

DOI: 10.7524/AJE.1673-5897-20140314002

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)

纳米银对鱼类的毒性效应研究进展

辛琦¹, 章强¹, 程金平^{1,2,*}

1. 华东师范大学河口海岸学国家重点实验室, 上海 200062

2. 香港城市大学深圳研究院, 深圳 518057

收稿日期: 2014-03-14 录用日期: 2014-05-13

摘要: 纳米银作为一种新兴的纳米材料, 由于其独特的抗菌性能而被广泛应用于各种商业化产品中。广泛的应用增加了它进入环境尤其是水环境的机率, 从而对鱼类等水生生物产生潜在毒性效应。因此, 近年来陆续开展了关于纳米银对鱼类的毒理学研究。本文根据国内外文献查阅及分析, 综述了纳米银的制备、特性、应用、释放情况以及近几年来纳米银对鱼类的毒理学研究进展, 对今后进一步开展相关研究工作提供参考。

关键词: 纳米银; 鱼类; 毒理学

文章编号: 1673-5897(2014)6-1014-13 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

Review on the Toxicology Study of Silver Nanoparticles on Fish Species

Xin Qi¹, Zhang Qiang¹, Cheng Jinping^{1,2,*}

1. State Key Laboratory of Estuarine and Coastal Research, East China Normal University, Shanghai 200062, China

2. City University of Hong Kong Shenzhen Research Institute, Shenzhen 518057, China

Received 14 March 2014 **accepted** 13 May 2014

Abstract: As a kind of emerging nanomaterials, silver nanoparticles have been widely used in many commercial products for their distinctive antibacterial properties. Extensive applications increase their chances to enter environment, especially aquatic environment, thus posing potential toxic effects on aquatic organisms such as fish. Therefore, intensive researches on the toxicology study of silver nanoparticles on fish have been carried out in recent years. This review summarizes the preparation, characteristics, application, release of silver nanoparticles and recent progress on the toxicology study of silver nanoparticles on fish species based on the recent research articles. This review can be a good reference for the ecotoxicological study of silver nanoparticles.

Keywords: silver nanoparticles; fish; toxicology

纳米技术是近年来快速发展的一个领域, 从某种程度上来讲, 它的影响会远超过工业革命的影响。目前纳米技术领域已经取得了价值数十亿美元的市

场, 预计到 2015 年这一数字会增长到一万亿美元^[1]。纳米材料是指在三维尺度上至少有一维尺度在 1~100nm 之间的物质。这种纳米级别的粒径

基金项目: 国家自然科学基金(41101489); 广东省自然科学基金(s2012010010847); 教育部新世纪优秀人才计划项目(NECT-12-0181); 河口海岸学国家重点实验室自主课题(2012RCDW-01)

作者简介: 辛琦(1989-), 女, 硕士研究生, 研究方向为环境毒理学, E-mail: xinxin8922@126.com;

* 通讯作者(Corresponding author) E-mail: jpcheng@sklec.ecnu.edu.cn

就使得这些物质具备了与大颗粒物质不同的理化特性,例如,更大的比表面积、更高的反应活性^[2]。

环境水体中的银主要来源于自然源、采矿业和摄影影像业等^[3]。银是具有高毒性的重金属之一,它的毒性仅次于汞,并且和镉、铬(VI)一起被划分在毒性最强的重金属一类^[4-6]。由于它的高毒性、持久性和在生物体内较高的蓄积性,银在 1976 年被列入欧洲经济共同体(EEC)的危险物质黑名单(Dangerous Substance Directive List II (76/464/EEC)),1977 年被美国环保署(EPA)列入优先控制污染物的名单,自此银的排放标准更为严格^[7]。由于环境的复杂性,环境中存在的银离子通常会与周围的物质结合成各种形式的配合物,因此会影响到它的生物有效性和毒性。

纳米银是以纳米技术为基础研制而成的新型纳米材料,因为具有良好的抗菌性能,目前已经被广泛应用于医疗、美容、水质净化领域以及许多其他的消费品如纳米银抗菌洗衣机、食物包装及纺织品等^[8],成为商业用途中使用最普遍的纳米材料。

近年来纳米银在各种商品中的大量使用,导致它在环境中不断累积,尤其水环境是其重要的归宿。因此纳米银对水生生态系统产生的潜在影响已经引起各界的广泛关注,但目前关于水环境中纳米银的毒理效应和致毒机制研究还处于探索阶段。本文综述了近年来纳米银对鱼类的毒理研究所取得的进展,并对今后该领域的研究工作进行展望。

1 纳米银的制备、特性、应用及环境浓度

纳米银的制备主要分为两种方式。第一种是物理法,即直接用物理手段将普通的金属银单质制备成纳米级别的粒径。可根据所用的物理手段不同分为机械研磨法、蒸发冷凝法、激光消融法等。例如 Bae^[9] 等人在 NaCl 溶液中用激光烧蚀银片,同时不断搅动防止团聚,制得了平均粒径为 26 nm 的银颗粒。物理法原理简单,所含杂质少。第二种是化学法,即在特定的条件下,将水溶液中的银离子还原成为纳米级粒径的银单质。化学法是制备纳米银最常用的方法,根据所用还原剂或者还原方法的不同可以分为物理还原法、化学还原法和生物还原法^[10]。其中化学还原法最常用的还原剂有硼氢化物、柠檬酸盐、抗坏血酸盐和水合肼等^[11-12],化学还原法所需设备工艺简单、成本低、产率高,因而目前在商业化大批量生产纳米银时多采用此方法。然而由于化学还原法反应体系中各物质间表面作用能大,生成的纳米银极易团

聚,使得制备的纳米银一般粒径大、分布范围宽,因此在制备过程中常常加入分散剂来保护并改善纳米粒子的分散状况,防止聚集。目前最常用的分散剂包括柠檬酸盐(Cit)、聚乙烯吡咯烷酮(PVP)、胺、氨基化合物、溴化十六烷三甲基铵(CTAB)、糖类、脂肪酸、聚乙烯醇(PVA)等^[13]。纳米银的制备方法会强烈的影响到它的环境行为,如化学法中所用的分散剂或包裹物等与纳米银的结合特性很可能成为决定纳米银毒性的关键因素^[7]。因此在研究纳米银对水生生物的毒性影响时,纳米银的制备方式和详细理化参数应该是必须要考虑的信息。

银作为一种贵金属,本身具有许多优良的性能,纳米级的粒径赋予了它更多的理化特性,包括具有较好的化学稳定性、良好的导电导热性能、较好的催化活性、非线性光学特性等^[14]。除此之外,纳米银最独特的抗菌活性使它广泛应用在众多领域和消费产品中。Woodrow Wilson 数据库^[15]中列出了截至 2013 年 10 月市场上包含纳米材料的消费产品共 1628 种,其中包含纳米银的产品有 383 种,位于第一位,使得银成为纳米产品中应用最多并且增长最快的材料,远远超过钛(179)、碳(87)、硅(52)、锌(36)等纳米材料的应用。纳米银在化妆品等个人护理用品中应用最多,其次是纺织品、家用电器等都有添加(表 1)。

纳米银的广泛使用使它不断释放进入环境中并产生累积。纳米银在整个生命周期中,会通过以下四条途径进入环境:纳米银的生产过程;纳米银产品的制造过程;产品的使用过程;产品的回收利用或废弃过程^[17]。目前全世界范围内每年纳米银的产量预计在 500 吨^[18],在生产过程中粉末状物料可以直接进入空气中,或者通过工厂污废水进入环境水体中。

表 1 市场中包含纳米银的主要产品^[16]

Table 1 The main products containing silver nanoparticles in the market^[16]

消费产品 Consumer products	百分比/% Percentage/%
个人护理品和化妆品 Personal care and cosmetics	36.4
衣物纺织品 Clothing	14.1
家用电器 Household appliances	8.7
清洁剂 Cleaning agent	8.2
过滤用品 Filtration	7.0
厨具及食品包装 Cooking vessels and food containers	5.9
体育用品 Sporting goods	2.8
其他 Others	16.9

通常情况下纳米材料大约会有 0 ~ 2% 在生产过程中进入环境^[17]。Lee^[19] 等监测了制造纳米银的工厂工作环境中银的浓度为 0.02 ~ 1.18 $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ 。纳米银释放进入环境最不可控的过程就是含有纳米银的产品的使用过程,例如包含纳米银的化妆品直接涂抹在皮肤上,含有纳米银的纺织品与身体的摩擦接触,这些过程都会造成纳米银释放进入环境中^[17]。Benn^[20] 等人研究了六种类型的纺织品短袜中纳米银的释放情况,结果显示每克短袜中纳米银含量最高可达 1360 μg ,并且 500 mL 清洗袜子水中银的含量为 1.5 ~ 650 μg 。纳米银在生命周期中释放进入水环境的可能途径见图 1。Hoque^[21] 等运用非对称流场流分离技术和电感耦合等离子质谱测

定了加拿大彼得伯勒城市的一个污水处理厂的污水中纳米银的浓度为 1.90 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。这种方法为水环境中纳米银的研究提供了广阔的前景,但是水中检测到的纳米银可能不仅仅是由银组成,它也有可能是含有银的胶体(如 Ag_2S , AgCl 等)而不是纳米银颗粒物。废水中纳米银的浓度会随时间和地点的变化而变化,并且依赖于含纳米银产品的使用情况、人口数量、污水收集系统和废水的组成情况等。城市废水系统中的纳米银浓度和尺寸还需要进一步的研究。因此近年来,关于纳米材料的环境浓度预测模型的研究也不断展开,表 2 列出了 Gottschalk^[22] 等预测的欧洲、美国和瑞士的不同区域环境中纳米银的浓度。

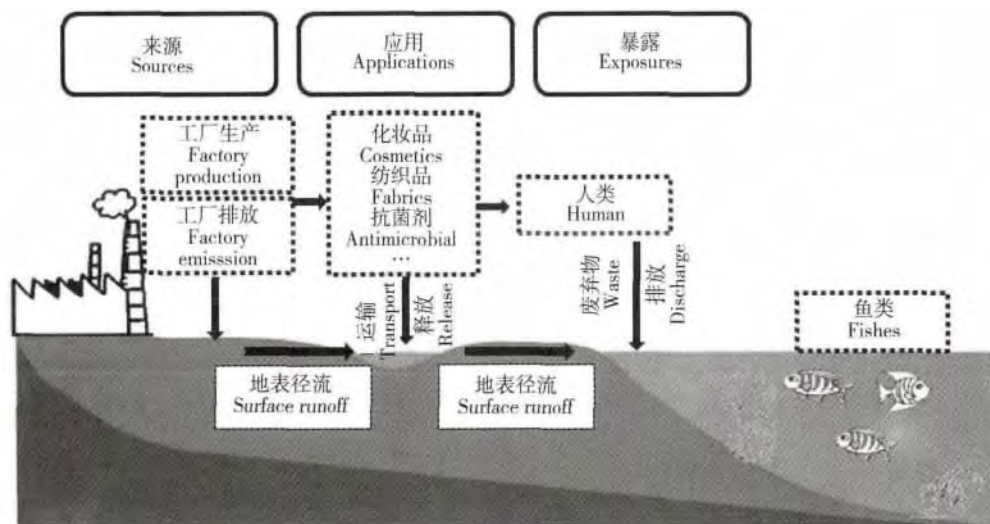


图 1 纳米银进入水环境的主要途径

Fig. 1 Main routes for silver nanoparticles to enter the aquatic environment

表 2 纳米银的环境浓度预测值^[22]

Table 2 Predicted environmental concentration of silver nanoparticles^[22]

	预测浓度 Predicted concentration			单位 Unit
	欧洲 Europe	美国 U. S.	瑞士 Switzerland	
土壤 Soil	22.7	8.3	11.2	$\Delta\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{y}^{-1}$
污泥处理的土壤 Sludge treated soil	1 581	662	—	$\Delta\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{y}^{-1}$
地表水 Surface water	0.764	0.116	0.717	$\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$
污水处理厂水流 Sewage treatment plant effluent	42.5	21.0	38.7	$\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$
污水处理厂污泥 Sewage treatment plant sludge	1.68	1.55	1.88	$\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$
沉积物 Sediment	952	195	1203	$\Delta\text{ng}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{y}^{-1}$
空气 Air	0.008	0.002	0.021	$\text{ng}\cdot\text{m}^{-3}$

2 纳米银对鱼类的毒性作用及机制

有关纳米银对鱼类的毒理研究目前尚处于探索阶段,集中于急性及慢性暴露实验。Griffitt^[23]等的研究中26.6 nm的包裹有金属氧化物的纳米银对斑马鱼(*Danio rerio*)幼鱼48 h的半数致死量(LC₅₀)为7.20 mg·L⁻¹,而分散在去离子水中的18 nm的纳米银对斑马鱼胚胎48 h-LC₅₀为0.94 mg·L⁻¹^[24], Bilberg^[25]的研究中所用的PVP包裹的81 nm的纳米银对斑马鱼48 h-LC₅₀为84 μg·L⁻¹,其毒性均高于Griffitt^[23]的研究结果。对于青鳉(*Oryzias latipes*)50 nm纳米银暴露96 h-LC₅₀为34.6 μg·L⁻¹^[26]。研究结论的不同主要是由于所用纳米银的粒径、包裹物、受试生物种类、暴露介质甚至暴露条件不同所引起的。因此目前许多研究主要侧重于探索纳米银的理化参数对其毒性作用的影响。

2.1 纳米银粒径与毒性的关系

许多研究关注了纳米银的粒径与毒性效应的关系。Lee^[27-28]等人研究发现在相同的分子浓度下,以斑马鱼为受试生物时颗粒大的纳米银比颗粒小的毒性更强。然而Bar-Ilan^[29]等人的研究却发现在某些浓度和时间点上纳米银的粒径越小对斑马鱼的毒性越大。这一点同Park^[30]等人的研究结论相似,他们的研究发现纳米银在稀释十倍的养殖水(DM-10)中毒性高于在未稀释养殖水(DM-100)中毒性。并且发现纳米银在未稀释的养殖水(DM-100)中的团聚作用比较强,因此推测纳米银毒性可能与其粒径成反比关系。不同的分散介质会影响纳米银的粒径和稳定性从而影响其毒性,这一点在Kim^[31]等的研究中也得到了佐证。在他们的研究中,纳米银在超纯水或低离子强度的水中稳定性明显高于在斑马鱼的胚胎培养水中的稳定性,在胚胎培养水中纳米银粒径明显增大并且表现出相对较低的生物毒性。不同粒径的纳米银进入生物体的方式也有所不同,Scown^[32]分别研究了10 nm、35 nm和600~1 600 nm的纳米银在虹鳉鱼(*Oncorhynchus mykiss*)组织中的累积情况,结果显示鱼鳃中累积最多的是10 nm的银,而肝脏中则是10 nm和600~1 600 nm的银都有较高累积。这可能是大颗粒的纳米银主要通过鱼类的摄食进入肝脏而不是靠鱼鳃的呼吸进入体内。此外,纳米银对斑马鱼的神经毒性也呈现出粒径效应。Powers^[33]观察到在特定的光照条件下,粒

径大的纳米银暴露组的斑马鱼幼鱼呈现出较高的运动活力,而小粒径的纳米银暴露的斑马鱼幼鱼则运动活性减退。有关纳米银粒径与毒性关系的研究详见表3。

2.2 纳米银包裹物与毒性的关系

还有学者进行了纳米银包裹物与毒性关系的研究。Kwok^[37]等人研究了PVP、Cit和亚拉伯树胶(GA)三种包裹物的纳米银对青鳉的毒性,结果发现GA包裹的纳米银毒性最强,而以PVP和Cit为涂层的纳米银却显示出了相似的且较低的毒性。另外,Wang^[38]等人发现添加酯类分散剂的纳米银毒性大于PVP包裹的纳米银毒性,而纯净的纳米银颗粒毒性最小。Powers^[33]等人以斑马鱼胚胎为研究对象,同样发现纳米银由于不同的粒径和涂料会产生不同的发育神经毒性。

此外,影响纳米银毒性的其他因素也有报道。例如,Bowman^[34]等人发现大肠杆菌(*Escherichia coli*)的死亡率与纳米银的总表面积呈现明显的剂量-效应关系,然而斑马鱼却没有这种现象。Cunningham^[39]以斑马鱼胚胎为研究对象,探究14种纳米银的毒性,结果显示纳米银的分散剂、表面电荷以及溶解的银离子是影响暴露结果的关键因素。此外纳米银的暴露阶段和暴露时间均能对斑马鱼胚胎的早期发育产生特定影响^[40]。Muth-Köhne^[41]的研究还发现污水处理过程能增加纳米银对斑马鱼生长发育的毒性。

2.3 纳米银的致毒机制

纳米银可通过绒毛膜通道被动扩散进入斑马鱼胚胎内部,从而影响胚胎发育并产生特定的表型^[27-28, 42],包括卵黄囊水肿、脊柱弯曲、小头、眼和尾的畸形、心脏畸形等^[29, 34, 36, 43-45]。进入鱼体内的纳米银会积累在鱼的鳃、肝脏、头部^[32, 37, 43, 46-47],其中肝脏是纳米银的主要富集器官,其次是鱼鳃组织。暴露7 d的青鳉鱼肝脏中银含量较对照组高出近28倍,可达大约1500 ng·g⁻¹,而鱼鳃中接近150 ng·g⁻¹^[46]。Griffitt^[47]等的研究发现斑马鱼鱼鳃中银的含量比切除了内脏的鱼体内银含量高出了一个数量级,并且纳米银的累积量与暴露浓度呈现明显的效应关系。同时,Scown^[32]的研究发现鱼鳃中累积的主要是小粒径纳米银,而肝脏中小粒径和大粒径纳米银含量均较高,这可能与不同粒径的纳米银进入鱼体内的方式不同有关。组织病理学检查发现在纳米银中暴露的青鳉鱼肝脏发生淤血和水肿,鱼鳃组

织损伤^[46]。

纳米银使暴露的斑马鱼出现呼吸速率增加,过度的鳃盖运动和粘液分泌的现象,表现出呼吸毒性^[25]。Morgan^[48]的研究同样发现在银离子暴露的虹鳟鱼中出现鳃部粘液分泌增加的现象。当毒物刺激鳃上皮细胞时,鳃部粘液分泌增加以便运走毒物^[49],但是过度的粘液分泌会增加氧运输的障碍,进而损害呼吸作用。此外,纳米银还会对斑马鱼的发育产生神经毒性。Powers^[33]在研究中对纳米银暴露的斑马鱼施以不同的光照,发现斑马鱼出现与对照组相比过度活跃或活动迟缓的现象。体外实验也验证了纳米银能破坏神经细胞PC12的复制和分化,损害神经发育^[50]。

氧化损伤是纳米材料对生物体产生毒性的一个重要机制^[51-52]。暴露在 $300\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 纳米银溶液中的鲈鱼(*Perca fluviatilis*) 24 h后基础代谢率(basal metabolic rate, BMR)未受影响,而临界氧张力(critical oxygen tension, P_{crit})增加了大约50%,表明纳米银降低了鲈鱼对低氧环境的耐受力^[53]。纳米银暴露14天后的青鳉的肝脏和鳃中还原型谷胱甘肽(GSH)明显降低并呈现剂量效应关系,而脂质过氧化产物丙二醛(MDA)显著增加^[46],在纳米银暴露的斑马鱼胚胎^[54]和罗非鱼(*Oreochromis mossambicus*)^[55]中得到了相似的结果,组织病理学检查发现罗非鱼体内的氧化和抗氧化系统的平衡被破坏。Christen^[56]发现纳米银暴露的斑马鱼肝脏细胞中与细胞凋亡相关的p53基因显著下调表达,在纳米银中暴露一天的青鳉的p53基因同样被诱导表达^[57],p53基因的激活能抑制细胞周期和DNA的修复,最终导致细胞凋亡。纳米银还可以诱导斑马鱼肝脏中与p53相关的细胞凋亡基因Bax和Noxa的表达,而抵抗细胞凋亡的基因Bcl2则未受影响^[58]。因此推断纳米银可诱导鱼类产生氧化损伤和细胞凋亡。纳米银对小型鱼类致毒机制的详细研究见表4。

关于纳米银与银离子毒性的关系也有广泛研究。van Aerle^[60]等研究认为纳米银的毒性主要与具有生物有效性的银离子有关,Wang^[38]等同样认为在解释纳米银的毒性时不能忽视银离子的作用,但是对于不同生物来说由于积累重金属的能力不同,因此银离子对于纳米银毒性的贡献大小有所不同。另外一些研究则发现纳米银的毒性可

能不仅仅是银离子的作用。如Powers^[33]等研究发现银离子处理的斑马鱼幼鱼对光照条件的变化响应极度灵敏,而柠檬酸盐包裹的纳米银组斑马鱼则显示出和空白对照组相似的正常运动活性。Ribeiro^[61]等研究发现纳米银和银离子处理的斑马鱼表现出了不同的畸形,因此他认为两者的作用方式可能不同。所以纳米银的毒性是其本身单独的作用还是释放的银离子的作用亦或兼而有之,目前还没有明确的结论。

随着纳米银的广泛应用,它对环境以及生物的潜在健康影响受到了越来越多的关注,各种毒理学研究和生态风险评价广泛开展。通过目前的文献调研发现, $34.6\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的纳米银就能够造成暴露96 h的青鳉死亡率达到一半^[26],这个浓度远远高于沉积物和污水处理厂污泥中的纳米银环境浓度预测值(表2)^[22]。受到纳米银影响的鱼类可能产生氧化损伤^[46, 53-55]和细胞凋亡^[56-58],甚至表现出呼吸毒性^[25, 48-49]和神经毒性^[33, 50]。并且纳米银能够累积在鱼体内^[32, 37, 43, 46-47],可能通过食物链对更高营养级的生物以至人类产生影响,因此纳米银对鱼类等水生生物的毒性研究具有重要的意义。

然而由于纳米银颗粒本身的理化参数众多、环境行为复杂,目前各研究中所用纳米银材料规格、实验条件及暴露方式等都不同,因此研究结果中纳米银毒性差异较大,很难对其统一比较做出定论,有关纳米银的毒性机制还有待深入研究。结合目前有关纳米银对鱼类的毒理研究情况,今后该领域的研究工作可以关注以下几个方面:

1. 完善对纳米银材料的分析检测及表征。纳米银材料参数众多,如粒径、形状、表面积、电荷、制备中残留的化学成分等,这些数据都会对毒性作用的研究产生重要影响,因此今后的研究应完善这方面的信息。

2. 与实际环境条件相结合。环境参数能强烈影响纳米银的行为特征,包括团聚、吸附等,进而影响毒性评价,因此实验时应充分考虑现实环境中的暴露情况。

3. 纳米银与银离子毒性关系。目前关于纳米银的毒性是释放出的银离子的毒性作用还是纳米级粒径的银单质的独特作用目前还没有明确定论。

表 3 纳米银粒径与毒性关系的相关研究
Table 3 Researches on the relationship between toxicity and size of silver nanoparticles (Ag NPs)

受试生物 Experimental organisms	粒径/nm Size/nm	制备方法 Preparation	包裹物 Coating	来源 Sources	暴露液制备方式 (溶剂及方法) Preparation of exposure media (solvent and method)	暴露实验 Exposure tests			参考文献 References
						暴露时间 Exposure time	LC ₅₀ 或重要的 浓度/界面点 LC ₅₀ or important concentrations	主要影响 Major effects	
斑马鱼胚胎 Zebrafish embryos	3		硼氢化钠 Sodium borohydride	自制 Homemade	反渗透胚胎培养水 Reverse osmosis egg-water		93.31 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	1. 卵黄囊水肿, 体长变短, 小头, 血液循环畸形等畸形表型	[29]
	10	水相还原法					125.66 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	1. Malformations such as nondepleted yolk, body degradation, small head and circulatory malformations	
	50	Aqueous reduction				120 h	126.96 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	2. 纳米银的毒性远大于纳米金	
	100						137.26 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	2. Ag NPs are more toxic than nanogold	
斑马鱼胚胎 Zebrafish embryos	10				胚胎培养水 (DM-100)		0 ~ 10 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	1. 纳米银颗粒在培养水(DM-100)中聚集严重, 而在培养水(DM-10)中能稳定存在七天	[30]
					Fish water (DM-100)			1. Ag NPs were seriously aggregated in DM-100 while stable for 7 days in DM-10	
			Cu	Nano-Composix	稀释十倍后的胚胎 培养水(DM-10)	120 h		2. 纳米银在培养水(DM-10)中毒性高于在培养水(DM-100)中毒性	
	100						10 ~ 20 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	2. Ag NPs are more toxic in DM-10 than in DM-100 3. 胚胎产生了延迟孵化, 心率减弱和心包水肿等畸形 3. Delayed hatching, decreased heart rate and pericardial edema were observed in embryos	
斑马鱼胚胎 Zebrafish embryos	20		PVP		含 CaCl_2 的水 Water containing CaCl_2		11.92 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	纳米银在未团聚状态下, 分别呈现出与粒径和包裹物相关的毒性	[31]
	110			Nano	超纯水 Ultrapure water	120 h	0.08 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	Ag NPs remaining unagglomerated exhibited size- and coating-dependent toxicity	
	20		Cu	Composix	胚胎培养水 Embryo medium		36.78 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$		
	110						9.98 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$		
虹鳟鱼 Rainbow trout	10				超纯水 Ultrapure water			1. 鱼鳃中累积最多的是 10 nm 银, 肝脏中最多的是 10 nm 和 600 ~ 1 600 nm 银	[32]
	35		PVP	NanoAmor (Houston, USA)		10 d	110 ~ 100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	1. 10 nm Ag were highly concentrated within gill tissues while 10 nm and 600 ~ 1 600 nm Ag were the most highly concentrated in liver	
	600 ~ 1 600		Cu		超声分散 30 分钟 Sonication for 30 min			2. 纳米银能增加鱼鳃组织的氧化压力	
								2. Ag NPs could increase oxidative stress in gills	

续表 3

斑马鱼胚胎	10		Cit	Duke University	超纯水			呈现与粒径相关的神经毒性	
Zebrafish	10	水相还原法		NanoAmor	Ultrapure water	5 d	$30 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	Ag NPs induced neurobehavioral effects that highly depend on particle size	[33]
embryos	50	Aqueous reduction	PVP	(Houston, TX)	超声分散 20 min Sonication for 20 min				
养殖水									
斑马鱼胚胎	20				Aquarium water				
Zebrafish	50	水相还原法	磷酸盐	Nano composix	超声探针 60 Hz	120 h	—	心率降低, 心包水肿, 绒毛膜混浊	[34]
embryos	110	Aqueous reduction	Phosphate		下搅拌 30 s Sonication at 60 Hz for 30 s			Slower heart rates, pericardial edema and chorion turbidity	
斑马鱼胚胎	12	气相冷凝法	磷酸盐	自制	蒸馏水			在胚胎早期发育阶段重要的解毒重金属的相关信号通路没有表现出明显的上调	[35]
Zebrafish		Gas phase condensation	Phosphate	Homemade	Distilled water	120 h	$15.8 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	No active upregulation of important detoxification pathway was observed at early point indevelopment	
embryos	21				胚胎培养水 Egg water				
商品化无色									
	1 ~ 20			纳米银			$>30 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	1. 青鳉胚胎出现血管斑, 严重情况下可导致胚胎内或卵黄体内出血	
				Colorless Ag					
				NPs goods				1. Medaka showed vascular patch and could bleed in the embryos in severe cases	
青鳉	1 ~ 20	—	—	商品化褐色	—	24 h	$4.57 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	2. 眼发育异常、脊柱弯曲及尾弯曲、胆囊肿大、肝脏糜烂等畸形	[36]
Medaka				纳米银					
				Brown Ag					
	70			NPs goods			$2.34 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	2. Malformations including eye anomaly, curved spine and tail, enlarged gallbladder and liver erosion	
				自制					
				Homemade					

表 4 纳米银对鱼类致毒机制的相关研究
Table 4 Researches on the toxic mechanism of silver nanoparticles in fish

纳米银 Ag NPs										暴露实验 Exposure tests		参考文献 References	
受试生物 Experimental organisms	粒径/nm Size/nm	制备方法 Preparation	包裹物 Coating	来源 Sources	暴露液制备方式 (溶剂及方法) Preparation of exposure media (solvent and method)	暴露时间 Exposure time	LC ₅₀ 或重要的浓度界点 LC ₅₀ or important concentrations	主要影响 Major effects					
斑马鱼胚胎 Zebrafish embryos	11.6 ±	水相还原法 Aqueous reduction	—	自制 Homemade	胚胎培养水 Egg water 将纳米银洗涤离心过滤后制备成悬浮液 Ag NPs were washed using centrifugation and then resuspended	120 h	0.19 nmol·L ⁻¹	纳米银能够通过被动运输通过绒毛膜通道进入胚胎内部, 从而影响胚胎发育并产生特定表型 Ag NPs passively diffused into developing embryos via chorion pore canals and generated particular phenotypes			[27]		
	3.5	Aqueous reduction											
斑马鱼胚胎 Zebrafish embryos	41.6 ±	水相还原法 Aqueous reduction	—	自制 Homemade	胚胎培养水 Egg water 将纳米银洗涤离心过滤后制备成悬浮液 Ag NPs were washed using centrifugation and then resuspended	120 h	0.02 nmol·L ⁻¹	1. 纳米银能够通过被动运输通过绒毛膜通道进入胚胎内部, 从而影响胚胎发育并产生特定的表型 1. Ag NPs passively diffused into developing embryos via chorion pore canals and generated particular phenotypes			[28]		
	9.1	Aqueous reduction					0.20 nmol·L ⁻¹	2. 相同分子浓度下, 颗粒大的纳米银比颗粒小的毒性更强 2. At the same molar concentration, the larger Ag NPs were more toxic than the smaller Ag NPs					
斑马鱼胚胎 Zebrafish embryos	13.1 ±	水相还原法 Aqueous reduction	无 None	自制 Homemade	—	120 h	0.15 ~ 4.90 mg·L ⁻¹	纳米银被动扩散进入胚胎内部, 并针对特定的发育阶段, 产生特定时期的胚胎表型 Ag NPs passively diffused into different developmental stages of embryos and induced distinctive stage phenotypes			[42]		
	2.5	Aqueous reduction											
斑马鱼 Zebrafish	81	—	PVP	NanoAmor (Houston, USA)	Milli-Q 水 Milli-Q water	48 h	84 μg·L ⁻¹	呼吸毒性 Respiratory toxicity			[25]		
斑马鱼 Zebrafish	5 ~ 20	—	—	Nanopoly (Seoul, Korea)	养殖水 Aquarium water 超声 30s Sonication for 30 s	24 h	250 mg·L ⁻¹	诱导成年斑马鱼的肝脏产生氧化压力和细胞凋亡 Ag NPs induced oxidative stress and apoptosis in the liver of adult zebrafish			[58]		

续表 4

斑马鱼胚胎 Zebrafish embryos	8.39 ± 0.98	聚丙烯酸钠 Sodium polyacrylate	—	胚胎培养水 (包含盐和抗菌剂) Egg water (containing an anti-fungal and salts)	96 h	1.18 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	诱导斑马鱼产生氧化压力 Induction of oxidative stress in zebrafish	[54]
青鳉 Medaka	25 ~ 30	水相还原法 Aqueous reduction	PVP	自制 Homemade	96 h 14 d	0.87 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 0.1 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	1. 纳米银造成肝脏、鳃和肠道金属负荷的增加, 尤以肝脏中银含量增加最明显 1. Ag NPs caused an increase of heavy metal in the liver, gill and gut, especially in the liver 2. 氧化损伤效应 2. Oxidative stress	[46]
青鳉 Medaka	30 ~ 35 nm	水相还原法 Aqueous reduction	—	自制 Homemade	9 d	—	胚胎期青鳉产生氧化应激状态 Embryonic medaka showed oxidative stress	[59]
罗非鱼 Mozambique tilapia	60 ~ 80	水相还原法 Aqueous reduction	—	自制 Homemade	8 d	12.6 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	氧化和抗氧化系统的平衡被破坏 Oxidative and antioxidant system in the fish was broken down	[55]
鲈鱼 Eurasian perch	81	—	PVP	NanoAmor (Houston, USA) PVP	2 d	63 ~ 300 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	纳米银对鱼鳃产生影响 Ag NPs affected the gills 降低鲈鱼对低氧条件下的耐受力 Impaired the tolerance to hypoxia of fish	[53]
斑马鱼胚胎 Zebrafish embryos	10 ~ 20	—	—	去氯的自来水 Dechlorinated tap water	72 h	—	1. 孵化率降低, 幼鱼脊索弯曲, 心率减弱, 眼和尾的畸形 1. Decreased hatching rate, abnormal notochords, weak heartbeat, damaged eyes and curved tail 2. Scl N1 基因的表达量降低 2. The expression of the Scl N1 gene decreased 3. CAT 酶活性增加 3. The catalase activities increased	[44]

续表 4

斑马鱼 Zebrafish	1.7	气相冷凝法 Gas phasecondensation	柠檬酸钠 Sodium citrate	Quantum Sphere	28 d	5 ~ 50 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	1. 鱼鳃和切除肝脏的鱼体中银的累积均呈现剂量关系 1. Tissueaccumulation in both gill and eviscerated carcass was dose - dependent 2. 纳米银影响与 DNA 损伤修复,细胞重建以及生长发育过程相关的基因通路 2. Ag NPs affected the pathway associated with DNA damage repair, cellular restructuring, and developmental processes	[47]
斑马鱼胚胎 Zebrafish embryos	120	-	-	Sigma-Aldrich	120 h	0.01 ~ 5 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	1. 斑马鱼产生内质网应激作用 1. Endoplasmatic reticulum stressresponse was induced in zebrafish 2. 可能造成细胞凋亡和炎症通路的激活 2. Activationof apoptotic and inflammatory pathways	[56]
斑马鱼胚胎 Zebrafish embryos	10	-	无 None	NanoAmor	48h 超声 1h Sonication for 1 h	5 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	1. 与氧化磷酸化和蛋白合成相关的基因通路明显受影响 1. The pathways associated with oxidative phosphorylation and protein synthesis were affected 2. 纳米银的毒性主要与具有生物有效性的银离子有关 2. The toxicity ofAg NPs was principally associated with bioavailablesilver ions	[60]
斑马鱼胚胎 Zebrafish embryos	3 ~ 8	-	烷烃 Alkane	AMEPOX	96 h 培养水 Culturemedia	128.54 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	纳米银和 Ag^+ 对斑马鱼产生不同的畸形,其作用方式可能不同 The mode of action of AgNPs and Ag^+ might differince different abnormalities were observedinzebrafish	[61]

通讯作者简介:程金平(1978—),女,博士,研究员,主要研究方向为生态毒理学

参考文献:

- [1] Aitken R J, Chaudhry M Q, Boxall A B A, et al. Manufacture and use of nanomaterials: Current status in the UK and global trends [J]. *Occupational Medicine*, 2006, 56(5): 300–306
- [2] 邓芙蓉, 魏红英, 郭新彪. 纳米银毒理学研究进展 [J]. *环境工程技术学报*, 2011, 1(5): 420–424
- [3] Purcell T W, Peters J J. Sources of silver in the environment [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 1998, 17(4): 539–546
- [4] Doudoroff P, Katz M. Critical review of literature on the toxicity of industrial wastes and their components to fish: II. The metals, as salts [J]. *Sewage and Industrial Wastes*, 1953, 25(7): 802–839
- [5] Albright L J, Wentworth J W, Wilson E M. Technique for measuring metallic salt effects upon the indigenous heterotrophic microflora of a natural water [J]. *Water Research*, 1972, 6(12): 1589–1596
- [6] Ratte H T. Bioaccumulation and toxicity of silver compounds: A review [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 1999, 18(1): 89–108
- [7] Fabrega J, Luoma S N, Tyler C R, et al. Silver nanoparticles: behaviour and effects in the aquatic environment [J]. *Environment International*, 2011, 37(2): 517–531
- [8] Navarro E, Piccapietra F, Wagner B, et al. Toxicity of silver nanoparticles to *Chlamydomonas reinhardtii* [J]. *Environmental Science & Technology*, 2008, 42(23): 8959–8964
- [9] Bae C H, Nam S H, Park S M. Formation of silver nanoparticles by laser ablation of a silver target in NaCl solution [J]. *Applied Surface Science*, 2002, 197: 628–634
- [10] 代小英, 许欣, 陈昭斌, 等. 纳米银制备方法概述 [J]. *中国消毒学杂志*, 2007, 24(6): 561–563
- [11] Abou El-Nour K M M, Eftaiha A, Al-Warthan A, et al. Synthesis and applications of silver nanoparticles [J]. *Arabian Journal of Chemistry*, 2010, 3(3): 135–140
- [12] 张昊然, 李清彪, 孙道华, 等. 纳米级银颗粒的制备方法 [J]. *贵金属*, 2005, 26(2): 51–56
- [13] Tolaymat T M, El Badawy A M, Genaidy A, et al. An evidence-based environmental perspective of manufactured silver nanoparticle in syntheses and applications: A systematic review and critical appraisal of peer-reviewed scientific papers [J]. *Science of the Total Environment*, 2010, 408(5): 999–1006
- [14] Capek I. Preparation of metal nanoparticles in water-in-oil (w/o) microemulsions [J]. *Advances in Colloid and Interface Science*, 2004, 110(1): 49–74
- [15] Nanotech Project. Org. Analysis of the Inventory of Nanotechnology-based Consumer Products [DB/OL]. 2014. Available: <http://www.nanotechproject.org/cpi/about/analysis/>
- [16] Nanotechproject.org. Categories of Nanotechnology-based Consumer Products [DB/OL]. 2014. Available: <http://www.nanotechproject.org/cpi/browse/categories/>
- [17] Gottschalk F, Nowack B. The release of engineered nanomaterials to the environment [J]. *Journal of Environmental Monitoring*, 2011, 13(5): 1145–1155
- [18] Mueller N C, Nowack B. Exposure modeling of engineered nanoparticles in the environment [J]. *Environmental Science & Technology*, 2008, 42(12): 4447–4453
- [19] Lee J H, Kwon M, Ji J H, et al. Exposure assessment of workplaces manufacturing nanosized TiO₂ and silver [J]. *Inhalation Toxicology*, 2011, 23(4): 226–236
- [20] Benn T M, Westerhoff P. Nanoparticle silver released into water from commercially available sock fabrics [J]. *Environmental Science & Technology*, 2008, 42(11): 4133–4139
- [21] Hoque M E, Khosravi K, Newman K, et al. Detection and characterization of silver nanoparticles in aqueous matrices using asymmetric-flow field flow fractionation with inductively coupled plasma mass spectrometry [J]. *Journal of Chromatography A*, 2012, 1233: 109–115
- [22] Gottschalk F, Sonderer T, Scholz R W, et al. Modeled environmental concentrations of engineered nanomaterials (TiO₂, ZnO, Ag, CNT, fullerenes) for different regions [J]. *Environmental Science & Technology*, 2009, 43(24): 9216–9222
- [23] Griffitt R J, Luo J, Gao J, et al. Effects of particle composition and species on toxicity of metallic nanomaterials in aquatic organisms [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2008, 27(9): 1972–1978
- [24] Olasagasti M, Gatti A M, Capitani F, et al. Toxic effects of colloidal nanosilver in zebrafish embryos [J]. *Journal of Applied Toxicology*, 2014
- [25] Bilberg K, Hovgaard M B, Besenbacher F, et al. In vivo toxicity of silver nanoparticles and silver ions in zebrafish (*Danio rerio*) [J]. *Journal of Toxicology*, 2011, 2012
- [26] Chae Y J, Pham C H, Lee J, et al. Evaluation of the toxic impact of silver nanoparticles on Japanese medaka (*Oryzias latipes*) [J]. *Aquatic Toxicology*, 2009, 94(4): 320–327
- [27] Lee K J, Nallathamby P D, Browning L M, et al. In vi-

- vo imaging of transport and biocompatibility of single silver nanoparticles in early development of zebrafish embryos [J]. *ACS Nano*, 2007, 1(2): 133–143
- [28] Lee K J, Browning L M, Nallathamby P D, et al. In vivo quantitative study of sized-dependent transport and toxicity of single silver nanoparticles using zebrafish embryos [J]. *Chemical Research in Toxicology*, 2012, 25(5): 1029–1046
- [29] Bar-Ilan O, Albrecht R M, Fako V E, et al. Toxicity assessments of multisized gold and silver nanoparticles in zebrafish embryos [J]. *Small*, 2009, 5(16): 1897–1910
- [30] Park K, Tuttle G, Sinche F, et al. Stability of citrate-capped silver nanoparticles in exposure media and their effects on the development of embryonic zebrafish (*Danio rerio*) [J]. *Archives of Pharmacal Research*, 2013, 36(1): 125–133
- [31] Kim K T, Truong L, Wehmas L, et al. Silver nanoparticle toxicity in the embryonic zebrafish is governed by particle dispersion and ionic environment [J]. *Nanotechnology*, 2013, 24(11): 115101
- [32] Scown T M, Santos E M, Johnston B D, et al. Effects of aqueous exposure to silver nanoparticles of different sizes in rainbow trout [J]. *Toxicological Sciences*, 2010, 115(2): 521–534
- [33] Powers C M, Slotkin T A, Seidler F J, et al. Silver nanoparticles alter zebrafish development and larval behavior: distinct roles for particle size, coating and composition [J]. *Neurotoxicology and Teratology*, 2011, 33(6): 708–714
- [34] Bowman C R, Bailey F C, Elrod-Erickson M, et al. Effects of silver nanoparticles on zebrafish (*Danio rerio*) and *Escherichia coli* (ATCC 25922): A comparison of toxicity based on total surface area versus mass concentration of particles in a model eukaryotic and prokaryotic system [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2012, 31(8): 1793–1800
- [35] Cowart D A, Guida S M, Shah S I, et al. Effects of Ag nanoparticles on survival and oxygen consumption of zebrafish embryos, *Danio rerio* [J]. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 2011, 46(10): 1122–1128
- [36] 吴源, 李鸿程, 凌丽, 等. 三种纳米银对 Medaka 胚胎与卵黄鱼发育的毒理学效应研究 [J]. *中国化学会第 26 届学术年会环境化学分会会场论文集*, 2008
- [37] Kwok K W H, Auffan M, Badireddy A R, et al. Uptake of silver nanoparticles and toxicity to early life stages of Japanese medaka (*Oryzias latipes*): Effect of coating materials [J]. *Aquatic Toxicology*, 2012, 120: 59–66
- [38] Wang Z, Chen J, Li X, et al. Aquatic toxicity of nanosilver colloids to different trophic organisms: Contributions of particles and free silver ion [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2012, 31(10): 2408–2413
- [39] Cunningham S, Brennan-Fournet M E, Ledwith D, et al. Effect of Nanoparticle Stabilization and Physicochemical Properties on Exposure Outcome: Acute Toxicity of Silver Nanoparticle Preparations in Zebrafish (*Danio rerio*) [J]. *Environmental Science & Technology*, 2013, 47(8): 3883–3892
- [40] Browning L M, Lee K J, Nallathamby P D, et al. Silver nanoparticles incite size- and dose-dependent developmental phenotypes and nanotoxicity in zebrafish embryos [J]. *Chemical Research in Toxicology*, 2013, 26(10): 1503–1513
- [41] Muth-Khne E, Sonnack L, Schlich K, et al. The toxicity of silver nanoparticles to zebrafish embryos increases through sewage treatment processes [J]. *Ecotoxicology*, 2013, 22(8): 1264–1277
- [42] Lee K J, Browning L M, Nallathamby P D, et al. Silver nanoparticles induce developmental stage-specific embryonic phenotypes in zebrafish [J]. *Nanoscale*, 2013, 5(23): 11625–11636
- [43] Asharani P V, Wu Y L, Gong Z, et al. Toxicity of silver nanoparticles in zebrafish models [J]. *Nanotechnology*, 2008, 19(25): 255102
- [44] Yeo M, Kang M. Effects of nanometer sized silver materials on biological toxicity during zebrafish embryogenesis [J]. *Bulletin-Korean Chemical Society*, 2008, 29(6): 1179
- [45] Wu Y, Zhou Q, Li H, et al. Effects of silver nanoparticles on the development and histopathology biomarkers of Japanese medaka (*Oryzias latipes*) using the partial-life test [J]. *Aquatic Toxicology*, 2010, 100(2): 160–167
- [46] 吴源. 纳米银的生物效应及毒性作用机制 [D]. 中国科学技术大学, 2010
- [47] Griffith R J, Lavelle C M, Andrew S K, et al. Chronic nanoparticulate silver exposure results in tissue accumulation and transcriptomic changes in zebrafish [J]. *Aquatic Toxicology*, 2013
- [48] Morgan T P, Grosell M, Gilmour K M, et al. Time course analysis of the mechanism by which silver inhibits active Na^+ and Cl^- uptake in gills of rainbow trout [J]. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 2004, 287(1): R234–R242
- [49] Handy R D, Shaw B J. Ecotoxicity of nanomaterials to

- fish: Challenges for ecotoxicity testing [J]. *Integrated Environmental Assessment and Management*, 2007, 3 (3): 458–460
- [50] Powers C M, Badireddy A R, Ryde I T, et al. Silver nanoparticles compromise neurodevelopment in PC 12 Cells: Critical contributions of silver ion, particle size, coating, and composition [J]. *Environmental Health Perspectives*, 2010, 119(1): 37–44
- [51] Nel A, Xia T, M dler L, et al. Toxic potential of materials at the nanolevel [J]. *Science*, 2006, 311(5761): 622–627
- [52] Wise Sr J P, Goodale B C, Wise S S, et al. Silver nanospheres are cytotoxic and genotoxic to fish cells [J]. *Aquatic Toxicology*, 2010, 97(1): 34–41
- [53] Bilberg K, Malte H, Wang T, et al. Silver nanoparticles and silver nitrate cause respiratory stress in Eurasian perch (*Perca fluviatilis*) [J]. *Aquatic Toxicology*, 2010, 96(2): 159–165
- [54] Massarsky A, Dupuis L, Taylor J, et al. Assessment of nanosilver toxicity during zebrafish (*Danio rerio*) development [J]. *Chemosphere*, 2013, 92: 59–66
- [55] Govindasamy R, Rahuman A A. Histopathological studies and oxidative stress of synthesized silver nanoparticles in Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus*) [J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2012, 24(6): 1091–1098
- [56] Christen V, Capelle M, Fent K. Silver nanoparticles induce endoplasmic reticulum stress response in zebrafish [J]. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2013, 272(2): 519–528
- [57] Chae Y J, Pham C H, Lee J, et al. Evaluation of the toxic impact of silver nanoparticles on Japanese medaka (*Oryzias latipes*) [J]. *Aquatic Toxicology*, 2009, 94(4): 320–327
- [58] Choi J E, Kim S, Ahn J H, et al. Induction of oxidative stress and apoptosis by silver nanoparticles in the liver of adult zebrafish [J]. *Aquatic Toxicology*, 2010, 100(2): 151–159
- [59] 吴源, 李鸿程, 刘伟, 等. 纳米银与离子态银对 medaka 氧化应激损伤效应的比较研究 [J]. *中国毒理学会第五次全国学术大会论文集*, 2009
- [60] van Aerle R, Lange A, Moorhouse A, et al. Molecular mechanisms of toxicity of silver nanoparticles in zebrafish embryos [J]. *Environmental Science & Technology*, 2013, 47(14): 8005–8014
- [61] Ribeiro F, Gallego-Urrea J A, Jurkschat K, et al. Silver nanoparticles and silver nitrate induce high toxicity to *Pseudokirchneriella subcapitata*, *Daphnia magna* and *Danio rerio* [J]. *Science of the Total Environment*, 2014, 466: 232–241 ◆

欧洲化学品管理局为 REACH2018 登记发布新网页

2014 年 10 月 13 日 来源: 欧洲化学品管理局

欧洲化学品管理局 (ECHA) 发布了一系列网页, 提供了有关 2008 年 5 月 31 日的最后一个 REACH 登记截止期限的信息。

登记程序分为 7 个阶段, 每个网页显示一个阶段。这些网页提供了关键信息、对登记人的实用建议, 以及特定阶段的更多相关信息的链接。ECHA 表示, 这些链接对应 3 个阅读层次: 入门、精读和深入, 它指出, 应特别注意使提供的内容能够被中小企业 (SME) 理解。

这些网页的发布是 ECHA 为必须在 2018 年前登记它们的物质的企业提供支持的努力的一部分。预计将在明年年底前发布一份“登记路线图”, 其中将列出 ECHA 正在为最后一个 REACH 登记截止期限的准备所做的具体行动。

引自《化学品安全信息周报》2014 年第 43 期总第 307 期 (中国检验检疫科学研究院化学品安全研究所编译)

http://www.chinachemicals.org.cn/reported_detail.aspx?contentid=319&ClassID=230