

海岸带污染物联合毒性的预测及评价*

于德良^{1,2} 李斐^{1†} 吴惠丰¹ 赵建民¹

(1 中国科学院海岸带环境过程与生态修复重点实验室(烟台海岸带研究所),
山东省海岸带环境过程重点实验室,中国科学院烟台海岸带研究所,山东 烟台 264003)
(2 中国科学院大学,北京 100049)

摘要 海岸带区域的污染具有内容广泛、状况复杂和管理决策难度较大等特点。由于海岸带环境中的化学污染物往往以混合形式存在,因此单一化学品高剂量暴露下的生态毒性研究结果难以适用于环境中低剂量混合物的生态毒理效应诊断及风险评价。传统的风险评价体系多是在实验室模拟条件下以单一物质的急性或慢性毒性试验为依据,往往很难正确反映实际环境中污染物混合存在时的生态行为及环境危害。随着技术的进步和人类认识能力的进一步提高,研究者们已经聚焦于发展数学模型用以预测及评价化合物的联合毒性。本文对海岸带污染物联合毒性评价的研究进展进行了介绍和展望。

关键词 海岸带污染物;联合毒性;浓度加和;独立作用

海岸带环境污染主要包括各种陆源超标排放污染物,自然灾害如台风、火山爆发等也可能导致海岸带污染的产生,海岸带周边的养殖生产、海岸及浅海中矿砂的采掘及海岸工程也能造成海岸带污染,这些污染会破坏区域性海洋生态系统的稳定性^[1-3]。因此,海岸带区域的污染具有内容广泛、状况复杂、管理决策难度大等特点。

污染物大多以混合物形式存在于水体、土壤、沉积物等各种环境介质之中^[4,5]。绝对意义上的单一污染源是不存在的,所以单一污染物的毒性研究虽具有一定参考意义,但不能为环境标准制定和环境容量评估提供足够的参考依据,因此混合物对生物体的联合毒性越来越受到人们的重视。由于环境中化学混合物对人类健康存在潜在的危害,使得有关其生态毒理和风险评价的研究成为一个极为重要且极富挑战的学科领域,并正在成为环境生态学的一个重点研究方向。环境毒理学研究专家已收集了大量单一化合物对多种有机体的单一毒性数据(如美国环保局的生态毒理数据库)^[6],并对单一化

学物质的暴露情况进行了风险评价。然而,在真实环境中生物体通常暴露在多元化学物质之中而非单一物质。已有报道证实多元混合物在水生生态系统中暴露情况较为常见,包括地下水^[7]、淡水湖泊和溪水^[8]及井水^[9]。早在20世纪70年代,混合物污染问题就被欧洲内陆渔业咨询委员会(EIFAC/FAO)所认识^[10],据美国地质局最近的调查结果显示,自1992年到2011年,在许多河流和小溪、农业城市混合用地流域等地的农药浓度超过了水生生物基准^[11]。近几十年来国内外学者们也就混合污染和联合毒性开展了广泛研究^[12-16]。

对化合物毒性风险评价的传统方法是在实验室条件下测试生物量,而这种方法往往很难正确反映实际环境中污染物混合存在时的生态行为及环境危害。随着科学的发展和人们认识事物本质能力的提高,研究者们发现应用模型来预测化合物的毒性效应是替代上述实验的一种十分有效的方法。特别是现有的方法测得的化合物毒性大多是单一毒性,而要获得混合组分的联合毒性,模型预测则是既经济

收稿日期:2015-04-30

* 中国科学院重点部署项目(KZZD-EW-14)和中国科学院战略性先导科技专项(A类)(XDA11020405)资助

† 通讯作者;E-mail: fli@yic.ac.cn

作者简介:于德良(1988—),男,博士研究生,主要从事海洋生态毒理与环境基准研究。E-mail: dlyu@yic.ac.cn

又实用的方法。目前,联合毒性预测研究领域正受到越来越多环境研究者的关注。然而,更多的研究是在发展传统的联合毒性效应分类的方法上,却很少见研究预测混合物的联合毒性效应^[17,18]的文献。因此,亟需获得一种普遍适用的预测混合物联合毒性效应的有效方法,并且可以通过这种预测提高风险评价的质量和制定完善的生态标准。

近年来应用模型预测毒性替代实验测试毒性的方法得到了广泛的发展和应用。本文将对国内外已应用的联合毒性预测方法及近年出现的新的模型预测技术进行详细的介绍,具体包括以下几部分:(1) 海岸带混合污染物的介绍;(2) 联合毒性作用的机制和其分类方法的介绍;(3) 联合毒性的预测方法,包括定量结构-活性相关(QSARs)方法、浓度加和、独立作用及相互作用模型和非经典数学方法;(4) 联合毒性的预测分析及展望。

1 海岸带污染物的介绍

海岸带污染物主要来自陆源污染物,包括入海河流所携带的工业废水、农业污水及生活污水等。快速发展的化学工业给全球带来了许多自然界原本不存在的新合成化学物质,如药物、杀虫剂等。上述合成化学物质往往是通过各种渠道(河流、空气、地下水或土壤)以相当低的剂量悄然地进入海洋中的。就其毒性而言,虽然难以在短时间暴露中显现,却极大地威胁着人类健康与海洋生态安全。其污染的主要特点是:(1) 污染物种类多,含量低,通常属于在高剂量单一化学品研究中可忽略生态毒性效应的浓度;(2) 多组分混合暴露。在单一化学品未见毒害效应的浓度下,多组分联合暴露却可能表现出明显的毒害效应。基于评价的目的,美国国家环保局对化学混合物有如下定义:(a) 简单混合物是指含有两种或更多的可以确认的组分,但是混合物的毒性还不能完全通过组分毒性的组合和组分间的相互作用来描述;(b) 复杂混合物是指含有的混合组分之多难以基于其组分的毒性来对混合物的毒性进行估测^[19]。

2 联合毒性作用方式和作用机制分类方法

2.1 联合毒性作用方式

在毒理研究领域一直延续着一个传统,即研究潜藏在毒性效应下的机制原理。毒性作用方式可以定义为由可以描述产生生物负面效应的一类生理和行为的迹象所组成的普通集合^[20]。在混合毒理研究领域,在进行混合物组分的联合毒性预测前须确认组分对生物机体的毒性作用方式,以选用相应的模型加以预测或评价。一个混合体系中的组分间可能存在“相似作用(similar action)”、“非相似作用(dissimilar action)”或称“独立作用(independent action, IA)”和“相互作用(interaction)”^[21]。相互作用又包括协同作用和拮抗作用。

目前,在生态毒理学研究领域,对应物质间不同的联合作用方式,基于浓度加和、独立作用和相互作用三个概念建立的毒性预测模型主要有:浓度加和模型(concentration addition, CA)、独立作用模型(independent action, IA)、相互作用模型(IAI)和两步预测模型(two-step prediction, TSP)(图1)。

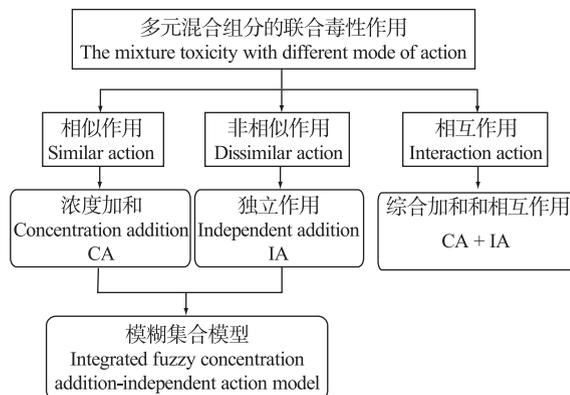


图1 对应不同作用方式的混合组分的联合毒性预测方法

Fig. 1 The prediction method for the mixture toxicity with different mode of action

目前,主要通过化学统计学的方法来判别物质间的毒性作用方式。由于化合物的分子结构所具有的信息可以反映其对机体的毒性信息,因此,具有相似结构的分子表现的毒性作用方式也可能一致。应用化学统计方法筛选相似性化合物的程序(图2)描述如下。

第一步,化学结构由分子描述符来描述。基于主成分分析、多维排列和分级聚类等方法,应用分子描述符,为结构相似性计算进行预处理。

第二步,在一系列单一化学物质的毒性数据基础上发展 QSARs 模型。应用基因算法(GA)在大量的分子描述当中选择最优的自变量用于发展毒性预测效果好的模型。QSARs 模型的预测能力可通过留一法(LOO)和多留法(LMO)进行验证。

第三步,以选择最优描述符为原则,为选择结构和毒理相似的化合物确认数据探测。数据确认遵循的是方程中的用于描述与毒性效应相关的一批选择性描述符集来评价相似性。因此,相似性反映的是结构与生物活性间的关系。

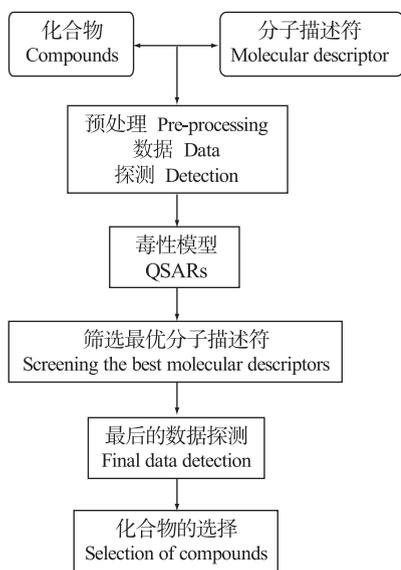


图 2 在化合物间研究分子结构和毒理相似性的关系的程序示意图

Fig. 2 A diagram of procedure on the relationship between molecular structure and toxicology similarity among compounds

2.2 毒性作用机制的分类方法

根据 Verhaar 等^[22]在 QSARs 方法基础上提出的对化合物毒性机制的分类方法以及毒性机制把化合物大致划分为四类:(1)惰性化合物;(2)次惰性化合物;(3)反应性化合物;(4)特殊反应性化合物。在评价污染物对水生生物体的潜在毒性效应中,随着对计算效率和毒理理论的进一步理解, QSARs 方法一直处在持续的发展当中^[23,24]。

毒性作用机制具体判定过程如下:(1)根据 QSARs 方程计算各化合物的基本毒性;(2)求算 TR 值(实验值与预测的基本毒性的比值)并应用毒效因子区间进行分类,具体描述如下:

$$\log TR = \log \left\{ \frac{LC_{50 \text{ predicted (baseline)}}}{LC_{50 \text{ actual}}} \right\} = \log LC_{50 \text{ predicted (baseline)}} - \log LC_{50 \text{ actual}} \quad (1)$$

当 $TR \leq 1$ 时,化合物的毒性机制属第一类,即非极性麻醉毒性;当 $5 \leq TR \leq 10$ 时,化合物的毒性机制属第二类,即极性麻醉毒性;当 $10 < TR < 10^4$ 时,化合物的毒性机制属第三类或第四类,即反应性毒性或特殊反应性毒性。

3 联合毒性的预测方法

由于毒性作用方式和物质间相互作用的不同,化学物质组成的混合物可产生不同的毒理学效应,包括拮抗、加和、独立和协同作用^[10]。在环境毒理学研究领域,对于复合污染物之前的研究主要集中在对混合体系中的组分进行效应的评价,常用的评价方法有:毒性单位(TU)、相加指数(AI)、相似性参数(λ)和混合毒性指数(MTI)等联合毒性评价方法^[25-28]。这些方法对混合体系的联合效应评价结果具有较好的一致性,都是联合毒性评价的可行性方法。

在环境毒理学和环境化学领域,至今大多数的研究依旧关注于单一化学物质的特性,而对物质间联合作用的研究还很少。而且,对于联合毒性效应的研究仅仅在定量上被描述为“加和”,“协同”或“拮抗”。Könemann 等^[29]引入混合毒性指数(MTI),然而,并不是所有的指数方法都能直接用来预测混合物的毒性。提高混合物联合毒性的预测能力有助于正确的评价危险化学物质的环境安全,以及有效保障生态安全和人类身体健康。

3.1 定量结构-活性相关(QSARs)预测方法

目前,一种基于化学结构和毒性关系的定量结构-活性相关模型(QSARs)已成为预测单一有机化学物质毒性最为有效的方法之一。如果这种数学关系能够拓展到混合体系,那么, QSARs 方法就可以在联合毒理研究领域得到进一步发展。因此,混合物的联合毒性效应可以通过该方法来预测。

用于预测化合物生态毒性的 QSARs 模型是在分子结构描述符与化合物的生态毒理效应值之间建立数学关系。一个复合体系的生态毒性主要是依赖体系组分的分配形式,这是因为毒性值与分子描述符之间呈非线性相关关系。QSARs 模型已普遍用于预测化合物的单一毒性,近年来将这一方法用于混合物联合毒性研究的报导也屡见不鲜^[30,31]。苏丽敏等^[32]在测定酚类化合物单一毒性的基础上,同时测定了二元混合物的联合毒性,建立了 QSARs 模型,进而对联合毒性进行了预测。Boeije 等^[33]发展了新的 QSARs 模型,结合加和联合毒性的概念来预测乙醇乙氧基化物类表面活性的混合物,并且在应用相同数据集的情况下,该模型所得到的结果比现有的 QSARs 模型拟和效果及预测准确性更好。应

用 QSARs 模型预测混合物的联合毒性应基于两个前提条件:(1) 化合物间的联合作用是简单的相加作用;(2) 所建的 QSARs 方程能很好地预测化合物的单一毒性。这样可以应用加和联合毒性的概念来预测该类混合体系的整体的生态毒性。应用该方法,假设混合物的生态毒性等于各组单一毒性之和。对于组分 i 来说,通过毒性终点值(TOX_i 如 EC_{50} , $NOEC$ 等)乘以组分占混合体系的浓度分数(f_i)的倒数来计算组分 i 的毒性单位(TU_i)。依次类推,混合体系中所有毒性单位之和的倒数表示整个混合体系的生态毒性值($TOX_{mixture}$, 也可被写作 TOX_i , EC_{50} 或 $NOEC$),混合体系的毒性值可记作:

$$TOX_{mixture} = \frac{1}{\sum_i TU_i} = \frac{1}{\sum_i f_i / TOX_i} \quad (2)$$

公式(2)可直接用来计算由实验值测定的二元混合物的联合毒性值。该公式也可用在对复合体系的生态毒性 QSARs 模型的发展上。在以上公式中,混合体系(TOX_i)中的每个组分的毒性值可以用

QSARs 的形式来表达,并以单一物质分子描述符($QSAR_i$)预测单一物质的生态毒性:

$$TOX_{mixture} = \frac{1}{\sum_i f_i / QSAR_i} \quad (3)$$

残差技术可被用来确定 QSAR 参数,残差应该以毒性值的对数为底来计算:

$$SSE = \sum_i [\log(TOX_{mixture.i}^{QSAR}) - \log(TOX_{mixture.i}^{measured})]^2 x = \sum_i [\log(\frac{1}{\sum_i f_i / QSAR_i}) - \log(TOX_{mixture.i}^{measured})]^2 \quad (4)$$

这里, $TOX_{mixture.i}^{measured}$ 是实验测得的混合体系中组分 i 的毒性; $TOX_{mixture.i}^{QSAR}$ 是 QSARs 模型计算的混合体系中组分 i 的毒性。

测得的毒性数据,分子描述符和混合体系中每个组分的分数均已知。因此唯一影响 SSE 的变量是 QSAR 参数。在 SSE 公式中可以通过优化 QSAR 参数使 SSE 最小化。这种应用 QSARs 来预测混合物的联合毒性的方法可以通过图 3 来描述。

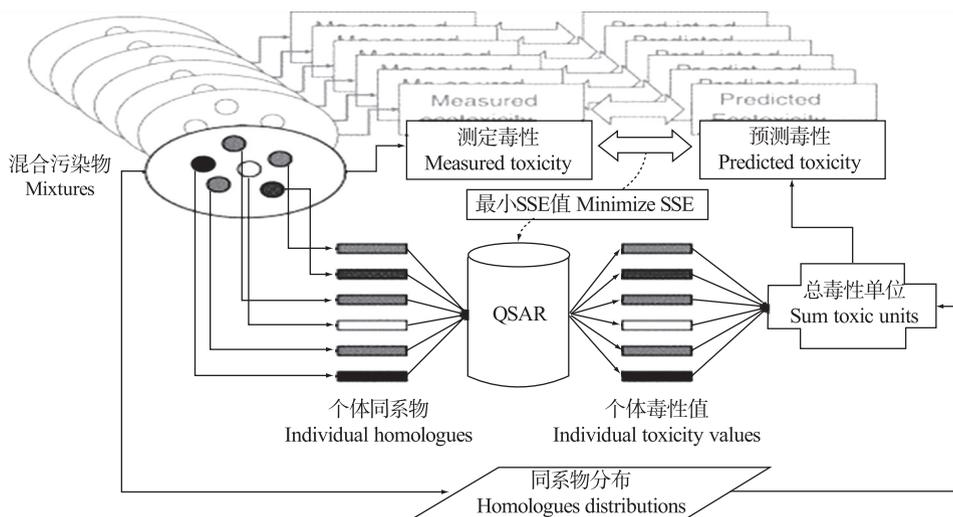


图3 联合毒性基础的 QSARs 拟合原则

Fig. 3 The principle of mixture-toxicity-based QSAR fitting

另外一种以 QSARs 方法预测联合毒性的理论是以化合物性质为基础的。Verhaar 等^[22]发展了单一物质和混合物的生物富集因子与 C_{18} -containing EmporeTM disk-水分配系数关系并提出了一个用来计算混合物 C_{18} -containing EmporeTM disk-水分配系数的公式。基于该公式 Lin 等^[34]和 Yu 等^[35]用 C_{18} -Empore disk 计算了 20 种卤化混合物的分配系数,结果显示实验观察值和毒性预测值有很好的一致性。如果这种数学关系可以用于混合物的预测,那

么 QSARs 方法可以提供有效的途径来预测混合物的联合毒性。Lin 等^[36-38]在这方面做了一系列的研究,他们已应用 QSARs 的方法评价基于生氰类毒物和乙醛的物质与物质间的相互作用机制的联合毒理效应,并研究发现生氰类毒物与乙醛之间的相互作用是由碳负离子的形成引起的,因此这种相互作用导致了两大类物质间的不同联合毒性效应的产生。

但是现有的报道中,应用 QSARs 方法预测混合物的联合毒性都是以研究二元混合物为主,因此基

于 Boeije 等^[33]的预测方法还存在局限;其次,生物体内对各化合物间相互作用以及潜藏在混合物毒性下的相互作用机制还没有可靠的认知;另外,还不能获得以机制为基础的数学关系。总之,对于混合物的 QSARs 的发展最大的难题在于缺乏对涉及生物效应的混合物中相关化合物之间相互作用的认识。

3.2 统计学模型用于联合毒性的预测

3.2.1 浓度-效应曲线

预测混合物联合毒性的模型需要有对组成混合体系的单一化合物毒性进行的描述。浓度-效应曲线提供了丰富的定量数据用来描述单一化合物的毒性以及提供了一种比较不同化合物的毒性大小和特征的手段。以实验数据为基础,要准确地描述剂量-效应关系 (concentration - response curves, CRCs)。在统计学上,常应用非线性回归模型来对数据进行模拟并进行非线性拟和。普遍应用于生态毒理学上的标准回归模型利用的是正态分布 (如概率分析)、对数分布 (如对数分析) 或者是 Weibull 分布 (如 Weibit 分析) 三种分布方程。CRCs 模型可简化记作:

$$R = \frac{1}{1 + \left(\frac{EC_{50}}{C}\right)^\rho} \quad (5)$$

这里 R 表示化合物产生的效应 ($\times 100\%$), EC_{50} 是化合物对受试生物产生 50% 效应时所对应的浓度。 C 对应化合物的浓度, ρ 是曲线的幂或斜率。这种非线性回归的方法规格化了浓度 - 效应曲线, 并且使混合物毒性预测模型应用于各种毒性终点 (如 EC_{50} , LC_{50})。

3.2.2 CA 模型

Bliss^[39]第一次把 CA 模型这一概念应用于混合模型研究中。CA 模型可描述为:

$$\frac{C_a}{ECx_a} + \frac{C_b}{ECx_b} = 1 \sum_{i=1}^n \frac{C_i}{ECx_i} = 1 \quad (6)$$

第一个公式表示二元体系的联合作用;第二个公式描述的是由 n 种组分组成的混合体系的联合作用。 C_a 表示化合物 a 的浓度, x 表示暴露于混合体系所产生的效应, EC_{xa} 是化合物 a 产生 x 效应时的浓度。

这种方法是基于混合体系中的所有物质都是通过相同的作用机制而产生的效应这一假设为前提的。在环境毒理学的研究中,CA 模型已经有效地预测了具有已知相同作用机制的混合污染物体系。

两种化合物 A 和 B 都在相同的生理位点上产生同样的毒性作用,因而导致了等同的效应。A 和 B 可能会在产生效应得程度上有所不同 (图 4)。

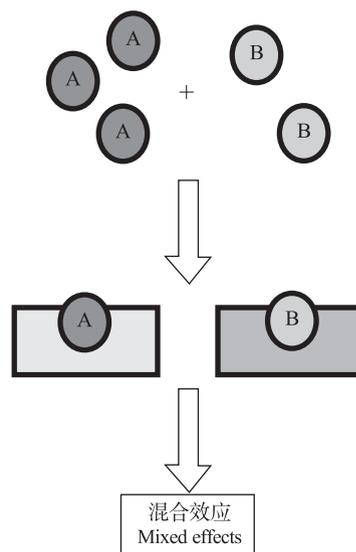


图 4 CA 模型示意图

Fig. 4 The representation of concentration addition

3.2.3 IA 模型

IA 这一概念用来描述混合物的联合毒性。与 CA 概念不同的是,应有 IA 的混合体系中的各化合物所产生的效应是经过完全不同的作用机制所完成的 (图 5)。在环境毒理学研究中,IA 模型同样有效的预测了混合体系当中具有不同作用机制的组分联合作用^[40,41]。

IA 模型公式如下:

$$R_{\text{mix}} = R_a + R_b - R_a R_b \quad R_{\text{mix}} = 1 - \prod_{i=1}^n (1 - R_i) \quad (7)$$

第一个公式表示二元混合体系的联合作用 (化合物 a 和化合物 b);第二个公式表示的是一般的由 n 种组分组成的混合体系的联合作用。 R_{mix} 表示混合物产生的总效应; R_i 是化合物 i 产生的效应。

如图 5,IA 模型的示意图。化合物 A 和化合物 C 分别作用于不同的生理位点,但贡献于相同体系产生的效应。

3.2.4 相互作用模型

环境中具有代表性的混合物大都是由相同作用机制的化合物组成的,而少数也有由毒性机制不同化合物的组成。而 CA 模型和 IA 模型应用的前提是混合体系中的各组分不发生相互作用,因而,CA 和 IA 都不适合评价这些组合的化合物的联合毒性。对于简单混合物的机制研究越来越关注的是化合物

间的相互作用,也就是非加和作用^[42](包括CA和效应加和作用),我们把这些模型综合在一种形式中,结合CA和IA两个模型来评价混合毒性作用。

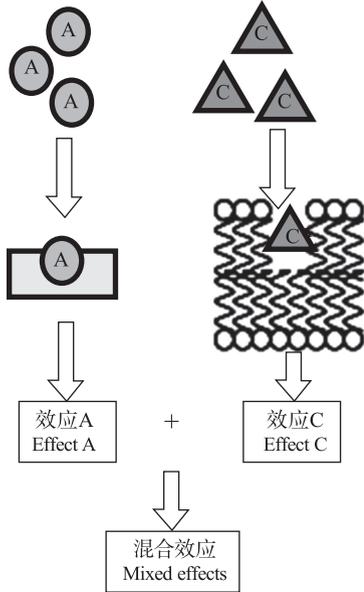


图5 IA模型的示意图

Fig. 5 The representation of independent action

首先基于作用机制相同的原理把每个混合组分赋值在“盒子”中。再基于化合物的毒理学知识及平行的浓度-效应曲线对“盒子”进行分配,“盒子”的分配还可通过结构-活性分析进行判断。应用CA方法计算与单个“盒子”有关的效应。各“盒子”组合到一起之后的总的联合效应可通过IA模型进行计算。这个模型公式描述如下:

$$R = 1 - \frac{1}{1 + \frac{1}{\left(\sum_{i=1}^n \frac{C_i}{EC_{50i}} \right)^{p_{avg,i}}}} \quad (8)$$

这种组合模型的方法成功的应用于预测混合物的联合毒性。

3.2.4.1 浓度相互作用

当暴露一种物质后可以导致另一种物质在其靶位点的有效浓度,这样物质间会发生浓度相互作用。例如,一种物质可能会影响另一种物质的代谢,因而会导致一种物质在其靶位点量的增加或减少(图6)。这些作用可以归纳在以下的模型中:

$$R = 1 - \frac{1}{1 + \frac{1}{\left[\sum_{i=1}^n \frac{k_{a,i}(C_a) \times C_i}{EC_{50i}} \right]^{p_{avg,i}}}} \quad (9)$$

这个相互作用方程中 $k_{a,i}(C_a)$ 表示化合物 a 影

响化合物 i 在其靶位点的效应浓度的程度大小。这个方程并不是一个常数方程而是依赖化合物 a 的浓度。当 a 的浓度接近 0 时, $k_{a,i}(C_a)$ 的值接近 1。如果这个方程的值随着 a 的浓度值增加,那么它们之间的相互作用是协同作用。如果这个方程的值随着 a 的浓度值降低,那么它们之间的相互作用呈现拮抗。 k 值可以在实验中通过定量修饰化合物在受影响的化合物的浓度-效应曲线的作用来获得。如图 6 所示,化合物 B 通过抑制 P450 酶以达到对化合物 A 的代谢解毒作用。这导致化合物 A 在其靶位点处高浓度的聚集,故混合效应呈现协同作用。

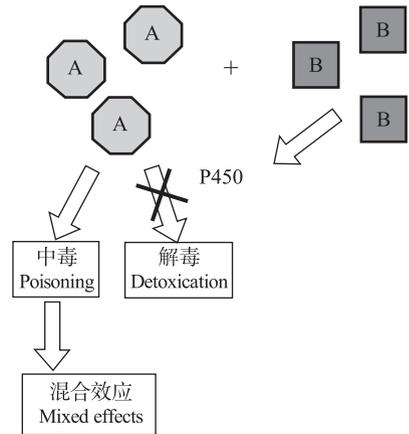


图6 相互作用示意图

Fig. 6 The representation of interaction

3.2.4.2 效应相互作用

当暴露一种物质之后,该物质改变另一种正在作用的物质效应,这样物质间发生效应相互作用。这种相互作用典型的例子是物质 B 提高靶位点对 A 的敏感性影响以达到对 A 的靶位点的修饰作用。由于这些是效应修饰作用,因而它们通常可以在“盒子”间定量而非在单个物质间量化:

$$R = 1 - \prod_{I=1}^N \frac{1 - K_{A,I}(C_{eff,A}) \times \frac{1}{1 + \frac{1}{\left(\sum_{i=1}^n \frac{C_i}{EC_{50i}} \right)^{p_{avg,i}}}}}{1 + \frac{1}{\left(\sum_{i=1}^n \frac{C_i}{EC_{50i}} \right)^{p_{avg,i}}}} \quad (10)$$

相互作用方程 $K_{A,I}(C_{eff,A})$ 表示在“盒子”A 的化合物在毒理动力学相互作用中改变“盒子”I 的效应的能力。这里方程的核心 $C_{eff,A}$ 是“盒子”A 的效应浓度。当“盒子”A 的有效浓度达到 0 时,方程(10)的值为 1。如果 $K_{A,I}(C_{eff,A})$ 的值随着“盒子”A 的浓度增加,那么相互作用呈现协同。相反,则呈现拮抗。

为实现算法的计算机化,模型还要进一步的细

化。最后,可以预测这些模型将成为有效的数学工具用来评价毒性实验的结果或通过现存数据库中的有效信息来计算混合物的毒性。

3.3 非经典数学方法预测混合物的联合毒性

在预测混合物的联合毒性作用时,一般的方法是应用 CA 和 IA 模型进行预测。但是由于两种模型的预测能力均受到混合体系中各组分的毒性机制的限制,如 CA 模型只对具有相似作用机制的化合物组成的混合体系有较好的预测能力,而 IA 模型只适用于具有不同作用机理的化合物组成的混合体系。然而,在实际的环境中,混合污染物更为常见,并且其成分更为复杂,现有的毒性机制的分类及评价方法难以对这些复杂成分的毒性作用机制进行明确的判定。另外,在预测非相互作用混合体系的联合毒性时,CA 模型预测的毒性比 IA 模型要高,因此许多人建议应广泛推广 CA 模型。这种理念被称为“预防原理”。然而,应用这一原理会显著地高估毒性的风险。基于以上模型在预测上所带来的问题,因此发展新的预测方法以真实反映环境中污染物混合的联合作用,是环境毒理研究者们关注的焦点。

近年来,为了克服现有模型(CA 和 IA)的局限性,Mwense 等^[43-45]应用非经典数学方法“模糊数学”对有机物非相互作用的联合毒性进行预测,结合 CA 和 IA 模型建立了 INFCIM (integrated fuzzy

concentration addition-independent action model) 模型。经实验证实,INFCIM 较 CA 和 IA 模型都有更强的预测能力。

INFCIM 模型方法是基于以下假设条件建立的:在混合体系中包含的组分的毒性作用机制既可以是相似的(similarity)也可以是非相似的(dissimilarity)。INFCIM 模型的基本框架如图 7 所示,该方法的建模过程的具体步骤如下:(1) 对于含有 n 种组分的混合体系来说,首先作出所有组分及混合物 M 中给定的组分(记做 P)的剂量或浓度反应曲线(CRCs);(2) 用分子模型计算每种组分的描述符。计算的分子描述符中应包括应用在 QSARs 模型预测毒性中较为重要的一些描述符;(3) 通过分子描述符来计算分子间距离,然后再用模糊隶属函数计算混合组分间的二元相似性或非相似性;(4) 基于各分子对间的相似或非相似值来计算整个混合体系的相似性和非相似性全权重;(5) 建立混合体系 M 中给定组分 P 的 CRCs,应用浓度-效应关系优化选择模糊隶属方程,并且可以调整隶属函数的参数值。如图 8 所示,这些优化的方程和参数可以进一步用在具有相同组分但浓度配比不同的混合体系的预测当中;(6) 如果 CRCs 仅对单一组分的建模是有效的,而对混合组分无效的话,模糊隶属函数和其参数值可从其他与该混合体系毒性终点相同的体系中获得。

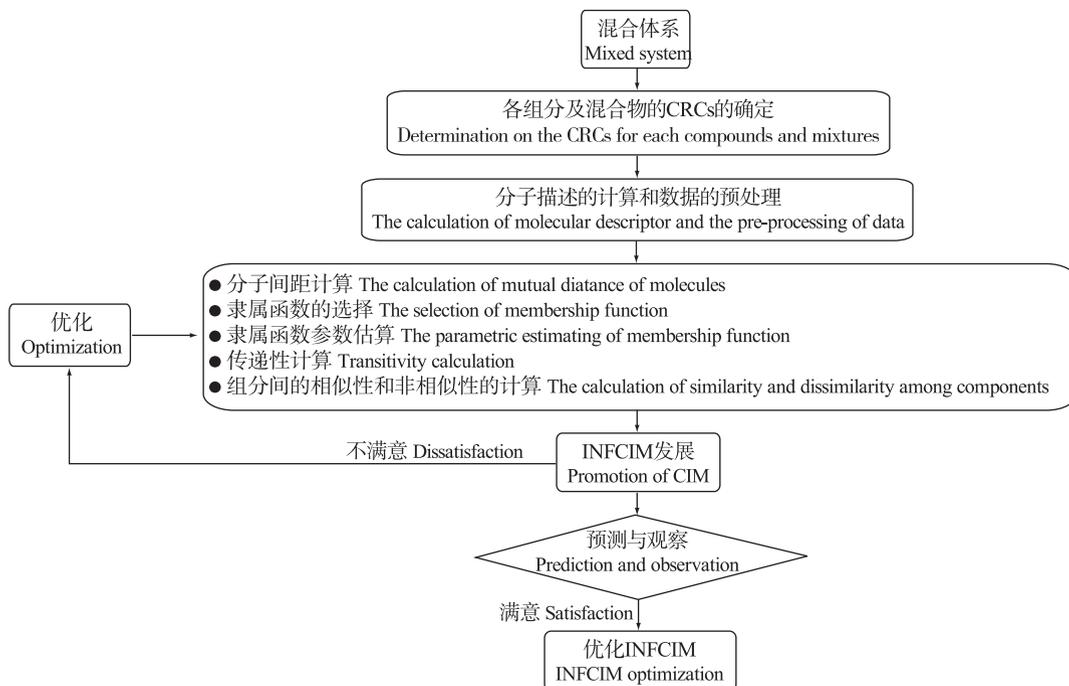


图7 INFCIM 模型的基本框架

Fig.7 The framework of INFCIM approach

INFCIM 模型公式如下:

$$EC_{x,mix} = w_A \cdot (CA) + w_B(IA) \quad (11)$$

其中, $EC_{x,mix}$ 表示混合物的效应浓度; w_A 、 w_B 代表“CA”和“IA”模型在 INFCIM 模型中的分配权重。

对 INFCIM 模型总体评价如下:(1) 在混合体系存在非相互作用的毒性预测方面, INFCIM 模型比现有的 CA 和 IA 模型表现了更好的预测能力;(2) INFCIM 可以看作是 QSARs 联合毒性预测模型,但也有所区别;(3) 将来有必要研究应用数据压缩技术(如主成分分析),在进行相似和非相似性模糊描述前对数据做预处理;(4) 目前对模糊隶属函数和其参数的选择及描述均通过人工手段进行,因此,这种机械地选择隶属函数和优化参数的方法在今后的研究中还有待改进;(5) 这种方法还需通过更多的混合物数据集进行验证,且对比现有模型评价其预测能力;(6) 将 INFCIM 与过程模拟工具相结合,提供了用以选择毒性最小化策略的手段。

4 联合毒理预测分析展望

通过以上对混合物的联合毒性预测方法的介绍,结合现有的实验体系,可以把对海岸带污染物的联合毒性的整个预测过程概括为以下七个部分:

(1) 发展生物统计的方法用来建立浓度-效应关系,对低效应浓度进行估算,以及联合毒性的统计学进行评价;(2) 详尽的实验设计方案,该实验设计在 EC_1 和 EC_{90} 范围内应与浓度-效应方程的统计估算相一致;(3) 以对受试化合物的作用方式或化学统计分析的结果的掌握为基础来选择化合物及产生受试混合物;(4) 通过实验和生物统计分析建立单一物质对单一受试物种的浓度-效应曲线;(5) 通过计算获得联合毒性的预测值;(6) 通过实验进一步确定联合毒性值;(7) 对实验观测值和模型预测值及单一混合组分的效应值进行对比。

目前,由具有明确的作用方式和充分毒理学信息的化学组分组成的主要混合物已经得到分析和评价,主要应用的是基于混合组分相对毒性的比率法。相反,在水生和陆地环境中,组分的混合形式及其混合比率主要依赖初始量、分布状态和持久性。因此,联合毒理预测的发展方向应在分析更多的非均匀混合的混合物上,并且混合物的混合比率能够反映出环境中实际暴露的情况。为填补这种研究上的缺陷,提出以下可能的方案:(1) 评价假定在现实环境

中混合物可能发生暴露的情况(包括在城市和工业排放源、农田径流区等);(2) 由于在环境中混合形式是具有代表性存在的物质形态,就要对单一物种及生物群落和混合物的联合毒性效应之间的相关性进行评价;(3) 评价环境中是否存在混合物的毒性可以以单一污染物的毒性为基础进行预测;(4) 制定公认的“优先”混合污染物的方案。

参考文献

- [1] Gao X, Zhou F, Chen C T A. Pollution status of the Bohai Sea: an overview of the environmental quality assessment related trace metals. *Environ. Int.*, 2014, 62: 12-30
- [2] Tong S, Song N, Yan H, et al. Management measures and recommendations in improving the Bohai Sea environment over the last quarter century. *Ocean Coast. Manag.*, 2014, 91: 80-87
- [3] Zhou R, Qin X, Peng S, et al. Total petroleum hydrocarbons and heavy metals in the surface sediments of Bohai Bay, China: Long-term variations in pollution status and adverse biological risk. *Mar. Pollut. Bull.*, 2014, 83(1): 290-297
- [4] Rolf A, Thomas B, Wolfgang B, et al. Simplifying complexity: mixture toxicity assessment in the last 20 years. *Environ. Toxicol. Chem.*, 2013, 32(8): 1685-1687
- [5] Song Y F, Gong P, Zhou Q X, et al. Phytotoxicity assessment of phenanthrene, pyrene and their mixtures by a soil based seedling emergence test. *J. Environ. Sci.*, 2005, 17(4): 580-583
- [6] Monosson E. Chemical mixtures: considering the evolution of toxicology and chemical assessment. *Environ. Health. Perspect.*, 2005, 113: 383-390
- [7] Kolpin D W, Barbash J E, Gilliom R J. Pesticides in ground water of the United States, 1992-1996. *Ground Water*, 2000, 38(6): 858-863
- [8] Kolpin D W, Furlong E T, Meyer M T, et al. Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in US streams, 1999-2000: A national reconnaissance. *Environ. Sci. Technol.*, 2002, 36(6): 1202-1211
- [9] Stackelberg P E, Kauffillan L J, Ayers M A, et al. Frequently co-occurring pesticides and volatile organic compounds in public supply and monitoring wells, southern New Jersey, USA. *Environ. Toxicol. Chem.*, 2001, 20(4): 853-865
- [10] Vighi M, Altenburger R, Arrhenius A, et al. Water quality objectives for mixtures of toxic chemicals: problems and perspectives. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 2003, 54(2): 139-150
- [11] Stone W W, Gilliom R J, Ryberg K R. Pesticides in U. S. streams and rivers: occurrence and trends during 1992-2011. *Environ. Sci. Technol.*, 2014, 48: 11025-11030
- [12] Tong F, Zhao Y, Gu X, et al. Joint toxicity of tetracycline with copper (II) and cadmium (II) to *Vibrio fischeri*: Effect of complexation reaction. *Ecotoxicology*, 2014: 1-10
- [13] Gatidou G, Stasinakis A S, Iatrou E I. Assessing single and joint

- toxicity of three phenylurea herbicides using *Lemna minor* and *Vibrio fischeri* bioassays. *Chemosphere*, 2015, 119: S69-S74
- [14] Feng M, He Q, Meng L, et al. Evaluation of single and joint toxicity of perfluorooctane sulfonate, perfluorooctanoic acid, and copper to *Carassius auratus* using oxidative stress biomarkers. *Aquat. Toxicol.*, 2015, 161: 108-116
- [15] Huang B, Feng M, Li D, et al. Antagonistic joint toxicity assessment of two current-use phthalates with waterborne copper in liver of *Carassius auratus* using biochemical biomarkers. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 2015, 116: 107-112
- [16] Mori I C, Arias-Barreiro C R, Koutsaftis A, et al. Toxicity of tetramethylammonium hydroxide to aquatic organisms and its synergistic action with potassium iodide. *Chemosphere*, 2015, 120: 299-304
- [17] Chen C Y, Chiou Y S. Toxicity of binary mixtures of organic chemicals. *Environ. Toxicol. Water Qual.*, 1995, 10: 97-106
- [18] Chen C Y, Huang C F. Toxicity of organic mixtures containing cyanogenic toxicants. *Environ. Toxicol. Chem.*, 1996, 15: 1464-1469
- [19] Monosson E. Chemical mixtures: considering the evolution of toxicology and chemical assessment. *Environ. Health Perspect.*, 2005, 113: 383-390
- [20] Beate I E, Joop L M H. Modes of action in ecotoxicology: their role in body burdens, species sensitivity, QSARs, and mixture effects. *Environ. Sci. Technol.*, 2002, 36(20): 4201-4217
- [21] Borgert C J, Quill T F, McCarty L S, et al. Can mode of action predict mixture toxicity for risk assessment? *Toxicol. Appl. Pharm.*, 2004, 201: 85-96
- [22] Verhaar H J, Busser F J, Hermens J L. Surrogate parameter for the baseline toxicity content of contaminated water: simulating the bio-concentration of mixtures of pollutants and counting molecules. *Environ. Sci. Technol.*, 1995, 29(3): 726-734
- [23] Cleuvers M. Mixture toxicity of the anti-inflammatory drugs diclofenac, ibuprofen, naproxen, and acetylsalicylic acid. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 2004, 59: 309-315
- [24] Boeije G M, Cano M L, Marshall S J, et al. Ecotoxicity quantitative structure-activity relationships for alcohol ethoxylate mixtures based on substance-specific toxicity predictions. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 2006, 64: 75-84
- [25] Altenburger R, Backhaus T, Boedeker W, et al. Predictability of the toxicity of multiple chemical mixtures to *Vibrio fischeri*: Mixtures composed of similarly acting chemicals. *Environ. Toxicol. Chem.*, 2000, 19(9): 2341-2347
- [26] Lin Z, Du J, Yin K, et al. Mechanism of concentration addition toxicity: they are different for nonpolar narcotic chemicals, polar narcotic chemicals and reactive chemicals. *Chemosphere*, 2004, 54: 1691-1701
- [27] Michael C. Mixture toxicity of the anti-inflammatory drugs diclofenac, ibuprofen, naproxen, and acetylsalicylic acid. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 2004, 59: 309-315
- [28] Junghans M, Backhaus T, Faust M, et al. Application and validation of approaches for the predictive hazard assessment of realistic pesticide mixtures. *Aquat. Toxicol.*, 2006, 76: 93-110
- [29] Könnemann H. Fish toxicity tests with mixtures of more than two chemicals: a proposal for a quantitative approach and experimental results. *Toxicology*, 1981, 19(3): 229-238
- [30] Cronin M T D, Dearden J C. QSAR in toxicology. 3. prediction of chronic toxicities. *Quantitative Structure-Activity Relationships*, 1995, 14(4): 329-334
- [31] Scior T, Medina-Franco J L, Do Q T, et al. How to recognize and workaround pitfalls in QSAR studies: a critical review. *Curr. Med. Chem.*, 2009, 16(32): 4297-4313
- [32] 苏丽敏,袁星,丁蕴铮.用 QSAR 模型预测苯酚类化合物对发光菌的联合毒性. *中国环境科学*, 2003, 23(2): 148-151. Su L M, Yuan X, Ding Y Z. Use of QSAR model to predict the joint toxicity of phenols to photobacterium phosphoreum. *China Environ. Sci.*, 2003, 23(2): 148-151
- [33] Boeije G M, Cano M L, Marshall S J B, et al. Ecotoxicity quantitative structure-activity relationships for alcohol ethoxylate mixtures based on substance-specific toxicity predictions. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 2006, 64(1): 75-84
- [34] Lin Z F, Yu H X, Wei D B, et al. Prediction of mixture toxicity with its total hydrophobicity. *Chemosphere*, 2002, 46: 305-310
- [35] Yu H X, Lin Z F, Feng J F, et al. Development of quantitative structure activity relationship in toxicity prediction of complex mixtures. *Acta. Pharmacol. Sin.*, 2001, 22: 45-49
- [36] Lin Z, Wei D, Wan X, et al. Chemical-chemical interaction between cyanogenic toxicants and aldehydes: a mechanism-based QSAR approach to assess toxicological joint effects. *SAR QSAR Environ. Res.*, 2004, 25(2): 127-138
- [37] Lin Z, Zhong P, Yin K, et al. Quantification of joint effect for hydrogen bond and development of QSARs for predicting mixture toxicity. *Chemosphere*, 2003, 52(7): 1199-1208
- [38] Lin Z, Yu H, Wei D, et al. Prediction of mixture toxicity with its total hydrophobicity. *Chemosphere*, 2002, 46(2): 305-310
- [39] Bliss C I. The toxicity of poisons applied jointly. *Ann. Appl. Biol.*, 1939, 26(5): 585-615
- [40] Baekhaus T, Altenburger R, Boedeker W, et al. Predictability of the toxicity of a multiple mixture of dissimilarly acting chemicals to *Vibrio fischeri*. *Environ. Toxicol. Chem.*, 2000, 19(9): 2348-2356
- [41] Walter H, Consolaro F, Gramatica P, et al. Mixture toxicity of priority pollutants at no observed effect concentrations (NOECs). *Ecotoxicology*, 2002, 11: 299-310
- [42] Melvin E A, James E D. Mechanistic approaches for mixture risk assessments-present capabilities with simple mixtures and future directions. *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 2004, 16: 1-11
- [43] Mwense M, Wang X Z, Buontempo F V, et al. Prediction of non-interactive mixture toxicity of organic compounds based on a fuzzy set method. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, 2004, 44: 1763-1773
- [44] Buontempo F V, Wang X Z, Young A, et al. Induction of decision trees using genetic programming for modeling ecotoxicity data: adaptive discretization of real-valued endpoints. *SAR QSAR Envi-*

ron. Res. , 2006, 17(5) : 45-471

and fuzzy membership functions. SAR QSAR Environ. Res. ,

[45] Mwense M, Wang X Z, Buontempo F V, et al. QSAR approach
for mixture toxicity prediction using independent latent descriptors

2006, 17(1) : 53-73

PREDICTION AND EVALUATION OF MIXTURE TOXICITY FOR THE POLLUTANTS IN COASTALZONE

Yu Deliang^{1,2} Li Fei^{1†} Wu Huifeng¹ Zhao Jianmin¹

(1 Key Laboratory of Coastal Environmental Process and Ecological Remediation, Yantai Institute of Coastal Zone Research(YIC) ,

Chinese Academy of Science(CAS) ; Shandong Provincial Key Laboratory of Coastal Environmental Process, YICCAS, Yantai, Shandong 264003, China)

(2 University of the Chinese Academy of Science, Beijing 100049, China)

Abstract The marine pollution in coastal zone area is characterized by a broad and complex situation which can be difficult to make management decisions. In the present, the ecological toxicity studies mainly focus on the high dose exposure of a single chemical, which can be difficult to evaluate the ecological toxicology effects for the low dose pollutant mixtures in actual environment. The traditional risk assessment system is based on acute or chronic toxicity tests under the laboratory simulation conditions using a single pollutant; however, it is difficult to correctly reflect the ecological behaviors and the detrimental effects of the mixed pollutants. With the progress of technology and the further increase of human cognition, more researchers have concentrated on the development of mathematical models by which prediction and evaluation of the mixture toxicity can be made. In this study, an introduction and expectation was given on mathematical models assessment and prediction of mixture toxicity for coastal zone pollutants.

Key words Coastal zone pollutants; Mixture toxicity; Concentration addition; Independent action