

DOI: 10.7524/j.issn.0254-6108.2016.03.2015101004

林必桂, 于云江, 向明灯 等. 基于气相/液相色谱-高分辨率质谱联用技术的非目标化合物分析方法研究进展[J]. 环境化学, 2016, 35(3): 466-476

LIN Bigui, YU Yunjiang, XIANG Mingdeng, et al. Advances in non-target analytical methods based on high-resolution mass spectrometry coupled to gas liquid chromatography [J]. Environmental Chemistry, 2016, 35(3): 466-476

基于气相/液相色谱-高分辨率质谱联用技术的 非目标化合物分析方法研究进展*

林必桂^{1,2} 于云江^{1,2**} 向明灯^{1,2} 余乐洵² 李良忠² 鞠勇明² 玉琳²

(1. 有机地球化学国家重点实验室, 中国科学院广州地球化学研究所, 广州, 510640;

2. 环境保护部华南环境科学研究所, 广州, 510655)

摘 要 近 10 多年来随着色谱(气相色谱和液相色谱)和高分辨率质谱联用技术以及相关数据处理软件和数据库的发展,使得高通量的非目标化合物分析方法得以实现,并在环境研究、食品监管、药物研发以及生物代谢物研究等领域得到日益广泛的应用.本文综述了基于气相/液相色谱-高分辨率质谱联用技术的非目标化合物分析方法的研究进展,包括其分析方法策略、流程及其在环境研究领域的实际应用情况,并探讨了该方法所存在的问题和发展前景,为环境中的新兴污染物及其代谢转化产物、关键致毒物的甄别、环境健康风险评估等提供一种新兴的高通量分析鉴别技术.

关键词 非目标化合物分析, 目标化合物分析, 高分辨率质谱, 解卷积软件, 数据库, 高通量筛选.

Advances in non-target analytical methods based on high-resolution mass spectrometry coupled to gas liquid chromatography

LIN Bigui^{1,2} YU Yunjiang^{1,2**} XIANG Mingdeng^{1,2} YU Lehuan²
LI Liangzhong² JU Yongming² YU Lin²

(1. State Key Laboratory of Organic Geochemistry, Guangzhou Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou, 510640, China; 2. South China Institute of Environmental Sciences, MEP, Guangzhou, 510655, China)

Abstract: Over the past decade, with the development of high-resolution mass spectrometry (HRMS) coupled to gas liquid chromatography (GC/LC), and specialized data-processing software and database, the high-throughput method of non-target analysis is realized. The state-of-the-art analytical methods is increasingly applied in the fields of environmental studies, food regulation, drug development, biological metabolites, and so on. This review summarizes the advance of the non-target analytical methods based on GC/LC-HRMS, including analytical strategies and analytical procedures, and the practical applications of the methods in the field of environmental studies. The problems and prospects of the applications are also discussed. This method can be used as a high-throughput analysis & identification technique for the environmental studies, such as the fields of emerging pollutants and their metabolic products, effect-directed analysis (EDA), and

2015 年 10 月 10 日收稿(Received: October 10, 2015).

* 国家自然科学基金(NSFC)-广东联合基金(U1401233)资助.

Supported by the Joint fund of the National Natural Science Foundation of China (NSFC) and People's Government of Guangdong Province (U1401233).

** 通讯联系人, Tel: 020-29119807; E-mail: yyunjiang@scies.org

Corresponding author, Tel: 020-29119807 E-mail: yyunjiang@scies.org

environmental health risk assessment.

Keywords: non-target analysis , target analysis , high-resolution mass spectrometry , deconvolution software , database , high-throughput screening.

高分辨率质谱具有分辨率高、质量数精确、全扫灵敏度高等特点,可以同时大量的未知化合物进行分析和鉴别。随着色谱-高分辨率质谱联用技术以及计算机和软件技术的发展,使得一次检测分析就能筛选到样品中大部分的化合物成为现实^[1]。基于气相/液相色谱-高分辨率质谱联用技术的非目标化合物分析方法已在食品药品等领域的研究中得到广泛而深入的应用^[2-5],也为食品组学和脂质组学等学科的成分分析提供了有力的技术支撑^[6-8],其在生物代谢产物的研究中尤为重要^[9-18]。

随着环境学科各个研究领域的深入,特别是在关键致毒物鉴别(Effect-directed analysis, EDA)、新兴环境污染物(Emerging pollutants)及其转化产物的筛选分析、生态与环境风险评估等领域中,需要快速且全面地分析环境介质中复杂的污染物成分组成,包括对未列入常规监测的化合物以及其他未知化合物的识别和鉴定,这使传统的目标化合物分析方法面临着越来越大的挑战^[19-20]。为了应对这种挑战,一方面要求所采用的分析方法具有高度的选择性以减少环境样品复杂的基底效应,另一方面要求其能够同时筛选出环境样品中存在的种类繁多且浓度相差很大的各类化合物,因此所使用的分析方法需要具备良好的分离效果、较高的分辨率和较低的检出限,并且能快速对大量的化合物分子进行结构解析和鉴别。近 10 多年来不断发展的基于气相/液相色谱-高分辨率质谱联用技术正适应了这种发展需求^[21-22],因此该方法将在这些研究领域中得到日益广泛的应用和长足的发展。由欧盟委员会资助建立的诺尔曼网络(www.norman-network.net)在 2015 年的研究计划中已将非目标化合物分析方法列为优先发展的方法。

基于色谱-高分辨率质谱联用技术的非目标化合物分析方法是新兴的分析技术,目前对该技术方法的研究和应用还比较有限,其在环境科学领域中的应用研究更少。为了能较全面地了解非目标化合物分析方法的研究进展及其在环境研究领域中的应用情况,本文综述了非目标化合物分析方法的方法策略和流程,以及样品前处理方法的选择与优化、主要仪器类型、数据处理软件和数据库资源,并对存在的问题及其发展前景进行了探讨。

1 分析方法策略和流程(Strategies and procedures of analytical methods)

1.1 分析方法策略

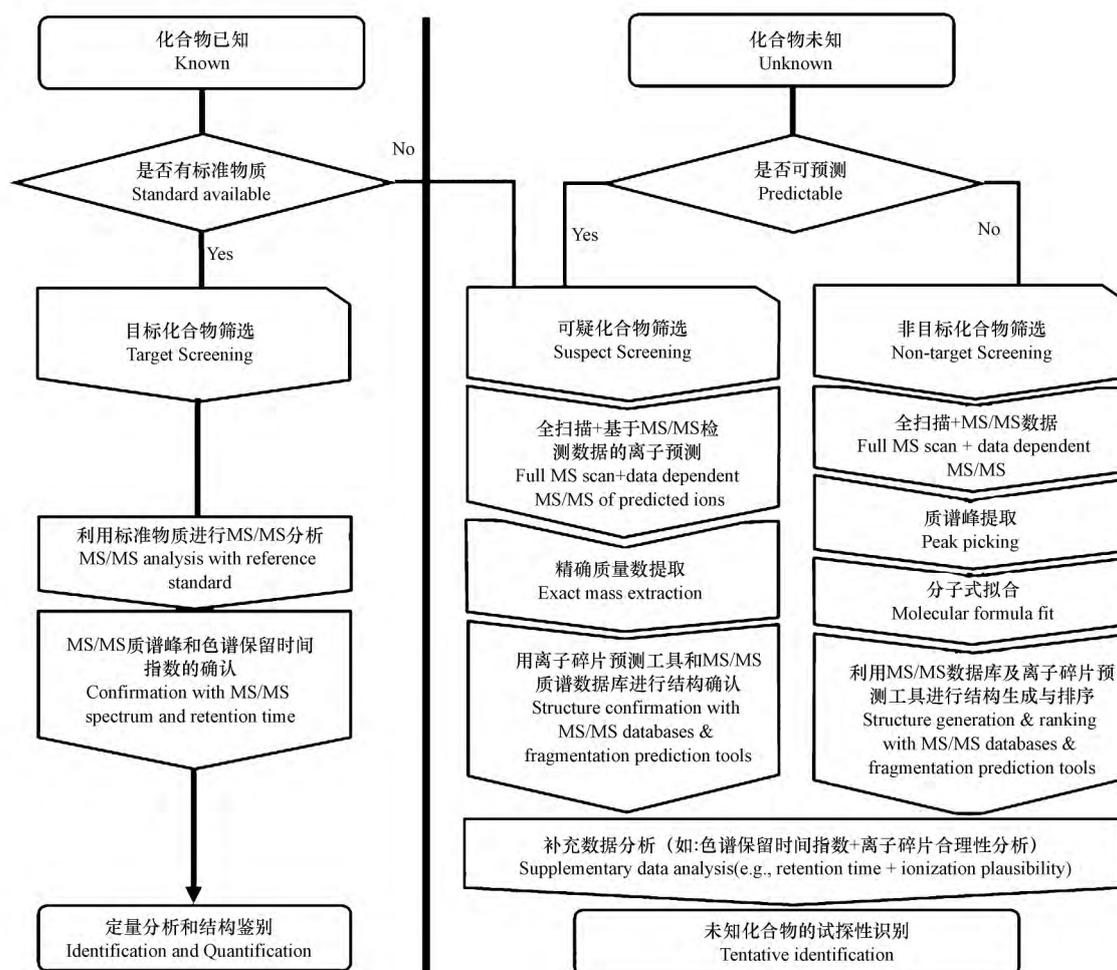
基于气相色谱/液相色谱-高分辨率质谱联用技术的分析策略主要有 3 种: 目标化合物分析方法(Target analysis)、可疑化合物分析方法(Suspect analysis)、非目标化合物分析方法(Non-target analysis)。Bletsou 等^[1]总结出了以上 3 种分析策略的分析流程,如图 1 所示。不同研究^[1, 2, 21, 23-26]所采用的具体分析流程有所不同,但都遵循以下基本原则:

(1) 目标化合物分析方法: 当所分析的化合物是已知的,并且有相应的标准物质做校准以进行定量分析时,采用该分析方法策略。

(2) 可疑化合物分析方法: 当所分析的化合物是已知的,但是没有相应的标准物质做校准而无法进行定量分析;或者所分析的化合物(特别是代谢转化产物)是未知的,但如果这些物质可以进行预测,比如利用计算机软件进行产物预测或者通过数据库/文献资料对所分析的化合物进行预测,可采用可疑化合物分析方法。Diaz 等^[27]将这种策略称为“后目标化合物分析方法(Post-target analysis)”。

(3) 非目标化合物分析方法: 当所分析的化合物是未知的,而且也无法进行预测,只能通过全扫描的方法进行化合物的筛选和分析,就需要采取该分析方法策略。

非目标化合物分析方法和目标化合物分析方法策略是具有互补性的^[28],利用非目标化合物分析方法的筛选结果可以扩展和精炼目标化合物分析方法所研究的对象。Helbling 等^[29]在研究外源性物质在微生物作用下的代谢转化产物时,先利用液相色谱-高分辨率质谱(LC-HRMS)对样品进行全扫描以获得非目标化合物图谱,对筛选出来的化合物再用液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)进一步进行定量分析,结果表明将这两种方法结合起来能够快速、全面地对微生物代谢转化产物进行结构鉴别和定量分析。

图 1 3种分析方法策略流程图^[1]Fig.1 The flow chart of three analysis strategies^[1]

1.2 分析方法流程

非目标化合物分析方法的基本工作流程如下^[1,26,29-30]:

- (1) 样品前处理的选择和优化: 根据待测样品特征采用合适的样品前处理方法.
- (2) 仪器分析: 将处理好的样品进行仪器分析,如利用气相色谱-高分辨率质谱(GC-HRMS)和液相色谱-高分辨率质谱(LC-HRMS).
- (3) 数据处理(解卷积): 仪器采集到数据后可利用解卷积软件进行分析,得到有用信息,如准确的质谱质量数(exact mass)、色谱保留时间(RT)、分子式(formula)等,以获得可能的分子式清单和分子结构.该步骤也是目前非目标化合物分析方法的难点所在.
- (4) 数据库匹配: 基于质谱数据库和化学数据库的化合物结构匹配和筛选,对所筛选的化合物清单及它们的结构式进行确认.至此所进行的分析为定性分析或半定量分析.
- (5) 定量分析: 当所得到的化合物有相应的标准物质时,可以进一步通过LC-MS/MS等仪器进行定量分析.

2 样品前处理方法选择与优化(Selection and optimization of sample pretreatment methods)

2.1 水环境样品

目前文献报道的水环境样品的前处理方法主要有固相萃取(Solid-phase extraction, SPE)和直接进样法两种,并以SPE法为主^[31-33].Martínez Bueno等^[24]在利用基于液相色谱-飞行时间质谱(LC-TOF-MS)和LC-MS/MS的非目标化合物分析方法研究河水中的药物残留成分时指出,随着色谱-质谱联用技

术的发展,其灵敏度甚至能达到飞克(10^{-15} g)水平,因此对水样的分析可采用直接注射法而不需要额外的预富集步骤,并能符合最严格的环保法规。Pérez-Parada 等^[34]研究比较了直接进样法和 SPE 法两种前处理方法:采用直接进样方法时,取 900 μ L 水样加入 100 μ L 乙腈(并加 d_3 -尼古丁内标),用 0.45 μ m 聚四氟乙烯(PTFE)滤膜过滤后直接上机;对于水样所检出的 10 种药物类化合物,SPE 前处理方法的基底效应明显高于直接进样法,但是其方法检出限(MDLs)则优于直接进样法。由于直接进样法前处理简单,适合高通量分析的要求,随着高分辨率质谱的发展,将在水环境样品分析中,特别是用常规方法难以筛选到的化合物的分析研究中得到更多的应用。

2.2 沉积物及环境生物样品

目前,对于沉积物及环境生物样品等复杂样品的前处理方面,非目标化合物分析方法与传统的目标化合物分析方法基本一致,主要区别在于对样品或提取液的分离净化程度。为了尽可能使待筛选的化合物能够进入待测溶液中,非目标化合物分析方法主要利用化合物的极性特性进行分离,而不再进行严格的净化,对于因此而产生的大量仪器分析数据,需要依靠后期的数据处理软件进行处理。如 Skocznyńska 等^[35]在分析易北河(捷克共和国)沉积物样品时指出,高污染的沉积物样品需要采用硅胶柱进行分离净化,但是为了确保潜在的化合物损失最小,就不采取进一步的净化工作,该课题组仅采用硅胶柱将沉积物提取液依据分子极性大小分离成 4 种组分,并用 GC \times GC-TOF-MS 进行测定。此外,也有学者采用经过优化的其他前处理方法,如 Bu 等^[36]在分析海河沉积物中的有机污染物时,依次采用凝胶渗透色谱(GPC)和含弗罗里硅土的固相萃取柱(SPE)对沉积物提取液(二氯甲烷/丙酮混合提取液)进行净化,并用气相色谱-质谱检测器(GC-MSD)筛选出了 847 种有机污染物。对生物样品脂质的净化一般仅采用 GPC 法,而不采取其他更加严格的净化方法,如 Hoh 等^[37]在研究海洋环境中持久性和生物蓄积性有机污染物时,采用 GPC 法对海豚中的油脂匀浆进行净化比起采用酸化法或者 GPC-硅胶色谱联合处理法能更好地避免待测组分的损失,共检测到 24 类 271 种化合物,其中有 86 种化合物不在常规监测的化合物范围之中;Byer 等^[38]在利用 GC-TOF-MS 分析美国鳗鱼中的有机卤代污染物时,采用 GPC 法去除鱼肉匀浆中的脂类物质(约占 40%)。除此以外不采用其他任何的净化方法,共筛选出 51 种化合物,除了几种多溴联苯醚(PBDEs)外,其余化合物大部分属于溴苯酚、间溴茴香醚、溴苯类。

3 仪器测定(Instrumental detection)

高分辨率质谱(HRMS)通过很高的准确度和专属性缩小了观测离子的可能范围,荷质比测量的有效误差限使相符的分子式目标范围缩小。不同的高分辨率质谱仪的质量数误差是不相同的,一般来说傅里叶变换离子回旋共振质谱仪(FTICR-MS)的质量数误差最小,其次是轨道离子阱质谱仪(Obitrap-MS),飞行时间质谱仪(TOF-MS)的误差相对前二者而言较高^[39]。但由于飞行时间质谱仪在全扫描模式下分析效率非常高,且价格相对便宜,因此它在非目标化合物分析中得到广泛的应用^[40]。色谱与质谱联用技术使得一次进样就能同时实现定性和定量分析^[34];尤其是与高分辨率质谱的联用,在全扫描模式下具有足够的分辨率和灵敏度,使得非目标化合物分析方法得以实现并得到广泛应用。

3.1 气相色谱-高分辨率质谱联用技术(GC-HRMS)

在基于气相色谱-高分辨率质谱联用技术的非目标化合物分析方法中,所采用的仪器类型主要有:GC-TOF-MS、全二维气相色谱-质谱联用仪(GC \times GC-MS)等。GC-TOF-MS 应用较广泛,主要用于中等极性和非极性物质($[K_{ow}] > 3$)的目标和非目标化合物分析,如 Allan 等^[41]采用 GC-HR TOF-MS 分析水中的中等极性和非极性物质,筛选出了多环芳烃(PAHs)、多氯联苯(PCBs)和 PBDEs 等化合物。此外,该技术也应用于亲水性代谢产物的非目标化合物分析中,如 Alder^[42]等利用 GC-TOF-MS 的全扫描模式对代谢产物的非目标化合物进行分析;同一课题组的 Tsugawa 等^[43]进一步对三甲基衍生物的 110 多种亲水性的代谢产物进行了研究,并建立了基于 GC-TOF-MS 的选择反应监测方法(SRM)。

当复杂样品的组分超过百种时,传统的一维气相色谱已经不能很好地分离。全二维气相色谱(GC \times GC)则具有强大的分离能力、很高的分辨率和峰值容量,比一维 GC 更能够满足复杂样品的分析要求^[44-45]。因此 GC \times GC 在非目标化合物分析、交叉样品组分分析和指纹分析中的研究中越来越得到重视^[46]。Pena-Abaurrea 等^[47]探讨了利用该技术对沉积物中多环芳烃化合物族群的非目标化合物分析的

可行性; Hoh 等^[48]将全二维 GC×GC-MS 与直接自动进样系统(Automated direct sample introduction, DSI)结合,分析了鱼类油脂中的有机污染物;此后 Hoh 等^[37]又采用直接进样法,利用基于 GC×GC-TOF-MS 的非目标化合物分析方法对海洋环境中持久性和生物蓄积性污染物进行了研究. Mohler 等^[28]利用 GC×GC-TOF-MS 分析了受石油类污染的地下水样品 22 个,共检测出了 760 多种极性物质,包括酸/酯、醇类、酚类、酮类和醛类物质. Skoczyńska 等^[35]利用 GC×GC-TOF-MS 检测到了易北河沉积物中的 400 多种化合物,其中有些化合物是先前采用其他传统方法没有检测到的复杂化合物.然而,全二维 GC×GC-MS 会产生结构高度复杂的海量数据(数据量动辄几百 GB),目前全二维气相色谱的发展重点在于开发它的数据处理算法和软件,特别是便捷高效的化学计量法,同时也注重二维谱图解析方法的开发^[49-50].

3.2 液相色谱-高分辨率质谱联用技术(LC-HRMS)

液相色谱(LC)适用于分析难挥发性或热稳定性的物质,具有分离度好、分析速度快和检测灵敏度高等的优点,并能与各种类型的 MS 仪器串联,成为功能最全面、应用最广泛的技术平台之一^[51].在近年来的文献报道中,与液相色谱联用的质谱仪类型主要有飞行时间质谱(TOF-MS)、线性离子阱质谱(LIT-MS)、轨道阱质谱(Obitrap MS)以及它们与四极杆联用的串联质谱仪;也有学者利用全二维液相色谱-质谱(LC×LC-MS)进行这方面的研究^[52],其第二维色谱以反相液相色谱(RP)为主^[53].对于 LC-HRMS 的大部分质谱仪而言,其灵敏度依赖于荷质比的扫描范围和扫描速度,并与离子源中的化合物电离效率密切相关,典型的荷质比(m/z)扫描范围在 300—400 之间,某些仪器或配置的灵敏度要高于这个值^[54].当要进一步确定目标化合物的分子结构等信息时,所使用的质谱仪参数要达到一定的要求^[55]:质量数误差小于 $5 \times 10^{-4}\%$;样品检测的色谱保留时间与标准物质的色谱保留时间误差小于 2.5%.

由于 TOF-MS 在全扫描模式下具有很高的分辨率和准确的质量数,使其在非目标化合物筛选、代谢产物的分子结构鉴别时具有很高的选择性(干扰少)和专一性(基于合适准确的经验公式)^[56].目前主要采用 LC-TOF-MS 进行非目标化合物的筛选,并将筛选出的非目标化合物再利用 LC-MS/MS 进行定量分析.如 Picó 等^[57]使用基于超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱仪(UPLC-QqTOF-MS)的非目标化合物分析方法,从成分复杂的梨子果肉提取物中筛选出了农药残留物,如多灵菌、抑霉唑、促长啉等,此外还筛选出残留在水果上的塑化剂和乳胶类化学物质;随后采用液相色谱-三重四极杆串联质谱法(LC-QqQ-MS/MS)对上述发现的物质进行定量分析. Martínez Bueno 等^[24]在此后也采用相同的分析方法,利用 UPLC-QqTOF-MS 和 LC-QqQ-MS/MS 对河水中的药物残留成分进行筛选,通过一次性检测(采用直接进样法,进样量 100 μL)就筛选出了酮咯酸、曲唑酮、氟康唑、二甲双胍和万拉法新等药物成分.这些研究表明,LC-TOF-MS 结合 LC-MS/MS 在对复杂样品的非目标化合物筛选以及目标化合物的定量分析方面应用潜力巨大.

由于 Orbitrap MS(轨道离子阱质谱)分辨率高达 100000,质量数精度高达 $2 \times 10^{-4}\%$,线性动态范围在 10^3 — 10^4 ,全扫描模式下灵敏度达到 10^{-15} — 10^{-12} g,而且能对目标物进行多级质谱分析,因此可在没有标准物质的情况下通过精确质量数对未知化合物进行快速筛查与结构确认^[54].LC-Orbitrap MS 已被用于环境样品中未知污染物^[20]、食品中的农药残留^[58]等研究领域之中.如 Schymanski 等^[59]利用高效液相色谱/线性离子阱-轨道离子阱串联质谱(HPLC/LTQ Orbitrap XL)对瑞士国内 10 个污水处理厂尾水的近万种有机化合物及其代谢转化产物进行了全面的分析,并筛查出了尾水中的主要污染物;该研究利用 LTQ Orbitrap XL 对目标化合物分析方法、可疑化合物分析方法和非目标化合物分析方法等 3 种分析方法策略在环境样品检测的实际应用展开系统的研究和探索,具有积极的借鉴意义.

3.3 其他辅助仪器及联用技术

在进行非目标化合物分析时,当全扫描所得到的质谱碎片离子的特征信息不够充分时,可能会面临化合物结构鉴别讹误的情况^[21];同时为了更全面深入地分析未知化合物的元素组成、分子式和结构式,也可能需要其他的辅助分析手段^[35].因此,在进行非目标化合物分析时,有时需借助于其他仪器设备进行补充测定,如核磁共振(NMR)、傅里叶红外(FTIR)等仪器,目前也发展出了核磁共振与液相色谱-串联质谱联用的技术(NMR-LC-MS/MS)^[60],如 Levsen 等^[61]于 2000 年左右就开始利用高效液相色谱-质谱(HPLC-MS)与 NMR 联用技术应用于复杂环境样品的分析.

NMR 是一种无损分析,而且能够提供定性、半定量和定量的分析信息,并且该技术不需要或者仅进

行简单的前处理,因此它在有机物质的分析中应用广泛.但由于 NMR 不能单独分离化合物,并且其灵敏度也较低,因此目前出现了相应的改进技术,如 HPLC-NMR、LC-SPE-NMR/TOF-MS 等联用技术^[21]. Alves Filho 等^[62]利用 HPLC-(UV/MS)-SPE-ASS(Automatic sampling storage)-NMR 对拉美污水处理厂中的非目标化合物进行分析,对线性烷基表面活性剂等污染物进行了筛选分析. Godejohann 等^[63]利用基于¹H-NMR 和 HPLC-SPE-NMR/TOF-MS 的非目标化合物分析方法,全面分析弹药破坏场地的受污染地下水中的未知化合物.

4 数据处理软件和数据库资源(Data-processing software and database resources)

4.1 数据处理软件

(1) 数据处理的基本步骤

利用高分辨率质谱仪、串联质谱仪以及多维色谱仪等进行样品分析时都会产生海量的分析数据,如何对这些数据进行高效、准确的分析是非目标化合物分析方法的难点所在.数据处理的基本流程包括以下步骤^[21, 24, 26, 29, 54-55]: (a) 首先是质谱峰的选择和提取,在这个过程中需要扣除对照样品/空白样品的信号背景值,以排除干扰峰; (b) 对信号噪声进行消除,进行质量数的校正、同位素和加合物的构建等,这些可利用软件自动进行; (c) 根据得到的准确质谱峰等获取化合物分子式,在这个过程中采用各种启发式的算法进行分子式筛选,比如“七条黄金法则”(Seven golden rules)^[64]; (d) 获得的化合物分子式需要与数据库(包括质谱数据库和化学数据库)进行匹配,并进行质谱碎片解析,以确定化合物结构式.

由于利用单一的经验公式去分析质谱图将会得到成千上万种可能的分子结构,因此必须采用合适的算法或分类器(classifiers)以将待选的众多分子结构控制在可接受的范围内.因此,分子式筛选的算法开发是数据处理软件开发的一项重要内容.除了上述的“七条黄金法则”之外, Ulrich 等还利用“线性溶解能关系”(Linear solvation energy relationships)作为化合物分类器进行算法开发并应用于环境非目标化合物分析方法上.通过模拟实验研究相继得到毛细管色谱^[65]、气相色谱^[66-67]、液相色谱^[68]等一系列仪器的色谱保留指数的参数.

(2) 解卷积软件

对于非目标化合物分析方法而言,选择合适的数据处理软件(解卷积软件)是先决条件^[31]. Bletsou 等^[1]总结了部分商用和免费的数据处理软件,如:

- MZmine (<http://mzmine.sourceforge.net/>)
- XCMS (<https://xcmsonline.scripps.edu>)
- EnviMass (<http://www.eawag.ch/forschung/uchem/software/enviMass1>)
- Non-target, ACD MS/Workbook Suite

• 仪器生产商提供的软件,比如:沃特世(Waters)的 MassLynx and MetaboLynx; 赛默飞世尔(Thermo Scientific)的 Networks and Sieve, Applied Biosystems Data Explorer (MDS-Sciex Analyst QS), 以及安捷伦(Agilent)的 MassHunter.

此外,文献报道的此类软件还有 Kendrick mass defect software、AMDIS 软件(Automated mass spectral deconvolution and identification system, NIST)等软件. Kendrick 软件是基于精确质量数和利用质量亏损进行分析的新数据软件,针对含卤素化合物尤其是含卤素 POPs 等而开发的. Ubukata 等^[69]利用 Kendrick 软件对从电子废弃物检测中获得的 GC×GC-HRMS 数据进行处理,得到了一系列常见污染物和新兴污染物,比如 PBDEs、磷酸三(2-氯丙基)酯(TCPP)、PCBs、多氯三联苯(PCTs)等. Skoczyńska 等^[35]利用 AMDIS 软件通过手动解卷积,从 GC×GC-MS 获取的结构高度复杂的数据中筛选出显著性的质谱峰,并将获取的质谱图送到 NIST 中进行再次检索.但 Orešič^[25]指出目前对这些软件平台的开发和使用都各自为阵,平台之间还缺乏系统的合作研究.

(3) 可疑化合物预测软件

对采用可疑化合物分析策略(Suspect analysis)而言,选择合适的预测工具对可疑化合物进行分子式和结构式的预测是最重要的步骤之一. Bletsou 等^[1]总结了目前一些可以预测生物代谢转化产物的工具:

- University of Minnesota Pathway Prediction System (UM-PPS: <http://eawag-bbd.ethz.ch/>)
- CATABOL (<http://oasis-lmc.org/products/models/environmental-fate-and-ecotoxicity/catabol-301c.aspx>)
- PathPred (<http://www.genome.jp/tools/pathpred/>)
- Meteor (<http://www.lhasalimited.org/products/meteor-nexus.htm>)

其中,UM-PPS 和 CATABOL 用于预测微生物代谢转化产物; Meteor 用于预测哺乳动物的代谢产物; PathPred 用于预测外源性化合物的生物代谢和次代谢产物,并可对多代的代谢产物进行预测.UM-PPS 是开源免费的,得到最广泛的应用,如 Kern 等^[70]在研究污水处理厂及其尾水排放河流中的维甲酸受体兴奋剂时,利用 UM-PPS 对微生物降解代谢产物进行预测,包括在好氧和厌氧条件下的两代代谢产物,在该研究中 UM-PPS 比 META 和 CATABOL 的预测结果更好.

4.2 数据库资源

(1) 质谱数据库

目前可使用的数据库包括政府机构或公益组织建立的大型质谱数据库,如:

- NIST Mass Spectral Library (<http://www.nist.gov/srd/nistla.cfm>)
- MassBank (<http://www.massbank.jp>)
- NORMAN MassBank (<http://massbank.ufz.de/MassBank/>)^[71]: 由欧盟委员会于 2005 年资助成立的诺尔曼网络建立了供欧洲各研究机构交流共享的高分辨率质谱数据库,汇集了由欧洲各个成员实验室提供的未知化合物或优先监测化合物的质谱信息,目前已经有将近 5 万个质谱图.

此外,还有仪器开发商提供的数据库,如安捷伦公司提供的 AMDIS 质谱图库.仪器自带数据库的数据量一般比较有限,比如 AMDIS 质谱图库中只有几百种化合物谱图,而 NIST05 谱库中超过 16 万 3 千个化合物.

研究人员还可以根据研究课题的需要建立自己的数据库,为了避免自建的数据库因不同质谱仪之间的差别而带来的再现性问题,这些质谱数据的采集均采用了不同的碰撞能量^[21].另外,有的学者利用文献资料提供的质谱信息与所筛选的化合物的质谱信息进行比对分析,从而获得一些新兴污染物或者代谢产物的结构信息,如江桂斌院士课题组利用文献上的质谱信息来辅助确定从河流沉积物中筛查出的具有神经毒性的四溴双酚 A 双烯丙基醚(TBBPA DAE)的结构信息^[72].

(2) 化学数据库

进行数据库搜索匹配的另外一类数据库为化学数据库.化学数据库集成的是化合物的分子式、结构式、理化性质以及色谱保留指数等信息,是非目标化合物筛选过程中确定化合物分子式的重要参考.主要的化学数据库有:

- ChemSpider (<http://cssp.chemspider.com>)
- PubChem (<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>)
- NIST Chemistry WebBook (<http://webbook.nist.gov>)

4.3 数据资源的回顾性研究

对于环境监测程序而言,非目标化合物分析方法的一个重要优势在于能够对全扫描数据进行回顾性分析,使得实验研究人员能够在几年之后还能够通过处理这些数据探索新的污染物^[54],如 Cervera 等^[73]在利用 GC-TOF-MS 对水果和蔬菜农药残留物进行目标化合物分析和非目标化合物分析时,仅使用解卷积软件对已有的数据进行分析,而不需要再进行额外的样品分析.许多研究机构在参与诺尔曼组织(NORMAN)于 2013 年发起的非目标化合物分析方法协同实验之后,还在对之前的协同实验数据进行进一步的回顾性研究^[29].

5 研究展望(Research prospects)

由于非目标化合物分析方法尚处于发展完善阶段,目前该方法也存在一些不足之处尚待解决. Weigel 等^[32]在 2001 年率先利用该技术研究北海(德国)海水中新兴污染物的时候,已经指出相对于目标化合物分析而言,非目标化合物分析能够提供更全面的样品成分特征,但它并不能筛选出样品中的所

有成分,其一、不是所有化合物的质谱图都储存在质谱库里;其二、当化合物浓度很低时,所使用的解卷积软件无法将其质谱信息从大量的数据中筛选出来。Jernberg 等^[31]在 2013 年利用 TOF-MS 研究城市水环境有机外源性物质时,也指出由于非目标化合物分析方法采用全扫描的模式,其方法检出限比目标化合物分析方法的检出限较高,当污染物浓度较低时,无法将其筛选出。Terzic 等^[40]认为非目标化合物分析方法存在的困难与挑战有:其一、满足这种分析方法要求的高分辨率仪器比较昂贵,一定程度上限制了其应用的广泛性;其二、由于目前对数据处理的解析算法(如分子拟合算法)研究与开发有限,且缺乏完善的综合性质谱图数据库,因此对未知化合物的结构分析存在不足,这些是限制该方法广泛应用的难点所在。Gómez-Ramos 等^[22]也指出非目标化合物分析方法最主要的不足在于缺乏强大的数据处理分析软件,使得这种分析方法在数据处理速度方面比较慢。

非目标化合物分析方法的进一步发展和推广,需要在以下几个方面进行完善和突破:(1)解析算法与解卷积软件:数据处理软件(解卷积软件)在非目标化合物分析方法中具有非常重要的作用——这方面已经得到许多研究人员的探讨和肯定,因此非目标化合物分析方法的进一步发展离不开解析方法(如分子式拟合算法)与解卷积软件的开发和完善。(2)方法检出限:数据处理软件(解卷积软件)的完善以及样品前处理方法的优化将有助于降低方法检出限。(3)数据库资源:虽然目前已经有很多商业或者免费的数据库,但是尚无法满足进一步的分析需要,因此相关数据库(主要是质谱库)的进一步完善是非常必要的。(4)计算机处理能力:在全扫描模式下,高分辨率质谱以及二维乃至多维的质谱或者色谱联用技术将产生海量的、结构高度复杂的数据,因此就必然需要较高的计算机储存和计算能力。非目标化合物分析方法是一种新兴的分析技术,随着上述问题的不断解决和完善,必将为生态环境、食品药品、生物代谢等研究领域提供一种强有力的研究手段。

参考文献(References)

- [1] BLETSOU A A, JEON J, HOLLENDER J, et al. Targeted and non-targeted liquid chromatography-mass spectrometric workflows for identification of transformation products of emerging pollutants in the aquatic environment [J]. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2015, 66: 32-44.
- [2] GARCÍA-REYES J F, HERNANDO M D, MOLINA-DÍAZ A, et al. Comprehensive screening of target, non-target and unknown pesticides in food by LC-TOF-MS [J]. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2007, 26(8): 828-841.
- [3] ONORATO J M, LANGISH R, BELLAMINE A, et al. Applications of HILIC for targeted and nontargeted LC/MS analyses in drug discovery [J]. *Journal of Separation Science*, 2010, 33: 923-929.
- [4] RIEDL J, ESSLINGER S, FAUHL-HASSEK C. Review of validation and reporting of non-targeted fingerprinting approaches for food authentication [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2015, 885: 17-32.
- [5] ESSLINGER S, RIEDL J, FAUHL-HASSEK C. Potential and limitations of non-targeted fingerprinting for authentication of food in official control [J]. *Food Research International*, 2014, 60: 189-204.
- [6] SANDRA K, SANDRA P. Lipidomics from an analytical perspective [J]. *Current Opinion in Chemical Biology*, 2013, 17(5): 847-853.
- [7] IBÁÑEZ C, SIMÓ C, GARCÍA-CAÑAS V, et al. The role of direct high-resolution mass spectrometry in foodomics [J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2015, 407(21): 6275-6287.
- [8] TSUGAWA H, BAMBA T, SHINOHARA M, et al. Practical non-targeted gas chromatography/mass spectrometry-based metabolomics platform for metabolic phenotype analysis [J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2011, 112(3): 292-298.
- [9] MIMURA N, ISOGAI A, IWASHITA K, et al. Gas chromatography/mass spectrometry based component profiling and quality prediction for Japanese sake [J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2014, 118(4): 406-414.
- [10] ROULLIER-GALL C, WITTING M, TZIOTIS D, et al. Integrating analytical resolutions in non-targeted wine metabolomics [J]. *Tetrahedron*, 2015, 71(20): 2983-2990.
- [11] LEE S M, KWON G Y, KIM K O, et al. Metabolomic approach for determination of key volatile compounds related to beef flavor in glutathione-Maillard reaction products [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2011, 703(2): 204-211.
- [12] VICHI S, CORTÉS-FRANCISCO N, ROMERO A, et al. Determination of volatile thiols in virgin olive oil by derivatisation and LC-HRMS, and relation with sensory attributes [J]. *Food Chemistry*, 2014, 149: 313-318.
- [13] MALHEIRO R, GUEDES DE PINHO P, SOARES S, et al. Volatile biomarkers for wild mushrooms species discrimination [J]. *Food Research International*, 2013, 54(1): 186-194.
- [14] CARVALHO L M, CARVALHO F, DE LOURDES BASTOS M, et al. Non-targeted and targeted analysis of wild toxic and edible mushrooms using gas chromatography-ion trap mass spectrometry [J]. *Talanta*, 2014, 118: 292-303.
- [15] FRASER K, HARRISON S J, LANE G A, et al. Non-targeted analysis of tea by hydrophilic interaction liquid chromatography and high

- resolution mass spectrometry [J]. *Food Chemistry*, 2012, 134(3): 1616-1623.
- [16] FRASER K, LANE G A, OTTER D E, et al. Non-targeted analysis by LC-MS of major metabolite changes during the oolong tea manufacturing in New Zealand [J]. *Food Chemistry*, 2014, 151: 394-403.
- [17] FRASER K, LANE G A, OTTER D E, et al. Analysis of metabolic markers of tea origin by UHPLC and high resolution mass spectrometry [J]. *Food Research International*, 2013, 53(2): 827-835.
- [18] CHERTA L, PORTOLÉS T, PITARCH E, et al. Analytical strategy based on the combination of gas chromatography coupled to time-of-flight and hybrid quadrupole time-of-flight mass analyzers for non-target analysis in food packaging [J]. *Food Chemistry*, 2015, 188: 301-308.
- [19] HECKER M, HOLLERT H. Effect-directed analysis (EDA) in aquatic ecotoxicology: state of the art and future challenges [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2009, 16(6): 607-613.
- [20] HOGENBOOM A, LEERDAM J V, DE V, et al. Accurate mass screening and identification of emerging contaminants in environmental samples by liquid chromatography-hybrid linear ion trap Orbitrap mass spectrometry [J]. *Journal of Chromatography A*, 2009, 1216: 510-519.
- [21] AGÜERA A, MARTÍNEZ BUENO M, FERNÁNDEZ-ALBA A. New trends in the analytical determination of emerging contaminants and their transformation products in environmental waters [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2013, 20(6): 3496-3515.
- [22] GÓMEZ-RAMOS M M, FERRER C, MALATO O, et al. Liquid chromatography-high-resolution mass spectrometry for pesticide residue analysis in fruit and vegetables: Screening and quantitative studies [J]. *Journal of Chromatography A*, 2013, 1287: 24-37.
- [23] SCHYMANSKI E L, SINGER H P, SLOBODNIK J, et al. Non-target screening with high-resolution mass spectrometry: Critical review using a collaborative trial on water analysis [J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2015, 407(21): 6237-6255.
- [24] MARTÍNEZ BUENO M J, ULASZEWSKA M M, GOMEZ M J, et al. Simultaneous measurement in mass and mass/mass mode for accurate qualitative and quantitative screening analysis of pharmaceuticals in river water [J]. *Journal of Chromatography A*, 2012, 1256: 80-88.
- [25] OREŠIČ M. Metabolomics, a novel tool for studies of nutrition, metabolism and lipid dysfunction [J]. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 2009, 19(11): 816-824.
- [26] MÜLLER A, SCHULZ W, RUCK W K, et al. A new approach to data evaluation in the non-target screening of organic trace substances in water analysis [J]. *Chemosphere*, 2011, 85(8): 1211-1219.
- [27] DIAZ R, MARIA IBANEZ, SANCHO J V, et al. Target and non-target screening strategies for organic contaminants, residues and illicit substances in food, environmental and human biological samples by UHPLC-QTOF-MS. *Analytical Methods* [J]. *Analytical Methods*, 2012, 4: 196-209.
- [28] MOHLER R E, O'REILLY K T, ZEMO D A, et al. Non-targeted analysis of petroleum metabolites in groundwater using GC×GC-TOFMS [J]. *Environmental Science & Technology*, 2013, 47(18): 10471-10476.
- [29] HELBLING D E, HOLLENDER J, KOHLER H-P E, et al. High-throughput identification of microbial transformation products of organic micropollutants [J]. *Environmental Science & Technology*, 2010, 44(17): 6621-6627.
- [30] HIRD S J, LAU B P Y, SCHUHMACHER R, et al. Liquid chromatography-mass spectrometry for the determination of chemical contaminants in food [J]. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2014, 59: 59-72.
- [31] JERNBERG J, PELLINEN J, RANTALAINEN A L. Identification of organic xenobiotics in urban aquatic environments using time-of-flight mass spectrometry [J]. *Science of the Total Environment*, 2013, 450-451: 1-6.
- [32] WEIGEL S, BESTER K, HÜHNERFUSS H. New method for rapid solid-phase extraction of large-volume water samples and its application to non-target screening of North Sea water for organic contaminants by gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Journal of Chromatography A*, 2001, 912(1): 151-161.
- [33] HÜBNER U, SEIWERT B, REEMTSMA T, et al. Ozonation products of carbamazepine and their removal from secondary effluents by soil aquifer treatment-Indications from column experiments [J]. *Water Research*, 2014, 49: 34-43.
- [34] PÉREZ-PARADA A, GÓMEZ-RAMOS M D M, BUENO M J M, et al. Analytical improvements of hybrid LC-MS/MS techniques for the efficient evaluation of emerging contaminants in river waters: A case study of the Henares River (Madrid, Spain) [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2012, 19: 467-481.
- [35] SKOCZYŃSKA E, KORYTÁR P, BOER J D. Maximizing chromatographic information from environmental extracts by GC×GC-ToF-MS [J]. *Environmental Science & Technology*, 2008, 42(17): 6611-6618.
- [36] BU Q, WANG D, LIU X, et al. A high throughput semi-quantification method for screening organic contaminants in river sediments [J]. *Journal of Environmental Management*, 2014, 143: 135-139.
- [37] HOH E, DODDER N G, LEHOTAY S J, et al. Nontargeted comprehensive two-dimensional gas chromatography/time-of-flight mass spectrometry method and software for inventorying persistent and bioaccumulative contaminants in marine environments [J]. *Environmental Science & Technology*, 2012, 46(15): 8001-8008.
- [38] BYER J D, PACEPAVICIUS G, LEBEUF M, et al. Qualitative analysis of halogenated organic contaminants in American eel by gas chromatography/time-of-flight mass spectrometry [J]. *Chemosphere*, 2014, 116: 98-103.
- [39] MILMAN B L. General principles of identification by mass spectrometry [J]. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2015, 69: 24-33.

- [40] 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: 557-566.
- [41] ALLAN I J , HARMAN C , RANNEKLEV S B , et al. Passive sampling for target and nontarget analyses of moderately polar and nonpolar substances in water [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry* , 2013 , 32(8) : 1718-1726.
- [42] ALDER L , GREULICH K , KEMPE G , et al. Residue analysis of 500 high priority pesticides: Better by GC-MS or LC-MS/MS? [J]. *Mass Spectrometry Reviews* , 2006 , 25(6) : 838-865.
- [43] TSUGAWA H , TSUJIMOTO Y , SUGITATE K , et al. Highly sensitive and selective analysis of widely targeted metabolomics using gas chromatography/triple-quadrupole mass spectrometry [J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering* , 2014 , 117(1) : 122-128.
- [44] MURRAY J A. Qualitative and quantitative approaches in comprehensive two-dimensional gas chromatography [J]. *Journal of Chromatography A* , 2012 , 1261: 58-68.
- [45] PIERCE K M , HOGGARD J C , MOHLER R E , et al. Recent advancements in comprehensive two-dimensional separations with chemometrics [J]. *Journal of Chromatography A* , 2008 , 1184(1/2) : 341-352.
- [46] SCHMIDT T , SCHMITZ O , TEUTENBERG T. Multidimensional chromatography [J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* , 2015 , 407(1) : 117-118.
- [47] PENA-ABAURREA M , YE F , BLASCO J , et al. Evaluation of comprehensive two-dimensional gas chromatography-time-of-flight-mass spectrometry for the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments [J]. *Journal of Chromatography A* , 2012 , 1256: 222-231.
- [48] HOH E , LEHOTAY S J , MASTOVSKA K , et al. Capabilities of direct sample introduction-comprehensive two-dimensional gas chromatography-time-of-flight mass spectrometry to analyze organic chemicals of interest in fish oils [J]. *Environmental Science & Technology* , 2009 , 43(9) : 3240-3247.
- [49] VIAL J , PEZOUS B , THIÉBAUT D , et al. The discriminant pixel approach: A new tool for the rational interpretation of GC×GC-MS chromatograms [J]. *Talanta* , 2011 , 83(4) : 1295-1301.
- [50] VAN STEE L L P , BRINKMAN U A T. Peak clustering in two-dimensional gas chromatography with mass spectrometric detection based on theoretical calculation of two-dimensional peak shapes: The 2DAid approach [J]. *Journal of Chromatography A* , 2011 , 1218(43) : 7878-7885.
- [51] FERRER I , THURMAN E M. Analysis of 100 pharmaceuticals and their degradates in water samples by liquid chromatography/quadrupole time-of-flight mass spectrometry [J]. *Journal of Chromatography A* , 2012 , 1259: 148-157.
- [52] MATOS J T V , DUARTE R M B O , DUARTE A C. A simple approach to reduce dimensionality from comprehensive two-dimensional liquid chromatography coupled with a multichannel detector [J]. *Analytica Chimica Acta* , 2013 , 804: 296-303.
- [53] LI D , JAKOB C , SCHMITZ O. Practical considerations in comprehensive two-dimensional liquid chromatography systems (LC×LC) with reversed-phases in both dimensions [J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* , 2015 , 407(1) : 153-167.
- [54] KRAUSS M , SINGER H , HOLLENDER J. LC-high resolution MS in environmental analysis: From target screening to the identification of unknowns [J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* , 2010 , 397: 943-951.
- [55] ACEÑA J , STAMPACHIACCHIERE S , PÉREZ S , et al. Advances in liquid chromatography-high-resolution mass spectrometry for quantitative and qualitative environmental analysis [J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* , 2015 , 407(21) : 6289-6299.
- [56] HERNÁNDEZ F , SANCHO J V , IBÁÑEZ M , et al. Investigation of pesticide metabolites in food and water by LC-TOF-MS [J]. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* , 2008 , 27(10) : 862-872.
- [57] PICÓ Y , FARRÉ M L , SOLER C , et al. Identification of unknown pesticides in fruits using ultra-performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry: Imazalil as a case study of quantification [J]. *Journal of Chromatography A* , 2007 , 1176(1/2) : 123-134.
- [58] SHI Y , CHANG J S , ESPOSITO C L , et al. Rapid screening for pesticides using automated online sample preparation with a high-resolution benchtop Orbitrap mass spectrometer [J]. *Food Additives & Contaminants: Part A* , 2011 , 28(10) : 1383-1392.
- [59] SCHYMANSKI E L , SINGER H P , LONGR E P , et al. Strategies to characterize polar organic contamination in wastewater: Exploring the capability of high resolution mass spectrometry [J]. *Environmental Science & Technology* , 2014 , 48(3) : 1811-1818.
- [60] PRASSE C , WAGNER M , SCHULZ R , et al. Biotransformation of the antiviral drugs acyclovir and penciclovir in activated sludge treatment [J]. *Environmental Science & Technology* , 2011 , 45(7) : 2761-2769.
- [61] LEVSEN K , PREISS A , GODEJOHANN M. Application of high-performance liquid chromatography coupled to nuclear magnetic resonance and high-performance liquid chromatography coupled to mass spectrometry to complex environmental samples [J]. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* , 2000 , 19(1) : 27-48.
- [62] ALVES FILHO E G , SARTORI L , SILVA L M A , et al. Non-targeted analyses of organic compounds in urban wastewater [J]. *Magnetic Resonance in Chemistry* , 2015 , 53(9) : 704-710.
- [63] GODEJOHANN M , HEINTZ L , DAOLIO C , et al. Comprehensive Non-targeted analysis of contaminated groundwater of a former ammunition destruction site using 1H-NMR and HPLC-SPE-NMR/TOF-MS [J]. *Environmental Science & Technology* , 2009 , 43(18) : 7055-7061.
- [64] KIND T , FIEHN O. Seven Golden Rules for heuristic filtering of molecular formulas obtained by accurate mass spectrometry [J]. *BMC*

- Bioinformatics ,2007 ,8(1) : 105-124.
- [65] ULRICH N ,SCHÜÜRMAN G ,BRACK W. Linear solvation energy relationships as classifiers in non-target analysis—A capillary liquid chromatography approach [J]. Journal of Chromatography A ,2011 ,1218(45) : 8192-8196.
- [66] ULRICH N ,MÜHLENBERG J ,REITZBACH H , et al. Linear solvation energy relationships as classifiers in non-target analysis—A gas chromatographic approach [J]. Journal of Chromatography A ,2012 ,1264: 95-103.
- [67] ULRICH N ,SCHÜÜRMAN G ,BRACK W. Prediction of gas chromatographic retention indices as classifier in non-target analysis of environmental samples [J]. Journal of Chromatography A ,2013 ,1285: 139-147.
- [68] ULRICH N ,MÜHLENBERG J ,SCHÜÜRMAN G , et al. Linear solvation energy relationships as classifier in non-target analysis—An approach for isocratic liquid chromatography [J]. Journal of Chromatography A ,2014 ,1324: 96-103.
- [69] UBUKATA M ,JOBST K J ,REINER E J , et al. Non-targeted analysis of electronics waste by comprehensive two-dimensional gas chromatography combined with high-resolution mass spectrometry: Using accurate mass information and mass defect analysis to explore the data [J]. Journal of Chromatography A ,2015 ,1395: 152-159.
- [70] KERN S ,FENNER K ,SINGER H P , et al. Identification of transformation products of organic contaminants in natural waters by computer-aided prediction and high-resolution mass spectrometry [J]. Environmental Science & Technology ,2009 ,43(18) : 7039-7046.
- [71] BRACK W ,DULIO V ,SLOBODNIK J. The NORMAN Network and its activities on emerging environmental substances with a focus on effect-directed analysis of complex environmental contamination [J]. Environmental Sciences Europe ,2012 ,24(1) : 1-5.
- [72] QU G ,SHI J ,WANG T , et al. Identification of tetrabromobisphenol A diallyl ether as an emerging neurotoxicant in environmental samples by bioassay-directed fractionation and HPLC-APCI-MS/MS [J]. Environmental Science & Technology ,2011 ,45(11) : 5009-5016.
- [73] CERVERA M I ,PORTOLÉS T ,PITARCH E , et al. Application of gas chromatography time-of-flight mass spectrometry for target and non-target analysis of pesticide residues in fruits and vegetables [J]. Journal of Chromatography A ,2012 ,1244: 168-177.