

# MS-dial u metabolomici

---

**Gruica, Branimir**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2024**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Split, Faculty of Chemistry and Technology / Sveučilište u Splitu, Kemijsko-tehnološki fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:167:161245>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2025-02-23**

*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of chemistry and technology - University of Split](#)



UNIVERSITY OF SPLIT



DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

**SVEUČILIŠTE U SPLITU**  
**KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET**

**MS-DIAL U METABOLOMICI**

**ZAVRŠNI RAD**

**BRANIMIR GRUICA**

**MATIČNI BROJ:482**

**Split, rujan 2024.**

**KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET**

**PREDDIPLOMSKI STUDIJ**

**SMJER KEMIJA**

**MS-DIAL U METABOLOMICI**

**ZAVRŠNI RAD**

**BRANIMIR GRUICA**

**MATIČNI BROJ:482**

**Split, rujan 2024.**

**UNIVERSITY OF SPLIT**  
**FACULTY OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY**  
**UNDERGRADUATE STUDY OF CHEMISTRY**  
**COURSE CHEMISTRY**

**MS-DIAL IN METABOLOMICS**

**BACHELOR THESIS**

**BRANIMIR GRUICA**  
**PARENT NUMBER:482**

**Split, September 2024.**

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

ZAVRŠNI RAD

Sveučilište u Splitu  
Kemijsko-tehnološki fakultet  
Preddiplomski studij kemije

Znanstveno područje: Prirodne znanosti  
Znanstveno polje: Kemija  
Mentor: izv. prof. dr. sc. Mila Radan  
Komentor:

### MS-DIAL U METABOLOMICI

Branimir Gruica, 482

**Sažetak:** MS-DIAL je softver razvijen 2015. godine za analizu podataka masene spektrometrije, posebno u identifikaciji i kvantifikaciji metabolita i lipida. Koristi se za analizu složenih bioloških uzoraka poput krvi, urina i tkiva, primjenom GC-MS, LC-MS i MS/MS tehnika. Kroz dekonvoluciju spektra, softver omogućuje razlikovanje preklapajućih ionskih signala i točnu identifikaciju spojeva. Integrira se s bazama podataka poput MassBanka, što olakšava usporedbu i identifikaciju metabolita. Također, MS-DIAL podržava relativnu i apsolutnu kvantifikaciju spojeva, omogućujući točne mjere koncentracija. Njegova vizualizacija podataka, automatizacija analiza i fleksibilnost doprinijeli su širokoj primjeni u biomedicinskim istraživanjima, metabolomici i znanosti o okolišu. Značajna nadogradnja softvera kroz godine uključuje otvoreni kod i napredne algoritme, čime su omogućeni daljnji razvoj i prilagodbe. MS-DIAL je postao ključan alat u istraživanjima povezanim s bolestima poput dijabetesa i kardiovaskularnih bolesti, te je znatno unaprijedio analizu lipidoma i metaboloma.

**Ključne riječi:** MS-DIAL, masena spektrometrija, metaboliti, metabolomika

**Rad sadrži:** 46 stranica, 18 slika, 16 literature referenci

**Jezik izvornika:** Hrvatski

**Sastav povjerenstva za ocjenu i obranu završnog rada:**

- |                                      |             |
|--------------------------------------|-------------|
| 1. doc. dr. sc. Maša Buljac          | predsjednik |
| 2. doc. dr. sc. Marina Tranfić Bakić | član        |
| 3. izv. prof. dr. sc. Mila Radan     | mentor      |

**Datum obrane:** 02. listopada 2024.

**Rad je u tiskanom i elektroničkom (PDF) obliku pohranjen** u Knjižnici Kemijsko-tehnološkog fakulteta u Splitu, Ruđera Boškovića 35, u javnoj internetskoj bazi Sveučilišne knjižnice u Splitu te u javnoj internetskoj bazizavršnih radova Nacionalne i sveučilišne knjižnice.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

## BACHELOR THESIS

**University of Split**  
**Faculty of Chemistry and Tehnology**  
**Undergraduate study of Chemistry**

**Scientific area: Natural sciences**  
**Scientific field: Chemistry**  
**Supervisor: izv. prof. dr. sc. Mila Radan**  
**Co-supervisor:**

### **MS-DIAL IN METABOLOMICS**

Branimir Gruica, 482

**Abstract:** MS-DIAL is software developed in 2015 for mass spectrometry data analysis, specifically for the identification and quantification of metabolites and lipids. It is used for analyzing complex biological samples like blood, urine, and tissue, employing GC-MS, LC-MS, and MS/MS techniques. Through spectral deconvolution, the software enables distinguishing overlapping ion signals and accurate compound identification. It integrates with databases like MassBank, facilitating comparison and identification of metabolites. Additionally, MS-DIAL supports both relative and absolute quantification of compounds, allowing precise concentration measurements. Its data visualization, automation of analyses, and flexibility have contributed to its widespread use in biomedical research, metabolomics, and environmental science. Significant software upgrades over the years include open-source code and advanced algorithms, enabling further development and customization. MS-DIAL has become a key tool in research related to diseases like diabetes and cardiovascular conditions, significantly advancing lipidomics and metabolomics analysis.

**Keywords:** MS-DIAL, mass spectrometry, metabolites, metabolomics

**Thesis contains: 46 pages, 18 figures, 16 references**

**Defence committee for evaluation and defense of bachelor thesis:**

- |  |              |
|--|--------------|
| 1. Maša Buljac, PhD, Asst. Prof.         | chair person |
| 2. Marina Tranfić Bakić, PhD, Asst.Prof. | member       |
| 3. Mila Radan, PhD, Assoc. Prof.         | supervisor   |

**Defence date: October 2, 2024**

**Printed and electronic (PDF) form of thesis is deposited in** Library of Faculty of Chemistry and Technology in Split, Ruđera Boškovića 35, in the public library database of the University of Split Library and in the digital academic archives and repositories of the National and University Library.

*Završni rad je izrađen u Zavodu za biokemiju Kemijsko-tehnološkog fakulteta u Splitu pod mentorstvom izv. prof. dr. sc. Mile Radan u razdoblju od ožujka do lipnja 2024. godine.*

*Zahvaljujem svojoj mentorici izv. prof. dr. sc. Mili Radan na stručnom vodstvu i  
beskrajnom strpljenju kroz cijeli proces.*



## **ZADATAK ZAVRŠNOG RADA**

Predstaviti MS-DIAL kao alat za analizu podataka dobivenih MS tehnikama.

Prikazati mogućnosti primjene softvera MS-DIAL u metabolomici.

## SAŽETAK

MS-DIAL je softver razvijen 2015. godine za analizu podataka masene spektrometrije, posebno u identifikaciji i kvantifikaciji metabolita i lipida. Koristi se za analizu složenih bioloških uzoraka poput krvi, urina i tkiva, primjenom GC-MS, LC-MS i MS/MS tehnika. Kroz dekonvoluciju spektra, softver omogućuje razlikovanje preklapajućih ionskih signala i točnu identifikaciju spojeva. Integrira se s bazama podataka poput MassBanka, što olakšava usporedbu i identifikaciju metabolita. Također, MS-DIAL podržava relativnu i apsolutnu kvantifikaciju spojeva, omogućujući točne mjere koncentracija. Njegova vizualizacija podataka, automatizacija analiza i fleksibilnost doprinijeli su širokoj primjeni u biomedicinskim istraživanjima, metabolomici i znanosti o okolišu. Značajna nadogradnja softvera kroz godine uključuje otvoreni kod i napredne algoritme, čime su omogućeni daljnji razvoj i prilagodbe. MS-DIAL je postao ključan alat u istraživanjima povezanim s bolestima poput dijabetesa i kardiovaskularnih bolesti, te je znatno unaprijedio analizu lipidoma i metaboloma.

**Ključne riječi:** MS-DIAL, masena spektrometrija, metaboliti, metabolomika

## **ABSTRACT**

MS-DIAL is software developed in 2015 for mass spectrometry data analysis, specifically for the identification and quantification of metabolites and lipids. It is used for analyzing complex biological samples like blood, urine, and tissue, employing GC-MS, LC-MS, and MS/MS techniques. Through spectral deconvolution, the software enables distinguishing overlapping ion signals and accurate compound identification. It integrates with databases like MassBank, facilitating comparison and identification of metabolites. Additionally, MS-DIAL supports both relative and absolute quantification of compounds, allowing precise concentration measurements. Its data visualization, automation of analyses, and flexibility have contributed to its widespread use in biomedical research, metabolomics, and environmental science. Significant software upgrades over the years include open-source code and advanced algorithms, enabling further development and customization. MS-DIAL has become a key tool in research related to diseases like diabetes and cardiovascular conditions, significantly advancing lipidomics and metabolomics analysis.

**Keywords:** MS-DIAL, mass spectrometry, metabolites, metabolomics

## **SADRŽAJ:**

### UVOD

|  |    |
|--|----|
| 1 OPĆI DIO.....                                  | 1  |
| 1.1 METABOLOMIKA .....                           | 1  |
| 1.1.1 Definicija metabolomike.....               | 1  |
| 1.1.2 Katabolizam.....                           | 2  |
| 1.1.3 Metaboliti.....                            | 3  |
| 1.1.4 Svrha metabolomike.....                    | 5  |
| 1.1.5 Ciljana i neciljana analiza.....           | 6  |
| 1.1.6 Masena spektrometrija.....                 | 7  |
| 1.1.7 Plinska kromatografija.....                | 10 |
| 2 EKSPERIMENTALNI DIO.....                       | 13 |
| 2.1 MS-DIAL.....                                 | 13 |
| 2.1.1 Povijesni razvoj MS-DIAL-a.....            | 13 |
| 2.1.2 Primjena MS-DIAL-a.....                    | 14 |
| 2.1.3 Korištene metode u MS-DIAL-u.....          | 15 |
| 2.1.4 Postupak analize podataka u MS-DIAL-u..... | 16 |
| 3 REZULTATI I RASPRAVA.....                      | 27 |
| 4 ZAKLJUČAK.....                                 | 29 |
| 5 POPIS KRATICA I SIMBOLA.....                   | 30 |
| 6 LITEATURA.....                                 | 32 |
| 7 PRILOZI.....                                   | 34 |

## UVOD

U ovom radu obrađena je tema mogućnosti korištenja programa MS-DIAL u analitičke svrhe pri istraživanju u metabolomici. Metabolomika je znanstvena disciplina koja se bavi proučavanjem malih molekula, poznatih kao metaboliti, unutar stanica, tkiva ili organizma. Cilj metabolomike je kvantificirati i analizirati sve metabolite kako bi se dobio uvid u biološke procese koji se odvijaju u organizmu. Ova grana znanosti omogućuje bolje razumijevanje fizioloških i patoloških stanja, te pronalaženje novih biomarkera i potencijalnih terapijskih ciljeva. Zbog složenosti podataka generiranih masenom spektrometrijom, primjena softvera za obradu podataka igra ključnu ulogu. MS-DIAL, razvijen 2015. godine, postao je važan alat za neciljanu analizu metabolita i lipida.

U uvodnom dijelu rada opisane su osnove metabolomike, njezin domet te mogućnosti primjene u ciljanjoj i neciljanjoj analizi. Detaljno su objašnjeni principi rada masene spektrometrije i plinske kromatografije (GC-MS). Također je istaknuta važnost softverskih alata za obradu podataka s posebnim naglaskom na primjenu programa MS-DIAL za neciljanu analizu metabolita.

U eksperimentalnom dijelu rada su opisani koraci pripreme u MS-DIAL softveru uključujući metodologiju obrade rezultata dobivenih korištenjem GC-MS i LC-MS tehnika. Prikazana je detaljna metodika korištenja programa MS-DIAL za preciznu analizu i identifikaciju metabolita.

# 1 OPĆI DIO

## 1.1 METABOLOMIKA

### 1.1.1 Definicija metabolomike

“Molekule koje sudjeluju u metaboličkim procesima nazivaju se metaboliti; svi metaboliti neke stanice ili organizma nazivaju se metabolom, a disciplina koja ih proučava je metabolomika. Metabolički se procesi zbivaju u nizovima pojedinačnih reakcija, a svaku od njih katalizira i regulira specifični enzim.” (Metabolizam - Hrvatska enciklopedija) [1]

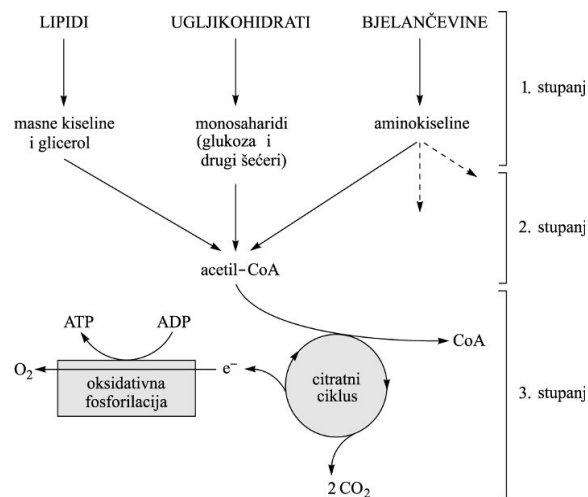
Mogućnost detekcije promjena na genima, proteinima i metabolitima djelovanjem vanjskih i unutarnih faktora dovela je do revolucije na području biokemije. Razvoj tehnika sa nazivljem “omika”, bilo da se radi o proteomici, transkriptomici ili metabolomici omogućilo je razumijevanje složenih bioloških procesa. (Babić, 2019) [2]

Metabolizam se dijeli na dva glavna procesa: katabolizam i anabolizam. Katabolizam je proces razgradnje složenih molekula poput ugljikohidrata, masti i proteina u jednostavnije spojeve, pri čemu se oslobađa energija. Anabolizam, s druge strane, odnosi se na sintezu složenih molekula iz jednostavnijih spojeva, što zahtijeva potrošnju energije.

Metabolomika, koja proučava cjelokupni skup metabolita unutar stanice ili organizma, omogućuje detaljno praćenje produkata katabolizma i identificiranje specifičnih metabolita koji nastaju tijekom razgradnje. Kroz analizu tih metabolita, metabolomika pruža uvid u dinamiku kataboličkih procesa, te može otkriti promjene u metabolizmu koje su povezane s različitim fiziološkim ili patološkim stanjima.

### 1.1.2 Katabolizam

Katabolizam odnosno proces dobivanja energije iz hrane, može se sažeti u tri koraka koji su prikazani na slici 1. U prvome koraku je to cijepanje velikih molekula na manje što se događa u procesu probave, tu spadaju proteini, polisaharidi i masti. Hidrolizom proteina nastaje 20 različitih aminokiselina, polisaharidi se razgrađuju u jednostavne šećere, a masti u glicerol i masne kiseline. U prvom koraku pripreme ne nastaje korisna energija. U drugom koraku se iz malih molekula dobivaju jednostavnije koje imaju središnju ulogu u metabolizmu, iz većine tih molekula nastaje acetilna jedinica molekule acetil-CoA i nešto ATP-a. U trećem koraku nastaje veća količina ATP-a zbog potpune oksidacije acetilne skupine u acetil-CoA. Treći korak čine ciklus limunske kiseline i oksidativna fosforilacija. U ciklusu limunske kiseline se acetilne skupine u potpunosti oksidiraju u ugljikov dioksid. Za svaku oksidiranu skupinu prenesu se četiri para elektrona pri čemu se stvara protonski gradijent pri protoku elektrona s reduciranih nosača na molekulu kisika. Taj gradijent se koristi za sintezu molekula ATP-a. (Berg, Tymoczko, Strayer, 2013) [3]



Slika 1. metabolizam (URL: <https://www.enciklopedija.hr/clanak/metabolizam>)

### 1.1.3 Metaboliti

Primarni metaboliti su spojevi važni za osnovne životne procese u organizmu, uključujući rast, razvoj i razmnožavanje. Oni sudjeluju u metaboličkim reakcijama koje omogućuju organizmu održavanje vitalnih funkcija, kao što su sinteza i razgradnja hranjivih tvari, stvaranja energije i izgradnja staničnih struktura. Nastaju tijekom faze rasta organizma, poznate kao "trofofaza", kada organizam aktivno koristi hranjive tvari iz okoline kako bi proizvodio esencijalne spojeve. Ovi metaboliti se nalaze u gotovo svim stanicama organizma i imaju važnu ulogu u biokemijskim procesima koji osiguravaju preživljavanje i funkciju organizma. Primarni metaboliti obuhvaćaju spojeve poput proteina, ugljikohidrata, lipida, aminokiselina, nukleinskih kiselina i drugih spojeva koji su važni za normalno funkcioniranje organizma. Proteini sudjeluju u izgradnji staničnih struktura, prijenosu molekula i kataliziranju kemijskih reakcija, dok ugljikohidrati služe kao primarni izvor energije. Lipidi su neophodni za strukturu staničnih membrana i pohranu energije, dok nukleinske kiseline (DNA i RNA) imaju ulogu u prijenosu genetske informacije i sintezi proteina. Primarni metaboliti jednako tako sudjeluju u procesima disanja i fotosinteze kod biljaka i omogućuju proizvodnju energije potrebne za rast i razvoj. Jedno od glavnih obilježja primarnih metabolita jest kontinuirana sinteza u velikim količinama tijekom života organizma. Njihova proizvodnja kreće kada su hranjive tvari dostupne, a potreba za njima neprestano postoji jer su ključni za održavanje metabolizma. Primarni metaboliti se lako ekstrahiraju iz organizma i dijele su u dvije skupine: primarni esencijalni metaboliti te primarni metabolički krajnji proizvodi. Primarni esencijalni metaboliti su proteini, ugljikohidrati i lipidi, dok primarni metabolički krajnji proizvodi, poput mliječne kiseline ili etanola, nastaju kao rezultat procesa u metabolizmu i često se eliminiraju iz organizma. Nasuprot tome, sekundarni metaboliti nisu direktno uključeni u osnovne životne funkcije kao što su rast i razmnožavanje, ali imaju bitnu ulogu u prilagodbi organizma na vanjske uvjete. Sekundarni metaboliti nazivaju se i specijaliziranim metabolitima ili prirodnim produktima jer imaju specifične funkcije u obrani organizma, interakciji s drugim vrstama, kompeticiji ili komunikaciji s okolinom. Ovi spojevi često nastaju procesom



stacionarne faze rasta, poznate kao "idiofaza", kada se rast usporava i organizam se prilagođava na stabilnije vanjske uvjete. Za razliku od primarnih metabolita, sekundarni metaboliti se proizvode u manjim postotcima i njihova ekstrakcija je kompliciranija zbog njihove specifične prirode. Sekundarni metaboliti su alkaloidi, steroidi, pigmenti, antibiotici, fenoli i eterična ulja. Ovi spojevi mogu posjedovati različite uloge u interakcijama organizma. Na primjer, alkaloidi često služe kao obrambeni spojevi za zaštitu od biljojeda ili mikroorganizama, dok antibiotici posjeduju antimikrobno djelovanje i štite organizam od patogena. Pigmenti, kao što su karotenoidi i flavonoidi, mogu imati funkciju u privlačenju oprašivača ili zaštiti od UV zračenja. Sekundarni metaboliti često su specifični za određene žive vrste, a njihova odsutnost često nema značajan utjecaj na osnovne životne funkcije organizma. Međutim, kroz evoluciju, sekundarni metaboliti imali su važnu ulogu u prilagodbi organizama na promjenjive uvjete okoline. Ovi spojevi su također postali značajni u biotehnologiji i farmaceutskoj industriji, gdje se koriste u svrhu razvoja lijekova, antimikrobnih sredstava, pesticida i drugih korisnih proizvoda. Iako su primarni metaboliti neophodni za osnovne životne funkcije, sekundarni metaboliti omogućuju organizmu dodatne prednosti u preživljavanju i prilagodbi, čineći ih važnim dijelom biološke i ekološke raznolikosti. (Microbe Notes) [4]

#### 1.1.4 Svrha metabolomike

Metabolomika se bavi metabolomima iz stanica, tkiva, biofluida i organizama kako bi identificirali niskomolekularne metabolite koji imaju manje od 1 kDa, a ima primjenu i u medicini. Metabolomika bazirana na masenoj spektrometriji je korisna za identifikaciju metabolita povezanih s bolestima, opisivanje bolesti i mogućnost odabira lijekova. (Sinem Nalbantoglu : Metabolomics: basic principles and strategies, 2019. str. 1). Većina pristupa dizajnu lijekova je poznavanje strukture i funkcije meta, koje su većinom proteini. Pronalaženje potencijalnih meta te dostupnost uzoraka oboljelih i zdravih ispitanika omogućuje identifikaciju potencijalnih meta. Dobiveni kandidati se klasificiraju raznim bioanalitičkim metodama među kojima su i proteomika kao što su dvodimenzionalna elektroforeza na gelu (2DGE), spektrometrija masa (MS) te aminokiselinsko sekvenciranje. Dvodimenzionalna elektroforeza na gelu (2DGE) je vrsta elektroforeze na gelu korištena uglavnom za analizu i izdvajanje iz smjese proteina temeljem različitih svojstava proteina. Za razliku od MS-a, 2DGE ne omogućava identifikaciju mete i ima jednostavniju obradu podataka od npr. tekućinske kromatografije spregnute sa spektrom masa (LCMS) čiji su rezultati informativniji. Sve mete koje imaju znatnu količinsku razliku bolesnih i zdravih ispitanika nisu i odgovarajuće mete. Veliki dio njih su samo produkti osnovne bolesti kao što je npr. upalni produkt C-reaktivnog proteina (CRP) čiji je porast odgovor na patogen pa zbog toga nije valjana meta kao što bi to bio npr. Protein bakterijskog ribosoma. Izolacija biološkog uzorka također je način za pronalaženje novih meta i lijekova. (Debeljak et al., 2020) [5]

Biokemijske analize koristimo za procjenu stanja nekih metaboličkih procesa ili procjenu funkcionalnosti stanja nekog organa. Postoje analize u kojima samo jedan nalaz daje točnu dijagnostiku zbog spoja koji je nađen ali nema standardnog rješenja koliko učestalo treba ponavljati neku analizu. Važna je činjenica da neki biokemijski pokazatelj nije stabilan već mu se vrijednosti kreću unutar fiziološke vrijednosti. Prema tome se organizam u bolesti nalazi u novim uvjetima postojanja na koje se prilagođava i pokreće u tu svrhu odgovarajuće mehanizme. (Lutkić, Jurić, 2008) [6]

### 1.1.5 Ciljana i neciljana analiza

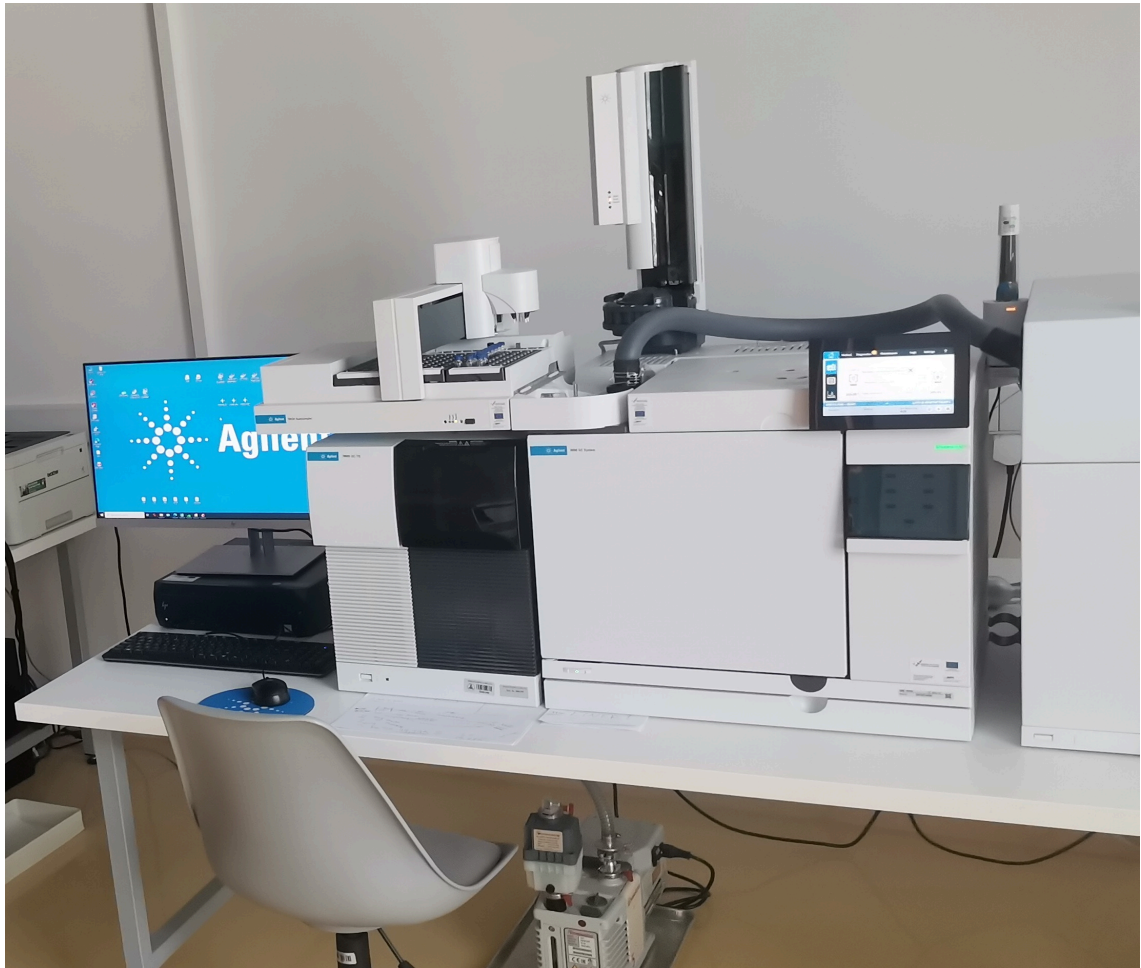
Da bi mogli identificirati metabolite iz bioloških uzoraka koristimo se sa dva moguća strateška puta, ciljanom i neciljanom analizom. U analizi treba uzeti u obzir i endometabolome i eksometabolome. Neciljana analiza daje mogućnost skeniranja kompletnog metaboloma i metaboličkog otiska prsta te ona postavlja hipotezu. Ciljana analiza testira hipotezu i koristi se za potvrdu neciljane analize te koristi poznati standard i MS-MS u tandemu. (Wang, Byun, Pennathur, 2010) [7]

Analize na polju metabolomike se provode raznim tehnikama ali većinom pomoću masenog spektrometra (MS) ili nuklearne magnetske rezonance (NMR). Maseni spektrometar (MS) pokazuje određene prednosti nad nuklearnom magnetskom rezonancom (NMR) kao što su veća osjetljivost i selektivnost. Kombinacijom masenog spektrometra (MS) sa ostalim tehnikama se povećava kapacitet same detekcije. Primjer takve kombinacije je plinska kromatografija-maseni spektrometar (GC-MS) ili visokodjelotvorna tekućinska kromatografija-maseni spektrometar (HPLC-MS), dok se nuklearna magnetska rezonanca (NMR) više koristi za strukturnu identifikaciju. Ovakva metodika nam omogućava analizu raznih bioloških uzoraka kao što su krv, plazma, serum, urin, fekalije, znoj, izdahnuti zrak, majčino mlijeko ili pak placenta. Upravo zbog toga su istraživanja na ovom polju dovela do značajnih biomedicinskih postignuća. Na taj način uzorku za koji nemamo standard pristupamo s untargeted analizom zbog široke slike metabolita koju dobijemo, a tek nakon toga pomoću targeted analize potvrđujemo nove metabolite da bi bili od koristi u kliničke svrhe. (Instituto de Investigación e Innovación Biomédica de Cádiz, 2020) [8]

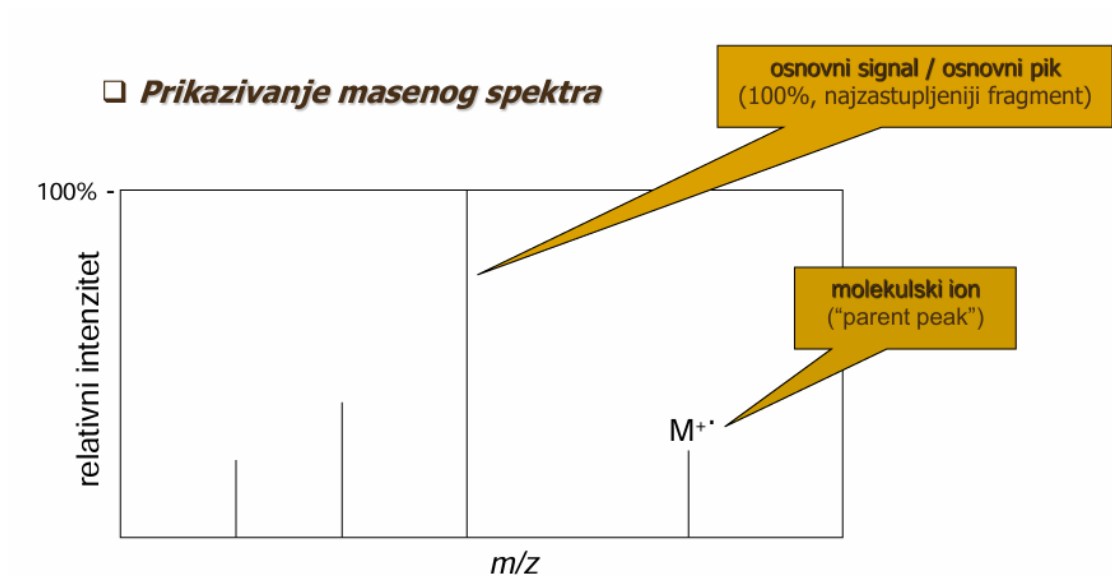
### 1.1.6 Masena spektrometrija

Prvi maseni spektroskop, koji je razvijen 1912. godine, je korišten pri analizi atomske mase elemenata i proučavanju izotopa. Razvojem tehnika za isparavanje organskih spojeva 1950-ih godina, maseni spektroskop je postao neophodan alat pri analizi bioaktivnih spojeva. Osnovni dijelovi masenog spektrometra su izvor ionizacije, analizator, detektor i procesor podataka. Analizator i detektor se nalaze u vakuumu da bi se spriječili sudari među molekulama zraka i iona, a čestice iona se usmjeravaju na kontroliran način. Nakon ionizacije uzorka u ionizacijskoj komori, analizator odvaja ione prema omjeru mase i naboja ( $m/z$ ), dok detektor bilježi intenzitet i raspored danih iona u masenom spektru.

Maseni spektrometar ima primjenu u raznim područjima kao što je farmaceutska i prehrambena industrija. Može se koristiti pri identifikaciji nepoznatih spojeva kroz određivanje njihove molekularne mase te usporedbom s podacima iz baza podataka poput "Chemical Abstract Service" (CAS), koja ima na milione unosa. Osim toga, MS je koristan za određivanje strukture proteina, pri čemu su metode ionizacije poput ESI i MALDI veoma korisne. MS je u proteomici našao primjenu u analizi proteina koji se razlažu proteazama poput tripsina. U kliničkim proučavanjima, promjene u kemiji tijela povezane s bolestima mogu se pratiti analizom tjelesnih izlučevina koristeći GC-MS. Također, trenutna praksa uključuje direktnu analizu farmaceutskih spojeva u tkivima pomoću MALDI-MS-a. MS se također koristi u forenzici pri analizi uzoraka poput urina, kose i krvi u slučajevima kao što su trovanje, zlouporaba droga i drugih kaznenih djela. (Nollet, Winkler, 2022) [9]



Slika 2. Uređaj GC-MS



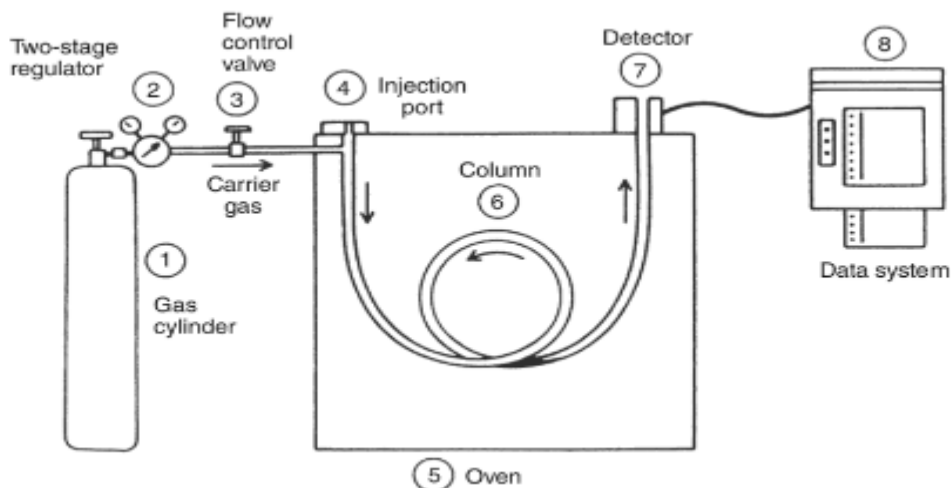
Slika 3. Prikazivanje masenog spektra (Izv.prof.dr.sc. Irena Škorić: Masena (MS) spektrometrija – predavanje)

Maseni spektrometar daje spektar masa prikazan na slici 3, koji prikazuje ionske vrste analiziranog spoja, pri čemu je X-os predstavlja mase iona, a Y-os predstavlja njihov relativni intenzitet. Podaci dobiveni na taj način su specifični za strukturu analizirane molekule. Molekule bivaju bombardirane elektronima velike energije, pri čemu se iz njih odbacuje jedan elektron, stvarajući molekulski ion, odnosno radikal-kation (M<sup>+</sup>). Fragmentacija molekule nastaje zbog vibracijske energije koju molekulski ion dobije, a koja je specifična za određenu strukturu spoja. Ioni se potom raspoređuju prema omjeru mase i naboja ( $m/z$ ) i analizator ih na temelju toga raspoređuje. Podatci se tada prikazuju kao graf ili tablica, pri čemu najintenzivniji pik predstavlja osnovni pik s normaliziranim intenzitetom od 100%. (Škorić, predavanje) [10]

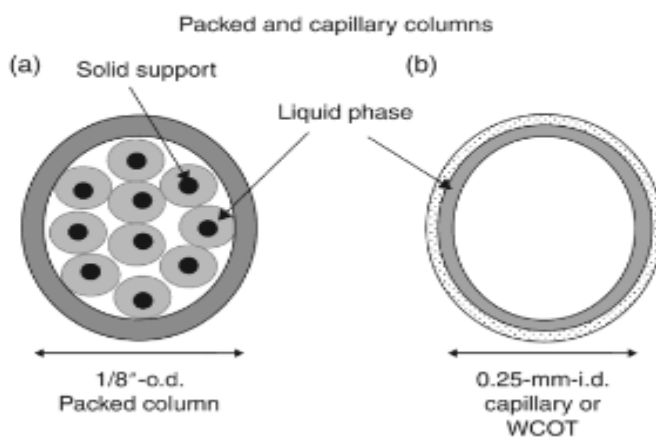
### 1.1.7 Plinska kromatografija

Plinska kromatografija (GC) je analitička tehnika korištena za razdvajanje i analizu hlapivih tvari, što je čini neophodnim alatom u laboratorijima zbog svoje visoke učinkovitosti. Primjenjiva je na razne materijale, uključujući plinovite, tekuće i čvrste uzorke. GC karakterizira visoka razlučivost, što daje mogućnost razdvajanja velikog broja spojeva u složenim uzorcima, poput mirisa kave ili esencijalnih ulja. Zbog naprednih detektora, poput plamenog-ionizacijskog detektora, moguća je kvantifikacija organske tvari vrlo niskih koncentracija, čak do 50 ppb, s relativnom standardnom devijacijom od približno 5%. Razvitak kromatografije je bio početkom 20. stoljeća kada je Ramsey razdvojio plinove i pare koristeći adsorbente, dok je Michael Tswett zaslužan za napredak tekućinske kromatografije razdvajajući biljne pigmente. Tswett je tada uveo pojam "kromatografija", što znači "pisanje bojama". Moderna plinska kromatografija je prvi put predstavljena 1952. godine kada su Martin i James primijenili svoja saznanja na hlapive spojeve, što je ubrzo dovelo do evolucije u znanosti i pojave sofisticiranih instrumenata. (McNair, Miller, 2009) [11]

Kromatografija je tehnika kojom se komponente uzorka odvajaju međudjelovanjem dvije faze: stacionarne faze, koju karakterizira velika površinu, i pokretne faze (plinovite), koja prolazi kroz stacionarnu fazu. Uzorak se prvo pretvara u hlapivi oblik, a zatim plinovitom fazom prenosi kroz kolonu, pri čemu se određeni spojevi razdvajaju prema topljivosti u stacionarnoj fazi. Elucija, tj. odvajanje komponenata, odvija se temeljem razlika u parnim tlakovima i afinitetu prema stacionarnoj fazi. Plinska kromatografija ima mnoge prednosti, kao što je brzina, visoka učinkovitost i osjetljivost na niske koncentracije spojeva. Metoda također daje opciju analize uzoraka kojeg ima jako malo. Uz sve prednosti, GC dolazi s određenim izazovima, kao što je potreba za specifičnim uvjetima kako bi analiza bila točna i precizna. (McNair, Miller, 2009) [11]



**Figure 1.9.** Schematic of a typical gas chromatograph.



Slika 4. Dijelovi plinskog kromatografa (URL: <https://seipub.org/ijics/>)

Plinski kromatograf ima nekoliko osnovnih komponenti koje su prikazane na slici 4. Uzorak se uvodi u sustav pomoću mikroigle, koja ga prenosi kroz gumeni čep do komore za isparavanje. Koristi se samo manji volumen uzorka, dok se preostali dio uzorka uklanja pomoću sustava za odvajanje. Komora za isparavanje se zagrijava na temperaturu približno 50 °C veću od točke ključanja uzorka. Nakon toga, uzorak i plin nosač se sjedinjuju te ga plin prenosi kroz kolonu.

Plin nosač je od iznimne važnosti za pravilno funkcioniranje plinskog kromatografa. Zahtjev je da bude inertan, suh i bez kisika kako bi osigurao stabilnu i točnu analizu. Najčešće korišteni plinovi su helij, dušik, argon i vodik, ovisno o zahtjevima istraživanja i vrsti detektora. Plin se dovodi pod visokim tlakom, a njegov tok u instrumentu je kontroliran u svrhu osiguranja preciznosti mjerenja.



Kolone za odvajanje koje se koriste u plinskoj kromatografiji mogu biti kapilarne ili pakirane. Kapilarne kolone postoje u dva oblika: WCOT (kolone sa stacionarnom fazom premazanom na unutarnju površinu) i SCOT (kolone s adsorbensom prekrivenim stacionarnom fazom). SCOT kolone posjeduju veći kapacitet stacionarne faze, dok WCOT kolone omogućavaju bolju separaciju. Silika gel je često korišten materijal za izradu kapilarnih kolona.

Pećnica kontrolira temperaturu unutar kolone i omogućava preciznu kontrolu u procesu analize. Temperatura može biti konstantna (izotermalno programiranje) ili se može postupno povećavati (temperaturno programiranje), ovisno o zahtjevima, što omogućava kvalitetnije odvajanje spojeva.

Na kraju kolone se koriste različite vrste detektora da bi se analizirale komponente uzorka. Neki od često korištenih detektora uključuju masenu spektrometriju, plamionički detektor (FID), detektor za hvatanje elektrona (ECD) ili detektor toplinske vodljivosti (TCD). Detektori kvantitativno mjere komponente koje su zajedno s plinom nosačem prošle kroz kolonu.

Zadnji dio plinskog kromatografa je sustav za pojačavanje i bilježenje signala koji dolaze iz detektora. Signali se interpretiraju i prikazuju u obliku grafova ili kromatograma, što omogućuje vizualno zapažanje rezultata analize. (International Journal of Information and Computing Science, 2018) [12]

## 2 EKSPERIMENTALNI DIO

### 2.1 MS-DIAL

#### 2.1.1 Povijesni razvoj MS-DIAL-a

MS-DIAL je napravljen kao odgovor na potrebu za konkretnim alatom za analizu složenih podataka prikupljenih pomoću masene spektrometrije. Softver je prvi put predstavljen 2015. godine od grupe istraživača s Nacionalnog instituta za naprednu industrijsku znanost i tehnologiju u Japanu. U početnim verzijama, cilj je bio razraditi osnovne funkcije kao što su dekonvolucija spektra i identifikacija metabolita, a zbog svoje jednostavnosti i mogućnosti analize različitih skupina podataka, brzo je stekao popularnost. (Tsugawa et al., 2015) [13]

Kroz godine, MS-DIAL je doživio mnoge nadogradnje, uključujući unapređenja u algoritmima za identifikaciju i kvantifikaciju metabolita, podršku za novije tehnike ionizacije, te integraciju s bazama podataka poput MassBank. MS-DIAL je postao ključni alat u mnogim istraživačkim laboratorijima diljem svijeta, a njegova primjena se proširila na različite sektore kao što su biomedicinska istraživanja, prehrambena industrija te znanosti o okolišu. (Tsugawa et al., 2016) [14]

U najnovijim verzijama softvera MS-DIAL uključeni su napredni alati za vizualizaciju podataka, automatizaciju analize i podršku za različite tehnike masene spektrometrije. Također, softver je postao otvorenog koda, što omogućava znanstvenoj zajednici da doprinosi njegovom daljnjem razvitku. MS-DIAL je primjer kako se softverski alati mogu razvijati i prilagođavati potrebama znanstvene zajednice, pružajući korisne alate za analizu složenih podataka. (Tsugawa et al., 2021) [15]

### 2.1.2 Primjena MS-DIAL-a

MS-DIAL omogućuje točnu identifikaciju i kvantifikaciju velikog spektra metabolita u biološkim uzorcima koristeći napredne algoritme za dekonvoluciju spektra. Ovi algoritmi uspoređuju podatke iz različitih baza podataka u svrhu točnosti identifikacije i kvantifikacije. MS-DIAL je korišten u različitim istraživanjima za analizu metaboloma iz bioloških uzoraka, uključujući krv, urin i tkiva. (Tsugawa et al., 2015) [13]

Softver je iznimno koristan za analizu lipida, jer daje mogućnost detaljne identifikacije i kvantifikacije različitih klasa lipida, a primjenjuje se i u analizi lipidoma u istraživanjima vezanim uz bolesti kao što je dijabetes i kardiovaskularna oboljenja. MS-DIAL podržava podatke dobivene različitim tehnikama ionizacije, što olakšava profiliranje lipida. Također podržava analizu podataka dobivenih raznim tehnikama masene spektrometrije, kao npr. plinska kromatografija u tandemu s masenom spektrometrijom (GC-MS), tekućinsku kromatografiju u tandemu s masenom spektrometrijom (LC-MS), te MS/MS. Ovi parametri omogućuju znanstvenicima da koriste isti alat za različite tipove spektrometrijskih analiza. (Tsugawa et al., 2016) [14]

Integracija softvera s različitim bankama podataka pomaže u identifikaciji spojeva i usporedbi rezultata s postojećim podacima, čime se poboljšava učinkovitost analize. MS-DIAL nudi napredne mogućnosti i širok izbor za vizualizaciju podataka, uključujući prikaz u različitim grafovima i tablicama. Ovi alati pomažu u tumačenju rezultata, omogućujući jasnije prikazivanje složenih podataka. Softver omogućava automatizaciju velikog broja koraka u analizi podataka, čime doprinosi puno bržoj analizi i minimiziranju mogućnosti ljudske pogreške. (Tsugawa et al., 2021) [15]

### 2.1.3 Korištene metode u MS-DIAL-u

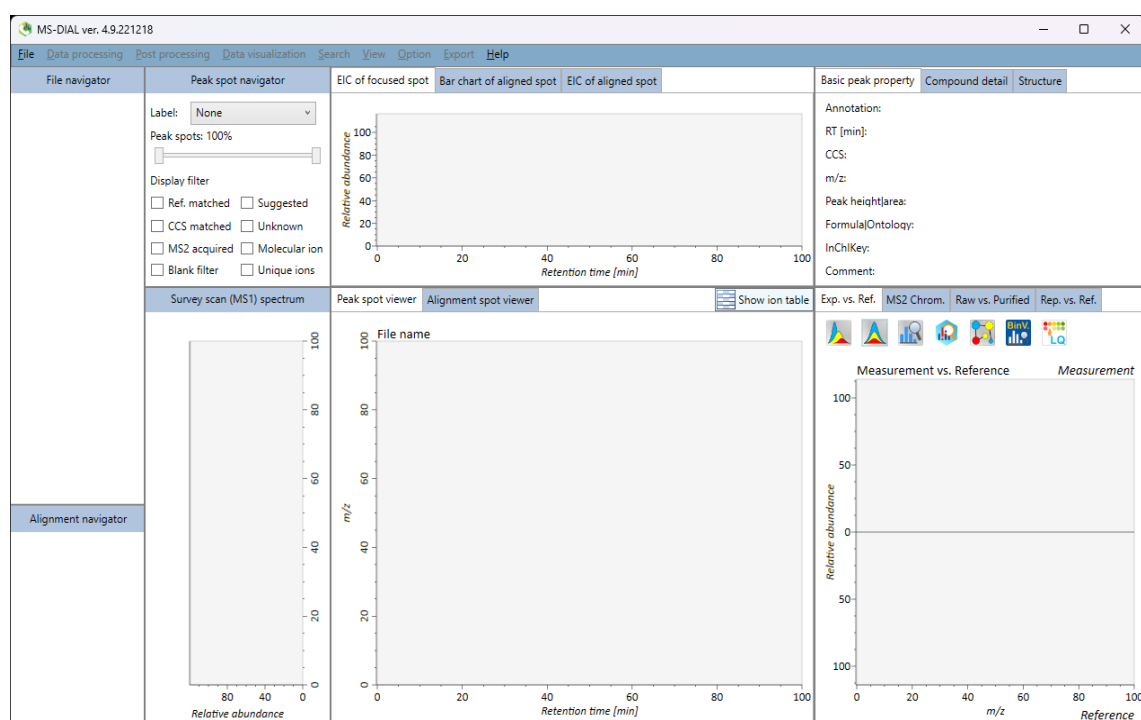
Dekonvolucije spektra u MS-DIAL-u služi u svrhu razlikovanje preklapajućih ionskih signala, što omogućuje prepoznavanje pojedinačnih spojeva. Metoda koristi napredne algoritme kako bi točno odredila različite metabolite i lipide, a ključna je pri analizi složenih uzoraka u kojima se signali različitih spojeva preklapaju dajući jasnije rezultate. Softver uspoređuje spektralne podatke s referentnim spektrima iz tih baza kako bi točno identificirao analizirane spojeve (Tsugawa et al., 2015) [13].

Kvantifikacija spojeva u MS-DIAL-u se temelji na integraciji ionskih signala. Softver omogućuje i relativnu i apsolutnu kvantifikaciju koristeći unutarnje standarde za osiguranje točnosti, a kvantifikacija je neophodna za precizno određivanje koncentracija spojeva, što je važno u biološkim i kemijskim analizama (Tsugawa et al., 2016) [14]. Ova metoda omogućava znanstvenicima da koriste MS-DIAL pri analizu podataka iz različitih eksperimentalnih izvora, čime se povećava njegova primjenjivost.

MS-DIAL pruža napredne alate za vizualizaciju podataka, uključujući mogućnosti za generiranje različitih grafičkih prikaza i tablica. Ovi alati pomažu u interpretaciji rezultata i predstavljanju podataka (Tsugawa et al., 2021) [15]. Vizualizacija podataka je za razumijevanje složenih rezultata i njihovo jasnije prikazivanje istraživačkoj zajednici. Ove metode čine MS-DIAL snažnim alatom za analizu podataka dobivenih masenom spektrometrijom, omogućujući istraživačima da učinkovito identificiraju, kvantificiraju i interpretiraju spojeve u biološkim uzorcima.

## 2.1.4 Postupak analize podataka u MS-DIAL-u

U radu je korišten softver MS-DIAL verzija 4.9. i demo sirovi podatci GC-MS-a (URL : <https://systemsomicslab.github.io/compms/msdial/main.html>). U prvom koraku su učitani sirovi podatci u MS-DIAL pokretanjem programa te izborom “file”, “new project” nakon čega se otvara izborni prozor sa opcijama za unošenje sirovih podataka. Sirovi podatci u ovom radu sadržavaju rezultate demo verzije od GC-MS-a koji su prebačeni u ABF format pomoću ABF konvertera (URL softvera ABF konverter: <https://www.reifycs.com/abfconverter/>)



Slika 5. Početni prozor softvera MS-DIAL verzije 4.9.

Slika 6. Izborni prozor sa opcijama za unošenje sirovih podataka

Nakon umetanja sirovih podataka formata ABF pod “project new file” izabrana je opcija “hard ionization” koja omogućava rad sa podatcima dobivenima putem GC-MS-a.

Problem ABF datoteka je samostalno određivanje vrste podataka, tj. je li riječ o centroidnom ili profilnom tipu. Ako su podaci centroidni, program ne mora izvršavati proces centroidiranja spektra. S druge strane, MS-DIAL treba izvršiti proces centroidiranja za podatke u profilnom obliku. Definirane su vrste za ove instrumente : SCIEX QTOF: Profilno Thermo Q-Exactive: Profilno, Thermo LTQ-Orbitrap: Profilno za MS1 i centroidno za MS/MS, “All nominal” GC/MS: Centroidno. Agilent: Konverter ABF-a će prepoznati vrstu podataka kao ‘centroidnu’ ako u vašem MassHunter softveru postavljena vrsta ispisa kao centroidna ili oboje. U suprotnom, pretpostavlja se da je riječ o ‘profilnom’ tipu (MS-DIAL Tutorial) [16].

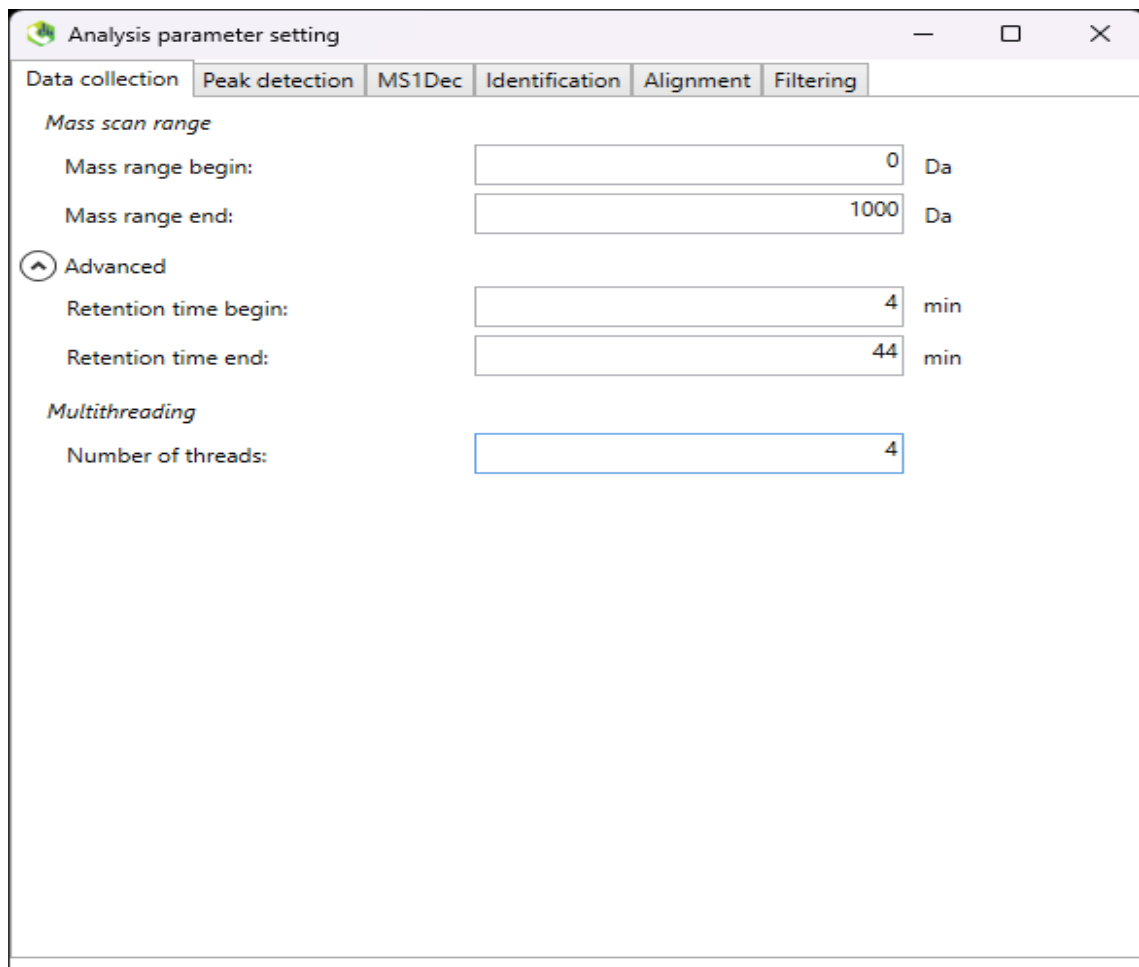
New project window

Analysis file paths

| File path                                | File name    | Type   | Class ID | Batch | Analytical order | Inject. volume (µL) | Included                            |
|--|--------------|--------|----------|-------|------------------|---------------------|-------------------------------------|
| C:\Users\john3\OneDrive\Radna površina\A | Cont14_1     | Sample | Cont     | 1     | 1                | 1                   | <input checked="" type="checkbox"/> |
| C:\Users\john3\OneDrive\Radna površina\A | Cont16_1     | Sample | Cont     | 1     | 2                | 1                   | <input checked="" type="checkbox"/> |
| C:\Users\john3\OneDrive\Radna površina\A | MeKO_01_01_1 | Sample | MeKO     | 1     | 3                | 1                   | <input checked="" type="checkbox"/> |
| C:\Users\john3\OneDrive\Radna površina\A | MeKO_01_02_1 | Sample | MeKO     | 1     | 4                | 1                   | <input checked="" type="checkbox"/> |

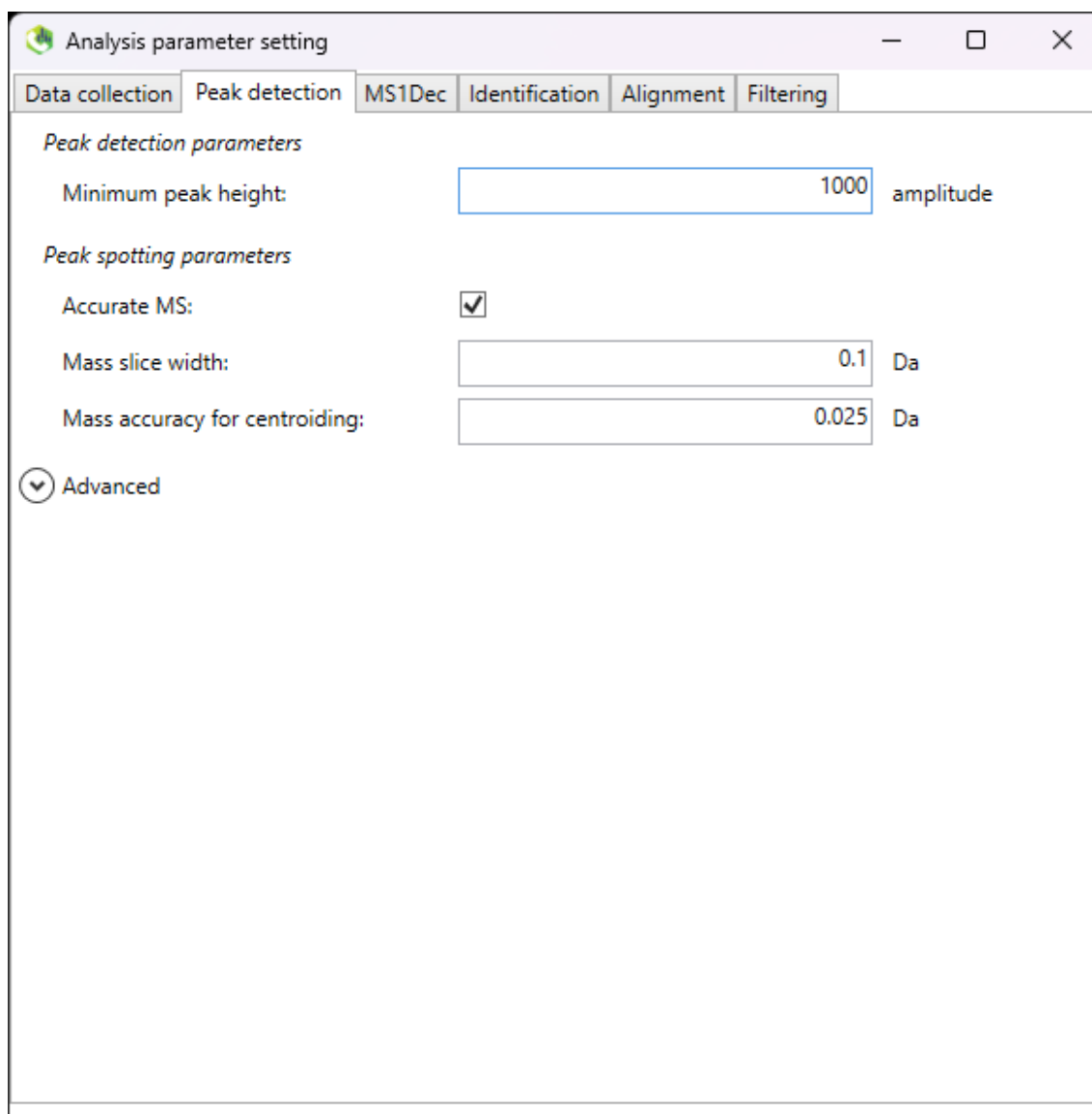
Slika 7. Tablica unesenih sirovih podataka koja pruža mogućnost označavanja kontrole i uzorka

Pri postavljanju parametara za analizu odabrani su pragovi za detekciju pikova, početak i kraj vremena retencije te broj niti (“threads”). Retencijsko vrijeme je sukladno instrumentu GC-MS, a broj niti pokazuje kolika je efikasnost procesuiranja podataka, što je on veći veća je efikasnost procesuiranja i karakteristična je za računalo na kojem se radi.



Slika 8. Postavljanje parametara za analizu

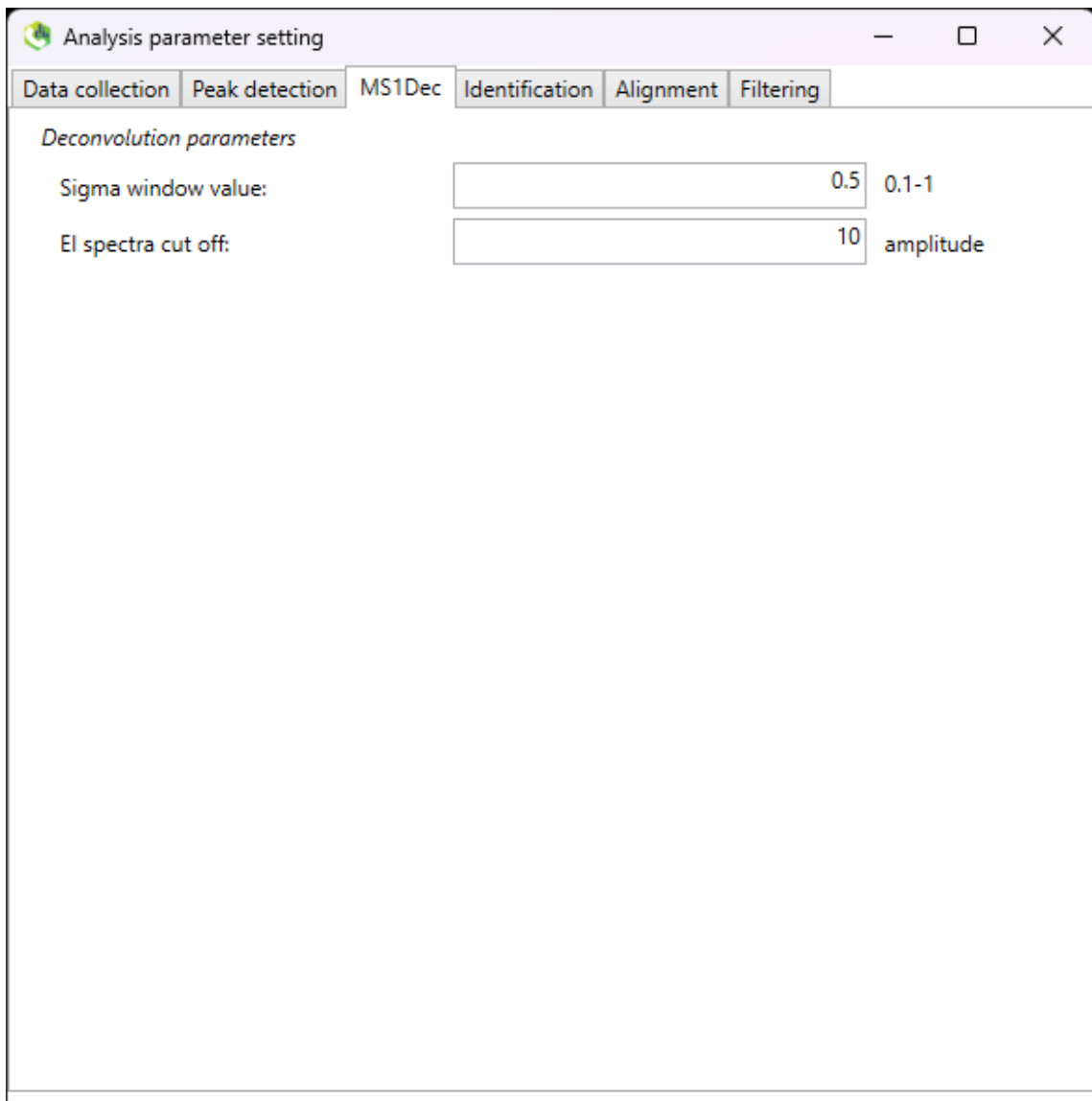




Slika 9. Postavljanje parametara za detekciju pikova

Minimalna visina pika je parametar koji se koristi pri detekciji pikova kako bi se našla minimalna granica intenziteta za otkrivanje pikova u učitanim podacima. Postavljanje minimalne visine pika može pomoći pri filtriranju mnoštva pikova te osigurava da se u analizi koriste samo značajni pikovi. Širina masenog segmenta se odnosi na  $m/z$  vrijednosti koje softver obrađuje, manja širina masenog segmenta daje veću razlučivost pri detekciji pikova što olakšava razlikovanje pikova koji su smješteni blizu jedan drugome. Veće vrijednosti ovog parametra daju bržu analizu ali mogu dati manju preciznost ako je riječ o složenim spektrima. Masena preciznost pri centroidingu se odnosi na preciznost mjerenja mase iona pri postupku centroidinga. Centroiding je proces u kojem se neprekinuti profil spektra pretvara u točke ili centroide koje

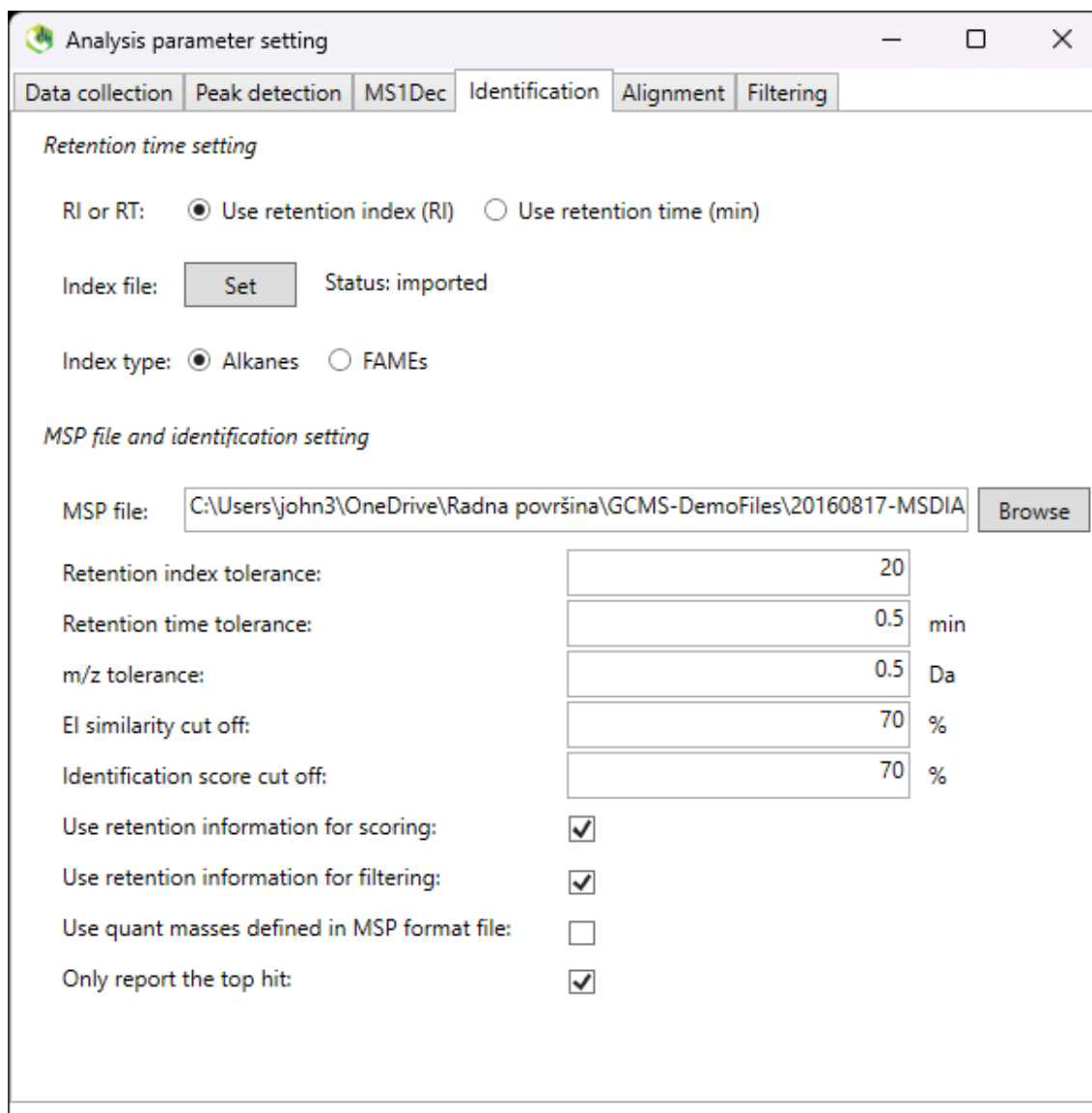
predstavljaju ion u danim m/z vrijednostima. Bolja masena preciznost daje točnije centre u stvarnoj vrijednosti m/z od danog iona (MS-DIAL Tutorial) [16]. Prema tome, potrebno je izabrati parametre koji odgovaraju zahtjevima analize kako bi se izbjeglo mnoštvo pikova koji se preklapaju i omogućio lakši rad s rezultatima.



Slika 10. Dekonvolucija spektra

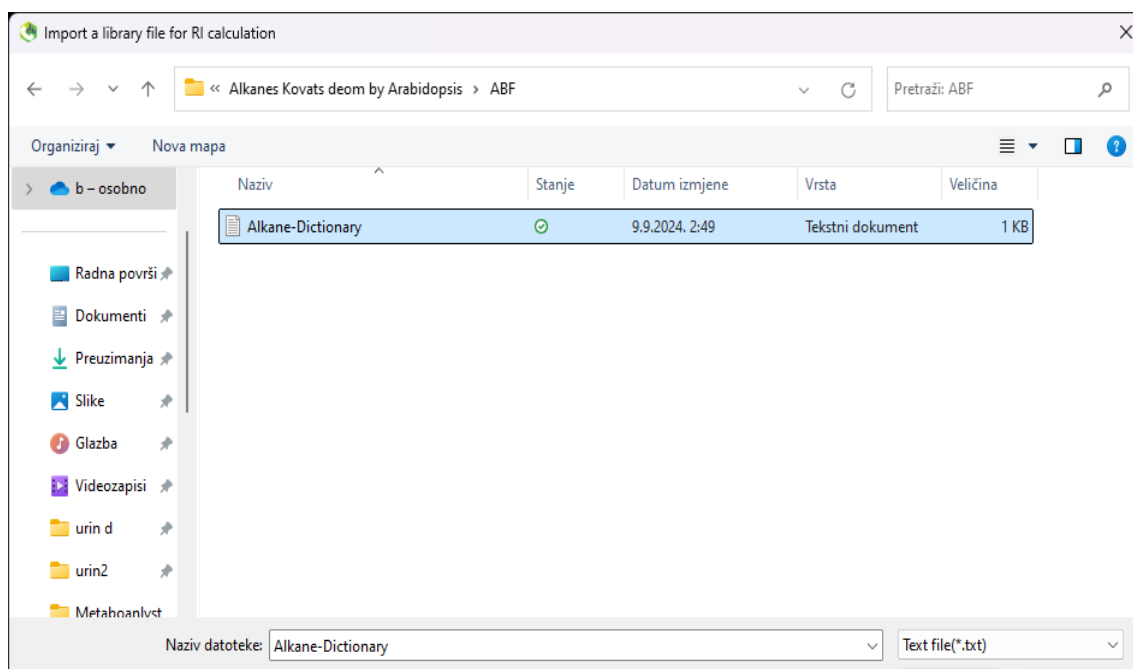
Dekonvolucija spektra označava proces rješavanja problema pri preklapanju signala masenog spektra da bi se točno mogle odrediti pojedine komponente. Ova operacija je važna u slučajevima kada metaboliti daju signale koji se preklapaju čime je otežano njihovo razlikovanje. Softver koristi napredne algoritme za tu operaciju kako bi mogao

dodijeliti određeni signal određenom spoju (MS-DIAL Tutorial) [16]. Visoka sigma vrijednost daje mogućnost analiziranja mnoštva spojeva ali i veća preklapanja, a niža sigma vrijednost može dati točnije rezultate ali uzima u obzir manje pikova.

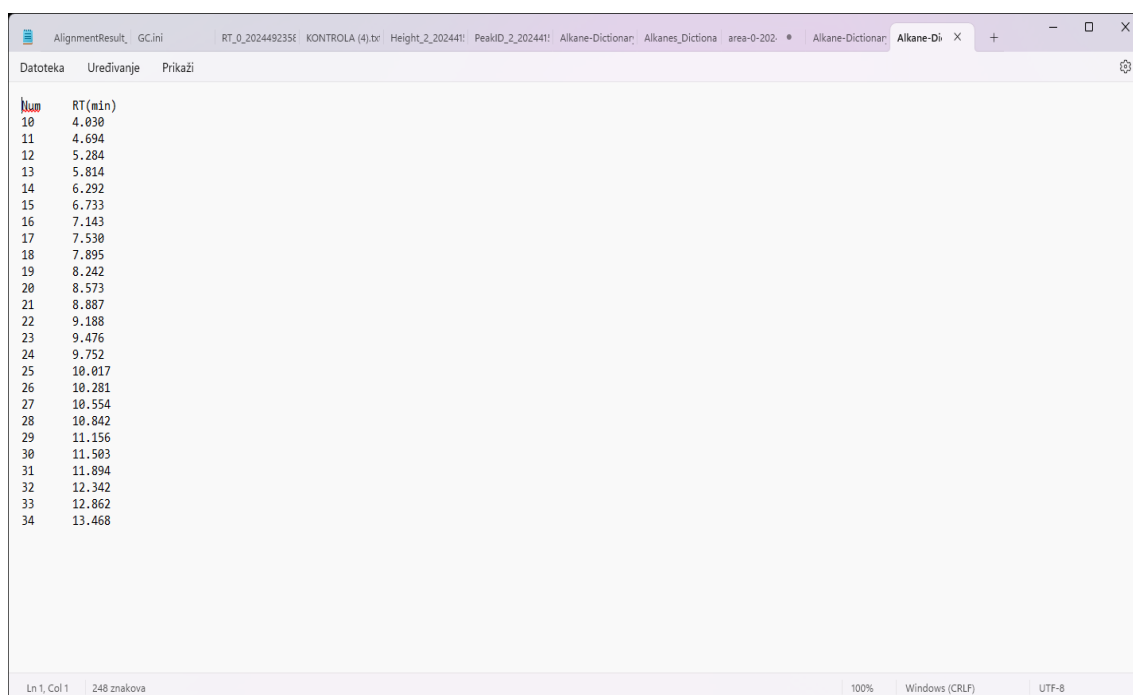


Slika 11. Identifikacija

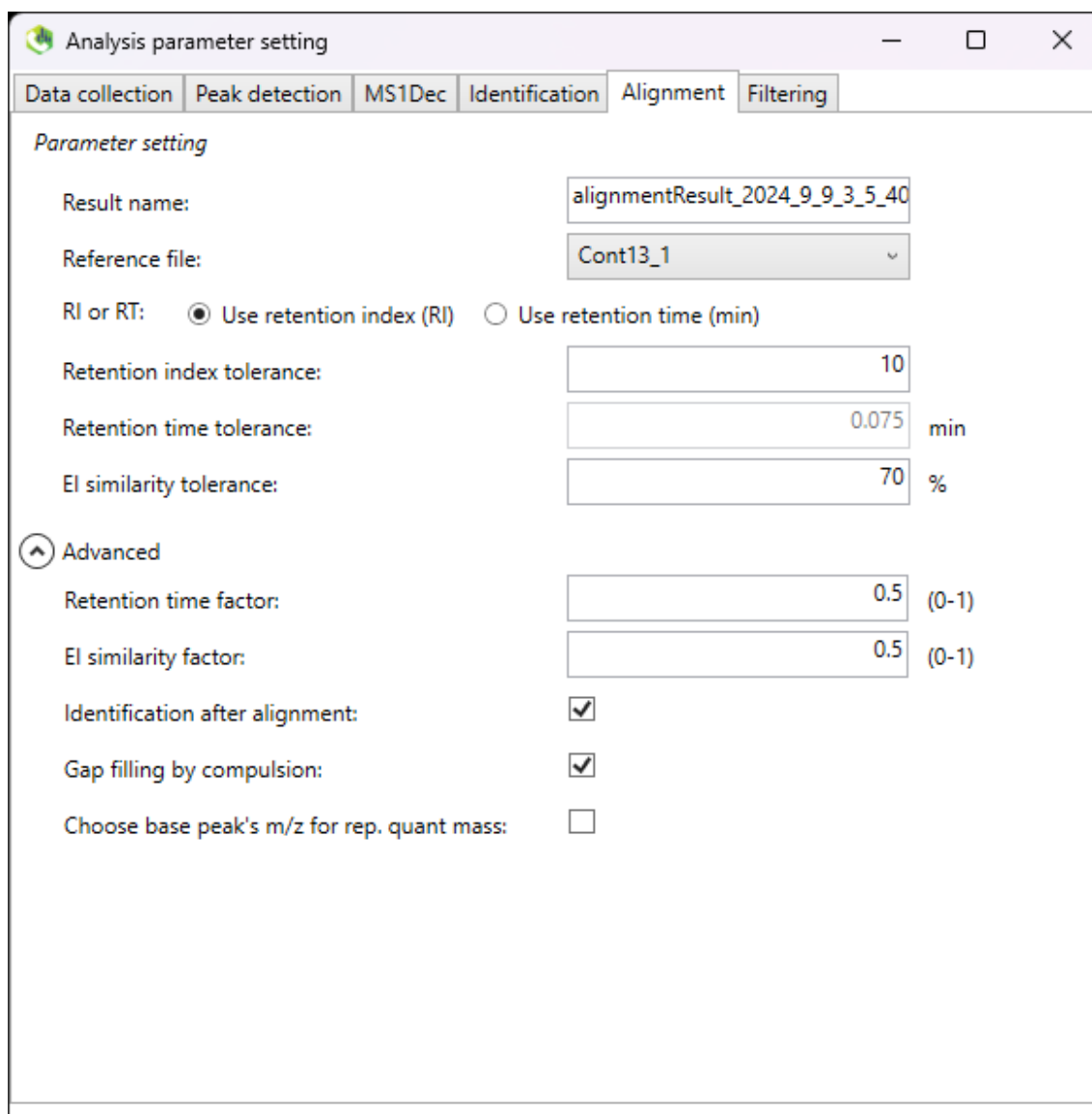
Pri identifikaciji je odabran retencijski indeks iz čega slijedi da softver logičkim slijedom zahtjeva unos serije alkana koji koristi kao referencu. Banke podataka koje se unose su označene pod “MSP file” i temeljem njih se vrši identifikacija spojeva. Korištena je javna banka podataka sa službene stranice MS-DIALA (URL banke podataka: <https://systemsomicslab.github.io/compms/msdial/main.html#Demonstration>)



Slika 12. Serija (niz) alkana



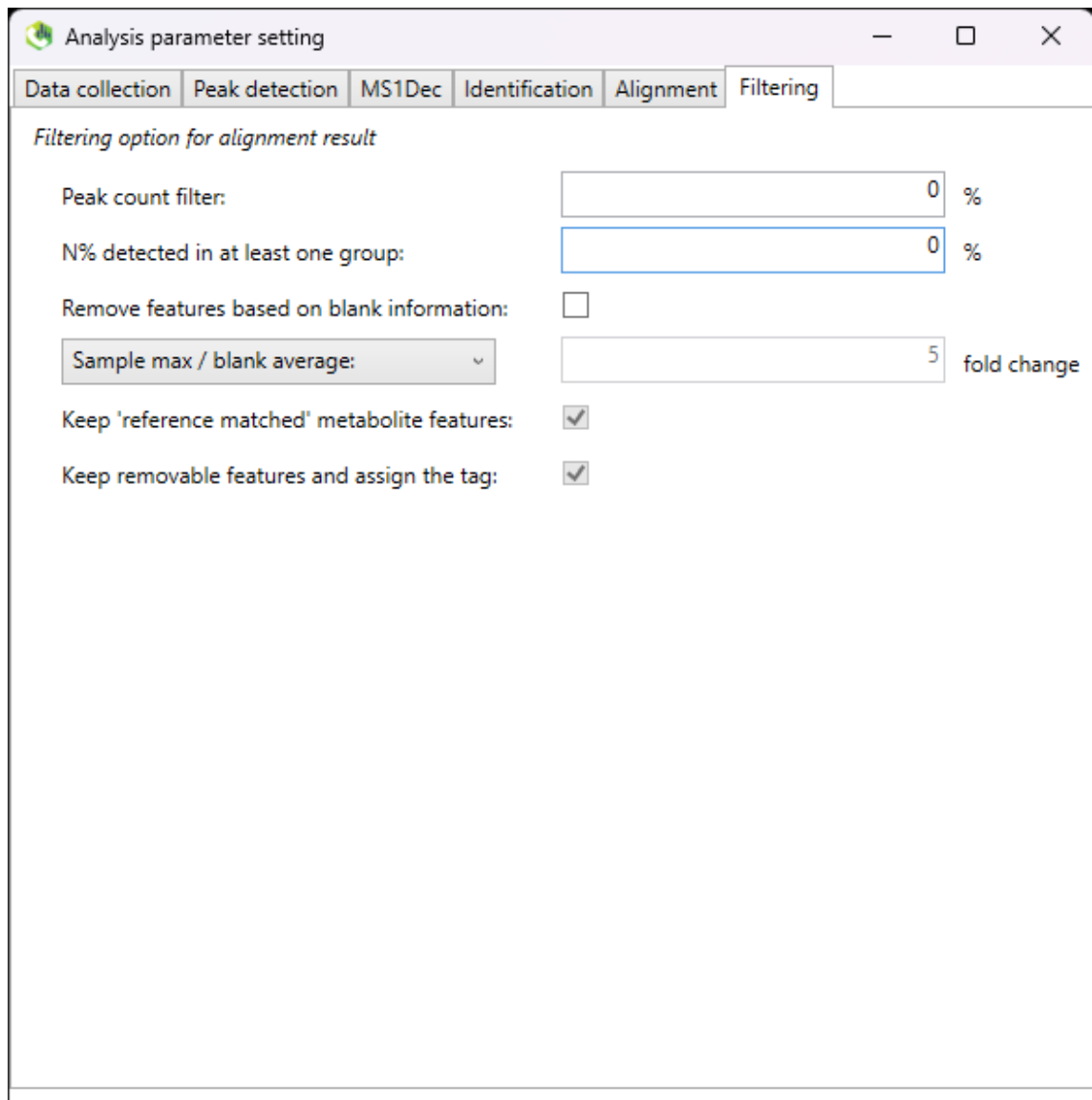
Slika 13. Niz alkana



Slika 14. Poravnanje

Poravnanje označava proces usklađivanja parametara između unesenih uzoraka. U metabolomici različiti uzorci kao što su metaboliti, lipidi i proteini mogu imati razlike u vremenu zadržavanja i signalima koje daju zbog raznih faktora. Odabirom tolerancije retencijskog indeksa se postavlja granica moguće varijabilnosti između uzorka ili standarda, a označava mjeru vremenskog zadržavanja u koloni i u softveru se uspoređuje s vremenom zadržavanja referentnih spojeva. EI tolerancija sličnosti označava stavku u softveru čije je značenje kontrola bliskosti masenih spektara i treba odgovarati referentnom spektru u procesu identifikacije (MS-DIAL Tutorial) [16]. U ovom radu je korištena serija alkana ili niz alkana kao referenca vremena zadržavanja.

Odabiranjem visoke tolerancije EI sličnosti softver prihvaća spojeve koji ne odgovaraju u potpunosti podacima koji su uneseni kao referenca, dok odabir niske tolerancije EI daje softveru uputu da uzima u obzir samo spojeve koji se vrlo dobro poklapaju sa referentnim unosom.

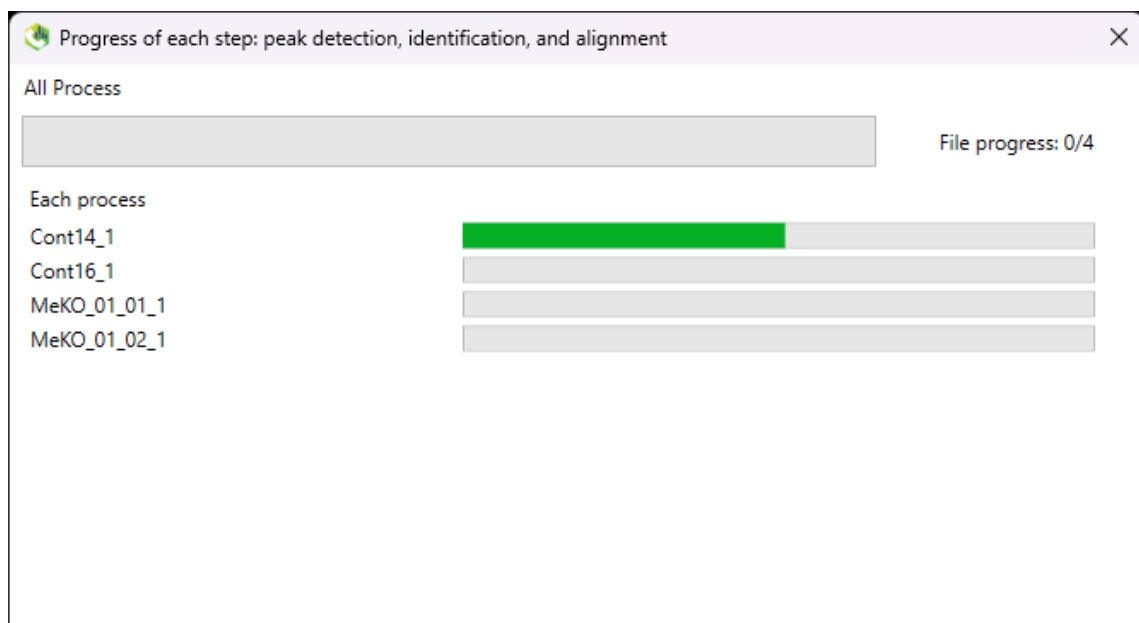


Slika 15. Filtriranje

Filter broja pikova označava najmanji broj pikova koje bi spoj trebao imati da bi bio korišten pri analizi u softveru jer spojevi s malim brojem pikova nisu pouzdani.

N postotak detekcije u barem jednoj grupi označava postotak uzoraka u barem jednoj grupi npr. kontrolnoj u kojoj se mora nalaziti neki spoj da bi bio zadržan u analizi (MS-DIAL Tutorial) [16].

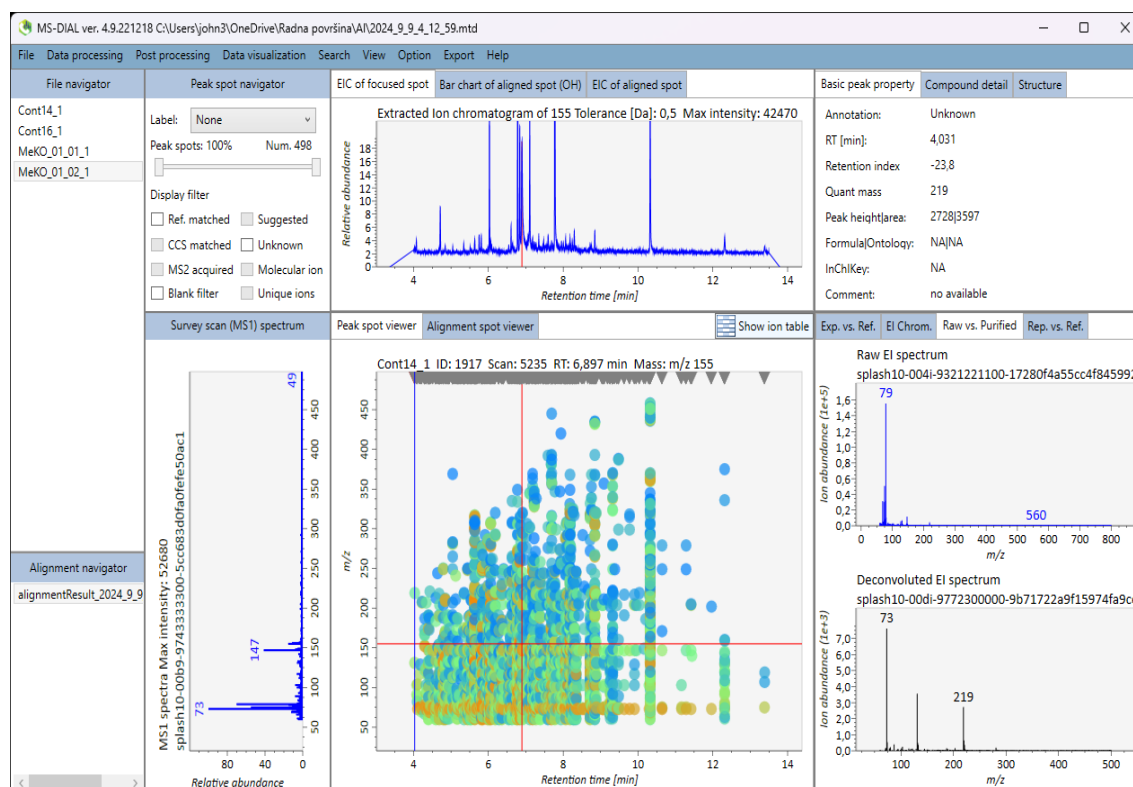
Ovi parametri pomažu pri filtriranju podataka i poboljšavaju kvalitetu analize uklanjanjem signala koji nisu od važnosti. Odabiranjem visoke vrijednosti filtera broja pikova daje se naredba softveru da ne uzima u obzir spojeve s malim brojem pikova čime se poboljšava kvaliteta analize. Odabirom visokog N postotka detekcije se smanjuje broj spojeva koje softver obrađuje, dok odabir niskog N postotka detekcije daje mogućnost pronalaska više spojeva ali i više pikova koji ne moraju biti značajni.



Slika 16. Proces detekcije, identifikacije i poravnanja

Ovisno o brzini računala, količini unesenih podataka te postavljenom broju niti (threads), napredovanje svakog koraka varira (detekcije pikova, identifikacije i poravnanja). Softver može paralelno obrađivati onoliko datoteka koliki je broj niti ("threads") postavljen.

### 3 REZULTATI I RASPRAVA



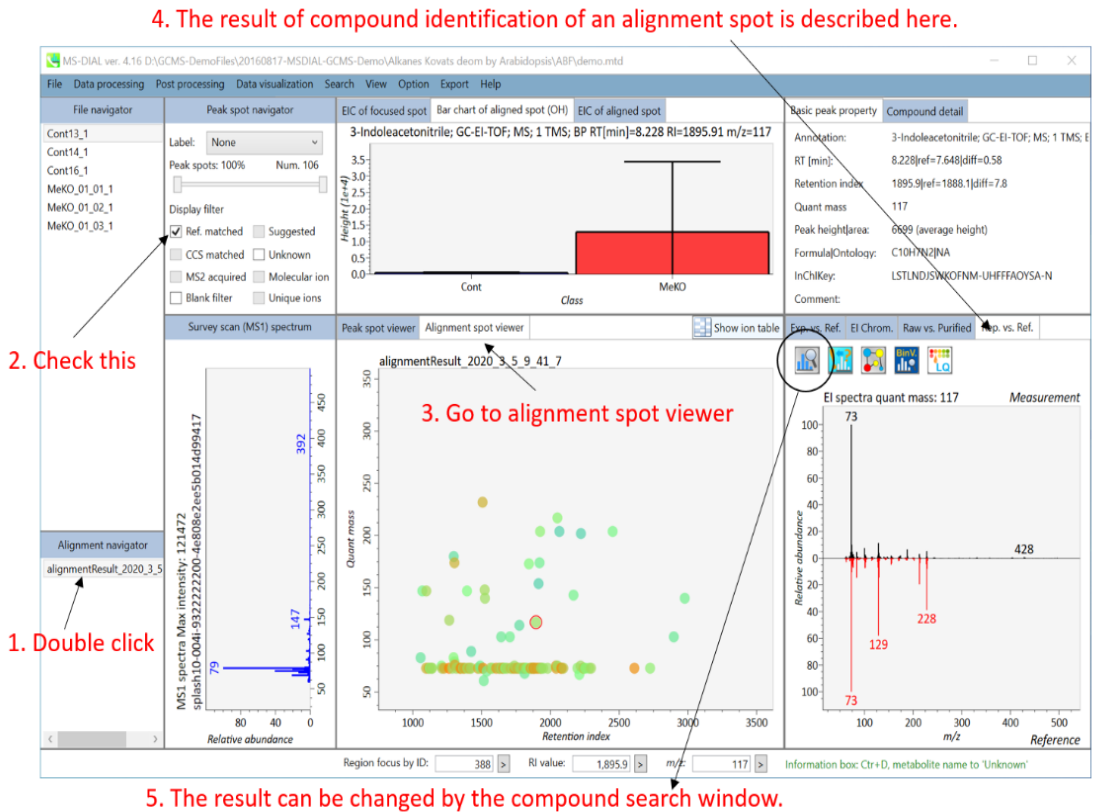
Slika 17. Rezultat analize softvera MS-DIAL

Na grafičkim rezultatima analize prikazanim na slici 17. na grafu pregleda pozicija točaka mogu se vidjeti podatci o izabranom piknu kao što su retencijsko vrijeme, kvantna masa, retencijski indeks te formula spoja. Međutim rezultati za izabranu točku pokazuju da banka podataka nije prepoznala naziv spoja. Prikaz rezultata također sadrži ekstrahirani ionski kromatogram (EIC), koji je iz podataka izvukao kromatogram za određeni spoj ili m/z vrijednost, što je omogućilo fokusiranje na pojedinačni spoj.

Na slici 18. se nalazi maseni spektar prvog reda (MS1), koji prikazuje profil iona prisutnih u uzorku prema njihovoj m/z vrijednosti. MS1 je zabilježio sve ionizirane vrste koje nisu prošle fragmentaciju, te prikazuje intenzitet iona pri određenim m/z vrijednostima. Veći intenzitet označava veći broj iona pronađenih pri toj m/z vrijednosti. Softver je omogućio vizualizaciju MS1 spektra pružajući pregled pika izabranog spoja na grafu. Također, ponuđena je opcija navigatora poravnanja (alignment navigator) koja omogućuje usklađenje između četiri korištena uzorka.



Grafovi sirovog EI spektra i dekonvolucije EI spektra omogućuju usporedbu između sirovih učitanih podataka i podataka koje je softver dekonvulirao.



Slika 18. Grafički prikaz softvera MS-DIAL (URL: <https://systemsomicslab.github.io/msdial5tutorial/>)

Na slici 18. broj 2 označava filter za referentno preklapanje (“reference matched”) koji je omogućio grafički prikaz samo onih spojeva koji su identificirani. U sekciji Pregled točaka preklapanja (“Aligment spot viewer”) vidljiv je prikaz isključivo identificiranih točaka, dok se omjer spoja u uzorcima prikazuje u sekcijom Stupičasti prikaz točaka preklapanja (“Bar chart of aligment spots(OH)”). Prikaz omjera spoja doprinosi kvaliteti analize pogotovo ako analiza nije izvedena uz korištenje standarda.

## 4 ZAKLJUČAK

MS-DIAL se pokazao korisnim softverom pri obradi podataka masene spektrometrije te mogućnošću identifikacije metabolita i lipida. Softver primjenjuje napredne algoritme za dekonvoluciju spektra i omogućava kompatibilnost s raznim bazama podataka poput Mass Bank što značajno olakšava proces identifikacije metabolita i drugih tvari.

Jedna od glavnih prednosti MS-DIAL-a je njegova sposobnost obrade podataka dobivenih različitim tehnikama ionizacije kao što su GC/MS, LC/MS i MS/MS, čime je pozicioniran kao iznimno koristan alat u znanstvenim istraživanjima.

Softver također omogućuje automatsku analizu i vizualizaciju podataka, što doprinosi točnosti i brzini analize, smanjujući pritom vjerojatnost ljudske pogreške.

## 5 POPIS KRATICA I SIMBOLA

GC-MS -vezni sustav plinske kromatografije i spektromerije masa (engl. gas chromatography–mass spectrometry)

HPLC-MS - vezni sustav visokoučinkovite tekućinske kromatografije i spektrometrije masa (engl. high-performance liquid chromatography–mass spectrometry)

ATP - adenzin trifosfat (engl. adenosine triphosphate)

kDa -kilodalton

2DGE -Vezni sustav dvodimenzionalne gel elektroforeze (engl. 2D gel electrophoresis)

MS - spektrometrija masa (engl. mass spectrometry)

LCMS - Vezni sustav tekućinske kromatografije sa spektrometrijom masa (engl. liquid chromatography–mass spectrometry)

CRP -C-reaktivni protein (engl. C-reactive protein)

NMR -Nuklearna magnetska rezonancija (engl. nuclear magnetic resonance)

CAS -Kemijski apstraktni servis (engl. Chemical Abstracts Service)

MALDI-MS - Matricom potpomognuta laserskom desorpcijom/ionizacijom-spektrometrija masa (engl. Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry)

Ppb –dio na milion (engl. perc per billion)

WCOT – kolona sa širokim kapilarama (engl. Wide-Bore Capillary Column)

SCOTT –kolona s kalibriranim kapilarama za plinsku kromatografiju (engl. SCOTT – Standard Capillary Column for Gas Chromatography)

FID –plameno ionizacijski detektor (engl. Flame Ionization Detector)

ECD -detektor za hvatanje elektrona (engl. Electron Capture Detector)

TCD –detektor toplinske vodljivosti (engl. Thermal Conductivity Detector)

## 6 LITEATURA

1. J.M. Berg, J.L. Tymoczko, L. Strayer : Biokemija, 2013. str.419, 420
2. Slika 1.1 metabolizam URL: <https://www.enciklopedija.hr/clanak/metabolizam> (01.09.2024.)
3. URL: <https://microbenotes.com/primary-vs-secondary-metabolites/> (02.09.2024.)
4. Ž.Debeljak, M.Bojić, H.Rimac, M. Medić-Šarić : Uvod u računalnu kemiju i dizajn lijekova, 2020, str.8.
5. A.Lutkić, A.Jurić : Biokemija, 2008, str.365,366
6. Wang JH, Byun J, Pennathur S. : Analytical approaches to metabolomics and applications to systems biology. *Seminars in Nephrology*. 2010. str. 500-511
7. Instituto de Investigación e Innovación Biomédica de Cádiz, Hospital Universitario Puerta del Mar,Cádiz, Spain : *Mass Spectrometry for Metabolomics* : str. 1,58
8. Slika 1.2. Razlike ciljane i neciljane metabolomike URL: [https://www.researchgate.net/publication/335217113\\_Metabolomics\\_Basic\\_Principles\\_and\\_Strategies](https://www.researchgate.net/publication/335217113_Metabolomics_Basic_Principles_and_Strategies) (27.08.2024.)
9. L.M.L. Nollet, R. Winkler, *Mass Spectrometry in Food Analysis*, 2022, str. 5, 14
10. Izv.prof.dr.sc. Irena Škorić: Masena (MS) spektrometrija – predavanje
11. McNair i Miller, 2009 str 1,2
12. *International Journal of Information and Computing Science*, 2018, URL: <https://seipub.org/ijics/> (21.08.2024.)
13. Tsugawa et al., 2015 URL:<https://doi.org/10.1038/nmeth.3393> (04.09.2024.)
14. Tsugawa et al., 2021 URL: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.analchem.1c01035> (04.09.2024.)
15. Tsugawa et al., 2016 URL : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jms.3765> (06.09.2024.)

16. URL:[http://prime.psc.riken.jp/Metabolomics\\_Software/MS-DIAL/MSDIAL\\_instructions.html](http://prime.psc.riken.jp/Metabolomics_Software/MS-DIAL/MSDIAL_instructions.html) (08.09.2024.)

## 7 PRILOZI

Slika 1. metabolizam (URL: <https://www.enciklopedija.hr/clanak/metabolizam>)

Slika 2. Uređaj GC-MS

Slika 3. Prikazivanje masenog spektra (Izv.prof.dr.sc. Irena Škorić: Masena (MS) spektrometrija – predavanje)

Slika 4. Dijelovi plinskog kromatografa (International Journal of Information and Computing Science, 2018, URL: <https://seipub.org/ijics/>)

Slika 5. početni prozor softvera MS-DIAL verzije 4.9.

Slika 6. Izborni prozor sa opcijama za unošenje sirovih podataka

Slika 7. Tablica unesenih sirovih podataka koja pruža mogućnost označavanja kontrole i uzorka

Slika 8. Postavljanje parametara za analizu

Slika 9. Postavljanje parametara za detekciju pikova

Slika 10. Dekonvolucija spektra

Slika 11. identifikacija

Slika 12. Serija (niz) alkana

Slika 13. Niz alkana

Slika 14. Poravnanje

Slika 15. Filtriranje

Slika 16. Proces detekcije, identifikacije i poravnanja

Slika 17. Rezultat analize softvera MS-DIAL

Slika 18. Grafički prikaz softvera MS-DIAL (URL: <https://systemsomicslab.github.io/msdial5tutorial/>)