

学校编号：10384

分类号 _____ 密级 _____

学 号：200025015

UDC _____

厦门大学硕士学位论文

高分辨率电喷雾飞行时间质谱的研制及其应用

于文佳

指导教师：王小如 教授（厦门大学化学化工学院）

申请学位级别 硕 士

专业名称 分 析 化 学

论文提交日期 2003.7

论文答辩日期 2003.7

学位授予单位和日期 厦门大学 2003 年 7 月

答辩委员会主席 _____

评阅人 _____

2003 年 7 月

**RESEARCH AND APPLICATION OF HIGH RESOLUTION
TIME OF FLIGHT SPECTROMETRY WITH
ELECTROSPRAY IONIZATION SOURCE**

A Dissertation Presented

By

Wenjia Yu

Supervisors:

Professor & Ph.D: Xiaoru Wang

Submitted to the Graduate School of Xiamen University for the

Degree of MASTER in SCIENCE

July , 2003

Department of Chemistry, Xiamen University

目 录

摘要	1
Abstract	2
仪器部分	1
第一章 绪论	1
1.1 质谱的发展	1
1.1.1 质谱仪器简述	1
1.1.2 质谱发展历史简述	1
1.2 飞行时间质谱的发展	3
1.3 目前国内外飞行时间质谱仪的发展	5
参考文献	6
第二章 飞行时间质谱和电喷雾基本原理	8
2.1 飞行时间质谱原理	8
2.1.1 直线式飞行时间质谱	8
2.1.2 反射式飞行时间质谱	11
2.1.3 垂直引入反射式飞行时间质谱	14
2.2 电喷雾离子源	16
2.2.1 电喷雾基本原理	16
2.2.2 多电荷分子离子峰质量的计算	21
参考文献	22
第三章 高分辨率电喷雾飞行时间质谱简介及主要性能指标	25
3.1 概述	25
3.1.1 仪器结构	25
3.1.2 操作原理	27
3.1.3 真空系统	27
3.2 电喷雾离子源	29

3.3 离子调制系统	30
3.3.1 第一级射频四极杆	31
3.3.2 第二级射频四极杆	32
3.3.3 第三极静电四极杆	33
3.3.4 平板单透镜	34
3.4 飞行时间质量分析器	34
3.4.1 离子排斥与加速区	35
3.4.2 栅网	35
3.4.3 极片	35
3.4.4 双排斥脉冲	35
3.4.5 二级有网反射器	36
3.5 离子检测与信号系统	36
3.5.1 微通道板检测器	36
3.5.2 阳极	37
3.5.3 时间-数字转换器	38
3.6 仪器主要性能指标	39
3.6.1 质量分析范围	39
3.6.2 分辨本领	40
3.6.3 质量测定精度	40
3.6.4 检测灵敏度	40
参考文献	43
应用部分	45
第一章 绪论	45
1. 质谱应用的发展	45
2. 中药指纹图谱研究	47
2.1 中药指纹图谱概述	47
2.2 中药指纹图谱的局限性	55
3. 实验所用软件及算法	56

参考文献	62
第二章 多肽分析	65
1. 引言	65
2. MIR 工作原理	65
3. 实验结果	66
3.1 抗菌素短杆菌肽的碎片峰分析	67
3.2 合成八肽的碎片峰分析	69
4. 讨论	71
参考文献	73
第三章 丹参质谱指纹图谱研究	74
1. 引言	74
2. 实验部分	75
2.1 实验条件与方法	75
2.1.1 仪器	75
2.1.2 试剂	76
2.1.3 实验方法	76
3. 结果与讨论	76
3.1 LC-ESI-MS 检测	76
3.2 ESI-TOF-MS 稳定性考察	78
3.3 ESI-TOF-MS 结果及实验讨论	78
3.4 水溶性丹参成分检测	81
4. 不同产地丹参 TOF-MS 数据分析	82
5. 同一产地不同等级丹参 TOF-MS 数据分析	84
参考文献	88
第四章 甘草质谱指纹图谱研究	90
1. 引言	90
2. 实验方法与数据处理	101
3. 实验结果与讨论	102

3.1 飞行时间质谱分析	104
3.1.1 甘草根、茎、叶数据分析	104
3.1.2 甘肃省甘草样品数据分析	106
3.1.3 新疆甘草样品数据分析	107
3.1.4 其它省份甘草数据分析	108
3.1.5 梁地草分析	109
3.1.6 滩地草分析	111
3.1.7 沙地草分析	112
3.1.8 梁地、滩地和沙地甘草分析	114
3.1.9 上海庙甘草样品动态跟踪分析	115
3.1.10 陈红西湾甘草样品动态跟踪分析	116
3.1.11 康美基地甘草样品动态跟踪分析	118
3.2 高效液相色谱分析	119
3.2.1 新疆甘草分析	120
3.2.2 其它省份甘草分析	121
3.2.3 甘草根、茎和叶分析	122
3.2.4 梁地草分析	123
3.2.5 滩地草分析	124
3.2.6 沙地草分析	125
3.2.7 梁地、滩地和沙地甘草分析	126
3.2.8 陈红西湾甘草样品动态跟踪分析	127
3.2.9 康美基地甘草样品动态跟踪分析	129
3.2.10 上海庙甘草样品动态跟踪分析	130
参考文献	132
附录 在学期间发表的论文	133
致谢	134

摘要

本论文的工作由两部分组成：第一部分为高分辨率电喷雾飞行时间质谱仪的基本原理与简单构造；第二部分为高分辨率电喷雾飞行时间质谱仪在生物和中草药方面的应用。

论文的第一部分分为三章。第一章为绪论。这章简要介绍了质谱的发展历程，并着重介绍了飞行时间质谱仪的发展历史，最后简要介绍了国内外目前在飞行时间质谱仪方面的发展。第二章为飞行时间质谱和电喷雾基本原理。这章首先讨论了直线式飞行时间质谱、反射式飞行时间质谱及垂直引入反射式飞行时间质谱的基本原理及对仪器指标有重要影响的一些因素，其次讨论了电喷雾的基本原理和一些重要的影响因素。第三章为自行研制的高分辨率电喷雾飞行时间质谱简介及主要性能指标。这章首先给出了该仪器的基本结构及操作原理，再简要介绍了仪器的一些重要部件的作用，最后给出该仪器的重要性能指标。

论文的第二部分分为四章。第一章为绪论。这章简要介绍了质谱应用的发展，着重讨论了中药指纹图谱研究的重大问题，及指纹图谱的局限性，最后讨论了本论文实验中所采用的软件及算法问题。第二章为多肽分析。这章验证了 MIR 的重要作用，成功进行了两种多肽的序列测定。第三章为丹参质谱指纹图谱研究。这章使用自制质谱仪对丹参脂溶性样品直接分析，成功给出了多种丹参脂溶性成分图谱，在此基础上对不同产地丹参和同一产地不同等级丹参进行主成分聚类分析。第四章为甘草质谱指纹图谱研究。这章使用自制质谱仪得到甘草图谱后，对不同产地、不同种类、不同等级及不同时期甘草动态跟踪样品进行主成分聚类分析，得到了令人满意的成果。

关键词：飞行时间质谱、电喷雾、多肽、丹参、甘草、中药指纹图谱。

Abstract

This dissertation consists of two parts: 1. the basic principle and simple instructure of the electrospray ionization time-of-flight mass spectrometer with a high mass-resolving power; 2. usage of high resolution electrospray time-of-flight mass spectrometer in biology and traditional chinese medicine.

The first part can be divided to three chapters. A review in the first chapter was given to summarize the development of mass spectrometer ,especially in the proceeding of time-of-flight mass spectrometer, and the current development of time-of-flight mass spectrometer abroad and inland.The second chapter is about the primary principle of time-of-flight mass spectrometer and electrospray ionization.The basic concepts and some important factors which influence the mass resolving power and the mass measurement accurary are first shown on linear time-of-flight mass spectrometer, reflecting time-of-flight mass spectrometer and reflecting time-of-flight mass spectrometer with orthogonal extraction. the basic principle and some important influencing factors of electrospray ionization are given finally. The summary and some important parameters of the home-made electrospray time-of-flight mass spectrometer with a high mass-resolving power are given in rhe third chapter. The basic structure and the operation principle of the instrument are shown first, and some important component and the primary indicators are also introduced.

The first part can be divided to four chapters. A review in the first chapter was given to summarize the development of mass spectrometer in application, and the fundamental problems and some limitation of traditional chinese medicine fingerprint are largely introduced, and the software and data analysis method in experiments are also given. The second chapter is about peptides

analysis. The function of MIR(Molecular Ion Reactor) is experimented, and the sequence of two peptides are successfully determined. Mass fingerprinting of Danshen was made in the third chapter. The home-built ESI-TOF-MS was applied to successfully detect fat-soluble components in Danshen directly, on the basis of it, the princomp-cluster analysis from the same place (different grades) and different place Danshen were made. The fourth chapter is about the study of Mass fingerprinting of Gancao. The sample includes different places and grades and kinds and different life-time Gancao, the satisfying results are gained by the princomp-cluster analysis of the sample of Gancao.

Keywords time-of-flight mass spectromete; electrospray ionization; peptides; Danshen; Gancao; TCM(Traditional Chinese Medicine)finerprint

第一章 绪论

1.1 质谱的发展

1.1.1 质谱仪器简述

质谱仪的一般结构框图如图 1-1 示，它是一个制备样品或从其他分析仪器引入样品---样品原子化并离子化---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。

完整的一台质谱仪是机械、电子、真空、计算机以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。

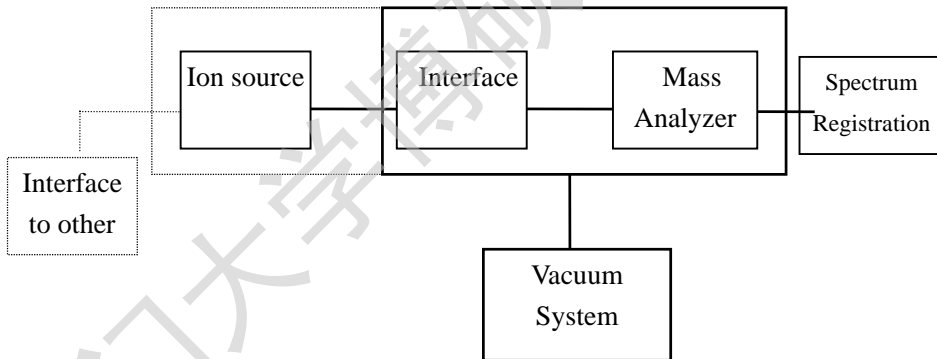


Fig.1-1 Block schematic of a mass spectrometry

分析器里要保持真空状态，一般要优于 10^{-6} Torr，数值越小越好，不可能太高的原因主要是考虑到实际要求和经济条件的统一。

1.1.2 质谱发展历史简述

1886年 Goldstein 发现正离子。

1898年 Wien 采用磁偏转技术分析正离子。

最早的质谱仪采用了磁偏转式分析器，1912年汤姆逊本人制造了第

一台抛物线质谱仪，得到了 O_2 ， N_2 ， CO 和 CO_2 的质谱图，并以此发现氖的两个同位素 Ne_{20} 和 Ne_{22} ^[1]。而后 1918 年 Dempstert 和 Swann 设计了第一台方向聚焦质谱仪分辨率为 100^[2]。1919 年 Aston 在物理杂志上发表了分辨率为 130 的速度聚焦分析器^[3]，成为发现稳定同位素，测定原子量的手段，在 71 种元素中发现了 202 种同位素，Aston 因此获得 1922 年的诺贝尔物理学奖。1935 年，利用真空火花源完成了当时最后一批重金属元素(Pb,Pt,Au,Ir)的同位素分析^[4]，这在物理史上具有划时代的意义。在完成同位素分析后，Nier 等人预见到了质谱在化学分析的重要意义：它可能成为炼油工业中复杂的烃类化合物分析提供一种快速可靠的手段。1935 年 Dempstert 建成第一台 180 偏转的方向速度双聚焦仪器，并在石油工业界的资助下速度商品化，1942 年 Consolidated Engineering Corporation 公司的 21-101 型仪器安置在大西洋炼油公司，这是大规模应用质谱的起点。50 年代开始发展了非磁式(动态)质谱计，由于磁场和大电源的舍弃，仪器变得小巧、价廉、快速。Paul^[5,6] 开创的四极质谱仪与气相色谱进样的联用(GC-Q-MS)已经成为现代质谱分析中非常重要仪器。1953 年 Paul 和 Steinwedel 在一篇专利中详述了四极杆和离子阱分析器。1958 年第一台气质联用仪问世。1989 年他们被授予诺贝尔奖。被认为今后极有生命力的飞行时间质谱仪(TOF-MS)是 1948 年由 Cameron 和 Eggert^[8]首先建成的，分辨本领从原来的 100 发展到了现在的上百万^[9]，其快速和无质量检测上限的特点为瞬态过程分析及生物大分子分析提供了有力手段。较常见的质谱还有离子阱质谱、离子回旋共振质谱等形式。质谱仪发展的另一个特征是与其他分析仪器的联用，气相色谱-质谱仪是人们定性定量分析完美结合的代表。当代由于高效液相色谱、高效毛细管电泳等快速分离技术的兴起，它与电/离子喷雾质谱的联用迅速发展成为有机大分子分析的重要方法。总之质谱在原子能，石油，化工 地质生物医学环境保护特别是在材料和生命科学的研究中越来越显示出其重要的地位。

质谱技术包括了分析器技术、离子源技术、后来发展起来并益显重要的真空接口、离子引入技术以及离子检测技术，其中离子源是任何一种质谱最重要的部分。离子源多种多样，工作在真空状态下的有：电子轰击源(Electron Impact, Electron Bombardment, EI)、化学电离源(Chemical Ionization, CI)、真空火花源(Spark, SS)、激光表面解析源(Laser Desorption, LD)、场解析(软电离源 Field Desorption, FD or Field Ionization, FI)、快原子(快离子)轰击源(Fast Atom Bombardment, FAB)、基体辅助激光解吸电离源(Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization, MALDI)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：大气压化学(碰撞)电离源(Atmosphere Chemical/Collision Ionization, APCI)、电(离子)喷雾离子源(Electrospray/Ionspray Ionization, ESI)、电感耦合等离子体源(Inductively Coupled Plasma, ICP)等。基体辅助激光解吸电离源和电(离子)喷雾离子源的发明获得了 2002 年诺贝尔化学奖。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。

1.2 飞行时间质谱的发展

飞行时间质谱的发展可以分为三个阶段

a. 原理的提出和早期的试制

飞行时间质谱的原理早在 1946 年就由 Stephens 等人提出^[9]，他们据此设计了一个装置，是这类仪器的雏形。1948 年 Cameron 和 Eggert 建立了第一台时间仪，用了一根 10m 长的飞行管，分辨率仅为 $2^{[10]}$ 。为了使样品的电离更适合飞行时间质谱的脉冲工作原理，1953 年由 Wolff 等人试用了脉冲式的电子束轰击^[11]，这是最早利用脉冲离子源的尝试。这一时期，人们只是从最基本的原理上进行了尝试，仪器性能并没能有很大的发展。

b. 直线式飞行时间质谱的正规化

1955年 Wiley and McLaren 从理论上推导并付诸实验的双场加速直线式飞行时间质谱仪能实现一阶空间聚焦,分辨率达 $100^{[12]}$,使飞行时间质谱仪真正获得运用,他在论文中提到的空间聚焦设计思想指导了40年来直线式飞行时间质谱的设计。1957年迅速地以此为基础由 Bendix Corporation 产生了商品仪器,分辨率达500。1960年报道气相色谱与飞行时间质谱联用^[13],1966年激光微探针与之联用^[14]。1967年召开欧洲第一届质谱讨论会特别强调了它在快速反应、离子-分子反应、离子-表面反应以及高温研究和工业在线分析的前景^[15]。但由于当时电子技术,特别是快电子技术条件的限制,仪器的稳定性及质量精度问题没能得到克服,另外由于结构简单小巧、性能稳定的四极杆质谱的兴起,使飞行时间质谱被冷落了近二十余年。

c. 重新兴起

以第七次欧洲质谱讨论会召开为标志^[16]。当时兴起的等离子体和激光解离等离子源新技术,需要一种反应快速的分析检测器,飞行时间质谱得以重新兴起。而在这之前要以 Mamyrin 1971年反射式飞行时间质谱的发明^[17]为重要基础,由于反射器的能量补偿,二阶空间及能量聚焦的实现使仪器分辨率达到2000,把飞行时间质谱推向一个新的高度。同时电子技术的成熟,大面积接收并快速响应的微通道板为之提供了一种优良的检测器件。80年代末随着电/离子喷雾离子源、基体辅助激光解析离子源的兴起,巨大分子量的生物样品分析更是有赖于飞行时间质谱的快速分析和大质量上检测的特点。1987年 Hillenkamp 等人利用基体辅助激光解析离子源分析了10万分子量的离子^[18],开始了大分子仪器检测的历史,飞行时间质谱仪逐渐在生命科学研究领域中扮演了越来越重要的角色。

飞行时间质谱仪仪器原理简单,只需要精密的供电系统和电场设计,无需交变电场和磁场,并以其快速、质量范围宽、离子利用率高的特点具备

强大的竞争力与生命力。

1.3 目前国内外飞行时间质谱仪的发展

目前飞行时间质谱仪被公认为最有发展前景的质谱仪，市场需求量逐年激增。见 Fig.1-2.

目前商品化的 TOF-MS 几乎完全由国外厂家垄断。主要生产商有美国应用生物系统公司 (Applied Biosystems Inc. Corp.,) 美国布鲁可·道尔顿公司(Bruker Daltonics, Inc.) 安捷伦 Aglient Corp.,原 HP 公司) 和 Micromass 公司。并且,在世界各地预计还有近百家小型质谱厂商生产和研制 TOF-MS。

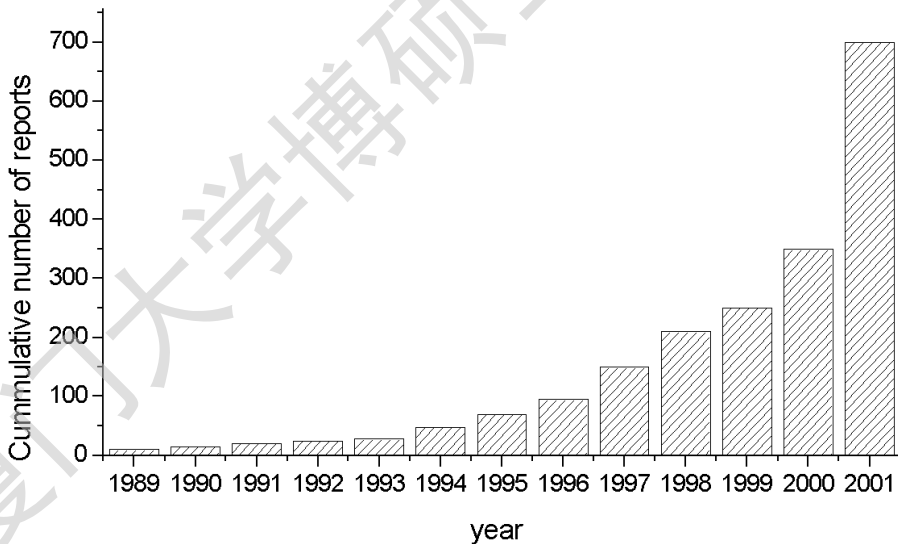


Figure 1-2. Growth in the number of reports of TOFMS instruments and applications from 1989 to 2001.

我国质谱仪的发展始终滞后于国外。一直到 1983 年，中国科学院科学仪器厂和天津大学才研制成功飞行时间质谱仪。现在国内生产 TOFMS 的生产厂家主要有北京分析仪器厂、北京中科科仪科学仪器厂、南京分析仪器厂和沈阳真空设备研究所，但是产品综合性能与国外厂家有较大差距。

我实验室（厦门大学现代分析科学教育部重点实验室）自 1994 年开始

研制 TOFMS ,1997 年研制成功中国第一台微秒级短脉冲辉光放电飞行时间质谱仪 (GD-TOFMS) , 现已通过鉴定。1998 年开始与俄罗斯质谱专家 A. F. Dodonov 合作研制一台高分辨率电喷雾离子源高分辨飞行时间质谱仪 , 2002 年顺利完成并通过国家鉴定 , 主要性能指标达到国际先进水平。

参考文献

- [1] 季欧, 质谱仪器与分析方法, 厦门大学科仪系讲义
- [2] A. J. Dempster, Phys. Rev., 11, 316(1918)
- [3] F.W. Aston, Phil.Mag., 38, 707(1919)
- [4] A. J. Dempster, Nature, 136, 909(1935)
- [5] W. Paul and H. Steinwedel, Z. Naturforsch., 8a, 488(1953)
- [6] W. Paul and M. Raether, Z. Physik., 140, 262(1955)
- [7] A. E. Cameron and D. F. Eggers, Rev. Sci. Instrum., 19, 605(1948)
- [8] A. Dodonov et. al, Molecule Ion Reactor(MIR) TOFMS equipped with an Electrospray ion source, Symposium , 1997
- [9] Stephens, W.E., Phys. Rev., 1946, 69,691
- [10] Cameron, A.E. and Eggers, D.F., Rev. Sci. Instr., 1948,19,605
- [11] Wolff, M.M. and Stephens, W.E., Rev. Sci. Instru., 1953, 24,616
- [12] Wiley, W.C. and McLaren, I.H., Rev. Sci. Instru., 1955,26, 1150
- [13] Harrington, D.B. in the Encyclopedia of Spectroscopy, Clark, G. L., Ed. Reinhold Publishing, New York, U.S.A., 1960
- [14] Knox, B.E. and Vastola, F.J., Chem. Eng. News, 1966, 44(No.44), 48.
- [15] Time-of-Flight Mass Spectrometry, Price, D. and Williams, J.E., Eds., Pergamon Press, Oxford, England, 1969
- [16] Dynamic Mass Spectrometry, Price, D., Todd, J.F.J., Eds., Heyden & Son Ltd.: London, England, 1981

[17] Mamyurin, B.A., Karataev, V.I., Shmikk, D.V. and Zagulin, V.A., soviet Phys., JEPT, 1973, 37, 45

[18] Karas, M. and Hillenkamp, F. Anal. Chem. 1988, 60, 2299-2301

厦门大学博硕士学位论文摘要库

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士学位论文摘要库