

# 混合污染物联合毒性研究进展

曾鸣<sup>1,4</sup>, 林志芬<sup>1,2,3\*</sup>, 尹大强<sup>2</sup>, 殷克东<sup>1</sup>

(1.中国科学院南海海洋研究所,热带海洋环境动力学重点实验室,广东 广州 510301;

2.同济大学环境科学与工程学院,长江水环境教育部重点实验室,上海 200092;

3.厦门大学环境学院,近海海洋环境科学国家重点实验室,福建 厦门 361005; 4.中国科学院研究生院,北京 100049)

**摘要** 环境污染几乎都以混合物的形式存在。文章以污染物联合毒性研究的发展为主线,介绍了联合毒性定性研究方法(毒性单位TU法、加和指数AI法、混合毒性指数MTI法及相似参数 $\lambda$ 法)和定量研究方法(以TU和 $\lambda$ 为参数的方法和混合化合物的定量结构-活性相关QSAR法),简要概述了各方法的优缺点。发现目前已有的研究方法大都还停留在定性并逐步向定量发展的阶段,指出了其中借鉴单一化合物QSAR模型而发展起来的混合化合物定量结构-活性相关(M-QSAR)模型尚处在开始成型的“初级”阶段,但它是21世纪可持续发展的新生力量,它的发展必将推动我国环境污染化学的进一步发展,为污染物的生态风险评价提供更为可靠的科学方法和理论依据。

**关键词** 混合污染物; 联合毒性; QSAR; 研究进展

中图分类号 X174 文献标志码 A 文章编号 1003-6504(2009)02-0080-07

## Progress on Joint Effect of Mixture Pollutants

ZENG Ming<sup>1,4</sup>, LIN Zhi-fen<sup>1,2,3\*</sup>, YIN Da-qiang<sup>2</sup>, YIN Ke-dong<sup>1</sup>

(1.Key Laboratory of Tropical Marine Environmental Dynamics, South China Sea Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510301, China; 2.Key Laboratory of Yangtze River Water Environment of Ministry of Education, School of Environment Science and Engineering, Tongji University, Shanghai 200092, China;

3.State Key Laboratory of Marine Environmental Science, School of Environment Science, Xiamen University, Xiamen 361005, China; 4.Graduate School, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

**Abstract**: Environmental pollutants are almost mixtures. Advances on joint toxicological effect of mixture pollutants were reviewed according to development of various stages. Methods from qualitative to quantitative study of joint toxicological effect together with disadvantages and advantages were systematically introduced, with focus on qualitative study and development of quantitative study. M-QSAR, which draws lessons from QSAR of individual chemicals, is still at primary stage, but is prospective for sustainable development in 21st century, which can not only facilitate the development of environmental pollution chemistry but provide more reliable scientific approaches and theory basis to estimate ecology risk of pollutant.

**Key words**: mixture pollutant; joint toxicological effect; QSAR; advance

近50年来,人们对单一污染物的理化性质及其环境行为进行了相当详细的研究,并取得了许多相应的成果<sup>[1]</sup>。事实上,在自然界中绝对意义的单一污染是不存在的,污染多有伴生性和综合性的特点,所以单个污染物的研究虽具有一定的参考意义,但作为制定环境标准和环境容量的依据,就显得证据不足,因此混合化合物对机体的联合作用越来越受到人们的重视。

混合污染物联合毒性研究始于1939年<sup>[2]</sup>,经过近70年的发展,已经成功发展了TU(毒性单位)法<sup>[3-4]</sup>、

AI(加和指数)法<sup>[5]</sup>、MTI(混合毒性指数)法<sup>[6]</sup>及 $\lambda$ (相似参数)法<sup>[7]</sup>。这些方法都能根据实验和相应公式的计算结果简单判别混合物的联合作用方式为拮抗、独立、相加及协同。然而,随着新化学品的不断问世及联合毒性的复杂性和多变性,越来越多科学研究者发现这些方法只能定性判断污染物的联合作用方式,并不能判断其作用的程度,因此,他们呼吁联合毒性的研究必须进入到定量研究阶段<sup>[8]</sup>。从20世纪90年代始,混合污染物联合毒性研究有了一定的进展,先后提出

收稿日期 2007-10-24,修回 2008-02-18

基金项目:国家自然科学基金面上基金(20677063);国家自然科学基金重大项目(40490264);广东省自然科学基金(5003680);广州市科技计划项目(2007J1-C0241);同济大学长江水环境教育部重点实验室开放基金(YRWEF07004);厦门大学近海海洋环境科学国家重点实验室开放基金(MEL0504)

作者简介:曾鸣(1981-),女,硕士生,研究方向为环境污染化学(电话)13380058623(电子信箱)zmrainbow@yahoo.com.cn;\*通讯作者,女,研究员,博士生导师(电话)020-89101513(电子信箱)lzhifen@ssio.ac.cn

以  $TU^{[9]}$  和  $\lambda^{[10]}$  为参数的定量研究方法和混合化合物的定量结构-活性相关 M-QSAR 法<sup>[11]</sup>,初步建立了 M-QSAR 的理论框架,但如何建立一套能有效定量预测混合物的毒性目前还一直是国内外研究的焦点。本文根据国内外相关的文献总结联合毒性定性和定量研究方法,分析各方法的优缺点,并对今后进一步的发展方向提出了看法。

## 1 混合污染物联合毒性的定性研究

早在 1939 年,Bliss<sup>[2]</sup>在“毒物联合使用时的毒性”一文中最早提到化学毒物之间存在“拮抗、独立、相加和协同四类作用”。这也是一直以来较为公认和普遍采用的术语<sup>[12]</sup>。目前,判别这四类联合作用的毒性指标主要有毒性单位(TU)、加和指数(AI)、混合毒性指数(MTI)和相似参数( $\lambda$ )等。

### 1.1 毒性单位法(TU)

毒性单位(TU)是最早提出的联合毒性的判别方法。1965 年, Sprague 等<sup>[3]</sup>通过研究 Cu-Zn 之间交互作用对大西洋大麻哈鱼幼体生长发育的影响,提出了这一概念。1975 年, Anderson 等<sup>[4]</sup>对这一概念进行了修正、完善和发展。其定义式如下:

$$TU_i = \frac{C_i}{IC_{50i}} \quad (1)$$

式(1)中  $C_i$  为化合物  $i$  的浓度,  $IC_{50i}$  为化合物  $i$  的  $IC_{50}$  或  $LC_{50}$ <sup>[13]</sup>。运用此公式对混合物联合作用的判断标准为:若  $TU=1$ (定义  $TU=\sum TU_i$ ),那么化学物之间呈相加作用;若  $TU>TU_0$ (定义  $TU_0 = \frac{TU}{\max(TU_i)}$ ),化学物之间呈拮抗作用;若  $TU<1$ ,化学物之间呈协同作用;若  $TU=TU_0$ ,化学物之间为独立作用;若  $TU_0>TU>1$ ,化学物之间呈部分相加作用。

TU 法是以浓度相加为基础模式,判别方法简单,在判别相加作用时具有较好的可靠性,曾得到较为广泛的应用。如袁星等<sup>[14]</sup>运用此毒性指标测定 2,4-二硝基甲苯与 5 种硝基芳烃化合物对大型蚤的二元混合物的联合毒性,结果以相加作用为主,其  $TU$  值范围为 0.79~1.46。高继军等<sup>[15]</sup>也运用此指标测定了铜锌重金属混合物对青海弧菌的联合毒性,发现铜锌的联合毒性作用方式为相加作用,其  $TU$  值为 0.99。Chung Yuan Chen 等<sup>[16]</sup>运用此指标测定了丁醛与乙醛、烯丙醇与炔丙醇对大肠杆菌的联合毒性,均为相加作用,其  $TU$  值分别为 1.08 和 1.02。

TU 法还可判断有机混合物联合毒性的强弱。如林春等<sup>[17]</sup>在测定 2,4-二硝基甲苯与硝基苯衍生物对发光菌的联合毒性时,发现 2,4-DNT 与对硝基氯苯的协同作用最弱,其  $TU$  值为 0.600,而 2,4-DNT 与

对硝基苯酚的协同作用最强,其  $TU$  值为 0.189。

### 1.2 加和指数法(AI)

加和指数(AI)是在 TU 概念的基础上发展起来的。1977 年, Marking<sup>[5]</sup>对此概念进行了系统的阐述。这一概念的基本定义如下:

$$\text{若 } M=1, AI=M-1$$

$$M<1, AI=1/M-1$$

$$M>1, AI=-M+1$$

式中  $M = \sum TU_i$  (2)

运用公式(2)对混合物联合作用的判断标准为:若  $AI=0$ ,那么化学物之间呈相加作用;若  $AI<0$ ,化学物之间呈拮抗作用;若  $AI>0$ ,化学物之间呈协同作用。

AI 法以 TU 的简单相加为标准,通过对  $M$  值大小的划分而给出不同的判断联合作用的公式。这种在联合毒性大小不同的情况下运用不同的公式进行判断,比 TU 法更大大增加了判断过程的可信性。因此,相对于 TU 法,更多研究者热衷于运用 AI 法,如杨亚琴<sup>[18]</sup>等人应用此指标测定了  $Cu^{2+}$ 、 $Zn^{2+}$ 、 $Cd^{2+}$  对蟾蜍蝌蚪的等毒性配比的二元及三元混合体系的联合毒性,得出  $Cu^{2+}$  和  $Zn^{2+}$  及  $Zn^{2+}$  和  $Cd^{2+}$  二元体系均为拮抗作用,其  $AI$  值分别为 -0.28 及 -0.29,  $Cu^{2+}$ 、 $Zn^{2+}$ 、 $Cd^{2+}$  三元体系为协同作用,  $AI$  值为 0.03。苏丽敏<sup>[19]</sup>等测定了苯胺与取代苯胺的二元混合物对大型蚤的联合毒性,结果均为协同作用,其  $AI$  值为 6.30~20.74。同时,应用此指标测定混合化合物对不同生物的联合毒性报道较多,如镉铅锌共存时对鲫鱼<sup>[20]</sup>、泥鳅<sup>[20]</sup>和水螅<sup>[21]</sup>的联合毒性,硝基芳烃类物质共存时对虹鳟鱼<sup>[22]</sup>、盐藻<sup>[23]</sup>的联合毒性,氟与硒共存时对大型蚤<sup>[24]</sup>、斑马鱼<sup>[25]</sup>的联合毒性等。

AI 法与 TU 法都是以浓度相加为基础模式的,所以得出的结果基本一致。修瑞琴等<sup>[26]</sup>运用这两种方法处理硒与氟对猛水蚤的联合毒性时发现,两种方法的结果都是拮抗作用。董玉瑛等<sup>[27]</sup>运用这两种方法处理十二烷基硫酸钠(SDS)和苯酚及 SDS 和甲苯对发光菌的联合毒性时,发现两种方法的结果也一致,均为协同作用。

同样, AI 法也可判断混合物联合毒性的强弱。比如傅迎春<sup>[24]</sup>通过测定硒与氟对大型水蚤的联合毒性,并运用  $AI$  值的大小得出氟与四价硒的拮抗作用程度大于氟与六价硒的作用,而且氟与四价硒在不同浓度比例下拮抗作用程度不同,适当降低氟的比例,拮抗作用增强。然而,至今为止, AI 法仍缺少判断独立作用的标准,从而在一定程度上造成判断结果的不全面。

### 1.3 混合毒性指数法(MTI)

混合毒性指数 (MTI) 这一概念是德国学者

Könemann<sup>[6]</sup>于 1981 年首先提出的。 $MTI$  定义为:

$$MTI = \frac{\log M_0 - \log M}{\log M_0} \quad (3)$$

$$\text{式(3)中 } M = \sum TU_i \quad M_0 = \frac{M}{\max(TU_i)}$$

运用公式(3)对混合物联合作用的判断标准为:若  $MTI < 0$ , 化学物之间呈拮抗作用;若  $MTI = 0$ , 化学物之间呈独立作用;若  $0 < MTI < 1$ , 化学物之间呈部分相加作用;若  $MTI = 1$ , 化学物之间发生浓度相加作用;若  $MTI > 1$ , 化学物之间发生超加和作用或协同作用, 即混合体系中一个或若干个组份的毒性有加强的作用。

Koutsaftis 等<sup>[23]</sup>运用此法测定了数种生物杀灭剂对卤虫的联合效应, 结果发现吡啶硫酮铜与吡啶硫酮铜的联合毒性呈协同作用, 其  $MTI$  值范围为 1.972~9.179; 百菌清与吡啶硫酮铜的联合毒性呈拮抗作用, 其  $MTI$  值范围为 -2.247~-0.314。Wolf 等<sup>[29]</sup>运用此法指出 25 个化合物的混合体系对月鳢鱼的毒性是呈相加作用, 其  $MTI$  值范围为 0.921~0.988。J.Chen<sup>[30]</sup>运用此法指出 13 种杂环氮化合物的混合体系对水蚤的毒性是呈相加作用, 其  $MTI$  值范围为 0.16~0.98。

与 AI 法一致,  $MTI$  法也能判断混合物联合作方式的强弱, 但两者的结果却不尽相同。孟庆俊等<sup>[31]</sup>在测定苯胺与甲基苯胺混合物对大型蚤的联合毒性时发现, 尽管  $MTI$  法与 AI 法所判断的结果都为协同作用, 但是采用 AI 法的结果表明, 当等毒性单位配比时, 协同作用最强, 其 AI 值范围为 12.51~26.78, 而其他配比的 AI 值范围为 6.30~9.20; 而  $MTI$  法却显示, 当毒性单位为 1:4 和 4:1 配比时, 协同作用最强, 其  $MTI$  值范围为 9.91~11.19, 而其他配比的  $MTI$  值范围为 4.76~5.80。林春等<sup>[17]</sup>在测定 2,4-二硝基甲苯与硝基苯衍生物对发光菌的联合毒性时, 也发现两种方法所判断的结果均为协同作用, 但两种方法所判断作用方式强弱的结果不同, AI 法显示 2,4-DNT 与对硝基苯酚的协同作用最强, 其 AI 值为 4.291, 其他混合物的 AI 值为 0.667~3.065; 而  $MTI$  法却显示 2,4-DNT 与对硝基甲苯的协同作用最强, 其  $MTI$  值为 11.034, 其他混合物的  $MTI$  值为 4.254~7.445。

#### 1.4 相似参数法( $\lambda$ )

相似参数( $\lambda$ )是 Christense 等<sup>[7]</sup>于 1989 年在分析混合化合物的联合毒性时提出的, 用于表征混合体系中各单一化合物毒性贡献值的相似程度, 其公式如下:

$$\sum_{i=1}^m (TU_i) (1/\lambda) = 1 \quad (4)$$

运用公式(4)对混合物联合作用的判断标准为:若  $\lambda = 1$ , 表明化学物之间呈相加作用;若  $\lambda > 1$ , 表明化学物之间呈协同作用;若  $1 > \lambda > 0$ , 表明化学物之间呈拮

抗作用。

Prakash 等<sup>[10]</sup>应用这一概念, 对含有正辛醇的二元混合有机体系进行了较为系统的研究。结果发现:含正辛醇和环己酮的混合体系对微生物 *Polybac* 的毒性效应为浓度相加模式, 其  $\lambda$  值为 1.06; 含正辛醇和氯苯的混合体系的联合毒性效应为协同作用, 其  $\lambda$  值为 1.33; 含正辛醇和四氯乙烯的混合体系的联合毒性效应为拮抗作用, 其  $\lambda$  值为 0.21。董玉瑛等<sup>[27]</sup>运用此法处理十二烷基硫酸钠(SDS)和苯酚及 SDS 和甲苯对发光菌的联合毒性, 指出均呈协同作用, 其  $\lambda$  值为 1.489 及 1.559。

值得高兴的是,  $\lambda$  法与 AI 法在判断联合毒性作用方式及其强弱时的结果均为一致。比如苏丽敏等<sup>[32]</sup>在测定苯胺和硝基苯胺对大型蚤的联合毒性时, 发现两种方法评价的结果都一致, 均为协同作用, 而且在等毒性配比时的协同作用最强。但是由于采用的尝试法求  $\lambda$  值较繁琐<sup>[10]</sup>, 因此目前尚未得以广泛应用。

## 2 混合污染物联合毒性的定量研究

可见, 污染物联合毒性的前期研究主要是以上述  $TU$ 、AI、 $MTI$  等为指标, 仅定性判断混合物中各化合物的联合作用为相加、独立、拮抗或协同, 尚无法进一步衡量化合物对生物联合作用的程度。因此, 有研究者在定性研究的基础上, 对混合污染物联合毒性进行了量化的尝试性研究, 取得了一些初步的进展。

### 2.1 以 $TU$ 为参数的混合化合物定量研究

Nirmalakhanda<sup>[9]</sup>于 1994 年率先根据毒性单位的概念提出, 对于含  $n$  个单一化合物的体系, 在等毒性的假设前提下, 可得:

$$\sum_{i=1}^n TU_i = n \times TU_i = 1 \quad (5)$$

因此, 如果根据单一化合物的 QSAR 模型, 先预测出各单一化合物的半致死浓度  $IC_{50i}$ , 那么, 就可计算出在致毒作用为半致死量的混合体系中, 任一有机化合物的浓度  $C_i = \frac{IC_{50i}}{n}$ 。

他的学生 Xu<sup>[33]</sup>继承了此理论, 在 1998 年提出, 对于含有  $n-1$  个等毒性的有机化合物和一个不等毒性的有机化合物  $n$ , 化合物  $n$  的浓度可采用式(6)预测:

$$C_n = IC_{50,n} \times \left[ 1 - \sum_{i=1}^{n-1} TU_i \right] \quad (6)$$

### 2.2 以 $\lambda$ 为参数的混合化合物定量研究

Prakash<sup>[10]</sup>于 1996 年根据 Christense 等<sup>[7]</sup>提出的相似参数  $\lambda$ , 并采用他们的公式成功地预测混合体系中任一有机化合物的浓度。

$$\sum_{i=1}^m (TU_i)^{(1/\lambda)} = 1 \quad (7)$$

公式(7)同上述的定性研究中的相似参数法公式相同。Prakash 的模型可以用于非等性体系,但与定性研究一样,  $\lambda$  值的求算相当繁琐。

Prakash、Nirmalakhanda 和 Xu 可以说是混合化合物毒性定量化研究的先驱,但是,这些模型只能预测当致毒作用为半致死时混合体系中单一有机化合物的浓度,而无法定量预测任意给定的混合体系的毒性。

## 2.3 混合物定量结构-活性相关的模型(M-QSAR)

### 2.3.1 含混合物理化参数的 M-QSAR 模型

定量结构-活性相关(QSAR)<sup>[34]</sup>经过近 50 年的发展,已经从最基本的脂溶性预测模型发展到各类型化合物的理化参数以及环境因素参与模拟的多元模型,从而成功地预测了众多现有化合物和将要合成的新化合物的毒性,但是,这些具有强大预测功能的 QSAR 模型都只是反映了单一化合物的环境行为,它还不能从定量方面预测混合物的毒性。因此,从 2000 年开始,作者<sup>[11, 35-56]</sup>借鉴单一化合物的定量结构-活性相关(QSAR)的研究方法,以发光细菌为测试生物,在单一化合物理化参数(正辛醇/水分配系数  $K_{ow}$ , 氢键效应  $\alpha_H$  和  $\beta_H$  等)基础上,提出了一些混合化合物的理化参数(如混合物分配系数  $K_{MD}$ 、混合物氢键效应 ( $A^{MH}$ ,  $B^{MH}$ )和混合物酶活性抑制参数( $I_{50M}$ )等),并采用这些混合物理化参数对相应混合污染物进行了 M-QSAR 的尝试性研究,取得了一些初步的进展。

(1)以非极性麻醉型化合物为研究对象,以混合物分配系数  $K_{MD}$  为毒性贡献因子,成功地建立了非极性麻醉型混合有机化合物毒性的 M-QSAR 预测方程(8)。

$$\log 1/EC_{50M} = 1.094 \log K_{MD} + 0.111 \quad (8)$$

$$n=134 \quad r^2=0.964 \quad SE=0.1233 \quad F=3522.664 \quad P=0.000$$

结果表明,此 M-QSAR 方程用于不同组成和不同比例的非极性麻醉型混合体系,预测值与实测值较为吻合。

(2)以极性麻醉型化合物为研究对象,在仅以  $K_{MD}$  为变量的 M-QSAR 方程中引入总氢键效应( $A^{MH}$ ,  $B^{MH}$ ),建立了含极性麻醉型有机化合物毒性的 M-QSAR 预测方程(9)。

$$\log 1/EC_{50M} = -0.494 + 1.4471 \log K_{MD} + 0.587A^{MH} + 0.153B^{MH} \quad (9)$$

$$n=35 \quad r^2=0.955 \quad SE=0.1819 \quad F=225.088 \quad P=0.000$$

结果表明,引入混合物的总氢键效应( $A^{MH}$ ,  $B^{MH}$ )可提高极性麻醉型化合物 M-QSAR 方程的可置信程度。

(3)以反应性有机化合物为研究对象,在以混合

有机化合物酶活性抑制参数  $I_{50M}$  为毒性贡献因子的基础上,引入混合物的分配系数  $K_{MD}$ ,分别建立了不同联合作用方式的混合化合物的 M-QSAR 预测模型,其中协同或相加作用的混合体系的 M-QSAR 见式(10),拮抗作用的混合体系的 M-QSAR 见式(11)。

$$\log 1/EC_{50M} = 0.196 + 0.447 \log K_{MD} + 0.671 \log (1/I_{50M}) \quad (10)$$

$$n=14 \quad r^2=0.892 \quad SE=0.2246 \quad F=54.647 \quad P=0.000$$

$$\log 1/EC_{50M} = -0.366 + 1.030 \log K_{MD} + 0.678 \log (1/I_{50M}) \quad (11)$$

$$n=10 \quad r^2=0.897 \quad SE=0.294 \quad F=30.408 \quad P=0.000$$

结果表明,对于不同组成、不同比例、不同联合作用方式,预测结果都较为满意。

### 2.3.2 含量子化学参数的 M-QSAR 模型

2007 年 Zhang 等<sup>[57]</sup>根据作者<sup>[46, 51]</sup>所测定的毒性数据,引入量子化学参数  $\lg Enr_M$ 、 $GAP_{h-1M}$ 、 $q_M^-$ 、 $GAPV_{mM}$ ,分别建立了对于不同混合物的 M-QSAR 预测模型,其中用于非极性麻醉型二元混合物的 M-QSAR 见式(12),用于麻醉型(包括非极性与极性)二元混合物的 M-QSAR 见式(13)。

$$\log 1/EC_{50M} = 34.828q_M^- + 3.2661 \lg Enr_M - 17.505 GAP_{h-1M} - 7.346 \quad (12)$$

$$R^2(\text{adj.})=0.906 \quad F=88.171 \quad SE=0.18546 \quad n=28 \quad P=0.000$$

$$\log 1/EC_{50M} = 4.6221 \lg Enr_M - 11.792 GAP_{h-1M} - 0.961 GAPV_{mM} + 0.081\mu - 15.977 \quad (13)$$

$$R^2(\text{adj.})=0.850 \quad F=70.399 \quad SE=0.27034 \quad n=50 \quad P=0.000$$

## 3 结语

随着混合污染物联合毒性研究的不断深入,污染物联合毒性已经由最初的定性研究阶段向定量研究阶段过渡,特别是已经成功借鉴单一化合物定量结构-活性相关(QSAR)的研究方法,提出了混合物的理化参数和量子化学参数,初步建立了混合物定量结构-活性相关(M-QSAR)的理论框架。

然而,由于目前所提出的混合物参数本身的一些局限性,这些 M-QSAR 模型仅能预测一些相同类别组成的混合污染物。因此,需要加强对混合物联合作用本质的认识,并可能借助量子生物学和拓扑学原理,修正目前已有的混合物参数,并提出一系列 M-QSAR 的其他混合物理化参数和指标体系,以望对混合化合物的性质及其所包含的各单一化合物性质的描述更加全面、细致,物理意义更为明确,从而使 M-QSAR 模型对真实污染环境更具有使用性。

其次,目前混合污染物的联合毒性,特别是混合物联合毒性的定量研究阶段,还仅限于有限的几个比

例下的相同组成混合物的研究。因此,开展比例系列更为全面的混合物联合毒性研究,揭示混合物组成比例与混合物联合毒性的相关规律,对混合物联合毒性定量研究也具有相当的研究意义。

再次,目前混合物联合毒性的 M-QSAR 研究,主要还仅集中于发光菌<sup>[49]</sup>、藻类<sup>[58]</sup>等几种较为简单的受试生物。这些已成功建立的 M-QSAR 理论模型能否应用于青蛙、泥鳅等较为高等的动物,外推至人类时应如何修正,以及如何选择更为代表性的受试生物都是值得进一步的深入研究。

最后,本文认为,在不断研究更加完善的混合物参数,开展更为全面的系列比例的混合物联合毒性研究,选择更为代表性的受试生物,使 M-QSAR 模型更能适用于实际环境中的污染物联合毒性的预测的同时,应致力于加强 M-QSAR 的计算化进程,使混合物联合毒性的定量化研究更为便捷。

#### 参考文献

- [1] 王连生,韩朔睽. 有机污染化学进展[M]. 北京:化学工业出版社,1998.  
Wang Lian-sheng, Han Shuo-kui. Chemical Advance of Organic Pollutants[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 1998.(in Chinese)
- [2] Bliss C I. The toxicity of poisons applied jointly[J]. Ann Appl Biol, 1939, 26(5): 585-615.
- [3] Sprague J B, Ramsay B A. Lethal levels of mixed copper-zinc solutions for Juvenile Salmon[J]. J Fish Res Bd Can, 1965, 22: 425-432.
- [4] Anderson P D, Weber L J. In proceedings of the International Conference on heavy metals in the environment. Canada, Toronto, October 27-31, 1975[C]. Toronto: University of Toronto, Institute of Environmental Studies, 1975.
- [5] Marking L L. Method for assessing additive toxicity of chemical mixtures[J]. Aquatic Toxicology and Hazard Evaluation, ASTM STP Publication 634, 1977, 99-108.
- [6] Kōnemann H. Fish toxicity tests with mixtures of more than two chemicals: A proposal for a quantitative approach and experimental results[J]. Toxicology, 1981, 19: 229-238.
- [7] Christensen E R, Chen C. Modeling of Combined Toxic Effects of Hazard Assessment of Chemicals[M]. NY: Hemisphere Publishing, 1989, (6): 125-186.
- [8] 周启星. 复合污染生态学[M]. 北京:中国环境科学出版社, 1995.  
Zhou Qi-xing. Joint Pollutants Ecology[M]. Beijing: Environmental Science of Press, 1995.(in Chinese)
- [9] Nirmalakhandan N, Arulgnanendran V, Mohsin M, et al. Toxicity of mixtures of organic chemicals to microorgan-

- isms[J]. Wat Res, 1994, 28(3): 543-551.
- [10] Prakash J, Nirmalakhandan N, Sun B, et al. Toxicity of binary mixtures of organic chemicals to microorganisms[J]. Wat Res, 1996, 30 (6): 1459-1463.
- [11] Hongxia Yu, Zhifen Lin, Jianfang Feng, et al. Development of quantitative structure-activity relationships in toxicity prediction of complex mixtures[J]. Acta Pharmacol Sin 2001, 22(1): 45-49.
- [12] 童建,冯致英. 环境化学物的联合毒作用[M]. 上海:上海科学技术文献出版社,1994.  
Tong Jian, Feng Zhi-ying. Mixture Toxicity of Environmental Pollutants[M]. Shanghai: Scientific Technology of Document Press, 1994.(in Chinese)
- [13] 王焕校. 污染生态学[M]. 北京:高等教育出版社,海德堡:施普林格出版社,2000.  
Wang Huan-xiao. Ecology Pollution[M]. Beijing: Higher Education Press, Haiger: Springer-Verlag Gmbh Press, 2000.(in Chinese)
- [14] 袁星,孟庆俊,苏丽敏. 硝基芳烃化合物对大型蚤的联合毒性[J]. 东北师大学报自然科学版, 2003, 35(2): 106-109.  
Yuan Xing, Meng Qing-jun, Su Li-min. Joint toxicity of nitroaromatic chemicals to *Daphnia magna*[J]. Journal of Northeast Normal University 2003 35 (2): 106-109. (in Chinese)
- [15] 高继军,张力平,马梅. 应用淡水发光菌研究二元重金属混合物的联合毒性[J]. 上海环境科学 2003 22(11): 772-775.  
Gao Ji-jun, Zhang Li-ping, Ma Mei. Study on combined toxicity of binary mixture of heavy metals by applying freshwater luminescent bacteria vibrio qinghaiensis-Q 67[J]. Shanghai Environmental Science 2003 22(11): 772-775.(in Chinese)
- [16] Chung-Yuan Chen, Cheng-Liang Lu. An analysis of the combined effects of organic toxicants[J]. The Science of the Total Environment, 2002, 289: 123-132.
- [17] 林春,康立娟,苏丽敏. 2,4-二硝基甲苯与硝基苯衍生物对发光菌的联合毒性[J]. 吉林大学学报(理学版), 2002, 40(4): 419-422.  
Lin Chun, Kang Li-juan, Su Li-min. Joint toxicity of 2,4-DNT and derivatives of nitro benzenes to vibrio fischeri[J]. Journal of Jilin University (Science Edition), 2002, 40(4): 419-422.(in Chinese)
- [18] 杨亚琴,贾秀英. Cu<sup>2+</sup>、Zn<sup>2+</sup>、Cd<sup>2+</sup>对蟾蜍蝌蚪的联合毒性[J]. 应用与环境生物学报, 2006, 12(3): 356-359.  
Yang Ya-qin, Jia Xiu-ying. Joint toxicity of Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup> and Cd<sup>2+</sup> to tadpole of *Bufo bufo gargarizans*[J]. Chin J Appl Environ Biol, 2006, 12(3): 356-359.(in Chinese)
- [19] 苏丽敏,袁星. 苯胺类二元混合物对发光菌和大型蚤联合毒性的比较研究[J]. 东北师大学报(自然科学版), 2007, 39(2): 112-115.  
Su Li-min, Yuan Xing. A comparative study on the joint toxicity of binary mixtures of anilines to *Photobacterium*

*phosphoreum* and *Daphnia magna*[J]. Journal of Northeast Normal University (Natural Science Edition) 2007, 39(2) : 112-115.(in Chinese)

- [20] 王银秋, 张迎梅, 赵东芹. 重金属镉、铅、锌对鲫鱼和泥鳅的毒性[J]. 甘肃科学学报, 2003, 15(1) : 35-38.

Wang Yin-qiu, Zhang Yin-mei, Zhao Dong-qin. Effects of heavy metals cadmium, lead and zinc on the survival of *Carassius auratus* and *Misgurnus anguillicaudatus*[J]. Journal of Gansu Science, 2003, 15(1) : 35-38.(in Chinese)

- [21] 王莹, 郝家胜, 陈娜, 等. 铅、镉和锌3种重金属离子对水螅的联合毒性研究[J]. 生命科学研究, 2006, 10(1) : 91-94.

Wang Ying, Hao Jia-sheng, Chen Na, et al. Joint toxicity test of heavy metal ions lead, cadmium and zinc to *Hydra* sp[J]. Life Science Research, 2006, 10(1) : 91-94.(in Chinese)

- [22] 张蕾, 徐镜波. 硝基芳烃对虹鲟鱼(*Poecilia reticulata*)的毒性[J]. 生态环境, 2004, 13(1) : 31-33.

Zhang Lei, Xu Jing-bo. The toxicity of nitrotoluenes to guppy[J]. Ecology and Environment, 2004, 13(1) : 31-33.(in Chinese)

- [23] 黄小娟, 严媛, 姜建国, 等. 硝基芳烃类物质对盐藻生长阻碍联合毒性试验及比较[J]. 广州食品工业科技, 2004, 20(1) : 27-29.

Huang Xiao-juan, Yan Yuan, Jiang Jian-guo, et al. Test of combined-toxicity of nitryl-aromatic hydrocarbon to *Dunaliella Salina*[J]. Guangzhou food Science and Technology, 2004, 20(1) : 27-29.(in Chinese)

- [24] 傅迎春, 修瑞琴, 许永香, 等. 氟与硒对大型蚤的联合毒性研究[J]. 中国环境科学, 1995, 15(4) : 280-283.

Fu Ying-chun, Xiu Rui-qin, Xu Yong-xiang, et al. The joint toxicity of fluoride and selenium to *Daphnia magna*[J]. China Environmental Science, 1995, 15(4) : 280-283.(in Chinese)

- [25] 修瑞琴, 高世荣, 许永香, 等. 氟与硒对鱼类联合毒性的研究[J]. 中国环境科学, 1995, 15(5) : 348-350.

Xiu Rui-qin, Gao Shi-rong, Xu Yong-xiang, et al. Study on joint toxicity of fluoride and selenium to fish[J]. China Environmental Science, 1995, 15(5) : 348-350.(in Chinese)

- [26] 修瑞琴, 傅迎春, 许永香. 硒与氟离子对美丽猛水蚤的联合毒性[J]. 环境科学, 1994, 16(1) : 26-28.

Xiu Rui-qin, Fu Ying-chun, Xu Yong-xiang. Study on joint toxicity of fluoride and selenium to *Daphnia magna*[J]. Environmental Science, 1994, 16(1) : 26-28.(in Chinese)

- [27] 董玉瑛, 雷炳莉, 鲍雅静. 十二烷基硫酸钠与取代芳烃对发光菌的联合毒性作用[J]. 中南大学学报(自然科学版) 2006, 37(4) : 726-730.

Dong Yu-ying, Lei Bing-li, Bao Ya-jing. Joint toxicity of SDS and substituted aromatic hydrocarbons to *Photobacterium phosphoreum*[J]. J Cent South Univ (Science and Technology) 2006, 37(4) : 726-730.(in Chinese)

- [28] Koutsafitis A, Aoyama I. Toxicity of four antifouling bio-

cides and their mixtures on the brine shrimp *Artemia salina* [J]. Science of the Total Environment 2007, 387 : 166-174.

- [29] Wolf De W, Canton J H, Deneer J W, et al. Quantitative structure-activity relationships and mixture-toxicity studies of alcohols and chlorohydrocarbons : reproducibility of effects on growth and reproduction of *Daphnia magna* [J]. Aquatic Toxicology, 1988, 12(1) : 39-49.

- [30] J Chen, Y Liao, Y Zhao, et al. Quantitative structure-activity relationships and mixture toxicity studies of heterocyclic nitrogen compounds[J]. Environ Contam Toxicol, 1996, 57 : 77-83.

- [31] 孟庆俊, 袁星, 韩宝平. 苯胺与甲基苯胺二元混合物对大型蚤(*Daphnia magna*)的联合毒性[J]. 能源环境保护, 2003, 17(6) : 31-34.

Meng Qing-jun, Yuan Xing, Han Bao-ping. Joint toxicity of binary mixtures of aniline and methylanilines to *Daphnia Magna*[J]. Energy Environmental Protection, 2003, 17(6) : 31-34.(in Chinese)

- [32] 苏丽敏, 孟庆俊, 袁星. 苯胺和硝基苯胺对大型蚤(*Daphnia magna*)的联合毒性[J]. 环境科学研究 2002, 15(6) : 42-44.

Su Li-min, Meng Qing-jun, Yuan Xing. Joint toxicity of aniline and nitroanilines to *Daphnia magna*[J]. Research of Environmental Science 2002, 15(6) : 42-44.(in Chinese)

- [33] Xu S, Nirmalakhandan N Wat. Use of QSAR models in predicting joint effects in multi-component mixtures of organic chemicals[J]. Wat Res, 1998, 32(8) : 2391-2399.

- [34] Hansch C, Fujita T.  $\rho$ - $\sigma$ - $\pi$  Analysis. A method for the correlation of biological activity and chemical structure[J]. J Am Chem Soc, 1964, 86(8) : 1616-1626.

- [35] 林志芬, 王连生, 钟萍, 等. 海洋中有毒有机污染物的监测方法研究进展[J]. 海洋环境科学, 2006, 25(1) : 88-93.

Lin Zhi-fen, Wang Lian-sheng, Zhong Ping, et al. Advances on the monitoring approaches of organic pollutants in the marine environment[J]. Marine Environmental Science, 2006, 25(1) : 88-93.(in Chinese)

- [36] 林志芬, 孔德洋, 殷克东, 等. 腈醛混合化合物对发光菌联合毒性的 QSAR 研究[J]. 环境化学 2005, 24(3) : 296-301.

Lin Zhi-fen, Kong De-yang, Yin Ke-dong, et al. QSAR study on the toxicological joint effect between cyanogenic toxicants and aldehydes to *Photobacterium phosphoreum*[J]. Environmental Chemistry 2005, 24(3) : 296-301.(in Chinese)

- [37] Lin Zhi-fen, Niu Xiao-jun, Wu Chun-de, et al. Prediction of the toxicological joint effects between cyanogenic toxicants and aldehydes to *Photobacterium phosphoreum*[J]. QSAR and Combinatorial Science 2005, 24(3) : 354-363.

- [38] Lin Zhi-fen, Zhong Ping, Niu Xiao-jun, et al. A simple hydrophobicity-based approach to predict the mixture toxicity of organic pollutants[J]. Marine Pollution Bulletin, 2005, 50(6) : 617-623.

- [39] Lin Zhi-fen, Kong De-yang, Zhong Ping, et al. Hydrox-

ypropyl-cyclodextrins influence on *Mixture Toxicity* [J]. *Chemosphere* 2005, 58(9) :1301-1306.

- [40] Lin Zhi-fen, Zhong Ping, Kong De-yang, et al. The ratios of individual chemicals in a mixture determine the degree of joint effect: The climax hypothesis [J]. *Archive Environ Toxicol Chem*, 2005, 49(1) :1-9.
- [41] Lin Zhi-fen, Wei Dong-bin, Wang Xiao-dong, et al. Chemical interaction between cyanogenic toxicants and aldehydes: a mechanism-based QSAR approach to assess the toxicological joint effects[J]. *SAR and QSAR in Environmental Science*, 2004, 15(2) :127-138.
- [42] Lin Zhi-fen, Zhong Ping, Yin Ke-dong, et al. Use of IC50 for predicting joint effects of mixture toxicity[J]. *Bull Environ Contam Toxicol*, 2004, 72(3) :571-578.
- [43] Lin Zhi-fen, Wang Lian-sheng, Shi Ping, et al. Development of a fragment constant method for estimating the mixture toxicity[J]. *Arch Environ Contam Toxicol*, 2004, 46(1) :1-8.
- [44] Lin Zhi-fen, Du Jian-wei, Yin Ke-dong, et al. Mechanism of concentration addition toxicity: they are different for nonpolar narcotic chemicals, polar narcotic chemicals and reactive chemicals[J]. *Chemosphere*, 2004, 54(11) :1691-1701.
- [45] Lin Zhi-fen, Shi Ping, Gao Shi-xiang, et al. Use of partition coefficients to predict mixture toxicity for improving water quality criteria[J]. *Water Research*, 2003, 37(9) :2223-2227.
- [46] Lin Zhi-fen, Zhong Ping, Yin Ke-dong, et al. Quantification of joint effect for hydrogen bond and development of QSARs for predicting mixture toxicity[J]. *Chemosphere*, 2003, 52 :1199-1208.
- [47] Lin Zhi-fen, Wu Chun-de, Shi Ping, et al. General toxicity prediction approach for mixtures containing polar narcotic chemicals[J]. *Bull Environ Contam Toxicol*, 2003, 71(2) :345-353.
- [48] Z Lin, K Yin, C Wu, et al. QSARs for predicting the toxicity of mixtures containing polar narcotic chemicals [J]. *Bull Environ Contam Toxicol*, 2003, 71(6) :1116-1123.
- [49] Lin Zhi-fen, Zhang Wen-huan, Wang Lian-sheng, et al. Mechanism of synergistic toxicity between malononitrile and p-nitrobenzaldehyde to *Photobacterium phosphoreum* [J]. *Toxico Mechan and Methods*, 2003, 13(4) :241-245.
- [50] Lin Zhi-fen, Yin Ke-dong, Shi Ping, et al. Development of QSARs for predicting the joint effect between cyanogenic toxicants and aldehydes[J]. *Chemical Research in Toxicology*, 2003, 16(10) :1365-1371.
- [51] Lin Z, Yu H, Wei D, et al. Prediction of mixture toxicity with its total hydrophobicity[J]. *Chemosphere* 2002, 46(2) :305-310.
- [52] 于红霞, 林志芬, 杨怡, 等. 利用 C18 固相萃取膜评价有机氯污染物的亲脂性[J]. *膜科学与技术* 2002, 22(3) :35-38.
- Yu Hong-xia, Lin Zhi-fen, Yang Yi, et al. Evaluation of hydrophobicity for halogenated benzenes using C18 solid phase extraction disks[J]. *Membrane Science and Technology* 2002, 22(3) :35-38.(in Chinese)
- [53] Lin Z, Yu H, Huang L, et al. Partitioning regulation of nonionic organic mixtures in organic phase/water system[J]. *Chinese Science Bulletin* 2001, 46(17) :1422-1424.
- [54] Lin Zhi-fen, Yu Hong-xia, Gao Shi-xiang, et al. Development of the fragment constant method for estimating the partition coefficients of nonionic organic mixtures [J]. *Archive Environ Toxicol Chem* 2001, 41(3) :1-5.
- [55] 林志芬, 于红霞, 黄鹂鸣, 等. 混合有机污染物在有机相/水相之间分配规律的研究[J]. *科学通报* 2001, 46(7) :1-5.
- Lin Zhi-fen, Yu Hong-xia, Huang Li-ming, et al. Study on partitioning regulation of nonionic organic mixtures in organic phase/water system[J]. *Chinese Science Bulletin* 2001, 46(7) :1-5.(in Chinese)
- [56] 林志芬, 于红霞, 孔德洋, 等. 一种新的有机污染物 C18 Empore™ 膜/水分配系数测定方法的探讨[J]. *环境化学*, 2001, 20(2) :149-154.
- Lin Zhi-fen, Yu Hong-xia, Kong De-yang, et al. A new method for determining the C<sub>18</sub> empore™ disk/water partition coefficients of organic pollutants[J]. *Environmental Chemistry*, 2001, 20(2) :149-154.(in Chinese)
- [57] Li Zhang, Peijiang Zhou, Feng Yang, et al. Computer-based QSARs for predicting mixture toxicity of benzene and its derivatives[J]. *Chemosphere*, 2007, 67 :396-401.
- [58] 曾鸣, 林志芬, 尹大强, 等. 卤代苯对湛江叉鞭金藻联合毒性的 QSAR 研究[J]. *环境科学与技术*, 2008, 31(10):1-4.
- Zeng Ming, Lin Zhi-fen, Yin Da-qiang, et al. QSAR for prediction of joint toxicity of halogenated benzenes to alga (*Dicrateria zhanjiangensis*) [J]. *Environmental Science & Technology*, 2008, 31(10):1-4.(in Chinese)