

DOI: 10.7524/AJE.1673-5897.20160902002

江媛媛, 党菲, 李敏, 等. 口服纳米银对大鼠的生物有效性及其体内分布的研究[J]. 生态毒理学报, 2017, 12(6): 215-222

Jiang Y Y, Dang F, Li M, et al. Bioavailability and distribution of nanosilver after oral administration in rats [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2017, 12(6): 215-222 (in Chinese)

## 口服纳米银对大鼠的生物有效性及其体内分布的研究

江媛媛<sup>1,2</sup>, 党菲<sup>2</sup>, 李敏<sup>2</sup>, 周东美<sup>2</sup>, 吴笛<sup>3</sup>, 施维林<sup>1,\*</sup>, 朱雪峰<sup>4,#</sup>

1. 苏州科技大学环境科学与工程学院, 苏州 215009
2. 中国科学院南京土壤研究所土壤环境与污染修复重点实验室, 南京 210008
3. 南京医科大学公共卫生学院毒理学系, 南京 210029
4. 南京医科大学公共卫生学院江苏省医药兽药安全性评价与研究中心, 南京 210029

收稿日期: 2016-09-02 录用日期: 2016-10-24

**摘要:** 由于独特的抗菌特性, 纳米银(AgNP)在诸多领域得到广泛应用, 但是其生物有效性、动物组织分布及排出尚不清楚。将聚乙烯吡咯烷酮包被的 AgNP 溶液按照  $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  给雌性 SD 大鼠灌胃, 采用 ICP-MS 检测 SD 大鼠组织、粪便及尿液中总银浓度。结果表明, AgNP 通过小肠吸收后, 可以通过血液循环快速分布在肝、肾、脾、肺、脑等靶器官。灌胃后 1 h, 大鼠各组织中总银浓度达到最大值(肝、肾、脾、肺、脑中银浓度分别为  $(0.29 \pm 0.13) \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、 $(0.23 \pm 0.04) \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、 $(0.17 \pm 0.05) \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、 $(0.11 \pm 0.01) \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、 $(0.06 \pm 0.02) \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), 之后银浓度随时间而降低, 直至和对照组无显著性差异。在灌胃途径下, AgNP 对 SD 大鼠的有效性为 8.5%, 且 73% 的 AgNP 是通过粪便的途径排出体外。

**关键词:** AgNP; SD 大鼠; 累积; 生物有效性

文章编号: 1673-5897(2017)6-215-08 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

## Bioavailability and Distribution of Nanosilver after Oral Administration in Rats

Jiang Yuanyuan<sup>1,2</sup>, Dang Fei<sup>2</sup>, Li Min<sup>2</sup>, Zhou Dongmei<sup>2</sup>, Wu Di<sup>3</sup>, Shi Weilin<sup>1,\*</sup>, Zhu Xuefeng<sup>4,#</sup>

1. School of Environmental Science and Engineering, Suzhou University of Science and Technology, Suzhou 215009, China
2. Key Laboratory of Soil Environment and Pollution Remediation, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China
3. Department of Toxicology, School of Public Health, Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China
4. Safety Evaluation and Research Center of Medicine and Veterinary Medicine of Jiangsu Province, School of Public Health, Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China

Received 2 September 2016 accepted 24 October 2016

**Abstract:** Due to the unique antimicrobial properties, nanosilver (AgNP) are widely applied in many fields. However, its bioavailability, tissue distribution and excretion in rats are less known. Female Sprague-Dawley rats were

**基金项目:** 国家自然科学基金项目(No. 41430752; 31570515); 江苏省自然科学基金项目(BK20131041); 苏州市科技支撑计划项目(SS201421; SS201523); 江苏高校水处理技术与材料协同创新项目; 苏州市环保科技项目(2015-3)

**作者简介:** 江媛媛(1990-), 女, 硕士研究生, 研究方向为生态毒理效应, E-mail: syjiangyuanyuan@163.com

\* 通讯作者 (Corresponding author), E-mail: weilin-shi@163.com

# 共同通讯作者 (Co-corresponding author), E-mail: zhuxf@njmu.edu.cn

treated by a single intragastric administration of  $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  polyvinylpyrrolidone-AgNPs, and rat tissues, feces and urine were collected periodically to analyze total Ag concentrations by ICP-MS. The results showed that after uptake by gastrointestinal, AgNP was transported via the blood circulation and distributed to tissues such as liver, kidney, spleen, lung, and brain. At 1 h after AgNP exposure, total silver accumulation in those tissues peaked (i.e.  $0.29 \pm 0.13 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,  $0.23 \pm 0.04 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,  $0.17 \pm 0.05 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,  $0.11 \pm 0.01 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  and  $0.06 \pm 0.02 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  for liver, kidney, spleen, lung and brain, respectively), and declined to background levels over time. Our calculation showed that the bioavailability of AgNP to Sprague - Dawley rats via intragastric administration was 8.5%. Especially, 73% of the dosed AgNP was excreted via feces.

**Keywords:** AgNP; Sprague - Dawley rats; accumulation; bioavailability

纳米银(AgNP)由于其独特的抗菌性能,被广泛应用于各类商业产品<sup>[1]</sup>,尤其是抗菌商品,如床上用品、洗衣机、水净化器、牙膏、洗发水、纺织物、医药喷雾、医疗设备、过滤器、加湿器、厨房用具和玩具等<sup>[2]</sup>。AgNP的大量使用将不可避免地造成AgNP或其他形态银在环境中的释放、累积,对各类生物(如双壳贝类、鱼类、真菌和其他物种)产生潜在风险<sup>[3-6]</sup>。此外,AgNP可用于口服产品,如膳食补充剂,说明AgNP同样对人体健康造成潜在风险<sup>[7-8]</sup>。相关研究表明,含AgNP涂层的医疗设备释放出的AgNP或银离子会通过呼吸、皮肤接触以及口部无意摄入等途径进入人体,在组织中富集并且致毒<sup>[9-13]</sup>。

AgNP的人体/动物毒性研究主要包括皮肤、粘膜细胞的体外毒性和肝、肺、生殖系统细胞、血管系统细胞及神经细胞的体内毒性<sup>[14]</sup>。Kulthong等<sup>[15]</sup>通过将含AgNP的抗菌敷料染毒于人造皮肤的研究发现,抗菌敷料中的银可以释放到汗液中,并且敷料中银的含量、汗液的组成成分以及pH影响了敷料中银的释放。Park等<sup>[16]</sup>发现含AgNP抗菌敷料对体外培养的小鼠纤维细胞能产生毒性,并引起炎症反应、遗传和发育毒性等。Ahamed等<sup>[17]</sup>研究了AgNP对人工模拟大鼠肝细胞的影响,发现AgNP会导致肝细胞谷胱甘肽衰竭,线粒体膜电位下降,活性氧升高,证实AgNP可通过氧化应激效应诱导肝细胞中毒。Jun等<sup>[18]</sup>研究发现AgNP会引起人体血小板聚集,磷脂酰丝氨酸外翻,促凝血活化,最终导致血栓。对于体内研究,主要将AgNP通过呼吸、皮肤接触和摄入等途径染毒于大鼠,研究大鼠相关组织中银的富集以及对组织的损伤程度。Hyun等<sup>[19]</sup>采用呼吸途径将AgNP染毒于大鼠28 d后,发现大鼠的脏器系数与对照组并无显著性差异。Sung等<sup>[20]</sup>同样采用呼吸途径将AgNP染毒于大鼠,发现肝和肺是AgNP富集的主要靶器官。Tiwari等<sup>[21]</sup>通过皮下注

射高剂量的AgNP给大鼠,发现大鼠的血浆生化指标出现异常,血浆活性氧含量上升。Kim等<sup>[11]</sup>通过灌胃途径将AgNP染毒于大鼠,发现灌胃28 d后,大鼠血液中的碱性磷酸酶和胆固醇明显增加,说明大鼠的肝功能或脂质代谢出现了异常。Cha等<sup>[22]</sup>采用同样途径将AgNP染毒于大鼠,3 d后发现AgNP对肝产生毒性,肝组织淋巴细胞浸润,并出现凋亡现象,此外与炎症相关基因的表达也发生了改变。在哺乳动物体内,AgNP还会通过氧化应激效应导致细胞中DNA受损,改变基因表达,甚至引起细胞的凋亡<sup>[23-31]</sup>。这些研究都说明AgNP具有毒性效应,且毒性效应受染毒剂量、AgNP的染毒途径、AgNP基本性质的影响。

尽管上述研究促进了人们对AgNP毒性效应及健康危害的理解,然而大多数研究并未考虑AgNP的生物有效性,主要停留在AgNP在大鼠体内的分布以及毒性方面的研究<sup>[19-22, 32-35]</sup>。相关信息的缺失会导致我们无法全面认识AgNP毒性作用机理,尤其是不同剂量条件下生物反映出的不同的毒性效应。因此,了解AgNP对动物的生物有效性和生物累积过程,可能为AgNP的毒性研究提供有用的信息,以更准确评估AgNP的生态风险及人体健康风险。本文以SD大鼠为研究对象,采用灌胃途径将大鼠进行AgNP染毒,研究AgNP对大鼠的生物有效性、体内分布及累积动力学。

## 1 材料与方法 (Materials and methods)

### 1.1 材料

本研究所用的聚乙烯吡咯烷酮包被的AgNP粉末购自Sigma公司,产品号为576832,厂家标注的纳米颗粒粒径 $< 100 \text{ nm}$ ,Ag的纯度 $> 99.5\%$ 。该产品在 $25 \text{ }^\circ\text{C}$ 厌氧下避光保存,以防止AgNP被氧化。银离子标准溶液(Sigma,  $1000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )用于制备标准曲线以测定银浓度;实验用水为超纯水( $18.2 \text{ M}\Omega$ ),

Millipore, 美国);67%~69%的浓硝酸(优级纯)用于消解待测样品。实验所用玻璃容器均经10%(V/V)硝酸浸泡24 h后,用超纯水清洗干净。

## 1.2 实验动物

雌性 Sprague - Dawley(SD)大鼠36只,体重160~180 g,由南京医科大学实验动物中心提供。由于雌性大鼠肾组织器官中银的累积是雄性大鼠的2倍<sup>[11]</sup>,因此,本文以雌性大鼠为研究对象。

实验中,动物生存的环境为清洁级,人工光照时间为12 h:12 h(昼:夜),温度为(23 ± 1) °C,相对湿度为55% ± 5%<sup>[36]</sup>。代谢笼为无毒钢丝笼(ZH-B6, 中国),容积为250 mm×200 mm×200 mm,每笼3只大鼠,大鼠饮用水为净化水,食物为无菌块饲料。

## 1.3 AgNP 的表征

采用超声破碎仪(X0-650D, 南京先欧仪器制造有限公司)将AgNP分散在超纯水中,且超声破碎功率为390 w,时间间隔3.0 s,以此获得均匀悬浮液,用滴管吸少量均匀悬浮液至碳网包被的铜网上,用JEM-2100透射电子显微镜(TEM)检测AgNP颗粒尺寸及形状,同时采用BI-200SM光散射仪(DLS, Brookhaven Instruments, 美国)测定AgNP悬浮液中AgNP颗粒尺寸。采用火焰原子吸收光谱法(AAS)测得AgNP悬浮液中银浓度为(3 132.6 ± 2.6) mg·L<sup>-1</sup>。

## 1.4 AgNP 生物有效性实验

将36只SD大鼠随机分为对照组和灌胃组,每组各18只。实验前12 h禁食(不禁水),第2日对2组大鼠给予单次灌胃。灌胃组每只大鼠灌胃0.6 mL AgNP悬浮液,对照组每只大鼠灌胃0.6 mL超纯水。灌胃结束时的时间点记为0 h,分别在1 h、8 h、24 h、96 h、168 h时,每组随机选3只大鼠麻醉,

立即从心脏取血,置于涂有肝素的Corning管中;采集肝、肾、肺、小肠、脾和脑,用超纯水清洗表面残留的血液后,用滤纸吸干,记录组织鲜重,并于-80 °C保存。检测结果显示,大鼠食物中银的浓度低于仪器检测浓度(0.003 mg·kg<sup>-1</sup>),小肠内容物并不影响实验结果。因此,采集小肠时并未将小肠内容物清洗掉。在24 h、48 h、72 h、96 h、120 h、144 h和168 h收集大鼠的尿液和粪便,尿液加浓硝酸保存(1:1, V/V),粪便在-80 °C冰箱中保存。实验期间,大鼠自由饮水并饲喂无菌块饲料,且大鼠活动正常,未观察到不良反应。

## 1.5 总银含量分析

大鼠血液和尿液用7 mL浓硝酸和3 mL 30%的过氧化氢在25 °C下温和消解3~4 h后进行350 °C消解<sup>[36-37]</sup>,直至溶液澄清,采用电感耦合等离子体质谱(ICP-MS, Thermo-iCAP Q, 美国)分析其中总银含量。

大鼠组织和粪便首先进行冷冻干燥(ALPHA 1-2LD PLUS, 德国),并记录组织和粪便干重。采用上述方法用浓硝酸和过氧化氢进行消解。消解完全后,以超纯水定容,ICP-MS测定总银含量。本研究采用非脱脂龙虾肝胰腺中微量元素和甲基汞标准物质(LUTS-1)进行实验质量控制,总银的回收率为92%~105%。

## 1.6 统计分析

采用SPSS 16.0软件的Tukey法检验对照组和灌胃组大鼠组织、尿液和粪便中银浓度的显著性差异,以及灌胃组不同时间点之间的显著性差异。显著性标准为 $P < 0.05$ ,当 $P > 0.05$ 时表明数据间不存在显著性差异。

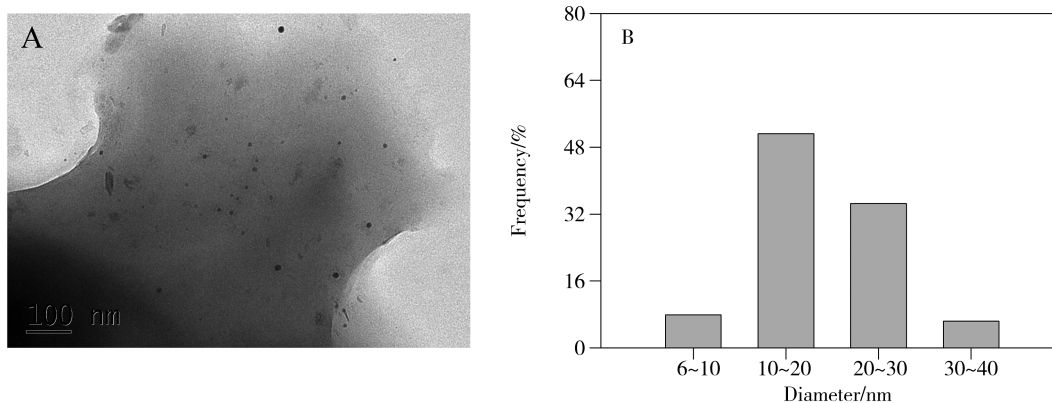


图1 AgNP悬浮液的TEM图及粒径分布图

Fig. 1 TEM image and size distribution of AgNP in suspension

## 2 结果与讨论 (Results and discussion)

### 2.1 AgNP 的粒径分布

图1所示为AgNP的TEM图片。由图可见,AgNP大部分为球形颗粒,颗粒粒径均匀分布在10~30 nm范围内。统计数据表明,AgNP的平均粒径为 $(18.5 \pm 5.1)$  nm。DLS分析得到AgNP的水合粒径为 $(35.1 \pm 3.5)$  nm。

### 2.2 AgNP 在大鼠体内的分布

对照组大鼠各器官、组织中的银浓度分别为:小肠( $0.06 \pm 0.02$ )  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、血液( $0.01 \pm 0.01$ )  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、肝( $0.01 \pm 0.01$ )  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、肾( $0.04 \pm 0.02$ )  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、肺( $0.02 \pm 0.01$ )  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、脾( $0.05 \pm 0.02$ )  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、脑( $0.02 \pm 0.01$ )  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,并且在整个实验过程中银浓度保持相对稳定。AgNP单次染毒于大鼠后,在大鼠的血液及主要组织(小肠、肝、肾、肺、脾和脑)中均能检

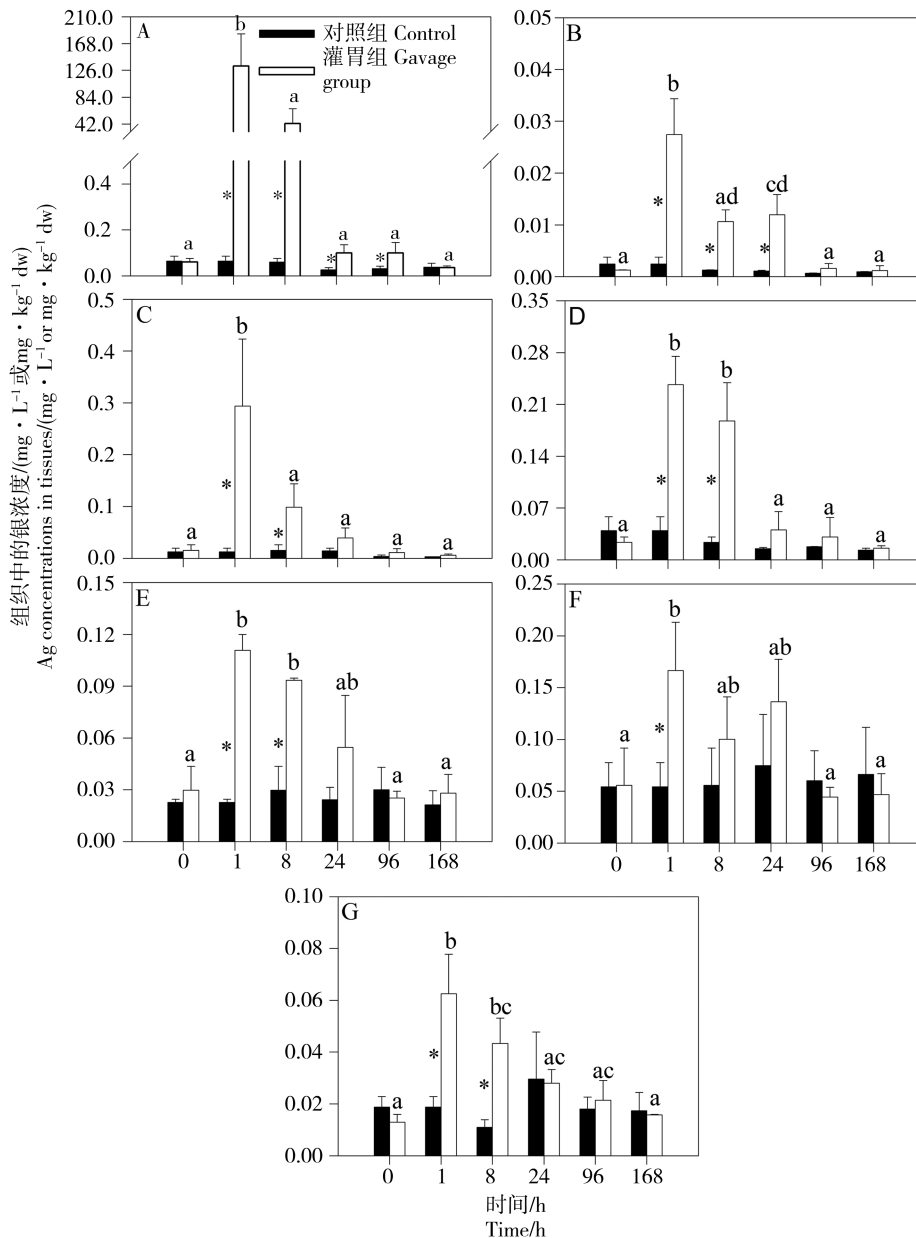


图2 大鼠组织中银浓度(A:小肠, B:血液, C:肝, D:肾, E:肺, F:脾, G:脑,  $n=3$ )

注: \* 表示对照组与灌胃组之间存在显著性差异;不同字母表示灌胃组不同时间点之间显著性差异( $P < 0.05$ )。

Fig. 2 Ag concentrations in tissues of rats (A: intestine, B: blood, C: liver, D: kidney, E: lung, F: spleen, G: brain,  $n=3$ )

Note: \* indicated the significant difference between the control group and the gavage group, and the different letter indicated the significant difference of the gavage group in different time points ( $P < 0.05$ ).

测到银(图 2)。其中,小肠中银的浓度最高(最高为  $132.80 \pm 50.55 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ),其次是肝(最高为  $0.29 \pm 0.13 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )、肾(最高为  $0.23 \pm 0.04 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )、脾(最高为  $0.17 \pm 0.05 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )、肺(最高为  $0.11 \pm 0.01 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )、脑(最高为  $0.06 \pm 0.02 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )。

小肠中银浓度在灌胃后 1 h 时达到最高值 ( $132.80 \pm 50.55 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 图 2A), 之后下降, 然而 8 h、24 h 和 96 h 暴露后的银浓度仍然是对照组浓度的 3~707 倍; 168 h 后小肠银浓度和对照组没有显著性差异。小肠中银累积呈现先增加后降低的趋势, 可能与小肠的生理功能相关。小肠是大鼠消化、吸收营养物质的主要场所, 通过消化管上皮细胞吸收的银通过血液循环(图 2B)进入大鼠其他组织<sup>[36]</sup>; 同时, 由于肠液 pH 一般呈碱性, 部分 AgNP 可能发生团聚, 形成微米级的聚合物<sup>[35]</sup>, 因此不易被吸收, 将会以粪便的形式排出体外(图 3B)。上述因素均导致了小肠中银浓度的降低。值得注意的是, 除团聚外, AgNP 在小肠中可能发生其他化学转化, 例如: 胃液中高浓度电解质以及低 pH 条件下, AgNP 可能释放银离子, 进入 pH 较高的肠液后, 离子态的银可能生成 AgCl 或 Ag<sub>2</sub>S, 这值得进一步研究<sup>[38-39]</sup>。此外, 采用口服途径将 AgNP 染毒大鼠, 已报道的文献中表明, AgNP 经胃肠消化后, 大鼠血液中的银浓度都比较低<sup>[36]</sup>。而对于小肠消化上皮细胞吸收的银离子还是银颗粒, 目前并无相关类似报道, 这也是今后值得进一步研究的内容。

对于血液而言, 染毒 1 h 后银浓度最高 ( $0.03 \pm 0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 图 2B), 在 8 h 和 24 h 时银浓度仍然是对照组浓度的 11~12 倍; 96 h 后银浓度下降至正常

水平。本研究中血液最高浓度为 ( $0.03 \pm 0.01$ )  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 远低于 Park 报道的值 ( $0.60 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )<sup>[36]</sup>。后者采用了柠檬酸包被的平均粒径为 7.9 nm 的 AgNP 溶液进行染毒, 与本研究采用的 AgNP 的表面特性、粒径大小均不同。

大鼠的肝、肾、肺、脑和脾中均能检测到银, 说明银可以通过血液循环系统迁移并在体内累积, 其中肝、肾、肺、脾和脑是 AgNP 作用的靶器官。肝、肾、肺和脑的银浓度呈现相似的规律, 即染毒 1 h 和 8 h 后组织银浓度最高, 之后恢复到对照组水平。这可能是这些组织重新释放银到了血液。在 1 h 时灌胃大鼠脾中银浓度与对照组有显著性差异, 其他采样点并未发现显著性差异。值得注意的是, 尽管是灌胃的途径, 但是在肺和脑中依然检测到了银。肺中检测到银可能是肺泡巨噬细胞能够吞噬银, 脑中检测到银可能是银穿透血脑屏障通过静脉系统进入大脑导致, 这与前人报道一致<sup>[34]</sup>。但是目前尚不清楚银是以何种形式(纳米颗粒或者银离子)进行体内运输并且分布于这些组织, 这值得进一步研究。

### 2.3 AgNP 对大鼠的有效性

如图 2B 所示, 灌胃后 1 h 血液和其他组织中银浓度达到最高值, 且与对照组存在显著性差异 ( $P < 0.05$ ), 说明 AgNP 已快速地被生物体吸收。因此, 本研究通过大鼠体内银含量和染毒剂量的比值计算 AgNP 对大鼠的有效性。将灌胃后 1 h 时各组织中银的含量来计算 AgNP 的生物有效性。每只大鼠摄入总银量为 1 879.56  $\mu\text{g}$ , 如表 1 所示, 器官、组织中银总量为 159.22  $\mu\text{g}$ 。器官、组织中银总量与摄入总量的比值为 8.5%, 说明本研究中 AgNP 对 SD 大鼠

表 1 大鼠体内 AgNP 生物有效性  
Table 1 The bioavailability of AgNP in rats

器官/组织 Organs and tissues	组织干重或体积(g 或 mL) Tissues dry weight or volume/(g or mL)	组织中银含量/ $\mu\text{g}$ Ag contents in tissues/ $\mu\text{g}$
小肠 Intestine	$1.19 \pm 0.26^a$	158.23
血液 Blood	12.80 <sup>b[40]</sup>	0.32
肝 Liver	$1.82 \pm 0.13^a$	0.52
肾 Kidney	$0.34 \pm 0.01^a$	0.07
肺 Lung	$0.23 \pm 0.09^a$	0.04
脾 Spleen	$0.10 \pm 0.01^a$	0.03
脑 Brian	$0.38 \pm 0.01^a$	0.01
合计 Total	/	159.22

注: <sup>a</sup>表示平均值 $\pm$ 标准偏差, <sup>b</sup>依据文献的估算值。

Note: <sup>a</sup> showed average value  $\pm$  standard deviation, and <sup>b</sup> showed the estimated value of the literature.

的有效性为 8.5%。本研究计算出的生物有效性略高于文献报道值(4.2%)<sup>[36]</sup>,除了采用的 AgNP 溶液的表面载体、粒径大小及分布等方面的差异外,还可能与计算方法有关。文献中采用口部摄入和尾静脉注射 2 种途径将 AgNP 染毒大鼠,并通过药物动力学软件计算大鼠血液的动力学参数(AUC),2 种途径下 AUC 的比值为 AgNP 对大鼠的有效性。

#### 2.4 AgNP 的排出

AgNP 可以通过粪便或者尿液排出体外(图 3)。灌胃 24 h 后,尿液和粪便中银浓度最高,分别为  $(0.12 \pm 0.08) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  和  $(419.21 \pm 102.03) \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。本研究中大鼠粪便中银浓度与已有报道相近,而尿液结果则高于已有报道<sup>[36]</sup>。168 h 内大鼠排泄物中银总量为  $1378.20 \mu\text{g}$ (其中,尿液和粪便中银含量分别为  $0.25 \mu\text{g}$  和  $1377.95 \mu\text{g}$ ),占染毒剂量的 73%,说

明了采用灌胃途径,绝大部分 AgNP 将排出体外,且粪便是最主要的排出途径。

本研究结果表明,通过灌胃途径染毒的 AgNP 中约 8.5% 可以被 SD 大鼠吸收,并且通过血液循环迅速分配到各个组织;1 h 时各组织的银浓度达到最高值,之后会随时间下降,其中,肝、肾、肺、脾和脑是 AgNP 的靶器官,其银浓度的高低顺序依次为肝 > 肾 > 脾 > 肺 > 脑。相对而言,大部分灌胃的 AgNP 并未被吸收,是通过尿液或者粪便排出体外,其中粪便可排出约 73% 的银。因此,我们认为,当以灌胃的途径单次给药时,聚乙烯吡咯烷酮包被的 AgNP 经 SD 大鼠的肠胃吸收后,一小部分进入血液并分配到各个组织,而大部分银则通过粪便排出体外。由此可推测,该染毒剂量下 AgNP 的毒性可能不高,这将需要进一步的研究。

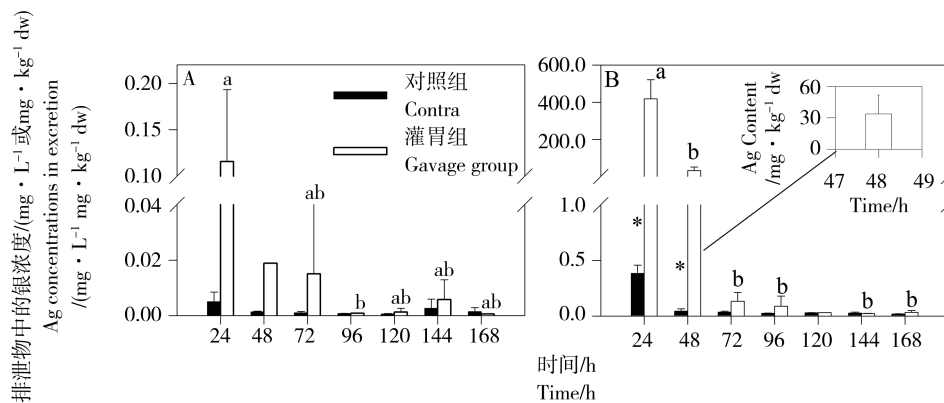


图 3 大鼠排泄物中银浓度(A:尿液, B:粪便,  $n=2\sim3$ , 48 h 的尿液只采集到 1 个样品)

注: \* 表示对照组与灌胃组之间存在显著性差异;不同字母表示灌胃组不同时间点之间显著性差异( $P < 0.05$ )。

Fig. 3 Ag concentrations in excretion of rats (A: urine, B: feces,  $n=2\sim3$ , only one sample of urine at 48 h)

Note: \* indicated the significant difference between the control group and the gavage group, and the different letter indicated the significant difference of the gavage group in different time points ( $P < 0.05$ ).

**通讯作者简介:**施维林(1965—),男,理学博士,教授,主要研究方向为生态毒理学,发表学术论文 50 余篇。

**共同通讯作者简介:**朱雪峰(1967—),女,实验师,主要从事农药亚慢性试验,农药、保健食品致突变试验、毒理学安全性评价试验及功能试验。

#### 参考文献(References):

[1] Wijnhoven S W P, Peijnenburg W J G M, Herberths C A, et al. Nano-silver: A review of available data and knowledge gaps in human and environmental risk assessment [J]. *Nanotoxicology*, 2009, 3(2): 109-138

[2] Glover R D, Miller J M, Hutchison J E. Generation of metal nanoparticles from silver and copper objects: Nanoparticle dynamics on surfaces and potential sources of nanoparticles in the environment [J]. *ACS Nano*, 2011, 5 (11): 8950-8957

[3] 周东美. 纳米 Ag 粒子在我国主要类型土壤中的迁移转化过程与环境效应[J]. *环境化学*, 2015, 34(4): 605-613

Zhou D M. Transport and transformation of nano Ag particle in soils and its environmental effects [J]. *Environmental Chemistry*, 2015, 34(4): 605-613 (in Chinese)

[4] Wang X, Ji Z X, Chang C H, et al. Use of coated silver

- nanoparticles to understand the relationship of particle dissolution and bioavailability to cell and lung toxicological potential [J]. *Small*, 2014, 10(2): 385-398
- [5] 辛琦, 章强, 程金平. 纳米银对鱼类的毒性效应研究进展[J]. *生态毒理学报*, 2014, 9(6): 1014-1026  
Xin Q, Zhang Q, Cheng J P. Review on the toxicology study of silver nanoparticles on fish species [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2014, 9(6): 1014-1026 (in Chinese)
- [6] 辛琦, 章强, 程金平. 纳米银和银离子对斑马鱼胚胎早期生长发育的影响及作用机制[J]. *生态毒理学报*, 2015, 10(4): 55-64  
Xin Q, Zhang Q, Cheng J P. Effects of silver nanoparticles and silver ions on the early development of zebrafish embryos and toxicity mechanisms [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2015, 10(4): 55-64 (in Chinese)
- [7] Woodrow Wilson International Center for Scholar. Woodrow Wilson International Center for Scholars: Project on emerging nanotechnologies, an inventory of nanotechnology-based consumer products introduced on the market [EB/OL]. (2016-08-30) [2016-09-02]. <http://www.nanotechproject.org/cpi/>
- [8] Chaloupka K, Malam Y, Seifalian A M. Nanosilver as a new generation of nanoparticle in biomedical applications [J]. *Trends in Biotechnology*, 2010, 28(11): 580-588
- [9] Limbach L K, Wich P, Manser P, et al. Exposure of engineered nanoparticles to human lung epithelial cells: Influence of chemical composition and catalytic activity on oxidative stress [J]. *Environmental Science and Technology*, 2007, 41(11): 158-163
- [10] Thrall L. A nano Trojan horse [J]. *Environmental Science and Technology*, 2007, 41: 3791-3792
- [11] Kim Y S, Kim J S, Cho H S, et al. Twenty-eight-day oral toxicity, genotoxicity, and gender-related tissue distribution of silver nanoparticles in Sprague-Dawley rats [J]. *Inhalation Toxicology*, 2008, 20(6): 575-583
- [12] Lubick N. Nanosilver toxicity: Ions, nanoparticles - or both? [J]. *Environmental Science and Technology*, 2008, 42(23): 8617
- [13] Tang J, Xi T. Status of biological evaluation on silver nanoparticles [J]. *Journal of Biomedical Engineering*, 2008, 25(4): 958-961
- [14] 施畅, 徐丽明, 邵安良. 纳米银的毒理学研究现状[J]. *药物分析杂志*, 2013, 33(12): 2025-2033  
Shi C, Xu L M, Shao A L. A brief review on toxicity of silver nanoparticles [J]. *Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis*, 2013, 33(12): 2025-2033 (in Chinese)
- [15] Kulthong K, Srisung S, Boonpavanitchakul K, et al. Determination of silver nanoparticle release from antibacterial fabrics into artificial sweat [J]. *Particle Fibre Toxicology*, 2010, 7(1): 1-9
- [16] Park M V, Neigh A M, Vermeulen J P, et al. The effect of particle size on the cytotoxicity, inflammation, developmental toxicity and genotoxicity of silver nanoparticles [J]. *Biomaterials*, 2011, 32(36): 9810-9817
- [17] Ahamed M, AlSalhi M S, Siddiqui M K J. Silver nanoparticle applications and human health [J]. *Clinica Chimica Acta*, 2010, 411(23-24): 1841-1848
- [18] Jun E A, Lim K M, Kim K, et al. Silver nanoparticles enhance thrombus formation through increased platelet aggregation and procoagulant activity [J]. *Nanotoxicology*, 2011, 5(2): 157-167
- [19] Hyun J S, Lee B S, Ryu H Y, et al. Effects of repeated silver nanoparticle exposure on the histological structure and mucins of nasal respiratory mucosa in rats [J]. *Toxicology Letters*, 2008, 182(1-3): 24-28
- [20] Sung J H, Ji J H, Park J D, et al. Subchronic inhalation toxicity of silver nanoparticles [J]. *Toxicological Sciences*, 2009, 108(2): 452-461
- [21] Tiwari D K, Jin T, Behari J. Dose - dependent *in-vivo* toxicity assessment of silver nanoparticles in Wistar rats [J]. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 2011, 21(1): 13-24
- [22] Cha K, Hong H W, Choi Y G, et al. Comparison of acute responses of mice livers to short - term exposure to nano - sized or micro - sized silver particles [J]. *Biotechnology Letters*, 2008, 30(11): 1893-1899
- [23] Sung J H, Ji J H, Yoon J U, et al. Lung function changes in Sprague-Dawley rats after prolonged inhalation exposure to silver nanoparticles [J]. *Inhalation Toxicology*, 2008, 20(6): 567-574
- [24] Song K S, Sung J H, Ji J H, et al. Recovery from silver-nanoparticle-exposure-induced lung inflammation and lung function changes in Sprague Dawley rats [J]. *Nanotoxicology*, 2013, 7(2): 169-180
- [25] Braydich-Stolle L, Hussain S, Schlager J J, et al. *In vitro* cytotoxicity of nanoparticles in mammalian germline stem cells [J]. *Toxicological Sciences*, 2005, 88(2): 412-419
- [26] Ahamed M, Karns M, Goodson M, et al. DNA damage response to different surface chemistry of silver nanoparticles in mammalian cell [J]. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2008, 233(3): 404-410
- [27] Carlson C, Hussain S M, Schrand A M, et al. Unique cellular interaction of silver nanoparticles: Size-dependent generation of reactive oxygen species [J]. *Journal of Physical Chemistry B*, 2008, 112(43): 13608-13619

- [28] Hsin Y H, Chen C F, Huang S, et al. The apoptotic effect of nanosilver is mediated by a ROS- and JNK- dependent mechanism involving the mitochondrial pathway in NIH3T3 cells [J]. *Toxicology Letters*, 2008, 179(3): 130-139
- [29] Arora S, Jain J, Rajwade J M, et al. Interactions of silver nanoparticles with primary mouse fibroblasts and liver cells [J]. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2009, 236(3): 310-318
- [30] AshaRani P V, Low Kah Mun G, Hande M P, et al. Cytotoxicity and genotoxicity of silver nanoparticles in human cells [J]. *ACS Nano*, 2009, 3(2): 279-290
- [31] Park E J, Yi J, Kim Y, et al. Silver nanoparticles induce cytotoxicity by a Trojan-horse type mechanism [J]. *Toxicology in Vitro An International Journal Published in Association with Bibra*, 2010, 24(3): 872-878
- [32] 韩春茂, 陈炯, 余朝恒, 等. 纳米银用于烧伤患者创面后银代谢的变化[J]. *中华烧伤杂志*, 2004, 20(3): 161-163  
Han C M, Chen J, Yu C H, et al. Change in silver metabolism after the application of nanometer silver on burn wound [J]. *Chinese Journal of Burns*, 2004, 20(3): 161-163 (in Chinese)
- [33] 钟飞, 孙明波, 戴政宁, 等. 纳米银在大鼠体内的药代动力学及分布特性的研究[J]. *世界最新医学信息文摘*, 2015, 15(4): 61-62  
Zhong F, Sun M B, Dai Z N, et al. Study on pharmacokinetics and distribution of silver nanoparticles in rats [J]. *World Latest Medicine Information*, 2015, 15(4): 61-62 (in Chinese)
- [34] 汤京龙, 王硕, 刘丽, 等. 纳米银颗粒在大鼠体内分布特性的研究[C]. 北京: 中国生物医药工程学会学术大会, 2010  
Tang J L, Wang S, Liu L, et al. Distribution, translocation and accumulation of silver nanoparticles in rats [C]. Beijing: Academic Conference of the Chinese Society of Biomedical Engineering, 2010 (in Chinese)
- [35] 陈丹丹, 奚廷斐, 白净, 等. 纳米银和微米银在大鼠组织器官中的分布[J]. *北京生物医学工程*, 2007, 26(6): 608-611  
Chen D D, Xi T P, Bai J, et al. Nanosilver subchronic toxicity and silver distribution in different rat tissues [J]. *Beijing Biomedical Engineering*, 2007, 26(6): 608-611 (in Chinese)
- [36] Park K, Park E J, Chun I K, et al. Bioavailability and toxicokinetics of citrate-coated silver nanoparticles in rats [J]. *Archives of Pharmacal Research*, 2011, 34(1): 153-158
- [37] Li K, Li K, Ma L Q, et al. *In vitro* bioaccessibility and *in vivo* relative bioavailability in 12 contaminated soils: Method comparison and method development [J]. *Science of the Total Environment*, 2015, 532: 812-820
- [38] Walczak A P, Fokkink R, Peters R, et al. Behaviour of silver nanoparticles and silver ions in an *in vitro* human gastrointestinal digestion model [J]. *Nanotoxicology*, 2012, 7(7): 1198-1210
- [39] Peters R, Kramer E, Oomen A G, et al. Presence of nano-sized silica during *in vitro* digestion of foods containing silica as a food additive [J]. *ACS Nano*, 2012, 6(3): 2441-2451
- [40] Diehl K H, Hull R, Morton D, et al. A good practice guide to the administration of substances and removal of blood, including routes and volumes [J]. *Journal of Applied Toxicology*, 2001, 21(1): 15-23 ◆