

血浆中儿茶酚胺不同PWCX板回收率对比报告

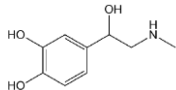
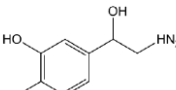
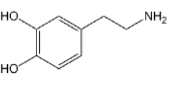
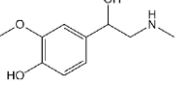
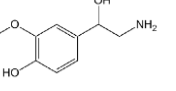
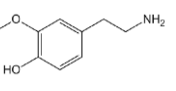
应用及技术服务部

摘要: 本实验选择 Agela 的 PWCX 类羧基填料微孔板对同一批号血浆进行回收率对比测试。

关键词: 儿茶酚胺; PWCX;

样品信息

表 1. 化合物样品信息

样品名称	英文缩写	结构式	分子式	分子量
肾上腺素	E		C ₉ H ₁₃ NO ₃	183.1
去甲肾上腺素	NE		C ₈ H ₁₁ NO ₃	169.1
多巴胺	DA		C ₈ H ₁₁ NO ₂	153.1
变肾上腺素	MN		C ₁₀ H ₁₅ NO ₃	197.1
去甲变肾上腺素	NMN		C ₉ H ₁₃ NO ₃	183.1
3-甲氧基酪胺	3-MT		C ₉ H ₁₃ NO ₂	167.1

仪器、试剂与材料

主要仪器设备

液相色谱串联质谱仪 (LC-MS/MS)。

试剂材料

乙酸铵、甲酸、乙腈均为色谱纯；

96 孔板：Agela，PWCX，5 mg/1 mL（Lot：M02869-1-C1）；

注：经测试对于 350 μ L 血浆上样，Agela Pwcx 2mg 与 5mg 产品回收率基本一致，不存在显著差异。

儿茶酚胺标准溶液：0.1%甲酸乙腈稀释；

前处理方法

样品处理

取 350 μ L 血浆，加入 10 μ L 标准品溶液及 10 μ L 内标溶液，涡旋震荡 1 min，加入 350 μ L 50 mM 乙酸铵溶液，涡旋震荡 1 min，待净化。

样品净化

- （1）活化：依次使用 200 μ L 甲醇、200 μ L 25 mM 乙酸铵溶液以 2-3 秒/滴的速度对孔板进行活化。
- （2）上样：将预处理的样品全部上样，控制流速 2-3 秒/滴。
- （3）淋洗：依次使用 400 μ L 25 mM 乙酸铵溶液、400 μ L 乙腈以 2-3 秒/滴的速度对孔板进行淋洗。
- （4）洗脱：使用 100 μ L 5%甲酸乙腈溶液对孔板两次洗脱。
- （5）氮干复溶：将 2 次洗脱溶液涡旋并在 37 $^{\circ}$ C 下氮吹，然后使用 100 μ L 初始比例流动相复溶，并涡旋 1min 后进样检测。

色谱条件——Hilic 模式

色谱柱：Luna NH2，3 μ m 2.0 $\times$ 100 mm；

流动相：

A 相：10 mM 甲酸铵 0.1%甲酸水溶液

B 相：0.1%甲酸乙腈溶液

柱温：40 $^{\circ}$ C

流速：0.6 mL/min

进样量：10 μ L

梯度条件：

表 2. 目标物离子信息

时间	流速	B 相比例
0 min	0.6 mL/min	95
0.5 min	0.6 mL/min	95
1.5 min	0.6 mL/min	85
2.5 min	0.6 mL/min	85
2.6 min	0.6 mL/min	40
3.0 min	0.6 mL/min	40
3.1 min	0.6 mL/min	95
5.0 min	0.6 mL/min	95

质谱条件：
离子源温度：550 °C； 电离电压：5500 V； 电离模式：正模式；
Cur： 35 psi； Gas1: 50 psi； Gas2:50 psi；

表 3. 目标物离子信息

物质名称	英文简称	选择离子
肾上腺素	E	166/184.1； 107.2/184.1
去甲肾上腺素	NE	107/152.2； 78.9/152.2
多巴胺	DA	137.2/154； 119/154
变肾上腺素	MN	148.1/180.1； 120.1/180.1
去甲变肾上腺素	NMN	134.1/166.1； 121.1/166.1
3-甲氧基酪胺	3-MT	119.1/168.1； 91.1/168.1

实验结果

表 4. 化合物回收率数据 （n=3）

物质名称	Agela 回收率%
肾上腺素 E	33.5

去甲肾上腺素 NE	23.1
多巴胺 DA	37.5
变肾上腺素 MN	90.4
去甲变肾上腺素 NMN	74.5
3-甲氧基酪胺 3-MT	89.2

实验谱图

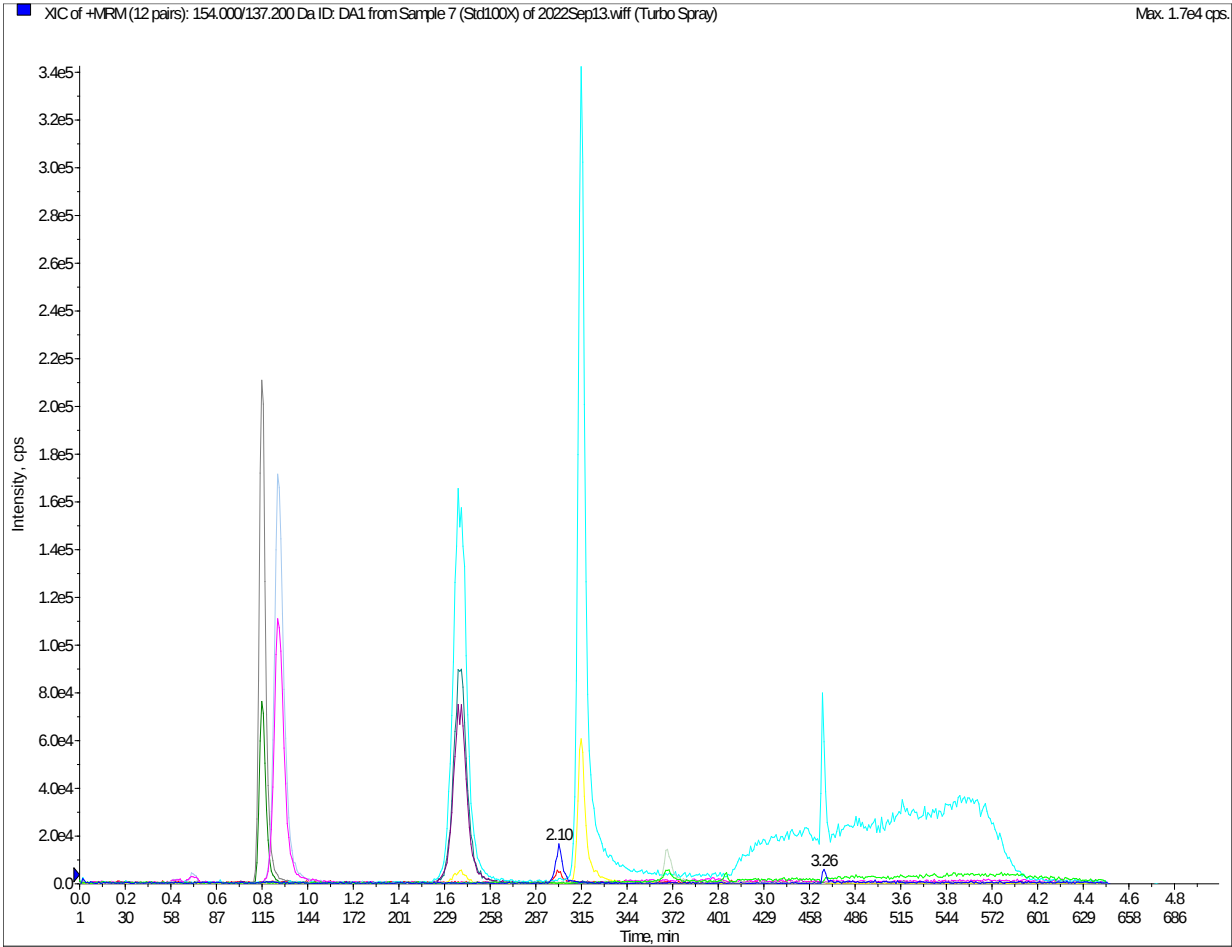


图 1. 总离子流图

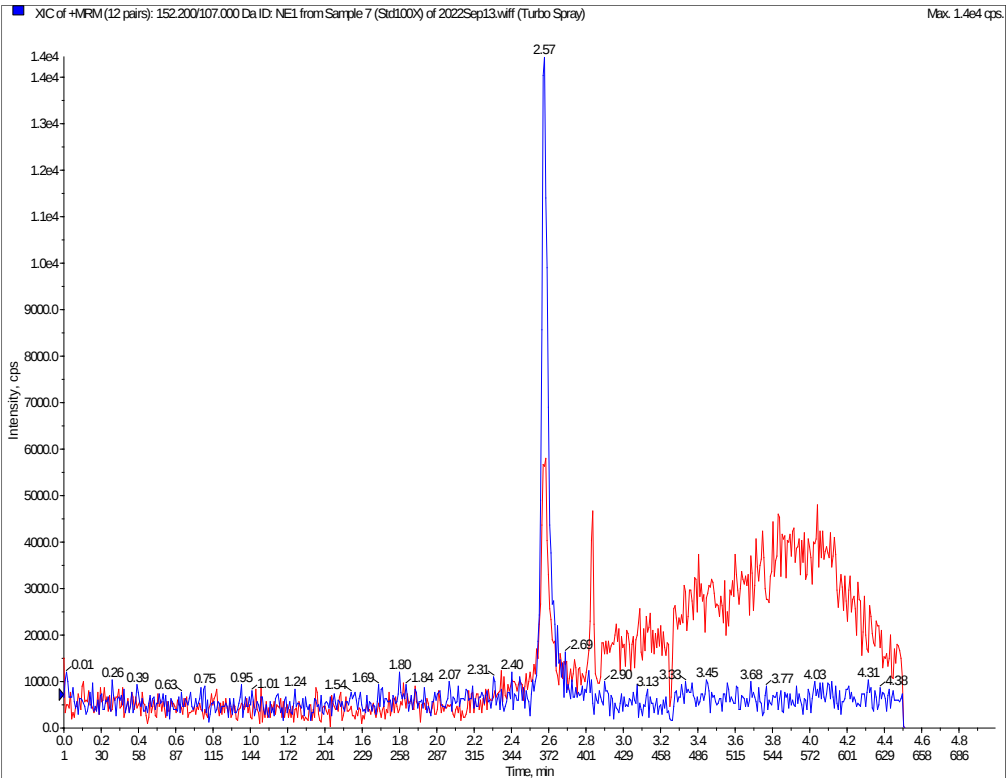


图 2. 血浆中 NE 色谱图

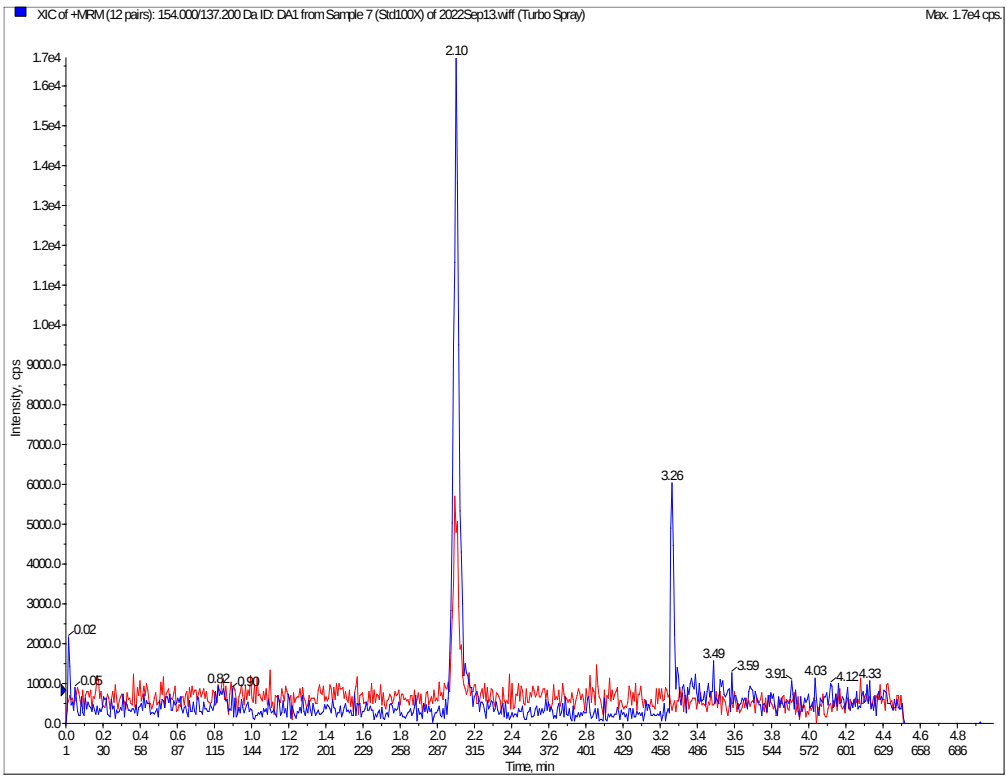


图 3. 血浆中 DA 色谱图

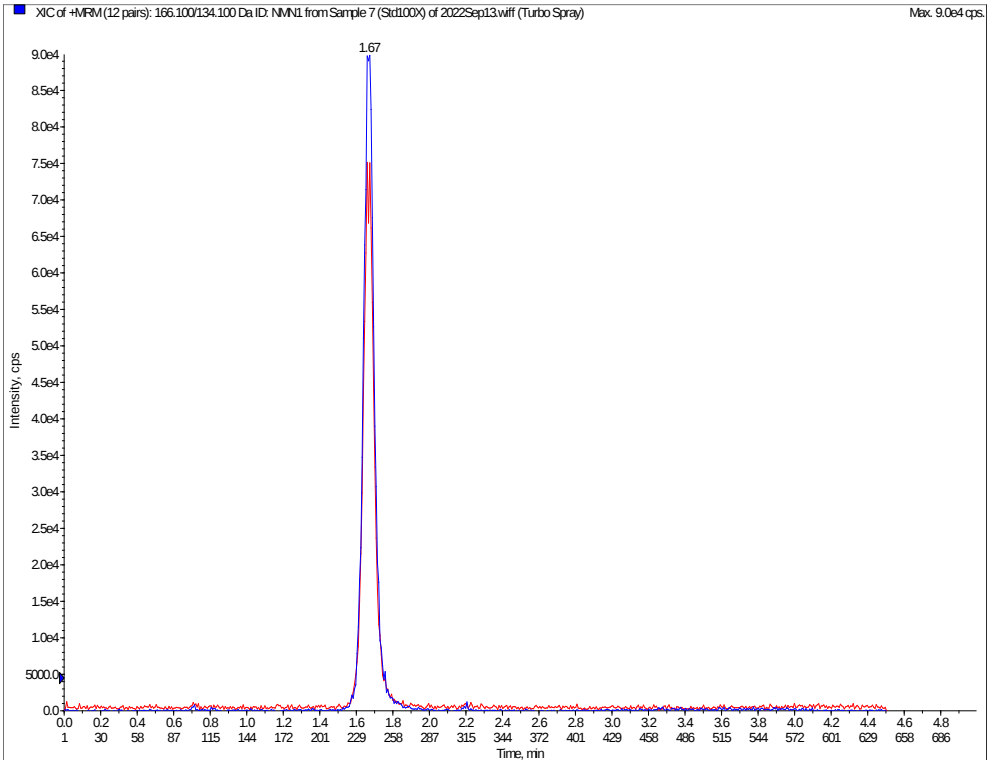


图 4. 血浆中 NMN 色谱图

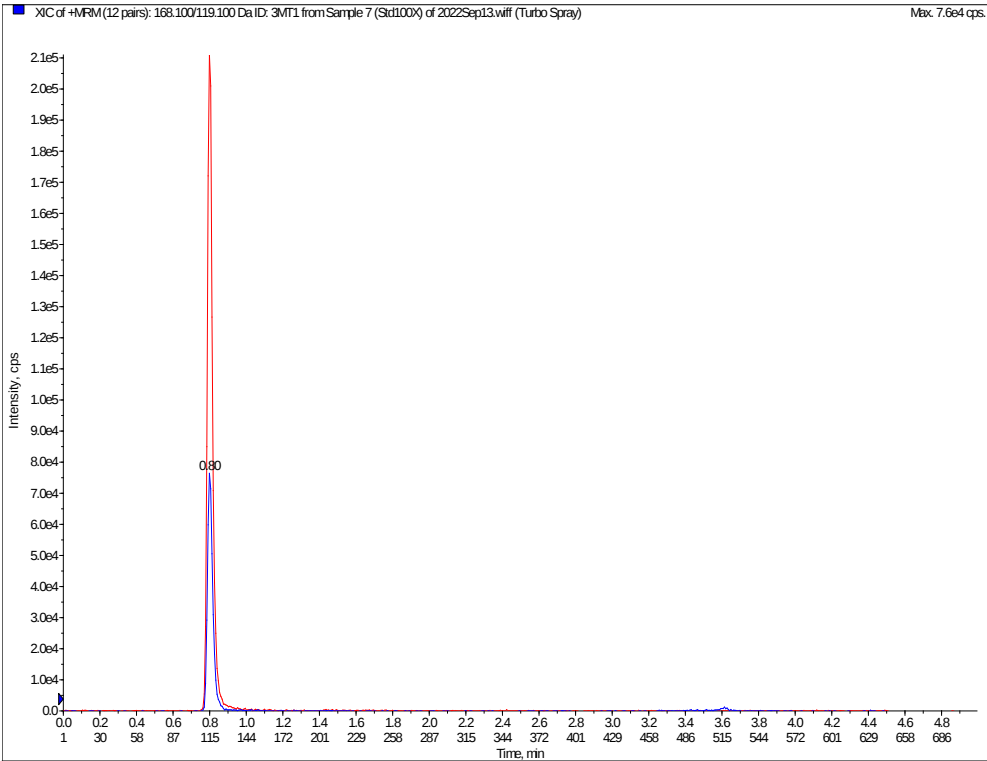


图 5. 血浆中 3-MT 色谱图

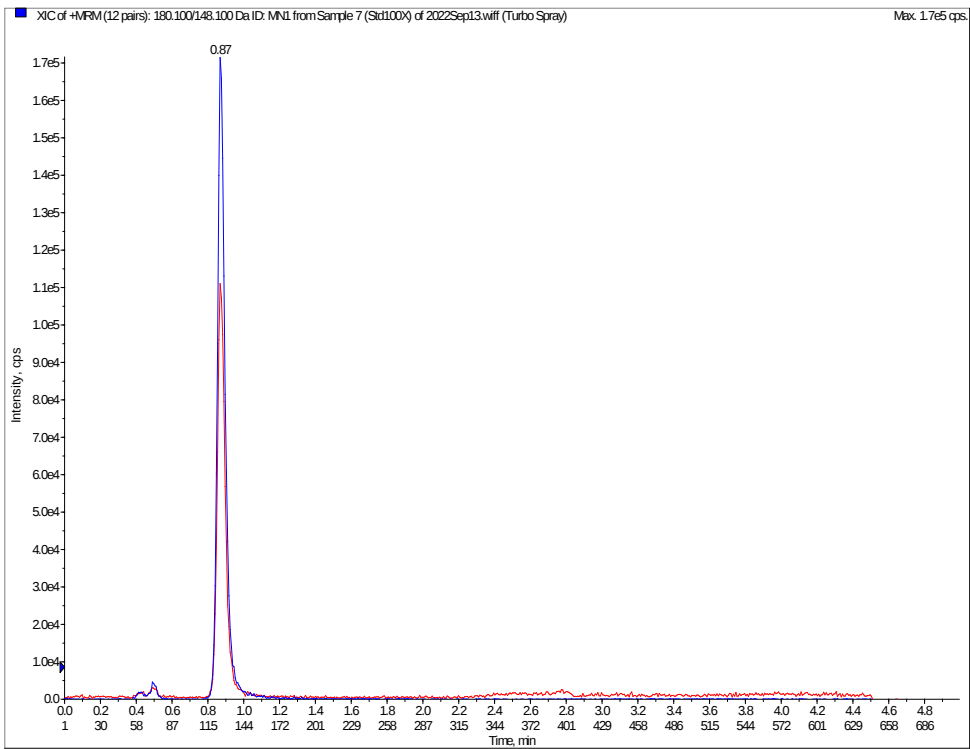


图 6. 血浆中 MN 色谱图

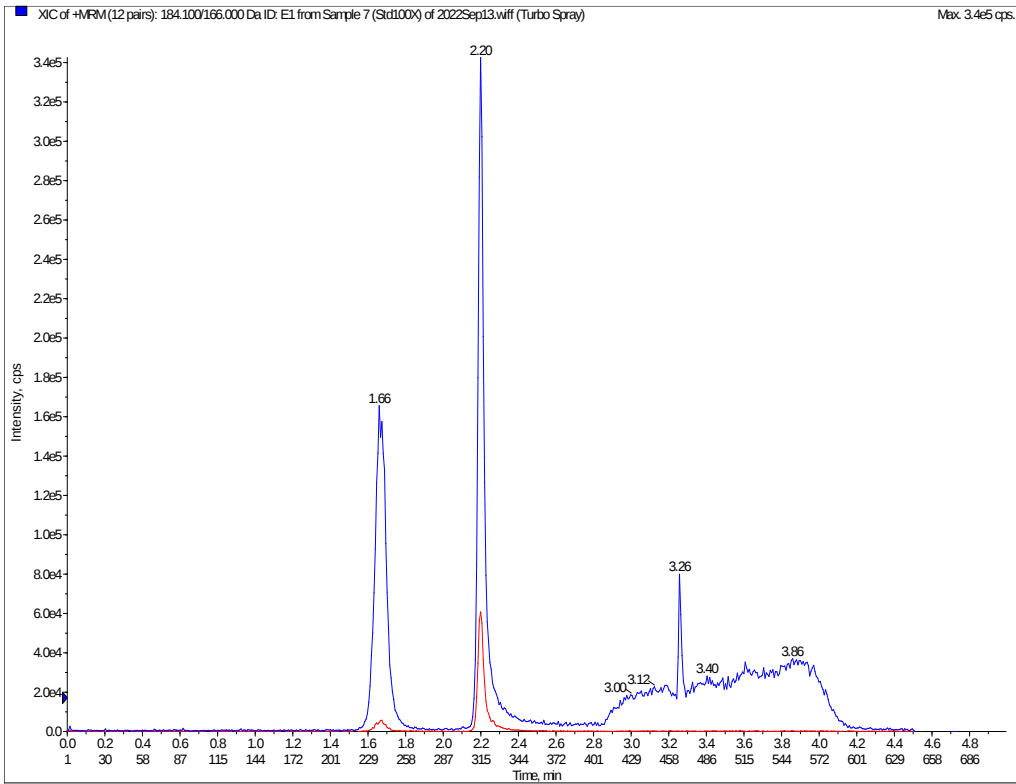


图 7. 血浆中 E 色谱图

色谱条件二——反相模式

色谱柱：Kinetex F5，1.7 μm 2.1×100 mm；

流动相：

A 相：10 mM 甲酸铵 0.1%甲酸水溶液

B 相：0.1%甲酸甲醇溶液

柱温：40 °C

流速：0.3 mL/min

进样量：10 μL

梯度条件：

表 5. 目标物离子信息

时间	流速	B 相比例
0 min	0.6 mL/min	3
0.5 min	0.6 mL/min	3
1.5 min	0.6 mL/min	10
1.8 min	0.6 mL/min	98
2.5 min	0.6 mL/min	98
2.8 min	0.6 mL/min	3
5.0 min	0.6 mL/min	3

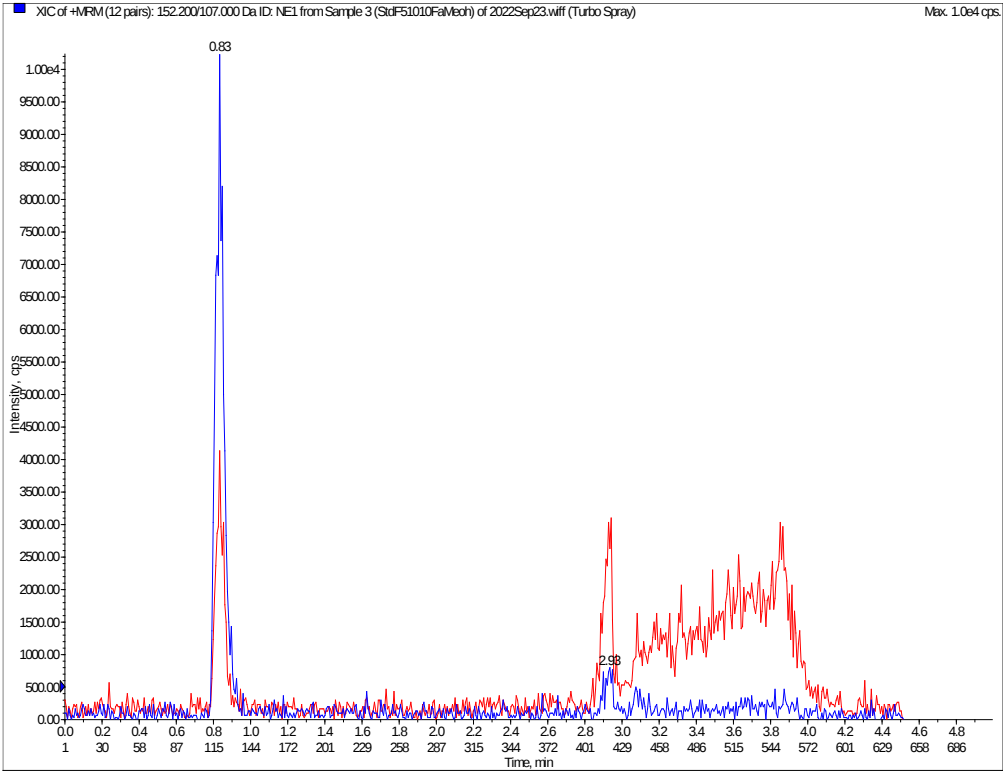


图 8. 血浆中 NE 色谱图

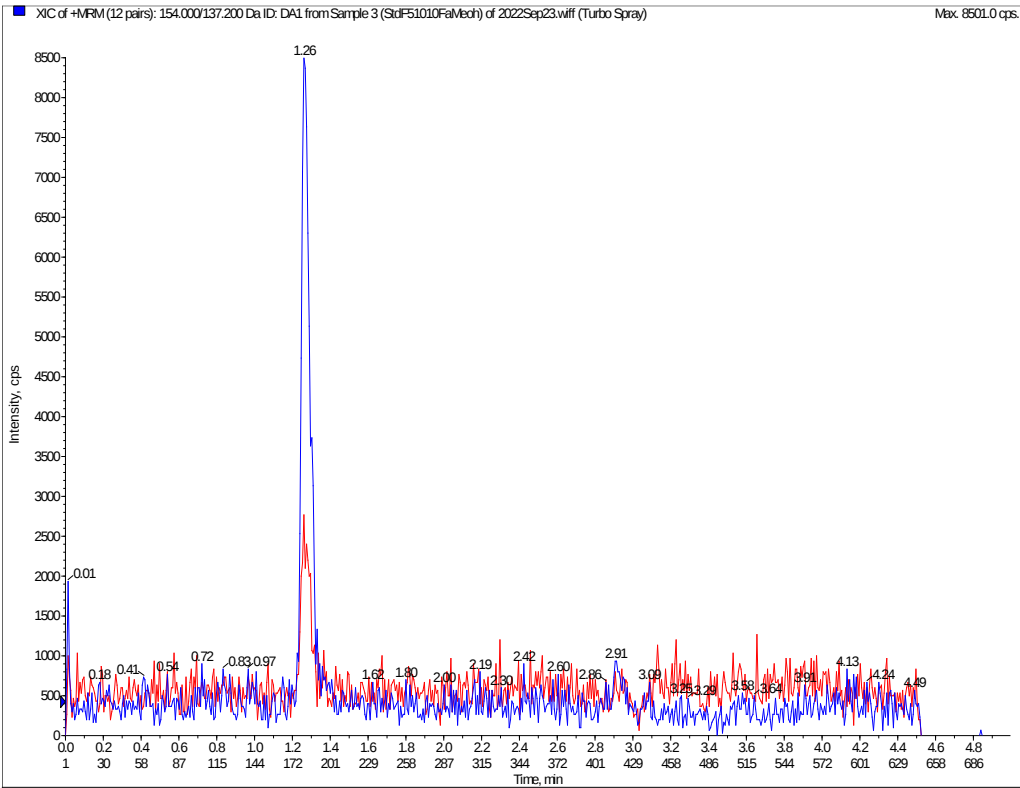


图 9. 血浆中 DA 色谱图

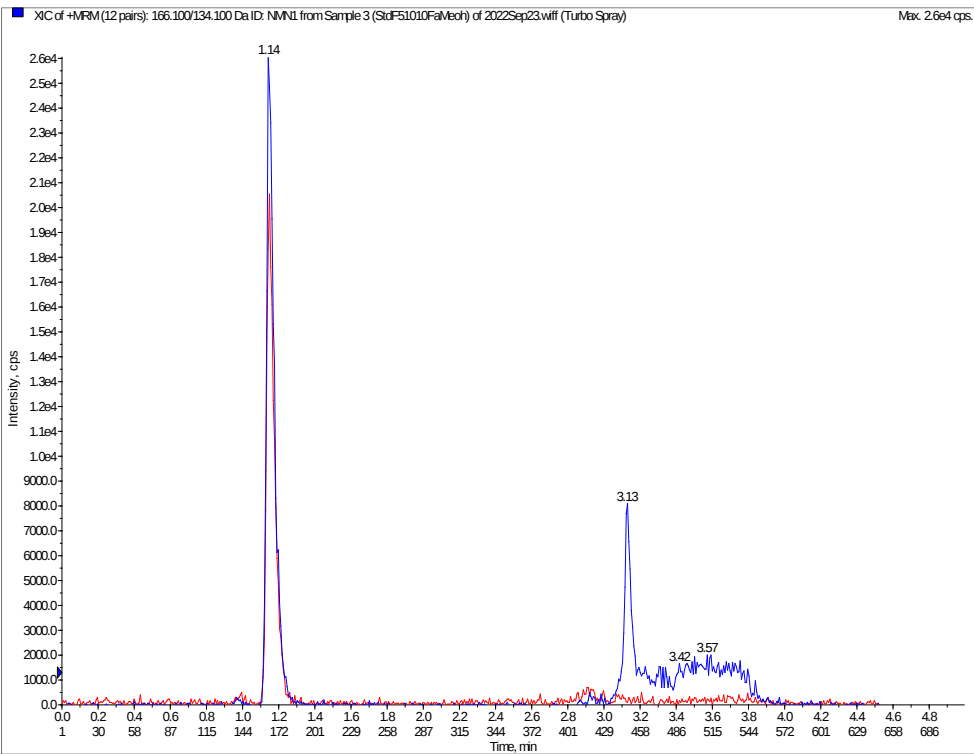


图 10. 血浆中 NMN 色谱图

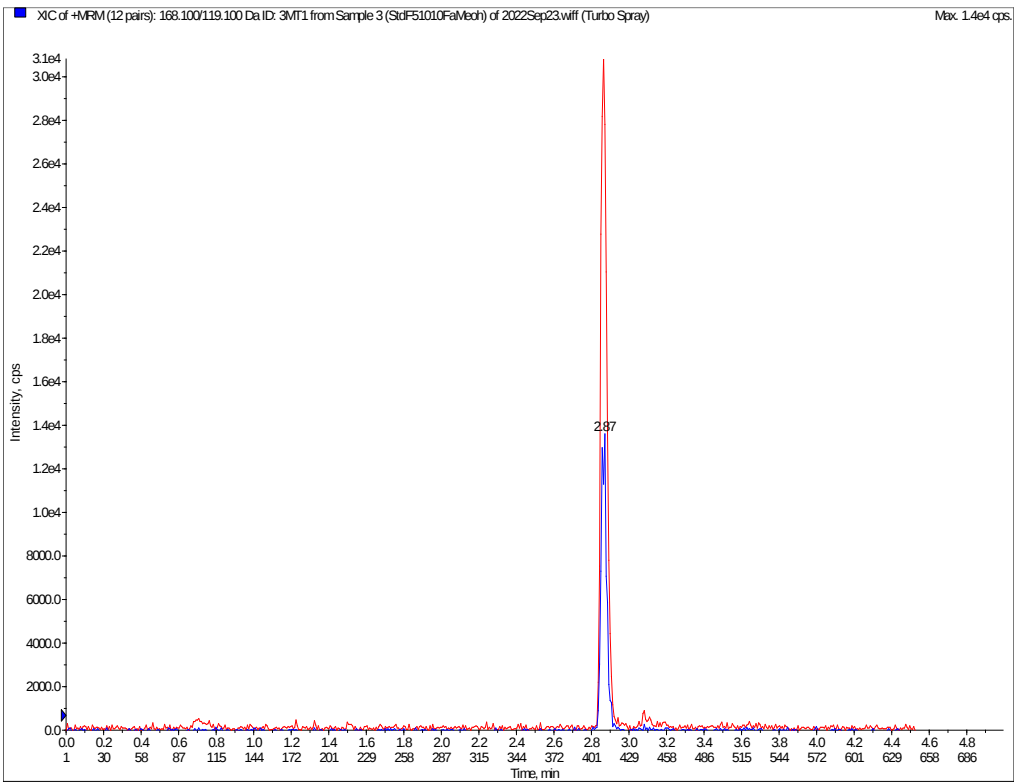


图 11. 血浆中 3-MT 色谱图

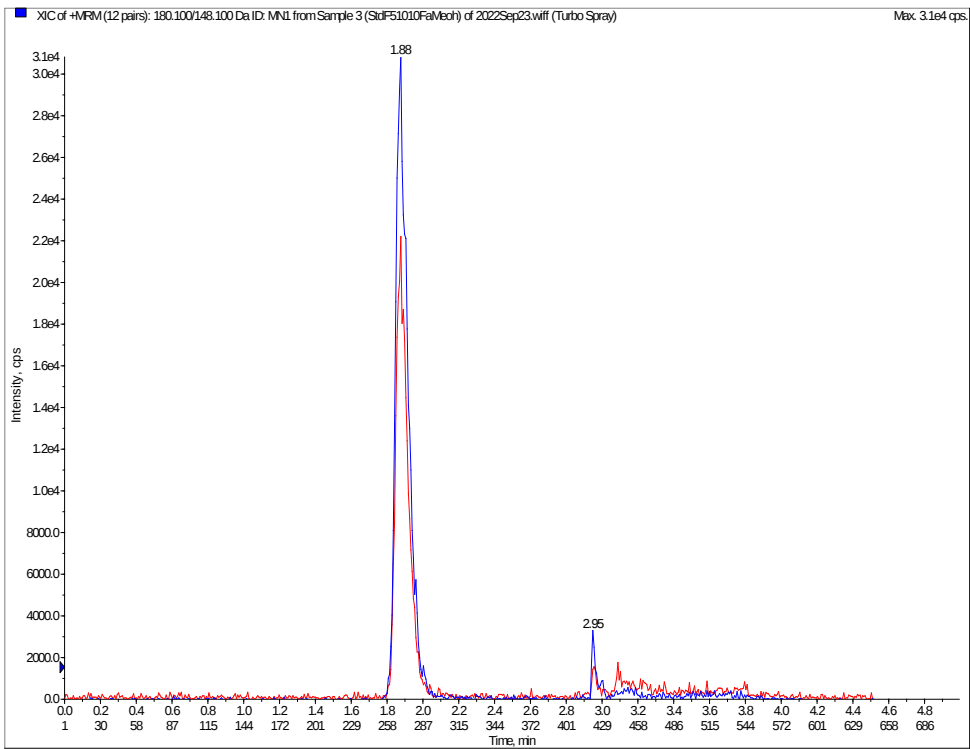


图 12. 血浆中 MN 色谱图

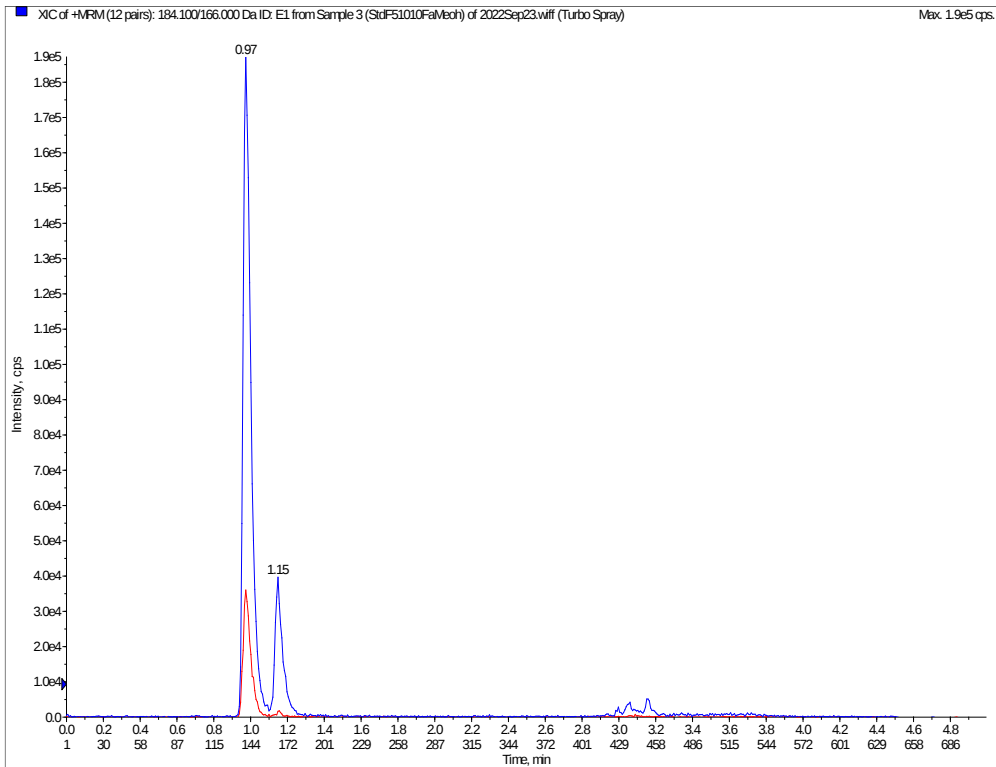


图 13. 血浆中 E 色谱图

实验结论

本实验对 Agela 品牌 WCX 键合相 96 孔板进行回收率对比。从测试结果来看可以满足实验需求。如果测试结果不同可能是批次间差异造成的。部分检测机构对于定量限问题是通过采 10 mg 产品处理 700 μ L 样品来解决的。

对于 AB 的仪器 Hilic 模式响应值大概比反相模式高 3 倍左右，对于 Waters 的仪器 Hilic 模式与反相模式响应值不存在显著差异。