

高分辨飞行时间质谱仪的原理及设计

郝昆云 彭建和 韩 俊 高松梅 周红华 相秉仁 盛龙生*

(中国药科大学分析计算中心 南京 210009)

王 珣 张 蕾 黄水英 汪国良 李士丽 王成智

(中国科学院北京科学仪器研制中心 北京 100080)

[摘要]讨论了影响飞行时间质谱仪分辨率的因素,包括基质辅助激光解吸离子化所产生的对分辨率的影响因素。参照近代文献资料,提出了自行设计制造的飞行时间质谱仪的基本设计方案,指出这种仪器在我国的应用前景。

关键词:飞行时间质谱仪 脉冲离子引出技术 原理 设计

飞行时间质谱仪(time-of-flight mass spectrometer, TOFMS)在六十年代曾得到广泛的应用,但是随即被分辨率及灵敏度更高的扇形磁质谱仪和四极质谱仪所取代,其主要原因是当时缺乏在微秒时间内记录和处理质谱的技术。随着电子及计算机技术的发展,尤其是基质辅助激光解吸离子化(matrix-assisted laser desorption ionization, MALDI)技术的出现^[1],重新引起了人们对 TOFMS 的兴趣。TOFMS 易于制造和操作,在理论上无质量上限,与 MALDI 技术匹配,现代 TOFMS 采用快电子元件,具有很高的采样速率和灵敏度。但是,TOFMS 的分辨率较低,这是其主要缺点。本文将讨论如何提高仪器分辨率的原理及设计。

1 影响 TOFMS 分辨率的因素

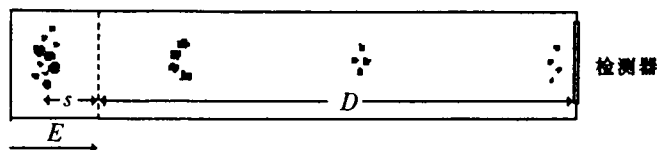


图 1 飞行时间质谱仪示意图

TOFMS 的基本原理如图 1 所示。主要由离子源加速区、漂移区及检测器组成。离子在离子源中形成后为电场 E 所加速进入漂移区,这是一个高真空无场区,经电场加速的离子通过这个区域到达检测器。离子通过漂移区的时间取决于其质荷比(m/z),这可由下式表示:

$$t = (m/2zeEs)^{1/2} D$$

式中, t 为飞行时间, m 是被测定离子的质量, z 是离子的电荷数, e 是电子的电荷, E 是加

1997-09-17 收

* 通讯联系人

速电场强度, s 是离子加速的距离, D 是离子经漂移区到达检测器距离。在一定的仪器条件下, 即 E 、 s 及 D 恒定, 离子的飞行时间直接取决于其质荷比。更严格的数学关系的讨论, 可参阅文献^[2]。

仪器的分辨率 R 可由下式表示:

$$R = m/\Delta m = t/2\Delta t$$

通常, Δm 或 Δt 由质谱峰的半峰宽(FWHM)计算。在 TOFMS 中, 使质谱峰变宽, 从而使分辨率下降的主要因素有离子的起始空间分布、离子的起始动能分布及离子形成时间的分布。

2 空间聚焦和反射器

离子的起始空间分布可用空间聚焦方法减少其对分辨率的影响。这个方法是在离子源中引入第二个加速区。选择适当的电场及尺寸可使起始空间位置不同的离子聚焦在某一点。Schlag 等^[3]用二次空间聚焦原理以得到较高的分辨率。二次空间聚焦点(见图 2)取决于 X_{A1} 、 X_{A2} 和 X_{SF} :

$$X_{A1} = \frac{X_{SF} - 2X_{A2}}{2(X_{SF} + X_{A2})} \left[X_{SF} \left(\frac{X_{SF} - X_{A2}}{3X_{A2}} \right)^{3/2} + X_{A2} \right]$$

而最后的离子动能 U 和第二个电极的电位 U_{A2} 间的关系为:

$$U_{A2} = U(2X_{SF} + 2X_{A2})/3X_{SF}$$

总的飞行时间 $t = t_{A1} + t_{A2} + t_{SF}$

$$t_{A1} = 2X_{A1}(m/U_{A1})^{1/2} C$$

$$t_{A2} = 2X_{A1}(U_{A2} m^{1/2}(U^{1/2} - U_{A1}^{1/2}) C$$

$$t_{SF} = X_{SF}(m/U)^{1/2} C$$

式中, $U_{A1} = U - U_{A2}$; m 为离子的质量, Dalton; $C = (m_p/2q)^{1/2}$, 其中 m_p 为质子的质

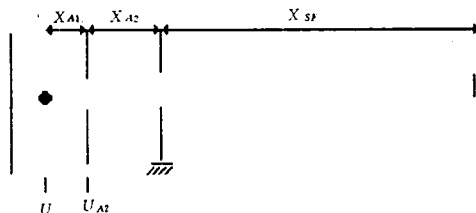


图2 二次空间聚焦

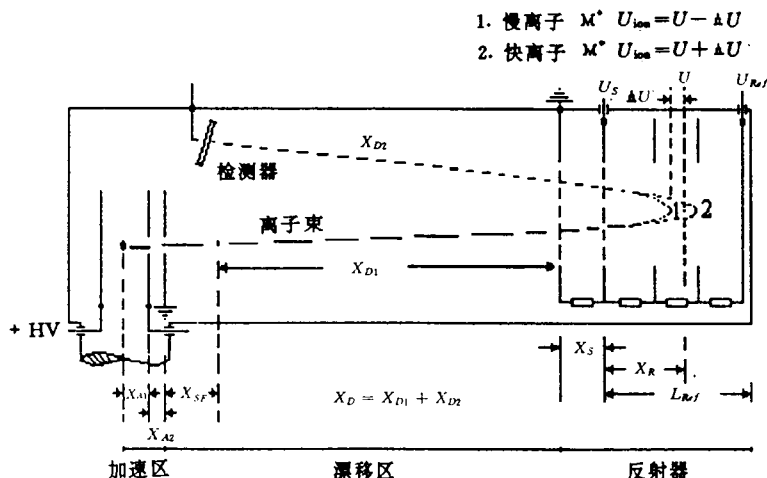


图3 反射式TOFMS简图

1. 慢离子 $M^+ U_{\text{ion}} = U - \Delta U$
2. 快离子 $M^+ U_{\text{ion}} = U + \Delta U$

量, q 为电子的电荷。

选择适当的 X_{A1} 和 X_{A2} , 可得到适当的飞行距离 X_{sf} , 以达到较高的质量分辨。

在焦点之后, 由于离子的动能分布造成分辨率下降, 这一影响可用能量补偿装置, 如反射器(reflectron)加以校正。

反射器是 TOFMS 领域中的一个重要发明^[4]。反射器通常由两个电场(减速/加速和反射)所组成(图 3)。为易于理解反射器的功能, 可取离子源的焦点为某一定质量的离子的飞行起点, 假定此时没有空间和时间分布, 但具动能分布。经漂移距离 X_{D1} 后, 具较高动能的离子首先进入反射器, 跟随其后的是动能较低的离子。前者由于动能较大因而进入反射器的深度较后者更深, 导致在反射器中的滞留时间较长。适当的选择电位和尺寸, 可使高能离子在无场漂移区飞行时间较短的问题由在反射器中较长的停留时间补偿。反射器可采用对称设计($X_{D1} = X_{D2}$)。当某一质量的离子在反射器中减速、停止, 然后反射时, 取这一停止点并把反射器看作是一个大的离子源, 则此“离子源”也可用空间聚焦原理设计使焦点恰好落在检测器表面。

配备反射器的 TOFMS 称为反射式 TOFMS, 而未配备反射器的仪器称直线型(linear) TOFMS。

3 离子的延迟引出(delayed extraction)技术

影响 TOFMS 分辨率的另一个因素是离子形成时间的分布, 它在 MALDI 实验中是一个难于确定的参数。虽然可以假定离子是在激光脉冲的时间内形成的, 但未能经实验证实。有人提出在 MALDI 过程中, 离子的形成时间长于激光脉冲时间^[5]。如前所述, 通过空间聚焦和反射器可以校正空间和动能分布, 但是静电场 TOFMS, 包括反射式的仪器, 均不能校正离子形成时间的分布。在 MALDI/TOFMS 中, 还有一些其它因素影响分辨率, 如气相碰撞、亚稳裂解, 加合物等。因而 MALDI/TOFMS 的分辨率即使用反射式仪器也较差。

为了校正离子形成时间的分布, 也为减少 MALDI 中的一些其它因素对 TOFMS 分辨率的影响, 可以采用离子的延迟引出或脉冲引出(pulsed ion extraction)技术。早期, Wiley 和 Mcalren^[6]曾提出时间滞后聚焦(time-lag focusing)技术, 以减少起始动能分布的影响。其方法使离子在无场区生成, 经适当延迟时间后, 用一快速脉冲打开加速电场, 将离子引出。按照他们当时提出的理论, 时间滞后聚焦和空间聚焦对仪器参数的要求是相反的, 因而未能同时实现能量和空间聚焦。由于 DALDI 是一种表面离子化技术, 因而能量聚焦将大大提高仪器的性能。参照他们的理论, 适当的延迟时间(τ , 以 μs 计)对于在检测器平面上实现一级能量聚焦可由下式确定:

$$\tau = 0.144 d_a (m/z V_x)^{1/2} [1/w + (T_o/V_x)^{1/2}]$$

式中, d_a 为第一个电场的长度(mm); m/z 为离子的质荷比, V_x 为引出脉冲的幅值(V); T_o 为离子最可能的初始动能(eV); w 由下式给定:

$$w = (x/1 + x)^{3/2} [(L/2d_a) - (d_o/d_a)(1 + x)] + x(d_o/d_a) - 1$$

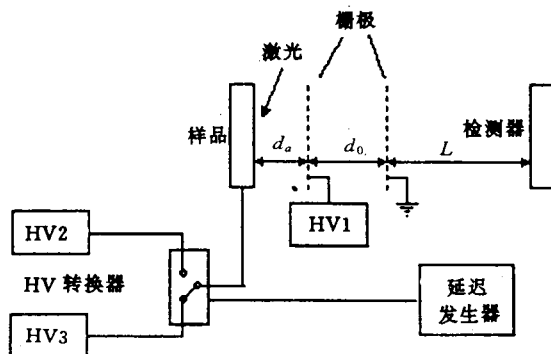


图 4 离子的延迟引出框图

此处, $x = V_2/V_1$, V_1 为加在中间栅极上的电位; L 是漂移区长度; d_0 为第二加速场的长度(参见图4)。

对于一级空间聚焦, 加速场电位需调至 $w = 0$; 而对于能量聚焦, w 必须大于零。

这个理论用于反射式仪器时需调节操作条件, 使一级时间聚焦在接近漂移区的入口处, 此时,

$$w = x(d_0/d_a) - 1$$

在引出场一定时, 对于低至中等质量的离子, 延迟时间大约比例于 m/z 的平方根, 对于高质量的离子, 需增加延迟时间亦可保持延迟时间一定, 增加引出场强度使高质量的离子实现聚焦。

近来, 有若干研究小组在 TOFMS 上采用离子延迟引出技术^[17-18]。在仪器的设计中, 将脉冲离子引出和强离子源加速电场结合起来, 以达到高分辨率和高灵敏度的要求。胰岛素(平均分子量 5733.5)的同位素峰几乎达到基线分离($R = 12500$)。参照他们的工作, 我们的基本设计如下:

3.1 直线型 TOFMS 具有较长的漂流区

直线型 TOFMS 由于结构简单、造价低、灵敏度及质量范围较高、操作简便, 故得到了广泛应用, 我们采用较长的漂流区(1.5 m), 以提高仪器的分辨率。仪器采用两套真空系统, 一套在离子源处, 另一套在漂流区, 真空度为 10^{-5} Pa。

如加上反射器, 由于提供了一个能量聚焦装置及增加了离子的飞行距离, 在许多情况下, 可以进一步提高分辨率。但是, 增加了仪器设计及制造的要求, 此外, 在 MALDI/TOFMS 中, 分辨率的提高常常并不显著。主要问题是 MALDI 产生的离子具有较宽的动能分布。此外, 解吸在强电场中发生时, 离子与激光轰击样品时产生的中性烟云碰撞, 导致能量损失, 进一步加大了能量分散。有人测量了 MALDI 产生的分子离子的动能, 对胰岛素分子离子的能量损失为 24 eV, 能量损失随分子离子信号强度、样品分子量的增加而增加, 负分子离子能量的损失较正分子离子更大^[11]。

另一方面, 亚稳裂解也是影响 TOFMS 性能的一个问题。如果分子离子在飞行管道中裂解, 碎片离子与其母离子具有相同的速度, 但动能不同。反射器为一减速/加速电场, 对母离子、子离子及中性碎片将产生不同的影响, 使之分离, 从而降低了分子离子的信号, 但是提供了一定的结构信息。通常, 对于子离子的聚焦是很差的, 尤其是当子离子在二级反射电场的第一级反射时更甚。如裂解在反射器中发生, 离子将不能聚焦。

3.2 强加速电场及脉冲离子引出技术

离子源采用强加速电场增加高质量离子的飞行速度, 从而提高离子的检测效率, 同时, 将减少起始动能分布对分辨率的影响。因此, MALDI/TOFMS 的加速电场设计为 20 kV 以上。

脉冲离子引出采用可调(0~3 kV)脉冲电源叠加在约 20 kV 的静电加速场上。脉冲宽度及延迟时间由延迟发生器控制, 通常脉冲宽度为几十微秒, 延时为几百毫微秒。

延迟引出技术将离子的产生和引出阶段分开, 这样离子形成的时间分布不再成为影响分辨率的一个问题。由激光产生的烟云将被真空系统抽除, 从而气相碰撞引起的能量损失降低至最少限度。在延迟时间内, 离子按其起始动能分散, 当加上脉冲引出场时, 靠近离子源出口的离子处在较低的静电场处, 而远离出口处的离子处在较高的静电场, 随着离子的加速, 这一差别有助于补偿起始速度分布对离子飞行时间的影响。所有这些性能, 使 TOFMS 的分辨率得以提高, 延迟引出技术使得亚稳裂解在离子源中发生后再将母离子

及子离子加速引出,解决了亚稳裂解造成的分辨率下降,同时也可获得化合物的结构信息。

3.3 短脉冲宽度激光器

我们采用氮激光器,脉冲宽度 4 ns,光谱输出 337.1 nm,光谱宽度 0.1 nm,脉冲能量 300 μ J,峰功率 85 kW,光束发散度 < 0.3 mrad。短脉冲激光在离子源中产生分立的离子云,由于是从样品表面解吸的,故起始空间分布可以忽略。短激光脉冲也减少了样品在解吸过程中发生的分解。

光束的发散度小,便于聚焦以达到适当的激光功率密度。激光的功率密度是 MALDI 的重要实验参数,通常接近 10^7 Wcm $^{-2}$ 。激光的入射角对实验结果几乎没有影响。我们拟采用对平面为 15° 的入射角。

3.4 双微通道板检测器及数据采集处理系统

检测器采用双微通道板(microchannel plates, MCP),因为 TOFMS 要求使用聚焦平面离子检测器且双 MCP 具较高的增益。

TOFMS 需要要在 100 μ s 左右时间内采集一质谱,因此高速信号采集和数据处理系统是十分重要的,我们拟采用 PC 机为基础的系统,瞬态板由国内有关快电子实验室提供,规格 200 MHz。

3.5 电子轰击(EI)附件

目前,商品化的仪器主要是 MALDI/TOFMS,主要用于大分子的分离分析。我们拟加上电子轰击离子源附件,以分析小分子化合物,从而扩大仪器的应用范围。此外,可将激光解吸或 MALDI 与 EI 结合起来,实现 LD/EI 或 MALDI/EI,进一步扩大应用。

4 展望

随着离子化技术、离子光学和电子元件的发展,TOFMS 得到了日益广泛的应用。采用脉冲离子引出大大提高了 TOFMS 的分辨率及 MALDI 质谱的质量。由于 TOFMS 的灵敏度及质谱采集速度很高,与色谱和毛细管电泳法的联用亦有优点,可以展望 TOFMS 不久在我国将得到广泛应用。

参 考 文 献

- 1 Karas M, Bachmann D, Bahr U, Hillenkamp F. Int J Mass Spectrom Ion Processes, 1987, 78:53
- 2 Guilhaud M. J Mass Spectrom 1995, 30:1519
- 3 Boesl U, Weinkauff R, Schlag E W. Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes, 1992, 112:121
- 4 Mamyrin B A. Russian Patent No. 198034(1996)
- 5 Beavis R C, Chait B T, In Ion Formation from Organic Solids(IFOS V), Proceedings of the 5th International Conference, Hedin A, Sundqvist BUR, Benninghoven A, Eds, Wiley, Chichester(England), 1990. 125
- 6 Wiley W C, McLaren I H. Rev Sci Instrum, 1995, 26:1150, U.S. Patent 2,685,035
- 7 Vestal M L, Juhasz P, Matrin S A. Rapid Commun Mass Spectrom, 1995, 9:1044
- 8 Brown R S, Lennon J J. Anal Chem, 1995, 67:1998
- 9 Whittall R M, Li L. Anal Chem, 1995, 67:1950
- 10 Colby S M, Reilly J P. Anal Chem 1996, 68:1419
- 11 Zhon J, Ens W, Standing K G, Verentchikov A. Rapid Commun Mass Spectrom, 1992, 6:671

Principle and Design of High Resolution Time-of-Flight Mass Spectrometer(TOFMS)

Yu Kunyun, Peng Jianhe, Han Jun, Gao Songmei, Zhou Honghua,
Xiang Bingren, Sheng Longsheng *

(Analytical Center & Computer Center, China Pharmaceutical University,
Nanjing 210009, China)

Wan Xun, Zhang Lei, Huang Shuiying, Wang Guoliang,
Li Shili, Wang Changzhi

(Beijing Research and Development Center of Scientific Instrument,
Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080, China)

Received 1997-09-07

Abstract

The factors which influence the resolution of TOFMS were discussed, including those produced by MALDI. Consulting to recent references, the preliminary design for self-assembled TOFMS was put forward. The prospect of the TOFMS was forecasted.

Key Words: TOFMS, pulsed ion extration technique, principle, design

* To whom the correspondence should be addressed.