

电喷雾离子源原理研究进展

罗杰鸿

(广东安纳检测技术有限公司, 广东 广州 510000)

摘要: 离子源理论对离子源的设计和开发具有重要意义, 但其发展缓慢制约了离子源的设计和开发, 使离子源面临从实验室到商业化的诸多瓶颈。通过介绍离子蒸发模型 (IEM)、带电残基模型 (CRM)、链喷射理论、朱一心的实验和理论、离子迁移和搬运, 总结了该领域的最新研究进展, 并对这类研究的发展进行了展望。

关键词: 离子源理论;离子蒸发模型;带电残基模型

Research progress in the principle of electrospray ion source

Luo Jiehong

(Guangdong ANA testing technology Co., Ltd, Guangzhou 510000, China)

Abstract: The theory of ion source is of great significance to the design and development of ion source, the slow development of this restricts the design and development of ion source, which makes the ion source meet many bottlenecks from laboratory to commercialization. By introducing ion evaporation model (IEM), charged residue model (CRM), chain ejection theory, Zhu yixin's experiment and theory, ion migrate and transport, the paper summarizes the recent research progress in this field, and looks forward to the development of this kind research.

Keywords: Ion source theory, ion evaporation model, charged residue model, chain ejection theory, Zhu Xinyi's experiment and theory, ion migrate and transport

一般来说, 质谱技术的发展主要基于各种离子源的开发和应用, 如电子碰撞电离源 (EI)、化学电离源 (CI)。长期以来, 由于电离技术的限制, 质谱只能用于小分子的测定, 而不能用于大分子或蛋白质的测定。随着各种电离技术的不断发展, 特别是 ESI 和 MALDI 的出现, 人们开始认识到大分子的测定, 质谱的检测范围进一步提高。特别是, 由于质谱技术在分析具有高极性、不挥发和热不稳定性的生物大分子方面的巨大潜力, 可以进入生命科学研究领域^[1]。电喷雾离子源 (ESI) 是液相色谱-质谱 (LC-MS) 中最常用的接口之一。广泛应用于环境、医药、食品、医药等领域。作为一种软电离方法, 它可以直接测定不稳定的核酸、蛋白质等大分子, 在蛋白质组学研究中具有独特的优势^[2]。

20 世纪 60 年代, Dole 等^[3]制造了第一台基于电喷雾电离的质谱仪, 并应用于聚合物的测定。随后, Fenn 等^[4]使用了电喷雾离子源 (ESI), 并意识到 Dole 设计的离子源存在一

些缺陷。他们解释了结果，并校正了喷射针和离子源端板之间的距离，以降低针电压。Fenn 设计的离子源后来演变为 Fenn-Whitehouse 设计模式^[5]。该设计模式采用玻璃毛细管将大气环境中的离子输送到第一真空室，可根据需要选择不同内径的毛细管。1987 年，Bruins 等人^[6]将气动辅助喷雾器引入电喷雾界面，因为雾化气体有助于稳定电喷雾，因此流速保持在接近 0.2 mL/min，适用于液相色谱-质谱法的液相。

自从学者们发明了电喷雾离子源以来，气态离子的形成机制一直存在争议^[7-13]，并且已经证明很难解释 ESI 气相电离过程，此领域仍然是一个活跃的研究领域。其中，离子蒸发模型（IEM）^[8]、带电残基模型（CRM）^[9-10]和链喷射理论^[11,12]是常见的气相离子形成机制。最近，我们提出了“离子迁移和搬运”的机制^[14]。基于以上研究内容，本文回顾了离子源原理的相关研究工作，为进一步研究离子源的气相电离原理提供参考，并期望在离子源的设计和开发中得到应用。

1 电喷雾离子源的基本原理

电喷雾电离（ESI）是在强电场作用下高电荷液滴的精细雾化过程。待测物质的电喷雾电离（ESI）需要三个关键过程^[15]：液滴形成、液滴变小和气相离子形成。

液滴形成过程：毛细管中的流动相含有电解质。在电场的作用下，流动相中的正负离子开始移动。如果毛细管为正离子，则正离子移动到毛细管尖端的弯月面，而负离子则朝相反方向移动。在电场作用下，流动相在毛细管顶端形成泰勒锥形状。由于库仑排斥作用，圆锥体顶端的液体不稳定，会破裂成带电的液滴。

液滴变小过程：在雾化气体等外部条件下，荷电液滴随着溶剂的蒸发而收缩，此时，相同电荷对荷电液滴表面的斥力增大。当达到瑞利稳定极限时，液滴不稳定并分裂。这个过程被称为库仑爆炸。带电液滴进一步破碎，形成较小的带电液滴。测量实际的瑞利极限和裂变事件的文章已经有所报道^[16,17]，但由于缺乏精密的设备，导致进一步的研究进展缓慢。

气相离子形成过程：对于带电液滴形成气相离子的过程，学者们提出了各种理论，从不同角度解释其电离行为^[18]。Iribarne 等^[8]提出的离子蒸发模型（IEM）、Dole 等提出的带电残基模型（CRM）^[9,10]和 Konermann 等提出的链喷射模型（CEM）^[11,12]是相对常见的观点（图 1）。一般认为，小分子物质遵循离子蒸发机制，大球状物质（如天然折叠的蛋白质）适合带电残基机制，而变性蛋白质的构象高度无序，在气相电离过程中遵循另一种不同的机制链喷射理论^[11,12]。最近，在相关研究的基础上，笔者提出了“离子迁移和搬运”的机制^[14]。

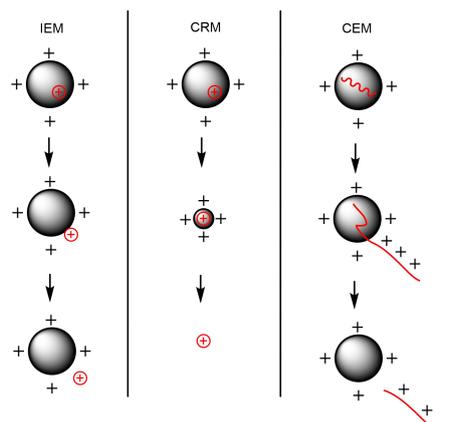


图 1 ESI 的三种机制。(a) IEM: 带电液滴表面的离子喷射; (b) CRM: 蛋白质释放到气相; (c) CEM: 未折叠蛋白喷射^[18]

2 离子蒸发模型

离子蒸发模型认为, 在高电场梯度和脱溶剂气体的作用下, 溶液在电喷雾针出口形成微小的带电液滴, 液滴表面的电荷密度随着液滴中溶剂的蒸发而增加。当电荷密度增加到瑞利稳定极限时, 液滴被静电排斥并分裂成更小的液滴。重复该过程, 直到发生场诱导离子蒸发。当离子之间的静电斥力达到一定程度时, 挥发性高的离子优先从液滴表面喷射并进入气相, 而其平衡离子保留在液滴中并最终成为固体残留物, 这是离子蒸发模型^[8,19]。

Iribarne^[8,19]等人提出, 离子蒸发过程可以用过渡态理论来表示:

$$k = \frac{k_B T}{h} \exp\left(\frac{-\Delta G^*}{k_B T}\right)$$

式中: $-\Delta G^*$ 是自由活化能, k_B 是玻耳兹曼常数, h 是普朗克常数, T 是温度。

小分子从液相到气相的转移过程遵循离子蒸发机理。当带电液滴上的电场足够大时, 表面电荷的静电斥力大于溶剂对离子的吸引力, 分析物离子离开液滴表面。

对于较大的液滴, IEM 和瑞利裂变事件在形态上相似。IEM 喷射出的离子及其溶剂化外壳可以解释为子代液滴。因此, 在纳米区域, 离子射流和液滴裂变之间的经典边界变得有些模糊。ESI-MS 通常对非离子结构表现出很强的响应。这种影响可能表明这些分析物更倾向于靠近液滴表面。较小的液滴总是由前一液滴的最外层形成。因此, 释放气相离子的最终纳米液滴富含具有高表面亲和力的物质。此外, 液体和脱溶剂气之间的界面更有利于 IEM 注入^[11,12]。

根据离子蒸发模型, 离子通过静电力从液滴表面解吸。然而, 目前尚不清楚蛋白质是否也能遵循 IEM 机制。Aliyari 等^[20]利用分子动力学 (MD) 模拟研究了这个问题。他们选择结构相对稳定的泛素作为模型蛋白质, 并通过 pH 值调整蛋白质在溶液中的电荷分布。在实验过程中, 蛋白质的构象不会改变。分子动力学模拟预测, IEM 产生的蛋白质离子中的非特异性盐加合物不像 CRM 那样常见, 这一预测已得到实验证实。

Znamensy 等^[21]研究了氢离子和甘氨酸纳米液滴的形成过程。结果表明，离子在液滴中呈同心层分布。这与液滴中的离子接近表面时遵循单调径向分布的预期不同。由于液滴中存在离子，观察到整体形状变形和增强的表面起伏。瑞利极限下的电荷减少是通过形成瞬态表面凸起来实现的。对于含有离子的液滴，形成的振幅突起高于纯水滴。这些突起是离子喷射前的中间阶段。蒸发的离子在约 10 个水分子的溶剂化壳中与液滴分离，数据与接近瑞利极限的液滴溶剂化离子蒸发模型一致。

3 带电残基机制

带电残基机制适用于大型球形物质，如天然折叠的蛋白质。一般来说，在中性水溶液中，大多数蛋白质是紧密卷曲的，电荷和极性基团在球体之外，以达到最大的亲水效果。同时，非极性部分形成不与溶剂接触的疏水内部区域。Konermann^[11,12]等认为，在连续的库仑爆炸后，最终形成了只含有单一分析物的带电液滴。当表面溶剂蒸发时，液滴的电荷转移到分析物分子上，从而实现气相电离。De la Mora^[22]证明了在瑞利极限状态下，由带电残基理论形成的多电荷离子的电荷等于相同体积的带电液滴的电荷。

在带电残留物机制（CRM）中，含有单个蛋白质分子的纳米液滴蒸发至干燥状态，相关液滴的电荷将转移至蛋白质。当最后一种溶剂消失时，液滴的所有电荷转移到分析物上。纳米液滴在整个收缩过程中总是接近瑞利极限，这意味着液滴会随着半径的减小释放电荷。直接用分子动力学模拟研究荷电残基机理（CRM）是一个难点。但计算研究已经证实，蛋白质外部的大量水合作用将球形分析物深深地困在液滴中。此行为与 CRM 一致。

盐溶液暴露于 ESI 会产生一系列团簇离子，相关实验已在大量文献中报道^[23]，但这些团簇离子是通过 IEM 还是 CRM 形成尚不清楚。Konermann 等^[23]采用分子动力学（MD）方法研究了氯化钠水溶液中正、负极性条件下 NaCl 多电荷团簇的形成。采用分子动力学（MD）方法模拟了带电含 NaCl 水滴的时间演化过程。他们提出了一种轨迹拼接方法，可以连续地从模拟中删除蒸发部分，从而显著降低计算成本。分子动力学数据提供了相关证据，表明 ESI 过程中氯化钠团簇的形成是通过 CRM 进行的。

4 链喷射理论

Konermann^[11,12]等从分子动力学模型和实验角度验证了离子蒸发和带电残留物的两种机制。选择肌红蛋白作为样品。结果表明，当蛋白质未变性时，肌红蛋白结构致密，电离过程遵循带电残基机制。当蛋白质在酸性条件下变性时，结构舒展，电离过程遵循离子蒸发机理。

然而，变性蛋白质的构象是高度无序的。因此，变性蛋白质在电喷雾电离过程中遵循不同的机制，即链喷射理论^[11,12]。变性后，内部分离的非极性基团暴露于溶剂中，蛋白质分子结构从致密的亲水性变为松散的疏水性。蛋白质的疏水性使其不再适合停留在液滴

中，而是迁移到液滴表面。链的末端进入气相。然后，剩余的蛋白质按顺序逐渐排出，直到从液滴中分离出来。

Ahadi 和 Konermann^[11]比较了 pH=2 和 pH=7 时 ESI-MS 中肌红蛋白的信号强度。结果表明，当 pH 值为 7 时，蛋白质构象紧密，疏水基团在内部隔离，电荷迁移到液滴的外层；当 pH=2 时，蛋白质构象松散，整个蛋白质呈疏水性。ESI-MS 结果表明，pH=7 时信号强度很低，但 pH=2 时信号强度显著增强，约一个数量级。

分子动力学模拟证实，Na⁺等小离子从带电液滴表面喷出，而天然 ESI 中折叠的蛋白质则通过水蒸发至干燥。未折叠蛋白质的电荷远高于折叠蛋白质的电荷。CEM 设想，未折叠的蛋白质被疏水和静电因素驱动到液滴表面，然后通过中间产物逐渐释放，液滴携带延伸的蛋白质尾部。到目前为止，还不可能通过使用相关的 MD 模拟来支持 CEM。这项工作需要比以前的 MD 研究更大的液滴。此外，与 CEM 相关的 H⁺迁移也很难包括在内。Haidy 等^[24]使用 MD 模拟半径为 5.5nm 的液滴中未折叠的肌红蛋白。他们主要关注 pH 值为 4 左右的溶液，其中肌红蛋白的电荷与一些电喷雾离子的电荷一致，而 H⁺的迁移可以忽略。添加钠离子以确保液滴电荷接近瑞利极限。结果表明，16/17md 在不同的质子化模式下工作，通过链式射流产生[M+ZH]²⁺离子。这些结果支持未折叠蛋白遵循 CEM 的观点。

Pimlott 等^[25]以细胞色素为模型系统，通过研究乙酰化蛋白质的赖氨酸来区分 CRM 或 CEM 形成的蛋白质离子。在 pH=7 的溶液中，无论乙酰化程度如何，观察到相同的低电荷状态。这种行为与 CRM 一致，CRM 中的电荷状态由蛋白质大小而不是蛋白质表面化学决定。当溶液条件为 pH=2 时，会导致更高的荷电状态。有趣的是，如果乙酰化赖氨酸的量增加，在这些条件下获得的光谱逐渐转移到较低的电荷状态。电荷减少的原因是，减少碱性位点的数量会削弱蛋白质在 CEM 过程中与液滴竞争移动 H⁺的能力。

5 朱一心的实验和理论

离子蒸发 (IEM) 和带电残基模型 (CRM) 的带电残基机理是带电液滴离开泰勒锥后形成单分子气相离子。到目前为止，还无法解释一些问题，例如，电喷雾离子源中离子抑制的原因是什么？

一些学者认为多余的电荷来自液滴^[10,19]，但根据电磁场理论，电场中正负电荷成对存在，因此不可能形成正负离子的分离，也不可能从电极的同一端分离正负离子^[26]。通过一种新的 CEESI 离子源 (Coanda Effect ESI 源) 进行实验分析 (图 2)，朱一心等^[26]提出并证明了电喷雾电离过程中的质子来自泰勒锥外的大气。

两条辅助气体管道用于控制离子源中电离室的大气^[26]。选择水蒸气、氩蒸气、乙腈蒸气、氮气和空气作为辅助气体，对多肽和咖啡因进行质谱分析，并研究质子化离子的形成机理。首先，采用 CEESI 离子源对肽样 (由氨基酸组成) 进行分析，以空气和乙腈蒸汽 (体积比) 为辅助气体。多肽形成的离子有双电荷和三电荷。当辅助气体被氮气替代时，任

何肽的离子峰信号都无法检测到，但当辅助气体被空气替代时，离子峰信号恢复了。因此，朱一心及其合作者推断，肽离子中的质子并非来自流动相，而是来自泰勒锥外部大气中的水分子。

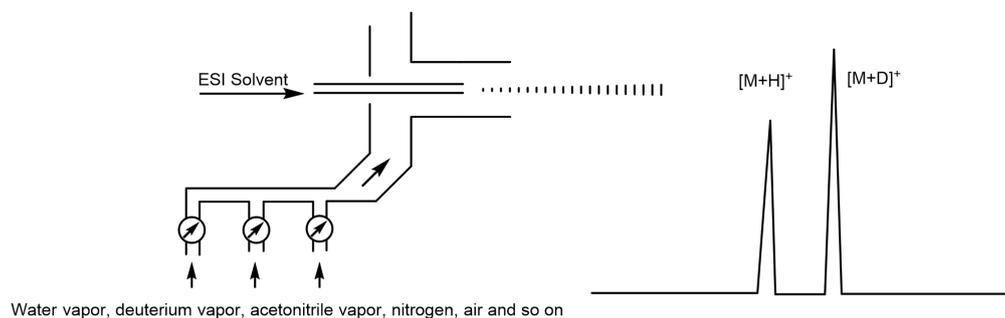


Fig. 2 principle of new CEESI ion source

然后，以咖啡因样品，以水蒸气和氘水蒸气为辅助气体调节电离室中的气氛。当辅助气体为水蒸气时，无论是溶解在水中的咖啡因还是溶解在氘水中的咖啡因，质谱检测到的主峰为 $[M+H]^+$ 。当辅助气体为氘水蒸气时，无论咖啡因溶于水还是溶于氘水，质谱主峰均为 $[M+D]^+$ 。朱一心和合作者认为咖啡因没有OH键，所以不能产生氢氘交换。从实验结果可以推断出咖啡因在两种不同条件下的不同质谱，即质子（ H^+ 或 D^+ ）来自电离室大气。

朱的结果表明，在气相电离过程中使分子带电的质子实际上来自于水分子在电场中电离产生的质子。极性分子在高电场中极化，极化的分子和质子产生静电引力，形成多电荷分子离子。结合实验，朱一心及其合作者提出并证明了电喷雾电离中的质子来自泰勒锥外的大气。电离室的气氛是影响电喷雾电离过程的重要因素。通过有效控制电离室气氛，可以提高分析物分子的电离效率，其新发现为质谱分析带来了更多的新应用。

朱一心及其同事认为，当电喷雾发射针处于正电压时，针尖表面会形成一个稳定的泰勒锥，因为泰勒锥的曲率半径很小（纳米量级），针尖表面的电场很强，只能离开泰勒锥。同时，针尖上的水分子场蒸发形成氢离子，氢离子被条形极性分子的负端吸附，形成多电荷离子。同时可以看出，当两个极性分子出现在泰勒锥附近时，氢离子被极性较大的分子吸附，从而出现离子抑制现象。

6 离子迁移搬运机理

朱一心及其同事的实验首次证明，电喷雾离子源中的质子来自泰勒锥外的大气。然而，朱的原理并不能解释一种常见的实验现象，即离子加合现象^[27,28]。离子加合现象，如铵离子加成，铵离子来源于流动相中添加的醋酸铵。显然，质子和其他加合离子来自流动相。基于实验和作者的相关研究内容^[28-30]，作者等^[14]提出了“离子迁移和搬运”的机制。“离子迁移和搬运”的机理可以归纳为三点。

首先，在离子源中，在雾化室温度和脱溶剂气体的条件下，脱溶剂在毛细管针尖周围的空间中迅速形成大量的 H^+ 、 NH_4^+ （添加 NH_4Ac ）、 Ac^- （添加 NH_4Ac ）、 Cl^- （添加 $CHCl_3$ 和其他氯源）、 NO_2^- （添加含 NO_2^- ）和 Na^+ 等离子体，这称为流动相-氮气辅助气氛。流动相-氮气辅助气氛，为 H^+ 、 NH_4^+ 等加合离子的电泳提供了条件。

同时，流动相中的分析物通过毛细管电压、雾化室温度和溶剂气体去除的作用形成裸露小分子（这些裸露小分子可能进一步裂解成离子，迁移到质谱仪检测器，然后进行测定，如 Folpet^[31,32]）。

最后，这些带电离子通过某种力（氢键、范德华力、离子键相互作用等）与无电荷的裸露小分子结合，产生迁移并被测定。在这里，大量的 H^+ 、 NH_4^+ 、 Ac^- 、 Cl^- 、 NO_2^- 和 Na^+ 离子充当“搬运工”。真正迁移的是这些离子（包括热分解产生的离子）。当它们迁移时，一些分析物形成的无电荷裸露分子被“搬运”到质谱仪检测器并被检测。可能的途径称为“离子迁移搬运”机制，示意图如图 3 所示。

离子迁移搬运机理可以简述为：假设当毛细管为正，而质谱检测器为负时，由流动相、脱溶剂气或者空气等提供电泳条件。此时， H^+ 、 NH_4^+ 等离子发生迁移，当它们迁移的时候，通过作用力，把裸露的小分子或者蛋白质搬运到质谱检测器。搬运的对象可以是裸露的小分子或者蛋白质，也可以是团簇小溶剂，也可以是空气中的小分子物质。

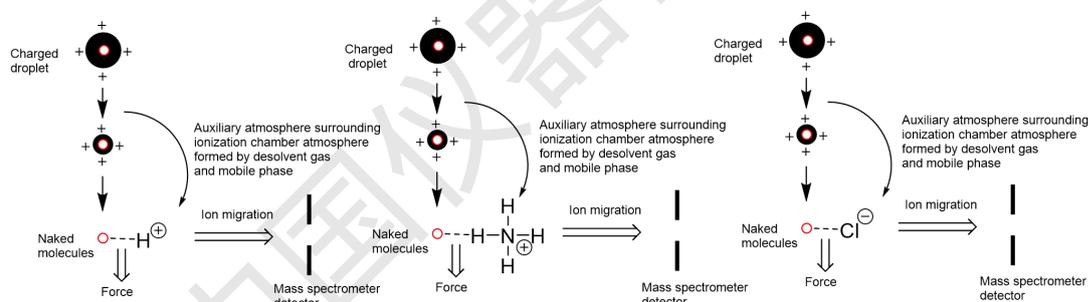


Fig. 3 Schematic diagram of "ion migrate and transport" mechanism

7 结论

本文从离子源原理出发，介绍了离子蒸发机理、带电残体机理、链喷射理论、朱一心的实验与理论、离子迁移搬运机理等理论，综述了该领域的最新研究进展。离子源原理的研究对离子源的设计和开发具有重要意义。理论的发展可以为解决一些问题提供一些帮助，例如定量问题。离子源理论发展缓慢，在一定程度上影响了离子源的设计和开发^[33-35]。因此，发展离子源理论具有重要意义，将是一个重要的研究方向。

参考文献:

- [1]Cheng L, Li M T, Kim Y S, et al. The study of chemical composition and elemental mappings of colored over-glaze porcelain fired in Qing Dynasty by micro-X-ray fluorescence[J]. Nuclear Inst & Methods in Physics Research B, 2011, 269(3):239-243.
- [2]Laclavetine K, Ager F J, Arquillo J, et al. Characterization of the new mobile confocal micro X-ray fluorescence (CXRF) system for in situ non-destructive cultural heritage analysis at the CNA: μ XRF-CONCHA[J]. Microchemical Journal, 2016, 125: 62-68.
- [3]Figueiredo E, Pereira M, Lopes F, et al. Investigating Early/Middle Bronze Age copper and bronze axes by micro X-ray fluorescence spectrometry and neutron imaging techniques[J]. Spectrochimica Acta Part B Atomic Spectroscopy, 2016, 122:15-22.
- [4]Brai M, Gennaro G, Schillaci T, et al. Double pulse laser induced breakdown spectroscopy applied to natural and artificial materials from cultural heritages[J]. Spectrochimica Acta Part B Atomic Spectroscopy, 2009, 64(10):1119-1127.
- [5]Hložek M, Trojek T, Komoróczy B, et al. Enamel paint techniques in archaeology and their identification using XRF and micro-XRF[J]. Radiation Physics & Chemistry, 2016: S0969806X16300573.
- [6]Scrivano S, Ruberto C, Gómez-Tubío B, et al. In-situ non-destructive analysis of Etruscan gold jewels with the micro-XRF transportable spectrometer from CNA[J]. Journal of Archaeological Science: Reports, 2017, 16: 185-193.
- [7]Bonfigli, Francesca, Hampai, et al. Characterization of X-ray polycapillary optics by LiF crystal radiation detectors through confocal fluorescence microscopy[J]. Optical Materials, 2016, 58: 398-405.
- [8]Berthold C, Bjeoumikhov A, Lutz Brügemann. Fast XRD2 micro diffraction with focusing X-ray microlenses[J]. Particle & Particle Systems Characterization, 2009, 26(3): 107-111.
- [9]Rotondo G.G, Romano F.P, Pappalardo G, et al. Non-destructive characterization of fifty various species of pigments of archaeological and artistic interest by using the portable X-ray diffraction system of the Landis laboratory of catania[J]. Microchemical Journal, 2010, 96(2): 252-258.
- [10]Padeletti G, Fermo P, Bouquillon A, et al. A new light on a first example of lustred majolica in Italy[J]. Applied Physics A, 2010, 100(3): 747-761.
- [11]Hodoroaba V D, Radtke M, Reinholz U, Riesemeier H, Vincze L, Reuter D Nucl. Instrum[J]. Methods Phys. Res. Sect. B., 2011, 269:1493.
- [12] Abdallah B, Rihawy M S. Ion beam measurements for the investigation of TiN thin films deposited on different substrates by vacuum arc discharge[J]. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms, 2019, 441: 33-40.

- [13] Duan Z, Liu J, Pan Q, et al. A type of portable micro-edxrf spectrometer with laser displacement sensor[J]. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B Beam Interactions with Materials and Atoms, 2019, 442:13-18.
- [14] Rousseau, R. M. Fundamental algorithm between concentration and intensity in XRF analysis 1—theory[J]. X-Ray Spectrometry, 1984, 13:115-120.
- [15] 金普军, 秦颖, 龚明, 等. 九连墩楚墓青铜器铅锡焊料的耐腐蚀机理[J]. 中国腐蚀与防护学报, 2007, 27(3): 162-166.
- [16] Bastidas J M, Alonso M P, Mora E M, et al. Corrosion of bronze by acetic and formic acid vapours, sulphur dioxide and sodium chloride particles[J]. Materials and Corrosion, 1995, 46(9): 515-519.
- [17] 钟家让. 出土青铜器的锈蚀因素及其防护研究[J]. 山西大学学报(自然科学版), 2004, (1): 47-50.
- [18] Fan X. Characteristics of mimetite ($\text{Pb}_5(\text{AsO}_4)_3\text{Cl}$)-pyromorphite ($\text{Pb}_5(\text{PO}_4)_3\text{Cl}$) corrosion products on Han Dynasty bronzes from Chongqing, China[J]. Microchemical Journal, 2019, 149: 104062.