

基于傅里叶变换-离子回旋共振质谱的 离子碰撞截面测量方法及应用

张凯林¹, 徐诗音², 焦鲁杨², 杜梦颖², 燕昊¹,
毛钢钢¹, 李树奇², 孔祥蕾^{2,3}

(1. 天津理工大学生命健康智能检测研究院, 天津 300384;

2. 南开大学化学学院, 元素有机化学国家重点实验室, 天津 300071;

3. 南开大学化学科学与工程学院创新中心, 天津 300071)

摘要: 傅里叶变换-离子回旋共振质谱 (FT-ICR MS) 具有较高的分辨率和串联质谱分析能力。离子在分析池中做回旋运动时, 镜像电流会因离子与中性分子发生碰撞而逐渐衰减。基于此, 通过选择合适的理论模型, 并结合相应的算法, 可推算出离子的碰撞截面 (CCS)。该方法无需增加仪器硬件成本, 可通过直接分析高分辨质谱数据获取离子结构信息。近年来, 随着 FT-ICR MS 仪器的发展和推广, 该方法得到快速发展。本文综述了此类方法使用的碰撞模型、利用时域和频域信号进行数据分析的不同方法及特点, 虽然提供的离子 CCS 数据的可靠性和准确度有待进一步提高, 但在离子的动态 CCS 测量以及离子异构化的研究中表现出独特优势。该方法可进一步与离子淌度技术相结合, 借助 FT-ICR MS 较高的质量分辨能力和离子操控能力, 提供多维度的离子结构信息。

关键词: 傅里叶变换-离子回旋共振质谱 (FT-ICR MS); 离子碰撞截面 (CCS); 离子-中性分子碰撞; 时域; 频域

中图分类号: O657.63; O656.4; O657.91 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-2997(2022)05-0623-12
doi: 10.7538/zpxb.2022.0084

Method and Applications of Ion Collision Cross Section Measurement Based on Fourier Transform-Ion Cyclotron Resonance

ZHANG Kai-lin¹, XU Shi-yin², JIAO Lu-yang², DU Meng-ying², YAN Hao¹,
MAO Gang-gang¹, LI Shu-qi², KONG Xiang-lei^{2,3}

(1. Life and Health Intelligent Research Institute, Tianjin University of Technology,
Tianjin 300384, China; 2. State Key Laboratory and Institute of Elemento-Organic Chemistry,
College of Chemistry, Nankai University, Tianjin 300071, China;

3. Innovation Center of Chemical Science and Engineering, Nankai University, Tianjin 300071, China)

Abstract: The measurement of gas phase collision cross section (CCS) of ions can provide complementary structure information to those typically obtained from mass spectrometry or tandem mass spectrometry. Thus, the ion mobility spectrometry is typically

coupled with a mass spectrometer to achieve the advantage after the combination. Fourier transform-ion cyclotron resonance mass spectrometry (FT-ICR MS) is characterized by its ultra high resolution and tandem mass spectrometry capabilities. Due to the collisions with neutral molecules, the image current caused by the cyclotron motion of ions in the analysis cell gradually decays under high vacuum condition. Based on this feature, the CCS of ions can be calculated by selecting an appropriate theoretical model and combining with the corresponding algorithm. This method can be directly applied to obtain the value of CCS of the selected ion through the analysis of high-resolution mass spectrometry data without increasing the cost of instrument hardware. With the development and promotion of FT-ICR MS instruments in recent years, such methods have developed rapidly in the past decade and have attracted extensive attention. There are three different ion-neutral collision models (Langevin collision model, hard-sphere collision model and energetic hard-sphere model) which have been applied to connect ion CCS and image current of FT-ICR MS instruments. Time-domain analysis, frequency-domain analysis and time-frequency analysis are three types of data analysis method used to measure ion CCS based on FT-ICR MS. Although the reliability and accuracy of the CCS data provided by such methods need to be further improved, it has been demonstrated its unique advantages in the dynamic CCS measurement and potentials in isomerization study. Such methods can be further combined with ion mobility technology to provide multi-dimensional ion structure information with the help of FT-ICR's superior mass resolution and superior ion manipulation capabilities.

Key words: Fourier transform-ion cyclotron resonance mass spectrometry (FT-ICR MS); ion collision cross section (CCS); ion-neutral collisions; time-domain; frequency-domain

生物分子的结构可以决定其活性和功能^[1-2],其离子的三维结构信息在复杂样品分析中的重要性日益突出。常规的三维结构分析方法(如吸收光谱、核磁共振以及 X-射线衍射等)难以在气相离子结构分析中发挥作用。碰撞截面(CCS)与分子结构直接相关,可用于表征离子构象和区分同分异构体。离子 CCS 的大小决定了其在真空中与中性分子之间的碰撞概率^[3],大多数离子 CCS 的测定通过离子淌度(IMS)实现^[4-6],IMS 仪器与质谱仪的联用可以获得离子结构与质量信息^[7-8]。基于质谱在分析速度、灵敏度和精确度等方面的优势,其已成为分析复杂样品的重要手段。除了表征离子的质荷比信息,质谱已被广泛开发并应用于分子结构研究和异构体区分^[9-16]。基于质谱仪器的分子结构表征方法主要使用串联质谱分析策略^[17],如使用碰撞诱导解离^[18-19](CID)、电子捕获/转移解离(ECD/ETD)^[20-21]、红外多光子解

离(IRMPD)^[10, 22-23]及紫外光解离(UVPD)^[24-25]等方法将离子解离,进而研究离子的结构和化学性质。

傅里叶变换-离子回旋共振质谱(FT-ICR MS)具有较高的分辨率和较强的离子操控能力。带电离子在磁场中的回旋运动引起镜像电流的变化,通过测定离子的回旋频率即可获得质荷比信息^[26-28]。在 20 世纪 60 年代(FT 方法被应用于 ICR 质谱之前),研究人员已经意识到使用离子回旋共振线宽能够实现甲烷等小分子 CCS 的测量^[29-30]。受限于超导磁体技术的制约,实验使用的磁场强度不超过 1 T,离子被激发后的动能较低,使得这一方法的应用非常有限。随着高性能 FT-ICR MS 以及软电离技术的发展,磁场强度及分析池的半径被不断提高,离子被激发后的动能随之提高,新的碰撞模型被提出并得以应用。同时,研究对象从小分子扩展到生物大分子,显示出其广泛的应用前景。

本文将系统地梳理 2012 年至今 FT-ICR MS 测量离子 CCS 相关的研究报道,总结通过 FT-ICR MS 测量离子 CCS 的物理模型和实际测量手段,并讨论相关方法的优缺点,最后对其应用前景进行展望和评述。此外,质谱仪器测量离子 CCS 的方法也被应用于其他类型的质谱仪,如四极杆^[31-32]和轨道阱质量分析器^[33-34]。

1 离子-中性碰撞模型

离子阱中发生的气相离子与中性气体分子之间的碰撞与离子捕获效率、质量分辨率、离子寿命等高度相关^[35]。碰撞概率取决于离子阱中气体压强、离子空间构型以及相对运动速度,也可能与碰撞气体的种类相关。离子-中性碰撞模型是傅里叶变换质量分析器测量离子 CCS 的重要理论依据,该模型为 FT-ICR MS 镜像电流与离子 CCS 之间建立了联系。但对于不同的仪器,或在不同的仪器运行条件下,离子与中性离子碰撞时所适用的理论模型也不同。随着仪器和相关方法的不断发展,相应的理论模型也需要进行更新或调整。本节将简要讨论郎之万碰撞模型^[36]、硬球碰撞模型^[37]、高能硬球碰撞模型^[38]这 3 种理论模型的物理意义和适用条件,并比较 3 者的不同。

郎之万碰撞模型将离子作为 1 个没有维度的点电荷,而将中性分子作为 1 个由离子诱导的偶极子,将离子-中性碰撞作为离子-偶极子之间的相互作用。硬球碰撞模型将离子抽象为 1 个球,并忽略离子与中性分子之间的极化力,用于描述具有相对更大动能或更高质量的离子-中性碰撞过程^[37]。在硬球碰撞模型中,离子的 CCS 是常数,碰撞概率与离子速度成正比,其物理意义在于假设离子在裂解或退相干即失去相位匹配之前经历了多次碰撞,则离子-中性碰撞依旧可视为摩擦阻尼力,离子受到的阻尼力与离子速度的平方成正比。上述 2 种物理模型主要适用于较低能量碰撞且相对分子质量较小的情况。

为进一步提高 FT-ICR MS 的质量分辨率,有报道^[39]采用更高强度的磁场以及更大尺寸的 ICR 分析池,离子被激发后在强磁场中做回旋运动的半径更大、速度更快,传统的用于描述低能碰撞的理论模型难以适用。因此,Guo

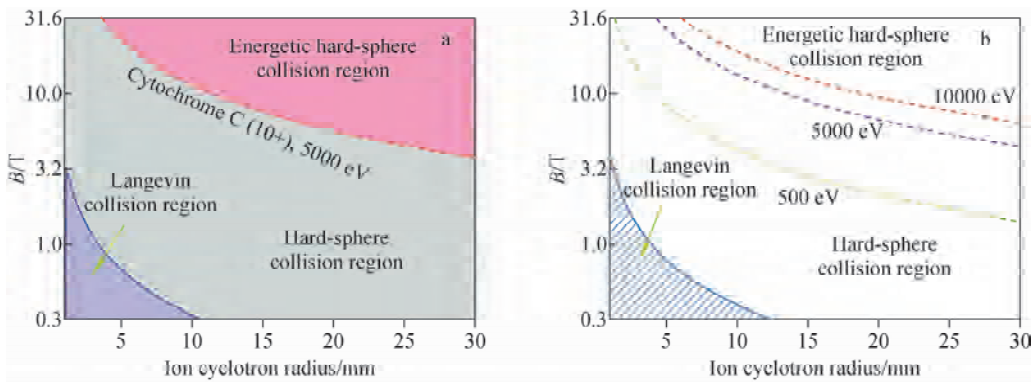
等^[38]提出了适用于描述更高能量碰撞的高能硬球碰撞模型。高能硬球碰撞模型将离子视为 1 个具有实际物理维度的球,CCS 为其固有的物理常数,该模型假设每次碰撞都会导致离子云中的 1 个离子解离或退相干,使 ICR 信号电流减弱。高能的离子-中性碰撞会导致 FT-ICR MS 检测到的某个离子镜像电流随时间呈指数衰减。通过计算离子随时间的指数衰减系数,可计算得出相应离子的 CCS。

通过 FT-ICR MS 的镜像电流准确测量离子 CCS 的关键在于选择合适的理论碰撞模型。3 种碰撞模型中,分析池中的正空度会对信号的衰减率产生较大影响,较高的气压会导致信号的快速衰减,在对镜像电流的检测过程中可发现信号持续时间很短。频域峰的线宽与缓冲气的压力在高能硬球碰撞模型下呈近似线性相关^[38],但在硬球碰撞模型下呈非线性相关^[40]。郎之万碰撞模型下离子的 CCS 与其动能相关;另外 2 种理论模型中 CCS 则被设为常数,用来描述离子在空间中的维度。郎之万碰撞模型应用于低能碰撞场景,与硬球碰撞模型相比,测量到离子的 CCS 值偏小;硬球碰撞模型则应用于离子质量更大的体系,离子与中性分子间的极化力可忽略。物理模型的选择还需考虑 ICR 分析池的物理参数(尺寸)以及 FT-ICR MS 的操作环境(磁场强度)。Guo 等^[38]提出的基于 3 种模型使用 FT-ICR 检测细胞色素 c 和泛素蛋白离子的应用范围示于图 1。考虑到目前 FT-ICR MS 的磁场强度大多为 7.0 T 或更高,在激发半径较大时,使用高能硬球碰撞模型检测到的离子 CCS 更加准确。3 种不同碰撞模型的对比情况列于表 1^[41]。

2 使用 FT-ICR MS 测量离子 CCS 的数据分析方法

2.1 频域分析方法

2.1.1 频域峰线宽直接计算法 2012 年, Yang 等^[40]使用 FT-ICR MS 测量离子 CCS,并将该方法得到的碰撞截面定义为傅里叶变换离子回旋共振碰撞截面(CRAFTI)。该实验在 1 台磁场强度为 4.7 T 的 FT-ICR MS 上开展,为消除空间电荷^[42]和非线性场^[38]的影响,需要较高的背景中性气体分子密度,因此,需要增加



注：a. 细胞色素 c；b. +7 价泛素蛋白

图 1 3 种理论碰撞模型的应用范围^[38]

Fig. 1 Suitable application regions of different collision models^[38]

表 1 3 种离子-中性碰撞模型对比

Table 1 Comparison of three ion-neutral collision models

物理模型特点 Feature of physical model	郎之万碰撞模型 Langevin collision model	硬球碰撞模型 Hard-sphere collision model	高能硬球碰撞模型 Hard-sphere collision model
物理假设	点电荷与偶极子 之间的相互作用	离子在失去相位匹配 之前经历多次碰撞	单次碰撞会导致离子 解离或失去相位匹配
离子碰撞截面	$\frac{1}{v} \frac{q}{2\epsilon} \sqrt{\frac{a(M+m)}{Mm}}$	πr^2	πr^2
镜像电流衰减模式	$Ae^{-\alpha}$	$\frac{A}{1+Bt}$	$Ae^{-\alpha}$
适用场景	较高气压、低动能	较高气压、低动能	低气压、高动能

ICR 分析池中的气压,这种情况被称为压力主导。在检测离子 CCS 时,使用脉冲泄漏阀升高背景环境气压,从而确保在相对较低的真空水平下大部分离子在短时间内经历多次碰撞,ICR 信号也会快速衰减。离子的 CCS 值可根据式(1)计算得到:

$$\sigma = \frac{fwhm}{n} \frac{(m+M)}{M} \frac{m}{q} \frac{2d}{\beta V_{pp} t_{exc}} \quad (1)$$

式中, $fwhm$ 为单个质谱峰的半峰宽, m 为待测离子的质量, M 为碰撞气的相对分子质量, n 为中性气体分子密度, q 为离子所带电荷量, β 为分析池的几何参数^[40], V_{pp} 为 RF 激发幅值, t_{exc} 为激发持续时间, d 为分析池的直径。实验中使用 Xe 作为碰撞气, 测量离子 CCS 时的背景气压设置为大于 1.33×10^{-4} Pa, 并成功测量了冠醚的 CCS, 示于图 2。Yang 等^[43] 对比了该方法与以 He 为缓冲气使用漂移管离子淌度谱测

量的离子 CCS 数值, 测试了几种不同中性碰撞气体在较高能碰撞中离子 CCS 测量的性能, 发现相对分子质量较低且单原子分子作为碰撞气的效果最佳(如 Ar)。

为了使实验结果更具对比性, Anupriya 等^[44] 对比了 FT-ICR MS 法与漂移管离子淌度谱的测量结果, 发现在 2 种不同仪器中测量 20 种生命必需氨基酸的质子化离子 CCS 的结果有一定偏差, 但都呈现出离子 CCS 数值随分子质量增大而增大的特点, 示于图 3a。使用不同类型仪器测量的离子 CCS 存在偏差, 主要是由于 CRAFTI 方法使用的硬球碰撞模型不适用于较高能量的碰撞。目前 FT-ICR MS 具有较强的磁场以及较低的背景气压, 离子的动能更高。同一研究小组在对数据重新分析后认为, 需要对线宽乘以参数 π ^[45]。因此, 离子 CCS 的计算方法应由式(1)修正为式(2):

$$\sigma = \frac{fwhm}{n} \frac{m}{q} \frac{\pi d}{\beta V_{pp} t_{exc}} \tag{2}$$

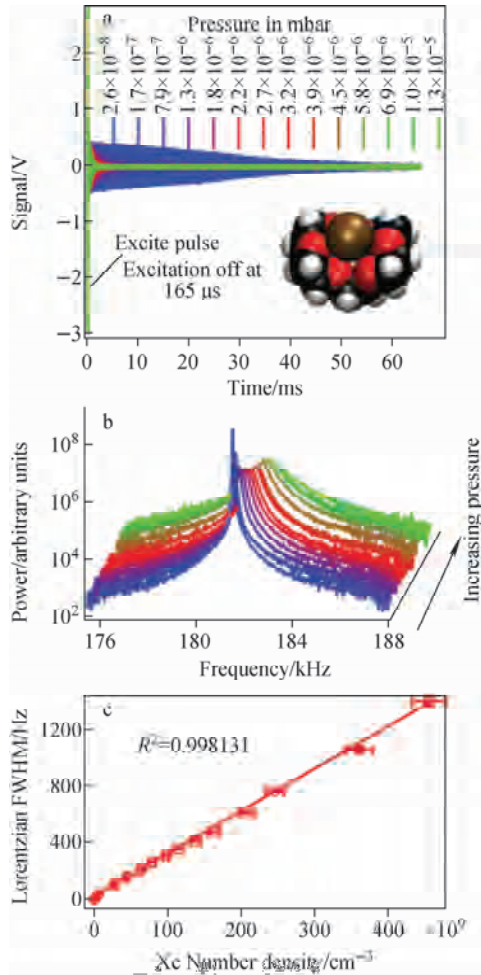
修正后的理论模型与 Xu 等^[46-47]使用的方法一致。使用新的物理模型重新测量 20 种氨基酸的 CCS 发现,测量值与使用离子淌度仪得到的结果更接近,示于图 3b。

由于上述理论模型中的关键参数 n (中性分子密度) 与 ICR 分析池的背景气压密切相关,精确测量离子 CCS 的前提是精确读取气压值,但由于 FT-ICR MS 结构的限制,ICR 分析池被巨大的超导磁体包裹,真空规通常安装在距离分析池中心较远的地方,导致检测到的背景气体压力值存在较大偏差。基于上述问题, Pope 等^[48]使用内标法测量离子的 CCS,同时激发多种不同质荷比的离子,并使用其中 1 种已知 CCS 的离子作为内标,消除了由于压力检测不准确给离子 CCS 测量带来的偏差。具体计算方法示于式(3):

$$\frac{\sigma_1}{\sigma_2} = \frac{fwhm_1}{fwhm_2} \frac{m_1 q_1}{m_2 q_2} \frac{V_{pp,1} T_{exc,1}}{V_{pp,2} T_{exc,2}} \tag{3}$$

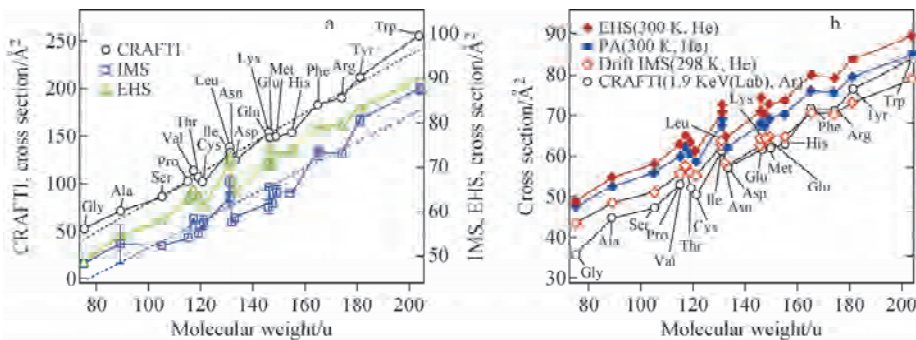
式中,下标为 1 和 2 的变量分别与已知、未知 CCS 的离子相关。

2.1.2 峰宽校正法 直接使用质谱峰线宽方法要求碰撞气的压力相对较高,测量离子 CCS 时通常使用 1.33×10^{-4} Pa 的压力,与目前 FT-ICR MS 的标准工作气压 (1.33×10^{-8} Pa) 相差 4 个数量级。在标准工作气压条件下,中性气体的分子数量相对较少,碰撞概率比高压状态下降低很多,所以质谱仪检测到的信号强度衰减速度会较慢。将时域信号转换为频域信号需要由傅里叶变换来完成,但将有限时间



注:a. 时域信号;b. 频域谱图;
c. 不同 Xe 分子数量密度下的频域半峰宽
图 2 不同 Xe 压力下 18-crown-6 · Cs⁺ 的 FT-ICR 线宽^[40]

Fig. 2 Variation of FT-ICR line width for 18-crown-6 · Cs⁺ complex under different Xe pressures^[40]



注:a. 模型校正前^[44];b. 模型校正后^[45]

图 3 CRAFTI 方法与离子淌度谱测量 20 种必需氨基酸 CCS 值

Fig. 3 CCS values of 20 biogenic amino acids based on CRAFTI method and IMS

内的时域信号做傅里叶变换会因窗口效应^[49-50]而造成测量线宽与理论线宽的误差,而且开窗时间越短产生的误差越大,示于图 4a~4d。因此,Jiang 等^[47]开发了一种线宽校正方法来消除窗口效应产生的误差。离子的 CCS(σ)可根据式(4)计算:

$$\frac{e^{-T/\tau}\tau(e^{T/\tau}-\cos(T\Delta\omega')+\tau\Delta\omega'\sin(T\Delta\omega'))}{1+(\tau\Delta\omega')^2}=\frac{e^{-T/\tau}\tau(e^{T/\tau}-1)}{2}\tag{4}$$

式中, T 为时域信号的持续时间, $\Delta\omega'$ 为校正前吸收模式下的半峰宽,校正后的半峰宽可用衰减常数 τ 进行计算($\Delta\omega=\frac{2}{\tau}$)。Jiang 等^[47]使用上述线宽校正方法并结合高能硬球碰撞模型,在 9.4 T 的 FT-ICR MS 仪器上测量多肽和蛋白质的 CCS,并将测定结果与 IMS 仪器测量结果进行对比,相关性示于图 4e。

2.1.3 频域谱线拟合法 与 2.1.2 节的频域线宽校正法相比,频域谱线拟合法的抗干扰能力更强,该方法是一种基于频域谱峰测量离子 CCS 的方法,通过单个质谱峰的峰型变化来拟合离子电流的衰减因子^[51]。在实际的 FT-ICR MS 实验中,采集时域电流信号时只能采集到无限长信号的一小部分,这就会由于窗口效应影响频域的谱峰峰型^[52]。通过式(5)计算理论峰型,利用最小二乘法评估拟合效果。

$$C(\omega-\omega_0)=\frac{(N_0/2\pi)}{[c^2+(\omega-\omega_0)^2]^{1/2}}$$

$$\{1-2e^{-cT}\cos[(\omega-\omega_0)T]+e^{-2cT}\}^{1/2}\tag{5}$$

式中, N_0 为 1 次检测中的离子数量, ω_0 为离子的回旋频率。通过式(5)即可计算得到电流衰减因子 c ,再根据高能硬球碰撞即可计算离子的 CCS^[38]。

2.2 时域分析方法

FT-ICR MS 采集的镜像电流是一种时域信号,所以信号的衰减可从时域中计算得到,还可从时域信号中分离出不同异构体的信号,这在频域分析方法中无法实现。Mao 等^[46]提出了衰减曲线拟合法,该方法基于时域信号的数据提取目标离子的衰减曲线,是目前主要的时域分析方法,其流程示于图 5。该方法的关键在于利用轮廓线提取算法获取目标离子的指数衰减率常数 c ,再通过式(6)计算离子的 CCS。

$$c=nv\sigma=\frac{P}{kT}\frac{9.648\times10^7Br}{m/z}\sigma\tag{6}$$

式中, P 为缓冲气压力, k 为玻尔兹曼常数, T 为温度, B 为磁场强度, r 为离子回旋轨道半径, m/z 为目标离子的质荷比。使用衰减曲线拟合法,Mao 等^[46]测量了不同价态泛素蛋白质离子的展开构型,并精准测量离子的 CCS。该方法的不足之处是需要引入的拟合参数较多,数据运算量较大。

2.3 时频分析方法

2.3.1 希尔伯特变换法 Li 等^[53]使用希尔伯特变换方法取代快速傅里叶变换(FFT)处理质谱仪的时域数据,并获取镜像电流的指数衰减

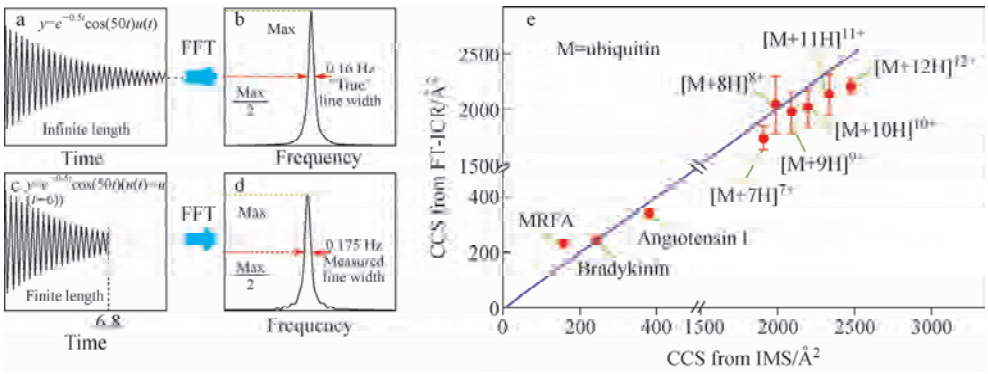


图 4 无限长时域信号(a)及其吸收模式频域谱图(b),6 s 时域信号(c)及其吸收模式频域谱图(d),在 FT-ICR MS 和 IMS 上测量几种生物分子离子 CCS 的结果相关性(e)^[47]

Fig. 4 An infinitely long time-domain signal (a) and its absorption-mode frequency spectrum (b), the same timedomain signal weighted by a 6 second truncation window (c) and its absorption-mode frequency spectrum (d), CCS obtained by FT-ICR MS versus the results from IMS (e)^[47]

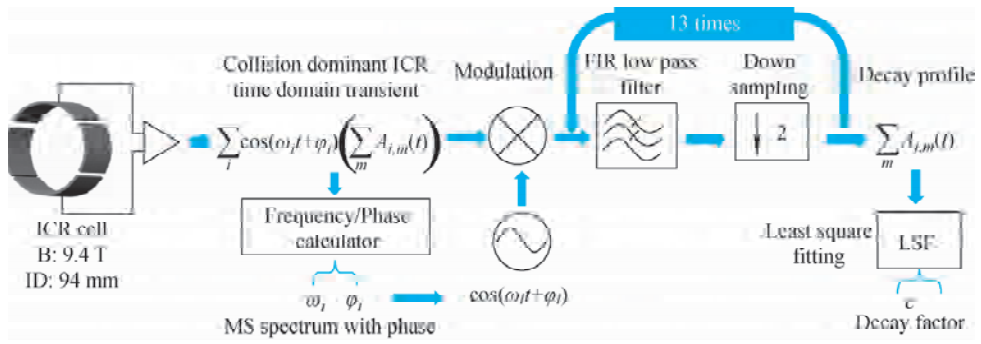


图 5 时域信号处理的流程图^[46]

Fig. 5 Schematic flowchart for the time domain data processing^[46]

系数,计算离子 CCS。这种方法可以解决时域衰减曲线拟合法^[46]数据运算量大的问题,可对离子瞬态数据直接在时域上进行时频分析,提取离子的运动频率并获取离子随时间变化的衰减曲线,最终基于衰减率常数 c 根据式(6)计算离子的 CCS。

2.3.2 短时傅里叶变换法 Hu 等^[54]利用短时傅里叶变换(STFT)方法提取离子信号强度的指数衰减率常数,并基于硬球碰撞模型计算离子 CCS。这一方法首先将 FT-ICR MS 镜像电流的时域信号按照相等的时间长度进行重叠开窗,尽可能消除短时傅里叶变换因窗口效应而造成的信号失真;其次使用 FFT 方法将每个短时间窗口内的时域信号转化为频域信号,即可得到每个时间窗口的频域信号;然后以时间为横坐标,频域信号强度为纵坐标,对其衰减曲线进行拟合,并根据式(7)通过线性校正计算离子 CCS:

$$\sigma = Dm(m + M) \frac{Tk}{r_0 qBPM} \tag{7}$$

式中, D 为该工作中所设变量, m 为待测目标

物的质量, M 为缓冲气的质量, T 为温度, k 为玻尔兹曼常数, r_0 为离子初始半径, q 为离子所带电荷量, B 为磁场强度, P 为背景气压力。实验中需要结合仪器条件,利用标准样品对离子的 CCS 进行线性校正。Hu 等^[54]使用该方法在 9.4 T 的 FT-ICR MS 仪器上(在 9.0 T 的磁场强度下开展实验)实现了石油中混合酸和多聚丙氨酸等小分子 CCS 的测量。这一方法较轮廓线提取方法更方便,但选择窗口的宽度会对结果产生一定的影响。

2.4 不同数据分析方法的对比

使用 FT-ICR MS 仪器测量离子 CCS 的 3 种数据分析方法列于表 2。频域分析法具有简单、直接的优点,但无法区分异构体。时域分析法需要处理的数据量大,拟合时引入的参数较多。时频分析法结合了上述 2 种方法的优点,可在 1 次检测中测量多个不同质荷比离子的 CCS,在时域信号中捕捉离子的瞬间变化状态并获得镜像电流的衰减曲线,但计算量相对较大。

表 2 不同数据分析方法的对比

Table 2 Comparison of different data analysis methods

方法分类 Method type	具体方法 Method	优点 Advantage	缺点或待改进处 Disadvantage	应用实例的适用范围 Molecular type of the application instance
频域分析法	频域峰线宽直接计算法	简单直接,数据量小	破坏真空,质谱分辨率差,无法区分异构体	小分子
	峰宽校正法	简单直接,数据量小	无法区分异构体	生物大分子
	频域谱线拟合法	抗扰能力强,减小窗口效应影响	无法区分异构体	生物大分子
时域分析法	衰减曲线拟合法	窗口效应影响小	计算量大,拟合引入参数多	生物大分子
时频分析法	希尔伯特变换法	可同时用于质谱分辨率的改善	方法需要更多应用实例	生物大分子
	短时傅里叶变换法	可能实现异构体区分	计算量大,有窗口效应	小分子,生物大分子

3 FT-ICR MS 测定离子 CCS 方法的应用

3.1 化合物离子的 CCS 测量

在 FT-ICR MS 测定离子 CCS 的应用方面, Yang 等^[40] 使用“频域峰线宽直接算法”测定了多种环状分子(冠醚、环糊精等)-碱金属化合物离子的 CCS。该实验使用氙气作为缓冲碰撞气, 在 1 台 4.7 T FT-ICR MS 仪器上完成。通过对比实测数值与理论计算数值, 可以发现很多化合物的实验测定值与理论计算值存在较大差异, 但总体增长趋势基本相同。产生这种结果的原因可能有 2 种: 1) 实验中使用的碰撞气为相对分子质量较大的氙气, 而仿真数据则是基于相对分子质量很小的氦气; 2) 方法建立初期主要使用的是适用于低能量离子-中性碰撞的硬球碰撞模型, 该理论模型不完全适用于实验中的碰撞环境。从数值上可以看出, 较小分子的实验数值与理论数值相对接近, 但随着分子尺寸增大, 理论与实验间的差异被不断放大, 该团队在其之后的研究中也对理论碰撞模型进行修正并得到较准确的测定结果^[45] (图 3)。除此之外, Hu 等^[54] 使用 STFT 方法基于硬球碰撞模型测定了石化产品中一些小分子化合物的 CCS。

3.2 ICR 分析池内压力的间接测定

通常, 真空规直接检测的位置与 ICR 分析池中心之间存在一定距离, 这导致测定的压力数值不能体现出 ICR 分析池内真实的环境压力。而离子 CCS 为离子所具有的自然属性, 理论上, 在温度、激发方式等条件相同的情况下应为常数。基于以上论述, 根据式(6)在控制仪器条件的前提下只需测定出 1 个已知 CCS 的离子信号衰减率就可以推测出 ICR 分析池内真

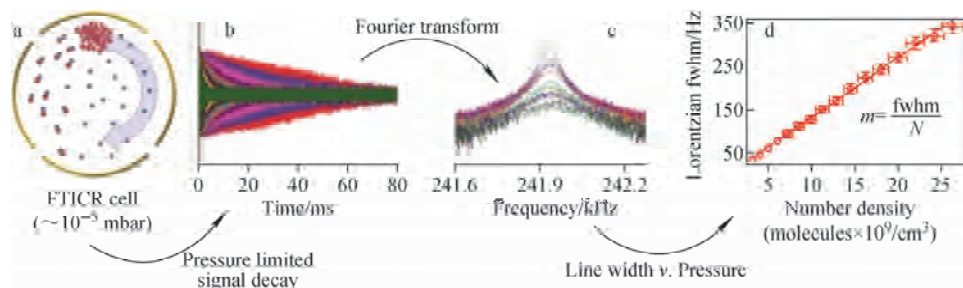
实的压力值, 在此情况下所有变量都可视为常数, 所以衰减率系数和压力是简单的一次线性关系。上述方法可以利用离子 CCS 这一固有参数, 在不需增加任何仪器硬件装置的前提下, 仅凭仪器信号的处理即可实现分析池内真实压力的准确测定。

基于上述原理, Pope 等^[48] 在不同的 ICR 分析池气压条件下对离子进行激发, 结果示于图 6a。离子时域信号强度的衰减速率会随气体压力的增大而提高, 示于图 6b; 频域信号峰的半峰宽因背景压力的提高而展宽, 示于图 6c。根据频域峰宽可以得到 ICR 分析池内背景气体的中性气体密度, 进而计算出实际的气压数值。中性气体密度与离子频域峰的半峰宽成一次线性关系, 示于图 6d。

3.3 基于离子 CCS 的光谱分析方法

基于 FT-ICR MS 测定离子 CCS 的方法可与光活化串联质谱分析相结合, 通过扫描不同波长的激光可以得到全新的光谱图。在最近的一项研究中, Zhou 等^[55] 基于 1 台 7.0 T 的 FT-ICR MS 仪器, 结合调谐激光, 并使用 STFT 数据处理方法, 首次提出了一种全新方法应用于蛋白质离子的去折叠光谱响应研究, 并称之为“光去折叠化光谱”或“光异构化光谱”, 这种光谱图以扫描激光的波长为横坐标, 以质谱时域信号的衰减率系数(或离子的碰撞截面积)为纵坐标。此研究中基于 STFT 方法的数据处理原理流程示于图 7a, 基于高能硬球碰撞模型, 根据式(8)计算离子的 CCS:

$$\sigma = \frac{kT(m/z)c}{9.648 \times 10^7 p_c Br P} \quad (8)$$



注: a. ICR 分析池中的离子-中性碰撞; b. 不同气压条件下离子的时域信号;

c. 不同气压条件下离子的频域信号; d. 频域信号半峰宽与中性分子密度之间的线性关系

图 6 间接测定 ICR 分析池内压力的原理图^[48]

Fig. 6 Schematic diagram showing the processes of indirect measurement for ICR cell pressure^[48]

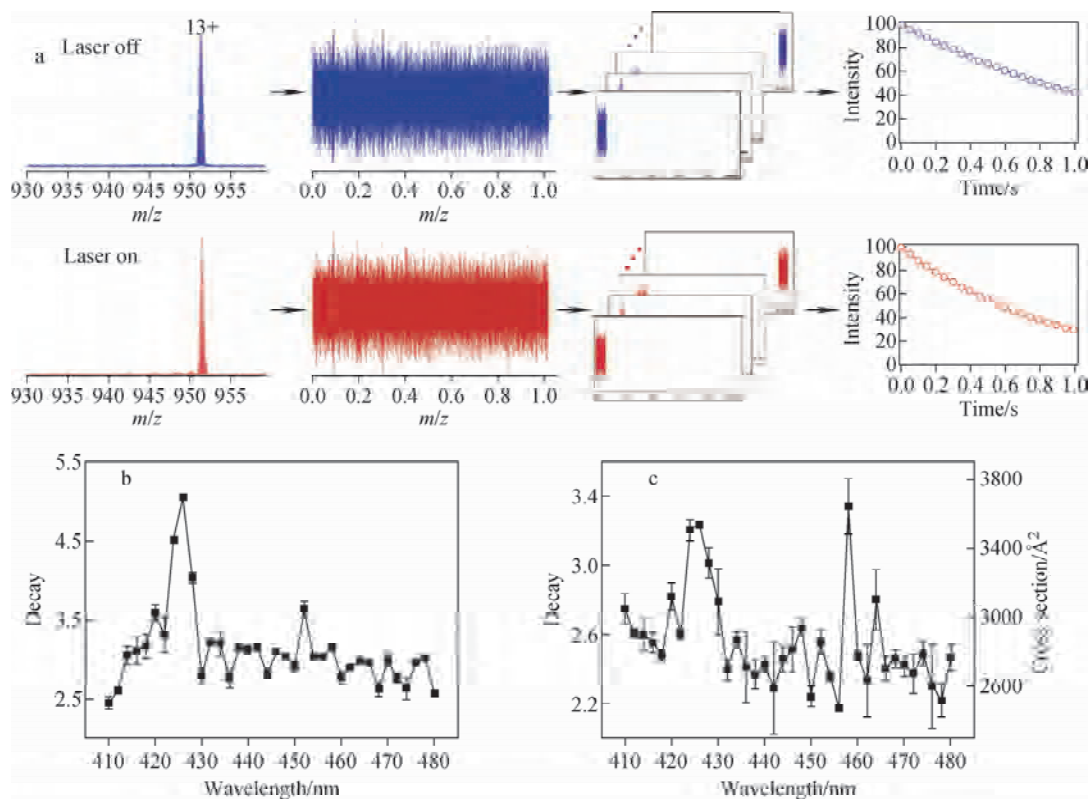


图7 [Cyt c+13H]¹³⁺ 离子信号在激光关闭和开启状态下 STFT 时域信号数据处理方法的原理流程图(a) 以及离子[Cyt c+13H]¹³⁺ (b)和[Cyt c+15H]¹⁵⁺ (c)的光去折叠化光谱图^[55]

Fig. 7 Schematic diagram showing the processes to find the difference between the two CCSs of the target ions of [Cyt c+13H]¹³⁺ with and without the laser irradiation (a), photon unfolding spectra of [Cyt c+13H]¹³⁺ (b) and [Cyt c+15H]¹⁵⁺ (c)^[55]

式中, p_c 为校正因子,其数值在相同的检测条件(压力、离子激发、离子检测参数)下是相同的,其他变量的定义与式(6)相同。Zhou等^[55]利用该方法获得了细胞色素c的[Cyt c+13H]¹³⁺和[Cyt c+15H]¹⁵⁺离子的光异构化光谱,示于图7b、7c。可以看出,信号的衰减率系数会因受到不同波长激光的照射而改变,这是因为在不同波长的激光照射下,离子吸收光子后发生了异构化,并呈现出不同的构象,离子的CCS也会随之改变。

4 总结与展望

目前,基于IMS的离子CCS测量方法已相对成熟,该方法可分离同分异构体并检测其CCS,具有分辨率高、灵敏度高、直接测量无需校正等优点,可在大气压环境中实现检测。基于FT-ICR MS的离子CCS测定技术在近10年内被逐渐发展并得到初步应用,无

需改变仪器条件即可获取离子的CCS,但其受实验条件影响较多,测量结果波动范围较大,且离子CCS的测定需要其他方法的校准,目前仍处于研究阶段。该方法主要使用郎之万碰撞模型、硬球碰撞模型和高能硬球碰撞模型等3种碰撞模型。郎之万碰撞模型和硬球碰撞模型主要适用于低离子动能-小分子质量的场景;高能硬球碰撞模型适用于高离子动能-大分子质量体系。基于频域信号、时域信号以及时频分析是3类主要的数据处理方法,虽基于相同的物理学基础,但各具特点。随着FT-ICR MS仪器和信号处理技术的发展,将会开发出检测精度更高、使用范围更广的数据分析方法,以提供更多独特的分子结构信息。目前,FT-ICR MS已应用到仪器真空度的检测及气相离子光谱分析等领域,未来可为仪器科学、分析化学、物理化学等领域的研究提供新的解决途径。

参考文献:

- [1] BOWIE J U, LÜTHY R, EISENBERG D. A method to identify protein sequences that fold into a known three-dimensional structure[J]. *Science*, 1991, 253(5 016): 164-170.
- [2] AEBERSOLD R, MANN M. Mass spectrometry-based proteomics[J]. *Nature*, 2003, 422(6 928): 198-207.
- [3] MASON E A, MCDANIEL E W. Transport properties of ions in gases[M]. Weinheim, Federal Republic of Germany: John Wiley & Sons Inc, 1988.
- [4] HILL H H, SIEMS W F, LOUIS R H S, MC-MINN D G. Ion mobility spectrometry[J]. *Analytical Chemistry*, 1990, 62(23): 1201A-1209A.
- [5] RUOTOLO B T, HYUNG S J, ROBINSON P M, GILES K, BATEMAN R H, ROBINSON C V. Ion mobility-mass spectrometry reveals long-lived, unfolded intermediates in the dissociation of protein complexes[J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2007, 46(42): 8 001-8 004.
- [6] WYTTEBACH T, PIERSON N A, CLEMMER D E, BOWERS M T. Ion mobility analysis of molecular dynamics[J]. *Annual Review of Physical Chemistry*, 2014, 65(1): 175-196.
- [7] CLEMMER D E, JARROLD M F. Ion mobility measurements and their applications to clusters and biomolecules[J]. *Journal of Mass Spectrometry*, 1997, 32(6): 577-592.
- [8] PRINGLE S D, GILES K, WILDGOOSE J L, WILLIAMS J P, SLADE S E, THALASSINOS K, BATEMAN R H, BOWERS M T, SCRIVENS J H. An investigation of the mobility separation of some peptide and protein ions using a new hybrid quadrupole/travelling wave IMS/oa-ToF instrument[J]. *International Journal of Mass Spectrometry*, 2007, 261(1): 1-12.
- [9] KELLEHER N L, LIN H Y, VALASKOVIC G A, AASERUD D J, FRIDRIKSSON E K, MCLAFFERTY F W. Top down versus bottom up protein characterization by tandem high-resolution mass spectrometry[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 1999, 121(4): 806-812.
- [10] OH H, BREUKER K, SZE S K, GE Y, CARPENTER B K, MCLAFFERTY F W. Secondary and tertiary structures of gaseous protein ions characterized by electron capture dissociation mass spectrometry and photofragment spectroscopy[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2002, 99(25): 15 863-15 868.
- [11] BOYARKIN O V. Cold ion spectroscopy for structural identifications of biomolecules[J]. *International Reviews in Physical Chemistry*, 2018, 37(3/4): 559-606.
- [12] ZHOU M, LANTZ C, BROWN K A, GE Y, PAŠA-TOLIĆ L, LOO J A, LERMYTE F. Higher-order structural characterisation of native proteins and complexes by top-down mass spectrometry[J]. *Chemical Science*, 2020, 11(48): 12 918-12 936.
- [13] REILLY J P. Ultraviolet photofragmentation of biomolecular ions[J]. *Mass Spectrometry Reviews*, 2009, 28(3): 425-447.
- [14] BRODBELT J S. Photodissociation mass spectrometry: new tools for characterization of biological molecules[J]. *Chemical Society Reviews*, 2014, 43(8): 2 757-2 783.
- [15] DONNELLY D P, RAWLINS C M, DEHART C J, FORNELLI L, SCHACHNER L F, LIN Z, LIPPENS J L, ALURI K C, SARIN R, CHEN B, LANTZ C, JUNG W, JOHNSON K R, KOLLER A, WOLFF J J, CAMPUZANO I D G, AUCLAIR J R, IVANOV A R, WHITELEGGE J P, PAŠA-TOLIĆ L, CHAMOT-ROOKE J, DANIS P O, SMITH L M, TSYBIN Y O, LOO J A, GE Y, KELLEHER N L, AGAR J N. Best practices and benchmarks for intact protein analysis for top-down mass spectrometry [J]. *Nature Methods*, 2019, 16(7): 587-594.
- [16] BRODBELT J S, MORRISON L J, SANTOS I. Ultraviolet photodissociation mass spectrometry for analysis of biological molecules[J]. *Chemical Reviews*, 2020, 120(7): 3 328-3 380.
- [17] SHUKLA A K, FUTRELL J H. Tandem mass spectrometry: dissociation of ions by collisional activation[J]. *Journal of Mass Spectrometry*, 2000, 35(9): 1 069-1 090.
- [18] COOKS R G. Special feature: historical. collision-induced dissociation: readings and commentary[J]. *Journal of Mass Spectrometry*, 1995, 30(9): 1 215-1 221.
- [19] OLSEN J V, MACEK B, LANGE O, MAKAROV A, HORNING S, MANN M. Higher-energy C-trap dissociation for peptide

- modification analysis[J]. *Nature Methods*, 2007, 4(9): 709-712.
- [20] COON J J, SHABANOWITZ J, HUNT D F, SYKA J E P. Electron transfer dissociation of peptide anions[J]. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 2005, 16(6): 880-882.
- [21] FUNG Y M E, ADAMS C M, ZUBAREV R A. Electron ionization dissociation of singly and multiply charged peptides[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2009, 131(29): 9 977-9 985.
- [22] ZHANG K, SHI Y, DU M, XU Y, WANG Y, KONG X. Versatile double-beam confocal laser system combined with a Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometer for photo-dissociation mass spectrometry and spectroscopy [J]. *Analytical Chemistry*, 2021, 93(26): 9 056-9 063.
- [23] OOMENS J, van ROIJ A J A, MEIJER G, von HELDEN G. Gas-phase infrared photodissociation spectroscopy of cationic polyaromatic hydrocarbons[J]. *The Astrophysical Journal*, 2000, 542(1): 404-410.
- [24] WILSON J J, BRODBELT J S. Ultraviolet photodissociation at 355 nm of fluorescently labeled oligosaccharides[J]. *Analytical Chemistry*, 2008, 80(13): 5 186-5 196.
- [25] ZHANG K, MA L, ZHOU M, SHI Y, LI S, WANG Y, KONG X. Wavelength-dependent ultraviolet photodissociation of protonated tryptamine [J]. *The Journal of Physical Chemistry A*, 2020, 124(26): 5 280-5 287.
- [26] COMISAROW M B, MARSHALL A G. Selective-phase ion cyclotron resonance spectroscopy [J]. *Canadian Journal of Chemistry*, 1974, 52(10): 1 997-1 999.
- [27] COMISAROW M B. Resolution-enhanced Fourier transform ion cyclotron resonance spectroscopy[J]. *The Journal of Chemical Physics*, 1975, 62(1): 293.
- [28] MARSHALL A G, COMISAROW M B, PARISOD G. Relaxation and spectral line shape in Fourier transform ion resonance spectroscopy [J]. *The Journal of Chemical Physics*, 1979, 71(11): 4 434-4 444.
- [29] WOBSCHELL D, GRAHAM J R, MALONE D P. Ion cyclotron resonance and the determination of collision cross sections[J]. *Physical Review*, 1963, 131(4): 1 565-1 571.
- [30] WOBSCHELL D, FLUEGGE R A, GRAHAM J R. Collision cross sections of hydrogen and other ions as determined by ion cyclotron resonance[J]. *The Journal of Chemical Physics*, 1967, 47(10): 4 091-4 094.
- [31] HE M, GUO D, CHEN Y, XIONG X, FANG X, XU W. Ion collision crosssection measurements in quadrupole ion traps using a time-frequency analysis method[J]. *Analyst*, 2014, 139(23): 6 144-6 153.
- [32] JIANG T, HE M, GUO D, ZHAI Y, XU W. Ion collision cross section analyses in quadrupole ion traps using the filter diagonalization method: a theoretical study[J]. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2016, 18(17): 12 058-12 064.
- [33] MAKAROV A, DENISOV E. Dynamics of ions of intact proteins in the orbitrap mass analyzer [J]. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 2009, 20(8): 1 486-1 495.
- [34] AIZIKOV K, GRINFELD D, DAMOC E. Putting scattering to the right use-discrimination of ionic species of different sizes by the decay rate in FTM acknowledgements[C]. 62nd ASMS Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics 2014, Baltimore, United States, 2014.
- [35] HE M, GUO D, FENG Y, XIONG X, ZHANG H, FANG X, XU W. Realistic modeling of ion-neutral collisions in quadrupole ion traps[J]. *Journal of Mass Spectrometry*, 2015, 50(1): 95-102.
- [36] LANGEVIN P. A fundamental formula of kinetic theory[J]. *Ann Chim Phys*, 1905, 5: 245-288.
- [37] GUAN S, LI G, MARSHALL A G. Effect of ion-neutral collision mechanism on the trapped-ion equation of motion: a new mass spectral line shape for high-mass trapped ions[J]. *International Journal of Mass Spectrometry and Ion Processes*, 1997, 167: 185-193.
- [38] GUO D, XIN Y, LI D, XU W. Collision cross section measurements for biomolecules within a high-resolution FT-ICR cell: theory[J]. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2015, 17(14): 9 060-9 067.
- [39] MARSHALL A G, HENDRICKSON C L, JACKSON G S. Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry: a primer[J]. *Mass Spectrometry Reviews*, 1998, 17(1): 1-35.

- [40] YANG F, VOELKEL J E, DEARDEN D V. Collision cross sectional areas from analysis of Fourier transform ion cyclotron resonance line width: a new method for characterizing molecular structure[J]. *Analytical Chemistry*, 2012, 84 (11): 4 851-4 857.
- [41] LI D, TANG Y, XU W. Ion collision cross section measurements in Fourier transform-based mass analyzers[J]. *Analyst*, 2016, 141 (12): 3 554-3 561.
- [42] GUO D, WANG Y, XIONG X, ZHANG H, ZHANG X, YUAN T, FANG X, XU W. Space charge induced nonlinear effects in quadrupole ion traps[J]. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 2014, 25(3): 498-508.
- [43] YANG F, JONES C A, DEARDEN D V. Effects of kinetic energy and collision gas on measurement of cross sections by Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry [J]. *International Journal of Mass Spectrometry*, 2015, 378: 143-150.
- [44] ANUPRIYA, JONES A C, DEARDEN D V. Collision cross sections for 20 protonated amino acids: Fourier transform ion cyclotron resonance and ion mobility results[J]. *J Am Soc Mass Spectrom*, 2016, 27(8): 1 366-1 375.
- [45] ANUPRIYA, GUSTAFSON E, MORTENSEN D N, DEARDEN D V. Quantitative collision cross-sections from fticr linewidth measurements: improvements in theory and experiment [J]. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 2017, 29(2): 251-259.
- [46] MAO L, CHEN Y, XIN Y, CHEN Y, ZHENG L, KAISER N K, MARSHALL A G, XU W. Collision cross section measurements for biomolecules within a high-resolution Fourier transform ion cyclotron resonance cell[J]. *Analytical Chemistry*, 2015, 87(8): 4 072-4 075.
- [47] JIANG T, CHEN Y, MAO L, MARSHALL A G, XU W. Extracting biomolecule collision cross sections from the high-resolution FT-ICR mass spectral linewidths[J]. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2016, 18(2): 713-717.
- [48] POPE B L, JOAQUIN D, HICKEY J T, MISMASH N, HERAVI T, SHRESTHA J, ARSLANIAN A J, ANUPRIYA, MORTENSEN D N, DEARDEN D V. Multi-CRAFTI: relative collision cross sections from Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometric line width measurements[J]. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 2022, 33(1): 131-140.
- [49] MARSHALL A G, WANG T C L, RICCA T L. Tailored excitation for Fourier transform ion cyclotron mass spectrometry[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 1985, 107 (26): 7 893-7 897.
- [50] KIM H S, MARSHALL A G. Magnitude-mode multiple-derivative spectra for resolution enhancement without loss in signal-to-noise ratio in Fourier transform spectroscopy[J]. *Journal of Mass Spectrometry*, 1995, 30(9): 1 237-1 244.
- [51] TANG Y, LI D, CAO D, XU W. Extracting biomolecule collision cross sections from FT-ICR mass spectral line shape[J]. *Talanta*, 2019, 205: 120 093.
- [52] MARSHALL A G, COMISAROW M B, PARI-SOD G. Relaxation and spectral line shape in Fourier transform ion resonance spectroscopy [J]. *The Journal of Chemical Physics*, 1979, 71 (11): 4 434-4 444.
- [53] LI D, TANG Y, FEI W, JIANG T, XU W. Time-frequency analysis of Fourier transform mass spectrometry data by the hilbert transform-based time-domain method[J]. *International Journal of Mass Spectrometry*, 2020, 457: 116 432.
- [54] HU M, ZHANG L, HE S, XU C, SHI Q. Collision cross section (CCS) measurement by ion cyclotron resonance mass spectrometry with short-time Fourier transform[J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2018, 32(9): 751-761.
- [55] ZHOU M, JIAO L, XU S, XU Y, DU M, ZHANG X, KONG X. A novel method for photon unfolding spectroscopy of protein ions in the gas phase[J]. *Review of Scientific Instruments*, 2022, 93(4): 43 003.

(收稿日期:2022-04-30;修回日期:2022-05-28)