Bruker maXis 系列超高分辨飞行时间质谱的性能特点和应用

潘晨松　张欣怡
（布鲁克·道尔顿公司北京应用技术中心）

摘　要　2011 年 3 月，Bruker 公司在亚特兰大举办的 Pittcon 展会上推出了新型超高分辨飞行时间质谱产品（UHR-TOF）maXis 4G。这是一次非常大的突破，其分辨率达到了 60,000 (FWHM)，质量准确度小于 600 ppb。在 2011 的美国质谱协会年会上(ASMS),Bruker 公司又推出了高性价比的 maXis Impact,其分辨率达 40,000 (FWHM),质量准确度小于 1ppm,每秒可以获得 50 张全谱，动态范围达 4 个数量级，完全可以满足超高效液相色谱快速分析的要求，实现了真正意义上的发现、鉴定和定量分析于一体，是实验室进行高通量分析的最佳选择。Bruker maXis 系列质谱，实现了全范围的高分辨和高灵敏度，满足了用户对质谱同时准确定性和定量的需求，可广泛应用与化合物的表征和定性、痕量多目标物质的快速筛查和定量以及代谢组学、蛋白组学等研究。本文结合典型的应用实例，着重介绍 maXis 系列质谱的主要性能特点和应用。

关键词　maxis; 高分辨；飞行时间质谱；高通量；定量分析
中图分类号　TH843

Advantages and Applications of Bruker maXis series Ultra High Resolution Time of Flight Mass Spectrometry

Pan Chensong, Zhang Xinyi
(Bruker Daltonics Beijing Applications Support Center)

Abstract In March, Bruker introduced the revolutionary maXis 4G system at Pittcon 2011 in Atlantic. maXis 4G sets entirely new performance heights with record-breaking 60,000 full-sensitivity resolution (FSR) and 600 parts-per-billion (ppb) mass accuracy. At ASMS, June 2011, Bruker announced a robust, affordable instrument maXis impact with uncompromised UHR-QqTOF performance. Delivering 40,000 FSR, 1 ppm mass accuracy and more than four orders of magnitude dynamic range while acquiring at up to 50 full spectra per second, the maXis impact is the instrument of choice for high-throughput test laboratories, many of which are already equipped with UHPLC separations to raise throughput. The simultaneous combination of attributes is ideal for many discovery, development, screening and drug metabolism applications which often require both the identification and quantitation of sample components that vary widely in both structure and concentration. maXis impact is a powerful tool for proteomics and metabolomics studies. Here we describe the performance features of maXis series with several typical applications.

Key words MaXis;High Resolution;Time of Flight Mass Spectrometer;High Throughput; Quantitative analysis

1　背景介绍

2011 年 3 月，Bruker 公司在亚特兰大举办的 Pittcon 展会上推出了新型超高分辨飞行时间质谱产品(UHR-TOF)maXis 4G。这是一次非常大的突破，其分辨率达到了 60,000 (FWHM)，质量准确度小于 600 ppb。在 2011 的美国质谱协会年会上(ASMS)，Bruker 公司又推出了一款高性能、高性价比的 maXis Impact，其分辨率达 40,000 (FWHM)，质量准确度小于 1ppm，每秒可以获得 50 张全谱，动态范围达 4 个数量级，完全可以满足超高效液相色谱快速分析的要求，实现了真正意义上的发现、鉴定和定量分析于一体，是实验室进行高通量分析的最佳选择。Bruker maXis 系列质谱，实现了全范围的高分辨和高灵敏度，满足了用户对质谱同时准确定性和定量的需求，可广泛应用与化合物的表征和定性、痕量多目标物质的快速筛查和定量以及代谢组学、蛋白组学等研究。本文结合典型的应用实例，着重介绍 maXis 系列质谱的主要性能特点和应用。

2　仪器结构和技术特点

Bruker maXis 系列超高分辨飞行时间质谱仪

收稿日期:2011-09-15
作者简介:潘晨松，毕业于中国科学院大连化学物理研究所，获博士学位，现为布鲁克·道尔顿公司高级应用工程师。

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

由电喷雾离子源、离子传输和聚焦以及飞行时间质量分析器三部分组成,如图1所示。电喷雾离子源部分配备了 Appollo II 离子源;离子传输和聚焦部分由双重离子漏斗、六极杆、四极杆、碰撞池、离子冷却池组成;飞行时间质量分析器包括了离子的垂直正交加速器、双阶反射器和检测器。下面我们着重介绍具有 Bruker 特色的硬件设计和技术特点。

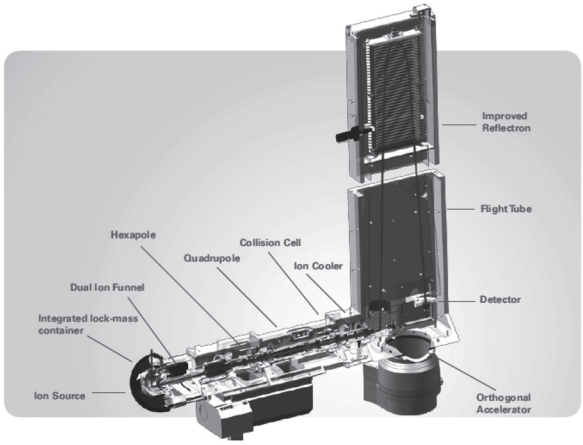

图1 maxis 系列质谱的结构。

2.1 Appollo II 型电喷雾离子源(ESI Ion Source)

Bruker 最新的 Appollo II 型电喷雾离子源设计的最大特点就是喷针接地(0 电压)。这种设计更安全,也方便进样,尤其是与毛细管电泳等分离技术联用。反吹的热干燥气提供温和、高效的去溶剂化效应;气动偏轴雾化器,可适用于高达 1 mL/min 的流速,流动相梯度可从 100% 的水相到 100% 的有机相,实现了离子高传输效率和高抗污染能力的最佳组合。

2.2 双重离子漏斗(Double Ion Funnel)

Bruker 专利的双重离子漏斗技术是超灵敏的离子传输系统,其径向 RF 电场可收集所有的离子并将其平稳地导向离子漏斗出口。与传统的锥孔式离子传输相比,双重离子漏斗可提供十倍以上的离子数,将灵敏度又提高了一个数量级。同时,离子导入和导出的偏轴设计进一步减少了非离子型污染对高真空质谱部件的影响,有利于保持系统的长期稳定和工作状态。另外,在第一级和第二级离子漏斗之间,离子透镜系统具有源内碰撞诱导解离 (ISCID) 控制装置,可以单独实现非选择性的二级质谱或与四极杆配合使用实现准三级质谱。

2.3 离子冷却池(Ion Cooler)

众所周知,离子从碰撞池出来后,具有较高的动能和各个方向的速度分量,若直接进入飞行时间质谱的离子加速区,会加剧离子在飞行过程中的扩撒,从而降低分辨率和灵敏度。离子冷却池可以有效的“冷却”离子,通过与惰性气体的碰撞,离子可有效减速,降低其自身的动能;而射频电压的引导,使得离子趋向于轴向集中,从而显著地提高了飞行质谱的分辨率和灵敏度。

2.4 飞行时间(Time of Flight)质量分析器

质量分析器是高分辨质谱的核心。Bruker maXis 系列质谱具有加长的飞行管,因而离子具有较长的飞行距离。而一味地增加离子的飞行距离,尽管有助于分辨率的提高,但离子在飞行过程中的损失也不能忽视。以牺牲灵敏度为代价单方面地追求高分辨率,并不能给实际应用带来更多的帮助。因此,Bruker 公司在增加飞行管长度的同时,更是注重离子传输和分析过程中的全程聚焦,减少损失,从而保持一致或更高的灵敏度。垂直正交的离子加速器使离子具有更一致的初速度; Focus 离子光学系统进一步加强离子束的聚焦;二阶反射器更加精准地补偿了相同质荷比离子的速度差异。这些创新性技术的运用,使得 Bruker maXis 系列质谱,不仅具有超高的分辨率,而且具有一致或更高的灵敏度,实现了离子全范围的无损高分辨。同时,Bruker maXis 系列质谱的飞行管不仅采用热胀冷缩系数小的合金材料制作,减小外界温度的影响,而且具有智能化的温度补偿功能,可以自动修正温度对飞行管的影响,从而确保长时间的稳定性。

2.5 检测器

Bruker maXis 系列质谱配备了长寿命的 Flash Detector 和高达 4 GHz 的模拟数字信号转换器(ADC)。相比传统的时间数字信号转换器(TDC)。ADC 其最大的优点在于信号不失真,能获得反映化合物真实同位素分布的高分辨质谱峰形。结合小于 1 ppm 的质量测定误差和具有真实同位素峰形的质谱峰形,使得基于质谱图的化合物表征更加准确,甚至基于质谱图推测未知化合物的分子式,即其元素组成,成为可能。而高达 4G Hz 的转换频率,实现了质谱最快每秒 50 张图谱的采集速度,完全可以满足超高效液相色谱快速分析的要求,尤其是蛋白质组学研究中基于数据的自动二级图谱的采集,提高

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

了蛋白的鉴定成功率和准确性。

3 主要应用领域

Bruker maXis 系列质谱，具有亚 ppm 级的质量准确度和真实同位素峰形检测，跨越全质量范围（从小分子到整蛋白）的极限灵敏度和超高分辨率，高达每秒 50 Hz 的图谱采集速度，可与超高效液相色谱（U-HPLC）完美兼容。Bruker maXis 系列质谱满足了用户对质谱同时准确定性和定量的需求，可广泛应用与化合物的表征和定性、痕量多目标物质的快速筛查和定量以及代谢组学、蛋白组学等研究。

3.1 化合物的表征和定性

鉴定药物杂质、代谢物、天然产物和合成化合物等小分子，首先面对的挑战是确定未知物的分子式。众所周知，仅仅依靠高质量准确度是很难获得可靠的分子式，同位素峰形分布是提高测定未知物分子置信度不可缺少的因素[1]。这就给高分辨质谱仪提出了新的标准，既能测定化合物的精确质量，同时又要能够获得高保真的同位素分布模式。Bruker 独特的硬件设计和先进的模拟数字信号转换器（ADC）使获得准确的同位素分布成为可能。在此基础上，Bruker 公司采用统计学参数 mSigma 值，即根据所有同位素峰的相对强度、准确质量和峰间距进行的综合评价。该参数用于评估某一目标分子式实际测定的和理论计算的同位素峰分布模式的匹配程度，匹配的愈好，mSigma 值就愈小。因此，基于亚 ppm 级的准确质量和真实同位素测定，可对已知化合物进行更准确的表征。而对于未知化合物，利用亚 ppm 级的准确质量和同位素匹配参数 mSigma 值，结合 Bruker 专利软件 SmartFormula 软件，可以推测出其可能的分子式列表，并按照 mSigma 值从小至大排序。Sigma 值越小的分子式，越有可能是正确的结果。此外，亚 ppm 级的质量准确度和真实同位素分布模式信息同样适用于化合物的二级质谱。因此，对于未知化合物，具有了 3 维的定性信息，即亚 ppm 级的质量准确度、真实同位素峰形和二级质谱的碎片离子信息。基于 3 维定性信息的 SmartFormula 3D 软件，可将质荷比小于 1000 的离子，准确给出唯一的分子式[2]。

基于唯一的分子式，我们可以通过网络搜索得到其结构式。为此，Bruker 提供了 Compound Crawler 软件方便客户进行分子式的网络搜索和结构式确认。Compound Crawler 软件整合了 Metlin，HMDB 等代谢产物数据库以及 Chemspider 化合物搜索引擎，是迄今为止最全和最方便的数据库搜索工具。图 2 是化合物 polyketomycin 的分子式和结构式定性的流程。1：具有亚 ppm 级准确质量和真实同位素峰形的一级质谱图；2：具有亚 ppm 级准确质量和真实同位素峰形的二级质谱图；3 和 4：SmartFormula 3D 软件给出化合物及其碎片离子的唯一分子式（化合物实测误差为 0.2 ppm）；5 和 6：Compound Crawler 软件给出化合物的名称和结构式。

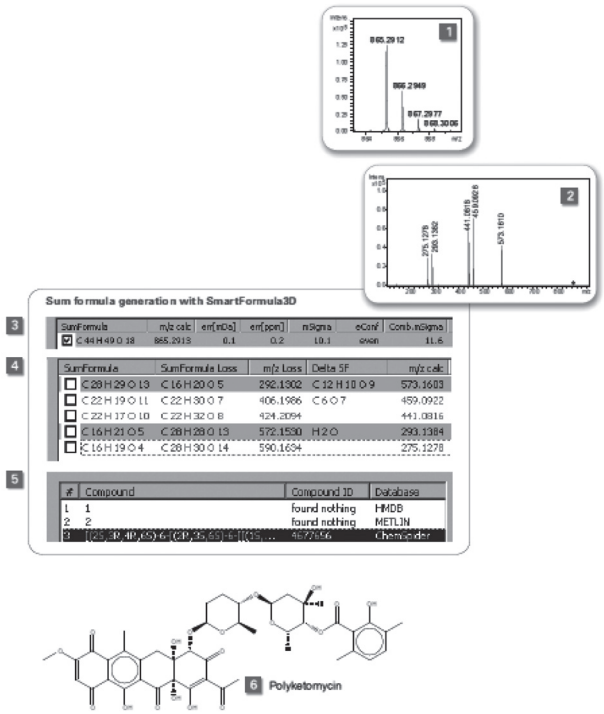

图 2 化合物 polyketomycin 的鉴定工作流程

因此，基于亚 ppm 级的质量准确度和真实同位素峰形测定，Bruker maXis 系列质谱可广泛应用于已知化合物的准确表征，药物杂质、天然产物[3]、代谢产物[4]、代谢组学[5]研究中发现的标志物等小分子化合物的鉴定。

3.2 痕量多目标物的快速筛查和定量

液相色谱串联质谱联用（LC-MS/MS）已经在复杂基质中小分子（如农药残留、违禁药物、兴奋剂）的定性和定量检测中获得了广泛应用。特别是串联四极杆质谱系统由于在串联质谱模式下具有高特异性和低检测限，实用性已经获得了证明。Bruker maXis 系列质谱高达每秒 50 Hz 的图谱采集速度，可与超高效液相色谱（U-HPLC）完美兼容，并且全

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

质量范围亚 ppm 级的质量准确度、高灵敏度和长时间的稳定性,可实现对痕量多目标化合物的高分辨准确离子提取(hrEIC),从而实现对复杂基质中痕量多目标化合物的快速筛查和定量,且不受目标化合物数目的限制。另外,通过对实验获得的和理论计算的同位素峰形比较,可以进一步确认筛查结果的可靠性。即使目标物质量分布宽,浓度低,基质背景极其复杂,maXis 系列质谱也能同时区分并鉴定多个目标化合物[6]。图 3 是 200 种农药的高分辨提取离子流色谱图,质量选择窗口为 2 mDa,一种颜色代表一种农药,样品浓度均为 50 ppb。

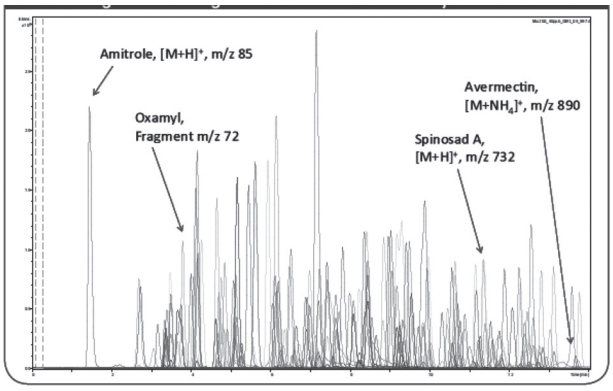

图 3 超高效液相色谱和 maXis impact 联用:200 个农药的高分辨提取离子流色谱图,质量选择窗口为 2 mDa,一种颜色代表一种农药,样品浓度均为 50 ppb。

当前,分析和检测实验室面临着巨大的压力和挑战,包括日益增多的待检化合物,快速且准确地结果,以及越来越多的样品。为此,Bruker 公司为用户提供了专业、快速和准确的多目标物筛查工具 TargetAnalysis。它基于化合物数据库,充分发挥超高效液相色谱和 Bruker maXis 系列质谱联用的技术优势,可快速而准确地给出筛查结果,甚至可对以往数据进行溯源性筛查。而这个化合物数据库,可以根据客户需要灵活设置和修改,只需提供待筛查化合物的名称和分子式两项即可。

在快速、准确地给出定性结果的基础上,人们对实验室检测又提出了更高的要求:准确定量。通常质谱系统在设计过程中会为了定性工作而牺牲定量能力,质谱技术的限制迫使用户不得不根据不同的应用需求来选择质谱的性能(定性还是定量)。今天,我们不再需要作这样的妥协了。maXis 系列质谱通过一整套全新的技术,在不损失灵敏度的情况下,在一次快速分析中,可以同时提供定性和定量数据。图 4 是氟嘧菌酯 (Fluoxastrobin,*m/z* 459) 的定量标准曲线,具有大于 4 个数量级的定量线性范围(50 fg-1 ng),线性相关系数 R=0.9996,定量检出限(LOD)为 50fg。可以看出,maXis 系列质谱具有与三重四极杆质谱相当的灵敏度和定量性能,且同时拥有三重四极杆不具备的亚 ppm 级的质量准确度和真实同位素峰形。所以,她是定性和定量数据的完美结合。

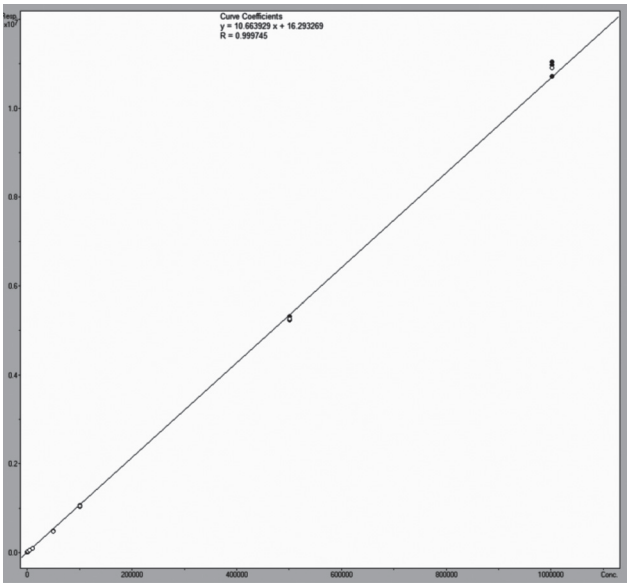

图 4 氟嘧菌酯的定量标准曲线

综合其优异的定性和定量能力,超高效液相色谱与 maXis 系列质谱联用进行痕量多目标化合物的筛查,是当前最快速、最准确、最灵活的检测工具之一,可广泛应用于农药残留、兽药残留、法医违禁药物、兴奋剂、食品添加剂等的检测。

3.3 蛋白质组学

随着计算机技术(容量与速度)的发展、基因数据库的日趋完善和生物质谱技术在生命科学中应用范围的突破(软离子源 MALDI 和 ESI),生物质谱已经成为蛋白质组学研究不可缺少的工具。随着蛋白质组学研究的深入发展,对质谱提出愈来愈高的要求。蛋白质组学的发展,同时又促进了生物质谱的技术的不断提高。

在蛋白质组学发展初期,鉴定蛋白组谱(既鉴定某生物种或生物组织或器官中所含的所有蛋白质)是蛋白质组学关注的重点。低分辨生物质谱,如离子阱质谱就可以完成初期蛋白质组学单纯追求鉴定蛋白质数目的要求。然而,随着蛋白质组学研究的深入发展以及在医学领域的应用,研究人员逐步开

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

始认识到所鉴定的成千上万个蛋白质的可信度的重要性。这就要求生物质谱必须提供可靠准确的数据，因此，ESI-q TOF类质谱特有的快速采集数据并不降低分辨率和质量准确度的特性，不仅可以保证鉴定蛋白质的数目，同时又以超高分辨率和超高质量准确度的数据，大大提高了鉴定结果的可信度。

在蛋白质组学研究中，采集更多的二级图谱是提高蛋白鉴定数目的前提，这就要求质谱需要有更快的采集速度。Bruker maXis系列质谱具有高达每秒50 Hz的图谱采集速度，无论是一级质谱还是二级质谱，都同时拥有40000～60000的分辨率和亚ppm级的质量准确度，加上极高的灵敏度和动态范围，为蛋白质组学研究提供了强有力的工具，为复杂体系样本中蛋白质、多肽的大规模鉴定提供高度可靠的鉴定结果，并为蛋白质翻译后修饰、De novo测序等研究提供具有亚ppm级质量精度的二级图谱信息[7]。值得一提的是，maXis 4G还可配备ETD碎裂技术，这尤其适合于磷酸化、糖基化等翻译后修饰的位点的准确鉴定。

另一方面，高质量的二级图谱是保证鉴定结果的准确性并减少假阳性的关键，这就要求二级图谱不仅要多，而且要好。Bruker maXis系列质谱提供了一种基于母离子信号强度动态调整二级图谱采集速度的策略。图5是一个典型的数据采集循环，根据母离子的信号强度，前两个母离子的二级图谱采集时间为100 ms（即速度为10 Hz）；随着母离子信号的减弱，二级图谱的采集时间自动增加到125 ms（8 Hz），240 ms（约4 Hz），280 ms（约4 Hz）。这种策略，能让低丰度的肽段获得更多的时间和系统资源，保证了其二级图谱的质量，从而提高了整个样本的鉴定数目和结果的可靠性。采用这种动态调整二级图谱采集速度的策略，我们对1 μg的人肿瘤细胞HT29总蛋白提取酶解液进行分析，在一次液质联用中，共鉴定到1622个蛋白，其中假阳性率为小于1%。

4 总 结

Bruker maXis系列质谱包括maXis 4G和maXis Impact，均是Bruker公司2011年推出的新产品。maXis系列质谱具有亚ppm级的质量准确度和真实同位素峰形检测，跨越全质量范围（从小分子到整蛋白）的极限灵敏度和超高分辨率，高达每秒50 Hz的图谱采集速度，完全可以满足超高效液相色谱快速分析的要求，并可同时提供定性和定量数据，实现了真正意义上的发现、鉴定和定量分析于一体。Bruker maXis系列质谱，实现了全范围的高分辨和高灵敏度，满足了用户对质谱同时准确定性和定量的需求，可广泛应用与化合物的表征和定性、痕量多目标物质的快速筛查和定量以及代谢组学、蛋白组学等研究。

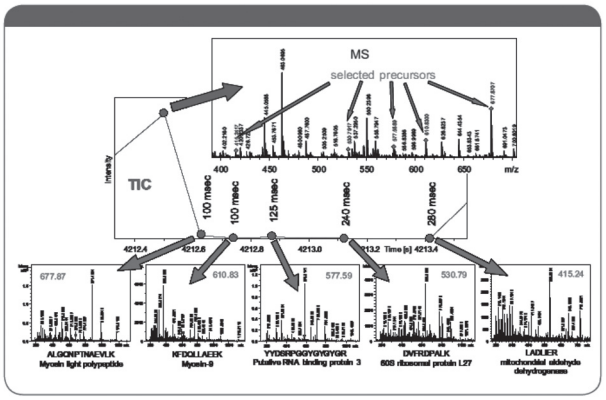

图5 基于母离子信号强度的二级图谱采集速度的动态调整

参考文献

[1] http://fiehnlab.ucdavis.edu/projects/identification/
[2] Isotopic pattern and accurate mass determination in urine drug screening by liquid chromatography/time-of- ght mass spectrometry Rapid Commun. Mass Spectrom., 2006, 20: 1161-1167
[3] CE- and HPLC-TOF-MS for the characterization of phenolic compounds in olive oil, Electrophoresis 2007, 28, 806-821
[4] In silico methods for predicting metabolism and mass fragmentation applied to quetiapine in liquid chromatography/time-of-flight mass spectrometry urine drug screening Rapid Commun. Mass Spectrom., 2009, 23: 506-514
[5] Metabolite profiling of blood plasma of patients with prostate cancer Metabolomics, 2010, 6: 156-163
[6] A general screening method for doping agents in human urine by solid phase extraction and liquid chromatography time-of-flight mass spectrometry Analytica Chimica Acta 2007, 585, 94-102
[7] Cooperative binding of two acetylation marks on a histone tail by a single bromodomain Nature 2009, 461, 664-669

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net