

DOI:10.7524/AJE.1673-5897.20160925001

池振兴, 王东麟, 凌嘉佳, 等. 邻苯二甲酸二甲酯在离体人红细胞内的分布和含量研究[J]. 生态毒理学报, 2017, 12(3): 446-452

Chi Z X, Wang D L, Ling J J, et al. Distribution and level of dimethyl phthalate in erythrocytes *in vitro* [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2017, 12(3): 446-452 (in Chinese)

邻苯二甲酸二甲酯在离体人红细胞内的分布和含量研究

池振兴^{1,2,*}, 王东麟^{1,3}, 凌嘉佳¹, 宋雪梅⁴, 王明静⁴

1. 哈尔滨工业大学(威海) 海洋科学与技术学院, 威海 264209
2. 暨南大学环境学院 广州市环境暴露与健康重点实验室, 广州 510632
3. 清华大学环境学院 环境模拟与污染控制国家重点联合实验室, 北京 100084
4. 威海市中心血站, 威海 264200

收稿日期: 2016-09-25 录用日期: 2016-11-01

摘要: 邻苯二甲酸酯类污染物(PAEs)在环境中普遍存在,可沿食物链富集,危害人体健康。本文利用荧光光谱法和高效液相色谱法(HPLC)探究了邻苯二甲酸二甲酯(DMP)在离体人红细胞内的分布情况。结果表明,红细胞在 310 nm, 490 nm 和 609 nm 处各具有一个荧光特征峰,其来源分别为:红细胞内的蛋白;还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)、黄素腺嘌呤二核苷酸(FAD)和膜脂;锌卟啉和原卟啉。DMP 染毒后,310 nm 处的荧光峰出现明显下降,其原因为进入红细胞内的 DMP 与蛋白发生了结合;490 nm 和 609 nm 处的荧光峰变化很小。高效液相色谱(HPLC)实验结果表明,DMP 能透过红细胞膜进入细胞内部,其进入量随暴露量增加而增加,进入量和暴露量的比值随暴露量增加而减少。上述研究成果能加深对 PAEs 在血液运输过程中与红细胞毒性作用的理解,可为 PAEs 的危险性评估和相关疾病预防提供数据参考。

关键词: 邻苯二甲酸酯;红细胞;污染物分布;荧光光谱;高效液相色谱

文章编号: 1673-5897(2017)3-446-07 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

Distribution and Level of Dimethyl Phthalate in Erythrocytes *in Vitro*

Chi Zhenxing^{1,2,*}, Wang Donglin^{1,3}, Ling Jiajia¹, Song Xuemei⁴, Wang Mingjing⁴

1. School of Marine Science and Technology, Harbin Institute of Technology, Weihai, Weihai 264209, China
2. Guangzhou Key Laboratory of Environmental Exposure and Health, School of Environment, Jinan University, Guangzhou 510632, China
3. State Key Joint Laboratory of Environment Simulation and Pollution Control, School of Environment, Tsinghua University, Beijing 100084, China
4. Weihai Blood Center, Weihai 264200, China

Received 25 September 2016 accepted 1 November 2016

Abstract: Phthalate esters (PAEs) is widely present in the environment. It poses a threat to human health through accumulation in the food chain. The distribution of a typical PAEs, i.e., dimethyl phthalate (DMP), in human erythrocytes *in vitro* was explored by using fluorescence spectroscopy and HPLC. The experimental results indicated that the fluorescence spectrum of erythrocytes have three fluorescence peaks, successively located at 310 nm, 490 nm and 609 nm, which are caused by the protein in erythrocytes; nicotinamide adenine dinucleotide phosphate

基金项目: 国家自然科学基金(21707026);广州市环境暴露与健康重点实验室开放基金(GZKLEEH201613)

作者简介: 池振兴(1983-),男,博士,研究方向为环境污染与健康, E-mail: zhenxingchi@gmail.com

(NADPH), flavin adenine dinucleotide (FAD) and membrane lipid; zinc porphyrin and porphyrin, respectively. After exposure to DMP, the intensity of the fluorescence peak at 310 nm significantly decreased due to the binding of DMP with the protein in erythrocytes, while no significant change in the intensity of the fluorescence peaks at 490 nm and 609 nm was observed. The experimental results of HPLC indicated that DMP could pass through the cell membrane and enter the cell. The DMP level in the cell increased with the increasing exposure level. The ratio of the DMP level in the cell to the exposure level decreased with increasing exposure level. The results will shed light on the understanding of the cytotoxicity of PAEs in the process of blood transport.

Keywords: phthalate esters (PAEs); erythrocyte; pollutant distribution; fluorescence spectroscopy; HPLC

邻苯二甲酸酯类化合物(phthalate esters, PAEs) 又称酞酸酯,主要作为增塑剂,广泛用于制造服装、塑料玩具、皮肤护理产品、食品包装材料、医疗设备、建筑材料、电缆、电线、杀虫剂等产品^[1]。由于在加工过程中,PAEs并未聚合到聚氯乙烯(PVC)高分子的碳链上,因此随着使用时间的推移,PAEs容易通过直接释放、浸出、蒸发、磨擦和迁移等方式由塑料转移到空气、土壤、地表水以及地下水等环境中^[2],对生物体造成潜在危害^[3-5]。PAEs在环境中普遍存在,导致人体经常接触PAEs,目前在血液、脐带血、羊水、精液和尿液等体液中均已检测到其存在^[6]。人体主要通过呼吸、皮肤接触和摄入(包括饮食和摄入粉尘)3种方式暴露于PAEs环境中^[7],也是PAEs进入血液的主要途径^[8]。检测表明,PAEs在普通人体血液内的含量达到了 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 数量级^[9],而在从事邻苯二甲酸酯类增塑剂生产的工人血液里,PAEs浓度比普通人群要高约5~100倍^[10]。进入机体血液的PAEs在随其运输和扩散过程中产生毒性。准确快速测定血液中的PAEs水平对于认识PAEs对机体健康的影响,采取防治措施和制定法规等都具有重要意义,是当前分析检测领域研究的热门课题。目前,PAEs的检测方法有很多,普遍使用的有气相色谱法(GC)、气质联用法(GC-MS)和高效液相色谱法(HPLC)。

血液具有运输、调节温度、防御、调节渗透压和酸碱平衡等功能,由血浆和血细胞组成。当向血液中加入适量抗凝剂(如肝素或枸橼酸钠),并经自然沉降或离心沉淀后可分出三层:上层为淡黄色的血浆,下层为红细胞(red blood cells, RBCs),中间有一薄层为白细胞和血小板。血液或血细胞中存在大量能够发射荧光的基团。通过检测和分析血液或血细胞的荧光光谱,能够获得一些反映血液状态和内部物质构成情况的信息^[11],这方面的研究受到广泛关注。降雨强等^[12]用波长为532 nm的激光作为激发

光源,分别检测正常人血液及其组分(血浆、血小板、红细胞)的荧光光谱,结果表明,全血在630 nm及710 nm附近出现荧光峰值,其各组分的荧光光谱有明显差异,其中血浆的荧光光谱最强,且谱线较为丰富。Gao等^[13-14]系统地研究了光与血液相互作用的光谱学特性,分别用LED光和 Ar^+ 激光诱导实验小白鼠的全血、红细胞和血红蛋白的荧光光谱,探讨不同组分荧光峰的归属。赵研等^[15]用荧光分光光度计,在276 nm光激发下测量红细胞及血浆自体荧光发射光谱,对伴有血液黏滞综合征和不伴有该疾病患者的血液中红细胞与血浆自体荧光光谱特征进行了比较分析,结果发现伴有高黏血症组与不伴有高黏血症组红细胞的荧光光谱均在312.2 nm和609 nm处出现峰,但峰值有显著差异,高黏血症患者红细胞中卟啉和氨基酸含量有所增加。

目前,血液的荧光光谱研究大部分集中在其光谱特性或者血液内大分子有机物的含量变化,在考察外源小分子进入红细胞与红细胞内相关物质发生作用方面还存在空白。红细胞的荧光光谱可以反映红细胞吸收光子能量以后所发生的能量转移情况。当外源小分子与红细胞发生作用后,其荧光光谱可能会发生相应变化。本研究结合荧光光谱法和HPLC技术研究典型PAEs邻苯二甲酸二甲酯(DMP)在离体人红细胞内的分布情况;分析红细胞荧光光谱峰的来源,通过DMP作用后红细胞荧光峰的变化判断DMP对红细胞组分的影响;利用HPLC测定染毒红细胞中DMP的含量,从而加深对DMP与红细胞相互作用机理的理解,为进一步研究PAEs在血液中的分布情况和毒性作用打下基础。

1 材料与方法 (Materials and methods)

1.1 实验材料

DMP储备液:量取一定量的DMP(国药集团化学试剂有限公司,AR)配制成 $1.0\times 10^{-3}\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 溶液,0~4℃冰箱中保存备用,用时稀释;生理盐水:称取

0.9 g 氯化钠(沪试, AR), 用水溶解并定容到 100 mL, 配制成 0.9% 的氯化钠溶液; DMP 的生理盐水溶液($1.5 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$): 准确移取一定量的 DMP 溶液于 100 mL 容量瓶中, 用生理盐水定容, 配制成 $1.5 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 DMP 生理盐水溶液; 红细胞母液: 取 1 mL 新鲜人血进行离心, 弃去上清液加入生理盐水震荡后以 $2000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min, 重复 3 次。将清洗好的红细胞定容到 10 mL 作为红细胞母液。在普通光学显微镜下用血球计数板计数, 确定红细胞母液浓度为 $4.5 \times 10^8 \text{ ind} \cdot \text{L}^{-1}$ 。DMP 标准品(aladdin); 甲醇(Mreda Technology Inc., HPLC grade); 实验用水为超纯水。

1.2 实验方法

1.2.1 研究 DMP 对红细胞影响的荧光光谱实验

(1) 红细胞稀释液的荧光光谱

分别准确移取不同量红细胞母液于 4 mL 离心管中, 用生理盐水稀释至刻度, 摇匀, 配制成稀释不同倍数、不同浓度的红细胞悬浮液, 用 F-2700 荧光分光光度计(日本, Hitachi)扫描其荧光发射光谱。设定激发波长为 278 nm, 发射波长扫描范围为 220~790 nm, 狭缝宽度为 5 nm, 电压为 700 V。

(2) DMP 对红细胞荧光光谱的影响

向 4 mL 离心管中依次加入 0.4 mL 红细胞母液, 不同量的 DMP 生理盐水溶液, 用生理盐水定容, 摇匀。静置染毒, 每隔 0.5 h 摇匀一次, 4 h 后离心弃去上清液, 加入生理盐水摇匀, 以 $2000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min, 重复 3 次, 最后用生理盐水将红细胞定容到 3 mL。用 F-2700 荧光分光光度计(日本, Hitachi)扫描红细胞悬浮液的荧光发射光谱。设定激发波长为 278 nm, 发射波长扫描范围为 220~790 nm, 狭缝宽度为 5 nm, 电压为 700 V。

1.2.2 分析染毒红细胞内 DMP 含量的高效液相色谱实验

色谱条件^[16-17]: 色谱柱为 Inertsil ODS-3 C18 柱 (4.6 mm×250 mm, 5 μm), 流动相 V(甲醇): V(水)=75:25, 运行时间 5 min, 流速 $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 检测波长为 225 nm, 柱温 30 $^{\circ}\text{C}$, 进样量 10 μL 。

标准曲线: 称取 100 μL DMP 标准品到 100 mL 容量瓶中(精确至 0.01 mg), 用甲醇配成标准储备液 ($1159 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)。准确移取不同量标准溶液于 10 mL 具塞刻度试管中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 配制成一系列稀释液, 用 LC-20AT 高效液相色谱(日本岛津)测定。以上各溶液均在 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中避光保

存。

样品处理: 将 1.2.1 中完成荧光光谱测定的染毒红细胞样品离心, 弃去上清液, 用超纯水定容至 3 mL, 溶血 5 min, 超声处理使蛋白变性, 然后以 $2000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min, 取上清液用 0.45 μm 的水系滤膜过滤, 用 LC-20AT 高效液相色谱(日本岛津)测定 DMP 含量。以未染毒的红细胞样品作为对照组。

2 结果与讨论 (Results and discussion)

2.1 DMP 对红细胞影响的荧光光谱法研究

2.1.1 红细胞荧光峰的分析

将红细胞母液稀释 10 倍, 用荧光分光光度计在激发波长为 278 nm 条件下扫描得到其荧光光谱, 如图 1 所示。可以看出, 红细胞悬浮液的荧光发射光谱存在 5 个峰, 其中, 278 nm 和 556 nm 处的峰为共振峰, 荧光峰分别位于 310 nm、490 nm 和 609 nm, 310 nm 处的荧光峰强度最大。

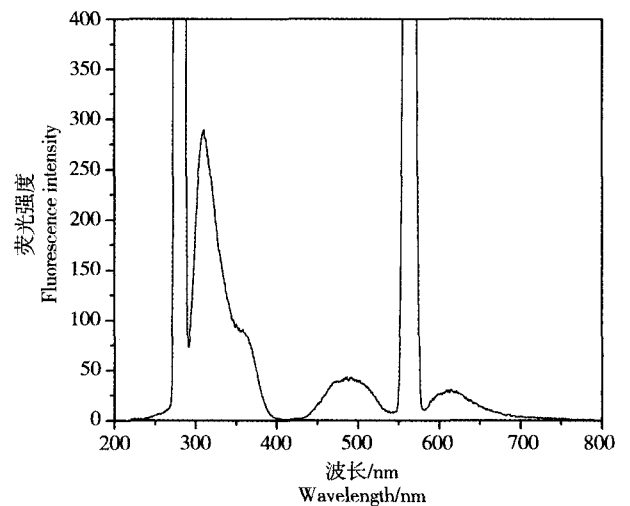


图 1 红细胞稀释液的荧光光谱图

Fig. 1 Fluorescence spectra of red blood cell (RBC) diluent (Conditions: $c(\text{RBCs})=4.5 \times 10^7 \text{ ind} \cdot \text{L}^{-1}$; $T=310 \text{ K}$; $\text{Ex}=278 \text{ nm}$)

由于红细胞成分较为复杂, 含有多种荧光团, 荧光峰的位置和强度会因红细胞所处的物理、化学环境而变化, 使荧光峰具有宽谱带特征^[15]。相关研究表明^[18-19], 310 nm 处的荧光峰由红细胞内的蛋白发出。蛋白质的荧光来自色氨酸、酪氨酸和苯丙氨酸^[18], 其荧光峰分别位于 340 nm、303 nm 和 282 nm^[19], 由此推断, 红细胞悬浮液在 310 nm 处的荧光峰是 3 种氨基酸共同作用的结果。能发射位于 490 nm 波长附近荧光的红细胞组分有以下几种: 1) 还原

型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH),其激发发射对为 340-460 nm^[11,20];2)黄素腺嘌呤二核苷酸(FAD),其激发发射对为 450-520 nm^[11,20];3)膜脂,在 430-560 nm 波段发射荧光^[11]。由此推断,490 nm 处产生的荧光峰是 NADPH、FAD 和膜脂共同作用的结果。能发射位于 609 nm 波长附近荧光的红细胞组分有以下 2 种^[15]:1)锌卟啉,吸收光子后发射 590 nm 的荧光,相应的能级跃迁为 ${}_1S_1,0 \rightarrow {}_0S_0,0$;2)原卟啉,吸收光子后发射 630 nm 和 690 nm 的荧光,相应的能级跃迁为 ${}_1S_1,0 \rightarrow {}_0S_0,0$ 和 ${}_1S_1,0 \rightarrow {}_0S_1,0$,以 630 nm 荧光为主。因此,609 nm 处出现的荧光峰应为锌卟啉和原卟啉二者发射的荧光叠加形成。红细胞组分中蛋白含量较高,因此和 490 nm 和 609 nm 处荧光峰相比较,310 nm 处荧光峰强度明显要大。

另外,310 nm 处荧光峰附近存在一个小峰(360 nm 处),其原因可能是:1)荧光发射过程中发生了共振能量转移(FRET)^[20];2)红细胞所在生理盐水溶液的拉曼光谱干扰红细胞荧光光谱的结果^[11]。具体原因还需要进一步的研究考证。

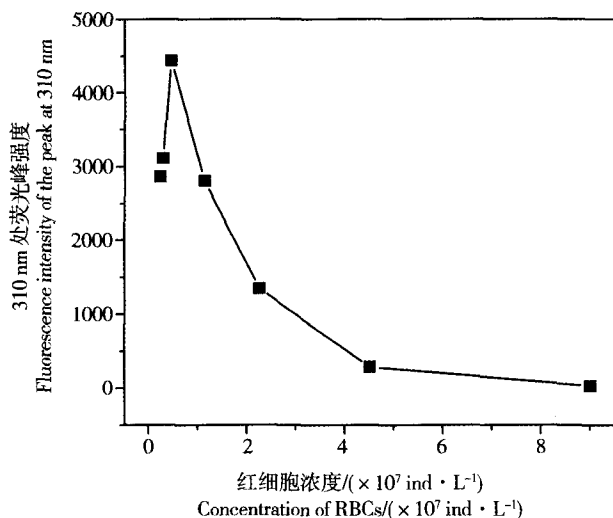


图2 红细胞浓度对红细胞 310 nm 处荧光峰的影响

Fig. 2 Effect of concentration of RBCs on the fluorescence peak at 310 nm (Conditions: T=310 K; Ex=278 nm)

2.1.2 红细胞浓度对其荧光峰的影响

不同浓度的红细胞悬浮液,其荧光峰强度不同。由图2可以看出,红细胞悬浮液位于 310 nm 处荧光峰的荧光强度随浓度的增大呈现先增大后减小的趋势,当细胞浓度为 $4.5 \times 10^6 \text{ ind} \cdot \text{L}^{-1}$ (红细胞母液稀释 100 倍)时,荧光强度最大。图3表明,随着红细胞悬浮液浓度增大,490 nm 处荧光峰的峰强度逐渐下

降,荧光强度与浓度存在相关关系,表明发生了浓度猝灭,其原因为^[11]:1)此荧光峰对应的激发态分子在发出荧光之前和未激发的荧光物质分子碰撞导致自猝灭;2)对于红细胞悬浮液,490 nm 波长附近是强吸收波段。红细胞浓度越低,发射的荧光相对于吸收光越占优势,检测到的荧光强度越强。另外,随红细胞浓度增加,荧光光谱出现“红移”现象(峰位置向长波方向移动),这是由于浓度变化对荧光团电子能级产生的微扰发生变化导致^[21]。

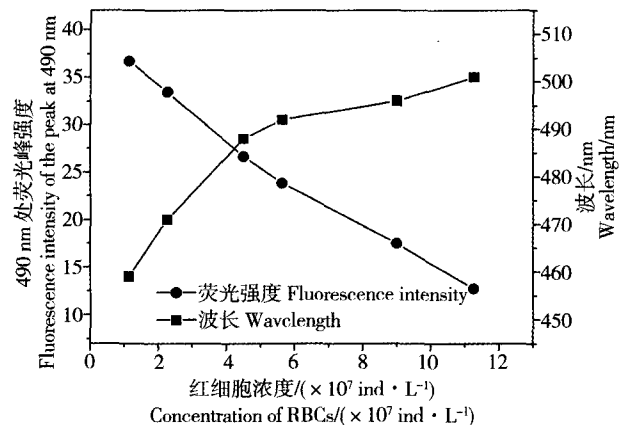


图3 红细胞浓度对红细胞 490 nm 处荧光峰的影响

Fig. 3 Effect of concentration of RBCs on the fluorescence peak at 490 nm (Conditions: T=310 K; Ex=278 nm)

对于由红细胞内蛋白发出的 310 nm 处荧光峰,虽然采用稀释 100 倍的红细胞悬浮液可以获得最大峰强度,但考虑到采用 HPLC 技术检测染毒后红细胞内的 DMP,需要保证一定的红细胞数量,因而后续 DMP 染毒体系采用稀释 10 倍的红细胞稀释液,细胞浓度为 $4.5 \times 10^7 \text{ ind} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

2.1.3 DMP 对红细胞荧光峰的影响

DMP 染毒前后红细胞的荧光光谱变化情况如图4所示。随着 DMP 浓度增大,310 nm 处荧光峰强度明显下降,490 nm、609 nm 处荧光峰强度也出现下降,但幅度很小。结合 2.1.1 部分对红细胞荧光峰的归属分析推测,DMP 对红细胞的 NADPH、FAD 和膜脂(490 nm 处荧光峰),以及铁卟啉和锌卟啉(609 nm 处荧光峰)的影响可能较小,主要影响红细胞内的蛋白质(310 nm 处荧光峰)。我们选择来源广泛、价格低廉的牛血红蛋白 BHb 代替人血红蛋白 HHb(二者结构差别较小,其氨基酸序列同源性高达 85%),研究了包括 DMP 在内的 PAEs 与血红蛋白(Hb)的结合机理^[22]。结果表明^[22],在最佳激发波长

(280 nm)激发下, BHb 的最强荧光发射峰在 340 nm 附近(由于受蛋白种类、所处微环境等因素影响,有别于红细胞蛋白荧光发射峰的位置 310 nm)。进一步分析发现^[22], DMP 能与 Hb 结合形成复合物,从而使其荧光发生猝灭(图 5)。因此,我们认为,310 nm 处特征荧光光谱峰强度下降的原因为 DMP 与红细胞内的蛋白发生了结合。

2.2 染毒红细胞内 DMP 含量的 HPLC 分析

应用 HPLC 技术,依据查得的最优色谱条件测

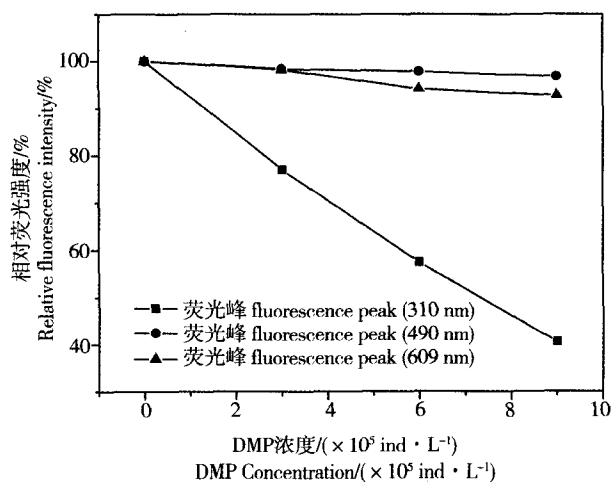


图 4 邻苯二甲酸二甲酯 (DMP) 对红细胞荧光峰的影响

Fig. 4 Effect of dimethyl phthalate (DMP) on the fluorescence peak of RBCs (Conditions: $c(\text{RBCs})=4.5 \times 10^7 \text{ ind} \cdot \text{L}^{-1}$; $T=310 \text{ K}$; $\text{Ex}=278 \text{ nm}$)

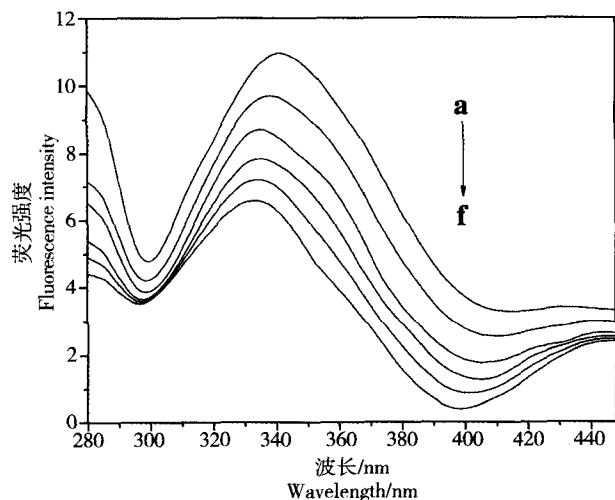


图 5 不同 DMP 浓度条件下血红蛋白 (BHb) 的荧光光谱图^[22]

Fig. 5 BHb fluorescence under different DMP concentrations^[22]

(Conditions: $c(\text{BHb})=3 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$; $c(\text{DMP})$ from a to f is 0, 0.75, 1.5, 2.25, 3, $4.5 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$; $\text{pH} 7.4$; $T=293 \text{ K}$; $\text{Ex}=280 \text{ nm}$)

定红细胞中的 DMP 浓度, DMP 出峰时间为 3.277 min。DMP 标准品测得的标准曲线如图 6 所示, 回归方程为: $y=0.00656+0.20599x$ (可决系数 $R^2=0.9994$)。根据标准曲线得到染毒红细胞内 DMP 的含量, 见表 1。

从表 1 中可以看出, 在经 DMP 染毒后的红细胞样品内检测到了 DMP, 表明 DMP 可以进入红细胞, 其进入量 C 随暴露量 C_0 增加而增加, 但进入量和暴露量的比值 C/C_0 随暴露量增加而减少, 其原因还需要进一步深入探究。

综上所述, 本文应用荧光光谱法和高效液相色谱法(HPLC)从细胞水平上探究了 DMP 在离体人红细胞内的分布, 主要结论如下: (1) 荧光光谱实验结果表明, 红细胞在 310 nm、490 nm 和 609 nm 处各具有一个荧光峰, 分别归属于: 红细胞内的蛋白; 还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)、黄素腺嘌呤二核苷酸(FAD)和膜脂; 锌卟啉和原卟啉; (2) 经

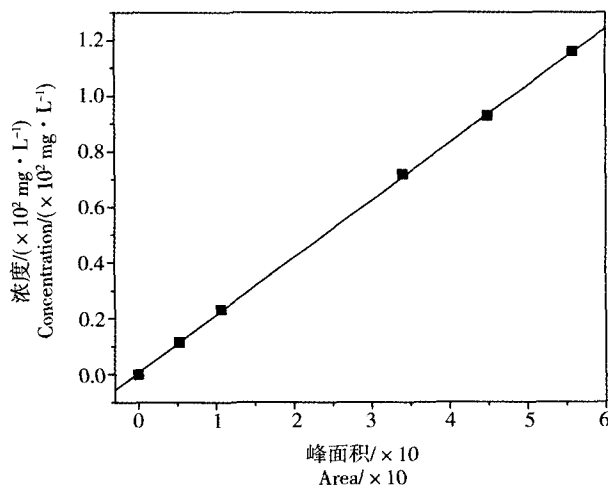


图 6 DMP 的 HPLC 标准曲线

Fig. 6 The standard curve for DMP determined by HPLC

表 1 红细胞中 DMP 的浓度

Table 1 Concentration of DMP in RBCs

样品 编号 Sample number	暴露浓度 $(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$ Exposure concentration $C_0/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	红细胞内浓度 $(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$ Concentration in RBCs $C/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	$C/C_0(\%)$
1	5.83	1.09	18.69
2	11.66	1.94	16.63
3	14.56	2.01	13.80

DMP 染毒后,红细胞位于 310 nm 处的荧光峰强度明显下降,表明 DMP 与红细胞内的蛋白发生了结合;490 nm 和 609 nm 处荧光峰强度下降不明显;(3) HPLC 实验结果表明,DMP 可以进入红细胞,其进入量随暴露量增加而增加,进入量和暴露量的比值随暴露量增加而减少。

通讯作者简介:池振兴(1983—),男,博士,讲师,主要研究方向为环境污染与健康。

参考文献(References):

- [1] Guo Y, Weck J, Sundaram R, et al. Urinary concentrations of phthalates in couples planning pregnancy and its association with 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, a biomarker of oxidative stress: Longitudinal investigation of fertility and the environment study [J]. *Environmental Science & Technology*, 2014, 48(16): 9804-9811
- [2] Net S, Sempere R, Delmont A, et al. Occurrence, fate, behavior and ecotoxicological state of phthalates in different environmental matrices [J]. *Environmental Science & Technology*, 2015, 49(7): 4019-4035
- [3] Lien Y J, Ku H Y, Su P H, et al. Prenatal exposure to phthalate esters and behavioral syndromes in children at 8 years of age: Taiwan Maternal and Infant Cohort Study [J]. *Environmental Health Perspectives*, 2015, 123(1): 95-100
- [4] 周东星, 许宜平, 王子健. 应用生物模拟采样法快速评估水中邻苯二甲酸酯的生物富集性[J]. *生态毒理学报*, 2015, 10(1): 281-287
Zhou D X, Xu Y P, Wang Z J. Rapid evaluation of bioconcentration potential for esters using a biomimetic sampler [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2015, 10(1): 281-287 (in Chinese)
- [5] 秦晓雷, 章涛, 孙红文. 中国室内和室外灰尘中邻苯二甲酸酯的分布和健康风险评价[J]. *生态毒理学报*, 2016, 11(2): 231-237
Qin X L, Zhang T, Sun H W. Occurrence of phthalate esters in indoor and outdoor dust in China: Distribution and risk assessment [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2016, 11(2): 231-237 (in Chinese)
- [6] Johns L E, Cooper G S, Galizia A, et al. Exposure assessment issues in epidemiology studies of phthalates [J]. *Environment International*, 2015, 85: 27-39
- [7] Wang W, Wu F Y, Huang M J, et al. Size fraction effect on phthalate esters accumulation, bioaccessibility and *in vitro* cytotoxicity of indoor/outdoor dust, and risk assessment of human exposure [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2013, 261: 753-762
- [8] Bi X, Thomas G O, Jones K C, et al. Exposure of electronics dismantling workers to polybrominated diphenyl ethers, polychlorinated biphenyls, and organochlorine pesticides in South China [J]. *Environmental Science & Technology*, 2007, 41(16): 5647-5653
- [9] Mousa A, Basheer C, Al-Arfaj A R. Application of electro-enhanced solid-phase microextraction for determination of phthalate esters and bisphenol A in blood and seawater samples [J]. *Talanta*, 2013, 115: 308-313
- [10] Pan G W, Hanaoka T, Yoshimura M, et al. Decreased serum free testosterone in workers exposed to high levels of di-n-butyl phthalate (DBP) and di-2-ethylhexyl phthalate (DEHP): A cross-sectional study in China [J]. *Environmental Health Perspectives*, 2006, 114(11): 1643-1648
- [11] 杨艳. 血液的 Raman 光谱和荧光光谱几种新现象研究[D]. 南京: 南京理工大学, 2006: 1, 17-20
- [12] 降雨强, 李昌勇, 周源, 等. 人血液及其组分的荧光光谱研究[J]. *激光与光电子学进展*, 2001, 45(5): 23-26
Jiang Y Q, Li C Y, Zhou Y, et al. Study on fluorescence spectra of human blood and its components [J]. *Laser & Optoelectronics Progress*, 2001, 45(5): 23-26 (in Chinese)
- [13] Gao S M, Lan X F, Liu Y, et al. Characteristics of blood fluorescence spectra using low-level, 457.9 nm excitation from Ar⁺ laser [J]. *Chinese Optics Letters*, 2004, 2(3): 160-161
- [14] Gao S M, Luo X S, Lan X F, et al. Analyzing of LED-induced blood fluorescent spectra [J]. *Chinese Journal of Lasers*, 2002, 11(4): 12-14
- [15] 赵研, 陈丽娜, 张良才, 等. 血液黏滞度增高状态下红细胞和血浆荧光光谱研究[J]. *哈尔滨医科大学学报*, 2008, 42(3): 224-226
Zhao Y, Chen L N, Zhang L C, et al. Study on erythrocyte and plasma auto-fluorescence spectrum of blood hyper viscosity syndrome [J]. *Journal of Harbin Medical University*, 2008, 42(3): 224-226 (in Chinese)
- [16] 黄丽雪, 刘丽霞, 董同力嘎, 等. 高效液相色谱法测定 3 种邻苯类增塑剂检测条件的研究[J]. *包装工程*, 2012, 33(17): 39-43
Huang L X, Liu L X, Dong T L G, et al. Study on the detection conditions for three kinds of phthalate plasticizer by HPLC [J]. *Packing Engineering*, 2012, 33(17): 39-43 (in Chinese)
- [17] 庄昌露, 王树涛, 杜佳, 等. 全氟辛烷磺酸(PFOS)和多壁碳纳米管(MWCNTs)复合对斑马鱼外周血红细胞 DNA 的损伤[J]. *生态毒理学报*, 2015, 10(3): 192-199
Zhuang C L, Wang S T, Du J, et al. DNA damage in peripheral blood red cells of zebrafish induced by co-treat-

- ment of perfluorooctane sulfonate (PFOS) and multiwall carbon nanotubes (MWCNTs) [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2015, 10(3): 192-199 (in Chinese)
- [18] 李静. 癌细胞和血液的特征荧光光谱研究[D]. 成都: 电子科技大学, 2009: 1-39
- [19] 辛玉军. 生物组织血液光谱特性的实验研究与分析[D]. 南京: 南京航空航天大学, 2007: 1-52
Xin Y J. Experimental research and analysis of spectral characteristic of blood—A typical biological tissue [D]. Nanjing: Nanjing University of Aeronautics and Astronautics, 2007: 1-52 (in Chinese)
- [20] 李步洪, 张镇西, 谢树森, 等. 人血液荧光的光谱特性及其物质来源[J]. *光谱学与光谱分析*, 2006, 26(7): 1310-1313
Li B H, Zhang Z X, Xie S S, et al. Fluorescence spectral characteristics of human blood and its endogenous fluorophores [J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2006, 26(7): 1310-1313 (in Chinese)
- [21] 高淑梅, 刘莹, 陆健, 等. 407 nm 光诱导的红细胞荧光光谱随浓度增加红移的机理分析[J]. *光子学报*, 2003, 32(3): 261-263
Gao S M, Liu Y, Lu J, et al. Analysis of 407 nm light-induced erythrocyte fluorescence spectra red shifted mechanism with the concentration increase [J]. *Acta Photonica Sinica*, 2003, 32(3): 261-263 (in Chinese)
- [22] Chi Z X, Zhao J, You H, et al. Study on the mechanism of interaction between phthalate acid esters and bovine hemoglobin [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2016, 64(30): 6035-6041 ◆