

**TOXIC EFFECTS OF TITANIUM DIOXIDE NANOPARTICLES AND MULTI-WALLED CARBON NANOTUBES *IN VITRO* AND *IN VIVO***

PATINYA SUKWONG 5037484 SCTX/D

Ph.D. (TOXICOLOGY)

THESIS ADVISORY COMMITTEE: DAKRONG PISSUWAN, Ph.D.,  
KRONGTONG YOOVATHAWORN, Ph.D.,  
PAWINEE PIYACHATURAWAT, Ph.D., ARTHIT CHAIROUNGDUWA, Ph.D.**ABSTRACT**

Nanomaterials are of interest in various applications. Titanium dioxide nanoparticles (TiO<sub>2</sub>-NPs) and multi-walled carbon nanotubes (MWCNTs) are one of the versatile nanomaterials used in nanotechnology products such as sunscreen, cosmetics, electronic devices, paint, and sports gear. Therefore, workers and consumers are potentially exposed to TiO<sub>2</sub>-NPs and MWCNTs. Since these particles have a small size at a nanoscale level they are capable of penetrating biological structures. An increase in the use of TiO<sub>2</sub>-NPs and MWCNTs is therefore raising concerns on possibly adverse effects on human health. Due to this reason, the main purpose of this thesis is to investigate the toxic effect of TiO<sub>2</sub>-NPs and MWCNTs *in vitro* and *in vivo*. The impact of TiO<sub>2</sub>-NPs on the induction of toxicity in immune (RAW 264.7) and brain cancer (C6 glioma) cells is investigated in this thesis. Cell viability, DNA fragmentation, apoptosis cell death, and inflammatory response molecules were measured after treating RAW 264.7 and C6 glioma cells with various concentrations of TiO<sub>2</sub>-NPs. The results in this thesis showed that TiO<sub>2</sub>-NPs at concentrations  $\geq 25$   $\mu\text{g/ml}$  could strongly induce toxicity in both cells. However, it was found that the RAW 264.7 cell is more sensitive to TiO<sub>2</sub>-NPs than C6 cells.

Following *in vitro* investigation, *in vivo* toxicity of TiO<sub>2</sub>-NPs and MWCNTs in mice was examined. Intranasal exposure of mice with TiO<sub>2</sub>-NPs and MWCNTs for 6 and 24 h was performed. Inflammatory response molecules in bronchoalveolar lavage fluid were determined. The results showed that MWCNTs induced higher toxicity in treated mice than TiO<sub>2</sub>-NPs at the same concentration and exposure time. In addition, another useful information of TiO<sub>2</sub>-NP and MWCNT characterization is described in this thesis. The information on characterization of both nanoparticles could help explain how particles are associated with the induction of toxicity *in vitro* and *in vivo*. The overall results of this thesis provide useful information for using these nanomaterials effectively with health concerns.

**KEY WORDS: NANOTOXICITY/ INFLAMMATORY RESPONSE/ PRO-INFLAMMATORY CYTOKINE/ TIO2-NPS/ MWCNTS**

141 pages

ผลกระทบทางด้านความเป็นพิษของอนุภาคนาโนไทเทเนียม และท่อนาโนคาร์บอนแบบมีผนังหลายชั้น ในเซลล์และในสัตว์ทดลอง

TOXIC EFFECTS OF TITANIUM DIOXIDE NANOPARTICLES AND MULTI-WALLED CARBON NANOTUBES *IN VITRO* AND *IN VIVO*

ปริญญญา สุขวงศ์ 5037484 SCTX/D

ปร.ค. (พิษวิทยา)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์: คากรอง พิศสุวรรณ, Ph.D., กรองทอง ชูถาวร, Ph.D., ภาวิณี ปิยะจตุรวัฒน์, Ph.D., อาทิตย์ ไชยรุ่งเรือง, Ph.D.

#### บทคัดย่อ

วัสดุที่มีขนาดในระดับนาโน ถูกสนใจนำไปใช้สำหรับการประยุกต์ด้านต่างๆเป็นอย่างมาก อนุภาคนาโนไทเทเนียม และท่อนาโนคาร์บอนแบบมีผนังหลายชั้น เป็นหนึ่งในวัสดุนาโนระดับนาโนที่ถูกนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์ที่มีการนำนาโนเทคโนโลยีเข้ามาใช้ เช่น ในครีมกันแดด เครื่องสำอาง อุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์ และอุปกรณ์กีฬา ด้วยเหตุนี้ คนงานที่ทำงานในโรงงานผลิต และผู้บริโภคมีโอกาสสูงที่จะได้รับสัมผัสกับวัสดุนาโนทั้งสองชนิดนี้ เนื่องจากวัสดุดังกล่าวมีขนาดเล็กในระดับนาโนเมตรจึงทำให้วัสดุประเภทนี้สามารถแทรกซึมเข้าสู่โครงสร้างทางชีววิทยาได้ เนื่องจากมีการใช้อนุภาคนาโนไทเทเนียม และท่อนาโนคาร์บอนแบบมีผนังหลายชั้นเพิ่มมากขึ้น ดังนั้นการคำนึงผลกระทบของอนุภาคนาโนทั้งสองชนิดต่อสุขภาพ และสิ่งแวดล้อมได้รับความสนใจมากขึ้น วิทยานิพนธ์เล่มนี้ได้ทำการศึกษาความเป็นพิษของ อนุภาคนาโนไทเทเนียม และท่อนาโนคาร์บอนแบบมีผนังหลายชั้น โดยดำเนินการทดสอบความเป็นพิษของอนุภาคนาโนในเซลล์เพาะเลี้ยง และในสัตว์ทดลอง วิทยานิพนธ์เล่มนี้ได้ทำการศึกษาความเป็นพิษของอนุภาคนาโนไทเทเนียม ที่มีต่อเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย (RAW 264.7) และเซลล์มะเร็งสมอง (C6) โดยทำการศึกษาถึงการมีชีวิตรอดของเซลล์ การเกิดการแตกหักของดีเอ็นเอ การตายของเซลล์แบบอะพอโทซิส และการเกิดการอักเสบ ที่เกิดจากการสัมผัสกับอนุภาคนาโนไทเทเนียมที่ความเข้มข้นต่างๆ ผลจากการศึกษาพบว่า อนุภาคนาโนไทเทเนียมที่ความเข้มข้นมากกว่าหรือเท่ากับ 25  $\mu\text{g/ml}$  สามารถชักนำให้เกิดความเป็นพิษแก่เซลล์ทั้งสองชนิด โดยที่เซลล์ RAW 264.7 มีความไวต่ออนุภาคนาโนไทเทเนียมมากกว่าเซลล์ C6

หลังจากการทดสอบในเซลล์ ได้ทำการศึกษาความเป็นพิษที่เกิดในสัตว์ทดลอง โดยทดสอบในหนูที่ถูกหยอดอนุภาคนาโนไทเทเนียม และท่อนาโนคาร์บอนแบบมีผนังหลายชั้นผ่านทางจมูกของหนู หลังจากที่ได้รับสัมผัสอนุภาคนาโนดังกล่าวเป็นเวลา 6 และ 24 ชั่วโมง ได้ทำการตรวจวัดสารที่เป็นดัชนีของการเกิดการอักเสบ โดยวัดจากน้ำล้างหลอดลม และปอด ผลจากการทดลองพบว่า ท่อนาโนคาร์บอนแบบมีผนังหลายชั้น มีความเป็นพิษต่อหนู มากกว่าอนุภาคนาโนไทเทเนียม เมื่อทดสอบที่ความเข้มข้น และในระยะเวลาการสัมผัสที่เท่ากัน นอกจากนี้คุณสมบัติของอนุภาคนาโนทั้งสองชนิดได้ถูกอธิบายไว้ในวิทยานิพนธ์เล่มนี้ ผลการศึกษาที่ได้จากวิทยานิพนธ์ สามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลประกอบการพิจารณา ในการนำอนุภาคนาโนไปใช้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยมีการคำนึงถึงผลกระทบของอนุภาคนาโนต่อสุขภาพ