

分析化学

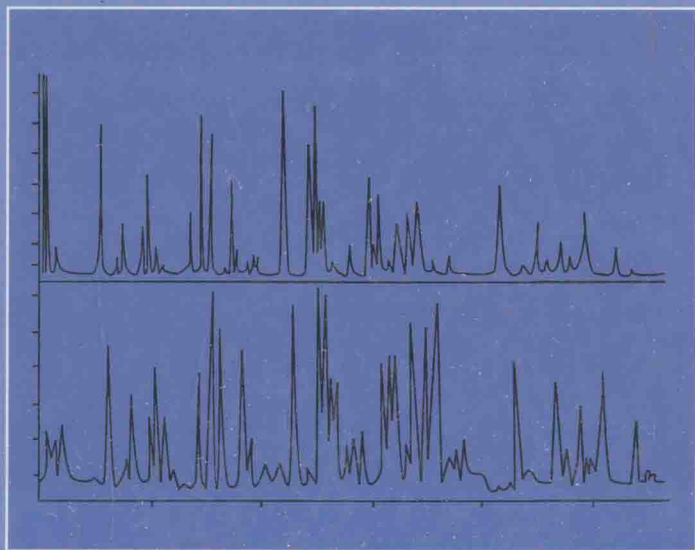
新方法
新技术

丛书

生物质谱技术与方法

杨芑原 钱小红 盛龙生 编著

CH



科学出版社

“十五”国家重点图书出版规划项目

分析化学 新方法
新技术 丛书

生物质谱技术与方法

杨芄原 钱小红 盛龙生 编著

本书得到国家重点基础研究发展规划“973”项目(2001CB5102)
和国家自然科学基金委项目(H-29927002)的资助

科学出版社

北 京

内 容 简 介

本书主要介绍生物质谱技术与方法。全书共分14章和附录。第1章对生物质谱的发展予以扼要介绍。第2~4章侧重于生物质谱技术,包括生物质谱仪器、电离与接口技术、分离与鉴定联用技术。第5~14章侧重于生物质谱方法,分别为基本分析、氨基酸序列的解析、肽蛋白质分析、蛋白质组学分析、临床医学分析、核酸分析、分子间相互作用分析、药物分析、生物体液分析、样品分析前处理。附录包括数据库检索的一些知识和操作。

本书可供化学分析、生物化学分析、医学和药物分析等专业的研究人员和研究生参考。

图书在版编目(CIP)数据

生物质谱技术与方法/杨芃原,钱小红,盛龙生编著. —北京:科学出版社, 2003

(分析化学新方法、新技术丛书)

ISBN 7-03-011682-8

I. 生… II. ①杨… ②钱… ③盛… III. 有机分析-质谱法
IV. O657.63

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2003)第 059133 号

策划编辑:钟 谊 周巧龙/文案编辑:吴伶伶
责任校对:宋玲玲/责任印制:钱玉芬/封面设计:王 浩

科学出版社 出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

双青印刷厂 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2003年10月第 一 版 开本:A5(890×1240)

2003年10月第一次印刷 印张:12 3/4

印数:1—3 000 字数:395 000

定价:36.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换(新欣))



前 言

近几年生物质谱的理论、技术与方法发展之快,使许多学者认为要写好一本教科书和研究参考书几乎是不可能的。然而,随着生物质谱在我国的应用逐渐展开,特别是近几年来蛋白质组学的研究对生物质谱提出的要求,许多研究和应用生物质谱的教授、专家、研究人员和工程技术人员及研究生,都感到需要有一本可以参考的专业书。因此,编者尝试以一种特殊的形式来编著本书。读者可以看到,本书所编内容与其说是章节,不如称为近期生物质谱技术与方法发展的总结,或者是一“本”文献综述。许多内容,就在本书即将出版的时候,似乎已显得老化,新的技术与方法又已涌现出来,因此,编者敬请读者能谅解这种因发展的迅速而带来的本书在内容上的某些滞后。另一方面,读者还可以看到一些内容在不同的章节中似乎都有涉及。这是因为编者在撰写每一章时,都试图将各章节组织得相对系统和独立。这样,即使读者仅阅读某些章节,也能领略到生物质谱在读者感兴趣的领域的粗貌和应用前景。当然,这种情况在今后生物质谱技术与方法发展到相对稳定时会有所改变。毫无疑问,到那时应当会有一本更像教科书的书籍出版。

本书在内容上主要分为两大部分:生物质谱技术(第2~4章)和生物质谱方法(第5~13章)。本书第1章到第4章主要由杨芑原编写,周振和申华莉参加了部分编写工作,第5章到第14章主要由钱小红和杨芑原、盛龙生编写,王京兰、刘尚义、于雁灵、张国安、王静、岳贵花、赵涛、卞莉萍、魏滢参加了部分编写工作。夏其昌教授对本书的编著提出了宝贵的意见,在此表示衷心感谢!

本书的编著完全是利用业余时间进行的,加上编者的水平和经验有限,其中难免存在不足和错误之处,敬请读者指正。

编 者
2002年11月

目 录

前言

第 1 章 生物质谱的发展	(1)
参考文献	(5)
第 2 章 四极杆、离子阱、离子回旋共振和飞行时间质谱技术	(6)
2.1 带电粒子的捕获	(7)
2.2 四极杆质谱仪	(8)
2.3 离子阱质谱	(10)
2.4 傅里叶变换-离子回旋共振质谱仪	(13)
2.5 飞行时间分析器的基本原理	(22)
2.6 反射式飞行时间质谱原理	(27)
2.7 二维质谱	(29)
参考文献	(31)
第 3 章 大分子电离与接口技术	(32)
3.1 大分子电离技术	(32)
3.2 接口技术	(45)
3.3 常压离子源与真空接口	(47)
参考文献	(51)
第 4 章 与生物质谱联用的分离技术 ^[1]	(53)
4.1 高效液相色谱	(53)
4.2 毛细管电泳	(59)
4.3 毛细管电色谱-质谱联用	(67)
4.4 多维色谱与质谱联用	(71)
4.5 微加工微流控装置	(73)
4.6 LC 与 MALDI/MS 联用	(78)
4.7 亲和分离与质谱联用	(82)
参考文献	(89)
第 5 章 基本分析方法	(91)

5.1	相对分子质量准确测定的意义	(91)
5.2	实验方法	(92)
5.3	实验条件影响	(95)
5.4	LC-MS联用鉴定蛋白	(98)
	参考文献	(101)
第6章	氨基酸序列的解析	(102)
6.1	氨基酸序列的质谱解析	(102)
6.2	肽的解离	(109)
6.3	蛋白和多肽的选择性断裂	(121)
	参考文献	(126)
第7章	肽和蛋白质分析	(128)
7.1	蛋白质鉴定概述	(128)
7.2	肽谱分析	(129)
7.3	质量肽谱和质量指纹谱	(135)
7.4	肽质量指纹谱的实验技术	(142)
7.5	串联质谱数据鉴定蛋白质技术	(148)
	参考文献	(159)
第8章	质谱在蛋白质组学中的应用	(161)
8.1	蛋白质组学和生物质谱	(161)
8.2	蛋白质鉴定的方法	(165)
8.3	蛋白质组和翻译后的修饰	(191)
8.4	结论	(204)
	参考文献	(204)
第9章	生物质谱在临床医学中的应用	(206)
9.1	临床化学与实验室质谱	(206)
9.2	用于诊断的代谢物	(209)
9.3	用于诊断的蛋白质和糖蛋白	(243)
9.4	用于诊断的生物聚合物	(249)
9.5	定量分析与质量保证	(252)
9.6	结论	(254)
	参考文献	(256)
第10章	核酸分析	(257)

10.1	MALDI-MS 和 ESI-MS 在寡聚核苷酸测序上的进展	(258)
10.2	寡聚核苷酸的序列测定策略	(260)
10.3	小结	(262)
	参考文献	(262)
第 11 章	分子间相互作用的分析	(264)
11.1	非共价键合复合物的一般性研究	(264)
11.2	DNA 和 RNA 非共价键复合物的研究	(271)
11.3	核酸复合物	(272)
11.4	RNA-配体复合物	(288)
11.5	展望	(292)
	参考文献	(292)
第 12 章	生物质谱法在药物分析中的应用	(296)
12.1	概述	(296)
12.2	LDI、MALDI 在药物分析中的应用	(296)
12.3	ESI/MS 和 LC/MS 在药物分析中的应用	(309)
	参考文献	(337)
第 13 章	生物体液中微量蛋白类药物的亲和提取与质谱鉴定	(339)
13.1	生物样品中蛋白类药物的分离纯化	(339)
13.2	亲和层析提取得到的蛋白类药物样品的生物质谱分析	(344)
	参考文献	(348)
第 14 章	样品分析前处理	(349)
14.1	生物材料的选择与前处理	(349)
14.2	细胞的破碎与细胞器的分离	(350)
14.3	提取和纯化	(353)
14.4	样品的浓缩、干燥及保存	(358)
14.5	测试样品制备	(360)
	参考文献	(364)
附录		(365)
附录 1	数据库的 Internet 检索	(365)
附录 2	因特网上蛋白质数据库的检索及应用	(370)
附录 3	Mascot——一个强大的因特网质谱数据搜索平台	(375)
附录 4	有关标准氨基酸和核苷酸的数据	(396)

第 1 章 生物质谱的发展

1906 年, J. J. Thomson 发明了质谱。到 20 世纪 20 年代质谱才逐渐成为一种分析手段, 被化学家采用。40 年代时, 质谱广泛用于有机物质分析, 直到 80 年代发现新软电离技术后, 能用于分析高极性、难挥发和热不稳定样品之后, 生物质谱才发展起来。近年来有关生物质谱的国际会议频频举行, 生物质谱成为现代科学前沿的热点之一。

质谱成为分析生物活性分子的重要手段, 是由于它具有以下特点:

- (1) 高灵敏度, 可测 10^{-8} mol 以下物质的量;
- (2) 快速, 数分钟内即可完成测试;
- (3) 能同时提供样品的精确分子质量和结构信息;
- (4) 既可用于定性分析, 也可用于定量分析;
- (5) 能有效地与各种色谱联用, 如 GC/MS, HPLC/MS, TLC/MS 及 CZE/MS 等, 用于复杂体系分析。

以上这些特点是其他分析方法难以达到的。

质谱技术是近些年来发展较为迅速的生物分析技术之一。质谱在高质量生物分子的测定中, 以其快速、准确、灵敏等优点受到生物学家的关注。传统的测定结构的方法如 X 射线晶体衍射法、核磁共振波谱法虽可直接或间接地确定蛋白质分子中所有原子位置, 但因仪器的要求特殊, 许多蛋白质分子尚不能被测定。其他方法如圆二色光谱及荧光、红外、拉曼光谱等提供的结构信息相对较少。在质谱技术中, 快原子轰击 (FAB)、基体辅助激光解吸 (MALDI)、电喷雾 (ESI) 等电离技术的出现使得生物大分子电离产生气相离子成为可能。将这些技术同碰撞诱导解吸 (CID) 技术结合, 可以获得蛋白质分子的共价结构信息, 最近, 在对生物大分子及其复合物的非共价结构研究方面也取得了很大进展。

生物质谱, 不同于其他质谱, 如无机、有机质谱, 顾名思义是研究生物分子的, 而生物分子, 大多数以其高相对分子质量而区别于其他分子。就质谱而言, 以往的质谱只要求测定几十到 2000 的相对分子质量, 而生物质谱则要求测定上万甚至是上百万的。质谱的特点可归纳为几个“S”,

即灵敏(sensitivity)、快速(speed)、专一(specificity),充分展示了质谱比其他方法优越,同时,质谱在测定中为生物样品分子提供了准确的化学计量(stoichiometry)信息。

在过去的20年中,生物质谱的主要进展在于解决如何测定大质量分子质荷比 m/z 及其相关的问题,主要的研究领域包括:①如何扩大质谱仪器的质量范围;②如何使生物大分子电离和使其带多电荷(即降低 m/z);③如何解释大质量分子质谱;④如何发展生物大分子质谱测定方法。到目前为止,上述4方面的问题基本上得到了解决。因此,许多利用生物质谱的分析方法现在正逐渐成为一种常规工具和手段,促使研究人员去认识与掌握它。

2002年的诺贝尔化学奖授予了三位研究人员,其中包括美国科学家芬恩(ESI-MS)和日本科学家田中耕一(MALDI-MS),以表彰他们在生物质谱领域中里程碑的贡献。富于戏剧性的是,田中耕一博士的诺贝尔奖的奠基文章发表在1987年中日质谱双边研讨会上^[1],但田中耕一博士的突破性进展在当时并没有引起中国科学家的足够重视。美国质谱学会年会在20世纪80年代初开始专门设立了“大分子质谱”的分会,以适应美国科学家开始解决生物大分子的质谱分析难题的潮流。可惜的是,中国科学家也没有对这一潮流给予应有的关注。

我们在生物质谱研究领域的落后也和我们当时的教育科研体系有内在的联系。中国的大学教育在交叉领域的教学不能适应科学迅速发展的趋势,化学学科的学生和研究生对生物学界的迅猛发展及存在的问题和解决问题的途径一无所知,对解决这些问题的技术基础没有安排合宜的教学内容,如生物化学、仪器测量基础(分子离子化过程、光学与离子光学、信号测量与处理、真空与机械等)。化学和生物学科的研究人员基本没有可以自己组建大型实验仪器的技术基础,由此,我们在当时并不具备在生物大分子质谱分析方面做出突破性成果的能力。

另外,我国在研究科学仪器方面落后的状态造成了生物质谱仪依赖进口的局面。20世纪90年代以后,生物质谱仪的进口逐年上升,特别是1998年蛋白质组学热潮起来后,生物质谱仪的进口达到了一个高潮。不可否认,生物质谱仪的引进极大地改善了我国生物大分子分析落后的状态,我国利用先进的生物质谱仪器已经在国际一流杂志上发表了有不少有影响的文章,但是对进口仪器的依赖限制了我们创新技术的发展,我们仪

器方面的性能一直比国际水平要晚 2~3 年。

回顾芬恩博士和田中耕一博士解决生物大分子电离的过程是很有启发意义的。实际上,芬恩博士采用的电喷雾技术(electrospray)在离子物理和气溶胶及物理化学领域早已有研究。芬恩博士的贡献在于他首次有目的地采用电喷雾-质谱装置来电离与分析生物大分子^[2]。通常认为电喷雾可以用两种机制来解释。①小分子离子蒸发机制。在喷针针头与施加电压的电极之间形成了强电场,该电场使液体带电,带电的溶液在电场的作用下向带相反电荷的电极运动,并形成带电的液珠(液滴),由于小雾滴的分散,比表面增大,在电场中迅速蒸发,结果使带电雾滴表面单位面积的场强高达 10^8V/cm^2 ,从而产生液滴的“爆裂”。重复此过程,最终产生分子离子。②大分子带电残基机制。首先也是电场使溶液带电,结果形成带电雾滴,带电的雾滴在电场作用下运动并迅速去溶,溶液中分子所带电荷在去溶时被保留在分子上,结果形成离子化的分子。电喷雾方法适合使溶液中的分子带电而离子化。离子蒸发机制是主要的电喷雾过程,但对质量数大的分子化合物,带电残基的机制会起相当重要的作用。电喷雾也可测定中性分子,它是利用溶液中带电的阳离子或阴离子吸附在中性分子的极性基团上而产生分子离子。

田中耕一博士采用的激光解吸技术(laser desorption)可以追溯到早期的激光溶融(laser ablation)技术和基体辅助技术(matrix assistant soft-ionization)。田中耕一博士的贡献在于他首次采用基体辅助激光解吸(MALDI)——质谱技术来电离与分析生物大分子^[3]。MALDI 在原理上利用激光束照射分散于基质中的样品,由于这些基质能够强烈吸收激光,从而保护了样品分子。MALDI 中的基体起着如下几种重要作用:从脉冲激光中吸收足够的能量,隔离样品分子,提供光激发的酸或碱基团,以及在离子-分子碰撞中电离样品分子。虽然一些细节,如能量如何转移、样品如何解离和离子化,尚需进一步研究,但公认的一个机制是:激光光束的能量首先被发色团的基体吸收,接着这些基体迅速蒸发为气相,从而使包含在其中的分析物的分子被带入气相。离子化的产生是由于受激的基体分子将质子转移给分析物分子。这个过程似乎是在固相中进行的,也可能是由激光诱导的(粒子)在尾焰中的碰撞引起的。这样,离子被引入质量分析器,用测 m/z 得到质谱图,并提供其离子同位素的分布信息。MALDI 离子源,可以电离分子质量为 $100 \sim 1\,000\,000 \text{Da}$ 的生物分

子并用于质谱分析,提供了高的灵敏度、高的离子透过率和强的可操作性。

生物质谱的最基本用途是测量肽/蛋白/核酸等生物大分子的分子质量,并间接推测它的结构。测定生物大分子的质量一直是科学家的梦想。特别是在 20 世纪 70 年代以后,生命科学以惊人的速度在发展,对快速了解生物大分子质量与结构的需求越来越高。生物质谱一个最重要的任务就是如何使生物大分子离子化,从而可以应用质谱技术测定离子化的大分子质量。科学家在 20 世纪 80 年代已经找到了一些技术,但是都不十分成功,如快原子轰击、大气压下放电、热喷雾器。尽管如此,这些不太有效的技术为 ESI 和 MALDI 的软电离技术起到了先导的作用。例如,快原子轰击中需要用到底物,这一点与 MALDI 中采用小分子底物是一致的。

1994 年,蛋白质组学第一次被提出,生物质谱被建议用来测定生物大分子结构、鉴定组成及进行痕量分析。令人鼓舞的是,生物大分子质谱在 1995 年后确实越过了化学和物理的边界,融入到生物化学和生命科学领域^[3]。1996 年生物质谱被确认为蛋白质组学技术平台的重要组成部分,科学家此时已认识到生物质谱另一吸引人之处是可以取代 Edman 降解测序方法,了解蛋白生成的早期结构域,以及当时显示出来的可以鉴定翻译后修饰的能力。更有甚者,生物质谱还可以用来测定非共价键作用如抗体-抗原结合作用。2001 年以后,随着基因组测序计划的完成,蛋白质组学的规模化已成定局,生物质谱正在发挥着其不可取代的中坚作用。

可以预计生物质谱今后的发展是令人振奋的,也可能会继续造就诺贝尔奖级的科学家。事实上,质谱技术因解决各种前沿难题而屡次获奖,今后还将会获奖。主要因为发展质谱技术和方法而获诺贝尔奖的科学家有好几位,他们是:J. J. Thompson(物理 1906,发明质谱技术并用以研究气体的电导),F. W. Aston(化学 1922,用质谱仪发现了非放射性元素的同位素),W. Paul(物理 1980,发明离子阱质谱原理与技术),R. F. Curl、R. E. Smalley 和 H. W. Kroto(化学 1996,用质谱仪观察到激光轰击下产生的碳 60),K. Tanaka 和 J. B. Fenn(化学 2002,发明生物大分子质谱技术)。

我国已有不少科学家正在开展生物质谱方法学的研究,以期生物质谱在测定生物大分子方面发挥更大的作用。同时,我们也要鼓励有能力

的科学家从事物质谱技术的研究,因为对物质谱技术的研究将使我们跨越式的发展,可以在某些方面做一些商品仪器难实现的信息获取工作。

后基因组学的蛋白质组学,目前显得相当活跃。利用蛋白质组学可以分离和分析细胞与组织的全部蛋白,并直接找到一组或几组功能蛋白,并研究它们与功能基因(组)的内在联系。在目前功能基因尚不很清楚的情况下,直接发现功能蛋白组有重要的意义。最近,《自然》(*Nature*)及相关自然生物领域杂志、《科学》(*Science*)以及其他一些重要杂志,接连刊登和评论有关蛋白质组学的文章,表明了蛋白质组学做为后基因组学中的重要组成部分的地位正在得到加强,蛋白质组学正在成为 21 世纪科学研究的前沿。蛋白质组学也正在成为分析化学研究领域的最前沿研究,并已经成为匹兹堡分析化学年会的热点和焦点。

蛋白质组学的科学研究之所以能够取得蓬勃的发展,主要依赖于高通量分离和分析技术的突破性进步。首先是质谱技术,尤其是软电离技术的发展和双向(二维)凝胶电泳技术的完善,使得蛋白质的大范围、高通量分析成为可能。世界各主要国家都不惜巨资进行蛋白质组的研究,建立了越来越多的蛋白质组数据库,蛋白质的分离和检测技术也在不断完善,在这种形势下,继续发展物质谱技术有着重要的意义。

参 考 文 献

- 1 Tanaka K Ido Y, Akita S et al. Second Japan-China Joint Symposium on Mass Spectrometry. Editors. Matsuda H and Xiao-tian Liang. Japan:Odaka,1987.185~188
- 2 Fenn J B et al. Proc 36th Annual Conference. Am Soc For Mass Spectrom. San Francisco, 1988. 733
- 3 Information Department, The Royal Swedish Academy of Science. Advanced Information on the Nobel Prize in Chemistry 2002. www.kva.sc, 9 Oct., 2002

第 2 章 四极杆、离子阱、离子回旋 共振和飞行时间质谱技术

质谱仪的一般结构框图如图 2.1 所示。质谱分析是一个制备样品或从其他分析仪器引入样品→样品气化并离子化→引入样品离子到分析器→在分析器中按离子的质荷比不同分离离子→分别检测各种离子并得到质谱图的过程。

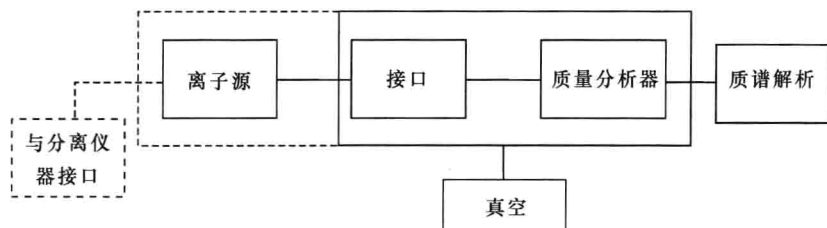


图 2.1 质谱仪器组成示意图

完整的质谱仪是机械、电子、真空、计算机及电子离子光学等多方面技术的综合。质谱仪的核心是离子源和分析器,其他的部分一般根据离子源和分析器相应地来配备。离子源多种多样,工作在真空状态下的有:电子轰击源(electron bombardment, EB)、化学电离源(chemical ionization, CI)、真空火花源(spark source, SS)、激光表面解析源(laser desorption, LD)、场解析(软电离源 field desorption, FD 或 field ionization, FI)、快原子(快离子)轰击源(fast atom bombardment, FAB)等;工作在低压下的有辉光放电离子源(glow discharge, GD);工作在大气下的有电(离子)喷雾(electron/ion spray, E/IS)、电感耦合等离子体源(inductively coupled plasma, ICP)等。分析器类型主要有:磁偏转、四极杆、离子阱、飞行时间、离子回旋共振等。不同的分析器与离子源间有多种组合,构成了质谱仪器的家族。

2.1 带电粒子的捕获

首先,让我们来考虑一个普通的问题:如何能够捕获和限制住带电粒子?假如在一维的势能阱中,带电粒子由于受电场的作用像弹簧一样地被弹性抓住(当然,这种情形也可以在三维空间中产生),那么,带电粒子受的束缚力 F 与电场作用力和粒子之间的距离 r 有关(图 2.2),即

$$F = - cr \quad (2.1)$$

式中: F ——离子受力;

r ——距离;

c ——弹性系数。

式(2.1)表明离子受力与距离成正比。

由于电场、电势(电位)和受力满足已知公式

$$E = - q \text{grad} \Phi \quad (2.2)$$

和

$$F = qE \quad (2.3)$$

因此,可以得到

$$\Phi = \Phi_0 + \frac{1}{2} \frac{c}{q} r^2 \quad (2.4)$$

所以,式(2.4)表明,如果要捕获住一个 $\Phi \propto \eta r^2$ 带电粒子,它所处的电势场必须满足抛物线电位,如图 2.3 所示。

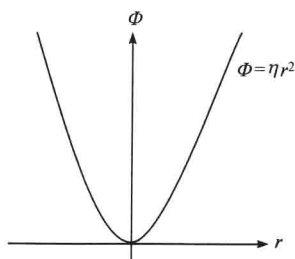


图 2.3 抛物线电势场

一般来说,偶极电场(或磁场)可以用来捕获带电粒子。偶极电场显示了很好的对称性,因此在对称轴附近,通常可以稳定地捕获住带电粒子。

假如 n 是极的个数,或者称为对称场的序数,则下列式子可以用来描述偶极:

$$\Phi \propto r^{\frac{n}{2}} \cos\left(\frac{n}{2} \varphi\right) \quad (2.5)$$

例如,对一个四极场来说, $n=4$,则有

$$\Phi \propto r^2 \cos(\alpha \varphi) \quad (2.6)$$

现在我们来考虑如何在三维空间中捕获住带电粒子。在直角坐标系中,三维四极电场可以表示为

$$\Phi = \frac{\Phi_0}{2r_0^2}(\alpha x^2 + \beta y^2 + \gamma z^2) \quad (2.7)$$

式中: r_0 ——极间距离;

Φ_0 ——极间电势;

α, β, γ ——在 x, y 和 z 方向带电粒子的弹性系数。

由数学可知,由式(2.7)所决定的拉普拉斯方程 $\Delta\Phi$ 必须满足以下条件

$$\Delta\Phi = 0 \quad (2.8)$$

因此,限制了 α, β 和 γ 的取值

$$\alpha + \beta + \gamma = 0 \quad (2.9)$$

本章所要介绍的四极杆质谱(和离子阱)便是因为 α, β 和 γ 有不同的取值而形成的质谱技术。

有两种简单的方法来满足式(2.9)的条件。

(1) 取 $\alpha=1=-\gamma, \beta=0$, 结果是一个二维的电势场,由这个电势场所对应的质谱便是四极质谱仪。

$$\Phi = \frac{\Phi_0}{2r_0}(x^2 - y^2) \quad (2.10)$$

(2) 取 $\alpha=\beta=1, \gamma=-2$, 这样会产生三维的电势场,由三维电势场所对应的质谱便是离子阱。

$$\Phi = \frac{\Phi_0}{2r_0}(x^2 + y^2 - 2z^2) \quad (2.11)$$

如果变换到柱坐标,有

$$\Phi = \Phi_0 \frac{r^2 - 2z^2}{r_0^2 + 2z_0^2} \quad (2.12)$$

下面先让我们来看一下四极杆质谱仪。

2.2 四极杆质谱仪

四极杆质谱仪(Q-MS)是目前最为常用的质谱仪中的一种,具有体积小、质量轻、性能好等方面的优点。其基本原理如下。

在 4 个电极杆的 x 和 y 方向分别施加 $U + V\cos(\omega t)$ 和 $-[U + V\cos(\omega t)]$ 的高频电压, 在 4 个电极之间任意位置 (x, y, z) 上的电压将为

$$\Phi(x, y, t) = (U + V\cos\omega t) \frac{x^2 - y^2}{r_0^2} \quad (2.13)$$

当质量为 m , 电荷为 e 的离子从 z 方向进入四极电场中, 其 Mathieu 运动方程为

$$\begin{aligned} \frac{d^2x}{d\tau^2} + (a + 2q\cos 2\tau)x &= 0 \\ \frac{d^2y}{d\tau^2} + (a + 2q\cos 2\tau)y &= 0 \end{aligned} \quad (2.14)$$

其中

$$\begin{aligned} \tau &= \frac{\omega t}{2} \\ a &= \frac{8eU}{mr_0^2\omega^2} \\ q &= \frac{4eV}{mr_0^2\omega^2} \end{aligned}$$

数学分析表明, 在 a 和 q 取图 2.4 中稳定区内的数值时, 离子将围绕 z 轴进行有限振幅的运动而沿着 z 方向前进; 在 a 和 q 取图 2.4 中不稳定区内的数值时, 运动振幅将不断增大, 质量大于质量为 M 的稳定运动离子的其他离子, 将因振幅增大而碰到 y 方向电极, 质量小于 M 的其他离子, 将因振幅增大而碰到 x 方向电极。选择适当的 $a/q (U/V)$ 值, 使

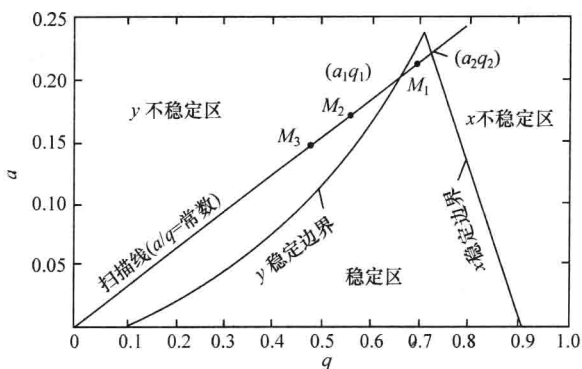


图 2.4 四极杆滤质器稳定性图

扫描线通过稳定区而其他质量的离子则因振幅增大, 撞击 x, y 电极而被“吸收”或“过滤”掉, 因此实现了质量的分离。在 r_0 和 e 一定的条件下, 质量与 U, V 及频率 f 有关。因此, 保持 U/V 和 f 值不变而改变 V 值, 或者保持 U, V 和 U/V 定值, 就可以使两个交点之间对应的质量范围的离子以有限振幅沿着 z 方向运动到达接受器, V 值不变而改变 f 值, 都可以实现质谱扫描, 使不同质量的离子依次到达接受器。

2.3 离子阱质谱

2.3.1 离子阱一般原理

在涉及离子阱质谱时, 先对离子阱 (ITD) 的一般原理进行概述, 这将有助于讨论测试原理。图 2.5 显示了经典离子阱结构。

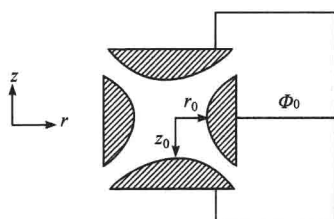


图 2.5 经典离子阱结构

离子阱有一对上下的端电极和一环电极组成, 上下端电极面为双曲线的旋转对称面, 环形电极内表面也为双曲线的旋转对称面。离子阱中心至上、下端电极距离为 z_0 , 至环电极内侧为 r_0 , 环电极和上下端电极之间加有电势 Φ_0 , 离子阱内任意电势因此满足式 (2.15) 的双曲关系

$$\Phi = \frac{\Phi_0(r^2 - 2z^2)}{r_0^2 + 2z_0^2} \quad (2.15)$$

其中

$$r_0^2 = 2z_0^2$$

电势 Φ_0 可展开为直流项 U_0 和交流变项 $V_0 \cos \omega t$, 并满足

$$\Phi_0 = U_0 + V_0 \cos \omega t \quad (2.16)$$

式中: ω ——外加交流变电压角频率;

t ——时间。