

同位素稀释气相色谱质谱法测定血清甘油三酯含量

GCMS-352

摘要： 本文采用岛津气相色谱质谱联用仪 GCMS-QP2020 NX 建立了血清甘油三酯同位素稀释气相色谱质谱测定方法。方法以稳定同位素 3 个 ^{13}C 标记的甘油为内标添加至血清中，样品中血清甘油三酯经氢氧化钠乙醇溶液水解后再用盐酸中和，经四氯化碳净化，丙酮沉淀蛋白后 MTBSTFA 衍生，气相色谱质谱联用仪分析。

关键词： 气相色谱质谱联用仪 血清 同位素内标 甘油三酯

血清甘油三酯 (TG) 是一项重要的临床血脂常规测定指标，随着对动脉粥样硬化作用的深入研究，TG 作为冠心病的一项独立危险因素日益受到重视。

血清 TG 测定方法一般可分为化学法、酶法和色谱法。早期测定方法是以总胆质与胆固醇和磷脂之差估算。化学法用有机溶剂提取样本中的 TG，去除提取液中磷脂等干扰物后，用碱水解（皂化）TG，以过碘酸氧化甘油生成甲醛，然后用显色反应测甲醛。比较准确的是二氯甲烷 - 硅酸变色酸法，此法提取完全、能去除磷脂及甘油干扰、变色酸显色灵敏度高、显色稳定，至今是美国疾病控制与预防中心 (CDC) 的内部参考方

法。但因操作步骤繁多、技术要求高而不适于临床常规应用。目前几乎所有临床实验室都用酶法检测血清 TG 水平，此法具有简便快速、微量、精密度高的优点。同位素稀释气相色谱质谱技术主要用作参考系统中决定性方法的建立及参考物质的制备与定值。

本文参考《WS/T 412-2013 血清甘油三酯测定参考方法 同位素稀释气相色谱质谱法》，利用 GCMS-QP2020 NX 建立了血清甘油三酯同位素稀释气相色谱质谱法，该方法准确、精密度高，可用于血清中甘油三酯的检测。

■ 实验部分

1.1 仪器

气相色谱质谱联用仪：GCMS-QP2020 NX

1.2 分析条件

色谱柱：SH-Rxi-1 ms，
(30 m×0.25 mm×0.25 μm)

进样方式：分流进样

进样口温度：250°C

柱温程序：60°C (2 min)_25°C /min
_300°C (3 min)

载气控制方式：恒线速度 (35.7 cm/s)

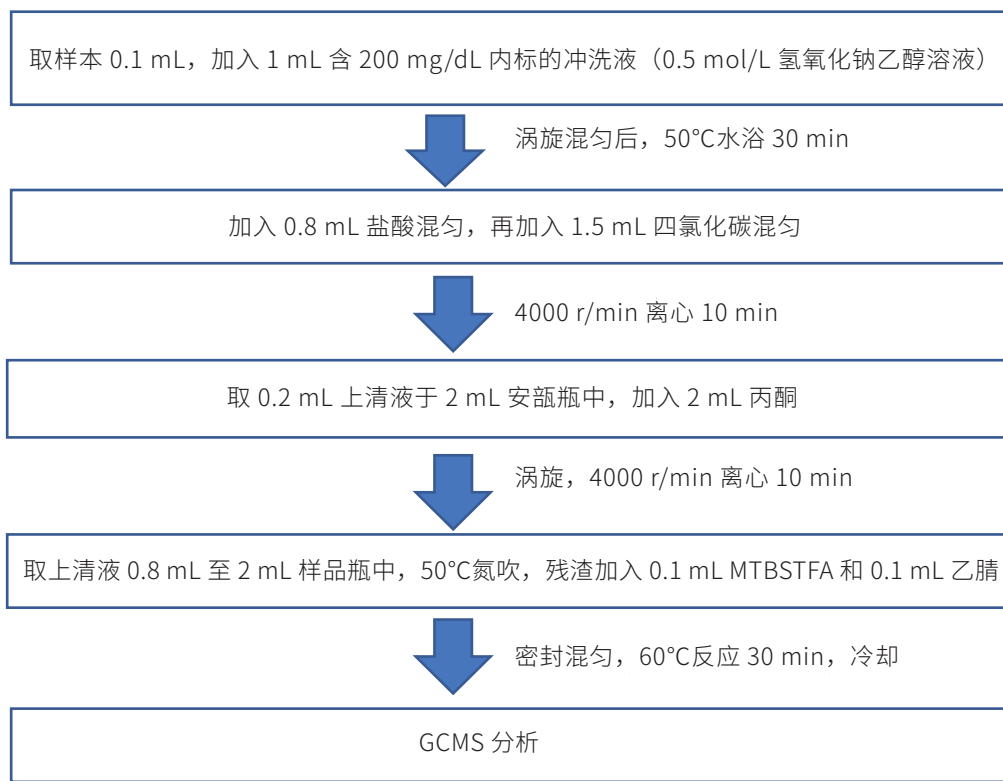
分流比 20:1

离子源温度：200°C

接口温度：250°C

采集方式：SIM (碎片离子见表 1)

1.3 样品前处理



■ 结果与讨论

2.1 标准色谱图

甘油及 ^{13}C 甘油硅烷化衍生物质谱图及质量色谱图如图 1、图 2 和图 3 所示，相关信息见表 1。

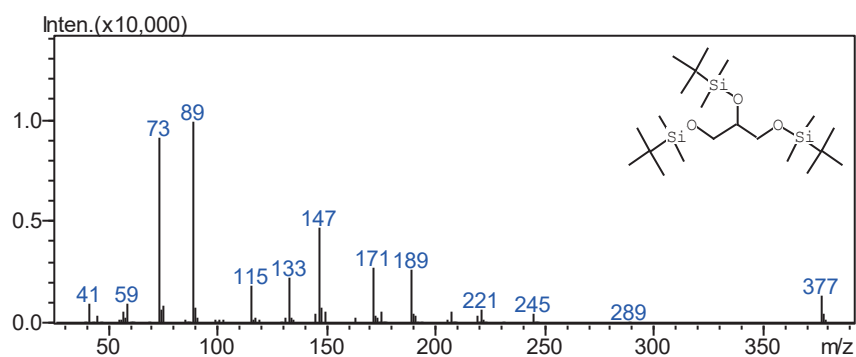


图 1 甘油 3TBDMS 衍生化产物质谱图

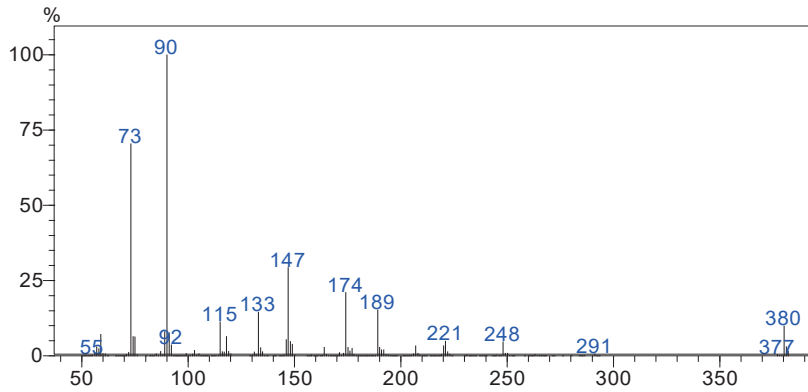


图 2 ¹³C 甘油 3TBDMS 衍生化产物质谱图

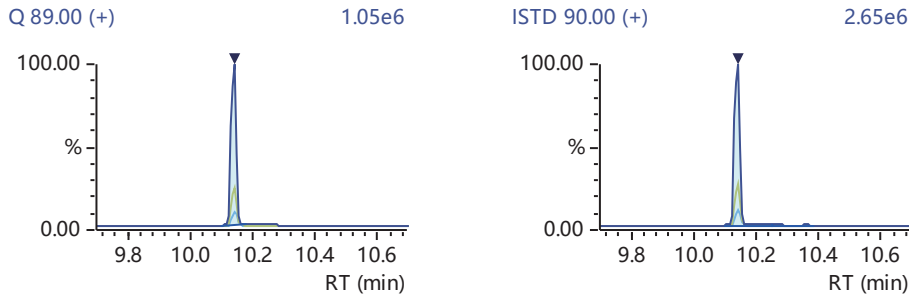


图 3 甘油及 ¹³C 甘油衍生产物质量色谱图

表 1 甘油及 ¹³C 甘油衍生产物选择离子信息

No.	化合物名	保留时间 (min)	定量离子	定性离子
1	甘油衍生产物	10.14	89	171, 377
2	¹³ C 甘油衍生产物	10.14	90	174, 380

2.2 标准曲线

用去离子水稀释甘油，配置成浓度为 50、100、200、300 和 400 mg/dL 的校准工作溶液，-20℃冰箱保存。去离子水稀释 ¹³C 甘油，配置成浓度为 400 mg/dL 工作液，置于 -4℃冰箱中保存。

按照 1.3 样品前处理步骤，处理标准曲线及样品，经 GCMS-QP 2020 NX 分析。以浓度比为横坐标，峰面积比为纵坐标，绘制标准曲线，甘油衍生产物线性方程及相关系数如图 3 所示。

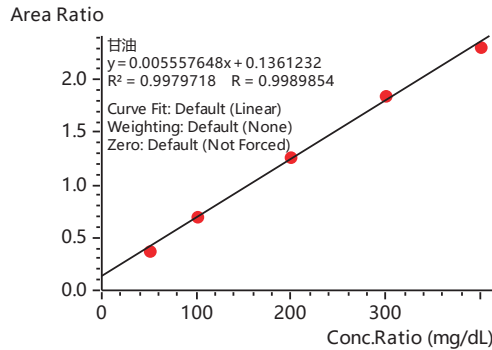


图 2 甘油衍生产物标准曲线及相关系数

2.3 检测限及重复性

分别取浓度为 50 和 100 mg/dL 的衍生产物标准溶液，连续进样 6 次，考察仪器重复性，以 50 mg/dL 的衍生产物标准溶液结果计算检测限 (S/N=3)，各组分峰面积 RSD % 及检测限结果见表 2。

表 2 甘油衍生产物校准曲线方程、相关系数、重复性及检测限结果

化合物名称	相关系数 (r)	峰面积 RSD%	峰面积 RSD%	检测限 (mg/dL)
		50 mg/dL (n=6)	100 mg/dL (n=6)	
甘油衍生产物	0.9990	3.36	4.59	0.11

2.4 回收率

按照 1.3 样品前处理过程进行小牛血清加标测试，加标浓度为 80、160 和 320 mg/dL，以上述前处理方法进行处理，平行 3 次，平均回收率结果见表 3。

表 3 加标回收率

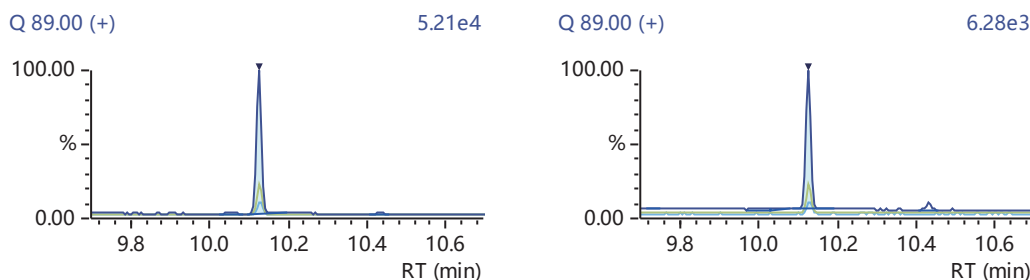
化合物名称	80 mg/dL	160 mg/dL	320 mg/dL
	平均回收率 (%)	平均回收率 (%)	平均回收率 (%)
甘油衍生产物	95.07	133.35	96.25

2.5 实际样品测试结果

按照 1.3 样品前处理过程进行两份样本测试，样本质量浓度为 mmol/L，计算公式为：

$$X_0 = X \times 885.4 / 10$$

计算得到两个样本中甘油三酯浓度分别为 3.34 mmol/L 和 2.07 mmol/L。



■ 结论

本文利用岛津 GCMS-QP2020 NX 气相色谱质谱联用仪建立了测定血清中甘油三酯含量的方法。在 50~400 mg/dL 浓度范围内，甘油三酯衍生产物标准曲线线性良好，相关系数为 0.999，检出限为 0.114 mg/dL。50 和 100 mg/dL 标准品衍生产物连续进样 6 次，峰面积相对标准偏差 (RSD%) 为 3.36%，4.59%，重复性良好。在 80、160 和 320 mg/dL 加标水平下，甘油衍生产物回收率在 95.07~133.35% 之间。本方法准确，精密度高，适用于血清中甘油三酯含量的测定。

岛津应用云

