

内部萃取电喷雾电离质谱直接分析脐橙

卢海艳, 张 华, 周 鹏, 杨美玲, 钟 涛, 姚国灿, 陈焕文

(东华理工大学, 江西省质谱科学与仪器重点实验室, 南昌 330013)

摘要 在正离子模式下, 分别对不同品质脐橙的内果皮和果肉进行了内部萃取电喷雾电离质谱(iEESI-MS)分析, 在经过预处理的前提下直接获得了72个脐橙内果皮样品和72个脐橙果肉样品在 m/z 50~2000范围内的化学指纹谱图, 鉴定了脐橙组织中氨基酸、糖类和生物碱等重要化学成分. iEESI-MS化学指纹谱图表明, 脐橙的果肉与内果皮组织中脯氨酸和糖类等成分的组成具有一定的相似性, 而其它化学组分(如水苏碱、辛弗林等)在2类组织中的含量差异明显. 主成分分析(PCA)结果表明, 样品的iEESI-MS指纹谱图与该脐橙的品质相关, 与样品的实际品质差异一致. 因此, iEESI-MS可直接获得不同品质脐橙差异性化学成分的信息, 从分子水平上判断脐橙品质的优劣.

关键词 内部萃取电喷雾电离质谱; 脐橙; 品质; 直接分析

中图分类号 O657 **文献标志码** A

水果品质检测技术是农业工程领域的重要研究课题^[1,2]. 传统的水果品质检测主要对水果进行感官评价, 根据水果的口感或尺寸来判断其品质优劣, 这种方法往往存在较大的人为判断误差, 不利于农产品生产过程的标准化发展和水果品质的质量监督; 或采用破坏性的化学分析方法, 整个分析过程的工作量大, 效率较低. 近几年发展起来的近红外光谱技术在水果品质检测领域得到了较快发展^[3,4], 但物质在近红外区吸收弱, 导致其分析灵敏度较低, 通常只能分析含量大于0.1%的常量成分, 对水果中低含量成分(如氨基酸等)的检测难度大. 因此, 面对我国水果品质检测技术的迫切需求, 开发出一种快速、高效且具有高灵敏度的水果品质分析方法具有重要的现实意义.

新兴直接质谱分析技术可在不需样品预处理的情况下直接对复杂基体样品中痕量的待测物进行快速分析^[5~7], 为农产品的质量与安全监督提供了一种在分子水平上进行检测的快速途径. 与传统分析中高效液相色谱-质谱法(HPLC-MS)^[8]或气相色谱-质谱法(GC-MS)^[9]不同, 直接质谱分析能够在无气相/液相色谱(GC/LC)分离的情况下直接制备复杂样品中待测组分的离子, 并将这些离子引入质量分析器进行质谱分析^[10,11]. 因此, 直接质谱分析技术能显著缩短实际样品分析时间, 提高分析效率. 近年来出现的电喷雾解吸电离(DESI)^[12]、实时在线分析(DART)^[13]、低温等离子体探针(LTP)^[14]、空气动力辅助电离(AFAI)^[15]、微波诱导等离子体解吸电离(MIPDI)^[16]、解吸电离晕束离子电离(DCBI)^[17]、纸喷雾(Paper spray)^[18]、电喷雾萃取电离(EESI)^[19]和激光消融电喷雾电离(LAESI)^[20]等技术已经在生命科学、化学及食品安全等领域发挥了积极的作用. 前文^[21,22]报道的内部萃取电喷雾电离质谱法(iEESI-MS)具有“直接萃取整体样品内部物质并形成电喷雾”的特点, 可在非破碎、不离体及无需预处理的前提下直接对整体样品内部化学成分进行萃取, 更适合分析整体样品内部活性成分, 快速实现块状组织样品内部化学成分的分析^[21], 获得更丰富的样品信息, 有望为水果品质的快速分析提供一种准确、快速且可靠的技术.

脐橙是一种主产于中国赣州南部的果实, 营养丰富且口感酸甜适度, 全球市场对脐橙鲜果或橙汁的需求巨大, 但由于脐橙种植的地域环境和栽培管理方式的差异, 造成脐橙的品质参差不齐. 本文以脐橙为代表性样品, 利用内部萃取电喷雾电离质谱技术(iEESI-MS)在无需样品预处理的前提下原位快速分析脐橙组织中的多种化学成分, 并借助主成分分析方法(PCA)分析脐橙的化学指纹谱图数据, 建

收稿日期: 2015-03-25. 网络出版日期: 2015-09-14.

基金项目: 长江学者和创新团队发展计划项目(批准号: IRT13054)和国家自然科学基金(批准号: 31370384, 21225522)资助.

联系人简介: 陈焕文, 男, 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事质谱分析研究. E-mail: chw8868@gmail.com

立了一种从分子水平上快速判断水果品质的质谱学方法.

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

内部萃取电喷雾电离源(iEESI)为本实验室自制^[21,23]; LTQ-XL 线性离子阱质谱仪并配有 Xcalibur 数据处理系统(美国 Thermo Scientific 公司); 石英毛细管(内径 0.10 mm, 外径 0.19 mm, 美国 Agilent 公司); 甲醇(色谱纯, 美国 ROE 公司); 实验用水为二次蒸馏水.

3 类纽荷尔脐橙样品均由兴国县丰硒农业发展有限公司提供, 分别产自安溪、果溪和永兴 3 个自然村, 其中安溪脐橙的栽培土壤为偏酸性的红壤, 而果溪脐橙和永兴脐橙的栽培土壤均为酸性较低的黄壤, 两处的种植地点相距约 2 公里, 环境气候条件基本一致, 但永兴的脐橙样品按照无公害有机脐橙栽培标准进行培育生产. 每类脐橙分别挑大小相近的成熟脐橙进行实验, 避免个体差异带来的影响. 实验前从每个脐橙的相同部位分别切取内果皮和果肉组织各 72 个样品用于 iEESI-MS 实验. 剪裁时确保脐橙组织不与其表面接触, 免受外表面的灰尘沾染. 所有脐橙组织样品均直接用于质谱分析, 未经其它样品预处理. 使用 iEESI-MS 分析不同样品时, 在更换样品前需要对接触样品的毛细管部位进行清洗, 以避免分析不同样本带来的实验误差.

1.2 iEESI-MS 实验参数

iEESI-MS 的原理图如图 1 所示. 将石英毛细管插入组织样品内部, 插入样品内部的毛细管尖端与样品顶端相距 2 mm; 样品顶端到质谱进样口的距离为 4~5 mm. 实验选择甲醇作为萃取剂, 将萃取溶剂由毛细管直接导入到脐橙样品内部, 流速为 2 $\mu\text{L}/\text{min}$. 在微量进样针的钢针部位施加正高电压(4.5 kV), 在电场的作用下, 脐橙组织样品尖端产生大量承载脐橙化学组分的微小带电液滴(电喷雾), 微小带电液滴中的分析物去溶剂化后得到待测物离子, 进行质谱检测. 质谱仪设置为正离子检测模式, 质量扫描范围 50~2000, 离子源电压为 4.5 kV, 离子传输管温度设置为 150 $^{\circ}\text{C}$. 在进行串联质谱分析时, 母离子隔离宽度为 1.5, 碰撞能量为 10%~30%, 碰撞时间为 30 ms; 离子透镜电压及其他检测参数由 LTQ-Tune 系统自动优化.

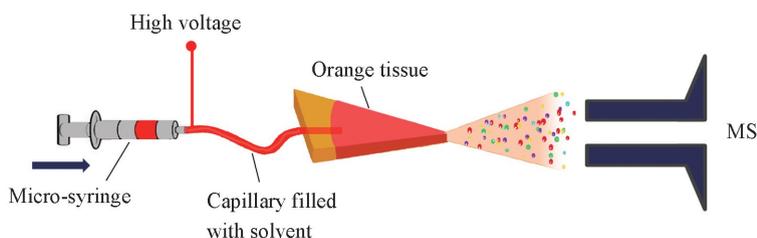


Fig. 1 Schematic diagram of iEESI-MS

1.3 主成分分析

将得到的不同种类脐橙的化学指纹谱图数据导出到 Excel 中, 利用 Matlab (Version 7.8.0, Mathworks, Inc., Natick, MA) 软件对质谱数据进行归一化处理, 并使用 Matlab Toolbox 中的“Princomp”函数对数据进行主成分(PCA)分析, 并将前 3 个主成分方向上的得分及载荷结果以图形化的方式显示, 从而形象地表示出不同品质脐橙间的差异.

2 结果与讨论

2.1 脐橙果肉的 iEESI-MS 分析

分别对 3 类不同产地脐橙的果肉进行 iEESI-MS 分析, 得到它们的化学指纹谱图(图 2). 比较 3 类脐橙的化学指纹谱图可知, 3 类脐橙果肉的 iEESI-MS 化学指纹谱图的主要特征信号峰相似, 但在不同产地脐橙中的丰度存在差异. 例如, 果溪[图 2(A)]和安溪脐橙的指纹谱图[图 2(B)]相似度大, 但二者与永兴脐橙的指纹谱图[图 2(C)]相比存在显著差异. 为进一步研究这些不同品质脐橙中的差异性成分, 采用碰撞诱导解离(CID)串联质谱对脐橙中的化学成分进行了鉴定.

由于 iEESI-MS 直接以萃取溶剂萃取一定体积样品且电喷雾产生于组织样品的尖端, 样品组织中的无机离子(如 K^+ 和 Na^+ 等)均会参与电离反应, 因此样品中的物质电离得到多种形态的离子化产物, 如 $[M+H]^+$ 和 $[M+K]^+$ 等. 通过分析母离子的特征碎片信息并与文献^[21,24-26] 比较, 证实 iEESI-MS 检测到脐橙果肉组织中丰富的糖类物质, 如 m/z 219 [glucose/fructose+K]⁺, m/z 381 [sucrose+K]⁺, m/z 399 [sucrose + K + H₂O]⁺, m/z 561 [fructose/glucose+sucrose+K]⁺, m/z 723 [2sucrose + K]⁺, m/z 903 [2sucrose+fructose/glucose + K]⁺, m/z 1065 [3sucrose+K]⁺ 和 m/z 1407 [4sucrose + K]⁺ 等均由果糖/葡萄糖 (fructose/glucose, $M_w = 180$) 或蔗糖 (sucrose, $M_w = 342$) 离子化得到. 此外, 还检测到果肉中的氨基酸(如 m/z 116 [proline+H]⁺ 和 m/z 175 [arginine+H]⁺)、生物碱类物质 {如胆碱 (m/z 104 [choline]⁺) 和水苏碱 (m/z 144 [stachydrine+H]⁺)} 及维生素 C (m/z 177 [vitamine C+H]⁺) 等.

图 3 是离子化的胆碱、脯氨酸、水苏碱和蔗糖的二级谱图. m/z 104 [choline]⁺ 的特征碎片离子为 m/z 87 和 60, 分别由母离子丢失(—OH)或(—CH₂CH₂O—)所获得[图 3(A)]; m/z 116 [proline+H]⁺ 的特征碎片离子为 m/z 70, 由母离子丢失(CO+H₂O)得到[图 3(B)]; m/z 144 [stachydrine]⁺ 的主要特征碎片离子为 m/z 128, 116, 102, 98, 84 和 58[图 3(C)], 分别由母离子丢失 m/z 86, 60, 46, 42, 28 和 16 得到, 这与水苏碱标准品的二级谱图一致^[27]; m/z 381 [sucrose+K]⁺ 的主要特征碎片离子为 m/z 363, 345, 219 和 201, 分别由母离子丢失 H₂O, 2H₂O 和葡萄糖的特征糖元残基(—C₆H₁₀O₅—,

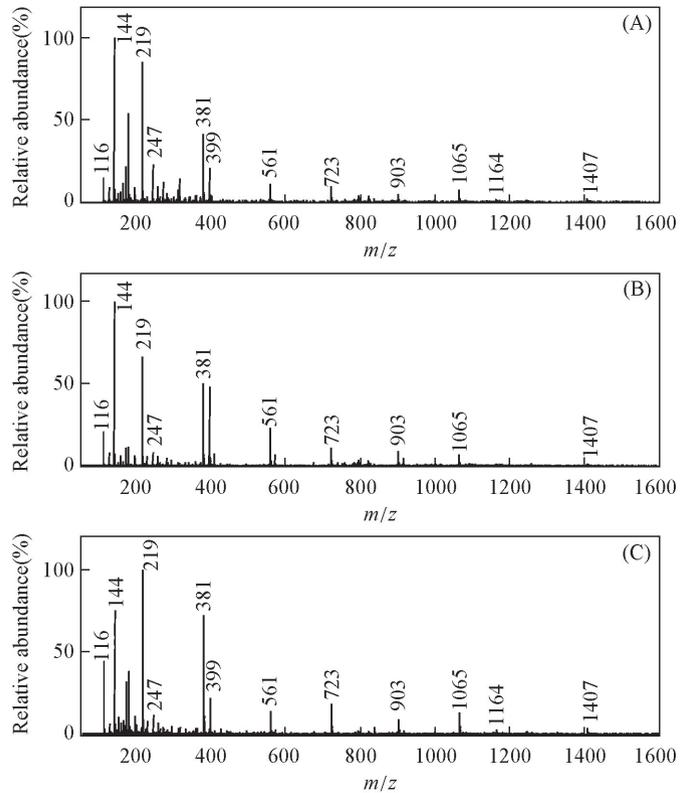


Fig. 2 iEESI-MS spectra of orange flesh from different habitats (A) Guoxi; (B) Anxi; (C) Yongxing.

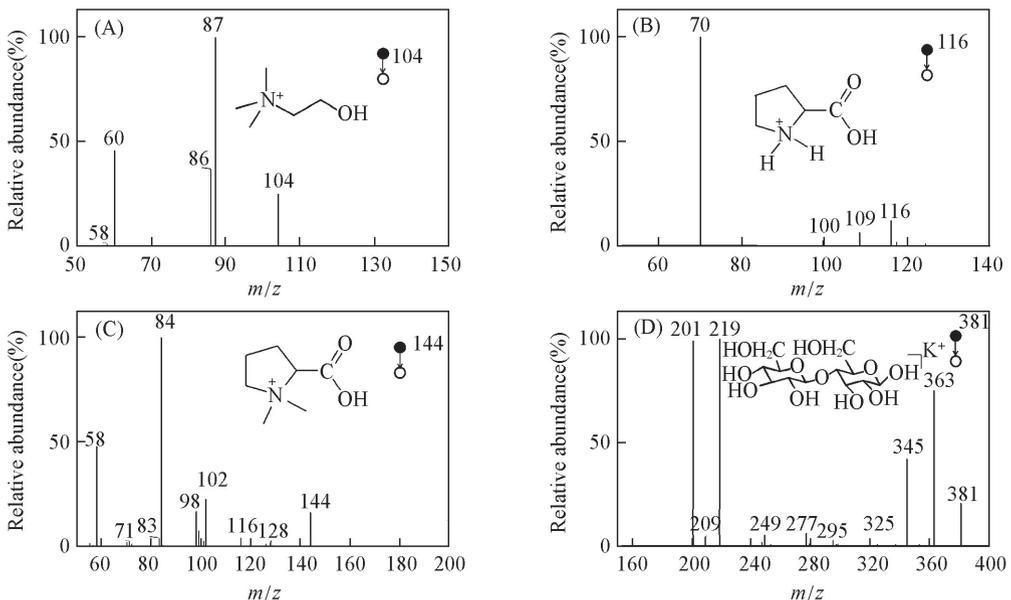


Fig. 3 MS² spectra of choline(A), proline(B), stachydrine(C) and sucrose(D) from orange flesh

$\Delta = 162$) 或 1 分子的葡萄糖 ($M_w = 180$) 得到 [图 3(D)]。

通过脐橙果肉中主要成分的鉴定可以判断, 永兴脐橙果肉中糖类的含量明显高于果溪或安溪脐橙。水果中糖分的含量与水果的甜度密切相关, 从而直接影响水果的口感。永兴脐橙中具有高含量的糖类成分, 这也是该类脐橙的口感优于其它 2 类脐橙的原因。此外, 脯氨酸 (m/z 116) 在永兴脐橙果肉中的丰度也高于其它 2 类脐橙, 在一定程度上说明永兴脐橙更具有营养。对 3 类不同产地脐橙果肉的质谱数据进行 PCA 分析, 结果显示永兴脐橙与另外 2 个产地的脐橙可以较好地分开, 但果溪脐橙与安溪脐橙无法分开 [图 4(A)]。PCA 的载荷图 [图 4(B)] 显示, 对区分不同产地脐橙贡献较大的化学成分主要是一些糖类离子化得到的离子峰, 如 m/z 219, 381, 561, 723, 903 和 1065。结果表明, 从脐橙果肉中糖分或脯氨酸的丰度比较来看, 永兴脐橙的品质在一定程度上优于其它 2 类脐橙。脐橙果树生长的地域环境和果树的培育方法可能是造成脐橙化学成分差异的重要因素^[28], 从而影响了脐橙的口感与品质。iEESI-MS 对脐橙组织的化学指纹谱图的快速获得表明该方法可以为脐橙品质的快速识别提供科学依据。

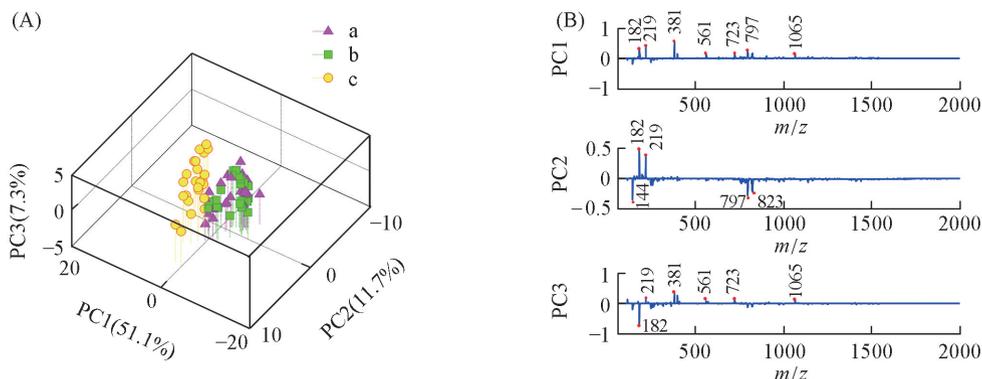


Fig. 4 PCA score plots (A) and PCA loading plots (B) of iEESI-MS data of orange flesh from different habitats

a. Guoxi; b. Anxi; c. Yongxing.

2.2 脐橙内果皮的 iEESI-MS 分析

在实际样品的采集中, 果肉组织比较珍贵且不易于保存, 实验进一步探究能否利用果皮组织对不同产地/培育方式的脐橙进行快速鉴别。

由于脐橙的外果皮受环境等因素的影响较大, 可能会对样品真实成分的分析产生较大的干扰, 所以本实验选择脐橙的内果皮进行分析。3 类不同产地脐橙的内果皮的 iEESI-MS 指纹谱图如图 5 所示, 可见果溪 [图 5(A)] 和安溪 [图 5(B)] 脐橙内果皮的 iEESI-MS 指纹谱图相似度高, 而二者与永兴脐橙 [图 5(C)] 内果皮的指纹谱图存在明显的差异, 如信号峰 m/z 168, 265 和 399 在果溪或安溪脐橙内果皮指纹谱图中的相对丰度明显高于永兴脐橙。

脐橙内果皮指纹谱图中的主要特征离子的碰撞诱导解离 (CID) 实验表明, iEESI-MS 检测到的脐橙内果皮组织中的糖类成分 (如质谱峰 m/z 219, 381, 399, 561, 723 和 903) 与果肉组织中的相似, 但含量比果肉中的低。在内果皮中也同时检测到与果肉组织中相同的氨基酸成分,

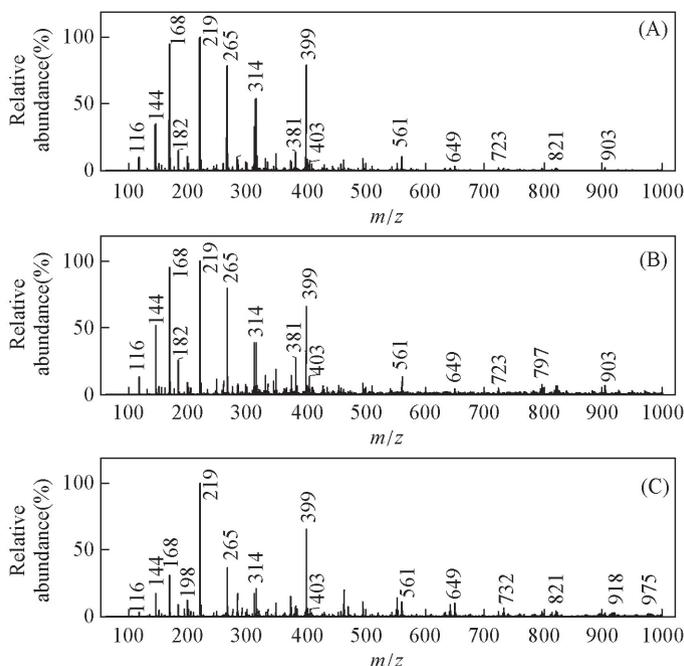


Fig. 5 iEESI-MS spectra of orange endocarp from different habitats

(A) Guoxi; (B) Anxi; (C) Yongxing.

如 m/z 116 [proline + H]⁺ 和 m/z 175 [arginine + H]⁺ 等. 与脐橙果肉组织相比, 水苏碱 m/z 144 [stachydrine+H]⁺ 在内果皮中的丰度相对较低, 而果肉中糖类与脯氨酸 (proline) 的含量明显高于内果皮中的含量. 据报道, 橙汁中富含多种氨基酸, 而脯氨酸的含量居首^[29]. 比较脐橙内果皮与果肉的化学指纹谱图, 说明脯氨酸在脐橙内果皮中的含量也较高, 与其它方法获得的结果一致^[29]. 此外, 通过 CID 分析并对比相关文献^[30] 证实, iEESI-MS 也检测到脐橙果皮中的药用成分如辛弗林 (m/z 168 [synephrine+H]⁺) 和川陈皮素 (m/z 403 [nobiletin+H]⁺). 辛弗林是橙皮中的重要药用成分, 属于一种肾上腺素 α -受体兴奋剂, 具有收缩血管、扩张气管和支气管等作用^[31]. 3 类脐橙内果皮的指纹谱图 (图 5) 表明, 辛弗林在果溪或安溪脐橙果皮中含量高于永兴脐橙果皮. 这些数据也表明脐橙兼具食用和药用价值, 脐橙栽培方式与生长环境会对脐橙的品质甚至功用产生影响. 此外, 上述分析表明, 脐橙的果皮组织与果肉组织在物质构成上存在一定的相似性, 也同时具有各自的特异性成分. 对内果皮与果肉组织的 iEESI-MS 指纹谱图中的主要特征物质峰相对丰度进行了总结. 由表 1 可以直观地看出脐橙内果皮组织与果肉组织中成分的差异.

Table 1 Summary of the dominant chemicals in navel orange from different habitats detected by iEESI-MS*

Habitat	Sampling position	Dominant mass spectra peaks							
		m/z 104	m/z 116	m/z 144	m/z 168	m/z 175	m/z 219	m/z 381	m/z 403
		Choline	Proline	Stachydrine	Synephrine	Arginine	Glucose/fructose	Sucrose	Nobiletin
		C ₅ H ₁₄ NO ⁺	C ₅ H ₁₀ NO ₂ ⁺	C ₇ H ₁₀ NO ₂ ⁺	C ₉ H ₁₄ NO ₂ ⁺	C ₆ H ₁₅ N ₄ O ₂ ⁺	C ₆ H ₁₂ O ₆ K ⁺	C ₁₂ H ₂₂ O ₆ K ⁺	C ₂₁ H ₂₃ O ₈ ⁺
Guoxi	Flesh	+	++	++++	+	+	++++	+++	+
	Endocarp	+	++	+++	++++	+	++++	++	+
Anxi	Flesh	+	++	++++	+	+	+++	+++	+
	Endocarp	+	++	+++	++++	+	++++	+++	+
Yongxing	Flesh	+	+++	+++	+	+	++++	+++	+
	Endocarp	+	+	++	+++	+	++++	+	+

* Based on the relative intensity present on the mass spectra: + very weak; ++ weak; +++ strong; ++++ very strong.

对 3 类脐橙内果皮的质谱数据进行了 PCA 分析, 图 6 表明, 永兴脐橙与另外 2 个产地的脐橙可以较好地地区分开, 但果溪脐橙与安溪脐橙无法分开. 该结果进一步说明, 永兴脐橙内果皮的化学成分与果溪脐橙或安溪脐橙存在较大的差异, 而果溪与安溪脐橙内果皮的化学成分相似. 同时, PCA 中 3 个主成分上的载荷分布图 [图 6(B)] 也体现出特征质谱峰 m/z 168, 265, 314 和 399 等对区分 3 类不同产地脐橙的贡献较大.

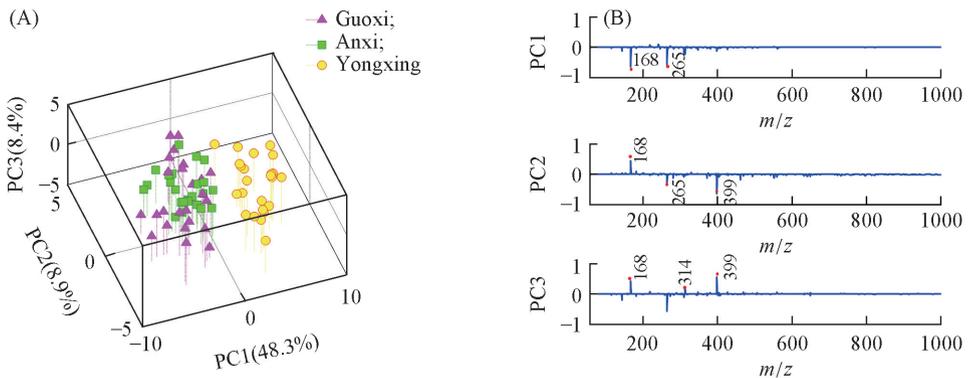


Fig. 6 PCA score plots(A) and PCA loading plots(B) of iEESI-MS data of orange endocarp from different habitats

2.3 iEESI-MS 的分析速度与灵敏度分析

在实验过程中, 单个脐橙组织样品的 iEESI-MS 分析时间约为 2 min, 影响分析速度的因素除了萃取剂的流速外, 样品组织的质地也是一个关键因素. 例如, 实验中脐橙果肉的分析时间要比脐橙内果皮的分析时间短, 这是因为脐橙果肉较内果皮水分更多, 有利于电喷雾的产生, 从而缩短了样品的分析时间. 前期研究^[22] 表明, 利用 iEESI-MS 对猪肉组织中外标的沙汀胺醇定量分析的检出限可达

0.0399 $\mu\text{g/L}$, 说明 iEESI-MS 具有较好的分析灵敏度, 可以实现复杂基本样品中痕量成分的检测. 因此, iEESI-MS 不仅可以对脐橙中的化学成分进行定性分析, 快速判断脐橙品质的优劣, 还可以对脐橙中的微量成分(如农药残留等)进行定量分析.

3 结 论

采用 iEESI-MS 技术在无需样品预处理的情况下直接快速分析脐橙样品, 识别不同品质脐橙组织中化学成分的差异, 从而高通量地实现对脐橙组织中糖类、生物碱类和有机酸等成分的直接质谱分析. 本方法具有操作简单、灵敏度高和分析速度快等特点, 为水果品质的直接质谱分析提供了一种可靠的途径.

参 考 文 献

- [1] Ai Z. L., Guo J., Ren H. T., Qiao M. W., *Science and Technology of Food Industry*, **2005**, 26(1), 18—20(艾志录, 郭娟, 任红涛, 乔明武. 食品工业科技, **2005**, 26(1), 18—20)
- [2] Li L. T., *Standard Science*, **2009**, (1), 18—21(李里特. 标准科学, **2009**, (1), 18—21)
- [3] Wang D. J., Zhou X. Y., Jin T. M., Hu X. N., Zhong J. E., Wu Q. T., *Spectroscopy and Spectral Analysis*, **2004**, 24(4), 447—450(王多加, 周向阳, 金同铭, 胡祥娜, 钟娇娥, 吴启堂. 光谱学与光谱分析, **2004**, 24(4), 447—450)
- [4] Sun T., Xu H. R., Ying Y. B., *Spectroscopy and Spectral Analysis*, **2009**, 29(1), 122—126(孙通, 徐惠荣, 应义斌. 光谱学与光谱分析, **2009**, 29(1), 122—126)
- [5] Lebedev A. T., *Ann. Rev. Anal. Chem.*, **2013**, 6, 163—189
- [6] Wang X., Wang S., Cai Z., *Trac-trend Anal. Chem.*, **2013**, 52, 170—185
- [7] So P. K., Hu B., Yao Z. P., *Molecular Biosystems*, **2013**, 9(5), 915—929
- [8] Qi Y., Li S. Z., Zhu H. B., Song F. R., Lin N., Liu Z. Q., *Chem. J. Chinese Universities*, **2013**, 34(6), 1374—1378(齐瑶, 李世哲, 朱洪彬, 宋凤瑞, 林娜, 刘志强. 高等学校化学学报, **2013**, 34(6), 1374—1378)
- [9] Mei Z., Cai W. S., Shao X. G., *Chem. J. Chinese Universities*, **2013**, 34(4), 819—822(梅楨, 蔡文生, 邵学广. 高等学校化学学报, **2013**, 34(4), 819—822)
- [10] Ouyang Z., Zhang X. R., *Analyst*, **2010**, 135(4), 659—660
- [11] Harris G. A., Galhena A. S., Fernandez F. M., *Anal. Chem.*, **2011**, 83(12), 4508—4538
- [12] Chen H. W., Talaty N. N., Takats Z., Cooks R. G., *Anal. Chem.*, **2005**, 77(21), 6915—6927
- [13] Gross J. H., *Anal. Bioanal. Chem.*, **2014**, 406(1), 63—80
- [14] Harper J. D., Charipar N. A., Mulligan C. C., Zhang X. R., Cooks R. G., Ouyang Z., *Anal. Chem.*, **2008**, 80(23), 9097—9104
- [15] He J. M., Luo Z. G., Tang F., Chen Y., Gong T., He J. J., Zhang R. P., Wang X. H., Zeper A., *Chem. J. Chinese Universities*, **2012**, 33(5), 908—913(贺玖明, 罗志刚, 唐飞, 陈一, 龚涛, 何菁菁, 张瑞萍, 王晓浩, 再帕尔·阿不力孜. 高等学校化学学报, **2012**, 33(5), 908—913)
- [16] Zhan X., Zhao Z., Yuan X., Wang Q., Li D., Xie H., Li X., Zhou M., Duan Y., *Anal. Chem.*, **2013**, 85(9), 4512—4519
- [17] Wang H., Zhao Y., Liao P., Wu S., Hou Y. L., Sun W. J., Ding L., Chen B., *Chem. J. Chinese Universities*, **2013**, 34(3), 556—562(王华, 赵勇, 廖鹏, 吴双, 侯玉兰, 孙文剑, 丁力, 陈波. 高等学校化学学报, **2013**, 34(3), 556—562)
- [18] Wang H., Liu J. J., Cooks R. G., Ouyang Z., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2010**, 49(5), 877—880.
- [19] Li X., Hu B., Ding J. H., Chen H. W., *Nat. Protoc.*, **2011**, 6(7), 1010—1025
- [20] Nemes P., Barton A. A., Vertes A., *Anal. Chem.*, **2009**, 81(16), 6668—6675
- [21] Zhang H., Zhu L., Luo L., Wang N., Chingin K., Guo X., Chen H., *J. Agr. Food Chem.*, **2013**, 61(45), 10691—10698
- [22] Zhang H., Gu H. W., Yan F. Y., Wang N. A., Wei Y. P., Xu J. J., Chen H. W., *Sci. Rep.*, **2013**, 3, 2495
- [23] Zhang H., Zhu L., Chen H. W., *Chinese J. Anal. Chem.*, **2014**, 42(11), 1634—1638(张华, 朱亮, 陈焕文. 分析化学, **2014**, 42(11), 1634—1638)
- [24] Qu C. L., Zhang H. Q., Zhang H. R., Bai Y. P., Wen H., *Chem. J. Chinese Universities*, **2008**, 29(9), 1721—1726(渠琛玲, 张寒琦, 张华蓉, 白雨萍, 温慧. 高等学校化学学报, **2008**, 29(9), 1721—1726)
- [25] Xu N., Zhu Z. Q., Yang S. P., Wang J., Gu H. W., Zhou Z., Chen H. W., *Chinese J. Anal. Chem.*, **2013**, 41(4), 523—528(许柠, 朱志强, 杨水平, 王姜, 顾海巍, 周振, 陈焕文. 分析化学, **2013**, 41(4), 523—528)
- [26] Ding J. H., Chen H. W., You H. Z., Hu B., Zhang X., Ren Y. L., *Chinese J. Org. Chem.*, **2008**, 28(11), 1971—1977(丁健桦, 陈焕文, 游海珠, 胡斌, 张燮, 任玉林. 有机化学, **2008**, 28(11), 1971—1977)
- [27] Chen H. X., Shen S. L., Han F. M., Chen Y., *Acta Pharm. Sin.*, **2006**, 41(5), 467—470(陈怀侠, 沈少林, 韩凤梅, 陈勇. 药

学学报, 2006, 41(5), 467—470)

- [28] Zhu H. S., *Chinese Horticulture Abstracts*, 2013, 54—55(朱洪山. 中国园艺文摘, 2013, 54—55)
- [29] Tang N., Yang Y., Huang T. J., Li Z. G., *South China Fruits*, 2013, 50—52(唐宁, 杨阳, 黄涛江, 李正国. 中国南方果树, 2013, 50—52)
- [30] Ye X., Cao D., Zhao X., Song F., Huang Q., Fan G., Wu F., *J. Chromatogr. B*, 2014, 970, 108—120
- [31] Stohs S. J., Preuss H. G., Shara M., *Phytother. Res.*, 2011, 25(10), 1421—1428

Direct Analysis of Navel Orange Using Internal Extractive Electrospray Ionization Mass Spectrometry[†]

LU Haiyan, ZHANG Hua, ZHOU Peng, YANG Meiling, ZHONG Tao,

YAO Guocan, CHEN Huanwen*

(*Jiangxi Key Laboratory for Mass Spectrometry and Instrumentation,
East China Institute of Technology, Nanchang 330013, China*)

Abstract Internal extractive electrospray ionization mass spectrometry(iEESI-MS) was applied on the assessment of navel orange quality without any sample pretreatment. Both endocarp tissues(72 samples) and flesh tissues(72 samples) of navel oranges from three habitats were interrogated directly by iEESI-MS at mass range of m/z 50—2000. A fused silicon capillary was inserted into the navel orange tissue, allowing a distance of 2 mm between the fused silicon capillary tip and the sample apex. The apex of the sample was pointed to the mass spectrometer ion inlet intentionally with a distance of 4—5 mm. Extraction solvent biased with a high voltage(4.5 kV) was injected through the fused silicon capillary into the navel orange tissue at a flow rate of 2 $\mu\text{L}/\text{min}$, producing charged fine droplets containing chemicals toward the adjacent mass spectrometer inlet. Chemical constituents such as sugars, amino acids, vitamin and alkaloids were simultaneously extracted from the navel orange tissue, and identified through collision-induced dissociation(CID) experiment. Furthermore, mass spectral fingerprints were processed by principal component analysis(PCA) to visualize the quality differences. Our experimental results indicated that iEESI-MS can directly characterize the quality differences of navel oranges by molecular analysis. The merits of iEESI-MS include simplicity, good specificity, high throughput and minimum sample pretreatment.

Keywords Internal extractive electrospray ionization mass spectrometry; Navel orange; Quality assessment; Direct analysis

(Ed. : N, K)

[†] Supported by the Program for Changjiang Scholars and Innovative Research Team in University, China(No. IRT13054) and the National Natural Science Foundation of China(Nos. 31370384, 21225522).