

探针电喷雾电离套件 DPiMS™ QT  
氧附着解离 MS/MS 配套套件 OAD RADICAL SOURCE I  
高效液相色谱质谱仪 LCMS™-9050

## 利用 DPiMS QT 和 OAD-TOF 进行黄油中甘油三酯的双键位置分析

荒尾 洋平、铃木 悠希、高桥 秀典

### 特点描述

- ◆ 利用 DPiMS QT 进行定性筛选时，预处理时间约为 5 分钟，测定时间约为 0.5 分钟。
- ◆ 通过 OAD RADICAL SOURCE I 的特殊碎片化能够确定化合物的双键位置。
- ◆ 能够以高质量精度检测碎片离子，以高准确度鉴定双键位置。

### ■ 引言

脂肪与碳水化合物、蛋白质、维生素和矿物质一样，是食物中的重要营养素之一，对生物体功能具有重大影响，其主要组成成分是脂肪酸。脂肪由三个脂肪酸分子酯化成一个甘油分子，在体内以甘油三酯 (TGs) 的形式储存。从食物中摄取的脂肪大部分是 TGs，对生物体的影响根据构成食物的脂肪酸的种类而不同，因此不仅关注食物中的脂肪含量，还要关注构成 TGs 的脂肪酸种类。

根据其结构，脂肪酸分为不具有双键的饱和脂肪酸和具有双键的不饱和脂肪酸，即使不饱和脂肪酸具有相同的组成，但根据双键位置的不同，其对生物体的功能也有所不同。因此，了解食物所含脂质中双键的位置对于了解这些食物对生物体的影响非常重要。

### ■ 关于 OAD

从研究对生物体影响的角度来看，脂质双键位置的鉴定正在迅速发展为脂质组学的一种新切入点。岛津制作所的 Oxygen Attachment Dissociation<sup>1)</sup> (OAD)，即 OAD-TOF 系统 \* 配备了一种独特的新型碎片化技术，无需衍生化或其他预处理即可生成特定于双键位置的碎片离子，开发了一种鉴定化合物双键位置的技术。OAD 的原理如图 1 所示。

本应用介绍了使用配备 DPiMS QT 探针电喷雾电离 Kit 的 OAD-TOF 系统，通过直接电离法即可鉴定黄油所含 TGs 结构 (包含双键位置)，该方法无需使用色谱分离和保留时间数据。

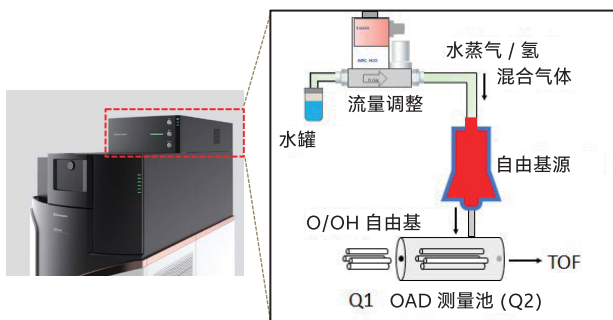


图 1 OAD 的原理

\* OAD-TOF 系统：配备 OAD RADICAL SOURCE I 的 LCMS-9050

可进行 OAD 分析的 OAD-TOF 系统还可在 CID、OAD 的任意模式下进行分析，可通过软件轻松地切换。此外，DPiMS QT 的拆装也可在约 15 秒内完成。

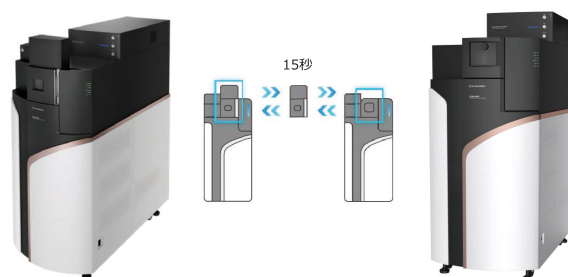


图 2 配备 DPiMS™ QT 的 OAD-TOF 系统 (左) 及 OAD-TOF 系统 (右)

### ■ 分析条件

DPiMS QT 使用探针高速重复进行采样和电离，但由于每次采样量极小，仅为几 pL，因此设备污染的风险降低，相比 LC-Q-TOF 分析，只需简单的预处理即可快速分析，这也是其特点之一。

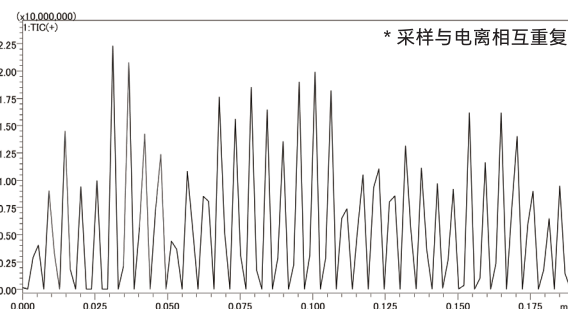


图 3 利用 DPiMS QT 分析的黄油提取物 MS1 信号强度

分析条件如表 1 所示，通过 DPiMS QT 与 OAD-TOF 系统，在简单的预处理后，仅 0.5 min 即可快速地完成分析。

表 1 DPiMS QT 与 OAD-TOF 系统的分析条件

系统	: DPiMS QT + LCMS-9050 + OAD RADICAL SOURCE I
极性	: 正
DL 温度	: 250°C
加热模块温度	: 50°C
接口电压	: 3.0 kV
CE	: 20 V (CID), 5 V (OAD)
TOF-MS	: m/z 100-1000
测定时间	: 0.5 min

## ■ 黄油的预处理

分析市售黄油所含 TGs 的预处理方法如图 4 所示，称取黄油 200 mg 移至 1.5 mL 离心管，向其中加入 1 mL 超纯水 / 异丙醇 = 20/80 (v/v)，在 40°C 下超声搅拌 5 分钟。离心分离后，取上清液 10  $\mu$ L，滴至 DPiMS 专用液体试样盘进行分析。

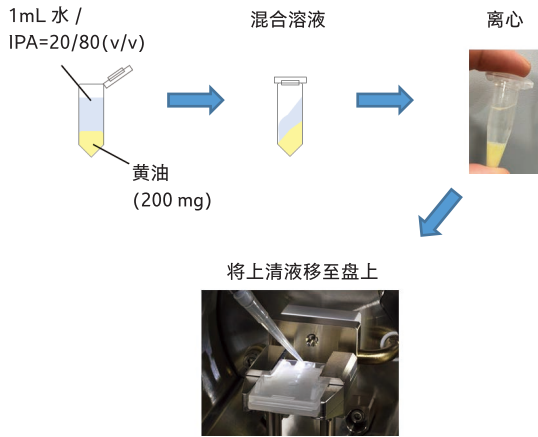


图 4 黄油的预处理流程

## ■ 黄油中 TGs 鉴定

通过 DPiMS QT 对黄油提取液进行 MS1 分析的结果如图 5 所示，将所得数据文件（扩展名：.lcd）转至 MS-DIAL<sup>2)</sup> (ver.5.1.230517)，根据前体离子的  $m/z$  信息进行了脂质归属。通过 MS-DIAL 鉴定的黄油提取液中所含 TGs 如表 2 所示，分析时的设定项目如图 6 所示。根据表 2，此次选取 TG 38:2 及 TG 38:1 为例，通过 CID 及 OAD 分析以分析详细结构信息，根据所得 MS/MS 质谱进行鉴定。

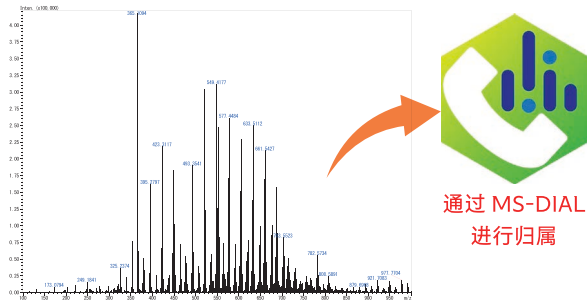


图 5 利用 DPiMS QT 取得的黄油提取液的 MS 光谱

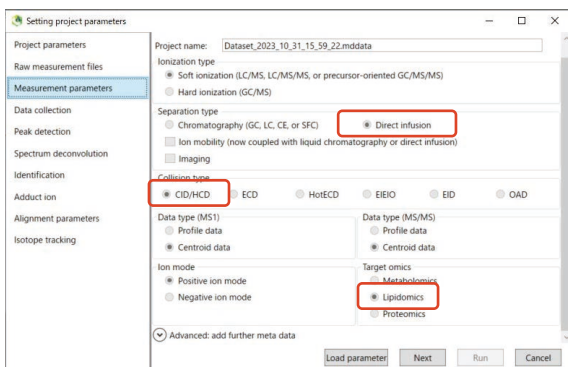


图 6 利用 MS-DIAL 进行 PESI 数据分析时的设置项目

表 2 通过 MS-DIAL 鉴定黄油提取液中所含的 TG 一览表

MS1 ( $m/z$ )	加合物	预测结构
493.3504	[M+Na] <sup>+</sup>	TG 24:0
521.3825	[M+Na] <sup>+</sup>	TG 26:0
535.3969	[M+Na] <sup>+</sup>	TG 27:0
549.4146	[M+Na] <sup>+</sup>	TG 28:0
563.4274	[M+Na] <sup>+</sup>	TG 29:0
575.4286	[M+Na] <sup>+</sup>	TG 30:1
577.4457	[M+Na] <sup>+</sup>	TG 30:0
591.4584	[M+Na] <sup>+</sup>	TG 31:0
603.4599	[M+Na] <sup>+</sup>	TG 32:1
605.4765	[M+Na] <sup>+</sup>	TG 32:0
631.4913	[M+Na] <sup>+</sup>	TG 34:1
633.5084	[M+Na] <sup>+</sup>	TG 34:0
657.507	[M+Na] <sup>+</sup>	TG 36:2
659.5223	[M+Na] <sup>+</sup>	TG 36:1
661.5384	[M+Na] <sup>+</sup>	TG 36:0
673.5362	[M+Na] <sup>+</sup>	TG 37:1
685.5381	[M+Na] <sup>+</sup>	TG 38:2
687.5538	[M+Na] <sup>+</sup>	TG 38:1
689.5681	[M+Na] <sup>+</sup>	TG 38:0
713.5682	[M+Na] <sup>+</sup>	TG 40:2
715.5845	[M+Na] <sup>+</sup>	TG 40:1

## ■ 通过 CID 确定脂质的子类

通过 DPiMS QT 的 CID 模式对黄油提取液中的 TG 38:1 及 TG 38:2 进行了 MS/MS 分析，根据中性丢失鉴定构成 TG 的各脂肪酸链长及双键数量。图 7 所示为各 MS/MS 质谱图，图中归属各脂肪酸后的谱峰上记录有脂肪酸链长及双键数量信息。

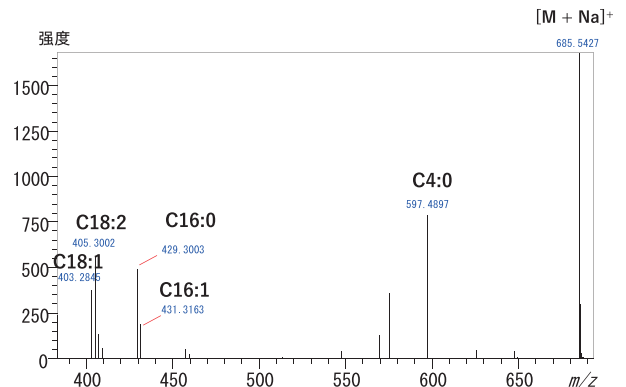
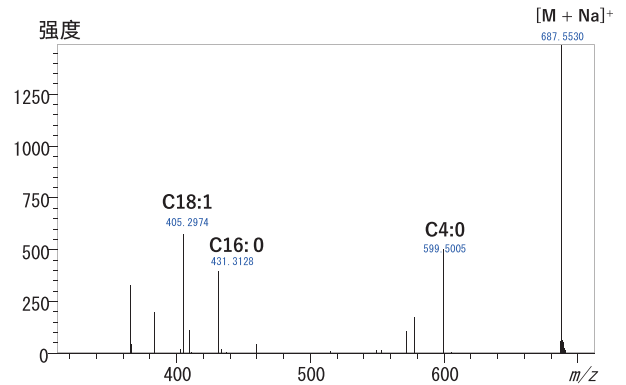


图 7 通过 CID 模式下获得的黄油提取液中 TG 38:1 的 MS/MS 质谱图（上）和 TG 38:2 的 MS/MS 质谱图

## ■ 通过 OAD 确定脂肪酸中双键位置

OAD 通过在双键周围发生的规律性碎片化，能够鉴定双键位置。通过 OAD 模式对黄油提取液中的 TG 38:1 及 TG 38:2 进行了 MS/MS 分析，鉴定构成 TG 的各脂肪酸双键位置，图 8 所示为通过 OAD 裂解离子的案例。通过 OAD 裂解双键相邻的 C-C 键，由此能够鉴定双键位置。实际通过 OAD 分析含有不饱和脂肪酸的脂质时所得特殊碎片离子与双键的关系如表 3 所示。分析所得 TG38:1 和 TG38:2 的 MS/MS 质谱图分别如图 9 和图 10 所示。此外，根据 CID 模式下的中性丢失 (NL) 结果，推测出 TG 38:2 中混有前体离子相同的 2 个化合物，因此鉴定了两化合物的双键位置。

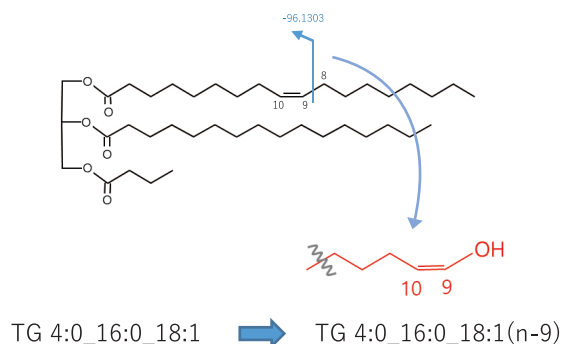


图 8 通过 OAD 获得脂质碎片的案例

表 3 预测可通过 OAD 获得的 NL

第 1 个双键	n-	NL [Da]	第 1 个双键	n-	NL [Da]
n-6	6	-54.0833	n-9	9	-96.1303
	9	-94.1157		12	-136.1626
	12	-134.1481		15	-178.1951
n-7	7	-68.0990	-	-	-

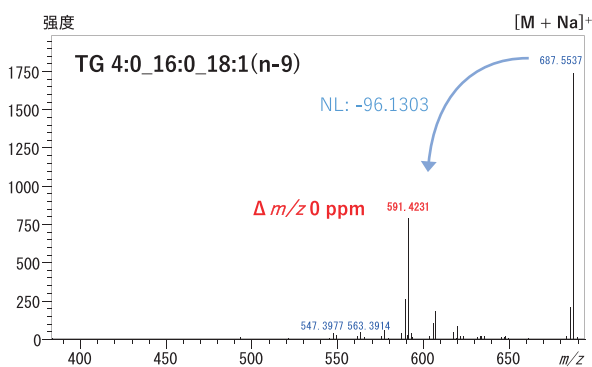


图 9 鉴定 OAD 模式下获得的黄油中 TG 38:1 的 MS/MS 质谱图和双键位置

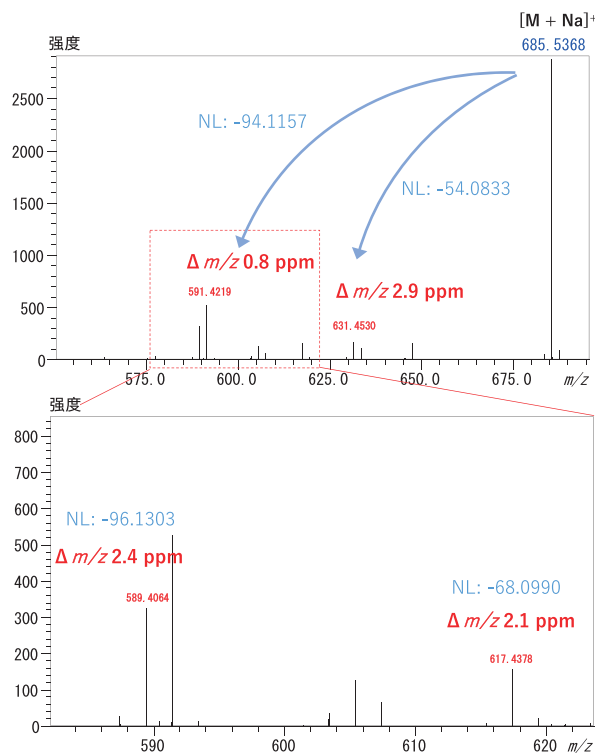


图 10 OAD 模式下获得的黄油中 TG 38:2 的 MS/MS 质谱图

根据 CID 和 OAD 的分析结果，可鉴定 TG 38:1 和 TG38:2 为图 11 所示结构。

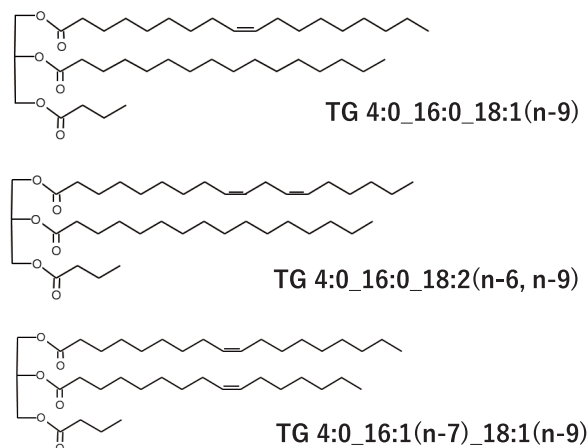


图 11 通过 CID 和 OAD 鉴定的黄油中的 TG38:1 和 TG38:2

## ■ 结论

通过 DPiMS QT 和 OAD-TOF 系统，快速完成了黄油中所含 TGs 的双键结构鉴定。得益于 LCMS-9050 的高质量精度，轻松地确认到中性丢失，获得了高准确度的鉴定结果。

### < 参考文献 >

- 1) H. Uchino, et al., *Communications Chemistry*, 5, 162 (2022)
- 2) H. Tsugawa, et al., *Nature Methods*, 12, 523-526 (2015)

岛津应用云



DPiMS、LCMS 是岛津制作所株式会社或其相关公司在日本及其他国家 / 地区的商标。



岛津企业管理 (中国) 有限公司  
岛津 (香港) 有限公司

<http://www.shimadzu.com.cn>

用户服务热线电话: 800-810-0439  
400-650-0439

免责声明:

\* 本资料未经许可不得擅自修改、转载、销售;  
\* 本资料中的所有信息仅供参考, 不予任何保证。  
如有变动, 恕不另行通知。

第一版发行日: 2023 年 12 月