

## 采用UPC<sup>2</sup>/MS简单快速地分析游离脂肪酸

Giorgis Isaac,<sup>1</sup> Michael D. Jones,<sup>1</sup> Besnik Bajrami,<sup>1</sup> Wassim Obeid,<sup>2</sup> James Langridge,<sup>3</sup> Patrick Hatcher<sup>2</sup>

<sup>1</sup>沃特世公司(美国马萨诸塞州米尔福德)

<sup>2</sup>欧道明大学(美国弗吉尼亚州诺福克)

<sup>3</sup>沃特世公司(英国曼彻斯特)

### 应用优势

- 展示根据链长和双键数量分离多种游离脂肪酸(FFA)
- 无需衍生化, 可实现更简单快速的样品制备, 避免干扰
- 有机溶剂提取物可直接进样至系统中, 节省了每次分析的时间和成本
- 三分钟内即可完成色谱分离, 速度比GC/MS快10倍
- 与GC/MS不同, 借助UPC<sup>2</sup>®可以轻松分析低挥发性的极长链脂肪酸(>24个碳原子)

### 沃特世解决方案

ACQUITY UPC<sup>2</sup>™系统

TransOmics™ 信息学软件

Xevo® G2 QTof 质谱仪

ACQUITY UPC<sup>2</sup> HSS 色谱柱

### 关键词

游离脂肪酸, 超高效合相色谱, UPC<sup>2</sup>, TransOmics, 飞行时间质谱, UPC<sup>2</sup>/MS/MS

### 简介

游离脂肪酸和构成复合脂质的脂肪酸都在代谢中发挥着一些关键作用——作为主要的代谢燃料(储存和运输能量)、所有细胞膜必不可少的成分和基因调控因子。此外, 膳食中的脂质可提供多不饱和脂肪酸, 这类脂肪酸是功能强大的局部作用代谢产物(如类花生酸)的前体。

常见的动植物来源脂肪酸均为偶数链, 每条链含16至24个碳原子, 并具有0到6个双键。但是大自然中总有着无数的例外, 实际上甚至还存在着多达近100个碳原子的奇数碳和偶数碳脂肪酸。此外, 双键可以为顺式(Z)和反式(E)构型, 也可以具有各种其它结构特征, 包括分支点、环、含氧官能团等等。

脂肪酸链可以在特定的位点含有一个或多个双键(具有顺式(Z)或反式(E)构型的不饱和脂肪酸和多不饱和脂肪酸), 也可以是完全饱和的。LIPIDMAPS脂肪酸系统命名法用“Δ”指示双键相对于羧基的位置<sup>1</sup>。脂肪酸结构在分子的一端(指定为Omega, ω)含有一个甲基, 另一端为羧基。靠近羧基的碳原子称为α碳, 紧接着下一个碳原子则称为β碳。通常, 还会使用字母“n”代替ω, 以指示离甲基端最近的双键位置<sup>2</sup>。图1展示了不同直链脂肪酸的结构。

从生物材料中分离游离脂肪酸(FFA)是一项复杂的工作, 必须随时注意防止或尽量减少水解酶的影响。完成分离后, 可通过典型的色谱方法对脂肪酸进行分析, 包括气相色谱/质谱法(GC/MS)和液相色谱-串联质谱法(LC/MS/MS)。但是, 这些方法都有着各自的不足之处。

例如, GC法需要将脂肪酸进行衍生化, 以便水解并转化为甲酯, 这一过程不仅耗时, 而且在衍生化过程中还存在脂肪酸重排的风险, 使得无法确定形成的酯是来自FFA还是完整的复合脂质。此外, 对于具有高分子量(>C24)的低挥发性极长链脂肪酸来说, 即使在脂肪酸甲酯(FAME)衍生化后, 其GC/MS分析依然存在问题。

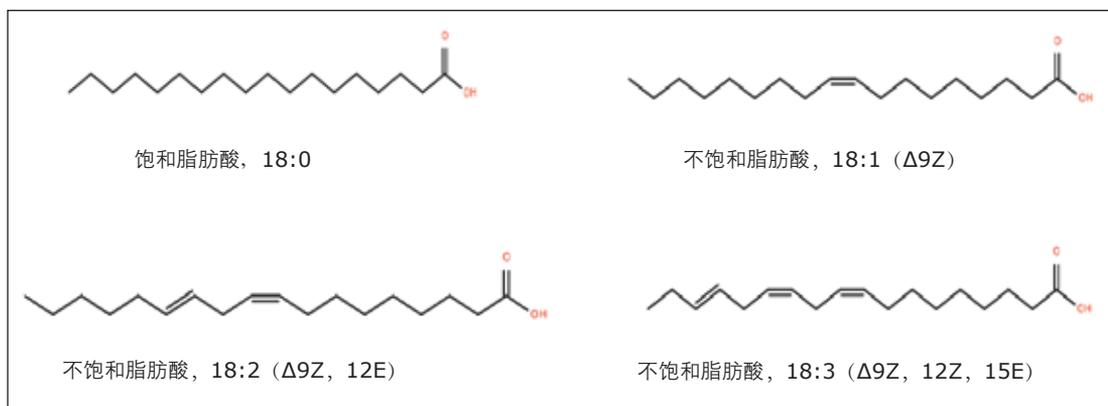


图 1. 具有甲基和羧基(酸性)端的不同直链脂肪酸的结构和命名。脂肪酸可根据系统命名法或习惯命名法进行命名。一种描述双键位置的系统化方式与脂肪酸的酸性端相关；双键位置用符号 $\Delta$ (希腊字母Delta)加数字表示。所有不饱和脂肪酸均示出了双键的顺式(Z)或反式(E)构型。

在LC/MS方法中，虽然不需要进行样品衍生化，但运行前的样品制备过程费时费力，并且采用的毒性有机溶剂价格昂贵，处理费用也很高。而在典型的反相(RP)LC/MS分析中，则必须将含有所有脂质的有机提取物蒸干，再使用相容性更好的进样溶剂进行复溶。

因此，如果有一种简便的脂肪酸分离和测定方法，将会有很大帮助。我们在此展示了一种快速、高通量和高效的FFA分离和分析方法，其中采用了带有质谱分析的超高效合相色谱(UPCC或UPC<sup>2</sup>)。

UPC<sup>2</sup>是一种互补的正交分离技术，正逐渐成为与LC和GC并列的第三大技术。尽管这三种技术都是利用固定相与目标化合物相互作用，并利用流动相使化合物移动通过固定相，从而实现分离，但它们所采用的流动相却有所不同。

GC采用气体作为流动相，LC使用液体作为流动相，而CC则同时使用了气体和液体。正是这种流动相的合并以及更多的固定相选择使得CC成为实验室科学家的又一个强大选择。由于UPC<sup>2</sup>可以分析溶于有机溶剂(例如己烷和氯仿)中的样品，因此大大简化了对于样品制备的要求，同时还保留了RPLC的所有优势。

在此，对游离形式的脂肪酸而非FAME衍生物的分析实现了更简单快速的样品制备。含有全部FFA的有机相提取物可以直接注入系统中，显著节省了样品制备和分析时间、溶剂成本和溶剂弃置处理成本。此外，还避免了衍生化步骤造成的干扰形成。

## 实验

### 方法条件

#### UPC<sup>2</sup> 条件

系统:	ACQUITY UPC <sup>2</sup>
色谱柱:	ACQUITY UPC <sup>2</sup> HSS C <sub>18</sub> SB 1.8 μm, 2.1 x 150 mm
柱温:	50 °C
样品瓶:	总回收样品瓶 (p/n 186000385C)
样品温度:	10 °C
进样体积:	0.5 μL
流速:	0.6 mL/min
流动相A:	CO <sub>2</sub>
流动相B:	甲醇的0.1%甲酸溶液
补偿液:	甲醇的0.1% NH <sub>4</sub> OH溶液 (0.2 mL/min)
分流器:	Upchurch四通 1/16 PEEK

#### 梯度

时间(min)	%A (CO <sub>2</sub> )	%B	曲线
0.0	95	5	初始
5.0	75	25	6
5.1	50	50	1
6.0	50	50	11
8.0	95	5	1

#### MS 条件

质谱仪:	Xevo G2 QTof
电离模式:	ESI-
毛细管电压:	1.0 kV
锥孔电压:	30 V
源温度:	100 °C
脱溶剂气温度:	500 °C
锥孔气体流速:	10 L/h
脱溶剂气流速:	600 L/h
采集范围:	50-600 m/z

## 样品制备

### FFA标准混合物

各种含偶数个碳原子C<sub>8</sub>至C<sub>24</sub>的饱和FFA标准品购自Sigma公司。不同FFA标准品 (GLC-85, FFA形式) 的复杂模型混合物购自Nu-Chek Prep (美国明尼苏达州伊利森)。表1列出了所分析的FFA标准品及其它详细信息。用氯仿制备1 mg/mL储液和0.1 mg/mL工作脂质混合溶液, 然后注入UPC<sup>2</sup>/MS系统中。

### 海藻和藻质素产油

海藻和藻质素在较低和较高的热解温度下进行加水热解所产生的油由欧道明大学 (美国弗吉尼亚州诺福克) 提供。在(310 °C)的热解温度下对海藻1和藻质素1进行处理; 在(360 °C)的热解温度下对海藻2和藻质素2进行处理。

通过改良的提取步骤提取藻质素。简而言之, 使用1:1 (v/v)苯/甲醇溶剂混合物, 并采用索氏抽提法提取24小时, 去除海藻中的脂质。在60 °C下, 将残留物质用2N氢氧化钠处理两小时。使用过量去离子水洗涤剩下的残留物质, 接着用Dowex 50W-x8阳离子交换树脂进行处理, 置换所有残留的钠。最后, 用去离子冲洗固体。用二氯甲烷将油样稀释10倍, 取1 μL注入UPC<sup>2</sup>/MS系统中。

### 数据采集和处理

通过多变量数据分析进行样品对比时, 关键在于使每个样品随机化并至少进样三次, 以确保数据分析在统计学上有效。对于此项研究, 在MS<sup>f</sup>模式下采集了每种海藻和藻质素油提取物的五次重复进样, 该模式是一种无偏差的ToF采集方法, 其中当进行交替扫描时质谱仪在低碰撞能量和高碰撞能量之间切换。采用TransOmics代谢组学和脂类组学信息学软件 (TransOmics Informatics for Metabolomics and Lipidomics, TOIML) 进行数据分析和FFA鉴定。

化合物	分子式	中性质量数	[M-H] <sup>-</sup>	保留时间 (min)	常用名	说明
1	C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	88.052429	87.045153	0.89	丁酸	C4:0
2	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	116.083730	115.076453	0.96	己酸	C6:0
3	C <sub>8</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>	144.115030	143.107753	1.06	辛酸	C8:0
4	C <sub>10</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>	172.146330	171.139053	1.17	癸酸	C10:0
5	C <sub>11</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub>	186.161980	185.154704	1.23	十一烷酸	C11:0
6	C <sub>12</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub>	200.177630	199.170354	1.31	月桂酸	C12:0
7	C <sub>13</sub> H <sub>26</sub> O <sub>2</sub>	214.193280	213.186004	1.41	十三烷酸	C13:0
8	C <sub>14</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>	228.208930	227.201654	1.54	肉豆蔻酸	C14:0
9	C <sub>15</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	242.224580	241.217304	1.67	十五烷酸	C15:0
10	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	256.240230	255.232954	1.80	棕榈酸	C16:0
11	C <sub>17</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	270.255880	269.248604	1.97	十七烷酸	C17:0
12	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	284.271530	283.264254	2.11	硬脂酸	C18:0
13	C <sub>20</sub> H <sub>40</sub> O <sub>2</sub>	312.302831	311.295554	2.41	花生酸	C20:0
14	C <sub>22</sub> H <sub>44</sub> O <sub>2</sub>	340.334131	339.326854	2.70	山嵛酸	C22:0
15	C <sub>14</sub> H <sub>26</sub> O <sub>2</sub>	226.193280	225.186004	1.45	抹香鲸酸	C14:1
16	C <sub>15</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>	240.208930	239.201654	1.57		C15:1
17	C <sub>16</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	254.224580	253.217304	1.67	棕榈油酸	16:1
18	C <sub>17</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	268.240230	267.232954	1.81	10-十七烯酸	C17:1 (Δ10)
19	C <sub>18</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	278.224580	277.217304	1.76	γ-亚麻酸	C18:3 (Δ6,9,12)
20	C <sub>18</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	278.224580	277.217304	1.86	亚麻酸	C18:3 (Δ9,12,15)
21	C <sub>18</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	280.240230	279.232954	1.88	亚油酸	C18:2
22	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	282.255880	281.248604	1.98	油酸	C18:1
23	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	282.255880	281.248604	1.98	反油酸	C18:1T
24	C <sub>20</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	304.240230	303.232954	1.93	花生四烯酸	C20:4
25	C <sub>20</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	306.255880	305.248604	2.04	同源γ-亚麻酸	C20:3 (Δ8,11,14)
26	C <sub>20</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	306.255880	305.248604	2.14	11-14-17-二十碳三烯酸	C20:3 (Δ11,14,17)
27	C <sub>20</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	308.271530	307.264254	2.17	11-14-二十碳二烯酸	C20:2 (Δ11, 14)
28	C <sub>20</sub> H <sub>38</sub> O <sub>2</sub>	310.287180	309.279904	2.24	11-二十碳烯酸	C20:1 (Δ11)
29	C <sub>22</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	328.240230	327.232954	2.09	二十二碳六烯酸	C22:6
30	C <sub>22</sub> H <sub>40</sub> O <sub>2</sub>	336.302831	335.295554	2.46	二十二碳二烯酸	C22:2
31	C <sub>22</sub> H <sub>38</sub> O <sub>2</sub>	338.318481	337.311204	2.54	芥酸	C22:1
32	C <sub>24</sub> H <sub>46</sub> O <sub>2</sub>	366.349781	365.342504	2.83	神经酸	C24:1

表 1. 所分析饱和与不饱和标准FFA混合物的列表以及由图3A确定的相应保留时间。

## 结果与讨论

### 饱和FFA标准品的分析

图2显示了碳链长度为C<sub>8</sub>至C<sub>24</sub>的饱和FFA的分离。ACQUITY UPC<sup>2</sup>高强度硅胶颗粒(HSS) C<sub>18</sub> SB 1.8 μm, 2.1 x 150 mm色谱柱提供了类RP分离, 可实现不同种类FFA的有效分离。在酸性条件下, 采用比例较小的甲酸(0.1% v/v甲醇溶液)运行梯度, 以改善峰形并减少峰拖尾现象。

ACQUITY UPC<sup>2</sup>方法比GC/MS和RPLC方法快10倍(运行时间仅需三分钟), 并且使用毒性较小、更为经济的CO<sub>2</sub>作为溶剂。典型的脂类组学研究涉及上千个生物样品的分析, 更快的速度意味着可以高效地分析较大的样品量, 从而提升了实验的整体效率。

FFA脂质分子的分离原理主要基于FFA碳数量和双键数量与HSS C<sub>18</sub> SB材料之间的疏水性相互作用。因此, 不同FFA的洗脱顺序取决于脂肪酸链的长度和双键数量。酰基链越长、越饱和, 保留时间也就越长。

通过优化共溶剂流动相B(甲醇的0.1%甲酸溶液), 可以增加色谱分离度和峰容量。共溶剂的百分比越高, 保留时间就越短并且峰越窄。但是, 在分析含有碳链长度不同的饱和与不饱和FFA的复杂生物样品时, 峰容量对于减少共洗脱脂质非常重要。因此, 我们采用甲醇的0.1%甲酸溶液以5%至25%的共溶剂梯度进行进一步的分析。

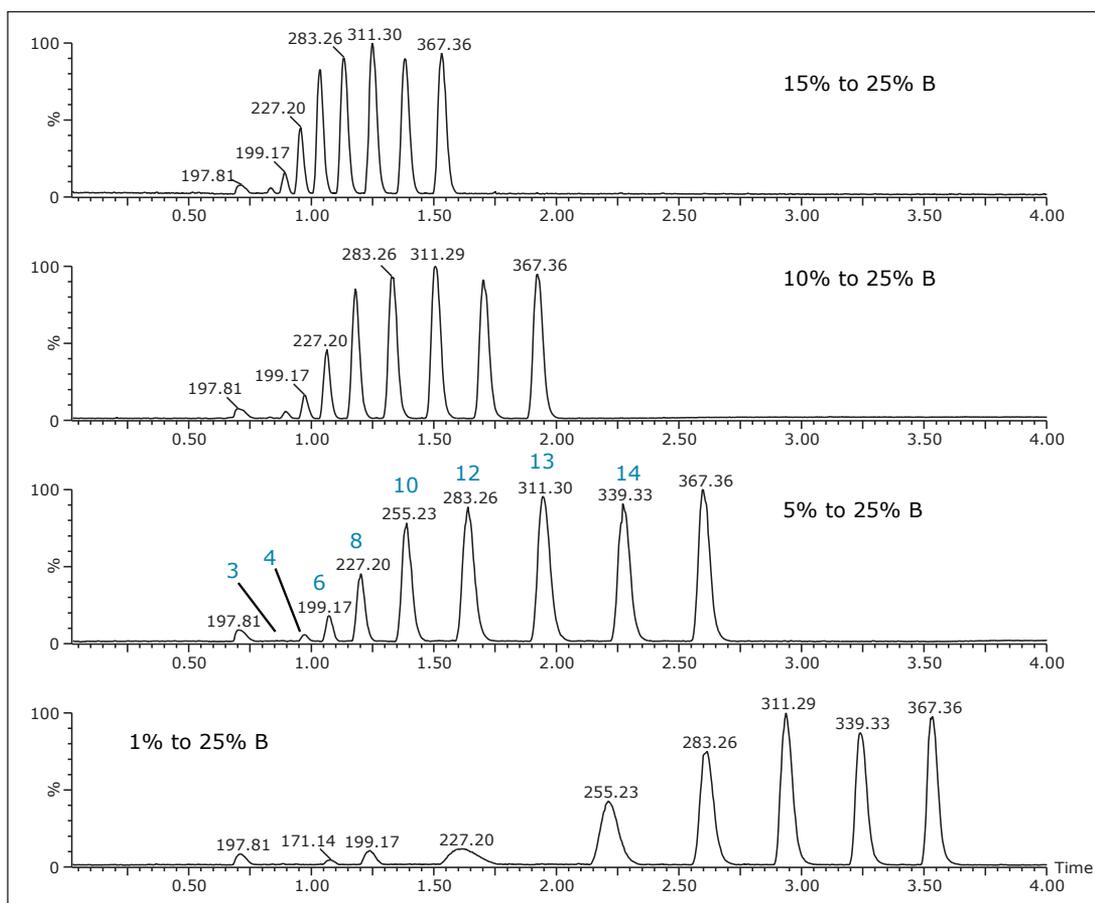


图2. 在各种共溶剂梯度下碳链长度为C<sub>8</sub>-C<sub>24</sub>的饱和FFA的分离。有关脂质ID, 请参见表1。

## 复杂的饱和与不饱和FFA标准品GLC-85的分析

反相色谱根据链长和不饱和程度分离脂质。事实上，因反相分离过程的双重性质而存在的问题(脂肪酰基链中的双键越多，保留时间就越短，而脂肪酰基链的长度越长，则保留时间也会越长)会妨碍实际样品的分析；成分的种类数量通常很大，导致对其的鉴定因为共洗脱而变得非常困难(图3A和B)。

另一方面，通过使用母离子精确质量数、相应产物离子信息和离子淌度(在气相中根据脂质离子的大小和分子形状对其进行分离)，可以对每个共洗脱峰进行提取和鉴定。

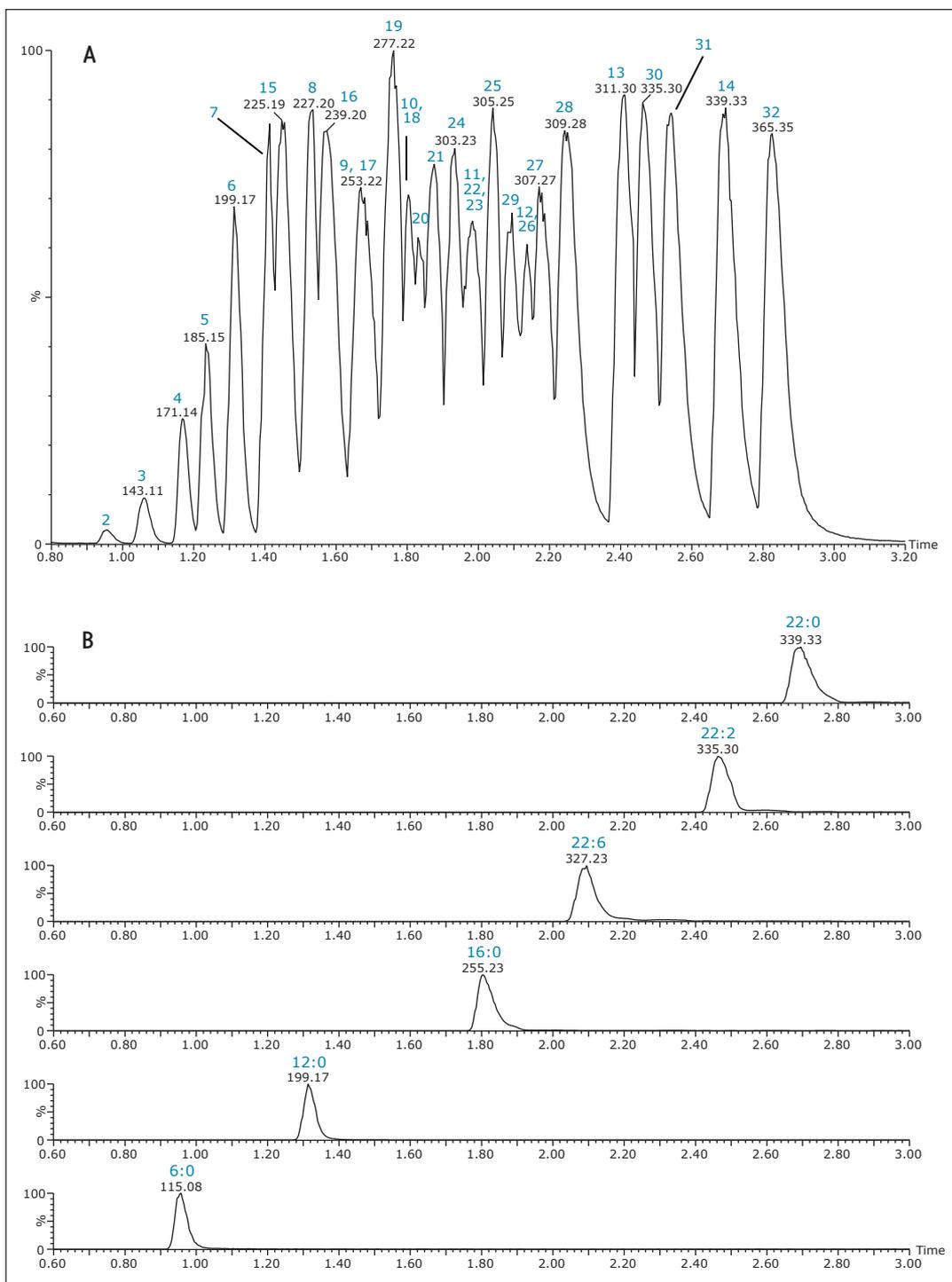


图 3. A)含32种不同的饱和、不饱和、短链和长链FFA的复杂标准品混合物的分离。B)分离取决于链长和不饱和程度。在RP分离中，脂肪酰基链的长度越长，则保留时间也会越长，而脂肪酰基链中的双键越多，保留时间就越短。有关脂质ID，请参见表1。

该方法的另一个优点是可以分离脂质异构体。FFA的生物功能会根据双键位置(如 $\omega$ -3和 $\omega$ -6)的不同而有所不同。图4显示了基于双键位置的FFA异构体分离。其中对18:3 ( $\Delta$ 6,9,12)和18:3 ( $\Delta$ 9,12,15); 以及20:3 ( $\Delta$ 8,11,14)和20:3 ( $\Delta$ 11,14,17)异构体的分离进行了观察。

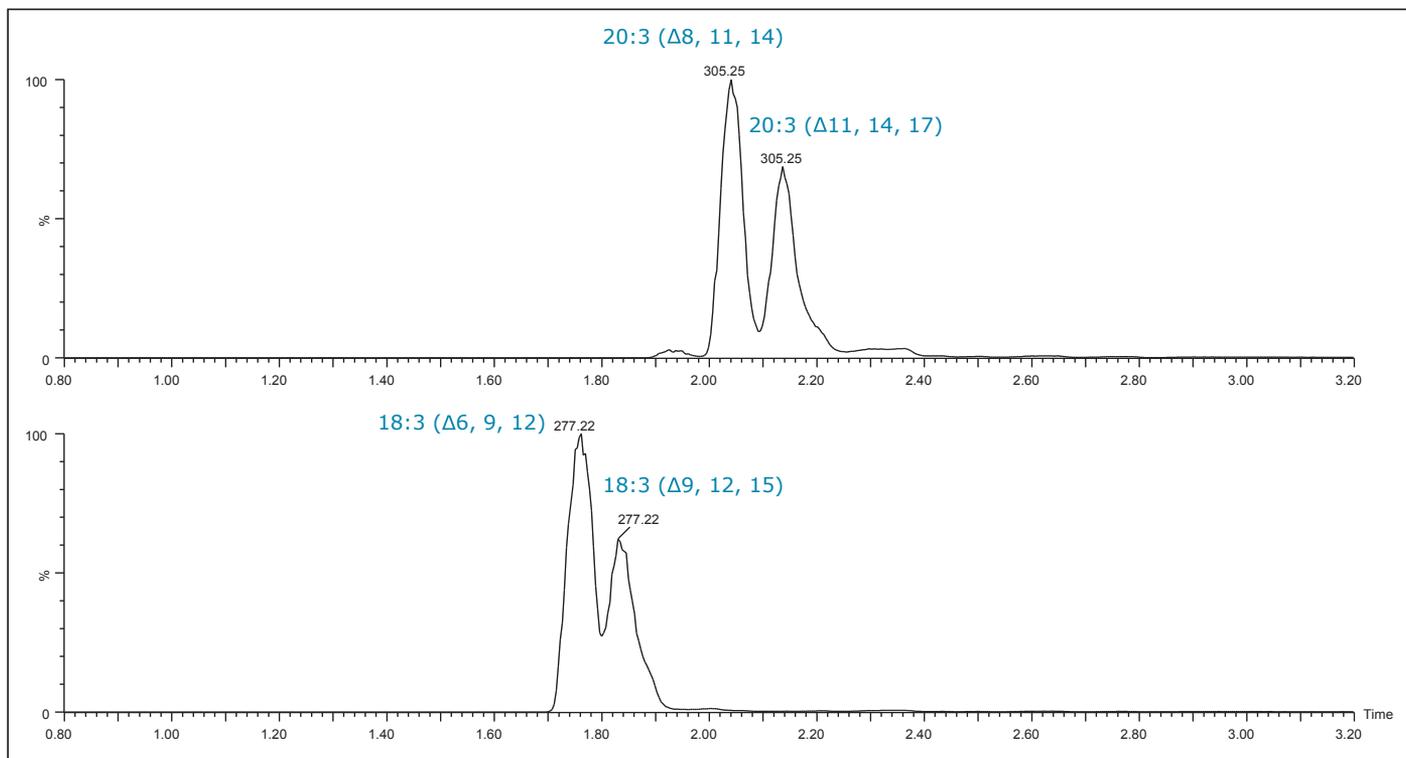


图 4. 提取离子色谱图(图3)显示了基于双键位置的同量异位脂质的分离。

## 生物学应用和采用TransOmics的数据分析

将成熟的UPC<sup>2</sup>/Xevo G2 QTof MS方法略作调整后，用于分析在较低(310 °C)和较高(360 °C)热解温度下处理过的海藻和藻质素提取物中的FFA。

藻质素是存在于一些绿色淡水和海洋微藻细胞壁中的一种不可水解的不溶性生物聚合物<sup>3</sup>。图5显示了在用于分析的UPC<sup>2</sup>条件下藻质素1的代表性色谱图。为实现数据的完整分析，使用了10分钟内1%至10%的共溶剂流动相B(甲醇的0.1%甲酸溶液)设置。

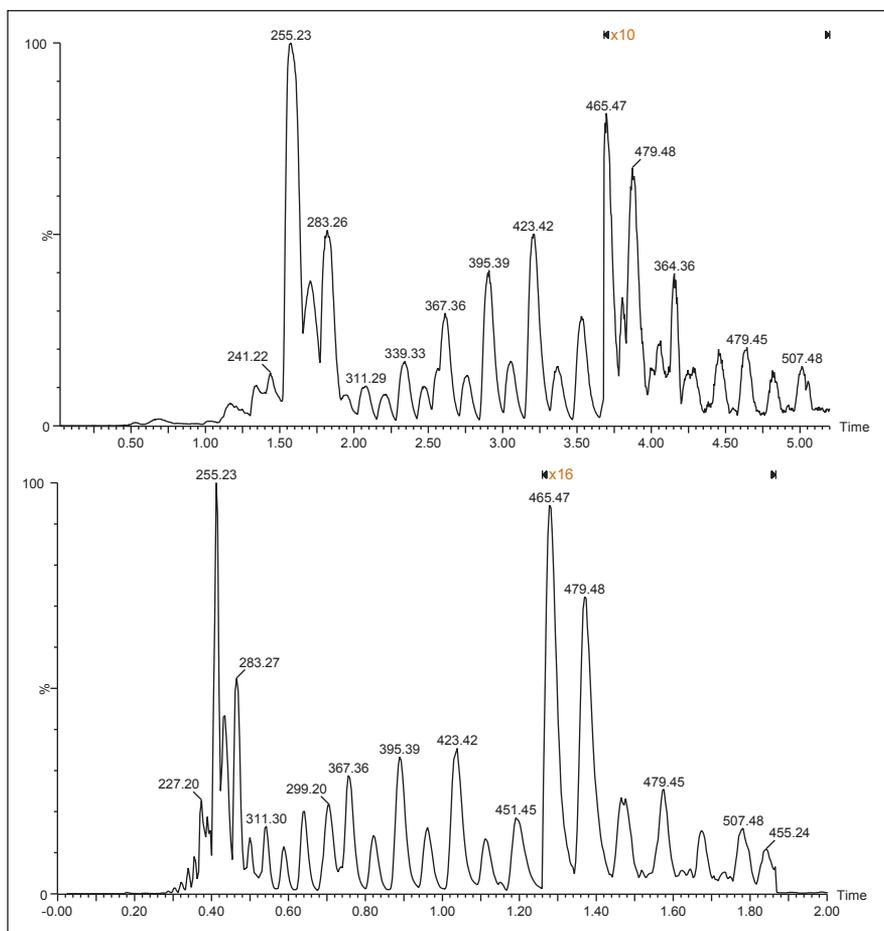


图 5. 在各种共溶剂梯度(最高10分钟内1%至10%甲醇, 最低10分钟内5%至20%甲醇)下藻质素1的代表性色谱图。(UPC<sup>2</sup>条件: HSS C<sub>18</sub> SB (2.1 x 100 mm), 流速= 1.5 mL/min。其它UPC<sup>2</sup>条件在“方法条件”部分中进行了介绍)。

使用TransOmics (TOIML)软件对海藻和藻质素油的脂质特征进行了研究，以确定在两个不同的热解温度下FFA的模式和组成。通过不同的处理快速地对结果进行差异分析，有利于潜在生物标志物的鉴别和定量。该软件采用一种直观的工作流程方法执行UPC<sup>2</sup>/Xevo G2 QTof MS代谢组学和脂类组学数据对比分析。

在此工作流程中，首先需要加载UPC<sup>2</sup>/MS原始数据文件，然后进行保留时间对齐和反卷积，接着分析并生成特征列表。最后，通过化合物搜索识别特征，并采用多变量统计方法进行研究。

通过主成分分析(PCA)识别最接近海藻1、海藻2、藻质素1和藻质素2所产生的油之间最大方差的FFA组合(图6)。PCA图显示了出色的UPC<sup>2</sup>/MS技术测量结果。PCA图有效地体现了多维空间中的样品间关系，较为相似的样品聚集在一起，不相似的样品则分开<sup>4</sup>。

图6中的聚集现象表明，海藻1和藻质素1不同，但海藻2和藻质素2经过高热解温度处理后其FFA组成有更多相似之处。在不同的样品组(海藻1与海藻2、藻质素1与藻质素2、海藻1与藻质素1、海藻2与藻质素2)之间可执行正交投影潜在结构判别分析(OPLS-DA)二元比较，找出在两个组之间发生变化的特征。

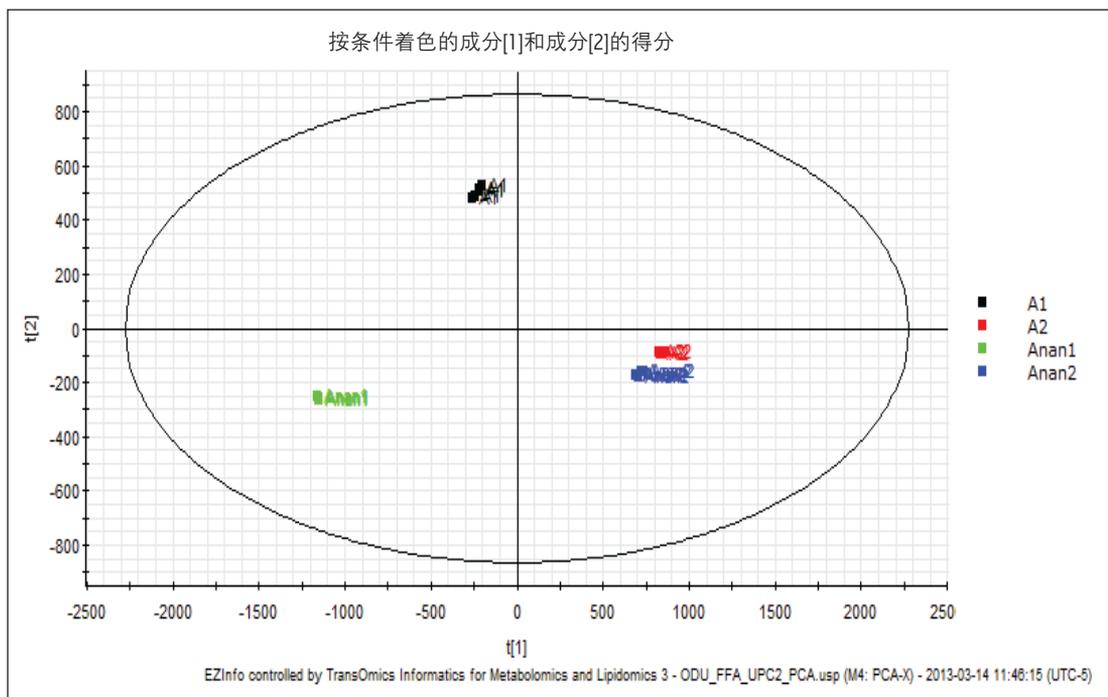


图 6. 在低和高热解温度下处理的海藻和藻质素油提取物的主成分分析。  
(A1=低热解温度下的海藻 A2=高热解温度下的海藻 Anan1=低热解温度下的藻质素 Anan2=高热解温度下的藻质素)。

作为示例，图7A显示了海藻1与海藻2之间的OPLS-DA二元比较。如S-plot所示，对两组之间方差贡献最大的特征是距离图的原点最远的特征，以红色突出显示(图7B)。这些选中的特征可以导出至TransOmic，以作进一步鉴定。这一功能可以让研究者专注于样品之间发生变化的特征/化合物，而不需要在整个数据集上浪费时间。

图7C和7D显示了海藻1与海藻2之间变化最大的代表性趋势图。图8A显示了FFA 29:0在所有运行中的离子图、质谱图和色谱图。该视图有助于审查化合物测量结果，例如峰选择和对齐，以确保这些结果在所有运行中均有效。图8B显示了在所有条件下FFA 29:0的归一化丰度。与海藻1、海藻2和藻质素2相比，藻质素1中的FFA 29:0升高；但海藻2和藻质素2之间没有显著差异。海藻1和海藻2之间的详细研究和比较显示，海藻1所含短链(C9:0至C13:0)和长链(C31:0至C37:0)FFA水平升高，而海藻2所含中链(C14:0-C29:0)FFA水平升高。与之类似，藻质素1和藻质素2之间的比较显示，藻质素1所含长链(C28:0至C37:0)FFA水平升高，而藻质素2所含短链和中链(C9:0至C27:0)FFA水平升高。

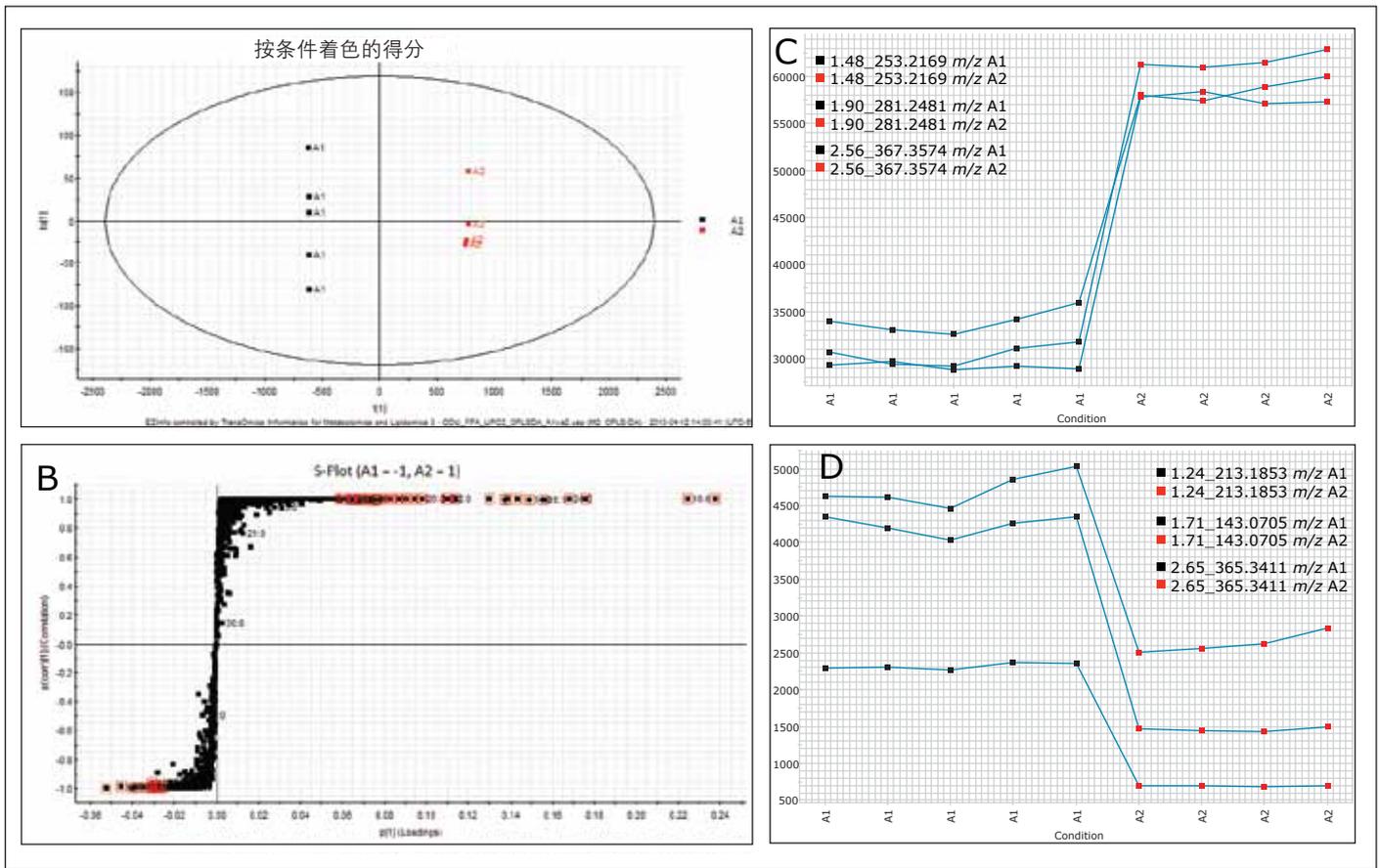


图7. (A)海藻1和海藻2之间样品组差异的OPLS DA图。(B) S-plot显示了造成海藻1和海藻2之间的样品组差异的主要特征(以红色突出显示)。(C)代表性趋势图显示了A1中主要上调的16:1、18:1和24:0 FFA。(D)代表性趋势图显示了A2中主要上调的8:0、13:0和24:1 FFA。(A1=低热解温度下的海藻 A2=高热解温度下的海藻)。

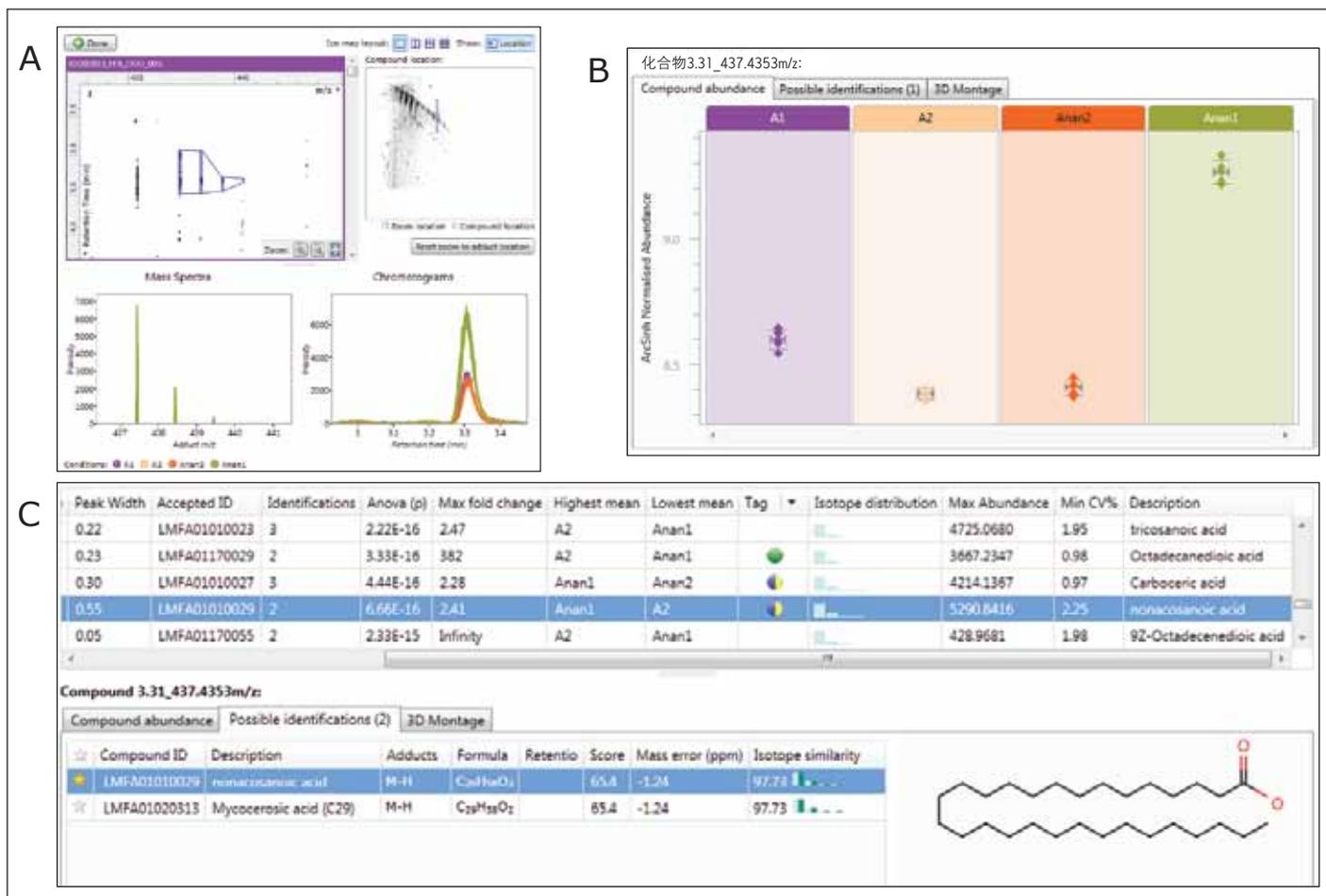


图 8. (A)所选FFA 29:0在所有运行中的离子图、质谱图和色谱图。(B)在所有条件下FFA 29:0的归一化丰度。(C)可通过本地或网络数据库搜索进行鉴定。在本示例中，具有保留时间和精确质量数对3.31\_437.4353的特征被鉴定为二十九烷酸(29:0 FFA)。(A1=低热解温度下的海藻 A2=高热解温度下的海藻 Anan1=低热解温度下的藻质素 Anan2=高热解温度下的藻质素)。

通过本地或网络(例如LIPID MAPS、HMDB和METLIN)化合物搜索, 可根据保留时间、低能量精确质量数、高能碎片离子、理论同位素模型分布和碰撞截面面积(CCS)进行鉴定(图8C)。在本示例中, 根据保留时间、低能量精确质量数和理论同位素模型分布, 具有保留时间和精确质量数3.31\_437.4353的特征被鉴定为二十九烷酸(29:0 FFA)。图9显示了根据不同组之间的相对相似性, 所选特征的表达和丰度特性。

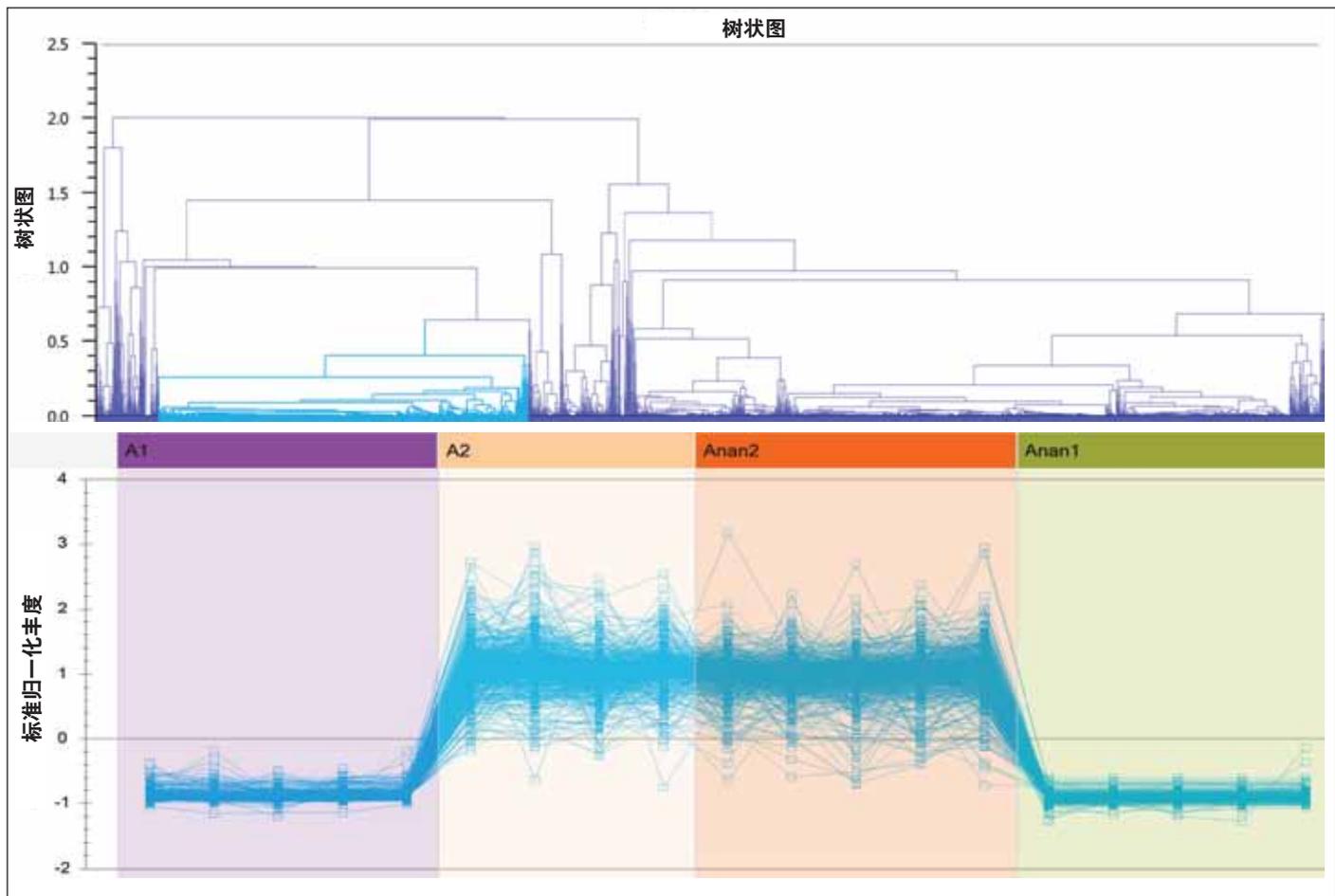


图9. 根据不同组之间的相对相似性, 所选特征的表达和丰度特性。

## 结论

本文介绍的UPC<sup>2</sup>/MS FFA分析是一种简便快速的方法，与其它诸如GC/MS等需要进行FAME衍生化的技术相比，可显著缩短分析时间。此外，含有脂质的有机层提取物可以直接进样至系统中，无需溶剂交换即可兼容反相LC方法。

在本研究中，对含有C<sub>8</sub>至C<sub>36</sub>碳的饱和与不饱和FFA进行了分离和测定，其中包括低挥发性极长链脂肪酸(>24个碳原子)，这些脂肪酸即使经过FAME衍生化，对于GC/MS而言仍然是一大挑战。使用TransOmics代谢组学和脂类组学软件有利于进行数据分析和FFA鉴定，该软件采用直观的工作流程方法执行ACQUITY UPC<sup>2</sup>/Xevo G2 QToF MS代谢组学和脂类组学数据对比分析。

## 参考文献

1. Fahy E *et al.* Update of the LIPID MAPS comprehensive classification system for lipids. *J Lipid Res.* 2009; 50: S9-S14.
2. Rustan AC, Drevon CA. Fatty Acids: Structures and Properties. eLS. 2005.
3. Allard B, Templier J. Comparison of neutral lipid profile of various trilaminar outer cell wall (TLS)-containing microalgae with emphasis on algaenan occurrence. *Phytochemistry.* 2000; 54: 369-380.
4. Stump CL, Goshawk J. The MarkerLynx Application Manager: Informatics for Mass Spectrometric Metabonomic Discovery. Waters Application Note 720001056en. 2004.



# Waters

THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.®

Waters, Xevo, UPC<sup>2</sup>和The Science of What's Possible是沃特世公司的注册商标。UltraPerformance Convergence Chromatography, ACQUITY UPC<sup>2</sup>和TransOmics是沃特世公司的商标。其他所有商标均归各自的拥有者所有。

©2013 沃特世公司 中国印制  
2013年7月 720004763ZH AG-PDF

沃特世科技(上海)有限公司

北京: 010 - 5209 3866  
上海: 021 - 6156 2666  
广州: 020 - 2829 6555  
成都: 028 - 6554 5999

沃特世中国有限公司

香港: 852 - 2964 1800

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