

研究报告

食品添加剂二氧化钛和纳米二氧化钛对大鼠肝脏DNA损伤作用的评价

孙拿拿,张倩男,梁春来,支媛,刘海波,方瑾,李永宁,贾旭东

(国家食品安全风险评估中心,国家卫生健康委员会食品安全风险评估重点实验室,北京 100021)

摘要:目的 利用哺乳动物体内碱性彗星试验,评价食品添加剂二氧化钛和纳米二氧化钛对大鼠肝脏细胞DNA的损伤作用。方法 依据哺乳动物体内碱性彗星试验指南(OECD TG489),将雄性SD大鼠随机分成9组,每组5只。食品添加剂二氧化钛设1000、500、250 mg/kg·BW 3个剂量组,阴性对照为纯水;纳米二氧化钛设500、150、50 mg/kg·BW 3个剂量组,阴性对照为0.8%吐温+3%FBS。通过灌胃方式给予,每日1次,共15d;同时设置阳性对照组,阳性物甲基磺酸乙酯(EMS)仅在第14、15天每日灌胃一次给予,剂量为200 mg/kg·BW·d。末次灌胃6h后,麻醉条件下取大鼠肝脏,制备成单细胞悬液后涂片,经裂解、解旋、电泳、染色等步骤,进行彗星图像分析。结果 食品添加剂二氧化钛和纳米二氧化钛各剂量组大鼠肝脏细胞的尾部DNA含量百分比与相应阴性对照组相比均无显著性差异($P>0.05$),而EMS组大鼠肝脏细胞的尾部DNA含量百分比与阴性对照组比较均具有显著差异($P<0.01$)。结论 在本实验条件下,食品添加剂二氧化钛和纳米二氧化钛均未诱导大鼠肝脏细胞的DNA损伤。

关键词:食品添加剂;二氧化钛;纳米二氧化钛;DNA损伤;大鼠肝脏细胞

中图分类号:R155 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2023)09-1258-07

DOI:10.13590/j.cjfh.2023.09.002

Evaluation of DNA damage caused by the food additive titanium dioxide and nano-titanium dioxide

SUN Nana, ZHANG Qiannan, LIANG Chunlai, ZHI Yuan, LIU Haibo, FANG Jin,
LI Yongning, JIA Xudong

(NHC Key Laboratory of Food Safety Assessment, China National Center for Food Safety Risk Assessment, Beijing 100021, China)

Abstract: Objective Applying the *in vivo* Mammalian Alkaline Comet Test, this study aimed to investigate the DNA damage caused by the food additive titanium dioxide and nano-titanium dioxide on rat liver cells. **Methods** According to the guideline "In vivo mammalian alkaline comet assay" (OECD TG489), male SD rats were randomly divided into nine groups, five rats per group. Food additive titanium dioxide was administered to three groups at doses of 1000, 500 and 250 mg/kg·BW, while pure water served as the negative control. Titanium dioxide nanoparticle was administered in three different doses: 500, 150, and 50 mg/kg·BW. The negative control group received 0.8% Tween + 3% FBS. Test substances were administered by gavage once a day for 15 d. Simultaneously, a positive control group was established, and the positive substance ethyl methyl sulfonate (EMS) was administered once daily on the 14th and 15th days *via* gavage, at a dosage of 200 mg/kg·BW·d. Animals were anesthetized six hours after the last administration, and the livers were harvested to prepare single-cell suspension smears. The sections were subsequently subjected to lysis, unwinding, electrophoresis, staining to acquire the comet images for analyzing. **Results** There were no statistical differences ($P>0.05$) in the percentages of tail DNA content between the treated and negative control rats. However, the percentage of tail DNA content of rat liver cells in the EMS group showed a significant difference compared to the negative control group ($P<0.01$). **Conclusion** Under the circumstances of our test, neither the food additive titanium dioxide nor nano-titanium dioxide caused the DNA

收稿日期:2022-11-03

基金项目:国家食品安全风险评估中心高层次人才团队建设项目;国家重点研发计划(2019YFC1605203)

作者简介:孙拿拿 女 副研究员 研究方向为营养与食品卫生 E-mail: sunnana@cfsa.net.cn

通信作者:李永宁 男 副研究员 研究方向为营养与食品卫生 E-mail: liyongning@cfsa.net.cn

damage in rat liver cells.

Key words: Food additive; titanium dioxide; nano-titanium dioxide; DNA damage; rat liver cells

二氧化钛俗称“钛白”,是一种不溶于水的白色粉末状物质^[1],由于其具有遮盖力强、着色力高、白度好等特性,常被用于工业、化妆品、医药等领域。在食品领域,二氧化钛也有较长的使用历史。1969年,联合国粮农组织/世界卫生组织联合食品添加剂专家委员会(Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, JECFA)最早对其进行了评估,并允许用作食用色素。2002年,美国联邦法规第21篇73.575批准二氧化钛用作食用色素。在欧盟,食品添加剂二氧化钛(E171)被列在指令94/36/EEC的附件I中,作为食品中允许使用的色素^[2]。目前,我国的GB 2760—2014《食品安全国家标准 食品添加剂使用标准》对二氧化钛的使用范围和限量作出了相应的规定^[3],此外GB 1886.341—2021《食品安全国家标准 食品添加剂 二氧化钛》对食品添加剂二氧化钛材料的质量规格提出了明确的要求^[4]。

继1969年JECFA对二氧化钛进行评估后,欧盟食品科学委员会(Scientific Committee on Food, SCF)又分别于1975年和1977年对二氧化钛进行了两次评估。1975年进行的评估中并没有建立二氧化钛的每日允许摄入量(Acceptable daily intake, ADI)^[5]。在随后进行的第二次评估中,SCF将二氧化钛列入“未建立ADI但可用于食品色素”的类别中^[6]。作为2009年1月20日之前欧盟批准的食品添加剂再评估计划的一部分,欧洲食品安全局(European Food Safety Authority, EFSA)在2016年根据法规(EU) No 257/2010对E171的安全性进行了重新评估。根据当时可获得的数据信息,EFSA认为E171作为食品添加剂使用时无遗传毒性和致癌性^[7]。

实际使用过程中发现,当二氧化钛颗粒粒径在200~300 nm范围时,其白色度效果最佳。而在生产这些颗粒时,因为加工工艺的原因,也会产生粒径小于100 nm的颗粒(即纳米二氧化钛)。2019年EFSA发表了一份关于E171规格修正案的科学意见,并指出食品级二氧化钛中有不到50%的颗粒粒径小于100 nm^[8]。其后,EFSA于2021年发表了E171的最新再评估报告,认为E171中的二氧化钛纳米颗粒有可能通过致DNA链断裂和染色体损伤的机制产生遗传毒性作用,不能排除其存在遗传毒性^[9]。由此,食品添加剂二氧化钛的安全性尤其是遗传毒性受到了广泛关注。

本研究拟通过哺乳动物体内碱性彗星实验方法,对食品添加剂二氧化钛和纳米二氧化钛遗传毒

性进行评价,以完善食品添加剂二氧化钛和纳米二氧化钛的基础毒理学数据,并为后续研究和评估工作提供依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

选用SPF级,6~10周龄、体质量(200±20)g的雄性SD大鼠,共45只,购自北京维通利华实验动物技术有限公司[动物生产许可证号SCXK(京)2016-0011]。饲养于中国疾病预防控制中心动物房[实验动物使用许可证号SYXK(京)2019-0050]。室温20℃~26℃,相对湿度40%~70%,12 h/12 h明暗交替,自由摄食和饮水。饲料购于北京科澳协力饲料有限公司[许可证号SCXK(京)2019-0003]。动物购买后适应环境3 d。研究方案通过国家食品安全风险评估中心伦理委员会的伦理审查(编号[2021] 029)。

1.2 主要仪器与试剂

电泳仪(DDY-6C,北京六一仪器厂);恒温水浴锅(HH-2,金坛市江南仪器厂);遗传扫描分析系统(Axio Imager Z2, Zeiss & MetaSystem, Metafer);超声波破碎仪(Branson550,美国Branson公司);透射电镜(JEM-1400,日本电子株式会社);纳米粒度分析仪(Zetasizer Nano ZS, Malvern)。

食品添加剂二氧化钛(白色粉末状,纯度99.2%,江苏沪申钛白科技有限公司)质量规格符合GB 25577—2010《食品安全国家标准 食品添加剂二氧化钛》^[10]的要求;纳米二氧化钛(白色粉末状,纯度99.0%,美国Nanostructured & Amorphous Materials, Inc);彗星试验试剂盒(北京华兴创新科技有限公司, BR-0904);Comet Assay LM琼脂糖(R&D公司, 4250-050-02);Comet Slide(R&D公司, 4250-200-03);甲基磺酸乙酯(上海阿拉丁生化科技股份有限公司, E103933);Hank's平衡盐溶液(HBSS)(不含Ca²⁺、Mg²⁺和酚红)(北京索莱宝科技有限公司, H1045);SYBR Gold核酸染料(Life Technologies, S11494);胎牛血清(Gibco, 10091-148);吐温80(西陇化工股份有限公司, 110811);TE缓冲液(10X, pH7.5)(北京天恩泽基因科技有限公司, 161202)。

1.3 受试物制备

二氧化钛混悬液的配制:称取2.0、1.0和0.5 g食品添加剂二氧化钛分别置于40 mL纯水中,摇匀。分别配制成浓度为50、25和12.5 mg/mL的混

悬液,4℃保存1周,使用前摇匀。

纳米二氧化钛混悬液的配制:称量1.6g吐温80置于200mL纯水中,摇匀,配制成0.8%吐温溶液;称取1.0、0.3和0.1g纳米二氧化钛分别置于38.8mL的0.8%吐温溶液,摇匀;在冰浴条件下超声,加入自然解冻的胎牛血清1.2mL,摇匀,继续在冰浴条件下超声,配制成浓度为25、7.5和2.5mg/mL的混悬液,4℃保存1周,使用前摇匀。

1.4 二氧化钛颗粒理化性质表征的测定

取二氧化钛置于纯水中,经超声分散后,滴于制样薄膜上,待干燥后采用透射电镜观察食品添加剂二氧化钛和纳米二氧化钛的形态,参照GB/T 19591—2004^[11]中给出的方法测定和计算二氧化钛颗粒的平均粒径。按照1.3所述方法配制食品添加剂二氧化钛、纳米二氧化钛混悬液,使用纳米粒度分析仪测定二氧化钛颗粒在混悬液中的粒径分布。

1.5 动物分组及处理方法

将实验动物随机分成9组,食品添加剂二氧化钛和纳米二氧化钛各设3个剂量组,另设1个阳性对照组和两个阴性对照组。每组5只雄性动物。食品添加剂二氧化钛设1000、500、250mg/kg·BW剂量组,阴性对照为纯水;纳米二氧化钛设500、150、50mg/kg·BW,阴性对照为0.8%吐温+3%FBS;阳性物甲基磺酸乙酯(Ethyl methyl sulfonate, EMS)剂量采用200mg/kg·BW。受试物和阴性对照组经口灌胃给予,灌胃量为20mL/kg·BW,共15d;阳性物仅在第14、15天经口灌胃给予,灌胃量为10mL/kg·BW,1次/d(间隔24h)。每日进行两次动物临床体征观察。

1.6 肝脏组织取材方法

所有动物在末次灌胃6h后,麻醉条件下腹主动脉采血致完全放血处死。于肝小叶边缘取表面积约为1cm×1cm的肝脏组织块放入提前预冷的Hank's平衡盐溶液中充分漂洗以除去残留的血液。置于冰上待用。

1.7 单细胞悬液制备和涂片

在含有2mL Hank's平衡盐溶液的5mL离心管内,将组织块用眼科剪剪碎以释放细胞;将细胞悬液于冰上静置15~30s,使大团块沉降;将上清部分倒掉,沉淀部分过70μm细胞筛。取20μL过滤后的单细胞悬液加入200μL LM琼脂糖凝胶中迅速充分混匀,每孔取50μL凝胶液进行涂片,每个样本平行涂片3孔。涂片结束后迅速将玻片置于4℃、避光条件冷却30min。

1.8 裂解、解旋和电泳

将玻片置于4℃预冷的裂解液中,裂解液平面刚好没过玻片表面,4℃避光过夜。裂解后使用预冷的纯水清洗3次,每次5min。预先将电泳槽置于密闭冰盒内冷却备用。将玻片平行码放在电泳槽内,缓缓添加预冷的碱性解旋液(pH≥13)没过玻片。室温避光解旋30min。电泳时设置电压为0.7V/cm(25V,300mA),电泳时间25min。电泳结束后,取出玻片,去除多余液体,在中和液中漂洗2次,每次5min。之后浸于无水乙醇溶液脱水,放置通风处,室温自然干燥。

1.9 DNA染色和阅片

将SYBR Gold核酸染料用TE缓冲液(1X)进行稀释(1:10000)后,加在每孔表面,室温避光染色30min,去除多余液体,室温避光晾干。使用Metafer Comet Scan V 3.11.8彗星图像分析软件进行分析,每组动物分析不少于750个可评分细胞(每只动物至少计数150个),并记录期间出现的刺猬细胞数目。可评分细胞为有清晰轮廓的彗星头、尾,且未受邻近细胞干扰的细胞。

1.10 统计学分析

确定每孔中可评分细胞的尾部DNA含量百分比的中位数,并计算出每只动物3个孔的中位数平均值,从而计算出每组动物可评分细胞的尾部DNA含量百分比的平均值及标准差。每只动物同时计数刺猬细胞数目,并计算每组动物刺猬细胞数目的平均值和标准差。采用独立样本T检验将受试物组、阳性对照组与相应阴性对照组的尾部DNA含量百分比数据进行统计学分析, $P<0.05$ 时认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 食品添加剂二氧化钛和纳米二氧化钛的形态和粒径特征

采用透射电镜观察食品添加剂二氧化钛和纳米二氧化钛的形态和粒径特征。在电镜下观察到二者的形态均呈近球形,如图1和图2所示。食品添加剂二氧化钛和纳米二氧化钛颗粒平均粒径分别为(135.5±41.0)、(34.7±4.6)nm。使用纳米粒度分析仪测定二氧化钛颗粒在混悬液中的粒径分布,食品添加剂二氧化钛和纳米二氧化钛颗粒在混悬液中的粒径分别为(161.2±93.5)、(206.5±135.8)nm。

2.2 食品添加剂二氧化钛和纳米二氧化钛对大鼠体质量的影响

食品添加剂二氧化钛和纳米二氧化钛连续经口灌胃给予大鼠15d,各剂量组大鼠活动、生长正

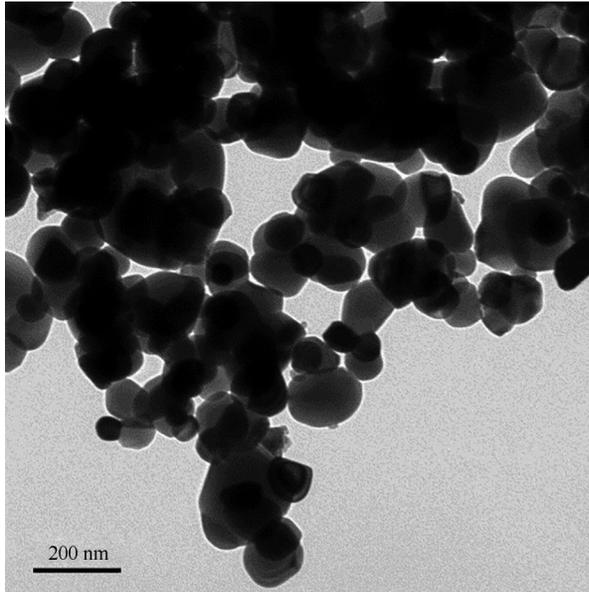


图1 食品添加剂二氧化钛透射电镜图($\times 8\ 000$)

Figure 1 Transmission electron microscope image of food additives titanium dioxide($\times 8\ 000$)

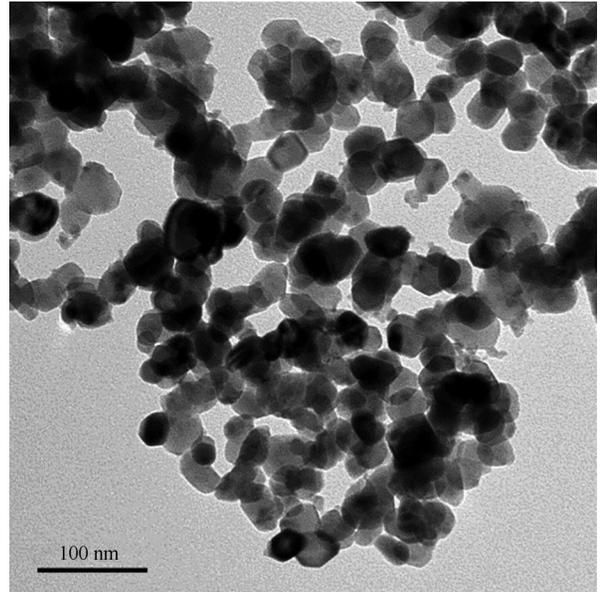


图2 纳米二氧化钛透射电镜图($\times 20\ 000$)

Figure 2 Transmission electron microscope image of nano-titanium dioxide($\times 20\ 000$)

常,被毛浓密有光泽。由表 1 和表 2 可见,各受试物剂量组动物体质量与阴性对照组相比无显著差异($P>0.05$)。

2.3 食品添加剂二氧化钛和纳米二氧化钛体内慢性彗星实验结果

彗星试验结果主要通过彗星图像中细胞的拖尾程度进行 DNA 损伤水平的分析,受试物组(仅展

示高剂量组)、阴性对照组、阳性对照组的彗星图像见图 3。本研究选取细胞尾部 DNA 含量百分比作为分析指标。由表 3 和表 4 可见,阳性对照组可评分细胞尾部 DNA 含量百分比高于阴性对照组和受试物各剂量组,且差异具有统计学意义($P<0.01$);受试物各剂量组尾部 DNA 百分比与相应阴性对照组比较均无显著性差异($P>0.05$)。

表 1 给予食品添加剂二氧化钛大鼠体质量变化($\bar{X}\pm SD$)

Table 1 Changes in body weight of rats treated with food additive titanium dioxide ($\bar{X}\pm SD$)

组别	剂量/[mg/kg·BW]	动物数/只	初始体质量/g	第3天/g	第7天/g	第10天/g	第14天/g
阴性对照	0	5	201.4±2.5	246.0±5.0	272.9±4.8	300.5±11.0	323.6±8.4
	250	5	203.8±4.6	247.4±8.4	271.0±5.4	300.5±9.8	319.2±11.7
食品添加剂二氧化钛	500	5	204.0±3.9	250.4±7.4	271.8±4.4	298.5±8.2	320.4±8.6
	1 000	5	203.0±2.1	246.1±3.4	271.1±8.4	300.5±9.5	320.8±11.0
阳性对照(EMS)	200	5	207.9±6.3	246.1±13.4	271.1±17.5	307.5±14.1	331.4±9.4

表 2 给予纳米二氧化钛大鼠体质量变化($\bar{X}\pm SD$)

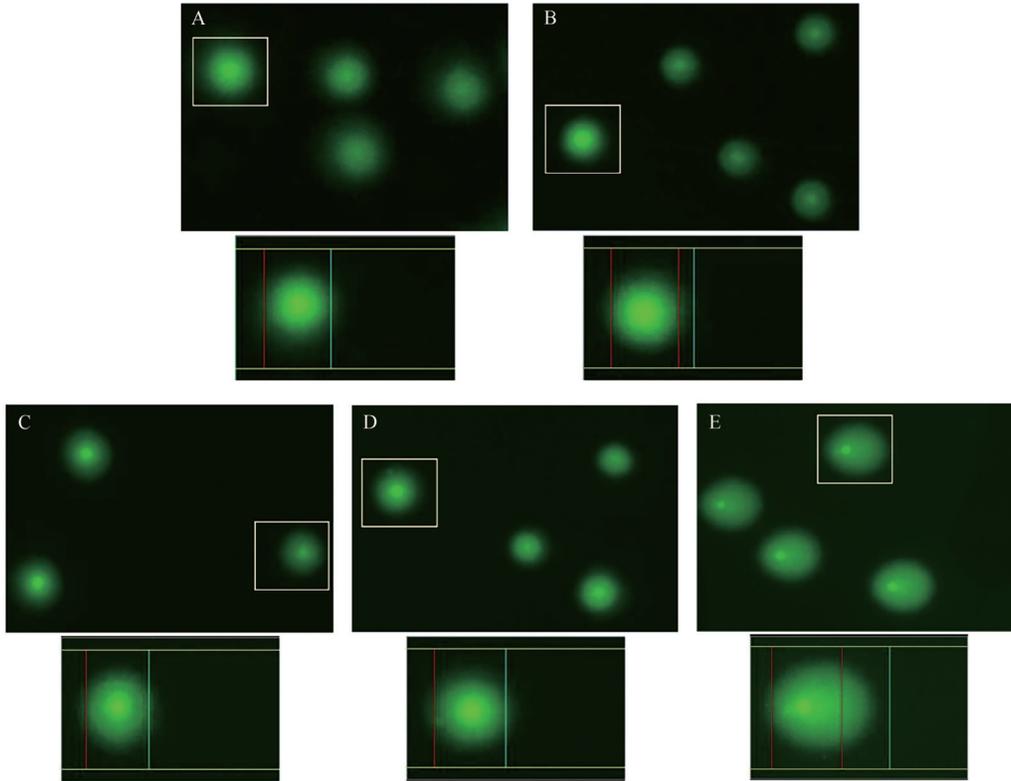
Table 2 Changes in body weight of rats treated with nano-titanium dioxide ($\bar{X}\pm SD$)

组别	剂量/[mg/kg·BW]	动物数/只	初始体质量/g	第3天/g	第7天/g	第11天/g	第14天/g
阴性对照	0	5	209.4±6.5	244.8±10.7	271.2±12.5	312.4±21.4	330.4±19.2
纳米	50	5	208.5±5.7	242.7±8.1	266.2±9.9	310.2±14.9	326.4±15.8
	150	5	206.5±3.3	241.5±7.1	274.5±12.2	311.0±12.7	330.6±11.7
二氧化钛	500	5	211.7±4.7	244.3±5.6	274.6±11.4	310.7±14.8	330.8±13.6
	200	5	207.9±6.3	246.1±13.4	271.1±17.5	307.5±14.1	331.4±9.4

3 讨论

二氧化钛作为食品添加剂有着较长的使用历史。随着食品添加剂二氧化钛应用范围的不断扩展,以及纳米尺度二氧化钛颗粒毒理学研究的不断深入,其在食品领域使用的安全性也引起了人们的关注。1969年,JECFA基于二氧化钛的不溶性和低吸收性,以及在组织中的无积累、无毒性作用,将其

ADI定为“良好生产规范下无需特别规定”^[7]。然而,2021年EFSA在最新的一份E171再评估报告中,分析了142项体外和44项体内彗星试验研究,认为二氧化钛颗粒具有诱发DNA损伤的可能性;结合微核发生率和染色体畸变相关的56项体外和26项体内研究,最后得出结论:二氧化钛颗粒可能诱发DNA链断裂和染色体损伤,不能排除E171中



注:A为食品添加剂二氧化钛阴性对照组;B为食品添加剂二氧化钛高剂量组(1 000 mg/kg·BW);C为纳米二氧化钛阴性对照组;D为纳米二氧化钛高剂量组(500 mg/kg·BW);E为阳性对照组

图3 SD大鼠肝细胞彗星电泳图像

Figure 3 Comet electrophoresis image of SD rat liver cells

表3 食品添加剂二氧化钛对大鼠肝细胞尾部DNA含量的影响($\bar{X} \pm SD$)

Table 3 Effects of food additives titanium dioxide on the percentage of tail DNA content in rat liver cells ($\bar{X} \pm SD$)

组别	剂量/[mg/kg·BW]	动物数/只	可评分细胞数/个	尾部DNA含量百分比/%	平均刺猬细胞数目/[个/只]
阴性对照	0	5	>750	3.17±0.84	0.00±0.00
	250	5	>750	2.87±0.93	0.20±0.45
食品添加剂二氧化钛	500	5	>750	2.66±0.49	0.40±0.55
	1 000	5	>750	2.91±0.41	0.00±0.00
阳性对照(EMS)	200	5	>750	31.56±1.99*	28.40±15.42

注:*与阴性对照组相比较, $P < 0.01$

表4 纳米二氧化钛对大鼠肝细胞尾部DNA含量的影响($\bar{X} \pm SD$)

Table 4 Effects of nano-titanium dioxide on the percentage of tail DNA content in rat liver cells ($\bar{X} \pm SD$)

组别	剂量/[mg/kg·BW]	动物数/只	可评分细胞数/个	尾部DNA含量百分比/%	平均刺猬细胞数目/[个/只]
阴性对照	0	5	>750	3.40±0.33	2.80±2.39
	50	5	>750	3.20±0.26	1.20±1.30
纳米二氧化钛	150	5	>750	3.77±0.67	1.20±1.64
	500	5	>750	3.83±0.40	0.80±1.30
阳性对照(EMS)	200	5	>750	31.56±1.99*	28.40±15.42

注:*与阴性对照组相比较, $P < 0.01$

二氧化钛颗粒遗传毒性的可能性^[9]。EFSA 纳入分析的 44 项体内彗星试验中,采用啮齿类动物体内经口途径暴露的相关研究共 9 项,靶组织涉及血液、淋巴结、肝脏和肾脏等,结果也不尽相同。基于上述报告和研究结果,我们开展了哺乳动物体内碱性彗星试验研究,针对食品添加剂二氧化钛和纳米二氧化钛进行了比较评价,以期为进一步探讨食品添加剂二氧化钛的遗传毒性可能性提供依据。

哺乳动物体内碱性彗星试验被广泛认为是检测化合物致 DNA 损伤作用的可靠试验,能够在碱性条件下($\geq \text{pH } 13$),检测直接 DNA 链断裂、碱性不稳定性位点引起的 DNA 链断裂和 DNA 切割修复所引起的瞬时 DNA 链断裂^[12],可用于遗传毒性效应的初步筛查,并对体外试验结果进行复验。经济合作与发展组织(Organization for Economic Cooperation and Development, OECD)2016 年发布的哺

乳动物体内碱性彗星试验指南(TG489)^[12]已经充分说明了这一点。通过对二氧化钛代谢方面的研究分析发现,单次摄入食品添加剂二氧化钛后,人体会吸收二氧化钛颗粒进入血液^[13]。此外,虽然胃肠道对二氧化钛颗粒的吸收率很低,但二氧化钛颗粒可以从胃肠道转移到肝脏并在体内累积,且无显著性别差异^[9, 14]。依据TG489,如果受试物毒性和代谢方面无显著性别差异,可选择任一性别动物进行试验^[12]。因此,本研究采用雄性大鼠,并选取物质代谢最活跃的肝脏作为靶器官,通过标准体内碱性彗星试验测定肝细胞尾部DNA含量百分比,评价食品添加剂二氧化钛和纳米二氧化钛对DNA的损伤作用。

实验结果显示,食品添加剂二氧化钛在连续15 d每天经口灌胃1 000、500、250 mg/kg·BW剂量下和纳米二氧化钛连续15 d每天经口灌胃500、150、50 mg/kg·BW剂量下,均未观察到大鼠肝细胞DNA损伤。SUZUKI等^[15]给予小鼠2~50 mg/kg·BW纳米二氧化钛共4周,也未发现小鼠肝脏发生DNA损伤。MARTINS等^[16]经口给予大鼠纳米二氧化钛后,血细胞和肝细胞尾部DNA百分比与阴性对照相比没有显著变化,同时未发现相关氧化还原指标的改变,也未观察到显著的遗传毒性证据。JENSEN等^[17]研究在经口给予大鼠50和500 mg/kg·BW食品添加剂二氧化钛10周后,同样未发现肝脏DNA链断裂或DNA氧化损伤的任何变化。上述研究结果与本次研究结果基本一致。

综上所述,本研究通过标准体内碱性彗星试验未发现食品添加剂二氧化钛和纳米二氧化钛对大鼠肝细胞DNA损伤作用,为后续进一步开展基于更多遗传毒性终点和毒性机制的评价研究,以及系统阐述食品添加剂二氧化钛遗传毒性风险研究提供参考依据。

参考文献

- [1] WEIR A, WESTERHOFF P, FABRICIUS L, et al. Titanium dioxide nanoparticles in food and personal care products [J]. *Environmental Science & Technology*, 2012, 46(4): 2242-2250. DOI: 10.1021/es204168d.
- [2] EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources Added to Food (ANS), Opinion of the Scientific Panel on food additives, flavourings, processing aids and materials in contact with food (AFC) on Titanium dioxide [J]. *EFSA Journal*, 2005, 3(3): 1-12. DOI: 10.2903/j.efsa.2005.163.
- [3] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准 食品添加剂使用标准:GB 2760—2014[S]. 北京:中国标准出版社, 2014. National Health and Family Planning Commission of the People's Republic of China. National Food Safety Standard Standard for Use of Food Additives:GB 2760-2014 [S]. Beijing: China Standard Press, 2014.
- [4] 中华人民共和国国家卫生健康委员会,国家市场监督管理总局. 食品安全国家标准 食品添加剂 二氧化钛:GB 1886.341—2021[S]. 北京:中国标准出版社, 2021. National Health Commission of the People's Republic of China, State Administration for Market Regulation. National Food Safety Standard Food Additives Titanium dioxide:GB 1886.341—2021 [S]. Beijing: China Standard Press, 2021.
- [5] European Commission, Reports of the Scientific Committee for Food: first series [R]. Commission of the European Communities, 1975:17.
- [6] European Commission, Reports of the Scientific Committee for Food: Fourth Series [R]. Commission of the European Communities, 1977:27.
- [7] EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food (ANS), Scientific Opinion on the re-evaluation of titanium dioxide (E 171) as a food additive [J]. *EFSA Journal*, 2016, 14(9): 1-83.
- [8] EFSA Panel on Food Additives and Flavourings (FAF), YOUNES M, AQUILINA G, et al. Scientific opinion on the proposed amendment of the EU specifications for titanium dioxide (E 171) with respect to the inclusion of additional parameters related to its particle size distribution [J]. *EFSA Journal*, 2019, 17(7): e05760.
- [9] EFSA Panel on Food Additives and Flavourings (FAF), YOUNES M, AQUILINA G, et al. Safety assessment of titanium dioxide (E171) as a food additive [J]. *EFSA Journal*, 2021, 19(5): e06585.
- [10] 中华人民共和国卫生部. 食品安全国家标准 食品添加剂 二氧化钛:GB 25577—2010[S]. 北京:中国标准出版社, 2010. Ministry of Health of the People's Republic of China. National Food Safety Standard Food Additives Titanium dioxide: GB 25577—2010[S]. Beijing: China Standard Press, 2010.
- [11] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局,中国国家标准化管理委员会. 纳米二氧化钛:GB/T 19591—2004[S]. 北京:2004. General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China, Standardization Administration of the People's Republic of China. Nano-titanium dioxide: GB/T 19591—2004 [S]. Beijing: China Standard Press, 2004.
- [12] OECD, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, In Vivo Mammalian Alkaline Comet Assay: Test No. 489[S]. Paris: OECD Publishing, 2016.
- [13] PELE L C, THOREE V, BRUGGRABER S F A, et al. Pharmaceutical/food grade titanium dioxide particles are absorbed into the bloodstream of human volunteers [J]. *Particle and Fibre Toxicology*, 2015, 12: 26.
- [14] KREYLING W G, HOLZWARTH U, SCHLEH C, et al. Quantitative biokinetics of titanium dioxide nanoparticles after oral application in rats: Part 2 [J]. *Nanotoxicology*, 2017, 11(4): 443-453.
- [15] SUZUKI T, MIURA N, HOJO Ret al. Genotoxicity assessment

- of intravenously injected titanium dioxide nanoparticles in gpt delta transgenic mice. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 2016, 802: 30-37.
- [16] MARTINS A D C JR, AZEVEDO L F, DE SOUZA ROCHA C, et al. Evaluation of distribution, redox parameters, and genotoxicity in Wistar rats co-exposed to silver and titanium dioxide nanoparticles [J]. *Journal of Toxicology and Environmental Health: Part A*, 2017, 80(19-21): 1156-1165.
- [17] JENSEN D M, LØHR M, SHEYKHZADE M, et al. Telomere length and genotoxicity in the lung of rats following intragastric exposure to food-grade titanium dioxide and vegetable carbon particles[J]. *Mutagenesis*, 2019, 34(2): 203-214.

《中国食品卫生杂志》顾问及第五届编委会名单

顾问: 陈君石、黄璐琦、江桂斌、李林、沈建忠、吴清平、Jianghong Meng(美国)、Patrick Wall(爱尔兰)、Samuel Godefroy(加拿大)、Gerald Moy(美国)、Paul Brent(澳大利亚)、Marta Hugas(比利时)、Yukikko Yamada(日本)、Tom Heilandt(德国)、Andreas Hensel(德国)、Christopher Elliott(英国)、Christine Nelleman(丹麦)

主任委员: 卢江

副主任委员: 王竹天、李宁、孙长颢、王涛、谢剑炜、应浩、丁钢强、张峰、张永慧

主 编: 吴永宁

编 委(按姓氏笔画排序)

- | | |
|------------------------|-----------------------|
| 丁钢强(中国疾病预防控制中心营养与健康所) | 应 浩(中国科学院上海营养与健康所) |
| 于 洲(国家食品安全风险评估中心) | 张 丁(河南省疾病预防控制中心) |
| 于维森(青岛市疾病预防控制中心) | 张 峰(中国检验检疫科学研究院) |
| 马 宁(国家食品安全风险评估中心) | 张卫兵(南通市疾病预防控制中心) |
| 马会来(中国疾病预防控制中心) | 张立实(四川大学华西公共卫生学院) |
| 马群飞(福建省疾病预防控制中心) | 张永慧(广东省疾病预防控制中心) |
| 王 君(国家食品安全风险评估中心) | 张旭东(国家卫生健康委员会医院管理研究所) |
| 王 茵(浙江省医学科学院) | 张剑峰(黑龙江省疾病预防控制中心) |
| 王 涛(浙江清华长三角研究院) | 张朝晖(中国海关科学技术研究中心) |
| 王 硕(南开大学医学院) | 张惠媛(中国海关科学技术研究中心) |
| 王 慧(上海交通大学公共卫生学院) | 张遵真(四川大学华西公共卫生学院) |
| 王永芳(国家卫生健康委员会卫生健康监督中心) | 陈 波(湖南师范大学化学化工学院) |
| 王竹天(国家食品安全风险评估中心) | 陈 颖(中国检验检疫科学研究院) |
| 王松雪(国家粮食和物资储备局科学研究院) | 陈卫东(广东省市场监督管理局) |
| 王晓英(中国动物疫病预防控制中心) | 邵 兵(北京市疾病预防控制中心) |
| 计 融(国家食品安全风险评估中心) | 武爱波(中国科学院上海营养与健康所) |
| 邓小玲(广东省疾病预防控制中心) | 赵 舰(重庆市疾病预防控制中心) |
| 卢 江(国家食品安全风险评估中心) | 赵云峰(国家食品安全风险评估中心) |
| 匡 华(江南大学食品学院) | 赵贵明(中国检验检疫科学研究院) |
| 朱心强(浙江大学医学院) | 钟 凯(科信食品与营养信息交流中心) |

(下转第1279页)