

А.К.Андреев, Л.Н.Галль, А.М.Дмитриев, Н.В.Краснов, В.П.Саблин,
С.В. Тиркельтауб, Ю.И.Хасин

(Институт аналитического приборостроения АН СССР, С.-Петербург)

ИСТОЧНИК ВТОРИЧНЫХ ИОНОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ БИООРГАНИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ НА ОСНОВЕ ТВЕРДОТЕЛЬНОЙ ЦЕЗИЕВОЙ ПУШКИ

Одним из наиболее информативных методов масс-спектрометрического анализа биологических веществ является метод вторично-ионной масс-спектрометрии (ВИМС). В методе ВИМС ионизация вещества происходит под действием бомбардировки его ускоренными ионами (в методе ионизации быстрыми атомами (ИБА) — ускоренными нейтральными атомами), позволяя получать масс-спектры лабильных, малолетучих, биологических веществ, анализ которых в условиях масс-спектрометрии электронного удара невозможен или крайне затруднен. Достоинством ВИМС является присутствие, как правило, интенсивной линии квазимолекулярного (протонированного или катионированного) иона или интенсивных линий фрагментных ионов, увеличивающих информативность анализа. Принципиально важным для ВИМС (ИБА) лабильных соединений явилось использование жидкой глицириновой матрицы, содержащей анализируемое вещество [1]. Жидкая матрица позволила не только существенно, до одного часа увеличить длительность анализа, но и увеличить интенсивность ионного тока анализируемого вещества за счет использования более интенсивных пучков первичных частиц до 10^{-5} А /см² и более. Не менее важным явилась возможность использования, при реализации метода ВИМС, в качестве первичных ионов Cs^+ , получаемых вместо ионов или быстрых атомов благородных газов - Ar, Kr, Xe. При этом существенно упростился источник ионов, уменьшились его размеры и рассеиваемая в вакуум мощность, упростилась вакуумная система масс-спектрометра. Существенный вклад в развитие метода внесли пионерские работы Г.Д. Танцырева [1] и В.Г. Черепина [2].

Описание источника ионов и блока питания. Схема источника ионов ВИМС с твердотельной пушкой первичных ионов Cs^+ , разработанного для масс-спектрометра МХ1310, представлена на рис. 1. Конструктивные размеры источника не превышали размеров стандартного источника с электронным ударом. Базовым элементом конструкции разработанного источника является модифицированная ионизационная камера источника с электронным ударом (1), которая крепится на фланце стандартного размера с высоковольтными вакуумно-плотными выводами, выдерживающими рабочее напряжение до 15 кВ. Снизу к ионизационной камере крепится твердотельная цезиевая пушка - источник первичных ионов Cs^+ (2), энергия ионов Cs^+ варьируется в пределах от 1 до 10 кэВ относительно мишени, находящейся под ускоряющим напряжением 5 кВ. Пучок ионов цезия образует прямой угол с ионно-оптической осью масс-анализатора. Перпендикулярно плоскости, образуемой пучком первичных ионов цезия и направлением отбора вторичных ионов в ионизационную камеру, при помощи прямого ввода (3), подается мишень с образцом исследуемого вещества. Таким образом, ось пучка ионов цезия из твердотельной пушки, ионно-оптическая ось источника

ионов и направление продольного движения вводимой мишени образуют трехкоординатную систему с вершиной на мишени — в точке эмиссии вторичных ионов (4). Вдоль оси отбора вторичных ионов расположена ионно-оптическая система (5), вытягивающая и формирующая пучок вторичных ионов и транспортирующая их в масс-анализатор. Напряжения на электроды ионно-оптической системы источника вторичных ионов подаются от блока питания источника ионов с электронным ударом, входящим в состав масс-спектрометра МХ1310, а питание, управление и контроль режимов работы твердотельной цезиевой пушки осуществляется при помощи дополнительно разработанного блока питания. Схема подключения этого блока к системе питания к масс-спектрометру разработана таким образом, чтобы не ухудшать его параметры, благодаря чему время перехода от ионизации электронным ударом к ионизации ионным пучком (ВИМС) определяется только временем замены источника ионов и откачки анализатора на высокий вакуум.

Цезиевая пушка. Ионообразующим элементом твердотельной цезиевой пушки — источника первичных ионов Cs^+ , схема которой представлена на рис. 2, является прессованный керн алюмината цезия $\text{Cs}_2\text{O} \cdot X \text{Al}_2\text{O}_3$ с мольным соотношением $X = 3, 5, 7$ (1), заключенный в спиральный алундированный нагреватель из вольфрамовой проволоки диаметром 50 мкм (2). Керамический держатель (3), на котором крепится ионизатор-кern с нагревателем и фокусирующий электрод (4), являющийся одновременно и тепловым экраном. Все напряжения, подаваемые на элементы твердотельной цезиевой пушки, подаются относительно ускоряющего напряжения масс-анализатора, подаваемого на образец и ионизационную камеру. Ионы цезия образуются при термоионной эмиссии с торца керна при рабочей температуре 1000 — 1100 °С и мощности нагревателя не более 1.5 Вт. Цезий диффундирует через алюминат к эмиттирующему слою, где он ионизуется и вытягивается в ионный пучок с током порядка 1 мкА. Диаметр пучка ионов Cs^+ , попадающих на мишень, не превышает 1 мм², а фокусирующее напряжение позволяет в небольших пределах сканировать по поверхности мишени с целью лучшего использования образца. Стабильность ионного тока пушки во времени довольно высока, за 6 ч непрерывной работы интенсивность ионного тока уменьшилась не более чем на 10%. Для поддержания па-

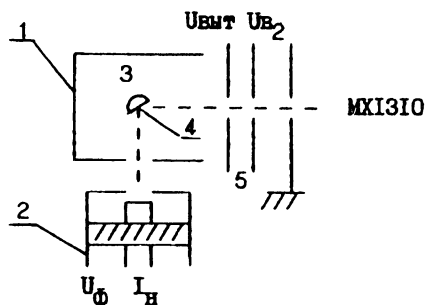


Рис. 1. Схема источника вторичных ионов

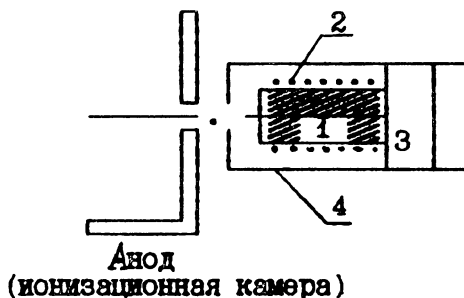


Рис. 2. Схема твердотельной цезиевой пушки

раметров ионного пучка пушки во времени используется методика активировки зерна обратным напряжением до 1 кВ, позволяющая обогатить область, прилегающую к плоскости эмиссии в твердом электролите — алюминате цезия, ионами цезия. Активировка производится во время подготовки пробы к вводу в источник ионов, когда штатная работа пушки не требуется. Кроме того, эта методика позволяет существенно увеличить срок службы ионизатора без его замены и более полно использовать запасы ионов цезия из зерна. Химически запасенный в зерне цезий остается стабильным при неоднократном попадании на атмосферу и не требует особых мер предосторожности в обращении. При температуре зерна ~ 1000 °С для обезгаживания твердотельной цезиевой пушки давление в источнике не изменяется. После начальной активизации ионизатор во время перезарядки образца обычно поддерживается в горячем состоянии (~ 600 °С), чтобы исключить стартовую дегазацию и адсорбцию загрязнений на образце. Если ионизатор окажется на атмосфере, то необходима его повторная дегазация.

Разработанная твердотельная цезиевая пушка является компактным, эффективным источником первичных ионов, совместимым с любой вакуумной системой, работающей в диапазоне давлений от 10^{-4} до 10^{-9} Торр.

Система питания источника ионов. Система питания источника вторичных ионов состоит из источника питания пушки $U_{\text{П}}$, источника питания фокусирующего напряжения $U_{\text{Ф}}$ и источника питания нагревателя ионизатора $I_{\text{Н}}$. Функциональная схема системы блока приведена на рис.3, где G — задающий генератор; ИП1-ИП3 — источники первичного питания; УМ1-УМ4 — усилители мощности; Т1-Т4 — разделительные трансформаторы; Т5 — высоковольтный трансформатор; В1-В2 — высокочастотные выпрямители; У1-У2 — умножители напряжения; $U_{\text{СИ}}$ — усилитель тока эмиссии ионизатора; УК — устройство коммутации; ИП — индикаторный прибор; РУ — устройство регулирования; ОР — оптронная развязка по высокому напряжению. Все источники представляют собой конверторы напряжения с преобразованием на высокой частоте с гальванической развязкой, выполненной на импульсных трансформаторах Т1-Т4. Гальваническая развязка необходима из-за того, чтобы перечисленные источники вырабатывали требуемые для работы напряжения относительно ускоряющего напряжения масс-анализатора. Источники первичного питания ИП1-ИП3, предназначенные для выпрямления и стабилизации напряжения, выполнены в виде компенсационных стабилизаторов напряжения. Управление напряжениями $U_{\text{П}}$ и $U_{\text{Ф}}$ осуществляется изменением напряжения питания усилителей мощности УМ1, УМ2 с помощью регулировки источников первичного питания ИП1, ИП2. Усилители мощности выполнены по схеме однотактных преобразователей с независимым возбуждением от задающего генератора G . Контроль величин выходных напряжений $U_{\text{П}}$ и $U_{\text{Ф}}$ осуществляется по сигналам инд. $U_{\text{П}}$ и инд. $U_{\text{Ф}}$, пропорциональным напряжениям питания усилителей УМ1 и УМ2, а установка этих напряжений производится резисторами R1 и R2, соответственно. Регулировка тока накала нагревателя ионизатора осуществляется с помощью резистора R3 уменьшением уровня опорного напряжения на РУ, которое управляет величиной тока накала с помощью сигнала инд. $I_{\text{Н}}$. Для питания усилителя тока эмиссии ионизатора служат источник питания ИП3 и усилитель УМ3. Сигнал, пропорциональный току ионизатора, снимается с резистора R4 и передается в низкопотенциальную часть с помощью ОР. В связи с малой величиной тока эмиссии ионизатора (ток ионов Cs^+ не превышает 2 мкА) входной каскад усилителя тока ионизатора $I_{\text{И}}$ выполнен на полевом транзисторе с изолированным затвором. Индикация всех сигналов, пропорциональных выходным

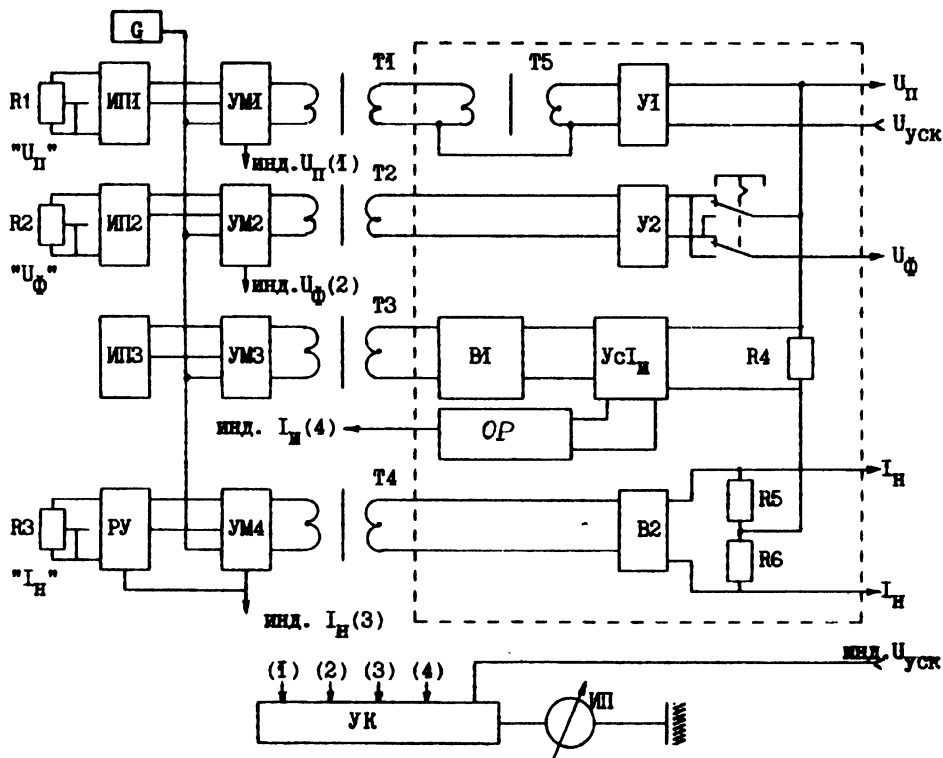


Рис. 3. Функциональная схема блока питания цезиевой пушки

напряжениям и токам, осуществляется с помощью индикаторного прибора ИП через УК. Отличительной особенностью конструкции блока питания является исполнение всех управляющих устройств в низкочастотной части блока, что позволяет иметь минимум активных элементов в высоковольтной части, что значительно упрощает конструкцию и повышает надежность и работоспособность блока в целом.

Экспериментальные результаты. Масс-спектрометрические испытания источника вторичных ионов с ионизацией ускоренными ионами цезия включали в себя измерения масс-спектров вторичных ионов ряда веществ биологического и биохимического происхождения, определение предельной чувствительности прибора при анализе этих веществ и влияние параметров источника ионов на характеристики самого анализатора. В качестве жидкой матрицы в экспериментах использовался глицерин, давление паров которого порядка 10^{-5} Торр не нарушает работу источника. На мишень наносилось 1 - 2 мкл глицерина, в который добавлялось 0.5 - 1.0 мкл водно-метанольного раствора исследуемого вещества. Капля глицерина занимает на поверхности мишени площадь порядка 0.01 см^2 . Концентрация пробы на по-

верхности капли может превышать объемную, даже если проба хорошо перемешана с глицерином, вследствие чего может увеличиваться выход вторичных ионов. Ионная бомбардировка приводит к ионизации и убыли молекул пробы из этого слоя, однако, благодаря подвижности молекул в глицериновой матрице и непрерывной регенерации поверхностного слоя даже при высоких плотностях тока первичного ионного пучка может быть получена относительно высокая и стабильная эмиссия вторичных ионов при условии, что в глицериновой матрице достаточное количество молекул пробы. При бомбардировке матрицы, состоящей из чистого глицерина, в масс-спектре зарегистрирована серия протонированных кластеров глицерина типа H^+G_n , где $n = 1 - 9$. Чувствительность масс-спектрометра определялась по грамицидину S, при понижении концентрации путем последовательного разбавления его водно-метанольного раствора. Предельная чувствительность по пику молекулярного протонированного иона грамицидина MH^+ с $m/e = 1141$ при соотношении сигнал — шум 30 составила 10^{-10} г. Кроме того, в спектре зарегистрирован двухзарядный молекулярный протонированный пик $(M + 2H)^{+2}$ с $m/e = 571$, составляющий по интенсивности 10 % от однозарядного молекулярного пика. В качестве примера масс-спектров биоорганических веществ на рис. 4 приведен масс-спектр микозиды с молекулярной массой 1074 Да. В масс-спектре хорошо видны пики, соответствующие квазимолекулярным протонированным и катионированным ионам и достаточно интенсивные осколочные ионы с массами более 200 Да, что позволяет проводить структурный анализ. Наличие в спектре катионированных квазимолекулярных ионов свидетельствует о присутствии в анализируемом веществе примеси натрия. При анализе дипептида Gly-Val и трипептида Ala-Gly-Gly в масс-спектрах зарегистрированы квазимолекулярные протонированные пики анализируемых пептидов, интенсивность которых много больше интенсивности осколочных ионов. Для выяснения аналитических возможностей метода были записаны масс-спектры антибиотиков. Масс-спектр олеандомицина содержит квазимолекулярный протонированный ион с $m/e = 688$ и два интенсивных осколочных иона с $m/e = 543$ и $m/e = 224$, кроме того, в низкомоле-

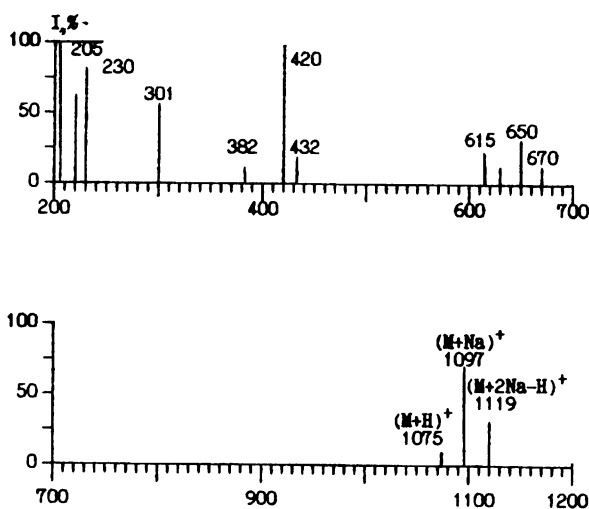


Рис. 4. Масс-спектр микозиды

кулярной части масс-спектра зарегистрирован целый ряд осколочных пиков с $m/e < 175$. На рис. 5 приведены два масс-спектра аденозина (М.м. 267 Да), один из которых (а) получен в ходе исследований проведенных в настоящей статье, а второй (б) получен тем же методом, но на масс-спектрометре фирмы Hitachi M-80, где в качестве первичных ионов использовались ионы Ag^+ [3]. В обоих масс-спектрах зарегистрированы квазимолекулярные ионы аденозина MH^+ с $m/e = 268$. Но вместе с тем существуют и отличия, а именно, в случае (б) в спектре присутствуют протонированные кластерные ионы глицерина $(2G + H)^+$ и $(G + Ag)^+$, что по-видимому, связано как с посеребренной подложкой, так и с режимом распыления мишени.

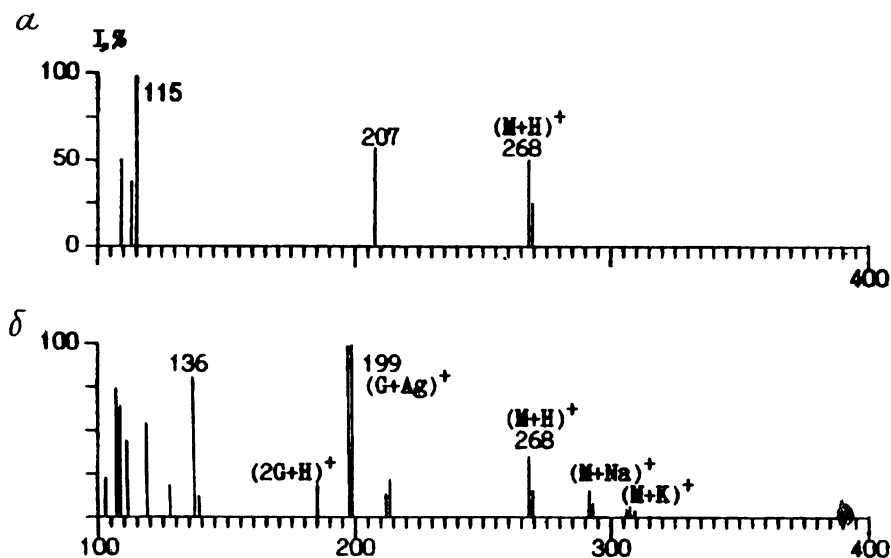


Рис. 5. Масс-спектр аденозина: а - настоящая работа, Cs^+ ; б - Hitachi M-80, Ag^+ [3]

В заключение можно отметить, что разработанная твердотельная цезиевая пушка, источник ионов и блок питания позволяют проводить масс-спектрометрические исследования биоорганических и биохимических веществ на существующем в настоящий момент аналитическом уровне.

ЛИТЕРАТУРА

1. Танцырев Г.Д., Николаев Е.Н. Образование кластеров при ионной бомбардировке пленок замороженных полярных веществ // Письма в ЖЭТФ.-1971. - Т.13. - N 9.- С.473-477.
2. Черепин В.Т., Васильев М.А. Вторичная ионно-ионная эмиссия металлов и сплавов. - Киев: Наукова думка, 1975.
3. Hitachi. Technical data MS. Sheet N 10.