

УДК 621.384.668.8

© А. Н. Веренчиков, Н. В. Краснов, М. З. Мурадымов, Ю. И. Хасин

ПРОСТАЯ КАЧЕСТВЕННАЯ МОДЕЛЬ ВРЕМЯПРОЛЕТНОГО МАСС-СПЕКТРОМЕТРА

Описаны возможности простой программы для анализа характеристик времяпролетного анализатора. Программа оперирует с реальными параметрами прибора (межэлектродные расстояния и потенциалы на электродах), что облегчает ее использование непосредственно в процессе экспериментальной работы с прибором и в процессе его настройки. Приведены некоторые результаты расчетов применительно к существующему макету анализатора. Сделан вывод о необходимости модернизации электростатического зеркала — перехода к двухступенчатому зеркалу. Приводится масс-спектр инсулина, снятый при разрешающей способности $R > 15\,000$.

ВВЕДЕНИЕ

Одним из значимых событий в истории развития аналитических методов исследования, и в частности в истории масс-спектрометрии, явилось создание и быстрое распространение метода анализа растворов органических веществ, получившего название электроспрей (Electrosprey). Метод был создан практически одновременно в России (тогда еще Советский Союз) в Институте аналитического приборостроения под названием "метод экстракции растворенных ионов при атмосферном давлении" и американскими исследователями [1–3]. Вследствие, по-видимому, преимущественного распространения в мире англоязычной научной литературы общепринятым стало название Electrosprey (ES), объединяющее множество различных модификаций данного метода. Можно без преувеличения сказать, что создание этого и других "мягких" методов явилось своего рода вторым рождением масс-спектрометрии для биохимии, медицины, координационной химии и многих других областей исследований.

Первый этап развития и становления метода проходил на магнитных и квадрупольных приборах, т. к. источник формирует непрерывный ионный пучок. Долгое время вопрос сочетания источника ES с времяпролетным анализатором считался бесперспективным, т. к. при этом подразумевалось обязательным стробирование непрерывного ионного пучка короткими импульсами с катастрофическими потерями чувствительности при сколь угодно разумном разрешении [4].

Проблема была блестяще решена изобретением и созданием нового типа времяпролетных масс-анализаторов — времяпролетных анализаторов с ортогональным вводом ионного пучка (Орто—ВПМС) [5]. Первый ВПМС типа рефлектрон с ортогональным вводом ионов из источника типа ES

был создан в 1987 г. в филиале Института энергетических проблем химической физики АН СССР. Прибор имел разрешающую способность, не превышающую 2000 на полувысоте пика, при эффективной длине дрейфа около 2 м. Огромная работа была проведена по анализу причин, препятствующих достижению более высокой разрешающей способности [6–9].

Применение времяпролетного анализатора дает ряд преимуществ: расширенный диапазон масс, возможность регистрации ионов всех масс с минимальными потерями и быстрота развертки масс спектров. При регистрации полного спектра за время 200–300 мкс достигается чувствительность, близкая к той, которая характерна для режима селективного ионного детектирования на квадрупольных или магнитных масс-спектрометрах. Высокая чувствительность Орто—ВПМС с источником ионов типа ES является одной из главных причин быстрого развития этого типа масс-анализаторов и стремительного расширения областей использования масс-спектрометрического анализа с их применением. Сегодня приборы этого типа уже стали незаменимыми инструментами для исследований в современной биохимии, при анализе больших молекул пептидов, белков и полинуклеотидов [10–12].

Одним из основных направлений развития и совершенствования ES Орто—ВПМС сегодня является повышение разрешающей способности. На данный момент рабочая разрешающая способность большинства коммерческих приборов составляет около 5000 на полувысоте пика. Повышение разрешающей способности до 15 000–20 000 позволит определять моноизотопную массу ионов с массами 10 000–13 000 а.е.м. Кроме того, по расстоянию между разрешенными пиками изотопного распределения легко и точно определяется зарядность иона. В направлении повышения разрешающей способности ВПМС

решающей способности ВПМС работают сегодня академические исследовательские группы и лаборатории ведущих фирм — производителей ES Орто—ВПМС.

В Институте аналитического приборостроения РАН создан макет времяпролетного масс-спектрометра с ортогональным вводом ионного пучка и источником ионов с электрораспылением. Целью данной работы является исследование препятствующих причин и определение условий достижения высокой разрешающей способности (15 000 и выше) на приборах такого типа, разработка методики определения оптимальной совокупности параметров анализатора и процедуры его настройки. Факторы, ограничивающие разрешающую способность времяпролетного масс-спектрометра с ортогональным вводом ионов, подробно анализировались многими авторами [6, 13–15]. Тем не менее по-прежнему актуальными остаются вопросы правильного учета как отдельных факторов, влияющих на разрешающую способность прибора, так и оптимального выбора всей совокупности параметров прибора.

ТРЕБОВАНИЯ К МОДЕЛИ

Опыт работы с макетом масс-спектрометра привел к выводу, что необходима некая модель прибора, с помощью которой можно было бы углубить понимание механизма влияния отдельных параметров и физических факторов на разрешающую способность времяпролетного анализатора. Рассматриваемая модель, по крайней мере, на начальной стадии работы должна быть предельно простой, но включающей в себя все принципиально важные элементы и узлы прибора и учитывающей важнейшие физические факторы. Рассматриваемая нами модель включает в себя ортогональный ускоритель, в котором непрерывный ионный пучок преобразуется в импульсный, меняет направление движения и ускоряется до полной энергии; пространство дрейфа и электростатическое зеркало. Длина дрейфового промежутка определяет положение детектора, при этом сам детектор в модели не рассматривается. В ортогональном ускорителе процедура ускорения ионов может осуществляться с помощью одной, двух или трех ступеней ускорения. Напряженности электрического поля в этих ступенях могут быть неодинаковыми и должны выбираться для получения максимальной разрешающей способности. Аналогично и электростатическое зеркало может иметь одну или больше областей однородного электрического поля.

Разработана простая программа моделирования разрешающей способности времяпролетного анализатора.

МОДЕЛИРУЮЩАЯ ПРОГРАММА

Программа позволяет моделировать различные схемы, включая следующие:

- а) трехступенчатая схема ускорения—одноступенчатое зеркало;
- б) трехступенчатое ускорение—двухступенчатое зеркало

— и более простые схемы, а также отдельные узлы (зеркало, ускоритель).

Программа содержит блок моделирования начальных условий: пространственного и временного разбросов в медленном ионном пучке. Программа позволяет легко изменять линейные размеры всех стадий времяпролетного анализатора и величины приложенных напряжений, что облегчает непосредственное сравнение результатов моделирования с экспериментальными данными и сравнение между собой различных анализаторов.

Рассмотрим процедуру анализа схемы, приведенной на рис. 1. Область ускорения в данной схеме состоит из трех промежутков a , b и c . В промежутке a действует выталкивающее ионы электрическое поле, образуемое под действием приложенного между выталкивающим электродом и заземленной сеткой напряжением U_1 . Область, занимаемая ионным пучком, показана на схеме затененным прямоугольником, шириной $2x$. В промежутке b действует вытягивающее поле, образуемое под действием приложенного между вытягивающей и заземленной сетками напряжением U_2 . В промежутке c осуществляется основное ускорение ионного пакета под действием электрического поля, образованного разностью напряжений $U_{\text{уск}}$ и U_2 . Преодолев область дрейфа L , ионный пакет отражается в электростатическом зеркале M под действием разности напряжений $U_{\text{уск}}$ и U_3 . Детектор на схеме не показан. В табл. 1 приведены базовые размеры и значения напряжений для данной схемы.

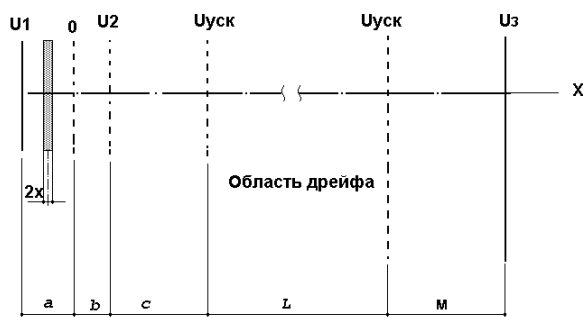


Рис. 1. Схема времяпролетного анализатора с двумя ступенями ускорения и одноступенчатым зеркалом (детектор не показан)

Табл. 1. Базовые размеры и значения напряжений для схемы рис. 1

Наименование параметра	Обозначение	Величина
Первая ступень ускорения	<i>a</i>	0.01 м
Вторая ступень ускорения	<i>b</i>	0.003 м
Третья ступень ускорения	<i>c</i>	0.03 м
Область дрейфа	<i>L</i>	0.85 м
Электростатическое зеркало	<i>M</i>	0.4 м
Выталкивающее напряжение	<i>U1</i>	+800 В
Вытягивающее напряжение	<i>U2</i>	-520 В
Ускоряющее напряжение	<i>U_{уск}</i>	-5000 В
Напряжение зеркала	<i>U_з</i>	+1250 В

Общее время пролета ионов определялось как сумма времен пролета каждой ступени по формуле

$$T = T_a + T_b + T_c + T_L + T_M \quad (1)$$

с учетом двойного прохождения области дрейфа и области зеркала. Каждое слагаемое в формуле (1) определялось в виде

$$T = \frac{V_a}{A_a} + \frac{V_b}{A_b} + \frac{V_{уск} - V_b}{A_c} + \frac{2L}{V_L} + \frac{2V_{уск}}{A_M}, \quad (2)$$

где V_a — скорость, которую ион набирает на первой стадии ускорения; V_b — скорость, которую ион набирает на второй стадии ускорения; $V_{уск}$ — скорость, с которой ион выходит в область дрейфа; A_a — ускорение на первой стадии; A_b — ускорение на второй стадии; A_c — ускорение на основном ускоряющем промежутке; A_M — ускорение в области зеркала.

Для определения значений скоростей предварительно вычислялись величины энергий, кото-

рые ионы приобретают в соответствующих ступенях по формулам:

$$E_a = U1 \left(\frac{1}{2} - \frac{x}{a} \right) (\text{эВ}), \quad E_b = E_a + U2 (\text{эВ})$$

и

$$E_c = E_a + U_{уск} (\text{эВ}).$$

Тогда соответствующие скорости определялись по формулам:

$$V_a = \sqrt{\frac{2 \cdot z \cdot E_a}{m}}, \quad V_b = \sqrt{\frac{2 \cdot z \cdot E_b}{m}}, \quad (3)$$

$$V_{уск} = \sqrt{\frac{2 \cdot z \cdot E_c}{m}},$$

а соответствующие ускорения по формулам:

$$A_a = \frac{U1 \cdot z}{a \cdot m}, \quad A_b = \frac{U2 \cdot z}{b \cdot m}, \quad (4)$$

$$A_c = \frac{(U_{уск} - U2)}{c \cdot m}, \quad A_M = \frac{(U_{уск} + U_M)}{M \cdot m},$$

где z — заряд электрона, m — масса иона (в наших расчетах принята равной 1000 а.е.м.).

При моделировании ширина пучка в области выталкивания принималась равной 3 мм, и этот интервал делился на десять частей, т.е. $\Delta x = 0.0015$ м. Используя приведенные выше формулы, определялись времена прохождения системы ионами, начальные координаты X_i которых отличались на Δx , — $T(X_1), T(X_2), \dots, T(X_{11})$. За меру уширения ионного пакета из-за разброса ионов по начальной координате X_i принималась величина

$$\Delta T = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{11} [T_0 - T(X_i)]^2}{10}},$$

где $T_0 = T(X_0)$ соответствует $X_i = 0$. А величина разрешающей способности определялась как

$$R = \frac{T_0}{2 \cdot \Delta T}.$$

Для значений основных параметров, приведенных в табл. 1, разрешающая способность равна $R = 98\,304.231$.

На рис. 2 приведен график зависимости значений $T_0 - T(X_i)$ от X_i при $i = 1, \dots, 11$.

Столь высокое расчетное значение разрешающей способности в основном связано с неполнотой используемой модели, не учитывающей множества реально действующих факторов. Одним из

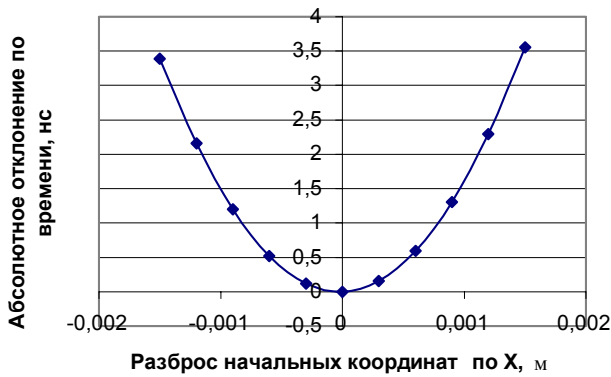


Рис. 2. График зависимости временного разброса от начальных координат

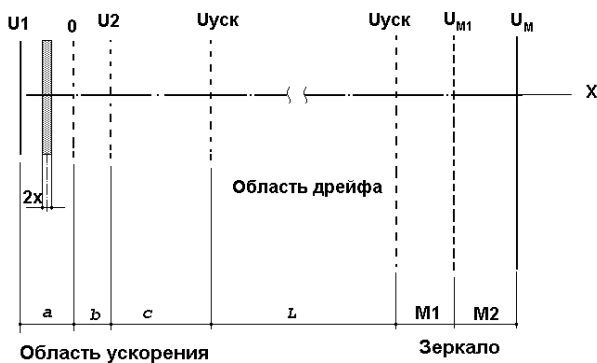


Рис. 3. Схема времяпролетного анализатора с двухступенчатым зеркалом (детектор не показан)

таких факторов является так называемое время возврата (turnaround time) в пространстве выталкивания под действием приложенного выталкивающего напряжения $U1$ ионов, направление начальной скорости которых противоположно направлению ускорения. Экспериментальные данные позволяют оценить максимальное значение поперечной составляющей скорости ионов с массой 1000 а.е.м. в области выталкивания — около 30 м/с. При такой оценке максимальная величина времени возврата T_{tt} составляет

$$T_{tt} = \frac{V_{tt}}{A_a} = \frac{30}{8 \cdot 10^9} = 3.75 \cdot 10^{-9} \text{ (с)},$$

а вычисляемое значение разрешающей способно-

Табл. 2. Базовые размеры и значения напряжений для схемы рис. 3

Наименование параметра	Обозначение	Величина
Первая ступень ускорения	a	0.01 м
Вторая ступень ускорения	b	0.003 м
Третья ступень ускорения	c	0.03 м
Область дрейфа	L	0.85 м
Первая ступень зеркала	$M1$	0.1 м
Вторая ступень зеркала	$M2$	0.3 м
Выталкивающее напряжение	$U1$	+877 В
Вытягивающее напряжение	$U2$	-500 В
Ускоряющее напряжение	$U_{уск}$	-5000 В
Напряжение на первой ступени зеркала	U_{M1}	-1800 В
Напряжение на второй ступени зеркала	U_{M2}	+1000 В

сти сразу падает до величины $R = 6030$. При этом разрешающая способность оценивалась по формуле (5):

$$R = \frac{T_0}{2\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{11} [T_0 - T(X_i)]^2}{10} + T_{tt}^2}}. \quad (5)$$

Анализ модели показывает, что существенно

более высокими возможностями компенсации начальных энергетического и пространственного разбросов обладает схема с так называемым двухступенчатым электростатическим зеркалом. На рис. 3 приведена схема такой системы, в которой в зеркало введена еще одна сетка с потенциалом U_{M1} , делящая интервал зеркала M на две части $M1$ и $M2$. Время пролета ионов в такой системе определялось по формуле (6):

$$T = T_a + T_b + T_c + T_L + T_{M1} + T_{M2}. \quad (6)$$

В этой формуле слагаемые T_{M1} и T_{M2} определялись следующим образом:

$$T_{M1} = \frac{2(V_{\text{уск}} - V_{M1})}{A_{M1}}, \quad T_{M2} = \frac{V_{M1}}{A_{M2}},$$

где

$$V_{M1} = \sqrt{\frac{2E_{M1} \cdot m}{z}}, \quad A_{M1} = \frac{U_{M1} \cdot z}{M1 \cdot m},$$

$$A_{M2} = \frac{U_{M2} \cdot z}{M2 \cdot m}, \quad E_{M1} = U_{M1} - U_{\text{уск}}.$$

В табл. 2 приведены геометрические параметры системы и значения приложенных напряжений. Расчет разрешающей способности для такой системы, сохранившей все геометрические размеры предыдущей, без учета времени разворота ионов в области выталкивания дает значение $R = 124\,736$. Однако при попытке учесть в расчете время разворота расчетное значение разрешающей способности падает до $R = 6085$. На рис. 4 приведен график, иллюстрирующий разброс по времени ионов, стартующих с различными координатами X_i .

Приведенные результаты показывают, что использованные значения основных параметров не позволяют эффективно компенсировать энергетический разброс ионов, связанный с размерами ионного пучка в области выталкивания.

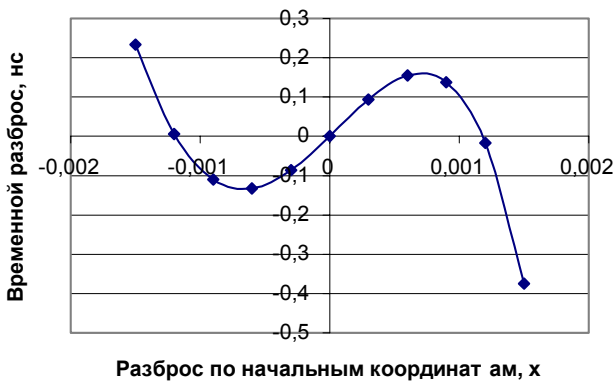


Рис. 4. График зависимости временного разброса от начальных координат

Следующим этапом работы был тщательный подбор параметров как геометрических, так и электрических с целью поиска компромисса. В табл. 3 приведен один из рассматриваемых наборов параметров, характеризующийся высоким значением разрешающей способности даже с учетом времени разворота ионов в области выталкивания. На рис. 5 приведен результат расчета временного разброса ионов, связанный с их разбросом по начальным координатам X . Схема с двухступенчатым зеркалом, построенная в соответствии с параметрами, приведенными в табл. 3, характеризуется

Табл. 3. Базовые размеры и значения напряжений для схемы рис. 3, обеспечивающие высокое разрешение

Наименование параметра	Обозначение	Величина
Первая ступень ускорения	a	0.005 м
Вторая ступень ускорения	b	0.003 м
Третья ступень ускорения	c	0.03 м
Область дрейфа	L	1.005 м
Первая ступень зеркала	$M1$	0.2 м
Вторая ступень зеркала	$M2$	0.2 м
Выталкивающее напряжение	$U1$	+900 В
Вытягивающее напряжение	$U2$	-450 В
Ускоряющее напряжение	$U_{\text{уск}}$	-5000 В
Напряжение на первой ступени зеркала	U_{M1}	-550 В
Напряжение на второй ступени зеркала	U_{M2}	+1000 В

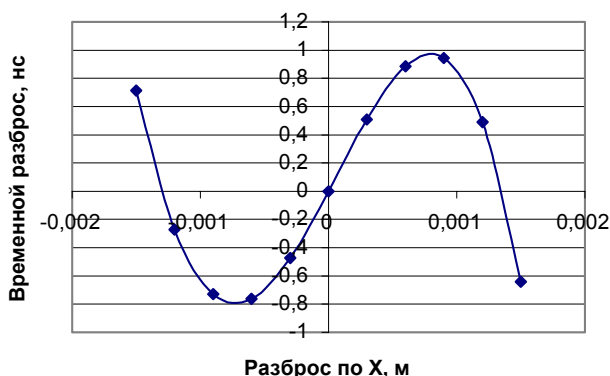


Рис. 5. График зависимости временного разброса от начальных координат

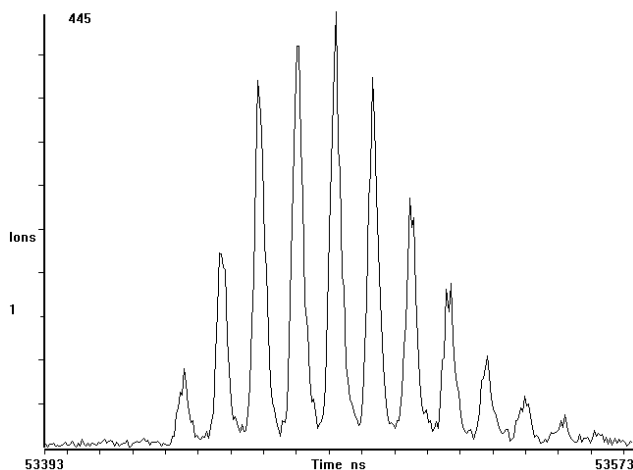


Рис. 6. Фрагмент масс-спектра инсулина (мол. масса 5768 а.е.м.). Разрешающая способность $R > 15\,000$

разрешающей способностью 73 179, а с учетом времени разворота ионов — 27 329.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработанная программа может являться инструментом, а полученные с ее помощью результаты — основанием для выбора оптимальной схемы времяпролетного анализатора. Уже сейчас использование программы помогло добиться существенного увеличения разрешающей способности макета. На рис. 6 приведен спектр инсулина (мол. масса 5768 а.е.м.), снятый при разрешающей способности $R > 15\,000$. Кроме того, с помощью

разработанной программы определено направление усовершенствования схемы макета — переход к двухступенчатому электростатическому зеркалу, позволяющему эффективно компенсировать энергетический разброс ионов.

Программа будет дополнена блоком, учитывающим рассеяние ионов на сетках анализатора и блоком оптимизации.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Александров М.Л., Галль Л.Н., Краснов Н.В., Николаев В.И., Павленко В.А., Шкурков В.А. Экстракция ионов из растворов при атмосферном давлении — метод масс-спектрометрического анализа биоорганических веществ // ДАН СССР. 1984. Т. 277, № 2. С. 379–383.
2. Jamashita M., Fenn J.B. Electrospray Ion Source. Another variation of the free-jet theme // J. Phys. Chem. 1984. V. 88, N 20. P. 4451–4459.
3. Thomson B.A., Iribane J.V., Dziedzic P.J. Liquid Ion evaporation/mass spectrometry/mass spectrometry for the detection of polar and labile molecules // Anal. Chem. 1982. V. 54, N 13. P. 2219–2224.
4. Pinkston J.D., Rabb M., Watson I. Th., Allison I. New time-of flight mass spectrometer for improved mass resolution versatility and mass spectrometry/mass spectrometry studies // Rev. Sci. Instr. 1986. V. 57. P. 583–592.
5. Додонов А.Ф., Чернушевич И.В., Додонова Т.Ф., Разников В.В., Тальрозе В.Л. Патент СССР № 1681340А1 (февраль 1987).
6. Чернушевич И.В. Разработка, создание и исследование характеристик масс-рефлектрона с ионизацией микропримесей в газах и жидкостях при атмосферном давлении: Дис. ... канд. физ.-мат. наук. Черногловка, ФИНЭПХФ РАН, 1992.
7. Mirgorodskaja O.A., Shevchenko A.A., Chernushevich I.V., Dodonov A.F., Miroshnikov A.L. Electrospray ionization time-of-flight mass spectrometry in protein chemistry // Anal. Chem. 1994. V. 66. P. 99–107.
8. Verentchikov A.N., Ens A.W., Standing K.G. A reflecting time-of-flight mass spectrometry with orthogonally injected electrospray ions // Proceedings of the 41st Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics (San Francisco, CA, May 30–June 4, 1993) / Ed. A. Marshall.
9. Standing K.G., Chernushevich I.V., Ens A.W., Verentchikov A.N. Time-of-Flight (TOF) Methods for Analysing Large Molecules // Proceedings of the 42nd ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics (Chicago, IL, May 29–June 3, 1994) / Ed. M. Ross.
10. Chernushevich I.V., Verentchikov A.N., Stand-

- ing K.G., Ens W.A.* Effect of Ion-molecule Collisions in the Vacuum Chamber of an Electrospray Time-of-Flight Mass Spectrometer on Mass Spectra of Proteins // Proceedings of the 42nd ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics (Chicago, IL, May 29–June 3, 1994) / Ed. M. Ross.
11. *Verenchikov A.N., Blakley C., Martin S., Vestal M.* Confirmation of Protein Sequence by On-Line Coupling of LC with Orthogonal Injection Electrospray TOF—MS // Proceedings of the 42nd ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics (Chicago, IL, May 29–June 3, 1994) / Ed. M. Ross.
12. *Chernushevich I.V., Ens W.A., Standing K.G.* Orthogonal-Injection Time-of-Flight Mass Spectrometry for Analysis of Biomolecules // Anal. Chem. 1994. V. 66. P. 126–133.
13. *Laiko V.V., Dodonov A.F.* Resolution and Spectral line Shapes in the Reflecting Time-of-Flight Mass Spectrometer with Orthogonally Injected Ions // RCM. 1994. V. 8. P. 720–726.
14. *Bergman T., Martin T.P., Schaber H.* High Resolution Time-of-Flight Mass Spectrometers. Part III. Reflector Design // Rev. Sci. Instrum. 1989. V. 61, N 10. P. 2592–2600.
15. *Guilhaus M.* Principles and Instrumentation in Time-of-Flight Mass Spectrometry // J. Mass Spectrom. 1995. V. 30. P. 1519–1552.

*Институт аналитического приборостроения РАН,
Санкт-Петербург*

Материал поступил в редакцию 23.07.2002.

A SIMPLE QUALITATIVE MODEL OF THE TIME-OF-FLIGHT MASS SPECTROMETER

A. N. Verenchikov, N. V. Krasnov, M. Z. Muradymov, Yu. I. Khasin

Institute for Analytical Instrumentation RAS, Saint-Petersburg

A program for analysis of the time-of-flight analyzer characteristics is described. It operates with actual instrument parameters (inter-electrode distances and electrode potentials), which makes it easier to use the program on-line during both the instrument operation and adjustment. Some results of calculations as applied to the existing prototype analyzer are given. It is inferred that the electrostatic mirror needs updating, i. e., going to a two-stage one. A mass spectrum of insulin taken at a resolution $R > 15\,000$ is presented.