

环境雄激素的危害、来源与环境行为

韩伟¹, 李艳霞^{1,*}, 杨明¹, 李惟², 林春野¹, 张丰松², 熊雄²

(1. 北京师范大学环境学院 水环境模拟国家重点实验室 北京 100875; 2. 中国科学院地理科学与资源研究所 北京 100101)

摘要:内分泌干扰物(EDCs)因低剂量即可导致严重的生理效应而成为研究的热点,环境雄激素就是典型的内分泌干扰物之一,它主要来源于畜禽粪尿的排放以及造纸厂和城市污水处理厂处理不彻底的废水排放,污染源的连续性排放致使环境雄激素物质在各类环境介质中被不断检出,并导致一些地区出现鱼类的雄性化现象,对环境健康和生态安全构成严重威胁。综述了环境雄激素的暴露危害、主要来源以及环境雄激素在不同环境中的浓度水平和分布特征,介绍了环境雄激素的分析检测手段,阐述了环境雄激素在环境中的迁移、吸附、降解等过程,并对环境雄激素的研究进行了展望。

关键词:环境雄激素;来源;环境行为;危害

Effects, sources and behaviors of environmental androgens

HAN Wei¹, LI Yanxia^{1,*}, YANG Ming¹, LI Wei², LIN Chunye¹, ZHANG Fengsong², XIONG Xiong²

1 State Key Laboratory of Water Environment Simulation, School of Environment, Beijing Normal University, Beijing 100875, China

2 Institute of Geographical Sciences and Natural Resources Research, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

Abstract: Endocrine disrupting compounds (EDCs) have been the focus because of their serious effects even at the trace level. As a kind of typical EDCs, environmental androgens mainly exist in the incomplete treated drainage of feedlot, wastewater treatment plant and paper mill. They are frequently detected in environmental matrix because of the continuous inputs, then they cause masculinization phenomenon of aquatic organisms, which have posed the potential threats on the environmental health and ecological safety. The exposure effects, the sources and the exposure levels of environmental androgens in different environmental matrices were reviewed in this paper. Moreover, the environmental behaviors of the androgens such as their sorption, transportation, degradation characters were summarized. On the basis of current studies on the environmental androgens, the tendency for the future research in this field was discussed and suggested.

Key Words: environmental androgens; effects; sources; environmental behaviors

内分泌干扰物(EDCs)在环境中的含量虽低却能干扰生物正常的生长发育和生殖,因而成为国内外研究的热点,雄激素类物质(天然与合成)即是一类典型的内分泌干扰物^[1-2]。目前,很多国家和地区的多种环境介质中,都有环境雄激素的检出报道。环境雄激素干扰水生生物正常的内分泌系统,引起某些水生生物雄性比例偏高、雌鱼出现雄性第二性征、生长卵精巢、卵黄蛋白原的诱导受抑制、生殖能力下降^[3-5],还会引起哺乳动物出现雄性化特征^[6-8],雄激素类物质在环境介质间的迁移扩大了环境雄激素的污染范围,可能会对生态和环境健康构成严重威胁。

1 环境雄激素的种类与性质

环境雄激素主要包括天然雄激素与合成雄激素。天然雄激素包括睾酮(Testosterone)以及其衍生物雄酮(Androsterone)、雄烯二酮(Androstenedione)等。睾酮是生物体内含量最高也是最重要的雄激素,由睾丸的间

基金项目:环保公益性行业科研专项经费资助项目(200909042);国家“十一五”科技支撑计划资助项目(2006BAD10B05);国家自然科学基金资助项目(20977010)

收稿日期:2009-05-26; **修订日期:**2009-10-12

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: liyxbnu@bnu.edu.cn

质细胞分泌^[9-10],睾酮的活性最高,是雄酮的 6 倍。人工合成的雄性激素主要有群勃龙醋酸酯 (Trenbolone acetate) 和群勃龙 (Trenbolone) 等。雄激素主要是促进雄性的性器官和第二性征的发育与维持,以及促进蛋白质合成,使身体肌肉更发达,因此一些人工合成雄激素 (群勃龙等) 被广泛应用于畜禽养殖尤其是肉牛养殖过程^[11-13]。另外,甲基睾酮 (Methyltestosterone) 常用作医用雄激素药物, also 具有很强的雄激素活性^[14]。

环境雄激素属于类固醇激素,是典型的甾类物质。由物化性质列表可知 (表 1), 环境雄激素在水中的溶解度与天然雌激素溶解度相近 (13—32mg/L)^[1], 易溶于甲醇、丙酮等有机溶剂, 辛醇水分配常数 logK_{ow} 范围 2.53—4.36, 容易吸附于土壤、底泥等固相基质中^[16]。

2 环境雄激素的危害

环境雄激素通过干扰生物体正常的内分泌系统, 对水生生物和哺乳动物的生殖发育产生危害, 而且还会影响微生物群落的结构与功能^[17-21], 主要表现为雌性鱼出现雄性第二性征、性别比例失调 (雄性个体偏多)、生殖能力下降、生殖细胞坏死、类固醇激素合成量降低、卵黄蛋白原合成受抑制等异常症状。长期暴露于含 0.31—2.48mg/L 睾酮的水体中, 大型水蚤产卵率和生殖能力皆有下降, 产卵率降低, 而长期处于 0.84mg/L 羟基雄二酮的水中, 水蚤会有死亡现象^[17]。Radl 等^[18]的研究显示, 尽管群勃龙对底泥微生物结构没有太大影响, 但是受群勃龙处理的微生物群落和对照组相比, 氨基葡萄糖苷酶的活性降低了 50%。当甲基睾酮的浓度大于 46.8ng/L 时就会抑制青鳉鱼的性腺发育, 降低其繁殖能力^[19]。高浓度的睾酮会影响大马哈鱼的免疫系统, 致使白细胞产生抗体生成细胞的能力下降^[20]。Sone 等^[11]研究证实, 成年食蚊鱼暴露于浓度为 1—10μg/L 的群勃龙中 28d 后, 卵巢中也形成精子, 致使雌鱼臀鳍出现雄性化, 幼鱼臀鳍变成生殖足, 并加快精子的形成, 最终导致雌鱼生长出卵精巢。Fentress 等^[21]发现, 处于造纸厂出水 (具有雄激素活性) 中的太阳鱼卵黄蛋白原含量降低, 睾酮分泌减少以及生殖系统受到干扰。环境雄激素还会引起哺乳动物 (鼠等) 出现雄性化特征^[6-8]。

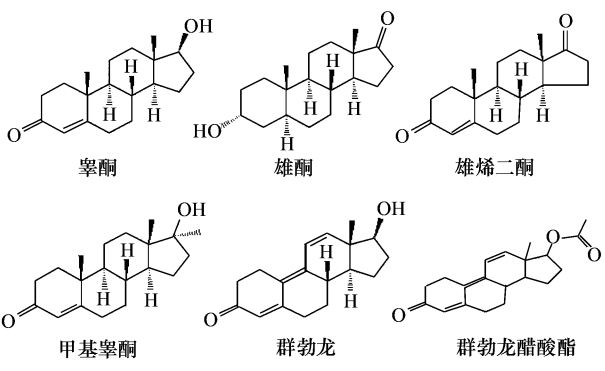


图 1 六种典型雄激素的分子结构
Fig. 1 Chemical structures of typical environmental androgens

表 1 几种主要雄激素的物化性质^[1,15-17]

Table 1 Physicochemical properties of several environmental androgens						
名称 Environmental androgens	分子式 Molecular formula	分子量 Molecular weight	CAS 号 CAS No.	水溶解度/(mg/L) Solubility in water	辛醇-水分配系数 logK _{ow}	熔点 Melting point/℃
睾酮 Testosterone	C ₁₉ H ₂₈ O ₂	288.41	58-22-0	18—25.39	3.22—3.84	155℃
雄酮 Androsterone	C ₁₉ H ₃₀ O ₂	290.44	53-41-8	—	—	180—185℃
雄烯二酮 Androstenedione	C ₁₉ H ₂₆ O ₂	286.41	65-05-8	37—50.5	2.75—4.36	173—174℃
甲基睾酮 Methyltestosterone	C ₂₀ H ₃₀ O ₂	302.45	58-18-4	—	—	163—167℃
群勃龙 Trenbolone	C ₁₈ H ₂₂ O ₂	270.37	10161-33-8	20	2.53—4.28	170℃
群勃龙醋酸酯 Trenbolone acetate	C ₂₀ H ₂₄ O ₃	312.41	10161-34-9	—	—	—

从表 2 的毒理学研究可以看出, 暴露于过量雄激素中水生生物的形态学指标、生殖系统以及内分泌受到严重影响。环境雄激素不但能够抑制雌性生物的某些雌激素的分泌和卵黄蛋白原的诱导, 还对雄激素的分泌有抵制作用^[27,29]。尽管毒理试验所使用的雄激素浓度通常高于环境水体中的检出量, 但是 17α-群勃龙和 17β-群勃龙分别在 7ng/L 和 50ng/L 时即可抑制鱼的卵黄蛋白原产生, 此含量与某些养殖厂出水中的群勃龙浓度非常接近^[32]。雄烯二酮在环境介质中经常被检出, 但迄今仍缺乏相关毒理实验的研究。环境介质的复

杂性、有机污染物质的多样性等特点是室内毒理学实验无法模拟的,而且暴露毒理实验目标物的单一性,也不能完全反映在实际环境中环境雄激素的生物效应。其他类固醇物质的联合作用是否能够强化环境雄激素的毒理作用,这一点还没得到彻底证实。Blankvoort 等^[33]利用生物法在污水厂出水和受纳河流中同时检出雌激素和雄激素,并指出雌酮的存在强化了雄激素的活性,雌激素和雄激素的相互作用增强了对生物的内分泌干扰作用。Kortenkamp 等^[34]也证实,同一类内分泌干扰物之间(雄激素之间或雌激素之间)肯定能强化联合作用,但对于雌雄激素间的相互作用机制还不清楚。很多研究表明,雌激素的危害中包括诱发卵黄蛋白原,抑制雄性激素的分泌,而雄激素则抑制雌激素的产生以及减少卵黄蛋白原,从此角度看雌雄激素作用相反,其生物效应可以相互抵减。然而,对实际环境样点研究发现,在很多受到内分泌干扰物污染的水体中,同时出现雄鱼雌性化和雌鱼雄性化现象^[3-5],因此,这方面的研究还需要加强,期待彻底了解复杂环境介质中 EDCs 对生物的联合效应。另外还要注重低剂量的雄激素在条件复杂的实际环境中对生物影响的研究,以准确反映其可能造成的生态风险。

表 2 环境雄激素暴露危害

Table 2 Effects of environmental androgens

雄激素名称 Androgen	暴露时间与浓度 Exposure time and level	暴露实验对象 Exposure objects	危害与症状 Harms and symptoms	参考文献 References
甲基睾酮 Methyltestosterone	42d 50—500ng/L	稀有鮎鲤鱼 <i>Rare minnow larva</i>	表现出雄激素效应:生长受到抑制(>500ng/L);性腺指数增加,雄性个体比率明显升高(>50ng/L)	[22]
甲基睾酮 Methyltestosterone	7d 250—1000ng/L	底鳉鱼 <i>Mummichog</i>	性腺类固醇激素合成能力降低。雌鱼:睾酮与雌二醇浓度降低,卵黄蛋白原含量降低。雄鱼:酮睾酮浓度降低	[23]
甲基睾酮 Methyltestosterone	14d 1—100ng/L	底鳉鱼 <i>Mummichog</i>	血浆睾酮浓度降低(>1ng/L),酮睾酮和雌二醇浓度降低(>10ng/L),卵黄蛋白原浓度降低(>100ng/L)	[23]
甲基睾酮 Methyltestosterone	21d >46.8ng/L	青鳉鱼 <i>Medaka</i>	生殖能力与产卵率下降,成熟系数明显增大,卵细胞退化,雌鱼肝卵黄蛋白原浓度降低,子代孵化率和成活率下降	[19]
甲基睾酮 Methyltestosterone	101d 9.98 ng/L	青鳉鱼 <i>Medaka</i>	雌鱼出现雄性特征,腹部肿大,生殖力下降	[24]
甲基睾酮 Methyltestosterone	40—45d 1mg/L	刺盖太阳鱼 <i>Black crappie</i>	鱼苗生长后出现单性鱼,全部是雄性	[25]
17β-群勃龙 17β-Trenbolone	28d 1—10μg/L	食蚊鱼 <i>Mosquito fish</i>	雌性出现卵精巢,精子形成,臀鳍雄性化	[14]
17β-群勃龙 17β-Trenbolone	21d 365—401ng/	青鳉鱼和黑头呆鱼 <i>Medaka, Fathead minnow</i>	雌性鱼第二性征雄性化,卵黄蛋白原减少	[26]
17β-群勃龙 17β-Trenbolone	38—60d 50ng/L	斑马鱼和青鳉鱼 <i>Zebrafish, Medaka</i>	卵黄蛋白原浓度降低,睾丸面积变大,精子百分比增大	[5]
17β-群勃龙 17β-Trenbolone	21d 50 ng/L	黑头呆鱼 <i>Fathead minnow</i>	卵黄蛋白原 1,3 基因受抑制	[27]
17β-群勃龙 17β-Trenbolone	21d 27ng/L	黑头呆鱼 <i>Female fathead minnow</i>	出现雄性第二性征,生殖能力下降	[28]
17α-群勃龙 17α-Trenbolone	21d 7—16ng/L	黑头呆鱼 <i>Fathead minnow</i>	繁殖力下降,血浆中卵黄蛋白原浓度降低	[29]
群勃龙醋酸酯 Trenbolone acetate	60d 50 or 100 mg/kg	鲶鱼 <i>Channel catfish fry</i>	睾酮分泌量降低,性腺发育不完整,体重减轻,体长变短	[30]
群勃龙醋酸酯 Trenbolone acetate	40—45d 1mg/L	刺盖太阳鱼 <i>Black crappie</i>	鱼苗生长后出现单性鱼,全部是雄性	[25]
睾酮 Testosterone	21d 0.31—2.48mg/L	大型水蚤 <i>Daphnia magna</i>	生殖力下降,受精卵坏死	[17]
酮基睾酮 11-Ketotestosterone	90d 10μg/L	青鳉鱼 <i>Medaka</i>	卵巢萎缩,卵细胞坏死	[31]

3 环境雄激素的来源及其暴露特征

3.1 环境雄激素的主要来源

天然雄激素主要由人和脊椎动物排放,人工合成的雄激素则来源于药物使用以及养殖业中雄性促生长剂的使用,因此,汇集人类排放污水的城市污水处理厂,畜禽养殖场,造纸厂以及水产养殖排水是环境雄激素的污染源^[11,35-37],其中畜禽养殖过程中畜禽粪尿的排放是雄激素物质的主要来源。

普通男性平均每天排放的雄激素达 10mg,其中睾酮量为 6.5mg,女性每天也排放 5.6mg 的雄性激素其中睾酮量为 0.24mg。畜禽动物中公猪、公牛和牦牛的排放的雄激素量相对较高,年平均排放量达 670mg、390mg 和 120mg^[9-10]。据欧盟国家统计,各类畜禽每年向环境中排放的雄激素总量为 7.1t,美国也达到 4.4t/a^[9]。Shore 等^[9]报道,肉鸡、蛋鸡和公鸡粪便中的雄性激素含量分别达 133、254ng/g 和 670ng/g。Lorenzen 等^[35]发现,猪粪中雄激素含量约为 0—500ng/g,奶牛粪便为 0—383ng/g,而在鸡粪便中雄激素含量范围约 0—30ng/g。Lorenzen 等^[35]在厌氧消化污泥中检出的雄激素高达 543ng/g。由此可见,粪便中雄激素的含量与畜禽种类有关,不同的排放源含量差别较大。

环境雄激素另一重要来源是造纸厂废水。有很多报道显示,造纸厂废水以及接纳造纸厂出水的河水与底泥中都有雄激素物质的检出,并且暴露于水体中的雌鱼出现雄性化特征^[38-46]。Larsson 等^[40-41]研究认为,造纸厂出水中含有大量性腺雄激素受体的配体,正是这些雄性激素类物质激活雄激素受体,引起鱼类的雄性化。Jenkins 等^[42-43]发现纸浆中的植物甾醇(谷甾醇)等在微生物作用下降解,先生成孕酮后进而降解成为雄烯二酮以及其他雄激素,因此,在接纳造纸厂出水的河流及底泥中检出雄烯二酮的存在,雄烯二酮等雄激素也是造成雌鱼雄性化的祸首。Svenson 等^[46]提出假设,造纸厂废水中的雄性活性物质可能源于腐朽木。Vandenhevel 等^[47]证实,在造纸过程中木料中的植物甾醇经氯化后的产物中含有大量雄激素物质。

3.2 不同地区和介质中环境雄激素的暴露特征

很多国家和地区都报道在环境中检出雄激素,并且存在于地下水、河水、底泥等多种环境介质中,但国内目前还没有这方面的报道。在地表水水体中,雄激素尤其是睾酮和雄烯二酮被检出的频率最大。在日本一污水处理厂进水和出水中,Chang 等^[48]利用液质联用仪检出 10 余种雄激素和孕激素的存在,其中进水中雄酮的浓度高达 1441ng/L,在地表水中也有两种雄激素检出,雄烯二酮浓度为 0.46ng/L。Vulliet^[49]报道,在其所调查的法国某地区地表水样中,睾酮和雄烯二酮的浓度范围是 0.6—6.0ng/L。Thomas 等^[50]在英国 7 个河口的底泥、沉积物间隙水与河水中检出雄激素物质,41 个水样中的 11 个雄激素活性的二氢睾酮等当量为 3—9ng/L,在 39 个沉积物间隙水样中的 8 个雄激素活性的二氢睾酮等当量为 51—187ng/L,10 个底泥样品雄激素活性等当量大于 454ng/kg。其研究表明,大部分雄激素从水相转移至沉积物中累积。英国泰晤士河口附近一污水处理厂出水的雄激素活性等当量为 34—635ng/L 的二氢睾酮,经检测主要的雄性激素物质为去氢睾酮、雄烯二酮以及雄酮等,它们的活性占总雄性活性的 99%^[50]。Orn 等^[5]发现瑞典一造纸厂出水同时具有雌激素和雄激素活性,酵母雄激素受体实验表明雄激素浓度为 5.6ng/L 等当量二氢睾酮,暴露于其中的斑马鱼出现两性现象,而且种群中雄性比例明显偏高。

在美国,群勃龙醋酸酯是一种被广泛使用的肉牛促生长剂,它主要降解生成相对比较稳定的 17 β -群勃龙^[32]。Durhan 等^[33]在养牛场出水中检测出群勃龙的存在,同时证实养牛场废水和其接纳水体样品具有很强的雄激素活性。Kolodziej 等^[36]在放牧场附近的溪流中多次检出睾酮和雄烯二酮,最高浓度分别为 2.3ng/L 和 44ng/L,分析认为这些雄激素来源于附近牧场动物的排放,通过径流方式进入水体环境。在约旦河上游流域,降雨季节河水中的睾酮浓度最高可达 6ng/L,也和周围的养殖场、农场中畜禽的排放有密切关系^[51]。暴露在位于内布拉斯加州东部的一家养牛场废水中的雄性野生黑头呆鱼出现睾丸尺寸变短和睾酮合成量降低等去雄性化症状,而雌性鱼合成的雌激素/雄激素比例降低,这些异常现象可能是该养牛场废水中含有的大量雌性和雄性活性荷尔蒙造成的^[3-4]。

表 3 列举了目前有关环境介质中检出的环境雄激素含量及所采用的检测手段。可以看出,不同地区不同

介质中的环境雄激素含量与种类各异,而这可能与监测点具体的环境背景有关(周围养殖场、污水厂、牧场等污染源的分布,以及季节、降雨条件等)。

表 3 不同介质中环境雄激素的检出

Table 3 Occurrences of androgens in different environmental matrices

地点 Location	环境介质 Environmental media	雄激素名称与含量/(ng/L) Androgen content	检测手段 Detection method	文献 References
法国 France	地表水	睾酮, 2.8—3.4 雄烯二酮, 1.6—1.8	LC/MS/MS	[49]
法国 France	地下水	睾酮, 4.3—6.0 雄烯二酮, 1.6—2.6	LC/MS/MS	[49]
韩国 Korean	污水厂出水	睾酮, 1.1 雄烯二酮, 1.0—3.5	LC/MS/MS	[15]
韩国 Korean	河水	雄烯二酮, 2.6	LC/MS/MS	[15]
美国拉斯维加斯州 America Las Vegas	河水与湖水	睾酮, <1.0 雄烯二酮, 1.0—1.1	LC/MS/MS	[52]
美国加利福尼亚州 America Californian	牧场周围地表水	睾酮, 0—2.3 雄烯二酮, 0—44	GC/MS/MS	[36]
美国 America	自来水厂源头用水	睾酮, 1.2	LC/MS/MS	[53]
以色列 Israel	养殖场地下水	睾酮, 约 1.7	放射性免疫	[54]
美国乔治亚州 America Georgia	牧场地表径流水	睾酮, 15—125	酶免疫	[55]
美国乔治亚州 America Georgia	牧场径流水	睾酮, 10—1830	酶免疫	[55]
美国 America	河水	睾酮, 116—214	GC/MS	[56]
美国加利福尼亚 America Californian	河水	睾酮, 0—0.6	GC/MS/MS	[37]
美国加利福尼亚 America Californian	灌溉渠水	睾酮, 0—1.9	GC/MS/MS	[37]
美国加利福尼亚 America Californian	排水管水	睾酮, <0.1	GC/MS/MS	[37]
以色列约旦河一之流 Israel Jordan tributary	河水	睾酮, 0.8—>40	酵母重组分离 n	[57]
以色列约旦河 Israel Jordan river	河水	睾酮, 0.4—2.4	放射性免疫	[51]
以色列约旦河一之流(靠近牧场) Israel Jordan tributary	河水	睾酮, 1.81—5.14	放射性免疫	[51]
日本 Japan	河水	雄烯二酮, 0.28—0.45	LC/MS/MS	[48]
日本 Japan	污水厂废水	雄烯二酮, 5.1—164	LC/MS/MS	[48]
美国加利福尼亚 America Californian (Agricultural region)	河水	雄烯二酮, <0.7	GC/MS/MS	[37]
美国佛罗里达州 America Florida	河水	雄烯二酮, 40	雄受体转录法	[42]
美国佛罗里达州 America Florida	河水	雄烯二酮, >100	LC/MS 和 GC/MS	[58]
美国佛罗里达州 America Florida	底泥	雄烯二酮, 700	受体转录法	[42]
日本 Japan	入海口水样	雄烯二酮, 0—6.4	LC/MS/MS	[59]
美国内布拉斯加州 America Nebraska	养殖场出水受纳 河流	17 β -群勃龙, 0.4—1.5 17 α -群勃龙, 1.6—35	酶免疫法	[3]
美国俄亥俄州 America Ohio	肉牛养殖场出水	17 α -群勃龙, 10—120 17 β -群勃龙 10—20	HPLC	[32]

总体看,在地表水和地下水体中最容易检出的雄激素是睾酮和雄烯二酮,这主要是因为这两种雄激素是天然雄激素,人与动物的排放是其最根本来源,在环境中的存在具有广泛性,他们的含量范围一般为几 ng/L 到几十 ng/L。现有研究数据显示,天然雄激素在地下水中的含量最高达 3.4ng/L,已经对地下水构成严重威胁。雄烯二酮容易被检出的另一个原因是,环境中的孕激素可通过微生物的转化最后生成雄烯二酮,在很多地表水中同时检出雄激素和孕激素,原因就是孕激素是雄烯二酮等环境雄激素的前体^[60]。另外,从表 3 可以看出,在同一监测点底泥或底泥间隙水中雄激素的含量远高于其河水水样中的雄激素含量,进一步说明由于雄激素具有相对高的辛醇水分配系数,从而更容易吸附于底泥和土壤固相介质中,这也使得土壤与底泥成为

环境雄激素的二次污染源^[42,50]。和污水处理厂相比,拥有畜禽动物的养殖场、农场对环境雄激素的排放贡献也较大,这也可以从报道的农场周围径流水或受纳水体中环境雄激素含量看出^[32,36-37]。

作为一种许可使用的促生长剂,人工合成雄激素-群勃龙醋酸酯广泛应用于畜禽养殖中,其降解产物即为较为稳定的两种同分异构体:17 β -群勃龙和17 α -群勃龙,因此17 β -群勃龙和17 α -群勃龙主要在养殖场排水或受纳水体中检出(表3)^[3,32]。根据以上所述,畜禽养殖场、农牧场等畜禽动物富集的地方是环境雄激素的主要污染源,因此在此类农业活动中,应采取相关消减此类污染物的措施(堆肥,缓冲带等),以减少雄激素物质的环境输入和扩散。

4 环境雄激素的分析与检测

环境雄激素的检测方法主要有生物法和仪器检测,酶联免疫吸附、酵母重组分离和放射性免疫是常用的生物检测方法,仪器检测手段主要为气质联用(GC/MS/MS)或液质联用(LC/MS/MS)。生物监测法对评估样品总的雄激素活性有很大优势,虽然操作简单,费用低,但是选择性相对较差易受交叉污染^[1],特别是成分复杂的环境样品更会影响监测的精度,只能作为筛选;GC/MS/MS和LC/MS/MS虽然费用相对昂贵但由于检测限低、灵敏度高、选择性强以及较好的定性能力,被更广泛应用于环境中雄激素物质的分析检测。

LC能够直接检测不具有挥发性的雄激素,而在利用GC/MS/MS上机检测前,为了提高仪器灵敏度和检测目标物的稳定性,往往需要对待测物采取衍生化处理^[36-37,56],因此LC/MS/MS能够直接检测而占优势,其中大气压光离子质谱(APPI)比电喷雾质谱(ESI)有更高的灵敏度,尤其针对睾酮和雄烯二酮^[59]。利用质谱分析技术,水样中雄激素的检测限可达ppt级以下而在固体样品中则为ppb级^[1],检测限受到样品基质、样品量、净化程度的影响,因此,在检测前尤其针对环境样品需要一系列的提取与净化处理。水样中雄激素提取方式主要是液液提取^[61]和固相萃取^[48-49,52,59],将待测定的雄激素物质富集于固相萃取柱,而后利用溶剂洗脱净化处理后上机检测。而已有报道的土壤、底泥、粪样中等固体基质中的睾酮和雄烯二酮的提取方式主要有振荡提取^[54]、超声提取^[50]和索式提取^[61]。常用的净化方式主要有氧化铝/硅胶层析净化^[61]、硅胶柱净化^[48]和高效液相柱分离^[42]等。Kolodziej等^[36]利用LC/MS/MS检测河水的雄激素时,方法检测限达到0.1—0.2ng/L,Kolodziej等^[37]采GC/MS/MS分析河水中的睾酮和雄烯二酮时定量限也达到了0.3ng/L。Yamamoto等^[59]优化LC/MS/MS条件后,检测地表水样中睾酮和雄烯二酮的定量限更达到了0.06—0.1ng/L。由此可以看出色谱质谱联用尤其是LC/MS/MS在分析检测环境中痕量的雄激素方面的明显优势。

5 环境雄激素的行为

5.1 雄激素在环境中的迁移

雄激素在环境中会通过径流和渗滤等途径,向周围环境和地下迁移,将污染风险扩大。Arnon等^[54]发现,奶牛养殖场废水池中的睾酮能够向地下迁移45m,比雌二醇迁移的程度还要深(32m),而且在地下水中检出睾酮浓度约1.8ng/L,是雌二醇含量的2倍。Jenkins等^[62]的研究表明,施入鸡粪(7.4—11t/hm²)的农田,睾酮的输入量为2.5—4.4mg/hm²,随土壤深度加大睾酮含量逐渐降低,从表层10cm的68.1ng/kg降低到30cm处的17.3ng/kg,在施加鸡粪后径流水中的睾酮浓度变为10—1830ng/L,并且浓度与施加粪便量以及施加时间密切相关^[55]。

Casey等^[63]利用土壤渗透计(2.4m×2.4m×2.3m)研究了雌二醇和睾酮在土壤中的迁移。结果显示,土壤水和有机物含量及性质是影响睾酮在土柱中分布的主要因素,土壤胶体能促进睾酮在土壤中的迁移。另外,耕作方式也会影响睾酮的迁移,与不耕作土壤相比,耕作土壤更能促进睾酮的地表径流,灌溉过程中睾酮在径流水中的浓度更是高达7.9—8.7ng/L^[62]。

由表3也可以看出,很多地区环境雄激素在河流和地下水中经常被检出,尤其是养殖场、牧场、农场周围的地表水体,这说明径流是污染源中环境雄激素向周围水体迁移的主要途径,而且其它有机污染物的存在及其相互作用也促进了睾酮向地下水体中的迁移^[54]。雄激素在地下环境中的检出,除了污染源不断排放因素外,还可能与优势流、地下厌氧条件和胶体物质等有关,厌氧/缺氧条件抑制了雄激素物质的微生物降解,利于

雄激素在地下环境中的滞留,而具有较大比表面积的起着“第三相”角色的胶体颗粒以及优势流条件可能促进了环境雄激素物质的地下渗滤。

5.2 环境雄激素在固体基质中的吸附

作为一类亲脂性有机污染物,环境雄激素的 $\log K_{ow}$ 在 2.53 和 4.36 之间,相对比较容易吸附于土壤、污泥、底泥等固相基质中。浓度为 300—10000 $\mu\text{g/L}$ 的睾酮与雄烯二酮在土壤和底泥中的吸附过程非常缓慢,平衡时间为 2 周以上,不同浓度的睾丸激素与雄烯二酮在土壤和底泥中的 $\log K_{oc}$ 范围分别为 6.18—6.8 和 6.04—6.92,而且平衡浓度与 K_{oc} 值呈负相关,说明雄激素浓度越低越容易被土壤滞留^[64]。在另一个吸附降解实验中,睾酮在土层 0—10cm 的 Freundlich 吸附常数为 $26.7 \mu\text{g}^{1-n} \text{mL}^n/\text{g}$,而在 20—30 土层中为 $14.0 \mu\text{g}^{1-n} \text{mL}^n/\text{g}$,在渗率过程中 27%—42% 的睾丸激素被截留在土柱中,而且约 50% 被吸附在最上层的 0—10cm 处^[65],进一步说明土壤对睾酮有较大的吸附作用。尽管吸附实验中所使用的雄激素浓度远高于实际环境中雄激素的浓度,并不能完全反映环境实际情况,但对研究雄激素的吸附解吸行为有一定的指导意义。

5.3 环境雄激素的降解

环境中雄激素的降解主要在微生物作用下发生,光解也是去除环境雄激素的途径之一^[66-69]。群勃龙醋酸酯主要的降解产物是 17α -群勃龙和 17β -群勃龙,后两者之间可以相互转化^[12,67]。肉牛食用了群勃龙醋酸酯促生长剂后,粪便中含有群勃龙醋酸酯的降解产物群勃龙,在液体粪便经过约 5 个月的储存后群勃龙浓度由 1700 降为 1100 pg/g (半衰期达 267d),而在固体粪便中的最高含量由 75 ng/g 降至 10 ng/g ,并且在施用该固体粪便的土壤中也检出群勃龙^[12],可以看出群勃龙在环境中残留的持久性。在粘壤土和砂土中, 17α -群勃龙和 17β -群勃龙的衰减符合一级降解方程,当浓度低于 1 mg/kg 时,两种雄激素的半衰期 $T_{1/2}$ 为几小时至 0.5d 不等,浓度增大时降解速率则下降,主要降解产物为相对比较稳定的 Trendione,半衰期为 1—4d,两种同分异构体在好氧条件下可发生部分转化^[67]。

在污水厂出水上游河流的底泥中,睾酮的矿化速率比处在下游底泥快的多^[66],这可能与下游底泥中有机污染含量较高有关,其生物降解过程受到其他污染物的竞争所致。Layton 等^[69]在对污水系统中污染物去除研究时得出,液相中睾酮的矿化速率是雌二醇的两倍,在 24h 内,固相污泥中 55%—65% ^{14}C 标示的睾酮矿化为 CO_2 ,而液相中的睾酮去除率达 95%,由此可见睾酮在污水系统中更容易去除。Jacobsen 等^[68]研究发现,添加猪粪有利于睾酮在土壤中的降解,分析认为猪粪中的微生物强化了睾酮的降解转化,但对其矿化为 CO_2 有一定抑制作用,总体上有有机物质的加入影响了睾丸激素在土壤环境中的降解途径及其动力学,促进了睾酮的降解。由上述可以看出,在不同环境条件(温度,介质,微生物,自身含量,好氧条件等)下,环境雄激素的衰减速率也不同,在相关吸附与降解模拟实验中,雄激素在土壤底泥等固相基质中的吸附能力较强,降解半衰期也小于 24h,而在实际环境样品例如畜禽粪尿中其半衰期长达 267d^[12],因此非常有必要加强环境雄激素在实际环境介质中的迁移转化行为的研究。

6 总结

环境雄激素在环境中广泛存在,污染源较多,它们在环境中的含量很低,并且由于环境样品的复杂性使得对其检测条件要求高。因此,迫切需要建立快速、准确的环境雄激素的检测方法,尤其是对于污泥、底泥和畜禽粪便等固相样品,成分更为复杂,更需要建立一套完整的提取净化处理手段,为全面掌握各种环境介质中的雄激素残留以及污染风险提供技术保障。

针对环境雄激素行为的研究,目前主要集中于模拟实验,而有关环境雄激素在实际环境中迁移与降解的研究还较少。尽管实验室模拟、吸附和矿化实验得出雄激素能有效地地吸附于土壤、底泥等固相介质,容易在污水污泥中降解,但不论是地下水、地表水还是施用畜粪便的土壤都不断有雄激素的检出(尤其是睾酮、雄烯二酮和群勃龙这三种雄激素在环境中残留量较高,检出概率大),污染源的持续排放以及实际环境的复杂性(地下环境的厌氧/缺氧条件,胶体物质的携带促进迁移,优势流等)可能促进了环境雄激素的滞留、迁移和向下渗滤。

污染源排放的持续性,致使雄激素在环境介质中的残留,尽管含量较低但作为典型内分泌干扰物之一,其生态风险不可低估。因此,在充分掌握诸如养殖厂、造纸厂、污水厂此类环境雄激素污染源的基础上,需要充分开展污染源出水 and 粪便中雄激素的消减技术研究。同时,目前国内外对有关雄激素在环境中行为的研究还很少,有关雄激素在环境中的迁移、转化及与其他 EDCs 和环境各类活性物质相互作用的机理研究也尤为重要。

References:

- [1] Lee L S, Carmosini N, Sasman S A, Dion H M, Sepuleveda M S. Agricultural contributions of antimicrobials and hormones on soils and water quantity. *Advance in Agronomy*, 2007, 93: 2-67.
- [2] Zheng W, Yates S R, Bradford S A. Analysis of steroid hormones in a typical dairy waste disposal system. *Environmental Science and Technology*, 2008, 42(2): 530-53.
- [3] Soto A M, Calabro J M, Precht N V, Yau A Y, Orlando E F, Daxenberger A, Kolok A S, Guillelte L S, Bizac B L, Lange I G, Sonnenschein. Androgenic and Estrogenic Activity in Water Bodies Receiving Cattle Feedlot Effluent in Eastern Nebraska, USA. *Environmental Health Perspectives*, 2004, 112: 346-352.
- [4] Orlando E F, Kolok A S, Binzick G A, Gates J L, Horton M K, Lambright C S, Jr E G, Soto A M, Jr L J G. Endocrine-disrupting effects of cattle feedlot effluent on an aquatic sentinel species, the fathead minnow. *Environmental Health Perspectives*, 2004, 112(3): 353-358.
- [5] Orm S, Svenson A, Viktor T, Holbech H, Norrgren L. Male-biased sex ratios and vitellogenin induction in Zebrafish exposed to effluent Water from a Swedish pulp mill. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 2006, 51, 445-451.
- [6] Hotchkiss A K Furr J, Makynen E A, Ankley G T, Jr L E G. In utero exposure to the environmental androgen trenbolone masculinizes female Sprague Dawley rats. *Toxicology Letters*, 2007, 174: 31-41.
- [7] Hotchkiss A K, Lambright C S, Ostby J S, Saldutti L P, Vandenbergh J G, Jr L E G. Prenatal testosterone exposure permanently masculinizes anogenital distance, nipple development, and reproductive tract morphology in female Sprague-Dawley rats. *Toxicological Sciences*, 2007, 96(2): 335-345.
- [8] Hotchkiss A K, Ostby J S, Vandenbergh J G, Jr L E G. Androgens and environmental antiandrogens affect reproductive development and play Behavior in the Sprague-Dawley Rat. *Environmental Health Perspectives*, 2002, 110(suppl 3): 435-439.
- [9] Shore L S, Shemesh M. Naturally produced steroid hormones and their release into the environment. *Pure Applied. Chemistry*, 2003, 75(11/12): 1859-1871.
- [10] Lange I G, Daxenberger A, Schiffer B, Witters H, Ibarreta D, Meyer H H D. Sex hormones originating from different livestock production systems: fate and potential disrupting activity in the environment. *Analytica Chimica Acta*, 2002, 473: 27-37.
- [11] Kolok A S, Sellin M K. The Environmental Impact of Growth-Promoting Compounds Employed by the United States Beef Cattle Industry: History, Current Knowledge, and Future Directions. *Review of Environmental Contamination and Toxicology*, 2008, 195: 1-30.
- [12] Schiffer B, Daxenberger A, Meyer K, Meyer H H D. The fate of trenbolone acetate and melengestrol acetate after application as growth promoters in cattle: environmental studies. *Environment Health Perspectives*, 2001, 109: 1145-1151.
- [13] Galvez J I, Morrison J R. Efficacy of trenbolone acetate in sex inversion of the Blue Tilapia *Oreochromis aureus*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 1996, 27(4): 483-486.
- [14] Sone K, Hinago M, Itamoto M, Katsu Y, Watanabe H, Urushitani H, Tool O, Guillelte L S, Iguchi T. Effects of an androgenic growth promoter 17 β -trenbolone on masculinization of mosquitofish (*gambusia affinis affinis*). *General and Comparative Endocrinology*, 2005, 143: 151-160.
- [15] Kim S D, Cho J, Kim I S, Vanderford B J, Snyder S A. Occurrence and removal of pharmaceuticals and endocrine disruptors in South Korean surface, drinking, and waste waters. *Water Research*, 2007, 41: 1013-1021.
- [16] Lee L S, Strock T J, Sarmah A K, Rao P S K. Sorption and dissipation of testosterone, estrogens, and their primary transformation products in soils and Sediment. *Environmental Science and Technology*, 2003, 37: 4098-4105.
- [17] Barbosa I R, Nogueira A J A, Soares A M V M. Acute and chronic effects of testosterone and 4-hydroxyandrostenedione to the crustacean *Daphnia magna*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2008, 71: 757-764.
- [18] Radl V, Pritsch K, Munch J C, Schlöter M. Structural and functional diversity of microbial communities from a lake sediment contaminated with trenbolone, an endocrine-disrupting chemical. *Environmental Pollution*, 2005, 137: 345-353.
- [19] Kang I J, Yokota H, Oshima Y, Tsuruda Y, Shimasaki Y, Honjo T. The effects of methyltestosterone on the sexual development and reproduction of adult medaka (*Oryzias latipes*). *Aquatic Toxicology*, 2008, 87: 37-46.
- [20] Slater C H, Schreck C B. Testosterone Alters the Immune Response of Chinook Salmon, *Oncorhynchus tshawytscha*. *General and Comparative Endocrinology*, 1993, 89 (2): 291-298.
- [21] Fentress J A, Steele S L, Jr H L B, Cheek A O. Reproductive disruption in wild longear sunfish (*Lepomis megalotis*) exposed to kraft mill effluent.

- Environment Health Perspectives, 2006, 114(1): 40-45.
- [22] Liu A P, Zha J M, Wang Z J, Wang W M. Influences of 17 α -methyltestosterone on gonad development and plasmavitellogenine induction of *Rare Minnow Larva*. Asian Journal of Ecotoxicology, 2006, 1(3): 254-358.
- [23] Sharpe R L, MacLatchy D L, Courtenay S C, Vanderkrak G J. Effects of a model androgen (methyl testosterone) and a model anti-androgen (cyproterone acetate) on reproductive endocrine endpoints in a short-term adult mummichog (*Fundulus heteroclitus*) bioassay. Aquatic Toxicology, 2004, 67: 203-215.
- [24] Seki M, Yokota H, Matsubara H, Maeda M, Tadokoro H, Kobayashi K. Fish full life-cycle testing for androgen methyltestosterone on Medaka (*Oryzias Latipes*). Environmental Toxicology and Chemistry, 2004, 23(3): 774-781.
- [25] Arslan T, Phelps P R. Production of monosex male black crappie, *Pomoxis nigromaculatus*, populations by multiple androgen immersion. Aquaculture, 2004, 234: 561-573.
- [26] Seki M, Fujishima S, Nozaka T, Maeda M, Kobayashi K. Comparison of response to 17 β -estradiol and 17 β -trenbolone among three small fish species. Environmental Toxicology and Chemistry, 2006, 25(10): 2742-2752.
- [27] Miracle A, Ankley G, Lattier D. Expression of two vitellogenin genes (*vg1* and *vg3*) in fathead minnow (*Pimephales promelas*) liver in response to exposure to steroidal estrogens and androgens. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2006, 63: 337-342.
- [28] Ankley G T, Jensen K M, Makynen E A, Kahl M D, Kort J J, Hornung M W, Henry T R, Denny J S, Leino R L, Wilson V S, Cardon M, Harting P C, Gray L E. Effects of the androgenic growth promoter 17 -trenbolone on fecundity and reproductive endocrinology of the fathead minnow (*Pimephales promelas*). Environmental Toxicology and Chemistry, 2003, 22, 1350-1360.
- [29] Jensen K, Makynen E, Kahl M, Ankley G T. Effects of the feedlot contaminant 17a-trenbolone on reproductive endocrinology of the Fathead Minnow. Environmental Science and Technology, 2006, 40: 3112-3117.
- [30] Davis K B, Morrison J, Galvez J I. Reproductive characteristics of adult channel catfish treated with trenbolone acetate during the phenocritical period of sex differentiation. Aquaculture, 2000, 189: 351-360.
- [31] Leon A, Teh S J, Hall L C, Teh F C. Androgen disruption of early development in Qurt strain medaka (*Oryzias latipes*). Aquatic Toxicology, 2007, 82: 195-203.
- [32] Durhan E J, Lambright C S, Makynen E A, Lazorchak J, Hartig P C, Wilson V S, Grey L E, Ankley G T. Identification Of Metabolites Of Trenbolone Acetate in androgenic runoff from a beef feedlot. Environment Health Perspectives, 2006, 114(suppl 1): 65-68.
- [33] Blankvoort B M G, Rodenburg R J T, Murk A T J, Koeman J H, Schilt R, Aarts J M M J G. Androgenic activity in surface water samples detected using the AR-LUX assay: indications for mixture effects. Environmental Toxicology and Pharmacology, 2005, 19: 263-272.
- [34] Kortenkamp A. Ten years of mixing cocktails: a review of combination effects of endocrine-disrupting chemicals. Environmental Health Perspectives (suppl 1), 2007, 115: 98-105.
- [35] Lorenzen A, Hendel J G, Conn K L, Bittman S, Kwabiah A B, Lazarovitz G, Masse D, Mcallister T A. Survey of hormone activities in municipal biosolids and animal manures. Environmental Toxicology, 2004, 19: 216-225.
- [36] Kolodziej E P and Sedlak D L. Rangeland grazing as a source of steroid hormones to surface waters. Environmental Science and Technology, 2007, 41 (10): 3514-3520.
- [37] Kolodziej E P, Harter T, Sedlak D L. Dairy wastewater, aquaculture, and spawning fish as sources of steroid hormones in the aquatic environment. Environmental Science and Technology, 2004, 38(23): 6377-6384.
- [38] Parks L G, Lambright C S, Orlando E F, Jr L J G, Ankley G T, Jr L E G. Masculinization of female mosquitofish in kraft mill effluent-contaminated Fenholloway river water is associated with androgen receptor agonist activity. Toxicological Sciences, 2001, 62, 257-267.
- [39] Bortone, Cody R P. Morphological masculinization in Poeciliid females from a paper mill effluent receiving tributary of the St. Johns River, Florida, USA. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 1999, 63: 150-156.
- [40] Larsson D G, Förlin L. Male-biased sex ratios of fish embryos near a pulp mill; temporary recovery after short-term shutdown, Environment Health Perspectives, 2002, 110: 739-742.
- [41] Larsson D G J, Adolfsson-erici M, Thomas P. Characterization of putative ligands for a fish gonadal androgen receptor in a pulp mill effluent. Environmental Toxicology and Chemistry, 2006, 25(2): 419-427.
- [42] Jenkins R L, Wilson E M, Angus R M, Howell W M, Kirk M. Androstenedione and progesterone in the sediment of a river receiving paper mill effluent. Toxicological Sciences, 2003, 73, 53-59.
- [43] Jenkins R, Angus R A, Natt H M, Howell W M, Kempainen J A, Kirk M, Wilson E M. Identification of androstenedione in a river containing paper mill effluent. Environmental Toxicology and Chemistry, 2001, 20(6): 1325-1331.
- [44] Jenkis R L, Wilson E M, Angus R A, Howell W M, Kirk M. Androstenedione and progesterone in the sediment of a river receiving paper mill effluent. Toxicological. Sciences, 2003, 73: 53-59.
- [45] Howell W M, Denton T E. Gonopodial morphogenesis in female mosquitofish, *Gambusia affinis affinis* masculinized by exposure to degradation products from plant sterols. Environmental Biology of Fishes, 1989, 32: 795-796.
- [46] Svenson A, and Allard A S. In vitro androgenicity in pulp and paper mill effluents. Environmental Toxicology, 2004, 19: 510-517.

- [47] Vandenheuvél M, Leusch F L, Taylor S, Shanon N, McKague A B. Assessment of the reproductive-endocrine disrupting potential of chlorine dioxide oxidation products of plant sterols. *Environmental Science and Technology*, 2006, 40: 2594-2600.
- [48] Chang H, Wu S, Hu J Y, Asami M, Kunikane S. Trace analysis of androgens and progestogens in environmental waters by ultra-performance liquid chromatography electrospray tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 2008, 1195: 44-51.
- [49] Vulliet E, Wiest L, Baudot R, Loustalot M F G. Multi-residue analysis of steroids at sub-ng/L levels in surface and ground-waters using liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 2008, 1210: 84-91.
- [50] Thomas K V, Hurst M R, Matthiessen P, McHugh M, Smith A, Waldoock M J. An assessment of in vitro androgenic activity and the identification of environmental androgens in United Kingdom estuaries. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2002, 21(7): 1456-1461.
- [51] Shore L S, Reichmann O, Shemesh M, Wenzel A, Litaor M I. Washout of accumulated testosterone in a watershed. *Science of the Total Environment*, 2004, 332: 193-202.
- [52] Vanderford B J, Pearson R A, Rexing D J, Snyder S A. Analysis of endocrine disruptors, pharmaceuticals, and personal care products in water using liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Analytical Chemistry*, 2003, 75 (22): 6265-6274.
- [53] Bennti M J, Trenholm R A, Vanderford J B, Holady J C, Stanford B D, Snyder S A. Pharmaceuticals and endocrine disrupting compounds in U. S. drinking water. *Environmental Science and Technology*, 2009, 43(3): 597-603.
- [54] Aron S, Dahan O, Elhanany S, Cohen K, Pankratov I, Gross A, Ronen Z, Baram S, Shore L S. Transport of testosterone and estrogen from dairy-farm waste lagoons to groundwater. *Environmental Science and Technology*, 2008, 42: 5521-5526.
- [55] Finlay-Moore O, Hartel P G and Cabrera M L. 17 β -Estradiol and Testosterone in Soil and Runoff from Grasslands Amended with Broiler. *Journal of Environmental Quality*, 2000, 29: 1604-1611.
- [56] Kolpin D W, Furlong E T, Meyer E T, Thurman M, Zaugg S D, Barber L B, Buxton H T. Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in U. S. streams, 1999 – 2000: A national reconnaissance. *Environmental Science and Technology*, 2002, 36 (6): 1202-1211.
- [57] Cohen K B, Shore L S, Shemesh M, Wenzel A, Mueller J, Schor N K. Monitoring of natural and synthetic hormones in a polluted river. *Journal of Environmental Management*, 2006, 78: 16-23.
- [58] Durhan E J, Lambright C, Wilson V, Butterworth B C, Kuehl D W, Orlando E F, Jr L J G, Gray L E, Ankerly G. Evaluation of androstenedione as an androgenic component of river water downstream of a pulp and paper mill effluent. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2002, 21(9): 1973-1976.
- [59] Yamamoto A, Kakutani N, Yamamoto K, Kamiura T, Miyakoda H. Steroid hormone profiles of urban and tidal rivers using LC/MS/MS equipped with electrospray ionization and atmospheric pressure photoionization sources. *Environmental Science and Technology*, 2006, 40 (13): 4132-4137.
- [60] Carson J D, Jenkins R L, Wilson E M. Naturally occurring progesterone in loblolly pine (*Pinus taeda*.): a major steroid precursor of environmental androgens. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2008, 27(6): 1273-1278.
- [61] EPA Method 1698. Steroid and hormones in water, soil, sediment, and biosolids by HRGC/HRMS. 2007, 1-64.
- [62] Jenkins M B, Endale D M, Schomberg H H, Hartel P G, Cabrera M L. 17 β -Estradiol and testosterone in drainage and runoff from poultry litter applications to tilled and no-till crop land under irrigation. *Journal of Environmental Management*, 2009, 90(8): 2659-2664.
- [63] Casey F X M, Oduor P G, Hakk H, Larsen G L, Desutter, T M. Transport of 17[β]-estradiol and testosterone in a field lysimeter. *Soil Science*, 2008, 173(7): 456-467.
- [64] Kim I, Yu Z, Xiao B, Huang W. Sorption of male hormones by soils and sediments. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2007, 26(2): 264-270.
- [65] Sangsupan H A, Radcliffe D E, Hartel P G, Jenkins M B, Vencill W K, Cabrera M L. Sorption and transport of 17 β -estradiol and testosterone in undisturbed soil columns. *Journal of Environment Quality*, 2006, 35: 2261-2272.
- [66] Bradley P M, Barber L B, Chapelle F H, Gray J L, Kolpin D W, McMahon P B. Biodegradation of 17 β -estradiol, estrone and testosterone in stream sediments. *Environmental Science and Technology*, 2009, 43(6): 1902-1910.
- [67] Khan B, Sassman S A, Lee L S. Degradation of synthetic androgens 17 α - and 17 β -trenbolone and trenbolone in agricultural soils. *Environmental Science and Technology*, 2008, 42: 3570-3574.
- [68] Jacobsen A M, Lorenzen A, Chapman R, Topp E. Persistence of testosterone and 17 β -estradiol in soils receiving swine manure or municipal biosolids. *Journal of Environment Quality*, 2005, 34: 861-871.
- [69] Layton A C, Gregory B W, Seward J R, Schultz T W, Seyler G S. Mineralization of steroidal hormones by biosolids in wastewater treatment systems in Tennessee U. S. A. *Environmental Science and Technology*, 2000, 34(18): 3925-3931.

参考文献:

- [22] 刘阿朋, 查金苗, 王子健, 王卫民. 17 α -甲基睾酮对稀有鮡鲫幼鱼性腺发育与血清卵黄蛋白原水平的影响. *生态毒理学报*, 2006, 1(3): 254-258.