毒性效应引导的高风险消毒副产物识别方法

陈妙^{1,2}, 魏东斌^{1,2*}, 杜宇国^{1,2}

1. 中国科学院生态环境研究中心, 环境化学与生态毒理学国家重点实验室, 北京 100085

2. 中国科学院大学, 北京 100049

*通讯作者, E-mail: weidb@rcees.ac.cn

收稿日期: 2018-04-15; 接受日期: 2018-08-14; 网络版发表日期: 2018-09-25

国家重点研发计划(编号: 2016YFE0118800)和国家自然科学基金(编号: 21590814, 21577154)资助项目

摘要 水处理工艺中的消毒环节可有效预防介水疾病的传播, 但消毒处理中产生的消毒副产物可能对人体健康和生态安全造成负面影响. 由于水体中消毒副产物种类多、性质差异大、浓度水平跨度大, 需综合考虑暴露剂量和毒性效应, 筛选高风险消毒副产物并予以控制. 目前多数研究的重点在未知消毒副产物的识别上, 对高风险消毒副产物的识别效率较低, 且存在一定的盲目性. 本综述对消毒副产物的分子结构识别和毒性测试方法进行了简要总结, 并介绍了毒性效应引导的消毒副产物识别方法的特点和流程, 为消毒后水体的质量控制提供参考.

关键词 消毒副产物, 毒性测试, 高风险产物识别

1 引言

消毒是水处理过程中必不可少的环节, 常用的消毒剂有氯、氯氨、臭氧、紫外线等, 消毒技术的发展对预防介水疾病的传播起到了非常关键的作用. 但是, 由于消毒剂往往具有较强的氧化性, 在消毒过程中除了可以杀灭病原微生物之外, 还可能与水中的天然有机质、人工合成化学品、无机离子等发生反应生成消毒副产物(disinfection by-products, DBPs). 1974年, Rook^[1]在氯消毒处理的水中发现消毒副产物三卤甲烷. 1978年, 美国环保局和美国国家癌症研究中心报道称三氯甲烷对啮齿类动物具有致癌性, 此后消毒副产物逐渐得到关注^[2]. 随着研究的深入, 越来越多的DBPs被报道, 同时也发现了DBPs的多种毒性效应, 如

细胞毒性、遗传毒性、三致效应以及内分泌干扰效应等. 在过去的40多年中, 研究者从DBPs的生成机理、毒性效应、流行病学调查、污染状况以及控制措施等方面开展了大量卓有成效的研究工作. 但由于消毒后的水体中消毒副产物种类繁多, 如何准确识别水中对人体健康和生态安全威胁较大的高风险消毒副产物成为当前该研究领域的迫切任务之一, 该研究将为科学评价其对生态环境和人体健康的潜在危害、揭示生成机制、实现削减控制的目标奠定基础.

虽然文献报道的消毒副产物已经超过600多种^[3,4], 但在氯化消毒中仍有超过50%的总有机氯化物、臭氧消毒中超过50%总生物可同化有机碳化合物的分子结构尚未识别^[5,6]; 另一方面, 即使在已经识别的DBPs中, 对其毒性效应的认识尚少. 加之随着人工合成化学品

引用格式: Chen M, Wei D, Du Y. Toxicity-directed identification of disinfection by-products with high risk. *Sci Sin Chim*, 2018, 48, doi: 10.1360/N032018-00094

种类的增加和消毒方式的改进(如使用氯氨、二氧化氯、臭氧、紫外及其组合消毒以减少DBPs生成), 新型污染物在消毒过程中往往发生复杂的化学反应生成多种产物, 其毒性可能比常见DBPs更高. 因此, 这些新型的、高毒性的消毒副产物对人体和生态环境的影响需要开展深入研究.

消毒副产物的识别是研究其毒理学效应、生成机制、研发削减控制技术的基础. 就水体中消毒副产物的识别方法而言, 主要可以分为两类. 一类是针对已知的消毒副产物, 通常采用经典的、标准化的仪器分析方法进行分析测试. 随着仪器和分析测试技术的发展, 近年逐渐建立了一系列高效、快速的分析测试方法. 另一类是针对水体中未知的消毒副产物, 大多采用色谱-质谱联用技术、高分辨质谱、核磁共振等识别可能的分子结构. 事实上, 消毒副产物备受关注的最主要原因是其显著的毒性效应. 因此, 为了更快速、准确地识别复杂水体中的高风险DBPs, 可同时对水样进行化学分析和毒性测试. 针对DBPs的化学分析方法和毒性测试技术种类很多, 但将二者结合并高效地筛选高风险DBPs的方法研究尚不多见. 综上, 本文对近年来识别毒性DBPs的方法进行了总结, 主要包括消毒副产物的化学分析技术和毒性测试技术. 通过对这些方法的分析总结, 可为高风险消毒副产物(特别是非常规或未知毒性消毒副产物)的识别方法提供参考.

2 消毒副产物的化学分析方法

消毒后水体中消毒副产物的种类繁多, 其理化性质差异大, 针对不同性质的消毒副产物其检测和识别手段也存在差异. 常规消毒副产物如三卤甲烷(THMs)、卤乙酸(HAAs)等已经建立了标准检测方法. 例如, 针对THMs, 美国国家环境保护局已经建立了USEPA551.1和USEPA534.2等标准分析方法. 其中USEPA551.1采用液-液萃取浓缩富集THMs, 气相色谱电子捕获检测器分析, 该方法检测限(method detection limit)为0.002~0.055 $\mu\text{g/L}$ ^[7]. 除此之外, 检测三卤甲烷的方法还有很多, 如使用顶空固相微萃取与气相色谱联用、液相微萃取与气相色谱联用等方法减少萃取剂对环境的污染^[8~10]. 分析HAAs主要采取USEPA 552.1、552.2、552.3和6251B方法及其改进方法^[11~14], 该方法采用加入内标甲基叔丁基醚(MTBE)或甲基叔

戊基醚(TAME)作为萃取剂, 利用甲醇共热将HAAs衍生化为甲酯, 并通过气相色谱电子捕获检测器进行定性和定量分析, 该方法的检测限为0.012~0.27 $\mu\text{g/L}$ ^[13].

然而, 对于完全未知的消毒副产物, 其识别、分析难度很大, 所生成的消毒副产物类型往往随消毒条件和原水水质特征的不同而异. 未知消毒副产物的常用检测技术主要包括气相色谱-质谱联用(GC-MS)、液相色谱-质谱联用(LC-MS)、核磁共振(NMR)等. 从19世纪70年代早期开始, 质谱技术在饮用水质量分析中逐渐发挥关键作用. GC-MS作为最早用于消毒副产物的检测工具, 迄今为止大部分消毒副产物都是通过GC-MS进行识别. GC-MS适合分析低极性、挥发或半挥发性的消毒副产物, 如三卤甲烷、低极性溴代或碘代消毒副产物、部分含氮消毒副产物如亚酰胺类^[15,16]、卤代乙酰胺类^[17,18]等. Plewa等^[19]利用GC-MS获取分子离子和碎片离子信息, 推测出5种碘代酸(碘乙酸、溴代碘乙酸、(E)-2-碘-3-甲基-丁二酸、(Z)-和(E)-3-溴-3-碘-丙烯酸)的分子结构, 并利用购买的碘乙酸标准品和合成的碘代酸标准品证实了它们的分子结构. Nihemaiti等^[20]利用高分辨GC-MS分析间苯二酚经氯化氨处理后的产物, 发现500 μM 间苯二酚在pH=7条件下加入5.6 mM NH_2Cl 后不仅产生常见的含氮消毒副产物二氯乙腈(dichloroacetonitrile, DCAN)、二氯乙酰胺(dichloroacetamide, DCACAm)和三氯乙酰胺(trichloroacetamide, TCACAm), 还有6种产率很高的未知产物, 根据高分辨质谱提供的精确分子量推测出它们含有杂环结构.

虽然GC-MS是检测未知消毒副产物的有效手段^[21], 但该技术仍存在诸多不足: (1) 前处理过程较为复杂, 液液萃取或固相萃取时可能发生萃取剂溶出, 影响GC-MS的定性、定量检测结果; (2) 无法分析离子型化合物, 如溴离子、溴酸盐、pH高于 pK_a 值条件下的卤乙酸等. 对于这些离子型消毒副产物, 可借助离子色谱或电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)进行检测^[22]; (3) 对于强极性亲水性化合物的检测效果差, 强极性物质在运用GC-MS检测前往往需要对样品进行衍生化处理^[23]; (4) GC-MS更适合检测小分子化合物, 分子量高的消毒副产物挥发性变差难以准确检测等.

因此, 对于亲水性强或分子量不大不易挥发的消毒副产物, LC-MS的检测效果会更好. 例如, 对于近年来备受关注的个人护理品(PPCPs)和内分泌干扰物等, 它

们在水厂或者在游泳池中可能与消毒剂接触, 生成未知消毒副产物的分子量和极性往往较大, 采用LC-MS进行检测. Pereira等^[24]发现17 β -雌二醇和雌酮在臭氧消毒后生成了4种主要消毒副产物, 其结构通过超高效液相色谱与三重四极杆-飞行时间质谱联用技术(UPLC-QqQ-QTOF-MS)进行识别. 魏东斌等^[25]利用UPLC-QTOF-HRMS识别了二苯甲酮类防晒剂在次氯酸消毒体系中生成的10余种未见报道的消毒副产物, 发现氯化消毒处理中酮类化合物可能发生Baeyer-Villiger氧化生成酯类产物, 并发现该反应具有一定的普适性. 张相如等^[26]利用LC-MS的母离子检测模式可高效识别水体中的高极性含碘副产物, 同时模拟研究了烹饪过程中含碘消毒副产物的生成机制. 此外, 对于某些分子量小但极性高、不易挥发、易水解的化合物, 如极性碘代消毒副产物和卤代乙酰胺类化合物, 也可运用LC-MS检测识别^[27-29]. 由此可见LC-MS在未知消毒副产物的化学结构识别方面具有广阔的应用前景.

但另一方面, LC-MS的流动相和样品的基体效应也可能干扰痕量物质的检测, 因此有些情况下仍需要对待测样品进行衍生化^[30]、流动相优化等处理过程. 电喷雾高场不对称波形离子迁移谱-质谱联用(ESI-FAIMS-MS)可以让气态离子优先进入检测器检测, 避免了流动相和基体干扰效应, 且无需对痕量污染物进行富集. Sultan和Gabryelski^[31]利用FAIMS技术检测饮用水中的消毒副产物, 识别出29种非目标污染物, 并在饮用水中发现毒性消毒副产物——乙醇酸.

利用高分辨质谱获得的待测物精确分子量对于拟合其分子式具有重要作用, 结合二级质谱的碎片、同位素丰度等信息, 检索化学品库匹配可能的结构式, 是常用的识别未知消毒副产物结构式的方法. 若需确认消毒副产物的结构式, 往往还需要利用该化合物的标准样品作为对照或者从消毒后的水样中分离提纯该化合物, 进而利用NMR确认绝对构型. 例如, 邵兵等^[32]利用LC-QTOF-MS识别出双酚S在氯消毒过程中生成的22种消毒副产物, 其中含量较高的5种副产物经分离纯化后利用核磁共振的碳谱和氢谱确定了其绝对构型. 但实际研究中大部分未知消毒副产物很难得到标准品, 且消毒体系中副产物的含量很低, 难以分离出足够量的样品, 因此确认未知消毒副产物的结构仍面临很多挑战.

3 消毒副产物的毒性测试技术

随着研究的逐步深入, 消毒副产物对人体和生态环境的危害逐渐被发现, 研究者对消毒副产物所引起的问题越来越重视. 特别是近十年来, 消毒副产物的细胞毒性、遗传毒性、三致效应、内分泌干扰效应等得到了大量研究, 毒性测试技术也不断取得进步.

细胞毒性反映在消毒副产物作用下导致细胞膜溶解破裂或细胞活性下降的程度, 这些变化往往可通过对细胞进行染色或荧光信号的变化等予以观察, 由于操作简单, 细胞毒性测试被广泛用于研究消毒副产物毒性. 例如, 李杏放等^[33]利用人膀胱癌细胞株T24检测了饮用水中4种新型卤代苯醌类消毒副产物的细胞毒性, 发现2,6-二氯-1,4-苯醌、2,6-二氯-3-甲基-1,4-苯醌、2,3,6-三氯-1,4-苯醌、2,6-二溴-苯醌的半数抑制浓度IC₅₀值分别为95、110、151、142 μ M, 并且发现卤代苯醌类化合物在细胞内诱导产生活性氧造成细胞损伤. 魏东斌等^[34]利用发光菌增殖抑制急性毒性实验检测发现, pH=11时4-羟基二苯甲酮经氯化消毒后溶液急性毒性随氯剂量的增加呈明显上升趋势, 提示水体中残留的防晒剂——4-羟基二苯甲酮在环境过程中的潜在危害需引起重视.

由于基因毒性与致癌性密切相关, 遗传毒性实验也广泛用于评价消毒副产物的毒性特征. 常见的遗传毒性试验有反映DNA损伤/修复的彗星实验(也称单细胞凝胶电泳实验)和SOS/umu实验, 反应基因突变的Ames实验(也称鼠伤寒沙门氏菌实验, *Salmonella typhimurium* assay)以及表征染色体损伤的微核试验等. Ragazzo等^[35]利用*Salmonella typhimurium*细胞的Ames实验结合人体肝脏肿瘤细胞株HepG2的微核试验和彗星实验检测用新型消毒剂过氧甲酸进行消毒处理的市政污水中消毒副产物的遗传毒性, 并用洋葱根尖细胞(*Allium cepa* root cells)检验消毒出水的致突变性, 结果发现过氧甲酸消毒不会导致毒性上升. Muellner等^[36]利用中华仓鼠卵巢癌细胞(Chinese hamster ovary, CHO)的单细胞凝胶电泳实验测试了7种卤代乙腈的遗传毒性和慢性细胞毒性, 并将这些实验数据与已报道的CHO毒性结果进行对比, 发现碘代和溴代卤乙腈是其中慢性细胞毒性最高的消毒副产物, 且卤代硝基甲烷和卤乙腈的遗传毒性相当.

在评价消毒副产物的毒性特别是三致效应时, 除

了采取生物实验手段, 还可以利用基于毒性模型的计算方法, 如定量结构效应关系(quantitative structure-activity relationship, QSAR)、混合物致癌参考剂量/浓度或致癌斜率因子效应叠加法(mixture of concern RfD/C or the response additivity of cancer slope factor approach, 美国环保局推荐使用)和伤残调整生命年分析法(disability-adjusted life years, DALYs, 世界卫生组织推荐使用)^[37]等。在化学品分类和毒性预测方面, QSAR发挥重要作用。张相如等^[38]利用*dumerilii*沙蚕测试了新型芳香族消毒副产物的发育毒性, 并通过QSAR拟合出消毒副产物的 $\log P$ (辛醇-水分配系数, 反映污染物进入细胞的难易程度)、 $E_{LUMO}-E_{HOMO}$ (亲电或亲核性)和 pK_a (离子化程度)等参数与其毒性结果 EC_{50} 之间的相关关系, 从实验和理论上证实了芳香族DBPs的发育毒性比脂肪族DBPs更强。有研究者运用三卤甲烷的癌症斜率因子(cancer slope factor)方法评价了某自来水厂出水中各种三卤甲烷致癌风险, 发现虽然水中二溴甲烷的含量远低于三氯甲烷($p=0.01$), 但二者的致癌风险相差无几($p=0.58$), 表明溴代消毒副产物更应受到重视^[39]。Chowdhury等^[40]利用伤残调整生命年(DALYs)方法评估了沙特阿拉伯某脱盐水厂中三卤甲烷的致癌风险, 发现三卤甲烷平均DALY为每年25.1, 为挽回生命年造成的损失, 沙特阿拉伯每年将增加272万美元的财政负担, 因此要求改进脱盐水厂的工艺以减少消毒副产物的生成。

近年来消毒副产物所引起的内分泌干扰性、发育毒性、生殖毒性、神经毒性等负面生物效应也越来越受到关注。通过大鼠雌激素受体实验, 胡洪营等^[41]发现污水处理厂二级出水中疏水性酸和亲水性物质如腐殖酸经氯化消毒处理后抗雌激素活性上升, 且溴的存在($\geq 1 \text{ mg/L}$)促进了毒性升高($p<0.05$)。Narotsky等^[42]将妊娠期的F344大鼠分别暴露4种三卤甲烷的混合物(三氯甲烷、溴代二氯甲烷、氯代二溴甲烷、三溴甲烷, THM4)、5种卤乙酸的混合物(氯乙酸、二氯乙酸、三氯乙酸、溴乙酸、二溴乙酸, HAA5)及这9种消毒副产物的混合物(DBP9), 结果表明这3组混合物在暴露剂量 $\geq 613 \mu\text{mol/kg/d}$ 时都可能导致F344大鼠妊娠丢失, 存活的幼崽在HAA5暴露剂量 $\geq 308 \mu\text{mol/kg/d}$ 时会发生眼部发育畸形。也有报道显示二氯乙酸(DCA)和二溴乙酸(DBA)对人体和实验动物具有神经毒性^[43,44]。DBA可导致F344大鼠液体摄入量减少(从

17~21 mL/d下降至13.6 mL/d)、体重下降(从163.7~269.4 g下降至151.0~246.4 g)、腹泻、四肢无力、肌张力减退、感觉运动神经衰退、毛发脱落等症状, 解剖观察大鼠的神经系统, 发现暴露组大鼠的脊髓神经纤维发生退化, 脊髓灰质和白质发生了一定程度的细胞液泡化^[43]。

考虑到生物实验的“3R”原则, 多数消毒副产物的毒性评价采用体外细胞或组织实验, 既降低了实验操作的复杂性、节约了成本, 也使得大量消毒后样品的毒性测试评价成为可能。然而, 在某些研究消毒副产物的复杂代谢过程和生物可利用性时, 需借助体内动物实验。任洪强等^[45]利用代谢组学结合组织病理学和氧化应激分析等手段, 研究发现溴代乙腈(BANs)和卤代乙酰胺(HAcAms)会对小鼠的氨基酸、能量和脂质代谢造成干扰。Narotsky等^[46]发现氯消毒和臭氧/预氯化处理后的水样对Sprague-Dawley大鼠无显著的发育毒性。Knight等^[47]研究污水经氯消毒后对丰年虾(*Artemia franciscana*)的致死率和孵化率影响时发现, 虽然多数消毒后的水对丰年虾没有影响, 但部分水样对其孵化抑制率很高($IC_{50}=70\%$), 这可能与该水厂原水中某些有机物经过UV消毒后生成的高毒性消毒副产物有关。

流行病学调查也常用来研究消毒副产物对人体健康的负面影响。除了饮水, 人体摄入消毒副产物的途径还有经口鼻吸入和经皮肤摄入等。此外, 居民摄食和饮用的水往往经过加热、煮沸、过滤等处理, 这些过程中许多消毒副产物可能发生迁移、转化^[48]。以往的流行病学调查往往忽略了这些因素的影响^[49-51]。一项针对美国新英格兰地区居民经不同途径(游泳、淋浴、饮用)暴露三卤甲烷与膀胱癌发病率的流行病学调查结果表明, 膀胱癌发病率与总三卤甲烷(日均饮用摄入低暴露量组: TTHM, OR=1.53, 95%CI: 1.01, 2.32, p -trend=0.16; 积累饮用摄入暴露组: OR=1.45, 95%CI: 0.95, 2.2, p -trend=0.13; 淋浴高暴露组: OR=1.43, 95%CI: 0.80, 2.42, p -trend=0.10)和溴代三卤甲烷(日均饮用摄入低暴露量组: OR=1.98, 95%CI: 1.19, 3.29, p -trend=0.03; 积累饮用摄入暴露组: OR=1.78, 95%CI: 1.05, 3.00, p -trend=0.02)的含量之间存在显著的相关关系, 但与游泳时间(OR=0.94, 95%CI: 0.55, 1.59, p -trend=0.09)几乎没有关系^[52]。

4 毒性效应引导的消毒副产物的识别方法

虽然消毒副产物对人体的不良影响有很多种,但并不是所有的消毒副产物都具有毒性或者毒性比母体更高。例如,孙凤^[53]发现微囊藻毒素(MCs)在氯消毒处理中很难完全去除,且生成的主要消毒副产物结构中仍保留MCs的毒性官能团。他采用固相萃取、制备色谱等方法分离出几种主要消毒副产物,测试其对蛋白磷酸酶的抑制作用,发现副产物的毒性均低于母体MCs。由此可见,在评价含有众多消毒副产物的水样对人体和环境的影响、优化水处理工艺、削减出水毒性等理论研究和工程实践中,有选择性地识别出其中毒性强、风险高的关键消毒副产物尤为重要。Wagner等^[54]总结了超过100种消毒副产物对中华仓鼠卵巢癌细胞CHO的细胞毒性和遗传毒性数据,发现各国现行饮用水标准中规定的三卤甲烷、三卤乙酸、亚硝胺等并不能完全代表饮用水中消毒副产物的潜在危害,很多新型的消毒副产物如卤乙腈、卤代硝基甲烷、卤乙醛等副产物即使低剂量暴露也能表现出很高的毒性效应^[55]。因此,采用传统的单一消毒副产物作为指标难以准确反映消毒副产物对环境、人体的影响。

随着消毒技术的研发和越来越多新化学品的使用,水体消毒过程中生成的消毒副产物种类更多,往往无法预测。目前对水体中未知污染物识别的常用方法是非目标分析(non-target analysis),首先运用色谱-高分辨质谱联用技术识别出主要组分的分子组成,然后对其中含量较高的化合物进行分离或购买标准品,用于确认其分子结构、测试毒性效应。例如, Liberatore等^[56]对页岩气和常规天然气工业废水经氯氨消毒处理后碘代消毒副产物的生成特征进行了研究。首先运用GC-MS识别出56种碘代酚类消毒副产物(11种副产物的分子结构经购买标准品进行了确认),发现了两种新型消毒副产物碘代甲基苯酚和碘代二甲基苯酚;然后利用CHO细胞测试了其中4种碘代消毒副产物(2-碘代苯酚、4-碘代苯酚、2,4,6-三碘代苯酚和4-碘代-2-甲基苯酚)的细胞毒性,毒性顺序为2,4,6-三碘代苯酚>4-碘代-2-甲基苯酚>4-碘代苯酚>2-碘代苯酚。该研究虽然探讨了页岩气和天然气工业废水在氯胺消毒过程中的副产物生成特征,但对新型碘代副产物的风险并未进行全面评价,所测试的4种碘代消毒副产物的毒性能否代表消毒处理后水样的毒性特征尚不清楚,对

于水处理中消毒副产物及其前驱物的精准去除指导价值不大。

水体中消毒副产物种类多、含量低,若对每种消毒副产物进行分离、识别、评价毒性,需要花费大量的人力、物力和财力。况且对于大量非常规消毒副产物和未知消毒副产物而言,只有很小一部分有可能获得标准品,因此要确定每种副产物的毒性非常困难。事实上,环境污染物中的毒性物质甄别过程也存在类似问题,欧盟颁布的效应引导分析程序(EDA)能够科学准确地评价复杂环境样品中污染物的毒性与风险,识别出其中的关键致毒污染物^[57]。该程序首先对待测样本进行毒性筛选,如果毒性效应弱,无需花费大量的人力物力进行甄别。因此,EDA对筛选毒性消毒副产物具有一定的指导作用。

虽然消毒副产物与传统污染物在结构解析和毒性测试手段上相似,但是EDA的程序并不能完全适用于消毒副产物的研究,因为消毒副产物与传统污染物存在一定的区别,主要表现在:(1)传统污染物往往可获得标准品,而消毒副产物除了常见的几种如三卤甲烷、卤乙酸等之外,许多未知消毒副产物商业不可得甚至是首次发现,无法获得标准品确认其分子结构;(2)消毒副产物的生成、分布是一个动态过程,随着消毒剂量、pH、消毒时间的变化而存在较大差异,而传统污染物的分布是一个相对静态的过程,其在分析检测过程中变化甚微。这些不同导致了筛选环境中关键毒性物质^[58]和识别毒性消毒副产物的过程中,所采取的分离和识别手段等方面均存在较大差异。Houtman等^[59]在识别鲤鱼体内影响其雌激素活性的主要污染物时,借助高效液相色谱(HPLC)将鲤鱼胆汁的提取物分为10个馏分,分别对每个馏分进行雌激素活性测试和化学组成分析,最终发现17 β -雌二醇、雌三醇和雌酮是雄性鲤鱼胆汁中的主要雌激素活性物质。该分析过程中样品的组成几乎不发生变化,而且待分析物的标准品很容易获得。胡建英等^[60]在研究17 β -雌二醇为前驱物的氯化消毒副产物时,通过ESI-LC/MS识别出7种主要产物,并通过比较次氯酸与雌二醇不同反应时间段反应液的雌激素活性,发现反应60 min时消毒副产物的毒性比反应120 min时的更高,由于无法将母体及消毒副产物完全分离,因此通过化学合成制备出其中的4种产物4-氯-E2、2,4-二氯-E1、2,4-二氯-E2和产物C。根据这4种产物的剂量效应关系结合LC/MS

定量检测结果, 最后确定2,4-二氯-E1和2,4-二氯-E2是反应时间为120和180 min产生的消毒副产物中主要的雌激素活性物质。

考虑到水体消毒过程的复杂性和消毒副产物动态生成的特点, 识别水体中高毒性未知消毒副产物时, 建议采用毒性效应引导的识别方法. 主要分为以下5个步骤(图1)。

(1) 初步筛选. 在对消毒副产物进行分析识别之前, 先对消毒前后水样进行毒性筛查, 如果消毒处理后毒性降低到一个较低的水平, 中止识别程序. 例如, 在一项关于再生水对环境影响的研究中发现养猪场废水和污水处理厂二级出水浓缩液经臭氧消毒后细胞毒性分别降低为原来的6%和42%^[61]. 因此, 这种情况下消耗大量的人力物力识别可能的消毒副产物没有任何意义. 相反, 如果毒性筛查结果发现消毒处理后水样的

毒性显著升高, 则需要进一步识别高毒性副产物。

(2) 毒性测试. 对于初步毒性筛查发现消毒后毒性显著升高的水样, 分别测试在不同消毒条件下(如pH、温度、反应时间、消毒剂用量和母体剂量等)水样的毒性变化情况, 毒性终点可以根据母体和可能的消毒副产物的毒性特征做出选择。

(3) 高毒性消毒副产物识别. 对比各种不同消毒条件下水样的毒性特征, 重点关注其中毒性较高的几种情况, 识别这些毒性较高的样品中可能的消毒副产物及其分子结构, 并运用化学反应原理推导可能的生成机理。

(4) 高毒性消毒副产物确认. 为了进一步确认消毒副产物的分子结构, 往往需要从消毒后的样品中分离富集目标化合物, 或者运用化学合成手段制备目标化合物, 或者购买目标化合物的标准品. 一方面通过比

图1 毒性效应引导的高风险消毒副产物识别程序(网络版彩图)

Figure 1 Process of toxicity-directed identification of DBPs with high risk (color online).

对目标化合物与消毒溶液中副产物的色谱信息、质谱信息、核磁共振谱信息等, 确认消毒副产物的分子结构; 另一方面, 对这些目标化合物进行毒性测试获得其剂量-效应关系、构效关系或生物数据(作用靶点和通路关系), 进一步证实消毒副产物的毒性特征。

(5) 高毒性消毒副产物的精准削减. 在确认了高毒性消毒副产物的分子结构、明晰了其生成机制后, 针对前驱物的性质和消毒副产物的生成特征, 通过优化消毒处理技术和工艺参数, 实现对消毒副产物及其前驱物的精准控制, 减少毒性消毒副产物的生成, 降低消毒后水体的毒性, 削减消毒副产物的潜在风险。

实际水体消毒前后物质变化非常复杂, 往往需要借助分离能力更强的分析手段. 王东红等^[62]利用全二维气相色谱-质谱联用技术分析了连云港市三家自来水厂的原水和消毒后物质变化情况, 根据3个条件(化合物具有卤代基团; 正向匹配度600以上, 反向匹配度700以上; 已有文献报道的消毒副产物)筛选出已有文献报道的4类共10种新型消毒副产物, 结合这些消毒副产物对CHO细胞的遗传毒性和慢性细胞毒性数据, 发现HAcAms和HANs为3个水厂中主要的毒性消毒副产物, 而且3个水厂的消毒副产物含量对比表明臭氧活性碳工艺对于卤代DBPs的生成有很好的控制效果. 该研究完成了对实际水样中未知消毒副产物的非目标分析并对检出的消毒副产物进行了风险评价, 为水厂处理工艺的选择提供参考. 然而, 该方法在确定某化合物是否为消毒副产物时具有一定的局限性. 例如, 由于消毒副产物成分复杂, 筛选的3个条件可能遗漏部分消毒副产物. 虽然该团队后续研究中发现原水样经3种不同消毒方式(氯、氯氨、臭氧)处理时生成了170种消毒副产物, 并结合QSAR方法评价了潜在的健康风险^[63]. 该研究未直接测试水样的生物毒性, 而采用典型消毒副产物的毒性数据对其健康风险进行了半定量评价, 该结果可能与水样的实际风险存在一定偏差. 为了更准确高效地筛选消毒水样中的高风险消毒副产物, 可以利用毒性效应引导的消毒副产物识别方法, 先通过生物实验测试水体的毒性变化, 然后利用色谱-质谱联用技术识别可能的化合物, 有的放矢地进行结构解析。

魏东斌研究组^[64]正是基于这一理念, 在毒性效应引导下开展了一系列二苯甲酮类防晒剂在氯化消毒处理中的转化特征研究. 首先, 筛查了14种常见二苯甲酮

类化合物在氯化消毒前后急性毒性的变化, 发现BP-4 (2-hydroxy-4-methoxybenzophenone-5-sulfonic acid)的急性毒性在氯化消毒后明显上升, 继而深入探讨了BP-4在多个氯化消毒条件下毒性特征的变化, 发现随着氯投加剂量的上升, 反应溶液的遗传毒性先升高后降低. 借助超高效液相色谱-高分辨飞行时间质谱从消毒处理样品中识别出16种主要消毒副产物, 其中12种为首次报道. 通过比对消毒后溶液的毒性和消毒副产物的分布, 发现副产物3-氯代-BP-4的浓度与毒性变化趋势一致. 进一步从消毒体系中分离制备出3-氯代-BP-4, 运用核磁共振手段确认了其分子结构, 并对其毒性进行了测试, 发现其毒性是母体BP-4毒性的3倍^[25]. 这种毒性效应引导的消毒副产物识别方法在很大程度上节省了识别未知消毒副产物的时间, 而且结合毒性实验识别高风险消毒副产物的准确性大大提高。

事实上, 该程序并不局限于高风险消毒副产物的分析评价, 依据消毒副产物的毒性特征, 同样适用于消毒副产物毒性代谢机理的研究和其他水处理过程的评价与调控. 例如, van Veldhoven等^[65]检测了水样、60名志愿者游泳40 min前后呼气中常见消毒副产物的浓度, 并采集了这些志愿者游泳前后2 h的血样, 利用LC-MS分析血样中代谢物的变化情况. 血样中检出6471种代谢产物特征峰, 其中只有293种与呼气中消毒副产物的暴露有相关性, 如果对所有的代谢特征峰进行识别工作量明显过大, 因此选择这293种特征峰进行进一步分析并成功识别出其中20个峰代表的13种代谢物, 最后发现消毒副产物可能影响人体的色氨酸代谢等过程。

5 结论与展望

虽然应用毒性效应引导消毒副产物的识别程序可以提高识别消毒后水体中的高风险消毒副产物的准确性和效率, 但在实际应用中仍有不足, 如利用某种毒性测试手段、测试终点初筛判断消毒副产物不具有毒性, 但随着毒性测试技术的发展、毒性测试终点的不同, 可能会发现消毒副产物具有其他方面的毒性效应. 即使是流行病学调查, 也仅调查人体某种生理功能异常与消毒副产物的暴露关系. 此外, 目前许多消毒副产物的分子结构仍然很难确认, 对消毒副产物的分离分析技术仍有待进一步发展. 但不可否认的是, 毒理

学测试和计算毒理在消毒副产物研究中的应用越来越广泛, 发挥着越来越重要的作用, 毒性效应引导的消毒

副产物研究方法将会得到更广泛的应用, 为水消毒处理过程中的毒性控制和削减提供更多的信息和指导。

参考文献

- 1 Rook JJ. *Water Treat Exam*, 1974, 66: 703–706
- 2 National Toxicology P. Report on the Carcinogenesis Bioassay of Chloroform. *National Cancer Institute Carcinogenesis Technical Report Series*. 1976
- 3 Richardson SD. *The Encyclopedia of Environmental Analysis and Remediation*. New York: Wiley, 1998
- 4 Boorman GA, Dellarco V, Dunnick JK. *Environ Health Perspect*, 1999, 107: 207–217
- 5 Richardson SD, Thruston Jr. AD, Krasner SW, Weinberg HS, Miltner RJ, Schenck KM, Narotsky MG, McKague AB, Simmons JE. *J Toxicol Environ Health Part A*, 2008, 71: 1165–1186
- 6 Krasner SW, Weinberg HS, Richardson SD, Pastor SJ, Chinn R, Scilimenti MJ, Onstad GD, Thruston AD. *Environ Sci Technol*, 2006, 40: 7175–7185
- 7 Environmental Protection Agency (EPA Method 551.1). Determination of Chlorination Disinfection Byproducts, Chlorinated Solvents, and Halogenated Pesticides/Herbicides in Drinking Water by Liquid-Liquid Extraction and Gas Chromatography with Electron-Capture Detection
- 8 Liu ZM. Analysis of disinfection by-products in drinking water by LC-MS/MS. *Dissertation for Master Degree*. Beijing: Beijing University of Chemical Technology, 2013 (in Chinese) [刘赞明. LC-MS/MS在消毒副产物分析中的应用. 硕士学位论文. 北京: 北京化工大学, 2013]
- 9 Antoniou CV, Koukouraki EE, Diamadopoulos E. *J Chromatogr A*, 2006, 1132: 310–314
- 10 Vora-adisak N, Varanusupakul P. *J Chromatogr A*, 2006, 1121: 236–241
- 11 American Public Health Association (APHA Method 6251B). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 21th
- 12 Environmental Protection Agency (EPA Method 552.2). Determination of Haloacetic Acids and Dalapon in Drinking Water by Liquid-Liquid Extraction, Derivatization and Gas Chromatography with Electron Capture Detection
- 13 Environmental Protection Agency (EPA Method 552.3). Determination of Haloacetic Acids and Dalapon in Drinking Water by Liquid-Liquid Microextraction, Derivatization, and Gas Chromatography with Electron Capture Detection
- 14 Environmental Protection Agency (EPA Method 552.1). Determination of Haloacetic Acids and Dalapon in Drinking Water by Ion-Exchange Liquid-Solid Extraction and Gas Chromatography with an Electron Capture Detector
- 15 McDonald JA, Harden NB, Nghiem LD, Khan SJ. *Talanta*, 2012, 99: 146–154
- 16 Zhang H, Ren S, Yu J, Yang M. *J Environ Sci*, 2012, 24: 1885–1890
- 17 Le Roux J, Nihemaiti M, Croué JP. *Water Res*, 2016, 88: 371–379
- 18 Zhang N, Liu C, Qi F, Xu B. *RSC Adv*, 2017, 7: 7679–7687
- 19 Plewa MJ, Wagner ED, Richardson SD, Thruston AD, Woo YT, McKague AB. *Environ Sci Technol*, 2004, 38: 4713–4722
- 20 Nihemaiti M, Le Roux J, Hoppe-Jones C, Reckhow DA, Croué JP. *Environ Sci Technol*, 2017, 51: 655–663
- 21 Richardson SD. *J Environ Monitor*, 2002, 4: 1–9
- 22 Heffner C, Silwal I, Peckenham JM, Solouki T. *Environ Sci Technol*, 2007, 41: 5419–5425
- 23 Vincenti M, Fasano F, Valsania MC, Guarda P, Richardson SD. *Anal Bioanal Chem*, 2010, 397: 43–54
- 24 Pereira RO, de Alda ML, Joglar J, Daniel LA, Barceló D. *Chemosphere*, 2011, 84: 1535–1541
- 25 Xiao M, Wei D, Yin J, Wei G, Du Y. *Water Res*, 2013, 47: 6223–6233
- 26 Pan Y, Zhang X, Li Y. *Water Res*, 2016, 88: 60–68
- 27 Wang AQ, Lin YL, Xu B, Hu CY, Zhang MS, Xia SJ, Zhang TY, Chu WH, Gao NY. *Sci Total Environ*, 2018, 615: 38–46
- 28 Chai Q, Zhang S, Wang X, Yang H, Xie YF. *J Hazard Mater*, 2017, 324: 626–633
- 29 Pan Y, Li W, An H, Cui H, Wang Y. *Chemosphere*, 2016, 144: 2312–2320
- 30 Richardson SD, Caughran TV, Poiger T, Guo Y, Crumley FG. *Ozone-Sci Eng*, 2000, 22: 653–675
- 31 Sultan J, Gabryelski W. *Anal Chem*, 2006, 78: 2905–2917
- 32 Zheng S, Shi J, Zhang J, Yang Y, Hu J, Shao B. *Water Res*, 2018, 132: 167–176

- 33 Du H, Li J, Moe B, McGuigan CF, Shen S, Li XF. *Environ Sci Technol*, 2013, 47: 2823–2830
- 34 Liu W, Wei D, Liu Q, Du Y. *Chemosphere*, 2016, 154: 491–498
- 35 Ragazzo P, Feretti D, Monarca S, Dominici L, Ceretti E, Viola G, Piccolo V, Chiucchini N, Villarini M. *Water Res*, 2017, 116: 44–52
- 36 Muellner MG, Wagner ED, McCalla K, Richardson SD, Woo YT, Plewa MJ. *Environ Sci Technol*, 2007, 41: 645–651
- 37 Shen HB, Yu SZ. *Modern Prev Med*, 1999, 1: 68–70 (in Chinese) [沈洪兵, 俞顺章. 现代预防医学, 1999, 1: 68–70]
- 38 Yang M, Zhang X. *Environ Sci Technol*, 2013, 47: 10868–10876
- 39 Wang Y, Small MJ, VanBriesen JM. *J Environ Eng*, 2017, 143: 04016089
- 40 Chowdhury S, Chowdhury IR, Zahir MH. *Human Ecol Risk Assess*, 2018, 24: 26–48
- 41 Wu QY, Tang X, Huang H, Li Y, Hu HY, Ding YN, Shao YR. *J Hazard Mater*, 2014, 273: 280–286
- 42 Narotsky MG, Best DS, McDonald A, Godin EA, Hunter Iii ES, Simmons JE. *Reproduc Toxicol*, 2011, 31: 59–65
- 43 Moser VC, Phillips PM, Levine AB, McDaniel KL, Sills RC, Jortner BS, Butt MT. *Toxicol Sci*, 2004, 79: 112–122
- 44 Stacpoole P, Harwood HJ, Cameron DF. *Fundamental Appl Toxicol*, 1990, 14: 327–337
- 45 Deng Y, Zhang Y, Zhang R, Wu B, Ding L, Xu K, Ren H. *Environ Sci Technol*, 2014, 48: 8212–8218
- 46 Narotsky MG, Best DS, Rogers EH, McDonald A, Sey YM, Simmons JE. *J Toxicol Environ Health Part A*, 2008, 71: 1216–1221
- 47 Watson K, Shaw G, Leusch FDL, Knight NL. *Water Res*, 2012, 46: 6069–6083
- 48 Krasner SW, Wright JM. *Water Res*, 2005, 39: 855–864
- 49 Nieuwenhuijsen MJ, Toledano MB, Eaton NE. *Occupat Environ Med*, 2000, 57: 73–85
- 50 Villanueva CM, Cantor KP, Grimalt JO, Malats N, Silverman D, Tardon A, Garcia-Closas R, Serra C, Carrato A, Castaño-Vinyals G, Marcos R, Rothman N, Real FX, Dosemeci M, Kogevinas M. *Am J Epidemiol*, 2007, 165: 148–156
- 51 Egorov AI, Tereschenko AA, Altshul LM, Vartiainen T, Samsonov D, LaBrecque B, Mäki-Paakkanen J, Drizhd NL, Ford TE. *Int J Hygiene Environ Health*, 2003, 206: 539–551
- 52 Freeman LEB, Cantor KP, Baris D, Nuckols JR, Johnson A, Colt JS, Schwenn M, Ward MH, Lubin JH, Waddell R, Hosain GM, Paulu C, McCoy R, Moore LE, Huang AT, Rothman N, Karagas MR, Silverman DT. *Environ Health Perspec*, 2017, 125: 67010
- 53 Sun F. Optimization of the removal technology for microcystin pollution in drinking water treatment processes. *Dissertation for the Doctoral Degree*. Jinan: Shandong University, 2013 (in Chinese) [孙凤. 饮用水处理工艺中微囊藻毒素污染调控技术的优化研究. 博士学位论文. 济南: 山东大学, 2013]
- 54 Wagner ED, Plewa MJ. *J Environ Sci*, 2017, 58: 64–76
- 55 Li XF, Mitch WA. *Environ Sci Technol*, 2018, 52: 1681–1689
- 56 Liberatore HK, Plewa MJ, Wagner ED, VanBriesen JM, Burnett DB, Cizmas LH, Richardson SD. *Environ Sci Technol Lett*, 2017, 4: 475–480
- 57 Burgess RM, Ho KT, Brack W, Lamoree M. *Environ Toxicol Chem*, 2013, 32: 1935–1945
- 58 Li Y, Yang M, Zhang X, Jiang J, Liu J, Yau CF, Graham NJD, Li X. *Water Res*, 2017, 108: 339–347
- 59 Houtman CJ, van Oostveen AM, Brouwer A, Lamoree MH, Legler J. *Environ Sci Technol*, 2004, 38: 6415–6423
- 60 Hu J, Cheng S, Aizawa T, Terao Y, Kunikane S. *Environ Sci Technol*, 2003, 37: 5665–5670
- 61 Dong S, Lu J, Plewa MJ, Nguyen TH. *Environ Sci Technol*, 2016, 50: 11752–11759
- 62 Li C, Wang D, Li N, Luo Q, Xu X, Wang Z. *Chemosphere*, 2016, 163: 535–543
- 63 Song HW. A non-target analysis method based on comprehensive two-dimensional gas chromatography. *Dissertation for Master Degree*. Beijing: Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, 2013 (in Chinese) [宋瀚文. 全二维色谱非目标筛查方法研究. 硕士学位论文. 北京: 中国科学院生态环境研究中心, 2013]
- 64 Liu Q, Chen Z, Wei D, Du Y. *J Environ Sci*, 2014, 26: 440–447
- 65 van Veldhoven K, Keski-Rahkonen P, Barupal DK, Villanueva CM, Font-Ribera L, Scalbert A, Bodinier B, Grimalt JO, Zwiener C, Vlaanderen J, Portengen L, Vermeulen R, Vineis P, Chadeau-Hyam M, Kogevinas M. *Environ Int*, 2018, 111: 60–70

Toxicity-directed identification of disinfection by-products with high risk

Miao Chen^{1,2}, Dongbin Wei^{1,2*}, Yuguo Du^{1,2}

¹ State Key Laboratory of Environmental Chemistry and Ecotoxicology, Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China

² University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

*Corresponding author (email: weidb@rcees.ac.cn)

Abstract: Disinfection unit in water treatment process can effectively prevent the spread of water-borne diseases. However, disinfection by-products (DBPs) may cause adverse effects on human health and ecological security. The species number of DBPs are large, and properties and concentrations of DBPs are quite different. Among them, those DBPs with high risk should be identified and controlled effectively. The exposure dose and toxicity effects are two important factors for screening DBPs with high risk. Lots of current studies on DBPs focused on the identification of unknown DBPs, while the aimless identification was usually low efficiency on screening DBPs with high risk. Toxicity-directed identification of DBPs with high risk is an innovative method, and in which the toxicity assay plays a key role. According to this method, firstly researchers can screen out the components containing highly toxic DBPs, and then purposively identify the specific molecular structure of DBPs with high risk. The toxicity-directed method is helpful to efficiently identify DBPs with high risk. This review briefly summarizes the methods of identify the molecular structure and toxicity assay of DBPs, and introduces the characteristics and procedures of this method, which may provide reference for controlling water quality after disinfection treatment.

Keywords: disinfection by-products, toxicity tests, identification of products with high risk

doi: [10.1360/N032018-00094](https://doi.org/10.1360/N032018-00094)