

综述与专论

三维荧光与高分辨率质谱技术在溶解性
有机物结构解析中的研究进展罗崇佳¹, 陈浩², 廖振良¹

(1. 同济大学, 上海 200092; 2. 上海市环境科学研究院, 上海 200233)

摘要: 三维荧光光谱耦合平行因子分析技术(EEM-PARAFAC)可解析溶解性有机物结构,但目前对 PARAFAC 拟合组分的性质尚不了解,高分辨率质谱能从分子层级解析溶解性有机物结构;本文总结近年来三维荧光光谱技术(EEM-PARAFAC)及高分辨率质谱技术(FT-ICR-MS)用于溶解性有机物研究进展,介绍了两种技术的表征方法和应用情况,分析了两种技术的发展、联系以及目前面临的问题与挑战。

关键词: 溶解性有机污染物; 三维荧光光谱; FT-ICR-MS

中图分类号: X83

文献标识码: A

文章编号: 1006-8759(2018)05-0001-06

THREE-DIMENSIONAL FLUORESCENCE SPECTROSCOPY
AND HIGH FIELD FT-ICR MASS SPECTROMETRY IN THE
ANALYSIS OF DISSOLVED ORGANIC STRUCTURESLUO Chong-Jia¹, CHEN Hao², LIAO Zhen-liang³

(1. Tongji University, Shanghai 200092, China;

2. Shanghai Academy of Environmental Sciences, Shanghai 200233, China)

Abstract: Three-dimensional fluorescence spectrometry coupled with the parallel factor analysis (EEM-PARAFAC) can be used to analyze the structure of dissolved organic compounds. However, the molecular signatures associated with PARAFAC components are poorly defined. High-resolution mass spectrometry can resolve the dissolved organic structure from the molecular level. In this paper, recent advances in three-dimensional fluorescence spectroscopy (EEM-PARAFAC) and high-resolution mass spectrometry (FT-ICR-MS) were summarized. The principles, characterization methods, and applications of the two technologies were introduced. The relationship and challenges between the two technologies were analyzed.

Key words: Dissolved organic matter; Three-dimensional fluorescence spectroscopy; FT-ICR-MS.

溶解性有机物 (Dissolved Organic Matter, DOM) 是一类具有复杂化学结构的多源成分混合物,在自然环境系统循环中起到重要作用^[1]。DOM

的组分结构特征与其来源高度相关,对 DOM 组分结构的研究有助于解析污染物来源,探究 DOM 迁移转化规律,以及对水环境质量的影响^[2-5]。但 DOM 的分子量、化学结构以及官能团都具有很大的分布范围,难以对其结构进行准确详尽的表征。因此对 DOM 组成的表征和分析成为相关研究的关键所在。

收稿日期: 2018-06-04

基金项目: 国家自然科学基金项目(51578396)、国家自然科学基金项目(51778451)、国家重点研发计划项目(2016YFE0123300)资助。
第一作者简介: 罗崇佳, 1994.03, 云南人, 同济大学, 硕士研究生, 主要研究方向为环境化学。

近年来, 三维荧光光谱 (Three-dimensional Fluorescence Spectroscopy) 技术广泛应用于水体、土壤中 DOM 的表征, 这种技术具有快速、灵敏度高、前处理简单的优点^[6,7]。随着分析方法的发展, 平行因子分析法 (Parallel factor analysis, PARAFAC) 可将荧光峰分解为若干荧光拟合组分, 可更清晰地分析发色荧光峰的组成; 但三维荧光光谱技术本身存在干扰效应、荧光峰重叠、荧光猝灭等因素影响的问题, 致使目前对 PARAFAC 拟合组分的性质尚不清楚。

高分辨率质谱技术 (Ultrahigh Resolution Mass) 具有分辨率高、精确度高、可对未知物分子式进行推测的优点, 随着高分辨率质谱技术的发展, 特别是傅里叶变换离子回旋共振质谱 (Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry, FT-ICR-MS) 技术的发展, 将三维荧光光谱与傅里叶变换离子回旋共振质谱技术结合, 对 DOM 的结构进行光学及分子层级的表征, 对发色荧光峰进行补充解释的同时可提供更多关于 DOM 化学特性的结构信息^[8,9]。本文拟对三维荧光光谱及傅里叶变换离子回旋共振质谱技术对 DOM 结构表征的典型表征及应用进行综述, 并对两者结合的结合运用以及优缺点、目前存在的挑战和问题进行介绍。

1 三维荧光光谱耦合平行因子分析法

1.1 三维荧光光谱及常见 PARAFAC 拟合组分

荧光激发-发射矩阵 (fluorescent excitation-emission matrix) 提供了关于 DOM 结构组成差异方面的信息, 对图谱的分析方法有峰值法以及平行因子分析法。峰值法是依靠最大荧光强度、激发波长、发射波长来确定组分在图谱上的位置的一种方法, 源于 Coble 等最先将 DOM 中主要的荧光峰最大激发和发射波长位置与可能的有机物联系^[10], 典型的峰值荧光图谱如图 1 所示。

表 1 常见荧光峰范围及其对应种类

| 峰 peak | EX:EM(nm:nm) | 种类 type of substance |
|--------|---------------------|--------------------------|
| B | 275:310 | 类酪氨酸 Tyrosine-like |
| T | 275:340 | 类色氨酸 Tryptophan-like |
| A | 260:(308-460) | UV 腐殖酸 UV humic-like |
| M | (290-310):(370:420) | 海洋腐殖酸 marine humic-like |
| C | (320-360):(420:480) | 可见腐殖酸 visible humic-like |

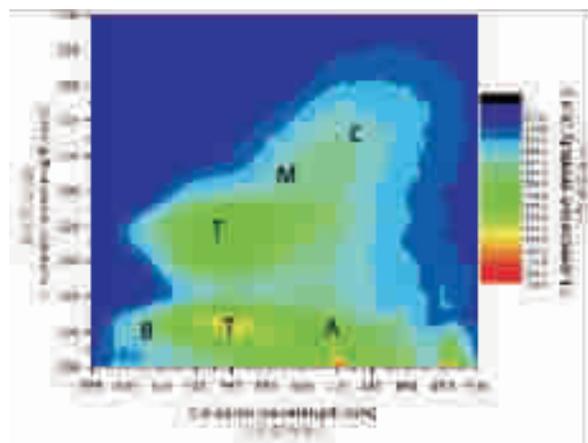


图 1 DOM 的主要荧光峰^[20]

三维荧光光谱耦合平行因子分析法 (excitation-emission matrix parallel factor analysis, EEM-PARAFAC) 对分析 DOM 有明显的优势, 此种方法能够在一定程度上应对荧光光谱峰重叠的问题。PARAFAC 法将 EEM 矩阵降维成唯一荧光适合的荧光组分集和一个残差矩阵, 从而将 EEM 图谱分解成为若干具有化学意义组分的荧光峰^[11]。根据 Coble 的研究^[12,13], 目前使用 PARAFAC 法分解出的被定义的组分名和性质如下^[14]:

表 2 常见 PARAFAC 拟合组分及其对应种类

| PARAFAC 组分 | EX:EM(nm:nm) | 对应峰 | 术语; 性质 | 可生物降解性 | 光化学降解性 |
|------------|----------------|----------------|--------------|--------|--------|
| P1 | <275 (295):420 | Peak A | 陆源类腐殖酸 | 低 | 高 |
| P2 | <275:480 | Peak A 上部 | 陆源类腐殖酸 | 低 | 高 |
| P3 | <345(275):430 | Peak C(Peak A) | 陆源类腐殖酸 | 中 | 最高 |
| P4 | 335:440 | Peak C/M | 海洋腐殖酸; 微生物来源 | 高 | 中 |
| P5 | 300:390 | Peak M/N | 水生类腐殖酸; 原地生成 | 高 | 中 |
| P6 | 275:336 | Peak B+T | 新近类氨基酸 | 最高 | 中 |

1.2 三维荧光光谱法对溶解性有机物表征的应用及存在问题

三维荧光光谱技术已广泛应用于水环境监测与处理领域, 以探究季节、地域等因素对 DOM 的影响; 识别不同水体类型; 分析水体中有机污染物可能的来源; 对水处理过程进行监测, 在水体、土壤、堆肥都有广泛的应用^[7,15,16]。在自然水体领域, Coble 将三维荧光技术用于反映海洋微生物活性对海洋 DOM 的影响^[10]; 在污染来源追溯中, 吴静将城市水体的荧光特征分为三种类型, I 型具有类腐殖质和类蛋白荧光, 与自然水体相关, II 型具有类腐殖质荧光, 但类蛋白质荧光的特征不明显, III 型出现的荧光峰数量最多, 且类蛋白荧光强度显著大于类腐殖酸荧光强度, 表示此水样与经过

稀释的生活污水有关^[17]。Chen 将市政排水系统末端溢流污水的荧光峰为 5 个组分,发现基于 DOM 拟合组分与来源的对应指示关系,可以对排水系统内主要来源的快速指示与动态监测^[7]。在水质在线监测研究中,Carstea 和 Henderson 探讨了三维荧光法作为一种在线监测方法对饮用水及污水处理过程进行长期监测的可能性,指出污水中 PeakT 荧光强度明显大于自然水体中 PeakT 的强度,且 PeakT 与 PeakC 在废水生物处理过程中具有特异性和灵敏度,可以作处理效果检测的手段^[18,19]。以上这些研究都试图总结不同水体的特性荧光特性,以期通过水体的荧光特性变化反映水体特性的变化,并试图解释不同水体产生不同荧光特性的环境影响因素,进而反映出环境特性的变化。

虽然三维荧光光谱法具有快速检测、预处理简单、反应灵敏等优点,但根据谱图存在荧光峰重叠现象,解释荧光峰信息仅是与类物质联系等局限,致使由三维荧光光谱得到的 PARAFAC 拟合组分只能提供表面的荧光信息,缺乏相应的分子结构与来源的联系解释,在一定程度上降低了荧光图谱对来源进行解析的准确度和可信度。Reemtsma 的研究指出富里酸的分子式随来源的不同而不同,在地表水中的富里酸表现了更高的羧基化程度^[20],Assaad 也在检测地表水中的荧光增白剂时指出自然腐殖质的存在会对荧光图谱产生干扰,因为两种物质的荧光峰会在荧光图谱上发生重叠现象^[21]。因此为加深荧光光谱对 DOM 结构的表征的理解,还需要进行进一步的研究。

2 高分辨率质谱法对溶解性有机物结构的解析

2.1 傅里叶变换离子回旋共振质谱 (FT-ICR-MS)

傅里叶变换离子回旋共振质谱(FT-ICR-MS)是当前分辨率最高的质谱,质荷比的分辨率可达 10^{-6} 级,因此 FT-ICR-MS 可以更高分辨率的对 DOM 分子层级的组分信息进行划分。傅里叶变换离子回旋共振分析系统相比其他质量分析系统,在解析的精度和深度上具有明显的优势^[22]。Marshall 对 FT-ICR-MS 的理论与参数设置进行了详尽的介绍^[23]。

高分辨率质谱技术得到大量的分子名义质量

(nominal mass)数据,对这些数据的分析和表征是高分辨率质谱技术对溶解性有机物结构表征的重点。由 FT-ICR-MS 的超高分辨率,可以在一个质谱中检测到数千种具有不同 m/z 值的离子,在 FT-ICR-MS 精确的质量准确度基础上,通过应用基本化学规则(如氮规则和双键等价物的计算规则),在已知可能包含的元素组成情况下,可以计算每个质量数对应的未知物分子式。在分子式计算时,迭代组合所有可能元素组成的情况进行计算,直到得到所有在误差范围内总质量与给定的质量匹配的可能分子式。

一般来说,一个质量数可能对应有多种可能的分子式,如何对元素之间的关系进行限制,尽量排除可能性低的分子式,选择最可能的分子式,在高分辨率质谱法表征 DOM 中具有重要意义,目前有多篇文献对于分子式的准确计算和识别做了探讨^[24-27]。Koch 最先研究了对高分辨率质谱质量数据进行分子式转化计算的基本方法,他通过对 Suwannee 河中的腐殖酸与标准腐殖酸对比,发现如果计算元素仅限于 C,H,O 和 N,则对于<350 Da 的所有质量数,分子式计算都是明确的。如果只包含 C,H 和 O,则公式分配对于整个质量范围达到 1 000 Da 都能保持准确。如果元素组成中考虑非含氧杂原子,如 N、P、S 等,则可能的分子式将随着质量数的增加而显著增加,若考虑 N、P、S 元素,在元素组成范围为 $C_{0-\infty}H_{0-\infty}O_{0-\infty}N_{0-30}P_{0-2}S_{0-2}$ 的条件下,对于>600 Da 的质量数,质量公差为 1 ppm 时,计算出了 15 种以上不同分子式。因此对于可能分子式的进一步选择还需要依据其他方法或规则,如氮规则、双键规则、同系物、¹³C 同位素规则等^[28]。按照以上规则计算得到的分子式,通过斯皮尔曼等级相关系数(Spearman's correlation coefficient)表示其丰度值与荧光强度的秩相关关

表 3 FT-ICR-MS 分子式计算结果示例^[27]

| 测量值 m/z | 信噪比 | 分辨率 | 分子式 | 理论值 | 误差 |
|-----------|------|--------|--------------------------|------------|-------|
| 375.03585 | 15.0 | 479014 | $C_{17}H_{11}O^{-}$ | 375.035770 | 0.21 |
| 375.05110 | 10.7 | 508681 | $C_{21}H_{11}O_7^{-}$ | 375.051026 | 0.20 |
| 375.05444 | 3.1 | 721130 | $C_{18}H_{15}O_5S_1^{-}$ | 375.054397 | 0.11 |
| 375.07227 | 33.4 | 493629 | $C_{18}H_{15}O_9^{-}$ | 375.072156 | 0.30 |
| 375.08755 | 12.4 | 503478 | $C_{22}H_{15}O_6^{-}$ | 375.087412 | 0.37 |
| 375.10864 | 43.2 | 487137 | $C_{19}H_{19}O_8^{-}$ | 375.108541 | 0.26 |
| 375.12390 | 5.4 | 484204 | $C_{23}H_{19}O_5^{-}$ | 375.123797 | 0.27 |
| 375.14491 | 59.2 | 454710 | $C_{20}H_{23}O_7^{-}$ | 375.144927 | -0.05 |
| 375.16033 | 3.5 | 326330 | $C_{24}H_{23}O_4^{-}$ | 375.160183 | 0.39 |
| 375.18132 | 40.8 | 459226 | $C_{21}H_{27}O_6^{-}$ | 375.181312 | 0.02 |

系,可为 PARAFAC 拟合组分的性质提供解释。

由于分子式中不同的元素含量以及元素之间的关系与分子的结构高度相关,根据结构的差异可以将不同的分子式分属为不同的类别,从而从分子层级表征 DOM 的结构差异。为了便于分析,通常采用 Van Krevelen 图进行表征:横坐标为 O/C 比,纵坐标为 H/C 比。每个分子量对应的分子式在图上表示为一个特定位置的点,按照 DOM 组分在图上的分布呈现特定的规律,可分为脂质、蛋白质、氨基酸、纤维素、木质素、单宁酸、超聚碳水化合物七个区域。在 Kim 以 McDonalds 河 DOM 为样本的研究中,发现的 van Krevelen 图相邻点间可形成数条趋势线,其中 A 线表示甲基化/脱甲基或烷基,B 线表示加氢/脱氢化,C 线表示水化/聚合,D 线表示氧化/还原^[29]。见图 2

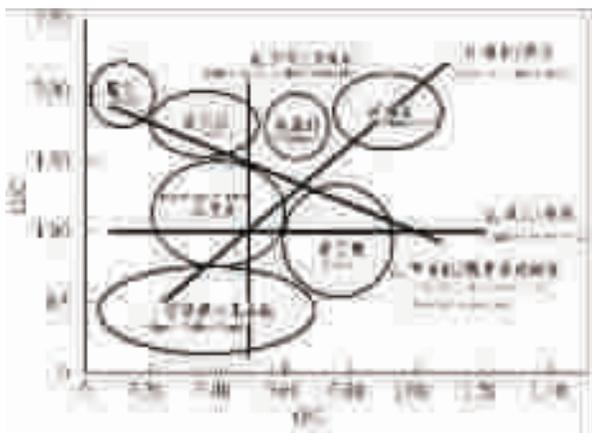


图 2 Van krevelen 示意图

2.2 高分辨率质谱法对溶解性有机物结构表征的应用

Heffner 指出 FT-ICR-MS 是分析复杂有机物的重要技术,可用来研究 DOM 以及腐殖物质的特殊化学结构,如羧酸、酚等水体和陆源腐殖质的主要构成物,以及芳香性酮、醌类、和氢醌等参与 DOM 或腐殖物质氧化还原行为的结构^[30,31]。Gonsior 发现来自不同来源的污水的 van Krevelen 图有不同的特征,自然来源 DOM 中有 63% 的分子式是特异的,生化二级出水来源的 DOM 中有 54% 的分子式是特异的,两者的 O/C 比、H/C 比显著不同,表明了不同来源水 DOM 的结构特征具有特异性^[32]。因此,由 van Krevelen 图可对不同来源的 DOM 组成结构进行一定程度上的表征。Ohno 将 FI-ICR-MS 用于研究森林植被和土壤深度对土壤

可溶性有机物的分子组成的影响,发现随着土壤深度的增加,脂质和碳水化合物的相对丰度也随之增加,而多聚芳烃和单宁酸显著减少。25~50 cm 深度的土壤比 0~5 cm 深度的土壤含有更多的氧,表明了含有更多氧的土壤更具有生物反应活性,此外,H:C>1.2, O:C>0.5 的有机物具有更高的可生物降解性^[33]。

2.3 高分辨率质谱法与三维荧光法结合的应用及存在问题

Lavonen 首次将荧光法与高分辨率质谱法相联系用于饮用水不同处理过程中 DOM 的结构的变化追踪,得出了 van Krevelen 图上不同位置的有机物与不同发射波长的荧光组分高度相关的结论,首次通过秩相关的方法将 DOM 光学性质与质谱化学结构相联系^[34]。Herzprung 为了提高对 DOM 的分子式组成的了解,采用了 EEM 耦合高分辨率质谱(FT-ICR-MS)法研究了季节和地域的变化对类腐殖酸荧光和元素分子式的影响。将高分辨率质谱所得的结构数据用 Spearman (斯皮尔曼等级)相关系数表征,再将 EEM 荧光强度与精确的分子式和其相应相对质谱丰度联系。发现荧光峰中的类腐殖酸可以与富含氧且相对不饱和的成分对应,这样的成分在化学计量式上接近单宁酸^[35]。Stubbins 为了探究三维荧光图谱中不同组分的荧光峰对应物质的分子结构,将 Québec 河的河水样品的荧光峰通过 EEM-PARAFAC 法分解为 6 个组分,再通过 FT-ICR-MS 识别 DOM 的分子式并与各个荧光拟合组分对应,表示了类腐殖酸和类蛋白荧光峰对应的分子结构特性。此外,研究还发现,在所有识别出的分子式中,仅有 39% 的分子式可以与荧光拟合组分对应,余下的 59% 的分子式可能因为不属于发色有机物而不能与荧光组分对应^[36]。

高分辨率质谱法在 DOM 结构表征中的关键步骤是将 FT-ICR-MS 得到的大量分子质量数识别为相应的可能的分子式。由于同样的质量数存在多种可能的分子式,如何选择适合的分子式至关重要。随着分子量的增加,可能的分子式也显著增加,若考虑 N、S 和 P 元素等,则显著增加可能分子式的数量,造成分子式识别的不准确。目前尚没有一个完全定义的方法来判定准确的分子式,可见 FT-ICR-MS 数据分析过程中最具挑战性的

问题在于：如何在许多理论上可能的分子式中找到正确的分子式。研究者们致力于发展多元素分子式计算方法。如 Herzprung 发现一种至多含 1 个 S 及 5 个 N 条件下,通过建立数据库进行分子式识别的方法^[26],以及针对含较多 S 元素的样品进行分子式识别的方法^[24]。由于计算方法的限制,目前关于 DOM 的分子结构特性研究多在组成元素比较简单的 NOM。如地表水、饮用水、雨水等领域,对于组成较为复杂人为源 DOM,如生活污水方面的研究较少。

3 结语

DOM 是一类包含复杂结构及交互作用的溶解性有机混合物。DOM 的组成及性质与来源相关。三维荧光技术(EEM-PARAFAC)可对 DOM 结构进行表征,峰值法与平行因子分析法可对荧光光谱数据进行分析。但对 PARAFAC 拟合组分的性质尚不了解。为了对 DOM 组分结构特性有更清晰的了解,需要从分子层级对 DOM 的结构特性进行分析。高分辨率质谱(FT-ICR-MS)具有超高质荷比分辨率,利用超导磁场可得到精确的质量数,从而可计算分子式组成。但这种方法存在质谱数据量大,分子式计算规则受到元素组成的限制的问题,目前多应用于元素组成简单的物质研究,如天然有机物。对于多元素分子的分子式计算研究是当前高分辨率质谱法面临的重要挑战。利用 FT-ICR-MS 可对荧光组分对应的分子层级信息进行分析解释,可以加深对 DOM 组成结构的理解。

参考文献

[1] OGAWA H, TANOUE E. Dissolved Organic Matter in Oceanic Waters [J]. *Journal of Oceanography*, 2003, 59(2): 129-47.

[2] BAKER A, INVERARITY R. Protein-like fluorescence intensity as a possible tool for determining river water quality [J]. *Hydrological Processes*, 2004, 18(15): 2927-45.

[3] BAKER A, SPENCER R G M. Characterization of dissolved organic matter from source to sea using fluorescence and absorbance spectroscopy [J]. *Science of The Total Environment*, 2004, 333(1-3): 217-32.

[4] WELKER A. Occurrence and fate of organic pollutants in combined sewer systems and possible impacts on receiving waters [J]. *Water Sci Technol*, 2007, 56(10): 141-8.

[5] BAKER A, TIPPING E, THACKER S A, et al. Relating dissolved organic matter fluorescence and functional properties [J].

Chemosphere, 2008, 73(11): 1765-72.

[6] HAMBLY A C, ARVIN E, PEDERSEN L F, et al. Characterising organic matter in recirculating aquaculture systems with fluorescence EEM spectroscopy [J]. *Water Res*, 2015, 83(112-20).

[7] CHEN H, LIAO Z L, GU X Y, et al. Anthropogenic Influences of Paved Runoff and Sanitary Sewage on the Dissolved Organic Matter Quality of Wet Weather Overflows: An Excitation-Emission Matrix Parallel Factor Analysis Assessment [J]. *Environ Sci Technol*, 2017, 51(3): 1157-67.

[8] SLEIGHTER R L, HATCHER P G. Fourier Transform Mass Spectrometry for the Molecular Level Characterization of Natural Organic Matter: Instrument Capabilities, Applications, and Limitations [J]. *Fourier Transforms - Approach to Scientific Principles*, 2011, 295-320.

[9] NEBBIOSO A, PICCOLO A. Molecular characterization of dissolved organic matter (DOM): a critical review [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2013, 405(1): 109-24.

[10] COBLE P G. Characterization of marine and terrestrial DOM in seawater using excitation-emission matrix spectroscopy [J]. *Marine Chemistry*, 1996, 51(4): 325-46.

[11] 陈诗雨, 李燕, 李爱民. 溶解性有机物研究中三维荧光光谱分析的应用 [J]. *环境科学与技术*, 2015, 5): 64-8.

[12] COBLE P G, GREEN S A, BLOUGH N V, et al. Characterization of Dissolved Organic-Matter in the Black-Sea by Fluorescence Spectroscopy [J]. *Nature*, 1990, 348(6300): 432-5.

[13] VAN HEUSDEN M C, THOMPSON F, DENNIS J, et al. Distribution and optical properties of CDOM in the Arabian Sea during the 1995 Southwest Monsoon [J]. *Deep-Sea Research Part II-Topical Studies in Oceanography*, 1998, 45(10-11): 2195-223.

[14] LAPIERRE J F, DEL GIORGIO P A. Partial coupling and differential regulation of biologically and photo-chemically labile dissolved organic carbon across boreal aquatic networks [J]. *Biogeochemistry*, 2014, 11(20): 5969-85.

[15] 戴春燕, 吴静, 向熙, et al. 工业废水为主的城市污水的荧光指纹特征 [J]. *光谱学与光谱分析*, 2013, 02): 414-7.

[16] HARUN S, BAKER A, BRADLEY C, et al. Spatial and seasonal variations in the composition of dissolved organic matter in a tropical catchment: the Lower Kinabatangan River, Sabah, Malaysia [J]. *Environ Sci Process Impacts*, 2016, 18(1): 137-50.

[17] 吴静, 陈庆俊, 陈茂福, et al. 城市污水的三维荧光指纹特征比较 [J]. *光学学报*, 2008, 10): 2022-5.

[18] HENDERSON R K, BAKER A, MURPHY K R, et al. Fluorescence as a potential monitoring tool for recycled water systems: a review [J]. *Water Res*, 2009, 43(4): 863-81.

[19] CARSTEA E M, BRIDGEMAN J, BAKER A, et al. Fluorescence spectroscopy for wastewater monitoring: A review [J]. *Water Res*, 2016, 95(205-19).

[20] REEMTSMA T. Comparative Investigation of Low-Molecular-Weight Fulvic Acids of Different Origin by SEC-Q-TOF-MS-New Insights into Structure and Formation [J]. *Environ Sci Technol*, 2005,

- [21] ASSAAD A, PONTVIANNE S, PONS M N. Photodegradation-based detection of fluorescent whitening agents in a mountain river [J]. *Chemosphere*, 2014, 100(27-33).
- [22] LEVINE A D, TCHOBANOGLOUS G, ASANO T. Characterization of the Size Distribution of Contaminants in Wastewater: Treatment and Reuse Implications [J]. *Journal*, 1985, 57(7): 805-16.
- [23] MARSHALL A G, HENDRICKSON C L, JACKSON G S. Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry: a primer [J]. *Mass spectrometry reviews*, 1998, 17(1): 1-35.
- [24] HERZSPRUNG P, HERTKORN N, VON TUMPLING W, et al. Molecular formula assignment for dissolved organic matter (DOM) using high-field FT-ICR-MS: chemical perspective and validation of sulphur-rich organic components (CHOS) in pit lake samples [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2016, 408(10): 2461-9.
- [25] OHNO T, OHNO P E. Influence of heteroatom pre-selection on the molecular formula assignment of soil organic matter components determined by ultrahigh resolution mass spectrometry [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2013, 405(10): 3299-306.
- [26] HERZSPRUNG P, HERTKORN N, VON TUMPLING W, et al. Understanding molecular formula assignment of Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry data of natural organic matter from a chemical point of view [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2014, 406(30): 7977-87.
- [27] HERZSPRUNG P, W V T, HERTKORN N, et al. High-field FTICR-MS data evaluation of natural organic matter: are CHON₅S₂ molecular class formulas assigned to (13)C isotopic m/z and in reality CHO components? [J]. *Anal Chem*, 2015, 87(19): 9563-6.
- [28] KOCH B P, DITTMAR T, WITT M, et al. Fundamentals of molecular formula assignment to ultrahigh resolution mass data of natural organic matter [J]. *Anal Chem*, 2007, 79(4): 1758-63.
- [29] KIM S, KRAMER R W, HATCHER P G. Graphical method for analysis of ultrahigh-resolution broadband mass spectra of natural organic matter, the van Krevelen diagram [J]. *Anal Chem*, 2003, 75(20): 5336-44.
- [30] HEFFNER C, SILWAL I, PECKENHAM J M, et al. Emerging technologies for identification of disinfection byproducts: GC/FT-ICR MS characterization of solvent artifacts [J]. *Environmental Science & Technology*, 2007, 41(15): 5419-25.
- [31] BALUHA D R, BLOUGH N V, DEL VECCHIO R. Selective mass labeling for linking the optical properties of chromophoric dissolved organic matter to structure and composition via ultrahigh resolution electrospray ionization mass spectrometry [J]. *Environ Sci Technol*, 2013, 47(17): 9891-7.
- [32] GONSIOR M, ZWARTJES M, COOPER W J, et al. Molecular characterization of effluent organic matter identified by ultrahigh resolution mass spectrometry [J]. *Water Res*, 2011, 45(9): 2943-53.
- [33] OHNO T, PARR T B, GRUSELLE M C, et al. Molecular composition and biodegradability of soil organic matter: a case study comparing two new England forest types [J]. *Environ Sci Technol*, 2014, 48(13): 7229-36.
- [34] LAVONEN E E, KOTHAWALA D N, TRANVIK L J, et al. Tracking changes in the optical properties and molecular composition of dissolved organic matter during drinking water production [J]. *Water Res*, 2015, 85(286-94).
- [35] HERZSPRUNG P, VON TUMPLING W, HERTKORN N, et al. Variations of DOM quality in inflows of a drinking water reservoir: linking of van Krevelen diagrams with EEMF spectra by rank correlation [J]. *Environ Sci Technol*, 2012, 46(10): 5511-8.
- [36] STUBBINS A, LAPIERRE J F, BERGGREN M, et al. What's in an EEM? Molecular signatures associated with dissolved organic fluorescence in boreal Canada [J]. *Environ Sci Technol*, 2014, 48(18): 10598-606.