

纳米二氧化钛和 纳米氧化锌的 Ames 试验

马茂才¹/黄萍¹/晏辉²

陶云¹/邓雅斌¹/李东辉^{1,*}

(1. 厦门大学医学院抗癌研究中心, 福建
厦门 361005; 2. 广州市海珠区人民医院,
广东 广州 510220)

Ames test of nano TiO₂ and nano ZnO

MA Mao-cai¹, HUANG Ping¹, YAN Hui²,

TAO Yun¹, DENG Ya-bin¹, LI Dong-hui^{1,*}

(1. Cancer Research Center, Medical College, Xiamen
University, Xiamen 361005; 2. People's Hospital of
Haizhu, Guangzhou 510220, Guangdong, China)

【摘要】目的: 研究纳米二氧化钛、纳米氧化锌两种纳米光催化材料的潜在致突变性。方法: 采用 Ames 试验平板掺入法, 计数 TA97, TA98, TA100, TA102 四种菌株分别在纳米二氧化钛及纳米氧化锌 5 个不同浓度下的回变菌落数。结果: 纳米二氧化钛、纳米氧化锌材料各剂量组均未引起测试菌株回变菌落数的明显增加。Ames 试验结果均为阴性。结论: 纳米二氧化钛、纳米氧化锌在实验剂量范围内未见致突变性。

【关键词】 纳米光催化材料; Ames 试验; 致突变性; 纳米二氧化钛; 纳米氧化锌

中图分类号: R994.3

文献标识码: A

文章编号: 1004-616X(2010)04-0302-03

【ABSTRACT】 OBJECTIVE: To study the potential mutagenicity of two photocatalytic nanomaterials, nano TiO₂ and nano ZnO. METHODS: In the plate incorporation test of Salmonella typhimurium, the average colony number of spontaneous revertants of TA97, TA98, TA100, TA102 were set at 5 concentrations. RESULTS: The colony number of revertants for the materials tested did not increase with statistical significance, compared with that of spontaneous revertants. The results of Ames test for the two kinds of nanoparticle were negative. CONCLUSION: The results imply that the two kinds photocatalytic nanomaterials tested did not show potential mutagenicity.

【KEY WORDS】 photocatalytic nanomaterials; Ames test; mutagenicity; nano titanium dioxide; nano zinc oxide

近几十年来, 环境污染物的光催化转化、降解和矿化的研究备受人们的关注。这些反应能在常温常压下发生, 仅需要光、氧气和水, 就能使许多有毒的有机污染物发生转化、降解或矿化, 生成易被生物降解的小分子、二氧化碳和无机离子。与现有的吸附、焚烧、生物氧化等技术相比, 深度氧化的光催化技术具有成本低、矿化率高、二次污染少等优势, 有望成为下一代环保新技术。

光催化纳米材料是指一类具有光催化活性、能在紫外光甚至可见光照射下降解各类化学物质或杀灭细菌的半导体纳米材料。由于其独特的物理化学特性, 光催化纳米材料在降解化工废水、农药废水、染料废水、含油废水、造纸废水等有机、无机废水以及自来水净化、大气

污染治理等方面有着重要的作用^[1-3]。然而, 各种尺度的纳米材料由于颗粒微小, 易以各种不同的途径进入人体, 其安全性的评价是一个重要而现实的问题。Ferin 等^[4]研究发现超微 TiO₂ (平均直径为 20 nm) 引起的大鼠肺部炎症比相同质量浓度的微米级细 TiO₂ (平均直径为 250 nm) 更为严重。Renwick 等^[5]在研究 29 nm 超细 TiO₂ 和 250 nm TiO₂ 颗粒对巨噬细胞株 (J77412MF) 吞噬能力的影响时发现, 29 nm 比 250 nm 的 TiO₂ 颗粒对巨噬细胞吞噬能力的抑制作用更明显。但目前关于纳米材料尤其是纳米光化学催化材料的致突变性和安全性的研究报道仍很少。为此, 本研究采用 Ames 试验对纳米二氧化钛、纳米氧化锌是否具有致突变性进行评价。

收稿日期: 2010-01-25; 修订日期: 2010-04-21

基金项目: 国家自然科学基金项目 (90206016), 福建省科技重点项目 (2001H045)

作者简介: 马茂才 (1982-), 男, 河北人, 硕士研究生, 研究方向: 纳米材料的生物安全。

* Correspondence to: LI Dong-hui, E-mail: Lidh@xmu.edu.cn



1 材料与方法

1.1 实验材料与菌株

受试物为锐钛矿型纳米二氧化钛(厦门迈凯伦科技有限公司), 纯度 > 99%, 平均粒径 5~ 10 nm; 纳米氧化锌(厦门迈凯伦科技有限公司) 纯度 > 99.7%, 平均粒径 30~ 40 nm。阳性对照诱变剂为 2_氨基芴(2_AF, sigma)、叠氮钠(NaN₃, 国药集团上海化学试剂有限公司)。

实验采用标准测试菌株 TA97, TA98, TA100, TA102 四种菌株。菌株由广州市疾控中心提供, - 80 °C 冰箱贮存。

各菌株按照国际 YY/ T 0127. 10- 2001 的方法进行如下鉴定: ①组氨酸需求(his⁻) 试验; ②脂多糖屏障缺陷鉴定(rfa 突变); ③对紫外线敏感性鉴定(uvrB 修复缺陷型的鉴定); ④抗氨基青霉素(PKM101) 试验(菌株 R 因子丢失鉴定); ⑤四环素(PAQI) 抗性的鉴定; ⑥自发回变数(his⁺) 的测定; ⑦对阳性突变剂的敏感性鉴定。

1.2 Ames 试验

肝微粒体酶活化系统(S₉) 制备^[6] 采用苯巴比妥和 5, 6_苯黄酮联合诱导方法。操作过程在无菌和局部低温环境下进行, - 80 °C 冰箱贮存。

将纳米材料溶液经超声处理 30 min 后, 各纳米材料分别设立 5 个剂量组, 其中纳米二氧化钛溶液分设每皿 50, 25, 10, 5, 2.5 μg 等 5 个剂量组; 纳米氧化锌溶液

分设每皿 10, 8, 6, 4, 2 μg 等 5 个剂量组。另设自然回变对照组、溶剂对照组(水)和阳性对照组(2_AF, NaN₃)。

用菌株 TA97, TA98, TA100, TA102, 在加与不加 S₉ 混合液条件下, 纳米二氧化钛、纳米氧化锌以平板掺入法进行 Ames 试验; 各菌株每剂量组做 3 个平行皿, 整个试验重复 2 次。

1.3 结果的判定

以受试物的回变菌落数为溶剂对照回变菌落数的 2 倍或 2 倍以上, 且呈剂量_反应关系者, 判定为致突变阳性。

受试物经上述 4 个试验菌株测定后, 只要有 1 个试验菌株, 无论加 S₉ 或未加 S₉ 都表现为阳性, 均可定为该受试物对鼠伤寒沙门氏菌为致突变阳性。当受试物经 4 个试验菌株检测后, 无论加 S₉ 和未加 S₉ 均为阴性, 则定为该受试物为致突变阴性。

2 结果

见表 1、表 2。在加与不加体外代谢活化系统 S₉ 的情况下, 2 种不同浓度的光催化纳米材料对鼠伤寒沙门氏菌 TA97, TA98, TA100 和 TA102 的诱发回变菌落数均未超过自发回变菌落数的 2 倍, 即均未呈现致突变作用。

表 1 纳米 TiO₂ 回变菌落数 ($\bar{x} \pm s$)
Table 1 The colony number of revertants of nano TiO₂ ($\bar{x} \pm s$)

Group	TA97		TA98		TA100		TA102		
	S ₉ (-)	S ₉ (+)	S ₉ (-)	S ₉ (+)	S ₉ (-)	S ₉ (+)	S ₉ (-)	S ₉ (+)	
NRG	118±14	115±11	32±6	32±7	136±20	158±15	239±21	244±15	
TiO ₂	50 μg	113±18	116±16	31±8	35±11	148±16	146±16	241±13	249±19
	25 μg	120±21	120±7	34±10	34±8	142±18	142±10	245±11	267±16
	10 μg	131±10	115±13	36±6	36±6	137±13	153±15	231±19	239±21
	5 μg	117±12	112±16	32±12	34±4	144±9	149±8	251±9	248±25
	2.5 μg	118±6	120±11	32±9	34±8	136±10	144±12	246±14	249±16
DCG	106±9	115±14	33±7	38±6	138±12	139±13	243±23	247±22	
PCG	-	952±144*	-	2887±206*	3620±186#	1645±309*	-	253±19*	

NRG: natural reverse group; DCG: dissolvent control group; PCG: positive contrast group. Positive control: *, 2_AF(10.0 μg/plate); #, NaN₃(1.5 μg/plate)

表 2 纳米 ZnO 回变菌落数 ($\bar{x} \pm s$)
Table 2 The colony number of revertants of nano ZnO ($\bar{x} \pm s$)

Group	TA97		TA98		TA100		TA102		
	S ₉ (-)	S ₉ (+)	S ₉ (-)	S ₉ (+)	S ₉ (-)	S ₉ (+)	S ₉ (-)	S ₉ (+)	
NRG	124±15	124±7	35±12	37±6	142±19	147±15	248±21	247±15	
ZnO	10 μg	121±17	119±19	33±10	34±8	142±11	149±21	249±16	253±14
	8 μg	129±13	123±16	33±9	32±13	144±6	146±14	251±17	252±15
	6 μg	117±26	125±9	34±7	34±7	156±9	149±20	243±19	246±10
	4 μg	123±11	112±10	33±8	39±4	134±23	142±12	261±12	259±13
	2 μg	119±18	122±11	37±12	38±5	154±18	150±21	247±23	246±19
DCG	124±21	121±16	34±12	33±9	147±19	142±29	253±14	257±22	
PCG	-	968±201*	-	3019±435*	3547±383#	3671±403*	-	243±29*	

NRG: natural reverse group; DCG: dissolvent control group; PCG: positive contrast group. Positive control: *, 2_AF(10.0 μg/plate); #, NaN₃(1.5 μg/plate)



3 讨论

遗传毒性试验方法目前已有 200 多种, 常规使用的约 20 种。检测基因突变的试验方法中, Ames 试验是应用最广泛的方法之一^[7]。该法于 1975 年由美国加州大学 Ames BN^[8] 建立, 其原理是利用鼠伤寒沙门氏菌 (*Salmonella typhimurium*) 的组氨酸缺陷型突变株 (*his*) 发生回复突变的特性, 对化学物质致突变性进行初步筛选, 实验结果与啮齿类致癌试验有很高的符合率。

目前, 大多数光催化剂为半导体材料, 常见的有 TiO₂, ZnO, CdS, WO₃, Fe₂O₃, PbS, SnO₂, InO₃, ZnS, SrTiO₃, LaCoO₃, SiO₂ 等。其中, TiO₂ 由于具有良好的化学、生物和光稳定性, 催化活性高、价格合理、使用寿命长, 而被公认为是最佳的光催化剂^[9-10]。TiO₂ 是一种半导体金属氧化物, 其晶型主要有锐钛矿型和金红石型, 其中锐钛矿型的催化活性较高^[11]。而纳米 ZnO 作为另一种重要的光催化剂, 对一些染料的脱色效果比纳米 TiO₂ 更好^[12]。

本文采用 TA97、TA98、TA100 和 TA102 标准菌株, 对最常见的光催化纳米材料纳米二氧化钛、纳米氧化锌进行了 Ames 实验, 结果显示均为阴性, 表明纳米 TiO₂、纳米 ZnO 在实验剂量范围内不具有诱变性。对于纳米二氧化钛、纳米氧化锌是否具有致癌、致畸、致突变的效应尚需结合骨髓细胞微核试验、小鼠精子实验等其它体内、外实验结果进行综合评价。

参考文献

[1] 田秀兰. 纳米二氧化钛的合成及其在环保领域的应用[J]. 节能与环保, 2006, (8): 81- 82.

[2] 任英莲. 绿色环保的纳米二氧化钛水处理技术应用[J]. 机械管理开发, 2006, (2): 66- 67.

[3] 姚恩亲, 桂和荣. 二氧化钛催化深度处理矿井水[J]. 煤炭工程, 2006, (6): 94- 98.

[4] Ferin J. Material properties of MMVFS and their time-dependent failure in lung environments [J]. *Inhal Toxicol*, 2001, 13(12): 1117- 1149.

[5] Renwick LC, Brown D, Clouter A, et al. Increased inflammation and altered macrophage chemotactic responses caused by two ultrafine particle types[J]. *Occup Environ Med*, 2004, 61(5): 442- 447.

[6] 王亚其, 李宏霞, 肖凯, 等. 两种诱导方法制备大鼠肝 S9 在两种遗传毒性试验中活性比较 [J]. 现代预防医学, 2006, 33(4): 457- 463.

[7] 郝和平. 医疗器械生物学评价实施指南 [M]. 北京: 中国标准出版社, 2000: 16.

[8] Ames BN, McCann J, Yamasaki E. Methods for detecting carcinogens and mutagens with the *Salmonella/mammalian-microsome mutagenicity test* [J]. *Mut Res*, 1975, (31): 347- 364.

[9] Akiar F, Tatan R, Donalda TRYK. Titanium dioxide photocatalysis [J]. *J Photochem Photobiol C: Photochem Rev*. 2000, 1(1): 1- 21.

[10] 郑小明, 周仁贤. 环境保护中的催化治理技术 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2003: 264- 265.

[11] Scalafani A, Hemann JM. Comparison of the photoelectronic and photocatalytic activities of various anatase and rutile forms titania in pure liquid organic phases and aqueous solutions [J]. *J Phys Chem*, 1996, 100(32): 13655- 13661.

[12] 钟己未, 万益群, 付敏恭, 等. 纳米氧化锌光催化降解有机染料性能的研究 [J]. 分析实验室, 2006, 25(12): 30- 34.

(上接第 301 页)

参考文献

[1] Grau C, Overgaard J. Effects of cancer chemotherapy on the hypoxic fraction of solid tumor measured using a local tumor control assay [J]. *Radiother Oncol*, 1988, 13(4): 301- 309.

[2] Brown JM. Sensitizers and protectors in radiotherapy [J]. *Cancer*, 1985, 55(Sup 9): 2222- 2228.

[3] Sigounas G, Sallah S, Sigounas VY. Erythropoietin modulates the anticancer activity of chemotherapeutic drugs in a murine lung cancer model [J]. *Cancer Lett*, 2004, 214(2): 171- 179.

[4] Lövey J, Bereczky B, Gilly R, et al. Recombinant human erythropoietin alpha improves the efficacy of radiotherapy of a human tumor xenograft, affecting tumor cells and microvessels [J]. *Strahlenther Onkol*, 2008, 184(1): 1- 7.

[5] Silver DF, Piver MS. Effects of recombinant human erythropoietin on the antitumor effect of cisplatin in SCID mice

bearing human ovarian cancer: a possible oxygen effect [J]. *Gynecol Oncol*, 1999, 73(2): 280- 284.

[6] 于金明, 徐忠法. 肿瘤临床通鉴 [M]. 济南: 山东科学技术出版社, 2004: 1194- 1207.

[7] Thallinger C, Werzowa J, Poepl W, et al. Comparison of a treatment strategy combining CCL779 plus DTIC versus DTIC monotherapy in human melanoma in SCID mice [J]. *J Invest Dermatol*, 2007, 127(10): 2411- 2417.

[8] Okazaki T, Ebihara S, Asada M, et al. Erythropoietin promotes the growth of tumors lacking its receptor and decreases survival of tumor-bearing mice by enhancing angiogenesis [J]. *Neoplasia*, 2008, 10(9): 932- 939.

[9] Anagnostou A, Lee ES, Kessimian N, et al. Erythropoietin has a mitogenic and positive chemotactic effect on endothelial cells [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 1990, 87(15): 5978- 5982.

