

上海市市售中华绒螯蟹抗生素和性激素的筛查与评价

王和兴 王斌 周颖 赵琦 王娜 付朝伟 江峰 姜庆五

【摘要】 目的 筛查与评价上海市市售中华绒螯蟹中抗生素和性激素的残留水平。方法 采用方便抽样法于2014年在上海市徐汇区和长宁区收集56只中华绒螯蟹后,用同位素稀释超高效液相色谱串联四极杆/飞行时间质谱分析方法分别筛查蟹内脏和蟹肌肉中13种常见抗生素(4种喹诺酮类、3种磺胺类、2种四环素类、2种酰胺醇类、1种大环内酯类和1种磺胺增效剂)和7种性激素(4种内源性激素和3种合成性激素)的残留水平。结果 蟹内脏和蟹肉中共检出7种抗生素,包括3种喹诺酮类抗生素(环丙沙星、诺氟沙星和恩诺沙星)、3种磺胺类抗生素(磺胺二甲嘧啶、磺胺嘧啶和磺胺甲恶唑)和甲氧苄啶。蟹内脏中抗生素总检出率为32.1%,质量浓度总和最大值为23.8 $\mu\text{g}/\text{kg}$,第75百分位数浓度为1.45 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。蟹肉中抗生素总检出率为39.3%,质量浓度总和最大值为40.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$,第75百分位数浓度为1.75 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。7种性激素均未检出。结论 上海市市售中华绒螯蟹中抗生素和激素残留水平满足我国现行规定的相关残留标准,处在健康风险安全范围之内。

【关键词】 抗生素;性激素;残留;筛查;中华绒螯蟹

Detection and assessment of antibiotic and sex hormone residues in *Eriocheir sinensis* sold in markets in Shanghai Wang Hexing, Wang Bin, Zhou Ying, Zhao Qi, Wang Na, Fu Chaowei, Jiang Feng, Jiang Qingwu. Key Laboratory of Public Health Safety, Ministry of Education, School of Public Health, Fudan University, Shanghai 200032, China

Corresponding author: Jiang Qingwu, Email: jiangqw@fudan.edu.cn

This work was supported by a grant from the Scientific Research Foundation for Health Field of National Health and Family Planning Commission of China (No. 201202012).

【Abstract】 Objective To understand the antibiotic and sex hormone residue level in the *Eriocheir sinensis* sold in markets in Shanghai. **Methods** Fifty six mitten crabs were collected through convenient sampling in Xuhui and Changning districts in Shanghai in 2014. The residues of 13 antibiotics (4 quinolones, 3 sulfonamides, 2 tetracyclines, 2 amphenicols, 1 macrolides, and trimethoprim) and 7 sex hormones (4 endogenous sex hormones and 3 synthetic sex hormones) were detected by the isotope dilution method based on ultra-performance liquid chromatography coupled to quadrupole/time-of-flight mass spectrometry in visceral organs and muscles of crabs. **Results** A total of 7 antibiotics were detected in visceral organs or muscles of crabs, including 3 quinolones (ciprofloxacin, norfloxacin, and enrofloxacin), 3 sulfonamides (sulfamethazine, sulfadiazine, and sulfamethoxazole) and trimethoprim. In visceral organs, the overall antibiotic detection rate was 32.1%, the maximum sum of mass concentration was 23.8 $\mu\text{g}/\text{kg}$, and the 75th percentile was 1.45 $\mu\text{g}/\text{kg}$. In muscles, the overall antibiotic detection rate was 39.3%, the maximum sum of mass concentration was 40.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$, and the 75th percentile was 1.75 $\mu\text{g}/\text{kg}$. No sex hormones were detected in both visceral organs and muscles. **Conclusion** The antibiotic and sex hormone residue level in the *Eriocheir sinensis* sold in markets in Shanghai did not exceed the national standard, indicating that no risk was posed to human health.

【Key words】 Antibiotics; Sex hormones; Residues; Screening; *Eriocheir sinensis*

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2015.05.008

基金项目: 卫生行业科研专项(201202012)

作者单位: 200032 上海, 复旦大学公共卫生学院 公共卫生安全教育部重点实验室

通信作者: 姜庆五, Email: jiangqw@fudan.edu.cn

中华绒螯蟹(大闸蟹)是我国一种重要的经济蟹类。在过去数十年中,随着人工养殖技术的提高,我国中华绒螯蟹年产量和养殖面积不断增加^[1-2],已经成为我国日常消费的食品之一。然而,中华绒螯蟹人工养殖所带来的食品安全问题一直不断地引起公众的关注和担心,其主要围绕养殖过程中是否存在抗生素和激素滥用,市场上销售的螃蟹是否存在抗生素和激素残留和残留可能带来的健康风险^[3]。

上海是我国螃蟹消费的主要城市之一,其市售螃蟹抗生素和激素残留状况不仅直接关系到上海地区食品安全问题,而且在一定程度上也是我国螃蟹抗生素和激素残留状况的缩影。我国农业部规定部分抗生素可以在水产养殖业中用来治疗和预防疾病,但需要严格按照规定使用,防止抗生素在水产品中残留或残留超过最大残留限量,而在水产业中禁止使用激素^[4-6]。但是目前关于螃蟹中抗生素和激素残留水平的研究很少,而且仅涉及抗生素或激素中的一类或几类,难以对抗生素和激素残留水平做出合理评价^[7-8]。本研究的目的是筛查上海市市售中华绒螯蟹中 6 大类别的 13 种抗生素和 7 种内源性和人工合成性激素的残留水平,以期评价其健康风险。

材料与方法

1. 样品来源、处理与保存: 2014 年 11—12 月从上海市徐汇区和长宁区的 6 个菜市场 and 2 个超市,采用方便采样法分 6 次收集 56 只原产地为太湖或阳澄湖的成年中华绒螯蟹,体重 120~250 g,其中 27 只雄蟹,29 只雌蟹。蟹购买后,送至实验室,用自来水刷洗干净,将其纵向等份切成两半后,取出体腔内所有内脏(包括蟹黄和蟹膏),剧烈搅拌混匀;取出蟹躯干和肢体肌肉,剪碎混匀;如样品不能立即分析,于-80℃避光保存。

2. 调查方法:

(1) 仪器与试剂: 美国 Waters 公司 HLB 固相萃取小柱(规格为 60 mg/3 ml)、ACQUITY 超高效液相色谱仪和 SYNAPT-G2 高分辨率四极杆/飞行时间质谱仪; 美国 Supelco 公司 24 位固相萃取仪; 杭州奥盛公司 KD200 氮气吹扫仪。共筛查 13 种抗生素和 7 种性激素: 前者包括 4 种喹诺酮类抗生素(环丙沙星、诺氟沙星、恩诺沙星和氧氟沙星)、3 种磺胺类抗生素(磺胺二甲嘧啶、磺胺嘧啶和磺胺甲恶唑)、2 种四环素类抗生素(四环素和土霉素)、2 种酰胺醇类抗生素(甲砒霉素和氯霉素)、1 种大环内酯类抗生素(阿奇霉素)和 1 种磺胺增效剂(甲氧苄啶); 后者

包括 4 种内源性性激素(孕酮、睾酮、 β -雌二醇和雌酮)和 3 种合成性激素(甲基睾酮、去甲雄三烯醇酮和己烯雌酚)。13 种同位素内标包括四环素- d_6 、环丙沙星- d_8 、恩诺沙星- d_5 、阿奇霉素- d_3 、磺胺嘧啶- $^{13}C_6$ 、磺胺甲恶唑- d_4 、甲氧苄啶- d_3 、氧氟沙星- d_3 、磺胺二甲嘧啶- d_4 、氯霉素- d_5 、孕酮- d_9 、睾酮- $^{13}C_3$ 和 β -雌二醇- d_3 。全部标准品和同位素标准品均购买于德国 Dr 公司或美国 Sigma 公司。

(2) 样品前处理: 准确称取混匀的内脏和肌肉样品各 1.00 g,加入同位素内标标准溶液,用 10 ml 乙腈提取,离心;取 4 ml 乙腈提取液,用 4 ml 石油醚萃取;除去上层石油醚后,下层乙腈提取液在 45℃加热下用弱氮气流吹扫浓缩至近干,残留物用 2 ml 25% 甲醇溶液复溶。复溶液经 HLB 固相萃取小柱净化后,用 2 ml 含有 1% 甲酸的乙腈洗脱。取 1 ml 洗脱液,弱氮气流吹扫浓缩至干,用 400 μ l 20% 甲醇溶液复溶后,用于抗生素分析;余下的 1 ml 洗脱液,在弱氮气流吹扫浓缩至干,丹酰氯衍生化后,用于激素分析。丹酰氯衍生化过程:向浓缩至干的洗脱液残留物中加入 1 mg/ml 丹酰氯丙酮溶液和 100 mmol/L 碳酸氢钠缓冲液(pH=10)各 200 μ l,漩涡 1 min,在 60℃下衍生 10 min,冷却至室温后进样分析^[9]。

(3) 色谱和质谱联用分析: 采用 UPLC HSS T₃ 色谱柱(美国 Waters, 100 mm \times 2.1 mm, 1.8 μ m)分离抗生素。采用 UPLC BEH C₁₈ 色谱柱(美国 Waters, 100 mm \times 2.1 mm, 1.7 μ m)分离激素。对于正离子模式下分析的抗生素和激素,采用含 0.1% 甲酸的水和甲醇作为流动相。对于负离子模式下分析的抗生素,采用水和乙腈作为流动相。2 种分析模式均采用梯度洗脱,流动相流速均为 0.3 ml/min,柱温均为 45℃,进样体积均为 10 μ l。采用电喷雾离子源(ESI)离子化待测物。正离子模式参数:毛细管电压为 2.8 kV,锥孔电压为 45 V,提取锥电压为 4 V,离子源温度为 110℃,锥孔气流量为 40 L/h,脱溶剂气温度为 400℃,脱溶剂气流量为 1 000 L/h;负离子模式参数设置除毛细管电压为 2.6 kV 外,其余与上述相同。一级质谱模式和二级质谱模式质量扫描范围为 50~1 000 Da,扫描时间为 0.2 s。二级质谱碰撞气为氩气,所需碰撞能量在 17~39 eV 之间。除氯霉素和甲砒霉素在阴离子模式下分析外,其余抗生素和全部激素均在阳离子模式下分析。

(4) 定性和定量方法: 在一级质谱模式下,用保留时间和分子离子精确质量数对待测物进行定性。

如果发现阳性样本,用二级质谱获得的子离子丰度比和精确质量数进一步确证。采用同位素内标法进行定量,一级质谱模式下的母离子色谱峰作为定量离子。以母离子色谱峰面积与对应内标母离子色谱峰面积之比乘以内标质量浓度(ng/ml)为纵坐标,各待测物质量浓度(ng/ml)为横坐标绘制内标法校准曲线。睾酮- $^{13}\text{C}_3$ 用作睾酮、甲基睾酮和去甲雄三烯醇酮的内标, β -雌二醇- d_3 用作 β -雌二醇、己烯雌酚和雌酮的内标,四环素- d_6 用作四环素和土霉素的内标,氯霉素- d_3 用作氯霉素和甲矾霉素的内标,环丙沙星- d_3 用作环丙沙星和诺氟沙星的内标,其余同位素标准品用作各自对应标准品的内标。

3. 质量控制:本研究共获得112份样品,包括56份蟹肉和56份蟹内脏。所有样品共分6批次分析完成,每批次分析20份样品。每批样品分析时均新配标准曲线,做2个试剂空白和2个样本加标,加标量为 $20\ \mu\text{g}/\text{kg}$ 。

结 果

1. 分析质量评价:在样品分析过程中,加标样品和阳性样品中抗生素和激素的保留时间与标准溶液保留时间偏差均 $<0.2\%$,获得母离子质量数与理论质量数的误差在 $-3.9\sim 2.9\ \text{mDa}$ 之间,阳性样本中抗生素二级质谱图与标准质谱图匹配。在 $2\sim 100\ \text{ng}/\text{ml}$ 浓度范围内,抗生素和激素标准曲线相关系数除雌酮为0.983外,其余均在0.99以上。抗生素蟹肉和内脏中10倍信噪比定量限在 $0.1\sim 5.0\ \mu\text{g}/\text{kg}$ 之间,而激素在 $0.1\sim 0.3\ \mu\text{g}/\text{kg}$ 之间。由于甲氧苄啉在试剂空白中存在背景干扰,其最终浓度水平扣除该干扰。蟹肉和内脏中抗生素加标回收率在 $72.8\%\sim 127.7\%$ 之间,而性激素加标回收率在 $71.7\%\sim 112.7\%$ 之间。

2. 抗生素和激素残留水平:蟹内脏和蟹肉中共检出7种抗生素,包括3种喹诺酮类抗生素、3种磺胺类抗生素和甲氧苄啉(表1)。蟹内脏中抗生素总检出率为 32.1% (18/56),质量浓度总和最大值为 $23.8\ \mu\text{g}/\text{kg}$,第75百分位数浓度为 $1.5\ \mu\text{g}/\text{kg}$ 。蟹肉中抗生素总检出率为 39.3% (22/56),质量浓度总和最大值为 $40.5\ \mu\text{g}/\text{kg}$,第75百分位数浓度为 $1.8\ \mu\text{g}/\text{kg}$ 。蟹内脏中甲氧苄啉检出率最高(10.7%),其次为磺胺二甲嘧啶(8.9%)。蟹肉中甲氧苄啉和诺氟沙星检出率最高(12.5%),其次为环丙沙星(8.9%)。喹诺酮类抗生素中单个蟹肉样本中残留水平最高的是环丙沙星($40.5\ \mu\text{g}/\text{kg}$),而在蟹内脏中

是恩诺沙星($17.2\ \mu\text{g}/\text{kg}$)。磺胺类抗生素中单个螃蟹肉样本中残留水平最高的是磺胺甲恶唑($23.9\ \mu\text{g}/\text{kg}$),而在蟹内脏中是磺胺二甲嘧啶($23.8\ \mu\text{g}/\text{kg}$)。甲氧苄啉在单个蟹内脏或蟹肉样品中的残留水平最高达到 $2.4\ \mu\text{g}/\text{kg}$ 。恩诺沙星、诺氟沙星、甲氧苄啉和抗生素质量浓度总和在雌蟹中浓度水平高于雄蟹,但在按内脏和肌肉分层后,这种差别仅存在于内脏之中(表2)。然而,即使按性别分层,Mann-Whitney秩和检验也未发现7种抗生素浓度分布在蟹内脏和蟹肉之间差异有统计学意义。7种性激素在蟹内脏和蟹肉中均未检出。

表1 上海市市售中华绒螯蟹抗生素和激素残留水平

化合物	内脏(56份)		肌肉(56份)	
	阳性样品数 (%)	浓度水平 (ng/g)	阳性样品数 (%)	浓度水平 (ng/g)
抗生素				
环丙沙星	4(7.1)	ND-3.8	5(8.9)	ND-40.5
诺氟沙星	3(5.4)	ND-4.2	7(12.5)	ND-14.3
恩诺沙星	3(5.4)	ND-17.2	1(1.8)	ND-9.6
氧氟沙星	0	ND	0	ND
四环素	0	ND	0	ND
土霉素	0	ND	0	ND
磺胺二甲嘧啶	5(8.9)	ND-23.8	0	ND
磺胺嘧啶	1(1.8)	ND-1.9	1(1.8)	ND-4.4
磺胺甲恶唑	1(1.8)	ND-5.1	2(3.6)	ND-23.9
甲氧苄啉	6(10.7)	ND-2.4	7(12.5)	ND-0.5
阿奇霉素	0	ND	0	ND
甲矾霉素	0	ND	0	ND
氯霉素	0	ND	0	ND
浓度总和 ^a	18(32.1)	ND-23.8	22(39.3)	ND-40.5
激素				
孕酮	0	ND	0	ND
睾酮	0	ND	0	ND
甲基睾酮	0	ND	0	ND
去甲雄三烯醇酮	0	ND	0	ND
β -雌二醇	0	ND	0	ND
雌酮	0	ND	0	ND
己烯雌酚	0	ND	0	ND
浓度总和 ^a	0	ND	0	ND

注:^a以螃蟹为单位所有抗生素质量浓度直接相加之总和;ND:未检出

讨 论

本研究采用同位素稀释超高效液相色谱串联高分辨率四极杆/飞行时间质谱仪分析方法筛查上海市市售中华绒螯蟹中20种常见抗生素和性激素的残留水平。分析质量评价显示该分析方法的定性和

表 2 上海市市售中华绒螯蟹抗生素残留浓度水平的性别分布

抗生素	性别	全部		内脏		肌肉	
		平均秩次	P 值 ^a	平均秩次	P 值 ^a	平均秩次	P 值 ^a
环丙沙星			0.767		0.313		0.631
	♀	56.9		29.5		28.0	
	♂	56.1		27.5		29.0	
恩诺沙星			0.039		0.078		0.300
	♀	58.6		30.0		29.0	
	♂	54.4		27.0		28.0	
诺氟沙星			0.039		0.078		0.175
	♀	59.7		30.0		30.3	
	♂	53.3		27.0		26.9	
磺胺二甲嘧啶			0.643		0.573		1.000
	♀	56.0		27.9		28.5	
	♂	57.0		29.1		28.5	
磺胺嘧啶			0.990		0.317		0.335
	♀	56.5		29.0		28.0	
	♂	56.5		28.0		29.0	
磺胺甲恶唑			0.596		0.317		0.939
	♀	56.1		28.0		28.6	
	♂	56.9		29.0		28.4	
甲氧苄啶			0.028		0.010		0.607
	♀	60.2		31.5		29.1	
	♂	52.8		25.5		27.9	
浓度总和 ^b			0.038		0.017		0.545
	♀	62.0		32.8		29.7	
	♂	51.0		24.2		27.3	

注：^a Mann-Whitney 秩和检验；^b 以螃蟹为单位所有抗生素质量浓度直接相加之总和

中 3 种抗生素在部分食品中的最大残留限量, 未在螃蟹中残留限量做出明确规定^[5]。例如, 磺胺二甲嘧啶在牛奶中的最大残留限量为 25 μg/kg; 甲氧苄啶在鱼肉和鱼皮中最大残留限量为 50 μg/kg; 恩诺沙星在牛、羊、猪和兔以外动物肌肉和脂肪中最大残留限量为 100 μg/kg, 而在肝和肾中最大残留限量为 200 μg/kg。参照这 3 种抗生素最大残留量, 除蟹肉样本中磺胺甲恶唑最高残留水平 (23.9 μg/kg) 和蟹内脏中磺胺二甲嘧啶最高残留水平 (23.8 μg/kg) 接近磺胺二甲嘧啶在牛奶中的最大残留限量外, 其余抗生素螃蟹中残留水平明显低于同类别抗生素最大残留限量。此外, 蟹中氯霉素和阿奇霉素也未检出, 这与它们不用做兽药或在动物中禁止使用的规定一致^[4-6]。

本研究未检出 7 种激素, 其中 3 种合成性激素 (甲基睾酮、去甲雄三烯醇酮和己烯雌酚) 是农业部第 235 号公告中规定的在动物中禁用, 而且在食品中为不得检出的条目。然而, 已有研究报道在中华绒螯蟹和锯缘青蟹中发现 β-雌二醇、雌酮、睾酮和孕酮等性激素, 浓度随着它们不同生理周期而变化, 参与其生殖过程的正常调控^[12-14]。这与本研究结果不一致, 可能与研究之间样品检测部位不同有关。其他研究均采用卵巢或肝胰腺等器官作为分析样品, 而本研究将螃蟹内脏全部放在一起混匀分析, 可能稀释卵巢或肝胰腺等器官中性激素水平, 导致内脏中性激素未检出。

本研究也发现多种抗生素残留水平存在明显性别差异, 而且这种差别在蟹内脏中更为显著。这提示蟹抗生素残留水平可能受到雌雄蟹不同生活习性、生理特征或对抗生素不同代谢过程等因素的影响。值得注意的是我国水环境中已报道检出多种抗生素, 其中包括在螃蟹中检出的 7 种抗生素^[15], 提示螃蟹中抗生素残留除来自于喂养过程中人为使用外, 抗生素水环境污染也是潜在来源。

本研究为国内首次在上海市市售中华绒螯蟹中同时筛查多种类抗生素和性激素, 结果表明上海市市售中华绒螯蟹中抗生素和性激素残留水平满足我国现行规定的相关残留标准, 处在健康风险安全范围之内。但考虑到本研究采用方便抽样法收集样本, 而且采样点也未覆盖整个上海地区, 存在代表性不足的问题, 后续研究应当增加样本量验证本研究结果, 同时调查抗生素残留来源和影响因素, 为降低抗生素残留和人群暴露风险提供依据。

定量能力达到欧盟委员会指令 2002/657/EC 对于生物样品中兽药残留分析方法的有关要求, 可以作为蟹肉和内脏中抗生素和性激素残留的分析方法^[10]。而且, 与常见基于高效液相色谱串联三重四极杆质谱仪的分析方法相比, 由于超高效液相色谱具有更好的分离效果和高分辨率飞行时间质谱仪可以准确测量化合物分子质量, 本研究采用的基于超高效液相色谱串联高分辨率四极杆/飞行时间质谱仪分析方法具有更优异的分选定性能力, 可以降低抗生素和性激素检出的假阳性率^[11]。

研究结果显示在蟹中发现的 7 种抗生素主要是喹诺酮类和磺胺类, 其次也包括与磺胺类联合使用的甲氧苄啶, 均为农业部 2001 年饲料药物添加剂使用规范 (第 168 号公告) 和 2013 年兽用处方药品种目录 (第 1997 号公告) 规定的可以在动物养殖中使用的药物^[4, 6], 但是农业部 2002 年第 235 号公告 (动物性食品中兽药最高残留限量) 仅规定了其

参 考 文 献

- [1] Cheng YX, Wu XG, Yang XZ, et al. Current trends in hatchery techniques and stock enhancement for Chinese mitten crab, *Eriocheir japonica sinensis* [J]. Rev Fish Sci, 2008, 16 (1/3): 377-384.
- [2] Chen K, Li EC, Yu N, et al. Biochemical composition and nutritional value analysis of Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis*, grown in pond [J]. GARJAS, 2013, 2(6): 164-173.
- [3] Wang WJ, Yin SC, Meng H. Is hormones and antibiotics illegally used in Chinese mitten crab? [J]. China Fish, 2012, 440 (7): 8-10. (in Chinese)
王伟健, 尹世昌, 孟辉. 大闸蟹养殖违规使用激素和抗生素吗? [J]. 中国水产, 2012, 440(7): 8-10.
- [4] The Ministry of Agriculture of the People's Republic of China released 'Application regulations of feed drug additives' [J]. Feed and Husbandry, 2001(4): 5-15. (in Chinese)
农业部发布《饲料药物添加剂使用规范》[J]. 饲料与畜牧, 2001(4): 5-15.
- [5] The Ministry of Agriculture of the People's Republic of China released maximum residue limits of veterinary drugs in food (continued) [J]. Chin J Veterin Drug, 2003, 37(4): 5-10. (in Chinese)
农业部发布动物性食品中兽药最高残留限量(续)[J]. 中国兽药杂志, 2003, 37(4): 5-10.
- [6] "Variety catalogue of veterinary prescription drugs (first batch)" The announcement of the ministry of agriculture of the People's Republic of China [J]. China Animal Health, 2013, 15 (11): 81-83. (in Chinese)
《兽用处方药品品种目录(第一批)》中华人民共和国农业部公告 [J]. 中国动物保健, 2013, 15(11): 81-83.
- [7] Lin XH, Li YY, He JY, et al. Survey of hormone and antibiotic residual in animal products in Guangzhou [J]. China Trop Med, 2009, 9(10): 2081-2082. (in Chinese)
林晓华, 李迎月, 何洁仪, 等. 广州市部分动物源性食品激素及抗生素残留状况分析 [J]. 中国热带医学, 2009, 9(10): 2081-2082.
- [8] Zhang QP, Wang CM, Li J. Status of quinolones residues in animal food in Suzhou city [J]. Occup & Health, 2012, 28(18): 2257-2258. (in Chinese)
张秋萍, 王春民, 李建. 苏州市动物性食品中喹诺酮类抗生素的残留状况 [J]. 职业与健康, 2012, 28(18): 2257-2258.
- [9] Wang HX, Zhou Y, Jiang QW. Enhanced screening efficiency for endocrine-disrupting chemicals in milk and powdered milk using UPLC/QTOF-MS by the introduction of dansyl chloride derivatisation [J]. Food Addit Contam A, 2013, 30(1): 166-180.
- [10] Vanhaecke L, Gowik P, Le Bizec B, et al. European analytical criteria: past, present, and future [J]. J AOAC Int, 2011, 94(2): 360-372.
- [11] Rousu T, Herttuainen J, Tolonen A. Comparison of triple quadrupole, hybrid linear ion trap triple quadrupole, time-of-flight and LTQ-Orbitrap mass spectrometers in drug discovery phase metabolite screening and identification in vitro—amitriptyline and verapamil as model compounds [J]. Rapid Commun Mass Spectrom, 2010, 24(7): 939-957.
- [12] Warriar SR, Tirumalai R, Subramoniam T. Occurrence of vertebrate steroids, estradiol 17 beta and progesterone in the reproducing females of the mud crab *Scylla serrata* [J]. Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol, 2001, 130(2): 283-294.
- [13] Ye HH, Huang HY, Li SJ, et al. Immunorecognition of estrogen and androgen receptors in the brain and thoracic ganglion mass of mud crab, *Scylla paramamosain* [J]. Prog Nat Sci, 2008, 18 (6): 691-695.
- [14] Shen BJ, Yang XZ, Wu XG, et al. The effects of exogenous 17 beta-estradiol on ovary development and on the level of endogenous 17 beta-estradiol in *Eriocheir sinensis* [J]. J Shanghai Ocean Univ, 2010, 19(3): 289-295. (in Chinese)
沈蓓杰, 杨筱珍, 吴旭干, 等. 外源 17 beta-雌二醇对中华绒螯蟹 III~IV 期卵巢发育以及内源雌激素水平的影响 [J]. 上海海洋大学学报, 2010, 19(3): 289-295.
- [15] Bu QW, Wang B, Huang J, et al. Pharmaceuticals and personal care products in the aquatic environment in China: a review [J]. J Hazard Mater, 2013, 262: 189-211.

(收稿日期: 2015-01-15)

(本文编辑: 王岚)