发现新型化学污染物的技术途径

林泳峰, 阮挺*, 江桂斌

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

*通讯作者, E-mail: tingruan@rcees.ac.cn

收稿日期: 2018-04-08; 接受日期: 2018-05-30; 网络版发表日期: 2018-09-12

国家自然科学基金(编号: 21622705, 21577151, 21461142001)和中国科学院青年创新促进会项目资助项目

摘要 具有持久性有机污染物环境行为特性(持久性、生物累积性、毒性和长距离迁移能力)的新型化学污染物日益受到政府和研究学者的广泛关注. 分析方法学的研究是发现新型化学污染物的关键, 其主要难点在于无指定的目标化合物为研究对象, 有机污染物环境赋存浓度往往处于痕量水平, 且基质干扰效应严重. 因此需综合运用前沿技术手段, 拓展识别分析的新方法体系. 本文从样品前处理方法的应用、引导发现策略的设计、多重结构信息的获取和整合三方面介绍了部分关键技术途径和研究进展, 并初步探讨了当前的知识空缺和发展趋势.

关键词 新型化学污染物, 分析方法, 样品前处理, 非目标分析, 色谱保留行为

1 引言

持久性有机污染物(persistent organic pollutants, POPs)^[1]在环境介质中表现出持久性、生物累积性、毒性和长距离迁移能力, 受到国际社会各方面的广泛关注. 鉴于持久性有机污染物可能对自然环境和人体健康产生长期影响, 国际政府间组织签署了《关于持久性有机污染物的斯德哥尔摩公约》(简称斯德哥尔摩公约)以消减或限制特定持久性有机污染物的生产和使用^[2]. 同时, 为了进一步加强对市售化学产品的审查, 多国政府和世界组织颁布了基于物理-化学特性参数的新型化学污染物筛选标准. 美国、欧盟等国家和地区先后制定了美国环保署有毒物质控制法案(toxic substances control act, TSCA)^[3]和欧盟化学品的注册、评估、授权和限制法案(registration, evaluation, authorisation and restriction of chemical substances, REACH)^[4]

等, 以便于对环境持久性、生物富集性和潜在生物效应的化工产品进行模型筛选、实验验证和实际监管.

随着商用五溴联苯醚及全氟辛基磺酸等POPs物质的禁止或限制使用, 化工替代产品得以在日常生活广泛使用. 部分替代产品具有与被替代物相似的分子结构和物理-化学性质, 因而也可能具有POPs特性的环境行为. 例如, 近年来, 作为灭蚊灵的同分异构体, 一种作为阻燃剂使用的化工产品得克隆(dechlorane plus, DP)及其副产物dechlorane 602等在环境介质中被发现, 后续研究表明, 这类化合物广泛存在于世界各地的多种环境介质中, 同样具有类似于POPs的环境持久性、长距离迁移能力和生物富集能力^[5]. 因此, 对于具有潜在POPs特性新型化学污染物的发现和行为归趋研究已成为目前环境化学领域的一个热点问题.

新型化学污染物发现的分析方法学研究尚存在以下难点问题. (1) 发现过程往往具有偶然性. 利用常规

引用格式: Lin Y, Ruan T, Jiang G. Analytical strategies on identification of novel chemical pollutants. *Sci Sin Chim*, 2018, 48, doi: [10.1360/N032018-00085](https://doi.org/10.1360/N032018-00085)

分析方法进一步深化探索的研究思路面向的潜在目标物类型单一、效率低下^[6,7]。分析策略多为针对性的方法学优化。然而, 美国TSCA和欧盟REACH等相关数据显示, 数百万种工业化学品的物理-化学特征具有较大差异^[8,9]。专一性的样品前处理、仪器分析流程难以涵盖具有不同官能团和结构特征的潜在目标物。(2) 单一技术手段尚无法实现潜在污染物的结构解析。环境有机污染物赋存浓度往往处于ng/kg~mg/kg的痕量水平, 远低于定性仪器(如核磁共振、红外光谱等)的测定范围; 复杂环境基质效应同样会对结构解析产生干扰。针对上述难点问题, 需从样品前处理和仪器分析流程、引导发现过程分析策略及多重结构信息的获取和整合等方面展开探索。

2 样品前处理技术

与传统环境污染物的分析方法相比, 新型化学污染物的发现, 更加注重在消除环境基质干扰的前提下尽可能多地保留样品中存在的化合物信息。然而复杂环境介质中众多化合物的物理-化学性质的离散性给外源性小分子有机污染物成分整体的有效萃取、杂质净化和浓缩等样品前处理步骤带来挑战。

2.1 简单环境基质的萃取和净化方法

如环境基质对外源性小分子有机化合物前处理净化和仪器分析的干扰较小(如部分表层水体样品、土壤等), 则通常采用萃取和净化一体化流程。

固相萃取(solid phase extraction, SPE)是最为常用的液-固富集方法。由于具有持久性、富集性的新型化学污染物多为疏水性强(辛醇-水分配系数的对数值 $\log K_{ow} > 5$)的有机物, 故SPE填料中往往选取含有C18取代基团的键合硅胶材料。研究结果显示, C18填料能够有效保留污水中60余种疏水性有机污染物, 如多环芳烃、烷基酚、多氯联苯、有机氯、杀虫剂、除草剂、多溴联苯醚等^[10]。近年来, 将N-乙烯吡咯烷酮等亲水性基团与二乙烯基苯等亲脂性基团按照比例聚合而形成的亲水、亲脂平衡(hydrophilic-lipophilic balance, HLB)系列水浸润高聚合物填料兼顾了中性疏水有机物和极性有机物, 对大量环境污染物均表现出良好的保留和解吸性能, 因而在新型化学污染物非目标分析(nontarget analysis)中得到广泛应用^[11]。值得注意的是,

固相萃取的主要功能是将痕量分析物进行浓缩、介质转移(把分析物从样本基质转移至溶剂中)^[12]。例如, 文献中使用直接大体积进样方法与C18、HLB固相萃取方法进行对比, 考察对污水处理厂进水中8种全氟羧酸和5种全氟磺酸类污染物定量分析性能的影响。结果显示, 两种分析方法在基质效应干扰的控制上无显著性差别^[13]。同时, 新型化学污染物的发现过程往往需借助液相色谱-高分辨质谱检测手段。固相萃取的脱盐功能有助于化合物的定性解析过程^[14]。

固相微萃取技术(solid phase microextraction, SPME)的原理与固相萃取类似, 是将具有大表面积的聚合物作为吸附剂固载于熔融石英纤维表面, 实现对待测物的吸附和浓缩。固相微萃取尤其适用于气相样品和挥发性液体样品^[15]。固相微萃取可供选择的固载高聚物涂层种类较多, 如常见的聚二甲基硅氧烷(polydimethylsiloxane, PDMS)、聚丙烯酸酯(polyacrylate, PA)、二乙烯基苯(divinylbenzene, DVB)、聚乙二醇(carboxen, CAR)、碳分子筛(carbowax, CW)等。发现新型化学污染物的分析方法以尽可能多地获取样本中有机化合物信息为前提, 往往将对疏水性化合物具有广谱吸附效果的PDMS涂层纤维作为首选吸附材料。文献^[16]中报道了顶空固相微萃取-气相色谱/飞行时间高分辨质谱联用方法, 使用目标分析(target analysis)和非目标分析(nontarget analysis)策略研究表层河水和地下水中赋存的有机污染物。该方法评价了PDMS、PDMS/DVB、PA、CW/DVB涂层萃取头对农药、烷基酚、氯苯、多环芳烃等60种目标化合物的吸附解吸性能, 综合结果显示PDMS涂层对目标化合物具有最佳的富集能力。该方法除了鉴别出上述目标化合物之外, 还发现了双酚A、2,6-二叔丁基-4-甲基苯酚(2,6-di-tert-butyl-4-methylphenol, BHT)及其苯甲醛转化产物(BHT-CHO)、多环麝香和二苯甲酮紫外线吸收剂等其他环境污染物。固相微萃取与质谱联用技术日趋完善, 自动化在线联用技术的进步节省了待测物的介质转移过程, 在缩短分析时间的同时也提升了方法的灵敏度, 实现了萃取、净化和仪器分析的一体化流程^[17,18]。

搅拌棒吸附萃取(stir-bar sorptive extraction, SBSE)是一种新型固相微萃取技术, 是在包裹磁芯的玻璃管外壁加覆一定厚度高聚物涂层(如PDMS)或套上一层高聚物的橡胶管, 通过磁芯的转动带动搅拌棒

完成搅拌并吸附目标物^[19]。与固相微萃取技术相比, 搅拌棒吸附萃取使用的高聚物吸附剂的体积更大。基于PDMS涂层体积为100 μL 的搅拌棒吸附萃取方法和基于PDMS涂层体积为0.5 μL 的浸入式固相微萃取方法对多环芳烃类化合物萃取性能的比较结果显示, 搅拌棒吸附萃取方法能适用于 K_{ow} 值更低的多环芳烃类化合物^[20]。搅拌棒吸附萃取方法和顶空固相微萃取方法已应用于果汁样本中挥发性成分的非目标分析。结果显示, 搅拌棒吸附萃取能够检测和鉴别如长链饱和羧酸等更多的有机物, 可对醚、酮、萜烯和醇类挥发性化合物进行半定量分析^[21]。与此同时, 搅拌棒吸附萃取是一个动态平衡过程。目标物在搅拌棒和原样本本相的浓度和分配系数与物质自身的 K_{ow} 呈线性相关, 特别适用于表征未知复杂目标物组分的物理-化学性质。如利用搅拌棒吸附萃取方法考察油砂污染水体(oil sand process-affected water, OSPW)中2114种有机极性成分的辛醇-水分配系数, 研究结果显示, 正离子组分的辛醇-水分配系数普遍高于负离子组分, 其中 O^+ 、 NO^+ 和 SO^+ 组分具有较高的亲脂性, 相关物质的环境持久性和潜在的长期暴露毒性值得持续关注^[22]。

类似的针对简单环境基质的萃取、净化一体化前处理方法还包括池内净化-加速溶剂萃取法(in-cell accelerated solvent extraction)。该方法的特点是将固相吸附剂置于加速溶剂萃取池的底部, 使用玻璃纤维滤膜等隔离后, 将分散的环境样本置于萃取池的上端。萃取过程中, 溶剂先经过样本基质提取得到含有分析物的组分, 再经过固相吸附剂以去除高分子杂质。洗脱液无需再净化, 浓缩后直接进入仪器分析。研究认为, 底泥样本中有机氯农药的回收率主要受到溶剂极性、硅胶吸附剂体积和萃取温度的影响, 而上述优化过程为标准化的加速溶剂萃取方法的开发流程, 易得到良好的分析结果^[23]。

2.2 复杂环境基质的预处理和分离方法

复杂环境介质(如大气总悬浮颗粒物、污水处理厂底泥等)的组分来源广泛, 往往由高含量的生物碳、极性有机酸、多酚、色素、糖类和脂肪酸等组成。当复杂环境介质未经过充分的前处理过程进入仪器分析时, 会造成待测物回收率降低, 对准确的定性定量结果产生干扰。因此, 在新型化学污染物分析方法学研究中, 需将小分子疏水有机物与其他杂质分子进行初步

分离。常用的前处理手段主要包括液液萃取、超临界流体萃取、微波辅助萃取、索氏萃取和加速溶剂萃取等, 后续的净化手段如硫酸氧化、复合吸附剂(如硅胶、氧化铝、弗罗里硅土)处理等。此外, QuEChERS(quick, easy, cheap, effective, rugged and safe)和凝胶渗透色谱法(gel permeation chromatography, GPC)在复杂环境基质的预处理中也得到了广泛应用。

QuEChERS是Anastassiades等^[24]最早发明的用于食品等复杂样本基质中提取和净化农药残留的分析方法。针对不同的复杂环境基质组分, QuEChERS方法形成了较为完善的固相吸附剂使用方法。例如, 乙二胺-*N*-丙基硅烷(PSA)、氨基($-\text{NH}_2$)吸附剂和中性氧化铝具有弱阴离子交换能力, 可通过氢键作用去除脂肪酸、糖类等极性化合物; C18对油脂、维生素等去除能力较强; 弗罗里硅土可用于吸附蜡质等脂溶性杂质; 而石墨化炭黑具有平面结构, 能有效去除色素和甾醇类非极性干扰物。文献报道将PSA和C18作为固相吸附剂、乙酸钠和无水硫酸镁作为无机盐, 利用QuEChERS和气相色谱串联质谱法测定了谷物中219种农药残留。结果显示, 绝大部分农药残留分析物的方法回收率在70%~120%范围内, 且相对标准偏差低于20%。该方法在基质干扰控制上亦取得了较好效果, 61%的分析物的基质效应低于50%^[25]。随着该样品前处理技术的不断发展, 除农药和违禁药物残留外, QuEChERS方法还适用于抗氧化剂、食品添加剂、内分泌干扰物、紫外线吸收剂、卤代阻燃剂和全氟烷基化合物等多种环境有机污染物, 适宜处理的环境介质包括水体、底泥和土壤、肉类和海鲜、蜂蜜、果蔬及血液、尿液等^[26]。利用QuEChERS作为萃取和净化步骤建立方法^[27], 可用于研究鱼肉和母乳样本中的环境污染物。文献使用了77种污染物作为评价化合物, 覆盖了农药残留、药物、个人护理用品、多溴联苯醚、多氯联苯、多环芳烃、有机氯杀虫剂等极性和非极性污染物, 相关化合物的辛醇-水分配系数范围可达-0.3~10。结果显示, 对于非极性目标物, PSA/C18吸附剂以及氧化锆(Z-Sep)吸附剂均能达到良好的提取效果(回收率>80%); 对于极性污染物, Z-Sep和PSA/C18及蛋白-油脂过滤膜联用亦能达到>60%的回收率。利用上述建立的分析方法, 鱼肉样本中还发现了氟虫腈及其两种转化产物。

凝胶渗透色谱法是一种按照溶质分子大小进行分

离的体积排阻色谱技术。GPC凝胶柱的凝胶内具有一定的空隙, 当待分离的组分进入GPC凝胶柱后, 较小的分子能渗透到空隙内。分子越小, 在空隙内驻留的时间越长, 而不能进入空隙的大分子物质则会快速跟随流动相流出, 实现按分子大小的分级萃取^[28]。分离过程仅与待分离组分的分子量相关, 与化合物的结构和极性特征无关, 是将小分子疏水性有机污染物与脂肪和色素等高分子量基质进行分离的有效手段。文献报道使用凝胶渗透色谱法与二维气相色谱-质谱仪联用建立非目标分析方法, 从室内灰尘标准样品中鉴定出邻苯二甲酸酯、多环芳烃、硝基化合物和有机卤代污染物等^[29]。

疏水性小分子有机污染物在环境基质中并非都处于游离状态, 如土壤、表层水体悬浮物中含有的胡敏酸、富里酸等天然腐殖质高分子有机物可与有机污染物相互作用形成氢键或共价键, 从而影响有机污染物的吸附/解吸、迁移和转化等行为。选取不同混合溶剂可调整萃取试剂的极性, 可达到破坏氢键、提高萃取效率的目的^[30]。有机污染物(如四溴双酚A)特定官能团亦可与土壤中的胡敏酸和富里酸形成酯键或醚键, 萃取过程中加入碱液水解破坏共价键, 可获取结合态组分信息^[31]。

3 引导发现策略

新型化学污染物发现方法的研究对象是复杂环境介质整体, 所覆盖组分的复杂程度决定了多样化引导发现方法策略的重要性。其中定量结构-性质关系模型方法和高分辨质谱非目标分析是两种高效的引导发现方法。

3.1 定量结构-性质关系模型方法

定量结构-性质关系(quantitative structure property relationship, QSPR)是运用理论计算和统计分析工具研究化合物结构与其物理-化学性质之间确定函数关系的方法。基本假设认为化合物分子物理化学性质的变化取决于其化学结构的变化, 且分子的结构可通过反映结构特征的各种参数来表示^[32,33]。

持久性有机污染物的环境行为特征与其物理-化学性质紧密相关。如表1所示, 联合国环境规划署等国际权威组织对具有潜在POPs特性化合物的物理-化学

性质进行了详细的定义。例如, 当该化合物的过冷饱和蒸气压 $V_p < 1000 \text{ Pa}$ 并且其大气氧化半衰期 $T_{1/2} > 2 \text{ d}$ 时, 则认为其具有长距离迁移能力; 当该化合物在水体、底泥和土壤中的半衰期 $T_{1/2} > 180 \text{ d}$ 时, 则认为其具有环境持久性; 而当该化合物的 $\log K_{ow} > 5$ 并且生物富集因子BAF或生物浓缩因子BCF (bioconcentration factor) > 5000 时, 则认为其具有生物富集能力。

定量结构-性质关系模型方法能够对化合物的亨利常数 H ^[35]、辛醇-水分配系数 K_{ow} ^[36]、辛醇-大气分配系数 K_{oa} ^[37]、大气氧化半衰期 $AO T_{1/2}$ ^[38]及好氧生物降解半衰期^[39]等物理-化学参数进行准确的模拟和预测。例如, K_{ow} 与化合物分子结构中各官能团的贡献存在相关关系^[37], 如下公式所示:

$$\log K_{ow} = \sum(f_i n_i) + \sum(c_j n_j) + 0.229$$

其中, f_i 和 n_i 分别为分子结构中各官能团对其 K_{ow} 的贡献系数及该官能团在分子结构中出现的次数; c_j 和 n_j 分别为分子结构中各官能团相互连接过程引入的校正系数和该校正情况出现的次数。

Howard和Muir^[34]对包含美国环境保护署高生产量物质计划(USEPA High Production Volume Program, HPV)、美国TSCA、加拿大国内化合物清单(Canada Domestic Substance List, CDSL)在内的共计22263种市售化学品的物理-化学性质进行预测。将所有化合物的分子结构信息通过SMILES (Simplified Molecular Input Line Entry System)命名规则进行统一编码, 利用美国环保署公布的定量结构-性质关系模型软件包EPI Suite对辛醇-水分配系数(K_{ow} , KOWWIN)、生物浓缩因子(BCF, BCFWIN)、亨利定律常数(Henry's law constant, HENRYWIN)、大气-水分配系数(K_{aw} , MPBPWIN)和大气氧化半衰期($AO T_{1/2}$, AOPWIN)进行快速计算和预测。在总体的化合物数据库中, 具有生物累积性、大气稳定性、可长距离迁移的化合物分别占19%、10%和32%。同时具有环境持久性和生物累积性的化合物有610种, 包括62%的卤代化合物(181种氟代物、116种氯代物、80种溴代物、10种碘代物)和8%的硅氧烷类化合物。上述化合物的生产量均大于454吨/年, 更易于在工业生产和日常使用过程中进入环境介质。因此, 该结果对于确定需优先控制的新型化学污染物, 集中研究力量开展后续环境行为调研和毒性测试具有重要意义。

表 1 潜在POPs类物质的物理-化学特性及筛选标准^[34]
Table 1 Screening criteria on physical-chemical properties for identification of potential POPs [34]

国际法规	长距离传输能力		环境持久性			生物富集能力	
	V_p (Pa) ^{a)}	AO $T_{1/2}$ (d) ^{a)}	水	土壤	底泥	BAF/BCF ^{a)}	$\log K_{ow}$
UNEP	<1000	2	>60	>180	>180	5000	5
UNECE	<1000	2	>60	>180	>180	5000	5
Canada	—	—	>180	>180	>360	5000	5
US EPA TSCA PBT	—	—	>180	—	—	5000	—
US EPA TSCA release	—	—	>60	—	—	1000	—
OSPAR	—	—	—	—	—	500	4
REACH Annex XII	—	—	>40	—	120	2000	—
EU Technical Guidance-PBT	—	—	>60	—	180	—	—
EU Technical Guidance-vPvBs	—	—	>60	—	>180	5000	—

a) V_p : 过冷饱和蒸气压; AO $T_{1/2}$: 大气氧化半衰期; BAF/BCF: 生物富集因子/生物浓缩因子

Brown和Wania^[40]开发了另外一种基于化合物结构-性质关系的污染物筛选方法. 该方法选取在北极环境介质中检出的86种具有长距离迁移能力的已知有机污染物作为统计训练的集. 依据分子大小(structural atoms, SA)、卤化程度(degree of halogenation, CX)和分子键(degree of internal connectivity, XS)对训练集包含的目标物进行编码、建立函数模型, 并对选自USEPA HPV、TSCA和CDSL清单中的105584种化合物的物理-化学性质进行了预测. 其中, 822种化合物在大气介质中表现出持久性, 是潜在的能够迁移到北极地区的污染物. 这些化合物主要包括多氯联苯、多氯萘、二噁英、多氯和多溴二苯醚、氯苯、氯酚和硝基苯/酚等.

值得注意的是, 基于QSPR理论计算的高通量筛选方法并不能完全反映环境介质中发生的实际情况, 特别是易发生环境转化过程的化合物^[34]. 例如, 双[1-(叔丁基过氧)-1-甲基乙基]苯(CAS: 25155-25-3)为一种高生产量的橡胶交联剂. QSPR模型数据显示, 该化合物具有较高的辛醇-水分配系数($\log K_{ow}=7.34$)和生物浓缩因子($\log BCF=4.35$), 其在环境介质中的生物转化半衰期高达182 d, 因此可能具有类似于POPs的环境持久性和生物富集能力. 然而在实际环境介质中(特别是碱性环境条件下), 其分子结构中的过氧基团会迅速发生水解生成双醇结构的水解产物. 该化合物具有较高的亲水性因而无生物富集能力($\log BCF=1.1$). 相反地, 对

于美国五大湖地区发现的新型高氯代阻燃剂Dechlorane Plus^[41], QSPR模型数据显示该化合物具有过高的辛醇-水分配系数($\log K_{ow}=11.3$)而无明显的食物链富集能力($\log BCF=0.732$). 然而安大略湖中水生生物食物链中Dechlorane Plus含量的进一步分析表明, 其仍具有一定的生物放大效应. 因此, 定量结构-性质关系模型对化合物进行高通量筛选方法的准确性还有待于进一步的优化和完善.

3.2 高分辨质谱非目标分析方法

新型化学污染物分析中常用的质谱仪器主要有低分辨质谱如三重四级杆质谱(MS/MS)、四级离子阱质谱(QTrap)、线性离子阱质谱(linear ion trap), 高分辨质谱如飞行时间串联质谱(time of flight, TOF)、傅里叶变换离子回旋共振质谱(Fourier transform ion cyclotron resonance, FT-ICR MS)、静电场傅里叶变换质谱(orbitrap)等. 三重四级杆质谱具有优越的定量分析能力且检测限较低, 但由于分辨率较低, 定性分析中容易受到环境基质的干扰; 四级离子阱质谱可获得化合物的多级质谱碎片信息, 因此适用于化合物的结构解析, 但同样由于分辨率低, 适用性受到限制; 线性离子阱同样可获得化合物的多级质谱, 但相对于四级杆质谱不具有中性丢失和多反应监测等筛选特征碎片离子的功能. 高分辨质谱具有高分辨率, 可以精确测量带电离子的质荷比, 进而分析元素组成、获得化合物的分子

式, 在新型化学污染物结构解析过程中发挥着至关重要的作用, 然而在化合物定量分析中应用较少。样品分析过程中, 通常会根据研究对象、实验条件选取不同的分析流程实现化合物结构的确认, 如目标分析、疑似目标分析和非目标分析(图1)^[42]。

目标分析(target analysis)即根据标准品获得化合物质谱信号, 通过对比母离子分子量、保留时间和二级质谱碎片离子(MS^2)信息实现对目标化合物的确认。在环境污染物标准品难以获得的诸多情况下, 该方法的应用存在一定的局限性。与目标分析方法不同的是, 疑似目标分析方法(suspect analysis)针对可能存在的疑似物, 进一步利用质谱信号中的精确分子量、同位素丰度信息以及预测的保留时间、碎裂行为特征实现分子结构解析; 非目标分析(nontarget analysis)更为复杂, 研究对象为样品测定时获取的所有高分辨质谱数据(未知化合物)。在没有任何可参考的化合物信息条件下, 通常经过数据解卷积、峰识别获得所有未知化合物离子的精确质量数并与数据库匹配, 利用色谱和质谱数据信息(同位素峰分布、保留时间、特征 MS^2 碎片和裂解规律)逐步剔除不符合的化合物结构。疑似

目标分析和非目标分析方法不依赖化合物标准品, 在新型化学污染物分析中应用更为广泛。

非目标分析方法不以特定的目标污染物作为研究对象, 而是对整个环境样本中包含的化合物信息进行全面的分析。常见非目标分析方法的样品准备过程较为简单, 样品前处理过程多采用具有广谱性的预处理步骤, 如使用C18固相萃取柱、PDMS固相微萃取纤维将环境样本中的疏水性组分进行选择性的富集; 或简单萃取和收集高浓度化合物暴露前后的环境样本。仪器分析主要采集样品的总离子流图或同步获取(data-dependent analysis)高丰度离子的二级质谱碎片信息。对获取的色谱和质谱数据的深入挖掘是非目标分析方法的关键环节, 需要依据指定的实验方案和感兴趣的化合物类型灵活选取适当的数据筛选规则。例如, 利用质量缺陷(mass defect)、色谱理论保留时间等定性判别标准寻找合适的样品色谱峰; 设定观测质量数 ± 10 mDa误差的扫描窗口获取部分信号对应的精确质量数; 利用精确质量数搜索化学数据库, 获取可能的化合物元素组成列表; 将质谱谱图中观察到的同位素指纹信息与可能化合物元素组成列表中的理论值一一

图1 高分辨质谱定性分析(目标分析、疑似目标分析和非目标分析)方法的基本流程^[42]

Figure 1 General workflow on chemical qualitative analysis by high resolution mass spectrometry ^[42].

应,以缩小匹配的相同元素组成化合物范围;搜索可能化合物结构式,利用二级质谱碎片信息、相似官能团回溯分析等定性判别标准确认化合物结构式。

非目标分析方法已在新型卤代环境污染物发现的研究中发挥了重要作用。例如,溴元素由 ^{79}Br 和 ^{81}Br 两种同位素组成,且天然同位素丰度接近1:1。因此,多个溴取代的有机化合物的质谱同位素峰簇丰度信息可近似使用杨辉三角模型进行解析。当有机溴化合物在质谱中经电离和碰撞碎裂后会产生一定丰度比例的 ^{79}Br 和 ^{81}Br 离子,可作为判断该前驱体化合物是否含溴及含溴数目的诊断性信息。利用上述研究手段,将质谱质量数为100~1000 m/z 的扫描范围分别以5 m/z 的质量数宽度分割为180个扫描窗口,在10、30、60 eV碰撞碎裂参数下观察前驱体离子和二级碎片离子的生成^[43]。同时含有 ^{79}Br 、 ^{81}Br 离子的前驱体化合物被认为是天然生成或人工合成的含溴有机化合物。美国密歇根湖底泥样本中共发现了2520个可能的含溴化合物质谱信号,其中1593个信号的有机溴化合物元素组成得以确认。高分辨质谱也用于鉴别具有大量同族体的复杂混合物。例如,氯化石蜡(chlorinated paraffins, CPs)是由一系列不同碳链长度和氯化度同族体组成的复杂混合物,高分辨质谱测定的精确质量数信息可以对具有相同整数质量数的同族体进行有效区分,从而使定性和定量结果更为准确^[44,45]。

然而,文献中报道新型化学污染物结构解析的可靠性需要统一的标准加以衡量。Schymanski等^[46]提出了高分辨质谱结构识别置信度的五个级别(Level 1~5,图2)。当测定得到的一级、二级质谱信息和色谱保留时间信息与标准化合物完全相同时,可认为该化合物具有确认的分子结构(Level 1)。在无法获取标准化合物的情况下,如相同质谱参数(分辨率、碰撞能量、离子源)下生成的一级、二级质谱信息与质谱数据库中信息逐一匹配,且质谱碎片信息包含与化合物结构相关的特征性碎裂方式时,可认为该化合物具有可能的分子结构(Level 2)。上述两个级别具有较高的识别置信度,可用于新型化学污染物的结构解析。但当质谱分析过程中只能获取一级质谱信息或一级质谱的同位素/加合物信息时,则仅能得到明确的精确质量数、元素组成信息,无法推测得到可能的官能团和分子结构(Level 4、5)。

4 信息处理和整合

4.1 多重结构信息的获取

色谱-质谱联用技术在新型化学污染物结构解析和确认上发挥了主要作用,基于精确分子量、同位素元素组成、二级质谱碎片离子的质谱单一信息在识别置信度上仍有所不足(图2)。除质谱数据能够指示待测化合物结构外,色谱保留特征也与物理-化学性质相关。如图3所示,基于化合物色谱保留特征的化合物筛选方法可得到独立于质谱数据库的额外化学数据信息^[47,48]。此外,液相色谱和气相色谱分析的原理不同,适用的分析物也有所差别。因此可根据需要分别选取基于液相或气相色谱保留特征的化合物筛选方法。

液相色谱基于化合物在流动相和固定相之间的分配系数、吸附能力等实现分离。正辛醇-水分配系数 $\log K_{ow}$ 和色谱疏水性指数(chromatographic hydrophobicity index, CHI)等参数可用来预测化合物的色谱行为^[47]。辛醇-水分配系数可以较好地预测中性化合物在C18反相液相色谱分析柱上的保留行为。当流动相为简单的等度洗脱或梯度洗脱程序时,化合物的保留时间与正辛醇-水分配系数往往呈现出显著的二元一次方程函数关系^[49]。如基于92个农药、药物和杀虫剂标准物质建立的液相保留时间和 $\log K_{ow}$ 的线性描述方程^[50],可用于预测目标物可能环境转化产物的色谱保留行为。当疑似化合物信号具有与转化产物接近的精确分子量,而实际保留时间与预测值差别较大时,可将该疑似信号视为干扰物排除。线性溶剂化能(linear solvation energy relationships, LSER)与化合物的氢键酸度、氢键碱度、极化率和偶极性等因素相关,通常使用色谱疏水性指数CHI描述化合物在流动相和固定相之间的分配行为。色谱疏水性指数CHI与液相保留时间之间也存在显著的二元一次方程函数关系。文献^[51]通过色谱疏水性指数CHI和化合物液相保留时间(t_R)的关系构建如下函数关系来计算化合物的色谱疏水性指数CHI实际值:

$$\text{CHI} = 4.95 \times t_R - 3.88$$

其中色谱疏水性指数CHI是指线性梯度系统中洗脱化合物需要的有机溶剂的百分含量。

类似地,气相色谱是基于化合物沸点、极性和吸附性的差异实现分离,而大多数有机物的保留指数

图2 高分辨质谱在有机污染物结构鉴定中的置信度分级方法(其中 MS^2 泛指通过质谱裂解方式得到的任何结构碎片信息)^[46] (网络版彩图)

Figure 2 Proposed communicating confidence levels of chemical structures in high resolution mass spectrometry qualitative analysis (MS^2 indicates any fragment obtained by dissociation in MS instrument) [46] (color online).

图3 化学数据库信息(理化性质参数及相关的色谱保留特征)在新型化学污染物结构解析中能够发挥重要作用^[47] (网络版彩图)

Figure 3 Information in chemical database (i.e., physical-chemical parameters and chromatographic retention characteristics) plays an important role in identification of novel chemical pollutants [47] (color online).

(retention indices, RI)与大气压下该化合物的沸点(boiling point, BP)具有相关性, 气相色谱分析物的保留时间和保留指数亦存在明确的函数关系。根据使用分析物的不同, 通常使用的保留指数类型包括基于 $C_6 \sim C_{36}$ 直链烷烃的Kovats RI和基于一元至五元环多环芳烃的Lee RI体系。

相对于保留时间, 色谱保留特征参数($\log K_{ow}$ 、CHI、RI)共有的优势在于参数本身几乎不受梯度设置、柱规格等因素的影响, 仅与分析物的种类和结构相关, 便于不同仪器参数条件下实验数据的后续利用和比较。上述参数能够在新型化学污染物发现方法体系中发挥重要作用, 现有的QSPR定量结构-性质相关

关系模型能够仅根据化合物的结构信息实现对色谱保留特征参数的准确预测, 为环境污染物非目标分析提供额外的参考信息。例如, 文献[52]利用400余种挥发性和半挥发性化合物建立训练集, 使用Dragon软件将训练集包含化合物的分子结构分解成与蒸气压、辛醇-水分配系数、极性表面积、分子量、氢供体个数等物理-化学参数相关的多个分子描述符, 利用标准品实际测定的气相色谱保留特征参数(RI)与物理-化学参数建立函数关系。该模型得到的理论计算RI值与实际测定值具有一致性, 准确度在85%~115%之间。该方法应用于烟草燃烧挥发性组分的识别, 确认了23种可能存在的芳香族有机物。

4.2 信息体系整合

对质谱数据和色谱保留特征等多重化合物结构信息综合利用的有效方式之一是建立逐层的“漏斗式”剔除体系(图4)。例如, 对双氯芬酸(diclofenac)环境转化的研究中^[50], 通过高分辨质谱精确质量数扫描可先行确定转化产物分子的元素组成为 $C_{13}H_{10}ONCl$ 。然而, 化学数据库中与该元素组成对应的可能分子结构过多, 难以实现转化产物分子结构的确认; 通过特征二级质谱碎片信息增加筛选规则, 将转化产物的结构限制为不含有氨基、酚羟基的芳香族化合物, 可将可能的候选化合物种类逐步缩小; 再者, 经过色谱保留行为可估算得到该化合物的辛醇-水分配系数 $\log K_{ow}$ 范围, 即能剔除具有较高亲水性的氨基甲酰氯等官能团, 得到

图4 “漏斗式”疑似化合物结构剔除流程示意图(其中, 元素组成对应的疑似化合物结构数据通过MOLGEN获取, 官能团筛选后数据通过MOLGEN-MS和NIST数据库获取, 疑似结构对应的 $\log K_{ow}$ 理论预测值由EPI Suite计算获取)^[50]

Figure 4 A schematic diagram on filtering suspect chemical structures of a given molecular formula (chemical structures were obtained in MOLGEN; chemical structure screening by functional group was achieved by MOLGEN-MS and NIST database; the predicted $\log K_{ow}$ values of suspects were calculated by EPI suit) [50].

2-(2-氯苯胺)苯甲醛为唯一符合条件的转化产物结构。

上述“漏斗式”研究体系的不足之处在于, 通过多层次的剔除规则, 最终可能仍然会有少量均满足筛选剔除条件值范围的非唯一性的疑似物结构, 特别是同分异构体。因此, 多重化合物信息进行综合利用的有效方式之二则是利用加权排序手段进行进一步判别。该方法中, 对质谱、色谱数据的量化和权重设置是考察的难点。Schymanski等^[53]在对德国易北河水样的可致突变性致毒组分分析中, 将疏水性(K_{ow})、色谱保留行为(RI)、质谱行为(MV和S)和分子结构特征(E)作为评价参数建立加权排序方法, 如下公式所示:

$$CS = \left[MY + S + \frac{\sum \log K_{ow}}{n(\log K_{ow})} + \frac{\sum RI}{n(RI)} + \frac{\sum E}{n(E)} \right] / 5$$

其中, MV和S为气相色谱-质谱碎片信息经MOLGEN-MS和MetFrag软件进行谱图比对和归一量化结果, 赋值范围为0~1; 当实际测定的疏水性(K_{ow})、色谱保留行为(RI)和分子结构特征(E)值与QSPR模型理论计算得到的结果范围吻合时, 则赋值为1, 反之为0。考察的5个特征参数均具有相同的权重。综合评分(CS)高的疑似物可能结构被认为具有更高的置信度。利用上述方法, 发现邻苯二甲酰亚胺(phthalimide)和邻苯二甲酸

酐(phthalic anhydride)为主要的致毒污染物。

5 结论与展望

传统POPs化合物的消减或限制使用促进了化学品的更新换代, 新型化学品的大量生产和使用必然导致其通过直接或间接的方式释放到环境中。这些化学品是否会表现出持久性、生物累积性、潜在毒性和长距离迁移能力等特性尚不明确, 发现新型化学污染物是赋存行为、健康风险评估更深入研究的前提。新型化学污染物分子结构的多样性和环境基质的复杂性要求采取多元化分析手段的综合运用。复杂环境样本的前处理方法、引导发现策略(定量结构-性质关系模型方法和非目标分析方法等)、多重信息的获取及整合方法均为新型化学污染物的分子识别和结构鉴定提供了有效的工具。目前, 已有一定数量的新型化学污染物检出的文献报道, 环境行为特征等研究有待开展。

然而, 新型化学污染物的发现方法还面临诸多挑战。(1) 对不同物理-化学性质的有机物组分的分离和预处理有待加强。例如, 采用阳离子交换固相萃取柱与阴离子离子交换固相萃取柱串联使用的固相萃取方法可以得到更精细的中性、酸性和碱性组分^[54]; 亲水作

用色谱(hydrophilic interaction chromatography, HILIC)可适用于分离亲水性更高的短链化合物; 利用毒性终靶点引导(effect directed analysis)的分级分离过程可以精确获取生物效应活性的有机物组分等. (2) 化合物的化学数据库和质谱数据库信息十分匮乏. 目前常用的质谱数据库有NIST、Metlin、Massbank等, 其中所包含化合物的种类和数量远远不能满足非目标分析的需求. 充分利用现有数据库信息能有效提高新型化学污染物的发现效率; 也可通过质谱碎裂行为预测模型(如

MetFrag)或自行建立化合物数据库获取更多的化合物信息. (3) 高分辨质谱谱图的信息量庞大, 非目标分析要求更为高效的数据解析手段. 例如, 组学研究中常用的化学计量学方法主成分分析(principal component analysis, PCA)、聚类分析(hierarchical cluster analysis, HCA)和偏最小二乘判别分析(partial least-squares-discriminant analysis, PLS-DA)等可有效地对大数据阵列进行筛选和分类, 去除其中的无效信号而保留具有显著性差异的化合物信息.

参考文献

- Ritter L, Solomon KR, Forget J, Stermeroff M, O'Leary C. Persistent organic pollutants: an assessment report on DDT, Aldrin, Dieldrin, Endrin, Chlordane, Heptachlor, Hexachlorobenzene, Mirex, Toxaphene, Polychlorinated Biphenyls, Dioxins, and Furans. The International Programme on Chemical Safety. 2005
- Yu G, Zhou LC, Huang J, Dong SB. *Environ Prot*, 2010, 23: 13–15 (in Chinese) [余刚, 周隆超, 黄俊, 邓述波. 环境保护, 2010, 23: 13–15]
- United States Environmental protection Agency. <http://www.epa.gov/lawsregs/laws/tsca.html>
- European Commission. http://ec.europa.eu/environment/chemicals/reach/reach_intro.htm
- Sverko E, Tomy GT, Reiner EJ, Li YF, McCarty BE, Arnot JA, Law RJ, Hites RA. *Environ Sci Technol*, 2011, 45: 5088–5098
- Bletsou AA, Jeon J, Hollender J, Archontaki E, Thomaidis NS. *Trends Anal Chem*, 2015, 66: 32–44
- Ruan T, Lin Y, Wang T, Jiang G, Wang N. *TrAC Trends Anal Chem*, 2015, 67: 167–178
- Strempele S, Scheringer M, Ng CA, Hungerbühler K. *Environ Sci Technol*, 2012, 46: 5680–5687
- Howard PH, Muir DCG. *Environ Sci Technol*, 2013, 47: 5259–5266
- Pitarch E, Portolés T, Marín JM, Ibáñez M, Albarrán F, Hernández F. *Anal Bioanal Chem*, 2010, 397: 2763–2776
- Baker DR, Kasprzyk-Hordern B. *J Chromatogr A*, 2011, 1218: 8036–8059
- Fu RN. *Anal Lab*, 2007, 26: 100–122 (in Chinese) [傅若农. 分析实验室, 2007, 26: 100–122]
- Backe WJ, Field JA. *Environ Sci Technol*, 2012, 46: 6750–6758
- Tfaily MM, Hodgkins S, Podgorski DC, Chanton JP, Cooper WT. *Anal Bioanal Chem*, 2012, 404: 447–457
- Wu FH. *Anal Test Technol Instr*, 2012, 18: 114–120 (in Chinese) [吴芳华. 分析测试技术与仪器, 2012, 18: 114–120]
- Hernandez F, Portolés T, Pitarch E, López FJ. *Anal Chem*, 2007, 79: 9494–9504
- Deng J, Yang Y, Wang X, Luan T. *Trends Anal Chem*, 2014, 55: 55–67
- Vatinno R, Vuckovic D, Zamboni CG, Pawliszyn J. *J Chromatogr A*, 2008, 1201: 215–221
- Sun HH, Qian YM, Song XL, Lan XJ, Yin JK. *Mod Chem Ind*, 2011, 31: 21–26 (in Chinese) [孙海红, 钱叶苗, 宋相丽, 兰小军, 尹继凯. 现代化工, 2011, 31: 21–26]
- Baltussen E, Sandra P, David F, Cramers C. *J Micro Sep*, 1999, 11: 737–747
- Barba C, Thomas-Danguin T, Guichard E. *LWT-Food Sci Tech*, 2016, 85: 334–344
- Zhang K, Pereira AS, Martin JW. *Environ Sci Technol*, 2015, 49: 8907–8913
- Duodu GO, Goonetilleke A, Ayoko GA. *Talanta*, 2016, 150: 278–285
- Anastassiades M, Lehotay SJ, Stajnbaher D, Schenck FJ. *J AOAC Int*, 2003, 86: 412–431
- He Z, Wang L, Peng Y, Luo M, Wang W, Liu X. *Food Chem*, 2015, 169: 372–380
- Zhang YY, Zhang Z, Chen ZZ, Wang B, Li B. *Food Safe Qual Detec Technol*, 2014, 5: 2711–2716 (in Chinese) [张媛媛, 张卓, 陈忠正, 王兵, 李斌. 食品安全质量检测学报, 2014, 5: 2711–2716]
- Baduel C, Mueller JF, Tsai H, Gomez Ramos MJ. *J Chromatogr A*, 2015, 1426: 33–47
- Rao Z. *Acta Geol Sin*, 2011, 85: 1948–1962 (in Chinese) [饶竹. 地质学报, 2011, 85: 1948–1962]

- 29 Hilton DC, Jones RS, Sjödin A. *J Chromatogr A*, 2010, 1217: 6851–6856
- 30 Vazquez-Roig P, Picó Y. *Trends Anal Chem*, 2015, 71: 55–64
- 31 Li F, Wang J, Jiang B, Yang X, Nastold P, Kolvenbach B, Wang L, Ma Y, Corvini PFX, Ji R. *Environ Sci Technol*, 2015, 49: 12758–12765
- 32 Li PX, Chen J, Zhou XB, Lu XQ. *J Analyt Sci*, 2011, 27: 241–245 (in Chinese) [李鹏霞, 陈晶, 周喜斌, 卢小泉. 分析科学学报, 2011, 27: 241–245]
- 33 Hu ZD, Liu HX. *Anal Test Technol Instr*, 2005, 11: 243–249 (in Chinese) [胡之德, 刘焕香. 分析测试技术与仪器, 2005, 11: 243–249]
- 34 Muir DCG, Howard PH. *Environ Sci Technol*, 2006, 40: 7157–7166
- 35 Hine J, Mookerjee PK. *J Org Chem*, 1975, 40: 292–298
- 36 Meylan WM, Howard PH. *J Pharmaceut Sci*, 1995, 84: 83–92
- 37 Meylan WM, Howard PH. *Chemosphere*, 2005, 61: 640–644
- 38 Kowwin Technique Note, Estimation Program Interface (EPI) Suite. Version 4.10. U.S. Environmental Protection Agency, Exposure Assessment Branch. 2007
- 39 Boethling RS, Howard PH, Meylan W, Stiteler W, Beauman J, Tirado N. *Environ Sci Technol*, 1994, 28: 459–465
- 40 Brown TN, Wania F. *Environ Sci Technol*, 2008, 42: 5202–5209
- 41 Hoh E, Zhu E, Hites RA. *Environ Sci Technol*, 2006, 40: 1184–1189
- 42 Krauss M, Singer H, Hollender J. *Anal Bioanal Chem*, 2010, 397: 943–951
- 43 Peng H, Chen C, Saunders DMV, Sun J, Tang S, Codling G, Hecker M, Wiseman S, Jones PD, Li A, Rockne KJ, Giesy JP. *Anal Chem*, 2015, 87: 10237–10246
- 44 Gao W, Wu J, Wang Y, Jiang G. *J Chromatogr A*, 2016, 1452: 98–106
- 45 Xia D, Gao L, Zheng M, Tian Q, Huang H, Qiao L. *Environ Sci Technol*, 2016, 50: 7601–7609
- 46 Schymanski EL, Jeon J, Gulde R, Fenner K, Ruff M, Singer HP, Hollender J. *Environ Sci Technol*, 2014, 48: 2097–2098
- 47 Dong DY, Yu HX, Zhang XW, Shi W. *Asian J Ecotoxicol*, 2015, 10: 13–25 (in Chinese) [邓东阳, 于红霞, 张效伟, 史薇. 生态毒理学报, 2015, 10: 13–25]
- 48 Schymanski EL, Bataineh M, Goss KU, Brack W. *Trends Anal Chem*, 2009, 28: 550–561
- 49 Poole CF, Gunatilleka AD, Poole SK. *Adv Chromatogr*, 2000, 40: 159–230
- 50 Kern S, Fenner K, Singer HP, Schwarzenbach RP, Hollender J. *Environ Sci Technol*, 2009, 43: 7039–7046
- 51 Ulrich N, Mühlenberg J, Retzbach H, Schüttümann G, Brack W. *J Chromatogr A*, 2012, 1264: 95–103
- 52 Dossin E, Martin E, Diana P, Castellon A, Monge A, Pospisil P, Bentley M, Guy PA. *Anal Chem*, 2016, 88: 7539–7547
- 53 Schymanski EL, Gallampois CMJ, Krauss M, Meringer M, Neumann S, Schulze T, Wolf S, Brack W. *Anal Chem*, 2012, 84: 3287–3295
- 54 Lavén M, Alsberg T, Yu Y, Adolfsson-Erici M, Sun H. *J Chromatogr A*, 2009, 1216: 49–62

Analytical strategies on identification of novel chemical pollutants

Yongfeng Lin, Ting Ruan^{*}, Guibin Jiang

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

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

Abstract: Novel chemicals with persistent organic pollutant characteristics have been focused increasing attention by governmental agencies and scientific communities. Researches on analytical methodologies are critical on identification of novel chemical pollutants, which is challenged by the facts that: (1) no specific chemicals are used as target analytes; (2) pollutant residue concentrations are usually in trace levels; (3) severe matrix effects exist in complex environmental compartments. Consequently, multiple advanced techniques are urgently needed to establish an efficient system for chemical recognition and structure elucidation. This review summarises the recent progress in key analytical strategies on sample pretreatment, tracing protocols, and multiple chemical information integration. Current knowledge gaps and future trends are also discussed.

Keywords: novel chemical pollutants, analytical methodology, sample pretreatment, nontarget analysis, chromatography retention behavior

doi: [10.1360/N032018-00085](https://doi.org/10.1360/N032018-00085)