

## 利用Otto SPEcialist实现SPE技术革新：简便易用、软件驱动的正压萃取装置

---

Kathryn Brennan, Jonathan P. Danaceau, Paula Orens

Waters Corporation



仅适用于法医毒理学应用。

这是一份应用简报，不包含详细的实验部分。

---

## 摘要

本研究在之前经过验证的固相萃取(SPE)应用中比较了Waters Otto SPEcialist（一种半自动化正压样品前处理装置）与Hamilton Microlab STAR（一种全自动真空系统）。这种广泛适用的方法采用Otto软件技术，可提供与全自动化系统相当的回收率，同时能够对尿样中的管制药物进行准确、可重现的定量，为法医毒理学研究提供支持。

## 优势

- 轻松转移方法
- 减小用户之间的误差
- 降低人为错误的风险
- 确保提供稳定、可重现的SPE方法
- 使科学家有更多时间执行其他任务

---

## 简介

样品前处理是工作流程中不可或缺的一环，用于在仪器分析之前对样品进行萃取、纯化和浓缩，其通常被视为整个生物分析工作流程中的限速步骤和误差来源<sup>1</sup>。SPE是一种常用的样品前处理技术，可通过以下两种方式完成：使用氮气流的正压将样品推入吸附床；或使用真空负压将样品吸入吸附床。有很多原因决定具体选择哪种SPE方式：例如，大多数正压装置不支持处理大体积样品，因此必须使用真空萃取装置。但使用真空也存在缺点，例如，由于真空装置设定有压力上限，导致施加至各个孔的压力不均匀且流速较慢<sup>2</sup>。另外，萃取过程中需要手动调整压力设置，可能引入人为错误。为缓解这一问题，市场上售有全自动样品前处理和萃取装置，但价格非常昂贵且体积笨重。而减少人为错误对于改善SPE工作流程又至关重要<sup>3-6</sup>。

Otto SPEcialist是一款紧凑型半自动样品前处理装置，能够高效使用正压，同时在SPE过程的每个步骤中利用软件自动更改施加至吸附床的压力。这款创新装置提供了一套总体解决方案，能够在样品前处理和萃取过程中提高分析一致性，无需花费额外成本。此外，与大多数其他正压萃取装置不同，这款装置可以处理各种体积的样品，无论是96孔μElution板还是6 cc小柱均适用。本研究证明这种新型无缝技术在使用Otto SPEcialist正压萃取装置执行固相萃取方法时能够提供的可靠性。

## 结果与讨论

在三天内萃取三批合并尿样中的21种药物（分别以低浓度(50 ng/mL)和高浓度(1000 ng/mL)加标），每个批次每种浓度下N=4。样品前处理过程的详细图示见图1。萃取前，利用尿液手动制备所有样品。在两种不同的样品处理平台上执行回收实验。将每个批次中的各个样品萃取两次。使用Otto SPEcialist处理各回收样品的一份等分试样，使用Hamilton Microlab STAR处理另一份等分试样。对于Otto，由用户手动上样并添加清洗和洗脱溶液，同时采用提前编程的方法通过萃取装置施加正压梯度。STAR则自主执行所有液体处理步骤和SPE。Otto与全自动系统的回收率百分比结果相当：低浓度和高浓度下的日间回收率分别在85~98%和89~113%范围内；标准偏差分别低于7.7%和3.5%。日间回收率和标准偏差的比较结果可分别参见附录1和附录2。Otto在低浓度和高浓度下的日内（第3天）回收率分别在78~99%和83~116%范围内，RSD分别低于6.6%和3.3%。日内回收率和RSD的比较结果可参见附录3。有关全部分析物的更多信息以及详尽的实验步骤和经过验证的方法，可参见沃特世应用纪要720006187EN <<https://www.waters.com/nextgen/us/en/library/application-notes/2019/comprehensive-method-for-the-analysis-of-pain-management-drugs-and-drugs-of-abuse.html>><sup>7</sup>。

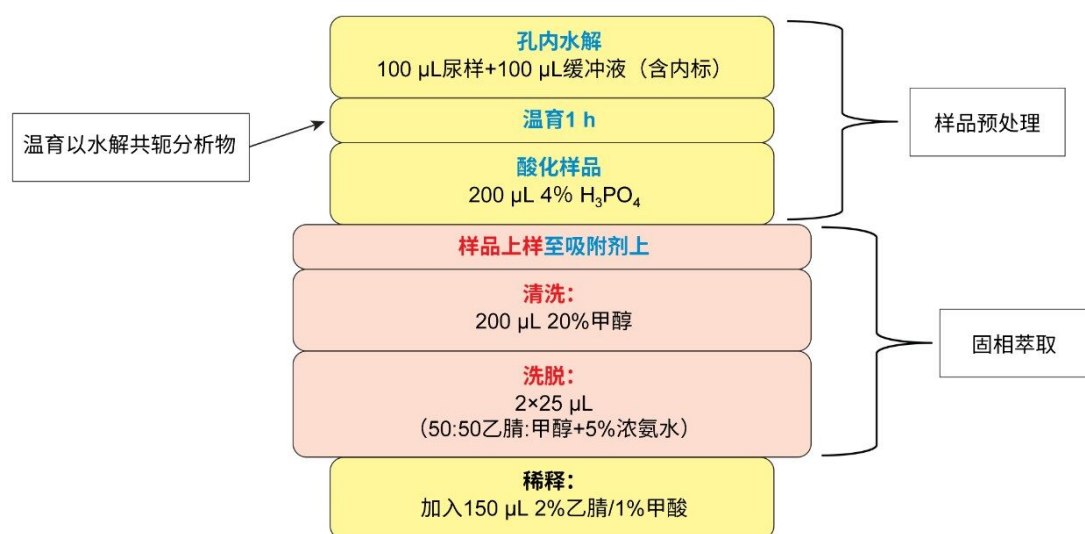


图1.尿样的Oasis MCX样品前处理和SPE步骤

## 结论

本研究证明Otto SPEcialist正压萃取装置执行SPE时的可靠性，该装置与几乎不需要人工干预的全自动平台相比，能够提供可接受且相当的回收率。在三天内使用Otto分析的三批样品获得了稳定且可重现的结果，总体准确度在85~115%之间，标准偏差<8%。这款半自动正压装置具有简便易用的软件界面，其光滑紧凑的萃取装置可轻松安装在工作台上或层流罩下。方法可在不同装置之间轻松转移，从而减少用户之间以及批次之间的误差。与大多数价格昂贵且需要大量时间来学习编程方法的全自动系统不同，Otto的成本明显更低并且容易入门，即使是新手用户也能轻松掌握。总体而言，Otto SPEcialist提供了一种简单、方便的半自动SPE方法。

---

## 参考资料

1. Chapter 5 Automation Tools and Strategies for Bioanalysis, In Progress In Pharmaceutical and Biomedical Analysis, David A. Wells, Editor 2003, *Elsevier*. p. 135-197.
2. Gallert, C.; *et al.* Evaluation of An Automated Solid-Phase Extraction Method Using Positive Pressure. American Laboratory Application Note. 2015 Apr.
3. Lehmann, S.; *et al.* Determination of 74 New Psychoactive Substances in Serum Using Automated In-Line Solid-Phase Extraction-Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *J. Chromatogr.B.* 2017, 1064, 124-138.
4. Wei, D.; *et al.* Online and Automated Sample Extraction. *Bioanalysis*. 2015, 7(17), 2227-2233.
5. Zheng, N.; Jiang, H.; Zeng, J. Current Advances and Strategies Towards Fully Automated Sample Preparation for Regulated LC-MS/MS Bioanalysis. *Bioanalysis*. 2014, 6(18), 2441-2459.
6. Ramírez Fernández, M.d.M.; *et al.* Validation of An Automated Solid-Phase Extraction Method For The Analysis of 23 Opioids, Cocaine, And Metabolites In Urine With Ultra-Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *J. Anal. Tox.* 2014, 38(5), 280-288.
7. Danaceau, J. P.; Freeto, S. M.; Calton, L. J. A Comprehensive Method for the Analysis of Pain Management Drugs and Drugs of Abuse Incorporating Simplified, Rapid Mixed-Mode SPE with UPLC-MS/MS for Forensic Toxicology. Waters Application Note, 2019, [720006187EN](https://www.waters.com/nextgen/us/en/library/application-notes/2019/comprehensive-method-for-the-analysis-of-pain-management-drugs-and-drugs-of-abuse.html). <  
<https://www.waters.com/nextgen/us/en/library/application-notes/2019/comprehensive-method-for-the-analysis-of-pain-management-drugs-and-drugs-of-abuse.html>>

| 日间(N=3)         | 50 ng/mL下的准确度比较 |          | 1000 ng/mL下的准确度比较 |          |
|-----------------|-----------------|----------|-------------------|----------|
| 化合物             | Otto SPEcialist | Hamilton | Otto SPEcialist   | Hamilton |
| 羟吗啡酮            | 86.7%           | 93.1%    | 95.8%             | 96.5%    |
| 氢吗啡酮            | 88.8%           | 95.4%    | 94.2%             | 97.9%    |
| 双氢可待因           | 86.0%           | 96.5%    | 93.4%             | 97.1%    |
| 可待因             | 88.9%           | 97.4%    | 95.0%             | 98.4%    |
| 普瑞巴林            | 86.0%           | 95.2%    | 91.7%             | 94.6%    |
| 加巴喷丁            | 86.2%           | 95.5%    | 92.3%             | 95.3%    |
| 羟考酮             | 90.8%           | 102.6%   | 97.1%             | 99.9%    |
| 6-乙酰基吗啡         | 95.3%           | 100.9%   | 109.9%            | 107.7%   |
| 氢可酮             | 92.9%           | 98.8%    | 107.3%            | 106.9%   |
| 去氢去甲氯胺酮         | 90.4%           | 97.3%    | 113.5%            | 110.4%   |
| 间羟基苯甲酰芽子碱       | 94.7%           | 101.1%   | 98.0%             | 100.6%   |
| 利他林酸            | 88.4%           | 98.7%    | 93.9%             | 98.5%    |
| 氯胺酮             | 88.5%           | 97.3%    | 95.1%             | 98.4%    |
| 苯甲酰芽子碱          | 93.8%           | 102.6%   | 97.1%             | 98.9%    |
| 7-氨基氯硝西洋        | 90.5%           | 100.5%   | 93.9%             | 97.8%    |
| 7-氨基氯硝西洋        | 95.2%           | 101.2%   | 104.6%            | 103.6%   |
| 唑吡坦             | 90.3%           | 98.9%    | 96.2%             | 99.7%    |
| $\alpha$ -羟基三唑仑 | 98.3%           | 115.8%   | 89.5%             | 98.7%    |
| 氟硝西洋            | 84.8%           | 90.2%    | 89.2%             | 93.1%    |
| 替马西洋            | 96.2%           | 106.3%   | 95.5%             | 100.5%   |
| 地西洋             | 94.3%           | 102.6%   | 98.3%             | 100.3%   |

附录1.在50 ng/mL和1000 ng/mL下，Otto SPEcialist和Hamilton STAR之间的日间准确度比较

| 日间(N=3)         | 50 ng/mL下的SD比较  |          | 1000 ng/mL下的SD比较 |          |
|-----------------|-----------------|----------|------------------|----------|
| 化合物             | Otto SPEcialist | Hamilton | Otto SPEcialist  | Hamilton |
| 羟吗啡酮            | 4.8%            | 1.0%     | 3.1%             | 1.3%     |
| 氢吗啡酮            | 4.5%            | 1.5%     | 2.3%             | 1.2%     |
| 双氢可待因           | 5.4%            | 1.8%     | 2.8%             | 1.0%     |
| 可待因             | 6.2%            | 2.3%     | 2.8%             | 1.7%     |
| 普瑞巴林            | 6.4%            | 4.2%     | 2.5%             | 1.3%     |
| 加巴喷丁            | 4.8%            | 1.8%     | 2.5%             | 1.5%     |
| 羟考酮             | 3.5%            | 3.7%     | 2.4%             | 1.3%     |
| 6-乙酰基吗啡         | 6.3%            | 2.5%     | 3.0%             | 1.7%     |
| 氢可酮             | 4.0%            | 2.6%     | 2.1%             | 1.6%     |
| 去氢去甲氯胺酮         | 5.5%            | 2.4%     | 3.5%             | 2.3%     |
| 间羟基苯甲酰芽子碱       | 5.5%            | 2.6%     | 2.5%             | 3.3%     |
| 利他林酸            | 4.4%            | 1.6%     | 2.4%             | 1.0%     |
| 氯胺酮             | 4.7%            | 1.8%     | 2.0%             | 1.0%     |
| 苯甲酰芽子碱          | 6.0%            | 1.8%     | 2.0%             | 2.0%     |
| 7-氨基氯硝西洋        | 5.5%            | 1.9%     | 2.1%             | 0.9%     |
| 7-氨基氯硝西洋        | 4.7%            | 2.2%     | 1.6%             | 1.5%     |
| 唑吡坦             | 4.9%            | 1.7%     | 2.3%             | 1.2%     |
| $\alpha$ -羟基三唑仑 | 7.7%            | 3.9%     | 2.7%             | 1.8%     |
| 氟硝西洋            | 4.7%            | 2.1%     | 3.5%             | 2.4%     |
| 替马西洋            | 5.9%            | 1.5%     | 2.9%             | 1.9%     |
| 地西洋             | 6.0%            | 0.9%     | 2.7%             | 1.1%     |

附录2.在50 ng/mL和1000 ng/mL下，Otto SPEcialist和Hamilton STAR之间的日间标准偏差比较

| Otto SPEcialist与Hamilton STAR的第3天日内(N=4)准确度和RSD对比 |                               |      |                        |      |                                 |      |                          |      |
|---------------------------------------------------|-------------------------------|------|------------------------|------|---------------------------------|------|--------------------------|------|
| 化合物                                               | Otto SPEcialist<br>(50 ng/mL) |      | Hamilton<br>(50 ng/mL) |      | Otto SPEcialist<br>(1000 ng/mL) |      | Hamilton<br>(1000 ng/mL) |      |
|                                                   | 准确度                           | RSD  | 准确度                    | RSD  | 准确度                             | RSD  | 准确度                      | RSD  |
| 羟吗啡酮                                              | 90.2%                         | 2.9% | 88.3%                  | 1.4% | 102.2%                          | 2.7% | 95.6%                    | 2.0% |
| 氢吗啡酮                                              | 90.2%                         | 3.4% | 90.6%                  | 1.3% | 96.1%                           | 2.6% | 96.1%                    | 1.9% |
| 双氢可待因                                             | 90.1%                         | 5.0% | 93.8%                  | 2.2% | 96.5%                           | 3.3% | 96.7%                    | 0.9% |
| 可待因                                               | 88.0%                         | 5.9% | 90.1%                  | 1.3% | 96.8%                           | 2.5% | 95.6%                    | 2.6% |
| 普瑞巴林                                              | 87.2%                         | 5.2% | 90.7%                  | 1.7% | 93.5%                           | 2.7% | 94.3%                    | 1.8% |
| 加巴喷丁                                              | 84.8%                         | 5.6% | 89.6%                  | 2.8% | 92.2%                           | 2.5% | 92.2%                    | 2.4% |
| 羟考酮                                               | 95.3%                         | 1.4% | 98.1%                  | 4.2% | 98.8%                           | 2.1% | 96.8%                    | 1.2% |
| 6-乙酰基吗啡                                           | 96.8%                         | 3.7% | 97.8%                  | 2.8% | 109.5%                          | 1.4% | 105.8%                   | 1.8% |
| 氢可酮                                               | 95.2%                         | 2.4% | 93.7%                  | 2.4% | 109.0%                          | 1.2% | 105.1%                   | 1.8% |
| 去氢去甲氯胺酮                                           | 91.4%                         | 5.5% | 94.5%                  | 3.8% | 115.6%                          | 2.3% | 110.2%                   | 2.0% |
| 间羟基苯甲酰芽子碱                                         | 92.4%                         | 3.3% | 94.6%                  | 2.9% | 98.9%                           | 2.2% | 99.6%                    | 3.2% |
| 利他林酸                                              | 86.2%                         | 4.6% | 92.5%                  | 1.1% | 94.7%                           | 2.2% | 97.3%                    | 1.2% |
| 氯胺酮                                               | 88.7%                         | 4.3% | 93.1%                  | 2.0% | 97.6%                           | 1.7% | 98.2%                    | 1.6% |
| 苯甲酰芽子碱                                            | 92.7%                         | 4.5% | 93.6%                  | 0.9% | 95.5%                           | 2.7% | 97.1%                    | 3.1% |
| 7-氨基氯硝西洋                                          | 86.4%                         | 4.3% | 95.2%                  | 1.1% | 94.1%                           | 2.4% | 95.5%                    | 0.7% |
| 7-氨基氯硝西洋                                          | 93.7%                         | 3.0% | 99.6%                  | 2.1% | 100.0%                          | 1.8% | 101.7%                   | 1.2% |
| 唑吡坦                                               | 89.3%                         | 3.6% | 92.5%                  | 1.5% | 97.1%                           | 1.7% | 97.5%                    | 2.1% |
| $\alpha$ -羟基三唑仑                                   | 92.3%                         | 6.6% | 105.8%                 | 3.0% | 86.2%                           | 2.4% | 98.6%                    | 2.6% |
| 氯硝西洋                                              | 77.9%                         | 4.2% | 79.2%                  | 1.0% | 83.2%                           | 2.1% | 84.7%                    | 2.4% |
| 替马西泮                                              | 98.5%                         | 4.0% | 99.9%                  | 1.3% | 96.6%                           | 3.2% | 99.4%                    | 2.6% |
| 地西泮                                               | 98.6%                         | 3.6% | 100.8%                 | 0.3% | 104.0%                          | 3.0% | 102.8%                   | 1.2% |

附录3.在50 ng/mL和1000 ng/mL下，Otto SPEcialist与Hamilton STAR在第3天的日内(N=4)准确度和RSD比较

## 特色产品

ACQUITY UPLC I-Class PLUS系统 <<https://www.waters.com/134613317>>

Xevo TQ-S micro三重四极杆质谱仪 <<https://www.waters.com/134798856>>

Otto SPEcialist正压萃取装置 <<https://www.waters.com/waters/nav.htm?cid=135073532>>

MassLynx MS软件 <<https://www.waters.com/513662>>

TargetLynx <<https://www.waters.com/513791>>

720007067ZH, 2020年11月

© 2021 Waters Corporation. All Rights Reserved.