

利用SelexION®离子淌度质谱法测定尿液中的6-羟基褪黑素

Determination of 6-hydromelatonin in urine by SelexION® Ion mobility Mass Spectrum

冷向阳, 龙志敏, 郭立海

Leng Xiangyang, Long Zhimin, Guo Lihai

SCIEX应用支持中心, 中国

SCIEX, China

Keywords: 6-hydromelatonin; SelexION; SCIEX Triple Quad™ 6500+

引言

在生物样品定量分析过程中, 由于基质的复杂性, 可能会给LC-MS/MS的方法开发带来一定的挑战性, 特别是基质中存在的内源性物质和干扰物, 除了造成一定的基质效应外, 尤其还可能出现干扰峰、背景噪音升高等, 影响结果的测定, 通常遇到这种情况, 我们可能会考虑重新优化前处理方法, 使用SPE等更干净的处理方式; 甚至重新优化色谱梯度, 增加分离时间, 但这都大大增加了方法开发的时间成本, 不利于生物样品检测的高通量。

正是基于这样的背景, 本文在测定尿液中的6-羟基褪黑素时, 建立了一种基于SCIEX Triple Quad™ 6500+结合SelexION® DMS差分离子淌度技术的液质联用方法; 6-羟基褪黑素是褪黑素的代谢物, 在尿液中含量很低, 在检测过程中会有较强的干扰(见图1), 尝试不同前处理方法, 无法有效去除; 同时调整梯度也较难分离。利用SelexION® DMS差分离子淌度技术提供的专属性更强的检测方法, 可以有有效的解决这一问题。

SelexION® DMS差分淌度分离技术安装在质谱仪的离子源和真空接口之间, 通过在离子淌度池施加分离电压(SV)产生交替的高场和低场, 使离子以不同的速率向两个电极中的一个迁移, 通过施加另一个补偿电压(COV), 纠正目标离子的迁移轨迹, 由于COV是化合物依赖性参数, 所以与目标分析物的迁移轨迹不同, 从而实现分离; 同时淌度池中可以引入挥发性试剂作为修饰剂(Modifier)发挥化学修饰作用, 进一步增加淌度池的分离能力。使用SelexION® DMS技术增加了新一维度的分离, 提高了分析方法的选择性, 因此SelexION® DMS在同分异构的分离上, 减少

基质中的干扰物及降低背景信号均能起到良好的效果。离子淌度SelexION®结构如图2。

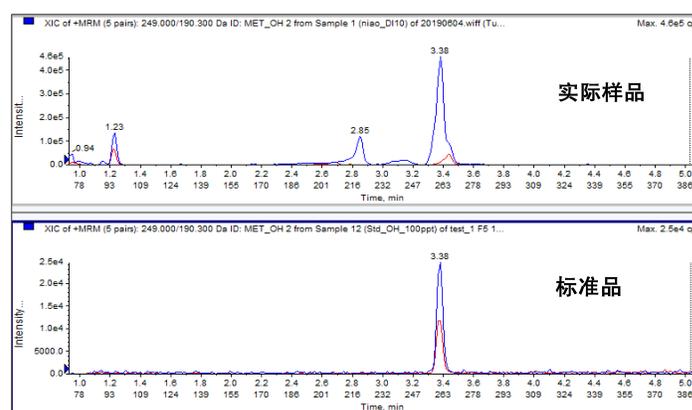


图1. 实际样品加标和标准品色谱图(分析物RT: 3.38 min); 实际样品中存在很强的干扰, 且两个通道离子比率与标准品不一致。

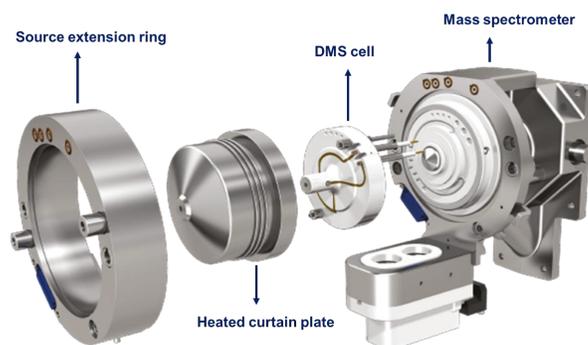


图2. 离子淌度SelexION®结构: 离子通路组成部件, 包含的主要部件为Source extension ring、Heated curtain plate、DMS cell;

实验部分

液相方法

色谱柱: Kinetex F5 100 × 3 mm, 2.6 μm

流动相: A相: 水 (1mM甲酸铵)

B相: 乙腈

流速: 0.4 ml/min

柱温: 40°C;

流动相梯度:

Time(min)	A (%)	B (%)
0.00	90	10
0.50	90	10
4.50	43	57
4.60	10	90
5.50	10	90
5.60	90	10
7.00	90	10

质谱方法

离子源: ESI源, 正离子模式

离子源参数:

电喷雾电压IS: 2500 V

气帘气 CUR: 35 psi

雾化气 GS1: 50 psi

辅助加热气GS2: 60 psi

碰撞气 CAD: 8

源温度 TEM: 350°C

DMS温度: Low

分离电压SV: 3800 V

修饰剂MD: 异丙醇

MRM离子对参数:

化合物	Q1	Q3	去簇电压 DP (V)	碰撞电压 CE (V)	补偿电压 COV(V)	
6-hydroxymelatonin	249.0	/	190.1	35	18	-18.2
	249.0	/	158.1	35	33	-18.2

样品前处理:

取100 μL空白尿液, 加入200 μL 溶剂 (乙腈:水=30:70), 涡旋1 min, 18000 rpm下离心5 min, 取上清15 μL进样分析。

实验结果与讨论

结合 SelexION® DMS差分离子淌度技术对6-羟基褪黑素进行定量分析, 可以有效去除尿液基质中的干扰, 同时两个通道离子比率与标准品一致 (见图3), 可以确保测定结果的准确性, 同时也可以有效降低检测通道背景噪音, 提高检测灵敏度 (见图4)。

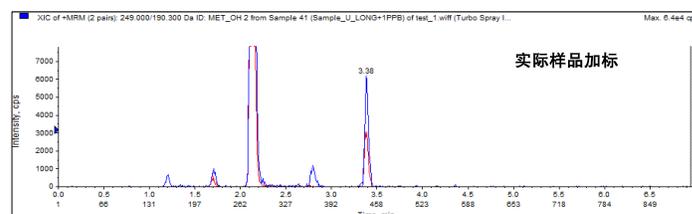


图3. 使用 SelexION® DMS差分离子淌度技术后实际尿液样本加标检测结果 (分析物RT: 3.38 min)。

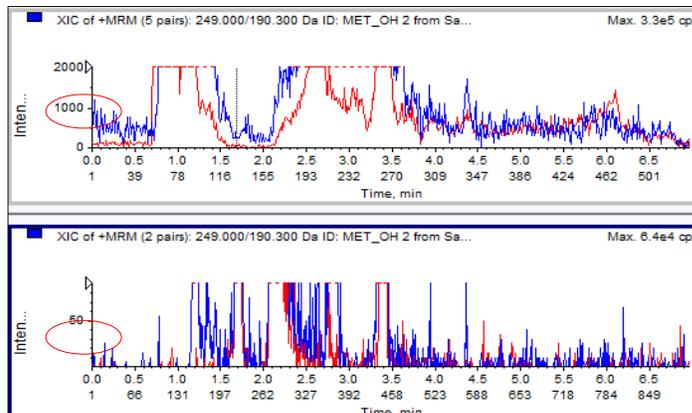


图4. 使用 SelexION® DMS差分离子淌度技术后, 通道噪音下降显著。

该方法在替代基质中检测定量下限为0.01 ng/ml, 同时在线性范围0.01-30 ng/ml内线性关系良好, 相关系数大于0.999, 且标曲各点准确度在95%-109%之间, 典型色谱图见图5; 实际尿液样品中6-羟基褪黑素含量低, 本方法可以满足实际样品的检测需求, 四个样品的有检出的浓度在0.02-0.04 ng/ml左右。

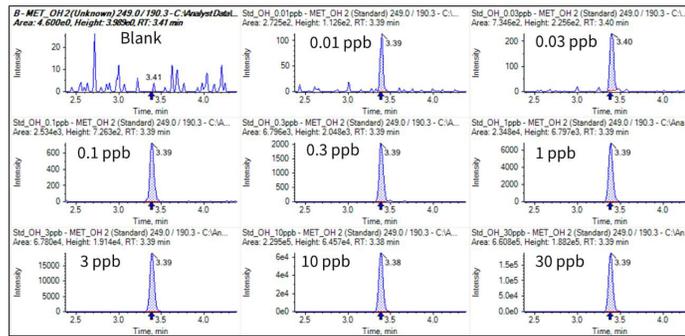


图5. 标准曲线色谱图。

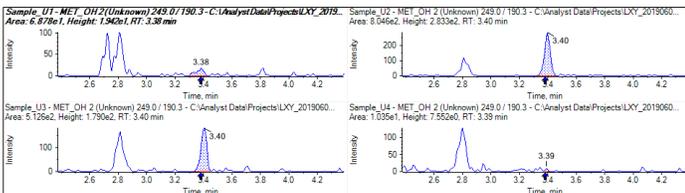


图6. 实际样品检测色谱图。

总结

本文建立了基于Triple Quad™ 6500+结合 SelexION® DMS差分离子淌度技术的液质联用方法，用于尿液中6-羟基褪黑素的检测，利用SelexION® DMS技术的新一维度分离，有效去除干扰降低通道噪音，提高分析方法的选择性，帮助在方法建立阶段适当减少在前处理、色谱条件优化的时间，提高分析效率。

SCIEX临床诊断产品线仅用于体外诊断。仅凭处方销售。这些产品并非在所有国家地区都提供销售。获取有关具体可用信息，请联系当地销售代表或查阅<https://sciex.com.cn/diagnostics>。所有其他产品仅用于研究。不用于临床诊断。本文提及的商标和/或注册商标，也包括相关的标识、标志的所有权，归属于AB Sciex Pte. Ltd. 或在美国和/或某些其他国家地区的各权利所有人。

© 2022 DH Tech. Dev. Pte. Ltd. RUO-MKT-02-15024-ZH-A



SCIEX中国

北京分公司
北京市朝阳区酒仙桥中路24号院
1号楼5层
电话: 010-5808-1388
传真: 010-5808-1390

全国咨询电话: 800-820-3488, 400-821-3897

上海公司及中国区应用支持中心
上海市长宁区福泉北路518号
1座502室
电话: 021-2419-7201
传真: 021-2419-7333

官网: sciex.com.cn

广州办公室
广州国际生物岛星岛环北路1号
B2栋501、502单元
电话: 020-8842-4017

官方微信: [SCIEX-China](https://www.sciex.com.cn)