

DOI:10.7524/j.issn.0254-6108.2023021603

钱慧敏, 刘艳娜, 姚林林, 等. 非靶标技术在新污染物识别中的应用[J]. 环境化学, 2024, 43(2): 363-376.

QIAN Huimin, LIU Yanna, YAO Linlin, et al. Recent advances in nontarget discovery of emerging pollutants in the environment[J]. Environmental Chemistry, 2024, 43 (2): 363-376.

非靶标技术在新污染物识别中的应用*

钱慧敏^{1,2} 刘艳娜¹ 姚林林¹ 曲广波^{1,2} 史建波^{1,2}** 江桂斌^{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. 中国科学院大学资源与环境学院, 北京, 100049)

摘要 受人类活动的影响, 来自工农业生产和生活活动等方面的化学品不断进入环境, 加之各类生物和非生物转化时有发生, 导致环境中存在多种污染物及复杂的转化产物。全面认识样品中的污染物是进行环境健康风险评估的前提。然而, 大量的未知结构、复杂的环境基质以及低环境赋存浓度都为厘清污染物暴露带来了挑战, 亟需发展高灵敏度的未知污染物识别技术。非靶标分析(nontarget analysis, NTA)作为一种新的分析手段, 可以在化合物信息未知的情况下对复杂基质中的有机物进行识别, 有助于最大限度揭示环境样品中存在的污染物, 为风险评估奠定基础。本文回顾了非靶标技术在新污染物识别中的应用, 从样品前处理、数据采集和数据处理三方面对目前使用的不同方法及策略进行讨论, 讨论了各方法的优劣及适用范围, 并提出了当前存在的问题及未来发展方向。

关键词 非靶标分析, 高分辨质谱, 环境分析, 新污染物。

Recent advances in nontarget discovery of emerging pollutants in the environment

QIAN Huimin^{1,2} LIU Yanna¹ YAO Linlin¹ QU Guangbo^{1,2}
SHI Jianbo^{1,2}** JIANG Guibin^{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. College of Resources and Environment, University of Chinese Academy of Sciences, Beijing, 100049, China)

Abstract Chemicals from industrial, agricultural, and domestic activities are constantly entering the environment due to anthropogenic influences. In addition, various biotic and abiotic transformations of chemicals further lead to the presence of a wide variety of pollutants and complex transformation products in the environment. A comprehensive understanding of contaminants in samples is a prerequisite for environmental health risk assessment. However, the large number of unknown structures, complex environmental matrices, and low environmental concentrations pose challenges to the clarification of pollutant exposure. A technology with high sensitivity for the identification of unknown contaminants is thus urgently needed. As an emerging analytical strategy, nontarget analysis (NTA) enables the identification of organic compounds in complex matrices where compound information is unknown. NTA will help to reveal pollutants in environmental samples to

2023年2月16日收稿(Received: February 16, 2023).

* 国家自然科学基金(22276198, 21906166)资助。

Supported by the National Natural Science Foundation of China (22276198, 21906166).

** 通信联系人 Corresponding author, E-mail: jbsi@rcees.ac.cn

the greatest extent and provide the critical foundation for risk assessment. In this paper, we review the applications of NTA technology in the identification of emerging pollutants, discuss the advantages, disadvantages, and scope of application of different methods that have been used from three aspects including sample pretreatment, data acquisition, and data processing, and propose challenges and future directions for the development of NTA.

Keywords nontarget analysis, high-resolution mass spectrometry, environmental analysis, emerging pollutants.

化学工业的发展带来化学品数量的迅猛增加及产量的极大提升. 2002 年至今, 美国化学文摘数据库中收录的化学物质的数量从 2000 万迅速增加到了 1.95 亿^[1], 目前全球登记的用于生产和使用的化学品数量也超过了 35 万种^[2]. 《全球化学品展望》第二期报告中指出, 目前化学品的生产能力为每年 23 亿吨, 预计到 2030 年将翻一番^[3]. 大量化学品在工业及消费品中的使用导致其不断进入环境, 形成潜在的环境污染物, 威胁环境及人体健康. 一项发表在 *Lancet* 上的研究显示全球 16% 的过早死亡可能与环境污染有关^[4], 2019 年仅由空气污染导致的过早死亡人数就超过了 400 万^[5]. 过去几十年中, 以药品及个人护理品 (pharmaceuticals and personal care products, PPCPs)^[6]、内分泌干扰物^[7]、阻燃剂^[8]以及全氟/多氟烷基化合物 (per- and polyfluoroalkyl substances, PFASs)^[9] 等为代表的新污染物不断在众多环境介质中被检出, 一些报道也指出这些新污染物可能引发多种不良健康效应, 引起了广泛的国际关注.

全面认识环境中的污染物是进行环境健康风险评价及制定合理有效的化学品管控措施的前提. 然而, 尽管科学家已经进行了长期的环境监测, 但实际上人们对环境中潜在污染物却知之甚少. 这主要是由于: (1) 对于商业化学品而言, 尽管在一些国家和地区其生产使用需要进行登记, 甚至需要通过相关监管机构的评估审批, 但许多信息包括化学结构、产量、安全性等都是不公开的; 加上相当一部分化学品或产品受专利保护, 其组成配方、分子结构及合成途径等内容可能都属于保密范畴, 主要化学成分及可能的副产物等信息难以获取; (2) 区别于实验室合成, 大规模的工业生产过程可能会由于生产条件的变化或受到周围环境的影响而产生更多的未知副产物; (3) 相关产品及化学品在使用及进入环境后可能发生多种生物及非生物转化, 形成未知代谢产物. 因而, 对环境中大量潜在的环境污染物进行识别、鉴定以及定量是目前全球科学家和政府面临的巨大挑战.

长久以来, 对污染物的监测分析都采用基于色谱-质谱 (chromatography-mass spectrometry) 联用技术的靶标分析 (target analysis) 方法. 该方法利用标准品建立分析方法, 通过对提取方法及仪器测定参数进行优化, 能够实现对特定污染物的高灵敏度 ($\text{fg}\cdot\text{g}^{-1}$ 至 $\text{pg}\cdot\text{g}^{-1}$) 检测. 然而, 随着大量新化学品不断流入环境并发生迁移转化, 环境中实际存在的污染物的种类和数量迅速增加. 此外, 大量新污染物的化学结构未知, 没有标准品可供使用; 对少数已知信息的污染物进行标准品的全获取不仅成本高昂, 且往往存在严重的时间滞后. 因此, 依靠标准品的常规靶标监测模式只能覆盖实际环境中的一部分污染物, 对于全面认识及评估环境及人群的暴露风险来说远远不够.

得益于近年来高分辨质谱 (high-resolution mass spectrometry, HRMS) 的快速发展, 基于色谱-高分辨质谱系统的非靶标分析 (nontarget analysis, NTA) 方法已逐渐成为环境污染物分析的重要手段. 与传统的靶标分析相比, NTA 不再依赖标准品, 通过高分辨率、高准确度的全扫描结合多种数据处理技术实现对大量化合物的同时检测分析, 以定量已知污染物并识别鉴定未知污染物. 过去十几年, NTA 技术在环境分析领域得到了快速发展及应用 (表 1), 帮助科学家在多种环境介质和生物体内鉴定出了许多以前未知的污染物, 极大提高了人们对环境中污染物的认识, 对于污染物的早期发现及控制有重要意义. 本文回顾了过去十几年来 NTA 用于复杂基质中环境污染物识别和鉴定的成果, 分别从样品前处理、仪器分析以及数据采集和处理三方面对不同研究方法和策略进行了汇总、分析和比较, 讨论了各自的优劣及适用范围, 以期 NTA 技术的整体发展以及开展广泛的新污染物识别提供参考.

表 1 非靶标分析典型案例
Table 1 Typical cases of nontarget analysis

样品类型 Sample type	污染物类别 Group of substances	样品前处理 Sample preparation	仪器设备 Instrumental technique(s)	MS ² 扫描模式 MS ² acquisition mode	参考文献 Reference
海水	多环芳烃等	DLLME	GC-EI-MS	—	[10]
河水	有机污染物	SPE	LC-QTOF-MS/MS	DIA	[11]
	有机污染物	SPME	GC-TOF-MS	—	[12]
地表水	有机污染物及转化产物	直接进样	LC-ESI-QTOF-MS/MS	DDA	[13]
	极性污染物	SPE	LC-ESI-QTOF-MS/MS	—	[14]
	有机污染物	SPME	GC-TOF-MS	—	[12]
地下水		真空辅助蒸发浓缩	LC-Orbitrap-MS/MS	DDA	[15]
	极性污染物	SPE	LC-ESI-QTOF-MS/MS	—	[14]
	农药及其转化产物	真空辅助蒸发浓缩	LC-ESI-Q-Exactive Plus-MS/MS	DDA	[16]
	有机污染物	SPME	GC-TOF-MS	—	[12]
	极性污染物	SPE	LC-ESI-QTOF-MS/MS	—	[14]
环境液体 样品	药物	SPE	LC-Q-Exactive-MS/MS	DDA	[18]
	药物及转化产物	SPE	LC-ESI-QTOF-MS/MS	DDA	[19]
废水	PFASs	SPE	LC-ESI-QTOF-MS/MS	DDA	[20]
		在线SPE	LC-ESI-LTQ-Orbitrap-MS/MS	ISF	[21]
	I-PFAAs	LLE	LC-ESI-Q-Orbitrap-MS/MS	DDA	[22]
	溴代阻燃剂转化产物	LLE	LC-ESI-QTOF-MS/MS	—	[23]
	臭氧化产物	SPE	LC-ESI-Q-Exactive Plus-MS/MS	DDA	[24]
		过滤后直接进样、 LLE	LC-QTOF-MS SFC-HRMS	—	[25]
自来水	DBPs	SPE	LC-ESI-Q-Orbitrap-MS/MS	t-MS ²	[26]
	挥发性有机化合物	SPME	GC-EI-MS	—	[27]
饮用水	极性污染物	SPE	LC-ESI-QTOF-MS/MS	—	[14]
	有机污染物及转化产物	直接进样	LC-ESI-QTOF-MS/MS	DDA	[13]
垃圾渗 滤液	PFASs	—	LC-Q-Exactive-MS/MS	DDA、迭代DDA、AIF	[28]
	卤代化合物等	PLE	GC-EI-MS/MS LC-ESI-Q-Exactive-MS/MS	—	[29]
土壤	PFASs	固-液萃取	LC-LTQ-Orbitrap-MS/MS	DIA	[30]
		超声	LC-QTOF-MS/MS	DIA	[11]
	有机污染物	PLE	GC×GC-EI-QTOF-MS LC-ESI-Q-Exactive-MS/MS	—	[31]
		PLE	LC-ESI-Q-Exactive-MS/MS	DIA	[32]
			LC-ESI/APPI-LTQ-Orbitrap-MS/MS	—	[33]
环境固体 样品	沉积物	索氏提取	LC-QTOF-MS/MS	—	[34]
	卤代化合物等	PLE	GC-EI-MS/MS LC-ESI-Q-Exactive-MS/MS	—	[29]
	有机溴化物	PLE	LC-APCI-Q-Exactive-MS/MS	DIA	[35]
	溴代阻燃剂转化产物	索氏提取	LC-ESI-QTOF-MS/MS	—	[23]
大气颗 粒物	多环芳烃	PLE	APPI-FT-ICR-MS GC×GC-TOF-MS	—	[36]
室内 粉尘	有机污染物	超声	GC-EI-QTOF-MS LC-QTOF-MS/MS	AIF	[37]
	氯代磷酸三酯	超声	LC-ESI-Q-Exactive-MS/MS	DDA、DIA	[38]
生物样品	鱼肝脏	固-液萃取	LC-ESI-Orbitrap-MS/MS	ISF	[39]
	北极熊 血清	搅拌棒吸附萃取	LC-ESI-Orbitrap-MS/MS	ISF	[40]

1 样品前处理(Sample preparation)

样品前处理的目的是在提取、富集目标物质的同时,尽可能多地去除样品基质,以获得高分析灵敏度.在靶标分析中,样品前处理方法通常是通过基质加标的方法来建立的.而在非靶标分析中,由于目标分子结构未知,提取方法的选择及建立多是依赖结构类似的化合物.在进行广泛的污染物筛查时,考虑到污染物间可能存在巨大性质的差异,样品提取多采用基于一些基本的化合物性质(如极性、酸碱性、挥发性等)的耗竭式提取方法.

1.1 环境液体样品

液-液萃取(liquid-liquid extraction, LLE)利用有机物在不同溶剂中溶解度的差异进行污染物的富集和提取.比如,有研究者分别使用二氯甲烷和甲醇对废水中的氟化物^[22]和溴化物^[23]进行了有效提取.分散液-液微萃取(dispersive liquid-liquid microextraction, DLLME)是通过在水样中加入与水互不相溶的萃取剂和与水及萃取剂混溶的分散剂,形成乳浊液体系,后经过简单离心实现水和有机物的分离.该方法操作简单快速,溶剂用量小,在对小体积水样中的有机磷农药^[41]、氯酚^[42]及双酚 A^[43]等典型环境污染物进行定量分析时获得了良好的回收率.在对马尔梅诺泻湖中来自农业、工业、医药等行业的有机污染物进行广泛筛选时,Peñalver等^[10]使用1 mL乙醇作为分散剂,125 μ L氯仿作为萃取剂对10 mL海水样品进行萃取,成功从中识别出包括邻苯二甲酸酯、多环芳烃、烷基酚、药物等在内的污染物共计18种,回收率均能够达到90%以上.

固相萃取(solid-phase extraction, SPE)以多样化的填料选择和整体更低的基质效应成为水样中污染物提取最常用的方法.通过使用不同填料的萃取小柱,调节洗脱程序,能够实现特定极性范围、特定结构类型污染物的高效提取富集以及基质分子的去除净化.常用的商品化SPE小柱有亲水亲油平衡柱HLB、混合弱阴离子交换柱WAX、混合阴离子交换柱MAX、混合型弱阳离子交换柱WCX和混合阳离子交换柱MCX等.其中,MAX小柱^[20]和MCX小柱^[44]分别对酸性和碱性化合物具有高亲和力,WCX小柱^[20]和WAX小柱^[39]分别对强碱性(如季铵盐)和强酸性(如磺酸盐)化合物具有高选择性.HLB小柱对广谱的化合物都有较好的富集效果,也是水样分析中最常用的小柱类型^[45].此外,根据分析需求可以进行填料的组合.Psoma等^[19]选择HLB、ENV+、Strata-X-AW和Strata-X-CW等4种材料进行了SPE小柱的装填,对二甲双胍等在内的4种药物的生物转化产物进行了评估,共鉴定出22种转化产物.此外,依据物质在固定相和水相之间的分配平衡原理,研究人员发展了固相微萃取(solid-phase microextraction, SPME)技术,搭配气相色谱(gas chromatography, GC),在NTA研究中也得到了一定应用^[12].使用SMPE提取和顶空进样技术,Yu等^[27]在武汉地区的自来水中筛选出多环芳烃、酯、醛、酚等多种化合物.

样品提取后多需对样品进行浓缩,以提高检测灵敏度.最常用的浓缩方法是氮吹以及加热,适用于目标分析物为极性物质的分析.由于低气压下溶液体系沸点降低,可使用真空辅助蒸发浓缩(vacuum-assisted evaporative concentration)进一步降低待分析物在样品制备过程中的损失,有研究者将其用于环境水样的直接浓缩,以富集浓缩其中的农药及转化产物^[16].在不断地更新换代中,高分辨质谱的灵敏度也在不断提升,因此,在一些未知污染物的识别研究中,直接进样^[13, 25]或大体积进样^[21]的方式也有所使用,极大简化了样品前处理的流程和时间,提升了分析效率.

1.2 环境固体样品

与水样相比,包括大气颗粒物、土壤、沉积物等在内的固体样品在分析检测中需要面对更加复杂的基质效应.为提高样品的均匀程度和提取效率,干燥^[34, 46]、冷冻干燥^[11, 29-30, 32]、研磨或粉碎通常是固体样品前处理的必要步骤.超声、索氏提取^[23]、加速溶剂萃取(pressurized liquid extraction, PLE)^[24]等固-液萃取方法常用于进一步的化合物提取.相比传统的索氏提取,PLE通过施加较高的温度和压力,使溶剂分子的温度高于常压下的沸点,能够在更短的时间内,使用更少的有机溶剂实现对固体样品的自动化提取,基质效应更低.根据目标化合物的性质可选择极性(如水、乙腈)、半极性(如乙醚、氯仿)或非极性(如环己烷、甲苯)等溶剂对样品进行提取,已在土壤沉积物^[29]、颗粒物^[36]等样品中新污染物的识别中有所应用.Moschet等^[37]使用正己烷和丙酮对室内粉尘进行了提取,得到了含中低极性和极性化合物的提取液,分别用于后续的GC和液相色谱(liquid chromatography, LC)-HRMS分析.

1.3 生物样品

生物样品的提取方法类似于一般环境样品, 但相比而言, 血液、尿液、母乳、肝脏、肌肉、心脏等样品中通常含有高浓度的内源性物质, 包括蛋白质、脂质、盐等, 可能引起更强烈的基质效应, 需要在预处理中进行去除. 比如可以通过静置后离心的方式进行尿液样品中蛋白质和悬浮物质的去除^[47]. 对于一些特定结构的污染物, 内源性分子如蛋白质等能够与其发生结合, 因而在污染物提取时需要先将污染物游离出来. 在一项针对血浆中 PFASs 的识别研究中, Liu 等^[40] 依次使用乙腈和基于 ZrO_2 的 Hybrid SPE 柱分别进行蛋白和磷脂的去除, 使得与白蛋白结合率超过 95% 的大量 PFASs 游离, 进一步使用聚醚砜磁力棒吸附萃取法进行提取, 极大地降低了内源性分子的干扰, 实现了对中长链 PFASs 分子的高灵敏提取和检测. 除了使用有机溶剂, 低温冷冻也被用于富含蛋白质的肌肉组织样品的前处理, 使蛋白质发生变性沉淀而去除^[48]. 对脂质的去除也可使用基于体积排阻和疏水相互作用机制的 Captiva EMR-Lipid 柱过滤技术^[49]. 虽然大多数时候与生理分子的结合对于生物样品中污染物的分析来说都是一种阻碍, 但这种结合也为某些特定结构污染物的特异性提取富集提供了一种可能. Yang 等^[50] 将环境水样与人肝脏脂肪酸结合蛋白以及高表达该蛋白的微生物进行共培养, 之后通过体积排阻色谱进行相应分子量蛋白质的收集, 实现了对其中 PFASs 的特异性、高效富集, 识别出多种新 PFASs.

2 仪器分析和数据采集(Instrumental analysis and data acquisition)

2.1 色谱分离

样品经过提取、净化后, 使用色谱分离可进一步降低基质干扰, 提高化合物分析的灵敏度, 因而绝大多数的环境污染物分析都采用色谱-质谱联用系统. 在非靶标分析中, 实现化合物之间的高分离也有利于未知污染物的结构鉴定. LC 主要用于极性、半极性和部分非极性化合物的分析^[51]. 常规的反相液相色谱(reversed-phase liquid chromatography, RPLC)主要依靠分子间的非极性相互作用进行分离, 对于离子或强极性化合物的保留效果较差. 近年来出现的亲水相互作用液相色谱(hydrophilic interaction liquid chromatography, HILIC), 由于采用了极性固定相, 对强极性、高亲水性的化合物都有很好的保留, 在环境水样中极性污染物的 NTA 识别中得到了一定的应用^[18]. 在另一项研究中, 研究者使用复合离子交换柱, 通过调整流动相梯度和缓冲液浓度, 建立了针对油水分配系数(distribution coefficient, $\log D$)处于 $-7 - 1$ ($pH = 7.4$) 的范围间的 37 种强极性化合物的分析方法^[14], 但这样的色谱柱存在无法对化学物质的保留进行预测的固有缺陷.

分析非极性、半极性或挥发性化合物时, 相比 LC, GC 可能是更好的选择. Yu 等^[27] 通过 GC-HRMS 分析, 在饮用水中发现了 12 类挥发性有机化合物. 在对特别复杂的样品进行分析时, 多维色谱的使用可进一步降低提取物的复杂性, 有利于各化合物的识别鉴定和准确定量. Veenaas 等^[31] 利用 GC \times GC-HRMS 对斯德哥尔摩市从 2005 年至 2015 年这 10 年间的污水和污泥样品进行了分析, 使用固定相分别为弱极性和中等极性的两根正交柱, 实现了对超过 300 种化合物的有效分离和鉴定. 另外, 在一项关于城市污水的研究中, 研究者使用了超临界流体色谱(supercritical fluid chromatography, SFC)技术, 鉴定出了常规 LC 分析无法分离检测的 23 个臭氧化产物^[25].

2.2 质谱分析

2.2.1 离子源

离子源是除质量分析器外 HRMS 的另一个核心部件. 电子电离(electron ionization, EI)源是 GC-HRMS 最常用的电离源, 主要用于对挥发性或半挥发性物质进行分析. 在非靶标分析中, EI 源多用于大气颗粒物中的污染物如多环芳烃类化合物的识别^[36], 在一些水体^[12]、土壤和沉积物^[29] 中的弱极性、非极性污染物的识别中也有一定应用. 大气压化学电离(atmospheric pressure chemical ionization, APCI)源在非靶标研究中的使用还比较少. Aalizadeh 等^[52] 于近期开发了首个基于 GC-APCI-HRMS 进行环境样品中的新污染物半定量的工作流程, 有望服务于多环芳烃、多溴联苯醚、多氯联苯类物质的检测发现. 在基于 LC-HRMS 系统的非靶标研究中, ESI 源的使用最为广泛, 用于检测识别离子型化合物; 对于难以自行离子化的化合物, 可使用大气压光电离(atmospheric pressure photo-ionization, APPI)或 APCI 源进行辅助电离, 实现在 LC 条件下的检测. 在一项研究中, 一对无法通过色谱实现分离的麝香

异构体,在掺杂辅助的 APPI(dopant-assisted APPI, DA-APPI)源中显示出不同的离子反应,两个异构体的结构因此得以鉴定^[33]. Singh 等^[53] 分别使用 ESI 和 APCI 源对超过 1000 种化合物进行了检测,结果显示,其中 181 种化合物只能被 ESI 源检测到,48 种化合物只在 APCI 源下有响应.结合 ESI、EI 及化学电离(chemical ionization, CI)3 种电离源,研究人员对大气颗粒物中的水溶性、极性和非极性化合物进行了较为全面的表征^[54],表明不同检测模式以及电离源的联合使用有助于实现样品中多种污染物的广泛检测识别.

2.2.2 质量分析器

HRMS 进行未知物识别鉴定的基础是其极高的质量分辨率(resolving power, RP)及质量精度(mass accuracy, MA).前者指仪器区分两个质量数接近的质谱峰的能力,后者指的是测得质量数与理论质量数的偏离程度.更高的 RP 值产生更窄的质谱峰,意味着更强的区分干扰离子的能力,但相应地,扫描时间也会更长,产生的谱图也更为复杂.更高的质量精度意味着在分子式推断时产生更少的干扰选项,带来更高效率的化合物的识别鉴定.质谱仪中搭载的高分辨质量分析器有飞行时间(time-of-flight, TOF)、轨道阱(orbitrap)和傅里叶变换离子回旋共振(Fourier transform ion cyclotron resonance, FT-ICR)3 种类型. TOF 分辨率及质量精度均较低,但价格相对低廉,联用四极杆(quadrupole time-of-flight, QTOF)使其得到了广泛的应用; FT-ICR 尽管具有最高的分辨率,但由于高昂的维护费用,以及更慢的扫描速度导致其与色谱的兼容性较差,在现阶段 NTA 研究中的应用有限.

2.2.3 数据采集

全扫描(full scan)是 HRMS 的基本扫描方式,在这种模式下,进入仪器的离子不经过任何筛选,全部进入质量分析器中被测定,能够获得每个离子的质荷比(mass to charge ratio, m/z)及强度信息.在 LC-HRMS 和 GC-CI-HRMS 中,全扫描模式记录到的离子大多为分子离子或准分子离子;而在 GC-EI-HRMS 中,全扫描记录的则是各化合物的碎片离子信息.准分子离子难以直接用于化合物结构的推断,需二次进样,经碰撞池,如碰撞诱导解离(collision-induced dissociation, CID)或高能碰撞解离(high-energy collisional dissociation, HCD)池,进行裂解产生丰富的碎片离子以辅助结构判断.而 EI 模式下的碎片离子虽然可直接用于结构推断,但很多时候由于化合物结构的高度相似性(如异构体),可能造成母体污染物结构推断困难.

数据依赖采集(data-dependent acquisition, DDA)是目前 NTA 最常用的扫描方式.在除 GC-EI-HRMS 外的其他模式下,该扫描方式可以同时获得所有可检测离子的分子离子信息以及每次扫描中呈现最高响应的一些离子的二级质谱碎片信息.在进行广泛的污染物筛查中该扫描方法应用较多,尤其适用于高污染样品的分析,进行主要污染物的发现. Gago-Ferrero 等^[17] 使用 DDA 模式对废水进行分析,并设定将每次扫描中响应值最高的 25 个信号进行二级裂解,最终识别出 18 种极性有机污染物,并首次在废水中发现了表面活性剂乙二醇醚硫酸盐.使用该扫描方式要注意,每轮扫描进行 MS^2 裂解的离子的数量不宜设置太多(通常不超过 20),否则会由于总扫描时间太长而造成数据的缺失.在最新出现的迭代 DDA 模式中,通过反复分析同一样品,不断排除已经进行过二级碎裂的离子,使样品中浓度、响应更低的离子也能够被裂解,极大拓宽了样品中可识别的污染物的数量和种类,适用于痕量污染物的发现^[55].为对垃圾渗滤液中的 PFASs 进行全面表征, Koelmel 等^[28] 使用 DDA 和迭代 DDA 分别对样品进行了测试,结果显示迭代 DDA 的数据覆盖率提高了 80%.

与 DDA 相对应的是数据非依赖的采集模式(data-independent acquisition, DIA),通过裂解设定范围内的全部母离子,获得包含多种离子碎片的混合 MS^2 谱图.在该扫描模式中, DDA 模式固有的母离子-子离子对应关系丢失,给谱图解析和新污染物发现带来一定的困难,但该扫描模式理论上可获得所有分子的 MS^2 信息,适用于大浓度跨度范围的大量污染物的同时检测分析,尤其适用于能够产生特征碎片的特定结构类型污染物的识别.为降低 DIA 模式中母体分子的寻找难度, Peng 等^[35] 基于分段质量范围使用 DIA 对同一样品进行多次分析,经由 MS^2 扫描中的特征碎片 Br^- 在保留时间上的指引对可能的溴化物分子进行筛选.在一些研究中,为了高效进行污染物识别,研究者们会联合使用 DDA 和 DIA 进行样品扫描^[38].全离子碎裂(all ion fragmentation, AIF)是一种特殊的 DIA,此模式对所有进入质谱的离子进行碎裂而无法设置质量范围.在地中海贻贝的双氯芬酸暴露实验中,研究人员基于暴露组

与对照组 AIF 碎片的差异, 鉴定出 13 种双氯芬酸的代谢产物^[56]. 离子源裂解扫描 (in-source fragmentation, ISF) 与 AIF 相似, 不同之处在于 AIF 使用裂解池获取离子碎片, 而 ISF 的裂解发生在离子源区域. 一般而言, 离子源所能施加的能量整体较低, 对于高稳定性的化合物难以获得有效的碎片信息, 不适用于该类化合物的发现. Liu 等^[21] 使用快速交替运行的全扫描与 ISF 扫描, 经由 ISF 中特征碎片的保留时间引导, 在污水中识别出 5 类新 PFASs. 在以上扫描模式的设定中, 由于未知结构所需的最佳碎裂能量未知, 在 NTA 中经常使用梯度碰撞能量 (collision energies, CE, 如 10、15、30 eV; 或 normalized collision energies, NCE, 如 15%、30%、50%) 以获取丰富的碎片信息. 在针对特定结构类型污染物的分析中, 一些研究者会利用已知的同类型污染物进行裂解能量的测试选择^[21], 以最大程度提高分析数据的质量.

在对初步筛选的潜在污染物分子进行结构鉴定的时候, 可采用目标裂解扫描模式 (targeted MS/MS, t-MS²), 即使用低质量分辨率的四极杆进行特定质量数的选择 (精度 0.4 – 1 Da), 之后送入裂解池进行碎裂, 以获取较为干净的二级图谱.

3 高分辨质谱数据处理 (HRMS data processing in NTA)

数据分析是指对所采集的色谱-质谱数据进行分析处理以实现复杂样品中污染物分子的识别及结构鉴定, 是 NTA 流程中最复杂、耗时最久的步骤. 常规数据处理流程如图 1 所示, 主要为首先从海量 HRMS 数据中筛选出可能的污染物分子, 之后进行结构判断, 再评估结果的可靠性.

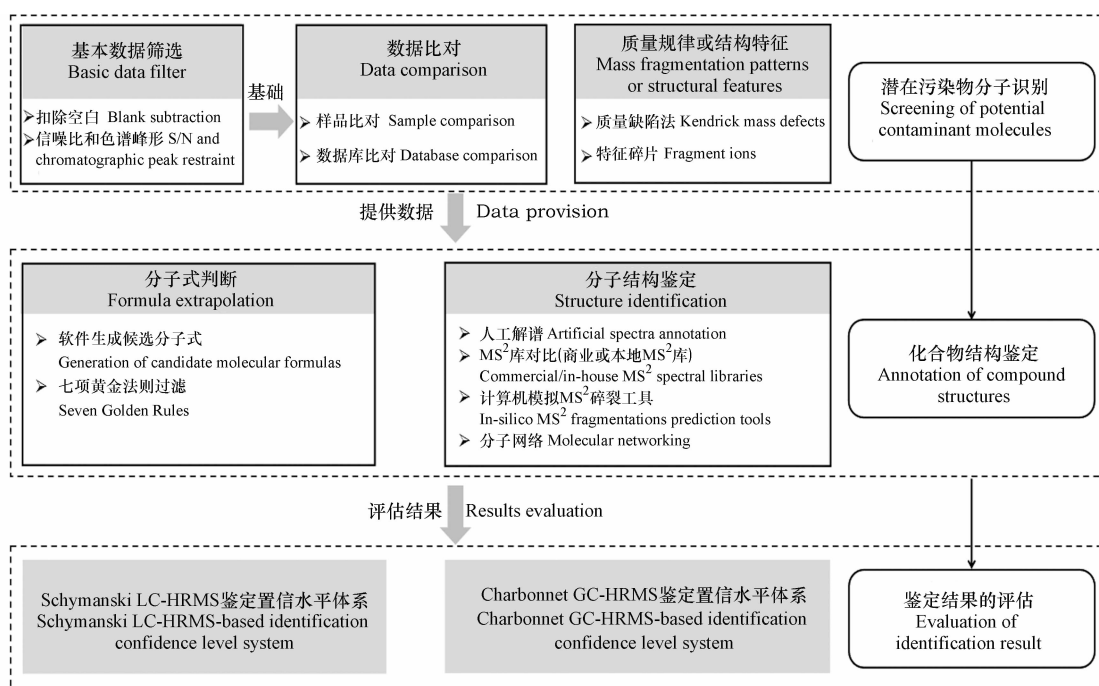


图 1 NTA 中 HRMS 数据的处理流程

Fig.1 Processing flow of HRMS data in NTA

3.1 潜在污染物分子的识别

在 NTA 中, 理论上所有可离子化的化合物都能够被检测并在全扫描中产生信号. 从大量信号中发现少数可能的污染物分子无异于大海捞针, 尤其是污染物与样品基质相比, 往往处于痕量、超痕量水平, 因此需要一些手段首先对可能的污染物分子进行筛选. 最基本的筛选是指对样品中真实存在的离子进行筛选, 筛选方法包括扣减空白样品信号 (如流程空白、基质空白)、设置一定的信噪比 (signal to noise ratio, S/N), 以及色谱峰的峰形控制 (强度、峰宽、对称性等) 等. 当存在成对或者多组差异性样品 (如工厂上下游的河水样品, 污水处理厂的进出水样品) 时, 可基于这种差异性, 使用统计学方法排除大量的基质分子, 实现对未知的新污染物的初步识别. 常用统计方法有主成分分析 (principal component analysis, PCA)^[57]、偏最小二乘法判别分析 (partial least squares-discriminant analysis, PLS-DA)^[58] 以及层

次聚类分析(hierarchical cluster analysis, HCA)^[59]. 结合 PCA 和 HCA, 研究人员对加迪斯湾的周边情况进行了调查, 结果表明 537 种废水污染物能够从源头蔓延到公海^[57].

清单筛查是另一种高效的污染物分子筛查方法, 基于公开或研究者自己建立的数据库, 通过设置离子质量数及合理的误差范围, 对获取的 HRMS 数据进行提取比对, 快速筛选出潜在的污染物分子. 常用的开源环境污染物数据库资源有欧洲 NORMAN Exchange 系统^[60](<http://www.norman-network.com/?q=node/236>)和美国环保署的 CompTox Chemicals Dashboard 网站(<https://comptox.epa.gov/dashboard/chemical-lists>), 覆盖污染物种类范围包括农药、PFASs、PPCPs 以及一些转化产物等. 研究者也可以从已有的报道、实验室先前的研究结果或前述公开的数据库中收集整理与研究内容相关性更强的污染物或转化产物的相关信息, 自行建立污染物清单. Lin 等^[61]基于 ToxCast 建立本地数据库, 对大气细颗粒物进行筛查, 识别出 89 种化合物. 清单筛查虽然筛选速度快, 效率高, 但高度依赖已有的研究或报道, 对于全新污染物的发现并不适用.

含有特定基团或官能团的同系物, 质量数规律可循或在碎裂的过程中可产生共同的特征碎片离子, 对于这类污染物可以依据其质量数特征或特征碎片进行识别. 比如存在不同链长同系物的 PFASs, 可使用 Kendrick 质量缺陷法则将测得的质量数进行转化后, 进行系列同系物分子的发现. 对于分子式相差—CF₂—和—CH₂CF₂的同系物, 相应的质量数转化因子分别为 49.99681 Da 和 64.01246 Da. 联合使用该策略以及清单筛查, Wang 等^[20]在废水中鉴定出 37 个潜在的 PFASs 同系物. Peng 等^[35]通过 DIA 图谱中 Br⁻碎片的搜寻, 在沉积物样品中发现了 1593 种溴代污染物. 此外, 含有一些特殊元素(如 Cl、Br 等)的化合物由于能够在全扫描中呈现特异性同位素分布而被识别. 通过对 t-MS² 谱图中的 Br⁻和 I⁻进行搜寻, 找到全扫描模式下对应的前体离子, 对这些前体离子再一次进行 t-MS² 扫描, Tao 等^[26]在自来水中成功鉴定出了 64 种溴代以及 23 种碘代消毒副产物(disinfection by products, DBPs). 在近期的一项研究中, 研究人员基于特征碎片及同位素分布特征开发了一种针对碘代全氟和多氟烷基酸(iodinated per- and polyfluoroalkyl acids, I-PFAAs)的数据筛查及识别方法. 首先对在 DDA 分析中获得的 MS² 谱图进行搜索, 筛选含有特征碎片离子 I⁻($m/z = 126.90502$)的潜在 I-PFAAs 分子, 之后根据 I⁻保留时间指示在全扫描中筛选可能的对应母离子, 再对疑似母离子进行碳、硫同位素分布特征的双重检验, 以排除假阳性^[22]. 使用此方法, 研究者在有机氟化物工业园区的废水中发现了 18 种 I-PFAAs. 近年来, 一些自动化软件的出现使得对潜在的特定类型污染物分子的提取更为便捷, 如 FluoroMatch 能够联合质量亏损、特征碎片等信息从复杂质谱数据中对疑似 PFASs 离子进行筛查及识别^[28], Haloseeker 能够基于同位素特征对 Cl、Br 取代的污染物进行快速筛选^[62].

3.2 化合物的结构鉴定

初步的化合物分子式推断是进行结构鉴定的第一步, 即通过设置分子中可能存在的元素种类及数量, 列出可能的分子式组成. 对于软件给出的可能分子式, 常常需要进一步加以筛选. 根据仪器精度的不同, 实验中获得的 m/z 信息与理论质量数会在一定质量数范围内存在差异, 首先需要针对质量偏差进行过滤. 常规 TOF、Orbitrap 和 FT-ICR 的质量偏差范围分别在 $\pm 0.003\%$ 、 $\pm 0.002\%$ 、 $\pm 0.001\%$. 此外还可以使用 Seven Golden Rules(七项黄金法则)^[63], 从元素数量、元素组成合理性、是否符合 Lewis 和 Senior 规则、碳氢元素比例、同位素比例、氮氧硫磷与碳元素比例, 以及是否存在三甲基硅烷化合物七方面进行候选分子式的筛选. 例如对于呈现 $M:[M+2] = 3:1$ 的分子离子, 大概率有且仅有 1 个 Cl 原子.

对污染物进行分子式的最终确认以及结构判断需要依赖 MS² 信息. 基于 MS² 的相似性进行数据库图谱匹配是 NTA 中化合物结构鉴定的主要方法, 可用的二级数据库主要有 Mass Bank(<http://www.massbank.jp/>)、NIST(<https://webbook.nist.gov/chemistry/>)、METLIN(https://metlin.scripps.edu/landing_page.php?pgcontent=mainPage)、MzCloud(<https://www.mzcloud.org/>)以及 PubChem(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)等, 覆盖了环境、代谢组学、蛋白组学、法医学以及食品领域相关的化合物, 研究者也可以根据分析需求建立本地二级数据库. 对于多种可能匹配的结果, 数据处理软件如 Compound Discover、enviMass 等均可根据碎片及其相对丰度的匹配程度以及全扫描质谱数据中同位素峰的比例等给出评分, 评分的高低可作为可能结构的选择依据之一^[24, 64]. 但由于实验图谱中往往存在混杂碎片, 或一些评分机制本身不完备, 在实际数据库对比中, 并不一定是高匹配分数的分子最为可

信, 因而实际操作中不能盲目依赖软件, 需同时配合人工检验. 此外, 一些数据库也包含了保留时间、保留指数等信息(如 NIST), 为提高匹配精度增加了额外的评价因素. 数据库对比适用于已有 MS² 谱图的污染物的发现. 尽管质谱数据库在持续更新, 但相比近年来呈指数增长的新化合物的生产及发现, 仍然无法满足当前的分析需求.

针对没有匹配的谱图的化合物, 目前主要依靠人工解谱, 解析效率及准确度高度依赖研究者的知识与经验, 可能产生差异性的解析结果. 在 PFASs 的鉴定中, 高度类似的不饱和全氟烷基磺酸盐类在不同研究中分别被解析为双键和环状^[20, 39]. 模拟裂解软件如 MetFrag、Mass Frontier 的出现极大地改善了这种缺陷, 可基于实验获得的 MS² 质谱图, 通过计算机模拟碎裂的方式, 对母离子和各级子离子的分子结构进行阐释, 辅助人工解谱^[65-66]. 另一类模拟软件则可以对给定的结构进行模拟裂解, 产生模拟 MS² 谱图, 可帮助研究者从多种可能结构中筛选最可能的母离子结构, 提高结构鉴定的准确性. CFM-ID(<https://cfmid.wishartlab.com/>)可以对一组可能的候选结构进行模拟碎裂, 并将得到的结果与实际获得的 MS² 谱图进行对比后给出各候选结构的可能性排名^[67-68]. 在一项瑞士地下水的相关研究中, 研究人员使用 CFM-ID 进行化合物的结构注释, 所使用的 29 个标准品中, 有 23 种得到了确认^[15]. 保留时间(retention time, RT)或者保留指数, 是化学物质鉴定中另一个重要的评价参数^[69]. 基于色谱疏水性指数(column hydrophobicity index, CHI)和 log *D* 建立起的两个 RT 预测模型对于强疏水性化合物有较好的预测结果, 可用于进行候选母离子的筛选^[70]. Aalizadeh 等^[71]建立了适用于 HILIC 和 RPLC 的 RT 预测模型, 在对曲马多等物质进行臭氧氧化的实验中, RT 预测结果与实验结果高度一致, 表明该模型能够支持异构体的鉴定工作.

作为一种新的结构解析工具, 分子网络(molecular networking, MN)的出现为进行高效的未知结构鉴定提供了强大的支持. MN 最早应用于生命科学领域^[72], 基于实验中产生 MS² 来创建节点, 将所获得的图谱根据相似性进行归类, 并与数据库进行匹配. 一般情况下, 具有相似结构的化合物产生的碎片光谱也相似, 因此这些化合物的节点往往聚集在一起形成类似物簇, 只要同属于一簇的任何一个分子与数据库中已有的光谱匹配成功, 该簇中大量的分子都能加以注释. Papazian 等^[54]利用 MN 对来自马尔代夫的细颗粒物样品进行了分析, 结果表明, 与来自南印度洋的清洁空气相比, 有机氮化物是高污染区域的主要污染物组成. 经过改进后, 基于特征的 MN(feature-based MN, FBMN)除 MS² 之外, 同时将 RT 和峰面积考虑在内, 在进行结构鉴定的同时兼具了识别同分异构体的能力^[73]. Oberleitner 等^[13]利用 FBMN 成功在地表水中鉴定出沙坦类药物及其转化产物.

3.3 鉴定结果的评估

对所鉴定的结构进行最终确认需要依靠标准品, 或者在对样品分馏纯化后进行核磁共振波谱(nuclear magnetic resonance, NMR)分析. 除了少数化合物, 目前新污染物识别研究中鉴定出的化合物都没有经过最终的结构确认. 具体的 NTA 研究方法不同, 所鉴定出的化合物的结构的准确度也存在差异. 为了反映所鉴定结构的可靠性, Schymanski 等^[74]提出了针对 LC-HRMS 分析的化合物结构置信等级(confidence level, CL), 该评价系统共分为 5 个置信等级, 从 CL1 到 CL5 准确度依次降低(图 2). 其中, CL5 仅包含 *m/z* 信息, 没有更多的关于分子式或结构的信息. 当有额外的加合离子、同位素或离子片段等信息辅助, 能够推算出分子式, 但 MS² 不能提供有效的结构判断信息时, 置信等级变更为四级. 置信等级为三级时, 部分 MS² 谱图得到了解释, 但仍然不能据此提出明确的完整结构(如不确定某个官能团的具体位置). 二级置信被进一步区分成 2a 和 2b 级, 分别指的是通过现有的数据库进行谱图匹配, 在多个参数(如碰撞能量、RT 等)都高度吻合的情况下得到唯一可能结构的情况, 以及根据 MS² 谱图进行人工推断得到唯一可能结构时的情况. 当有标准品提供时, 所检测的分子与标准品的色谱质谱行为(如 RT, MS, MS² 等)表现出高度一致, 二级置信中提出的物质结构可被确认, 即为一级置信水平.

现在备受关注的 PFASs, 其特异的同系物特征给出了更多的可供分子识别和结构鉴定的信息, Charbonnet 等^[75]在 Schymanski 化合物结构评价体系的基础上提出了针对 PFASs 的更为细致的置信等级评价方法. 对于经 GC-HRMS 系统分析及鉴定的化合物, Schymanski 体系中的一些评价标准已不再适用, Koelmel 等^[76]提出了相应的置信评级标准, 同样也包括五个等级. 在该体系中, 任何可重复检测到的未知碎片都属于 CL5, 处于这一置信等级的离子仍然具有被注释的可能, 但达不到其他任一置信

等级的标准. 四级置信度被划分成 a、b、c 三个等级, 根据同位素分布、精确质量数或碎片离子比对后鉴定出的具有唯一化学式的化合物处在 4a 级; 具有重复化学结构, 碎裂遵循 Kendrick 质量缺陷原则或即使在变温条件下仍然具有线性保留指数的系列化合物处在 4b 级; 结构上具有相似性, 具有一个或多个精确质量匹配的一组化合物处在 4c 级. 需要指出的是, 从 4a 到 4c 并不代表置信等级的降低或者升高. 例如在 PFASs 分析中, 目的是找到多种化合物的系列, 此时的评级即为 4b 级. 此外, 对于 4b 和 4c, 也可以具有精确的化学式匹配, 表示为 4ab/4ac 级. 除了需要有匹配的保留指数外, 三级置信标准与 LC-HRMS 的二级置信标准基本一致. 二级与三级置信的主要区别在于前者对保留指数匹配度要求更高. 一级置信水平与 Schymanski 体系类似, 但在使用 EI 源时, 可以从一级扫描中获得碎片信息, 因此不需要分子离子或二级图谱的信息.

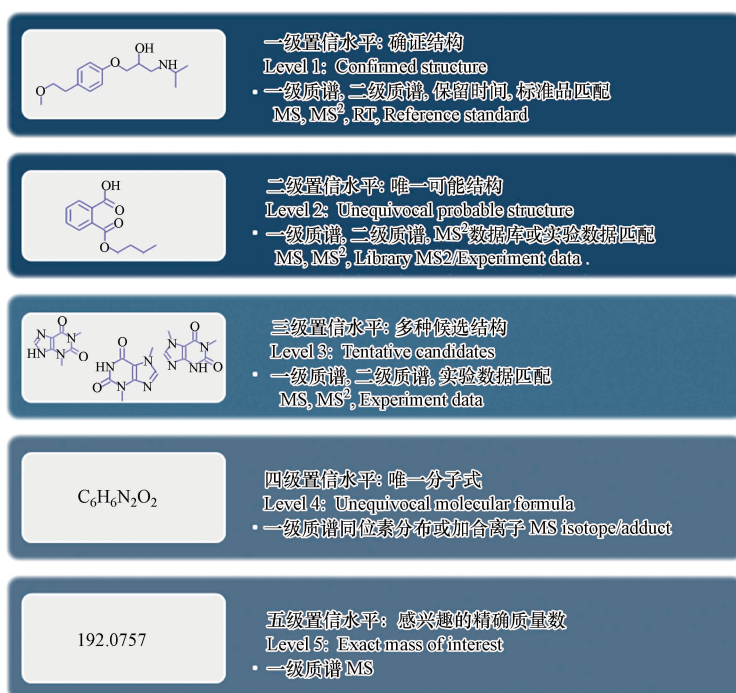


图 2 Schymanski LC-HRMS 鉴定置信水平体系^[74]

Fig.2 Schymanski LC-HRMS-based identification confidence level system^[74]

4 结论与展望(Conclusions and prospects)

NTA 的发展使得在对样品中物质信息完全未知的前提下对其中的污染物进行发现成为了可能, 有助于更全面地呈现各样品介质中的新环境污染物, 以及整体污染物的赋存状况, 推进风险评估. 目前一些针对特殊(如全氟工业园区的废水^[20])或普通(如湖水、海水^[39])环境样品的 NTA 研究在我国也有开展, 但与世界其他国家相比, 我国的研究范围有待扩大、研究内容有待深入, 开展全方位的新污染物识别工作, 有利于促进我国“筛、评、控”^[77]的新污染物治理工作进程. 高效且准确的化学结构鉴定是目前 NTA 研究面临的一大挑战, 基于实验数据的包括 RT 信息在内的 MS² 数据库的不断扩展是一项长期的任务, 基于机器学习的辅助性工具的发展有望以模拟数据库或辅助结构解析的方式服务于未知污染物的结构鉴定. 尽管辅助软件的使用大幅度降低了 NTA 中数据筛选和比对环节的耗时, 但不同软件之间的评分规则存在差异, 识别结果很大程度上依赖人工的最终确认, 也会产生不一致的结果, 因此, 发展自动化、智能化的新污染物识别鉴定平台也是加快污染物识别效率的一个重要研究方向. 过去 10 年, 非靶标技术的应用带来了大量新污染物的快速发现, 如何从中筛选出具有高环境健康风险的污染物, 推进对它们的优先管控, 以最终实现削减污染物对人体健康的不利影响的目标, 是环境领域科学家面临的重要课题. 在此方面, 中国科学院生态环境研究中心于 2021 年研制成功的高通量多功能成组毒理学分析仪(integrated toxicology analyzer, ITA)已经首先踏出了重要一步^[78]. 近年来已经有一些将 NTA 与毒性评价相结合的探索性研究. 如与效应导向分析(effect-directed analysis, EDA)结合, 实现了

对样品中针对特定靶点^[79-80], 或者具有特定毒性^[81]的污染物的识别. 对以上几个方面的综合深入探索, 有助于推动关键污染物的高效、早期发现, 服务于提升人民健康水平的国家需求.

参考文献 (References)

- [1] ESCHER B I, STAPLETON H M, SCHYMANSKI E L. Tracking complex mixtures of chemicals in our changing environment [J]. *Science*, 2020, 367(6476): 388-392.
- [2] WANG Z Y, WALKER G W, MUIR D C G, et al. Toward a global understanding of chemical pollution: A first comprehensive analysis of national and regional chemical inventories [J]. *Environmental Science & Technology*, 2020, 54(5): 2575-2584.
- [3] UNEP. Global chemicals outlook II: From legacies to innovative solutions[EB/OL]. [2023-02-10]. <https://www.unep.org/explore-topics/chemicals-waste/what-we-do/policy-and-governance/global-chemicals-outlook>.
- [4] LANDRIGAN P, FULLER R, ACOSTA N, et al. The Lancet commission on pollution and health [J]. *The Lancet*, 2018, 391(10119): 462-512.
- [5] WHO. Ambient (outdoor) air pollution[EB/OL]. [2023-02-10]. [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/ambient-\(outdoor\)-air-quality-and-health](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/ambient-(outdoor)-air-quality-and-health).
- [6] HERNÁNDEZ F, IBÁÑEZ M, BADE R, et al. Investigation of pharmaceuticals and illicit drugs in waters by liquid chromatography-high-resolution mass spectrometry [J]. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2014, 63: 140-157.
- [7] ISMANTO A, HADIBARATA T, KRISTANTI R A, et al. Endocrine disrupting chemicals (EDCs) in environmental matrices: Occurrence, fate, health impact, physio-chemical and bioremediation technology [J]. *Environmental Pollution*, 2022, 302: 119061.
- [8] PANTELAKI I, VOUTSA D. Organophosphate flame retardants (OPFRs): A review on analytical methods and occurrence in wastewater and aquatic environment [J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 649: 247-263.
- [9] NG C, COUSINS I T, DEWITT J C, et al. Addressing urgent questions for PFAS in the 21st century [J]. *Environmental Science & Technology*, 2021, 55(19): 12755-12765.
- [10] PEÑALVER R, ORTIZ A, ARROYO-MANZANARES N, et al. Non-targeted analysis by DLLME-GC-MS for the monitoring of pollutants in the Mar Menor lagoon [J]. *Chemosphere*, 2022, 286: 131588.
- [11] CCANCCAPA-CARTAGENA A, PICO Y, ORTIZ X, et al. Suspect, non-target and target screening of emerging pollutants using data independent acquisition: Assessment of a Mediterranean river basin [J]. *The Science of the Total Environment*, 2019, 687: 355-368.
- [12] HERNANDEZ F, PORTOLÉS T, PITARCH E, et al. Target and nontarget screening of organic micropollutants in water by solid-phase microextraction combined with gas chromatography/high-resolution time-of-flight mass spectrometry [J]. *Analytical Chemistry*, 2007, 79(24): 9494-9504.
- [13] OBERLEITNER D, SCHMID R, SCHULZ W, et al. Feature-based molecular networking for identification of organic micropollutants including metabolites by non-target analysis applied to riverbank filtration [J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2021, 413(21): 5291-5300.
- [14] MONTES R, AGUIRRE J, VIDAL X, et al. Screening for polar chemicals in water by trifunctional mixed-mode liquid chromatography-high resolution mass spectrometry [J]. *Environmental Science & Technology*, 2017, 51(11): 6250-6259.
- [15] KIEFER K, DU L T, SINGER H, et al. Identification of LC-HRMS nontarget signals in groundwater after source related prioritization [J]. *Water Research*, 2021, 196: 116994.
- [16] KIEFER K, MÜLLER A, SINGER H, et al. New relevant pesticide transformation products in groundwater detected using target and suspect screening for agricultural and urban micropollutants with LC-HRMS [J]. *Water Research*, 2019, 165: 114972.
- [17] GAGO-FERRERO P, SCHYMANSKI E L, BLETSOU A A, et al. Extended suspect and non-target strategies to characterize emerging polar organic contaminants in raw wastewater with LC-HRMS/MS [J]. *Environmental Science & Technology*, 2015, 49(20): 12333-12341.
- [18] SINGER H P, WÖSSNER A E, MCADELL C S, et al. Rapid screening for exposure to “non-target” pharmaceuticals from wastewater effluents by combining HRMS-based suspect screening and exposure modeling [J]. *Environmental Science & Technology*, 2016, 50(13): 6698-6707.
- [19] PSOMA A K, ROUSIS N I, GEORGANTZI E N, et al. An integrated approach to MS-based identification and risk assessment of pharmaceutical biotransformation in wastewater [J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 770: 144677.
- [20] WANG Y, YU N Y, ZHU X B, et al. Suspect and nontarget screening of per- and polyfluoroalkyl substances in wastewater from a fluorochemical manufacturing park [J]. *Environmental Science & Technology*, 2018, 52(19): 11007-11016.
- [21] LIU Y N, PEREIRA A D S, MARTIN J W. Discovery of C₅ – C₁₇ poly- and perfluoroalkyl substances in water by in-line SPE-HPLC-Orbitrap with in-source fragmentation flagging [J]. *Analytical Chemistry*, 2015, 87(8): 4260-4268.
- [22] TANG C M, ZHU Y Z, LIANG Y T, et al. First discovery of iodinated polyfluoroalkyl acids by nontarget mass-spectrometric analysis and iodine-specific screening algorithm [J]. *Environmental Science & Technology*, 2023, 57: 1378-1390.

- [23] MATSUKAMI H, HASHIMOTO S, SUZUKI G. Investigation of novel brominated triazine-based flame retardant (TDBP-TAZTO) and its transformation products emitted from fire-retarded textile manufacturing facility and its downstream sewage treatment plant [J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 791: 148233.
- [24] SCHOLLÉE J E, BOURGIN M, GUNTEN U V, et al. Non-target screening to trace ozonation transformation products in a wastewater treatment train including different post-treatments [J]. *Water Research*, 2018, 142: 267-278.
- [25] SEIWERT B, NIHEMAITI M, BAUER C, et al. Ozonation products from trace organic chemicals in municipal wastewater and from metformin: Peering through the keyhole with supercritical fluid chromatography-mass spectrometry [J]. *Water Research*, 2021, 196: 117024.
- [26] TAO D Y, WANG R, SHI S, et al. The identification of halogenated disinfection by-products in tap water using liquid chromatography-high resolution mass spectrometry [J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 740: 139888.
- [27] YU M Y, YANG X Q, FAN R, et al. Non-target screening analysis of volatile organic compounds in drinking water by headspace-solid phase microextraction gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2020, 48(9): 1228-1235.
- [28] KOELMEL J P, PAIGE M K, ARISTIZABAL-HENAO J J, et al. Toward comprehensive per- and polyfluoroalkyl substances annotation using FluoroMatch software and intelligent high-resolution tandem mass spectrometry acquisition [J]. *Analytical Chemistry*, 2020, 92(16): 11186-11194.
- [29] CHIAIA-HERNÁNDEZ A C, SCHERINGER M, MÜLLER A, et al. Target and suspect screening analysis reveals persistent emerging organic contaminants in soils and sediments [J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 740: 140181.
- [30] SÖRENGÅRD M, AHRENS L, ALYGIZAKIS N, et al. Non-target and suspect screening strategies for electro-dialytic soil remediation evaluation: Assessing changes in the molecular fingerprints and per- and polyfluoroalkyl substances (PFASs) [J]. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2020, 8(6): 104437.
- [31] VEENAAS C, BIGNERT A, LILJELIND P, et al. Nontarget screening and time-trend analysis of sewage sludge contaminants via two-dimensional gas chromatography-high resolution mass spectrometry [J]. *Environmental Science & Technology*, 2018, 52(14): 7813-7822.
- [32] CHIAIA-HERNÁNDEZ A C, GÜNTHARDT B F, FREY M P, et al. Unravelling contaminants in the anthropocene using statistical analysis of liquid chromatography-high-resolution mass spectrometry nontarget screening data recorded in lake sediments [J]. *Environmental Science & Technology*, 2017, 51(21): 12547-12556.
- [33] CHIAIA-HERNANDEZ A C, KRAUSS M, HOLLENDER J. Screening of lake sediments for emerging contaminants by liquid chromatography atmospheric pressure photoionization and electrospray ionization coupled to high resolution mass spectrometry [J]. *Environmental Science & Technology*, 2013, 47(2): 976-986.
- [34] TERZIC S, AHEL M. Nontarget analysis of polar contaminants in freshwater sediments influenced by pharmaceutical industry using ultra-high-pressure liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry [J]. *Environmental Pollution*, 2011, 159(2): 557-566.
- [35] PENG H, CHEN C L, CANTIN J, et al. Untargeted screening and distribution of organo-bromine compounds in sediments of Lake Michigan [J]. *Environmental Science & Technology*, 2016, 50(1): 321-330.
- [36] XU C, GAO L R, ZHENG M H, et al. Nontarget screening of polycyclic aromatic compounds in atmospheric particulate matter using ultrahigh resolution mass spectrometry and comprehensive two-dimensional gas chromatography [J]. *Environmental Science & Technology*, 2021, 55(1): 109-119.
- [37] MOSCHET C, ANUMOL T, LEW B M, et al. Household dust as a repository of chemical accumulation: New insights from a comprehensive high-resolution mass spectrometric study [J]. *Environmental Science & Technology*, 2018, 52(5): 2878-2887.
- [38] WANG L, KANG Q Y, JIA Y T, et al. Identification of three novel chloroalkyl organophosphate triesters in house dust using halogenation-guided nontarget screening combined with suspect screening [J]. *Environmental Science & Technology*, 2021, 55(4): 2482-2490.
- [39] LIU Y N, QIAN M L, MA X X, et al. Nontarget mass spectrometry reveals new perfluoroalkyl substances in fish from the Yangtze River and Tangxun Lake, China [J]. *Environmental Science & Technology*, 2018, 52(10): 5830-5840.
- [40] LIU Y N, RICHARDSON E S, DEROCHE A E, et al. Hundreds of unrecognized halogenated contaminants discovered in polar bear serum [J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2018, 57(50): 16401-16406.
- [41] BERIJANI S, ASSADI Y, ANBIA M, et al. Dispersive liquid-liquid microextraction combined with gas chromatography-flame photometric detection. Very simple, rapid and sensitive method for the determination of organophosphorus pesticides in water [J]. *Journal of Chromatography A*, 2006, 1123(1): 1-9.
- [42] FATTAHI N, ASSADI Y, HOSSEINI M R M, et al. Determination of chlorophenols in water samples using simultaneous dispersive liquid-liquid microextraction and derivatization followed by gas chromatography-electron-capture detection [J]. *Journal of Chromatography A*, 2007, 1157(1/2): 23-29.
- [43] REZAEI M, YAMINI Y, SHARIATI S, et al. Dispersive liquid-liquid microextraction combined with high-performance liquid

- chromatography-UV detection as a very simple, rapid and sensitive method for the determination of bisphenol A in water samples [J]. [Journal of Chromatography A](#), 2009, 1216(9): 1511-1514.
- [44] JONKERS T J H, MEIJER J, VLAANDEREN J J, et al. High-performance data processing workflow incorporating effect-directed analysis for feature prioritization in suspect and nontarget screening [J]. [Environmental Science & Technology](#), 2022, 56(3): 1639-1651.
- [45] DANIELS K D, PARK M, HUANG Z Z, et al. A review of extraction methods for the analysis of pharmaceuticals in environmental waters [J]. [Critical Reviews in Environmental Science and Technology](#), 2020, 50(21): 2271-2299.
- [46] ZAJA R, TERZIĆ S, SENTA I, et al. Identification of P-glycoprotein inhibitors in contaminated freshwater sediments [J]. [Environmental Science & Technology](#), 2013, 47(9): 4813-4821.
- [47] CORTÉJADE A, KISS A, CREN C, et al. Development of an analytical method for the targeted screening and multi-residue quantification of environmental contaminants in urine by liquid chromatography coupled to high resolution mass spectrometry for evaluation of human exposures [J]. [Talanta](#), 2016, 146: 694-706.
- [48] DÜRIG W, KINTZI A, GOLOVKO O, et al. New extraction method prior to screening of organic micropollutants in various biota matrices using liquid chromatography coupled to high-resolution time-of-flight mass spectrometry [J]. [Talanta](#), 2020, 219: 121294.
- [49] MUSATADI M, GONZÁLEZ-GAYA B, IRAZOLA M, et al. Focused ultrasound-based extraction for target analysis and suspect screening of organic xenobiotics in fish muscle [J]. [Science of the Total Environment](#), 2020, 740: 139894.
- [50] YANG D W, HAN J J, HALL D R, et al. Nontarget screening of per- and polyfluoroalkyl substances binding to human liver fatty acid binding protein [J]. [Environmental Science & Technology](#), 2020, 54(9): 5676-5686.
- [51] ULRICH E M, SOBUS J R, GRULKE C M, et al. EPA's non-targeted analysis collaborative trial (ENTACT): Genesis, design, and initial findings [J]. [Analytical and Bioanalytical Chemistry](#), 2019, 411(4): 853-866.
- [52] AALIZADEH R, NIKOLOPOULOU V, ALYGIZAKIS N A, et al. First novel workflow for semiquantification of emerging contaminants in environmental samples analyzed by gas chromatography-atmospheric pressure chemical ionization-quadrupole time of flight-mass spectrometry [J]. [Analytical Chemistry](#), 2022, 94(27): 9766-9774.
- [53] SINGH R R, CHAO A, PHILLIPS K A, et al. Expanded coverage of non-targeted LC-HRMS using atmospheric pressure chemical ionization: A case study with ENTACT mixtures [J]. [Analytical and Bioanalytical Chemistry](#), 2020, 412(20): 4931-4939.
- [54] PAPA ZIAN S, D'AGOSTINO L A, SADIKTISIS I, et al. Nontarget mass spectrometry and in silico molecular characterization of air pollution from the Indian subcontinent [J]. [Communications Earth & Environment](#), 2022, 3(1): 1-14.
- [55] HUANG Y, MOLDEN R, HU M Q, et al. Toward unbiased identification and comparative quantification of host cell protein impurities by automated iterative LC-MS/MS (HCP-AIMS) for therapeutic protein development [J]. [Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis](#), 2021, 200: 114069.
- [56] BONNEFILLE B, ARPIN-PONT L, GOMEZ E, et al. Metabolic profiling identification of metabolites formed in Mediterranean mussels (*Mytilus galloprovincialis*) after diclofenac exposure [J]. [Science of the Total Environment](#), 2017, 583: 257-268.
- [57] LARA-MARTÍN P A, CHIAIA-HERNÁNDEZ A C, BIEL-MAESO M, et al. Tracing urban wastewater contaminants into the Atlantic Ocean by nontarget screening [J]. [Environmental Science & Technology](#), 2020, 54(7): 3996-4005.
- [58] HOHRENK L L, VOSOUGH M, SCHMIDT T C. Implementation of chemometric tools to improve data mining and prioritization in LC-HRMS for nontarget screening of organic micropollutants in complex water matrixes [J]. [Analytical Chemistry](#), 2019, 91(14): 9213-9220.
- [59] CARPENTER C M G, WONG L Y J, JOHNSON C A, et al. Fall creek monitoring station: Highly resolved temporal sampling to prioritize the identification of nontarget micropollutants in a small stream [J]. [Environmental Science & Technology](#), 2019, 53(1): 77-87.
- [60] TAHA H M, AALIZADEH R, ALYGIZAKIS N, et al. The NORMAN Suspect List Exchange (NORMAN-SLE): Facilitating European and worldwide collaboration on suspect screening in high resolution mass spectrometry [J]. [Environmental Sciences Europe](#), 2022, 34(1): 104.
- [61] LIN Y F, YANG J, FU Q, et al. Exploring the occurrence and temporal variation of ToxCast chemicals in fine particulate matter using suspect screening strategy [J]. [Environmental Science & Technology](#), 2019, 53(10): 5687-5696.
- [62] LÉON A, CARIOU R, HUTINET S, et al. HaloSeeker 1.0: A user-friendly software to highlight halogenated chemicals in nontargeted high-resolution mass spectrometry data sets [J]. [Analytical Chemistry](#), 2019, 91(5): 3500-3507.
- [63] KIND T, FIEHN O. Seven Golden Rules for heuristic filtering of molecular formulas obtained by accurate mass spectrometry [J]. [BMC Bioinformatics](#), 2007, 8(1): 1-20.
- [64] WANG S R, PERKINS M, MATTHEWS D A, et al. Coupling suspect and nontarget screening with mass balance modeling to characterize organic micropollutants in the Onondaga Lake-Three Rivers system [J]. [Environmental Science & Technology](#), 2021, 55(22): 15215-15226.
- [65] MENGER F, BOSTRÖM G, JONSSON O, et al. Identification of pesticide transformation products in surface water using suspect

- screening combined with national monitoring data [J]. *Environmental Science & Technology*, 2021, 55(15): 10343-10353.
- [66] FERRANDO-CLIMENT L, GONZALEZ-OLMOS R, ANFRUNS A, et al. Elimination study of the chemotherapy drug tamoxifen by different advanced oxidation processes: Transformation products and toxicity assessment [J]. *Chemosphere*, 2017, 168: 284-292.
- [67] WANG F, LIIGAND J, TIAN S Y, et al. CFM-ID 4.0: More accurate ESI-MS/MS spectral prediction and compound identification [J]. *Analytical Chemistry*, 2021, 93(34): 11692-11700.
- [68] ALLEN F, PON A, GREINER R, et al. Computational prediction of electron ionization mass spectra to assist in GC/MS compound identification [J]. *Analytical Chemistry*, 2016, 88(15): 7689-7697.
- [69] CELMA A, BIJLSMA L, LÓPEZ F J, et al. Development of a retention time interpolation scale (RTi) for liquid chromatography coupled to mass spectrometry in both positive and negative ionization modes [J]. *Journal of Chromatography A*, 2018, 1568: 101-107.
- [70] HU M, MÜLLER E, SCHYMANSKI E L, et al. Performance of combined fragmentation and retention prediction for the identification of organic micropollutants by LC-HRMS [J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2018, 410(7): 1931-1941.
- [71] AALIZADEH R, NIKA M C, THOMAIDIS N S. Development and application of retention time prediction models in the suspect and non-target screening of emerging contaminants [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2019, 363: 277-285.
- [72] WATROUS J, ROACH P, ALEXANDROV T, et al. Mass spectral molecular networking of living microbial colonies [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2012, 109(26): E1743-E1752.
- [73] NOTHIAS L F, PETRAS D, SCHMID R, et al. Feature-based molecular networking in the GNPS analysis environment [J]. *Nature Methods*, 2020, 17(9): 905-908.
- [74] SCHYMANSKI E L, JEON J, GULDE R, et al. Identifying small molecules via high resolution mass spectrometry: Communicating confidence [J]. *Environmental Science & Technology*, 2014, 48(4): 2097-2098.
- [75] CHARBONNET J A, MCDONOUGH C A, XIAO F, et al. Communicating confidence of per- and polyfluoroalkyl substance identification via high-resolution mass spectrometry [J]. *Environmental Science & Technology Letters*, 2022, 9(6): 473-481.
- [76] KOELMEL J P, XIE H Y, PRICE E J, et al. An actionable annotation scoring framework for gas chromatography-high-resolution mass spectrometry [J]. *Exposome*, 2022, 2(1): osac007.
- [77] 国务院办公厅. 新污染物治理行动方案 [EB/OL]. [2023-02-10]. http://www.gov.cn/zhengce/content/2022-05/24/content_5692059.htm.
- [78] 杨晓溪, 李姿慷, 郭云鹤, 等. 成组毒理学分析仪在污染物识别与毒性测试中的应用 [J]. *分析测试学报*, 2022, 41(9): 1279-1285.
- YANG X X, LI Z K, GUO Y H, et al. Application of integrated toxicology analyzer in pollutants identification and toxicity analysis [J]. *Journal of Instrumental Analysis*, 2022, 41(9): 1279-1285 (in Chinese).
- [79] MA Q C, LIU Y N, YANG X X, et al. Effect-directed analysis for revealing aryl hydrocarbon receptor agonists in sediment samples from an electronic waste recycling town in China [J]. *Environmental Pollution*, 2022, 308: 119659.
- [80] MA Q C, YANG X X, GUO Y H, et al. Effect-directed analysis of estrogenic chemicals in sediments from an electronic-waste recycling area [J]. *Environmental Pollution*, 2022, 306: 119369.
- [81] TIAN Z Y, GOLD A, NAKAMURA J, et al. Nontarget analysis reveals a bacterial metabolite of *Pyrene* implicated in the genotoxicity of contaminated soil after bioremediation [J]. *Environmental Science & Technology*, 2017, 51(12): 7091-7100.