双步激光解析/激光电离质谱法及其应用的新进展

王红磊 胡勇军 形达

(华南师范大学生物光子学研究院激光生命科学研究所暨激光生命科学教育部重点实验室,广州 510631)

摘 要 激光光电离技术已广泛应用于质谱领域。基于单束激光的基质辅助激光解析(MALDI)质谱分析方法,已成为质谱分析生物大分子的标准方法之一。本文介绍的是另一种新的激光质谱分析方法:双步激光解析/激光电离质谱法(L2MS) 与MALDI相比,该方法不需要加入与样品形成共结晶的基质,同时可通过独立地改变两束激光的光强和波长达到优化质谱信号的目的。本文综述了该实验技术在氨基酸和短肽、环境污染物多环芳烃(PAHs)、高分子添加剂、矿物以及代谢产物等成分分析的最新进展,并展望该技术的应用前景。

关键词 光电离;激光解析;质谱分析;生物技术;多环芳烃;综述

1 引 言

激光技术与质谱方法相结合开始于 20 世纪 70 年代^[1],最初应用于光电离光谱和分子反应动力学等 基础研究领域^[2 3]。随后,分析化学家将该技术应用于分析领域,日本 Tanaka 因最先提出应用单束激光 开展基质辅助激光解析(MALDI)质谱分析方法而获得了 2002 年诺贝尔奖。本文介绍的是另一种基于激 光的质谱分析方法,即双步激光解析/激光电离质谱法(L2MS)。近年来,应用 L2MS 技术并与超声分子 束相结合来研究生物分子的构型构象和精细光谱在基础研究领域已成为研究热点^[4 5]。本文评述了该技 术的基本原理,及其在质谱分析方面的最新进展,包括应用于氨基酸和短肽、大气环境污染物多环芳烃 (PAHs)、化学添加剂、外太空矿物质以及人类代谢产物等的成分解析,并展望该技术的发展前景。

2 双步激光质谱技术原理

双步激光质谱法应用于质谱分析在 20 世纪 80 年代已有报道^[6]。与目前在生物质谱分析中广泛采用的 MALDI 质谱方法不同,双步激光质谱法采用两束激光分别完成气化/解析和电离的任务。其基本原理如图1所示^[7]。

在双步激光系统中,解析阶段和电离阶段在空间 和时间上是相互独立的,这样就可以对每一阶段进行 单独优化。第一束激光为解析激光,其作用是使样品 在很短的时间内得以气化,对于热不稳定且难以挥发 的物质,此技术极为关键。第一束激光一般采用光子 能量较小红外波段的激光^[89],但为了特殊需要,也 有使用紫外激光^[10]。当解析激光照射到承载有样品 的基体上时,被吸收的光大部分在瞬间转换成热能, 并传递给待测样品,使样品瞬间气化/解析^[11]。研究 表明,短脉,冲激光可以在 10 ns 时间内上升到 10⁸ K 的高温^[12],如此快的升温速度,可以避免分 子因均匀受热而发生裂解。在解析激光的照射下, 在离靶体表面很近(约1~2 mm)的范围内将会形成



图1 双步激光质谱法基本原理示意图^[7]

Fig. 1 Schematic of the two step laser desorption/laser ioniazion mass spectrometry (L2MS) Reproduced with permission^[7]

Copyright 2007, American Chemical Society

2010-05-12 收稿; 2010-09-01 接受

本文系国家自然科学基金(No. 20973067),广州市科技计划项目(穗科条字【2009】6号)及高等学校人才引进专项资金(粤财教 【2009[1909-19])资助hina Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki. * E-mail: yjhu@ scnu. edu. cn 一个体积约1 mm³的气团,包含在该气团中的大部分粒子为中性粒子,其比例大约是带电粒子的1000 倍以上^[6]。经过一定的延迟时间,第二束激光(电离激光)被聚焦并引入到该气团,优化两者之间的延 迟时间,可极大地提高电离的效率,有助于质谱信号强度的增强,被电离的离子随后被引入质谱仪中 进行检测。第二束激光可以是紫外光,也可以是真空紫外光。真空紫外激光(光子的能量约10 eV)可 以通过单光子对绝大多数的分子进行"软"电离[13],避免产生大量碎片。

在双束激光电离源与质谱仪的接口上,一般采用进样杆模式,即一个与质谱真空系统兼容的一维 传动杆实验装置,并配有二维平移台,末端有样品承载平台。将实验中的待测样品涂布在承载平台上 后,在电机的带动下缓缓进入质谱仪中的电离区,所配二维平移台可以帮助其在真空室中定位。同 时,在样品的传送过程中,真空可以得到有效地保持。激光通过通光口被引入到质谱仪中的电离区并 与样品的承载平台交叉。该技术有很多优点。其一,因解析激光和电离激光在时间和空间上是分开 的,因此可以根据实际的需要方便地单独优化两束激光的能量和波长;其次,该实验技术所需要的样 品量极少,无需在待测样品中人为添加其它化学物质作为基质。样品预处理过程简单,避免了样品的 二次污染。因需要两套激光系统及配套的时间延迟装置,所以整个实验系统的成本较高,但随着激光 技术的发展,整个实验装置的价格会有所降低。

针对该技术,Faccinetto等^[14]提出了阶梯-转换(Ladder-switching)模型,该模型可以指导操作者对 所使用两束激光的工作参数进行优化。该模型主要包括: 当解析激光能量保持不变时, 随着电离激光 (第二束激光)光强的增加,母体离子的信号逐渐增强;当光强继续增加时,母体离子信号开始减弱。 作者的解释是由于过高的能量导致样品发生解离;而当解析激光的能量逐步增加时,出现最佳母体离 子信号时所需电离激光的能量呈下降的趋势,他们认为这是解析激光能量的增加导致分子更易于被光 电离,并通过对多个多环芳烃类分子的分析研究,验证该类分子均遵守这一规律。

Elsila 等^[15] 详细研究了该质谱分析方法应用于定性和半定量分析中的各种因素对分析结果的影 响。他们指出: 解析激光的能量和波长, 电离激光的能量和光束的准直, 两束激光之间的延迟时间, 基 底的特性等均会使信号波动,进而对定性和半定量的分析产生较大的影响。有些影响很难消除,如解 析激光的能量波动和激光束的准直等都会导致结果的不确定性。

3 双步激光质谱分析法的应用

3.1 氨基酸和短肽类的探测

MALDI 方法对于生物大分子的探测很有优势,但对于短肽和氨基酸等小分子效果不佳。因为 MALDI 需要在待测样品中人为添加基质,并要求其基质必须与样品形成比较好的共结晶,因此其样品预处理过 程较为复杂。此外,在电离过程中基质产生的碎片离子峰极有可能覆盖需要探测的小分子离子峰。

1997 年, Kornienko 等^[16]应用双步激光质谱法尝试对承载在聚苯乙烯表面的生物小分子(色氨酸 和络氨酸)进行了质谱分析。为了提高检测灵敏度,提出可对分析样品进行化学衍生化前期处理。 2004 年, Edirisinghe 等^[17]进一步改进了该衍生化技术。化学衍生化技术的基本原理是在进行质谱分 析前,将待测样品人为键合一种配体,该配体的结合有助于降低待测物质的电离能,进而可以选择使 用较低能量的光子来电离分析样品,有效避免了较复杂的背景信号,同时提高光电离效率。类似方法 在基础研究领域已被广泛采用,在研究超声分子束中糖类分子的结构时[18],人为键合一个生色基团, 使其得以通过共振增强多光子电离(REMPI)的方法对分子及其团簇实现软电离。

2007 年, Edirisinghe 等^[7] 应用该实验方法对细胞膜表面上的短肽进行了原位质谱探测。传统的色 谱方法无法实现在细胞膜表面的原位探测 而荧光的方法只能对已经确定成分的物质进行动态的跟踪, 对于性质不明的物质无法进行直接探测研究^[7]。该项研究的分析对象为分布在枯草芽孢杆菌细胞膜 表面的五肽 ERGMT, 该五肽作为群体感应物质常分布在革兰氏阳性菌的生物膜表面, 通过对其在细菌 表面的分布和生物活性的研究有助于了解由该类细菌引起的健康问题^[7]。他们对样品进行衍生化预 处理,其衍生化基本过程如图 2 所示^[7]。 ①1994-2011 China Academic Journal Electronic Publishing House, All rights reserved. http://www.cnki. 衍生化剂 AQC 是一种蒽类化合物,可与五肽 ERGMT 的氨基发生偶联。未反应的 AQC 可与水发

生反应,生成易挥发的物质 AMQ,在进入质谱仪之 前可挥发去除。因此,对最终的检测结果不会产生 影响。经过衍生化后, 五肽 ERGMT 的电离能降低 到 7.8 eV 以下,使应用真空紫外激光实现单光子电 离成为可能。在该研究中,使用波长为 337 nm 的氮 气激光器产生的紫外激光进行解析气化,然后用波 长为157 nm 由准分子激光器产生的真空紫外激光 进行电离。第二束激光的单光子能量为7.87 eV,略 高于样品分子的电离能,因此可实现分子的软电离, 避免了碎片的大量产生,获得的质谱图比较简单。 图 3 为应用该方法获得的检测结果^[7]。由图 3 可清 楚观察到 AQC-ERGMT 的质谱峰(m/z 764), 质量数 高于 200 Da 的碎片峰较少, AQC-ERGMT 的质谱峰 周围本底信号很弱,因此信号的信噪比较高。衍生 化反应除了可降低样品的 IP 值外,还可使样品的质 谱峰在质谱图中位移到质量数高的区域,脱离碎片 信号较复杂的区域,进而提高检测灵敏度。

3.2 环境污染物多环芳烃(PAHs)的质谱分析

PAHs 是一类重要的环境污染物,广泛存在于大 气、水体和土壤中,主要来自厂矿排放物、公共交通 工具排放的尾气、垃圾的焚烧及人类生活活动(如吸 烟)。PAHs 中的很多物质对人类都有危害,其中某 些物质具有致癌性。这些有害的物质通常会吸附在 大气中的悬浮颗粒(即气溶胶)上,这些悬浮的颗粒 会随着空气流动,因此对环境中的 PAHs 的检测将有 助于对环境污染物的监控。传统的色质联机的分析 方法不仅检出限不佳,还必须将颗粒预先沉积到过 滤器上才能检测^[19 20]。而激光解析电离质谱(LDI-MS)方法需要的激光能量密度高,无法实现分子的 软电离,有时还会受到基质信号的干扰^[8]。

双步激光质谱法克服了上述几种分析方法的局限性,第一束激光将 PAHs 污染物从悬浮颗粒上解析出来,另一束激光电离解析出来的污染物。近年来应



图 2 AQC 与短肽第一或者第二氨基发生反应生成衍 生化物(a)和 AQC 与水的反应生成 AMQ(b)^[7]

Fig. 2 Reation of 6-aminoquinolyl-*N*-hydroxysuccinimidyl carbamate(AQC) with primary or secondry amines to form derivatized species (a) and reation of AQC with water to form AMQ(b) ^[7]

Copyright 2007, American Chemical Society



图 3 ERGMT 衍生化后采用 LDPI-MS 实验方法获得 的质谱图^[7]。(电离激光光子能量为 7.87 eV) Fig. 3 Laser desorption photoionization (LDPI) -MS of AQC-ERGMT and the photon energy of postionization laser is 7.87 eV^[7]

Copyright 2007, American Chemical Society

用该实验技术对 PAHs 的检测一直是研究热点。对于 PAHs 类分子,使用中红外激光(波长约 3 μm)可以 被分子中的 C—H ,O—H ,N—H 等化学键共振吸收,从而提高解析效率^[21]。PAHs 作为芳香族化合 物,电离激光可以选择紫外激光通过 REMPI 方法实现分子的软电离^[22 23],进而获得无(少)碎片离子 质谱图。另一种方法可以选择真空紫外激光(即118 nm)通过 SPI 实现软电离^[20 24 25]。研究表明,该电 离方式应用于气溶胶中 PAHs 成分分析,其检出限可达到ng/m^{3[20]}。此外同步辐射光也可作为单光子 电离光源^[26]。

应用该实验技术,检测了汽车尾气形成气溶胶中 PAHs 的成分^[27],同时还在时间和空间上监测了 PAHs 污染物的分布。文献[28]应用该技术对港口轮船等排放的尾气进行了检测,均发现了 PAHs 污染 物。文献[29]表明,有人吸烟的室内空气中含有的有毒物质主要为吲唑类、苯并咪唑类衍生物等^[29]。 Kalberer 等^[30]通过比较阿尔卑斯山顶峰和山底公路旁采集的气溶胶样本检测结果发现,污染物主要是烷 (2014-2014)China Academic Journal Decisions Photos, All Ponts reserved. 医类 PAHs 分子。文献[31]探测了由木材等生物燃料在燃烧过程中产生烟气中的 PAHs 成分。 不仅是气溶胶,在土壤中的 PAHs 污染物和水体中污染物均可以用类似实验技术进行检测^[32~34], 其在水体中的检出限低于 ng/L^[32]。Hong 等^[35]应用双步激光质谱法检测了美国加州炼油厂附近被油 烟污染的土壤中 PAHs 成分。Fye 等^[36]分析了被木材燃烧污染后土壤表面的 PAHs 成分。

若将解析激光换成紫外激光(如 266 nm),有利于减小解析斑点面积,使其成为一种显微探针,这种被称为显微双步激光质谱法(μL2MS)^[15]。该方法可以实现在小到直径为 20 μm 微小颗粒表面化学成分的二维成像^[36]。图 4 为污染物大小约为 400 mm × 600 μm 的颗粒表面的 PAHs 成分(*m/z* 202)的显微成像。结果表明,相同 PAHs 分子在颗粒表面的分布并不相同^[36]。





3.3 对化学添加剂的检测

在材料制造和食品工业领域,为了改善产品的性能(或某一技术指标),通常加入一些化学添加剂。近年来,由于某些化学添加剂的使用导致的二次污染事件频繁发生,如儿童奶粉中掺杂的三聚氰 胺污染事件。因此研发新的化学添加剂检测技术具有重要意义。

染料是一类重要的化学添加剂,在纺织、食品、造纸等行业应用广泛。传统的电子碰撞电离(EI)的 质谱分析方法很难对不挥发且易热分解的染料分子进行质谱分析^[9];场解析电离质谱法(FD-MS)无法 给出结构方面的信息^[9];快原子轰击(FAB-MS)的电离方法会产生大量碎片,且受基质干扰^[9,37],使母 体离子的信号无法观察; 热喷雾电离质谱(TSP/LC/MS) 分析方法对未知结构的染料也不能提供较完整 的结构信息^[9]。Langridge-Smith 课题组^[9]曾应用双步激光质谱法对有机染料进行了探测,用 CO, 激光 器产生的 10.6 µm 红外激光作为解析激光,采用 193 或 266 nm 的紫外激光作为电离激光,对4 种不同 的染料进行了研究。这4种染料分别是含氮类、蒽醌类、酞菁类和香豆素类染料。他们不仅检测到了这 4 类物质的质谱信号,同时,根据解离的碎片离子信号,在微观水平上对其裂解方式进行了解释,进而 获得了样品在结构方面的信息。该质谱方法也应用于常作为癌症光动力治疗的光敏剂卟啉类及其金属 螯合物染料分子的检测^[37,38]。随后,他们还对聚合体上的化学添加物进行了原位检测研究^[8,39]。此 前,较难实现聚合物内部化学添加剂的检测,采用电喷雾电离(ESI)方法后取得了重要进展^[40],能够 直接在原位上进行探测。Wright 等^[39]采用双步激光质谱法分析酚类的抗氧化剂(如亚磷酸酯类化合物 Irgafos168,多甲基苯酚类化合物 Irganox1330)及紫外光稳定剂(苯并三唑类化合物 Tinuvin),用 CO,激 光器将添加剂解析到气态,分别用266和193 nm的真空紫外激光进行电离分析。在266 nm的激光 下,主要产生的是添加剂母体离子峰(如 Irgafos 168, Irganox 1330),碎片离子很少。相反,193 nm的 激光电离所获得的质谱图像母体离子峰很少或没有,离子碎片峰较强。在对 Tinuvin 类物质进行分析 时,根据质谱碎片离子峰不同分布,可以分辨出该类物质的同素异形体,如 Tinuvin 320, Tinuvin 343 和 Tinuvin 329。进一步的研究表明,添加剂在材料的表面和内部的含量也不尽相同,如圣女白粉(San-to white powder)在聚缩醛(POM)材料表面比在其内部的含量约40%^[8]。

3.4 矿物分析

基于激光的质谱分析法也可应用于矿产和能源领域,单束激光 LDI-MS 方法^[41] 是广泛应用的质谱 方法,但该方法需要很强的激光聚焦,且由于其解析和电离同时发生,仅有极少部分发生电离,导致 灵敏度很低。而双步激光质谱法^[41] 的解析和电离过程是分开的,便于单独优化。1996 年,周鸣飞 等^[42] 采用此方法对铁和镍的同位素进行了研究。1997 年,Zhan 等^[43] 开展了油页岩中 PAH 成分的质 谱解析。2002 年,Dimov 等^[44,45] 应用双步激光质谱法开展了对各类矿石中的可能存在金、钯等金属元 素的痕量分析。最近,Pomerantz 等^[41] 应用该方法开展了原油和煤炭矿物中沥青烯成分的质谱解析, 他们使用波长为10.6 μm 的 CO₂ 激光对样品进行解析气化,以波长为 266 nm 的 Nd: YAG 四倍频紫外 激光光电离。结果表明,原油中沥青烯的分子量分布较广,多集中于 500~600 Da,直至 1000~1500 Da 范围,而煤炭的分子量集中于 300 Da 左右,最高可到 500 Da。质谱图也表明,二者质谱峰均开始 于 200 Da 附近。Guo 等^[46]利用同步辐射光对重油的成分进行分析。

文献 [47~50]运用同步辐射光对一些有机物分子进行了分析,并利用同步辐射光的可调谐性研究 相关分子的解离通道。Elsila 等^[15]通过缩小解析激光的光斑尺寸,将该双步激光质谱技术进一步扩展 为一种显微技术,并将该显微探针应用于古生代岩石样本^[51]和外太空物质(包括陨石^[52]、火星物 质^[53]、彗星^[54])的成分解析,希望能获得外太空生命迹象相关的信息。但在解析过程中是否会产生一 些干扰研究结果的副产物,一直处于争议中^[55]。

3.5 其他方面的应用

最近, Chen 等^[10] 应用双步激光质谱法对人类尿液中代谢产物开展探测研究。硒作为一种有害物质,在人体内积存会对人类的健康造成极大威胁,对尿液中有机硒的分析可以作为对身体健康的评判依据。在该研究中,利用 355 nm 的 Nd: YAG 激光对样品进行解析,电离所使用的激光为 118 nm 的紫外光。在所获得的质谱图中,一般尿样中的代谢产物的质谱峰均可观察到。此前,对于人的尿液中是否存在有机硒(TMSe) 类代谢产物一直有争议,该实验结果给出明确的回答。

此外,曾有学者将该质谱技术应用于表面分析,比如对自组装膜表面的分析,其中 Hanley 领导的 课题组首先探测了自组装在金表面的生物素类分子的质谱信号^[56],随后对硫化物在金表面形成的自 组装膜进行研究^[57]。同时,通过优化双束激光实验条件并结合离子阱质谱开展有机表面分析^[16,58]。

4 结论与展望

与其它基于激光的质谱分析方法相比,双步激光质谱法拥有很多独特的优势,它需要的样品量很 少,也无需人为加入与分析样品形成共结晶的基质。加入基质,一方面导致了样品的二次污染;另一方 面,由于基质背景峰的存在,造成其在分析分子量低于 600 Da 时遇到很多困难^[59]。同时,通过优化两束激 光的能量和波长以及二者之间的延迟^[60],可以获得比 LDI 方法更好的软电离效果,进而提高检测灵敏度。

由于双步激光质谱法具有上述独特优势,在最近取得了很大的发展。其应用首先是在生物领域,包括短肽、氨基酸等生物小分子,药物分子、化学添加剂等化学分子的检测。Hanley和 Zare 等研究团队都有专门的小组在进行此方面的研究,近年来都有文章发表^[13,41,61,62],在此基础上发展起来的表面分析技术可发展成为一种新的生物芯片分析技术。另外,该技术与显微成像技术相结合,有望研发出一种新的质谱成像技术,并应用于生命科学领域。最近,Hanley研究组发表了一篇关于生物质谱成像方面的综述^[61],介绍了双步激光质谱方法在该方面的一些最新进展和发展前景^[61,62]。另外,由于具有fmol(约10⁻¹⁷g)的检测水平^[23],在食品安全和司法鉴定等方面也有用武之地。在国防科技方面,此方法可用于解析外太空物质的成分。

尽管双步激光质谱法具有很多优点,但同时也面临着很多挑战,例如,因需要两套激光系统和配套的时间延迟装置,所以实验系统的成本较高;又如为了提高检测灵敏度,实现分子的软电离,要求寻找合 ①1994-2011 China Academic Journal Electronic Publishing House, All rights reserved. http://www.cni 适的激光光源和样品承载基底等。最近开展的对分析样品进行前期的衍生化处理^{17,171},使电离激光可以

通过单光子电离和 REMPI 的方法实现分子的软电离 ,使母体离子的信号更易观察和分辨 ,进而提高检测 灵敏度 ,该技术将有很好的发展前景。同时 ,与其它质谱分析法一样 ,如何实现定量检测 ,也将是一个有 力的挑战。

References

- 1 Mumma R O , Vastola F J. Org. Mass Spectrom. ,1972 ,6: 1373 ~1376
- 2 Che L, Ren Z F, Wang X G, Dong W R, Dai D X, Wang X Y, Zhang D H, Yang X M, Sheng L S, Li G L, Werner H J, Lique F, Alexander M H. Science, 2007, 317: 1061 ~ 1064
- 3 Qiu M H , Ren Z F , Che L , Dai D X , Harich S A , Wang X Y , Yang X M , Xu C X , Xie D Q , Gustaffson M , Skodje R T , Sun Z G , Zhang D H. Science , 2006 , 311: 1440 ~ 1443
- 4 De Vries M S , Hobza P. Annu. Rev. Phys. Chem. , 2007 , 58: 585 ~ 612
- 5 HU Yong-Jun, XING Da(胡勇军, 邢达). Progress in Chemistry(化学进展), 2009, 21(7/8): 1592~1602
- 6 Engelke F , Hahn J H , Henke W , Zare R N. Anal. Chem. , 1987 , 59(6): 909 ~ 912
- 7 Edirisinghe P D , Moore J F , Skinner-Nemec K A , Lindberg C , Giometti C S , Veryovkin I V , Hunt J E , Pellin M J , Hanley L. Anal. Chem. ,2007 ,79(2): 508 ~ 514
- 8 Zhan Q, Zenobi R, Wright S J, Langridge-Smith P R R. Macromolecules , 1996, 29(24): 7865 ~ 7871
- 9 Dale M J , Jones A C , Langridge-Smith P R R. Costello K F , Cummins P G. Anal. Chem. , 1993 , 65(6): 793 ~ 801
- 10 Chen Y F , Sullards M C , Hoang T T , May S W , Orlando T M. Anal. Chem. , 2006 , 78(24): 8386 ~ 8394
- 11 Hall R B. J. Phys. Chem. , 1987 , 91(5): 1007 ~ 1015
- 12 Maechling C R , Clemett S J , Engelke F , Zare R N. J. Chem. Phys. , 1996 , 104 (21): 8768 ~ 8776
- 13 Hanley L , Zimmermann R. Anal. Chem. , 2009 , 81(11): 4174 ~ 4182
- 14 Faccinetto A, Thomson K, Ziskind M, Focsa C. Appl. Phys. A, 2008, 92: 969 ~974
- 15 Elsila J E , De Leon N P , Zare R N. Anal. Chem. , 2004. 76(9): 2430 ~ 2437
- 16 Kornienko O , Ada E T , Hanley L. Anal. Chem. , 1997 , 69(8) : 1536 ~ 1542
- 17 Edirisinghe P D, Lateef S S, Crot C A, Hanley L, Pellin M J, Calaway W F, Moore J F. Anal. Chem., 2004, 76(15): 4267 ~ 4270
- 18 Jockusch R A, Kroemer R T, Talbot F O, Snoek L C, Carcabal P, Simons J P, Havenith M, Bakker J M, Compagnon I, Meijer G, Helden G V. J. Am. Chem. Soc. ,2004, 126(18): 5709 ~ 5714
- 19 Kalberer M, Morrical B D, Sax M, Zenobi R. Anal. Chem. , 2002, 74(14): 3492 ~ 3497
- 20 Dreyfus M A , Johnston M V. Aerosol Sci. Technol. , 2008 , 42: 18 ~ 27
- 21 Focsa C , Mihesan C , Ziskind M , Chazallon B , Therssen E , Desgroux P , Destombes J L. J. Phys. Condens. Matter. , 2006 , 18: S1357 ~ S1387
- 22 Bente M, Adam T, Ferge T, Gallavardin S, Sklorz M, Streibel T, Zimmermann R. Int. J. Mass Spectr. , 2006, 258: 86 ~94
- 23 Bente M , Sklorz M , Streibel T , Zimmermann R. Anal. Chem. , 2008 , 80(23): 8991 ~ 9004
- 24 Woods E, Smith G D, Miller R E, Baer T. Anal. Chem. , 2002, 74(7): 1642 ~ 1649
- 25 Oktem B , Tolocka M P , Johnston M V. Anal. Chem. , 2004 , 76(2): 253 ~ 261
- 26 Mysak E R , Wilson K R , Jimenez-Cruz M , Ahmed M , Baer T. Anal. Chem. , 2005 , 77(18): 5953 ~ 5960
- 27 Haefliger O P , Buchell T D , Zenobi R. Environ. Sci. Technol. , 2000 , 34(11): 2178 ~ 2183
- 28 Moldanova J , Fridell E , Popovichera O , Tishkova V , Faccinetto A , Focsa C. Atmos. Environ. , 2009 , 43: 2632 ~ 2641
- 29 Morrical B D , Zenobi R. Atmos. Environ. , 2002 , 36: 801 ~ 811
- 30 Kalberer M , Henne S , Prevot A S H , Steinbacher M. Atmos. Environ. , 2004 , 38: 6447 ~ 6456
- 31 Hauler T E , Boesl U , Kaesdorf S , Zimmermann R. J. Chromatogr. A , 2004 , 1058: 39 ~49
- 32 Emmenegger C , Kalberer M , Morrical B , Zenobi R. Anal. Chem. , 2003 , 75(17): 4508 ~ 4513
- 33 Bucheli T D , Haefliger O P , Jr R D , Zenobi R. Anal. Chem. , 2000 , 72(15) : 3671 ~ 3677
- 34 Weickhardt C , Tonnies K , Globig D. Anal. Chem. , 2002 , 74(19): 4861 ~ 4867
- 35 Hong L , Ghosh U , Mahajan T , Zare R N , Luthy R G. Environ. Sci. Technol. , 2003 , 37(16) : 3625 ~ 3634
- 36 Fye J L , Nelson H H , Mowery R L , Baronavski A P , Callahan J H. Anal. Chem. , 2002 , 74(13): 3019 ~ 3029
- 37 Dale M J Costello K F, Jones A C, Langridge-Smith P R R. J. Mass Spectrom, 1996, 31: 590 601, [//www.cnki.
- 38 Zhan Q, Voumard P, Zenobi R. Anal. Chem. , 1994, 66(19): 3259 ~ 3266

- 39 Wright S J , Dale M J , Langridge-Smith P R R , Zhan Q , Zenobi R. Anal. Chem. , 1996 , 68(20): 3585 ~ 3594
- 40 Chen H W , Yang S P , Wortmann A , Zenobi R. Angew. Chem. Int. Ed. , 2007 , 46: 7591 ~7594
- 41 Pomerantz A E , Hammond M R , Morrow A L , Mullins O C , Zare R N. Energy Fuels. , 2009 , 23: 1162 ~ 1168
- 42 ZHOU Ming-Fei, QIN Qi-Zong(周鸣飞,秦启宗). Journal of Nuclear and Radiochemistry(核化学与放射化学), 1996, 18(4): 197~201
- 43 Zhan Q, Zenobi R, Buseck P R, Teerman S. Energy Fuels. , 1997, 11(1): 144 ~ 149
- 44 Dimov S S , Chryssoulis S L , Lipson R H. Anal. Chem. , 2003 , 75(23) : 6723 ~ 6727
- 45 Dimov S S , Chryssoulis S L , Lipson R H. Rev. Sci. Instrum. , 2002 , 73(12): 4295 ~ 4306
- 46 Guo W Y , Bi Y C , Guo H J , Pan Y , Qi F , Deng W A , Shan H H. Rapid Commun. Mass Spectrom. ,2008 ,22: 4025 ~4028
- 47 Qi F, Pan Y, Zhang T C, Hong X, Zhang Y W, Sheng L S. Rapid Commun. Mass Spectrom. , 2008, 22: 1619 ~ 1623
- 48 Zhang L D , Pan Y , Guo H J , Zhang T C , Sheng L S , Qi F , Lo P K , Lau K C. J. Phys. Chem. A , 2009 , 113(20): 5838 ~ 5845
- 49 Guo H J , Zhang L D , Deng L L , Jia L Y , Pan Y , Qi F. J. Phys. Chem. A , 2010 , 114(10): 3411 ~ 3417
- 50 Pan Y , Zhang L D , Guo H J , Qi F. J. Phys. Chem. A , 2008 , 112(43): 10977 ~ 10984
- 51 Mahajan T B , Plows F L , Gillette J S , Zare R N , Logan G A. J. Am. Soc. Mass Spectrom , 2001 , 12: 989 ~ 1001
- 52 Callahan M P, Abo-Riziq A, Crews B, Grace L, De Vries M S. Spectrochimica Acta. Part A, 2008, 71: 1492 ~ 1495
- 53 Mckay D S , Gibson Jr E K , Thomas-keprta K L , Vali H , Romanek C S , Clemett S J , Chillier X D F , Maechling C R , Zare R N. Science , **1996** , 273: 924 ~930
- 54 Spencer M K , Zare R N. Science , 2007 , 317: 1680c ~ 1680c
- 55 Spencer M K ,Hammond M R , Zare R N. PNAS , 2008 , 105(47): 18096 ~ 18101
- 56 Trevor J L , Mencer D E , Lykke K R , Pellin M J , Hanley L. Anal. Chem. , 1997 , 69(21): 4331 ~ 4338
- 57 Trevor J L , Lykke K R , Pellin M J , Hanley L. Langmuir. , 1998 , 14(7): 1664 ~ 1673
- 58 Kornienko O, Ada E T, Tinka J, Wijesundara M B J, Hanley L. Anal. Chem. , 1998, 70(6): 1208 ~ 1213
- 59 Rubakhin S S , Jurchen J C , Monroe E B , Sweedler J V. Drug Discovery Today , 2005 , 10(12) : 823 ~ 837
- 60 Zelenyuk A , Yang J , Imre D. Int. J. Mass Spectr. , 2009 , 282: 6 ~ 12
- 61 Akhmetov A, Moore J F, Gasper G L, Koin P J, Hanley L. J. Mass Spectrom. ,2010, 45: 137 ~145
- 62 Spencer M K , Clemett S J , Sandford S A , Mckay D S , Zare R N. Meteoritics & Planetary Science , 2009 , 44(1): 15 ~ 24

Recent Progress of Two-step Laser Desorption/Laser Ionization Mass Spectrometry and Its Application

WANG Hong-Lei , HU Yong-Jun* , XING Da

(Ministry of Education Key Laboratory of Laser Life Science & Institute of Laser Life Science, College of Biophotonics, South China Normal University, Guangzhou 510631)

Abstract As a particular ionization technology , laser photoionization has been widely used in the field of the mass spectroscopy. Matrix assisted laser desorption ionization (MALDI) , where only one laser is used , has become the standard method in the biological mass spectrometry. In this review , a new mass spectrometric method based on two lasers is introduced , i. e. , Two-step laser desorption/laser ionization mass spectrometry (L2MS). Comparing this method with MALDI , no matrix is needed to add on the substrate to form a good cocrystallization with the sample. The power and the wavelength of two laser beams can be optimized independently to maximize the signal. The recent research progress on the two-step laser desorption/laser ionization mass spectrometry and its applications on the analysis of the amino acids and peptides , the environmental pollutants PAHs(polycyclic aromatic hydrocarbons) , the chemical additives , the mineral composition and the metabolic products are introduced. Future prospect in this filed is provided in the end.

Keywords Photoionization; Laser Desorption; Mass spectroscopy; Biological technique; Polycyclic aromatic

hydrocarbons; Review (Received 12 May 2010; accepted 1 September 2010)