

(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103456595 A

(43) 申请公布日 2013. 12. 18

(21) 申请号 201310239167. 9

(22) 申请日 2007. 05. 09

(30) 优先权数据

06009717. 7 2006. 05. 11 EP

(62) 分案原申请数据

200780016909. 4 2007. 05. 09

(71) 申请人 I. S. B. - 离子源及生物技术有限公
司

地址 意大利米兰

(72) 发明人 S · 克里斯托尼

(74) 专利代理机构 北京市中咨律师事务所

11247

代理人 杨晓光 于静

(51) Int. Cl.

H01J 49/10 (2006. 01)

H01J 49/16 (2006. 01)

H01J 49/04 (2006. 01)

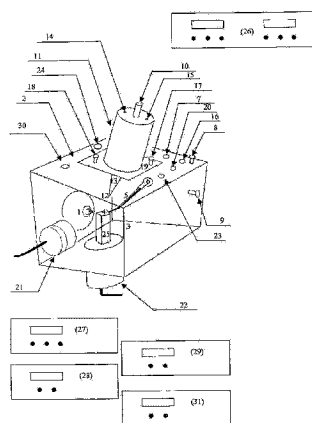
权利要求书2页 说明书9页 附图13页

(54) 发明名称

用于质谱法的电离源设备和方法

(57) 摘要

本发明提供一种电离源,用于称为通用软电离源(USIS)的质谱仪,其中电离腔结合各种物理效应,包括红外和紫外标准或激光、超声、静电势和差动温度,以分析极性、非极性,低、中、高分子量的分子,用以电离各种化合物。



1. 一种用于对液相被分析物进行电离的电离源设备,包含:
入口组件,与电离腔液体相通,所述电离腔具有出孔,用于在所述电离腔和质谱仪的分析器或过滤器之间相通;以及
盘,在所述电离腔内,具有至少一个活性表面,
其中,被分析物溶剂液滴被设置为碰撞所述盘的所述活性表面,在此处被分析物的中性分子发生电离。
2. 根据权利要求 1 的电离源设备,还包含喷雾器。
3. 根据权利要求 1 或 2 的电离源设备,其中被分析物分子被设置为溶于溶剂分子以形成团簇,并且其中当团簇与所述活性表面碰撞时,产生被分析物的负离子或正离子。
4. 根据权利要求 1、2 或 3 中任一项的电离源设备,还包含:电力供应,通过导电材料与所述表面相连接以对所述表面进行电学充电或极化。
5. 根据前述权利要求中任一项的电离源设备,还包含:电力供应,与压电装置相连,用于在所述表面的范围内产生超声。
6. 根据前述权利要求中任一项的电离源设备,还包含:UV-VIS 或 IR 激光或灯,与外部电力供应相连,用于向所述表面照射光。
7. 根据前述权利要求中任一项的电离源设备,还包含:外部电力供应,通过连接器与法拉第盒相连,用于向所述电离腔施加微波。
8. 根据前述权利要求中任一项的电离源设备,还包含:闭合管道,与所述活性表面以及泵相连,用于产生不同的压强。
9. 根据前述权利要求中任一项的电离源设备,还包含:电力供应,用于向插入在所述表面内的电阻施加电势以对所述表面进行加热。
10. 根据前述权利要求中任一项的电离源设备,还包含:电力供应,与位于所述表面上的玻尔帖装置相连,用于对所述表面致冷。
11. 根据前述权利要求中任一项的电离源设备,其中,被分析物的分子在所述活性表面上电离并被集中到质谱仪分析器入口内。
12. 根据前述权利要求中任一项的电离源设备,其中所述盘用不导电材料涂覆,以形成所述至少一个活性表面。
13. 根据权利要求 12 的电离源设备,其中所述不导电材料包括选自玻璃或石英的硅石或硅化物衍生物,或选自 PTFE、塑料、聚氯乙烯(PVC)、聚乙二醇(PET)的聚合材料。
14. 根据前述权利要求中任一项的电离源设备,其中所述盘以一角度相对于所述入口组件的轴倾斜,并且其中所述盘的角度通过使用连接到外部电力供应的计算机或手动控制的电子设备改变。
15. 根据前述权利要求中任一项的电离源设备,其中所述入口组件包含用于馈送被分析物溶液的入孔,和与所述入孔液体相通的内部管道,所述内部管道包括雾化区域和充电区域,并结束于所述电离腔内部。
16. 一种质谱仪,包含根据前述权利要求中任一项的电离源设备。
17. 根据权利要求 16 的质谱仪,还包含:
器件,优选地为液相色谱仪,用于对样品中包含的分子进行分离或除盐;
至少一个分析器或过滤器,根据离子的质荷比对其进行分离;

对离子数量进行计数的探测器 ;以及
数据处理系统,计算和绘制被分析物的质谱。

18. 一种对液相被分析物进行电离的方法,该方法包含 :

提供电离源设备,所述电离源设备包含入口组件,所述入口组件与电离腔液体相通,所述电离腔具有出孔,用于在所述电离腔和质谱仪的分析器或过滤器之间相通 ;

在所述电离腔内设置盘,所述盘具有至少一个活性表面 ;以及

使得被分析物溶剂液滴碰撞所述盘的所述活性表面,在此处被分析物的中性分子发生电离。

19. 根据权利要求 18 的方法,还包括 :

将被分析物溶解于溶剂中 ;以及

将所述被分析物溶液注入所述电离源设备中。

20. 根据权利要求 19 的方法,其中所述被分析物被溶于选自 H₂O、醇、乙腈、氯仿、四氢呋喃的偶极溶剂中。

21. 根据权利要求 19 或 20 的方法,还包括使得所述被分析物溶液被雾化。

22. 根据权利要求 21 的方法,还包括使得所述雾化的被分析物溶液撞击到所述活性表面上。

23. 根据权利要求 18-22 中任一项的方法,还包括使得电离的被分析物被质谱仪的分析器或过滤器所收集。

24. 根据权利要求 18-23 中任一项的方法,还包括将所述表面的温度保持于 -100°C 到 700°C 之间,优选地为 100°C 到 200°C 之间。

25. 根据权利要求 18-24 中任一项的方法,还包括向所述活性表面施加介于 0 到 15000V 之间,优选地为 0 到 1000V 之间,更优选地为 0 到 200V 之间的电势差。

用于质谱法的电离源设备和方法

[0001] 本申请是申请日为 2007 年 5 月 9 日、申请号为 200780016909.4、发明名称为“用于质谱法的电离源设备和方法”的申请的分案申请。

发明领域

[0002] 本发明涉及质谱领域,更具体地涉及一种设备和方法,使得可以利用一种独一的电离源电离不同的化学化合物,与普通的电喷雾(ESI)和大气压化学电离(APCI)技术相比,可以大大提高灵敏度。

[0003] 发明背景

[0004] 质谱法是一种广泛传播的技术,用于各种极性和非极性化合物的分析。特别地,液相色谱法已经被用于分析各种极性程度和各种分子量的化合物。实际上,这些化合物的表征和量化很受关注,新的方法学不断被开发以用于对它们的分析。近年来,开发了各种技术用来通过质谱法分析各种分子。例如,成瘾药物的分析是液相色谱法-质谱法最近作出了很大贡献的领域之一。(Cristoni S, Bernardi LR, Gerthoux P, Gonella E, Mocarelli P. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2004;18:1847; Marquet P, Lachatre G. J. *Chromatogr. B Biomed. Sci Appl.* 1999;73:93; Sato M, Hida M, Nagase H. *Forensic Sci Int.* 2002;128:146)。特别地,该技术使得能够直接从尿液样品中分析成瘾药物化合物,而不需经过衍生反应。(Cristoni S, Bernardi LR, Gerthoux P, Gonella E, Mocarelli P. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2004;18:1847)。而实际上,当使用气相色谱质谱法(GC-MS)对这些化合物进行分析时,该反应是必不可少的,从而增加了分析的成本。另外一个受到关注的领域是大分子例如蛋白质、肽以及寡核苷酸的分析。(Kim SY, Chudapongse N, Lee SM, Levin MC, Oh JT, Park HJ, Ho IK. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 2005;133:58; Cristoni S, Bernardi LR. *Mass Spectrom. Rev.* 2003;22:369; Cristoni S, Bernardi LR, Biunno I, Tubaro M, Guidugli F. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2003;17:1973; Willems AV, Deforce DL, Lambert WE, Van Peteghem CH, Van Boclaer JF. *J. Chromatogr. A.* 2004;1052:93。)一旦这些分子通过了电离源,带电的分子就被利用一个质谱分析仪(离子阱(IT),飞行时间(TOF),傅立叶变换离子回旋共振(FTICR),四级杆,三重四级杆(Q1Q2Q3)等)进行分析。

[0005] 电离源是质谱仪中的一个关键组件。它将中性分子转化为可被质谱法分析的离子。必须强调,由于需要根据要被电离的化合物的物理化学特性来使用各种物理化学电离效应,所以为了电离被分析物,需要使用各种电离源。实际上,用的最多的电离源是电喷雾(ESI)、大气压化学电离(APCI)和基质辅助激光解吸电离(MALDI)技术,这些技术对于在气相下产生进而要通过质谱法进行分析的离子高度有效(Cristoni S, Bernardi LR. *Mass Spectrom. Rev.* 2003;22:369)。ESI和APCI对液相样品操作,而MALDI用于分析固态样品。

[0006] 对于ESI的情形,一个很强的电场被用于蒸发和电离被分析物。在这种情形下,产生中/高分子量的化合物(例如蛋白质和寡核苷酸)的多电荷离子(每个分子给出多于一个的信号)。如此所获得的质谱很难分析,可以用特定的软件算法进行数据分析(Pearcy

J0, Lee TD. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 2001;12:599; Wehofsky M, Hoffmann R. *J. Mass Spectrom.* 2002;37:223)。低分子量的化合物由于形成单电荷离子(每个分子仅产生一个信号),因此通常产生较容易分析的质谱。因此,这种电离源主要用于分析具有低、中、高分子量的中极性和高极性化合物。

[0007] 在 APCI 的情形中,样品首先在高温下(250–500°C)被气化,然后通过一个高电压(2000–8000V)下放置的针尖所产生的电晕放电效应进行电离。这种电离途径可用于分析低分子量(分子量 <600Da)中低极性(如类固醇等)化合物。

[0008] 在 MALDI 情形中,产生低电荷态分子(典型地为单电荷或双电荷离子)。在该情形下,被分析物与基质化合物共结晶,该基质化合物可以吸收波长为 337nm 的紫外光。然后共结晶的样品被放置于一个真空区域(10^{-8} 托)并用波长为 337nm 的紫外激光照射。一种微爆炸现象,称为“烧蚀”,发生于晶体表面,使得被分析物和基质被气化。此外,被分析物被典型地发生于被分析物和基质之间的各种反应所电离。此种途径通常被用来分析具有各种极性的高分子量化合物。

[0009] 以上所述的所有电离途径均不适用于分析非极性化合物如苯,甲苯等。因此,一种新的电离源,称为大气压光电离被开发并用于分析各种化合物(Raffaelli A, Saba A. *Mass Spectrom Rev.* 2003;22:318)。像 APCI 情形中一样,液态的样品溶液在高温下被气化。然后被分析物被紫外光(10eV 的氩(Kr)光)照射并通过各种物理化学反应(主要是电荷和质子置换以及光致电离反应)进行电离。

[0010] 最近还开发了一种新的电离途径,称为“表面活化化学电离-SACI”,以提高市售质谱仪在分析各种从生物基质中提取出来的化合物时的性能(PCT No W02004/034011)。该设备基于引入一个用于在大气压腔中电离中性分子的表面。已经通过升级大气压化学电离(APCI)源获得了 SACI(Cristoni S, Bernardi LR, Biunno I, Tubaro M, Guidugli F. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2003;17:1973)。实际上,观察到将一带有盘状的活性表面的元素引入 APCI 电离腔可以产生超出预料的高灵敏度,并可能探测分子量在宽广数值范围内的分子(Cristoni S, Bernardi LR, Biunno I, Tubaro M, Guidugli F. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2003;17:1973;Cristoni S, Bernardi LR, Gerthoux P, Gonella E, Mocarrelli P. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2004;18:1847;Cristoni S, Sciannamblo M, Bernardi LR, Biunno I, Gerthoux P, Russo G, Chiumello G, Mora S. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2004;18:1392)。

[0011] 然而,不存在可以温和地电离所有化合物的电离源。这主要是由于其不同的物理化学属性,因此需要使用不同的物理化学效应,以使被分析物电离。

[0012] 本发明的目标和说明,以及相对于已有技术的改进

[0013] 本发明涉及一种方法和称为通用软电离源(USIS)的设备(图 1),能够电离所有类别的化合物并相对于通常使用的大气压电离(API)技术增加仪器灵敏度。本发明的核心基于这样一个表面,该表面上结合了各种物理化学刺激以放大电离效应。此种途径与 SACI(PCT No W02004/034011)极为不同。实际上,SACI 使用一个插入到大气压电离(API)腔中的电离表面,并简单地通过对其施加一个低电压(200V)来电离样品。与目前的 USIS 技术主要的区别是,仅有中等极化到高等极化的化合物可以通过 SACI 被电离。因此,虽然可达到更高的灵敏度,但可被电离的化合物的类别与 ESI 相同。必须指出,USIS 技术产生与 ESI

和 APCI 技术相比强烈提高的灵敏度。各种物理化学刺激 (UV 光, 隧道效应, 静电势, 超声以及微波) 在表面上的应用使得有可能对感兴趣的被分析物强烈电离, 并减少可能导致化学噪声增加从而降低 S/N 比的溶剂分子的电离。已经观察到, 被分析物通常通过电荷转移或质子转移反应被软电离 (被分析物的离子并不在电离源中分裂, 而完整地到达探测器)。

[0014] 本发明的另外一个创新方面是可能被用于大范围的实验条件下。通常 ESI 和 APCI 电离源的操作使用不同流量的被分析物溶液流入电离腔。特别地, ESI 典型地操作于低于 0.3 mL/min 的电离流量, 而 APCI 工作在 0.5-2 mL/min 的范围内。归功于物理化学电离效应的特定结合, USIS 电离源可以工作于整个流量范围 (0.010 - 2 mL/min)。这就可能以高仪器灵敏度分析任意化合物, 并强烈增加液相下操作的质谱仪器的多功能性。

[0015] 附图简要说明

[0016] 图 1

[0017] 示出根据本发明的 USIS 电离源的一个实施例。该设备的各部分是: (1) 质谱分析仪入口, (2) USIS 凸缘, (3) 空腔, (4) 表面, (5) 连接器, (6) 组件设备, (7) 电力连接器, (8) 螺杆, (9) 螺杆, (10) 样品入孔, (11) 入口组件, (12) 喷雾器区域, (13) 充电区域, (14) 喷雾器气体线路, (15) 喷雾器气体线路, (16) 电力连接器, (17) 螺杆, (18) 螺杆, (19) 组件, (20) 电力连接器, (21) UV-VIS 或 IR 激光器或灯, (22) UV-VIS 或 IR 激光器或灯, (23) 用于超声应用的电力连接器, (24) 用于灯或激光器的电力连接器, (25) 真空或气压下的管道, (26) 电力供应, (27) 电力供应, (28) 电力供应, (29) 电力供应, (30) 电力连接器, (31) 电力供应。

[0018] 图 2: (隧道效应)

[0019] USIS 电离途径中所使用的电离表面的放大图。

[0020] 图 3

[0021] 使用 USIS 可发生的质子转移电离反应。在该情形下, 分子被溶剂分子 (团簇) 所溶剂化。表面 (4') 利用各种效应 (超声、UV 光、静电势) 被激发, 以将这些物理效应的能量集中到表面上。当包含溶剂的团簇撞击被激发的表面 (4'), 溶剂从被分析物脱离, 由于质子交换或其它种类的反应产生正离子或负离子。施加在表面上的各种效应提供活化能, 以强烈增强电离活性。电离步骤为: A) 利用一喷雾器气流 (2.5 L/min 或更高) 将团簇喷洒到表面, B) 团簇与表面相撞, 以及 C) 溶剂通过与被激发的表面的反应而脱离后, 被分析物在表面上发生电离。

[0022] 图 4

[0023] USIS 电离源

[0024] 图 5

[0025] 分别利用 a) APCI、b) ESI 和 c) USIS 电离源对 50 ng/mL MDE 的溶液进行分析所获得的全扫描质谱。样品用水进行溶解。直接注入样品流量为 20 μ L/min。表面势、电喷雾针尖电压 (13) 和表面温度分别为 50V, 0V 和 110°C。UV 灯和超声被关闭。喷雾器气流量为 2 L/min。

[0026] 图 6

[0027] 分别利用 a) APCI、b) ESI 和 c) USIS 电离源分析尿样中所包含的 MDE 所获得的 MS/MS 质量色谱图。尿样在分析前被稀释 20 倍。梯度用两种相进行: A) 水 + 0.05% 蚁酸和 B)

CH₃CN+0.05% 蚁酸。特别地,15%的 B 相保持 2 分钟然后用 8 分钟执行从 15% 到 70% 的线性梯度,在 2 分钟内达到初始状态。获取时间为 24 分钟,以重新平衡色谱柱。使用的是热电 C8150x1mm 柱。洗脱剂流速为 100 μ L/min。表面势、电喷雾针尖电压(13)以及表面温度分别为 50V,0V 和 110°C。UV 灯和超声被关闭。喷雾器气流量为 2L/min。

[0028] 图 7

[0029] 分别用 a) APCI、b) ESI 和 c) USIS 电离源来分析 100ng/mL 精氨酸标准溶液所获得的全扫描质谱。样品用水溶解。直接注入样品流量为 20 μ L/min。表面势、电喷雾针尖电压(13)以及表面温度分别为 50V,0V 和 110°C。UV 灯被关闭,超声被开启。喷雾器气流量为 2L/min。

[0030] 图 8

[0031] 分别使用 a) APCI, b) ESI, 和 d) USIS 电离源分析从人血浆样品中提取的精氨酸所获得的 MS3 质量色谱。梯度采用两种相进行 :A) CH₃OH/CH₃CN1 :1+0.1% 蚁酸 + 甲酸铵 (20 μ mol/L) 和 B) H₂O+0.1% 蚁酸 + 甲酸铵 (20 μ mol/L)。使用基于以相 A 作为蛋白质沉淀剂的蛋白质沉淀方法从血浆中提取精氨酸。使用 4% 的 B 在等强度条件下进行分析。获取时间为 6 分钟,以重新平衡色谱柱。使用水 SAX100x4.1mm 柱。洗脱剂流速为 1000 μ L/min。表面势、电喷雾针尖电压(13)以及表面温度分别为 50V,0V 和 110°C。UV 灯被关闭,超声被开启。喷雾器气流量为 2L/min。

[0032] 图 9

[0033] 分别使用 a) APCI, b) ESI and c) USIS 电离源获得的 3 μ g/mL 的 P2 肽 (PHGGGWGQPHGGGWGQ 分子量 :1570) 标准溶液的全扫描 MS 直接注入分析。样品用水溶解。直接注入样品流量为 20 μ L/min。表面势、电喷雾针尖电压(13)以及表面温度分别为 50V, 350V 和 50°C。UV 灯被关闭,超声被开启。喷雾器气流量为 2L/min。

[0034] 图 10

[0035] 分析分子量为 6138Da 的寡核苷酸的 10⁻⁷M 溶液所获得的质谱。溶液中存在 1% 的三乙胺 (tryethylamine)。使用了以下的大气压电离源 :a) APCI, b) ESI 和 c) USIS。可以看出,在情形 a)、b) 和 c) 中,未探测到寡核苷酸离子信号,而在情形 d) 中,清晰地探测到了该信号。计数 / 秒的值为 10⁷,丰度最高峰的 S/N 比为 150。表面势、电喷雾针尖电压(13)以及表面温度分别为 50V, 350V 和 50°C。UV 灯被关闭,超声被开启。还示出了反卷积谱,其中示出了使用 USIS 获得的所分析的寡核苷酸的分子质量(参看谱 c)。

[0036] 图 11

[0037] 分析分子量为 6138Da 的寡核苷酸的 10⁻⁷M 溶液所获得的质谱。溶液中有 1% 的三乙胺和浓度为 5*10⁻⁶M 的 NaCl 盐。使用了以下的大气压电离源 :a) APCI, b) ESI, 以及 c) USIS 电离源。可以看到,在该情形中,同样只有使用 USIS 电离途径,才能探测到寡核苷酸多电荷信号。计数 / 秒的值为 10⁶,丰度最高峰的信噪比 S/N 为 30。表面势、电喷雾针尖电压(13)以及表面温度分别为 50V, 350V 和 50°C。UV 灯被关闭,超声被开启。还示出了反卷积谱,其中示出了使用 USIS 获得的所分析的寡核苷酸的分子质量(参看谱 c)。

[0038] 图 12

[0039] 分别使用 a) APCI, b) ESI 和 c) USIS 电离源分析 50ng/mL 标准雌二醇溶液所获得的全扫描质谱。样品用 CH₃OH 溶解。直接注入样品流量为 20 μ L/min。表面势、电喷雾针尖电

压(13)以及表面温度分别为 50V, 0V 和 110°C。UV 灯被开启, 超声被关闭。喷雾器气流量为 2L/min。

[0040] 图 13

[0041] 分别使用 a) APCI、b) ESI 和 c) USIS 电离源分析 50ng/mL 标准雌二醇溶液所获得的全扫描质谱。样品用 CH₃CN 溶解。直接注入样品流量为 20 μL/min。表面势、电喷雾针尖电压(13)以及表面温度分别为 50V, 0V 和 110°C。UV 灯被开启, 超声被关闭。喷雾器气流量为 2L/min。

[0042] 本发明的优选的实施方式说明以及应用实例

[0043] USIS 电离源的示意图在图 1 中展示。USIS 电离源产生质谱仪在大范围实验条件下(例如极性和非极性溶剂、各种流速等)进行分析的离子。

[0044] 质谱仪包含一个电离源、一个通过质荷比对离子进行分离的分析仪或过滤器、一个用于对离子进行计数的探测器以及一个数据处理系统。由于质谱仪的结构是传统的, 所以不对其进行详细描述。本发明的电离源器件包含一个入口组件(11), 其与一电离腔(3)液体相通。

[0045] 电离腔(3)包含一个出孔(1), 其直径一般小于 1mm, 用于在电离腔和分析仪或过滤器之间互通。一般地, 入口组件(11)的轴与穿过所述孔的轴的夹角大约是 90°, 但也可以设计不同的相对位置。在电离腔(3)内部放置有一个盘(4)。该盘(4)具有至少一个活性表面(4'), 其面向入口组件(11)的内开口。优选地, 该盘(4)相对于喷雾器(12)的轴垂直或呈 45° 角(图 2 和 3)。不同的物理电离效应(如 UV 辐射, 超声和静电势)可被集中于表面, 以强烈增加电离效率。另外, 还增加了该途径的选择性。实际上, 表面上不同的物理电离效应的结合允许对感兴趣的被分析物进行选择性的电离。

[0046] 该盘(4)可具有不同的几何结构和形状(如图 2 和 3), 例如正方形、矩形、六角形等等, 而不因此偏离本发明的范围。已经发现当活性表面(4')增大, 则分析的灵敏度增加。因此, 盘(4)表面优选地分布于 1cm² 到 4cm² 之间, 并且一般地其上限由电离腔(3)的实际尺寸所规定。在保持盘(4)的尺寸不变下, 活性表面(4')的面积仍可通过多种方式增加, 例如, 通过在表面(4')产生褶皱。在特殊的情形中, 例如当必须分析高分子量分子时, 需要高的电场幅度。在这些情形下, 提供具有多个点状褶皱的活性表面(4')对于增加其中的电场幅度可能是有利的。也观察到, 当通过将表面(4')与喷雾器(12)的轴垂直放置, 并施加一个通过雾化区域(12)的强气流(典型地为 10L/min 或以上流量的氮气)而产生一个强湍流时, 灵敏度强烈增加。可以使用相对于入口组件(11)的各种几何结构和角度, 以增加湍流效应。优选的配置为表面(4')相对于喷雾器区域(12)的轴呈垂直或 45° 放置, 并且表面靠近质谱仪的入孔(1)附近, 以产生溶剂被分析物团簇的多次碰撞现象, 该现象导致被分析物的电离并将气流和被分析物离子导向入孔(1)。通过入口系统(11)的被分析物溶液的流量可在 0.0001-10000 μL/min 之间, 优选的流量为 100 μL/min。

[0047] 活性表面(4')可由各种材料制成, 其性质可为导电或不导电的。优选的材料可为铁、钢、铜、金或铂等金属, 硅石或硅化物材料如玻璃或石英, 聚合材料如 PTFE(特富龙)等。当活性表面(4')由不导电材料组成时, 盘(4)的主体将由导电材料制成, 如金属, 并且其至少一个面将被不导电材料以层或薄膜的形式所涂覆, 以产生该活性表面(4')。例如, 一不锈钢盘(4)可用 PTFE 膜涂覆。实际上, 重要的是, 即使活性表面(4')由不导电材料制成, 该活

性表面(4')仍要经受电荷极化。这可通过从电力供应(26)向盘体施加电势差,从而通过感应活性表面(4')上也引起极化来实现。另一方面,如果表面(4')是导电的,则盘(4)不需被涂覆。在该情形下,即使不施加电势差,本发明的电离源也可实现良好性能,即将表面(4')保持在地电势并允许其漂移(float)。但是,如果向导电表面(4')施加潜在的电荷极化,也可获得该结果。

[0048] 盘(4)通过连接工具(5)与把手工具(6)进行接通,把手工具(6)允许盘(4)沿所有方向移动。把手工具(6)可移入电离腔内,并可被旋转。连接工具(5)可由不同的导电材料制成,并可具有各种几何结构、形状和尺寸。优选地,其形状和尺寸被制造为有利于盘(4)在倾斜位置下的定向。盘(4)与电力供应工具(26)电连接,以向活性表面(4')施加电势差。盘(4)一般具有0.05到100mm之间的厚度,优选的厚度在0.1到3mm之间。

[0049] 可向表面(4')施加各种物理刺激。激光(21)可照射表面(4'),以提高撞击表面(4')或沉积在表面上的被分析物的电离。激光使用各种波长(典型地在0,200到10.6 μm 之间)工作于在紫外-可见(UV-VIS)或红外(IR)光谱段内,优选的波长是对于UV-VIS波段为337nm,对于IR波段为10.6 μm 。灯、UV激光连接到一市售的外部电力供应(27)。一吸收UV-VIS或IR波长的分子被添加到样品溶液中以进一步提高电离效率。例如,芥子酸(synapinic acid)或咖啡酸可用于此目的。这些分子实际上通过激光照射被激发。这些激发的种类与样品分子起反应,并导致被分析物离子的形成。UV-VIS或IR灯(22)也可以用于照射表面(4)以及通过入口设备(11)到达表面(4)的液态样品。表面(4)或者(4')在与光子相互作用时,可导致电子或其他离子的形成,这可将被分析物分子电离。激光和灯光可以置于电离腔之内或者之外,并可照射溶剂和表面(4)或(4')或通过一附近的管道(25)仅照射表面(参见图2的放大图),该管道可避免溶剂和被分析物直接与光相互作用。当与泵相连时,管道可处于真空中;而当真空泵关闭时,管道处于大气压。当设备在真空下运行时,有可能使用隧道效应来对被分析物进行电离,以减少化学噪声。在该情形中,表面必须要薄(0.05-0.1mm,优选是0.05mm)以允许管道中产生的电子从表面中穿过并与被分析物相互作用,最终导致其电离。实际上,激光或UV光与喷雾器气体和溶剂的直接相互作用可导致大量带电溶剂种类的形成,从而导致化学噪声强烈增加。将激光和灯光与薄表面进行连接的管道可保持在各种压强下(真空、大气压)并用不同的气体填充(例如空气、氮气)。另外,表面(4)的温度可通过与插在表面(4')内的电阻进行连接的市售电力供应(31)而改变。表面通过市售的电力供应而被冷却,该电力供应还与安放在表面(4')上的一个珀耳帖设备进行连接,从而有可能对表面致冷。表面(4)的温度可在-100 $^{\circ}\text{C}$ 到+700 $^{\circ}\text{C}$ 之间,优选的温度为25 $^{\circ}\text{C}$ 到100 $^{\circ}\text{C}$ 之间。一电力连接器(16)或(23)使得可以通过表面(4)或(4')对电离腔(3)施加超声激发效应,该表面经受通过与连接器(16)或(23)连接的电力供应(26)所产生的超声电离效应,所述连接器通过导电材料(铜、钢、金)与表面(4')进行连接,并与连接到表面(4')上并产生超声的压电设备进行连接,所述超声频率为40-200kHz,优选为185-190kHz之间,更优选的频率为186kHz。现在对入口组件(11)进行说明,包含被分析物的液态样品通过样品入孔(10)被引入到腔中。入口组件(11)包含一个内部管道,通过所述入孔(10)向外开放,所述内部管道引到一雾化区域(12)。所述雾化区域与至少一个、典型地为二个气体线路(14)、(15)液体相通(该气体典型地为氮气),所述气体线路以不同的角度与样品的主要流通相交,以进行将被分析物溶液雾化和将其带往电离腔(3)两项功能。

一电力连接器(23)可被用于在区域(13)和质谱仪的入口(1)之间施加电势差。该电势差可设定为-10000V和10000V之间,优选地为-1000V到1000V之间,但一般采用0-500V。该电势差可用于a)在溶液中产生被分析物离子,以及b)通过电喷雾效应蒸发溶剂和被分析物,从而使得可以产生被分析物气相离子。电力连接器(7)使得可以通过连接在热电阻或珀耳帖设备上的市售电力供应(31)设定雾化器区域(12)和表面(4')的温度,所述热电阻或珀耳帖设备插入在雾化器区域(12)和表面(4')内。该温度可在-100℃到+700℃之间。优选的温度在100-200℃范围内,更优选的温度为200℃。入口组件(11)的内部管道结束于电离腔(3)的内部,其结束位置使得被分析物溶剂液滴碰撞盘(4)的活性表面(4'),在此处被分析物的中性分子发生电离。多种化学反应可能在表面上发生而不限于任何特定理论:如质子转移反应,与热电子的反应,与位于表面上的活性分子的反应,气相离子分子反应,静电感应或光化学效应引起的分子激发。例如,一种可能的电离机制示于图3。在该情形下,被分析的分子溶于溶剂分子(团簇)。当所述团簇与电离表面碰撞,溶剂与被分析物脱离,导致产生被分析物的负离子或正离子。另外,也可能是偶极溶剂通过其上所感应的电荷极化的手段被活性表面(4')所吸引,从而允许去质子化或质子化源形成离子。如上所述,可允许盘(4)漂移,且可施加电势差。这样的电势差,其绝对值优选地在0到15000V范围内(实际中,可在0V到1000V之间,取决于活性表面(4')上所需的极化的种类),优选地在0到500V之间,更优选地在0到200V之间。

[0050] 电离腔(3)也可通过USIS凸缘(2)受微波激发,从而向电离腔(3)施加微波。微波通过内部电力供应(28)进行施加,该电力供应通过连接器(20)与法拉第盒相连。微波频率可在915到2450MHz之间,优选地在2000到2450MHz之间,更优选地为2450MHz。微波主要用于蒸发水。

[0051] 总结起来,本发明的本质特征在于将一个电离活性表面(4')暴露于不同的物理效应(至少两种)的组合,从而对大范围的有机被分析物(极性和非极性)进行电离。另外,本途径允许在一种目标化合物的分析中,灵敏度和选择性都得到提高。

[0052] 应该理解,以上的描述意在说明本发明的原则,而不用于限制任何进一步的更改,进一步的更改可由本领域内技术人员根据本专利申请的公布而获得。图4示出USIS电离腔的一种典型实施方式的典型内部视图。

[0053] 以下的示例进一步说明本发明。

[0054] 例1:稀释的尿样中MDE成瘾药物的分析

[0055] USIS电离源被用于分析3,4-亚甲二氧基乙基苯丙胺(MDE)成瘾药物。与通常使用的技术(ESI和APCI)相比,观察到灵敏度的提高。图5a、b和c分别示出分别利用APCI、ESI和USIS电离源对50ng/mL MDA的标准溶液进行分析所获得的全扫描直接注入谱。样品用水进行溶解。直接注入样品流量为20 μ L/min。表面势、电喷雾针尖电压(13)和表面温度分别为50V,0V和110℃。UV灯和超声被关闭。喷雾器气流量为2L/min。可以看到,在APCI光谱情形中,没有探测到MDE离子信号,在ESI情形中,存在很高的化学噪声。利用USIS技术,清楚地探测到m/z208处的[M+H]⁺MDE信号,从而获得全扫描光谱。使用USIS达到了好的信噪比(S/N:100)。

[0056] 图6a、b和c分别示出利用a)APCI、b)ESI和c)USIS电离源所获得的MDE的液相色谱-Tandem质谱分析(LC-MS/MS)结果。尿样在分析前被稀释20倍。梯度用两种相进

行 :A) 水 +0.05% 蚁酸和 B) CH_3CN +0.05% 蚁酸。特别地,15% 的 B 相保持 2 分钟然后用 8 分钟执行从 15% 到 70% 的 B 的线性梯度,在 2 分钟内达到初始状态。获取时间为 24 分钟,以重新平衡色谱柱。使用的是 ThermoElectron C_8 150x1mm 柱。洗脱剂流速为 $100 \mu\text{L}/\text{min}$ 。表面势、电喷雾针尖电压(13)以及表面温度分别为 50V,0V 和 110°C 。UV 灯和超声被关闭。喷雾器气流量为 $2\text{L}/\text{min}$ 。可以看到,唯一可以探测到 MDE 的技术是 USIS (S/N:120)。使用 MS/MS 途径所获得的高灵敏度和选择性使得可以清晰地识别 MDE。

[0057] 例 2 :精氨酸血浆样品的分析

[0058] 使用 USIS 电离源来分析血浆样品中的精氨酸。在该情形中,同样也观察到相对于通常使用的技术(ESI 和 APCI)有灵敏度的提高。图 7a、b 和 c 分别示出用 a) APCI、b) ESI 和 c) USIS 电离源来分析 $100\text{ng}/\text{mL}$ 精氨酸标准溶液所获得的全扫描直接注入谱。样品用水溶解。直接注入样品流量为 $20 \mu\text{L}/\text{min}$ 。表面势、电喷雾针尖电压(13)以及表面温度分别为 50V,0V 和 110°C 。UV 灯被关闭,超声被开启。喷雾器气流量为 $2\text{L}/\text{min}$ 。在 APCI 谱中(图 7a),未探测到精氨酸离子信号。在 ESI 情形中(图 7b)谱中存在高的化学噪声,这一事实使得精氨酸的离子信号实际上在全扫描模式下所获得的谱中无法探测到。使用 USIS 技术获得全扫描谱,清晰地探测到 m/z 175 处的 $[\text{M}+\text{H}]^+$ MDE 信号。特别地,使用 USIS 获得了好的信噪比(S/N:70)。

[0059] 图 8a、b 和 c 分别示出使用 a) APCI、b) ESI 和 c) USIS 电离源,并分裂 m/z 175 处的 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 离子及其 m/z 158 处的产物离子所获得的精氨酸的液相色谱 - 多次碰撞分析(LC-MS³)结果。采用两种相进行梯度操作 :A) $\text{CH}_3\text{OH}/\text{CH}_3\text{CN}$ +0.1% 蚁酸 + 甲酸铵 ($20 \mu\text{mol}/\text{L}$) 和 B) H_2O +0.1% 蚁酸 + 甲酸铵 ($20 \mu\text{mol}/\text{L}$)。使用基于以相 A 作为蛋白质沉淀剂的蛋白质沉淀方法从血浆中提取精氨酸。使用 4% 的 B 在等强度条件下进行分析。获取时间为 6 分钟,以重新平衡色谱柱。使用水 SAX100x4.1mm 柱。洗脱剂流速为 $1000\text{mL}/\text{min}$ 。表面势、电喷雾针尖电压(13)以及表面温度分别为 50V,0V 和 110°C 。UV 灯被关闭,超声被开启。喷雾器气流量为 $2\text{L}/\text{min}$ 。同样在该情形中,使用 USIS 获得最高的信噪比(S/N:100)。因此 MS³ 途径的高灵敏度和选择性使得可能在使用 USIS 所获得的色谱中(图 8c)清晰地探测并识别精氨酸。

[0060] 例 3 :肽的分析

[0061] 肽 P2 (PHGGGWGQPHGGGWGQ; PrPr 蛋白质的部分序列) 使用 a) APCI, b) ESI, 和 c) USIS(图 9a, b, and c) 进行分析。肽的浓度为 $3 \mu\text{g}/\text{mL}$ 。样品用水溶解。直接注入样品流量为 $20 \mu\text{L}/\text{min}$ 。表面势、电喷雾针尖电压(13)以及表面温度分别为 50V,350V 和 50°C 。UV 灯被关闭,超声被开启。喷雾器气流量为 $2\text{L}/\text{min}$ 。使用 APCI(图 9a)未探测到信号。在 ESI 情形中, $[\text{M}+\text{H}]^+$ 和 $[\text{M}+2\text{H}]^+$ 信号皆被探测到。获得丰度最高峰处的 S/N 比 80,每秒计数值为 2×10^8 。USIS 技术给出丰度最高峰处的最好的 S/N 比(S/N:180),并给出每秒计数值为 1×10^7 ,清晰的表明该电离技术产生更低的化学噪声。

[0062] 例 4 :寡核苷酸水溶液的分析

[0063] 图 10a、b 和 c 示出通过直接注入分子量为 6138Da 的寡核苷酸溶液所获得的谱。该谱分别使用 a) APCI, b) ESI 和 c) USIS 电离技术而获得。寡核苷酸的溶液浓度为 10^{-7}M 。在样品中加入 1% 的三乙胺以避免由于形成寡核苷酸阳离子络合物所造成的信号抑制效应。可以看到,使用 APCI 和 ESI,在该浓度水平下未探测到寡核苷酸质量离子信号(图 10a 和 b)。

当使用 USIS 电离技术时,情况发生惊人的改变(图 10c)。在该情形下,实际上,清晰地探测到寡核苷酸负多电荷离子。每秒计数值为 10^7 ,丰度最高峰的 S/N 比为 150。寡核苷酸离子的电荷分布范围为 -10 到 -4。UV 灯被关闭,超声被开启。需要强调,使用 USIS 电离途径,化学噪声相当低(噪声每秒计数 : 5×10^5)。

[0064] 例 5 :包含无机盐(如 NaCl)的寡核苷酸水溶液分析

[0065] 图 11a、b 和 c 分别示出使用 a)APCI, b)ESI 以及 c)USIS 电离源分析分子量为 6138Da 的寡核苷酸所获得的谱。浓度为 5×10^{-6} M 的 NaCl 被加入到样品溶液中,以从灵敏度的角度评价其在有盐存在时的性能。寡核苷酸的溶液浓度为 10^{-7} M。样品溶液中加入 1% 的三乙胺以避免由于形成寡核苷酸阳离子络合物所造成的信号抑制效应。可以看到,在该情形中,使用 APCI 和 ESI 效应也同样未探测到寡核苷酸质量离子信号(图 11a 和 b)。对于 USIS 的情形(图 11d),清晰地探测到寡核苷酸多电荷离子信号。每秒计数值为 10^6 ,丰度最高峰的 S/N 比为 30。寡核苷酸离子的电荷分布范围为 -10 到 -4。需要强调,使用 USIS 电离途径,化学噪声相当低(噪声每秒计数 : 5×10^4)。

[0066] 例 6 :在低浓度水平下使用 ESI 和 APCI 通过直接注入未探测到的低极性化合物(如 :类固醇等)的分析

[0067] 使用 a)APCI, b)ESI 和 c)USIS 分析了雌二醇。使用 CH_3OH 和 CH_3CN 作为溶剂,获得了直接注入谱(图 12a、b 和 c 示出使用 CH_3OH 作为溶剂所获得的谱,而图 13a、b 和 c 示出使用 CH_3CN 作为溶剂所获得的谱)。雌二醇的浓度为 $50 \mu\text{g/mL}$ 。样品用水溶解。直接注入样品流量为 $20 \mu\text{L/min}$ 。表面势、电喷雾针尖电压(13)以及表面温度分别为 50V, 350V 和 50°C 。UV 灯被开启,超声被关闭。喷雾器气流量为 2L/min 。可以看到,在该浓度水平下,使用 ESI 和 APCI 未获得信号(图 12a 和 b ;图 13a 和 b),而使用 USIS,清晰地探测到 $[\text{M}]^+$ 和 $[\text{M}-\text{H}]^+$ 离子。使用 CH_3OH 作为溶剂, $[\text{M}]^+$ 的 S/N 比为 100,使用 CH_3CN 作为溶剂的 S/N 比为 102(图 12c 和 13c)。必须强调,在更高的雌二醇浓度水平下($1000 \mu\text{g/mL}$)并使用 CH_3OH 作为溶剂,ESI 软电离源典型地产生被分析物的 $[\text{M}+\text{H}]^+$,但使用 CH_3CN 作为溶剂时,该信号难以被观察到。对于 USIS 的情形,被分析物离子使用两种溶剂(CH_3OH 和 CH_3CN)皆可被观察到。这清晰地表明 USIS 的潜力。

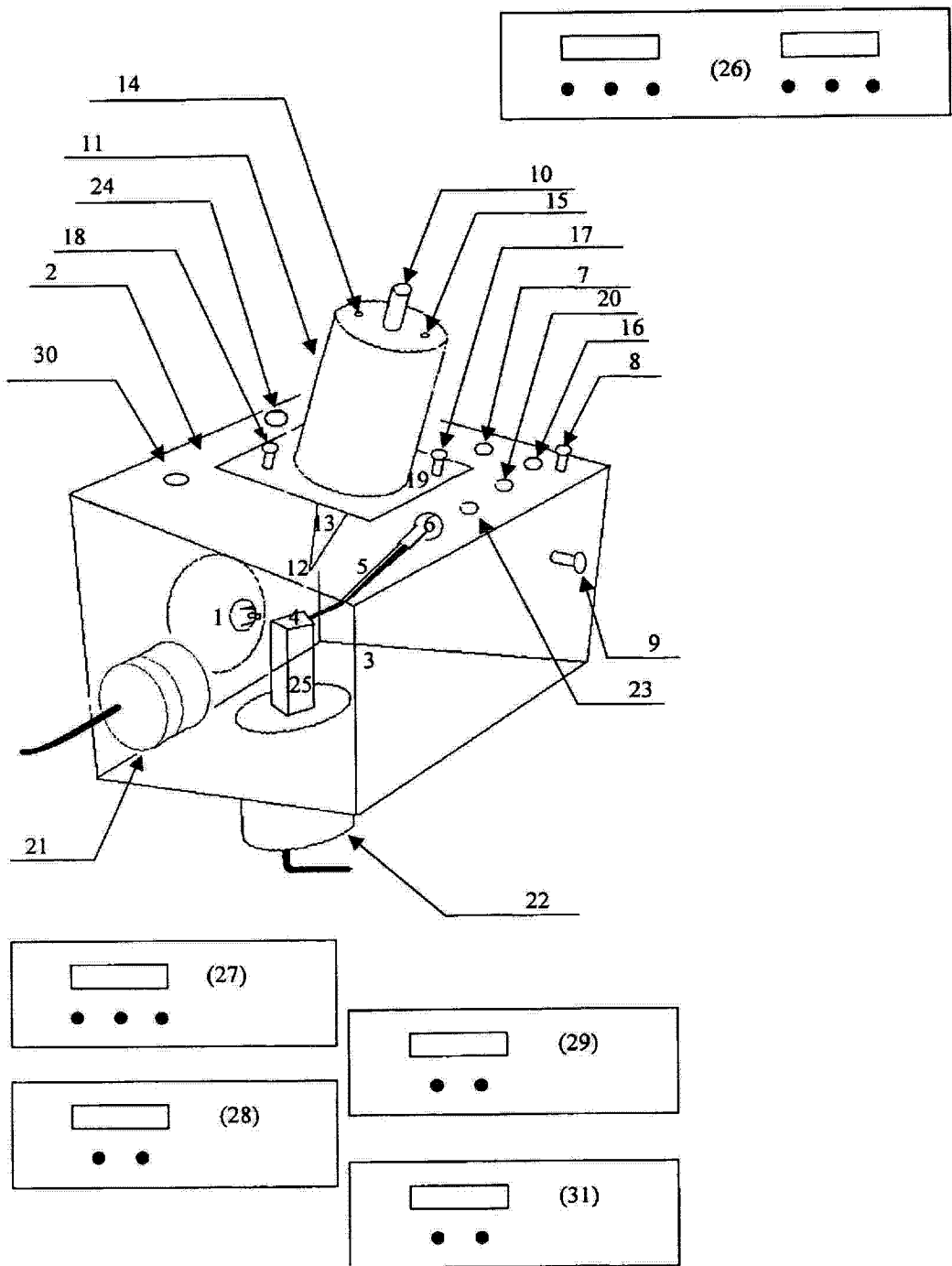


图 1

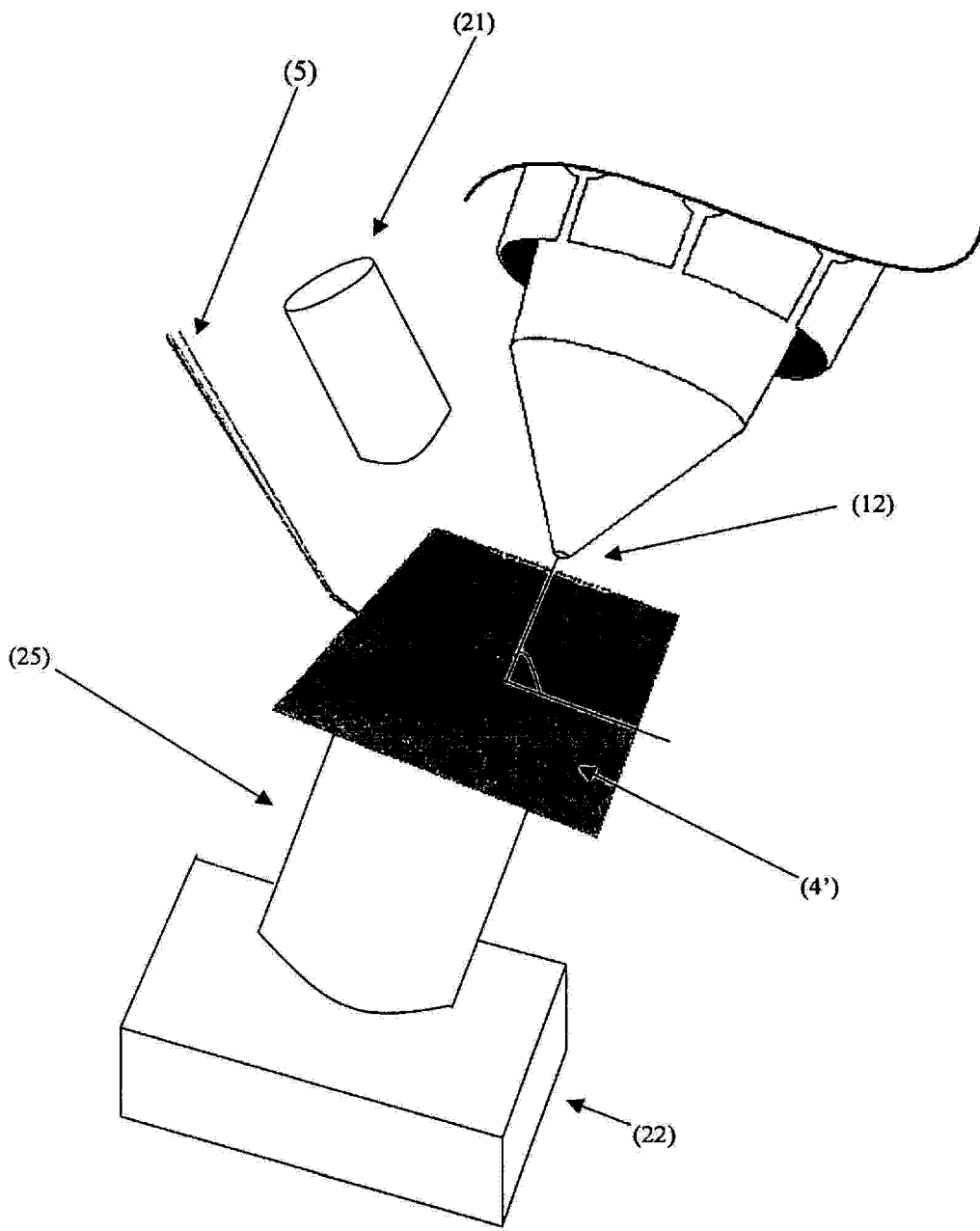


图 2

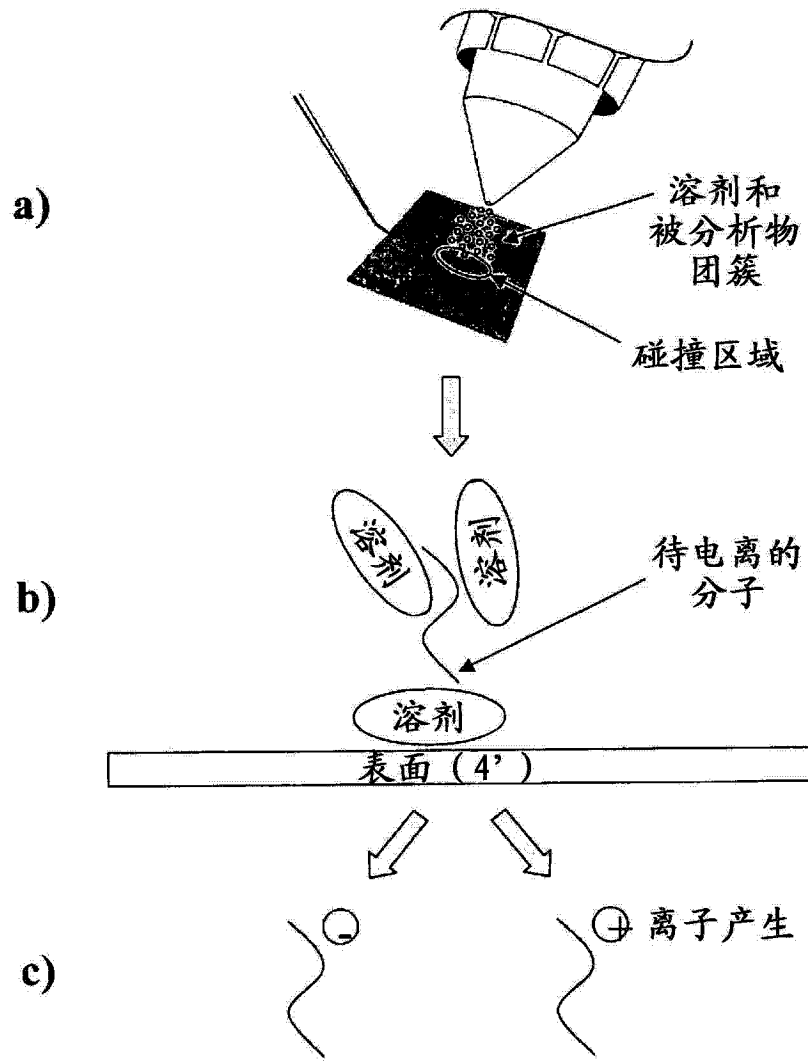


图 3

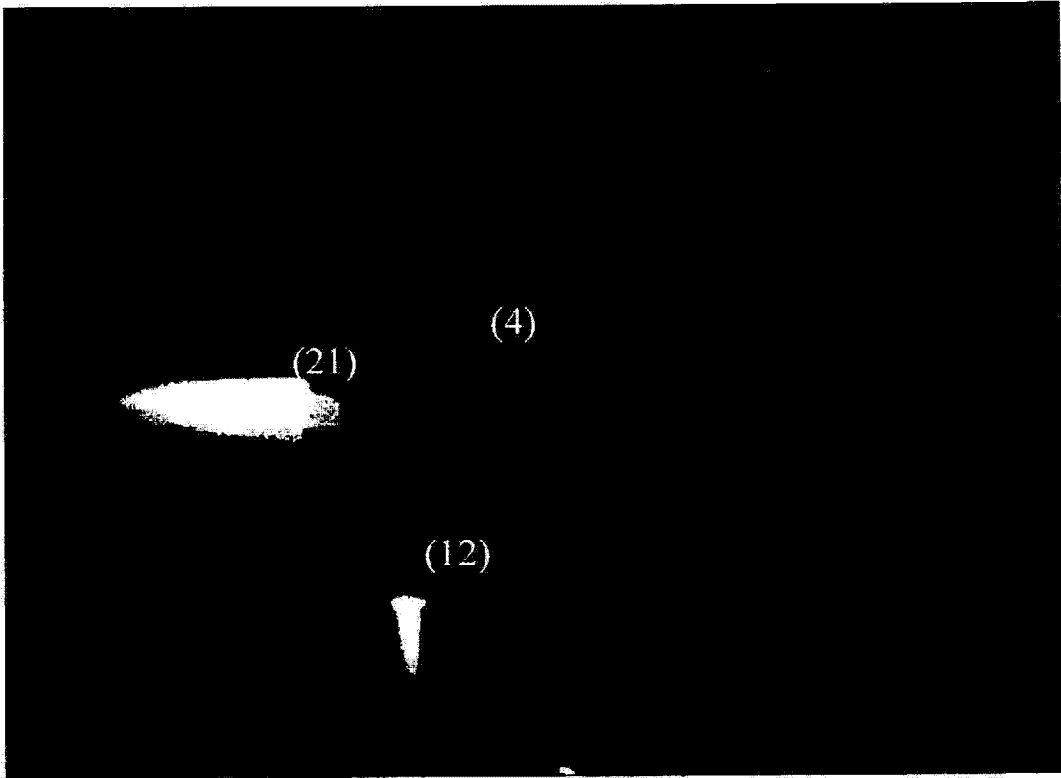


图 4

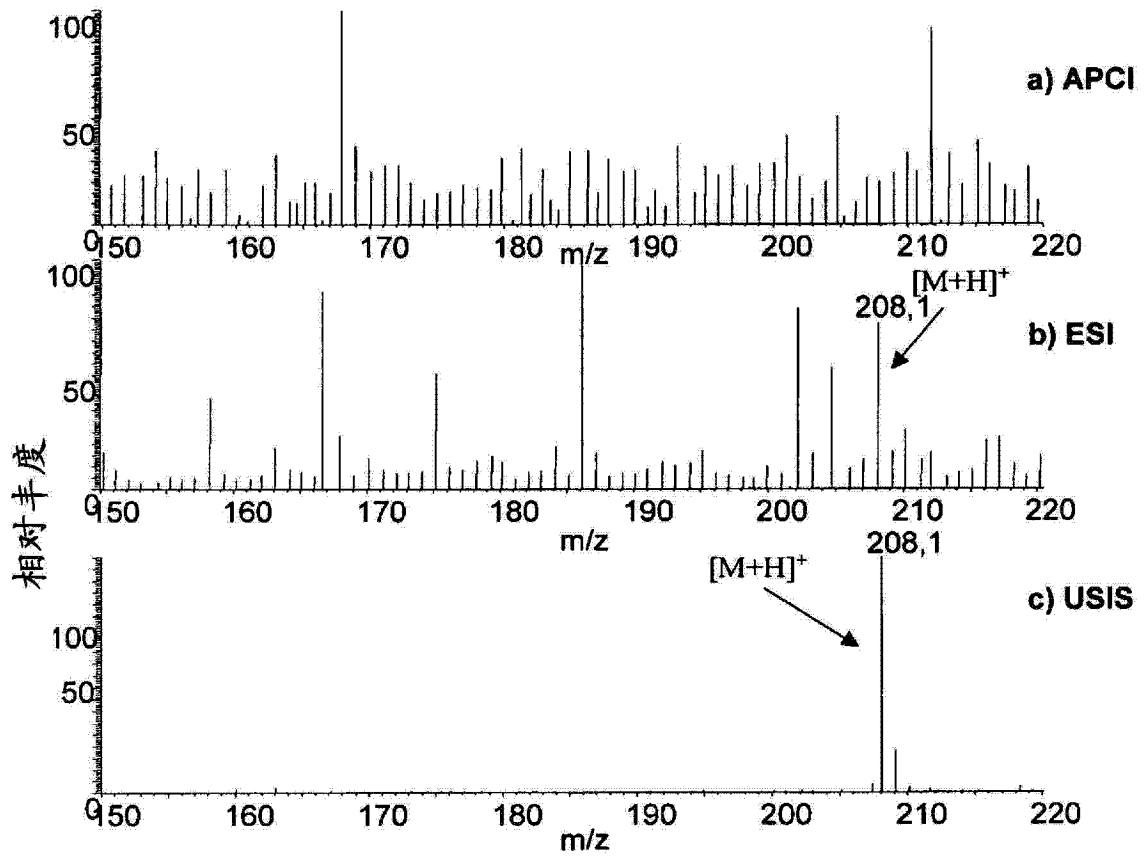


图 5

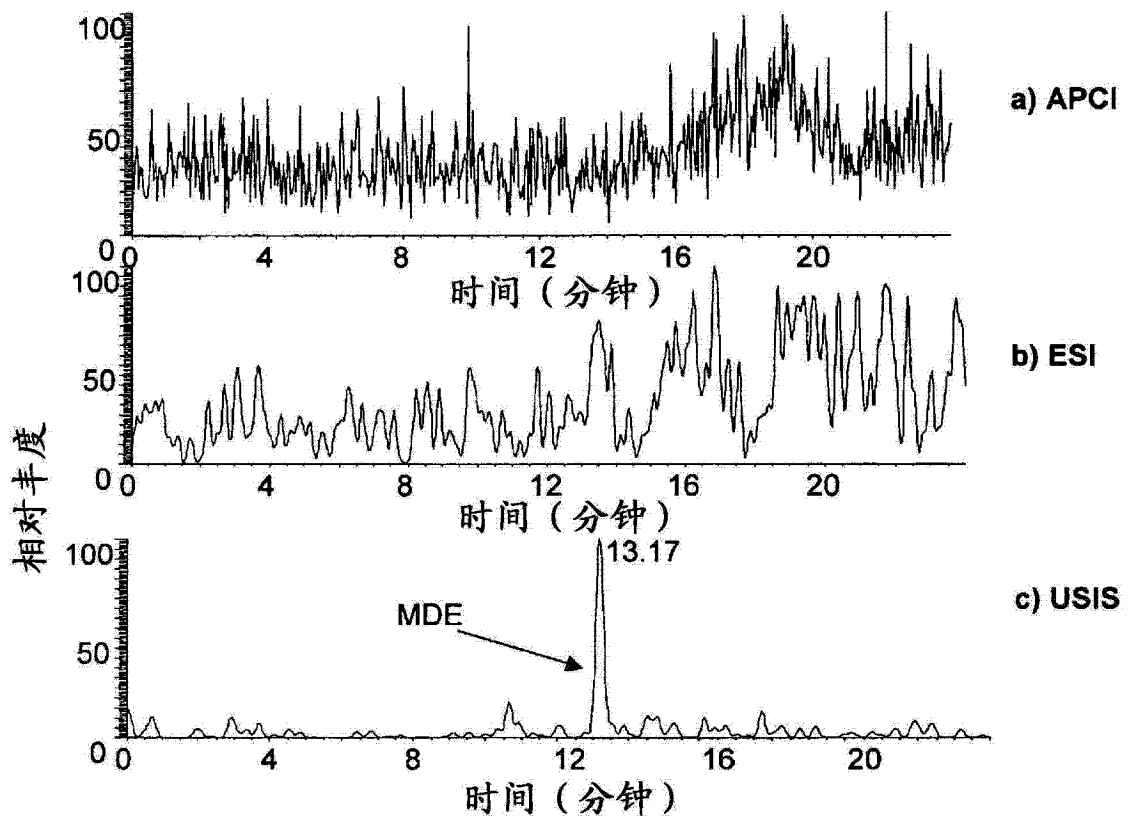


图 6

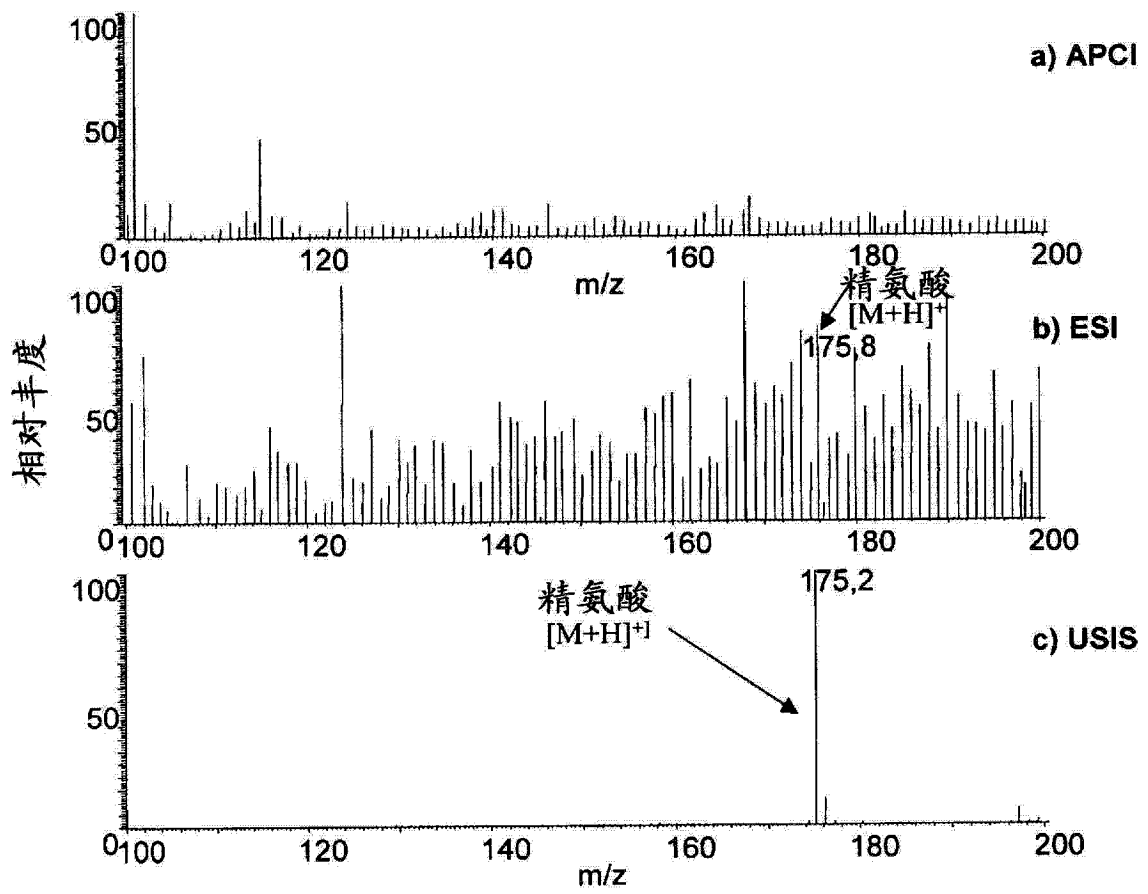


图 7

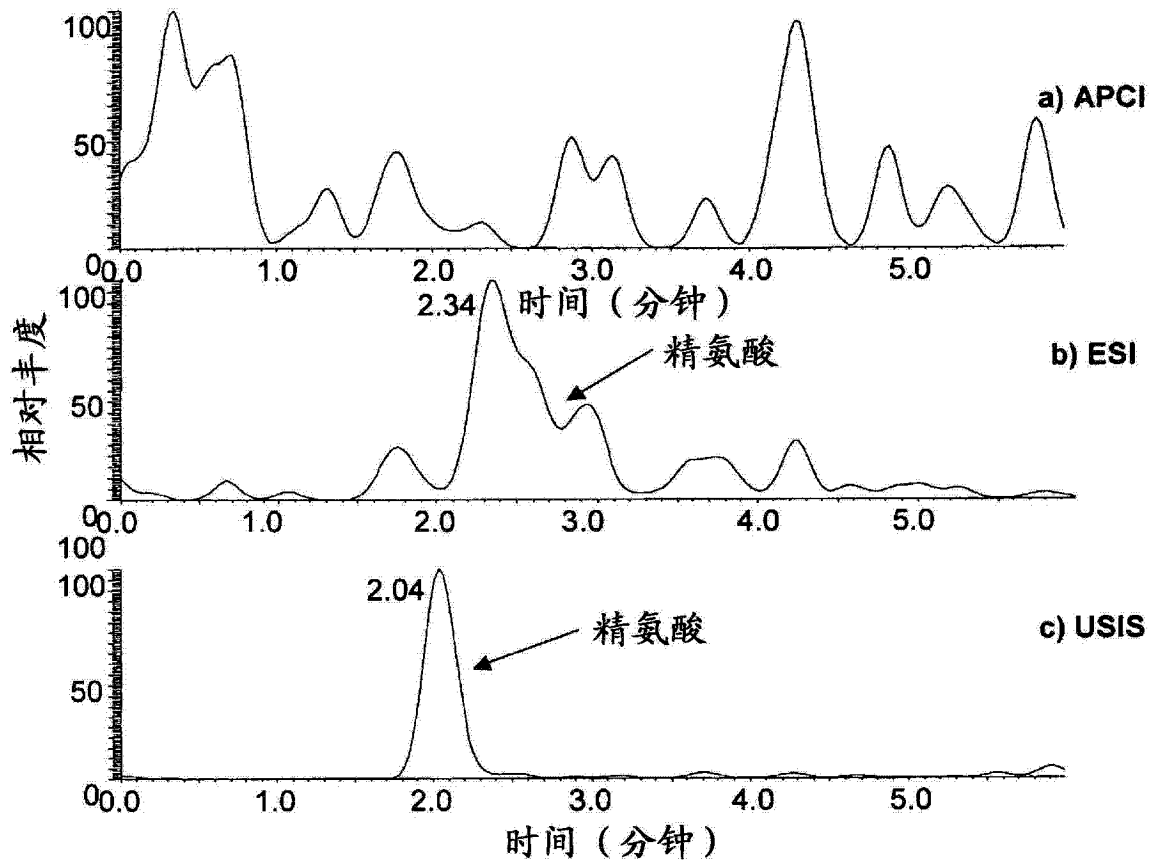


图 8

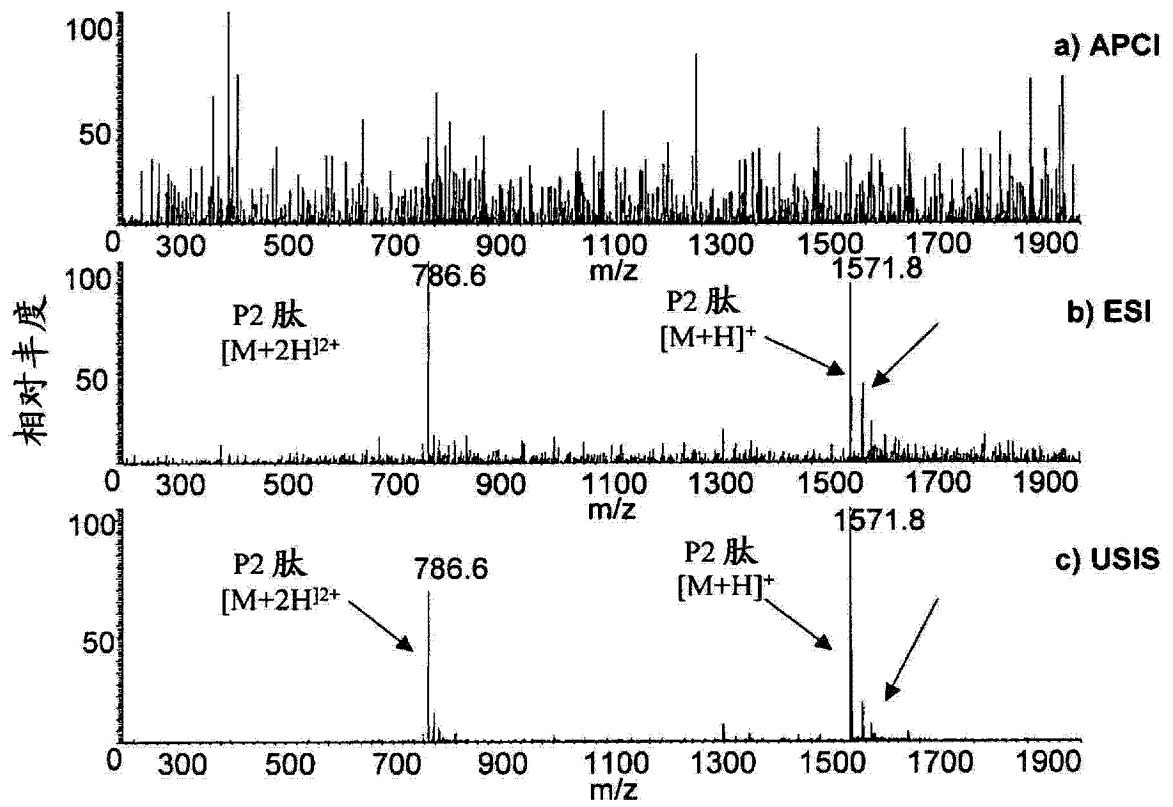


图 9

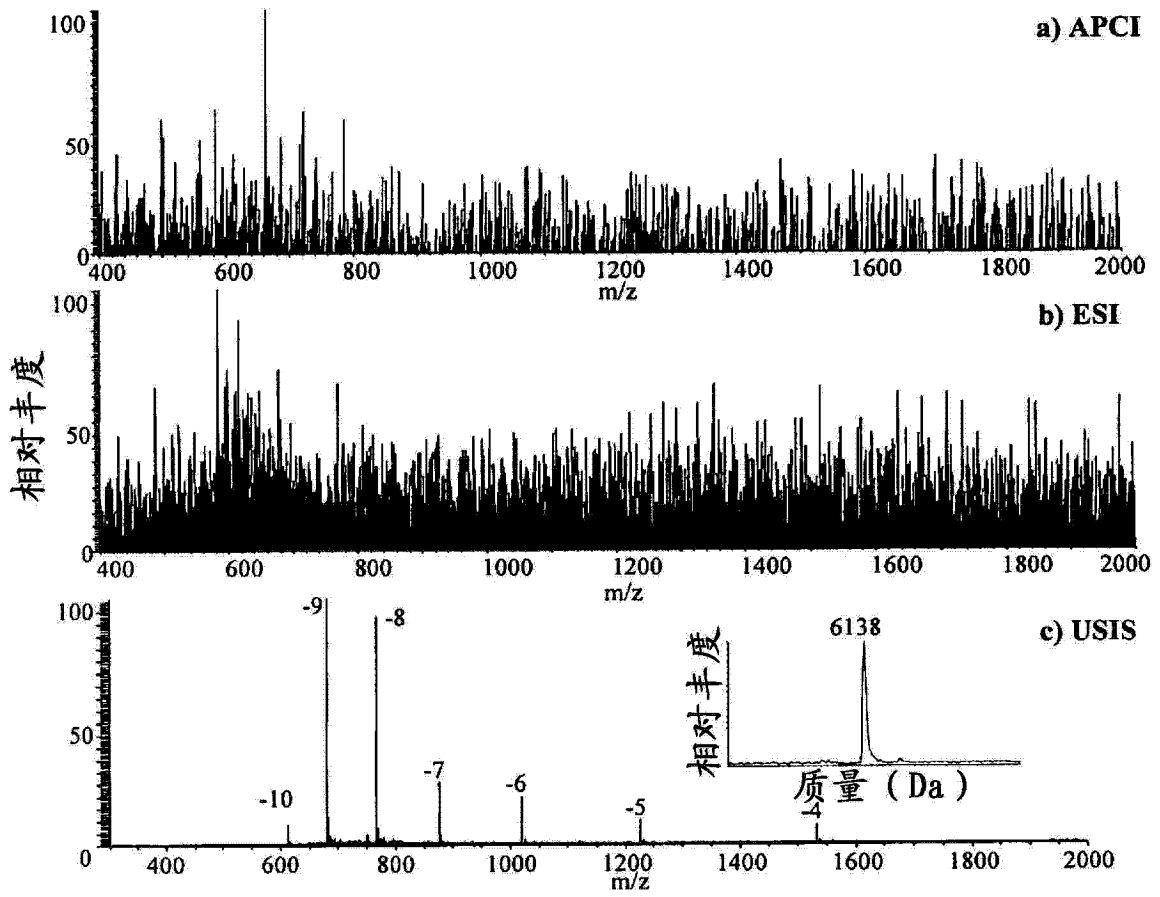


图 10

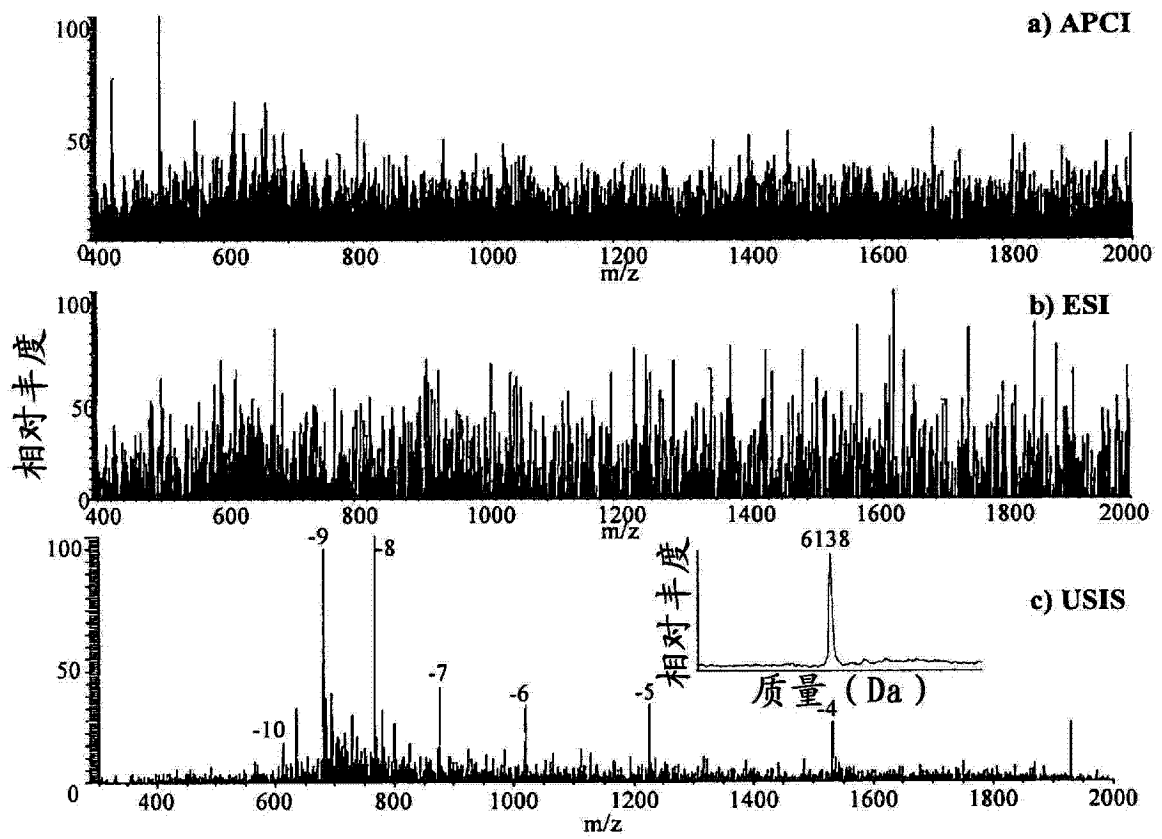


图 11

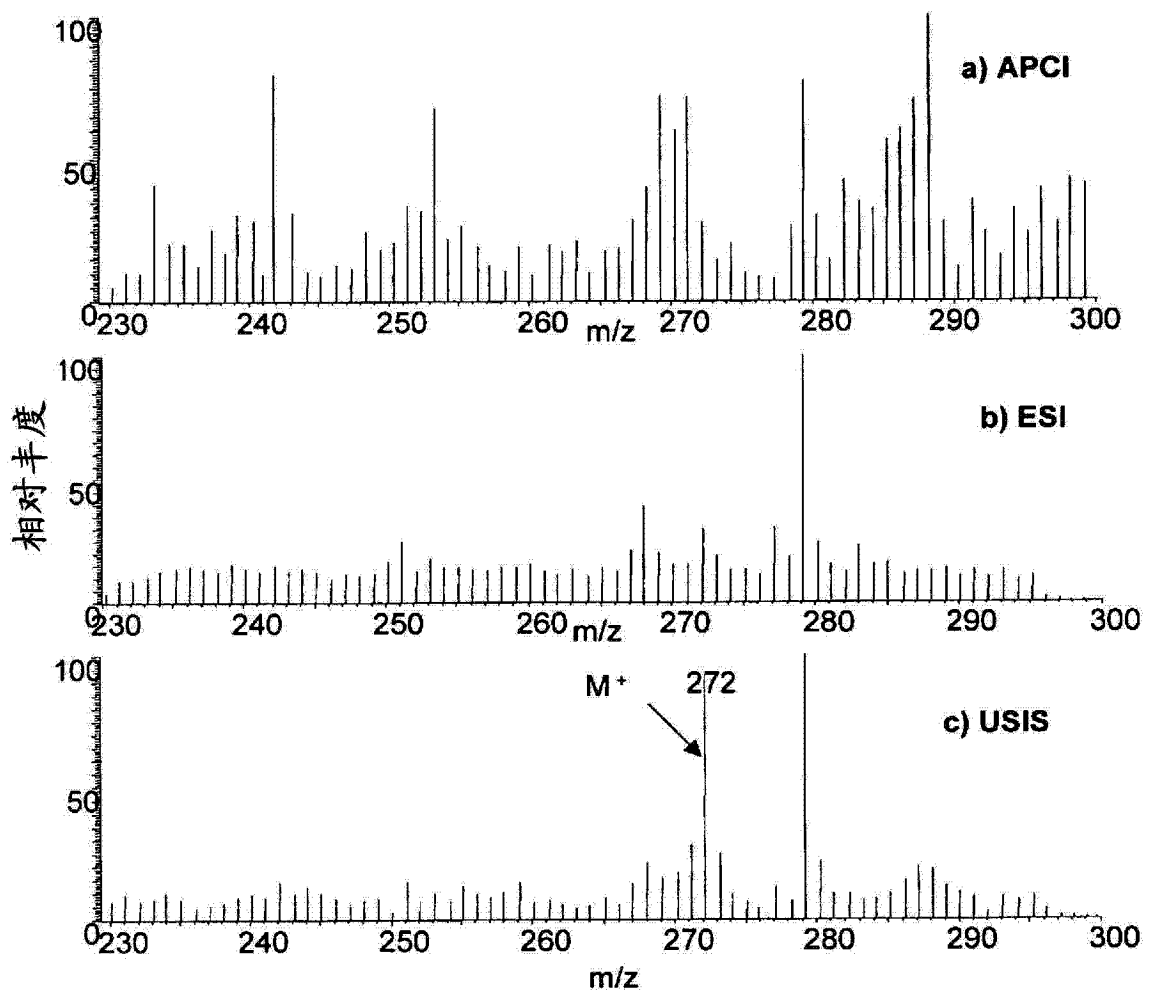


图 12

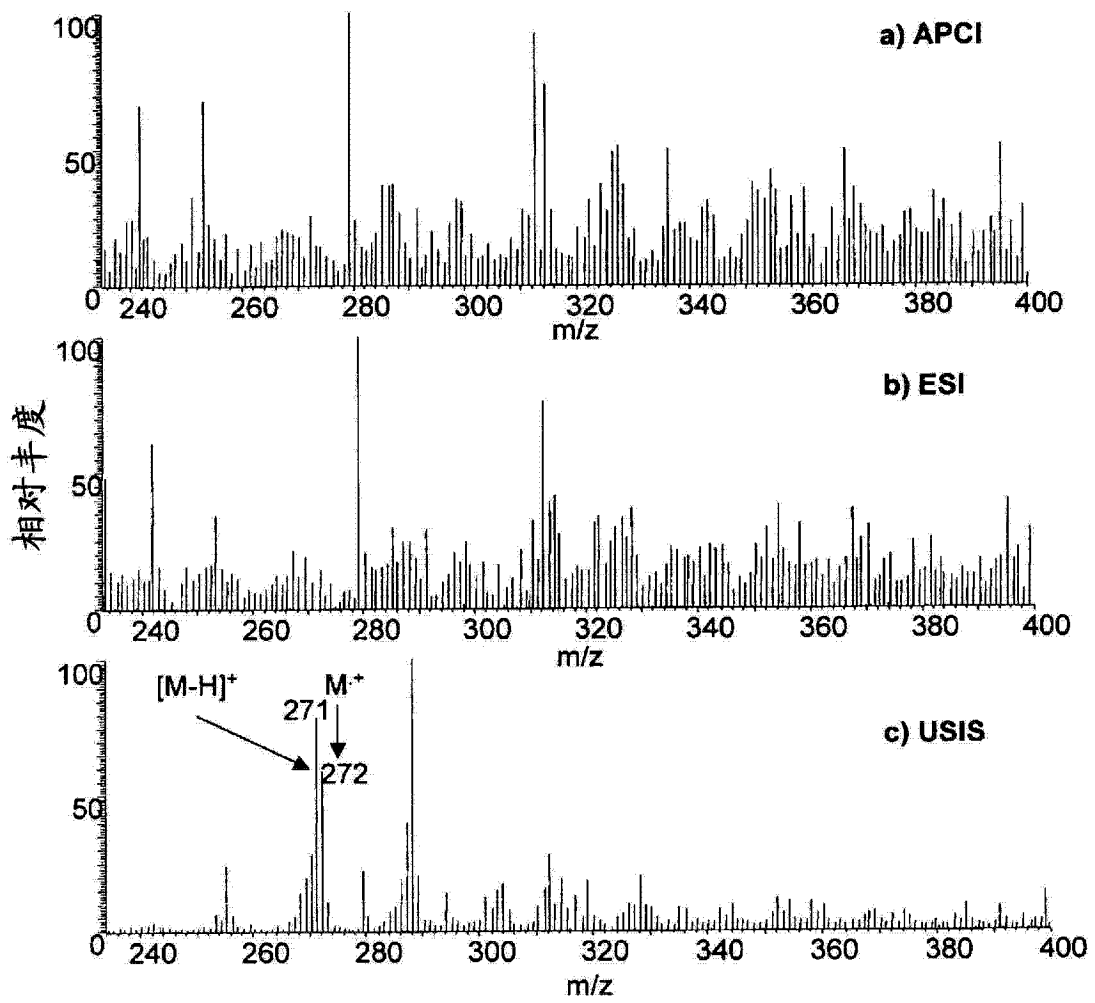


图 13