

电喷雾萃取电离质谱技术及其应用进展

贾滨, 张兴磊, 丁健桦, 杨水平, 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

* 联系人, E-mail: chw8868@gmail.com

2012-04-11 收稿, 2012-04-26 接受

国家自然科学基金(21175019)和国家重大科学仪器设备开发专项(2011YQ140150)资助

摘要 电喷雾萃取电离(EESI)技术是近年发展起来的一种可以在无需样品预处理的条件下对复杂基体样品进行直接质谱分析的新兴离子化技术. 该技术能对液体、气溶胶、固体表面、黏性样品等不同形态样品进行分析. 本文介绍了 EESI 技术的工作原理, 系统阐述了 EESI-MS 技术在实际样品分析中的实现方式和技术特点, 对 EESI-MS 现有的应用进行了简要的归纳和评述, 展望了 EESI 技术在食品医药安全、公共安全、化学反应机理研究、代谢组学、蛋白质分析、临床诊断、环境监测等领域中的应用前景.

关键词

质谱
直接离子化技术
电喷雾萃取电离

质谱分析技术具有样品耗量少、响应速度快、灵敏度高等特点, 并能够获得待测物的相对分子质量和结构信息. 然而, 传统的质谱分析方法通常只能分析基体较少的样品, 使其应用受到了一定限制. 虽然质谱法与色谱法的联用技术, 已广泛地应用于复杂混合物的分离和鉴定, 但通常在对实际样品的分析中, 仍需要较漫长和复杂的样品预处理过程. 因此, 在实际应用中, 色谱-质谱联用技术难以实现实时在线分析和现场高通量检测. 2004年, R. G. Cooks 教授研究组^[1]提出了可以在无需样品预处理情况下直接对表面样品进行质谱分析的电喷雾解吸电离质谱(DESI-MS)技术, 掀起了直接离子化技术^[2]的研究热潮^[1-11]. 直接离子化技术是泛指可以在常压下对未经预处理的复杂基体样品进行快速质谱分析的新兴离子化技术. 常见的直接离子化技术主要包括: 电喷雾解吸电离(DESI)^[11]、介质阻挡放电电离(DBDI)^[12]、低温等离子体(LTP)探针^[13]、空气动力辅助离子化(AFAI)^[14]、电喷雾辅助激光解吸电离(ELDI)^[15]、实时在线分析(DART)^[10]、表面解吸常压化学电离(DAPCI)^[16]和电喷雾萃取电离(EESI)等^[9,17]. EESI-MS 技术最初是为了实时在线的连续监测液体样品而发明的一种用于快速分析复杂基体液体样品的直接离

子化技术. 该技术解决了 DESI-MS 无法准确地分析液体样品中挥发性物质的难题^[6], 现已广泛用于液体、气溶胶、固体表面、黏性样品等不同形态样品的分析. 本文介绍了 EESI 技术的基本原理、特点及其分析不同形态样品时的具体实现方式, 展望了 EESI-MS 的发展前景.

1 电喷雾萃取电离技术的原理、装置及特点

1.1 EESI 源的工作原理

电喷雾萃取电离(EESI)技术最早是为了快速分析复杂基体液体样品而发明的一种电离技术. 如图 1(a)所示, EESI 源主要由电喷雾通道和样品引入通道构成. EESI 的操作相对灵活, 离子源可调节的工作条件主要包括: 样品通道与质谱仪进样口的角度(α)、距离(a), 电喷雾通道与样品通道间角度(β)、距离(b), 以及喷雾气压、试剂和样品流速、电离电压等. 通常情况下, 上述条件可设定为: $\alpha=150^\circ$, $\beta=60^\circ$, $a=5\sim 10$ mm, $b=1\sim 2$ mm, 喷雾气压 1.4 MPa, 试剂流速 3~7 $\mu\text{L}/\text{min}$, 喷雾电压 5~7 kV. 在具体实验中可根据样品的形态和待测物的性质等对 EESI 的各参数进行调整, 以达到最好的检测效果. 此外, 还必须确保样品

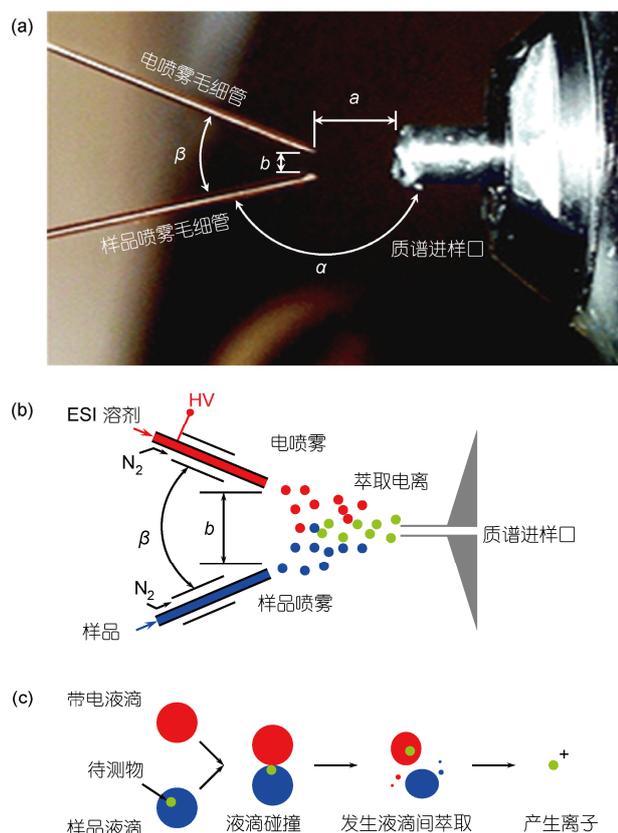


图1 典型的电喷雾萃取电离源(EESI)实验装置照片及原理示意图

(a) EESI 实验装置照片; (b) EESI 源装置示意图; (c) 液滴间碰撞、萃取过程示意图

通道轴线、电喷雾通道轴线和质谱进样通道轴线于同一平面内相交^[18], 以提高电喷雾液滴与样品液滴间的碰撞概率, 获得较好的分析灵敏度。

如图 1(b)所示, 在 EESI 过程中, 喷雾试剂(如甲醇、水等)通过电喷雾通道喷出, 产生初级带电试剂液滴, 作为离子源的初级能荷载体; 样品不与高电压接触, 而是通过样品喷雾通道喷入离子源空间, 形成不带电的中性样品液滴。在喷雾气流的作用下, 喷出的初级带电试剂(如甲醇、水等)液滴与样品液滴会在离子源空间中发生碰撞。Law 等人^[19]和 Wang 等人^[18]分别对 EESI 中带电液滴与样品液滴间的碰撞过程(图 1(c))进行了研究, 通过实验证明了电荷并不是通过带电液滴与样品液滴间的融合传递给样品的, 液滴间发生碰撞后会再次分开并分裂出小液滴; 同时, 在相互碰撞的带电液滴和样品液滴间存在显著的液液萃取过程。与带电液滴发生碰撞后, 样品液滴中的待测物被萃取到带电试剂液滴中, 完成去溶剂过程,

从而获得待测物的离子供后续质谱检测。在样品喷雾过程中, 样品中的待测物和基体中对待测物电离具有较强抑制作用的物质(盐等)会分散在不同的样品液滴中, 分别与带电液滴发生碰撞。这一过程能够最大程度的限制盐等物质对电荷的竞争, 提高待测物的离子化效率, 使 EESI 能够耐受复杂基体影响。

在 EESI 离子源中, 除离子源自身的工作条件设置外, 待测物和喷雾溶剂本身的性质也会对待测物的离子化效率产生影响。以正离子模式为例, 电喷雾得到的初级带电液滴会携带有较多正电荷(如 H^+ 等); 待测物的质子亲和势(PA)和气相碱度(GB)越高, 在碰撞过程中带电液滴就越容易将能荷传递给待测物分子, 形成质子化离子($M+H^+$)。此外, 带电液滴从中性样品液滴中萃取待测物时, 萃取效率还会受到待测物溶解度的影响, 相似相溶的规律仍然适用。

如图 2 所示, 实验选用不同极性的电喷雾溶剂萃取电离同一尿样时, 分析结果会表现出显著的差异。当选用较高极性溶剂(水、甲醇等)作电喷雾溶剂分析尿样时, 可以获得较高的信号强度(10^6 数量级); 当选用的电喷雾溶剂极性降低时, 虽然信号强度会明显下降, 但是 EESI-MS 的谱图中所检测到的分子质量和质量分布范围都会变大。Law 等人^[20]在采用 EESI 研究橄榄油时也观察到了类似的现象, 研究表明 EESI-MS 可以通过调整电喷雾溶剂的极性, 以获得丰富的橄榄油的分子信息。此外, Law 等人^[19]还研究了喷雾溶剂的不同对尼罗红的电离情况的影响, 结果表明: 当样品溶液中三氯甲烷的浓度升高时, 尼

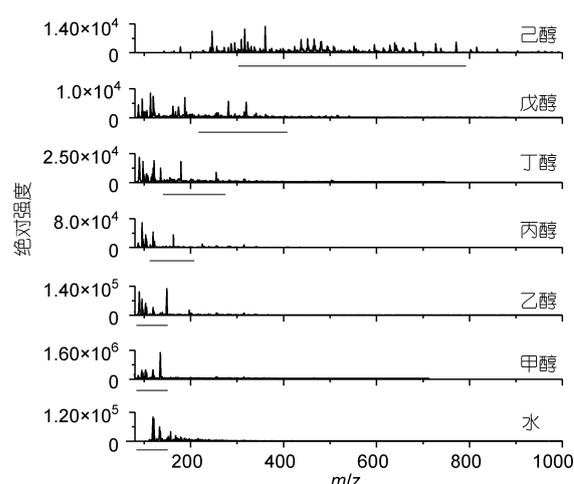


图2 不同电喷雾溶剂用于萃取电离同一尿样所得到的 EESI-MS 谱图

罗红在样品溶液中的溶解度变大,从样品通道喷出后,尼罗红将倾向于保留在中性样品液滴中而难以被带电液滴萃取,从而导致质谱检测到的尼罗红的信号下降;而当电喷雾溶剂中三氯甲烷的浓度升高时,尼罗红的质谱信号则会升高.上述结果表明,待测物在 EESI 源中的电离效率可能与待测物在萃取剂中的溶解度,以及萃取剂极性和待测物极性等密切相关.基于上述实验事实和我们在 EESI 研究中的经验,结合 EESI-MS 电离机理的研究成果,EESI-MS 的信号响应与溶剂和待测物极性的关系总结为表 1.据此,EESI 方法可以通过选择合适的喷雾溶剂来提高方法的分析灵敏度和选择性.

1.2 EESI 源的工作装置及特点

图 3 对 EESI 装置进行了总结.如图 3(a)所示,EESI 起初主要采用两个喷雾器来对复杂基体的液体样品进行快速质谱分析.EESI 中的液体样品与高电压不发生直接接触,这就使 EESI 能够耐受基体的影响,可在无需样品预处理的情况下对复杂基体样品,尤其是原生态的生物样品^[17](如尿样、牛奶等)进行直接电离和快速质谱分析.样品与高电压的隔离,也使得 EESI 成为一种比 ESI 更软的离子化电离方式,尤

表 1 EESI 中待测物的信号响应与溶剂和待测物极性的关系

电喷雾溶剂	样品溶剂	待测物	信号强度
非极性	非极性	非极性	高
非极性	非极性	极性	中
非极性	极性	非极性	低
非极性	极性	极性	无
极性	非极性	非极性	无
极性	非极性	极性	低
极性	极性	非极性	中
极性	极性	极性	高

其适用于的天然态蛋白的检测和分析.

事实上,既然液体样品通过雾化后即可进行直接电离分析,那么显然 EESI 技术在气溶胶样品的分析中将更具优势.人或动物的呼出气体是一种承载着生物体大量生理、病理信息的典型的气溶胶样品.EESI 应用于呼出气体的活体直接检测的装置如图 3(b)所示.该技术相对于其他分析技术的显著特点是检测灵敏度高、响应速度快,采样过程中样品无明显损失,能够实现呼出气体中的痕量有机物的原位、实时、在线的分析.

2007 年,Chen 等人^[21,22]首次提出用于 EESI 质

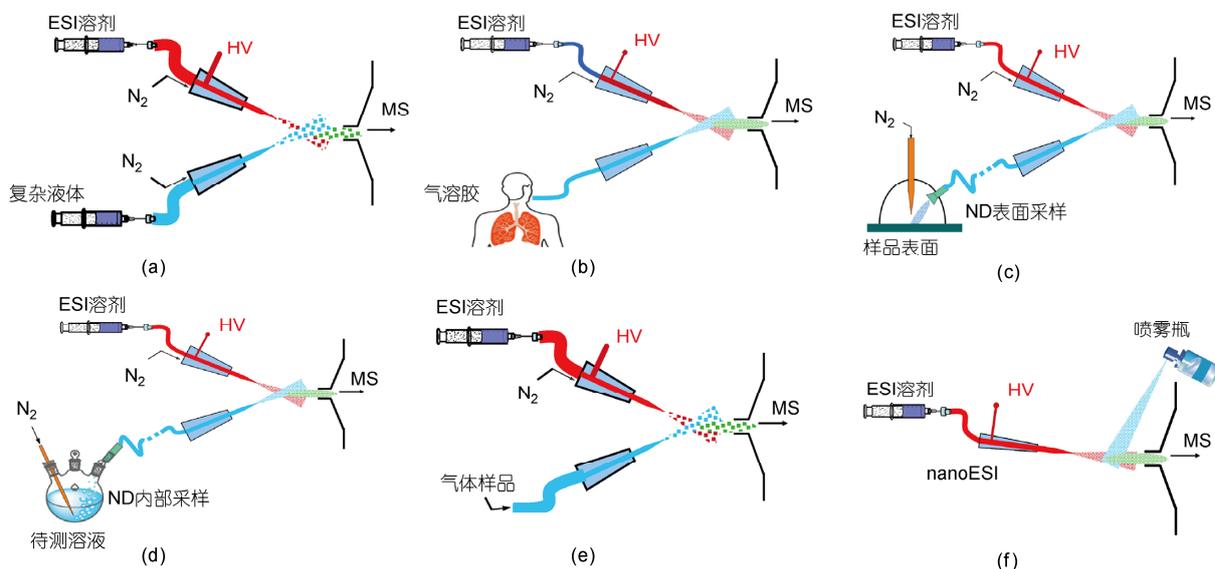


图 3 EESI 分析不同形态样品的装置示意图

(a) 通过两个喷雾器,直接分析复杂液体样品的 EESI 装置示意图; (b) 直接分析气溶胶(如人的呼出气体)样品的 EESI 装置示意图; (c) 耦合有中性解吸(ND)的 EESI 分析固体样品表面的装置示意图; (d) 通过 ND 内部采样直接分析黏稠样品等的 EESI 装置示意图; (e) 气体样品(如大气污染物、ND 收集的气相待测物等)直接进样电离的 EESI 装置示意图; (f) 无需载气钢瓶的 nanoEESI 装置示意图

谱分析的中性解吸(neutral desorption, ND)技术. ND-EESI技术在保持EESI原有的检出限和检测灵敏度的同时,显著提高了对极端复杂基体的耐受能力,并能适用于各种样品形态的分析,极大的拓展了EESI技术的应用领域^[22-24].如图3(c)所示,用于表面采样的ND-EESI方法可以通过中性气流(如N₂)将附着在待测表面上的化合物解吸出来,然后将其引入到EESI离子源的样品通道,进行直接电离和质谱表征.与其他表面直接电离技术(如DESI等)相比,表面采样ND-EESI的最大特点是待测物解吸过程和电离过程在空间和时间的分离.这一特点,使得ND-EESI在分析表面样品时可以做到远程、在线的实时检测;同时该设计(远离电场和有毒试剂)最大限度地保障了待测表面的安全,特别适用于食品和生物活体表面(如人的皮肤等)的直接质谱分析.

黏性样品是一种典型的具有极端复杂基体的样品.黏性样品的分析,往往需要极其复杂的样品预处理过程,曾是快速分析技术难以触及的禁区.2009年, Law等人^[25]首次将EESI-MS技术成功应用于黏性样品无需预处理的直接质谱分析,装置如图3(d)所示. ND-EESI技术相继完成了各种黏性样品(离子液体、食用油、奶酪、牙膏、化妆品、痰样等)的直接分析,可分析样品的黏性分布范围从几厘泊到300000厘泊(1厘泊=10⁻³ Pa s)不等^[24].在这些应用中,ND-EESI-MS技术对极端复杂基体的耐受能力得到了充分的体现.

除此之外,气态样品中的纯气相待测物直接进样后也可以被EESI源电离,装置如图3(e)所示.该装置所检测的气态样品可以本身就是气体(如空气污染检测),也可以是通过ND方法的解吸得到的气体样品(如分析含有较多气体的饮料、无损分析水果样品、有机化学反应的在线监测等).这些研究对EESI的应用领域是极大的补充,使得EESI-MS技术的能够直接分析液体、固体、气体、气溶胶等所有形态的样品.

纳升电喷雾萃取电离(nanoEESI)^[26-28]技术(如图3(f)所示)是对EESI的进一步改进,该装置采用纳喷雾技术产生初级离子/带电液滴,采用一次性的手动喷雾器引入样品;从而使装置无需使用鞘气,待优化参数减少,样品交叉污染和记忆效应显著下降.而这种无需载气钢瓶的nanoEESI-MS技术,与便携的小型质谱仪器耦合后,更利于对样品进行现场直接分析.除小型质谱仪外,上述各种形式的EESI源,

均可非常方便的与各种常见的质谱仪进行联用,如四级杆、离子阱、飞行时间和轨道阱质谱仪等.本文将对上述各种EESI-MS装置的典型应用做简要阐述.

综上所述,EESI-MS技术现具有以下特点:(1)能够承受复杂基质,无需任何样品预处理即可用于复杂样品的直接质谱分析;(2)稳定性好、灵敏度高、分析速度快;(3)适用面广,能够检测各种形态样品中的极性、非极性物质以及挥发、非挥发性物质;(4)样品在分析过程中不与高电压直接接触、不会受到化学污染或物理损伤;(5)可较方便地进行选择性分子-离子或离子-离子反应研究;(6)能与多种仪器联用,易于小型化和集成化,可用于现场分析.

2 电喷雾萃取电离技术的应用

EESI-MS技术已经针对各种形态的样品(气态、液态、固态、黏稠物等)建立了数十种分析方法,广泛应用于食品医药安全、公共安全、化学反应机理研究、代谢组学、蛋白质分析、临床诊断、环境监测等领域.表2对EESI-MS技术分析不同样品的具体应用实例、所采用的进样方式、检测的待测物及应用领域进行了归纳和总结.本节将从复杂液体直接进样分析、气态样品直接进样分析和联用ND采样技术分析复杂样品3个方面,对EESI-MS在上述领域中的应用做简要阐述.

2.1 复杂液体样品直接进样分析

2006年,Chen等人^[17]在复杂基体样品直接电离的研究中,提出了液滴-液滴萃取电离的概念,并将这种电离技术命名为电喷雾萃取电离(EESI);该研究完成了对未稀释的尿液、牛奶和污水中除草剂(阿特拉津)、爆炸物(TNT, RDX)等痕量物质的直接检测和串联质谱分析.此后,EESI-MS技术在复杂基体液体样品分析中进行了广泛的应用.Zhou等人^[29]采用EESI技术对尿液样品进行进一步的研究,建立了尿液中阿特拉津及其代谢产物DACT(2-氯-4,6-二氨基-S-三嗪)快速分析方法,检出限分别为0.2 fg/μL(阿特拉津)和0.1 fg/μL(DACT).丁健桦等人^[47]采用EESI串联质谱分析了芹菜素在EESI-MS中的裂解规律,为复杂基体中痕量芹菜素的快速直接分析提供了参考.Gu等人^[26]采用nanoEESI-MS技术对气雾剂药物中的多种活性成分(如:硝酸益康唑、丙酸倍氯米松、水杨酸甲酯和苯海拉明的二元混合物、特布他

表2 EESI应用实例

样品形态	样品	进样方式	待测物	应用领域
液态样品	尿液	液体直接进样	阿特拉津(除草剂) ^[17,29] 、2-氯-4,6-二氨基-S-三嗪(阿特拉津的代谢产物) ^[29]	代谢组学
			黑索今(RDX) ^[17]	公共安全
	污水	液体直接进样	三硝基甲苯(TNT) ^[17]	公共安全
			饮料	nanoEESI
	气雾剂药物	nanoEESI	牛磺酸、咖啡因、赖氨酸、肌醇、烟酰胺、维生素 B6、磷酸、果糖、脱水果糖 ^[27]	食品分析
			硝酸益康唑、丙酸倍氯米松、水杨酸甲酯和苯海拉明的二元混合物、特布他林、沙丁胺醇 ^[26]	药物分析
	人参浸出液	nanoEESI	人参皂苷 ^[30]	药物分析
			天然水	液体直接进样
	铀矿石硝酸溶液	液体直接进样	硝酸铀酰 ^[32]	同位素分析
			土壤硝酸溶液	液体直接进样
生物样品(如泪液等)	液体直接进样	溶菌酶、肌红蛋白、 α -糜蛋白酶 ^[33,34]	蛋白质分析	
气态样品	呼出气体	直接吹入	尿素、氨基酸、葡萄糖、蔗糖等 ^[9,35]	代谢组学
			尼古丁 ^[36]	代谢组学
	空气样品	气体直接进样	羟基-丙戊酸- γ -内酯(丙戊酸的代谢产物) ^[37] 甲苯-2,4-二异氰酸酯 ^[38]	代谢组学 环境监测
固体表面	皮肤表面	ND 表面采样	TNT, RDX, 奥克托今(HMX), 三过氧化三丙酮(TATP)和硝化甘油(NG) ^[21,39]	公共安全
	冷冻肉类	ND 表面采样	代谢组 ^[22]	食品分析
	水果	ND 表面采样	代谢组 ^[40]	食品分析
黏性样品	离子液体	ND 内部采样	5-羟甲基糠醛、1-乙基-3-甲基咪唑、1 甲基咪唑等 ^[25]	反应在线监测
	橄榄油	ND 内部采样	反-2-己烯醛、反-反-2,4-庚二烯醛、酪醇和咖啡酸等 ^[20, 25]	食品分析
	啤酒	ND 内部采样	挥发性的酯、游离脂肪酸和非挥发性的氨基酸、有机/无机酸等 ^[41]	食品分析
	奶酪	ND 表面采样	丁酸、戊酸和癸烯酸等 ^[42]	食品分析
	化妆品	ND 内部采样	激素、磺胺类药物、非法防晒剂 ^[43,44]	日用品安全
	牙膏	ND 内部采样	二甘醇 ^[25,45]	日用品安全
	痰液	ND 内部采样	代谢组 ^[46]	临床诊断

林、和沙丁胺醇等)进行快速质谱分析,该方法分析单个样品时间为 1.2 s,分析沙丁胺醇的相对标准偏差和检出限分别为 6.39%($n=13$)和 10 fg/mL. Li 等人^[27]采用 nanoEESI-MS 方法对功能饮料中的功能成分如牛磺酸、咖啡因、赖氨酸、肌醇、烟酰胺、维生素 B6 和软饮料(如可口可乐、百事可乐等)中的主要成分如咖啡因、磷酸、果糖和脱水果糖等进行了高通量的现场测定; Hu 等人^[28]采用 nanoEESI-MS 技术对饮料中可卡因等痕量禁用物质进行快速、灵敏筛检(检出限可达 7~15 pg/L). 胡斌等人^[30]采用 nanoEESI-MS 技术分析人参浸出液中的人参皂苷含量,建立了无需色谱分离的快速测定人参皂苷的质谱分析方法.

除了复杂基体溶液中的有机分子的检测外, EESI 技术还在无机金属离子的快速直接分析研究中取得了一定的进展. 例如, Luo 等人^[31]采用 EESI-MS 方法,实现了对天然水样中的铀元素的快速分析. 在天然水样品中铀通常以铀酰的形式存在. 在 EESI 源的电喷雾溶液中加入乙酸后,乙酸和铀酰会结合形成乙酸铀酰络合物离子($UO_2(Ac)_2)_nAc^-$, $n=1\sim5$),从而被质谱检测. 该方法的单样品分析时间约 10 s,铀酰的检出限可以达到 10^{-3} ng/L 量级,相对标准偏差为 6.9%~8.1%($n=8$, $S/N=3$),动态响应范围 $10^{-1}\sim10^3$ ng/L. 此外,硝酸也可以与铀酰结合形成硝酸铀酰络合物; Liu 等人^[32]采用硝酸处理天然水样、铀矿石和土壤等

制备硝酸溶液样品, 并采用 EESI-MS 技术实现了样品中铀同位素比($^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$)的快速测定. 该方法分析单个样品仅需 5 min, 分析结果的相对误差范围为 0.21%~0.25%.

生物大分子的分析检测也是分析化学领域的研究热点. 2010 年, Chen 等人^[33]提出了一种基于 EESI-MS 的快速检测蛋白质的新技术. 该研究选用蛋清溶菌酶、肌红蛋白、 α -糜蛋白酶和牛肝过氧化氢酶等对的蛋白质分子的电喷雾萃取电离行为进行了表征. 研究表明, 基于 EESI 源固有的软电离性质(主要表现为待测样品不与 ESI 喷雾电压接触, ≥ 3 kV), 蛋白质分子在电离过程中会最大程度地保持其原有的天然折叠构象, 不易与辅基脱离, 并能保持其酶活性(94%~99%). Hu 等人^[34]的最新研究表明, EESI-MS 技术可以耐受复杂生物样品的基质影响, 无需样品预处理即可从生物样品中直接检测天然态蛋白. 在生物样品分析中, EESI-MS 可以较好地保持待测生物样品的生理/病理状态; 在天然态蛋白质的原位生物样品分析中有着较好的应用潜力.

此外, EESI 方法中两个喷雾通道的溶液从开始接触到进入质谱的过程, 只需要小于 4 ms 的时间^[48,49]. 因此, EESI-MS 技术特别适合于在快速反应的溶液中, 观察和鉴定活性反应中间体. Marquez 等人^[49]采用 EESI 技术研究了电子转移催化的反茴香脑二聚反应, 并从中成功检测到一个新的不稳定的反应中间体.

2.2 气态样品直接进样分析

呼出气体是人或动物的重要代谢产物之一, 其中微量成分的分析可以为考察人体内在的生化过程提供参照, 对生理/病理研究具有重要意义. 与其他代谢产物(如尿液等)相比, 呼出气体具有获取方便等特点; 同时, EESI-MS 技术能够耐受基体的影响, 可以对高水分含量的气溶胶样品进行直接分析. 因此, EESI-MS 方法能够对呼出气体进行直接分析, 无需任何样品预处理过程, 便于最大限度的保存呼出气体中的痕量物质, 实现呼出气体的原位实时在线分析. 2007 年, Chen 等人^[9,35]首次采用基于 EESI-ToF-MS 的方法对人体呼出气体进行质谱分析, 成功地在呼出气体中检测到诸多与人体生命活动相关的有机物质. Ding 等人^[36]采用耦合有 EESI 源的离子阱质谱仪对志愿者抽烟前、后的呼出气体进行串联质谱分

析, 考察人体内尼古丁的代谢情况. 在无需样品预处理情况下, 实现了对呼出气体中的尼古丁的实时检测; 方法对尼古丁的检出限为 0.05 pg/L, 线性范围是 0.015~155 ng/L. 在临床上, 监测患者体内的活性药物含量对药物剂量调整, 副作用预防等有重要的作用. 例如, 丙戊酸(VPA)是用于治疗癫痫和神经精神障碍典型药物, 而患者通常需要多次抽血化验才能确定一个合适的 VPA 服用剂量. 2011 年, Gamez 等人^[37]采用 EESI-MS 方法, 在呼出气体中新发现了一种 VPA 人体代谢生物标记物: 羟基-丙戊酸- γ -内酯. 基于该发现, 研究者以一种非侵入式的方式, 实现了对人体内活性 VPA 药物含量和药物代谢分布的实时监控.

EESI-MS 技术在研究呼出气体时具有取样简单, 无需样品储存和预处理, 非侵入式取样, 能够检测到用以表征人体/动物生理、病理活动的非挥发性有机物等特点, 在人体代谢研究, 尤其是药物代谢研究领域有着广阔的应用前景.

近年来环境污染问题日益严重, 当今社会对空气污染物的快速检测和实时监测技术也提出了越来越高的要求. EESI-MS 方法与其他气体分析技术不同, 在分析空气样品时, 可以耐受高水分含量的影响, 并且无需样品储存和预处理, 即可以实现气体样品中游离的有机待测物的直接检测; 具有分析速度快、灵敏度高、特异性强等特点. 当然, 由于质谱仪器本身的特性, 对于粉尘、颗粒较多的空气样品还不能实现直接的样品分析. 在分析这类样品时, 需要对其进行简单的除尘处理, 以避免其对质谱仪器的损害. 李建强等人^[38]采用 EESI 方法, 在铺有塑胶跑道的体育馆、操场等处, 对劣质的塑胶材料向空气中释放的甲苯-2,4-二异氰酸酯(TDI)进行了直接检测研究, TDI 的检出限低于 1.8×10^{-3} mol/L(体积分数: 0.04%).

2.3 联用 ND 采样技术分析复杂样品

自 2004 年以来, 包括电喷雾解吸电离(DES^[1])、表面解吸常压化学电离(DAPCI)^[16]和低温等离子体(LTP)电离^[13]等在内的诸多直接离子化技术已经广泛应用于固体表面物质的快速质谱分析. 而 ND-EESI 技术用于分析样品表面时, 高电压或有毒化学试剂不与待测表面发生接触, 能够最大限度的保障样品安全、无损. Chen 等人^[21,22,40]采用 ND-EESI-MS 对生物样品的无损分析进行了研究, 如皮肤表面的活体

分析、冷冻的肉类无需解冻的直接分析和不同成熟度水果的鉴定等。研究表明, ND-EESI 能够有效地获取与生物样品种类有关的化学成分信息。此外, Chen 等人^[39]采用 ND-EESI 技术对人体皮肤表面的爆炸物(如 TNT, RDX, HMX, TATP 和 NG 等)进行原位的直接质谱检测, 该方法对爆炸物的检出限范围为 0.5~10 pg/cm², 其中 RDX 的线性范围为 0.01~100 ng/cm²。研究表明, ND-EESI 在刑事侦查和公共安全等领域有着广阔的应用前景。

如前文所述, 黏性样品是一种典型具有极端复杂基体的样品。而 ND-EESI-MS 技术能在无需样品预处理的情况下, 较好地完成黏性样品的直接分析。2009年, Chen 等人^[25]提出采用 ND-EESI-MS 的方法分析黏性样品, 如离子液体、食用油、蜂蜜、牙膏等。Law 等人^[20]用 ND-EESI 技术实现对食用油的快速识别和分类, 并从特级初榨橄榄油中检测出了包括反-2-己烯醛、反-反-2,4-庚二烯醛、酪醇和咖啡酸等在内的约 16 种物质。Zhu 等人^[41]采用 ND-EESI 技术, 对啤酒进行了无需样品预处理的直接质谱分析, 并从啤酒中同时检测到了挥发性的酯、游离脂肪酸和非挥发性的氨基酸、有机/无机酸等物质。Wu 等人^[42]用 ND-EESI 技术实现了对不同厂家生产的不同品种的奶酪的快速识别和分类; 并从奶酪样品中较灵敏的检出丁酸、戊酸和癸烯酸等物质。Ding 等人^[45]采用 ND-EESI 技术建立了牙膏中二甘醇的快速定量分析方法; 二甘醇的检出限约为 20 μg/g, 相对标准偏差小于 8%($n=8$), 回收率为 97.6%~102.4%。Liu 等人^[43]和 Zhang 等人^[44]分别采用 GIND-EESI-MS 技术对黏性化妆品中的激素、磺胺类药物、非法防晒剂等进行了检测分析, 该方法对上述物质的检出限范围为 0.001~1 ng/g, 相对标准偏差 6.18%~16%。魏益平等^[46]利用 ND-EESI 技术, 初步分析了非小细胞肺癌患者的痰液样品, 为研究 ND-EESI 技术在非小细胞肺癌的临床诊断中的应用提供了较好的基础。

有机化学反应过程中的实时监测, 不论是对于化学反应过程研究还是实际生产监控都具有异常重要的作用。然而, 化学反应过程的维持, 往往需要其

他反应条件的存在, 如催化剂、加热等。因此, 化学反应过程的监测, 要求监测技术必须具备较高的基体耐受性和无需样品预处理的直接分析检测能力。2008年, Zhu 等人^[50]成功地将 ND-EESI-MS 技术应用于有机化学反应的实时在线监测。研究表明, ND-EESI-MS 技术可以广泛适用于基元反应、异构反应、及含催化剂的反应等各类化学反应过程的监测。Law 等人^[25]采用 ND-EESI-MS 技术实现了离子液体(1-乙基-3-甲基咪唑氯, EMIMCl)中果糖转化为 5-羟甲基糠醛的反应的在线监测。McCullough 等人^[51], 基于 EESI 离子源设计了一种化学反应的在线监测装置, 实现了反应中低浓度有害杂质的监测。与其他技术相比, 基于质谱技术的高灵敏度和高响应速度, EESI-MS 能够更好地辅助化学反应和药物反应过程的控制; 同时, EESI-MS 还可以结合串联质谱技术, 对反应过程中的暂态/中间态进行确认, 从而深入地理解化学反应机理。

3 结语

电喷雾萃取电离技术(EESI-MS)凭借其独特的设计和固有技术特点, 在近年来取得了较好的发展。在应用研究过程中针对不同的样品分析的需求, 不同研究者对 EESI-MS 技术进行了优化、改良和与其他技术的耦合, 使其具备了较好的现场分析能力和极端基体耐受性, 适用于不同形态样品的分析。随着 EESI-MS 应用的深入, 研究者对其工作机理的理解也越来越深刻^[2,18,19], 对样品电离的物理、化学过程的认识也越来越清晰。离子源电离机理研究的继续深入也必将为 EESI 技术的进一步发展和应用提供基础和动力。

目前, EESI-MS 方法与其他常压直接电离质谱方法一样, 虽具有很高的灵敏度, 但是在精准定量方面仍需改进。尽管如此, EESI-MS 方法在食品医药安全、公共安全、化学反应机理研究、代谢组学、蛋白质分析、临床诊断、环境监测等诸多领域的研究与应用, 尤其是在生物体的活体代谢和天然态蛋白研究等方面, 有望成为具有重要价值的研究工具。

致谢 本文写作过程中得到香港理工大学胡斌、东华理工大学朱志强博士、王楠楠、洪锋等的帮助, 谨致谢意。

参考文献

- 1 Takáts Z, Wiseman J M, Gologan B, et al. Mass spectrometry sampling under ambient conditions with desorption electrospray ionization. *Science*, 2004, 306: 471–473
- 2 陈焕文, 胡斌, 张燮. 复杂样品质谱分析技术的原理与应用. *分析化学*, 2010, 38: 1069–1088
- 3 Cooks R G, Ouyang Z, Takats Z, et al. Ambient mass spectrometry. *Science*, 2006, 311: 1566–1570
- 4 Venter A, Nefliu M, Cooks R G. Ambient desorption ionization mass spectrometry. *Trends Anal Chem*, 2008, 27: 284–290
- 5 Chen H W, Gamez G, Zenobi R. What can we learn from ambient ionization techniques? *J Am Soc Mass Spectrom*, 2009, 20: 1947–1963
- 6 Alberici R M, Simas R C, Sanvido G B, et al. Ambient mass spectrometry: Bringing MS into the “Real world”. *Anal Bioanal Chem*, 2010, 398: 265–294
- 7 Huang M Z, Yuan C H, Cheng S C, et al. Ambient ionization mass spectrometry. *Annu Rev Anal Chem*, 2010, 3: 43–65
- 8 Chen H W, Talaty N N, Takats Z, et al. Desorption electrospray ionization mass spectrometry for high-throughput analysis of pharmaceutical samples in the ambient environment. *Anal Chem*, 2005, 77: 6915–6927
- 9 Chen H W, Wortmann A, Zhang W H, et al. Rapid *in vivo* fingerprinting of nonvolatile compounds in breath by extractive electrospray ionization quadrupole time-of-flight mass spectrometry. *Angew Chem Int Ed*, 2007, 46: 580–583
- 10 Cody R B, Laramee J A, Durst H D. Versatile new ion source for the analysis of materials in open air under ambient conditions. *Anal Chem*, 2005, 77: 2297–2302
- 11 Na N, Xia Y, Zhu Z L, et al. Birch reduction of benzene in a low-temperature plasma. *Angew Chem Int Ed*, 2009, 48: 2017–2019
- 12 Na N, Zhao M, Zhang S, et al. Development of a dielectric barrier discharge ion source for ambient mass spectrometry. *J Am Soc Mass Spectrom*, 2007, 18: 1859–1862
- 13 Harper J D, Charipar N A, Mulligan C C, et al. Low-temperature plasma probe for ambient desorption ionization. *Anal Chem*, 2008, 80: 9097–9104
- 14 He J, Tang F, Luo Z, et al. Air flow assisted ionization for remote sampling of ambient mass spectrometry and its application. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2011, 25: 843–850
- 15 Shiea J, Huang M Z, Hsu H J, et al. Electrospray-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry for direct ambient analysis of solids. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2005, 19: 3701–3704
- 16 Chen H W, Zheng J, Zhang X, et al. Surface desorption atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry for direct ambient sample analysis without toxic chemical contamination. *J Mass Spectrom*, 2007, 42: 1045–1056
- 17 Chen H W, Venter A, Cooks R G. Extractive electrospray ionization for direct analysis of undiluted urine, milk and other complex mixtures without sample preparation. *Chem Commun*, 2006, 42: 2042–2044
- 18 Wang R, Gröhn A J, Zhu L, et al. On the mechanism of extractive electrospray ionization (EESI) in the dual-spray configuration. *Anal Bioanal Chem*, 2012, 402: 2633–2643
- 19 Law W S, Wang R, Hu B, et al. On the mechanism of extractive electrospray ionization. *Anal Chem*, 2010, 82: 4494–4500
- 20 Law W S, Chen H W, Balabin R, et al. Rapid fingerprinting and classification of extra virgin olive oil by microjet sampling and extractive electrospray ionization mass spectrometry. *Analyst*, 2010, 135: 773–778
- 21 Chen H W, Yang S P, Wortmann A, et al. Neutral desorption sampling of living objects for rapid analysis by extractive electrospray ionization mass spectrometry. *Angew Chem Int Ed*, 2007, 119: 7735–7738
- 22 Chen H W, Wortmann A, Zenobi R. Neutral desorption sampling coupled to extractive electrospray ionization mass spectrometry for rapid differentiation of biosamples by metabolomic fingerprinting. *J Mass Spectrom*, 2007, 42: 1123–1135
- 23 Chen H W, Zenobi R. Neutral desorption sampling of biological surfaces for rapid chemical characterization by extractive electrospray ionization mass spectrometry. *Nat Protoc*, 2008, 3: 1467–1475
- 24 Li X, Hu B, Ding J H, et al. Rapid characterization of complex viscous samples at molecular levels by neutral desorption extractive electrospray ionization mass spectrometry. *Nat Protoc*, 2011, 6: 1010–1025
- 25 Law W S, Chen H W, Ding J H, et al. Rapid characterization of complex viscous liquids at the molecular level. *Angew Chem Int Ed*, 2009, 48: 8277–8280
- 26 Gu H W, Hu B, Li J Q, et al. Rapid analysis of aerosol drugs using nano extractive electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Analyst*, 2010, 135: 1259–1267
- 27 Li M, Hu B, Li J Q, et al. Extractive electrospray ionization mass spectrometry toward *in situ* analysis without sample pretreatment. *Anal Chem*, 2009, 81: 7724–7731
- 28 Hu B, Peng X J, Yang S P, et al. Fast quantitative detection of cocaine in beverages using nanoextractive electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Analyst*, 2010, 21: 290–293

- 29 Zhou Z Q, Jin M, Ding J H, et al. Rapid detection of atrazine and its metabolite in raw urine by extractive electrospray ionization mass spectrometry. *Metabolomics*, 2007, 3: 101–104
- 30 胡斌, 越皓, 黄科科, 等. 纳升电喷雾萃取电离质谱快速测定人参皂苷. *高等学校化学学报*, 2011, 32: 1289–1294
- 31 Luo M B, Hu B, Zhang X, et al. Extractive electrospray ionization mass spectrometry for sensitive detection of uranyl species in natural water samples. *Anal Chem*, 2010, 82: 282–289
- 32 Liu C X, Hu B, Shi J B, et al. Determination of uranium isotopic ratio ($^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$) using extractive electrospray ionization tandem mass spectrometry. *J Anal Atom Spectrom*, 2011, 26: 2045–2051
- 33 Chen H W, Yang S P, Li M, et al. Sensitive detection of native proteins using extractive electrospray ionization mass spectrometry. *Angew Chem Int Ed*, 2010, 49: 3053–3056
- 34 Hu B, Yang S P, Li M, et al. Direct detection of native proteins in biological matrices using extractive electrospray ionization mass spectrometry. *Analyst*, 2011, 136: 3599–3601
- 35 Chen H W, Zenobi R. Direct analysis of living objects by extractive electrospray mass ionization spectrometry. *Chimia*, 2007, 61: 843–843
- 36 Ding J H, Yang S P, Liang D P, et al. Development of extractive electrospray ionization ion trap mass spectrometry for *in vivo* breath analysis. *Analyst*, 2009, 134: 2040–2050
- 37 Gamez G, Zhu L, Disko A, et al. Real-time, *in vivo* monitoring and pharmacokinetics of valproic acid via a novel biomarker in exhaled breath. *Chem Commun*, 2011, 47: 4884–4886
- 38 李建强, 周瑜芬, 丁健桦, 等. 运动场地游离甲苯-2,4-二异氰酸酯的直接电喷雾萃取电离质谱分析. *分析化学*, 2008, 36: 1300–1304
- 39 Chen H W, Hu B, Hu Y, et al. Neutral desorption using a sealed enclosure to sample explosives on human skin for rapid detection by EE-SI-MS. *J Am Soc Mass Spectrom*, 2009, 20: 719–722
- 40 Chen H W, Sun Y P, Wortmann A, et al. Differentiation of maturity and quality of fruit using noninvasive extractive electrospray ionization quadrupole time-of-flight mass spectrometry. *Anal Chem*, 2007, 79: 1447–1455
- 41 Zhu L, Hu Z, Gamez G, et al. Simultaneous sampling of volatile and non-volatile analytes in beer for fast fingerprinting by extractive electrospray ionization mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem*, 2010, 398: 405–413
- 42 Wu Z C, Chingin K, Chen H W, et al. Sampling analytes from cheese products for fast detection using neutral desorption extractive electrospray ionization mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem*, 2010, 397: 1549–1556
- 43 Liu Y, Zhang X L, Ouyang Y Z, et al. Trace detection of hormones and sulfonamides in viscous cosmetic products by neutral desorption extractive electrospray ionization tandem mass spectrometry. *J Mass Spectrom*, 2011, 46: 794–803
- 44 Zhang X L, Liu Y, Zhang J H, et al. Neutral desorption extractive electrospray ionization mass spectrometry for fast screening sunscreen agents in cream cosmetic products. *Talanta*, 2011, 85: 1665–1671
- 45 Ding J H, Gu H W, Yang S P, et al. Selective detection of diethylene glycol in toothpaste products using neutral desorption reactive extractive electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Anal Chem*, 2009, 81: 8632–8638
- 46 魏益平, 鄢飞燕, 贾滨, 等. 痰液直接电喷雾萃取电离质谱分析在非小细胞肺癌诊断中的应用. *中华实验外科杂志*, 2011, 28: 422–424
- 47 丁健桦, 王兴祥, 张慧, 等. 芹菜素的电喷雾萃取电离串联质谱. *高等学校化学学报*, 2011, 32: 1714–1719
- 48 Wortmann A, Kistler-Momotova A, Zenobi R, et al. Shrinking droplets in electrospray ionization and their influence on chemical equilibria. *J Am Soc Mass Spectrom*, 2007, 18: 385–393
- 49 Marquez C A, Wang H, Fabbretti F, et al. Electron-transfer-catalyzed dimerization of trans-anethole: Detection of the distonic tetramethylene radical cation intermediate by extractive electrospray ionization mass spectrometry. *J Am Chem Soc*, 2008, 130: 17208–17209
- 50 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. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2008, 22: 2993–2998
- 51 McCullough B J, Bristow T, O'Connor G, et al. On-line reaction monitoring by extractive electrospray ionisation. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2011, 25: 1445–1451

Principle and applications of extractive electrospray ionization mass spectrometry

JIA Bin, ZHANG XingLei, DING JianHua, YANG ShuiPing & CHEN HuanWen

Jiangxi Key Laboratory for Mass Spectrometry and Instrumentation, College of Chemistry, Biology and Material Science, East China Institute of Technology, Nanchang 330013, China

Extractive electrospray ionization mass spectrometry (EESI-MS), an ambient ionization technique for direct analysis of complex samples without sample pretreatment, is undergoing rapid development, and has been widely used in the analysis of liquids, aerosols, solid surfaces and viscous liquids. In this paper, the mechanism of EESI is introduced, the specific implementations and characteristics of EESI-MS in the analysis of real samples are described, and the new applications of EESI-MS are discussed. Moreover, the usability of EESI-MS in the field of food and drug safety; public security; chemical reaction mechanisms; metabolomics; protein analysis; clinical diagnostic and environmental monitoring are exemplified using cases demonstrated in the literature.

mass spectrometry, ambient ionization for direct analysis, extractive electrospray ionization

doi: 10.1360/972012-598