

茶和咖啡泡制产生卤代消毒副产物的超高效液相色谱- 高分辨质谱非靶向分析

梁语韬¹ 祝亦哲¹ 郑锐芬¹ 陈光仕² 唐才明^{*1,2}

¹(东莞理工学院生态环境工程技术研发中心, 东莞 523808)

²(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)

摘 要 自来水中的余氯在茶和咖啡泡制过程中易与有机物反应产生大量卤代消毒副产物(HDBPs), 对人体健康具有潜在的影响。本研究利用超高效液相色谱-高分辨质谱建立了非靶向分析茶和咖啡泡制过程中产生的 HDBPs 的方法。样品经过滤和加入同位素内标后进行仪器分析。色谱流动相为 2 mmol/L 乙酸铵溶液和乙腈, 采用梯度洗脱, 选择全扫描和数据依赖采集模式在负电喷雾离子源模式下进行高分辨质谱检测。数据导出后结合精确母离子质荷比、氯取代反应特点和同位素分布等信息筛查出 82 种 HDBPs, 其中 59 种含 1 个 Cl 原子, 15 种含 2 个 Cl 原子, 8 种含 3 个 Cl 原子。根据二级碎片离子、质谱裂解途径以及色谱保留时间对 8 种疑似儿茶素类 HDBPs 进行分析, 结果表明, 其前体物分别为儿茶素、没食子儿茶素、儿茶素没食子酸酯和没食子儿茶素没食子酸酯。计算毒理学预测结果表明儿茶素类 HDBPs 具有潜在的健康危害。采用同位素内标对自来水泡制样品中的 82 种 HDBPs 进行半定量分析, 其半定量浓度分别为 0.40~1897 $\mu\text{g/L}$ (红茶)、0.48~1157 $\mu\text{g/L}$ (绿茶)、0.54~1168 $\mu\text{g/L}$ (乌龙茶)、3.17~603.0 $\mu\text{g/L}$ (挂耳咖啡)、1.32~138.0 $\mu\text{g/L}$ (胶囊咖啡) 和 2.04~584.1 $\mu\text{g/L}$ (速溶咖啡)。本研究建立的非靶向分析方法无需复杂的样品前处理步骤, 能快速筛查鉴定 HDBPs 及其前体物, 可为 HDBPs 监控提供可行且可靠的分析技术。

关键词 茶; 咖啡; 卤代消毒副产物; 超高效液相色谱-高分辨质谱; 非靶向分析

自来水供水管网中需保持一定浓度的余氯以抑制微生物繁殖^[1]。为了弥补自来水长距离输送造成的余氯损失, 自来水出厂前会添加大量氯消毒剂或在管网节点二次加氯^[2], 这可能导致居民使用的自来水余氯浓度过高^[3]。通过简单煮沸处理无法完全去除自来水中的余氯, 残留的余氯不仅影响水质口感, 还易与有机物反应生成卤代消毒副产物(HDBPs)^[4-8]。HDBPs 普遍具有遗传毒性和细胞毒性, 长期摄入可能诱发膀胱癌和结直肠癌等多种疾病^[9-10]。

茶和咖啡富含茶多酚、生物碱和氨基酸等有机物, 适量饮用对于人体抗氧化、抗炎、防癌和调节脂质代谢方面有着良好功效^[11-14]。茶和咖啡深受消费者青睐, 因而确保其饮用安全非常重要。茶和咖啡的泡制必须使用水, 而自来水中的余氯可与茶和咖啡中的有机物反应生成 HDBPs, 人体摄入后可能产生不良影响^[15]。Lou 等^[16]研究发现, 茶泡制过程中茶多酚与余氯反应生成各种卤代醌类 DBPs。Zarrelli 等^[17]发现咖啡因氯化后生成含氯副产物。生活中, 由于泡制时间较短, 生成的 HDBPs 主要以中间体形式存在, 通过检测三卤甲烷等小分子 HDBPs 不足以详细描述 HDBPs 的存在情况。茶和咖啡的种类及泡制方式的不同也影响 HDBPs 的分布^[18]。迄今为止, 鲜有针对茶和咖啡泡制过程中产生未知 HDBPs 的筛查分析报道, 其存在状况尚不明确, 因此值得对其进行筛查分析研究。

茶和咖啡中成分复杂的有机物经过泡制产生的 HDBPs 不仅数量庞大, 并且多数未纳入现有质谱数据库, 难以通过质谱数据库鉴别。利用非靶向分析方法对未知 HDBPs 进行筛查鉴定具有巨大的应用潜力^[19-20], 可识别茶汤中同时存在的 HDBPs 及其前体物^[21]。目前大部分非靶向分析方法具有一定的特异性^[22], 可以根据需求筛查大量 HDBPs, 这种分析方法通常聚焦于 HDBPs 筛查^[23], 在此基础上增加对前体

2022-12-15 收稿; 2023-03-30 接受

广东省基础与应用基础研究基金项目(Nos. 2021B1515140019, 2022A1515140049)和国家自然科学基金项目(No. 41603092)资助。

* E-mail: CaimingTang@dgut.edu.cn

物的识别将有助于判断 HDBPs 的大致结构。

本研究利用超高效液相色谱-高分辨质谱,结合 HDBPs 生成特点、精确质荷比、同位素分布及色谱保留时间,采用非靶向筛查鉴定茶和咖啡泡制过程中产生的 HDBPs 并推测其前体物,分析部分 HDBPs 的特征碎片离子和质谱裂解规律,推测了其可能的反应路径。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

U300RSLC 超高效液相色谱、Q Exactive Focus 四极杆静电场轨道阱高分辨质谱仪(美国 Thermo Fisher 公司); DGB-403F 型便携式余氯/总氯/二氧化氯测定仪(上海仪电科学股份有限公司); VM-300 型漩涡混匀仪(群安仪器实验有限公司); ME2002E 型电子分析天平(上海梅特勒-托利多有限公司)。

次氯酸钠溶液(分析纯,有效氯 $\geq 8\%$,天津大茂化工有限公司); 二氧化氯消毒剂(片剂,临朐华威生物科技有限公司); 硫代硫酸钠(纯度 99%,上海迈瑞尔公司); 碳酸氢钠(分析纯,纯度 $\geq 99.8\%$,阿拉丁科技公司); 儿茶素(纯度 99.26%,上海安谱实验科技股份有限公司); 氘代双酚 A 内标(BPA-D₁₆,纯度 97.99%,德国 Dr.Ehrenstorfer 公司); 甲醇和乙腈(色谱纯,赛默飞世尔科技(中国)有限公司)。实验用水为 Mill-Q IQ7000 超纯水系统(美国 Millipore 公司)制备的超纯水以及取自实验室的自来水。PTFE 滤膜(0.22 μm , 天津津腾公司)。红茶、绿茶、乌龙茶和挂耳咖啡以茶包形式独立包装,胶囊咖啡以咖啡液形式独立包装,速溶咖啡以咖啡粉形式独立包装,6 种样品均购于电商平台。

1.2 样品前处理

消毒溶液制备 用超纯水将次氯酸钠溶液和二氧化氯消毒剂分别稀释,在稀释后的两种消毒剂溶液中加入适量 NaHCO₃ 溶液调节其 pH ≈ 7 ,制成高浓度消毒剂溶液。在超纯水中加入适量 NaHCO₃ 溶液,调节 pH ≈ 7 ,用于空白对照。自来水直接取自生活饮用水的中段水,不做任何处理,用于模拟实际生活中的泡制过程。消毒溶液煮沸前后分别测量余氯浓度和二氧化氯浓度。

模拟消毒实验 分别准确称量(精确到 0.01 g)3 种茶叶与 3 种咖啡,置于 500 mL 烧杯中。取 200 mL 煮沸后的消毒溶液,倒入装有样品的烧杯中。胶囊和速溶咖啡溶解后轻微搅拌混匀,红茶、绿茶、乌龙茶和挂耳咖啡泡制 5 min 后取出茶包,并轻微搅拌混匀样品。样品泡制 20 min 后加入硫代硫酸钠猝灭余氯,冷却至室温。用注射器吸取适量样品过 PTFE 滤膜后收集 1 mL 滤液于进样瓶,加入 10 μL BPA-D₁₆ (5 $\mu\text{g/mL}$)内标,混匀后待测。

1.3 实验条件

色谱条件 色谱分离采用 ACQUITY UPLC BEH C₁₈ 色谱柱(2.1 mm $\times$ 100 mm, 1.7 μm , Waters 公司); 流动相 A 为 2 mmol/L 乙酸铵溶液,流动相 B 为乙腈。梯度洗脱程序为: 0~0.2 min, 20% B; 0.2~8 min, 20%~80% B; 8~10 min, 80%~95% B; 10~12 min, 95% B; 12~12.1 min, 95%~20% B; 12.1~15 min, 20% B。流速 0.25 mL/min; 进样量 5 μL 。

质谱条件 离子源温度为 320 $^{\circ}\text{C}$; 毛细管电压为-3.2 kV; 鞘气流速为 45 L/h; 辅助气流速为 10 L/h。数据采集模式为全扫描和数据依赖采集(DDA); 全扫描范围为 70~1050 u; 电离模式为负电喷雾离子源; 全扫描分辨率为 70000, DDA 分辨率为 17500; 采用高能碰撞诱导解离(HCD)模式,碰撞能量为 10、30 和 50 eV。

1.4 数据处理

1.4.1 茶和咖啡主要物质识别方法的建立

将氯化后的 3 种茶叶和 3 种咖啡样品的质谱数据导出,根据质谱峰信号,将强度最高的前 50 个质谱峰进行化学式匹配,根据化学式利用在线质谱数据库(mzCloud 和 PubChem 等)搜索相应的化合物。通过在线数据库以及相关文献^[24-28]获取化合物的二级质谱信息,并与样品中该物质的二级质谱数据进行比较,对母离子和子离子比较结果一致的物质进行结构鉴定。

1.4.2 非靶向分析方法的建立

取代反应是生成 HDBPs 的常见反应,次氯酸容易极化为 Cl⁺-OH⁻,带部分正电荷的氯原子能轻易地

攻击带部分负电荷的碳原子,从而形成氯化产物^[29]。取代反应生成的 HDBPs 与其前体物在结构上会相差相同数量的卤素原子和氢原子,即 HDBPs 与其前体物之间存在着固定的质量差,如氯取代反应为 33.96103(-H+Cl)、溴取代反应为 77.91051(-H+Br)等。超高效液相色谱-高分辨质谱对痕量有机物检测具有较高的灵敏度及质量分辨率,可测出大量化合物信息^[30]。使用 Xcalibur 4.0 软件将原始数据中全扫描的全部质谱峰导出,提取质量偏差为 ± 3 ppm ($1 \text{ ppm}=10^{-6}$),在导出的高分辨质谱数据中识别符合质量差异的质谱峰,并通过同位素相似性分析判断 HDBPs 含氯原子数量。最后根据“七条黄金法则”^[31]进行调节($m/z < 500$: C 1-29, H 0-72, O 0-15, N 0-6, Cl 0-6; $m/z \geq 500$: C 1-66, H 0-126, O 0-15, N 0-6, Cl 0-6)对识别出的质谱峰进行化学式匹配。对满足上述条件的物质推测为 HDBPs 或其前体物,并基于二级质谱数据推测其大致结构。

2 结果与讨论

2.1 茶和咖啡主要物质

通过提取强度前 50 的样品质谱数据所获取的精确质荷比、化学式匹配结果以及二级碎片离子与在线数据库以及文献^[24-28]数据进行比较,在氯化后的 3 种茶叶和 3 种咖啡样品中鉴定出 31 种主要化合物(详见电子版文后支持信息表 S1),主要有儿茶素类化合物和有机酸类化合物。儿茶素类化合物中识别出儿茶素、没食子儿茶素和儿茶素没食子酸酯等。有机酸类化合物中有茶氨酸、没食子酸和水杨酸等。鉴定出的 31 种主要化合物为茶和咖啡原有物质,均不含氯。这也说明 HDBPs 在实际样品中浓度普遍较低,色谱峰易被其它物质覆盖,难以识别^[32]。

2.2 HDBPs 及前体物非靶向分析

在氯化后的 3 种茶叶和 3 种咖啡样品中共筛查鉴定出 82 种 HDBPs(见电子版文后支持信息表 S2),其中 59 种含 1 个 Cl 原子, 15 种含 2 个 Cl 原子, 8 种含 3 个 Cl 原子。6 种样品经过 4 种泡制方式处理后均检出大量 HDBPs(图 1A),在超纯水处理的茶样品中也鉴定出少量 HDBPs,可能是由于茶叶加工过程中使用了含氯自来水而生成 HDBPs^[33],以较低的浓度水平残留于茶叶中。鉴定的 HDBPs 的氯原子数量(图 1B)表明,含 1 个 Cl 原子的 DBPs 在茶样品和咖啡样品中均被检出,其数量在茶样品中明显高于咖啡样品,而含 2 个 Cl 原子和 3 个 Cl 原子的 DBPs 仅在茶样品中检出,这可能是由于茶叶中含有大量多酚类化合物^[34]易与氯反应生成多氯代 DBPs。

Seidel 等^[35]根据芳香指数(AI_{mod})、O/C 和 H/C 的大小,将 AI_{mod} 在 0.50~0.66 范围内的有机物划分为多酚类化合物。在茶叶样品中鉴定出的 HDBPs 大部分属于多酚类 HDBPs,而在咖啡样品中鉴定出的 HDBPs 只有少部分属于多酚类 HDBPs(图 2A)。多氯代 DBPs 均在茶样品中检出,并且大部分鉴定的多氯代 DBPs 属于多酚类化合物,这与上述推测结果一致。茶叶中的多酚类化合物因具有较多的反应位点

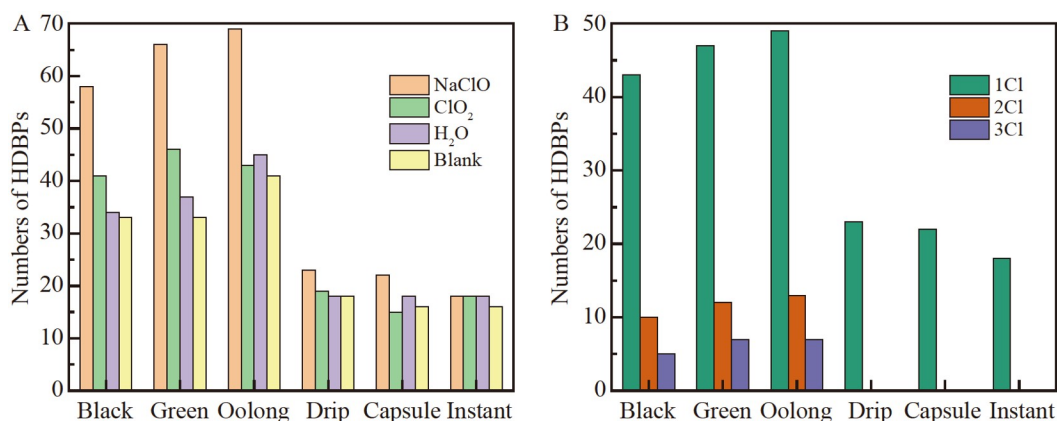


图1 茶和咖啡样品中鉴定出的卤代消毒副产物(HDBPs)的数量(A)及其氯原子数目(B)

Fig.1 Compound number (A) and chlorine atom number (B) of the identified halogenated disinfection byproducts (HDBPs) in tea and coffee samples

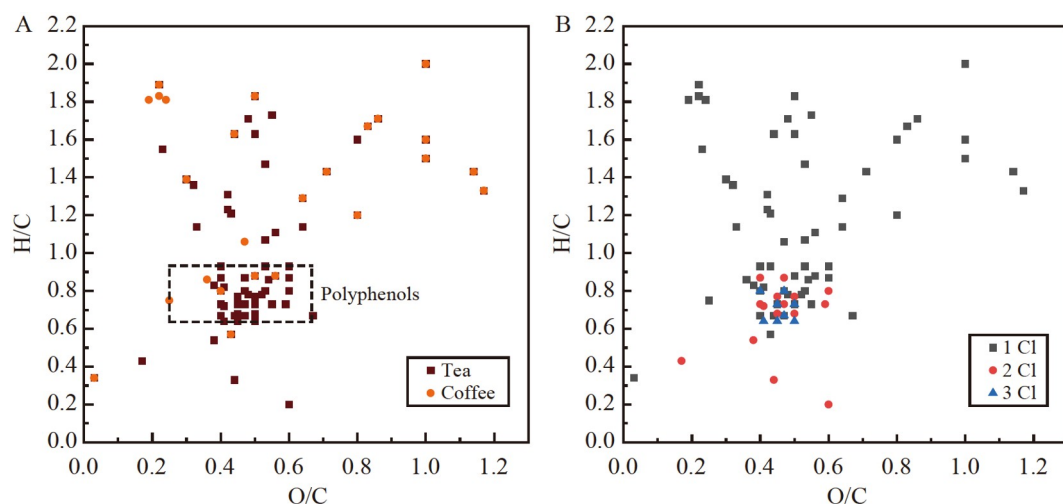


图2 茶和咖啡样品中鉴定的 HDBPs 的 van Krevelen 范式图

Fig.2 The van Krevelen diagrams of the identified HDBPs in tea and coffee samples

而易于持续氯化反应,从而生成大量多酚类多氯代 DBPs(图 2B)。

2.3 儿茶素HDBPs分析

非靶向分析可以筛查出大量 HDBPs,但由于 HDBPs 数量和种类参差不齐,导致 HDBPs 结构鉴定十分困难。通过识别前体物可以更好地判断 HDBPs 的大致结构,并可通过其大致结构推测 HDBPs 的部分理化信息。本研究同时筛查了 HDBPs 及其疑似前体物,识别结果与 2.1 节所识别出茶和咖啡的主要物质和文献进行比较,发现 8 种疑似由儿茶素类化合物(儿茶素、没食子儿茶素、儿茶素没食子酸酯和没食子儿茶素没食子酸酯)发生氯取代反应生成的 HDBPs。根据儿茶素类化合物存在 m/z 125.02441($C_6H_5O_3^-$)、 m/z 137.02441($C_7H_5O_3^-$)和 m/z 179.03498($C_9H_7O_4^-$)^[25,27,36]等特征碎片离子,鉴定了这 8 种 HDBPs 为儿茶素类 HDBPs(见电子版文后支持信息表 S3、图 S1、图 S2 和图 S3)。除儿茶素类 HDBPs 外,根据可能的前体物推测了 30 种 HDBPs 的大致结构(见电子版文后支持信息表 S4)以及提出 44 种 HDBPs 可能的前体物(见电子版文后支持信息表 S5)。儿茶素类化合物是茶和咖啡中重要的营养物质,但目前鲜见儿茶素氯化生成 HDBPs 的报道,因此,本研究以儿茶素 HDBPs 为例进行分析结果验证。由于儿茶素类化合物存在大量同分异构体,本研究仅以某一单体作为研究对象。儿茶素及其 HDBPs 的保留时间、测量的母离子以及子离子质荷比、化学式、质量偏差等信息见电子版文后支持信息表 S6。

筛查结果中, m/z 289.07193 与 323.03256、 m/z 323.03256 与 356.99420 两组质谱峰的质量差异分别为 33.96124 和 33.96164 u,均满足方法的质量偏差范围。 m/z 289.07193 质谱峰中未见氯同位素分布, m/z 323.03256 质谱峰中存在一氯代物的同位素分布($\cos\theta=0.9997$), m/z 356.99420 质谱峰中存在二氯代物的同位素分布($\cos\theta=0.9999$),说明 m/z 289.07193 不含氯, m/z 323.03256 中含 1 个氯原子, m/z 356.99420 中含 2 个氯原子。

根据含氯原子数量对其进行化学式匹配, m/z 289.07193($C_{15}H_{13}O_6^-$, $\Delta=0.59$ ppm(Δ 为质量偏差))、 m/z 323.03256($C_{15}H_{12}O_6Cl^-$, $\Delta=-0.71$ ppm)和 m/z 356.99420($C_{15}H_{11}O_6Cl_2^-$, $\Delta=1.06$ ppm), 化学式匹配质量偏差均小于 3 ppm。在 m/z 289.07193 的二级质谱信息中观察到 m/z 179.03505($C_9H_7O_4^-$, $\Delta=0.34$ ppm)、 m/z 137.02441($C_7H_5O_3^-$, $\Delta=-0.07$ ppm)和 m/z 125.02438($C_6H_5O_3^-$, $\Delta=-0.32$ ppm)特征碎片离子; 在 m/z 323.03256 的二级质谱信息中观察到 m/z 179.03525($C_9H_7O_4^-$, $\Delta=1.45$ ppm)、 m/z 137.02437($C_7H_5O_3^-$, $\Delta=-0.36$ ppm)和 m/z 125.02442($C_6H_5O_3^-$, $\Delta=0.00$ ppm)特征碎片离子; 在 m/z 356.99420 的二级质谱信息中观察到 m/z 125.02441($C_6H_5O_3^-$, $\Delta=-0.56$ ppm)特征碎片离子。三者均存在儿茶素类化合物的特征碎片离子,说明其同为儿茶素类化合物。

如图 3 所示, m/z 289.07193 的质谱裂解在 m/z 245.08205($C_{14}H_{13}O_4^-$, $\Delta=0.45$ ppm)处观察到 CO_2 中性丢失。 m/z 323.03256 的质谱裂解在 m/z 287.05661($C_{15}H_{11}O_6^-$, $\Delta=1.71$ ppm)处出现 HCl 丢失。HCl 丢失

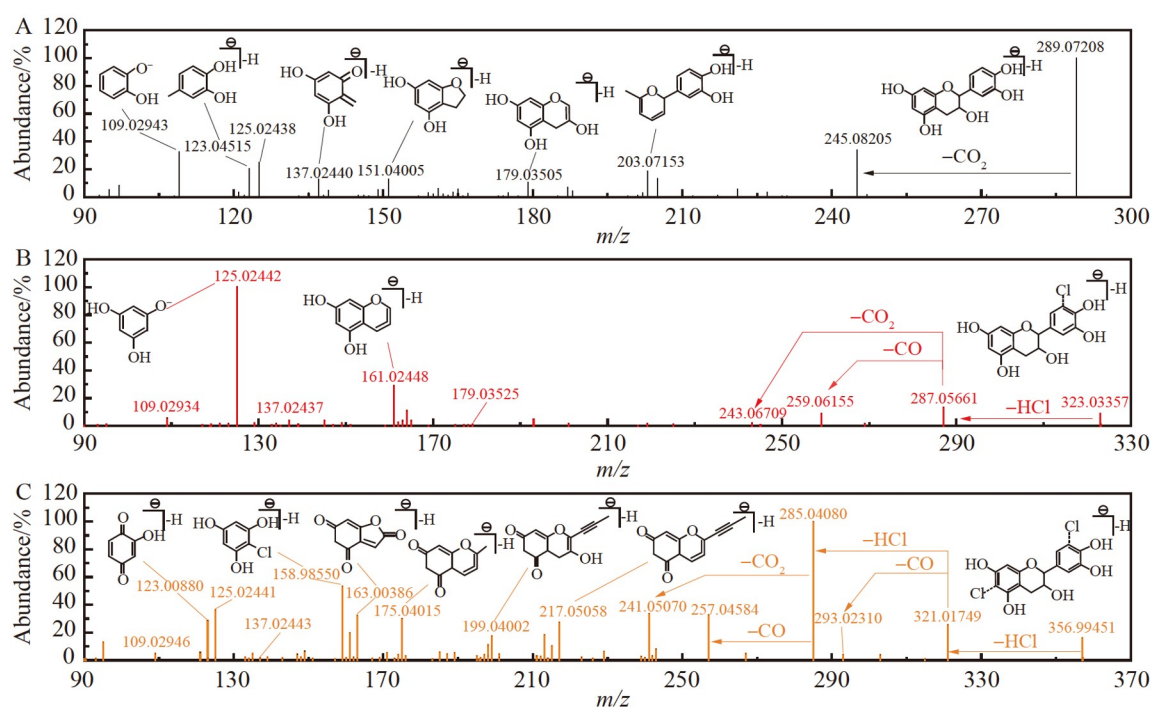


图3 (A)儿茶素、(B)一氯代儿茶素和(C)二氯代儿茶素的二级质谱图(数据依赖采集(DDA)模式)

Fig.3 MS/MS spectra (Data dependent acquisition (DDA) mode) of catechin (A), monochloro-catechin (B) and dichloro-catechin (C)

后,酚羟基发生 α 裂解,在 m/z 259.06155 ($C_{14}H_{11}O_5^-$, $\Delta=1.35$ ppm)处观察到 CO 丢失,这与 Zheng 等^[37]所报道的氯代双酚 F 的质谱裂解规律相符,均在 HCl 丢失后再发生 CO 丢失。在 m/z 243.06709 ($C_{14}H_{11}O_4^-$, $\Delta=3.29$ ppm)处观察到 CO_2 丢失。 m/z 356.99420 含有 2 个氯原子,其质谱裂解出现连续 HCl 丢失,分别出现在 m/z 321.01749 ($C_{15}H_{10}O_6Cl^-$, $\Delta=1.09$ ppm)和 m/z 285.04080 ($C_{15}H_9O_6^-$, $\Delta=1.16$ ppm)处。同样在 HCl 丢失后,酚羟基发生 α 裂解,分别在 m/z 293.02310 ($C_{14}H_{10}O_5Cl^-$, $\Delta=2.97$ ppm)和 m/z 257.04584 ($C_{14}H_9O_5^-$, $\Delta=1.13$ ppm)处观察到 CO 丢失,之后在 m/z 241.05070 ($C_{14}H_9O_4^-$, $\Delta=0.25$ ppm)处观察到 CO_2 丢失。通过相同的特征离子以及质谱裂解路径,推测 m/z 323.03256 ($C_{15}H_{12}O_6Cl^-$, $\Delta=1.14$ ppm)和 m/z 356.99420 ($C_{15}H_{11}O_6Cl_2^-$, $\Delta=1.06$ ppm)分别为一氯代儿茶素和二氯代儿茶素。

根据氯取代反应易发生在酚羟基邻位和对位的规律,结合一氯代儿茶素和二氯代儿茶素二级质谱信息,推测一氯代儿茶素和二氯代儿茶素的结构,并预测儿茶素氯化生成一氯代儿茶素和二氯代儿茶素可能的反应路径如图 4 所示。

根据推测的一氯代儿茶素和二氯代儿茶素结构,使用 ACD/ChemSketch 预测其正辛醇-水分配系数 lgP ,结果如电子版文后支持信息表 S7 所示。 lgP 反映化合物极性, lgP 数值越小,化合物极性越大,色谱出峰越快。儿茶素、一氯代儿茶素和二氯代儿茶素的色谱保留时间与其 lgP 值大小关系相一致,进一步证实

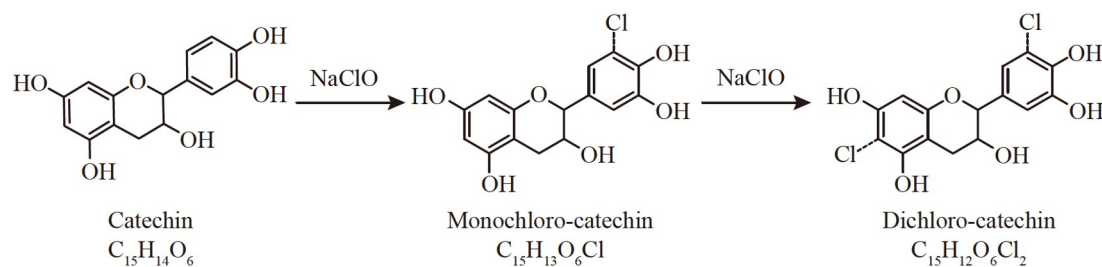


图4 儿茶素氯化生成 HDBPs 的可能反应路径

Fig.4 Proposed reaction pathway of HDBPs during chlorination of catechin

一氯代儿茶素 $C_{15}H_{13}O_6Cl$ 和二氯代儿茶素 $C_{15}H_{12}O_6Cl_2$ 是由儿茶素 $C_{15}H_{14}O_6$ 氯化生成的氯代消毒副产物。

鉴定的 8 种儿茶素类 HDBPs 为一氯代和二氯代 DBPs, 此外还发现存在 3 种疑似由没食子儿茶素、儿茶素没食子酸酯和没食子儿茶素没食子酸酯氯化生成的三氯代 DBPs ($C_{15}H_{11}O_7Cl_3$ 、 $C_{22}H_{15}O_{10}Cl_3$ 和 $C_{22}H_{15}O_{11}Cl_3$), 化学式与其前体物高度近似, 但是, 3 种三氯代产物在样品中由于信号较低而未能获得有效的二级质谱信息, 难以对其结构进行准确鉴定, 因此仅从分子水平推测其为 3 种儿茶素类化合物的三氯代产物, 并推测了大致分子结构(见电子版文后支持信息表 S4)。

2.4 儿茶素HDBPs验证

使用儿茶素参考标样进行氯化处理, 将氯化后的儿茶素样品与茶样品所鉴定出的结果进行比较(图 5)。结果表明, 保留时间为 1.74 min 的是儿茶素, 保留时间为 1.98 min 的是儿茶素的同分异构体; 保留时间为 2.64 min 的是一氯代儿茶素, 保留时间为 3.08 min 的是一氯代儿茶素的同分异构体; 保留时间为 3.13 min 的是二氯代儿茶素, 保留时间为 3.43 和 3.85 min 的是二氯代儿茶素的同分异构体。结果证实了鉴定出的 HDBPs 是由儿茶素及其同分异构体作为前体物氯化生成的一氯代儿茶素和二氯代儿茶素及两者的同分异构体。

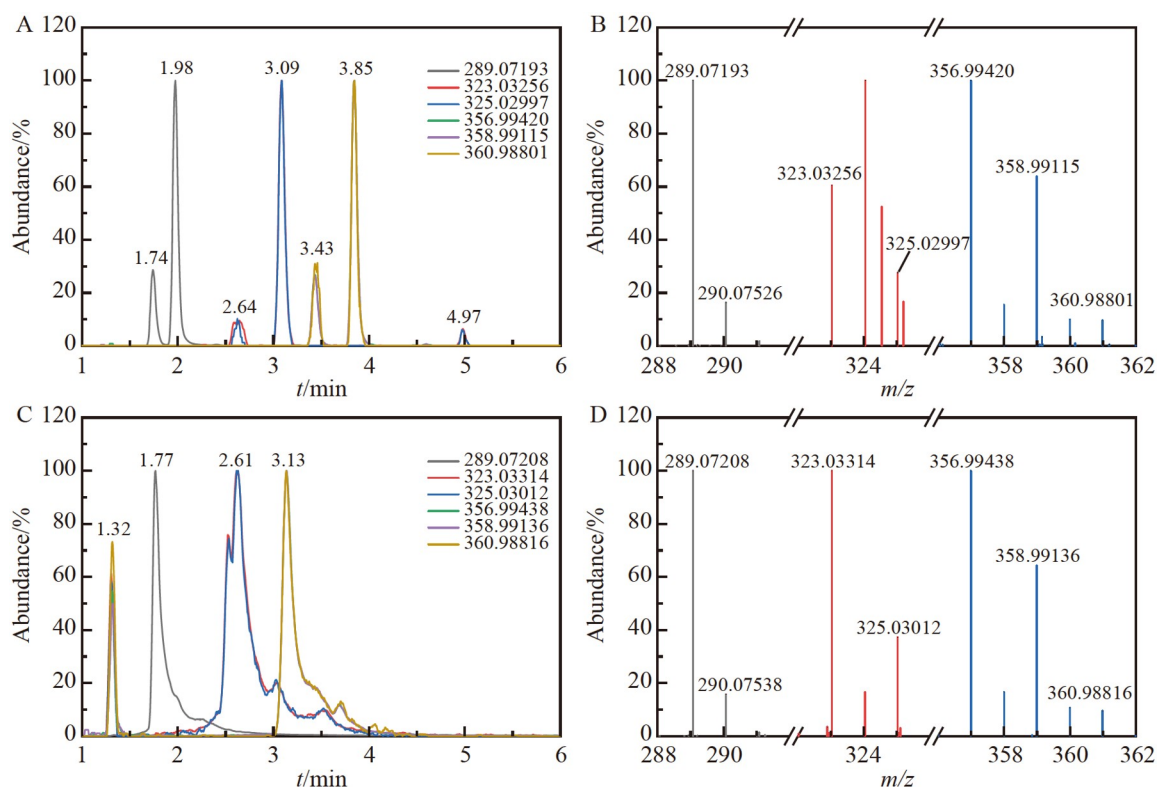


图5 儿茶素 HDBPs 的提取离子色谱图和一级质谱图: (A) 茶样品提取离子色谱图; (B) 茶样品一级质谱图; (C) 儿茶素标样氯化样品提取离子色谱图; (D) 儿茶素标样氯化样品一级质谱图

Fig.5 Extracted ion chromatograms and mass spectra of catechin HDBPs: (A) Extracted ion chromatograms of tea sample; (B) Mass spectra of tea sample; (C) Extracted ion chromatograms of chlorinated catechin standard sample; (D) Mass spectra of chlorinated catechin standard sample

2.5 儿茶素HDBPs的毒性预测

计算毒理学通过化合物结构联合大量模型可预测化合物的毒性以及对人体可能造成的危害, 是预测未知 HDBPs 毒性作用的利器^[38]。美国 T.E.S.T.(Toxicity Estimation Software Tool) 软件可预测化合物的生物富集系数、大鼠半数致死量(LD_{50})等毒理性质^[39]。本研究应用 T.E.S.T. 软件^[40]预测 4 种儿茶素类化合物及 8 种儿茶素类 HDBPs 的 7 种毒理性质(见电子版文后支持信息表 S8)。结果表明, 8 种 HDBPs 均具有发育毒性和致突变性, 相较于前体物而言, 毒性更大且更容易富集于人体。饮用含儿茶素类 HDBPs 的

茶和咖啡可能会对人体产生危害。目前,对于三卤甲烷等 HDBPs 的毒理作用的关注较多,鲜有儿茶素 HDBPs 毒理研究报道,因此需要对其进行更详尽的探索,明确其危害,降低饮品健康风险。

2.6 HDBPs 的半定量分析

使用同位素内标 BPA-D₁₆(*m/z* 241.19585)对自来水泡制茶和咖啡样品中的 HDBPs 进行半定量分析(见电子版文后支持信息表 S9)。结果表明,红茶样品中鉴定出 34 种一氯代 DBPs,半定量浓度为 0.40~1897 µg/L;绿茶样品中鉴定出 37 种一氯代 DBPs,半定量浓度为 0.48~1157 µg/L;乌龙茶样品中鉴定出 45 种一氯代 DBPs,半定量浓度为 0.54~1168 µg/L;挂耳咖啡样品中鉴定出 18 种一氯代 DBPs,半定量浓度为 3.17~603.0 µg/L;胶囊咖啡样品中鉴定出 18 种一氯代 DBPs,半定量浓度为 1.32~138.0 µg/L;速溶咖啡样品中鉴定出 18 种一氯代 DBPs,半定量浓度为 2.04~584.1 µg/L。

在鉴定的 8 种儿茶素类 HDBPs 中,仅在实际自来水泡制样品中鉴定出一氯代 DBPs;所有样品中鉴定出一氯代儿茶素,半定量浓度在 3.78~25.39 µg/L 之间;绿茶和乌龙茶样品中鉴定出一氯代没食子儿茶素,半定量浓度分别为 9.91 和 5.36 µg/L;仅在乌龙茶样品中鉴定出一氯代儿茶素没食子酸酯,半定量浓度为 4.36 µg/L;红茶和乌龙茶样品中鉴定出一氯代没食子酸儿茶素没食子酸酯,半定量浓度分别为 3.30 和 4.46 µg/L。

3 结论

基于超高效液相色谱-高分辨质谱技术,建立了非靶向筛查鉴定 HDBPs 及其前体物的方法,并应用于筛查茶和咖啡泡制过程中产生的 HDBPs。在红茶、绿茶、乌龙茶、挂耳咖啡、胶囊咖啡和速溶咖啡泡制样品中筛查出 82 种 HDBPs,结合前体物识别结果发现了 8 种疑似儿茶素类化合物氯化生成的 HDBPs。以儿茶素 HDBPs 为例,依靠精确母离子质荷比、特征碎片离子和质谱裂解规律进行分析,氯化儿茶素标样进行验证,证实了本方法的可行性。采用本方法鉴定了 8 种儿茶素类 HDBPs,并根据结构预测了其毒理性质。本方法无需复杂的样品前处理,可以快速高效地同时筛查 HDBPs 及其前体物,在识别未知 HDBPs 的同时推测其前体物,为 HDBPs 的非靶向分析和 HDBPs 前体物的识别提供了思路及方法。

References

- [1] WANG J, BU L, WU Y, SUN J, LI G, ZHOU S. *Sep. Purif. Technol.*, 2022, 287: 120584.
- [2] ZHAO Xin, WEI Yu-Qing. *Water Purif. Technol.*, 2018, 37(S1): 73-75.
赵欣, 魏雨晴. *净水技术*, 2018, 37(S1): 73-75.
- [3] BLOKKER M, VREEBURG J, SPEIGHT V. *Procedia Eng.*, 2014, 70: 172-180.
- [4] BOND T, TANG S C, GRAHAM N, TEMPLETON M R. *Environ. Sci. Water Res. Technol.*, 2016, 2(1): 196-205.
- [5] PAN Y, ZHANG X, WAGNER E D, OSIOL J, PLEWA M J. *Environ. Sci. Technol.*, 2014, 48(1): 149-156.
- [6] PAN Y, ZHANG X, LI Y. *Water Res.*, 2016, 88: 60-68.
- [7] CARDADOR M J, GALLEGO M. *J. Chromatogr. A*, 2017, 1509: 9-15.
- [8] ZHANG D, WU Y, ZHANG X, LI W, LI Y, LI A, PAN Y. *Water Res.*, 2020, 172: 115526.
- [9] HELTE E, SÄVE-SÖDERBERGH M, UGGE H, FALL K, LARSSON S C, ÅKESSON A. *Water Res.*, 2022, 214: 118202.
- [10] ARAFA A, EWIS A, ESHAK E. *Public Health*, 2022, 203: 123-129.
- [11] YAN Z, ZHONG Y, DUAN Y, CHEN Q, LI F. *Anim. Nutr.*, 2020, 6(2): 115-123.
- [12] PINTO M D. *Food Res. Int.*, 2013, 53(2): 558-567.
- [13] XU Q, YANG Y, HU K, CHEN J, DJOMO S N, YANG X, KNUDSEN M T. *Sustain. Prod. Consump.*, 2021, 28: 269-280.
- [14] LI S, ZHANG L, WAN X, ZHAN J, HO C T. *Food Sci. Hum. Wellness*, 2022, 11(3): 437-444.
- [15] LI J, AZIZ M T, GRANGER C O, RICHARDSON S D. *Environ. Sci. Technol.*, 2021, 55(19): 12994-13004.
- [16] LOU J, WANG W, ZHU L. *Environ. Sci. Technol.*, 2019, 53(20): 11860-11868.
- [17] ZARRELLI A, DELLAGRECA M, IESCE M R, LAVORGNA M, TEMUSSI F, SCHIAVONE L, CRISCUOLO E, PARRELLA A, PREVITERA L, ISIDORI M. *Sci. Total Environ.*, 2014, 470-471: 453-458.
- [18] FAKOUR H, LO S L. *Int. J. Hyg. Environ. Health*, 2019, 222(1): 117-124.
- [19] POSTIGO C, ANDERSSON A, HARIR M, BASTVIKEN D, GONSIOR M, SCHMITT-KOPPLIN P, GAGO-FERRERO P, AHRENS L, AHRENS L, WIBERG K. *J. Hazard. Mater.*, 2021, 401: 123681.
- [20] YANG M, ZHANG X, LIANG Q, YANG B. *Water Res.*, 2019, 158: 322-337.

- [21] WANG H, SHI W, MA D, SHANG Y, WANG Y, GAO B. *Chem. Eng. J.* , 2020, 392: 123701.
- [22] LU Y, SONG Z M, WANG C, LIANG J K, HU Q, WU Q Y. *J. Hazard. Mater.* , 2021, 416: 126198.
- [23] PAN Y, WANG Y, LI A, XU B, XIAN Q, SHUANG C, SHI P, ZHOU Q. *Water Res.* , 2017, 112: 129-136.
- [24] SPACIL Z, NOVAKOVA L, SOLICH P. *Food Chem.* , 2010, 123(2): 535-541.
- [25] ZHONG J, CHEN N, HUANG S, FAN X, ZHANG Y, REN D, YI L. *Food Chem.* , 2020, 326: 126760.
- [26] HE L, ZHANG Z, LIU Y, CHEN D, YUAN M, DONG G, LUO P, YAN Z. *Food Res. Int.* , 2018, 108: 226-236.
- [27] LIU Guo-Qiang, DONG Jing, WANG Hong, WAN Le-Ren, DUAN Yu-Shu, CHEN Shi-Zhong. *Chem. J. Chin. Univ.* , 2009, 30(8): 1566-1570.
刘国强, 董静, 王弘, 万乐人, 端裕树, 陈世忠. *高等学校化学学报*, 2009, 30(8): 1566-1570.
- [28] LIU Guo-Qiang, DONG Jing, WANG Hong, WAN Le-Ren, DUAN Yu-Shu, CHEN Shi-Zhong. *J. Chin. Mass Spectrom. Soc.* , 2009, 30(5): 287-294.
刘国强, 董静, 王弘, 万乐人, 端裕树, 陈世忠. *质谱学报*, 2009, 30(5): 287-294.
- [29] SUN X, CHEN M, WEI D, DU Y. *J. Environ. Sci.* , 2019, 81: 52-67.
- [30] TAO D, WANG R, SHI S, YUN L, TONG R, PENG Y, GUO W, LIU Y, HU S. *Sci. Total Environ.* , 2020, 740: 139888.
- [31] KIND T, FIEHN O. *BMC Bioinf.* , 2007, 8(1): 105.
- [32] HUANG H, ZHU H, GAN W, CHEN X, YANG X. *Chemosphere*, 2017, 188: 257-264.
- [33] SHI Da-Liang, CHEN Sheng-Xiang, LI Pin-Wu, GUO Min-Ming, ZHANG Wei, YU Ji-Zhong. *J. Zhejiang Agric. Sci.* , 2019, 60(7): 1234-1236.
师大亮, 陈盛相, 李品武, 郭敏明, 张伟, 余继忠. *浙江农业科学*, 2019, 60(7): 1234-1236.
- [34] LIU X, WANG X, ZHAO J, HU C, CAO N, CHEN H, SUN B, WANG Y, XIONG C, DENG J, DUAN P. *Chemosphere*, 2022, 303: 135140.
- [35] SEIDEL M, BECK M, RIEDEL T, WASKA H, SURYAPUTRA I G N A, SCHNETGER B, NIGGEMANN J, SIMON M, DITTMAR T. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 2014, 140: 418-434.
- [36] ZHU Y F, CHEN J J, JI X M, HU X, LING T J, ZHANG Z Z, BAO G H, WAN X C. *Food Chem.* , 2015, 170: 110-117.
- [37] ZHENG S, SHI J C, HU J Y, HU W X, ZHANG J, SHAO B. *Water Res.* , 2016, 107: 1-10.
- [38] TANG Cai-Ming, JIN Jia-Bin, PENG Xian-Zhi. *Environ. Monit. Forewarning*, 2016, 8(2): 1-8, 15.
唐才明, 金佳滨, 彭先芝. *环境监控与预警*, 2016, 8(2): 1-8, 15.
- [39] GAO Ya, YAO Bi-Yun, ZHOU Zong-Can. *J. Toxicol.* , 2016, 30(5): 334-338.
高雅, 姚碧云, 周宗灿. *毒理学杂志*, 2016, 30(5): 334-338.
- [40] <https://www.epa.gov/chemical-research/toxicity-estimation-software-tool-test>.

Nontarget Analysis of Halogenated Disinfection Byproducts in Brewed Tea and Coffee Using Ultra-High Performance Liquid Chromatography-High Resolution Mass Spectrometry

LIANG Yu-Tao¹, ZHU Yi-Zhe¹, ZHENG Rui-Fen¹, CHEN Guang-Shi², TANG Cai-Ming^{*1,2}

¹(Research Center for Eco-Environmental Engineering, Dongguan University of Technology,
Dongguan 523808, China)

²(State Key Laboratory of Organic Geochemistry, Guangzhou Institute of Geochemistry,
Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510640, China)

Abstract During tea and coffee brewing, residual chlorine in tap water can react with organic components to give rise to a variety of halogenated disinfection byproducts (HDBPs), potentially affecting human health. In this study, a non-target analysis method based on ultra-high performance liquid chromatography-high resolution mass spectrometry (UPLC-HRMS) was developed for screening and identification of HDBPs in tea and coffee samples. After filtration and addition of isotopic internal standards, sample mixture was analyzed with UPLC-HRMS in negative electrospray ionization mode. Pure water containing 2 mmol/L ammonium acetate and acetonitrile was

used as the mobile phases, and the gradient elution program was optimized. The mass spectrometric data were obtained with full scan and data-dependent acquisition (DDA) modes. According to exact masses, isotopologue distributions and chlorine substitution reaction rules, 82 kinds of HDBPs were identified, of which 59 contained 1 Cl, 15 contained 2 Cl, and 8 contained 3 Cl. Eight catechin-containing HDBPs were identified via MS/MS (DDA) spectra, fragmental pathways and retention times, and catechin, gallic acid, catechin gallate and gallic acid gallate were determined to be their precursors. In addition, toxicities of eight catechin-containing HDBPs were predicted by toxicity estimation software tool (T.E.S.T.). Finally, 82 kinds of HDBPs were semi-quantitatively analyzed, of which the concentrations in the samples brewed with tap water were 0.40–1897 $\mu\text{g/L}$ (black tea), 0.48–1157 $\mu\text{g/L}$ (green tea), 0.54–1168 $\mu\text{g/L}$ (oolong tea), 3.17–603.0 $\mu\text{g/L}$ (drip coffee), 1.32–138.0 $\mu\text{g/L}$ (capsule coffee) and 2.04–584.1 $\mu\text{g/L}$ (instant coffee), respectively. The developed non-target analysis method could readily identify HDBPs together with precursors without complicated pretreatment, which provided a new way to monitor HDBPs.

Keywords Tea; Coffee; Halogenated disinfection byproducts; Ultra-high performance liquid chromatography-high resolution mass spectrometry; Non-target analysis

(Received 2022-12-15; accepted 2023-03-30)

Supported by the Guangdong Basic and Applied Basic Research Fund Project (Nos. 2021B1515140019, 2022A1515140049) and the National Natural Science Foundation of China (No. 41603092).