

估算多氯联苯在鱼体中生物富集因子的 片段常数法¹⁾

胡海瑛 陶 澍²⁾ 卢晓霞

(北京大学城市与环境学系, 北京, 100871)

摘 要

根据40种PCB的实测数据建立了估算PCB在鱼体中生物富集系数的片段常数模型。建模化合物的lg BCF在2.65—5.97之间, lg K_{ow} 则在3.88—8.18之间。由于特定氯取代位的影响以及在此 K_{ow} 范围内BCF与化合物憎水性之间的非线性关系, 简单的片段常数模型不能有效估算BCF。通过引入特定结构因子对化合物空间结构对生物富集的影响进行校正, 建立了BCF的非线性片段常数估算模型, 模型可决系数0.889, 平均绝对误差0.223个对数单位。采用jackknife方法对模型稳健性进行检验。

关键词: 片段常数, 多氯联苯 (PCB), 生物富集因子, jackknife 检验。

有机污染物对水生生物尤其是鱼类的危害是当前倍受关注的环境问题。这些污染物在生物体内的富集趋势可以用生物富集因子 (BCF) 表示。目前用于估算 BCF 的方法包括利用辛醇-水分配系数 (K_{ow})、溶解度 (S) 等参数的模型以及以结构描述符作为预测变量的模型。后者以分子连接性指数模型最为常用^[1]。

在 QSAR 研究中, 另一种完全根据分子基本结构估算化合物特征参数的方法是 Leo 和 Hansch 建立的片段常数法^[2]。该方法以 Hammett 提出的线性自由能关系的依据^[3], 将 lg K_{ow} 表达为化合物分子各组成原子或原子团对疏水性独立贡献 (片段常数) 的线性加和, 并兼顾分子扭曲程度、不饱和性、多卤素原子相互影响、分子分枝结构和氢键基团之间相互作用等因子的影响。

多氯联苯在环境中的广泛存在、憎水特性以及持久性使其易于在生物体, 特别是以鱼为食的海鸟和海洋哺乳动物中富集^[4]。虽然 PCB 同系物的基本结构一致, 但不同 PCB 的憎水性可以从中等 (lg $K_{ow} = 4$) 到极强 (lg $K_{ow} = 8.5$)。由于生物富集过程涉及到生物的作用机理, 不同于简单的两相分配, lg BCF 和 lg K_{ow} 往往不能用简单的线性关系表达。lg K_{ow} 小于 6 时, lg BCF 或 lg K_{ow} 基本呈正相关关系, 但对于 lg K_{ow} 大于 6 的强憎水性化合物, BCF 反而随 K_{ow} 的增加而下降^[5]。对此, 研究者从空间的结构和阻碍效应、化合物的脂溶性和正辛醇是否能够作为生物类脂物的理想代表等方面进行解释^[6,7], 并提出各类非线性模型, 如抛物线模型、多项式模型和分段线性模型等^[8]。

作为同系物, PCB 的结构变化有一定规律可循, 且生物富集过程作用机理相似。本

1) 国家自然科学基金重点项目 (49632060) 和国家杰出青年基金 (49525102) 资助项目, 2) 通讯联系人。

文尝试从化合物基本结构出发, 建立估算 PCB 在鱼体内生物富集因子的片段常数模型.

1 研究方法

1.1 数据收集

从有关文献中收集了 40 种 PCB 实测 BCF 数据^[9,10]. 其氯取代位列于表 1. 取代氯个数包括 0—10 所有可能以确保数据的代表性. 40 种化合物的 $\lg K_{ow}$ 值在 3.88—8.18 之间, $\lg BCF$ 实测值在 2.64—5.97 之间. 实验鱼种类包括斑马鱼 (*Brachydanio rerio*), 红鲮 (*Poecilia reticulata*), 虹鳟 (*Salmo gairdneri*), 鲮鱼 (*Oryzias latipes*), 金鱼 (*Carasius auratus*) 等. 数据均采用动态实验法测得.

表 1 40 种 PCB 同系物

Table 1 Substitution positions of chlorine atoms on the 40 PCBs studied

序号	取代位	序号	取代位	序号	取代位	序号	取代位	序号	取代位
1	0	9	2,4,4'	17	2,2',5,5'	25	2,2',3,3',4,4'	33	2,2',3,4,4',5,6
2	4	10	2,4,5	18	2,2',6,6'	26	2,2',3,3',6,6'	34	2,2',3,4,5,5',6'
3	2,2'	11	2,4',5	19	2,3',4',5	27	2,2',3,4,4',5	35	2,2',3,3',4,4',5,5'
4	2,3	11	2,2',3,3'	20	3,3',4,4'	28	2,2',3,4,5,5'	36	2,2',3,3',4,4',5,6
5	2,5	13	2,2',3,5'	21	2,2',3,4,5	29	2,2',3,5,5',6'	37	2,2',3,3',4,5,5',6
6	3,5	14	2,2',4,4'	22	2,2',3',4,5	30	2,2',4,4',5,5'	38	2,2',3,3',5,6',6,6'
7	4,4'	15	2,2',4,5	23	2,2',4,5,5'	31	2,2',4,4',6,6'	39	2,2',3,3',4,4',5,5',6
8	2,2',5	16	2,2',4,5'	24	3,3',4,4',5	32	3,3',4,4',5,5'	40	2,2',3,3',4,4',5,5',6,6'

1.2 片段常数模型的基本形式

根据化合物基本片段对化合物理化参数贡献的加和性原理确立的片段常数模型包括片段贡献和结构因子贡献两部分, 表达为:

$$\lg BCF = \sum n_i f_i + \sum m_j F_j \quad (1)$$

式中, f_i 和 F_j 分别为片段常数和结构因子参数, n_i 和 m_j 分别为分子中相应片段和因子出现的次数. 本研究中片段的划分以 Leo 的划分原则为基础^[2], 结构因子的选择以研究中的分析结果为依据. 由于 PCB 同系物具有完全相同的基本骨架 (联苯), 余下的片段仅有氯, 故上式可简化为:

$$\lg BCF = n_{Cl} f_{Cl} + \sum m_j F_j + C \quad (2)$$

式中, f_{Cl} 为氯的片段常数, n_{Cl} 为氯的个数, 常数项 C 实际上就是联苯骨架的片段常数. 以实测 BCF 为输入参数, 用最小二乘法回归获得片段常数和结构因子. 模型误差则用回归可决系数和残差进行分析.

2 结果与讨论

2.1 基本片段常数模型

如果不考虑氯原子在联苯上取代位的影响, 可将式 (2) 简化为以 n_{Cl} 为自变量的直线方程. 40 个实测 $\lg BCF$ 和这些化合物氯个数的关系以及用直线方程拟合的结果为:

$$\lg \text{BCF} = 0.325n_{\text{Cl}} + 3.412 \quad (3)$$

模型的估算值与实测值的关系以及模型残差随氯取代数的变化如图 1 所示. 可以看出, 模型的估算精度很差, 回归可决系数(r^2)仅为 0.717, 残差分布亦表现出非随机性特征.

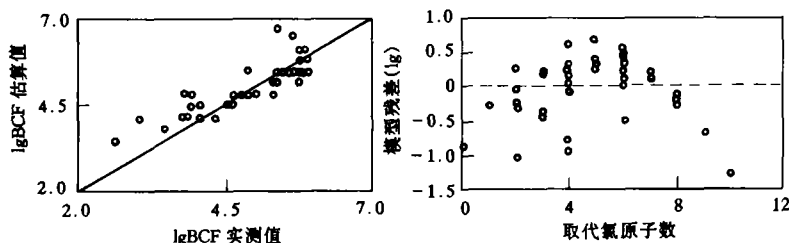


图 1 简单片段常数模型的估算值与实测值比较及残差分布

Fig. 1 Results of the regression based on Eq. 3

从图 1 的残差分布可见, 模型的偏差主要来自 $\lg \text{BCF}$ 与氯取代个数的非线性特性. 直接用 $\lg \text{BCF}$ 对氯取代数作图可以看出 (见图 2, 图中直线为由式 (3) 得到的回归直线), 两者关系显然不能用简单直线加以描述. 一般而言, n_{Cl} 增加导致化合物 K_{ow} 增大, 而 $\lg \text{BCF}$ 与 $\lg K_{\text{ow}}$ 的非线性关系已一再得到证实^[6]. 本研究收集的化合物中, 取代位置为 3,3',4,4',5,5' 的六氯联苯具有最高 $\lg \text{BCF}$ (5.97), 其 $\lg K_{\text{ow}}$ 为 7.42.

2.2 氯取代位对 BCF 影响的校正

影响化合物在生物体中富集程度的各种性质都与化合物的分子体积和分子表面积紧密相关^[7,11]. 对 PCB 而言, 简单的取代个数不足以反映氯原子对化合物分子大小的贡献, 必须考虑不同取代位置对分子结构的影响. 许多研究表明, 2,6 位取代会引起两个苯环之间的扭转, 减弱它们的共平面性, 随着取代数量的增加扭转角度加大. 例如, 2,2',4,4',6,6' 六氯联苯两个苯环中间扭转的角度达到 87.3°. 如果 3,5 位也同时发生取代, 两个苯环向平衡位置的回复受到阻碍, 扭转角度加大. 3,5 位置的同时取代也将增加分子横截面的宽度^[6]. 这些因素将引起不同 PCB 分子表面积和分子体积的差异. 此外, 化合物的空间结构也可能对富集过程起到阻碍作用. Jan 等曾报道, 在 PCB 不同取代位置中, 生物吸收速率的大小关系为对位 > 间位 > 邻位^[12]. Shaw 等则认为生物富集除分配过程外还可能涉及化合物在生物膜上的吸附作用, 而 2,6 位取代引起苯环的扭转不利于这一过程的进行^[6]. 由此可见, 上述两类取代位置对 PCB 分子的大小以及生物吸收过程的影响至关重要. 事实上, 以上基本模型 (式 3) 的回归残差同联苯 2,6 位取代个数之间存在显著负相关关系 (非参数 Spearman 相关系数单侧相伴概率为 0.019). 为此, 在模型中引入 2,6 位和 3,5 位校正因子. 在此基础上进行拟合, 原模型 (式 3) 成为:

$$\lg \text{BCF} = 0.564n_{\text{Cl}} - 0.370n_{2,6} - 0.430n_{3,5} + 3.166 \quad (4)$$

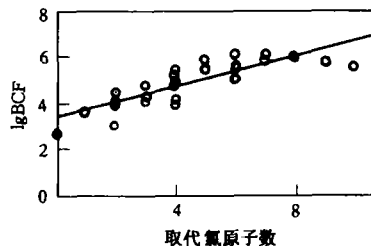


图 2 $\lg \text{BCF}$ 与 n_{Cl} 之间的关系

Fig. 2 Relationship between the observed $\lg \text{BCF}$ and the number of substituent chlorine

式中, $n_{2,6}$ 为 2,6 位氯取代个数, $n_{3,5}$ 为同一苯环上 3,5 位同时发生氯取代的个数. 拟合的可决系数为 0.844, 平均残差为 0.266 个对数单位. 实测与估算结果比较以及残差分布如图 3 所示. 与基本模型相比, 无论是实测值与估算值比较, 还是残差分布, 增加两种取代校正后的模型较不考虑取代位的基本模型 (式 3) 有所改善, 且在 $\lg BCF$ 小于 5 的范围内特别明显. 然而, 在 $\lg BCF$ 较大的情况下, 估算值偏高仍十分明显.

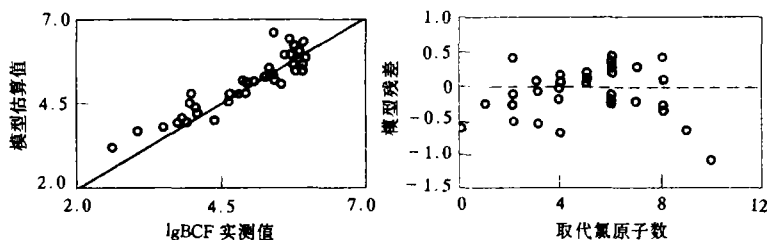


图 3 含氯取代位校正的片段常数模型的估算值与实测值比较以及残差分布

Fig. 3 Regression results based on Eq. 4

2.3 大分子体积影响的校正

Opperhuizen 曾指出, 对于化合物渗透过生物膜存在一个“有效横截面”的限值 ($9.5\text{\AA}$), 超过此限值, 渗透作用不能进行^[13]. 这实际上也是 $\lg BCF$ 与 $\lg K_{ow}$ 关系模型非线性的原因之一. 考虑到只有对大分子化合物才表现出空间结构对生物富集过程的阻碍作用, 在上述模型 (式 4) 的基础上, 在 2,6 位和 3,5 位两个校正项前同乘氯原子个数以突出它们对大分子的影响, 得到以下非线性模型:

$$\lg BCF = 0.646n_{Cl} - 0.062n_{Cl}n_{2,6} - 0.044n_{Cl}n_{3,5} + 2.697 \quad (5)$$

或
$$\lg BCF = n_{Cl}(0.646 - 0.062n_{2,6} - 0.044n_{3,5}) + 2.697 \quad (6)$$

经此项校正后, 模型估算效果大为改善, 在分子量较大范围内尤其如此. 模型回归可决系数达 0.889, 而平均残差降至 0.223 个对数单位. 图 4 即为该模型估算结果与实测值的比较以及相应的残差分布.

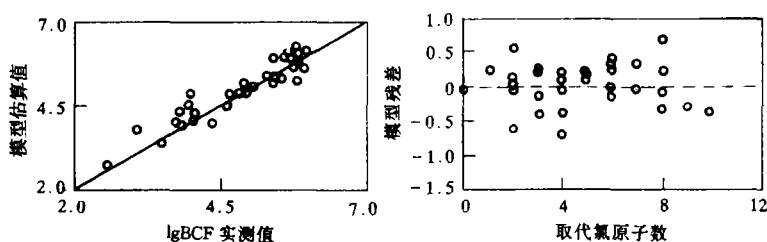


图 4 经含氯取代位校正及大分子体积校正的片段常数模型的估算值与实测值比较以及残差分布

Fig. 4 Regression results based on Eq. 5

值得注意的是, 该模型不仅估算效果较好, 残差也基本呈随机分布. 此外, 模型中氯原子片段常数为正而两个结构参数均为负值. 一方面, 随取代氯原子数的增加, PCB 生物富集趋势加大, 另一方面, 随氯原子增加在两类取代位置上发生取代的机会也增大, 对生物富集过程的阻碍作用同时加大.

除上述校正外, 取代位置不同还会影响化合物极性. 但在引入相应校正因子后, 模型本身并未得到改善. Hawker 建立线性溶剂化能模型中也发现, 偶极作用项相对于空穴能项贡献较小^[14]. 因此, 模型中不再考虑这种影响.

2.4 模型误差分析

最终模型(式(6))残差分布如图 5 所示.

该模型的平均绝对残差为 0.223 个对数单位, 最大负偏差和正偏差分别为 0.768 和 0.631 个对数单位. 90% 化合物绝对残差小于 0.5 个对数单位. 采用氯原子数对两类取代位置负效应进行调整的办法, 可能过高估计它们对在线性关系范围内取代氯原子数为 4—6 的 PCB 的作用, 模型数据中这三类 PCB 占 52.5%, 其中 62% 出现了正偏残差, 造成模型正偏差残差比重较大. 40 个 PCB 中 3 号、14 号和 38 号三个化合物(表 1)的学生化残差在 $[-2, 2]$ 范围之外, 分别为 -0.633 , -0.768 和 0.631 (对数单位). 考察原始数据发现, 前两种化合物 BCF 实测数据获得的年份均在七十年代末期, 与其他数据相差较远, 可能是出现异常的原因. 而 38 号化合物为 8 氯取代的联苯, 取代氯原子多, 取代位置为 2, 2', 3, 3', 5, 5', 6, 6', 都为结构因子校正的对象, 模型对它们空间阻碍作用估计可能过高, 致使 BCF 估计值偏低.

2.5 模型稳健性检验

采用一次剔除一种化合物的 jackknife 法, 用剩余数据建模, 利用剔除化合物进行检验, 通过预测残差分析对模型稳健性进行检验. 重复上述步骤 40 次, 得到预测残差分布如图 6 所示. 基本呈正态分布. 最大正负残差分别为 0.806 和 -0.795 (对数单位), 平均绝对残差为 0.251 (对数单位). 数据中不存在对模型有显著影响的异常化合物. 模型具有可接受的总体稳健性.

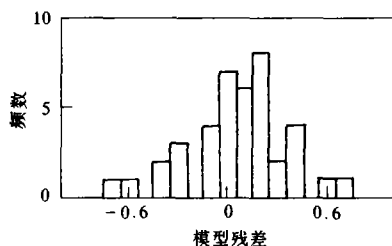


图 5 最终模型残差分布

Fig. 5 Distribution of residuals of regression based on Eq. 5

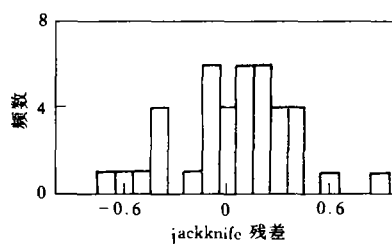


图 6 jackknife 检验残差分布

Fig. 6 Distribution of jackknifed residuals with removing one chemical at one time

3 结论

通过引入两个结构因子分别对 2,6 位和 3,5 位两类取代位置的结构效应进行校正, 并采用乘以取代氯原子数的方法对分子体积影响进行调整, 建立了估算多氯联苯在鱼体中生物富集因子的片段常数模型. 模型可决系数为 0.889, 平均绝对残差为 0.223 个对数单位. 一次剔除一个化合物的 jackknife 检验结果显示, 模型不受单独化合物的影响.

参 考 文 献

- [1] Koch R, Molecular Connectivity index for assessing Ecotoxicological Behaviour of Organic Compounds. *Toxicol. Environ. Chem.*, 1983, 6:87—96
- [2] Leo A J, Symposium on Structure-Activity Correlations in Studies of Toxicity and Bio-Concentration with Aquatic Organisms. Great Lakes Research Advisory Board, Burlington, Ontario, 1975, p. 151
- [3] Hammett L, Physical Organic Chemistry: Reaction Rates, Equilibria and Mechanisms. 2nd ed., McGraw-Hill, NY, 1970
- [4] Tanabe S, Iwata H, Tatsukawa R, Global Contamination by Persistent Organochlorines and Their Ecotoxicological Impact on Marine Mammals. *Sci. Total. Environ.*, 1994, 154:163—177
- [5] Barron M G, Bioconcentration. *Environ. Sci. Technol.*, 1990, 24:1612—1618
- [6] Shaw G R, Connell D W, Physicochemical Properties Controlling Polychlorinated Biphenyl (PCB) Concentration in Aquatic Organisms. *Environ. Sci. Technol.*, 1984, 18:18—23
- [7] Chessells M, Hawker D W, Connell D W, Influence of Solubility in Lipid on Bioconcentration of Hydrophobic Compounds. *Ecotoxicol. Environ. Safe.*, 1992, 23:260—273
- [8] Devillers J, Bintein S, Domine D, Comparison of BCF Models Based on log P . *Chemosphere.*, 1996, 33:1047—1065
- [9] 卢晓霞, 陶澍, 根据分子连接性指数估算非极性有机化合物在鱼体中的生物富集因子. *环境科学*, 1999, 20:9—12
- [10] Karin F, Gerd-Peter Z, Werner B, Kinetics of Bioconcentration and Clearance of 28 Polychlorinated Biphenyl Congeners in Zebrafish (*Brachydanio rerio*). *Ecotoxicol. Environ. Safe.*, 1994, 28:99—109
- [11] Nagamany N, Speece R E, Structure-activity Relationships. *Environ. Sci. Tech.*, 1988, 22:606—615
- [12] Jan J, Josiovic D, Polychlorinated Terphenyls in Hens—the Behaviour of ortho-, meta-, and Para-isomers. *Chemosphere.*, 1978, 11:863—866
- [13] Opperhuizen A, van der Velde E W, Gobas F A P C et al., Relationship between Bioconcentration in Fish and Steric Factors of Hydrophobic Chemicals. *Chemosphere.*, 1985, 14:1871—1896
- [14] Hawker D, Description of Fish Bioconcentration Factors in Terms of Solvatochromic Parameters. *Chemosphere.* 1990, 20:467—477

1994 年 4 月 9 日收到.

A FRAGMENT CONSTANT METHOD FOR PREDICTION OF BCF OF PCB IN FISH

Hu Haiying Tao Shu Lu Xiaoxia

(Department of Urban and Environmental Sciences, Peking University, Beijing, 100871)

ABSTRACT

A fragment constant model was developed for predicting PCB's BCF in fish based on measured BCFs of 40 congeners covering a wide range of physiochemical properties. Their log transformed 1-octanol/water partition coefficients (K_{ow}) vary from 3.88 to 8.18. The steric effect of molecular size, which usually causes a nonlinear relationship between lgBCF and lg K_{ow} , was adjusted by introducing two structural factors. A modified jackknife test was performed to validate model robustness.

Keywords: fragment constant, BCF, PCBs, jackknife test.