

# Lipidome Profiling Based Foodomics Analysis with Q Exactive Mass Spectrometer For Classification of Different Edible Plant Oils

## Q Exactive 高分辨质谱脂质轮廓谱表征用于食品组学研究中的不同食用植物油分类

吴泽明<sup>1</sup>, 王秀嫔<sup>2</sup>

1. 赛默飞世尔科技(中国)有限公司, 201206, 上海

2. 中国农业科学院武汉油料作物研究所, 430062, 武汉

### 1. 前言

食品组学 (Foodomics) 是食品科学中的一门新兴学科, 它通过运用或整合各种先进组学技术 (-Omics) 来研究食品与营养学中的相关科学问题, 从而改善消费者的福祉与健康<sup>[1]</sup>。按照研究目的与对象体系的不同, 食品组学能从基因组学、蛋白组学与代谢组学等不同组学角度实施, 可广泛应用于食品产地溯源/真实性判别、掺杂打假、转基因分析、食品生产工艺优化等领域<sup>[2]</sup>。代谢组学是研究目标体系中小分子物质群定性定量存在或变化信息的一门组学, 它与食品组学存在着天然直接的关联, 彼此融通。利用代谢组学的手段开展食品组学研究, 能描绘食品中营养物质群的存在分布规律, 揭示发酵、烘焙等

生产工艺中食品组分的动态演变趋势, 剖析食品风格风味的微观化学物质基础, 以及认识食品营养与疾病间的关联关系等等, 这都具有重要的应用价值<sup>[3]</sup>。

食品组学的开展有赖于大数据的高效表征, 液相色谱 - 高分辨质谱技术以其准确灵敏等技术优势成为了食品组学研究最为重要的表征技术手段之一。本文利用 Thermo Scientific™ Q Exactive™ 四极杆 - 静电场轨道阱高分辨质谱与相关组学信息处理软件产品, 开展了基于脂质轮廓谱的食用植物油分类研究, 可为名贵食用植物油的掺杂打假、油脂的功能营养学研究提供新的思路。

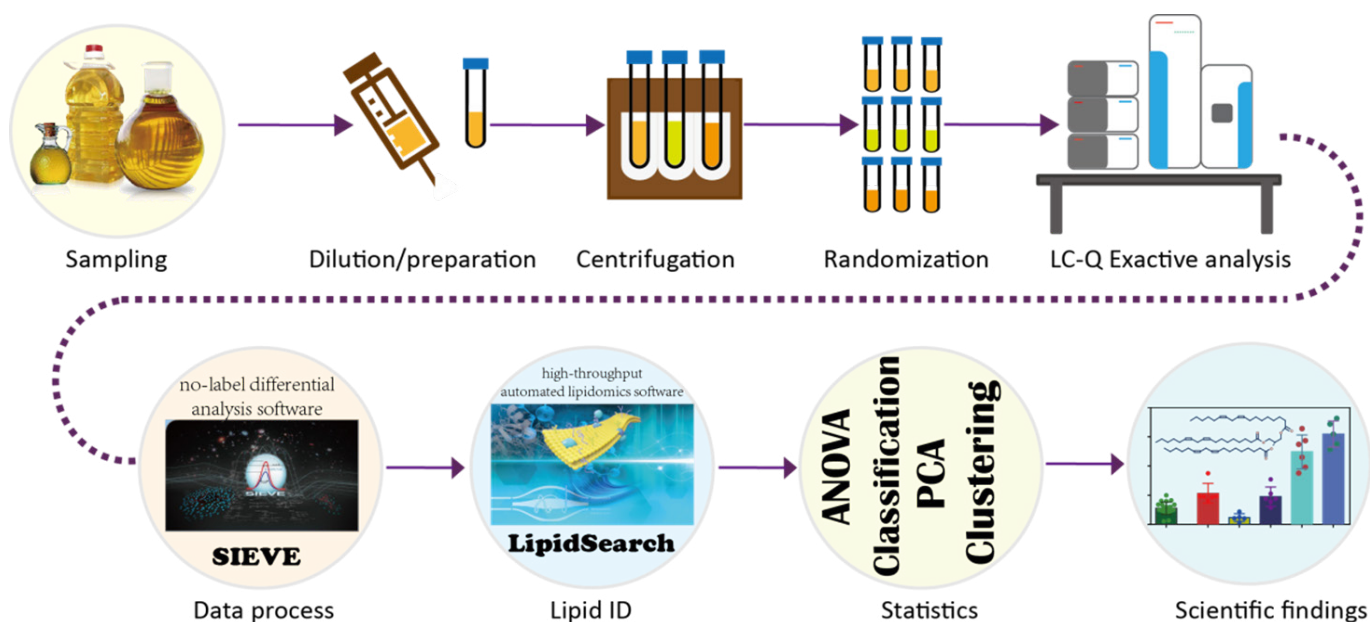


图 1. 实验整体流程示意图

## 2. 实验部分

### 2.1 样品采集与制备

大豆油、菜籽油、花生油、亚麻籽油等十余种不同种类的常见食用植物油样品购自各地超市，部分由客户采集并提供。取适量植物油原液，用乙腈 - 异丙醇混合溶液稀释，涡旋混匀后，15°C 恒温下 5,000 g 离心 10 min，取上清液，供分析用。

### 2.2 脂质轮廓谱采集

使用 Thermo Scientific™ Dionex™ Ultimate™ 3000 超高效液相色谱串联 Thermo Scientific™ Q Exactive™ 高分辨质谱采集脂质轮廓谱。

色谱条件：反相分离，二元洗脱，进样体积 5  $\mu$ L，其余条件见下表。

色谱柱：	Thermo Scientific™ HypersilGOLD™ C18 柱 ( 150 $\times$ 2.1 mm, 3 $\mu$ m )		
流动相：	弱洗脱相 A: 10% H <sub>2</sub> O + 90% ACN + 10 mM 甲酸铵 + 0.1% 甲酸 强洗脱相 B: 90% IPA + 10% ACN + 10 mM 甲酸铵 + 0.1% 甲酸		
流速：	350 $\mu$ L/min		
柱温：	50 °C		
梯度：	时间 /min	A%	B%
	0.0	70	30
	2.0	70	30
	12.0	20	80
	12.01	5	95
	14.0	5	95
	14.01	70	30
16.0	70	30	

质谱条件：Q Exactive 使用 HESI II 加热电喷雾离子源，正离子模式，离子源主要配置参数：喷雾电压 ( spray voltage ) 3000 V，毛细管温度 ( capillary temp. ) 350 °C，气化温度 ( probe heater temp. ) 300 °C，鞘气流速 ( sheath gas ) 40 arb，辅助气流速 ( aux gas ) 12 arb，S-Lens level 55%。脂质轮廓谱分析采用全扫描模式，质量扫描范围 400-1200  $m/z$ ，70,000 FWHM 分辨率，AGC target 3e6，Maximum IT 200 ms。脂质分子结构鉴定采用 Full scan-ddMS2 模式，一级 MS 分辨率 70,000 FWHM，MS2 分辨率 17,500 FWHM，AGC target - 1e5，maximum IT - 50 ms，isolation window - 2.0  $m/z$ ，NCE - 30%，underfill ratio - 1%，Apex trigger - 3-6 s，dynamic exclusion time - 10 s，loop count (TopN) - 5。

### 2.3 组学数据处理

SIEVE 软件分析：全扫描脂质轮廓谱数据处理，包括色谱匹配校正、质谱特征提取、分析数据质量评估，使用 Thermo Scientific SIEVE™ 2.2 SP2 无标记差异表达分析软件完成。质谱信号特征提取使用 Small molecule-Component Extraction 算法，主要参数设定为：max RT shift - 0.2 min；Background SN - 50；Base peak minimum intensity - 5e6；RT peak isolation - 0.2 min；peak algorithm - PPD。

LipidSearch 软件分析：LipidSearch™ 是 Thermo Fisher Scientific 专为解决脂质组学高通量数据分析中各种科学问题而研发的软件，它庞大的谱图库中包含高达一百七十余万个 lipid species 的 MS2/MS3 预测谱图，软件搜索引擎可通过实测谱图与理论预测谱图间的匹配，实现自动化的脂质分子结构注释。实验利用 ProductSearch\_QEX 检索模式对 Full scan-ddMS2 数据进行分析，主要参数包括：precursor tolerance - 5 ppm；product tolerance - 10 ppm；intensity threshold - 1.0%；m-score threshold - 2.0；ID quality filter - A, B, C, D。

主成分分析 ( PCA, Principal Component Analysis ) 与聚类分析：使用 SIEVE 软件以及 SIMCA-P 软件完成<sup>[4]</sup>。

## 3. 结果与讨论

### 3.1 SIEVE 处理与数据质量评价

图 2 为实验采集的各种食用植物油的脂质轮廓图，Q Exactive 定性定量兼得的 Quanfirmation 分析力与稳健性为随后基于 SIEVE 软件的组学信息挖掘提供了高质量的数据基础。图 3A 展示了 SIEVE 软件的色谱匹配效果。同时，由于分析样本数目大，实验采用 Pooled Quality Control 策略进行分析性能质控。结果如图 3B，在 SIEVE 完成的 PCA 分析 3D 主成分得分图 ( score plot ) 中，所有的质控样本均紧密地聚集分布在 3D 得分图的中心，显示 Q Exactive 的长期稳健性表现出色。如图 4 所示，SIEVE 软件可利用 Orbitrap™ 采集的高分辨准确质谱数据与精细同位素模式信息，通过软件内嵌的加合离子数据库与色谱行为评估等一系列迭代，对复杂的质谱谱图进行自动解卷积，将源自于同一代谢物的数十个复杂质谱信号特征简化为一个代谢组分 ( metabolic component )，从而大大改善模式识别数据矩阵的信息纯度与有效性。

RT: 0.80 - 15.00

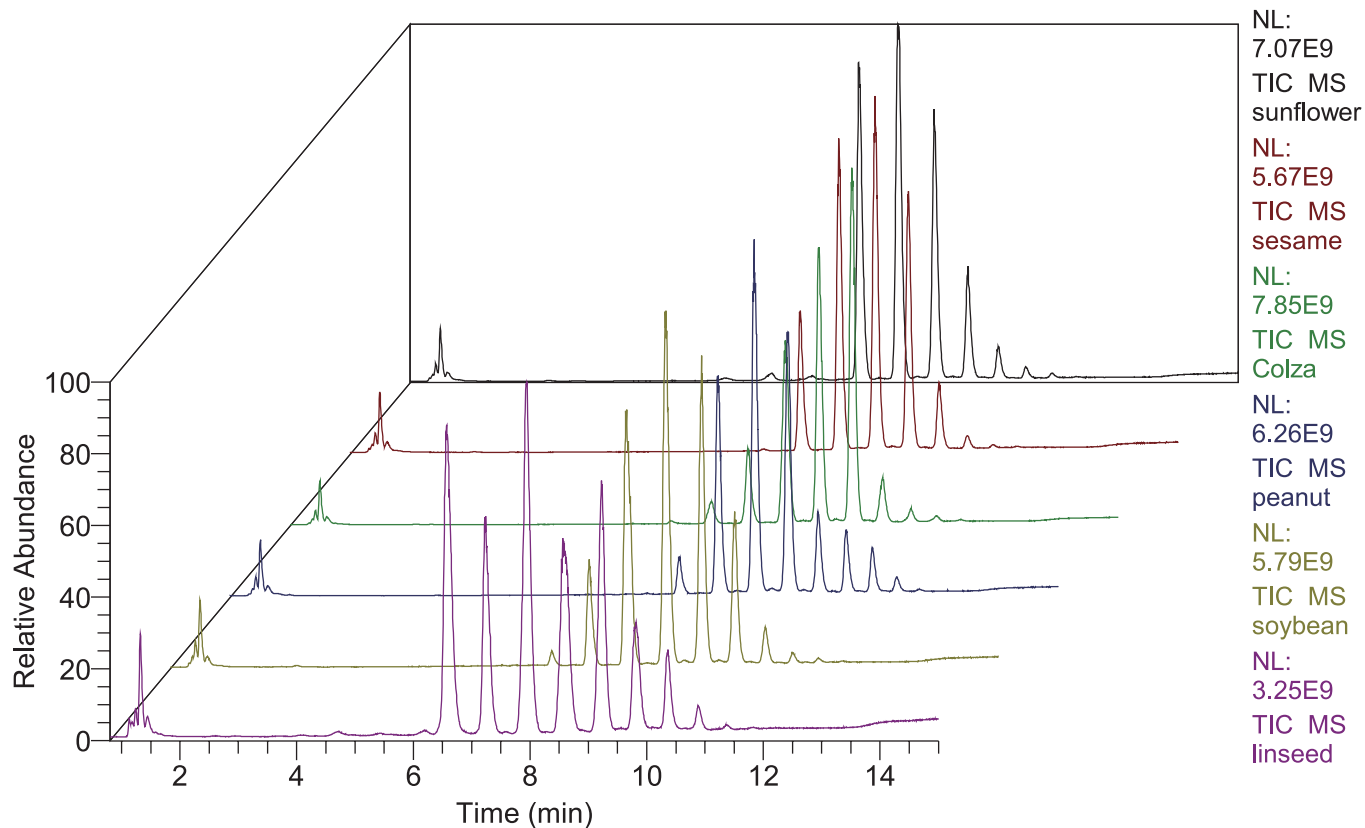


图 2. 实验采集的六种常见食用植物油的脂质轮廓图 (自上而下, 依次为: 葵花籽油、芝麻油、菜籽油、花生油、大豆油与亚麻籽油)

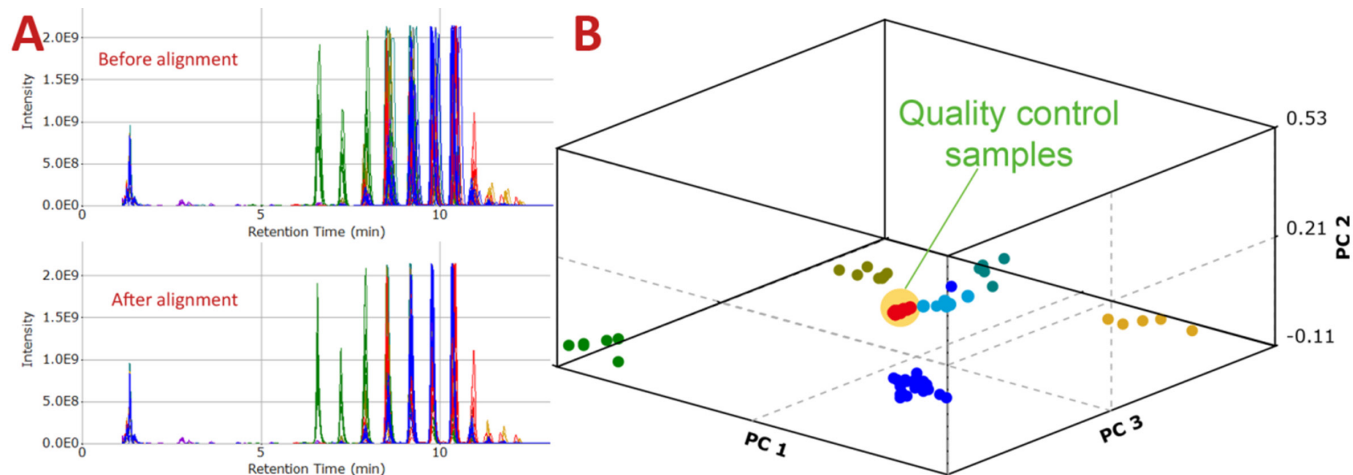


图 3. (A) SIEVE 软件的色谱匹配效果; (B) SIEVE 软件 PCA 分析用于分析数据质量控制, 黄色阴影处为 pooled QC 样本

### 3.2 分类与多元统计结果

实验挑选 6 种最为常见的食用植物油进行深度的多元统计分析。图 5 为对 SIEVE 软件获得的脂质轮廓谱数据矩阵进行聚类分析的结果, 可见, 6 种食用植物油样品按照各自的植物基源, 分类明确。

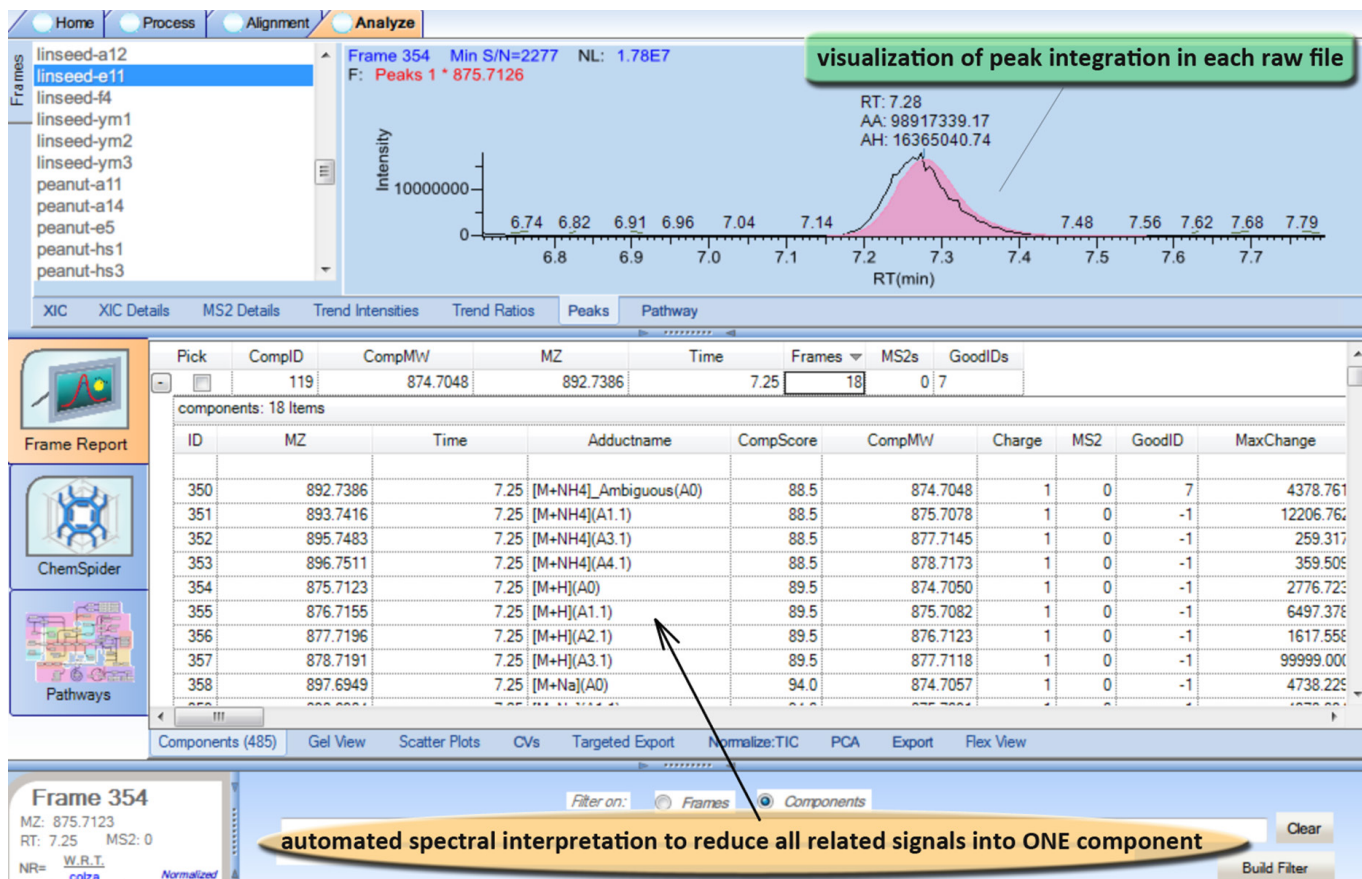


图 4. SIEVE 软件处理组学数据结果的数据浏览基本界面

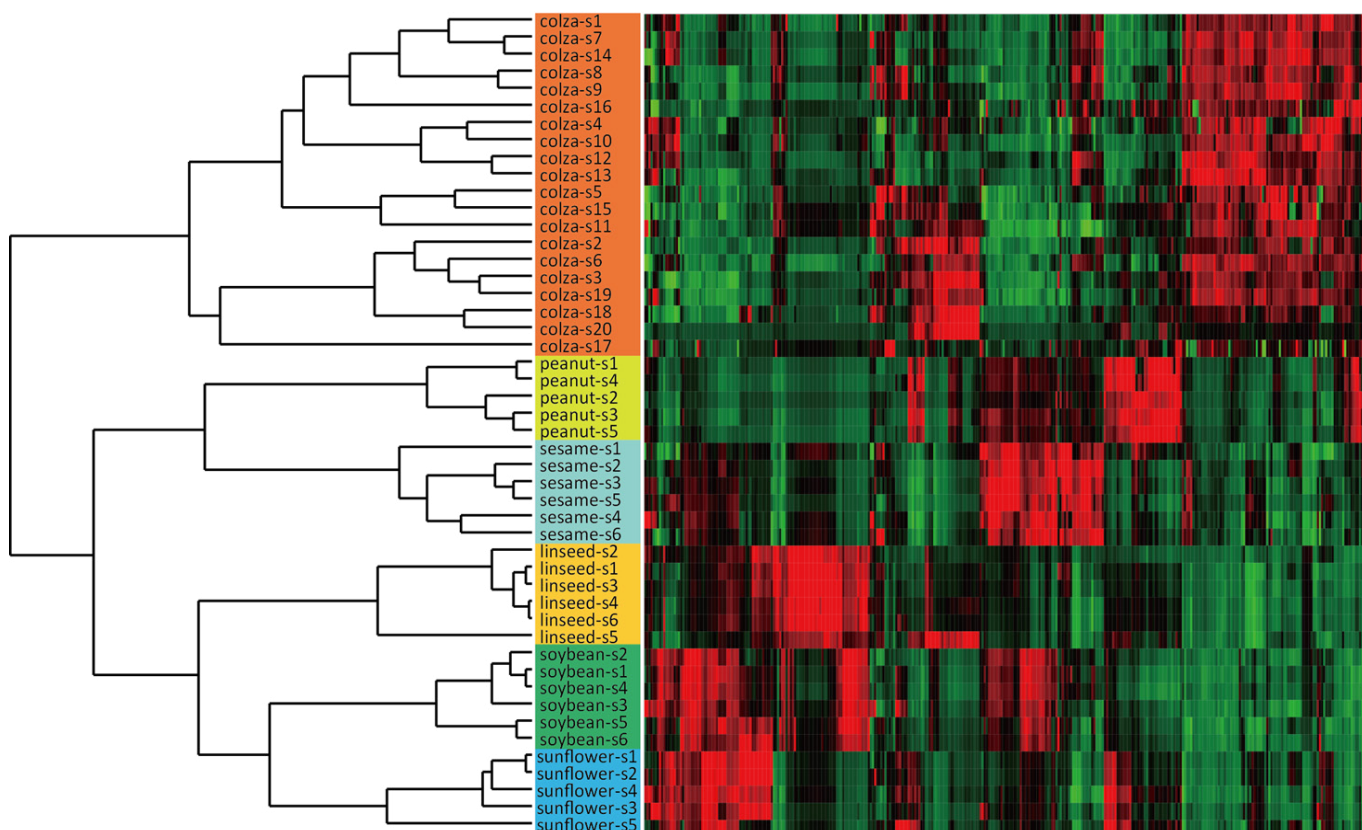


图 5. 六种最常见食用植物油样本的聚类分析结果与热图

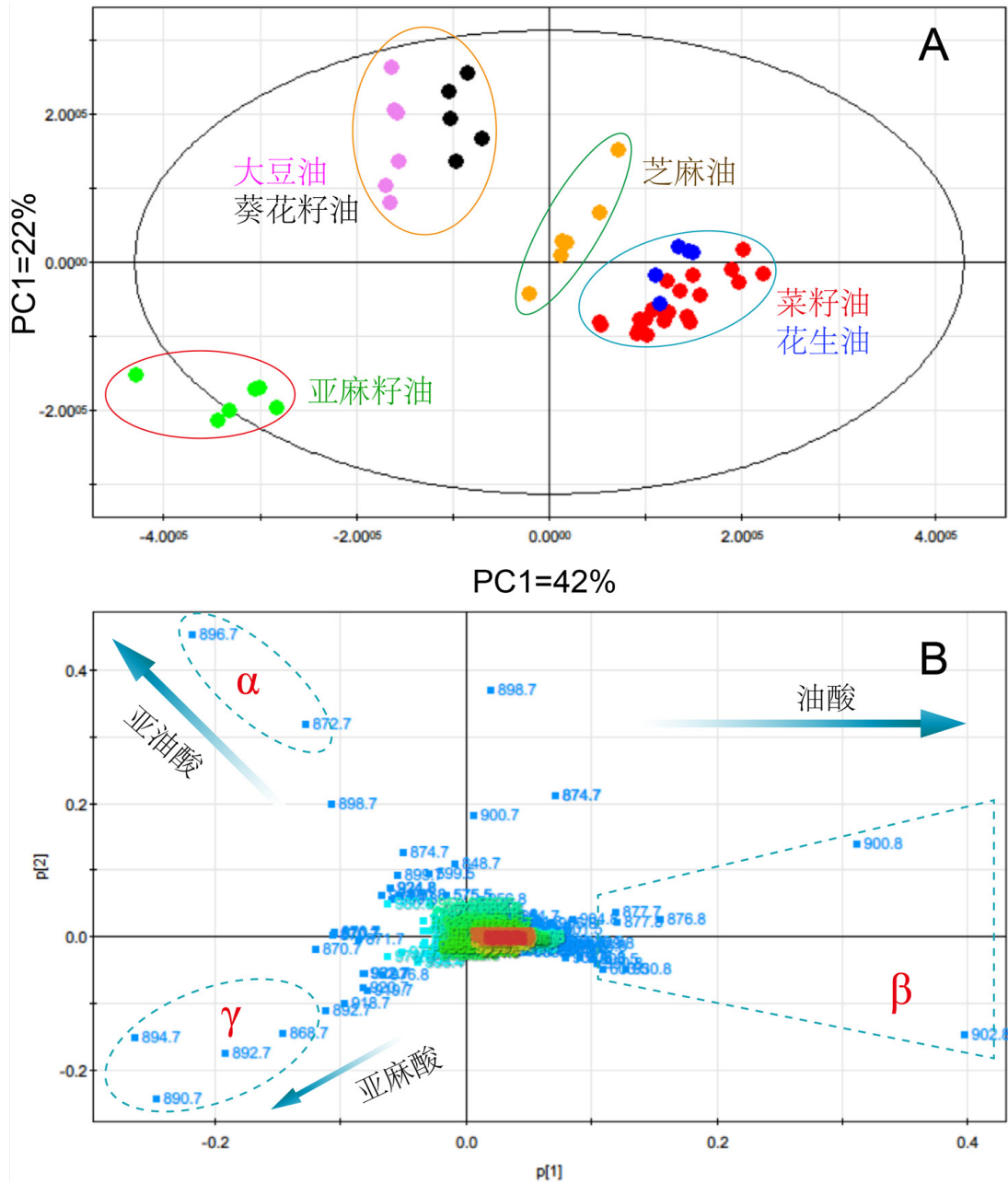


图 6. 六种常见植物油样本 PCA 分析的得分图 (A) 与载荷图 (B)

随后,为进一步明晰不同脂质分子在脂质整体轮廓分类中的贡献,实验又对这 6 种植物油样本进行了无师监督 (unsupervised) 的 PCA 分析。结果如图 6A,得分图中六种植物油样品大致聚集为 4 大类,分类趋势与聚类分析结果相一致。综合两种多元统计的结果,可推知花生油、菜籽油与芝麻油三者之间的脂质成分组成谱征间具有更高的类似性,其与大豆油、葵花籽油与亚麻籽油间的整体组间差异更为显著。

图 6B 载荷图中  $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$  区域内的变量对得分图中的聚类趋势具有较高的贡献权重。利用 Q Exactive sub-ppm 的高质量精度可准确推定出这些甘油三酯分子的唯一元素组成,同时结合 LipidSearch 软件的自动谱库检索 (图 7),可便利地鉴定这些差异脂质的分子结构,结果见表 1。载荷图中  $\alpha$  域内,脂肪酸酰链富含亚油酸 (Linoleic acid) 的脂质分子在大豆油与葵花籽油中高表达。同理而言,  $\beta$  域内富含油酸 (Oleic acid) 的甘油三酯在菜籽油与花生油中高表达,而  $\gamma$  域内的脂质分子具有高度的不饱和性,亚麻酸 (Linolenic acid) 含量十分丰富。位居于 PC1 方向中心位置处的芝麻油中油酸与亚油酸的含量比例则相对较为均衡。实验分别选取上述三类中的两个典型脂质分子进行统计分析,结果见图 8。

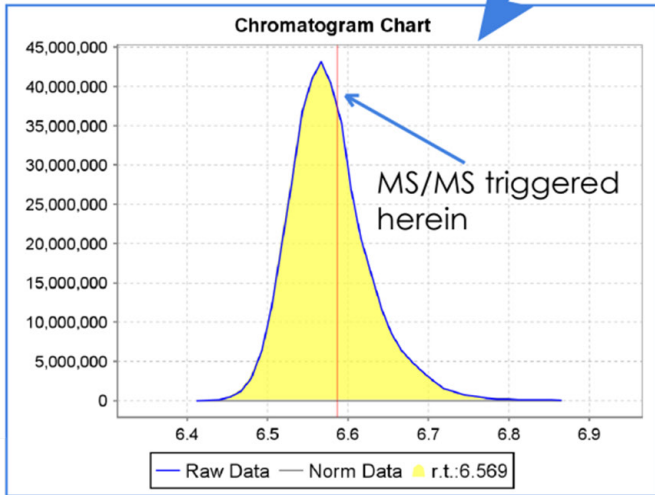
聚焦食品与健康间的关联是当今食品科学领域的重要趋势,鉴于油酸与多不饱和脂肪酸 (PUFA) 亚油酸、亚麻酸广泛而具有差异的生物功能,本实验开展的食物组学研究对于深入理解膳食中不同植物油的功能营养提供了新的工具。

**Job Name** Oil  
**File Name** Oil\_QC-ddms-30-2.raw  
**Data ID** 2973 **MS2** 890.726386 (+) [6.586898]  
**Lipid** TG(18:3/18:3/18:3)+NH4  
**Other** [2929](#) [3017](#)  
**Quant** **Func:** SI **P:** 6.569 **A:** 277755615.799 **H:** 43088671.446 **L:** 0 **R:** 0  
**AreaScore** 1  
**PQuantity** 0.98  
**SignalNoise** 5702.46

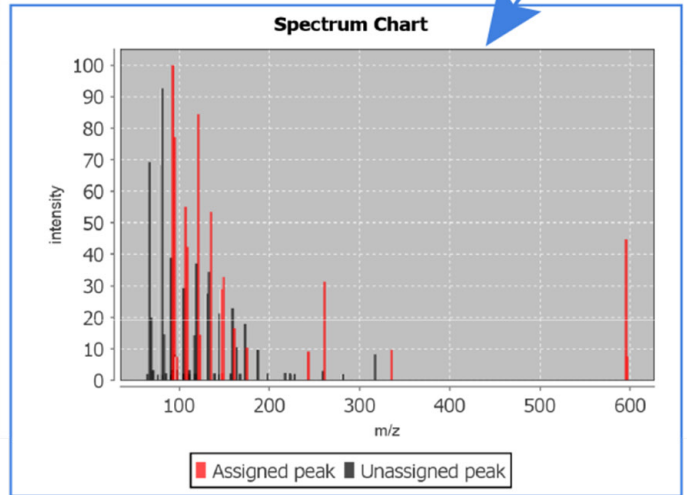
XIC ± 5 ppm relative quan

spectrum matching

**Chromatogram**



**Spectrum**



**Match Lipid**

LipidIon	M-Sc.	T-Sc.	Occ.	St.
<b>TG(18:3/18:3/18:3)+NH4</b>	<b>46</b>	<b>0.2</b>	<b>51.3</b>	<input checked="" type="checkbox"/>
TG(18:4/18:2/18:3)+NH4	20.6	0.2	51.5	<input type="checkbox"/>
TG(18:4/18:3/18:2)+NH4	20.6	0.2	51.5	<input type="checkbox"/>
TG(12:0/18:3/24:6)+NH4	15.4	0.2	51.3	<input type="checkbox"/>
TG(14:0/18:3/22:6)+NH4	15.4	0.2	51.3	<input type="checkbox"/>
TG(14:0/22:6/18:3)+NH4	15.4	0.2	51.3	<input type="checkbox"/>
TG(16:1/18:3/20:5)+NH4	15.4	0.2	51.3	<input type="checkbox"/>
TG(16:1/20:5/18:3)+NH4	15.4	0.2	51.3	<input type="checkbox"/>
TG(16:2/18:3/20:4)+NH4	15.4	0.2	51.3	<input type="checkbox"/>
TG(16:2/20:4/18:3)+NH4	15.4	0.2	51.3	<input type="checkbox"/>
TG(18:3/14:0/22:6)+NH4	15.4	0.2	51.3	<input type="checkbox"/>
TG(18:3/16:1/20:5)+NH4	15.4	0.2	51.3	<input type="checkbox"/>

predicted Lipid ID similarity scoring

**Match Detail**

ObsMz	Type	It.(%)	Frag.	Delta(Da)
<b>175.1491</b>	<b>MS2</b>	<b>10.386</b>	<b>C13H19</b>	<b>0.0009</b>
187.1491	MS2	9.697	-	-
197.1326	MS2	2.201	-	-
217.3539	MS2	2.359	-	-
222.2619	MS2	2.207	-	-
226.0957	MS2	1.814	-	-
227.6418	MS2	2.024	-	-
<b>243.212</b>	<b>MS2</b>	<b>9.089</b>	<b>C18H27</b>	<b>0.0013</b>
259.2058	MS2	3.019	-	-
<b>261.2224</b>	<b>MS2</b>	<b>31.293</b>	<b>FA(18:3)-OH</b>	<b>0.0011</b>
281.3811	MS2	1.97	-	-
317.2491	MS2	8.264	-	-
<b>335.2572</b>	<b>MS2</b>	<b>9.627</b>	<b>MG(18:3)-OH</b>	<b>-0.0008</b>
<b>595.4733</b>	<b>MS2</b>	<b>44.714</b>	<b>NL[FA(18:3)-H+</b>	<b>0.0012</b>
<b>596.4745</b>	<b>MS2</b>	<b>7.513</b>	<b>NL[FA(18:3)-H+</b>	<b>0.0024</b>

spectral matching details

图 7. LipidSearch 搜库鉴定脂质分子结构的结果浏览界面

表 1. 载荷图中显著差异脂质分子的化学属性与鉴定结果

Domin	Measured $m/z$ <sup>†</sup>	Elemental composition	ppm	$\Omega$	Double bonds in acyl chains	Lipid ID by LipidSearch
$\alpha$	872.76984	C <sub>55</sub> H <sub>98</sub> O <sub>6</sub>	-0.374	7	4	TG(18:2/18:2/16:0)
	896.76953	C <sub>57</sub> H <sub>98</sub> O <sub>6</sub>	-0.710	9	6	TG(18:2/18:2/18:2)
	902.81689	C <sub>57</sub> H <sub>104</sub> O <sub>6</sub>	-0.251	6	3	TG(18:1/18:1/18:1)
	900.80084	C <sub>57</sub> H <sub>102</sub> O <sub>6</sub>	-0.695	7	4	TG(18:1/18:1/18:2)
$\beta$	876.80176	C <sub>55</sub> H <sub>102</sub> O <sub>6</sub>	0.335	5	2	TG(18:1/18:1/16:0)
	904.83331	C <sub>57</sub> H <sub>106</sub> O <sub>6</sub>	0.601	5	2	TG(18:1/18:1/18:0)
	928.83319	C <sub>59</sub> H <sub>106</sub> O <sub>6</sub>	0.456	7	4	TG(18:1/18:2/20:1)
	930.84766	C <sub>59</sub> H <sub>108</sub> O <sub>6</sub>	-0.813	6	3	TG(18:2/18:0/20:1)
	930.84894	C <sub>59</sub> H <sub>108</sub> O <sub>6</sub>	0.562	6	3	TG(18:1/18:1/20:1)
$\gamma$	890.72339	C <sub>57</sub> H <sub>92</sub> O <sub>6</sub>	0.195	12	9	TG(18:3/18:3/18:3)
	892.73901	C <sub>57</sub> H <sub>94</sub> O <sub>6</sub>	0.161	11	8	TG(18:3/18:3/18:2)
	894.75415	C <sub>57</sub> H <sub>96</sub> O <sub>6</sub>	-0.409	10	7	TG(18:3/18:3/18:1)
	868.73907	C <sub>55</sub> H <sub>94</sub> O <sub>6</sub>	0.235	9	6	TG(18:3/18:3/16:0)

<sup>†</sup>: ions were ammonium adduct species.

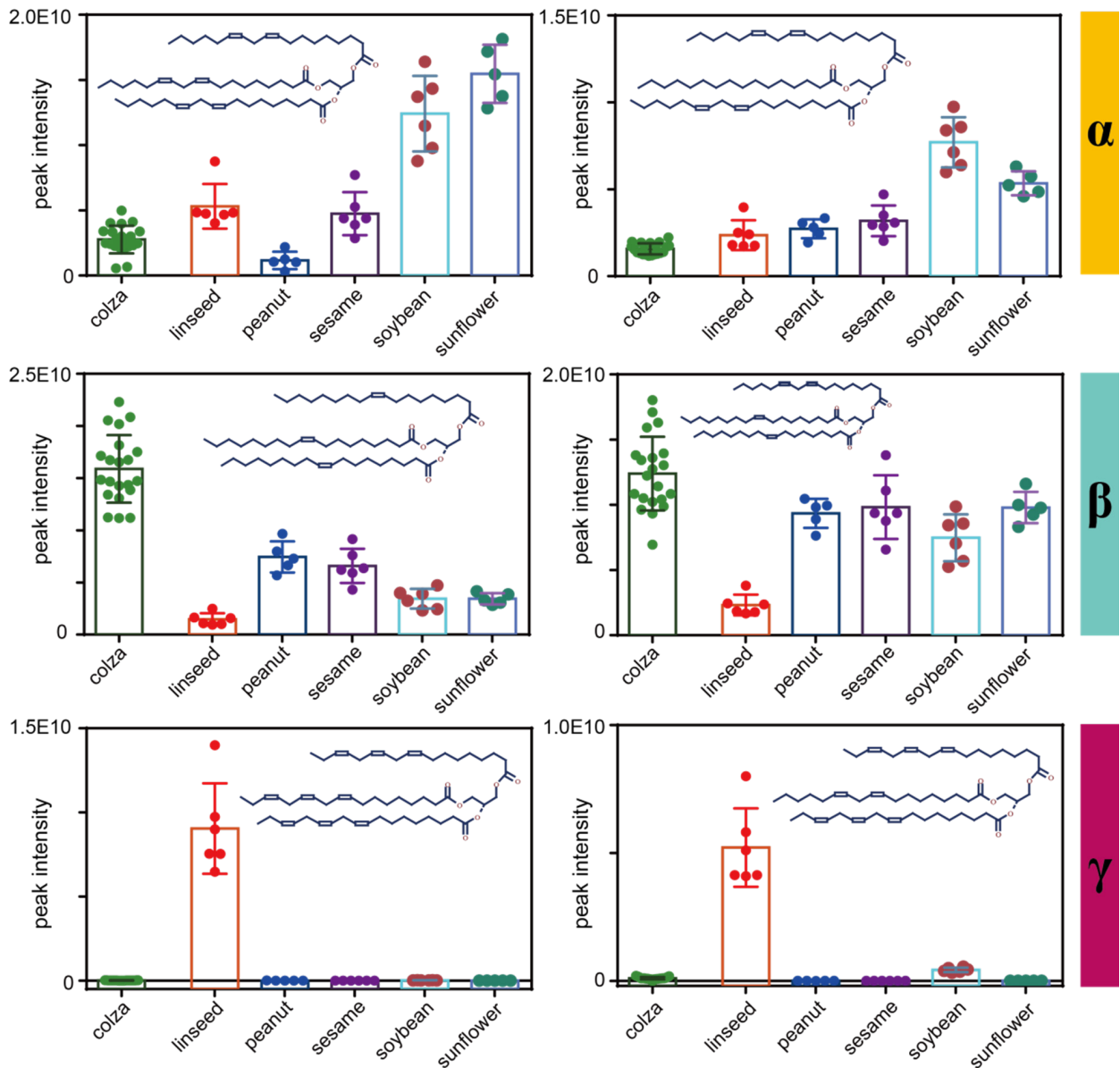


图 8. PCA 载荷图中典型差异脂质分子在各种植物油间的表达量柱图分布

## 4. 总结

- Thermo Scientific Q Exactive 高分辨准确质谱是食品组学研究中表征功能蛋白与活性小分子物质群的有效技术手段；
- SIEVE 与 LipidSearch 软件为食品组学中小分子组学研究的信息处理提供了高效的解决方案。

**致谢：**感谢中国农科院武汉油料作物研究所王秀娉博士在样品采集上的大力帮助。

## 参考文献：

- [1] Cifuentes A (2009), J. Chromatogr. A, 1216 (43): 7109
- [2] García-Cañas V (2012) Anal. Chem., 84 (23), pp 10150-10159
- [3] Antignac JP (2011), Trends Anal. Chem., 30, 292-301
- [4] <http://www.umetrics.com/products/simca>



Orbitrap 组学俱乐部



赛默飞小分子质谱应用技术群

赛默飞世尔科技（中国）有限公司

**全国服务热线：800 810 5118**  
**400 650 5118 (支持手机用户)**

AN\_C\_LCMSMS\_9\_201507Y

**Thermo**  
SCIENTIFIC  
Part of Thermo Fisher Scientific