

碰撞截面CCS预测工具性能考察与评估

Yu Yanling, Hans Vissers, Kate Yu

Waters Corporation

这是一份应用简报，不包含详细的实验部分。

摘要

本应用简报介绍碰撞截面预测工具CCSondemand在预测数百种农药化合物CCS值方面的性能。

优势

- SYNAPT HDMS，离子淌度分离-高分辨串联质谱联用技术，四维数据开启并引领定性分析新时代
- 沃特世碰撞截面预测工具CCSondemand，使用灵活简便，预测准确性高，对化合物定性分析具有较高的参考价值和指导意义
- HDMS^E高清全信息串联质谱数据采集，在MS^F不遗漏小峰、窄峰，确保信息全采集的基础上，增加淌度分离，改善图谱质量，并显著提高分析容量

简介

离子淌度-质谱(IM-MS)，是离子淌度分离(IMS)与质谱分析(MS)相融合的一种新型二维检测技术，经过数十年的发展，日臻成熟，正在迅速成为现代分析化学前沿的技术领域之一。碰撞截面(Collision Cross-Section, CCS)，作

为IM-MS技术区分不同化合物的重要参数，不依赖于仪器设备和一般实验条件的不同而保持恒定，在化合物的定性分析中显示出独特的优势，但是CCS标准参考值的缺乏，已经成为离子淌度-质谱技术得以广泛应用的瓶颈问题。

因此，行业里涌现出基于化合物结构和离子淌度分离原理的多种CCS值预测工具，多以机器学习类工具为主，即以大量的CCS实验值结合相关化合物离子的结构属性和理化性质，训练机器，在化合物结构、理化性质与CCS值之间建立关联，并以此预测给定化合物结构的CCS值。

本文使用沃特世研发的碰撞截面预测工具CCSondemand，针对数百种农药化合物进行了CCS值的预测，通过与多次实验测定的CCS平均值进行对比，对CCSondemand的预测准确性进行了评价；同时，使用一种公共CCS值预测工具，对相同的化合物组进行CCS值的预测，并就两种预测工具获得的CCS预测值的准确性进行了整体的性能考察与比较。结果显示，沃特世碰撞截面预测工具CCSondemand不仅使用上更加灵活方便，且CCS预测的准确性也更高，充分说明，作为IM-MS技术的主要开拓者之一，沃特世以其雄厚、持久、全面的科技创新能力，始终是该前沿分析领域的技术领跑者。

实验

测试样品与总体实验设计

使用20种农药化合物的混标溶液(P/N: [186006348](#) <

<https://www.waters.com/nextgen/us/en/shop/standards--reagents/186006348-20-pesticide-mix-standard.html>>)，用50%乙腈稀释到适宜浓度，作为质控样品，用于实际样品数据采集前，监控并微调保留时间；

含数百种农药化合物的混合溶液作为实际测试样品，下文称为“大混标样品”。获得的数据使用UNIFI科学信息管理系统的筛查工作流程进行分析。筛查分析方法中，使用自建的高分辨串联质谱数据库，库中包含农药化合物数目，正离子模式500+种，负离子模式100+种。用于定性筛查的化合物属性有：化合物母离子/碎片离子的精确质量数、保留时间、结构式，以及理论碎片离子（UNIFI根据化合物结构自动生成）等。

所有测试皆呈阳性检出的化合物，计算其多次进样获得的CCS值的平均值和相对标准偏差(RSD)，并以RSD小于1%的化合物的CCS的平均值，用作评价CCS预测工具预测CCS准确性的参考标准。

色谱分离方法

分离系统: ACQUITY UPLC I-Class

色谱柱: XSelect HSS T3, 2.5 μ m, 2.1 \times 100 mm, (P/N: 186006151)
CORTECS T3, 2.7 μ m, 2.1 \times 100 mm, (P/N: 186008484)

温度: 45 $^{\circ}$ C

流动相: 水相(A) 5 mM NH₄FA + 0.1% FA的水溶液 有机相(B) 50%甲醇 + 50%乙腈的混合溶液

梯度:

时间 (min)	流速 (mL/min)	%A	%B	Curve
0	0.35	98	2	-
0.5	0.35	98	2	6
4	0.35	55	45	6
13	0.35	15	85	6
15.5	0.35	2	98	1
18	0.35	98	2	1

质谱条件

质谱系统：	SYNAPT G2-Si HDMS SYNAPT XS HDMS
系统分辨率：	灵敏度模式 分辨率模式
系统校正：	质量轴校正：甲酸钠溶液 CCS校正：Major Mix (P/N: 186008113) 实时校正(CCSLockmass)：亮氨酸脑啡肽(LeuEnk)溶液
数据采集：	HDMS ^F 质量数范围：50–1000 Da HDMS ^F 碎裂能设置：低能off；高能10~40 eV

结果与讨论

CCS值预测工具的选择

- 公共CCS预测工具的选择

许多关注淌度-质谱技术的前沿课题组都在致力于CCS值预测工具的研发，现阶段，不止一种的CCS值预测工具已在网上发布。不同的工具，在进行CCS值预测时，对于待预测化合物信息的输入，有不同的需要，有的工具，针对一个化合物，需要输入多种信息才能进行预测；有的工具对应的网站较难打开，或不对公众开放…。本文找到了一个CCS值的公共预测工具（名称隐去，下文中称作“公共CCS预测工具”）。该预测工具基于大量漂移管和行波离子淌度技术获得的CCS值进行深度机器学习，并结合淌度分离原理研制而成。使用化合物的线性结构SMILE格式，作为单一输入信息，可以给出[M+H]⁺、[M+Na]⁺、[M+NH₄]⁺、[M-H]⁻等多种离子加合形式的CCS预测值。

- 沃特世CCS预测工具CCSondemand

沃特世公司研发的CCS预测工具CCSondemand，同样采用深度机器学习的原理，基于多台仪器设备（Vion和SYNAPT）获得的大量化合物不同加合离子的CCS值，结合化合物结构的多种基本属性和理化性质，并依据淌度分离原理研发而成。使用时，只需输入单一化合物结构信息，兼容mol、sdf、inchi、SMILE等多种化学结构格式，可以给出[M+H]⁺、[M+Na]⁺、[M+K]⁺、[M-H]⁻、[M+HCOO]⁻五种离子加合形式的CCS预测值。因需要的化合物结构信息有多种格式可以选择，容易获得，使用更灵活方便。图1展示了CCSondemand简洁、清楚的应用界面。

	[M+H] ⁺	[M+Na] ⁺	[M+K] ⁺	[M-H] ⁻	[M+HCOO] ⁻
15263-52-2.mol	149.4	153.5	151.7	149.7	157.2
19179-31-8.MOL	138.7	143.5	143.4	139.2	162.6
C8H6Cl2O3	50.7	155.0	154.7	149.3	170.0
	40.1	144.8	141.9	140.2	138.4
	54.9	159.5	159.3	153.8	159.3
	26.4	129.1	126.4	124.7	148.8
	57.2	163.5	159.6	158.0	159.8

图1.CCSondemand的应用界面

农药大混标样品HDMS^E数据的获得

针对大混标样品（含数百种小分子农药化合物）进行多次数据采集，进样信息如表1（正离子模式）、表2（负离

子模式) 所示, 可以看出, 样品检测的进样次数, 虽受实验目的、仪器使用期限、紧急事件插入等因素的影响而有所不同, 但实验条件的差异性跨度皆很大。

n	MS设备	MS分辨率设置	色谱柱	采集日期	进样序号
1	SYNAPT XS	灵敏度模式	XSelect HSS T3	28.04.2020	1
2	SYNAPT XS	灵敏度模式	XSelect HSS T3	28.04.2020	2
3	SYNAPT XS	分辨率模式	XSelect HSS T3	28.04.2020	1
4	SYNAPT XS	灵敏度模式	XSelect HSS T3	20.05.2020	1
5	SYNAPT XS	灵敏度模式	XSelect HSS T3	20.05.2020	2
6	SYNAPT XS	分辨率模式	XSelect HSS T3	20.05.2020	1
7	SYNAPT XS	分辨率模式	XSelect HSS T3	20.05.2020	2
8	SYNAPT G2-Si	灵敏度模式	Cortecs T3	22.05.2020	1
9	SYNAPT G2-Si	灵敏度模式	Cortecs T3	22.05.2020	2
10	SYNAPT G2-Si	分辨率模式	Cortecs T3	22.05.2020	1
11	SYNAPT G2-Si	分辨率模式	Cortecs T3	22.05.2020	2
12	SYNAPT G2-Si	灵敏度模式	XSelect HSS T3	17.06.2020	1
13	SYNAPT G2-Si	灵敏度模式	Cortecs T3	18.06.2020	1
14	SYNAPT G2-Si	分辨率模式	Cortecs T3	18.06.2020	1
15	SYNAPT G2-Si	灵敏度模式	XSelect HSS T3	19.06.2020	1
16	SYNAPT G2-Si	分辨率模式	XSelect HSS T3	19.06.2020	1

表1.大混标样品正离子模式数据采集进样信息, $n=16$ 。

n	MS设备	MS分辨率设置	色谱柱	采集日期	进样序号
1	SYNAPT XS	灵敏度模式	XSelect HSS T3	20.05.2020	1
2	SYNAPT XS	灵敏度模式	XSelect HSS T3	20.05.2020	2
3	SYNAPT G2-Si	灵敏度模式	Cortecs T3	22.05.2020	1
4	SYNAPT G2-Si	灵敏度模式	Cortecs T3	22.05.2020	2
5	SYNAPT G2-Si	灵敏度模式	Cortecs T3	18.06.2020	1
6	SYNAPT G2-Si	分辨率模式	Cortecs T3	18.06.2020	1
7	SYNAPT G2-Si	灵敏度模式	XSelect HSS T3	19.06.2020	1
8	SYNAPT G2-Si	分辨率模式	XSelect HSS T3	19.06.2020	1

表2.大混标样品负离子模式数据采集进样信息, $n=8$ 。

大混标样品HDMSE数据分析与汇总结果

对于正离子模式, 用自建数据库中500+化合物对样品数据进行筛查分析, 16次筛查结果皆为阳性检出的化合物有

339种；对于负离子模式，库中化合物数目100+，8次进样筛查结果皆为阳性检出的化合物数目为92种。查看原始数据，有31个化合物，某几次进样的数据，由于信号过载，导致淌度峰分叉，使软件认错漂移时间，使测得的CCS值错误。剔除这样的CCS值，剔除数目1-6不等。剔除错误CCS值后，所有化合物CCS测定值的相对标准偏差(RSD)皆小于1%，其修正后的RSD分布图见图2。

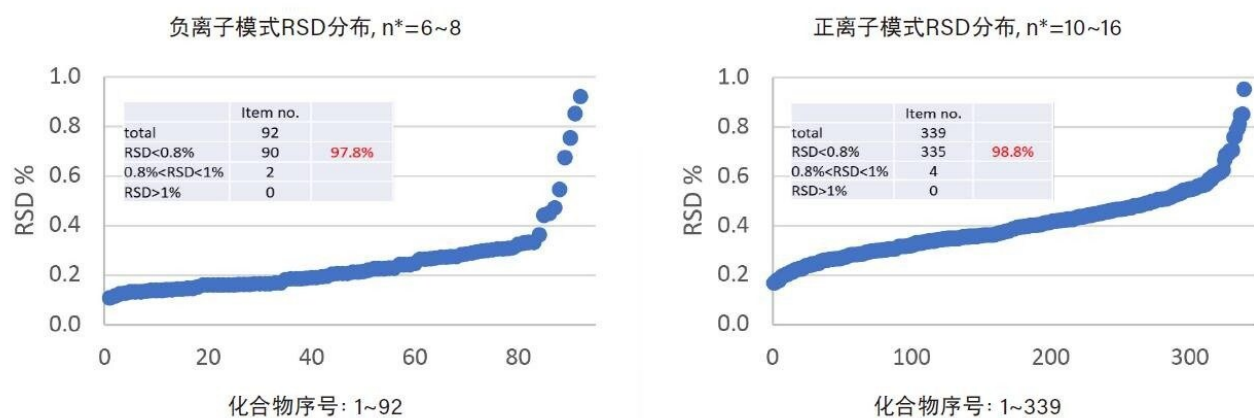


图2.大混标样品多次进样CCS测定值的RSD分布图。

(*: 正离子模式进样总次数16, 剔除错误结果0-6, 所以n=10-16;

负离子模式进样总次数8, 剔除错误结果0-2, 所以n=6-8)

众所周知，标准偏差对组内测量值中的特大或特小误差反映非常敏感，可用于衡量组内测试值的不确定性和离散程度。鉴于实验设计的多样性，如果多次测定的CCS值，其相对标准偏差(RSD)较小(<1%)，则多次实验获得的CCS的平均值，应该比较接近真值。基于这个假设，在后续的CCS预测准确性评估分析中，以RSD<1%的所有化合物（正离子模式339种，负离子模式92种）CCS测定值的平均值作为参考标准，下文中称为“CCS的实验基准值”。

两种CCS预测工具性能评价与分析

正离子模式CCS预测值准确性评价

针对正离子模式339个化合物，使用沃特世CCS预测工具CCSondemand和公共CCS预测工具，分别预测其[M+H]⁺离子的CCS值，并将CCS的预测值与实验基准值对比，计算相对偏离度，计算公式： $(\text{理论预测值}-\text{实验基准值})/\text{实验基准值} \times 100$ 。表3列出了两种预测工具预测获得的CCS相对偏离度的标准偏差(SD)和与之相对应的概率水平，其

正态分布曲线如图3所示。根据正态分布原理，参与正态分布分析的数值在平均值(mean)±1倍标准偏差(1xSD)以内的概率水平为68%，即数组内，68%的数值在mean±1xSD以内，依此类推，95%的数值在mean±2xSD以内，99.7%的数值在mean±3xSD以内。

	公共CCS预测工具	CCSondemand	概率水平 (%)
1 x SD	3.30 %	1.42 %	68.0
2 x SD	6.60 %	2.84 %	95.0
3 x SD	9.90 %	4.26 %	99.7

表3.正离子模式CCS预测偏离度的标准偏差和概率水平，n=339。

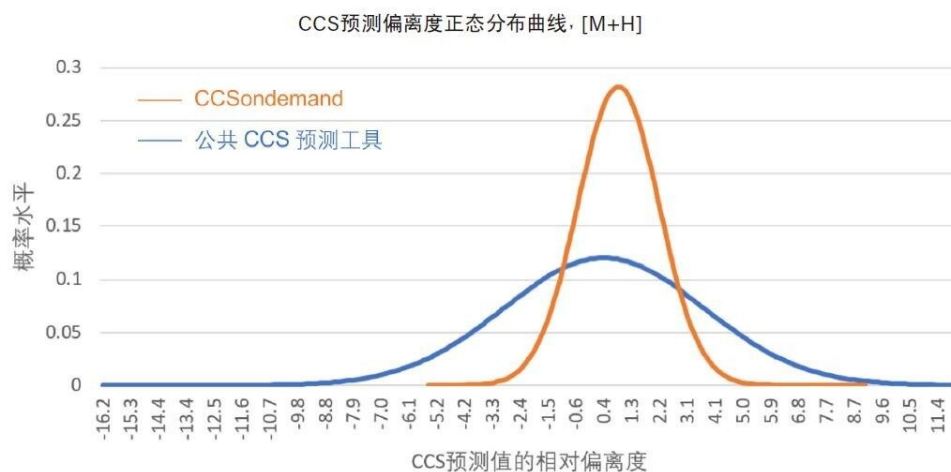


图3.CCS预测相对偏离度的正态分布曲线，正离子模式。

结合表3的数据和图3所示的正态分布曲线可知：1)在正离子电离模式下，两种预测工具预测获得的大多数CCS值皆具有较高的准确性，可以对化合物的定性分析起到一定的参考与指导作用；2)对于公共CCS预测工具，99.7%的化合物，其预测获得的CCS值相对于实验基准值的相对偏离度在±10%以内，而对于CCSondemand，99.7%的化合物，其相对偏离度在±5%以内，也就是说，沃特世预测工具CCSondemand对CCS的预测与实验值相比误差相对更小，其预测准确度明显优于公共CCS预测工具。图4为相对偏离度的分布图，也可以很直观的看出这一点。

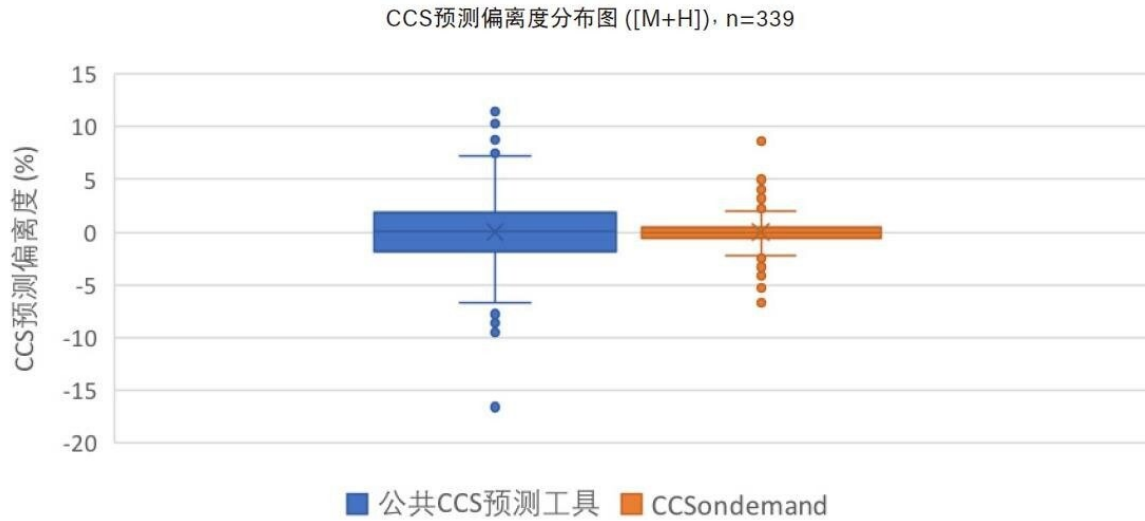


图4.正离子模式CCS预测误差分布图

此外，将339个化合物的CCS预测值和实验基准值进行线性回归分析，回归曲线与线性相关系数见图5，纵轴为CCS预测值，横轴为CCS实验基准值。图中数据点的分布和线性回归系数的大小进一步说明，使用CCSondemand预测工具获得的CCS值与实验基准值吻合度更高。

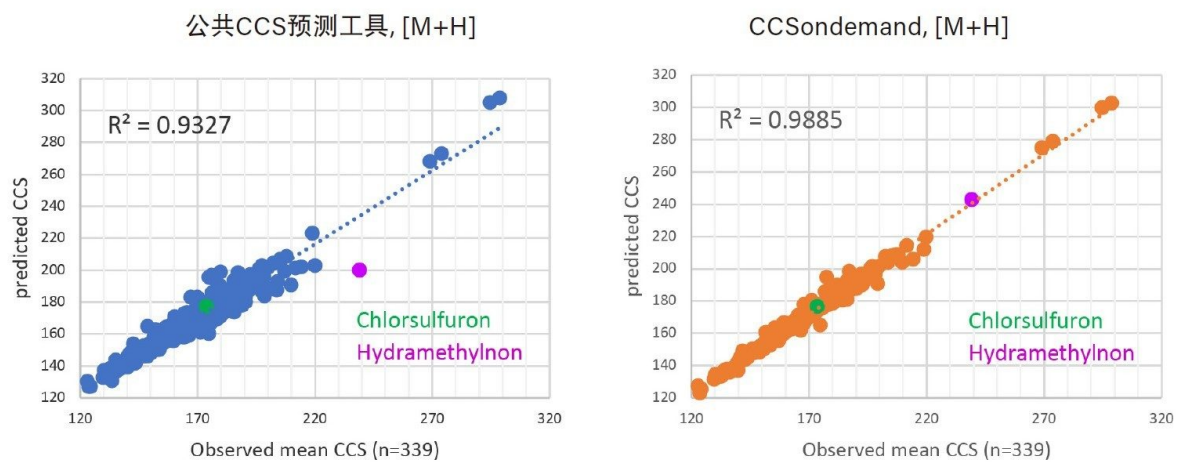


图5.正离子模式，CCS预测值相对实验基准值的线性回归曲线。

图中标识的两个化合物Chlorsulfuron（绿色圆点）和Hydramethylnon（紫色圆点）在正负电离模式下皆阳性检出，其CCS测定值与部分数据图谱，见下文的“化合物数据分析举例”部分。

- 负离子模式CCS预测值的准确性评价

同样，针对负离子模式的92个化合物，将CCS预测值和实验基准值及其预测相对偏离度进行了整体分析。图6为负离子电离模式CCS预测值和实验基准值的线性回归曲线。与正离子模式得出的结论一致，CCSondemand给出的CCS预测值与相应的实验基准值吻合度更高。

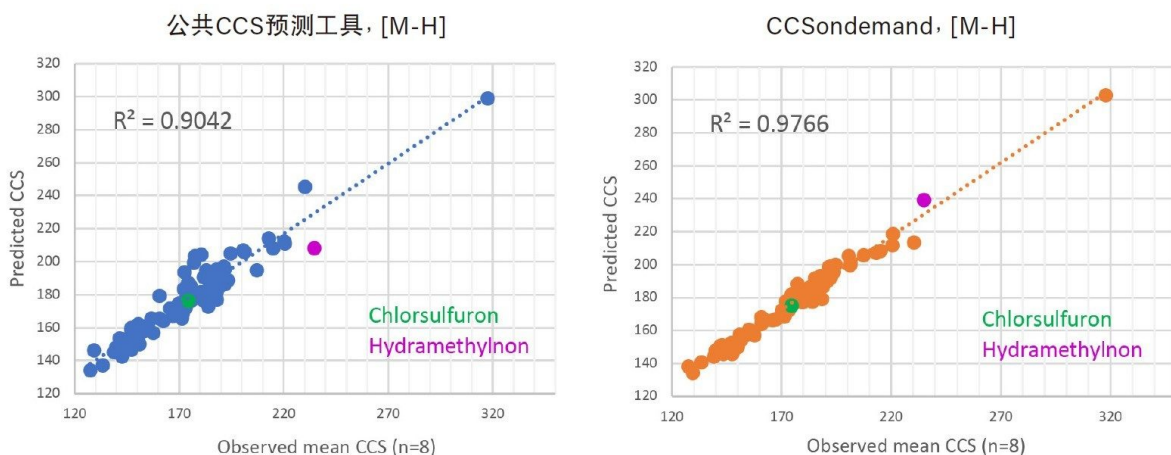


图6.负离子模式，CCS预测值相对实验基准值的线性回归曲线。

化合物数据分析举例

- Chlorsulfuron

平行打开同一批次，正、负离子模式下的UNIFI分析结果[以表1中n=16、表2中n=8两次分析为例]，分别找到化合物Chlorsulfuron（图5和图6中的绿色圆点），察看可知其定性鉴定因子的匹配状况良好。图中展示数据皆使用XSelect HSS T3色谱柱，在SYNAPT G2-Si上分辨率模式采集获得，采样时间：2020.6.19。图7为化合物Chlorsulfuron在正、负离子模式下的色谱图（左）和到达时间分布(ATD)谱图（右）。由于使用相同的色谱柱和色谱分离方法，其正离子模式、负离子模式下该化合物的色谱行为完全相同，表现为在两种电离模式下，不仅保留时间相等，色谱峰形也相同，进一步证明了该化合物的阳性检出；其淌度行为中漂移时间因不同电离模式下校正文件的不同而不同，由其计算出的CCS值，也会因离子加合形式不同而有所差别。

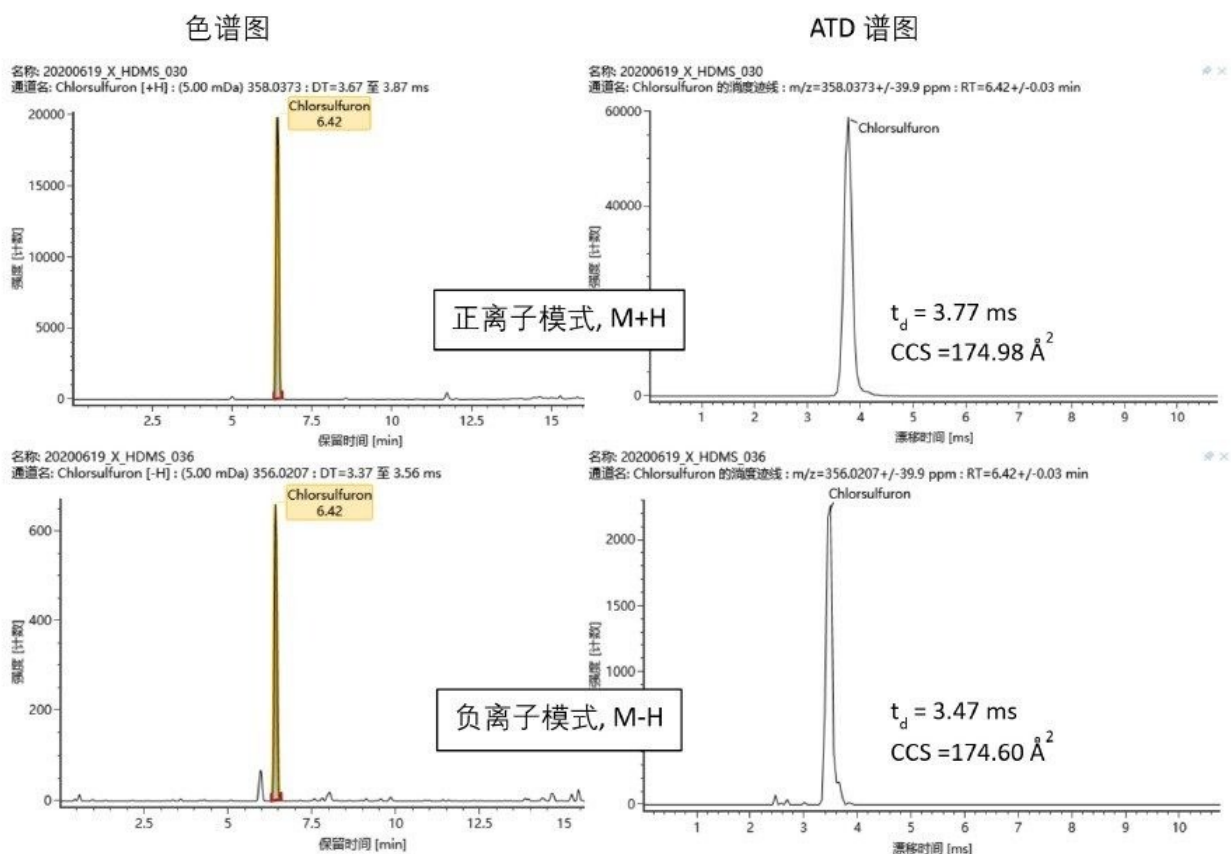


图7.化合物Chlorsulfuron的色谱图（左）和ATD谱图（右）

表4为Chlorsulfuron多次进样测得的CCS值列表，左边为正离子模式，右边为负离子模式。蓝色标注的为多次CCS测定值的平均值，即上文提到的实验基准值。

正离子模式, M+H			负离子模式, M-H		
进样序号	进样标记	CCS测定值	进样序号	进样标记	CCS测定值
1	0617_X_S	174.80	1	0520_X_S1	174.64
2	0619_X_S	174.93	2	0520_X_S2	174.76
3	0619_X_R	174.98	3	0619_X_S	174.60
4	0522_C27_S1	173.43	4	0619_X_R	174.60
5	0522_C27_S2	173.47	5	0522_C27_S1	173.81
6	0522_C27_R1	173.75	6	0522_C27_S2	174.07
7	0522_C27_R2	173.76	7	0618_C27_S	174.83
8	0618_C27_S	174.76	8	0618_C27_R	174.45
9	0618_C27_R	174.79	CCS测定平均值, Å ²		174.47
10	0428_X_S1	174.00			
11	0428_X_S2	173.86			
12	0428_X_R1	175.69			
13	0520_X_S1	174.33			
14	0520_X_S2	174.38			
15	0520_X_R1	174.67			
16	0520_X_R2	174.70			
CCS测定平均值, Å ²		174.39			

表4. 化合物Chlorsulfuron多次进样的CCS测定值列表

- Hydramethylnon

化合物Hydramethylnon（图5和图6中的紫色圆点）的色谱图、淌度分离谱图和CCS测定值列表分别见图8和表5，数据来源与Chlorsulfuron相同。图8中，正离子模式的ATD谱图呈现双峰，通过进一步查看淌度分离热图，基本可以确定，该双峰由同分异构现象所致。淌度分离中的同分异构现象，多源自离子的异构化，即化合物形成离子时，由于电荷加持的位置不同，或者由于电荷的加持，导致电子云重排、结构共振等原因形成。

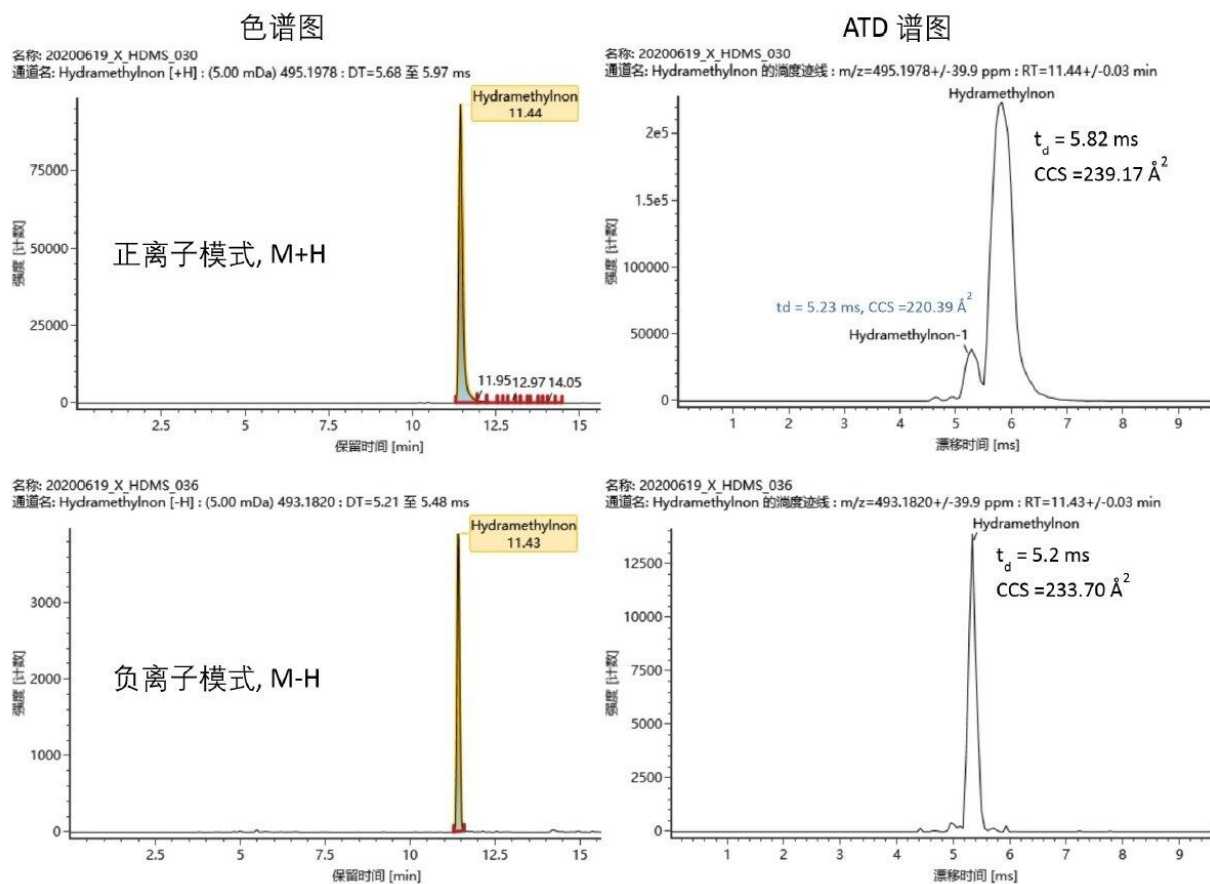


图8.化合物Hydramethylnon的色谱图（左）和ATD图谱（右）

正离子模式, M+H			负离子模式, M-H		
进样序号	进样标记	CCS测定值	进样序号	进样标记	CCS测定值
1	0617_X_S	240.80	1	0520_X_S1	235.00
2	0619_X_S	241.13	2	0520_X_S2	235.07
3	0619_X_R	239.17	3	0619_X_S	235.79
4	0522_C27_S1	239.10	4	0619_X_R	233.70
5	0522_C27_S2	239.42	5	0522_C27_S1	234.73
6	0522_C27_R1	238.43	6	0522_C27_S2	234.84
7	0522_C27_R2	238.46	7	0618_C27_S	235.95
8	0618_C27_S	241.76	8	0618_C27_R	233.66
9	0618_C27_R	239.04	CCS测定平均值, Å ²		234.84
10	0428_X_S1	237.72			
11	0428_X_S2	237.67			
12	0428_X_R1	237.10			
13	0520_X_S1	239.10			
14	0520_X_S2	238.86			
15	0520_X_R1	238.58			
16	0520_X_R2	238.54			
CCS测定平均值, Å ²		239.06			

表5. 化合物Hydramethylnon多次进样的CCS测定值列表

另一方面, 该化合物正、负电离模式ATD峰宽差别较大, 正离子模式下ATD峰明显展宽。通过查看淌度分离热图(数据未显示)可以确定, 该展宽主要是由于信号较强, 导致的淌度峰的拖尾和展宽, 这一点也可以从ATD谱图纵轴的长度值得到旁证。

- CCS值的预测与预测偏离度

利用化合物的二维结构(mol文件)和线性结构(SMILE格式), 分别使用CCSondemand和公共CCS预测工具进行CCS值的预测, 获得该两个化合物M+H、M-H离子的CCS预测值, 如表6所示。表格中预测偏离度的计算公式: $(\text{CCS预测值} - \text{CCS实验基准值}) / \text{CCS实验基准值} \times 100$ 。

正离子电离模式, M+H					
化合物名称	CCS 实验基准值, Å ²	CCSondemand		公共预测工具	
		CCS 预测值, Å ²	CCS 预测偏离度, %	CCS 预测值, Å ²	CCS 预测偏离度, %
Chlorsulfuron	174.39	176.0	0.92	175.5	0.64
Hydramethylnon	239.06	242.8	1.57	200.3	-16.21

负离子电离模式, M-H					
化合物名称	CCS 实验基准值, Å ²	CCSondemand		公共预测工具	
		CCS 预测值, Å ²	CCS 预测偏离度, %	CCS 预测值, Å ²	CCS 预测偏离度, %
Chlorsulfuron	174.47	175.2	0.42	176.3	1.05
Hydramethylnon	234.84	239.1	1.81	208.2	-11.34

表6.两种预测工具预测的CCS值及其相对于实验基准值的偏离度

由表6中数据可以看出：

- 本文考察的两种CCS预测工具，虽然皆基于机器学习原理，但是由于其用于机器学习的数据源(dataset)、数据量不尽相同，机器学习过程中的运算法则也不尽相同，所以获得的CCS预测值有所不同；
- CCSondemand对这两种化合物的CCS预测的准确度都比较好，预测偏离度皆在2%以内，而公共预测工具对化合物Chlorsulfuron的预测准确度较高，但对化合物Hydramethylnon的[M+H]、[M-H]离子CCS值的预测偏离度却很大。如果使用化合物Hydramethylnon正离子电离模式下，由离子同分异构现象产生的另一个峰（ATD图谱前面一个峰）的CCS值进行计算，其预测偏离度约为-9.1%，仍然很大，推测原因，可能由于公共预测工具用于机器学习的数据源没能覆盖Hydramethylnon的结构属性与理化性质的特点，或针对该类型结构化合物的数据源本身有问题等等所致，有待进一步研究探索。

可见，两种CCS值预测工具，预测获得的多数CCS值具有较高的准确性，对化合物的定性分析能起到一定的参考与指导作用，但是仍然有部分化合物，CCS预测的准确性有待进一步提高，预测工具的整体性能也需要不断的改进与完善。

结论

沃特世公司的淌度-质谱联用技术，始终走在行业的前列，2007年第一代的淌度-质谱联用仪SYNAPT HDMS就已经作为商品在分析行业现身，经过十几年持续不懈的努力，沃特世的淌度-质谱联用技术已经有了三个独立的产品系列，并在CCS值预测工具的研发方面也取得了显著的研究成果。

本文以数百种农药化合物为测试样品，在实验条件差异性很大的情况下，以多次进样分析获得的CCS的平均值作为参考标准，对沃特世公司自主研发的CCS预测工具CCSondemand预测CCS值的准确性进行了整体评估，并与目前行业里一种公共CCS预测工具的预测结果进行对比。结果显示，CCSondemand的CCS值预测准确性明显优于公共CCS预测工具，其易用性和预测准确性等皆走在该技术领域的前列。

诚然，对化合物CCS值的预测，还有较长的路要走，其预测准确度也有待进一步提高，相信随着科学家们对离子淌度原理认识的不断深入，大数据分析技术的不断创新与改进，数据运算手段的不断更新换代等等，CCS的预测技术会越来越成熟，其预测的准确性和可靠性也会逐步提高，最终成为分析化学工作者得力的定性分析工具。

特色产品

ACQUITY UPLC I-Class PLUS系统 <<https://www.waters.com/134613317>>

SYNAPT G2-Si高分辨率质谱仪 <<https://www.waters.com/134740622>>

SYNAPT XS高分辨率质谱仪 <<https://www.waters.com/waters/nav.htm?cid=135020928>>

UNIFI科学信息系统 <<https://www.waters.com/134801648>>

720007021ZH, 2020年11月

© 2023 Waters Corporation. All Rights Reserved.

[使用条款](#) [隐私](#) [商标](#) [网站地图](#) [招聘](#) [Cookie](#) [Cookie设置](#)
沪ICP备06003546号-2 京公网安备 31011502007476号