



质谱成像技术在药用植物研究中的应用

袁俊鹏, 马艳, 郭庆梅*

山东中医药大学药学院, 济南250355

*通信作者(qmguo@sina.com)

摘要: 药用植物中含有种类繁多、数量庞大、功能各异的次生代谢产物, 在疾病治疗中发挥了重要作用。传统分析方法只能对药用植物中次生代谢物进行定性和定量研究, 对其空间分布研究缺乏直接手段, 质谱成像技术的出现为此提供了可能。本文综述了目前应用于药用植物研究的主要质谱成像技术及其在药用植物次生代谢物、药用植物胁迫防御研究等方面的研究成果, 并对其在药用植物研究中的应用前景进行了展望。

关键词: 质谱成像技术; 药用植物; 基质辅助激光解析电离质谱; 二次离子质谱; 解吸电喷雾电离质谱

Application of mass spectrometry imaging technology in medicinal plants research

YUAN Junpeng, MA Yan, GUO Qingmei*

College of Pharmacy, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China

*Corresponding author (qmguo@sina.com)

Abstract: Plants contain a wide range of metabolites with large quantities and different secondary metabolites, which play an important role in disease treatment. As a drug research resource, more and more attention has been paid. Traditional analytical methods can only conduct qualitative and quantitative research on metabolites, and there is no direct means to study their spatial distribution. The emergence of mass spectrometry imaging technology provides a possibility for this. In this paper, the main mass spectrometry imaging techniques used in the research of medicinal plants and their research achievements in the research of medicinal plant metabolites and medicinal plant stress defense are reviewed, and their application prospects in the research of medicinal plants are prospected.

Key words: mass spectrometry imaging; medicinal plants; MALDI-MSI; SIMS; DESI-MSI

药用植物中含有数量庞大的次生代谢物, 在预防和治疗疾病方面效果显著。目前发现的植物次生代谢产物约有20万种(Wurtzel和Kutchan 2016), 它们不仅结构复杂, 种类多样, 而且不同科属之间结构差异明显, 生物活性差异大, 部分代谢产物仅在特定物种中合成。植物代谢活动是复杂的, 多层的, 不仅与植物正常生长活动有关, 而且与环境因素有关。同时, 植物代谢活动具有明显的空间特征,

植物次级代谢物结构和生理活性与其在植物器官或组织细胞中的位置紧密相关。因此, 植物次生代谢物的生物合成与积累规律和空间分布研究对于开发和利用药用植物资源具有重要意义。传统分析方法如薄层色谱法(thin layer chromatography)虽

收稿 2023-01-05 修定 2023-09-20

资助 山东省自然科学基金(ZR2021MH123)。

操作简便、成本低、耗时短, 结果直观, 但不能定量分析; 高效液相色谱法(high performance liquid chromatography)、气相色谱-质谱法(gas chromatography and mass spectrometry)等虽能准确对植物次生代谢物进行定性和定量分析, 但无法对植物次生代谢物空间分布进行定位分析研究。

Caprioli等(1997)首次使用基质辅助激光解析电离质谱成像(matrix assisted laser desorption/ionization-mass spectrometry imaging, MALDI-MSI)技术对生物组织中的肽和蛋白质分子定位分析, 开拓质谱成像技术的应用领域, 20年来, 质谱成像技术不断发展, 在材料学、生物医学和植物学等领域得到广泛应用。

1 质谱成像技术概述

质谱成像技术(mass spectrometry imaging, MSI)能映射样品内待测物成分空间分布特征, 具有分辨率高、灵敏度高和分析速度快等特点, 为植物次生代谢物的研究提供了新的研究手段。质谱成像技术将质谱离子扫描技术与专业图像处理软件相结合, 直接分析生物组织切片, 产生任意质荷比(m/z)化合物的二维离子密度图, 从而对细胞或组织中物质的组成、相对丰度及空间分布情况进行快速全面的分析和研究(Mcdonnell等2015)。

质谱成像研究通常包括样品处理、质谱分析和数据解析。样品的制备对获得高质量的质谱成像结果至关重要。在样品处理过程中, 样品的完整性是分析的基础, 植物样品形态多样, 对不同植物器官和组织的处理依据其形态和成分的不同有不同的处理方式。种子等样品可以直接进行切片分析; 果实及根茎等含水量较高的样品在切片过程中容易碎裂和褶皱, 一般将样品包埋在包埋剂中提高冷冻切片的质量; 花、叶等样品表面不平整且薄厚不一, 一般采用印迹法转移到平整表面后分析。植物切片前处理过程中常用的包埋剂有冷冻切片包埋剂(optimal cutting temperature compound, OTC)、羧甲基纤维素(carboxymethyl cellulose, CMC)、明胶和冰等。Li等(2018b)用MALDI-MSI分析银杏叶中的次生代谢物时, 系统比较了3种包埋材料冰、明胶和CMC, 其中明胶包埋效果最好, 且性能稳

定, 不受包埋方式影响适用于叶组织切片的包埋; CMC的包埋性能不如明胶稳定, 包埋方式对结果有直接影响。

样品表面质谱数据被采集后, 可通过计算机软件进行处理, 将数据进行重构, 生成详细的质谱图像, 进而挖掘其深层次的生物信息。目前, 常用的软件有FlexImaging (Bruker)、High Definition Imaging (Waters)和MsiReader等。

目前常用的质谱成像技术根据其原理及应用范围的不同主要分为三类: 基质辅助激光解析电离质谱、二次离子质谱(secondary ion mass spectrometry, SIMS)以及解吸电喷雾电离质谱成像(desorption electrospray ionization mass spectrometry imaging, DESI-MSI)等。

1.1 基质辅助激光解析电离质谱成像(MALDI-MSI)

MALDI-MSI是目前应用最广泛的质谱成像技术, 待测样品分子在基质辅助下, 解吸离子化, 以原位电离的方式形成质谱图像, 其特点是分析速度快、灵敏度高和可用于生物大分子的分析(Hansen和Lee 2018)。MALDI-MSI操作简便, 主要分3个步骤: 样品处理、质谱分析和数据解析。样品处理后切成薄片放置于MALDI-MSI专用的导电载玻片上, 选择合适的方法将基质均匀覆盖在样品表面, 形成共结晶, 待干燥后将其放入MALDI质谱成像仪, 基质吸收激光辐射能量, 能量传递到样品使其解吸电离; 样品分子离子化后经质量分析器被检测并记录; 最后数据结果通过相关软件处理后可获得待测分子在组织表面的空间分布图像(Bodzon和Suder 2016)。

MALDI质谱分析时, 传统分析基质多选择小分子有机酸, 如 α -氰基-4-羟基肉桂酸、2,5-二羟基苯甲酸和介子酸等, 其缺点是与待测物共结晶不均匀且在分子量小于700 Da时会产生大量基质峰干扰待测物的检测, 目前主要选择是合成新型有机材料基质和对传统有机材料基质进行修饰, 如Liu等(2018)开发了一种用于分析小分子内源代谢产物的MALDI新基质N-苯基-2-萘胺, 能够高效检测氨基酸、抗氧化剂、游离脂肪酸和磷脂等小分子化合物。此外, 无机基质本身不易电离, 不产生干扰峰, 也是MALDI基质的重要来源(Zhao等2022),

如Au、Ag、Pd和Te等金属纳米基质,具有比表面积大和表面活性高等优点,同时有易聚集、重现性低和热导率低等缺点。常用的基质覆盖方法有喷枪法、喷雾法和升华法等(Berry等2011)。喷枪法利用喷涂装置可直接将基质溶液喷涂于样品表面,获得相对较小的均匀晶体。喷雾法能直接将基质均匀喷涂在样品表面,常见的有气流喷雾、电喷雾、超声喷雾,喷雾法能产生比喷枪法更高质量结晶,一般直径小于20 μm ,但其仪器参数会影响灵敏度且仪器价格昂贵。基质升华法是基质覆盖的重要方法,基质在减压和高温条件下升华而不分解,重结晶后基质在样品表面覆盖均匀,但受限于固体基质升华温度高,液体基质不能升华,所以目前升华法应用范围较为有限。

1.2 二次离子质谱(SIMS)

SIMS是目前空间分辨率最高的质谱成像技术,其分辨率可达50 nm (Todd等2001)。SIMS工作原理是利用聚焦的高能离子束如 Ga^+ 、 Au^{3+} 、 Bi^{3+} 等在真空条件下加速并撞击样品表面,样品表层原子离子化,溅射出二次离子,溅射出的二次离子经过质量分析器分析检测;离子信号经过处理生成离子图像,准确反映样品表面待测分子强度和相应空间坐标信息。

离子源的选择和样品的处理是影响SIMS成像结果的关键。常用离子化源为 Ga^+ 和 In^+ 液态金属场发射源,由于激发能量高,会导致有机大分子化合物发生解离,因此只适用于分子量小于200 Da的化合物测定;团簇离子束如 Au^{3+} 和 Bi^{3+} 等能在保持亚微米图像分辨率的情况下较大地提高有机大分子的检测灵敏度。样品经过冷冻切片后可直接进行SIMS分析,同时有研究将样品表面覆盖厚度为纳米级的Ag或Au薄膜,可以提高SIMS的检测灵敏度。

SIMS在元素分析中具有独特优势,利用同位素进行标记可直接研究药用植物中次生代谢物的代谢途径;利用SIMS 3D成像功能进行药用植物切片研究,对植物木质部、韧皮部等部位中成分进行成像研究,有助于研究细胞结构和植物次级代谢物空间分布之间的密切关系。

1.3 解吸电喷雾电离质谱成像(DESI-MSI)

DESI-MSI的基本原理是液滴携带机制,在预

定的电压下,喷雾溶剂从雾化器的内套管中喷出,被迅速雾化、加速撞击到样品表面,使样品表面分子溅射进入气相;同时在氮气作用下,带电的样品液滴去溶剂化,沿离子传输管迁移进入质谱检测器。DESI-MSI与MALDI-MSI及SIMS相较而言,其最大优势是检测可在常压下进行。但DESI-MSI对于生物大分子电离不完全,重现性差,仅能进行定性分析,不能进行定量分析。

在解吸电喷雾电离过程中,喷雾溶剂和样品性质及处理方式对分析结果有直接影响。喷雾溶剂形成带电液滴决定样品离子化的质量和效率,其次,喷雾溶剂在分析过程中会形成背景噪音影响小分子化合物的成像,一般通过加入内标物等方式提高分析准确率。

2 质谱成像技术在药用植物次生代谢物研究中的应用

2.1 应用质谱成像研究植物次生代谢物的空间分布特征

植物次级代谢产物在组织和细胞中的特异性分布与其生理功能具有紧密的关联。随着质谱成像技术的快速发展,可视化分析了大量药用植物次级代谢产物的组织分布特征,为揭示其合成规律和生理功能提供了重要参考,同时为其生理活性研究提供了新的思路。Kuo等(2019)首次提出了基于MALDI-MSI和分子网络学研究植物代谢物的方法,以沉香茎木切片为材料,利用LC-MS和MALDI-MSI对沉香次生代谢物分析和追踪,发现沉香次生代谢物集中在树脂部分。Taira等(2021)创新性地将衍生化法应用于MALDI-MSI分析植物挥发油中,以紫苏叶片为材料,利用甘氨酸与挥发油中醛基反应进行衍生化处理,发现紫苏叶中紫苏醛和 β -丁香烯集中分布于油腺,而迷迭香酸在整个叶片表面均有分布,为检测芳香挥发油等提供了新的思路和方法。米要磊等(2020)将超高效液相色谱法与MALDI-MSI联用,建立了一种直接简便分析玛咖根横切面生物碱的方法,发现生物碱类成分主要分布在表皮和皮层,而芥子油苷更多分布在中柱的位置。Wang等(2020)创新性地开发了一种花类样品中活性成分检测方法,在ITO载玻片上利用溶胶-



图1 沉香茎MADLI-MSI分析流程图

Fig. 1 MADLI-MSI analysis flowchart for *Aquilaria sinensis* wood sticks

本图改自Kuo等(2019)。

凝胶法由AuNPs合成的新型复合基质,通过物理压制的手段,将长春花中的活性成分“烙印”在纳米材料底物表面来进行MALDI-MSI分析,显示出了长春花碱主要聚集在花瓣的基部和边缘,而单糖在花瓣中均有分布,为后续MALDI-MSI在花类样品中的应用提供了参考。

质谱成像技术能直接对样品分析,能够准确对植物代谢产物的组织分布进行追踪和定位,对植物次生代谢物进行原位分析,实现植物组织和细胞内代谢物原位可视化表征,为研究植物次生代谢物的合成途径及转运规律提供新的方法。质谱成像技术对药用植物中成分空间分布的定位和表征有助于成分的特异性研究和开发,对药用植物的鉴定具有参考意义。

2.2 应用质谱成像技术研究植物次生代谢物的合成和转运途径

植物次生代谢物的合成是一个复杂的生物过程,随着基因组学、转录组学和蛋白质组学等不断研究和发展,植物中部分次生代谢物的合成途径已经阐明,质谱成像技术可以对植物次生代谢物进行准确的时间和空间定位,为研究植物内次生代谢物的生物合成和转运途径提供了可能。Metzner等(2008)建立了一种基于飞行时间二次离子质谱(time of flight secondary ion mass spectrometry)追踪营养物质转运途径的方法,以菜豆的茎作为试验对象,通过添加钠(Na)、钾(K)、铷(Rb)和 ^{41}K 示踪剂来追踪菜豆茎营养物质运输途径和过程,材料经低温冷冻处理后, SIMS成像显示示踪剂在木质部导管及周围组织中均有富集。Li等(2018a)通过MALDI与多种技术联合应用,对银杏次生代谢物进行了多角度分析,研究发现银杏内酯的生物合成

位点定位于根,然后产物转化并主要积累在叶片组织中,进一步阐明了银杏内酯的合成和转运途径,同时发现具有免疫毒性的银杏酚酸仅在分泌腔中发现,对银杏中有毒成分的研究可以为安全用药提供理论指导,为最大化开发银杏具有指导意义。刘芳等(2020)通过对基质的优化实现了三七根茎冷冻切片的MALDI-MSI分析,检测到10种皂苷,其中人参皂苷 Rg_1 和三七皂苷 R_1 集中分布在木栓层,印证了两者具有相同的合成途径,为揭示三七中皂苷类化合物的合成规律提供理论依据。不同类型次生代谢物合成途径不同,在植物中分布不尽相同,通过质谱成像技术进行次生代谢物及其前体化合物的空间成像,为研究植物中次生代谢物的合成规律提供了新的技术方法。

2.3 质谱成像技术在药用植物次生代谢物积累规律的研究中的应用

Wang等(2016)建立了一种基于人参皂苷标志物区分人参属植物的方法,通过MALDI-MSI直接分析人参、三七和西洋参3种药材根组织切片分析发现51种标志物,并通过主成分分析明确区分了3种药用植物,证明了MALDI-MSI和区域特异性数据分析在药用植物快速识别中具有很高的潜力。Yang等(2021)首次建立了基于DESI-MSI区分人参不同药用部位和生长年限的方法,对采集于长白山地区三年生和七年生人参的主根和侧根成像分析,利用主成分分析发现15种标志物用以区分不同部位人参及18种标志物区分人参生长年限。Sri-many等(2016)将DESI-MSI与电喷雾电离质谱成像(electrospray ionization mass spectrometry imaging)、与核磁共振成像(nuclear magnetic resonance)和磁共振波谱分析(magnetic resonance spectroscopy)等

技术联用,研究了槟榔生长过程中生物碱含量变化,发现槟榔果在生长发育初期含有糖、脂质和生物碱等物质,成熟槟榔果中主要活性成分如槟榔碱、槟榔次碱和去甲槟榔碱等在棕色区域沉积,白色区域多四氢烟酸,为槟榔内生物碱的合成及积累研究提供了重要参考。Nie等(2022)利用DESI-MSI结合四极杆飞行时间质谱,分析6个产地中黄芪根部横切面,对生物碱、皂苷等18类102种次生代谢物进行了表征,以离子图像为基础,采用正交偏最小二乘识别分析法对不同产地样本进行明确区分;同时,鉴定出11个具有较高离子强度的主要影响成分作为潜在的质量标记物。质谱成像技术能清晰准确反映植物内次生代谢物的空间分布,且方便快捷,为研究和开发植物代谢奠定了良好基础。

3 质谱成像技术在药用植物胁迫防御研究中的应用

质谱成像技术不仅能对植物生理代谢产生的活性成分进行定性、定量分析,还可检测植物应对生物胁迫和非生物胁迫过程中代谢途径和代谢产物的变化。植物通过调节体内代谢途径的表达产生不同的代谢产物应对不同的胁迫因素,Tata等(2015)首次利用DESI-MSI对植物化学防御植物病原入侵进行研究,通过对感染腐霉菌的马铃薯成像分析,发现构筑防御屏障的毒性糖苷糖生物碱 α -乌头碱和 α -龙葵素的含量明显增加,质谱成像技术能在样品完整性的基础上可快速高效对植物次生代谢物进行定性定量分析,探究其生理变化。除此之外,Honeker等(2022)利用 ^{13}C 丙酮标记与 ^1H -NMR、MALDI-MSI、SIMS 3种技术相结合研究了热带雨林中巴西木蝶豆、胡椒和朱槿3种植物在干旱条件下的代谢变化,发现不同植物应对干旱胁迫的代谢途径改变影响根部次生代谢物的含量变化应对干旱条件,胡椒通过增加碳水化合物和木质素类化合物增加细胞内渗透压减少细胞内水分流失;朱槿通过代谢合成细胞内抗氧化剂清除活性因子增加抗干旱能力;巴西木蝶豆与根际微生物加强代谢联系抵御干旱环境。Zhang等(2022)发现植物根际微生物能够影响植物种子内代谢变化,

通过细菌*Pseudomonas fluorescens* SBW25 (P.)和*Arthrobacter chlorophenolicus* A6 (A.)刺激二穗短柄草种子萌发,利用ToF-SIMS对种子内代谢物进行检测,发现酚酸类化合物和黄酮类化合物含量明显增加,此类化合物有助于保护植物种子免受病原体侵害。

4 质谱成像技术在药用植物其他研究中的应用

质谱成像技术不仅能对植物代谢产物进行分析,同时可以检测植物中农药及重金属残留,对于植物安全性研究提供了新的方法(Gerbig等2013; Zhang等2021)。砷是一种毒性重金属元素,在自然界中以无机态的砷盐如砷酸盐和亚砷酸盐以及有机态砷化合物存在,不同形态的砷化合物为检测制造了困难,Abreu等(2013)利用DESI-MSI对蕨类植物叶片含砷化合物检测,在实验组样品叶片表面发现不同形态含砷化合物,含量约为对照组90倍,表明DESI-MSI分析准确有效且避免了样本处理制备过程中的不同化合态的砷相互转化。质谱成像技术可应用于药用植物的农药残留检测, Gerbig等(2015)通过DESI-MSI检测除虫菊酯和吡虫林2种杀虫剂在平枝栒子叶中的分布,发现不同极性和溶解度的杀虫剂成分在叶片上分布不均匀,吡虫啉在叶片边缘积累聚集,且土壤中的杀虫剂乐果于25 d后在平枝栒子运输组织中发现,60 d后在叶片中均有分布。

药用植物使用过程中逐渐形成了特色鲜明的加工方法,直接影响质量。白芍主要活性物质为单萜苷类化合物,白芍传统加工方法为置沸水中煮后除去外皮或去皮后再煮。Li等(2016)首次应用高分辨率MALDI MSI在10 μm 分辨率下分析了芍药根内没食子单宁类化合物的空间分布,发现没食子单宁集中分布木栓层和木质部,其前体化合物五没食子酰葡萄糖广泛分布在芍药根中,因此,传统的白芍去皮加工可能会导致药材中芍药苷等有效成分的含量降低。药用植物质量控制是药用植物开发利用的关键环节,质谱成像技术高效快速的分析特点为药用植物质量检测的发展提供了新的思路。

5 结论及展望

质谱成像技术已成为药用植物研究中的重要前沿技术,在药用植物次生代谢物的空间分布、合成和转运途径及代谢物的积累规律研究等领域被广泛应用。与传统检测技术相比,质谱成像技术分辨率高和分析速度快等优势,在不久的将来可替代复杂耗时的传统检测方法,以满足药用植物研究和分析简单快速检测的需求。

目前,质谱成像技术在药用植物研究应用中仍存在问题亟需解决,如植物样品中含有难以解离的细胞壁影响质谱分析结果;植物样品不同器官形态不同,结构复杂,前处理复杂等。作为新兴技术,对植物分析研究尚处于摸索阶段,所以相关理论研究和统一规范标准是目前亟需解决的问题,同时研发高分辨率低成本的检测仪器和耗材也是质谱成像技术发展的关键。随着质谱成像技术的深入发展和不断完善,质谱成像技术一定能在药用植物研究中展现出更多的可能性和更广阔的应用前景。

参考文献(References)

- Abreu LB, Augusti R, Schmidt L, et al (2013). Desorption electrospray ionization mass spectrometry (DESI-MS) applied to the speciation of arsenic compounds from fern leaves. *Anal Bioanal Chem*, 405: 7643–7651
- Berry K, Hankin JA, Barkley RM, et al (2011). MALDI imaging of lipid biochemistry in tissues by mass spectrometry. *Chem Rev*, 111: 6491–6512
- Bodzon KA, Suder P (2016). Imaging mass spectrometry: instrumentation, applications, and combination with other visualization techniques. *Mass Spectrom Rev*, 35: 147–169
- Caprioli RM, Farmer TB, Gile J (1997). Molecular imaging of biological samples: localization of peptides and proteins using MALDI-TOF MS. *Anal Chem*, 69: 4751–4760
- Gerbig S, Brunn HE, Spengler B, et al (2015). Spatially resolved investigation of systemic and contact pesticides in plant material by desorption electrospray ionization mass spectrometry imaging (DESI-MSI). *Anal Bioanal Chem*, 407: 7379–7389
- Hansen RL, Lee YJ (2018). Highspatial resolution mass spectrometry imaging: toward single cell metabolomics in plant tissues. *Chem Rec*, 18: 65–77
- Honeker LK, Hildebrand GA, Fudyma JD, et al (2022). Elucidating droughttolerance mechanisms in plant roots through ¹H NMR metabolomics in parallel with MALDI-MS, and nanoSIMS imaging techniques. *Environ Sci Technol*, 56: 2021–2032
- Kuo TH, Huang HC, Hsu CC (2019). Mass spectrometry imaging guided molecular networking to expedite discovery and structural analysis of agarwood natural products. *Anal Chim Acta*, 1080: 95–103
- Li B, Bhandari DR, Römpf A, Spengler B (2016). High-resolution MALDI mass spectrometry imaging of gallotannins and monoterpene glucosides in the root of *Paeonia lactiflora*. *Sci Rep*, 6: 36074
- Li B, Neumann EK, Ge J, et al (2018). Interrogation of spatial metabolome of *Ginkgo biloba* with high-resolution matrix-assisted laser desorption/ionization and laser desorption/ionization mass spectrometry imaging. *Plant Cell Environ*, 41: 2693–2703
- Li B, Zhang Y, Ge J, et al (2018). Sample preparation for mass spectrometry imaging of leaf tissues: a case study on analyte delocalization. *Anal Bioanal Chem*, 410: 7449–7456
- Liu F, Zhao HS, Sun GW, et al (2020). Matrix-assisted laser analytical mass spectrometry imaging visualizes the spatial distribution of *Notoginseng saponins*. *China J Anal Chem*, 48: 881–888 (in Chinese) [刘芳, 赵瀚森, 孙公伟等(2022). 基质辅助激光解析质谱成像可视化分析三七皂苷空间分布. *分析化学*, 48: 881–888]
- Liu H, Zhou Y, Wang J, et al (2018). *N*-Phenyl-2-naphthylamine as a novel MALDI matrix for analysis and in situ imaging of small molecules. *Anal Chem*, 90: 729–736
- Mcdonnell L A, RoMpp A, Balluff B, et al (2015). Discussion point: reporting guidelines for mass spectrometry imaging. *Anal Bioanal Chem*, 407: 2035–2045
- Metzner R, Schneider HU, Breuer U, et al (2008). Imaging nutrient distributions in plant tissue using time-of-flight secondary ion mass spectrometry and scanning electron microscopy. *Plant Physiol*, 147: 1774–1787
- Mi YL, Sun W, Li ML, et al (2022). Application of MALDI-mass spectrometry imaging in spatial distribution of secondary metabolites in medicinal plants-a case study of *Lepidium meyenii* root. *Chin J Chin Mater Med*, 45: 596–601 (in Chinese with English abstract) [米要磊, 孙伟, 李明利等(2022). MALDI-MSI在药用植物次生代谢产物组织分布中的应用-以玛咖为例. *中国中药杂志*, 45: 596–601]
- Nie LX, Huang LY, Wang XP, et al (2022). Desorption electrospray ionization mass spectrometry imaging illustrates the quality characters of *Isatidis radix*. *Front Plant Sci*, 13: 897528
- Srimany A, George C, Naik HR, et al (2016). Developmental patterning and segregation of alkaloids in areca nut (seed

- of *Areca catechu*) revealed by magnetic resonance and mass spectrometry imaging. *Phytol Chem*, 125: 35–42
- Taira S, Kiriake-Yoshinaga A, Shikano H, et al (2021). Localization analysis of essential oils in perilla herb (*Perilla frutescens* var. *crispa*) using derivatized mass spectrometry imaging. *Food Sci Nutr*, 9: 2779–2784
- Tata A, Perez CJ, Hamid TS, et al (2015). Analysis of metabolic changes in plant pathosystems by imprint imaging DESI-MS. *J Am Soc Mass Spectrom*, 26: 641–648
- Todd PJ, Schaaff TG, Chaurand P, et al (2001). Organic ion imaging of biological tissue with secondary ion mass spectrometry and matrix-assisted laser desorption/ionization. *J Mass Spectrom*, 36: 355–369
- Wang S, Bai H, Cai Z, et al (2016). MALDI imaging for the localization of saponins in root tissues and rapid differentiation of three *Panax* herbs. *Electrophoresis*, 37: 1956–1966
- Wang XN, Tang W, Gordon A, et al (2020). Porous TiO₂ film immobilized with gold nanoparticles for dual-polarity SALDI MS detection and imaging. *ACS Appl Mater Interfaces*, 12: 42567–42575
- Wurtzel ET, Kutchan TM (2016). Plant metabolism, the diverse chemistry set of the future. *Science*, 353: 1232–1236
- Yang Y, Yang Y, Qiu H, et al (2021). Localization of constituents for determining the age and parts of ginseng through ultraperformance liquid chromatography quadrupole/time of flight-mass spectrometry combined with desorption electrospray ionization mass spectrometry imaging. *J Pharm Biomed Anal*, 193: 113722
- Zhang Y, Komorek R, Zhu Z, et al (2022). Mass spectral imaging showing the plant growth-promoting rhizobacteria's effect on the brachypodium awn. *Biointerphases*, 17: 031006.
- Zhang YX, Zhao XB, Ha W, et al (2021). Spatial distribution analysis of phospholipids in rice by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry imaging. *J Chromatogr A*, 1651: 462302
- Zhao Y, Li H, Xu G, et al (2022). Fluorinated boron nitride nanosheets as an inorganic matrix for the MALDI mass spectrometry analysis of perfluoroalkyl acids. *Talanta*, 243: 123365