

Research
High-End Measuring Instruments—Article

四极杆-线形离子阱串联质谱系统及临床生物标志物分析

方向^{a,*}, 谢洁^{a,#}, 楚士颖^a, 江游^a, 安育廷^{a,b}, 李畅^{a,b}, 龚晓云^a, 翟睿^a, 黄泽建^a, 邱春玲^b, 戴新华^{a,*}

^a Technology Innovation Center of Mass Spectrometry for State Market Regulation, Center for Advanced Measurement Science, National Institute of Metrology, Beijing 100029, China

^b College of Instrument Science and Electrical Engineering, Jilin University, Changchun 130026, China

ARTICLE INFO

Article history:

Received 5 July 2020

Revised 19 September 2020

Accepted 19 October 2020

Available online 9 February 2021

关键词

线形离子阱

四极杆

空间电荷效应

碰撞诱导解离

生物标志物

摘要

准确高效测量小分子疾病标志物对临床诊断具有重要意义。本研究自主研制了四极杆-线形离子阱 (quadrupole-linear ion trap, Q-LIT) 串联质谱仪。四极杆筛选目标母离子, 线形离子阱同时注入、捕获和碎裂, 有效降低空间电荷效应, 富集目标子离子, 提升灵敏度。采用电喷雾离子源 (electrospray ionization, ESI), 选择反应监测和正离子扫描模式。质量范围为 m/z 195~2022。当 m/z 达 2000, 且扫描速度为 $1218 \text{ amu}\cdot\text{s}^{-1}$ 时, 单位分辨率和准确度均优于 m/z 0.28。碰撞诱导解离 (collision-induced dissociation, CID) 由共振激发, 其无量纲马修参数 q 值为 0.40。激发 50 ms, CID 效率达 64%。胍基乙酸 (guanidinoacetic acid, GAA) 和肌酸 (creatinine, CRE) 作为小分子临床生物标志物的模型化合物。GAA 和 CRE 定量限分别为 $1.0 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $0.2 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。自主研制 ESI-Q-LIT 串联质谱仪成功分析了 77 例实际样本。该方法可以削减基质效应, 降低空间电荷效应, 避免色谱分离, 简化前处理过程。新型 Q-LIT 串联质谱系统有望成为临床诊疗中生物标志物测定的新选择。

© 2022 THE AUTHORS. Published by Elsevier LTD on behalf of Chinese Academy of Engineering and Higher Education Press Limited Company. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

1. 引言

大多数临床生物标志物和治疗药物都是小分子化合物 [1]。因此, 对于血斑 (dried blood spot, DBS) [2]、血浆 [3]、尿液 [4] 和其他体液中这些小分子化合物浓度水平进行监测具有重要意义。肌酸 (creatinine, CRE) 代谢性疾病可能是由于缺乏肌酸转载体, 或缺乏精氨酸-甘氨酸氨基转移酶 (arginine-glycine amidinotransferase, AGAT) 和重组胍基乙酸-*N*-甲基转移酶 (recombinant guanidinoacetate-*N*-methyltransferase, GAMT), 这两种酶均参与 CRE 合成 [5]。CRE 代谢性疾病的实验室诊断是检测血浆和尿液

中的胍基乙酸 (GAA) 和肌酸 (CRE) [6]。免疫分析是检测常用方法之一, 在临床分析中发挥着重要作用, 目前仍被用于新生儿筛查 [7]。但是, 谱图重叠和难以避免的背景干扰限制了多种分析物的检测。

质谱 (mass spectrometry, MS) 以其高分辨率和特异性克服了多种物质同时检测的难题 [8–11]。线形离子阱 (linear ion trap, LIT) 是一种具有高效离子捕获和离子富集特点的质量分析器 [12]。与三维离子阱不同, 在单 LIT 或双 LIT 中, 离子聚焦在一条线上, 而非聚集在一个点上, 有效避免了三维离子阱的固有缺陷 [13–15]。最终提高了离子捕获效率, 削弱了空间电荷效应, 大大提高了质

* Corresponding authors.

E-mail addresses: fangxiang@nim.ac.cn (X. Fang), daixh@nim.ac.cn (X. Dai).

These authors contributed equally to this work.

谱分析的特异性和灵敏度[16]。然而，当分析复杂基质中目标物时，空间电荷效应仍然存在并影响质谱检测[17–19]。因此，简便、高效、自动化而不损失灵敏度地进行临床样本中多种分析物的测定，仍然是LIT-MS的挑战。

四极杆质量分析器是一种动态质量过滤器，在质谱研究中具有众多优势，应用极其广泛。四极杆可单独或串联用以隔离目标离子。单四极杆质谱仪只能测量母离子或源内裂解产生的碎片离子，因此，单四极杆质谱提供的结构信息有限，特异性不如串联四极杆质谱。近年来，三重四极杆串联质谱（triple quadrupole, QqQ）广泛应用于定量分析，被称为“金标准”[5,9,20]。同时，线形四极杆具有稳定性好和使用简便等优点，为离子隔离提供了最有效的解决方案[13]。与单四极杆的局限性类似，QqQ只能提供二级质谱信息，无法区分复杂基质中的同分异构体。还有其他形式的串联质谱仪，如复合线形离子阱三重四极（QTRAP）[21]，QTRAP性能优越，但系统结构较为复杂。

本研究自主研发了一种四极杆-线形离子阱（quadrupole-linear ion trap, Q-LIT）串联质谱仪，可用于测量复杂样本中小分子疾病标志物（图1）。通过四极杆筛选功能，分离目标母离子，消除背景干扰，从而减少进入线形离子阱的离子数量，减弱了空间电荷效应，提高了灵敏度。在线形离子阱中进行母离子碎裂和子离子捕获，无需碰撞池，从而简化了仪器系统结构。同时，在线形离子阱中仍然可以实现多级碎裂（ $MS^n, n \geq 3$ ，其中， n 为碎裂级数），并通过精确离子操控实现高准确度定量分析。总之，Q-

LIT既不依赖色谱分离，也不需复杂前处理，可显著提升复杂生物样品分析的通量和效率。

2. 材料和方法

2.1. 试剂

GAA、CRE、 D_2 -GAA和 D_3 -CRE标准品（纯度 $\geq 99\%$ ）购自Dr. Ehrenstorfer GmbH（德国奥格斯堡）。质谱级甲醇、乙腈和甲酸来自赛默飞世尔科技公司（美国宾夕法尼亚州匹兹堡）。其他分析级化学试剂购自国药集团化学试剂有限公司（中国北京）。新生儿干血斑GAA和CRE定量试剂盒（MS/MS法）由中国质谱生物科技有限公司提供。提取液为含0.05%甲酸的甲醇水（80:20）。GAA和CRE的内标储备液是通过提取液溶解二者粉末混合物制备的，置于棕色玻璃瓶中，4℃冰箱保存，至少可稳定保存30天。工作标准液用提取液将储备液按1:110稀释配制，4℃冰箱保存，最多稳定24h。

2.2. 仪器设备

Q-LIT V2串联质谱仪，由中国计量科学研究院前沿计量科学中心，国家市场监督管理总局技术创新中心（质谱）研制。

Q-LIT外观图和内部剖视图如图2（a）所示。仪器整机的长、宽、高分别为65 cm、55 cm、54 cm。关键部件包括四极杆和线形离子阱，如图2（b）所示。四极杆由四个圆柱电极组成，为不锈钢加工而成，场半径（ r ）为6 mm。每根杆分为三段，长度分别为20 mm、130 mm、

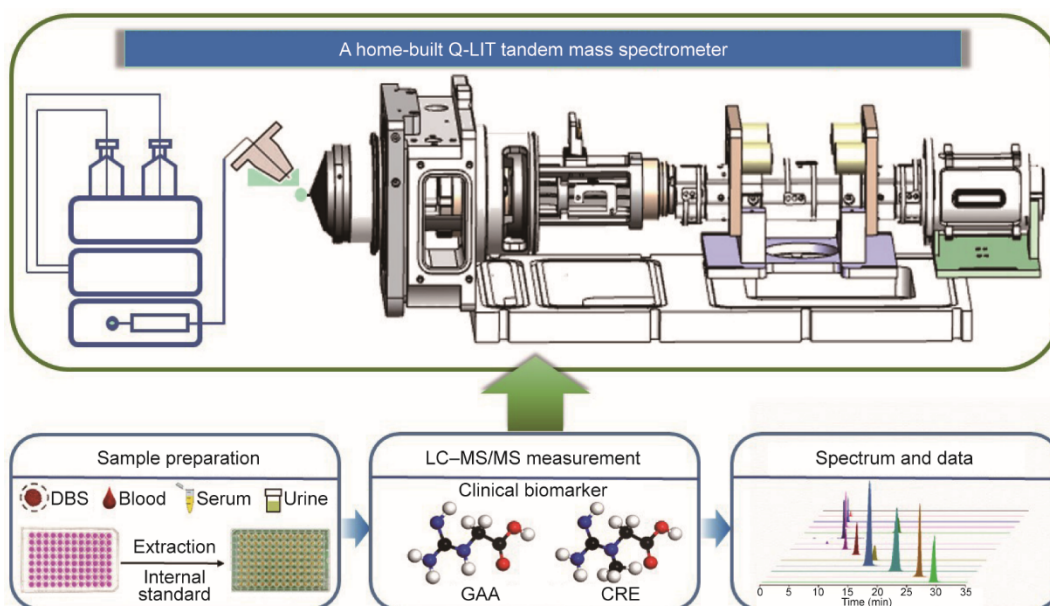


图1. 自主研发Q-LIT串联质谱仪示意图及其应用。LC：液相色谱（liquid chromatography）。

20 mm。四极杆阵列的场半径均为5.31 mm。本研究中采用的线形离子阱的几何形状与已报道的相近[22–23]。线形离子阱的长度为100 mm， x 和 y 两对射频（RF）电极之间的半距离均为6.76 mm。在每个 x 电极的中心位置有一个宽0.28 mm、长70.0 mm的狭缝。

Q-LIT原理如图3（a）所示。利用两个电子倍增器，检测从线形离子阱发射出的离子。在 x 和 y 两对电极上分别使用了一个RF线圈，使用平衡的两相射频电压。采用自主开发的独立控制软件（TinyTrap，中国计量科学研究院）来控制Q-LIT系统。本仪器使用的氦气通过聚碳酸酯支架上的孔直接引入线形离子阱，以实现阱内高压。所有实验中，线形离子阱外的压力为 2.67×10^{-3} Pa。四极射频频率为922 kHz，而LIT射频频率为1149 kHz。四极杆RF/直流电（direct current, DC）用于筛选母离子。交流电（alternating current, AC）辅助波形耦合到线形离子阱射频，并应用到 x 电极进行离子隔离、激发和共振激发。本实验中碰撞诱导解离（CID）的无量纲马修方程参数（ q ）值为0.40。根据已报道研究[24]，隔离和共振激发均选择 q 值0.83。Q-LIT串联质谱系统的扫描功能示意图如图3（b）所示，通过增加四极射频电压，母离子首先被分离，

然后被捕获在LIT中，施加单频交流波形打碎母离子，最后，通过扫描LIT射频电压对子离子进行分析。

在性能测试实验中，将校正液以 $10 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ 的流速通过注射泵注入Q-LIT以验证质量范围。将利血平溶液以 $10 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ 的流速注入Q-LIT，改变扫描速度测试分辨率。通过共振激发进行碰撞诱导解离，观察利血平（ m/z 609.30）子离子（ m/z 448.05和397.19）质谱图并进行优化。通过改变离子富集时间，观察到利血平离子峰的质量位移和峰宽变化，表明Q-LIT可以有效地降低空间电荷效应。

2.3. 应用

Q-LIT在选择反应监测模式（single reaction monitoring, SRM）下，采用正离子电喷雾电离模式对干血斑中的GAA和CRE进行分析。离子源条件：离子源温度为 120°C ，吹扫气（氮气）压力为 3.45×10^3 Pa，大气接口温度为 305°C ，辅助气（氮气）压力为 1.38×10^3 Pa；鞘气（氮气）压力为 6.89×10^4 Pa，毛细管电压为4.9 kV。GAA和 D_2 -GAA离子富集时间为1800 ms，CRE和 D_3 -CRE离子富集时间为150 ms。优化四极杆射频和离子阱射频，从而尽可能提高

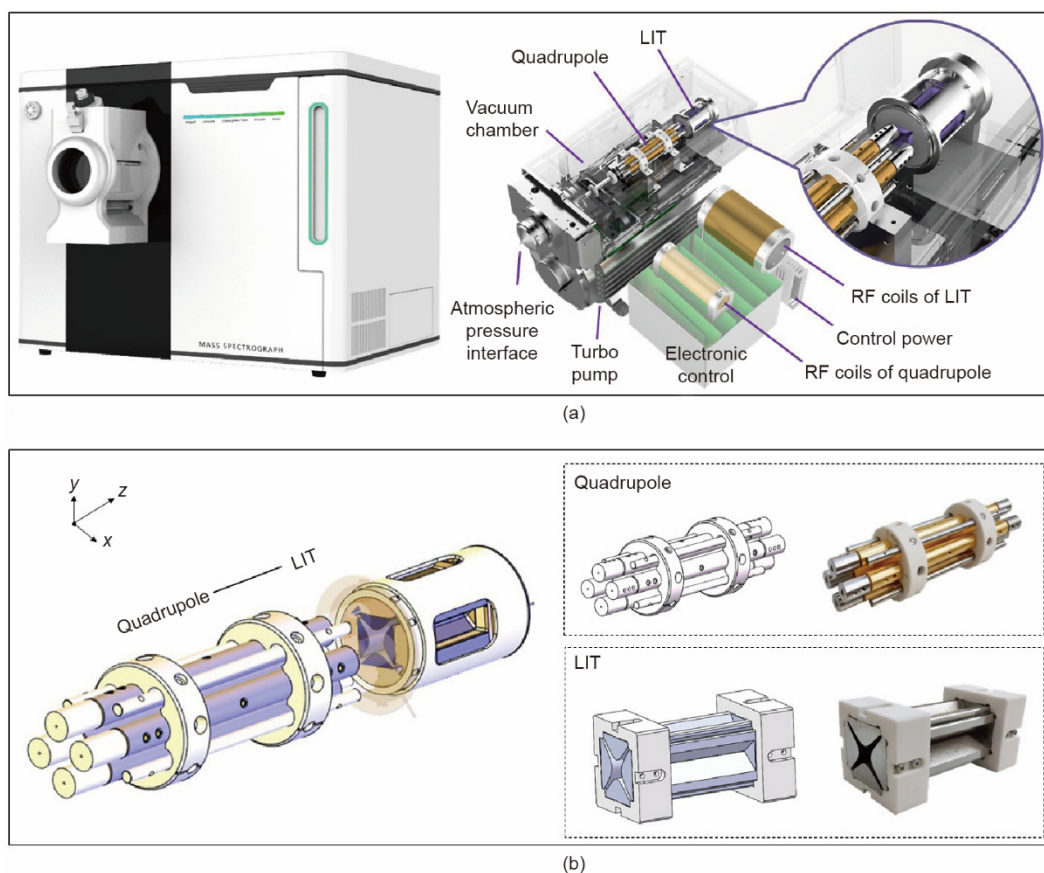


图2. Q-LIT串联质谱仪外观和剖视图（a）关键部件（四极杆，线形离子阱）（b）的示意图。 x 电极间半距离为6.76 mm， y 电极间半距离为6.76 mm， z 轴长度为100.0 mm，狭缝长70.0 mm，宽0.28 mm。RF：射频（radio frequency）。

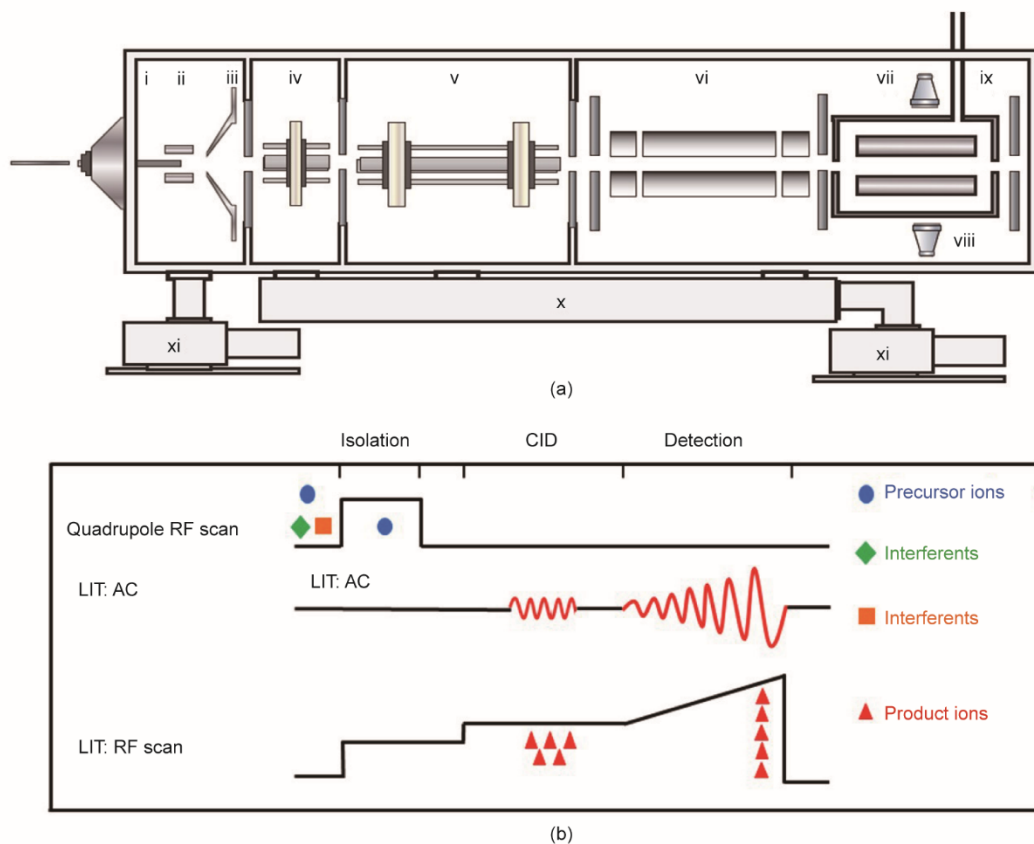


图3. (a) Q-LIT原理图: (i) 毛细管, (ii) 管透镜, (iii) 离子提取透镜, (iv) 短方四极, (v) 长方四极, (vi) 三段四极杆, (vii) 线形离子阱, (viii) 电子倍增器, (ix) 气体入口, (x) 涡轮分子泵, (xi) 机械泵。(b) Q-LIT扫描功能。CID: 碰撞诱导解离; AC: 交流电。

灵敏度。母离子、子离子和SRM参数, 包括四极杆射频和离子阱射频, 如附录A中的表S1所示。使用流动注射分析(FIA)检测GAA和CRE, 无色谱柱分离, 通过流速改变(附录A中的表S2)形成面包峰, 流动相为甲醇/水(80:20, *V/V*, 含0.05%甲酸), 进样量为5.0 μL , 进样室温度为4 $^{\circ}\text{C}$ 。

样品前处理: 质控样品和干血斑样品进行打孔, 每个样品的直径约为3.2 mm。将每个打孔得到的样品转移到一个干净的96孔板上。每孔加入100 μL 工作液, 45 $^{\circ}\text{C}$ 振荡45 min, 转速为750 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 。收集提取液75 μL , 采用FIA-Q-LIT串联质谱检测, 进样量为5.0 μL 。

采用上述方法对质控品和77个实际样品进行分析。

3. 结果和讨论

3.1. 性能测试

采用Q-LIT测试质荷比(m/z)已知化合物, 验证质量范围。该校正溶液中含有质量范围为 m/z 195~2022的化合物。在射频扫描过程中, 偶极辅助交流电压(405.9 kHz)的幅值从0.21 V提高到8.20 V, 促进离子的有效逐出,

质量范围在 m/z 48~2000之间。图4(a)为扫描速度12 180 $\text{amu}\cdot\text{s}^{-1}$ 的质谱图, 在 m/z 2000以内, 半峰宽小于0.8 amu 。

提高Q-LIT质量分辨率的常用方法是降低扫描速度。考虑到在固定质量范围内, 基于射频电压的增量数量增加, 分离相邻质荷比离子所需时间增加, 这些离子在其稳定阈值处会被一起逐出。研究了扫描速度对分辨率的影响, 在400~12 000 $\text{amu}\cdot\text{s}^{-1}$ 的不同扫描速度下, 采集利血平的质谱图, 绘制峰宽与扫描速率关系的函数, 如图4(b)所示。质量分辨率随着扫描速度降低而增加, 当扫描速度为1218 $\text{amu}\cdot\text{s}^{-1}$, 利血平半峰宽可达0.28 amu 。

研究了离子筛选和碎裂效率。四极杆选择母离子, 优化了 q 值0.25、0.30、0.35、0.40、0.45和0.50, q 值为0.30时解离效率最高。因此, 在 $q=0.30$ 时, CID被共振激发, 在碎裂离子的低质量截止点和径向势阱深之间提供了良好的平衡。利血平(m/z 609.30)子离子质谱图如图4(c)所示。激活时间为50 ms, CID效率为64%。

3.2. 空间效应

与相同截面积的三维离子阱相比, 二维离子阱的 z 向

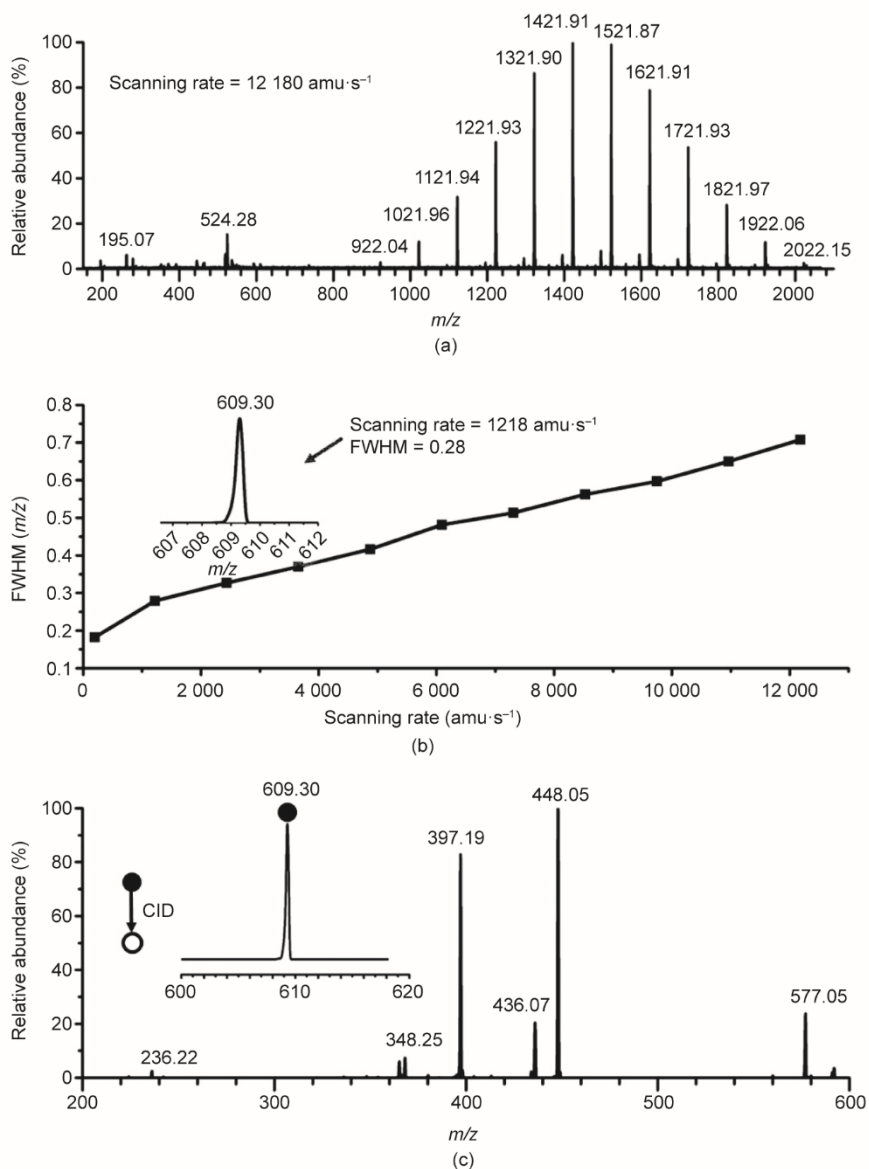


图4. (a) Q-LIT扫描校正液的质谱图, 扫描范围达 m/z 2000; (b) 利血平 (m/z 609.30) 半峰宽, Q-LIT扫描速度与半峰宽的变化关系; (c) Q-LIT获得的利血平二级子离子质谱图, 碎裂效率为64%。FWHM: 半峰宽 (full-width peaks at half-maximum)。

延伸使捕获的离子体积增大[8]。当离子从二维离子阱(如线形离子阱)中被逐出时, 离子云沿着 z 轴扩散[22, 25], 离子不会像在三维离子阱中聚集成直径约为1 mm的球体[26]。本研究使用利血平测试Q-LIT降低空间电荷效应的效果。如图5所示, 隔离或碎裂前的离子(红线, 未隔离)受空间电荷影响较大。空间电荷通常是通过隔离目标母离子来解决的。为了表征空间电荷对自研Q-LIT串联质谱仪的影响, 我们对四极滤质器和线形离子阱两种隔离方法进行了比较。使用 $1.0 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的利血平标准溶液, 根据捕获离子的数量测量质量分辨率、质量位移和响应强度。如图5(a)所示, 在不损失质量分辨率的情况下, 线形离子阱隔离时间可以从0.1 s提高到0.8 s, 四极杆隔

离时间从0.1 s提高到0.4 s。当四极杆隔离时间为0.6 s时, 分辨率先下降约100, 然后保持不变。当离子阱隔离时间从1.0 s增加到8.0 s, 分辨率不断下降200。此外, 通过隔离可以有效地改善质量漂移, 如图5(b)所示。例如, 两种分离方法在0.1~8.0 s时, 质量偏移均约为0.38 amu。另外, 图5(c)定量表征了空间电荷效应引起的响应强度变化。从0.1 s到0.8 s, 随着离子注入时间的增加, 离子阱隔离的响应强度逐渐增大, 当离子注入时间大于0.8 s时, 响应强度急剧下降。离子注入时间小于7 s时, 四极杆隔离的响应强度一直在逐渐增加。在 $100 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的蛋氨酸-精氨酸-苯丙氨酸-丙氨酸(MRFA)溶液(m/z 524.56)中添加 $10 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 利血平, 检测利血平, 也得到了类似的结果。

因此，对于离子阱动态范围内的相对纯溶液分析，离子阱的存储波形反傅里叶变换（SWIFT）分离在分辨率和响应强度上优于四极杆隔离，且质量偏移与四极杆隔离相同。然而，在复杂基质分析中，如在 2 mL 干血斑提取液中加入 20 ng 利血平（其浓度为 $10 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ ），离子阱隔离会受到强烈基质干扰的影响，从而直接导致空间电荷效应，完全无法检出利血平。而四极杆隔离可有效检出，且响应强度随着离子注入时间增加而继续增加，如图 5（d）所示。以上结果表明，对于复杂的样品基质，实际样品的基质效应过大，单离子阱分析容易产生空间电荷效应。此外，实际样品中目标化合物浓度未知，需要较大的线性动态范围。因此，Q-LIT 具有优势，可以选择性地将母离子从复杂基质样品中分离出来，以减少基质干扰和空间电荷效应，同时可免除复杂样品的色谱分离，从而简化前处理过程。

3.3. 应用

质谱作为分析方法中的金标准，在新生儿筛查和其他

领域应用中具有重要意义[7]。在 Q-LIT V2 串联质谱分析中，首先在四极杆中选择目标物母离子，同时在线形离子阱中注入、捕获、碎裂获得并富集目标子离子。多级碎裂离子直接被一起富集。每个分析物选择一个离子对，GAA、D₂-GAA、CRE 和 D₃-CRE 的子离子分别为 m/z 101.12、103.12、90.11 和 93.10。如图 6 和图 7 所示，GAA 和 D₂-GAA 的母离子分别为 m/z 118.11 和 m/z 120.09，丢失氨（NH₃）产生的子离子分别为 m/z 118.11 和 m/z 120.09 [27]。CRE 和 D₃-CRE 的质谱图也反映了这一现象，但信号响应不足，明显低于 CRE 的 m/z 90.11 离子和 D₃-CRE 的 m/z 93.10 离子，如附录 A 中的图 S1 和 S2 所示。这些子离子的形成过程被认为丢失氰胺基团（CN₂H₂）。此外，如图 6 所示，未经四极杆选择而直接进入 LIT 的母离子在离子阱中引起空间电荷效应问题。然而，四极杆选择的母离子会大大降低空间电荷效应，如图 7 所示。最后，对相应的管透镜、离子导引 Q0 直流偏压、预四极 PreQ 直流偏压和杆 ROD 的直流偏压进行了优化，以提高检测灵敏度，如附录 A 中的图 S3 所示。

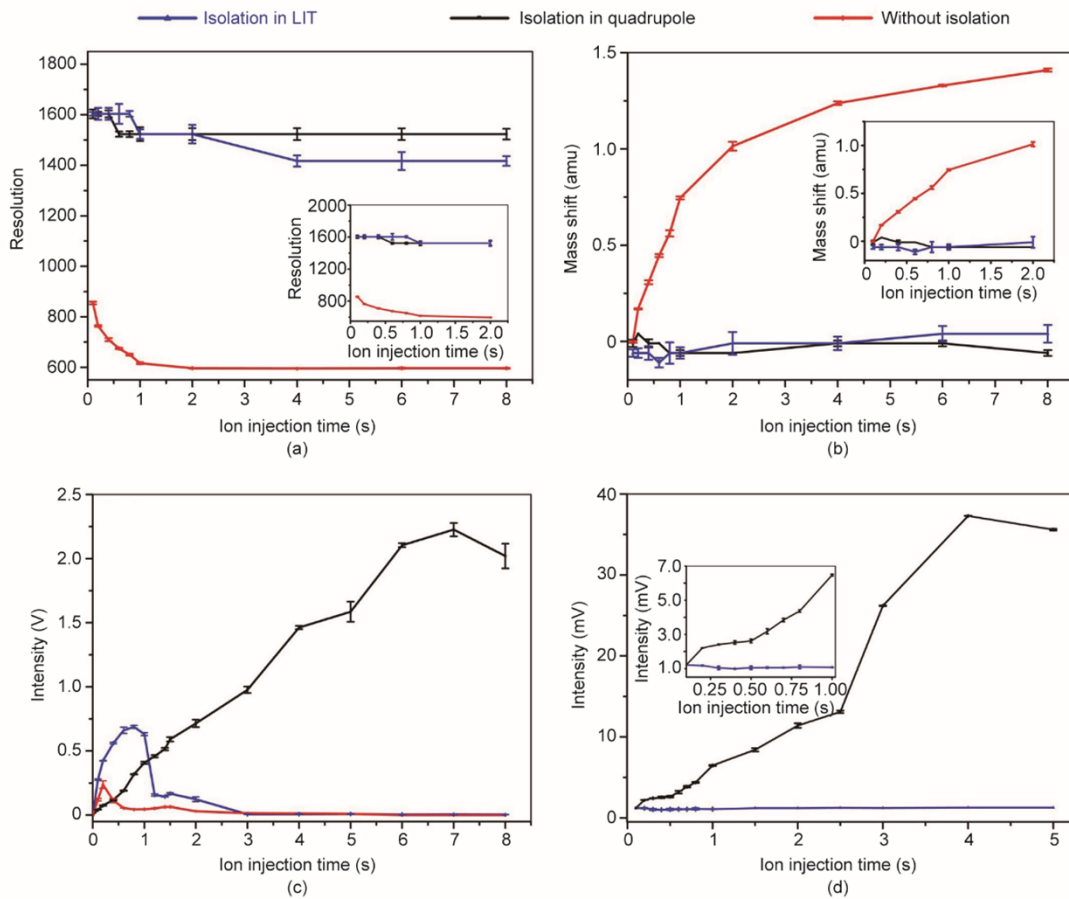


图 5. Q-LIT 串联质谱的空间电荷研究（利血平，正离子 m/z 609.30）。(a) 由空间电荷效应引起的利血平标准液的质量分辨率的变化；(b) 由空间电荷效应引起的利血平标准液的质量偏移；(c) 利血平标准溶液的质量强度随离子注入时间的增加而变化；(d) 干血斑中添加 $10 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 利血平的响应强度随离子注入时间而变化。

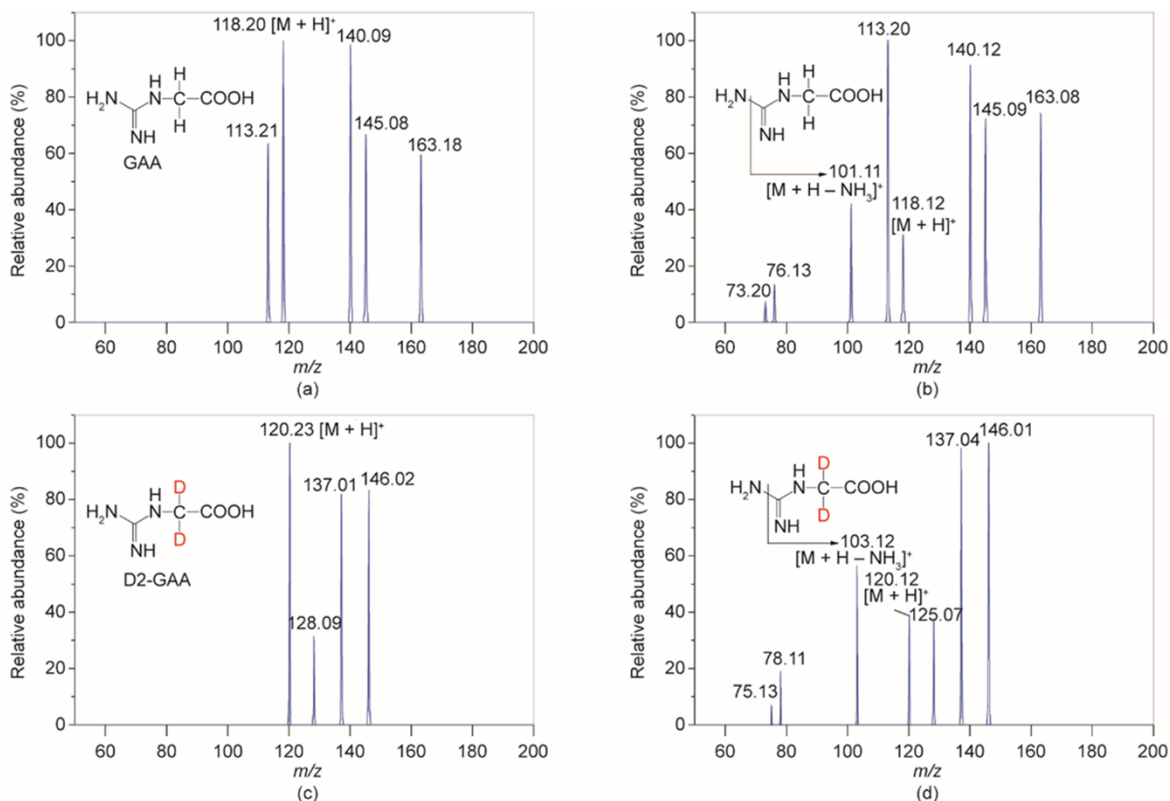


图6. 未经四极杆筛选而直接注入线形离子阱的离子质谱图。(a) GAA 标准溶液的所有离子质谱图；(b) GAA 的碎裂离子质谱图；(c) D₂-GAA 标准溶液的所有离子质谱图；(d) D₂-GAA 的碎裂离子质谱图。[M+H]⁺：母离子。

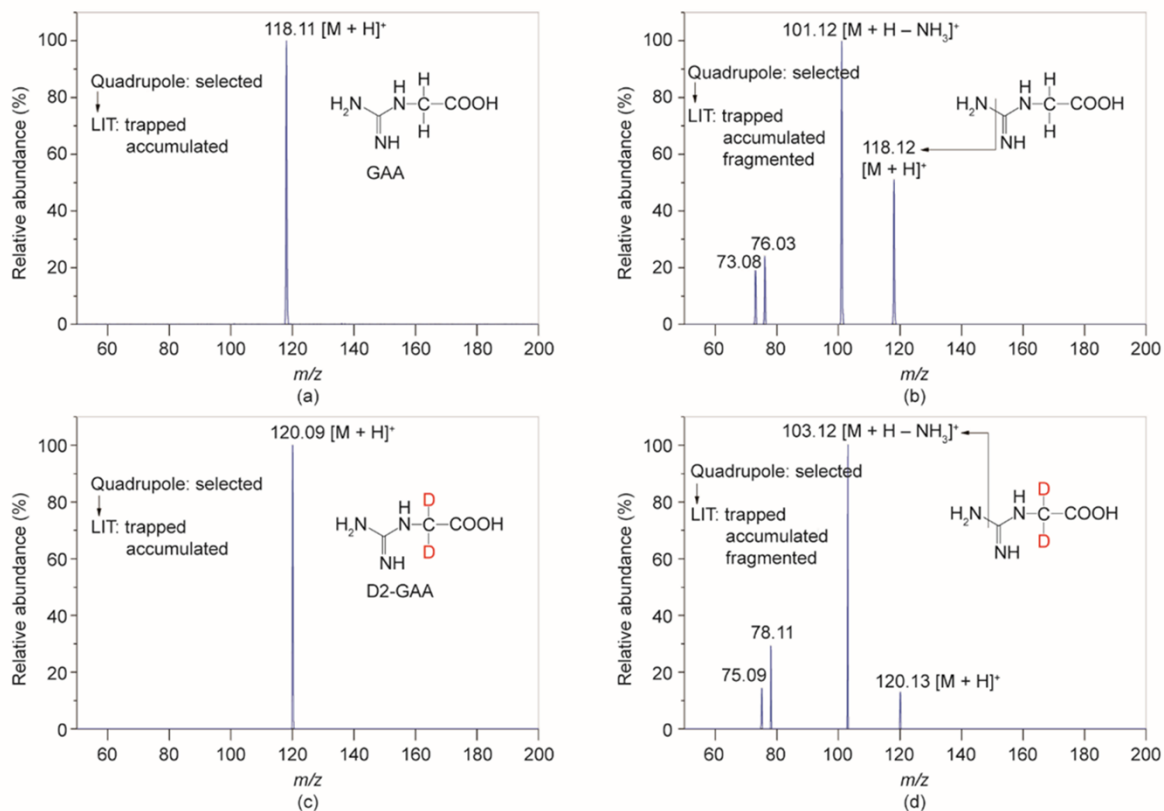


图7. 经过四极杆筛选后注入线形离子阱的离子质谱图。(a) GAA 的母离子质谱图；(b) GAA 的碎裂离子质谱图；(c) D₂-GAA 的母离子质谱图；(d) D₂-GAA 的碎裂离子质谱图。

FIA-ESI-MS/MS方法被广泛用于测定不同生物基质中的多种生物标志物[7,28]。由于FIA-ESI-MS/MS方法对每个样品的分析时间仅为1.0~2.5 min,如附录A中的表S3所示,因此该方法在多种疾病的高通量筛查中具有很大的潜力。FIA-ESI-MS/MS方法已被用于分析和检测临床样本中的氨基酸、酰基鸟嘌呤、CRE、GAA以及其他生物标志物[27,29-30]。为了提高灵敏度,一些目标物通常衍生为丁基酯,如氨基酸、GAA、CRE和25-羟基维生素D[27,31-32]。Carducci等[27]率先建立了FIA-ESI-MS/MS法,即1.0 min测定干血斑提取物中GAA和CRE的方法。然而,该方法使用衍生化法,前处理步骤烦琐且耗时。液相色谱-串联质谱法(LC-MS/MS)也广泛用于检测GAA和CRE,但耗时5~10 min[5,33]。本研究开发的FIA-ESI-Q-LIT方法的总采集时间为1.5 min,使得分析快速且高效。与液相色谱方法相比,所需的时间减少了三倍以上。此外,与文献报道的用于检测GAA和CRE的FIA-ESI-MS/MS方法相比[27],我们建立的方法无需衍生化,用于质谱分析的样品制备只需要一步固液萃取。综上所述,FIA-ESI-Q-LIT方法适用于新生儿GAMT和AGAT疾病的高通量筛查。

在最佳实验条件下(附录A中的表S1和S2),对Q-LIT V2方法的线性范围、灵敏度、准确性和平方回归系数进行了验证。在 $1.20\sim 9.84\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 范围内,GAA的线性

相关系数(R^2)为0.9908。CRE在 $122.05\sim 656.76\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 范围内, R^2 为0.9902。全血中GAA的加标浓度为 $3.0\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $8.0\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,CRE的加标浓度为 $150.0\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $300.0\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,平均回收率为112.4%~119.9%,变异系数 $\leq 7.73\%$ 。此外,低质控和高质控重复测定10次,用日内精密度评估方法重复性,低质控的GAA和CRE日内精密度分别为6.38%和8.19%,而高质控的日内精密度分别为6.88%和8.40%。当信噪比为3时,GAA和CRE的检出限分别为 $0.35\ \text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $0.07\ \text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$,信噪比为10时,定量限分别为 $1.0\ \text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $0.2\ \text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。此外,使用美国赛默飞世尔科技公司的TSQ Altis质谱仪,方法如附录A中的表S5所示,验证数据列于附录A中的表S4,表明Q-LIT和TSQ Altis的灵敏度、线性、质控和回收率具有同等水平。虽然Q-LIT的重复性满足临床要求,但对其稳定性仍需在未来进行深入研究。

方法验证后,对77例实际样品进行分析。这些实际样本是人干血斑。采用Q-LIT V2和TSQ Altis对样品进行检测。Q-LIT V2检测结果与TSQ Altis检测结果一致,Q-LIT检测结果均在TSQ Altis结果均值 \pm 标准差范围内。详细结果见附录A中的表S6。此外,提取离子质谱图和FIA色谱图见图8。通过多例真实临床样本的检测,表明Q-LIT V2具有良好的定性和定量能力。

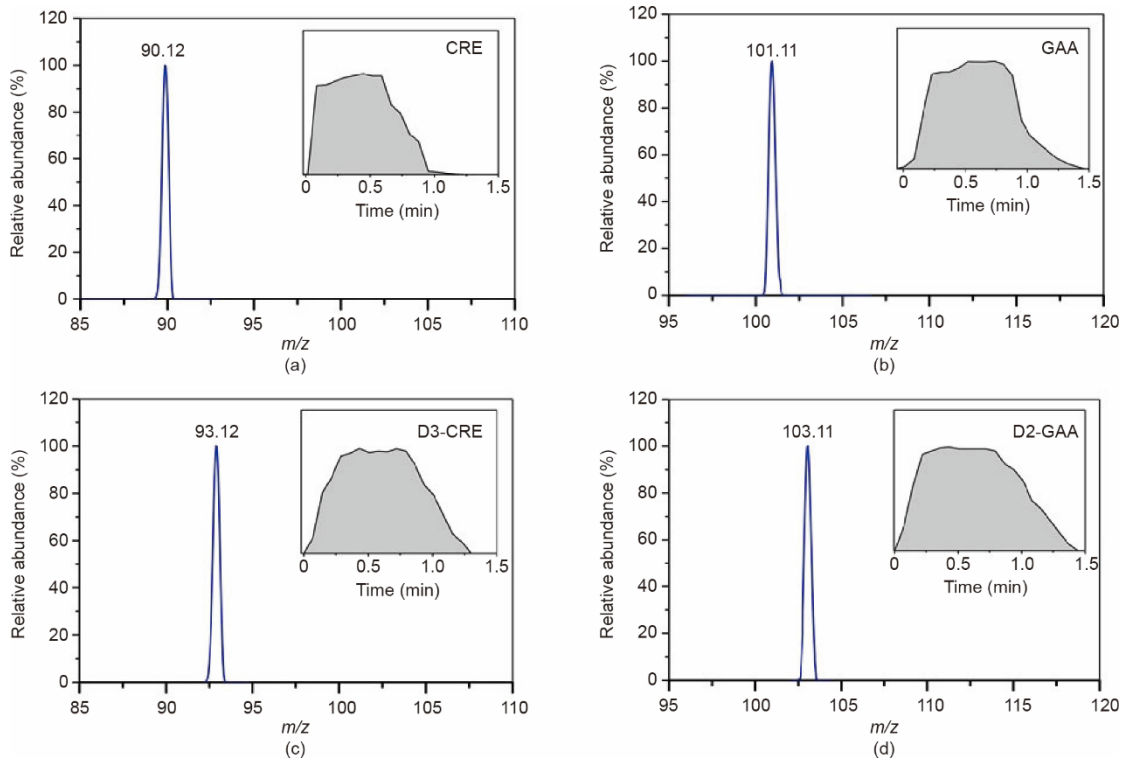


图8. FIA-ESI-Q-LIT检测真实干血斑样本所得提取离子质谱图和色谱图。(a) GAA; (b) CRE; (c) D₃-CRE; (d) D₂-GAA。

4. 结论

自主研发 Q-LIT 串联质谱可用于临床生物标志物分析。对其质量范围、扫描速度和碎裂效率进行了评估。实验结果表明,该技术可以减少进入 LIT 的离子数量,有效降低空间电荷效应。此外,该技术还解决了液相色谱法样品分析过程复杂、耗时的缺点。本文所开发和验证的 FIA-ESI-Q-LIT 方法也可以作为一种快速、简单、可靠的工具,应用于复杂临床基质中痕量或超痕量化合物的定量分析。

致谢

本研究由国家重点研发计划项目(2018YFF0212503、2019YFF0216303、2016YFF0200502)、国家自然科学基金项目(21927812)、中国计量科学研究院基本业务费项目(AKY1934)资助。我们衷心感谢曾伟杰和易可可对实验的帮助。

Compliance with ethics guidelines

Xiang Fang, Jie Xie, Shiyong Chu, You Jiang, Yuting An, Chang Li, Xiaoyun Gong, Rui Zhai, Zejian Huang, Chunling Qiu, and Xinhua Dai declare that they have no conflict of interest or financial conflicts to disclose.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.eng.2020.10.021>.

References

- [1] Madhukar NS, Khade PK, Huang L, Gayvert K, Galletti G, Stogniew M, et al. A Bayesian machine learning approach for drug target identification using diverse data types. *Nat Commun* 2019;10:5221.
- [2] Freeman JD, Rosman LM, Ratcliff JD, Strickland PT, Graham DR, Silbergeld EK. State of the science in dried blood spots. *Clin Chem* 2018;64(4):656–79.
- [3] Cheillan D, Salomons GS, Acquaviva C, Boisson C, Roth P, Cordier MP, et al. Prenatal diagnosis of guanidinoacetate methyltransferase deficiency: increased guanidinoacetate concentrations in amniotic fluid. *Clin Chem* 2006;52(4):775–7.
- [4] Mørkrid L, Rowe AD, Elgstoen KBP, Olesen JH, Ruijter G, Hall PL, et al. Continuous age- and sex-adjusted reference intervals of urinary markers for cerebral creatine deficiency syndromes: a novel approach to the definition of reference intervals. *Clin Chem* 2015;61(5):760–8.
- [5] Benoit R, Samir M, Boutin J, Samuel A, Brigitte C, Dominique D, et al. LC–MS/MS measurements of urinary guanidinoacetic acid and creatine: method optimization by deleting derivatization step. *Clin Chim Acta* 2019;493:148–55.
- [6] Tortorelli S, Eckerman JS, Orsini JJ, Stevens C, Hart J, Hall PL, et al. Moonlighting newborn screening markers: the incidental discovery of a second-tier test for Pompe disease. *Genet Med* 2018;20(8):840–6.
- [7] Wagner M, Tonoli D, Varesio E, Hopfgartner G. The use of mass spectrometry to analyze dried blood spots. *Mass Spectrom Rev* 2016;35(3):361–438.
- [8] Pang G, Chang Q, Bai R, Fan C, Zhang Z, Yan H, et al. Simultaneous screening of 733 pesticide residues in fruits and vegetables by a GC/LC–Q–TOFMS combination technique. *Engineering* 2020;6(4):432–41.
- [9] Fernández-Fernández M, Rodríguez-González P, Añón Álvarez ME, Rodríguez F, Menéndez FVÁ, Alonso JIG. Simultaneous determination of creatinine and creatine in human serum by double-spike isotope dilution liquid chromatography–tandem mass spectrometry (LC–MS/MS) and gas chromatography–mass spectrometry (GC–MS). *Anal Chem* 2015;87(7): 3755–63.
- [10] Smith CJ. Food safety and health—past problems and future solutions. *Engineering* 2020;6(4):384–8.
- [11] Hou JJ, Zhang JQ, Yao CL, Bauer R, Khan IA, Wu WY, et al. Deeper chemical perceptions for better traditional Chinese medicine standards. *Engineering* 2019; 5(1):83–97.
- [12] Snyder DT, Fedick PW, Cooks RG. Multigenerational collision-induced dissociation for characterization of organic compounds. *Anal Chem* 2016; 88(19): 9572–81.
- [13] Cha B, Blades M, Douglas DJ. An interface with a linear quadrupole ion guide for an electrospray-ion trap mass spectrometer system. *Anal Chem* 2000; 72(22): 5647–54.
- [14] Snyder DT, Szalwinski LJ, Cooks RG. Simultaneous and sequential MS/MS scan combinations and permutations in a linear quadrupole ion trap. *Anal Chem* 2017;89(20):11053–60.
- [15] Liu X, Wang X, Bu J, Zhou X, Ouyang Z. Tandem analysis by a dual-trap miniature mass spectrometer. *Anal Chem* 2019;91(2):1391–8.
- [16] Guo D, Wang Y, Xiong X, Zhang H, Zhang X, Yuan T, et al. Space charge induced nonlinear effects in quadrupole ion traps. *J Am Soc Mass Spectrom* 2014;25(3): 498–508.
- [17] Drogaris P, Le Blanc JCY, Fitzgerald JE, Lowndes NF, Verreault A, Thibault P. Enhanced protein detection using a trapping mode on a hybrid quadrupole linear ion trap (Q-trap). *Anal Chem* 2009;81(15):6300–9.
- [18] Zhang X, Wang Y, Hu L, Guo D, Fang X, Zhou M, et al. Reducing space charge effects in a linear ion trap by rhombic ion excitation and ejection. *J Am Soc Mass Spectrom* 2016;27(7):1256–62.
- [19] Hall AB, Coy SL, Kafle A, Glick J, Nazarov E, Vouros P. Extending the dynamic range of the ion trap by differential mobility filtration. *J Am Soc Mass Spectrom* 2013;24(9):1428–36.
- [20] Xie J, Jiang H, Shen J, Peng T, Wang J, Yao K, et al. Design of multifunctional nanostructure for ultrafast extraction and purification of aflatoxins in foodstuffs. *Anal Chem* 2017;89(19):10556–64.
- [21] Guna M, Londry FA. Tandem ion trap design with enhanced mass analysis capabilities for large populations of ions. *Anal Chem* 2011;83(16):6363–7.
- [22] Douglas DJ, Frank AJ, Mao D. Linear ion traps in mass spectrometry. *Mass Spectrom Rev* 2005;24(1):1–29.
- [23] Bier ME, Syka JEP, inventors; CorporationFinnigan, assignee. Ion trap mass spectrometer system and method. United States patent 5420425. 1995 May 30.
- [24] Song Q, Kothari S, Senko MA, Schwartz JC, Amy JW, Stafford GC, et al. Rectilinear ion trap mass spectrometer with atmospheric pressure interface and electrospray ionization source. *Anal Chem* 2006;78(3):718–25.
- [25] Perry RH, Cooks RG, Noll RJ. Orbitrap mass spectrometry: instrumentation, ion motion and applications. *Mass Spectrom Rev* 2008;27(6):661–99.
- [26] Nolting D, Malek R, Makarov A. Ion traps in modern mass spectrometry. *Mass Spectrom Rev* 2019;38(2):150–68.
- [27] Carducci C, Santagata S, Leuzzi V, Carducci C, Artioli C, Giovannelli T, et al. Quantitative determination of guanidinoacetate and creatine in dried blood spot by flow injection analysis–electrospray tandem mass spectrometry. *Clin Chim Acta* 2006;364(1–2):180–7.
- [28] Gachumi G, Purves RW, Hopf C, El-Anead A. Fast quantification without conventional chromatography, the growing power of mass spectrometry. *Anal Chem* 2020;92(13):8628–37.
- [29] Nanita SC. Quantitative mass spectrometry independence from matrix effects and detector saturation achieved by flow injection analysis with real-time infinite dilution. *Anal Chem* 2013;85(24):11866–75.
- [30] Sans M, Zhang J, Lin JQ, Feider CL, Giese N, Breen MT, et al. Performance of the MasSpec Pen for rapid diagnosis of ovarian cancer. *Clin Chem* 2019;65(5): 674–83.
- [31] Chace DH. Mass spectrometry in newborn and metabolic screening: historical

perspective and future directions. *J Mass Spectrom* 2009;44(2):163–70.

- [32] Kvaskoff D, Heath AK, Simila HA, Ko P, English DR, Eyles DW. Minimizing matrix effects for the accurate quantification of 25-hydroxyvitamin D metabolites in dried blood spots by LC–MS/MS. *Clin Chem* 2016;62(4):

639–46.

- [33] Cognat S, Cheillan D, Piraud M, Roos B, Jakobs C, Vianey-Saban C. Determination of guanidinoacetate and creatine in urine and plasma by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Clin Chem* 2004;50(8): 1459–61.