

超高效液相色谱-四极杆串联飞行时间质谱法 筛查上海市生活饮用水和地表水中的雌激素水平

王和兴 周颖^Δ 王霞 屈卫东 姜庆五

(复旦大学公共卫生学院公共卫生安全教育部重点实验室 上海 200032)

【摘要】 目的 建立应用超高效液相色谱-四极杆串联飞行时间质谱法快速筛查上海市生活饮用水和地表水中天然或人工合成的雌激素的方法。方法 分别采集上海市不同地点生活饮用水、黄浦江与苏州河不同河段地表水水样各 1 L, 每点设 2 个平行, 取 500 mL 水样经 Oasis HLB 固相萃取柱(500 mg, Waters)萃取, 70% 甲醇淋洗, 10 mL 体积分数为 10% 的甲醇乙酸乙酯溶液洗脱待测物, 用 Waters ACQUITYUPLC HSS T3 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.8 μm)分离, 在 MS 和 MS/MS 模式下, 采用负离子模式电喷雾离子源对常见雌激素进行 Q-TOF MS 分析。结果 5 种常见雌激素(雌三醇、β-雌二醇、17α-乙炔雌二醇、雌酮、己烯雌酚)在 0.001~0.1 μg/mL 范围内线性关系良好, 检出限(S/N=3)为 0.11~0.25 ng/L, 定量限(S/N=10)为 0.38~0.84 ng/L, 在添加水平分别为 5、50 ng/L 时, 平均回收率为 58%~115%, RSD 为 1.4%~13.9%, 5 种雌激素测定其相对分子质量(M_r)与理论值的误差在 $(-1.7\sim2.8)\times10^{-3}$ 之间。生活饮用水中未检出上述 5 种雌激素, 而黄浦江和苏州河的各个河段的水样中均检测出雌三醇(0.8~10.5 ng/L)和雌酮(1.6~5.6 ng/L)。结论 本方法灵敏度高、定性准确, 适用于生活饮用水和地表水中雌激素的筛查。流经上海市不同河段的黄浦江和苏州河水样中均检测出 ng/L 级的雌三醇和雌酮, 应当在今后的监测中引起重视。

【关键词】 雌激素; 生活饮用水; 地表水; 超高效液相色谱-四极杆串联飞行时间质谱法

【中图分类号】 Q 657.63 **【文献标志码】** A **doi:** 10.3969/j.issn.1672-8467.2011.05.004

Screening estrogens in drinking water and surface water of Shanghai city using ultra-performance liquid chromatography coupled to quadrupole time-of-flight mass spectrometry

WANG He-xing, ZHOU Ying^Δ, WANG Xia, QU Wei-dong, JIANG Qing-wu

(Key Laboratory of Public Health Safety of Ministry of Education, School of Public Health,
Fudan University, Shanghai 200032, China)

【Abstract】 **Objective** To develop a screening method for natural or synthetic estrogens in drinking water and surface water in Shanghai using ultra-performance liquid chromatography coupled to quadrupole time-of-flight mass spectrometry (UPLC-Q-TOF MS). **Methods** Duplicate 1 L drinking water and surface water samples were obtained from different sites in Shanghai city, Suzhou River and Huangpu River, respectively. The compounds in 500 mL water sample were extracted by Oasis HLB column(500 mg, Waters), washed by 70% methanol, eluted by the mixture containing 10% methanol in ethyl acetate (volume percentage), and then separated on a Waters ACQUITYUPLC HSS T3 column (100 mm×2.1 mm, 1.8 μm) and analyzed qualitatively and quantitatively by UPLC-Q-TOF in MS and MS/MS model. **Results** Five frequent estrogens including estriol, β-estradiol, 17α-ethinylestradiol, estrone and diethylstilbestrol had good linearity between 0.001–0.1 μg/mL with the limits

国家“十一五”科技支撑计划(2006BAI19B02); 复旦大学 09 年青年基金项目(EYF201023)

^ΔCorresponding author E-mail: yingchou@fudan.edu.cn

of detection (LODs) ranging from 0.11 to 0.25 ng/L and the limits of quantitation (LOQs) from 0.38 to 0.84 ng/L. The mass errors between theoretical and experimental masses obtained for deprotonated molecules of five estrogens, internal standard (β -estradiol- d_3) and their daughter ions were between $(-1.7 - 2.8) \times 10^{-3} (M_r)$. At the spiked levels of 5, 50 ng/L, the average recoveries ranged from 58% to 115% with the relative standard deviations between 1.4% and 13.9%. No target estrogens were found in drinking water, but estriol (0.8–10.5 ng/L) and estrone (1.6–5.6 ng/L) were all detected in surface water samples from Suzhou River and Huangpu River. **Conclusions** The proposed method was sensitive, accurate and suitable for screening estrogens in drinking water and surface water. Estriol and estrone at ng/L level exist in Suzhou River and Huangpu River, which should be paid more attention in further surveillance.

【Key words】 estrogens; drinking water; surface water; ultra-performance liquid chromatography coupled to quadrupole time-of-flight mass spectrometry (UPLC-Q-TOF MS)

人类长期、低剂量暴露于天然或人工合成雌激素,可能会导致与激素相关的肿瘤如乳腺癌的发生^[1]、婴儿的早熟^[2]等。已有研究在不同环境水体中发现各种雌激素存在,且目前水厂处理工艺并不能有效去除雌激素,它们有可能渗透到生活饮用水中^[3]。已有报道显示,在上海市某自来水厂出厂的水中检测出 $\mu\text{g/L}$ 级 β -雌二醇^[4],然而关于上海市生活饮用水和地表水中雌激素污染的现状未见报道。因此,急需建立快速、可靠的分析方法用于生活饮用水和地表水中多种雌激素的筛查,并了解水体中雌激素的污染水平,为评价其健康危害、保障生活饮用水的安全提供科学依据。

水中雌激素的检测方法最常用的是免疫分析法 (immunoassay, IA)^[5], 气相色谱-质谱联用法 (gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)^[6-8] 和液相色谱-质谱联用法 (liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS)^[9-11]。IA 虽然快速、操作简单、成本低,但可能会出现假阳性;GC-MS 虽然分离效果好,但是雌激素挥发性低,需要衍生化,操作繁琐;LC-MS 因为灵敏度高、选择性好、样品前处理相对简单而成为雌激素检测的首选方法^[12]。超高效液相色谱 (ultra-performance liquid chromatography, UPLC) 相对普通的高效液相色谱 (HPLC) 分离效率高、分析速度快,非常适合于多组分快速检测^[13]。飞行时间质谱 (time-of-flight mass spectrometry, TOF MS) 能够进行分子量的精确测定,与四级杆质谱串联 (quadrupole/time-of-flight mass spectrometry, Q-TOF MS) 非常适合复杂基质中组分的准确定性。因此, UPLC 与 Q-TOF MS 的联用 (UPLC-Q-TOF MS) 成为复杂基质中多组分残留筛查的有效分析方法之一^[14]。

本文采用固相萃取柱快速萃取水中 5 种常见的天然或人工合成雌激素,建立了生活饮用水和地表

水中 5 种雌激素的超高效液相色谱-四极杆串联飞行时间质谱 (UPLC-Q-TOF MS) 检测方法,并用于上海市区实际水样的筛查。

材 料 和 方 法

仪器与试剂 ACQUITY 超高效液相色谱仪 (美国 Waters 公司), SYNAPT G2 高分辨率飞行时间质谱仪 (美国 Waters 公司), KD200 氮气吹扫仪 (杭州奥盛公司); 12 位固相萃取仪 (德国 CNW 公司); Oasis HLB 固相萃取柱 (美国 Waters 公司, 500 mg, 6 mL); LC-MS 级乙腈、纯水、乙酸乙酯和甲醇 (美国 Fisher 公司)。雌激素标准品: 雌三醇 (estriol)、氘代 β -雌二醇 (β -estradiol- d_3 , 内标物)、 β -雌二醇 (β -estradiol)、17 α -乙炔雌二醇 (17 α -ethinylestradiol)、雌酮 (estrone)、己烯雌酚 (diethylstilbestrol), 均购于美国 Sigma 公司, 纯度均大于 97.8%。

标准溶液制备 标准储备溶液的配制: 分别称取标准品 10.0 mg 于 10 mL 棕色容量瓶中, 用甲醇定容至刻度, 摇匀得到 1.0 mg/mL 的标准溶液, 于 -20 °C 保存。混合标准工作溶液的配制: 用 10% 乙腈溶液 (体积分数) 稀释标准储备液 (1.0 mg/mL) 100 倍得到 10.0 $\mu\text{g/mL}$ 的混合标准溶液, 然后用 10.0% 乙腈溶液 (体积分数) 逐级稀释 1.0 $\mu\text{g/mL}$ 的混合标准溶液, 配制成浓度分别为 0.001、0.002、0.005、0.01、0.05、0.1 $\mu\text{g/mL}$ 的系列混合标准溶液, 各浓度点内标 (β -雌二醇- d_3) 浓度均为 0.01 $\mu\text{g/mL}$ 。

色谱与质谱条件 Waters ACQUITY UPLC HSS T3 色谱柱 (100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.8 μm); 流动相: 水 (A) 和乙腈 (B); 梯度洗脱程序: 5 min 内 5% B

线性升至 30%B,1 min 内 30%B 线性升至 40%B,3 min 内 40%B 线性升至 55%B,1 min 内 55%B 线性升至 95%B,保持 2 min,然后 0.5 min 内线性降至 5%,保持 1.5 min;流速:0.7 mL/min;柱温:40℃;样品室温度:5℃;进样量:10 μ L。

ESI 负离子模式(ESI⁻);毛细管电压:2.8 kV;锥孔电压:45 V;提取锥电压:4 V;离子源温度:120℃;脱溶剂气温度:450℃;锥孔气流量:40 L/h;脱溶剂气流量:1000 L/h;碰撞气:氩气;MS 模式采集参数:相对分子质量范围为 $(100 \sim 800) \times 10^3$,扫描时间为 0.2 s;MS/MS 模式中雌三醇、 β -雌二醇、17 α -乙炔雌二醇、雌酮和己烯雌酚的碰撞电压分别为 45、50、40、40 和 28 V,内标氘代 β -雌二醇为 50 V。

水样采集 于 2011 年 2~3 月,确定黄浦江流经的上海市 5 个行政区,不同河段长度的 12 个采样点,分别为徐汇区、黄浦区、虹口区各 2 个采样点,卢湾区和宝山区各 1 个采样点,杨浦区 4 个采样点;确定苏州河流经的静安区为 2 个采样点,黄浦区为 1 个采样点;同时在地表水采样点附近,设置 1 个生活饮用水采样点。共采集 3 个批次水样,黄浦江采集 2 次,苏州河 1 次,每个批次带 1 个现场空白;每个采样点各采集 1 L 表层水样(1.0 m),每点设 2 个平行;水样均使用 1 L 洗净后 450℃烘干的玻璃瓶盛装,采样前均使用现场水样清洗 3 次;冷藏运输至实验室,24 h 内完成样品分析。

样品分析 取 500 mL 水样经 1~10 μ m 玻璃纤维滤膜(英国 Whatman 公司)过滤,以 5~10 mL/min 流速,经预先用 5 mL 10%的甲醇乙酸乙酯溶液(体积分数),5 mL 甲醇和 5 mL 水活化的 Oasis HLB 固相萃取柱萃取富集,5 mL 70%甲醇淋洗固相萃取柱,将固相萃取仪抽真空至 0.05 MPa 并保持 30 min,待固相萃取填料吹干,用 10 mL 10%的甲醇乙酸乙酯溶液(体积分数),以 3 mL/min 的流速洗脱待测物,收集全部洗脱液于 10 mL 离心管中,在 40℃水浴中用微氮气流吹至近干,用 10%乙腈溶液定容至 0.5 mL,漩涡混匀 30 s,过 0.2 μ m 滤膜,取 10 μ L 滤液进 UPLC-Q-TOF MS 分析;每批水样分析时,均做试剂空白和加标回收各 1 个。

结 果

色谱行为 加标浓度为 20 ng/L 的饮用水中各雌激素母离子提取色谱图(图 1),保留时间见表 1。色谱分析时间(包括梯度洗脱后色谱系统的平衡时间)总共 14 min,5 种雌激素基本实现基线分离,最小分离度为 17 α -乙炔雌二醇与雌酮之间的 1.61。

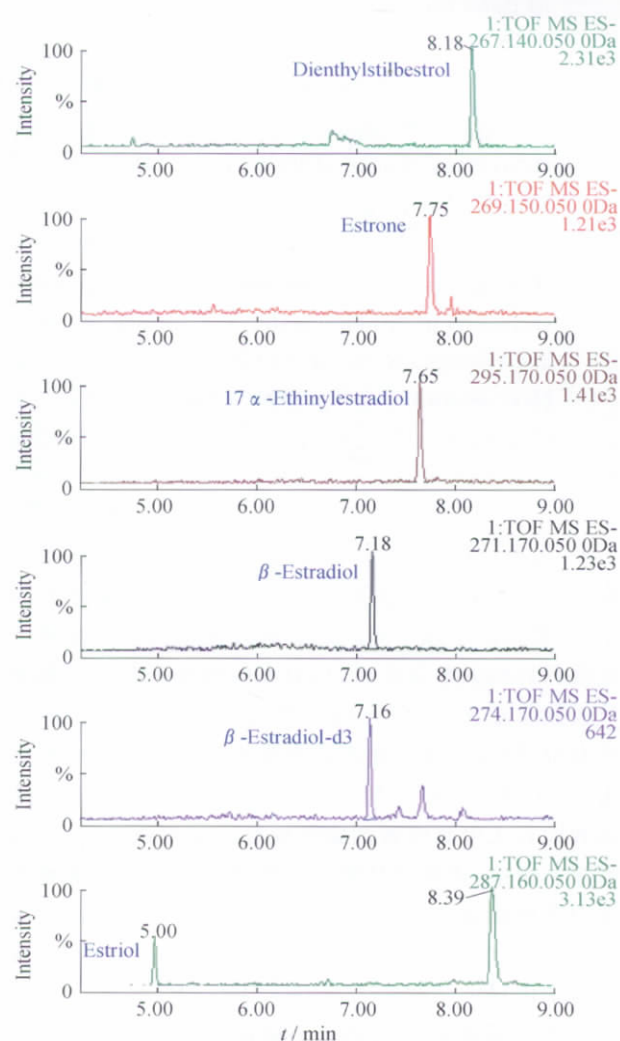


图 1 加标水样中 5 种雌激素和内标(氘代 β -雌二醇)的母离子提取色谱图

Fig 1 The extracted parent ion chromatograms of five estrogens and internal standard (β -estradiol- d_3) in the spiked drinking water

定性和定量分析 分析样品前,分别用 5 mmol/L 的甲酸钠和 2 μ g/mL 的亮氨酸脑啡肽校准仪器。在 MS 模式下,用保留时间 t_R 和分子离子精确相对分子质量(M_r)对待测雌激素进行初步定性。5 个加标样品连续进样后,5 种雌激素保留时间的相对标准偏差均小于 0.2%;对于加标样品,实验测定的分子离子 M_r 与理论 M_r 的误差在 $(0.1 \sim 1.6) \times 10^{-3}$ 之间(表 1)。Q-TOF 在 MS/MS 模式下,可获得各雌激素的二级质谱图(图 2),除按照欧盟委员会指令 2002/657/EC 的要求,选取 1 个母离子和 2 个子离子,并依据离子相对丰度比定性外,还可通过特征性子离子精确的 M_r ,计算出元素组成,推测母离子裂解途径,进一步增强对待测物的确证能力。表 2 显示了特征性子离子的元素组成和分子量误差。子离子实

际测定的 M_r 与理论 M_r 之间的误差仅为 $(-1.7\sim 2.8)\times 10^{-3}$ 。

用内标法进行定量,MS 模式下的分子离子峰作为定量离子,离子提取窗口为 0.05×10^3 。

为了减少基质效应对雌激素分析的影响,采

表 1 加标水样中 5 种雌激素和内标(氘代 β -雌二醇)的保留时间,母离子的元素组成和测得的精确质量数

Tab 1 The retain time,elemental composition and experimentally accurate mass of parent ions for five estrogens and internal standard (β estradiol- d_3) in the spiked drinking water

Estrogen	Mean retention time t_R (min)	Elemental composition	Theoretical mass(m/z)	Experimental mass(m/z)	Error($M_r, \times 10^{-3}$)
Estriol	5.00	$C_{18}H_{23}O_3$	287.164 7	287.165 3	0.6
β -Estradiol- d_3	7.16	$C_{18}H_{20}O_2D_3$	274.188 6	274.190 2	1.6
β -Estradiol	7.18	$C_{18}H_{23}O_2$	271.169 8	271.170 3	0.5
17 α -Ethinylestradiol	7.65	$C_{20}H_{23}O_2$	295.169 8	295.170 2	0.4
Estrone	7.75	$C_{18}H_{21}O_2$	269.154 2	269.155 4	1.2
Diethylstilbestrol	8.18	$C_{18}H_{15}O_2$	267.138 5	267.138 6	0.1

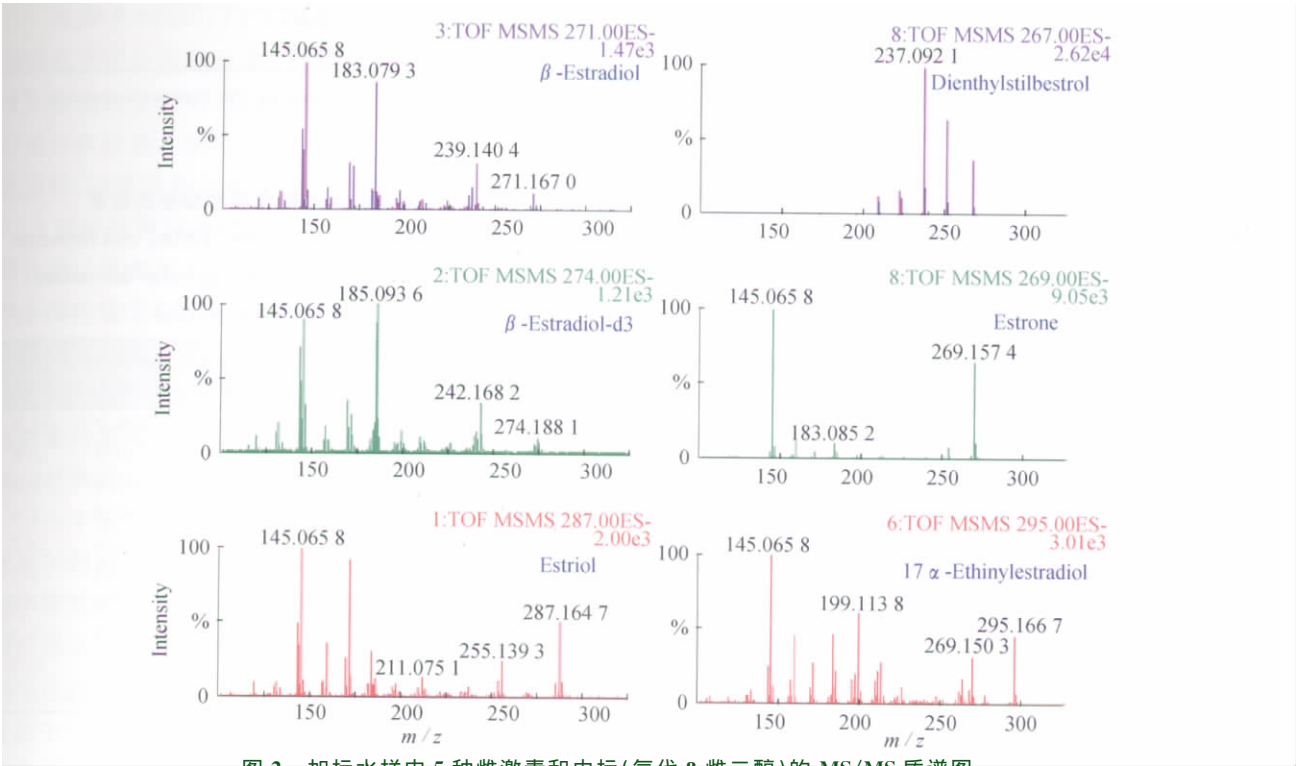


图 2 加标水样中 5 种雌激素和内标(氘代 β -雌二醇)的 MS/MS 质谱图

Fig 2 The MS/MS spectra of five estrogens and internal standard (β -estradiol- d_3) in the spiked drinking water

表 2 加标水样中 5 种雌激素和内标(氘代 β -雌二醇)的 MS/MS 碰撞能量,子离子的元素组成和测得的子离子精确质量数

Tab 2 The collision energy,elemental composition and experimental accurate mass of daughter ions for five estrogens and internal standard (β -estradiol- d_3) in the spiked drinking water

Estrogen	Collision energy(V)	Elemental composition	Theoretical mass(m/z)	Experimental mass(m/z)	Error ($M_r, \times 10^{-3}$)
Estriol	45	$C_{12}H_{11}O$	171.081 0	171.082 2	1.2
		$C_{10}H_9O$	145.065 3	145.065 8	0.5
β -Estradiol- d_3	50	$C_{10}H_9O$	145.065 3	145.065 2	-0.1
		$C_{13}H_9OD_2$	185.093 5	185.093 6	0.1
β -Estradiol	50	$C_{10}H_9O$	145.065 3	145.065 8	0.5
		$C_{13}H_{11}O$	183.081 0	183.079 3	-1.7
17 α -Ethinylestradiol	40	$C_{10}H_9O$	145.065 3	145.065 8	0.5
		$C_{14}H_{15}O$	199.112 3	199.113 8	1.5
Estrone	40	$C_{10}H_9O$	145.065 3	145.065 8	0.5
		$C_{11}H_{11}O$	159.081 0	159.083 1	2.1
Diethylstilbestrol	28	$C_{17}H_{15}O_2$	251.107 2	251.110 0	2.8
		$C_{16}H_{13}O_2$	237.091 6	237.092 1	0.5

线性范围与检出限 将各浓度点的系列标准溶液按上述“色谱与质谱条件”分析后,以各雌激素母离子色谱峰面积与内标 β -雌二醇- d_3 母离子色谱峰面积之比乘以 β -雌二醇- d_3 的质量浓度(Y)为纵坐标,各雌激素的质量浓度(X)为横坐标绘制内标法校准曲线。在雌激添加水平为 5 ng/L 的水样中,

以 3 倍信噪比(S/N)对应的样品中雌激素浓度作为检出限($LODs$),10 倍信噪比(S/N)对应的样品中雌激素浓度作为定量限($LOQs$),获得各雌激素的检出限和定量限。各雌激素在 0.001~0.5 $\mu\text{g/mL}$ 范围内具有较好的线性关系,检出限为 0.11~0.25 ng/L,定量限为 0.38~0.84 ng/L(表 3)。

表 3 5 种雌激素的线性方程、相关系数、方法检出限(LOD)和定量限(LOQ)
Tab 3 Linear equations, correlation coefficients, LOD and LOQ of five estrogens

Estrogen	Linear equation	Correlation coefficient	LOD (ng/L)	LOQ (ng/L)
Estriol	$Y=8\,016.8X+4.16$	0.999 2	0.17	0.56
β -Estradiol	$Y=6\,313.3X+3.68$	0.998 0	0.22	0.74
17 α -Ethinylestradiol	$Y=7\,546.3X-2.83$	0.998 0	0.11	0.38
Estrone	$Y=6\,138.7X-3.16$	0.997 0	0.25	0.84
Diethylstilbestrol	$Y=12\,263X-2.31$	0.999 6	0.13	0.43

Y : the quantification ion peak area ratio of the estrogen to β -estradiol- d_3 (internal standard) multiplied by the mass concentration of β -estradiol- d_3 ; X : mass concentration of the estrogen, $\mu\text{g/mL}$.

回收率与精密度 在自来水中添加不同浓度的雌激素,添加水平为 5 ng/L 和 50 ng/L,每个水平重复 5 次,用内标曲线法测定回收率和精密度(表 4)。平均回收率为 58%~115%,精密度 RSD 为 1.4%~13.9%。

实际水样测定 30 份生活饮用水样均未检出上述 5 种雌激素,即 5 种雌激素浓度低于表 3 中对应的检出限;黄浦江 24 份水样中每份均检测出雌三醇和雌酮,浓度分别为 0.8~1.4 ng/L 和 1.6~5.5 ng/L,其余雌激素未检出;苏州河 6 份水样均检出雌三醇和雌酮,浓度分别为 7.5~10.5 ng/L 和 3.2~5.6 ng/L,其余雌激素未检出(表 5)。采样点用大写英文字母代表。

表 4 5 种雌激素的精密度和加标回收率
Tab 4 Relative standard deviations (RSDs) and recoveries for five estrogens spiked in drinking water determined by internal standard method ($n=5$)

Estrogen	Spiked (ng/L)	Found (ng/L)	Recovery (%)	RSD (%)
Estriol	5	5.3	106.0	13.9
	50	55.2	110.0	1.9
β -Estradiol	5	2.9	58.0	9.3
	50	46.4	92.8	1.4
17 α -Ethinylestradiol	5	3.7	74.0	13.7
	50	57.6	115.0	2.7
Estrone	5	5.6	112.0	7.3
	50	54.5	109.0	11.2
Diethylstilbestrol	5	5.6	112.0	10.3
	50	45.1	90.2	8.7

表 5 黄浦江与苏州河不同采样点中雌激素水平
Tab 5 The estrogen levels at different sites of Huangpu river and Suzhou river ($n=5$)

Estrogens	Huangpu river												Suzhou river		
	Xuhui District		Luwan District	Huangpu District		Hongkou District		Yangpu District		Baoshan District			Jingan district		Huangpu district
Sampling site	A	B	A	A	B	A	B	A	B	C	D	A	A	B	A
Estriol	0.9	1.0	1.0	0.9	0.8	1.4	1.3	1.2	1.0	0.8	0.9	1.0	10.5	8.7	7.5
β -Estradiol	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
17 α -Ethinylestradiol	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Estrone	5.5	5.2	4.3	2.8	2.7	1.9	3.2	2.9	2.4	2.0	1.7	1.6	5.6	3.2	3.7
Diethylstilbestrol	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

ND: not detected.

讨 论

本研究比较了 OASIS HLB 固相萃取柱与 C_{18} 固相萃取柱(500 mg, 3 mL)萃取 500 mL 水中 5 种雌

激素的提取效率,结果发现 C_{18} 固相萃取柱对雌三醇的萃取回收率仅为 4.9%,其余在 41.6%~112%之间,而 HLB 的回收率均在 86.5%~110%之间,因此选择 HLB 作为本方法的固相萃取柱。

就淋洗溶剂而言,实验结果显示:如果仅用

5 mL、5%的甲醇淋洗 HLB 固相萃取柱进样分析,各待测物基质效应严重,平均回收率为 4.9%~81.6%,其中雌三醇为 4.9%。为了减小基质效应的影响,分别考察了淋洗溶剂中甲醇含量为 10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%和 90%时各雌激素的回收率,结果发现:随着淋洗溶剂中甲醇含量的增加,5 种雌激素的回收率也逐渐增加,当达到 70%时,各雌激素的平均回收率在 73.4%~105%之间,而且肉眼可见大量的黄色杂质被淋洗下来;而当淋洗溶剂中甲醇含量为 80%或 90%时,雌三醇的回收率开始下降,分别为 64.5%和 16.3%。故本文选择淋洗溶剂中甲醇的含量为 70%。

考察了 ACQUITY UPLC HSS T3 和 BEH C₁₈ 色谱柱在不同的溶剂系统(乙腈-水和甲醇-水溶剂系统)、添加改性剂与否,以及不同的梯度洗脱和流速时的分析效果。结果显示:无论 C₁₈ 色谱柱还是 T3 色谱柱,当流动相中添加 10 mmol/L 乙酸铵改性剂时,5 种雌激素的灵敏度总体上降低 1~3 倍;C₁₈ 色谱柱通过改变溶剂系统、洗脱梯度和流速均难以实现 5 种雌激素在实际样品中与杂质的分离,达到减少基质效应的目的;而 T3 色谱柱在流动相为乙腈-水时,通过优化洗脱梯度和流速可以基本实现 5 种雌激素的基线分离以及待测物与杂质的较好分离,减少基质效应对待测物离子化效率的影响。

由于水中 ng/L 级的天然或人工合成的雌激素能够引起野生生物正常生殖和发育的改变,因此环境中雌激素一直受到人们的关注^[15-16]。本方法检测出苏州河与黄浦江中雌三醇和雌酮的含量最高分别可达到 10.5 ng/L 和 5.6 ng/L,应在今后的环境监测中引起重视。由表 3 可见苏州河中雌激素的水平高于黄浦江,这可能与苏州河水流量小、泥沙淤积、水体的自净作用相对较弱有关,应当加强其治理;而且在采样分析的黄浦江河段内,从上游到下游雌酮的含量有降低的趋势,而雌三醇未表现出类似趋势,这可能是因为雌酮的 Log K_{OW} (3.13) 大于雌三醇(2.81),雌酮比雌三醇更易于沉积吸附在底泥上的缘故^[17]。生活饮用水中暂未检出雌激素,表明目前人群不会通过饮用水暴露受到雌激素的威胁,然而并不能排除在上海市生活饮用水和地表水中存在其他具有雌激素活性物质的可能,例如双酚 A 和邻苯二甲酸酯等^[18-19],因此对此类物质也应当进行相关的筛查工作。

本方法建立了生活饮用水和地表水中雌激素的超高效液相色谱-四极杆串联飞行时间质谱分析方法,该方法灵敏、准确、定性能力强,并且成功应用于上海市生活饮用水和地表水中雌激素的筛查。

参 考 文 献

- [1] Gray J, Evans N, Taylor B, *et al.* State of the evidence: the connection between breast cancer and the environment [J]. *Int J Occup Environ Health*, 2009, 15(1): 43-78.
- [2] Cromer B, Gordon CM. Early pubertal development in Chinese girls [J]. *Pediatrics*, 2009, 124(2): 799-801.
- [3] Khanal SK, Xie B, Thompson ML, *et al.* Fate, transport, and biodegradation of natural estrogens in the environment and engineered systems [J]. *Environ Sci Technol*, 2006, 40(21): 6 537-6 546.
- [4] 郑唯韩,王霞,田大军,等. 固相萃取-气质联用法检测上海市不同水厂个处理工艺环节水中几种除草剂、杀菌剂和雌激素水平 [J]. *中华预防医学杂志*, 2010, 44(10): 889-902.
- [5] Hintemann T, Schneider C, Scholer HF, *et al.* Field study using two immunoassays for the determination of estradiol and ethinylestradiol in the aquatic environment [J]. *Water res*, 2006, 40(12): 2 287-2 294.
- [6] Soliman M, Pederen JA, Suffet IH. Rapid gas chromatography-mass spectrometry screening method for human pharmaceuticals, hormones, antioxidants and plasticizers in water [J]. *J Chromatogr A*, 2004, 1029(1-2): 223-237.
- [7] Zhou YQ, Zhou J, Xu YP, *et al.* An alternative method for the determination of estrogens in surface water and wastewater treatment plant effluent using pre-column trimethylsilyl derivatization and gas chromatography/mass spectrometry [J]. *Environ Monit Assess*, 2009, 158(1-4): 35-49.
- [8] Xiao XY, McCalley DV, McEvoy J. Analysis of estrogens in river water and effluents using solid-phase extraction and gas chromatography-negative chemical ionization mass spectrometry of the pentafluorobenzoyl derivatives [J]. *J Chromatogr A*, 2001, 923(1-2): 195-204.
- [9] Kumar V, Nakada N, Yasojim M, *et al.* Rapid determination of free and conjugated estrogen in different water matrices by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chemosphere*, 2009, 77(10): 1 440-1 446.
- [10] Yan W, Zhao LA, Feng QZ, *et al.* Simultaneous Determination of ten estrogens and their metabolites in waters by improved two-step SPE followed by LC-MS [J]. *Chromatographia*, 2009, 69 (7-8): 621-628.

(下转第 406 页)

- 成细胞的凋亡、细胞周期和干细胞因子表达的影响[J]. 中华皮肤科杂志, 2007, 40(6): 325—327.
- [5] 罗增香, 项蕾红, 李剑, 等. 两味中药单体对人黑素细胞酪氨酸酶活性及黑素合成的影响[J]. 中国麻风皮肤病杂志, 2008, 24(8): 583—585.
- [6] 李剑, 傅雯雯, 张勇, 等. 中药单体芍药甙促进黑素合成的机理研究[J]. 中国麻风皮肤病杂志, 2009, 25(9): 657—659.
- [7] 解士海, 陈志强, 马鹏程, 等. 人表皮黑素细胞与角质形成细胞共培养体外模型中黑素小体转运的观察[J]. 临床皮肤科杂志, 2006, 35(5): 286—288.
- [8] Lei TC, Virador VM, Vieira WD, *et al.* A melanocyte-keratinocyte coculture model to assess regulators of pigmentation *in vitro* [J]. *Anal Biochem*, 2002, 305(2): 260—268.
- [9] 李伟, 林有坤. 过氧化氢与白癜风[J]. 国际皮肤性病杂志, 2007, 33(4): 222—224.
- [10] 杨红, 王克玉, 张向红, 等. 过氧化氢对体外培养的黑素细胞形态及功能的影响[J]. 中国麻风皮肤病杂志, 2006, 22(7): 538—540.
- [11] Wood JM, Chavan B, Hafeez I, *et al.* Regulation of tyrosinase by tetrahydropteridines and H_2O_2 [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, 325(4): 1412—1417.
- [12] Schallreuter KU, Elwary SM, Gibbons NC, *et al.* Activation/deactivation of acetylcholinesterase by H_2O_2 : more evidence for oxidative stress in vitiligo [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, 315(2): 502—508.
- [13] Schallreuter KU, Wood JM. Thioredoxin reductase-its role in epidermal redox status [J]. *J Photochem Photobiol B*, 2001, 64(2—3): 179—184.

(收稿日期: 2010—12—13; 编辑: 段佳)

(上接第 401 页)

- [11] Pedrouzo M, Borrull F, Pocurull E, *et al.* Estrogens and their conjugates: determination in water samples by solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Talanta*, 2009, 78(4—5): 1327—1331.
- [12] 严炜, 林金明. 雌激素类内分泌干扰物的液相色谱—质谱分析样品前处理方法[J]. 分析化学, 2010, 38(4): 598—606.
- [13] Guillarme D, Schappler J, Rudaz S, *et al.* Coupling ultra-high-pressure liquid chromatography with mass spectrometry[J]. *Trends Anal Chem*, 2010, 29(1): 15—27.
- [14] Lacina O, Urbanova J, Poustka J, *et al.* Identification/quantification of multiple pesticide residues in food plants by ultra-high-performance liquid chromatography-time-of-flight mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2010, 1217(5): 648—659.
- [15] Noppea H, Verslycke T, Wulfc ED, *et al.* Occurrence of estrogens in the Scheldt estuary: A 2-year survey [J]. *Ecotox Environ Safe*, 2007, 66(1): 1—8.
- [16] Briciu RD, Kot-Wasik A, Namiesnik J. Analytical challenges and recent advances in the determination of estrogens in water environments [J]. *J Chromatogr Sci*, 2009, 47(2): 127—139.
- [17] Peng XZ, Wang ZD, Yang C, *et al.* Simultaneous determination of endocrine-disrupting phenols and steroid estrogens in sediment by gas chromatography-mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2006, 1116(1—2): 51—56.
- [18] Li X, Ying GG, Su HC, *et al.* Simultaneous determination and assessment of 4-onylphenol, bisphenol A and triclosan in tap water, bottled water and baby bottles [J]. *Environ Int*, 2010, 36(6): 557—562.
- [19] Prapatpong P, kanchanamayoon. Determination of phthalate esters in drinking water using solid-phase extraction and gas chromatography [J]. *J Applied Sci*, 2010, 10(17): 1987—1990.

(收稿日期: 2011—03—16; 编辑: 王蔚)