

辽东湾海水中甾体雌激素的检测及生态风险评价

吴世闽,贾 媛,彭 辉,巫晓琴,董兆敏,胡建英* (北京大学城市与环境学院,北京 100871)

摘要: 建立了 SPE-丹酰化衍生-UPLC-MS/MS 海水中雌激素的高灵敏度分析方法,对辽东湾海水中甾体雌激素的浓度水平及分布进行了调查并对其潜在的生态风险进行了评估.结果表明:辽东湾海水样品中检出雌酮,17 β -雌二醇,17 α -雌二醇,雌三醇和 17 α -乙炔基雌二醇的浓度分别为(0.714 \pm 0.407),(0.089 \pm 0.077),(0.009 \pm 0.011),(0.008 \pm 0.008),(0.001 \pm 0.003)ng/L.雌激素浓度在大辽河入海口区域最高,双台子河入海口次之,大凌河及小凌河入海口区域最低.辽东湾海水中的 17 β -雌二醇等当量浓度(EEQ-E2 β)为 0.562 \pm 0.327ng/L,导致野生梭鱼雌雄同体发生的概率约为 0.83%,不足以解释该海域野生梭鱼雌雄同体的高发生率.为了有效管理该海域的环境安全,有必要对原因物质进行进一步解析.

关键词: 辽东湾; 海水; 甾体雌激素; 丹酰化衍生; 雌雄同体; 生态风险

中图分类号: X171 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-6923(2011)11-1904-06

Determination and risk assessment of steroidal estrogens in Liaodong Bay, China. WU Shi-min, JIA Ai, PENG Hui, WU Xiao-qin, DONG Zhao-min, HU Jian-ying* (Department of Urban and Environmental Sciences, Peking University, Beijing 100871, China). *China Environmental Science*, 2011,31(11): 1904~1909

Abstract: A highly sensitive SPE-UPLC-MS/MS method based on dansyl derivatization was developed to investigate the concentrations and distribution of steroidal estrogens in seawater in Liaodong Bay, China, and further assess their ecological risk to wild so-iuy mullet. Estrone, 17 β -estradiol, 17 α -estradiol, estriol and 17 α -ethinylestradiol were detected in seawater samples with the average concentrations of 0.714 \pm 0.407, 0.089 \pm 0.077, 0.009 \pm 0.011, 0.008 \pm 0.008 and 0.001 \pm 0.003ng/L, respectively. The total concentration of estrogens was higher in the sea area adjacent to Daliao River than adjacent to Shuangtaizi River, and was the lowest adjacent to Daling River and Xiaoling Rivers. The average of 17 β -estradiol equivalent concentration (EEQ-E2 β) in Liaodong Bay was 0.562 \pm 0.327ng/L, and the probability of intersex caused by steroidal estrogens was approximately 0.83%, which was much lower than the incidence of intersex in wild so-iuy mullet. Therefore, further identification of causal chemicals is needed for effective environmental safety management of Liaodong Bay.

Key words: Liaodong Bay; seawater; steroidal estrogens; dansyl derivatization; intersex; ecological risk

辽东湾是我国经济鱼虾类的重要产卵场和索饵育肥场,但进入 20 世纪 90 年代后由于环境污染等原因,渔业资源严重退化.最近的一项调查发现,辽东湾野生梭鱼雌雄同体发生率高达 50%以上,在鳊鱼和野生鲈鱼中也发现了雌雄同体现象^[1].研究表明,鱼类雌雄同体的发生与环境内分泌干扰物质特别是雌激素效应物质有直接的关系^[2-3].

甾体雌激素是一类重要的雌激素效应物质,广泛存在于脊椎动物体内,并可以通过生物排泄进入环境中^[4].这类物质虽然在环境中浓度水平很低^[5],但由于其雌激素活性远高于其他已知的内分泌干扰物质^[6-7],因而受到广泛关注.国际上

对地表水中的雌激素已经做了大量的调查^[8-10],国内也有一些研究^[11-12],而目前关于海洋水体中雌激素的报道却非常少^[13-14].目前,LC-MS-MS 检测方法由于具有高灵敏度高特异性,被广泛应用到环境中雌激素的调查,但是由于海水样品中雌激素的浓度往往非常低,目前所采用的方法不能总是满足雌激素物质的检测^[15],为此有必要建立一个更加灵敏的海水样品检测方法.

收稿日期: 2011-03-09

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(40632009);国家“973”项目(2007CB407304)

* 责任作者, 教授, hujiy@urban.pku.edu.cn

本研究以 4 种天然甾体雌激素雌酮(E1), 17 β -雌二醇(E2 β), 17 α -雌二醇(E2 α), 雌三醇(eE3) 以及一种常用的人工合成雌激素 17 α -乙炔基雌二醇(EE2)为对象物质,建立了以丹酰化衍生为基础的高灵敏度 LC-MS/MS 分析方法,并将其应用于辽东湾海水中甾体雌激素浓度水平及分布的调查.最后以雌雄同体发生作为评价终点,对其潜在的生态风险进行了评估,以期解析辽东湾野生鱼类雌雄同体现象的成因提供了依据.

1 材料与方法

1.1 样品的采集

2008 年 5 月 10~14 日于辽东湾近岸海域采集了 32 个表层海水(30~50cm 深度)样品,样品采集点分布如图 1 所示.所有水样采集至干净的棕色玻璃容器中,加入适量甲醛使样品中甲醛的最终含量约为 1%(V/V),在 24h 内进行富集萃取.

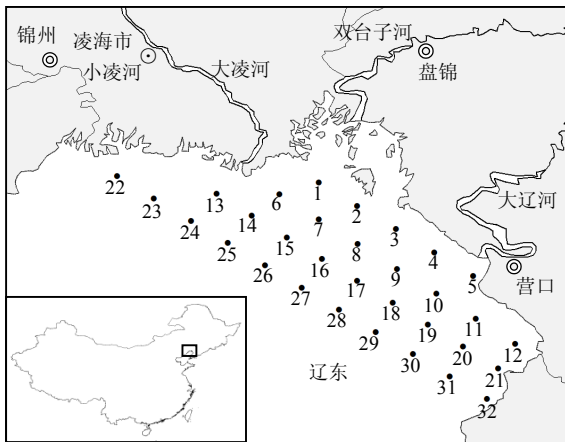


图 1 辽东湾近岸海水采样点分布

Fig.1 Sampling sites of seawater in Liaodong Bay, China

1.2 样品前处理

取海水样品 100mL 经过 0.45 μ m 玻璃纤维滤膜过滤后,加入同位素内标 E1-d₂, E2 β -d₃ 和 EE2-d₄ 各 5ng,用 Oasis HLB 固相萃取柱(500mg,6mL) (Waters Corp.,USA)对雌激素进行富集.HLB 柱依次用 6mL 乙酸乙酯,6mL 乙腈和 12mL 水活化,控制水样以 5~10mL/min 的流速通过固相萃取柱富集,注意避免柱床干涸.水样全部

通过后,用 2 \times 10mL 纯水润洗盛水样容器和 HLB 柱.用氮气流吹干 HLB 柱,用 15mL 乙酸乙酯洗脱.洗脱液在微弱的氮气流下吹干后,用甲醇定容至 0.5mL,保存于-20 $^{\circ}$ C 下.

进入仪器分析前,用丹磺酰氯(Dansyl chloride)对雌激素进行衍生.取样品 200 μ L 在微弱氮气流下吹干,加入 100 μ L NaHCO₃ 缓冲溶液(pH=10.5,100mmol/L),混合 1min,再加入 100 μ L 丹磺酰氯丙酮溶液(1.0mg/mL),混合 1min.在 60 $^{\circ}$ C 下反应 6min,冷却至室温后,进入 LC-MS/MS 进行定量分析.

1.3 LC-MS/MS 分析

用 ACQUITY UPLC 超高效液相色谱仪(Waters Corp.,USA)对目标物质进行分离.液相分离柱采用 ACQUITY UPLC BEH Phenyl 色谱柱(1.7 μ m 粒径,2.1mm \times 50mm)(Waters Corp.,USA),流动相为甲醇和含 0.1% 甲酸的纯水,色谱柱温度为 40 $^{\circ}$ C,流速 0.3mL/min,进样体积 5 μ L.液相梯度洗脱条件:甲醇初始比例为 50%,在 0~4.0min 内线性增加为 85%,保持 0.5min 后立即变为 100% 并保持 2.5min,最后回到初始比例平衡 2.0min.

表 1 目标雌激素及内标的选择离子和检测条件
Table 1 Multi-selected reaction monitoring (MRM) conditions for target estrogens

化合物	选择离子	锥孔电压(V)	碰撞能量(eV)
E3	522 > 171	62	40
	522 > 156		58
E2 β	506 > 171	62	38
	506 > 156		58
E2 β -d ₃	509 > 171	65	35
	509 > 156		60
E2 α	506 > 171	56	38
	506 > 156		58
EE2	530 > 171	58	42
	530 > 156		62
EE2-d ₄	534 > 171	65	35
	534 > 156		60
E1	504 > 171	58	34
	504 > 156		60
E1-d ₂	506 > 171	45	35
	506 > 156		60

用 Quattro Premier XE 串联四级杆质谱仪(Waters Corp.,USA)进行定量分析.采用 ESI+ 离

子源,在多反应监测模式下对目标物质进行检测.质谱参数:毛细管电压 3.5kV;源温度 120℃;脱溶剂气温度 450℃;锥孔气流量 50L/h;脱溶剂气流量 800L/h.目标雌激素及内标的选择离子和检测条件见表 1.

1.4 质量保证与控制(QA/QC)

目标物质定性通过与标准样品的保留时间(2%以内)和两个选择离子的峰面积比例(20%以内)相比较来确认.目标物质的定量采用最高丰度或背景干扰最少的选择离子,用内标峰面积法校正前处理和基质干扰的损失,并消除仪器波动对响应的影响.每 1 组(10~15 个)样品伴随 1 个方法空白、1 个样品重复和 1 个基质加标样品作为质量控制.方法空白中没有目标物质检出.

2 结果与分析

2.1 分析方法的优化

研究发现,雌激素在 A 环酚羟基上的 1-二甲氨基萘-5-磺酰(丹酰)衍生物在大气压电离源下(ESI 和 APCI)具有极高的灵敏度^[16].近年来,基于丹酰化衍生反应和 LC-MS/MS 分析的雌激素的高灵敏度检测方法也逐渐发展起来^[17-19],但该技术尚未应用于实际环境调查中.本研究以丹磺酰氯作为衍生剂,建立了 SPE-丹酰化衍生-UPLC-MS/MS 方法,并应用于海水中甾体雌激素的调查.在 ESI+模式下,其衍生产物的质子化分子离子峰($[M+H]^+$)丰度最高,被选作母离子,其质荷比(m/z)为 171 和 156 的 2 个主要碎片离子均由衍生产物上丹酰的部分断裂产生.

实验证明,丹磺酰氯衍生化应用于基质简单的水体如饮用水时可以极大增强离子响应,但在检测河水和污水厂出水等基质比较复杂的样品时,会产生显著的离子抑制^[19].因此减少样品的基质效应是提高灵敏度的关键.本研究采用 Oasis HLB 固相萃取柱对海水进行样品富集,没有发现明显的基质效应,其对象物质 E1,E2 β ,E2 α ,E3 和 EE2 的方法回收率($n=3$)分别为(90.6 \pm 0.9)%,(86.2 \pm 4.5)%,(87.0 \pm 7.2)%,(83.5 \pm 6.4)%和(91.7 \pm 2.3)%.

采用新建立的衍生化分析方法与实验室已有的 SPE-LC-MS/MS 分析方法^[12]对同一海水样

品进行测定.其中,衍生化方法将 100mL 水样浓缩至 0.5mL(浓缩倍数为 200),衍生后用 ESI+离子源分析,非衍生化方法将 2L 水样浓缩至 0.5mL(浓缩倍数为 4000),用 ESI-离子源直接分析,检测结果如图 2 所示.可以看到采用丹酰衍生化方法极大地提高了雌激素检测方法的灵敏度.以信噪比(S/N)为 3 计算方法检出限(MDLs),5 种甾体雌激素 E1,E2 β ,E2 α ,E3 和 EE2 的方法检出限分别为 0.005,0.005, 0.003,0.006,0.004ng/L,远低于非衍生化方法(0.02~0.20ng/L),说明新方法可以满足实际海水样品中雌激素的检测.

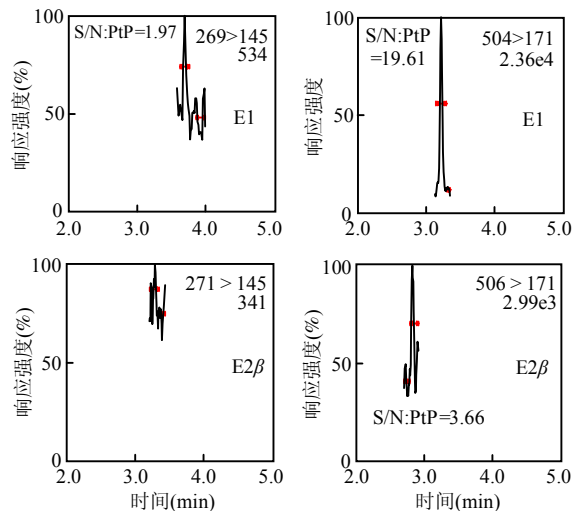


图 2 衍生化与非衍生化的雌激素 LC-ESI-MS/MS 分析方法比较

Fig.2 Comparison of LC-ESI-MS/MS chromatograms between derivatized and underivatized estrogens

2.2 辽东湾海水中雌激素浓度水平及分布特征

由图 3 可见,辽东湾 32 个海水样品中都检出了 E1;E2 β 在除了 3[#]样品外的其他样品中都有检出;E2 α 和 E3 检出率相当,分别为 59%和 56%;EE2 仅在 18,21 和 22[#]这 3 个水样中有检出.E1 浓度水平远高于其他雌激素,为(0.714 \pm 0.407)ng/L(浓度范围 0.164~1.766ng/L);E2 β 的浓度水平次之,为(0.089 \pm 0.077)ng/L(浓度范围 <0.005~0.301ng/L);E2 α 浓度为(0.009 \pm 0.011)ng/L(浓度范围 <0.003~0.052ng/L);E3 浓度为(0.008 \pm 0.008)ng/L(浓度范围 <0.006~0.027ng/L),与 E2 α 相当;EE2 的

浓度为 $(0.001 \pm 0.003) \text{ ng/L}$ (浓度范围 $<0.004 \sim 0.009 \text{ ng/L}$); 5 种雌激素的总浓度 ($\Sigma 5\text{ES}$) 为 $(0.821 \pm 0.474) \text{ ng/L}$ (浓度范围 $0.189 \sim 2.045 \text{ ng/L}$)。

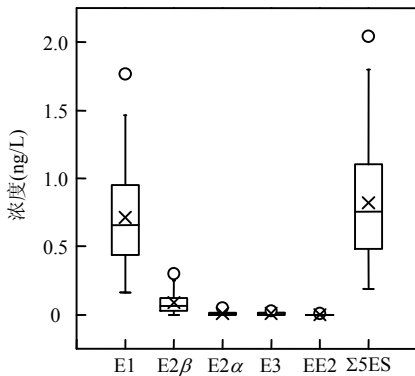


图 3 辽东湾近岸海域海水样品中雌激素的浓度水平
Fig.3 Concentrations of estrogens in surface seawater in Liaodong Bay
× 平均值; ○ 离群值

据已有文献,这是 $E2\alpha$ 在海洋环境水体中的首次报道。 $E2\alpha$ 作为 $E2\beta$ 的差向异构体,在地表水体中并未受到广泛关注,主要是由于 $E2\alpha$ 仅在一些特殊情况下才能在人的尿液及血清中检出,而且被认为雌激素活性较弱^[20]。然而, $E2\alpha$ 是牛、羊等有蹄类动物和某些噬齿类动物的排泄物中最主要的雌激素,在人类、猪或家鸡的排泄物中则很少出现,因此可作为潜在的环境指示物,为环境中雌激素的来源解析提供信息^[21]。 $E2\alpha$ 的高检出率说明辽东湾近岸海域可能受到了沿岸畜禽养殖废水的污染。

目前,海水中甾体雌激素浓度水平的报道还非常少。Atkinson 等^[13]测定了太平洋、西大西洋以及加勒比海沿岸及近海热带水域中 $E1$ 的浓度,其中游离态 $E1$ 在公海中一般低于 0.040 ng/L ,而在美国 Rehoboth 湾中接近 2 ng/L 。Robinson 等^[14]调查表明,加拿大 Halifax 港的海水中 $E2\beta$ 的浓度最大达到 0.57 ng/L , $EE2$ 浓度小于 0.14 ng/L 。Hashimoto 等^[22]对日本东京湾海水中的雌激素活性进行了调查,检出雌激素活性的样品中 $E2\beta$ 雌二醇等当量浓度为 $0.34 \sim 2.52 \text{ ng/L}$,并证明其活性主要来自甾体雌激素。总体来看,辽东湾近岸海水中甾体雌激素的浓度水平略低于美国 Rehoboth 湾和加拿

大 Halifax 港,远低于日本东京湾。

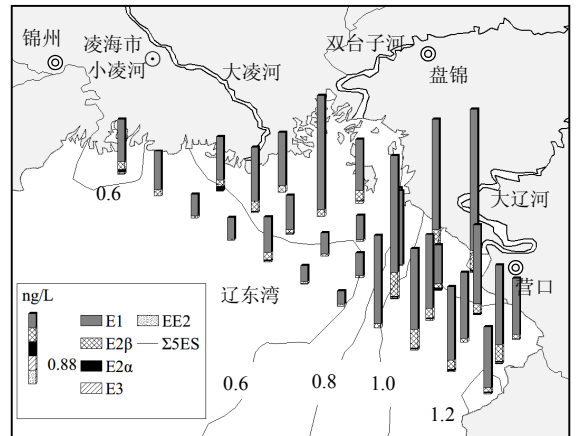


图 4 辽东湾近岸海水中雌激素的空间分布
Fig.4 Spatial distribution of steroidal estrogens in surface seawater in Liaodong Bay

通过 Kriging 插值法得到雌激素总浓度 $\Sigma 5\text{ES}$ 的等值线图(图 4)。由图 4 可见,大辽河入海口的雌激素浓度最高,且雌激素浓度从入海口到湾内的一定区域内衰减趋势较弱。双台子河入海口次之,雌激素浓度随着离海岸的距离增加有明显衰减。大凌河及小凌河入海口区域的雌激素浓度较低。大辽河入海口下游雌激素浓度相对较高,可能与其下游城市营口的人类活动和畜禽养殖业有关。

2.3 辽东湾甾体雌激素的潜在生态风险

本研究以梭鱼的雌雄同体发生率为终点对辽东湾海水中甾体雌激素的生态风险进行评价。

为了评价辽东湾海水中甾体雌激素对野生梭鱼的生态风险,首先利用式(1)计算出每个海水样品的 17β -雌二醇等当量浓度($EEQ-E2\beta$):

$$EEQ - E2\beta = \sum_i C_{aq}(i) \times EEF(i) \quad (1)$$

式中: i 代表 $E1, E2\beta, E2\alpha, E3$ 和 $EE2$; $C_{aq}(i)$ 即测得的海水样品中 5 种甾体雌激素的浓度; $EEF(i)$ 为 5 种物质的雌激素毒性等当量因子(EEF)。

通过构建梭鱼 $ER\alpha$ 酵母双杂交筛选系统得到 $E1, E2\beta, E3, EE2$ 的 EEF 值分别为 $0.66, 1, 0.0014, 2.0$ ^[23]。对于 $E2\alpha$, 由于目前还没有该系统其 EEF 值的报道,本研究采用青鳉鱼 $ER\alpha$ 酵母双杂交筛选系统中 $E2\alpha$ 的 EEF 值 0.033 代替^[20](实际上,由于 $E2\alpha$ 的雌激素活性远低于 $E2\beta$, 本研究中浓

度也低于 $E2\beta$, 因此 $E2\alpha$ 的 EEF 具体取值对计算结果影响很小。可以得到各样品的 EEQ- $E2\beta$, 其均值为 0.562ng/L , 方差为 0.327ng/L 。用 Monte Carlo 方法模拟计算得到辽东湾近岸海域海水中 EEQ- $E2\beta$ 的浓度分布(图 5), 其浓度分布呈对数正态分布, 几何均值为 0.496ng/L , 几何标准差为 1.813ng/L , 分布函数见式(2)。

$$f(x) = \frac{1}{\sqrt{2\pi x \ln(1.813)}} e^{-\frac{[\ln(x) - \ln(0.496)]^2}{2[\ln(1.813)]^2}} \quad (2)$$

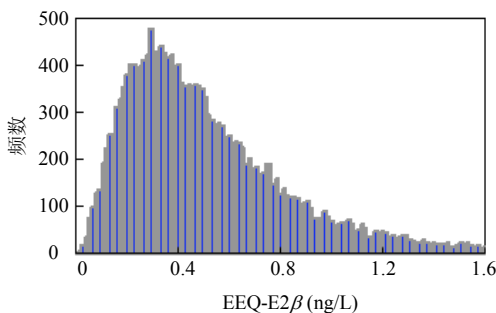


图 5 辽东湾近岸海水中 EEQ- $E2\beta$ 浓度分布

Fig.5 Distribution of EEQ- $E2\beta$ in surface seawater in Liaodong Bay

由于梭鱼的性腺形成至少需要 2a, 因此雌激素暴露下梭鱼雌雄同体的活体毒性数据难以获得。本研究采用风险评价中常用的种间外推方法, 以青鳉鱼活体暴露实验(*in vivo*)的毒性数据为基础外推至梭鱼。根据青鳉鱼(*Oryzias latipes*)在 17β -雌二醇($E2\beta$)中暴露 60d 后(暴露浓度分别为 $0, 0.939, 2.86, 8.66, 27.9, 92.4\text{ng/L}$)雌雄同体发生率的毒性数据^[24], 用 BMDS 2.0 软件(USEPA, 2008)拟合得到青鳉鱼雌雄同体发生率 $p_m(x)$ 与 $E2\beta$ 暴露浓度 x (单位为 ng/L) 的剂量-效应关系, 如式(3)所示。

$$p_m(x) = 1 / \left[1 + e^{5.10 - 0.215x} \right] \quad (3)$$

研究表明, 雌激素对梭鱼 $ER\alpha$ 的诱导活性高于青鳉鱼, 其中 $E2\beta$ 对梭鱼 $ER\alpha$ 的诱导活性约为青鳉鱼的 2.4 倍, 说明野生梭鱼可能比青鳉鱼对雌激素更敏感性^[23]。以此敏感性差异的倍数作为种间外推的不确定系数, 可以得到梭鱼雌雄同体发生率 $p_s(x)$ 与 $E2\beta$ 暴露浓度 $x(\text{ng/L})$ 的剂量-效应关系, 如式(4)所示。

$$p_s(x) = 1 / \left[1 + e^{5.10 - 0.516x} \right] \quad (4)$$

最后, 用式(5)^[25] 计算得到辽东湾海水中 EEQ- $E2\beta$ 导致梭鱼雌雄同体发生的概率为 0.83%, 其 95% 置信区间为 $[0.65\%, 1.37\%]$ 。

$$P_{\text{intersex}} = \int_0^{+\infty} f(x)p_s(x)dx \quad (5)$$

尽管本研究中采用青鳉鱼活体暴露实验的毒性数据和体外实验得到的梭鱼敏感性数据外推 $E2\beta$ 暴露浓度与梭鱼雌雄同体发生率的剂量-效应关系以及采用梭鱼的体外实验数据计算 EEQ- $E2\beta$ 都会给计算结果带来较大的不确定性, 但是计算值远低于观测值的结果表明, 甾体雌激素并不足以解释辽东湾海域中野生梭鱼雌雄同体的高发生率, 可能还存在其他的原因物质。为了有效管理该海域的环境安全, 有必要对原因物质进行深入解析。从内分泌干扰作用的机理而言, 除了通过雌激素受体作用的物质之外, 可能还存在非受体途径介导的内分泌干扰物质。目前, 在辽东湾的沉积物中已经发现一些可以通过干扰生物体内类固醇激素合成通道而影响内分泌系统的物质^[26], 具体的原因物质有待于进一步研究。

3 结论

3.1 建立了 SPE-丹酰化衍生-UPLC-MS/MS 海水中雌激素的高灵敏度分析方法, 其方法回收率为 83.5%~91.7%, 检出限为 $0.003\sim 0.006\text{ng/L}$, 适合辽东湾海水中甾体雌激素的调查。

3.2 辽东湾海水中甾体雌激素的浓度水平: $E1$ 为 $(0.714 \pm 0.407)\text{ng/L}$; $E2\beta$ 为 $(0.089 \pm 0.077)\text{ng/L}$; $E2\alpha$ 为 $(0.009 \pm 0.011)\text{ng/L}$; $E3$ 为 $(0.008 \pm 0.008)\text{ng/L}$; $EE2$ 为 $(0.001 \pm 0.003)\text{ng/L}$ 。雌激素的浓度在大辽河入海口区域最高, 双台子河入海口次之, 大凌河及小凌河入海口区域最低。

3.3 辽东湾海水中的 17β -雌二醇等当量浓度为 $(0.562 \pm 0.327)\text{ng/L}$, 导致野生梭鱼雌雄同体发生的概率约为 0.83%, 不足以解释该海域野生梭鱼雌雄同体的高发生率, 可能存在其他原因物质。

参考文献:

[1]. 安立会. 鲫鱼和梭鱼卵黄蛋白原(Vitellogenin, Vtg)生物检测方

- 法建立与应用 [D]. 北京:中国科学院研究生院, 2006.
- [2] Jobling S, Nolan M, Tyler C R, et al. Widespread sexual disruption in wild fish [J]. *Environmental Science and Technology*, 1998,32(17):2498-2506.
- [3] Routledge E J, Sheahan D, Desbrow C, et al. Identification of estrogenic chemicals in STW effluent. 2. In vivo responses in trout and roach [J]. *Environmental Science and Technology*, 1998,32(11):1559-1565.
- [4] Shore L S, Shemesh M. Naturally produced steroid hormones and their release into the environment [J]. *Pure and Applied Chemistry*, 2003,75(11/12):1859-1871.
- [5] Khanal S K, Xie B, Thompson M L, et al. Fate, transport, and biodegradation of natural estrogens in the environment and engineered systems [J]. *Environmental Science and Technology*, 2006,40(21):6537-6546.
- [6] Nishihara T, Nishikawa J, Kanayama T, et al. Estrogenic activities of 517 chemicals by yeast two-hybrid assay [J]. *Journal of Health Science*, 2000,46(4):282-298.
- [7] Gutendorf B, Westendorf J. Comparison of an array of in vitro assays for the assessment of the estrogenic potential of natural and synthetic estrogens, phytoestrogens and xenoestrogens [J]. *Toxicology*, 2001,166(1/2):79-89.
- [8] Belfroid A C, van Horst A, Vethaak A D, et al. Analysis and occurrence of estrogenic hormones and their glucuronides in surface water and waste water in the Netherlands [J]. *Science of the Total Environment*, 1999,225(1/2):101-108.
- [9] 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 [J]. *Environmental Science and Technology*, 2002,36(6):1202-1211.
- [10] Yamamoto A, Kakutani N, Yamamoto K, et al. Steroid hormone profiles of urban and tidal rivers using LC/MS/MS equipped with electrospray ionization and atmospheric pressure photoionization sources [J]. *Environmental Science and Technology*, 2006,40(13):4132-4137.
- [11] Lei B L, Huang S B, Zhou Y Q, et al. Levels of six estrogens in water and sediment from three rivers in Tianjin area, China [J]. *Chemosphere*, 2009,76(1):36-42.
- [12] Chang H, Wan Y, Hu J Y. Determination and source apportionment of five classes of steroid hormones in urban rivers [J]. *Environmental Science and Technology*, 2009,43(20):7691-7698.
- [13] Atkinson S, Atkinson M J, Tarrant A M. Estrogens from sewage in coastal marine environments [J]. *Environmental Health Perspectives*, 2003,111(4):531-535.
- [14] Robinson B J, Hui J, Soo E C, et al. Estrogenic compounds in seawater and sediment from Halifax Harbour, Nova Scotia, Canada [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2009,28(1):18-25.
- [15] Brossa L, Marce R A, Borrull F, et al. Occurrence of twenty-six endocrine-disrupting compounds in environmental water samples from Catalonia, Spain [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2005,24(2):261-267.
- [16] Anari M R, Bakhtiar R, Zhu B, et al. Derivatization of ethinylestradiol with dansyl chloride to enhance electrospray ionization: Application in trace analysis of ethinylestradiol in rhesus monkey plasma [J]. *Analytical Chemistry*, 2002,74(16):4136-4144.
- [17] Lien G W, Chen C Y, Wang G S. Comparison of electrospray ionization, atmospheric pressure chemical ionization and atmospheric pressure photoionization for determining estrogenic chemicals in water by liquid chromatography tandem mass spectrometry with chemical derivatizations [J]. *Journal of Chromatography A*, 2009,1216(6):956-966.
- [18] Xu L, Spink D C. Analysis of steroidal estrogens as pyridine-3-sulfonyl derivatives by liquid chromatography electrospray tandem mass spectrometry [J]. *Analytical Biochemistry*, 2008,375(1):105-114.
- [19] Lin Y H, Chen C Y, Wang G S. Analysis of steroid estrogens in water using liquid chromatography/tandem mass spectrometry with chemical derivatizations [J]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2007,21(13):1973-1983.
- [20] Huang C, Zhang Z B, Wu S M, et al. In vitro and in vivo estrogenic effects of 17 alpha-estradiol in medaka (*Oryzias latipes*) [J]. *Chemosphere*, 2010,80(5):608-612.
- [21] Hanselman T A, Graetz D A, Wilkie A C. Manure-borne estrogens as potential environmental contaminants: A review [J]. *Environmental Science and Technology*, 2003,37(24):5471-5478.
- [22] Hashimoto S, Horiuchi A, Yoshimoto T, et al. Horizontal and vertical distribution of estrogenic activities in sediments and waters from Tokyo Bay, Japan [J]. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 2005,48(2):209-216.
- [23] 郝丽妮,赵砚彬,彭辉,等.梭鱼和青鳉鱼 ER α 介导的雌激素活性比较研究 [J]. *中国环境科学*, 2010,30(11):1490-1495.
- [24] Seki M, Yokota H, Maeda M, et al. Fish full life-cycle testing for 17 beta-estradiol on medaka (*Oryzias latipes*) [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2005,24(5):1259-1266.
- [25] 胡建英,安伟,曹红斌,等.化学物质的风险评价 [M]. 北京:科学出版社, 2010.
- [26] 黄崇.辽东湾沉积物雌激素活性的原因物质解析研究 [D]. 北京:北京大学, 2010.

作者简介: 吴世闽(1984-),男,四川成都人,北京大学城市与环境学院硕士研究生,主要从事环境中类固醇激素行为研究.发表论文1篇.