

计算毒理学在海洋溢油事故特征污染物 甄选中的应用研究*

王莹 王菊英^① 穆景利

(国家海洋环境监测中心国家海洋局近岸海域生态环境重点实验室 大连 116023)

摘要 鉴于溢油及其风化产物的组分复杂性, 本文应用计算毒理学方法对溢油中的主要毒性特征污染物进行甄选。首先结合美国溢油事件中的主要污染物分类方法, 针对溢油事故的潜在特征污染物进行持久性、生物富集性和毒性判别, 然后建立基于密度泛函理论(DFT)分子结构参数的定量结构-活性相关模型, 尝试筛选出海洋溢油事故的 12 种特征污染物, 包括 3 种多环芳烃(PAHs)、8 种烷基化 PAHs 及 1 种 PAH 的氧化衍生物。本文首次应用 DFT 方法进行溢油中特征污染物的甄选研究, 研究结果可为海洋环境管理部门在溢油污染物监管和灾后处置等方面提供参考。

关键词 溢油; 特征污染物; 定量结构-活性相关; 密度泛函理论

中图分类号 X55 **doi:** 10.11693/hyhz20140300081

随着石油开采和海洋运输业的发展, 每年都有大量的石油由于各种溢油事故进入海洋环境(Vinas *et al.*, 2009), 海洋石油污染已经成为全球关注的热点问题。由于溢油多属突发性事故, 因此一旦发生溢油, 石油必将大量流入海洋, 影响海洋生态系统的结构和功能。石油的组分十分复杂, 并且石油在进入海洋环境后, 会发生风化过程, 生成许多新的物质(Mallakin *et al.*, 2000; Lundstedt *et al.*, 2007; Tsapakis and Stephanou 2007; Haritash and Kaushik 2009; 曹磊等, 2013)。而现有的溢油灾后处置及溢油修复技术主要通过评价石油烃、总烷烃或总芳烃的降价率来评价降解效果(郑立等, 2012), 具体哪些溢油毒性组分应作为重点关注的对生物体产生不利影响的污染物还不明确。因此, 开展溢油特征污染物的甄选工作, 有助于阐明溢油对生态环境的长期影响, 同时也有助于有针对性地发展各种溢油污染修复技术(Garrett *et al.*, 1998)。

毋庸置疑, 发展基于计算机的预测毒理学工具

来代替整体动物实验测试, 可以促进污染物生态风险评价的发展。因此, 采用模型预测的方式增补实验数据, 可以降低昂贵的测试费用, 减少动物实验, 符合化学品风险管理中关于缩减动物实验的“3R”原则(陈景文等, 2008; Wang *et al.*, 2009a)。定量结构-活性相关模型(QSAR)可以用于预测有机污染物的生态毒理学效应。由于溢油及其风化产物的组分复杂性, 因此可以通过构建QSAR模型对溢油主要污染物的生态风险进行定量评估、对溢油中的主要毒性物质进行甄别。本文结合美国溢油事件中的主要污染物分类方法, 根据溢油事故的潜在特征污染物名单和持久性、生物富集性和毒性(PBT)判别结果, 应用基于密度泛函理论(DFT)参数的QSAR模型, 尝试性筛选出溢油事故的特征污染物名单, 为海洋环境管理部门在溢油污染物监管和控制等方面提供参考。

1 研究方法

首先对潜在特征污染物 PBT 判别结果进行初筛。

* 海洋公益性行业科研专项经费资助项目, 201305002-4 号; 国家海洋局北海分局渤海溢油项目, SDFZQ20141124-036 号; 国家自然科学基金项目, 21207025 号; 国家海洋局近岸海域生态环境重点实验室基金重点项目, 201301 号; 国家海洋局海洋生态环境科学与工程重点实验室项目, MESE-2011-05 号。王莹, 博士, 副研究员, E-mail: wangying@nmemc.org.cn

通讯作者: 王菊英, 研究员, E-mail: jywang@nmemc.org.cn

收稿日期: 2014-03-18, 收修改稿日期: 2014-04-08

再对 PBT 类污染物进行毒性数据收集和筛选, 构建基于 DFT 参数的 QSAR 模型, 并对 QSAR 模型进行验证和表征。最后, 尝试性提出特征污染物名单。

在环境科学中, QSAR 是一种定量表征有机污染物的分子结构与其理化性质、环境行为和生态毒理学性质之间关系的预测模型。起初, QSAR 主要应用于化学和药理学领域, 尤其在药学研究中发挥重要作用。随着进入到环境中的有机污染物日益增多, 为满足生态风险评价的需要, QSAR 开始被应用于环境科学领域。在溢油毒性组分进入昂贵、费时的实验室待测阶段之前, 本研究尝试应用 QSAR 方法实现对溢油中毒性特征污染物进行快速筛选。

1.1 特征污染物初筛方法

本研究采用 US EPA 与美国 SRC 公司联合开发的 EPI Suite V4.0 软件对特征污染物进行 PBT 判别。表 1 给出了我国 PBT 类化合物判别标准(中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 2009)。在使用 EPI SUTITE 软件对化学物质持久性的筛选标准为满足以下条件之一: (1)Biowin 2 和 Biowin 3; 不能快速降解(概率<0.5)及最终生物降解时间预测值<2.2; (2) Biowin 6 和 Biowin 3; 不能快速降解(概率<0.5)及最终生物降解时间预测值<2.2。在使用 EPISuite 软件时, 优先选取参数的实验值, 若无实验值则采用 EPI SUTITE 软件估算值。

表 1 我国 PBT 类化合物判别标准

Tab.1 Acceptance and rejection criteria for Chinese PBT chemicals

判别标准	
持久性(P)	海水中 $t_{1/2}>60\text{d}$; 或淡水/河口水体中 $t_{1/2}>40\text{d}$; 或海洋沉积物中 $t_{1/2}>180\text{d}$; 或淡水/河口沉积物中 $t_{1/2}>120\text{d}$; 或土壤中 $t_{1/2}>120\text{d}$
生物富集性(B)	对海水或淡水生物的 BCF>2000L/kg
毒性(T)	对海水或淡水生物的 NOEC(长期毒性实验)<0.01mg/L; 或分类为: 致癌(1 级或 2 级)、致畸(1 级或 2 级)或繁殖毒性(1, 2, 或 3 级); 或有其他慢性毒性证据

1.2 量子化学参数的获取

生物体内的化合物的浓度有助于评价其毒性作用机制(Wang *et al*, 2009b)。分子之间的相互作用是决定化合物在水相和生物相之间分配的决定因素。因此, 选取摩尔分子体积(V)和分子平均极化率(α)作为描述符表征化合物在两相之间的分配作用。此外, 最高占据轨道能(E_{HOMO})表征分子受亲电试剂进攻的难易程度, 最低未占据轨道能(E_{LUMO})表征分子与亲核试剂

反应的难易程度。此外, E_{HOMO} 和 E_{LUMO} 的能级差(E_{GAP})是表征分子稳定性的一个重要指数。较大的能量差意味着分子稳定性好, 即在化学反应中具有低的反应活性。

电负性指数 ω , 可以表征化合物接受电子的能力。由下式计算:

$$\omega = \frac{\mu^2}{\eta} \quad (1)$$

$$\mu = \frac{E_{\text{HOMO}} + E_{\text{LUMO}}}{2} \quad (2)$$

$$\eta = E_{\text{LUMO}} - E_{\text{HOMO}} \quad (3)$$

其中, μ 是化合物的化学势, η 是化合物的化学硬度。

表 2 给出了选取的两类 DFT 参数: (1)描述在水相和脂肪相之间的分配(包括 V 和 α), (2)描述化学稳定性和接受电子能力参数(包括 E_{LUMO} , E_{HOMO} , E_{GAP} 和 ω)。

表 2 分子结构参数

Tabl.2 Molecular structural parameters

序号	描述符	定义	单位
1	V	分子摩尔体积(电子密度体积)	cm^3/mol
2	α	平均分子极化率	原子单位
3	E_{HOMO}	分子最高分子占据轨道能	eV
4	E_{LUMO}	分子最低未占分子轨道能	eV
5	E_{GAP}	$E_{\text{LUMO}} - E_{\text{HOMO}}$	eV
6	ω	电负性指数	eV

1.3 量子化学计算方法

利用 Gaussian 09 软件中的 DFT 进行量子化学计算(Frisch *et al*, 2009), 对优化好的几何构型进行频率分析, 以确保体系无虚频。计算的参数包括极化率、摩尔分子体积、前线分子轨道能、电负性指数。首先利用 PM3 算法对 PAHs 及其衍生物以及 PAHs 的中性分子和进行预优化, 然后再利用 DFT 中的 B3LYP 方法在 6-31G(d, p)(Lee *et al*, 1988; Becke *et al*, 2005)基组水平进行优化, 获得其稳定构型后进行单点能计算。对优化好的几何构型进行频率分析, 以确保体系无虚频。根据频率分析的结果计算极化率。

1.4 QSAR 模型建立和交叉验证

选取 Bose 等人(1998)测定的 PAHs 及其甲基化衍生物对海洋端足类生物的急性毒性数据, 采用半数效应浓度(EC_{50})的对数作为 QSAR 研究中的因变量。本研究使用了偏最小二乘(PLS)回归分析方法建立模型。应用 SIMCA 软件(Version 6.0, Umetri AB & Erisoft AB)进行 PLS 回归分析, 采用去多法交叉验证(Hall, 1998)。

2 溢油特征污染物筛选流程

2.1 溢油事故潜在特征污染物名单的确定

石油的组分十分复杂, 主要由烷烃、环烷烃和芳香烃组成, 其余为胶质、沥青质等。表3给出了不同类型油品各组分的特性和含量, 其毒性大小与烃类化合物的类别以及石油类别的不同而不同。从表3可以看出, 饱和烃类化合物容易生物降解, 且对水生生物毒性低; 极性化合物虽然难以生物降解, 但水溶解

度和水生生物毒性很低。因此, 在溢油事件中对饱和烃类化合物和极性化合物一般不予关注。相对其他组分而言, 芳香烃具有相对较高的水溶解性和水生生物毒性风险(Ruth *et al*, 2002)。因此, BTEX类化合物(苯、甲苯、乙苯和邻、间、对二甲苯)和多环芳烃(PAHs)是溢油事故中影响海洋环境的主要污染因子。PAHs中的烷基衍生物占到了原油中PAHs总量的80%—90%(Wang *et al*, 2003), 是指PAHs的分子结构中包含取代的烷基基团, 如甲基、乙基、异丙基等。

表3 石油组分及其特性
Tab.3 Oil components and their chemical properties

类别	亚类	特性	占石油组分的百分比
饱和烃	1. 烷烃(脂肪烃): 正构烷烃(石蜡), 异构烷烃 2. 环烷烃: 饱和的环状结构 3. 蜡: 较大的饱和烃化合物	微生物降解速率快(可降至 C22); 水溶解度低; 水生生物毒性低;	汽油: 50—60 柴油: 65—95 轻质原油: 55—90 重质原油: 25—80 重质燃料油: 20—30
芳香烃	1. 单环芳烃(BTEX): 单个苯环 2. 多环芳烃(PAH): 2-6 个苯环	微生物降解速率慢; 水溶解度较高; 水生生物毒性高;	汽油: 25—40 柴油: 5—25 轻质原油: 10—35 重质原油: 15—40 重质燃料油: 30—50
极性化合物	1. 树脂: 含 S, N, O 的较小化合物 2. 沥青质: 较大化合物	微生物/物理降解速率很慢; 水溶解度和水生生物毒性很低	汽油: 0 柴油: 0—2 轻质原油: 1—15 重质原油: 5—40 重质燃料油: 10—30

石油烃中的 PAHs 在环境中通过生物转化、光氧化等风化过程会生成 PAHs 的各种氧化衍生物, 同时, 还会生成 PAHs 的其他各类衍生物, 包括 PAHs 羟基化衍生物以及芳香环开裂的产物, 如醛类以及羧酸类物质等(Garrett *et al*, 1998; Mallakin *et al*, 2000; Watson *et al*, 2002; Mao *et al*, 2009), oxy-PAHs 的分子结构可能还包括其他的一些官能团, 如烷基和羟基等。在诸多的 PAHs 环境转化衍生物中, oxy-PAHs 可能对生态环境的威胁更为严重。其中一个重要的原因是, oxy-PAHs 比其他 PAHs 在环境中的转化产物更具持久性, oxy-PAHs 通常被称为 PAHs 生物和化学降解过程中的“末端产物”, 而其他类别的 PAHs 环境转化衍生物则通常为“中间产物”。

因此, 根据石油及相关组分对水生生物及人体的毒性, 结合美国溢油事件中的主要污染物分类方法, 初步筛选出的溢油事故中的特征污染物为苯系物(BTEX)、多环芳烃及其烷基化和氧化衍生物。表4给出了溢油事故的42种初筛潜在溢油事故特征污染物名单。

2.2 潜在溢油特征污染物的 PBT 类物质筛选

在对特征污染物进行初筛的阶段可使用一些比较保守的模型或数据从而加快速度。近年来随着化学品环境管理技术的增强和人们对环境质量要求的不断提高, 一类具有持久性(persistent)、生物蓄积性(bioaccumulative)和毒性(toxic)化学物质(统称为 PBT 物质)日益成为化学品环境管理关注的焦点。由于 PBT 物质可在环境中长期存留且在全球范围扩散, 同时沿着食物链能流传递并富集, 对高营养级生物产生致癌性、致畸性、内分泌干扰性、生殖毒性、免疫毒性等多种危害, 成为对生态系统和人类健康具有特定风险的化学品; 另一方面是由于 PBT 物质暴露具有低剂量、长时期和潜在性的特征, 其致毒与暴露之间的关系往往难以预测, 常规的试验/检测方法也无法快速有效地确认 PBT 在环境中的阈值。

本研究中, 对初步筛选的溢油事故中的42种潜在特征污染物应用现有的实验数据和 QSAR 模型进行第二步的 PBT 类物质筛选。鉴于 PBT 物质环境危害的严重性和特殊性, 欧盟 REACH 法规和美国

表 4 初筛的潜在溢油特征污染物生物降解性、生物富集性和毒性预测结果
 Tab.4 Predictive results of biological degradation, bio-concentration and toxicity for the preliminary potential characteristic pollutants in oil spill accidents

No.	化合物	Biowin 2	Biowin 3	Biowin 6	BCF	NOEC(鱼类)(mg/L)	NOEC(糖虾)(mg/L)
1	蒽	0.9995	2.2194	0.1949	1800	0.665	0.01
2	芘	0	1.9529	0.1079	770.6	0.322	0.00183
3	苯并(g,h,i)芘	0	1.7892	0.0178	11000	0.034	0.000018
4	茚并[1,2,3-cd]芘	0	1.7892	0.0178	12200	0.034	0.000018
5	苯并[b]荧蒽	0	1.8422	0.035	3024	0.073	0.0000641
6	荧蒽	0	1.9529	0.1079	1179	0.322	0.00183
7	苯并[k]荧蒽	0	1.8422	0.035	4993	0.073	0.0000641
8	危烯	0.7	2.8628	0.2516	184.8	1.029	0.028
9	苯并[a]芘	0	1.8422	0.035	5147	0.073	0.0000641
10	二苯并(a,h)蒽	0	1.7847	0.0213	9596	0.034	0.000019
11	苯并[a]蒽	0	1.8953	0.0677	2934	0.155	0.000346
12	危	0.8779	2.7087	0.1893	179.2	0.763	0.015
13	菲	0.9995	2.2194	0.1949	1865	0.665	0.01
14	芴	0.7730	2.757	0.1921	266.1	1.001	0.024
15	萘	0.9998	2.33	0.4468	69.88	2.637	0.245
16	屈	0	1.8953	0.067	3165	0.155	0.000346
17	苯	0.9999	2.4406	0.7294	11.81	8.858	0.031
18	甲苯	0.9833	2.9427	0.6843	29.39	4.722	1.187
19	乙苯	0.9797	2.9117	0.4891	55.64	2.668	0.308
20	邻二甲苯	0.9343	2.8149	0.6355	53.16	2.459	0.26
21	间二甲苯	0.9343	2.8149	0.6355	60.03	2.459	0.26
22	对二甲苯	0.9343	2.8149	0.6355	55.64	2.459	0.26
23	1-甲基萘	0.8273	2.8101	0.3938	166.1	1.322	0.052
24	2,6-二甲基萘	0.8748	2.7042	0.3432	324.1	0.656	0.011
25	2,3,6-三甲基萘	0.9107	2.5984	0.2959	613.6	0.323	0.002
26	2-甲基蒽	0.7018	2.6994	0.163	924.7	0.324	0.00196
27	1-甲基菲	0.7018	2.6994	0.163	4783	0.324	0.00196
28	3-甲基菲	0.7018	2.6994	0.163	3424	0.324	0.00196
29	9-甲基菲	0.7018	2.6994	0.163	3596	0.324	0.00196
30	1,7-二甲基菲	0.7744	2.5936	0.1354	8259	0.157	0.004
31	3,6-二甲基菲	0.7744	2.5936	0.1354	8259	0.157	0.0004
32	7-异丙基-1-甲基菲	0.6975	2.5316	0.0648	3.2900	0.048	0.0000288
33	2-羟基蒽醌	0.457	2.7151	0.2787	9.369	—	—
34	9,10-蒽醌	0.2986	2.6941	0.2979	20.83	3.322	0.234
35	9,10-菲醌	0.513	2.739	0.0742	21.36	2.44	0.123
36	1,4-菲醌	0.2986	2.6941	0.261	8.987	0.008	0.004
37	9-芴酮	0.4992	2.7785	0.2927	27.8	2.131	0.108
38	1,6-芘醌	0.2323	2.641	0.1282	28.83	—	—
39	苯并[a]蒽醌	0.173	2.5834	0.1128	96.61	0.748	0.008
40	苯并蒽酮	0.3287	2.6678	0.1104	180.1	0.494	0.004
41	1,6-苯并[a]芘醌	0.1294	2.5304	0.0503	220.8	0.352	0.002
42	3,6-苯并[a]芘醌	0.1294	2.5304	0.0503	220.8	0.352	0.002

注释: (1)Biowin 2 和 Biowin 3, 不能快速降解(概率<0.5)及最终生物降解时间预测值<2.2, 表明污染物具有持久性; (2) Biowin 6 和 Biowin 3; 不能快速降解(概率<0.5)及最终生物降解时间预测值<2.2, 表明污染物具有持久性; (3) BCF 和 NOEC 分别指生物富集因子和无可观察效应浓度

《有毒物质控制法》(TSCA)均已将 PBT 物质作为重要的管理对象,我国等同转化了 REACH 法规的相关技术内容,见 GB/T24782-2009《持久性、生物累积性和毒性物质及高持久性和高生物累积性物质的判定方法》,我国的 PBT 类化合物判别标准见表 1。表 4 给出了 42 种溢油事故中的初筛潜在特征污染物 QSAR 模型生物降解性、生物富集性和毒性预测结果。

根据溢油事故的初次筛选潜在特征污染物名单的 PBT 判别结果,结合美国溢油事件中的主要污染物分类方法,得到溢油事故的 25 种二次筛选特征污染物名单(满足 P、B、T 中任一条件即可),包括三类物质,即: 12 种 PAHs、8 种烷基化 PAHs 及 5 种 PAHs 氧化衍生物。虽然 BTEX 类化合物对人体健康和环境安全危害较大,鉴于其对水生生物的毒性较低,且为非持久性和生物富集性类物质,高挥发性又会使其在环境中的暴露浓度迅速降低,在环境中留存的时间较短。因此,二次筛选的特征污染物过程中将其排除。

2.3 应用 DFT 及 QSAR 方法筛选溢油事故特征污染物

随着 QSAR 技术的发展和运用,量子化学参数更易于解释毒性机理、筛选影响化合物毒性大小的主要

分子结构因素。然而,目前关于影响溢油主要组分毒性的分子结构因素方面的研究还十分缺乏,直接影响溢油对海洋生态系统长期生态风险的评估。因此,基于量子化学参数构建 QSAR 模型,对溢油中的主要毒性物质进行更深层次的筛选和甄别,并揭示溢油毒性作用机制。

6 种 PAHs 及其烷基化类化合物对端足类生物的急性毒性的 QSAR 方程如下:

$$\log EC_{50} = -0.5868V - 0.40473\alpha - 0.4524E_{LUMO} \quad (4)$$

$n=6, A=2, Q^2_{CUM}=0.948, R^2=0.970, RMSE=0.079, P<0.001$

式中 n 代表预测变量的数目, A 代表 PLS 主成分数, Q^2_{CUM} 代表所有 PLS 主成分所能解释因变量总方差的比例, R^2 代表拟合值和实测值的复相关系数, RMSE 代表均方根误差, P 为统计分析时的概率值。表 5 给出了 12 种 PAHs 及其衍生物的分子结构参数值、 EC_{50} 实验/预测值和在水中的溶解度。

图 1 给出了 PAHs 及其烷基化类化合物对端足类生物毒性的实测值和预测值的拟合图。可以看出,模型的预测值与实测值比较接近,具有较好的拟合效果($R^2=0.97, RMSE=0.079$)和稳健性(交叉验证 $Q^2_{CUM}=0.97$)。

表 5 PAHs 及其衍生物的分子结构参数值、 EC_{50} 实验/预测值和溶解度

Tab.5 Molecular structural parameters, experimental and predictive EC_{50} values, and water solubility for PAHs and their derivatives

No.	化合物	V	α	E_{LUMO}	E_{HOMO}	E_{GAP}	ω	$EC_{50}(nM)$ (实验值)	$EC_{50}(nM)$ (预测值)	溶解度 (nmol/L)
1	1-甲基芴	152.81	143.48	-1.04	-5.99	4.95	2.50	10.6	14.83	6047
2	2-甲基菲	163.72	162.62	-1.30	-5.97	4.67	2.83	11.5	10.94	1456
3	2,3,6-三甲基萘	150.37	142.19	-1.03	-5.79	4.75	2.45	18.4	16.11	9984
4	9-甲基蒽	156.36	167.07	-1.94	-5.40	3.46	3.90	33	33.34	1357
5	2,6-二甲基萘	135.177	128.61	-1.12	-5.87	4.75	2.57	48.4	38.11	12801
6	萘	103.42	99.57	-1.34	-6.09	4.75	2.91	227	244.91	241847
7	芴	150.63	199.98	-4.16	-5.83	1.67	14.89	ND	621.16	25290
8	菲	141.09	146.91	-1.35	-6.03	4.68	2.91	ND	31.89	6451
9	苯并[a]蒽	179.65	207.49	-1.89	-5.61	3.72	3.78	> 4.8	7.03	41.17
10	芘	153.73	171.46	-1.81	-5.62	3.80	3.63	ND	27.38	667.46
11	苯并(b)荧蒽	162.84	187.59	-1.56	-5.80	4.24	3.19	> 7	10.40	5.94
12	荧蒽	164.66	169.41	-2.10	-6.06	3.96	4.21	ND	31.56	1285

注: ND 表示在污染物溶解度范围内无法计算 EC_{50}

为了考察预测变量对模型的影响,表 6 分别给出了模型的变量投影重要性(VIP)值和 PLS 主成分载荷($W^*[1]$ 和 $W^*[2]$)。在 QSAR 方程中, V 和 α 的 VIP 值最大,且显著高于 E_{LUMO} ,表明, V 和 α 对方程的解释能力大于其他描述符。根据各个自变量在某个 PLS 主成分的载荷值可以看出各个自变量对该主成分的

贡献大小。模型中变量 V 和 α 在第一个主成分上的载荷较高,主要浓缩分子间作用力信息。负的回归系数和负 PLS 主成分载荷表明 V 和 α 与 $\log EC_{50}$ 之间呈现负相关关系。

构建的 PAHs 及其衍生物的 QSAR 模型可以用于进一步解释化合物对水生生物的毒性作用机理。QSAR 模

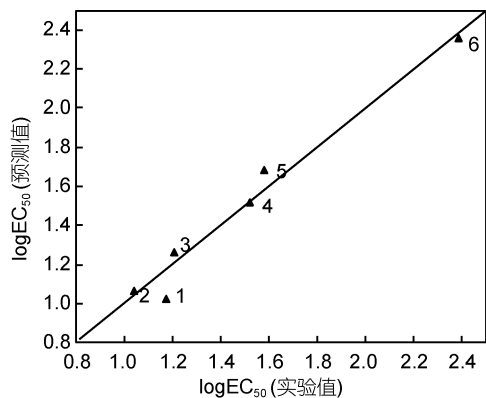


图1 PAHs类化合物对端足类生物急性毒性($\log EC_{50}$)的实验值和预测值(化合物的序号见表5)

Fig.1 Observed toxicity ($\log EC_{50}$) of PAHs versus their predictive toxicity to amphipoda(sequence numbers of PAHs are given in Tab.5)

表6 QSAR中的VIP值和PLS权重
Tab.6 VIP values and PLS weight of Equation

变量	VIP	$W^*[1]$	$W^*[2]$
V	1.222	-0.75	-0.21
α	1.0502	-0.64	0.11
E_{LUMO}	0.63542	-0.19	-1.01

表7 溢油中PAHs及其衍生物的分子结构参数及 EC_{50} 预测值
Tab.7 Molecular structures and EC_{50} values of PAHs and their derivatives in oil spill incidence

No.	化合物	V	A	E_{LUMO}	E_{HOMO}	E_{GAP}	ω	EC_{50} (nmol/L)	溶解度 (nmol/L)
1	蒽	150.11	155.36	-1.97	-5.52	3.55	3.95	52.67	243.49
2	苯并(g,h,i)芘	214.72	229.86	-1.97	-5.51	3.53	3.96	1.78	0.94
3	蒽并[1,2,3-cd]芘	190.99	254.41	-2.32	-5.63	3.31	4.78	3.93	0.69
4	苯并[k]荧蒽	189.72	233.51	-2.05	-5.67	3.62	4.11	4.00	3.17
5	苯并[a]芘	191.41	232.94	-2.05	-5.39	3.34	4.15	3.88	6.42
6	二苯并(a,h)蒽	222.35	257.53	-1.88	-5.53	3.66	3.75	0.72	8.95
7	屈	187.53	200.82	-1.60	-5.82	4.21	3.26	4.04	15.11
8	2-甲基蒽	163.09	171.57	-1.87	-5.44	3.57	3.74	22.41	110.79
9	1-甲基菲	157.20	160.13	-1.36	-5.94	4.58	2.91	15.39	1399
10	3-甲基菲	154.99	161.68	-1.16	-5.94	4.79	2.64	11.78	1456
11	9-甲基菲	154.44	159.97	-1.29	-5.93	4.63	2.82	15.19	1604.
12	1,7-二甲基菲	170.41	175.89	-1.32	-5.88	4.57	2.84	7.09	478.7
14	3,6-二甲基菲	170.59	176.09	-1.21	-5.77	4.56	2.68	6.03	478.7
14	7-异丙基-1-甲基菲	201.86	201.19	-1.30	-5.88	4.57	2.82	1.64	67.65
15	1,4-菲醌	153.36	151.72	-3.61	-6.66	3.06	8.63	612.91	-720391.9
16	苯并[a]蒽醌	174.95	200.40	-3.28	-6.56	3.29	7.37	76.49	114.84
17	苯并蒽酮	177.41	192.89	-2.22	-6.27	4.05	4.45	16.40	20.63
18	1,6-苯并[a]芘醌	198.29	235.85	-3.60	-6.53	2.93	8.76	31.14	20.63
19	3,6-苯并[a]芘醌	197.15	237.49	-3.59	-6.41	2.82	8.88	30.79	20.63

型结果表明极化率 α 是影响 PAHs 毒性的最主要分子结构参数。PAHs 属于非极性或弱极性化合物, 易于在非极性环境中, 如: 细胞膜中的磷脂(其脂肪酸链具有非极性特性)中分配(Newsted *et al*, 1987)。分配作用取决于分子间作用力的强弱, 而分子间力最重要的是色散力。化合物的色散力越强, 对于蒽醌类化合物以及 PAHs 越倾向在生物的细胞膜中分配。由于色散力与极化率的平方成正比, 因此, 对于 PAHs, 具有较大的极化率更易于在生物体内富集而产生毒性。还可以发现, 极化率也就是电子云的变形程度和分子体积呈现很好的相关性。

基于溢油事故特征污染物二次筛选结果, 对溢油中的 PAHs 及其衍生物的分子结构参数进行计算, 表7给出了高斯计算得到的量子化学分子结构参数值。应用建立的 QSAR 模型, 对下述二次筛选的 19 种溢油污染物的毒性进行预测, 结果见表 7。从表 7 可以看出, 蒽、菲、芘、荧蒽四种化合物的 EC_{50} 预测值分别为: 621nmol/L, 32nmol/L, 27nmol/L 和 32nmol/L 而其实验结果为“无法测定”, 即: 在其溶解度范围内没有表现出毒性效应, 因此, 设定入选溢油特征污染物的 EC_{50} 临界值为 27nmol/L。

2.4 溢油事故特征污染物筛选结果

生物有效性是指化学物穿过生物膜而进入细胞的可能性, 由于污染物的自由溶解态浓度能比总浓度更好地反映污染物的生物有效性, 因此溢油特征污染物的 EC_{50} 还需小于其相应的在水中的溶解度。因此, 最终筛选出了溢油事故的 12 种二次筛选特征污染物名单, 包括 3 种 PAHs、8 种烷基化 PAHs 及 1 种 PAHs 氧化衍生物, 即: 苯并[a]芘、二苯并(a,h)蒽、屈、2,3,6-三甲基萘、2-甲基蒽、1-甲基菲、3-甲基菲、9-甲基菲、1,7-二甲基菲、3,6-二甲基菲、7-异丙基-1-甲基菲和苯并蒽酮。

2.5 溢油事故特征污染物筛选方法分析

QSAR 模型除了在有机污染物理化性质和生物活性预测中的基本应用之外, 近年来在污染物筛选方面也有进一步的应用和潜在前景(王斌等, 2007)。黄俊等(2003)按照持久性有机污染物(POPs)标准, 借鉴荷兰 PBT 筛选流程, 利用基于 QSAR 的计算机辅助工具 EPI 筛选得到 111 种 POPs 嫌疑物质。而利用基于 DFT 理论的 QSAR 模型筛选原油毒性特征污染物工作还未见相关报道。本研究通过借鉴前人发展的 PAHs 的毒性 QSARs 模型(Ribeiro *et al*, 2005; Wang *et al*, 2009a), 构建了 PAHs 及其甲基化衍生物对海洋端足类生物毒性 QSAR 模型, 并对溢油污染物(含风化产物)的毒性进行预测, 尝试提出溢油事故需重点关注的上述 12 种特征污染物。从当前的研究来看, 在溢油事故中关注的对象主要包括 US EPA 优控的 16 种 PAHs、烷基化取代 PAHs 及总石油烃含量(Hong *et al*, 2012; 曹磊等, 2013; 张耀丹等, 2013)。而菲及烷基取代菲等 PAHs 标志物的诊断比值用于风化溢油的来源鉴别, PAHs 标志物自身是否为重点关注的毒性组分还不明确。因此, 本研究应用 QSAR 模型等计算毒理学方法进行溢油毒性特征污染物筛选, 有望提高海洋环境管理部门对溢油污染物的监管和控制能力, 同时也为优先控制污染物的筛选提供新方法和新思路。

3 结论

本文结合美国溢油事件中的主要污染物分类方法, 针对溢油事故的潜在特征污染物进行 PBT 判别, 然后建立基于 DFT 分子结构参数的 QSAR 模型, 尝试性筛选出溢油事故的 12 种特征污染物, 包括 3 种 PAHs、8 种烷基化 PAHs 及 1 种 PAHs 氧化衍生物。由于 oxy-PAHs 中的醌类化合物中特殊的羰基官能团,

可能会导致其毒性预测结果具有较大的不确定性, 需要进一步发展相应的 QSAR 模型。此外, 需要拓展 QSAR 模型中所采用的水生生物类型, 以进一步确认溢油事故特征污染物筛选的准确性和可靠性并及时进行特征污染物的名单动态调整。

参 考 文 献

- 曹 磊, 韩 彬, 郑 立等, 2013. 基于特征比值的原油中 PAHs 标志物风化规律研究. 海洋与湖沼, 44(5): 1182—1188
- 陈景文, 李雪花, 于海瀛等, 2008. 面向毒害有机物生态风险评价的(Q)SAR 技术: 进展与展望. 中国科学 B 辑: 化学, 38(6): 461—474
- 黄 俊, 余 刚, 张彭义, 2003. 中国持久性有机污染物嫌疑物质的计算机辅助筛选研究. 环境污染与防治, 25(1): 16—19
- 王 斌, 余 刚, 黄 俊等, 2007. QSAR/QSPR 在 POPs 归趋与风险评价中的应用. 化学进展, 19(10): 1612—1619
- 张耀丹, 田胜艳, 刘宪斌等, 2013. 渤海西北部海域表层水体中 PAHs 的分布、来源及风险评价. 海洋与湖沼, 44(1): 255—261
- 郑 立, 崔志松, 高 伟等, 2012. 海洋石油降解菌剂在大连溢油污染岸滩修复中的应用研究. 海洋学报, 34(3): 163—172
- 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 2009. GB/T 24782-2009. 持久性、生物累积性和毒性物质及高持久性、高生物累积性物质的判别方法. 北京: 中国标准出版社, 1—7
- Becke A D, Johnson E R, 2005. A density-functional model of the dispersion interaction. J Chem Phys, 123(15): 154101
- Boese B L, Lamberson J O, Swartz R C *et al*, 1998. Photoinduced toxicity of pahs and alkylated PAHs to a marine infaunal amphipod (*Rhepoxynius abronius*). Arch Environ Contam Toxicol, 34(3): 235—240
- Frisch M J, Trucks G W, Schlegel H B *et al*, 2009. Gaussian 09, revision A.1. Wallingford CT, USA: Gaussian Inc
- Garrett R M, Pickering I J, Haith C E *et al*, 1998. Photooxidation of crude oils. Environ Sci Technol, 32(23): 3719—3723
- Hall A H. 1998. Computer modeling and computational toxicology in new chemical and pharmaceutical product development. Toxicol Lett, 102-103: 623—626
- Haritash A K, Kaushik C P, 2009. Biodegradation aspects of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs): A review. J Hazard Mater, 169(1—3): 1—15
- Hong S, Khim J S, Ryu J *et al*, 2012. Two years after the Hebei Spirit oil spill: Residual crude-derived hydrocarbons and potential AhR-mediated activities in coastal sediments. Environ Sci Technol, 46(3): 1406—1414
- Lee C, Yang W, Parr R G, 1988. Development of the colle-salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density. Phys Rev B Condens Matter, 37(2): 785—789
- Lundstedt S, White P A, Lemieux C L *et al*, 2007. Sources, fate, and toxic hazards of oxygenated polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) at PAH-contaminated sites. Ambio,

- 36(6): 475—485
- Mallakin A, Dixon D G, Greenberg B M, 2000. Pathway of anthracene modification under simulated solar radiation. *Chemosphere*, 40(12): 1435—1441
- Mao D, Lookman R, Van De Weghe H *et al*, 2009. Combining HPLC-GC×GC, GC×GC/Tof-MS, and selected ecotoxicity assays for detailed monitoring of petroleum hydrocarbon degradation in soil and leaching water. *Environ Sci Technol*, 43(20): 7651—7657
- Newsted J L, Giesy J P. 1987. Predictive models of photoinduced acute toxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons to *Daphnia magna*, strauss (cladoera, crustacea). *Environ Toxicol Chem*, 6(6): 445—461
- Ribeiro F A D, Ferreira M M C, 2005. QSAR model of the phototoxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons. *J Mol Struct-Theochem*, 719(1—3): 191—200
- Tsapakis M, Stephanou E G, 2007. Diurnal cycle of pahs, nitro-pahs, and oxy-pahs in a high oxidation capacity marine background atmosphere. *Environ Sci Technol*, 41(23): 8011—8017
- Vinas L, Franco M A, Soriano J A *et al*, 2009. Accumulation trends of petroleum hydrocarbons in commercial shellfish from the galician coast (NW Spain) affected by the prestige oil spill. *Chemosphere*, 75(4): 534—541
- Wang Y, Chen J W, Li F *et al*, 2009a. Modeling photoinduced toxicity of pahs based on DFT-calculated descriptors. *Chemosphere*, 76(77): 999—1005
- Wang Y, Chen J W, Lin J *et al*, 2009b. Combined experimental and theoretical study on photoinduced toxicity of an anthraquinone dye intermediate to *Daphnia magna*. *Environ Toxicol Chem*, 28(4): 846—852
- Wang Z, Hollebone B P, Fingas M *et al*, 2003. Characteristics of spilled oils, fuels, and petroleum products: 1. Composition and properties of selected oils. EPA 600-R03-072 US Environmental Protection Agency, Washington, DC
- Watson J S, Jones D M, Swannell R P J *et al*, 2002. Formation of carboxylic acids during aerobic biodegradation of crude oil and evidence of microbial oxidation of hopanes. *Org Geochem*, 33(10): 1153—1169
- Yender R, Michel J, Lord C, 2002. Managing seafood safety after an oil spill. Seattle, WA: Hazardous Materials Response Division, Office of Response and Restoration, National Oceanic and Atmospheric Administration, 6—8

SCREENING POLLUTANTS IN OIL SPILL INCIDENTS IN COMPUTATIONAL TOXICOLOGY

WANG Ying, WANG Ju-Ying, MU Jing-Li

(Key Laboratory for Ecological Environment in Coastal Areas, State Oceanic Administration, National Marine Environmental Monitoring Center, Dalian 116023, China)

Abstract We screened the main toxic characteristic pollutants in crude oil by computational toxicological method in view of the complexity of the oil components. Potential characteristic pollutants in the United States were identified based on the classification methods of the oil spill incidents in terms of persistence, bioaccumulation, and toxicity properties. A quantitative structure-activity relationship model was constructed in density function theory. Twelve characteristic pollutants in oil spill including 3 polycyclic aromatic hydrocarbons, 8 alkylated PAHs, and 1 oxygenated PAH were selected for modeling. This study may provide scientific guidance on oil pollution monitoring, management, and control for marine environmental management agencies.

Key words oil spill; characteristic pollutants; QSAR; DFT