



고분해능 LC/MS 및 GC/MS 분석을 결합한 종합적인 식품 프로파일링

응용 자료

대사체학 연구

저자

Zijuan Lai, Mine Palazoglu,
Oliver Fiehn
University of California at Davis

Sofia Nieto, Yuqin Dai,
Mark Sartain
Agilent Technologies, Inc.

개요

본 연구에서는 3가지 식단의 식품 구성요소 차이를 연구하기 위해 종합적인 비표적 분석법을 적용했습니다. 또한 광범위한 대사물질 분류를 얻어내기 위해 고분해능의 정확한 질량 LC/MS 및 GC/MS를 사용했습니다. 이러한 전체 스펙트럼 질량분석기를 사용하여 매우 다양한 대사물질을 표적화하지 않고 수집할 수 있었습니다. 다양한 분석 기법으로 얻은 데이터는 공동의 소프트웨어 플랫폼(Agilent MassHunter)으로 처리하였고 Agilent Mass Profiler Professional(MPP)로 다변량 분석을 수행했습니다. 그에 따라 이 연구에서 분석하는 각 식단의 구별되는 대사물질 특성 그룹을 확인할 수 있었습니다.



Agilent Technologies

소개

식품의 영양적 가치와 안전성을 평가하려면 식품 성분 분석이 필수적입니다. 식품 성분 분석은 인증 및 분류(differentiation) 등 용도로도 사용됩니다¹. 식단이 인간의 건강에 미치는 영향은 잘 알려졌지만 각 식단에 포함된 전체 저분자는 거의 알려져 있지 않습니다².

이 연구의 목표는 화학적 구성요소가 상이한 대표적인 식단인 패스트푸드(FF), 페스코 베지테리언(PV), 이스턴 베지테리언(EV)을 비교하는 것입니다. 대사체학에서 사용되는 차이 분석법은 식품 과학과 영양 연구의 여러 영역에 사용하기에 적합합니다³. 본 연구에서는 3가지 식단의 차이를 분석하기 위해 최대한 많은 대사물질을 검출하는 것에 중점을 두고 종합적인 비표적 분석법을 수행했습니다⁴.

극성 저분자, 비극성 분자, 복합 지질 등의 식품 성분을 확인하기 위해 여러 분석 기법을 사용했으며, Agilent 7200 GC/Q-TOF, Agilent 6230 LC/TOF, Agilent 6550 LC/Q-TOF 시스템을 활용했습니다. Agilent MassHunter 소프트웨어를 사용하여 GC/MS 및 LC/MS 데이터를 효율적으로 처리하고 계량분석화학(Chemometrics) 소프트웨어 도구인 Agilent Mass Profiler Professional(MPP)로 차이 분석을 수행했습니다.

종합적 분석과 데이터 해석에는 다양한 분석 기법과 고급 차이 분석 소프트웨어 워크플로를 통합시키는 것이 매우 중요합니다.

실험

재료 및 시료 전처리

각 음식의 식자재(표 1)를 혼합하고 균질화하여 동결 건조합니다. 동결 건조한 재료는 80:20(v/v) 메탄올/물로 추출하고 4°C에서 5분간 27,000 xg로 원심 분리하여 단백질을 침전물을 얻습니다. LC/MS 시료의 경우, 미리 세척한 Pall Omega 3kDa Nanosep 원심 분리 기구로 상청액을 분리합니다. GC/MS 시료의 경우, 추출물을 건조하고 pyridine에 40mg/mL methoxyamine hydrochloride를 넣어 유도체화한 다음, MSTFA + 1% TMCS로 silylation 했습니다. 각 분석법에 6회 기술적 반복을 수행했습니다.

기기 및 분석법

GC/MS 대사물질 분석

Agilent 7890B GC와 Agilent 7200 시리즈 고분해능 정확한 질량 GC/Q-TOF를 함께 사용해 전자 이온화(EI)와 화학 이온화(CI) 스펙트럼을 얻었습니다. 데이터 처리에 사용한 특징 검출 알고리즘에서 최상의 결과를 얻을 수 있도록 10Hz와 15Hz에서 데이터를 수집했습니다. 그 외의 분석법과 GC/Q-TOF 조건은 다른 문헌에 설명되어 있습니다⁵.

LC/MS 대사물질 분석

Agilent 1290 Infinity LC와 Agilent 6230 TOF 또는 Agilent 6550 iFunnel Q-TOF를 함께 사용해 데이터를 수집했습니다. Agilent ZORBAX SB-Aq 컬럼(2.1 × 50mm, 1.8μm, p/n 827700-914)에서 역상(RP) 크로마토그래피 분리를 수행했습니다. Cogent Diamond Hydride HPLC 컬럼(2.1 × 150mm, 4μm)에서는 수성 순상(ANP) 크로마토그래피 분리를 수행했습니다. 양이온 및 음이온 전기분무 이온화(ESI) 모드 모두에서 데이터를 수집했습니다. 이 연구에서 사용한 기타 LC/MS 조건은 다른 문헌에 설명되어 있습니다^{6,7}.

LC/MS 지질체 분석

1290 Infinity LC와 Agilent Jet Stream 소스를 장착한 6550 iFunnel Q-TOF를 함께 사용했습니다. 양이온 및 음이온 모드 모두에서 데이터를 수집했습니다. 역상 크로마토그래피 조건과 MS 수집 파라미터는 다른 문헌⁸의 설명에 따르되, 표 2와 같은 변경 사항이 적용되었습니다.

표 1. 본 연구에서 사용한 식단의 음식

패스트푸드 식단	페스코 베지테리언 식단	이스턴 베지테리언 식단
햄버거	연어	백미
• 번빵	현미 혼합	계란 프라이
• 소고기	슬라이스 아몬드	참기름
• 치즈	레몬 슬라이스	매운 소스
• 베이컨	익힌 채소	두부
• 양상추	• 당근	시금치
• 토마토	• 브로콜리	숙주나물
• 피클	• 양파	콩나물
• 케첩	• 양배추	콩나물
프렌치프라이	• 빨간 피망	당근
구운 콩	포도	애호박
초콜릿 칩 쿠키	요거트	무
콜라(일반)	블루베리	식혜
	녹차	

데이터 분석 소프트웨어

Agilent MassHunter 데이터 분석 소프트웨어(B.07.00)와 MPP(B.13.0)를 차이 분석에 사용했습니다. Agilent-Fiehn Metabolomics 라이브러리, Agilent METLIN Personal Compound Database, NIST14 라이브러리, SimLipid 4.40(PREMIER Biosoft)를 사용하여 차이나는 특징을 식별했습니다.

데이터 분석 워크플로

그림 1은 데이터 분석 워크플로를 요약한 것입니다.

특징 추출

초기 데이터 처리 절차로 특징을 추출하여 후속 차이 분석에 사용합니다. LC/MS 대사물질 분석 및 지질체 분석 데이터를 MassHunter 데이터 분석 소프트웨어의 MassHunter Profinder(그림 2A)로 분석했습니다. GC/MS 데이터는 MassHunter 데이터 분석 소프트웨어의 Unknowns Analysis 도구(그림 2B)를 사용해 처리했습니다.

차이 분석 및 초기 화합물 식별/주석 표기

특징을 추출한 후, GC/MS 및 LC/MS 데이터에서 얻은 특징을 MPP로 보내 차이 분석을 수행합니다. 초기 화합물 주석 표기(LC/MS) 또는 식별(GC/MS)에는 MPP 내의 ID Browser를 사용했습니다. GC/Q-TOF EI 스펙트럼의 경우, NIST14와 Agilent-Fiehn Metabolomics 라이브러리를 사용하여 화합물을 식별했습니다. LC/MS 대사물질 분석 데이터 집합의 경우 Agilent METLIN PCD 또는 다른 사용자 생성 데이터베이스에 쿼리하여 화합물 주석 표기를 했습니다. 지질체 분석 데이터 집합의 경우 SimLipid 소프트웨어로 화합물 주석 표기를 한 다음, 지질체 주석을 MPP로 가져왔습니다.

표 2. LC/MS 지질체 분석 데이터 수집을 위한 크로마토그래피 조건

파라미터	값
LC flow	0~3분까지 0%B 유지, 5분에 20%B로 상승, 20분에 27.5%B로 상승, 25분에 70%B로 상승, 33분에 90%B로 상승, 1분간 유지했다가 35분에 0%B로 돌아옴
정지 시간	35분
Post time	4분
건조 가스	15L/분에서 200°C
Sheath 가스	11L/분에서 300°C
분무 가스	45psi
Fragmentor	380V
자동 MS/MS 수집 속도	4 spectra/s(MS) 4 spectra/s(MS/MS)
자동 MS/MS 충돌 에너지	20 및 35eV

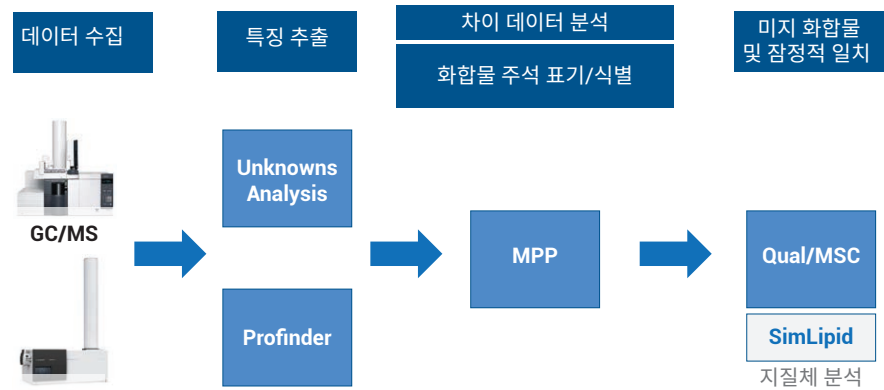


그림 1. 데이터 분석 워크플로

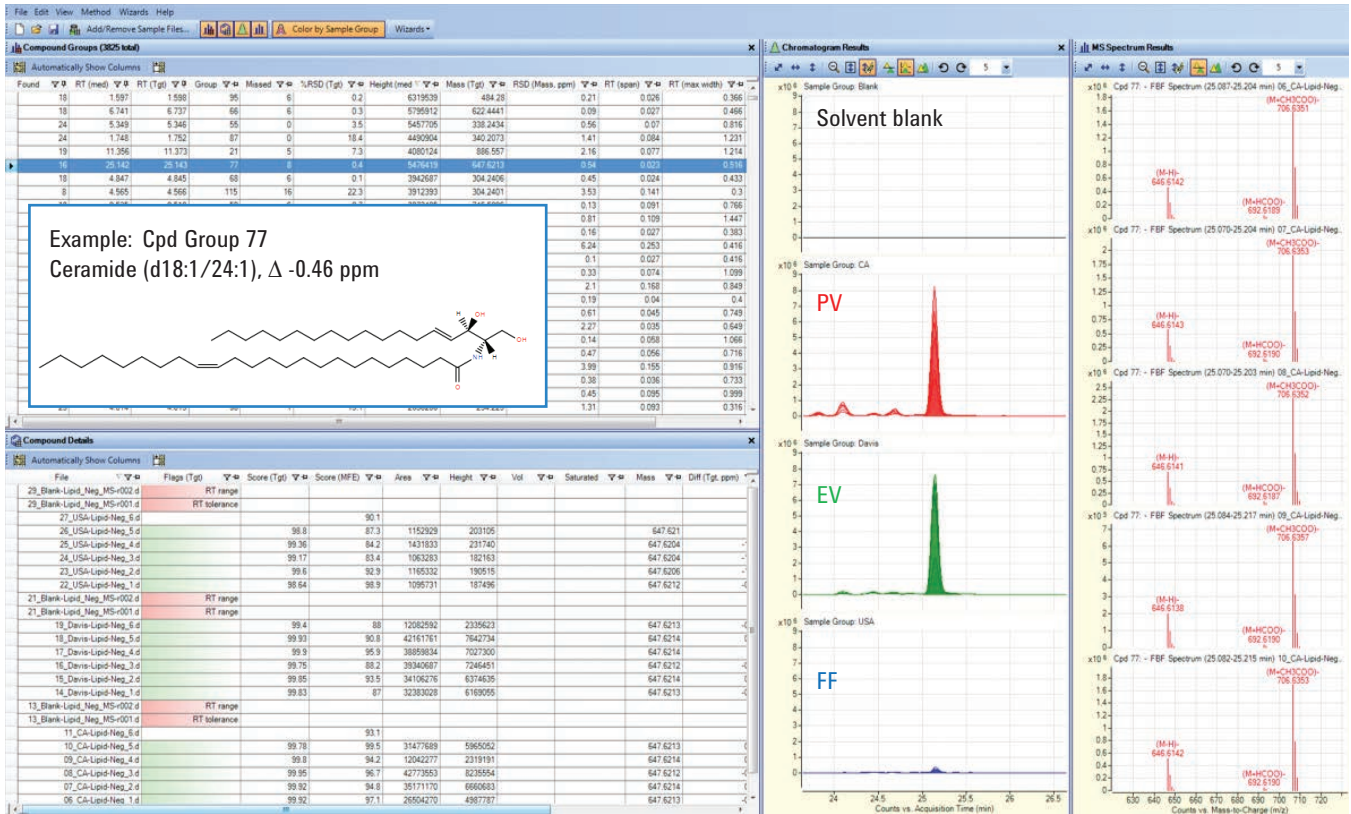


그림 2A. 특징 추출: LC/MS 데이터 파일을 recursive batch feature 알고리즘을 사용한 Agilent MassHunter Profinder 소프트웨어로 분석했습니다. 그림은 지질체 데이터 집합에서 3개 식단의 대표적 추출 특징(후에 ceramide(d18:1/24:1)로 식별됨)과 상대 화학물 존재비를 보여줍니다.

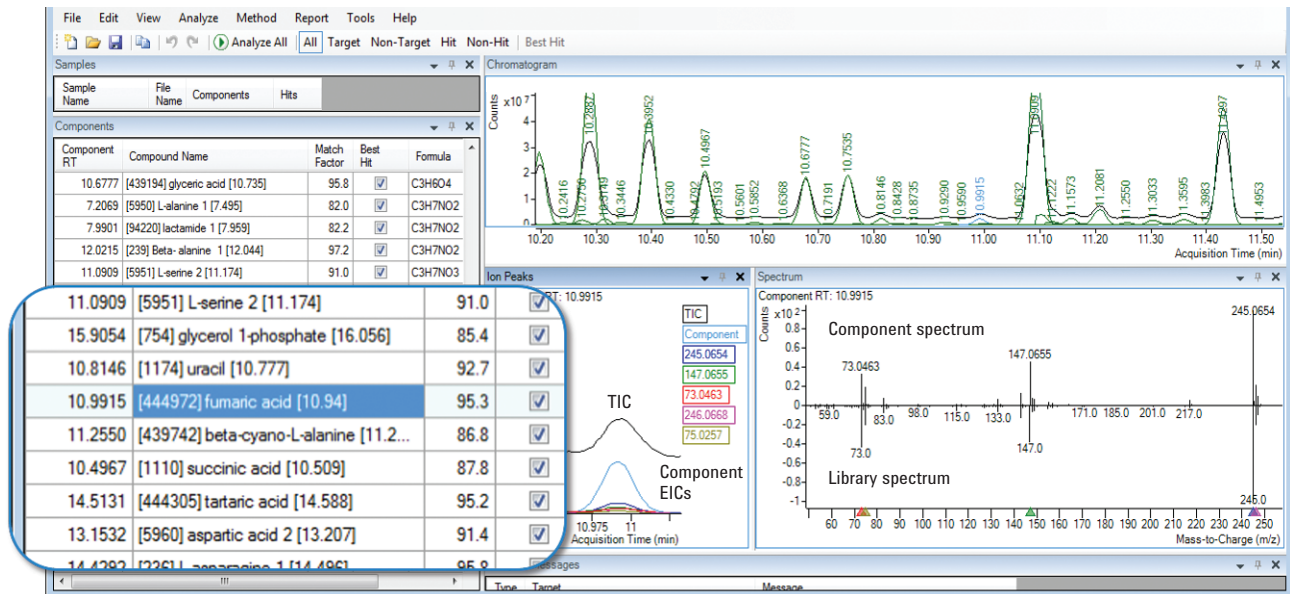


그림 2B. GC/Q-TOF 데이터 파일을 Agilent Unknowns Analysis로 처리하여 특징을 찾고 라이브러리에서 검색했습니다.

화합물 식별

LC/MS/MS 대사물질 분석 데이터는 여러 애질런트 PCDL을 이용하여 MS/MS 스펙트럼 라이브러리 검색을 함으로써 화합물을 식별했습니다.

일치하는 결과가 없거나 MS/MS 라이브러리 일치도가 낮을 경우, Molecular Structure Correlator(MSC)를 사용하여 GC/MS/MS 및 LC/MS/MS 데이터에서 주석 표기한 대사물질과 가장 일치하는 성분을 제안했습니다.

LC/MS/MS 지질체 분석 데이터 집합의 지질 식별은 SimLipid로 수행했으며, 구조별 특성 이온의 지질 *in silico* MS/MS 조각과 맞춰 보는 방식으로 진행됩니다.

결과 및 토의

여러 기법, 분석법, 극성을 사용하여 화합물 분류 범위 극대화

LC/MS에서는 다양한 대사물질을 분석하기 위해 차이 분석법을 사용했습니다. 이 연구에서는 최상의 분리 및 검출 결과를 제공하는 데 최적화된 조건을 개발했습니다. 표 3은 각 LC/MS 분석법에서 검출된 수천 가지 특징을 요약한 것입니다. 다양한 LC/MS 분석법 사용의 중요성을 나타내기 위해 ESI 양이온/음이온 모드의 RP-ESI 대사물질 분석 데이터를 비교했습니다. 두 모드 모두에서 검출된 특징은 8%에 불과했습니다. 이는 하나의 극성만 사용했다면 알아내지 못했을 특징이 많다는 것을 의미합니다.

다양한 애질런트 시스템에서 수집된 데이터는 높은 수준의 재현성을 보였으며, 재현성은 신뢰성 있는 차이 분석을 수행하는 데 핵심적인 요소입니다. 그림 3은 양이온 역상 LC/TOF MS 데이터의 예시입니다. 특징의 약 90%가 검출되었고 CV 30% 이하로 추출되었습니다. 분석 결과의 재현성이 높으면 이후 통계 분석의 신뢰도도 향상됩니다.

표 3. 차이 분석으로 3개 식단에서 발견한 특징 개수를 비교하면 다양한 LC/MS 분석법과 서로 다른 극성 사용의 중요성을 알 수 있습니다. 각 특징은 단일 화합물의 여러 부가 생성물과 동위원소를 나타냅니다.

LC/MS 분석법	표적 화합물	특징 개수 양이온 모드(+)	특징 개수 음이온 모드(-)
ANP-ESI	대사물질(극성)	2,957	2,005
RP-ESI	대사물질(중간 극성)	3,279	2,135
Lipid-RP-AJS	지질	2,689	3,816

ANP-ESI: 전자 분무 이온화원을 사용한 수성 순상 크로마토그래피
 RP-ESI: 전자 분무 이온화원을 사용한 역상 크로마토그래피
 Lipid-RP-AJS: Agilent Jet Stream 이온화원을 사용한 역상 크로마토그래피

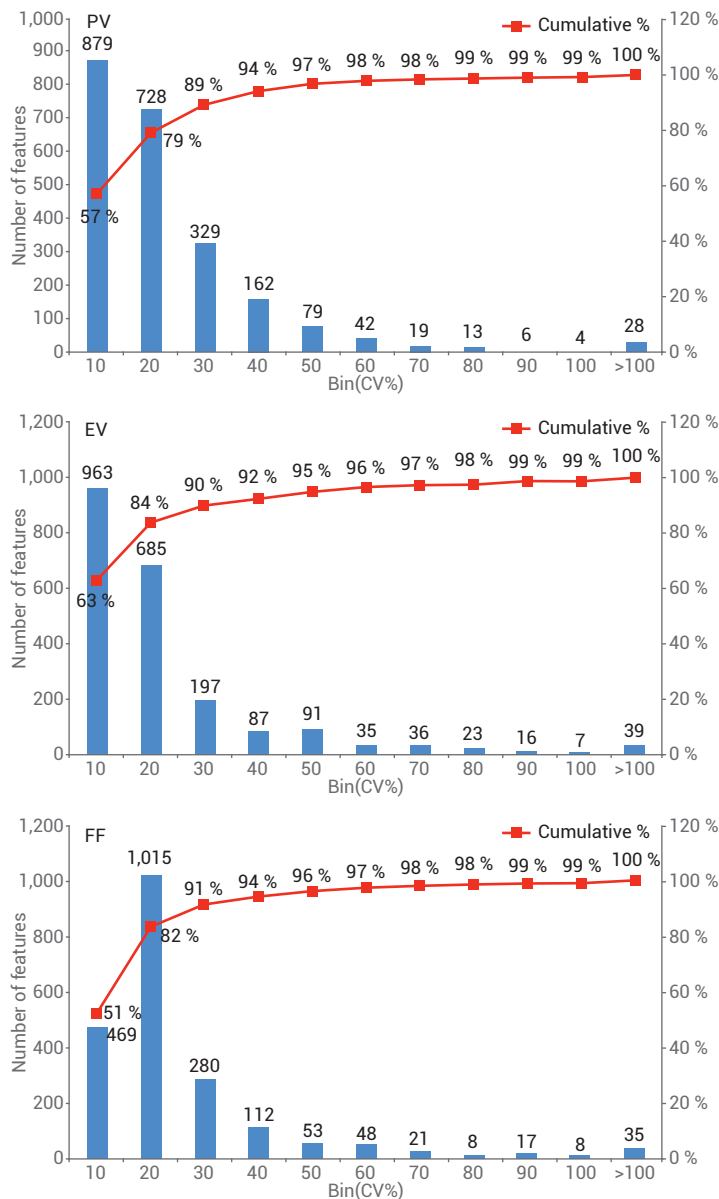


그림 3. 재현성이 높은 분석 결과를 나타낸 RP-positive LC/TOF MS 데이터의 히스토그램

MPP를 사용한 통계 분석 및 주석 표기

비표적 프로파일링 데이터의 통계 분석은 상당히 어렵습니다. 화합물 프로필이 복잡하고 데이터 집합의 규모와 다양성 문제가 있기 때문입니다. 이 연구에서는 다양한 통계 도구가 내장된 정교한 계량분석화학 (Chemometrics) 소프트웨어인 MPP를 차이 분석에 사용했습니다. 주성분 분석(PCA)은 데이터 패턴을 검출할 때 일반적으로 사용되는 무감독 데이터

분석법 중 하나로, 데이터 품질 평가를 용이하게 해줍니다. 이 연구의 PCA 도표를 보면 분석 기법과 관계없이 각 식단의 시료 반복 분석결과 간에 데이터가 가깝게 모여 있는 것을 알 수 있습니다. 이는 반복성이 좋고 식단의 구성요소에 큰 차이가 있다는 것을 나타냅니다(그림 4).

벤 다이어그램으로 본 연구에 사용된 각 식단의 구성요소를 비교했습니다. 그림 5는 식단 간에 공동으로 존재하는 화합물이 많다는 것을 보여줍니다. PV

식단은 모든 기법에서 가장 많은 수의 고유한 대사물질이 확인되었습니다. 공통된 특징(그림 5B)이 식단 간에 통계적으로 유의미한 차이를 보이는지 조사하기 위해 양방향 ANOVA를 수행했습니다. 1,362개 특징 중 1,131개가 서로 다른 것을 확인하였습니다 ($P \leq 0.05$). PV와 EV, PV와 FF, EV와 FF 식단을 비교했을 때 200개 이상의 공통된 특징에서 존재비가 5배 이상 차이가 났습니다.

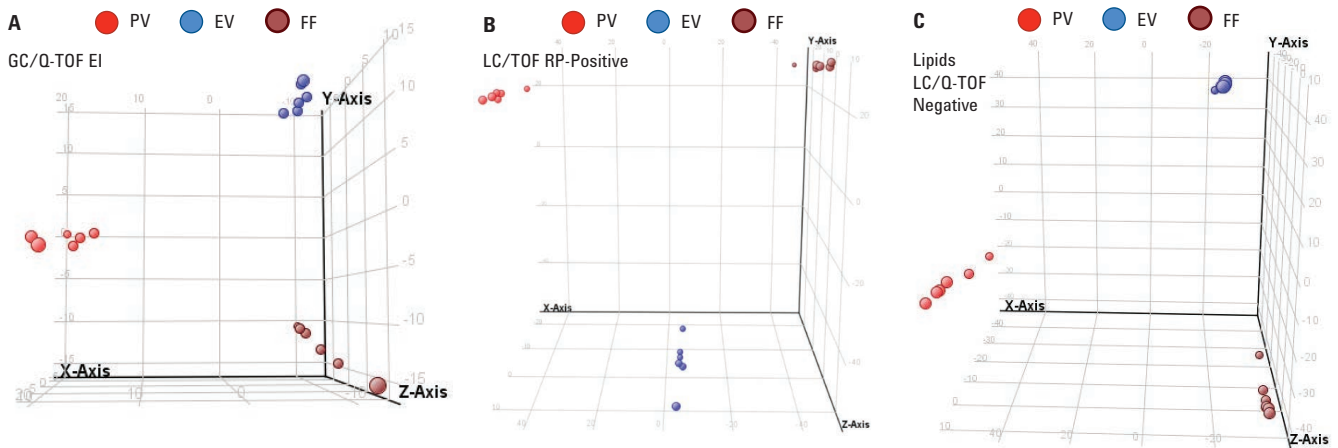


그림 4. 식단 데이터의 PCA 도표는 3가지 기법 모두에서 우수한 반복성을 보여주고, 시료의 각 특성을 강조 표시합니다.

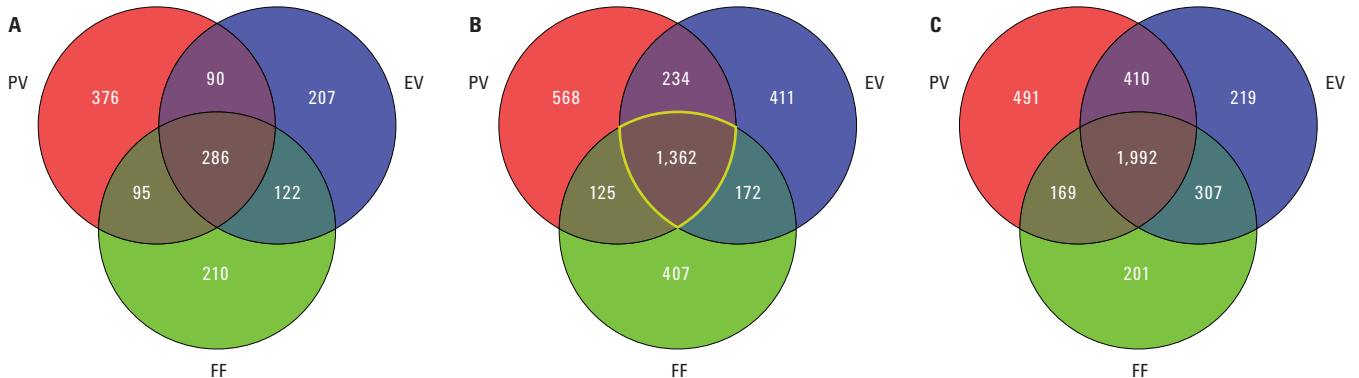


그림 5. 기법별, 식단별로 발견된 화합물 수를 벤 다이어그램으로 표시. A) GC/Q-TOF, B) LC/TOF, RP-positive 모드, C) LC/MS 지질. 페스코 베지테리언 (PV) 식단에서 가장 많은 고유 화합물이 발견되었습니다.

상관관계 분석은 실험에서 시료 간 관계를 밝히거나 확인하는 데 유용한 방법입니다. 그림 6은 각 식단의 시료 반복 분석결과 간의 반복성을 나타내며 이는 PCA 결과와 일치합니다.

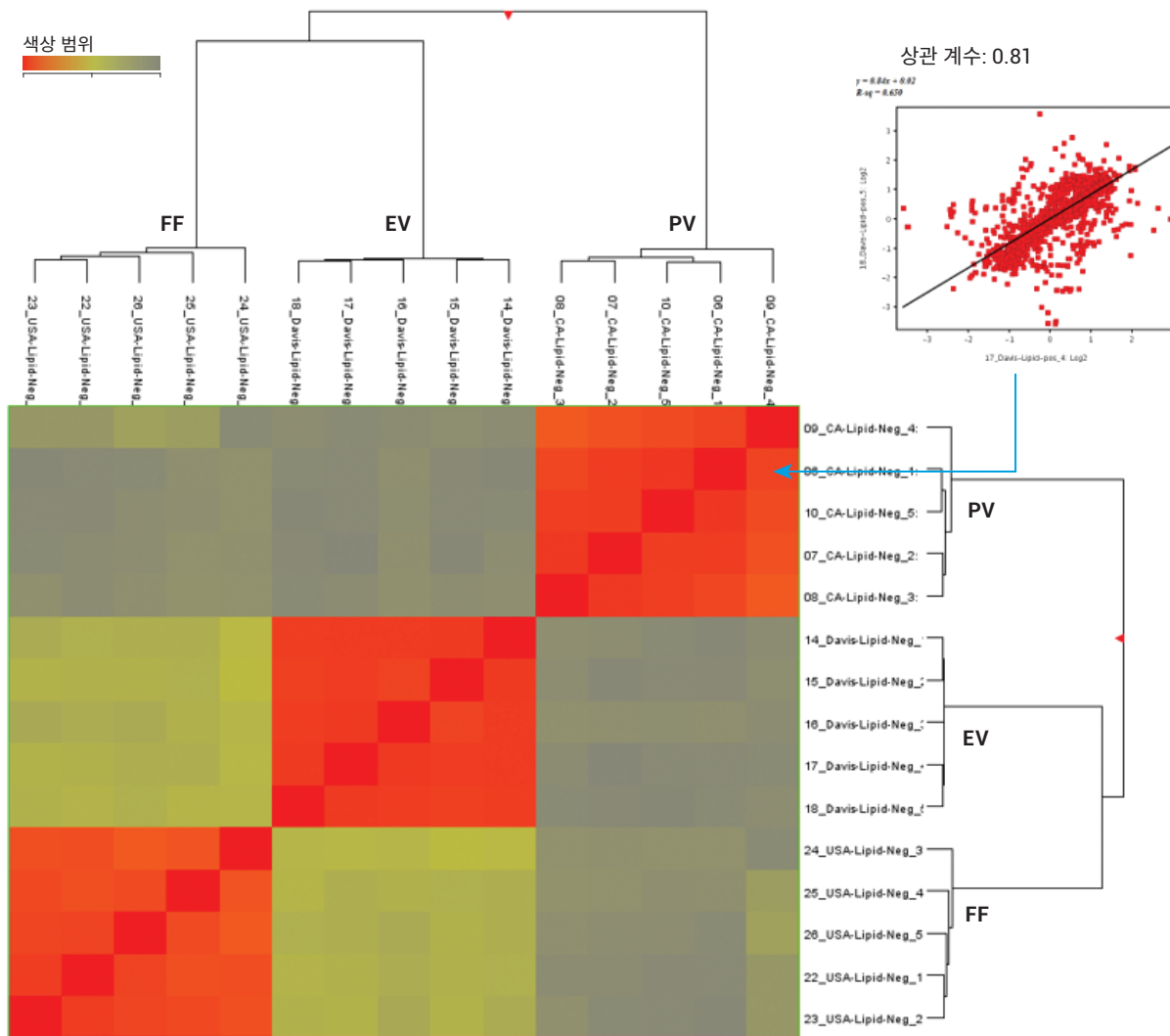


그림 6. 음이온 LC/MS 지질 분석의 시료 상관관계 분석 예시. 산포도는 2회 반복 PV 식단 시료의 존재비 상관관계를 나타냅니다.

또한, MPP에는 ID Browser가 내장되어 있습니다. ID Browser는 사용자가 정확한 질량 정보와 Agilent METLIN PCD를 이용한 데이터베이스 매칭/ Agilent PCDL Manager 소프트웨어를 이용한 사용자 생성 데이터베이스를 기초로 특징에 주석을 표기할 수 있는 도구입니다.

그림 7A는 MPP ID Browser와 데이터베이스 매칭을 이용한 화합물 주석 표기 결과를 나타냅니다. 이 방법으로 다양한 데이터베이스를 검색하여 화합물 분류를 범주화할 수 있습니다(그림 7B).

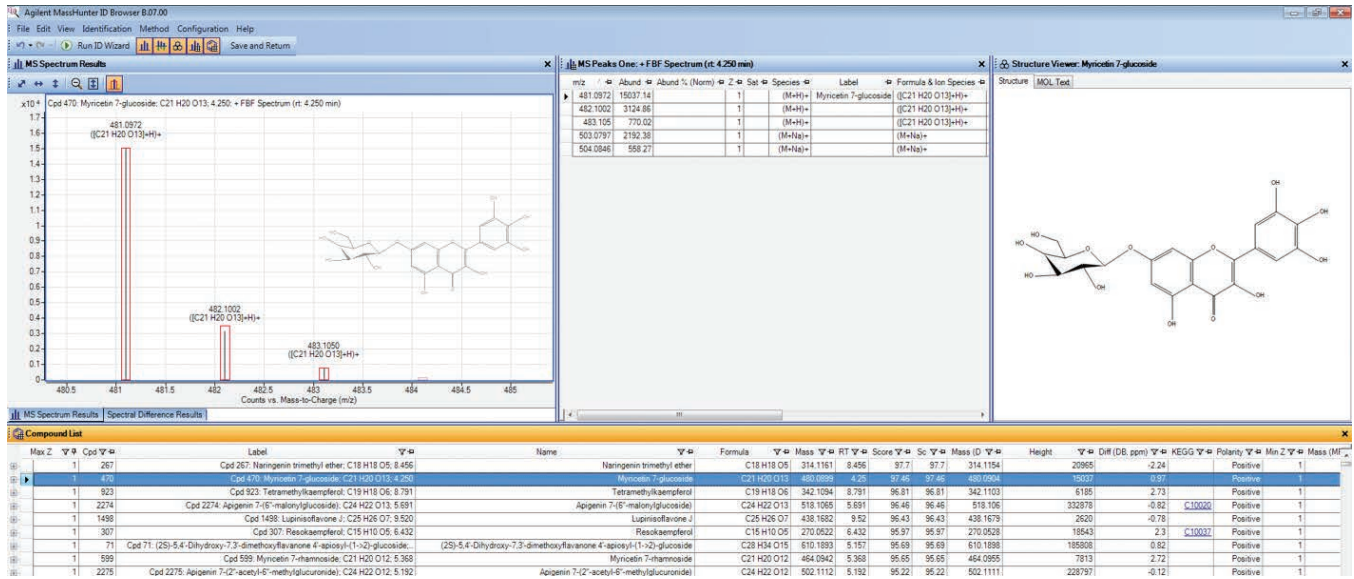


그림 7A. ID Browser와 데이터베이스 매칭을 사용하여 식단에서 발견한 특징의 화합물 주석 표기

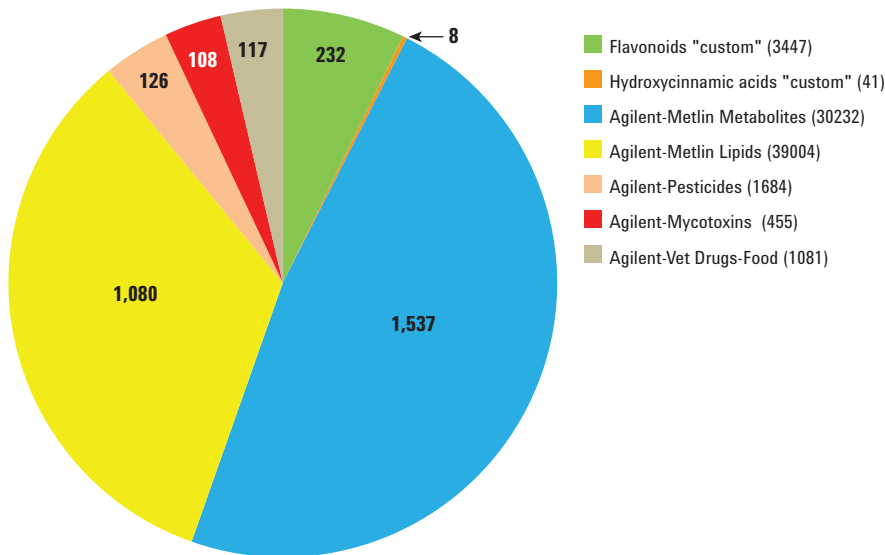


그림 7B. 역상 양이온 방법으로 수집한 LC/TOF 데이터의 주석 표기 결과. 괄호 안의 숫자는 데이터베이스의 크기를 나타내고 원그래프의 숫자는 데이터베이스와 일치한 화합물 수를 나타냅니다.

비슷한 방식으로 MPP 내의 지질체 분석 데이터 집합에 주석을 표기하여 SimLipid를 이용한 정확한 질량 정보를 바탕으로 지질 분류를 범주화했습니다. MPP 결과에서는 주석이 표기된 지질 분류의 합산된 상대 존재비를 사용해

각 식단의 지질 프로필을 비교했습니다(그림 8). 이 분석을 통해 지질 분류 존재비(그림 8A), 지방산 프로필(그림 8B), 지질 포화도(그림 8C)에 흥미로운 차이가 있다는 사실을 알아냈습니다. 특히, PV 식단에는

다불포화 지질(DHA 22:6 및 EPA 20:5)이 다량 함유되어 있지만, FF 식단에는 포화 지질이 가장 많이 함유되어 있습니다.

지질 분류 구성요소

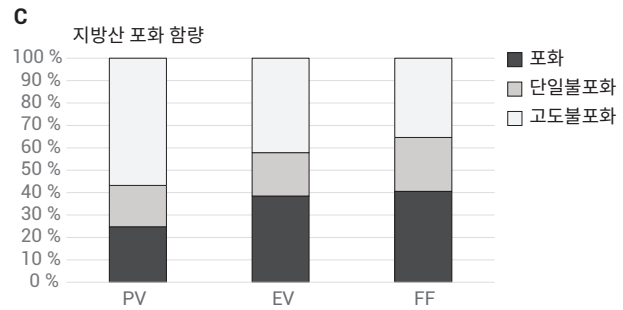
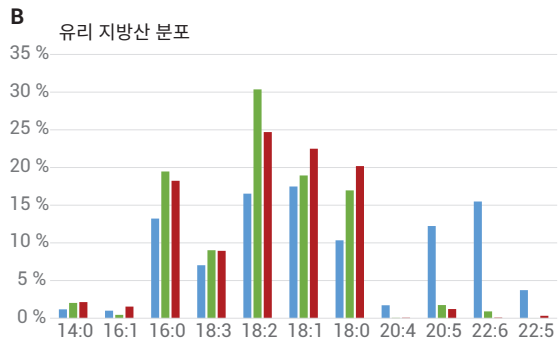
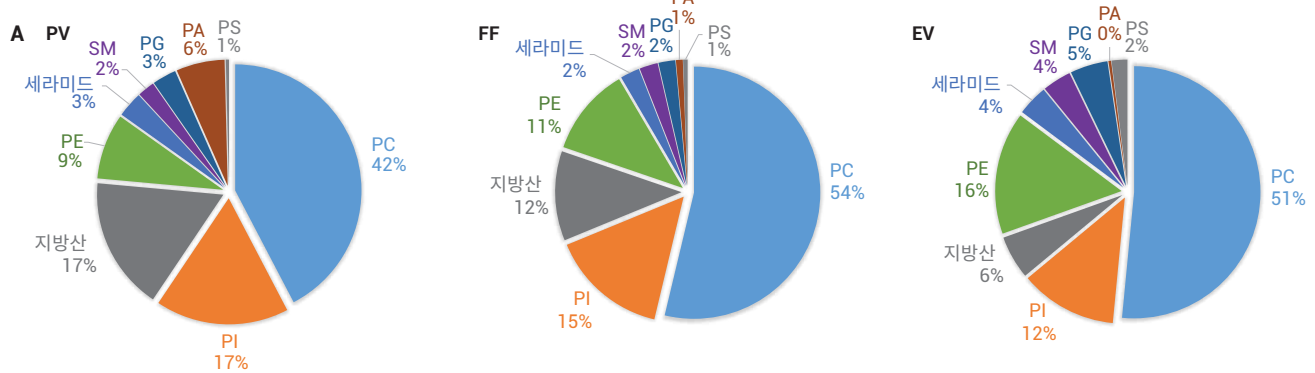


그림 8. 지질 구성요소의 상대적 비교. 음이온 LC/MS 지질 데이터는 Agilent-METLIN PCD를 통해 주석이 표기되었고, 화합물 존재비를 사용하여 A) 지질 분류 구성요소, B) 유리 지방산 프로필, C) 지질 포화 함량의 상대적 차이를 비교했습니다.

MPP의 다른 도구인 화산형 도표로도 각 그룹(이 연구에서는 식단)을 짝지어 비교할 수 있습니다. 여기서 얻은 결과는 배수 변화와 유의도별로 시각화할 수 있습니다. GC/Q-TOF 데이터의 화산형 도표는 그림 9와 같으며, EV와 PV 식단 간 대사물질 함량의 차이를 나타냅니다.

Sinapinic acid, quinic acid, gallic acid 등의 여러 항산화 물질이 PV 식단에 많이 함유되어 있었고, 다른 특징적 대사물질(EV 식단 재료의 성분)이 PV 식단에 비해 EV 식단에 더 많이 함유되어 있습니다. 예를 들어 raffinose는 콩류에 많이 함유되어 있고, daidzein은 일반적으로 대두에서 발견됩니다(그림 9).

MS/MS 데이터를 사용한 화합물 식별

고분해능 Q-TOF 시스템이 제공하는 정확한 질량 MS/MS 정보는 화합물 식별과 잠정적 일치 확인하는 데 유용합니다. 선택한 전구 이온에서 파생된 조각 이온에 기반해 화학식을 더욱 정확하게 결정할 수 있기 때문입니다.

GC/MS 대사물질 분석의 경우 GC/Q-TOF에서 얻은 EI 스펙트럼이 중요한 구조적 정보를 제공하지만, 분자 이온의 존재비가 상대적으로 낮으면 미지 화합물 식별이 복잡해집니다. 분자 이온을 식별 및 확인하기 위해 GC/Q-TOF의 CI 스펙트럼도 확인했습니다.

CI MS와 EI MS/MS를 사용한 GC/Q-TOF의 화합물 식별 및 확인 워크플로를 통해 해당 화합물이 caffeine임을 확인할 수 있었습니다. 이는 NIST14 라이브러리를 검색해 잠정적으로 식별할 수 있습니다. Caffeine은 크로마토그램의 매우 과밀한 부분에서 용리되야(그림 10A), 어떤 화합물 확인 알고리즘을 사용하더라도 추출을 통한 화합물 식별은 어렵습니다. CI 모드에서 동위원소를 포함한 많은 분자 이온을 얻었고, caffeine에 해당하는 정확한 질량과 예상 동위원소비(isotope ratio)를 관찰했습니다(그림 10B). Caffeine은 실제 MS/MS 스펙트럼이 없기 때문에 MSC 소프트웨어로 일치도를 추가 확인했습니다(그림 10C).

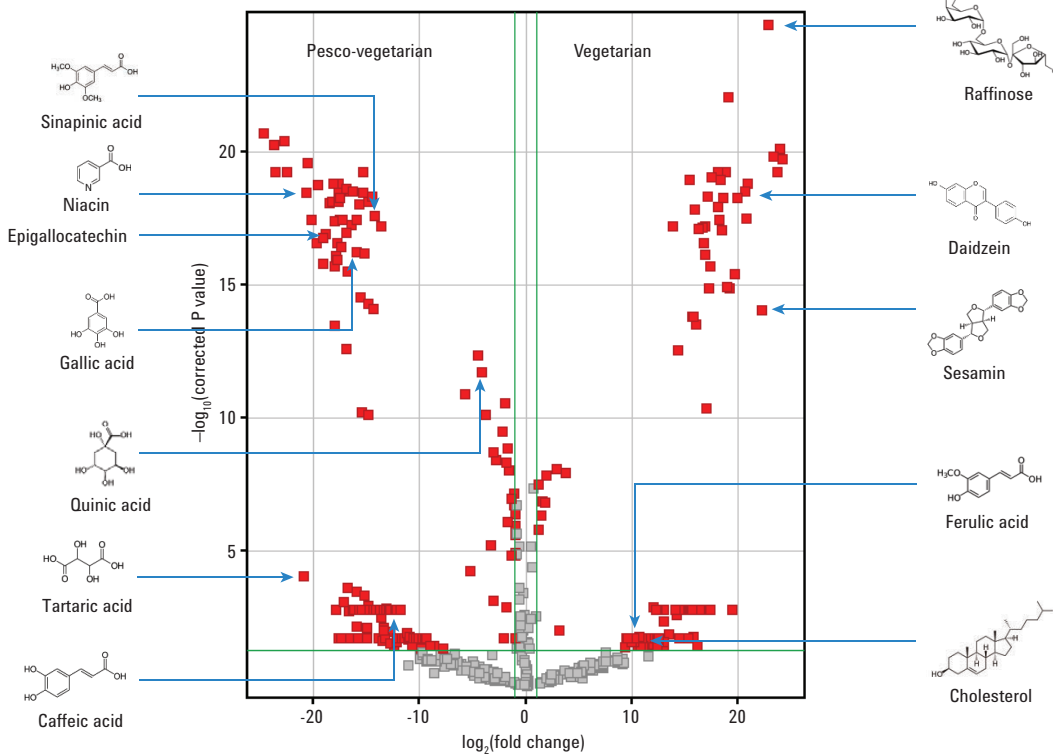


그림 9. GC/Q-TOF 데이터를 나타낸 MPP의 화산형 도표 예시. 선택된 일부 차이 화합물에 레이블을 표시했습니다.

분자 이온을 전구 이온으로 선택해 MS/MS를 수행하면 MassHunter Qualitative Analysis에서 얻은 화합물 정보를 MSC로 가져와서 구조 규명이 가능합니다. 미지 화합물 또는 잠정적으로 식별된 화합물의 잠정 분자 이온 화학식에 기초하여 MSC가 사용자 지정 데이터베이스에서 제안된 화학식 또는 관찰된 질량에 상응하는 구조가

있는지 검색합니다. 그런 다음, 관찰된 MS/MS 조각과 예상 조각을 비교하여 제안 일치도를 평가합니다. 이렇게 얻은 MSC 점수는 전구 이온과 조각 이온의 질량 정확도와, 조각의 예상대비 관찰 일치도를 설명합니다. 이 예시에서는 caffeine이 문헌 참조가 가장 많았고, 질량 오차는 0.1ppm, 전체 점수는 89.7 이었습니다(그림 10C).

그림 10D는 GC/Q-TOF 화합물 식별 결과를 요약한 도표입니다. 항산화 물질과 플라보노이드가 가장 다양으로 PV 식단에서 관찰되었고, 그 다음은 이스턴 베지테리언(EV) 식단이었습니다. FF 식단은 식품의 열처리에서 발생한 열분해물이 많은 것이 특징이었습니다. 설탕과 포화 지방이 가장 많았고 고유 아미노산이 적었습니다.

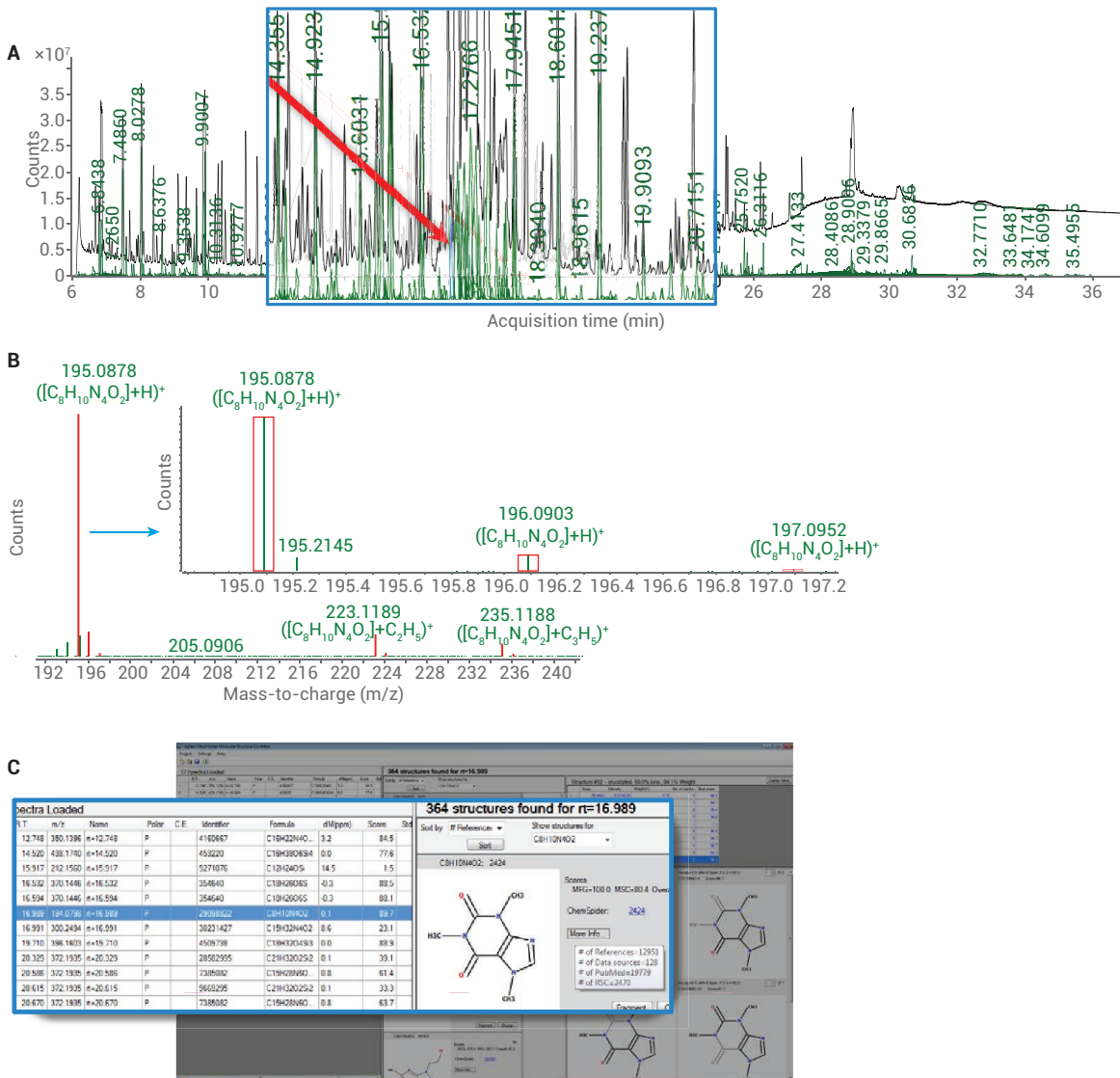


그림 10. 화합물 식별 워크플로 및 GC/Q-TOF에 대한 결과. A) Agilent Unknowns Analysis의 성분 EIC와 EI TIC 오버레이. B) CI 스펙트럼, 분자 이온의 메탄 부가 생성물에 Agilent MassHunter Qualitative 소프트웨어의 Molecular Formula Generator(MFG)에서 자동 설정된 이론적 동위원소 패턴. C) MS/MS와 Molecular Structure Correlator(MSC)를 사용하여 ID 확인.

LC/MS 대사물질 분석 데이터의 초기 주석 표기 결과를 검증하기 위해 6550 iFunnel Q-TOF LC/MS를 이용하여 관심 있는 대사물질에 대해 표적 MS/MS 실험을 수행했습니다. MS/MS 라이브러리 매칭 또는 Molecular Structure Correlator(MSC)를 사용한 구조 연관성으로 화합물을 식별하고 구조를 규명했습니다^{6,10}. Agilent METLIN PCDL에서 MS/MS 스펙트럼을 검색하였으며, L-glutamate 식별 결과는 스펙트럼 비교 결과와 동일했습니다(그림 11A). 미러 이미지 플롯(mirror image plot, 중간)은 수집한 시료 스펙트럼(상단)과 라이브러리 표준 스펙트럼(하단)에서 m/z 값과 전구 이온 및 조각 이온의 존재비가 대부분 일치한다는 것을 나타냅니다. 역매치 스코어(reverse match score)는 96 점이었습니다. 이 방법을 사용하여 여러 식품 성분을 식별했습니다. 모든 식단에서 betaine과 L-phenylalanine이 발견되었고 PV와 EV 식단에서 daidzein이 발견되었습니다. Quercetin 3-galactoside와 neohesperidin은

PV 식단에서만 발견되었고 genistein은 EV 식단에서만 발견되었습니다. PV와 EV 식단에서는 mycotoxin 대사물질인 mycospurin/physcion이 확인되었습니다.

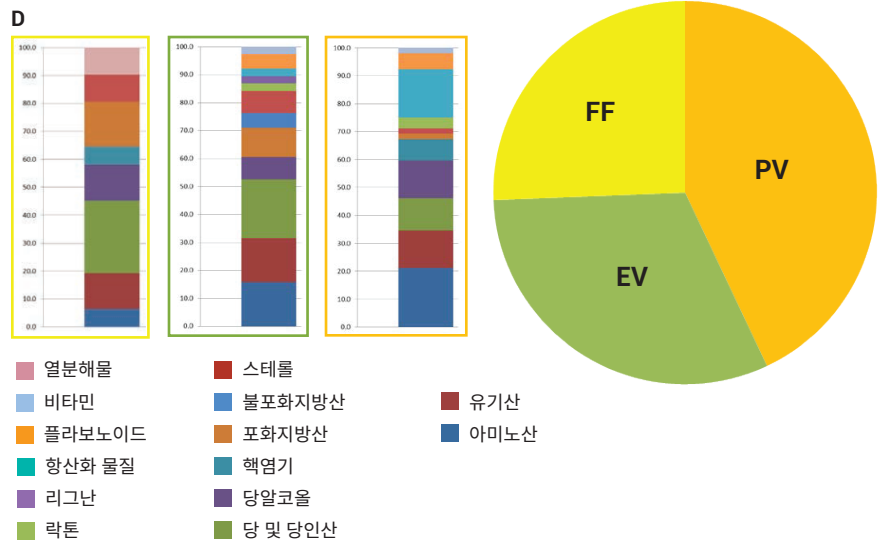


그림 10D. GC/Q-TOF 화합물 식별 결과 요약

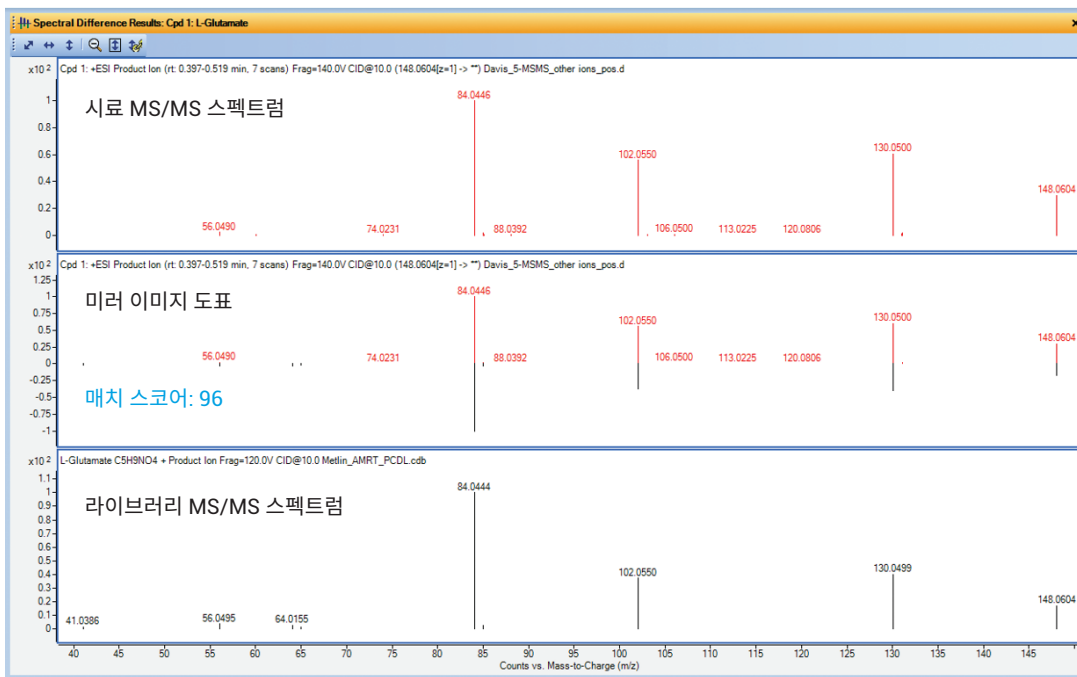


그림 11A. 양이온 ESI 모드에서 L-glutamate에 역점수가 96점으로 일치하는, LC/Q-TOF MS/MS 스펙트럼을 사용한 화합물 식별. 역점수는 라이브러리 표준을 시료 스펙트럼에 비추어 얻은 피크별 이온 일치도를 나타냅니다. 충돌 에너지(CE) 10eV를 사용하여 시료 MS/MS 스펙트럼을 얻었습니다.

수집한 LC/MS/MS 스펙트럼이 Agilent MS/MS 라이브러리와 잘 일치하지 않거나 전혀없는 경우에는 MSC를 사용해 화합물을 추정했습니다. 미지 화합물 또는 잠정적으로 식별된 화합물의 잠정 분자 이온 화학식에 기초하여 MSC가 사용자 지정 데이터베이스에서 제안된 화학식/

관찰된 질량에 해당할 만한 구조가 있는지 검색합니다. 그런 다음, 관찰된 MS/MS 조각과 예상 조각을 비교하여 제안 일치도를 평가합니다. 그림 11B는 MSC 검색 결과의 예시입니다. 파란색으로 강조 표시된 미지 화합물의 경우 잠재적으로 일치되는 구조를 22개

발견하였습니다. 가장 일치율이 높은 quercetin 3-rhamnosyl-(1→6) glucosyl-(1→6)-galactoside 는 MSC 점수가 높고, 관찰된 조각 이온들의 비율이 높습니다. 이는 미지 화합물과 일치할 가능성이 높다는 것을 의미합니다.

구조 일치 22개 발견

5 Spectra Loaded

R.T.	m/z	Name	Polar	C.E.	Identifier	Formula	dMppm	Score
4.260	481.0987	3.5.7.Z...	P		Tagetin	C21H20O13	-2.1	78.0
4.363	627.1569	Querce...	P		6-Hydroxydelphinidin 3-rutino...	C27H30O17	-2.1	58.8
4.495	773.2141	Kaempf...	P		Quercetin 3-rhamnosyl-(1→2)...	C33H40O21	-0.8	93.6
4.696	773.2142	Kaempf...	P		Quercetin 3-rhamnosyl-(1→6)...	C33H40O21	-0.9	94.1
8.699	343.1429	Brosma...	P					

22 structures found for Kaempferol 3-glucoside-7-sophoroside

Sort by Score
Show structures for All Formulas

Structure #1 -- elucidated: 90.0% ions, 99.9% Weight

Peak	Mass	Intensity	Weight(%)	No. of candid.	Best score
6	611.1597	12158.39	20.3	11	59.2
4	471.1685	360.42	0.4	4	85.5
5	466.1053	1363.56	1.3	4	45.4
6	466.0959	128.62	0.1	0	0.0
7	465.1021	42631.61	41.3	5	98.8
8	449.1065	852.99	0.8	11	96.1
9	431.0953	109.46	0.1	16	90.8
10	325.1131	193.68	0.1	12	98.4
11	310.1223	103.52	0.0	15	72.4
12	309.1176	4273.25	1.8	17	98.1
13	304.0529	1267.48	0.5	9	42.9
14	303.0499	72019.98	29.6	3	99.6
15	281.1071	1212.82	0.5	14	94.2

Quercetin 3-rhamnosyl-(1→6)glucosyl-(1→6)-galactoside

- C₃₃H₄₀O₂₁
- m/z 773.2135
- Mass error(MS): -0.9 ppm
- Mass error(MS/MS): <2ppm
- MFG score: 99.1
- MSC score: 94.9
- Elucidated 90 % ions

Structure 1: C33H40O21: Quercetin 3-rhamnosyl-(1→6)glucosyl-(1→6)-galactoside
Scores: MFG=99.1 MSC=94.9 Overall=94.1
METLIN: 50656
LMP: LMPK12112240

Structure 2: C33H40O21: Quercetin 3-rhamnosyl-(1→2)glucosyl-(1→6)-galactoside
Scores: MFG=99.1 MSC=94.9 Overall=94.1
METLIN: 50655
LMP: LMPK12112239

Structure 3: C33H40O21: Quercetin 3-O-glucosyl-rutinoside
Scores: MFG=99.1 MSC=94.9 Overall=94.0
METLIN: 96124
HMP: HMDB41771

Structure 4: C33H40O21: Quercetin 3-glucosyl-(1→3)-rhamnosyl-(1→6)-galactoside
Scores: MFG=99.1 MSC=94.9 Overall=94.0
METLIN: 50471
LMP: LMPK1111306C

그림 11B. Agilent PCDL 검색에서 얻은 MSC 결과

SimLipid 소프트웨어로 추출된 MS/MS 스펙트럼을 검색하여 LC/MS/MS 지질체 식별을 수행했습니다. 그림 12는 phosphatidylethanolamine(PE)의 이성질체 2개가 식별된 예시입니다. MS/MS 데이터가 추가적인 구조 정보를 제공합니다. 신뢰도가 높은 이 지질 식별법은 더욱 자세하게 지질 분류를 프로파일링하기 위한 대체 워크플로를 구성하는 데 사용될 수 있습니다 (그림 13).

식별된 지질에서 머무름 시간 값으로 맞춤형 부분 집합 지질 PCDL을 구성할 수 있습니다. 이 PCDL은 Profinder 에서 반복적 표적 워크플로에 활용할 수 있습니다(그림 13A). 이러한 방식으로 PE 지질 분류를 상세하게 프로파일링했고, 3가지 식단 및 PE 이성질체에서도 상당한 차이가 관찰되었습니다(그림 13B).

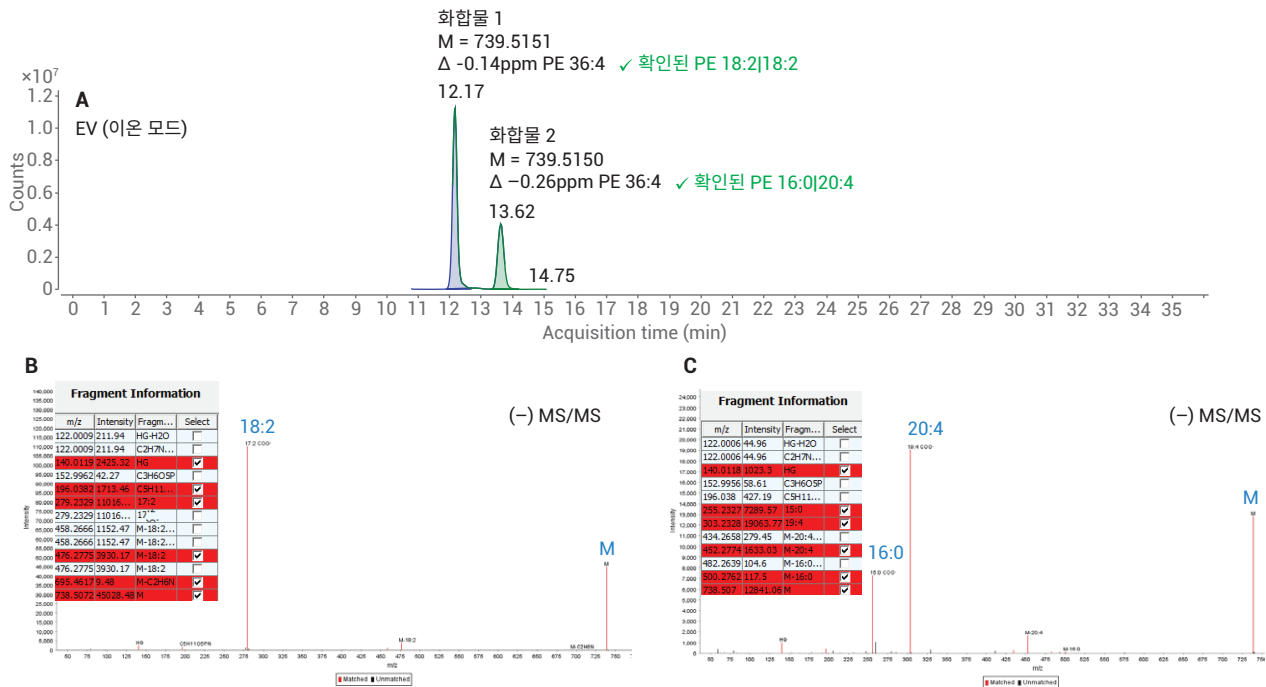


그림 12. SimLipid를 사용한 Lipid MS/MS 주석 표기. 머무름 시간을 통해 2가지 동종 지질을 분리하였고 SimLipid를 사용한 자동 식별로 이 화합물들이 서로 다른 지방 아실 구성요소를 함유한 PE 36:4 이성질체인 것을 확인하였습니다(PE 18:2|18:2와 PE 16:0|20:4).

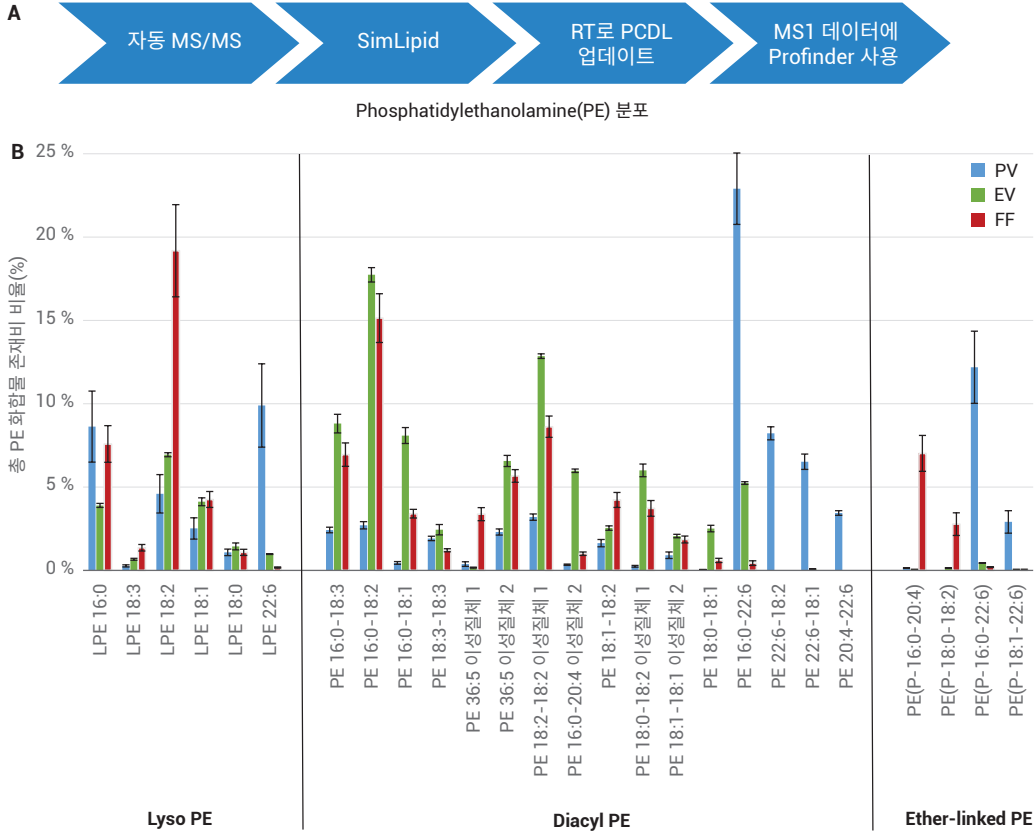


그림 13. 심층적 지질 프로파일링을 위한 표적 워크플로. A) PE 지질은 식단 반복 분석을 통해 수집된 MS/MS 데이터에서 높은 신뢰도로 식별되었습니다. 관찰된 머무름 시간은 부분 집합 PE PCDL을 구성하는 데 사용하였고, 이렇게 얻은 PE PCDL은 각 식단 반복 분석의 Profinder Batch Targeted Feature Recursion 소스로 사용되었습니다. B) 3가지 식단에서 심층적으로 프로파일링된 lyso-PE, Diacyl PE, 에테르 결합 PE의 상대 존재비를 나타내는 PE 분포를 보여주는 결과. 에러 바 = ± 1 SD.

결론

식품은 성분 조성이 복잡하기 때문에 한 가지 추출, 분리 또는 이온화 기법으로는 모든 화합물을 확인할 수 없습니다. 애질런트의 TOF 방식 고분해능 정확한 질량 LC/MS 및 GC/MS 포트폴리오는 공동의 강력한 데이터 분석 플랫폼을 사용해, 다양한 생리화학 특성을 지닌 대사물질과 지질을 종합적으로 분석할 수 있었습니다. 여러 분석 기법과 고급 차이 분석 소프트웨어 워크플로를 결합한 것이, 식품 프로파일링 결과를 분석하고 해석하여, 3가지 식단의 다양한 특성을 확인하는 데 중요한 역할을 했습니다.

참고문헌

1. Cevallos-Cevallos, J. M.; *et al.* Metabolomic analysis in food science: a review. *Trends in Food Science & Technology* **2009**, *20*, 557-566.
2. Johanningsmeier, S. D.; Harris, G. K.; Klevorn, C. M. Metabolomic technologies for improving the quality of food: practice and promise. *Annu. Rev. Food Sci. Technol.* **2016**, *7*, 413-438.
3. Wishart, D. S. Metabolomics: applications to food science and nutrition research. *Trends in Food Science & Technology* **2008**, *19(9)*, 482-493.
4. Fiehn, O. Metabolomics – The link between genotypes and phenotypes. *Plant Mol. Biol.* **2002**, *48*, 155-171.
5. Wu, M.; *et al.* Metabolomics of opiate-induced changes in murine brain, *Agilent Technologies Application Note*, publication number 5991-2481EN.
6. Dai, Y.; Fischer, S. M. Metabolomics batch data analysis workflow to characterize differential metabolites in bacteria, *Agilent Technologies Application Note*, publication number 5991-5706EN.
7. Jenkins, S.; Fischer, S. M.; Sana T. R. Mass Profiler Professional and Personal Compound Database and Library Software facilitate compound identification for profiling of the yeast metabolome, *Agilent Technologies Application Note*, publication number 5990-9858EN.
8. Sartain, M.; Sana, T. Impact of Chromatography on Lipid Profiling of Liver Tissue Extracts, *Agilent Technologies Application Note*, publication number 5991-5494.
9. MassHunter Profinder: Batch processing software for high quality feature extraction of mass spectrometry data, *Agilent Technologies Technical Overview*, publication number 5991-3947EN.
10. S. Joseph, Y. Dai, Pharmaceutical Impurity Identification and Profiling Using Agilent Q-TOF LC/MS Combined with Advanced MassHunter Data Processing Software, *Agilent Technologies Application Note*, publication number 5991-1375EN.

www.agilent.com/chem

이 정보는 사전 고지 없이 변경될 수 있습니다.

© Agilent Technologies, Inc. 2017
2017년 8월 31일, 한국에서 발행
5991-8312KO

서울시 용산구 한남대로 98, 일신빌딩 4층 우)04418
한국애질런트테크놀로지스(주) 생명과학/화학분석 사업부
고객지원센터 080-004-5090 www.agilent.co.kr



Agilent Technologies