

人工 SPE 操作步骤及注意事项

1、第一步：

取 1 mL 的血清与 1 mL pH=5.5 的醋酸钠缓冲溶液混匀（稀释血清）；

2、第二步：

固相萃取柱（GreenExtract HPE（3 mL/20 mg） = UPE20）用 2 mL 甲醇活化（不吹干）；

3、第三步：

加入 2 mL 超纯水水洗（不吹干）；

4、第四步：

将 2mL 的血清稀释液加入到 SPE 柱中；

5、第五步：

用 2 mL 的超纯水淋洗，淋洗后用空气助推器将残留在固相萃取柱填料中的水等吹走（可以推 20-30mL 空气，直至无残留的液滴）；

6、第六步：

加 0.2 mL 的乙腈洗脱，洗脱后用空气助推器将残留在固相萃取柱填料中的洗脱液吹走（可以推 20-30mL 空气，直至无残留的液滴）；

7、第七步：

在洗脱液中加入 50 μ L pH=10.53 Na₂CO₃/NaHCO₃ 缓冲溶液和 50 μ L 饱和丹磺酰氯溶液，混匀，置于干燥箱中 60℃反应 5 min，冷却至室温；

8、第八步：

置于高速冷冻离心机 13000 rpm，10 min 离心；

9、第九步：

为防止洗脱液中会带入一小部分蛋白或脂类物质在离心过程中未完全沉淀从而堵塞预柱，用 1 mL 注射器转移上清，用 0.22 μ m 的一次性滤头过滤后（小的，黄色），再置于高速冷冻离心机 13000 rpm，10 min 离心后，转移上清至一次性塑料内衬管中，然后进样到 LCMS 或 HPLC 中测定雌激素激素(E1,E2,E3)。

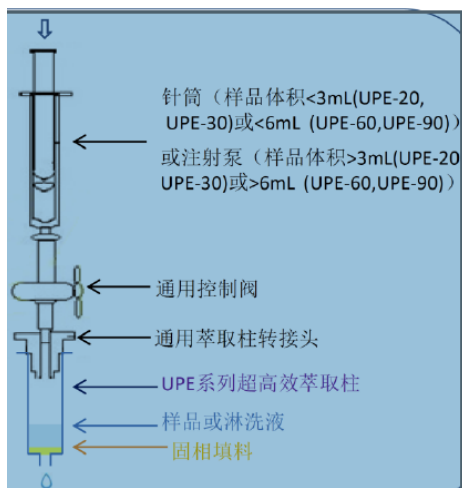
10、第十步：

用 5mL 甲醇再次洗脱 SPE 柱，将残留在 SPE 柱中的杂质洗净，将 SPE 柱放入纯甲醇中浸泡，可以重复利用，一般可以重复利用很多次（12 次）。

注意：（1）负压固相萃取装置的真空泵负压不能过大，使经过 SPE 柱的液滴的流速不能过快，最好一滴一滴往下；如果遇到加样过程中 SPE 柱堵塞，用空气助推器推至有液滴滴下即可。（2）（3）洗脱液的体积建议最好优化一下，因为同时可测得物质比较多，0.2 mL 的洗脱体积未必能将所有的物质都洗脱下来。

（3）一般做一次样就要将负压真空固相萃取装置清洗一般，防止污染和交叉残留。（4）如果使用凯若泰 PSPE 正相萃取装置，萃取前后都无需清洗装置，无残留。（5）如使用任何正压萃取装置，加压前，需先加入液体到 UPE 萃取柱。

简易空气助推器



凯若泰 PSPE 正相萃取仪

