人肝癌细胞膜上的ABC转运蛋白的外排能力,从而使As(III)的细胞毒性增大^[61];另一类是P2X7R受体,

表 3 CNMs与HMs的联合毒性及作用机制

Table 3 Joint toxicity mechanisms of CNMs and HMs

CNMs	污染物	受试生物	联合毒性效应	文献
CNTs	Cu^{2+} , CrO_4^{2-}	水生微生物群落	重金属 Cu^{2+} 和 CrO_4^{2-} 的加入增强了CNTs的致死率	[81]
MWCNTs	Cd^{2+}	铜锈环棱螺(<i>Bellamya aeruginosa</i>)	MWCNTs增强了 Cd^{2+} 引起的氧化损伤	[83]
MWCNTs	Pb^{2+}	罗非鱼(<i>Oreochromis niloticus</i>)	MWCNTs增强了 Pb^{2+} 引起的氧化损伤	[84]
SWCNTs	Ni^{2+}	小鼠巨噬细胞株(Raw264.7 cells), 人单核细胞株(THP-1 cells)	Ni^{2+} 抑制细胞膜上受体P2X7R, 使SWCNTs在细胞内增多, 细胞毒性增大	[82]
O-MWCNTs	Zn^{2+}	人肺腺癌细胞系(A549), 人宫颈上皮癌细胞	O-MWCNTs与 Zn^{2+} 联合毒性是协同作用	[85]
OH-MWCNTs	Pb^{2+}	大型蚤(<i>D.magna</i>)	OH-MWCNTs增大了 Pb^{2+} 的毒性	[86]
OH-MWCNTs	As(III), As(V)	大型蚤(<i>D.magna</i>)	毒性最大的是 H_2AsO_3^- 和 H_2AsO_4^- , OH-MWCNTs吸附As(V)的能力大于As(III), 使As的毒性增大	[79]
HNO_3 -MWCNTs	Pb^{2+}	罗非鱼(<i>O.niloticus</i>)	耗氧增加, 排氮减少, Pb^{2+} 的毒性增加了5倍	[78]
LPC-SWCNTs	Cu^{2+}	大型蚤(<i>D.magna</i>)	LPC-SWCNTs增加了 Cu^{2+} 的摄入和毒性	[87]
G, GO	As_2O_3	人肝癌细胞株(HepG2)	G、GO在低浓度就能抑制细胞膜上ABC转运蛋白的外排活性, 使 As_2O_3 的外排减少, 毒性增大	[61]
GO	As(V)	小麦(<i>Triticum aestivum</i> L.)	GO增大了As的毒性, 使As(V)转化为毒性更高的As(III)	[80]
GO	Cd^{2+}	铜绿微囊藻(<i>Microcystis aeruginosa</i>)	GO与 Cd^{2+} 发生吸附后进入藻细胞, 毒性增大	[88]
C_{60}	Cu^{2+}	大型蚤(<i>D.magna</i>)	C_{60} 与 Cu^{2+} 发生吸附, 促进了 Cu^{2+} 从体外到体内的转运	[89]
CNTs	Cd^{2+} , Zn^{2+}	大型水蚤(<i>D. magna</i>)	非官能团化的CNTs减少了 Cd^{2+} 和 Zn^{2+} 摄入, 官能团化的CNTs增加了 Cd^{2+} 和 Zn^{2+} 摄入	[81]
F-CNTs	Cd^{2+}	大型水蚤(<i>D. magna</i>)	F-CNTs减少了 Cd^{2+} 的积累和毒性	[41]
C_{60}	Cu^{2+}	小鼠巨噬细胞(RAW264.7)	C_{60} 吸附 Cu^{2+} , 减少了 Cu^{2+} 与细胞膜的接触, 联合毒性降低	[90]

P2X7R受体是一种细胞外ATP门控离子通道蛋白, 能够介导炎症反应和巨噬细胞分泌溶酶体的释放^[91]. Cui等^[82]的研究发现, 20 μM 的 Ni^{2+} 没有细胞毒性, 但当20 μM 的 Ni^{2+} 和10 $\mu\text{g/mL}$ 的SWCNTs共同暴露于小鼠巨噬细胞时, 细胞活性下降了21%, 原因是 Ni^{2+} 阻断小鼠巨噬细胞(Raw264.7)上P2X7R受体的激活, 使巨噬细胞对SWCNTs的胞吐作用受到抑制, 更多的SWCNTs蓄积在细胞内无法排出而使毒性增大;

(5) CNMs引起细胞代谢紊乱, 增强HMs的毒性(图3, 过程⑥). Hu等^[80]的研究发现, GO和As(V)共同作用于小麦根细胞时, 抑制细胞碳水化合物的代谢, 增强氨基酸与次生代谢, 同时干扰脂肪酸代谢与尿素循环, 从而使As(V)的毒性增大.

4.2 碳纳米材料抑制重金属污染物的毒性

目前, 关于CNMs与HMs共存时, 降低HMs的毒性效应的研究较少, 总结其主要的抑制毒性效应的机制如下.

(1) CNMs-HMs共同暴露可以通过吸附降低暴露介质中污染物的生物可利用性来减弱其联合毒性(图3, 过程I). Yu等^[90]的研究发现, 当 C_{60} (6.6 mg/L)单独暴露给小鼠巨噬细胞(RAW264.7) 24 h时, 细胞活性下降了45%, 但当 C_{60} (6.6 mg/L)与 Cu^{2+} (2 mg/L)共同暴露时, 细胞活性下降了25%, 同时发现 C_{60} 和 Cu^{2+} 的吸附是其联合毒性降低的主要原因; 此外, CNMs吸附HMs后发生沉降, 使得在水环境体系中HMs的生物可利用性降低, 毒性减小^[81].

(2) CNMs吸附在水生动物体表, 造成其表面物理阻塞、生物活性降低、滤食率降低, 进而减小对HMs的摄入(图3, 过程IV). Yu等^[92]的研究结果表明, 非官能团化的CNTs疏水性强、悬浮性差与 Zn^{2+} 和 Cd^{2+} 联合作用于大型水蚤时, 其体内两种重金属的积累降低, 这是由于CNTs会吸附在大型水蚤体表, 形成阻塞, 减少其游泳和滤食过程, 使得 Zn^{2+} 和 Cd^{2+} 的生物可利用性下降、毒性降低.

(3) 遮蔽效应是实验室研究中CNTs引起光营养生物生存能力降低的致毒机理之一^[93,94], 如Long等^[95]指出10 mg/L的MWCNTs对小球藻(*Chlorella sp.*)暴露96 h后的毒性效应中遮蔽效应贡献率为20%~40%. Schwab等^[96]指出CNTs对绿藻(*Chlorella vulgaris*)的遮蔽效应和与藻细胞的团聚作用对CNTs的藻毒性贡献率为85%. 最新的估算报道了地表水中的CNMs的环境预测浓度在2012年为0.23 ng/L^[97], 2014年上升为0.28 ng/L^[98], 还达不到实验研究中的mg/L级别, 但是随着CNTs产品的生产和应用, CNTs的水环境浓度将会急剧增长^[99], 在特定区域CNTs的浓度甚至可以达到mg/L的级别, 届时, 遮蔽效应可能贡献一定的生长抑制率并成为CNTs的重要致毒机制之一. 研究表明, CNMs能附着在藻类表面, 限制细胞的光可达性, 从而抑制藻细胞的生长; 因此, 在CNMs与HMs的联合毒性作用中, CNTs会使水体环境变暗, 产生遮蔽效应(图3, 过程V), 降低大型水蚤的活性(包括移动性、代谢和滤食率等), 减少对 Cd^{2+} 的摄入, 抑制 Cd^{2+} 的毒性^[41].

5 碳纳米材料与其他纳米颗粒的联合毒性

由于纳米材料的应用越来越广泛, 环境中纳米颗粒(nanoparticles, NPs)的种类也越来越繁杂, 因此

CNMs与其他NPs的联合毒性是CNMs的环境风险评估中不容忽视的一点. 表4^[100-103]归纳了CNMs与其他NPs的联合毒性及作用机制, 从目前的研究来看, CNMs与其他NPs的作用方式主要包括: 某些CNMs通过氧化还原作用改变金属NPs释放出的游离金属离子价态; CNMs携带负载在其上的金属NPs共同作用于细胞或生物体; CNMs吸附金属NPs释放出的金属离子, 作为运载体携带其进入细胞内部; CNMs与其他NPs通过异相团聚形成较大尺寸的异相团聚体. 造成毒性差异的机制可以归纳为以下4点.

(1) CNMs与NPs共存会发生氧化还原反应, 转化为毒性更强的物质, 从而产生协同作用(图4, 过程①). 炭黑(carbon black, CB)与 Fe_2O_3 NPs共同作用于A549细胞时会发生协同毒性作用, 蛋白质氧化相比对照增加了2倍, CB将 Fe_2O_3 NPs释放出来的 Fe^{3+} 还原成 Fe^{2+} , Fe^{2+} 发生芬顿反应产生更多的ROS, 引起严重的脂质过氧化, 造成细胞毒性升高^[100].

(2) CNMs因比表面积巨大, 会携带负载在其表面的金属NPs与细胞接触, 从而使联合毒性增大(图4, 过程②). 研究表明, 负载有Ag NPs的MWCNTs (Ag-MWCNTs)抑菌效果显著, MWCNTs拥有巨大的比表面积, 更容易黏附于细菌表面, 使Ag NPs与细菌的接触机率增加; 并且形成的细胞-Ag-MWCNTs团聚体越大, 细胞膜损伤和膜功能的破坏程度越大, 加速细胞凋亡进程^[101].

(3) CNMs吸附金属NPs释放出的金属离子, 作为运载体将其带入细胞中, 增大金属NPs的细胞毒性(图4, 过程③). 功能化的CNTs (f-SWCNTs)吸附Ag NPs释放出的 Ag^+ , 作为载体增大了绿海胆(*Strongylocentrotus droebachiensis*)胚胎的暴露风险, 使联合毒性增大^[102].

表 4 CNMs与其他NPs的联合毒性及作用机制

Table 4 Joint toxicity mechanisms of CNMs and other NPs

NPs	受试生物	联合毒性效应	文献
炭黑, Fe_2O_3 NPs	人肺腺癌细胞系(A549 cells)	Fe^{3+} 被炭黑还原, 联合毒性增大	[100]
MWCNTs, Ag NPs	大肠杆菌(<i>Escherichia Coli</i>), 金黄色葡萄球菌(<i>Staphylococcus aureus</i>)	形成细胞-Ag-MWCNTs团聚体, 造成细胞膜损伤, 导致细胞凋亡	[101]
f-SWCNTs, Ag NPs	南美白对虾 (<i>Strongylocentrotus droebachiensis</i>)	f-SWCNTs吸附Ag NPs释放出的 Ag^+ , 联合毒性降低	[102]
CNTs, CuO NPs	脱氮副球菌(<i>Paracoccus denitrificans</i>)	CuO NPs吸附到CNTs上减小了NPs的内化, 联合毒性降低	[103]

图4 CNMs与其他NPs的联合毒性(网络版彩图)

Figure 4 Joint toxicity of CNMs and other NPs (color online).

(4) CNMs与其他NPs形成大的异相团聚体, 粒径增大, 进入细胞难度增大, 从而使毒性减小(图4, 过程①)。在海洋底泥微生物群落的反硝化作用中, 当CuO NPs存在时, $\text{NO}_x\text{-N}$ ($\text{NO}_3\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2\text{-N}$) 的去除率为62.3%; 当CNTs存在时, 去除率升高到81.1%。由于较低的能垒(CuO-Cells: 36.2 kT; CNTs-Cells: 28.7 kT; CuO-CNTs: 3.5 kT), 相比于细胞表面, CuO NPs更易与CNTs发生吸附作用, 形成的CuO-CNTs异相团聚体粒径大、带有负电荷且不均匀分散, 导致细胞对NPs的内化减小, 联合毒性降低^[103]。

6 展望

目前, 关于CNMs与共存污染物的联合毒性研究已有较大进展, 对于联合毒性的差异性机制已经有了

一定的了解和认识。但是目前的研究对于准确的评估CNMs与共存污染物的环境与健康风险还远远不够。对此, 我们提出以下研究展望。

(1) 目前关于CNMs与共存污染物的联合毒性的评价方法缺乏科学的规范指导, 因此需要建立标准的体系和方法来规范研究CNMs与共存污染物的联合毒性, 包括受试生物的选择多样性, 完整、科学的毒性指标测定方法、暴露时间和周期的规定等, 这样能排除干扰因素, 更好地比较不同实验结果, 进而得出可靠的结论。

(2) 对于CNMs与共存污染物的结合方式已经有了较深的理解, 但是对于两者结合后进入细胞或生物体之后的变化和分布及其与细胞中细胞器的相互作用机理还欠缺一个清晰的认识。因此, 需要建立CNMs-共存污染物在生物体内的蓄积分布与其毒性效应的内在联系。

(3) CNMs与共存污染物的联合毒性问题类似于一个黑匣子问题, 对于两者进入细胞之后的变化缺乏先进的仪器和方法来观察和探究, 这也是我们面临的一个新的挑战。因此亟需开发更加适用的仪器和方法来填补研究的空白。

(4) 要准确地评估CNMs的环境和健康风险, 必须要考虑到环境中其他因素的影响。目前对于CNMs与污染物的联合毒性研究还处于实验室理想状态下, 条件比较单一, 而实际的自然环境复杂多变, 如pH、光照、天然有机质等都会影响CNMs的行为, 进而影响其与共存污染物的相互作用和联合毒性。

参考文献

- Huczko A. *Appl Phys A*, 2002, 74: 617–638
- Zhang Y, Ali SF, Dervishi E, Xu Y, Li Z, Casciano D, Biris AS. *ACS Nano*, 2010, 4: 3181–3186
- Katsnelson MI, Novoselov KS. *Solid State Commun*, 2007, 143: 3–13
- Zhang Y, Tan YW, Stormer HL, Kim P. *Nature*, 2005, 438: 201–204
- Bianco A, Cheng HM, Enoki T, Gogotsi Y, Hurt RH, Koratkar N, Kyotani T, Monthieux M, Park CR, Tascon JMD, Zhang J. *Carbon*, 2013, 65: 1–6
- Liu Y, Wang X, Wang J, Nie Y, Du H, Dai H, Wang J, Wang M, Chen S, Hei TK, Deng Z, Wu L, Xu A. *Environ Sci Technol*, 2016, 50: 3154–3164
- Yang K, Xing B. *Environ Pollut*, 2007, 145: 529–537
- Diederich L, Barborini E, Piseri P, Podestà A, Milani P, Schnewly A, Gallay R. *Appl Phys Lett*, 1999, 75: 2662–2664
- Futaba DN, Hata K, Yamada T, Hiraoka T, Hayamizu Y, Kakudate Y, Tanaike O, Hatori H, Yumura M, Iijima S. *Nat Mater*, 2006, 5: 987–994
- Liu Z, Chen K, Davis C, Sherlock S, Cao Q, Chen X, Dai H. *Cancer Res*, 2008, 68: 6652–6660

- 11 Sayes CM, Fortner JD, Guo W, Lyon D, Boyd AM, Ausman KD, Tao YJ, Sitharaman B, Wilson LJ, Hughes JB, West JL, Colvin VL. *Nano Lett*, 2004, 4: 1881–1887
- 12 Kroto HW, Heath JR, O'Brien SC, Curl RF, Smalley RE. *Nature*, 1985, 318: 162–163
- 13 Wilson LJ. *Electrochem Soc Int*, 1999, 8: 24–28
- 14 Park S, Srivastava D, Cho K. *Nanotechnology*, 2001, 12: 245–249
- 15 Da Ros T, Spalluto G, Prato M. *Croat Chem Acta*, 2001, 74: 743–755
- 16 Sherigara B, Kutner W, D'Souza F. *Electroanalysis*, 2003, 15: 753–772
- 17 Iijima S. *Nature*, 1991, 354: 56–58
- 18 Lijima S, Ichihashi T. *Nature*, 1993, 364: 737–737
- 19 Colvin VL. *Nat Biotechnol*, 2003, 21: 1166–1170
- 20 Borm PJA. *Inhalat Toxicol*, 2002, 14: 311–324
- 21 Brumfiel G. *Nature*, 2003, 424: 246–248
- 22 Lin JH, Wu ZH, Tseng WL. *Anal Methods*, 2010, 2: 1874–1879
- 23 Wigginton NS, Haus KL, Hochella Jr MF. *J Environ Monit*, 2007, 9: 1306–1316
- 24 Kang B, Chang S, Dai Y, Yu D, Chen D. *Small*, 2010, 6: 2362–2366
- 25 Chatterjee N, Yang J, Kim S, Joo SW, Choi J. *Carbon*, 2016, 108: 529–540
- 26 Liu S, Hu M, Zeng TH, Wu R, Jiang R, Wei J, Wang L, Kong J, Chen Y. *Langmuir*, 2012, 28: 12364–12372
- 27 Hu W, Peng C, Luo W, Lv M, Li X, Li D, Huang Q, Fan C. *ACS Nano*, 2010, 4: 4317–4323
- 28 Akhavan O, Ghaderi E. *ACS Nano*, 2010, 4: 5731–5736
- 29 Zhu W, von dem Bussche A, Yi X, Qiu Y, Wang Z, Weston P, Hurt RH, Kane AB, Gao H. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113: 12374–12379
- 30 Nel A, Xia T, Mädler L, Li N. *Science*, 2006, 311: 622–627
- 31 Chang Y, Yang ST, Liu JH, Dong E, Wang Y, Cao A, Liu Y, Wang H. *Toxicol Lett*, 2011, 200: 201–210
- 32 Wang A, Pu K, Dong B, Liu Y, Zhang L, Zhang Z, Duan W, Zhu Y. *J Appl Toxicol*, 2013, 33: 1156–1164
- 33 Matsuura K, Saito T, Okazaki T, Ohshima S, Yumura M, Iijima S. *Chem Phys Lett*, 2006, 429: 497–502
- 34 Du S, Zhang P, Zhang R, Lu Q, Liu L, Bao X, Liu H. *Chemosphere*, 2016, 164: 499–507
- 35 Hu C, Wang Q, Zhao H, Wang L, Guo S, Li X. *Chemosphere*, 2015, 128: 184–190
- 36 Cañas JE, Long M, Nations S, Vadan R, Dai L, Luo M, Ambikapathi R, Lee EH, Olszyk D. *Environ Toxicol Chem*, 2008, 27: 1922–1931
- 37 Petersen EJ, Pinto RA, Mai DJ, Landrum PF, Weber Jr. WJ. *Environ Sci Technol*, 2011, 45: 1133–1138
- 38 Warheit DB, Laurence BR, Reed KL, Roach DH, Reynolds GAM, Webb TR. *Toxicol Sci*, 2004, 77: 117–125
- 39 Roberts AP, Mount AS, Seda B, Souther J, Qiao R, Lin S, Ke PC, Rao AM, Klaine SJ. *Environ Sci Technol*, 2007, 41: 3025–3029
- 40 Zhao J, Cao X, Wang Z, Dai Y, Xing B. *Water Res*, 2017, 111: 18–27
- 41 Liu J, Wang WX. *Environ Toxicol Chem*, 2015, 34: 2824–2832
- 42 Liu Y, Zhao Y, Sun B, Chen C. *Acc Chem Res*, 2012, 46: 702–713
- 43 Hull MS, Kennedy AJ, Stevens JA, Bednar AJ, Weiss CA Jr, Vikesland PJ. *Environ Sci Technol*, 2009, 43: 4169–4174
- 44 Yue H, Wei W, Yue Z, Wang B, Luo N, Gao Y, Ma D, Ma G, Su Z. *Biomaterials*, 2012, 33: 4013–4021
- 45 Ayoubi M, Naserzadeh P, Hashemi MT, Reza Rostami M, Tamjid E, Tavakoli MM, Simchi A. *Sci Rep*, 2017, 7: 12896
- 46 Akhavan O, Ghaderi E, Akhavan A. *Biomaterials*, 2012, 33: 8017–8025
- 47 Zhao J, Wang Z, White JC, Xing B. *Environ Sci Technol*, 2014, 48: 9995–10009
- 48 Yang X, Li J, Wen T, Ren X, Huang Y, Wang X. *Colloids Surfs A*, 2013, 422: 118–125
- 49 Zhang C, Wu L, Cai D, Zhang C, Wang N, Zhang J, Wu Z. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2013, 5: 4783–4790
- 50 Lehto M, Karilainen T, Róg T, Cramariuc O, Vanhala E, Tornaes J, Taberman H, Jänis J, Alenius H, Vattulainen I, Laine O. *PLoS ONE*, 2014, 9: e114490
- 51 Schwab F, Bucheli TD, Camenzuli L, Magrez A, Knauer K, Sigg L, Nowack B. *Environ Sci Technol*, 2013, 47: 7012–7019
- 52 Su Y, Yan X, Pu Y, Xiao F, Wang D, Yang M. *Environ Sci Technol*, 2013, 47: 4704–4710
- 53 Shen M, Xia X, Wang F, Zhang P, Zhao X. *Environ Toxicol Chem*, 2012, 31: 202–209
- 54 Hu C, Cai Y, Wang W, Cui Y, Li M. *Environ Sci-Proc Impacts*, 2013, 15: 2125–2130

- 55 Zindler F, Glomstad B, Altin D, Liu J, Jenssen BM, Booth AM. *Environ Sci Technol*, 2016, 50: 12446–12454
- 56 Li Y, Men B, He Y, Xu H, Liu M, Wang D. *Sci Total Environ*, 2017, 607–608: 509–518
- 57 Xia X, Chen X, Zhao X, Chen H, Shen M. *Environ Sci Technol*, 2012, 46: 12467–12475
- 58 Zhang L, Hu C, Wang W, Ji F, Cui Y, Li M. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2014, 103: 29–35
- 59 Campos-Garcia J, Martinez DST, Alves OL, Leonardo AFG, Barbieri E. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2015, 111: 131–137
- 60 Ferreira JLR, Lonné MN, França TA, Maximilla NR, Lugokenski TH, Costa PG, Fillmann G, Antunes Soares FA, de la Torre FR, Monserrat JM. *Aquat Toxicol*, 2014, 147: 76–83
- 61 Liu S, Jiang W, Wu B, Yu J, Yu H, Zhang XX, Torres-Duarte C, Cherr GN. *Nanotoxicology*, 2016, 10: 597–606
- 62 Ferguson PL, Chandler GT, Templeton RC, DeMarco A, Scrivens WA, Englehart BA. *Environ Sci Technol*, 2008, 42: 3879–3885
- 63 Baun A, Sørensen SN, Rasmussen RF, Hartmann NB, Koch CB. *Aquat Toxicol*, 2008, 86: 379–387
- 64 Deng R, Lin D, Zhu L, Majumdar S, White JC, Gardea-Torresdey JL, Xing B. *Nanotoxicology*, 2017, 11: 591–612
- 65 Glomstad B, Altin D, Sørensen L, Liu J, Jenssen BM, Booth AM. *Environ Sci Technol*, 2016, 50: 2660–2668
- 66 Song M, Wang F, Zeng L, Yin J, Wang H, Jiang G. *Environ Sci Technol*, 2014, 48: 13978–13984
- 67 Deng Y, Eitzer B, White JC, Xing B. *Environ Sci-Nano*, 2017, 4: 149–159
- 68 Li J. Assessing toxicity of Carbon based nanoparticles in cells and zebrafish by using biospectroscopy. *Dissertation for the Doctoral Degree*. Lancaster: Lancaster University, 2015. 189
- 69 Park JW, Henry TB, Menn FM, Compton RN, Sayler G. *Chemosphere*, 2010, 81: 1227–1232
- 70 Park JW, Henry TB, Ard S, Menn FM, Compton RN, Sayler GS. *Nanotoxicology*, 2011, 5: 406–416
- 71 Kelsey JW, White JC. *Environ Toxicol Chem*, 2013, 32: 1117–1123
- 72 Fang L, Borggaard OK, Holm PE, Hansen HCB, Cedergreen N. *Environ Toxicol Chem*, 2011, 30: 2553–2561
- 73 Hao L, Song H, Zhang L, Wan X, Tang Y, Lv Y. *J Colloid Interface Sci*, 2012, 369: 381–387
- 74 Oleszczuk P, Pan B, Xing B. *Environ Sci Technol*, 2009, 43: 9167–9173
- 75 Nagajyoti PC, Lee KD, Sreekanth TVM. *Environ Chem Lett*, 2010, 8: 199–216
- 76 Deng X, Lü L, Li H, Luo F. *J Hazard Mater*, 2010, 183: 923–930
- 77 Li YH, Wang S, Luan Z, Ding J, Xu C, Wu D. *Carbon*, 2003, 41: 1057–1062
- 78 Martinez DST, Alves OL, Barbieri E. *J Phys-Conf Ser*, 2013, 429: 012043
- 79 Wang X, Qu R, Allam AA, Ajarem J, Wei Z, Wang Z. *Environ Toxicol Chem*, 2016, 35: 1852–1859
- 80 Hu X, Kang J, Lu K, Zhou R, Mu L, Zhou Q. *Sci Rep*, 2015, 4: 6122
- 81 Wang F, Yao J, Liu H, Liu R, Chen H, Yi Z, Yu Q, Ma L, Xing B. *J Hazard Mater*, 2015, 292: 137–145
- 82 Cui X, Wan B, Guo LH, Yang Y, Ren X. *Environ Sci Technol*, 2016, 50: 12473–12483
- 83 Wang M, Liu SS, Long Y, Gong SJ, Tian B, Ma TW. *Acta Sci Circumst*, 2015, 35: 4150–4158 (in Chinese) [王萌, 刘珊珊, 龙奕, 龚双姣, 田斌, 马陶武. 环境科学学报, 2015, 35: 4150–4158]
- 84 Barbieri E, Campos-Garcia J, Martinez DST, da Silva JRMC, Alves OL, Rezende KFO. *Microsc Microanal*, 2016, 22: 1162–1169
- 85 Wang L, Liu JH, Song ZM, Yang YX, Cao A, Liu Y, Wang H. *Sci China Chem*, 2016, 59: 910–917
- 86 Qin L, Huang Q, Wei Z, Wang L, Wang Z. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2014, 38: 199–204
- 87 Kim KT, Klaine SJ, Lin S, Ke PC, Kim SD. *Environ Toxicol Chem*, 2010, 29: 122–126
- 88 Henry TB, Wileman SJ, Boran H, Sutton P. *Environ Sci Technol*, 2013, 47: 9997–10004
- 89 Tao X, He Y, Fortner JD, Chen Y, Hughes JB. *Chemosphere*, 2013, 92: 1245–1252
- 90 Yu Y, Bian WL, Zhang HM, Zhang B, He YL. *Environ Sci*, 2015, 36: 2713–2718 (in Chinese) [于叶, 卞为林, 张慧敏, 张波, 何义亮. 环境科学, 2015, 36: 2713–2718]
- 91 Dubyak GR. *Cell Microbiol*, 2012, 14: 1697–1706
- 92 Yu ZG, Wang WX. *Water Res*, 2013, 47: 4179–4187
- 93 Wei L, Thakkar M, Chen Y, Ntim SA, Mitra S, Zhang X. *Aquat Toxicol*, 2010, 100: 194–201
- 94 Nielsen HD, Berry LS, Stone V, Burrridge TR, Fernandes TF. *Nanotoxicology*, 2008, 2: 88–9799
- 95 Long Z, Ji J, Yang K, Lin D, Wu F. *Environ Sci Technol*, 2012, 46: 8458–8466
- 96 Schwab F, Bucheli TD, Lukhele LP, Magrez A, Nowack B, Sigg L, Knauer K. *Environ Sci Technol*, 2011, 45: 6136–6144

- 97 Sun TY, Gottschalk F, Hungerbühler K, Nowack B. *Environ Pollut*, 2014, 185: 69–76
- 98 Sun TY, Bornhöft NA, Hungerbühler K, Nowack B. *Environ Sci Technol*, 2016, 50: 4701–4711
- 99 Mottier A, Mouchet F, Pinelli É, Gauthier L, Flahaut E. *Curr Opin Biotech*, 2017, 46: 1–6
- 100 Guo B, Zebda R, Drake SJ, Sayes CM. *Part Fibre Toxicol*, 2009, 6: 4
- 101 Dinh NX, Quy NV, Huy TQ, Le AT. *J Nanomater*, 2015, 2015: 1–11
- 102 Magesky A, Pelletier É. *Aquat Toxicol*, 2015, 167: 106–123
- 103 Zheng X, Su Y, Chen Y, Wan R, Li M, Huang H, Li X. *Sci Rep*, 2016, 6: 27748

Joint toxicity of carbon nanomaterials and coexisting pollutants

Huan Yao¹, Yongpeng Wei¹, Shuang Yin¹, Xuesong Cao¹, Yonghui Dang¹, Yongbo Ji¹, Ruifeng Hou¹, Lina Xu¹, Yanhui Dai¹, Zhenyu Wang^{2*}, Jian Zhao^{1*}

¹ Key Laboratory of Marine Environment and Ecology, Ministry of Education; Ocean University of China, Qingdao 266100, China

² School of Environment and Civil Engineering, Jiangnan University, Wuxi 214122, China

*Corresponding authors (email: wang0628@ouc.edu.cn; zhaojian047@126.com)

Abstract: With wide applications, the production of carbon nanomaterials (CNMs) is rapidly increased, and the CNMs in nanoproducts during consumption are inevitably released into the environment. CNMs in the environment can interact with co-existing pollutants (e.g., organic pollutants, heavy metals and other nanoparticles), thus affecting their fate and toxicity. Therefore, the joint toxicity of CNMs and co-existing pollutants cannot be neglected during the environmental risk assessment of CNMs. In this review, we firstly summarized the mechanisms of direct and indirect toxicity of CNMs; then the joint toxicity of CNMs with other pollutants was emphatically discussed to elaborate the difference with single toxicity; finally, the evaluation methods, research level and challenges of the joint toxicity of CNMs with co-existing pollutants were analyzed and prospected. This review will provide a theoretical basis for the accurate assessment and better understanding of the environmental risks of CNMs.

Keywords: carbon nanomaterials, organic pollutants, heavy metal pollutants, joint toxicity

doi: [10.1360/N032018-00004](https://doi.org/10.1360/N032018-00004)