

## 热裂解质谱法用于生物样品检测的研究进展

俞晓平<sup>1</sup>, 罗泽鸿<sup>1</sup>, 屈子裕<sup>2</sup>, 黄泽建<sup>2</sup>, 江游<sup>2</sup>, 谢洁<sup>2</sup>, 戴新华<sup>2</sup>,  
张谛<sup>2</sup>, 方向<sup>2</sup>

(1. 中国计量大学生命科学学院, 浙江 杭州 310018; 2. 中国计量科学研究院, 北京 102200)

**摘要:** 质谱技术的持续创新推动了多元化分析系统的快速发展, 催生出多种能够满足不同检测需求与应用场景的仪器平台及方法体系。热裂解质谱(pyrolysis-mass spectrometry, Py-MS)联用技术凭借其独特的在线分析特性, 在复杂样品的原位实时检测方面展现出显著优势。该技术基于有机化合物的热不稳定性, 通过高温裂解使大分子物质解聚生成低分子质量产物, 进而依据特征裂解产物的指纹图谱及其相对丰度与母体物质的对应关系实现定性与定量分析。为进一步提升 Py-MS 对难挥发样品的分析性能, 研究人员开发了以四甲基氢氧化铵(tetramethylammonium hydroxide, TMAH)为衍生试剂的在线甲基化改进方法——原位热辅助水解甲基化质谱(*in situ* thermally assisted hydrolysis and methylation mass spectrometry, *in situ* THM-MS)技术。该技术通过在热裂解过程中同步进行甲基化反应, 有效提高裂解产物的挥发性并改善其质谱响应特性, 现已在蛋白质、核酸、脂类等生物大分子的快速检测中得到成功应用。Py-MS 技术凭借其强大的分析能力与现场检测优势, 已拓展至化工材料表征、生物医药分析、环境污染监测、微生物鉴定、文物考古及法医物证检验等多个交叉学科领域。本文介绍了应用于 Py-MS 的 3 种典型热裂解装置, 并对用于蛋白质、核酸及脂质等生物样品的研究进展进行综述。

**关键词:** 热裂解质谱(Py-MS); 蛋白质; 脂肪酸; 核酸; 原位检测

中图分类号: O657.63

文献标志码: A

文章编号: 1004-2997(2026)02-0129-18

DOI: 10.7538/zpxb.2025.0115

CSTR: 32365.14.zpxb.2025.0115

## Advances in Pyrolysis Mass Spectrometry for the Analysis of Biological Samples

YU Xiao-ping<sup>1</sup>, LUO Ze-hong<sup>1</sup>, QU Zi-yu<sup>2</sup>, HUANG Ze-jian<sup>2</sup>, JIANG You<sup>2</sup>, XIE Jie<sup>2</sup>, DAI Xin-hua<sup>2</sup>,  
ZHANG Di<sup>2</sup>, FANG Xiang<sup>2</sup>

(1. College of Life Sciences, China Jiliang University, Hangzhou 310018, China;

2. National Institute of Metrology of China, Beijing 102200, China)

**Abstract:** Pyrolysis-mass spectrometry (Py-MS) is a powerful analytical technique that combines thermal decomposition of samples with mass spectrometric detection, enabling rapid, high-throughput, and *in situ* analysis of complex biological materials. This review systematically summarized recent advances in Py-MS and its derivative techniques for the detection and characterization of major biomolecules, including proteins, nucleic acids, and lipids. Three principal pyrolysis configurations, i.e., micro-tube, Curie-point, and laser pyrolysis, were described in detail, highlighting their operational mechanisms, advantages, and suitability for different sample types. A

significant technical evolution discussed is the integration of *in situ* thermally assisted hydrolysis and methylation (*in situ* THM) using tetramethylammonium hydroxide (TMAH), which enhances the volatility and detectability of non-volatile biomolecules by converting them into methylated derivatives, thereby improving analytical sensitivity and specificity. The application of Py-MS in protein analysis reveals characteristic pyrolysis pathways, such as decarboxylation, deamination, and cyclization, leading to diagnostic products like diketopiperazines (DKPs), which serve as valuable markers for amino acid composition and protein structure inference. For nucleic acids, Py-MS facilitates the identification of nucleobases and methylated derivatives, with TMAH derivatization significantly improving the detection of nitrogenous bases and supporting microbial identification and extraterrestrial biosignature detection, as demonstrated in planetary missions such as Mars Curiosity and ExoMars. In lipid analysis, Py-MS enables rapid profiling of fatty acid methyl esters (FAMES) from whole cells, allowing for Gram-type differentiation and pathogen identification without extensive sample preparation. The technique has also been successfully applied to specialized targets such as bacterial spores *via* dipicolinic acid detection, and bioplastics (e.g., polyhydroxyalkanoates), highlighting its versatility. Despite its strengths, Py-MS faces several challenges, including suboptimal transmission efficiency of pyrolysis products to the mass spectrometer, complex spectral interpretation due to overlapping fragmentation pathways, and the lack of standardized pyrolysis spectral libraries. Moreover, current systems often lack portability and require rapid vacuum stabilization for field applications. Future developments should focus on miniaturizing MS instrumentation, integrating multidimensional separation techniques (e.g., ion mobility spectrometry), and applying artificial intelligence for automated spectral interpretation and biomarker identification. With continued innovation in these areas, Py-MS is poised to transition from a laboratory-based tool to a robust platform for real-time, in-field analysis in clinical diagnostics, environmental monitoring, biosecurity, and industrial biotechnology.

**Key words:** pyrolysis mass spectrometry (Py-MS); protein; fatty acid; nucleic acid; *in situ* detection

热裂解是研究有机高分子材料<sup>[1]</sup>及生物质材料结构、组成、性质的重要方法,通过热裂解装置 300~800 °C 的高温裂解,可使样品产生和释放大气相颗粒分子。热裂解与质谱技术联用可使固、液相物质挥发并解离产生气相分子,然后进入质谱仪检测;根据产物的质谱图可研究样品的组成结构、裂解过程,通过与生物样本的标准数据库进行对比,从而快速鉴定样本种类。另外,对于热裂解产生的气体样品,通常采用电子电离(electron ionization, EI)源<sup>[2]</sup>和化学电离(chemical ionization, CI)源进行电离。在热裂解高温引发高质量分子热分解的基础上, EI 源进行高能电离能够产生丰富的碎片离子,有助于获取样品分子的结构信息;相比于 EI, CI 源电离产生的碎片离子数量较少,能够在一定程度上保留样品的分子离子信息。除将热裂解与质谱仪直

接联用外,研究人员还在两者之间加上气相色谱(gas chromatography, GC)仪,对热裂解产物进行预分离与富集,以降低质谱图解析难度,但同时也延长了检测时间。

基于本课题组前期研究<sup>[3-9]</sup>,本文将首先介绍应用于热裂解质谱(Py-MS)的3种典型热裂解装置,然后对用于蛋白质、核酸及脂质等生物样品的研究进展进行综述。

## 1 热裂解装置

1952年, Zemaný<sup>[10]</sup>首次报道了 Py-MS 技术,并验证了其分析复杂聚合样品的可行性;随后,该方法得到广泛应用和发展。为提高热裂解反应的效率,衍生出多种热裂解装置。通常,热裂解装置能够在短时间内达到 300~800 °C,高温会引发化合物共价键的解离和重排,从而使样品

分子发生分解产生碎片离子。某种意义上,热裂解可看作是一种样品前处理方法,热裂解产物反映了被热解物质的结构。

根据样品性质的不同,可以控制热裂解反应发生的时序,据此可将热裂解装置分为2种模式:一种为连续型热裂解模式,可连续进样,将样品直接注入到加热至热裂解温度的管炉中,热裂解产物不断被蒸汽压输送到质谱仪,通常适用于气体或液体样品;另一种为脉冲型热裂解模式,首先将样品注入到预热至200℃的管炉中,随后在几秒内加热至热裂解温度,热裂解产物进入质谱仪中的时序呈脉冲形,通常适用于固体或部分液体样品<sup>[11]</sup>。

根据进样方式和热裂解方法的不同,衍生出3种经典的热裂解装置<sup>[12]</sup>,分别是直接插入式热裂解装置、居里点热裂解装置和激光热裂解装置,示于图1。

### 1.1 直接插入式热裂解装置

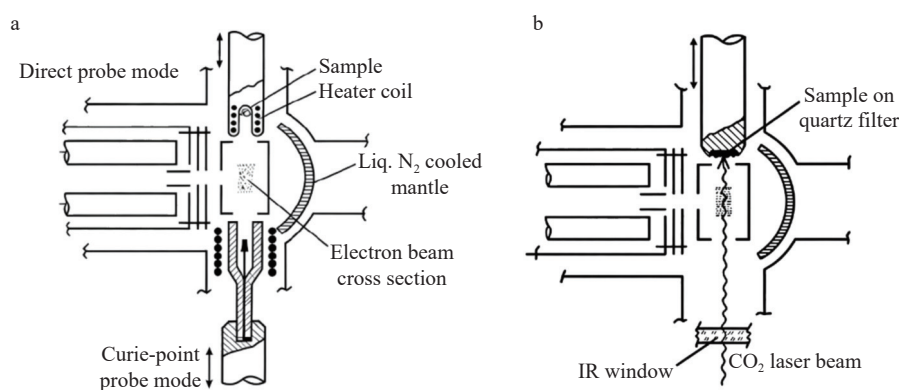
直接插入式热裂解装置(direct-probe pyrolysis, direct-probe Py)通过探针单元直接将固态、液态样品注入至放置于加热线圈内的石英管或加热炉中,进样最直接、最便捷,也被称为微管炉热裂解(micro-tube pyrolysis, micro-tube Py),示于图1a上半部分。加热炉通过电阻或感应线圈加热的方式在几毫秒内迅速加热至预设的热裂解温度,使样品在热能作用下发生热裂解,并在蒸汽压或真空条件下通过200℃保温管路(能维持热裂解产物的气相状态,可根据不同的产物分子调整温度)进入质谱仪离子源前端缓冲室。缓冲室通常起缓冲、富集热裂解产物的作用,为防止

热裂解产物分子发生冷凝或与缓冲室发生二次反应,需加热缓冲室,且需由惰性材料制造。

对于气体样品,由内置气泵(一般为吸力较弱的隔膜泵)直接吸取、富集空气中的气溶胶分子到惰性石英管中进行热裂解。如美国Bruker公司生产的化学生物质谱(block chemical biological mass spectrometer CBMS, Block CBMS)使用由MSP公司设计和制造的喷墨式气溶胶发生器(ink jet aerosol generator, IJAG)从环境空气中收集和浓缩生物气溶胶颗粒<sup>[13]</sup>,并通过两级虚拟撞击器排除所有空气动力学直径大于10mm的颗粒,最后以1L/min流速输送空气动力学直径2.3~8.4mm的气体颗粒至加热管炉<sup>[14]</sup>,产生的热裂解产物经保温富集后进入质谱仪。

### 1.2 居里点热裂解装置

居里点热裂解装置(Curie-point pyrolysis, Curie-point Py)的样品注入方式不同于直接插入式热裂解装置,其需将固体或液体样品涂覆、沉积于丝状、箔状或管状的样品载体上,载体由一定比例的铁、镍、钴合金材料制成,称为居里点载体,示于图1a下半部分。居里点温度(该温度下铁磁质转变为顺磁质,停止吸收能量)与合金成分的关系列于表1,可根据不同组成比例的载体选择裂解温度,然后利用放置在热解反应管周围感应线圈内产生的高频(0.5~1.0MHz)电磁场,快速感应加热居里点载体上的固体、液体材料或周围流动的气体<sup>[11]</sup>。当高频场接通时,铁磁载体通过线圈感应加热至居里点温度,在该温度下,金属失去铁磁性变为顺磁性,此时由于线圈中高频场的能量吸收大幅减少,加热效应急剧降



注: a. 直接插入探针热裂解配置(上)和居里点热裂解配置(下); b. 激光热裂解配置<sup>[11-12]</sup>

图1 经典热裂解EI质谱仪示意图

Fig. 1 Instrument configurations of classical pyrolysis EI mass spectrometer

表1 居里点温度与合金成分的关系<sup>[11-12, 15]</sup>Table 1 Curie-point versus alloy composition<sup>[11-12, 15]</sup>

居里点载体合金成分比例 Alloy composition/%			居里点温度 Curie-point/°C
铁Fe	镍Ni	钴Co	
0	100	0	358
61.7	0	38.3	400
50.6	49.4	0	510
42.0	41.0	16.0	600
29.2	70.8	0	610
33.0	33.0	33.0	700
100	0	0	770

低,通过居里点载体的恒温效应控制最终热解温度(该温度由所用合金成分特有的、明确界定的转变温度决定)。此外,居里点载体通常为一次性用品,每次涂覆、沉积进样后需更换,以防止样品干扰。对于一些生物样品,如细胞、细菌,常使用居里点丝进行沉积、烘干,使样品得以附着在载体上,在管炉内固定居里点载体进行热裂解。由于加热效率高、热裂解温度易控制以及更换居里点载体后不易受样品干扰,目前报道的大多数Py-MS研究均使用居里点热裂解装置<sup>[12]</sup>。

### 1.3 激光热裂解装置

激光热裂解装置(laser pyrolysis, laser Py)<sup>[16]</sup>使用Nd:YAG激光器提供高功率(约 $10^9$  W/cm<sup>2</sup>)的光束脉冲,并通过透镜聚焦到样品上,以实现聚合物样品的快速加热与蒸发,可表征非常小的样品,如单个细菌、细胞,且样品量在pg范围内<sup>[17-19]</sup>,示于图1b。与直接插入式热裂解装置、居里点热裂解装置相比,激光热裂解装置具有较高的样品加热速率、良好的谱图再现性,且不需经过任

何样品制备即可实现对大多数有机材料的直接原位分析,具有广阔的工业应用前景<sup>[12, 20]</sup>。但存在裂解温度控制和测量较困难,且样品性状对结果影响较大的局限。

## 2 热裂解质谱在生物分析中的应用

使用Py-MS法分析的样品通常为高聚化合物,其产生的高温使样品发生不同程度的断裂,从而可以通过碎片离子推测样品分子的结构与性质,亦可在复杂混合物中通过检测目标样品分子的特征碎片进行定性和定量分析。生物体中的有机高聚化合物,如蛋白质<sup>[21-23]</sup>、核酸、脂质<sup>[7]</sup>等,具有高度复杂性的特点,常规检测方法通常是劳动密集型的重复操作,耗时且昂贵,存在潜在的假阳性问题<sup>[24-26]</sup>。Py-MS法在很大程度上避免了这些问题,在实现快速、高灵敏度和特异性检测的同时省去了耗时的前处理步骤,且可提供大量的样品分子结构信息。近年来,研究人员应用Py-MS进行了大量研究,展示了其在生物样品检测方向的巨大潜力,应用情况列于表2。然而,许多生物样品难挥发或不具挥发性,严重限制了其在Py-MS检测中的灵敏度。针对这一问题,研究人员发现<sup>[27-28]</sup>,甲基化衍生能显著提升热裂解效率及样品挥发性,进而提高检测灵敏度。如四甲基氢氧化铵(TMAH)通过与生物大分子(如蛋白质、核酸、脂质)中的酸性氢(如-COOH、-OH、-NH、-SH)发生反应,生成相应的甲基衍生物,能够促进大分子的热裂解反应。在300 °C以上,TMAH会分解产生三甲胺和极具反应活性的甲醇,实际上,真正的甲基化试剂是分解过程中生成的甲醇,在TMAH提供

表2 热裂解质谱法在各类生物样品检测中的应用概况

Table 2 Applications of pyrolysis mass spectrometry in detection of various biological samples

样品类型 Sample type	目标分析物 Target analyte	特征标志物 Characteristic marker	检测技术 Detection technique	应用领域 Application field	引用参考 Reference
蛋白质	氨基酸、多肽	芳香族化合物、环状二肽(DKP)、 氨、二氧化碳	Py-GC-MS、 <i>in situ</i> THM-MS	结构生物学、 疾病机制研究	[19-47]
核酸	核苷酸、碱基	甲基化核苷、脱氧核糖/核糖衍生物、 特征碱基片段	Py-HR-MS、提取 物甲基衍生化Py- MS	微生物鉴定、地外生命 探测、核酸定量	[58-86]
脂质	脂肪酸、磷脂、 胆固醇	长链饱和/不饱和脂肪酸及相应的 脂肪酸片段	提取物甲基衍生化 Py-MS、 <i>in situ</i> THM-MS	革兰氏细菌分类、 快速病原体筛选	[74, 87-93]
其他	细菌孢子、塑料及 其分解产物	二吡啶酸(DPA)、 甲基二吡啶酸(mDPA)及 PHA单体	Py-GC-MS	细菌孢子定量、新型可降 解环保材料研究、塑料降 解菌株培育	[94-98]

的强碱性条件下对酸性氢进行亲核取代反应(SN<sub>2</sub>)。在此过程中,含有—OH、—COOH、—NH<sub>2</sub>等官能团的极性化合物(如氨基酸、脂肪酸等,它们之间可以形成密集的氢键网络,将其从液态或固态变为气态需要巨大的能量)被转化为极性更弱、挥发性更强的衍生物(如氨基酸酯、脂肪酸甲酯等,甲基化将含有易形成氢键的酸性氢原子的基团—OH、—NH用—CH<sub>3</sub>取代,从而降低其转化为气态所需的能量),因此,—COOH、—OH、—NH<sub>2</sub>分别被取代成为—COOCH<sub>3</sub>、—OCH<sub>3</sub>、—NHCH<sub>3</sub>或—N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>,其中甲基很稳定,不能作为氢键的给体或受体,可防止化合物在热裂解过程中发生脱羧、环化等副反应,提高衍生化合物的稳定性。

### 2.1 蛋白质样品检测

研究人员通过对氨基酸、多肽及蛋白质材料的热解行为进行系统性研究,揭示了其热分解规律与结构特征间的内在关联<sup>[29-30]</sup>。氨基酸、多肽及蛋白质在热裂解过程中可能发生的反应及产物示于图2。氨基酸的热裂解主要遵循脱羧(图2(1))、脱氨(图2(2))、脱水(图2(3))和裂解(图2(5))反应路径<sup>[31-32]</sup>。其中,缩合与脱水反应的协同作用(图2(4))可形成具有六元环骨架的稳定产物——2,5-二酮哌嗪(diketopiperazine, DKP)。这种环状二肽不仅是氨基酸的特征热解产物,也普遍存在于多肽及蛋白质的热裂解过程中,其特殊的结构稳定性与生物活性已引起药物研发领域的关注<sup>[32]</sup>。

值得注意的是,氨基酸侧链基团的反应活性对其热裂解途径具有显著影响<sup>[31]</sup>。例如,天冬酰胺易生成马来酰亚胺和琥珀酰亚胺;苯丙氨酸倾向于形成甲苯、乙苯等芳香族化合物,次级反应还可产生腈类、胺类等副产物。相较于单体氨基酸,多肽和蛋白质的热裂解机制更复杂,涉及更多竞争性反应路径<sup>[33-34, 40-41]</sup>,其主要产物包括CO<sub>2</sub>、H<sub>2</sub>O、CO和NH<sub>3</sub>等小分子气体,以及多种不饱和有机化合物<sup>[35]</sup>。Orsini团队<sup>[38]</sup>通过热裂解-气相色谱-质谱(Py-GC-MS)结合逸出气体分析质谱(EGA-MS)技术,系统研究了卵清蛋白(OVA)的热裂解行为。结果发现,OVA的热解产物谱包含NH<sub>3</sub>、异氰酸(HNCO)、芳香族化合物及环状二肽等特征组分,且特定氨基酸的反应活性及其在多肽链中的定位显著影响热解路

径。此外,该研究首次提出蛋白质的二级、三级乃至四级结构可能调控其热解模式,这为通过热裂解产物反推蛋白质高级结构提供了理论依据。在后续研究中,该团队<sup>[42]</sup>通过温度梯度EGA-MS实验,证实交联剂1-乙基-3-(3-二甲氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐(EDC)可显著提升OVA的热稳定性,并诱导其形成聚集体结构。该结果不仅验证了Py-MS在解析蛋白质聚集态结构<sup>[43-44]</sup>方面的独特优势,更凸显其在研究由静电作用、疏水效应及共价交联等复杂机制调控的蛋白质组装过程中的应用潜力。这些发现为材料科学、基础生物学及神经退行性疾病研究<sup>[45-47]</sup>提供了重要的分子水平信息。在热裂解机理研究方面,Zang等<sup>[48]</sup>开发的在线TMAH热化学溶解技术实现了氨基酸及蛋白质样品的原位甲基化分析。Gallois团队<sup>[39]</sup>进一步拓展了该技术的应用,系统阐明了20种氨基酸在TMAH存在下的5种主要反应路径:以甲基化为主导(图2(6))、伴随异构化(图2(7))、环化(图2(4)、(8))、脱氨基、脱羧及均裂(图2(9))等竞争反应。

除精氨酸、谷氨酰胺、天冬氨酸和天冬酰胺外,其余氨基酸均以甲基化为主导反应途径。TMAH的引入可有效抑制常规热解中亮氨酸、异亮氨酸等产生的胺类副产物,转而生成相应的腈类化合物,同时促进异亮氨酸、缬氨酸的脱羧二胺化反应。相较于常规热裂解中氨基酸自发环化生成少量DKP(如精氨酸生成3-氨基-2-胡椒酮,天冬酰胺生成吡咯和吡咯烷二酮<sup>[49]</sup>,谷氨酸<sup>[50]</sup>生成吡咯烷酮),TMAH体系可特异性诱导甘氨酸二聚环化形成Gly-Gly二肽。这些研究共同表明,尽管甲基化产率有限,但特征性环化或均裂产物仍可作为氨基酸检测的有效标识,其组合模式还可用于推断多肽链的氨基酸组成。针对热解产物形成的规律,Voorhees等<sup>[51-53]</sup>采用居里点热裂解质谱(Curie-point Py-MS)系统研究了肽段长度对DKP生成的影响。研究发现,含脯氨酸的哌嗪二酮类化合物(diketopiperazines, DKPs)因结构稳定,更易形成<sup>[54]</sup>,且脯氨酸位于二肽C端时的环化效率最高<sup>[55]</sup>;而亲水性氨基酸(天冬酰胺、谷氨酸、精氨酸、赖氨酸)的存在则会抑制DKP生成<sup>[51]</sup>。Fabbri团队<sup>[56]</sup>利用Py-GC-MS研究三肽体系,进一步证实了虽可检测到脯



热解产物。Arendonk 团队<sup>[58-59]</sup>将热裂解低压 EI 与  $\text{NH}_3\text{Cl}$  化学电离联用,在早熟禾属植物叶片研究中,通过对比 2 种禾种 *Poa annua* 和 *Poa pratensis* 叶片乙醇提取蛋白质与蛋白酶消化前后的热解谱图差异,不仅获得了细胞质蛋白的“阴性”特征谱,还检测到新型蛋白质标志物片段<sup>[60]</sup>。

在微生物检测领域, Voorhees 等<sup>[61]</sup>基于高分辨质谱 (high-resolution mass spectrometry, HR-MS) 数据,建立了布鲁氏菌 *Brucella neotomae* 特征峰的半经验公式,并证实了蛋白质生物标志物离子在细菌分类中的统计学显著性。Hendricker 团队<sup>[62]</sup>采用热裂解-离子阱质谱技术研究炭疽杆菌时,发现不同类型的质谱分析器(三重四极杆与离子阱)会导致生物质谱差异,离子阱因分子离子二次反应产生特征碎片离子,经同位素标记实验证实这些未知峰源于酪氨酸氧化降解产物,该发现为全细胞细菌的蛋白质标志物检测提供了新思路<sup>[63]</sup>。

在生物质资源利用方面<sup>[64-66]</sup>, Niu 等<sup>[67]</sup>针对微绿球藻开发了集成提取-热解工艺,通过傅里叶变换红外光谱 (FT-IR) 和 Py-GC-MS 分析从海洋微藻 *Nannochloropsis gaditana* 中提取的不同组分(脂质、蛋白及脱脂/脱蛋白残渣)的热化学特性,优化得到生物燃料与化学品联产方案,显著提升了微藻的资源利用率<sup>[64]</sup>。这些创新应用

充分展现了 Py-MS 技术在蛋白质研究中的多维度价值。

## 2.2 核酸样品检测

核酸是碳水化合物的特殊衍生物,同时也是生物遗传信息的载体,包括脱氧核糖核酸 (DNA) 和核糖核酸 (RNA),由 5 种核苷酸单体聚合而成。每个核苷酸单体包含 3 个独立单元:1 个五碳糖 (RNA 中为核糖, DNA 中为脱氧核糖)、1 个含氮碱基及 1 个磷酸根离子  $\text{PO}_4^{3-}$ , 示于图 3。Py-MS 技术为解析这类生物大分子的组成与热稳定性提供了独特视角。

有研究人员采用质谱技术对核酸进行研究<sup>[68-79]</sup>,包括电喷雾质谱 (ESI-MS)、基质辅助激光解吸电离质谱 (MALDI-MS)、电子电离/化学电离质谱 (EI/CI-MS) 等。对于任何脱氧核糖核酸链和核糖核酸链,在热裂解时的初级裂解均涉及连接相邻 2 个核苷酸残基的磷酸二酯键的裂解,示于图 4 左侧,因此磷酸二酯键的断裂被认为是初级裂解反应的关键步骤<sup>[80-81]</sup>,后续电离过程产生的特征离子可有效指示碱基组成及戊糖脱水产物。Abbas-Hawks 等<sup>[82]</sup>采用热裂解电子电离高分辨率质谱 (Py-HR-EI-MS) 对小鼠布鲁氏菌 *Brucella neotomae* 进行全细菌细胞检测,通过对比细菌的核酸和碳水化合物与代表糖和核酸细胞含量的标准品(含腺苷酸 (AMP)、胸苷酸

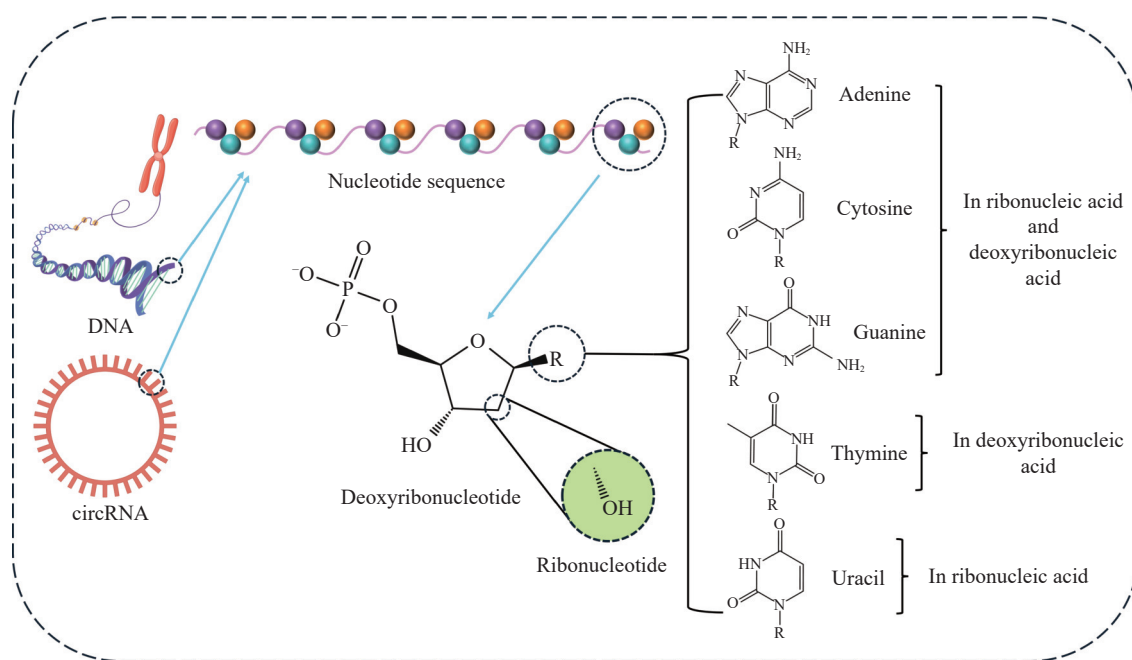


图3 DNA及RNA中核苷酸的分子结构

Fig. 3 Molecular structures of nucleotides in DNA and RNA

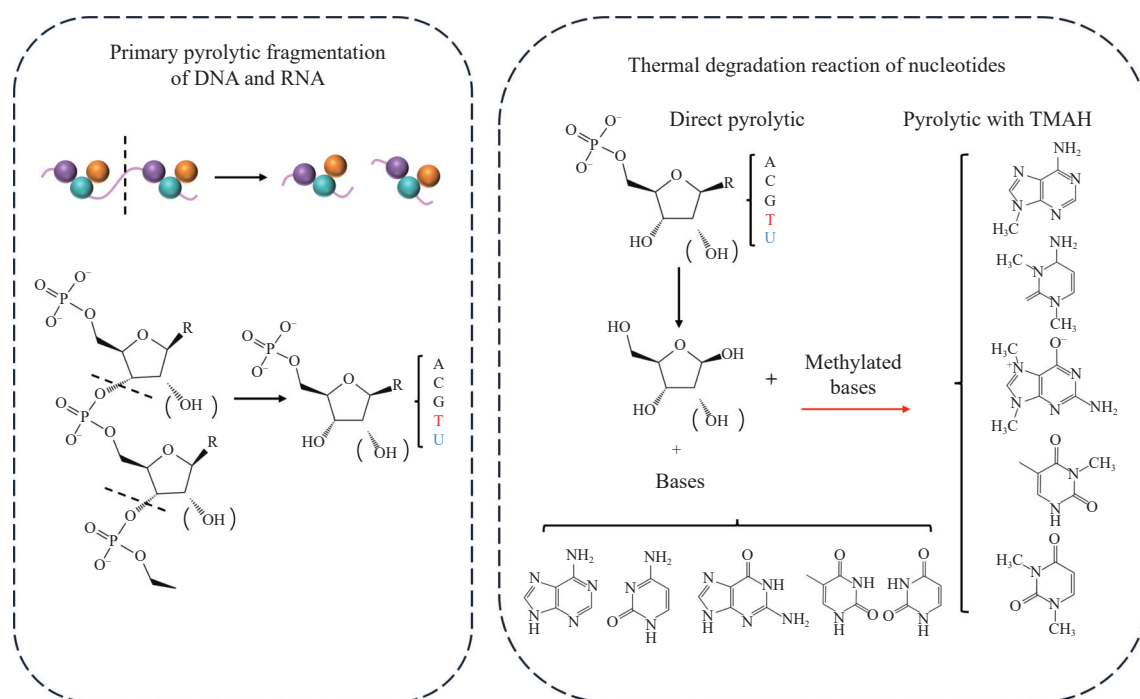


图4 热裂解过程中核酸的初步断裂及核苷酸裂解可能形成的产物<sup>[80-81, 83-84]</sup>

Fig. 4 Initial cleavage of nucleic acids during pyrolysis and the possible products formed by nucleotide pyrolysis<sup>[80-81, 83-84]</sup>

(TMP)、鸟苷酸(GMP)、胞苷酶(CMP)、尿苷酸(UMP)、腺嘌呤、胸腺嘧啶、鸟嘌呤、胞嘧啶、尿嘧啶、核糖、葡萄糖、胞壁酸、*N*-乙酰葡萄糖胺、多糖和脂多糖的溶液)的母离子及碎片离子,研究热裂解全细胞细菌时核酸生物标志物离子可能的裂解机制。Jarman<sup>[83]</sup>进一步揭示了DNA热裂解特性:小牛胸腺DNA经热裂解可稳定释放腺嘌呤、胞嘧啶和胸腺嘧啶3种主要碱基,通过紫外光谱法定量验证了这些主要成分的相对含量;此外,还检测出一些甲基咪唑衍生物,如甲基咪唑基胞嘧啶,经推测,这些次要产物是由DNA在高温下热裂解产生的。随后, Jarman对比了不经热裂解步骤的完整DNA直接质谱分析结果,发现即使DNA经电子电离能够产生碎片离子,但受限于DNA的热解速率,碱基的质谱信号也会偏弱且不稳定。此外, DNA中的无机阳离子、磷酸二酯键和其他结构可能会干扰质谱分析结果。相较于传统直接质谱分析中因磷酸骨架干扰导致信号较弱的问题,热裂解预处理虽能提升碱基的检测灵敏度,但分子重排现象可能影响原始碱基组成的准确解析,且复杂的热解产物谱增加了数据分析难度。为提升检测特异性,研究人员引入TMAH衍生化方法。

Voorhees等<sup>[84]</sup>对脂质、蛋白质及核酸的Py-MS结果进行综合分析评价,采用Py-MS分析核酸及其衍生物,并探讨TMAH作为甲基化试剂对核酸分析的影响。在热裂解过程中,核酸发生的初步断裂反应及核苷酸裂解可能形成的产物示于图4。研究发现,使用TMAH进行原位甲基化可改善对含氮碱基的检测能力(甲基化能增强含氮碱基的挥发性)。此外,还发现AMP、TMP、CMP和GMP在有、无TMAH情况下的热裂解质谱图明显不同,这归因于每个碱基根据其酸性氢的数量和甲基化试剂的浓度可能发生不同程度的甲基化,并且甲基化位点通常为-NH及具有不饱和键的N(图4右侧)。这些研究结果表明,使用TMAH进行原位甲基化可显著提高Py-MS分析核酸及其衍生物的能力,其特征性甲基化产物模式更为细菌种属鉴定提供了新的分子指纹图谱。

在定量分析领域, Sahota团队<sup>[85]</sup>提出了一种采用Py-GC-MS检测哺乳动物细胞DNA含量的方法,以热裂解DNA产生的特征性产物糠醛醇作为生物标志物,并使用*N*-乙酰氨基葡萄糖作为内标物进行校准,实现了对小牛胸腺DNA、人角质形成细胞和小鼠成纤维细胞的DNA检测

定量。检测结果与二苯胺法测定结果的相关性良好,可替代传统DNA检测方法,且具有在复杂生物系统中定量分析其他细胞组分的潜力。

除研究地球上的生命外,在人类探索宇宙过程中,研究人员已将Py-MS应用于好奇号火星探测器的样本分析仪器(SAM)和ExoMars 2022火星探测器的火星有机分子分析仪(MOMA)上,用于探索地外生命的存在<sup>[86-89]</sup>。He等<sup>[90-91]</sup>重点研究了在TMAH存在下,Py-MS法在核苷检测中的应用,并优化检测条件,以解释SAM和MOMA在火星探测中获取的数据。采用6种脱氧核苷标准品,包括脱氧腺苷(dA)、脱氧鸟苷(dG)、胸苷(dT)、2'-脱氧尿苷(dU)、2'-脱氧胞苷(dC)和脱氧肌苷(dI)<sup>[92-94]</sup>,在不同温度下进行TMAH热裂解质谱实验。结果发现,在TMAH存在下,热裂解主要生成甲基化核苷和碱基;200℃时甲基化核苷的稳定性较高,主要产物为甲基化核苷和甲基化核糖衍生物,如2-甲氧基甲基-咪喃;而在高温下则易分解为甲基化碱基和核糖衍生物,如600℃时主要检测到甲基化碱基。虽然某些热分解产物无法被检测到,但600℃时仍能检测到核苷的特征产物,表明TMAH热裂解适用于火星探测中DNA片段的检测,展示了该技

术在行星探测中的潜力和应用前景,为行星科学中生物标志物的搜寻提供了关键技术支撑。

### 2.3 脂质样品检测

脂质是生物体内一种重要的组成成分,包含脂肪(甘油三酯、脂肪酸)、类脂(磷脂、糖脂、胆固醇及胆固醇酯)及其他脂质(蜡、萜类及脂溶性维生素),它们在生物体内承担着能量储存、结构支持和信号传导等多种重要功能,其广泛分布于原核与真核生物体内(如革兰氏阴性细菌包膜结构上存在的脂蛋白与脂多糖),提供非极性物质的转运通道或为疏水化合物提供渗透性屏障。此外,细胞内部还存在游离或者结合形式的脂肪酸,用于维持细胞正常的生命活动。在热裂解过程中,脂质(如甘油三酯)首先发生热分解形成热稳定性更强的单体(如脂肪酸),示于图5左侧,随后在高温下逐级分解(每次分解将脱去1个 $-CH_2-$ )形成特征产物,示于图5右上方,并通过特征谱图进行鉴定。当采用TMAH衍生化方案时,甘油三酯被TMAH水解成脂肪酸盐和甘油,随后脂肪酸盐立即被甲基化为易挥发的脂肪酸甲酯(FAME),涉及皂化和甲基化2个反应,示于图5左侧。

在微生物快速鉴定领域,脂肪酸特征谱的检

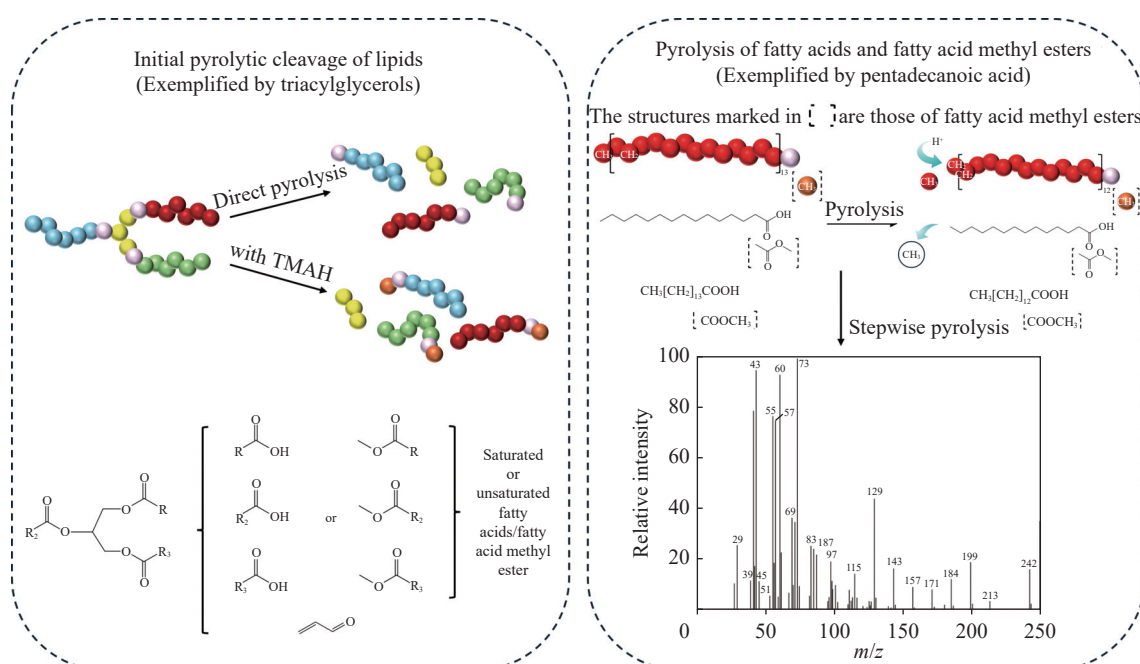


图5 热裂解过程中甘油三酯的初步断裂,以及十五烷酸裂解过程和可能的产物<sup>[84, 95-98]</sup>

Fig. 5 Primary cleavage of triglycerides during pyrolysis, and pyrolytic pathways and resultant products of pentadecanoic acid<sup>[84, 95-98]</sup>

测已成为 Py-MS 技术的重要应用方向。1988 年, Voorhees 等<sup>[95]</sup>对比了 EI 与 CI(以甲醇作为试剂气体)在 Py-MS 中检测分离大肠杆菌、蜡样芽孢杆菌和枯草芽孢杆菌的能力。通过对比每种细菌的中性损失、母离子和子离子扫描结果,发现 CI 比 EI(70 eV)的灵敏度更高,且母离子扫描提供了更好的选择性,仅需 1~2 个特征离子峰即可实现大肠杆菌等 3 种病原菌的精准鉴别。1989 年, Holzer 团队<sup>[96]</sup>采用居里点热裂解-气相色谱-质谱(Curie-point Py-GC-MS)法,通过 TMAH 原位甲基化技术成功分析了全细胞的脂肪酸甲酯谱图;对比了大肠杆菌、铜绿假单胞菌和金黄色葡萄球菌等 6 种细菌的 Py-MS 图与脂肪酸标准品谱图、传统脂质提取法制备的细菌脂肪酸谱图<sup>[97]</sup>,结果具有良好的 consistency;且证实了原位甲基化方法在低分子质量脂肪酸检测中有着更高的回收率,表明全细胞原位甲基化热裂解方法的可行性,为微生物脂肪酸分析提供了免提取的高效解决方案。

基于脂肪酸谱的微生物分类研究取得了显著进展。Basile 等<sup>[98]</sup>于 1995 年采用 Py-MS 对微生物的 FAME 提取物进行分析,以研究其区分革兰氏阳性和革兰氏阴性微生物的能力。使用主成分分析(PCA)对质谱数据进行模式识别,成功将微生物分为 3 个离散簇,实现了革兰氏阳性菌与阴性菌的聚类分离,并且通过串联质谱实验进一步确认了特定脂肪酸的存在和异构体类型。结果发现,革兰氏阴性菌中富含棕榈酸(C16:0)、油酸(C18:1)和棕榈油酸(C16:1);而革兰氏阳性菌中富含支链十五烷酸(C15:0),特别是同型异构体(ISO)和反异型异构体(ante-ISO)。对于革兰氏阳性菌分离为 2 个簇类的现象, Voorhees 等<sup>[84]</sup>后续通过扩展样本量验证该分类模型,使用核酸、蛋白质及脂质等生物标志物,采用 Py-MS 鉴定 10 种革兰氏阳性菌和 10 种革兰氏阴性菌,并使用 TMAH 进行原位甲基化以提高生物标志物的挥发性和信息量。在脂肪酸分析实验中,发现通过不同的脂肪酸组成可成功区分革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌,在 PCA 结果中,脂肪酸谱图同样清晰地分为 3 个簇类,分别对应不同的革兰氏类型。对 2 个革兰氏阳性簇类分析发现,支链 C15:0 的异构比例差异是导致革兰氏阳性菌亚群分离的关键因素,其

中 1 个簇类含有高强度的反异型 C15:0,即由于 ISO 和 ante-ISO 的 C15:0 相对含量不同导致了革兰氏阳性菌的分离。基于 Voorhees 等<sup>[95]</sup>采用 EI 和 CI 电离源对细菌检测能力对比的研究, Barshick 等<sup>[99]</sup>结合 CI 和离子阱质量分析器区分了 5 种革兰氏阴性病原微生物,并对比了 4 种化学电离试剂的 Py-MS 分析效果,以进一步优化电离方法;发现相比于 EI, CI 显著减弱了碎片化程度,并增强了脂肪酸分子离子的强度。此外,使用乙醇作为化学电离试剂时,可显著增强 C12~C18 脂肪酸分子离子的强度,其特征谱不仅能区分细菌属种,还可精准鉴定至亚种水平,较 EI 具有更优的分类效果(EI 电离只能实现属层次上的区分)。

针对复杂样本的检测难题, Basile 等<sup>[100]</sup>采用 Py-MS 结合原位热水解甲基化(*in situ* THM)技术(TMAH 作为甲基化试剂)快速分析细菌样本中的 FAME,研究包括炭疽杆菌、鼠疫杆菌等在内的 6 种病原体在不同生长条件下的脂质特征,发现某些细菌难以通过 Py-MS 进行准确区分(如在 C10ME~C20ME 质量范围内,土拉氏菌属无法与布鲁氏菌属区分)。随后, Basile 等通过优化质谱仪质量检测范围,发现土拉氏菌属存在独特的细胞饱和脂肪酸和单不饱和脂肪酸(如 C24:1 $\omega$ 15c、C18:1 $\omega$ 9c、C22:1 $\omega$ 13c),这意味着特定质量范围的优化可提升菌属鉴别的特异性,针对不同的检测样本可能存在潜在的质量范围优化需求;同时也表明某些脂肪酸可能是特定病原体的独特生物标志物,通过检测这些特征离子可以区分不同的病原体。针对 Py-MS、*in situ* THM、TMAH 甲基化衍生等名称重复使用的问题,研究人员对使用 TMAH 作为甲基化试剂的原位甲基化-热裂解质谱法进行了规范化命名,称为原位热辅助水解甲基化质谱技术(*in situ* THM-MS),以此区分传统 Py-MS、提取物甲基衍生化 Py-MS 及 *in situ* THM-MS。其中,传统 Py-MS 泛指热裂解与质谱分析法的联用,既包括热裂解与质谱的直接联用、热裂解与气相色谱及质谱的多重联用,还包括提取物甲基衍生化 Py-MS 及 *in situ* THM-MS。提取物甲基衍生化 Py-MS 包含目标物提取、纯化、甲基衍生化及质谱检测在内的一系列操作;*In situ* THM-MS 创新性地优化了目标物提取、纯化等步骤,使样品与 TMAH 在热裂解

反应过程中发生甲基衍生化,显著缩短了流程耗时,可实现原位检测。

Basile等<sup>[101]</sup>基于该实验室先前的Py-MS法检测细菌脂肪酸以区分细菌的研究,将*in situ* THM-MS与基于传统的化学提取脂质的Py-MS及基于GC的MIDI商业全自动微生物鉴定系统的检测结果进行对比。结果表明,*in situ* THM-MS法与GC和提取物甲基衍生化Py-MS方法的结果一致,均能够将细菌样本分为3个离散簇类,且可以在5 min内完成分析,所需时间远短于传统生物学检测方法;此外,所需的细胞数量约为 $2 \times 10^6$ ,少于MIDI系统要求的 $2.4 \times 10^{10}$ ,充分彰显了现场快速检测的优势。

在商品化方面,基于众多研究人员对*in situ* THM-MS法可行性、检测能力的验证,Bruker公司设计生产了具有现场检测能力的Block CBMS,随后经过技术迭代,生产了功能更强大的Block II CBMS。Griest等<sup>[13]</sup>介绍了Block II CBMS对现场生物气溶胶的检测效果,通过喷墨式气溶胶发生器(IJAG)收集和浓缩环境空气中的生物气溶胶,再通过TMAH介导的甲基衍生化过程,从完整微生物中快速回收细菌磷脂膜脂肪酸,用质谱仪的全扫描乙醇CI模式进行分析,并通过线性判别分析区分不同微生物。此外,还对革兰氏阴性菌、革兰氏阳性菌和OVA等模拟生物战剂进行测试,进一步验证了Block II CBMS和*in situ* THM-MS法对生物样品的现场检测和识别能力,标志着Py-MS技术已从实验室研究迈向现场生物安全监测应用。

#### 2.4 其他类型样品检测

Py-MS技术的检测对象不局限于常规生物大分子,其在特殊生物结构及合成材料分析中亦展现出独特优势。以细菌孢子检测为例,如芽孢杆菌属、梭菌属、放线菌及固氮菌在逆境中会产生孢子,而细菌孢子中含有5%~14%特征成分二吡啶二甲酸(dipicolinic acid, DPA),其含量与孢子成熟度直接相关。通过检测DPA可以确认孢子的存在,进而判断细菌样品的生理状态及对孢子细胞进行定量分析。传统的DPA检测方法,如分光光度法、液相色谱法和气相色谱法等普遍存在前处理流程复杂、分析周期长等问题。Beverly团队<sup>[102]</sup>使用居里点热解/三重四极杆质谱仪和微管炉热解/四极杆离子阱质谱仪,

通过*in situ* THM-MS法用TMAH将DPA原位转化为甲基化衍生物(mDPA),结合三重四极杆与离子阱质谱的全扫描及碰撞诱导解离(CID)实验,成功捕获炭疽芽孢杆菌中mDPA的特征碎片离子,实现了孢子特异性标志物的精准检测。Goodacre等<sup>[103]</sup>采用Curie-point Py-MS法和FT-IR法检测芽孢杆菌孢子中DPA生物标志物,构建了基于DPA特征峰的孢子-营养细胞鉴别模型,为微生物生理状态评估提供了快速分析策略。

在可回收材料研究领域<sup>[104-105]</sup>,Py-MS技术为生物基可降解塑料的研发提供了关键的技术支持。以聚羟基脂肪酸酯(PHA)为例,其因生物降解性和可再生性受到广泛关注。对于微生物合成菌株而言,PHA含量更高的菌株对PHA具有更强的回收能力,在减少环境负担的同时,还可以节省工业提取和纯化步骤的时间和成本,具有较高的应用价值和商业潜力。Khang等<sup>[106]</sup>基于Py-GC-MS快速分析测定微生物细胞中PHA含量及其单体组成,同时对具有不同PHA回收能力的重组大肠杆菌进行筛选。该方法不仅能够高效筛选高PHA产率菌株,还可实时评估发酵过程以优化效果,显著缩短了从实验室研发到工业应用的转化周期,为生物可降解塑料的可持续发展提供了有力的分析工具。

#### 2.5 热裂解温度对主要生物分子裂解行为的影响

热裂解温度是Py-MS技术中最关键的参数之一,直接决定生物大分子的裂解途径和最终产物的分布。生物样品中的不同组分(如蛋白质、核酸、脂质)由于其化学结构和键能的差异,具有显著不同的热稳定性,因此,在不同的温度区间会表现出特征性裂解行为。优化裂解温度对于获得高信噪比、高特异性的特征指纹图谱至关重要。对3类生物分子进行特征识别时,最适宜的热裂解温度区间列于表3。

氨基酸和蛋白质的热裂解行为强烈依赖于温度,并伴随着与TMAH的在线甲基化反应<sup>[28,107]</sup>。在300~400℃区间,主导反应是TMAH对氨基酸的在线甲基化,氨基酸的羧基被有效甲酯化,生成相应的氨基酸甲酯,这些酯类产物挥发性好,能够提供清晰的单体信息,用于氨基酸组成的定性和定量分析;在400~600℃区间,随着温度升高,肽键(C—N键)开始断裂,蛋白质主链发生随机裂解,同时,氨基酸侧链的裂解反应加剧,

表3 热裂解温度对3类生物分子特征产物的影响<sup>[28, 83, 107-110]</sup>

生物分子类别 Biomolecule class	最佳温度范围 Temperature range/°C	特征性裂解产物 Characteristic product	温度过高引发的问题 Consequences of excessive temperature (>600 °C)
氨基酸/蛋白质	350~500	<i>N/O</i> -三甲基化氨基酸甲酯(源于水解与甲基化)、侧链特异性碎片(如羧脯氨酸产生的吡咯类、酪氨酸产生的酚类)	过度分解导致非特异性小分子(如腈类、轻质烃类)数量剧增, 样品结构信息丢失, 背景噪声增加
核苷酸/核酸	400~500	甲基化碱基(如 <i>N</i> -甲基腺嘌呤、 <i>O</i> -甲基鸟嘌呤)、磷酸三甲酯	碱基发生脱氨基和水解, 或碳化形成多环芳烃, 丧失生物标志物特异性
脂质	350~450	脂肪酸甲酯(通过甘油三酯的热裂解及游离脂肪酸的酯化反应生成)	脂肪酸链发生脱水与脱羧反应, 生成大量烷烃、烯烃及烷基腈类, 使谱图解析复杂化

产生吡咯、苯酚、甲苯等化合物及衍生物; 当温度大于 600 °C, 过度裂解占主导, 会产生大量非特征性小分子碎片, 如烯烃、腈类、芳香烃等, 这些碎片的背景噪音高, 会掩盖特征信号, 降低方法的特异性。

核酸的热稳定性较差, 其裂解行为对温度极为敏感<sup>[83]</sup>。在 350 °C 以下, 主要发生碱基的释放和甲基化, 若存在 TMAH, 碱基(如 AMP、CMP、TMP、GMP、UMP)从其糖苷键上断裂下来, 并被甲基化; 350~500 °C 区间是获得核酸特征谱图的最佳范围, 糖-磷酸骨架发生断裂, 释放出完整的甲基化碱基(如 *N*-甲基腺嘌呤、*O*-甲基鸟嘌呤), 这些碱基是核酸最典型的生物标志物; 但当温度大于 500 °C 时, 会导致碱基本身发生开环、脱氨基反应, 降低特征性, 同时还会发生严重的碳化反应, 产生复杂的含氮杂环化合物和 CO、CO<sub>2</sub> 等小分子气体, 严重干扰质谱检测。

脂质的热裂解过程主要包括水解和甲基化<sup>[28, 108-110]</sup>。在 300~450 °C 区间、存在 TMAH 时, 脂质的在线热化学甲基化占主导, 即甘油三酯的酯键被 TMAH 水解, 生成的游离脂肪酸立即被甲基化生成 FAME; 在 450~600 °C 区间, 甘油骨架裂解, 产生丙烯醛、丙酮等小分子酮类和醛类, 同时, 脂肪酸链发生裂解生成短链烃类, 产生直链烷烃、烯烃、链烷腈等复杂混合物; 当温度大于 600 °C, 同样会发生严重的碳化反应, 生成无特征的碳质残渣。

在实际生物样品分析中, 由于样品通常为多种生物分子的混合物, 裂解温度的选择往往需要一个折衷方案。通常, 350~550 °C 是广泛使用的起始优化温度, 能够较好地平衡蛋白质、核酸和脂质的裂解与衍生化效率。针对特定的研究目的, 则需要对温度条件进行针对性优化。

### 3 结语

Py-MS 及其衍生技术已在生物分子实时检测领域展现出显著优势, 不仅成功应用于蛋白质、核酸、脂肪酸等生物大分子的原位分析, 还延伸至生物质材料、合成高分子等化工领域, 通过解析特征裂解产物, 为材料分子结构推断、合成过程验证及性能预测提供关键的数据支撑。

然而, 该技术实现更广泛的实际应用仍需克服一系列核心挑战: 其一, 裂解产物由热裂解装置至质谱检测器的传输效率较低, 制约了检测灵敏度; 其二, 复杂的热裂解-电离级联反应导致谱图解析极为困难, 当前缺乏标准化的裂解谱库, 是限制检测效率的主要瓶颈; 其三, 现有系统的集成度与便携性不足, 限制了其在现场分析的应用潜力; 其四, 真空系统的快速启动与稳定维持能力不足, 是实现高效即时检测的关键技术壁垒。

未来, Py-MS 技术的发展需依赖于多技术维度的融合与创新。在谱图解析与化合物鉴定层面, 亟需将人工智能与机器学习深度应用于复杂裂解谱图的解析。通过构建大规模标准化裂解数据库并训练专用算法, 可实现裂解途径的智能预测与混合物组分的快速、精准鉴定, 从而提升分析深度与效率。在仪器设计与性能提升层面, 应致力于微型化质谱仪与高分辨检测器的联用开发。微型化是实现现场便携分析的必由之路, 通过与离子迁移谱等分离技术联用<sup>[111-113]</sup>, 可增加分离维度, 有效区分共流出物; 与超高分辨质谱联用, 则能凭借其精确质量数测定能力<sup>[114]</sup>, 极大拓宽未知化合物的鉴定广度。通过上述在机理研究、智能算法、仪器微型化与多维联用等方面的协同创新, Py-MS 技术有望突破现有定性分析局限, 逐步建立精准定量检测体系, 进而推动其在环境监测、临床诊断、工业过程控制等领域

的应用深度, 最终实现从实验室分析工具到现场智能决策平台的跨越式发展。

#### 参考文献:

- [1] MEUZELAAR H L C, WINDIG W, HARPER A M, HUFF S M, McCLENNEN W H, RICHARDS J M. Pyrolysis mass spectrometry of complex organic materials[J]. *Science*, 1984, 226(4 672): 268-274.
- [2] DEMPSTER A J. A new method of positive ray analysis[J]. *Physical Review*, 1918, 11(4): 316-325.
- [3] 黄泽建, 刘广才, 江游, 刘梅英, 朴怡情, 龚晓云, 翟睿, 谢洁, 戴新华, 方向. 小型四极杆质量分析器的设计与性能测试[J]. *分析化学*, 2019, 47(7): 985-991.  
HUANG Zejian, LIU Guangcai, JIANG You, LIU Meiyong, PIAO Yiqing, GONG Xiaoyun, ZHAI Rui, XIE Jie, DAI Xinhua, FANG Xiang. Design and performance analysis of a miniature quadrupole mass analyzer[J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2019, 47(7): 985-991(in Chinese).
- [4] 黄泽建, 江游, 熊行创, 张小华, 方向. 基于叠型场线性离子阱的便携式质谱仪研制与应用[J]. *质谱学报*, 2011, 32(2): 104-107.  
HUANG Zejian, JIANG You, XIONG Xingchuang, ZHANG Xiaohua, FANG Xiang. Design and test of portable mass spectrometer based on step-like electrode linear ion trap[J]. *Journal of Chinese Mass Spectrometry Society*, 2011, 32(2): 104-107(in Chinese).
- [5] 黄泽建, 熊行创, 方向. 基于矩形离子阱的台式质谱仪的设计与性能[J]. *现代科学仪器*, 2008(4): 50-53.  
HUANG Zejian, XIONG Xingchuang, FANG Xiang. Development and performance of a desktop mass spectrometer based on rectilinear ion trap[J]. *Modern Scientific Instruments*, 2008(4): 50-53(in Chinese).
- [6] 黄泽建, 白岗, 江游, 张小华, 熊行创, 方向. 气相色谱矩形离子阱质谱联用仪的设计与性能[J]. *分析化学*, 2008, 36(3): 413-418.  
HUANG Zejian, BAI Gang, JIANG You, ZHANG Xiaohua, XIONG Xingchuang, FANG Xiang. Design and performance of gas chromatography-rectangular ion trap mass spectrometer[J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2008, 36(3): 413-418(in Chinese).
- [7] ZHANG D, JIANG Y, CHU S, DAI X, FANG X. Extending the mass-to-charge scannable range of a linear ion trap mass spectrometer through quadrupolar direct current scan[J]. *International Journal of Mass Spectrometry*, 2022, 471: 116 760.
- [8] 黄泽建, 唐晓强, 方向. 一种光电离子阱质谱仪技术研究[J]. *质谱学报*, 2009, 30(2): 65-69.  
HUANG Zejian, TANG Xiaoliang, FANG Xiang. Development and research of a miniature photoionization ion trap mass spectrometer[J]. *Journal of Chinese Mass Spectrometry Society*, 2009, 30(2): 65-69(in Chinese).
- [9] 黄泽建, 江游, 岳君容, 龚晓云, 刘梅英, 方向. 一种在线监测快速过程质谱仪的设计与测试[J]. *质谱学报*, 2018, 39(4): 399-406.  
HUANG Zejian, JIANG You, YUE Junrong, GONG Xiaoyun, LIU Meiyong, FANG Xiang. Design and test for on-line rapid process mass spectrometer[J]. *Journal of Chinese Mass Spectrometry Society*, 2018, 39(4): 399-406(in Chinese).
- [10] ZEMANY P D. Identification of complex organic materials[J]. *Analytical Chemistry*, 1952, 24(11): 1 709-1 713.
- [11] LINDON J C, TRANTER G E, KOPPENAAL D W. *Encyclopedia of spectroscopy and spectrometry*[M]. Third Edition. Oxford: Academic Press, 2017: 789-801.
- [12] MEUZELAAR H L C, WINDIG W, HUFF S M, RICHARDS J M. Process monitoring and quality assurance of polymeric materials by computerized pyrolysis mass spectrometry[J]. *Analytica Chimica Acta*, 1986, 190: 119-132.
- [13] GRIEST W H, WISE M B, HART K J, LAMMERT S A, THOMPSON C V, VASS A A. Biological agent detection and identification by the block II chemical biological mass spectrometer[J]. *Field Analytical Chemistry & Technology*, 2001, 5(4): 177-184.
- [14] ROMAY F J, ROBERTS D L, MARPLE V A, LIU B Y H, OLSON B A. A high-performance aerosol concentrator for biological agent detection[J]. *Aerosol Science and Technology*, 2002, 36(2): 217-226.
- [15] GROB R L, BARRY E F, GROB R L, BARRY E F. *Modern practice of gas chromatography*[M]. Hoboken: John Wiley & Sons Inc, 2004.
- [16] GREENWOOD P F, GEORGE S C, WILSON M A, HALL K J. A new apparatus for laser micropyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry[J]. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 1996, 38(1/2): 101-118.
- [17] MORRIS R M, KLABUNDE K J. Formation of paramagnetic adsorbed molecules on thermally activated magnesium and calcium oxides. Further studies of carbon monoxide[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 1983, 105(9): 2 633-2 639.
- [18] McALPIN C R, VOORHEES K J, CORPUZ A R, RICHARDS R M. Analysis of lipids: metal oxide laser ionization mass spectrometry[J]. *Analytical Chemistry*, 2012, 84(18): 7 677-7 683.
- [19] VOORHEES K J, McALPIN C R, COX C R. Lipid pro-

- filing using catalytic pyrolysis/metal oxide laser ionization-mass spectrometry[J]. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 2012, 98: 201-206.
- [20] SCHULTEN H R, LATTIMER R P. Applications of mass spectrometry to polymers[J]. *Mass Spectrometry Reviews*, 1984, 3(2): 231-315.
- [21] SPÖRL J, SPEER K, JIRA W. A rapid LC-MS/MS multi-method for the detection of 23 foreign protein sources from legumes, oilseeds, grains, egg and milk in meat products[J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2023, 124: 105 628.
- [22] ROGIER E, PLUCINSKI M, LUCCHI N, MACE K, CHANG M, LEMOINE J F, CANDRINHO B, COLBORN J, DIMBU R, FORTES F, UDHAYAKUMAR V, BARNWELL J. Bead-based immunoassay allows sub-picogram detection of histidine-rich protein 2 from *Plasmodium falciparum* and estimates reliability of malaria rapid diagnostic tests[J]. *PLoS One*, 2017, 12(2): e0172139.
- [23] GAJULA S N R, KHAIRNAR A S, JOCK P, KUMARI N, PRATIMA K, MUNJAL V, KALAN P, SONTI R. LC-MS/MS: a sensitive and selective analytical technique to detect COVID-19 protein biomarkers in the early disease stage[J]. *Expert Review of Proteomics*, 2023, 20(1/2/3): 5-18.
- [24] BÁNYÁSZ B, ANTAL J, DÉNES B. Ghostbuster-a western blot-based panel method to resolve false-positive brucellosis serology test results[J]. *Microorganisms*, 2025, 13(3): 574.
- [25] RANADIVE N, KUNENE S, DARTEH S, NTSHALINTSHALI N, NHLABATHI N, DLAMINI N, CHITUNDU S, SAINI M, MURPHY M, SOBLE A, SCHWARTZ A, GREENHOUSE B, HSIANG M S. Limitations of rapid diagnostic testing in patients with suspected malaria: a diagnostic accuracy evaluation from Swaziland, a low-endemicity country aiming for malaria elimination[J]. *Clinical Infectious Diseases*, 2017, 64(9): 1 221-1 227.
- [26] LEE C H, CAO H, JIANG S, WONG T T, TSE C W, HO P L. Inoculum size and false-positive detection of NDM- and OXA-48-type carbapenemases using two multiplex lateral flow assays[J]. *Diagnostics*, 2024, 14(12): 1 274.
- [27] DAVID M, MUSADJI N Y, LABANOWSKI J, STERNBERG R, GEFFROY-RODIER C. Pilot for validation of online pretreatments for analyses of organics by gas chromatography-mass spectrometry: application to space research[J]. *Analytical Chemistry*, 2016, 88(10): 5 137-5 144.
- [28] BOULESTEIX D, BUCH A, WILLIAMS A J, HE Y, FREISSINET C, TRAINER M G, STERN J C, SZOPA C. Comparison of tetramethylammonium hydroxide (TMAH), trimethylsulfonium hydroxide (TMSH), and trimethylphenylammonium hydroxide (TMPAH) thermochemolysis for *in situ* space analysis of organic molecules in planetary environments[J]. *Talanta*, 2023, 257: 124 283.
- [29] BASIUK V A, DOUDA J. Pyrolysis of poly-glycine and poly-l-alanine: analysis of less-volatile products by gas chromatography/Fourier transform infrared spectroscopy/mass spectrometry[J]. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 2000, 55(2): 235-246.
- [30] DOUDA J, BASIUK V A. Pyrolysis of amino acids: recovery of starting materials and yields of condensation products[J]. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 2000, 56(1): 113-121.
- [31] SHARMA R K, CHAN W G, SEEMAN J I, HAJALIGOL M R. Formation of low molecular weight heterocycles and polycyclic aromatic compounds (PACs) in the pyrolysis of  $\alpha$ -amino acids[J]. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 2003, 66(1/2): 97-121.
- [32] LI J, LIU Y, SHI J, WANG Z, HU L, YANG X, WANG C. The investigation of thermal decomposition pathways of phenylalanine and tyrosine by TG-FTIR [J]. *Thermochimica Acta*, 2008, 467(1/2): 20-29.
- [33] LI J, WANG Z, YANG X, HU L, LIU Y, WANG C. Evaluate the pyrolysis pathway of glycine and glycerylglycine by TG-FTIR[J]. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 2007, 80(1): 247-253.
- [34] SHARMA R K, CHAN W G, WANG J, WAYMACK B E, WOOTEN J B, SEEMAN J I, HAJALIGOL M R. On the role of peptides in the pyrolysis of amino acids[J]. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 2004, 72(1): 153-163.
- [35] TSUGE S, MATSUBARA H. High-resolution pyrolysis-gas chromatography of proteins and related materials[J]. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 1985, 8: 49-64.
- [36] BOCIAN W, SITKOWSKI J, BEDNAREK E, TARNOWSKA A, KAWECKI R, KOZERSKI L. Structure of human insulin monomer in water/acetonitrile solution[J]. *Journal of Biomolecular NMR*, 2008, 40(1): 55-64.
- [37] BUSTO-MONER L, FENG C J, ANTOSZEWSKI A, TOKMAKOFF A, DINNER A R. Structural ensemble of the insulin monomer[J]. *Biochemistry*, 2021, 60(42): 3 125-3 136.
- [38] ORSINI S, DUCE C, BONADUCE I. Analytical pyrolysis of ovalbumin[J]. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 2018, 130: 62-71.

- [39] GALLOIS N, TEMPLIER J, DERENNE S. Pyrolysis-gas chromatography-mass spectrometry of the 20 protein amino acids in the presence of TMAH[J]. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 2007, 80(1): 216-230.
- [40] BOON J J, de LEEUW J W. Amino acid sequence information in proteins and complex proteinaceous material revealed by pyrolysis-capillary gas chromatography-low and high resolution mass spectrometry[J]. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 1987, 11: 313-327.
- [41] WEBER L W, SPLEIB M. Formation of volatile organic compounds from peptides during CO<sub>2</sub>-IR-laser irradiation of different mammalian tissues[J]. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 1997, 39(1): 65-77.
- [42] ORSINI S, BRAMANTI E, BONADUCE I. Analytical pyrolysis to gain insights into the protein structure. The case of ovalbumin[J]. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 2018, 133: 59-67.
- [43] PETROTCHENKO E V, BORCHERS C H. Protein chemistry combined with mass spectrometry for protein structure determination[J]. *Chemical Reviews*, 2022, 122(8): 7488-7499.
- [44] TUNYASUVUNAKOOL K, ADLER J, WU Z, GREEN T, ZIELINSKI M, ŽÍDEK A, BRIDGLAND A, COWIE A, MEYER C, LAYDON A, VELANKAR S, KLEYWEGT G J, BATEMAN A, EVANS R, PRITZEL A, FIGURNOV M, RONNEBERGER O, BATES R, KOHL S A A, POTAPENKO A, BALLARD A J, ROMERA-PAREDES B, NIKOLOV S, JAIN R, CLANCY E, REIMAN D, PETERSEN S, SENIOR A W, KAVUKCUOGLU K, BIRNEY E, KOHLI P, JUMPER J, HASSABIS D. Highly accurate protein structure prediction for the human proteome[J]. *Nature*, 2021, 596(7873): 590-596.
- [45] LIU Z, SOKRATIAN A, DUDA A M, XU E, STANHOPE C, FU A, STRADER S, LI H, YUAN Y, BOBAY B G, SIPE J, BAI K, LUNDGAARD I, LIU N, HERNANDEZ B, BOWES RICKMAN C, MILLER S E, WEST A B. Anionic nanoplastic contaminants promote Parkinson's disease-associated  $\alpha$ -synuclein aggregation[J]. *Science Advances*, 2023, 9(46): eadi8716.
- [46] HEEMELS M T. Neurodegenerative diseases[J]. *Nature*, 2016, 539(7628): 179.
- [47] CREEKMORE B C, WATANABE R, LEE E B. Neurodegenerative disease tauopathies[J]. *Annual Review of Pathology*, 2024, 19: 345-370.
- [48] ZANG X, BROWN J C, van HEEMST J D H, PALUMBO A, HATCHER P G. Characterization of amino acids and proteinaceous materials using online tetramethylammonium hydroxide (TMAH) thermochemicalysis and gas chromatography-mass spectrometry technique[J]. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 2001, 61(1/2): 181-193.
- [49] REEVES J B, FRANCIS B A. Pyrolysis-gas-chromatography-mass-spectrometry for the analysis of forages and by-products[J]. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 1997, 40: 243-266.
- [50] CHIAVARI G, GALLETTI G C. Pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry of amino acids[J]. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 1992, 24(2): 123-137.
- [51] HENDRICKER A D, VOORHEES K J. An investigation into the Curie-point pyrolysis-mass spectrometry of glycyl dipeptides[J]. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 1996, 36(1): 51-70.
- [52] NOGUEROLA A S, MURUGAVERL B, VOORHEES K J. An investigation of dipeptides containing polar and nonpolar side groups by Curie-point pyrolysis tandem mass spectrometry[J]. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 1992, 3(7): 750-756.
- [53] VOORHEES K J, ZHANG W, HENDRICKER A D, MURUGAVERL B. An investigation of the pyrolysis of oligopeptides by Curie-point pyrolysis-tandem mass spectrometry[J]. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 1994, 30(1): 1-16.
- [54] FISCHER P M. Diketopiperazines in peptide and combinatorial chemistry[J]. *Journal of Peptide Science*, 2003, 9(1): 9-35.
- [55] SMITH G G, REDDY G S, BOON J J. Gas chromatographic-mass spectrometric analysis of the Curie-point pyrolysis products of some dipeptides and their diketopiperazine[J]. *J Chem Soc, Perkin Trans 2*, 1988(2): 203-211.
- [56] FABRI D, ADAMIANO A, FALINI G, de MARCO R, MANCINI I. Analytical pyrolysis of dipeptides containing proline and amino acids with polar side chains. Novel 2,5-diketopiperazine markers in the pyrolysates of proteins[J]. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 2012, 95: 145-155.
- [57] ZHOU R, BASILE F. Convective-heating thermal decomposition/digestion of peptides and proteins on surfaces[J]. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 2017, 127: 451-460.
- [58] van der HAGE E R E, MULDER M M, BOON J J. Structural characterization of lignin polymers by temperature-resolved in-source pyrolysis-mass spectrometry and Curie-point pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry[J]. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 1993, 25: 149-183.

- [59] SCHEIJEN M A, BOON J J, HASS W, HEEMANN V. Characterization of tobacco lignin preparations by Curie-point pyrolysis-mass spectrometry and Curie-point pyrolysis-high-resolution gas chromatography/mass spectrometry[J]. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 1989, 15: 97-120.
- [60] van ARENDONK J J C M, NIEMANN G J, BOON J J. The effect of enzymatic removal of proteins from plant leaf material as studied by pyrolysis-mass spectrometry: detection of additional protein marker fragment ions[J]. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 1997, 42(1): 33-51.
- [61] VOORHEES K J, ABBAS-HAWKS C, MIKETOVA P. Identification of protein biomarkers in the pyrolysis electron ionization high-resolution mass spectrum of *Brucella neotomae*[J]. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 2006, 75(2): 90-96.
- [62] ISHIWATARI M, ISHIWATARI R, SAKASHITA H, TATSUMI T, TOMINAGA H O. Pyrolysis of chlorophyll a after preliminary heating at a moderate temperature: implications for the origin of prist-1-ene on kerosene pyrolysis[J]. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 1991, 18(3/4): 207-218.
- [63] HENDRICKER A D, BASILE F, VOORHEES K J. A study of protein oxidative products using a pyrolysis-membrane inlet quadrupole ion trap mass spectrometer with air as the buffer gas[J]. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 1998, 46(1): 65-82.
- [64] GERDE J A, WANG T, YAO L, JUNG S, JOHNSON L A, LAMSAL B. Optimizing protein isolation from defatted and non-defatted *Nannochloropsis* microalgae biomass[J]. *Algal Research*, 2013, 2(2): 145-153.
- [65] SCHOLZ M J, WEISS T L, JINKERSON R E, JING J, ROTH R, GOODENOUGH U, POSEWITZ M C, GERKEN H G. Ultrastructure and composition of the *Nannochloropsis gaditana* cell wall[J]. *Eukaryotic Cell*, 2014, 13(11): 1 450-1 464.
- [66] WANG X, SHENG L, YANG X. Pyrolysis characteristics and pathways of protein, lipid and carbohydrate isolated from microalgae *Nannochloropsis sp*[J]. *Biore-source Technology*, 2017, 229: 119-125.
- [67] NIU Q, PRINS W, RONSSE F. Microalgae fractionation and pyrolysis of extracted microalgae biopolymers[J]. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 2023, 172: 106 000.
- [68] POTIER N, van DORSSELAER A, CORDIER Y, ROCH O, BISCHOFF R. Negative electrospray ionization mass spectrometry of synthetic and chemically modified oligonucleotides[J]. *Nucleic Acids Research*, 1994, 22(19): 3 895-3 903.
- [69] REDDY D M, IDEN C R. Analysis of modified deoxynucleosides by electrospray ionization mass spectrometry[J]. *Nucleosides and Nucleotides*, 1993, 12(8): 815-826.
- [70] FITZGERALD M C, SMITH L M. Mass spectrometry of nucleic acids: the promise of matrix-assisted laser desorption-ionization (MALDI) mass spectrometry[J]. *Annual Review of Biophysics and Biomolecular Structure*, 1995, 24: 117-140.
- [71] KIRPEKAR F, NORDHOFF E, KRISTIANSEN K, ROEPSTORFF P, LEZIUS A, HAHNER S, KARAS M, HILLENKAMP F. Matrix assisted laser desorption/ionization mass spectrometry of enzymatically synthesized RNA up to 150 kDa[J]. *Nucleic Acids Research*, 1994, 22(19): 3 866-3 870.
- [72] PIELES U, ZÜRCHER W, SCHÄR M, MOSER H E. Matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry: a powerful tool for the mass and sequence analysis of natural and modified oligonucleotides[J]. *Nucleic Acids Research*, 1993, 21(14): 3 191-3 196.
- [73] CHRISTIAN N P, COLBY S M, GIVER L, HOUSTON C T, ARNOLD R J, ELLINGTON A D, REILLY J P. High resolution matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight analysis of single-stranded DNA of 27 to 68 nucleotides in length[J]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 1995, 9(11): 1 061-1 066.
- [74] CHARNOCK G A, LOO J L. Mass spectral studies of deoxyribonucleic acid[J]. *Analytical Biochemistry*, 1970, 37(1): 81-84.
- [75] WIEBERS J L. Sequence analysis of oligodeoxyribonucleotides by mass spectrometry[J]. *Analytical Biochemistry*, 1973, 51(2): 542-556.
- [76] WIEBERS J L, SHAPIRO J A. Sequence analysis of oligodeoxyribonucleotides by mass spectrometry. 1. Dinucleoside monophosphates[J]. *Biochemistry*, 1977, 16(6): 1 044.
- [77] BURGARD D R, PERONE S P, WIEBERS J L. Sequence analysis of oligodeoxyribonucleotides by mass spectrometry. 2. Application of computerized pattern recognition to sequence determination of di-, tri-, and tetranucleotides[J]. *Biochemistry*, 1977, 16(6): 1 051-1 057.
- [78] WIEBERS J L. Detection and identification of minor nucleotides in intact deoxyribonucleic acids by mass spectrometry[J]. *Nucleic Acids Research*, 1976, 3(11): 2 959-2 970.
- [79] SCHOEN A E, COOKS R G, WIEBERS J L. Modified bases characterized in intact DNA by mass-analyzed ion

- kinetic energy spectrometry[J]. *Science*, 1979, 203(4 386): 1 249-1 251.
- [80] RICE J M, DUDEK G O, BARBER M. Mass spectra of nucleic acid derivatives. Pyrimidines[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 1965, 87(20): 4 569-4 576.
- [81] RICE J M, DUDEK G O. Mass spectra of nucleic acid derivatives. II. Guanine, adenine, and related compounds [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 1967, 89(11): 2 719-2 725.
- [82] ABBAS-HAWKS C, VOORHEES K J, MIKETOVA P. Identification of carbohydrate and nucleic acid biomarkers in the pyrolysis electron ionization-high-resolution mass spectrum of *Brucella neotomae*[J]. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 2006, 76(1/2): 6-13.
- [83] JARMAN M. Pyrolysis of deoxyribonucleic acid isolation and mass spectrometry of individual pyrolysis products[J]. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 1980, 2(3): 217-223.
- [84] VOORHEES K J, BASILE F, BEVERLY M B, ABBAS-HAWKS C, HENDRICKER A, CODY R B, HADFIELD T L. The use of biomarker compounds for the identification of bacteria by pyrolysis-mass spectrometry[J]. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 1997, 40: 111-134.
- [85] SAHOTA R S, MORGAN S L, CREEK K E. A pyrolysis-gas chromatographic/mass spectrometric method for measuring the DNA content of cultured mammalian cells[J]. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 1992, 24(2): 107-122.
- [86] SIMONEIT B R T. Molecular indicators (biomarkers) of past life[J]. *The Anatomical Record*, 2002, 268(3): 186-195.
- [87] DONG Y, SUN F, PING Z, OUYANG Q, QIAN L. DNA storage: research landscape and future prospects[J]. *National Science Review*, 2020, 7(6): 1 092-1 107.
- [88] BASIUK V A, DOUDA J. Pyrolysis of simple amino acids and nucleobases: survivability limits and implications for extraterrestrial delivery[J]. *Planetary and Space Science*, 1999, 47(3/4): 577-584.
- [89] NAGY B, DREW D M, HAMILTON P B, MODZELSKI V E, MURPHY M E, SCOTT W M, UREY H C, YOUNG M. Organic compounds in lunar samples: pyrolysis products, hydrocarbons, amino acids[J]. *Science*, 1970, 167(3 918): 770-773.
- [90] HE Y, BUCH A, SZOPA C, WILLIAMS A, FREISSINET C, GUZMAN M, MILLAN M, COSCIA D, BONNET J Y, CABANE M. The application of TMAH thermochemolysis on the detection of nucleosides: applications for the SAM and MOMA instruments[J]. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 2022, 168: 105 790.
- [91] HE Y, BUCH A, SZOPA C, WILLIAMS A, FREISSINET C, GUZMAN M, BOULESTEIX D, MILLAN M, COSCIA D, BONNET J Y, CABANE M. The application of TMAH thermochemolysis on the detection of nucleotides: applications for the SAM and MOMA space experiments[J]. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 2023, 170: 105 933.
- [92] HE Y, BUCH A, MORISSON M, SZOPA C, FREISSINET C, WILLIAMS A, MILLAN M, GUZMAN M, NAVARRO-GONZALEZ R, BONNET J Y, COSCIA D, EIGENBRODE J L, MALESPIN C A, MAHAFFY P, GLAVIN D P, DWORKIN J P, LU P, JOHNSON S S. Application of TMAH thermochemolysis to the detection of nucleobases: application to the MOMA and SAM space experiment[J]. *Talanta*, 2019, 204: 802-811.
- [93] FONSECA GUERRA C, BICKELHAUPT F M, SAHA S, WANG F. Adenine tautomers: relative stabilities, ionization energies, and mismatch with cytosine[J]. *The Journal of Physical Chemistry A*, 2006, 110(11): 4 012-4 020.
- [94] HANUS M, KABELÁČ M, REJNEK J, RYJÁČEK F, HOBZA P. Correlated *ab initio* study of nucleic acid bases and their tautomers in the gas phase, in a microhydrated environment, and in aqueous solution. Part 3. adenine[J]. *The Journal of Physical Chemistry B*, 2004, 108(6): 2 087-2 097.
- [95] VOORHEES K J, DURFEE S L, HOLTZCLAW J R, ENKE C G, BAUER M R. Pyrolysis-tandem mass spectrometry of bacteria[J]. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 1988, 14(1): 7-15.
- [96] HOLZER G, BOURNE T F, BERTSCH W. Analysis of *in situ* methylated microbial fatty acid constituents by Curie-point pyrolysis-gas chromatography-mass spectrometry[J]. *Journal of Chromatography A*, 1989, 468: 181-190.
- [97] MILLER L T. Single derivatization method for routine analysis of bacterial whole-cell fatty acid methyl esters, including hydroxy acids[J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 1982, 16(3): 584-586.
- [98] BASILE F, VOORHEES K J, HADFIELD T L. Microorganism gram-type differentiation based on pyrolysis-mass spectrometry of bacterial fatty acid methyl ester extracts[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1995, 61(4): 1 534-1 539.
- [99] BARSHICK S A, WOLF D A, VASS A A. Differentiation of microorganisms based on pyrolysis-ion trap mass spectrometry using chemical ionization[J]. *Analyt-*

- ical Chemistry, 1999, 71(3): 633-641.
- [100] BASILE F, BEVERLY M B, VOORHEES K J, HADFIELD T L. Pathogenic bacteria: their detection and differentiation by rapid lipid profiling with pyrolysis mass spectrometry[J]. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 1998, 17(2): 95-109.
- [101] BASILE F, BEVERLY M B, ABBAS-HAWKS C, MOWRY C D, VOORHEES K J, HADFIELD T L. Direct mass spectrometric analysis of *in situ* thermally hydrolyzed and methylated lipids from whole bacterial cells[J]. *Analytical Chemistry*, 1998, 70(8): 1 555-1 562.
- [102] BEVERLY M B, BASILE F, VOORHEES K J, HADFIELD T L. A rapid approach for the detection of dipicolinic acid in bacterial spores using pyrolysis/mass spectrometry[J]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 1996, 10(4): 455-458.
- [103] GOODACRE R, SHANN B, GILBERT R J, TIMMINS E M, McGOVERN A C, ALSBERG B K, KELL D B, LOGAN N A. Detection of the dipicolinic acid biomarker in *Bacillus* spores using Curie-point pyrolysis mass spectrometry and Fourier transform infrared spectroscopy[J]. *Analytical Chemistry*, 2000, 72(1): 119-127.
- [104] XU M G, HUANG C, ZHAO L, RAPPÉ A K, KENNEDY E M, STOCKENHUBER M, MACKIE J C, WEBER N H, LUCAS J A, AHMED M, BLOTEVOGEL J, LU W. Direct measurement of fluorocarbon radicals in the thermal destruction of perfluorohexanoic acid using photoionization mass spectrometry[J]. *Science Advances*, 2025, 11(9): eadt3363.
- [105] XU Z, MUNYANEZA N E, ZHANG Q, SUN M, POSADA C, VENTURO P, RORRER N A, MISCALL J, SUMPTER B G, LIU G. Chemical upcycling of polyethylene, polypropylene, and mixtures to high-value surfactants[J]. *Science*, 2023, 381(6 658): 666-671.
- [106] KHANG T U, KIM M J, YOO J I, SOHN Y J, JEON S G, PARK S J, NA J G. Rapid analysis of polyhydroxyalkanoate contents and its monomer compositions by pyrolysis-gas chromatography combined with mass spectrometry (Py-GC/MS)[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2021, 174: 449-456.
- [107] KNICKER H, del RÍO J C, HATCHER P G, MINARD R D. Identification of protein remnants in insoluble geopolymers using TMAH thermochemolysis/GC-MS [J]. *Organic Geochemistry*, 2001, 32(3): 397-409.
- [108] HUANG Z, TU C, LIU H, WANG L, ZHU Z, WATANABE I. The composition analysis of free and bonded fatty acids in Polysorbate 80 by on-line two-step pyrolytic methylation-gas chromatography[J]. *Microchemical Journal*, 2020, 159: 105 342.
- [109] PRATI S, SMITH S, CHIAVARI G. Characterisation of siccative oils, resins and pigments in art works by thermochemolysis coupled to thermal desorption and pyrolysis GC and GC-MS[J]. *Chromatographia*, 2004, 59(3): 227-231.
- [110] del RÍO J C, HATCHER P G. Analysis of aliphatic biopolymers using thermochemolysis with tetramethylammonium hydroxide (TMAH) and gas chromatography-mass spectrometry[J]. *Organic Geochemistry*, 1998, 29(5/6/7): 1 441-1 451.
- [111] KIRKWOOD K I, PRATT B S, SHULMAN N, TAMURA K, MacCOSS M J, MacLEAN B X, BAKER E S. Utilizing Skyline to analyze lipidomics data containing liquid chromatography, ion mobility spectrometry and mass spectrometry dimensions[J]. *Nature Protocols*, 2022, 17(11): 2 415-2 430.
- [112] TRIMPIN S, TAN B, BOHRER B C, O'DELL D K, MERENBLOOM S I, PAZOS M X, CLEMMER D E, WALKER J M. Profiling of phospholipids and related lipid structures using multidimensional ion mobility spectrometry-mass spectrometry[J]. *International Journal of Mass Spectrometry*, 2009, 287(1/2/3): 58-69.
- [113] KRECHMER J E, GROESSL M, ZHANG X, JUNNINEN H, MASSOLI P, LAMBE A T, KIMMEL J R, CUBISON M J, GRAF S, LIN Y H, BUDISULISTIORINI S H, ZHANG H, SURRETT J D, KNOCHENMUSSE R, JAYNE J T, WORSNOP D R, JIMENEZ J L, CANAGARATNA M R. Ion mobility spectrometry-mass spectrometry (IMS-MS) for on- and off-line analysis of atmospheric gas and aerosol species[J]. *Atmospheric Measurement Techniques*, 2016, 9(7): 3 245-3 262.
- [114] HAYES J M, ABDUL-RAHMAN N H, GERDES M J, MUSAH R A. Coral genus differentiation based on direct analysis in real time-high resolution mass spectrometry-derived chemical fingerprints[J]. *Analytical Chemistry*, 2021, 93(46): 15 306-15 314.

(收稿日期: 2025-08-26; 修回日期: 2025-11-05)