

DOI: 10.7524/AJE.1673-5897.20211012003

高宇, 许霞, 施昕澜, 等. 保鲜膜中微塑料和邻苯二甲酸酯浸出行为及斑马鱼胚胎毒性评价[J]. 生态毒理学报,2022, 17(3): 44-55 Gao Y, Xu X, Shi X L, et al. Leaching behavior and evaluation of zebrafish embryo toxicity of microplastics and phthalates in plastic wrap [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2022, 17(3): 44-55 (in Chinese)

保鲜膜中微塑料和邻苯二甲酸酯浸出行为及斑马鱼胚 胎毒性评价

高宇1, 许霞1,*, 施昕澜2, 张玲1, 郭俊1, 张秋亚1, 彭明国1, 薛银刚1,#

常州大学环境与安全工程学院,常州 213164
 江苏省常州环境监测中心,常州 213001

收稿日期:2021-10-12 录用日期:2021-12-09

摘要:保鲜膜是最常见的一类塑料食品接触材料,在生活中被广泛使用,但对于其在不同食品应用场景中有害物质的浸出情况及对生物可能构成的健康风险尚不明确。选取聚乙烯(PE)和聚氯乙烯(PVC)2种材质保鲜膜,考察3种食品模拟物(水、50%乙醇和正己烷)中微塑料和邻苯二甲酸酯(PAEs)的浸出行为,并探究浸出 PAEs 对斑马鱼胚胎发育的影响。结果表明,从PE保鲜膜和 PVC保鲜膜中浸出的总体微塑料平均丰度分别为(2.67±0.82)个·(100 mL)⁻¹和(3.78±0.92)个·(100 mL)⁻¹。PVC保鲜 膜浸出微塑料的粒径集中在 500~1000 μm 范围(55.9%),而PE保鲜膜浸出粒径为<500 μm 的微塑料占比最大(74.1%)。PVC 保鲜膜含醇和油脂环境下的实验组对斑马鱼胚胎发育有显著影响,可诱导胚胎出现心率失常、心包囊肿和脊柱弯曲等症状, PVC保鲜膜在这2种环境下均检测到 PAEs 的迁移。相比于 PE保鲜膜,PVC保鲜膜的浸出毒性需引起重视。 关键词:塑料食品接触材料;微塑料;邻苯二甲酸酯(PAEs);斑马鱼胚胎毒性

文章编号: 1673-5897(2022)3-044-12 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

Leaching Behavior and Evaluation of Zebrafish Embryo Toxicity of Microplastics and Phthalates in Plastic Wrap

Gao Yu¹, Xu Xia^{1,*}, Shi Xinlan², Zhang Ling¹, Guo Jun¹, Zhang Qiuya¹, Peng Mingguo¹, Xue Yingang^{1,#}

1. School of Environmental and Safety Engineering, Changzhou University, Changzhou 213164, China

2. Jiangsu Changzhou Environmental Monitoring Centre, Changzhou 213001, China

Received 12 October 2021 accepted 9 December 2021

Abstract: Plastic wrap, as a commonly type of food contact material, is widely used in daily life. However, the possible leaching of harmful substances from plastic wrap and its biological health risk assessment under different food application scenarios remain unclear, yet. In this study, the leaching behavior of microplastics and phthalate acid esters (PAEs) of polyethylene (PE) and polyvinyl chloride (PVC) were investigated under three kinds of food simulants (ultrapure water, 50% ethanol (V/V), *n*-hexane), and after that, the effects of PAEs on the development

基金项目:国家自然科学基金资助项目(21607017);水体污染控制与治理科技重大专项(2017ZX07202-01);国家环境保护标准项目(2015-9) 第一作者:高宇(1997—),男,硕士研究生,研究方向为生态毒理学,E-mail: 763751356@qq.com

^{*} 通讯作者(Corresponding author), E-mail: xuxia@cczu.edu.cn

[#] 共同通讯作者(Co-corresponding author), E-mail: yzxyg@126.com

of zebrafish embryo were explored. The results showed that the average abundance of the total microplastics leached from PE and PVC plastic wrap were (2.67 ± 0.82) items $\cdot(100 \text{ mL})^{-1}$ and (3.78 ± 0.92) items $\cdot(100 \text{ mL})^{-1}$, respectively. The particle size of the microplastics in PVC were concentrated in the range of 500 ~ 1 000 μ m, accounting for 55.9%, while about 74.1% of the microplastics in PE had a particle size of less than 500 μ m. Furthermore, the PVC extracts in an alcohol and fatty environment could induce significant impacts on zebrafish embryo development, including arrhythmia, pericardial cysts and spinal curvature. Compared with PE plastic wrap, the leaching toxicity from PVC plastic wrap needs serious attention.

Keywords: plastic food contact materials; microplastics; phthalic acid ester (PAEs); zebrafish embryo toxicity

食品接触材料(food contact material, FCMs),也称食品包装材料,指在食品生产、加工、运输和使用过程中可能直接或间接接触食品的所有材料^[1-3]。 常见的 FCMs包括塑料、玻璃、陶瓷和金属等^[4]。塑料制品因为成本低廉、轻便耐用占据了 FCMs 市场的"半壁江山"^[5]。据统计,在 2015 年全球生产的 3.8 亿 t 塑料中,塑料包装独占 1.52 亿 t,其中 60% 的塑料包装被用于食品和饮料^[6-7]。我国食品包装 材料尤其是塑料包装的用量持续增长,塑料包装用 量已经超过总用量的 50%^[8]。

塑料包装为人类生活提供了极大的便利,但也 对环境和生物健康带来了挑战。一方面,大量塑料 包装材料不当的回收与处置加剧了环境负担,并被 认为是环境中微塑料(<5 mm 的塑料)污染的主要来 源^[9-11]。近些年来,在塑料包装中也发现了微塑料 的存在。例如,瓶装饮料被发现含有来自瓶子本身 的微塑料^[12],食盐和茶包中发现了来自包装的微塑 料^[13-14]。现有研究表明,微塑料可以被不同层级的 生物摄食,生物体在摄入微塑料后,消化系统会出现 堵塞和磨损痕迹,导致食欲下降^[15-16]。与生物体接 触后,微塑料引起的氧化应激可能导致代谢紊乱和 神经毒性^[17]。

另一方面,除了微塑料污染外,FCMs 中所含添加剂通过食品接触迁移到食品中也引起了广泛关注^[18-21]。由于难以与聚合物形成牢固的化学键,它们很容易在与食品接触过程中迁移出来^[22]。值得注意的是,从包装材料中迁移出的化学物质可能是食品污染的最大来源,浸出量可能比农药残留高2~3个数量级^[23]。邻苯二甲酸酯(phthalic acid ester, PAEs)作为最具代表性的塑化剂,普遍用于保鲜膜的制造^[24]。它们的存在可以帮助塑料分子分散更均匀,使保鲜膜具有足够的柔韧性^[25]。PAEs 被认为是内分 泌干扰物 (endocrine disrupting chemicals, EDCs)^[26],可导致细胞毒性以及生殖和发育缺陷^[27]。

以往的研究主要集中在塑料食品接触材料中 PAEs 迁移量的测定^[28-29],有关浸提液中微塑料和 PAEs 的浸出及其对斑马鱼胚胎毒性效应的研究却鲜见 报道。

目前市售产品大多宣称在耐温范围内使用不会 产生危害,本研究以聚乙烯(polyethene, PE)和聚氯 乙烯(polyvinyl chloride, PVC)保鲜膜为测试对象,选 取3种食品模拟物(水、50%乙醇和正己烷)进行迁 移实验,以早期发育敏感阶段的斑马鱼胚胎(Danio rerio)作为毒性受试生物,通过归纳浸出液中微塑料 和 PAEs 的浸出行为,并探究浸出的 PAEs 对斑马鱼 胚胎的发育影响,为塑料食品接触材料的风险评估 和健康安全评价提供科学支撑。

1 材料与方法(Materials and methods)

1.1 实验材料

购买 PE 和 PVC 这 2 种材质的保鲜膜;受试鱼 种为中国科学院水生生物研究所国家斑马鱼资源中 心培育的 AB 系斑马鱼,实验室条件下驯化 2 周。 饲养期间严格控制养殖系统的水质卫生条件及光照 时间,每天用实验室人工孵化的盐水虾(丰年虾)作 为活饲料定时投喂 2 次,后期用于暴露试验的胚胎 均为其后代。

1.2 试剂与仪器

试剂:迁移试验用水采用全玻璃装置重蒸馏的 超纯水,标准稀释水(5.5 mg·L⁻¹ KCl,63.0 mg·L⁻¹· NaHCO₃,123.3 mg·L⁻¹ MgSO₄·7H₂O,294.0 mg·L⁻¹ CaCl₂·2H₂O)用于斑马鱼的相关试验,邻苯二甲酸 酯类标准配品纯度为 99%(德国 Dr. Ehrenstorfer 公 司),其余试剂均为色谱纯(上海阿拉丁,中国)。

仪器:傅里叶变换红外光谱仪(FTIR, Nicolet IS5,美国);气相色谱质谱联用仪(Agilent 7890B/5977B,美国);超高清测量显微镜(SGO-KK203,深圳 光谷,中国);循环水养殖系统(定制,上海海圣,中国);生化培养箱(SPX-250B-Z,上海博迅,中国);循 环水式真空泵(SHZ-D(Ⅲ),上海邦西,中国);离心机 (TDL-60C,上海安亭,中国);涡旋振荡器(UMV-1,北 京优晟,中国);油浴锅(DF-101S,上海力辰,中国); 旋转蒸发皿(RE-52AA,上海亚荣,中国);回流冷凝 装置(四川蜀玻,中国)。

1.3 实验方法

1.3.1 迁移试验

浸出液的制备参考《食品安全国家标准 食品接触材料及制品迁移试验通则》(GB 31604.1—2015)^[30]。不同类别食品对应的食品模拟物如表1 所示。PE和PVC保鲜膜的试验温度分别为110℃和80℃,试验时间均为0.5h。接触面积与食品模拟物体积比(*S*/V)采用0.06m²对应1L食品模拟物。采用全浸没法,由于试样厚度≤0.5mm,实验中浸没面积均取单面计算。实验中取0.006m²保鲜膜样品,100mL食品模拟物加入接收瓶,于油浴锅中加热回流冷凝。

1.3.2 微塑料的分离与鉴别

Table 1

浸出液在真空泵下通过纤维素滤膜(直径 47 mm,孔径1 μm)进行抽滤,过程中用超纯水反复冲洗容器内壁。滤膜放入洁净的培养皿中,待干燥后

置于显微镜下观察。每组样品包括3个平行和1个 空白对照(玻璃器皿)。记录可疑微粒的个数、粒径 和形貌特征(形状、颜色),用 FTIR 进行官能团分析。 FTIR 采用衰减全反射模式,采集时间为3s,光谱范 围为4000~500 cm⁻¹,测试结果与标准光谱库对 比,匹配度≥70%方可被接受^[31]。

1.3.3 暴露试验

斑马鱼胚胎实验参考《水质 急性毒性的测定 斑马鱼卵法》(HJ 1069—2019)^[32]。选取二甲亚砜 (DMSO)作为助溶剂,用标准稀释水稀释至 0.05% (V/V)。浸出液按本文 1.4.1 节的前处理方法挥干 后,加入助溶剂。对照组和实验组的试验布局如图 1 所示,阴性对照即为空白对照,溶剂对照中的溶液 为 0.05%(V/V) DMSO。取各组溶液加入石英玻璃 微孔,每孔 2 mL。受精卵在恒温培养箱内静置 45 min,显微镜下挑选 64-细胞期~128-细胞期的胚胎 放入石英玻璃微孔中进行暴露,每孔 1 个胚胎。每 种浸出液设置 3 个平行,每个平行包含 10 个胚胎。 暴露完的胚胎转入生化箱,26 ℃下培养,记录 48 hpf、72 hpf(hours post fertilization,受精后小时数)胚 胎相关形态学指标^[33-34]。

表 1 不同食品类别下的食品模拟物及迁移试验条件 Simulants and migration test conditions used for different food categories

食品类别	食品模拟物		
Food categories	Food simulants		
水性食品 (乙醇含量≤10%, pH≥5)	超纯水		
Aqueous food (Volume fraction $\leq 10\%$, pH ≥ 5)	Ultrapure water		
含醇类食品 (20%(V/V)<乙醇含量≤50% (V/V))	50% (1/1/1)乙醇		
Alcoholic food (20% (V/V) <volume <math="" fraction="">\leq 50\% (V/V))</volume>	50% (<i>V/V</i>) ethanol		
油脂食品	正己烷		
Fatty food	<i>n</i> -hexane		



图1 斑马鱼胚胎试验微孔板布局图

注:DMSO 表示二甲基亚砜。

Fig. 1 Layout of the microplate for the zebrafish embryo test Note: DMSO stands for dimethyl sulfoxide.

1.4 邻苯二甲酸酯类塑化剂的测定

1.4.1 浸出液的前处理

准确量取(10 mL±0.01 mL)各类模拟物浸出液, 对于油性模拟物浸出液,45 ℃水浴减压旋转蒸发至 近干后挥干,加入1 mL 正己烷,振荡3 min,4 000 r· min⁻¹离心5 min;对于水性和含醇模拟物浸出液,先 加入4 mL 正己烷,振荡10 min,4 000 r·min⁻¹离心5 min,取上层正己烷层,重复提取2次,合并提取液,再 按照油性模拟物浸出液的操作方法进行处理。全部 完成后,收集上层清液待气相色谱-质谱联用仪检测。 1.4.2 气相色谱-质谱联用仪参数

色谱条件:色谱柱选取 5% 苯基-甲基聚硅氧烷 石英毛细管柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm);不分流进 样 1 μL;进样口温度 260 ℃;初始柱温 60 ℃,保 持 1 min,20 ℃・min⁻¹升温至 220 ℃,持续 1 min,5 ℃・min⁻¹升温至 250 ℃,维持 1 min,20 ℃・min⁻¹升 温至 290 ℃,保持 7.5 min;载气氦气流速 1 mL・ min⁻¹。

质谱条件:EI 电离源,电离能量 70 eV;离子源 温度 230 ℃,传输线温度 280 ℃;溶剂延迟 7 min。 1.5 质量控制与保证

实验过程中严格执行品质控制措施,包括使用 通风橱、棉衣和乳胶手套以防止外来微粒对结果产 生干扰。所有容器未使用时用铝箔覆盖。微塑料过 滤前,在显微镜下检查滤膜和培养皿的清洁度。用 于暴露的斑马鱼胚胎在培养48h后,对照组的试验 结果应满足以下要求:板对照中无胚胎死亡;阴性对 照中胚胎存活率≥90%;阳性对照胚胎存活 率<10%,否则重新试验。

1.6 数据处理

实验结果以平均值±标准偏差的形式呈现,微 塑料丰度单位为"个·(100 mL)⁻¹";使用 Origin Pro 2017 进行正态检验和单因素方差分析(ANOVA); *表示 P<0.05,**表示 P<0.01。

2 结果(Results)

- 2.1 浸出液中微塑料的特征
- 2.1.1 微塑料的类型与丰度

通过 FTIR 对可疑微粒进行表征(图 2),并与标 准谱图比对以确定样品的类型。共有 79 个疑似颗 粒被检测,其中包含一些类似塑料的非塑料颗粒。 一些微粒的聚合物成分与保鲜膜相同且颜色也为透 明,因此,它们被认为是从保鲜膜中剥落的微塑料。 在 PE 和 PVC 保鲜膜中,自身剥落微塑料分别占总 体丰度的 21.0% 和 17.7%。在 PE 和 PVC 保鲜膜中 也发现了其他类型的聚合物,PE 保鲜膜中其他类型



注:PE表示聚乙烯;PVC表示聚氯乙烯;PET表示聚对苯二甲酸乙二醇酯;PES表示聚酯。

Fig. 2 Infrared spectrum of microplastics in plastic wrap

Note: PE stands for polyethylene; PVC stands for polyvinyl chloride; PET stands for polyethylene terephthalate; PES stands for polyester.

的聚合物占比分别为聚对苯二甲酸乙二醇酯 (26.3%)、聚酯(21.1%)、丙烯酸(5.3%)、尼龙(15.8%) 和人造丝(31.5%),PVC保鲜膜中其分别为聚对苯二 甲酸乙二醇酯(28.6%)、聚酯(17.9%)、丙烯酸 (7.1%)、尼龙(21.4%)和人造丝(25.0%)。

由图 3(a)可知,不同模拟物下 2 种保鲜膜中微 塑料的总体丰度,箱线图中的晶须、中线和小方块分 别代表丰度的最值、中值和平均值。3 种模拟环境 下 PE 保鲜膜中微塑料的丰度在(2.33±0.47) 个·(100 mL)⁻¹到(3.33±0.47)个·(100 mL)⁻¹之间,平均丰度 为(2.67±0.82)个·(100 mL)⁻¹。PVC 保鲜膜中微塑 料丰度最高值为(4.33±0.47)个·(100 mL)⁻¹,最低值 为(3.00±0.82)个·(100 mL)⁻¹,平均为(3.78±0.92)个· (100 mL)⁻¹。外来源微塑料(非自身剥落)丰度如图 3 (b)所示,PE 保鲜膜中外来源微塑料的平均丰度为 (2.11±0.74)个·(100 mL)⁻¹,占总体丰度的 79.0%, PVC 中外来源微塑料的平均丰度(3.11±0.57)个· (100 mL)⁻¹,占总体丰度的 82.3%。







2.1.2 微塑料的形状和粒径

不同模拟物下 2 种材质保鲜膜中检出的微塑料 形状包括 2 种:薄膜和纤维,且纤维所占比例远远大 于薄膜。在水性、含醇和油脂食品模拟物中,PE 保 鲜膜中纤维状塑料百分比分别是 86%、71% 和 80%,薄膜状为14%、29%和20%(图4(a))。在 PVC 保鲜膜中,纤维类分别占比 89%、83%和77%,薄膜 类比例为11%、17%和23%(图4(b))。微塑料根据 粒径分为3组:分别为<500 μm、500~1000 μm和> 1000 μm。如图4(c)所示,PE 保鲜膜中<500 μm 粒径的微塑料最多(74.1%),其次是粒径在500~ 1000 μm的微塑料(22.2%),粒径>1000 μm的微塑 料最少(3.7%)。由图4(d)可知 PVC 保鲜膜中微塑 料的粒径分布情况,500~1000 μm的微塑料最多 (55.9%),粒径<500 μm的微塑料次之(29.4%),> 1 000 µm 的微塑料依然最少(14.7%)。

2.2.1 各组别对胚胎心率的影响

显著性分析结果表明空白对照组和溶剂对照 组之间不存在明显差异。PE保鲜膜中各试验组均 未发现 20 s内斑马鱼胚胎心跳次数有明显变比。 PVC水性环境实验组毒性最弱,对斑马鱼胚胎的 心率几乎没有抑制作用。相比之下,含醇和油脂 条件实验组对斑马鱼胚胎 20 s内心跳次数均有很 强的抑制作用,其中油脂环境实验组对胚胎影响 最显著。48 hpf时,含醇试验组和油脂试验组中斑 马鱼胚胎 20 s心跳次数分别相当于溶剂对照组的 92.6%和 85.9%;72 hpf时,2个试验组暴露下的胚 胎 20 s心跳次数分别为对照组的 87.2%和 80.4% (图 5)。





2.2.2 各组别对胚胎的致畸作用

如图 6 所示, PVC 保鲜膜含醇实验组和油脂实 验组中暴露的斑马鱼胚胎均出现了脊柱弯曲和心包 囊肿。其中脊柱弯曲率分别为 6.7% (*P*<0.01)和 13.3% (*P*<0.01)。心包囊肿率相对较低, 分别为 3.3% (*P*<0.01)和 6.7% (*P*<0.01)。相对于 48 hpf 正常 发育的胚胎(图 7(a)),在实验组中出现了如心包囊肿 (图 7(b))和卵黄肿大(图 7(c))等畸形症状; 72 hpf 暴 露后,相比正常发育的仔鱼(图 7(d)),实验组中发现 了心包囊肿(图 7(e))和脊柱弯曲(图 7(f))的仔鱼。

2.3 浸出邻苯二甲酸酯类塑化剂的浓度
 通过 GC-MS 对浸出液中的成分进行分析,结

果如表 2 所示。邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯(DE-HP)、邻苯二甲酸二丁酯(DBP)和邻苯二甲酸二辛酯 (DOP)在 PVC 保鲜膜含醇和油脂模拟物的浸出液中 被检测出,PE 保鲜膜 3 种食品模拟物的浸出液中都 未发现 PAEs 的浸出。同时,PVC 保鲜膜在油脂环 境下的迁移量最大,其次是含醇环境,2 种保鲜膜在 水性环境下都未检出 PAEs。

3 讨论(Discussion)

3.1 2种保鲜膜中微塑料浸出行为

PE 和 PVC 保鲜膜中都发现了微塑料的存在, 其中有一部分来源于保鲜膜本身。微塑料可能在塑 料制品制造、运输和日常使用过程中从接触材料表 面脱落。Du等^[5]发现微塑料会在轻微冲洗后从不 同类型的外卖容器表面剥落,每人每周通过容器摄 入的微塑料可能高达203个。Fadare等^[50]对用于食 品配送的圆形、矩形塑料容器和日常饮用的一次性 塑料杯浸出的微塑料进行了检测,确定了剥落微塑 料的平均质量分别为(12±5.12)mg、(38±5.29)mg和 (3±1.13)mg。除了自身剥落的内源污染外,包装材 料中也发现了外来源污染,且以纤维状的微塑料比 例最高。5种外来源微塑料按比例从高到低分别为 人造丝、聚对苯二甲酸乙二醇酯、聚酯、尼龙和丙烯 酸。衣物上的塑料纤维可能是外来污染的重要来 源。研究表明,纤维状的微塑料主要由服装纤维的 断裂产生,其主要成分是人造丝和聚对苯二甲酸乙 二醇酯,这2种材质的聚合物在合成纺织纤维中被







图 6 不同模拟物下保鲜膜浸提物对胚胎的致畸作用

Fig. 6 Teratogenic effects of the extracts from plastic wrap using different food simulants on embryos



注:(a) 48 hpf 发育正常的胚胎;(b) 48 hpf 心包囊肿的胚胎; (c) 48 hpf 卵黄肿大的胚胎;(d) 72 hpf 发育正常的仔鱼; (e) 72 hpf 心包囊肿的仔鱼;(f) 72 hpf 脊柱弯曲的仔鱼。

Fig. 7 Micrographs of abnormal embryos
Note: (a) Normally developing embryo at 48 hpf; (b) Embryo with
pericardial cyst at 48 hpf; (c) Embryo with yolk deformation at 48 hpf;
(d) Normally developing larva at 72 hpf; (e) Larva with

pericardial cyst at 72 hpf; (f) Larva with spine curvature at 72 hpf.

表 2 不同模拟物下 2 种保鲜膜中邻苯二甲酸酯浓度

Table 2 Phthalate concentrations of two kinds of plastic wrap under different simulants

						$(mg \cdot L^{-1})$
化合物名称	PE 水性食品	PE 含醇食品	PE 油脂食品	PVC 水性食品	PVC 含醇食品	PVC 油脂食品
Compound name	Aqueous food (PE)	Alcoholic food (PE)	Fatty food (PE)	Aqueous food (PVC)	Alcoholic food (PVC)	Fatty food (PVC)
DEHP	ND	ND	ND	ND	0.1443	0.504
DBP	ND	ND	ND	ND	0.0251	0.0360
DOP	ND	ND	ND	ND	0.0108	0.0119

注:ND 表示未检出。

Note: ND represents not detected.

大量使用^[37]。在与食品接触材料加工和包装的过程 中,衣物上的塑料纤维可能通过静电作用沾染到保 鲜膜表面。除了衣物来源,大气中的微塑料污染也 可能通过沉降作用进入到接触材料。大气微塑料污 染普遍存在于室内外环境中^[38-39]。Cai 等^[40]对中国 东莞市大气沉降物中微塑料的污染特征进行了归 纳,发现每天沉降物中微塑料浓度的范围为175~ 313 个·m⁻³,且纤维是主要的形状。室内环境的污 染更严重, Dris 等[41]的研究表明, 每天沉降的塑料纤 维浓度介于 523~3 673 个·m⁻³之间。本文检出的 外来源塑料微粒以纤维形状最为丰富,这与 Cai 等^[40]和 Dris 等^[41]的研究结果相一致。制品在生产、 储存、运输和使用过程中不可避免地会接触到空气, 大气中的微塑料可能通过这些环节中进入塑料制品 中。有研究表明,与摄入大气微塑料沉降物引起的 暴露水平相比,通过贝类摄入微塑料对人类健康的 影响甚至可以忽略不计^[42]。从丰度上看,PVC保鲜 膜中的外来颗粒个数大于 PE 保鲜膜:从粒径分布 上看, PVC 保鲜膜中含有微塑料的粒径也是大于 PE 保鲜膜的,这可能因为 PVC 保鲜膜具有更大的 黏性,更有利于大粒径的外来微塑料粘附在表面。 相关研究表明,微塑料的存在可能会加剧浸提液的 毒性[43-44],具体的毒性机制目前尚不明确。除了塑 料制品本身迁移添加剂的毒性,剥落的微塑料也有 可能对斑马鱼胚胎产生毒性。

3.2 不同模拟环境下 PAEs 的迁移量及毒性效应

由于 PAEs 未与聚合物共价结合, 而是通过氢 键或范德华力与树脂相连,因此这些化合物很容易 从塑料食品接触材料中迁出^[45]。Han 等^[46]对中国外 卖食品容器中的 PAEs 进行了调查,发现 DEHP 的 浸出率最高,达到51.2%。赵电波等[47]发现聚乙烯 包装袋在包裹完高温油炸的油条后,包装材料中检 测到了 DBP 和 DOP 的浸出,最大浸出浓度分别为 0.79 mg·L⁻¹和 0.24 mg·L⁻¹。不同食品模拟物中 PAEs 的浸出量也呈现出差异性,相比于水性模拟 物,有机模拟物中 PAEs 有着明显的浸出,这可能与 用来抽提的溶剂极性有关^[48]。塑料食品接触材料中 的添加剂多为非极性化合物,因此难以在极性很强 的水溶液中发生迁移,而与水相比,醇和烷烃的极性 要小得多,根据相似相溶原理,在这类模拟环境下迁 移促进了同样极性较弱的 PAEs 浸出。PAEs 在油 脂模拟物中的迁移量大于在含醇环境下的迁移量, 这种差异可能归因于正己烷和 PAEs 相似的 C—C 长链结构^[49],此外,迁移量差异也和溶液体系中有机 组分的含量有关,油脂模拟物中高聚物的溶剂化作 用更为明显,进而导致更多的 PAEs 迁移。

PVC 保鲜实验组中的受试胚胎受到不同程度 的毒害作用,浸提液中检测到 DEHP、DBP 和 DOP 这3种 PAEs 类化合物的浸出。Staples 等^[50]研究发 现 DBP、DEHP 和 DOP 可对鱼类胚胎产生毒性效 应,且其毒性的强弱与烷基链长度成正相关。何秀 婷等^[51]研究了4种不同浓度的 PAEs 对斑马鱼胚胎 发育的联合毒性,计算出 DBP 和 DEHP 对斑马鱼胚 胎48 h 半数致死浓度(LC50-48h)分别为 0.20 mg·L⁻¹ 和 $0.77 \text{ mg} \cdot L^{-1}$,且 DBP 和 DEHP 交互暴露时,可能 产生的协同作用会导致毒性加强,对斑马鱼胚胎发 育造成更大影响。含醇和油脂实验组中部分斑马鱼 胚胎表现出心率异常并伴有特征性的心脏缺陷,这 些症状的产生很可能归因于浸出的 PAEs。Singh 和 Li^[52]借助比较毒理学数据库对 16 种 PAEs 与基因/ 蛋白质之间的相互作用进行了探究,发现心脏毒性 是 PAEs 毒性排名最高的类别,其次是肝毒性和肾 毒性。相关研究表明, PAEs 对心脏产生毒性的作用 机制可能与 Nkx2.5 和 Tbx5 这 2 种基因的表达变化 有关。作为重要的心脏转录因子,在胚胎心脏发育 过程中发挥着关键作用[53-54]。Nkx2.5 和 Tbx5 协同 参与心肌细胞分化,促进心脏发育[55],其在胚胎中的 表达改变可导致严重的心脏分化缺陷和心脏缺 陷^[56-57]。Sun 和 Liu^[58]证实了邻苯二甲酸丁苄酯 (BBP)会损害斑马鱼胚胎的心脏结构和功能,并通过 实时定量 PCR 技术深入探究了 BBP 对斑马鱼胚胎 心脏发育产生不利影响的机理。Nkx2.5 和 Tbx5 的 基因表达伴随 BBP 暴露剂量的上升呈现依赖性下 降,这2种基因的改变可能是引起心脏毒性的主要 原因。穆希岩等^[9]证明了 DBP 和 DEHP 可导致胚 胎中 Nkx2.5 蛋白含量降低,这种蛋白含量的减少可 能造成胚胎心脏发育缺陷,引起胚胎心率异常[56-57]。 Pfuderer 和 Francis^[60]证明了 PAEs 对心率有影响,其 中 DBP 和 BBP 可显著降低金鱼的心率,这些结果 表明心脏缺陷与酞酸酯类化合物之间存在密切的 关联。

暴露于含醇和油脂浸提液的斑马鱼胚胎出现脊柱弯曲,这可能和胚胎中与脊索发育和骨骼发育的相关基因转录水平发生改变有关。之前的研究表明,PAEs类化合物易对骨骼和脊柱的发育造成影响^[61-62]。Qian等^[63]发现参与脊索发育的 col8a1a 基

因以及参与骨骼发育的 BMP-2 因子的转录水平在 50 µg·L⁻¹ DEHP 和 DBP 中显著下调,这可能是导 致斑马鱼脊柱缺陷的关键原因。Col8a1a被认为是 斑马鱼脊索发育过程中的必要因素,该基因功能的 缺失或抑制会影响胚胎脊柱和骨骼系统正常发育, 进而造成斑马鱼胚胎脊椎畸形^[64]。骨形态发生蛋白 (BMP-2)作为骨形成的诱导剂和胚胎发育的调节 剂,直接参与脊椎动物胚胎背腹的早期形成,BMP-2 的转录减少可能对骨骼发育产生负面影响并进一步 诱导脊柱变形[65]。既往的研究也有相似的发现,当 暴露于多氯联苯(PCBs)和三唑类化合物时,伴随着 BMP-2转录的减少,斑马鱼胚胎脊柱弯曲率上 升[66-67]。斑马鱼胚胎相关毒性症状的产生可能是一 系列复杂毒性机制综合作用的结果,一方面浸提过 程中迁移出的塑料添加剂可能通过改变与发育有关 基因的表达,诱导斑马鱼胚胎出现毒性效应,另一方 面浸提液中的微塑料可能会对浸提液的毒性起到促 进作用,共同影响斑马鱼胚胎发育。

通讯作者简介:许霞(1982—),女,博士,硕士生导师,主要研 究方向为水体污染控制与治理。

共同通讯作者简介:薛银刚(1981—),男,博士,研究员级高 工,主要研究方向为生态毒理学与生物监测。

参考文献(References):

- Muncke J, Backhaus T, Geueke B, et al. Scientific challenges in the risk assessment of food contact materials [J]. Environmental Health Perspectives, 2017, 125(9): 095001
- [2] Sanchis Y, Yusà V, Coscollà C. Analytical strategies for organic food packaging contaminants [J]. Journal of Chromatography A, 2017, 1490: 22-46
- [3] de Leo F, Coluccia B, Miglietta P P, et al. Food contact materials recalls and international trade relations: An analysis of the Nexus between RASFF notifications and product origin [J]. Food Control, 2021, 120: 107518
- [4] Hu Y J, Du Z X, Sun X C, et al. Non-targeted analysis and risk assessment of non-volatile compounds in polyamide food contact materials [J]. Food Chemistry, 2021, 345: 128625
- [5] Muncke J. Exposure to endocrine disrupting compounds via the food chain: Is packaging a relevant source? [J]. The Science of the Total Environment, 2009, 407 (16): 4549-4559
- [6] Geyer R, Jambeck J R, Law K L. Production, use, and

fate of all plastics ever made [J]. Science Advances, 2017, 3(7): e1700782

- [7] Groh K J, Backhaus T, Carney-Almroth B, et al. Food packaging in the circular economy: Overview of known plastic packaging-associated chemicals and their hazards
 [J]. Science of the Total Environment, 2019, 651: 3253-3268
- [8] 张玉霞,杨涛.关于构建塑料包装废弃物的分类、收集 与管理体系的思考[J].中国塑料, 2021, 35(8): 21-29
 Zhang Y X, Yang T. Thinkings on establishment of systems for sorting, collecting and managing plastics packaging waste [J]. China Plastics, 2021, 35(8): 21-29 (in Chinese)
- [9] Rodrigues M O, Abrantes N, Gonçalves F J M, et al. Impacts of plastic products used in daily life on the environment and human health: What is known? [J]. Environmental Toxicology and Pharmacology, 2019, 72: 103239
- [10] Geueke B, Groh K, Muncke J. Food packaging in the circular economy: Overview of chemical safety aspects for commonly used materials [J]. Journal of Cleaner Production, 2018, 193: 491-505
- [11] Thompson R C, Olsen Y, Mitchell R P, et al. Lost at sea: Where is all the plastic? [J]. Science, 2004, 304 (5672): 838
- [12] Schymanski D, Goldbeck C, Humpf H U, et al. Analysis of microplastics in water by micro-Raman spectroscopy: Release of plastic particles from different packaging into mineral water [J]. Water Research, 2018, 129: 154-162
- [13] Hernandez L M, Xu E G, Larsson H C E, et al. Plastic teabags release billions of microparticles and nanoparticles into tea [J]. Environmental Science & Technology, 2019, 53(21): 12300-12310
- [14] Cox K D, Covernton G A, Davies H L, et al. Human consumption of microplastics [J]. Environmental Science & Technology, 2019, 53(12): 7068-7074
- [15] Guzzetti E, Sureda A, Tejada S, et al. Microplastic in marine organism: Environmental and toxicological effects [J]. Environmental Toxicology and Pharmacology, 2018, 64: 164-171
- [16] Wright S L, Thompson R C, Galloway T S. The physical impacts of microplastics on marine organisms: A review[J]. Environmental Pollution, 2013, 178: 483-492
- [17] Rahman A, Sarkar A, Yadav O P, et al. Potential human health risks due to environmental exposure to nano- and microplastics and knowledge gaps: A scoping review [J]. The Science of the Total Environment, 2021, 757: 143872
- [18] Arfaeinia L, Dobaradaran S, Nasrzadeh F, et al. Phthalate

acid esters (PAEs) in highly acidic juice packaged in polyethylene terephthalate (PET) container: Occurrence, migration and estrogenic activity-associated risk assessment [J]. Microchemical Journal, 2020, 155: 104719

- [19] Cao X L, Zhao W, Churchill R, et al. Occurrence of di-(2ethylhexyl) adipate and phthalate plasticizers in samples of meat, fish, and cheese and their packaging films [J]. Journal of Food Protection, 2014, 77(4): 610-620
- [20] Sapozhnikova Y. Non-targeted screening of chemicals migrating from paper-based food packaging by GC-Orbitrap mass spectrometry [J]. Talanta, 2021, 226: 122120
- [21] Lu S, Gao X, Hu C Y, et al. Heavy metal release from irradiated LDPE/nanometal composite films into food simulants [J]. Food Packaging and Shelf Life, 2020, 26: 100571
- [22] Hahladakis J N, Velis C A, Weber R, et al. An overview of chemical additives present in plastics: Migration, release, fate and environmental impact during their use, disposal and recycling [J]. Journal of Hazardous Materials, 2018, 344: 179-199
- [23] Grob K, Biedermann M, Scherbaum E, et al. Food contamination with organic materials in perspective: Packaging materials as the largest and least controlled source? A view focusing on the European situation [J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2006, 46(7): 529-535
- [24] de Anda-Flores Y B, Cordón-Cardona B A, González-León A, et al. Effect of assay conditions on the migration of phthalates from polyvinyl chloride cling films used for food packaging in México [J]. Food Packaging and Shelf Life, 2021, 29: 100684
- [25] Wang X H, Xu M T, Yang A Q, et al. Health risks of population exposure to phthalic acid esters through the use of plastic containers for takeaway food in China [J]. Science of the Total Environment, 2021, 785: 147347
- [26] Fasano E, Bono-Blay F, Cirillo T, et al. Migration of phthalates, alkylphenols, bisphenol A and di(2-ethylhexyl) adipate from food packaging [J]. Food Control, 2012, 27 (1): 132-138
- [27] Senathirajah K, Attwood S, Bhagwat G, et al. Estimation of the mass of microplastics ingested: A pivotal first step towards human health risk assessment [J]. Journal of Hazardous Materials, 2021, 404(Pt B): 124004
- [28] Xu Z N, Xiong X, Zhao Y H, et al. Pollutants delivered every day: Phthalates in plastic express packaging bags and their leaching potential [J]. Journal of Hazardous Materials, 2020, 384: 121282

- [29] Wang X J, Song M, Liu S T, et al. Analysis of phthalate plasticizer migration from PVDC packaging materials to food simulants using molecular dynamics simulations and artificial neural network [J]. Food Chemistry, 2020, 317: 126465
- [30] 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接触材料及制品迁移试验通则:GB 31604.1—2015[S].北京:中国标准出版社,2016
- [31] Yang D Q, Shi H H, Li L, et al. Microplastic pollution in table salts from China [J]. Environmental Science & Technology, 2015, 49(22): 13622-13627
- [32] 中华人民共和国生态环境部.水质 急性毒性的测定 斑马鱼卵法: HJ 1069—2019[S].北京:中国标准出版 社, 2019
- [33] Nagel R. DarT: The embryo test with the zebrafish *Danio* rerio: A general model in ecotoxicology and toxicology[J]. ALTEX, 2002, 19(Suppl.1): 38-48
- [34] 薛柯,许霞,薛银刚,等. 基于斑马鱼全生命周期毒性 测试的研究进展[J]. 生态毒理学报, 2019, 14(5): 83-96
 Xue K, Xu X, Xue Y G, et al. Research progress of lifecycle toxicity test of zebrafish [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2019, 14(5): 83-96 (in Chinese)
- [35] Du F N, Cai H W, Zhang Q, et al. Microplastics in takeout food containers [J]. Journal of Hazardous Materials, 2020, 399: 122969
- [36] Fadare O O, Wan B, Guo L H, et al. Microplastics from consumer plastic food containers: Are we consuming it?[J]. Chemosphere, 2020, 253: 126787
- [37] Xu X, Jian Y, Xue Y G, et al. Microplastics in the wastewater treatment plants (WWTPs): Occurrence and removal [J]. Chemosphere, 2019, 235: 1089-1096
- [38] Zhang Y L, Gao T G, Kang S C, et al. Importance of atmospheric transport for microplastics deposited in remote areas [J]. Environmental Pollution, 2019, 254 (Pt A): 112953
- [39] Wright S L, Ulke J, Font A, et al. Atmospheric microplastic deposition in an urban environment and an evaluation of transport [J]. Environment International, 2020, 136: 105411
- [40] Cai L Q, Wang J D, Peng J P, et al. Characteristic of microplastics in the atmospheric fallout from Dongguan City, China: Preliminary research and first evidence [J]. Environmental Science and Pollution Research International, 2017, 24(32): 24928-24935
- [41] Dris R, Gasperi J, Mirande C, et al. A first overview of textile fibers, including microplastics, in indoor and outdoor environments [J]. Environmental Pollution, 2017,

221: 453-458

- [42] Catarino A I, Macchia V, Sanderson W G, et al. Low levels of microplastics (MP) in wild mussels indicate that MP ingestion by humans is minimal compared to exposure via household fibres fallout during a meal [J]. Environmental Pollution, 2018, 237: 675-684
- [43] Nobre C R, Santana M F M, Maluf A, et al. Assessment of microplastic toxicity to embryonic development of the sea urchin *Lytechinus variegatus* (Echinodermata: Echinoidea) [J]. Marine Pollution Bulletin, 2015, 92(1-2): 99-104
- [44] Gandara e Silva P P, Nobre C R, Resaffe P, et al. Leachate from microplastics impairs larval development in brown mussels [J]. Water Research, 2016, 106: 364-370
- [45] Wang X Y, Okoffo E D, Banks A P, et al. Phthalate esters in face masks and associated inhalation exposure risk [J]. Journal of Hazardous Materials, 2022, 423: 127001
- [46] Han Y, Cheng J L, Tang Z W, et al. Widespread occurrence of phthalates in popular take-out food containers from China and the implications for human exposure [J]. Journal of Cleaner Production, 2021, 290: 125851
- [47] 赵电波,张丽尧,白艳红.食品级塑料包装袋中邻苯二 甲酸二丁酯和邻苯二甲酸二辛基酯向高温油炸食品 中迁移的研究[J].食品安全质量检测学报,2013,4(4): 1061-1066

Zhao D B, Zhang L Y, Bai Y H. Migration of dibutyl phthalate and di-*n*-octyl phthalate in food-grade plastic packaging bags applied in fried food packaging [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2013, 4(4): 1061-1066 (in Chinese)

- [48] Goulas A E, Zygoura P, Karatapanis A, et al. Migration of di(2-ethylhexyl) adipate and acetyltributyl citrate plasticizers from food-grade PVC film into sweetened sesame paste (halawa tehineh): Kinetic and penetration study [J]. Food and Chemical Toxicology, 2007, 45(4): 585-591
- [49] 程惠峰,杨祖彬,赵媛. 食盐软塑包装 PAEs 增塑剂的 迁移规律研究[J]. 包装工程, 2011, 32(15): 58-61
 Cheng H F, Yang Z B, Zhao Y. Research on PAEs plasticizer migration rule of salt flexible plastic packaging [J].
 Packaging Engineering, 2011, 32(15): 58-61 (in Chinese)
- [50] Staples C A, Adams W J, Parkerton T F, et al. Aquatic toxicity of eighteen phthalate esters [J]. Environmental Toxicology and Chemistry, 1997, 16(5): 875-891
- [51] 何秀婷, 李潇, 杨永涛, 等. 邻苯二甲酸酯对斑马鱼胚 胎发育的联合毒性[J]. 中山大学学报: 自然科学版, 2010, 49(5): 101-106, 112
 He X T, Li X, Yang Y T, et al. Effects of combined toxic-

ity of phthalic acid esters on zebrafish embryonic development [J]. Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni, 2010, 49(5): 101-106, 112 (in Chinese)

- [52] Singh S, Li S S. Phthalates: Toxicogenomics and inferred human diseases [J]. Genomics, 2011, 97(3): 148-157
- [53] Jamali M, Rogerson P J, Wilton S, et al. Nkx2-5 activity is essential for cardiomyogenesis [J]. The Journal of Biological Chemistry, 2001, 276(45): 42252-42258
- [54] Moskowitz I P G, Pizard A, Patel V V, et al. The T-Box transcription factor Tbx5 is required for the patterning and maturation of the murine cardiac conduction system [J]. Development, 2004, 131(16): 4107-4116
- [55] Pradhan L, Gopal S, Li S C, et al. Intermolecular interactions of cardiac transcription factors NKX2.5 and TBX5[J]. Biochemistry, 2016, 55(12): 1702-1710
- [56] Balci M M, Akdemir R. NKX2.5 mutations and congenital heart disease: Is it a marker of cardiac anomalies? [J]. International Journal of Cardiology, 2011, 147(3): e44-e45
- [57] Polk R C, Gergics P, Steimle J D, et al. The pattern of congenital heart defects arising from reduced Tbx5 expression is altered in a Down syndrome mouse model [J]. BMC Developmental Biology, 2015, 15: 30
- [58] Sun G J, Liu K C. Developmental toxicity and cardiac effects of butyl benzyl phthalate in zebrafish embryos [J]. Aquatic Toxicology, 2017, 192: 165-170
- [59] 穆希岩,李成龙,黄瑛,等.两种邻苯二甲酸酯类污染物对斑马鱼胚胎发育的影响[J].中国环境科学,2017,37(9):3566-3575
 Mu X Y, Li C L, Huang Y, et al. Effects of two phthalate esters on zebrafish embryos [J]. China Environmental Science, 2017, 37(9): 3566-3575 (in Chinese)
- [60] Pfuderer P, Francis A A. Phthalate esters: Heartrate depressors in the goldfish [J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 1975, 13(3): 275-279
- [61] Deflorio-Barker S A, Turyk M E. Associations between bone mineral density and urinary phthalate metabolites among post-menopausal women: A cross-sectional study of NHANES data 2005-2010 [J]. International Journal of Environmental Health Research, 2016, 26(3): 326-345
- [62] Roy N M, Zambrzycka E, Santangelo J. Butyl benzyl phthalate (BBP) induces caudal defects during embryonic development [J]. Environmental Toxicology and Pharmacology, 2017, 56: 129-135
- [63] Qian L, Liu J, Lin Z P, et al. Evaluation of the spinal effects of phthalates in a zebrafish embryo assay [J]. Chemosphere, 2020, 249: 126144
- [64] Gray R S, Wilm T P, Smith J, et al. Loss of col8a1a func-

tion during zebrafish embryogenesis results in congenital vertebral malformations [J]. Developmental Biology, 2014, 386(1): 72-85

- [65] Rafael M S, Laizé V, Cancela M L. Identification of Sparus aurata bone morphogenetic protein 2: Molecular cloning, gene expression and in silico analysis of protein conserved features in vertebrates [J]. Bone, 2006, 39(6): 1373-1381
- [66] 鞠黎, 楼跃, 王艳萍, 等. 多氯联苯暴露对斑马鱼脊柱 形态及 BMP-2、BMP-4 基因表达的影响[J]. 南京医科

大学学报: 自然科学版, 2011, 31(9): 1277-1281

Ju L, Lou Y, Wang Y P, et al. Effects of embryonic exposure to polychlorinated biphenyls on zebrafish spinal morphology and the expression of BMP-2 and BMP-4 gene [J]. Acta Universitatis Medicinalis Nanjing: Natural Science, 2011, 31(9): 1277-1281 (in Chinese)

[67] Mu X Y, Chai T T, Wang K, et al. The developmental effect of difenoconazole on zebrafish embryos: A mechanism research [J]. Environmental Pollution, 2016, 212: 18-26