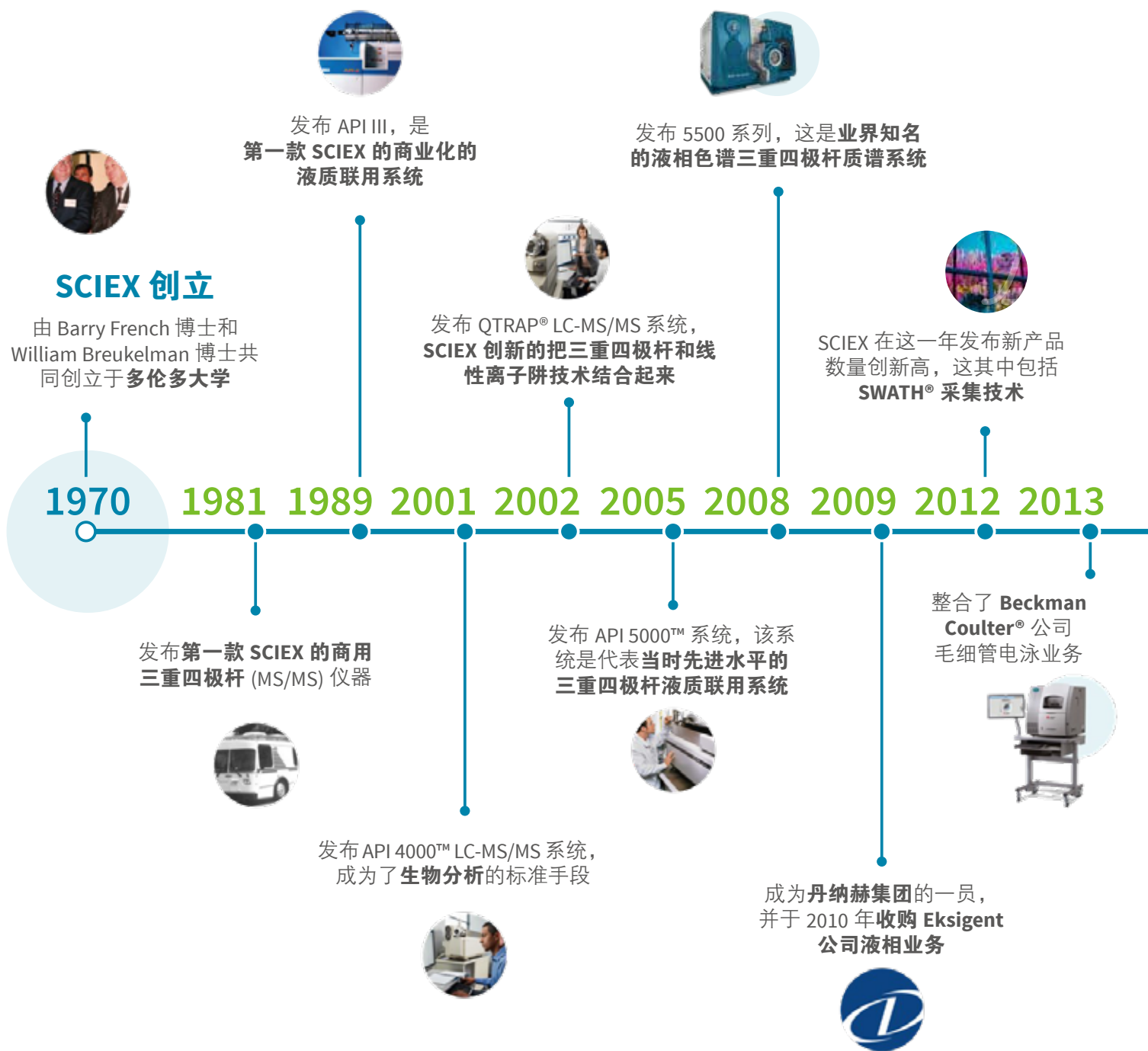
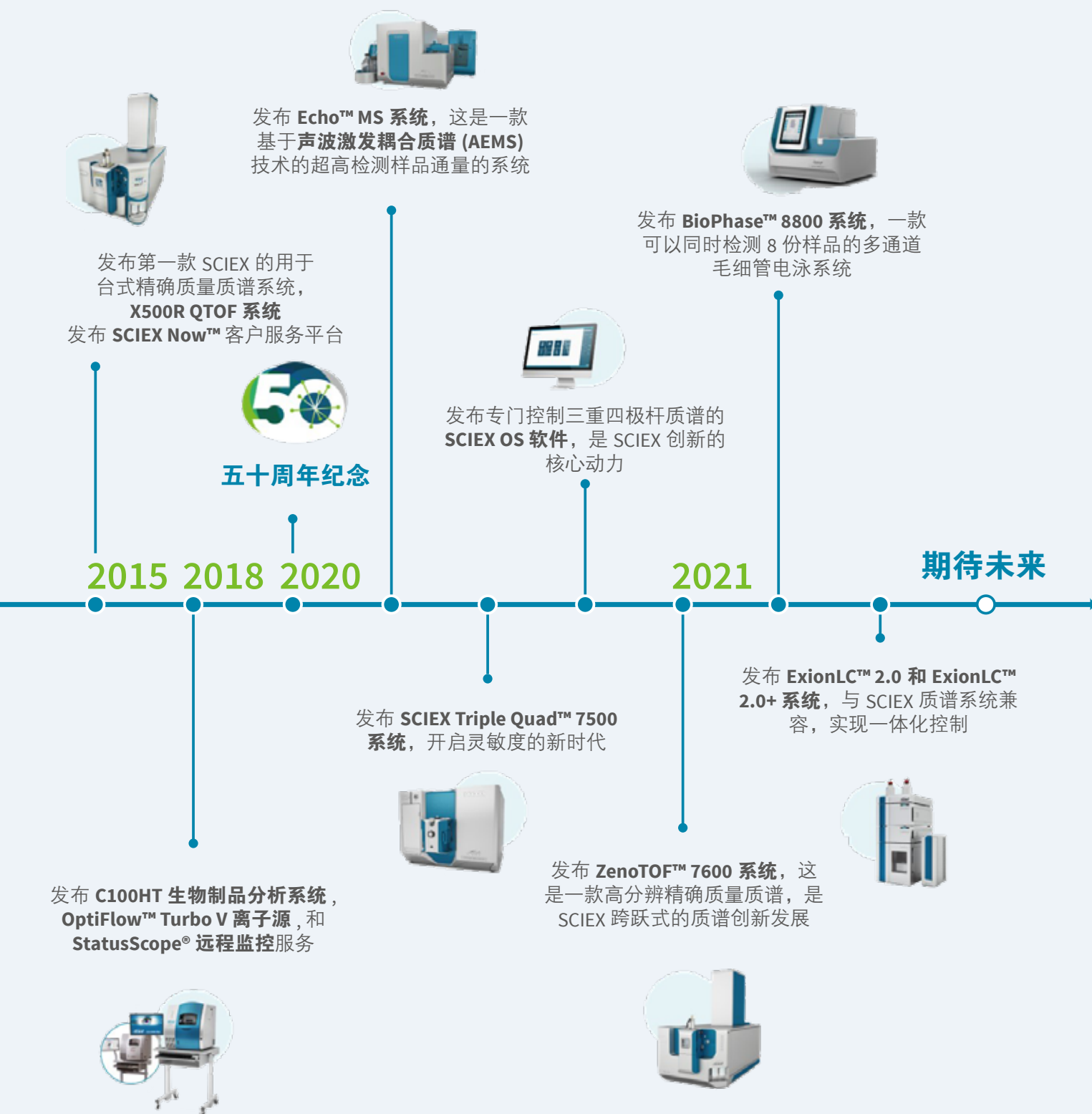


SCIEX 食品科研应用文集



SCIEX 50 年的创新历程





内容提要

SCIEX 质谱在食品组学研究平台中的先进工作流程 5

X500R QTOF 系统在植物食用油中的真伪鉴别和产地溯源分析 9

X500R QTOF 系统在生姜产地溯源中的应用 16

X500R QTOF 系统在葡萄酒产地溯源的应用 20

高通量非靶向代谢组学研究低浓度的六溴环十二烷同分异构体对拟南芥代谢的影响..... 26

X500R QTOF 系统在植物中有机硒类化合物分析中的应用..... 30

应用电子活化解离（EAD）技术进行脂质氧化代谢物精细结构表征 34

基于 ZenoTOF™ 7600 系统的不同品种藜麦食品组学研究 38

ZenoTOF™ 7600 系统在红菜苔产地溯源中的应用 42

SCIEX ZenoTOF™ 7600 系统在柑橘代谢组学研究中的应用 46

使用 SCIEX ZenoTOF™ 7600 系统快速发现和鉴定雪腐镰刀菌烯醇代谢产物 51

ZenoTOF™ 7600 系统超快速 Zeno™ IDA 鉴定玉米赤霉烯酮代谢产物 55

ZenoTOF™ 7600 系统快速鉴定杂色曲霉毒素代谢产物 60

ZenoTOF™ 7600 系统结合 Molecule Profiler 软件快速鉴定赭曲霉毒素 A 代谢产物 65

SCIEX TripleTOF™ 系统助力绿茶品质鉴别..... 72

手性 PCB 91 在蚯蚓体内代谢组学和脂质组学的研究..... 75

TripleTOF™ 系统在浆果果汁掺假代谢组学中的应用 81

基于 ZenoTOF™ 7600 系统的高质量二级质谱数据建立拟南芥广靶代谢组学检测方法..... 87

ZenoTOF™ 7600 系统在莲藕产地溯源中及品种鉴别中的应用 90



SCIEX 质谱在食品组学研究平台中的先进工作流程

Advanced Workflow of SCIEX Mass Spectrometry in Foodomics Research Platform

杨总, 赵祥龙, 程海燕, 李立军, 郭立海

Yang Zong, Zhao Xianglong, Cheng Haiyan, Li Lijun, Guo Lihai

SCIEX China

Key words: foodomics; advanced workflow

关键词: 食品组学; 工作流程

引言

随着人们对食品科学和营养研究不断深入, 消费者对食物营养及其安全性的关注与日骤增, 这就要求科研人员开发出更好的技术与工具。为此, 世界各地的食品和营养研究人员正面临越来越复杂的挑战, 食品组学研究作为一门新兴技术得以更为广泛的应用^[1]。

食品组学是采用基因组学、蛋白质组学、转录组学、代谢组学、脂质组学等研究思路应用于食品和营养分析范畴的一种研究方式。食品组学研究涉及到食品质量安全控制、品质的真伪、产地溯源以及营养与健康等多个领域, 甚至与系统生物学相结合成为一种更为便捷有效的研究平台。

食品组学研究的特点

1. 食品组学研究需要进行多样本搜集, 一般情况下样本量从几十, 甚至上百, 从而才能体现组学分析的意

义。通常情况下, 样本在上机进行数据采集时, 需要采用反相色谱柱(例如C18柱的正负模式)和正相色谱柱(例如HILIC正负模式)同时采集, 一针分析时间大约20 min左右, 所有的样本上机数据采集完成需要几天甚至上十天, 期间质谱仪器采集数据不能中断。正因为如此, 在食品组学研究过程中, 对仪器就有很高的要求, 需要仪器有很好的稳定性、耐用性和强大的抗污染能力, 才可以保证质控样本(QC)的重复性及整个组学样本的重现性和稳定性。

2. 由于食品组学研究样本的多样性, 基质复杂多样, 共流出物多; 对于某些生物样本, 样本量较少且很珍贵, 某些生物标记物易降解等; 对于未知化合物的鉴定, 往往由于基质的复杂性, 同分异构体较多, 简单通过一级质谱图无法做到准确性, 结合二级质谱图更能保证鉴定结果的准确性。因此, 对于质谱仪器而言, 需要扫描速度足够的快, 且快的同时保证数据的质量, 只有扫描速度快才可以保证一针进样同时采集到复杂基质中一级质谱图和足够多的二级质谱图, 才能获得样本中所有的化合物信息。
3. 由于食品组学样本量多, 数据采集完后, 信息量庞大, 如何去快速的发现差异标记物及准确鉴定标记物, 就必须依靠完整全套的组学数据分析软件以及丰富的数据库。

RUO-MKT-02-10078-ZH-A



SCIEX在食品组学研究中的优势

1. SCIEX质谱系统一直被行业内用户认为极为稳定、耐用的质谱系统，它们保证了仪器的抗基质干扰能力、抗污染能力、稳定性和重现性，使得质谱操作简单，维护方便，数据质量准确度高，灵敏度高。比如某客户连续超过七天采集100多个植物食用油样本，由图1可知，QC样本数据重合较好；如七十多种红酒样本，连续采集样本数天，QC样本数据重复性优异。数据体现了SCIEX质谱系统有着优异的稳定性和强大的抗基质干扰能力，足以满足食品组学多样本分析对质谱仪器耐用性的要求。
2. SCIEX高分辨质谱具有超快的扫描速度下（100Hz）兼顾高分辨和高灵敏度扫描模式DBS_IDA™（动态背景扣除_数据依赖性扫描）和SWATH®（数据非依赖性扫描）可以实现一针进样同时获得样本中所有化合物的高分辨一级质谱和二级质谱图（图2、图3）。对于食品组学样本的复杂基质而言，共流出物较多，质谱扫描速度快才可以保证获得样本中全面的信息。如果扫描速度不够，会导致要分多次进样，导致工作量大，保留时间不能对齐，使得鉴定结果困难。如果扫描速度不

够，分多次进样更不利于样品量较少且易降解的样本分析；如果扫描速度不够，会导致信息会遗漏，采集不到足够多的二级质谱图，然而对于未知化合物的鉴定而言，二级质谱图是保证鉴定结果准确可靠的必要条件。因此，SCIEX高分辨质谱在超快的扫描速度（100 Hz）下，可以真正在不牺牲灵敏度和分辨率实现一次进样同时采集到一级质谱图和二级质谱图，使得在食品组学研究中能够真正获得大量样本的所有化合物的信息，绝不遗漏。

3. SCIEX的食品组学平台拥有完整的数据库：包含本地动植物代谢物谱库、NIST谱库、中药数据库、脂质数据库等和在线网络数据库ChemSpider、Metlin、LipidMaps等（图4），保证鉴定结果的高度准确可靠；全套的组学分析软件包含了专门的组学统计学分析软件（MarkerView™）、全面升级的SCIEX OS定性鉴定和定量分析软件、与SCIEX官方合作的XCMS plus平台等保证了数据分析的快速高效；通过SCIEX的食品组学研究平

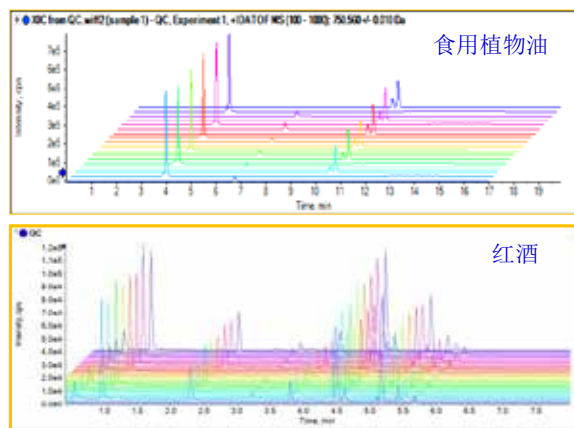


图1. 植物食用油及红酒的QC样本的重复性（不同保留时间不同大小的质荷比）。



图2. 动态背景扣除_数据依赖性扫描（DBS_IDA™、根据基质复杂程度，可以设置关联二级扫描谱图数目，最多可以关联100张二级扫描）。

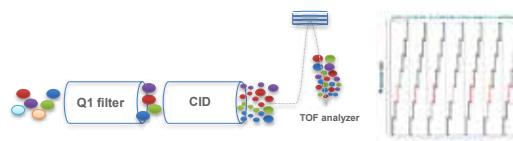


图3. 数据非依赖性扫描（SWATH®扫描、根据一级母离子的密度，窗口是智能可变的，最多可以设置100个窗口）。

RUO-MKT-02-10078-ZH-A



台提供的完整数据库和全套的组学分析软件能帮助客户快速准确的找到样本中的差异标记物。



图4. 数据库包含化合物分子式、结构、二级质谱图、药材种属等。

SCIEX在食品组学研究平台中的工作流程示意图：

靶向的食品组学研究流程（图7）：

以葡萄酒产地溯源研究为例，先搜集到来自5个国家和地区71种红葡萄酒的样本，然后采用高分辨质谱进行采集数据。数据采集完成之后，采用SCIEX定性定量分析软件OS结合数据库进行靶向的分析，通过一级质量误差、保留时间、同位素丰度匹配、二级质谱图谱库匹配（图5）快速鉴定出葡萄酒中107种化合物，包括酚类、氨基酸、有机酸等几大类。然后把71种红葡萄酒中107种化合物的峰面积等信息直接导入到专业组学分析软件MarkerView™进行差异分析（图6），通过主成分分析、T-test检验分析快速寻找到相关差异标记物以及标记物含量的变化趋势。

非靶向的食品组学研究流程（图10）：

以植物食用油的真伪鉴别为例，先搜集到7种常见的植物食用油（橄榄油、花生油、玉米油、葵花籽油、菜籽油、芝麻油、大豆油）总共145个样本，样本直接有机溶剂溶解稀释后进行高分辨质谱采集数据。数据采集完成之后，原始数据直接导入到专业组学分析软件MarkerView™进行差异分析（图8），通过主成分分析、T-test检验分析



图5. OS软件快速鉴定葡萄酒中的化合物。

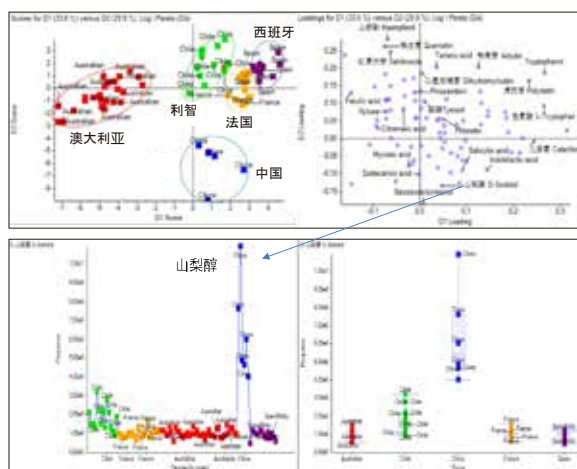


图6. 不同产地葡萄酒鉴定组分PCA分析和T-test分析快速寻找标记物。



图7. 靶向的食品组学研究流程图。

RUO-MKT-02-10078-ZH-A

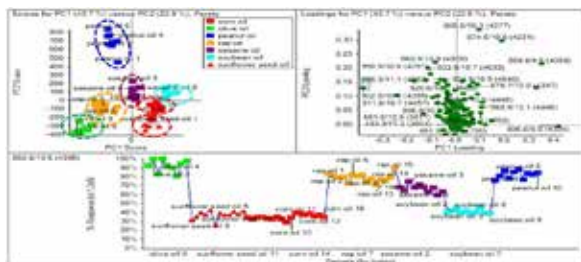


图8. 不同植物食用油的PCA分析和T-test分析快速寻找差异离子。



图10. 非靶向的食品组学研究流程图。

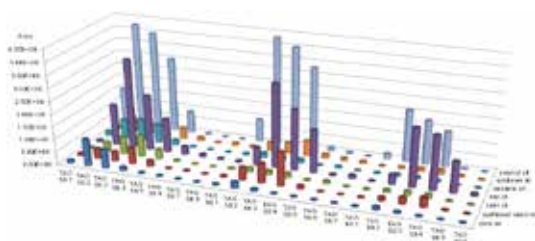


图9. 7种植物食用油中部分标记物含量的区别。

快速寻找到相关差异离子，找到差异离子之后结合完整丰富的脂质LipidView™数据库及OS软件准确鉴定标记物以及含量的变化（图9）。

参考文献

1. WANG Yu, JIAO Shan-yao, LIU Ya, et al. Advance in foodomics research [J]. Food and Fermentation Industries, 2018, 44(5):277-283.

RUO-MKT-02-10078-ZH-A



X500R QTOF 系统在植物食用油中的真伪鉴别和产地溯源分析

杨总¹, 龚蕊², 程海燕¹, 李立军¹, 郭立海¹

SCIEX 中国 (北京)

引言

植物食用油是人体重要的营养来源之一,也是人体重要的脂肪酸来源,在人体三大能量营养素中占有重要的地位^[1-3]。食用植物油不仅是人体细胞组织以及体内各种重要生理活性物质的构成成分,也是各种生物功能的载体。根据相关文献报道植物食用油中 95% 以上的成分为甘油三酯^[4]。由于甘油三酯的特殊的骨架结构决定了甘油三酯的营养价值,随甘油三酯骨架上脂肪酸种类的不同营养价值也各异。因此,对于植物食用油的真伪鉴别和溯源分析而言,甘油三酯的结构鉴定及组成分析可以提供更为准确、更直接的可靠依据。本文采用高效液相色谱串联新型高分辨质谱仪 X500R QTOF 系统 (图 2) 建立了常见的植物食用油的真伪鉴别和产地溯源的分析方法,对于植物油领域的打假和食用油的品质保证提供了有力的依据。

甘油三酯的结构示意图 (图 1)

在食用植物油真伪鉴别和产地溯源分析遇到的困难和挑战

1. 取样很重要,样品必须要具有代表性,因此样品的类别和来源尤其重要;
2. 食用油样品基质复杂,共流出物多,对仪器设备的要求很高,质谱仪器必须具有超快的扫描速度,并且还需要同时兼顾分辨率、灵敏度、准确度等,才可以保证在分析过程中得到全面和有效的信息;
3. 由于该实验是针对食用油的真伪鉴别和产地溯源的研究,主要是体现在样品组与组之间的差异,即是食用油的食品组学研究。因此,对于组学的研究,样品数

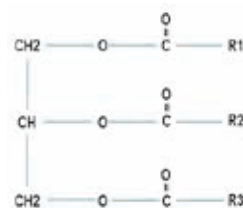


图1. 甘油三酯的骨架结构图, R1、R2、R3是三个脂肪酸链: Mono-Acyl-Glycerols 含有一个脂肪酸链 (MAG), Di-Acyl-Glycerols 含有两个脂肪酸链 (DAG), Tri-Acyl-Glycerols 含有三个脂肪酸链 (TAG);

目往往会是几十个甚至几百个样品连续不断的进入质谱进行分析检测,样品采集需要数天,并且严格要求在采集过程中不能有任何的中断或间隔。于是组学研究对仪器设备的要求就势必越来越高,连续不断进样需要仪器拥有优异的稳定性和抗基质干扰的能力;

4. 由于食用油中主要是含有甘油酯类,诸多的脂质分子量一样,色谱行为一致,色谱分离差,对于脂质的研究,主要的困难和挑战是同重化合物和同分异构体;
5. 组学样品信息量庞大,需要专门的软件去快速发现样品组与组之间的规律,从而能够快速找出海量数据中的有意义的差异化合物;对于差异化合物的结构鉴定,需要更多的数据谱库,能够快速简便的进行谱库搜索进行鉴定分析;



图2. 新型高分辨质谱仪X500R QTOF 系统;

RUO-MKT-02-8425-ZH-A



本文实验方法的优势和特点

该实验采用高效液相色谱串联新型高分辨质谱 X500R QTOF 系统成功的应用于食用植物油的真伪鉴别和产地溯源分析，并且很好的解决了植物食用油的真伪鉴别和产地溯源分析过程中遇到的诸多困难和挑战。该方法的优势和特点如下：

1. **样品收集：**实验过程中得到常见7种植物食用油：分别是橄榄油、花生油、玉米油、葵花籽油、菜籽油、芝麻油、大豆油（图3）；



图3. 7种植物食用油。

2. **前处理：**样品前处理简便快捷，采用甲醇/异丙醇（1/1，5mM乙酸铵）进行直接稀释进样；
3. **样品采集：**高分辨质谱X500R QTOF 系统性能优异，结合动态背景扣除（DBS）功能，在拥有超快的扫描速度下（100Hz）同时兼顾高分辨、高灵敏、高准确度，保证了仪器设备能采集到样品中所有的有用信息，同时也保证了采集数据的完整性和有效性；本次实验连续进样采集了290个样品，均进行正离子和负离子采集，连续采样超过7天。每6个样品之间插入一个质控样品QC，通过QC的数据表明尽管连续采集样品数天，重复性依然良好，表明该仪器具有超强的抗基质干扰能力和优异的稳定性；
4. **数据处理：**采用专门的脂质分析LipidView™ 软件对样品中的脂质进行分析，该软件含有数据库60余类，约2.8万脂质物种，大于600多种脂类特征碎片离子，并且还

不断的更新增加谱库的数据量，数据处理操作简便快捷，该软件完全满足脂质分析领域的需求；为了更快更高效的找到组与组之间的规律，本实验采用专门的组学分析MarkerView™ 软件进行数据分析，进行PCA和T-test分析，快速找到具有代表性的脂类差异化合物，其中包含了39种甘油酯类，9种游离脂肪酸类；采用数据分析软件SCIEX OS软件进行定量分析，很快发现找到的标记物在各种油中量的变化规律；

5. **实验结果表明：**差异标记物39种甘油酯和9种游离脂肪酸能很好的鉴定常见7种植物食用油的真伪和溯源分析，并且成功应用于橄榄油中掺杂葵花籽油的打假分析，橄榄油和大豆油的产地溯源分析；该实验结果在一定程度上对于植物食用油的真伪鉴别和打假、产地溯源分析具有重要的参考意义；

实验方法

液相条件：

液相：SCIEX ExionLC™ AC 系统；

色谱柱：Phenomenex C18, 2.6μm, 2.1 × 100mm；

流动相：A 相为水 / 甲醇 / 乙腈（3/1/1，含有 5 mM 乙酸铵）

B 相为异丙醇（含有 5 mM 乙酸铵）；

流速：0.35 mL/min；

色谱柱温度：60℃；

进样量：2 μL；

进样器温度：15℃；

洗脱程序：梯度洗脱；

质谱条件：

该实验采用高分辨质谱 X500R QTOF 系统，采用 TOF MS-IDA-DBS-MS/MS 扫描方法，一针进样同时获得一级和二级信息；

RUO-MKT-02-8425-ZH-A



离子源参数如表 1:

Table 1. Ion Source and MS Parameters.

Parameter	Setting
Curtain Gas (CUR)	35
Collision Gas	7
Ion Spray voltage (IS)	5500/-4500
Temperature (TEM)	600
Nebulizer Gas (GS1)	55
Heater Gas (GS2)	60
Declustering Potential (DP)	80
Collision energy (CE)	40
Spresd Collision energy (CES)	± 20
TOF MS Range (Da)	100 - 1000
TOF MS/MS (Da)	50 - 1000
DBS	On
Candidate TOF MS/MS Ions	12

结果与讨论

重复性和稳定性考察

本次实验总共运行了 290 个样品（正离子 145 个，负离子 145 个）每个样本各取一定量进行混合，制成 QC 样品。在进样过程中，每相隔 6 个样本，运行一个 QC 样品。实验取连续间隔 24 个样本采集的 QC 样品，取样本中不同时间段的分子量有差异的离子比较重复性差异。如图 4 所示，尽管仪器采集样品数天，三个不同保留时间的不同质荷比的离子可以重合，表明仪器的具有超强的抗基质干扰能力和优异的稳定性，保证了整批样品的可靠性。

X500R QTOF 系统拥有100HZ扫描速度，同时兼顾高分辨、高灵敏度、高准确度

X500R QTOF 系统具有 100HZ 的扫描速度，一针进样同时获得高分辨的一级和高分辨的二级质谱图；色谱峰仅 0.2min，依然可以采集到 15 个点，保证了定量的准确性；并且不管一级质谱图还是二级质谱图在全质量端分辨率（R）均在 3000 左右（图 5）；连续 12 小时进样，质量误差在 1PPM 以内，具有超高的准确度（图 6）；

RUO-MKT-02-8425-ZH-A

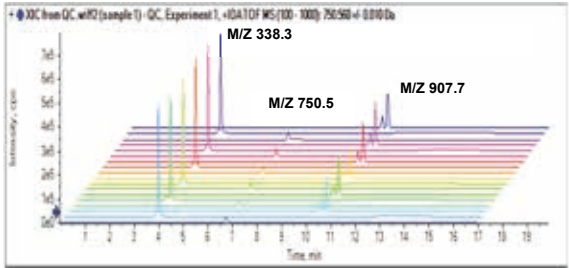


图4. QC样品的重复性考察；

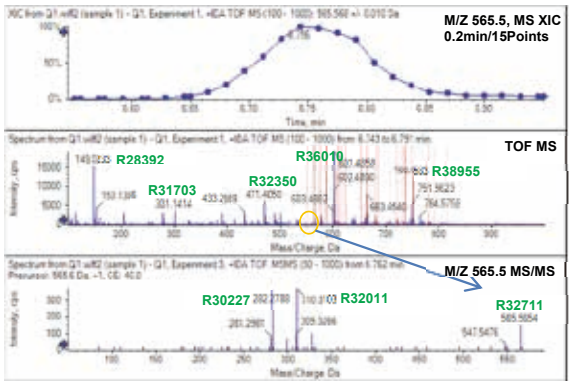


图5. 在超快的扫描速度下，兼顾分辨率、高灵敏度、高准确度；

Index	Sample Name	Component Name	Formula	Precursor Mass	Found At Mass	Expected RT	Mass Error	Mass Error App.
9	QC	TAG 52.1	C55H104O6	878.817	878.8179	10.40	✓	0.9
10	QC	TAG 52.2	C55H102O6	876.803	876.8008	10.39	✓	-0.8
11	QC	TAG 52.3	C55H100O6	874.786	874.7851	10.18	✓	-0.9
12	QC	TAG 52.4	C55H98O6	872.770	872.7698	9.95	✓	-0.8
13	QC	TAG 52.5	C55H96O6	870.755	870.7542	9.71	✓	-0.8
14	QC	TAG 52.6	C55H94O6	868.739	868.7391	9.48	✓	0.7

Index	Sample Name	Component Name	Formula	Precursor Mass	Found At Mass	Expected RT	Mass Error	Mass Error App.
1	QC	TAG 52.1	C55H104O6	878.817	878.8165	10.40	✓	-0.3
2	QC	TAG 52.2	C55H102O6	876.803	876.8034	10.39	✓	-0.1
3	QC	TAG 52.3	C55H100O6	874.786	874.7851	10.18	✓	-0.9
4	QC	TAG 52.4	C55H98O6	872.770	872.7694	9.95	✓	-0.9
5	QC	TAG 52.5	C55H96O6	870.755	870.7545	9.71	✓	-0.5
6	QC	TAG 52.6	C55H94O6	868.739	868.7392	9.48	✓	0.5

图6.连续12小时进样，质量误差在1PPM以内；



Dynamic Background Substract (DBS)

通过 DBS 功能能很好的去除背景离子的干扰，保证了整个色谱梯度采集到的二级质谱图有效和高质量；如图 7.1 所示，质荷比 149、205、471、601 虽然响应值很高，但是提取离子色谱图没有明显的色谱峰，因此不会打二级质谱图；然而对于有些丰度较低的有意义的差异化合物，只

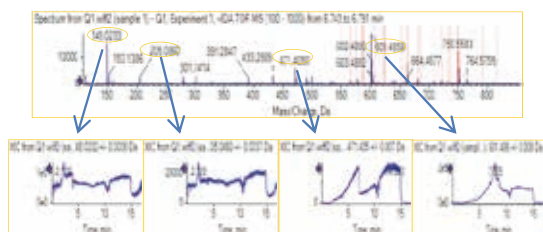


图7.1. DBS功能；

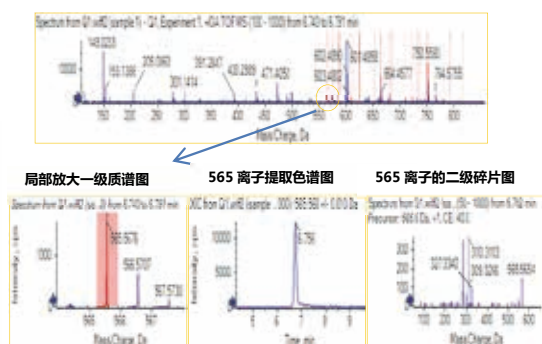


图7.2. DBS功能；

要提取有明显的色谱峰，通过 DBS 功能依然可以采集高质量的二级质谱图（图 7.2），为化合物鉴定提供了很好的手段。

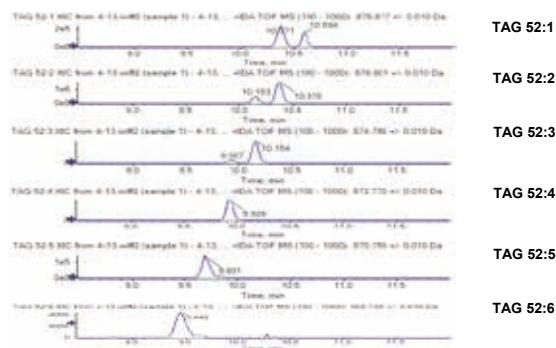
样本中脂质的鉴定

根据国内外文献报道^[1-3]植物食用油中 95% 以上的成分为甘油三酯，含有少量的游离脂肪酸、磷脂、维生素、植物甾醇类激素等成分。该实验采用专门的脂质鉴定软件

LipidView 进行分析。实验结果表明主要成分是甘油三酯、甘油二酯以及游离脂肪酸。

脂质鉴定过程主要是根据保留时间的规律和二级碎片的规律，如图 7 所示，以甘油三酯 TAG 为例，双键越多，保留时间越靠前，并且每差一个双键，保留时间间隔相等（图 8）。甘油三酯的母离子加铵峰比加氢峰响应值高，主要的碎片信息是母离子丢掉不同的脂肪酸链之后形成的，例如 TAG 52:3 主要是甘油三酯的骨架和三种不同的脂肪酸链组成（18:1/18:2/16:0）（图 9）。

游离脂肪酸没有特别明显的碎片峰，主要是通过保留时间谱库来进行定性分析，如图 10 中所以，游离脂肪酸 FFA 18:0、FFA 18:1、FFA 18:2、FFA 18:3 保留时间均相隔 0.2min，双键越多保留越靠前。





7种植物食用油的真伪鉴别

数据处理思路 (图 11)：采用 Target 分析，结合 LipidView 的鉴定结果，主要是从植物油主要成分 TAG、DAG、FFA 进行有目标的分析；采用 MarkerView™ 软件进行 PCA 和 T-test 快速准确找到差异标记物；

实验采用专门组学的分析软件 MarkerView 进行数据处理，该软件操作简单快捷，很快找到 7 种食用油之间的差异化合物。

针对甘油酯类，LipidView 软件鉴定出了 283 种甘油三酯和甘油二酯，主要影响分组的两个维度因子 PC1 和 PC2 之和大于 75%，并且为非监管的主成分分析 (PCA No-DA)，表明分组良好 (图 12)；针对于游离脂肪酸类，LipidView 软件鉴定出了 27 种游离脂肪酸，主要影响分组的两个维度因子 PC1 和 PC2 之和大于 80%，并且为非监管的主成分分析 (PCA No-DA)，表明分组良好 (图 13)，其中玉米油和葵花籽油差异不明显。

实验采用 T-Test 检验，很快发现差异化合物在不同组样本间的变化规律，p-Value 值越小表明差异越明显 (图 14)。本次实验总共发现有意义的差异化合物为 39 种甘油酯类、9 种游离脂肪酸类。

找到差异化合物之后，采用 SCIEX OS 软件进行定量分析，从量的层面进一步剖析差异标记物在 7 种植物油中含量的变化规律 (图 15)。从实验结果可以看出，花生油和菜籽油与其他 5 种油的差异较为明显，主要表现在 TAG 56:3、TAG 56:4、TAG 56:5、TAG 58:3、TAG 58:4、TAG 58:5、TAG 60:3、TAG 60:4、TAG 60:5，表明这些甘油酯类可以作为鉴别这两类油的依据。

某些不法商为了谋取利益，会在较为昂贵的油品中掺杂一些便宜的油。该实验为了进一步验证找到的差异标记物是否能应用于日常食用油的真伪鉴别，实验采用了考核盲样进行测试。盲样来源于某植物油品牌生产制造商调制的调和油，其中主要是含有不同比例葵花籽油和橄榄油。实验结果显示：橄榄油和葵花籽油中标记物的响应值之和与调和油中标记物的响应值的比值接近 1 (图 16)，实验

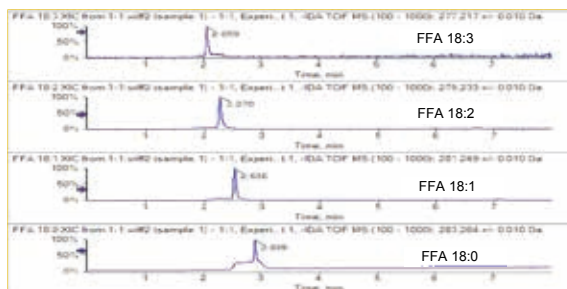


图10. 游离脂肪酸的保留规律；



图11. 数据处理思路；

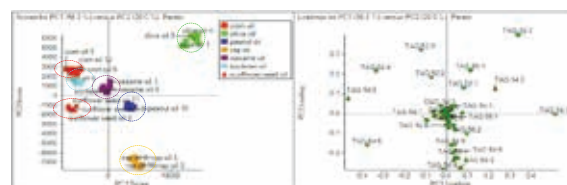


图12. 针对于甘油酯类化合物，分组良好；

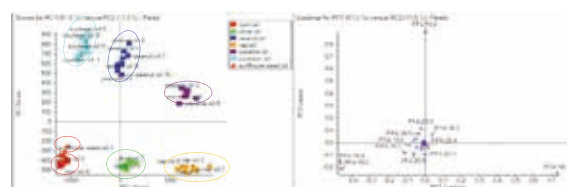


图13. 针对于游离脂肪酸类化合物，分组良好；

RUO-MKT-02-8425-ZH-A

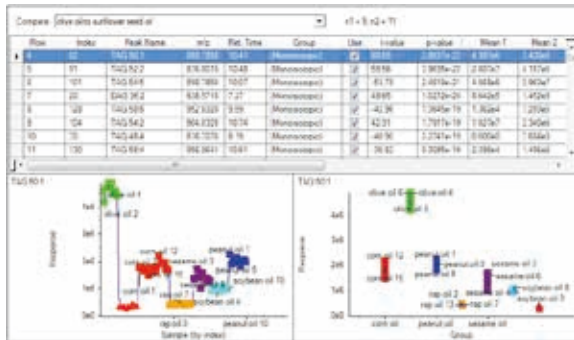


图14. 通过T-Test检验，发现差异化合物；

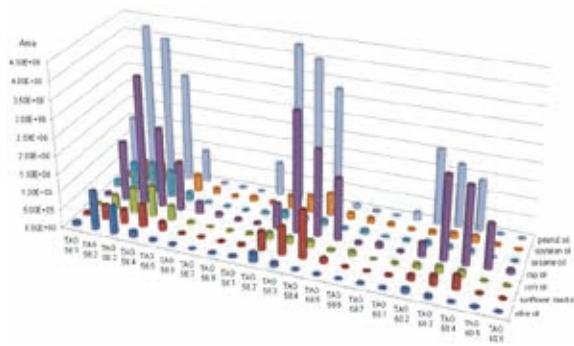


图15. 部分差异标记物在7种油中变化规律（n=10）；

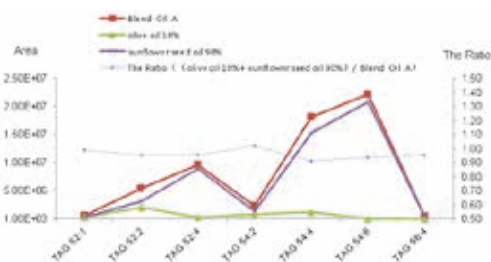


图16. 调和油鉴定结果，该调和油为90%葵花籽油和10%的橄榄油组成（红色的线为调和油中标记物的响应值，绿色的线是橄榄油中标记物的响应值，紫色的线为葵花籽油中标记物的响应值；虚线为标记物在橄榄油和葵花籽油的响应值之和与调和油中标记物的响应值的比值）；

RUO-MKT-02-8425-ZH-A

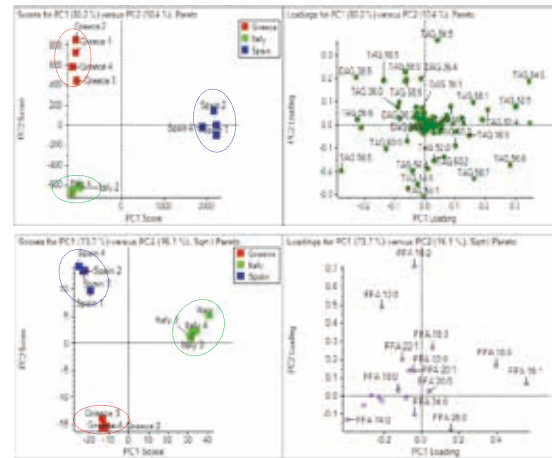


图17. 针对橄榄油，甘油酯类和游离脂肪酸，三个国家的分组；

结果表明，找到的标记物可以作为鉴定葵花籽油和橄榄油配置的调和油，为保证消费者的利益提供了可靠的保证。

橄榄油和大豆油的产地溯源分析

搜集来自于不同国家和地区的油和大豆油。橄榄油的来源主要是意大利、希腊、西班牙；大豆油的来源主要是中国、巴西、美国。该实验对于产地溯源分析总共找到 34 个差异标记物。

由于地域和气候的差异，导致三个国家的橄榄油在甘油酯类和游离脂肪酸类有着很大差异。由图 17 显示，采用 No-DA 的主成分分析发现，甘油酯类的 PC1 与 PC2 之和大于 90%，游离脂肪酸的 PC1 与 PC2 之和大于 80%，表明分组良好。

对于大豆油而言，来自中国、巴西、美国三个国家的甘油三酯类分组较为明显，游离脂肪酸的分组不明显，通过 T-Test 检验确实发现游离脂肪酸在不同国家地区的浓度差异在同一个水平（图 18 和图 19）。

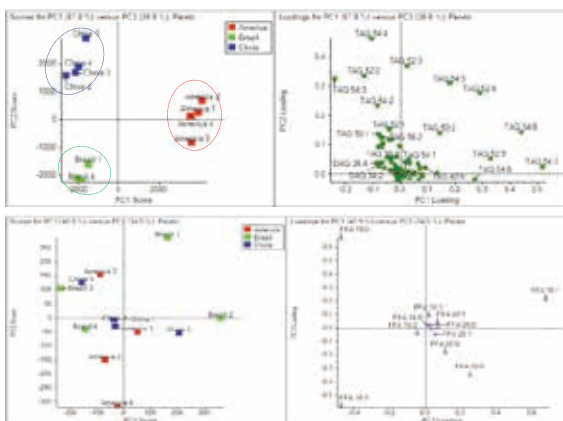


图18. 针对大豆油，甘油酯类和游离脂肪酸，三个国家的分组；

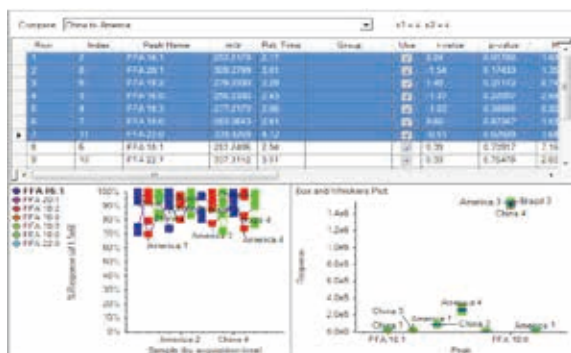


图19. 针对大豆油，T-Test检验发现游离脂肪酸在三个国家没有明显的差异；

总结

1. 本文通过高效液相色谱串联新型高分辨质谱X500R QTOF 系统成功的应用于食用植物油的真伪鉴别和产地溯源分析；本实验找到的39种脂类标记物和9种游离脂肪酸类化合物能成功的应用于植物食用油中的真伪鉴别和产地溯源分析；
2. 尽管植物油食用油脂基质复杂，共流出物多，X500R QTOF 系统能够很好的解决该问题。X500R QTOF 系统性

RUO-MKT-02-8425-ZH-A

能优异，结合动态背景扣除（DBS）功能，在拥有超快的扫描速度下（100Hz）同时兼顾高分辨、高灵敏、高准确度，保证了仪器设备能采集到样品中所有的有用信息，同时也保证了采集数据的完整性和有效性；

3. 通过质控样品QC的数据显示，尽管连续采集植物油样品数天，重复性依然良好，表明该仪器具有超强的抗基质干扰能力和优异的稳定性；
4. 专业的脂质分析数据库LipidView™ 软件，包含了几万种脂质种类，只需要搜索谱库就可以轻松完成脂质鉴定；专门的组学分析MarkView™ 软件高效的完成主成分分析（PCA）和T-Test检验，快速的找到标记物；将找到的标记物采用SCIEX OS软件可以简便快捷的进行定量分析，从量的水平进一步评估了差异化合物的在不同种类食用油中的变化规律；

参考文献

1. P. Georgios, S. Aristidis, F. Camin et al, Food authentication: techniques, trends & emerging approaches. Trends in Analytical Chemistry, 15, 2 - 41, 2016;
2. Fang Wei, Na Hu, Xin Lv, Hong Chen et al, Quantitation of triacylglycerols in edible oil by off-line comprehensive two-dimensional liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry using a single column. J. Chromatography A 1401, 60 - 71, 2015;
3. Serena Indelicato, David Bongiorno, Rosa Pitonzo, Vita Di Stefano, Valentina Calabrese, Sergio Indelicato, Giuseppe Avellone et al, Triacylglycerols in edible oil: Determination, characterization, quantitation, chemometric approach and evaluation of adulterations. J. Chromatography A 1515, 1 - 16, 2017;
4. Wahid Herchi, Faouzi Sakouhi, Sebei Khaled, Yeping Xiong, Sadok Boukhchina, Hbib Kallel, Jonathan M. Curtis et al, Characterisation of the glycerophospholipid fraction in flaxseed oil using liquid chromatography-mass spectrometry. J. Food Chemistry 129, 437 - 442, 2011;



X500R QTOF 系统在生姜产地溯源中的应用

The application of X500R QTOF in traceability of the origin of ginger

赵刘清¹, 隆雪明², 杨总¹, 刘冰洁¹, 郭立海¹

Zhao Liuqing¹, Long Xueming², Yang Zong¹, Liu Bingjie¹, Guo Lihai¹

SCIEX China¹

湖南省兽药饲料监察所, 长沙, 中国²

Hunan Institute of Veterinary Medicine and Feed Supervision, Changsha, PR China²

Keywords: Ginger; Foodomics; Origin traceability; X500R QTOF

引言

生姜是一种广泛使用的一个姜家族的根茎, 可以作为各种食品和饮料的调味品, 生姜在中国和印度已经有 2500 多年的药用历史, 可以治疗头痛、反胃、风湿和感冒等。我国生姜种质资源丰富, 分布广泛, 生姜栽培面积和出口量均位居世界第一。不同产地生姜, 受地域差异、气候环境和生产条件的影响, 生姜的品质和风味具有一定的差异。本试验选用生姜作为试验对象, 使用SCIEX X500R QTOF系统对三个不同产地湖南怀化、湖南湘西、山东生姜, 分析其营养成分的差异, 对于生姜产地溯源的研究具有重要的参考意义。本方案具有如下特点:

- 1、高分辨质谱X500R系统具有超快的扫描速度(100Hz), 同时兼顾分辨率、灵敏度、准确度, 可以实现一针进样, 采集到生姜样本中尽可能多的一级和二级质谱信息, 结合动态背景扣除技术(DBS)功能, 保证了数据的完整性和有效性;
- 2、仪器具有优异的稳定性, 本次实验连续进样采集了100个生姜样品, 连续跑样超过4天。质控样本QC重复

性好, 仪器具有超强的抗基质干扰能力和优异的稳定

性;

- 3、结合OS软件以及丰富的天然产物数据库、网络数据ChemSpider等, 快速鉴定生姜中的成分; 专业的组学软件MarkerView能够快速实现主成分(PCA)以及T检验等统计分析, 帮助实验人员快速找到不同组分的差异化合物;
- 4、该实验鉴定到生姜中的147种营养成分, 包含了姜辣素、氨基酸、多酚类、黄酮类等, 结果表明三个产地来源的生姜51个化合物含量具有显著性差异, 对生姜产地溯源的研究具有重要的参考意义;

1、实验方法

样品前处理

样品研磨成细粉, 称量1 g粉末装到在15 mL离心管中, 加入5 mL 50% 甲醇水, 超声提取10 分钟, 在4℃, 14 000 rpm条件下离心4分钟。最后, 取上清液通过聚0.22 μm 尼龙膜过滤, 转入样品瓶进行UPLC-MS/MS分析。

2、仪器设备

质谱条件: 高分辨质谱X500R QTOF 系统

RUO-MKT-02-14898-ZH-A





采集方式: TOF MS-IDA-MS/MS

去簇电压DP: 65V

碰撞能量CE: 35 ± 15 eV

一级质谱图扫描范围: 100-1000 Da

二级质谱图扫描范围: 50-1000 Da

扫描模式: 详细质谱条件见表1

表1. 质谱条件

质谱条件	参数
电喷雾电离 (ESI)	正/负
气帘气CUR (psi)	35
碰撞气CAD (psi)	7
喷雾电压IS (V)	5500/-4500
温度TEM (°C)	550
雾化气GS1 (psi)	55
辅助雾化气GS2 (psi)	55

3、结果与讨论

本次实验总共运行了100个样品（正离子50个，负离子50个）；每个样本各取一定量进行混合，制成QC样品。在进样过程中，每相隔4个样本，运行一个QC样品。全部QC样品的TIC图重合，取样本中不同时间段的分子量有差异的离子比较重复性差异。如图1所示，尽管仪器采集样品数天，四个不同保留时间的不同质荷比的离子可以重合，表明仪器的具有超强的抗基质干扰能力和优异的稳定性，保证了整批数据的可靠性。

X500R QTOF系统具有超快的扫描速度，一针进样同时获得高分辨的一级和高分辨的二级质谱图；扫描1张一级谱图和15张二级谱图仅需0.014 min，且在超快的扫描速度下依然可以采集到15个点，保证了定量的准确性，并且不管一级质谱图还是二级质谱图在全质量端保持高分辨、高灵敏度（图2）。

通过DBS功能可以很好的去除背景离子的干扰，保证

了整个色谱梯度采集到的二级质谱图有效和高质量；如图3所示，质荷比149虽然响应值很高，但是提取离子色谱图没有明显的色谱峰，因此不会打二级质谱图；然而对于有些丰度较低的化合物，只要提取有明显的色谱峰，通过DBS功能依然可以采集高质量的二级质谱图，为化合物鉴定提供了很好的手段（图3）。

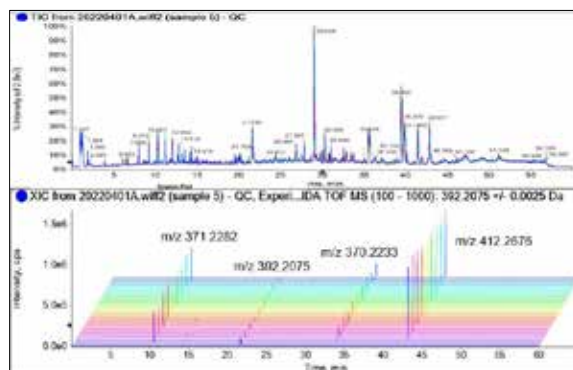


图1. QC样品的重复性考察

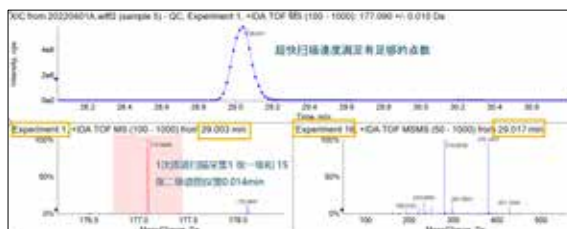


图2. 在超快的扫描速度下，兼顾分辨率、高灵敏度、高准确度

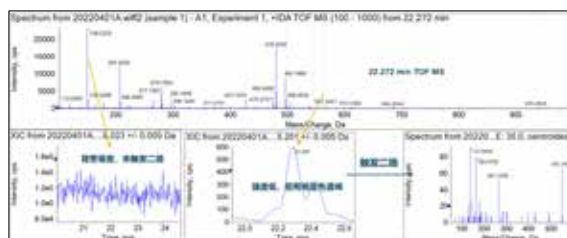


图3. DBS功能

RUO-MKT-02-14898-ZH-A



结合SCIEX高分辨天然产物及代谢物库等对成分进行快速鉴定,以生姜中特有物质6-姜酚为例, m/z 295.19, 保留时间在29.03 min, 一级质量误差0.2 ppm, 与库匹配得分100分, 通过“一级误差、同位素峰匹配、二级谱库的匹配”三关锁定简单高效的完成化合物的鉴定。

以生姜中特有物质姜二酮为例, m/z 295.2, 保留时间负离子模式在27.33 min, 与库匹配得分98.9分, 拟合分子式 $C_{17}H_{26}O_4$ 得分93.1分。

此外, 还可以通过 SCIEX OS 软件中的 ChemSpider 功能对化合物进行在线结构鉴定, 对谱库鉴定结果进行补充 (图6)。

3 个产地生姜样品共鉴定147 种营养成分, 主要包括氨基酸及衍生物、核苷酸、黄酮酚酸、姜辣素类、萜类、有机酸等。3 个产地生姜中营养物质种类基本一致, 但不同种类化合物所占比例存在区别。使用MarkerView软件进



图6. 姜二酮: m/z (297.2)

行数据的导入和PCA分析, T检验等统计分析 (图7, 8)。最终找到共51个差异代谢物, 热图展示如下 (图9)。湖南怀化与山东生姜相比, 湖南怀化生姜31个化合物高于山东生姜、11个低于山东生姜; 湖南湘西与山东相比, 湖南湘西生姜13个化合物高于山东生姜、3个低于山东生姜; 湖南怀化与湖南湘西相比, 湖南怀化生姜17个化合物高于湖南湘西、11个低于湖南湘西。

姜辣素是生姜中有关辣味物质的总称, 其化学组分中均含有 3-甲氧基-4-羟基苯基官能团, 根据该官能团连接烃链的不同, 可将姜辣素分为姜酚、姜烯酚、副姜油酮、姜酮、姜二酮等。其中主要的成分是姜酚, 包括4-姜酚、6-姜酚、8-姜酚、10-姜酚。由于姜酚结构中 β -羟基酮基团的存在, 它们变得热不稳定, 在高温下会转变为6, 8, 10-姜烯酚。其中6-姜酚的含量和生物活性最高, 可抗氧化、抗肿瘤、抑菌、保肝、抑制细胞衰老。6-姜酚也是辛辣味道的最重要来源。因此, 6-姜酚可作为评价生姜品质的指标。结果表明, 三个不同产地生姜中6-姜酚的含量没有明显差异。此外, 6-姜烯酚、6-姜辣醇在湖南湘西来源的生姜中相对含量更高, 4-姜酚、9-姜辣醇和6-姜二酮在湖南怀化来源的生姜中相对含量更高。这表明生姜中的次生代谢产物可能受产地的气候条件、土壤营养、地理位置等环境因素的影响。湖南、山东来源的生姜中, 含量差异最大的4-姜酚、8-姜酚、8-姜烯酚、9-姜辣醇等可以作为重要的生物标志物用于区分这三个不同产地的生姜。



图4. 靶向鉴定结果展示



图5. 非靶向鉴定结果展示

RUO-MKT-02-14898-ZH-A

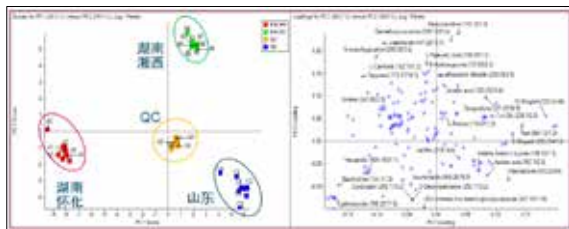


图7.不同来源生姜主成分分析图及Loading Plot



图8.不同来源生姜t检验数据处理结果

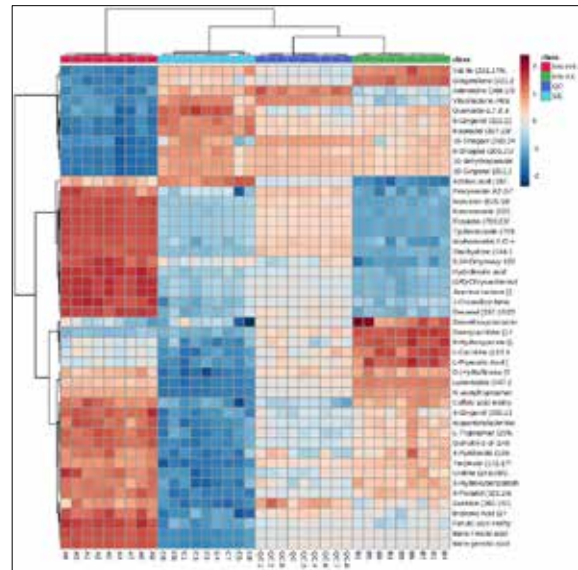


图9.不同来源生姜差异化合物热图

4、小结

基于高分辨质谱X500R系统对三个不同产地湖南怀化、湖南湘西、山东的生姜成分进行分析，结合SCIEX高分辨天然产物及代谢物库等对成分进行快速鉴定，共发现147种营养成分，包含了姜辣素、氨基酸、多酚类、黄酮类等，结果表明三个产地来源的生姜51个化合物含量具有显著性差异，对生姜产地溯源的研究具有重要的参考意义。

RUO-MKT-02-14898-ZH-A



X500R QTOF 系统在葡萄酒产地溯源的应用

Application in Red Wine Origin Tracing of X500R High Resolution Mass Spectrometry

赵祥龙, 程海燕, 李立军, 郭立海

Zhao Xianglong, Cheng Haiyan, Li Lijun, Guo Lihai

SCIEX中国, 北京

SCIEX China, Beijing

Key words: X500R QTOF, red wine, foodomics, origin traceability

引言

葡萄酒作为世界性的酒精饮料, 其历史可以追溯到7000多年前, 随着当前人民生活水平的不断提高, 葡萄酒富含有机酸、酯类、白藜芦醇、黄酮类、多酚类等有益成分得到广大消费者青睐^[1]。伴随我国葡萄酒消费量急剧增加, 进口葡萄酒在中国市场上增长迅速, 葡萄酒较高的经济价值使得一些不法商贩以假乱真、以次充好、掺假造假问题严重, 其中最为常见现象是通过冒充高价值产区葡萄酒来获取暴利, 这是因为葡萄酒产地在很大程度上决定了其价值, 消费者习惯于根据葡萄酒产区来判定葡萄酒是否值得购买, 不同产地的葡萄酒, 由于地理环境、生产工艺、原料来源等差异, 品质往往也差异甚大, 知名产地附加了远高于其他产地的价值^[2], 因此开发能够准确追溯葡萄酒产地的技术具有十分重要的现实意义, SCIEX基于X500R QTOF系统建立的葡萄酒溯源技术, 针对不同产地葡萄酒进行成分鉴定、差异分析、标志物发现和鉴定, 为葡萄酒溯源提供稳定、可靠的液质解决方案。

葡萄酒产地溯源难点和挑战:

1. 葡萄酒成分复杂、种类多样, 大多含有数百种化合物,

相同产地不同品牌之间成分种类和浓度因葡萄种类、年份、酿造工艺差异较大。

2. 大样本产地溯源工作耗时较长、易导致仪器长期测样响应变化以及样品特征成分氧化分解, 从而影响结果重现性和有效性。

SCIEX葡萄酒产地溯源方案技术特点和优势:

1. 基于X500R QTOF系统优异的抗污染能力, 葡萄酒样品可直接稀释进样, 前处理简单、耗时短, 能够最大程度保证样品组分的稳定性和代表性。
2. X500R QTOF系统以业界快速扫描速度, 结合动态背景扣除技术, 实现一针进样, 同时采集到样品成分鉴定所需的高分辨TOF MS和TOF MS/MS数据, 有效解决因葡萄酒样品易氧化而无法二次采样的困扰。
3. 在进行大样本、长时间葡萄酒数据采集时, X500R QTOF系统优异的稳定性保证了数据的重现、可靠性。
4. SCIEX OS软件结合专属的高分辨天然产物和代谢物库能够对红酒中化合物进行快速鉴定, MarkerView™软件进行靶向和非靶向统计学差异分析、通过PCA分析, T-test检验等统计学分析, 寻找差异标志物, 为不同产地葡萄酒标记物寻找和鉴定提供快速、有效手段。
5. 通过对来自法国、西班牙、澳大利亚、智利、中国等

RUO-MKT-02-9402-ZH-A



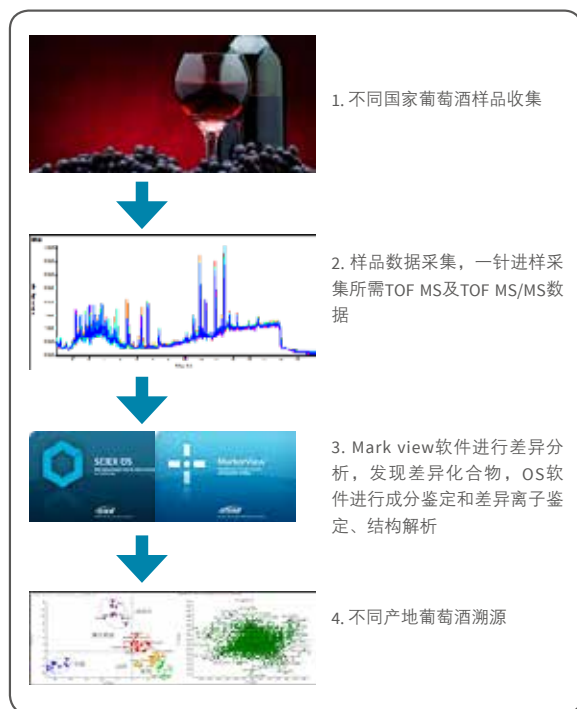


71种不同产地葡萄酒进行样品采集，数据分析，鉴定到31种差异标志物，可作为葡萄酒产地进行准确鉴定和溯源的有效参考。



图1. 不同产地葡萄酒样品。

实验思路：



RUO-MKT-02-9402-ZH-A

实验方法

1. 液相方法：

流动相A：5 mM醋酸铵（0.1 % 醋酸）水

流动相B：5 mM醋酸铵（0.1 % 醋酸）甲醇

色谱柱：Phenomenex Kinetex F5, 100 × 3.0 mm, 2.6 μm

流速：0.3 mL/min；柱温：40 °C；

进样量：2 μL；

洗脱程序：梯度洗脱；

2. 质谱方法：

扫描方式：IDA采集方式

离子源：ESI+源/ESI-源

CDS自动校正

IS电压：5500 V / -4500 V

源温度 TEM：550 °C

气帘气 CUR：35 psi

碰撞气 CAD：7

雾化气 GS1：55 psi

辅助气 GS2：60 psi

去簇电压DP：± 80 V

碰撞能量CE：40 ± 20 V

TOF MS Range：100-1000 Da

MS/MS MS Range：50-1000 Da

3. 样品前处理

取葡萄酒原液0.5 mL，以10%甲醇稀释50倍，涡旋振荡，取适量直接进样LC-HRMS分析。

结果与讨论

1. 不同产地来源葡萄酒TIC图：

该实验共选取了来自5个不同国家的71种红葡萄酒进行检测分析，下图为不同国家之间的葡萄酒TIC图（图2）；

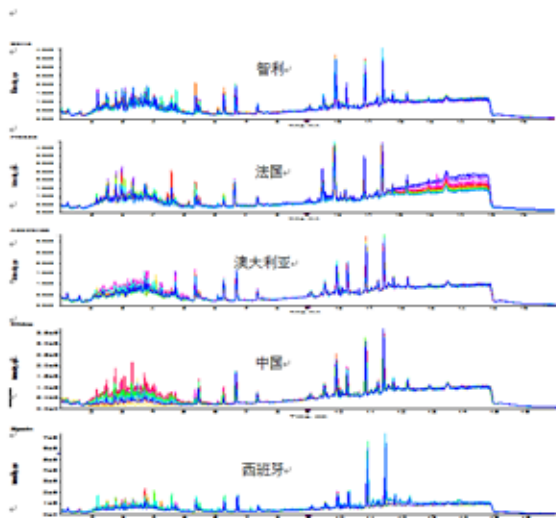


图2. 5个国家的葡萄酒LC-MS/MS总离子流图。

2. 数据重现性和稳定性

为了系统评估采集数据的重现性和系统稳定性，每间隔5针采集1针QC样品，通过提取QC数据中几种常见多酚类物质考察其重现性（图3），6种多酚化合物峰面积RSD值均在6%以内（表1），表明X500R QTOF 系统完全满足组学数据大样本、长时间采集需求，系统稳定、数据可靠。

3. 葡萄酒中成分鉴定

根据文献报告，红葡萄酒中主要成分包括酚类、氨基酸、酯类、有机酸、脂肪酸等上百种化合物^[3]；通过SCIEX OS软件，结合高分辨天然产物和代谢物库，能快速对葡萄酒中主要成分进行鉴定，自动根据化合物质量偏差、同位素分布、保留时间和二级谱图进行目标确证，保证鉴定结果的准确、可靠；鉴定结果显示大部分化合物质量偏差均在1 ppm以内，同位素及二级图谱匹配度高（图4），展示出X500R QTOF 系统优异的稳定性和准确度，通过正负离子两种模式快速鉴定到葡萄酒中107种化合物，包括酚类、氨基酸、有机酸等几大类（图5）。

表1. QC样品中6种不同多酚类物质重现性数据。

名称	分子式	M/Z	RSD % (n=8)
3-(2-Hydroxyethyl)indole	C ₁₀ H ₁₁ NO	160.07679	4.61
Caffeic acid	C ₉ H ₈ O ₄	179.03498	2.37
DL-Indole-3-lactic acid	C ₁₁ H ₁₁ NO ₃	204.06662	3.68
Resveratrol	C ₁₄ H ₁₂ O ₃	227.07137	5.69
Naringenin	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	271.0612	4.48
Phloretin	C ₁₅ H ₁₄ O ₅	273.07685	4.30

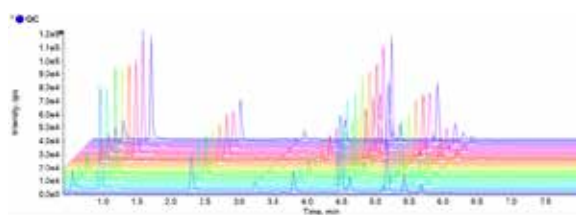


图3. QC样品中6种不同多酚类物质提取离子流图（XIC图）。



图4. OS软件快速鉴定葡萄酒中化合物。

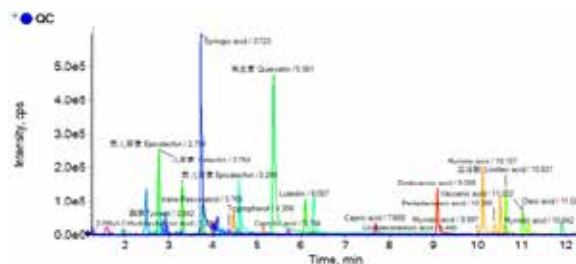


图5. OS软件鉴定葡萄酒中化合物提取离子流图。

RUO-MKT-02-9402-ZH-A



4. 不同产地葡萄酒溯源分析

4.1 目标性溯源分析

基于Marker View软件对葡萄酒中已鉴定到100多种化合物进行PCA分析、T-test分析寻找差异化合物, PCA分析结果显示5个不同产地葡萄酒能够得到有效区分(图6), 国产红酒与其他产地区差异明显, 西班牙产区 and 法国产区相对区分较小; 通过T-test分析寻找差异标志物, 其中中国产区在以山梨醇为代表9种化合物含量与其他产区存在显著性差异, 可作为国产葡萄酒鉴别的潜在标志物。此外, 法国、澳大利亚、西班牙、智利等不同产区共中发现31种具有显著性差异标志物(表2), 主要为多酚和有机酸等, 可作为各自产区的溯源标志物进行产地溯源。

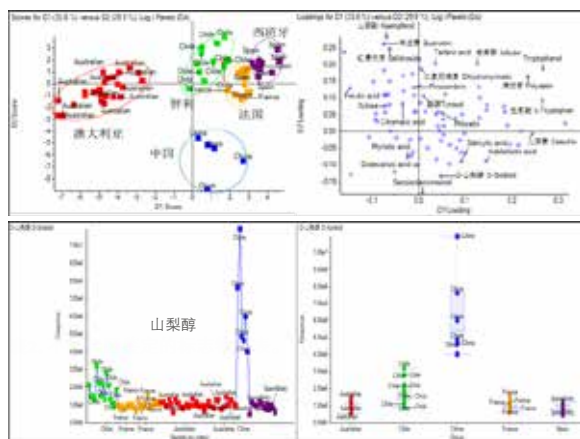


图6. 不同产地葡萄酒鉴定组分PCA分析和T-test分析结果。

多酚物质是葡萄酒存在差异性的重要原因之一, 直接决定着葡萄酒涩味和苦味的优劣与强弱, 影响着葡萄酒的色泽、贮藏时限及生物化学稳定性, 是葡萄酒的“骨架成分”^[4], 因此我们对5个不同产区的多酚类物质进行差异分析, PCA分析结果显示5个不同产区多酚类物质区分明显, 法国和智利产区葡萄酒白藜芦醇、儿茶素、表儿茶素等部分酚类物质含量较高, 澳大利亚和中国产区含量相对略低。其中3,4-二羟基苯甲酸(Protocatechuic acid)等在不同地区含量差异显著, 可作为产地溯源重要指征性成分(图7)。

RUO-MKT-02-9402-ZH-A

表2. 不同产区鉴定的标志物列表。

Name	Time	Formula	Adduct / Charge	M/Z
Aminocaproic acid	0.83	C ₆ H ₁₃ NO ₂	[M-H] ⁻	130.0874
Arachidic acid	11.87	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	[M-H] ⁻	311.2956
Citramalic acid	0.46	C ₅ H ₈ O ₅	[M-H] ⁻	147.0299
D-Sorbitol	0.49	C ₆ H ₁₄ O ₆	[M-H] ⁻	181.0718
Glucaric acid	0.45	C ₆ H ₁₀ O ₈	[M-H] ⁻	209.0303
Itaconic acid	1.19	C ₅ H ₆ O ₄	[M-H] ⁻	129.0193
Coumaric acid	0.5	C ₉ H ₈ O ₃	[M-H] ⁻	114.0561
Myristic acid	10.07	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	[M-H] ⁻	227.2017
Nonadecanoic acid	11.65	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	[M-H] ⁻	297.2799
Oleic acid	11.06	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	[M-H] ⁻	281.2486
Protocatechuic acid	2.94	C ₇ H ₆ O ₄	[M-H] ⁻	153.0193
Stearic acid	11.46	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	[M-H] ⁻	283.2643
Tartaric acid	0.44	C ₄ H ₆ O ₆	[M-H] ⁻	149.0092
Tetradecanedioic acid	5.96	C ₁₄ H ₂₆ O ₄	[M-H] ⁻	257.1758
trans-Resveratrol	3.76	C ₁₄ H ₁₂ O ₃	[M-H] ⁻	227.0714
.....	...	...	...	...

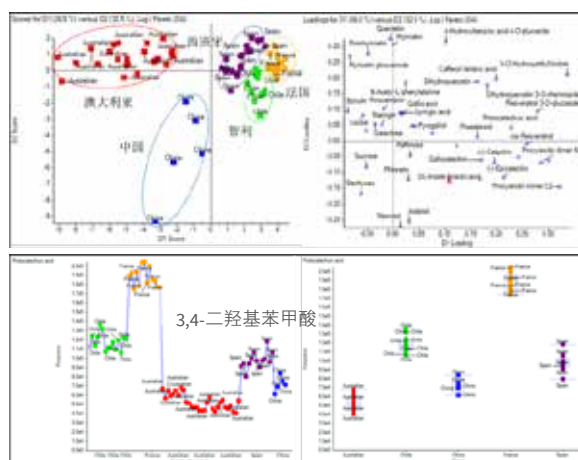


图7. 不同产区葡萄酒中多酚类物质PCA分析和T-test分析结果。

4.2 非目标溯源分析

为了更加全面深入的对不同产区葡萄酒进行差异区



分，发现更多特异性标志物，通过Mark view软件对不同产区数据进行非靶向差异分析，共检测到3763个有效离子，PCA分析结果显示不同产区能够得到有效区分，T-test结果发现存在多种具有显著性差异离子（图8），结合OS软件可对其进行快速鉴定工作；以智利产地特征化合物m/z 163.0401为例，其保留时间在1.19min，基于其高分辨MS和MS/MS图谱，测定其分子式 $C_9H_8O_3$ ，利用OS软件高效的结构解析功能，确证为香豆酸，具体鉴定过程如下（图9）。

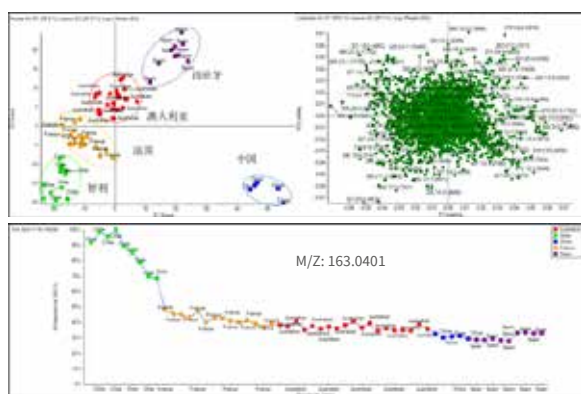


图8. 不同产区葡萄酒非靶向数据PCA和T-test分析。

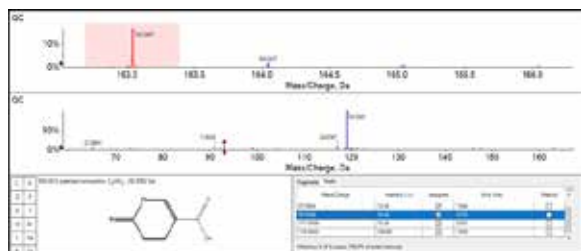


图9. OS软件差异化合物鉴定和结构解析过程。

总结：

1. 本实验基于X500R QTOF 系统对5个不同国家葡萄酒进行产地溯源分析，结合SCIEX高分辨天然产物及代谢物库对葡萄酒成分进行快速鉴定，通过统计学差异分析，共发现31种不同产地有效标志物，为葡萄酒产地溯源提供有效手段。
2. 针对组学分析样本量大、耗时长、仪器稳定性要求高的特点，X500R QTOF 系统卓越的抗污染能力和系统稳定性，有效减少葡萄酒前处理步骤同时保证数据的重复可靠性，QC样品化合物重现性RSD值均在6%以内，远满足组学数据要求。
3. 基于SCIEX高分辨质谱超快的扫描速度（100HZ），一针进样同时采集到高分辨一级和高分辨二级完整数据，避免了红酒样品易氧化难以多次进样问题，OS软件的简单易用性，让高分辨数据处理更加简单、快捷。
4. MarkerView™软件强大差异分析能力，可实现对数据的目标和非目标差异分析，通过PCA和T-test分析能快速发现差异化合物，确定差异标志物，同时针对非靶向差异离子结合OS软件可实现对未知化合物的结构鉴定及解析。
5. SCIEX为食品组学研究提供高效的工作流程和完整方案。

RUO-MKT-02-9402-ZH-A



参考文献:

- [1] De Rosso M, Panighel A, Dalla Vedova A, et al. Changes in chemical composition of a red wine aged in acacia, cherry, chestnut, mulberry, and oak wood barrels[J]. Journal of agricultural and food chemistry, 2009, 57(5): 1915-1920.
- [2] Frost S, Lerno L, Zweigenbaum J, et al. Characterization of red wine proanthocyanidins using a putative proanthocyanidin database, amide hydrophilic interaction liquid chromatography (HILIC), and time-of-flight mass spectrometry[J]. Molecules, 2018, 23(10): 2687.
- [3] Vaclavik L, Lacina O, Hajslova J, et al. The use of high performance liquid chromatography–quadrupole time-of-flight mass spectrometry coupled to advanced data mining and chemometric tools for discrimination and classification of red wines according to their variety[J]. Analytica chimica acta, 2011, 685(1): 45-51.
- [4] Arbulu M, Sampedro M C, Gómez-Caballero A, et al. Untargeted metabolomic analysis using liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry for non-volatile profiling of wines[J]. Analytica chimica acta, 2015, 858: 32-41.

RUO-MKT-02-9402-ZH-A





高通量非靶向代谢组学研究低浓度的六溴环十二烷同分异构体对拟南芥代谢的影响

Effects of low-levels of three hexabromocyclododecane diastereomers on the metabolic profiles of pak choi leaves using high-throughput untargeted metabolomics approach

郭琳琳、张艳伟、刘冰洁、李立军、郭立海

Guo Linlin, Zhang Yanwei, Liu Bingjie, Li Lijun, Guo Lihai

SCIEX China

Key Words: HBCDs diastereomers, Metabolomics, Phytotoxicity, Mechanism, MarkerView™, TripleTOF™ 6600

六溴环十二烷 (HBCDs)，作为一种隔热阻燃剂，广泛用作建筑材料、室内装潢纺织品等产品^[1]。HBCDs于2013年被斯德哥尔摩公约列为一种新型持久性有机污染物^[2]，其在环境中的半衰期长（在空气、水和沉积物中的半衰期分别为51、1440和5760h），还具有迁移性和生物蓄积性，因此，在环境中广泛传播^[3]。由于其广泛的应用和持续污染的特性，HBCDs无论是在非生物样本还是生物样本中都被检测到，并且具有很高的浓度水平^[4]。但是，HBCDs在植物中的暴露对生理代谢的研究尚属空白。

通过代谢组学方法可以识别多种生物标志物，这些生物标志物的识别将有助于阐明HBCDs潜在的毒性机理。代谢组学方法已被用于研究HBCDs对动物（包括小鼠和HepG2细胞）的毒性。然而，据我们所知，HBCDs在植物体内的毒性还没有使用代谢组学方法进行研究。HBCDs有16种立体构象，其中 α 、 β 、 γ -HBCDs几乎占环境中HBCDs总量的100%，是最受关注的目标HBCDs。这三种HBCDs在萝卜、小麦的叶和根中均已被检测到。从田间环境中采集样本，检测到萝卜叶片中HBCDs浓度最高，达到

27.8 ng/g干重 (dw)，且叶片中HBCDs浓度高于根部。在实验室中培养拟南芥非常容易，生长周期短，约30天左右，可以大大提高实验效率。因此，本实验主要研究HBCDs对拟南芥的毒性及其机理。

技术特点

- 1、TripleTOF™ 6600系统，配备DuoSpray™ Turbo V™ 离子源（见图1），DuoSpray™ Turbo V™离子源使用增强的气流动力学和优化的加热器装置，可耐受更高的流速，提供了更强的抗污染能力和更好的稳定性，从而提高样本检测结果的可靠性和重现性。因此，对于复杂基质样品可以实现更简单的前处理。
- 2、实验通过TOF MS-IDA-MS/MS模式采集数据，可以实现一针进样，同时采集化合物的一级母离子和二级子离子。
- 3、组学分析时，通过MarkerView™软件分析差异成分，找出有统计学意义的差异组分，以便进行进一步的化合物鉴定、代谢通路和毒性机理分析。

实验方法

RUO-MKT-02-10504-ZH-A



样品准备: 水培实验用拟南芥种子，用 10% H_2O_2 溶液消毒10分钟，再用纯净水冲洗干净。将种子在湿润的滤纸上发芽2-3天，发芽后的种子播种后，生长约10天（至四叶期）。将幼苗在自来水中清洗，去除附着的颗粒，然后小心翼翼地将幼苗转移到盛有营养液的玻璃罐中。三组暴露组分别以含有 α -HBCDs、 β -HBCDs和 γ -HBCDs营养液进行培养，对照组为不含HBCDs的营养液培养，每组进行6个平行样本。分别采集处理后的第7天和第21天收集叶片样本，立即冷冻于液氮中，所有样品置于-80℃冰箱中储存。

样品制备: 叶片用液氮冷冻研碎，然后用冷冻干燥机进行冷冻干燥。称取20毫克的样品，转移到2 mL的离心管中。添加4种非内源性代谢物（L-tryptophan-d5、d3-癸醇肉碱、DG（12:0/12:0）、PC（17:0/17:0））。分析时，依次加入甲醇200 μ L，MTBE 540 μ L，水360 μ L，涡旋30 s。室温下静置10 min，溶液出现分层，将两相溶液都转移到新离心管中。在氮气作用下缓慢吹干，加入0.1 mL溶剂（甲醇/水= 1:4）中复溶。13000 r/min离心5 min后，将上清液转入样品瓶中进行分析。

仪器设备

色谱条件:

ZORBAX SB-Aq柱，2.1 $\times$ 100 mm，1.8 μ m



图1. SCIEX Exion LC™系统+TripleTOF™ 6600* 系统。

进样量：5 μ L；

自动进样器温度：4℃；

流速：0.35mL/min

梯度程序如下:

Time (min)	A%, 水 (含0.1%甲酸)	B% 乙腈
0	95	5
1	95	5
4	80	20
13	60	40
14	20	80
15	0	100
15.1	95	5

质谱条件:

源参数	采用ESI源	正、负离子模式
TOFMS	CUR	30 psi
	GS1	50 psi
	GS2	50 psi
	IS	+4500 V、-4500 V
	TEM	500℃
TOFMS	Declustering Potential (DP)	80 eV
	Collision Energy (CE)	10 eV
	TOF Mass Range	100-1250 Da
TOFMSMS	High Sensitivity mode	
	MS/MS Mass Range	50-1250 Da
	Collision Energy (CE)	35 eV
	CE Spread (CES)	15 eV

高性能的TripleTOF™ 6600系统，搭载液相色谱SCIEX Exion LC™系统，对于数据的采集提供强有力的硬件支持，完全满足代谢组学的检测需求。

数据分析工具

通过MarkerView™软件进行PCA主成分分析（此方法可

RUO-MKT-02-10504-ZH-A



比较多个样本的数据，揭示数据集间的分组，并在得分图中用图形显示分组情况。从载荷图中可以获得样品聚类有用的信息，并且能够说明哪些代谢物或生物标记物被向上或向下调节。主成分变量分组可帮助发现离子峰之间的关系，并将相关的峰手动或自动分配到一个特定组中。）

采用MarkerView™软件进行t检验分析，计算出三个HBCDs同分异构体暴露组与对照组在同一时间点植物代谢过程的影响，得出各峰的响应对比和p值，用 $p < 0.05$ 的峰值来指示潜在的生物标志物。用t检验分析不同时间点和处理之间代谢物的变化，用Bonferroni校正法调整p值进行多重检验。

数据结果

- 1、对采集的数据通过的PCA分析，结果显示四组样品之间有明显差异，各组样品内的平行性好，采集样品数据质量高，分组情况如图2所示。
- 2、根据t检验中 $p < 0.05$ 的峰，筛选出来暴露组和对照组之间的有显著差异60个峰，并将这些峰进行具体分析和

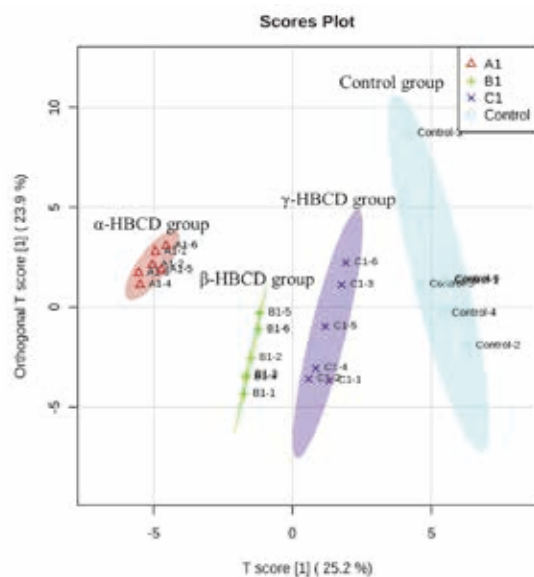


图2. 各组样品的SCORE图^[1]。

RUO-MKT-02-10504-ZH-A

鉴定，包括9种氨基酸、7种核酸、6种苯丙氨酸、5种脂肪酰类化合物、3种黄酮类化合物、2种有机酸、2种维生素及其辅助因子。以及其他的19个代谢物。

- 3、将异黄蛋白、绿原酸、乳糖、甘油-3-磷酸胆碱（GPC）、 β -D-葡萄糖、木质素、芥子酸、4-乙酰氨基丁醛、芦丁、同香草酸、脯氨酸、咖啡酸、3-甲氧基-4-羟苯乙醇醛（MHPGA）13种代谢产物作为判断植物是否HBCDs中毒的生物标志物。
- 4、拟南芥在三种HBCDs同分异构体浓度为0.05ng/mL溶液中进行培养和累积后，得出结论，三种HBCDs在白菜叶中的毒性顺序依次为 γ -HBCD $>$ α -HBCD $>$ β -HBCD。
- 5、HBCDs可诱导脂质代谢、碳水化合物代谢、氨基酸代谢、其他次生代谢产物生物合成等。多种代谢途径均发生显著变化（如图3所示）。
- 6、HBCDs的毒性机理为：HBCDs抑制葡萄糖转运和减少糖酵解代谢酶，由于HBCDs干扰通过膜蛋白的氨基酸运输，降低了 Na^+/K^+ ATP酶和ATP水平，细胞壁对HBCDs的吸附可能进一步抑制氨基酸和碳水化合物的吸收。ATP的减少和糖酵解的抑制进一步影响脂质、碳水化合物、核苷酸、氨基酸和次生代谢产物的代谢。HBCDs能

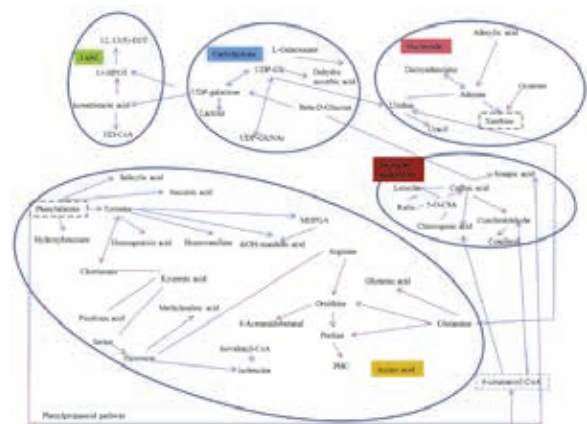


图3. 与脂质、碳水化合物、核苷酸、次生代谢物和氨基酸代谢相关的代谢物发生显著变化^[1]。



透过细胞壁和细胞膜，激活抗氧化活性体系，通过上调脱氢抗坏血酸、黄酮类化合物（木犀草素、芦丁）和脯氨酸，抑制ROS的积累，减轻对植物细胞的氧化损伤；同时，信号分子（水杨酸）引发了植物的次生代谢，莽草酸酯（分支酸、琥珀酸和酪氨酸）和木质素（芥子酸、绿原酸和松柏醛）的上调可能是为了提高防御系统中的黄酮类化合物（木犀草素和芦丁）的水平，进一步抵抗HBCDs毒性损伤。最终，HBCDs的毒性损伤与植物胁迫反应达到平衡状态。

结论

本文研究了HBCDs三种同分异构体在白菜叶中的代谢和毒性机理。数据结果表明，HBCDs的三种同分异构体的毒性顺序为 γ -HBCD > α -HBCD > β -HBCD。13种代谢物被鉴定为潜在的生物标志物，用于辨别植物叶片中HBCDs毒性的存在。HBCDs可诱导脂质、碳水化合物、氨基酸和其他次生代谢产物的生物合成的改变。推断出HBCDs的毒性机理为吸附细胞壁、抑制转运酶活性影响多种代谢途径发生显著变化，同时激活抗氧化系统，减少氧化损伤，触发植物的次生代谢，促进防御化合物的生物合成，更好防御HBCDs带来的毒性损伤。

总结

- 本实验展示了TripleTOF™ 6600 系统在环境代谢组学领域的优势，获得高分辨率的质谱数据（TOF-MS和TOF-MS/MS），能够提供高效快捷一体化的解决方案，为客户提供强有力数据支持。该方法的主要技术特点如下：
- 配备了DuoSpray™Turbo V 离子源的TripleTOF™ 6600系统，在数据采集时依靠高分辨数据采集模式（TOF MS-IDA-MS/MS扫描模式），整个组学样品采集过程只需一针进样，即可获得高质量的一级和二级质谱数据，大大缩短了数据采集的时间。

- TripleTOF™ 6600系统优异的性能确保了代谢组学数据采集质量，PCA分析结果证实了组内数据的稳定性和组间数据的显著差异性，为后续数据分析提供有力保障。
- 化合物鉴定时，SCIEX代谢物高分辨MS/MS数据库可以进行数据匹配分析，此外，还可通过质量准确度、同位素丰度等信息进行高分辨数据解析，这就大大缩减实验人员结构解析耗费的时间和精力。

参考文献

- 1 Zhang Y, Guo Q, Tan D, He Z, Wang Y, Liu X. Effect of low-levels of three hexabromocyclododecane diastereomers on the metabolic profiles of pak choi leaves using high-throughput untargeted metabolomics approach: Environ. Pollution[J]. 2018,242,1961-1969.
- 2 Wang F.D, Zhang H.J, Geng N.B, Zhang B.Q, Ren X.Q, Chen J.P. New insights into the cytotoxic mechanism of hexabromocyclododecane from a metabolomic approach: Environ. Sci. Technol[J]. 2016,50,3145-3153.
- 3 Szabo D.T, Pathmasiri W, Sumner S, Birnbaum L.S. Serum metabolomic profiles in neonatal mice following oral brominated flame retardant exposures to hexabromocyclododecane (HBCD) Alpha, gamma, and commercial mixture: Environ. Health Perspect[J]. 2017,125,651-659.
- 4 Zhang Y, Sun H, Zhu H, Ruan Y, Liu F, Liu X. Accumulation of hexabromocyclododecane diastereomers and enantiomers in two microalgae, Spirulina subsals and Scenedesmus obliquus: Ecotoxicol. Environ. Saf[J]. 2014,104,136-142

RUO-MKT-02-10504-ZH-A





X500R QTOF系统在植物中有机硒类化合物分析中的应用

Application of X500R QTOF System in Organic Selenium Research in Plants

穆朋倩¹, 秦孟姣¹, 杨总¹, 刘冰洁¹, 郭立海¹, 叶梅², 朱松²

Mu Pengqian¹, Qin Mengjiao¹, Yang Zong¹, Liu Bingjie¹, Guo Lihai¹, Ye Mei², Zhu Song²

¹ SCIEX 应用支持中心, 中国; ² 江南大学, 无锡

¹ SCIEX China, Shanghai; ² Jiangnan University, Wuxi

Key Words: X500R QTOF, Organic Selenium, Plants

硒 (Se) 是人和动物体所必需的微量营养元素, 参与合成人体内多种含硒酶和含硒蛋白。硒具有抗衰老、养肝护肝、防癌抗癌、预防心血管疾病等功效^[1]。硒的补充主要通过无机硒及有机硒两种方式, 而无机硒对人体有一定的毒性, 故主要采用有机硒的补充方式。有机硒的存在形式主要是硒代氨基酸、硒蛋白、硒多肽、硒多糖等形式^[2], 使用安全, 营养价值高, 可易在人体内吸收利用。植物是人和动物摄取有机硒的主要来源。因此准确、高效的检测植物中有机硒有着重要的意义。

本文利用X500R QTOF系统结合智能化的数据依赖式采集 (IDA) 技术, 采样靶向和非靶向两种分析方式对西兰花和碎米荠中有机硒化合物进行分析。具体分析思路如下:

该方案的优势和特点如下:

- 高分辨质谱X500R系统的Turbo V™离子源和气帘气接口设计, 具有很强的抗基质干扰能力, 保证复杂基质化合物分析的准确性。
- 高分辨质谱X500R系统具有超快的扫描速度, 一针进样同时获得高质量的一级质谱和二级质谱图, 保证数据采集的全面性。

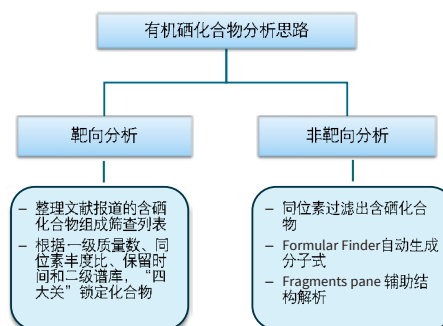


图1. 有机硒化合物分析思路

- Se具有特异性的同位素分布规律, SCIEX OS 软件具有同位素过滤Isotope Pattern Filter等功能可快速过滤出含硒化合物, 大大缩短分析时间。
- SCIEX OS 软件红绿灯的鉴定方式简单易学, 并内置多个功能模块辅助结构解析, 如Formula Finder、Fragments Pane等功能为化合物物的结构解析提供强有力的支持。

1. 实验部分

1.1 样品处理

称取0.5g样品至20mL水中, 过3kDa超滤管后冻干。用

RUO-MKT-02-13822-ZH-A



1mL初始流动相复溶，离心后取上清液进样分析。

1.2 色谱条件

色谱柱：Phenomenex Kinetex, F5 (2.6 μm , 2.1 $\times$ 100 mm)

流动相：A相：水（含0.1%甲酸）
B相：乙腈（含0.1%甲酸）

流速：0.3 mL/min

进样量：10 μL

洗脱程序：梯度洗脱（表1）

表1. 液相洗脱程序

时间 (min)	A 相(%)	B 相(%)
0	97	3
1	97	3
15	5	95
18	5	95
18.1	97	3
20	97	3

1.3 质谱条件

离子源：电喷雾电离（electrospray ionization, ESI），正离子模式

扫描方式：TOF MS_IDA_MS/MS

气帘气CUR: 30 psi; 源温度TEM: 550 $^{\circ}\text{C}$;

碰撞气CAD: 中; 喷雾气GS1: 55 psi;

辅助加热气GS2: 55 psi; 去簇电压DP: 60V;

碰撞能量: 35 $\pm$ 15 eV

一级质谱图扫描范围：100-1000 Da

二级质谱图扫描范围：50-1000 Da

2. 结果与讨论

2.1 靶向分析

本实验对西兰花和碎米荠共靶向分析100多种文献报道的有机硒化合物^[3-5]。对于有标样的化合物，可根据化合物的一级质量偏差、保留时间、同位素丰度比及二级谱库匹配进行分析。如图2所示，两个样品中均含有硒代蛋氨酸，一级质量偏差均在1 ppm以内表明仪器具有良好的质量精度和稳定性，同时采用高分辨二级质谱图与数据库进行匹配，保证鉴定结果更加准确。分析结果以“红绿灯”形式展示，直观易懂。



图2. 样本中有机硒化合物靶向分析¹

对于没有标样的目标化合物分析，可以根据一级质量偏差及Se78与Se80的丰度比与理论离子比例进行确认。如图3所示，碎米荠中筛查出C₇H₉NO₂Se，两个同位素的一级质量偏差均小于1ppm，实际测得离子丰度比为0.4890，理论离子丰度比为0.4912，实际测得离子丰度比与理论丰度比偏差0.4%。



图3. 样本中的有机硒化合物靶向分析²

RUO-MKT-02-13822-ZH-A





2.2 非靶向分析

硒共有6个同位素峰，其中单同位素峰 Se74丰度较低，仅有1.75%，而Se78、Se80丰度较高，分别为47.9%、100%。如图4所示，可利用SCIEX OS 软件特有的同位素过滤Isotope Pattern Filter功能，根据Se78、Se80的同位素分布，进行筛选未知物的有机硒成分。可直接得到具有该特征同位素分布的化合物的总离子流图（图4）。

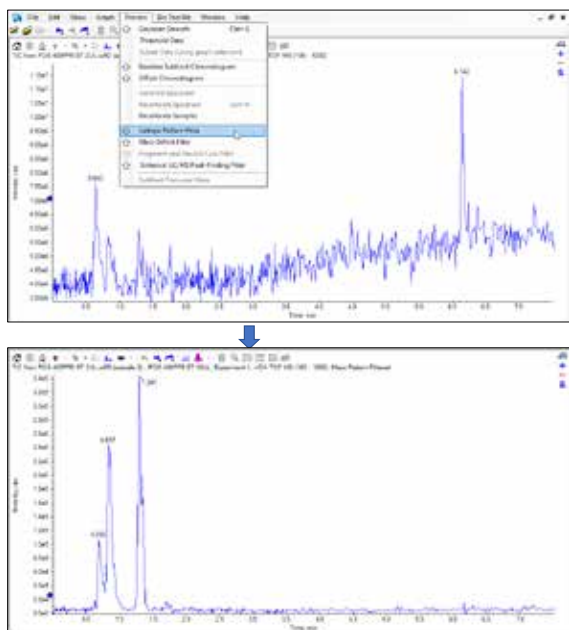


图4. 软件自动提取具有特征同位素分布的化合物色谱图

根据过滤出的总离子流图中的一级质谱图和对应的二级质谱图，可以对化合物进行解析。如图5所示，以0.836 min处的m/z 183.9870为例，利用Formula Finder 自动拟合出该化合物分子式为 $C_4H_9NO_2Se$ ，二级碎片精确质量数可进一步辅助确认。推测该化合物可能为甲基硒代半胱氨酸，导入该化合物的结构式，利用软件的Fragments pane 碎片解析功能，自动给出每个碎片对于的结构，碎片匹配度大于90%（图6）。

RUO-MKT-02-13822-ZH-A

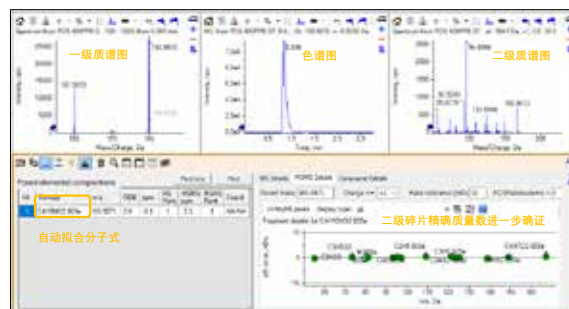


图5. Formula Finder 自动拟合化合物分子式，二级碎片精确质量数进一步确认

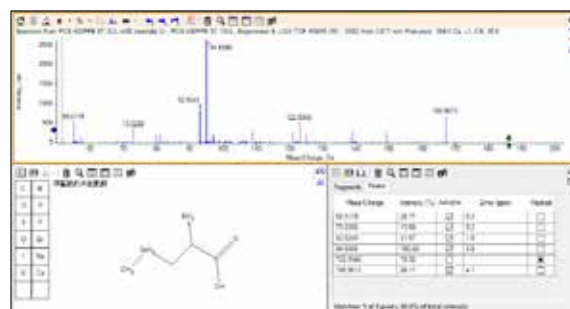


图6. Fragments pane 自动进行结构解析和碎片匹配

3.小结

本文以西兰花和碎米荠为例，利用X500R QTOF系统通过靶向和非靶向的分析方法，共分析出16种有机硒化合物，包括常见的硒代蛋氨酸及甲基硒代半胱氨酸。

X500R QTOF系统拥有超快的扫描速度可以一针进样同时得到高质量的一级和二级质谱图，质量精度小于1 ppm、结合同位素分布、保留时间等多个维度准确快速提供鉴定结果。同时，对于有机硒化合物的非靶向分析，强大的SCIEX OS软件可直接根据同位素分布，过滤出含硒化合物，并且自动拟合出该化合物的分子式，对于推测出的结构式也可导入软件进行结构解析，整个过程快速简单，大大节省操作者的分析时间。总之，X500R QTOF系统为有机硒化合物的分析全面的解决方案。



参考文献

- [1] 张俊杰. 硒的生理功能及富硒强化食品的研究进展[J]. 微量元素与健康研究, 2006, 23(3): 58.
- [2] 茆广华. 灰树花子实体富硒及其硒多糖的研究[D]. 镇江: 江苏大学, 2014.
- [3] Anna Ruszczyńska, Anna Konopka, Eliza Kurek, et al. Investigation of biotransformation of selenium in plants using spectrometric methods[J]. Spectrochimica Acta Part B 2017, 130, 7–16.
- [4] Bienvenida Gilbert-López, Mihály Dernovics, David Moreno-González, et al. Detection of over 100 selenium metabolites in selenized yeast by liquid chromatography electrospray time-of-flight mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography B 2017, 1060, 84–90.
- [5] Adam J. Matich, Marian J. McKenzie, Ross E. Lill, et al. Selenoglucosinolates and their metabolites produced in Brassica spp. Fertilized with sodium selenite[J]. Phytochemistry 2012, 75, 140–152.

RUO-MKT-02-13822-ZH-A





应用电子活化解离（EAD）技术进行脂质氧化代谢物精细结构表征

SCIEX ZenoTOF™ 7600系统的EAD功能

Comprehensive structure analysis of oxidative metabolites of lipid compounds utilizing electron activated dissociation (EAD)

钟晨春，龙志敏

SCIEX中国，应用支持中心

Key words: ZenoTOF 7600; EAD; Lipidomics; Metabolites; Structure analysis

本工作展示了一个极具挑战性的不饱和甘油酯氧化代谢产物精细结构的确证以及流程化、简单化的氧化位点定位方法。使用电子活化解离技术 (EAD) 1,2可以使一个全新的深度表征成为常规可获得的完全自动化数据依赖采集 (DDA) 工作流程，包括SCIEX OS软件的处理过程。伴随组学分析研究和对化合物精准定性分析研究不断深入，对用于结构解析的分析工具要求也不断提升。传统的碰撞诱导解离 (CID) 技术在化合物氧化代谢位点具有很多局限性，具体表现在生成的氧化后结构和多个可能发生氧化的基团反应位点的判断能力上的局限性。而且产生的质谱碎片在灵敏度、重复性和检测速度上是有缺陷的。这些重要缺陷大大限制了质谱碎片作为脂质化合物精细结构表征技术的广泛使用。ZenoTOF 7600 系统 (图1) 具有在进行EAD碎裂功能同时使用Zeno™ trap (Zeno 阱) 技术提供高灵敏度。此外，定量重复性也能通过无试剂碎片化技术来完成。新型和复杂分子及其代谢物的结构表征可以在一个完全自动化的模式得到。使用这一创新设计型号的质谱，可以获得全面而高质量的MS/MS谱图，脂质代谢物结构表征以及氧化异构体的阐明。

RUO-MKT-02-14546-ZH-A



图1. SCIEX ZenoTOF 7600系统。该系统是一种新型质谱，它将易于使用性、高数据质量和普遍适用性充分结合

SCIEX ZenoTOF™ 7600系统的主要特点

- 脂质氧化代谢物精细结构分析：EAD配合快速DDA使质谱碎片技术可应用于日常、深度分析脂质及其相关代谢物的精细结构。
- 更高水平的结构信息：通过可调电子能量方法改变碎裂机制的原理，能提供更高水平的结构信息，特别适用于多反应位点异构体结构表征。
- 更高灵敏度的MS/MS：使用Zeno trap技术提高碎片的检测 (5-10倍) 能力，可以获得更高可信度的数据分配
- 流程化和使用便捷：用EAD和SCIEX OS软件在DDA模式下可以实现高度自动化的数据采集和自动化的数据解析使整个用户体验良好。



基于EAD技术的表征概览

碰撞诱导裂解 (CID) 是现今用于化合物定性分析的最常见MS/MS方法。然而，一些问题不能用CID来回答，因而回答这些问题需要不同的技术。其他碎片化技术在过去也一直在使用，但由于其灵敏度、重现性、采集速度以及样品前处理复杂的缺陷限制其更广泛的应用。

使用全自动方法作为数据依赖采集 (DDA) 工作流程一部分来解析脂质化合物及其代谢物存在着挑战，电子活化解离 (EAD) 是解决这些挑战的理想工具。

- 与其他质谱碎裂化技术相比，将EAD应用于脂质化合物的结构解析，可以明确每条脂肪酸链连接的具体位置及其不饱和键的位置。
- 易于分辨和定位不饱和脂质发生氧化的具体位置和形成的精准结构
- 识别脂质化合物的各种异构体是进行后续活性研究的关键点

实验分析条件

液质联用条件：样品通过串联ExionLC™系统的SCIEX ZenoTOF™ 7600系统进行分析。详尽方法列于表1和2。

数据处理：数据通过SCIEX OS软件 2.1中的定性功能（点击“Explorer”）进行处理。

表1. 色谱条件

参数	数值
色谱柱	Phenomenex Kinetex C18, 100 × 2.1 mm, 2.6 μm
流动相A	水:甲醇:乙腈 (1:1:1, 含5 mM乙酸铵)
流动相B	异丙醇 (含5 mM乙酸铵)
流速	0.3 mL/min
柱温	45 °C
进样体积	1 μL

时间 (min)	流动相A (%)	流动相B (%)
0	80	20
0.5	80	20
1.5	60	40
3.0	40	60
13.0	2	98
13.1	80	20
17.0	80	20

表2. SCIEX ZenoTOF™7600系统的质谱参数

参数	数值	参数	数值
气帘气	35 psi	源温度	550 °C
雾化气	55 psi	辅助气	50 psi
碰撞诱导解离气	9	离子喷雾电压	550 V
一级质荷比范围	200-2000	二级质荷比范围	100-2000
一级扫描时间	0.2 s	二级扫描时间	15 ms/ 35 ms (CID/EAD)
动态背景扣除	开	Zeno阱	开
去簇电压	80 V	碰撞能量	40 ± 20 (CID) 12 (EAD)

不饱和甘油酯氧化产物精细结构识别及氧化位点定位

CID提供卓越的重现性、良好的灵敏度，以及高采集速度，使其在开展代谢组学、脂质组学研究中，对复杂基质中的代谢物和脂质化合物有充分的覆盖，并与色谱分析具有可兼容性。然而，利用CID分析脂质化合物的精细结构还存在一定局限：以甘油三酯化合物为例，由于在对甘油三酯类化合物分析的CID模式中，通常只有C-O键会发生断裂，甘油母核上所连接的脂肪酸链具体连接的位置以及每条脂肪酸链上不饱和键所在的位置无法通过CID模式产生的质谱碎片直接判断，且这些位置异构的同分异构体，即便有单一标准品，也很难建立有效的色谱分离方法将其各自通过保留时间进行区分。

RUO-MKT-02-14546-ZH-A



对于一个发生了氧化反应的不饱和甘油三酯化合物 (TAG 18:1_18:1_18:1)，通过CID图谱显示其代谢物分子在发生氧化后比原型化合物多了一个氧原子，同时结构上多出的氧原子是添加在了其中一条不饱和的脂肪酸链上（图2上）。但氧化反应具体发生在哪条脂肪酸链上，以及氧化后具体形成什么样的结构，从CID图谱无从解析判断。而通过相应的EAD图谱我们可以发现氧化产物更多的碎片信息（图2下），由于在EAD模式下，甘油三酯化合物会发生甘油母核上C1-C2键的断裂，进而产生含有sn2和sn3链结构的特征碎片，即质荷比 m/z 为623.55，故可以判断在sn1链上连接的脂肪酸是C18:1，若氧化发生在sn1或sn3链（对称结构），则还会产生质荷比为607.56的碎片，但在EAD图谱中没有，故可以推断氧化仅发生在sn2链上。

对于氧化后形成的具体结构，由于单氧化产物有两条链还是保持原型，在产生碎片时可能会对氧化链的结构判断造成干扰，故而对在相同反应条件下产生的三氧化产物（每条链的不饱和键都发生了氧化）进行EAD图谱的解析（图3），每条链形成的氧化结构均相同。通过EAD MS/MS碎片解析，我们可以发现，在原本双键的位置（C9-C10）形成了CHOCH的结构，且其中存在对称的CH结构，故可以推断不饱和键氧化形成了三元环“氧桥”的结构，同理在发生单氧化时，也是在sn2链上形成相同的三元环“氧桥”结构。

对于氧化位点更加复杂的不饱和甘油三酯化合物 (TAG 18:2_18:2_18:2)，总共有6个不饱和键，均是潜在的氧化位点，通过CID模式仍然无法对氧化位点进行判断。在EAD图谱中（图4），通过甘油母核C1-C2键的特征断裂我们可以了解氧化反应优先发生在sn2链上，而sn2链上有C9-C10和C12-C13两个不饱和键位置，单氧化反应中是均会发生还是会优先发生在哪个位置也可以通过EAD图谱进行解析获得。通过EAD模式产生的甘油C1-C2特征断裂的规律我们可以了解到，与TAG 18:1_18:1_18:1氧化反应相同，氧化优先发生在sn2链上，且有多个氧化位点时会优先发生在C12-C13位置上。

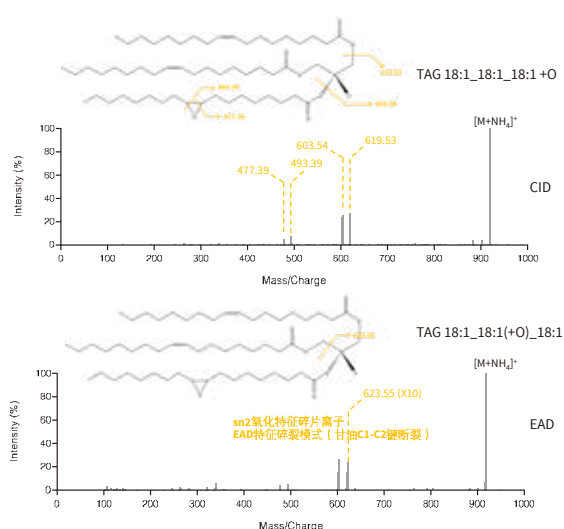


图2. TAG 18:1_18:1_18:1单氧化产物的MSMS图谱。不饱和甘油酯氧化产物分别用CID（上）和EAD（下）技术分析。使用CID的情况下，因为断键发生在C-O之间，仅能了解氧化发生在其中一条脂肪酸链上，而EAD产生的特征碎片可以确定氧化发生在sn2链。

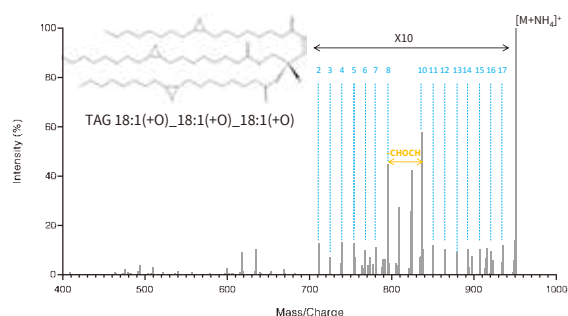


图3. TAG 18:1_18:1_18:1三氧化产物的EAD MSMS图谱。借助三氧化产物的脂肪酸链氧化产物碎片解析辅助了解单氧化产物的精细结构：不饱和甘油酯氧化产物用EAD技术分析，由于会特征的形成C-C单键断裂，因而可以帮助确定甘油酯化合物脂肪酸链的精细结构组成。

RUO-MKT-02-14546-ZH-A

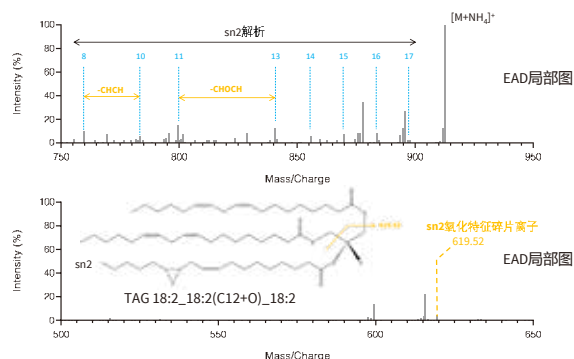


图4. TAG 18:2_18:2_18:2单氧化产物的EAD MSMS图谱。不饱和甘油酯氧化产物用EAD技术分析，通过甘油三酯特征断键规律以及脂肪酸链结构解析，可以了解多个不饱和键可能发生氧化时具体的氧化位点和形成的氧化结构。

结论

在自动化数据依赖采集（DDA）流程中，通过EAD产生的碎片可以高效解析脂质化合物及其代谢物的精细结构。

与传统飞行时间质谱相比，在高数据采集速度下，使用Zeno EAD可高效获得高灵敏度的碎片信息，使低丰度离子正确归属成为可能。

展示了对不饱和甘油酯氧化产物氧化位点的识别和精确定位，使用EAD技术促进组学研究中化合物复杂结构的精准表征。

使用ZenoTOF™7600系统和简单易用的SCIEX OS软件，在日常工作中应用二级质谱数据，使科学家和分析者们能够更加快速地解决具有挑战性的分析课题。

参考文献

1. Baba T et al. (2015) Electron capture dissociation in a branched radio-frequency ion trap, *Anal Chem*, 87, 785-792.
2. Baba T et al. (2021) Dissociation of biomolecules by an intense low-energy electron beam in a high sensitivity time-of-flight mass spectrometer. Accepted by *JASMS*.

RUO-MKT-02-14546-ZH-A



基于ZenoTOF™ 7600系统的不同品种藜麦食品组学研究

Foodomic Study of Different Varieties of Quinoa Based on ZenoTOF™ 7600 System

陈慧敏¹; 王淑芳²; 杨总¹; 刘冰洁¹; 郭立海¹

Chen Huimin¹, Wang Shufang², Yang Zong¹, Liu Bingjie¹, Guo Lihai¹

SCIEX, China¹

Jiangsu Academy of Agricultural Science, China²

Key words: Metabolomics; Lipidomic; Chenopodium quinoa; Zeno™ trap; EAD; ZenoTOF™ 7600

引言

藜麦（拉丁名：Chenopodium quinoa Willd.）是藜科藜属植物。富含蛋白质、不饱和脂肪酸、维生素和矿物质等营养成分，可以满足人体所需的基本营养，被誉为“太空食品”和“素食之王”^[1]。此外，藜麦具有耐寒、耐旱、耐瘠薄、耐盐碱等生理特点，对未来农业系统的发展具有十分重要的意义。我国于上世纪 80 年代引入藜麦，近些年开始呈现规模化种植。基于代谢组学和脂质组学进行藜麦的营养成分鉴定，品种产地鉴别很有意义。

本实验采用ZenoTOF™ 7600系统的非靶向脂质组学和代谢组学方法进行5个不同品种藜麦成分鉴定和品种鉴别。使用SCIEX OS软件对藜麦完成数据采集和数据分析工作，鉴定出藜麦中小分子代谢物及脂类成分，并进行五个品种的差异分析。

实验方案特点：

1. 实验对藜麦脂质组学和代谢组学进行了系统研究，综合分析藜麦品种的差异



2. SCIEX ZenoTOF™ 7600系统展示出良好稳定性，轻松应对大批量组学样本实验
3. Zeno™ trap（Zeno阱）帮助提升二级谱图质量，保证组学鉴定结果的准确性
4. 电子激活解离（EAD）碎裂技术方式，一针进样得到脂质全面的信息，脂类的头基、脂质骨架、特征诊断离子、脂肪酸链和双键位置信息，对脂质精细结构鉴定提供了有力的手段

1、样品制备

5个品种的藜麦各10份，共50份。加入液氮磨粉，分别提取脂质和小分子代谢物用于脂质组学和代谢组学研究。制备好的样品每个取10ul混合为质控样（QC）。

RUO-MKT-02-14781-ZH-A



2、实验条件

质谱系统：SCIEX ZenoTOF™ 7600系统；

扫描方式：ESI+/-TOF MS-IDA-30TOF MS/MS; 动态背景扣除开启；Zeno™ Trap 开启；扫描范围：代谢组学：一级m/z 60-1200，二级m/z 30-1200；脂质组学：一级m/z 200-1250，二级m/z 100-1250；

喷雾电压IS: 5500 V 源温度 TEM: 500 °C

气帘气 CUR: 30 psi 碰撞气 CAD: 7

雾化气 GS1: 50 psi 辅助气 GS2: 50 psi

3、结果与讨论

3.1 数据重现性和可靠性

SCIEX ZenoTOF™ 7600系统稳定性和抗污染能力保证数据重现性及真实性。每10针穿插一针QC，脂质组学样品及代谢组学样品在正离子模式和负离子模式下各自的6针QC总离子流图（TIC）重现性良好，见图1和图2。表明信号强度和保留时间稳定，采集到的大批量组学样本结果可靠，可以用来进行差异分析。

3.2 EAD技术在食品组学的应用

脂质鉴定过程中，以卵磷脂（PC）为例，传统CID碎裂模式需要正离子模式采集数据确定脂质的类别，负离子模

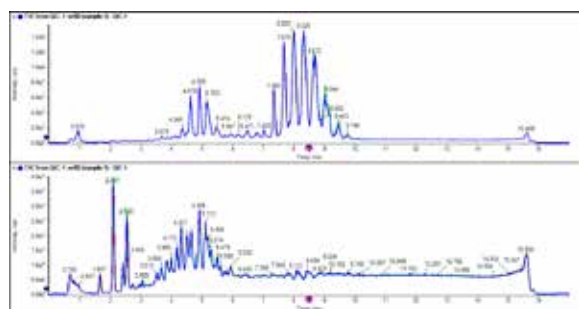


图1. 脂质组学样品6针QC叠加的正离子模式（上）和负离子模式（下）总离子流图

RUO-MKT-02-14781-ZH-A

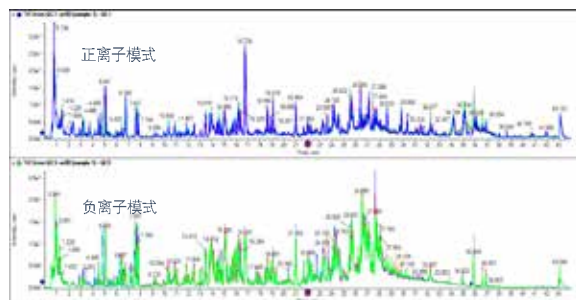


图2. 代谢组学样品6针QC叠加的正离子模式（上）和负离子模式（下）总离子流图

式采集一针数据得到脂肪酸链信息。共同确证才能确定两条脂肪酸链的具体信息，若存在不饱和双键无法确定不饱和和双键位置（图3）。采用EAD碎裂模式可以一针进样得到脂质丰富的碎片信息，通过m/z 184.0801、m/z224.1065、m/z 226.0858判断为PC类脂质，诊断离子m/z 489.3200判断第二条脂肪酸链为FFA18:2，根据EAD模式碎裂单键而不碎裂双键的特点，脂肪酸链的单键断裂会有规律的差-CH₂质量数差14，可在二级谱图上看到连续差15个14da的碎片，这就是脂肪酸链16:0产生的碎片。而双键出现的位置即为质荷比差值为26（-C₂H₂）的位置，因此可以确认脂肪酸链18:2上C8和C10之间以及C11和C13之间为双键位置，准确的鉴定出脂质化合物精细结构为PC sn1 16:0/sn2 18:2(n-12, n-9)（图4）。

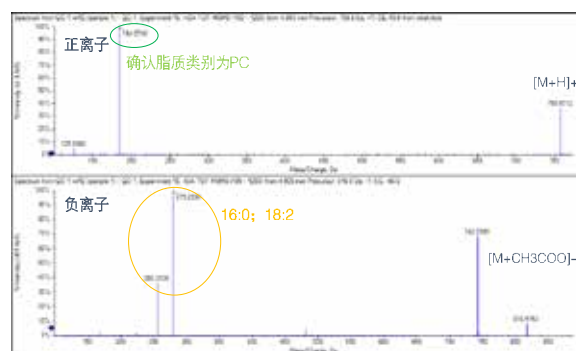


图3. 脂质PC16:0-18:2(n-12,n-9)的CID模式下的二级质谱图

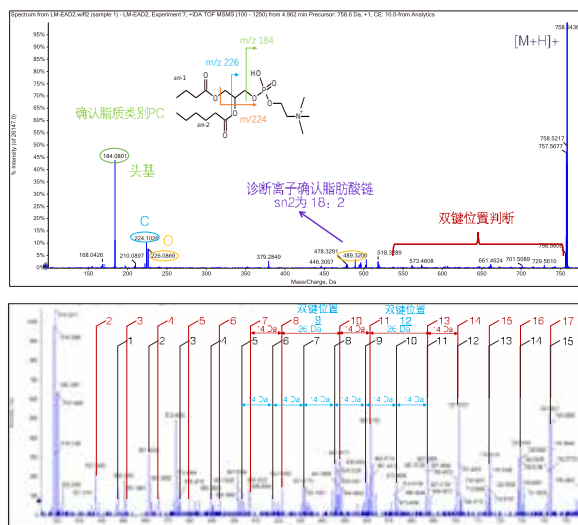


图4. 脂质PC16:0-18:2(n-12,n-9)的EAD模式下的二级质谱图及结构确认(上); 二级谱图部分放大及双键位置确认(下)

3.3 Zeno™ trap在食品组学的应用

Zeno™ trap的阱集能力可以使得即使很低的碎片依旧可以得到, 提高所有检测到的化合物二级质量, 从而帮助更准确的判断化合物结构提高鉴定到的化合物数目。我们采集到的代谢组学数据表明, 开启Zeno™ trap可以使二级谱图质量评估>80分的比例从56% 提升至96%。橘皮素的

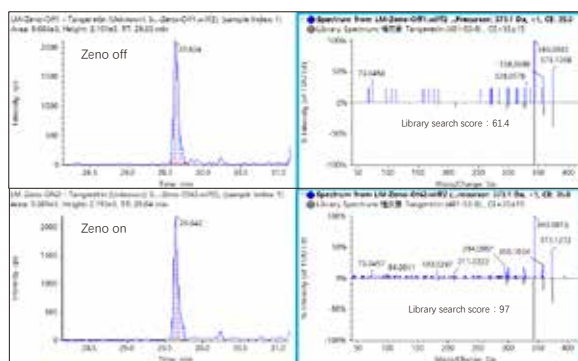


图5. 橘皮素鉴定时二级谱图库匹配结果在Zeno off (上) 与Zeno on (下) 对比

RUO-MKT-02-14781-ZH-A

鉴定情况也可以展示出Zeno™ trap对于二级谱图的响应增强使得鉴定结果的可靠性显著提高(图5)。

3.4 脂质组学鉴定结果

基于SCIEX ZenoTOF™ 7600系统通过非靶向脂质组学技术共鉴定到16大类, 384种脂质(图6)。藜麦中脂质含量最多的是甘油酯, 卵磷脂和游离脂肪酸。对五个品种藜麦中鉴定到的脂质的峰面积进行统计学分析筛选出154个差异脂质分子可以用于不同品种藜麦的区分。偏最小二乘法判别分析(PLS-DA)结果见图7, 可以看出品种4在脂类化合物与其他品种有较大差异。

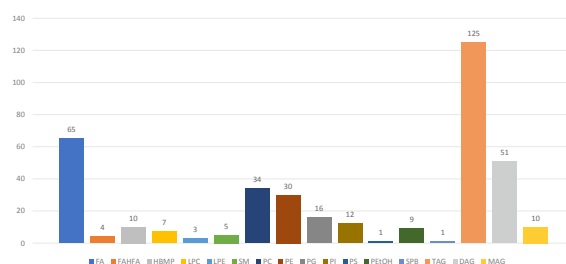


图6. 藜麦的脂类化合物鉴定结果

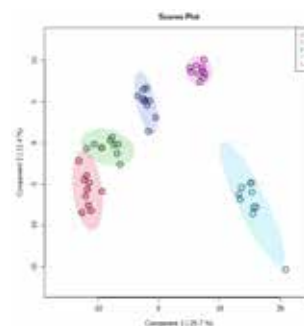


图7. 五个品种藜麦中代谢物的PLS-DA图

3.5 代谢组学鉴定结果

结合SCIEX代谢物数据库和天然产物数据库共鉴定到藜麦中246个化合物, 个数占比最高的为皂苷类, 黄酮类和氨基酸相关化合物(图8)。利用五个品种藜麦中鉴定到的代



谢物峰面积进行PLS-DA分析，图9可以看出几个品种藜麦代谢组成具有显著差异，但品种4和5差异较小；并且筛选出55个差异组分可以用于不同品种藜麦的区分。

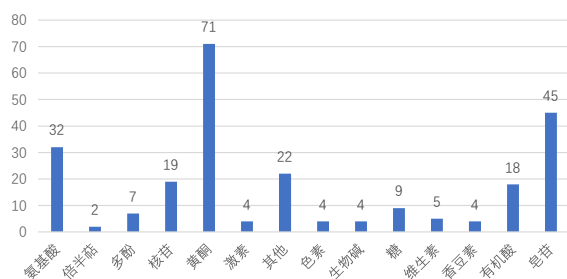


图8. 藜麦的代谢物鉴定结果分布图

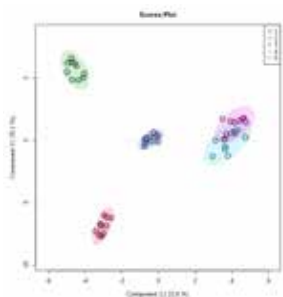


图9. 五个品种藜麦中代谢物的PLS-DA图

4、总结

本文使用SCIEX ZenoTOF™ 7600系统建立了藜麦非靶向脂质组学和代谢组学方法。Zeno™ trap技术显著提升了组学样本二级质量，提高定性结果的准确性。EAD碎裂技术产生区别于CID碎裂方式的二级碎片信息,帮助鉴定脂质精细结构。ZenoTOF™ 7600系统采集的数据保证得到全面丰富的鉴定结果，帮助进行藜麦成分鉴定和品种鉴别。

参考文献

1. 肖正春, 张广伦. 藜麦及其资源开发利用[J]. 中国野生植物资源, 2014, 33(2): 62-66.

RUO-MKT-02-14781-ZH-A



ZenoTOF™ 7600系统在红菜苔产地溯源中的应用

The application of Zeno TOF™ 7600 in traceability of the origin of Purple Flowering Chinese Cabbage Brassica Chinensis Var. Purpurea.

赵刘清¹, 杨明², 杨总¹, 刘冰洁¹, 郭立海¹

Zhao Liuqing¹, Yang Ming², Yang Zong¹, Liu Bingjie¹, Guo Lihai¹

SCIEX China¹

武汉食品化妆品检验所, 武汉, 中国²

Wuhan Food and Cosmetics Inspection Institute, Wuhan, PR China²

Keywords: Purple Flowering Chinese Cabbage
Brassica Chinensis Var. Purpurea.; Zeno™ trap; EAD;
ZenoTOF 7600

1. 引言

红菜苔, 又名“芸菜苔”、紫菜苔。色紫红、花金黄, 作为湖北冬春的主要蔬菜, 其营养价值很高, 含有丰富的铁、磷、钙、胡萝卜素和维生素类等营养成分, 加之其品质佳、风味独特, 已日益深受广大消费者的喜爱和关注。红菜苔的起源地为现在的武昌洪山公社学田垌, 洪山菜苔过去还是湖北历年向皇帝进贡的优良土特产, 曾封为“金殿玉菜”。红菜苔在武汉栽培历史是久远的, 解放后为了满足人民对特产蔬菜的需求, 红菜苔的种植面积逐年增加, 开始在全国各地引种试种。不同产地的红菜苔由于地域、气候、水源不一样, 营养含量各有千秋。本试验选用红菜苔作为试验对象, 使用SCIEX ZenoTOF 7600系统对湖北四个不同产地孝感、汉川、嘉鱼及金口的红菜苔, 分析其四个不同部位茎、花、皮、叶营养成分的差异。

实验方案的优势和特点如下:

- 1、在信息依赖性 (IDA) 采集模式下, 133Hz超高扫描度不仅提高采集二级谱图的数目, 而且兼顾分辨率和灵敏度。
- 2、启用Zeno™ trap (Zeno阱) 功能可以提高化合物的二级谱图质量, Zeno可显著提升二级响应, 对于所鉴定到的化合物大部分提高5-20倍, 使得谱库检索得分更高, 鉴定更准确。
- 3、电子激活解离 (EAD) 碎裂技术可以获得更多的二级碎片, 提高库匹配定性分析结果准确性、使得未知物的鉴定结果更加准确。
- 4、OS软件结合高分辨天然产物二级标准谱库, 可快速进行谱库的匹配, 保证鉴定的结果快速、准确, 共发现183种营养成分。
- 5、四个产地的红菜苔各不同部位营养物质的含量存在非常显著差异; 四个产地来源的红菜苔茎中营养物质种类和绝大多数化合物的含量均低于其他部位, 尤其是一些黄酮类抗氧化物质。

RUO-MKT-02-14846-ZH-A



2、实验方法

2.1 样品前处理

样品研磨成细粉，称量0.5 g粉末装到在15 mL离心管中，加入2 mL 50% 甲醇水，超声提取10 分钟，在4℃，15 000 rpm条件下离心。最后，取上清液通过聚0.22 μm尼龙膜过滤，转入样品瓶进行UPLC-MS/MS分析。

2.2 质谱条件

采集方式：TOF MS-IDA-MS/MS

去簇电压DP: 60V

碰撞能量CE:40 ± 20 eV

一级质谱图扫描范围：50-1200 Da

二级质谱图扫描范围：30-1200 Da

扫描模式：详细质谱条件见表2

表2. 质谱条件

质谱条件	参数
电喷雾电离 (ESI)	正负
气帘气CUR (psi)	35
碰撞气CAD (psi)	8
喷雾电压IS (V)	5500/-4500
温度TEM (°C)	500
雾化气GS1 (psi)	50
辅助雾化气GS2 (psi)	55

3、结果与讨论

3.1 Zeno Trap技术在代谢组学研究中的应用

在代谢组学研究中，代谢物的准确鉴定尤其重要，而对于准确鉴定必须通过高质量的二级质谱图，因此获得优异的二级灵敏度，至关重要。ZenoTOF™ 7600系统上使用Zeno™ trap，将占空比提高到大于90%，减少了离子损失，实现更高的MS/MS灵敏度。Zeno On（开启Zeno Trap功能）与 Zeno Off（关闭Zeno Trap 功能）相比，对于所鉴

定到的化合物大部分二级提高5-20倍。以萝卜硫素为例，二级响应提升了10倍（图1）。

IDA模式下，如图2所示，同一样品在Zeno on 时黄嘌呤二级质谱图匹配得分为100分，碎片m/z 110.03的强度为500 cps，在Zeno off时所得二级谱图的库匹配得分为49.8分，m/z 110.03的强度为60 cps。Zeno™ trap可显著提升二级响应，实现更高二级定量灵敏度和二级定性准确度。

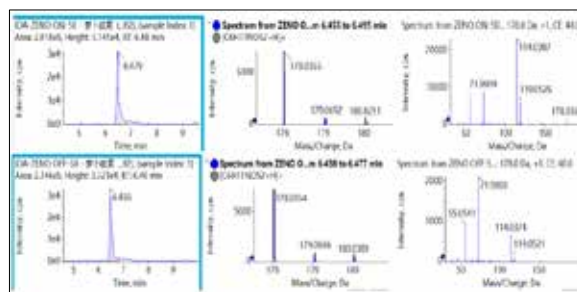


图1. 萝卜硫素Zeno on（上）与Zeno off（下）采集方式对比

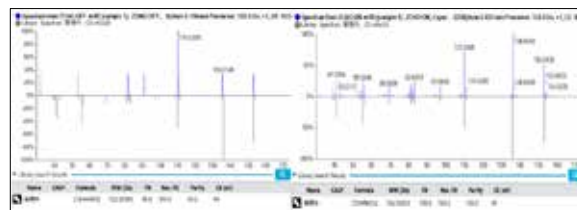


图2. 黄嘌呤二级质谱图匹配结果在Zeno off（左）与Zeno on（右）对比

3.2 EAD碎裂技术提供更多碎片信息

对于化合物鉴定而言，通常情况下应用碰撞诱导解离（CID）方法产生离子碎片进行定量和定性鉴定。对于某些化合物CID只能产生很少的确证碎片，不足以进行准确的碎片归属，导致鉴定结果不准确。ZenoTOF™ 7600系统上不仅仅具备CAD功能同时具有电子活化解离（EAD）碰撞技术，该技术是一种电子自由基的解离技术，可以对化合物进行选键裂解。如图3所示，没食子儿茶素在EAD碎裂技术下产生更丰富的碎片，化合物的碎片归属更多更准确，为化合物准确的定性鉴定提供了更有利的手段。

RUO-MKT-02-14846-ZH-A

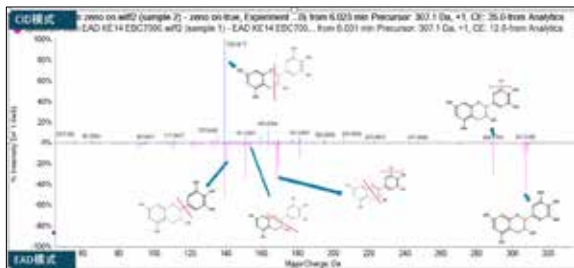


图3. 没食子儿茶素CID (上) 碎片与EAD (下) 对比

3.3 差异性分析

使用专门组学软件对茎里鉴定的化合物进行差异分析，PCA (主成分) 分析结果显示四个产地红菜苔的茎中化合物能够得到有效区分 (图4)。根据t 检验结果选取差异最大的前60个化合物做热图 (图5)，发现孝感、金口来源的红菜苔茎中生物碱告依春、两种硫代葡萄糖苷云蔓葡萄糖苷以及萝卜硫苷远高于汉川、嘉鱼来源；汉川的红菜苔茎中含有更高含量的酚酸和糖分。

对孝感来源红菜苔不同部位进行化合物含量分析，PCA分析结果显示孝感来源红菜苔的不同部位化合物的种类和含量存在十分显著的差异 (图6)，根据t 检验结果选取差异最大的前60个化合物做热图，发现孝感来源的红菜苔茎中所含的营养物质种类大概是140，少于其他部位，尤其是一些黄酮糖苷类，在茎中几乎没有鉴定到；相比较来说，在花中和叶中含有更高含量的营养物质。

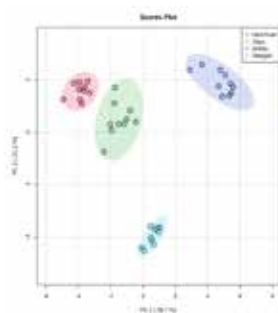


图4. 四个产地红菜苔茎中化合物主成分分析图

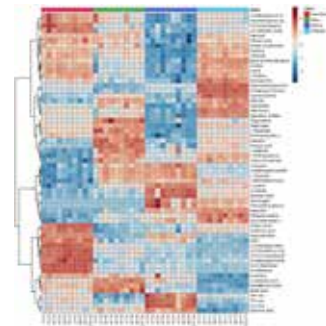


图5. 四个产地红菜苔茎中化合物热图 (取t 检验前60)

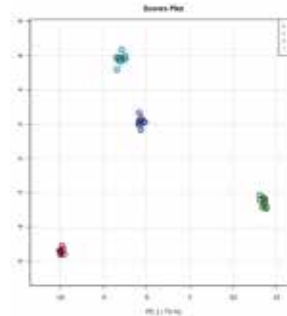


图6. 孝感来源红菜苔不同部位化合物主成分分析图

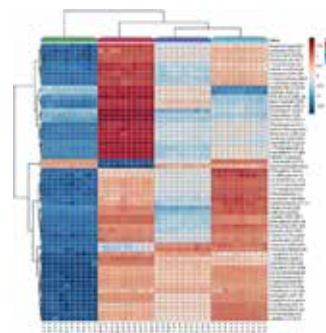


图7. 孝感来源红菜苔不同部位化合物热图 (取t 检验前60)

RUO-MKT-02-14846-ZH-A



4、结论

基于高分辨ZenoTOF™ 7600系统对四个不同产地孝感、汉川、嘉鱼、金口红菜苔的茎、花、皮、叶进行分析，结合SCIEX高分辨天然产物及代谢物库数据库等对成分进行快速鉴定，共发现183种营养成分。四个产地的红菜苔各不同部位营养物质的含量存在非常显著差异。

高分辨质谱7600系统在超快的扫描速度（133Hz）下一针进样同时获得一级和二级质谱图，通过高质量的二级质谱图，保证了鉴定结果准确性；并且兼顾分辨率、灵敏度、准确度；特有的Zeno Trap技术显著的提高了二级灵敏度，进一步提高了二级质谱图的质量，从而提高鉴定结果的准确性；特有的EAD技术，提供区别于CID的更多二级碎片，更有利于结构解析和结构确证。

RUO-MKT-02-14846-ZH-A





SCIEX ZenoTOF™ 7600系统在柑橘代谢组学研究中的应用

Application of SCIEX ZenoTOF™ 7600 in Citrus Metabolomics

陈西², 侯雪¹, 贺光云¹, 赵祥龙², 刘冰洁², 郭立海²

Chen xi², Hou xue¹, He guangyun¹, Zhao xianglong², Liu bingjie², Guo lihai²

¹ 四川省农业科学院农业质量标准与检测技术研究所;

² SCIEX中国

¹ Institute of Quality Standard and Testing Technology for Agro-Products, Sichuan Academy of Agricultural Sciences;

² SCIEX China

Keywords: Zeno™ trap; Citrus; Metabolomics; Citric acid

前言

柑橘果实有特殊的色香味, 并且富含糖、矿物质、维生素、碳水化合物和抗氧化剂等营养成分, 因此深受广大消费者喜爱^[1]。然而, 作为商品, 消费者在选择过程中相比营养价值的高低往往更注重其风味。柑橘的甜酸度是消费者选择的重要依据之一, 因此也成为了影响商品柑橘的收获时间及种植者收入的主要因素^[2]。

柑橘的甜度取决于糖含量和总酸度之间的适当比例^[3]。除气候、土质和采收时间的选择外, 合理施用有增甜功效的农药(肥料)也可以有效改善柑橘的甜酸风味, 提高柑橘的品质^[4]。由于施加的农药(肥料)可能会在植物中富集, 因此在增甜农药的选择中因注意该产品是否会对人类、果树和土壤环境造成危害。

市场上用于水果增甜的农药多种多样, 有的增甜剂并无外包装和商标, 为“三无产品”, 但经过走访果农发现其确有良好的增甜效果, 因此有必要对其增甜机制和对植物的影响进行研究。

本方案基于SCIEX ZenoTOF™ 7600系统, 建立了一种非靶向植物成分筛查方法, 结合SCIEX天然产物谱库中的二



SCIEX ZenoTOF™ 7600系统

级谱图, 对柑橘果肉中的成分进行了全面的分析和鉴定。该方法一针进样可同时完成高质量的一级和二级质谱图采集, 数据全面、覆盖度高; SCIEX ZenoTOF™ 7600系统独特的Zeno MS/MS技术还可以大大提高二级碎片的灵敏度, 增加鉴定的准确性。为分析增甜剂的作用机制和对柑橘代谢特征的影响, 鉴定结果被进一步用于对喷施某增甜剂的柑橘及其对照组进行代谢差异分析。此方法的建立不仅有助于本实验中柑橘成分的研究, 也可扩展至其他植物成分分析。

ZenoTOF™ 7600系统的技术特点和优势:

RUO-MKT-02-14784-ZH-A



1、更高的二级扫描（MS/MS）速度和灵敏度

Zeno™ trap通过优化从碰撞池到加速器的离子传输，将离子占空比提高到≥90%（常规仪器的占空比为5-25%）^[5]，可在高采集速度（最高133Hz）的同时显著提高MS/MS灵敏度。二级质量的改善可在复杂基质中显著提升化合物鉴定的可靠性。

2、更高灵敏度的二级定量

ZenoTOF™ 7600系统承袭了SCIEX高分辨质谱系统独特的MRM^{HR}二级定量方式，并且在开启Zeno trap后，可获得约10倍的灵敏度提升。

3、数据全面，可扩展性强

一针进样同时采集到大量优质的一级和二级数据，不仅方便使用者在后续进行不同角度的数据分析和随时回溯还可扩展适用于其他工作流程。

4、强大的软件支撑

OS软件通过数据的一级质量数、同位素丰度比、保留时间和高分辨二级质谱图这“四大关”进行目标化合物筛查，专业的天然产物二级谱库（包括有机酸、黄酮、多酚等在不同能量下的二级谱图），快速高效的提供更准确的定性筛查结果；MarkerView™软件可根据需要进行多元统计分析。

实验方法

1. 液相条件：

流动相：A相：0.05%甲酸水溶液
B相：甲醇-乙腈（1:1，含0.05%甲酸）

流速：0.3 mL/min；

进样量：1 µl

洗脱程序：

Time(min)	A (%)	B (%)
0.0	95	5
1.0	95	5
7.0	50	50
13.0	30	70
17.0	2	98
22.0	2	98
22.1	95	5
25.0	95	5

2. 质谱方法：

离子源：ESI源，正/负离子模式

扫描模式：TOF MS-IDA-TOF MS/MS; Zeno on

扫描范围：TOF MS: 50-1200 Da; TOF MS/MS: 30-1200 Da

气帘气 CUR: 35 psi 碰撞气 CAD: 8

雾化气 GS1: 50 psi 辅助气 GS2: 55 psi

IS电压: 5500 V / -4500 V 源温度 TEM: 500°C

DP电压: 80 V / -60 V 碰撞能量: 40 ± 20 / -40 ± 20

3. 样品的收集和制备

四川某地春见（耙耙柑）果树，分为施加增甜剂和未施加增甜剂（对照组）两组，待果实成熟后每组随机采集约三公斤为一个样本，每组采集20个样本。从每个样本中随机选出3个果实，剥皮后取果肉匀浆。

取匀浆后的果肉约5 g至50 mL离心管中，加入15 mL甲醇（含0.1%甲酸），涡旋混匀，再超声提取30 min，8000 r/min离心5 min，取出上清液转移至另一50 mL离心管中，残余物按上述操作重复提取2次，合并上清液并用提取溶剂定容至50 mL，摇匀，经0.22 µm微孔过滤膜过滤后，4°C保存待分析。

质控样品（QC）取所有待分析样品各100 µl至5 mL离心管中，涡旋混匀。

RUO-MKT-02-14784-ZH-A



结果与讨论

1. 数据质量

好的数据重复性是组学研究的前提，本实验通过在样品间穿插QC样品，对数据的重复性进行了监测，从图1可以看出，不同极性和质荷比的化合物在保留时间和峰面积两个维度均有良好的重复性。

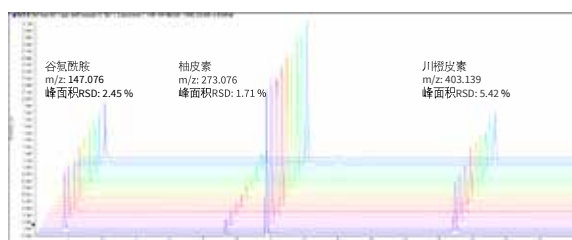


图1. 正离子模式8个QC数据中三个典型化合物的提取离子色谱图 (XIC)

数据的全面性是有效成分筛查和鉴定的保障，ZenoTOF™ 7600系统的核心创新是在Q2碰撞池组件的末端增加了一个Zeno™ trap(Zeno阱)，通过提高离子占空比到90%以上使二级质谱图质量得到改善。如图2所示，在扫描速度均为10Hz的条件下，一针进样，即能采集到超过10000张二级谱图，当Zeno阱开启时，二级质谱图响应提高了10倍以上。

2. 化合物鉴定

植物中成分复杂多样，且有较多同分异构体，因此，仅有准确的一级无法对化合物进行确证。针对大量样本，SCIEX OS软件可自动进行峰提取和搜库，通过一级质量数、同位素丰度和二级碎片的匹配对化合物进行鉴别 (图4)，使筛查流程快速准确。

ZenoTOF™ 7600系统新增的Zeno trap功能，在开启时可以有效提高化合物的二级质量，使低浓度化合物也能够准确匹配谱库，从而提高化合物鉴定的个数和准确度 (图

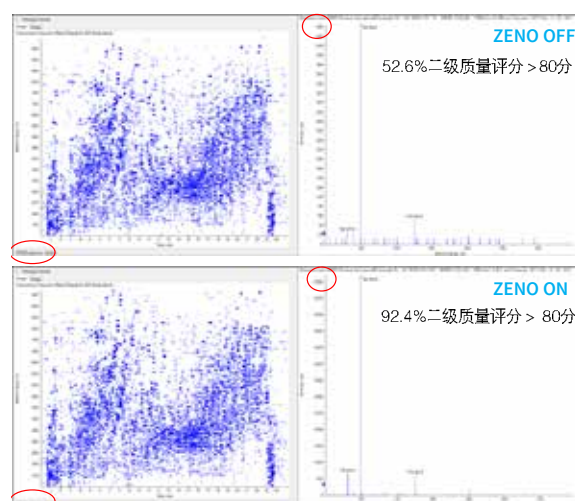


图2. 正离子模式QC样品的IDA示意图：在扫描速度相同 (均为10Hz) 的情况下，均能得到1w张以上的二级质谱图，且在开启Zeno trap时，二级质谱图质量明显更优。

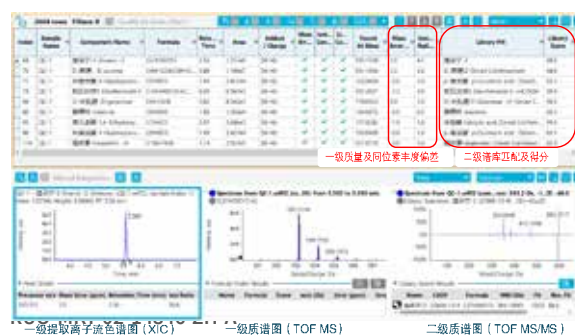


图4. SCIEX OS软件典型筛查流程展示

5)。鉴定出的化合物还可在同一台仪器上进行二级定量 (MRM^{HR})，在开启Zeno trap时，同样可以提高二级定量的灵敏度 (图6)。本次实验从柑橘果肉中共鉴定出了包括有机酸、黄酮类、脂类和糖在内的142个天然成分。

RUO-MKT-02-14784-ZH-A



图5. 某样本中咖啡酰蔗糖在开启和关闭Zeno trap时的二级谱库匹配结果对比：在母离子响应相同的情况下，Zeno trap将二级响应提高了12倍以上，谱库匹配得分也由79分上升到96分，增加了对鉴定结果的信心。

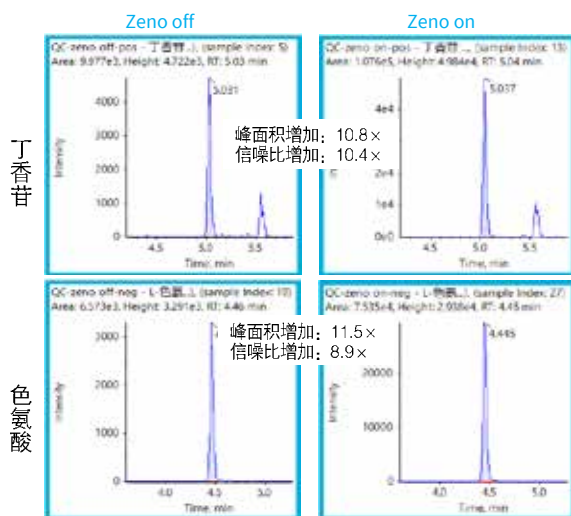


图6. 丁香苷（正）和色氨酸（负）在开启和关闭Zeno trap时，MRM色谱图的灵敏度均提高10倍左右。

3. 统计分析

实验利用Markerview™ 软件1.3.1对处理组（Sample）、对照组（Control）和质控组（QC）样品数据进行PCA-DA分析，从图7可以看出，处理组和对照组的

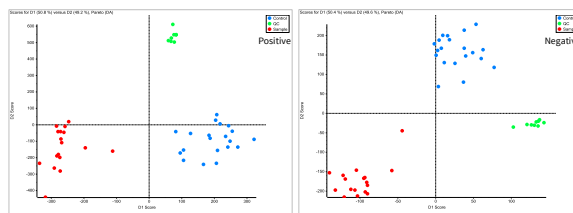


图7. 正（左）、负（右）离子模式下，处理组（红）、对照组（蓝）和QC（绿）样品的PCA-DA分析图。

数据聚类良好并且明显分离。说明经过增甜剂处理后的果肉成分与对照组比确实发生了明显变化。

将鉴定出的化合物导入软件，进行差异分析，以 t 检验 $p < 0.01$ 且 $\text{fold change} > 0.75$ 为标准，筛选出了37个差异物，处理组中除咖啡酸等少数几个化合物相较于对照组上调以外，包括柠檬酸和脂质在内的大量化合物均下调（图8）。

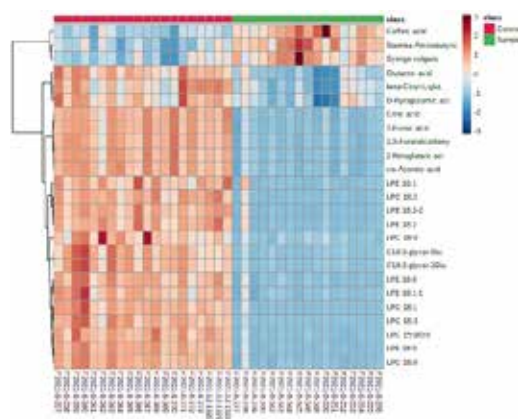


图8. 差异最大的前25个化合物的热图。

柑橘的甜酸风味主要受糖、酸含量及糖酸比的影响。柑橘中最主要的有机酸为柠檬酸^[6]，最主要的糖为果糖、葡萄糖和蔗糖^[7]。图9显示了两种单糖的总量、蔗糖和柠檬酸含量的对比结果，经过增甜剂处理的果肉样品中柠檬酸含量明显低于对照组，单糖（葡萄糖和果糖）含量略高于

RUO-MKT-02-14784-ZH-A

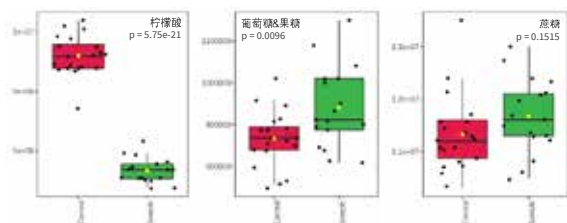


图9. 正（左）、负（右）离子模式下，处理组（红）、对照组（蓝）和QC（绿）样品的PCA-DA分析图。

对照组，而蔗糖含量没有明显区别。柠檬酸在果实生长发育过程中，是由可溶性糖经三羧酸循环合成的^[8]说明该增甜剂的主要作用机制为通过调控三羧酸循环，降低柠檬酸含量来提高糖酸比。

总结

本方案基于SCIEX ZenoTOF™ 7600系统建立了一种高效的柑橘中营养物质的鉴定及代谢组学研究方法，并将该方法应用于研究某水果增甜剂的增甜机制和对柑橘代谢的影响。

ZenoTOF™ 7600系统在高扫描速度的基础上通过Zeno™ trap技术使二级灵敏度增加约10倍，使化合物鉴定更加可靠，且碎片离子的响应提高还可以用于更高灵敏度的准确定量。OS软件结合Markerview™软件，可轻松实现从鉴定、定量到统计分析的完整工作流程。

参考文献

- [1] 丁晓波, 张华, 刘世尧, 等. 柑橘果品营养学研究现状[J]. 园艺学报
- [2] Syed Bilal Hussain, Cai-Yun Shi, et al., Recent Advances in the Regulation of Citric Acid Metabolism in Citrus Fruit. Critical Reviews in Plant Sciences
- [3] Baldwin, E. A. Citrus fruit. In: Biochemistry of Fruit Ripening (pp. 107–137).
- [4] 罗曾玲, 徐素珍. 柑橘的甜酸风味及生产管理措施分析; 罗曾玲徐素珍. 乡村科技
- [5] Qualitative flexibility combined with quantitative power -Using the SCIEX ZenoTOF 7600 LC-MS/MS system, powered by SCIEX OS software. SCIEX technical note, RUO-MKT-02-13053-A.
- [6] Etienne, A., G_enard, M., et al., What controls fleshy fruit acidity? A review of malate and citrate accumulation in fruit cells. J. Exp. Bot. 64: 1451–1469.
- [7] 曾祥国. 不同种类和产区柑橘糖酸含量及组成研究 [D]. 华中农业大学, 2005.
- [8] LIN Qiong, et al. Low temperature induced changes in citrate metabolism in Ponkan (Citrus reticulata Blanco cv. Ponkan) fruit during maturation. Plos One, 2016.

RUO-MKT-02-14784-ZH-A



使用SCIEX ZenoTOF™ 7600系统快速发现和鉴定雪腐镰刀菌烯醇代谢产物

Discovery and identification of NIV metabolites on the SCIEX ZenoTOF™ 7600 system

李广宁¹, 孙小杰¹, 刘冰洁¹, 郭立海¹

Li Guangning¹, Sun Xiaojie¹, Liu Bingjie¹, Guo Lihai¹

1. SCIEX 中国

Keywords: NIV, SCIEX ZenoTOF™ 7600 system, Metabolites

引言

雪腐镰刀菌烯醇 (Nivalenol, NIV) 是单端孢霉烯族毒素之一, 其化学结构为倍半萜烯类结晶状化合物, 易溶于水、乙醇等溶剂, 性质稳定, 一般的烹煮烘焙加工和发酵方法均难以破坏该毒素。目前已知NIV广泛地存在于自然界之中并污染粮食, 被认为是小麦赤霉病主要天然毒素之一, 对人畜构成很大危害, 可引起人畜中毒。自1970年代NIV发现以来, 其毒理研究一直被广泛关注。目前已有NIV在猪及小鼠体内药物脱毒相关代谢产物的研究。

我们利用细胞孵育的方式结合SCIEX ZenoTOF™ 7600 系统尝试进行NIV在细胞中的代谢产物研究, 通过ZenoTOF™ 7600 系统对经过孵育后冻干细胞破碎后进行数据采集, 结合SCIEX专有的代谢物分析Molecule Profiler软件进行相关数据处理, 可快速的发现和鉴定NIV在细胞内的代谢产物。

该方案具有以下特点:

1. **高灵敏度:** Zeno™ trap(Zeno 阱)技术可显著提高二级碎



SCIEX ZenoTOF™ 7600 系统

片的检测能力, 从而获得更高可信度的谱图信息。

2. **多维度结构信息:** 除经典的碰撞诱导裂解 (CID) 模式外, ZenoTOF™ 7600 系统还可进行无试剂碎片化的电子活化解离 (EAD) 碎裂功能, 为化合物鉴定提供多维度的全面的数据信息。
3. **高效准确的鉴定流程:** Molecule Profiler软件结合SCIEX OS软件可快速从复杂数据中定位有价值的目标代谢物, 方便快捷且准确。

1 实验方法

1.1 液相色谱条件

RUO-MKT-02-14652-ZH-A



色谱柱: BEH C18 1.7 μ m 100 $\times$ 3.0 mm

流动相: 水相 (水中含有0.05%甲酸), 有机相为乙腈, 流速为0.4 ml/min梯度洗脱

TIME(min)	A (%)	B (%)
0	95	5
8	70	30
13	5	95
15	5	95
15.1	95	5
18	95	5

1.2 质谱条件

扫描模式: 负模式

离子源: 电喷雾电离源

质谱参数:

Parameter	TOF MS (Survey)	CID MS/MS	EAD MS/MS
Start Mass	50	50	50
Stop Mass	1000	1000	1000
Accumulation time (sec)	0.15	0.035	0.035
Maximum IDA Candidates	15		
CE (volts)	-10	-35	-12
eV*			12
nA*			6000

*EAD only values

1.3 数据处理流程

使用SCIEX OS软件结合Molecule Profiler软件进行代谢物的发现及鉴定, 同时结合SCIEX OS软件的Fragments Pane插件进行质谱数据的解析。

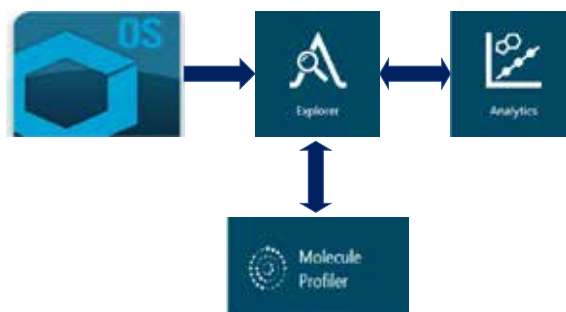


图1. 代谢物鉴定流程

2 结果与讨论

2.1 Zeno™ trap实现更多代谢物发现, 灵敏度提高

由于药物在体内代谢中所产生的代谢物往往含量较低, 不易被发现, 这就对质谱仪器的灵敏度提出了更高的要求。ZenoTOF™ 7600系统上使用Zeno™ trap, 将二级质谱碎片采集的占比增益提高到了大于90%, 减少了离子损失, 从而实现更高的MS/MS灵敏度。我们发现在DDA采集模式下, 开启Zeno可采集到更多包含二级碎片信息的有效色谱峰 (图2)。以原药NIV为例, 当开启Zeno时, 其提取离子流色谱信号约有7倍左右的增强 (图3)。实际应用中, Zeno的开启可有效的提高包含二级碎片信息的有效峰的采集效率, 从而帮助发现更多的代谢产物。

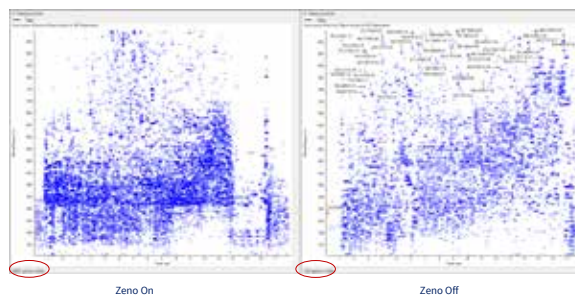


图3. Zeno开启可采集到更多的有效色谱峰

RUO-MKT-02-14652-ZH-A

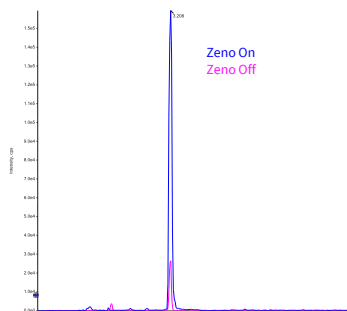


图4. NIV在Zeno开启前后响应变化

2.2 电子活化解离 (EAD) 碎裂功能提供全面的二级碎片信息

经典的MS/MS碎片采集方式多利用碰撞诱导裂解 (CID)，在中性气体 (N_2) 存在的条件下，通过加速离子使其碎裂。但是在某些情况下 (如某些三萜类或倍半萜类化合物)，随着碰撞电压的增强，有些化合物不易产生特征性的碎片，而是产生大量不易鉴定的重排碎片，这无疑为代谢物的鉴定增加了困难。ZenoTOF™ 7600 系统除经典的碰撞诱导裂解 (CID) 模式外，还可进行无试剂碎片化的电子活化解离 (EAD) 碎裂功能，从而提供不同碎裂模式的特征碎片。

NIV毒素是一种倍半萜烯类化合物，我们发现在CID模式下，其在较低的碰撞能量下都会产生大量的重排碎片，二级质谱图非常复杂。而其在EAD模式下，则可以以相对“柔和”的方式进行碎裂，其碎片也具有一定特征性。结合EAD模式进行相关的代谢物鉴定，可使鉴定结果更准确可靠。

2.3 NIV代谢产物的鉴定

同时使用CID及EAD两种碎裂模式对NIV的代谢产物进行了鉴定，鉴定到的化合物见图6，在鉴定过程中，针对部分化合物，比如NIV-Sulphate，因为NIV有多个氧化位点，CID模式因为大量重排无法有效判断硫酸化的结合位点，结合EAD的碎片信息，通过EAD独有的m/z 154及m/z 230可判断其硫酸化位点为15位，详见图7。

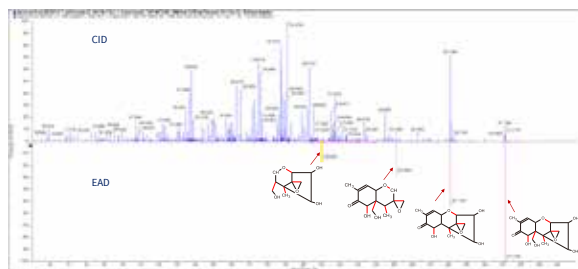


图5. NIV在不同碎裂模式下的二级谱图信息

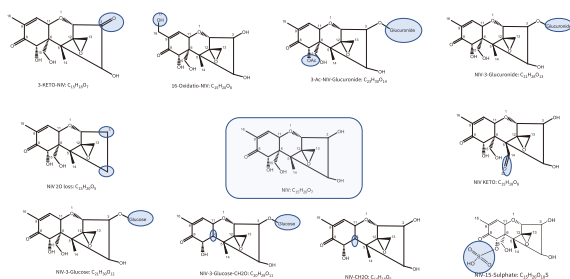


图6. NIV的代谢产物鉴定

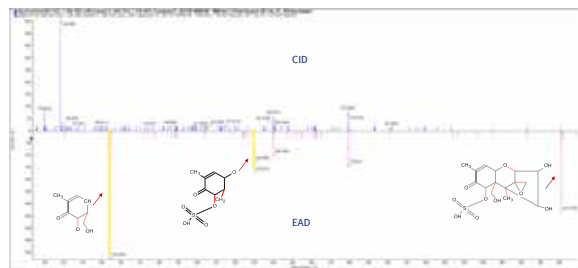


图7. NIV-Sulphate 不同碎裂模式MS/MS碎片信息

点，结合EAD的碎片信息，通过EAD独有的m/z 154及m/z 230可判断其硫酸化位点为15位，详见图7。

RUO-MKT-02-14652-ZH-A



3 小结

ZenoTOF™ 7600系统同时提供EAD和CID两种碎裂能力，为常规但经常具有挑战性的代谢物鉴定提供了更强的解析能力。EAD的电子活化解离碎裂方式，可提供不同维度的诊断MS/MS谱峰，结合经典的CID模式可使化合物鉴定更加准确可靠。同时，Zeno™ trap可对MS/MS二级碎片进行富集，使其灵敏度有5-10倍以上的提高，从而得到更高灵敏度的碎片信息，结合Molecule Profiler和SCIEX OS软件可快速发现并鉴定相关代谢物，使具有挑战性的代谢物鉴定工作流程更加简单高效。

RUO-MKT-02-14652-ZH-A



ZenoTOF™ 7600系统超快速Zeno™ IDA鉴定玉米赤霉烯酮代谢产物

Rapid identification of Zearalenone metabolites using Zeno™ IDA on ZenoTOF™ 7600 system

李志远¹, 周爽², 孙小杰¹, 刘冰洁¹, 郭立海¹

Li Zhiyuan¹, Sun Xiaojie¹, Liu Bingjie¹, Guo Lihai¹

¹ SCIEX China

² 国家食品安全风险评估中心

Key words: ZenoTOF™ 7600, Molecule Profiler, Zearalenone, metabolites, identification

引言

玉米赤霉烯酮 (Zearalenone, ZEN), 主要污染玉米、小麦、大米、大麦、小米和燕麦等谷物。其具有雌激素的作用, 主要作用于生殖系统, 可使家畜、家禽等产生雌性激素亢进症; 妊娠期的动物 (包括人) 食用含玉米赤霉烯酮的食物可引起流产、死胎和畸胎; 食用含玉米赤霉烯酮的面粉制作的食物也可引起中枢神经系统的中毒症状, 如恶心、头痛、神智抑郁等。玉米赤霉烯酮在体内有一定的残留和蓄积, 并且真菌毒素中毒尚无特效药治疗, 因此, 对于玉米赤霉烯酮的代谢研究, 有助于人们了解和研究其在人、动/植物体内的生物转化过程, 进而有利于我们对于真菌毒素污染的食品安全风险评估的研究。

ZenoTOF™ 7600系统技术优势

1. ZenoTOF™ 7600系统 (如图1) 在高速脉冲技术检测器下, 可以实现133 Hz的扫描速度, 可以实现更多的二级碎片 (MS/MS) 图谱采集数目。
2. ZenoTOF™ 7600全新的Zeno™ Trap通过提高离子真空

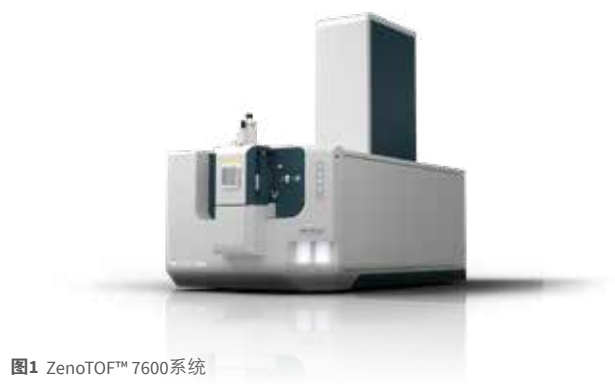


图1 ZenoTOF™ 7600系统

比, 保证90%以上的离子能够进入飞行时间管 (Time Of Flight, TOF), 实现对离子的富集作用。

3. 采集方法结合多重质量亏损过滤采集方式 (Multiple Mass Defect Filter, MMDF), 相对精准的采集化合物的I相、II相代谢产物, 避免遗漏目标代谢物的MS/MS信息。

实验目的与方法

实验主要研究玉米赤霉烯酮 (Zearalenone, ZEN, 如图2) 在细胞中的代谢情况, 主要鉴定细胞和培养基中ZEN的代谢物。

RUO-MKT-02-14704-ZH-A

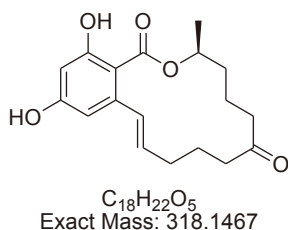


图2 玉米赤霉烯酮（Zearalenone, ZEN）结构信息

采集模式

1. Zeno™ IDA
2. DBS on、MMDF on
3. Zeno™ trap on
4. 质量范围：TOF MS: m/z 50-1000；TOF MS/MS: m/z 50-1000
5. Maximum candidate ions: 133（即133 Hz）

数据展示

1. ZenoTOF™ 7600系统超快速Zeno™ IDA实现全面代谢物数据采集

ZenoTOF™ 7600系统配备了高频模数转换器（Analog-to-Digital Converter, ADC）和时间数字转换器（Time-to-Digital Converter, TDC），实现133 Hz的扫描速度，配合信息依赖性采集模式（Information Dependent Acquisition, IDA，如图3），可以实现每秒133张MS/MS谱图的采集，而且在超高的扫描速度下并不损失MS/MS图谱的质量，如图4所示，在50 Hz、133 Hz的扫描速度下ZEN的MS/MS谱图质量都很好，整体响应均在 $8e4$ 左右，没有明显的谱图质量下降情况。

2. Zeno™ Trap实现对子离子的高效富集

ZenoTOF™ 7600系统配备的全新的Zeno™ Trap增加在碰撞室后端的捕集装置，有效富集来自于碰撞室的连续的

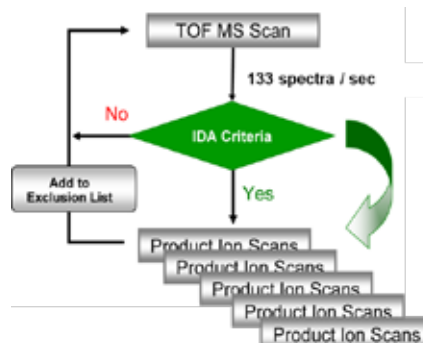


图3 信息依赖性采集模式（IDA）示意图

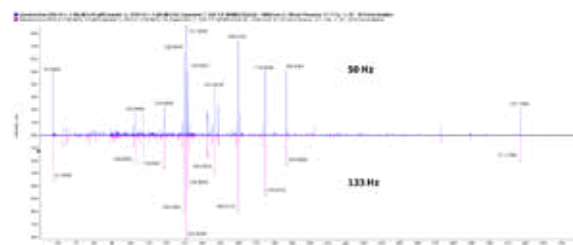


图4 50 Hz、133 Hz的扫描速度下ZEN的MS/MS图谱质量对比

MS/MS碎片离子，同TOF分析器保持协同，Zeno™ Trap非连续的释放富集离子进入TOF加速器，确保碰撞室产生的超高90%的MS/MS离子被TOF分析检测（如图5），进而减少了离子损失，实现更高的MS/MS灵敏度。

对于代谢物鉴定实验，很多代谢物的含量相对较低，比较难获得其MS/MS谱图信息，强大的Zeno™ Trap在代谢物鉴定实验中发挥了其比较大的作用，进而实现对于代谢物的准确鉴定，举例如图6：图中保留时间9.536 min鉴定到ZEN Glucuronidation（葡萄糖醛酸化）代谢产物，其在Zeno™ Trap off 和Zeno™ Trap on分别采集的MS/MS谱图对比发现，该化合物灵敏度提升至少20倍以上，图谱质量提升明显。

RUO-MKT-02-14704-ZH-A



此外，软件整合的工作界面展示所有相关信息，易于使用，让代谢物鉴定和确证的工作更加有效。软件可展示每个代谢物相关的一级和二级数据的单独视图，同时也可给出确证得分用来帮助确定一个色谱峰是否为代谢物，以ZEN的葡萄糖醛酸化代谢产物为例，结果展示如图10所示。最终ZEN鉴定代谢物结果如表1，本次试验共鉴定到22种ZEN的代谢产物，并且Molecule Profiler软件已经全部给出推测的鉴定结构。

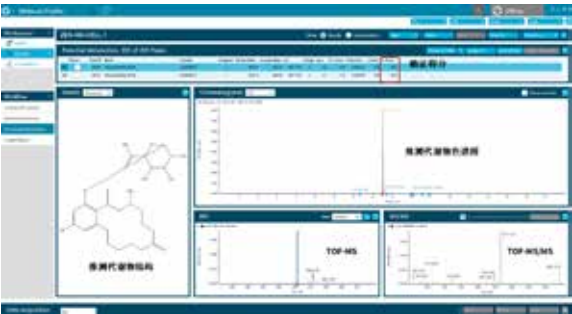


图10 Molecule Profiler软件的结果界面，ZEN葡萄糖醛酸化代谢产物

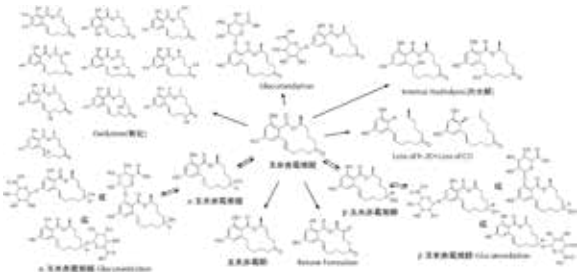


图11 ZEN可能的细胞代谢途径图

表1 Molecule Profiler软件鉴定ZEN代谢产物结果总结列表

代谢物名称	分子式	加和形式	保留时间
α -玉米赤霉烯醇	$C_{18}H_{24}O_5$	M-H	10.19
β -玉米赤霉烯醇	$C_{18}H_{24}O_5$	M-H	9.67
α -玉米赤霉烯醇-Glucuronidation	$C_{24}H_{32}O_{11}$	M-H	7.7
β -玉米赤霉烯醇-Glucuronidation	$C_{24}H_{32}O_{11}$	M-H	6.95
Internal Hydrolysis	$C_{18}H_{24}O_6$	M-H	10.19
Internal Hydrolysis	$C_{18}H_{24}O_6$	M-H	9.68
Glucuronidation	$C_{24}H_{30}O_{11}$	M-H	7.29
Glucuronidation	$C_{24}H_{30}O_{11}$	M-H	8.5
Oxidation	$C_{18}H_{22}O_6$	M-H	7.40
Oxidation	$C_{18}H_{22}O_6$	M-H	7.85
Oxidation	$C_{18}H_{22}O_6$	M-H	8.21
Oxidation	$C_{18}H_{22}O_6$	M-H	8.99
Oxidation	$C_{18}H_{22}O_6$	M-H	9.37
Oxidation	$C_{18}H_{22}O_6$	M-H	10.03
Oxidation	$C_{18}H_{22}O_6$	M-H	10.41
Oxidation	$C_{18}H_{22}O_6$	M-H	10.93
Oxidation	$C_{18}H_{22}O_6$	M-H	11.08
Oxidation	$C_{18}H_{22}O_6$	M-H	11.68
Loss of H-2O+Loss of CO	$C_{17}H_{24}O_3$	M-H	10.19
Loss of H-2O+Loss of CO	$C_{17}H_{24}O_3$	M-H	9.68
Ketone Formation	$C_{18}H_{20}O_6$	M-H	9.58
玉米赤霉酮	$C_{18}H_{24}O_5$	M-H	10.87

RUO-MKT-02-14704-ZH-A



总结

1. ZenoTOF™ 7600系统拥有这强大的数据采集能力，包括：133 Hz超快的扫描速度，高效富集的Zeno™ Trap，配合使用DBS和MMDF功能，实现了对玉米赤霉烯酮（Zearalenone, ZEN）代谢产物全面的数据采集，为ZEN代谢产物鉴定全面的数据解析提供了更多有用的MS/MS信息。
2. Molecule Profiler软件是SCIEX用于代谢物分析的专业软件，其内置于OS软件内，与OS共同使用，能够在同一台系统中完成质谱方法编辑、质谱数据采集、数据浏览以及结果分析、报告出具，是一站式的数据采集和分析平台。
3. 通过结合Molecule Profiler软件内置的上百种常见的可能代谢途径，帮助客户全面、快速的解析ZEN的I相、II相代谢产物，软件可以自动预测代谢产物的结构式，进而实现对代谢产物的最终定性。整个过程操作简单、直观。
4. 数据表明，ZEN在细胞代谢实验中发生如氧化、加氢、葡萄糖醛酸化等代谢途径，通过Molecule Profiler软件可以给出预测的代谢物的结构式信息，数据显示，ZEN在细胞中主要可以代谢为 α -玉米赤霉烯醇、 β -玉米赤霉烯醇、玉米赤霉酮等，此外，代谢产生的玉米赤霉烯醇还可以进一步代谢为其相应的葡萄糖醛酸化代谢产物，另外，软件鉴定到多种ZEN的氧化产物，这与ZEN结构中多个可能发生氧化代谢的位点有关，此外，ZEN的两个羟基位点均可以代谢产生葡萄糖醛酸化代谢产物。整理ZEN可能的细胞代谢途径图见11。

RUO-MKT-02-14704-ZH-A





ZenoTOF™ 7600系统快速鉴定杂色曲霉毒素代谢产物

Rapid identification of Sterigmatocystin metabolites using ZenoTOF™ 7600 system

李志远¹, 周爽², 孙小杰¹, 刘冰洁¹, 郭立海¹

Li Zhiyuan¹, Sun Xiaojie¹, Liu Bingjie¹, Guo Lihai¹

¹ SCIEX China

² 国家食品安全风险评估中心

Key words: ZenoTOF™ 7600, Molecule Profiler, Sterigmatocystin, metabolites, identification

引言

杂色曲霉毒素 (Sterigmatocystin, ST) 结构上与黄曲霉毒素B1十分相像, 是由二呋喃环与氧杂蒽酮连接组成, 是黄曲霉毒素生物合成过程的中间体。ST在自然界中分布广泛, 可污染大多数粮食、饲料、乳制品、谷类等, 尤其对小麦、玉米、花生和饲草等污染更为严重。ST是一种毒性很强的肝及肾脏毒素, 有较强的致癌性, 可诱导肝癌和胃癌。因此, 对于杂色曲霉毒素的代谢研究, 有助于了解其在人、动物、植物体内的生物转化过程, 进而有利于对杂色曲霉毒素污染问题的食品安全风险评估研究。

ZenoTOF™ 7600系统采集技术优势

1. ZenoTOF™ 7600系统 (如图1) 在高速脉冲技术检测器下, 可以实现133 Hz的扫描速度, 可以实现更多的二级碎片 (MS/MS) 图谱采集数目。
2. ZenoTOF™ 7600系统全新的Zeno™ Trap通过提高离子真空比, 保证90%以上的离子能够进入飞行时间管 (Time Of Flight, TOF), 实现对离子的富集作用。
3. 采集方法配合信息依赖性采集模式 (Information



图1 ZenoTOF™ 7600系统

Dependent Acquisition, IDA) 结合动态背景扣除 (Dynamic background subtraction, DBS) 功能, 进而去除背景离子, 更多的采集代谢物的MS/MS信息。

4. 采集方法结合多重质量亏损过滤采集方式 (Multiple Mass Defect Filter, MMDF), 相对精准的采集化合物的I相、II相代谢产物, 避免遗漏目标代谢物的MS/MS信息。

数据处理优势

ZenoTOF™ 7600系统强大的数据采集能力, 结合专业的代谢物鉴定软件Molecule Profiler (如图2), 软件内置并涵盖了上百种常见的可能代谢途径, 包括I相代谢、II相

RUO-MKT-02-14705-ZH-A



代谢、GSH代谢等（如图3），也可根据需要自行选择或自定义新的途径；软件拥有强大的代谢物鉴定算法，除了通用峰查找之外，多重质量亏损过滤，同位素模式匹配，和基于相同产物离子或中性丢失的代谢物查找等模式都能同时被用于有效的代谢物鉴定。



图2 Molecule Profiler软件



图3 Molecule Profiler软件内置的常见代谢途径

实验目的与方法

实验主要研究杂色曲霉素（Sterigmatocystin, ST，如图4）在细胞中的代谢情况，主要鉴定细胞和培养液中ST的代谢物。

采集模式

1. IDA（正离子扫描）
2. DBS on、MMDF on

RUO-MKT-02-14705-ZH-A

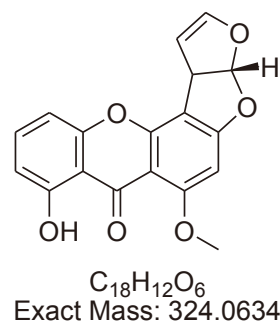


图4 杂色曲霉素（Sterigmatocystin, ST）结构信息

3. Zeno™ trap on
4. 质量范围：TOF MS: m/z 50-1000；TOF MS/MS: m/z 50-1000
5. Maximum candidate ions: 133（即133 Hz）

实验结果展示

1. ZenoTOF™ 7600系统133 Hz的超快扫描速度

ZenoTOF™ 7600系统配备了高频模数转换器（Analog-to-Digital Converter, ADC）和时间数字转换器（Time-to-Digital Converter, TDC），实现133 Hz的扫描速度，可以实现更多MS/MS采集数目，并且不损失MS/MS图谱的质量，如图5所示，在12 Hz、50 Hz、133 Hz的扫描速度下ST的MS/MS谱图质量都很好，整体响应均在 $1.7e5$ 左右，没有明显的谱图质量下降情况。

2. Zeno™ Trap实现对子离子的高效富集

ZenoTOF™ 7600系统配备的全新的Zeno™ Trap增加在碰撞室后端的捕集装置，有效富集来自于碰撞室的连续的MS/MS碎片离子，同TOF分析器保持协同，Zeno™ Trap非连续的释放富集离子进入TOF加速器，确保碰撞室产生的超高90%的MS/MS离子被TOF分析检测（如图6），进而减少了离子损失，实现更高的MS/MS灵敏度。

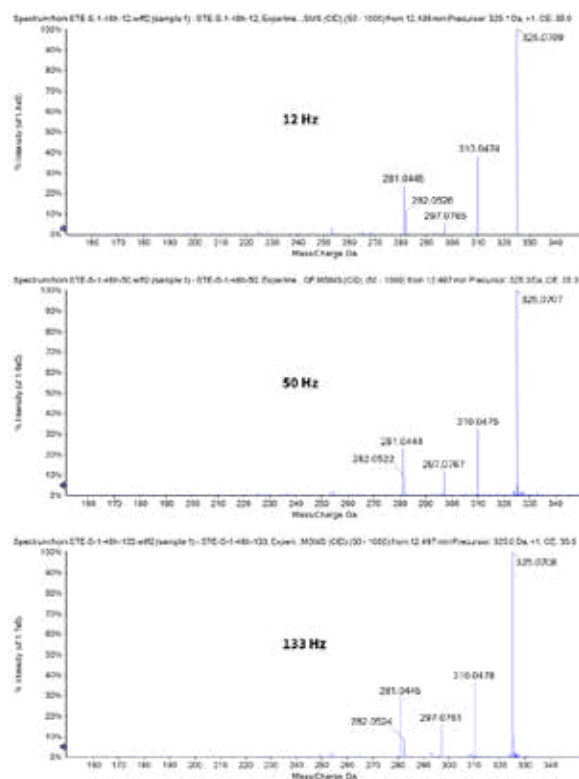


图5 12 Hz、50 Hz、133 Hz的扫描速度下ST的MS/MS图谱质量对比

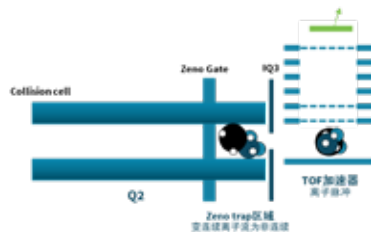


图6 Zeno™ Trap原理示意图

对于代谢物鉴定实验，很多代谢物的含量相对较低，比较难获得其MS/MS谱图信息，强大的Zeno™ Trap在代谢物鉴定实验中发挥了其比较大的作用，进而实现对于代谢物的准确鉴定，举例如图7：图中ST氧化代谢产物在Zeno™ Trap off和Zeno™ Trap on分别采集的MS/MS谱图对比发现，该化合物灵敏度提升至少20倍以上，图谱质量提升明显。

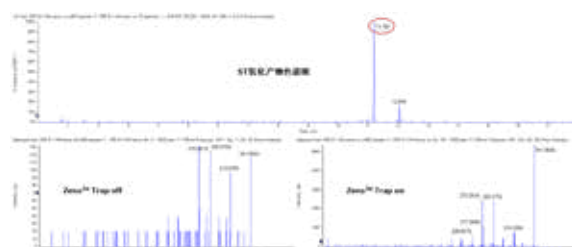


图7 ST氧化代谢产物Zeno™ Trap off和Zeno™ Trap on二级谱图对比

3. DBS和MMDF功能实现过滤背景代谢产物的高效采集

DBS即动态背景扣除功能，保证在复杂基质中能获得高质量的MS/MS谱图，有效排除本底噪音的干扰，快速发现被掩盖在强背景噪音下的目标化合物。结合MMDF功能，即多重质量亏损过滤采集，利用药物经过体内的I相、II相代谢后母药的核心结构不会发生彻底变化，其质量亏损通常位于一个非常狭窄的范围内的特点，设置方法如图8，进而实现对ST代谢产物的更为精准的MS/MS谱图采集，避免因无法采集到代谢物的MS/MS谱图信息而对代谢物无法准确性的情况。

IDA: Mass Defect Filter				
Filter on the mass defect for metabolites				
	Chemical formula	MW (Da)	MW tolerance (+/- Da)	Mass defect (mDa)
1	C ₁₅ H ₁₂ O ₆	264.0668	50.0000	40.0
2	C ₁₅ H ₁₂ O ₆ G ₁ H ₁ O ₆	266.0668	50.0000	40.0
3	C ₁₅ H ₁₂ O ₆ G ₂ H ₂ O ₆	268.0668	50.0000	40.0
4	C ₁₅ H ₁₂ O ₆ G ₃ H ₃ N ₁ O ₆	270.0668	50.0000	40.0
5	C ₁₅ H ₁₂ O ₆ G ₄ H ₄ N ₂ O ₆	272.0668	50.0000	40.0

图8 ST采集方法中MMDF功能设置

RUO-MKT-02-14705-ZH-A



结果举例如图9，在保留时间10.084 min采集的数据中，即使是响应很低的M/Z 501也采集到了质量很好的MS/MS谱图，这是ST的Glucuronidation（葡萄糖醛酸化）代谢产物，而例如像M/Z 379和M/Z 329并没有触发MS/MS谱图的采集，原因是因为其并没有色谱峰的产生，只是背景离子，即使其响应很高，但在DBS功能下也不会触发MS/MS的采集，结合MMDF功能这就为真正可以出峰的ST代谢产物的采集提供了可能。

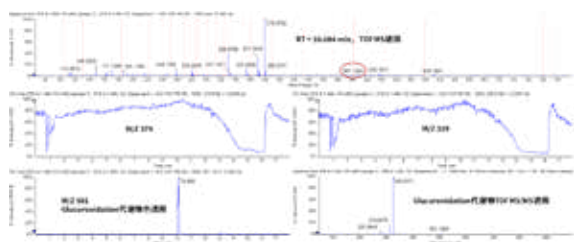


图9 ST 葡萄糖醛酸化代谢产物MS/MS谱图的采集（DBS on and MMDF on）

4. Molecule Profiler软件使代谢物鉴定更高效

Molecule Profiler软件内置并涵盖了上百种常见的可能代谢途径，全自动化的寻找ST的包括I相、II相代谢产物。软件通过整合的工作界面展示所有相关信息，易于使用，让代谢物鉴定和确证的工作更加有效。软件可展示每个代谢物相关的一级和二级数据的单独视图，同时也可给出确证得分用来帮助确定一个色谱峰是否为代谢物，以ST的葡萄糖醛酸化代谢产物为例，结果展示如图10所示。最终ST鉴定代谢物结果如表1，本次试验共鉴定到6种ST的代谢产物，并且Molecule Profiler软件已经全部给出推测的鉴定结构。

总结

1. ZenoTOF™ 7600系统拥有这强大的数据采集能力，包括：133 Hz超快的扫描速度，高效富集的Zeno™ Trap，配合使用DBS和MMDF功能，实现了对杂色曲霉素

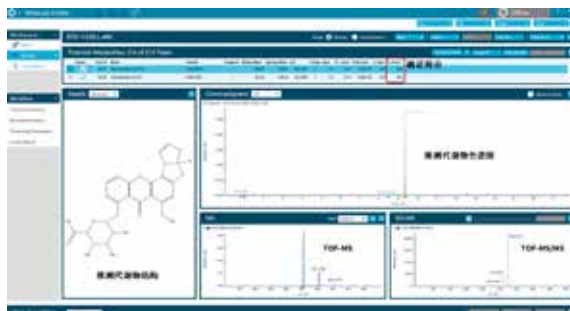


图10 Molecule Profiler软件的结果界面，葡萄糖醛酸化代谢产物

表1 Molecule Profiler软件鉴定ST代谢产物结果列表

Name	Formula	m/z	ppm	R.T. (min)
Loss of CH ₂ O+	C ₁₇ H ₁₁ O ₈ P	375.0267	0.7	10.25
Phosphorylation [M+H] ⁺				
Loss of CH ₂ +Internal Hydrolysis [M+H] ⁺	C ₁₇ H ₁₂ O ₇	329.0657	0.2	8.11
Glucuronidation [M+H] ⁺	C ₂₄ H ₂₀ O ₁₂	501.1028	0	9.34
Hydrogenation [M+H] ⁺	C ₁₈ H ₁₄ O ₆	327.0857	-1.8	12.05
Oxidation [M+H] ⁺	C ₁₈ H ₁₂ O ₇	341.0658	0.7	10.55
Oxidation [M+H] ⁺	C ₁₈ H ₁₂ O ₇	341.0653	-0.8	12.26

（Sterigmatocystin, ST）代谢产物全面的数据采集，为ST代谢产物鉴定全面的数据解析提供了更多有用的MS/MS信息。

2. Molecule Profiler软件是SCIEX用于代谢物分析的专业软件，其内置于OS软件内，与OS共同使用，能够在同一台系统中完成质谱方法编辑、质谱数据采集、数据浏览以及结果分析、报告出具，是一站式的数据采集和分析平台。
3. 通过结合Molecule Profiler软件内置的上百种常见的可能代谢途径，帮助客户全面、快速的解析ST的I相、II相代谢产物，软件可以自动预测代谢产物的结构式，进而实现对代谢产物的最终定性。整个过程操作简单、直观。

RUO-MKT-02-14705-ZH-A



4. 数据表明，ST在细胞代谢实验中发生如氧化、加氢等代谢途径，通过Molecule Profiler软件可以给出预测的代谢物的结构式信息，数据显示，ST在细胞中主要以氧化和葡萄糖醛酸化代谢为主要形式。整理ST可能的细胞代谢途径图见11。

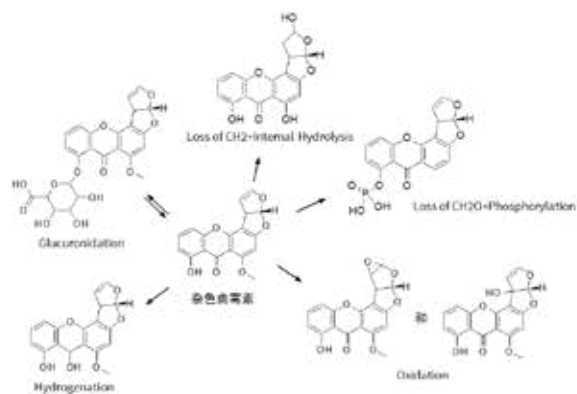


图11 ST可能的细胞代谢途径图

RUO-MKT-02-14705-ZH-A



ZenoTOF™ 7600系统结合Molecule Profiler软件快速鉴定赭曲霉毒素A代谢产物

Rapid identification of Ochratoxin A metabolites using ZenoTOF™ 7600 system combined with Molecule Profiler software

李志远¹, 周爽², 孙小杰¹, 刘冰洁¹, 郭立海¹

Li Zhiyuan¹, Sun Xiaojie¹, Liu Bingjie¹, Guo Lihai¹

¹ SCIEX China

² 国家食品安全风险评估中心

Key words: ZenoTOF™ 7600, Molecule Profiler, Ochratoxin A, metabolites, identification

引言

自2017年以来, 赭曲霉毒素A (Ochratoxin A, OTA) 就被世界卫生组织国际癌症研究机构定义为一种2B类致癌物, 是食品中最常见的污染物之一。OTA具有肾毒性、肝毒性、致畸性和免疫毒性等, 真菌毒素的代谢对人类、动物和植物的毒副作用影响很大。了解真菌毒素的代谢, 将有助于控制真菌毒素在食品和饲料中的污染, 了解真菌毒素在人、动物、植物体内的生物转化, 有利于食品安全的风险评估。

ZenoTOF™ 7600系统技术特点

1. ZenoTOF™ 7600系统 (简称7600系统, 如图1) 在高速脉冲技术检测器下, 可以实现133Hz的扫描速度, 可以实现更多MS/MS图谱采集数目, 且在高速扫描下不损失二级碎片 (MS/MS) 图谱的质量。
2. 7600系统全新的Zeno™ Trap (Zeno 阱) 要通过提高离子占比, 实现对离子的富集作用, 保证90%以上的离子能够进入飞行时间管 (Time Of Flight, TOF) 中检测, 从而提高了MS/MS的灵敏度。
3. 7600系统新加入的电子激活解离 (Electron activated dissociation, EAD) 碎裂技术, 可以获得更多的MS/MS信息, 与碰撞活化解离 (Collision-activated dissociation, CAD) 碎裂技术有良好的互补性, 加强化合物结构解析。
4. 7600系统的信息依赖性采集模式 (Information



图1 ZenoTOF™ 7600系统

RUO-MKT-02-14706-ZH-A



Dependent Acquisition, IDA) 配合动态背景扣除 (Dynamic background subtraction, DBS) 和多重质量亏损过滤采集方式 (Multiple Mass Defect Filter, MMDF), 可以有效去除背景离子干扰, 提高代谢产物的MS/MS采集效率。

Molecule Profiler软件特点

Molecule Profiler软件 (如图2) 拥有强大的代谢物鉴定算法, 除了通用峰查找之外, 多重质量亏损过滤, 同位素模式匹配, 和基于相同产物离子或中性丢失的代谢物查找等模式都能同时被用于有效的代谢物鉴定。

1. 结合多种强大的峰查找算法来发现代谢物 (包括上百种常见的I相、II相代谢产物)。
2. 自动设置结构驱动的处理参数。
3. 整合了二级碎片解析和结构编辑功能。
4. 数据浏览的结果界面简单、清晰。



Molecule Profiler software

图2 Molecule Profiler软件

实验目的与方法

实验主要研究赭曲霉毒素A (Ochratoxin A, OTA, 如图3) 在细胞中的代谢情况, 主要鉴定细胞和培养基中OTA的代谢物。

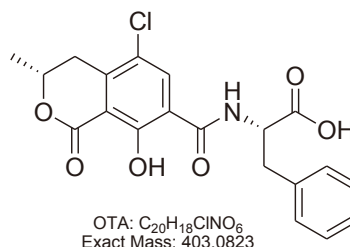


图3 赭曲霉毒素A (Ochratoxin A, OTA) 结构信息

采集模式

1. IDA and Zeno™ on
2. DBS on and MMDF on
3. 质量范围: TOF MS: m/z 50-1000; TOF MS/MS: m/z 50-1000
4. Maximum candidate ions: 133 (即133 Hz)

DBS和MMDF方法设置

DBS, 即实时动态背景扣除功能 (设置, 如图4), 有效排除本底噪音的干扰, 只有出现“色谱峰”的离子才会得到MS/MS二级质谱图, 保证即使在体内复杂基质中能获得高质量的MS/MS。

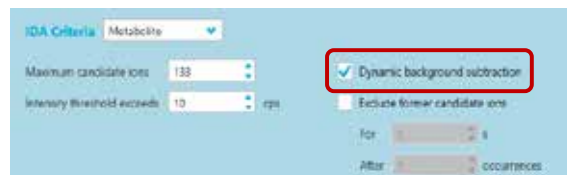


图4 DBS功能设置如图所示

MMDF, 即多重质量亏损过滤采集方式, 药物经过体内的一相代谢或二相代谢的生物转化作用后, 药物分子的核心结构不会发生彻底变化, 因此, 药物及其代谢产物的质量亏损 (Mass Defect, MD) 通常指其精确质量数和它最

RUO-MKT-02-14706-ZH-A



接近的整数值之间的差异，MD往往位于一个非常狭窄的范围内（如图5），利用质量亏损过滤（Mass Defect Filter, MDF）方式采集（设置，如图6），可以有效去除背景离子干扰，提高代谢产物的二级碎片采集效率。

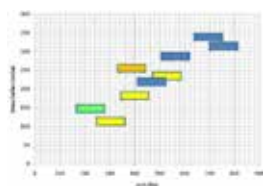


图5 质量亏损示意图



图6 OTA采集方法中MDF功能设置

实验结果展示

1. 133 Hz超快扫描速度实现全面的代谢物数据覆盖

7600系统配备了高频模数转换器（Analog-to-Digital Converter, ADC）和时间数字转换器（Time-to-Digital Converter, TDC），实现133 Hz的扫描速度，配合IDA采集模式，可以实现更多MS/MS图谱采集数目，如下图7，12 Hz时IDA采集的MS/MS图谱数量是13185张，133 Hz时是21246张，MS/MS采集效率提升61%；此外，在133 Hz高速扫描速度下不损失MS/MS图谱的质量，如图8所示，7600系统分别在12 Hz、50 Hz、133 Hz的扫描速度下Ochratoxin A的MS/MS谱图质量都很好，整体响应均在1e6左右，没有明显的谱图质量下降情况。

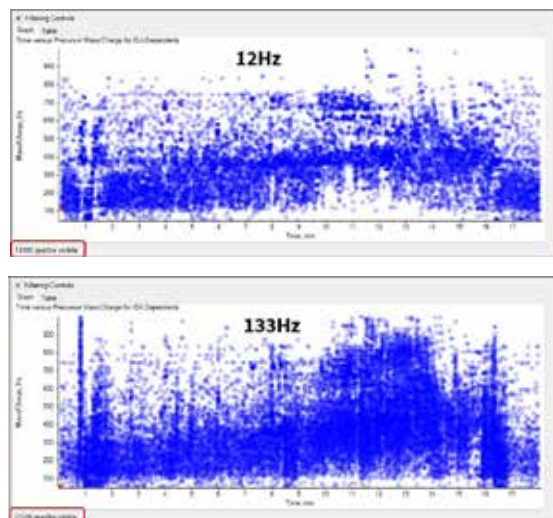


图7 7600系统在12Hz、133Hz时IDA采集的MS/MS谱图数量对比

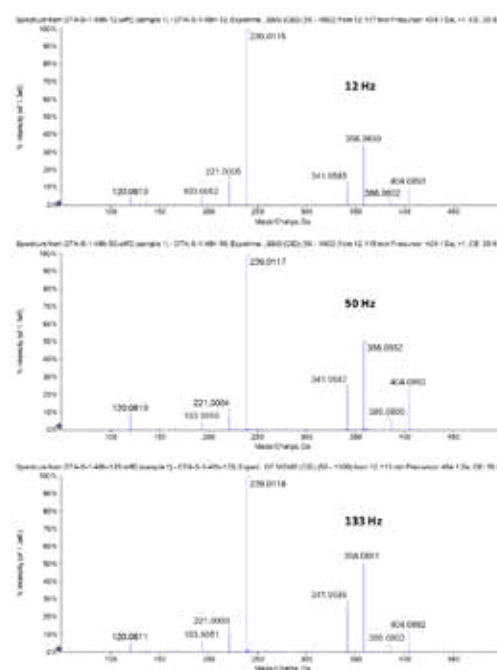


图8 7600系统分别在12 Hz、50 Hz、133 Hz的扫描速度下OTA的MS/MS谱图质量对比

RUO-MKT-02-14706-ZH-A



2. 全新的Zeno™ Trap实现更高的代谢物MS/MS谱图质量

7600系统上使用Zeno™ Trap，将占空比提高到大于90%，减少了离子损失，实现更高的MS/MS灵敏度，这就使得低灵敏度的代谢物鉴定成为可能，即可以采集到高质量的MS/MS谱图，用于准确鉴定，举例如图9：图9-A为OTA氧化代谢产物的提取离子流色谱图，其中以保留时间以11.248 min为例，其在Zeno™ Trap off 和Zeno™ Trap on分别采集的MS/MS谱图如图9-B所示，数据显示，其MS/MS谱图灵敏度至少提升20倍以上，图谱质量明显提升。

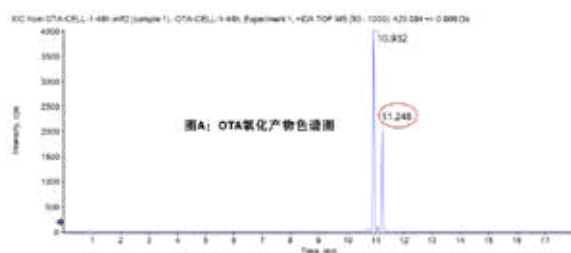


图9-A OTA氧化代谢产物提取离子流色谱图

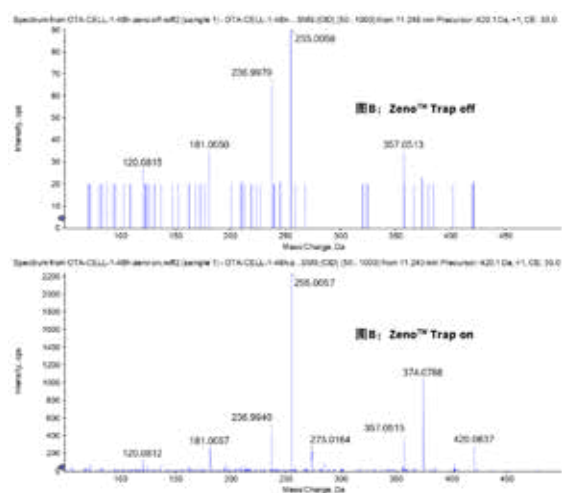


图9-B OTA氧化代谢产物Zeno™ Trap off和Zeno™ Trap on二级谱图对比

3. EAD碎裂技术与传统的CAD碎裂技术成为良好的互补性

电子激活解离（EAD）碎裂技术，与碰撞活化解离（CAD）碎裂技术有所不同，通过独立捕获前体离子和自由电子，实现有效的自由基断裂，EAD模式可获得更丰富的碎片信息，有效提升定性和未知物解析准确度。

举例说明，以OTA的Methylation甲基化代谢产物为例，母离子m/z 418.1050，对比EAD和CAD的MS/MS谱图（如下图10），碎片离子存在差异，且有明显互补性，在EAD模式下，可获得典型的CAD无法获得的碎片信息，如：m/z 295.0273，m/z 327.0567，其中碎片m/z 327.0567是母离子断裂键-CH₂-C₆H₅之后产生，m/z 295.0273是在m/z 327.0567的基础上继续断掉-O-CH₃后产生，故可以确定OTA的甲基化代谢产物的代谢位点如图，但在CAD碎裂模式中，这2个碎片无法发现，甲基化位点无法确定。



图10 EAD和CAD模式下OTA甲基化代谢产物MS/MS谱图对比

4. Molecule Profiler软件使代谢物鉴定更简单

Molecule Profiler软件内置并涵盖了上百种常见的可能代谢途径（如图11），包括I相代谢、II相代谢、GSH代谢等，也可根据需要自行选择或自定义新的途径。此外，软件通过整合的工作界面展示所有相关信息，易于使用，让代谢物鉴定和确证的工作更加有效。基于母药结构，自动预测潜在的裂解代谢物后，软件可展示每个代谢物相关的一级和二级数据的单独视图，同时也可给出确证得分用来帮助确定一个色谱峰是否为代谢物，以OTA的代谢产物

RUO-MKT-02-14706-ZH-A



Oxidation $[M+H]^+$ 为例，结果展示如图12所示。最终OTA鉴定代谢物结果如表1，本次试验共鉴定到32种OTA的代谢产物，并且Molecule Profiler软件已经全部给出推测的鉴定结构。



图11 Molecule Profiler软件数据处理时包括I相代谢、II相代谢等上百种常见的可能代谢途径



图12 Molecule Profiler软件的结果界面，代谢产物为Oxidation $[M+H]^+$

总结

1. 全新的ZenoTOF™ 7600系统拥有这强大的数据采集能力，包括：133 Hz的超快扫描速度，全新的Zeno™ Trap，EAD碎裂技术，配合使用DBS和MMDF功能，实现了对赭曲霉毒素A（OTA）代谢产物分析的全面数据采集，这就对之后的数据解析提供了更多有用的MS/MS信息。
2. Molecule Profiler软件是SCIEX用于代谢物分析的专业软件，其内置于OS软件内，与OS共同使用，能够在同一台系统中完成质谱方法编辑、质谱数据采集、数据浏览以及结果分析、报告出具，是一站式的数据采集和分析平台。
3. 通过结合Molecule Profiler软件内置的上百种常见的可能代谢途径，帮助客户全面解析OTA的I相、II相代谢产物，软件通过自动预测裂解规律后，可以自动预测代谢产物的结构式，进而实现对代谢产物的最终定性。整个过程操作简单、直观。
4. 数据表明，OTA在细胞代谢实验中发生如氧化、甲基化等代谢途径，此外，Molecule Profiler软件还帮助解析出很多OTA结构中酰胺键断裂后产生的苯丙氨酸，随后其又发生了一系列代谢；另外，代谢掉苯丙氨酸获得的OTA剩下部分也同样会发生一系列的I相、II相代谢，最终Molecule Profiler软件共鉴定到各样品中32种不同的代谢产物，并且全部给出相应的预测结构。整理OTA可能的细胞代谢途径图见图13。





表1 Molecule Profiler软件鉴定OTA代谢产物结果列表

Name	Formula	m/z	ppm	R.T. (min)
Oxidation [M+H] ⁺	C ₂₀ H ₁₈ ClNO ₇	420.0840	-1.1	10.51
Oxidation [M+H] ⁺	C ₂₀ H ₁₈ ClNO ₇	420.0839	-1.3	10.9
Methylation [M+H] ⁺	C ₂₁ H ₂₀ ClNO ₆	418.1055	0.7	12.9
Methylation [M+H] ⁺	C ₂₁ H ₂₀ ClNO ₆	418.1047	-1.1	12.32
Loss of O and C ₁₁ H ₇ ClO ₄ +N-Acetylation [M+H] ⁺	C ₁₁ H ₁₃ NO ₂	192.1014	-2.7	6.98
Loss of O and C ₁₁ H ₇ ClO ₄ +Glucuronidation [M+H] ⁺	C ₁₅ H ₁₉ NO ₇	326.1231	-0.9	1.51
Loss of O and C ₁₁ H ₇ ClO ₄ +Amine to Carboxylic Acid [M+H] ⁺	C ₁₀ H ₁₀ O ₃	179.0700	-1.4	14.91
Loss of O and C ₁₁ H ₇ ClO ₄ [M+H] ⁺	C ₉ H ₁₁ NO	150.0908	-3.5	7.71
Loss of Cl->H+Phosphorylation [M+H] ⁺	C ₂₀ H ₂₀ NO ₉ P	450.0940	-1.9	10.94
Loss of Cl->H+Phosphorylation [M+H] ⁺	C ₂₀ H ₂₀ NO ₉ P	450.0967	4.1	3.74
Loss of Cl->H+Oxidation [M+H] ⁺	C ₂₀ H ₁₉ NO ₇	386.1229	-1.3	10.92
Loss of Cl->H and C ₉ H ₉ NO ₂ +Hydrogenation [M+H] ⁺	C ₁₁ H ₁₂ O ₄	209.0805	-1.4	14.86
Loss of Cl->H [M+H] ⁺	C ₂₀ H ₁₉ NO ₆	370.1287	0.6	11.18
Loss of C ₉ H ₈ O ₂ and Cl->H [M+H] ⁺	C ₁₁ H ₁₁ NO ₄	222.0758	-1.1	4.85
Loss of C ₁₁ H ₈ ClNO ₄ +Oxidation [M+H] ⁺	C ₉ H ₁₀ O ₃	167.0695	-4.4	12.57
Loss of C ₁₁ H ₈ ClNO ₄ +Ketone Formation [M+H] ⁺	C ₉ H ₈ O ₃	165.0545	-0.7	1.57
Loss of C ₁₁ H ₈ ClNO ₄ +Desaturation [M+H] ⁺	C ₉ H ₈ O ₂	149.0593	-2.5	2.69
Loss of C ₁₁ H ₈ ClNO ₄ [M+H] ⁺	C ₉ H ₁₀ O ₂	151.0748	-4	10.61
Loss of C ₁₁ H ₇ ClO ₄ +Oxidation [M+H] ⁺	C ₉ H ₁₁ NO ₃	182.0811	-0.3	1.57
Loss of C ₁₁ H ₇ ClO ₄ +Oxidation [M+H] ⁺	C ₉ H ₁₁ NO ₃	182.0811	-0.3	1.03
Loss of C ₁₁ H ₇ ClO ₄ +Methylation [M+H] ⁺	C ₁₀ H ₁₃ NO ₂	180.1017	-1.3	5.35
Loss of C ₁₁ H ₇ ClO ₄ +Ketone Formation [M+H] ⁺	C ₉ H ₉ NO ₃	180.0653	-1.3	5.21
Loss of C ₁₁ H ₇ ClO ₄ +Hydrogenation [M+H] ⁺	C ₉ H ₁₃ NO ₂	168.1014	-3	7.36
Loss of C ₁₁ H ₇ ClO ₄ +Glucose Conjugation [M+H] ⁺	C ₁₅ H ₂₁ NO ₇	328.1390	-0.3	2.63
Loss of C ₁₁ H ₇ ClO ₄ +Glucose Conjugation [M+H] ⁺	C ₁₅ H ₂₁ NO ₇	328.1391	0.2	3.63
Loss of C ₁₁ H ₇ ClO ₄ [M+H] ⁺	C ₉ H ₁₁ NO ₂	166.0864	0.7	2.69
Ketone Formation [M+H] ⁺	C ₂₀ H ₁₆ ClNO ₇	418.0697	2.2	11.58
Desaturation [M+H] ⁺	C ₂₀ H ₁₆ ClNO ₆	402.0737	-0.5	12.13
Demethylation to Carboxylic Acid [M+H] ⁺	C ₂₀ H ₁₆ ClNO ₈	434.0632	-1.1	10.93
Loss of C ₉ H ₈ O ₂ and Cl->H+Methylation [M+H] ⁺	C ₁₂ H ₁₃ NO ₄	236.0913	-1.9	8.84
Loss of C ₉ H ₈ O ₂ and Cl->H+Desaturation [M+H] ⁺	C ₁₁ H ₉ NO ₄	220.0597	-3.3	2.78
Loss of C ₉ H ₈ O ₂ [M+H] ⁺	C ₁₁ H ₁₀ ClNO ₄	256.0369	-0.8	10.04

RUO-MKT-02-14706-ZH-A

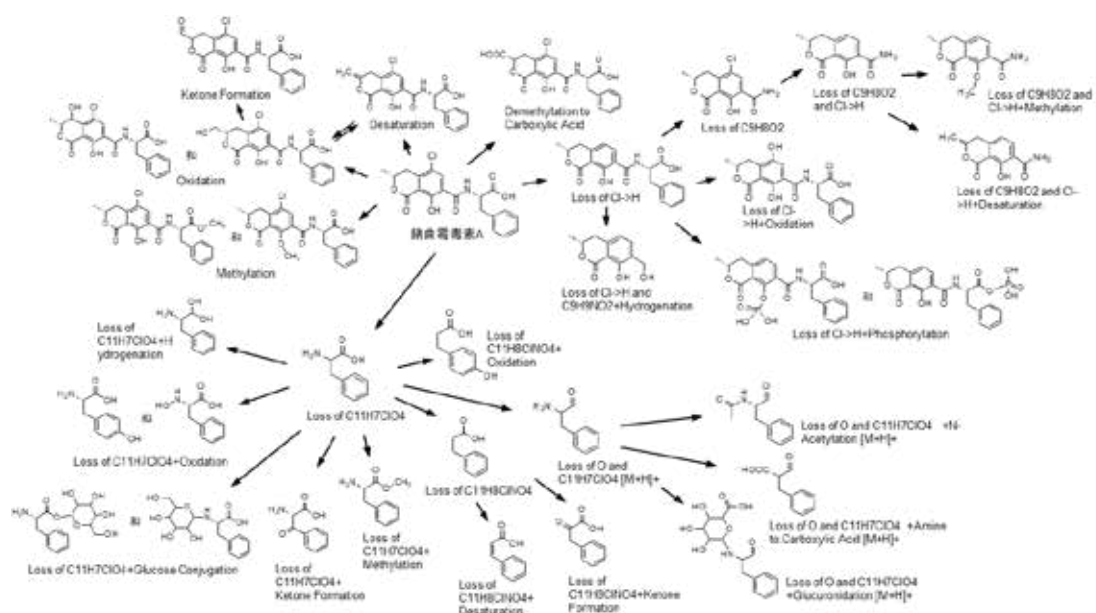


图13 OTA可能的细胞代谢途径图

RUO-MKT-02-14706-ZH-A



SCIEX TripleTOF™ 系统助力绿茶品质鉴别

Quality Identification of Green Tea by SCIEX TripleTOF™

陈西², 贺光云¹, 侯雪¹, 赵祥龙², 刘冰洁², 郭立海²

Chen xi², He guangyun¹, Hou xue¹, Zhao xianglong², Liu bingjie², Guo lihai²

¹ 四川省农业科学院农业质量标准与检测技术研究所;

² SCIEX中国

¹ Institute of Quality Standard and Testing Technology for Agro-Products, Sichuan Academy of Agricultural Sciences;

² SCIEX China

Key words: Green tea; Polyphenol; Seasonal variation; TripleTOF

前言

绿茶是一种非发酵茶,其产量占全球茶叶产量的20%。茶叶中的化学成分多样,包括多酚、酸、矿物质、糖类和维生素等^[1]。这些化学成分种类和含量受品种、土壤、气候、采收季节和生产工艺等多种因素的影响。其中,收获季节对茶叶中成分的影响比产地和品种更为显著^[2],茶叶的价格与采收季节密切相关,一般来说,春茶的滋味最佳,售价最高;为了追求更高的利润,春茶容易掺假或假冒。据报道,茶叶在食品造假风险最高的十大产品中排名第七^[3],因此,开发一种快速有效的分析方法对不同季节茶叶进行鉴别对保障茶叶品质,促进茶产业规范健康发展有重要意义。

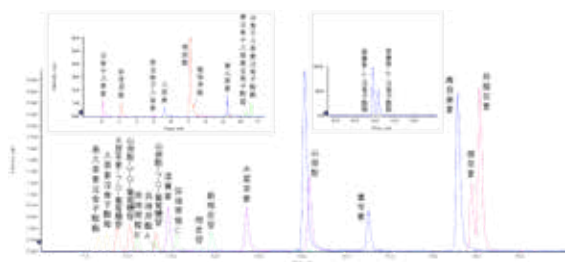


图1. 12组共28种同分异构体的提取离子流色谱图

RUO-MKT-02-14171-ZH-A

本方案基于TripleTOF™系统,建立了一种非靶向植物成分筛查方法,用于对绿茶中成分的全面分析^[4]。该方法一针进样可同时完成一级和二级质谱图的采集,数据全面、覆盖度高,并能对12组共28个同分异构体进行区分。SCIEX天然产物谱库包含全面的天然产物二级信息,可方便迅速的对样品中化合物进行鉴定。此方法的建立不仅有助于本实验中绿茶成分的研究,也可扩展至其他植物(如柑橘等)成分分析。

本方案技术特点和优势:

1、数据完整丰富

一针进样同时采集到优质的一级和二级数据,不仅适用于实验中所测化合物,还可以方便使用者在后续进行不同角度的数据分析和随时回溯;

2、目标筛查,准确快速

MasterView™软件通过数据的一级质量数、同位素丰度比、保留时间和高分辨的二级质谱图这“四大关”进行目标化合物筛查,快速高效的提供更准确地定性筛查结果;

3、高分辨二级谱库

SCIEX具有专业的天然产物二级谱库,包括黄酮类、多酚类、生物碱等全面的天然产物信息,是分析大批量



MS/MS 数据的利器，可以更快、更准确、更简便地处理复杂样品的靶向和非靶向筛查数据。

4、同分异构体的分离

天然产物中存在大量同分异构体，本方法的色谱条件利用已有标准品进行优化，可有效分离鉴定12组共28个同分异构体。

实验方法

1. 液相条件：

- 色谱柱：Phenomenex Kinetex Biphenyl, 2.6 μm , 2.1 mm $\times$ 100 mm;
- 流动相：A相：0.1 %甲酸 水
B相：甲醇-乙腈（3:7）
- 流速：0.4 mL/min;
- 色谱柱温度：40 $^{\circ}\text{C}$;
- 洗脱程序：

Time(min)	A (%)	B (%)
0.0	97	3
4.0	97	3
6.0	95	5
10.0	80	20
15.0	50	50
16.0	40	60
16.1	5	95
18.0	5	95
18.1	97	3
20.0	97	3

2. 质谱方法：

- 离子源：ESI源，负离子模式
- 扫描模式：TOF MS-IDA-TOF MS/MS
- 扫描范围：TOF MS: 100-1000 Da; TOF MS/MS: 50-1000 Da

RUO-MKT-02-14171-ZH-A

- 气帘气 CUR: 35 psi
- 雾化气 GS1: 50 psi
- IS电压: -4500 V
- DP电压: -80 V
- 碰撞气 CAD: 8
- 辅助气 GS2: 50 psi
- 源温度 TEM: 450 $^{\circ}\text{C}$
- 碰撞能量: -40 $\pm$ 20

3. 样品的收集和制备

收集雅安地区某年春、夏、秋三季绿茶各10份。取茶叶约2.0g，加入300 mL热水（80 $^{\circ}\text{C}$ ）冲泡，30 min内冷却至室温。茶汤经0.22 μm 微孔过滤膜过滤和0.1 %甲酸水溶液适度稀释后进样。

结果与讨论

1. 灵敏度

由于该方法为非靶向的全扫描模式，且需要考虑同分异构体的分离，所以化合物最优灵敏度条件很难兼顾。考虑到TripleTOF™ 系统本身有较好的灵敏度，因此本方法在流动相和参数的优化时，优先考虑同分异构体的分离。即便如此，该方法也表现出较高的灵敏度，以45种酚类为例，其中44种化合物的检测下限（LOD）< 1.00 ng/mL，30种化合物的定量下限（LOQ）< 1.00 ng/mL，部分化合物（如异樱花素）的LOD低至0.01 ng/mL。

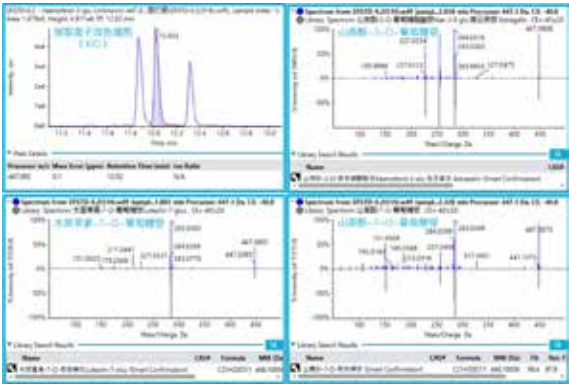


图2. 木犀草素-7-O-葡萄糖苷（11.88 min）、山奈酚-3-O-葡萄糖苷（12.02 min）和山奈酚-7-O-葡萄糖苷（12.32 min）为3个同分异构体，一级质谱图无法区分，但在此方法下能够达到有效色谱分离，且通过二级谱图进行匹配（镜像显示，上（蓝色）为实际样品二级图，下（黑色）为谱库中的二级图），可被准确鉴定；



2. 化合物鉴定

天然产物中有较多同分异构体，因此，仅有准确的一级无法对化合物进行确证。SCIEX TripleTOF™ 系统一针进样同时采集到化合物的一级和二级质谱图，MasterView™ 软件或SCIEX OS软件自动进行峰提取和搜库，可以通过二级碎片的不同对同分异构体进行鉴别，保证了筛查结果的准确性。

3. 样品分析

本实验共在绿茶中检测到39种多酚类物质，其中含量较高的为8种儿茶素，浓度顺序为：表没食子儿茶素没食子酸酯（EGCG）>表没食子儿茶素（EGC）>表儿茶素没食子酸酯（ECG）>表儿茶素（EC）>没食子儿茶素（GC）≈没食子儿茶素没食子酸酯（GCG）>儿茶素（C）>儿茶素没食子酸酯（CG）。作为茶汤中最主要的两种成分，EGCG和EGC的浓度分别高达606 mg/L和594 mg/L，且含量从春季到秋季有明显增加趋势。

实验利用Markerview™ 软件1.3.1对三个季节的绿茶样品的数据进行PCA-DA分析，从图3a可以看出，三个季节的数据聚类良好并且明显分离。以 O2PLS-DA模型中VIP（importance in projection）值>1和t检验 $p < 0.05$ 为标准，筛选出了15种多酚（图3b），可作为不同季节绿茶鉴别的标志物。

总结

本方案基于SCIEX TripleTOF™ 系统建立了一种高效的天然产物筛查定量方法，用于绿茶中成分的筛查和定量研究，并利用该方法对春、夏、秋三季绿茶中的成分进行了鉴定和统计学分析，最终确认了 15种多酚类成分可用于不同季节绿茶的鉴定，为绿茶品质评价提供了有效参考。SCIEX TripleTOF™ 系统结合MasterView™和Markerview™软件完整的食品真假鉴定流程，为打击假冒伪劣产品、构建健康有序的茶叶市场提供强有力的软硬件支持。

RUO-MKT-02-14171-ZH-A

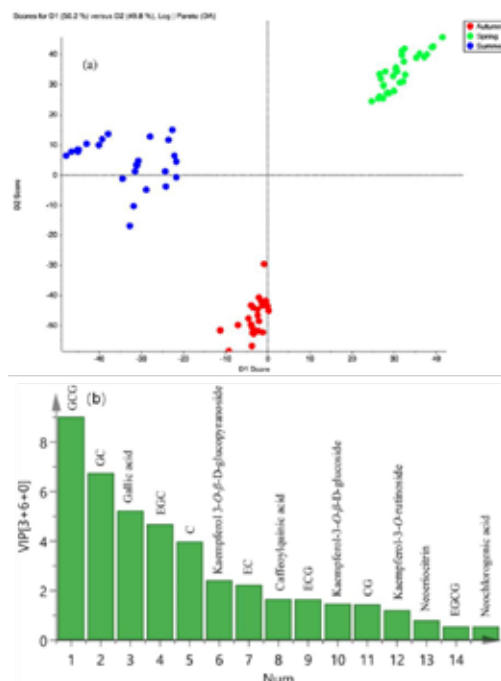


图3. 春、夏、秋三季绿茶样品的PCA-DA图（a）；15种不同季节绿茶鉴别标志物的VIP值分布图（b）^[4]

参考文献

- [1] Chaturvedula, V.S.P., Prakash, I., The aroma, taste, color and bioactive constituents of tea. J. Med. Plants Res.
- [2] Zhuang, J.H., Dai, X.L., et al., Evaluation of astringent taste of green tea through mass spectrometrybased targeted metabolic profiling of polyphenols. Food Chem.
- [3] Kamiloglu, S., Authenticity and traceability in beverages. Food Chem.
- [4] He, G.Y., Hou, X., et al., Discrimination and polyphenol compositions of green teas with seasonal variations based on UPLC-QTOF/MS combined with chemometrics. J FOOD COMPOS ANAL.



手性PCB 91在蚯蚓体内代谢组学和脂质组学的研究

Study on Metabolomics and Lipidomics of Chiral PCB 91 in Earthworm

李志远¹、贺泽英²、程海燕¹、刘冰洁¹、李立军¹、郭立海¹

Li Zhiyuan¹, He Zeying², Liu Bingjie¹, Li Lijun¹, Guo Lihai¹

SCIEX China¹

农业部农产品质量安全环境因素控制重点实验室, 农业农村部环境保护科研监测所, 天津, 中国²

Key Laboratory for Environmental Factors Control of Agro-product Quality Safety, Ministry of Agriculture, Agro-Environmental Protection Institute, Tianjin, PR China²

Key words: PCB 91, Metabolomics, Lipidomics, TripleTOF™ system, MarkerView™, LipidView™

关重要的作用并已在人类疾病和植物科学中进行了研究。

背景

多氯联苯 (PCBs) 是一类重要的普遍存在的持久性有机污染物, 许多国家都禁止生产。但由于多氯联苯在某些工业过程中会产生, 比如电子垃圾回收, 油漆生产和粘合剂等。因此, 多氯联苯仍广泛存在于世界各地的空气、土壤、沉积物和生物样品中。实验室和流行病学研究表明, PCB暴露对人体健康有不良影响, 可能会导致癌症、神经系统疾病和其他非癌症疾病。

环境代谢组学 (Metabolomics) 已被广泛用于多氯联苯暴露的研究。代谢组学能够在一定条件下快速筛选大量代谢产物, 发现有意义的代谢趋势。代谢变化可以让我们深入了解环境毒理学和分子机制。这些机制支撑着有机体的正常功能与其环境之间的相互关系。液相色谱串联高分辨率质谱联用技术, 如UPLC-QTOF, 由于其灵敏度高、采集速度快、质量检测准确, 是一种热门的代谢组学研究技术。此外, 近年来, 脂质组学 (Lipidomics) 在组学研究中蓬勃发展, 脂质组学是代谢组学的一个子领域, 旨在检测和量化生物样本中脂类的存在。脂质在生物学中起着至

技术特点

1. TripleTOF™系统, 配备DuoSpray™ Turbo V™离子源 (见图1), Turbo V™离子源使用增强的气流动力学和优化的加热器配置提升更高流速下的可靠性、重现性和稳定性, 离子产量得以提高, 此外, 其提供了更强的抗污染能力和更好的稳定性, 对于复杂基质样品的分析可以实现更简单前处理要求。
2. 实验通过TOF MS-IDA-MS/MS模式采集数据 (见图2), 可以实现一针进样, 同时采集不同组分化合物的一级母离子和二级子离子。



图1. DuoSpray™ Turbo V™离子源。

RUO-MKT-02-10115-ZH-A

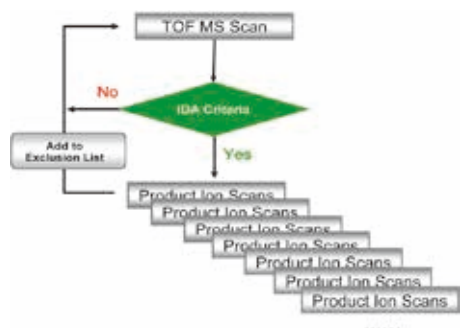


图2. TOF MS-IDA-MS/MS扫描模式。

3. 数据处理时，高分辨率 MS/MS 代谢物二级谱库是分析大批量 MS/MS 数据的快捷方式，可用于进行准确的化合物检测与鉴定，供实验室提高效率 and 缩短结果处理时间。
4. 通过LipidView™软件可以依据模板方法自动处理数据、可进行方法编辑和选择、鉴定脂质种类、全面消除同位素干扰、基于多内标的定量、可视化和结果报告。
5. 组学分析时，通过MarkerView™软件分析差异成分，找出有统计学意义的差异组分，进行标记。

实验方法^[1]

代谢组学和脂质组学

在代谢组学和脂质组学研究中,使用(+)-、(-)-和(±)-PCB 91对土壤进行污染,每次暴露的最终浓度为500 μg/kg_{dwt}。加入蚯蚓的土壤和质控土壤(每组10个重复),并在暴露14天后收集。将蚯蚓肠道内容物净化3h后,在液氮中快速冷冻,在球磨机中磨碎。均质样品转移到10 mL玻璃离心管中,用于代谢组学和脂质组学的研究(1 g作为脂质组学样品,0.5 g作为代谢组学样品)。

代谢组学和脂质组学样品制备

代谢组学样品制备：使用5 mL氯仿/甲醇/水混合物（20:50:20, v/v/v）进行萃取。加入萃取溶剂后，涡旋

3 min。重复提取三次合并萃取液，离心5 min，最后用甲醇稀释5倍，PTEE膜（0.22 μm）过滤，进行LC-MS/MS分析。

脂质组学样品制备：将3.75 mL氯仿/甲醇（1/2，v/v）加入含1 g样品的10 mL玻璃离心管中，涡旋，加入1.25 mL氯仿，涡旋，最后加入1.25 mL水，搅拌均匀。样品在室温下离心5 min，得到两相体系（上层为水相，下层为有机相）。收集下层有机相于1.5 mL离心管中，40 °C水浴下氮气流下吹干，5 mL异丙醇复溶后，进行LC-MS/MS分析。

仪器设备

高性能的TripleTOF™ 系统，搭载液相色谱SCIEX Exion LC™ 系统，对于数据的采集提供强有力的硬件支持，完全满足代谢组学和脂质组学的检测需求。



SCIEX Exion LC™ 系统
TripleTOF™ 系统

色谱条件:

代谢组学

Phenomenex Kinetex C18柱, 2.1 × 100 mm, 2.6 μm

进样量2 μ L;

柱温50℃;

流速: 0.3 mL/min

梯度程序如下:



Time (min)	A%, 水 (含0.1%甲酸)	B%, 甲醇
0	90	10
1	90	10
8	10	90
12	10	90
12.1	90	10
15	90	10

脂质组学:

其他参数与代谢组学相同，梯度程序如下:

Time (min)	A%, 乙腈/水 (60/40, v/v) 含5 mM乙酸铵	B%, 异丙醇/乙腈 (90/10, v/v) 含5 mM乙酸铵
0	85	15
1	85	15
3	52	48
8	18	82
11	1	99
13	1	99
13.1	85	15
15	85	15

质谱条件:

源参数	采用ESI源	正、负离子模式
	CUR	35 psi
	GS1	55 psi
	GS2	55 psi
	IS	+5500V、-4500V
	TEM	550°C
TOFMS	Declustering Potential (DP)	80 eV
	Collision Energy (CE)	10 eV
	TOF Mass Range	100-1250 Da
IDA mode	Which exceeds	100 cps
TOFMSMS	High Sensitivity mode	
	MS/MS Mass Range	50-1250 Da
	Collision Energy (CE)	35 eV
	CE Spread (CES)	15 eV

RUO-MKT-02-10115-ZH-A

数据分析工具

通过MarkerView™软件进行PCA主成分分析（此方法可比较多个样本的数据，揭示数据集间的分组，并在得分图中用图形显示分组情况。从载荷图中可以获得样品聚类有用的信息，并且能够说明哪些代谢物或生物标记物被向上或向下调节。主成分变量分组可帮助发现离子峰之间的关系，并将相关的峰手动或自动分配到一个特定组中。如图1所示。）此外，还通过MarkerView™软件进行了t检验，为了确定暴露峰值强度与对照组之间的差异。通过将对照组代谢产物和脂类的平均峰面积除以暴露组的峰面积，计算折线变化，并从MarkerView™软件导出p值。并研究了手性PCB 91暴露反应中涉及的代谢通路。

此外，对一针进样得到的高质量一级和二级质谱数据，使用SCIEX 专业的高分辨代谢产物二级谱库进行化合物鉴定，发现暴露组与对照组代谢产物存在显著差异（ $p < 0.05$ ）。另外通过LipidView™软件（LipidView™软件中脂质碎片数据库收录了50多个脂质类别，脂质碎片数据库中超过25,000条脂质种类信息，列出超过 600 种表征



MarkerView™ 软件

仅限研究使用。不可用于诊断程序。

MarkerView 软件是一个功能强大的程序，专为代谢组学和生物标志物分析应用而设计。可以让您快速方便地查看在所有 SCIEX 质谱仪上采集的数据，进行鉴定及跟踪样品中内源性化合物的上调和下调变化。

- 功能强大的分析工具，无论是有分类还是无分类的工作流程中，都能帮助您轻松地跟踪数据。
- 交互式可视化工具可以帮助您在进一步分析之前排除噪音和变量，如非源性代谢物。
- 分析数据与数据库进行匹配和跟踪工作，并记录潜在的生物标志物。
- 与 SCIEX 的 MALDI 和 ESI 质谱平台兼容，因此您可以使用最符合自己需求的系统。



LipidView 软件

仅限研究使用。不可用于诊断程序。

LipidView 软件是一款数据可视化工具，可以对脂质质谱数据进行快速和准确的鉴定。脂质碎片数据库中包含超过 25,000 条脂质碎片信息。LipidView 软件通过匹配脂质碎片数据库中的碎片离子和碎片离子质量进行碎片分析，并可能输出碎片化和碎片化的数据。适用于多种脂质分子类型，如甘油酯、脂肪酸和长链醇等的分析。LipidView 软件简化了多个关键步骤，例如可识别脂质碎片并查看其碎片化数据，可进行方法开发和选择。鉴定脂质碎片，全面消除碎片化数据，基于内部标准的数据。可优化和结果报告。与 SCIEX QTRAP 或 TripleTOF 系统相结合，这种完整的硬件和软件组合提供统一的数据采集和自动数据流处理，可以进行脂质组分析。

图1. MarkerView™和LipidView™软件。



脂质碎片。如图1所示。)自动鉴定出暴露组 and 对照组之间存在显著差异的脂质。

数据结果^[1]

代谢组学数据结果

基于非靶向高分辨率数据(阳性和阴性模式)进行PCA分析,探索蚯蚓对两种阿托异构体和(±)-PCB 91暴露反应的潜在生物标志物。PCA分析显示其明确区分了阳性和阴性模式下的四组(对照组、(+)-、(-)-和(±)-PCB 91)。

t检验结果显示,108种代谢物因接触手性PCB 91而发生显著变化。通过高分辨二级谱库准确匹配,鉴定出42个代谢物,它们属于几个类别:氨基酸及其衍生物(15个代谢物)、核苷(11个代谢物)、脂肪酸(7个代谢物)、二羧酸(2个代谢物)、维生素(2个代谢物)和其他(5个代谢物)。结果见表1,其给出了已鉴定的代谢物信息,包括P-value值和fold change值。

手性PCB 91异构体对蚯蚓代谢的影响可能与其代谢途径有关。对显著变化的代谢产物进行了Pathway分析。发现了数百条通路,其中涉及的代谢物发生了显著变化的有氨基酸代谢、能量代谢、神经发育和核苷酸代谢等典型通路。

从15种氨基酸及其衍生物中观察到Glu、Gln、Phe、Leu、Pro、Asp及其参与神经发育的变化,涉及Phe、Tyr代谢、Gly、Ser、Thr代谢、Asp生物合成、Glu、Gln代谢等多种氨基酸通路。此外,脂肪酸生物合成途径中涉及的十二酸、硬脂酸和油酸,在神经系统发育过程中也起着多种信号通路的作用。这些代谢物在(+)-PCB 91暴露后均下调,(-)-和(±)-PCB 91暴露后未发生变化,显示出明显的立体选择性作用。苯丙氨酸调节神经发育和功能,Pro、Gln、Leu、His、Asn和Trp在神经递质功能中起重要作用。天冬氨酸和谷氨酸是主要的兴奋性神经递质,Ser也是一种新型的神经递质。腺苷,另一种神经递质,在(+)-PCB 91暴露后也有所下调。腺苷衍生物ADP在能量传递中起着重要作用,而各种好氧脱氢酶的辅酶

黄素腺嘌呤二核苷酸(FAD)在(+)-PCB 91暴露后也有所下调,其参与神经发育和氨基酸代谢。事实上,PCB暴露与神经退行性疾病有关。与正常对照组相比,遗传神经发育障碍患者的大脑中PCB 95水平更高。因此,参与神经发育的代谢物的下调提示蚯蚓暴露于手性PCB 91时存在立体选择性的神经效应。

TCA循环代谢产物的变化、脂肪酸生物合成以及部分氨基酸的变化表明手性PCB 91对蚯蚓能量代谢有影响。参与能量转移的腺苷、单磷酸腺苷(AMP)和ADP在(-)-和(±)-PCB 91暴露后上调,这一情况并不常见。作为能量来源的长链脂肪酸,以及细胞膜的成分,在(+)-PCB 91暴露后被下调。Gln和Asp也出现了同样的现象。

嘌呤、嘧啶、核黄素代谢受(+)-PCB 91的影响,基于AMP、dAMP、UMP、FAD、FMN等相关代谢物,表明核苷酸代谢也受到了干扰。

脂质组学数据结果

脂质组学数据按代谢组学描述的相同方式进行数据处理,PCA分析也显示出明显的组间差异。25种脂质在暴露组和对照组中有差异性表达,其中6种脂质为LPC,6种脂质为LPE,8种脂质为LPI,5种脂质为LPS。这些脂质P-value值和fold change值见表1,这些结果表明,PCB 91具有显著的立体选择性影响,(+)-阿托异构体暴露是导致蚯蚓脂质代谢紊乱的主要因素,代谢组学证实了这一点。

溶血磷脂(LPLs)是磷脂的去酰化形式,不仅是细胞膜的结构成分,而且是影响多种过程的生物活性分子,如致癌、神经发生、免疫、血管发育或代谢疾病的调控。LPLs包括溶血磷脂酸(LPA)、S1P、LPG、LPE、LPC、LPI和LPS,已被证明可诱导多种细胞反应,如刺激增殖、迁移、肥大细胞脱颗粒、抑制凋亡。最近的一项研究表明,LPS、LPI、LPA和S1P通过其特定的细胞表面GPCRs传递信号,LPC和LPE也被报道通过假定的GPCRs发挥作用。LPLs水平的变化表明手性PCB 91对细胞内信号传导和调控细胞生长发育具有立体选择性作用,这与代谢组学研究结果一致。

RUO-MKT-02-10115-ZH-A





表1. 控制组和暴露组之间已鉴定代谢物和脂类的P-value值、fold change值^[1]。

class	name	(+)PCB 91		(-)PCB 91		Rac- PCB 91	
		p-Value	fold change	p-Value	fold change	p-Value	fold change
Metabolites	1-Methyladenosine	0.0106	1.84 ↓	0.8021	1.04 -	0.5034	0.91 -
	3-Methylxanthine	1.47E-08	1.66 ↓	0.0012	1.16 ↓	0.0025	1.20 ↓
	5'-Methylthioadenosine	9.96E-09	1.87 ↓	0.9718	1.00 -	0.8027	1.01 -
	Adenosine	5.69E-05	1.39 ↓	0.0503	0.83 ↑	0.0442	0.86 ↑
	Adenosine monophosphate	0.0037	0.84 ↑	1.04E-08	0.58 ↑	2.62E-09	0.56 ↑
	dAMP	2.01E-05	2.22 ↓ ↓	0.1044	1.02 -	0.9896	1.00 -
	ADP	0.0043	1.22 ↓	0.0005	0.74 ↑	3.11E-05	0.73 ↑
	Dodecanoic acid	5.69E-05	1.42 ↓	0.3943	1.08 -	0.0706	1.13 -
	FAD	4.44E-15	2.99 ↓ ↓	0.1275	1.11 -	0.2164	1.08 -
	FMN	1.29E-14	1.92 ↓	0.0902	1.07 -	0.0054	1.13 -
	Fumaric acid	3.77E-10	1.49 ↓	0.0046	1.09 -	0.0033	1.09 -
	Glucose 6-phosphate	4.05E-06	1.72 ↓	0.2599	1.11 -	0.0532	1.17 -
	Guanosine	6.82E-07	1.90 ↓	0.0431	1.17 ↓	0.4334	1.07 -
	Heptadecanoic acid	1.70E-10	1.74 ↓	0.6923	0.98 -	0.1662	1.06 -
	Indoleacrylic acid	1.49E-06	1.97 ↓	0.0065	1.33 ↓	0.0244	1.25 ↓
	L-Asparagine	0.0004	1.40 ↓	0.2560	1.10 -	0.6256	1.01 -
	L-Aspartate	5.90E-05	1.54 ↓	0.0263	1.22 -	0.1785	1.13 -
	L-Cystathionine	4.04E-06	1.35 ↓	0.0116	0.88 ↑	0.1646	0.93 -
	L-Glutamic acid	2.47E-07	1.65 ↓	0.0505	1.13 -	0.2117	1.08 -
	L-Glutamine	0.0008	1.22 ↓	0.3705	1.05 -	0.1100	1.02 -
	L-Histidine	0.0003	1.65 ↓	0.0605	1.26 -	0.3684	1.09 -
	Linoleic acid	4.08E-05	1.56 ↓	0.7321	0.97 -	0.2839	1.09 -
	L-Leucine	4.13E-06	1.83 ↓	0.0057	1.33 ↓	0.1438	1.15 -
	L-Malic acid	5.79E-10	1.41 ↓	0.0378	1.04 -	0.0092	1.06 -
	L-Methionine	6.77E-09	1.73 ↓	0.0005	1.24 ↓	0.0002	1.31 ↓
	L-Phenylalanine	1.19E-06	1.93 ↓	0.0245	1.25 ↓	0.2589	1.10 -
	L-Proline	0.0042	1.68 ↓	0.2076	1.02 -	0.6513	1.03 -
	L-Serine	9.75E-06	1.84 ↓	0.1667	1.12 -	0.2935	1.09 -
	L-Threonine	0.0001	1.93 ↓	0.0010	1.46 ↓	0.0420	1.29 ↓
	L-Tryptophan	2.66E-06	2.01 ↓ ↓	0.0090	1.35 ↓	0.0361	1.25 -
	Maltotriose	8.35E-07	1.75 ↓	0.2438	1.10 -	0.0262	1.21 -
	N-Alpha-acetylsine	2.01E-07	1.62 ↓	0.0013	1.25 ↓	0.0057	1.18 ↓
	Nicotinic acid	3.70E-08	1.57 ↓	1.41E-06	1.39 ↓	2.86E-05	1.39 ↓
	N-Methyl-a-aminoisobutyric acid	5.14E-09	0.74 ↑	9.78E-09	0.66 ↑	1.21E-10	0.66 ↑
	Nonadecanoic acid	0.0866	1.12 -	3.74E-06	1.68 ↓	0.2994	0.91 -
	Oleic acid	1.16E-05	1.46 ↓	0.6999	0.98 -	0.2961	1.04 -
	Phthalic acid	8.11E-13	1.79 ↓	8.58E-06	1.21 ↓	0.0001	1.20 ↓
	Riboflavin	7.47E-12	2.16 ↓ ↓	0.6499	0.98 -	0.0798	1.09 -
	Stearic acid	5.95E-08	1.40 ↓	0.9748	1.00 -	0.0273	1.09 -
	Tridecanoic acid	2.12E-05	1.71 ↓	0.9180	1.01 -	0.3806	1.08 -
	Tryptophanol	7.37E-09	2.21 ↓ ↓	0.2996	0.89 -	0.6347	1.04 -
	Uridine 5'-monophosphate	6.50E-05	1.63 ↓	0.3979	1.09 -	0.7727	1.03 -
Lipids	LPC 16:0	9.48E-09	1.45 ↓	0.2627	0.95 -	7.28E-08	1.39 ↓
	LPC 18:0	2.32E-05	1.21 ↓	1.67E-10	1.87 ↓	0.2431	1.06 -
	LPC 18:1	4.12E-07	1.47 ↓	0.6731	0.97 -	4.03E-06	1.41 ↓
	LPC 20:3	0.0063	1.38 ↓	0.3831	0.91 -	0.0030	1.42 ↓
	LPC 20:4	8.04E-06	1.45 ↓	0.8222	1.02 -	2.23E-05	1.36 ↓
	LPC 20:5	7.30E-09	1.53 ↓	0.1008	1.08 -	1.96E-09	1.47 ↓
	LPE 18:0	3.25E-05	0.78 ↑	0.2275	0.95 -	0.1095	0.93 -
	LPE 18:1	2.26E-06	1.40 ↓	0.2775	0.91 -	0.1898	0.90 -
	LPE 18:2	1.5E-10	1.41 ↓	0.3320	0.96 -	0.0192	1.12 ↓
	LPE 20:1	0.00123	1.25 ↓	0.1764	1.10 -	8.13E-05	0.62 ↑
	LPE 20:4	5.65E-09	1.73 ↓	0.8286	1.01 -	0.8950	1.01 -
	LPE 20:5	1.34E-10	1.81 ↓	0.2557	0.95 -	0.9355	1.00 -
	LPI 16:0	4.64E-09	2.49 ↓ ↓	0.2579	1.10 -	0.1224	1.12 -
	LPI 18:1	1.14E-07	1.73 ↓	0.2550	1.07 -	0.0841	1.11 -
	LPI 18:2	5.58E-07	1.66 ↓	0.0239	1.17 -	0.0726	1.14 -
	LPI 20:1	8.77E-07	1.61 ↓	0.5267	1.04 -	0.3631	1.06 -
	LPI 20:2	1.91E-05	1.72 ↓	0.3467	1.09 -	0.0742	1.16 -
	LPI 20:3	3.88E-05	1.59 ↓	0.3122	1.07 -	0.3025	1.08 -
	LPI 20:4	1.41E-07	1.74 ↓	0.1038	1.10 -	0.1235	1.11 -
	LPI 20:5	0.00012	1.67 ↓	0.4654	1.07 -	0.9449	0.99 -
	LPS 18:1	1.99E-06	1.74 ↓	0.0894	1.13 -	0.2227	1.10 -
	LPS 20:0	5.56E-06	1.50 ↓	0.6885	0.97 -	6.35E-06	1.51 ↓
	LPS 20:4	8.20E-09	1.77 ↓	0.4449	0.92 -	0.3650	1.06 -
	LPS 22:1	8.88E-08	1.83 ↓	0.5695	0.97 -	0.5832	1.03 -
	LPS 22:4	7.86E-12	2.35 ↓ ↓	0.1748	1.09 -	0.1326	1.10 -

↓ down regulated; ↑ up regulated; - no significant change; ↓ ↓ down regulated with fold change over 2.

RUO-MKT-02-10115-ZH-A



结论^[1]

本文研究了手性PCB 91在蚯蚓体内的代谢作用。代谢组学和脂质组学分析表明，即使在低BSAF下与(-)-PCB 91相比，(+)-PCB 91显著改变了108种代谢物和25溶血磷脂的表达，这主要是由(+)-PCB91引起的，这显示出明显的立体选择性影响。本研究为手性多氯联苯暴露环境风险的综合评价提供了新的视角。

总结

本实验展示了TripleTOF™ 系统在环境代谢组学和脂质组学领域的优势，获得高分辨率的质谱数据（TOF-MS和TOF-MS/MS），能够提供高效快捷一体化的解决方案，为客户提供强有力数据支持。该方法的主要技术特点如下：

1. 配备了DuoSpray™Turbo V 离子源的TripleTOF™ 系统，在数据采集时依靠高分辨数据采集模式（TOF MS-IDA-MS/MS扫描模式），整个组学样品采集过程只需一针进样，即可获得高分辨的一级数据，同时可以采集到更多的二级质谱数据，这就减少了分析人员需要多次采集数据的烦恼，大大缩短了数据采集的时间。
2. 化合物鉴定时，SCIEX代谢物高分辨MS/MS数据库可以进行数据匹配分析，此外，还可通过质量准确度、同位素丰度等信息进行高分辨数据解析，这就大大缩减实验人员结构解析耗费的时间和精力。
3. LipidView™软件中的数据库收录了大量脂质种类信息，

用于脂质化合物的鉴定，软件可依据模板方法自动处理数据，这就为脂质的鉴定提供了更简单更智能的数据处理过程，为繁琐的脂质鉴定大大缩短实验人员的鉴定时间。

4. MarkerView™软件能够快速进行数据的导入和PCA分析，T 检验等统计分析，帮助实验人员快速找到不同组分的差异离子，为实验人员解决了海量数据处理的困难，是代谢组学和脂质组学分析的利器。

参考文献

- [1] Zeying He, Yuehua Wang, Yanwei Zhang, Haiyan Cheng, Xiaowei Liu. Stereoselective bioaccumulation of chiral PCB 91 in earthworm and its metabolomic and lipidomic responses. Environmental Pollution 238 (2018) 421-430.

RUO-MKT-02-10115-ZH-A





TripleTOF™系统在浆果果汁掺假代谢组学中的应用

Metabolomic Approach for the Authentication of Berry Fruit Juice by TripleTOF™

李志远, 张九凯, 程海燕, 刘冰洁, 李立军, 郭立海

Li Zhiyuan, Zhang Jiukai, Cheng Haiyan, Liu Bingjie, Li Lijun, Guo Lihai

SCIEX中国应用支持中心 (北京)

SCIEX China, Asia Pacific application support center (Beijing)

Key Words: Metabolomic, Berry fruit juice, Authentication, Adulteration, PeakView MasterView™, MarkerView™, TripleTOF™

简介

以蓝莓和蔓越莓汁为代表的浆果果汁因其营养和健康益处而越来越受欢迎。然而在市场上,在浆果果汁中掺入便宜的替代品是经常发生的。本研究建立了一种利用TripleTOF™系统对浆果果汁进行掺假鉴定的组学研究方法。通过对已知果汁特征标记物如黄酮类化合物、花青素等的组学分析,可以很好地分离出掺假果汁和浆果果汁。进行非靶向代谢组学分析时,进行统计学分析,采用主成分分析法对蓝莓汁、蔓越莓汁及其掺假苹果汁、葡萄汁进行了鉴别。通过对不同果汁样品中标记物的比较,筛选出18种鉴别浆果果汁及其掺假物的特征标记物。这些结果表明,将非靶向代谢组学方法与靶向代谢组学的方法相结合,对浆果果汁的掺假鉴定具有很大的意义。

技术特点

1. 本实验通过TOF MS-IDA-MS/MS模式采集数据(见图1),可以实现一针进样采集数据,就可以获得组学分析中需要鉴定的化合物的高分辨一级母离子数据和高分辨二级子离子数据。该方法简单、快速,无需二次采集数据,可以大大提高组学样品采集的效率。

2. PeakView™和MasterView™软件可以对化合物进行快速的筛查鉴定,利用保留时间、精确质量数、同位素模式和MS/MS谱库搜索等方面的信息,可以实现自动化数据筛查和鉴定。此外,结合Chemspider在线数据库的支持,都可以大大提升无论是靶向或是非靶向化合物的快速鉴定,提高工作效率。

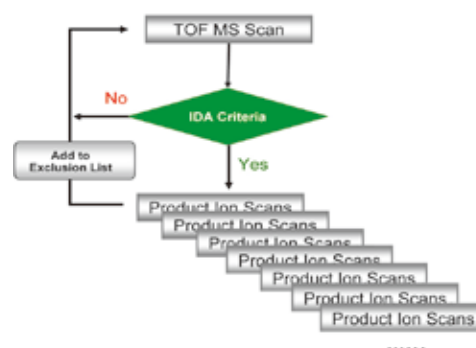


图1. TOF MS-IDA-MS/MS扫描模式。

3. 对于差异性分析,MarkerView™软件可以帮助用户进行多种的统计学数据处理模式,通过T检验等统计学手段找到影响最大的差异组分,进行标记,为组学分析提供有力的数据支持。

RUO-MKT-02-10506-ZH-A



样品及样品处理^[1]

实验共收集了山东、辽宁、贵州、吉林、江苏等地水果种植基地的蓝莓(n = 18)、蔓越莓(n = 18)、苹果(n = 30)、葡萄(n = 30)共96个样本，其都经当地种质资源专家鉴定。然后，在实验室里用这些水果相应地配制出新鲜的果汁。其他还收集了24种浓缩果汁，包括12种蓝莓果汁和12种蔓越莓果汁，均购自中国零售市场，并通过DNA条形码方法（数据未显示）验证了这些果汁的品种真伪。分别以10%、20%、30%、40%、50%（体积比）的比例将实验室制得的苹果汁和葡萄汁加入蓝莓汁和蔓越莓汁中，模拟掺假样品。

以实验室生产的鲜果汁为原料，随机选择鲜榨蓝莓汁、蔓越莓汁、苹果汁和葡萄汁，每种果汁的浓度均为25% (v/v)，共制备了12个质量控制（QC）样品。所有样品（50 mL）室温下离心20分钟，过0.2 μm PTFE膜后，所有样品用去离子水稀释20倍，置于-80℃保存，直至使用。

仪器设备：

ExionLC™ 系统+TripleTOF™ 系统



色谱条件：

色谱柱： Phenomenex C18, 2.1 × 100 mm, 2.6 μm
 流动相A： 水（含0.1%甲酸）
 流动相B： 甲醇（含0.1%甲酸）
 柱温： 40℃
 进样量： 2 μL

RUO-MKT-02-10506-ZH-A

采用梯度洗脱，如下所示

Time (min)	Flow rate (mL/min)	B%
0.0	0.3	2
2.0	0.3	2
14.0	0.3	95
17.0	0.3	95
17.1	0.3	2
20.0	0.3	2

质谱条件：

源参数	ESI源	正、负离子模式
	CUR	25 psi
	GS1	50 psi
	GS2	50 psi
	IS	+5500 V、-4500 V
	TEM	550℃
TOFMS	Declustering Potential (DP)	60 eV
	TOF Mass Range	50-1000 Da
IDA mode		
TOFMSMS	MS/MS Mass Range	50-1000 Da

数据分析工具：



图2. PeakView®、MasterView™和MarkerView™软件。

1. 通过使用MarkerView™软件，通过主成分分析(PCA)或主成分-判别分析(PCA-DA)方法处理在未分类工作流程中采集的数据。此方法可比较多个样品的数据，揭示数据集间的分组，并在得分图中用图形显示分组情况。从载荷图中可以获得样品聚类有用的信息，并且能够说明被标记物向上或向下调节。主成分变量分组



可帮助发现谱峰之间的关系，并将相关的谱峰手动或自动分配到一个特定组中。为了突出关系，这些相关峰组在荷载图中以不同颜色显示。当存在两个或更多的预定样品类别时，T检验分析技术非常有用，能够帮助确定到底是哪些化合物引起类别间的显著差异。

2. 通过PeakView™软件快速获得数据解析，利用保留时间、精确质量数、同位素模式和MS/MS谱库搜索等方面的信息，通过处理LC-MS/MS数据实现峰自动筛查和鉴定。
3. 通过MasterView™软件根据靶向化合物名单准确筛查未知样品，从而完成快速鉴定。此外，结合Chemspider数据库的支持，同样可以快速高效的完成非靶向化合物的鉴定。

化合物鉴定

从文献中收集关于浆果果汁样品中一些已知化合物的信息。总共筛选出43种化合物作为目标筛查的一部分，包括果汁中常见的花青素、黄酮类化合物和酚酸等（如表1所示）。

表1. 文献中报道的浆果中提取的化合物列表^[1]。

no.	metabolites	reference	no.	metabolites	reference
1	anthocyanins		33	kaempferol 3-O-rutinoside	33
2	delphinidin 3-O-glucoside	33, 34	34	luteolin 3-O-glucoside	34
3	delphinidin 3-O-glucoside	33-34	35	luteolin 3-O-glucoside	35
4	delphinidin 3-O-glucoside	33-34, 35	36	luteolin 3-O-glucoside	36
5	delphinidin 3-O-glucoside	33-34	37	luteolin 3-O-glucoside	37
6	delphinidin 3-O-glucoside	33, 34	38	luteolin 3-O-glucoside	38
7	delphinidin 3-O-glucoside	33-34	39	luteolin 3-O-glucoside	39
8	delphinidin 3-O-glucoside	33, 34	40	luteolin 3-O-glucoside	40
9	delphinidin 3-O-glucoside	33, 34	41	luteolin 3-O-glucoside	41
10	delphinidin 3-O-glucoside	33, 34	42	luteolin 3-O-glucoside	42
11	delphinidin 3-O-glucoside	33, 34	43	luteolin 3-O-glucoside	43
12	delphinidin 3-O-glucoside	33, 34	44	luteolin 3-O-glucoside	44
13	delphinidin 3-O-glucoside	33, 34	45	luteolin 3-O-glucoside	45
14	delphinidin 3-O-glucoside	33, 34	46	luteolin 3-O-glucoside	46
15	delphinidin 3-O-glucoside	33, 34	47	luteolin 3-O-glucoside	47
16	delphinidin 3-O-glucoside	33, 34	48	luteolin 3-O-glucoside	48
17	delphinidin 3-O-glucoside	33, 34	49	luteolin 3-O-glucoside	49
18	delphinidin 3-O-glucoside	33, 34	50	luteolin 3-O-glucoside	50
19	delphinidin 3-O-glucoside	33, 34	51	luteolin 3-O-glucoside	51
20	delphinidin 3-O-glucoside	33, 34	52	luteolin 3-O-glucoside	52
21	delphinidin 3-O-glucoside	33, 34	53	luteolin 3-O-glucoside	53
22	delphinidin 3-O-glucoside	33, 34	54	luteolin 3-O-glucoside	54
23	delphinidin 3-O-glucoside	33, 34	55	luteolin 3-O-glucoside	55
24	delphinidin 3-O-glucoside	33, 34	56	luteolin 3-O-glucoside	56

通过PeakView®软件和MasterView™软件共同对数据进行靶向和非靶向化合物的筛查鉴定，通过浆果果汁样品中各化合物的强度、信噪比、同位素匹配等信息获得所有初步鉴定的MS谱图，结合SCIEX高分辨二级数据库和Chemspider在线数据库进行比对。同时通过30种市售标准

品如quercetin 3-β-D-glucoside, trans-cinnamaldehyde, cyanidin 3-O-glucoside, kaempferol等化合物使用相同的条件来进一步验证。最终鉴定出花青素、黄酮类化合物、酚酸类化合物三大类共41种化合物（如表2所示）。

表2. 41种鉴定的化合物^[1]。

no.	metabolites	formula	m/z (MS) ²	m/z (MS/MS)	mass error (ppm)	RT ³ (min)
1	delphinidin 3-O-glucoside	C ₂₈ H ₃₀ O ₁₆	463.1000	303.0404	-1.2	9.1
2	delphinidin 3-O-glucoside	C ₂₈ H ₃₀ O ₁₆	463.1000	303.0404	-0.3	9.2
3	delphinidin 3-O-glucoside	C ₂₈ H ₃₀ O ₁₆	463.1000	303.0404	1.0	9.6
4	delphinidin 3-O-glucoside	C ₂₈ H ₃₀ O ₁₆	463.1000	303.0404	2.3	7.1
5	delphinidin 3-O-glucoside	C ₂₈ H ₃₀ O ₁₆	463.1000	303.0404	0.6	9.1
6	delphinidin 3-O-glucoside	C ₂₈ H ₃₀ O ₁₆	463.1000	303.0404	0.5	9.7
7	delphinidin 3-O-glucoside	C ₂₈ H ₃₀ O ₁₆	463.1000	303.0404	1.0	7.3
8	delphinidin 3-O-glucoside	C ₂₈ H ₃₀ O ₁₆	463.1000	303.0404	-0.3	9.6
9	delphinidin 3-O-glucoside	C ₂₈ H ₃₀ O ₁₆	463.1000	303.0404	-1.6	10.3
10	delphinidin 3-O-glucoside	C ₂₈ H ₃₀ O ₁₆	463.1000	303.0404	-1.0	9.9
11	delphinidin 3-O-glucoside	C ₂₈ H ₃₀ O ₁₆	463.1000	303.0404	-0.2	7.2
12	delphinidin 3-O-glucoside	C ₂₈ H ₃₀ O ₁₆	463.1000	303.0404	-1.3	7.6
13	delphinidin 3-O-glucoside	C ₂₈ H ₃₀ O ₁₆	463.1000	303.0404	1.2	9.5
14	delphinidin 3-O-glucoside	C ₂₈ H ₃₀ O ₁₆	463.1000	303.0404	0.9	6.7
15	delphinidin 3-O-glucoside	C ₂₈ H ₃₀ O ₁₆	463.1000	303.0404	-0.7	7.8
16	delphinidin 3-O-glucoside	C ₂₈ H ₃₀ O ₁₆	463.1000	303.0404	-0.8	8.7
17	delphinidin 3-O-glucoside	C ₂₈ H ₃₀ O ₁₆	463.1000	303.0404	0.1	1.6
18	delphinidin 3-O-glucoside	C ₂₈ H ₃₀ O ₁₆	463.1000	303.0404	-0.4	6.7
19	delphinidin 3-O-glucoside	C ₂₈ H ₃₀ O ₁₆	463.1000	303.0404	1.2	9.2
20	delphinidin 3-O-glucoside	C ₂₈ H ₃₀ O ₁₆	463.1000	303.0404	0.3	14.5
21	delphinidin 3-O-glucoside	C ₂₈ H ₃₀ O ₁₆	463.1000	303.0404	-0.3	11.1
22	delphinidin 3-O-glucoside	C ₂₈ H ₃₀ O ₁₆	463.1000	303.0404	0.1	6.6
23	delphinidin 3-O-glucoside	C ₂₈ H ₃₀ O ₁₆	463.1000	303.0404	-0.1	7.0
24	delphinidin 3-O-glucoside	C ₂₈ H ₃₀ O ₁₆	463.1000	303.0404	-0.3	7.5
25	delphinidin 3-O-glucoside	C ₂₈ H ₃₀ O ₁₆	463.1000	303.0404	0.9	9.2
26	delphinidin 3-O-glucoside	C ₂₈ H ₃₀ O ₁₆	463.1000	303.0404	1.6	6.9
27	delphinidin 3-O-glucoside	C ₂₈ H ₃₀ O ₁₆	463.1000	303.0404	-1.5	6.7
28	delphinidin 3-O-glucoside	C ₂₈ H ₃₀ O ₁₆	463.1000	303.0404	-0.2	7.1
29	delphinidin 3-O-glucoside	C ₂₈ H ₃₀ O ₁₆	463.1000	303.0404	-1.9	7.7
30	delphinidin 3-O-glucoside	C ₂₈ H ₃₀ O ₁₆	463.1000	303.0404	-0.1	10.1
31	delphinidin 3-O-glucoside	C ₂₈ H ₃₀ O ₁₆	463.1000	303.0404	0.6	9.3
32	delphinidin 3-O-glucoside	C ₂₈ H ₃₀ O ₁₆	463.1000	303.0404	0.1	6.1
33	delphinidin 3-O-glucoside	C ₂₈ H ₃₀ O ₁₆	463.1000	303.0404	0.1	7.2
34	delphinidin 3-O-glucoside	C ₂₈ H ₃₀ O ₁₆	463.1000	303.0404	1.1	18.5
35	delphinidin 3-O-glucoside	C ₂₈ H ₃₀ O ₁₆	463.1000	303.0404	0.9	6.7
36	delphinidin 3-O-glucoside	C ₂₈ H ₃₀ O ₁₆	463.1000	303.0404	0.3	7.2
37	delphinidin 3-O-glucoside	C ₂₈ H ₃₀ O ₁₆	463.1000	303.0404	1.2	1.8
38	delphinidin 3-O-glucoside	C ₂₈ H ₃₀ O ₁₆	463.1000	303.0404	-1.2	6.1
39	delphinidin 3-O-glucoside	C ₂₈ H ₃₀ O ₁₆	463.1000	303.0404	0.5	7.6
40	delphinidin 3-O-glucoside	C ₂₈ H ₃₀ O ₁₆	463.1000	303.0404	0	11.9
41	delphinidin 3-O-glucoside	C ₂₈ H ₃₀ O ₁₆	463.1000	303.0404	1.1	11.1

²Confirmed by standard. ³The detected and theoretical masses are for the molecular ions [M + H]⁺. ⁴Retention time.

组学分析

采用非靶向代谢组学分析，以获得有关果汁以及掺假果汁代谢产物的全面信息。对不同种类的果汁进行了20分钟的色谱梯度洗脱，保证了最大限度的色谱分离性能。

果汁样品在正离子模式下的基峰色谱图（BPC）如图2所示。其色谱峰数量、峰位、峰高有显著差异。4组果汁样品的化学成分差异在5-10和11-16 min之间。通过数据挖掘和比对，选择代表单同位素离子的峰共4088个，进行统计学分析。

通过MarkerView™软件，采用PCA-DA统计模型，根据前期实验的结果，在代谢组学分析中只使用正离子模式，这是因为在正离子模式下得到的样品聚类更明显，化合物

RUO-MKT-02-10506-ZH-A

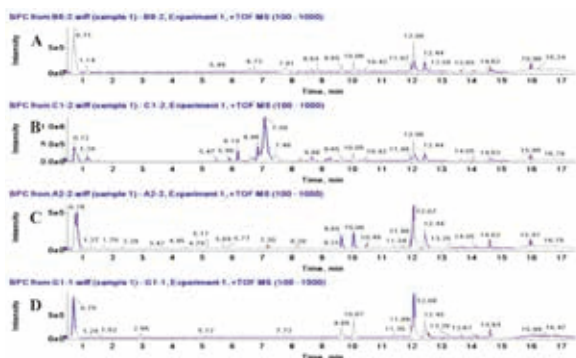


图2. 果汁的正离子BPC图：(A)蓝莓汁、(B)蔓越莓汁、(C)苹果汁、(D)葡萄汁^[1]。

的数量也比在负离子模式下得到的多。此外，为了研究数据的可靠性，使用QC样品对色谱和质谱数据质量进行了验证。在PCA-DA统计模式下QC样品间呈紧密的聚类关系，且QC样品的位置在坐标原点附近。这些结果清楚地证实了分析方法的稳定性和重现性。如图3所示，我们将样本明确分为5组：蓝莓汁(n= 30)、蔓越莓汁(n= 24)、苹果汁(n= 30)、葡萄汁(n= 30)和质控组(QC, n= 12)。这些结果表明，果汁可以根据其特征标记物来进行区分。

为了鉴定出对四个果汁组分贡献最大的特征标记物，通过绘制loadings plot图中所选峰的强度分布图，分析不同组的离子响应。如图4所示，所有苹果汁样品中离子A的强度(m/z 291.1, RT 8.2min)都相对较高，但其他果汁样品中检测不到，说明可以选择与离子A对应的组分作为苹果汁的潜在特征标记物。同样，蓝莓汁、蔓越莓汁、葡萄汁中离子B (m/z 441.1, RT 6.6 min)、离子C (m/z 577.1, RT 8.3 min)、离子D (m/z 335.0, RT 5.3 min)的响应相对较高，表明它们有可能作为特征标记物。同样，我们选择了18个离子作为不同果汁中潜在的特征标记物（如表3所示）。

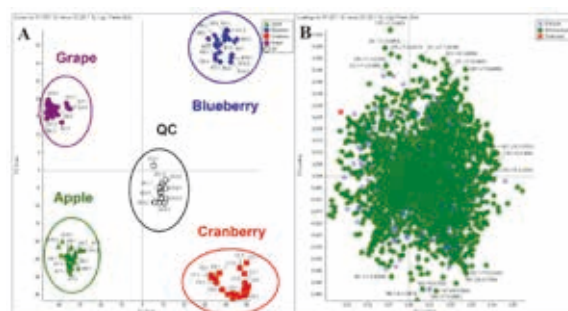


图3. 果汁（蓝莓组、蔓越莓组、苹果组和葡萄组）的PCA-DA统计结果：(A)Scores plot图；(B)loadings plot图。

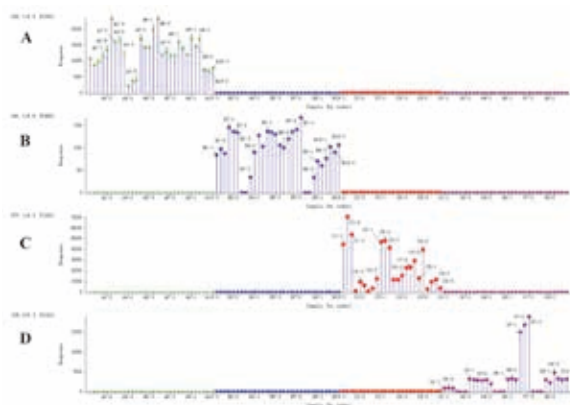


图4. 果汁中选定标记离子的响应(蓝色为蓝莓组；红色为蔓越莓组；绿色为苹果组；紫色为葡萄组)；(A) m/z 291.1, RT 8.2 min；(B) m/z 441.1, RT 6.6 min；(C) m/z 577.1, RT 8.3 min；(D) m/z 335.0, RT 5.3 min^[1]。

RUO-MKT-02-10506-ZH-A



表3. 果汁中检测到的特征标记物列表^[1]。

no.	m/z (MS)	RT ^a (min)	ion	m/z (MS/MS)	formula	identification (confirmed ^b and tentative ^c)	sample type ^d
1	443.0977	8.6	[M + H] ⁺	109.0429, 271.0333, 343.0436, 415.0575	C ₁₂ H ₁₁ O ₆	-0.1 myricetin-3-glucoside ^b	B
2	333.0814	5.5	[M + H] ⁺	143.0385, 145.0284, 155.0433	C ₁₂ H ₁₁ O ₆	-1.8 chlorogenic acid ^b	B
3	175.0648	5.1	[M + C ₂ H ₅ O] ⁺	139.0585, 131.0486, 93.0546, 45.0502	C ₁₂ H ₁₁ O ₆	-3.3 salicylic acid ^b	B
4	449.0861	10.3	[M + H] ⁺	107.0653	C ₁₂ H ₁₁ O ₆	-1.8 pterin-6-sulfonamide ^b	C
5	463.1141	8.5	[M + H] ⁺	109.0429, 271.0333, 343.0436, 415.0575	C ₁₂ H ₁₁ O ₆	-0.1 myricetin-3-O-galactoside ^b	C
6	395.0949	7.8	[M + H] ⁺	209.0859, 319.0889	C ₁₂ H ₁₁ O ₆	-0.3 salicic acid ^b	C
7	319.0812	6.5	[M + H] ⁺	89.0407, 149.0408, 151.0496, 381.0741	C ₁₂ H ₁₁ O ₆	-1.8 myricetin ^b	C
8	331.0372	5.3	[M + H] ⁺	143.0385, 145.0284, 155.0436, 415.0575	C ₁₂ H ₁₁ O ₆	-0.9 3,3'-di-O-methoxymethyl- glucose ^b	C
9	381.0489	7.7	[M + Na] ⁺	306.0853, 188.0796, 158.0814	C ₁₂ H ₁₁ O ₆	-1.1 salicic acid ^b	C
10	151.0648	6.9	[M + H] ⁺	131.0654, 105.0706, 105.0746, 79.0548	C ₁₂ H ₁₁ O ₆	0.1 trans-cinnamylaldehyde ^b	A
11	449.0879	7.9	[M + H] ⁺	287.0533, 449.0555	C ₁₂ H ₁₁ O ₆	0.1 kaempferol-3-O-glucoside ^b	A
12	273.0849	8.2	[M + H] ⁺	147.0557, 128.0853, 105.0875, 59.0561	C ₁₂ H ₁₁ O ₆	1.0 α-naphtholcarboxylic acid ^b	A
13	419.0973	7.4	[M + H] ⁺	287.0533, 341.0555, 313.0536, 145.0595	C ₁₂ H ₁₁ O ₆	0.3 cyanidin-3-sulfonamide ^b	B, C
14	449.0875	8.7	[M + H] ⁺	303.0889	C ₁₂ H ₁₁ O ₆	-0.5 delphinidin-3-sulfonamide ^b	B, C
15	463.0847	7.2	[M + H] ⁺	303.0889	C ₁₂ H ₁₁ O ₆	-0.2 pterin-6-sulfonamide ^b	B, C
16	463.1328	8.7	[M + H] ⁺	311.0908	C ₁₂ H ₁₁ O ₆	-0.8 malvidin-3-sulfonamide ^b	B, C
17	463.1748	9.1	[M + H] ⁺	303.0889	C ₁₂ H ₁₁ O ₆	-0.3 delphinidin-3-sulfonamide ^b	B, C
18	419.0975	7.5	[M + H] ⁺	287.0533	C ₁₂ H ₁₁ O ₆	-0.5 cyanidin-3-sulfonamide ^b	B, C

^aRetention time; ^bConfirmed by standard; ^cTentative identification; ^dB: blueberry, C: cranberry, A: apple, G: grape.

验证特征标记物的可行性，通过统计学分析，使得蓝莓汁和蔓越莓汁与苹果汁和葡萄汁在10、20、30、40和50%体积比来模拟掺假下进行差异分析。蓝莓汁和蔓越莓汁与苹果汁和葡萄汁的混合比例在10%以上，可以通过绘制样本选定的特征标记物的图谱进行来验证，进而判断果汁的掺假情况^[1]。

结果与讨论

本研究采用靶向和非靶向代谢组学分析方法对蓝莓和蔓越莓果汁及其掺假果汁进行鉴定。

1. 结合强大的PeakView™软件和MasterView™软件共同对数据进行靶向和非靶向化合物的筛查鉴定，通过对样品中各化合物的高分辨一级数据、同位素匹配等信息，再结合SCIEX高分辨二级数据库和Chemspider在线数据库进行比对鉴定。对目前已知的果汁类化合物如黄酮类化合物、花青素类化合物、酚酸类化合物进行了分析后，最终鉴定出41种备选化合物。

2. 通过MarkerView™软件的数据统计能力，结合得到的41种备选化合物的峰值强度，发现果汁及其掺假物之间存在显著差异，可以从整体的角度对浆果果实进行鉴定。并且通过差异分析，又挑选出18种化合物用来作为区分蓝莓和蔓越莓果汁及其掺假果汁的特征标记物。

参考文献

- [1] Jiukai Zhang, Qiuha Yu, Haiyan Cheng, Yiqiang Ge, Han Liu, Xingqian Ye, Ying Chen. Metabolomic Approach for the Authentication of Berry Fruit Juice by Liquid Chromatography Quadrupole Time-of-Flight Mass Spectrometry Coupled to Chemometrics. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 66(30), 8199–8208.



基于ZenoTOF™ 7600系统的高质量二级质谱数据建立拟南芥广靶代谢组学检测方法

Establishment of Wide Target Metabolomics Detection Method for Arabidopsis Thaliana Based on High-quality secondary mass spectrometry data of Zeno TOF™ 7600 System

陈金梅, 司丹丹, 龙志敏, 郭立海

Chen Jinmei, Si Dandan, Long Zhimin, Guo Lihai

SCIEX应用支持中心, 中国

SCIEX, China

Key Words: ZenoTOF™ 7600 System, QTRAP® 6500+ System, Information Dependent Acquisition (IDA) Scanning, Zeno™ Trap, Scheduled MRM, Metabolomics, Arabidopsis thaliana

的离子对, 将其转化为QTRAP® 6500+系统的分窗口多反应监测 (Scheduled MRM™) 模式对样品采集, 既保证了覆盖全面性同时解决了结果准确性问题, 使得该方法具有独特的亮点。

前言

代谢组学是继基因组学和蛋白质组学之后新近发展起来的一门学科, 是系统生物学的重要组成部分。近年来在植物研究领域受到广泛关注。植物中代谢物超过20万种, 有维持植物生命活动和生长发育所必需的初生代谢物及利用初生代谢物生成的与植物抗病和抗逆关系密切的次生代谢物, 所以对植物代谢物进行分析是十分必要的。非靶向代谢组学和靶向代谢组学是代谢组学两种主要应用形式, 各具优劣势。现如今将二者优势结合起来的是高覆盖结合高准确代谢组学方法, 也就是广泛靶向/拟靶向/类靶向代谢组学较为流行。

本实验采用ZenoTOF™ 7600系统的非靶向方法, 数据依赖采集+动态背景扣除+ Zeno™ 阱开启 (IDA+DBS+Zeno™ Trap on) 数据采集模式, 使用SCIEX OS软件对拟南芥完成数据采集和数据分析工作, 鉴定出拟南芥中代谢物成分。运用发现样品中存在的代谢物, 并锁定其保留时间和检测

技术特点

1. ZenoTOF™ 7600系统, 配备Zeno™ Trap, 提高离子占空比, 富集MS/MS碎片离子, 提高MS/MS灵敏度, 特别是对低含量化合物, 也能获得优异的数据库匹配, 提升代谢物覆盖度;
2. ZenoTOF™ 7600系统是集扫描速度, 分辨率和灵敏度于一体的高分辨质谱仪, 配合133 Hz快速扫描速度, 保证化合物的覆盖率和MS/MS谱图质量的前提下, 可以缩短样品运行时间;
3. QTRAP® 6500+系统是具有高灵敏度同时保证数据稳定性的体系。可以提供理想的定量限, 具有更宽的线性范围, 能对复杂基质中浓度差异较大的化合物进行检测和定量分析。5毫秒极性切换能力可以在保证点数的前提下实现一针正负切换, 样品只需进样一针, 实现高通量检测。

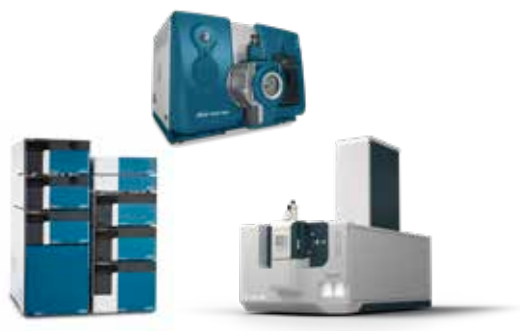
RUO-MKT-02-14255-ZH-A





仪器设备

SCIEX ExionLC™系统+QTRAP® 6500+系统+ ZenoTOF™ 7600系统



液相方法

色谱柱: Luna Omega Polar C18 (100 × 3.0mm, 3 μm)

流动相: A相: 水 (0.03%甲酸)

B相: 甲醇: 乙腈 (1:1, 0.03%甲酸)

流速: 0.3 mL/min

柱温: 40 °C

进样量: 2 μL

表1. 液相梯度

Time(min)	A (%)	B (%)
1.00	95	5
7.00	50	50
22.00	2	98
27.00	2	98
27.10	95	5
30.00	95	5

ZenoTOF™ 7600系统质谱方法

扫描模式: ESI+/- TOF MS-IDA-20TOF MS/MS

扫描范围: 一级m/z 50-1500 二级m/z 30-1500

CDS自动校正

动态背景扣除 (DBS) 开启

Zeno on

离子源参数:

喷雾电压: 5500V/-4500 V

气帘气 CUR: 35 psi

雾化气 GS1: 50 psi

雾化气 GS2: 55 psi

源温度: 550 °C

DP电压: ± 60 V

碰撞能量: ± 35 ± 15 V

QTRAP® 6500+ 系统质谱方法

扫描模式: 一针正负切换的Scheduled MRM

离子源参数:

喷雾电压: 5500V/-4500 V

气帘气 CUR: 35 psi

雾化气 GS1: 50 psi

雾化气 GS2: 55 psi

源温度: 550 °C

DP电压: ± 60 V

碰撞能量: 三个能量中的最优值

实验流程

ZenoTOF™ 7600 系统的IDA+DBS+Zeno on数据采集模式得到高分辨数据后, 使用SCIEX OS软件结合二级数据库 (SCIEX) 结合已报到的文献, 使用非靶向, 半靶向和靶向流程对样品完成快速、准确、全面的鉴定, 建立数据库, 并将其转化成离子对, 使用QTRAP® 6500+系统的Scheduled MRM一针正负切换数据采集模式采集批量样品数据。

RUO-MKT-02-14255-ZH-A

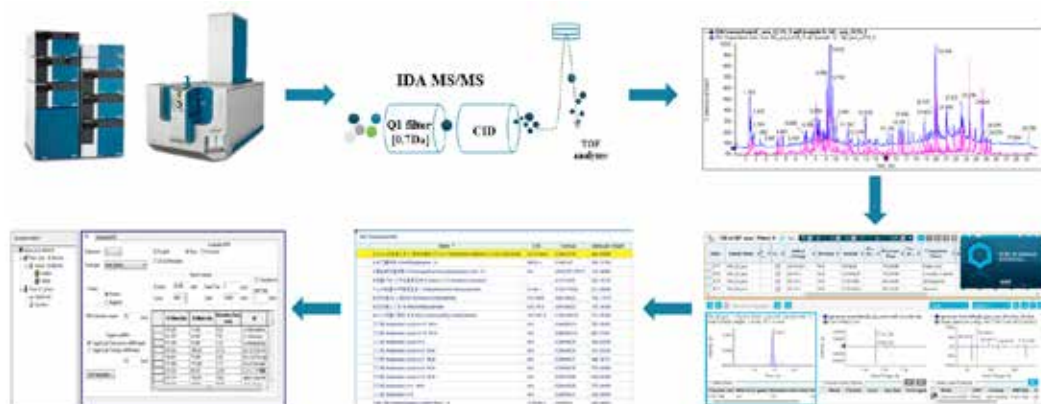


图1. 实验流程

实验结果

1. 采用非靶向，半靶向和靶向流程正负离子共鉴定到538个化合物，并建立本地数据库，代谢物主要包括酚类，氨基酸及其衍生物，有机酸，糖及糖苷等类别。

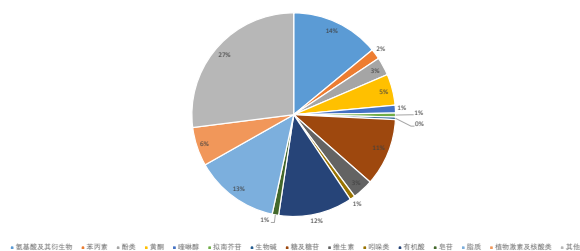


图2. 代谢物类别

2. 采用建立好的一针正负切换的Scheduled MRM方法采集数据，每10针穿插一针QC，37针的TIC图重现性良好，QC样品中加入的内标化合物，时间偏移在0.05 min之内，峰面积的RSD为5.70%。

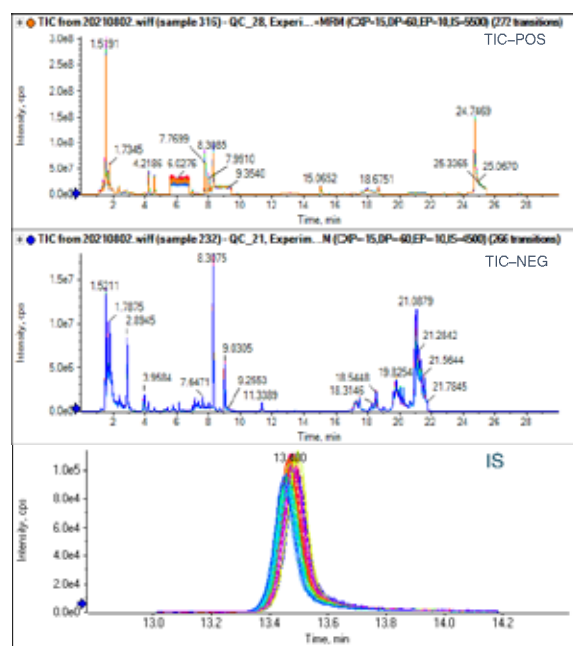


图3. QC样品和内标化合物重现性谱图

RUO-MKT-02-14255-ZH-A



总结

本实验展示了ZenoTOF™ 7600系统结合QTRAP® 6500+系统方案在植物代谢组学领域的优势。ZenoTOF™ 7600系统数据采集模式（IDA+DBS+Zeno on扫描模式），只需一针进样，可获得高分辨的一级和高质量有效的二级质谱数据，减少分析人员手动扣除基质背景和多次采集数据的烦恼，大大缩短了数据采集的时间，提高效率，Zeno on的功能使低含量化合物依旧可以得到高质量的二级，用于鉴定分析。QTRAP® 6500+系统在复杂基质中代谢物定量方面表现出高灵敏度、高通量、线性范围宽的优势，二者互为验证和补充，大大提高组学研究结果的覆盖度和准确度，是组学研究的发展趋势。

RUO-MKT-02-14255-ZH-A



ZenoTOF™ 7600系统在莲藕产地溯源中及品种鉴别中的应用

The application of ZenoTOF™ 7600 in traceability of the origin and variety identification of lotus root

赵刘清¹, 刘姣², 杨总¹, 刘冰洁¹, 郭立海¹

Zhao Liuqing¹, Liu Jiao², Yang Zong¹, Liu Bingjie¹, Guo Lihai¹

SCIEX China¹

湖北省农科院, 武汉, 中国²

Hubei Academy of Agricultural Sciences, Wuhan, PR China²

Keywords: Lotus root; Zeno™ trap; EAD; ZenoTOF™ 7600

1、引言

我国是莲藕的原产地之一, 莲藕资源非常丰富。主要分布在湖北、湖南、浙江和广东等省。莲藕是一种睡莲科莲属的肥大根茎, 含有丰富的碳水化合物、蛋白质、维生素、矿物质、鞣质等, 除了食用价值外, 还具有清热、止血、调节内分泌、滋补安神等功效。不同产地的莲藕由于地域、气候、水源不一样, 营养成分各有千秋。本试验选用莲藕作为试验对象, 使用SCIEX ZenoTOF™ 7600系统对湖北三个不同产地汉川市沉湖镇、武汉江夏区、洪湖市的各两个品种的莲藕营养成分进行分析。

实验方案的优势和特点如下:

- 1、实验对莲藕代谢组学进行了系统研究, 综合分析莲藕的产地和品种的差异。
- 2、SCIEX ZenoTOF™ 7600系统展示出良好稳定性, 轻松应对大批量组学样本实验。
- 3、启用Zeno™ trap (Zeno阱) 功能可以提高化合物的二

级谱图质量, 可显著提升二级响应, 对于所鉴定到的化合物大部分提高5-20倍, 使得谱库检索得分更高, 鉴定更准确。

- 4、电子激活解离 (EAD) 碎裂技术可以获得更多的二级碎片, 提高库匹配定性分析结果准确性、使得未知物的鉴定结果更加准确。
- 5、SCIEX OS软件结合高分辨天然产物二级标准谱库, 可快速进行谱库的匹配, 保证鉴定的结果快速、准确, 共发现191种营养成分。
- 6、三个产地的莲藕各营养物质的含量存在非常显著差异; 三个产地各两个品种来源的莲藕中营养物质含量存在显著差异, 尤其汉川市沉湖镇鄂莲6号中绝大多数含量高于鄂莲5号。

2、实验方法

2.1 样品前处理

样品研磨成细粉, 称量0.5 g粉末装到在15 mL离心管中, 加入2 mL 50 % 甲醇水, 超声提取10 分钟, 在4℃, 15 000 rpm条件下离心。最后, 取上清液通过聚0.22 μm尼龙膜过滤, 转入样品瓶进行UPLC-MS/MS分析。

RUO-MKT-02-14255-ZH-A





2.2 质谱条件

采集方式: TOF MS-IDA-MS/MS

去簇电压DP: 60 V

碰撞能量CE: 35 ± 15 eV

一级质谱图扫描范围: 60-1200 Da

二级质谱图扫描范围: 40-1200 Da

扫描模式: 详细质谱条件见表1

表1 质谱条件

质谱条件	参数
电喷雾电离 (ESI)	正/负
气帘气CUR (psi)	35
碰撞气CAD (psi)	7
喷雾电压IS (V)	5500/-4500
温度TEM (°C)	500
雾化气GS1 (psi)	55
辅助雾化气GS2 (psi)	55

3、结果与讨论

3.1 数据质量评估

本次实验总共运行了二百多针样品; 每个样本各取一定量进行混合, 制成质控(QC) 样品。全部QC样品的总离子流图(TIC)图重合, 取样本中不同时间段的分子量有差异的离子比较重复性差异。如图1所示, 尽管仪器采集样品数天, 四个不同保留时间的不同质荷比的离子可以重合, 表明仪器的具有超强的抗基质干扰能力和优异的稳定性, 保证了整批数据的可靠性。

ZenoTOF™ 7600系统具有超快的扫描速度, 一针进样同时获得高分辨的一级和高分辨的二级质谱图; 扫描1张一级谱图和12张二级谱图仅需0.01 min, 且在超快的扫描速度下依然可以采集到 12个点, 保证了定量的准确性, 并且不管一级质谱图还是二级质谱图在全质量端保持高分辨、高灵敏度(图2)。

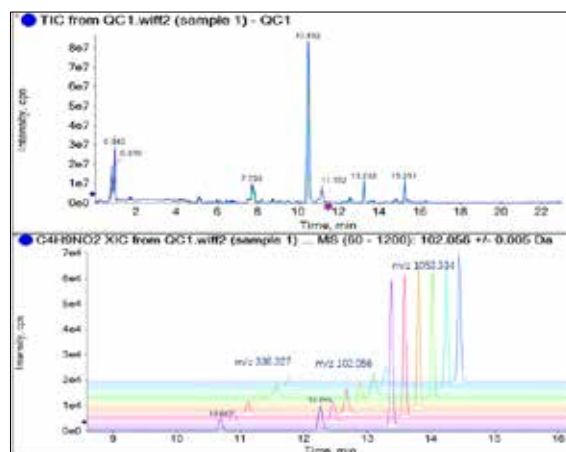


图1. QC样品的重复性考察

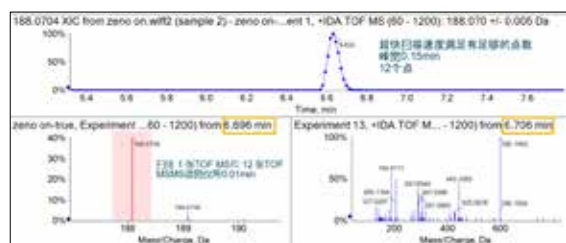


图2. 在超快的扫描速度下, 兼顾分辨率、高灵敏度、高准确度

通过 动态背景扣除 (DBS) 功能可以很好的去除背景离子的干扰, 保证了整个色谱梯度采集到的二级质谱图有效和高质量; 如图 3 所示, 质荷比 163虽然响应值很高, 但是提取离子色谱图没有明显的色谱峰, 因此不会打二级质谱图; 然而对于有些丰度较低的化合物, 质荷比 696.3, 响应只有600 cps, 通过DBS 功能依然可以采集高质量的二级质谱图, 为低浓度化合物鉴定提供了很好的手段 (图3)。

3.2 Zeno™ trap技术在代谢组学研究中的应用

在代谢组学研究中, 代谢物的准确鉴定尤其重要, 而对于准确鉴定必须通过高质量的二级质谱图, 因此获得优异的二级灵敏度, 至关重要。ZenoTOF™ 7600系统上使

RUO-MKT-02-14255-ZH-A

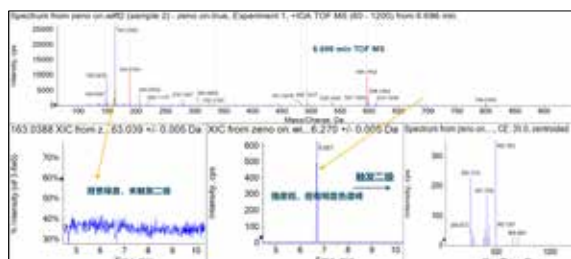


图3. DBS功能

用Zeno™ trap, 将占空比提高到大于90%, 减少了离子损失, 实现更高的MS/MS灵敏度。Zeno On (开启Zeno™ trap功能) 与 Zeno Off (关闭Zeno™ trap功能) 相比, 对于所鉴定到的化合物大部分二级提高5-20倍。以植物鞘氨脂为例, 二级响应提升了10倍 (图4)。

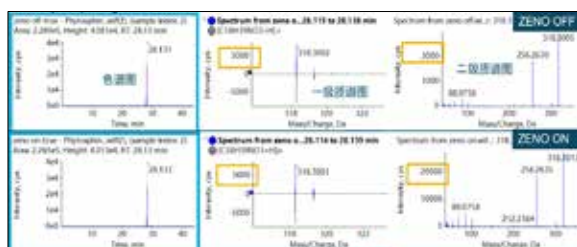


图4. 植物鞘氨脂Zeno on(下)与Zeno off(上)采集方式对比

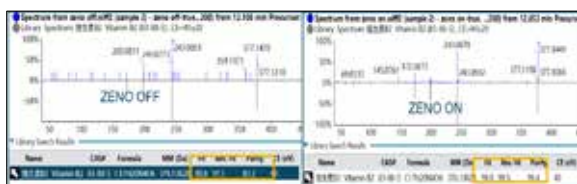


图5. 维生素B2二级谱图匹配结果在Zeno off(左)与Zeno on(右)对比

IDA模式下, 如图5所示, Zeno开启之后化合物二级灵敏度显著提高, 同一样品在Zeno on 时维生素B2的二级质谱图库匹配得分为99.4分, 在Zeno off时所得二级质谱图的库匹配得分为81.7分。Zeno™ trap可显著提升二级

响应, 低浓度也能得到高质量二级谱图和高的库匹配得分, 实现更高二级定量灵敏度和二级定性准确度。

3.3 EAD碎裂技术提供更多碎片信息

对于化合物鉴定而言, 通常情况下应用碰撞诱导解离 (CID) 方法产生离子碎片进行定量和定性鉴定。对于某些化合物CID只能产生很少的确证碎片, 不足以进行准确的碎片归属, 导致鉴定结果不准确。ZenoTOF™ 7600系统上不仅仅具备CAD功能同时具有电子活化解离 (EAD) 碰撞技术, 该技术是一种电子自由基的解离技术, 可以对化合物进行选键裂解。如图6所示, 植物鞘氨脂在CID模式下只产生了三个主要碎片, 在EAD碎裂技术下产生了更丰富的碎片, 化合物的碎片归属更多更准确, 为化合物准确的定性鉴定提供了更有利的手段。

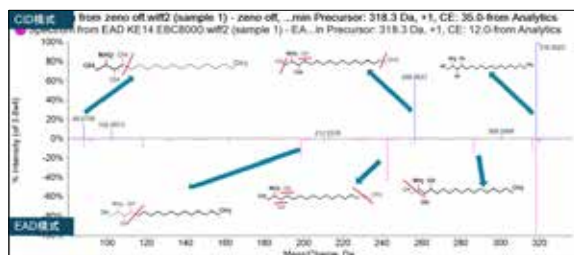


图6. 植物鞘氨脂CID(上)碎片与EAD(下)对比

3.3 差异性分析

使用组学软件对鉴定的化合物进行差异分析, 对三个产地鄂莲5号莲藕进行PCA分析, 结果显示同品种三个产地莲藕中化合物能够得到有效区分 (图7)。针对三个产地的鄂莲5号莲藕样品鉴定物做统计分析, 根据t 检验结果选取 $p < 0.05$, FC (倍数关系) > 2 或 < 0.5 , VIP > 1 的差异化合物61个, 发现这些化合物中洪湖市的绝大部分化合物的相对含量高于汉川市沉湖镇和武汉江夏区来源的样品 (图8), 以氨基酸为例, 亮氨酸、异亮氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸等10种氨基酸均显著高于其他两个产地。

对汉川市沉湖镇两个品种莲藕鄂莲5号和鄂莲6号对比, 两个品种的莲藕中的营养物质存在明显的区分 (图

RUO-MKT-02-14255-ZH-A



9)，对具有显著差异的化合物进行分析，发现差异最显著的15个化合物中鄂莲6号的含量相对鄂莲5号更高，包括植物激素如吲哚、吲哚-3-丙烯酸；氨基酸如色氨酸、丙氨酸等、以及糖类和多酚（图10）。

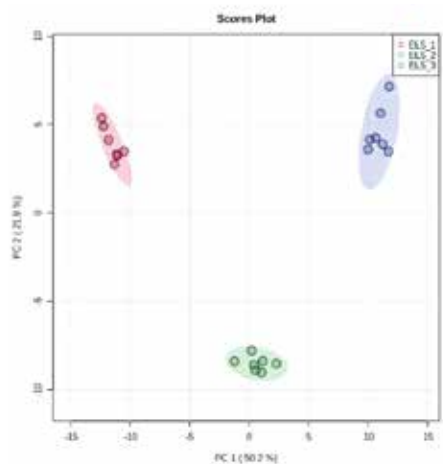


图7. 三个产地莲藕中化合物主成分分析图

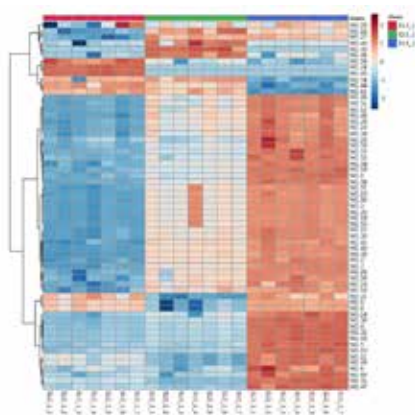


图8. 三个产地莲藕中差异性化合物热图

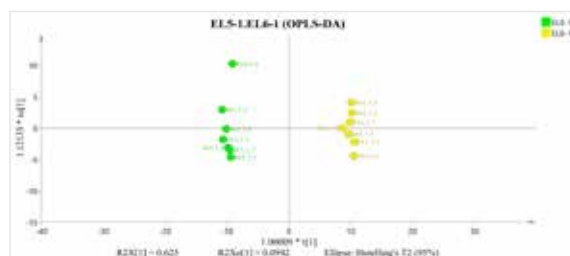


图9. 汉川市沉湖镇两个品种莲藕OPLS-DA分析

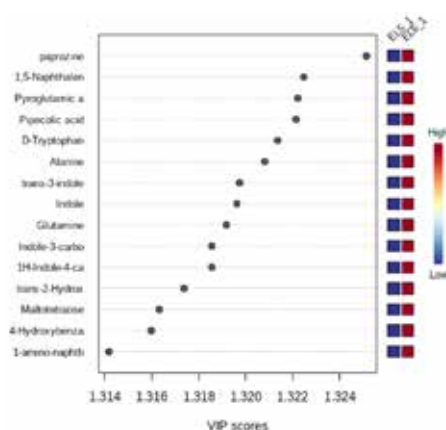


图10. 汉川市沉湖镇两个品种莲藕差异显著化合物比较

4、结论

本文使用SCIEX ZenoTOF™ 7600系统建立了莲藕代谢组学方法。Zeno™ trap技术显著提升了组学样本二级质量，提高定性结果的准确性。EAD碎裂技术产生区别于CID碎裂方式的二级碎片信息，帮助化合物精细结构确认。ZenoTOF™ 7600系统采集的数据保证得到全面丰富的鉴定结果，帮助进行莲藕产地鉴定和品种鉴别。

RUO-MKT-02-14255-ZH-A

SCIEX Now™支持网络

一站式满足您所有的支持需求

产品和数据安全

合规性服务提升您的信心，帮助您保护数据安全，确保数据完整性，以及数据管理系统的溯源性。

新手上路

我们将帮助您在SCIEX Now 学习中心在线注册，邀请您在SCIEX Now 学习中心注册学习，并向您发送欢迎电子邮件。

实验室增强服务

SCIEX实验室增强服务计划，为您的实验室提供整体服务解决方案，以提高工作效率并减少系统停机时间。



自我学习资源

我们的知识库和社区，将帮助您提升科学知识水平，并从SCIEX专家或者同行那里找到您所需要的答案。

全工作流程技术支持

只要您在实验过程中，遇到困难挑战，SCIEX 支持团队都会帮助您高效地解决问题，实现科学目标。

SCIEX Now 学习中心

优质的内容，个性化的学习方式 - 使用全新的科学记忆方式设计的课程。

立即开始成功之路： sciex.com.cn/support

SCIEX临床诊断产品线仅用于体外诊断。仅凭处方销售。这些产品并非在所有国家地区都提供销售。获取有关具体可用信息，请联系当地销售代表或查阅<https://sciex.com.cn/diagnostics>。所有其他产品仅用于研究。不用于临床诊断。本文提及的商标和/或注册商标，也包括相关的标识、标志的所有权，归属于AB Sciex Pte. Ltd. 或在美国和/或某些其他国家地区的各权利所有人。

© 2022 DH Tech. Dev. Pte. Ltd. RUO-MKT-03-14863-ZH-A



SCIEX中国

北京分公司
上海公司及中国区应用支持中心
广州办公室
全国咨询电话：800-820-3488, 400-821-3897

北京市朝阳区酒仙桥中路24号院1号楼5层
上海市长宁区福泉北路518号1座502室
广州国际生物岛星岛环北路1号B2栋501、502单元

电话：010-5808-1388
电话：021-2419-7201
电话：020-8842-4017
官网：sciex.com.cn

传真：010-5808-1390
传真：021-2419-7333
官方微信：SCIEX-China