

# 应用SCIEX Triple Quad™ 7500系统建立胆固醇酯的定量分析方法

## To develop quantitative analysis method of cholesterol esters by SCIEX Triple Quad™ 7500 system

谢亚平, 司丹丹, 陈俊苗

Xie Yaping, Si Dandan, Chen Junmiao

SCIEX应用技术中心

**关键词：**SCIEX Triple Quad™ 7500系统、胆固醇酯、定量分析

**关键词：**SCIEX Triple Quad™ 7500 system, Cholesteryl ester, Quantitative analysis

### 前言

脂质参与调节多种生命活动过程, 包括能量转换、物质运输、信息识别与传递、细胞发育和分化以及细胞凋亡等等。例如, 磷脂类化合物是构成生物膜的重要成分; 胆酸及类固醇激素脂类具有营养、代谢调节作用; 甘油酯类是机体所需燃料的贮存和运输载体等。脂类化合物的异常代谢与某些疾病的发生密切相关, 如动脉硬化症、糖尿病、肥胖症、阿尔茨海默症以及肿瘤发生发展等密切相关。脂质的研究可以揭示生命体或者细胞中脂质代谢调控异常变化与疾病的发生、发展之间的相关性<sup>[1]</sup>。使用LC-MS/MS法进行脂质的检测研究具有高通量、高灵敏度、稳定好、快速准确等特点。然而脂质中的胆固醇酯类化合物在LC-MS/MS检测过程中极易产生源内裂解形成m/z 369.4的碎片离子, 导致胆固醇酯类化合物母离子检测灵敏度较差<sup>[2]</sup>。由于胆固醇酯类化合物基本都会源内裂解产生m/z369.4的碎片离子, 若采用碎片离子m/z369.4作为母离子进行LC-MS/MS定量分析, 又必须优化液相条件保证所有的胆固醇酯峰达到完全分离, 才能进行精确定量。但是对于结构相似的胆固醇酯类待测物来说, 达到色谱完全分离比较繁琐和困难, 这无疑增加了整个分析过程的复杂程度。本文使用SCIEX Triple Quad™ 7500系统, 建立了一套灵敏度高、专属性强、稳定性好、快速准确的胆固醇酯LC-MS/MS检测方法。



### 试验方法

#### 1. 液相条件

液相: Exion LC 30AD™系统

色谱柱: Phenomenex Kinetex C18 (3 × 50 mm, 2.6 μm)

流动相: A为甲醇: 乙腈:水 1:1:1 (5 mM乙酸铵)  
B为异丙醇 (5 mM乙酸铵)

流速: 0.6ml/min

柱温: 40°C

进样量: 5 μl

梯度洗脱, 洗脱程序如表1:

表1. 液相梯度条件

| Time ( min ) | A% | B% |
|--------------|----|----|
| 0            | 60 | 40 |
| 0.5          | 60 | 40 |
| 6            | 2  | 98 |
| 8            | 2  | 98 |
| 8.1          | 60 | 40 |
| 10           | 60 | 40 |

## 2. 质谱条件

SCIEX Triple Quad™ 7500系统

数据采集方法：MRM（多反应监测）

离子源：ESI源

离子源参数：

IS电压: 5000 V 气帘气 CUR: 48 psi

碰撞气 CAD: 9 雾化气 GS1: 50 psi

辅助气 GS2: 50 psi 源温度 TEM: 150°C

多反应监测离子通道如表2:

表2. 胆固醇酯类化合物MRM离子对信息

| Compound                 | Q1    | Q3    | EP | CE | CXP |
|--------------------------|-------|-------|----|----|-----|
| Cholesteryl arachidonate | 690.5 | 369.4 | 10 | 25 | 14  |
| Cholesteryl linoleate    | 666.6 | 369.4 | 10 | 21 | 4   |
| Cholesteryl oleate       | 668.6 | 369.4 | 10 | 20 | 18  |
| Cholesteryl palmitate    | 642.6 | 369.4 | 10 | 17 | 18  |
| Cholesteryl palmitoleate | 640.5 | 369.4 | 10 | 16 | 4   |
| Cholesteryl stearate     | 670.6 | 369.4 | 10 | 26 | 7   |

## 实验结果

### 1. 方法的特异性

异丙醇作为空白溶液，取胆固醇酯类标准品，加入一定量空白溶液溶解配制成混合标准品溶液，并稀释至C1混合标准工作溶液作为最低定量下限溶液（LLOQ溶液）。其中各待测物LLOQ

浓度分别为胆固醇花生四烯酸酯（Cholesteryl arachidonate）6.25pg/ml、胆固醇亚油酸酯（Cholesteryl linoleate）15.625pg/ml、胆固醇油酸酯（Cholesteryl oleate）156.25pg/ml、胆固醇棕榈酸酯（Cholesteryl palmitate）156.25pg/ml、胆固醇棕榈烯酸酯（Cholesteryl palmitoleate）156.25pg/ml、胆固醇硬脂酸酯（Cholesteryl stearate）31.25pg/ml。分别取空白和LLOQ混合溶液5 μl进样，提取离子流图如图1和图2，结果表明，空白溶液中各待测物保留时间处无干扰。

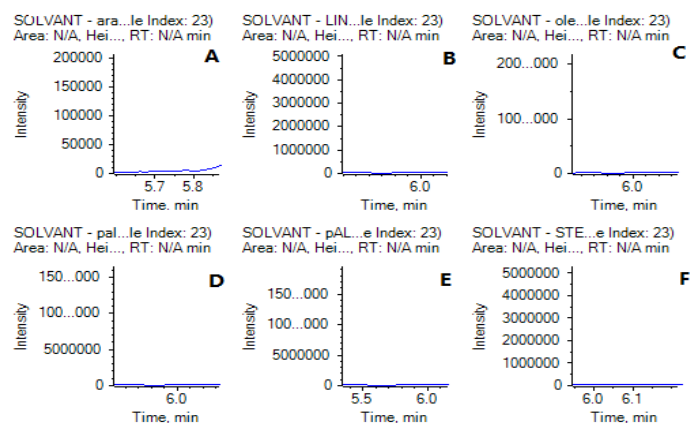


图1. 空白溶剂中各胆固醇酯待测物的提取离子流色谱图

A、B、C、D、E、F依次为Cholesteryl arachidonate、Cholesteryl linoleate、Cholesteryl oleate、Cholesteryl palmitate、Cholesteryl palmitoleate、Cholesteryl stearate

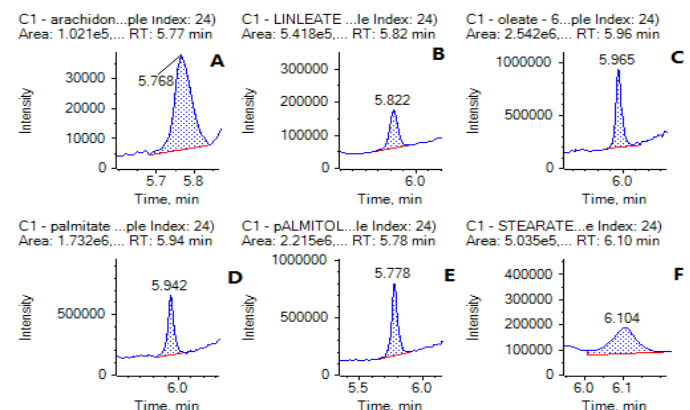


图2. LLOQ混合标准溶液中各胆固醇酯待测物的提取离子流色谱图（A-F如上图）

表3. 胆固醇酯线性方程

| Compound                 | Linear  | Linear range        |
|--------------------------|---|---------------------|
| Cholesteryl arachidonate | $y = 11691.28784x + 29561.47594$<br>( $r = 0.99858$ ) | 6.25pg/ml-800pg/ml  |
| Cholesteryl linoleate    | $y = 9692.31510x + 4.03357e5$<br>( $r = 0.99569$ )    | 15.625pg/ml-2ng/ml  |
| Cholesteryl oleate       | $y = 7512.12962x + 1.42248e6$<br>( $r = 0.99708$ )    | 156.25pg/ml-20ng/ml |
| Cholesteryl palmitate    | $y = 5101.14127x + 9.36414e5$<br>( $r = 0.99782$ )    | 156.25pg/ml-20ng/ml |
| Cholesteryl palmitoleate | $y = 5730.05143x + 1.36596e6$<br>( $r = 0.99746$ )    | 156.25pg/ml-20ng/ml |
| Cholesteryl stearate     | $y = 5821.79442x + 3.24074e5$<br>( $r = 0.99798$ )    | 31.25pg/ml-4ng/ml   |

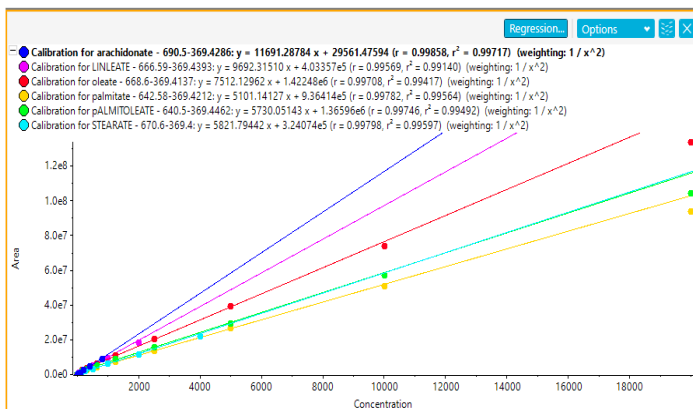


图3. 各胆固醇酯类待测物的线性图谱

表4. LLOQ混合标准工作溶液重现性

| Compound                 | Concentration (pg/ml) | RSD(%) |
|--------------------------|-----------------------|--------|
| Cholesteryl arachidonate | 6.25pg/ml             | 7.03   |
| Cholesteryl linoleate    | 15.625pg/ml           | 6.78   |
| Cholesteryl oleate       | 156.25pg/ml           | 6.16   |
| Cholesteryl palmitate    | 156.25pg/ml           | 4.29   |
| Cholesteryl palmitoleate | 156.25pg/ml           | 3.89   |
| Cholesteryl stearate     | 31.25pg/ml            | 5.92   |

## 2.方法的线性范围

用空白溶剂稀释逐级稀释工作溶液至混合浓度为C1、C2、C3、C4、C5、C6、C7、C8标准系列工作溶液，以峰面积对浓度做标准曲线，表3为胆固醇酯的线性方程、相关系数和线性范围，图3为各胆固醇酯待测物标准曲线图谱。

## 3.LLOQ的重现性

平行制备6份LLOQ混合标准溶液，进样分析，测定结果如下表。6份平行样中，6种胆固醇酯类化合物的RDS均小于8%，满足测试要求，重现性较好，如表4所示。

各胆固醇酯待测物提取离子色谱图如图4所示

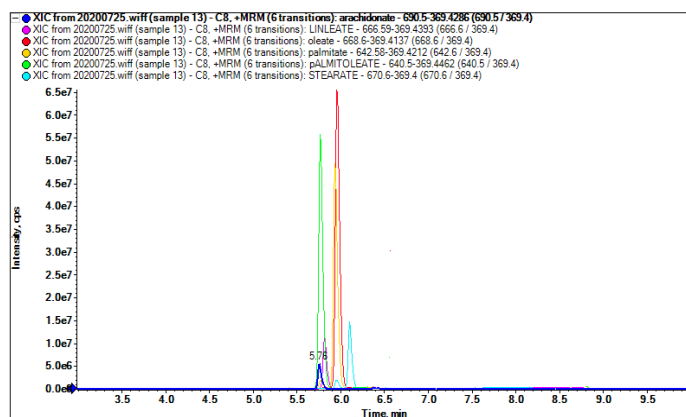


图4. 胆固醇酯类化合物提取离子色谱图

## 总结

胆固醇酯类化合物在LC-MS/MS分析过程中极易产生源内裂解产生m/z369.4的碎片离子，本实验在条件优化过程中发现该类化合物对于离子源温度的变化十分敏感，较高的源温会导致严重的源内裂解，经过优化，当源温为150℃时胆固醇酯类化合物可达到最佳灵敏度。本文使用SCIEX Triple Quad™ 7500系统建立了LC-MS/MS方法同时测定多种胆固醇酯类化合物。该LC-MS/MS检测方法灵敏度高；方法的特异性好，无干扰；多个胆固醇酯化合物线性关系良好；最低定量下限LLOQ的RSD均小于8%，表明方法和仪器的重现性良好。该方法为测试胆固醇酯类化合物提供了参考。

## 参考文献

1. [1] 习聪. 基于LC-MS/MS技术的2型糖尿病血清脂质组学研究[D].北京协和医学院,2013. Phytochemical and Pharmacological Studies on the Genus Psoralea : A Mini Review[J]. Evidence-based Complementary and Alternative Medicine, 2016, 2016(2):1-17.
2. [2] 禹松林,董军,周伟燕,杨睿悦,张天娇,李红霞,国汉邦,王默,王抒,陈文祥. LC-MS/MS测定血清胆固醇酯脂肪酸组成[C]. 中国生物化学与分子生物学会脂质与脂蛋白专业委员会.第11届全国脂质与脂蛋白学术会议论文汇编.中国生物化学与分子生物学会脂质与脂蛋白专业委员会:中国生物化学与分子生物学会,2012:177-178.

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。© 2020 DH Tech. Dev. Pte. Ltd.

RUO-MKT-02-12241-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: 021-2419-7200  
传真: 021-2419-7333  
官网: [sciex.com.cn](https://sciex.com.cn)

广州分公司  
广州市天河区珠江西路15号  
珠江城1907室  
电话: 020-8510-0200  
传真: 020-3876-0835  
官方微信: [ABSciex-China](#)