

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2013 年 9 月 6 日 (06.09.2013)



(10) 国际公布号
WO 2013/127262 A1

(51) 国际专利分类号:
H01J 49/10 (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2013/000195

(22) 国际申请日: 2013 年 2 月 27 日 (27.02.2013)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
201210052257.2 2012 年 3 月 1 日 (01.03.2012) CN

(71) 申请人: 株式会社岛津制作所 (SHIMADZU CORPORATION) [JP/JP]; 日本国京都府京都市中京区西之京桑原町 1 番地, Kyoto 604-8511 (JP)。

(72) 发明人: 及

(71) 申请人 (仅对美国): 张小强 (ZHANG, Xiaoqiang) [CN/CN]; 中国上海市浦东张江高科技园区卡园二路 108 号 6 幢 3 层, Shanghai 201201 (CN)。 孙文剑 (SUN, Wenjian) [CN/CN]; 中国上海市浦东张江高科

技园区卡园二路 108 号 6 幢 3 层, Shanghai 201201 (CN)。

(74) 代理人: 上海市华诚律师事务所 (WATSON & BAND LAW OFFICES); 中国上海市威海路 755 号文新报业大厦 26 楼, Shanghai 200041 (CN)。

(81) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ,

[见续页]

(54) Title: METHOD AND DEVICE FOR GENERATING IONS FOR ANALYSIS AT LOW PRESSURE

(54) 发明名称: 一种低压下产生分析用离子的方法和装置

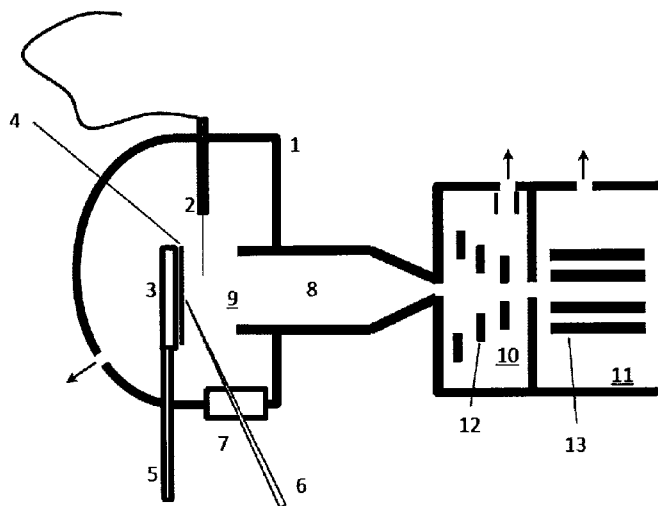


图 1 /Fig. 1

(57) Abstract: A method and device for generating ions for analysis, and in particular a method and device for generating ions in various manners at a low pressure and compositely using the multiple ions. In the method and device, an electrospray ion source (2) and other desorption/ionization devices (6, 16, 18) are placed in the same vacuum chamber (1), an independent action or combined action is performed on the sample molecules in the vacuum chamber (1) respectively, and ions generated by ionization are fed into an ion analyzer to be analyzed through ion focusing devices (8, 12, 13).

(57) 摘要: 一种产生分析用离子的方法和装置, 特别是在较低气压下通过多种方式产生离子并将该多种离子复合使用的电离方法和装置。该方法和装置中将电喷雾离子源 (2) 和其他解吸/电离装置 (6, 16, 18) 放置于同一真空腔体 (1) 中, 对该真空腔体 (1) 内的样品分子分别独立作用或共同作用, 电离产生的离子通过离子聚焦装置 (8, 12, 13) 被送入离子分析器以待分析。



WO 2013/127262 A1



BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

根据细则 4.17 的声明:

— 发明人资格(细则 4.17(iv))

本国际公布:

— 包括国际检索报告(条约第 21 条(3))。

说明书

一种低压下产生分析用离子的方法和装置

技术领域

5 本发明涉及一种产生分析用离子的方法和装置，特别是在较低气压下通过多种方式产生离子并将该多种离子源复合使用的电离方法和装置。

背景技术

对于大分子（如蛋白、多肽、DNA 分子）的质谱分析，通常需要较柔和的电离方式。目前应用于此领域的电离方法通常有：电喷雾电离（ESI）和基质辅助激光解吸电离（MALDI）。这两种电离方式各有优缺点，比如，ESI 可以产生多电荷离子，搭配高分辨的质谱可以方便的对大分子定性，所以 ESI 源目前得到了极为广泛的应用，但 ESI 一般不能同时满足高通量和高灵敏度；MALDI 产生的离子一般是单电荷，但是搭配质量范围高的飞行时间质谱（TOF）仍然可以对大分子进行分析，而且 TOF 技术和 TOF-TOF 技术的发展使得 MALDI 在保证一定灵敏度的情况下，可以进行比 ESI 更高的通量分析，不过 MALDI 源跟液相色谱的搭配比较困难，而且其本身制样过程比较费时。如果能够将两者结合起来使用，不仅可以同时发挥两种电离方式的优点，避免单独使用时的缺点，而且可以极大的扩展单台质谱仪离子源的应用范围。

但目前为止，对每一台质谱仪，这两种不同的电离方式还不能同时使用，或者在保持各自最优工作条件下，不能方便的切换使用。造成这个问题的主要原因在于不同离子源的工作气压不一样，ESI 的工作气压一般是大气压，而 MALDI 源的工作气压一般要低于 10^{-4} torr。这样带来的不同气压接口的问题，使得 ESI 源和 MALDI 源很难简单切换。专利 US6515279, US2008/0067345 和 US2010/0096542 都提出了 ESI 和 MALDI 装配于同一台质谱仪并进行切换的方法，但都需要较复杂的机械装置，甚至需要停掉真空再重新抽气等操作，费时费力。尽管已经出现了大气压的 MALDI 技术（Laiko VV, Anal. Chem. 72: 652-657, 2000），但是由于电离效率和传输效率的原因，使得灵敏度很难跟真空下的 MALDI 技术相比，而且，大气压 MALDI 源和真空 MALDI 源的应用范围也有所差异，不能完全相互代替。另一方面，US7621344 专利提出一种低压下进行电喷雾的方法，可在 10 torr 及以上气压范围内得到稳定、干净的电喷雾，如果去溶剂化充分，在其中的某段气压内还可以得到比大气压更高的灵敏度。但并没有指出可以将低压电喷雾与低压的 MALDI 源匹配共同

使用。

而且，两种离子源对后级离子传导或分析装置的要求通常不同，比如对于 MALDI，通常会搭配飞行时间质谱做质量分析器，这主要是因为 MALDI 所使用的脉冲激光会产生脉冲的离子流，与飞行时间的脉冲加速、飞行并检测的特点正好匹配，而 ESI 源形成的离子流是连续的，如果做普通的脉冲检测会造成灵敏度和定量性能的大幅降低。这也是 ESI 源与 MALDI 源在很长时间以来没有得到匹配使用的又一原因。不过，最近四极杆-飞行时间或者离子阱-飞行时间仪器的发展使得对离子传导、分析装置的要求可以统一化，比如：对 MALDI 源，可以在源后使用较高气压的缓冲气（如 10 mtorr 左右的氦气）使得离子冷却并形成半连续流，然后再进入四极杆或多极杆传导装置进行传输，这样可以取得较好的定量性；对于 ESI 源，如果使用飞行时间质谱做质量分析器，可以在离子进入飞行管之前先在离子阱里储存一段时间，再脉冲发射进飞行管，这样来减少离子损失，提高灵敏度。也就是说，把两种离子源做到同一台质谱仪上，在离子传导和分析装置的要求方面，已经

没有障碍。

另一方面，在专利 US2005/0199823 和文献 Rapid Commun. Mass Spectrom.2005, 19, 3701 中将 ESI 后电离技术与激光解吸技术匹配使用，即所谓的电喷雾辅助激光解吸电离（ELDI），这种技术已经在质谱直接分析领域取得了成功。甚至可以用文献 Science 2004, 306, 471 中说明的技术，将 ESI 的喷雾液滴直接与大气压下放置于样品台的样品分子相互作用，产生样品离子，这就是所谓的解吸电喷雾技术电离（DESI）。还有，大气压的 MALDI 技术现在也经常被做为一种直接分析方法来使用。但是，这些直接分析方法都实施于大气压下，产生的离子在进入真空系统时会有巨大的损失。在专利 201010165176.4 中提出了一种将大气压解吸和低压 ESI 后电离结合的技术，将中性分子而不是离子从大气引入真空系统，来提高引入效率。但是，即使是中性分子，仍然会在真空接口处产生损失，离子源灵敏度仍然不够高。所以，我们需要的应该是这样一种技术，它不仅可以将 ESI、MALDI 相关的这几类直接分析离子源分别或结合使用，而且必须要使得该离子源的灵敏度也能得到提高。

发明内容

为了解决以上问题，本发明人经过潜心研究，发明了以下产生分析用离子的方法和装置。本发明的目的是设计一种可以在电喷雾、激光解吸电离或者基质辅助激光解吸电离这几种电离方式之间方便切换，甚至几种电离方式可以同时结合使用，又能保持各种离子源较高灵敏度的方法和装置。

根据上述目的，本发明提供一种产生分析用离子的方法，其包括：1) 提供气压不超过 100 torr 的真空环境以及处于该系统内的样品平台、电喷雾电离装置、离子聚焦装置，2) 将固体或液体样品放置于该平台上，3) 通过电喷雾电离产生带电液滴和离子，4) 通过解吸电离产生样品中性分子或离子，以及 5) 以上产生的带电液滴和样品离子经离子聚焦装置会聚、引导后进入离子分析器。上述真空环境优选为不超过 50 torr，进一步优选不超过 30 torr，而且所述离子聚焦装置是适合于在上述低压环境下工作的离子传输装置。

根据本发明，上述用以产生分析用离子的方法首先包括电喷雾电离，所述电喷雾过程可以为纳升喷雾过程。然后根据本发明中提供的激光解吸电离装置，通过激光照射到位于所述样品平台上的固体或液体样品，使样品解吸而产生气态中性分子或者解吸电离而产生离子。以上所述电喷雾电离和所述激光解吸电离在相同或者不同的低压下进行电离，以及/或者，所述电喷雾电离和所述激光解吸电离同时或者分时进行。上述不同的低气压是例如，对于电喷雾电离是在 50~100 torr 的压力下，对于激光解吸电离是在不大于 20 torr 的压力下。

当所述电喷雾电离和所述激光解吸电离同时进行，所述样品经激光照射而解吸产生的中性分子或进一步电离产生的离子与所述电喷雾产生的带电液滴或离子发生融合，从而产生待分析离子。

根据本发明，样品平台是可以移动的，通过移动所述样品平台，所述激光可以对样品表面进行扫描，从而获得样品的表面信息。

根据本发明的另一方面，上述用以产生分析用离子的方法还包括步骤：电喷雾针尖产生的带电液滴直接作用于样品平台上的样品，使得样品分子解吸电离，所产生的样品离子被所述离子聚焦装置会聚和引导。因为采用了样品平台的方式，不仅可以应用于液体样品，还可以应用于固体样品的电离，使得上述低压下的电喷雾电离法的高灵敏度的优点同样应用于固体样品。

同样的，通过移动所述样品平台，所述电喷雾的喷雾点对样品表面进行扫描，从而获得样品的表面信息。

根据本发明的另一方面，上述用以产生分析用离子的方法还包括步骤：在所述环境中提供紫外光电离源，该紫外光电离源与所述电喷雾和/或所述激光解吸电离同时或分时工作，用以产生离子。

根据本发明的另一方面，上述用以产生分析用离子的方法还包括步骤：在所述环境中提供放电电离源，用以在样品上方产生辉光放电，该辉光放电与所述电喷雾和/或激光解吸电离同时或分时作用，用以产生离子。

根据本发明的另一方面，上述用以产生分析用离子的方法还包括步骤：液体样品分子经电喷雾电离，在所述环境中提供脉冲激光，该脉冲激光从样品台背面入射以在样品台表面产生气体冲击波，该气体冲击波与上方的电喷雾液滴相互作用，以帮助促进喷雾液滴的去溶剂化过程。

5 根据本发明的上述几个方面，可以同时使用电喷雾电离和（基质辅助）激光解吸电离。甚至可以匹配紫外光电离、和/或辉光放电电离等更多离子源种类，能够显著提高离子源的应用范围，同时又保持了每种电离源较高的灵敏度，甚至不同离子源之间可以相互促进各自的灵敏度。尤其是，可以在低压下实施电喷雾解吸电离（DESI）和电喷雾激光解吸电离（ELDI）等快速分析方法以显著提高灵敏度；另一方面，对于单独使用的情形，上述两种
10 或者多种电离方式能够方便的切换而无需任何机械装置，提高了仪器的使用效率并节约了使用及维护成本。

本发明还提供一种用于产生分析用离子的装置，该装置包括：1）用以提供气压不超过 100 torr 的真空系统，2）处于该系统中的电喷雾装置，用于产生带电液滴和离子，3）处于该系统中的样品平台，用于放置固体或液体样品，以及 4）处于该系统中的离子聚焦
15 装置，用于会聚和引导所述离子进入离子分析器。上述真空系统的压力优选为不超过 50 torr，进一步优选不超过 30 torr。

根据本发明的用于产生分析用离子的装置还可以包含激光光源，用于产生激光并将激光照射处于样品平台上的固体或液体样品。

根据本发明的产生分析用离子的装置，优选在所述真空系统中，所述电喷雾喷针和所述样品平台处于仅由一小孔相连通的独立空间内，使得所述电喷雾电离和所述激光解吸
20 电离在相同或者不同的低气压下进行电离，以及/或者，所述电喷雾电离和所述激光解吸电离同时或者分时进行。上述不同的低气压是例如，对于电喷雾电离是在 50~100 torr 的压力下，对于激光解吸电离是在不大于 20 torr 的压力下。

根据本发明的产生分析用离子的装置，所述喷雾装置可以包含一根或多根纳升喷雾针
25 尖。本发明的产生分析用离子的装置还可以包含真空导入装置，用以将所述样品平台从大气压环境导入到所述系统内。而且，本发明的装置中的样品平台是可移动的。

根据本发明的产生分析用离子的装置，还可以包含下述电离源于所述系统中：真空紫外光电离源、和/或包含一根或多根施加高压的金属针放电电离源。

根据本发明的产生分析用离子的装置，其中离子聚焦装置优选为交变电场离子传输
30 置。

根据本发明的产生分析用离子的装置可用作质谱仪和/或离子迁移谱仪的离子发生源。

因此,根据本发明的用以产生分析用离子装置可以在低压下同时进行电喷雾电离、(基质辅助)激光解吸电离、紫外光电离、和/或辉光放电电离,离子源的应用范围扩大的同时又保持了每种电离源高灵敏度,甚至不同离子源之间可以相互促进各自的灵敏度;另一方面,本发明的装置没有也不需要繁琐的机械装置用以对上述两种或者多种电离方式进行切换,提高了仪器的使用效率并降低了使用及维护成本。

附图说明

图 1 为本发明中第一实施方式所述的装置示意图。

图 2 为本发明中第一实施方式所述的第一变化例的装置示意图。

10 图 3 为本发明中第一实施方式所述的第二变化例的装置示意图。

图 4 为本发明中第一实施方式所述的第三变化例的装置示意图。

图 5 为本发明中第二实施方式所述的装置示意图。

图 6 为本发明中第三实施方式所述的装置示意图。

图 7 为本发明中第四实施方式所述的装置示意图。

15 具体实施方式

为了让本发明的上述目的、特征和优点能更明显易懂,以下结合附图对本发明的具体实施方式作详细说明。

本发明的一个主要思想是将电喷雾和激光解吸电离(基质辅助或者无需基质)在同一真空腔体中进行工作。之所以采用真空腔体,是由于大气压电离源(无论是电喷雾电离还是基质辅助激光解吸电离)灵敏度不高,主要的原因是从大气压的离子产生区到低压的离子传输区和分析区会经历很严重的离子损失,这种损失一般会超过 90%,所以将两种电离装置都放于大气压下并无优势。专利 US7671344 中,使用低于大气压的电喷雾,和低压的基质辅助激光解吸电离一样,取得了比大气压下更高的灵敏度。

25 目前,基质辅助激光解吸电离取得最高灵敏度的气压范围,一般小于 0.1 mtorr,而从专利 US767134 和文献 Anal. Chem. 2010, 82, 9344 - 9349 中的结果来看,低压电喷雾在采取较充分去溶剂化手段的情况下,取得最高灵敏度并稳定喷雾的气压范围是 10~30 torr。但折中考虑,工作在这两个气压区间之间(如 6~20 torr),尽管仍然有到下一级真空的传输损失,但可以使用某些方法来抵消灵敏度的降低。在本发明中,首先是采用了适合此气压下合适的离子聚焦装置,比如使用可以适用于较高气压(最高可到 30 torr)的离子漏斗,

这样可以使得从激光解吸电离产生或者电喷雾产生的离子束以近似 100%的效率传输到下一级真空。这种离子聚焦装置一般由交流电场驱动，对于低压环境下的电喷雾，交流电场对电喷雾产生的液滴还有部分的去溶剂化作用，进一步提高了离子产生数量来提高最终的灵敏度。对于基质辅助激光解吸电离模式，由于脉冲激光的强度很高，使得被激发出的离子呈溅射状态，大部分商用 MALDI-TOF 仪器中，其溅射的初始平均速度在 400 m/s 左右（使用 4-羟基- α -氰基肉桂酸(4-hydroxy- α -cyanocinnamic acid)标准品做基质而测定得到），而且其速度方向的分布也较宽。但在高于 1 mtorr 的气压下，离子会很快减速到热运动的速度，然后发生扩散损失。本发明中，可以使用一个排斥电极来避免离子的迅速减速，保证大部分离子运动到离子传输装置。如果这种离子减速太快，甚至来不及离开样品台表面，那么我们可以把排斥电极的电压加的很高，还可以采用诸如脉冲动力聚焦（pulse dynamic focusing, Tan PV, Anal. Chem. 76:2462-2469, 2004）的方法，在激光脉冲打到样品上之后，加一个脉冲式的加速高电压使得被打出的离子瞬间离开样品台表面，然后加速电压迅速关闭，之后再通过离子聚焦装置来改善离子传输。总之，本发明可以做到适当的提高气压而不产生大的离子传输损失。

需要注意的是，本发明中，使用比普通基质辅助激光解吸电离更高的气压，不仅不会大幅降低灵敏度，还有一些其他好处。比如，较高气压下，分子离子碰撞引起的减速可以弥补初始溅射速度的展宽，而且由于气压较高，在很短的距离内就可以使得速度降到比较均一，所以对初始位置的展宽影响也比较小，在经过离子聚焦装置之后仍然可以保持较好的速度、位置的均一性，这样就可以降低在后级进行离子束压缩等操作的难度。还有，高气压的基质辅助激光解吸电离是一种更柔和的电离方式，可以减少一些分析物（比如组织样品等生物大分子）的降解，从而获得更准确的生物图谱信息（O' Connor PB, Rapid Commun. Mass Spectrom. 15: 1862-1868, 2001）。

所以，本发明将这两种电离装置都放置于不超过 100 torr、优选不超过 50 torr、进一步优选不超过 30 torr 的真空腔体中，使之同时工作或者无需任何机械操作而使之切换交替工作，同时又保持了两种电离装置较高的灵敏度。

本实施方式中，电喷针和样品台共同处于真空腔体中，电喷针在加上高压后产生电喷雾，电喷雾所需的样品可以从液相色谱获得，或者从毛细管电泳装置获得。电喷雾产生的带电液滴经过必要的去溶剂化措施后，通过离子传输装置，然后进入分析器被分析。作为另外一种电离方式，样品平台可以与机械装置相连并被控制移动，样品平台包括样品台和放置于其上的样品架，在不破坏腔体真空的条件下，样品台与样品架可以一起通过真空导

入装置在大气压与真空腔体间移动。这样，样品可以在大气压环境下点到样品架上，然后样品被移入真空腔体以待分析。之后一束激光透过真空腔体上的窗口照射到样品上，对样品进行解吸附并同时电离。产生的样品离子再通过离子传输装置（例如，离子漏斗）进入分析器进行分析。

- 5 根据本发明的另一实施方式，电喷雾和激光解吸电离可以在不同的时刻独立工作，不会相互影响，而且切换两种方式不需要任何机械操作。两种电离方式也可以同时工作，这时，电喷雾所用的液体可以是样品，也可以选用不含被测物的纯溶剂，而被测样品依然通过点样方式加到样品架上进入真空腔。两者同时工作时，这两种电离源对对方的灵敏度提高都有好处。比如，如果样品分子位于样品台上有激光解吸电离，那么由电喷雾产生的带电液滴会与已被激光解吸或电离的样品相互作用，使得部分还没被激光电离的样品分子被电喷雾电离而产生多电荷离子，提高最终灵敏度。而如果样品从电喷雾的毛细管进入，样品台上没有样品，或者只保留基质分子，在脉冲激光从背面打到样品台上时，会在样品台表面产生一个气体冲击波，这个冲击波可以有效地阻挡电喷雾的喷雾束，使得喷雾液滴振荡并降速，有利于液滴的去溶剂化，产生更多的喷雾离子以提高电喷雾的灵敏度。这种冲击波也可以不用脉冲激光，而用脉冲的气流打击样品台背面而产生，也可以采用比如超声振荡、铁电振荡等方式产生。更特别的，可以使两种电离方式按照某种时间规律同时或交替工作。比如，如果在基质辅助激光解吸电离模式中采用一定频率的脉冲激光做为光源（大多数商用仪器的做法），而电喷雾针上也施加同频的脉冲高压，保持两个脉冲波形之间一定的时间延迟，以使得脉冲产生的喷雾液滴和被脉冲激发的样品束能够保持较好的融合，
- 10 这样可以使得大部分样品分子被两种电离源分别电离，提高了整体的电离效率，同时又降低了中性分子的干扰，从而提高灵敏度。另外，激光解吸电离得到的离子一般既有正离子，又有负离子。为了与之更好的匹配，电喷雾也可以加正负交替的高压，使得正、负离子都可以产生。

- 电喷雾的喷针通常为纳升喷雾针尖。这是因为在该专利适用的低压下，如果电场强度
- 25 太高，则很容易击穿空气造成放电，影响电喷雾信号。采用直径在几微米到几十微米的纳升喷雾针尖，可以使得在较低电压下（比如小于 1200V）就可以产生稳定的电喷雾，避免放电影响。另外也可以在腔体中通入六氟化硫、二氧化碳等具有较强吸电子能力的气体来进一步抑制放电。可以只使用一根纳升喷雾针，也可以使用多根喷针组成的喷针阵列，以提高分析通量。喷针的方向可以与离子漏斗的传输方向相互垂直，这样的好处是可以将喷雾中的溶剂杂质去掉。也可以选用其它角度，比如 45 度喷雾，60 度喷雾甚至 0 度直喷等，
- 30

都在本专利保护范围之内。当然，选用其他角度时需相应调整样品架的方向以避免相互干涉。还有，为了进一步提高灵敏度，可以使用必要的帮助喷雾液滴去溶剂化的技术手段，比如加热喷雾液滴、用气流吹扫液滴等。

对于本实施方式中的激光解吸电离，基质辅助不一定是必须的，如果只采用纯样，比如带有溶剂的纯样或者实际样品，这样就变成了单纯的激光解吸电离。此时样品上方低压电喷雾仍然工作，因被激光加热作用而解吸的样品气态分子，和电喷雾产生的带电荷的液滴或者气态离子，两者融合并相互作用，发生电荷转移或者电荷重新分配等过程，使得样品分子带电而变成离子，再进入聚焦装置以待分析。采用这类样品时，相应的对激发光源的要求也应考虑，比如，脉冲式激光不一定是必要的，强度较低的连续激光也一样可以起到部分软电离的作用，或者只利用激光的热作用使得样品解吸附，而依靠电喷雾来电离。

关于激光-样品产生方向之间形成的角度可以采用传统的反射模式，也可以采用无场透射模式，使激光从透明样品架后方射向样品。这时的样品台和样品架一定要选用对所用激光波长透过率高的材料，比如如果选用紫外激光，则材料最好采用石英玻璃。根据文献 Rapid Commun. Mass Sepctrom. 23: 3023-3027,2009,透射模式主要有三个好处：一是相比反射模式，透射模式所需的结构更小，设计起来更简便；二是 180 度的入射角度可以使得产生的离子束更细，溅射范围更小，且初速度更快，不需要脉冲动力聚焦，所以可以采用无场结构，装置既简便又可以提高分析的灵敏度；三是对于有些分布在基质上表面的样品，从后面入射可以使得激光只能作用到基质上从而更好的保护了样品，使得图谱中的碎片离子更少。还有，在本发明中，我们已经提到了这种脉冲激光透射模式可以用来促进电喷雾的去溶剂化过程。

另外，样品可以是固体样品，也可以是液体样品，但需注意该液体的饱和蒸汽压应小于离子源的工作气压。对于样品点样方式，可以用传统的大气压点样，然后用氮气吹干，也可以用较新发展的液相色谱离线式点样方式，甚至可以直接在低压环境中点样，这时需要另外一根毛细管装置将样品从大气压通入真空腔体，可能需要精密注射泵等装置控制样品进入速度和进入量，然后通过控制移动样品台实现不同位置点样。

在使用激光解吸电离方式时，可以通过控制移动样品平台，使得激光在样品表面进行扫描，获得样品表面在每个扫描点的分析信息。这种方式被称为质谱成像。一般用于生物组织表面成分分析。如前所述，本发明在进行生物质谱成像过程时，由于生物组织样品所处的气压比使用传统基质辅助激光解吸电离技术时要高，因此可以降低生物样品的降解过程，特别在进行长时间的扫描时，可更好的保持生物样品的成分稳定性，提高分析的准确

性。

离子聚焦装置可以依次是适用于较高气压（1~30torr）传输、聚焦的离子漏斗，Q-阵列导引器和八极杆，它们分别构成第一级、第二级和第三级离子传输、聚焦装置区域。适合于较高气压的离子聚焦装置在本发明中是必要的，除了 US6107628 中描述的离子漏斗外，也可以使用其它多极杆导引装置，行波电极导引装置，丝状电极导引装置等。一般来说这些离子导引装置的几何结构和电压设置必须满足某些特殊条件，以克服离子在高压下空气动力学对离子传输的负面影响。比如，离子漏斗中的射频电压可以在漏斗内形成无限多极场，这样对靠近漏斗内壁的液滴或离子产生明显的反弹作用，避免离子传输损失。行波电极导引装置不仅通过多极场束缚高压下的离子，而且可以用行波电压驱动离子在轴向上传输。而丝状电极导引装置的开放结构可以将气体按照某一预定方向抽走，形成便于离子传输的气流，或者将气流的负面影响降到最低。

真空腔体和第一级离子传输装置区域的典型气压为 6~20 torr，第二级离子传输装置区域的气压为 1~2 torr，第三级的气压一般小于 1 mtorr。但在电喷雾和基质辅助激光解吸电离分时工作时，也可以先使电喷雾工作在 10 torr 以上，之后电喷雾关闭，改变机械泵抽口大小或者外部气体入口的大小使得气压降低到 1~2 torr 甚至更低，然后开启激光进行激光解吸电离，以获得较高的灵敏度。

根据本实施方式的一个变型，可以在低压喷雾针和基质辅助激光解吸电离区域之间设置一个带有小孔的法兰，而机械泵的抽口仍然位于激光解吸电离区域内，这样就增加了一级差分抽气。这样做的好处是可以得到使两种电离源工作更加合适的不同气压区间，比如电喷雾工作的气压在 50~100 torr，这样可以充分的使得带电液滴被去除溶剂，同时可以使用更大口径的喷针而不用担心放电，而基质辅助激光解吸电离的工作气压保持在 10 torr 甚至更低。这样两种电离源都会取得较高的灵敏度，而且相比分时改变气压的方法，可以允许两种电离源同时在不同气压下工作。

此外，可以将离子漏斗（末端带有小孔）移到了喷针的腔体处并且用来代替法兰。这时可以使电喷雾工作在 10~30 torr，而基质辅助激光解吸电离工作的真空腔体里面气压为 1~2 torr 甚至更低。这样做的好处除了可以进一步优化两种电离源的工作气压之外，还因为用离子漏斗代替了取样孔，可以提高电喷雾液滴的去溶剂化效率和传输效率。但是这种方式下，进行激光解吸电喷雾后电离操作时就比较困难，因为液滴经过充分去溶剂化后跟激光解吸出来的分子的碰撞截面变得很小，电荷交换过程会受限制。

最后离子进入离子分析装置被分析，该装置原则上可以是任何质量分析器，但本发明

的主要优势是在生物大分子分析方面，而且 MALDI 产生的多数是单电荷离子，质荷比很大。因此最好选用质量范围很大的质量分析器，如飞行时间质量分析器，傅里叶变换回旋共振质量分析器和离子阱质量分析器等。而且如发明背景中所述，由于两种电离源本身的特性，对质量分析器还有些别的特殊限制。比如，如果搭配飞行时间质量分析器，由于 ESI

5 源是连续源，因此在进入飞行时间分析器之前最好搭配一个离子贮存装置以暂时贮存离子，而为了进行串级质谱分析，在离子储存装置之前可以再搭配四极杆做为前级分析装置。另外，除了质量分析器，本发明的后级分析装置还可以是离子迁移谱仪等。

根据本发明的其他实施方式，可以在腔体中或者腔体外添加更多的离子源种类，比如，化学反应电离（CI）和光电离（PI）等，但只要腔体中仍然包含电喷雾装置和承载待测样

10 品的样品平台，也在本专利的保护范围之内。

例如，在如上所述的装置以外，可以另外引入了一根或多根放电针尖，在该针尖上加上高压，可在腔体内样品上方产生辉光放电，辉光放电电离源的应用范围与电喷雾或者激光解吸电离的应用范围差异很大，这样就进一步扩大了该离子源的应用范围。而且放电源产生的反应离子与电喷雾产生的带电液滴或离子，还有激光解吸电离产生的离子以及中性

15 分子可以相互作用，带来更多的图谱信息。比如，文献 Laiko VV, Anal. Chem. 72: 652-657, 2000 中表明，在较高气压下在基质解吸电离电离源中引入放电源（这种气压下为电晕放电）之后，可以使得基质的离子信号增加 20 到 40 倍，尽管尚未有证据表明基质离子增多会带来实际分析物（如多肽）的信号增强，但可以通过改换基质的方法来研究该电离过程的电荷转移和分配机制。另外，也可以用放电针对电喷雾解吸电离产生的带电液滴作用，提高

20 电离效率来增加灵敏度。当然，在真空中要特别注意控制放电区域，如果腔体是金属外壳，一定要采取一定的屏蔽手段使得放电不要发生在整个腔体之中。比如可以在样品台和电喷针上加上金属网罩或者采取其它手段。

或者另外引入了一个真空紫外光源代替上述的放电针尖，该紫外光源可以将已被激光解吸而在样品台上方形成的气态样品分子进行光电离，或者对电喷雾产生的带电液滴作

25 用，提高电离效率。相比大气压光电离源，紫外光源置于低压下的好处是可以得到更高的灵敏度，这来源于紫外光在真空下有更远的传输距离。而将紫外光源引入腔体的好处是进一步扩大了该离子源装置的应用范围，比如电喷雾电离的样品通常是极性较强的化合物，而光电离可以应用于弱极性或者无极性的化合物。

[实施例 1]

30 如图 1 所示为根据本发明的第一实施方式的实施例，图中 1 为离子源所处的真空腔体，

电喷针 2 在加上高压后产生电喷雾。该电喷针为纳升喷雾针尖。喷针的方向与离子漏斗的传输方向相互垂直。电喷雾产生的带电液滴经过必要的去溶剂化措施后，通过离子聚焦装置（依次为离子漏斗 8，Q-阵列导引器 12 和八极杆 13），然后进入分析器被分析。样品台 3 与放置在上方的样品架 4 共同组成了样品平台，样品台 3 与机械装置相连并被控制移动，而且在不破坏腔体真空的条件下，样品台 3 与样品架 4 一起通过真空导入装置 5 在大气压与真空腔体间移动。样品在大气压环境下点到样品架 4 上，然后样品被移入真空腔体 1 以待分析。之后一束激光 6 透过真空腔体 1 上的窗口 7 照射到样品上，对样品进行解吸附并同时电离。此时样品上方低压电喷雾仍然工作，被激光加热作用而解吸的样品气态分子与电喷雾产生的带电荷的液滴或者气态离子融合并相互作用，发生电荷转移或者电荷重新分配等过程，使得样品分子带电而变成离子，产生的样品离子再依次通过离子漏斗 8，Q-阵列导引器 12 和八极杆 13 进入分析器进行分析。

在该实施例中，真空腔体和第一级离子传输装置区域 9 的典型气压为 6~20 torr，第二级离子传输装置区域 10 的气压为 1~2 torr，第三级 11 处的气压一般小于 1 mtorr。

[实施例 2]

图 2 是本发明的第一实施方式的变化例。这个变化例在原来的实施例基础上，加了一个带有小孔的法兰 14，法兰位于低压喷雾针和基质辅助激光解吸电离区域之间，而机械泵的抽口仍然位于激光解吸电离区域内，形成了比实施例 1 多一级的差分抽气，从而使得两种电离源工作更加合适的不同气压区间。

[实施例 3]

图 3 是本发明的第一实施方式的另一变化例。这个变化例将上个变化例中的离子漏斗 8 移到了喷针的腔体处并且用来代替法兰小孔 14。这时，电喷雾工作在 10~30 torr，而基质辅助激光解吸电离工作的真空腔体 15 里面气压为 1~2 torr 甚至更低。

[实施例 4]

图 4 是本发明的第一实施方式的又一变化例。相比于实施例 1，不同之处在于激光-样品产生方向之间形成的角度采用无场透射模式，使激光从透明样品台后方射入。样品台采用对所用紫外激光波长透过率高的石英玻璃。

[实施例 5]

本发明的第二实施方式的实施例，如图 5 中所示，首先直接将待分析物点到样品台 3 上的样品架 4 上并送入真空腔体。然后电喷针 2 开始喷雾，喷雾的带电液滴直接作用到样

品处，与样品分子融合，发生电荷转移或者电荷重新分配等过程，使得样品分子带电而变成离子，此时的样品离子或者是气态离子形式，或者是带电小液滴形式，这些离子在辅助气流的作用下，被气流携带进入聚焦装置，经历去溶剂化过程后进入质量分析器进行分析。这个过程可以获得多电荷离子。这种电离方式可以与激光解吸电离按需要分时使用，也可以将电喷雾解吸电离和激光解吸电离共同作用。

[实施例 6]

图 6 是本发明的第三个实施方式的实施例。在本实施例中，除了采用实施例 4 所示的装置以外，另外引入了一根放电针尖 16，在该针尖上加上高压，可在腔体内样品上方产生辉光放电，放电源产生的反应离子与电喷雾产生的带电液滴或离子，还有激光解吸电离产生的离子以及中性分子可以相互作用，带来更多的图谱信息。如图 6 所示，样品台和电喷针上被加上金属网罩 17 以保证放电不发生在整个腔体之中。

[实施例 7]

图 7 是本发明的第四个实施方式的实施例。在该实施例中，除了采用实施例 4 所示的装置以外，另外引入了一个真空紫外光源 18，该紫外光源将已被激光解吸而在样品台上方形成的气态样品分子进行光电离，或者对电喷雾产生的带电液滴作用，提高电离效率。

除此之外，其它基于本专利发明内容，但对专业内人士只需做细小改变、易于实现的变体，比如在本发明所述腔体基础上增加了电子轰击电离 (EI)，或者采用亚稳态原子跃迁的能量进行电离，在解吸方式上不采用激光解吸，而采用热解吸或者超声波振荡解吸等方式，也在本专利内容涵盖范围之内。

权 利 要 求 书

1、一种产生分析用离子的方法，包括：

提供气压不超过 100 torr 的真空环境以及处于该系统内的样品平台、电喷雾电离装置、以及离子聚焦装置，

5 将固体或液体样品放置于该平台上，
 通过电喷雾电离产生带电液滴和离子，
 通过解吸电离产生样品中性分子或离子，
 以上产生的带电液滴和样品离子经离子聚焦装置会聚、引导后进入离子分析器。

2、根据权利要求 1 所述的方法，其特征在于，所述电喷雾针尖产生的带电液滴直接
10 作用于样品平台上的样品，使得样品分子解吸电离，所产生的样品离子被所述离子聚焦装置会聚和引导。

3、根据权利要求 1 或 2 所述的方法，其特征在于，所述电喷雾过程为纳升喷雾过程。

4、根据权利要求 1 或 2 所述的方法，其特征在于，所述电喷雾电离装置包含气体入口，用以辅助样品解吸。

15 5、根据权利要求 2 所述的方法，其特征在于，通过移动所述样品平台，所述电喷雾的喷雾点对样品表面进行扫描，从而获得样品的表面信息。

6、根据权利要求 1 所述的方法，其特征在于，还包括：提供激光解吸电离装置，通过激光照射使所述固体或液体样品解吸而产生气态中性分子或者解吸电离而产生离子。

7、根据权利要求 6 所述的方法，其特征在于，所述电喷雾电离和所述激光解吸电离
20 在相同或者不同的低气压下进行电离。

8、根据权利要求 6 所述的方法，其特征在于，所述电喷雾电离和所述激光解吸电离同时或者分时进行。

9、根据权利要求 8 所述的方法，其特征在于，所述电喷雾电离和所述激光解吸电离同时进行，所述样品经激光照射而解吸产生的中性分子或进一步电离产生的离子与所述电
25 喷雾产生的带电液滴或离子发生融合，从而产生待分析离子。

10、根据权利要求 6 所述的方法，其特征在于，通过移动所述样品平台，所述激光可

以对样品表面进行扫描，从而获得样品的表面信息。

11、根据权利要求 6 所述的方法，其特征在于，所述激光解吸电离装置产生脉冲激光并使该脉冲激光从样品平台的背面入射，使得样品平台表面产生的气体冲击波作用于由电喷雾电离产生带电液滴上。

5 12、根据权利要求 1 或 6 所述的方法，其特征在于，还包括：在所述环境中提供紫外光电离源，该紫外光电离源与所述电喷雾和/或所述激光解吸电离同时或分时工作，用以产生离子。

13、根据权利要求 1 或 6 所述的方法，其特征在于，还包括：在所述环境中提供放电电离源，用以在样品上方产生辉光放电，该辉光放电与所述电喷雾和/或激光解吸电离同时
10 或分时作用，用以产生离子。

14、一种用于产生分析用离子的装置，该装置包括：
用以提供气压不超过 100 torr 的真空系统，
处于该系统中的电喷雾装置，用于产生带电液滴和离子，
处于该系统中的样品平台，用于放置固体或液体样品，
15 处于该系统中的离子聚焦装置，用于会聚和引导所述离子进入离子分析器。

15、根据权利要求 14 所述的装置，其特征在于，还包含激光光源，用于产生激光并将激光照射处于样品平台上的固体或液体样品。

16、根据权利要求 14 或 15 所述的装置，其特征在于，在所述真空系统中，所述电喷雾喷针和所述样品平台处于仅由一小孔相连通的独立空间内。

20 17、根据权利要求 14 所述的装置，其特征在于，所述喷雾装置包含至少一根纳升喷雾针尖。

18、根据权利要求 14 所述的装置，其特征在于，还包含真空导入装置，用以将所述样品平台从大气压环境导入到所述系统内。

19、根据权利要求 14 所述的装置，其特征在于，所述样品平台是可移动的。

25 20、根据权利要求 14 所述的装置，其特征在于，还包含紫外光电离源于所述系统中。

21、根据权利要求 14 所述的装置，其特征在于，还包含至少一根施加高压的金属针

放电电离源于所述系统中。

22、根据权利要求 14 或 15 所述的装置，其特征在于，所述离子聚焦装置为交变电场离子聚焦装置。

23、根据权利要求 14 所述的装置，其特征在于，所述离子分析器选自质谱仪和离子
5 迁移谱仪中的一种或多种。

说明书附图

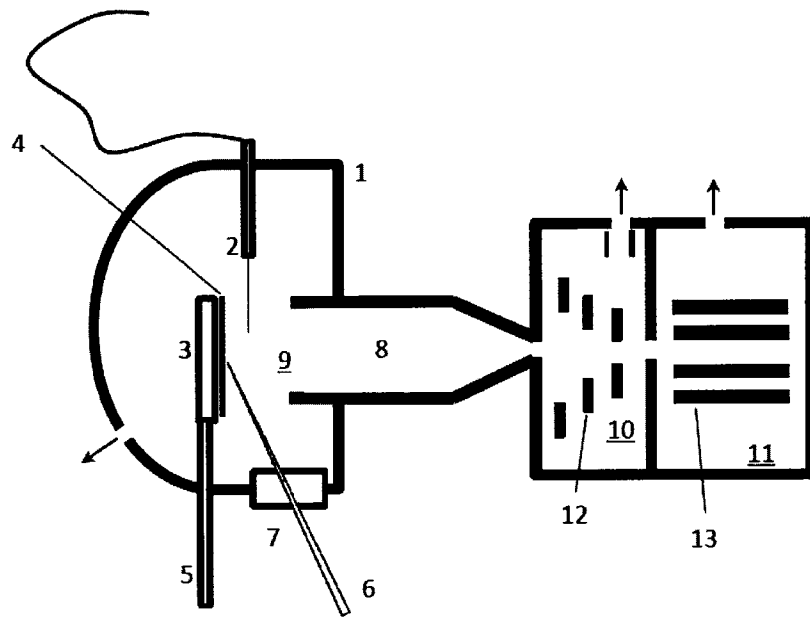


图 1

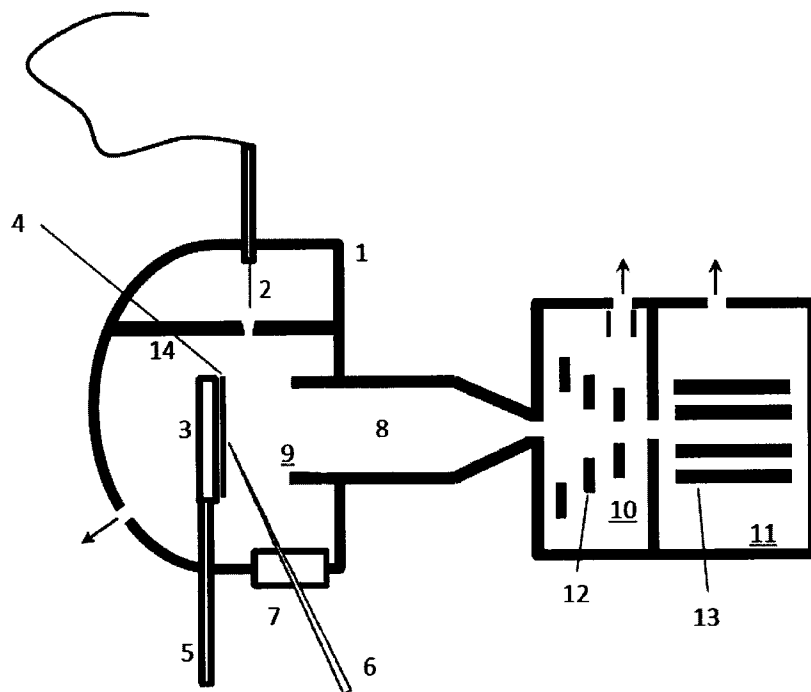


图 2

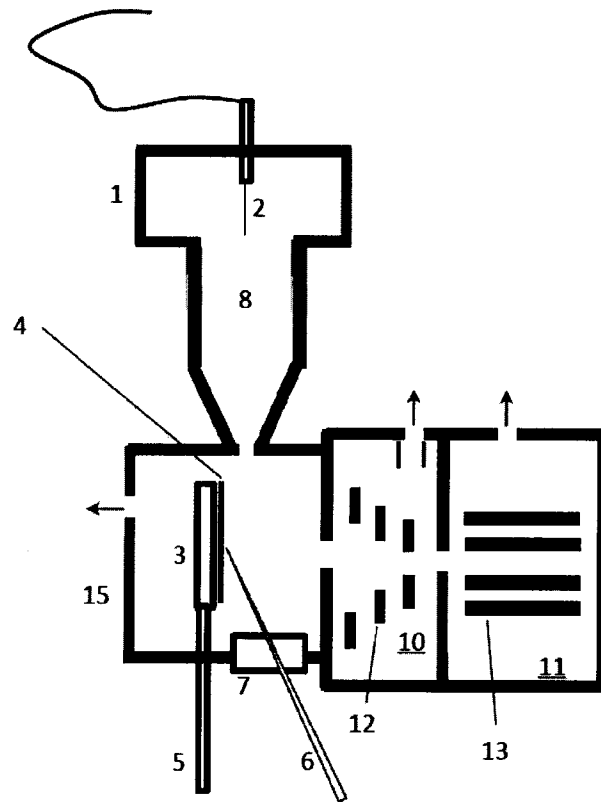


图 3

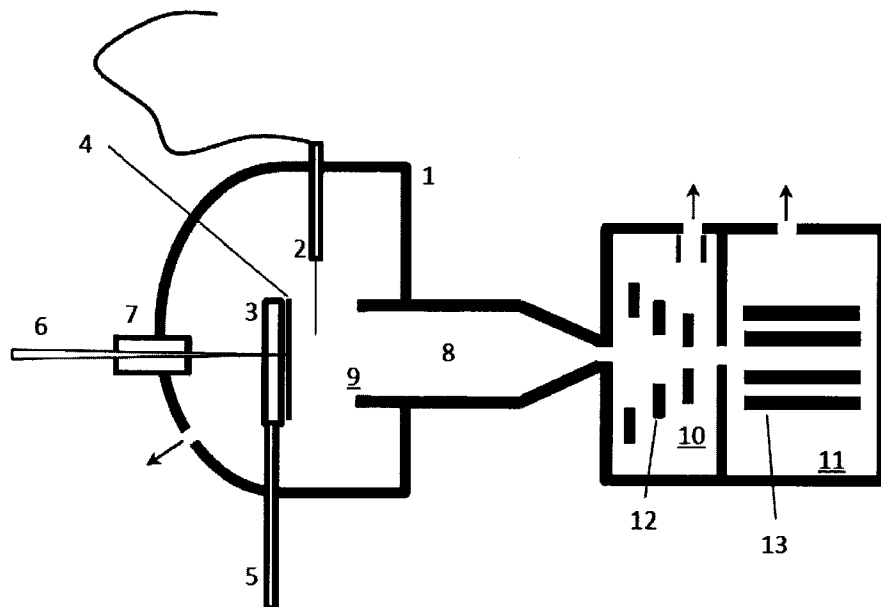


图 4

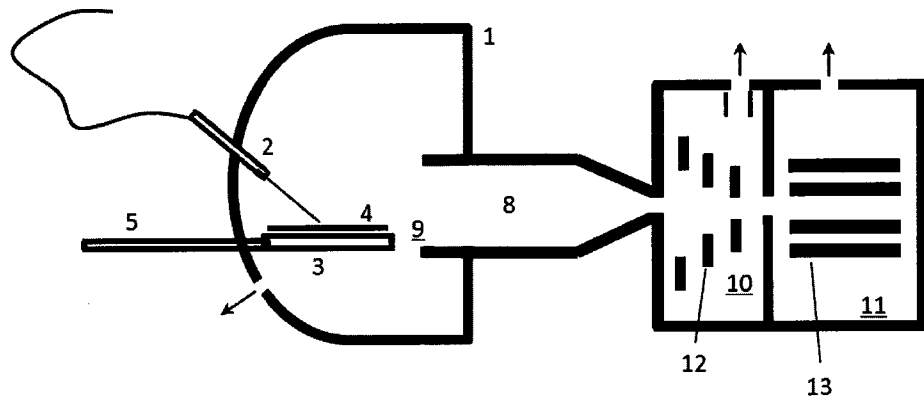


图 5

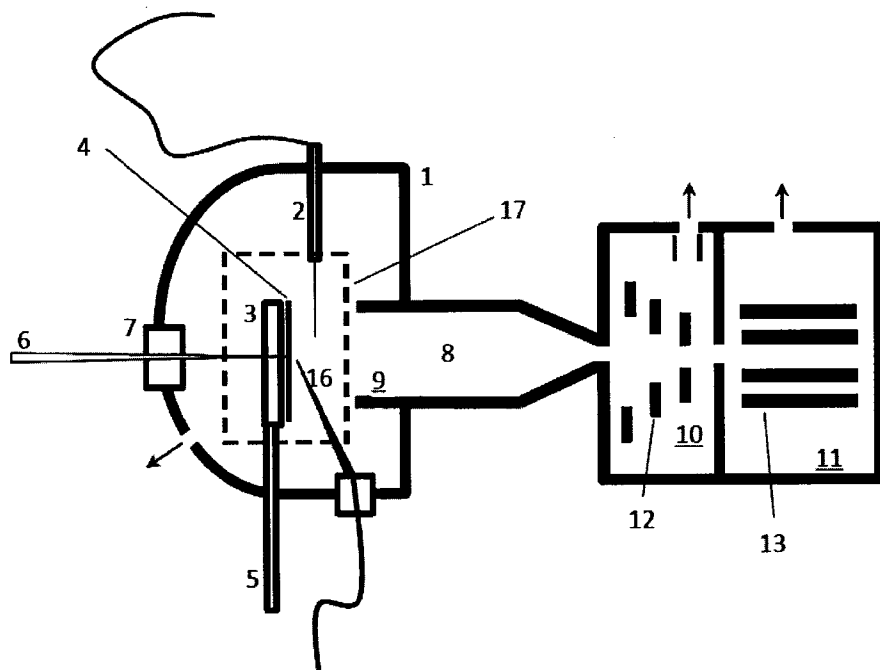


图 6

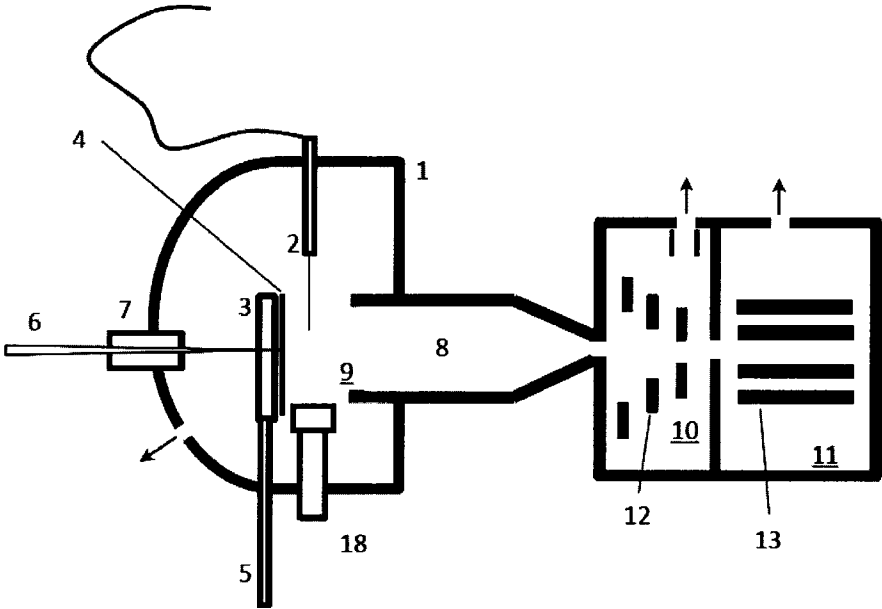


图 7

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2013/000195

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

H01J 49/10 (2006.01) i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC: H01J; G01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CNABS, CNKI, WPI, EPODOC, EI, ISI, GOOGLE: ion+, electro, spray, ES, ESI, laser, sprip+, desorpt+, low, pressure, vacuum, torr, mass, spect+, transfer+, sample?, solid, liquid

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	CN 101073137 A (PURDUE RESEARCH FOUNDATION) 14 November 2007 (14.11.2007) description, pages 7-9, 15-16 and figure 13	1-5, 12-14, 16-23
Y	US 5015845 (VESTEC CORPORATION) 14 May 1991 (14.05.1991) description, column 6, lines 35-45 and figure 1	1-5, 12-14, 16-23
Y	CN 102232238 A (PURDUE RESEARCH FOUNDATION) 02 November 2011 (02.11.2011) description, paragraphs [0010]-[0061] and figure 1	1-5, 12-14, 16-23
Y	US 7671344 B2 (BATTELLE MEMORIAL INSTITUTE) 02 March 2010 (02.03.2010) description, column 2, line 53 to column 3, line 27 and figure 2a	1-5, 12-14, 16-23

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search 25 March 2013 (25.03.2013)	Date of mailing of the international search report 06 June 2013 (06.06.2013)
Name and mailing address of the ISA State Intellectual Property Office of the P. R. China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing 100088, China Facsimile No. (86-10) 62019451	Authorized officer CHEN, Jiajia Telephone No. (86-10) 82245781

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2013/000195

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	TWI 334027 B (UNIV NAT SUN YAT SEN) 01 December 2010 (01.12.2010) the whole document	1-23
A	JP 2006-190526 A (SHIMADZU CORP.) 20 July 2006 (20.07.2006) the whole document	1-23

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2013/000195

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
CN 101073137 A	14.11.2007	WO 2005094389 A2	13.10.2005
		US 2005230635 A1	20.10.2005
		EP 1741120 A2	10.01.2007
		US 7335897 B2	26.02.2008
		CA 2559847 A	13.10.2005
US 5015845	14.05.1991	None	
CN 102232238 A	02.11.2011	WO 2010045049 A1	22.04.2010
		EP 2338160 A1	29.06.2011
		US 2011240844 A1	06.10.2011
		JP 2012-505519 A	01.03.2012
US 7671344 B2	02.03.2010	US 2009057551 A1	05.03.2009
		WO 2009042328 A2	02.04.2009
		CA 2700092 A1	11.19.2010
		EP 2186110 A2	19.05.2010
		CA 2696115 A1	02.04.2009
		US 2009242755 A1	01.10.2009
		US 8173960 B2	08.05.2012
		EP 2254142 A2	24.11.2010
TWI 334027 B	01.12.2010	TW 200842351 A	01.11.2008
JP 2006-190526 A	20.07.2006	JP 4645197 B2	09.03.2011

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2013/000195

A. 主题的分类

H01J49/10(2006.01)i

按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和 IPC 两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

IPC: H01J; G01N

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))

CNABS, CNKI, WPI, EPODOC, EI, ISI, GOOGLE: 电离, 离子, 质谱, 迁移, 电喷, 喷雾, 雾化, 激光, 解吸, 低压, 低, 气压, 真空, ion+, electro, spray, ES, ESI, laser, sprip+, desorpt+, low, pressure, vacuum, torr, mass, spect+, transfer+, sample?, solid, liquid

C. 相关文件

类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
Y	CN101073137A (普渡研究基金会) 14.11 月 2007 (14.11.2007) 说明书第 7-9, 15-16 页, 图 13	1-5, 12-14, 16-23
Y	US5015845 (VESTEC CORPORATION) 14.5 月 1991 (14.05.1991) 说明书第 6 栏第 35-45 行, 图 1	1-5, 12-14, 16-23
Y	CN102232238A (普渡研究基金会) 02.11 月 2011 (02.11.2011) 说明书第 [0010]-[0061]段, 图 1	1-5, 12-14, 16-23
Y	US7671344B2 (BATTELLE MEMORIAL INSTITUTE) 02.3 月 2010 (02.03.2010) 说明书第 2 栏第 53 行-第 3 栏第 27 行, 图 2a	1-5, 12-14, 16-23
A	TWI334027B (国立中山大学) 01.12 月 2010 (01.12.2010) 全文	1-23

☒ 其余文件在 C 栏的续页中列出。

☒ 见同族专利附件。

* 引用文件的具体类型:

“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的)

“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件

“X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性

“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性

“&” 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期
25.3 月 2013 (25.03.2013)

国际检索报告邮寄日期
06.6 月 2013 (06.06.2013)

ISA/CN 的名称和邮寄地址:
中华人民共和国国家知识产权局
中国北京市海淀区蓟门桥西土城路 6 号 100088
传真号: (86-10)62019451

受权官员

陈嘉佳
电话号码: (86-10) **82245781**

C(续). 相关文件		
类 型	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
A	JP 特开 2006-190526A (株式会社岛津制作所) 20.7 月 2006 (20.07.2006) 全文	1-23

国际检索报告

关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2013/000195

检索报告中引用的 专利文件	公布日期	同族专利	公布日期
CN101073137A	14.11.2007	WO2005094389A2	13.10.2005
		US2005230635A1	20.10.2005
		EP1741120A2	10.01.2007
		US7335897B2	26.02.2008
		CA2559847A	13.10.2005
US5015845	14.05.1991	无	
CN102232238A	02.11.2011	WO2010045049A1	22.04.2010
		EP2338160A1	29.06.2011
		US2011240844A1	06.10.2011
		JP2012505519A	01.03.2012
US7671344B2	02.03.2010	US2009057551A1	05.03.2009
		WO2009042328A2	02.04.2009
		CA2700092A1	11.19.2010
		EP2186110A2	19.05.2010
		CA2696115A1	02.04.2009
		US2009242755A1	01.10.2009
		US8173960B2	08.05.2012
		EP2254142A2	24.11.2010
TWI334027B	01.12.2010	TW200842351A	01.11.2008
JP 特开 2006-190526A	20.07.2006	JP4645197B2	09.03.2011