质谱成像中组织化学衍生化技术的研究进展

汪薇[1,2*]，李贝贝[1,2]，陈冉[1,2]，江丰[1,2]，张莉[1,2]

（1.湖北省食品质量安全监督检验研究院，国家市场监督管理总局重点实验室（动物源性食品中重点化学危害物检测技术），湖北武汉 430075）（2.湖北时珍实验室，湖北武汉 430065）

摘要：质谱成像（Mass Spectrometry Imaging，MSI）是一种强大的分子成像技术，能够实现食品组分空间分布的原位可视化分析。然而，食品基质中部分关键成分由于低丰度、低离子化效率或化学不稳定难以直接检测。组织化学衍生化技术通过原位引入特定功能基团，显著提高目标分子的离子化效率、检测灵敏度和稳定性，成为增强 MSI 分析能力的关键策略。本文系统综述了近年来组织化学衍生化技术在 MSI 中的应用进展，重点讨论了不同官能团如胺类、羧酸类和羰基化合物等的衍生化反应机制、衍生化方法（喷雾法、微滴沉积、载体递送等）及其在食品功能性成分分布、药物代谢、有害物质成像中的最新进展。最后，本文展望了该技术在食品领域的未来发展方向，包括新型衍生化试剂的研发、人工智能辅助反应优化，以及其在多靶点平行衍生分析中的潜在应用，旨在为组织化学衍生化提升质谱成像质量提供研究思路。

关键词：质谱成像；组织化学衍生化；化学修饰；空间分辨；分子成像

文章编号：1673-9078(2026)10-403-413 DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2026.10.0731

Research Advances in On-tissue Chemical Derivatization Techniques for Mass Spectrometry Imaging

WANG Wei[1,2*], LI Beibei[1,2], CHEN Ran[1,2], JIANG Feng[1,2], ZHANG Li[1,2]

(1. Hubei Provincial Institute for Food Supervision and Test, Key Laboratory of Detection Technology of Focus Chemical Hazards in Animal-derived Food, State Administration for Market Regulation, Wuhan 430075, China)

(2. Hubei Shizhen Laboratory, Wuhan 430065, China)

Abstract: Mass spectrometry imaging (MSI) is a powerful molecular imaging technique that enables the visualization of the spatial distribution of a wide range of molecules in food. However, certain key components within food matrices are difficult to detect directly owing to their low abundance, poor ionization efficiency, or chemical instability. On-tissue chemical derivatization (OTCD) techniques have emerged as a critical strategy to enhance the analytical performance of MSI. By introducing specific functional groups *in situ*, OTCD significantly improves the ionization efficiency, detection sensitivity, and stability of target molecules. This review provides a systematic overview of OTCD techniques for MSI, focusing on the derivatization reaction mechanisms for various functional groups (such as amines, carboxylic acids, and carbonyl compounds), derivatization methods (such as, spray-based methods, microdroplet deposition, and carrier-mediated delivery), and recent advances in mapping functional component distributions in food, monitoring drug metabolism, and imaging harmful substances. Finally, the future development directions of these techniques within the food sector are discussed, highlighting potential applications in the design and development of novel derivatization reagents, artificial intelligence-assisted reaction optimization, and multi-target parallel derivatization analysis. Overall, this review provides valuable insights and methodologies to advance the quality and capabilities of MSI through OTCD.

Key words: mass spectrometry imaging; on-tissue chemical derivatization ; chemical modification; spatial resolution; molecular imaging

---

收稿日期：2025-05-26；修回日期：2025-08-19；接受日期：2025-08-27

基金项目：湖北省自然科学基金市场监管创新发展联合基金项目（2025AFD708）；湖北省市场监督管理局科技计划项目（Hbscjg-KJ2024004）

作者简介：汪薇（1989-），女，博士，高级工程师，研究方向：食品分析，E-mail：wangwei_hbqt@163.com

引文格式：
汪薇,李贝贝,陈冉,等.质谱成像中组织化学衍生化技术的研究进展[J].现代食品科技,2026,42(10):403-413.
WANG Wei, LI Beibei, CHEN Ran, et al. Research advances in on-tissue chemical derivatization techniques for mass spectrometry imaging [J]. Modern Food Science and Technology, 2026, 42(10): 403-413.

质谱成像（Mass Spectrometry Imaging, MSI）是一种免标记的分子成像技术，通过将质谱分析与空间定位信息相结合，可直接对食品、生物组织中脂类、糖类及小分子代谢物等数百至数千种化合物的原位可视化分析[1]。通过逐点连续扫描样品表面，产生的气相离子经质量分析器检测后，获取不同位置的质谱信号，重构质谱信号的空间分布获得分子成像图谱[2]。根据离子化原理的不同，MSI 技术主要分为三类[1-3]：（1）基质辅助激光解吸 / 电离质谱成像（Matrix-assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry Imaging, MALDI-MSI）技术，利用激光激发有机基质与样品的共结晶区域，通过能量转移实现分子解吸电离，尤其适用于蛋白质、多肽等生物大分子检测[4]。MALDI 具有较高的空间分辨率（5~20 μm 范围）[5]，但需要为不同的生物样品寻找稳定和合适的基质，并开发基质沉积方法[6,7]；（2）电喷雾解吸电离（Desorption Electrospray Ionization, DESI），使用气动辅助的带电溶剂流来冲击样品表面的分子，分析物被吸收进入质谱仪。它不需要复杂的预处理和引入额外的基质，可在常压环境下实现直接分析。DESI 对小分子化合物更敏感，但空间分辨率较低（50~100 μm）[8]；（3）二次离子质谱（Secondary Ion Mass Spectrometer, SIMS），采用高能初级离子束溅射样品表面，其空间分辨率高于 MALDI，可达到几百纳米到几微米级空间分辨率，在单细胞分析领域展现出独特优势[9]。MSI 技术因其免标记、多组分同步检测、高灵敏度、高空间分辨率及可视化等优点，已被广泛应用于食品、农产品及药用植物的空间成像研究、药物作用靶点发现等领域[3,10-14]。

然而，MSI 技术在实际应用中仍面临许多挑战。不同类别化合物的离子化效率存在显著差异，组织内低丰度分子（如部分神经递质和激素）的检测灵敏度受限，其信号易受高丰度成分（如磷脂）的离子抑制效应影响。组织样本的异质性导致的基质效应也会引入信号偏差[15]。组织化学衍生化（On-tissue Chemical Derivatization, OTCD）[16]通过引入特定化学基团，可显著增强目标分子的 MSI 响应，提高检测灵敏度、特异性和空间分辨率（图 1）。近年来，多种衍生化策略被开发并应用于 MSI，涵盖胺类、羧酸类、羟基类等不同官能团的修饰。本文系统综述了 MSI 中组织化学衍生化的主要类型、反应机制、应用策略及最新进展，并探讨其优化方向。

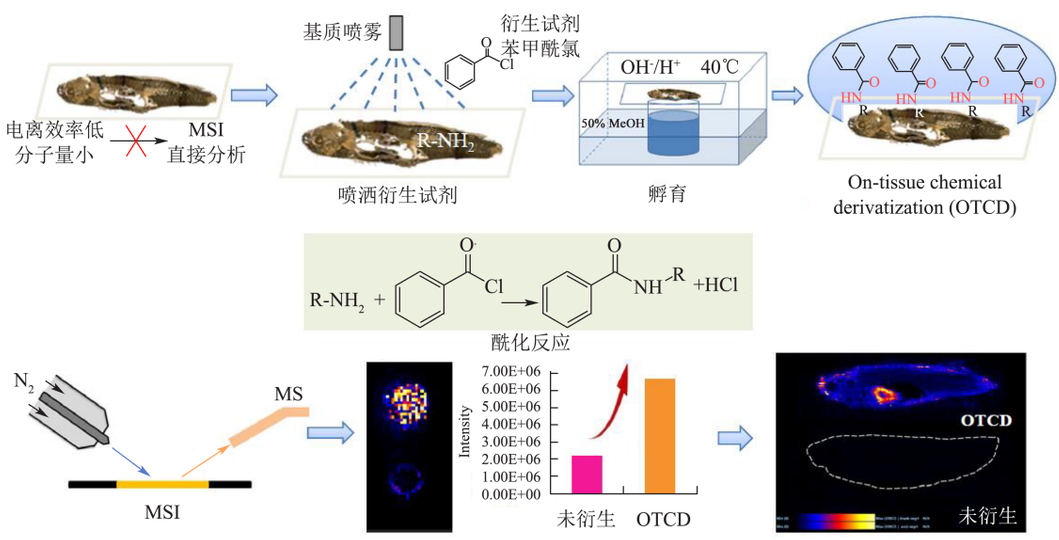


图 1 质谱成像组织化学衍生化示意图

Fig.1 Schematic diagram of on-tissue chemical derivatization for mass spectrometry imaging

注：以胺类化合物的 OTCD 为例。

1 组织化学衍生化的类型及反应机制

组织化学衍生化通过在分析物中引入带电部分或易于电离的官能团来提高检测灵敏度。该衍生化策略通过化学修饰将代谢物的质量数提升至更适于检测的范围，不仅减少了低质量区内基质背景信号的干扰，还改善了高分辨率质谱仪因离子传输效率下降导致的低质量端信号损失问题[14,17]。基于目标分子官能团的不同，OTCD 可分为多种类型（图 2）。



图 2 基于官能团的 OTCD 分类

Fig.2 OTCD classification based on functional groups

1.1 胺类衍生化

胺基作为生物分子中最常见的活性基团之一，广泛存在于氨基酸、生物胺、神经递质等重要化合物中。胺类化学衍生化是通过特定试剂与含氨基（-NH_2）的化合物反应，生成更易检测或分离的衍生物的技术，其反应机制基于氨基的亲核性，在温和条件下，-NH_2 可竞争衍生试剂中的亲电中心（如酰氯、醛基或活性酯）、通过亲核取代（如与酰氯反应）、亲核加成－消除（如与醛缩合）或迈克尔加成（如与 α,β-不饱和酯反应）等途径形成稳定的衍生化产物。常用衍生试剂有丹磺酰氯、苯甲酰氯、邻苯二甲醛等[18,19]。

丹磺酰氯衍生化是最经典的胺类衍生化方法，该反应在弱碱性条件下即可高效进行，生成的丹磺酰衍生物不仅具有更强的疏水性，其分子中的叔胺结构还能显著提升电离效率[20]。邻苯二甲醛可与伯胺（如赖氨酸、多巴胺）发生缩合反应，生成的异吲哚衍生物在质谱中易形成$[M+H]^+$离子，信号强度显著提升[21]。Liu 等[22]通过组织化学选择衍生和 MALDI-MSI 在脑组织切片上同时定位神经递质和神经调节剂，衍生化体系由吡啶酰苄基硼酸衍生化试剂和吡啶盐组成，它们分别有助于对含有顺式二醇和伯胺的分子进行共价电荷标记。研究表明，该衍生化体系提高了多巴胺等神经递质在 MALDI-MSI 检测的灵敏度，保持良好的空间分辨率，并利用衍生化试剂固有的化学选择性和硼衍生物试剂独特的同位素模式简化了神经递质和神经调节剂的鉴定。Choi 等[23]基于 2,4,6-三甲基吡喃鎓四氟硼酸盐衍生化技术的成像质谱法实现了多巴胺及其代谢产物精准定位。纳秒光化学反应支持的快速化学衍生化，可以直接对含有初级胺的代谢物进行质谱成像分析，甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸和亮氨酸的电离效率显著提高[24,25]。光活性化合物 2- 硝基苯甲醛（2-Nitrobenzaldehyde, NBA）在 355 nm 波长的纳秒激光照射下用于多肽和蛋白质中伯胺基的衍生化。纳秒激光辐照可产生活性 2- 亚硝基苯甲酸阴离子（2-Nitrosobenzoic Anion, NS^-），它能迅速与肽和蛋白质中的伯胺反应，产生 133 Da 的质量位移[26]。Wu 等[18]设计了一对基于同位素标记的光化学衍生化试剂 d_0/d_3-NPU，引入了 4- 氨基 -1- 甲基吡啶和同位素标签，胺代谢物的成像灵敏度显著提高，检测范围扩大。Zhou 等[27]研发了新型季铵化吡啶盐探针，该探针对氨基具有良好的反应性，并在 MALDI 质谱分析中产生阳性检测信号，对包括芳香胺和脂肪胺在内的生物胺衍生化具有广谱性，通过衍生获得了小鼠组织中 20 种氨基酸 MSI 图谱。Xie 等[28]对手性氨基酸进行衍生化，实现了组织上内源性手性氨基酸的区分。这些研究为食品中氨基酸、发酵过程生物胺等的原位空间分布分析提供了重要的技术支撑。

1.2 羧酸衍生化

羧酸类化合物（R-COOH）存在于食品体系（如脂肪酸、有机酸、氨基酸）和药物分子中。由于其强极性或缺乏灵敏的检测基团，质谱直接分析往往面临挑战。根据反应类型，羧酸衍生化可分为酯化、酰胺化、酰卤化等[29]。酰胺化反应在增强质谱响应方面展现出独特优势，通过碳二亚胺活化羧基后，与含氨基的荧光标记物（如 5- 氨基荧光素）缩合生成酰胺（R-CONHR’），不仅提高了电离效率，还实现了荧光－质谱双模式检测。这种方法在脂质代谢研究中取得了显著成效，成功检测到多种低丰度的代谢中间产物[30]。短链脂肪酸是反映肠道微生物健康的关键挥发性代谢物，但其在 MALDI 分析的真空环境易流失，利用哌嗪基三甲基乙铵盐（N,N,N-Trimethyl-2(Piperazin-1-yl)Ethan-1-Aminium Iodide, TMPA）对鸡

盲肠、回肠和空肠组织切片中的短链脂肪酸进行化学修饰，降低其挥发性，实现肠道中短链脂肪酸的 MSI 可视化分析[31]。新型衍生化试剂的开发进一步拓展了羧酸类化合物的检测能力。利用溴苯乙基双季铵盐［4-(2-((4-Bromophenethyl)Dimethylammonium)Ethoxy) Benzenaminium Dibromide, 4-APEBA］组织化学衍生的质谱成像扩大了植物化合物的覆盖范围，增强了对羧酸盐、醛类和其他羰基的检测，为植物样品中的空间激素组学开辟了一条道路[17]。该方法一个关键优点是加入了溴苯乙基，它在衍生产物离子中引入了溴的独特同位素特征，这有助于促进衍生化化合物的非靶向检测和筛选。Abliz 等[32-34]开发了一种水凝胶辅助 OTCD 方法，以吉拉德 P（Girard's P, GP）为衍生化试剂，通过缩合反应将易电离的酰肼和季胺基团引入羰基代谢物的结构中，实现了肿瘤组织中氧化脂类的高灵敏度和高覆盖率的 MSI 分析。GP 衍生化后，共成功检测到 127 种脂肪醛（Fatty Aldehydes, FALs）和 71 种氧脂肪酸（Oxo Fatty Acids, FAs），并用气流辅助解吸电喷雾电离（Airflow-assisted Desorption Electrospray Ionization, AFADESI-MSI）清晰成像。该团队还使用 AFADESI-MSI 结合 OTCD 建立了一种增强的空间分辨脂质组学方法，并对大鼠大脑中的 560 种脂质和氧化脂质进行原位表征[35]，基于该研究可追踪肉制品、坚果等高油脂食品加工及贮藏过程中脂肪氧化产物[36]的空间分布。

1.3 羟基衍生化

羟基化合物在质谱中离子化效率低，信号弱，可衍生化引入易质子化或带电荷基团（如季铵盐、酰基）[37]。羟基脂肪酸通过酰化（如三氟乙酰化）提高质谱的正离子模式响应。使用 2-氟 -1- 甲基吡啶翁对甲苯磺酸盐（2-Fluoro-1-Methylpyridinium *p*-Toluene Sulfonate）为衍生化试剂，可以提高对乙酰氨基酚及其一些代谢物的电离率[38]。甲基吡啶硼酸盐（4-(N-Methyl)pyridinium Boronic Acid）在 TOF-SIMS 和 LDI-TOF 质谱成像中的组织化学衍生化儿茶酚胺[39]。羟基易氧化（如酚类）或在酸 / 碱性条件下发生副反应（如脱水、酯交换）。通过乙酰化或硅烷化保护羟基，避免样本处理或储存过程中的降解[40]。在方法学创新方面，Wang 等[41]提出了组织化学氧化衍生化（On-tissue Chemical Oxidation followed by Derivatization, COFD）方法，以提高 MSI 检测生物组织中含羟基代谢物（Primary and Secondary Hydroxyl-containing Metabolites, PSHMs）的灵敏度和覆盖率。该方法包括两个步骤：羟基通过化学氧化反应转化为羰基，羰基通过 GP 试剂衍生化。组织上的化学氧化后再进行衍生化，结合 MSI，实现了组织切片内的初级和次级含羟基代谢物如羟基脂肪酸、脂肪醇等的可视化。

1.4 醛酮化合物衍生化

醛酮基团（-CHO/-CO-）是食品中糖类、风味物质及氧化产物的关键官能团。针对这类化合物的衍生化主要解决提高检测灵敏度和稳定易反应的羰基两个关键问题。通过 2- 吡啶碳酰肼（Pyridinecarbohydraide, PYD）化学衍生化结合 MS/MS 片段离子的质谱成像实现酮糖和醛糖单糖异构体的识别和空间分布的可视化[42]。Han 等[43]合成了一种新的衍生化试剂 1- 萘乙酰肼（1-Naphthaleneacethydrazide, NAH）用于单糖的 OTCD，结合基质辅助激光解吸 / 电离质谱（MALDI-MS）对生物组织中单糖的醛糖和酮糖异构体进行成像和定量，显著提高了单糖的成像灵敏度。此外，NAH 衍生醛糖和酮糖可以在质谱分析中产生异构体特异性诊断离子，从而实现醛糖和酮糖单糖的异构体特异性 MS 成像，适用于通过特征糖分布模式识别蜂蜜、果汁等食品掺假行为以及果蔬成熟过程中糖分转化的原位监测。唾液酸是九碳酸性糖，存在于燕窝、乳制品中，由于其不稳定性，容易发生源内和源后衰变，因此很难使用 MALDI-MSI 进行分析。通过甲胺和 PyAOP（(7-Azabenzotriazol-1-yloxy)Tripyrrolidinophosphonium Hexafluorophosphate）的完全甲基化，来稳定组织切片中聚糖（N-Glycans）上的唾液酸，实现了组织样本中聚糖空间分布[44,45]。

1.5 硫醇/二硫键衍生化

硫醇（-SH）和二硫键（-S-S-）存在于蛋白质、谷胱甘肽中，但由于其易氧化、极性高、检测灵敏度低等问题，通常需要衍生化以提高分析性能。硫醇 / 二硫键衍生化试剂（如马来酰亚胺、吡喃鎓盐）通过与巯基发生加成反应，可生成稳定的硫醚或季铵盐结构，该技术常用于谷胱甘肽等含硫醇化合物的检测[46]。基质辅助激光解吸电离（MALDI）分析痕量硫醇化合物具有挑战性，因为它们不稳定且电离性能差。两种硫醇衍生化试剂 MTMP 和 MTPP 有助于对含有游离巯基的分子进行共价电荷标记，用于 MALDI-MSI 选择性快速检测谷胱甘肽合成和代谢途径相关代谢物，所建立的硫醇特异性质谱成像方法实现了外源性 N- 乙酰半胱氨酸组织切片的定量检测[47]，为研究食品中抗氧化活性物质（谷胱甘肽）的空间分布、可视化肉类、乳制品中蛋白质二硫键的氧化状态奠定了方法学基础。

1.6 碳碳双键（C=C）衍生化

碳碳双键（C=C）作为重要的有机官能团，常见于不饱和脂肪酸、烯烃类化合物、萜类及聚合物中，其精准鉴定为食品真实性鉴别[48]、脂质精细结构研究[49]提供了分子层面的可靠依据。C=C 衍生化试剂（如 m-CPBA、臭氧）通过与不饱和脂质的双键发生环氧化或氧化反应，生成环状复合物或臭氧化物。经低能碰撞诱导解离（CID）后，可产生特征碎片化离子，用于 C=C 位置和顺反构型的鉴定[49]。利用 Paternò-Büchi（P-B）光化学反应质谱成像在单细胞水平上表征不饱和脂质异构体中的 C=C 定位，FA 18:1（9Z）和 FA 18:1（11Z）异构体得到有效区分，并在单细胞水平上观察了 C=C 在不同组织和细胞系中的位置异构体定位，提升复杂的脂质结构的原位表征能力[50]。Guo 等[51]开发了一种 MS^3 成像方法，通过组织光化学衍生和双线离子阱质谱仪同时成像磷脂 *sn*- 和 C=C 位置异构体，采用 2- 乙酰吡啶（2-Acetylpyridine, 2-AP）反应 PB，用 3D 打印的喷雾盒将衍生试剂均匀喷涂到样品上，实现了组织上光化学衍生化。在 MS^3 特征离子扫描中提高了对磷脂的脂肪酰基链组成（如 PC 16:0_18:1）、*sn*- 位置（如 PC 16:0/18:1）和 C=C 位置（如 PC 16:0_18:1(n-9)）的识别能力。通过甲基三氧铼（Methyltrioxorhenium, MTO）催化过氧化脲（Urea Hydrogen Peroxide, UHP）/ 六氟异丙醇（Hexafluoroisopropanol, HFIP）体系对 C=C 进行环氧化反应，以原位定位复合脂质中 C=C 键的位置[52]。Sun 等[53]引入了一种新型组织上环加成试剂 3- 苯甲酰吡啶，在紫外光和可见光照射下对脂质 C=C 键均表现出很强的反应性，生成氧乙烷，结合 MALDI-MS/MS 成像来识别生物组织中的脂质 C=C 位置异构体及其空间特征。常见的 OTCD 反应机制、衍生方式及作用详见表 1。

表 1 常见组织化学衍生化方法

Table 1 Methods of On-tissue chemical derivatization

目标基团	衍生试剂	衍生方式	成像方式	作用	文献
氨基（-NH_2）	吉拉德试剂 T（GT）	使用自动气动 TMsprayer 喷洒衍生试剂到组织表面。OTCD 反应在含 120 mL 50% 甲醇（含 0.4% TFA）的密闭容器中进行，40 ℃，40 min	MALDI-MSI	氨基和 GT 之间发生亲核加成反应，螺旋蛋白的检测灵敏度提高了约 1 920 倍	[54]
	吡啶基芊基硼酸衍生化试剂和 Pyrylium salt	自动喷雾器喷洒衍生试剂，切片无需进一步孵育	MALDI-MSI	氨基神经递质和核苷神经调节剂电离效率显著提高	[22,55]
	4-(4-(Hydroxymethyl)-3-nitrobenzamido)-1-methylpyridinium iodide（d_0-NPU）和 d_3-NPU	光化学反应驱动的 OTCD，使用 TM-Sprayer 将衍生试剂喷洒到干燥组织切片的表面。喷涂后，切片在 365 nm 紫外光下照射 30 min	AFADESI-MSI	d0/d3-NPU 光化学衍生化后，引入了 4- 氨基 -1 甲基吡啶、同位素标签，胺代谢物的成像灵敏度显著提高，检测范围扩大	[18]
	吡啶盐 DCT 探针	将 DCT 探针（8.4 mg, 0.015 mmol）溶解在 1 mL 含有 1% $NaHCO_3$ 的 70% ACN 中，使用喷雾器将该试剂喷洒到干燥的组织切片上。喷雾后，切片在含有 MeOH/H_2O（1:1，*V*/*V*）溶液的蒸汽室中 55 ℃孵育 30 min	MALDI-MSI	该探针对氨基具有良好的反应性，并在 MALDI 质谱分析中产生阳性检测信号，对包括芳香胺和脂肪胺在内的生物胺衍生化具有广谱性	[27]
	松柏醛（Coniferyl aldehyde）	基质喷雾，使用 SunCollect 喷雾器将衍生试剂喷洒在组织上，37 ℃下孵育过夜	MALDI-MSI	松柏醛是仲胺类生物碱衍生化反应的理想试剂。衍生化后通过质谱成像确定铁杉生物碱在不同植物组织中的空间分布	[56]
羧基（-COOH）	Girard's reagent P（GP）	水凝胶辅助衍生，含 50 mg·mL^{-1} GP 试剂和 1% 甲酸的固体衍生化水凝胶（15%，g/100 mL），在 25 ℃下与组织切片接触 2 h 进行衍生化反应	AFADESI-MSI	355 种脂质和 205 种氧化脂质成像质量提高	[32-35]
	4-APEBA	M5-Sprayer 全自动基质喷雾仪进行喷雾	MALDI-MSI	对羰基的广泛特异性；低背景；引入溴同位素。增强了对羧酸盐、醛类和其他羰基的检测	[17]
	AMPP（1-(4-(aminomethyl) phenyl)pyridin-1-ium chloride）	HTX 自动气动喷雾器	MALDI-MSI	AMPP 衍生化试剂在一次实验中产生含有羧酸（通过肽偶联反应）和醛（通过希夫碱反应）的共价带电标记分子	[57]
	N,N,N-trimethyl-2(piperazin-1-yl)ethan-1-aminium iodide（TMPA）and D_3-TMPA	HTX TM-sprayer	MALDI-MSI	降低短链脂肪酸挥发性，使其在 MALDI 真空环境下保留。短链脂肪酸成像的灵敏度显著增加；引入 D3-TMPA 标记的短链脂肪酸作为内标，提高 MSI 定量的准确性	[31,58,59]

续表1

目标基团	衍生试剂	衍生方式	成像方式	作用	文献
羟基（-OH）	用化学氧化剂 CrO_3 将羟基转化为羰基，随后用 GP 试剂衍生羰基	水凝胶辅助衍生，将氧化剂溶液、GP 试剂和 1% 甲酸加入明胶溶液中、制备固体衍生化水凝胶	AFADESI-MSI	可以清晰地检测和成像未检测到的 169 种 PSHMs（包括 OH-FAs，FOHs 和甾醇脂质）	[41,60]
	2-fluoro-1-methylpyridinium p-toluene sulfonate	M5-Sprayer 全自动基质喷雾仪进行喷雾	MALDI-MSI	提高对乙酰氨基酚的电离率	[38]
	吡啶	季铵化衍生化和激光消融碳纤维电离质谱成像（laser ablation carbon fiber ionization mass spectrometry imaging，LACFI-MSI）在线耦合平台，在该平台中，代谢物首先被激光解吸，然后与碳纤维电离传递的衍生化试剂在线反应	LACFI-MSI	吡啶作为主要衍生化试剂，以羟基代谢物为目标。单甘油酯和双甘油酯的质量信号在平台上急剧增加，获得了 8 种单甘油酯和 21 种双甘油酯的质量图像	[61]
	1-(carboxymethyl)-2,4,6-trimethylpyridinium（CTMP）	自动基质喷雾器（共喷 18 次），反应能够迅速完成，无需进一步孵育	MALDI-MSI	使用高活性的 pyryum 盐与甘氨酸反应，通过永久正电荷激活羧基，然后在交联剂 EDCl 和 HOBt 存在的温和条件下快速标记胆固醇。反应可以快速完成，不需要进一步的孵化	[37]
羰基（C=O）	2- 吡啶碳酰肼 2-Pyridinecarbohydrazide（PYD）	HTX TM-sprayer 20 μL·min^{-1} PYD 喷雾（25 次循环）	MALDI-TOF/TOF	识别和可视化酮糖和醛糖单糖异构体	[42]
	1-naphthaleneacethydrazide（NAH）	PAH 和 NAH 溶于乙腈 / 乙酸（7:3）混合液（0.5 mg·mL^{-1}），用 HTX TM-Sprayer 喷雾仪以 20 μL·min^{-1} 流速喷涂 25 次（喷嘴距离 4 cm，速度 800 mm·min^{-1}，间距 3 mm，气压 10 psi，温度 55 ℃），使组织表面试剂密度达 10 ng·cm^2，随后 60 ℃衍生化 2 h	MALDI-MSI	显著提高了单糖的成像灵敏度，醛糖和酮糖单糖的异构体特异性 MS 成像	[43]
	Girard’s reagent T（GirT）	M3+ sprayer 喷洒 GirT（7 层），将包被的组织切片置于填充 40 mL 40% MeOH 和 0.2% TFA 的吸管盒中，在 40 ℃下孵育	MALDI-MSI	阿霉素信号提高了两个数量级，使研究其分布和丰度成为可能（心脏中高达 0.11 pmol/mm^2，肾髓质中高达 0.33 pmol/mm^2）	[62]
	Girard’s T +Girard’s P parallel OTCD	分别将 GirT 和 GirP 的平行衍生化试剂沉积在相邻的组织切片上，采用激光照射组织的背面局部加速衍生化反应	MALDI-MSI	在相邻组织切片中观察到一对候选衍生羰基代谢物，质量差为（19.969±0.020 Da），提高羰基衍生代谢物注释的有效和可靠性	[63]
巯基（-SH）	1-(2-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl) ethyl)-2,4,6-trimethylpyridinium（MTMP）和 -(2-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl) ethyl)-2,4,5-triphenylpyridinium（MTPP）	衍生化溶液均匀喷涂到组织切片表面	MALDI-MSI	对含有游离巯基的分子进行共价电荷标记，保护巯基，提高电离性能，乙酰基半胱氨酸组织切片质谱成像的检出限可达 0.05 ng	[47]
C=C 双键（C=C）	2-acetylpyridine（2-AP）或 3-acetylpyridine（3-AP）进行 Paternò-Büchi（P-B）	基质喷雾，紫外线照射 5 min，光诱导脂肪酸 C=C 和 2-AP/3-AP 之间的加成反应，形成杂环氧化合物	TOF-SIMS、nano-DESI	脂质 C=C 位置异构体鉴定	[50,51,64]
	MTO/UHP/HFIP	基质喷雾	MALDI TOF/TOF MS	精确定位脂质 C=C 异构体	[52]
	[d0]/[d10]-Bis (pyridine) iodine tetrafluoroboride	在线衍生化策略，[d_0]/[d_{10}]-IPy2BF4 由碳纤维引入，流速为 5 μL·min^{-1}，高压为 2.7 kV。解吸代谢物与带电荷的衍生化试剂发生衍生化反应	LACFI-MSI	将含 C=C 代谢物的质量信号提高 3 个数量级，引入同位素质量标签产生一对衍生化产物，提高数据可靠性	[65]

2 质谱成像中的组织化学衍生化方式

2.1 基质喷雾衍生化

基质喷雾衍生化是 MALDI-MSI 中最常用的衍生化方法，将衍生化试剂溶解于挥发性溶剂中，通过自动喷雾系统均匀喷涂在组织切片表面。在这个过程中，衍生化试剂与组织中的目标分析物迅速发生化学反应，生成更易于离子化的衍生物，同时基质分子也在组织表面形成合适的结晶环境，促进分析物在质谱检测过程中的离子化。喷雾参数（如流速、温度、喷嘴距离）需优化以保证衍生化试剂能够较为均匀地覆盖组织切片表面[52,58,66]，从而提高分析结果的空间分辨率和重现性。

2.2 浸渍衍生化

浸渍衍生化是将组织切片完全浸泡在含有衍生化试剂的溶液中，使衍生化试剂与组织内的目标分析物充分接触并发生化学反应。在浸泡过程中，衍生化试剂通过扩散作用进入组织内部，对分析物进行修饰，生成具有更好质谱检测性能的衍生物。操作简单，但组织切片在浸渍过程中可能会发生形态变化，引起分子扩散，影响质谱成像的空间分辨率和准确性。

2.3 微滴沉积

使用微流控或纳米喷雾装置，将衍生化试剂以微米级液滴精准沉积在特定区域[28]。该方法具有极高的空间分辨率和精准性，能够对食品切片上的微小区域甚至单个细胞、淀粉颗粒等进行选择性衍生化[67]，满足对食品基质中特定组分或微观结构进行精细分析的需求，适合食品包装材料界面或功能性成分富集区域的靶向分析。由于微滴体积小，衍生化试剂用量少，不仅降低了实验成本，还减少了对食品样本的化学影响和对环境的污染。微滴沉积可以与微流控技术相结合，实现自动化和高通量的衍生化处理，通过编程控制微滴的喷射位置和数量，可同时处理多个样品或多个区域。微滴沉积设备较为复杂且昂贵，微滴的形成和沉积过程容易受到溶液粘度、表面张力以及环境因素（如温度、湿度）的影响，导致微滴的体积和沉积位置出现偏差，影响衍生化效果的一致性和准确性。

2.4 气相衍生化

气相衍生化是将组织切片置于密闭的容器中，通过引入气态的衍生化试剂，使其在气相状态下与组织中的目标分析物发生化学反应。气态的衍生化试剂能够迅速扩散并渗透到组织内部，与分析物进行衍生化反应，生成挥发性更强、更易离子化的衍生物。气相衍生化避免了使用大量的液态衍生化试剂，减少了对组织切片的物理损伤和形态改变，有利于保持组织的原始结构和完整性，从而提高质谱成像的空间分辨率[33,54]。Cao 等[68]提出了真空促进 OTCD 策略，使衍生化反应不断向产物方向进行，与传统的 OTCD 方法相比，该策略将衍生甘油酯的获得强度提高了约 50%。气相衍生化对实验设备和条件要求较高，需要专门的密闭反应容器和气体控制系统，增加了实验成本和操作难度，且气态衍生化试剂的挥发性较强，可能会对实验人员的健康造成危害，需要采取严格的防护措施。对于在气相状态下不稳定的分析物，气相衍生化可能不适用。

2.5 载体递送

用水凝胶、金属有机框架（MOFs）等材料包裹衍生化试剂进行衍生，增强组织渗透性。金属有机框架载体 ZIF-8 包裹丹磺酰氯，负载衍生化试剂并控释，提高组织穿透性[24]。水凝胶辅助衍生化（Hydrogel-Assisted Derivatization）是一种新型的 OTCD 策略，通过具有三维网络结构的水凝胶材料作为衍生化试剂的载体和反应平台，将衍生化试剂负载在水凝胶中，通过水凝胶的渗透性将试剂均匀分布到组织切片中，实现温和条件下的衍生化反应[32,34,35,41]。

3 组织化学衍生化策略在质谱成像中面临的战与发展

OTCD 发生在组织切片表面，与溶液中化学衍生相比，OTCD 低溶剂含量降低了反应物分子的有效碰撞次数，提高了衍生化反应的阈值，衍生效率相对较低。此外，还存在衍生试剂过量造成干扰，额外的喷涂步骤和在潮湿大气中培养造成分析物脱位的风险以及组织切片表面的水环境限制了在无水环境中发生的许多反应（例如，使用酰基氯的羟基衍生化）[41]，因此，通常在溶液中使用的条件不能移植用于组织上的化学反应，可能的衍生化试剂和在组织表面的反应类型仍然有限，开发新的 OTCD 方法势在必行。理想情况下，OTCD 反应可在室温条件下进行，无需额外添加缓冲液，且反应时间较短。OTCD 采用自动喷雾方式将衍生化试剂直接均匀喷洒于组织切片表面，随后将样本置于室温或略高于室温的潮湿环境中孵育数小时[14]。食品基质的复杂性对 OTCD 技术应用提出了更高的挑战。食品中多糖、蛋白质和脂质等成分共存可能干扰衍生化反应，关键功能性成分（如维生素、抗

氧化剂）或污染物（如农药残留）含量极低，常规OTCD反应可能无法达到足够的衍生化产率，影响检测灵敏度。要突破这些技术瓶颈，仍需在衍生试剂、方法学等方面取得创新突破。

3.1 新兴衍生化试剂开发

新型高效衍生化试剂的不断筛选发现、合成开发及衍生化过程的进一步优化将是今后基于衍生化技术MSI方法的研究热点及前沿方向。针对食品基质的复杂性，开发适配性强的衍生化试剂尤为重要。近年来发展的同位素编码衍生化试剂（如 D_0/D_5- 丹磺酰氯）为食品分析提供了新思路。通过轻重同位素标记试剂分别处理对照和实验组样品，可有效降低食品基质干扰，实现多类食品成分的精准分析[18]。Han 等[58]开发了一种同位素编码的OTCD方法，结合基质辅助激光解吸 / 电离质谱成像（MALDI-MSI），以配对标记的TMPA 和 D_3-TMPA 为基础，绘制了结肠组织中短链脂肪酸的空间表达图谱。在组织衍生化后，短链脂肪酸的MALDI-MSI敏感性显著增加，这使得乙酸、丙酸、丁酸、戊酸、己酸、羟基乙酸和羟基丙酸在等挥发性脂肪酸在复杂食品基质中的可视化成为可能。此外，引入 D_3-TMPA 标记的短链脂肪酸作为内标，可以显著减少对基质效应的定量偏差，确保短链脂肪酸的定量MALDI-MSI。未来，开发更多针对食品特性的衍生化试剂，将是突破食品复杂基质MSI分析瓶颈的关键方向。

3.2 平行衍生策略

食品中常见的亲水性成分（如有机酸、氨基酸）与疏水性成分（如油脂、脂溶性维生素）的共存，使得单一衍生化策略往往难以实现全组分覆盖。多重衍生化策略的突破为食品多组分同步成像提供了可能。Kaya 等[57]提出了一种组织化学衍生 MALDI 质谱成像方法，用于脑组织切片中羧基和醛的全面测绘。在这种方法中，AMPP［1-(4-(Aminomethyl) Phenyl)Pyridin-1-Ium Chloride］衍生化试剂用于含有羧酸（通过肽偶联反应）和醛（通过希夫碱反应）的分子的共价电荷标记。Guo[63]应用吉拉德 T 和吉拉德 P 试剂进行平行OTCD，生成质量位移为（19.969±0.020 Da）的特征离子对，用于衍生代谢物的快速识别，实现了大鼠羰基代谢物，包括小分子醛和酮类、长链脂肪醛和单糖的可视化和表征。这一策略可应用于食品中游离脂肪酸、醛酮类风味前体物质、氨基酸、三羧酸循环代谢物等关键组分的同步成像分析，为解析食品复杂体系中多种功能成分的分布规律提供技术支撑。

3.3 人工智能辅助方法优化

虽然MSI可以同时获得大量的代谢物质及其空间分布信息，但传统的数据处理方法无法对这些信息进行有效的分析、分类和区分，食品各组分间的相互作用关系往往被忽视。近年来，人工智能已经被证明可以有效地识别和分析大量的分子信息。通过算法和数据模型自主学习，可以与高空间分辨率MSI方法完美结合[69]，能够精准提取食品特征组分信息，为食品组学研究提供新工具。Larson 等[70]使用人工智能辅助 Metaspace 为组织衍生的MSI数据提供严格的注释，还开发了一种去除错误衍生化注释的方法，根据试剂的不同，结合机器学习模型与衍生化试剂化学规则，可以从衍生化数据中清除 5%~25% 的错误衍生化注释，这些方面的研究成果将为MSI方法在不同食品样品成像中提供广阔的应用前景。在食品这类复杂基质的MSI分析中，缺乏专用的衍生化产物解析数据库，不同衍生化试剂的反应产物缺乏标准化注释，难以区分真实衍生物信号与衍生化副产物噪声，需开发食品自动衍生化方案推荐系统及其配套的衍生化产物注释平台，能够根据食品类型和目标代谢物特性智能匹配最优衍生化方案，准确识别和解析各类衍生化反应产物，以提升食品质谱成像数据的可靠性和解析度。

4 结语

质谱成像技术结合组织化学衍生化策略，通过精准的分子原位化学衍生与信号增强，实现了对低分子量、电离效率低分子的高灵敏度、高特异性原位分析，为食品科学研究提供了强大的原位分析工具。该技术显著提升了MSI的成像质量，解决了传统方法在空间分辨率和检测灵敏度上的局限。虽然当前该技术仍面临一些瓶颈，如复杂食品基质中OTCD的干扰因素较多、原位数据的解析手段不足等，这些技术瓶颈在一定程度上制约了其在食品复杂体系中的广泛应用。随着针对食品基质的新兴衍生化试剂开发、自动化衍生化平台和人工智能优化技术的突破与成熟，OTCD-MSI技术必将在食品安全、工艺优化、营养研究等领域发挥更核心的作用，为食品工业的精准化升级提供关键技术支撑，助力食品科学从宏观描述向分子水平可视化研究的跨越。

参考文献

[1] MA S, LENG Y, LI X, et al. High spatial resolution mass spectrometry imaging for spatial metabolomics: Advances, challenges, and future perspectives [J]. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2023, 159: 116902.

[2] JIANG L X, YANG M, WALI S N, et al. High-throughput mass spectrometry imaging of biological systems: Current approaches and future directions [J]. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2023, 163: 117055.

[3] DJAMBAZOVA K V, VAN ARDENNE J M, SPRAGGINS J M. Advances in imaging mass spectrometry for biomedical and clinical research [J]. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2023, 169: 117344.

[4] SOLTWISCH J, PALMER A, HONG H, et al. Large-scale screening of pharmaceutical compounds to explore the application space of on-tissue MALDI and MALDI-2 mass spectrometry [J]. Analytical Chemistry, 2024, 96(25): 10294-10301.

[5] KOKESCH J, WITTEK O, RACE A M, et al. MALDI mass spectrometry imaging: From constituents in fresh food to ingredients, contaminants and additives in processed food [J]. Food Chemistry, 2022, 385: 132529.

[6] LIU H, PAN Y, XIONG C, et al. Matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry imaging (MALDI MSI) for in situ analysis of endogenous small molecules in biological samples [J]. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2022, 157: 116809.

[7] SUN Z, WANG F, LIU Y, et al. Recent strategies for improving MALDI mass spectrometry imaging performance towards low molecular weight compounds [J]. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2024, 175: 117727.

[8] RATHS J, PINTO F E, JANFELT C, et al. Elucidating the spatial distribution of organic contaminants and their biotransformation products in amphipod tissue by MALDI- and DESI-MS-imaging [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2023, 264: 115468.

[9] XING L, ZHAO C L, MOU H Z, et al. Next generation of mass spectrometry imaging: from micrometer to subcellular resolution [J]. Chemical & Biomedical Imaging, 2023, 1(8): 670-682.

[10] LIU T, WANG P, CHEN Y, et al. LC-MS and MALDI-MSI-based metabolomic approaches provide insights into the spatial-temporal metabolite profiles of Tartary buckwheat achene development [J]. Food Chemistry, 2024, 449: 139183.

[11] LUO S, YANG X, ZHANG Y, et al. Spatial metabolomics method to reveal differential metabolomes in microregions of Panax quinquefolius roots by using ultra-performance liquid chromatography quadrupole/time of flight-mass spectrometry and desorption electrospray ionization mass spectrometry imaging [J]. Food Chemistry, 2024, 435: 137504.

[12] ZHAO C, DONG J, DENG L, et al. Molecular network strategy in multi-omics and mass spectrometry imaging [J]. Current Opinion in Chemical Biology, 2022, 70: 102199.

[13] GRANBORG J R, HANDLER A M, JANFELT C. Mass spectrometry imaging in drug distribution and drug metabolism studies – Principles, applications and perspectives [J]. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2022, 146: 116482.

[14] PARK M, CASINI A, STRITTMATTER N. Seeing the invisible: Preparative strategies to visualise elusive molecules using mass spectrometry imaging [J]. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2023, 168: 117304.

[15] GUO X, WANG X, TIAN C, et al. Development of mass spectrometry imaging techniques and its latest applications [J]. Talanta, 2023, 264: 124721.

[16] HARKIN C, SMITH K W, CRUICKSHANK F L, et al. On-tissue chemical derivatization in mass spectrometry imaging [J]. Mass Spectrometry Reviews, 2021, 41(5): 662-694.

[17] ZEMAITIS K J, LIN V S, AHKAMI A H, et al. Expanded coverage of phytocompounds by mass spectrometry imaging using on-tissue chemical derivatization by 4-APEBA [J]. Analytical Chemistry, 2023, 95(34): 12701-12709.

[18] WU Y, WANG M, WANG R, et al. Novel isotope-coded photochemical derivatization coupled with LC-MS and MS imaging platform enables sensitive quantification and accurate localization of amine submetabolome in pancreatic disease [J]. Analytical Chemistry, 2025, 97(12): 6611-6619.

[19] SHARIATGORJI R, NILSSON A, STRITTMATTER N, et al. Bromopyrylium derivatization facilitates identification by mass spectrometry imaging of monoamine neurotransmitters and small molecule neuroactive compounds [J]. Journal of the American Society for Mass Spectrometry, 2020, 31(12): 2553-2557.

[20] GARCIA B M, BECKER C C, WEBER L, et al. Benzoyl chloride derivatization advances the quantification of dissolved polar metabolites on coral reefs [J]. Journal of Proteome Research, 2024, 23(6): 2041-2053.

[21] BOMKE S, SEIWERT B, DUDEK L, et al. Determination of biogenic amines in food samples using derivatization followed by liquid chromatography/mass spectrometry [J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2009, 393(1): 247-256.

[22] LIU D, LIU X, HUANG S, et al. Simultaneous mapping of amino neurotransmitters and nucleoside neuromodulators on brain tissue sections by on-tissue chemoselective derivatization and MALDI-MSI [J]. Analytical Chemistry, 2023, 95(45): 16549-16557.

[23] CHOI J, TAIRA S, IKEDA A, et al. Pyrylium based derivatization imaging mass spectrometer revealed the localization of L-DOPA [J]. Plos One, 2022, 17(8), e0271697.

[24] LIU Y, LI G, GU T J, et al. Nanosecond photochemical reaction for enhanced identification, quantification, and visualization of primary amine-containing metabolites by MALDI-mass spectrometry [J]. Analytical Chemistry, 2022, 94(9): 3774-3781.

[25] GUO S, TANG W, HU Y, et al. Enhancement of on-tissue chemical derivatization by laser-assisted tissue transfer for MALDI MS imaging [J]. Analytical Chemistry, 2019, 92(1): 1431-1438.

[26] LI G, MA F, CAO Q, et al. Nanosecond photochemically promoted click chemistry for enhanced neuropeptide visualization and rapid protein labeling [J]. Nature Communications, 2019, 10(1): 4697.

[27] ZHOU H, YUAN J, XU J, et al. Mass spectrometry imaging of amino acids enabled by quaternized pyridinium salt MALDI probe [J]. Analytical Chemistry, 2024, 96(34): 13785-13791.

[28] XIE C, CHEN Y, WANG X, et al. Chiral derivatization-enabled discrimination and on-tissue detection of proteinogenic amino acids by ion mobility mass spectrometry [J]. Chemical Science, 2022, 13(47): 14114-14123.

[29] LI J, QIN L, JIANG D, et al. Chemical derivatization: recent advances in mass spectrometry imaging [J]. Scientia Sinica Chimica,

2022, 52(7): 1041-1073.

[30] KAJIWARA K, OSAKI H, GREßIES S, et al. A negative-solvatochromic fluorescent probe for visualizing intracellular distributions of fatty acid metabolites [J]. Nature Communications, 2022, 13(1): 2533.

[31] FORSMAN T T, PAULSON A E, LARSON E A, et al. On-tissue chemical derivatization of volatile metabolites for matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry imaging [J]. Journal of Mass Spectrometry, 2023, 58(5): e4918.

[32] LIU J, ZANG Q, LI X, et al. On-tissue chemical derivatization enables spatiotemporal heterogeneity visualization of oxylipins in esophageal cancer xenograft via ambient mass spectrometry imaging [J]. Chinese Chemical Letters, 2023, 34(11): 108322.

[33] MENG X, LIU Y, HUO M, et al. Mapping of fatty aldehydes in the diabetic rat brain using on-tissue chemical derivatization and air-flow-assisted desorption electrospray ionization-mass spectrometry imaging [J]. Journal of Proteome Research, 2022, 22(1): 36-46.

[34] ZANG Q, WANG M, ZHU Y, et al. Enhanced on-tissue chemical derivatization with hydrogel assistance for mass spectrometry imaging [J]. Analytical Chemistry, 2021, 93(46): 15373-15380.

[35] WANG L, ZANG Q, TU X, et al. On-tissue chemical derivatization-enhanced spatially resolved lipidomics reveals abnormal metabolism in type 2 diabetic rat brain [J]. Talanta, 2024, 269: 125491.

[36] KOELMEL J P, ARISTIZABAL-HENAO J J, NI Z, et al. A novel technique for redox lipidomics using mass spectrometry: Application on vegetable oils used to fry potatoes [J]. Journal of the American Society for Mass Spectrometry, 2021, 32(7): 1798-1809.

[37] HUANG S, LIU X, LIU D, et al. Pyrylium-based derivatization for rapid labeling and enhanced detection of cholesterol in mass spectrometry imaging [J]. Journal of the American Society for Mass Spectrometry, 2022, 33(12): 2310-2318.

[38] MERDAS M, LAGARRIGUE M, UMBDENSTOCK T, et al. Study of the distribution of acetaminophen and its metabolites in rats, from the whole-body to isolated organ levels, by matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry imaging after on-tissue chemical derivatization [J]. Analytical Chemistry, 2021, 93(39): 13242-13250.

[39] KAYA I, BRÜLLS S M, DUNEVALL J, et al. On-tissue chemical derivatization of catecholamines using 4-(N-Methyl)pyridinium boronic acid for tof-sims and ldi-tof mass spectrometry imaging [J]. Analytical Chemistry, 2018, 90(22): 13580-13590.

[40] KHAKIMOV B, MOTAWIA M S, BAK S, et al. The use of trimethylsilyl cyanide derivatization for robust and broad-spectrum high-throughput gas chromatography-mass spectrometry based metabolomics [J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2013, 405(28): 9193-9205.

[41] WANG L, ZANG Q, ZHU Y, et al. On-tissue chemical oxidation followed by derivatization for mass spectrometry imaging enables visualization of primary and secondary hydroxyl-containing metabolites in biological tissues [J]. Analytical Chemistry, 2023, 95(3): 1975-1984.

[42] WANG L, HAN Y, ZHANG Y, et al. In-depth profiling of carbohydrate isomers in biological tissues by chemical derivatization-assisted mass spectrometry imaging [J]. Analytica Chimica Acta, 2023, 1278: 341741.

[43] HAN Y, ZHAO Y, CHEN P, et al. On-tissue derivatization for isomer-specific mass spectrometry imaging and relative quantification of monosaccharides in biological tissues [J]. Analytica Chimica Acta, 2022, 1225: 340241.

[44] CUMIN C, GEE L, LITFIN T, et al. Highly sensitive spatial glycomics at near-cellular resolution by on-slide derivatization and mass spectrometry imaging [J]. Analytical Chemistry, 2024, 96(28): 11163-11171.

[45] ZHANG H, SHI X, VU N Q, et al. On-tissue derivatization with girard's reagent p enhances N-glycan signals for formalin-fixed paraffin-embedded tissue sections in MALDI mass spectrometry imaging [J]. Analytical Chemistry, 2020, 92(19): 13361-13368.

[46] FüLöP A, BAUSBACHER T, RIZZO S, et al. New derivatization reagent for detection of free thiol-groups in metabolites and proteins in matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry imaging [J]. Analytical Chemistry, 2020, 92(9): 6224-6228.

[47] HUANG S, WANG H, LIU X, et al. Pyrylium-based derivatization for rapid labeling and enhanced detection of thiol in mass spectrometry imaging [J]. Analytica Chimica Acta, 2023, 1284: 341968.

[48] CAO G, HONG Y, WU H, et al. Visual authentication of edible vegetable oil and used cooking oil using MALDI imaging mass spectrometry [J]. Food Control, 2021, 125: 107966.

[49] XU S, LV X, WU B, et al. Pseudotargeted lipidomics strategy enabling comprehensive profiling and precise lipid structural elucidation of polyunsaturated lipid-rich echium oil [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2021, 69(32): 9012-9024.

[50] QI C, LI X, LI Q, et al. Mass spectrometry imaging for the characterization of C=C localization in unsaturated lipid isomers at the single-cell level [J]. Analytical Chemistry, 2024, 96(38): 15085-15090.

[51] GUO X, CAO W, FAN X, et al. MS3 imaging enables the simultaneous analysis of phospholipid C=C and sn-position isomers in tissues [J]. Analytical Chemistry, 2024, 96(10): 4259-4265.

[52] SUN R, TANG W, LI P, et al. Development of an efficient on-tissue epoxidation reaction mediated by urea hydrogen peroxide for MALDI MS/MS imaging of lipid C=C location isomers [J]. Analytical Chemistry, 2023, 95(43): 16004-16012.

[53] SUN C, MA C, LI L, et al. A novel on-tissue cycloaddition reagent for mass spectrometry imaging of lipid C=C position isomers in biological tissues [J]. Chinese Chemical Letters, 2022, 33(4): 2073-2076.

[54] LIU Y, CAI Y, BAI X, et al. A sensitive on-tissue chemical derivatization-mass spectrometry imaging method for the quantitative visualization of helicid in mice [J]. International Journal of Mass Spectrometry, 2023, 488: 117038.

[55] CAO Q, WANG Y, CHEN B, et al. Visualization and identification of neurotransmitters in crustacean brain via multifaceted mass spectrometric approaches [J]. ACS Chemical Neuroscience, 2019, 10(3): 1222-1229.

[56] BARRERA D A, SCHUSTER S, NIEDERMEYER T H J. Mass

spectrometry imaging of coniine and other hemlock alkaloids after on-tissue derivatization reveals distinct alkaloid distributions in the plant [J]. Journal of Natural Products, 2024, 87(10): 2376-2383.

[57] KAYA I, SCHEMBRI L S, NILSSON A, et al. On-tissue chemical derivatization for comprehensive mapping of brain carboxyl and aldehyde metabolites by MALDI–MS imaging [J]. Journal of the American Society for Mass Spectrometry, 2023, 34(5): 836-846.

[58] HAN Y, QU X, GENG H, et al. Isotope-coded on-tissue derivatization for quantitative mass spectrometry imaging of short-chain fatty acids in biological tissues [J]. Analytical Chemistry, 2023, 95(48): 17622-17628.

[59] SUN C, LIU W, GENG Y, et al. On-tissue derivatization strategy for mass spectrometry imaging of carboxyl-containing metabolites in biological tissues [J]. Analytical Chemistry, 2020, 92(18): 12126-12131.

[60] ANGELINI R, YUTUC E, WYATT M F, et al. Visualizing cholesterol in the brain by on-tissue derivatization and quantitative mass spectrometry imaging [J]. Analytical Chemistry, 2021, 93(11): 4932-4943.

[61] LU Y, CAO Y, ZHANG L, et al. Online quaternized derivatization mapping and glycerides profiling of cancer tissues by laser ablation carbon fiber ionization mass spectrometry [J]. Analytical Chemistry, 2022, 94(9): 3756-3761.

[62] VAN ASSCHE C X L, KRÜGER D N, FLINDERS B, et al. Improved on-tissue detection of the anti-cancer agent doxorubicin by quantitative matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry imaging [J]. Talanta, 2024, 271: 125667.

[63] GUO S, LI K, LI B. Parallel on-tissue chemical derivatization for enhanced molecular annotation of spatial carbonyl submetabolome [J]. Chinese Chemical Letters, 2025, 36(6): 110366.

[64] CHEN Y, XIE C, WANG X, et al. 3-Acetylpyridine on-tissue paternò-büchi derivatization enabling high coverage lipid C═C location-resolved MS imaging in biological tissues [J]. Analytical Chemistry, 2022, 94(44): 15367-15376.

[65] LU Y, CAO Y, CHEN D, et al. An online derivatization strategy targeting carbon-carbon double bonds by laser-ablation carbon fiber ionization mass spectrometry imaging: Unraveling the spatial characteristic in mountain-cultivated ginseng and garden-cultivated ginseng with different ages [J]. Food Chemistry, 2023, 410: 135365.

[66] PAULSON A E, LARSON E A, LEE Y J. Mobilized electrospray device for on-tissue chemical derivatization in MALDI-MS imaging [J]. Journal of the American Society for Mass Spectrometry, 2023, 35(2): 205-213.

[67] LEE Y J. Microdroplet on-tissue chemical reactions for mass spectrometric imaging of the untargeted metabolome [J]. Directorate for Mathematical and Physical Sciences, 2019, 19(1905335): 5335.

[68] CAO Y Q, LU Y J, ZHANG L, et al. Vacuum promoted on-tissue derivatization strategy: Unravelling spatial distribution of glycerides on tissue [J]. Chinese Chemical Letters, 2024, 35(12): 109788.

[69] BJäRTEROT P, NILSSON A, SHARIATGORJI R, et al. Met-ID: An open-source software for comprehensive annotation of multiple on-tissue chemical modifications in MALDI-MSI [J]. Analytical Chemistry, 2025, 97(16): 9033-9041.

[70] LARSON E A, FORSMAN T T, STUART L, et al. Rapid and automatic annotation of multiple on-tissue chemical modifications in mass spectrometry imaging with metaspace [J]. Analytical Chemistry, 2022, 94(25): 8983-8991.