

新的软电离技术——快原子轰击

汪 聪 慧

(北京燕京科学技术服务公司)

杨 洁 李益吁

(宁夏回族自治区测试中心)

〔摘要〕快原子轰击是最近发展的新颖电离技术。本文介绍它的实验技术和应用范围，并以列举的一些优点说明它的前景。

快原子轰击(简称FAB)是有机质谱的一种新颖电离方法,这是 Barber 等人^{〔1〕}于八十年代发展的新技术(中性原子轰击方法可追溯到1966年 Devienne^{〔2〕}等人利用中性气体粒子轰击金属靶以研究产生的二次离子质谱,当时称为分子束固体分析)。它的实验方法为一束中性原子轰击试样从而导致有机分子的电离并获得其质谱图。这个过程在室温下进行,特别适合于高极性、大分子量、低蒸汽压、低热稳定性的样品分析;而且样品用量很少,可以回收而不影响原来的生物活性^{〔3〕},因此在短短的二、三年内受到了质谱学家,有机化学家,生物化学家的关注。虽然它的离子化机理比较复杂,至今尚在研究之中,但并不影响它在各个领域中的广泛应用。目前,已有三十余篇论文述及到多肽、低聚糖、多聚核苷酸、嘌呤、抗生素、有机金属络合物、磺酸型染料等的分析。

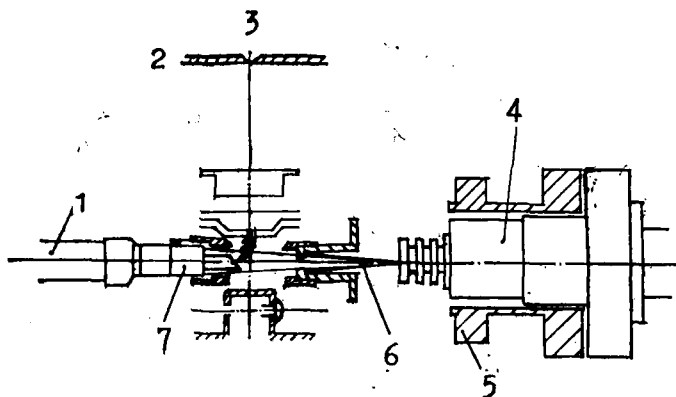


图1 FAB源简图

1—探头 2—入口狭缝 3—离子束 4—原子枪
5—接收器法兰 6—原子束 7—铜靶

1983年2月18日收

图1是MAT312质谱仪器上配置的FAB源简图,右边是发射中性原子束的原子枪,左边是铜靶推杆,处于靶上的样品受快原子轰击后形成二次离子,离子束经透镜组聚焦进入质谱分析系统。

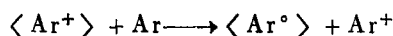
FAB既不需要CI、DCI、EI的加热汽化样品,也不需要FD的电离加热解吸样品,由于被分析的样品受到较小的热应力,这就决定了它的特点。FAB技术与二次离子质谱(SIMS)很相似,后者是用一束高能带电粒子作为一次离子束直接打在样品靶上,使被分析的样品溅射出二次离子,但由于离子轰击产生电荷效应,严重地影响离子流的寿命及稳定性,因而FAB不失为有前途的软电离技术。

一、实 验 技 术

1. 快速中性原子源

有三种氩离子枪:(1)鞍形枪,大部份FAB源都采用,它是冷阴极放电产生氩离子,缺点为功效低和发热;(2)汤森枪,利用汤森放电的原理具有高功效和不发热的优点;

(3)热灯丝型潘宁枪,据称氩离子不在腔内产生,可以进行聚焦和扫描,由此可以调节氩原子的焦点位置、能量和密度。图2为英国Ion Tech公司生产的鞍形枪简图。等量的离子在前后二个方向上离源,向后的通过收集器可监测产生的氩离子,向前的(能量为2~10Kev)经过共振交换室作如下的电荷交换:



交换室内的氩气压力为 $10^{-3} \sim 10^{-4}$ 托,经交换后的氩原子基本上以能量无明显损失,角度无

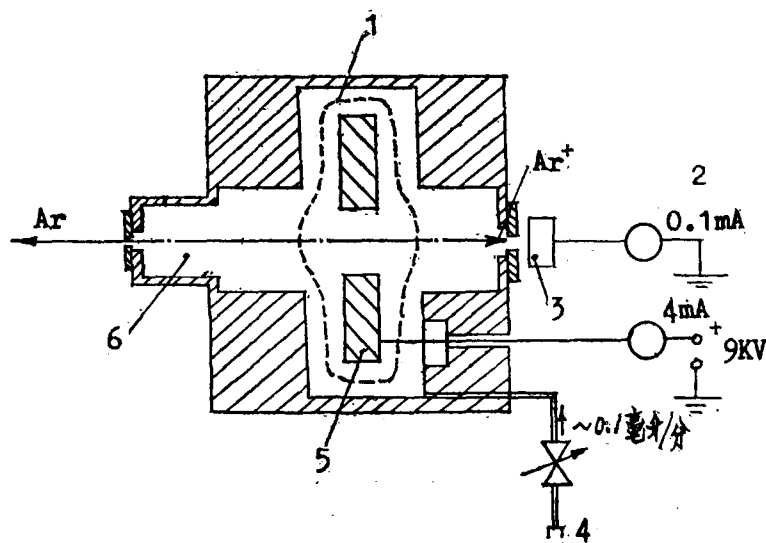


图2 鞍形枪简图

- 1—等电位线 2—离子流 3—收集器
4—氩气 5—阴极 6—碰撞室

明显改变的方式进入质谱仪的离子源,生成的氩离子则由静电偏转板除去。入射离子束与中性原子束的强度比值(称为交换室的效率)主要取决于气体的性质和入射离子束的加速能量。鞍形枪的氩原子束一般为0.1mA,束直径为1.5~2mm。由实验可知,Xe的溅射效率比

Ar高,灵敏度可提高3~4倍^[5],故目前也有报道Xe的FAB实验结果。

2. 靶和离子源

用作靶的样品架安装在直接进样杆上,样品载体材料为金属,一般为银、铜、金等。样品架的斜面一般为25~30°,中性原子束和样品离子束的夹角通常是60°。靶的周围用小的金属圆筒包围以提供合适的电位有助于拉出二次离子^[6]。样品架还可制成可加热的方式,以研究温度效应。

由于阴极溅射的结果,快原子源会散射出金属原子造成离子源的污染。为此在离子化室的样品导入路径上加屏蔽装置,并在CI/DCI/FAB复合源中对CI电离室的样品入口处加密封堵头。

3. 样品制备

早期的实验是把样品溶液滴在靶金属上,溶剂蒸发后样品积沉在上面。但是在分析过程中由于样品表面的破坏而不能维持很长的时间。以后的研究发现把样品置于低挥发性液体中形成粘稠溶液或悬浮糊状物,轰击过程中由于表面不断地得到“愈合”而保持了二次离子流的足够时间。通常使用甘油,最近也有推荐用聚乙二醇醚, $\text{HO}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{H}$ ($n=3\sim4$)。

二、应 用

1. 多肽分析

FAB的应用领域是比较广泛的,其中报道最多的是多肽分析^[7],这几乎占了文献数目的三分之一以上。FAB可以分析高达30个氨基酸的肽,如牛胰岛素B链(分子量3493)^[8]。多肽的FD分析目前最高达10个氨基酸(分子量在1200左右),显然FD不如FAB。不仅如此,FAB还能获得序列信息,这是FD所不及的。典型的例子为运动徐缓素(分子量1059, $\text{C}_{50}\text{H}_{73}\text{N}_{15}\text{O}_{11}$),谱图中有丰富的碎片峰,它们反映了肽内各氨基酸的序列(图3)。

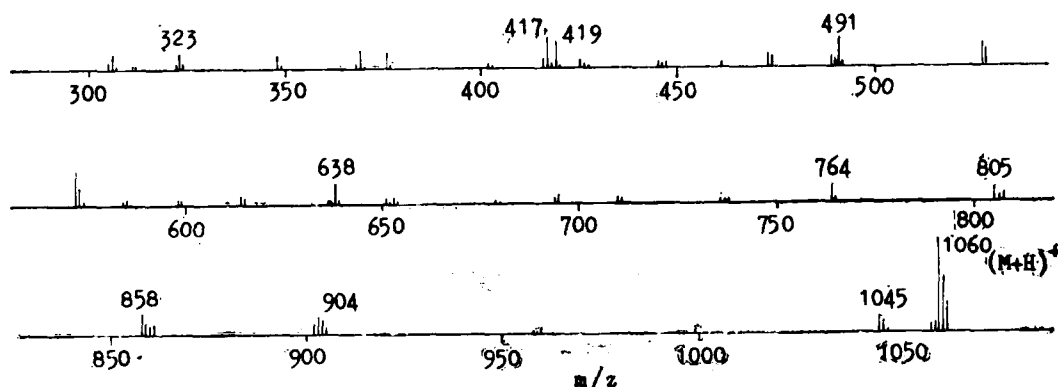


图3 运动徐缓素的FAB谱^[2]

2. 核苷酸分析

FAB应用于多核苷酸的分析也是很有前途的。FD技术可以获得核苷酸的分子量信息,但对多核苷酸来说遇到了困难,主要是信号弱,即使用高灵敏度的干板仍然得不到分子量信息,脱氧胸腺嘧啶核苷磷酸的二聚体(dpTdpT)就是一例。FAB很易获得它的谱图(图4),尽管它含有二个磷酸单元,但图中显示了强的 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, $[\text{M}-\text{H}+2\text{Na}]^+$, $[\text{M}-2\text{H}+3\text{Na}]^+$, $[\text{M}-3\text{H}+4\text{Na}]^+$ 的簇离子^[11]。ATP的三聚磷酸二钠盐^[12],三核苷酸^[10]以及

分子中多于二个电荷中心的核苷酸^[9]也都获得了非常满意的FAB结果, 碱金属离子的阳离子化方法是最先在FD上使用的技术, 但是对碱金属离子的用量限制严格, 过多的量反而会压抑有机离子的解吸。但是在FAB中, 对碱金属离子没有很大的限制, 因而便于实验。

3. 有机金属络合物的分析

许多有机金属络合物的键是不稳定的, 稍一受热就发生热解, 即使FD技术也往往得不到分子量信息。FAB源是小于40℃的冷源, 这是很有实用意义的, 尤其对生物化学中重要的含金属离子化合物及维生素B-12的分析, 可以带来许多优越性。早期曾用FD测定B-12, 但始终未获得分子离子峰信息, 直到1978年Schulten^[13]采用激光解吸的FD技术才获得B-12分子离子峰, 当然这种装置在一般实验室内是难以具备的。但FAB测定VB-12相当容易^[14], 质子化分子离

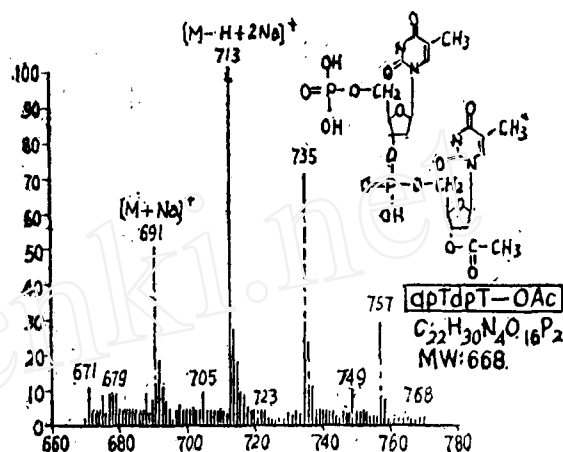


图4 二核苷酸的FAB谱^[11]

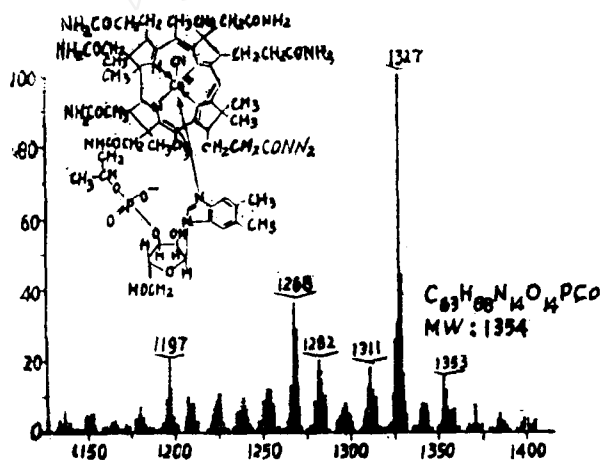


图5 VB-12的负离子FAB质谱

其中来梅素的 Λ_2 组份能与 Fe^{2+} 络合, 后者是氧的载体直接影响DNA的氧化降解, 有关它的结构设想也是首次由FAB方法得到了证实^[16-17]。用FAB分析多烯化合物如二性霉素、制菌霉素和金色制霉素也有报道, 其中金色制霉素的FAB谱证明早期研究的结构中少一个羟基^[18]。里杜霉素是五单元的氨基糖甙, FD分析未获得成功, FAB获得了 $M+H$ 峰。用FAB分析氨基糖甙不必制成它的游离状态(即去掉硫酸分子), 比FD简便^[19]得多。

5. 高极性化合物的分析

FAB很适于解决高极性化合物的分析, 磺酸或磺酸盐类化合物就是一例。FD技术能测定部份一磺酸化合物、极少数萘系二磺酸(及其盐)化合物和为数不多的磺酸型染料, 而且谱图比较复杂, 给解析带来一定困难。FAB可以测定三磺酸化合物, 得到的磺酸型染料谱图也易于解析^[11, 20]。头孢菌素是含二个羧酸钠基团的高极性化合物, 在FAB谱上能看到明显的 $M+3H-2Na$, $M+2H-Na$, $M+H$, $M+Na$ 等峰组^[19]。

上述五种类型化合物的分析仅反映了FAB目前应用的一些侧面, 由于这一技术正处于蓬勃发展的阶段, 可以预料它的应用将更加广泛。

子也很明显(图5), 因而成为各厂商FAB源的标准试验物质。辅酶B-12的测定也是首先在FAB上获得成功^[14]。铁传递蛋白在生化上是颇有兴趣的化合物。许多微生物分泌它以此富集铁, 而病原细菌借助它侵入它们的宿主。这种化合物分析难度要比VB-12更大, 但用FAB也获得了满意的结果^[15]。

4. 抗生素的分析

抗生素也属于FAB应用的活跃领域。例如配糖甙波来梅素, FD分析需要很高的技巧, 而FAB分析却很容易实现,

三、前 景

FAB技术具有如下的优点:

(1) 高灵敏度, 一般1微克的样品能保持离子流达1小时之久, 有时在甘油中加入草酸、盐酸或碱金属离子可以提高信号强度^[12]。样品的信号强度取决于样品的性质, 良好的质子给予体或质子受体都能给出强的M-H或M+H峰。通常极性大的化合物具有较高的灵敏度, 据报道^[10]用Leu-Enkephlin的多肽样品达到2ng的检出极限。显然, 高灵敏度给活化碰撞、联动扫描等提供了测量机会, 这些数据又是有机化合物结构鉴定所不可缺少的。

(2) 高分辨, 由于FAB具有较高的灵敏度, 加上以甘油本底峰作内标, 因而容易实现高分辨操作。也可以用其它参考物(如Ultramark, 碘化钾等)测定质量数高于1000的样品峰, 目前报道FAB源的最高分辨达80,000^[21]。VG公司报道了测定GRP的多肽样品(分子量2803.453)精度达5ppm^[22]。

(3) 能同时获得类似离子化效率的正负离子。这是在不改变中性原子束的条件下获得互为补充的信息。例如下述染料分别获得FAB的部分正负离子数据, 结构式上方的数据属正离子, 下方属负离子^[11](谱图见图6、图7)。

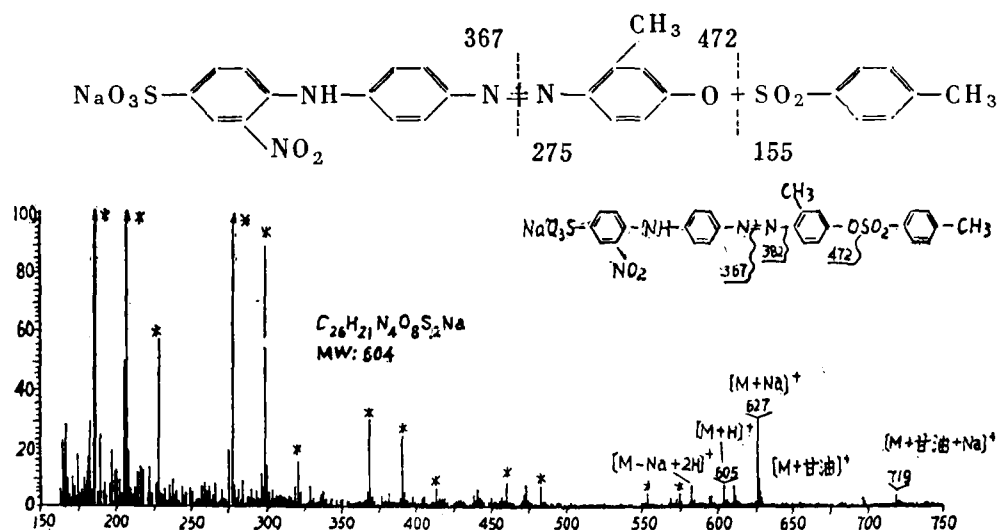


图 6

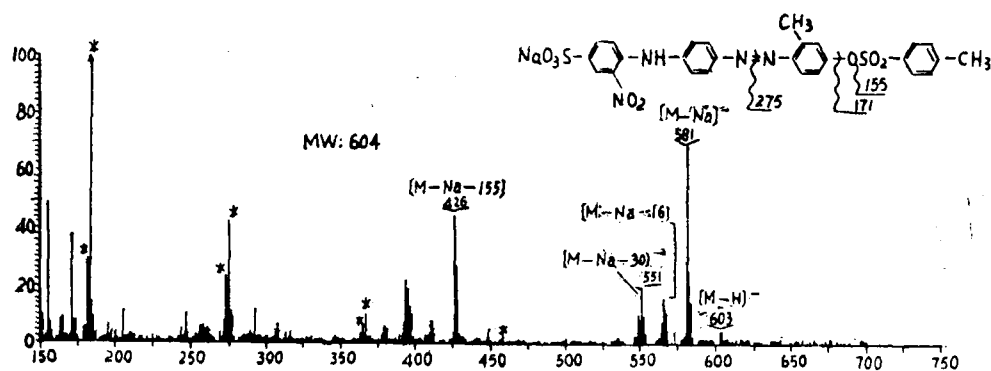


图 7

(4) 容易操作, FAB技术的操作简便, 这与FD需要复杂的实验技巧形成鲜明的对比。FAB的分析速度相当于低分辨的直接进样工作, 这对常规分析是很适用的。

目前FAB源已经装备在强磁场的静态质谱仪器上, 可进行高达5000的质量测定。Devienne⁽⁶⁾预计未来的质谱仪器将达 10^5 道尔顿的质量测定。Hunt⁽¹⁰⁾报道FAB技术应用于HPLC/MS的联用, 在某些肽和核苷酸的样品上初步取得了试验成果。FAB的不足之处, 一是低于400质量范围内甘油本底的影响较大; 二是非极性化合物(分子中无酸性或碱性中心, 无电荷)灵敏度显著下降。尽管如此, FAB所具有的各种特点, 足以在各个领域中, 尤其是生物化学领域中, 显示广泛的应用潜力。目前在我国已开始应用。

参 考 文 献

- (1) M. Barber, Chem. Comm., (7), 325(1981).
- (2) F. M. Devienne, C.R. Acad. Sci., 262, 696(1966).
- (3) M. Barber et al., Biom. Mass Spectrom., 8, 337(1981),
- (4) R. A. McDowell et al., 29th Annual Conf. on MS and Allied Topics, 355 (1981).
- (5) D. F. Hunt et al., ibid, 357(1981).
- (6) F. M. Devienne et al., Org. Mass Spectrom., 17, 173(1982).
- (7) VG Analytical, Application Notes 16 1981.
- (8) M. Barber et al., Biom. Mass Spectrom., 9, 265(1982).
- (9) G. Hansen et al., 29th Annual Conf. on MS and Allied Topics, 572(1981).
- (10) D. F. Hunt ibid, 357(1981).
- (11) U. Rapp et al., Finnigan MAT Report 7/0834, 1981.
- (12) R. Pesch et al., ibid 7/0829, 1981.
- (13) H. R. Schulten et al., Org. Mass Spectrom., 13, 361(1978).
- (14) M. Barber et al., Biom. Mass Spectrom., 8, 492(1981).
- (15) A. Dell et al., ibid, 9, 158(1982),
- (16) R. A. McDowell et al., 29th Annual Conf. on MS and Allied Topics, 355 (1981).
- (17) M. Barber et al., Biochim. Biophys. Res. Comm., 102, 130(1981). ibid, 101, 632(1981).
- (18) K. L. Rinehart, 29th Annual Conf. on MS and Allied Topics, 369(1981).
- (19) M. Barber et al., VG Insight №10, 1980.
- (20) J. J. Monaghan et al., 12th Meeting B.M.S.S., T-1 (1981).
- (21) H. J. M. Fitches et al., 29th Annual Conf. on MS and Allied Topics, 353(1981).

Fast Atom Bombardment——A New Soft Ionization Technique

Wang Conghui

(Yanjiang Science and Technology Service Company, Beijing)

Yang Jie, Li Yiyu

(The Measuring Centre, Ningxia Hui Autonomous Region)

Received 2 Feb. 1983

Abstract

FAB is a new developed ionization technique. In this paper, the experimental methods, apparatus, and the range of application are reported.

The prospects of FAB have been shown in some enumerated advantages.

~~~~~

## 欢迎订阅《质谱学杂志》

本刊从1983年起改为季刊，读者欲订阅本刊请与编辑部联系（地址：北京2724信箱《质谱学杂志》编辑部）。