

用于分析高分子量物质的质谱仪器

A. J. H. Boerboom

(荷兰FOM原子分子物理研究所)

陈 贺 能

(中国科学院科学仪器厂)

〔摘要〕本文详细介绍了磁式质谱仪器分析高分子量物质时所采用的电离方式、质量分析器类型以及离子检测手段,并提出了一些新的设想。

一、导 言

近年来,对不挥发性物质和热不稳定的有机物,例如生物化学物质和用途广泛的高分子聚合物等,已经能用所谓“软电离”方法电离。但是要实现这类大分子量物质的质谱分析,还必须使质谱仪器进一步全面的得到发展。除了要研制新型质谱仪器外,对现有仪器设备进行改造也是可行的。

二、电 离 方 式

质谱分析大分子量物质最基本问题之一是得到特征离子。高分子量物质具有很低的蒸汽压,通常是作为不挥发性物质和热不稳定物质来考虑。因此,一般的电离方式(例如电子轰击电离)不适用。最近几年,为此而发展了许多新颖而特殊的电离技术。它们的出现,不但开拓了质谱研究的新领域,而且促进了质谱仪器的发展。这些新电离技术可泛分为两类:破坏性电离和大分子不被破坏(准分子)的电离。第一种电离方式是将样品先加热使其分解和放出气体(即热解作用),然后用电子轰击电离、化学电离或场致电离方法使这些气相产物电离,再用一般的质谱方法分析。第二种电离方式,目前已有激光解吸(LD)、场解吸(FD)、解吸化学电离(DCI)、镅(^{252}Cf)等离子体解吸(PD)、二次离子质谱(SIMS)、快原子轰击(FAB)、电喷雾技术和热喷雾技术等。

1. 激光解吸(LD)

激光技术和质谱技术的组合,是很有潜力的分析方法之一^{〔1〕}。功率密度为 $10^4\sim 10^9\text{W}/\text{cm}^2$ 的亚微秒或微秒级脉冲激光以及功率密度为 $10\sim 10^4\text{W}/\text{cm}^2$ 的连续激光,其波长从短波至红外范围内,都可用于这一技术。样品先溶于溶剂,然后滴于用不锈钢、铜、银或石英制

成的进样杆头部,再导入离子源直接蒸发成薄膜。当激光束聚焦成 $10^{-3}\sim 10^{-6}\text{cm}^2$ 射到样品上时,被辐照的微区将迅速被加热(加热速率可达 10^{10}K/sec),获得质量数大于1,000的物质如激素、甾族化合物、低酯类物质等的正离子 $(M+\text{Na})^+$ 或 $(M+\text{K})^+$ 及其碎片。目前用激光解吸已经得到麦皂宁($m/z1228$)的分子离子峰。图1是具有多离子同时检测系统的激光解吸质谱计实验装置。

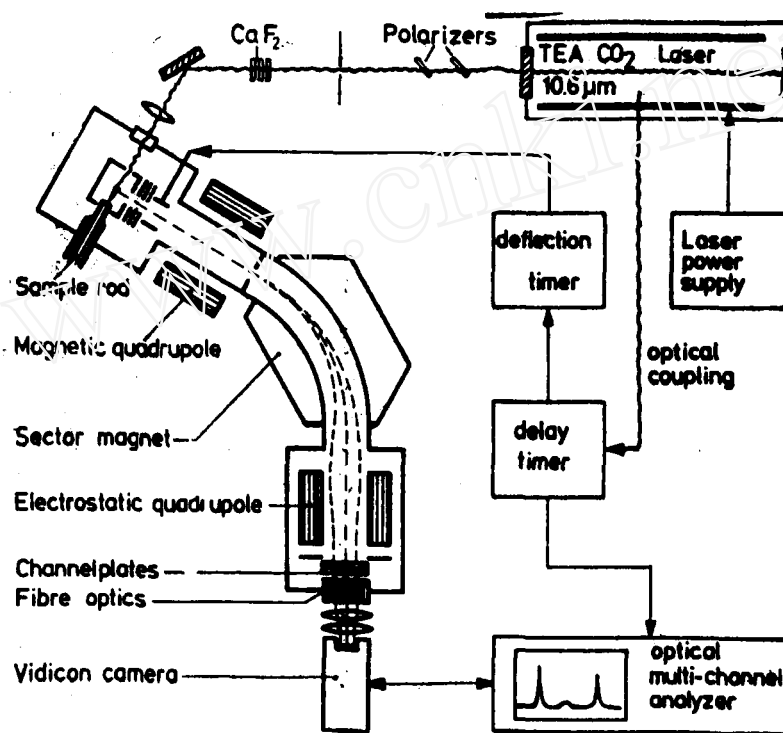


图1 激光解吸质谱计

人们发现,激光解吸对激光的参数如波长、脉冲持续时间、波形甚至脉冲功率密度等要求不严,但激光解吸中样品被激光加热的速率看来比较重要^[1]。这种方式的电离效率一般为 $10^{-5}\sim 10^{-8}$,其电离机理还未完全清楚。最近有人^[2]通过蔗糖的激光解吸实验研究准分子离子及其碎片的形成,提出激光解吸是以热效应为主。Novak等人^[3]对机理探讨有进一步论述。

脉冲激光产生的离子流仅能维持几微秒,所以需用飞行时间质谱计或能同时检测多种离子的其它类型质谱仪器进行分析。

2. 场解吸(FD)

将不挥发物质或热不稳定化合物先溶于溶剂中,然后滴在一条直径 $10\mu\text{m}$,长 $20\sim 30\mu\text{m}$,且其上生长有碳或硅尖针的钨丝上。当钨丝在高达 10^8V/cm 数量级的电场作用下,小心加热钨丝,可以得到 M^+ 、 $(M+H)^+$ 和 $(M+\text{碱土金属})^+$ 等类型的离子和少量碎片离子。由Beckey提出的这种方法,已应用于生物化学领域里的各种化合物分析。日本的松尾武清等人使用这种方法得到聚苯乙烯和聚丙烯二醇离子,质量数超过10,000。但Hunt^[4]认为这种方法不大可能在未来广泛采用,因为现有激光解吸和粒子轰击方法已经能更容易地获得强的正、负分子离子峰,谱图质量也不错。

3. 解吸化学电离(DCI)

这是McLafferty等人发现的方法^[5]。样品涂在细导电丝上,置于化学电离源的等离子体中,快速加热(在几毫秒内将样品加热到几百度),使分子蒸发速度高于热分解速度,于是形成 $(M+H)^+$ 离子及一些碎片离子。

4. 铀(^{252}Cf)等离子体解吸(PD)

这种方法自1974年Macfarlane等人^[6]研究核化学获得意外结果以来,至今已非常成功地用来确定分子量从3,000至12,000的重要大生物分子。 ^{252}Cf 核衰变时约有3%的几率产生自发裂变,97%的几率发射 α 粒子。裂变的 ^{252}Cf 核产生的碎片,其能量为80—100MeV,每一裂变产生的两块碎片将以几乎相反的方向飞离。发射 α 粒子的 ^{252}Cf 核,其 α 粒子的能量约为6MeV。在 ^{252}Cf 放射源背后6mm远处放一块Ni箔,可将裂变碎片和 α 粒子鉴别出来,因为裂变碎片穿过Ni箔后产生的二次电子比 α 粒子穿过Ni箔后产生的二次电子大35倍以上。固体样品先用溶剂溶解,然后用任何可以产生均匀膜层的方法将其沉积于厚度 $1 \times 10^{-3}\text{mm}$ 的Ni箔上,背对 ^{252}Cf 源,当裂变碎片飞离并穿透此箔时,绝大部分能量将在 $10^{-12} \sim 10^{-13}$ 秒短暂时间内积聚在样品和Ni箔的一个极小区域内,引起脉冲式局部加热,形成并解吸出 $(M+Na)^+$ 、 $(M+K)^+$ 、 $(M+H)^+$ 、 $(M-H)^+$ 等离子及其少量碎片和中性产物,这些离子再由飞行时间质谱计进行分析。仪器系统示于图2。

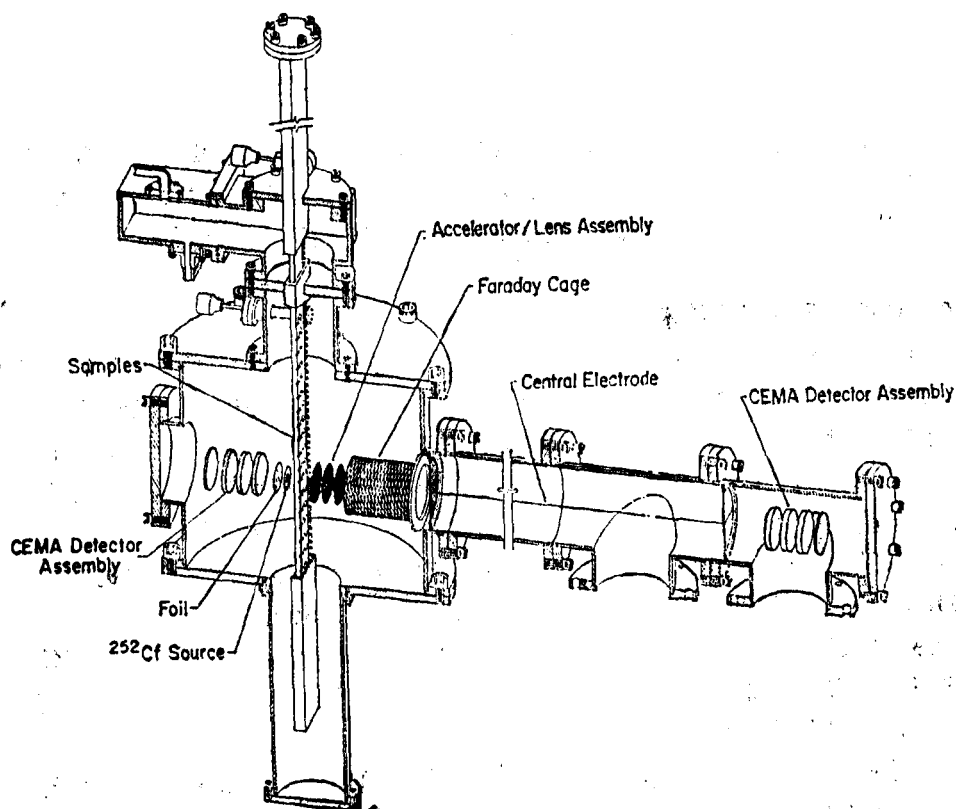


图2 ^{252}Cf 等离子体解吸质谱计

5. 二次离子质谱(SIMS)和快原子轰击技术(FAB)

SIMS是用2~5 Kev的离子轰击样品,而FAB是用相当于此能量的中性粒子轰击样品,本质上没有多少不同之处。因为FAB用的是中性束,避免了荷电现象。对其形成准分子离

子的机理,有人提出所谓快速蒸发模型^[7],认为在粒子轰击前,先兆离子已在样品表面存在,它取决于原子组成和最终发射的二次离子的平均电荷态,当粒子轰击样品时,在局部轰击区显示出一个能量分布(见图3),微区中心表面能量高,于是先兆离子发生碎裂,同时

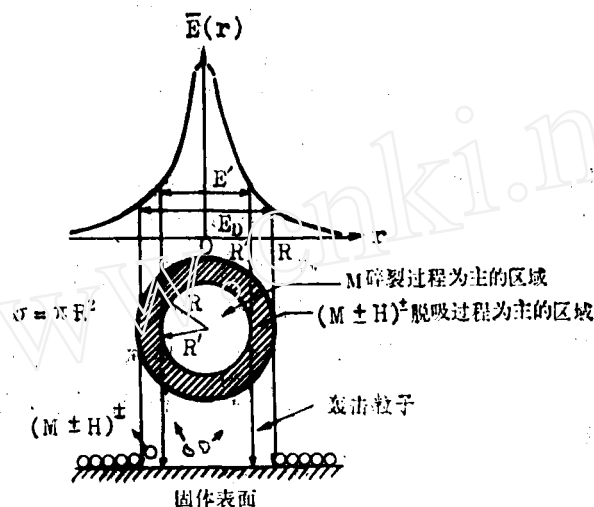


图3 局部轰击区能量分布

还有一些受到较大激励已离开表面的分子发生分解。微区外围能量低,这里的先兆离子被轰击后,在 $<10^{-12}$ 秒之内被快速蒸发而不裂开,形成准分子离子。所有发射离开表面的粒子都倾向于保持荷电符号的守恒。这个模型是对大量的单个粒子轰击过程的一个平均统计模型。

6. 电喷雾和热喷雾技术

电喷雾技术^[8]的原理不是电离,而是含电解质的被分析物(液相)表面在高电场作用下发生正或负离子的蒸发。被分析物与碘化钠或其他一些盐类或溶剂(通常是甘油)混合组成的溶液,通过一个金属毛细管针尖进入质谱计离子源,针尖上加有8~10KV直流电压,在针尖处形成强电场。例如蔗糖分析, $(M + Na)^+$ 离子是最强的峰,但同时还含有n个甘油分子、m个蔗糖分子和 Na^+ 离子组成的离子团(n, m为任意整数)。

热喷雾技术^[9]是1980年才出现的新技术。液相被分析物通过一条内径0.015cm并加热到1,000℃以上的不锈钢毛细管,在出口端喷出,再通过直径0.075cm的通道进一步加热,然后绝热膨胀通过分离器分离,进入离子源喷射在一个电加热(约250℃)的镀镍铜杆探头而形成正、负离子。由于这是一种快速、灵敏、比较简单而又便宜的新技术,与在线液相色谱技术联用,将会显示出它的优越性。

上述这些“软电离技术”似乎基本不同,但都能给出相似的结果—形成分子离子峰。电离过程中,加热总是出现在一段时间内,并且局限于一个特定的微区中,只是对FD和DCI加热的温度不算高,而对LD、PD、SIMS和FAB,是非常快速又非常局部地加热到高温。因此可以认为所有这些电离过程应纯粹是一个热效应。以激光源为例,脉冲激光作用在样品上,使样品加热的速度是那么的快,以致在分子获得足够能量分解之前,它们就在上述过程中蒸发和电离,从而获得分子离子。

三、离子的分析

要分析大分子量样品, 质谱仪器必须具有高的分辨本领和大的质量数测量范围, 而且要有一定的灵敏度。四极质谱计在这些方面已显不足, 测定分子量大于2,000十分困难, 其传输率随质量数升高而显著下降。至于飞行时间质谱计, 尽管商品仪器不多, 但在 ^{252}Cf 等离子体解吸研究中还是被使用。对于采用脉冲激光解吸方法电离的飞行时间质谱计是有一定用途的, 但目前这种质谱计的分辨本领一般不超过1,000, 这对大分子量样品是很不够的。若采用其它电离方式, 也因飞行时间法的工作周期很短而降低了它的应用价值。目前有人提出采用多次反射原理, 其分辨本领将随质量数增高而增高。

最常用的磁式质谱计中, 离子的能量通常是几KeV, 为了分析大质量数的分子离子, 需要大磁场强度。对于商品磁式质谱计, 离子偏转半径 R 一般是15或20cm, 磁场强度 B 为1.6T。如离子能量为8KeV, 它至多能分析质量数350或620的离子。为了扩展质量范围, 选用 $R=30\text{ cm}$, $B=2.3\text{ T}$ 时, 质量数测量范围可扩大到2850。为了获得强磁场, 需要采用一种特殊的铁钴磁性合金材料($\text{Co}49\%$, $\text{Fe}49\%$, $\text{V}2\%$)作为磁极靴。此外, 两极靴的间隙也要尽可能减小。再增大离子在磁场的偏转半径会使仪器尺寸变大而导致灵敏度下降。最近有人采用非均匀磁场—楔形场, 它具有一个附加的聚焦作用, 可使焦距缩短。但是这个场在垂直方向会引起一些散焦作用, 因而需用一个聚焦透镜来补偿。另还有人采用一种特殊的磁场, 在此磁场中, 离子束将依次会聚和发散。这与大型加速器的强聚焦场相似, 但总的效果是在径向和轴向的聚焦都增强了。采用这种场, 其总体尺寸和分辨本领保持不变时, 质量数范围可扩展一倍。为使磁式质谱计分析大分子量样品, 可采用降低离子能量的方法, 例如用常规离子源, 当离子通过出口缝之后, 再将其能量降至100~500电子伏, 离子流强度基本上保持不变, 只是分辨本领稍有损失。

四、质量数标定

大质量数的标定是分析大分子量样品的一个重要课题。PFK和PFTBA只在中等质量数区域内是理想的标定物质。在较大的质量区域, 较合适的参考化合物是壬基三氮杂苯 (nonyltriazine, $(\text{C}_9\text{F}_{19})_3\text{C}_3\text{N}_3$, 分子量1485)。最近, 氯丁二烯橡胶 (PCR Ultramark 1621) 和Fomblin油可用来给出质量数直至3,000以上的各种参考质量, 其完整的EI谱图已由Dell等人^[10]给出。

Devienne^[11]推荐使用一种铀或银的离子团。用于二次离子质谱时, 这种物质很容易分别给出直至8,000或5,000的参考质量数。Matsuo等人^[12]使用聚苯乙烯和聚丙烯甘醇, 获得了直至11,000质量数的离子。

五、碰撞活化解离 (CAD)

研究亚稳离子和碎裂可以得到一些鉴定物质结构的信息, 但是由于只有寿命为 $10^{-5}\sim 10^{-6}$ 秒的离子才能被检测, 而使这一方法的应用受到了很大限制。最近出现一种碰撞导致解离的方法就是一种人为促进离子碎裂的方法。被研究的某种离子在与靶气分子碰撞后电激发

而解离。碎片的动能首先正比于它们的质量,所以碎片的动能谱反映碎片质谱。碰撞的粒子瞬间只有小的能量交换,粒子最大的能量损失仅为几十电子伏。而解离时只需要几个电子伏的激活能,它将与离解能一齐被释放。此能量大部分将变换成碎片的内能,小部份将以动能的形式出现。在质心坐标系内分析,这一动能释放将使这些碎片有相当小的相对速度,但在实验室坐标系看来,这些速度差却代表了相当大的相对能量差。如果没有特别措施去处理,将严重降低仪器的分辨本领。

目前有几种解决办法。最熟知的是“连动扫描”,这可以用图4说明。

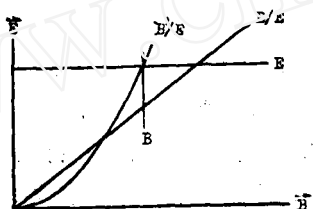


图4 连动扫描

图中,坐标轴分别表示磁场强度的变化和静电分析器的场强变化,曲线表示这几种不同的扫描方式,这些扫描方式中总有两个场在扫描期间互相联系着。实际上,人们往往不沿一条特定的线去扫描,而是在许多种不同的但相差不大的E值之下快速扫描B。

碎片谱中的峰宽是对各种不同碎裂过程中动能释放的一个量度,用它表征碎裂过程的特征是最有价值的。但是它只适用于较低的质量数范围,在较高的质量数范围内,最好要有较高的分辨本领。为了增加CAD谱的分辨本领,Todd和McLafferty^[13]将两个常见的双聚焦质谱计串接,二者之间设置一个碰撞区。Boerboom等人^[14]采用了一种完全不同的方法,即高传输率和高分辨本领的组合。他们将碎片离子加速,并同时检测这些离子,这一方法大大减小了它们之间的相对能量差。原则上,碎片离子的质量分析既可用静电分析器,也可用磁分析器来实现。但是由于静电分析器的能量分辨本领与粒子的能量成反比,所以后加速的方法对它不适用。但对磁分析器,由于后加速作用使能量分散减小,使分辨本领有所改善。用这种方法设计的串联质谱计,其碰撞区之后的第二级磁分析器的分辨本领可大于1,000。

六、离子的检测

大分子量物质的离子流强度往往较低,只能使用电子倍增器、沟道电子倍增器或微通道板。这些探测器的增益与离子速度成正比,例如对于原子离子来说,在几Kev的范围内有下列关系^[15]:

$$G = C\sqrt{m} \cdot (V - V_{\text{阈}})$$

式中,G是增益,C是常数,m是离子质量,V是离子速度, $V_{\text{阈}}$ 是一个阈值速度,约为 $(2 \sim 5) \times 10^7 \text{ cm/sec}$ 。但对多原子离子,上述倍增器的增益要比同一重量的单原子离子高些。防止

增益随离子质量升高而下降的方法,是在离子到达探测器之前设法再加速这些离子。

参 考 文 献

1. P. G. Kistemaker等人, 在H. R. Morris编辑的“Soft Ionisation Biological Mass Spectrometry”一书中, Heyden & Son, London 1981, P.120.
2. G. J. O. Van der Peyl等人, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Phys.*, 42(1982)125.
3. F. P. Novak等人, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Phys.*, 53(1983)135.
4. D. F. Hunt, *Mass Spectrometry Advances 1982, Part A, Plenary Lecture*, P.111.
5. M. A. Baldwin and F. W. McLafferty, *Org. Mass Spectrom.*, 7(1973)1353.
6. D. F. Torgerson等人, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 60(1974)616.
7. A. Benninghoven, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Phys.*, 53(1983)85.
8. D. S. Simons等人, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Phys.*, 15(1974)291.
9. C. R. Blakley等人, *J. Amer. Chem. Soc.*, 102(1980)5931.
10. A. Dell等人, 同文献1, P.69.
11. F. M. Devienne等人, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Phys.*, 46(1983)143.
12. T. Matsuo等人, *Anal. Chem.*, 51(1979)1329.
13. P. J. Todd, 美国Ithaca, Cornell大学理学博士论文(1980).
14. G. J. Louter, 荷兰Delft大学博士论文(1982).
15. R. J. Buehler等人, *J. Appl. Phys.*, 48(1977)3928.

Instrumentation in High Molecular Weight Mass Spectrometry

A. J. H. Boerboom

(FOM Institute for Atomic and Molecular Physics, The Netherlands)

Chen Heneng

(Scientific Instrument Factory, Chinese Academy of Sciences)

Received 5, Jan. 1984

Abstract

Ionization, analysis in sector mass spectrometers and detection of high molecular weight compounds are discussed.