

TARTU ÜLIKOOL
Loodus- ja täppisteaduste valdkond
Keemia Instituut
Analüütilise keemia õppetool

Anna Zobel

**Rohumaa mulla lahustuva orgaanilise ainese kõrglahutusmassispektromeetriline
piloottuuring**

Bakalaureusetöö (12 EAP)
Keemia

Juhendajad: Ivari Kaljurand, PhD
Koit Herodes, PhD

Tartu 2023

Sisukord

Kasutatud lühendite loetelu.....	3
Sissejuhatus.....	4
1. Kirjanduse ülevaade	5
1.1. Massispektromeetria (MS).....	5
1.2. Fourier' teisendusega ioontsüklotronresonants massispektromeetria (FT-ICR MS).....	6
1.3. Elektropihustusionisatsioon (ESI).....	8
1.4. Atmosfäärirõhuline keemiline ionisatsioon (APCI).....	8
1.5. Mulla orgaaniline aines (MOA).....	8
1.6. Mullaproovide ekstraheerimine.....	9
2. Eksperimentaalne osa	12
2.1. Proovide kogumine	12
2.2. Proovide töötlus.....	12
2.3. Kalibreerimislahuste ettevalmistamine	13
2.4. Otsese infuseerimise FT-ICR MS	14
2.4.1. nESI FT-ICR MS	14
2.4.2. APCI FT-ICR MS.....	15
3. Tulemused ja arutelu	16
3.1. Massispektrite analüüs ja kokkulangevuste leidmine brutovalemite alusel.....	16
3.2. Massispektrite analüüs ja kokkulangevuste leidmine m/z alusel	16
3.3. Ühendite identifitseerimine.....	19
3.4. Tulevikuplaanid.....	23
Kokkuvõte.....	24
Summary	25
Kasutatud kirjandus	26
Infoleht.....	31
Lisad.....	32
Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja üldsusele kättesaadavaks tegemiseks.....	73

Kasutatud lühendite loetelu

AM – arbuskulaarmükoriisa

APCI – atmosfäärirõhuline keemiline ionisatsioon (*atmospheric pressure chemical ionization*)

DBE – küllastumatusaste (*double bond equivalent*)

DIMS – otsese infuseerimise massispektromeetria (*direct infusion mass spectrometry*)

ESI – elektropihustusionisatsioon (*electrospray ionization*)

FT-ICR MS – Fourier' teisendusega ioontsüklotronresonants massispektromeetria (*Fourier transfer ion cyclotron resonance mass spectrometry*)

HRMS – kõrglahutusmassispektromeetria (*high resolution mass spectrometry*)

LRMS – madallahutusmassispektromeetria (*low resolution mass spectrometry*)

MeCN – atsetonitriil

MeOH – metanool

MOA – mulla orgaaniline aines

MS – massispektromeetria

m/z – massi-laengu suhe

nESI – nanoelektropihustusionisatsioon (*nano-electrospray ionization*)

TAG – triatsüülgütseriid

Tol – toluen

Tot.int. – ioonide koguintensiivsus (*total ion intensity*)

Sissejuhatus

Muld ja selles elutsevad organismid on olulised toidu-, biomassi- ja kiuallikad. Muld reguleerib vee- ja toitainete ringet. Lisaks on muld suurim süsinikureservuaar maismaal ning reguleerib ka süsinikuringet. Kuna muld on õhust ja veest tunduvalt mitmekesisem keskkond, siis puudub sel erinevalt neist mainitud keskkondadest konkreetne näitaja, mille põhjal hinnata mulla reostatust. Selle asemel on kasutusele võetud termin „mulla tervis“, mis võtab arvesse seda, et muld pole mitte lihtsalt keskkond saagi kasvatamiseks, vaid alus ka muudele ökosüsteemi teenustele.¹⁻⁴

Levinud keemiliste parameetrite hulka, mida mullal hinnatakse, kuuluvad muuhulgas orgaanilise süsiniku kogusisaldus, pH, lämmastiku kogusisaldus, vaba lämmastik, vaba fosfor, vaba kaalium, katioonide asendusneeldumine, elektrijuhtivus ja raskemetallide sisaldus. Kõik need parameetrid keskenduvad vähemal või rohkemal määral väga spetsiifilistele omadustele ja ei ole iseseisvalt piisavad mulla tervise hindamiseks. Vajalik on holistiline lähenemine, mis kombineerib asjakohaseid füüsikalisi, keemilisi ja bioloogilisi parameetreid.^{1,3,5,6}

Olulisimaks bioloogiliseks parameetriks peetakse liigilist mitmekesisust. Mida mitmekesisem on mulla liigiline kooslus, seda suurem on mulla puhverdusvõime ökosüsteemi häirimiste suhtes. Liigilise koosluse määramiseks kasutatakse enamasti DNA sekveneerimist või fosfolipiidide määramist. Need meetodid annavad küll ülevaate mullas elutsevatest organismidest, kuid ei kannu endas infot selle kohta kuidas mullaorganismid end tunnevad. Mullaorganismide seisundit saab hinnata eri organismide metaboliitide abil. Näiteks toitainete vaeguses taimed eritavad mulda ektohormoonidena toimivaid signaalmolekule, et luua sümbioos mullas elavate seentega, kes hõlbustavad toitainete jõudmist taimede organismi.⁶⁻⁹

Käesoleva pilootuuringu eesmärgiks on teha algust meetodika väljatöötamisega, et kõrglahutusmassispektromeetriga saaks tuvastada võimalikult palju erinevaid mullas sisalduvaid lahustuvaid orgaanilisi ühendeid, muuhulgas taimede ja nende sümbiontide signaalmolekule. Proovitöötlusmetoodikate efektiivsust hinnatakse saadavate massispektrite piikide rohkuse ning molekulaarse ja aineklassilise mitmekesisuse põhjal. Saadud tulemusi kasutatakse edasistes mulla orgaanilise ainese uuringutes arendamaks meetodikat, mille põhjal hinnata mulla tervist.

1. Kirjanduse ülevaade

1.1. Massispektromeetria (MS)

Massispektromeetria on analüütiline meetod, mis võimaldab määrata molekulide massi ja laengu suhet m/z ning selle põhjal määrata molekulide koostist. Molekul ioniseeritakse ionisatsiooniallikas kas positiivses või negatiivses režiimis, kust edasi liiguvad ioonid massianalüsaatorisse. Massianalüsaatoris eraldatakse ioonid üksteisest vastavalt nende m/z suhtele. Seejärel ioonid detekteeritakse ja kogutud signaalidest moodustatakse massispekter.¹⁰

Otsese infuseerimisega MS (DIMS) korral süstitakse puhastatud ja mõnikord ka eelnevalt fraktsioneeritud proov otse ionisatsiooniallikasse. Tavaliselt rakendatakse otsest infuseerimist puhtamate ja väheste komponentidega lahuste korral. Rohkekomponendiliste lahuste korral on sama m/z suhtega komponentide esinemine tõenäolisem ning seega on ainete usaldusväärne identifitseerimine raskendatud. Kromatograafilise lahutusega MS korral lahutatakse kõigepealt proovi komponendid üksteisest kromatograafilises kolonnis, kust need liiguvad ionisatsiooniallikasse ja edasi massispektromeetrisse. Kromatograafia kasutamise korral on lisaks m/z suhtele teada komponendi retentsiooniaeg, mis on oluline lisainfo aine identifitseerimisel. Samas nõuab retentsiooniaja kasutamine, võrdlusainet ja varasemaid tulemusi konkreetsele kolonn-solvent süsteemi kombinatsioonile. Retentsiooniaeg pole püsiv väärtus ehk süsteemi parameetrite muutmisel muutub ka retentsiooniaeg. Kromatograafia aitab eraldada üksteisest sama m/z suhtega molekulid.¹¹⁻¹³

MS jagatakse lahutusvõime põhjal kaheks: madallahutusmassispektromeetria (LRMS) ja kõrglahutusmassispektromeetria (HRMS). Lahutusvõimet R iseloomustab Võrrand 1, kus m tähistab massi-laengu suhet ning Δm tähistab kahe võrdse intensiivsusega piigi massi-laengu suhete minimaalset võimalikku vahet olukorras, kus piikidevahelise oru kõrgus ei ületa mingit kindlat piirväärtust (enamasti 10% piigi kogu kõrgusest).¹⁰

$$R = \frac{m}{\Delta m}$$

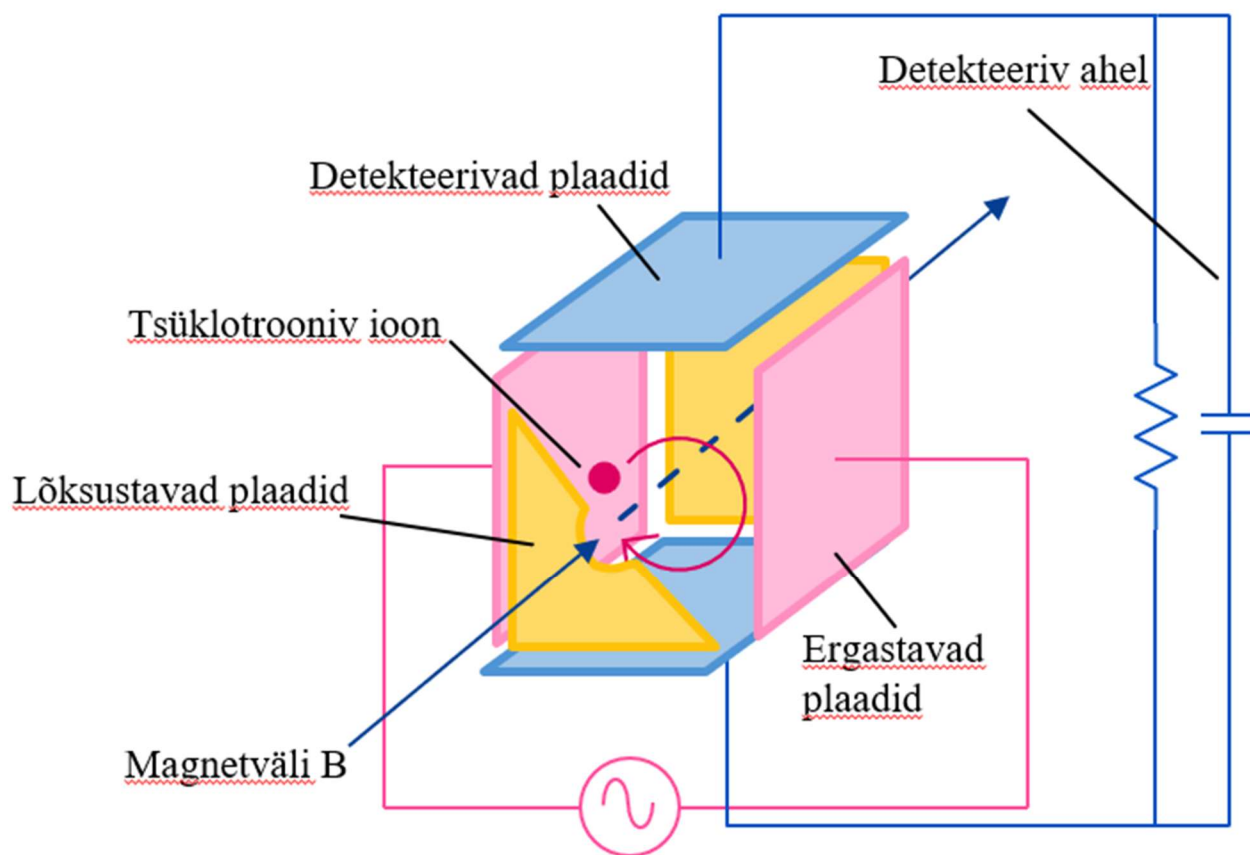
Võrrand 1 Lahutusvõime

HRMS võimaldab ioniseeruvate ainete korral leida valiku võimalike ühendite brutovalemeid, LRMS seda ei võimalda. Kromatograafilised HRMS masinad on vähelevinud ja kallid ning

analüüs nendega on väga andmemahukas. DIMS on kiirem kui kromatograafiline MS ning ei vaja võrdlusainet või võrdlusspektrite andmebaasi.¹⁰⁻¹²

1.2. Fourier' teisendusega ioonsüklotronresonants massispektromeetria (FT-ICR MS)

FT-ICR MS põhineb ionide viimisel ICR-rakku, kus magnet- ning elektriväljaga mõjutatakse iooni liikumise trajektoori, mille tulemusena on võimalik registreerida ionide m/z suhe (vt Joonis 1).^{10,14}



Joonis 1 ICR rakk

Kui iooni liikumiskiirus on aeglane ja magnetväli tugev, muutub iooni trajektoori raadius väikeseks (vt Võrrand 2).^{10,14}

$$zeB = \frac{mv}{r}$$

Võrrand 2 Iooni trajektoori raadiuse sõltuvus magnetväljast ja liikumiskiirusest. z – iooni laenguarv, e – elementaarlaeng, B – magnetvälja tugevus, m – iooni mass, v – iooni liikumiskiirus, r – iooni liikumistrajektoori raadius

Selle tõttu võibioon sattuda ringtrajektoorile ja jääda nn ioontsüklotron-lõksu. Iooni tiirlemise sagedus ja nurkkiirus sõltuvad ainult iooni massi-laengu suhtest, mitte iooni liikumiskiirusest (vt Võrrand 3).^{10,14}

$$\omega = \frac{zeB}{m}$$

Võrrand 3 Iooni tiirlemise nurkkiiruse sõltuvus massi-laengu suhtest. ω – iooni nurkkiirus, B – magnetvälja tugevus, z – iooni laenguarv, e – elementaarlaeng, m – iooni mass

Raadius aga muutub proportsionaalselt liikumiskiirusega. Kui iooni trajektoori raadius muutub suuremaks kui rakk, kusioon viibib, väljutatakseioon rakust. Igale m/z väärtusele vastab iseloomulik tsüklotroonimise sagedus. Iooni ergastatakse erinevaid sagedusi kombineeriva vahelduvvoolu impulsiga ningioon absorbeerib selle elektromagnetlainet energia, millel on iooni tiirlemisega sama sagedus. Selle võrra kasvab iooni kineetiline energia, mis põhjustab iooni trajektoori raadiuse suurenemist. Ergastamise abil saavutatakse erineva m/z suhtegaioonidel sama raadiusega orbiit, selleks et kõikioonid mööduksid detekteerivatest plaatidest. Ioonid tekitavad detekteerivatest plaatidest möödudes plaatide vooluringisioonide hulgaga proportsionaalse vastaslaenguga osakeste voolu. Saadud elektrivoolu signaal on ajast sõltuv funktsioon, mis Fourier' teisenduse abil teisendatakse sagedusest sõltuvaks intensiivsuse funktsiooniks.^{10,14}

FT-ICR MS võimaldab detekteerida korraga laia m/z vahemikku (mõnesteist kuni mitutuhat Da). Selle lahutusvõime on piisav eristamiseks ühe elektroni massi ($5,49 \cdot 10^{-4}$ Da) vahet detekteeritavatel osakestel. Täiendavaid fragmenteerimistehnikaid kasutamata ei võimalda FT-ICR MS kindlaks teha molekulide struktuure ega eristada isomeere.^{4,10}

1.3. Elektropihustusionisatsioon (ESI)

Elektropihustusionisatsioon on ioniseerimismeetod, kus atmosfäärirõhul tugeva elektrivälja abil tekitatakse madalal kiirusel läbi kapillaari voolavast vedelikust pihus. Abiks pihuse tekitamisel on pihustusgaas, enamasti N_2 . ESI protsessil eristatakse kolme peamist etappi: laetud tilkade teke ESI kapillaari otsast, tekkinud tilkade kahanemine ja analüüdimolekulide viimine väga väiksest laetud tilgast gaasifaasi. Tilkade kahanemine toimub solvendi aurustumise tõttu, mis ei mõjuta tilga laengut. Väiksemad analüüdimolekulid desorbeeruvad tilga pinnalt gaasifaasi. Suuremad analüüdi molekulid satuvad gaasifaasi, kui tilgas olev solvent nende ümbert ära aurustub.^{10,15}

ESI on kontsentratsioonitundlik allikas. Vähendades allikasse siseneva proovi voolukiirust, on võimalik ESI tundlikkust parandada. See võimaldab kasutada üleüldiselt väiksemaid proovikoguseid, mis vähendab ka instrumendi saastamist. Sellel põhimõttel on välja töötatud nanoelektropihustus ionisatsiooni (nESI) allikas. Kuna kasutatavad lahusekogused on nii väikesed, ei vaja nESI pihuse tekkeks pihustusgaasi – piisab vaid pinge rakendamisest.^{10,16}

1.4. Atmosfäärirõhuline keemiline ionisatsioon (APCI)

APCI on ioniseerimismeetod, kus kasutatakse ära gaasifaasis toimuvaid ion-molekul reaktsioone atmosfäärirõhul. Proov sisestatakse allikasse lahuse kujul. Pneumaatilises nebulisaatoris kasutatakse pihustusgaasina lämmastikku, mis pihustab proovilahuse peeneks uduks. Pihuse tilgad desolvateeritakse kuumutatud torus, et analüüdi molekulid saaks minna üle gaasifaasi. Desolvateeritud pihus liigub läbi koroonalahenduse, kus tekitatakse esmased ioonid, nt $N_2^{+\bullet}$, $H_2O^{+\bullet}$ või $O_2^{+\bullet}$. Tekkinud esmased ioonid interakteeruvad aurustunud pihuse molekulidega, tekitades teisesed ioonid, mis on enamasti klastrid veemolekulidega. Klastrid juhatakse edasi kõrgvaakumisse, kus leiab aset klastrite lagunemine.^{10,17}

1.5. Mulla orgaaniline aines (MOA)

Mulla orgaaniline aines koosneb peamiselt mullas elutsevate organismide eluks vajalikest ja elutegevuse tagajärjel tekkinud molekulidest. MOA võib jaotada aktiivseks ja passiivseks osaks. Passiivsesse ossa kuuluvad humusained, mis omakorda jagunevad humiinaineteks, humiinhapeteks ja fulvohapeteks. Humiinained on täielikult lahustumatud, humiinhapped lahustuvad vaid leelistes ning fulvohapped lahustuvad leelistes ja nõrkades mineraalhapetes. Aktiivsesse ossa kuuluvad peamiselt kiiresti mineraliseeruvad orgaanilised ühendid. Aktiivne

MOA mängib olulist rolli mulla elustikuga seotud bioloogilistes protsessides. Aktiivse MOA hulgast võib leida näiteks triatsüülgütseriide (TAG) ehk rasvasid, mida paljud organismid kasutavad varuainetena. Lisaks rasvadele on lipiididest esindatud ka steroolid ja fosfolipiidid, mida leidub kõigi eukarüootide rakumembraanides ning fosfolipiide leidub ka prokarüootide rakumembraanides. Lipiidide rasvhappejääkide pikkus, hargnemine ja kaksiksidemete paigutus on sõltuvalt elusorganismi liigist ja elukeskkonnast erinev. Taimede fotosünteesi saaduseks olev suhkur on energiaallikaks paljudele mullaorganismidele, ennekõike taime juurtel taimedega sümbioosis elavatele arbuskulaarmükoriissetele (AM) seentele. Taimed kasutavad varuainena tärklisi, mis ladestub peamiselt juurtesse ja mugulatesse. Mullas leidub ka valke, mis on kõigis elusrakkudes nii osa ehitusüksuste struktuurist kui ka terves elusorganismis toimuvate protsesside reguleerijaks. Mullas elavad mikroobid, peamiselt bakterid, omandavad energiat ektoosmoosi teel, mille käigus eritavad nad ümbritsevasse keskkonda ensüüme. Lipiide on mullas suurusjärgus 15 g/100 g, süsivesikuid suurusjärgus 1 g /100 g, valkusiid suurusjärgus 0,3 g/100 g.^{5,18-21}

Tunduvalt väiksemas kontsentratsioonis leidub mullas fütohormoonideks nimetatavaid taimede ja seente signaalmolekule. Sinna hulka kuuluvad strigolaktoonid, auksiinid, tsütokiniinid, jasmonaadid, abtsiinhape, brassinosteroidid ja giberelliinid. Fütohormoonid osalevad muuhulgas nii primaarse kui ka sekundaarse taimekasvu regulatsioonis, taime abiootilise ja biootilise stressi vastuse regulatsioonis, AM seentega sümbioosi moodustamises ja säilitamises ning taime kudede vananemise aeglustamises. Lisaks eelnimetatud fütohormoonidele on lipo-kitooligosahhariidid olulisteks signaalmolekulideks mullabakterite ja -seente suhtlusel ning panustavad ka arbuskulaar- ja ektomükoriisa tekkesse. Neid molekule võib kasutada mulla tervise hindamiseks, kuigi nende madalama kontsentratsiooni tõttu on neid raskem mullast tuvastada. Ülevaade mulla keemilisest mitmekesisusest aitab hinnata mulla bioloogilist mitmekesisust.^{8,9,22-26}

1.6. Mullaproovide ekstraheerimine

Mulla ekstraheerimisel kasutatav solvent mõjutab seda, millised ühendid mullaproovist kätte saadakse ning kui hästi proov massispektromeetris ioniseerub. Vees lahustub arvestatav osa aktiivsest MOA-st ning veega on võimalik ekstraktsiooni edukalt läbi viia laias temperatuuri ja rõhu vahemikus. Ekstraheerimiseks kasutatakse kas ülipuhast vett või soolalahust. Küll aga ei ole võimalik veega kätte saada mineraalide pinnale adsorbeerunud orgaanilisi molekule või

mittepolaarseid molekule. Kõrge soolade sisaldusega lahused ei ole sobilikud massispektromeetriliseks analüüsiks, mistõttu tuleb pärast soolalahusega ekstraheerimist tuleb soolad lahusest eemaldada. Lisaks tuleb arvestada sellega, et ka ülipuhta veega ekstraheerimisel võivad lahustuda mullast anorgaanilised soolad, seega tuleb ka veega ekstraheerides viia läbi soolade eemaldamine.^{4,27,28}

Aluselises keskkonnas ekstraheerimiseks kasutatakse tavaliselt 0,1 M NaOH. Aluse kasutamisel on võimalik mullast kätte saada suurem variatsioon orgaanilisi molekule, muuhulgas ka sellised, mis tavatingimustel on hüdrofoobsed. NaOH kasutamise miinus on see, et mulla *in situ* tingimusi muutes võib lisaks lahustumisele tekkida mitmeid kõrvalefekte, mistõttu pole võimalik enam mulla koostisest tõest ülevaadet saada. Kõrvalefektiks loetakse näiteks olukorda, kus taimede laguproduktid derivatiseeruvad aluse toimel nii aluskatalüütiliselt kui ka hüdroksiidiooniga reageerides. Sama protsess võib aset leida ka mullas endas sisalduvate aluseliste ainete toimel. Kasutades alust ekstraksiooniks, kajastaksid analüüsi tulemused vaid derivaadi sisaldust proovis, mitte algse laguprodukti ja looduslikult tekkinud derivaadi esinemist.^{4,27,29,30}

Mulla orgaanilises aineses on ka hüdrofoobset osist. Hüdrofoobse osise välja ekstraheerimiseks sobivad mitmed erinevad orgaanilised solvendid, nagu näiteks metanool, heksaan, toluen või atsetonitriil. Erineva polaarsusega solvendid lõhuvad erineval määral rakukestasid. Näiteks vähepolaarne toluen lõhub hõlpsasti rakukestade lipiidest struktuuri, polaarne metanool kahjustab rakukestasid vähesel määral. Orgaanilised solvendid enamasti ei lahusta mineraalseid soolasid, mistõttu ei ole vaja läbi viia spetsiaalset soolade eemaldamist enne MS analüüsi. Orgaanilised solvendid võivad ka proovis tekitada keemilisi modifikatsioone. Näiteks metanooli ja atsetonitriiliga ekstraheerimisel võib esineda proovi komponentide seebistumine.^{4,27,31–35}

Võimalik on kasutada ka erinevate solventide kombineerimist. Üks võimalus on segada kokku kindel solvendisegu ja viia läbi ekstraksiooniprotseduur sellega. Teine variant on kasutada ühe ja sama proovi peal järjest mitut erinevat solventi ehk kõigepealt ekstraheerida proovi ühe solvendiga, eemaldada proovi pealt ekstrakt, proov kuivatada, lisada peale uus solvent ja korrata seda protsessi nii palju kordi kui on solvente. Igat ekstrakti analüüsitakse MS-iga eraldi, saades niimoodi võimalikult laiaulatusliku ülevaate proovis leiduvatest ühenditest. Sellise järjestikuse ekstraheerimise juures on kasutatavate solventide järjestus ülimalt oluline, eriti kui kasutatakse solvente, mis kutsuvad esile keemilisi modifikatsioone. Järgmine solvent võib reageerida

eelnevast ekstraktsioonist tekkinud derivaadiga ja sedaviisi suureneb saadud tulemuste erinevus tegelikust proovi koostisest.^{4,31}

2. Eksperimentaalne osa

2.1. Proovide kogumine

Proovid koguti kuupäeval 20.05.2022 umbes 25 aastat tagasi põllumaana kasutatud rohumaalt Tõraverest, Nõo vallast, Tartumaalt. Proovide kogumiseks kasutati labidat ja mullapuuri. Keskmistatud proovi saamiseks võeti proove eri punktides 5-10 m raadiusega alalt. Kaevati või puuriti umbes 30 cm sügavusele ning eraldi proovidena koguti pindmine (5-15 cm) ja sügavam (15-30 cm) kiht. Välja jäeti täiesti pinnal asuv kiht, kus on ülekaalus taimne biomass ja suurem oht reostusele. Pärast proovivõttu pakendati proovid 1-2 tunni jooksul fooliumisse, fooliumpakid asetati plastkarpidesse. Plastkarbid asetati külmkasti, kus temperatuur oli umbes 0 °C, seniks kuni proovid transporditi sügavkülma temperatuuriga -20 °C.

2.2. Proovide töötlus

Pindmise kihi mullaproov sulatati toatemperatuuril üles ja kaaluti umbes 8 g 16 ml teflonist korgitihendiga klaasviaali ning vakumeeriti kuivatamiseks õlirotatsioon vaakumpumbaga (Edwards 5) konstantse rõhuni (u 10 mTorr) vaakumi all.

Nano-ESI analüüsiks kaaluti ligikaudu 1,5 g kuiva mulda 4 ml teflonist korgitihendiga klaasviaali ning lisati 2 ml solventi. Ekstraheerivate solventidena katsetati kolme erinevat solventi: atsetonitriil (LiChrosolv, *isocratic grade for liquid chromatography*), metanool (Honeywell Riedel-de-Haën, LC-MS CHROMASOLV™ $\geq 99,9\%$) ja toluen (Honeywell Riedel-de-Haën, Puriss. p.a.). Viaal asetati vahtplastist ujukiga 30 minutiks ultrahelivanni. Ultrahelivannist võetud vialil lasti mõni minut seista, kuni tekkinud hägu settis. Tolueneega (Tol) ja metanooliga (MeOH) ekstraheeritud proovidelt eemaldati ekstrakt, mis kanti üle 2 ml teflonist korgitihendiga klaasviaali ja tsentrifugeeriti 10 min (2000 rpm). Atsetonitriiliga (MeCN) ekstraheeritud proovid olid hängusamad, mistõttu enne ekstrakti eemaldamist tsentrifugeeriti proove 10 min, seejärel eemaldati supernatant ja kanti 2 ml teflonist korgitihendiga klaasviaali ning tsentrifugeeriti uuesti 10 min.

APCI analüüsiks lisati 8 ml MeCN otse mullaproovile, 16 ml vialile. Viaal asetati vahtplastist ujukiga 30 minutiks ultrahelivanni. Seejärel proovi tsentrifugeeriti 10 min, eemaldati supernatant ja tsentrifugeeriti uuesti 10 min.

Enne analüüsi alustamist filtreeriti MeCN proovid läbi teflonist süstlafiltri (CHROMAFIL® Xtra PTFE-20/13 *luer lock*, poori suurus 0,2 µm). Selleks võeti ühte süstlasse proovi ja süstiti läbi süstlafiltri otse süstlasse, millega proov ioniseerimisallikasse viia.

Erinevate solventidega ekstraheerunud komponentide võrdlemiseks valmistati ette 3 kordusproovi iga solvendiga. Erinevate ioniseerimisallikate võrdlemiseks valiti välja üks solvent, millega valmistati ette mõlema allika jaoks üks proov (vt Tabel 1).

Tabel 1 Ettevalmistatud proovid ja analüüsimiseks kasutatud ioniseerimisallikad

Solventide võrdlus			Allikate võrdlus	
MeCN	MeOH	Tol	(+)nESI	(+)APCI
3 kordusproovi	3 kordusproovi	3 kordusproovi	1 proov	1 proov
(+)nESI	(+)nESI	(+)nESI	MeCN	MeCN

2.3. Kalibreerimislahuste ettevalmistamine

Kalibreerimise tarbeks kasutati Supelco 00036 ESI Tuning Mix for Ion Trap kalibreerimislahust (vt Tabel 2). Originaalis oli kalibreerimislahuse solvent MeCN, MeOH ja Tol ekstraktide analüüsimiseks tuli kalibreerimislahuse solvent vahetada vastavalt kasutatavale solvendile.

Tabel 2 Supelco 00036 ESI Tuning Mix for Ion Trap kalibreerimislahuse komponendid

Brutovalem	Molekulmass	[M + H] ⁺ m/z
C ₆ H ₁₈ N ₃ O ₆ P ₃	321,1408	322,0487
C ₁₂ H ₁₈ F ₁₂ N ₃ O ₆ P ₃	621,0217	622,0295
C ₁₈ H ₁₈ F ₂₄ N ₃ O ₆ P ₃	921,0025	922,0104
C ₃₀ H ₁₈ F ₄₈ N ₃ O ₆ P ₃	1520,9642	1521,9720
C ₄₂ H ₁₈ F ₇₂ N ₃ O ₆ P ₃	2120,9259	2121,9337
C ₅₄ H ₁₈ F ₉₆ N ₃ O ₆ P ₃	2720,8876	2721,8954
C ₁₂ F ₂₁ N ₃	584,9757	585,9835
C ₅ H ₁₁ NO ₂	117,0790	118,0868

200 µl lahust pipeteeriti 2 ml viaali ja viaal asetati soojale pliidile, et lahuses olev MeCN välja aurutada. MeCN eemaldamiseks tuli rakendada täiendavalt vaakumit. Selleks ühendati

membraanpumba (rõhk reguleeritud u 10 Torr) vaakumkraani otsa voolik, mille suudme külge aeg-ajalt asetati viaal kalibreerimislahusega. Peale destilleerimist järele jäänud kalibrantide segule lisati 1 ml MeOH või 800 µl Tol ja 200 µl MeOH.

2.4. Otsese infuseerimise FT-ICR MS

Lahuste ioniseerimisallikasse viimiseks kasutati kahte süstalt ja kahe kanaliga süstlapumpa (KD Scientific, Gemini 88 Plus Dual Rate Syringe Pump). Süstlad ühendati PEEK torude (BGB, 211604-3, ID 0,13 mm) ja T-tüki abil ühe pihustusnõela külge. Ioniseerimisallikaks oli nESI või APCI. Mõlema allika puhul ioniseeriti proove positiivses režiimis. Negatiivsete ionide režiimis osutus massispektri saamine raskendatuks ja sellest loobuti. Esmane allika parameetrite ja voolukiiruse reguleerimine viidi läbi massispektromeetri Varian J320 910-MS madallahutusrežiimis. Proovide massispektrid koguti kõrglahutusrežiimis 7 T magnetiga Varian 910-MS FT-ICR massispektromeetriga.

Massispektrite salvestamiseks ja töötlemiseks kasutati Omega (versioon 9.1.21) tarkvara. Salvestatud spektritele teostati sisekalibreerimine. Igast spektrist leiti vähemalt kaks kalibreerimislahuse komponentidele vastavat piiki. Kalibreerimislahuse komponentide täpsed massid ja m/z väärtused olid teada, need sisestati programmi ja programm korrigeeris kogu spektrit vastavalt nendele punktidele.

2.4.1. nESI FT-ICR MS

Kasutati süstlaid ruumaladega 500 µl (Hamilton, 1750TLL, 500 µl, *luer lock*) ja 100 µl (Hamilton, 1710TLL, 100 µl, *luer lock*). Suuremasse süstlasse võeti proovilahus, väiksemasse süstlasse kalibreerimislahus. Enne igat analüüsi teostati süsteemi loputus selle solvendiga, mille ekstrakte analüüsima hakati. Loputuse jaoks lasti solvendil paar tundi läbi süsteemi joosta voolukiirusega 4 µl/min. Proovi analüüsimiseks võeti suuremasse süstlasse 400 µl proovilahust ja sisekalibreerimise teostamiseks väiksemasse süstlasse 90 µl kalibreerimislahust. Iga proovi kohta salvestati madala ja kõrge m/z piirkonna spekter. Ühe spektri saamiseks keskmistati 200 skaneeringu tulemus.

MeCN ekstraktide korral oli proovilahuse voolukiirus 2 µl/min ning kalibreerimislahuse voolukiirus 1 µl/min. Pihusti pinge oli 1700 V ja varje pinge 200 V. Kuivatusgaasi temperatuur oli 250 °C ja rõhk 12 PSI (82,74 kPa). Ioonide kogumisaeg 2,2 s,ioonjuht optimeeritud madalale

m/z vahemikule amplituudiga 240 V. Ioonide ioonlõksu laskmise aja pikkus 1,1 s või 1,3 s, vastavalt sellele, kas koguti ioone madalamas ($m/z < 500$) või kõrgemas ($m/z > 500$) m/z vahemikus. Ergastusimpulsi m/z vahemik 140...1500, pikkus 33 ms, amplituud 120 V.

MeOH ekstraktide korral oli proovilahuse voolukiirus 3 $\mu\text{l}/\text{min}$ ning kalibreerimislahuse voolukiirus 0,5 $\mu\text{l}/\text{min}$. Pihusti pinge oli 1700 V ja varje pinge 150 V. Kuivatusgaasi temperatuur oli 200 °C ja rõhk 12 PSI (82,74 kPa). Ioonide kogumisaeg 1,5 s,ioonjuht optimeeritud madalale m/z vahemikule amplituudiga 280 V. Ioonide ioonlõksu laskmise aja pikkus 1,1 s või 1,3 s, vastavalt sellele, kas koguti ioone madalamas või kõrgemas m/z vahemikus. Ergastusimpulsi m/z vahemik 140...1500, pikkus 33 ms, amplituud 150 V.

Tol ekstraktide puhul võeti ioniseerimise hõlbustamiseks Tol ekstrakti ja MeOH samasse süstlasse suhtega 1:1. Proovilahuse voolukiirus oli 2 $\mu\text{l}/\text{min}$ ning kalibreerimislahuse voolukiirus 1 $\mu\text{l}/\text{min}$. Pihusti pinge oli 1900 V ja varje pinge 200 V. Kuivatusgaasi temperatuur oli 200 °C ja rõhk 12 PSI (82,74 kPa). Ioonide kogumisaeg 1,5 s,ioonjuht optimeeritud madalale m/z vahemikule amplituudiga 220 V. Ioonide ioonlõksu laskmise aja pikkus 1,1 s või 1,3 s, vastavalt sellele, kas koguti ioone madalamas või kõrgemas m/z vahemikus. Ergastusimpulsi m/z vahemik 140...1500, pikkus 33 ms, amplituud 120 V.

2.4.2. APCI FT-ICR MS

Viidi läbi süsteemi loputus, täites kaks süstalt (Hamilton, 1001TLL, 1,0 ml, *luer lock* ja Hamilton, 1750TLL, 500 μl , *luer lock*) atsetonitriiliga ja lastes sellel paar tundi läbi süsteemi joosta voolukiirusega 20 $\mu\text{l}/\text{min}$. APCI parameetrite optimeerimiseks kasutati 5 mg/ml $(\text{PhCH}_2)_3\text{N}$ (MW=287,17) lahust atsetonitriilis. Proovi analüüsimiseks võeti suuremasse süstlasse 400 μl proovilahust ja välise kalibreerimise teostamiseks väiksesse süstlasse 200 μl kalibreerimislahust. Proovilahuse voolukiiruseks oli 25 $\mu\text{l}/\text{min}$ ja kalibreerimislahuse voolukiiruseks 10 $\mu\text{l}/\text{min}$. Koroonanõela voolutugevus oli 4 μA ja varje pinge 300 V. Kuivatusgaasi temperatuur oli 300 °C ja rõhk 10 PSI (68,95 kPa), aurutusgaasi temperatuur 400 °C ja rõhk 20 PSI (137,89 kPa) ning pihustusgaasi rõhk 15 PSI (103,42 kPa). Ioonide kogumisaeg 2 s,ioonjuht optimeeritud madalale m/z vahemikule amplituudiga 250 V. Ioonide ioonlõksu laskmise aja pikkus 1,1 s või 1,3 s, vastavalt sellele kas koguti ioone madalamas või kõrgemas m/z vahemikus. Ergastusimpulsi m/z vahemik 140...1500, pikkus 33 ms, amplituud 140 V. Ühe spektri saamiseks keskmistati 100 skaneeringu tulemused.

3. Tulemused ja arutelu

3.1. Massispektrite analüüs ja kokkulangevuste leidmine brutovalemite alusel

Kolme solvendi võrdlemisele eelnevalt võrreldi esialgu kordusproovide tulemusi ühe solvendi raames. Üldine skeem hõlmas endas kokkulangevuste leidmist ühe solvendi kolme proovi vahel ja seejärel kolme solvendi vahel. Sama ühendi m/z väärtus eri spektritelt võib mõne komakoha võrra erineda, mistõttu otsustati esialgu kattuvusi leida brutovalemite kaudu. Selleks viidi Omega alamprogrammis läbi brutovalemite otsing järgnevate parameetritega: lubatud elemendid: C (3-60), H (0-100), O (0-20), N (0-3), P (0-3), S (0-1), Na (0-1); laeng: +1; lubatud teoreetilise m/z erinevus eksperimentaalsest: $\Delta m/z \pm 0,5$ ppm; küllastumatusaste DBE: 0-100, murdarvulised väärtused lubatud; 7 kuldreeglit lubatud.³⁶ Etteantud elementide ja nende lubatud hulkade põhjal pakkus programm välja teoreetiliste ühendite kandidaate nimekirja spektril leidunud piikidele ning iga m/z väärtuse jaoks kasutati vastete sorteerimiseks minimaalset $|\Delta m/z|$ väärtust. Saadud brutovalemite nimekirjadest viidi iga m/z väärtuse kohta 5 esimest vastet MS Excelisse ning viidi seal läbi sama proovi erinevate korduskatsete analüüs. Kolme proovi madalama ja kõrgema m/z piirkonna spektrite (vt lisad 1-18) brutovalemid koondati kokku üheks nimekirjaks ning eemaldati kõik brutovalemid, mida leidis vaid ühel korral. Seejärel kontrolliti, kui paljud korduvatest teoreetilistest brutovalemitest on varasemalt kirjeldatud ühendid. Vastete otsimiseks kasutati andmebaasi PubChem.³⁷ Atsetonitriili kuue spektri 2668 kokkulangevast brutovalemist osutus ainult 154 (5,8%) sellisteks, mida on varasemalt kirjeldatud looduses leiduva molekulina. Elementotsingu parameetrite käsitsi korrigeerimine ja brutovalemite otsingu kordamine on liialt ajakulukas ja ebaefektiivne, seega otsustati sellest lähenemisest loobuda.

3.2. Massispektrite analüüs ja kokkulangevuste leidmine m/z alusel

Järgmise sammuna uuriti kokkulangevuste leidmist m/z väärtuste järgi. Ajakulu vähendamiseks keskenduti selles etapis vaid madala m/z piirkonna spektritele, sest rohkem huvipakkuvad signaalmolekulid on enamuses molekulmassiga alla 500 u. Iga spektri m/z nimekiri sorteeriti vastavate piikide intensiivsuste järgi, alustades kõige intensiivsemast. Seejärel moodustati ühine nimekiri kolme spektri 110-st kõige intensiivsemast piigist. Hulk 110 sai valitud kõige väiksema piikide arvuga spektri järgi (vt Tabel 3). Valitud 110 hulka ei arvatud kalibrantide piike. Nimekirjast otsiti kokkulangevusi Pythonis kirjutatud programmi abil, mis tagastas kõik väärtused, mida esines nimekirjas vähemalt kahel korral. Ühesugusteks väärtusteks loeti kõik

väärtused mis erinesid üksteisest kuni $\pm 0,001$ võrra. Pythoni programmi kirjutas Priidik Meelo Västrik. Mürataset hinnati Omega programmi poolt leitud ionide koguintensiivsuse (Tot.int.) põhjal. Tot.int. on summa kõigi spektril leiduvate piikide intensiivsustest, mille intensiivsus ületab tarkvaras määratud lävendi. Mida väiksem on Tot.int., seda kõrgem on müratase.

Tabel 3 Kolme ekstraktsioonisolventi kordusproovide (+)nESI analüüsitulemuste võrdlus

Kasutatud solvent	Proovi nr	Piikide arv spektris	Tot.int.	Kokkulangevate piikide arv 110 intensiivsema seas
MeCN	1	346	9,42	97
	2	110	3,09	
	3	120	4,02	
MeOH	1	524	11,29	102
	2	834	20,93	
	3	830	20,68	
Tol	1	234	9,03	98
	2	178	6,89	
	3	293	15,01	

Saadud tulemustest järeldub, et piikide arv spektril sõltub müratasemest: mida kõrgem müra, seda vähem piike. Samas ei mõjuta müratase seda, millised ühendid esinevad spektril kõige kõrgema intensiivsusega. Seega on meetod piisava korduvusega, et tuvastada paremini ioniseeruvaid ühendeid erinevatest proovidest, kuid mitte piisava korduvusega, et saada sama kvaliteediga spektreid igal analüüsil ja seega mitte piisava korduvusega, et analüüsida kõiki proovis esinevaid komponente.

Mürataseme ja piikide arvu võrdluse põhjal ioniseerub ekstaheerunud ainetest madala m/z piirkonnas tolupeeniga kõige vähem ühendeid. Kui Tot.int. on umbes 9, ilmub Tol spektrile vähem piike kui sama müratasemega MeCN spektrile ning Tot.int. 15 juures ilmub Tol spektrile tunduvalt vähem piike kui MeOH spektrile madalama mürataseme juures. Kuigi on olemas selge korrelatsioon mürataseme ja piikide arvu vahel, ei ole välistatud, et erinevused piikide arvus tulenevad osaliselt proovide ebahomogeensusest sest proovitöötlusprotsess ei hõlmanud endas kuivatatud mulla homogeniseerimist. MeCN ja MeOH spektritel on suurem ühisosa, kui kummalgi solvendil Tol spektritega (vt Tabel 4). MeCN ja MeOH on mõlemad polaarset solvendid ja seega ekstraheerivad sarnasemaid ühendeid ning lahustavad tõhusamalt anorgaanilisi katioone kui mittepolaarne Tol.

Tabel 4 Kolme solvendi kokkulangevate piikide arv iga solvendi 110 kõige intensiivsema piigi seas

	Kahe solvendi kokkulangevused	Kolme solvendi kokkulangevused
MeCN vs MeOH	33	49
MeCN vs Tol	21	
MeOH vs Tol	16	

Meetodi korduvuse edasiseks hindamiseks võrreldi ühe ja sama metanooli ekstrakti erinevatel päevadel läbi viidud mõõtmiste tulemusi (vt Tabel 5). Nendest tulemustest järeldub taaskord, et müratasemel ja piikide arvul on selge korrelatsioon, kuid see ei mõjuta millised ühendid esinevad spektril intensiivsemalt.

Tabel 5 MeOH 1. kordusproovi mõõtmistulemused kolmel eri päeval

	Piikide arv spektris	Tot.int.	Kokkulangevate piikide arv 110 kõige intensiivsema seas
Päev 1	524	11,29	104
Päev 2	965	25,44	
Päev 3	1063	32,86	

Kahe ioniseerimisallika võrdlemiseks mõõdetud spektritest (vt lisad 19 ja 20) tuleb välja, et sama solvendiga saadud ekstraktidest ioniseerub nESI korral suurem hulk ühendeid kui APCI korral (vt Tabel 6). Saadud spektrite müratasemed ei ole liialt erinevad, kuid esinevate piikide arvud erinevad pea kaks korda. Piikide vähesus, kombineerituna kordades suuremast proovikogusest, mis kulub APCI allika kasutamisel, viitab sellele, et nESI on sobivam ioniseerimisallikas mullaproovide analüüsimiseks.

Tabel 6 Kahe ioniseerimisallika võrdlus

Ioniseerimisallikas	Piikide arv spektris	Tot.int.	Kokkulangevate piikide arv 110 kõige intensiivsema seas
nESI	680	37,16	41
APCI	399	33,33	

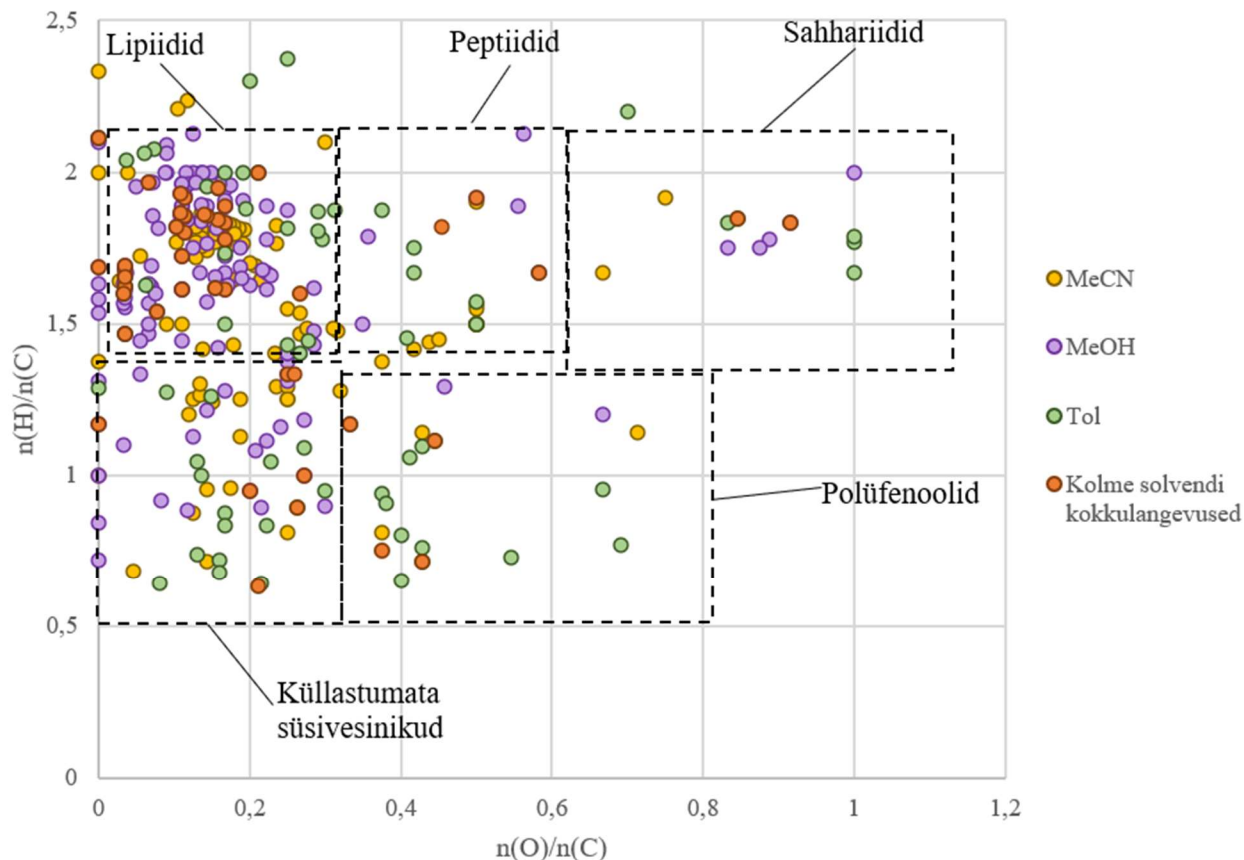
3.3. Ühendite identifitseerimine

Ühendite identifitseerimiseks kasutati kahte Metabolomics Workbench'i poolt pakutavat andmebaasi: Metabolite Database ja RefMet, mis koondavad kahepeale kokku üle 400 000 metaboliidi kirje.³⁸ Andmebaasides otsingu läbi viimiseks sisestati otsingusse kordustest puhastatud m/z nimekiri. Lubatud ioniseeritud vormid olid $[M + H]^+$ ja $[M + Na]^+$, lubatud erinevus sisestatud m/z väärtusest $\pm 0,001$. Otsing tagastas mõnele m/z väärtustele vastavad brutovalemid koos potentsiaalsete struktuuridega. Kahe andmebaasi tulemustes olid mõned erinevused, kuid suures osas need kattusid, mistõttu tulemused kombineeriti. Leitud brutovalemiteest koostati van Kreveleni diagrammid, kus x-teljel asub hapniku- ja süsinikuaatomite arvu suhe $n(O)/n(C)$ ning y-teljel vesiniku- ja süsinikuaatomite arvu suhe $n(H)/n(C)$. Iga graafiku punkt tähistab ühele brutovalemile vastavaid aatomite arvude suhteid. Sama aineklassi ühendite brutovalemid koonduvad diagrammil ühte piirkonda.^{39,40}

MeCN ja MeOH ekstraktidest tuvastati suurel hulgal lipiide. Tol ekstraktis lipiidid niivõrd ei domineerinud, tuvastatud ühendid jaotusid ühtlaselt eri aineklasside vahel (vt Joonis 2). Tuvastatud lipiidide hulka kuulus mitmeid steroide, rasvhappeid ja nende estreid, mono-, di- ja triatsüülgütseriide ning mõned terpeenid ja terpenoidid. Kõigi kolme solventi ekstraktis leidis levinuma fütosterooli – stigmasterooli ($C_{29}H_{48}O$) – m/z -le vastav piik. MeCN ekstraktis esines see H^+ aduktina ($m/z = 413,3597$), Tol ekstraktis Na^+ aduktina ($m/z = 435,3597$), MeOH ekstraktis leidsid mõlemad aduktid. Fütosteroolidest leidis nii MeCN kui MeOH ekstraktides ka brassikasterooli ($C_{28}H_{46}O$, H^+ aduktina, $m/z = 399,3621$) struktuuriisomeer. MeOH ekstraktides esines seente rakumembraanides oleva ergosterooli ($C_{28}H_{44}O$, H^+ aduktina, $m/z = 397,2365$) struktuuriisomeer.

Kõigis MeOH madala m/z piirkonna spektrites (vt lisad 13-15, 21 ja 22) domineerinud piik $m/z = 365,1054$ vastab suure tõenäosusega mõnele disahhariidi Na^+ aduktile ($C_{12}H_{22}O_{11}Na^+$). Sama piik on nähtav ka Tol spektrites, kuid mitte nii intensiivsena. MeOH ekstraktides esines veel mitmeid sahhariididele vastavaid piike: Monosahhariid $C_6H_{12}O_6$ (Na^+ aduktina, $m/z = 203,0526$), disahhariid $C_{12}H_{20}O_{10}$ (H^+ aduktina, $m/z = 325,1129$), trisahhariid $C_{18}H_{32}O_{16}$ (Na^+ aduktina, $m/z = 527,1583$), oligosahhariid $C_{24}H_{42}O_{21}$ (Na^+ aduktina, $m/z = 689,2111$). MeCN ekstraktidest ühtegi sahhariidi ei tuvastatud.

Iga solvendi ekstraktides leidus ka peptiididele vastavaid piike, näiteks MeCN ekstraktides $C_{17}H_{30}N_6O_4S$ (H^+ aduktina, $m/z = 415,2122$), MeOH ekstraktides $C_{14}H_{24}N_4O_5S$ (H^+ aduktina, $m/z = 361,1540$), Tol ekstraktides $C_{16}H_{29}N_3O_6$ (H^+ aduktina, $m/z = 360,2129$). Kõige rohkem peptiide tuvastati MeCN ekstraktist, ent see ei kajastu joonisel 2, sest mustade punktiirjoontega kujutatud piirkonnad on ligikaudsed ja tegelikult võivad iga aineklassi ühendid asuda vähemal või rohkemal määral piirkonnast eemal.



Joonis 2 van Kreveleni diagramm kolme solvendi madala m/z piirkonna 110 intensiivsemale piigile vastavatest võimalikest ühenditest. Musta piirjoonega on tähistatud kirjanduses kajastatud mõnede aineklasside tüüpilised esinemise piirkonnad van Kreveleni diagrammil.^{39,40}

Diagrammi piirkonnas, kus peaksid asuma küllastumata süsivesinikud, asuvad suuremas osas hoopis sünteetilised molekulid, mida teadaolevalt eluslooduses ei leidu (nt Tol ekstraktist $C_{25}H_{15}N_4O_2ClF_2$ ja $C_{25}H_{17}O_4SF_3$ või MeCN ekstraktist $C_{22}H_{15}N_3OCl_2$ ja $C_{16}H_{12}N_2O_4$). Tõenäoline on, et konkreetsetes andmebaasides puuduvad kirjed nende ühendite m/z väärtustele vastavatest looduslikest ühenditest või m/z väärtusele vastaval ühend esineb H^+ või Na^+ adukti

asemel mõni muu aduktina, näiteks K^+ või NH_4^+ aduktina. Vähemtõenäoline on, et proov on saastatud mõne tuvastatud sünteetilise ühendiga.

MeCN ja MeOH kõrge m/z piirkonna spektrite (vt lisad 4-6, 16-18, 23 ja 24) väärtustel 800 ja ülespoole domineerivad TAG-id. Tol kõrge m/z piirkonna spektritel (vt lisad 10-12) on natuke TAG-idele vastavaid piike näha, kuid puudub teiste solventide spektritele sarnane üleküllus.

Eraldi otsiti spektritelt tuntumaid taimede signaalmolekulide piike (vt Tabel 7). Ainus ühend, mis nimetatute hulgast suudeti tuvastada oli jasmoonhape, mille H^+ aduktile vastav piik esines MeOH spektritel madala intensiivsusega. Ühtegi teist tabelis 7 esitatud signaalmolekuli ühestki spektrist ei tuvastatud. Küll aga tuvastati MeCN spektritest kahele võimalikule brassinoliidi derivaadile vastavad piigid: $C_{28}H_{50}O_5$ (H^+ aduktina, $m/z = 467,3717$) ja $C_{29}H_{52}O_5$ (H^+ aduktina, $m/z = 481,3887$).

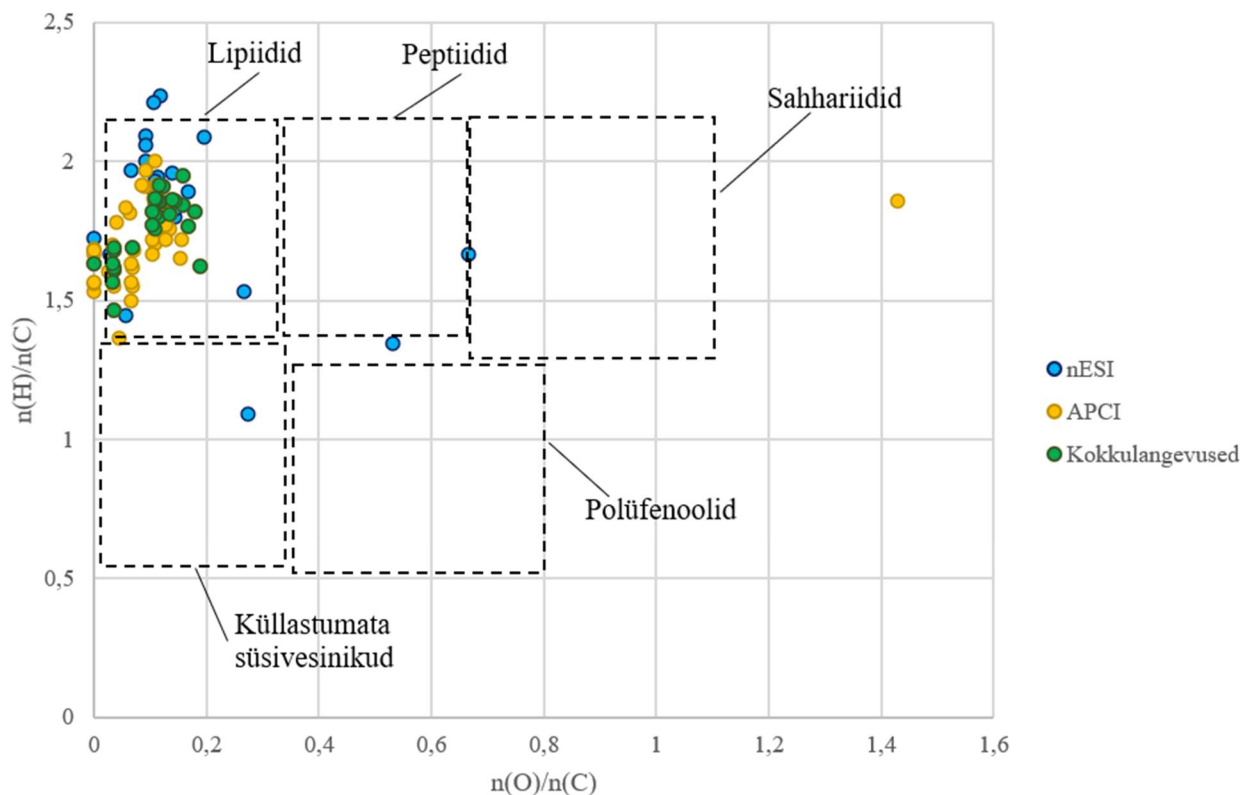
Tabel 7 Tuntumad taimede signaalmolekulid ioniseeritud vormide molaarmassidega ja nende leidumine eri solventide prooviekstraktides

Nimi	Brutovalem	$[M + H]^+$	$[M + Na]^+$	MeCN	MeOH	Tol
Abstsiihape	$C_{15}H_{20}O_4$	265,1440	287,1259			
Indool-3-etaanhape	$C_{10}H_9NO_2$	176,0712	198,0531			
Indool-3-propaanhape	$C_{11}H_{11}NO_2$	190,0868	212,0688			
Indool-3-butaanhape	$C_{12}H_{13}NO_2$	204,1025	226,0844			
4-kloroindool-3-etaanhape	$C_{10}H_8ClNO_2$	210,0322	232,0141			
Trüptofaan	$C_{11}H_{12}NO_2$	191,0946	213,0766			
Strigolaktoon	$C_{17}H_{14}O_5$	299,0920	321,0739			
Jasmoonhape	$C_{12}H_{18}O_3$	211,1334	233,1154			
Brassinoliid	$C_{28}H_{48}O_6$	481,3529	503,3349			
Kinetiin	$C_{10}H_9N_5O$	216,0885	238,0705			
Zeatiin	$C_{10}H_{13}N_5O$	220,1198	242,1018			
6-bensüülaminopuriin	$C_{12}H_{11}N_5$	226,1093	248,0912			
Giberelliin A1	$C_{19}H_{24}O_6$	349,1651	371,1471			
Giberelliin A3	$C_{19}H_{22}O_6$	347,1495	369,1314			
Giberelliin A4	$C_{29}H_{24}O_5$	333,1702	355,1521			
Giberelliin A7	$C_{29}H_{22}O_5$	331,1546	353,1365			
Ent-giberelliin	$C_{20}H_{34}$	275,2739	297,2558			
Ent-kaureen	$C_{20}H_{32}$	273,2582	295,2402			
Salitsüülhape	$C_7H_6O_3$	139,0395	161,0215			

Muudest taimsetest metaboliitidest leidis MeCN ja MeOH ekstraktides flavonoide, mis lisaks kasvuprotsessides ning abiootilise ja biootilise stressi vastuses osalemisele on pigmendiks

samblikes ja taimede õites.⁴¹ MeCN ekstraktides leidis flavonoid $C_{20}H_{30}O_{10}$ (H^+ aduktina $m/z = 431,1912$, Na^+ aduktina $m/z = 453,1731$). MeOH ekstraktides leidis flavonoid $C_{25}H_{28}O_6$ (H^+ aduktina, $m/z = 425,1959$). Mõlema solvendi ekstraktides leidis flavonoid $C_{20}H_{18}O_4$ (H^+ aduktina, $m/z = 323,1278$). Täielik loetelu kõigist tuvastatud brutovalemiteest koos aineklassidega asub lisades 25-28.

APCI ja nESI madala m/z piirkonna spektrite 110 intensiivsema piigi seast tuvastati peaaegu ainult lipiide (vt Joonis 3). Ainus märkimisväärne erinevus oli APCI spektrist tuvastatud fosfaatsahhariid ($C_7H_{13}O_{10}P$, Na^+ aduktina, $m/z = 311,0138$), joonisel 3 kollane punkt koordinaatidega (1,43; 1,86). Tuvastatud lipiidides suuri erinevusi polnud. APCI-ga ioniseerusid mõned vähempolaarsed ühendid, näiteks alkeenid $C_{16}H_{26}$ (H^+ aduktina, $m/z = 219,2107$) ja $C_{30}H_{46}$ (H^+ aduktina, $m/z = 407,3672$). Täielik loetelu kõigist tuvastatud brutovalemiteest asub lisades 29-31.



Joonis 3 van Kreveleni diagramm nESI ja APCI võrdluseks mõõdetud MeCN ekstraktide madala m/z piirkonna spektrite 110 intensiivsema piigile vastavatest võimalikest ühenditest. Musta

piirjoonega on tähistatud kirjanduses kajastatud mõnede aineklasside esinemise tüüpilised piirkonnad van Kreveleni diagrammil.^{39,40}

Võttes arvesse alapeatükis 3.2 välja toodud põhjuseid ning vähest erinevust nESI ja APCI-ga ioniseeritud proovidest tuvastatud aineklassides, võib väita, et nESI on mullaproovide analüüsimiseks sobivam ioniseerimisallikas kui APCI.

3.4. Tulevikuplaanid

Lähitulevikus on kavas edasi arendada proovitöötlusmeetodit. Vaakumiga kuivatamise asemel proovida silikageeliga kuivatamist, et vältida lenduvate ainete kadu. Homogeniseerida kuivatatud mulda näiteks uhmerdamise või sõelumise teel, et parandada meetodi korduvust. Proovida mitme solventi kombineerimist ühe ekstraktsiooniprotsessi vältel ja muuhulgas kasutada ka vett ühe solvendina. Kasutada tahke-faas ekstraktsiooni soolade eemaldamiseks proovilahusest. Enne edasisi analüüsi mõõta mulla pH ja vastavalt sellele töödelda proovi mõne nõrga happe või alusega, et parandada ioniseerivate markerainete lahustuvust.

Paralleelselt proovitöötluse arendamisega on plaanis ka instrumentaalanalüüsi ja andmeanalüüsi voogu optimiseerida. Saada paika instrumendi parameetrite raamistik, mille piires on erinevad proovid omavahel usaldusväärselt võrreldavad. Katsetada ioniseerimiseks ka laserdesorptsioon-ionisatsiooni ning abimaatriksiga laserdesorptsioon-ionisatsiooni. Automatiseerida kogutud andmete sorteerimist, et vähendada andmeanalüüsi ajakulu. Kaasata vastete leidmise rohkem andmebaase ning luua meie kliimavöötmele, meie muldade baasil optimaalne laiemale üldsusele kättesaadav andmebaas MOA keemilise mitmekesisuse uurimiseks.

Plaanis on uurida vedelikkromatograafilise lahutuse sobivust proovide detailsemal MS uuringul ning HRMS instrumendina kasutada ka Orbitrapi. Lisaks on plaanis võrrelda oma analüüside tulemusi ökoloogide kasutatavate meetodite tulemustega, et kontrollida kas mulla HRMS abil leitud keemilise mitmekesisuse ja aineklasside esinemissagedus on korrelatsioonis mulla DNA sekveneerimise ja lipiidide analüüsi tulemuste põhjal leitud mulla kvaliteedi mõõdikutega.

Metoodika arenduse lõpuks on plaanis töötada välja MOA koostisel baseeruv töövahend mulla tervise hindamiseks, mille abil oleks täiendavalt võimalik anda hinnanguid mullaorganismide seisundi, hulga ja bioloogilise mitmekesisuse kohta.

Kokkuvõte

Käesolevas töös arendati meetodikat rohumaa mulla lahustuva orgaanilise ainese uurimiseks kõrglahutuse massispektromeetria meetodil (HRMS) kasutades FT-ICR MS-i, et tuvastada võimalikult palju erinevaid mulla lahustuvaid orgaanilisi ühendeid, muuhulgas taimede signaalmolekule. Meetodika arendamise käigus kasutati mullaproovide ekstraheerimiseks kolme erinevat solventi (atsetonitriil, metanool, toluen) ning HRMS mõõtmistel kahte erinevat ioniseerimisallikat (nESI, APCI). Mõõtmiste käigus salvestati iga kordusproovi kohta massispektrid. Tulemuste analüüsi käigus otsiti mõõdetud spektritest kokkulangevusi m/z väärtuste järgi. Registreeritud piikidest 110-le kõige intensiivsemale piigile vastavatele m/z väärtustele otsiti võimalike brutovalemite vasteid kasutades Metabolomics Workbench'i pakutavaid andmebaase.

Kõige rohkem piike tuvastati MeOH ekstraktide spektrites, kus oli ka madalam müratase kui MeCN ja Tol ekstraktide spektrites. Ühe solventi ekstraktide raames oli m/z väärtuste kokkulangevus erinevates spektrites kõrge. Erinevate solventide ekstraktide spektrites oli rohkem kokkulangevaid m/z väärtusi MeCN ja MeOH ekstraktide spektrites, kui kummagi solventi ekstraktide ja Tol ekstraktide spektrites. Ioniseerimisallikatest ioniseerus nESI-ga rohkem ühendeid kui APCI-ga.

Kõigi solventide ekstraktidest tuvastati palju lipiididele vastavaid m/z piike. Muuhulgas olid esindatud steroidid, rasvhapped, glütseriidid ja terpenoidid. Kõigi solventide ekstraktidest tuvastati ka mõned peptiidid ning MeOH ja Tol ekstraktidest tuvastati mõned sahhariidid. Tuntumatest taimede signaalmolekulidest tuvastati vaid jasmoonhape MeOH ekstraktide spektritest. Lisaks tuvastati MeCN ja MeOH spektritest flavonoide ja fütohormoon brassinoliidi derivaate.

Pilootuuringu jooksul saadud tulemusi kasutatakse edasistes mulla orgaanilise ainese uuringutes meetodika arenduseks. Lõppeesmärgiks on välja töötada meetodika, kus keemilist mitmekesisust uurides on võimalik anda hinnanguid mullaorganismide seisundi, hulga ja mitmekesisuse kohta ning seeläbi hinnata mulla tervist.

Summary

Pilot study of grassland soil soluble organic matter with high resolution mass spectrometry

The purpose of this work was to begin developing a method for studying soluble soil organic matter with high resolution mass spectrometry (HRMS) using FT-ICR MS instrument, with the aim of identifying a wide range of different soluble soil organic compounds, including plant signal molecules. During method development, three solvents (acetonitrile, methanol, toluene) were tested for extracting soil samples and two ionization sources (nESI, APCI) were tested for HRMS analysis. For each extract, mass spectra were collected. Data analysis consisted of finding concurring m/z values on different spectra and finding empirical formulae for m/z values of 110 most intensive peaks on each spectrum. Two databases, offered by Metabolomics Workbench, were used for peak identification.

MeOH extracts' mass spectra were most abundant in peaks and had the lowest noise level. The concurrence in m/z values within one solvent extracts' spectra was high. MeCN and MeOH extracts' spectra had more concurring m/z values with each other than either solvent had with Tol extracts' spectra. Out of two ionization sources, nESI spectrum was more abundant in peaks.

Several lipids were identified from all spectra. These included, among others, steroids, fatty acids, glycerides and terpenoids. Some peptides were also identified from all spectra and some saccharides from MeOH and Tol extracts' spectra. From more well-known plant signal molecules, only jasmonic acid was identified from MeOH extracts' spectra. In addition, some flavonoids and phytohormone brassinolide derivates were identified from MeCN and MeOH extracts' spectra.

The data acquired during this pilot study will be used in further method development for studying soil organic matter. The end goal is to create a method, which allows to evaluate the state, amount, and diversity of soil organisms via studying chemodiversity, and use that to assess soil health.

Kasutatud kirjandus

- (1) Rinot, O.; Levy, G. J.; Steinberger, Y.; Svoray, T.; Eshel, G. Soil Health Assessment: A Critical Review of Current Methodologies and a Proposed New Approach. *Science of The Total Environment* **2019**, *648*, 1484–1491. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.08.259>.
- (2) *Communication from The Commission to The European Parliament, The Council, The European Economic and Social Committee and The Committee of The Regions EU Soil Strategy for 2030 Reaping the Benefits of Healthy Soils for People, Food, Nature and Climate*; 2021. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX:52021DC0699> (viimati vaadatud 20.05.2023).
- (3) Bünemann, E. K.; Bongiorno, G.; Bai, Z.; Creamer, R. E.; De Deyn, G.; de Goede, R.; Flesskens, L.; Geissen, V.; Kuiper, T. W.; Mäder, P.; Pulleman, M.; Sukkel, W.; van Groenigen, J. W.; Brussaard, L. Soil Quality – A Critical Review. *Soil Biology and Biochemistry* **2018**, *120*, 105–125. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2018.01.030>.
- (4) Bahureksa, W.; Tfaily, M. M.; Boiteau, R. M.; Young, R. B.; Logan, M. N.; McKenna, A. M.; Borch, T. Soil Organic Matter Characterization by Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry (FTICR MS): A Critical Review of Sample Preparation, Analysis, and Data Interpretation. *Environ. Sci. Technol.* **2021**, *55* (14), 9637–9656. <https://doi.org/10.1021/acs.est.1c01135>.
- (5) Alar Astover; Kölli, R.; Roostalu, H.; Reintam, E.; Leedu, E. *Mullateadus*, 1st ed.; Eesti Maaülikool, 2012, pp 70, 79, 85.
- (6) Cardoso, E. J. B. N.; Vasconcellos, R. L. F.; Bini, D.; Miyauchi, M. Y. H.; Santos, C. A. dos; Alves, P. R. L.; Paula, A. M. de; Nakatani, A. S.; Pereira, J. de M.; Nogueira, M. A. Soil Health: Looking for Suitable Indicators. What Should Be Considered to Assess the Effects of Use and Management on Soil Health? *Sci. agric. (Piracicaba, Braz.)* **2013**, *70*, 274–289. <https://doi.org/10.1590/S0103-90162013000400009>.
- (7) Hill, G. T.; Mitkowski, N. A.; Aldrich-Wolfe, L.; Emele, L. R.; Jurkonie, D. D.; Ficke, A.; Maldonado-Ramirez, S.; Lynch, S. T.; Nelson, E. B. Methods for Assessing the Composition and Diversity of Soil Microbial Communities. *Applied Soil Ecology* **2000**, *15* (1), 25–36. [https://doi.org/10.1016/S0929-1393\(00\)00069-X](https://doi.org/10.1016/S0929-1393(00)00069-X).

- (8) Foo, E.; Ross, J. J.; Jones, W. T.; Reid, J. B. Plant Hormones in Arbuscular Mycorrhizal Symbioses: An Emerging Role for Gibberellins. *Annals of Botany* **2013**, *111* (5), 769–779. <https://doi.org/10.1093/aob/mct041>.
- (9) Alvi, A. F.; Sehar, Z.; Fatma, M.; Masood, A.; Khan, N. A. Strigolactone: An Emerging Growth Regulator for Developing Resilience in Plants. *Plants* **2022**, *11* (19), 2604. <https://doi.org/10.3390/plants11192604>.
- (10) Hoffmann, E. de; Stroobant, V. *Mass Spectrometry: Principles and Applications*, 3rd ed.; J. Wiley: Chichester, West Sussex, England ; Hoboken, NJ, 2007, pp 1-3, 43-46, 49-51, 55-56, 157-164, 245-249.
- (11) Lin, L.; Yu, Q.; Yan, X.; Hang, W.; Zheng, J.; Xing, J.; Huang, B. Direct Infusion Mass Spectrometry or Liquid Chromatography Mass Spectrometry for Human Metabonomics? A Serum Metabonomic Study of Kidney Cancer. *Analyst* **2010**, *135* (11), 2970–2978. <https://doi.org/10.1039/C0AN00265H>.
- (12) *Direct infusion Mass Spectrometry*. JBL Science. <https://www.jblscience.org/infusion-ms> (viimati vaadatud 20.05.2023).
- (13) Gadikar, N. A. P. and R. Liquid Chromatography-Mass Spectrometry and Its Applications: A Brief Review. *Archives of Organic and Inorganic Chemical Sciences* **2018**, *1* (1), 001–009.
- (14) Marshall, A. G.; Hendrickson, C. L.; Jackson, G. S. Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry: A Primer. *Mass Spectrometry Reviews* **1998**, *17* (1), 1–35. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-2787\(1998\)17:1<1::AID-MAS1>3.0.CO;2-K](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-2787(1998)17:1<1::AID-MAS1>3.0.CO;2-K).
- (15) Cole, R. B. *Electrospray and MALDI Mass Spectrometry: Fundamentals, Instrumentation, Practicalities, and Biological Applications*, 2nd ed.; John Wiley & Sons, Inc., 2010, pp 6-7.
- (16) Kanu, A. B.; Kumar, B.; Hill, H. Evaluation of Micro- versus Nano-Electrospray Ionization for Ambient Pressure Ion Mobility Spectrometry. *International Journal for Ion Mobility Spectrometry* **2011**, *15*. <https://doi.org/10.1007/s12127-011-0075-8>.
- (16) Johnstone, R. A. W.; Rose, M. E. *Mass Spectrometry for Chemists and Biochemists*, Second.; Press Syndicate of the University of Cambridge, 1996, pp 75-76.
- (18) Lewe, N.; Hermans, S.; Lear, G.; Kelly, L. T.; Thomson-Laing, G.; Weisbrod, B.; Wood, S. A.; Keyzers, R. A.; Deslippe, J. R. Phospholipid Fatty Acid (PLFA) Analysis as a Tool to Estimate Absolute Abundances from Compositional 16S rRNA Bacterial Metabarcoding

- Data. *Journal of Microbiological Methods* **2021**, *188*, 106271.
<https://doi.org/10.1016/j.mimet.2021.106271>.
- (19) Breil, C.; Abert Vian, M.; Zemb, T.; Kunz, W.; Chemat, F. “Bligh and Dyer” and Folch Methods for Solid–Liquid–Liquid Extraction of Lipids from Microorganisms. Comprehension of Solvation Mechanisms and towards Substitution with Alternative Solvents. *IJMS* **2017**, *18* (4), 708. <https://doi.org/10.3390/ijms18040708>.
- (20) Rovira, P.; Jorba, M.; Romanyà, J. Active and Passive Organic Matter Fractions in Mediterranean Forest Soils. *Biol Fertil Soils* **2010**, *46* (4), 355–369.
<https://doi.org/10.1007/s00374-009-0437-0>.
- (21) Mouritsen, O. G.; Zuckermann, M. J. What’s so Special about Cholesterol? *Lipids* **2004**, *39* (11), 1101–1113. <https://doi.org/10.1007/s11745-004-1336-x>.
- (22) Osterholz, H.; Kirchman, D. L.; Niggemann, J.; Dittmar, T. Diversity of Bacterial Communities and Dissolved Organic Matter in a Temperate Estuary. *FEMS Microbiology Ecology* **2018**, *94* (8). <https://doi.org/10.1093/femsec/fiy119>.
- (23) Foo, E.; Yoneyama, K.; Hugill, C.; Quittenden, L. J.; Reid, J. B. Strigolactones. *Plant Signaling & Behavior* **2013**, *8* (3), e23168. <https://doi.org/10.4161/psb.23168>.
- (24) Liao, D.; Wang, S.; Cui, M.; Liu, J.; Chen, A.; Xu, G. Phytohormones Regulate the Development of Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis. *Int J Mol Sci* **2018**, *19* (10), 3146.
<https://doi.org/10.3390/ijms19103146>.
- (25) Lee, Z. H.; Hirakawa, T.; Yamaguchi, N.; Ito, T. The Roles of Plant Hormones and Their Interactions with Regulatory Genes in Determining Meristem Activity. *Int J Mol Sci* **2019**, *20* (16), 4065. <https://doi.org/10.3390/ijms20164065>.
- (26) Rush, T. A.; Puech-Pagès, V.; Bascaules, A.; Jargeat, P.; Maillet, F.; Haouy, A.; Maës, A. Q.; Carriel, C. C.; Khokhani, D.; Keller-Pearson, M.; Tannous, J.; Cope, K. R.; Garcia, K.; Maeda, J.; Johnson, C.; Kleven, B.; Choudhury, Q. J.; Labbé, J.; Swift, C.; O’Malley, M. A.; Bok, J. W.; Cottaz, S.; Fort, S.; Poinot, V.; Sussman, M. R.; Lefort, C.; Nett, J.; Keller, N. P.; Bécard, G.; Ané, J.-M. Lipo-Chitooligosaccharides as Regulatory Signals of Fungal Growth and Development. *Nat Commun* **2020**, *11* (1), 3897.
<https://doi.org/10.1038/s41467-020-17615-5>.

- (27) Vinci, G.; Piccolo, A.; Bridoux, M. Complementary ESI and APPI High Resolution Mass Spectrometry Unravel the Molecular Complexity of a Soil Humeome. *Analytica Chimica Acta* **2022**, *1194*, 339398. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2021.339398>.
- (28) Guigue, J.; Mathieu, O.; Lévêque, J.; Mounier, S.; Laffont, R.; Maron, P.-A.; Navarro, N.; Chateau-Smith, C.; Suchet, P.; Lucas, Y. A Comparison of Extraction Procedures for Water-Extractable Organic Matter in Soils. *European Journal of Soil Science* **2014**, *65*, 520–530. <https://doi.org/10.1111/ejss.12156>.
- (29) Ohno, T.; He, Z.; Sleighter, R. L.; Honeycutt, C. W.; Hatcher, P. G. Ultrahigh Resolution Mass Spectrometry and Indicator Species Analysis to Identify Marker Components of Soil- and Plant Biomass-Derived Organic Matter Fractions. *Environ. Sci. Technol.* **2010**, *44* (22), 8594–8600. <https://doi.org/10.1021/es101089t>.
- (30) Kleber, M.; Lehmann, J. Humic Substances Extracted by Alkali Are Invalid Proxies for the Dynamics and Functions of Organic Matter in Terrestrial and Aquatic Ecosystems. *Journal of Environmental Quality* **2019**, *48* (2), 207–216. <https://doi.org/10.2134/jeq2019.01.0036>.
- (31) Tfaily, M. M.; Chu, R. K.; Toyoda, J.; Tolić, N.; Robinson, E. W.; Paša-Tolić, L.; Hess, N. J. Sequential Extraction Protocol for Organic Matter from Soils and Sediments Using High Resolution Mass Spectrometry. *Analytica Chimica Acta* **2017**, *972*, 54–61. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2017.03.031>.
- (32) Tfaily, M. M.; Chu, R. K.; Tolić, N.; Roscioli, K. M.; Anderton, C. R.; Paša-Tolić, L.; Robinson, E. W.; Hess, N. J. Advanced Solvent Based Methods for Molecular Characterization of Soil Organic Matter by High-Resolution Mass Spectrometry. *Anal. Chem.* **2015**, *87* (10), 5206–5215. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.5b00116>.
- (33) Flerus, R.; Koch, B. P.; Schmitt-Kopplin, P.; Witt, M.; Kattner, G. Molecular Level Investigation of Reactions between Dissolved Organic Matter and Extraction Solvents Using FT-ICR MS. *Marine Chemistry* **2011**, *124* (1), 100–107. <https://doi.org/10.1016/j.marchem.2010.12.006>.
- (34) Pétriacq, P.; Williams, A.; Cotton, A.; McFarlane, A. E.; Rolfe, S. A.; Ton, J. Metabolite Profiling of Non-Sterile Rhizosphere Soil. *Plant J* **2017**, *92* (1), 147–162. <https://doi.org/10.1111/tpj.13639>.

- (35) Demir, M.; Cicek, M.; Eser, N.; Yoldaş, A.; Sisman, T. Effects of Acute Toluene Toxicity on Different Regions of Rabbit Brain. *Anal Cell Pathol (Amst)* **2017**, *2017*, 2805370. <https://doi.org/10.1155/2017/2805370>.
- (36) Kind, T.; Fiehn, O. Seven Golden Rules for Heuristic Filtering of Molecular Formulas Obtained by Accurate Mass Spectrometry. *BMC Bioinformatics* **2007**, *8* (1), 105. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-8-105>.
- (33) PubChem. *PubChem*. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> (viimati vaadatud 23.05.2023).
- (34) *Metabolomics Workbench*. https://www.metabolomicsworkbench.org/data/mb_mass_form.php (viimati vaadatud 23.05.2023).
- (39) Laszakovits, J. R.; MacKay, A. A. Data-Based Chemical Class Regions for Van Krevelen Diagrams. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2022**, *33* (1), 198–202. <https://doi.org/10.1021/jasms.1c00230>.
- (40) Rivas-Ubach, A.; Liu, Y.; Bianchi, T. S.; Tolić, N.; Jansson, C.; Paša-Tolić, L. Moving beyond the van Krevelen Diagram: A New Stoichiometric Approach for Compound Classification in Organisms. *Anal. Chem.* **2018**, *90* (10), 6152–6160. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.8b00529>.
- (41) Panche, A. N.; Diwan, A. D.; Chandra, S. R. Flavonoids: An Overview. *J Nutr Sci* **2016**, *5*, e47. <https://doi.org/10.1017/jns.2016.41>.

Infoleht

Rohumaa mulla lahustuva orgaanilise ainese kõrglahutusmassispektrometriline pilootuuring

Muld on maismaa suurim süsinikureservuaar ning reguleerib süsiniku-, vee- ja toitaineringet. Mullakeskkonna mitmekesisuse tõttu puudub üks kindel parameeter mille järgi mulla seisundit hinnata, seega hinnatakse erinevate füüsikaliste, keemiliste ja bioloogiliste näitajate põhjal üldiselt mulla tervist.

Käesoleva pilootuuringu eesmärgiks oli meetodika arendamine rohumaa mulla lahustuva orgaanilise ainese uurimiseks kõrglahutusmassispektrometria meetodil, et tuvastada võimalikult palju erinevaid mullas sisalduvaid lahustuvaid orgaanilisi ühendeid.

Märksõnad: Muld, mulla orgaaniline aines, kõrglahutusmassispektrometria, FT-ICR MS

CERCS: P300 – Analüütiline keemia

Pilot study of grassland soil soluble organic matter with high resolution mass spectrometry

Soil is the largest terrestrial carbon pool and regulates carbon, water, and nutrient cycles. The diversity of soil environment prevents it from having one certain parameter to assess the condition of soil. Instead, different physical, chemical, and biological parameters are used to assess soil health in general.

The purpose of this pilot study was to start method development to study grassland soil soluble organic matter with high resolution mass spectrometry, with the aim of identifying a wide range of soluble soil organic compounds.

Keywords: Soil, soil organic matter, high resolution mass spectrometry, FT-ICR MS

CERCS: P300 – Analytical chemistry

Lisad

Lisa 1 MeCN 1. kordusproovi madala m/z piirkonna massispekter, ioniseerimisallikaks nESI

Varian 910-MS

File: nESI_MTRP2005341_calif_pos_QTO13_LM_1535_100s.trans

BasePeak: 31.796

Mode: Positive

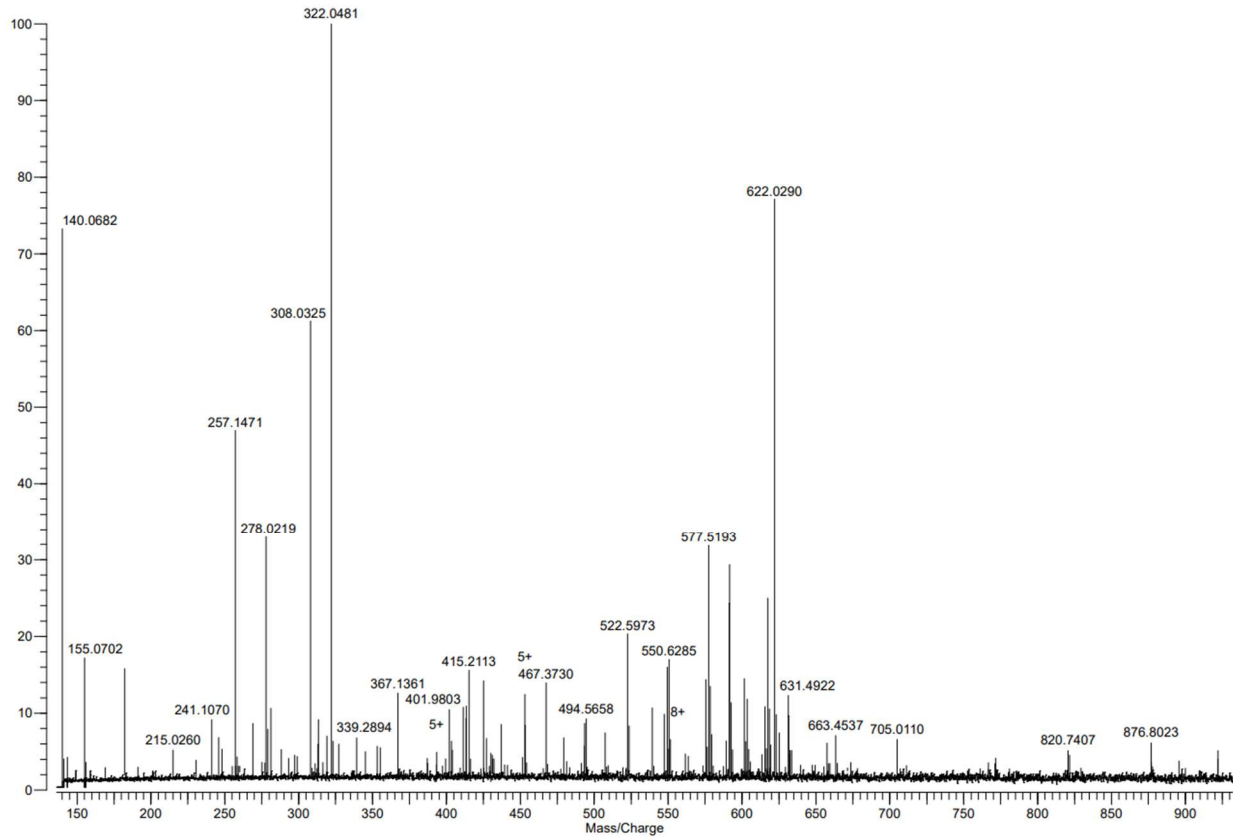
Scans: 100

TotInt: 402.07

Date: 17-FEB-2023

Time: 15:36:21

Scale: 5.0063



Lisa 2 MeCN 2. kordusproovi madala m/z piirkonna massispekter, ioniseerimisallikaks nESI

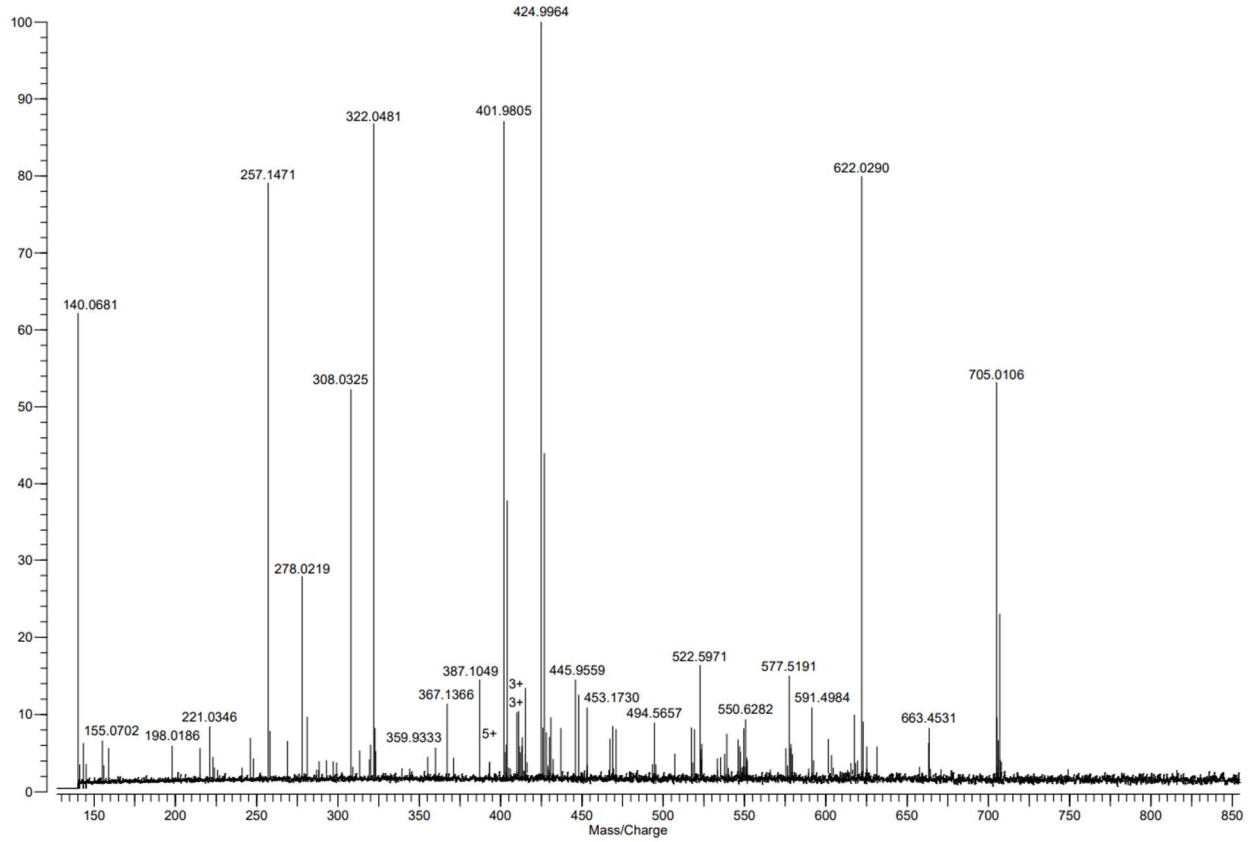
Varian 910-MS

File: nESI_MTRP2005331_calif_pos_QTO13_LM_1641_200s.trans

BasePeak: 44.446

Mode: Positive
Scans: 200
TotInt: 617.83

Date: 18-FEB-2023
Time: 16:14:21
Scale: 3.5647



Lisa 3 MeCN 3. kordusproovi madala m/z piirkonna massispekter, ioniseerimisallikaks nESI

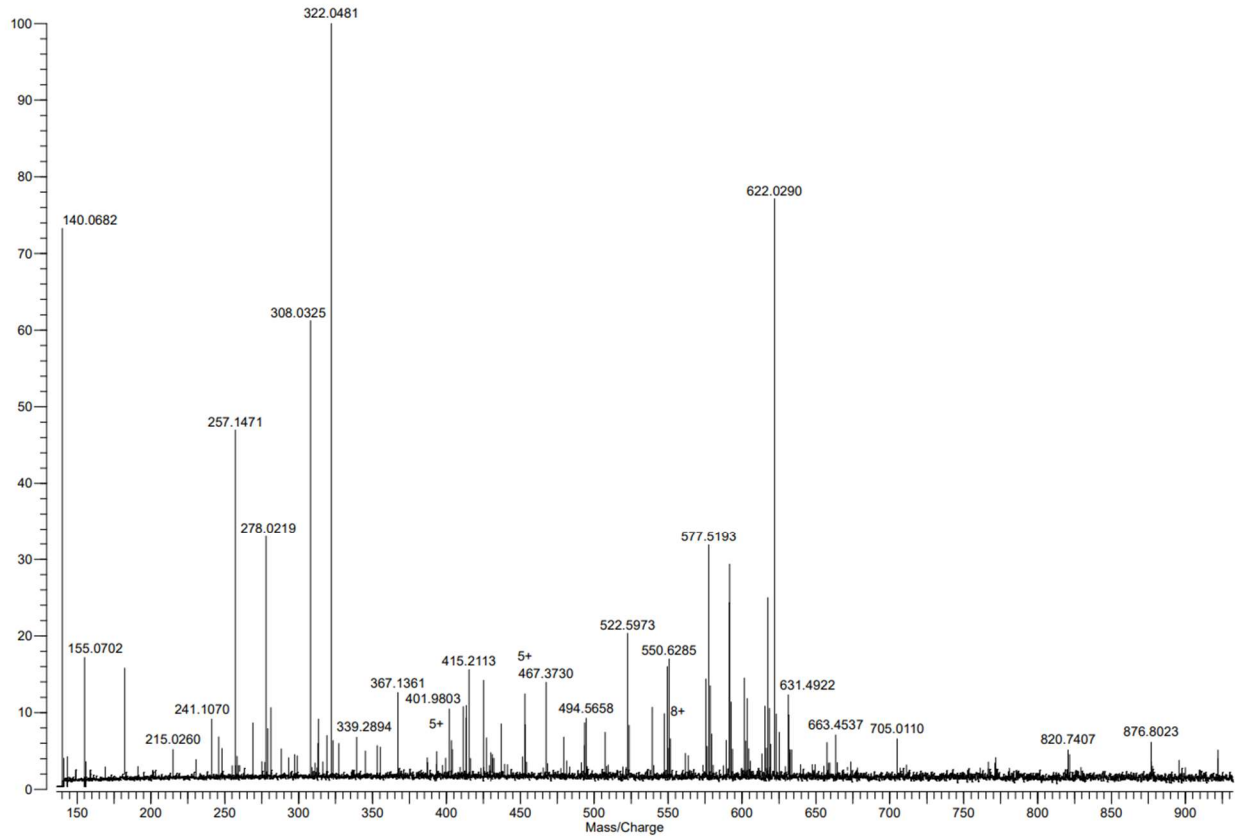
Varian 910-MS

File: nESI_MTRP2005341_calif_pos_QTO13_LM_1535_100s.trans

BasePeak: 31.796

Mode: Positive
Scans: 100
TotInt: 402.07

Date: 17-FEB-2023
Time: 15:36:21
Scale: 5.0063



Lisa 4 MeCN 1. kordusproovi kõrge m/z piirkonna massispekter, ioniseerimisalilikaks nESI

Varian 910-MS

File: nESI_MTRP2005321_calif_pos_QTO16_HM_1932_200s.trans

BasePeak:

69.256

Mode: Positive

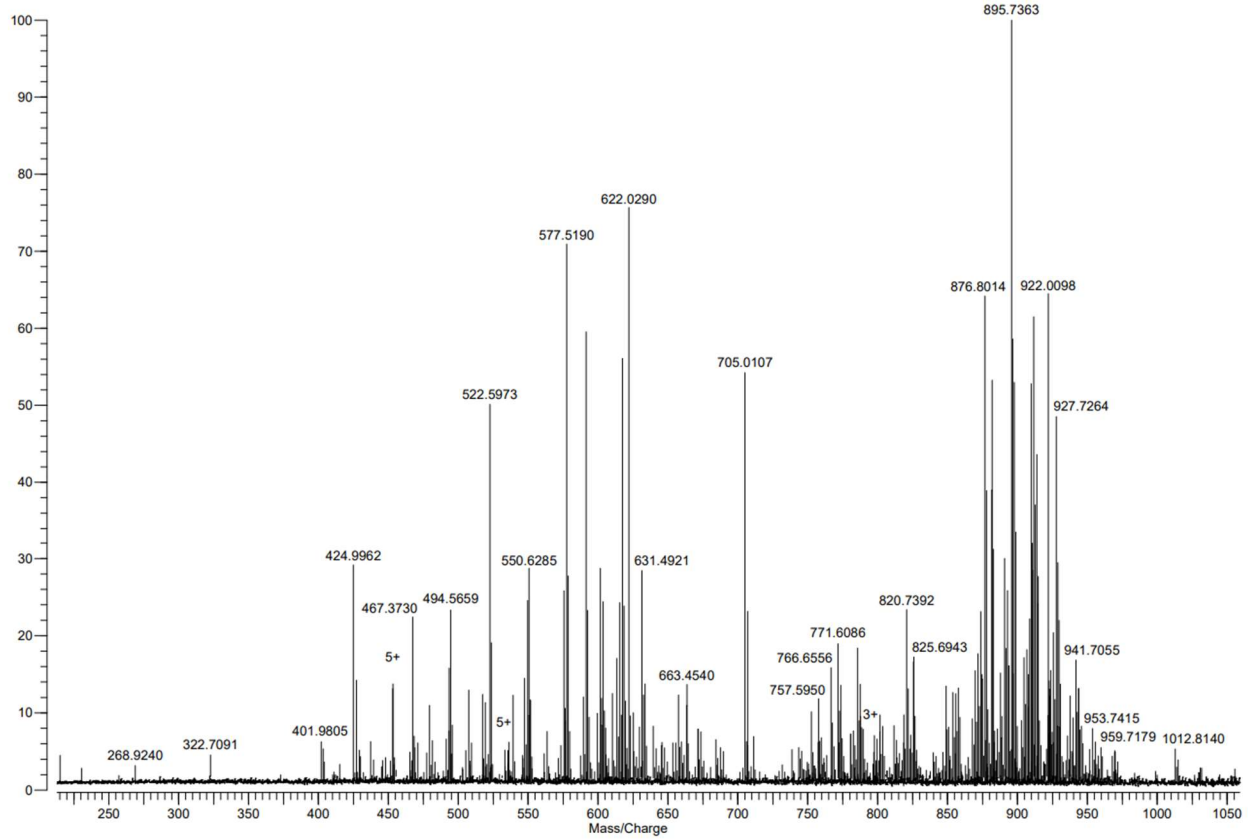
Scans: 200

TotInt: 2897.89

Date: 18-FEB-2023

Time: 19:03:26

Scale: 2.2898



Lisa 5 MeCN 3. kordusproovi kõrge m/z piirkonna massispekter, ioniseerimisallikaks nESI

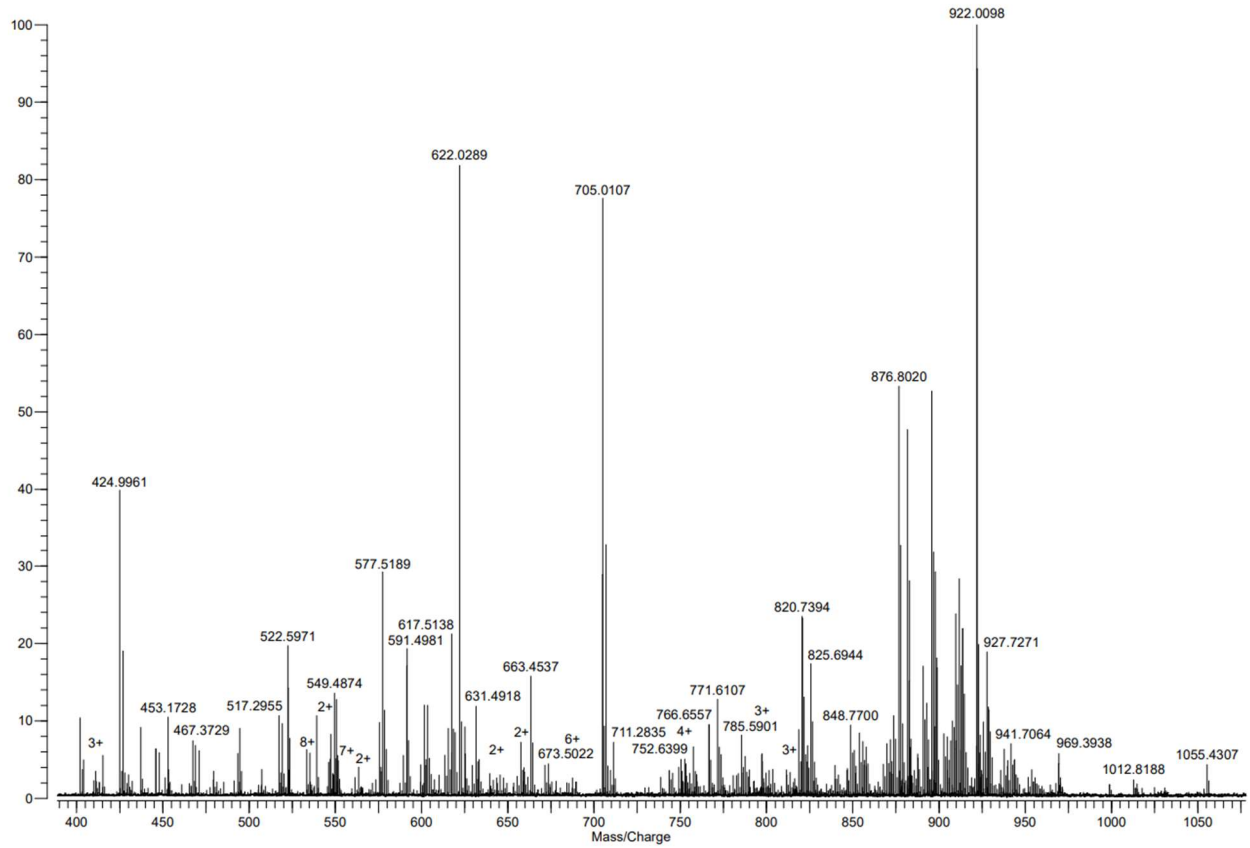
Varian 910-MS

File: nESI_MTRP2005331_calif_pos_QTO16_HM_1723_200s.trans

BasePeak: 173.057

Mode: Positive
Scans: 200
TotInt: 4706.41

Date: 18-FEB-2023
Time: 16:54:00
Scale: 0.9208



Lisa 6 MeCN 3. kordusproovi kõrge m/z piirkonna massispekter, ioniseerimisallikaks nESI

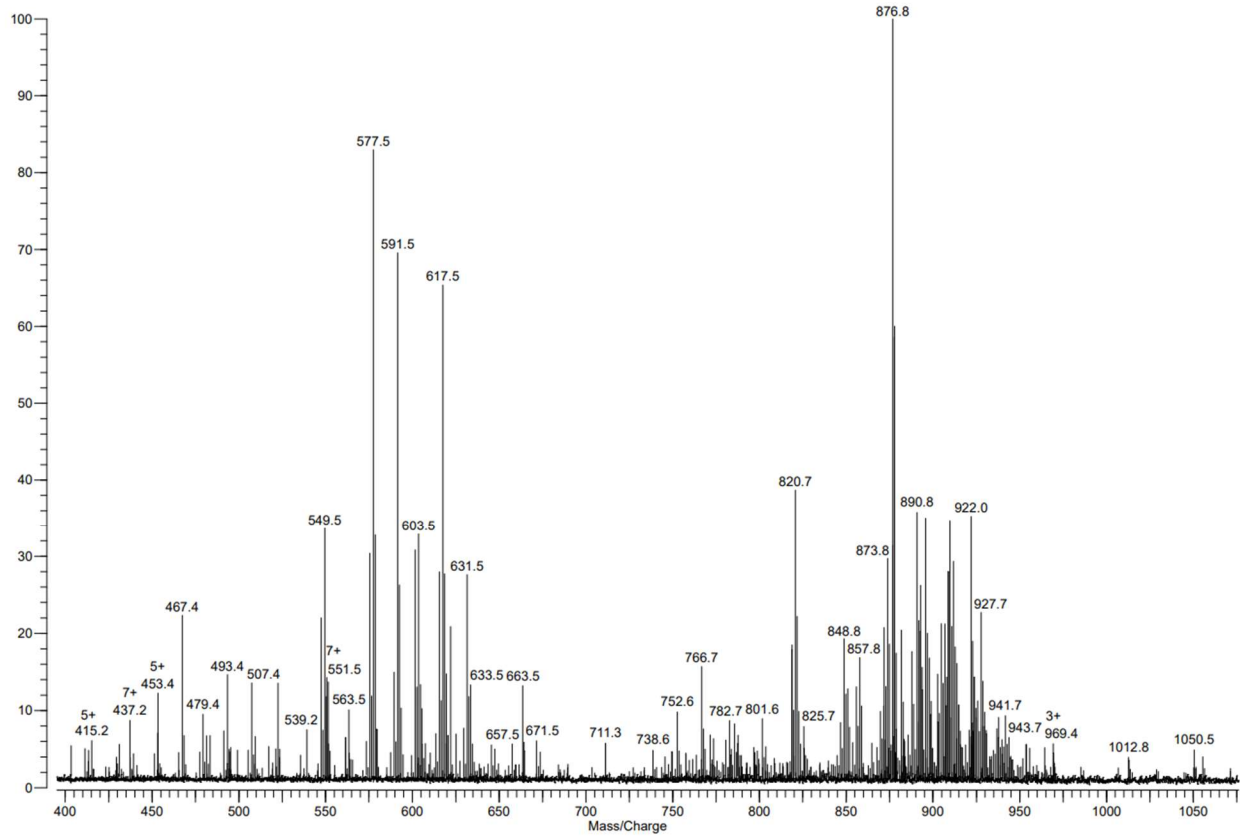
Varian 910-MS

File: nESI_MTRP2005341_calif_pos_QTO16_HM_1605_100s.trans

BasePeak: 48.582

Mode: Positive
Scans: 100
TotInt: 1593.26

Date: 17-FEB-2023
Time: 15:51:39
Scale: 3.2516



Lisa 7 Tol 1. kordusproovi madala m/z piirkonna massispekter, ioniseerimisallikaks nESI

Varian 910-MS

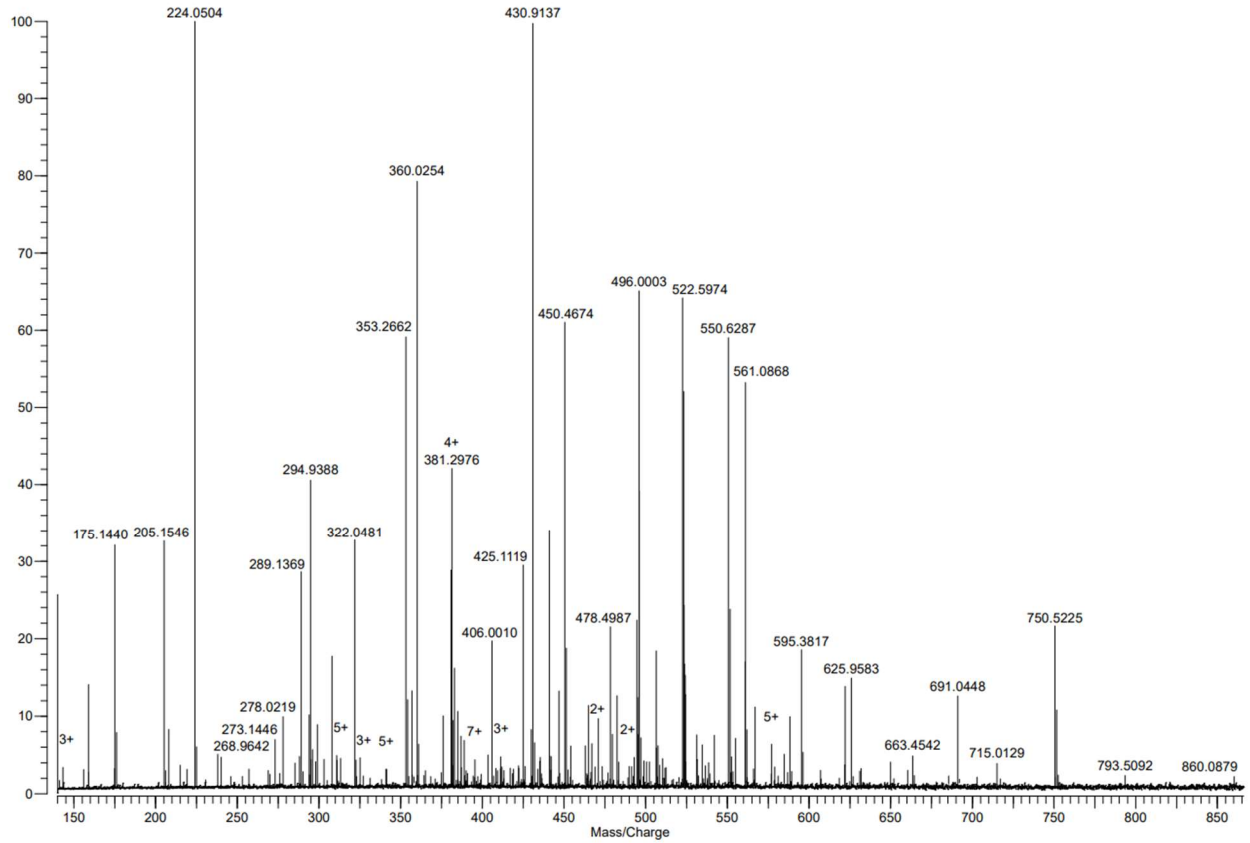
File: nESI_MTRP2005441_Tol_MeOH_calif_QTO13_LM_pos_1807_200s.trans

BasePeak:

83.962

Mode: Positive
Scans: 200
TotInt: 1805.37

Date: 11-MAR-2023
Time: 17:41:17
Scale: 1.8913



Lisa 8 Tol 2. kordusproovi madala m/z piirkonna massispekter, ioniseerimisallikaks nESI

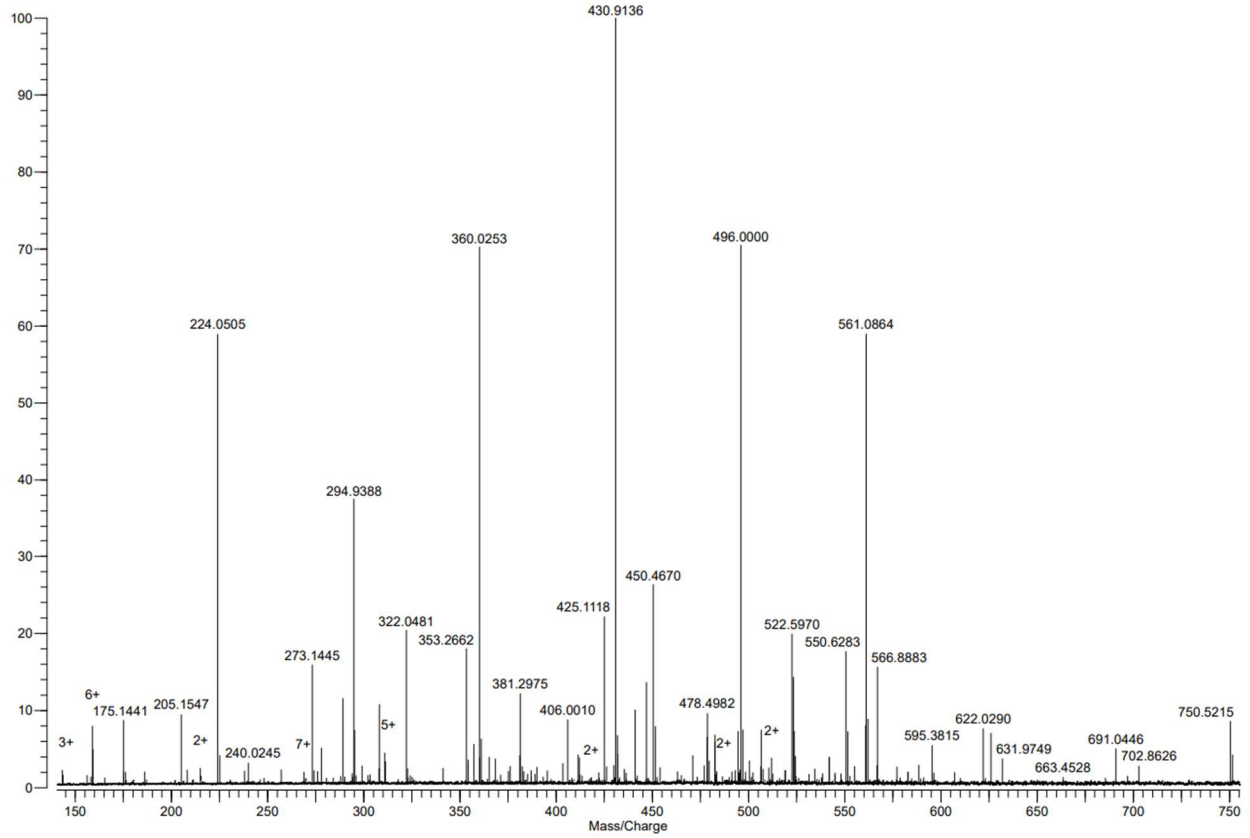
Varian 910-MS

File: nESI_MTRP2005451_Tol_MeOH_calif_QTO13_LM_pos_2054_200s.trans

BasePeak: 124.968

Mode: Positive
Scans: 200
TotInt: 1377.31

Date: 11-MAR-2023
Time: 20:21:52
Scale: 1.2699



Lisa 9 Tol 3. kordusproovi madala m/z piirkonna massispekter, ioniseerimisallikaks nESI

Varian 910-MS

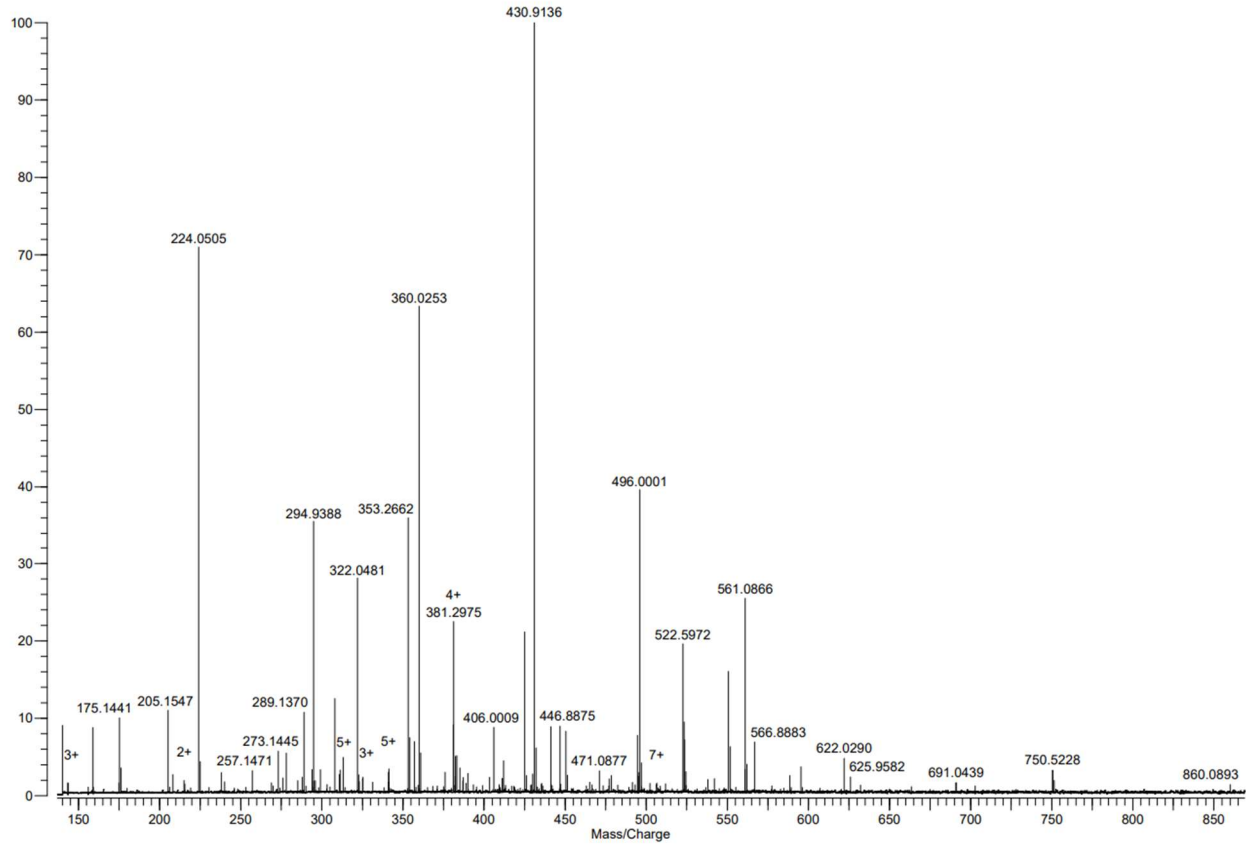
File: nESI_MTRP2005461_Tol_MeOH_calif_QTO13_LM_pos_1938_200s.trans

BasePeak:

155.388

Mode: Positive
Scans: 200
TotInt: 1450.44

Date: 12-MAR-2023
Time: 19:11:28
Scale: 1.0194



Lisa 10 Tol 1. kordusproovi kõrge m/z piirkonna massispekter, ioniseerimisallikaks nESI

Varian 910-MS

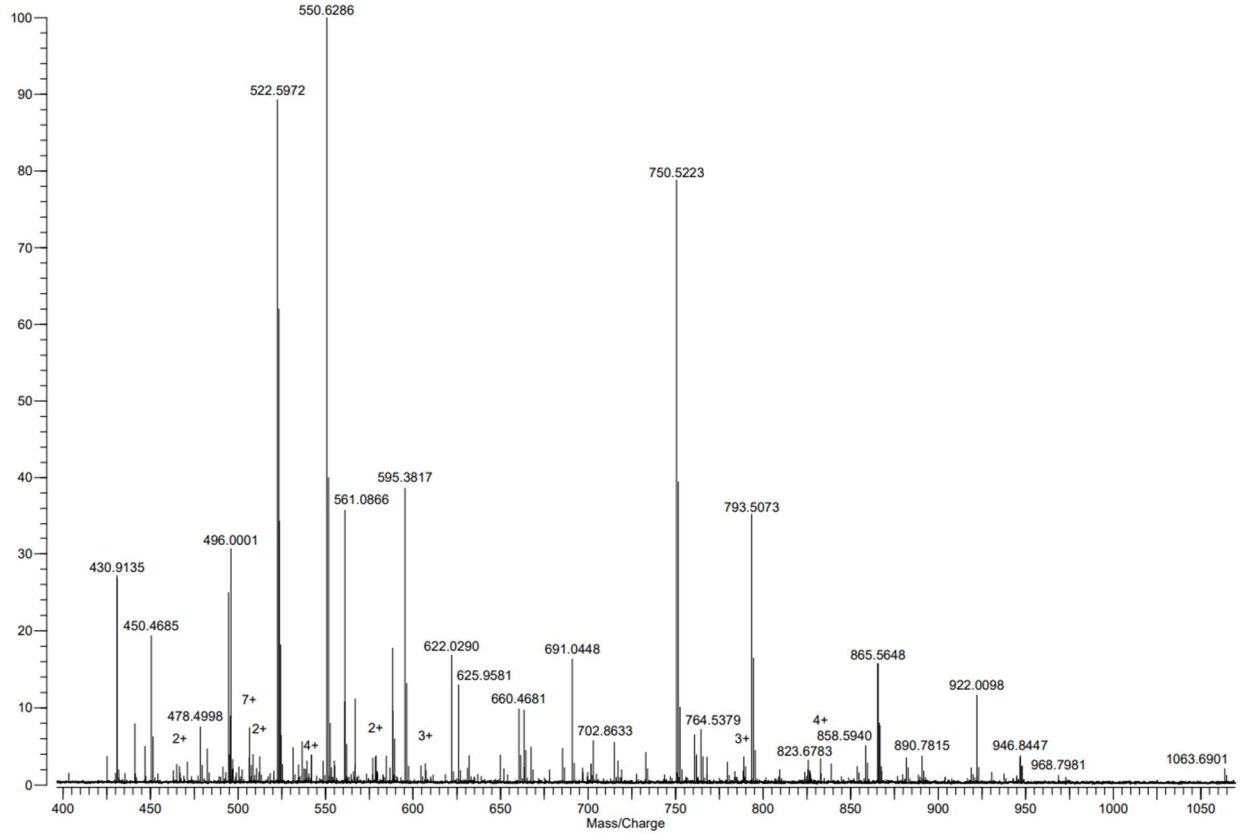
File: nESI_MTRP2005441_Tol_MeOH_calif_QTO16_HM_pos_1837_200s.trans

BasePeak:

207.589

Mode: Positive
Scans: 200
TotInt: 2898.48

Date: 11-MAR-2023
Time: 18:10:24
Scale: 0.7642



Lisa 11 Tol 2. kordusproovi kõrge m/z piirkonna massispekter, ioniseerimisallikaks nESI

Varian 910-MS

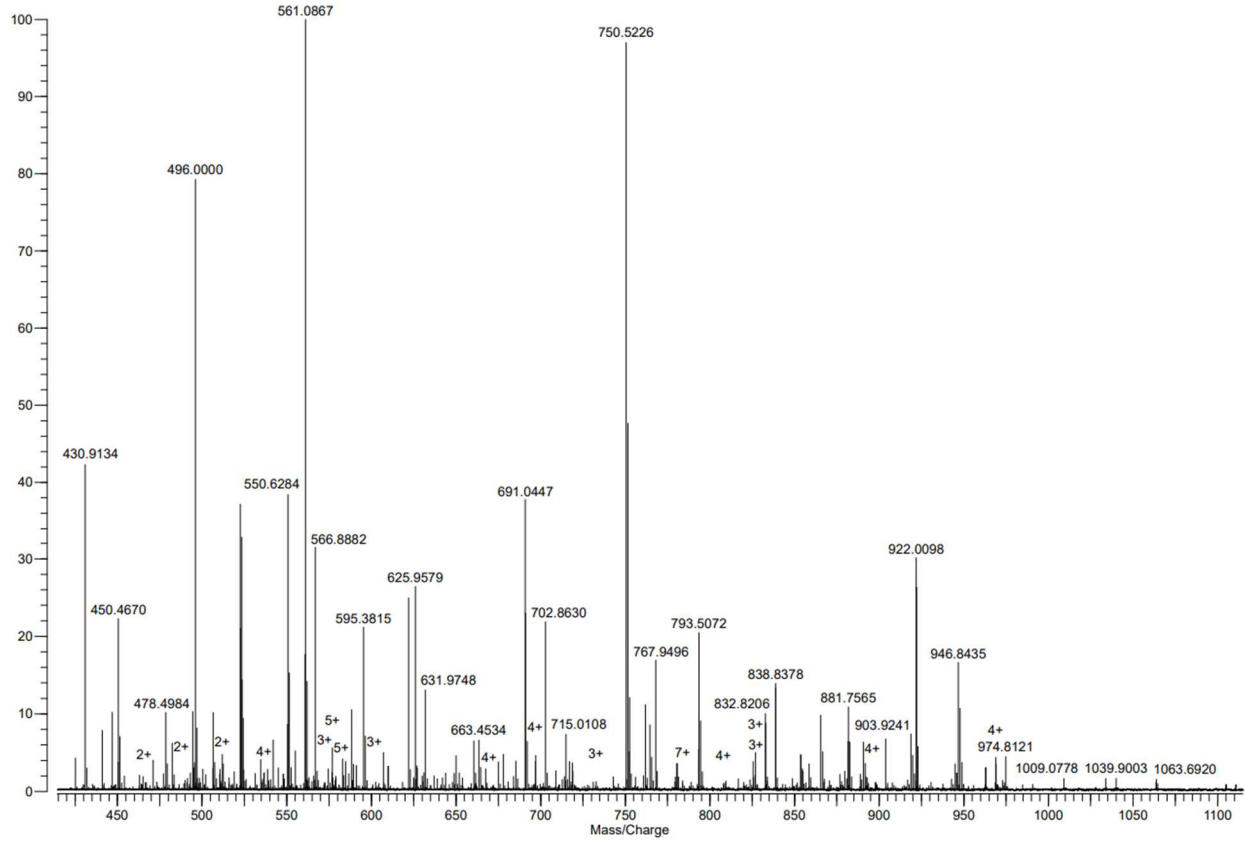
File: nESI_MTRP2005451_Tol_MeOH_calf_QTO16_HM_pos_2124_200s.trans

BasePeak:

298.707

Mode: Positive
Scans: 200
Totlnt: 5118.39

Date: 11-MAR-2023
Time: 20:58:10
Scale: 0.5315



Lisa 12 Tol 3. kordusproovi kõrge m/z piirkonna massispekter, ioniseerimisallikaks nESI

Varian 910-MS

File: nESI_MTRP2005461_Tol_MeOH_calif_QTO16_HM_pos_1748_200s.trans

BasePeak:

489.000

Mode: Positive

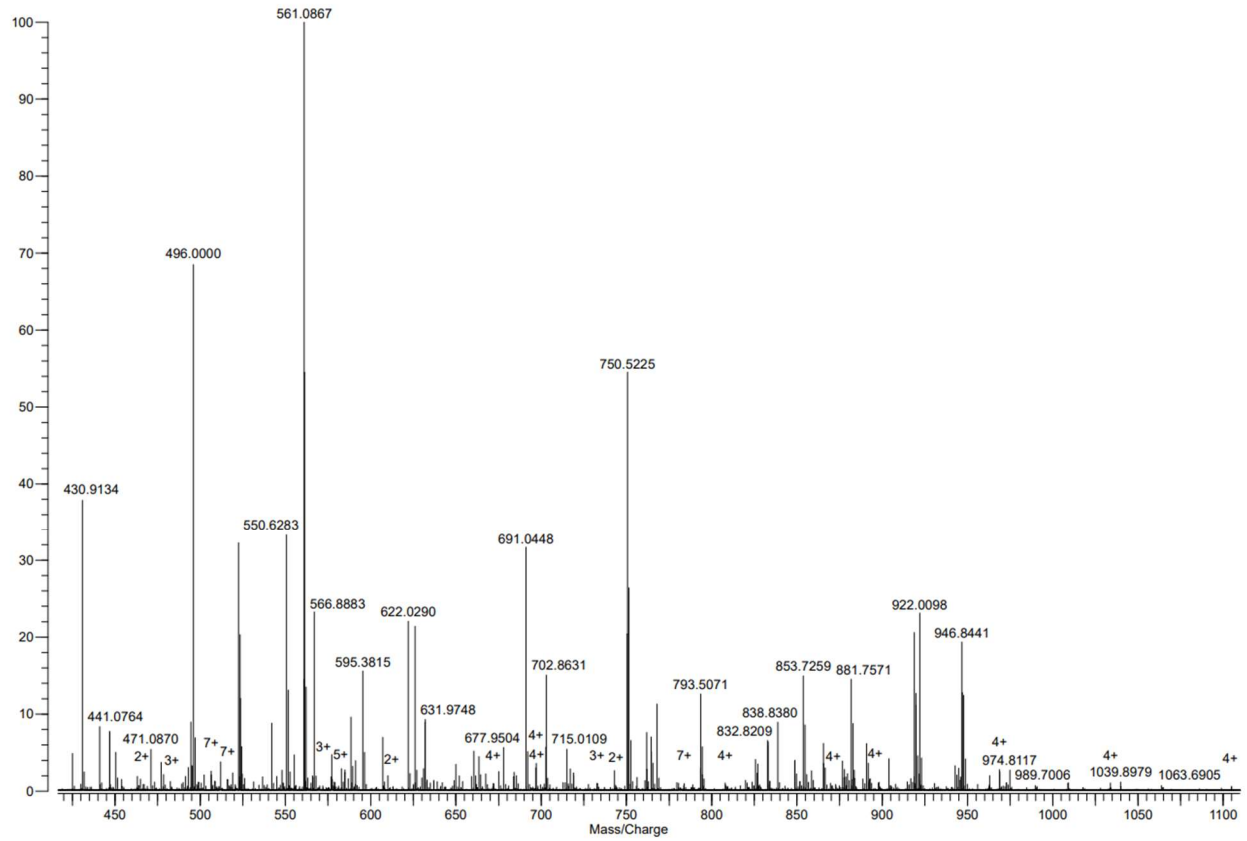
Scans: 200

TotInt: 6842.98

Date: 12-MAR-2023

Time: 17:17:21

Scale: 0.3249



Lisa 13 MeOH 1. kordusproovi madala m/z piirkonna massispekter, ioniseerimisallikaks nESI

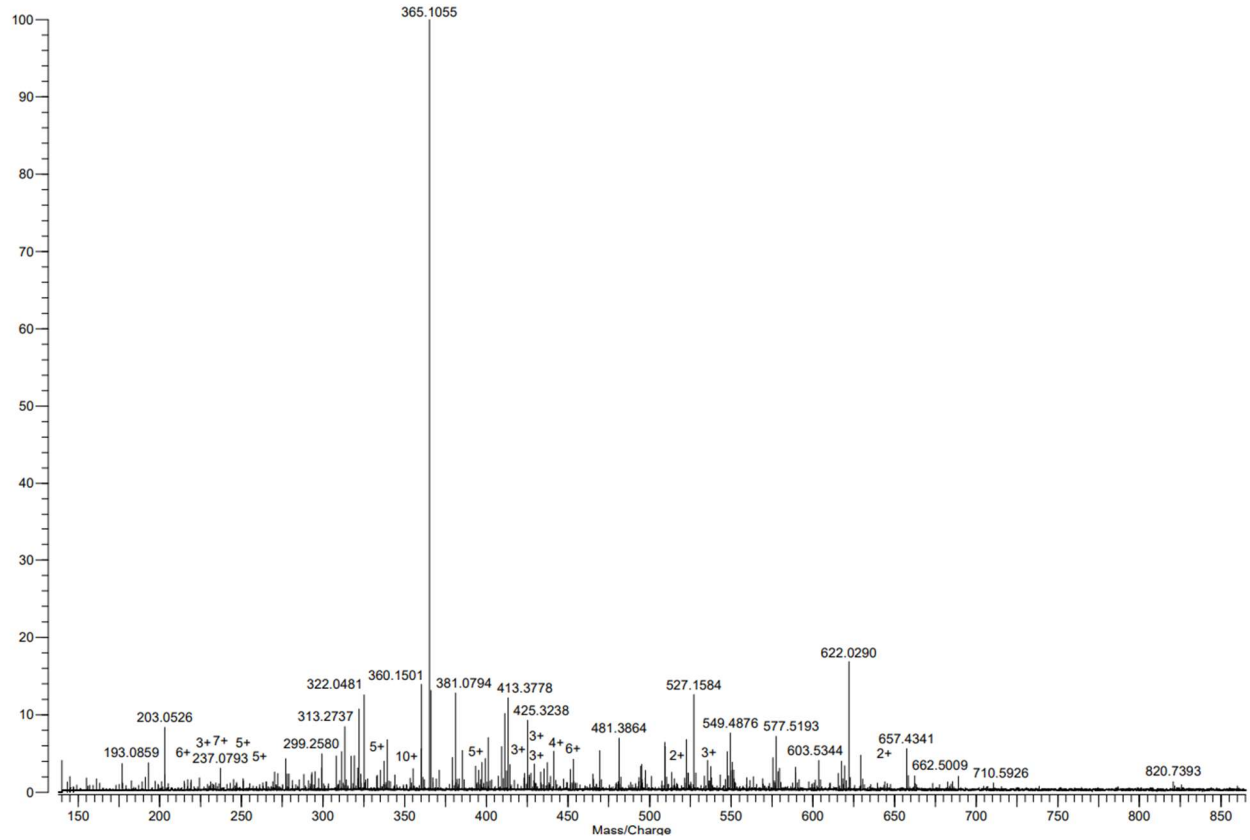
Varian 910-MS

File: nESI_MTRP2005411_calif_pos_QTO13_LM_2042_200s.trans

BasePeak: 215.727

Mode: Positive
Scans: 200
TotInt: 2257.91

Date: 19-FEB-2023
Time: 20:15:32
Scale: 0.7354



Lisa 14 MeOH 2. kordusproovi madala m/z piirkonna massispekter, ioniseerimisallikaks nESI

Varian 910-MS

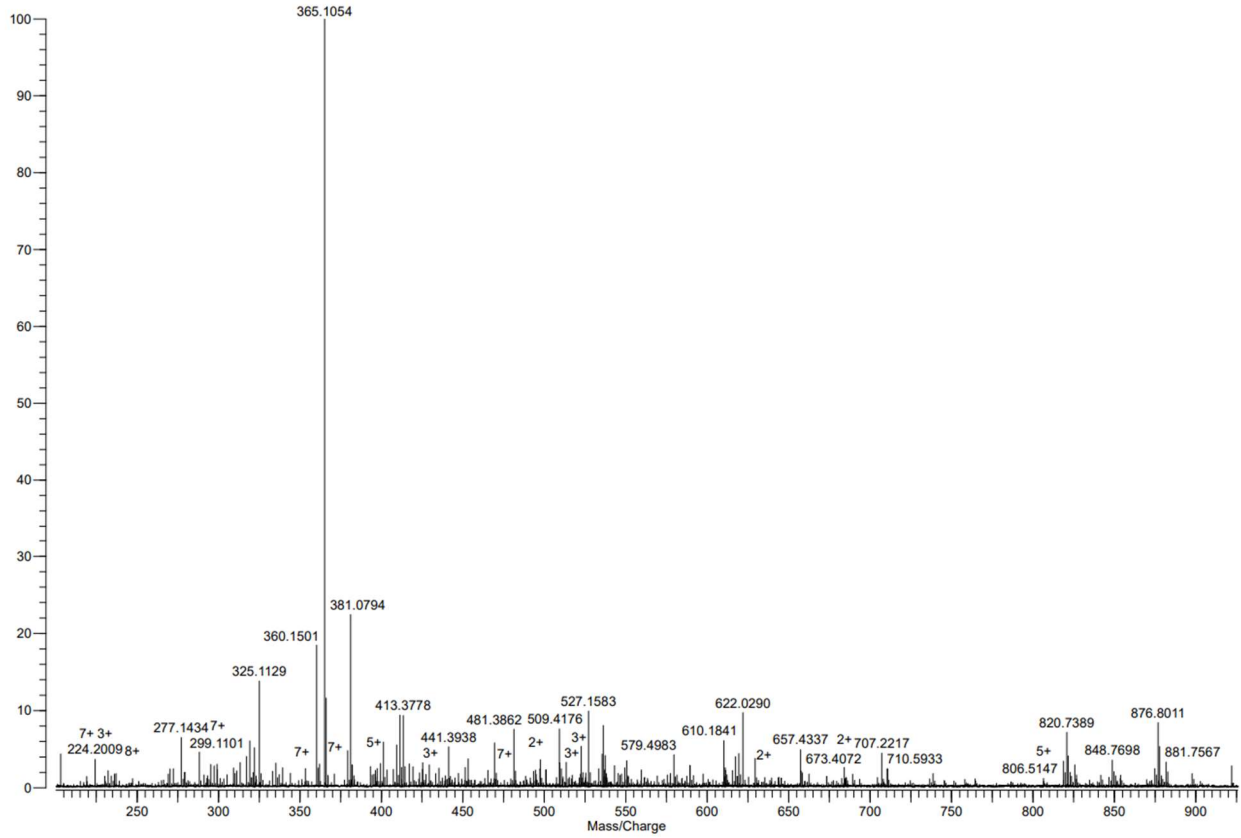
File: nESI_MTRP2005421_cal_pos_QTO13_LM_1745_200s.trans

BasePeak:

361.732

Mode: Positive
Scans: 200
TotInt: 4186.15

Date: 06-MAR-2023
Time: 17:06:15
Scale: 0.4387



Lisa 15 MeOH 3. kordusproovi madala m/z piirkonna massispekter, ioniseerimisallikaks nESI

Varian 910-MS

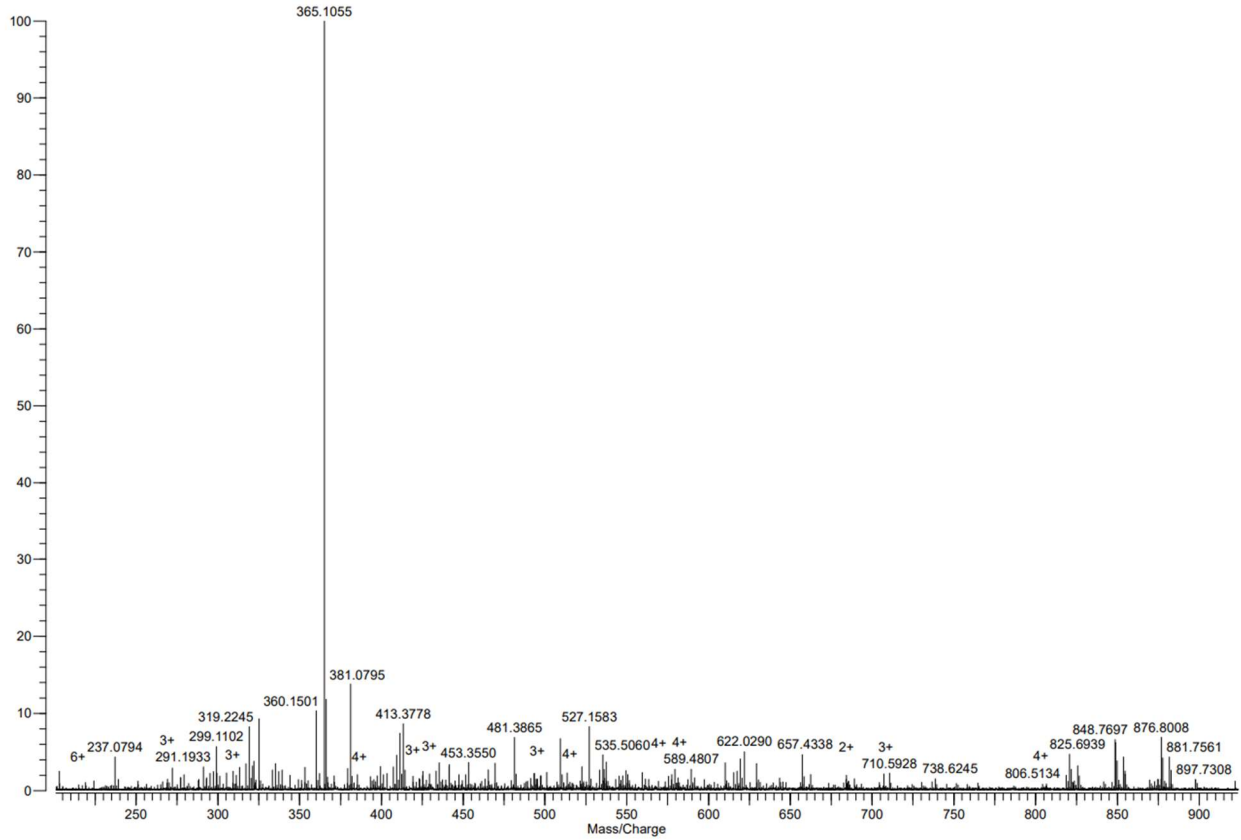
File: nESI_MTRP2005431_calf_pos_QTO13_LM_1830_200s.trans

BasePeak:

413.440

Mode: Positive
Scans: 200
TotInt: 4135.35

Date: 06-MAR-2023
Time: 18:01:17
Scale: 0.3848



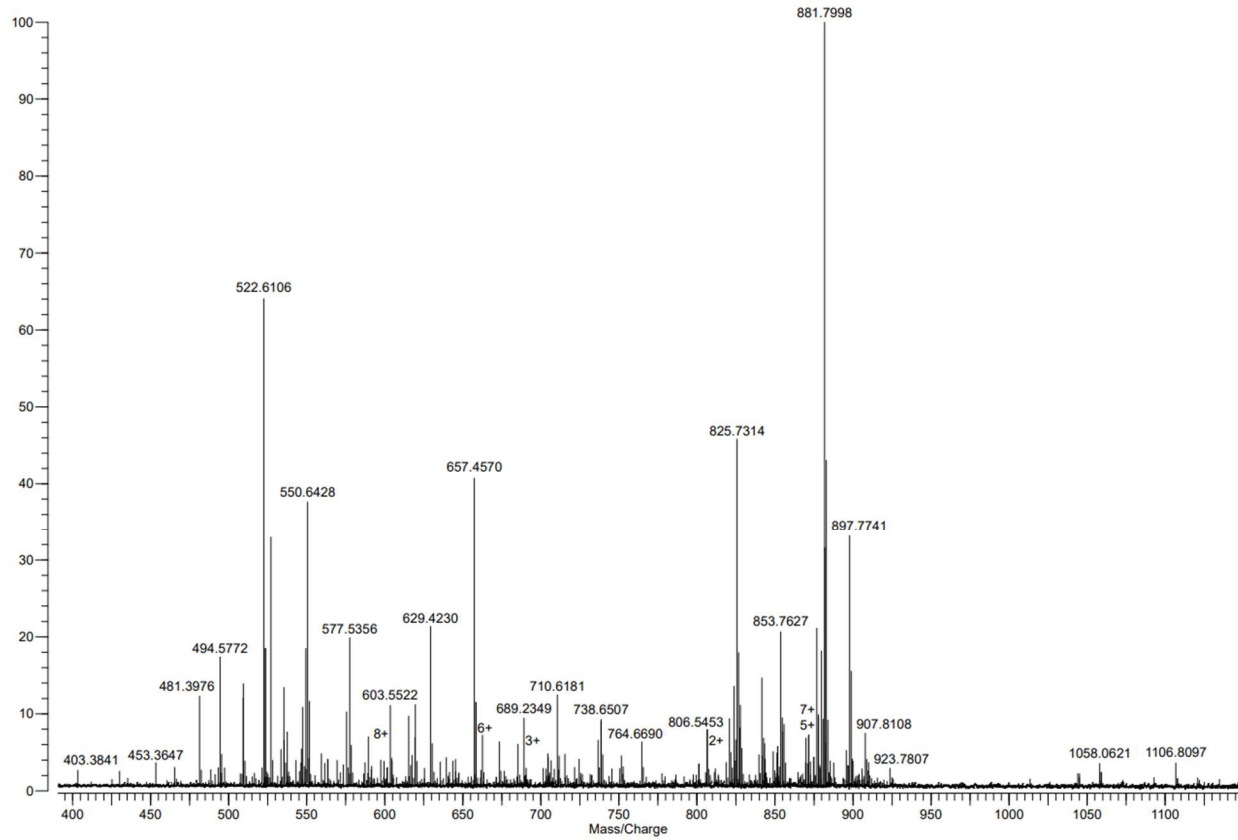
Lisa 16 MeOH 1. kordusproovi kõrge m/z piirkonna massispekter, kalibreerimata, sest kalibreerimislahus sai poole mõõtmise pealt otsa, ioniseerimisallikaks nESI

Varian 910-MS
File: nESI_MTRP2005411_cal_pos_QTO16_HM_2147_200s.trans

BasePeak: 113.329

Mode: Positive
Scans: 200
TotInt: 1788.64

Date: 19-FEB-2023
Time: 21:18:40
Scale: 1.3902



Lisa 17 MeOH 2. kordusproovi kõrge m/z piirkonna massispetker, ioniseerimisallikaks nESI

Varian 910-MS

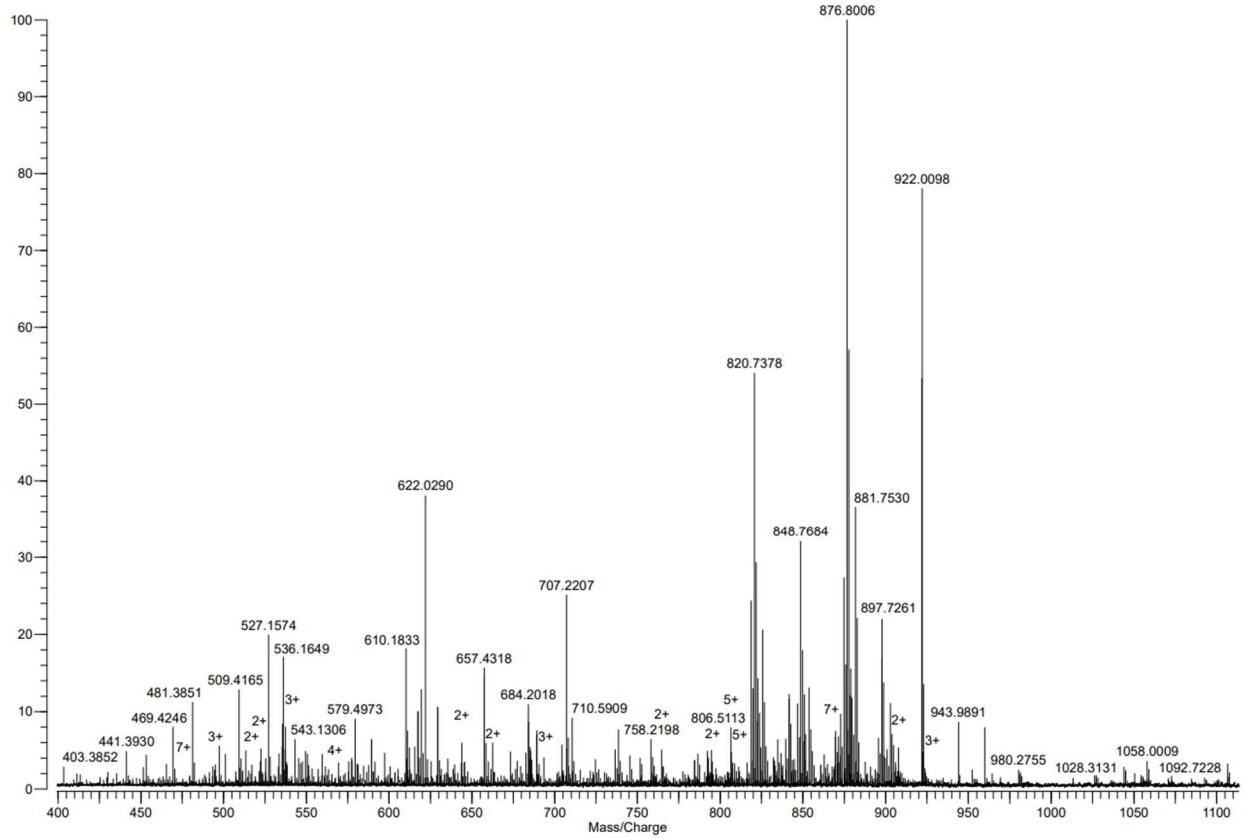
File: nESI_MTRP2005421_calif_pos_QTO16_HM_1701_200s.trans

BasePeak:

143.442

Mode: Positive
Scans: 200
TotInt: 3357.10

Date: 06-MAR-2023
Time: 16:28:45
Scale: 1.1091



Lisa 18 MeOH 3. kordusproovi kõrge m/z piirkonna massispekter, ioniseerimisallikaks nESI

Varian 910-MS

File: nESI_MTRP2005431_calif_pos_QTO16_HM_1859_200s.trans

BasePeak:

87.870

Mode: Positive

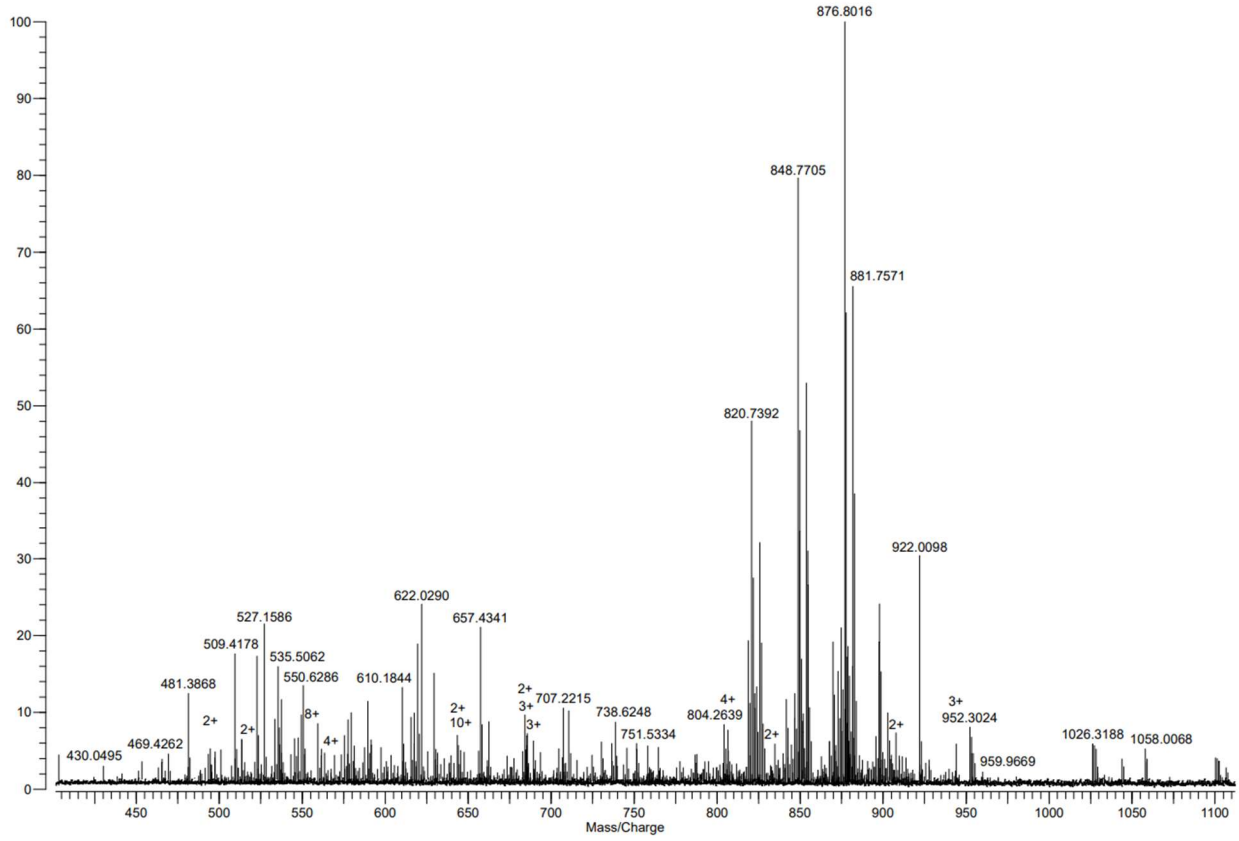
Scans: 200

TotInt: 2363.10

Date: 06-MAR-2023

Time: 18:32:41

Scale: 1.8039



Lisa 19 APCI-ga ioniseeritud MeCN proovi madala m/z piirkonna massispekter

Varian 910-MS

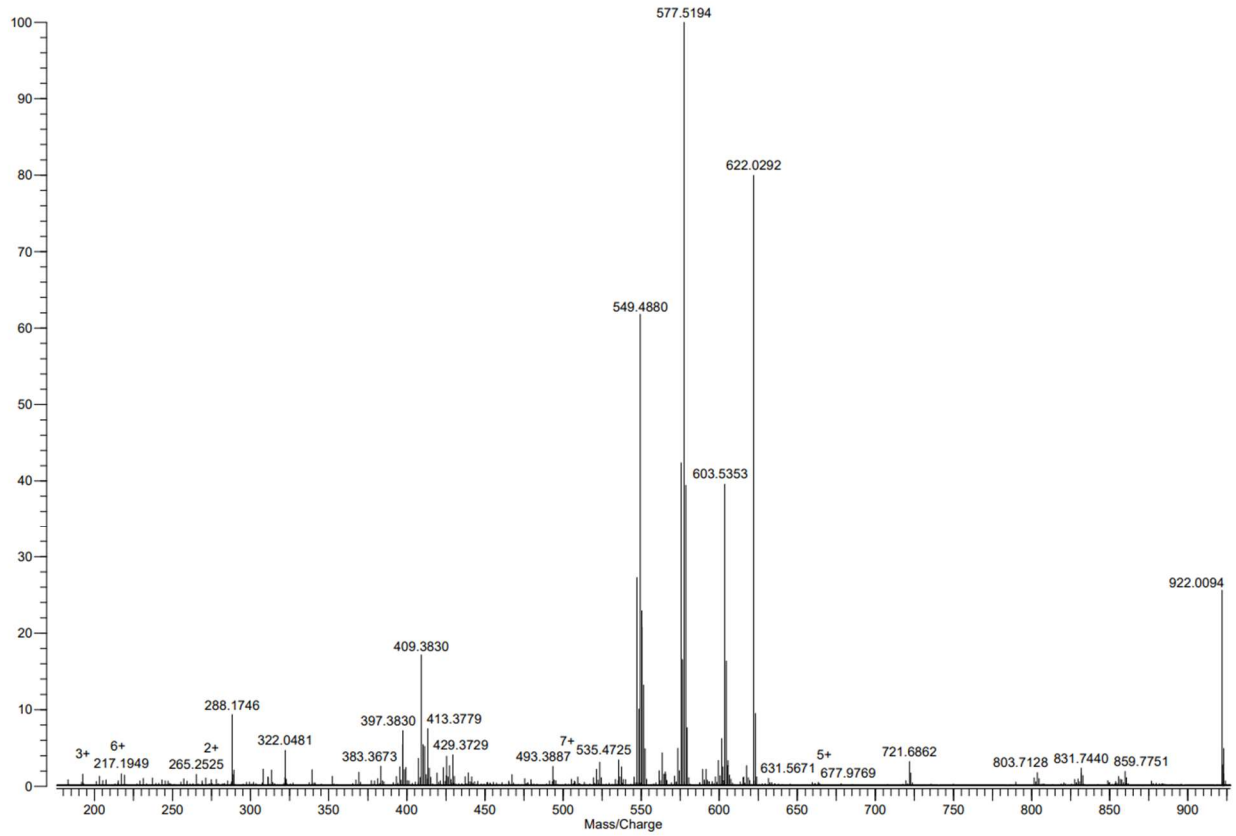
File: APCI_MTRP_20051_MeCN_calif_QTO13_LM_pos_100s_2012.trans

BasePeak:

368.388

Mode: Positive
Scans: 100
TotInt: 3332.54

Date: 08-NOV-2022
Time: 19:57:51
Scale: 0.4296



Lisa 20 nESI-ga ioniseeritud MeCN madala m/z piirkonna massispekter

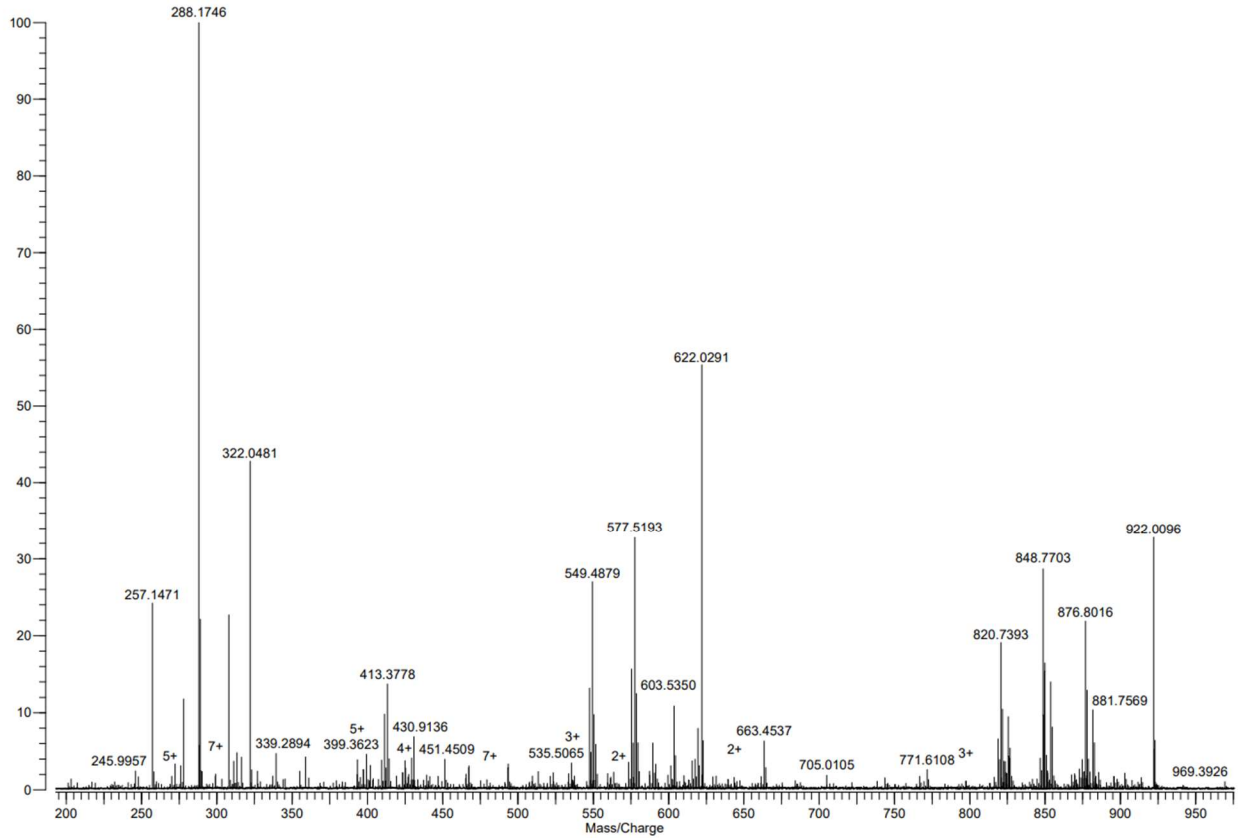
Varian 910-MS

File: nESI_MTRP_20051_MeCN_calif_QTO13_LM_pos_1712_100s.trans

BasePeak: 267.257

Mode: Positive
Scans: 100
TotInt: 3716.05

Date: 15-NOV-2022
Time: 16:57:41
Scale: 0.5898



Lisa 21 MeOH 1. kordusproovi 2. päeva madala m/z piirkonna massispekter, ioniseerimisallikaks nESI

Varian 910-MS

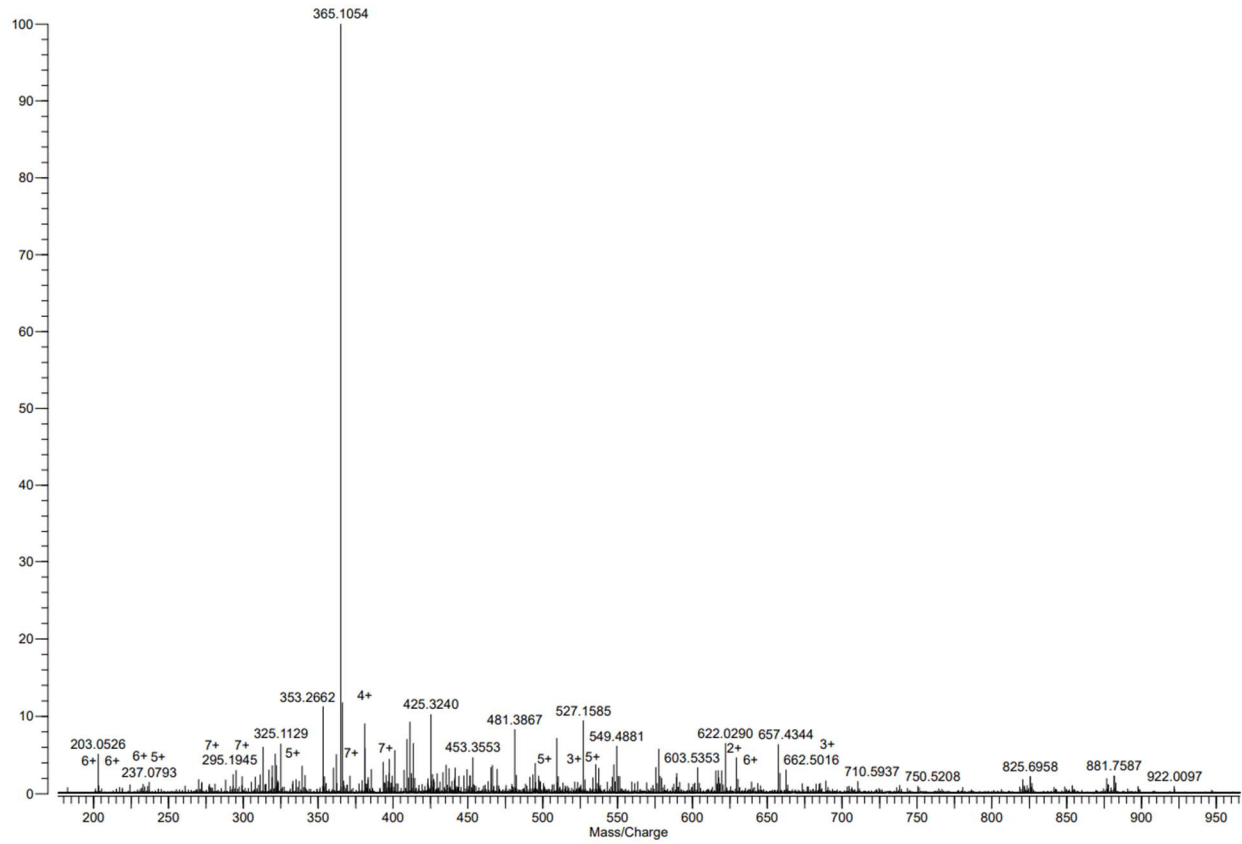
File: nESI_MTRP2005411_calif_QTO13_LM_pos_1837_200s.trans

BasePeak:

480.848

Mode: Positive
Scans: 200
TotInt: 5089.39

Date: 09-APR-2023
Time: 18:08:11
Scale: 0.3312



Lisa 22 MeOH 1. kordusproovi 3. päeva madala m/z piirkonna massispekter, ioniseerimisallikaks nESI

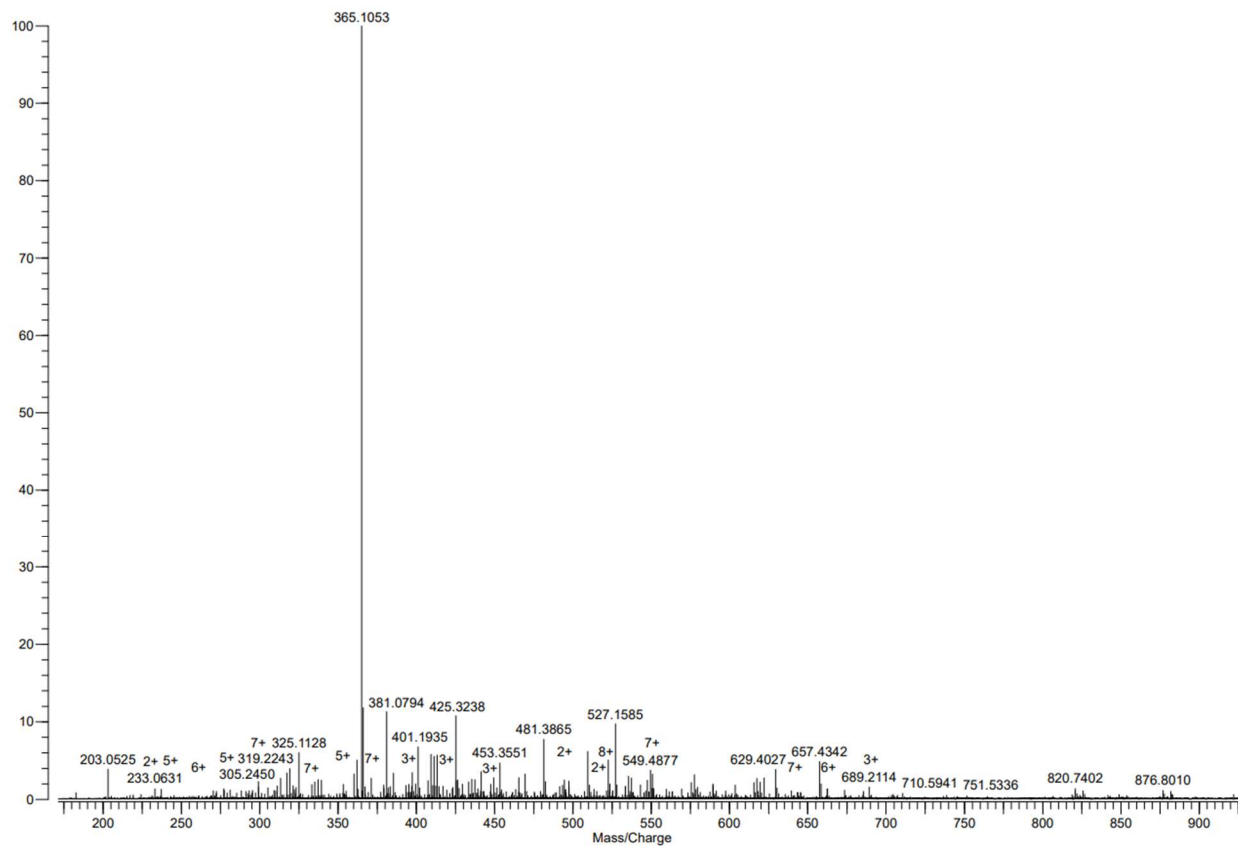
Varian 910-MS

File: nESI_MTRP2005411_calif_QTO13_LM_pos_1413_200s.trans

BasePeak: 755.959

Mode: Positive
Scans: 200
TotInt: 6562.94

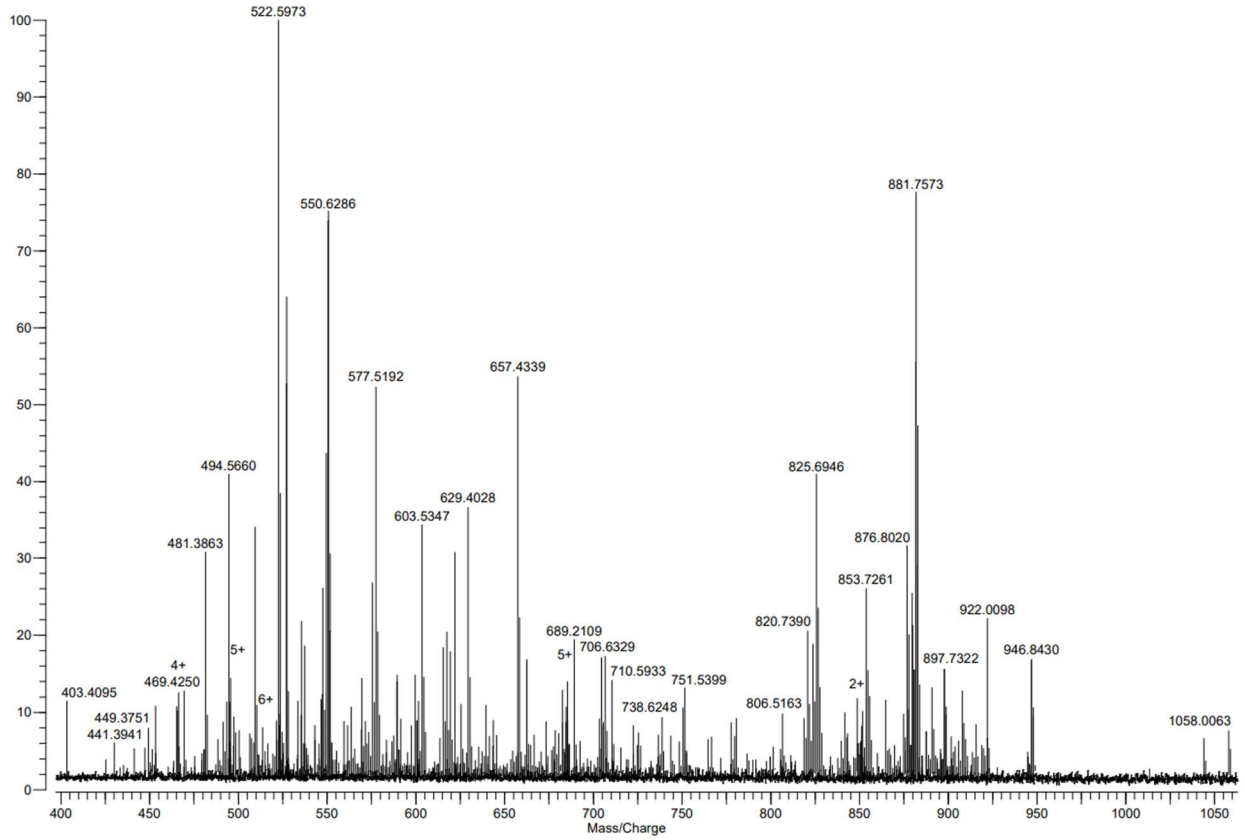
Date: 10-APR-2023
Time: 13:44:47
Scale: 0.2091



Lisa 23 MeOH 1. kordusproovi 2. päeva kõrge m/z piirkonna massispekter, ioniseerimisallikaks nESI

Varian 910-MS
File: nESI_MTRP2005411_calif_QTO16_HM_pos_2017_200s.trans

Mode: Positive
Scans: 200
TotInt: 1591.88
Date: 09-APR-2023
Time: 19:46:52
Scale: 3.3726
BasePeak: 47.126



Lisa 24 MeOH 1. kordusproovi 3. päeva kõrge m/z piirkonna massispekter, ioniseerimisalikes nESI

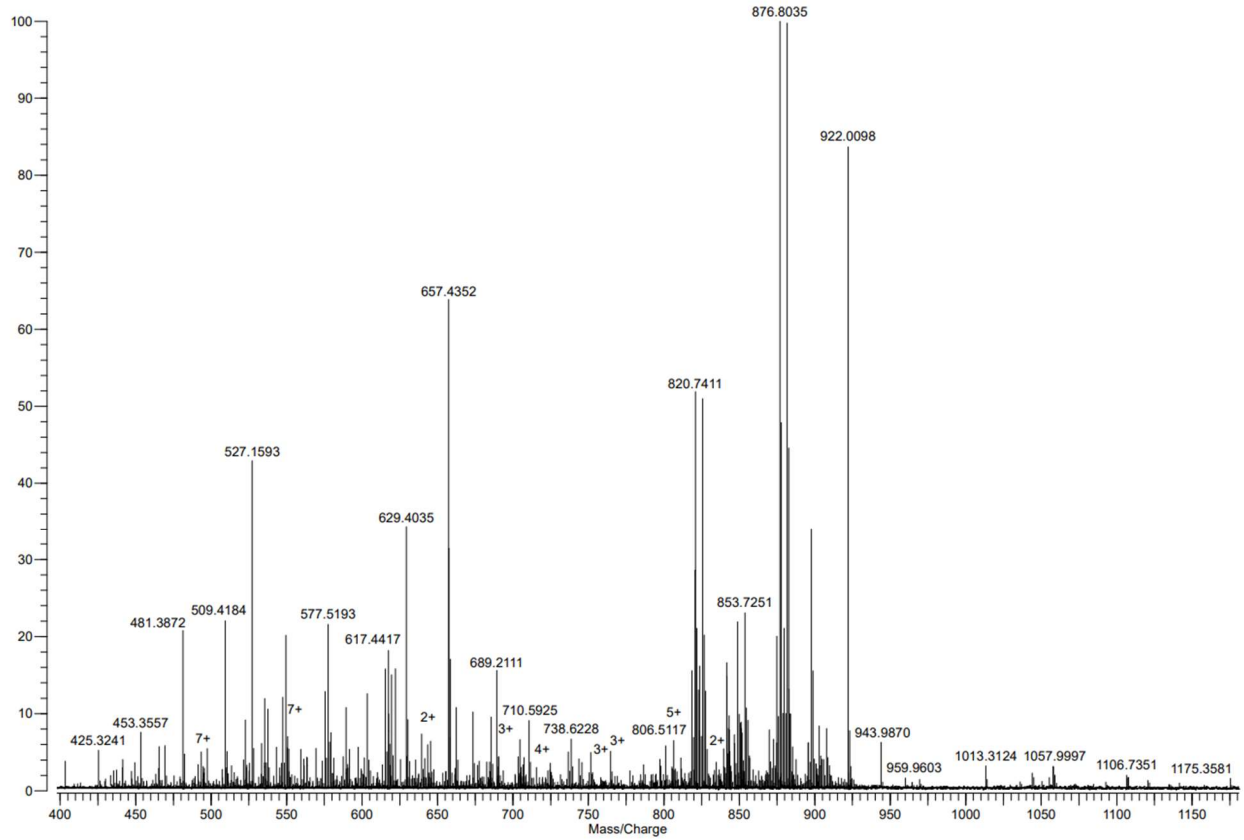
Varian 910-MS

File: nESI_MTRP2005411_calif_QTO16_HM_pos_1343_200s.trans

BasePeak: 197.799

Mode: Positive
Scans: 200
TotInt: 5511.84

Date: 10-APR-2023
Time: 13:08:45
Scale: 0.7965



Lisa 25 Kolme solvendi kokkulangevatele piikidele leitud brutovalemite vasted ja aatomite suhted. AQ – antrakinoonid, CA – karboksüülhapped, DAG – diatsüülglütseriidid, FA – rasvhapped, FAHFA – hüdroksurasvhapete estrid, HFC - fluorosüsivesinikud MAG – monoatsüülglütseriidid, PA – fosfolipiidid, ST – steroidid, TAG – triatsüülglütseriidid. Kriipsudega on tähistatud ühendid, mille aineklassi on saadaoleva info põhjal keeruline määratleda.

Mass	Δm	Iooni brutovalem	Ioniseeritud vorm	Võimalik aineklass	n(H)/n(C)	n(O)/n(C)
279,2319	0,0001	$C_{18}H_{31}O_2^+$	[M+H] ⁺	FA	1,72	0,11
293,2111	0,0000	$C_{18}H_{29}O_3^+$	[M+H] ⁺	FA, ST	1,61	0,17
297,2424	0,0001	$C_{18}H_{33}O_3^+$	[M+H] ⁺	FA, ST	1,83	0,17
297,2421	0,0002	$C_{19}H_{32}NNa^+$	[M+Na] ⁺	-	1,68	0,00
299,0614	0,0004	$C_{12}H_{16}N_2O_3PS^+$	[M+H] ⁺	Orgaaniline tiofosfaat	1,33	0,25
299,0614	0,0004	$C_{11}H_{11}N_2O_3NaF_3^+$	[M+Na] ⁺	HFC	1,00	0,27
299,1101	0,0001	$C_{12}H_{20}O_7Na^+$	[M+Na] ⁺	CA	1,67	0,58
311,2581	0,0000	$C_{19}H_{35}O_3^+$	[M+H] ⁺	FA	1,84	0,16
313,2737	0,0001	$C_{19}H_{37}O_3^+$	[M+H] ⁺	FA	1,95	0,16
319,2244	0,0001	$C_{18}H_{32}O_3Na^+$	[M+Na] ⁺	FA	1,78	0,17
319,2249	0,0004	$C_{18}H_{29}N_3O_2^+$	[M+H] ⁺	-	1,61	0,11
323,0526	0,0009	$C_{16}H_{12}O_6Na^+$	[M+Na] ⁺	Salitsülaat, AQ	0,75	0,38
323,1278	0,0002	$C_{20}H_{19}O_4^+$	[M+H] ⁺	Flavonoid, AQ	0,95	0,20
323,1271	0,0009	$C_{12}H_{23}N_2O_6S^+$	[M+H] ⁺	Peptiid	1,92	0,50
323,1285	0,0005	$C_{18}H_{21}N_2NaCl^+$	[M+Na] ⁺	Akridiin, piperasiin	1,17	0,00
323,1287	0,0007	$C_{15}H_{24}O_4SNa^+$	[M+Na] ⁺	Orgaaniline sulfaat	1,60	0,27
339,2894	0,0002	$C_{21}H_{39}O_3^+$	[M+H] ⁺	FA	1,86	0,14
353,2662	0,0001	$C_{19}H_{38}O_4Na^+$	[M+Na] ⁺	MAG	2,00	0,21
355,0689	0,0010	$C_{19}H_{12}N_2O_4Na^+$	[M+Na] ⁺	-	0,63	0,21
365,1053	0,0002	$C_{18}H_{21}O_6S^+$	[M+H] ⁺	-	1,17	0,33
365,1054	0,0001	$C_{12}H_{22}O_{11}Na^+$	[M+Na] ⁺	Disahhariid	1,83	0,92
387,1051	0,0002	$C_{13}H_{24}O_{11}P^+$	[M+H] ⁺	-	1,85	0,85
387,1050	0,0001	$C_{18}H_{20}O_8Na^+$	[M+Na] ⁺	CA	1,11	0,44
393,3152	0,0000	$C_{28}H_{41}O^+$	[M+H] ⁺	ST	1,46	0,04
399,3621	0,0001	$C_{28}H_{47}O^+$	[M+H] ⁺	ST	1,68	0,04
411,0711	0,0005	$C_{21}H_{15}O_9^+$	[M+H] ⁺	-	0,71	0,43
411,0718	0,0002	$C_{19}H_{17}N_2O_5NaCl^+$	[M+Na] ⁺	Peptiid, imidasolidiin	0,89	0,26

411,3621	0,0002	C ₂₉ H ₄₇ O ⁺	[M+H] ⁺	ST	1,62	0,03
413,3778	0,0001	C ₂₉ H ₄₉ O ⁺	[M+H] ⁺	ST	1,69	0,03
435,3597	0,0002	C ₂₉ H ₄₈ ONa ⁺	[M+Na] ⁺	ST	1,66	0,03
441,2975	0,0000	C ₂₆ H ₄₂ O ₄ Na ⁺	[M+Na] ⁺	FAHFA, ftalaat	1,62	0,15
441,2975	0,0000	C ₂₆ H ₄₀ O ₂ F ₃ ⁺	[M+H] ⁺	HFC	1,54	0,07
447,3597	0,0003	C ₃₀ H ₄₈ ONa ⁺	[M+Na] ⁺	Triterpenoid	1,60	0,03
451,4510	0,0004	C ₃₀ H ₅₉ O ₂ ⁺	[M+H] ⁺	FA ester	1,97	0,07
495,2354	0,0004	C ₂₂ H ₄₀ O ₁₀ P ⁺	[M+H] ⁺	PA	1,82	0,45
495,2353	0,0003	C ₂₇ H ₃₆ O ₇ Na ⁺	[M+Na] ⁺	ST	1,33	0,26
522,5972	0,0000	C ₃₆ H ₇₆ N ⁺	[M+H] ⁺	Amiin	2,11	0,00
547,4721	0,0001	C ₃₅ H ₆₃ O ₄ ⁺	[M+H] ⁺	DAG, FAHFA	1,80	0,11
549,4877	0,0000	C ₃₅ H ₆₅ O ₄ ⁺	[M+H] ⁺	DAG, FAHFA	1,86	0,11
551,5034	0,0004	C ₃₅ H ₆₇ O ₄ ⁺	[M+H] ⁺	DAG, FAHFA	1,91	0,11
577,5190	0,0002	C ₃₇ H ₆₉ O ₄ ⁺	[M+H] ⁺	DAG, FAHFA	1,86	0,12
579,4983	0,0002	C ₃₆ H ₆₇ O ₅ ⁺	[M+H] ⁺	DAG	1,86	0,14
603,5347	0,0004	C ₃₉ H ₇₁ O ₄ ⁺	[M+H] ⁺	DAG, FAHFA	1,82	0,10
619,4908	0,0000	C ₃₆ H ₆₈ O ₆ Na ⁺	[M+Na] ⁺	TAG	1,89	0,17
876,8015	0,0000	C ₅₅ H ₁₀₆ NO ₆ ⁺	[M+H] ⁺	Amiid	1,93	0,11

Lisa 26 MeCN kolme ekstrakti 110 intensiivseimale piigile leitud brutovalemite vasted ja aatomite suhted. AQ – antrakinoonid, CA – karboksüülhapped, DAG – diatsüülgütseriidid, FA – rasvhapped, FAHFA – hüdroksurasvhapete estrid, HFC – fluorosüsivesinikud, MAG – monoatsüülgütseriidid, PA – fosfolipiidid, SQ – seskviterpenoidid, ST – steroidid, TAG – triatsüülgütseriidid. Kriipsudega on tähistatud ühendid, mille aineklassi on saadaoleva info põhjal keeruline määratleda.

Mass	Δm	Iooni brutovalem	Ioniseeritud vorm	Võimalik aineklass	n(H)/n(C)	n(O)/n(C)
141,0710	0,0005	C ₈ H ₁₀ OF ⁺	[M+H] ⁺	Alkohol	1,25	0,13
141,0708	0,0007	C ₆ H ₁₄ SNa ⁺	[M+Na] ⁺	Orgaaniline sulfiid	2,33	0,00
144,9816	0,0005	C ₂ H ₇ O ₃ PCl ⁺	[M+H] ⁺	Klorofosfaat	3,50	1,50
155,0703	0,0001	C ₈ H ₁₁ O ₃ ⁺	[M+H] ⁺	Fenool, CA anhüdriid, furoaat	1,38	0,38
156,0420	0,0001	C ₃ H ₁₁ NO ₄ P ⁺	[M+H] ⁺	Aminofosfaat	3,67	1,33
156,0420	0,0001	C ₈ H ₇ NONa ⁺	[M+Na] ⁺	Bensoaksooli derivaat	0,88	0,13
182,1903	0,0000	C ₁₂ H ₂₄ N ⁺	[M+H] ⁺	Amiin, nitritil	2,00	0,00
221,0355	0,0009	C ₈ H ₁₀ N ₂ O ₂ SNa ⁺	[M+Na] ⁺	-	1,25	0,25
223,0325	0,0002	C ₇ H ₈ N ₂ O ₅ Na ⁺	[M+Na] ⁺	Nitrofuraan	1,14	0,71
223,9835	0,0000	C ₃ H ₇ NO ₇ SNa ⁺	[M+Na] ⁺	Aminohape	2,33	2,33
241,1070	0,0001	C ₁₂ H ₁₇ O ₅ ⁺	[M+H] ⁺	Polüketiid, glükosiid	1,42	0,42
245,9960	0,0004	C ₆ H ₁₀ NO ₄ PSNa ⁺	[M+Na] ⁺	-	1,67	0,67
275,2006	0,0002	C ₁₈ H ₂₇ O ₂ ⁺	[M+H] ⁺	FA, ST	1,50	0,11
279,2319	0,0000	C ₁₈ H ₃₁ O ₂ ⁺	[M+H] ⁺	FA	1,72	0,11
281,0988	0,0008	C ₁₀ H ₂₁ N ₂ O ₃ S ₂ ⁺	[M+H] ⁺	CA	2,10	0,30
281,0996	0,0000	C ₁₂ H ₁₈ O ₆ Na ⁺	[M+Na] ⁺	Peptiid	1,50	0,50
288,2897	0,0001	C ₁₇ H ₃₈ NO ₂ ⁺	[M+H] ⁺	Amiin	2,24	0,12
293,2111	0,0002	C ₁₈ H ₂₉ O ₃ ⁺	[M+H] ⁺	FA, ST	1,61	0,17
297,0870	0,0001	C ₁₆ H ₁₃ N ₂ O ₄ ⁺	[M+H] ⁺	-	0,81	0,25
297,2424	0,0002	C ₁₈ H ₃₃ O ₃ ⁺	[M+H] ⁺	FA, ST	1,83	0,17
297,2421	0,0001	C ₁₉ H ₃₂ NNa ⁺	[M+Na] ⁺	-	1,68	0,00
299,0614	0,0004	C ₁₂ H ₁₆ N ₂ O ₃ PS ⁺	[M+H] ⁺	Orgaaniline tiofosfaat	1,33	0,25
299,0614	0,0004	C ₁₁ H ₁₁ N ₂ O ₃ NaF ₃ ⁺	[M+Na] ⁺	HFC	1,00	0,27
311,2581	0,0000	C ₁₉ H ₃₅ O ₃ ⁺	[M+H] ⁺	FA	1,84	0,16
313,2737	0,0001	C ₁₉ H ₃₇ O ₃ ⁺	[M+H] ⁺	FA	1,95	0,16
316,3210	0,0001	C ₁₉ H ₄₂ NO ₂ ⁺	[M+H] ⁺	Aminoalkohol	2,21	0,12
319,2249	0,0004	C ₁₈ H ₂₉ N ₃ O ₂ ⁺	[M+H] ⁺	-	1,61	0,11
319,2244	0,0001	C ₁₈ H ₃₂ O ₃ Na ⁺	[M+Na] ⁺	FA	1,78	0,17
323,0526	0,0008	C ₁₆ H ₁₂ O ₆ Na ⁺	[M+Na] ⁺	Salitsülaad, AQ	0,75	0,38
323,1278	0,0005	C ₂₀ H ₁₉ O ₄ ⁺	[M+H] ⁺	Flavonoid, AQ	0,95	0,20

323,1285	0,0002	C ₁₈ H ₂₁ N ₂ NaCl ⁺	[M+Na] ⁺	Akridiin, piperasiin	1,17	0,00
323,1287	0,0004	C ₁₅ H ₂₄ O ₄ SNa ⁺	[M+Na] ⁺	Orgaaniline sulfaat	1,60	0,27
327,1439	0,0000	C ₁₆ H ₂₃ O ₇ ⁺	[M+H] ⁺	Polüketiid	1,44	0,44
327,1441	0,0002	C ₁₇ H ₂₂ NO ₄ Na ⁺	[M+Na] ⁺	Alkaloid	1,29	0,24
339,2894	0,0001	C ₂₁ H ₃₉ O ₃ ⁺	[M+H] ⁺	FA	1,86	0,14
345,1543	0,0000	C ₁₆ H ₂₅ O ₈ ⁺	[M+H] ⁺	Glükosiid	1,57	0,50
345,1533	0,0010	C ₁₅ H ₂₂ N ₄ O ₄ Na ⁺	[M+Na] ⁺	Alkaloid	1,47	0,27
353,2686	0,0001	C ₂₁ H ₃₇ O ₄ ⁺	[M+H] ⁺	MAG, ST	1,76	0,19
355,0689	0,0009	C ₁₉ H ₁₂ N ₂ O ₄ Na ⁺	[M+Na] ⁺	-	0,63	0,21
356,0710	0,0008	C ₁₆ H ₂₂ NNaCl ₃ ⁺	[M+Na] ⁺	SQ	1,38	0,00
359,0293	0,0007	C ₁₆ H ₁₃ O ₆ NaCl ⁺	[M+Na] ⁺	Antotsüaniin	0,81	0,38
367,1363	0,0001	C ₁₆ H ₂₄ O ₈ Na ⁺	[M+Na] ⁺	Glükosiid	1,50	0,50
371,1139	0,0008	C ₂₁ H ₁₅ N ₄ O ₃ ⁺	[M+H] ⁺	-	0,71	0,14
371,1148	0,0001	C ₁₆ H ₂₀ N ₄ O ₃ SNa ⁺	[M+Na] ⁺	Sulfoonamiid	1,25	0,19
387,1050	0,0002	C ₁₈ H ₂₀ O ₈ Na ⁺	[M+Na] ⁺	-	1,11	0,44
387,1051	0,0003	C ₁₃ H ₂₄ O ₁₁ P ⁺	[M+H] ⁺	CA	1,85	0,85
393,3152	0,0001	C ₂₈ H ₄₁ O ⁺	[M+H] ⁺	ST	1,46	0,04
399,3621	0,0001	C ₂₈ H ₄₇ O ⁺	[M+H] ⁺	ST	1,68	0,04
402,9838	0,0004	C ₁₅ H ₁₉ O ₂ NaCl ₂ ⁺	[M+Na] ⁺	-	1,27	0,13
403,3910	0,0002	C ₂₆ H ₅₂ ONa ⁺	[M+Na] ⁺	Rasvkarbonüül	2,00	0,04
410,0723	0,0005	C ₁₄ H ₁₆ N ₃ O ₆ PF ₃ ⁺	[M+H] ⁺	HFC	1,14	0,43
410,0717	0,0001	C ₁₀ H ₁₉ N ₇ O ₅ NaCl ₂ ⁺	[M+Na] ⁺	-	1,90	0,50
411,0711	0,0004	C ₂₁ H ₁₅ O ₉ ⁺	[M+H] ⁺	Flavonoid	0,71	0,43
411,0718	0,0003	C ₁₉ H ₁₇ N ₂ O ₅ NaCl ⁺	[M+Na] ⁺	Peptiid, imidasolidiin	0,89	0,26
411,3621	0,0002	C ₂₉ H ₄₇ O ⁺	[M+H] ⁺	ST	1,62	0,03
412,0706	0,0002	C ₁₂ H ₂₃ NO ₉ S ₂ Na ⁺	[M+Na] ⁺	Glükosiid	1,92	0,75
413,0682	0,0007	C ₂₁ H ₂₀ O ₃ NaCl ₂ ⁺	[M+Na] ⁺	Püretroid	0,95	0,14
413,1806	0,0001	C ₂₀ H ₂₉ O ₉ ⁺	[M+H] ⁺	Triterpenoid	1,45	0,45
413,3778	0,0001	C ₂₉ H ₄₉ O ⁺	[M+H] ⁺	ST	1,69	0,03
415,0666	0,0009	C ₂₀ H ₂₀ N ₂ ⁺	[M+H] ⁺	-	1,00	0,00
415,2115	0,0000	C ₂₄ H ₃₁ O ₆ ⁺	[M+H] ⁺	ST	1,29	0,25
415,2122	0,0007	C ₁₇ H ₃₁ N ₆ O ₄ S ⁺	[M+H] ⁺	Peptiid	1,82	0,24
415,2112	0,0003	C ₂₅ H ₃₀ NO ₃ Na ⁺	[M+Na] ⁺	-	1,20	0,12
415,2123	0,0008	C ₂₂ H ₃₃ N ₂ O ₂ NaCl ⁺	[M+Na] ⁺	Diterpenoid	1,50	0,09
416,2156	0,0008	C ₂₀ H ₃₁ N ₃ O ₅ Na ⁺	[M+Na] ⁺	Peptiid	1,55	0,25
424,9958	0,0006	C ₁₅ H ₂₃ O ₄ ⁺	[M+H] ⁺	SQ	1,53	0,27
430,0485	0,0003	C ₁₆ H ₁₈ N ₅ O ₃ Na ⁺	[M+Na] ⁺	-	1,13	0,19
430,0484	0,0004	C ₂₂ H ₁₅ N ₃ ONaCl ₂ ⁺	[M+Na] ⁺	-	0,68	0,05
431,1912	0,0002	C ₂₀ H ₃₁ O ₁₀ ⁺	[M+H] ⁺	Flavonoid, FA	1,55	0,50
431,1901	0,0009	C ₁₉ H ₂₈ N ₄ O ₆ Na ⁺	[M+Na] ⁺	Peptiid	1,47	0,32
432,2381	0,0001	C ₂₄ H ₃₄ NO ₆ ⁺	[M+H] ⁺	-	1,42	0,25
437,1935	0,0000	C ₂₄ H ₃₀ O ₆ Na ⁺	[M+Na] ⁺	ST	1,25	0,25
437,1941	0,0006	C ₁₇ H ₃₀ N ₆ O ₄ SNa ⁺	[M+Na] ⁺	Peptiid	1,76	0,24

439,3418	0,0005	C ₂₆ H ₄₇ O ₅ ⁺	[M+H] ⁺	ST	1,81	0,19
445,1192	0,0010	C ₂₃ H ₂₂ N ₂ O ₄ SNa ⁺	[M+Na] ⁺	Malonaat	0,96	0,17
451,4510	0,0008	C ₃₀ H ₅₉ O ₂ ⁺	[M+H] ⁺	FA ester	1,97	0,07
453,1731	0,0002	C ₂₀ H ₃₀ O ₁₀ Na ⁺	[M+Na] ⁺	Flavonoid, FA	1,50	0,50
453,3574	0,0002	C ₂₇ H ₄₉ O ₅ ⁺	[M+H] ⁺	ST	1,81	0,19
467,3731	0,0000	C ₂₈ H ₅₁ O ₅ ⁺	[M+H] ⁺	ST	1,82	0,18
479,3731	0,0003	C ₂₉ H ₅₁ O ₅ ⁺	[M+H] ⁺	ST	1,76	0,17
481,3887	0,0005	C ₂₉ H ₅₃ O ₅ ⁺	[M+H] ⁺	ST	1,83	0,17
493,3524	0,0001	C ₂₉ H ₄₉ O ₆ ⁺	[M+H] ⁺	ST	1,69	0,21
493,3887	0,0000	C ₃₀ H ₅₃ O ₅ ⁺	[M+H] ⁺	ST	1,77	0,17
507,3680	0,0002	C ₃₀ H ₅₁ O ₆ ⁺	[M+H] ⁺	ST	1,70	0,20
517,2958	0,0002	C ₂₈ H ₄₆ O ₅ S ⁺	[M+H] ⁺	-	1,64	0,19
517,2948	0,0008	C ₃₃ H ₄₁ O ₅ ⁺	[M+H] ⁺	CA	1,24	0,15
517,2958	0,0002	C ₂₈ H ₄₆ O ₅ SNa ⁺	[M+Na] ⁺	ST	1,64	0,18
518,2989	0,0006	C ₂₉ H ₄₁ N ₃ O ₄ Na ⁺	[M+Na] ⁺	Peptiid	1,41	0,14
519,2952	0,0006	C ₂₉ H ₄₃ O ₈ ⁺	[M+H] ⁺	ST	1,48	0,28
519,2966	0,0008	C ₃₀ H ₃₉ N ₄ O ₄ ⁺	[M+H] ⁺	Tsüklopeptiidalkaloid	1,30	0,13
522,5972	0,0001	C ₃₆ H ₇₆ N ⁺	[M+H] ⁺	Amiin	2,11	0,00
533,2909	0,0004	C ₃₀ H ₄₂ O ₇ F ⁺	[M+H] ⁺	ST	1,40	0,23
533,2907	0,0006	C ₂₈ H ₄₆ O ₆ S ⁺	[M+H] ⁺	-	1,64	0,21
533,2907	0,0006	C ₂₈ H ₄₆ O ₆ SNa ⁺	[M+Na] ⁺	ST	1,64	0,21
535,2902	0,0008	C ₂₉ H ₄₃ O ₉ ⁺	[M+H] ⁺	ST	1,48	0,31
535,2891	0,0003	C ₂₈ H ₄₀ N ₄ O ₅ Na ⁺	[M+Na] ⁺	-	1,42	0,18
539,2112	0,0008	C ₂₅ H ₃₂ N ₄ O ₈ Na ⁺	[M+Na] ⁺	Alkaloid	1,28	0,32
539,2099	0,0005	C ₂₄ H ₃₆ O ₁₂ Na ⁺	[M+Na] ⁺	ST	1,50	0,50
547,4721	0,0001	C ₃₅ H ₆₃ O ₄ ⁺	[M+H] ⁺	DAG, FAHFA	1,80	0,11
549,4877	0,0001	C ₃₅ H ₆₅ O ₄ ⁺	[M+H] ⁺	DAG, FAHFA	1,86	0,11
551,5034	0,0007	C ₃₅ H ₆₇ O ₄ ⁺	[M+H] ⁺	DAG, FAHFA	1,91	0,11
561,4513	0,0001	C ₃₅ H ₆₁ O ₅ ⁺	[M+H] ⁺	DAG	1,74	0,14
563,4670	0,0004	C ₃₅ H ₆₃ O ₅ ⁺	[M+H] ⁺	DAG	1,80	0,14
563,4683	0,0009	C ₃₆ H ₅₉ N ₄ O ⁺	[M+H] ⁺	-	1,64	0,03
575,5034	0,0002	C ₃₇ H ₆₇ O ₄ ⁺	[M+H] ⁺	DAG, FAHFA	1,81	0,11
577,5190	0,0004	C ₃₇ H ₆₉ O ₄ ⁺	[M+H] ⁺	DAG, FAHFA	1,86	0,11
579,4983	0,0004	C ₃₆ H ₆₇ O ₅ ⁺	[M+H] ⁺	DAG, FAHFA	1,86	0,14
589,4826	0,0008	C ₃₇ H ₆₅ O ₅ ⁺	[M+H] ⁺	DAG	1,76	0,14
591,4983	0,0002	C ₃₇ H ₆₇ O ₅ ⁺	[M+H] ⁺	DAG	1,81	0,14
593,5139	0,0007	C ₃₇ H ₆₉ O ₅ ⁺	[M+H] ⁺	DAG	1,86	0,14
601,5190	0,0000	C ₃₉ H ₆₉ O ₄ ⁺	[M+H] ⁺	DAG, FAHFA	1,77	0,10
603,5347	0,0006	C ₃₉ H ₇₁ O ₄ ⁺	[M+H] ⁺	DAG, FAHFA	1,82	0,10
605,4765	0,0001	C ₃₆ H ₆₂ N ₄ O ₂ Na ⁺	[M+Na] ⁺	Amiin	1,72	0,06
613,4802	0,0001	C ₃₇ H ₆₆ O ₅ Na ⁺	[M+Na] ⁺	DAG	1,78	0,14
615,4983	0,0004	C ₃₉ H ₆₇ O ₅ ⁺	[M+H] ⁺	DAG	1,72	0,13
617,5139	0,0000	C ₃₉ H ₆₉ O ₅ ⁺	[M+H] ⁺	DAG	1,77	0,13

619,4908	0,0002	$C_{36}H_{68}O_6Na^+$	$[M+Na]^+$	TAG	1,89	0,17
619,5296	0,0005	$C_{39}H_{71}O_5^+$	$[M+H]^+$	DAG	1,82	0,13
625,2467	0,0003	$C_{28}H_{42}O_{14}Na^+$	$[M+Na]^+$	FA	1,50	0,50
631,4908	0,0010	$C_{37}H_{68}O_6Na^+$	$[M+Na]^+$	TAG	1,84	0,16
633,5089	0,0003	$C_{39}H_{69}O_6^+$	$[M+H]^+$	TAG	1,77	0,15
657,5065	0,0001	$C_{39}H_{70}O_6Na^+$	$[M+Na]^+$	TAG, ST	1,79	0,15
673,5014	0,0009	$C_{39}H_{70}O_7Na^+$	$[M+Na]^+$	DAG	1,79	0,18
876,8015	0,0004	$C_{55}H_{106}NO_6^+$	$[M+H]^+$	Amiid	1,93	0,11

Lisa 27 MeOH kolme ekstrakti 110 intensiivseimale piigile leitud brutovalemite vasted ja aatomite suhted. AQ – antrakinoonid, CA – karboksüülhapped, DAG – diatsüülglütseriidid, DGTS – diatsüültrimetüülseriin, FA – rasvhapped, FAHFA – hüdroksurasvhapete estrid, HFC – fluorosüsivesinikud, MAG – monoatsüülglütseriidid, MGCC – glütserolipiidid, PA – fosfolipiidid, SQ – seskviterpenoidid, ST – steroidid, TAG – triatsüülglütseriidid. Kriipsudega on tähistatud ühendid, mille aineklassi on saadaoleva info põhjal keeruline määratleda.

Mass	Δm	Iooni brutovalem	Ioniseeritud vorm	Võimalik aineklass	n(H)/n(C)	n(O)/n(C)
177,0546	0,0000	$C_{10}H_9O_3^+$	[M+H] ⁺	Kumariin, CA, furaan	0,90	0,30
193,0859	0,0000	$C_{11}H_{13}O_3^+$	[M+H] ⁺	CA	1,18	0,27
193,0862	0,0003	$C_{12}H_{12}NNa^+$	[M+Na] ⁺	-	1,00	0,00
203,0526	0,0001	$C_6H_{12}O_6Na^+$	[M+Na] ⁺	Monosahhariid	2,00	1,00
203,0525	0,0002	$C_{12}H_{11}OS^+$	[M+H] ⁺	Naftaleen, tiofeen	0,92	0,08
203,1794	0,0000	$C_{15}H_{23}^+$	[M+H] ⁺	Terpeen	1,53	0,00
224,2009	0,0000	$C_{14}H_{26}NO^+$	[M+H] ⁺	Alkaloid	1,86	0,07
232,1696	0,0001	$C_{15}H_{22}NO^+$	[M+H] ⁺	Alkaloid	1,47	0,07
237,0791	0,0003	$C_9H_{17}O_5S^+$	[M+H] ⁺	CA, furaan, orgaaniline sulfiid	1,89	0,56
237,0800	0,0006	$C_{10}H_{21}S_3^+$	[M+H] ⁺	Tiolaan	2,10	0,00
270,1852	0,0001	$C_{18}H_{24}NO^+$	[M+H] ⁺	Amiin	1,33	0,06
272,2009	0,0001	$C_{18}H_{26}NO^+$	[M+H] ⁺	Rasvamiid	1,44	0,06
272,2584	0,0001	$C_{16}H_{34}NO_2^+$	[M+H] ⁺	Aminohape, rasvamiid, sfingosiid	2,13	0,13
277,1434	0,0000	$C_{16}H_{21}O_4^+$	[M+H] ⁺	FA, SQ	1,31	0,25
277,2162	0,0002	$C_{18}H_{29}O_2^+$	[M+H] ⁺	FA, ST	1,61	0,11
279,2319	0,0001	$C_{18}H_{31}O_2^+$	[M+H] ⁺	FA	1,72	0,11
288,1958	0,0000	$C_{18}H_{26}NO_2^+$	[M+H] ⁺	ST, alkaloid	1,44	0,11
291,1931	0,0002	$C_{16}H_{28}O_3Na^+$	[M+Na] ⁺	FA	1,75	0,19
293,2111	0,0002	$C_{18}H_{29}O_3^+$	[M+H] ⁺	FA, ST	1,61	0,17
295,2268	0,0000	$C_{18}H_{31}O_3^+$	[M+H] ⁺	FA	1,72	0,17
295,2270	0,0002	$C_{19}H_{30}NNa^+$	[M+Na] ⁺	-	1,58	0,00
297,2424	0,0000	$C_{18}H_{33}O_3^+$	[M+H] ⁺	FA, ST	1,83	0,17
297,2421	0,0003	$C_{19}H_{32}NNa^+$	[M+Na] ⁺	-	1,68	0,00
299,0614	0,0003	$C_{12}H_{16}N_2O_3PS^+$	[M+H] ⁺	Orgaaniline tiofosfaat	1,33	0,25
299,0614	0,0003	$C_{11}H_{11}N_2O_3NaF_3^+$	[M+Na] ⁺	HFC	1,00	0,27
299,1101	0,0000	$C_{12}H_{20}O_7Na^+$	[M+Na] ⁺	CA	1,67	0,58

299,2581	0,0000	C ₁₈ H ₃₅ O ₃ ⁺	[M+H] ⁺	FA	1,94	0,17
301,1410	0,0001	C ₁₆ H ₂₂ O ₄ Na ⁺	[M+Na] ⁺	FA, FAHFA, terpenoid, ftalaat	1,38	0,25
301,1407	0,0004	C ₁₄ H ₁₇ N ₆ O ₂ ⁺	[M+H] ⁺	-	1,21	0,14
305,2451	0,0001	C ₁₈ H ₃₄ O ₂ Na ⁺	[M+Na] ⁺	FA	1,89	0,11
309,2036	0,0001	C ₁₆ H ₃₀ O ₄ Na ⁺	[M+Na] ⁺	FA	1,88	0,25
309,2036	0,0001	C ₁₆ H ₂₈ O ₂ F ₃ ⁺	[M+H] ⁺	FA ester	1,75	0,13
309,2041	0,0004	C ₁₆ H ₂₇ N ₃ O ₃ ⁺	[M+H] ⁺	-	1,69	0,19
311,2581	0,0000	C ₁₉ H ₃₅ O ₃ ⁺	[M+H] ⁺	FA	1,84	0,16
313,2737	0,0001	C ₁₉ H ₃₇ O ₃ ⁺	[M+H] ⁺	FA	1,95	0,16
317,2087	0,0000	C ₁₈ H ₃₀ O ₃ Na ⁺	[M+Na] ⁺	FA	1,67	0,17
319,2244	0,0000	C ₁₈ H ₃₂ O ₃ Na ⁺	[M+Na] ⁺	FA	1,78	0,17
319,2249	0,0005	C ₁₈ H ₂₉ N ₃ O ₂ ⁺	[M+H] ⁺	-	1,61	0,11
321,2400	0,0000	C ₁₈ H ₃₄ O ₃ Na ⁺	[M+Na] ⁺	FA	1,89	0,17
323,1278	0,0001	C ₂₀ H ₁₉ O ₄ ⁺	[M+H] ⁺	Flavonoid, AQ	0,95	0,20
323,1271	0,0006	C ₁₂ H ₂₃ N ₂ O ₆ S ⁺	[M+H] ⁺	Peptiid	1,92	0,50
323,1285	0,0008	C ₁₈ H ₂₁ N ₂ NaCl ⁺	[M+Na] ⁺	Akridiin, piperasiin	1,17	0,00
323,1267	0,0010	C ₁₉ H ₁₆ N ₄ Na ⁺	[M+Na] ⁺	Tetrapürrool	0,84	0,00
325,1129	0,0001	C ₁₂ H ₂₁ O ₁₀ ⁺	[M+H] ⁺	Disahhariid	1,75	0,83
333,2036	0,0000	C ₁₈ H ₃₀ O ₄ Na ⁺	[M+Na] ⁺	FA, SQ	1,67	0,22
335,2193	0,0001	C ₁₈ H ₃₂ O ₄ Na ⁺	[M+Na] ⁺	FA	1,78	0,22
337,2349	0,0001	C ₁₈ H ₃₄ O ₄ Na ⁺	[M+Na] ⁺	FA	1,89	0,22
337,2737	0,0002	C ₂₁ H ₃₇ O ₃ ⁺	[M+H] ⁺	FA, ST	1,76	0,14
339,2894	0,0002	C ₂₁ H ₃₉ O ₃ ⁺	[M+H] ⁺	FA	1,86	0,14
353,2662	0,0003	C ₁₉ H ₃₈ O ₄ Na ⁺	[M+Na] ⁺	MAG	2,00	0,21
360,1495	0,0006	C ₂₅ H ₁₈ N ₃ ⁺	[M+H] ⁺	Turbomütsiin	0,72	0,00
361,1540	0,0006	C ₁₄ H ₂₅ N ₄ O ₅ S ⁺	[M+H] ⁺	Peptiid	1,79	0,36
362,0964	0,0006	C ₁₆ H ₂₁ N ₅ ⁺	[M+H] ⁺	-	1,31	0,00
365,1053	0,0002	C ₁₈ H ₂₁ O ₆ S ⁺	[M+H] ⁺	-	1,17	0,33
365,1054	0,0001	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁ Na ⁺	[M+Na] ⁺	Disahhariid	1,83	0,92
371,1012	0,0001	C ₁₀ H ₃₁ O ₅ ⁺	[M+H] ⁺	-	3,10	0,50
371,1012	0,0001	C ₁₄ H ₂₂ N ₄ O ₂ NaCl ₂ ⁺	[M+Na] ⁺	Piperasiin	1,57	0,14
371,1829	0,0001	C ₂₀ H ₂₈ O ₅ Na ⁺	[M+Na] ⁺	ST, diterpenoid	1,40	0,25
371,1826	0,0004	C ₁₈ H ₂₃ N ₆ O ₃ ⁺	[M+H] ⁺	-	1,28	0,17
379,2115	0,0002	C ₂₁ H ₃₁ O ₆ ⁺	[M+H] ⁺	ST, triterpenoid	1,48	0,29
379,2819	0,0001	C ₂₁ H ₄₀ O ₄ Na ⁺	[M+Na] ⁺	FA, MAG	1,90	0,19
379,3183	0,0002	C ₂₂ H ₄₄ O ₃ Na ⁺	[M+Na] ⁺	FA	2,00	0,14
379,3180	0,0001	C ₂₀ H ₃₉ N ₆ O ⁺	[M+H] ⁺	Alkaloid	1,95	0,05
381,0792	0,0003	C ₁₅ H ₁₈ O ₁₀ Na ⁺	[M+Na] ⁺	Ketoon	1,20	0,67
382,0832	0,0005	C ₁₇ H ₁₅ N ₃ O ₂ SF ₃ ⁺	[M+H] ⁺	HFC	0,88	0,12
382,0832	0,0005	C ₁₆ H ₁₈ N ₅ O ₂ Cl ₂ ⁺	[M+H] ⁺	-	1,13	0,13

385,3312	0,0001	C ₂₃ H ₄₅ O ₄ ⁺	[M+H] ⁺	FA	1,96	0,17
385,3465	0,0000	C ₂₇ H ₄₅ O ⁺	[M+H] ⁺	ST	1,67	0,04
393,3152	0,0001	C ₂₈ H ₄₁ O ⁺	[M+H] ⁺	ST	1,46	0,04
396,2381	0,0002	C ₂₁ H ₃₄ NO ₆ ⁺	[M+H] ⁺	SQ	1,62	0,29
397,3465	0,0000	C ₂₈ H ₄₅ O ⁺	[M+H] ⁺	ST	1,61	0,04
399,3621	0,0002	C ₂₈ H ₄₇ O ⁺	[M+H] ⁺	ST	1,68	0,04
401,1935	0,0000	C ₁₆ H ₃₄ O ₉ P ⁺	[M+H] ⁺	PA	2,13	0,56
401,1935	0,0000	C ₂₁ H ₃₀ O ₆ Na ⁺	[M+Na] ⁺	ST	1,43	0,29
407,3496	0,0001	C ₂₄ H ₄₈ O ₃ Na ⁺	[M+Na] ⁺	FA	2,00	0,13
409,3465	0,0001	C ₂₉ H ₄₅ O ⁺	[M+H] ⁺	ST	1,55	0,03
409,3829	0,0000	C ₃₀ H ₄₉ ⁺	[M+H] ⁺	Terpeen	1,63	0,00
411,3621	0,0001	C ₂₉ H ₄₇ O ⁺	[M+H] ⁺	ST	1,62	0,03
413,3625	0,0006	C ₂₅ H ₄₉ O ₄ ⁺	[M+H] ⁺	MAG, FAHFA	1,96	0,16
413,3778	0,0000	C ₂₉ H ₄₉ O ⁺	[M+H] ⁺	ST	1,69	0,03
417,1675	0,0003	C ₂₀ H ₃₀ O ₇ Cl ⁺	[M+H] ⁺	Asafiloon	1,50	0,35
417,1672	0,0000	C ₂₄ H ₂₆ O ₅ Na ⁺	[M+Na] ⁺	Ksantoon	1,08	0,21
417,1664	0,0008	C ₁₉ H ₂₇ N ₄ O ₃ NaCl ⁺	[M+Na] ⁺	-	1,42	0,16
419,3156	0,0001	C ₂₆ H ₄₃ O ₄ ⁺	[M+H] ⁺	FA, ST, ftalaat	1,65	0,15
423,3621	0,0002	C ₃₀ H ₄₇ O ⁺	[M+H] ⁺	ST	1,57	0,03
423,4197	0,0003	C ₂₈ H ₅₅ O ₂ ⁺	[M+H] ⁺	FA	1,96	0,07
425,1965	0,0007	C ₁₈ H ₂₉ N ₆ O ₄ S ⁺	[M+H] ⁺	Peptiid	1,61	0,22
425,1959	0,0001	C ₂₅ H ₂₉ O ₆ ⁺	[M+H] ⁺	Flavonoid	1,16	0,24
425,3778	0,0000	C ₃₀ H ₄₉ O ⁺	[M+H] ⁺	ST	1,63	0,03
425,3989	0,0000	C ₂₇ H ₅₃ O ₃ ⁺	[M+H] ⁺	FA	1,96	0,11
427,3571	0,0001	C ₂₉ H ₄₇ O ₂ ⁺	[M+H] ⁺	ST	1,62	0,07
429,3727	0,0002	C ₂₉ H ₄₉ O ₂ ⁺	[M+H] ⁺	ST	1,69	0,07
433,3441	0,0000	C ₂₉ H ₄₆ ONa ⁺	[M+Na] ⁺	ST	1,59	0,03
435,3597	0,0001	C ₂₉ H ₄₈ ONa ⁺	[M+Na] ⁺	ST	1,66	0,03
435,3809	0,0001	C ₂₆ H ₅₂ O ₃ Na ⁺	[M+Na] ⁺	FA	2,00	0,12
437,3414	0,0002	C ₃₀ H ₄₅ O ₂ ⁺	[M+H] ⁺	FA	1,50	0,07
439,3571	0,0003	C ₃₀ H ₄₇ O ₂ ⁺	[M+H] ⁺	ST	1,57	0,07
441,2975	0,0001	C ₂₆ H ₄₂ O ₄ Na ⁺	[M+Na] ⁺	FAHFA, ftalaat	1,62	0,15
441,2975	0,0001	C ₂₆ H ₄₀ O ₂ F ₃ ⁺	[M+H] ⁺	HFC	1,54	0,08
441,3727	0,0003	C ₃₀ H ₄₉ O ₂ ⁺	[M+H] ⁺	ST, FA	1,63	0,07
441,3938	0,0001	C ₂₇ H ₅₃ O ₄ ⁺	[M+H] ⁺	FA, FAHFA	1,96	0,15
447,3597	0,0003	C ₃₀ H ₄₈ ONa ⁺	[M+Na] ⁺	Triterpeen	1,60	0,03
451,4510	0,0001	C ₃₀ H ₅₉ O ₂ ⁺	[M+H] ⁺	FA ester	1,97	0,07
465,3914	0,0000	C ₂₇ H ₅₄ O ₄ Na ⁺	[M+Na] ⁺	MAG, DAG	2,00	0,15
469,4251	0,0000	C ₂₉ H ₅₇ O ₄ ⁺	[M+H] ⁺	DAG, FAHFA	1,97	0,14
481,3861	0,0003	C ₂₅ H ₄₉ N ₆ O ₃ ⁺	[M+H] ⁺	Spiraan	1,96	0,12
493,4227	0,0001	C ₂₉ H ₅₈ O ₄ Na ⁺	[M+Na] ⁺	MAG, DAG	2,00	0,14
497,3601	0,0000	C ₃₀ H ₅₀ O ₄ Na ⁺	[M+Na] ⁺	FAHFA, terpenoid,	1,67	0,13

				ftalaat		
497,4564	0,0002	C ₃₁ H ₆₁ O ₄ ⁺	[M+H] ⁺	DAG, FAHFA	1,97	0,13
509,4174	0,0003	C ₂₇ H ₅₃ N ₆ O ₃ ⁺	[M+H] ⁺	Peptiid, amiid	1,96	0,11
513,5241	0,0001	C ₃₃ H ₆₉ O ₃ ⁺	[M+H] ⁺	Glütserooli derivaat	2,09	0,09
522,5972	0,0001	C ₃₆ H ₇₆ N ⁺	[M+H] ⁺	Amiin	2,11	0,00
527,1582	0,0002	C ₂₄ H ₃₁ O ₁₁ S ⁺	[M+H] ⁺	ST	1,29	0,46
527,1583	0,0001	C ₁₈ H ₃₂ O ₁₆ Na ⁺	[M+Na] ⁺	Trisahhariid	1,78	0,89
528,1622	0,0003	C ₃₀ H ₃₃ NOCl ₃ ⁺	[M+H] ⁺	-	1,10	0,03
528,1628	0,0009	C ₂₈ H ₂₅ NO ₆ F ₃ ⁺	[M+H] ⁺	HFC	0,89	0,21
533,4904	0,0002	C ₃₃ H ₆₆ O ₃ Na ⁺	[M+Na] ⁺	FA	2,00	0,09
535,5061	0,0000	C ₃₃ H ₆₈ O ₃ Na ⁺	[M+Na] ⁺	Glütserooli derivaat	2,06	0,09
543,1312	0,0009	C ₂₇ H ₃₀ O ₆ NaCl ₂ ⁺	[M+Na] ⁺	ST	1,11	0,22
545,4176	0,0000	C ₃₂ H ₅₈ O ₅ Na ⁺	[M+Na] ⁺	DAG	1,81	0,16
547,4721	0,0000	C ₃₅ H ₆₃ O ₄ ⁺	[M+H] ⁺	DAG, FAHFA	1,80	0,11
547,5061	0,0005	C ₃₄ H ₆₈ O ₃ Na ⁺	[M+Na] ⁺	FA	2,00	0,09
549,4877	0,0001	C ₃₅ H ₆₅ O ₄ ⁺	[M+H] ⁺	DAG, FAHFA	1,86	0,11
551,5034	0,0001	C ₃₅ H ₆₇ O ₄ ⁺	[M+H] ⁺	DAG, FAHFA	1,91	0,11
577,5190	0,0001	C ₃₇ H ₆₉ O ₄ ⁺	[M+H] ⁺	DAG, FAHFA	1,86	0,11
579,4983	0,0000	C ₃₆ H ₆₇ O ₅ ⁺	[M+H] ⁺	DAG	1,86	0,14
589,4099	0,0003	C ₃₅ H ₅₇ O ₇ ⁺	[M+H] ⁺	ST	1,63	0,20
589,4802	0,0005	C ₃₅ H ₆₆ O ₅ Na ⁺	[M+Na] ⁺	DAG	1,89	0,14
603,5347	0,0003	C ₃₉ H ₇₁ O ₄ ⁺	[M+H] ⁺	DAG, FAHFA	1,82	0,10
610,5170	0,0002	C ₃₈ H ₆₉ NO ₃ Na ⁺	[M+Na] ⁺	Keramiid	1,82	0,08
615,4959	0,0003	C ₃₇ H ₆₈ O ₅ Na ⁺	[M+Na] ⁺	DAG	1,84	0,14
617,4412	0,0003	C ₃₇ H ₆₁ O ₇ ⁺	[M+H] ⁺	Terpenoid	1,65	0,19
617,5115	0,0006	C ₃₇ H ₇₀ O ₅ Na ⁺	[M+Na] ⁺	DAG	1,89	0,14
619,4908	0,0001	C ₃₆ H ₆₈ O ₆ Na ⁺	[M+Na] ⁺	TAG	1,89	0,17
629,4024	0,0000	C ₃₅ H ₅₈ O ₈ Na ⁺	[M+Na] ⁺	ST	1,66	0,23
657,4334	0,0005	C ₃₅ H ₅₇ N ₆ O ₆ ⁺	[M+H] ⁺	Peptiid	1,63	0,17
657,4337	0,0002	C ₃₇ H ₆₂ O ₈ Na ⁺	[M+Na] ⁺	Triterpenoid	1,68	0,22
662,5004	0,0001	C ₄₀ H ₆₄ N ₅ O ₃ ⁺	[M+H] ⁺	Triterpenoid	1,60	0,08
689,2111	0,0005	C ₂₄ H ₄₂ O ₂₁ Na ⁺	[M+Na] ⁺	Oligosahhariid	1,75	0,88
710,5929	0,0002	C ₄₂ H ₈₀ NO ₇ ⁺	[M+H] ⁺	DGTS, MGCC	1,90	0,17
825,6942	0,0002	C ₅₁ H ₉₄ O ₆ Na ⁺	[M+Na] ⁺	TAG	1,84	0,12
848,7702	0,0004	C ₅₃ H ₁₀₂ NO ₆ ⁺	[M+H] ⁺	TAG	1,92	0,11
853,7255	0,0002	C ₅₃ H ₉₈ O ₆ Na ⁺	[M+Na] ⁺	TAG	1,85	0,11
876,8015	0,0005	C ₅₅ H ₁₀₆ NO ₆ ⁺	[M+H] ⁺	Amiid	1,93	0,11
881,7569	0,0005	C ₅₅ H ₁₀₂ O ₆ Na ⁺	[M+Na] ⁺	TAG	1,85	0,11

Lisa 28 Tol kolme ekstrakti 110 intensiivseimale piigile leitud brutovalemite vasted ja aatomite suhted. AQ – antrakinoonid, CA – karboksüülhapped, DAG – diatsüülgütseriidid, FA – rasvhapped, FAHFA – hüdroksurasvhapete estrid, HFC - fluorosüsivesinikud MAG – monoatsüülgütseriidid, PA – fosfolipiidid, SQ – seskviterpenoidid, ST – steroidid, TAG – triatsüülgütseriidid. Kriipsudega on tähistatud ühendid, mille aineklassi on saadaoleva info põhjal keeruline määratleda.

Mass	Δm	Iooni brutovalem	Ioniseeritud vorm	Võimalik aineklass	n(H)/n(C)	n(O)/n(C)
174,9389	0,0009	$C_5H_4O_2^+$	[M+H] ⁺	Furaan	0,80	0,40
175,1441	0,0000	$C_8H_{19}N_2O_2^+$	[M+H] ⁺	Aminohape	2,38	0,25
176,1070	0,0000	$C_{11}H_{14}NO^+$	[M+H] ⁺	Amiid	1,27	0,09
186,0750	0,0010	$C_7H_9N_5Na^+$	[M+Na] ⁺	Puriin	1,29	0,00
186,0761	0,0001	$C_8H_{12}NO_4^+$	[M+H] ⁺	Laktoon	1,50	0,50
208,1332	0,0000	$C_{12}H_{18}NO_2^+$	[M+H] ⁺	CA ester	1,50	0,17
215,0283	0,0005	$C_6H_{12}N_2OS_2Na^+$	[M+Na] ⁺	Amiid	2,00	0,17
225,0546	0,0008	$C_{14}H_9O_3^+$	[M+H] ⁺	AQ,	0,64	0,21
270,0253	0,0008	$C_{11}H_{12}NO_3S_2^+$	[M+H] ⁺	Alkaloid	1,09	0,27
273,1445	0,0001	$C_{12}H_{21}N_2O_5^+$	[M+H] ⁺	Pürimidiin	1,75	0,42
285,2060	0,0000	$C_{16}H_{29}O_4^+$	[M+H] ⁺	FAHFA	1,81	0,25
295,1257	0,0007	$C_{10}H_{23}N_4O_2S_2^+$	[M+H] ⁺	Amiin	2,30	0,20
295,1264	0,0000	$C_{12}H_{20}N_2O_5Na^+$	[M+Na] ⁺	Pürimidiin	1,67	0,42
299,1101	0,0001	$C_{12}H_{20}O_7Na^+$	[M+Na] ⁺	CA	1,67	0,58
313,2737	0,0001	$C_{19}H_{37}O_3^+$	[M+H] ⁺	FA	1,95	0,16
325,1985	0,0001	$C_{16}H_{30}O_5Na^+$	[M+Na] ⁺	Polüketiid, laktoon	1,89	0,31
341,1172	0,0003	$C_{23}H_{17}O_3^+$	[M+H] ⁺	Naftaleen	0,74	0,13
341,3050	0,0000	$C_{21}H_{41}O_3^+$	[M+H] ⁺	FA	1,95	0,14
353,2662	0,0000	$C_{19}H_{38}O_4Na^+$	[M+Na] ⁺	MAG	2,00	0,21
357,0937	0,0008	$C_{15}H_{21}N_2O_4S_2^+$	[M+H] ⁺	-	1,40	0,27
357,0945	0,0000	$C_{12}H_{22}O_{10}P^+$	[M+H] ⁺	CA	1,83	0,83
357,0945	0,0000	$C_{17}H_{18}O_7Na^+$	[M+Na] ⁺	Kinoon, flavanoid	1,06	0,41
357,1461	0,0009	$C_{22}H_{22}O_3Na^+$	[M+Na] ⁺	Bensenoid	1,00	0,14
357,1464	0,0006	$C_{18}H_{26}O_5Cl^+$	[M+H] ⁺	CA	1,44	0,28
360,2129	0,0001	$C_{16}H_{30}N_3O_6^+$	[M+H] ⁺	Peptiid	1,88	0,38
361,0278	0,0010	$C_{13}H_{10}N_2O_9Na^+$	[M+Na] ⁺	Püridiin	0,77	0,69
361,0297	0,0009	$C_{10}H_{22}O_7S^+$	[M+H] ⁺	-	2,20	0,70
365,1053	0,0002	$C_{18}H_{21}O_6S^+$	[M+H] ⁺	-	1,17	0,33
365,1054	0,0001	$C_{12}H_{22}O_{11}Na^+$	[M+Na] ⁺	Disahhariid	1,83	0,92
371,1618	0,0008	$C_{23}H_{24}O_3Na^+$	[M+Na] ⁺	Bensofuraan, rasvalkohol	1,04	0,13

381,0605	0,0005	C ₂₀ H ₁₃ O ₈ ⁺	[M+H] ⁺	Bensopüraan	0,65	0,40
381,0613	0,0003	C ₁₈ H ₁₅ N ₂ O ₄ NaCl ⁺	[M+Na] ⁺	-	0,83	0,22
381,2975	0,0001	C ₂₁ H ₄₂ O ₄ Na ⁺	[M+Na] ⁺	MAG	2,00	0,19
385,0560	0,0008	C ₁₆ H ₁₅ N ₂ O ₆ PNa ⁺	[M+Na] ⁺	-	0,94	0,38
387,1050	0,0000	C ₁₈ H ₂₀ O ₈ Na ⁺	[M+Na] ⁺	-	1,11	0,44
387,1051	0,0001	C ₁₃ H ₂₄ O ₁₁ P ⁺	[M+H] ⁺	CA	1,85	0,85
393,3152	0,0002	C ₂₈ H ₄₁ O ⁺	[M+H] ⁺	ST	1,46	0,04
395,4247	0,0001	C ₂₇ H ₅₅ O ⁺	[M+H] ⁺	Rasvkarbonüül	2,04	0,04
411,0711	0,0005	C ₂₁ H ₁₅ O ₉ ⁺	[M+H] ⁺	-	0,71	0,43
411,0718	0,0002	C ₁₉ H ₁₇ N ₂ O ₅ NaCl ⁺	[M+Na] ⁺	Peptiid, imidasolidiin	0,89	0,26
411,3621	0,0001	C ₂₉ H ₄₇ O ⁺	[M+H] ⁺	ST	1,62	0,03
425,1119	0,0000	C ₂₀ H ₁₉ N ₂ O ₆ NaF ⁺	[M+Na] ⁺	Peptiid	0,95	0,30
425,1126	0,0007	C ₂₂ H ₂₃ O ₅ NaCl ⁺	[M+Na] ⁺	CA	1,05	0,23
426,1149	0,0002	C ₁₄ H ₂₂ N ₅ O ₇ PNa ⁺	[M+Na] ⁺	Nukleotiid	1,57	0,50
435,3597	0,0003	C ₂₉ H ₄₈ ONa ⁺	[M+Na] ⁺	ST	1,66	0,03
435,4172	0,0005	C ₂₇ H ₅₆ O ₂ Na ⁺	[M+Na] ⁺	Rasvalkohol	2,07	0,07
436,2482	0,0010	C ₂₇ H ₃₄ NO ₄ ⁺	[M+H] ⁺	Alkaloid	1,26	0,15
441,0768	0,0000	C ₁₃ H ₂₃ O ₁₃ PNa ⁺	[M+Na] ⁺		1,77	1,00
441,2975	0,0001	C ₂₆ H ₄₂ O ₄ Na ⁺	[M+Na] ⁺	FAHFA, ftalaat	1,62	0,15
441,2975	0,0001	C ₂₆ H ₄₀ O ₂ F ₃ ⁺	[M+H] ⁺	HFC	1,54	0,08
447,3597	0,0002	C ₃₀ H ₄₈ ONa ⁺	[M+Na] ⁺	Triterpeen	1,60	0,03
454,2072	0,0000	C ₂₂ H ₃₂ NO ₉ ⁺	[M+H] ⁺	-	1,45	0,41
467,0407	0,0002	C ₂₁ H ₁₆ O ₉ SNa ⁺	[M+Na] ⁺	Kinoon	0,76	0,43
471,0872	0,0002	C ₂₅ H ₁₈ O ₄ SF ₃ ⁺	[M+H] ⁺	HFC	0,72	0,16
471,0873	0,0001	C ₂₄ H ₂₁ N ₂ O ₄ Cl ₂ ⁺	[M+H] ⁺	Alkaloid	0,88	0,17
477,0909	0,0007	C ₁₅ H ₂₅ O ₁₅ S ⁺	[M+H] ⁺	Disahhariid	1,67	1,00
477,0923	0,0007	C ₂₁ H ₂₃ O ₉ NaCl ⁺	[M+Na] ⁺	Laktoon	1,10	0,43
477,0924	0,0008	C ₂₅ H ₁₆ N ₄ O ₂ ClF ₂ ⁺	[M+H] ⁺	Bensasepiin	0,64	0,08
491,3859	0,0002	C ₃₂ H ₅₂ O ₂ Na ⁺	[M+Na] ⁺	ST	1,63	0,06
493,0692	0,0002	C ₂₅ H ₁₇ O ₄ SNaF ₃ ⁺	[M+Na] ⁺	HFC	0,68	0,16
493,0692	0,0002	C ₂₄ H ₂₀ N ₂ O ₄ NaCl ₂ ⁺	[M+Na] ⁺	Alkaloid	0,83	0,17
495,0534	0,0006	C ₂₂ H ₁₆ O ₁₂ Na ⁺	[M+Na] ⁺	CA	0,73	0,55
497,0513	0,0001	C ₂₁ H ₁₉ N ₂ O ₈ Cl ₂ ⁺	[M+H] ⁺	Bensodiasepiin	0,90	0,38
502,2799	0,0001	C ₂₈ H ₄₀ NO ₇ ⁺	[M+H] ⁺	Amiid, ST	1,43	0,25
506,3840	0,0002	C ₃₀ H ₅₂ NO ₅ ⁺	[M+H] ⁺	Amiid, ST	1,73	0,17
510,5245	0,0001	C ₃₃ H ₆₈ NO ₂ ⁺	[M+H] ⁺	Amiid	2,06	0,06
519,0745	0,0010	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₄ Na ⁺	[M+Na] ⁺	Fenüülpropanoid	0,95	0,67
522,5972	0,0000	C ₃₆ H ₇₆ N ⁺	[M+H] ⁺	Amiin	2,11	0,00
523,3241	0,0001	C ₂₇ H ₄₈ O ₈ Na ⁺	[M+Na] ⁺	ST, TAG	1,78	0,30
588,4106	0,0001	C ₃₁ H ₅₈ NO ₉ ⁺	[M+H] ⁺	-	1,87	0,30
595,3817	0,0001	C ₃₁ H ₅₆ O ₉ Na ⁺	[M+Na] ⁺	Polüketiid	1,81	0,30
751,5248	0,0004	C ₄₁ H ₇₇ O ₈ PNa ⁺	[M+Na] ⁺	PA	1,89	0,20

Lisa 29 nESI ja APCI madala m/z piirkonna spektrite kokkulangevatele piikidele leitud brutovalemite vasted ja aatomite suhted. DAG – diatsüülgütseriidid, FA – rasvhapped, FAHFA – hüdroksurasvhapete estrid, ST – steroidid.

Mass	Δm	Iooni brutovalem	Ioniseeritud vorm	Võimalik aineklass	n(H)/n(C)	n(O)/n(C)
289,1774	0,0006	$C_{16}H_{26}O_3Na^+$	$[M+Na]^+$	FA	1,63	0,19
311,2581	0,0000	$C_{19}H_{35}O_3^+$	$[M+H]^+$	FA	1,84	0,16
313,2737	0,0000	$C_{19}H_{37}O_3^+$	$[M+H]^+$	FA	1,95	0,16
339,2894	0,0000	$C_{21}H_{39}O_3^+$	$[M+H]^+$	FA	1,86	0,14
393,3152	0,0001	$C_{28}H_{41}O^+$	$[M+H]^+$	ST	1,46	0,04
397,3465	0,0002	$C_{28}H_{45}O^+$	$[M+H]^+$	ST	1,61	0,04
399,3622	0,0001	$C_{28}H_{47}O^+$	$[M+H]^+$	ST	1,68	0,04
409,3829	0,0001	$C_{30}H_{49}^+$	$[M+H]^+$	Terpeen	1,63	0,00
411,3621	0,0001	$C_{29}H_{47}O^+$	$[M+H]^+$	ST	1,62	0,03
413,3778	0,0001	$C_{29}H_{49}O^+$	$[M+H]^+$	ST	1,69	0,03
423,3621	0,0002	$C_{30}H_{47}O^+$	$[M+H]^+$	ST	1,57	0,03
425,3778	0,0001	$C_{30}H_{49}O^+$	$[M+H]^+$	ST	1,63	0,03
429,3727	0,0002	$C_{29}H_{49}O_2^+$	$[M+H]^+$	ST	1,69	0,07
467,3731	0,0003	$C_{28}H_{51}O_5^+$	$[M+H]^+$	ST	1,82	0,18
493,3887	0,0001	$C_{30}H_{53}O_5^+$	$[M+H]^+$	ST	1,77	0,17
523,4721	0,0002	$C_{33}H_{63}O_4^+$	$[M+H]^+$	DAG, FAHFA	1,91	0,12
535,4721	0,0002	$C_{34}H_{63}O_4^+$	$[M+H]^+$	DAG, FAHFA	1,85	0,12
547,4721	0,0003	$C_{35}H_{63}O_4^+$	$[M+H]^+$	DAG, FAHFA	1,80	0,11
549,4877	0,0003	$C_{35}H_{65}O_4^+$	$[M+H]^+$	DAG, FAHFA	1,86	0,11
551,5034	0,0007	$C_{35}H_{67}O_4^+$	$[M+H]^+$	DAG, FAHFA	1,91	0,11
563,5034	0,0002	$C_{36}H_{67}O_4^+$	$[M+H]^+$	DAG, FAHFA	1,86	0,11
573,4877	0,0001	$C_{37}H_{65}O_4^+$	$[M+H]^+$	DAG, FAHFA	1,76	0,11
575,5034	0,0003	$C_{37}H_{67}O_4^+$	$[M+H]^+$	DAG, FAHFA	1,81	0,11
577,5190	0,0004	$C_{37}H_{69}O_4^+$	$[M+H]^+$	DAG, FAHFA	1,86	0,11
579,4983	0,0003	$C_{36}H_{67}O_5^+$	$[M+H]^+$	DAG	1,86	0,14
591,4983	0,0001	$C_{37}H_{67}O_5^+$	$[M+H]^+$	DAG	1,81	0,14
601,5190	0,0003	$C_{39}H_{69}O_4^+$	$[M+H]^+$	DAG, FAHFA	1,77	0,10
603,5347	0,0005	$C_{39}H_{71}O_4^+$	$[M+H]^+$	DAG, FAHFA	1,82	0,10

Lisa 30 APCI madala m/z piirkonna 110 intensiivseimale piigile leitud brutovalemite vasted ja aatomite suhted. DAG – diatsüülglütseriidid, FA – rasvhapped, FAHFA – hüdroksurasvhapete estrid, ST – steroidid, SQ – seskviterpenoidid, TAG – triatsüülglütseriidid.

Mass	Δm	Iooni brutovalem	Ioniseeritud vorm	Võimalik aineklass	n(H)/n(C)	n(O)/n(C)
203,1794	0,0001	$C_{15}H_{23}^+$	[M+H] ⁺	Terpeen	1,53	0,00
217,1951	0,0002	$C_{16}H_{25}^+$	[M+H] ⁺	SQ	1,56	0,00
219,2107	0,0001	$C_{16}H_{27}^+$	[M+H] ⁺	Alkeen, benseen	1,69	0,00
237,2213	0,0001	$C_{16}H_{29}O^+$	[M+H] ⁺	Rasvaldehüüd	1,81	0,06
265,2526	0,0001	$C_{18}H_{33}O^+$	[M+H] ⁺	Rasvaldehüüd	1,83	0,06
289,1774	0,0005	$C_{16}H_{26}O_3Na^+$	[M+Na] ⁺	FA	1,63	0,19
311,0138	0,0008	$C_7H_{13}O_{10}PNa^+$	[M+Na] ⁺	Fosfaatsahhariid	1,86	1,43
311,2581	0,0001	$C_{19}H_{35}O_3^+$	[M+H] ⁺	FA	1,84	0,16
313,2737	0,0000	$C_{19}H_{37}O_3^+$	[M+H] ⁺	FA	1,95	0,16
339,2894	0,0000	$C_{21}H_{39}O_3^+$	[M+H] ⁺	FA	1,86	0,14
352,2383	0,0000	$C_{22}H_{30}N_3O^+$	[M+H] ⁺	Püridiin, asool	1,36	0,05
369,3516	0,0001	$C_{27}H_{45}^+$	[M+H] ⁺	ST	1,67	0,00
383,3672	0,0001	$C_{28}H_{47}^+$	[M+H] ⁺	ST	1,68	0,00
393,3152	0,0002	$C_{28}H_{41}O^+$	[M+H] ⁺	ST	1,46	0,04
397,3465	0,0002	$C_{28}H_{45}O^+$	[M+H] ⁺	ST	1,61	0,04
399,3621	0,0002	$C_{28}H_{47}O^+$	[M+H] ⁺	ST	1,68	0,04
407,3672	0,0001	$C_{30}H_{47}^+$	[M+H] ⁺	Alkeen	1,57	0,00
409,3465	0,0001	$C_{29}H_{45}O^+$	[M+H] ⁺	ST	1,55	0,03
409,3829	0,0001	$C_{30}H_{49}^+$	[M+H] ⁺	Terpeen	1,63	0,00
411,3621	0,0002	$C_{29}H_{47}O^+$	[M+H] ⁺	ST	1,62	0,03
413,3778	0,0001	$C_{29}H_{49}O^+$	[M+H] ⁺	ST	1,69	0,03
415,3571	0,0002	$C_{28}H_{47}O_2^+$	[M+H] ⁺	ST	1,68	0,07
419,3156	0,0002	$C_{26}H_{43}O_4^+$	[M+H] ⁺	ST, FAHFA, ftalaat	1,65	0,15
423,3621	0,0001	$C_{30}H_{47}O^+$	[M+H] ⁺	ST	1,57	0,03
425,3414	0,0003	$C_{29}H_{45}O_2^+$	[M+H] ⁺	FA, ST	1,55	0,07
425,3778	0,0002	$C_{30}H_{49}O^+$	[M+H] ⁺	ST	1,63	0,03
427,3571	0,0002	$C_{29}H_{47}O_2^+$	[M+H] ⁺	FA, ST	1,62	0,07
427,3934	0,0002	$C_{30}H_{51}O^+$	[M+H] ⁺	ST, terpenoid	1,70	0,03
429,3727	0,0002	$C_{29}H_{49}O_2^+$	[M+H] ⁺	ST	1,69	0,07
437,3414	0,0001	$C_{30}H_{45}O_2^+$	[M+H] ⁺	FA, kinoon	1,50	0,07
439,3571	0,0002	$C_{30}H_{47}O_2^+$	[M+H] ⁺	FA	1,57	0,07
441,3727	0,0001	$C_{30}H_{49}O_2^+$	[M+H] ⁺	ST	1,63	0,07
467,3731	0,0003	$C_{28}H_{51}O_5^+$	[M+H] ⁺	ST	1,82	0,18
493,3887	0,0000	$C_{30}H_{53}O_5^+$	[M+H] ⁺	ST	1,77	0,17
509,4928	0,0002	$C_{33}H_{65}O_3^+$	[M+H] ⁺	ST	1,97	0,09

519,4044	0,0003	C ₃₂ H ₅₅ O ₅ ⁺	[M+H] ⁺	DAG, ST	1,72	0,16
521,4564	0,0003	C ₃₃ H ₆₁ O ₄ ⁺	[M+H] ⁺	DAG, FAHFA	1,85	0,12
521,4928	0,0002	C ₃₄ H ₆₅ O ₃ ⁺	[M+H] ⁺	FA	1,91	0,09
523,4721	0,0002	C ₃₃ H ₆₃ O ₄ ⁺	[M+H] ⁺	DAG, FAHFA	1,91	0,12
535,4721	0,0004	C ₃₄ H ₆₃ O ₄ ⁺	[M+H] ⁺	DAG, FAHFA	1,85	0,12
537,4877	0,0000	C ₃₄ H ₆₅ O ₄ ⁺	[M+H] ⁺	DAG, FAHFA	1,91	0,12
545,4564	0,0006	C ₃₅ H ₆₁ O ₄ ⁺	[M+H] ⁺	DAG, FAHFA	1,74	0,11
547,4721	0,0004	C ₃₅ H ₆₃ O ₄ ⁺	[M+H] ⁺	DAG, FAHFA, ST	1,80	0,11
549,4877	0,0003	C ₃₅ H ₆₅ O ₄ ⁺	[M+H] ⁺	DAG, FAHFA, ST	1,86	0,11
551,5034	0,0006	C ₃₅ H ₆₇ O ₄ ⁺	[M+H] ⁺	DAG, FAHFA	1,91	0,11
561,4877	0,0003	C ₃₆ H ₆₅ O ₄ ⁺	[M+H] ⁺	DAG, FAHFA	1,81	0,11
563,5034	0,0004	C ₃₆ H ₆₇ O ₄ ⁺	[M+H] ⁺	DAG, FAHFA	1,86	0,11
565,519	0,0000	C ₃₆ H ₆₉ O ₄ ⁺	[M+H] ⁺	DAG, FAHFA	1,92	0,11
571,4721	0,0005	C ₃₇ H ₆₃ O ₄ ⁺	[M+H] ⁺	DAG, FAHFA	1,70	0,11
573,4877	0,0005	C ₃₇ H ₆₅ O ₄ ⁺	[M+H] ⁺	DAG, FAHFA	1,76	0,11
575,5034	0,0004	C ₃₇ H ₆₇ O ₄ ⁺	[M+H] ⁺	DAG, FAHFA	1,81	0,11
577,519	0,0004	C ₃₇ H ₆₉ O ₄ ⁺	[M+H] ⁺	DAG, FAHFA	1,86	0,11
579,4983	0,0005	C ₃₆ H ₆₇ O ₅ ⁺	[M+H] ⁺	DAG	1,86	0,14
589,4826	0,0004	C ₃₇ H ₆₅ O ₅ ⁺	[M+H] ⁺	DAG	1,76	0,14
589,4840	0,0010	C ₃₈ H ₆₁ N ₄ O ⁺	[M+H] ⁺	-	1,61	0,03
589,5190	0,0006	C ₃₈ H ₆₉ O ₄ ⁺	[M+H] ⁺	DAG, FAHFA	1,82	0,12
591,4983	0,0004	C ₃₇ H ₆₇ O ₅ ⁺	[M+H] ⁺	DAG	1,81	0,14
591,5347	0,0007	C ₃₈ H ₇₁ O ₄ ⁺	[M+H] ⁺	DAG, FAHFA	1,87	0,12
597,4877	0,0002	C ₃₉ H ₆₅ O ₄ ⁺	[M+H] ⁺	DAG, FAHFA	1,67	0,10
599,5034	0,0005	C ₃₉ H ₆₇ O ₄ ⁺	[M+H] ⁺	DAG, FAHFA	1,72	0,10
600,5075	0,0000	C ₃₅ H ₆₇ N ₃ O ₃ Na ⁺	[M+Na] ⁺	ST, amiid	1,91	0,09
601,519	0,0006	C ₃₉ H ₆₉ O ₄ ⁺	[M+H] ⁺	DAG, FAHFA	1,77	0,10
603,5347	0,0006	C ₃₉ H ₇₁ O ₄ ⁺	[M+H] ⁺	DAG, FAHFA	1,82	0,10
605,5479	0,0009	C ₃₇ H ₇₄ O ₄ Na ⁺	[M+Na] ⁺	DAG, MAG	2,00	0,11
615,4983	0,0003	C ₃₉ H ₆₇ O ₅ ⁺	[M+H] ⁺	DAG	1,72	0,13
617,5139	0,0007	C ₃₉ H ₆₉ O ₅ ⁺	[M+H] ⁺	DAG	1,77	0,13
721,6857	0,0005	C ₅₀ H ₈₉ O ₂ ⁺	[M+H] ⁺	ST	1,78	0,04
801,6967	0,0006	C ₅₁ H ₉₃ O ₆ ⁺	[M+H] ⁺	TAG	1,82	0,12
803,7123	0,0005	C ₅₁ H ₉₅ O ₆ ⁺	[M+H] ⁺	TAG	1,86	0,12
831,7436	0,0004	C ₅₃ H ₉₉ O ₆ ⁺	[M+H] ⁺	TAG	1,87	0,11
855,7436	0,0007	C ₅₅ H ₉₉ O ₆ ⁺	[M+H] ⁺	TAG	1,80	0,11
859,7749	0,0002	C ₅₅ H ₁₀₃ O ₆ ⁺	[M+H] ⁺	TAG	1,87	0,11

Lisa 31 nESI madala m/z piirkonna 110 intensiivseimale piigile leitud brutovalemite vasted ja aatomite suhted. DAG – diatsüülgütseriidid, FA – rasvhapped, FAHFA – hüdroksurasvhapete estrid, ST – steroidid, SQ – seskviterpenoidid, TAG – triatsüülgütseriidid. Kriipsudega on tähistatud ühendid, mille aineklassi on saadaoleva info põhjal keeruline määratleda.

Mass	Δm	Iooni brutovalem	Ioniseeritud vorm	Võimalik aineklass	n(H)/n(C)	n(O)/n(C)
245,996	0,0003	$C_6H_{10}NO_4PSNa^+$	[M+Na] ⁺	Tiasool	1,67	0,67
272,2009	0,0001	$C_{18}H_{26}NO^+$	[M+H] ⁺	Aminohape, rasvamiid, sfingosiid	1,44	0,06
289,1774	0,0006	$C_{16}H_{26}O_3Na^+$	[M+Na] ⁺	FA	1,63	0,19
311,2581	0,0000	$C_{19}H_{35}O_3^+$	[M+H] ⁺	FA	1,84	0,16
313,2737	0,0000	$C_{19}H_{37}O_3^+$	[M+H] ⁺	FA	1,95	0,16
316,3210	0,0000	$C_{19}H_{42}NO_2^+$	[M+H] ⁺	Aminoalkohol	2,21	0,12
327,0087	0,0007	$C_{11}H_{12}N_4O_3^+$	[M+H] ⁺	-	1,09	0,27
339,2894	0,0000	$C_{21}H_{39}O_3^+$	[M+H] ⁺	FA	1,86	0,14
393,3152	0,0001	$C_{28}H_{41}O^+$	[M+H] ⁺	ST	1,46	0,04
397,3465	0,0001	$C_{28}H_{45}O^+$	[M+H] ⁺	ST	1,61	0,04
399,3622	0,0001	$C_{28}H_{47}O^+$	[M+H] ⁺	ST	1,68	0,04
409,3829	0,0000	$C_{30}H_{49}^+$	[M+H] ⁺	Terpeen	1,63	0,00
411,3621	0,0000	$C_{29}H_{47}O^+$	[M+H] ⁺	ST	1,62	0,03
413,3778	0,0000	$C_{29}H_{49}O^+$	[M+H] ⁺	ST	1,69	0,03
423,3621	0,0002	$C_{30}H_{47}O^+$	[M+H] ⁺	ST	1,57	0,03
424,9958	0,0008	$C_{15}H_{23}O_4^+$	[M+H] ⁺	SQ	1,53	0,27
425,3778	0,0000	$C_{30}H_{49}O^+$	[M+H] ⁺	ST	1,63	0,03
429,3727	0,0002	$C_{29}H_{49}O_2^+$	[M+H] ⁺	ST	1,69	0,07
451,4510	0,0001	$C_{30}H_{59}O_2^+$	[M+H] ⁺	FA	1,97	0,07
467,3731	0,0002	$C_{28}H_{51}O_5^+$	[M+H] ⁺	ST	1,82	0,18
493,3887	0,0001	$C_{30}H_{53}O_5^+$	[M+H] ⁺	ST	1,77	0,17
513,5241	0,0000	$C_{33}H_{69}O_3^+$	[M+H] ⁺	Glütserooli derivaat	2,09	0,09
523,4721	0,0001	$C_{33}H_{63}O_4^+$	[M+H] ⁺	DAG, FAHFA	1,91	0,12
533,4904	0,0008	$C_{33}H_{66}O_3Na^+$	[M+Na] ⁺	FA	2,00	0,09
535,4721	0,0000	$C_{34}H_{63}O_4^+$	[M+H] ⁺	DAG, FAHFA	1,85	0,12
535,5061	0,0004	$C_{33}H_{68}O_3Na^+$	[M+Na] ⁺	Glütserooli derivaat	2,06	0,09
547,4721	0,0001	$C_{35}H_{63}O_4^+$	[M+H] ⁺	DAG, FAHFA	1,80	0,11
549,4877	0,0002	$C_{35}H_{65}O_4^+$	[M+H] ⁺	DAG, FAHFA	1,86	0,11
551,5034	0,0009	$C_{35}H_{67}O_4^+$	[M+H] ⁺	DAG, FAHFA	1,91	0,11
563,4670	0,0003	$C_{35}H_{63}O_5^+$	[M+H] ⁺	DAG	1,80	0,14
563,5034	0,0001	$C_{36}H_{67}O_4^+$	[M+H] ⁺	DAG, FAHFA	1,86	0,11

573,4877	0,0004	C ₃₇ H ₆₅ O ₄ ⁺	[M+H] ⁺	DAG, FAHFA	1,76	0,11
573,4867	0,0006	C ₃₆ H ₆₂ N ₄ Na ⁺	[M+Na] ⁺	Amiin, imiin	1,72	0,00
575,5034	0,0001	C ₃₇ H ₆₇ O ₄ ⁺	[M+H] ⁺	DAG, FAHFA	1,81	0,11
577,5190	0,0003	C ₃₇ H ₆₉ O ₄ ⁺	[M+H] ⁺	DAG, FAHFA	1,86	0,11
579,4983	0,0000	C ₃₆ H ₆₇ O ₅ ⁺	[M+H] ⁺	DAG	1,86	0,14
587,4646	0,0005	C ₃₅ H ₆₄ O ₅ Na ⁺	[M+Na] ⁺	DAG	1,83	0,14
587,4659	0,0008	C ₃₆ H ₆₀ N ₄ ONa ⁺	[M+Na] ⁺	-	1,67	0,03
591,4983	0,0003	C ₃₇ H ₆₇ O ₅ ⁺	[M+H] ⁺	DAG	1,81	0,14
601,5190	0,0000	C ₃₉ H ₆₉ O ₄ ⁺	[M+H] ⁺	DAG, FAHFA	1,77	0,10
603,5347	0,0003	C ₃₉ H ₇₁ O ₄ ⁺	[M+H] ⁺	DAG, FAHFA	1,82	0,11
615,4959	0,0008	C ₃₇ H ₆₈ O ₅ Na ⁺	[M+Na] ⁺	DAG	1,84	0,14
617,5139	0,0007	C ₃₉ H ₆₉ O ₅ ⁺	[M+H] ⁺	DAG	1,77	0,13
619,4908	0,0003	C ₃₆ H ₆₈ O ₆ Na ⁺	[M+Na] ⁺	TAG	1,89	0,17
823,6786	0,0000	C ₄₆ H ₉₆ O ₉ P ⁺	[M+H] ⁺	PA	2,09	0,20
823,6786	0,0000	C ₅₁ H ₉₂ O ₆ Na ⁺	[M+Na] ⁺	TAG	1,81	0,12
825,6943	0,0005	C ₅₁ H ₉₄ O ₆ Na ⁺	[M+Na] ⁺	TAG	1,84	0,12
846,7545	0,0007	C ₅₃ H ₁₀₀ NO ₆ ⁺	[M+H] ⁺	-	1,89	0,11
848,7702	0,0001	C ₅₃ H ₁₀₂ NO ₆ ⁺	[M+H] ⁺	-	1,92	0,11
851,7099	0,0008	C ₅₃ H ₉₆ O ₆ Na ⁺	[M+Na] ⁺	TAG	1,81	0,11
853,7256	0,0003	C ₅₃ H ₉₈ O ₆ Na ⁺	[M+Na] ⁺	TAG	1,85	0,11
869,7106	0,0008	C ₅₀ H ₉₈ N ₂ O ₇ P ⁺	[M+H] ⁺	-	1,96	0,14
872,7678	0,0007	C ₅₃ H ₁₀₃ NO ₆ Na ⁺	[M+Na] ⁺	-	1,94	0,11
874,7858	0,0008	C ₅₅ H ₁₀₄ NO ₆ ⁺	[M+H] ⁺	-	1,89	0,11
876,8015	0,0001	C ₅₅ H ₁₀₆ NO ₆ ⁺	[M+H] ⁺	Amiid	1,93	0,11
879,7412	0,0003	C ₅₅ H ₁₀₀ O ₆ Na ⁺	[M+Na] ⁺	TAG	1,82	0,11
881,7569	0,0000	C ₅₅ H ₁₀₂ O ₆ Na ⁺	[M+Na] ⁺	TAG	1,85	0,11
902,8171	0,0006	C ₅₇ H ₁₀₈ NO ₆ ⁺	[M+H] ⁺	-	1,89	0,11
922,1643	0,0008	C ₃₂ H ₄₃ N ₇ O ₁₇ P ₃ S ⁺	[M+H] ⁺	-	1,34	0,53

Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja üldsusele kättesaadavaks tegemiseks

Mina, Anna Zobel

1. annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) minu loodud teose

„Rohumaa mulla lahustuva orgaanilise ainese massispektrometriline pilootuuring“,
mille juhendajad on Ivari Kaljurand ja Koit Herodes,

reprodutseerimiseks, eesmärgiga seda säilitada, sealhulgas lisada digitaalarhiivi DSpace kuni autoriõiguse kehtivuse lõppemiseni

2. Annan Tartu Ülikoolile loa teha punktis 1 nimetatud teos üldsusele kättesaadavaks Tartu Ülikooli veebikeskkonna, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace kaudu Creative Commons'i litsentsiga CC BY NC ND 4.0, mis lubab autorile viidates teost reprodutseerida, levitada ja üldsusele suunata ning keelab luua tuletatud teost ja kasutada teost ärieesmärgil, kuni autoriõiguse kehtivuse lõppemiseni.
3. Olen teadlik, et punktides 1 ja 2 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.
4. Kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei riku ma teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse õigusaktidest tulenevaid õigusi.

Anna Zobel

24.05.2023