

质谱直接定量分析技术的应用进展

李中权^{1,2}, 张芳², 苏越¹, 郭寅龙²

(1. 上海中医药大学, 中医方证与系统生物学研究中心, 上海 201203;

2. 中国科学院上海有机化学研究所, 上海有机质谱中心, 上海 200032)

摘要: 质谱直接定量分析指待测样品在引入质谱离子源之前, 不经色谱分离, 直接利用质谱信号对分析物进行含量测定的分析技术。该技术在很大程度上缩短了样品的检测周期, 能够满足快速在线、原位分析的需求, 目前已在质谱成像、单细胞分析以及在线反应监测等领域展现出广阔的应用前景。本工作综述了与质谱直接定量分析有关的质谱技术、样品处理方法以及相关应用, 并展望质谱定量分析的发展趋势。

关键词: 质谱直接定量分析; 敞开式离子化; 前处理

中图分类号: O657.63

文献标志码: A

文章编号: 1004-2997(2018)02-0129-12

doi: 10.7538/zpxb.2017.0053

Advances in Direct Quantification Analysis by Mass Spectrometry

LI Zhong-quan^{1,2}, ZHANG Fang², SU Yue¹, GUO Yin-long²

(1. Center for Chinese Medicine Therapy and Systems Biology,

Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China,

2. National Center for Organic Mass Spectrometry in Shanghai, Shanghai Institute of Organic Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200032, China)

Abstract: Direct quantification analysis by mass spectrometry refers to the technique that sample is quantified directly by mass spectrometry without chromatographic separation before ionization. Compared to the traditional chromatographic methods, this technique could significantly shorten analytical time, and then further to meet the rapid, online monitoring and *in situ* analysis demands. At present, new publications have continuously appeared and widened the application areas. This review provided a snapshot of the field and mainly focused on the mass spectrometric techniques and sample pretreatment strategies. From the technical aspect, ambient desorption ionization MS has made a great breakthrough for direct quantitative analysis. Various samples could be directly desorbed and ionized in the open air conditions of the laboratory or in their natu-

收稿日期: 2017-03-21; 修回日期: 2017-05-25

基金项目: 国家自然科学基金(21572134); 国家科技支撑计划(2015BAK45B01)资助

作者简介: 李中权(1990—), 男(汉族), 山东人, 硕士研究生, 中药分析专业。E-mail: tcmlzq@126.com

通信作者: 苏越(1965—), 女(汉族), 河南人, 研究员, 从事中药分析研究。E-mail: suyue@shutcm.edu.cn

郭寅龙(1962—), 男(回族), 河南人, 研究员, 从事有机质谱研究。E-mail: ylguo@sioc.ac.cn

网络出版时间: 2018-02-11; 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2979.TH.20180210.1313.006.html>

ral environment. It typically required little or no sample preparation and offers a much-simplified work flow prior to MS analysis. Certainly, ambient MS techniques have been successfully coupled to mass spectrometers equipped with different high-resolution mass analyzers, such as time of flight (TOF), Orbitrap and ion cyclotron resonance (ICR). The ability to provide accurate mass values and isotope patterns makes feasible the unequivocal identification of compounds from MS data. Sometimes, in order to extract the maximum information, hybrid instruments such as triple-quadrupole mass analyzer (QQQ) and quadrupole-TOF possessing multiple scan modes for further identification and quantification analysis is necessary. From the pretreatment aspect, there are two main strategies for direct quantification analysis by MS. The first one is trying to improve the signal response in the mass spectrometer by utilizing the derivative reagent. At the same time, derivatization using stable isotope labeling such as *N*-alkylpyridinium isotope quaternization could also introduce the internal standard for the accurate quantification. The second strategy is the extraction technique significantly reducing matrix interference and improving the sensitivity of detection. Trace amounts of semi-volatile or non-volatile compounds can be efficiently extracted from the complex matrix by micro-extraction and QuEChERS method, etc. The effective and selective characteristics of the extraction technique facilitate a perfect combination of ambient MS technique for further high-throughput and accurate analysis. Up to now, direct quantification analysis by MS has been applied for mass spectrometry imaging, single cell analysis and online reaction monitoring, etc. although the feasibility for the quantification analysis of multiple real samples remains to be verified. Accompanied by the enhancement of instrument performance and the improvement of sample pretreatment, it can be easily foreseen that this technique will become a more reliable means for quantitative analysis in the near future.

Key words: direct quantification analysis by mass spectrometry; ambient ionization; pretreatment

质谱直接定量分析技术指待测样品在引入质谱离子源之前,不经色谱分离,直接利用质谱筛选能力对分析物进行含量测定。与传统质谱分析技术相比,质谱直接定量分析大大缩短了样品的检测周期,并能够满足在线原位分析的需求,在质谱分析领域备受关注。近年来,新型常压离子化技术的开发极大地促进了该技术的广泛应用。刘淑莹等^[1]已对有关中药方面的应用研究进行了综述。尽管这些离子化技术能够直接检测多种不同类型的样品,但对于复杂样品,基质中含有多种内源性成分的含量常常是待测组分的数倍,直接检测可能会导致离子抑制或背景信号增强,进而降低方法检测的灵敏度和准确性。因此,采用质谱直接定量分析基质复杂的样

品,前处理是一个重要环节。

本工作将着重对质谱直接定量分析采用的质谱技术、样品处理方法进行归纳和总结,并展望质谱直接定量分析的发展趋势。

1 用于直接定量分析的质谱技术

质谱直接定量分析能实现快速在线原位检测,主要是基于质谱离子化技术、高分辨和串联质谱技术,以及离子淌度质谱技术的不断创新和改进。

1.1 质谱离子化技术

离子源作为质谱仪的核心部件,其离子化效率和离子传输效率决定了质谱检测的灵敏度和稳定性。电子轰击离子化(EI)利用较高的能量(70 eV)轰击样品,主要检测到分析物碎片离

子信息,无法利用分析物的准分子离子峰直接定量。电喷雾离子化(ESI)和基质辅助激光解吸离子化(MALDI)等软电离质谱的出现,为质谱直接定量分析奠定了基础,可通过被测物的准分子离子信号实现定量检测^[2-3]。自2004年Cooks等^[4-5]在ESI基础上研发出解吸电喷雾离子化(DESI)技术以后,无需复杂的样品前处理,直接在敞开式环境中检测的新型离子化技术不断被开发。目前,已开发的新型离子化技术已有40多种^[1],其中能用于质谱直接定量分析的有:纳喷雾离子化(nano-electrospray ionization, nanoESI)^[6-7]、探针电喷雾离子化(probe-electrospray ionization, PESI)^[8-10]、圆珠笔尖电喷雾离子化(ballpoint electrospray ionization, BP-ESI)^[11]、木尖电喷雾离子化(wooden-tip electrospray ionization, Wooden-tip ESI)^[12]、消融电喷雾电离(laser ablation electrospray ionization, LAESI)^[13]、大气压化学电离(atmospheric pressure chemical ionization, APCI)^[14-15]、表面解吸大气压化学电离(desorption atmospheric pressure chemical ionization, DAPCI)^[16-17]、大气压热解吸化学电离(atmospheric pressure thermal desorption chemical ionization, APT-DCI)^[18]、激光二极管热解吸电离(laser diode thermal desorption, LDTD)^[19]、实时直接分析(direct analysis in real time, DART)^[20-23]、解吸电喷雾离子化(DESI)^[24-28]、萃取电喷雾离子化(extractive electrospray ionization, EESI)^[29-33]、解吸电晕束离子化(desorption corona beam ionization, DCBI)^[34]、内部萃取电喷雾离子化(internal extractive electrospray ionization, iEESI)^[35]、中性解吸萃取电喷雾离子化(neutral desorption-extractive electrospray ionization, ND-EESI)^[36]、纸喷雾(paper spray ionization, PSI)^[37-39]、大气压固体分析探针(atmospheric pressure solid analysis probe, ASAP)^[40]、低温等离子体(low temperature plasma, LTP)^[41-44]、碳纤维离子化(carbon fiber ionization, CFI)^[45]、空气动力辅助离子化(air flow assisted ionization, AFAI)^[46]、大气压辉光放电离子化(atmospheric pressure glow discharge ionization, APGDI)^[47]、大气压基质辅助激光解吸离子化(atmospheric pressure matrix-

assisted laser desorption/ionization, AP-MALDI)^[48]、大气压彭宁电离(atmospheric-pressure penning ionization, APPeI)^[49]、微辉光放电等离子体质谱(microfabricated glow discharge plasma, MFGDP)^[50]等。各离子化技术的具体应用列于表1,虽然这些离子源结构各不相同,离子化机理也多种多样,但均可将样品(气态、液态和固态)直接离子化并进行质谱检测。定量分析的准确性和稳定性良好,同时还能实现快速在线原位分析。

1.2 高分辨和串联质谱技术

由于质谱直接定量分析无需色谱分离,基质的复杂性和较宽的样品浓度范围对质谱仪的分辨率、准确性提出了更高要求。高分辨和串联质谱技术的开发应用为复杂样品的直接分析提供了可能。具有高分辨能力的飞行时间质谱(TOF)、轨道离子阱质谱(Orbitrap)和离子回旋共振质谱(ICR)的分辨率均可达 10^4 以上,准确性为 5×10^{-6} ,分析复杂样品时可提供目标化合物的准确分子质量,降低了背景信号干扰^[51]。另外,TOF和Orbitrap的质量扫描范围均能达到 10^4 以上,使可测样品的种类从有机小分子扩大到分子质量超过2 000的大分子蛋白质、聚合物等^[52-53]。

串联质谱技术(MS/MS)的开发与应用显著提高了质量分析器的整体性能。与单级质谱相比,MS/MS不仅能得到二级或者多级碎片离子信息,实现分析物的结构解析,而且可以显著提高分析物的信噪比(signal-to-noise ratio, S/N),因此在直接分析复杂样品时,MSⁿ可有效降低背景干扰,提高分析灵敏度和选择性^[54]。多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM)是QqQ定量分析中最常用的手段,结合内标法可有效克服基质效应对响应信号的干扰,并能同时完成多个目标化合物的检测,提高定性和定量的准确性。高分辨串联质谱包括四极杆-飞行时间质谱(Q-TOF)、飞行时间-飞行时间质谱(TOF-TOF)、线性离子阱-Orbitrap(LTQ-Orbitrap)、傅里叶变换-离子回旋共振质谱(FT-ICR)等,它们不仅能在全扫描模式下给出分析物的精确分子质量信息,而且大大提高了仪器的扫描速率和准确性。以FT-ICR为例,其分辨率可达 10^6 以上,准确性为 10^{-6}

表 1 质谱直接定量分析技术的应用

Table 1 Application of direct quantification analysis by mass spectrometry

离子化 Ionization	质量分析器 Mass analyzer	前处理 Pretreatment	分析对象 Analyte	定量方法 Quantitative method	文献 Reference
ESI	IM-Q-Trap		人血清洋地黄强心甘和代谢产物	MRM+峰面积	55
	IM-Q-TOF		亮氨酸和异亮氨酸	峰强度	56
	IM-Q-TOF	衍生化	甲状腺组织中胍基和脲基化合物	峰强度	57
	LTQ	衍生化	蛋清中 N-糖蛋白	内标+峰强度比	61
	QqQ		钌卡宾催化的复分解反应	峰强度	67
	Q-TOF		人血乙酰胆碱酯酶和谷胱甘肽 S 转移酶	内标+峰强度比	68
nanoESI	QqQ	固相微萃取	血液和尿液中药物含量	MRM+内标+峰面积比	6
	Orbitrap	固相微萃取	跳蚤体内的全氟化合物	内标+峰强度比	7
DCBI	QqQ	固相微萃取	辣椒油中苏丹染料和罗丹明 B	MRM+峰强度	34
Wooden-tip ESI	QqQ		尿液和唾液中氯胺酮和去甲氯胺酮	MRM+内标+峰强度比	12
PESI	Orbitrap		体液中冰毒、吗啡、可卡因、可待因	峰强度	8
	Q-Exactive		洋葱细胞代谢产物	内标+峰强度比	9
	Q-TOF		人体单细胞表面磷脂的分析	峰强度	10
BP-ESI	QqQ		利血平甲醇溶液	峰强度	11
LAESI	LTQ		贻贝组织匀浆中软骨藻酸	MS ² +峰强度	13
DESI	QqQ		血中外源性药物	内标+峰强度比	24
	LTQ	固相萃取	尿液中双氯醇胺	MS ³ +峰强度比	28
	TOF		塑料聚合物中 4 种添加剂	峰强度	25
	Orbitrap		催化反应中间体	峰强度	26
	LTQ Orbitrap		食管癌组织中脂类物质成像	峰强度	27
EESI	LTQ		气溶胶的化学组成	峰强度	31
	LTQ		环境水样中诺氟沙星	MS ² +峰强度	32
	Q-TOF		水果不同成熟时期含有的成分	峰强度比	29
	Q-TOF		香水成分	峰强度	30
	Q-TOF		苯乙胺和丙烯腈的迈克尔加成反应	峰强度	33
iEESI	LTQ-XL		4 种红辣椒中的胆碱、果糖、蔗糖	峰强度比	35
ND-EESI	LTQ-XL		蜂蜜中氯霉素	峰强度	36
MALDI	TOF		蛋白标样	肽与基质离子峰度比	52
	TOF		聚合纳米材料修饰的细胞穿透肽	峰强度比	53
	TOF-TOF		小鼠脑损伤组织中蛋白质成像分析	峰强度	65
MALDI	TOF-TOF		蟹脑组织神经肽和磷脂	峰强度	66
	FT-ICR	衍生化	人头发中脂肪醇和胆固醇	内标+峰强度比	59
	FT-ICR	衍生化	人体尿液中内源性类固醇	内标+峰强度比	60
	FT-ICR		肾肿瘤组织中蛋白质和磷脂类成像分析	峰强度	64
	FT-ICR	衍生化+单液滴萃取	烟气中小分子醛类物质	内标+峰强度比	58,62
	FT-ICR	液相微萃取	主流烟雾中尼古丁	内标+峰强度比	63
	FT-ICR	液相萃取	监测酶促反应中胆碱	内标+峰强度比	69

续表 1

离子化 Ionization	质量分析器 Mass analyzer	前处理 Pretreatment	分析对象 Analyte	定量方法 Quantitative method	文献 Reference
DART	Orbitrap	QuEChERS	谷物中 11 种真菌毒素	内标+峰面积/或峰面积	20
	LTQ-Orbitrap	固相微萃取	水中磷酸酯类物质	内标+峰强度比	21
	Q-TOF	液固萃取	辣椒粉中 4 种苏丹染料	MRM+峰面积	22
	FT-ICR	固相微萃取	饮料中 15 种增塑剂	内标+峰强度比	23
AP-MALDI	LCQ-ion-Trap	固相萃取	尿液中麦角酸酰二乙胺	MRM+内标+峰强度比	48
APCI	QqQ		香烟挥发性有害成分	MRM+峰面积	14
	Q-TOF	液液萃取	食用油中脂肪酸甘油酯	峰面积比	15
DAPCI	LTQ-XL		乳制品中三聚氰胺	MS ² +峰强度	16
	LTQ-XL		文档字迹成像分析	MS ² +峰强度	17
APTDCI	QqQ		血浆或血液中甾醇类物质	内标+峰强度比	18
LDTD-APCI	QqQ	固相微萃取	人体血浆中药物	MRM+内标+峰强度比	19
PSI	QqQ		血液中 8 种非法药物	MRM+内标+峰强度比	37
	LTQ		醌类化合物在线反应	MRM+内标+峰强度比	38
	LTQ		血液和尿液中药物	MRM+内标+峰强度比	39
LTP	LTQ		牛奶和奶粉中三聚氰胺	MS ² +峰强度	41
	LTQ	QuEChERS	食品中 13 种农药	MRM+峰强度	44
	LTQ		(唾液、尿液、头发)药物	MRM+内标+峰强度比	42
	LTQ		字画成像分析	峰强度	43
ASAP	QqQ	液固萃取	蔬菜中 13 种农药残留	MRM 内标+峰面积比	40
CFI	QqQ		赖氨酸	内标+峰强度比	45
AFAI	Q-Trap		动物体内药物和代谢产物成像分析	MRM+峰强度	46
APGDI	Q-TOF		水果表面多种农药残留	峰强度	47
APPeI	Accu-TOF		苯标准品	内标+峰强度比	49
MFGDP	LCQ-ion-Trap	QuEChERS	水果蔬菜中 9 种农残	MRM+峰强度	50

左右,仪器灵敏度不受分辨率的影响,可给出分析物的精确分子质量和同位素分布情况,非常适用于复杂基质体系中化合物的定性和定量分析^[52]。

1.3 离子淌度质谱

离子淌度质谱(IM-MS)是一种将离子淌度分离与质谱联用的新型二维技术。与传统色谱-质谱联用技术的原理不同,IM-MS将漂移管置于离子源与质量分析器之间,根据气体样品离子与缓冲气体碰撞时碰撞截面(collision cross section, CCS)的不同,按照分子体积由小到大的迁移顺序初步分离。由于碰撞截面积大的离子发生碰撞的机会多,遇到的阻力大,因

此迁移所需的时间较长;结构相同的带较多电荷的离子相较于单电荷离子,具有的电势能更高、迁移速度更快。根据这一原理,IM-MS主要分为漂移时间离子淌度质谱(DTIMS-MS)、行波离子淌度质谱(TWIMS-MS)和场不对称离子淌度质谱(FAIMS-MS)3类。与传统色谱分离技术相比,IM-MS表现出明显优势,不仅能在1 min内快速分离质荷比不同的离子,而且可有效区分同分异构体,检测灵敏度也得到显著提高^[55]。另外,反向色谱预柱作为一种快速除盐的工具,与IM-MS结合可显著降低基质干扰、提高离子化效率,整个分析时间只需1.5 min^[57]。目前,离子淌度与软电离技术以

及高分辨、串联质谱技术的结合,已在蛋白质、氨基酸和同分异构体分析方面显示出快速、高通量等多种优势^[55-57]。

2 质谱直接定量分析的前处理技术

复杂基质会影响待测分析物的解吸和离子化效率,同时降低检测灵敏度。因此,在质谱直接定量分析前进行相应的样品前处理,可以降低甚至消除基质的干扰;对痕量待测物进行相应的提取和富集,可有效提高检测的灵敏度和选择性。目前,质谱直接定量分析的前处理技术主要包含衍生化技术和萃取技术。

2.1 衍生化技术

衍生化技术是质谱直接定量分析中样品前处理的常用手段,采用该技术处理样品有很多优势。首先,可针对某些特定官能团进行衍生化,从而增强分析物的仪器响应,提高检测的灵敏度和选择性。例如,某些醇类、醛类、酮类、糖类等的质子亲和性差、酸性较弱、不易电离,若采用 ESI 或 MALDI 直接分析,检测灵敏度较差,而通过衍生化引入极性官能团或者直接使分子带电荷,可大大提高目标物的离子化效率,进而提高检测灵敏度和选择性^[58-60]。其次,利用稳定同位素标记衍生化法向待测物中引入内标,可以提高某些化合物定量结果的准确性^[57,61]。例如,对于难以直接质谱检测的脂肪醇,通过 *N*-烷基吡啶同位素季铵化反应,可向目标物中引入季铵基团,提高质谱响应,使定量结果更加准确可靠^[59]。

2.2 萃取技术

在分离和浓缩某些痕量半挥发或难挥发的有机化合物方面,萃取是一种强有力的前处理技术。目前,与质谱直接定量分析相结合的萃取技术主要有:液相萃取^[22,40]、固相萃取^[28,48]、微萃取^[6-7,21,23,34,58,62-63]和 QuEchERS(quick, easy, cheap, effective, rugged and safe)方法^[20,44,50]。其中,微萃取集样品萃取、浓缩、解吸和进样于一体,无需或仅需少量溶剂,具有简单快速和高灵敏度、高选择性的特点,在质谱直接定量分析中得到广泛应用。QuEchERS 方法因具有快速、简便、价格低廉以及安全可靠的特点,常与 LC/MS 结合用于农药多残留的分析检测;相比于 LC/MS,敞开式离子化质谱检测更加直接、

快速;将 QuEchERS 方法与敞开式离子化质谱结合,不仅能有效地排除复杂基质带来的干扰,还能缩短样本的分析时间,提高分析效率。

3 质谱直接定量分析的应用

随着离子化技术和质量分析器的不断改进,质谱直接定量分析技术在食品药品分析、环境样品分析、蛋白质分析、质谱成像分析、单细胞检测、在线反应监测等多领域中得到应用。

3.1 食品药品分析

食品、药品的质量好坏直接关系到人们的生命安全,面对复杂多样的样品基质和目标分析物,亟需一种快速、灵敏、准确的分析工具来实现样品的快速筛查和定量检测。2010 年,普渡大学 Cooks 等^[41-42]采用 LTP 直接对奶制品中三聚氰胺添加物以及人体体液中的滥用药物进行定量检测。该方法完成 1 个样品的检测只需 5~10 s,检测限为 0.25 $\mu\text{g/g}$,定量结果 RSD 在 7.6%~16.2%之间,具有分析速度快、能耗小、无需溶剂等特点,可用于多种实际样品的快速半定量分析。再帕尔课题组^[15]采用 APCI 结合高分辨质谱直接检测食用油,通过计算甘油三酯与甘油二酯类物质之间的比值变化,快速、准确地区分不同种类的植物油。

基于 ESI 离子化机理,新型探针离子化技术 PESI 和 Wooden-tip ESI 采用高电压将针内微量溶液快速离子化并被质谱检测,所需样品体积小(约 2 μL),可完成 ESI 无法直接分析的小体积样品的快速检测^[8,12]。目前,PEI 和 Wooden-tip ESI 均可检测人体体液中冰毒、吗啡、氯胺酮等非法药物,定量结果准确可靠。另外,PSI、DCBI、AP-MALDI、DESI、iESI、LDTD-APCI 和 nanoESI 也均可用于复杂样品中药物、代谢产物、毒品等物质的快速定量分析^[6-7,18-19,24,34-35,37,39]。

3.2 环境样品分析

农残在人体内累积会引发严重疾病,快速的农残检测技术可为人体健康提供有力保障。但实际样品中农残含量较低,常规 LC/MS 方法的操作繁琐、耗时较长。快速、简单的样品前处理技术结合质谱直接定量检测分析可大大提高农残检测效率。目前,已报道的方法包括利用 QuEchERS 方法与 MFGDP、DART 或 LTP

离子化技术结合检测食物中农药残留;有机溶剂直接萃取并结合 ASAP 或 DART 测定蔬菜和植物油中有毒物质;固相萃取或固相微萃取结合 DART 定量测定水中除草剂、塑化剂;EESI 直接实现水中药物的定量检测等^[20-23,32,40,44,50]。这些方法均有效地缩短了样品前处理步骤,提高了分析效率,且检测限低,适用于农残的定量或半定量检测。

针对空气中含量较低且易挥发的有毒有害物质,液相微萃取结合 MALDI-FTICR 可实现香烟主流烟气中尼古丁的定量分析,检测结果 $RSD < 9\%$ ^[63]。APCI-MS 实现了无需萃取、直接在线定量测定香烟烟雾中 4 种有害成分,其检测限为 $0.19 \sim 2.05 \mu\text{g/L}$,相关系数 $r^2 > 0.99$ ^[14]。此外,EESI-MS 还可用于空气中有有机气溶胶的直接测定。

3.3 蛋白质分析

质谱直接定量分析技术可用于分析蛋白质^[52-53]。与其他敞开式离子化技术相比,MALDI 和 ESI 在分析大分子物质方面更具优势。例如,采用 MALDI-TOF 可在不加标的情况下直接分析蛋白质,通过计算肽离子与基质离子丰度的比值实现定量^[52];利用 ESI-MS 可通过稳定同位素标记法对还原性寡糖进行相对定量分析,其相关系数 $r^2 = 0.9986$,方法变异系数为 10.2% ^[61];另外,MALDI-TOF 还可利用同位素标记法直接定量分析聚合纳米材料修饰的细胞穿透肽,无需提取分离,其准确性 $> 90\%$,检测结果 $RSD < 11\%$ ^[53]。虽然质谱直接定量分析技术在蛋白质的快速、原位检测方面有较大优势,但由于离子化难度较大、蛋白质结构复杂,目前多以定性分析为主。

3.4 质谱成像分析

质谱成像(mass spectrometry imaging, MSI)技术将成像处理软件与质谱离子扫描技术相结合,利用该技术可得到蛋白质与小分子物质在生物体内的空间分布特征及其含量变化。随着离子化和高分辨技术的发展,MSI 技术已在生物、医药等领域展现出广阔的应用前景。MALDI 是一种“软”电离技术,结合高分辨质谱(FTICR、TOF-TOF)非常适用于生物体内蛋白质、多肽和磷脂类成分的成像分析,有助于疾病诊断^[64-65]。敞开式离子化技术的发展

极大地推动了质谱成像技术的应用,张新荣等^[43]开发出 LTP 离子化技术,并成功地用于中国书画的成像分析,为艺术品鉴别提供了一种新方法^[43]。再帕尔课题组^[46]将 AFAI 离子化技术用于动物体内药物代谢的成像分析,气流辅助有效地提高了检测灵敏度。陈焕文等^[17]采用 DAPCI 对文档字迹进行成像分析,为法庭鉴定提供了新手段。与二维质谱成像技术相比,三维质谱成像能更直观地反映分析物在立体空间的分布情况。例如,利用 MALDI-TOF-TOF 研究蟹脑组织神经肽和磷脂的空间分布情况,将 7 层水平组织切片的质谱成像数据利用三维方法构建分析物的立体图像,根据分析物立体空间含量分布的差异推断其对人体作用的大小^[66]。DESI-LTQ-Orbitrap 可用于食管癌组织中脂质类物质的三维质谱成像分析^[27]。但由于离子化能力的限制,敞开式离子化技术主要用于小分子化合物的成像分析,而生物体内大分子的成像仍然以 MALDI 为主。

3.5 单细胞分析

通过分析细胞内代谢物质的组成和含量,可表征个体间的差异。但由于单细胞体积小、分析物含量低,对其进行定性检测非常困难,而准确的定量分析更具挑战性。张新荣课题组^[9]用直径 $1 \mu\text{m}$ 左右的探针扎入洋葱细胞内将代谢物富集于探针,然后利用 PESI-MS 方法检测到 6 种果聚糖、4 种脂类和 8 种黄酮类化合物,并分别进行定量分析,为研究细胞代谢组学提供了可能。在此基础上,该课题组^[10]采用按需喷墨打印装置,将细胞悬浮液以单细胞液滴的形式滴加于 PESI 离子源的钨针上,实现了单细胞表面磷脂的分析,在细胞区分和疾病诊断方面具有巨大潜力。另外,新型离子化技术结合高分辨质谱应用于单细胞成像是科学家们研究的热点,该技术可为人类基因组研究和疾病诊断提供支持。然而,单细胞内小分子物质含量较多,且许多物质还处于相互转化的过程中,目前的检测手段多为破坏单细胞原有环境,导致细胞死亡,分析结果不能准确地反映细胞内部信息。因此,亟待开发一种细胞无损分析技术。

3.6 在线反应定量监测

质谱直接定量分析可实现反应体系中反应

物、中间体和产物的相对定量分析。作为经典的离子化方式,ESI 是在线反应监测最常用的离子源,通过连续进样的方式,将反应液注入ESI,监测目标化合物在整个反应过程中的含量^[67]。敞开式离子化技术也可用于在线反应监测,例如,EESI 可实现水果中有机物的在线监测,DESI 可用于中间体的检测,PS 可实现在线有机反应监测等^[26,29-30,33,38]。酶促反应在人体生长代谢方面具有重要作用,MALDI 和 ESI 均能实现在线监测酶的活性和数量,有利于酶抑制剂的筛选和酶促反应速率的调控^[68-69]。由于反应体系中反应物和产物的含量均在不断变化,很难实现目标物质的绝对定量分析。较高浓度的反应物也会给在线监测带来一定困难。

4 结语与展望

质谱直接定量分析技术不需样品前处理或者只需简单的前处理,其快速、可在线原位分析的特点成为质谱发展的一种趋势。不同离子源之间通过互补,在单细胞检测、质谱成像以及在线反应监测方面展现出优越性。但由于现阶段多数新型离子化质谱在仪器装置、样品前处理操作和进样方式等方面仍处于研究阶段,相关操作步骤还未实现标准化,如果将该定量方法用于分析大批量实际样品,不仅要求仪器具有自动化进样和离子化检测装置,还需要研制普适性仪器,建立安全有效的方法。随着离子化技术的不断改进、样品制备方法的不断优化,以及质量分析器分辨率和灵敏度的提高,质谱直接定量分析将成为极具潜力的检测手段。

参考文献:

- [1] 黄鑫,刘文龙,张勇,等. 敞开式离子化质谱技术在中草药研究中的应用[J]. 质谱学报,2017,38(1):1-10.
HUANG Xin, LIU Wenlong, ZHANG Yong, et al. Application of ambient ionization mass spectrometry in Chinese herbal medicine research [J]. Journal of Chinese Mass Spectrometry, 2017, 38(1): 1-10(in Chinese).
- [2] FENN J B, MANN M, MENG C K, et al. Electrospray ionization principles and practice[J]. Mass Spectrometry Reviews, 1990, 9(1): 37-70.
- [3] TANAKA K, WAKI H, IDO Y, et al. Protein and polymer analyses up to m/z 100 000 by laser ionization time-of-flight mass spectrometry [J]. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 1988, 2(8): 151-153.
- [4] TAKATS Z, WISEMAN J M, GOLOGAN B, et al. Mass spectrometry sampling under ambient conditions with desorption electrospray ionization [J]. Science, 2004, 306(5 695): 471-473.
- [5] WESTON D J. Ambient ionization mass spectrometry: current understanding of mechanistic theory, analytical performance and application areas[J]. Analyst, 2010, 135(4): 661-668.
- [6] GOMEZ-RIOS G A, REYES-GARCES N, BOJ-KO B, et al. Biocompatible solid-phase microextraction nanoelectrospray ionization: an unexploited tool in bioanalysis[J]. Analytical Chemistry, 2016, 88(2): 1 259-1 265.
- [7] DENG J, YANG Y, XU M, et al. Surface-coated probe nanoelectrospray ionization mass spectrometry for analysis of target compounds in individual small organisms[J]. Analytical Chemistry, 2015, 87(19): 9 923-9 930.
- [8] SAHA S, MANDAL M K, HIRAOKA K. Direct detection of trace level illicit drugs in human body fluids by probe electrospray ionization mass spectrometry (PESI-MS) [J]. Analytical Methods, 2013, 5(18): 4 731-4 738.
- [9] GONG X, ZHAO Y, CAI S, et al. Single cell analysis with probe ESI-mass spectrometry: detection of metabolites at cellular and subcellular levels[J]. Analytical Chemistry, 2014, 86(8): 3 809-3 816.
- [10] CHEN F, LIN L, ZHANG J, et al. Single-cell analysis using drop-on-demand inkjet printing and probe electrospray ionization mass spectrometry [J]. Analytical Chemistry, 2016, 88(8): 4 354-4 360.
- [11] JI B, XIA B, GAO Y, et al. Generating electrospray ionization on ballpoint tips[J]. Analytical Chemistry, 2016, 88(10): 5 072-5 079.
- [12] SO P K, NG T T, WANG H, et al. Rapid detection and quantitation of ketamine and nor-ketamine in urine and oral fluid by wooden-tip electrospray ionization mass spectrometry[J]. Analyst, 2013, 138(8): 2 239-2 243.
- [13] BEACH D G, WALSH C M, MCCARRON P. Quantitative high-throughput analysis of domoic

- acid in mussel tissue homogenates using laser ablation electrospray ionization-MS/MS[J]. Montreux LC/MS Symposium, 2014, (92): 75-80.
- [14] JIANG C Y, SUN S H, ZHANG Q D, et al. Application of direct atmospheric pressure chemical ionization tandem mass spectrometry for on-line analysis of gas phase of cigarette mainstream smoke[J]. International Journal of Mass Spectrometry, 2013, 353(11): 42-48.
- [15] 罗志刚,何菁菁,贺玖明,等. 高分辨质谱直接分析食用油中脂肪酸甘油酯[J]. 质谱学报, 2016, 37(5): 394-400.
- LUO Zhigang, HE Jingjing, HE Jiuming, et al. Direct analysis of fatty glyceride in edible oil by high-resolution mass spectrometry[J]. Journal of Chinese Mass Spectrometry, 2016, 37(5): 394-400(in Chinese).
- [16] YANG S, DING J, ZHENG J, et al. Detection of melamine in milk products by surface desorption atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry[J]. Analytical Chemistry, 2009, 81(7): 2 426-2 436.
- [17] LI M, JIA B, DING L, et al. Document authentication at molecular levels using desorption atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry imaging[J]. Journal of Mass Spectrometry, 2013, 48(9): 1 042-1 049.
- [18] PAGLIA G, D'APOLITO O, GELZO M, et al. Direct analysis of sterols from dried plasma/blood spots by an atmospheric pressure thermal desorption chemical ionization mass spectrometry (APTDI-MS) method for a rapid screening of Smith-Lemli-Opitz syndrome[J]. Analyst, 2010, 135(4): 789-796.
- [19] HEUDI O, BARTEAU S, PICARD P, et al. Laser diode thermal desorption-positive mode atmospheric pressure chemical ionization tandem mass spectrometry for the ultra-fast quantification of a pharmaceutical compound in human plasma[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2011, 54(5): 1 088-1 095.
- [20] VACLAVIK L, ZACHARIASOVA M, HRBEK V, et al. Analysis of multiple mycotoxins in cereals under ambient conditions using direct analysis in real time (DART) ionization coupled to high resolution mass spectrometry[J]. Talanta, 2010, 82(5): 1 950-1 957.
- [21] BRIDOUX M C, MALANDAIN H, LEPRINCE F, et al. Quantitative analysis of phosphoric acid esters in aqueous samples by isotope dilution stir-bar sorptive extraction combined with direct analysis in real time (DART)-Orbitrap mass spectrometry[J]. Analytica Chimica Acta, 2015, (869): 1-10.
- [22] LI Z, ZHANG Y W, ZHANG Y D, et al. Rapid analysis of four sudan dyes using direct analysis in real time-mass spectrometry[J]. Analytical Methods, 2015, 7(1): 86-90.
- [23] WU M, WANG H, DONG G, et al. Combination of solid-phase micro-extraction and direct analysis in real time-Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry for sensitive and rapid analysis of 15 phthalate plasticizers in beverages[J]. Chinese Journal of Chemistry, 2015, 33(2): 213-219.
- [24] WISEMAN J M, EVANS C A, BOWEN C L, et al. Direct analysis of dried blood spots utilizing desorption electrospray ionization (DESI) mass spectrometry[J]. Analyst, 2010, 135(4): 720-725.
- [25] REITER S M, BUCHBERGER W, KLAMPFL C W. Rapid identification and semi-quantitative determination of polymer additives by desorption electrospray ionization/time-of-flight mass spectrometry[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2011, 400(8): 2 317-2 322.
- [26] PERRY R H, BROWNELL K R, CHINGIN K, et al. Transient Ru-methyl formate intermediates generated with bifunctional transfer hydrogenation catalysts[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences 2012, 109(7): 2 246-2 250.
- [27] ABBASSI-GHADI N, JONES E A, VESELKOV K A, et al. Repeatability and reproducibility of desorption electrospray ionization-mass spectrometry (DESI-MS) for the imaging analysis of human cancer tissue: a gateway for clinical applications[J]. Analytical Methods, 2015, 7(1): 71-80.
- [28] LIN Z, ZHANG S, ZHAO M, et al. Rapid screening of clenbuterol in urine samples by desorption electrospray ionization tandem mass spectrometry[J]. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 2008, 22(12): 1 882-1 888.
- [29] CHEN H, SUN Y, WORTMANN A, et al.

- Differentiation of maturity and quality of fruit using noninvasive extractive electrospray ionization quadrupole time-of-flight mass spectrometry[J]. *Analytical Chemistry*, 2007, 79(4): 1 447-1 455.
- [30] CHINGIN K, GAMEZ G, CHEN H, et al. Rapid classification of perfumes by extractive electrospray ionization mass spectrometry (EESI-MS)[J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2008, 22(13): 2 009-2 014.
- [31] GALLIMORE P J, KALBERER M. Characterizing an extractive electrospray ionization (EESI) source for the online mass spectrometry analysis of organic aerosols[J]. *Environ Sci Technol*, 2013, 47(13): 7 324-7 331.
- [32] 李毅, 方小伟, 李婧, 等. 环境水样中诺氟沙星的电喷雾萃取电离质谱测定法[J]. *环境与健康杂志*, 2016, 33(7): 629-632.
- LI Yi, FANG Xiaowei, LI Jing, et al. Determination of norfloxacin in environmental water samples by extractive electrospray ionization mass spectrometry[J]. *Journal of Environment and Health*, 2016, 33(7): 629-632(in Chinese).
- [33] ZHU L, GAMEZ G, CHEN H W, et al. Real-time, on-line monitoring of organic chemical reactions using extractive electrospray ionization tandem mass spectrometry[J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2008, 22(19): 2 993-2 998.
- [34] CHEN D, HUANG Y Q, HE X M, et al. Coupling carbon nanotube film microextraction with desorption corona beam ionization for rapid analysis of Sudan dyes (I-IV) and Rhodamine B in chilli oil[J]. *Analyst*, 2015, 140(5): 1 731-1 738.
- [35] 张华, 任盼盼, 陈健, 等. 内部萃取电喷雾电离质谱法分析红辣椒[J]. *质谱学报*, 2015, 36(5): 411-416.
- ZHANG Hua, REN Panpan, CHEN Jian, et al. Direct analysis of red peppers using internal extractive electrospray ionization mass spectrometry[J]. *Journal of Chinese Mass Spectrometry*, 2015, 36(5): 411-416(in Chinese).
- [36] HUANG X Y, FANG X W, ZHANG X, et al. Direct detection of chloramphenicol in honey by neutral desorption-extractive electrospray ionization mass spectrometry[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2014, 406(29): 7 705-7 714.
- [37] ESPY R D, TEUNISSEN S F, MANICKE N E, et al. Paper spray and extraction spray mass spectrometry for the direct and simultaneous quantification of eight drugs of abuse in whole blood[J]. *Analytical Chemistry*, 2014, 86(15): 7 712-7 718.
- [38] ZHOU X, PEI J, HUANG G. Reactive paper spray mass spectrometry for in situ identification of quinones[J]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2015, 29(1): 100-106.
- [39] DAMON D E, DAVIS K M, MOREIRA C R, et al. Direct biofluid analysis using hydrophobic paper spray mass spectrometry[J]. *Analytical Chemistry*, 2016, 88(3): 1 878-1 884.
- [40] 黄宝勇, 欧阳喜辉, 孙江. 大气压固体分析探头离子源-串联质谱法快速检测蔬菜中多种农药残留[J]. *高等学校化学学报*, 2013, 34(7): 1 591-1 597.
- HUANG Baoyong, OUYANG Xihui, SUN Jiang. Rapid quantification of 13 pesticides in vegetables by atmospheric-pressure solids analysis probe (asap) coupled to tandem mass spectrometry[J]. *Chemical Journal of Chinese Universities*, 2013, 34(7): 1 591-1 597(in Chinese).
- [41] HUANG G, XU W, VISBAL-ONUFRAC M A, et al. Direct analysis of melamine in complex matrices using a handheld mass spectrometer[J]. *Analyst*, 2010, 135(4): 705-711.
- [42] JACKSON A U, GARCIA-REYES J F, HARPER J D, et al. Analysis of drugs of abuse in biofluids by low temperature plasma (LTP) ionization mass spectrometry[J]. *Analyst*, 2010, 135(5): 927-933.
- [43] LIU Y, MA X, LIN Z, et al. Imaging mass spectrometry with a low-temperature plasma probe for the analysis of works of art[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2010, 49(26): 4 435-4 437.
- [44] WILEY J S, GARCIA-REYES J F, HARPER J D, et al. Screening of agrochemicals in foodstuffs using low-temperature plasma (LTP) ambient ionization mass spectrometry[J]. *Analyst*, 2010, 135(5): 971-979.
- [45] WU M X, WANG H Y, ZHANG J T, et al. Multifunctional carbon fiber ionization mass spectrometry[J]. *Analytical Chemistry*, 2016, 88

- (19): 9 547-9 553.
- [46] LUO Z, HE J, CHEN Y, et al. Air flow-assisted ionization imaging mass spectrometry method for easy whole-body molecular imaging under ambient conditions [J]. *Analytical Chemistry*, 2013, 85(5): 2 977-2 982.
- [47] JECKLIN M C, GAMEZ G, TOUBOUL D, et al. Atmospheric pressure glow discharge desorption mass spectrometry for rapid screening of pesticides in food[J]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2008, 22(18): 2 791-2 798.
- [48] CUI M, MCCOOEYE M A, FRASER C, et al. Quantitation of lysergic acid diethylamide in urine using atmospheric pressure matrix-assisted laser desorption/ionization ion trap mass spectrometry[J]. *Analytical Chemistry*, 2004, 76(23): 7 143-7 148.
- [49] FURUYA H, KAMBARA S, NISHIDATE K, et al. Quantitative aspects of atmospheric pressure penning ionization[J]. *Journal of the Mass Spectrometry Society of Japan*, 2010, 58(6): 211-213.
- [50] WANG B, DING X, ZHAO Z, et al. Method development for directly screening pesticide residues in foodstuffs using ambient microfabricated glow discharge plasma (MFGDP) desorption/ionization mass spectrometry[J]. *International Journal of Mass Spectrometry*, 2015, 377(1): 507-514.
- [51] HU Q, NOLL R J, LI H, et al. The Orbitrap: a new mass spectrometer[J]. *Journal of Mass Spectrometry*, 2005, 40(4): 430-443.
- [52] AHN S H, KANG J W, MOON J H, et al. Quick quantification of proteins by MALDI[J]. *Journal of Mass Spectrometry*, 2015, 50(3): 596-602.
- [53] CHIU J Z, TUCKER I G, MCDOWELL A. Quantification of cell-penetrating peptide associated with polymeric nanoparticles using isobaric-tagging and MALDI-TOF MS/MS[J]. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 2016, 27(11): 1 891-1 894.
- [54] JARMUSCH A K, COOKS R G. Emerging capabilities of mass spectrometry for natural products[J]. *Natural Product Reports*, 2014, 31(6): 730-738.
- [55] BYLDA C, THIELE R, KOBOLD U, et al. Rapid quantification of digitoxin and its metabolites using differential ion mobility spectrometry-tandem mass spectrometry[J]. *Analytical Chemistry*, 2015, 87(4): 2 121-2 128.
- [56] GUO S, ZHANG F, WANG H, et al. Behaviors of leucine and isoleucine in ion mobility-quadrupole time of flight mass spectrometry[J]. *Chinese Journal of Chemistry*, 2015, 33(12): 1 359-1 364.
- [57] FAN R J, ZHANG F, CHEN X P, et al. High-throughput screening and quantitation of guanidino and ureido compounds using liquid chromatography-drift tube ion mobility spectrometry-mass spectrometry[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2017, (961): 82-90.
- [58] XIE J, YIN J, SUN S, et al. Extraction and derivatization in single drop coupled to MALDI-FTICR-MS for selective determination of small molecule aldehydes in single puff smoke[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2009, 638(2): 198-201.
- [59] WANG H, WANG H, ZHANG L, et al. *N*-Alkylpyridinium isotope quaternization for matrix-assisted laser desorption/ionization Fourier transform mass spectrometric analysis of cholesterol and fatty alcohols in human hair[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2011, 690(1): 1-9.
- [60] WANG H, WANG H, ZHANG L, et al. Improvement and extension of the application scope for matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometric analysis-oriented *N*-alkylpyridinium isotope quaternization[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2011, 707(1/2): 100-106.
- [61] 薛向东, 张萍, 王仲孚, 等. 基于电喷雾电离质谱 (ESI-MS) 的苯胺稳定同位素标记对还原性寡糖 (链) 的定性定量分析方法[J]. *高等学校化学学报*, 2010, 31(11): 2 173-2 180.
- XUE Xiangdong, ZHANG Ping, WANG Zhongfu, et al. Analysis method for relative quantitation and qualification of reductive glycans via aniline stable isotopic labeling and ESI-MS[J]. *Chemical Journal of Chinese Universities*, 2010, 31(11): 2 173-2 180(in Chinese).
- [62] 朱逢君, 张菁, 郑赛晶, 等. 单液滴萃取衍生化技术用于烟气中小分子醛类物质的分析[J]. *化学学报*, 2012, 70(12): 1 332-1 336.
- ZHU Fengjun, ZHANG Jing, ZHENG Saijing, et al. Determination of small molecular aldehydes in cigarette smoke by extraction and derivatiza-

- tion in single drop[J]. *Acta Chimica Sinica*, 2012, 70(12): 1 332-1 336(in Chinese).
- [63] XIE J P, SUN S H, WANG H Y, et al. Determination of nicotine in mainstream smoke on the single puff level by liquid-phase microextraction coupled to matrix-assisted laser desorption/ionization Fourier transform mass spectrometry[J]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2006, 20(17): 2 573-2 578.
- [64] JONES E E, POWERS T W, NEELY B A, et al. MALDI imaging mass spectrometry profiling of proteins and lipids in clear cell renal cell carcinoma[J]. *Proteomics*, 2014, 14(7/8): 924-935.
- [65] LLOMBART V, TREJO S A, BRONSOMS S, et al. Profiling and identification of new proteins involved in brain ischemia using MALDI-imaging-mass-spectrometry[J]. *Journal of Proteomics*, 2017, (152): 243-253.
- [66] 王艳萍,李灵军,陈瑞冰. 三维质谱成像技术在研究脑神经肽和磷脂空间分布中的应用[J]. *实用检验医师杂志*, 2012, 4(2): 68-72.
- WANG Yanping, LI Lingjun, CHEN Ruibing. The application of mass spectrometry imaging in neuropeptide and phospholipid spatial distribution analysis[J]. *Chinese Journal of Laboratory Pathologist*, 2012, 4(2): 68-72(in Chinese).
- [67] ADLHART C, HINDERLING C, BAUMANN H, et al. Mechanistic studies of olefin metathesis by ruthenium carbene complexes using electrospray ionization tandem mass spectrometry[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2000, 122(34): 8 204-8 214.
- [68] CAI T, ZHANG L, WANG H, et al. Dual enzyme activities assay by quantitative electrospray ionization quadrupole-time of flight mass spectrometry[J]. *European Journal of Mass Spectrometry*, 2012, 18(6): 521-530.
- [69] XU Z, YAO S, WEI Y, et al. Monitoring enzyme reaction and screening of inhibitors of acetylcholinesterase by quantitative matrix-assisted laser desorption/ionization Fourier transform mass spectrometry[J]. *J Am Soc Mass Spectrom*, 2008, 19(12): 1 849-1 855.

2018 年第 5 届中国原位电离质谱会议第一轮通知

为积极响应新丝绸之路经济带战略的共赢互惠理念,加速分析检测行业的巨大变革,由华质泰科生物技术(北京)有限公司发起的“2018 年第 5 届中国原位电离质谱会议(AIMS2018)”将于 2018 年 4 月 26~28 日在西安举办。此次会议作为 AIMS 系列的连续第 5 届,将承袭日趋热门的原位电离基础理论研究和产业化落地步伐,应绿色、快速、便捷和原位检测之刚需,并将首次集中呈现已成燎原之势的精准医疗、四大组学(代谢、脂质、微生物、蛋白质)、表面材料剖析、生物体组织成像、农牧深加工质控等行业成果,以及藉由原位电离技术的关键应用而引致的深层技术变革和最新发现!我们深信,在国内外科学家的共同努力下,AIMS2018 西安会议将成为新丝绸之路分析检测新技术开发和产品应用沿线合作与市场开拓的重要窗口和契机。我们诚挚地邀请您莅临这一盛会,与同僚共享新成果、启迪新思想、交流新热点、探索新市场,积极参与并推动实时科学与先进分析检测技术的快速发展!

更多详情请登录以下网址查阅。http://www.aspecttechnologies.com/index.php?m=content&c=index&a=lists&catid=96