

用于LC-MS分析的Andrew+自动化混合模式SPE吸附剂选择方法开发

Melvin Blaze

Waters Corporation

这是一份应用简报，不包含详细的实验部分。

您想进一步了解Andrew+移液机器人吗？

申请产品演示

摘要

复杂生物样品的液质联用(LC-MS)分析通常需要进行大量的样品净化，以从样品基质中去除不需要的组分，否则这些组分将在无意间影响分析，通常会导致MS离子信号抑制或增强。在LC-MS分析中，混合模式固相萃取(SPE)是一种常用的样品前处理技术。但是，开发混合模式SPE方法可能是一项艰巨的任务。不知道从哪里开始或选择哪种吸附剂，导致这项任务令人生畏。大多数SPE工作流程涉及移取和转移样品、试剂和溶剂等多个步骤，导致问题进一步复杂化。这些移取和转移工作流程会使用昂贵的液体处理器，其自动化通常涉及复杂的编程，并需要由经过

专业培训的专职人员来执行这一任务。手动执行工作流程可能非常繁琐且容易出错，需要具备良好的分析技能才能得到可重现的结果。本应用简报介绍了一种使用Andrew+移液机器人实现快速、可靠且可重现的混合模式SPE吸附剂选择方法开发的自动化SPE工作流程，该工作流程将Andrew+移液机器人与OneLab（一款基于浏览器的易用软件）连接并使用该软件进行操作。使用Waters Oasis 96孔 μ Elution提取板从加标人血浆中提取五种分析物，证明了Andrew+自动化混合模式SPE吸附剂选择的简便性。

优势

- Andrew+移液机器人所实现的自动化可简化混合模式SPE吸附剂选择过程，提供一种快速、可靠且可重现的方法，以实现出色的分析物回收率，且无需专家用户操作
- Andrew+移液机器人配备实验室环境中常用的实验室器皿，便于设置和执行
- 易于应用的OneLab方案，适用于 μ Elution提取板规格的整个混合模式SPE吸附剂选择工作流程
- 配备IKA VACSTAR控制真空泵（IKA Works Inc.，美国）的SPE真空萃取装置与Andrew+移液机器人连接并由该移液机器人进行控制，确保精确控制方案中各步骤（上样、清洗和洗脱）的压力
- SPE工作流程的上样、清洗和洗脱步骤自动完成，唯一的手动干预就是在方案的清洗与洗脱步骤之间更换真空萃取装置上的SPE样品收集板
- Oasis 2x4 SPE吸附剂选择方法开发工作流程的自动化可得到可重现的结果，同时为分析人员节省大约2~3 h的手动操作

简介

使用LC-MS对复杂生物样品进行定量分析需要进行大量的样品净化，以去除不需要的基质组分，否则这些组分可能会共洗脱并对目标分析物的定量产生不利影响。在混合模式SPE中，吸附剂同时表现出反相和离子交换特性，是一种经过充分验证的高效样品净化技术。但是，开发用于分析物定量分析的混合模式SPE方法可能是一个繁琐的过程。需要对目标分析物和SPE吸附剂的理化性质有专家级理解，以便选择合适的吸附剂，有效去除不需要的基质组分，同时得到出色的分析物回收率。

Waters Oasis 96孔 μ Elution提取板（部件号：[186004475](https://www.waters.com/waters/partDetail.htm?partNumber=186004475) <
<https://www.waters.com/waters/partDetail.htm?partNumber=186004475>>）简化了这一吸附剂选择过程，其单板规格即包含所有四种不同的混合模式离子交换吸附剂填料（MCX、MAX、WAX和WCX），并且只利用两种经过优化和验证的方案（2x4吸附剂选择方法）（部件号：[WA60090](https://www.waters.com/waters/partDetail.htm?partNumber=WA60090) <

<https://www.waters.com/waters/library.htm?cid=511436&lid=1532071&lcid=1532072>）来开发良好的SPE方法。因此，将Oasis方法开发板与这些方案相结合，提供了一种简单易行的混合模式SPE吸附剂选择解决方案，其毫无疑问能够获得高分析物回收率。此外，使用Andrew+移液机器人可使这种Oasis 2x4吸附剂选择方案实现自动化，利用基于浏览器的用户友好型OneLab软件进行控制和编程，使整个吸附剂选择方法开发快速、准确、可重现且稳定。

本应用纪要展示了一种快速、准确、可重现且稳定的混合模式SPE吸附剂选择方法开发，研究使用的人血浆中添加有益于考察离子交换保留的四种分析物（丙咪嗪、1-癸烷磺酸、酮洛芬和戊沙溴铵）和用于考察反相保留的分析物（强的松）。

实验

除非另有说明，否则以下步骤均采用Andrew+执行。

- Andrew+工作台基于OneLab中提供的指南手动排列，如图2所示。
- 自动化工作流程从SPE真空萃取装置的初始真空设置开始，其中IKA VACSTAR控制真空泵自动开启1 min，方便用户目视检查并确保压力在1 min内达到700 mbar，然后将SPE和废液收集板插入SPE真空萃取装置中。
- 接下来是SPE方案的活化和平衡步骤，分别移取200 μ L甲醇和水加入SPE板中，并应用与活化和平衡步骤相对应的真空曲线。
- 然后将预加标预处理后的血浆（对于吸附剂MCX和WAX，分析物加标血浆经4% H_3PO_4 按1:1稀释；对于吸附剂WCX和MAX，经4% NH_4OH 稀释）和后加标预处理后的血浆（对于吸附剂MCX和WAX，空白溶剂加标血浆经4% H_3PO_4 按1:1稀释；对于吸附剂WCX和MAX，经4% NH_4OH 稀释）上样至SPE板，重复四次，并应用上样步骤的真空曲线。
- 然后分别移取同时用于方案1和方案2的清洗溶剂（2%甲酸水溶液和5%氢氧化铵水溶液）加入SPE板中相应的孔中，再应用相应的真空曲线。
- 完成清洗步骤后，将出现需要用户操作的提示，提醒用户将SPE真空萃取装置中的废液收集板更换为洗脱1收集板。
- 接下来移取同时用于方案1和方案2的洗脱1溶剂（甲醇）加入SPE板中相应的孔中，然后应用相应的真空曲线。上述移液和真空应用操作执行两次（注：仅当分析物由SPE吸附剂通过反相机理保留时，才收集洗脱1）。
- 完成洗脱1步骤之后，将出现需要用户操作的提示，提醒用户将SPE真空萃取装置中的洗脱1收集板更换为洗脱

2收集板。

- 然后分别移取同时用于方案1和方案2的洗脱溶剂（5%氢氧化铵的甲醇溶液和2%甲酸的甲醇溶液）加入SPE板中相应的孔中，再应用相应的真空曲线。上述移液和真空应用操作执行两次。
- 完成洗脱2步骤后，将出现需要用户操作的提示，提醒用户手动保留洗脱1和洗脱2收集板，以使用溶剂或标准品进行后加标。
- 完成后加标后，将洗脱1和洗脱2收集板以1200 rpm涡旋15 min，进行LC-MS分析。

结果与讨论

使用Andrew+移液机器人实现Oasis 2x4 SPE方法开发工作流程的自动化（图1），该移液机器人配备实验室环境中常用的实验室器皿，便于设置和执行。

Oasis 2x4方法开发方案



图1.用于方法开发的Oasis 2x4 SPE吸附剂选择方案



图2.用于实现Oasis 2x4 SPE吸附剂选择方法自动化的Andrew+移液机器人工作台布局和配置，如OneLab中所示

在执行Andrew+方案之前，手动制备该工作流程所需的溶剂、试剂和加标人血浆样品。

图3显示了使用Andrew+自动化Oasis 2x4 SPE吸附剂选择方法得到的加标人血浆样品中分别由MCX、WAX、MAX和WCX吸附剂通过离子交换保留的丙咪嗪、1-癸烷磺酸、酮洛芬和戊沙溴铵以及由所有四种吸附剂填料通过反相机制保留的强的松的分析物回收率，展示了一种快速简便的吸附剂选择方法开发，获得了良好的重现性，并节省了大约2~3 h的手动操作时间。

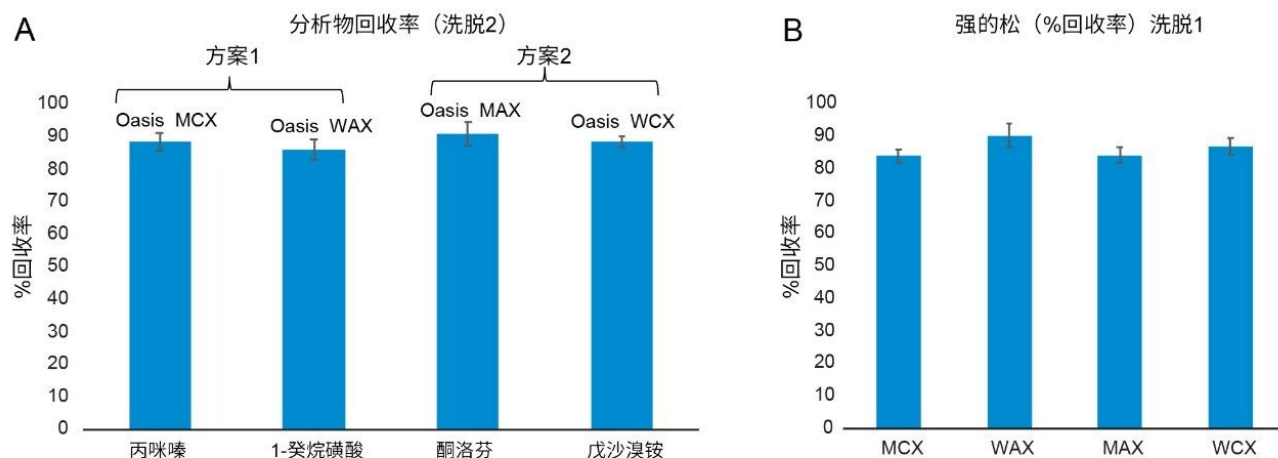


图3.使用方案中的(A)洗脱2和(B)洗脱1步骤，由四种Oasis混合模式SPE吸附剂得到的四份重复加标人血浆中分析物的回收率百分比

结论

展示了一种自动化混合模式SPE吸附剂选择方法开发工作流程，使用Andrew+移液机器人可快速、可靠且轻松地优化方法的分析物回收率，并且使用混合模式SPE获得了良好的重现性。

参考资料

1. Oasis 2x4 Method: Proof of Concept. Waters Application Note, [WA60090](https://www.waters.com/webassets/cms/library/docs/oasis210.pdf) <
<https://www.waters.com/webassets/cms/library/docs/oasis210.pdf>> , June 2007.
2. Oasis Sample Extraction Products: Methodology. Waters Application Note, [720003679](https://www.waters.com/nextgen/global/library/application-notes/2010/oasis-sample-extraction-products-methodology.html) <
<https://www.waters.com/nextgen/global/library/application-notes/2010/oasis-sample-extraction-products-methodology.html>> , September 2010.

特色产品

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

Xevo TQ-S <<https://www.waters.com/10160596>>

UNIFI生物制药平台解决方案 <<https://www.waters.com/10195515>>

在LC和LC-MS样品前处理工作流程中实现自动化液体处理 <
<https://www.waters.com/waters/nav.htm?cid=135070059>>

720007302ZH, 2021年6月



© 2023 Waters Corporation. All Rights Reserved.

[使用条款](#) [隐私](#) [商标](#) [网站地图](#) [招聘](#) [Cookie](#) [Cookie设置](#)

沪ICP备06003546号-2 京公网安备 31011502007476号