

基于Xevo™ MRT和全球天然产物社会分子网络系统（GNPS）进行绿茶提取物成分分析

张永明，何青秀，龚智宏，曾玮 沃特世公司

Waters Corporation, United States

Published on September 10, 2025

摘要

全球天然产物分子网络系统（Global Natural Products Social Molecular Networking, GNPS）是一个基于网络的质谱分析生态系统，它通过分子网络分析、谱图库搜索、高通量去重复等功能，助力天然产物和代谢组学研究。其中特征分子网络分析（Feature-Based Molecular Networking, FBMN）是其核心功能之一：它通过计算质谱图间相似性，将结构相似的有机物聚集成簇，形成“分子家族”，这能直观呈现各成分关系，有助于发现结构类似物或新化合物。而 waters_connect平台自带的DATA Convert数据转换工具，在数据采集的同时可以直接将数据转换为.mzML通用格式，能够非常方便兼容第三方软件进行数据处理。我们以绿茶提取物为例，演示如何基于Xevo MRT MS和GNPS进行天然产物成分分析，图2为其工作流程图。

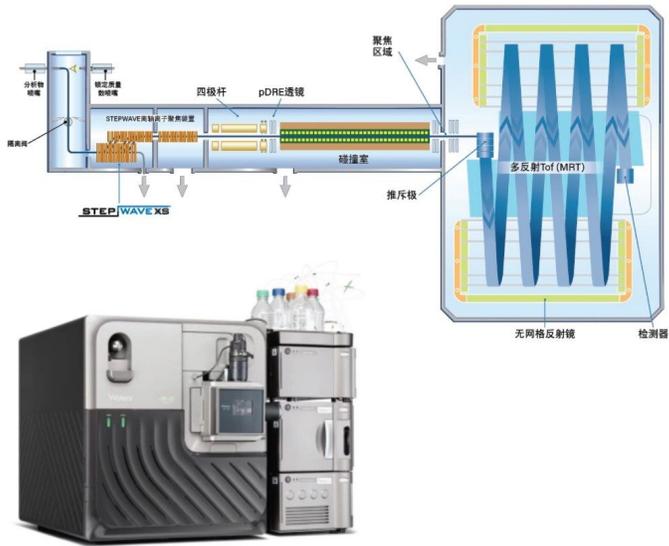


图1. Xevo MRT MS外观及结构示意图。

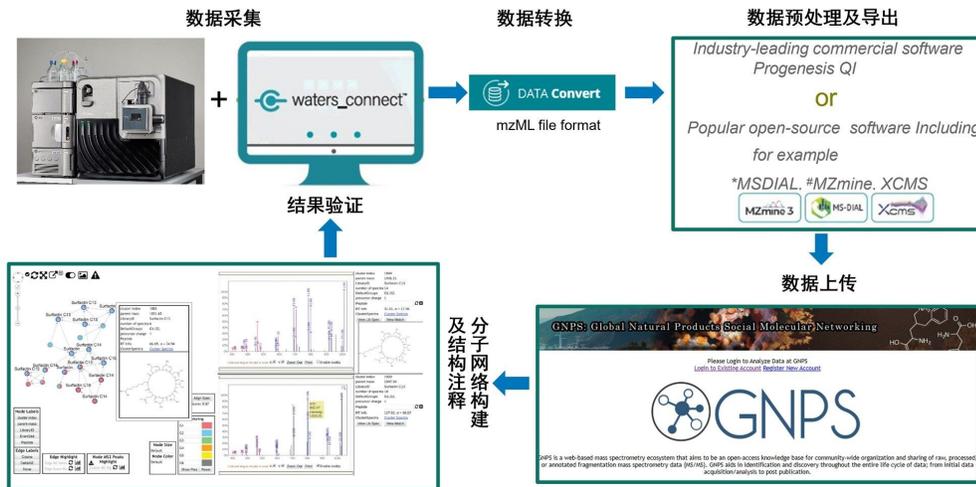


图2. 工作流程图。

产品特点

- Waters Xevo™ MRT MS采用多反射超高分辨率飞行时间（MRT）技术可在较宽的m/z 范围内提供始终如一的质谱分辨率，即使在100 Hz的扫描速率下分辨率结果也不会受到影响。
- Xevo MRT MS经过精心设计，将高端技术融入台式平台中，可帮助用户解决棘手难题。创新的采集系统配备双增益模数转换器，在高动态范围内亦可保持长期的系统稳定性，从而确保始终如一的优异数据质量、耐用性和重现性。
- 在Xevo MRT质量分析器内(见图1)，4 m飞行路径将发生总共8次反射，在高达100 Hz的扫描速率下，分辨率可达100,000 FWHM，实现出色的MS/MS性能。

实验方法及参数

液相色谱条件

液相系统:	ACQUITY™ Premier UPLC System
样品:	Green Tea Extract Mix p/n: 186006962
色谱柱:	ACQUITY UPLC HSS T3 (2.1 x 100 mm, 1.8 μm)
流动相A:	0.01% 甲酸水
流动相B:	乙腈
柱温:	40 °C
样品室温度:	10 °C
进样量:	1 μL

梯度

时间 (min)	流速	A(%)	B(%)	曲线
0.00	0.3	99	1	Initial
3.00	0.3	99	1	6
15.00	0.3	80	20	6
7.00	0.3	50	50	6
25.00	0.3	1	99	6
27.00	0.3	1	99	6
30.00	0.3	99	1	1

质谱条件

质谱系统:	Xevo MRT MS
采集模式:	DDA, Top 15
采集范围:	m/z 50–1,200
MS采集速率:	10 Hz
MS/MS采集速率:	20 Hz
离子化模式:	ESI-
离子源温度:	120 °C
脱溶剂气温度:	550 °C
毛细管电压:	1.0 kV
锥口电压:	20 V

锥口气流速: 100 L/hour

脱溶剂气流速: 1,000 L/hour

数据处理软件

使用waters_connect™ 进行数据采集，后续使用Progenesis QI或MS DIAL进行数据预处理后导出文件，上传预处理文件至GNPS¹网站进行特征分子网络分析。

实验流程

1. 数据预处理：在进行特征分子网络分析之前，首先需要借助代谢组学软件进行数据预处理（峰提取，峰对齐，样本分组，解卷积等），waters_connect平台自带的DATA Convert数据转换工具，在进行数据采集的同时可以直接将数据转换为.mzML通用格式，供Progenesis QI, MS DIAL2, Mzmine3, XCMS4 等组学软件对数据进行处理，这确保了在适应多样化工作流程时具备相当高的灵活性，同时通用格式也简化了跨团队的数据共享。以沃特世官方组学软件 Progenesis QI为例，在使用其完成数据预处理后，可以选择导出“Feature quantification table”和“MS2 MGF”两个文件，用于后续的FBMN分析，见图3。

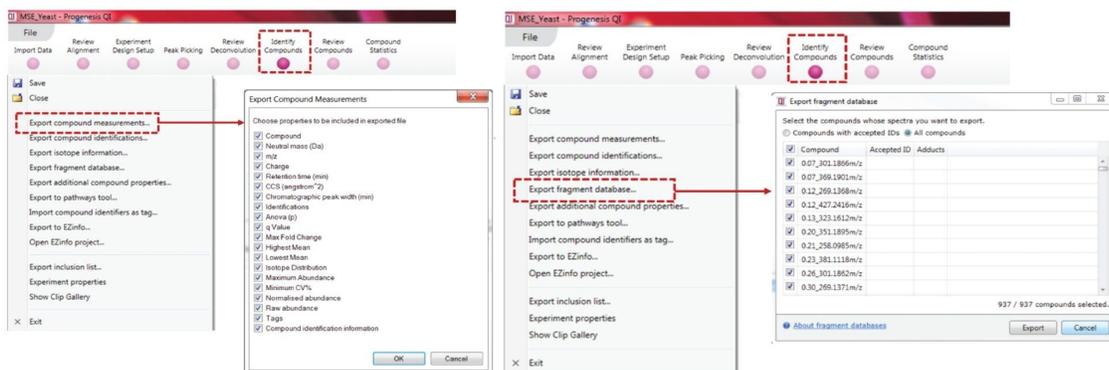


图3. Progenesis Q1 导出数据示例图。

此外，以第三方代谢组学软件MS DIAL为例，可以选择直接加载.mzML格式数据，数据导入并处理后可以得到5,559个特征离子的MS/MS谱图，见图4。

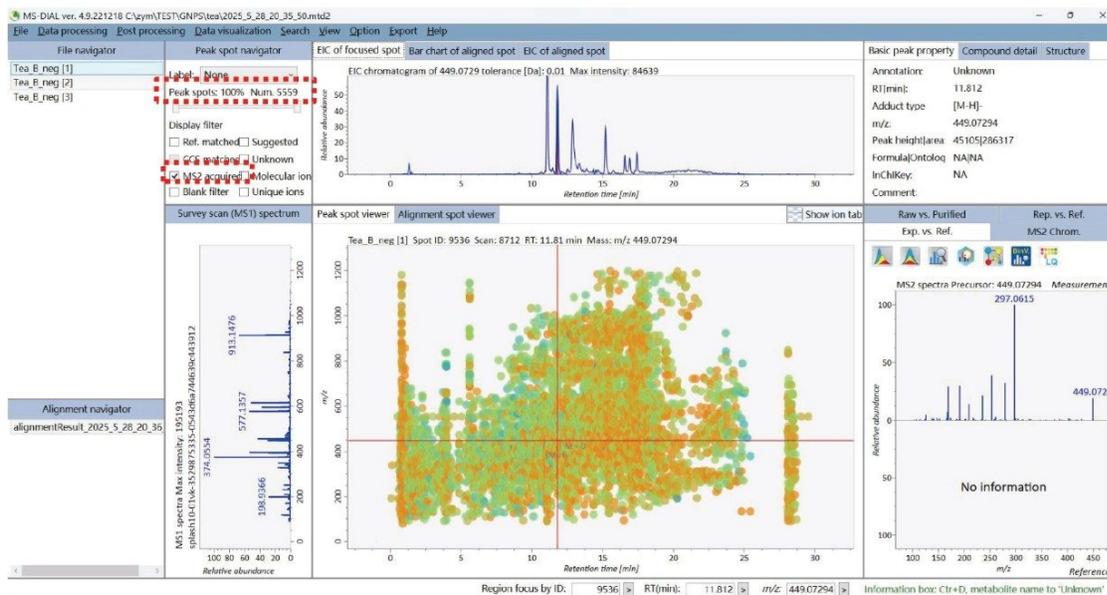


图4. MS DIAL 预处理结果图。

在MS DIAL菜单栏，选择“Export>Alignment result”，可导出“Feature quantification table”和“MS2 MGF”两个文件，用于后续的FBMN分析，见图5。

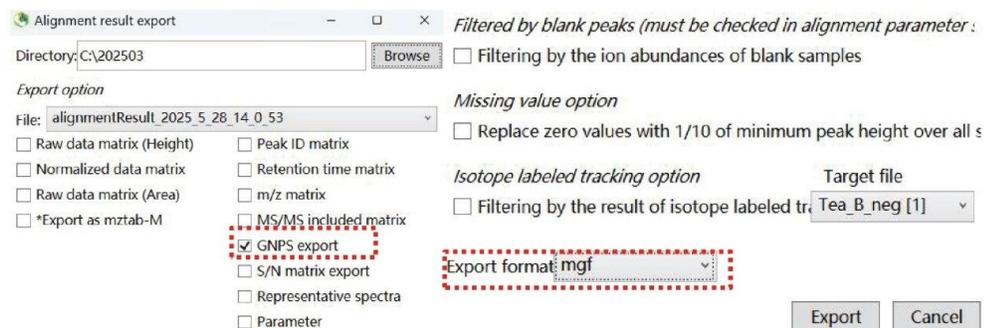


图5. MS DIAL 导出数据示例图。

2. FBMN分析：登录GNPS网站，选择“Feature Networking”（注意和“Molecular Networking”有区别），进入FBMN界面，提交上述的两个文件；此外可以选择加载.msp格式的MS/MS数据库（程序会自动加载GNPS网站自带的数据库包），并适当调整峰提取参数后，提交并等待结果，见图6。

FEATURE-BASED-MOLECULAR-NETWORKING

Feature-Based Molecular Networking (FBMN) is a computational method that bridges popular mass spectrometry data processing tools for LC-MS/MS and molecular networking analysis on GNPS. The supported tools are: MZmine, OpenMS, MS-DIAL, MetaboScape, XCMS, Progenesis Q1, and the mzTab-M format. FBMN facilitates the detection of isomers that are separated by chromatographic or ion mobility separation, and provides accurate ion abundances for statistical analysis. Note that FBMN requires processing the mass spectrometry data with a feature detection and alignment tool. For rapid/qualitative analysis, we recommend using classical molecular networking that accepts unprocessed mass spectrometry files. See the FBMN documentation at <https://ccms-ucsd.github.io/GNPSDocumentation/featurebasedmolecularnetworking> and refer to the "Method and Citation for Manuscripts" on the results page for citations.

Workflow version release_28.2

File Selection

MS2 File MGF/WSP/Progenesis Q1/mzML/mzTab-M: 1 file and 0 folders are selected

Feature Quantification Table: 1 file and 0 folders are selected

Original mzML Files: 0 files and 0 folders are selected

Google Sheets Metadata URL (Experimental):

Sample Metadata Table:

Basic Options

Quantification Table Source: ▼

Precursor Ion Mass Tolerance: Da

Fragment Ion Mass Tolerance: Da

Advanced Network Options

Advanced Library Search Options

图6. 数据上传GNPS示例图。

实验结果

1. 绿茶提取物样品BPI图，见图7，其色谱分离度良好。

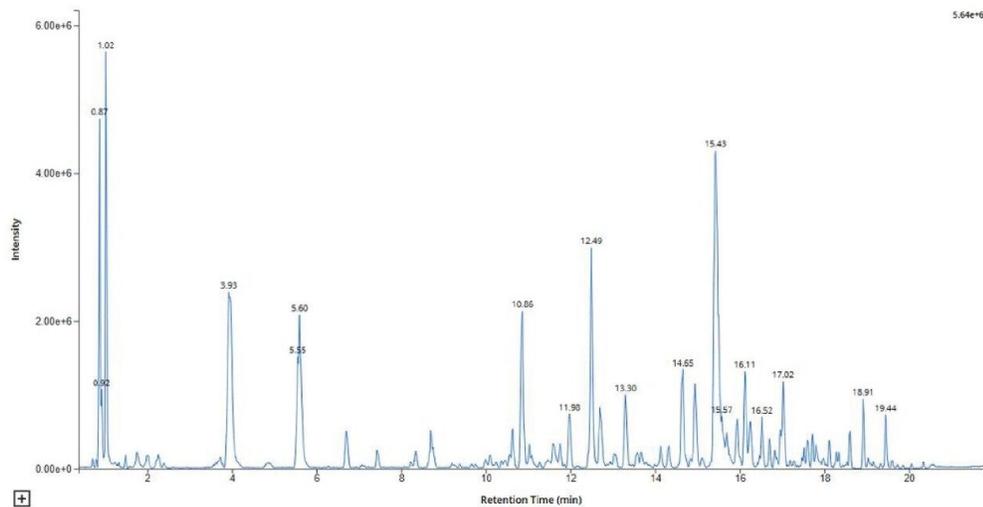


图7. 绿茶提取物样品BPI图。

2. 样品鉴定结果。GNPS网站搜库共得到203个化合物的鉴定结果，包含84种黄酮、22种酚酸、9种苯丙素、12种有机酸及其衍生物、12种核苷、5种香豆素、6种糖类、19种脂质，以及34种其他类型化合物，部分化合物鉴定结果如下表所示，质量偏差均小于1 ppm，显示出Xevo MRT优异的质量精度，见表1。

SpectrumID	Compound Name	Formula	Adduct	Average Mr	MZError-PPM	Rt(min)	MQScore	Superclass	PubChem ID
CCMSLIB00006122019	3-Hydroxybenzoic acid	C7H6O3	M-H	137.02452	0.8	16.5	0.976234	Phenolic acids	7420
CCMSLIB00006123600	3,4-Dihydroxybenzoic acid	C7H6O4	M-H	153.01933	0.2	7.1	0.977315	Phenolic acids	72
CCMSLIB00006112641	Sorbitol	C6H14O6	M-H	181.0715	0.9	0.9	0.786464	Saccharides	5780
CCMSLIB00006113477	Azelaic Acid	C9H16O4	M-H	187.09744	0.2	17.2	0.961571	Fatty Acids ar	2266
CCMSLIB00005740933	3-Hydroxysuberic acid	C8H14O5	M-H	189.07686	0.5	13.3	0.726512	Fatty Acids ar	22328017
CCMSLIB00010102416	Quinate	C7H12O6	M-H	191.05614	0.6	1.0	0.907493	Phenolic acids	6508
CCMSLIB00010102816	Galactaric acid	C6H10O8	M-H	209.02985	0.9	0.9	0.731789	Fatty Acids ar	3037582
CCMSLIB00006679458	1,3,7-Trimethyluric acid	C8H10N4O3	M-H	209.06802	0.0	9.8	0.916963	Pseudoalkaloi	79437
CCMSLIB00006119673	Traumatic Acid	C12H20O4	M-H	227.12872	0.3	19.4	0.94684	Fatty Acids ar	5283028
CCMSLIB00010007901	Uridine	C9H12N2O6	M-H	243.06212	0.4	2.4	0.803057	Nucleosides	6029
CCMSLIB00005772056	5-(1-Hydroxy-2,6,6-trimethyl-4	C15H20O4	M-H	263.12878	0.7	18.3	0.835559	Apocarotenoi	287291
CCMSLIB00000578104	INOSINE	C10H12N4O3	M-H	267.07318	0.8	4.8	0.911368	Nucleosides	804
CCMSLIB00004718371	Afzelechin	C15H14O5	M-H	273.077	0.0	14.1	0.889202	Flavonoids	442154
CCMSLIB00006679767	GUANOSINE	C10H13N5O5	M-H	282.08401	0.0	4.9	0.973138	Nucleosides	6802
CCMSLIB00005746864	Dihydrokaempferol	C15H12O6	M-H	287.05582	0.7	15.5	0.76585	Flavonoids	662
CCMSLIB00005737935	Quercetin	C15H10O7	M-H	301.03482	0.7	18.4	0.77067	Flavonoids	5280343
CCMSLIB00004720142	(+)-Epigallocatechin	C15H14O7	M-H	305.06668	0.9	10.1	0.807326	Phenolic acids	10425234
CCMSLIB00005745107	Benzoic acid + 1O, 1MeO, O-H	C14H18O9	M-H	329.08789	0.4	7.8	0.754395	Phenolic acids	14132343
CCMSLIB00004697367	3-p-Coumaroylquinic acid	C16H18O8	M-H	337.09299	0.0	10.2	0.945568	Phenolic acids	9945783
CCMSLIB00005771897	6,7-Dihydroxycoumarin-6-gluca	C15H16O9	M-H	339.07202	0.0	9.7	0.876676	Coumarins	5351506
CCMSLIB00006114135	Adenosine Phosphate	C10H14N5O7P	M-H	346.05545	0.7	1.5	0.732661	Nucleosides	6083
CCMSLIB00005778328	5-Caffeoyl quinic acid	C16H18O9	M-H	353.08804	0.0	8.8	0.859926	Phenylpropan	348159
CCMSLIB00006121910	Guanosine monophosphate	C10H14N5O8P	M-H	362.05078	0.2	2.6	0.837118	Nucleosides	6804
CCMSLIB00005778371	ML006011818	C20H22O8	M-H	389.12584	0.5	17.2	0.701666	Stilbenoids	5470019
CCMSLIB00004706644	Guajaverin	C20H18O11	M-H	433.07803	0.0	16.7	0.95775	Flavonoids	5481224
CCMSLIB00004720086	Salpurposid	C21H22O10	M-H	433.11377	0.5	17.7	0.780837	Flavonoids	5321083
CCMSLIB00004719373	epicatechin gallate	C22H18O10	M-H	441.08328	0.5	15.4	0.958274	Flavonoids	107903
CCMSLIB00011428006	Homo-orientin	C21H20O11	M-H	447.09305	0.0	14.4	0.781701	Flavonoids	5382103
CCMSLIB00010113058	Miscanthoside	C21H22O11	M-H	449.10861	0.9	15.6	0.948449	Flavonoids	13254471
CCMSLIB00005766782	Epigallocatechin Gallate	C22H18O11	M-H	457.07788	0.2	13.5	0.763951	Flavonoids	65064
CCMSLIB00004684243	Isoquercitin	C21H20O12	M-H	463.08798	0.0	15.7	0.948453	Flavonoids	5378597
CCMSLIB00000850208	Compound NP-019075	C21H36O10	M+FA-H	493.22916	0.4	18.3	0.836433	Monoterpenoi	60208841

表1. 部分化合物鉴定结果。

3. 天然产物结构类似物分析结果 通过FBMN分析，可以得到236个分子网络团簇，如表2所示。

Green Tea_20250528_30min_neg Hits 1 - 30 out of 236 Go to Go

Apply Filters	Visualize Network	View Network Nodes	NodeCount	%ID	#Spectra
Filter By:	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
1	Visualize Network	Network Nodes	94	N/A	94
2	Visualize Network	Network Nodes	93	N/A	93
3	Visualize Network	Network Nodes	91	N/A	91
4	Visualize Network	Network Nodes	51	N/A	51
5	Visualize Network	Network Nodes	36	N/A	36
6	Visualize Network	Network Nodes	23	N/A	23
7	Visualize Network	Network Nodes	20	N/A	20
8	Visualize Network	Network Nodes	20	N/A	20

表2. 分子网络结果。

如图8所示，以第一个分子网络为例，共有94个节点，其中离子m/z 441.0833 GNPS搜库结果为Epicatechin gallate（表儿茶素没食子酸酯），与其结构相似度较高的离子有m/z 417.0825、m/z 425.0886、m/z 431.0980、m/z 455.0992、m/z 457.0775，除m/z 457.0775被鉴定为Epigallocatechin Gallate之外，其余四个离子均未被GNPS搜库匹配到。

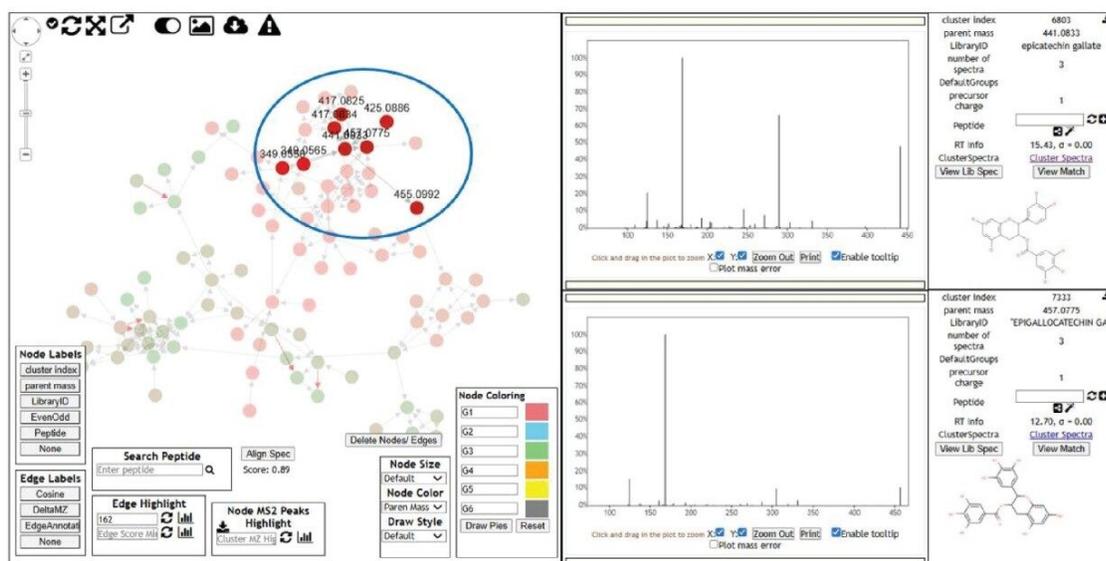


图8. 可视化分子网络。

以离子 m/z 425.0886为例，其与Epicatechin gallate的MS/MS谱图对比如图9所示，存在两个共有碎片离子125、169，对应没食子酸基团；另外，两者有多个碎片离子质荷比相差16（少一个羟基），表明该物质黄酮骨架上缺少一个羟基基团；最终推测其为Epiatzelechin-3-O-gallate。 m/z 425.0886、 m/z 441.0833、 m/z 457.0775三个化合物属于结构类似物，都含有没食子酸基团，主要区别在于黄酮骨架上酚羟基的数目不同。

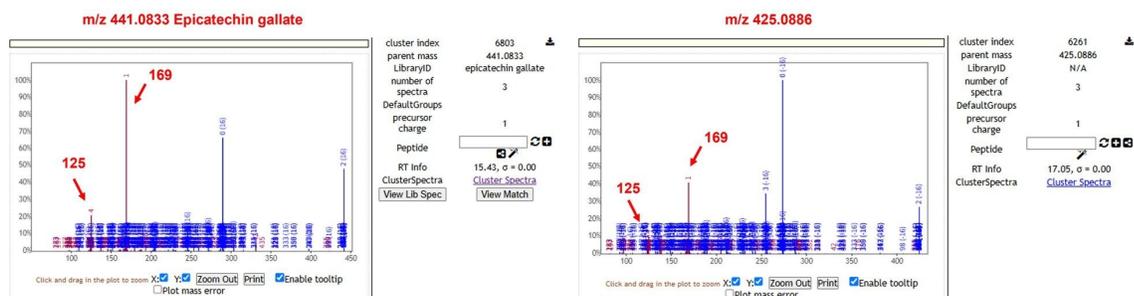


图9. *Epicatechin gallate*与类似物的MS/MS对比图。

再以m/z 459.0939为例，其与m/z 457.0775 Epigallocatechin Gallate的MS/MS谱图对比，如图10所示，同样存在两个共有碎片离子125、169，表明其存在没食子酸基团；另外存在一个质荷比相差2的离子（2H），推测其黄酮骨架发生了加氢开环反应，未见文献报道，可以对其结构进行合理推测。

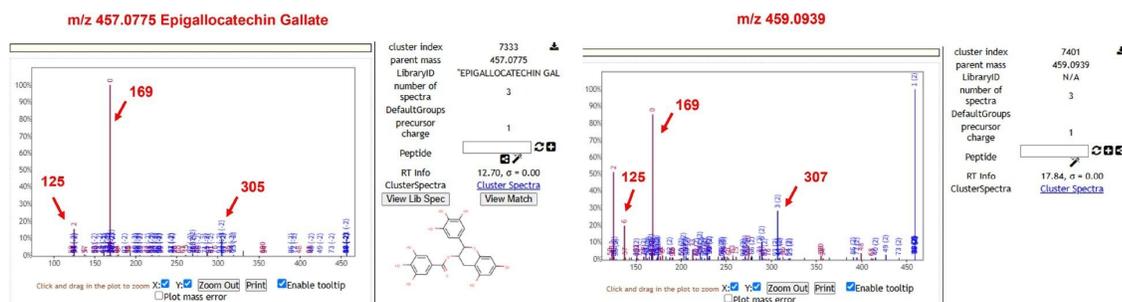


图10. *Epigallocatechin Gallate*与类似物的MS/MS对比图。

4. 使用waters_connect平台进行结果验证

如图11所示，分别为m/z 425.08、m/z 441.08、m/z 457.07和m/z 459.0939对应的二级谱图及推测分子结构，并基于waters_connect平台对其二级碎片进行了结构注释，它们各自所有的高强度碎片离子均被注释，进一步表明了推测结果的合理性。

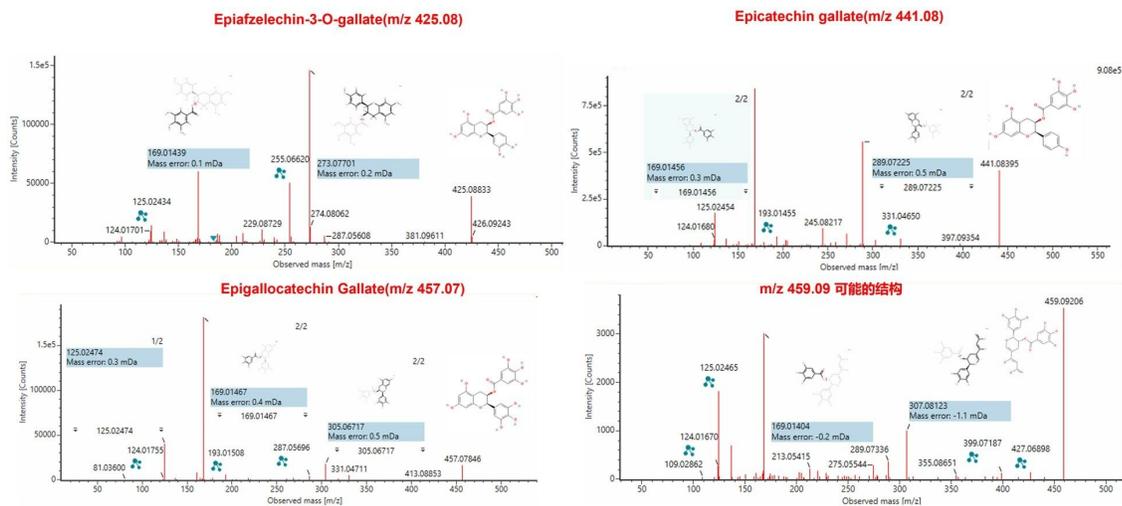


图11. 基于waters_connect进行分子结构注释图。

其中m/z 459.09为推测的分子结构，两个关键碎片离子169和307对应的碎片结构断裂合理，如图12所示，可能属于绿茶提取物中新发现的化合物，后续还需要进一步证明。

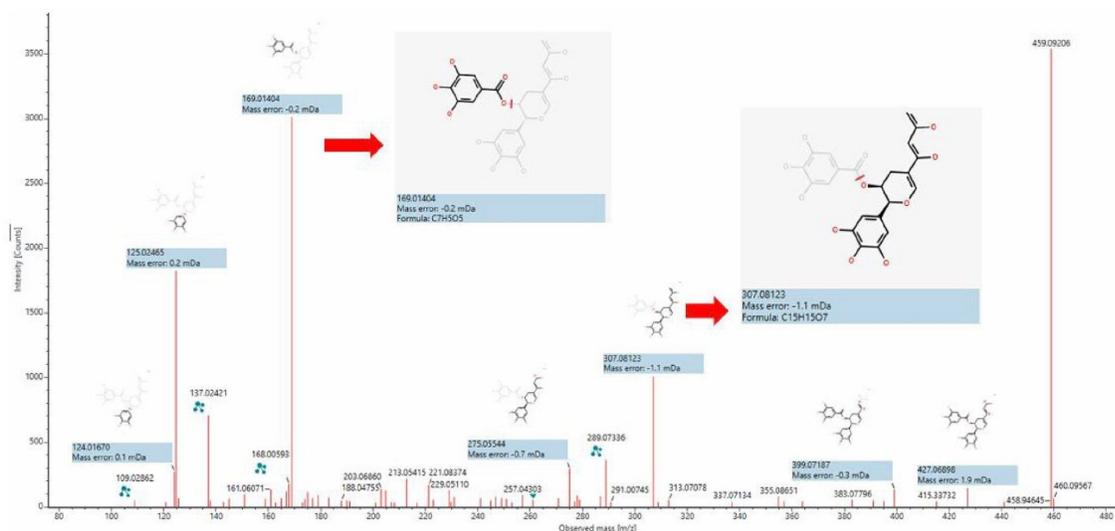


图12. m/z 459.09分子结构注释图。

类似地可以进行其他结构类似物离子的MS/MS谱图比对和结构解析，其中 m/z 417.0825推测为Kaempferol 3-O- α -L-arabinoside， m/z 431.0980推测为kaempferol 3-rhamnoside， m/z 455.0992推测为 Epicatechin 3-O-(3-O-methylgallate)。

实验结论

使用Xevo MRT MS联合GNPS对绿茶提取物进行化学成分分析：

- 得益于Xevo MRT MS的高分辨率及高扫描速度，使用DDA TOP15进行数据采集，可以获得非常多高质量的MS及MS/MS谱图，绿茶提取物样本在单一负模式下可以得到5,559个特征离子的MS/MS谱图；
- waters_connect平台自带的DATA Convert数据转换工具，在数据采集的同时可以直接将数据转换为.mzML通用格式，能够非常方便地供Progenesis QI、MS DIAL等组学软件对数据进行处理，提高数据分析效率；

- GNPS利用Xevo MRT MS提供的高质量MS/MS谱图，可以快速鉴定到203个化合物，包含84种黄酮、22种酚酸、9种苯丙素、12种有机酸及其衍生物、12种核苷、5种香豆素、6种糖类、19种脂质，以及34种其他类型化合物，该方法也可以应用于其他复杂天然产物样品的快速分析鉴定；
- 通过FBMN分析，可以得到236个分子网络团簇，其中以m/z 441.0833 epicatechin gallate为例，可以找出6种结构类似物，其中有5种未被GNPS注释鉴定，通过MS/MS谱图比对和结构解析，分别被推测鉴定，并基于waters_connect平台对其分子结构进行注释验证，其中包含一种未被文献报道的物质，应该属于绿茶提取物中新发现的化合物。

参考文献

1. Louis-Félix Nothias, *et al.* “Feature-based molecular networking in the GNPS analysis environment.” *Nature Methods* (2020):1–4.
2. Tsugawa, Hiroshi, *et al.* “MS-DIAL: data-independent MS/MS deconvolution for comprehensive metabolome analysis.” *Nature Methods* 12.6(2015):523–526.
3. Heuckeroth, Steffen, *et al.* “Reproducible mass spectrometry data processing and compound annotation in MZmine 3.” *Nature Protocols* 19.9(2024).\
4. Forsberg, *et al.* “Data processing, multi-omic pathway mapping, and metabolite activity analysis using XCMS Online.” *Nature Protocols* Recipes for Researchers (2018).

特色产品

ACQUITY Premier System <

<https://www.waters.com/nextgen/global/products/chromatography/chromatography-systems/acquity-premier-system.html>>

Xevo MRT Mass Spectrometer <<https://www.waters.com/nextgen/global/products/mass-spectrometry/mass-spectrometry-systems/xevo-mrt.html>>

waters_connect Informatics <<https://www.waters.com/nextgen/global/products/informatics-and->

[software/waters_connect.html](#)>

720008922ZH, 2025年6月



© 2025 Waters Corporation. All Rights Reserved.

[使用条款](#) [隐私声明](#) [商标](#) [招聘](#) [法律和隐私声明](#) [危险化学品经营许可证](#) [Cookie](#) [Cookie设置](#)
[沪ICP备06003546号-2](#) [京公网安备 31011502007476号](#)