

附件 2

# 新污染物筛查准确度评定技术指南

## 液相色谱-质谱法

(试行)



# 目 录

前 言.....	ii
1. 适用范围.....	1
2. 规范性引用文件.....	1
3. 术语和定义.....	2
4. 常用定性方法.....	2
4.1 标准品确认.....	2
4.2 离子数量与离子丰度比.....	2
4.3 同位素峰识别.....	2
4.4 质量准确度限定（仅用于 HRMS）.....	2
4.5 数据库匹配（仅用于 HRMS）.....	2
5. 准确度评定分级.....	3
5.1 等级 3 暂定化合物（Tentative compounds）.....	3
5.2 等级 2 疑似化合物（Probable compounds）.....	4
5.3 等级 1 确认化合物（Confirmed compounds）.....	4
6. 筛查技术路线.....	5
6.1 LC-LRMS 筛查技术路线.....	5
6.2 LC-HRMS 筛查技术路线.....	5
7. 质量保证和质量控制.....	7
7.1 质量轴校正.....	7
7.2 空白样品要求.....	7
7.3 质量控制.....	7
7.4 能力验证.....	8
附录 A 其他推荐的定性方法.....	9
A.1 Kendrick 质量亏损（KMD）.....	9
A.2 中性丢失.....	10
A.3 分子网络技术.....	11

# 前 言

新污染物的筛查和风险评估是新污染物管控工作的重要一环。《新污染物治理行动方案》（国办发〔2022〕15号）中提出要构建有毒有害化学物质环境风险管理“筛、评、控”技术体系。新污染物的准确定性是筛查的关键环节，基于质谱的筛查技术已广泛用于识别复杂环境介质中的新污染物。由于数据库范围、化合物丰度以及复杂基质干扰等原因，利用质谱数据筛查定性化合物的准确性差异显著。为进一步健全新污染物筛查技术质量控制体系，提高筛查结果的准确性，统一筛查准确度评定等级，指导相关实验室科学评定新污染物定性的准确度级别，制定本文件。

本文件为首次发布，将根据新污染物筛查技术的发展和进展适时修订。

本文件适用于评价基于液相色谱串联质谱技术筛查定性化合物的准确度，提出了筛查新污染物的技术要点与技术路线，包括常用定性方法、准确度评定分级、筛查技术路线及质量保证和质量控制措施等。

本文件附录 A 为资料性附录。

本文件由中国环境监测总站组织编制。

本文件主要起草单位及人员：

中国环境监测总站：徐驰、师耀龙、吕怡兵

浙江省生态环境监测中心：王静

陕西省环境监测中心站：和莹

重庆市生态环境监测中心：李文俊

浙江大学：王昆

本文件由中国环境监测总站解释。

# 新污染物筛查准确度评定技术指南 液相色谱-质谱法

## （试行）

### 1. 适用范围

本文件适用于指导生态环境领域新污染物筛查技术,适用于基于液相色谱串联质谱技术筛查新污染物准确度评定的质量控制工作。本文件不涉及样品采集方法、前处理技术、分析方法(如色谱柱选择、洗脱溶剂等)等其他环节,仅用于评价基于质谱数据开展化合物定性的准确度并明确相关质量控制方法。

本文件中,低分辨质谱(LRMS)指单四极杆质谱(MS)、串联四极杆质谱(MS/MS)等;高分辨质谱(HRMS)指飞行时间高分辨质谱(TOF MS)、静电场轨道阱高分辨质谱(Orbitrap MS)等。

### 2. 规范性引用文件

本文件引用了下列文件或其中的条款。凡是注明日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是未注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

中华人民共和国农业农村部公告第 312 号 饲料中风险物质的筛查与确认导则 液相色谱-高分辨质谱法(LC-HRMS)

欧盟卫生和食品安全总局 导则 SANTE 11312/2021 食品和饲料中农残分析质量控制和方法验证 Analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed

欧盟 导则 2002/657/EC 执行理事会指令 96/23/EC 关于分析方法的性能和结果的补充说明 Commission Decision of implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results

美国食品药品监督管理局 建议书 食品和兽药项目 利用精确质量数鉴定化合物准则 Acceptance Criteria for Confirmation of Identity of Chemical Residues using Exact Mass Data for the FDA Foods and Veterinary Medicine Program

### 3. 术语和定义

下列术语和定义适用于本技术要求。

#### 3.1

##### 非靶向筛查技术 non-target screening

在没有目标物参考信息的条件下对化合物进行分析筛查的技术。

#### 3.2

##### 疑似筛查技术 suspect screening

针对可能存在的疑似物进行分析，利用疑似物的化学式、质谱信息以及保留时间来对某些特定的化合物进行筛查。

### 4. 常用定性方法

#### 4.1 标准品确认

在相同色谱条件下，通过比较未知物与标准品的保留时间以及离子丰度比，确定未知物结构。标准品推荐使用国家有证标准物质、具有计量溯源性或不确定度的标准物质或其他高纯物质。若标准品难以获取，也可使用纯度满足要求的化学品用于定性确认。

#### 4.2 离子数量与离子丰度比

通过规定匹配的离子数量（母离子、子离子）及其与标准品的相对离子丰度比偏差，准确定性化合物结构信息。

#### 4.3 同位素峰识别

利用同位素峰判断化合物中是否含有某种元素，通过测定同位素峰和分子离子峰的丰度比辅助判断化合物的分子式。

#### 4.4 质量准确度限定（仅用于 HRMS）

通过限定离子的测量值和理论值的偏差（ppm），增加化合物定性依据。

#### 4.5 数据库匹配（仅用于 HRMS）

通过离子质谱峰信息检索相似的质谱图，根据匹配分数高低筛选化合物。匹配分数因计算软件不同而有所差异，各相关实验室可根据定性需求设定符合要求的匹配度阈值。

除检索谱库外，可通过质谱预测算法，推断化合物可能的质谱图信息。不同数据库间化合物种类存在差异，可检索多个数据库获得较为准确全面的定性信息。

## 5. 准确度评定分级

根据化合物色谱质谱定性信息确定准确度分级（图 1）。可根据一级谱库检索、二级质谱碎裂信息等识别同系物类别或官能团信息，初步确定化合物结构，此类定性级别划为等级 3；根据二级谱库检索结果或疑似物列表匹配结果识别可能的结构或同分异构体为等级 2；利用标准品的色谱和质谱特征最终确定化合物结构（除保留时间相同的同分异构体外），此类是化合物筛查定性的最高等级即等级 1。等级 3 到等级 1 准确度依次递增。

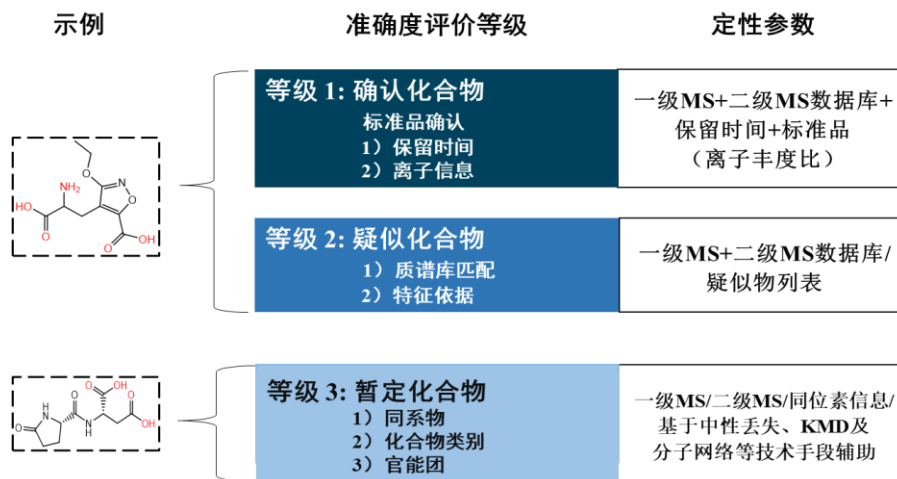


图 1 基于 LC-LRMS/HRMS 筛查定性化合物准确度分级评价

### 5.1 等级 3 暂定化合物 (Tentative compounds)

通过技术手段辅助识别化合物的同系物、类别或官能团等信息（附录 A）。

#### 5.1.1 公共数据库匹配

根据分子式通过公用数据库初步拟定化合物结构列表。

#### 5.1.2 Kendrick 质量亏损技术 (KMD)

利用 Kendrick 质量亏损技术通过化合物的精确质量数与整数质量数的差值特征识别同系物。

#### 5.1.3 分子网络技术

通过分子网络技术根据二级质谱图的相似度识别同系物或类似物。

#### 5.1.4 中性丢失技术

通过中性丢失扫描识别特征碎片离子,通过特征碎裂规律初步识别化合物类别或官能团信息,如全氟化合物等。

### 5.2 等级 2 疑似化合物 (Probable compounds)

#### 5.2.1 LC-LRMS (LC-MS/MS) 疑似化合物判定标准

5.2.1.1 信噪比  $S/N \geq 3$ 。

5.2.1.2 匹配一个母离子和至少 2 个子离子。

#### 5.2.2 LC-HRMS 疑似化合物判定标准

##### 5.2.2.1 选择疑似筛查技术路线时判定标准

5.2.2.1.1 信噪比  $S/N \geq 3$ 。

5.2.2.1.2 一级母离子质量偏差  $\leq 10$  ppm, 二级子离子质量偏差  $\leq 20$  ppm, 当  $m/z < 200$  时, 绝对偏差  $< 1$  mDa。

5.2.2.1.3 参照自建库或商业库的保留时间或保留指数定性。

##### 5.2.2.2 选择非靶向筛查技术路线时判定标准

5.2.2.2.1 信噪比  $S/N \geq 3$ 。

5.2.2.2.2 一级母离子质量偏差  $\leq 10$  ppm, 结合同位素信息提高定性准确度。

5.2.2.2.3 因不同厂商谱库检索相似度算法不同,各实验室可根据筛查目标确定合适的匹配阈值。推荐筛选化合物的二级谱库匹配分数大于谱库相似度最大值的 60%。例如,谱库相似度最大相值为 1000,则需筛选二级谱库匹配分数大于 600 的化合物。

### 5.3 等级 1 确认化合物 (Confirmed compounds)

#### 5.3.1 离子匹配条件 (仅限 HRMS)

一级母离子质量偏差  $\leq 5$  ppm, 二级子离子质量偏差  $\leq 10$  ppm; 当  $m/z < 200$  时, 绝对偏差  $< 1$  mDa。至少 1 个母离子和 1 个子离子满足上述匹配条件。

#### 5.3.2 同位素识别

同位素丰度比辅助定性, 推荐同位素丰度比偏差不超过 5%。

#### 5.3.3 标准品确认

标准品与待定性化合物保留时间偏差推荐在  $\pm 0.2$  min 以内,或在  $\pm 2.5\%$ 且不超过 0.5 min。



标准品与待定性化合物离子丰度比满足表 1 要求。

表 1 相对离子丰度比的最大允许偏差

离子丰度比	≥50%	20%~50%	10%~20%	≤10%
最大允许相对偏差	±20%	±25%	±30%	±50%

注：基于高分辨质谱确认化合物时需同时满足条件 5.3，若基于低分辨质谱确认化合物时需条件 5.3.3 即可。

## 6. 筛查技术路线

### 6.1 LC-LRMS 筛查技术路线

采用 LC-LRMS 开展筛查，缺乏商业谱库，因此宜选择串联质谱技术（LC-MS/MS），可利用文献报道的多反应监测离子扫描（MRM）方法进行疑似筛查。

### 6.2 LC-HRMS 筛查技术路线

基于 LC-HRMS 筛查技术主要分为疑似筛查与非靶向筛查两类，根据筛查目标选择筛查技术路线，可先开展疑似筛查，若不在疑似物列表内则进行非靶向筛查；亦可直接开展非靶向筛查（图 2）。

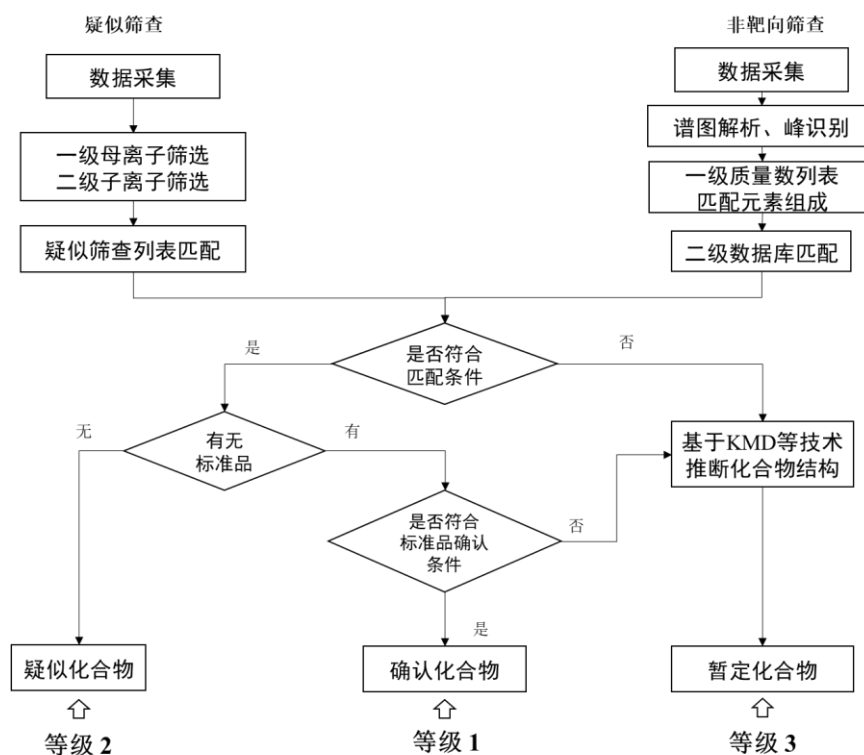


图 2 基于 LC-HRMS 疑似筛查与非靶向筛查技术路线

## 6.2.1 疑似筛查

疑似筛查化合物受疑似化合物列表的限制,适用于各地已有新污染物管控清单,根据清单自建数据库或商业数据库开展快速筛查,确认化合物后再建立准确定量方法进行环境监测。技术路线如图 2 所示。

### 6.2.1.1 自建质谱数据库

根据筛查范围及目的,自行建立质谱数据库。自建质谱数据库应包括化合物名称、化学式、CAS 号、主要母离子(分子离子、质子化离子/去质子化离子或加合离子)的精确质量数及离子化方式、对应的特征碎片离子的精确质量数及其丰度信息、保留时间等。

### 6.2.1.2 数据采集

通过合适的数据采集模式进行数据采集,扣除背景干扰,筛选信噪比大于等于 3( $S/N \geq 3$ )的色谱峰。各实验室亦可根据研究目标确定信噪比阈值。

### 6.2.1.3 一级母离子和二级子离子提取条件

按照母离子质量偏差 $\leq 10$  ppm,二级子离子偏差 $\leq 20$  ppm 提取符合条件的色谱(质谱)峰。

### 6.2.1.4 疑似筛查列表比对

将提取到的色谱(质谱)峰与自建谱库或商业谱库中的化合物信息匹配。至少有两个离子,推荐一个母离子和至少一个子离子满足 5.2.2.1.2 的要求,表明与列表中化合物匹配。匹配成功,则按照 5.3 要求判断是否符合确认化合物的条件。筛选出符合条件的疑似化合物购买标准品进行标准品确认。若不符合疑似筛查列表匹配条件,则可开展非靶向筛查。

### 6.2.1.5 标准品确认

标准品与待定性化合物的筛查分析方法保持一致,保留时间须保持不同分析批次间的稳定性,推荐标准品与待定性化合物同批次进样分析,或加入内标校正保留时间。建议标准品浓度与样品中目标物浓度相近。推荐将标准品添加至与样品相似的基质中进行实验。标准品确认条件参照 5.3.3。

## 6.2.2 非靶向筛查

非靶向筛查技术受到前处理方法、色谱条件、数据筛选方法(数据库范围等)等的限制,适用于未知化合物的广谱筛选(图 2)。

### 6.2.2.1 数据采集

通过合适的数据采集模式进行数据采集,扣除背景干扰。

### 6.2.2.2 谱图解析、峰识别

可通过软件进行谱图解析，筛选信噪比  $S/N \geq 3$  的色谱峰。

#### 6.2.2.3 一级质量数提取条件

按照母离子质量偏差  $\leq 10$  ppm 提取符合条件的色谱（质谱）峰。确认提取后的一级母离子的精确质量数，限定元素组成，符合分子式构成原则，结合同位素信息确定化合物的分子式。

#### 6.2.2.4 二级数据库比对

二级数据库匹配满足谱库匹配得分等筛选条件后，可判定为疑似化合物。按照 5.3 要求筛选出符合条件的化合物进行标准品确认。

#### 6.2.2.5 标准品确认

标准品与待定性化合物的筛查分析方法保持一致，保留时间须保持不同分析批次间的稳定性，推荐标准品与待定性化合物同批次进样分析，或加入内标校正保留时间。建议标准品浓度与样品中目标物浓度相近。推荐将标准品添加至与样品相似的基质中进行实验。标准品确认条件参照 5.3.3。

## 7. 质量保证和质量控制

### 7.1 质量轴校正

基于质谱技术（特别是高分辨质谱）开展筛查前建议参考标准方法进行质量轴校正，以确保化合物质量数测定准确。在分析前或分析过程中进行调谐，优化质谱参数使分辨率、质量准确度和灵敏度满足要求。建议在分析过程中根据筛查需求定期进行重新校准。

### 7.2 空白样品要求

在样品采集、运输、储存、制备、提取和分析过程中可能会引入杂质干扰，宜在样品筛查全过程加入空白对照实验，提高定性准确度。若样品中化合物丰度高于空白样品中化合物丰度的 3 倍，则保留该化合物，反之则剔除。对于背景信号色谱峰峰形异常（如：基线背景、柱流失等）的色谱峰可直接扣除。

### 7.3 质量控制

#### 7.3.1 混合样本质控

均匀混合所有样品制成混合样本，推荐每 10 个样品或每批次（ $\leq 10$  个）样品应至少测定一个混合样本。混合样本中化合物峰面积相对偏差与保留时间偏差应根据筛查需求提出质

控要求，推荐峰面积的相对偏差应在±20%以内，保留时间偏差应不超过 0.5 min。

### 7.3.2 混合标准品质控

混合多种标准品配制混合标准品。建议综合考虑精确质量数、极性、离子化效率等选择多类标准品，以覆盖样品中待定性化合物的理化性质范围。每 10 个样品或每批次（≤10 个）样品应至少测定一个混合标品。混合标品中标准品的峰面积相对偏差与保留时间偏差应根据筛查需求提出质控要求，推荐峰面积的相对偏差应在±20%以内，保留时间偏差应不超过 0.2 min。

### 7.3.3 内标质控

样品中采用氘代物或  $^{13}\text{C}$  标记的有机物作为内标。内标的峰面积相对偏差与保留时间应根据筛查需求提出质控要求，推荐内标的保留时间偏差不超过 0.2 min，质谱峰面积的相对偏差在±20%以内。

## 7.4 能力验证

为保证筛查定性化合物的准确度，开展筛查工作的相关机构宜视情况定期开展能力验证。

## 附录 A 其他推荐的定性方法

(资料性附录)

### A.1 Kendrick 质量亏损 (KMD)

利用 Kendrick 质量亏损 (Kenderick mass defect, KMD) 对化合物同系物进行分析。

各元素的精确质量与其 IUPAC 整数质量 (Normal Mass, NM) 之间的差异被称为质量亏损 (mass defect, MD)。KMD 图需先将有机物实际测得的 IUPAC 质量 (measured mass) 转换成 Kendrick mass (KM) (公式 (A.1)), KMD 即为 NM 与 KM 差值 (公式 (A.2))。

$$KM(\text{series}) = \text{IUPAC mass}_{\text{measured}} \times \left( \frac{\text{Nominal mass of series}}{\text{Exact mass of series}} \right) \quad (\text{A.1})$$

$$\text{KMD} = \text{NM} - \text{KM}(\text{series}) \quad (\text{A.2})$$

在 KMD 图中, 具有相同核心结构, 不同数量重复单元的同系列有机物分布在同一条水平线上。根据研究需要, 公式 (A.1) (A.2) 中 series 可以为  $\text{CH}_2$  (14.01565 Da)、 $\text{CO}_2$  (43.98983 Da)、 $\text{CF}_2$  (49.99681 Da)、 $-\text{H}/+\text{Cl}$  (33.96103 Da)、 $-\text{H}/+\text{Br}$  (77.91051 Da) 等。

例: Yu 等基于 HPLC-QTOF-MS 利用  $\text{CF}_2$  质量亏损单元筛选同系物, 结合 EPA CompTox 数据库非靶标筛查了大气颗粒物中的全氟和多氟化合物 (PFASs)。

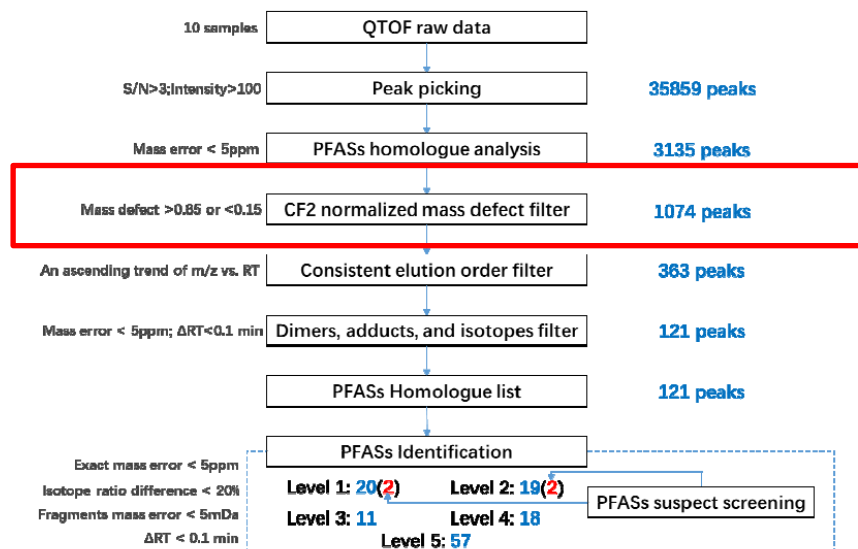


图 A.1 PFAS 同系物分析和疑似物筛选工作流程

参考文献: Yu Nanyang, Guo Huiwei, Jin Ling, et al. Non-target and suspect screening of per- and polyfluoroalkyl substances in airborne particulate matter in China [J]. Environmental Science & Technology, 2018, 52: 8205-8214

## A.2 中性丢失

中性丢失指在串联质谱中将 MS1 和 MS2 进行全扫描，二者始终保持一定固定的质量差，仅在碰撞池中丢失的中性部分满足这个固定质量差的离子才能被检测到。中性丢失扫描可用于识别某一类具有相同官能团的化合物。例如，监测 NO<sub>2</sub> 的丢失 ( $m/z=46$ ) 可用于识别亚硝酸盐类化合物。

例：有研究利用傅里叶变换离子回旋共振质谱仪 (FT-ICR MS) 识别大气中水溶性有机物，通过比较母离子和子离子识别中性丢失表明最常见的中性损失是 CO<sub>2</sub> (54%)、H<sub>2</sub>O (43%) 和 CH<sub>3</sub>OH (40%)。根据中性丢失识别出化合物可能为有机硝酸盐、有机硫酸盐和硝基有机硫酸盐等。

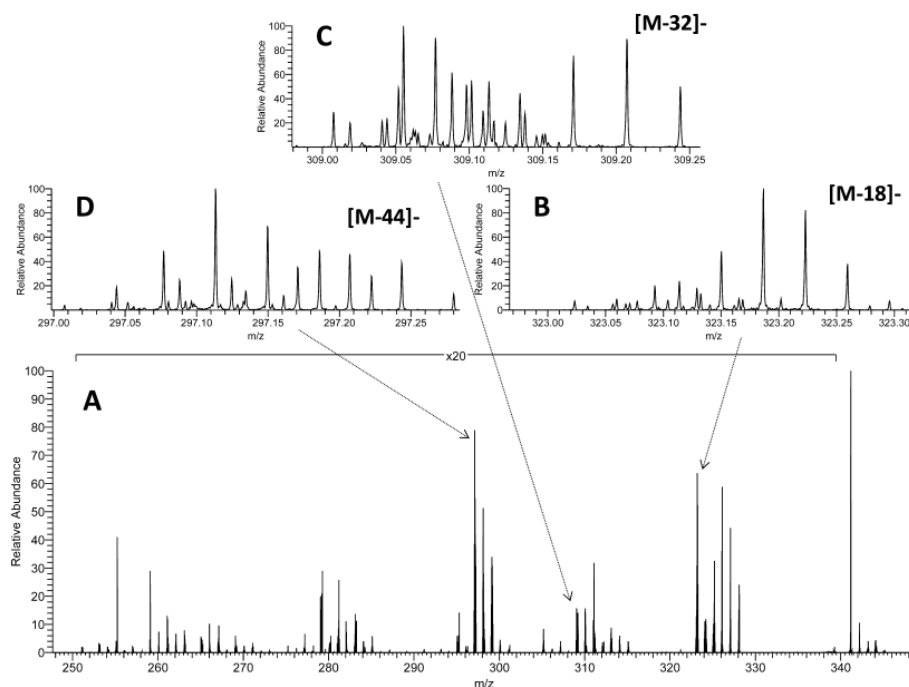


图 A.2 母离子 ( $339 < m/z < 345$ ) 碰撞诱导解离后的产物质谱，中性丢失为 H<sub>2</sub>O (18 Da)、CH<sub>3</sub>OH (32 Da) 和 CO<sub>2</sub> (44 Da)

参考文献: Jeffrey P. LeClair, Jeffrey L. Collett, Lynn R. Mazzoleni Fragmentation Analysis of Water-Soluble Atmospheric Organic Matter Using Ultrahigh-Resolution FT-ICR Mass Spectrometry [J]. Environmental Science & Technology, 2012, 46, 4312-4322.

### A.3 分子网络技术

结构相同或相近的化合物在同一条件下可产生相同或相似的二级质谱碎片，反之亦然。按照一定算法将 LC-MS/MS 图谱中的每张二级质谱图进行比对，并计算各图谱的相似度，以余弦值（0~1）表示，相似度越高，则余弦值越大。根据计算所得余弦值的大小，可将相似度较高的图谱分别聚集成簇，而相似度较低的图谱单独成簇，最终可将所有二级质谱图整合成一张可视化的分子网络图。通过比对待定性化合物和已知化合物的二级质谱数据识别已知化合物的同系物或类似物。

例：有文献利用分子网络技术（如图 A.3 b）将 10051 个分子特征聚类为 1064 个类别中，从而推断出结构相似性，再基于计算机预测识别第一候选结构。

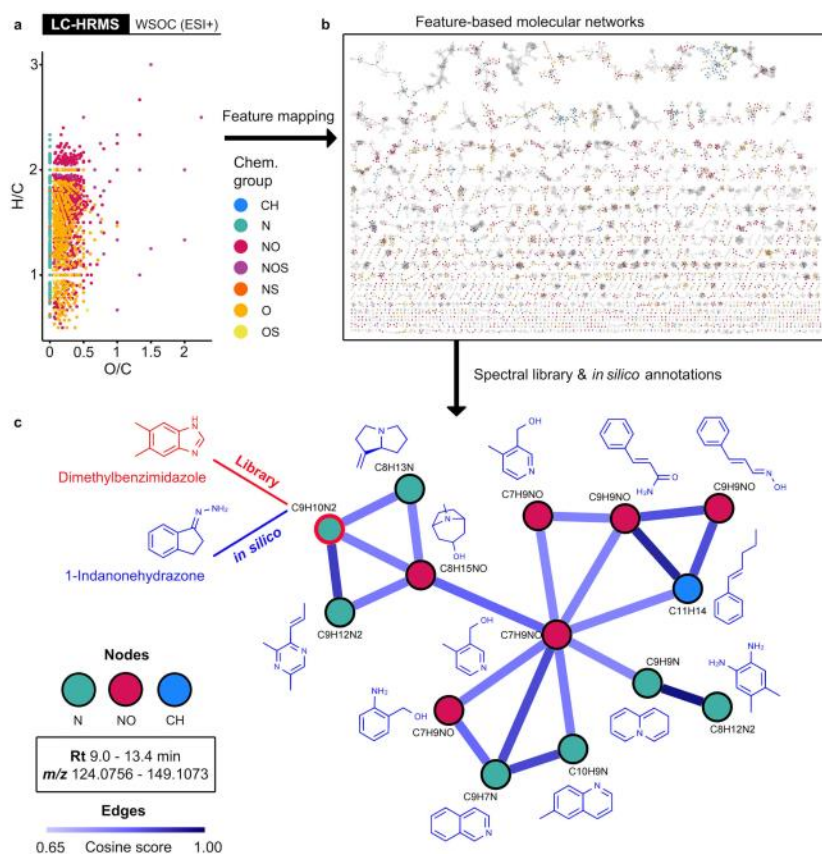


图 A.3 PM<sub>2.5</sub> 复合提取物分子表征

参考文献：Stefano Papazian, Lisa A. D'Agostino, Ioannis Sadiktsis et al, Nontarget mass spectrometry and in silico molecular characterization of air pollution from the Indian subcontinent [J]. Communications earth&environment, 2022, 3:35.