



常压下能量与电荷在分子间的传递机制

陈焕文^{①*}, 张华^①, 王海东^①, 黄科科^②, 袁龙^②

① 东华理工大学江西省质谱科学与仪器重点实验室, 南昌 330013

② 吉林大学无机合成与制备化学国家重点实验室, 长春 130012

*通讯作者, E-mail: chw8868@gmail.com

收稿日期: 2014-01-20; 接受日期: 2014-02-20; 网络版发表日期: 2014-04-09

doi: 10.1360/N032014-00035

摘要 离子源是质谱仪的心脏, 制备待测物的离子是质谱分析的首要前提. 如何有效地电离含有复杂基体的实际样品中的痕量待测物分子是制约实际样品直接质谱分析的重要瓶颈. 本文提出了用电子云模型帮助理解能量与电荷传递和中性分子电离过程的关系, 从分子的基本物性参数、能量耦合方式等角度讨论了能量与电荷在不同相态、组成和维度的复杂基体样品分子间传递的过程, 着重阐述了能荷传递过程中分子的电子云变化规律及其对分子电离的影响, 并简要讨论了这些影响在质谱分析中的应用.

关键词

复杂基体样品
能荷传递
电子云
分子电离
直接质谱分析

1 引言

质谱仪器是科学研究、工业生产和日常生活中关键信息的提供者, 是痕量物质定性和定量分析不可或缺的精密工具, 是人类在分子层次认识物质世界的重要“眼睛”. 质谱学自诞生以来, 在其百余年的应用历史中, 先后 6 次获得诺贝尔奖, 极大地推动了化学、生物、医药和环境等领域的发展^[1-4].

使中性物质转变成带电粒子的基础理论、仪器装置和方法研究是质谱科学的核心研究内容. 美国 Fenn 教授和日本田中耕一教授分别因发明了能够获得生物大分子离子的电喷雾电离(ESI)、基质辅助激光解吸电离(MALDI)技术而获得 2002 年诺贝尔化学奖. 但是, 无论是 ESI 还是 MALDI, 一般仅适用于经过精细处理过的分析样品. 在现实中, 实际样品常含有较复杂的基体物质, 通常由大小、结构、性质及含量不同的多种分子构成, 多以固态、液态、胶态、气态和非均相混合物等形态存在. 这些样品遍及食品、环境、医学、能源、材料和生命科学等领域, 在日常生活、生产及科研中极为常见.

显然, 无需样品预处理而能直接对复杂基体样品进行分析的质谱方法能够快速高效获取复杂基体样品中目标分子的有用信息, 使其在分子层次上探索复杂体系的化学本质成为可能, 为生命科学、食品和医药等领域的发展奠定了科学基础. 近年来, 该领域的研究不但提高了质谱分析效率, 而且拓展了质谱技术的应用领域, 已成为国际上质谱学研究的前沿和热点之一. 迄今为止, 国内外提出了 50 余种新型电离技术, 包括电喷雾解吸电离(DESI)^[5]、低温等离子体探针(LTP)^[6, 7]、常温常压表面辅助激光解吸/离子化技术(ambient SALDI)^[8]、空气动力辅助电离(AFAI)^[9]和纸喷雾(paper spray)^[10, 11]等, 这些新型电离技术极大地拓宽了制备离子的思路.

如何直接高效地获取复杂基体样品分子信息是直接离子化质谱技术(ambient sampling/ionization mass spectrometry)^[12-14]的基本课题. 本文着重介绍了能量与电荷在不同相态、不同维度、不同组分的复杂基体样品中传递的基本过程, 试图总结出能量与电荷(简称能荷)传递与待测物分子及基体物质分子基本物性之间的关系. 研究表明, 能荷传递总量及其

传递方式均影响分子电子云变化,而这种电子云的变化是决定分子电离行为的主要原因,并且对质谱分析的选择性、基体耐受性和灵敏度等重要性能参数产生较大影响.深入研究能荷传递过程有望对该过程进行精细调节,从而最大限度地避免基体物质的干扰,并实现对复杂基体样品中痕量待测物分子的灵敏检测.这对发展复杂基体样品直接、实时、在线、原位、活体的质谱分析方法具有重要意义.

2 分子电子云分布变化导致离子形成

2.1 能荷传递过程改变分子电子云分布

由于质谱仪仅对带电粒子产生响应,中性分子只有转变成离子后才能进行质谱分析,因此,如何将一定量的能量与电荷转移到目标分子中,成为了质谱学研究的基础与核心问题. Chen 等^[15~19]研究了不同形态复杂基体样品直接电离的基本过程,从而提出在能量作用下分子电子云变化导致离子形成的观点.分子获得能量时,电子云活动半径(R)增大,反应活性增加. R 增加的幅度取决于能量获取的多少和速率(图1).当分子以较低速率获得较少能量时, R 的变化幅度较小,位于基态($R1$)和解离态之间($R2$),即 $R1 < R < R2$ ($R1$: 基态分子电子云的最大半径; $R2$: 激发态分子解离的临界半径),多核分子不解离,但活性增加,易于从表面等基质中逃逸^[20~22].例如,中性解吸方法是指通过氮气以较低速率将较少能量传递给目标分子,使目标从体表逃逸出来^[23];当分子以较低速率获得较大能量时,

电子云逐渐膨胀,使 $R > R2$, 则分子解离成中性碎片;当较大能量迅速作用于分子局部时,其局部电子云半径瞬时增大,导致 $R > R3$ ($R3$: 电子挣脱分子核束缚的最小半径),分子转变为带电粒子.在此情形下,如果分子从环境获得的能量完全用于该电子的逃逸,则该带电粒子的电子云半径接近于 $R1$,即获得非常稳定的带电粒子^[24];若该带电粒子再缓慢地从环境获得能量,当 $R > R2$ 时,该离子解离成碎片离子;若基态分子瞬时获得的能量足够高(如电子轰击电离, EI),在电子逸出的同时,能量迅速分布到整个分子中,致使该带电粒子的 R 迅速增大($R > R2$),在电离的同时形成碎片离子;反之,若该带电粒子的能量被有效地转移到环境中,则该带电粒子被冷却,其 R 值减小至接近于 $R1$,形成长时间稳定的带电粒子^[20~22],便于质谱检测.

2.2 多相态中能荷传递方式影响分子电离效果

电离过程可以在表面发生(如固体表面的直接解吸电离),也可以在一定体积的空间内进行(如化学电离(CI)).因此,可分别采用二维模型(图2(a))和三维模型(图2(b))对表面电离和空间电离进行区分.复杂基体样品通常多以固态、液态、胶态、气态和非均相混合物等形态存在,而电荷可伴随着能量转移在不同相态中传递.例如,二维模型中涉及能荷在液-固-气三相之间的转移,最终使固相的样品分子进入气相(图2(a));在三维模型中,伴随着样品分子发生的液-液微萃取过程,能荷从一种液相转移到另一种液相,去溶剂化后形成离子进入气相(图2(b)).在能量作用下,分子电子云变化导致离子形成,而当同种待测物分子所处相态不同时,将该分子转变成离子所需要的能量不同.例如,针对非黏性固体表面样品,电离其表面待测物分子所需要的能量较低,可以直接在二维样品表面将能荷载体携带的能量传递给待测物分子,获得较好的灵敏度.但是,对于黏性表面,一般需要采用温和活化(如高压氮气辅助解吸)或提高能荷载体能量(如用电晕放电代替电喷雾)的方式才能在二维平面获得较好的电离效果.对于蜂蜜、牙膏等黏稠样品,则需要采用中性解吸等方式将待测物从这些复杂基体中游离出来,在三维空间内才能将能荷载体携带的能量有效转移给待测物分子,从而获得理想的灵敏度.

相反,对于气相中极低含量的待测物分子,如果直接在三维空间进行电离,虽然能量传递的效率较

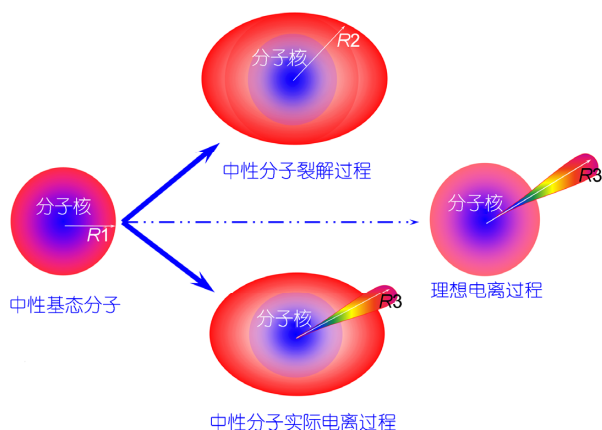


图1 能量传递改变分子电子云分布,而分子电子云分布的变化将可能导致离子形成.实际电离过程中常常伴随分子的解离,形成大小不等的碎片

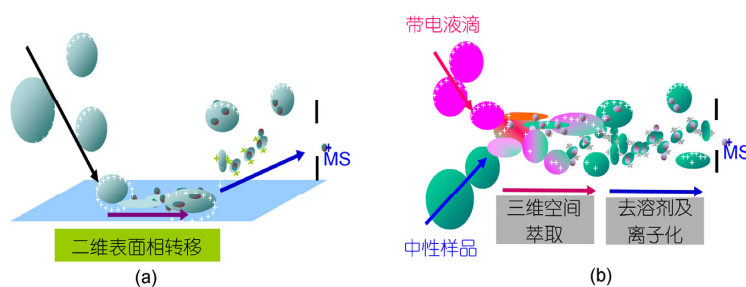


图 2 能量与电荷在不同相态中的传递. (a) 液-固-气三相传递; (b) 液-液-气三相传递

高, 但可能发生因待测物分子总数达不到质谱检测器下限而观测不到信号. 在这种情况下, 可将待测物分子富集固载在较小的二维表面, 然后直接在二维表面进行电离, 从而获得较好的灵敏度.

3 调控能荷传递过程可温和地制备复杂基体样品中目标分子的离子

3.1 分子本身物性对能荷传递作用具有重要影响

通过选择链烃、芳烃、醛、酮、羧酸和胺等百余种代表性目标分子为实验对象, 系统考察分子基本物性参数如极性(P)、酸碱性(A)、质子亲和势(PA)、电离能(IE)、气相碱度(GB)和挥发性(V)等对复杂基体样品中目标分子能荷传递过程的影响^[18, 25-29], 得到如下规律: (1) 对以质子化或去质子化形式为主的能荷载体, 在与目标分子作用时, 仅对极性较强的分子传递能荷, 获得目标分子的离子. 对于质子化离子 $[M+H]^+$, 目标分子 PA 和 GB 越大, 灵敏度越高; 反之, 对于去质子化离子 $[M-H]^-$, 目标分子的 PA 越小、酸性越强, 灵敏度越高. 在这种情况下, 目标分子的 IE 和 V 参数对电荷传递过程影响不大^[18, 25, 30]; (2) 对以自由基阳离子 $M^{+\bullet}$ 为主的能荷载体, 在与目标分子直接作用时, 能对不同极性的分子传递能荷, 获得分子离子 $M^{+\bullet}$; IE 小的分子容易形成自由基阳离子, 如果目标分子 PA 大, 则该 $M^{+\bullet}$ 易与环境中的化学组分反应, 转化为 $[M+H]^+$ 离子^[26]; (3) 当目标分子与样品中基体分子存在较强的相互作用时, 要求能荷载体能将较多能量传递给目标分子, 以促使目标分子离子从基体中游离出来, 从而增加检测灵敏度^[18]; (4) 当能荷传递中存在萃取过程时, 相似相溶的规律仍然适应, 可借此选择性地能将能荷转移到某一特定的分子中, 据此可以提高电离的选择性^[25, 31, 32].

3.2 调控能荷传递过程可改变分子活性

研究发现, 目标分子的化学活性越大, 其电子云变化越容易, 也越容易接受载体携带的能荷而形成离子. 因此, 能荷载体与目标分子的化学性质是影响复杂基体样品直接质谱分析灵敏度与选择性的重要参数. 当能荷载体为化学活性物质(如丙酮和金属银离子等)时, 该能荷载体相对容易地将能荷传递给目标分子, 使目标分子与载体的电子云重新分布, 形成目标分子的离子^[26]. 与此类似, 具有较高活性的分子或离子团容易与其他分子或离子发生化学反应, 它们通过电子云相互作用转移分子碎片携带的富余能量, 形成稳定的化学键. 因此, 通过分子间的能荷传递还有可能定向地提供反应的活化能, 从而有望得到常规反应条件下难以制备的新物质.

由此可见, 为实现复杂基体样品直接质谱分析, 最重要的是控制能量与电荷的传递过程. 与经典质谱技术不同, 直接质谱分析在常压环境下, 通过关键步骤①制备能荷载体, 再通过关键步骤②能荷转移, 将能量源的能量转移到目标分子中温和地制备目标分子的离子(图 3). 研究发现, 电喷雾^[5, 23]、电晕放电^[29, 33]、等离子体^[7]和高能激光^[34, 35]等均可获得能荷载体, 这些能荷载体在常压下直接与复杂基体样品进行碰撞, 制备待测物的离子, 从而对实验样品进行直接质谱分析.

4 研究展望

目标分子信息的快速高效获取是在分子层次上探索复杂体系化学本质的重要环节, 是生命科学、食品和医药等领域发展的关键科学基础^[36-39]. 从复杂基体样品中高通量地获取目标分析物信息的关键步

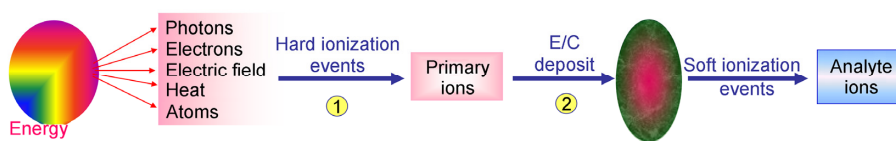


图3 复杂基体样品能荷传递的基本过程和关键步骤

骤是如何精细调控能量与电荷的传递过程(图4), 将一定的能量最专一地传递给目标分子, 从而极大地提高质谱分析方法的灵敏度、选择性和方法应用的广泛性。显然, 在能量源与目标分子离子之间, 若可调节节点越多, 则越容易对能荷传递过程进行更精确的控制, 从而获得更好的能荷传递效果, 提高能荷传递

效率。对能荷在多相、多维复杂基体样品中的传递过程进行研究, 从分子层次研究能量在不同相态、组成、维度的复杂基体样品分子间传递过程的特殊性及其规律性, 阐述其内在联系及相互转化规律, 将更深刻地理解直接获取复杂基体样品中待测物分子离子的基本原理, 揭示复杂基体样品分子直接电离的分子机制。对分子间电离过程发生的能荷传递的深入研究不仅加深了人们对于离子化过程的理论认识, 而且有助于理解复杂基体样品解离过程中发生的化学作用, 从而对进一步精细调控分子间的能荷传递、优化和改进离子源提供实验基础和创新思路。

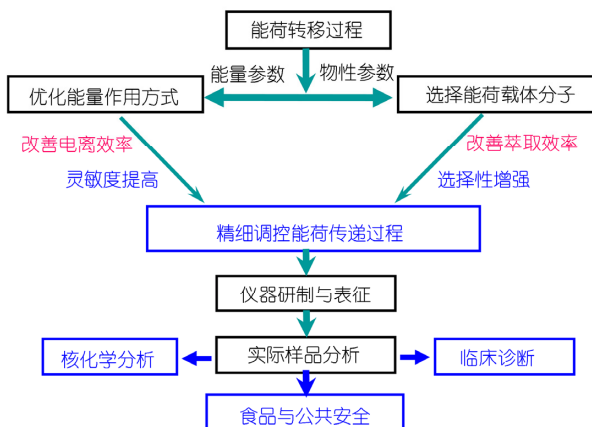


图4 复杂基体样品直接质谱分析的可能思路, 但其应用不局限于图示的核化学分析、临床诊断、食品与公共安全领域。

5 结束语

高灵敏度、高选择性地直接获取各种复杂基体样品中待测物的离子是实际样品, 尤其是生物、环境、国防、临床和食品科学等领域样品直接质谱分析的前提。在深刻理解离子形成基本过程的基础上建立直接质谱分析技术和方法体系, 提高复杂基体样品的质谱分析效果, 拓展现有质谱仪的功能和应用领域, 对推动质谱学及相关学科的发展具有重要意义。

致谢 本工作得到国家杰出青年科学基金(21225522)、南京大学生命分析化学国家重点实验室开放研究基金(SKLACLS1106)和江西省科技计划人才项目(2010DD01300)资助, 特此一并致谢。

参考文献

- 1 Yao ZP. Characterization of proteins by ambient mass spectrometry. *Mass Spectrom Rev*, 2012, 31: 437–447
- 2 Trimpin S, Wang B, Lietz CB, Marshall DD, Richards AL, Inutan ED. New ionization processes and applications for use in mass spectrometry. *Crit Rev Biochem Mol*, 2013, 48: 409–429
- 3 Wu CP, Dill AL, Eberlin LS, Cooks RG, Ifa DR. Mass spectrometry imaging under ambient conditions. *Mass Spectrom Rev*, 2013, 32: 218–243
- 4 Zenobi R. Single-cell metabolomics: analytical and biological perspectives. *Science*, 2013, 342: 1201–1212
- 5 Takats Z, Wiseman JM, Gologan B, Cooks RG. Mass spectrometry sampling under ambient conditions with desorption electrospray ionization. *Science*, 2004, 306: 471–473
- 6 Harper JD, Charipar NA, Mulligan CC, Zhang XR, Cooks RG, Ouyang Z. Low-temperature plasma probe for ambient desorption ionization. *Anal Chem*, 2008, 80: 9097–9104
- 7 Liu YY, Ma XX, Lin ZQ, He MJ, Han GJ, Yang CD, Xing Z, Zhang SC, Zhang XR. Imaging mass spectrometry with a low-temperature

- plasma probe for the analysis of works of art. *Angew Chem Int Ed*, 2010, 49: 4435–4437
- 8 Harada T, Yuba-Kubo A, Sugiura Y, Zaima N, Hayasaka T, Goto-Inoue N, Wakui M, Suematsu M, Takeshita K, Ogawa K, Yoshida Y, Setou M. Visualization of volatile substances in different organelles with an atmospheric-pressure mass microscope. *Anal Chem*, 2009, 81: 9153–9157
- 9 He JM, Tang F, Luo ZG, Chen Y, Xu J, Zhang RP, Wang XH, Abliz Z. Air flow assisted ionization for remote sampling of ambient mass spectrometry and its application. *Rapid Commun Mass Sp*, 2011, 25: 843–850
- 10 Wang H, Liu JJ, Cooks RG, Ouyang Z. Paper spray for direct analysis of complex mixtures using mass spectrometry. *Angew Chem Int Ed*, 2010, 49: 877–880
- 11 Wang H, Manicke NE, Yang QA, Zheng LX, Shi RY, Cooks RG, Zheng OY. Direct analysis of biological tissue by paper spray mass spectrometry. *Anal Chem*, 2011, 83: 1197–1201
- 12 Lebedev AT. Environmental mass spectrometry. *Ann Rev Anal Chem*, 2013, 6: 163–189
- 13 Ouyang Z, Zhang XR. Ambient mass spectrometry. *Analyst*, 2010, 135: 659–660
- 14 Harris GA, Galhena AS, Fernandez FM. Ambient sampling/ionization mass spectrometry: applications and current trends. *Anal Chem*, 2011, 83: 4508–4538
- 15 Law WS, Chen HW, Ding JH, Yang SP, Zhu L, Gamez G, Chingin K, Ren YL, Zenobi R. Rapid characterization of complex viscous liquids at the molecular level. *Angew Chem Int Ed*, 2009, 48: 8277–8280
- 16 Chen HW, Yang SP, Li M, Hu B, Li JQ, Wang J. Sensitive detection of native proteins using extractive electrospray ionization mass spectrometry. *Angew Chem Int Ed*, 2010, 49: 3053–3056
- 17 Zhang XL, Jia B, Huang KK, Hu B, Chen R, Chen HW. Tracing origins of complex pharmaceutical preparations using surface desorption atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry. *Anal Chem*, 2010, 82: 8060–8070
- 18 Li X, Hu B, Ding JH, Chen HW. Rapid characterization of complex viscous samples at molecular levels by neutral desorption extractive electrospray ionization mass spectrometry. *Nat Protoc*, 2011, 6: 1010–1025
- 19 Zhang H, Gu HW, Yan FY, Wang NA, Wei YP, Xu JJ, Chen HW. Direct characterization of bulk samples by internal extractive electrospray ionization mass spectrometry. *Sci Rep*, 2013, 3: 2495
- 20 Chen HW, Talaty NN, Takats Z, Cooks RG. Desorption electrospray ionization mass spectrometry for high-throughput analysis of pharmaceutical samples in the ambient environment. *Anal Chem*, 2005, 77: 6915–6927
- 21 Chen HW, Venter A, Cooks RG. Extractive electrospray ionization for direct analysis of undiluted urine, milk and other complex mixtures without sample preparation. *Chem Commun*, 2006: 2042–2044
- 22 Chen HW, Liang HZ, Ding JH, Lai JH, Huan YF, Qiao XL. Rapid differentiation of tea products by surface desorption atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry. *J Agr Food Chem*, 2007, 55: 10093–10100
- 23 Chen HW, Yang SP, Wortmann A, Zenobi R. Neutral desorption sampling of living objects for rapid analysis by extractive electrospray ionization mass spectrometry. *Angew Chem Int Ed*, 2007, 46: 7591–7594
- 24 Chen HW, Lai JH, Zhou YF, Huan YF, Li JQ, Zhang X, Wang ZC, Luo MB. Instrumentation and characterization of surface desorption atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry. *Chinese J Anal Chem*, 2007, 35: 1233–1240
- 25 Li X, Fang XW, Yu ZQ, Sheng GY, Wu MH, Fu JM, Yan FY, Chen HW. Application of non-polar solvents to extractive electrospray ionization of 1-hydroxypyrene. *Anal Methods*, 2012, 4: 1212–1214
- 26 Li M, Ding JH, Gu HW, Zhang Y, Pan SS, Xu N, Chen HW, Li HM. Facilitated diffusion of acetonitrile revealed by quantitative breath analysis using extractive electrospray ionization mass spectrometry. *Sci Rep*, 2013, 3: 1205
- 27 Xu N, Chingin K, Chen HW. Ionic strength of electrospray droplets affects charging of DNA oligonucleotides. *J Mass Spectrom*, 2014, 49: 103–107
- 28 Chen HW, Xu RF, Chen H, Cooks RG, Ouyang Z. Ion/molecule reactions in a miniature RIT mass spectrometer. *J Mass Spectrom*, 2005, 40: 1403–1411
- 29 Chen HW, Zheng J, Zhang X, Luo MB, Wang ZC, Qiao XL. Surface desorption atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry for direct ambient sample analysis without toxic chemical contamination. *J Mass Spectrom*, 2007, 42: 1045–1056
- 30 Li X, Fang XW, Yu ZQ, Sheng GY, Wu MH, Fu JM, Chen HW. Direct analysis of urinary 1-hydroxypyrene using extractive electrospray ionization ion trap tandem mass spectrometry. *Anal Methods*, 2013, 5: 2816–2821
- 31 Badu-Tawiah AK, Eberlin LS, Ouyang Z, Cooks RG. Chemical aspects of the extractive methods of ambient ionization mass spectrometry. *Annu Rev Phys Chem*, 2013, 64: 481–505
- 32 Li AY, Wang H, Ouyang Z, Cooks RG. Paper spray ionization of polar analytes using non-polar solvents. *Chem Commun*, 2011, 47:

2811–2813

- 33 Zhu L, Yan JP, Zhu ZQ, Ouyang YZ, Zhang XL, Zhang WJ, Dai XM, Luo LP, Chen HW. Differential analysis of camphor wood products by desorption atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry. *J Agr Food Chem*, 2013, 61: 547–552
- 34 Huang RF, Yu Q, Li LF, Lin YM, Hang W, He J, Huang BL. High irradiance laser ionization orthogonal time-of-flight mass spectrometry: a versatile tool for solid analysis. *Mass Spectrom Rev*, 2011, 30: 1256–1268
- 35 Zhang BC, He MH, Hang W, Huang BL. Minimizing matrix effect by femtosecond laser ablation and ionization in elemental determination. *Anal Chem*, 2013, 85: 4507–4511
- 36 Shariatgorji M, Svenningsson P, Andren PE. Mass spectrometry imaging, an emerging technology in neuropsychopharmacology. *Neuropsychopharmacol*, 2014, 39: 34–49
- 37 Gillespie TA, Winger BE. Mass spectrometry for small molecule pharmaceutical product development: a review. *Mass Spectrom Rev*, 2011, 30: 479–490
- 38 Lee YJ, Perdian DC, Song Z, Yeung ES, Nikolau BJ. Use of mass spectrometry for imaging metabolites in plants. *Plant J*, 2012, 70: 81–95
- 39 Luo ZG, He JM, Chen Y, He JJ, Gong T, Tang F, Wang XH, Zhang RP, Huang L, Zhang LF, Lv HN, Ma SG, Fu ZD, Chen XG, Yu SS, Abliz Z. Air flow-assisted ionization imaging mass spectrometry method for easy whole-body molecular imaging under ambient conditions. *Anal Chem*, 2013, 85: 2977–2982

The molecular view of energy and charge transfer among the ambient molecules

CHEN HuanWen^{1*}, ZHANG Hua¹, WANG HaiDong¹, HUANG KeKe², YUAN Long²

¹ Jiangxi Key Laboratory for Mass Spectrometry and Instrumentation, East China Institute of Technology, Nanchang 330013, China

² State Key Laboratory of Inorganic Synthesis and Preparative Chemistry, Jilin University, Changchun 130012, China

*Corresponding author (email: chw8868@gmail.com)

Abstract: Conversion of molecules into ions is the key process in mass spectrometry. The low efficiency of ionization in the ambient environment is the bottleneck for the direct mass spectrometry analysis of trace molecules in complex matrices. In this mini-tutorial paper, the principle of energy coupling and the process of charge transfer between ambient molecules in various complex samples with different phase state, chemical composition and physical dimensions are discussed from the standpoint of physical chemistry. We focus on the variation in electron density distribution, energy and charge transfer process, as well as their impact on ionization. The role of these principles in various ambient ionization techniques is briefly discussed.

Keywords: complex samples, energy and charge transfer, electron density distribution, ionization, ambient mass spectrometry analysis