

碳纳米材料的生物毒性效应研究及展望*

阎晓萍¹ 黄 绚^{1*} 杨 坤²

(1. 浙江省环境保护科学设计研究院, 浙江 杭州 310007; 2. 浙江大学环境与资源学院, 浙江 杭州 310028)

摘要 随着纳米技术的迅猛发展和纳米材料的广泛应用,越来越多的人开始关注并研究纳米材料的环境安全性,特别是生物毒性。在介绍碳纳米材料的基础上,分析了碳纳米颗粒进入生物体的可能途径及在生物体内的迁移和分布,重点综述了碳纳米材料的生物毒性效应及致毒机制方面的研究进展,并展望了碳纳米材料生物毒性领域的研究方向。

关键词 纳米技术 纳米颗粒 生物毒性 效应

Advance and perspectives of the bio-toxicity of carbon nanomaterial LV Xiaoping¹, HUANG Xuan¹, YANG Kun².
(1. Environmental Science Research and Design Institute of Zhejiang Province, Hangzhou Zhejiang 310007; 2. College of Environment and Resource, Zhejiang University, Hangzhou Zhejiang 310028)

Abstract: With the rapid development of nanotechnology and wide application of nanomaterial in the field of high-tech, the environment safety of nanomaterial, especially its bio-toxicity, has received considerable attention. Base on the brief introduction of some common carbon nanomaterials, this paper analyzed the potential enter pathways, transfer and distribution of carbon nanomaterials in living organisms. The progress of potential bio-toxicities and the underlying mechanisms of carbon nanoparticles were reviewed emphatically in this paper for better acknowledge their potential health and environmental risks. Finally, the future research perspective of carbon nanomaterials in field of bio-toxicity was proposed.

Keywords: nanotechnology; nano-particles; bio-toxicity; effect

纳米技术被誉为 21 世纪最有发展前途的新技术之一。合成纳米材料已在各领域开始广泛应用。据近期的调查估计,市面上出现的含有纳米材料的商品已超过 800 种。美国国家科学基金曾预测,与纳米技术相关的市场将在 2011—2015 年达到 1 万亿美元^[1]。2003 年,一些研究工作发现,C₆₀等纳米材料具有生物毒性^[2]。因此,纳米技术专家和环境科学家等开始关注纳米技术带来的潜在环境和健康危害。《Science》、《Nature》等国际著名期刊相继发表文章,呼吁必须开展纳米尺度物质的环境安全性研究,如果不及时进行纳米尺度物质和纳米技术的环境健康危害研究,将危及政府和公众对纳米技术的信任和支持,加强纳米技术安全性的研究已刻不容缓^[3-7]。随后,美国环境保护署(EPA)、国家自然科学基金委(NSF)、纳米技术研究中心(NNI)、英国贸易和工业部(DTI)、欧盟及加拿大等都相继制订和启动了纳米材料环境安全性相关的研究计划,研究纳米材料的毒理学及纳米颗粒的迁移转化和归宿等环境地球化学行为,以评价纳米技术发展可能带

来的潜在的人体健康和环境危害。2009 年 8 月 19 日,《路透社》公布了首例人体因为长期接触纳米材料导致的死亡病例,引起了人们对纳米材料安全性的极大担忧。

碳纳米材料是一类已广泛应用的主要纳米材料,很多研究发现它们具有细胞和生物毒性^{[8,9],[10]1378-1383},已开始被认为是一类潜在的新型污染物。目前,对碳纳米材料的生物毒性研究尚处于起步阶段,研究内容与深度急需拓展与加强。因此,笔者综述了碳纳米材料生物毒性相关领域的研究进展,并对今后的研究方向作了探讨和展望,希望有助于促进碳纳米材料环境和健康风险的相关科学研究工作,为碳纳米材料的持续和健康生产使用提供理论指导和技术保障。

1 碳纳米材料

碳纳米材料主要包括富勒烯、单壁碳纳米管(SWCNTs)和多壁碳纳米管(MWCNTs)^[11]。富勒烯单体是一个由多个碳原子构成的石墨球(见图1

第一作者:阎晓萍,女,1977 年生,本科,工程师,主要从事环境影响评价工作。* 通讯作者。

* 国家自然科学基金资助项目(No. 40973065);浙江省自然科学基金资助项目(No. R5110004);中央高校基本科研业务费专项资金资助项目。



图 1 富勒烯、SWCNTs 和 MWCNTs 的单体结构示意图
Fig. 1 Monomer structures of Fullerene, SWCNTs and MWCNTs

(a)), 常见的能构成富勒烯的碳原子数为 60 个, 因此富勒烯也称 C_{60} 。碳纳米管(CNTs)单体是由石墨片卷曲形成的圆柱型管, 单层石墨片卷曲形成的称为 SWCNTs(见图 1(b)); 2 层或多层石墨片卷曲形成的称为 MWCNTs(见图 1(c))。1985 年, KROTO 等^[12] 最早发现了富勒烯。MWCNTs、SWCNTs 则由 IJIMA 等^[13,14] 研究发现。人工合成是碳纳米材料的主要来源并可能造成环境和健康危害。此外, 人类一些生产生活过程如烹饪、发电、工业锅炉和柴油机燃烧、焊接等以及陨石撞击、火山爆发、森林大火等极端的地质条件下也会产生富勒烯和 CNTs^[15]。

由于它们的纳米效应(如高比表面积、高反应活性、量子效应等优越性能)对物理学、化学、生物学、医学、环境科学、材料科学和工程科学等领域产生了巨大的、根本的影响, 并正在直接导致很多工业产生革命性的变革。至今, 碳纳米材料已在电子、光电、生物医学、制药、化妆品、涂料、环境、储能等方面得到了广泛应用。2007—2008 年, 碳纳米材料的全球生产和使用量约为 350 t^[16], 而且其生产和使用量正呈指数增长。根据市场调查预测, 碳纳米材料单作为电子元件材料的全球商业价值在 2009 年就可达到 360 亿美元。在生产、运输、使用、处置和处理过程中, 碳纳米材料颗粒必然会进入环境^[17-19]。尽管目前在环境空气、水体和土壤中测到的碳纳米颗粒浓度仍然非常低^[20], 它们的实际环境和健康危害还没有完全暴露出来, 但是随着它们生产和使用量快速增长, 它们在环境中的浓度必然迅速增加并展现出环境和健康危害^[21]。研究表明, 碳纳米颗粒能穿过细胞壁和细胞膜进入生命体的任何部位, 能引发细胞炎症和生物肺部肿瘤等, 因此很可能对人体、植物、动物和其他生物体产生毒性效应。而且, 碳纳米材料溶解度低、脂肪性强, 是目前发现的最难生物降解的人工合成材料之一, 它们很可能沿着食物链传递并积累^[22,23]。

2 碳纳米颗粒进入生物体的途径

碳纳米颗粒能进入人体、植物、动物和其他生物体并产生毒性的关键是它们能穿过细胞壁和细胞膜进入细胞, 从而能到达生命体的任何部位。碳纳米颗粒进入细胞的一种可能途径是直接破坏细胞壁或细胞膜结构, 从而通过细胞膜破坏处进入细胞^[24]; 另一种可能途径是通过细胞内陷、膜通道及细胞吞噬作用等进入细胞内部^[25]。这 2 种途径是碳纳米颗粒进入微生物体的主要途径, 也是它们在人体、植物和动物的微观途径。从宏观途径来看, 环境中碳纳米颗粒进入植物的主要可能路径包括植物从土壤/水中通过根系吸收和从空气中通过叶面吸收^{[26]1128-1132, [27]243-250}; 而环境中碳纳米颗粒进入人体和动物的主要可能路径包括呼吸、饮食和皮肤接触渗入^[28]。例如, 碳纳米颗粒较轻, 容易在空气中传播, 因此会通过呼吸道进入呼吸系统引起毒性。此外, 碳纳米材料作为药物的载体, 很可能会通过药物注射的方式大量进入人体和动物体^[29,30]。

3 碳纳米颗粒在生物体内的迁移及分布

理论上, 由于碳纳米颗粒能进入细胞, 因而能到达生命体的任何部位。但是, 它们在生物体内的迁移和分布也会随着生物体各组织和器官的功能不同而不同。例如, 碳纳米颗粒可快速穿过动物和人体胃肠道并排出体外, 因此在胃肠道的积累及毒性不明显^{[31]3025-3029}。静脉注射研究表明, SWCNTs 会扩散到肝、肺、肾等器官, 因此在血液的积累及毒性不明显。

目前, 对碳纳米颗粒在植物体内迁移及分布的研究非常少。仅有 LIN 等^{[26]1128-1132} 研究表明, 碳纳米颗粒能被水稻吸收、转运至地上部分及果实中, 并可以通过果实和种子转移到下一代。但是, 对其他金属纳米颗粒及金属氧化物纳米颗粒的研究表明, 它们可以进入植物根部细胞并被转运至植物地上部

分。例如, ZnO 纳米颗粒能进入黑麦草根中的维管束组织细胞^[32]; 铜纳米颗粒也能进入绿豆和小麦幼苗根部细胞^[33]; 磁性 Fe_3O_4 纳米颗粒能被南瓜吸收、富集并被转运到地上部分^[34]。

对碳纳米颗粒在细胞和动物体内迁移及分布的研究相对较多。研究表明, C_{60} 能进入人类巨噬细胞的细胞质、溶酶体和细胞核。动物(小鼠和大鼠)试验表明, 碳纳米颗粒可在上皮内发生一定的迁移^[35], 可进入血液循环并在循环系统内进行迁移^[36], 亦可能经神经轴突迁移^[37]。通过呼吸道进入人体的碳纳米颗粒主要在鼻咽部、气管支气管区域及肺泡 3 个主要区域沉积, 且它们在 3 个区域的沉积量分布随粒径改变。例如, 粒径为 1 nm 碳纳米颗粒吸入后, 在鼻咽部的沉积率为 90%, 在气管支气管区域只有约 10%, 而肺泡区几乎没有任何沉积; 粒径为 5 nm 的碳纳米颗粒吸入后, 在呼吸道的 3 个区域的沉积率基本都是 30%; 粒径为 20 nm 的碳纳米颗粒则主要沉积在肺泡区(沉积率超过 50%), 而在气管支气管区域和鼻咽部的沉积率均约 15%^[38]。大量研究结果表明, 纳米颗粒进入血液后, 血液中的调理素蛋白会与纳米颗粒结合, 使纳米颗粒很容易被肝脏及脾脏中的巨噬细胞识别并吞噬, 单核巨噬细胞吞噬系统(MPS)将纳米颗粒从血液中清除, 而同时大量的纳米颗粒会积累在肺脏、肝脏和脾脏等组织。例如, 静脉注射研究表明, SWCNTs 会扩散到少数的肝、肺、肾等器官; 另一研究发现, 经支气管注入 MWCNTs 后, 完整的未研磨的 MWCNTs(平均长度为 5.9 μm) 主要停留在支气管中, 而研磨后 MWCNTs(平均长度约为 0.7 μm) 分散于整个肺部组织^[39]。同位素示踪(^{125}I 标记)研究证明, 羟基化 SWCNTs 通过静脉注射、皮下注射、腹腔注射、灌胃 4 种方式给药进入小鼠体内后, 其小鼠体内的行为和小分子极为相似, 可以在除了脑部外的全身各组织中自由穿梭, 而经一定时间后大部分可经过肾脏排出体外^[40]。除了肾脏排泄外, 胃肠道排泄可能是碳纳米颗粒在生物体中清除的主要机制。研究表明, 大部分碳纳米颗粒可穿过胃肠道并快速排出体外。PETERSEN 等^[41] 研究发现, CNTs 能被寡毛纲水生底栖动物、水蚤和蚯蚓等取食, 但仅停留在肠内, 没有分配到其他组织中, 也未发现有显著毒性效应。

4 碳纳米材料对生物体的毒性效应及其机制

目前, 对碳纳米材料的生物毒性报道主要

集中在细胞和动物试验, 而对植物毒性的研究非常少。尽管已有很多研究发现, 金属氧化物(如 Al_2O_3 、ZnO、 TiO_2 等)纳米颗粒对藻类、黑麦草等植物能产生显著的毒性^[42,43], 但目前仅有 LIN 等^{[27]243-250} 研究表明, MWCNTs 对黑麦草、萝卜等 6 种植物种子的发芽和根生长没有抑制作用。因此, 下面主要阐述碳纳米材料的细胞和动物毒性的研究现状。

4.1 碳纳米材料的生物毒性与剂量效应

研究表明, 无论 C_{60} 还是 CNTs, 它们均对细胞、微生物、动物等具有毒性, 且其毒性与碳纳米材料浓度呈正相关, 存在显著的毒性剂量效应关系。

细胞试验表明, C_{60} 质量浓度为 2.2 $\mu\text{g}/\text{L}$ 时就能破坏人类淋巴细胞的 DNA, 具有遗传毒性^[44]。MWCNTs 也能损伤老鼠胚胎干细胞的 DNA^[45]。JIA 等^{[10]1378-1383} 研究发现, SWCNTs 在剂量为 0.38 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ 时就能抑制巨噬细胞的噬菌作用, 而 MWCNTs 和 C_{60} 在 3.06 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ 时也会对巨噬细胞产生毒性作用。MAGREZ 等^[46] 研究发现, 0.02 mg/L 的 MWCNTs 就能显著抑制人类肿瘤细胞的分裂生长。

细菌试验表明, C_{60} 对大肠杆菌和枯草芽孢杆菌的最小抑制质量浓度为 0.5~3.0 mg/L, 对大肠杆菌的抑制效果好于枯草芽孢杆菌^[47]。JOHANSEN 等^[48] 研究发现, 虽然 C_{60} (5~50 mg/kg) 拌入土壤后没有影响土壤微生物的总量, 却显著降低了那些快速生长的菌种数量。ARIAS 等^{[49]3003-3012} 研究发现, 羧基和羟其化的 SWCNTs 在 50 mg/L 时就能显著抑制细菌生长, 而 MWCNTs 的抑菌作用则不明显。

动物试验表明, 0.2 mg/L 的 C_{60} 就可以使斑马鱼的胚胎产生畸形水肿, 增加死亡率^[50]。ZHU 等^[51] 研究发现, MWCNTs 在 1 mg/L 时就能损害水生单细胞真核动物贻贝棘尾虫的细胞膜、线粒体和细胞核, 并抑制贻贝棘尾虫的生长。ROBERTS 等^{[31]3025-3029} 发现, 水蚤暴露在 20 mg/L 的 SWCNTs 悬浮液中会全部死亡。 C_{60} 对水蚤的毒性剂量效应与其悬浮液的制备方法有关, 四氢呋喃(THF)/ $n\text{C}_{60}$ (THF 助悬浮的 C_{60}) 的半致死质量浓度(LC_{50}) 为 0.6^{[52]1132-1137}、0.8^{[53]5-9} mg/L, 而 aqu/ $n\text{C}_{60}$ (纯水中超声悬浮的 C_{60}) 的 LC_{50} 增加到 7.9^{[52]1132-1137}、>35^{[53]5-9} mg/L。支气管注入研究表明, 注入 C_{60} 、SWCNTs 和 MWNTs 均能造成小鼠肺部组织的炎症反应、肉芽肿形成及肿瘤坏死因子的产生^[54,55]。

例如,注入剂量为 0.5 mg 的 SWCNTs,可以造成一部分小鼠死亡,另一部分小鼠的肺部出现以肉芽瘤为特征的损伤。静脉注射研究表明,SWCNTs 会扩散到小鼠的肝、肺、肾等器官,并引起肺部细胞的轻微炎症。

尽管上述研究均表明,碳纳米材料对细胞、微生物和动物具有显著的毒性效应,但也有研究表明它们不会产生明显的毒性。例如,SAYES 等^[56]对小鼠进行气管内滴注,暴露 1 d 时 C_{60} 可引起短暂的炎症和细胞损伤,但 3 个月后肺部无明显的副作用,指出 C_{60} 对小鼠肺部无毒性或毒性较小。BAKER 等^[57]发现,短期(10 d)呼吸暴露 C_{60} (2.22、2.35 mg/m^3)未对小鼠产生明显毒性效应。

4.2 碳纳米材料的生物毒性与粒径的表面效应

碳纳米颗粒的生物毒性除了与其剂量有关外,也受其形状特别是碳纳米颗粒粒径的影响。例如,ARIAS 等^[49]3003-3012、KANG 等^[58]6409-6413 研究发现,SWCNTs 的毒性显著强于 MWCNTs。此外,ARIAS 等^[49]3003-3012 研究发现,表面胺基化 SWCNTs 的毒性显著低于羧基、羟基化的 SWCNTs。MULLER 等^[59]认为,表面结构缺陷是 CNTs 对小鼠肺部具有急性毒性和基因毒性的主要原因。研究表明,无论是纳米材料的单体粒径^[60]或者聚合体粒径^[61,62],粒径越小,其毒性越大。当纳米颗粒粒径聚合增大到一定程度后,其毒性效应甚至会消失^[63]。例如,TEMPLETON 等^[61]发现,管径是 SWCNTs 毒害海洋桡足类动物的决定性因素,管径越小,对海洋桡足类动物生殖系统的损伤越大,死亡率越高。经小鼠支气管注入 MWNTs,60 d 后,短 MWNTs(平均长度约为 0.7 μm)引发的肺部炎症较重; C_{60} 粉体本身一般不具有抑菌作用,但其稳定悬浮液(一般以团聚体 nC_{60} 形式存在)会产生毒性效应^[65]。上述研究表明,碳纳米材料的自身特征如粒径及结构缺陷、氧化程度等表面特性都是影响其生物毒性的重要因素。

4.3 碳纳米材料的生物毒性机制

碳纳米材料产生生物毒性的可能原因有 3 类。(1)纳米材料自身具有毒性。(2)纳米颗粒会粘附在生物体上限制生物体的生理活动或机械堵塞生物体的呼吸系统。例如,WARHEIT 等^[66]研究发现,CNTs 可通过机械阻塞小鼠肺部支气管而产生毒性效应;SMITH 等^[67]研究发现,SWCNTs 对鱼的毒性主要体现为 CNTs 在鱼鳃上的富集,导致鱼体呼

吸系统的紊乱;ROBERTS 等^[31]3025-3029 认为,水蚤在 SWCNTs 悬浮液中的致死机制为 SWCNTs 由于疏水性而团聚并粘附在水蚤体表,限制其活动并导致其死亡。(3)纳米材料可能携带了有毒物质,这些有毒物质会导致生物体中毒。例如,SPOHN 等^[68]比较研究了水、THF 悬浮的 C_{60} 对水蚤和人类肺上皮细胞的毒性,结果表明 C_{60} 本身不具有毒性,其毒性来自于 THF/ nC_{60} 体系中的溶解性副产物。因此,1 mg/L 的 THF/ nC_{60} 就可导致黑头呆鱼 100% 死亡,但同样浓度的 aqu/ nC_{60} 却没有影响。KOVOCH-ICH 等^[69]进一步研究指出,THF/ nC_{60} 的细胞毒性可能主要来自 THF 的光解副产物 γ -丁内酯和蚁酸。KOYAMA 等^[70]研究了 CNTs 对小鼠的免疫学毒性,指出 CNTs 的毒性主要来自其所含的杂质,包括不定形碳、金属催化剂等。如果 CNTs 表面吸附了多环芳烃等有毒物质,这些有毒物质都可能导致生物中毒^[71,72]。

碳纳米材料自身能产生生物毒性的可能机制主要有:(1)碳纳米材料由于其氧化还原活性产生活性氧,对生物活体构成损伤;(2)碳纳米颗粒与蛋白质相互作用,干扰生物信号甚至基因信息的传递^[73,74]。过氧化损伤导致的生物体毒害作用是迄今最为普遍接受的一种纳米材料致毒机制^[75]。该机制认为:随着粒径缩小,纳米颗粒表面晶格可能出现破损,从而产生电子缺损或富余的活性位点,一定条件下可与 O_2 相互作用形成超氧自由基($O_2^- \cdot$)及其他活性氧,这些活性氧可增加生物细胞的氧化压力,导致脂质过氧化并破坏细胞膜;除了晶格破损导致活性氧产生外,一些具有氧化性的纳米颗粒,它们接触细胞膜后会直接增加细胞的氧化压力,导致毒性效应。过氧化损伤被认为是富勒烯对鱼类致毒的主要机制^[76]。很多研究者认为, C_{60} 的毒性在于其能产生活性氧而损伤机体组织,尤其是 C_{60} 具有脂溶性,容易与生物体的脂肪组分结合,导致脂质过氧化,增加细胞膜的通透性^[77]。此外, C_{60} 本身也可能是一种氧化剂,会直接对有机体产生氧化压力并造成损伤^[78]。BRUNET 等^[79]研究指出,氢基化 C_{60} 在纯水中能产生氧原子(1O_2),在 MD 培养基中能产生 1O_2 和 $O_2^- \cdot$,聚乙烯吡咯烷酮(PVP)/ nC_{60} (PVP 助悬浮的 C_{60})产生 1O_2 和 $O_2^- \cdot$ 的效率更高,但 aqu/ nC_{60} 和 THF/ nC_{60} 却不能产生这些活性氧。尽管缺乏直接的证据,由于 CNTs 表明的晶格缺陷及含氧功能团的存在,过氧化损伤也被认为是

CNTs 致毒的主要机制。纳米材料对细胞的过氧化损伤不仅会影响细胞膜的渗透特性,而且会损伤细胞膜或穿透细胞膜,干扰生物体的生理活动。例如, KANG 等^{[58]6409-6413} 研究认为, CNTs 对细菌的毒性是通过直接损伤细胞膜并导致其代谢能力下降和核酸外泄引起的。碳纳米颗粒也可能通过与蛋白质相互作用并导致蛋白质二级结构发生改变而对生物体产生毒性。研究发现,当 α -胰凝乳蛋白酶吸附在 SWCNTs 上后, α -胰凝乳蛋白酶二级结构中的肽链会展开吸附在 CNTs 表面,直接导致 α -胰凝乳蛋白酶的失活。另有研究发现,蛋白溶解酵素(LYS)和牛血清白蛋白(BSA)吸附结合在 CNTs 表面后,蛋白质的疏水基团会暴露于溶液中,从而使蛋白质发生变性^[80]。分子动态模拟研究也表明,液体中 C_{60} 极易与 DNA 中的核苷稳定结合并使 DNA 变形而可能丧失功能^[81]。

5 存在问题与研究展望

综上所述,科学界对纳米材料的潜在生物毒性已做了很多的研究工作,积累了一些数据,对其致毒机制也有了一些认识,这对评价和管理纳米材料生产和使用等具有较大的参考价值。尽管已经认识到并开始研究碳纳米材料的毒性以及对人体和环境的潜在危害,但是相关研究工作至今仍然处于起步阶段,人们对它们的毒性强度、持续毒性时间等仍不清楚,纳米材料可能产生的很多潜在环境和健康风险仍然没有得到全面了解,对于纳米材料自身是否真的有毒及其致毒机制也没有完全达成共识。目前的研究工作尚存在以下主要的问题,需要进一步深入研究,以准确阐述纳米材料可能的环境和健康风险。

(1) 碳纳米材料的毒性研究需要建立系统、完善的标准方法。由于现有毒性试验所选取的材料规格、试验设计、试验条件等不同,获得的试验结果差异很大,甚至存在完全相反的研究结论和争议。例如,对于富勒烯的生物毒性机制存在 2 种相反的结论:一些研究者认为,富勒烯的生物毒性是其能产生活性氧并损伤细胞所致^[82];另一些研究者则认为,富勒烯自身无毒,其生物毒性主要来自制备富勒烯悬浮液所用的 THF 等溶剂及其分解产物毒性^[83-87]。产生这种多元结果的重要原因是目前纳米材料毒性研究试验中的干扰因素影响没能很好排除;另一个原因是纳米材料毒性的研究方法缺乏统一的标准。此外,现有的生物毒性研究,通常是以单

一生物种群的毒性响应为指标,但是纳米材料也会影响生物种群的多样性^[88]。因此,必须建立一套相对完整、科学的纳米材料毒性测试的标准方法,包括纳米材料的制备方法、生物种类的选择、暴露方法、毒性效应指标等,保证众多研究结果的一致性、可比性和有效性。

(2) 碳纳米材料的生物毒性效应评价应该引入颗粒的“纳米”属性。现有生物毒性效应的研究及评价通常是建立在污染物剂量浓度基础上,目前发现的粒径对纳米材料毒性的影响表明常用的剂量-毒性效应评价方法需要修正,特别是对于纳米材料的生物毒性评价,需要在现有剂量-毒性效应评价方法基础上引入粒径等“纳米”属性校正因子。

(3) 应该关注碳纳米材料的长期低剂量暴露导致的生物毒性效应。现有的实验室生物毒性模拟研究中,碳纳米材料浓度往往远高于实际环境中可能的存在浓度,这样高剂量浓度下获得的急性毒性数据通过外延法很难准确定量纳米材料进入环境后的真实风险。通过研究碳纳米材料的长期低剂量暴露毒性效应、在生物体内的归趋和遗传性等,可以使得研究结果更加符合环境的实际情况。

(4) 要加强碳纳米材料的植物毒性研究。植物特别是农作物是人类的主要食物来源,它们很可能是碳纳米颗粒进入人体的重要途径。但是,现有的碳纳米材料生物毒性研究主要集中在细胞毒性、细菌毒性和动物毒性试验上,而很少关注它们在植物体内的迁移、分布、转化、累积及生物毒性。

(5) 需要关注碳纳米材料在环境中与其他污染物可能产生的复合污染及毒性效应。纳米材料进入环境后的毒性可能不仅来自其本身,还很大程度上会来自它们表面结合的其他有毒有害物质对生物体产生的毒性。尽管目前对碳纳米材料合成和悬浮液制备过程中会携带的有毒金属催化剂及有机溶剂的可能生物毒性作用有了一些研究报道,但对碳纳米材料表面可能大量吸附的环境有毒物质,如多环芳烃等污染物,对生物毒性试验的影响研究很少。研究发现,菲的生物积累随着富勒烯的加入而增大,但五氯酚的生物积累随富勒烯的加入而降低,而对于阿特拉津和甲基对硫磷,富勒烯对其的生物积累影响并不明显^[89]。此外,对碳纳米材料和环境中存在的有毒有害物质可能形成的复合生物毒性效应研究几乎空白。

(6) 要准确阐述纳米材料可能的环境和健康风险,还需要考虑很多环境因素对其生物毒性的影响。

现有的绝大部分毒性研究结论均在实验室理想状态下获得,很少考虑真实环境的化学和生物学上的复杂性。环境条件会直接影响纳米颗粒的团聚状态等物化属性,从而影响其毒性效应^[90]。例如,环境中普遍存在的有机质对碳纳米颗粒的分散会提高生物对纳米颗粒的摄入^[91-94],从而可能提高其生物毒性;此外,碳纳米颗粒被有机质包裹后,会引起纳米材料表面性质的变化,从而改变纳米颗粒在细胞上的附着特性等,并直接影响它们的生物毒性^[95]。

在未来的生产生活中,碳纳米材料的使用及碳纳米颗粒的排放都将增加。在碳纳米材料被广泛使用前,必须通过严格的试验搞清它们排放的碳纳米颗粒可能对环境 and 人类健康造成的负面影响特别是毒性效应。碳纳米颗粒的结构和团聚体多样性及环境因素的复杂性是研究其毒理学效应的重大挑战。

参考文献:

- [1] WIESNER M R, LOWRY G V, ALVAREZ P, et al. Assessing the risks of manufactured nanomaterials[J]. Environ. Sci. Technol., 2006, 40(14): 4336-4345.
- [2] COLVIN V L. The potential environmental impact of engineered nanomaterials[J]. Nature Biotechnol., 2003, 21(10): 1166-1170.
- [3] SERVICE R F. American Chemical Society meeting. Nanomaterials show signs of toxicity[J]. Science, 2003, 300(5617): 243.
- [4] BRUMFIEL G. Nanotechnology: a little knowledge[J]. Nature, 2003, 424(6946): 246-248.
- [5] ZHANG Weixian, KARN B. Nanoscale environmental science and technology: challenges and opportunities[J]. Environ. Sci. Technol., 2005, 39(5): 94-95.
- [6] COLVIN V L. Sustainability for nanotechnology[J]. The Scientist, 2004, 18(16): 26-27.
- [7] PERKEL J M. The ups and downs of nanobiotech[J]. The Scientist, 2004, 18(16): 14-18.
- [8] HELLAND A, WICK P, KOEHLER A, et al. Reviewing the environmental and human health knowledge base of carbon nanotubes[J]. Environ. Health Perspect., 2007, 115(8): 1125-1131.
- [9] LAM C W, JAMES J T, MCCLUSKEY R, et al. A review of carbon nanotube toxicity and assessment of potential occupational and environmental health risks[J]. Crit. Rev. Toxicol., 2006, 36(3): 189-217.
- [10] JIA Guang, WANG Haifang, YAN Lei, et al. Cytotoxicity of carbon nanomaterials: single-wall nanotube, multi-wall nanotube, and fullerene[J]. Environ. Sci. Technol., 2005, 39(5).
- [11] YANG Kun, XING Baoshan. Desorption of polycyclic aromatic hydrocarbons from carbon nanomaterials in water[J]. Environ. Pollut., 2007, 145(2): 529-537.
- [12] KROTO H W, HEATH J R, O'BRIEN S C, et al. C₆₀: buckminsterfullerene[J]. Nature, 1985, 318(6042): 162-163.
- [13] IJIMA S. Helical microtubules of graphitic carbon[J]. Nature, 1991, 354(6348): 56-58.
- [14] IJIMA S, ICHIHASHI T. Single-shell carbon nanotubes of 1-nm diameter[J]. Nature, 1993, 363(6430): 603-605.
- [15] MURR L E, SOTO K F, ESQUIVEL E V, et al. Carbon nanotubes and other fullerene-related nanocrystals in the environment: a TEM study[J]. Journal of the Minerals, Metals & Materials Society (JOM), 2004, 56(6): 28-31.
- [16] MAUTER M S, ELIMELECH M. Environmental applications of carbon-based nanomaterials[J]. Environ. Sci. Technol., 2008, 42(16): 5843-5859.
- [17] KOHLER A R, SOM C, HELLAND A, et al. Studying the potential release of carbon nanotubes throughout the application life cycle[J]. J. Clean. Prod., 2008, 16(8/9): 927-937.
- [18] NOWACK B, BUCHELI T D. Occurrence, behavior and effects of nanoparticles in the environment[J]. Environ. Pollut., 2007, 150(1): 5-22.
- [19] SCHMID K, RIEDIKER M. Use of nanoparticles in swiss industry: a targeted survey[J]. Environ. Sci. Technol., 2008, 42(7): 2253-2260.
- [20] MAYNARD A D, BARON P A, FOLEY M, et al. Exposure to carbon nanotube material: aerosol release during the handling of unrefined single-walled carbon nanotube material[J]. J. Toxicol. Environ. Health, Part A, 2004, 67(1): 87-107.
- [21] MUELLER N C, NOWACK B. Exposure modeling of engineered nanoparticles in the environment[J]. Environ. Sci. Technol., 2008, 42(12): 4447-4453.
- [22] LAM C W, JAMES J T, MCCLUSKEY R, et al. Pulmonary toxicity of single-wall carbon nanotubes in mice 7 and 90 days after intratracheal instillation[J]. Toxicol. Sci., 2004, 77(1): 126-134.
- [23] WU Y, HUDSON J S, LU Qi, et al. Coating single-walled carbon nanotubes with phospholipids[J]. J. Phys. Chem. B, 2006, 110(6): 2475-2478.
- [24] LYON D Y, ALVAREZ P J J. Fullerene water suspension (nC₆₀) exerts antibacterial effects via ROS-independent protein oxidation[J]. Environ. Sci. Technol., 2008, 42(21): 8127-8132.
- [25] PORTER A E, GASS M, MULLER K, et al. Visualizing the uptake of C₆₀ to the cytoplasm and nucleus of human monocyte-derived macrophage cells using energy-filtered transmission electron microscopy and electron tomography[J]. Environ. Sci. Technol., 2007, 41(8): 3012-3017.
- [26] LIN Sijie, REPPERT J, HU Qian, et al. Uptake, translocation, and transmission of carbon nanomaterials in rice plants[J]. Small, 2009, 5(10).
- [27] LIN Daohui, XING Baoshan. Phytotoxicity of nanoparticles: inhibition of seed germination and root elongation[J]. Environ. Pollut., 2007, 150(2).
- [28] 林道辉, 冀静, 田小利, 等. 纳米材料的环境行为与生物毒性[J]. 科学通报, 2009, 54(23): 3590-3604.
- [29] LIU Qiaoling, CHEN Bo, WANG Qinli, et al. Carbon nanotube as molecular transporters for walled plant cells[J]. Nano Letters, 2009, 9(3): 1007-1010.
- [30] YANG Shengtao, WANG Xiang, JIA Guang, et al. Long-term accumulation and low toxicity of single-walled carbon nanotubes in intravenously exposed mice[J]. Toxicol. Lett., 2008, 181(3): 182-189.

- [31] ROBERTS A P, MOUNT A S, SEDA B, et al. In vivo biomodification of a lipid coated carbon nanotube by *Daphnia magna*[J]. Environ. Sci. Technol. ,2007,41(8).
- [32] LIN Daohui, XING Baoshan. Root uptake and phytotoxicity of ZnO nanoparticles[J]. Environ. Sci. Technol. ,2008,42(15): 5580-5585.
- [33] LEE W M, AN Y J, YOON H, et al. Toxicity and bioavailability of copper nanoparticles to terrestrial plants *Phaseolus radiatus* (mung bean) and *Triticum aestivum* (wheat); plant agar test for water-insoluble nanoparticles[J]. Environ. Toxicol. Chem. ,2008,27(9):1915-1921.
- [34] ZHU Hao, HAN Jie, XIAO J Q, et al. Uptake, translocation, and accumulation of manufactured iron oxide nanoparticles by pumpkin plants[J]. J. Environ. Monit. ,2008,10(6):713-717.
- [35] OBERDÖRSTER G, SHARP Z, ATUDOREI V, et al. Extrapulmonary translocation of ultrafine carbon particles following whole-body inhalation exposure of rats[J]. J. Toxicol. Environ. Health, Part A, 2002,65(20):1531-1543.
- [36] CAGLE D W, KENNEL S J, MIRZADEH S, et al. In vivo studies of fullerene-based materials using endohedral metallofullerene radiotracers[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1999,96(9): 5182-5187.
- [37] OBERDÖRSTER E, ZHU Shiqian, BLICKLEY T M, et al. Ecotoxicology of carbon-based engineered nanoparticles: effects of fullerene (C₆₀) on aquatic organisms[J]. Carbon, 2006,44(6):1112-1120.
- [38] OBERDÖRSTER G, OBERDÖRSTER E, OBERDÖRSTER J. Nanotoxicology; an emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles[J]. Environ. Health Perspect. ,2005, 113(7):823-839.
- [39] MULLER J, HUAUX F, MOREAU N, et al. Respiratory toxicity of multi-wall carbon nanotubes[J]. Toxicol. Appl. Pharmacol. ,2005,207(3):221-231.
- [40] WANG Haifang, WANG Jing, DENG Xiaoyong, et al. Biodistribution of carbon single-wall nanotubes in mice [J]. J. Nanosci. Nanotechnol. ,2004,4(8):1-6.
- [41] PETERSEN E J, AKKANEN J, KUKKONEN J K, et al. Biological uptake and depuration of carbon nanotubes by *Daphnia magna* [J]. Environ. Sci. Technol. ,2009,43(8):2969-2975.
- [42] YANG Ling, WATTS D J. Particle surface characteristics may play an important role in phytotoxicity of alumina nanoparticles[J]. Toxicol. Lett. ,2005,158(2):122-132.
- [43] ADAMS L K, LYON D Y, ALVAREZ P J J. Comparative eco-toxicity of nanoscale TiO₂, SiO₂, and ZnO water suspensions[J]. Water Res. ,2006,40(19):3527-3532.
- [44] DHAWAN A, TAUROZZI J S, PANDEY A K, et al. Stable colloidal dispersions of C₆₀ fullerenes in water: evidence for genotoxicity[J]. Environ. Sci. Technol. ,2006,40(23):7394-7401.
- [45] ZHU Lin, CHANG D W, DAI Liming, et al. DNA damage induced by multiwalled carbon nanotubes in mouse embryonic stem cells[J]. Nano Letters, 2007,7(12):3592-3597.
- [46] MAGREZ A, KASAS S, SALICIO V, et al. Cellular toxicity of carbon-based nanomaterials[J]. Nano Letters, 2006,6(6): 1121-1125.
- [47] LYON D Y, FORTNER J D, SAYES C M, et al. Bacterial cell association and antimicrobial activity of a C₆₀ water suspension[J]. Environ. Toxicol. Chem. ,2005,24(11):2757-2762.
- [48] JOHANSEN A, PEDERSEN A L, JENSEN K A, et al. Effects of C₆₀ fullerene nanoparticles on soil bacteria and protozoans[J]. Environ. Toxicol. Chem. ,2008,27(9):1895-1903.
- [49] ARIAS L R, YANG Liju. Inactivation of bacterial pathogens by carbon nanotubes in suspensions[J]. Langmuir, 2009,25(5).
- [50] USENKO C Y, HARPER S L, TANGUAY R L. In vivo evaluation of carbon fullerene toxicity using embryonic zebrafish [J]. Carbon, 2007,45(9):1891-1898.
- [51] ZHU Ying, ZHAO Qunfen, LI Yuguo, et al. The interaction and toxicity of multi-walled carbon nanotubes with *Stylyonchya mytilus* [J]. J. Nanosci. Nanotechnol. ,2006,6(5): 1357-1364.
- [52] LOVERN S B, KLAPER R. *Daphnia magna* mortality when exposed to titanium dioxide and fullerene (C₆₀) nanoparticles [J]. Environ. Toxicol. Chem. ,2006,25(4).
- [53] ZHU Shiqian, OBERDÖRSTER E, HAASCH M L. Toxicity of an engineered nanoparticle (fullerene, C₆₀) in two aquatic species, daphnia and fathead minnow[J]. Mar. Environ. Res. , 2006,62(S1).
- [54] CHOU C C, HSIAO H, HONG Qisheng, et al. Single-walled carbon nanotubes can induce pulmonary injury in mouse model [J]. Nano Letters, 2008,8(2):437-445.
- [55] LAIN C W, JAMES J T, MECLUSKEY R, et al. Pulmonary toxicity of single-wall carbon nanotubes in mice 7 and 90 days after intratracheal instillation [J]. Toxicol. Sci. ,2004,77(1):126-134.
- [56] SAYES C M, MARCHIONE A A, REED K L, et al. Comparative pulmonary toxicity assessments of C₆₀ water suspensions in rats; few differences in fullerene toxicity in vivo in contrast to in vitro profiles[J]. Nano Letters, 2007,7(8):2399-2406.
- [57] BAKER G L, GUPTA A, CLARK M L, et al. Inhalation toxicity and lung toxicokinetics of C₆₀ fullerene nanoparticles and microparticles[J]. Toxicol. Sci. ,2008,101(1):122-131.
- [58] KANG S, HERZBERG M, RODRIGUES D F, et al. Antibacterial effects of carbon nanotubes; size does matter! [J]. Langmuir, 2008,24(13).
- [59] MULLER J, HUAUX F, FONSECA A, et al. Structural defects play a major role in the acute lung toxicity of multiwall carbon nanotubes; toxicological aspects[J]. Chem. Res. Toxicol. ,2008,21(9):1698-1705.
- [60] MORONES J R, FREY W. Environmentally sensitive silver nanoparticles of controlled size synthesized with PNIPAM as a nucleating and capping agent[J]. Langmuir, 2007,23(15): 8180-8186.
- [61] WICK P, MANSER P, LIMBACH L K, et al. The degree and kind of agglomeration affect carbon nanotube cytotoxicity[J]. Toxicol. Lett. ,2007,168(2):121-131.
- [62] CHENG Jinping, FLAHAUT E, CHENG Shuhan. Effect of carbon nanotubes on developing zebrafish (*Danio rerio*) embryos[J]. Environ. Toxicol. Chem. ,2007,26(4):708-716.
- [63] GAJJAR P, PETTEE B, BRITT D W, et al. Antimicrobial activities of commercial nanoparticles against an environmental soil microbe, *Pseudomonas putida* KT2440[J]. J. Biol. Eng. ,

- 2009,3;9-15.
- [64] TEMPLETON R C, FERGUSON P L, WASHBURN K M, et al. Life-cycle effects of single-walled carbon nanotubes (SWNTs) on an estuarine meiobenthic copepod[J]. Environ. Sci. Technol. ,2006,40(23):7387-7393.
- [65] LYON D Y, ADAMS L K, FALKNER J C, et al. Antibacterial activity of fullerene water suspensions; effects of preparation method and particle size[J]. Environ. Sci. Technol. , 2006,40(14):4360-4366.
- [66] WARHEIT D B, LAURENCE B R, REED K L, et al. Comparative pulmonary toxicity assesment of single wall carbon nanotubes in rats[J]. Toxicol. Sci. ,2004,77(1):117-125.
- [67] SMITH C J, SHAW B J, HANDY R D. Toxicity of single walled carbon nanotubes to rainbow trout, (*Oncorhynchus mykiss*): respiratory toxicity, organ pathologies, and other physiological effects[J]. Aquatic. Toxicol. ,2007,82(2):94-109.
- [68] SPOHN P, HIRSCH C, HASLER F, et al. C60 fullerene; a powerful antioxidant or a damaging agent? The importance of an in-depth material characterization prior to toxicity assays [J]. Environ. Pollut. ,2009,157(4):1134-1139.
- [69] KOVOCHICH M, ESPINASSE B, AUFFAN M, et al. Comparative toxicity of C60 aggregates toward mammalian cells; role of tetrahydrofuran (THF) decomposition[J]. Environ. Sci. Technol. .2009,43(16):6378-6384.
- [70] KOYAMA S, KIM Y A, HAYASHI T, et al. In vivo immunological toxicity in mice of carbon nanotubes with impurities [J]. Carbon,2009,47(5):1365-1372.
- [71] JONES C F, GRAINGER D W. In vitro assessments of nanomaterial toxicity[J]. Adv. Drug. Deliv. Rev. .2009,61(6):438-456.
- [72] YANG Kun, ZHU Lizhong, XING Baoshan. Adsorption of polycyclic aromatic hydrocarbons by carbon nanomaterials [J]. Environ. Sci. Technol. .2006,40(6):1855-1861.
- [73] OBERDÖRSTER E. Manufactured nanomaterials (fullerenes, C60) induce oxidative stress in the brain of juvenile largemouth bass[J]. Environ. Health Perspect. ,2004,112(10):1058-1062.
- [74] LINSE S, CABALEIRO LAGO C, XUE Weifeng, et al. Nucleation of protein fibrillation by nanoparticles[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,2007,104(21):8691-8696.
- [75] NEL A, XIA Tian, MADLER L, et al. Toxic potential of materials at the nanolevel[J]. Science,2006,311(5761):622-627.
- [76] ZHU Ying, RAN Tiecheng, LI Yuguo, et al. Dependence of the cytotoxicity of multi-walled carbon nanotubes on the culture medium[J]. Nanotechnol. ,2006,17(18):4668-4674.
- [77] SAYES C M, GOBIN A M, AUSMAN K D, et al. Nano-C60 cytotoxicity is due to lipid peroxidation[J]. Biomaterials. 2005,26(36):7587-7595.
- [78] LYON D Y, BRUNET L, HINKAL G W, et al. Antibacterial activity of fullerene water suspensions (nC_{60}) is not due to ROS-mediated damage[J]. Nano Letters,2008,8(5):1539-1543.
- [79] BRUNET L, LYON D Y, HOTZE E M, et al. Comparative photoactivity and antibacterial properties of C60 fullerenes and titanium dioxide nanoparticles[J]. Environ. Sci. Technol. ,2009,43(12):4355-4360.
- [80] MATSUURA K, SAITO T, OKAZAKI T, et al. Selectivity of water-soluble proteins in single-walm carbon nanotube dispersions[J]. Chem. Phys. Lett. ,2006,429(4/5/6):497-502.
- [81] ZHAO Xiongce, STRIOLO A, CUMMINGS P T. C60 binds to and deforms nucleotides[J]. Biophys. J. , 2005, 89(6):3856-3862.
- [82] SAYES C M, FORTNER J D, GUO W, et al. The differential cytotoxicity of water-soluble fullerenes[J]. Nano Letters, 2004,4(10):1881-1887.
- [83] BRANT J, LECOANET H, HOTZE M, et al. Comparison of electrokinetic properties of colloidal fullerenes (nC_{60}) formed using two procedures[J]. Environ. Sci. Technol. , 2005, 39(17):6343-6351.
- [84] GHARBI N, PRESSAC M, HADCHOUEL M, et al. Fullerene is a powerful antioxidant in vivo with no acute or subacute toxicity [J]. Nano Letters,2005,5(12):2578-2585.
- [85] HENRY T B, MENN F M, FLEMING J T, et al. Attributing effects of aqueous C60 nano-aggregates to tetrahydrofuran decomposition products in larval zebrafish by assessment of gene expression[J]. Environ. Health Perspect. , 2007, 115(7):1059-1065.
- [86] ISAKOVIC A, MARKOVIC Z, NIKOLIC N, et al. Inactivation of nanocrystalline C60 cytotoxicity by gamma-irradiation [J]. Biomaterials,2006,27(29):5049-5058.
- [87] ZHANG Bo, CHO M, FORTNER J D, et al. Delineating oxidative processes of aqueous C60 preparations; role of THF peroxide[J]. Environ. Sci. Technol. .2009,43(1):108-113.
- [88] KANG S, MAUTER M S, ELIMELECH M. Microbial cytotoxicity of carbon-based nanomaterials; implications for river water and wastewater effluent[J]. Environ. Sci. Technol. , 2009,43(7):2648-2653.
- [89] BAUN A, SORENSEN S N, RASMUSSEN R F, et al. Toxicity and bioaccumulation of xenobiotic organic compounds in the presence of aqueous suspensions of aggregates of nano-C60[J]. Aquatic. Toxicol. ,2008,86(3):379-387.
- [90] GAO Jie, YOUN Sejin, HOVSEPYAN A, et al. Dispersion and toxicity of selected manufactured nanomaterials in natural river water samples; effects of water chemical composition [J]. Environ. Sci. Technol. ,2009,43(9):3322-3328.
- [91] LIN Daokui, XING Baoshan. Tannic acid adsorption and its role for stabilizing carbon nanotube suspensions[J]. Environ. Sci. Technol. ,2008,42(16):5917-5923.
- [92] LIN Daohui, LIU Ni, YANG Kun, et al. The effect of ionic strength and pH on the stability of tannic acid-facilitated carbon nanotube suspensions[J]. Carbon,2009,47(12):2875-2882.
- [93] HYUNG H, FORTNER J D, HUGHES J B, et al. Natural organic matter stabilizes carbon nanotubes in the aqueous phase [J]. Environ. Sci. Technol. ,2007,41(1):179-184.
- [94] TERASHIMA M, NAGAO S. Solubilization of [60]fullerene in water by aquatic humic substances[J]. Chem. Lett. ,2007, 36(2):302-303.
- [95] DONG Jing, MAO Weihua, ZHANG Guoping, et al. Root excretion and plant tolerance to cadmium toxicity; a review[J]. Plant Soil and Environment,2007,53(5):193-200.

编辑:黄 苇 (修改稿收到日期:2011-03-33)