

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.

H01J 49/40 (2006.01)

H01J 49/26 (2006.01)



# [12] 发明专利说明书

专利号 ZL 200710009921.4

[45] 授权公告日 2009年7月29日

[11] 授权公告号 CN 100521064C

[22] 申请日 2007.12.3

[21] 申请号 200710009921.4

[73] 专利权人 厦门大学

地址 361005 福建省厦门市思明南路 422 号

[72] 发明人 杭 纬 张 洁 颜晓梅 何 坚

[56] 参考文献

US5753909A 1998.5.19

US2003/0168589A1 2003.9.11

US2003/0042412A1 2003.3.6

审查员 周忠堂

[74] 专利代理机构 厦门南强之路专利事务所

代理人 马应森 刘 勇

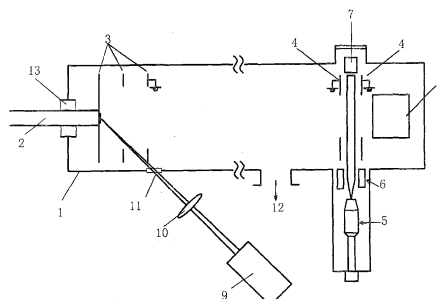
权利要求书 2 页 说明书 4 页 附图 1 页

## [54] 发明名称

基质辅助激光解吸 - 粒子束碰撞解离飞行时间质谱仪

## [57] 摘要

基质辅助激光解吸 - 粒子束碰撞解离飞行时间质谱仪，涉及一种质谱仪。提供一种可明显降低噪音干扰、提高质量分辨率的基质辅助激光解吸 - 粒子束碰撞解离飞行时间质谱仪。设有腔体、进样探杆、前后置栅网组、粒子束发生器、多极杆、粒子束检测器、微通道板电子倍增器、激光器和聚焦透镜。进样探杆、前置栅网组、后置栅网组、粒子束发生器、多极杆、粒子束检测器和微通道板电子倍增器依次设于腔体内部，腔体与进样探杆同中轴线；后置栅网组的中轴线与粒子束发生器、多极杆及粒子束检测器的中轴线为同轴；腔体腔壁上设有供激光射入的石英窗口、供抽真空用的真空抽口和供进样探杆进出的阀门；进样探杆顶端设有样品固定部；激光器与聚焦透镜设于腔体外。



1. 基质辅助激光解吸-粒子束碰撞解离飞行时间质谱仪, 其特征在于设有腔体、进样探杆、前置栅网组、后置栅网组、粒子束发生器、多极杆、粒子束检测器、微通道板电子倍增器、激光器和聚焦透镜;

进样探杆、前置栅网组、后置栅网组、粒子束发生器、多极杆、粒子束检测器和微通道板电子倍增器依次设于腔体内部, 腔体的中轴线与进样探杆的中轴线为同一中轴线; 前置栅网组的栅网平行间隔并与腔体中轴线垂直; 后置栅网组的栅网平行间隔并与腔体中轴线垂直, 后置栅网组的中轴线与粒子束发生器、多极杆及粒子束检测器的中轴线为同一中轴线; 腔体腔壁上设有供激光射入的石英窗口、供抽真空用的真空抽口和供进样探杆进出的阀门; 进样探杆顶端设有样品固定部; 激光器和对应激光器的聚焦透镜设于腔体外部;

粒子束发生器产生的粒子束经多极杆聚焦后垂直射入腔体, 并且所述粒子束与样品离子发生碰撞, 将样品离子解离为较小的碎片离子。

2. 如权利要求 1 所述的基质辅助激光解吸-粒子束碰撞解离飞行时间质谱仪, 其特征在于腔体为呈 T 形圆筒状不锈钢腔体, 腔体的壁厚为 1.5mm, 石英窗口和真空泵抽口设于腔体的下部; 腔体的真空度为  $1\sim 2\times 10^{-6}$  torr。

3. 如权利要求 1 所述的基质辅助激光解吸-粒子束碰撞解离飞行时间质谱仪, 其特征在于进样探杆为不锈钢圆柱, 进样探杆的直径为 5~20 mm, 设于进样探杆顶端的样品固定部设至少 1 个样品固定槽。

4. 如权利要求 1 所述的基质辅助激光解吸-粒子束碰撞解离飞行时间质谱仪, 其特征在于激光器的波长 157~1100 nm, 平均功率>1 W, 峰值功率> 100 kW, 脉宽 100 fs~10 ns, 脉冲能量 100  $\mu$ J~500 mJ, 脉冲频率 10 Hz~10 kHz, 光束直径 1~10 mm。

5. 如权利要求 1 所述的基质辅助激光解吸-粒子束碰撞解离飞行时间质谱仪, 其特征在于粒子束发生器为离子枪、电子发生器或 X 射线发射仪, 离子枪的能量为 10~10000eV, 离子枪采用 He、Ne 惰性气体离子源,  $N_2$ 、 $O_2$  活性气体离子源或  $Cs^+$ 、 $Li^+$ 、 $Na^+$ 、 $K^+$ 、 $Rb^+$  碱金属离子源, 粒子束能量 5~1000eV, 电流为 1nA~20 $\mu$ A, 粒子束直径为 0.5~20mm, 工作距离为 5~300 mm。

6. 如权利要求 1 所述的基质辅助激光解吸-粒子束碰撞解离飞行时间质谱仪, 其特征在于前置栅网组由三片栅网构成, 间距为 1~5mm, 电压为 1~30 kV, 与腔体中轴线垂直。后置栅网组由两片栅网构成, 两片栅网与腔体轴线垂直, 这两片栅网的间距为 1~5mm, 同时

接地，栅网的形状是长方形（30~200）mm×（40~220）mm的不锈钢片，中间是一个长方形的孔（15~50）mm×（40~150）mm，栅网的网线采用钼丝，钼丝的直径为20~80 μm。

7. 如权利要求1所述的基质辅助激光解吸-粒子束碰撞解离飞行时间质谱仪，其特征在于多极杆可为四极杆、六极杆、八极杆、十二极杆或十六极杆，多极杆由单根实心钢棒构成，多极杆的每根杆的直径为2~20 mm，杆长为30~250 mm。

8. 如权利要求1所述的基质辅助激光解吸-粒子束碰撞解离飞行时间质谱仪，其特征在于粒子束检测器采用法拉第筒，法拉第筒的尺寸为直径5~50mm，高20~75mm。

9. 如权利要求1所述的基质辅助激光解吸-粒子束碰撞解离飞行时间质谱仪，其特征在于微通道板电子倍增器的参数为平板厚度0.5~1mm，通道之间的距离10~50 μm，平板两面之间的电阻 $10^8\sim 10^{10}\Omega$ ，平板的面积 $<30\text{cm}^2$ 。

## 基质辅助激光解吸-粒子束碰撞解离飞行时间质谱仪

## 技术领域

本发明涉及一种质谱仪，尤其是涉及一种基质辅助激光解吸-粒子束碰撞解离飞行时间质谱仪。

## 背景技术

目前，生物大分子分析中常用的技术包括凝胶电泳和质谱等。质谱具有高分辨率、高精度和高灵敏度的特点。其中，基质辅助激光解吸离子源（MALDI）和电喷雾离子源（ESI）在生物大分子分析中得到了广泛应用。对于上百万道尔顿的生物大分子，虽然 MALDI 技术可以对其进行电离，但其信号值非常弱，难以检测。在 ESI 源中，生物大分子以多电荷的形式存在，所得到的图谱非常复杂，难以解析。而且，大部分的质量分析器，如四极杆、扇形场和离子阱等，均有质量上限，一般为几千道尔顿。

飞行时间质谱比较特殊，从理论上而言，它没有质量上限，而且具有高达 10 ppm 的分辨能力。然而，由于超高分子量的生物大分子在飞行时间质谱中速度较慢，在微通道板电子倍增器检测器上难以检测，从而大大降低了检测灵敏度。因此，飞行时间质谱受限于分析 200,000~300,000 Da 的生物大分子。Fuerstenau S. D.等曾尝试将飞行时间质谱用于分子量达上百万道尔顿的大分子的检测，虽然该分子在质谱图能够显示出非常弱的峰，但是仍然无法达到分析要求，不具有实用价值。Larson 等针对行时间质谱的微通道板电子倍增器对不同能量离子的信号差异进行了研究，结果表明能量为 6kV 的离子（5kDa,  $1.5 \times 10^4$  m/s）的信号值只有能量为 25kV 的离子（5kDa,  $3 \times 10^4$  m/s）的一半。这说明微通道板电子倍增器的相应信号最终由离子的速率决定。因此，对于分子量为 1,000,000 道尔顿的大分子，当其速率为  $3 \times 10^4$  m/s 时，需要施加约  $5 \times 10^6$  V 的加速电压才有可能使其得到检测。考虑到真空度、仪器等因素的限制，实际情况下不可能实现高达  $5 \times 10^6$  V 的加速电压。因此，通过测定分子量对超大分子进行定性的方法是不可行的。从理论上而言，通过超大分子的碎片信息可以对其进行准确的定性。目前，常用的诱导分子解离技术主要包括碰撞辅助解离（CAD）、光解离、X 射线解离、电子激发和表面诱导解离等。其中，碰撞辅助解离技术对于生物大分子的解离效率最高，因此应用最为广泛。在碰撞池中，中性气态分子不受离子透镜的控制，自由扩散出碰撞池，对附近的检测器产生很强的噪音干扰。

中国专利 CN85104052 提供一种飞行时间质谱仪，它包括沿同一轴设置了许多环状电极的分析器，其中，对被测离子使用了一个反比于距离的电压，该电压产生电场力。

公开号为 CN1926657 的发明专利申请提供一种串联线性离子阱和飞行时间质谱仪，其中，离子阱具有与质谱仪的飞行轨道正交的直线中心轴。离子阱包括：一组电极(401、403、402、404)，至少一个所述电极具有用于向质谱仪发射离子的开口；一组 DC 电压电源(+V、-V、V1、V2)，用于提供离散 DC 电平，以及一定数目的快速电子开关(409)，用于使 DC 电源与至少两个所述电极连接 /断开；中性气体，填充离子阱；以及数字控制器，提供用于离子捕获、操作离子、冷却的切换过程，并且包括从离子阱向质谱仪发射所有离子的状态。

#### 发明内容

本发明的目的在于提供一种可明显降低噪音干扰、提高质量分辨率的基质辅助激光解吸-粒子束碰撞解离飞行时间质谱仪。

本发明的目的通过以下技术方案实现：基质辅助激光解吸-粒子束碰撞解离飞行时间质谱仪设有腔体、进样探杆、前置栅网组、后置栅网组、粒子束发生器、多极杆、粒子束检测器、微通道板电子倍增器、激光器和聚焦透镜。

进样探杆、前置栅网组、后置栅网组、粒子束发生器、多极杆、粒子束检测器和微通道板电子倍增器依次设于腔体内部，腔体的中轴线与进样探杆的中轴线为同一中轴线；前置栅网组的栅网平行间隔并与腔体中轴线垂直；后置栅网组的栅网平行间隔并与腔体中轴线垂直，后置栅网组的中轴线与粒子束发生器、多极杆及粒子束检测器的中轴线为同一中轴线；腔体腔壁上设有供激光射入的石英窗口、供抽真空用的真空抽口和供进样探杆进出的阀门；进样探杆顶端设有样品固定部；激光器和对应激光器的聚焦透镜设于腔体外部。

腔体最好为呈 T 形圆筒状不锈钢腔体，腔体的壁厚最好为 1.5mm，石英窗口和真空泵抽口最好设于腔体的下部。进样探杆最好为不锈钢圆柱，进样探杆的直径最好为 5~20 mm，设于进样探杆顶端的样品固定部设至少 1 个样品固定槽。腔体的真空度最好为  $1\sim 2\times 10^{-6}$  torr。激光器最好选用波长 157~1100 nm，平均功率>1 W，峰值功率> 100 kW，脉宽 100 fs~10 ns，脉冲能量 100  $\mu$ J~500 mJ，脉冲频率 10 Hz~10 kHz，光束直径 1~10 mm。聚焦透镜的技术参数可根据实际需要选配。粒子束发生器可为离子枪、电子发生器或 X 射线发射仪，最好为离子枪，能量为 10~10000eV，离子枪可采用 He、Ne 等惰性气体离子源，N<sub>2</sub>、O<sub>2</sub> 等活性气体离子源或 Cs<sup>+</sup>、Li<sup>+</sup>、Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup>、Rb<sup>+</sup> 等碱金属离子源，粒子束能量 5~1000eV，电流为 1nA~20 $\mu$ A，粒子束直径为 0.5~20mm，工作距离为 5~300 mm。前置栅网组由 3 片栅网构成，间距为 1~5mm，电压为 1~30 kV，与腔体中轴线垂直。后置栅网组由 2 片栅网构成，2 片栅网与腔体轴线垂直，2 片栅网的间距为 1~5mm，同时接地。栅网的形状是长方形 (30~200) mm $\times$  (40~220) mm 的不锈钢片，中间是一个长方形的孔 (15~50) mm $\times$  (40~150) mm。栅网的网线采用钼丝，钼丝的直径为 20~80  $\mu$ m。多极杆可为四极杆、六极杆、八极杆、十二极杆或十六极杆，多极杆由单根实心钢棒构成，多极杆的每根杆的直径为 2~20 mm，杆长

为30~250 mm。粒子束检测器可采用法拉第筒或外购,法拉第筒的尺寸最好为直径5~50mm,高20~75mm。微通道板电子倍增器的主要参数最好为平板厚度0.5~1mm,通道之间的距离10~50 $\mu\text{m}$ ,平板两面之间的电阻 $10^8\sim 10^{10}\Omega$ ,平板的面积 $<30\text{cm}^2$ 。

本发明的工作过程如下:整台质谱仪均处于高真空环境,采用基质辅助激光解吸离子源用于样品分子的离子化。整个系统分为3个区域:进样探杆与前置栅网组中最后1个栅网之间为离子化及引入区,前置栅网组中最后1个栅网与后置栅网组中最前1个栅网之间为无场飞行区,后置栅网组中最前1个栅网与最后1个栅网之间为粒子束碰撞解离区。样品固定在进样探杆上,通过阀门伸入腔体。激光器射出的激光束经聚焦透镜聚焦后,通过离子源腔体的石英窗口,射到样品表面。基质分子吸收激光能量迅速气化,被包含的样品分子也被带入气相。同时,受激的基质分子将质子转移给样品分子产生离子化。样品离子在前置栅网组的电场作用下被引入无场飞行区,根据其质荷比进行分离。经过分离的样品离子依次通过粒子束碰撞解离区。粒子束发生器产生的粒子束经多极杆聚焦后垂直射入腔体,与样品离子发生碰撞。样品离子解离为较小的碎片离子,撞击到微通道板电子倍增器被检测。

本发明的工作原理如下:样品分子离子化后在电场作用下引入无场飞行区,根据质荷比进行较好的分离。当其依次通过粒子束碰撞解离区域时,与粒子束中粒子发生碰撞,解离产生特征碎片离子,撞击到微通道板电子倍增器被检测。通过测定这些特征碎片离子可实现对大分子的定性。采用粒子束代替中性气体实现样品离子的解离。粒子束碰撞解离过程中,碰撞粒子的密度是关键的因素。离子束是最重要的一类粒子束。作为离子束发生器的离子枪能够提供足够的离子云密度以保证理想的解离效果。理论计算证明,对于上百万道尔顿的超大分子,在粒子束碰撞池内离子与样品离子的总碰撞次数相当于甚至多于常规串联质谱碰撞池内中性气体与样品离子的碰撞次数。分子量较大的离子运动缓慢,通过粒子束碰撞区域的时间较长,因此可以得到更多碎片离子。通过这些碎片信息,即可对大分子进行定性测量,从而克服了常规检测器分子量的限制。由于大分子折射的离子较多,也造成检测器上信号的增加。通过与离子枪竖直放置的粒子束检测器,还可以观察到粒子束强度的变化。粒子束检测器信号值的变化只与碰撞过程有关,与样品分子的尺寸无关。采用可处理高电流的快速响应电子倍增器大大提高了检测分辨率。由于碰撞区域仅1 cm,与1 m的无场飞行区相比其长度可忽略不计,而且碰撞和解离过程发生在质量分离以后,因此质量分辨率能够保持在一个较高的水平上,同时对谱图的解析不会造成额外的干扰。

本发明相对现有技术具有如下突出优点和效果:1)大分子经过质荷比分离后被快速粒子束碰撞形成小的离子碎片,通过测定碎片信息即可实现定性分析。2)采用快速粒子束代替中性气体以实现碰撞解离,降低了背景噪声。3)通过粒子束检测器可观察到粒子束强度的变化。

附图说明

图 1 为本发明实施例的结构示意图。

#### 具体实施方式

以下结合附图和实施例对本发明作进一步说明。

本发明实施例设有腔体 1、进样探杆 2、前置栅网组 3、后置栅网组 4、粒子束发生器 5、多极杆 6、粒子束检测器 7、微通道板电子倍增器 8、激光器 9 和聚焦透镜 10。进样探杆 2、前置栅网组 3、后置栅网组 4、粒子束发生器 5、多极杆 6、粒子束检测器 7 和微通道板电子倍增器 8 依次设于腔体 1 内部，腔体 1 的中轴线与进样探杆 2 的中轴线为同一中轴线；前置栅网组 3 由 3 片平行间隔并与腔体 1 中轴线垂直的栅网构成；后置栅网组 4 由 2 片平行间隔并与腔体 1 中轴线垂直的栅网构成，后置栅网组 3 的中轴线与粒子束发生器 5、多极杆 6 及粒子束检测器 7 的中轴线为同一中轴线；腔体 1 腔壁上设有供激光射入的石英窗口 11、供抽真空用的真空抽口 12 和供进样探杆 2 进出的阀门 13；进样探杆 2 顶端设有样品固定部；激光器 9 和对应激光器的聚焦透镜 10 设于腔体 1 外部。腔体 1 为呈 T 形圆筒状不锈钢腔体，腔体 1 的壁厚为 1.5mm，石英窗口 11 和真空泵抽口 12 设于腔体 1 的下部。

进样探杆 2 为不锈钢圆柱，进样探杆 2 的直径为 5~20 mm，设于进样探杆 2 顶端的样品固定部设至少 1 个样品固定槽。腔体 1 的真空度为  $1\sim 2\times 10^{-6}$  torr。激光器 9 选用波长 157~1100 nm，平均功率>1 W，峰值功率>100 kW，脉宽 100 fs~10 ns，脉冲能量 100  $\mu$ J~500 mJ，脉冲频率 10 Hz~10 kHz，光束直径 1~10 mm。聚焦透镜 10 的技术参数可根据实际需要选配。

粒子束发生器 5 选用离子枪，能量为 10~10000eV，离子枪可采用 He、Ne 等惰性气体离子源， $N_2$ 、 $O_2$  等活性气体离子源或  $Cs^+$ 、 $Li^+$ 、 $Na^+$ 、 $K^+$ 、 $Rb^+$  等碱金属离子源，粒子束能量 5~1000eV，电流为 1nA~20 $\mu$ A，粒子束直径为 0.5~20mm，工作距离为 5~300 mm。

前置栅网组 3 由 3 片栅网构成，间距为 1~5mm，电压为 1~30 kV，与腔体中轴线垂直。后置栅网组 4 由 2 片栅网构成，2 片栅网与腔体轴线垂直，2 片栅网的间距为 1~5mm，同时接地。栅网的形状是长方形 (30~200) mm $\times$  (40~220) mm 的不锈钢片，中间是一个长方形的孔 (15~50) mm $\times$  (40~150) mm。栅网的网线采用钼丝，钼丝的直径为 20~80  $\mu$ m。

多极杆 6 可为四极杆、六极杆、八极杆、十二极杆或十六极杆，多极杆由单根实心钢棒构成，多极杆的每根杆的直径为 2~20 mm，杆长为 30~250 mm。

粒子束检测器 7 采用法拉第筒或外购，法拉第筒的尺寸为直径 5~50mm，高 20~75mm。

微通道板电子倍增器 8 的主要参数为平板厚度 0.5~1mm，通道之间的距离 10~50 $\mu$ m，平板两面之间的电阻  $10^8\sim 10^{10}\Omega$ ，平板的面积 <30cm<sup>2</sup>。

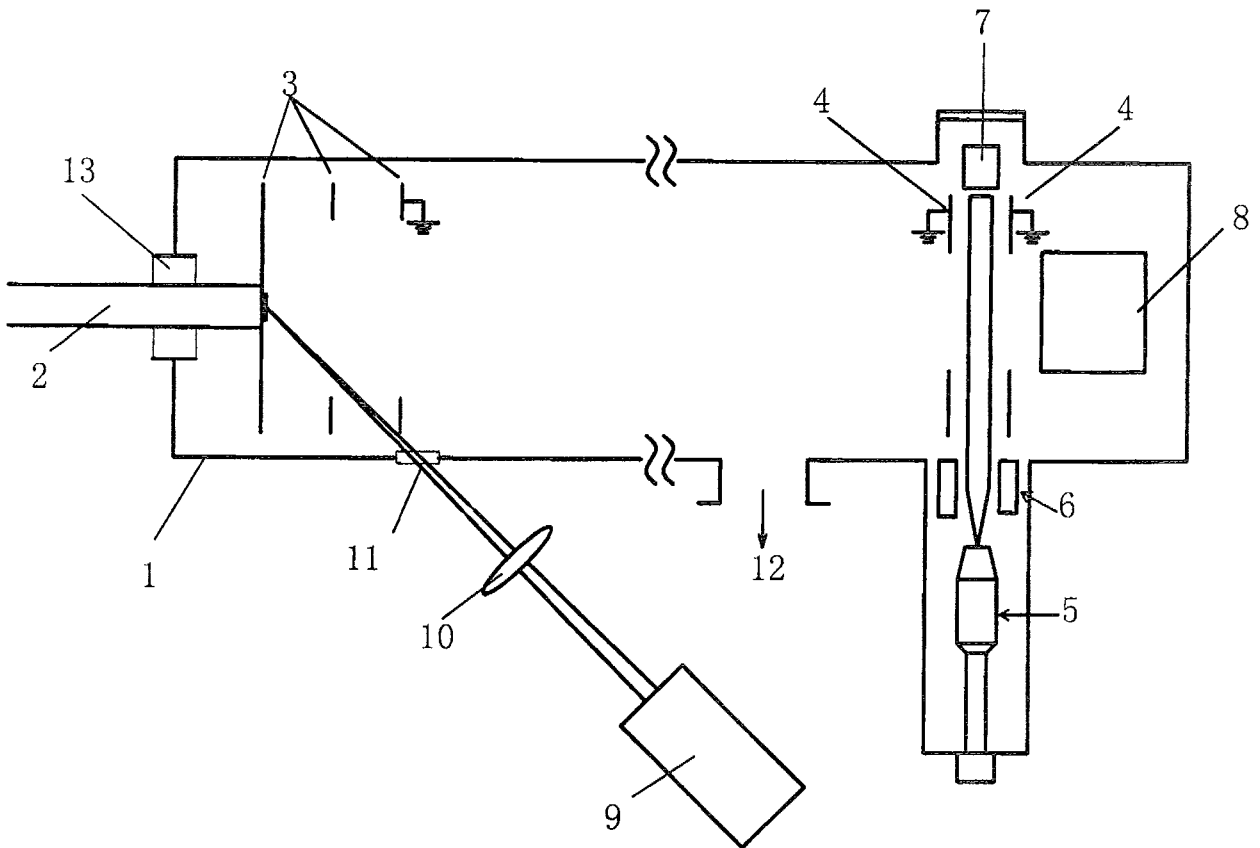


图 1