

# Application News

## No. C122

LC/MS  
Liquid Chromatography Mass Spectrometry

### 使用 SIL-30AC 同时注入功能的 LC/MS/MS 测定

LC-MS/MS Analysis Using Co-injection Method with the SIL-30AC

在需要进行样品预处理的分析中，预处理不仅花费时间，还可能存在人为错误。为了提高通量和分析重复性，自动操作是一种有效的方法。并且，如果对多个样品进行筛查，有时需要整夜时间，所以系统自动化是不可或缺的条件。

Nexera 系统的自动进样器 SIL-30AC 不仅配置了减少样品残留的多路清洗功能，还标配预处理功能，因此可以在无人操作的情况下，持续分析大量样品。本文向您介绍使用预处理功能，采用内标法对 DBS (Dried Blood Spot) 中含有的氨基酸和脂酰肉碱进行同时分析的示例。

#### ■ 内标法

Internal Standard Method

内标法是通过内标物质与目标样品相比进行定量的方法。可以对进样体积以及分析环境的变化进行校正。由于需要事先向目标样品中添加内标溶液，因而存在通量以及试剂消耗量增加的问题。此时，通过预处理功能，就无需事先添加内标溶液，只要在分析前自动注入所需样品即可。

#### ■ 预处理程序和功能

Pretreatment Program and Analysis

SIL-30AC 的预处理功能通过工作站进行控制。预处理功能可以按照事先设好的步骤进行，也可以由用户自定义，从而进行更加复杂的运行。单击仪器参数视图中自动进样器标签的预处理程序，即可打开预处理窗口。在本次分析示例中，自动进样器的流程图如图 1 所示，LabSolutions 的预处理功能设置窗口如图 2 所示。根据显示的程序可知：从控样瓶架（样品架号：0）中的 1 号样品瓶中吸样 1  $\mu$ L 后，从样品架号 (rn)、样品瓶号 (sn) 中吸入设定体积 (iv)，然后注入。

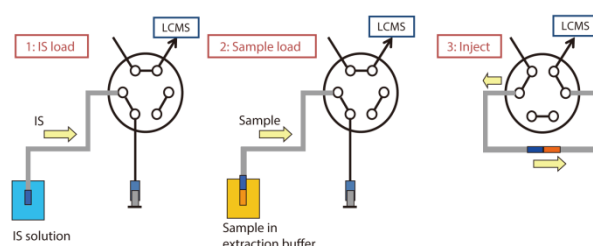


图 1 自动进样器的流程图  
Autosampler Movement

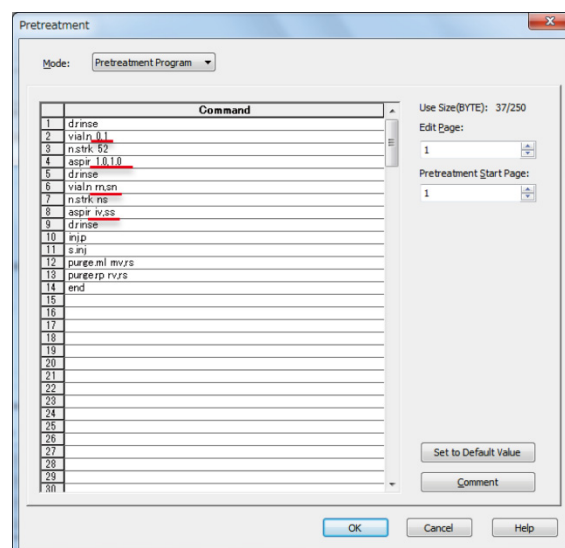


图 2 LabSolutions 的预处理功能设置窗口  
Pretreatment Program Setup Window in LabSolutions

#### ■ DBS 中含有的氨基酸和脂酰肉碱的同时分析—采样和 MS 测定

Simultaneous Analysis of Amino Acids and Acylcarnitines in a DBS  
-Sample Extraction and MS Analysis

使用 LC-MS/MS 可以在短时间内对氨基酸的代谢指标氨基酸、脂肪酸的代谢指标脂酰肉碱进行多成分测定。将 DBS 的提取液放置到 96 孔板中，使用自动进样器进行自动分析。此时，通过对提取液中已含有的内标成分和目标成分进行比较而定量。本次分析中，我们省略了在预处理过程向提取液添加内标溶液的步骤，直接通过自动进样器同时注入提取液和内标溶液，使用三重四极杆液相色谱质谱联用仪 LCMS-8040 进行了测定。

实验中使用了 ChromSystems 公司制造的试剂盒。除去不向提取液中添加内标溶液以外，预处理步骤均按照试剂盒规定的方法进行。图 3 为样品的预处理方法。有图可知，使用精度管理用干血斑滤纸：QC 用 DBS 作为样品。剪切 3.0 mm 直径的 DBS 切片并放置到 96 孔板后，按照规定方法进行预处理。使用经预处理的提取液进行 FIA（FlowInjection Analysis）。对于目标化合物，使用 MRM（Multiple Reaction Monitoring）进行测定。使用内标化合物对各目标化合物进行定量。表 1 为 LC 和 MS 的分析条件。

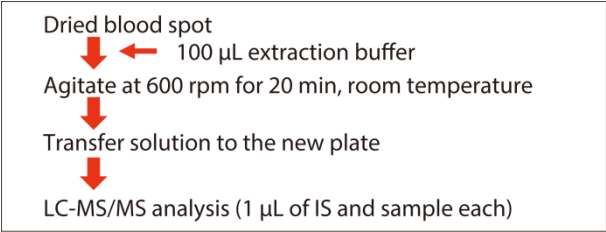


图 3 预处理方法  
Pretreatment Protocol

表 1 分析条件  
Analytical Conditions

流动相	: 0.1 % HCOOH - H <sub>2</sub> O / CH <sub>3</sub> CN (2/8)
时间程序	: 0.1 mL/min (0 min) → 0.075 mL/min (0.1 min) → 0.5 mL/min (0.66-1 min)
进样体积	: 1 μL
分析时间	: 1 min
离子模式	: ESI (+)
离子源电压	: +4.5 kV
雾化气流速	: 3.0 L/min
干燥气流速	: 12.0 L/min
DL 温度	: 250 °C
加热模块温度	: 400 °C

■ 测定结果

Example of Analysis Results

表 2 为通过同时进样法和传统方法（按照试剂盒规定的方法进行预处理）得到的样品测定结果。剪切 3 个浓度不同的干血斑滤纸片（Level-I、Level-II）并进行处理，连续三天分别重复进行了 10 次测定，并且计算测定平均值与数据表中记载的目标值比例。如果使用岛津公司的氨基酸和脂酰肉碱分析支持软件 Neonatal Solution，可以自动计算目标化合物的浓度。

由此可知，测定结果不仅在数据表中记载的范围内（未添加数据），还得到非常接近表 2 所示的同时进样法测定结果。并且，所得结果的精度与传统方法相比毫不逊色。

使用同时进样法进行分析，虽然内标溶液的浓度为传统方法的 5 倍，但是，由于一次分析中使用的样品体积降低到 1/100（与同时进样法 1 μL 相比，传统方法使用 100 μL），所以样品实际消耗量只有 1/20。综上所述，通过 SIL-30AC 的预处理功能，使用同时进样法进行分析，不仅简化了预处理，还可以减少样品溶剂的使用量。

表 2 测定结果  
Results of Analysis

Level-I					Level-II						
Component	Average (μmol/L)		Target (μmol/L)	Ratio (average/target)*		Component	Average (μmol/L)		Target (μmol/L)	Ratio (average/target)*	
	同时进样法	传统方法*		同时进样法	传统方法*		同时进样法	传统方法*		同时进样法	传统方法*
Ala	423.99	420.76	411.00	1.03	1.02	Ala	672.15	722.38	714.00	0.94	1.01
Arg	67.05	66.80	70.00	0.96	0.95	Arg	138.89	146.69	141.00	0.99	1.04
Asp	198.19	185.51	201.00	0.99	0.92	Asp	446.06	490.05	446.00	1.00	1.10
Cit	68.67	68.83	69.00	1.00	1.00	Cit	250.10	274.29	270.00	0.93	1.02
Glu	404.47	395.23	418.00	0.97	0.95	Glu	689.73	808.85	742.00	0.93	1.09
Gly	407.26	391.81	394.00	1.03	0.99	Gly	939.76	977.15	1006.00	0.93	0.97
Leu	374.94	368.78	372.00	1.01	0.99	Leu	616.42	652.52	644.00	0.96	1.01
Met	70.59	69.09	71.00	0.99	0.97	Met	254.81	269.46	257.00	0.99	1.05
Orn	211.86	202.91	208.00	1.02	0.98	Orn	493.23	548.32	555.00	0.89	0.99
Phe	152.56	158.20	167.00	0.91	0.95	Phe	547.77	602.35	564.00	0.97	1.07
Pro	320.11	325.46	360.00	0.89	0.90	Pro	732.41	772.55	701.00	1.04	1.10
Tyr	198.58	199.28	202.00	0.98	0.99	Tyr	525.85	595.79	580.00	0.91	1.03
Val	262.67	258.42	262.00	1.00	0.99	Val	463.26	499.90	482.00	0.96	1.04
C0	50.33	50.16	49.40	1.02	1.02	C0	99.33	110.00	107.00	0.93	1.03
C2	28.30	28.11	28.10	1.01	1.00	C2	67.13	70.10	69.70	0.96	1.01
C3	6.35	5.89	6.02	1.06	0.98	C3	14.83	14.96	15.40	0.96	0.97
C4	1.13	1.03	1.08	1.04	0.96	C4	4.53	4.56	4.69	0.97	0.97
C5	0.61	0.65	0.64	0.96	1.02	C5	2.37	2.71	2.71	0.87	1.00
C6	0.51	0.49	0.51	1.01	0.97	C6	2.40	2.56	2.48	0.97	1.03
C8	0.56	0.55	0.54	1.04	1.01	C8	2.40	2.39	2.50	0.96	0.96
C10	0.53	0.51	0.51	1.03	1.00	C10	2.18	2.36	2.27	0.96	1.04
C12	0.47	0.48	0.47	0.99	1.02	C12	2.11	2.26	2.20	0.96	1.03
C14	0.52	0.50	0.51	1.01	0.98	C14	2.16	2.20	2.23	0.97	0.99
C16	4.94	4.86	5.00	0.99	0.97	C16	12.60	13.08	13.30	0.95	0.98
C18	2.61	2.61	2.56	1.02	1.02	C18	8.22	8.77	8.49	0.97	1.03

\* 传统方法：按照试剂盒规定的方法进行预处理，不使用 SIL-30AC 的预处理程序进行测定。  
\* 本应用报告中记载的产品并非获得了国内相关法律批准和认证的医疗器械。  
\* 请勿将本应用报告中记载的分析方法用于诊断目的。



岛津企业管理（中国）有限公司  
岛津（香港）有限公司

<http://www.shimadzu.com.cn>

用户服务热线电话： 800-810-0439  
400-650-0439

免责声明：  
\* 本资料未经许可不得擅自修改、转载、销售；  
\* 本资料中的所有信息仅供参考，不予任何保证。  
如有变动，恕不另行通知。

第一版发行日：2016 年 3 月