

方知库
Eco-Environmental
Knowledge Web

环境科学

ENVIRONMENTAL SCIENCE

ISSN 0250-3301 CODEN HCKHDV

HUANJING KEXUE

■ 主办 中国科学院生态环境研究中心

■ 出版 科学出版社



2019

Vol.40 No.11

第40卷 第11期

目次

2018年中国长江三角洲地区气溶胶的垂直分布特征 沈吉, 曹念文(4743)

2018年石家庄市秋冬季典型霾污染特征 宿文康, 鲍晓磊, 倪爽英, 赵卫凤(4755)

武汉市PM_{2.5}化学组分时空分布及聚类分析 张会涛, 田瑛泽, 刘保双, 杨佳美, 郁佳, 官攀, 吴建会, 张裕芬(4764)

郑州市某生活区大气PM_{2.5}中重金属污染特征及生态、健康风险评估 何瑞东, 张轶舜, 陈永阳, 靳孟洁, 韩士杰, 赵金帅, 张瑞芹, 燕启社(4774)

厦门市降水中金属元素含量分布特征及来源解析 王珊珊, 程奕枫, 颜金培, 胡恭任(4783)

2015~2017年上海郊区大气新粒子生成特征 霍俊涛, 王新宁, 段玉森, 伏晴艳, 陈冰怡(4791)

太原市秋冬季大气污染特征和输送路径及潜在源区分析 闫世明, 王雁, 郭伟, 李莹, 张逢生(4801)

东北区域空气质量时空分布特征及重度污染成因分析 陈卫卫, 刘阳, 吴雪伟, 鲍秋阳, 高枫亭, 张学磊, 赵红梅, 张世春, 修艾军, 程天海(4810)

艾比湖流域气溶胶光学厚度时空演变及影响因素 陈香月, 丁建丽, 王敬哲, 葛翔宇, 梁静(4824)

中国住宅室内BTEX浓度水平及其影响因素 侯贝贝, 尹奕卉, 裴晶晶, 刘俊杰(4833)

石家庄地区芳香族化合物的污染特征及来源分析 杨阳, 李杏茹, 刘水桥, 杨玉磊, 赵清, 陈曦, 徐静(4841)

郑州市碳素行业无组织VOCs排放特征分析及健康风险评估 张轶舜, 王佳, 韩士杰, 何瑞东, 陈永阳, 靳孟洁, 赵庆炎, 张瑞芹, 燕启社(4847)

典型化工行业有害VOCs排放清单及长三角地区应用 鲁君, 黄奕玮, 黄成(4856)

2013~2017年江苏省人为源氨排放清单的建立及特征 侯新红, 于兴娜, 沈丽, 赵睿东, 王国祯, 张毓秀(4862)

焦化厂建筑物和生产设施表面PAHs的赋存特征及健康风险 赵一澍, 廖晓勇, 李尤, 罗俊鹏, 龚雪刚, 侯艺璇(4870)

中国南海流沙湾中雄激素、糖皮质激素和孕激素的污染特征及其生态风险评价 杨雷, 张晋娜, 徐敏, 彭涛, 史文俊, 石义静, 应光国(4879)

岩溶流域洪水过程水化学动态变化及影响因素 原雅琼, 孙平安, 苏钊, 于爽, 钟丽华, 何师意, 徐茜(4889)

长江水体常量和微量元素的来源、分布与向海输送 吴文涛, 冉祥滨, 李景喜, 王昊, 李梦露, 刘军, 臧家业(4900)

望虞河西岸河网重金属污染特征及生态风险评价 徐晨, 王沛芳, 陈娟, 袁秋生, 胡斌(4914)

不同雨强对太湖河网河道入湖营养盐负荷影响 陈洁, 朱广伟, 许海, 詹旭, 朱梦圆, 笪文怡, 黄亚文(4924)

合肥市十八联圩湿地表层沉积物营养盐与重金属分布及污染评价 陈姗, 许凡, 谢三桃, 郭天星, 彭久赞, 雷琦, 张玮, 王丽卿(4932)

三峡库区不同河段支流丰水期叶绿素a和营养盐的空间分布特征 杨凡, 杨正健, 纪道斌, 苏青青, 龙良红, 刘心愿, 王耀耀, 赵冲(4944)

丹江口水库氮磷内源释放对比 王志齐, 刘新星, 姚志宏, 姚伦广, 常跃, 刘卓初, 曹连海(4953)

不同沉水植物净水能力与植株体细菌群落组成相关性 李琳, 岳春雷, 张华, 李贺鹏, 杨乐, 王瑀(4962)

纳米氧化锌粒径对人工湿地性能及微生物群落的影响 王森, 任伶, 刘琳琳, 李颖, 张振, 孔范龙(4971)

水生植物生物质炭去除水体中氮磷性能 刘舒蕾, 彭慧君, 杨佳怡, 肖琳(4980)

MgO改性莲蓬壳生物炭的制备及其磷吸附特性 王盛华, 朱丹晨, 邵敬爱, 向家涛, 杨海平, 易娟, 张世红, 陈汉平(4987)

微塑料对短流程膜工艺中膜污染的影响 王博东, 薛文静, 吕永涛, 苗瑞, 马百文(4996)

基于铁锰泥的除砷颗粒吸附剂制备及其比较 曾辉平, 于亚萍, 吕赛赛, 李冬, 张杰(5002)

氯氧铁非均相催化过氧化氢降解罗丹明B 张少朋, 陈瑞, 白淑琴, 刘锐平(5009)

天津市规模化奶牛养殖场废水中典型抗生素处理效果及生态风险评估 陈乾, 赵润, 牟美睿, 白鸽, 史宏伟, 刘海学, 吴惠惠(5015)

废水处理系统中抗生素抗性基因分布特征 姚鹏城, 陈嘉瑜, 张永明, 温东辉, 陈吕军(5024)

全程自养脱氮耦合反硝化除磷的启动及稳定运行 印雯, 陈亚, 张钰, 徐乐中, 吴鹏, 刘文如(5032)

FeCl₃-生化耦合技术调控未知诱因的污泥膨胀 魏东洋, 肖才林, 周雯, 李睿华, 曹茜(5040)

污泥龄对除磷亚硝化颗粒系统的影响 李冬, 刘博, 王文琪, 曹美忠, 李帅, 张杰(5048)

厌氧氨氧化耦合反硝化工艺的启动及微生物群落变化特征 宋壮壮, 吕爽, 刘哲, 时兴东, 潘傲, 张智(5057)

基质暴露水平对ANAMMOX微生物活性及生物量的影响 陈方敏, 高佳琦, 黄勇, 胡羽婷, 李祥, 顾澄伟, 谈新伟, 殷记强, 方文焯, 倪敏(5066)

太浦河流域农田土壤重金属污染特征与来源解析 李伟迪, 崔云霞, 曾撑撑, 朱永青, 彭月, 王凯, 李士俊(5073)

土壤重金属污染风险筛选值划分方法:以Cd为例 王锐, 张凤雷, 徐姝姝, 张永文(5082)

半壁山金矿矿业活动区砷赋存的矿物特征及其对农田土壤砷累积的影响 温其谦, 阎秀兰, 申俊峰, 李鸣凤(5090)

土壤调理剂对镉污染稻田修复效果 周利军, 武琳, 林小兵, 王惠明, 刘晖, 张鸿燕, 胡敏, 石利萍, 张云, 黄欠如(5098)

改性蒙脱土对稻田土壤甲基汞的阻控修复 韩怡新, 何天容, 王祖波(5107)

铈锰改性生物炭对土壤As的固定效应 梁婷, 李莲芳, 朱昌雄, 叶婧(5114)

温和预氧化提高后续生物修复石油污染土壤 徐金兰, 王慧芳, 王荣, 章秋菊, 王杰(5124)

重金属污染农田生菜根际重金属固定细菌群落组成及其阻控效应 王铁军, 苏楠楠, 雷鹏, 邱明洋, 陈兆进, 姚伦广, 韩辉(5133)

双氰胺和3,4-二甲吡唑磷酸盐对蔬菜种植土壤氨氧化细菌和古菌的影响 郭俊丽, 刘毅, 魏文学, 葛体达, 王光军(5142)

不同再生水灌溉方式对土壤-辣椒系统中细菌群落多样性及病原菌丰度的影响 崔丙健, 高峰, 胡超, 李中阳, 樊向阳, 崔二革(5151)

黄土高原地区两种土地利用方式CO₂和N₂O排放特征 韩佳乐, 郝珊, 刘振杰, 张曼, 张阿凤(5164)

生物质炭对华北平原4种典型土壤N₂O排放的影响 张秀玲, 孙贇, 张水清, 岳克, 曹红亮, 林杉(5173)

优化施肥模式对我国热带地区水稻-豇豆轮作系统N₂O和CH₄排放的影响 胡玉麟, 汤水荣, 陶凯, 何秋香, 田伟, 秦兴华, 伍延正, 孟磊(5182)

《环境科学》征订启事(4995) 《环境科学》征稿简则(5039) 信息(4782, 4979, 5056)

中国南海流沙湾中雄激素、糖皮质激素和孕激素的污染特征及其生态风险评价

杨雷^{1,2,3}, 张晋娜^{1,2,3}, 徐敏⁴, 彭涛^{1,2,3}, 史文俊², 石义静^{2*}, 应光国^{1,2*}

(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; 4. 生态环境部华南环境科学研究所, 广州 510535)

摘要: 近年来, 类固醇激素在淡水水体中不断被检出, 但是其在海水中的污染特征研究相对较少. 本文对中国南海流沙湾进行样品采集, 通过高效液相色谱与质谱联用技术(UPLC-MS/MS), 研究了33种类固醇激素的污染特征及空间分布. 结果表明, 在海水和沉积物中均检出7种类固醇激素, 含量范围为0.003(甲羟孕酮, MP)~9.023(去氢孕酮, DGT) ng·L⁻¹和0.017(1,4-雄烯二酮, ADD)~9.281(雄烯二酮, AED) ng·g⁻¹. 在海水中, 类固醇激素浓度高低顺序为合成类高于天然类, 丰水期高于枯水期, 养殖区高于非养殖区. 在沉积物中, 类固醇激素在时空分布上无明显差异. 海洋环境中类固醇激素的主要来源为水产养殖人为饲料添加和废水排放. 生态风险评价结果表明, AED处于低风险, 其他类固醇激素处于无风险. 相关性分析表明, 海洋环境中类固醇激素的含量分布规律与盐度、水温、颗粒物(SS)和化学需氧量(COD)有关. 本研究有助于认识流沙湾地区类固醇激素的污染特征, 并为其生态风险评价和管控提供科学依据.

关键词: 类固醇激素; 雄激素; 糖皮质激素; 孕激素; 流沙湾; 污染特征; 生态风险评价

中图分类号: X131.2; X55 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2019)11-4879-10 DOI: 10.13227/j.hjlx.201905167

Contamination Characteristics and Ecological Risk Assessment of Androgens, Glucocorticoids, and Progesterone in the Liusha Bay, South China Sea

YANG Lei^{1,2,3}, ZHANG Jin-na^{1,2,3}, XU Min⁴, PENG Tao^{1,2,3}, SHI Wen-jun², SHI Yi-jing^{2*}, YING Guang-guo^{1,2*}

(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, Environmental Research Institute, South China Normal University, Guangzhou 510006, China; 3. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; 4. South China Institute of Environmental Sciences, Ministry of Ecology and Environment, Guangzhou 510535, China)

Abstract: Steroid hormones have been continuously detected and well studied in freshwater bodies in recent years, although information regarding their contamination characteristics in seawater is rare. In this paper, samples were collected in Liusha Bay, South China Sea, and the contamination characteristics, as well as the spatial distribution of 33 steroid hormones, were studied by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS). The results showed that 7 steroid hormones occurred with concentrations ranging from 0.003 (medroxyprogesterone, MP) to 9.023 ng·L⁻¹ (dehydroprogesterone, DGT), and from 0.017 (androsta-1,4-diene-3,17-dione, ADD) to 9.281 ng·g⁻¹ (4-androstene-3,17-dione, AED) in seawater and sediment samples, respectively. The concentrations of detected steroid hormones were higher during wet weather than during the dry weather, and higher in the aquaculture area compared to that in the non-aquaculture area. There were no significant differences in the spatial and temporal distribution of steroid hormones in sediment. Wastewater discharge and additives in aquaculture feeds were the main routes of steroid hormones entering the marine environment. The results of the ecological risk assessment indicated that the AED posed low risk to the marine environment, whereas other steroid hormones posed no risk. Correlation analysis indicated that the concentration distribution of steroid hormones was related to salinity, water temperature, particulate matter (SS), and chemical oxygen demand (COD) in the marine environment. The results of this study contribute to the understanding of the contamination characteristics of steroid hormones in the Liusha Bay area and provide a scientific basis for ecological risk assessment and control.

Key words: steroid hormones; androgen; glucocorticoid; progesterone; Liusha Bay; contamination characteristics; ecological risk assessment

类固醇激素是一类四环脂肪烃化合物, 具有生物活性基团, 包含环戊烷多氢菲母核, 即三个六元环和一个五元环^[1]. 类固醇激素广泛应用于人类和兽医疗法, 除用于避孕和人类治疗外, 也作为饲料添加剂治疗牲畜疾病和促进动物生长^[2~4]. 全球范围内, 每年进入到环境中的雌激素约为 31 t^[5], 而

中国养猪场和养牛场每年的类固醇激素总贡献量分

收稿日期: 2019-05-22; 修订日期: 2019-06-14

基金项目: 国家自然科学基金项目(41807480); 中央级公益性科研院所基本科研业务专项(PM-zx703-201701-032)

作者简介: 杨雷(1994~), 男, 硕士研究生, 主要研究方向为污染物化学与微生物降解, E-mail: yanglei_gig@163.com

* 通信作者, E-mail: yijing.shi@m.scnu.edu.cn; guangguo.ying@m.scnu.edu.cn

别高达14 066 t和61 t^[6]。由于现有污水处理系统不能完全去除类固醇激素,使得类固醇激素及其代谢产物在环境中蓄积,给生态环境造成了巨大的压力^[7,8]。已有研究表明,污水处理厂、畜牧场和水产养殖场是环境中类固醇激素的主要来源^[6,8,9]。类固醇激素在污水处理厂、养殖场及其受纳水体中的检出浓度为纳克每升到微克每升^[6,8,10-13]。环境中的类固醇激素是一类非常重要的内分泌干扰物(endocrine disrupting chemicals, EDCs),其在极低的浓度下(如1 ng·L⁻¹)就可以影响水生生物的生殖能力和性别比例^[14,15]。因此,环境中残留的类固醇激素可能对人体健康和生态环境产生潜在威胁,应引起人们的关注。

鉴于海洋环境对社会经济发展的价值及其对污染物的扩散运输作用,近年来人们对海洋生态环境的保护意识逐步提高。近几十年,中国水产养殖业快速发展,已成为全球最大水产养殖国。2018年,中国海洋养殖水产品产量为2 000.70万t,占世界海洋养殖总产量的60.23%^[16]。网箱和大型高桩围栏等是常见的海产养殖模式。人们在养殖过程中滥用水产养殖药物且缺乏污水处理设施,加上陆地排放的废水汇入,导致类固醇激素在水体和海产品中富集。目前,关于类固醇激素的研究主要集中在淡水环境中的污染特征,其在海洋环境中的研究则相对较少,主要原因是海洋环境样品的采集和检测十分困难。在国内,海洋环境中类固醇激素的污染特征主要是基于Liu等^[3,9,17,18]开展的研究。据报道,在中国畜牧场和海水养殖场中已检出国家质量监督检验检疫总局^[19]严禁使用的多种合成类固醇激素,例如甲基睾酮(MT)、17 α -群勃龙(17 α -TBL)和17 β -群勃龙(17 β -TBL)等^[3,6]。在欧洲,欧盟水框架指令要求对沿海地区进行大量监测,但是优先污染物清单中只包括了雌二醇和乙炔雌二醇两种雌激素,其他类固醇激素(如:雄激素、孕激素和糖皮质激素等)则少有人关注。

随着中国经济的快速发展,近海水域环境污染问题也日益严重。流沙湾,位于广东省雷州半岛西南部,呈葫芦形的半封闭海湾,面积约为69 km²,是中国海水珍珠“南珠”的主产区、广东省重要的贝类养殖区和旅游胜地,拥有近千亩的海草场。作为一个半封闭的海湾,流沙湾接受了大量城市生活污水、工业废水和入海河流所携带的大量污染物;同时,高密度的虾贝类和鱼类养殖,导致海湾环境恶化,有机物污染严重^[20]。本研究以流沙湾为研究对象,调查了海水和沉积物中33种类固醇激素的含量水平,探讨了类固醇激素的时空变化规律,采用

风险商法对水体类固醇激素进行了生态风险评价,探索了雄烯二酮(AED)和黄体酮(P)作为类固醇激素化学指示剂的可能性,以期为后续流沙湾的生态环境防护提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 化学物质和样品采集

33种高纯度的天然和合成类固醇激素标品,包括11种雄激素、17种孕激素、5种糖皮质激素和7种内标,详情见表1。

以枯水期和丰水期的流沙湾为研究对象,分别于2017年11月(枯水期)和2018年8月(丰水期)在流沙湾湾内(W1~W6, W9)、湾外(W7)和岸边养殖池塘(W8和W10)采样,其中,W10点处于岸边规模化养殖虾塘,覆盖虾塘防渗膜,无沉积物。10个采样点(图1)详细信息见于表2。水样在0~100 cm的深度重复多次采集,设置3个平行,每个样品体积为1 L,现场加入50 mL甲醇和400 μ L 4 mol·L⁻¹的硫酸,调节pH到3。采用不锈钢抓斗采泥器收集0~30 cm的表层沉积物,加入适量叠氮化钠,用于抑制微生物对目标物的降解。所有采集的样品立即放入保温箱,保持4℃低温,运回实验室,48 h内完成前处理。固体样品经冻干、研磨后过60目筛,放入4℃冷库中保存待处理。

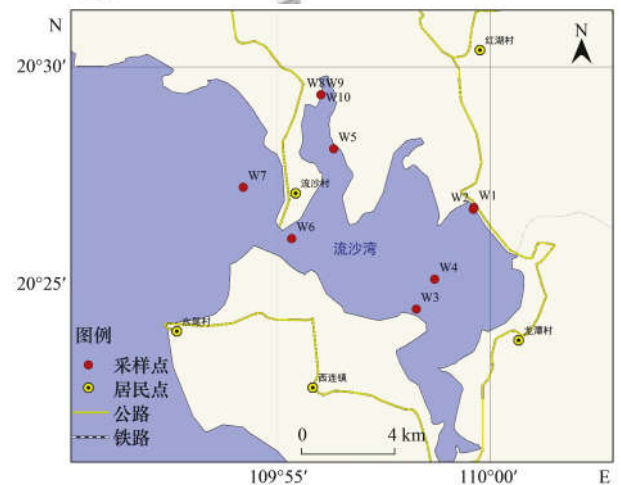


图1 流沙湾采样点分布示意图

Fig. 1 Study area and sampling sites in the Liusha Bay

1.2 样品提取与仪器分析

样品提取和仪器分析条件参考Liu等^[18,21]的研究。简而言之,每份水样(1 L)用玻璃纤维滤膜过滤(Whatman GF/F, 0.7 μ m UK),加入1 mg·L⁻¹内标100 μ L,然后用HLB柱(500 mg, 6 mL)进行固相萃取,采用10 mL甲醇(3、3和4 mL)和10 mL乙酸乙酯(3、3和4 mL)依次洗脱。提取液于室温下缓慢地氮气吹干后定容于1 mL的默克甲醇,经

表 1 类固醇激素及其内标物基本信息和 UPLC MS/MS 参数¹⁾

Table 1 Basic information and UPLC MS/MS parameters for steroid hormones and internal standards

类别	中文名	英文名	缩写	供应商	相对分子质量	CAS 编号	lg K _{oc}	保留时间 /min	母离子 (m/z)	两个子离子 (m/z)	碎裂电压 /eV	两个碰撞能 /eV
雄激素	1,4-雄烯二酮	Androsta-1,4-diene-3,17-dione	ADD	TCR	284.4	897-06-3	2.72	5.78	285.19	121/77.1	380	32/50
	雄烯二酮	4-Androstene-3,17-dione	AED	Dr. Ehrenstorfer	286.4	1963-5-8	2.84	7.79	287.2	109.2/97.1	380	24/28
	雄酮	Androsterone	ADR	Dr. Ehrenstorfer	290.4	53-41-8	2.75	14.54	291.41	273.2/255.2	380	20/16
	17 α -勃地酮	17 α -Boldenone	17 α -BOL	CERILLIANT	286.4	27833-18-7	NA	8.297	287.2	269.1/121	380	8/28
	17 β -勃地酮	17 β -Boldenone	17 β -BOL	Dr. Ehrenstorfer	286.4	846-48-0	2.4	7.41	287.41	135/121.1	380	20/32
	表雄酮	Epi-androsterone	EADR	ACROS	290.4	481-29-8	2.75	10.8	291.2	273.1/255.1	380	8/16
	甲基睾酮	Methyl testosterone	MT	Dr. Ehrenstorfer	302.4	58-18-4	2.57	11.78	303.2	109/97	380	32/32
	诺龙/19-去甲睾酮	19-Nortestosterone	19-NT	Dr. Ehrenstorfer	274.4	434-22-0	2.16	7.72	275.41	257.1/108.9	380	16/32
	睾酮	Testosterone	TTR	Dr. Ehrenstorfer	288.4	58-22-0	2.55	9.41	289.2	109/97.1	380	40/20
	睾酮-16,16,17-d3	Testosterone-16,16,17-d3 (I. S.)	TTR-d3	CERILLIANT	291.4	77546-39-5	NA	9.65	292.41	109.2/97.1	380	24/28
	17 α -群勃龙	17 α -Trenbolone	17 α -TBL	CERILLIANT	270.4	80657-17-6	2.77	7	271.17	253.2/199	380	24/32
	司坦唑	Stanozolol	S	Dr. Ehrenstorfer	328.5	10418-03-8	3.36	16.14	329.51	107.2/81.1	380	50/56
	司坦唑-d3	Stanozolol-d3 (I. S.)	S-d3	CERILLIANT	331.5	88247-87-4	NA	16.06	332.51	95/81	380	48/58
糖皮质激素	皮质醇	Cortisol	CRL	Dr. Ehrenstorfer	362.5	50-23-7	1.38	3.83	363.51	327.1/121.1	380	16/32
	皮质醇-d2	Cortisol-d2 (I. S.)	CRL-d2	CDN isotopes	364.4	79037-25-5	NA	3.71	365.51	329.1/122.2	380	16/24
	可的松	Cortisone	CRN	Sigma	360.5	1953-6-5	1.31	3.23	361.51	163.1/421	380	24/32
	地塞米松	Dexamethasone	DEX	Dr. Ehrenstorfer	392.5	1950-2-2	1.57	4.86	393.51	147.1/91	380	36/50
	泼尼松	Prednisone	PREN	Dr. Ehrenstorfer	358.4	1953-3-2	1.3	3.1	359.41	341.1/147	380	12/32
	泼尼松龙	Prednisolone	PREL	Dr. Ehrenstorfer	360.4	50-24-8	1.39	3.8	361.41	343.2/147	380	8/26
孕激素	氯地孕酮	Chlormadinone	CMD	TRC	362.2	1961-77-9	2.76	10.83	363.21	345.2/309	380	12/16
	醋酸氯地孕酮	Chlormadinone acetate	CMDA	Dr. Ehrenstorfer	404.2	302-22-7	3.44	13.13	405.21	309.1/43.3	380	16/50
	醋酸环丙孕酮	Cyproterone acetate	CPRA	Meryer	416.2	427-51-0	2.62	12.25	417.21	357.1/43.2	380	20/48
	屈螺酮	Drospirenone	DPN	TRC	366.2	67392-87-4	NA	8.6	367.21	97/91.1	380	20/50
	妊娠素	Ethinyl testosterone	ET	Dr. Ehrenstorfer	312.4	434-03-7	2.43	9.7	313.41	109.1/97	380	28/24
	羟孕酮	Hydroxy progesterone	HP	Dr. Ehrenstorfer	330.2	68-96-2	9.445	9.445	331.23	109/97	380	32/24
	醋酸羟基孕酮	17 α -Hydroxyprogesterone acetate	17 α -HPA	Dr. Ehrenstorfer	372.2	302-23-8	3.28	11.69	373.21	313.2/271.1	380	12/20
	己酸羟孕酮酯	Hydroxyprogesterone caproate	HPC	Meryer	428.3	630-56-8	4.36	18.54	429.31	313.1/271.2	380	12/24
	米非司酮	Mifepristone	MFST	Meryer	429.3	84371-65-3	NA	16.51	430.31	372.2/134.2	380	24/40
	米非司酮-d3	Mifepristone-d3 (I. S.)	MFST-d3	TRC	432.3	—	NA	16.3	433.31	375.2/137	380	20/32
	醋酸美伦孕酮	Melengestrol acetate	MGA	Dr. Ehrenstorfer	396.2	2919-66-6	3.69	14.83	397.31	337.2/279.31	380	12/16
	醋酸美伦孕酮-d3	Melengestrol acetate-d3 (I. S.)	MGA-d3	TRC	399.3	—	NA	14.56	400.3	337.2/279.1	380	12/24
	甲地孕酮	Megestrol	MGT	Meryer	342.2	3562-63-8	2.79	11.27	343.2	325.2/267.1	380	16/24
	甲羟孕酮	Medroxyprogesterone	MP	Dr. Ehrenstorfer	344.5	520-85-4	2.84	12.61	345.2	123/97	380	24/36
	醋酸甲羟孕酮	Medroxyprogesterone acetate	MPA	Dr. Ehrenstorfer	386.3	71-58-9	3.51	14.35	387.31	327.2/123.2	380	12/32
	炔诺酮	19-Norethindrone	19-NTD	TRC	298.4	68-22-4	2.35	7.75	299.41	109/91.1	380	32/48
	甲基炔诺酮	Norgestrel	NGT	Sigma	312.4	6533-00-2	2.63	10.83	313.41	109.1/91.2	380	24/52
	炔诺酮-d6	19-Norethindrone-d6 (I. S.)	19-NTD-d6	TRC	304.2	—	NA	7.85	305.21	237.2/113	380	20/32
	醋酸炔诺酮	Norethisterone acetate	NTRA	Dr. Ehrenstorfer	340.2	51-98-9	3.26	14	341.21	281.1/109.1	380	16/36
	黄体酮	Progesterone	P	Dr. Ehrenstorfer	314.4	57-83-0	3.46	14.91	315.41	109.1/97	380	32/32
黄体酮-d9	Progesterone-d9 (I. S.)	P-d9	TCR	323.5	15775-74-3	NA	14.95	324.51	113.1/99.9	380	32/28	

1) lg K_{oc} 表示(有机碳分配系数), 数据来源于美国环保署的 EPI Suite; “—”表示未查到; NA 表示无可数据

表 2 流沙湾采样点水质参数¹⁾

Table 2 Information of water quality parameters for the sampling sites in Liushawan Bay

点位	位置信息		溶解氧/mg·L ⁻¹		pH		化学需氧量/mg·L ⁻¹		悬浮物/mg·L ⁻¹		盐度/‰		水温/℃	
	经度(E)	纬度(N)	枯水期	丰水期	枯水期	丰水期	枯水期	丰水期	枯水期	丰水期	枯水期	丰水期	枯水期	丰水期
W1	109.993 8°	20.445 3°	6.56	7.51	8.26	8.43	2.5	2.62	34	8.2	24.3	24.6	25.1	33.6
W2	109.993 6°	20.444 6°	7.16	9.81	8.33	8.36	1.0	2.91	6	6.4	26.3	26.9	26.1	35.2
W3	109.971 2°	20.405 7°	5.16	9.89	8.13	8.21	1.1	0.30	10	7.3	25.6	29.0	26.3	32.3
W4	109.978 5°	20.417 4°	5.81	10.2	8.30	8.19	0.8	0.40	6	8.8	26.9	29.2	26.3	31.5
W5	109.939 0°	20.468 2°	6.56	7.00	8.45	8.42	1.5	0.54	12	6.0	25.2	23.7	26.0	32.3
W6	109.922 7°	20.433 3°	6.82	6.27	8.30	8.41	1.0	0.56	8	5.6	26.5	26.7	25.8	31.3
W7	109.903 7°	20.453 1°	7.00	7.11	8.26	8.45	0.8	0.58	6	4.7	27.6	30.1	25.8	30.8
W8	109.934 0°	20.489 3°	7.23	6.02	8.16	8.37	1.9	0.65	9	6.2	18.0	18.7	25.0	33.2
W9	109.934 0°	20.489 3°	6.32	5.06	8.95	7.91	3.8	1.22	13	7.3	20.7	17.4	25.6	31.5
W10	109.935 0°	20.444 3°	ND	8.07	ND	8.15	ND	2.64	ND	6.5	ND	16.1	ND	33.3

1) ND 表示数据缺失

过 0.22 μm 的有机相针式滤膜过滤, 保存于 2 mL 的棕色小瓶待测. 对于沉积物样品, 称取 2 g 于 30 mL 玻璃离心管中, 加入 1 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 内标 100 μL , 置于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冷库过夜, 分别采用 10、10 和 5 mL 乙酸乙酯: 甲醇 (8:2) 超声萃取沉积物 15 min, 以 3 500 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 将上清液转移至 300 mL 梨形瓶中, 45 $^{\circ}\text{C}$ 条件下旋转蒸发完全, 重新溶于 2 mL 默克甲醇, 加水稀释至 250 mL, 加入 30 μL 4 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ H_2SO_4 , 采用 HLB 柱 (200 mg, 6 mL) 进行固相萃取, 然后用乙酸乙酯: 甲醇 (9:1) 混合液 4 mL 洗脱 3 次, 提取液吹干后重新定容于 1 mL 的默克甲醇, 经过 0.22 μm 的有机相针式滤膜过滤, 保存于 2 mL 的棕色小瓶待测.

流动相: A 瓶为 5 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 乙酸铵和 0.05% 甲酸, B 瓶为默克甲醇, 流速为 0.35 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$; 进样体积为 10 μL ; 柱温 40 $^{\circ}\text{C}$. 梯度洗脱程序: 0 ~ 10 min, 40% ~ 33% A; 10 ~ 15 min, 33% ~ 25% A; 15 ~ 16 min, 20% ~ 10% A; 16 ~ 24 min, 10% A, 24 ~ 30 min, 10% ~ 40% A. 电离源为电喷雾离子源正离子模 (ESI+), 干燥气 (氮气) 流速为 6 $\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$, 温度为 280 $^{\circ}\text{C}$; 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 2 500 V. 各目标物和内标的 UPLC-MS/MS (Agilent 1290 Infinity II 高效液相色谱仪-Agilent 6495 三重四极杆质谱仪) 检测参数如表 1 所示.

1.3 定量方法及回收率

所有的化学分析都实行严格的质量保证和质量控制体系. 加标回收率实验, 采用内标法, 将 33 种类固醇和 7 种内标加入背景海水和沉积物样品, 即在 1 L 过滤海水和 2 g 干净的冻干沉淀物用相同的方法加入目标化合物和同位素标记物, 同时通过检测空白样品, 计算加标回收率、基质效应、检出限和定量限, 以衡量方法的可靠性.

在海水 ($\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$) 和沉积物 ($\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$) 中分别进行 3 个不同含量 (10、50 和 100) 的加标实验, 回收率计算公式如下:

$$\text{回收率} = \left[\frac{\text{加标样品实测浓度} - \text{空白样品实测浓度}}{\text{加标浓度}} \right] \times 100\%$$

基质效应公式为:

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

对海水和沉积物进行低浓度加标提取, 计算信噪比, 用该浓度除以信噪比, 其结果的 3 倍为该方法的检出限 (method detection limit, MDL), 10 倍为

定量限 (method quantification limit, MQL).

1.4 生态风险评价方法

根据欧盟的环境生态风险评价方法, 本文选择风险商 (risk quotient, RQ) 法评估水生环境的生态风险水平^[22].

$$\text{RQ} = \frac{\text{MEC}}{\text{PNEC}} \quad \text{或} \quad \text{RQ} = \frac{\text{PEC}}{\text{PNEC}}$$

式中, MEC (measured environmental concentration) 为污染物实际测试浓度; PEC (predicted environmental concentration) 为污染物环境预测浓度; PNEC (predicted no effect concentration) 为预测无效应浓度. PNEC 等于毒性数据 [LC₅₀/NOEC (median lethal concentration/no observed effect concentration) 或 LE₅₀/NOEC (life expectancy at age 50/no observed effect concentration)] 与评估因子 (assessment factor, AF) 的比值. 当采用急性毒性 L(E)C₅₀ 数据时, AF 取值 1 000; 当采用慢性毒性 NOEC 数据时, AF 取 100. RQ 用于表征生态环境风险程度, RQ 值越高, 表明污染物对水环境中的生物风险越高. 其中, 0.01 ~ 0.1, 低风险; 0.1 ~ 1, 中等风险; > 1, 高风险^[18].

1.5 数据分析

采用 R x64 3.5.2 进行相关性分析, ArcGIS 10.5 和 OriginLab 2018 进行图形绘制.

2 结果与讨论

2.1 方法验证

背景海水 ($\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$) 和沉积物 ($\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$) 中的加标含量分别为 10、50 和 100, 使用 UPLC-MS/MS 分析样品中的 33 种类固醇激素的回收率、基质效应、检出限和定量限如表 3 所示. 海水检出限和定量限分别为 0.009 ~ 1.354 $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 0.029 ~ 4.152 $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$, 沉积物检出限和定量限分别为 0.087 ~ 3.107 $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 0.290 ~ 10.358 $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$. 大部分类固醇激素的回收率均在可接受范围内. 总体来说, 该方法可基本满足海水和沉积物中 33 种类固醇激素的提取和检测.

2.2 海水和沉积物中类固醇激素的含量分布

流沙湾海水和沉积物中 33 种类固醇激素的污染分布特征如图 2 所示. 海水中共检出 7 种类固醇激素: CRL、ADD、AED、MP、DGT、MPA 和 P, 除 DGT 外 (浓度最高达 9.023 $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$), 整体检出浓度均低于 1.214 $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$, 这与吴世闽等^[23] 在辽东湾检出的雌激素和 Liu 等^[18] 在海陵湾检出的雄激素、孕激素和糖皮质激素浓度处于同一数量级. 其中, AED 的检出率达 100%, 浓度范围为 0.231 ~ 1.214

表 3 UPLC-MS/MS 分析海水和沉积物中类固醇激素的回收率、基质效应、检出限和定量限¹⁾

Table 3 Recovery, matrix effects, method of detection, and quantification limits for steroid hormones in seawater and sediment by UPLC-MS/MS

物质缩写	基质	加标回收率/%			基质效应 /%	检出限 /ng·L ⁻¹	定量限 /ng·L ⁻¹
		10 ng·L ⁻¹	50 ng·L ⁻¹	100 ng·L ⁻¹			
ADD	海水	87.3 ± 19.8	97.76 ± 3.6	103.88 ± 1.8	-1.12	0.015	0.048
	沉积物	106 ± 5.6	106.26 ± 4.3	109.64 ± 4.6	4.37	0.135	0.452
AED	海水	96.1 ± 17.6	95.66 ± 2.7	104.1 ± 0.7	5.41	0.188	0.626
	沉积物	124.5 ± 1.9	110.64 ± 6.4	110.42 ± 3.3	6.69	0.341	1.136
ADR	海水	85.7 ± 27.4	88.02 ± 10	92.3 ± 9.4	-4.1	0.700	2.333
	沉积物	85.8 ± 16	87.08 ± 3.2	94.95 ± 4.6	-2.58	1.100	3.667
17α-BOL	海水	24.5 ± 17.7	52.28 ± 2.6	56.91 ± 1.3	-47.06	0.136	0.452
	沉积物	104.8 ± 7.8	102.14 ± 2.5	108.16 ± 5.7	0.62	0.177	0.589
17β-BOL	海水	96.8 ± 21	95.02 ± 2.2	98.97 ± 2.6	-2.19	0.080	0.266
	沉积物	102.7 ± 8.6	104.96 ± 4.9	108.5 ± 4.4	5.98	0.290	0.966
EADR	海水	104.4 ± 46	97.26 ± 5.9	94.76 ± 2.7	-4.53	0.011	0.037
	沉积物	302.4 ± 11.5	135.68 ± 20.4	132 ± 5	30.72	0.231	0.770
MT	海水	81.7 ± 17.3	91.02 ± 3.7	97.18 ± 3.1	-7.08	0.057	0.190
	沉积物	98.4 ± 5.6	99.9 ± 2	102.4 ± 2.5	-2.08	0.120	0.400
19-NT	海水	87.4 ± 24.4	96.82 ± 3.6	103.21 ± 1.4	-6.99	0.306	1.019
	沉积物	116.4 ± 7.2	107.52 ± 3.9	110.6 ± 6.8	-0.33	0.320	1.065
TTR	海水	91.3 ± 15.9	84.36 ± 1.9	91.25 ± 1	-9.21	0.050	0.166
	沉积物	109.7 ± 6.5	104.92 ± 3.4	108 ± 4.9	1.9	0.180	0.601
17α-TBL	海水	75.3 ± 15.2	88.98 ± 1.7	93.44 ± 2.3	-10.34	0.085	0.282
	沉积物	85.8 ± 10.6	89.92 ± 3.2	99.33 ± 5.1	-4.7	0.145	0.482
S	海水	98.3 ± 12.8	98.4 ± 3.8	102.88 ± 1.1	-4.9	0.083	0.275
	沉积物	103.9 ± 2.8	95.7 ± 3.8	98.73 ± 4	-12.7	0.508	1.695
CRL	海水	103.1 ± 12.4	130.72 ± 11.7	150.54 ± 9.1	45.11	0.946	3.153
	沉积物	206.4 ± 88.6	110.82 ± 38.2	234.76 ± 16.3	126.29	1.781	5.937
CRN	海水	105.2 ± 3.6	110.84 ± 5.5	120.46 ± 4.1	18.34	0.049	0.162
	沉积物	250.7 ± 66.5	106.52 ± 6.6	108.03 ± 5.3	6.13	3.107	10.358
DEX	海水	90.6 ± 10.3	104.76 ± 5.3	112.4 ± 0.9	12.35	0.739	2.462
	沉积物	396 ± 49.8	253.98 ± 36.8	262.64 ± 19.5	162.53	2.053	6.843
PREN	海水	116 ± 9.4	120 ± 7.9	123.15 ± 3.3	21.23	1.354	4.512
	沉积物	517 ± 46.3	135.4 ± 1.1	99.9 ± 8.2	-1.66	2.413	8.043
PREL	海水	86.2 ± 9.1	105.82 ± 8.5	112.81 ± 4.7	10.13	0.657	2.189
	沉积物	276.2 ± 47.5	113.04 ± 24.2	98.59 ± 3.9	-3.76	2.642	8.807
CMD	海水	92.7 ± 18.8	97.42 ± 3.8	101.62 ± 0.9	2.12	1.038	3.461
	沉积物	106.4 ± 2.4	99.42 ± 2.3	107.49 ± 7	8.02	0.447	1.491
CMDA	海水	89.4 ± 21.1	105.68 ± 4.7	107.26 ± 2.7	2.7	0.097	0.323
	沉积物	89.1 ± 3.2	97.52 ± 6.1	104.48 ± 4.2	0.04	0.094	0.312
CPRA	海水	88.8 ± 20.9	105.42 ± 4.9	107.53 ± 2.4	3.75	0.237	0.789
	沉积物	95 ± 5.9	96.28 ± 1	105.85 ± 4.9	2.13	0.388	1.293
DPN	海水	97.8 ± 17.5	95.68 ± 5	99.42 ± 5.1	0.38	0.064	0.214
	沉积物	96.7 ± 2.5	94.86 ± 1.7	97.54 ± 2.9	-4.78	0.206	0.688
ET	海水	91.3 ± 16.4	92.22 ± 3.3	95.76 ± 5	-2.93	0.065	0.216
	沉积物	101.5 ± 3.6	103.68 ± 9.9	106.64 ± 7.6	5.13	0.278	0.928
HP	海水	76.6 ± 19.6	91.52 ± 3.9	97.28 ± 1.9	-3.79	0.110	0.366
	沉积物	93.3 ± 5.6	97.02 ± 1.4	104.23 ± 4.5	3.08	0.251	0.837
17α-HPA	海水	93.3 ± 17.4	93 ± 4.9	98.8 ± 3.8	0.65	0.074	0.247
	沉积物	98.6 ± 4.9	87.9 ± 3.4	92.09 ± 5.9	-6.19	0.180	0.599
HPC	海水	86.9 ± 15.7	103.6 ± 4.9	100.91 ± 3.2	18.34	0.009	0.029
	沉积物	80.9 ± 16.7	73.16 ± 3.4	89.76 ± 5.3	-9.68	0.087	0.290

续表 3

物质缩写	基质	加标回收率/%			基质效应 /%	检出限 /ng·L ⁻¹	定量限 /ng·L ⁻¹
		10 ng·L ⁻¹	50 ng·L ⁻¹	100 ng·L ⁻¹			
MFST	海水	101.7 ± 26.5	99.7 ± 3.7	110.72 ± 2.1	6.9	0.052	0.174
	沉积物	90.3 ± 9.4	101.78 ± 4.1	105.09 ± 4.7	-2.36	0.136	0.453
MGA	海水	97.7 ± 1.9	91.72 ± 2.9	98.17 ± 2.3	-2.4	0.048	0.160
	沉积物	117.4 ± 1.8	108.76 ± 3.8	114.32 ± 3.2	13.13	0.163	0.543
MGT	海水	89.7 ± 16	96.04 ± 5	99.22 ± 5.2	1.36	0.531	1.769
	沉积物	106.5 ± 7.6	102.22 ± 4.1	109.79 ± 8.2	12.16	0.677	2.256
MP	海水	84.2 ± 21.2	95.36 ± 4.6	98.66 ± 4.7	-2.91	0.018	0.061
	沉积物	103.3 ± 3.2	102.62 ± 2	107.01 ± 6	5.3	0.136	0.453
MPA	海水	91.1 ± 21.7	97 ± 6.2	104.13 ± 4.4	3	0.044	0.146
	沉积物	107.4 ± 4.9	103.24 ± 1.3	107.36 ± 1.7	6.19	0.094	0.313
19-NTD	海水	95.2 ± 17	100.76 ± 3.7	100.09 ± 2.6	-0.85	0.075	0.249
	沉积物	107.6 ± 8	103.06 ± 5.7	105.85 ± 4.7	4.86	0.306	1.019
NGT	海水	89.7 ± 9.9	96.5 ± 6.1	103 ± 2.7	-48.27	0.059	0.196
	沉积物	104.1 ± 1.5	100.32 ± 4.8	104.24 ± 5.7	3.36	0.215	0.715
NTRA	海水	87.9 ± 20.8	97.98 ± 5.6	99.7 ± 3.6	-1.41	0.111	0.369
	沉积物	102 ± 6.3	101.36 ± 3.9	106.82 ± 4.7	5.63	0.279	0.929
P	海水	98.7 ± 22.5	93.52 ± 6.8	98.22 ± 4.3	-1.88	0.033	0.109
	沉积物	212.8 ± 2.6	117.06 ± 3.1	111.57 ± 2	11.45	0.212	0.707

1) 海水检出限和定量限, ng·L⁻¹; 沉积物检出限和定量限, ng·g⁻¹

ng·L⁻¹. MP 和 MPA 仅在枯水期检出, 浓度范围为 ND ~ 1.162 ng·L⁻¹. ADD 和 DGT 仅在丰水期检出, 浓度范围为 ND ~ 9.023 ng·L⁻¹, 而 CRL 和 P 仅在个别采样点有检出, 最高浓度达 2.306 ng·L⁻¹. 对比海水样品中 7 种类固醇激素的平均浓度, 合成类固醇激素 DGT 和 MPA 远高于 4 种天然类固醇激素 (CRL、ADD、AED 和 P) 和合成类固醇激素 (MP), 说明流沙湾地区可能存在滥用类固醇激素药物的现象.

在沉积物中共检出 7 种类固醇激素: CRL、ADD、AED、19-NTD、MGT、MPA 和 P, 除枯水期 W3 采样点外 (含量最高达 4.641 ng·g⁻¹), 整体含量均较低. 其中, AED 和 P 的检出率分别达 100% 和 94%, 含量范围分别为 0.025 ~ 4.641 ng·g⁻¹ 和 ND ~ 4.011 ng·g⁻¹. 其他类固醇激素的检出率均低于 22%, 含量范围为 0.009 ~ 1.695 ng·g⁻¹. 19-NTD 仅在丰水期 W9 采样点检出, 含量为 0.947 ng·g⁻¹, 19-NTD 主要与炔雌醇合用, 作为短效口服避孕药经常被人们使用, 该点检出的原因可能是附近村庄生活污水未经处理直接排放导致. 尽管沉积物中类固醇激素的含量较低, 由于类固醇激素, 尤其是合成类固醇激素具有难降解性^[26], 可能使沉积物成为类固醇激素的潜在源汇. 有研究发现, 鱼类和沉积物直接接触导致类固醇激素成为生物活性物质, 对生物产生危害, 应进一步研究沉积物中类固醇激素对水生生物的毒理效应机制^[17].

比较海水中 7 种类固醇激素的时间分布可知 (图 2), 整体上丰水期高于枯水期, 主要是因为

DGT 的贡献率较高, 平均检出浓度为 2.985 ng·L⁻¹, DGT 常用于治疗痛经和子宫内膜异位症, 因具有不影响排卵和人体体温等优点被广泛使用^[24]. 导致上述结果的原因可能是丰水期的大量降雨形成地表径流携带生活污水汇入湾内. 在未检出 DGT 的 W4, W7 和 W9 采样点中, 总类固醇激素浓度差异较小, 低于 1 ng·L⁻¹. 在沉积物中, 枯、丰水期整体检出含量差异较小, 整体低于 2.380 ng·g⁻¹. 枯水期的 W3 采样点除外 (该点含量达到 10.020 ng·g⁻¹), 这可能是因为 W3 采样点处于湾内靠岸区, 有地表径流携带富含类固醇激素的泥沙流入湾内, 导致该点总体类固醇激素含量升高.

2.3 类固醇激素的空间分布

类固醇激素在 10 个采样点的空间分布如图 2 所示. 在枯水期所有水样中, 类固醇激素总浓度趋势为养殖区 (W5、W8 和 W10) > 湾内 (W1-W4、W9)、湾口 (W6) 和湾外 (W10), 主要原因是在养殖区检出了合成类固醇激素 MPA, 浓度范围为 1.140 ~ 1.161 ng·L⁻¹, 表明人类活动造成了养殖区类固醇激素污染. 在丰水期的所有水样中, 养殖区 (W5、W8 和 W10) 和湾口 (W6) 高于绝大部分非养殖区, 主要是因为养殖区和湾口检出了合成类固醇激素 DGT (1.511 ~ 9.023 ng·L⁻¹). 有研究表明, 环境中的 DGT 在浓度低至 3.39 ng·L⁻¹ 条件下就可造成斑马鱼雄性化且加快精子成熟, 对鱼群构成潜在的高生态风险, 应引起人们的高度关注^[25]. 类固醇激素浓度分布在空间上的差异, 可能是因为丰水期 (8 月) 是虾蟹扇贝幼苗投放的主要时期, 饲料中常

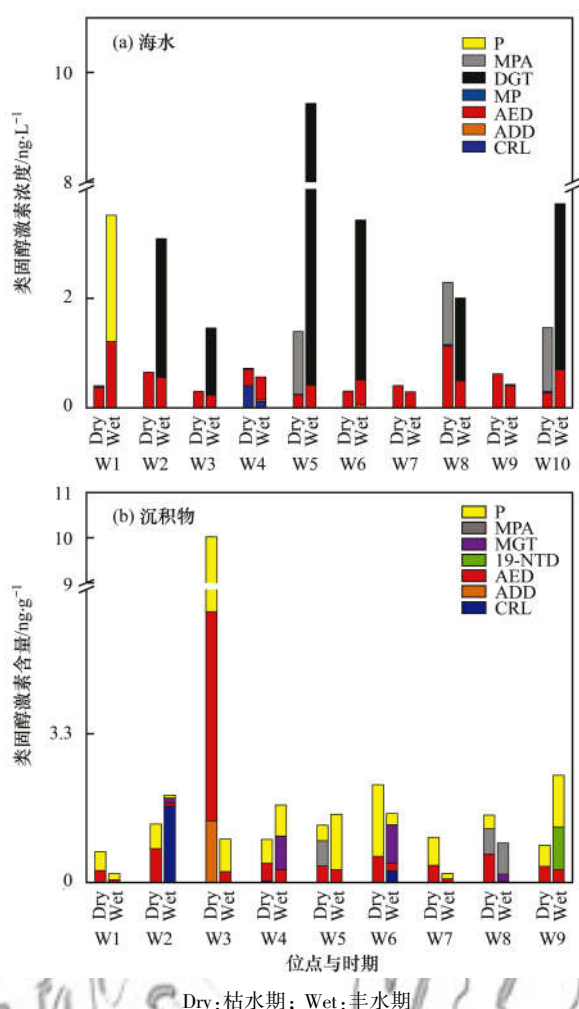


图2 流沙湾海水和沉积物中33种类固醇激素的时空分布

Fig. 2 Temporal and spatial distribution of 33 steroid hormones in seawater and sediments of Liusha Bay

添加多种类固醇激素,甚至检出了我国明确禁止使用的激素 17β -TBL^[9],这表明在海水养殖中类固醇激素被非法使用,水产养殖是类固醇激素污染的重要来源之一.在沉积物中,除枯水期 W3 点外,枯、丰水期的其他采样点总类固醇激素含量无明显差异,这可能是 7 种类固醇激素的理化性质导致的 ($\lg K_{oc}$: 1.38 ~ 3.51),更倾向于在水中富集^[18].

2.4 类固醇激素与常规指标的相关性分析

类固醇激素进入环境后,会发生吸附、水解、光解和生物降解等环境行为^[26],同时其分布还受 pH、溶解氧和盐度等理化指标的影响.由图 3 可知,在枯水期水样中,盐度和水温与 AED、MP 和 MPA 呈负相关,这可能是因为盐度影响类固醇激素的溶解度,导致其吸附在颗粒物上^[27];温度也是显著影响类固醇激素吸附的重要原因^[28].悬浮物 (particulate matter, SS)与 MP 呈显著正相关,这可能与物质的理化性质有关^[8].在丰水期的水样中,AED 与化学需氧量 (chemical oxygen demand, COD) 和 P 呈显著正相关,这与 Liu 等^[18]研究结果一致,

其发现南海海陵湾类固醇激素浓度与 COD 和 NH_4^+ -N 的浓度具有显著相关性.总体上,类固醇激素与溶解氧 (dissolved oxygen, DO)、pH 和 COD 等都有一定的相关性,说明类固醇激素在水环境中的浓度水平受到了环境因素的影响.

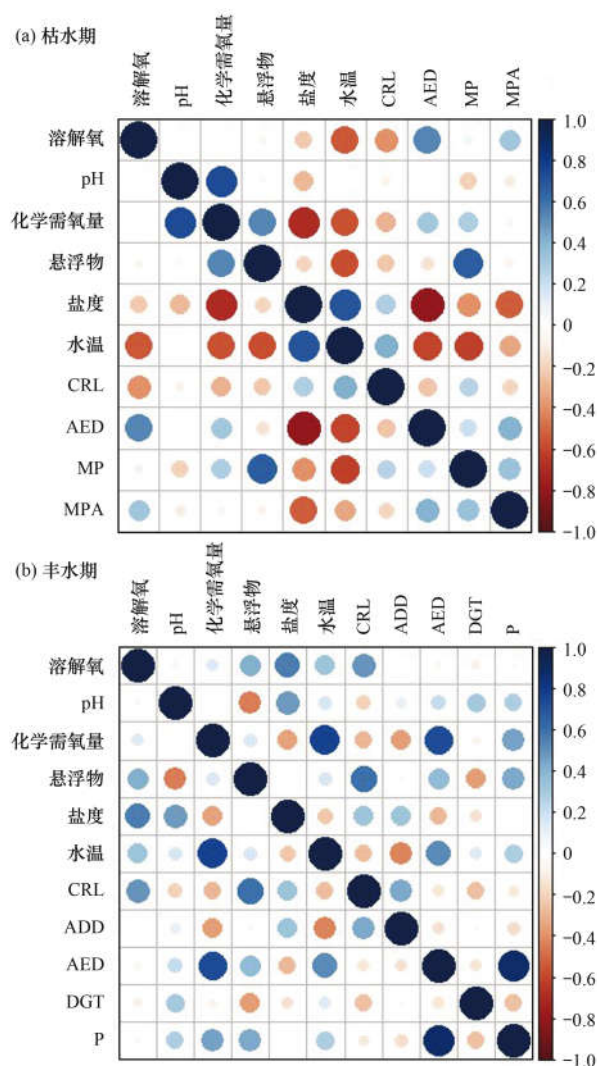


图3 类固醇激素浓度与常规指标的相关性分析

Fig. 3 Correlation between steroid hormone concentrations and traditional water quality index

2.5 流沙湾类固醇激素潜在的生态风险评价

环境中的类固醇激素可能对生物构成潜在的风险,以往的研究更多集中在水生环境中雌激素的风险评估^[23,29].根据欧盟委员会技术指导文件,采用 RQ 方法来初步进行风险评估,使用半数效应浓度 (EC_{50})或化学品的 NOEC 值来计算出 PNEC 值^[22].目前,关于雌激素的水生毒性数据已经很多,例如, 17β -雌二醇的 PNEC 为 $1.5 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$.然而,对于其他类固醇,特别是雄激素、孕激素和糖皮质激素,水生毒性数据仍然有限或者是空白的.通过查阅相关文献,使用评估因子方法计算出 6 种类固醇激素的 PNEC 值见表 4^[18,30].

表 4 目标类固醇激素的 PNEC 值^[18,30]/ng·L⁻¹
Table 4 PNEC values of target steroid hormones/ng·L⁻¹

类固醇激素	CRL	ADD	AED	MP	19-NTD	P
PNEC 值	2 000	100	14	50 000	5.4	545

由图 4 可知, 枯、丰水期水样中 AED 的 RQ 值为 0.016 52 ~ 0.086 69, 显示低风险. 水样中其他物质的 RQ 值均低于 0.01, 显示无风险. 总之, 相比于污水处理厂、养殖场及其受纳河流中数百至数千 ng·L⁻¹ 的检出浓度^[6~8], 流沙湾地区受类固醇激素的污染相对较轻. 值得注意的是, 由于类固醇激素, 特别是合成类固醇激素毒性数据的缺乏, 影响 PNEC 值的准确性, 导致上述风险评估存在一定局限性. 同时, 目前的风险评估仅针对自由态类固醇激素, 未考虑共轭态类固醇激素, 这可能会低估环境中类固醇激素对环境构成的生态风险. 后续应进一步加强共轭态类固醇激素的风险评估研究.

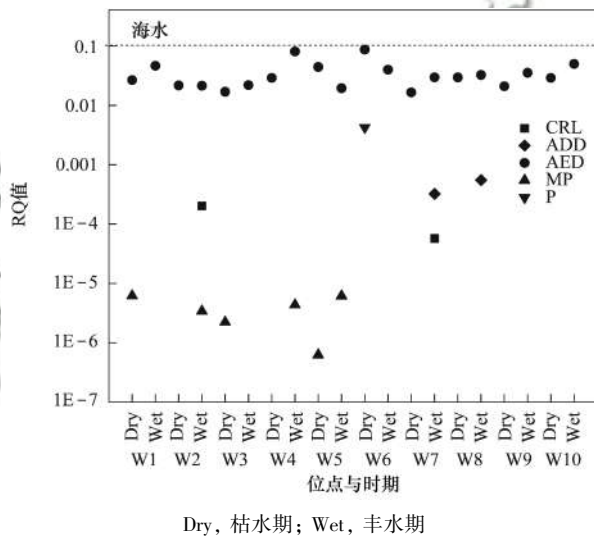


图 4 流沙湾水体类固醇激素 RQ 值

Fig. 4 RQ values for steroid hormones in Liusha Bay

2.6 化学指示剂的选定

污水指示剂可以指示水体是否受到污水影响以及水体受污水影响的程度, 近年来受到了人们的广泛关注^[7,18]. 理想的化学指示剂应在受纳水体中广泛检出, 检出率大于 80%, 且是亲水性物质^[31]. 在本研究中, 仅 AED 和 P 的检出率超过 80%, 数据集的回归分析表明(图 5), 沉积物中 AED 和 P 的浓度与沉积物中类固醇激素总浓度之间均有良好的正线性相关性($P < 0.05$). 在水样中, 因 P 的检出率低于 80%, 仅 W1 采样点水样中检出, 因此本研究只做水中 AED 和水中类固醇激素总浓度之间的相关性分析, 结果表明二者之间的相关性较差($P > 0.05$), AED 不能作为流沙湾地区类固醇激素的化学指示剂. 之前的研究表明^[7,18], P 可以作

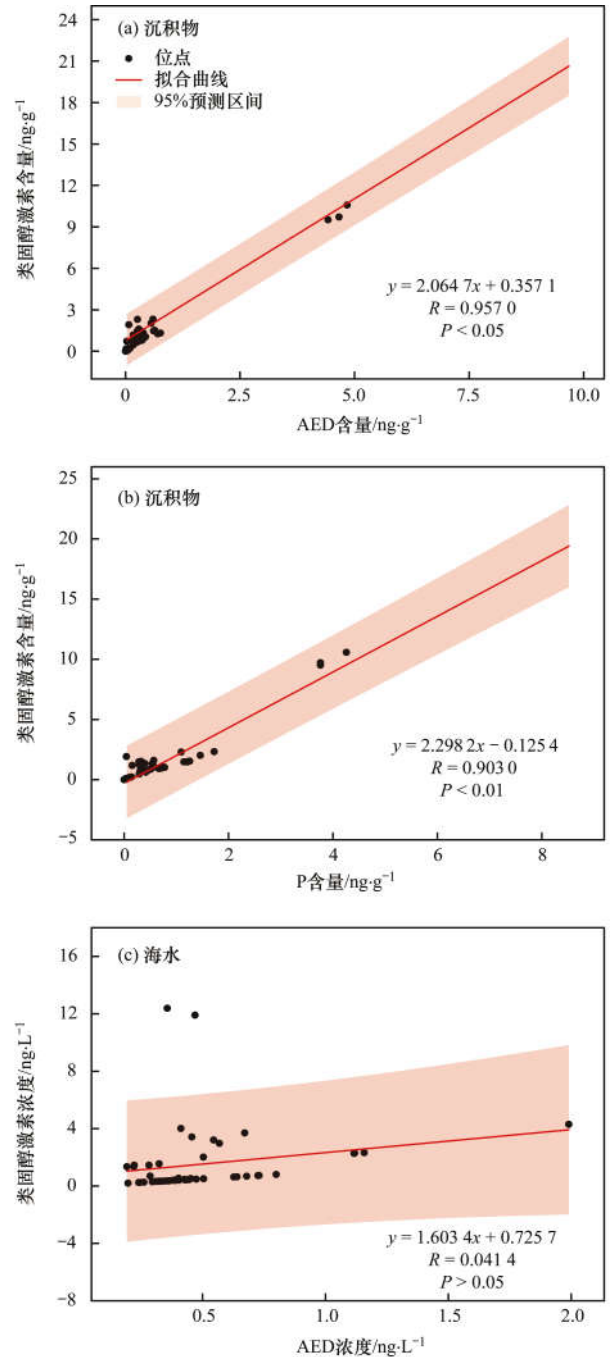


图 5 化学指示剂与水和沉积物中每个位点的类固醇激素总含量之间的相关性

Fig. 5 Correlation analysis between the chemical indicator concentrations and the total concentrations of steroid hormones at each site in both water and sediment

为海水和淡水中类固醇激素的优良指示剂. 与上述结果存在差异的原因可能是采样点数量有限, 且包括了岸边养殖塘采样点, 导致水样中检出合成类固醇激素(如 MP 和 MPA), 进而影响了 AED 与其他

类固醇激素和类固醇激素总浓度之间的相关性。

尽管数据有限, AED 和 P 均不能作为流沙湾地区类固醇激素的优良化学指示剂, 但是本研究依旧为流沙湾地区类固醇激素的污染特征及其归趋提供了有价值的信息, 为预防及治理流沙湾地区类固醇激素污染提供了科学依据。应进一步加强研究, 提供更全面的数据, 重新评估 AED 和 P 是否可作为环境水体中类固醇激素可靠的化学指示剂。

3 结论

(1) 本研究优化了 UPLC-MS/MS 同时测定 33 种类固醇激素的方法, 方法整体检出限和定量限较低, 加标回收率良好, 满足水样和沉积物中类固醇激素的痕量分析。

(2) 33 种类固醇激素中共有 9 种检出, 检出频率由高到低为 AED > P > 其他, 整体上表现出合成类固醇激素高于天然类固醇激素, 丰水期高于枯水期, 主要是由水产养殖人为饲料添加和废水排放造成。

(3) 相关性分析表明, 类固醇激素在海洋环境中的浓度分布规律与盐度、水温、SS 和 COD 有关, 其含量水平受到环境因素的制约和影响。

(4) 类固醇激素的生态环境风险整体处于低风险或无风险, 但多种类固醇激素的存在可能会对水生生物和人体健康构成风险, 应给予关注。

(5) 综上所述, 流沙湾水体和沉积物中类固醇激素的污染程度相对较轻, 但随着当地经济和人口的快速发展, 水产养殖规模不断扩大, 类固醇激素不断由陆地地表径流和人为饲料添加等方式输入水体, 对环境构成潜在风险。因此, 有必要加强类固醇激素的毒理研究, 尤其是关于共轭态类固醇激素的研究, 得出更精确的 PNEC 值, 更加合理评估类固醇激素的环境风险。同时, 需要更多的数据来重新评估 AED 和 P 作为流沙湾地区类固醇激素化学指示剂的可靠性。

致谢: 感谢华南环境研究所陈清华和孙凯峰提供流沙湾海水水质参数。钟超、刘伟杰、蔡稳稳和熊倩等在采样和实验方面提供帮助, 在此一并致谢!

参考文献:

- [1] Streck G. Chemical and biological analysis of estrogenic, progestagenic and androgenic steroids in the environment [J]. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2009, **28**(6): 635-652.
- [2] Liu S, Ying G G, Zhou L J, *et al.* Steroids in a typical swine farm and their release into the environment [J]. *Water Research*, 2012, **46**(12): 3754-3768.
- [3] Liu S, Chen H, Xu X R, *et al.* Steroids in marine aquaculture farms surrounding Hailing Island, South China: occurrence, bioconcentration, and human dietary exposure [J]. *Science of the Total Environment*, 2015, **502**: 400-407.
- [4] Lange I G, Daxenberger A, Schiffer B, *et al.* Sex hormones originating from different livestock production systems: fate and potential disrupting activity in the environment [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2002, **473**(1-2): 27-37.
- [5] Adeel M, Song X M, Wang Y Y, *et al.* Environmental impact of estrogens on human, animal and plant life: a critical review [J]. *Environment International*, 2017, **99**: 107-119.
- [6] Liu S, Ying G G, Zhang R Q, *et al.* Fate and occurrence of steroids in swine and dairy cattle farms with different farming scales and wastes disposal systems [J]. *Environmental Pollution*, 2012, **170**: 190-201.
- [7] Chang H, Wan Y, Hu J Y. Determination and source apportionment of five classes of steroid hormones in urban rivers [J]. *Environmental Science & Technology*, 2009, **43**(20): 7691-7698.
- [8] Liu S, Ying G G, Zhao J L, *et al.* Occurrence and fate of androgens, estrogens, glucocorticoids and progestagens in two different types of municipal wastewater treatment plants [J]. *Journal of Environmental Monitoring*, 2012, **14**(2): 482-491.
- [9] Liu S, Chen H, Xu X R, *et al.* Three classes of steroids in typical freshwater aquaculture farms: comparison to marine aquaculture farms [J]. *Science of the Total Environment*, 2017, **609**: 942-950.
- [10] Sim W J, Lee J W, Shin S K, *et al.* Assessment of fates of estrogens in wastewater and sludge from various types of wastewater treatment plants [J]. *Chemosphere*, 2011, **82**(10): 1448-1453.
- [11] Fan Z L, Wu S M, Chang H, *et al.* Behaviors of glucocorticoids, androgens and progestagens in a municipal sewage treatment plant: comparison to estrogens [J]. *Environmental Science & Technology*, 2011, **45**(7): 2725-2733.
- [12] Zheng W, Yates S R, Bradford S A. Analysis of steroid hormones in a typical dairy waste disposal system [J]. *Environmental Science & Technology*, 2008, **42**(2): 530-535.
- [13] Liu S S, Ying G G, Liu Y S, *et al.* Occurrence and removal of progestagens in two representative swine farms: effectiveness of lagoon and digester treatment [J]. *Water Research*, 2015, **77**: 146-154.
- [14] Fick J, Lindberg R H, Parkkonen J, *et al.* Therapeutic levels of levonorgestrel detected in blood plasma of fish: results from screening rainbow trout exposed to treated sewage effluents [J]. *Environmental Science & Technology*, 2010, **44**(7): 2661-2666.
- [15] 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.
- [16] 国家海洋局. 2018 中国渔业统计年鉴 [EB/OL]. <http://www.fishfirst.cn/article-106894-1.html>.
- [17] Liu S, Xu X R, Qi Z H, *et al.* Steroid bioaccumulation profiles in typical freshwater aquaculture environments of South China and their human health risks via fish consumption [J]. *Environmental Pollution*, 2017, **228**: 72-81.
- [18] Liu S, Chen H, Zhou G J, *et al.* Occurrence, source analysis and risk assessment of androgens, glucocorticoids and progestagens in the Hailing Bay region, South China Sea [J]. *Science of the Total Environment*, 2015, **536**: 99-107.
- [19] 国家质量监督检验检疫总局. 动物性食品中兽药最高残留限量 (农业部 2002 年 235 号公告) [EB/OL]. <http://jckspaqj>.

- aqsiq. gov. cn/dwxyxspjyj/gnxbgz/200610/t20061027_9809.htm.
- [20] 郭永坚, 罗昭林, 李俊伟, 等. 2012—2013 年流沙湾海水养殖区水环境质量评价[J]. 广东农业科学, 2015, **42**(19): 130-136.
- Guo Y J, Luo Z L, Li J W, *et al.* Assessment of water environmental quality of mariculture areas in Liusha Bay in 2012-2013 [J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2015, **42**(19): 130-136.
- [21] Liu S, Ying G G, Zhao J L, *et al.* Trace analysis of 28 steroids in surface water, wastewater and sludge samples by rapid resolution liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. *Journal of Chromatography A*, 2011, **1218**(10): 1367-1378.
- [22] 赵建亮, 应光国, 魏东斌, 等. 水体和沉积物中毒害污染物的生态风险评价方法体系研究进展[J]. 生态毒理学报, 2011, **6**(6): 577-588.
- Zhao J L, Ying G G, Wei D B, *et al.* Ecological risk assessment methodology of toxic pollutants in surfacewater and sediments: A review [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2011, **6**(6): 577-588.
- [23] 吴世闽, 贾瑗, 彭辉, 等. 辽东湾海水中甾体雌激素的检测及生态风险评价[J]. 中国环境科学, 2011, **31**(11): 1904-1909.
- Wu S M, Jia Y, Peng H, *et al.* Determination and risk assessment of steroidal estrogens in Liaodong Bay, China [J]. *China Environmental Science*, 2011, **31**(11): 1904-1909.
- [24] Taniguchi F, Ota I, Iba Y, *et al.* The efficacy and safety of dydrogesterone for treatment of dysmenorrhea: an open-label multicenter clinical study [J]. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*, 2019, **45**(1): 168-175.
- [25] Shi W J, Jiang Y X, Huang G Y, *et al.* Dydrogesterone causes male bias and accelerates sperm maturation in zebrafish (*Danio rerio*) [J]. *Environmental Science & Technology*, 2018, **52**(15): 8903-8911.
- [26] 刘珊. 城市污水处理厂和畜牧养殖环境中类固醇激素物质的污染特征与环境行为研究[D]. 广州: 中国科学院广州地球化学研究所, 2013.
- Liu S. Occurrence and fate of steroids in waste water treatment plants and livestock farms in China [D]. Guangzhou: Guangzhou Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Sciences, 2013.
- [27] Noppe H, Verslycke T, de Wulf E, *et al.* Occurrence of estrogens in the Scheldt estuary: a 2-year survey [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2007, **66**(1): 1-8.
- [28] Ma R, Zhang T C, Bartelt-Hunt S L, *et al.* Influence of soil properties and test conditions on sorption and desorption of testosterone [J]. *Journal of Environmental Engineering*, 2015, **141**(7): 04015006.
- [29] Zhao J L, Ying G G, Chen F, *et al.* Estrogenic activity profiles and risks in surface waters and sediments of the Pearl River system in South China assessed by chemical analysis and *in vitro* bioassay [J]. *Journal of Environmental Monitoring*, 2011, **13**(4): 813-821.
- [30] Zhang J N, Ying G G, Yang Y Y, *et al.* Occurrence, fate and risk assessment of androgens in ten wastewater treatment plants and receiving rivers of South China [J]. *Chemosphere*, 2018, **201**: 644-654.
- [31] Kasprzyk-Hordern B, Dinsdale R M, Guwy A J. The removal of pharmaceuticals, personal care products, endocrine disruptors and illicit drugs during wastewater treatment and its impact on the quality of receiving waters" [Water Research 43 (2009) 2] [J]. *Water Research*, 2010, **44**(6): 2076.

CONTENTS

Characteristics of Aerosol Vertical Distribution over the Yangtze River Delta Region of China in 2018	SHEN Ji, CAO Nian-wen (4743)
Characteristics of Haze Pollution Episodes During Autumn and Winter in 2018 in Shijiazhuang	SU Wen-kang, BAO Xiao-lei, NI Shuang-ying, <i>et al.</i> (4755)
Spatial Temporal Characteristics and Cluster Analysis of Chemical Components for Ambient PM _{2.5} in Wuhan	ZHANG Hui-tao, TIAN Ying-ze, LIU Bao-shuang, <i>et al.</i> (4764)
Heavy Metal Pollution Characteristics and Ecological and Health Risk Assessment of Atmospheric PM _{2.5} in a Living Area of Zhengzhou City	HE Rui-dong, ZHANG Yi-shun, CHEN Yong-yang, <i>et al.</i> (4774)
Distribution Characteristics and Sources of Metal Elements in Rainwater in Xiamen	WANG Shan-shan, CHENG Yi-feng, YAN Jin-pei, <i>et al.</i> (4783)
First Long-Term Study of Atmospheric New Particle Formation in the Suburb of Shanghai from 2015 to 2017	HUO Jun-tao, WANG Xin-ning, DUAN Yu-sen, <i>et al.</i> (4791)
Characteristics, Transportation, Pathways, and Potential Sources of Air Pollution During Autumn and Winter in Taiyuan	YAN Shi-ming, WANG Yan, GUO Wei, <i>et al.</i> (4801)
Spatial and Temporal Characteristics of Air Quality and Cause Analysis of Heavy Pollution in Northeast China	CHEN Wei-wei, LIU Yang, WU Xue-wei, <i>et al.</i> (4810)
Spatiotemporal Evolution and Driving Mechanism of Aerosol Optical Depth in the Ebinur Lake Basin	CHEN Xiang-yue, DING Jian-li, WANG Jing-zhe, <i>et al.</i> (4824)
Concentration Levels and Impact Factors of Benzene Series in Chinese Residential Building	HOU Bei-bei, YIN Yi-hui, PEI Jing-jing, <i>et al.</i> (4833)
Pollution Characteristics and Source Analysis of Aromatic Compounds in Shijiazhuang	YANG Yang, LI Xing-ru, LIU Shui-qiao, <i>et al.</i> (4841)
Emission Characteristics Analysis and Health Risk Assessment of Unorganized VOCs in the Carbon Industry, Zhengzhou	ZHANG Yi-shun, WANG Jia, HAN Shi-jie, <i>et al.</i> (4847)
Hazardous Volatile Organic Compound Emission Inventory Study and Its Application in a Typical Chemical Industry in the Yangtze River Delta	LU Jun, HUANG Yi-wei, HUANG Cheng (4856)
Establishment and Characteristics of an Artificial Ammonia Emissions Inventory in Jiangsu Province from 2013 to 2017	HOU Xin-hong, YU Xing-na, SHEN Li, <i>et al.</i> (4862)
Occurrence Characteristics and Health Risks of PAHs on the Surface of Buildings and Devices in the Coking Plant	ZHAO Yi-shu, LIAO Xiao-yong, LI You, <i>et al.</i> (4870)
Contamination Characteristics and Ecological Risk Assessment of Androgens, Glucocorticoids, and Progesterone in the Liusha Bay, South China Sea	YANG Lei, ZHANG Jin-na, XU Min, <i>et al.</i> (4879)
Dynamic Changes in Hydrochemical Characteristics and Influencing Factors in the Karst Watershed Flood Process	YUAN Ya-qiong, SUN Ping-an, SU Zhao, <i>et al.</i> (4889)
Sources, Distribution, and Fluxes of Major and Trace Elements in the Yangtze River	WU Wen-tao, RAN Xiang-bin, LI Jing-xi, <i>et al.</i> (4900)
Contaminant Characteristics and Ecological Risk Assessments of Heavy Metals from River Networks in the Western Area of the Wangyu River	XU Chen, WANG Pei-fang, CHEN Juan, <i>et al.</i> (4914)
Influence of Rainfall Intensity on the Nutrient Loading from an Inflowing River in the Plain River Network of the Taihu Catchment	CHEN Jie, ZHU Guang-wei, XU Hai, <i>et al.</i> (4924)
Distribution and Pollution Assessment of Nutrients and Heavy Metals in Surface Sediments from Shibalianwei Wetland in Hefei, Anhui Province, China	CHEN Shan, XU Fan, XIE San-tao, <i>et al.</i> (4932)
Spatial Distribution Characteristics of Chlorophyll-a and Nutrient Salts in Tributaries of Different River Sections in the Three Gorges Reservoir Area During the Flood Season	YANG Fan, YANG Zheng-jian, JI Dao-bin, <i>et al.</i> (4944)
Endogenous Release of Nitrogen and Phosphorus in the Danjiangkou Reservoir	WANG Zhi-qi, LIU Xin-xing, YAO Zhi-hong, <i>et al.</i> (4953)
Correlation Between Water Purification Capacity and Bacterial Community Composition of Different Submerged Macrophytes	LI Lin, YUE Chun-lei, ZHANG Hua, <i>et al.</i> (4962)
Size-dependent Effects of Zinc Oxide Nanoparticles on Performance and Microbial Community Structure of a Constructed Wetland	WANG Sen, REN Ling, LIU Lin-lin, <i>et al.</i> (4971)
Removal of Nitrogen and Phosphorus from Water by Biomass Carbon of Aquatic Plants	LIU Shu-lei, PENG Hui-jun, YANG Jia-yi, <i>et al.</i> (4980)
Preparation of MgO Modified Lotus Shell Biochar and Its Phosphorus Adsorption Characteristics	WANG Sheng-hua, ZHU Dan-chen, SHAO Jing-ai, <i>et al.</i> (4987)
Effects of Microplastics on Membrane Fouling During a Shortened Ultrafiltration Membrane Process	WANG Bo-dong, XUE Wen-jing, LÜ Yong-tao, <i>et al.</i> (4996)
Preparation and Comparison of Arsenic Removal Granular Adsorbent Based on Iron-Manganese Sludge	ZENG Hui-ping, YU Ya-ping, LÜ Sai-sai, <i>et al.</i> (5002)
Catalytic Degradation of Rhodamine B by FeOCl Activated Hydrogen Peroxide	ZHANG Shao-peng, CHEN Yu, BAI Shu-qin, <i>et al.</i> (5009)
Treatment Effect and Ecological Risk Assessment of Typical Antibiotics in Wastewater from Large-scale Dairy Farms in Tianjin	CHEN Qian, ZHAO Run, MOU Mei-ru, <i>et al.</i> (5015)
Distribution Characteristics of Antibiotic Resistance Genes in Wastewater Treatment Plants	YAO Peng-cheng, CHEN Jia-yu, ZHANG Yong-ming, <i>et al.</i> (5024)
Start-up and Stable Operation of CANON Coupled with Denitrifying Phosphorus Removal	YIN Wen, CHEN Ya, ZHANG Yu, <i>et al.</i> (5032)
Control of Sludge Bulking Caused by Unknown Reason Through FeCl ₃ Coupled with Biochemical Methods	WEI Dong-yang, XIAO Cai-lin, ZHOU Wen, <i>et al.</i> (5040)
Effects of Solid Retention Time on the Phosphorus Removal and Nitrosation Granules System	LI Dong, LIU Bo, WANG Wen-qi, <i>et al.</i> (5048)
Start-up of Simultaneous ANAMMOX and Denitrification Process and Changes in Microbial Community Characteristics	SONG Zhuang-zhuang, LÜ Shuang, LIU Zhe, <i>et al.</i> (5057)
Influence of Substrate Exposure Level on ANAMMOX Microbial Activity and Biomass	CHEN Fang-min, GAO Jia-qi, HUANG Yong, <i>et al.</i> (5066)
Pollution Characteristics and Source Analysis of Heavy Metals in Farmland Soils in the Taige Canal Valley	LI Wei-di, CUI Yun-xia, ZENG Cheng-cheng, <i>et al.</i> (5073)
Method of Dividing the Value of Soil Heavy Metal Pollution Risk Screening: Using Cd as an Example	WANG Rui, ZHANG Feng-lei, XU Shu-shu, <i>et al.</i> (5082)
Mineral Characteristics of Arsenic in the Active Area of the Banbishan Gold Mine and Its Effect on Arsenic Accumulation in Farmland Soil	WEN Qi-qian, YAN Xiu-lan, SHEN Jun-feng, <i>et al.</i> (5090)
Remediation of Cadmium Contaminated Paddy Fields Using Soil Conditioners	ZHOU Li-jun, WU Lin, LIN Xiao-bing, <i>et al.</i> (5098)
Inhibition and Remediation of Methylmercury Contaminated Soil by Use of Modified Montmorillonite	HAN Yi-xin, HE Tian-rong, WANG Zu-bo (5107)
Cerium-manganese Modified Biochar Immobilizes Arsenic in Farmland Soils	LIANG Ting, LI Lian-fang, ZHU Chang-xiong, <i>et al.</i> (5114)
Improving Bioremediation of Crude Oil-contaminated Soil by Mild Pre-oxidation	XU Jin-lan, WANG Hui-fang, WANG Rong, <i>et al.</i> (5124)
Community Structure of Heavy Metal Immobilized Bacteria in the Lettuce (<i>Lactuca sativa</i> L.) Rhizosphere in Soil Polluted by Heavy Metals and Its Effects on Reducing Heavy Metal Accumulation in Lettuce	WANG Tie-jun, SU Nan-nan, LEI Peng, <i>et al.</i> (5133)
Impact of Dicyandiamide (DCD) and 3,4-Dimethylpyrazole Phosphate (DMPP) on Ammonia-oxidizing Bacteria and Archaea in a Vegetable Planting Soil	GUO Jun-li, LIU Yi, WEI Wen-xue, <i>et al.</i> (5142)
Effect of Different Reclaimed Water Irrigation Methods on Bacterial Community Diversity and Pathogen Abundance in the Soil-Pepper Ecosystem	CUI Bing-jian, GAO Feng, HU Chao, <i>et al.</i> (5151)
Characteristics of CO ₂ and N ₂ O Emissions Under Two Land Use Types in the Loess Plateau of China	HAN Jia-le, HAO Shan, LIU Zhen-jie, <i>et al.</i> (5164)
Effects of Biochar on N ₂ O Emission from Four Typical Soils in the North China Plain	ZHANG Xiu-ling, SUN Yun, ZHANG Shui-qing, <i>et al.</i> (5173)
Effects of Optimizing Fertilization on N ₂ O and CH ₄ Emissions in a Paddy-Cowpea Rotation System in the Tropical Region of China	HU Yu-lin, TANG Shui-rong, TAO Kai, <i>et al.</i> (5182)