

DOI: 10.7524/j.issn.0254-6108.2018011701

刘畅, 谷成刚, 提清清, 等. 土壤中邻苯二甲酸酯气相色谱保留分异及其构效关系[J]. 环境化学, 2018, 37(11): 2452-2461.

LIU Chang, GU Chenggang, TI Qingqing, et al. Differentiation of gas chromatographic retention and structure-property relationship of phthalate acid esters in soil[J]. Environmental Chemistry, 2018, 37(11): 2452-2461.

土壤中邻苯二甲酸酯气相色谱保留分异及其构效关系*

刘 畅^{1,2} 谷成刚^{1**} 提清清^{1,2} 蔡 君^{1,2} 卞永荣¹
宋 洋¹ 杨兴伦¹ 王 芳¹ 孙 成³ 蒋 新¹

(1. 中国科学院南京土壤研究所, 中国科学院土壤环境与污染修复重点实验室, 南京, 210008;

2. 中国科学院大学, 北京, 100049; 3. 南京大学环境学院, 污染控制与资源化研究国家重点实验室, 南京, 210023)

摘 要 本文选择典型 HP-5MS 色谱柱和选择离子扫描模式(SIM), 通过不同土壤加标回收验证和分析参数调节, 优化建立了适用于土壤中邻苯二甲酸酯(PAEs)的气相色谱-质谱联用(GC-MS)检测分析方法, 揭示了 PAEs 色谱保留分异特征; 结合 PAEs 主要电子结构和热力学性质的量子化学 Hartree-Fock 计算, 由偏最小二乘(PLS)分析方法成功发展了 PAEs 色谱保留分异的定量结构-性质相关关系(QSPR). 研究结果显示, GC-MS 分析方法对土壤中酞酸酯的平均回收率在 70.64%—119.80% 之间, 相对标准偏差为 0.23%—16.45%, 表明其对不同土壤中 PAEs 的分析测定具有较好适宜性. QSPR 对色谱保留分异的调整累积解释方差 $R^2_{y, cum(adj)}$ 达 0.968, 累积交叉验证相关系数 Q^2_{cum} 和外部预测相关系数 Q^2_{ext} 分别为 0.941 与 0.854, 表明模型具有较好的稳定性和预测性能, 可满足 PAEs 未知色谱保留行为准确预测和定性识别的要求. QSPR 分析表明, PAEs 分子的极化率及其与弱极性固定相分子间的色散作用是主导其色谱保留分异与变化的重要结构因子, 而 PAEs 的热力学稳定性越强, 热运动越慢, 越可能极大促进 PAEs 在色谱固定相表面通过色散而非化学作用介导的吸附过程, 延长色谱保留时间. 这对环境中 PAEs 的分析与鉴定具有重要的科学意义.

关键词 塑化剂, 土壤, 色谱保留时间, 偏最小二乘法, 定量结构-性质相关.

Differentiation of gas chromatographic retention and structure-property relationship of phthalate acid esters in soil

LIU Chang^{1,2} ● GU Chenggang^{1**} TI Qingqing^{1,2} CAI Jun^{1,2} BIAN Yongrong¹
SONG Yang¹ YANG Xinglun¹ WANG Fang¹ SUN Cheng³ JIANG Xin¹

(1. Key Laboratory of Soil Environment and Pollution Remediation, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences,

Nanjing, 210008, China; 2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing, 100049, China;

3. State Key Laboratory of Pollution Control and Resource Reuse, School of the Environment, Nanjing University, Nanjing, 210023, China)

Abstract: Based on the validation of spiked soils recovery and optimization of analytical parameters, a gas chromatography mass spectrometry (GC-MS) equipped with a HP-5MS column and selective ion monitoring (SIM) mode was developed for the determination of PAEs in soils. Differentiation of

2018 年 1 月 17 日收稿 (Received: January 17, 2018).

* 国家重点研发计划专项(2016YFD0800204), 国家自然科学基金(21377138), 中国科学院南京土壤研究所“一三五”计划和领域前沿项目(ISSASIP1618)和中国科学院前沿科学重点研究计划(QYZDJ-SSW-DQC035)资助.

Supported by National Key Research and Development Program of China(2016YFD0800204), National Natural Science Foundation of China (21377138), Frontier Project of Knowledge Innovation Engineering Field and “135” plans of CAS(ISSASIP1618) and Key Research Program of Frontier Sciences, CAS(QYZDJ-SSW-DQC035).

* 通讯联系人, Tel: 025-86881193, E-mail: cggu@issas.ac.cn

Corresponding author, 025-86881193, E-mail: cggu@issas.ac.cn

gas chromatographic retention of PAEs was revealed at the same time. By combining the quantum Hartree-Fock calculations of the major electronic structures and thermodynamic properties of PAEs, a quantitative structure-property relationship (QSPR) of chromatographic retention of PAEs was successfully developed by partial least squares (PLS) analysis. The results showed that the average recoveries of the PAEs in soils were in the range of 70.64% to 119.80% with relative standard deviations of 0.23% to 16.45%, which indicated high applicability to the determination of the PAEs in different soils. The cumulative interpretation variance of QSPR for chromatographic retention differentiation was up to 0.968, and the correlation coefficients given by cumulative cross-validation and external prediction were 0.941 and 0.854, respectively. The optimized QSPR was shown to be highly robust and predictive, which could meet the requirements of accurate prediction and qualitative identification of unknown chromatographic retention of PAEs. Furthermore, the analysis of QSPR indicated that the polarizability of PAEs and the latent dispersion interaction with the molecules of weakly polar stationary phase were the important structural factors, which were believed to dominate the differentiation and variation of gas chromatographic retention. The stronger the thermodynamic stability of PAEs, the slower the thermal motion, the more likely it is that PAEs are adsorbed on the surface of the chromatographic stationary phase by dispersion rather than chemical action, and the chromatographic retention times of PAEs are further extended.

Keywords: plasticizer, soil, chromatographic retention time, partial least square, quantitative structure-property relationship.

邻苯二甲酸酯(phthalate acid esters, PAEs)又名酞酸酯,是一种广泛应用于塑料加工、食品包装以及化妆品生产等领域的塑化剂和改性添加剂。由于 PAEs 与塑料分子间非共价键结合,极易缓慢扩散释放而引起环境污染。随着大量生产和使用,PAEs 已成为土壤^[1]、水体^[2]、大气^[3]、生物组织和食品^[4]等多环境介质中广泛检出的有机污染物。大量研究显示,不同 PAEs 对动物和人体的内分泌系统尤其是雄性个体的生殖系统能够产生干扰效应,甚至造成破坏,且具有致癌、致畸、致突变的典型“三致”毒性作用^[5-7]。鉴于其潜在的生态安全与人体健康风险,美国国家环保局(EPA)将邻苯二甲酸二甲酯(DMP)、邻苯二甲酸二乙酯(DEP)、邻苯二甲酸二丁酯(DBP)、邻苯二甲酸丁基苄基酯(BBP)、邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯(DEHP)和邻苯二甲酸二正辛酯(DNOP)等 6 种 PAEs 列为优先控制的有毒污染物^[8],中国也将 DMP、DBP 和 DNOP 等 3 种 PAEs 确定为环境优先控制污染物^[9]。

由于 PAEs 污染物种类繁多、性质复杂,且同族体之间易于产生干扰效应,若单依一种分析方法,将难以全面揭示不同 PAEs 在环境中的污染分布特征和迁移转化行为。因此,发展典型环境介质中 PAEs 的定性定量分析测定方法,已成为准确揭示其环境赋存形态与分布以及快速风险评估与管理的基础性科学问题之一。目前,针对不同环境样品中的 PAEs,研究者已发展并应用了多种分析测定方法,主要包括紫外分光光度法、荧光光谱法、气相色谱法(GC)和高效液相色谱法(HPLC)、气-质(GC-MS)/液-质(LC-MS)联用技术方法等。我国农田土壤中 PAEs 污染分布广泛、污染水平高,污染浓度多在 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的量级^[1],亟待发展并优化准确灵敏且简便高效的分析检测手段对土壤中的 PAEs 进行提取分析。朱媛媛等^[10]采用 GC-MS 对土壤中 15 种酞酸酯类化合物进行测定分析,结果表明,该方法对 15 种酞酸酯分离较好,加标回收率和精密度较高,方法检出限较低,操作简便、准确,解决了以往方法分离效果较差、峰形重叠、检出限较高等问题。相比之下,GC-MS 方法虽具有一定的优势,但受标准品的限制,其分析昂贵,且面对复杂环境如土壤样品中多种 PAEs 的分析测定,可能无法全部准确定性。定量结构-性质相关关系(QSPR)研究方法作为一种有效的计算机建模工具,根据已有化合物结构和实验数据,预测化合物的性质,弥补化合物环境行为数据的缺失,可减少或替代实验以降低实验费用,已广泛应用于环境污染风险评估与管理等研究工作中。基于计算获得的有机磷农药结构参数,颜冬云等^[11]建立了有机磷农药特定色谱保留的 QSPR 模型,在分析鉴别其色谱保留行为的同时,成功预测了不同有机磷农药的色谱保留值。杨娜等^[12]、吴志渊等^[13]也分别建立了多氯联苯(PCBs)和多溴联苯醚(PBDEs)色谱保留行为的

QSPR 模型,具有较高的预测性能.关于 PAEs 的分析方法研究已有诸多报道,然而针对结构各异的 PAEs,在 GC-MS 分析测定的基础上开展有关 PAEs 色谱保留的构效关系研究,预测未知色谱柱吸附/解吸行为,阐释色谱保留值分异的作用机制,还未见有相应的研究报道.由于特定的色谱柱选择以及不同的气化温度、程序升温等关键参数设置是 GC-MS 分析方法能够满足不同环境介质,如土壤中 PAEs 分离鉴定和准确定量的先决条件,也是导致其色谱保留行为变化的根本原因,因此不同土壤中 PAEs 复杂多变的分析需求,往往决定了相适宜的 GC-MS 分析方法和特定色谱保留行为.围绕不同土壤体系中 PAEs 的提取与 GC-MS 分析,结合定量结构-性质相关关系(QSPR)建立 PAEs 色谱保留的模型预测技术方法,不但有助于解析不同 PAEs 的色谱保留行为与分异特征,修正分析条件以提高土壤中 PAEs 分析方法的灵敏度与分辨率,还可以为环境中污染物的迁移、吸附/解吸等行为的模拟研究提供理论依据.

本文以 PAEs 为研究对象,通过加速溶剂萃取仪(ASE)提取和固相萃取柱(SPE)纯化等前处理,在对典型土壤进行加标回收验证的基础上优化建立了适用于土壤中 PAEs 的 GC-MS 检测分析方法,揭示了不同 PAEs 在 GC 色谱柱上的色谱保留分异特征和同一实验背景下 PAEs 色谱保留值,进而结合量子化学 Hartree-Fock(HF)计算方法对 PAEs 几何结构进行优化,计算了与 PAEs 色谱保留行为潜在相关的结构因子,由偏最小二乘分析(PLS)方法发展了 PAEs 色谱保留时间(RT)与其结构因子之间的相关关系,阐释了 PAEs 色谱保留值分异的作用机制,从而为环境中 PAEs 的分析与鉴定提供理论依据.

1 材料与方法(Materials and methods)

1.1 仪器与试剂

Agilent7890GC-5975MSD(美国安捷伦公司)(配有 CTC 自动进样器);加速溶剂萃取仪 ASE200(美国戴安仪器有限公司);R210/R215 型旋转蒸发器(瑞士 Buchi 公司);

实验分析所用 16 种 PAEs 混标包括:邻苯二甲酸二甲酯(DMP)、邻苯二甲酸二乙酯(DEP)、邻苯二甲酸二异丁酯(DIBP)、邻苯二甲酸二丁酯(DBP)、邻苯二甲酸二(2-甲氧基)乙酯(DMEP)、邻苯二甲酸二(4-甲基-2-戊基)酯(BMPP)、邻苯二甲酸二(2-乙氧基)乙酯(DEEP)、邻苯二甲酸二戊酯(DPP)、邻苯二甲酸二己酯(DHXP)、邻苯二甲酸丁基苄基酯(BBP)、邻苯二甲酸二(2-丁氧基)乙酯(DBEP)、邻苯二甲酸二环己酯(DCHP)、邻苯二甲酸(2-乙基)己酯(DEHP)、邻苯二甲酸二苯酯(DPHP)、邻苯二甲酸二正辛酯(DNOP)、邻苯二甲酸二壬酯(DNP),购自美国 Chem Service 公司;4 种 PAEs 单标:邻苯二甲酸二异丙酯(DIPRP)、邻苯二甲酸二丙酯(DPRP)、邻苯二甲酸二正庚酯(DHP)、邻苯二甲酸二苄酯(DBZP),购自德国 Dr.Ehrenstorfer 公司;实验用有机溶剂正己烷、二氯甲烷(色谱纯)购自德国默克公司;丙酮(色谱纯)购自美国 Tedia 公司;氮气(纯度 $\geq 99.999\%$);实验用水为去离子水;无水硫酸钠、硅胶(100—200 目)为分析纯,购自国药集团化学试剂有限公司;弗罗里硅土(60—100 目)(色谱纯)购自美国天地有限公司;硅藻土(化学纯)购自天津市科密欧化学试剂有限公司.其中,无水硫酸钠、硅胶、弗罗里硅土和硅藻土使用前需在马弗炉中高温($>400\text{ }^{\circ}\text{C}$)烘烤至少 6 h 以去除杂质干扰,并转入干燥器中备用.

1.2 前处理分析

PAEs 的 GC-MS 分析方法需通过加标回收实验进行验证.分别采用黄棕壤、黑土和红壤,取 2 g 供试土壤与 3 g 硅藻土拌匀后分别加入混合标准储备液,根据土壤实际污染水平设置单一 PAEs 污染浓度为 $0.20\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$.装入 ASE 萃取池中,在混合样品的上下各铺一层石英砂,将填满的萃取池装入 ASE 后进行提取.加速溶剂萃取条件:萃取溶剂为二氯甲烷-丙酮(1:1, V:V),提取温度 $100\text{ }^{\circ}\text{C}$,提取压力 103.4 MPa (1500 psi),预热 1 min,加热 5 min,静态时间 5 min,冲洗体积 60%,吹扫时间 60 s,静态循环次数 2 次.

提取液经旋转蒸发浓缩至 1 mL 后过 SPE 柱纯化.SPE 柱由下至上依次填入 0.5 g 无水硫酸钠、1 g 硅胶、0.5 g 弗罗里硅土、1 g 无水硫酸钠,压实,使用前需 5 mL 正己烷润洗,加入浓缩的样品后,用 15 mL 正己烷-丙酮(4:1, V:V)混合液分 3 次淋洗,收集洗脱液再次浓缩至 2 mL,定容并转移至进样瓶中,于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存待测.

1.3 仪器分析

选用色谱柱为 HP-5MS 柱(5% 苯基甲基聚硅氧烷弹性石英毛细管柱, 30 m×0.25 mm×0.25 μm)。色谱条件设置如下: 进样口温度: 250 °C; 升温程序: 初始柱温 50 °C, 保持 1 min, 以 30 °C·min⁻¹ 升至 200 °C, 保持 1 min, 再以 8 °C·min⁻¹ 升至 280 °C, 保持 3 min, 后冲温度为 285 °C。载气流速: 1 mL·min⁻¹; 进样方式: 非脉冲不分流进样; 进样量: 1 μL。

质谱条件: GC 与 MS 的接口温度为 300 °C, EI 离子源温度为 300 °C, 四极杆温度为 180 °C。监测方式: 选择离子扫描模式(SIM)。电离能量: 70 eV; 溶剂延迟: 5 min。

1.4 构效关系发展与验证

由于高精度的计算方法和基组水平并未显著提升构效关系的性能, 为节约计算机时^[13-15], 本研究中我们采用量子化学 HF 计算方法, 在 6-31G(d,p) 基组水平上对每个 PAEs 分子的各种可能构象进行结构优化, 经频率振动分析以确认结构无虚频; 相关计算工作由 Gaussian 03^[16] 程序包完成, 计算收敛精度均采用程序内定值。在不同 PAEs 优化构象能量比较的基础上, 选择能量相对极小结构并计算与其色谱保留值潜在相关的结构因子, 主要包括几何参数: 分子体积(V , 0.001 电子/Bohr³ 等电子密度曲面所包围的空间); 电子性质参数: 分子极化率(α) 及分向量(α_{xx} 、 α_{yy} 、 α_{zz}) 和前线轨道能级(E_{HOMO} 、 E_{LUMO}); 热力学性质参数: 分子内能(E_{T})、恒容热容(C_{V})、焓(H)、吉布斯自由能(G) 以及熵值(S) 等。如表 1 所示。

表 1 PAEs 主要电子性质参数

Table 1 Major electronic properties of some PAEs

PAE	V	α	α_{xx}	α_{yy}	α_{zz}	E_{HOMO}	E_{LUMO}	E_{T}	C_{V}	H	G	S
DMP	137.955	113.145	151.899	122.599	64.936	-0.260	-0.054	125.288	47.864	-687.810	-687.865	116.968
DEP	168.765	141.860	182.822	137.557	105.202	-0.269	-0.061	162.149	57.771	-766.272	-766.334	131.963
DIPRP	200.419	165.232	203.266	166.690	125.741	-0.267	-0.059	198.621	69.025	-844.841	-844.908	142.754
DPRP	212.653	165.928	213.334	150.523	133.926	-0.268	-0.061	199.578	67.521	-844.832	-844.900	146.986
DIBP	193.732	188.354	233.869	165.284	165.909	-0.269	-0.061	236.233	78.440	-923.395	-923.470	160.446
DBP	232.654	189.769	240.757	160.924	167.625	-0.268	-0.061	236.914	77.256	-923.391	-923.467	162.587
DMEP	222.672	173.688	223.851	145.324	151.888	-0.270	-0.065	206.777	73.798	-995.196	-995.271	161.458
BMPP	281.227	235.477	289.342	221.726	195.362	-0.265	-0.057	310.231	99.257	-1080.510	-1080.596	182.497
DEEP	268.639	198.692	255.279	167.290	173.508	-0.268	-0.064	243.923	83.729	-1073.767	-1073.850	176.475
DPP	290.484	213.945	271.567	180.980	189.288	-0.268	-0.061	274.168	87.078	-1001.951	-1002.035	178.631
DHXP	340.037	237.931	297.540	201.263	214.991	-0.267	-0.060	311.632	96.681	-1080.511	-1080.600	189.025
BBP	248.934	215.714	203.785	259.584	183.773	-0.252	-0.063	234.672	80.793	-1036.475	-1036.553	167.416
DBEP	364.251	246.670	313.062	209.450	217.499	-0.267	-0.064	318.710	103.202	-1230.886	-1230.983	207.393
DCHP	240.059	227.707	240.651	276.273	166.198	-0.263	-0.060	284.227	85.612	-1078.143	-1078.218	159.167
DHP	345.821	262.103	328.958	223.449	233.902	-0.267	-0.060	349.006	106.389	-1159.070	-1159.166	203.473
DEHP	332.972	283.426	352.451	264.529	233.297	-0.264	-0.054	385.552	117.920	-1237.630	-1237.733	219.044
DPHP	230.892	222.976	283.863	274.469	110.597	-0.254	-0.070	194.280	75.048	-1070.994	-1071.067	154.339
DNOP	379.825	274.777	350.946	282.641	190.743	-0.253	-0.047	387.430	116.006	-1237.833	-1237.938	222.322
DBZP	294.530	237.853	314.923	177.214	221.421	-0.255	-0.067	232.403	84.312	-1149.558	-1149.643	182.312
DNP	318.793	310.467	388.323	268.325	274.753	-0.267	-0.060	423.704	125.838	-1316.190	-1316.300	232.646

V 单位为 $\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$, α 及衍生变量为 Bohr^3 ($1 \text{ Bohr}^3 = 1.65 \times 10^{-41} \text{ C}^2 \cdot \text{m}^2 \cdot \text{J}^{-1}$), E_{T} 为 $\text{cal} \cdot \text{mol}^{-1}$, C_{V} 为 $\text{cal} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$, E_{HOMO} 、 E_{LUMO} 、 H 、 G 、 S 为 Hartree (1 Hartree = 627.51 kcal·mol⁻¹)

为发展 PAEs 色谱保留时间 RT 与其结构因子之间的相关关系, 以 SIMCA-P 统计软件 (Demo Version 11.0, Umetrics AB)^[17] 中的偏最小二乘分析方法来建立 QSPR 模型。PLS 分析最佳主成分数(A) 由逐一去除交叉验证(LOO) 予以确定^[18]。模型的稳定性由所提取主成分予以解释的因变量调整累积方差($R_{y, cum}^2$)、标准误差(SE) 和显著性水平(P) 进行评估。用累积交叉验证相关系数(Q_{cum}^2) 衡量模型的预测性, 当 $Q_{cum}^2 > 0.5$ 时, 认为相应模型可能具有较好的稳定性和内部预测能力^[19]。计算方法如式(1) 所示。

$$Q_{\text{cum}}^2 = 1 - \prod_a \left(\frac{\text{PRESS}}{\text{SS}} \right) \quad (a=1, 2, \dots, k) \quad (1)$$

式中, $\text{PRESS} = \sum_i^n \sum_m (y_{im} - \hat{y}_{im})^2$, $\text{SS} = \sum_i^n \sum_m (y_{im} - \bar{y}_{im})^2$; m 和 n 分别为构效关系因变量个数(本研究中 $m=1$)与 PAEs 气相色谱保留值 RT 样本个数; y_{im} 、 \hat{y}_{im} 和 \bar{y}_{im} 分别表示 PAEs 气相色谱保留值 RT 实验值、预测值和实验平均值。然而,仅通过交叉验证来描述模型的稳定性与内部预测能力尚不充分,还需要进行外部检验^[19]。由此将原始数据集通过 Y 等级排序法分为两部分,80%的样本作为训练集(training set),20%的样本作为测试集(test set)^[20-22],选取的测试集数据以“*”标出,如表 2 所示;以外部预测相关系数 Q_{EXT}^2 和测试集的预测值标准误差(SEP)用来评估模型外部预测能力^[23]。为降低 PAEs 过多结构性参数对其气相色谱保留行为分异解释能力的噪音影响、消除冗余结构信息,可通过比较 PAEs 结构性参数投影重要性因子 VIP 值(VIP 是自变量 X 影响性(VIN)在所有维度上的求和, $\text{VIP}_k = \sum_a (\text{VIN})_k^2$),明确主导气相色谱保留分异解释能力的重要结构信息^[24]。在构效关系发展中,筛选并去除具有最小 VIP 的结构性参数,继而循环构效关系发展和 VIP 比较筛选过程直至剩下两个结构性参数;通过比较 $R_{y, \text{cum}(\text{adj})}^2$ 和 Q_{cum}^2 ,优选 PAEs 气相色谱保留的结构-性质相关关系并揭示气相色谱保留分异的关键结构基础。

2 结果与讨论(Results and discussion)

2.1 土壤中 PAEs 的色谱保留分析

PAEs 样品定量分析采用外标法进行定量。按照本研究优化的 GC-MS 分析条件,20 种 PAEs 混合标准系列溶液进样后,可成功分离出峰。图 1 为 20 种邻苯二甲酸酯 SIM 模式总离子流图。由图 1 看出,较早出峰的 PAEs 为低酯链、小分子 DMP,RT 为 6.333 min;相较之下,较晚出峰的 PAEs 为长酯链、大分子 DNP,RT 为 18.784 min。这与 PAEs 分子在气相色谱流动相和固定相之间的分配系数 K 以及反复吸附/解吸、溶解和挥发等过程紧密相关,取决于不同 PAEs 分子与 HP-5MS 弱极性固定相苯基甲基聚硅氧烷分子间的相互作用。

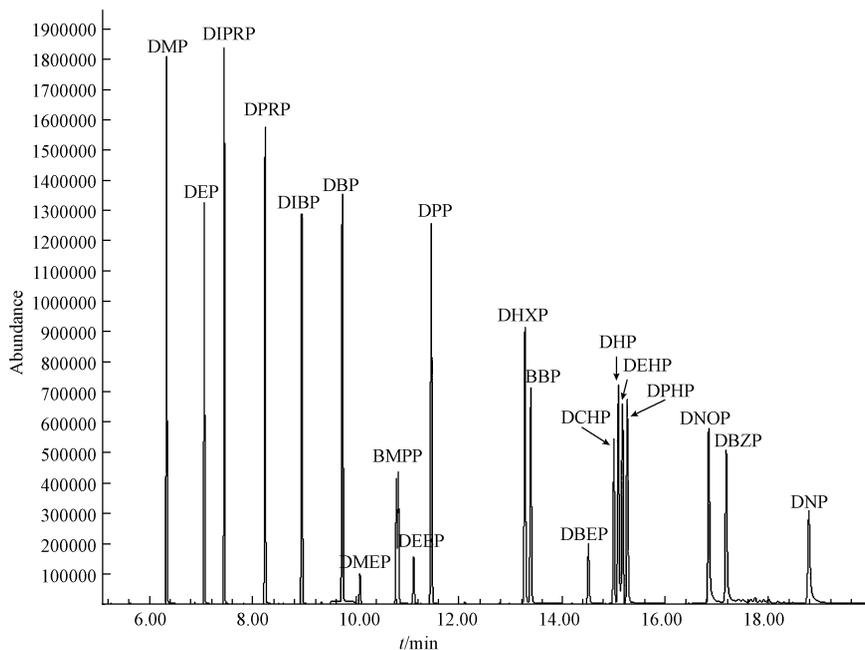


图 1 邻苯二甲酸酯 SIM 模式总离子流图

Fig.1 Total ion chromatogram of phthalate acid esters in SIM mode

低酯链的 PAEs 分子体积和极化率较小,如 DMP 分子体积和极化率分别仅为 $137.955 \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$ 、 113.145 Bohr^3 (见表 1),表明其在固定相分子外施电场下的分子变形性较小,瞬时偶极-瞬时偶极或色散作用相对较弱,不易吸附在固定相表面,色谱分配系数较小,从而致使色谱保留值较低.随着 PAEs 酯链增长或分子体积变大,如 DNP 分子体积和极化率分别达 $318.793 \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$ 和 310.467 Bohr^3 (见表 1),PAEs 在固定相分子外施电场下的分子变形性变大,色散作用相对增强,导致其在固定相表面的吸附作用和色谱分配系数变大,色谱保留值提高.由于分子体积是与溶质分子排开周围溶剂分子形成空穴所需能量是相关的,即分子体积较大的化合物,其疏水效应(熵增驱动)也较强.由此可推断,长酯链 PAEs 因较大的分子体积而易与弱极性固定相分子发生疏水作用,从而提高色谱分配系数和保留时间.以峰面积 y 对标样浓度 x 进行线性回归,得出线性回归方程和相关系数,以 3 倍信噪比计算仪器检出限(LOD),检出限在 $0.48\text{--}8.57 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 之间,相关系数 >0.998 ,如表 2 所示,表明该优化条件下的 GC-MS 分析方法可以满足环境中痕量 PAEs 的定量分析要求.

表 2 PAEs 的特征离子、线性方程、相关系数、检出限、色谱保留实验值、预测值和残差

Table 2 Characteristic ions, regression equations, correlation coefficients, detection limits, observed and predicted values and residuals about gas chromatographic retention of phthalate acid esters

化合物 Compound	特征离子 Characteristic ion (m/z)	线性方程 Regression equation	相关系数 Correlation coefficient	检出限 Detection limit/ ($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	保留时间 Retention time/min		
					实验值 Observed values	预测值 Predicted values	残差 Residuals
DMP	163, 77, 194	$y = 5.42 \times 10^2 x - 3.29 \times 10^3$	0.9995	3.85	6.333	5.081	1.252
DEP	149, 177, 121	$y = 5.47 \times 10^2 x - 4.22 \times 10^3$	0.9994	1.27	7.062	7.127	-0.065
DIPRP*	149, 209, 191	$y = 6.98 \times 10^2 x - 8.24 \times 10^3$	0.9994	0.87	7.450	8.421	-0.971
DPRP	149, 209, 191	$y = 7.19 \times 10^2 x - 6.28 \times 10^3$	0.9994	0.89	8.240	8.668	-0.428
DIBP	149, 223, 167	$y = 8.39 \times 10^2 x - 3.47 \times 10^3$	0.9994	0.88	8.952	9.893	-0.941
DBP	149, 223, 205	$y = 9.42 \times 10^2 x - 9.83 \times 10^3$	0.9993	0.48	9.741	10.187	-0.446
DMEP	149, 207, 104	$y = 0.63 \times 10^2 x - 1.69 \times 10^3$	0.9991	6.67	10.080	9.870	0.210
BMPP*	149, 167, 219	$y = 2.45 \times 10^2 x - 4.19 \times 10^3$	0.9995	4.29	10.824	12.715	-1.891
DEEP	45, 73, 149	$y = 1.17 \times 10^2 x - 3.15 \times 10^3$	0.9990	0.70	11.122	11.498	-0.376
DPP	149, 237, 219	$y = 9.95 \times 10^2 x - 1.96 \times 10^4$	0.9992	1.01	11.462	11.734	-0.272
DHXP	149, 251, 104	$y = 9.30 \times 10^2 x - 2.43 \times 10^4$	0.9990	1.43	13.277	13.284	-0.007
BBP	149, 91, 206	$y = 6.66 \times 10^2 x - 2.94 \times 10^4$	0.9984	2.68	13.390	13.604	-0.214
DBEP*	85, 149, 101	$y = 2.43 \times 10^2 x - 9.86 \times 10^3$	0.9983	6.17	14.507	14.569	-0.062
DCHP	149, 167, 249	$y = 8.14 \times 10^2 x - 3.02 \times 10^4$	0.9989	0.99	15.004	13.928	1.076
DHP	149, 57, 265	$y = 8.31 \times 10^2 x - 2.89 \times 10^4$	0.9988	1.35	15.092	14.844	0.248
DEHP	149, 167, 279	$y = 7.55 \times 10^2 x - 2.10 \times 10^4$	0.9990	2.58	15.170	15.875	-0.705
DPHP	225, 77, 104	$y = 8.88 \times 10^2 x - 2.71 \times 10^4$	0.9989	1.95	15.266	16.024	-0.758
DNOP*	149, 167, 279	$y = 9.51 \times 10^2 x - 3.08 \times 10^4$	0.9987	4.35	16.843	15.126	1.717
DBZP	91, 107, 149	$y = 6.07 \times 10^2 x - 4.16 \times 10^4$	0.9988	3.19	17.183	16.578	0.605
DNP	57, 71, 149	$y = 9.63 \times 10^2 x - 2.94 \times 10^4$	0.9999	8.57	18.784	17.962	0.822

对土壤样品加标回收进行数据分析,结果如图 2 所示.3 种土壤中 20 种酞酸酯的平均回收率在 70.64%—119.80% 范围内,相对标准偏差为 0.23%—16.45%.其中黄棕壤中为 77.59%—112.85%,黑土中为 70.64%—109.21%,红壤中为 85.62%—119.80%,且不同土壤之间的回收率经方差分析表明,无显著性差异($P > 0.05$).由此可见,该方法回收率高,能够满足土壤中 PAEs 的分析测定要求.

2.2 模型发展与验证

通过 PLS 分析发展了一系列 PAEs 气相色谱保留的 QSPRs,经结构性质参数 VIP 比较和参数依次筛选剔除过程后,发现 PAEs 分子极化率 α 和 Y 方向量 α_{yy} 以及热力学性质参数 E_T 、 C_V 、 G 和 H 与色谱保留值具有显著的相关性,所发展的构效关系模型也具有最大的 $R_{y,cum(adj)}^2$ 和 Q_{cum}^2 ,显著优于其他模型.基于 PLS 分析得出的非校正标准回归系数和常数,可以得到 QSPR 如式(2).

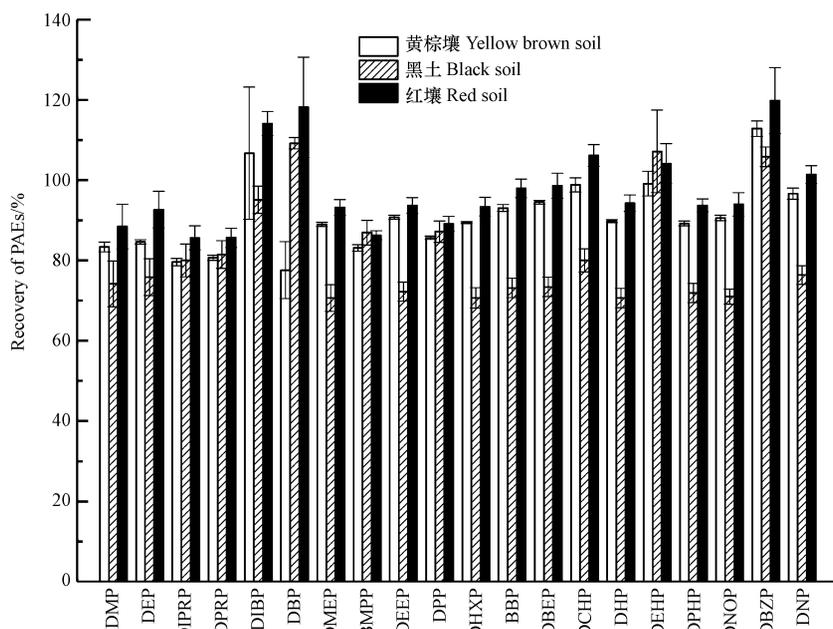


图2 三种土壤中酞酸酯的加标回收率

Fig.2 Recovery of three soils spiked with PAEs

$$RT = 3.321 + 1.528\alpha + 0.002\alpha_{yy} - 0.183H - 0.183G - 0.679C_v - 0.328E_T \quad (2)$$

$$n(\text{training set}) = 16, A = 4, R^2_{y, \text{cum}(\text{adj})} = 0.968, Q^2_{\text{cum}} = 0.941, SE = 0.767$$

$$n(\text{test set}) = 4, Q^2_{\text{EXT}} = 0.854, SEP = 1.367, p = 0.031$$

由 PLS 分析的交叉验证法,确定 PAEs 气相色谱保留的 QSPRs 最佳主成分数为 4,即以 4 个主成分能够解释不同 PAEs 色谱保留时间变异的 96.8%,如图 3 所示,训练集中 RT 的实验值与预测值拟合较好,且标准误差 SE(0.767)较小;四个主成分的累积交叉验证相关系数 Q^2_{cum} 为 0.941,远远大于通常定义临界值 0.5,充分证明模型具有较高的内部预测性。 $R^2_{y, \text{cum}(\text{adj})}$ 与 Q^2_{cum} 之差远小于 0.3,说明模型不存在过度拟合^[19]。外部预测相关系数 Q^2_{EXT} 为 0.854,测试集的预测值标准误差 SEP 为 1.367,说明该模型具有较好的稳定性和外部预测性,可用于准确预测并定性识别 PAEs 在 GC-MS HP-5MS 色谱柱上的保留时间分异特征。

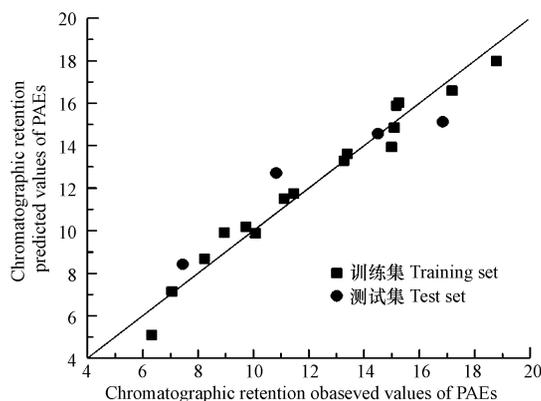


图3 PAEs 色谱保留时间实验值与预测值的比较

Fig.3 Linear relationship between the observed and predicted gas chromatographic retention times of PAEs

为了进一步评估模型的有效性与可靠性,对模型进行置换检验.在置换检验当中,将 PAEs 色谱保留值排序打乱,使其随机错误分配^[25].置换次数选择 250 次,每次都产生一组错误分配的 RT 数据 y' ,用于模型拟合与交叉验证.当 y' 等于 PAEs 的 RT 数据正确分配的 y 时,其相关系数 $R^2_{(y, y')}$ 等于 1,

$R_{cum(y',x)}^2$ 、 $Q_{cum(y',x)}^2$ 即分别是待评估模型的真实调整累积方差和交叉验证相关系数.相反,当 $R_{(y,y')}^2$ 等于 0, $R_{cum(y',x)}^2$ 、 $Q_{cum(y',x)}^2$ 分别为图 4 中拟合直线在纵坐标上的截距.经验表明,当 $R_{(y,y')}^2$ 和 $R_{cum(y',x)}^2$ 、 $R_{(y,y')}^2$ 和 $Q_{cum(y',x)}^2$ 的回归直线在纵坐标上截距分别大于 0.3 和 0.05 时,该模型可能存在过度拟合的现象.而在本模型中,截距计算值分别为 0.167 和 -0.523,远低于警戒值,说明所得到的模型并不存在过度拟合、过度预测或者偶然相关性.

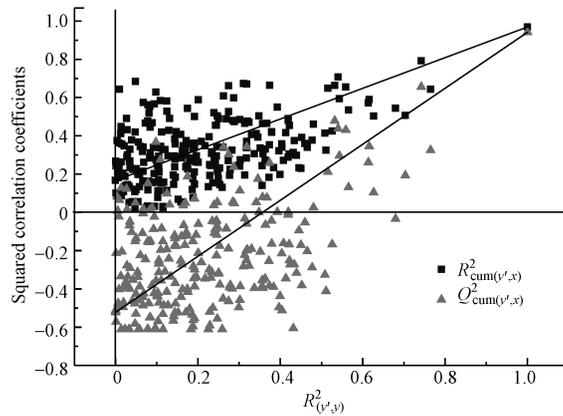


图 4 QSPR 模型的置换检验

Fig.4 Validation of obtained model by permutation test

2.3 色谱保留分析及分子机制阐释

为明晰 QSPR 模型中 PAEs 各结构参数对于色谱保留变异解释的贡献以及它们之间的相关关系,计算了各结构参数在第一、二主成分中的有效权重载荷 ($w * c[1]$ 、 $w * c[2]$) 和 PAEs 观测值的因子得分 ($t[1]$ 、 $t[2]$),并就第一、二主成分做分布关系图,如图 5 所示.从图 5(a) 可以看出,第一主成分主要集中于分子的极化率和焓、吉布斯自由能热力学性质,它们的权重值分别是 0.438、-0.443 和 -0.443,即第一主成分对色谱保留变异的解释能力主要来源于它们;从第一主成分权重载荷在其横向轴线上的相对位置可以看出,PAEs 的色谱保留与其分子极化率、尤其是 Y 方向上的极化率分向量存在显著正相关关系,而与焓和吉布斯自由能呈显著负相关关系,表明 PAEs 分子的热力学稳定性及其与色谱柱固定相之间的色散作用显著影响色谱保留时间的分异与变化.比较而言,第二主成分与分子极化率 Y 分向量 α_{yy} 和分子内能与恒容热容紧密有关,权重值为 0.452、-0.648 和 -0.456;从第二主成分权重载荷在其纵向轴线上的分布来看,色谱保留又分别与分子内能和恒容热容呈显著负相关关系,即随 C_V 和 E_T 减小,分子热运动减慢,有利于 PAEs 气相分子在色谱柱固定相表面的吸附,从而延缓出峰、提高色谱保留时间.从图 5(b) 中可以看出,不同组群的 PAEs 依据酯链碳原子数目从低(左)到高(右)沿着因子得分 $t[1]$ 分散排列,PAEs 观测值沿着 $t[1]$ 的得分图分布体现出酯链碳原子个数对于 PAEs 色谱保留的重要影响.而沿着 $t[2]$ 得分图所反映出的规律可发现,酯链含有苯环或环己烷的 PAEs 对色谱保留的影响.

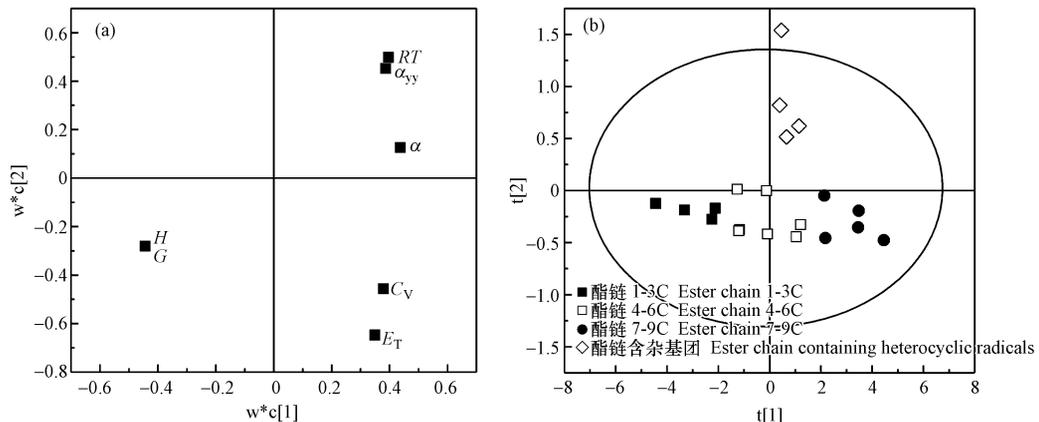


图 5 (a) 描述符的载荷图;(b) PAEs 的得分图

Fig.5 (a) Plot of principal components loadings of descriptors; (b) Plot of principal components scores of PAEs

通过 PLS 分析,计算了 PAEs 结构参数的投影重要性因子 VIP 值,从而进一步明确主导 PAEs 色谱保留分异的关键结构因子.一般认为,如果 VIP 值大于 1,可认为相应结构参数对阐释 PAEs 色谱保留分异与变化起重要作用.从图 6 可以看出,PAEs 分子极化率、焓和吉布斯自由能的 VIP 值分别为 1.058、1.040 和 1.040,被认为是主导 PAEs 的色谱保留最为关键的结构参数.有研究显示,分子极化率不仅反映分子在外施电场下的电子变形性,而且在一定程度与分子体积相关^[26].如前所述,PAEs 分子极化率或分子体积增大,均有利于 PAEs 与弱极性固定相分子间的色散作用,从而导致其在色谱固定相中保留时间延长^[14].PAEs 分子极化率是决定其色谱保留分异特征的主导性结构因子.除此之外,PAEs 分子的热力学稳定性是影响其色谱保留分异的重要性质,即热力学稳定性越强,热运动越慢,越可能极大促进 PAEs 在色谱固定相表面通过色散而非化学作用介导的吸附过程,致使解吸速率下降和色谱保留时间延长.

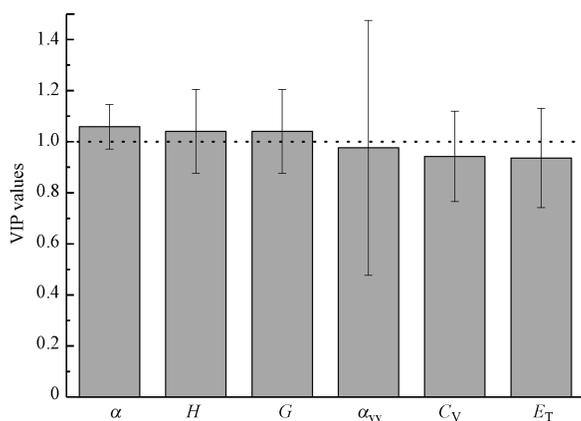


图 6 结构参数 VIP 值比较

Fig.6 VIP comparison of different descriptors in QSPR

3 结论 (Conclusion)

(1) 基于 HP-5MS 色谱柱和选择离子扫描模式的 GC-MS 分析方法,具有操作简单、快速高效、检测限低和定量准确等优点,且通过 ASE 提取、SPE 小柱净化,土壤中 20 种 PAEs 平均加标回收率为 70.64%—119.80%,表明其可适用于土壤中 PAEs 的检测分析.

(2) 通过 PAEs 典型电子结构和热力学性质的量子化学 HF 计算,由 PLS 分析方法成功发展了 PAEs 色谱保留分异的 QSPR,其色谱保留分异的调整累积方差 $R_{y,cum(adj)}^2$ 为 0.968,累积交叉验证相关系数 Q_{cum}^2 为 0.941,外部预测相关系数 Q_{EXT}^2 为 0.854,表明具有较好的稳定性和外部预测性,可用于 PAEs 未知色谱保留行为的准确预测和定性识别.

(3) QSPR 分析表明,PAEs 分子的极化率及其与弱极性固定相分子间的色散作用主导其色谱保留分异特征,而 PAEs 的热力学稳定性也是影响其色谱保留分异的重要性质,即热力学稳定性越强,热运动越慢,越可能极大促进 PAEs 在色谱固定相表面通过色散而非化学作用介导的吸附过程,延长色谱保留时间.

参考文献 (References)

- [1] 陈永山, 骆永明, 章海波, 等. 设施菜地土壤酞酸酯污染的初步研究[J]. 土壤学报, 2011, 48(3): 516-523.
CHEN Y S, LUO Y M, ZHANG H B, et al. Preliminary study on PAEs pollution of greenhouse soils[J]. Acta Pedologica Sinica, 2011, 48(3): 516-523 (in Chinese).
- [2] 胡雄星, 韩中豪, 周亚康, 等. 黄浦江表层水体中邻苯二甲酸酯的分布特征及风险评价[J]. 环境化学, 2007, 26(2): 258-259.
HU X X, HAN Z H, ZHOU Y K, et al. Distribution characteristics and risk assessment of phthalic acid esters in the surface water of Huangpu River[J]. Environmental Chemistry, 2007, 26(2): 258-259 (in Chinese).
- [3] 朱振宇, 姬亚芹, 张诗建, 等. 1 月天津市大气 PM_{2.5} 中邻苯二甲酸酯污染特征及暴露分析[J]. 环境化学, 2015, 34(7):

- 1371-1373.
- ZHU Z Y, JI Y Q, ZHANG S J, et al. Pollution characteristics and exposure analysis of phthalates in atmospheric PM_{2.5} in Tianjin city in January[J]. *Environmental Chemistry*, 2015, 34(7): 1371-1373(in Chinese).
- [4] 黄永辉. SPE-GC-MS 法同时测定奶粉中 18 种邻苯二甲酸酯迁移量[J]. *食品研究与开发*, 2010, 31(11): 167-171.
- HUANG Y H. Simultaneous determination of 18 phthalate acid esters migration in milk powder by solid phase extraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry[J]. *Food Research and Development Food Res Dev*, 2010, 31(11): 167-171(in Chinese).
- [5] SWAN S H, MAIN K M, LIU F, et al. Decrease in anogenital distance among male infants with prenatal phthalate exposure[J]. *Environmental Health Perspectives*, 2005, 113(8): 1056-1061.
- [6] SWAN S H. Environmental phthalate exposure in relation to reproductive outcomes and other health endpoints in humans[J]. *Environmental Research*, 2008, 108(2): 177-184.
- [7] SINGH S, LI S S. Bisphenol A and phthalates exhibit similar toxicogenomics and health effects[J]. *Gene*, 2012, 494(1): 85-91.
- [8] 周文敏. 环境优先污染物[M]. 北京:中国环境科学出版社, 1989.
- ZHOU W M. Environmental priority pollutants [M]. Beijing:China Environmental Science Press, 1989(in Chinese).
- [9] 金相灿. 有机化合物污染化学:有毒有机物污染化学[M]. 北京:清华大学出版社, 1990.
- JIN X C. Organic compounds pollution chemistry: toxic organic pollutants chemistry[M]. Beijing: Tsinghua University Press, 1990(in Chinese).
- [10] 朱媛媛, 田靖, 王伟, 等. 土壤中 15 种酞酸酯类化合物测定[J]. *中国环境监测*, 2009, 25(2): 79-83.
- ZHU Y Y, TIAN J, WANG W, et al. Determination of 15 kinds of phthalate in soil[J]. *Environmental Monitoring in China*, 2009, 25(2): 79-83(in Chinese).
- [11] 颜冬云, 蒋新, 赵振华, 等. 运用 QSPR 预测有机磷农药的色谱保留值[J]. *环境化学*, 2006, 25(2): 220-224.
- YAN D Y, JIANG X, ZHAO Z H, et al. Prediction of gas chromatographic retention times of organophosphorus pesticides by using qspr[J]. *Environmental Chemistry*, 2006, 25(2): 220-224(in Chinese).
- [12] 杨娜, 杨林. 多氯联苯分子空间坐标与气相色谱相对保留时间的 QSPR 研究[J]. *计算机与应用化学*, 2012, 29(2): 219-222.
- YANG N, YANG L. QSAR study for molecular coordinates and gas chromatographic relative retention time of polychlorinated biphenyls[J]. *Computers and Applied Chemistry*, 2012, 29(2): 219-222(in Chinese).
- [13] 吴志渊, 薛秀玲, 邱其俊. 多溴联苯醚气相色谱相对保留时间的定量结构-活性关系[J]. *华侨大学学报(自然科学版)*, 2015, 36(2): 190-198.
- WU Z Y, XUE X L, QIU Q J, et al. Quantitative structure-activity relationships on gas chromatographic relative retention time of polybrominated diphenyl ethers[J]. *Journal of Huaqiao University(Natural Science)*, 2006, 25(2): 220-224(in Chinese).
- [14] 许惠英, 张建英, 王艳花, 等. 多溴联苯醚定量结构-性质关系的分子表面静电势应用研究[J]. *环境科学*, 2008, 29(2): 398-408.
- XU H Y, ZHANG J Y, WANG Y H, et al. QSPR studies on the physicochemical properties of polybrominated diphenyl ethers using theoretical descriptors derived from electrostatic potentials on molecular surface[J]. *Environmental Science*, 2008, 29(2): 398-408(in Chinese).
- [15] 高硕. 拓扑-量子键邻接矩阵的构建及其在有机物定量构效关系研究中的应用[D]. 长沙:中南大学, 2008.
- GAO S. QSPR The method of establishing topological-quantum bond adjacency matrix and its application in the QSPR/QSAR study for organic compounds[D]. Changsha:Central South University, 2008(in Chinese).
- [16] FRISCH M J, TRUCKS G W, SCHLEGEL H B, et al. In: Gaussian 03, Revision B.03, Gaussian Inc., Pittsburgh PA, 2003.
- [17] WOLD S, SJOSTROMA M, ERIKSSON L. PLS-regression: a basic tool of chemometrics[J]. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 2001, 58(2): 109-130.
- [18] WOLD S, SJOSTROMA M, ERIKSSON L. Cross-validated estimation of the number of components in factor and principal components models[J]. *Technomet*, 1978, 20(4): 397-405.
- [19] GOLBRAIKH A, TROPSHA A. Beware of q²! [J]. *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, 2002, 20(4): 269-276.
- [20] HEMMATEENEJAD B. Optimal QSAR analysis of the carcinogenic activity of drugs by correlation ranking and genetic algorithm-based PCR[J]. *Journal of Chemometrics*, 2004, 18(11): 475-485.
- [21] GRAMATICA P. Principles of QSAR models validation: internal and external[J]. *QSAR & Combinatorial Science*, 2007, 26(5): 694-701.
- [22] GOLBRAIKH A, TROPSHA A. Predictive QSAR modeling based on diversity sampling of experimental datasets for the training and test set selection[J]. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, 2000, 16(5): 357-369.
- [23] DOS REIS R R, SAMPAIO S C, DE MELO E B. An alternative approach for the use of water solubility of nonionic pesticides in the modeling of the soil sorption coefficients[J]. *Water Res*, 2014, 53(53): 191-199.
- [24] WOLD S. Exponentially weighted moving principal components analysis and projections to latent structures[J]. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 1994, 23(1): 149-161.
- [25] VOET H V D. Comparing the predictive accuracy of models using a simple randomization test[J]. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 1994, 25(2): 313-323.
- [26] CAMMARATA A. An apparent correlation between the in vitro activity of chloramphenicol analogs and electronic polarizability[J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 1967, 10(4): 525-527.