

综述

邻苯二甲酸二异丁酯的毒理学研究进展

马 宁 徐海滨

(中国疾病预防控制中心营养与食品安全所,北京 100021)

摘要:邻苯二甲酸二异丁酯(DiBP)是应用于塑料工业的主要增塑剂和软化剂,该物质可以通过食品包装材料直接迁移到食品中,也可通过含有该物质的塑料制品迁移到环境中,从而对空气、水、土壤和食品造成污染。DiBP通过呼吸、饮食和皮肤接触进入人体后会对人体健康造成危害。本文对该物质的国内外毒理学资料进行综述,为今后对该物质的毒理学研究提供参考。

关键词:邻苯二甲酸二异丁酯;增塑剂;包装材料;食品;毒性

中图分类号: O623.624;X783.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-8456(2010)05-0467-04

Progress on Toxicology of Diisobutyl Phthalate

MA Ning, XU Hai-bin

(National Institute of Nutrition and Food Safety, China CDC, Beijing 100021, China)

Abstract: Diisobutyl phthalate (DiBP) is a special plasticiser often used in plastic industries, which might be migrated directly from packaging materials to food or migrated to environment through plastic products containing this material to make the air, water and soil polluted. Exposure to DiBP is in different ways including breathing, eating and contacting with skin to risk human health. The latest progress on the toxicological studies of DiBP was reviewed in this paper for providing references.

Key words: Diisobutyl Phthalate; Plasticizer; Packaging Materials; Food; Toxicity

邻苯二甲酸二异丁酯(diisobutyl phthalate, DiBP)属于酞酸酯类化合物(邻苯二甲酸酯),是塑料工业中广泛应用的增塑剂和软化剂,其作用是增加塑料的可塑性和韧性,提高塑料强度^[1]。DiBP常联合其他高分子量酞酸酯作为凝胶助剂使用,同时还可作为纤维素树脂、乙烯基树脂、丁腈橡胶和氯化橡胶等的增塑剂。过去一直认为酞酸酯类化合物毒性低且有良好的理化特性,而对其使用的安全性未曾给予足够关注。但近些年来研究表明该类物质仅靠分子间作用与高分子塑料结合,随着时间的推移该类物质会逐渐地从塑料制品中释放出来,从而对环境、生物与食品造成污染,并可通过呼吸、饮食和皮肤进入人体内,对人体健康造成危害^[2]。

有研究表明,酞酸酯类化合物对动物和人均有毒性^[3],是目前全球范围内最广泛存在的化学污染物之一。美、德等国将其列为环境中优先控制的有

机污染物,中国环境检测总站提出的12类58种优先控制的有毒有机物中也包括3种酞酸酯^[4],欧盟在2002/72/EC指令及其第四次修订版2007/19/EC指令里,设定了邻苯二甲酸二正辛酯(dioctyl phthalate, DNOP)、邻苯二甲酸二癸酯(di-n-decyl phthalate, DnDP)、邻苯二甲酸二异壬酯(diisononyl ortho-phthalate, DINP)、邻苯二甲酸丁基苄酯(benzyl-n-butyl ortho-phthalate, BBP)、邻苯二甲酸二异癸酯(diisodecyl ortho-phthalate, DIDP)、邻苯二甲酸(2-乙基己基)酯(bis(2-ethylhexyl) ortho-phthalate, DEHP)、邻苯二甲酸二正丁酯(di-n-butyl ortho-phthalate, DBP)、邻苯二甲酸二烯丙酯(diallyl phthalate, DAP)等邻苯二甲酸盐的使用规范和/或含量限值及特定迁移限值水平^[5]。由于相关研究资料不足,DiBP不在受限制物质名单之列。科学研究提示,DiBP会造成动物的生殖和发育损害^[6]。目前,只有澳大利亚对DiBP作出了风险评估^[7],但同时也在报告中指出有关毒理学数据缺乏,还需完善毒理学资料。基于DiBP与健康密切相关,人们对它的许多安全隐患尚不明确,因此对该物质的毒理学安全性研究和评价就显得尤为重要。本文对该物质的结构与理化特性、代谢资料及安全性资料进行

收稿日期:2010-01-18

课题来源:国家科技支撑计划课题(2006BAK02A07)

作者简介:马 宁 男 博士生 研究方向为营养与食品卫生学

E-mail: ma_ning34@yahoo.com.cn

通信作者:徐海滨 男 研究员 博士生导师 研究方向为营养与食品卫生学

综述,以便为开展该物质的毒理学研究提供参考。

1 结构与理化特性

DiBP 为邻苯二甲酸与异丁醇酯化反应生成的化合物,其基本结构见图 1。

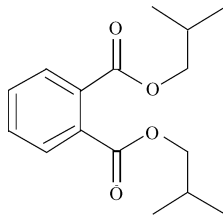


图 1 邻苯二甲酸二异丁酯基本结构式

DiBP 为无色、无味、粘稠状液体,并且热稳定性好。它与邻苯二甲酸二丁酯(dibutyl phthalate, DBP)的化学性质相似,可作为后者的替代品使用。作为塑料制品的增塑剂使用时,与塑料分子的相容性较好,但两者间没有严密的化学结合键,而是由氢键或范德华力连结,彼此保持各自独立的化学性质。故当塑料制品接触到食品中所含的水、油脂等时,其中的增塑剂便会溶入其中^[8]。

2 吸收、分布和代谢

DiBP 可通过环境暴露、膳食摄入和饮水等多种途径进入人体。酞酸酯经口进入人体后主要以水解产生的单酯形式被吸收,单酯被认为是产生毒性的主要化合物。哺乳动物肠黏膜细胞中的肠酯酶及小肠中的细胞外膜可将酞酸酯水解成单酯^[9],如 DiBP 进入体内后可水解为邻苯二甲酸异丁酯(monoisobutyl phthalate, MiBP)。酞酸酯被吸收后,主要以蛋白结合体形式通过血液分布于全身各器官^[10]。有报道显示,其他酞酸酯类化合物染毒大鼠后,在大鼠肝脏、肾脏、心脏、肺、睾丸等各脏器中均可检出原型及其代谢产物,甚至还可以通过血脑屏障,在脑组织中检出^[11],但目前尚未见 DiBP 染毒后动物各脏器组织中的分布的文献报道。酞酸酯在肠道、肝脏、肾脏、肺、胰腺以及血浆中均可水解为单酯,而且这种水解作用在肠道内更易发生,所以通过饮食摄入接触其代谢产物的机率更大^[10]。酞酸酯化合物能以原形或代谢物的形式从体内清除,肝脏和肾脏都对其有排泄功能,如 DiBP 及其代谢物的主要排出途径是尿液,少量可经胆道排出^[12]。

3 DiBP 的毒性研究

3.1 细胞毒性

Naarala 等^[13]用 DiBP 染毒鼠类的巨噬细胞,并观察了细胞坏死和凋亡情况,结果发现,DiBP 引起

了剂量依赖性细胞坏死(在 100 μmol 和 1 mmol 染毒剂量下坏死细胞增多),此外,在 500 μmol 和 1 mmol 的剂量下细胞的凋亡数分别比对照组增加了 31 和 60 倍。朱才众等^[14]观察 DiBP 的同系物 DBP 对培养的 PC12 细胞增殖及凋亡的影响,发现 12.5 ~ 200 mg/L DBP 对 PC12 细胞繁殖具有抑制作用,且具有剂量-反应关系。根据椎虫蓝拒染法绘制的生长曲线变化趋势与细胞毒试验检测结果相符,说明一定剂量的 DBP 可直接抑制体外培养的神经细胞的繁殖,乳酸脱氢酶释放试验结果提示,乳酸脱氢酶释放率与 DBP 暴露剂量呈正相关关系,随其暴露剂量的升高而乳酸脱氢酶的释放率持续升高,这进一步说明了 DBP 暴露可能直接对 PC12 细胞膜造成了损伤。

3.2 急性毒性和亚慢性毒性

DiBP 急性毒性较低,DiBP 对小鼠经口的半数致死量(LD_{50})为:12 800 ~ 39 520 mg/kg BW ;大鼠经口 LD_{50} 为:16 000 ~ 60 320 mg/kg BW ;小鼠腹腔注射的 LD_{50} 为:3 990 ~ 12 800 mg/kg BW ;大鼠腹腔注射的 $\text{LD}_{50} > 1 600 \text{ mg/kg BW}$ ^[7]。

Hodge^[15]曾分别以大鼠和狗为实验动物进行了 DiBP 的重复喂养毒性实验。他将大鼠分为 4 组,每组 10 只,并分别给予含 0、0.1%、1.0% 和 5% 的 DiBP 饲料连续 4 个月。结果显示:5% 剂量组大鼠体重与对照组相比均显著降低(雄性降低 43%,雌性降低 13%)。5% 剂量组的雄性大鼠红细胞计数以及两个性别大鼠的血红蛋白水平与对照组相比均显著降低。5% 剂量组动物睾丸的绝对和相对重量都明显降低,其平均值与对照组相比分别降低了 30% 和 50%。此外 5% 剂量下肝脏的绝对和相对重量都明显增加,其中雄性大鼠肝脏的绝对重量增加了 5%,相对重量增加了 80%。雌性大鼠肝脏的绝对重量增加了 40%,相对重量增加了 60%。但病理学观察显示,肝脏和肾脏在肉眼和显微镜下均无明显形态学改变。此外,狗的短期喂养试验(2 个月)结果显示,雌性动物体重降低,血液和尿液分析均正常,肝脏相对重量增加,但未见病理学改变;雄性动物的睾丸组织学检查发现精子数异常。

3.3 遗传毒性

Seed^[16]曾利用鼠伤寒沙门菌突变型菌株 TA100 对 DiBP 的致突变性进行筛选,结果发现在有或无 S9 活化的条件下,DiBP 均不具有致突变作用。此外,Zeiger 等^[17]应用鼠伤寒沙门菌突变型菌株 TA98、TA100、TA1535 和 TA1537 进行了 Ames 试验,同样显示 DiBP 无致突变作用。在更进一步的研究中,Kleinsasser 等^[18]利用人体的口、鼻粘膜样

本进行了 DiBP 染毒的彗星试验,结果发现与对照组相比,DiBP 在 354 $\mu\text{mol/ml}$ 的剂量下 DNA 损伤明显加重。但目前还没有任何资料表明 DiBP 具有致癌性。

3.4 生殖发育毒性

Oishi^[6]分别给予大鼠和小鼠含 2% DiBP 的饲料 1 周,结果发现大鼠睾丸的绝对和相对重量显著降低;而小鼠睾丸的相对重量显著增加,绝对重量无明显改变。研究还发现,染毒后大鼠和小鼠睾丸和肝脏组织中锌含量明显降低,大体解剖学观察显示,大鼠的睾丸萎缩,显微镜下可见精子生成受到抑制、精母细胞剥离。Oishi^[19]同时对 DiBP 的代谢产物 MiBP 进行了研究,结果发现用含有 2% MiBP 的饲料喂养大鼠后,随着大鼠体重减轻睾丸相对重量明显增加,睾丸中的锌含量和睾酮水平与对照组相比也明显降低。Foster 等^[20]也曾报道当经口每天给予青年雄性大鼠 MiBP 800 mg/kg BW 6 天后,发现大鼠睾丸萎缩,锌代谢出现改变,尿液中锌浓度增加,睾丸中锌浓度明显下降。

Wittassek 等^[21]收集了 11 位产妇的羊水及尿液样本,进行了 DiBP 及其代谢产物 MiBP 的定量及定性的检测分析,结果发现所有羊水样本中均可检出 DiBP,并且在所有羊水和尿液样本均可检出其代谢物 MiBP,这表明 DiBP 进入孕妇体内后可以通过胎盘屏障,从而影响到胎儿的健康。Singh 等^[22]腹腔注射给予 SD 孕鼠不同剂量的 DiBP (390, 780 和 1 300 mg/kg BW),结果发现所有剂量水平下胎鼠平均体重降低、吸收胎数量增加,并且在 1 300 mg/kg BW 剂量下出现胎鼠骨骼畸形,但是没有发现母体毒性。另有研究^[23]分别在孕期 7~19 d 和孕期 20~21 d 灌胃给予孕鼠 600 mg/kg BW 的 DiBP,结果发现,与对照组相比,在孕期 20~21 d 给药的孕鼠,其雄性胎鼠肛门与生殖器之间的距离显著减小,相反雌性胎鼠的肛门与生殖器之间的距离却有所增加。此外,雌雄胎鼠的体重与对照组相比都不同程度的降低,雄性胎鼠的睾酮含量也明显减少,镜下观察睾丸组织可见睾丸间细胞聚集成簇,睾丸支持细胞呈空泡状等病理改变。

Saillenfait 等^[24]在 SD 大鼠孕期 6~20 d 给予不同剂量的 DiBP (250, 500, 750, 1 000 mg/kg BW),对照组给予溶剂橄榄油。结果发现 500 mg/kg BW 剂量组孕鼠在孕期第 6 至 9 天时体重与对照组相比明显下降。750 和 1 000 mg/kg BW 剂量组孕鼠吸收胎发生率与对照组相比明显增加。500、750 和 1 000 mg/kg BW 剂量组孕鼠的胎鼠体重减轻,并具有剂量-反应关系。各剂量组中胎鼠的骨骼畸形明

显增多。750 和 1 000 mg/kg BW 剂量组雄性胎鼠的隐睾发生率明显增加。Saillenfait 等^[25]随后在另一项研究中给予孕期第 12 至 21 天的 SD 孕鼠 125、250、500、625 mg/kg BW 剂量的 DiBP,对照组给予橄榄油,结果表明 DiBP 没有引起明显的母体毒性,雄性胎鼠在 250 mg/kg BW 及其以上的剂量组出现肛门与生殖器之间的距离明显减小。500 和 625 mg/kg BW 剂量下的雄性子代大鼠的包皮分离延迟,并且在其 11~12 和 16~17 周龄时观察到了部分子代雄性大鼠出现尿道下裂、包皮裂口和隐睾等症状。综合上述生殖发育毒性研究结果,可获得 DiBP 生殖发育毒性的 NOAEL 值为 125 mg/kg BW, LOAEL 值为 250 mg/kg BW。

3.5 神经毒性

国内外关于 DiBP 的神经毒性研究的相关报道很少,但有少量其他关于邻苯二甲酸酯类物质的神经毒性文献报道。流行病学资料表明邻苯二甲酸类的化合物对神经系统有一定的损害作用^[26]。赵文红等^[11]给小鼠亚慢性染毒邻苯二甲酸二乙基己酯(di-(2-ethylhexyl) phthalate, DEHP)后在脑组织中可检测到 DEHP。Andral 等^[27]通过研究指出 DEHP 孕期染毒,可使新生大鼠下丘脑视交叉区芳香化酶(acromatase)表达量减低,并对其活性产生影响。李元锋等^[28]研究提示 DBP 孕期和哺乳期暴露会降低子代雄性大鼠的学习记忆能力。考虑 DiBP 与 DBP 和 DEHP 为同系物,且同样被广泛作为增塑剂使用,因此该化合物也可能存在通过环境及食品暴露于人群,并造成神经系统不良影响的潜在危险。

4 结语

综上所述,DiBP 的安全性研究目前多集中在生殖发育毒性研究,而对其他毒效应终点的研究资料非常少。DiBP 生殖发育毒性的一个重要的机制是其内分泌干扰作用,由于神经系统和内分泌系统是密切联系又互相影响的两个系统,并且已有研究提示 DiBP 的同系物 DBP 和 DEHP 对神经系统具有一定的危害,因此 DiBP 对神经系统的影响同样值得重视。此外,近年来该化合物广泛使用使其产量不断增加,环境中的污染水平日趋严重,已成为了人类日常生产、生活中不可避免接触的一类污染物,神经行为实验常是检测这种低浓度、长期接触毒物所致亚临床改变的一个较为合适的方法,由于此类实验指标灵敏、操作相对简便、对受试动物无创伤性损害,且观察指标可反复多次测定,故在危害识别和危险性特征描述等风险评估领域中应用甚为

广泛。今后在对 DiBP 进行危害识别及危害特征描述时,神经行为毒理学指标的引入和应用,应引起充分重视。

参考文献

- [1] 赵振华. 酞酸酯对人与环境潜在危害的研究概况[J]. 环境化学, 1991, 10(3): 64-68.
- [2] 蒋雄图, 戴军, 余文静. 食品塑膜包装材料中增塑剂邻苯二甲酸二辛酯的高压液相色谱检测方法研究[J]. 食品发酵工业, 1990, 6: 7-17.
- [3] 张传贵. 增塑剂污染及其对人体的影响[J]. 生物学通报, 1999, 34(2): 20.
- [4] 吴杰民. 聚烯烃类农膜及酞酸酯类(PAES)在环境中的残留及生物降解前景[J]. 环境科学, 1994, 15(2): 77-80.
- [5] VASSILIOU A. Amending Directive 2002/72/EC relating to plastic materials and articles intended to come into contact with food [EB/OL]. Official Journal of the European Union: (2008-3-6) [2009-11-15]. <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2008:063:0006:0013;EN:PDF>.
- [6] OISHI. Effect of phthalic acid esters on mouse testes[J]. Toxicol Lett, 1980, 5(6): 413-416.
- [7] National Industrial Chemicals Notification and Assessment. DIBP hazard assessment - draft for comment[R]. Australia: NICNAS 2007: 1-20.
- [8] 杨科峰, 厉曙光, 蔡智鸣. 食用油及其加热产物中酞酸酯类增塑剂的分析[J]. 环境与职业医学 2002, 19(1): 37-39.
- [9] TICKNER J A, SCHETTLER T, GUIDOTTI T, et al. Health risks posed by use of Di-2-ethylhexyl phthalate (DEHP) in PVC medical devices: a critical review[J]. Am J Ind Med, 2001, 39(1): 100-111.
- [10] SWAN S, MAIN K, LIU F. Decrease in anogenital distance among male infants with prenatal phthalate exposure[J]. Environ Health Perspect, 2005, 113: 1056-1061.
- [11] 赵文红, 厉曙光. 染毒后小鼠各脏器含量的测定及其意义[J]. 中国卫生检验杂志, 2005(3): 262-263.
- [12] ELSISI A E, SIPES I G. Dermal absorption of phthalate diesters in rats[J]. Fundam Appl Toxicol, 1989, 12: 70-77.
- [13] NAARALA J, KORPI A. Cell death and production of reactive oxygen species by murine macrophages after short term exposure to phthalates[J]. Toxicol Lett, 2009, 188(2): 157-160.
- [14] 朱才众, 熊鸿燕, 李亚斐, 等. 增塑剂邻苯二甲酸二丁酯低剂量与神经系统毒性效应的评估[J]. 中国临床康复, 2006(8): 76-78.
- [15] HODGE. Preliminary acute toxicity tests and short term feeding tests of rats and dogs given di-isobutyl phthalate and di-butyl phthalate[M]. US EPA/OPTS public files, 1954: 1-12.
- [16] SEED. Mutagenic activity of phthalate esters in bacterial liquid suspension assays [J]. Environ Health Perspect, 1982, 45: 111-114.
- [17] ZEIGER E, HAWORTH S, MORTELMANS K, et al. Mutagenicity testing of di (2-ethylhexyl) phthalate and related chemicals in Salmonella [J]. Environ Mutagen, 1985, 7(2): 213-232.
- [18] KLEINSASSER N H, WALLNER B C, KASTENBAUER E R, et al. Comparing the genotoxic sensitivities of human peripheral blood lymphocytes and mucosa cells of the upper aerodigestive tract using the Comet assay [J]. Mut Res, 2000, 467(1): 21-30.
- [19] OISHI. Effects of phthalic acid monoesters on mouse testes [J]. Toxicol Lett, 1980, 6: 239-242.
- [20] FOSTER P M, LAKE B G, COOK M W, et al. Structure-activity requirements for the induction of testicular atrophy by butyl phthalates in immature rats; effect on testicular zinc content [J]. Adv Exp Med Biol, 1981, 136: 445-452.
- [21] WITTASSEK M, ANGERER J, SCHAFFER S D, et al. Fetal exposure to phthalates—a pilot study [J]. Int J Hyg Environ Health, 2009, 212(5): 492-498.
- [22] SINGH A R, LAWRENCE W H, AUTIAN J. Teratogenicity of phthalate esters in rats [J]. J Pharm Sci, 1972, 61(1): 51-55.
- [23] BORCH J, AXELSTAD M, VINGGAARD A M, et al. Diisobutyl phthalate has comparable anti-androgenic effects to di-n-butyl phthalate in fetal rat testis [J]. Toxicol Lett, 2006, 163(3): 183-190.
- [24] SAILLENFAIT A M, SABATÉ J P, GALLISSOT F. Developmental toxic effects of diisobutylphthalate, the methyl-branched analogue of di-n-butyl phthalate [J]. Toxicol Lett, 2006, 165: 39-46.
- [25] SAILLENFAIT A M, SABATE J P, GALLISSOT F. Diisobutyl phthalate impairs the androgen-dependent reproductive development of the male rat [J]. Reprod Toxicol, 2008, 26(2): 107-115.
- [26] GILIOLI R, BULGHERONI C, TERRANA T, et al. A transversal and longitudinal neurological study of a working population engaged in the production of phthalates. Preliminary data [J]. Med Lav, 1978, 69(5): 620-631.
- [27] ANDRADE A J, GRANDE S W, TALSNESS C E, et al. A dose-response study following in utero and lactational exposure to di-(2-ethylhexyl)-phthalate (DEHP): non-monotonic dose-response and low dose effects on rat brain aromatase activity [J]. Toxicology, 2006, 227(3): 185-192.
- [28] 李元锋, 庄梅株, 李涛, 等. 邻苯二甲酸二丁酯对雄性子代大鼠学习记忆及海马 Spinophilin 表达的影响 [J]. 癌变·畸变·突变, 2008(5): 380-384.