

DOI: 10.26936/j.cnki.1003-8965.2025.06.015

# 基于MTT法的典型功能建材产品细胞毒性研究

郝立腾, 徐晓梅, 张惠玉, 刘佳娣, 关红艳\*

(中国国检测试控股集团股份有限公司, 北京 100024)

**摘要:** 本研究旨在研究典型功能建材产品(抗菌涂料、防霉胶粘剂、除醛板、除醛喷剂)的体外细胞毒性, 以评估其生物安全性。模拟实际使用条件对样品进行前处理和浸提, 采用MTT法检测浸提液对L929小鼠成纤维细胞的相对活力以评价其细胞毒性。结果表明: 所选防霉胶粘剂和除醛板样品浸提液在各浓度下均未表现出明显细胞毒性; 而所选抗菌涂料和除醛喷剂样品的浸提液则表现出潜在细胞毒性, 且随浓度增加细胞活力显著下降。进一步探究浸提条件的影响发现, 升高浸提温度(15℃升至30℃)或延长浸提时间(24h延长至96h)并未明显增强所选防霉胶粘剂和除醛板浸提液的细胞毒性, 所选抗菌预料样品随浸提温度升高和浸提时间延长, 其细胞毒性一定程度增加。本研究初步研究了典型功能建材的体外细胞毒性, 为其生物安全性评估提供了基础数据和参考。

**关键词:** 功能建材; 细胞毒性; MTT法; 浸提条件

**中图分类号:** TU50 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-8965(2025)06-0078-05

## Cytotoxicity of typical functional building materials based on MTT method

HAO Liteng, XU Xiaomei, ZHANG Huiyu, LIU Jiadi, GUAN Hongyan\*

(China Testing & Certification International Group Co., Ltd., Beijing 100024)

**Abstract:** This study aimed to evaluate the in vitro cytotoxicity of typical functional building materials, including antibacterial coatings, mildew-resistant adhesives, formaldehyde-removing boards, and formaldehyde-removing sprays, and to assess their biosafety. The samples were pretreated and extracted under simulated actual usage conditions. The MTT assay was employed to determine the relative viability of L929 mouse fibroblast cells exposed to the extracts for cytotoxicity assessment. The results showed that the extracts of the selected mildew-resistant adhesives and formaldehyde-removing boards did not exhibit significant cytotoxicity at any tested concentration. In contrast, the extracts of the selected antibacterial coatings and formaldehyde-removing sprays demonstrated potential cytotoxicity, with a significant concentration-dependent decrease in cell viability. Furthermore, the effects of extraction conditions were investigated. Increasing the extraction temperature (from 15°C to 30°C) or prolonging the extraction time (from 24 h to 96 h) did not significantly enhance the cytotoxicity of the extracts from the mildew-resistant adhesives and formaldehyde-removing boards. However, the cytotoxicity of the selected antibacterial coating samples increased to some extent with higher extraction temperatures and longer extraction times. This study preliminarily established the cytotoxicity for typical functional building materials, providing fundamental data and methodological references for the biosafety assessment of such products.

**Keywords:** functional building materials; cytotoxicity; MTT assay; extraction conditions

## 0 前言

现代建筑行业蓬勃发展, 人们对于建筑材料的要求不再局限于传统力学性能和基本装饰作用, 而是越来越注重其具备的各种功能性, 如保温、隔热、抗菌防霉、自清洁、净化空气等, 这些功能建材逐渐走入人们的生活并广泛应用于普通住宅、医院、学校、商业中心等建筑场景中<sup>[1]</sup>。据统计, 人的一生有80%以上的时间是在室内度过的, 因此, 室

内装饰装修建材产品的生物安全性对人体健康至关重要。

现有标准, 如GB/T 23761-2020《光催化材料及制品空气净化性能测试方法 乙醛(或甲醛)的降解》、GB/T 21866-2008《抗菌涂料(漆膜)抗菌性测定法和抗菌效果》等主要聚焦于产品的功能性指标评价方法及要求<sup>[2-3]</sup>, 对建材产品自身可能存在的毒性及其对人体健康的暴露风险缺乏明确要求和系统的生物安全性评估。传统毒理学评价存在成本高、试验周期长、效率低等问题, 因此, 建立适用于

**基金项目:** 国检集团技术开发基金项目(编号: GJ012023063)

**第一作者:** 郝立腾(1992-), 男, 硕士, 工程师, 主要从事材料生物安全性评价工作。E-mail: haoliteng@ctc.ac.cn

功能建材产品快速、准确、高通量的毒性评价方法对其毒性的快速评价具有重要意义。体外细胞毒性试验已广泛应用于生物材料、医疗器械、化妆品、药品包装等领域的安全评估<sup>[4-5]</sup>。具有成本低、速度快、高通量、机制研究深入、伦理负担小和标准化程度高等优势。其中MTT法因其灵敏度较高、适用范围广、操作简单、成本较低等优点已经成为广泛使用的细胞毒性检测方法<sup>[6]</sup>。

本研究针对目前市面上常见的典型功能建材产品种类,随机选取抗菌涂料、防霉胶粘剂以及除醛板,根据产品的施工及使用方法,模拟施工完成后的状态,对功能建材产品进行前处理,以L929细胞为模式细胞,采用MTT法对功能建材样品的浸提液进行体外细胞毒性测试,以期能够为功能建材的生物安全性评价提供科学依据,推动功能建材行业向绿色、环保、安全的方向发展。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料与试剂

小鼠成纤维细胞(L929,购自厦门逸漠生物科技有限公司);最低必需细胞培养基(MEM,普诺赛生命科技有限公司);胎牛血清(普诺赛生命科技有限公司);PBS缓冲溶液(北京索莱宝科技有限公司);MTT细胞毒性检测试剂盒(北京索莱宝科技有限公司)。

### 1.2 仪器设备

IP20 CO<sub>2</sub>培养箱(上海一恒科学仪器有限公司,中国);PL-9602G酶标分析仪(北京普朗新技术有限公司,中国);CX-31生物显微镜(奥林巴斯株式会社,日本);E1677分析天平(梅特勒托利多科技(中国)有限公司);II级生物安全柜(北京东联哈尔仪器制造有限公司,中国)。

### 1.3 功能建材样品前处理

抗菌涂料和防霉胶粘剂使用前为乳液态,含有多种助剂,施工完成固化。本研究参考GB/T 21866-2008《抗菌涂料(漆膜)抗菌性测定法和抗菌效果》和JC/T 885-2016《建筑用防霉密封胶》<sup>[6]</sup>中样品制备方法对样品进行前处理。选用不锈钢板作为涂料涂膜的基层板,涂覆前不锈钢板在紫外灯下杀菌15min。将样品搅拌均匀,并按照产品说明的施工工艺将样品均匀涂覆于不锈钢板上,抗菌涂料厚度为100 $\mu$ m、防霉胶粘剂厚度为2 mm。涂覆好的样品放置于养护间(温度23 $\pm$ 2 $^{\circ}$ C、相对湿度50 $\pm$ 5%)干燥养护7d。取制备好的样品,裁成5cm $\times$ 5cm的小块,紫外灯下杀菌5min,然后将样品置于90 mm的无菌培养皿中,加入20 mL含血清的培养基浸提24h。

除醛板材主要通过表面添加或涂覆甲醛捕捉剂、除醛剂等实现除醛功能<sup>[7-8]</sup>。将除醛板裁成5cm $\times$ 5cm的小块,四边用无毒防水密封胶封边,以防止板材吸水和内部物质的析出,影响细胞毒性检测结果。制备好的样品在紫外灯下杀菌5min,然后将样品置于90 mm的无菌培养皿中,加入20 mL含血清的培养基浸提24h。

除醛喷剂直接喷涂使用,因此测试其细胞毒性时直接用培养基稀释到所需测试浓度。

### 1.4 L929细胞毒性检测

L929细胞采用加入了100 $\mu$ g/mL链霉素、100U/mL青霉素和10%(V:V)胎牛血清的完全培养基在CO<sub>2</sub>培养箱(37 $^{\circ}$ C和5%CO<sub>2</sub>)中进行培养。在96孔板中每孔接种1 $\times$ 10<sup>4</sup>个L929细胞,培养24 h。暴露于不同浓度的功能建材产品浸提液,继续培养24 h。吸出染毒液,用PBS对细胞进行清洗2次。加入MTT工作液孵育3h,吸去96孔板中的溶液,加入110 $\mu$ L溶解液,以溶解MTT的深紫色产物(甲瓩)。振荡器轻轻振荡10min,用酶标仪测定在490 nm的吸光度(OD),根据OD值计算细胞活性。

### 1.5 数据分析

采用EXCEL和GraphPad Prism9.5数据处理和统计软件对实验数据进行计算和统计学分析,实验结果以平均数 $\pm$ 标准差(x $\pm$ s)表示;细胞毒性数据采用单因素ANOVA分析方法进行分析比较;P<0.05为显著性差异,P<0.01为极显著性差异。

## 2 结果与讨论

### 2.1 细胞形态观察结果

各组细胞染毒24h后的形态学观察结果如图1所示。空白对照组的细胞贴壁生长良好,细胞形状呈现长梭形或纺锤形,细胞透明且折光性强,细胞数量未见明显减少。所选防霉胶粘剂和除醛板浸提液在100%浓度下均未表现出明显的细胞损伤。而所选抗菌涂料浸提液和除醛喷剂分别在浓度10%和50%时细胞形态出现明显的变圆、溶解、折光性变差。细胞形态观察结果表明抗菌涂料浸提液和除醛喷剂对L929细胞具有明显的细胞毒性。

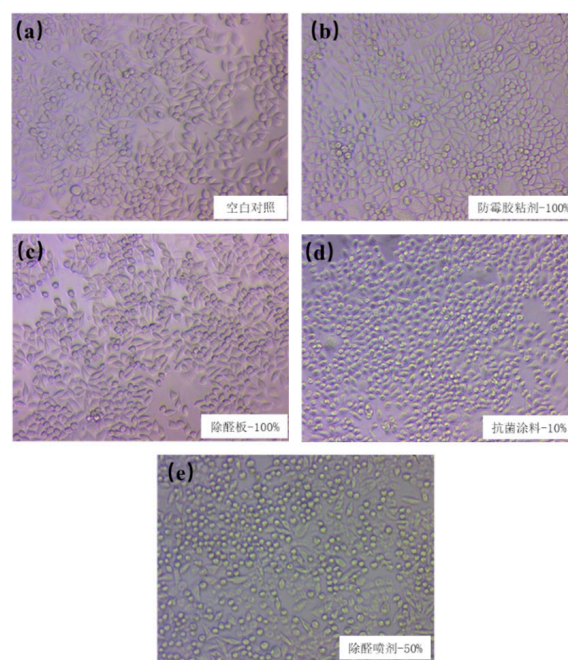


图1 功能建材样品浸提液暴露下的细胞形态变化情况(20 $\times$ 物镜)

Fig.1 Morphological changes of L929 cells exposed to the extract of functional building material samples (20 $\times$  objective lens)

### 2.2 细胞活力检测结果

依据所建立的体外细胞毒性检测方法,对几种市售典型功能建材产品(抗菌涂料、防霉胶粘剂、除醛板与除醛喷剂)进行检测。将功能建材样品浸提液用培养基稀释至不同浓度,与L929细胞共培养24h后,通过MTT试剂盒检测细胞活力,结果如图2所示。从图2(a)和图2(b)可以看到选择的防霉胶粘剂和除醛板样品浸提液在各浓度下的细胞活力均在80%以上,未表现出细胞毒性。由图2(c)可知,选择的抗菌涂料样品浸提液浓度从1%增加至10%,L929细胞活力从98%降到1.3%,表明抗菌涂料浸提液具有潜在细胞毒性。由图2(d)可知,所选除醛喷剂样品浓度从1%增加到50%,L929细胞活力从92.6%降至2.1%,表明除醛喷剂对L929也具有潜在细胞毒性。

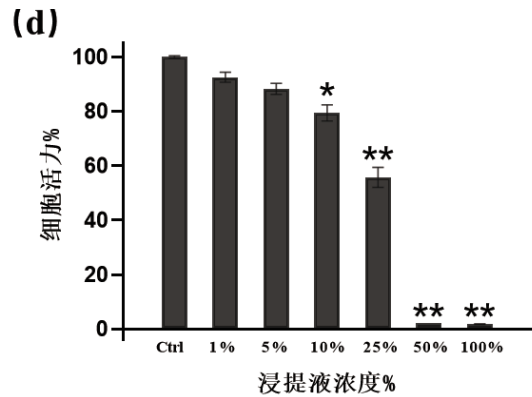
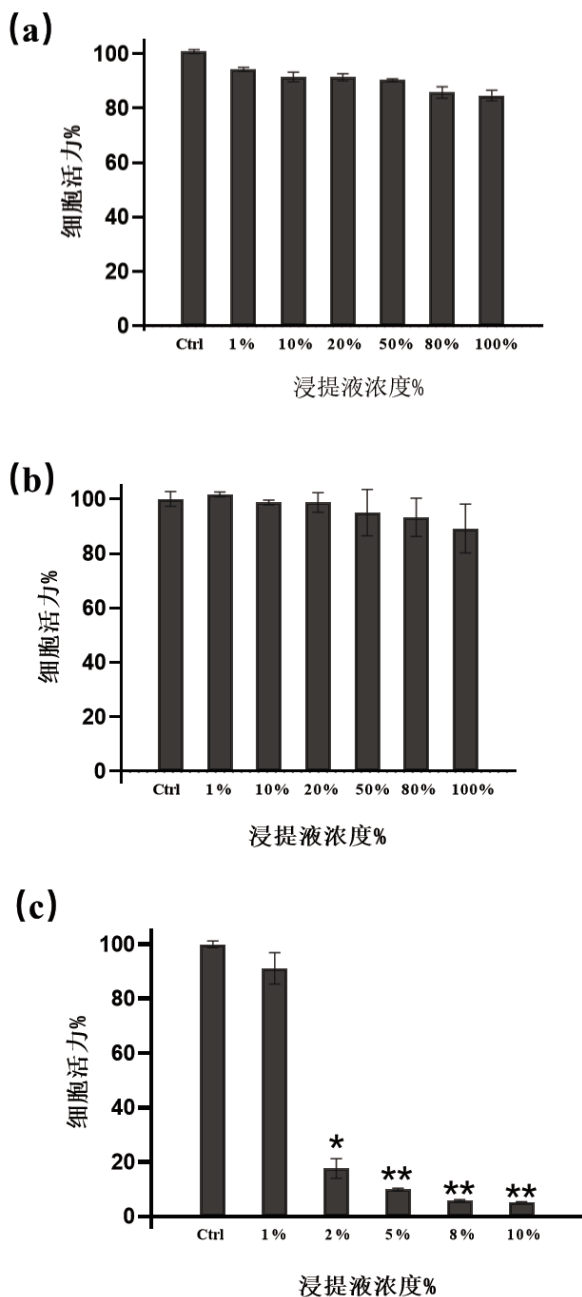


图2 功能建材样品浸提液对L929细胞的活性影响: (a) 防霉胶粘剂; (b) 除醛板; (c) 抗菌涂料; (d) 除醛喷剂  
 Fig.2 Effects of functional building materials on L929 cell viability: (a) Mildew-resistant adhesive; (b) Formaldehyde-removing board; (c) Antibacterial coating; (d) Formaldehyde-removing spray

注: Ctrl组表示稀释样品浸提液的培养基处理,\*表示与对照组相比差异显著( $p < 0.05$ ),\*\*表示与对照组相比差异极显著( $p < 0.01$ )

检测结果表明,所选功能建材样品细胞毒性具有显著差异。这可能与各类材料的成分与加工工艺有关。抗菌涂料通常通过加入抗菌剂实现抗菌功能,这些抗菌剂设计之初就是为了能从漆膜中缓慢迁移到表面,以接触并杀灭细菌<sup>[9]</sup>,因此它们非常容易迁移到浸提液中,从而产生细胞毒性。除醛喷剂主要通过引入光催化剂、强氧化剂/捕获剂实现甲醛去除<sup>[10]</sup>,这些高反应化学成分在高浓度下会产生明显的细胞毒性。而防霉胶粘剂固化后会形成致密的交联网络,除醛板大多是活性炭、硅藻土、沸石等多孔材料,因此两种材料在浸提过程中不会释放出细胞毒性物质。本研究选取的四类功能建材产品在细胞毒性上表现出显著差异,反映了不同功能原理与材料结构对生物安全性的影响。防霉胶粘剂与除醛板因其致密结构或物理吸附特性,不易释放有害物质;而抗菌涂料与除醛喷剂则因含有易迁移的活性成分,更易引发细胞毒性。这一结果提示,在功能建材的生物安全评价中,应重点关注其活性组分的释放行为。

### 2.3 浸提温度对细胞活力的影响

根据功能建材产品使用环境,考察了不同浸提温度条件下样品(防霉胶粘剂、抗菌涂料和除醛板)浸提液对L929细胞活力的影响(见图3)。随浸提温度从15℃升至30℃,所选防霉胶粘剂和除醛板样品浸提液处理的L929细胞相对活力均在80%以上,未表现出明显细胞毒性。而所选抗菌涂料样品在2%浓度的浸提液作用下,15℃浸提时细胞活力高达92.8%,当浸提温度升高到25℃时,细胞活力降至16.1%。通过剂量-效应曲线拟合得到 $EC_{50}$ 值分别为3.33%(15℃)、1.52%(25℃)、1.61%(30℃)。上述表明,在测试温度范围内,所选防霉胶粘剂与除醛板稳定性良好,未因温度升高而增强细胞毒性;所选抗菌涂料样品随温度升高,其浸提液对L929的细胞毒性有一定程度增大,这可能是由于浸提温度升高加剧分子热运动与促进漆膜溶胀,提高了涂料中有害组分向浸提液中的溶出速率与浓度,导致细胞毒性增强。

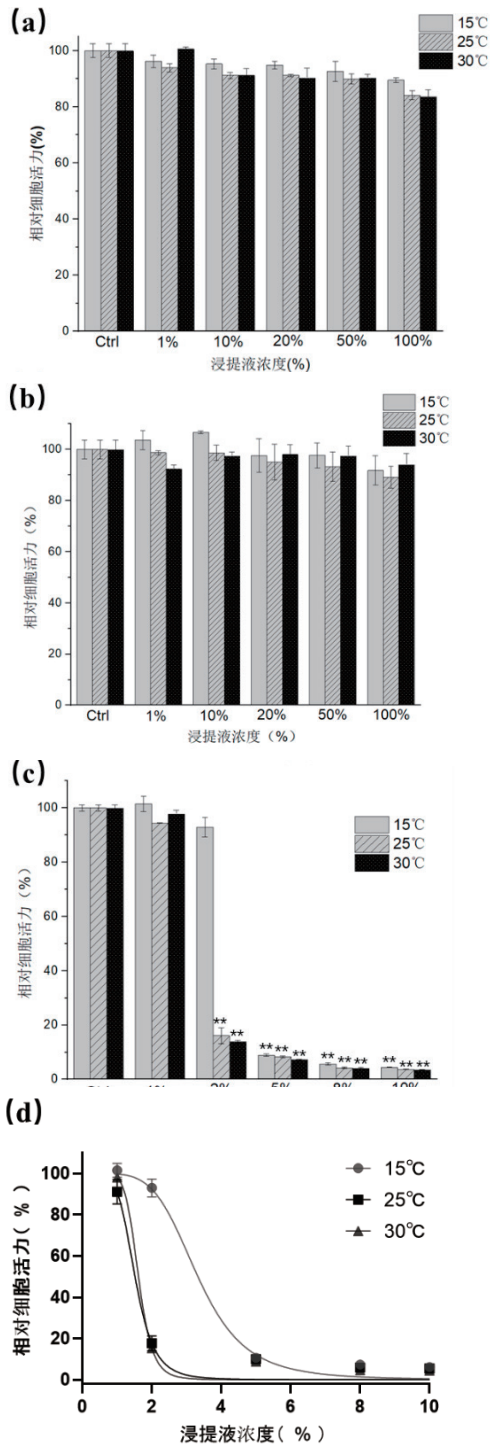


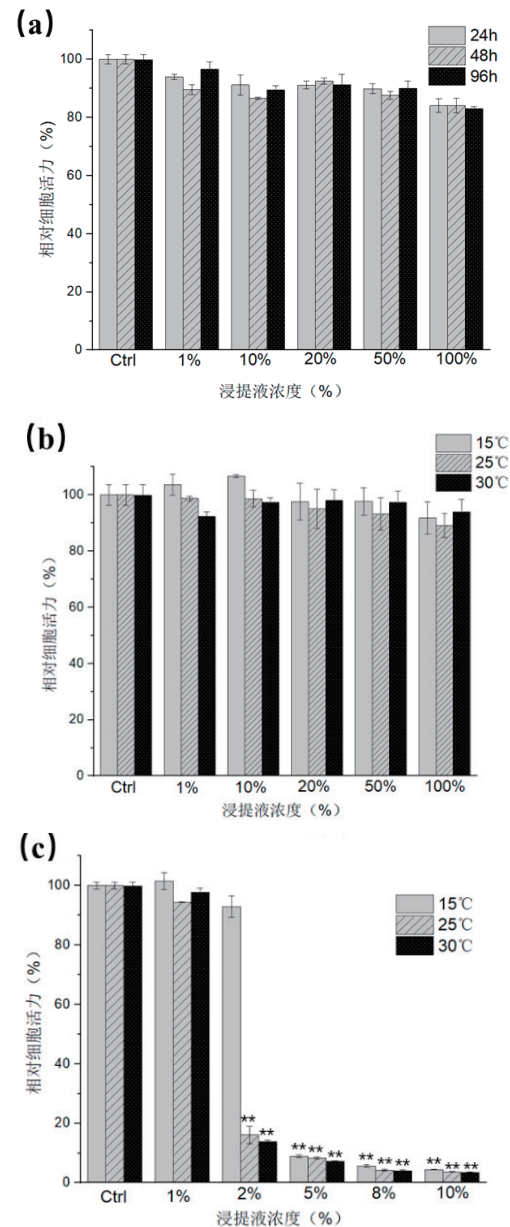
图3 功能建材样品浸提温度对L929细胞活性影响: (a) 防霉胶粘剂; (b) 除醛板; (c) 抗菌涂料; (d) 抗菌涂料浸提液剂量—效应曲线(浸提时间24h)

Fig.3 Effect of extraction temperature of functional building material samples on L929 cell viability: (a) Mildew-resistant adhesive; (b) Formaldehyde-removing board; (c) Antibacterial coating; (d) Dose-response curve of the antibacterial coating extract (Extraction time: 24h)

注: Ctrl组表示等量稀释样品浸提液的培养基处理, \*\*表示与对照组相比差异极显著( $p < 0.01$ )

### 2.4 浸提时间对细胞活力的影响

为了探究浸提时间对浸提液细胞毒性的影响, 本研究测试了功能建材样品在24h~96h浸提条件下浸提液对L929细胞活力的影响。结果如图3所示, 从图中可以看到随着浸提时间从24h增加到96h, 所选防霉胶粘剂和除醛板样品浸提液暴露的L929细胞活力均 $> 80\%$ , 表明浸提液没有明显的细胞毒性。图3(c)为所选抗菌涂料浸提液暴露下的L929细胞活力, 从图中可以看出随着浸提时间增加, 细胞活力随之降低, 通过剂量-效应曲线拟合得到 $EC_{50}$ 值分别为1.91%(24h)、1.46%(48h)和1.37%(96h)。实验结果表明在测试浸提时间范围内, 所选防霉胶粘剂和除醛板稳定性优异, 其浸提液均未表现出细胞毒性; 而所选抗菌涂料样品随浸提时间延长, 其浸提液对L929的细胞毒性有一定程度的增大, 这可能是浸提时间的延长, 为抗菌涂料中有害组分向浸提液中的持续溶出与累积提供了条件, 导致其浓度随时间增加, 从而表现出更强的细胞毒性。



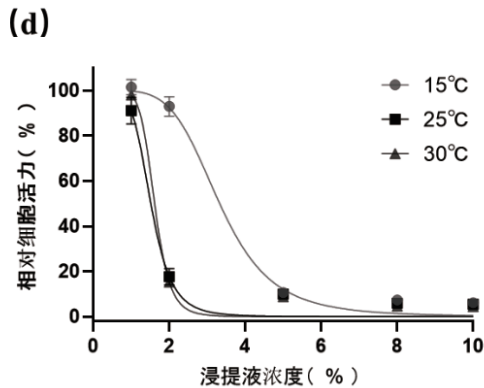


图4 功能建材样品浸提时间对L929细胞活性影响:(a)防霉胶粘剂;(b)除醛板;(c)抗菌涂料;(d)抗菌涂料浸提液剂量一效应曲线(浸提温度25℃)

Fig.4 Effect of extraction time of functional building material samples on L929 cell viability: (a) Mildew-resistant adhesive; (b) Formaldehyde-removing board; (c) Antibacterial coating; (d) Dose-response curve of the antibacterial coating extract (Extraction temperature 25℃)

注: Ctrl组表示等量稀释样品浸提液的培养基处理,\*\*表示与对照组相比差异极显著( $p < 0.01$ )

### 3 结论与展望

本研究选取典型功能建材产品(抗菌涂料、防霉胶粘剂、除醛板、除醛喷剂),根据其施工方式建立了适用于细胞毒性检测的前处理方法,并采用MTT法进行细胞毒性检测,获得以下主要结论:

1) 选择的产品细胞毒性差异显著:所测试的防霉胶粘剂和除醛板浸提液未对L929细胞表现出明显的细胞毒性。然而,所选取的抗菌涂料和除醛喷剂样品浸提液则显示出潜在的细胞毒性,且其细胞毒性具有浓度依赖性。

2) 浸提条件影响有限:浸提温度从15℃到30℃和浸提时间从24h到96h并未显著增强所测试防霉胶粘剂和除醛板样品浸提液的细胞毒性。虽然所测试抗菌涂料样品浸提液的细胞毒性随温度升高浸提时间延长有轻微增强,但考虑到实际评价的可行性和代表性,25℃和24h的浸提条件足以反映所选功能建材样品的潜在生物安全风险。

本研究发现抗菌涂料和除醛喷剂表现出明显的细胞毒

性,推测其与产品中添加的抗菌剂(如银离子、季铵盐等)或强氧化性成分(如光催化剂、过氧化物)有关。这些组分在设计上具有生物活性,易于从材料中溶出,进而影响细胞代谢与膜完整性。后续研究将结合高效液相色谱、质谱等手段,明确浸提液中具体毒性组分,进一步通过细胞凋亡、ROS检测等实验探讨其毒性机制。同时,在样品范围扩展与标准化、长期效应与复杂暴露评估、体内验证与健康风险关联、特定功能组分毒性溯源等方面更深入探索,为功能建材产品的生物安全性提供更坚实、全面的科学评价基础。

#### 参考文献

- [1]王静,冀志江,解帅,等.健康功能建材助力“好房子”建设[J].中国建材,2024(07):114-116.
- [2]全国化学标准化技术委员会.光催化材料及制品空气净化性能测试方法 乙醛(或甲醛)的降解:GB/T 23761-2020[S].北京:中国标准出版社,2020.
- [3]全国涂料和颜料标准化技术委员会.抗菌涂料(漆膜)抗菌性测定法和抗菌效果:GB/T 21866-2008[S].北京:中国标准出版社,2020.
- [4]Masayuki Okada, Harumi Tabata, Keiki Suzuki, et al. Detection of skin sensitization hazards in medical device materials using a combination of three alternative in vitro testing methods [J]. Toxicology in Vitro, 2025, 108: 106084
- [5]张帅帅,刘堰,刘树深,等.不同终点检测5种双酚A类化合物对MCF-7的细胞毒性[J].环境科学,2012,33(11):3935-3940.
- [6]罗爱勤,钟春燕,钟志勇,等.MTT法检测积雪草苷脂质体凝胶剂对B16F10小鼠黑色素细胞活性的影响[J].中国中医药现代远程教育,2024,22(22):174-177.
- [7]张龙飞,海日汗,王思群,等.碳量子点复合TiO<sub>2</sub>木材涂层制备及其净化甲醛气体的研究[J].北京林业大学学报,2022,44(1):113-122.
- [8]梁静静,陈卫,周明吉,等.一种具有净醛、阻燃功能的木质复合吸音板及其制备方法[P].CN:202210967044.6,2022-11-15.
- [9]崔跃红,关红艳,郭中宝.无机抗菌剂在抗菌涂料中的研究进展[J].中国建材科技,2017,26(01):5-7.
- [10]张珺,耿晓红,肖军,等.家用除醛喷剂产品标准体系研究及质量风险分析[J].煤炭与化工,2019,42(08):151-152.
- [13]董姝含,吕慧捷,周锋,等.玉米土壤有机氮组分的生长季动态变化及其对当季和长期秸秆还田的响应[J].生态学杂志,2022,41(1):73-80.
- [14]李瑞,张巡,杨阳,等.沼液替代化学氮肥对滨海稻田土壤有机氮和细菌群落的影响[J].植物营养与肥料学报,2022,28(8):1364-1375.
- [15]吴艳华,王蜜,柳玉晶,等.施氮对园林土壤微生物群落多样性及优势属的影响[J].辽宁农业职业技术学院学报,2025,7(4):1-9.

(上接第77页)

的变化特征[J].生态学杂志,2019,38(2):376-383.

[10]刘博文,张丽,吴福忠,等.高寒森林不同生境凋落叶分解过程中水溶性组分动态特征[J].生态学杂志,2020,39(4):1130-1140.

[11]王勇,曹元辉,张萌,等.碳中和背景下建材行业未来发展趋势探讨[J].中国建材科技,2022,31(03):97-99.

[12]李彦彤,陈晓勇,千志松,等.动物毛发角质蛋白基生物材料在组织工程皮肤的应用研究进展[J/OL].复合材料学报,1-15.2025-05-18.