

《场地土壤污染物人体暴露组解析技术
规范 总纲》（征求意见稿）
编制说明

《场地土壤污染物人体暴露组解析技术规范》标准编制组

二零二二年十一月

目 次

| | |
|---------------------|----|
| 1 工作简况..... | 1 |
| 2 制定标准的必要性与可行性..... | 2 |
| 3 国内外研究进展..... | 5 |
| 4 编制原则..... | 13 |
| 5 主要技术内容说明..... | 14 |
| 6 标准实施建议..... | 37 |

1 工作简况

1.1 任务来源

随着工业化进程的加快，工业企业在生产、关停、搬迁过程中形成了大量的污染场地或潜在污染场地，场地土壤污染物的持续暴露对生态环境和公众健康构成了严重威胁。合理评价污染场地人群的暴露风险，对于制定重点行业污染管控政策、定位污染地块功能、保障人群健康具有重要的社会、经济和生态效益。《中华人民共和国土壤污染防治法》、《土壤污染防治行动计划》、“十四五”生态环境监测规划等国家政策法规也提出加强土壤污染与人体健康关系研究，开展土壤污染健康风险监测与评估的要求。当前主要由环境因素角度开展的污染场地暴露评估分析，存在暴露情景和暴露途径单一、无法直接反映人体暴露及健康效应等局限。本标准基于当前暴露组学等新技术的发展，结合重点行业土壤污染物复合暴露特点，建立符合我国实际情况的场地土壤污染物人体暴露组解析技术，指导污染场地暴露生物标志物的筛选工作，为推动我国人体暴露风险评估技术的发展，制定场地土壤污染防控政策和措施提供支撑。

本标准是在国家重点研发计划“场地土壤污染成因与治理技术”重点专项项目支持下，考虑我国工业污染场地特点及人体健康影响特征，对国内外场地调查和暴露组学相关技术方法进行深入研究的基础上完成的。本标准由广东工业大学牵头起草，中国环境科学学会归口，2021年申请立项，列入2021年中国环境科学学会第三批团体标准立项项目。

1.2 工作过程

本标准是国家重点研发计划“场地土壤污染成因与治理技术”重点专项“重点行业场地土壤污染物的人体暴露组学与生物标志物”项目实际工作的凝练和探索，编制工作分以下几个阶段开展。

2020年1-12月，依托“重点行业场地土壤污染物的人体暴露组学与生物标志物”重点专项项目，收集整理了国内外场地调查、土壤污染物风险评估以及人体暴露组解析技术研究成果及规范标准等资料，研究了人体暴露组解析和生物标志物筛选的技术方法。在此基础上，标准编制组对5个省4类重点行业共6个场地进行了现场调研和考察，并开展了环境和人群资料收集、样品监测工作，

在多个重点行业污染场地系统实践了人群暴露组解析工作的全流程技术方案，为本标准的编制奠定了基础。

2021年1-3月，成立标准编制组，启动标准制定。编制组对实践成果和已收集相关资料进行筛选以及整理，针对《场地土壤污染物人体暴露组解析技术规范》（以下简称技术规范）系列标准总体定位、适用范围、编制思路、重点行业特点、场地污染暴露组解析和暴露标志物筛选的技术需求等问题召开研讨会，明确了拟开展的主要工作和需要解决的重大问题。

2021年4-6月，经多次内部研讨会和专家咨询会，编制组根据专家意见对各关键点和难点进行修改和完善，形成《技术规范》（草案）及其编制说明，并向中国环境科学学会提交立项申请书。

2021年6月30日，中国环境科学学会组织召开《场地土壤污染物人体暴露组解析技术规范 总纲》等4项团体标准的立项论证会，经专家组质询论证，一致同意通过立项评审。

2021年7月-2022年10月，标准编制组根据立项论证会意见开展《技术规范》编制修改工作，经多次召开内部研讨会和专家咨询会，讨论、修改和完善标准的文本和编制说明，形成《技术规范》（征求意见稿）及其编制说明，并提交中国环境科学学会。

2 制定标准的必要性与可行性

2.1 必要性

我国工业化进程飞速发展，随着工业化进程的加快，工业企业在生产、关停、搬迁过程中形成了大量的污染场地或潜在污染场地，呈现数目多、污染程度高、污染范围大，并且各项指标显著上升的态势。我国在2005年至2013年开展的首次全国土壤污染状况调查结果显示，全国土壤总的超标率高达16.1%，部分地区土壤污染较重，工矿业废弃地土壤环境问题尤其突出。在调查的690家重污染企业用地及周边的5846个土壤点位中，超标点位占36.3%；在调查的81块工业废弃地的775个土壤点位中，超标点位占34.9%。由于在产或搬迁企业造成的污染场地而引起周边人群身体健康受到威胁的事例也时有发生。如何合理评价污染场地人群的暴露风险，对于重点行业的可持续发展、制定行业污染管控政策、合理评价污染地块和功能定位、保障人群健康等具有重要的社会、

经济和生态效益。《中华人民共和国土壤污染防治法》、《土壤污染防治行动计划》等国家政策法规均提出开展土壤环境状况调查和风险评估、加强土壤污染与人体健康关系研究、制定土壤污染风险管控标准、建设土壤污染防治标准体系的要求。“十四五”生态环境监测规划也提出探索生态环境健康风险监测评估的要求。目前我国相关场地土壤污染物风险评估技术文件，如《建设用地土壤污染风险评估技术导则》（HJ25.3-2019）、《建设用地土壤污染状况调查与风险评估技术导则》（DB11/T 656-2019）、《污染场地挥发性有机物调查与风险评估》（DB11/T 1278-2015）等主要针对环境中特定目标污染物的调查与监测，以及基于风险评估模型的暴露风险评估等进行了规范和要求。但由于污染场地土壤污染物的含量与人体暴露风险并不存在一一对应的关系，且具有污染物种类繁多、暴露途径多样、代谢转化机制不清等特点，从场地环境污染物含量即环境外暴露水平调查出发的暴露风险评估对保障人体健康的意义相对有限。明确污染场地暴露人群的特异性暴露生物标志物，是开展场地人群暴露与健康监测的前提，也是获得可靠结果的保障。如何突破现有健康风险评估模型，结合不同污染场地的特点，采用新技术解决我国重点行业场地土壤污染的人群暴露风险问题，筛选合适的暴露生物标志物用于监测和评价污染场地对人体的影响和危害具有重要意义。

暴露组作为对基因组的环境因素的补充，于 2005 年首次提出，指人体整个生命周期外暴露（环境暴露）和内暴露的总和，暴露组学则是研究暴露组以及暴露组对人类疾病过程影响的学科。有别于传统的风险评估仅从环境因素的角度进行污染场地的评估分析、暴露情景和暴露途径单一等不足，暴露组学可通过获得污染场地人群内、外暴露，以及健康效应指标变化的全景图谱，建立污染场地土壤污染物-人体暴露-健康效应之间的关联，揭示重点行业土壤污染物复合暴露对人群暴露水平和机体代谢等健康效应的影响，获得场地特异性暴露生物标志物。暴露组学在污染场地中的应用为污染场地土壤污染物的暴露风险评估提供了新方向。然而当前污染场地人群暴露组研究相对较少，且涉及研究环节多、相关技术方法复杂等问题，容易导致结果偏差或缺乏系统性和可比性，难以真正发挥其作用。本标准将填补我国在场地土壤污染物人体暴露组学工具包方面的技术空白，鼓励和引导相关科研人员使用统一规范的方法开展调查，

推动我国场地污染物人体暴露风险评估技术的发展，为场地土壤污染防治政策和措施的制定提供基础数据和理论支撑。

2.2 可行性

目前虽缺乏人体暴露组学相关技术规范，但暴露组学研究的理论和方法在国际上和我国国内均已具有良好基础，奠定了编制本标准的可行性。色谱-高分辨质谱等仪器在各大高校、科研院所和监测评估机构已较好普及，环境和人体样品中污染物的可疑目标筛选及非目标筛查中样品的前处理方法、仪器分析技术已相对成熟，NIST 质谱数据库及 XCMS 等质谱分析软件为质谱数据处理、差异峰识别和鉴定提供了基础工具。近年来，随着暴露组学的兴起和相关研究的不断涌现，国际相关组织和项目分别针对环境样品、人体样品中污染物和代谢组学的非目标筛查方法进行了系统评价与规范化指导，如欧洲的新兴污染物监测和生物监测实验室网络（Network of reference laboratories, research centres and related organisations for monitoring of emerging environmental substances, NORMAN）、欧洲人体生物监测倡议项目（The Human Biomonitoring for Europe initiative, HBM4EU）、美国环境保护署（USEPA）主持的非目标分析协作试验项目（EPA's Non-Targeted Analysis Collaborative Trial, ENTACT）等。这些研究客观全面的评价了非目标筛查技术的准确性、精密度和可重复性，促进了质谱数据库的完善，提出了分析工作的流程步骤、质量控制和质量评价体系，并开展了大规模应用实践，为非目标筛查和暴露组学的研究夯实了理论方法基础。在暴露生物标志物筛选方面，流行病学研究中回归分析等成熟的统计模型可有效识别环境暴露因子与健康效应因子之间的关联，对于污染场地多种特征污染物复合暴露的特点，加权分位数和回归、贝叶斯核机回归、弹性网络回归等模型也可很好识别多重污染对健康结果的联合效应。

另一方面，标准编制单位承担了国家重点研发计划“场地土壤污染成因与治理技术”重点专项项目“重点行业场地土壤污染物的人体暴露组学与生物标志物”项目，在该项目的资助下开展了我国重点行业污染场地人体暴露组解析和暴露生物标志物筛选工作。研究中提出了场地土壤污染物人体暴露组解析的工作程序、工作内容和工作方法，构建了基于场地污染特征和非目标筛查技术的环境和生物样品采集、运输、保存、分析、数据处理、生物标志物筛选的方

法体系，并在山西焦化场地、山东和广东石化场地、湖北有色金属冶炼场地、浙江和广东电子垃圾拆解场地等 4 类重点行业污染场地的调查工作中进行了应用。进一步对调查方法的准确性、精确性和灵敏性进行了验证，并对方法体系中存在的问题进行修改完善。为本标准的制定提供了实践基础。

3 国内外研究进展

3.1 暴露组学研究进展

3.1.1 暴露组学的定义

暴露组学研究涵盖了内暴露（如新陈代谢产物、肠道微生物、炎症）、特异性外暴露（如环境污染物、饮食、职业暴露）、一般性外暴露（如社会经济状况、教育、气候）三方面，具有能够阐明暴露人群在生命过程中接触环境化学物质、探索暴露过程对疾病产生与发展的贡献等特点，因此在深入揭示污染暴露的健康风险、筛选生物标志物方面具有无可比拟的优势。

暴露组学自 2005 年首次提出以来即引起研究者的广泛关注，相关报道日益增多。伦敦大学 Toby Athersuch 博士应用暴露组学技术，从整体上概述了影响生命系统的生化事件。康涅狄格大学 David Grant 博士在演讲中分享了代谢物的高通量结构识别和分析：通过监测污染物及其代谢产物的含量并明确其暴露途径，能够更为全面的了解基因结构，以及营养物质和药物等暴露因素对人体健康影响的方式和途径，同时也有助于识别人类在不同环境下的暴露特征。

3.1.2 暴露组学的特征

暴露组的动态性质是其表征中最具挑战性的特征之一，任何给定的时间点，个人都会有特定的暴露概况。因此要充分表征个体的暴露组学，要么需要跨越一生的顺序测量，要么需要少量的测量来捕捉一系列长时间的暴露。在研究中往往可以将暴露剖面的无数横断面测量构建为连续的实时监测，累积起来将代表个体的暴露组。在这个过程中暴露组既有逐渐变化的时期，也有特定组成部分发生巨大变化的时期（如职业变化或医疗过程），以及整体暴露概况在短时间内发生根本变化的时期（如出生或迁移）。

3.1.3 暴露组学的优势

（1）可提供更丰富的信息。以往关于环境对健康影响的流行病学研究主要集中在硬性结果上（如死亡率、疾病恶化和住院治疗等）。但是除了硬性结果外，

还有许多结果（如临床和亚临床症状）可能与环境暴露有关。通过应用暴露组学技术，可以提高对暴露和反应的内部生物标志物的理解。

（2）可确定因果关系。虽然当前有着大量关于环境污染物的研究，但由于混杂、反向因果关系和其他不确定因素，因果关系评估往往非常困难。国际癌症研究机构工作组将环境空气污染列为人类致癌物（IARC, 2016），但对于其他暴露，如许多杀虫剂，流行病学研究在数量和质量上很有限。生物标志物和暴露组学技术将允许其进行更准确的归因。

（3）可反映社会与生物的相互作用。社会关系（尤其是社会经济差异）会显著的影响健康并在个体中留下基本生物学印记。社会经济因素是暴露组研究至关重要的影响要素，直接决定了个体暴露分布与体质易感性。而暴露组学可以通过识别分子变化，明确介于社会决定因素和疾病状态之间关系，填补了社会关系对健康影响研究手段的方法空白。

（4）可反映复杂的、多重的和同时发生的暴露。流行病学主要针对的是单一暴露（将其他暴露作为混杂物或效应修饰物），或复杂的混合物（如环境空气污染、食物、吸烟）。后者往往没有充分分解污染物气溶胶或饮食的成分复杂性，仅仅是反映多种暴露或成分的总体影响的情况。而通过暴露组学技术，可有效地反映复杂、多重及同时发生的暴露。

3.1.4 暴露组的测量

暴露组学需要使用一系列不同的工具来捕获暴露组学三个领域的暴露情况。以往的“一次一种”的检测方法（即使用不同的方法来测量每个单独的暴露）难以满足暴露组学的研究需求。测量暴露组时，往往需要在一次测量中整合广泛的个体暴露。因此暴露组学分析依赖于一般组学与靶向组学等测量手段。

（1）一般组学

紧随人类基因组测序之后，以细胞、组织或体液中的 RNA 表达（转录组学）、蛋白质（蛋白质组学）和代谢物（代谢组学）为代表的谱状表征工具相继发展。这些组学方法的应用范围和分辨率正在快速完善，在理解癌症等疾病发展机制等方面具有巨大价值。类似于 GWAS（全基因组关联分析），每种组学方法都提供了数千个单独组成部分的信息，原则上都可以与疾病终点相关联。通过转录组、蛋白质组、代谢组或表观基因组对病理状况进行表征，有望为疾病

诊断和治疗改善奠定基础。通过组学技术揭示与暴露之间是否存在定性和定量关系，有望将疾病干预手段从临床提前至暴露、流行病学或者公共卫生阶段。例如研究表明中国工人职业暴露于相对低水平的苯 (<1 ppm) 被证明会导致转录组学、蛋白质组学和表观基因组学检测到的变化；吸烟会影响正常支气管上皮细胞中 microRNA 的表达模式；砷暴露会导致确定的表观遗传变化。

(2) 靶向组学

一般组学方法是全局类型的组学方法，可同时捕获数千个单独的暴露组分子，而另一种检测类型仅针对相关分子的特定子集，这种方法称为靶向组学。靶向组学可以为暴露组的整体表征提供更多有价值的成分。例如可使用质谱技术来检查亲电试剂与 DNA、血清白蛋白和谷胱甘肽等靶标的化学结合。另外一种方法主要关注生物过程分组分子，主要包括脂质代谢（脂质组学）和免疫系统（免疫组学）等。其中一项研究测量了 266 种与 2 型糖尿病相关的不同已知环境因素，报告了环境暴露与疾病之间的新关联，其效应大小与 GWAS 中的结果相似。

3.1.5 应用研究进展

欧洲和北美许多有影响力的监管机构一直在扩展其计算和高通量方法，以解决人类接触的化学品数量不断增加的问题。美国和欧洲均已建立研究中心开展暴露组学方面的研究项目，例如美国国立环境健康科学研究所（NIEHS）成立了暴露生物学和暴露组中心并启动儿童健康暴露分析项目(CHEAR)；欧盟则开展了生命早期暴露组项目（HELIX）、基于大规模人群调查的健康与全环境关联研究（HEALS）以及暴露组学项目（EXPOsOMICS）。此外，国际癌症研究机构（IARC）通过搜集已有的文献报道数据，构建了第一个环境暴露相关的生物标志物数据库（Exposome-Explorer）。这些监测网络在科学家、监管机构和从业者之间架起了桥梁，正在成为越来越有价值的知识交流渠道。

当前暴露组学方面的研究主要集中在与疾病相关的暴露组研究，旨在寻找与疾病相关的生物标志物，为致病机理以及疾病预防和诊断提供科学依据。如 Künzli 等探究了美国成人 PM_{2.5} 暴露与动脉粥样硬化的内在关联，研究结果表明 PM_{2.5} 浓度每升高 10 μg/m³，劲动脉内膜中层厚度（CIMT）增加 5.9%（95% CI: 1-11%）。有研究还指出 PM_{2.5} 高污染期间，儿童哮喘患病率增加，同时证明了

PM_{2.5} 增加 10 μg/m³，儿童呼吸道症状（支气管高反应性和 Ig E）增加多达 139% 等。

3.1.6 场地暴露组学生物标志物研究进展

与上述国家和机构相比，我国虽然起步略晚，但近年来在人体暴露组学和生物标志物方面的研究也快速发展，主要集中在实验室动物模拟暴露、污染物与敏感人群健康关联等方面。而国家层面的大规模暴露组学研究及相应数据库系统构建还相对缺乏。

挥发性有机污染物（VOCs）、多环芳烃（PAHs）等半挥发性有机污染物（SVOCs）以及重金属等污染物在石化、焦化和有色金属冶炼等重点行业污染场地中广泛分布，近年来研究者针对这些污染物在不同场地的暴露情况，包括组成、含量、来源、时间/空间分布、健康风险等，已开展广泛研究。但多数为基于环境外暴露水平的人群健康风险评估，未考虑生物有效性的影响及“外/内暴露→生物标志物→关键信号→健康风险”之间的关联，且涉及的污染物种类及暴露途径往往比较单一，可能会严重干扰暴露风险评估的准确性。另一方面，即便是内暴露研究，以往也多侧重于传统生物监测，主要分析目标污染物及其代谢物在尿液或血液等生物材料中的浓度水平。有色金属冶炼、石油化工和焦化等典型重点行业场地污染物种类繁多，外源化合物进入人体后还可生成小分子的代谢产物或大分子的加合物。采用传统基于目标物的生物监测方法效率低且不能反映人体暴露特征全貌，更无法进一步解析多种暴露标志物之间的复杂关联。

当前暴露组学研究及其技术已日趋成熟，其中最主要的技术之一是基于质谱技术的拟/非目标全息生物监测技术，可通过拟/非目标设计，利用高分辨、高通量以及痕量组分分析的质谱技术对人体样本中所有可能的暴露污染物及其代谢产物进行分析和比对鉴定，从而全面高效表征污染物的人体暴露特征。与基于质谱分析的食品、环境样品拟/非目标分析以及代谢组学分析技术相比，生物样品的拟/非目标监测发展较晚，存在样本量小、潜在目标物浓度低、代谢产物多样、化合物间浓度差异大、内源性代谢物干扰强、个体间变异度高、规范化和协作性程度低、质谱数据库覆盖不全等难点。据此，科学界和国际科研机构针对性的开展了大量研究，对人体样品中污染物的拟/非目标筛查方法进行了系

统评价、规范化指导和大量实践案例，促进了方法的标准化和污染物及其代谢转化产物谱数据库的不断发展完善，为本标准相关内容的制定提供了良好基础。例如，美国环境保护署（USEPA）主持的开始于 2015 年末的非目标分析协作试验项目（EPA's Non-Targeted Analysis Collaborative Trial, ENTACT），基于 EPA 毒性预测（ToxCast）化学物质库，在近 30 个学术、政府和行业机构中进行了环境和生物样品的非目标筛查分析方法对比实验，系统评价了非目标筛查分析方法的有效性、可靠性和可重复性，筛选最优方法并提出改进方案。同时，该项目 HIA 对 ToxCast 化学物质库中约 4700 种物质进行单独分析，获得其在不同仪器中的质谱图，对数据库进行完善。2017 年启动的欧洲人体生物监测倡议项目（The Human Biomonitoring for Europe initiative, HBM4EU）对传统人体生物监测材料（血液、尿液）和替代性生物监测材料（如头发、母乳、胎盘等）开展研究，开发规范化的可疑/非目标筛查方法，并大规模应用于支撑暴露风险评估的人体生物监测、环境健康研究和生物标志物筛选中。欧洲的新兴污染物监测和生物监测实验室网络（Network of reference laboratories, research centres and related organisations for monitoring of emerging environmental substances, NORMAN）也在欧洲范围内组织了多次不同国家研究团队的沟通与合作，对非目标筛查技术和数据分析工具进行评价与规范。

针对重点行业场地污染物的暴露组学研究则国内国外均较少，仅有部分关于行业暴露工人的特异性标志物筛选及健康效应研究。如 Wang 等研究了 566 名志愿者中吸烟组（114 人）和对照组（214 人）之间因多环芳烃（PAHs）暴露引起的代谢紊乱；结果显示，与对照组相比，吸烟组体内氨基酸、嘌呤、脂质和葡萄糖醛酸等相关内源性小分子代谢产物均发生了显著改变，其中 1-羟基菲（1-PHE）和十二碳烯基肉碱分别可以作为 PAH 暴露及其代谢结果可靠的生物标志物。Chen 等人以台湾省最大的石化厂周边儿童和青少年等敏感人群为研究对象，分析了尿液中 8 种致癌物质（As、Cd、Cr、Ni、Pb、V 和 Hg 等重金属和 PAHs）和早期健康影响的氧化应激生物标志物（8-OHdG、HNE-MA、8-isoPF2 α 和 8-NO₂Gua），以及血清中的酰基肉碱；结果显示，致癌物质的暴露会对儿童和青少年体内嘌呤的代谢机制产生影响。

3.2 国外相关法规标准研究情况

本系列标准研究的重点行业污染场地土壤污染物的人体暴露组解析技术相关国际标准或国外先进标准较少，尚未有关于拟靶标筛查技术、暴露组解析、暴露标志物筛选等方面的标准；已有相关标准主要为针对污染场地调查、生物监测、人体健康风险评估等方面的指南和标准。

鉴于污染场地对周边生态系统和人群健康的严重影响，国际上对污染场地调查和风险评估极重视且研究工作开展较早，其工作程序已较为系统化和标准化。1980年美国国会发布了超级基金法，并基于此法制定了大量指导污染场地调查的技术指南。随后，英国、日本、加拿大、德国等多个国家也陆续出台了相关的技术指南和标准，如日本的《土壤与地下水污染调查与应对指南》、英国的《污染土地管理模板程序》、加拿大的《国家污染场地修复方案》等，针对场地特征污染物，通过场地调查、风险评估、危害等级评价等程序开展调查，作为管理和整治依据，并基于以上评价体系制定了适宜各国国情的土壤指导限值或筛选值。国外相关场地调查标准发布年份均较早、且多年来未加以更新，因此本标准并未采用；相关内容主要参考我国场地调查系列标准进行编制。在生物监测方面，国际标准化组织及美国、加拿大等国家均针对人体样品的采集程序和技术，以及部分目标污染物的定量检测方法进行了要求和规范，并在此基础上开展了部分国家或地区层面的大规模生物监测调查，以评价重点化学物质人体暴露浓度的时间和空间变化情况，例如加拿大人群健康程度调查(CHMS)等，但并无针对重点行业的生物监测相关标准。在污染场地人体健康风险评估方面，目前国际标准中仍然主要采用美国国家科学院(NAS)提出的健康风险评估的“四步法”，即危害识别、剂量-效应关系评估、暴露评估及风险表征等，从境外暴露水平出发进行健康风险评估；与本标准从内暴露出发，筛选暴露标志物用以表征暴露风险存在差异，因此未采用。

3.3 国内相关法规标准研究情况

(1) 法律法规及政策文件

近年来，为保障人体健康、加强土壤污染监督管理，污染场地土壤风险管控的相关政策文件和标准接连发布，已初步建立起污染场地风险管控技术框架。2016年国务院印发的《土壤污染防治行动计划》要求对有色金属冶炼、石油加

工、化工、焦化、电镀、制革等行业企业用地开展土壤环境状况调查评估、加强开展“土壤污染与农产品质量、人体健康关系等方面基础研究”、“推进土壤污染诊断、风险管控、治理与修复等共性关键技术研究”等要求。同年，“十三五”生态环境保护规划中也对土壤环境质量进行了约束，要求2020年污染地块安全利用率需达到90%以上。2017年国家环境保护部发布《污染地块土壤环境管理办法(试行)》规定要建立区域疑似污染地块名单，并对具有高风险的污染地块优先开展环境保护监督管理，污染地块土地应当根据风险评估结果，并结合污染地块相关开发利用计划，有针对性地实施风险管控。此外，2018年在中共中央国务院关于全面加强生态环境保护坚决打好污染防治攻坚战的意见中也再次强调了“强化土壤污染管控和修复”、“加快制定和修改土壤污染防治的法律法规”等方针。这些政策均要求推进土壤污染防治工作的开展，加强土壤污染防治以保障和提高人群的健康状况，并着重强调了对有色金属工业、石油工业和炼焦化学工业等重点行业的关注，与本标准的编制目标和内容相协调。

根据“土十条”关于“推进土壤污染防治立法、建立健全法规标准体系”的相关要求，2016年以来，我国先后印发了《污染地块土壤环境管理办法》《工矿用地土壤环境管理办法》《农用地土壤环境管理办法》，并试行《土壤环境质量建设用土壤污染风险管控标准》与《土壤环境质量农业用地土壤污染风险管控标准》，进一步加强了政府对企业土壤污染的管控力度。同时，还发布了《农用地土壤环境质量类别划分技术指南》《建设用土壤环境调查评估技术指南》《环境影响评价技术导则土壤环境(试行)》《污染地块风险管控与土壤修复效果评估技术导则》《地下储罐等设施防止泄露、渗透技术指南》、《工矿用地土壤污染隐患排查技术指南》等文件，为相关行业土壤污染防治提出了技术指导。

2019年伊始，我国土壤修复行业迎来了里程碑事件，即《中华人民共和国土壤污染防治法》(以下简称“《土壤污染防治法》”)正式颁布实施。《土壤污染防治法》突出“以提高环境质量为核心，实行最严格的环境保护制度”，将立法作为解决土壤污染问题的根本性措施，立足于我国发展阶段的实际，着眼于国家长远利益，为进一步完善生态环境保护法律、标准体系，推进土壤污染防治工作规范有序发展提供了强有力的制度保障。

《土壤污染防治法》实施以来，土壤污染防治管理工作取得了长足发展，

2019年以来相继出台多项配套政策、标准、规范。其中，《土壤污染防治专项资金管理办法》《土壤污染防治基金管理办法》等文件的出台，为土壤污染防治提供了资金支持，将有利于推动相关工作尽快开展。本系列标准编制是贯彻落实《土壤污染防治法》的重要体现。

（2）标准指南

我国已发布的场地调查、土壤污染防治、环境健康调查、人体生物监测等方面技术规范，均为本标准的编制提供参考，也与本标准相协调。

在场地调查与土壤污染防治方面，生态环境部发布及修订的《建设用地土壤污染状况调查技术导则》（HJ 25.1-2019）、《建设用地土壤污染风险管控和修复监测技术导则》（HJ 25.2-2019）、《建设用地土壤污染风险评估技术导则》（HJ 25.3-2019）等系列标准对场地污染调查、监测、风险评估的程序、工作内容和技術等方面进行了规范。部分地方政府也在此基础上制定发布了适合当地特色的地方标准，进一步指导场地土壤污染风险调查和防控，如北京市发布的《污染场地挥发性有机物调查与风险评估技术导则》（DB11/T 1278-2015）和《建设用地土壤污染状况调查与风险评估技术导则》（DB11/T 656-2019）、重庆市发布的《场地环境调查与风险评估技术导则》（DB50/T 725-2016）、江西省发布的《污染地块风险管控与土壤修复效果评估技术指南》（DB36/T 1176-2019）等。2022年7月，生态环境部发布的《建设用地土壤污染状况初步调查监督检查工作指南（试行）》和《建设用地土壤污染状况调查质量控制技术规定（试行）》，进一步对场地土壤调查工作的监督管理和质量控制进行了要求。同时，国家标准《土壤质量 城市及工业场地土壤污染调查方法指南》（GB/T 36200-2018）的发布，首次规定了针对城市和工业场地开展土地调查的不同阶段和步骤的详尽方案。《土壤环境质量 建设用地土壤污染风险管控标准（试行）》（GB 36600-2018）则对不同类型建设用地的土壤污染风险筛选值和管控值、现行的土壤污染物分析方法制定了要求。

从保护公众健康出发，生态环境部发布的《人体健康土壤环境基准制定技术指南》（征求意见稿）规范了人体健康土壤环境基准制定的步骤、暴露评估的方法以及不同场地不同暴露途径致癌与非致癌的土壤暴露量计算公式。这些规范为本标准中污染场地调查、点位布设、环境样品的采集和监测、暴露评估等

方面内容提供参考。近年来，在环境健康方面，生态环境部也陆续发布了《环境与健康现场调查技术规范 横断面调查》（HJ 839-2017）、《环境污染物人群暴露评估技术指南》（HJ 875-2017）、《生态环境健康风险评估技术指南 总纲》（HJ 1111-2020）、《环境与健康横断面调查数据统计分析技术指南》（环保部公告2017年第63号）等文件，指导我国环境健康工作的开展。部分地方政府也在此基础上发布了适应地方特点的调查文件，如江苏省发布的《环境与健康监测技术规范》（DB32/T 4260-2022），规范了在选定范围内对环境有害因素及其健康结局开展的环境健康监测活动的工作原则、工作程序、监测对象和内容等方面。这些规范为确定环境健康风险监测的监测范围、内容、点位、频次等提供了直接的技术基础。

对于人体生物监测，国家和卫健委也陆续发布了生物样品采集处理和质量保证等方面的技术规范。如1995年发布的国家标准《生物监测质量保证规范》（GB/T 16126-1995），规定了在开展生物监测时，生物样品的选定、采集、数据获取、统计处理等过程所需的质量保证内容。《人类血液样本采集与处理》（GB/T 38576-2020）和《人类尿液样本采集与处理》（GB/T 38735-2020），对血液和尿液样本采集与处理原则与工作过程进行了要求。卫健委发布的《尿中多种金属同时测定 电感耦合等离子体质谱法》（GBZ/T 308-2018）、《尿中丙酮的测定 顶空-气相色谱法》（GBZ/T 309—2018）、《尿中二氯甲烷测定标准 气相色谱法》（GBZ/T 326-2022）等进一步规范了人体样本中部分污染物的测定方法。这些规范中关于环境调查与监测、人群健康调查、污染物人体体内负荷水平调查等内容为本标准相关内容提供技术支撑，并与污染物非目标筛查和暴露标志物筛选等内容相衔接。

4 编制原则

本标准的编制主要遵循以下原则：

（1）严格遵守我国相关法律、法规和标准。以《中华人民共和国环境保护法》《中华人民共和国土壤污染防治法》和《土壤污染防治行动计划》，以及我国现行的环境保护法律法规、政策、条例、标准的相关规定和要求为主要依据。对国内外场地调查及人体暴露组学研究现状、法律法规、工作机制、技术现状和发展趋势等进行调研和对比分析，以便在标准制定过程中可以充分借鉴国内

外的最新成果，使我国的场地土壤污染物人体暴露组解析和暴露生物标志物筛选工作能够适应我国政策法规的相关要求和发展趋势，实现与国际的接轨。

(2) 充分借鉴国内外相关标准和技术指南的经验。如日本《土壤与地下水污染调查与应对指南》、加拿大的《国家污染场地修复方案》和国内环境保护、国家卫生健康等各部分现有场地调查和生物监测等相关技术标准和导则，结合场地调查、人群调查和暴露组解析的最新研究进展和工作程序，建立一套完整的适合我国特色，具有普适性、合理性、可行性的土壤污染物人体暴露组解析技术。

(3) 围绕环境管理转型，同时符合我国环境特征和管理需要，服务污染场地土壤环境质量改善和人体暴露风险评价的总体目标，明确解析工作程序，提高工作效率，保证工作质量，促进我国场地土壤污染物人体暴露风险评价的科学性、准确性和实用性，为环境管理服务。

综上，在充分吸收国内外场地调查和人体暴露组解析技术最新研究进展的基础上，借鉴吸收现有规范、指南和技术方法，同时结合我国重点行业场地土壤污染物特征和环境管理需求，形成了本标准。

5 主要技术内容说明

5.1 层次框架

5.1.1 标准体系

通过对国内外污染物调查和人群暴露风险评估技术体系的分析 and 总结，为更好的指导实践，将场地土壤污染物人体暴露组解析技术规范体系划分为总纲和应用领域类技术规范。

总纲介绍了重点行业污染场地土壤污染物人体暴露组学解析技术的定义、原则和工作程序，初步调查、场地调查、人群调查和暴露生物标志物筛选的基本内容和关键技术，以及质量控制要求，为开展重点行业污染场地的暴露组解析工作提供普遍性的指导和规范。

应用领域类技术规范在总纲的指导下，针对特定的重点行业而制定的有针对性的技术方法。分别针对各行业的工业特点、土壤污染物特征、人群暴露情景和暴露途径特点、健康危害特性等差异，对调查内容和技术进行细化，为暴露组解析技术在三个场地的应用提供详细指引。

5.1.2 正文框架

本标准正文由 10 部分组成，包括：

- (1) 范围；
- (2) 规范性引用文件；
- (3) 术语和定义；
- (4) 总则；
- (5) 初步调查；
- (6) 场地调查；
- (7) 人群调查；
- (8) 暴露生物标志物的确定；
- (9) 质量控制；
- (10) 报告编制。

5.2 技术要点

5.2.1 范围

本标准规定了场地土壤污染物人体暴露组解析技术的工作原则、工作程序、内容方法和质量评价等技术要求，适用于有色金属冶炼、石油加工、化工、焦化等土壤环境污染重点监管行业工业企业在生产、关停、搬迁过程中形成的污染场地，目的为采用暴露组学技术建立环境污染、人体暴露、健康效应三者之间的关联，获得可表征人群暴露风险的场地特异性暴露生物标志物。

考虑到对涉及放射性物质、致病性生物土壤污染等非化学污染物的污染场地开展环境监测、暴露评估和人群调查存在一定难度，且基本工作方法仅涉及化学污染物的工业污染场地存在差异，因此在范围中明确提出本标准适用的污染场地土壤污染物仅限化学污染物，而不适用于放射性物质、致病性生物等土壤污染物。

5.2.2 规范性引用文献

标准主要参照了能够用于场地调查、健康风险评估、环境和人体样品采集与监测的相关规范及公告，包括 GB 3095、GB 36600、GB/T 16126、GBZ 159、HJ 25.1、HJ 25.2、HJ 25.3、HJ/T 91.2、HJ 164、HJ/T 167、HJ 194、HJ 605、HJ 834、HJ 839、HJ 1111、NY/T 398、DB 11/T 1278、DB 50/T 725、卫医政发

【2009】77号、卫医发【2006】73号。

5.2.3 术语和定义

HJ 25.3、HJ 682 和 DB 50/T 725 界定的场地调查、风险评估等相关术语和定义适用于本标准。此外本标准还规定了 6 个术语和定义，主要来源如下：

(1) 暴露组解析：参考美国疾病控制与预防中心提出的暴露组定义 “The exposome can be defined as the measure of all the exposures of an individual in a lifetime and how those exposures relate to health” (<https://www.cdc.gov/niosh/topics/exposome/>)，并结合本标准的工作过程和技术内容自定义。

(2) 内源性代谢物：参考 Carmen Bedia. Metabolomics in environmental toxicology: Applications and challenges[J]. Trends in Environmental Analytical Chemistry, 2022, 34, e00161 中的解释，结合规范中内源性代谢物的内涵，进行定义。

(3) 暴露生物标志物：参照《环境科学大辞典：修订版》（周生贤主编，中国环境科学出版社，p11）中暴露生物标志物的定义，结合规范中暴露生物标志物的内涵进行缩减。

(4) 目标筛查、可疑目标筛查和可疑目标筛查：参考《环境暴露与健康效应》（江桂斌等著，科学出版社，p3、p5、p6），以及 Pourchet et al., Suspect and non-targeted screening of chemicals of emerging concern for human biomonitoring, environmental health studies and support to risk assessment: From promises to challenges and harmonisation issues[J]. Environment International, 2020, 139, 105545 中关于目标筛查的解释 “targets are compounds of known chemical name and structure, for which quantitative targeted methods are available, alongside some exposure and risk assessment data”，关于可疑目标筛查的解释 “suspects are known compounds (“known unknowns”) in terms of chemical name and structure which are expected (“suspected”) to be present in a sample”，关于非目标筛查的解释 “non-targeted screening aims to detect “unknown unknowns” compounds without any a priori criteria, to identify potential new markers of exposure and toxicological concern”，并结合规范中目标筛查分析的技术内涵，进行自定义。

5.2.4 总则

总则明确了场地土壤污染物人体暴露组解析的基本原则和工作程序。

5.2.4.1 基本原则

基于现有数据资料和科学手段，根据环境管理需求、解析目的、场地土壤污染物特征、特征污染物暴露途径、生物有效性、敏感人群暴露特点等，科学地制定和实施工作方案，选择解析技术方法，开展评估分析，确保解析过程的系统性和全面性，获得解析结果的代表性，以及调查工作的可行性。

5.2.4.2 解析程序

本标准在分析国内外场地调查、生物监测和暴露风险评价相关规范指南、暴露组最新研究技术和方法的基础上，特别考虑场地土壤污染物的复合污染状况，提出了符合我国国情的人体暴露组解析程序，包括初步调查、场地调查、人群调查、暴露生物标志物的确定、解析报告编制等五个步骤，并对全过程进行质量控制。

5.2.5 初步调查

初步调查是污染识别阶段，调查的内容包括资料收集、现场踏勘和人员访谈，并根据获得的资料信息，识别场地被污染的可能性和疑似污染区域，初步判断潜在土壤污染物类型、污染状况、污染来源，提出目标暴露人群，判断是否需要开展场地调查。资料收集、现场踏勘和人员访谈的需收集的资料信息和开展方式主要参照《建设用地土壤污染状况调查技术导则》（HJ 25.1）中“5 土壤污染状况调查”要求，以及《环境与健康现场调查技术规范 横断面调查》（HJ 839-2017）中“6 预调查”要求，并结合本标准实际应用需求进行编制。其中，对场地调查中环境和工业污染部分进行了精简，而增加了暴露人群调查相关内容，为后续调查区域选择、人群调查的开展提供基础。

对收集的资料进行综合分析，仅当场地土壤受到污染且该污染对人体健康造成风险，才需要开展场地调查和人体暴露组解析工作。启动后续调查应同时满足以下 3 个条件：（1）场地当前或历史上存在工业污染来源，是场地土壤存在工业污染且有必要开展调查研究的先决条件；（2）场地存在土壤污染区域和暴露人群，即根据资料中场地工业污染源排放的污染物类型及环境行为特点、持续时间、强度等信息判断此污染源可导致场地内及周边存在土壤复合污染区域，且此污染可引起人群暴露，同时污染区域内确实存在暴露人群，因此从健

康风险管控的角度出发，有必要在此场地开展暴露组解析工作；（3）掌握资料可初步判断存在的场地土壤污染物类型，是从开展场地调查的可行性出发，可由此判断场地调查的区域、需要采集的环境样品类型和检测的目标物范围；（4）可初步判断该场地污染可能具有潜在健康风险，明确在此场地开展暴露组解析工作对环境风险管理具有价值和意义。

5.2.6 场地调查

场地调查是以环境样品采集分析为主的污染实证阶段，通过确定场地的主要污染物种类、浓度（程度）、空间分布，获得场地土壤污染物清单及清单中污染物的暴露途径和暴露情景，结合人群流行病学及毒理学实验等资料，分析场地土壤污染物造成区域人群健康风险的可能性，判断是否需要开展人群调查并为人群调查中方案的制定提供基础。

（1）调查区域的选择。污染区的确定参考《建设用地土壤污染状况调查技术导则》（HJ 25.1-2019）“6.1.2 判断污染物的可能分布”，要求需根据初步调查结论、土壤污染物的可能分布情况及潜在暴露程度，同时考虑人群分布情况，划定污染区的范围。为在污染区内更好的区分不同暴露程度区域，识别暴露情景，精准筛选暴露生物标志物，污染区应分为场地及以场地为中心的周边潜在污染区域，而场地内部也应根据土地使用情况等进一步划分。参考《建设用地土壤污染风险管控和修复监测技术导则》（HJ 25.2-2019）“6.1.1.3”点位布设中对于地块内土地使用功能不同及污染特征明显差异的地块的划分方式，本标准要求场地内部应根据土地使用情况进一步划分为生产区、办公区、生活区等分区，其中生产区还应根据生产工艺流程及可能存在的污染物分布差异进一步划分为不同的生产单元。对照区的确定参考《环境与健康现场调查技术规范 横断面调查》（HJ 839-2017）“4.6”中对照区的要求规定，主要考虑对照区的可比性和调查样本的可获得性。

（2）采样点布设与环境样品采集。根据本标准的目的，规定采集的环境介质主要为土壤，当经判断环境水体、环境空气、室内积尘、农作物、土壤气等环境介质也可能存在较严重污染且为重要暴露途径时，综合考虑项目目标和经费等因素，可对土壤以外的环境介质开展监测。涉及的土壤、环境水体、环境空气、农作物、土壤气的点位布设、采样方法都有已发布的相应标准，本标准

列出了各环境介质应参考的标准，供参照执行，并可依据研究目的及暴露情景增加相应的监测点位和频率。其中，室内积尘的采集尚无专门的技术规范，参照 HJ 839 中对室内积尘的采样规定执行。

(3) 环境样品分析。应根据初步调查确定的场地潜在污染源及土壤污染物，同时考虑污染物的迁移转化规律，制定样品分析方案。一般工业场地的潜在特征污染物类型包括：重金属、挥发性有机物、半挥发性有机物等。附录 A 列出了常见场地类型及特征污染物，为开展调查提供参考。附录 A 基本沿用了《建设用土壤污染状况调查技术导则》(HJ 25.1-2019)“附录 B 常见地块类型及特征污染物”中列出的常见地块类型（其中其它类不属于一般工业企业，因此未纳入），并参考相关行业技术规范（排污许可证申请与核发技术规范等）、典型企业资料（环境影响评价报告等）和文献研究资料，对 HJ 25.1 附录 B 中列出的各类地块的特征污染物类型进行了细化和补充。

为获得调查区域内土壤污染的总体信息，全面评价场地污染物的种类和特征，可先采用可疑/非目标筛查手段对环境样品中的潜在有机污染物进行分析，并通过比较污染区和对照区样品中特征峰的响应差异，识别差异峰，鉴定获得场地特征污染物及/或其分解产物。《土壤和沉积物 挥发性有机物的测定 吹扫捕集/气相色谱-质谱法》(HJ 605-2011)规定了土壤中挥发性有机物（烃类、苯系物、卤代烃类等）的测定和筛查方法，该标准的前处理和分析方法可涵盖常见场地涉及的挥发性有机污染物类型，因此本标准对其进行了直接引用，其他未涵盖的挥发性有机物类型可通过方法优化和验证而适用。《土壤和沉积物 半挥发性有机物的测定 气相色谱-质谱法》(HJ 834-2017)规定了土壤中半挥发性有机物（氯代烃类、邻苯二甲酸酯类、亚硝胺类、醚类、卤醚类、酮类、苯胺类、吡啶类、喹啉类、硝基芳香烃类、酚类、硝基酚类、有机氯农药类、多环芳烃类等）的筛查鉴定方法，该标准的前处理和分析方法可涵盖常见场地涉及的半挥发性有机污染物类型，因此本标准对其进行了直接引用。但该标准使用的是液相色谱-质谱仪，其结果计算方法与高分辨质谱存在差异，且本研究需要通过污染区和对照区的比较来获得场地特征污染物，因此补充了适用于高分辨质谱的本地化筛查数据库构建、谱图预处理、峰识别和峰鉴定的相关内容，以及污染区显著高于对照区的差异特征峰的获得方法。为了更有针对性的提取场地相

关污染物，推荐构建本地化筛查数据库开展可疑目标筛查。对于有标准品的目标物，可通过多次分析标准溶液获得目标物的保留时间均值、质谱图、碎片离子质荷比及其丰度等信息；对于无标准品的目标物，可通过 METLIN (<https://metlin.scripps.edu/>)、T3DB (<https://hmdb.ca/>)、PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 等开源数据库获取化合物信息。对于筛选获得的差异特征峰的鉴定，根据 Schymanski et al., Identifying Small Molecules via High Resolution Mass Spectrometry: Communicating Confidence[J], Environ. Sci. Technol. 2014, 48, 2097–2098. 对高分辨质谱分析中化合物鉴定可信度等级划分的建议，将其划分为 L1-5 共 5 个可信度等级，在表 1 中列出，以便对筛选鉴定的结果进行评价。

对筛查获得的场地特征污染物及/或其分解产物、其它根据已有资料判断需重点关注的目标污染物，以及金属元素等，可采用定量分析方法获得其定量浓度。并根据数据特征，采用 T 检验/非参数检验比较污染区和对照区浓度，对于污染区显著高于对照区的化合物 ($p < 0.05$)，经判断其合理性后作为场地特征污染物保留。目标物分析可作为可疑目标/非目标筛查的验证与补充，分析方法宜优先采用国家、地方和行业相关标准，本标准也列出了不同环境介质可参考的常见监测标准，其他未列到的标准可根据待分析目标物自行查找。根据调查的场地及场地内污染源的不同，潜在污染物种类繁多，部分目标物可能不具备已形成标准的方法，或者已形成标准的方法存在灵敏度较低等问题，因此，为更好的开展工作，对于此类标准中未涵盖的目标物，分析方法的选择可结合目标物特征及研究现状，对现有标准方法进行扩充和修改，或采用经验证的实验室自建方法。最后应综合定性和定量分析结果，提出场地关注污染物清单，以及污染物分布特征等信息，为人群调查的开展提供依据。

(4) 健康风险评估。针对场地关注污染物，开展人群暴露情景识别，针对不同暴露情景，确定污染物的暴露途径，计算暴露量。结合污染物毒性效应分析，获取毒性参数，计算健康风险并进行不确定性分析。《建设用地土壤污染风险评估技术导则》(HJ 25.3-2019)、《生态环境健康风险评估技术指南 总纲》(HJ 1111-2020) 和《环境污染物人群暴露评估技术指南》(HJ 875-2017) 等相关标准已对污染物风险评估进行了规范，本标准引用这些标准中的相关内容。

暴露情景是指特定土地利用方式下，污染物经由不同途径迁移和到达受体人群的情况。暴露情景的确定是构建暴露模型和开展暴露评估的基础，本标准参照 HJ 1111 “8.3.1 确定暴露情景” 部分内容进行规范，并且由于接触不同污染物类型、不同分区、不同生产单元人群的目标污染物及其来源、暴露路径、暴露途径、暴露人群、暴露事件、暴露时间、暴露频率等条件和假设均存在差异，为更好的为人群调查提供依据，因此建议分组进行暴露情景识别。HJ 25.3 针对以住宅用地为代表的Ⅰ类用地（儿童和成人均可能会长时间暴露于地块污染而产生健康危害）和以工业用地为代表的Ⅱ类用地（成年人暴露期长、暴露频率高）土壤和地下水的暴露途径、暴露量计算进行了详细规范，并且提供了暴露评估模型和参数供使用。故本标准中土壤和地下水的暴露量计算参照 HJ 25.3 的 6.3 和 6.4 执行。HJ 25.3 未对地表水、环境空气、室内积尘、农作物进行规范，因此地表水、环境空气、室内积尘、农作物暴露途径的确定、暴露量的计算和暴露参数获取的技术要求参照 HJ 875 的 6.3 部分执行。最后根据健康风险评估结果判断是否存在人群健康风险并开展人群调查。

5.2.7 人群调查

人群调查是以人群生物样品的采集分析及污染物的识别筛选为主的体内浓度确定及指标识别过程，目的是明确人群污染物及其代谢物的种类和水平，以及人群内源性代谢物特征，获得特征体内负荷污染物及/或其代谢产物清单和特征内源性代谢物。

（1）调查人群的选择。根据暴露程度的差异，调查人群可分为高暴露人群（该场地内污染企业工人）、一般暴露人群（污染区非职业暴露居民）和对照人群（对照区非职业暴露居民）。而根据暴露情景差异，还可将高暴露人群和一般暴露人群进一步细分为不同暴露等级，抽样人群应尽量涵盖不同人群分组，以确保调查人群的代表性。为保证所选人群的污染物体内负荷水平和代谢健康状况能反映污染场地的影响，本标准参考《环境与健康监测技术规范》（DB32/T 4260-2022）“6.6.3 监测对象”中规定的“监测人群（成人）应在本地区居住时间不少于 5 年，且每年不少于 6 个月”，考虑到内源性代谢物作为早期效应分子，其敏感性较疾病等健康结局高，因此对居住时间要求缩短，提出“暴露人群和对照人群宜在当地居住不少于 3 年，且每年居住时间不少于 6 个月”的要求。

为更好的建立环境污染、人体暴露与健康效应三者之间的关联，污染区人群与对照区人群的空间采样要求建议参考不同的环境介质采样布点要求，选择近距离居住人群。本标准调查人群的确定方法参考《环境与健康现场调查技术规范横断面调查》(HJ 839-2017)“7.2.2.2 调查人群的选择”部分内容进行要求。为满足统计学要求，规定每组的调查人数不宜小于 50 人，对照区调查人数宜与污染区一致或接近。抽取调查人群时应分别对高暴露组、一般暴露组和对照组等不同组别人群进行抽样，具体抽取方法和程序参照 HJ 839 中“7.2.2.2 调查人群的选择”，为保证抽样人群的代表性，如被观察的人群因生活环境、工作环境不同，或化合物在体内的代谢因观察人群的性别、年龄、饮食等不同而存在较大差异，可按人群暴露情景、人口特征采取分层抽取人群的方法，使组内调查人群能尽量涵盖不同暴露等级的人群分组。

(4) 生物样品采集、问卷调查和体格检查。采集的生物样品需同时开展污染物筛查、内源性代谢物分析、生化指标及特征效应指标检测，而不同分析方法需要的样品类型和采集处理方式存在差异，需要统筹安排并同时采集。血液、尿液、毛发、指甲等为较常使用的人体生物样品，生物样品的选择和具体操作可参考 GB/T 16126 执行。问卷调查和体格检查部分内容参考 HJ 839 “7.2.2.3”和“7.2.2.6”进行要求。

(5) 生物样品分析。生物样品的分析包括污染物体内负荷水平分析和内源性代谢物分析，可分别获得特征体内负荷污染物及/或其代谢产物和特征内源性代谢物，分别用于表征污染场地引起的人群污染物暴露差异和早期健康效应。

污染物体内负荷水平分析。应综合采用目标筛查、可疑目标筛查和非目标筛查等手段对潜在体内负荷污染物及其代谢产物进行分析。首先，可在构建基于场地关注污染物清单的本地化筛查数据库的基础上，采用色谱-高分辨质谱定性筛查人体样品中潜在有机污染物及其代谢产物，获得调查人群污染物体内负荷的总体信息，初步筛选特征污染物及/或其代谢产物。可疑/非目标筛查方法参考 Chaker et al., Comprehensive Evaluation of Blood Plasma and Serum Sample Preparations for HRMS-Based Chemical Exposomics: Overlaps and Specificities[J], Analytical Chemistry, 2022, 94,866-874, 在附录 C 提供了人体血液和尿液中多种有机污染物及其代谢产物可疑/非目标分析方法参考，其中血液样本主要用于分

析挥发性污染物（VOCs）和半挥发性污染物（SVOCs）及其代谢产物（mVOCs和mSVOCs）；尿液样本主要用于分析mVOCs和mSVOCs。方法前处理部分可根据不同场地中潜在污染物的特性差异进行优化，提高筛查的灵敏度。获得的原始数据谱图预处理、差异峰识别、差异峰鉴定及鉴定可信度分级均与环境样品相似，具体流程参考6.4.3（b）。综合各生物样品中污染物筛查结果，对获得的暴露人群显著高于对照人群的化合物进行分析评判，提出特征体内负荷污染物及/或其代谢产物清单。

对筛查获得的人群特征污染物及/或其代谢产物、其它根据已有资料或场地关注污染物清单判断需重点关注的目标物、金属元素等，可进一步采用定量分析方法获得其定量浓度。目标物的分析宜优先采用国家、地方和行业相关标准。由于生物样品中污染物定量分析相关标准较少，标准中未涵盖目标物分析方法的选择可结合目标污染物特征及研究现状，在考虑灵敏度和准确度的基础上，采用经实验室验证的分析方法。附录B在《尿中多种金属同时测定 电感耦合等离子体质谱法》（GBZ/T 308-2018）的基础上对检测金属种类和生物样品类型进行了扩展，提供了人体血液和尿液中26种金属元素的分析方法。

（5）内源性代谢物分析。内源性代谢物主要指机体物质和能量代谢过程中所形成的代谢产物或中间产物。内源性代谢物的变化可灵敏反应环境污染物对人体造成的健康影响和危害，是评价健康效应的指标。根据场地内负荷污染物及其代谢产物初始名单，推测可能引起的人群健康效应及潜在目标内源性代谢物类型。根据目标物的特点，采用目标分析与非目标分析，也可选择代谢组学、脂质组学、蛋白质组学等研究方案。在可用于大规模人群采集的生物样品中，血液和尿液中含有丰富的内源性代谢物，能较好的反映人体整体代谢水平和健康状态，因此推荐使用血液和尿液用于内源性代谢物分析。

5.2.8 暴露生物标志物的确定

暴露生物标志物的确定通过建立场地土壤污染物导致的人群特征内负荷污染物和特征内源性代谢物特征等健康效应指标之间的关联，结合研究与应用需要及专家讨论，筛选获得能反映场地人群暴露特征的污染物及/或其代谢产物作为暴露生物标志物。本标准的暴露生物标志物筛选工作基于当前暴露组学、基因组学和代谢组学等组学研究中生物标志物筛选的常规统计方法和流程，结合

解析工作的目的和实践的可行性制定。

(1) 回归分析。本标准采用回归分析来明确体内负荷与健康效应之间的关联。数据预处理及数据质量评价、统计分析方法选取原则中的统计描述等应参考《环境与健康横断面调查数据统计分析技术指南》相应内容。此外，本《技术规范》对暴露对照研究常用于环境暴露与健康结局关联回归分析的统计方法选取原则进行了总结，按因变量为计量变量或分类变量提出方法选取原则，再针对环境暴露与健康结局可能为非线性关联或混合效应关系提出统计方法选取原则。回归分析中，应根据健康效应指标为计量变量或计数变量，来考虑各统计模型的适用性。本项目参考《现代流行病学》第3版（谭红），人民卫生出版社和《医学统计学》第5版（颜艳，王彤），人民卫生出版社，等书与文献中对回归分析的解释和应用来规范。

① 多重线性回归

在慢性非传染性疾病模式下，多因素研究问题极为普遍。例如，高血压的影响因素，受年龄、性别、体重、职业、饮食习惯、遗传等因素影响；糖尿病患者的血糖变化，受胰岛素、糖化血红蛋白、血清总胆固醇、甘油三酯等多种生化指标的影响。多重回归特别适合应用于研究这类问题。多重线性回归在应用时需满足的条件：①在给定自变量（X）取值时，因变量（Y）服从正态分布；②自变量（X）为确定型变量，即非随机变量；③自变量（X）之间不存在多重共线性问题；④自变量（X）与残差相互独立；⑤残差是均值为0，方差为 σ^2 常数的随机变量；⑥残差服从正态分布。多重共线性是多重线性回归分析比较常见的问题。所以，当自变量很多时，需要结合专业知识和数据特征，将相关性较强的自变量事先剔除或者加以适当处理。如采用主成分分析将相关性较强的变量转换成若干个独立的综合变量，再进行多重线性回归分析等。

② Logistic 回归

在生物医学研究中，当结局指标为分类变量（二分类、无序多分类以及有序多分类）时，可考虑采用 logistic 回归实现危险因素的筛选、控制和校正混杂因素、预测等分析目的。Logistic 回归按照因变量的类型可分为二分类、无序多分类和有序多分类 3 种 Logistic 回归模型；按是否采用配对或匹配控制混杂变量，可分为条件 Logistic 回归和非条件 Logistic 回归。在自变量较多的情况下，

不应将所有变量直接纳入模型分析，此时可使用逐步回归分析的方法进行变量筛选。实际应用中，应根据研究问题和专业知识预先筛选候选影响因素。多重共线性同样是 Logistic 回归分析比较常见的问题，可对自变量进行多重共线性检验，如采用相关系数、决定系数，或方差膨胀因子 VIF 判别法识别自变量间是否存在多重共线性，再根据检验结果和专业知识，保留必要的和影响最大的自变量。本标准中人群设计未匹配且健康效应指标多属于二分类，因此主要使用非条件的二元 Logistic 回归模型探究特征污染物是否影响健康效应结局指标。

③ Poisson 回归

稀有事件的发生次数，如某病患者术后并发症发生次数、某病患者达到临床缓解所需的治疗次数、某病患者在一年内住院次数等，这些都是通过计数得到的资料，而且发病率低，这类事件的发生常服从 Poisson 分布。分析这类事件的影响因素，需要用到 Poisson 回归。Poisson 回归主要用于单位时间、单位面积、单位空间内某事件的发生数的影响因素分析。Poisson 回归相乘或相加模型的选择，理论上主要取决于专业知识。Poisson 相乘模型的预测区间为 $(0, +\infty)$ ，保证了事件平均发生数的预测值为正值，而相加模型的预测区间为 $(-\infty, +\infty)$ ，可能会出现事件平均发生数为负值的情况。因此，实际应用多采用相乘模型，但在研究危险因素为放射性暴露因素时，国际上一般采用相加模型。

Poisson 回归模型的应用范围为稀有事件计数资料的影响因素分析。针对这种资料，若采用多重线性回归，则可能出现估计事件平均发生频数为负数，不符合实际情况。若采用 Logistic 回归，则会忽略观察单位不同对发生频数的影响，可能出现错误的结果。一般来说，Poisson 回归模型仅用于罕见结局事件发生的情况，若将其用于服从二项分布的非罕见事件资料，则会导致对参数的估计误差增大。

(2) 综合判断。从暴露生物标志物应具有代表性、敏感性、关联性和可行性的要求出发，考虑到在统计分析和资料收集的基础上，采用组织权威专家讨论综合判断的方式获得该场地的暴露生物标志物，可提高标志物在环境暴露风险管理和土壤污染评价中的价值和意义，增加标志物应用的潜力和可能性。暴露生物标志物一般不宜多于 10 种/类污染物，是考虑其代表性和可行性设置。获得的暴露生物标志物可采用小规模人群进行验证，确定标志物的特异性，评价

其应用潜力。

5.2.9 质量控制

本标准提出了解析工作中质量控制和质量保障的总体要求，并对样品采集、保存、运输、实验室分析、数据审核与处理等主要环节中可能对解析结果产生影响的环节提出了详细的质量控制措施，以保障所获解析结果的可靠性。质量控制的总体要求包括：对人员和实验条件保障相关要求，如对项目参与人员的培训和管理要求，对承担分析任务的实验室的资质、管理、设备的要求等；对项目实施过程的要求，如项目实施过程中应严格执行对应的技术规范等条款，保证各方面条件符合调查要求；对分析测量工具及仪器的要求，体格检查、现场调查、实验室分析等各环节的测量工具和分析仪器需按相应要求对其准确度和精密度进行比对，合格率应达到 100%。环境和人体样品采集、保存、运输，以及体格检查的质量控制要求已有对应规范，因此本标准进行了直接引用。环境和人体样品分析若采用国家标准、行业标准、国际标准、国外标准等规范性方法，其中对分析过程的质量控制与质量保证技术要求应执行对应标准中相关要求。对一些监测项目因为目标物的特性不宜保存过久，应特别留意按照相关标准要求在规定时间内进行监测，例如 HJ 605 中对土壤中挥发性有机物的测定要求“运回实验室后应尽快分析”，“在 4℃ 以下保存时间为 7d”。自行扩充和修改过的标准方法，以及实验室自建方法为保证结果的可靠性，建议参照 HJ 630 “5.5 实验室分析质量控制”中内部质量控制（空白样品、校准曲线、方法检出限和测定下限、平行样测定、加标回收率测定等）和外部质量控制（密码平行样、密码质量控制样等）要求建立实验室分析方法的质量控制体系并严格执行。《环境监测分析方法标准制订技术导则》（HJ 168）中也对分析方法的建立和质量控制提出了具体要求，但其中部分要求较高（如方法应通过至少 6 家实验室验证等），一般实验室自建方法较难达到，因此本标准并未采纳。在实验室分析部分，特别针对开展可疑目标分析和非目标分析时内标物质的选用进行了要求，确保每一类预期的潜在目标污染物至少有一个内标化合物，以提高污染物筛查和鉴定的准确度，并用于污染物的半定量校准。《数值修约规则与极限数值的表示和判定》（GB/T8170-2019）中对分析数据的录入、整理与分析处理的一般要求进行了规范，可参照执行，异常数据或样品的识别和剔除需具有充分理由并

考虑可能影响因素及合理性。同时，开展回归分析等统计分析时，需根据数据特征选择适合的统计分析方法，并注意辨析多种混杂因素及其影响。

5.2.10 解析报告编制

场地土壤污染物人体暴露组解析报告应包括背景介绍（场地基本情况、解析目的、程序和方法）、初步调查、场地调查、人群调查、暴露生物标志物筛选、质量控制与评价、结论及建议等章节，调查方案、原始数据、计算和分析过程等可编入报告附录。为保证解析报告能全面反映人体暴露组解析工作的整体情况并为后续暴露生物标志物的应用提供便利，要求报告应包括：（1）暴露生物标志物基本信息，如理化性质、人体代谢转化情况等；（2）暴露生物标志物与场地土壤污染物的关联，在不同暴露情景下的主要暴露途径分析，以及对应土壤污染物相关信息；（3）暴露生物标志物对应的生物样品类型和适用人群，生物样品的推荐采集方法、检测分析方法、质量评价与质量控制方案；（4）暴露生物标志物的当前研究情况，包括人体负荷水平、流行病学和毒理学研究等；（5）应用建议及局限性。

5.2.11 分析方法的优化与验证过程

（1）附录 B

血液和尿液中金属元素分析主要参考《尿中多种金属同时测定 电感耦合等离子体质谱法》（GBZ/T 308-2018）。在原方法仅针对定钒（V）、铬（Cr）、钴（Co）、镉（Cd）、铊（Tl）和铅（Pb）分析的基础上，进一步扩展了检测金属元素的种类，包括镁（Mg）、铝（Al）、钛（Ti）、锰（Mn）、铁（Fe）、镍（Ni）、铜（Cu）、锌（Zn）、锗（Ge）、砷（As）、硒（Se）、锶（Sr）、铌（Nb）、钼（Mo）、锡（Sn）、锑（Sb）、钡（Ba）、钨（W）、铼（Re）和汞（Hg）等共 20 种金属元素。3 家实验室分别对同一加标浓度的统一血清或尿液进行分析测定。方法的精密度通过分析结果的实验室内相对标准偏差和实验室间相对标准偏差加以评价；方法准确度采用目标元素的加标回收率加以评价。精密度和准确度数据汇总于表 1 和 2 所示。

表 1 血清中金属分析方法精密度和准确度汇总

| 元素 | 加标回收率% | 实验室内相对标准偏差% | 实验室间相对标准偏差% | 重复性限 r | 再现性限 R |
|----|--------|-------------|-------------|--------|--------|
| Mg | 101 | 0.60 | 2.40 | 0.97 | 0.90 |

| | | | | | |
|----|-----|------|------|------|------|
| Al | 117 | 1.20 | 9.80 | 0.21 | 0.42 |
| Ti | 81 | 9.00 | 7.40 | 0.24 | 0.69 |
| V | 98 | 2.10 | 6.60 | 0.31 | 0.50 |
| Cr | 106 | 2.20 | 6.10 | 0.25 | 0.42 |
| Mn | 119 | 2.30 | 3.00 | 0.23 | 0.22 |
| Fe | 92 | 1.10 | 1.10 | 0.28 | 0.37 |
| Co | 110 | 0.90 | 2.50 | 0.24 | 0.61 |
| Ni | 117 | 3.50 | 4.40 | 0.23 | 0.32 |
| Cu | 103 | 1.10 | 2.10 | 0.29 | 0.61 |
| Zn | 91 | 2.20 | 1.90 | 0.20 | 0.25 |
| Ge | 100 | 3.70 | 6.30 | 0.35 | 0.54 |
| As | 113 | 4.40 | 6.40 | 0.41 | 1.47 |
| Se | 109 | 2.90 | 3.90 | 0.45 | 0.98 |
| Sr | 97 | 1.10 | 2.50 | 0.13 | 0.23 |
| Nb | 100 | 1.10 | 3.60 | 0.12 | 0.54 |
| Mo | 108 | 2.60 | 7.30 | 0.28 | 0.94 |
| Cd | 102 | 5.40 | 6.20 | 0.11 | 0.39 |
| Sn | 104 | 4.80 | 7.10 | 0.44 | 0.36 |
| Sb | 105 | 1.00 | 2.10 | 0.42 | 0.59 |
| Ba | 108 | 0.90 | 3.90 | 0.33 | 0.63 |
| W | 102 | 3.00 | 3.90 | 0.18 | 0.32 |
| Re | 101 | 0.90 | 2.70 | 0.31 | 0.31 |
| Hg | 110 | 1.50 | 1.90 | 0.16 | 0.27 |
| Tl | 103 | 0.70 | 2.00 | 0.23 | 0.34 |
| Pb | 103 | 4.40 | 2.80 | 1.20 | 1.57 |

表 2 尿液中金属分析方法精密度和准确度汇总

| 元素 | 加标回收率% | 实验室内相对标准偏差% | 实验室间相对标准偏差% | 重复性限 r | 再现性限 R |
|----|--------|-------------|-------------|--------|--------|
| Mg | 105 | 2.16 | 2.00 | 0.27 | 1.08 |
| Al | 100 | 0.46 | 0.94 | 0.54 | 4.41 |
| Ti | 103 | 0.54 | 1.53 | 4.05 | 3.33 |
| V | 108 | 0.68 | 1.12 | 0.95 | 2.97 |
| Cr | 105 | 0.55 | 0.94 | 0.99 | 2.75 |
| Mn | 104 | 0.52 | 0.48 | 1.04 | 1.35 |
| Fe | 97 | 0.63 | 0.83 | 0.50 | 0.50 |

| 元素 | 加标回收率% | 实验室内相对标准偏差% | 实验室间相对标准偏差% | 重复性限 r | 再现性限 R |
|----|--------|-------------|-------------|--------|--------|
| Co | 105 | 0.54 | 1.35 | 0.41 | 1.13 |
| Ni | 103 | 0.51 | 0.70 | 1.58 | 1.98 |
| Cu | 92 | 0.64 | 1.35 | 0.50 | 0.95 |
| Zn | 97 | 0.45 | 0.55 | 0.99 | 0.86 |
| Ge | 100 | 0.78 | 1.19 | 1.67 | 2.84 |
| As | 108 | 0.91 | 3.26 | 1.98 | 2.88 |
| Se | 99 | 0.99 | 2.17 | 1.31 | 1.76 |
| Sr | 100 | 0.29 | 0.52 | 0.50 | 1.13 |
| Nb | 100 | 0.26 | 1.21 | 0.50 | 1.62 |
| Mo | 104 | 0.63 | 2.09 | 1.17 | 3.29 |
| Cd | 101 | 0.24 | 0.86 | 2.43 | 2.79 |
| Sn | 97 | 0.97 | 0.79 | 2.16 | 3.20 |
| Sb | 114 | 0.94 | 1.31 | 0.45 | 0.95 |
| Ba | 108 | 0.74 | 1.39 | 0.41 | 1.76 |
| W | 100 | 0.41 | 0.70 | 1.35 | 1.76 |
| Re | 98 | 0.68 | 0.69 | 0.41 | 1.22 |
| Hg | 108 | 0.35 | 0.59 | 0.68 | 0.86 |
| Tl | 113 | 0.52 | 0.76 | 0.32 | 0.90 |
| Pb | 102 | 2.67 | 3.48 | 1.98 | 1.26 |

(2) 附录 C

附录 C 人体血液和尿液中污染物及其代谢物可疑/非目标筛查分析方法的优化和验证过程如下。

① 血清 VOCs

挥发性有机污染物 (VOCs) 是在常温下, 沸点 50~260℃ 的各种有机化合物。同时, VOCs 也是石化、焦化等重点行业的主要污染物之一。VOCs 暴露特征可以通过测量血液中的 VOCs 含量来反映。项目组通过摸索吹扫捕集和气相色谱分析条件, 建立了一种可稳定检测人体血液和尿液中 60 种挥发性有机物 (主要包括短链卤代烃、低分子量苯系物及卤代苯系物) 的吹扫捕集-气相色谱-质谱联用 (PT-GC-MS) 分析方法, 将质谱由选择离子扫描 (SIM) 改为全扫描 (SCAN) 该方法也可用于其他 VOCs 的可疑目标/非目标筛查半定量分析。

由于水模式进样可能对吹扫管及仪器管路造成污染和不可逆的损害，且水吹扫模式进样样本稀释倍数增大，检测灵敏度降低；本方法中采用土吹扫模式对血液和尿液中的挥发性有机物进行分析检测，吹扫捕集气质联用仪参数如表 3。60 种 VOCs 的选择性离子扫描图谱如下图 1 所示，用于定量 VOCs 浓度的校正曲线由 0.1, 0.5, 1, 2, 5, 10, 20, 50 及 100 ppb 共 9 个点组成，线性系数 R^2 均大于 0.98。

表 3 吹扫捕集气质联用仪器参数

| 吹扫捕集装置条件 | | 气相色谱仪条件 | | | | 质谱仪条件 | |
|----------|-------------|---------|-----------------------------|--------|-------|--------|-------|
| 吹扫温度 | 30°C | 色谱柱 | DB-5MS (60m×0.25mm, 0.25µm) | | | 离子源 | EI |
| 吹扫时间 | 11 min | 升温程序 | | | | | 150°C |
| 干吹温度 | 30 °C | 初始 | - | 35 °C | 1 min | 接口 | |
| 干吹时间 | 2 min | 梯度 1 | 5 °C/min | 70 °C | 0 | 280 °C | |
| 解吸温度 | 180 °C | 梯度 2 | 10 °C/min | 120 °C | 0 | 进样口 | |
| 解吸时间 | 4 min | 梯度 3 | 10 °C/min | 200 °C | 0 | 150 °C | |
| 烘烤温度 | 230°C | 后运行 | 240°C | | 5 min | 四级杆温度 | |
| 烘烤时间 | 10 min | 分流 | 30:1 | | | 150 °C | |
| 载气流速 | 40±5 mL/min | 载气流速 | 1.0 mL/min | | | 碰撞能 | 70 eV |

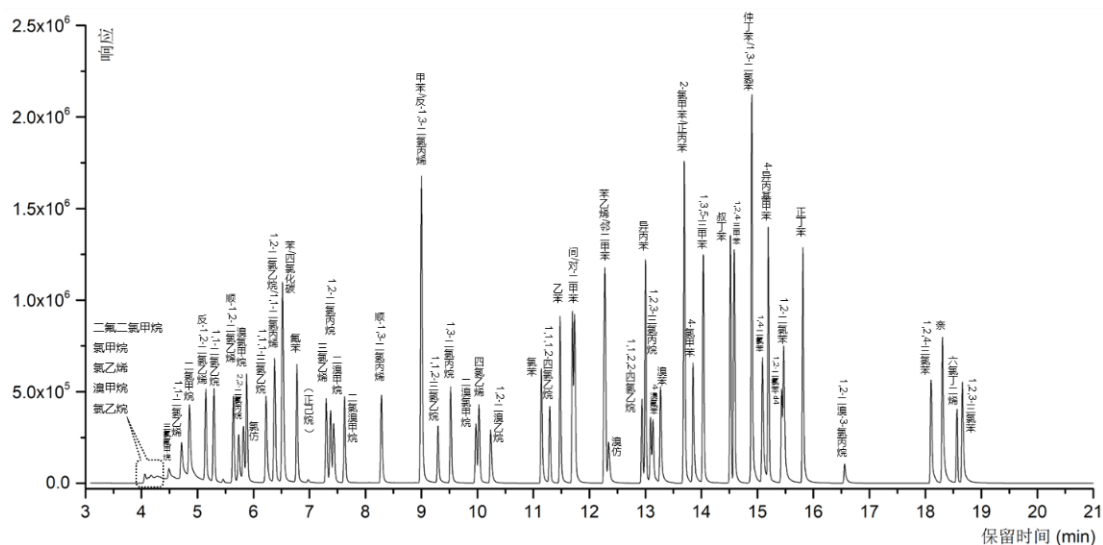


图 1 60 种 VOCs 及其内标的 SIM 谱图

血液样本制备：捕集向 40mL 棕色进样瓶中加入 1 ml 解冻血清，加入 4mL 屈臣氏蒸馏水，再加入 1 μg 3 种内标和 10μL 消泡剂，并向其中放入一粒磁力搅拌子（12×4.5mm），进行吹扫捕上样分析。血液中 60 种 VOCs 的加标回收率如图 2 所示，除氯乙烯、溴甲烷、氯乙烷、三氯氟甲烷及萘以外，其他目标物的回收率均为 75%-125%。

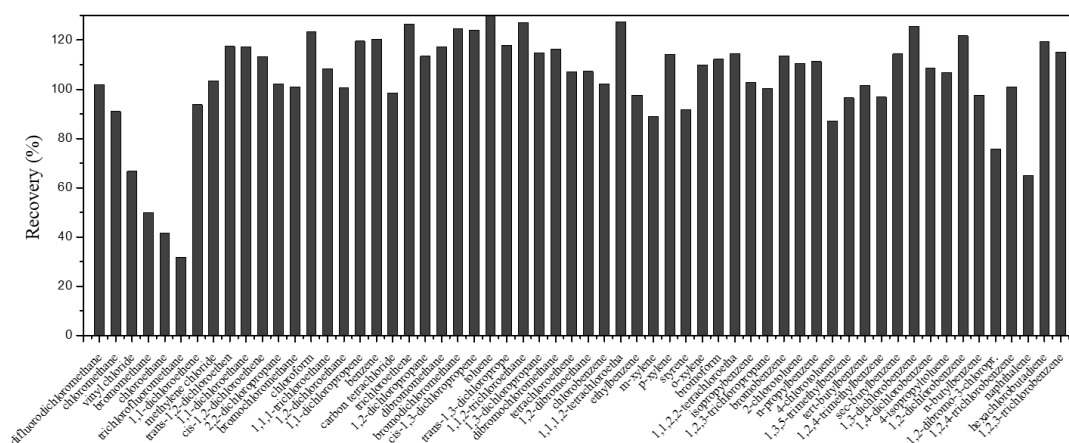


图 2 血液中 60 种 VOCs 的加标回收率

② 血液 SVOCs 及 mVOCs、mSVOCs

血液（血清）样品的前处理方法最初尝试采用乙腈沉淀蛋白，利用 EMR 除脂柱除脂，具体步骤如下：血液（血清）室温下解冻；向干净且写好标签的特氟龙离心管中加入 5 μl 200 ng/ml 多环芳烃（PAHs）、甲基多环芳烃（MPAHs）、含氧多环芳烃（OPAHs）、杂环多环芳烃(HPAHs)、硝基酚（NPs）、氯酚（CPs）、羟基多环芳烃（OH-PAHs）和 VOCs 代谢物（mVOCs）标准品和内标指示物，再加入 1 ml 小牛血清混匀；加入 4 ml 乙腈溶液沉淀蛋白，涡旋均匀，超声 10 min；在 4000 rpm、4 °C 下离心 10 min，取上清液；EMR 除脂柱（6 ml, 600 mg）除脂（用 10 ml 乙腈/超纯水(4:1, v/v)处理；4 ml 乙腈/超纯水(4:1, v/v)洗脱）；1 g 无水硫酸镁除水；氮吹近干，加内标，定容 50 μL，采用 GC -MS/MS 或 HPLC-MS/MS 分析。然而，采用该方法并没有有获得很好的回收率效果（PAHs: 40%~67%；MPAHs: 36%~86%；OPAHs: 43%~72%；HPAHs: 33%~91%；NPs: 36%~65%；OH-PAHs: 42%~68%；mVOCs: 28%~78%）。经分析可能是由于 EMR 除脂柱的洗脱溶剂含有 20%的水，用无水硫酸镁除水时，无水硫酸镁量太多可能导致物质吸附在里面；无水硫酸镁量太少时，下一步氮

吹很慢，也会导致回收率偏低。

进一步通过查阅文献以及结合之前的经验，对前处理方法进行了改进，具体步骤如下：血清室温下解冻；向干净且写好标签的特氟龙离心管中加入 5 μl 200 ng/ml 的多环芳烃 (PAHs)、甲基多环芳烃 (MPAHs)、含氧多环芳烃 (OPAHs)、杂环多环芳烃 (HPAHs)、硝基酚 (NPs)、氯酚 (CPs)、羟基多环芳烃 (OH-PAHs) 和 VOCs 代谢物 (mVOCs) 标准品和含内标指示物的甲醇溶液 (200 μl)，再加入 100 μl 小牛血清和 20 μl 甲酸，混匀后低温静置 15 min；加入 400 μl 正己烷沉淀蛋白，涡旋均匀，超声 10 min；在 3500 rpm、4 $^{\circ}\text{C}$ 下离心 10 min，取上清液；重复萃取步骤 2 次，合并上清液；上清液氮吹近干，200 μl 丙酮定溶，采用 GC-MS/MS 进行定量分析；剩余下层样品在缓和氮气流中吹干正己烷后，置于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 冷冻 2 h，继续沉淀蛋白；随后，将样品于低温 (4 $^{\circ}\text{C}$) 高速离心 (12000 rpm) 20 min；取上清液，经亲水 PTFE 针式滤器 (0.22 μm) 过滤后，转移至棕色进样瓶中，采用 UPLC-QTOF-MS 或 UPLC-Q-Orbitrap-MS 对样品中的 mVOCs 和 mSVOCs 等代谢产物进行筛查分析；采用 HPLC-MS/MS 对 SVOCs 的代谢产物进行定量分析。采用改进后的方法各类污染物或代谢产物均获得了良好的回收率，介于 67%~132%。

③ 尿液 mVOCs 和 mSVOCs

结合文献调研及前期基础，项目组基于加标实验，建立了同步分析尿液中 OH-PAHs 和 mVOCs 的 HPLC-MS/MS 分析方法；该方法亦可应用于尿液中污染物代谢产物的可疑/非目标筛查分析。

方法前处理步骤如下：将尿液样品于 4 $^{\circ}\text{C}$ 解冻，取 100 μl 于 2-ml 干净且编号的玻璃离心管中，加入 200 μl 含混合内标的甲醇溶液和 20 μl 甲酸；充分混匀后，置于低温 (4 $^{\circ}\text{C}$) 振荡器中振摇 10 min。将样品置于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 冷冻 2 h，沉淀蛋白；将样品于低温 (4 $^{\circ}\text{C}$) 高速离心 (12000 rpm) 20 min；取上清液，经亲水 PTFE 针式滤器 (0.22 μm) 过滤后，转移至棕色进样瓶中保存待分析；OH-PAHs 和 mVOCs 均采用高效液相色谱-三重四级杆质谱联用仪 (HPLC-MS/MS) 进行分析，用 Agilent InfinityLab poroshell 120 EC-C18 (4.6 \times 50 mm, 2.7 μm) 色谱柱实现目标物的色谱分离；柱温设置为 40 $^{\circ}\text{C}$ ，进样体积为 10 μl ，质谱离子源为 ESI-，质谱为 MRM 扫描模式。其他仪器参数如下：干燥气温度为 550 $^{\circ}\text{C}$ ，气

体流量为 10 m/min，输入电压为-10 V，碰撞池输出电压为-15 V，离子喷雾电压为-4500 V，负电喷雾电离的离子源模式。OH-PAHs 和 mVOCs 的色谱图分别见图 3 和图 4。

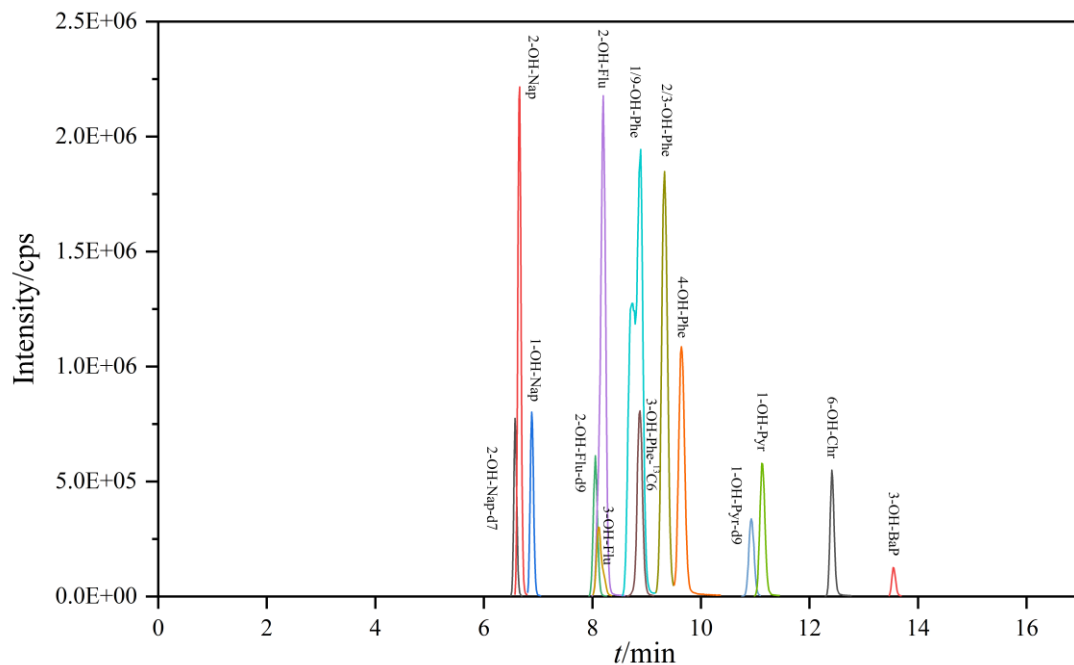


图 3 OH-PAHs 及其 4 种同位素标记物的 HPLC-MS/MS 色谱图

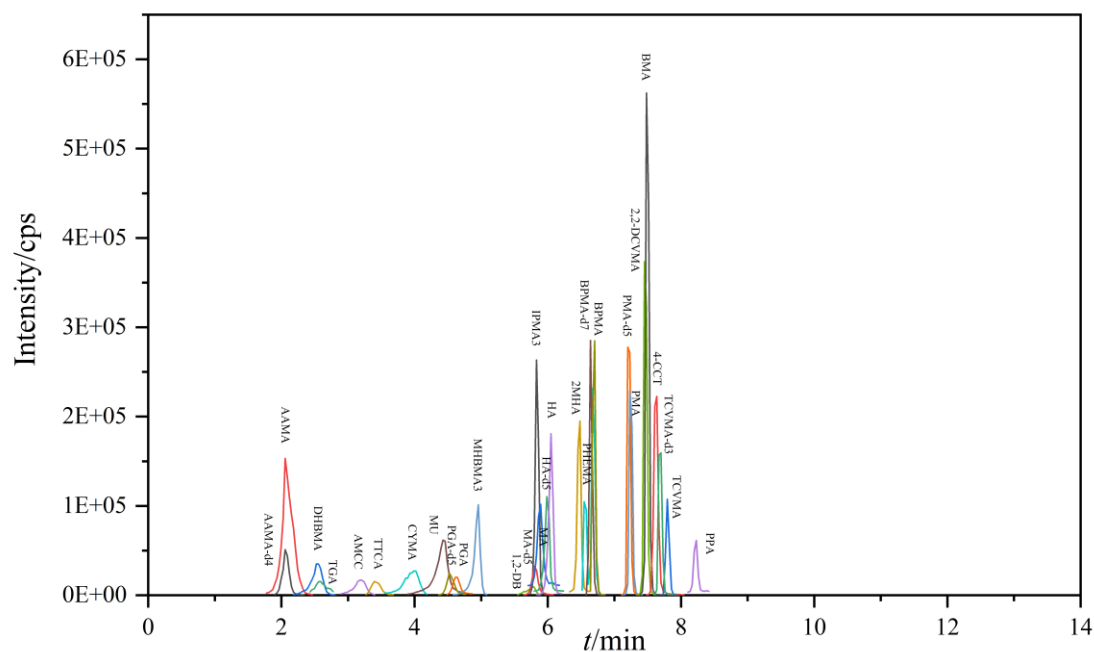


图 4 VOCMetS 及其 9 种同位素标记物和 8-OHDG 的 HPLC-MS/MS 色谱图

通过加标基质（混合尿液样品）和空白实验验证了优化的分析方法的适用

性。为保证尿液基质样品中较低的目标分析物背景值，采集了低暴露区域一般人群的中段晨尿样品，充分混合后分成12个等分（每等分取1 ml）；其中3个以低浓度（LL，2 ng）的目标化合物加标，3个以中浓度（ML，10 ng）加标，3个以高浓度（HL，40 ng）加标；其余3个重复样品用作非加标对照。另设置三个程序空白样品，以监测实验室背景污染；程序空白和非加标尿液样品中目标化合物的平均浓度用于对加标样品分析结果的校正。通过校准曲线的线性，目标化合物检出限（Limits of detection, LOD）、定量限（Limits of quantification, LOQ）以及每个分析物的准确度和精密度，以评估所开发方法的可靠性和适用性。

低加标（LL）样品中 OH-PAHs、VOCMets 及 8-OHdG 的准确度分别为 81~118%（RSD <12%）、81~117%（RSD <15%），108%（RSD <4%）；中加标（HL）样品中相应的准确度分别为 81~113%（RSD <18%）、76~114%（RSD <11%）、101%（RSD <6%）；高加标（HL）样品中相应的准确度分别为 81~117%（RSD <11%）、77~120%（RSD <10%）、91%（RSD <3%）（见表 12）。加标基质样品中各自的内标（IS）回收率分别为 $73 \pm 2\%$ 至 $101 \pm 2\%$ 、 $82 \pm 5\%$ 至 $120 \pm 2\%$ 、以及 $86 \pm 8\%$ 至 $118 \pm 3\%$ 。方法验证结果表明，LL、ML 和 HL 组中目标分析物均具有良好的准确度和精密度，优化的分析方法具有较好的可行性。

（3）附录 D

附录 D 人体血液和尿液中内源性代谢物非靶向筛查分析方法的优化从前处理优化和仪器分析方法优化两个方面开展。前处理方法在现有文献的基础上，通过对比不同比例有机溶剂沉淀蛋白的处理效果来进行优化。混合血液或尿液样品于室温下解冻，分别取 100 μ l 血液或尿液转移至 10 个 1.5 ml 的离心管，并按照不同处理方法分为 2 组，每组 4 个。

血清或尿液样品经等量有机溶剂沉淀处理（方法一）：每个样品分别加入 100 μ l 预冷甲醇/乙腈/水溶液（血液样品）或冷甲醇（尿液样品），涡旋混匀 30 s，于 -20 $^{\circ}$ C 下冷冻沉淀蛋白 10min，然后以 14000 r/min 离心 15 min，取上清液至进样瓶中。

血清或尿液样品经三倍有机溶剂沉淀后再通过浓缩复溶方式处理（方法二）：

每个样品分别加入 300 μ l 预冷甲醇/乙腈/水溶液（血液样品）或冷甲醇（尿液样品），涡旋混匀 30 s，于 -20 $^{\circ}$ C 下冷冻沉淀蛋白 10min，以 14 000 r/min 离心 15 min，转移上清液至 1.5 mL EP 管中。用真空离心浓缩仪在室温下浓缩至干，再用 100 μ L 甲醇：水（1：4）复溶，涡旋混匀 30 s，再以 14000 r/min 离心 15 min，转移上清液至进样瓶中。

色谱参考条件：样品采用超高效液相色谱系统和酰胺基色谱柱进行分离；柱温 40 $^{\circ}$ C；流速 0.5 ml/min；进样量 5 μ l；流动相组成 A：水+25 mM 乙酸铵+25 mM 氨水，B：乙腈；梯度洗脱程序如下：0~0.5 min，95% B；0.5~7 min，B 从 95%线性变化至 65%；7~8 min，B 从 65%线性变化至 40%；8~9 min，B 维持在 40%；9-9.1 min，B 从 40%线性变化至 95%；9.1~12 min，B 维持在 95%；整个分析过程中样品置于 4 $^{\circ}$ C 自动进样器中。

质谱参考条件：质谱选用电喷雾离子源（ESI），采用正负离子模式进行扫描，离子源温度 600 $^{\circ}$ C，离子源电压（ISVF） \pm 5500 V；一级质谱扫描范围为 m/z 50~1100 Da，产物离子扫描范围为 m/z 50~1000 Da，一级质谱扫描谱图采集速率为每张谱图 0.5 s，产物离子扫描谱图采集速率为每张谱图 0.25 s；二级质谱采用数据非依赖型采集（IDA）获得，选用高灵敏度模式；喷嘴电压 1000V，干燥气温度 320 $^{\circ}$ C；碰撞能量梯度为 10、20 和 40 eV；去簇电压（DP） \pm 60 V（正负两种模式）。

采用 Profinder 软件对原始数据进行预处理，包括峰对齐、保留时间校正和提取峰面积等，最终生成包括质荷比（m/z）、保留时间和峰强度的三维数据矩阵列表。提取条件设置为化合物在 50%样品中检出才能被提取。对比不同血液/尿液前处理方法获得的原始谱图数据，经 Profinder 软件进行预处理后，方法二在正离子和负离子模式下均可以检测到更多的代谢物特征峰（6104 和 7397）。

表 4 对比不同前处理方法测得的代谢物特征峰总数

| 前处理方法 | 代谢物特征离子峰（个） | | | |
|-------|-------------|-------|-------|-------|
| | 尿液 | | 血液 | |
| | 正离子模式 | 负离子模式 | 正离子模式 | 负离子模式 |
| 方法一 | 5611 | 6470 | 7885 | 8362 |
| 方法二 | 6104 | 7397 | 8226 | 9427 |

在正离子和负离子模式下，方法一获得的尿液中峰面积 RSD<30%的代谢物特征峰占比分别为 69.9%和 78.2%，血液中相应的占比分别为 65.0%和 74.3%；方法二获得的尿液中峰面积 RSD<30%的代谢物特征峰的占比分别为 74.5%和 80.6%，血液中相应的占比分别为 70.8%和 77.5%。结果表明方法二对尿液和血液中代谢物提取的的重复性较好。

表 5 对比不同前处理方法测得的特征峰峰强度 RSD

| 前处理方法 | 尿液 | | 血液 | |
|-------|-------|-------|-------|-------|
| | 正离子模式 | 负离子模式 | 正离子模式 | 负离子模式 |
| 方法一 | 69.9% | 78.2% | 65.0% | 74.3% |
| 方法二 | 74.5% | 80.6% | 70.8% | 77.5% |

仪器分析方法优化则分别对流速、扫描速率和喷嘴电压等色谱、质谱条件进行优化，优化后的具体色谱和质谱条件见附录 E.6 试验步骤。色谱峰的峰形、分离度均有所提升。经数据预处理后，几种常见的氨基酸和有机酸的特征离子色谱峰如下图所示。

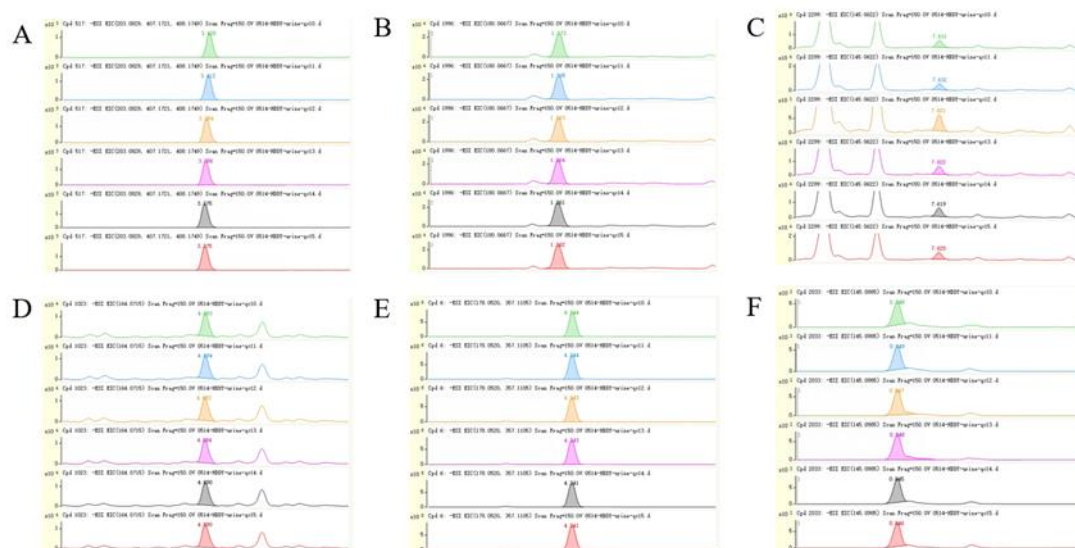


图 5 A 色氨酸 B 酪氨酸 C 谷氨酰胺 D 苯丙氨酸 E 马尿酸 F 赖氨酸
特征离子色谱峰

为测试 LC-MS 分析方法的稳定性，连续 24 h 使用 LC-MS 系统对 6 个 QC 样品进行分析，每次分析间隔 4 小时。结果表明 73%的代谢特征峰的峰面积 RSD<30%，保留时间偏差<0.2min,表明方法稳定，满足分析要求。一般认为 QC 样本中有超过 70%化合物的峰面积 RSD<30%，证明该方法有良好的稳定性，

所得数据可靠。

6 标准实施建议

本标准为指导性技术文件，首次制订。随着人体暴露组解析技术的不断完善和快速发展，本标准中的调查程序、污染物分析技术和暴露生物标志物筛选方法也可能会随之发生变化。因此，在本标准实施过程中，继续广泛听取和收集各方面的意见与建议，并根据实际应用情况，对本标准进行不断地修订与完善，使其实用性和可操作性与时俱进，为规范开展场地土壤污染物人体暴露组解析工作提供依据和指导。