

DOI: 10.7524/j.issn.0254-6108.2018051606

吕银知, 赵建亮, 姚理, 等. 酚类内分泌干扰物在长江鱼体血浆中的生物富集[J]. 环境化学, 2019, 38(3): 443-453.

LV Yinzhi, ZHAO Jianliang, YAO Li, et al. Bioaccumulation of phenolic endocrine disrupting chemicals in the plasma of wild fish from Yangtze River, China[J]. Environmental Chemistry, 2019, 38(3): 443-453.

酚类内分泌干扰物在长江鱼体血浆中的生物富集*

吕银知^{1,3} 赵建亮^{2**} 姚理^{1,3} 何良英² 陈军² 史文俊² 应光国²

(1. 中国科学院广州地球化学研究所, 有机地球化学国家重点实验室, 广州, 510640;

2. 华南师范大学环境研究院, 广东省化学品污染与环境安全重点实验室, 广州, 510006; 3. 中国科学院大学, 北京, 100049)

摘要 内分泌干扰物(Endocrine disrupting chemicals, EDCs)广泛存在于水环境,可在生物体内富集,具有潜在生态和健康风险.本研究选取双酚 A(BPA)、辛基酚(4-*t*-OP)、雌酮(E1)、17 β -雌二醇(E2)和炔雌醇(E2)共 5 种酚类 EDCs,分别测定其在长江中下游地表水和鱼体血浆中的含量及生物富集因子(Bioaccumulation factor, BAF),并结合血浆 BAF 预测模型对其生物富集能力进行评价.结果表明,BPA、4-*t*-OP 和 E1 污染最为普遍,在地表水和鱼体血浆中检出率均超过 50%,而其它两种 EDCs(E2 和 EE2)在水体和鱼体血浆中的检出率和浓度均较低.综合检出频率和含量来看:BPA > 4-*t*-OP > E1 > E2、EE2,5 种酚类 EDCs 在水体中的最大浓度分别为 99.7、22.3、2.47 ng·L⁻¹、ND(未检出)和 ND,在鱼体血浆中的最大浓度分别为 172、91.5、21.1、5.34、5.90 ng·mL⁻¹.检出的 3 种酚类 EDCs(BPA、4-*t*-OP 和 E1)的 log BAF 范围分别为 2.29—4.20、3.18—4.18 和 3.29—3.75,表明鱼体血浆对酚类 EDCs 具有较高的生物富集潜能.对比模型预测的 log BAF,实测的 log BAF 值明显较高,差异的产生与模型建立的前提假设、水温 and 溶解氧等因素密切相关.本研究有助于认识长江中下游鱼体中酚类 EDCs 的生物富集特征,并为其生态风险评价和管控提供依据.

关键词 酚类内分泌干扰物(EDCs), 野外鱼体, 生物富集因子, 长江中下游.

Bioaccumulation of phenolic endocrine disrupting chemicals in the plasma of wild fish from Yangtze River, China

LV Yinzhi^{1,3} ZHAO Jianliang^{2**} YAO Li^{1,3} HE Liangying² CHEN Jun²
SHI Wenjun² YING Guangguo²

(1. State Key Laboratory of Organic Geochemistry, Guangzhou Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou, 510640, China; 2. Guangdong Provincial Key Laboratory of Chemical Pollution and Environmental Safety, SCNU Environmental Research Institute, South China Normal University, Guangzhou, 510006, China; 3. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing, 100049, China)

Abstract: Endocrine disrupting chemicals (EDCs) are ubiquitous contaminants in surface water, and they may be accumulated by aquatic organisms, posing potential threats to ecosystem and human health. In this study, occurrence and bioaccumulation of five phenolic EDCs, including bisphenol A (BPA), 4-*tert*-octylphenol (4-*t*-OP), estrone (E1), 17 β -estradiol (E2) and 17 α -ethinylestradiol (EE2), were investigated in the surface water and plasma of wild fish collected from the middle and lower reaches of the Yangtze River, China. And a fish plasma model for the estimation of BAF (Bioaccumulation factor) was selected to compare the predicted value with the measured plasma

2018 年 5 月 16 日收稿 (Received: May 16, 2018).

* 国家自然科学基金(41877360, 41703117)和中国博士后科学基金(2016LH0021, 2017M612773)资助.

Supported by National Natural Science Foundation of China (41877360, 41703117) and China Postdoctoral Science Foundation (2016LH0021, 2017M612773).

** 通讯联系人, E-mail: zhaojianliang@gmail.com

Corresponding author, E-mail: zhaojianliang@gmail.com

BAF. The results indicated that BPA, 4-*t*-OP and E1 were the frequently detected pollutants in the river, with the detection rates higher than 50% in both surface water and fish plasma, while E2 and EE2 were detected at relatively lower frequencies and levels. The detection rates and concentrations level for the five phenolic EDCs followed the order: BPA > 4-*t*-OP > E1 > E2 and EE2, with the maximum concentrations of 99.7, 22.3, 2.47 ng·L⁻¹, ND (not detected) and ND in water, and 172, 91.5, 21.1, 5.34, 5.90 ng·mL⁻¹ in fish plasma, respectively. The detected log BAF values for BPA, 4-*t*-OP and E1 were in the range of 2.29—4.20, 3.18—4.18 and 3.29—3.75, respectively, indicating strong bioaccumulation ability of these EDCs in fish plasma. Compared with the modeling results, the measured log BAF values were significantly higher than the predicted log BAF. This difference may be due to the factors such as hypothesis of the fish plasma model, water temperature, dissolved oxygen and so on. The results of this study contribute to better understanding of the bioaccumulation of the phenolic EDCs in fish from the middle and lower reaches of Yangtze River, which can support the risk assessment and management for these compounds.

Keywords: endocrine disrupting chemicals, wild fish, bioaccumulation factor, the middle and lower reaches of the Yangtze River

内分泌干扰物(endocrine disrupting chemicals, EDCs)又称环境激素,因具有类似激素效应、能干扰人类和动物体的内分泌系统正常功能而受到广泛关注^[1-3].EDCs 包含的物质种类多种多样,众多人工合成化学品、天然/合成激素及植物激素等都具有内分泌干扰活性^[4],其中酚类 EDCs 包括双酚 A(BPA)、辛基酚(4-*t*-OP)、雌酮(E1)、17 β -雌二醇(E2)和炔雌醇(EE2)等,往往具有较强的雌激素活性,备受研究人员和大众的关注^[5-6].酚类 EDCs 可通过人畜排泄、废水直接排放等多种途径进入水环境^[7].由于目前的污水处理工艺主要针对常规污染物的去除,对酚类 EDCs 的去除效率有限,因此污水处理厂成为其进入水环境的最主要途径^[8].研究表明,环境中存在痕量水平的酚类 EDCs 就能对人类和生态系统造成不利影响^[9-11].事实上,污染物对生物体的危害大小可能与其在生物体内的富集程度有关^[12-15].关于酚类 EDCs 的生物富集目前已有部分报道.由于污染物持续不断地输入,滇池鱼体内 E1、E2 和 EE2 等含量随时间显著增加,表明酚类 EDCs 在滇池鱼体内有较高的生物富集潜能^[16].Huang 等^[17]研究发现 4-*t*-OP 和 BPA 在鱼体不同组织中的分布有所差异:肝脏中含量最高,鳃次之,肌肉中最少.酚类 EDCs 在日本对虾体内也有不同程度的富集:4-*t*-OP 和壬基酚在夏季富集程度最高,而 BPA、E1 和 E2 在对虾体内的富集基本不受季节的影响^[18].人体血浆是最常见的用来评估物质(如药物)代谢动力学的载体^[19-20],通过研究污染物在鱼体血浆的富集,一方面可以快速评估污染物的生物富集性,另一方面可以与人体和哺乳动物的代谢机制比较,从而更全面的评价物质的代谢行为.

长江是中国第一、世界第三大河,干流流经青海、重庆、湖北、江苏和上海等 11 个省和直辖市,全长 6300 余 km,流域面积达 1.8×10^6 km².由于长江中下游地区人口密集、经济发达,大量未经处理或处理不完全的工、农业废水和生活污水直接或间接排入水体,对长江水生态环境造成潜在危害.大量研究表明长江流域已受到酚类 EDCs 的污染^[21-23],但关于酚类 EDCs 在长江水生生物体内的富集状况,特别是在鱼体血浆的研究还鲜有报道.

本研究选取城市化程度较高的长江中下游地区,调查了 5 种酚类 EDCs(BPA、4-*t*-OP、E1、E2 和 EE2)在地表水和鱼体血浆中的含量水平,并分别通过计算和模型预测手段揭示了 5 种 EDCs 在鱼体血浆中的富集特征,为长江流域 EDCs 的生态风险评估提供依据.

1 材料与方法(Materials and methods)

1.1 研究区域与样品采集

分别于 2013 年 7 月(丰水期)和 11 月(枯水期)在长江中下游干流进行两次样品采集.4 个采样点 C1、C2、C3 和 C4 分别位于宜昌、武汉、南京和镇江(图 1).各采样点具体的位置信息和水质参数如表 1 所示.

表 1 长江中下游采样点水质参数及野生鱼样基本信息
Table 1 Information for the sampling sites and fish samples from the middle and lower reaches of the Yangtze River

点位 Sites	位置信息 (北纬,东经) Geographic location (N, E)	pH		电导率 Conductivity/ ($\mu\text{s}\cdot\text{cm}^{-1}$)		溶解氧 Dissolved oxygen/ ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)		化学需氧量 Chemical oxygen demand/($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)		鱼样信息 Information for fish samples		
		丰水期 Wet season	枯水期 Dry season	丰水期 Wet season	枯水期 Dry season	丰水期 Wet season	枯水期 Dry season	丰水期 Wet season	枯水期 Dry season	数量 Number	物种 Species	质量 Weight/g
C1	30°38'25"	7.79	7.85	341	341	7.18	4.85	13.9	17.5	1	鲤鱼	1250
										1	大头鱼	2800
										1	鲫鱼	230
										2	皖鱼	320, 750
C2	30°36'50"	7.82	7.93	340	309	5.88	7.38	2.32	29.7	2	鲤鱼	121, 148
										1	鲢鱼	590
										1	鳙鱼	498
										2	鳊鱼	620, 650
										1	武昌鱼	1050
C3	32°5'47"	7.68	7.98	311	285	5.92	7.40	6.97	24.4	1	红眼鲷	310
										1	皖鱼	1020
										3	鲤鱼	150—473
										2	鲢鱼	140, 163
C4	32°16'23"	7.70	7.92	312	288	5.54	7.03	8.51	7.62	1	鳙鱼	180
										6	皖鱼	161—3700
										3	鲤鱼	150—222
										3	鳊鱼	70—220
										4	皖鱼	350—3520

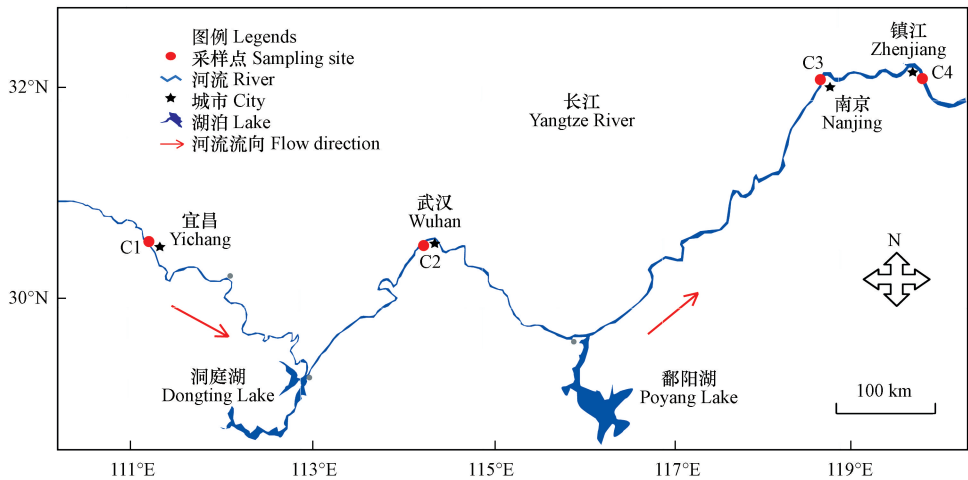


图 1 长江中下游采样点位分布示意图

Fig.1 Study area and sampling sites in the middle and lower reaches of the Yangtze River

采集的样品包括水样和鱼样.水样均在水面下约 0.5 m 处采集.每个采样点取 3 个平行样,置于干净的 1 L 棕色玻璃瓶内,用水质参数仪分别测定 pH、电导率和溶解氧后,立即加入 400 μL 4 mol $\cdot\text{L}^{-1}$ H_2SO_4 调节 pH 值至 3,并加入 50 mL 甲醇用于抑制微生物对目标物的降解.各采样点均另外准备一份不加 H_2SO_4 和甲醇的水样,用 COD(化学需氧量)测定仪测定 COD.水样运回实验室后于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冷库保存,并在 48 h 内完成前处理.鱼样用普通渔网进行捕集,并置于不锈钢桶中(预先加入采样点处地表水)活着运回实验室.在实验室内用三卡因间氨基苯酸乙脂甲磺酸盐(Tricaine methanesulfonate, MS-222)对鱼进行麻醉处理,并将其解剖.预先使用肝素钠溶液(1000 U $\cdot\text{mL}^{-1}$)润洗 5 mL 注射器,在鱼的尾静脉处抽取血液置于 1.5 mL 离心管中,10000 r $\cdot\text{min}^{-1}$ 转速下离心 10 min,取上清液(即血浆样品)存放于 -80 $^{\circ}\text{C}$ 待提取.

两次采样共收集 36 条鱼,种类包括皖鱼、鲫鱼、鲤鱼、鲢鱼、鲈鱼、鳊鱼、大头鱼、武昌鱼和红眼鲂 9 种.表 1 记录了各个采样点收集鱼样的详细信息(种类、数目及质量).考虑到野外水体中鱼类游动的范围可能较大,因此对鱼样来说,一个采样点实际包含了以此点为中心的周围部分水体区域.

1.2 样品处理

采集的地表水和鱼血浆样品,分别采用固相萃取法^[24]和混合溶剂沉淀法进行提取.

将采集的 1 L 水样过玻璃纤维滤膜(Whatman GF/F, 0.7 μm 有效孔径),加入 100 ng 混合内标(BPA-d16、E1-d4 和 E2-d4).固相萃取柱(Waters Oasis HLB cartridges, 500 mg/6 mL)分别用 10 mL 甲醇和 10 mL Milli-Q 水进行活化,然后样品以 5—10 mL $\cdot\text{min}^{-1}$ 的流速过柱.之后用 50 mL 含 5% 甲醇的水溶液润洗样品瓶两次,并过柱.抽干(2 h)后,依次用 7 mL 甲醇和 5 mL 二氯甲烷对目标物进行洗脱.合并洗脱液,并氮吹至近干,取 1 mL 甲醇定容,过 0.22 μm 有机相滤膜后转移至 2 mL 棕色小瓶中,于 -18 $^{\circ}\text{C}$ 保存,待测.

取 50 μL 血浆,先后加入 10 ng 混合内标(BPA-d16、E1-d4 和 E2-d4,溶于 0.2 mol $\cdot\text{L}^{-1}$ 乙酸-乙酸钠缓冲溶液, pH=5.0)和 10 μL 浓度为 10000 U $\cdot\text{mL}^{-1}$ 的 β -葡萄糖醛酸酶/芳基硫酸酯酶溶液.将样品放置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温箱中,酶解 4 h.再将样品转移至预先加入 500 μL 乙腈溶液(含 1% 乙酸, V/V)的 CaptivaND 试剂管中,涡旋 20 s(血浆中的蛋白质会在乙腈作用下沉淀^[25]),然后加真空(30—40 kPa),同时用 10 mL 玻璃管收集洗脱液(此时蛋白质和磷脂基质会从乙腈相中分离出来保留在 CaptivaND 试剂管中).再加 200 μL 乙腈溶液(含 1% 乙酸, V/V)冲洗试剂管壁上残留的样品.合并洗脱液,于氮气下吹至近干.取 200 μL 甲醇定容,以 10000 r $\cdot\text{min}^{-1}$ 转速离心 5 min,取上清液转移至管内衬管的 2 mL 棕色小瓶中,于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 保存,待测.

1.3 仪器分析

用 UPLC-MS/MS(Agilent 1200 高效液相色谱仪-Agilent 6460 三重四极杆质谱仪,ESI 源)测定目标物的含量.使用的色谱柱为 Zorbax SB-C18(100 mm $\times$ 3 mm, 1.8 μm),柱温维持在 40 $^{\circ}\text{C}$,进样体积为

10 μL .流动相为(A)0.4 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 氟化氨水溶液和(B)乙腈,流速 0.4 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$.色谱分离为梯度洗脱:初始流动相为 85% A 和 15% B,第 2.5 min 为 60% A 和 40% B,第 6 min 为 35% A 和 65% B,第 7 min 为 5% A 和 95% B,保持 5 min.梯度结束后平衡 5 min 为分析下个样品做准备,故测定每个样品所需时间为 17 min.质谱分析选用 ESI 负离子扫描模式,以多重反应监测(MRM)模式对目标物进行定量分析.干燥气(氮气)流速为 6 $\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$,温度为 350 $^{\circ}\text{C}$;雾化气(氮气)压力为 50 psi;鞘气(氮气)流速为 12 $\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$,温度为 350 $^{\circ}\text{C}$;毛细管电压为 2500 V.各目标物和内标的主要色谱/质谱检测参数如表 2 所示.

表 2 酚类内分泌干扰物及其内标物基本信息和 UPLC-MS/MS 参数
Table 2 Basic information and UPLC-MS/MS parameters for the phenolic EDCs and internal standards

化合物 Compound	分子量 Molecular weight	CAS Number	$\lg K_{ow}^{[26]}$	$\text{pK}_a^{[7,27]}$	保留时间 Retention time/min	母离子 Precursor ion	子离子 Product ions	碎裂电压 Fragmentor voltage/V	碰撞能 Collision energy/V
BPA	228	80-05-07	3.32	9.60, 10.2	6.609	227.1	212.1/133.1	127	13/21
4- <i>t</i> -OP	206	140-66-9	4.12	10.33	9.365	205.3	133.2/117.0	111	21/45
E1	270	53-16-7	3.43	10.3—10.8	7.630	269.0	145.1/143.1	148	33/57
E2	272	50-28-2	3.94	10.5—10.7	6.973	271.0	183.0/145.0	204	33/30
EE2	296	57-63-6	4.15	10.5	7.337	295.0	145.0/159.0	170	38/34
内标物 Internal standards									
BPA-d16	244	96210-87-6			6.547	241.0	223.2	142	13
E1-d4	274	53866-34-5			7.612	273.0	147.2	168	37
E2-d4	276	66789-03-5			6.940	275.0	187.0	219	25

K_{ow} , 辛醇\水分配系数; pK_a , 酸度系数. K_{ow} , the octanol-water partition coefficient; pK_a , acidity constant.

1.4 质量控制与质量保证

整个实验过程实行了严格的质量控制与质量保证体系,通过检测空白样品,结合加标回收率、基质效应、检出限和定量限的计算来衡量方法的可靠性.每批样品(12 个)均有一个溶剂空白(初始流动相)和质控样(100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的标准溶液)同时分析以检查背景污染和仪器状态.

鱼血浆样品的加标回收实验采用不含目标物的血样进行了 3 个不同浓度水平(20、100、200 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$)的加标,回收率通过以下公式计算:

回收率(%) =
$$\frac{\text{加标样品实测浓度} - \text{空白样品实测浓度}}{\text{加标浓度}} \times 100$$

基质效应的计算公式为:

$$\alpha(\%) = \left(\frac{\text{基质加标样品实测浓度}}{\text{纯溶剂标样实测浓度}} - 1 \right) \times 100$$

其中,基质加标浓度与纯溶剂(甲醇)标样浓度均为 200 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$.若 $\alpha>0$,表示基质增强效应; $\alpha<0$,表示基质抑制效应.使用低浓度加标回收的鱼血浆样品,分别以 3 倍信噪比和 10 倍信噪比计算方法检出限(Method detection limit, MDL)与定量限(Method quantification limit, MQL).

1.5 生物富集因子与血浆生物富集因子预测模型

生物体通过多种环境暴露途径吸收污染物的过程称为生物富集(Bioaccumulation)^[28].酚类 EDCs 在鱼血浆中的富集程度可用生物富集因子(Bioaccumulation factor, BAF)表示:

$$\text{BAF} = \frac{C_{\text{plasma}}}{C_w} \times 1000$$

式中, C_{plasma} 为鱼血浆中酚类 EDCs 的浓度($\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$), C_w 为地表水中相应酚类 EDCs 的浓度($\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$).

与仅通过正辛醇-水分配系数(K_{ow})预测 BAF 不同,Tanoue 等^[29]报道的鱼体血浆 BAF 预测模型认为污染物在生物体内的富集水平不仅与 K_{ow} 有关,还与环境 pH 有关,如下所示:

$$\lg \text{BAF}_{\text{血浆}} = \lg [(10^{0.73 \lg D_{ow}}) \times 0.16 + 0.84]$$

其中, D_{ow} 为经 pH 校正后的正辛醇-水分配系数,即 pH 相关正辛醇-水分配系数. D_{ow} 计算方法如下^[29-30]:

$$f_{\text{ion}} = f_{\text{neutral}} \times 10^{i(\text{pH} - \text{pK}_a)}$$

$$\lg K_{ow(ion)} = \lg K_{ow(neutral)} - 3.5$$
$$D_{ow} = f_{neutral} \times K_{ow(neutral)} + f_{ion} \times K_{ow(ion)}$$

式中 f_{ion} 和 $f_{neutral}$ 代表特定 pH 条件下某种化合物的离子态与中性态各自的含量比例; i 与化合物的酸碱性有关, 酸性化合物取 1, 碱性化合物取 -1; $K_{ow(ion)}$ 和 $K_{ow(neutral)}$ 分别代表特定 pH 条件下, 离子态化合物和中性态化合物对应的 K_{ow} .

2 结果与讨论 (Results and discussion)

2.1 方法验证

水样中酚类 EDCs 的加标浓度为 100 ng·L⁻¹, 经 UPLC-MS/MS 测得 BPA、4-*t*-OP、E1、E2 和 EE2 的回收率分别为 103%±1%、75%±4%、96%±5%、145%±5% 和 96%±3%, 方法检出限分别为 0.11、0.40、0.42、0.24、0.60 ng·L⁻¹, 方法定量限分别为 0.37、1.00、0.90、0.80、1.21 ng·L⁻¹.

使用 UPLC-MS/MS 分析鱼血浆样品中酚类 EDCs 的回收率、基质效应、检出限及定量限如表 3 所示. 加标浓度为 20、100、200 ng·mL⁻¹ 时, 5 种酚类 EDCs 的平均回收率范围分别为 67%—115%、77%—118% 和 85%—116%. 对于 E1、E2 和 EE2, 高浓度加标的回收率较低浓度好. 整体而言, 3 个加标浓度下 5 种目标物的回收率均在可接受范围内. 除 BPA 外, 其余 4 种酚类 EDCs 在鱼体血浆中均受到基质抑制作用, 但效应较小 (-10% 至 -1% 之间). BPA 受到基质增强效应 (32.98%). 5 种目标物的检出限和定量限分别为 0.03—0.32、0.09—1.05 ng·mL⁻¹.

总的来说, 本分析方法基本可满足地表水样和鱼体血浆中 5 种酚类 EDCs 的提取和测定.

表 3 UPLC-MS/MS 分析鱼血浆中酚类 EDCs 的回收率、基质效应、检出限和定量限

Table 3 Recoveries, matrix effects and method detection and quantification limits of the phenolic EDCs in fish plasma samples by UPLC-MS/MS

化合物 Compound	加标回收率 Recoveries/%			基质效应 Matrix effect/%	检出限 MDL/ (ng·mL ⁻¹)	定量限 MQL/ (ng·mL ⁻¹)
	20 ng·mL ⁻¹	100 ng·mL ⁻¹	200 ng·mL ⁻¹			
BPA	109±11	118±16	116±17	32.98	0.14	0.45
4- <i>t</i> -OP	115±4	78±13	116±25	-1.7	0.03	0.09
E1	82±10	81±5	85±0.8	-9	0.20	0.68
E2	67±12	77±4	88±16	-5	0.32	1.05
EE2	68±48	97±8	103±8	-4	0.24	0.80

2.2 地表水中酚类 EDCs 的含量分布

长江中下游地表水中 5 种酚类 EDCs 的整体分布特征如表 4 所示. 5 种目标物共检出 3 种: BPA、4-*t*-OP 和 E1, 检出浓度整体处于较低水平. 其中 BPA 和 4-*t*-OP 在丰、枯水期所有采样点均有检出, 最大浓度分别达 99.7 ng·L⁻¹ 和 22.3 ng·L⁻¹, E1 仅在丰水期地表水中有部分检出, 浓度范围为 ND (未检出) -2.47 ng·L⁻¹. 所有水样中均未检出 E2 和 EE2. 5 种 EDCs 在地表水中的平均含量水平从大到小排列依次为: BPA > 4-*t*-OP > E1 > E2、EE2, 说明长江中下游地区受 BPA 和 4-*t*-OP 污染较其他 3 种 EDCs 严重.

比较地表水中 5 种酚类 EDCs 的时间分布 (表 4 和图 2) 可知, 丰水期 (2013 年 7 月) 含量接近或略高于枯水期 (2013 年 11 月). 具体表现在: BPA 在丰、枯水期含量相近, 其平均值分别为 29.9、29.8 ng·L⁻¹; 4-*t*-OP 在枯水期的含量略低于丰水期; 而 E1 仅在丰水期有检出, 但整体浓度较低, 平均值为 1.12 ng·L⁻¹. 从空间分布看, 处于下游的武汉、南京和镇江 (C2、C3 和 C4 点) 地表水中 5 种污染物总量较上游的宜昌 (C1 点) 高, 此差异可能与下游地区化工厂数量较多有关^[31].

BPA 和 4-*t*-OP 是塑料添加剂和非离子表面活性剂的主要成分, 环境来源主要为工业和农业; 天然雌激素 E1 和 E2 主要由人和动物的日常排泄产生; 而 EE2 是口服避孕药的主要成分. 因此, 相比 E1、E2 和 EE2, 地表水中 BPA 和 4-*t*-OP 的高频率检出与长江中下游地区发达的化工产业密不可分. 对比国内外水环境中 EDCs 的研究, 长江中下游地表水中酚类 EDCs 的含量与我国洱海和珠江、Scheldt 河 (比利时)、

Venice lagoon(意大利)等地表水的检出浓度较为接近^[17, 24, 32-33],但明显低于我国广州石井河、Yeongsan 和 Seomjin 河(韩国)、Muko 河(日本)等水体的检出水平^[24, 34-35].总之,相比其他地区数百乃至数千 $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ 的检出浓度,长江中下游地表水受酚类 EDCs 的污染相对较轻.

表 4 长江中下游地表水和鱼血浆中目标 EDCs 的分布特征
Table 4 Distribution of the target EDCs in river water and fish plasma samples from
the middle and lower reaches of the Yangtze River

化合物 Compounds	丰水期 Wet season				枯水期 Dry season			
	检出率 Detection rate	浓度范围 Concentration range	平均值 Mean	中值 Median	检出率 Detection rate	浓度范围 Concentration range	平均值 Mean	中值 Median
水体 Water/($\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$)								
BPA	100%	11.5—99.7	29.9	23.2	100%	5.71—60.6	29.8	25.6
4- <i>t</i> -OP	100%	5.10—22.3	10.2	8.06	100%	1.64—2.86	2.04	2.10
E1	75%	ND—2.47	1.12	0.94	0%	ND	ND	ND
E2	0%	ND	ND	ND	0%	ND	ND	ND
EE2	0%	ND	ND	ND	0%	ND	ND	ND
血浆 plasma/($\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$)								
BPA	100%	9.10—37.6	19.1	18.9	100%	7.41—172	42.2	37.5
4- <i>t</i> -OP	100%	11.1—91.5	40.2	36.5	100%	6.52—20.1	13.8	13.9
E1	100%	3.31—4.50	3.53	3.42	100%	3.24—21.1	4.46	3.49
E2	19%	ND—5.34	2.55	1.78	0%	ND	ND	ND
EE2	6%	ND—5.90	5.90	ND	5%	ND—1.95	1.95	ND

ND, 未检出.ND, not detected.

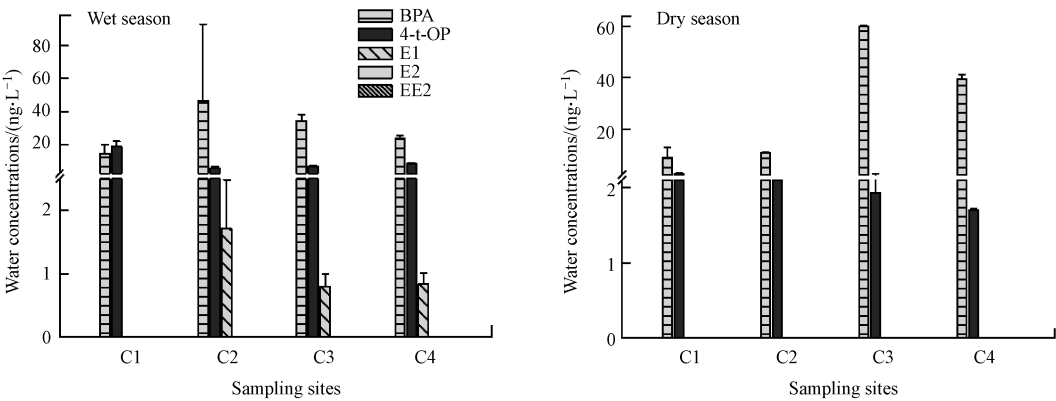


图 2 长江中下游地表水中五种 EDCs 的时空分布

Fig.2 Spatiotemporal variations of five EDCs in surface water of the middle and lower reaches of the Yangtze River

2.3 酚类 EDCs 在鱼体血浆中的含量

酚类 EDCs 在长江中下游鱼体血浆中的分布特征如表 4 所示.可以看出,5 种酚类 EDCs 在长江中下游鱼体血浆中有不同程度的检出.其中 BPA、4-*t*-OP 和 E1 的检出率均为 100%,最高浓度分别为 172、91.5、21.1 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$,说明污染物 BPA、4-*t*-OP 和 E1 在长江中下游鱼体血浆中普遍存在;而 E2 和 EE2 检出率均低于 50%,其浓度范围分别为 ND—5.34 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和 ND—5.90 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$.血浆中 5 种酚类 EDCs 的含量高低顺序与地表水一致,即 $\text{BPA} > 4\text{-}t\text{-OP} > \text{E1} > \text{E2}、\text{EE2}$.

5 种 EDCs 在长江中下游 4 个采样点位鱼体血浆的空间分布和季节分布如图 3 所示.血浆中 BPA 含量在枯水期(平均值为 42.2 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$)较丰水期(平均值为 19.1 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$)高,由于野外采样具有不确定性,难以控制丰、枯两季所采鱼的种类、体重、年龄和性别等相同,而这些因素均有可能影响血浆中 BPA 的浓度,因此在没有更进一步研究的条件下,很难给出血浆中 BPA 季节分布差异的确切原因;而 4-*t*-OP 的季节分布情况与之相反,枯水期和丰水期的平均含量分别为 13.8、40.2 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$,这与 4-*t*-OP 在水体的

季节分布一致(枯、丰水期平均值分别为 2.04、10.2 ng·L⁻¹),说明污染物在生物体血浆中的累积浓度与环境浓度有关.E1 和 EE2 在丰、枯水期的含量分布无明显差别,E2 仅在丰水期偶有检出.由图 3 可看出,5 种污染物总量在 C3 点位(南京)较低,而在宜昌、武汉和镇江(C1、C2 和 C4 点)基本无差别.

BPA 和 4-*t*-OP 在鱼体血浆和地表水中均具有较高的检出频率和浓度,说明在 EDCs 污染严重的水体中,二者可在野生鱼体中富集.E2 和 EE2 仅在鱼体中有检出,而在水体中未检出.这可能与水环境中 E2 和 EE2 易发生转化降解有关^[16,36].另外,由于生物体内能产生天然的 E2^[37],因此检出的 E2 可能来自生物体本身.

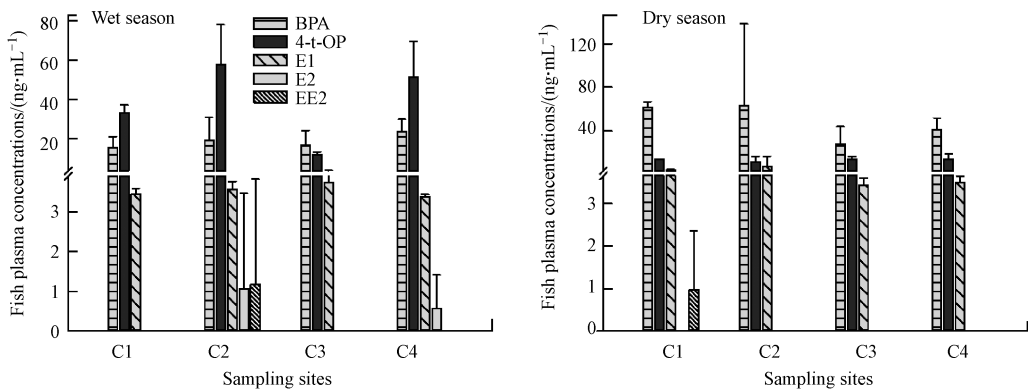


图 3 长江中下游鱼血浆中五种 EDCs 的时空分布

Fig.3 Spatiotemporal variations of five EDCs in fish plasma of the middle and lower reaches of the Yangtze River

2.4 EDCs 在鱼体血浆的 BAF 及模型预测

5 种酚类 EDCs 在长江中下游鱼体血浆的 BAF 经对数转换后如表 5 所示.测得 3 种酚类 EDCs (BPA、4-*t*-OP 和 E1) 的 lg BAF 范围为 2.29—4.20,均大于 2.BPA 和 4-*t*-OP 分别在 C2 点(武汉)鲤鱼和鲢鱼血浆中富集程度最大,对应 lg BAF 值分别为 4.20 和 4.18;E1 则在 C3 点(南京)鲶鱼血浆中富集程度最大,其 lg BAF 为 3.75.就平均值和中位数而言,目标物在鱼体血浆中的富集程度从大到小为:4-*t*-OP > E1 > BPA.

生物富集效应的判定标准^[28,38]为:当化合物的 BAF 值在 1000—5000 之间(即 3 ≤ lg BAF ≤ 3.70),认为具有生物富集效应;当 BAF 值大于 5000(即 lg BAF ≥ 3.70),认为具有高度生物富集效应.3 种目标物(BPA、4-*t*-OP 和 E1)lg BAF 的最大检出值(4.20、4.18 和 3.75)均达到高度富集(lg BAF ≥ 3.70)的标准.从平均值和中位数的角度,认为 E1(lg BAF:3.51,3.59)和 4-*t*-OP(lg BAF:3.73,3.84)分别具有生物富集和高度生物富集效应;而 BPA 的 lg BAF 平均值和中位数均在 3 以下.总体看来,长江中下游鱼体血浆中 4-*t*-OP 和 E1 具有普遍较高的生物富集能力,存在较大的环境风险;而 BPA 仅在部分鱼血浆样品中表现出生物富集现象,具有一定的潜在风险.

根据 Tanoue 等^[29]报道的血浆 BAF 模型,使用 D_{ow} 预测了 BPA、4-*t*-OP 和 E1 的 lg BAF 值(表 5).结果显示,3 种目标物的预测值均低于 lg BAF 实测值.考虑到血浆 BAF 模型建立的前提假设,是将鱼的鳃暴露(呼吸暴露)作为污染物的主要暴露途径^[39];但在真实水环境中,鱼类遭受的往往是包括呼吸暴露在内的饮食暴露、皮肤暴露等多种途径暴露.因此,未充分考虑鳃暴露以外的其他暴露途径可能是造成理论值与实测值间产生明显差异的主要原因.另外,生物对污染物的富集还受到很多外在环境因素(水温、溶解氧和总有机碳含量等)和生物内部性因素(生长稀释、化学物质毒性效应和代谢转化等)的影响^[40],如水温可通过影响酶促反应而影响污染物在鱼体内的富集和代谢;当存在大量有机物污染水体时,溶解氧会不断消耗而下降,鱼的生命活动会因此受到不同程度的影响,从而使污染物对鱼的富集具有不确定性;水环境中存在的有机碳颗粒能吸附或与有机污染物结合,因结合体难以通过鱼体呼吸膜而影响污染物吸收^[41];生长稀释(生物体内污染物浓度随生物体增长而减小)作为一种“伪消除”过程,可影响 BAF 值;毒性效应可改变受试生物的呼吸速率等正常的生理功能,在一定程度上对污染物的体内吸收及代谢造成影响,而物种、性别、年龄和食性等也会影响生物对污染物的代谢能力,进而增加了生物

富集评价的不确定性.显然当前的血浆 BAF 模型还未能全面包含这些因素,故不难理解理论值与实测值之间存在的差异.后续有必要进一步加强污染物生物富集影响因素的研究.

表 5 长江中下游鱼体血浆中酚类 EDCs 的 lg BAF 值
Table 5 lg BAF values of the phenolic EDCs in fish plasma samples
from the middle and lower reaches of the Yangtze River

化合物 Compound	检出数量 Number of detection	范围 Range	lg BAF 实测值 Measured plasma lg BAF			最大值对应的 鱼种和点位 Species and sites for maximum value	lg BAF 模型计算值 Calculated plasma lg BAF
			平均值 Mean	中位数 Median			
BPA	36	2.29—4.20	2.91	2.86		鲤鱼 (C2)	1.63
4- <i>t</i> -OP	36	3.18—4.18	3.73	3.84		鳊鱼 (C2)	2.21
E1	13	3.29—3.75	3.51	3.59		鲢鱼 (C3)	1.72
E2	0	ND	ND	ND		ND	
EE2	0	ND	ND	ND		ND	

ND, 未检出 not detected.

3 结论 (Conclusion)

(1) 本研究建立了混合溶剂沉淀-UPLC-MS/MS 法同步测定鱼体血浆中 5 种酚类 EDCs 的方法.方法检出限和定量限接近或低于 1.0 ng·mL⁻¹,加标回收率较好,满足生物样品中酚类 EDCs 的痕量分析.

(2) 5 种酚类 EDCs 在长江中下游地表水和鱼体血浆中均有不同程度的检出,检出频率和浓度从高到低依次为 BPA > 4-*t*-OP > E1 > E2、EE2.相比 E1、E2 和 EE2,长江中下游受 BPA 和 4-*t*-OP 的污染较为严重,污染主要由农业、工业和日常活动的排放造成.

(3) BPA、4-*t*-OP 和 E1 的 lg BAF 值范围在 2.29—4.20 之间,表现出不同程度的生物富集潜能,特别是 4-*t*-OP 具有较强的生物富集能力,应该给予一定的关注.

综合以上研究结果,长江中下游水体和鱼体中 5 种酚类 EDCs 的污染水平相对较低,但考虑到当地经济、人口的快速发展,酚类 EDCs 源源不断地输入水体,可能在鱼体内持续累积,具有一定的潜在风险.此外,鱼体血浆中酚类 EDCs 的富集规律为评估人体中此类物质的代谢过程提供了外推依据.因此,有必要进一步研究酚类 EDCs 在鱼体各组织的分布及代谢过程,外推人体富集规律,评价生物和人体健康风险.

参考文献 (References)

[1] TYLER C R, JOBLING S, SUMPTER J P. Endocrine disruption in wildlife: A critical review of the evidence[J]. Critical Reviews in Toxicology, 1998, 28(4): 319-361.

[2] GROSS-SOROKIN M Y, ROAST S D, BRIGHTY G C. Assessment of feminization of male fish in English rivers by the environment agency of england and wales[J]. Environmental Health Perspectives, 2006, 114(Suppl 1): 147-151.

[3] HOTCHKISS A K, RIDER C V, BLYSTONE C R, et al. Fifteen years after “Wingspread”—environmental endocrine disrupters and human and wildlife health: Where we are today and where we need to go[J]. Toxicological Sciences, 2008, 105(2): 235-259.

[4] 夏星辉, 杨居荣, 许嘉琳. 环境激素污染研究进展[J]. 上海环境科学, 2001, 20(2): 56-59.

XIA X H, YANG J R, XU J L. Study progress on environmental hormone pollution[J]. Shanghai Environmental Sciences, 2001, 20(2): 56-59 (in Chinese).

[5] ZUO Y, ZHU Z, ALSHANGITI M, et al. Bisphenol A and the related alkylphenol contaminants in crustaceans and their potential bioeffects [J]. Advances in Environmental Research, 2015, 4(1): 39-48.

[6] HUANG B, SUN W W, LI X M, et al. Effects and bioaccumulation of 17β-estradiol and 17α-ethynylestradiol following long-term exposure in crucian carp[J]. Ecotoxicology & Environmental Safety, 2015, 112: 169-176.

[7] LI Z, XIANG X, LI M, et al. Occurrence and risk assessment of pharmaceuticals and personal care products and endocrine disrupting chemicals in reclaimed water and receiving groundwater in China[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2015, 119: 74-80.

- [8] NAN X, XU Y F, XU S, et al. Removal of estrogens in municipal wastewater treatment plants: A Chinese perspective[J]. Environmental Pollution, 2012, 165(6): 215-224.
- [9] RAHMAN M F, YANFUL E K, JASIM S Y. Endocrine disrupting compounds (EDCs) and pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in the aquatic environment: Implications for the drinking water industry and global environmental health[J]. Journal of Water and Health, 2009, 7(2): 224-243.
- [10] TYLER C R, SPARY C, GIBSON R, et al. Accounting for differences in estrogenic responses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*; Salmonidae) and roach (*Rutilus rutilus*; Cyprinidae) exposed to effluents from wastewater treatment works[J]. Environmental Science & Technology, 2005, 39(8): 2599-2607.
- [11] ORLANDO E F, KOLOK A S, BINZCIK G A, et al. Endocrine-disrupting effects of cattle feedlot effluent on an aquatic sentinel species, the fathead minnow[J]. Environmental Health Perspectives, 2004, 112(3): 353-358.
- [12] STADNICKA J, SCHIRMER K, ASHAUER R. Predicting concentrations of organic chemicals in fish by using toxicokinetic models[J]. Environmental Science & Technology, 2012, 46(6): 3273-3280.
- [13] SIJM D T H M, HERMENS J L M. Internal effect concentration: Link between bioaccumulation and ecotoxicity for organic chemicals[M]. The Handbook of Environmental Chemistry: Bioaccumulation-New Aspects and Developments. Springer Berlin Heidelberg, 2000, 2: 167-199.
- [14] BROX S, RITTER A P, Küster E, et al. A quantitative HPLC-MS/MS method for studying internal concentrations and toxicokinetics of 34 polar analytes in zebrafish (*Danio rerio*) embryos[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2014, 406(20): 4831-4840.
- [15] VOGS C, Kühnert A, HUG C, et al. A toxicokinetic study of specifically acting and reactive organic chemicals for the prediction of internal effect concentrations in *Scenedesmus vacuolatus*[J]. Environmental Toxicology and Chemistry, 2015, 34(1): 100-111.
- [16] HUANG B, WANG B, REN D, et al. Occurrence, removal and bioaccumulation of steroid estrogens in Dianchi Lake catchment, China [J]. Environment International, 2013, 59: 262-273.
- [17] HUANG B, XIONG D, HE H, et al. Characteristics and bioaccumulation of progestogens, androgens, estrogens, and phenols in Erhai Lake catchment, Yunnan, China[J]. Environmental Engineering Science, 2017, 34(5): 321-332.
- [18] NURULNADIA M Y, KOYAMA J, UNO S, et al. Accumulation of endocrine disrupting chemicals (EDCs) in the polychaete *Paraprionospio* sp. from the Yodo River mouth, Osaka Bay, Japan[J]. Environmental Monitoring and Assessment, 2014, 186(3): 1453-1463.
- [19] 刘元元. 药物动力学及药物动力学的新进展[J]. 河北农业科学, 2008, 12(9): 168-170.
- [20] LIU Y Y. Pharmacokinetics and Its new progress[J]. Journal of Hebei Agricultural Sciences, 2008, 12(9): 168-170 (in Chinese).
- [20] 罗芬, 池玉梅, 吴皓. 中药代谢动力学研究概述[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(14): 284-288.
- [20] LUO F, CHI Y M, WU H. Overview about pharmacokinetics of traditional chinese medicine study[J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2011, 17(14): 284-288 (in Chinese).
- [21] LIU Y H, ZHANG S H, JI G X, et al. Occurrence, distribution and risk assessment of suspected endocrine-disrupting chemicals in surface water and suspended particulate matter of Yangtze River (Nanjing section) [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2017, 135: 90-97.
- [22] NIE M, YAN C, DONG W, et al. Occurrence, distribution and risk assessment of estrogens in surface water, suspended particulate matter, and sediments of the Yangtze Estuary[J]. Chemosphere, 2015, 127: 109-116.
- [23] SHI X, ZHOU J L, ZHAO H, et al. Application of passive sampling in assessing the occurrence and risk of antibiotics and endocrine disrupting chemicals in the Yangtze Estuary, China[J]. Chemosphere, 2014, 111: 344-351.
- [24] ZHAO J L, YING G G, WANG L, et al. Determination of phenolic endocrine disrupting chemicals and acidic pharmaceuticals in surface water of the Pearl Rivers in South China by gas chromatography-negative chemical ionization-mass spectrometry[J]. Science of the Total Environment, 2009, 407(2): 962-974.
- [25] FERREIRO-VERA C, PRIEGO-CAPOTE F, CASTRO L D. Comparison of sample preparation approaches for phospholipids profiling in human serum by liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography A, 2012, 1240(11): 21-28.
- [26] YING G G, KOOKANA R S, KUMAR A, et al. Occurrence and implications of estrogens and xenoestrogens in sewage effluents and receiving waters from South East Queensland[J]. Science of the Total Environment, 2009, 407(18): 5147-5155.
- [27] ECHA S. support document-4-(1, 1, 3, 3-tetramethylbutyl) phenol, 4-tert-octylphenol[EB/OL].[2018-05-01]. European Chemicals Agency, http://echa.europa.eu/documents/10162/13638/suppdoc_4_tert_octylphenol_20111211_en.pdf
- [28] ARNOT J A, GOBAS F A. A review of bioconcentration factor (BCF) and bioaccumulation factor (BAF) assessments for organic chemicals in aquatic organisms[J]. Environmental Reviews, 2006, 14(4): 257-297.
- [29] TANOUE R, NOMIYAMA K, NAKAMURA H, et al. Uptake and tissue distribution of pharmaceuticals and personal care products in wild fish from treated-wastewater-impacted streams[J]. Environmental Science & Technology, 2017, 49(19): 11649-11658.
- [30] TRAPP S, HOROBIN R W. A predictive model for the selective accumulation of chemicals in tumor cells[J]. European Biophysics Journal, 2005, 34(7): 959-966.
- [31] SHI W, WANG X Y, HU W, et al. Endocrine-disrupting equivalents in industrial effluents discharged into Yangtze River [J].

- Ecotoxicology, 2009, 18(6): 685-692.
- [32] NOPPE H, VERSLYCKE T, DE W E, et al. Occurrence of estrogens in the Scheldt estuary: A 2-year survey[J]. Ecotoxicology & Environmental Safety, 2007, 66(1): 1-8.
- [33] POJANA G, GOMIERO A, JONKERS N, et al. Natural and synthetic endocrine disrupting compounds (EDCs) in water, sediment and biota of a coastal lagoon[J]. Environment International, 2007, 33(7): 929-936.
- [34] RA J S, LEE S H, LEE J, et al. Occurrence of estrogenic chemicals in South Korean surface waters and municipal wastewaters[J]. Journal of Environmental Monitoring, 2011, 13(1): 101-109.
- [35] SUMIKO M, MISA K, SACHI K, et al. Determination of estrogenic substances in the water of Muko River using in vitro assays, and the degradation of natural estrogens by aquatic bacteria[J]. Journal of Health Science, 2005, 51(2): 178-184.
- [36] 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.
- [37] DAN L, WU S, XU H, et al. Distribution and bioaccumulation of endocrine disrupting chemicals in water, sediment and fishes in a shallow Chinese freshwater lake: Implications for ecological and human health risks[J]. Ecotoxicology & Environmental Safety, 2017, 140: 222-229.
- [38] KLOSTERHAUS S L, GRACE R, HAMILTON M C, et al. Method validation and reconnaissance of pharmaceuticals, personal care products, and alkylphenols in surface waters, sediments, and mussels in an urban estuary[J]. Environment International, 2013, 54: 92-99.
- [39] FITZSIMMONS P N, FERNANDEZ J D, HOFFMAN A D, et al. Branchial elimination of superhydrophobic organic compounds by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. Aquatic Toxicology, 2001, 55(1-2): 23-34.
- [40] 周东星, 高小中, 许宜平, 等. 有机化合物生物富集的度量与评价方法进展[J]. 环境化学, 2014, 33(2): 175-185.
- ZHOU D X, GAO X Z, XU Y P, et al. Advances in metrics and assessment of organic chemical bioaccumulation[J]. Environmental Chemistry, 2014, 33(2): 175-185 (in Chinese).
- [41] 柯润辉, 孙立伟, 陈珊, 等. 三油酸甘油酯-醋酸纤维素复合膜测定水中有机氯农药生物有效性[J]. 环境科学学报, 2007, 27(12): 2019-2024.
- KE R H, SUN L W, CHEN S, et al. Measuring the bioavailability of organochlorine pesticides in water using triolein embedded cellulose acetate membrane[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2007, 27(12): 2019-2024 (in Chinese).