Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

应用纪要：使用 XBridge BEH Amide XP 色谱柱，按 HILIC 色谱机理对一元胺类神经递质进行 LC/MS/MS 分析

完整的实验细节，请登录 www.waters.com 参考应用资料 720004389EN

介绍：

使用亲水作用色谱分析一元胺类神经递质，通过系统的优化有机流动相的离子化强度获得了良好的峰型和灵敏度，开发出成功的色谱方法，选择固定相和柱温也非常重要。此方法使最大极性的化合物达到了基线分离，并且避免使用了反相保留极性化合物经常需要使用的离子对试剂，同时此方法只需要很短的分析时间即可完成。

仪器和消耗品

LC 条件：

仪器：ACQUITY UPLC® 系统
色谱柱：XBridge™ BEH Amide XP，2.1 × 75mm，2.5μm
货号：186006090
流动相 A：95:5 H_2O:ACN w/100mM NH_4HCOO（pH 3.0）
流动相 B：85:15 H_2O:ACN w/30mM NH_4HCOO（pH 3.0）

初始的流动相条件是 100% 的流动相 A，在 3.5 分钟内流动相 B 升高到 30%。然后在 0.1 分钟内流动相 A 回到 100%，运行 1.4 分钟。流速为 0.5mL/min。进样体积为 20μL。

质谱条件：

仪器：Waters Xevo® TQ-S 质谱仪
离子源：ESI+

结果 / 讨论

图 1 展示了使用 XBridge BEH Amide XP 色谱柱分析一元胺类化合物 N- 甲基 5- 羟色胺（N-methyl serotonin，NMS），5- 羟色胺（Serotonin5-HT），多巴胺（Dopamine，DA）肾上腺素（Epinephrine，EP）和去甲肾上腺素（Norepinephrine，NE）的色谱图。需要在流动相 B 中使用 15% 的 30mM NH_4HCOO 水溶液来得到合适的峰型和分离度，要确保有机相和水相完全的混匀以避免水和乙腈分离。而 NH_4HCOO 浓度较低时会影响峰型，增加水相的比例会使所有化合物的保留减弱，但是不会对峰型和相邻峰之间的分离度有任何改善。

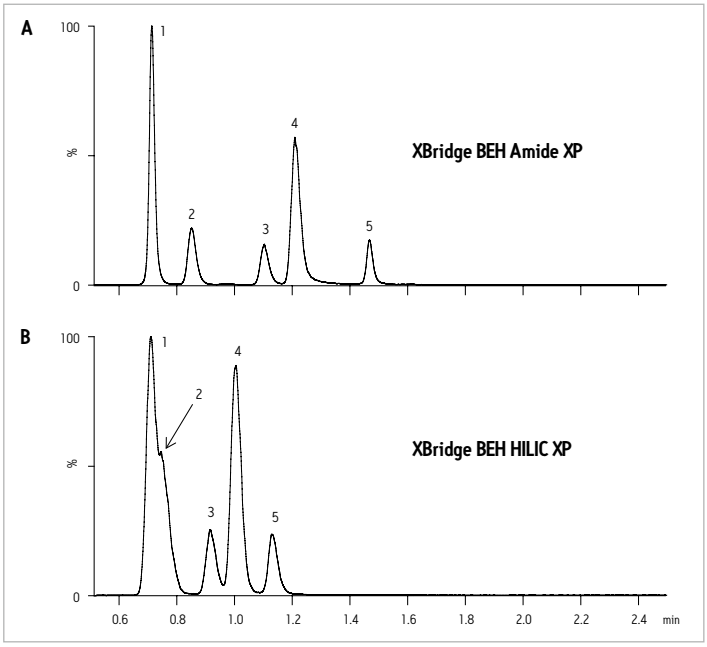

图 1. 分别使用 Waters XBridge BEH Amide XP 和 XBridge BEH HILIC XP 色谱柱分析一元胺类化合物的色谱图。分析物：1-NMS，2-5-HT，3-DA，4-EP，5-NE

结论

图 1B 展示了 XBridge BEH HILIC XP 色谱柱分析一元胺标准品的色谱图。我们可以清楚的看到，几乎所有分析物在 Amide 色谱柱上的保留和相邻色谱峰之间的分离度都要更好。在离子环境下（pH 3.0），Amide 色谱柱中的官能团会同流动相中的水相相互作用形成 HILIC 色谱所需要的稳定的水层。

结果显示即使最大极性的化合物（肾上腺素和去甲肾上腺素）的保留和分离度都可以满足要求。结合 2.5μm 颗粒和 75mm 的柱长以及相应的较低的背景压力的 HILIC 色谱可满足分析复杂分析物的需要，可以在 HPLC 系统有限的背景压力下提高通量和生产力。

订货信息

本纪要中所使用产品	货号
XBridge™ BEH Amide XP，2.5 μm；2.1 x 75 mm	186006090

沃特斯中国有限公司
沃特世科技（上海）有限公司

免费售后服务热线：800 (400) 820 2676
www.waters.com

© 2012 沃特世公司。Waters、ACQUITY UPLC、Xevo、XBridge 及 The Science of What's Possible 是沃特世公司的商标。