

SCIEX X500R QTOF系统结合MS-DIAL软件鉴定桃子中的脂质成分

Identification Lipids compounds in Peach by SCIEX X500R QTOF system compared with MS-DIAL software.

雷敏，龙志敏，郭立海

Lei Min, Long Zhimin, Guo Lihai

SCIEX, 中国

Keywords: Peach, lipids, SCIEX X500R QTOF system

引言

在中国，桃子是一种广受欢迎的水果，其营养价值高，含有丰富的膳食纤维、维生素、矿物质，功效包括抗氧化、促进消化、降低血糖。植物或水果中含有大量的初生代谢物，次生代谢物以及脂质，这些成分在不同生长时期，不同品种以及长期保存过程中会受到环境的影响而发生含量上的变化，环境因素则包括冷害，低温储存等。植物中膜系统的破坏，是发生冷害的重要原因之一，而膜系统的流动性和稳定性取决于膜脂质的组成和调节。因此，植物脂质作为植物或水果中重要的一大类成分，建立一个桃子中非靶向脂质组学方法及全面的脂质成分分布信息，用于桃子的各环节研究工作至关重要。

本文实验方法特点

本文展示了使用SCIEX X500R QTOF系统鉴定出桃子中的脂质成分，可应用于桃子的脂质组学研究中，为桃子育种，保存等提供信息。该方案具有以下特点：

1. 本实验采用SCIEX X500R QTOF系统进行数据采集，该仪器具有扫描速度快（高达100HZ），结合IDA(数据依赖性采集)和DBS功能(动态背景扣除)的采集方式，可在一针进样过程中，尽可能全面的采集高质量的二级谱图，以实现更全面鉴定脂质成分的目的。
2. 该方法鉴定结果，以一级质荷比偏差，同位素比例偏差和二级碎片匹配度三个维度进行定性确认，鉴定结果可信度高。总共鉴定出327个脂质成分，正、负模式下分别鉴定到181和146个不重复的脂质成分。

3. 该方法采集效率高，仅18 min的方法即可完成一针样品的检测，实现高通量检测。鉴定到的327个脂质成分中，包括ASG, Cer, FA, FAHFA, HerCer, PC, PE, PI, PG, PS, PA, MG, DG, TG, MGDG, DGDG, SQDG, DGGGA, SE, SPB, ST, PMeOH等类植物脂质，鉴定种类覆盖度高。
4. 该方法通过非靶向脂质组学方法，尽可能全面的获得桃子中的脂质成分信息，为农学领域的科研客户开展非靶向脂质组学研究提供脂质成分信息和参考，便于快速筛选差异物。

仪器设备

SCIEX Exion LC™系统 + SCIEX X500R QTOF系统



液相方法

色谱柱：Phenomenex Kinetex C18 (2.1 × 100 mm, 2.6 μm)

流动相：A相：甲醇:乙腈:水=1:1:1（含5 mmol/L 醋酸铵）

B相：异丙醇（含5 mmol/L 醋酸铵）

流速: 0.3 ml/min

柱温: 45 °C

进样量: 1 µL

Time(min)	A (%)	B (%)
0.00	80	20
1.00	80	20
3.00	30	70
13.0	2	98
15.0	2	98
15.1	80	20
18.0	80	20

离子源: 电喷雾离子源ESI源, 正、负离子模式

采集方式: TOF MS (飞行时间质谱一级扫描) -15 MS/MS (飞行时间质谱二级扫描)

飞行时间质谱一级扫描TOF MS: 质荷比范围(Da)200-1000

飞行时间质谱二级扫描TOF MS/MS: 质荷比范围(Da)80-1000

自动校正系统(CDS)开启

动态背景扣除(DBS)开启

离子源参数

电喷雾电压: 5500 V(正离子); -4500 V(负离子)

气帘气 CUR: 35 psi 雾化气 GAS1: 55 psi

雾化气 GAS2: 55 psi 源温度 TEM: 550 °C

去簇电压 DP: 80 V(正离子); -80 V(负离子)

碰撞能量 CE ± CES: 40 ± 20 V(正离子); -40 ± 20 V(负离子)

QC样本制备

三个品种不同成熟度的样品, 总共9份, 分别取100 µl混合成QC样本。因QC样本混合了所有样品中的脂质信息, 因此能更全面的鉴定出脂质化合物。

实验结果

1. QC样品溶液:

QC样本正、负离子一级和二级总离子流图, 分别见图1和图2。从图1和图2中, 分别可以看到该提取条件下, 桃子中的脂质成分中较多的分布在3-9min, 且信号高。

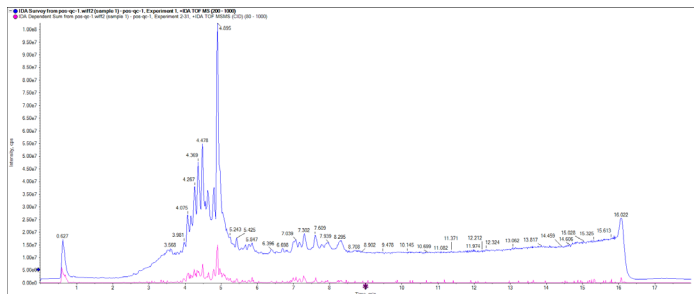


图1. QC样本正离子总离子流图

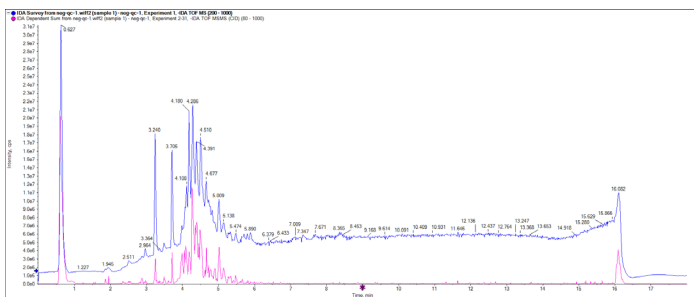


图2. QC样本负离子总离子流图

2. 脂质鉴定列表 (部分):

2.1 脂质成分鉴定列表

本实验中, 使用MS-DIAL 软件 (版本号4.9, <http://prime.psc.riken.jp/compms/msdial/main.html>) 和SCIEX OS软件 (版本号3.1) 对QC样本进行脂质成分鉴定。通过一级质荷比偏差, 同位素比例偏差和二级碎片匹配度三个维度进行定性确认。总共鉴定出327个脂质成分, 正、负模式下分别鉴定到181和146个不重复的脂质成分。包括ASG, Cer, FA, FAHFA, HerCer, PC, PE, PI, PG, PS, PA, MG, DG, TG, MGDG, DGDG, SQDG, DGGA, SE, SPB, ST, PMeOH等类植物脂质, 鉴定种类覆盖度高。详细鉴定结果列表 (部分) 如下:

表1. 正离子鉴定列表 (部分)

Component Name	Formula	Adduct / Charge	Area	Retention Time(min)	Precursor Mass	Mass Error (ppm)
ASG 28:1;O;Hex;FA 16:0	C ₅₀ H ₈₈ O ₇	[M+NH ₄] ⁺	1.88E+05	5.74	818.6870	-0.9
ASG 28:1;O;Hex;FA 18:1	C ₅₂ H ₉₀ O ₇	[M+NH ₄] ⁺	1.21E+05	5.8	844.7025	-0.6
ASG 28:1;O;Hex;FA 18:2	C ₅₂ H ₈₈ O ₇	[M+NH ₄] ⁺	1.10E+05	5.55	842.6870	-0.4
ASG 29:1;O;Hex;FA 14:0	C ₄₉ H ₈₆ O ₇	[M+NH ₄] ⁺	3.77E+04	5.53	804.6712	0.1
ASG 29:1;O;Hex;FA 16:0	C ₅₁ H ₉₀ O ₇	[M+NH ₄] ⁺	2.11E+06	5.85	832.7020	-0.5
ASG 29:1;O;Hex;FA 17:0	C ₅₂ H ₉₂ O ₇	[M+NH ₄] ⁺	3.20E+04	6.03	846.7181	-0.8
ASG 29:1;O;Hex;FA 18:0	C ₅₃ H ₉₄ O ₇	[M+NH ₄] ⁺	1.10E+05	6.21	860.7340	0.2
DG 32:1 DG 16:0_16:1	C ₃₅ H ₆₆ O ₅	[M+NH ₄] ⁺	1.45E+05	4.92	584.5250	-0.6
DG 32:2 DG 14:0_18:2	C ₃₅ H ₆₄ O ₅	[M+NH ₄] ⁺	1.97E+05	4.73	582.5090	-0.7
DG 34:0 DG 16:0_18:0	C ₃₇ H ₇₂ O ₅	[M+NH ₄] ⁺	2.77E+05	5.44	614.5720	0.2
DG 34:1 DG 16:0_18:1	C ₃₇ H ₇₀ O ₅	[M+NH ₄] ⁺	1.48E+06	5.17	612.5560	-0.3
DG 34:2 DG 16:0_18:2	C ₃₇ H ₆₈ O ₅	[M+NH ₄] ⁺	1.59E+07	4.97	610.5410	-0.2
DG 34:3 DG 16:0_18:3	C ₃₇ H ₆₆ O ₅	[M+NH ₄] ⁺	7.43E+06	4.8	608.5250	0.3
SPB 16:0;20	C ₁₆ H ₃₅ NO ₂	[M+H] ⁺	6.17E+05	1.71	274.2740	-0.6
SPB 18:0;30	C ₁₈ H ₃₉ NO ₃	[M+H] ⁺	2.03E+05	2.44	318.3000	-0.6
SPB 18:1;30	C ₁₈ H ₃₇ NO ₃	[M+H] ⁺	8.19E+04	1.97	316.2850	-0.5
SPB 20:0;20	C ₂₀ H ₄₃ NO ₂	[M+H] ⁺	7.18E+05	3.37	330.3370	-0.2
SPB 22:0;20	C ₂₂ H ₄₇ NO ₂	[M+H] ⁺	3.62E+05	3.81	358.3680	-1
SE 28:1/18:2	C ₄₆ H ₇₈ O ₂	[M+NH ₄] ⁺	5.83E+04	8.14	680.6340	0
SE 28:1/18:3	C ₄₆ H ₇₆ O ₂	[M+NH ₄] ⁺	3.58E+04	7.77	678.6184	0.2
SE 29:1/18:2	C ₄₇ H ₈₀ O ₂	[M+NH ₄] ⁺	4.54E+05	8.32	694.6497	-0.2
DGDG 32:0 DG 16:0_16:0	C ₄₇ H ₈₈ O ₁₅	[M+NH ₄] ⁺	2.02E+04	4.5	910.6461	-0.9
DGDG 32:1 DG 16:0_16:1	C ₄₇ H ₈₆ O ₁₅	[M+NH ₄] ⁺	2.09E+04	4.35	908.6305	-2.1
DGDG 32:2 DG 14:0_18:2	C ₄₇ H ₈₄ O ₁₅	[M+NH ₄] ⁺	1.63E+04	4.23	906.6148	-0.1
DGDG 34:1 DG 16:0_18:1	C ₄₉ H ₉₀ O ₁₅	[M+NH ₄] ⁺	1.38E+05	4.52	936.6618	-0.6
DGDG 34:2 DG 16:0_18:2	C ₄₉ H ₈₈ O ₁₅	[M+NH ₄] ⁺	1.18E+06	4.4	934.6461	0.3
DGDG 34:3 DG 16:0_18:3	C ₄₉ H ₈₆ O ₁₅	[M+NH ₄] ⁺	1.15E+06	4.29	932.6305	-0.1
DGDG 34:4 DG 16:2_18:2	C ₄₉ H ₈₄ O ₁₅	[M+NH ₄] ⁺	2.62E+04	4.15	930.6148	-0.4
DGDG 36:1 DG 18:0_18:1	C ₅₁ H ₉₄ O ₁₅	[M+NH ₄] ⁺	2.36E+04	4.72	964.6931	-0.7

表2. 负离子鉴定列表 (部分)

Component Name	Formula	Adduct / Charge	Area	Retention Time(min)	Precursor Mass	Mass Error (ppm)
PMeOH 34:1 PMeOH 16:0_18:1	C ₃₈ H ₇₃ O ₈ P	[M-H]-	1.73E+05	4.26	687.4970	-1.5
PMeOH 34:2 PMeOH 16:0_18:2	C ₃₈ H ₇₁ O ₈ P	[M-H]-	1.33E+06	4.16	685.4814	-0.7
PMeOH 34:3 PMeOH 16:0_18:3	C ₃₈ H ₆₉ O ₈ P	[M-H]-	3.22E+05	4.07	683.4657	-0.7
PMeOH 36:3 PMeOH 18:1_18:2	C ₄₀ H ₇₃ O ₈ P	[M-H]-	2.07E+05	4.18	711.4970	-1
PMeOH 36:4 PMeOH 18:2_18:2	C ₄₀ H ₇₁ O ₈ P	[M-H]-	4.80E+05	4.08	709.4814	-1.1
PMeOH 36:5 PMeOH 18:2_18:3	C ₄₀ H ₆₉ O ₈ P	[M-H]-	1.55E+05	3.98	707.4657	-0.8
PMeOH 36:6 PMeOH 18:3_18:3	C ₄₀ H ₆₇ O ₈ P	[M-H]-	3.16E+04	3.87	705.4501	-1
SQDG 34:2 SQDG 16:0_18:2	C ₄₃ H ₇₈ O ₁₂ S	[M-H]-	4.62E+04	4.02	817.5141	-1.1
SQDG 34:3 SQDG 16:0_18:3	C ₄₃ H ₇₆ O ₁₂ S	[M-H]-	4.68E+04	3.92	815.4985	-1.2
ST 27:1;O;S	C ₂₇ H ₄₆ O ₄ S	[M-H]-	2.63E+04	3.48	465.3044	-0.1
PG 32:0 PG 16:0_16:0	C ₃₈ H ₇₅ O ₁₀ P	[M-H]-	3.24E+05	4.17	721.5025	-1.4
PG 34:1 PG 16:0_18:1	C ₄₀ H ₇₇ O ₁₀ P	[M-H]-	4.53E+05	4.18	747.5182	-1
PG 34:2 PG 16:0_18:2	C ₄₀ H ₇₅ O ₁₀ P	[M-H]-	3.82E+05	4.09	745.5025	-1.5
PG 34:3 PG 16:0_18:3	C ₄₀ H ₇₃ O ₁₀ P	[M-H]-	1.81E+05	3.99	743.4869	-1.2
PG 36:4 PG 18:2_18:2	C ₄₂ H ₇₅ O ₁₀ P	[M-H]-	8.99E+04	4.01	769.5025	-0.9
PG 36:5 PG 18:2_18:3	C ₄₂ H ₇₃ O ₁₀ P	[M-H]-	6.40E+04	3.9	767.4869	-0.9
PE 36:1 PE 18:0_18:1	C ₄₁ H ₈₀ NO ₈ P	[M-H]-	3.41E+04	4.85	744.5549	-1.9
PE 36:2 PE 18:0_18:2	C ₄₁ H ₇₈ NO ₈ P	[M-H]-	5.78E+05	4.69	742.5392	-1.3
PE 36:3 PE 18:1_18:2	C ₄₁ H ₇₆ NO ₈ P	[M-H]-	1.11E+06	4.52	740.5236	-2
PE 36:4 PE 18:2_18:2	C ₄₁ H ₇₄ NO ₈ P	[M-H]-	4.74E+06	4.39	738.5079	-1.1
PE 36:5 PE 18:2_18:3	C ₄₁ H ₇₂ NO ₈ P	[M-H]-	1.21E+06	4.27	736.4923	-0.8
PE 36:6 PE 18:3_18:3	C ₄₁ H ₇₀ NO ₈ P	[M-H]-	3.28E+05	4.16	734.4766	-0.8
PI 34:1 PI 16:0_18:1	C ₄₃ H ₈₁ O ₁₃ P	[M-H]-	6.15E+05	4.16	835.5342	0.7
PI 34:2 PI 16:0_18:2	C ₄₃ H ₇₉ O ₁₃ P	[M-H]-	3.83E+06	4.06	833.5186	-0.5
PI 34:3 PI 16:0_18:3	C ₄₃ H ₇₇ O ₁₃ P	[M-H]-	2.44E+06	3.96	831.5029	-0.6
PI 35:2 PI 17:0_18:2	C ₄₄ H ₈₁ O ₁₃ P	[M-H]-	4.13E+04	4.13	847.5342	-0.6
PI 35:3 PI 17:0_18:3	C ₄₄ H ₇₉ O ₁₃ P	[M-H]-	3.02E+04	4.04	845.5186	-0.7

2.2 脂质成分结构解析过程

2.2.1. 以DG DG 34:2|DG DG 16:0;18:2 (分子式C₄₉H₈₈O₁₅), 正离子模式下[M+H]⁺二级谱图为例, 使用SCIEX OS软件中Fragment Pane功能对碎片进行归属, 确认结构式。推测碎片归属如图3。

2.2.2. 以ASG 29:1;O;Hex;FA 16:0 (分子式C₅₁H₉₀O₇), 正离子模式下[M+NH₄]⁺的二级谱图为例, 使用SCIEX OS软件中Fragment Pane功能对碎片进行归属, 确认结构式。推测碎片归属如图4。

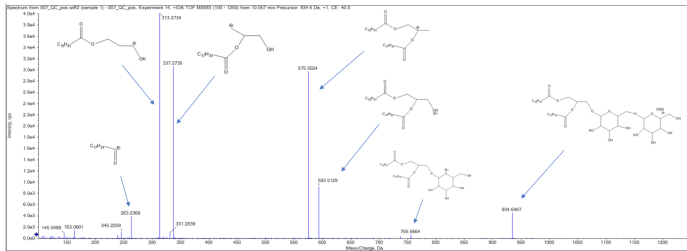


图3. DGDG 34:2|DGDG16:0;18:2碎片解析

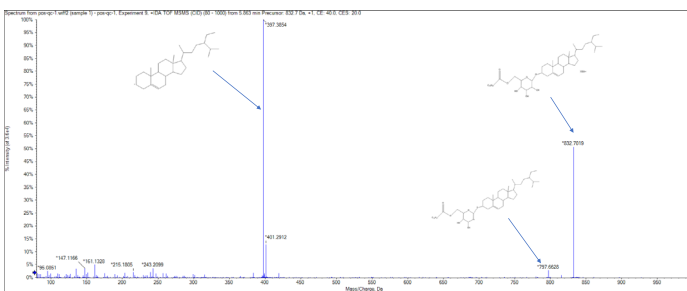


图4. ASG 29:1;O;Hex;FA 16:0碎片解析

2.2.3 以SG 29:1;O;Hex (分子式 $C_{35}H_{60}O_6$)，正离子模式下 $[M+NH_4]^+$ 的二级谱图为例，使用SCIEX OS软件中Fragment Pane能对碎片进行归属，确认结构式。推测碎片归属如图5。

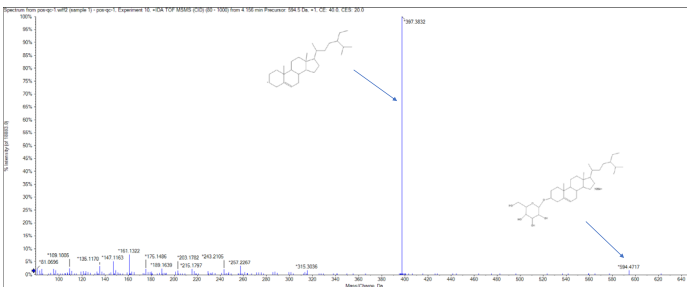


图5. SG 29:1;O;Hex碎片解析

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。

© 2023 DH Tech. Dev. Pte. Ltd. RUO-MKT-02-15689-ZH-A



SCIEX中国

北京分公司
北京市朝阳区酒仙桥中路24号院
1号楼5层
电话: 010-5808-1388
传真: 010-5808-1390
全国咨询电话: 800-820-3488, 400-821-3897

上海公司及中国区应用支持中心
上海市长宁区福泉北路518号
1座502室
电话: 021-2419-7201
传真: 021-2419-7333
官网: sciex.com.cn

广州办公室
广州国际生物岛星岛环北路1号
B2栋501、502单元
电话: 020-8842-4017
官方微信: [SCIEX-China](https://www.sciex.com.cn)

2.2.4 以PMeOH 36:5|PMeOH 18:2_18:3分子式($C_{40}H_{69}O_8P$)，负离子模式下 $[M-H]^-$ 的二级谱图为例，使用SCIEX OS软件中Fragment Pane能对碎片进行归属，确认结构式。推测碎片归属如图6。

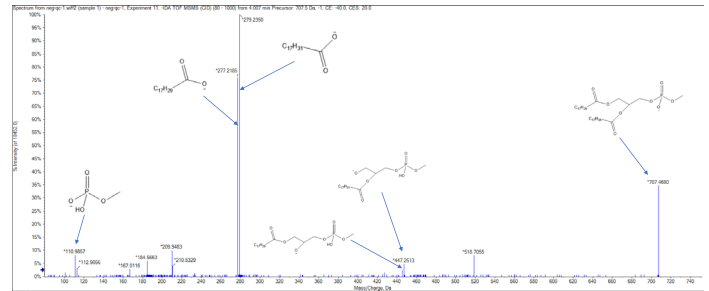


图6. PMeOH 36:5|PMeOH 18:2_18:3碎片解析

总结

本文展示了使用SCIEX X500R QTOF系统结合MS-DIAL软件鉴定桃子中的脂质成分。该方案体现出SCIEX X500R QTOF系统扫描速度快，二级质量高的特点，并结合IDA结合DBS功能采集方式，一针进样，尽可能全面的采集高质量的二级谱图用于脂质成分鉴定。通过一级质荷比偏差，同位素比例偏差和二级碎片匹配度，共鉴定到327个脂质成分，包括ASG, Cer, FA, FAHFA, HerCer, PC, PE, PI, PG, PS, PA, MG, DG, TG, MGDG, DGDG, SQDG, DGGGA, SE, SPB, ST, PMeOH等类植物脂质，鉴定种类覆盖度高。通过非靶向脂质组学方法，尽可能全面的获得不同品种和不同成熟度桃子中的脂质成分信息，覆盖到的脂质成分全面，为农学领域的科研客户开展非靶向脂质组学研究均可以提供脂质成分信息和参考，便于快速筛选差异物。