

# ATLAS-LEXT NHD 结合 LCMSMS 检测血浆中乙基葡萄糖醛酸苷含量

## LCMSMS-645

**摘要：** 本文建立了一种使用 ATLAS-LEXT NHD 自动前处理装置及液质联用仪测定血浆中乙醇标志性代谢物 - 乙基葡萄糖醛酸苷 (EtG) 的方法。实验结果表明：该方法重复性良好，不同浓度基质加标样品以 ATLAS-LEXT NHD 各自处理 6 个平行样，保留时间 RSD 在 0.11~0.16% 之间，峰面积 RSD 在 2.88~4.96% 之间；加标回收率在 78.1%~80.3% 之间。该方法具有自动化程度高、通量高、回收率和重复性好的特点，利用了 ATLAS-LEXT NHD 自定义编程功能进行蛋白沉淀，可减少人为操作带来的误差和化学试剂暴露风险，可用于血浆中 EtG 的测定，供公安司法相关检测人员参考。

**关键词：** 乙基葡萄糖醛酸苷 ATLAS-LEXT NHD LCMS-8050

乙基葡萄糖醛酸苷 (Ethyl Glucuronide, EtG) 是乙醇在人体内代谢的标志性代谢物，是判定个体在 12 h 内是否饮酒的重要证据。此外，血液和尿液中 EtG 的测定，对判定乙醇来源、区分是否血液腐败产生乙醇有着重要的意义。

EtG 的检测方法有 LC-MS/MS 和 GC-MS/MS 等，LC-MS/MS 检测 EtG 不需要衍生，相对更为便捷。

ATLAS-LEXT NHD 自动前处理装置可以对唾液、尿液、血液等样品中的目标组分自动进行液 - 液萃取和蛋白沉淀等操作，自动化程度高，可节省大量时间，提高效率，降低人为失误，并减少使用大量有机溶剂对实验人员造成的身体危害。本文利用 ATLAS-LEXT NHD 结合三重四极杆液质联用仪，建立了血浆中 EtG 的检测方法。

## ■ 实验部分

### 1.1 仪器

本实验使用 ATLAS-LEXT NHD 自动前处理装置及岛津三重四极杆液质联用仪。具体配置为：

系统控制器：CBM-20A

脱气机：DGU-20A

输液泵：LC-20ADXR × 2

自动进样器：SIL-20AC

柱温箱：CTO-20AC

色谱工作站：LabSolutions Ver. 5.99

质谱仪：LCMS-8050

前处理仪：ATLAS-LEXT NHD



图 1 ATLAS-LEXT NHD 系统 (左) 和 LCMS-8050 (右)

### 1.2 分析条件

ATLAS-LEXT NHD 蛋白沉淀前处理条件

混合强度：9 级

离心速度：5750 rpm

混合时间：90 sec

离心时间：180 sec

样品用进样针清洗量：3000  $\mu$ L

清洗溶液：0% 甲醇

进样针排液高度：70 cm

液相条件

色谱柱: Shim-pack GIST C18, 150 mm×2.1 mm I.D., 3µm  
P/N: 227-30008-07, 岛津(上海)实验器材有限公司

流动相: A相 -0.01% 甲酸水溶液, B相 - 乙腈

流速: 0.3 mL/min

柱温: 40°C

进样量: 1 µL

洗脱方式: 梯度洗脱, B相初始浓度为5%, 洗脱程序见表

表 1 洗脱程序

Time(min)	Module	Command	Value
1.2	Pumps	Pump B Conc.	10
1.8	Pumps	Pump B Conc.	90
2.8	Pumps	Pump B Conc.	90
2.9	Pumps	Pump B Conc.	5
6.0	Controller	Stop	

质谱条件

离子化模式: ESI<sup>+</sup>

雾化气: 氮气 3.0 L/min

干燥气: 氮气 10.0 L/min

加热气: 空气 10.0 L/min

接口温度: 300°C

加热模块温度: 400°C

DL 温度: 250°C

扫描模式: 多反应监测 (MRM)

表 2 MRM 参数

序号	化合物名称	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias (V)	CE	Q3 Pre Bias (V)
1	乙基葡萄糖醛酸苷	221.10	75.10* 85.10	11.0 11.0	16.0 18.0	14.0 15.0

\* 表示定量离子

1.3 样品前处理方法

1. 使用 ATLAS 进行前处理: 样品管中加入 0.2 mL 样品, 使用 ATLAS-LEXT NHD 自定义程序进行蛋白沉淀, 程序的详细步骤为: 向样品中加入 1.8 mL 乙腈, 移动样品瓶至混合离心单元, 混合离心, 取 1 mL 上清液至干净试管中, 0.22 µm 滤膜过滤后上机。针对于 ATLAS 的专用软件流程设置如图 2 所示。



图 2 ATLAS-LEXT NHD 样品前处理软件界面及处理流程设置

2. 手动进行前处理：准确移取 0.2 mL 样品于离心管中，加入 1.8 mL 乙腈，涡旋 90 s，10000 r/min 离心 3 min，取上清液以 0.22 μm 滤膜过滤后待测。

## ■ 结果与讨论

### 2.1 前处理方案性

蛋白沉淀法是血液和尿液等样品处理时常用的方法，常规处理方式多为手动模式，添加沉淀剂、涡旋、离心等步骤均需手动完成，在样品量较多时，存在耗时费力的问题，且人为失误时有发生。

在此前应用报告《LCMS-8045 测定血液和尿液中的乙基葡萄糖醛酸苷》中，即采用了手动处理的模式，本文采用 ATLAS-LEXT NHD 对血浆样品进行自动蛋白沉淀，在同样的处理步骤和参数下，对比了手动和自动模式的效果，具体结果后文展示。

### 2.2 重复性实验

浓度分别为 1 μg/mL 和 10 μg/mL 的基质加标样品以 ATLAS-LEXT NHD 各自处理 6 个平行样，进样分析考察方法的重复性，结果如表 3 所示，保留时间 RSD 在 0.11~0.16% 之间，峰面积 RSD 在 2.88~4.96% 之间，方法重复性良好。

表 3 重复性测试结果

序号	目标物	加标浓度 (μg/mL)	保留时间 RSD, %	峰面积 RSD, %
1	EtG	1	0.16	4.96
2		10	0.11	2.88

### 2.3 加标回收率实验

浓度分别为 1 μg/mL 和 10 μg/mL 的基质加标样品分别以 ATLAS-LEXT NHD 自动处理和手动处理，考察不同前处理方法的回收率。结果如表 4 所示，两种前处理方式加标回收率分别在 78.1%~80.3% 和 79.4%~82.5% 之间，两种前处理方式回收率无显著差异，自动处理重复性优于手动处理。

表 4 加标回收率实验

处理方式	加标回收率 (%)			
	浓度 1	RSD%	浓度 2	RSD%
自动处理	80.3	4.96	78.1	2.88
手动处理	79.4	8.73	82.5	6.54

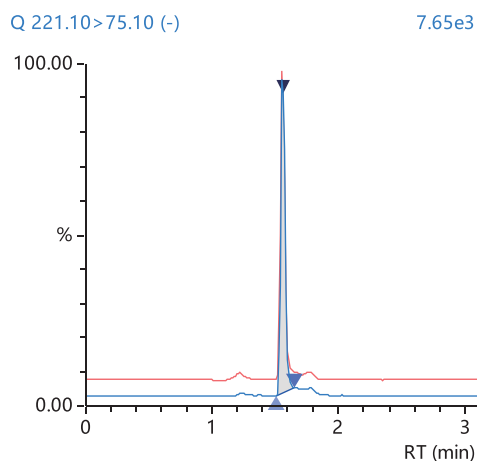


图 3 1 μg/mL 加标样品色谱图

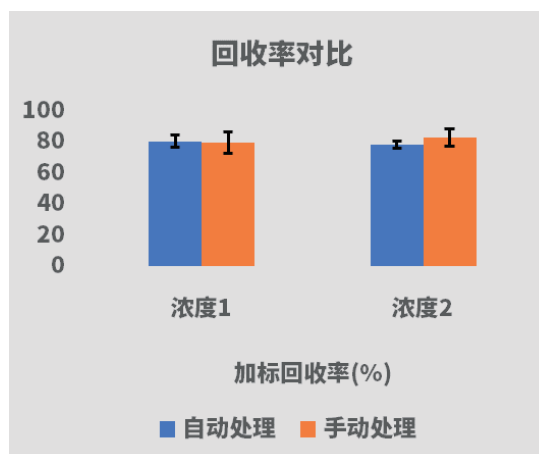


图 4 加标回收率对比

## 2.4 自动与手动前处理对比

单个样品分别以 ATLAS-LEXT NHD 自动处理和手动处理时，加入乙腈、混合、离心等单个步骤所需时间相近，处理单个样品所需时间基本相等。但 ATLAS-LEXT NHD 搭载多通道混合离心装置，可支持最多 6 个样品同时处理，因此在大批量样品前处理时，可无人值守连续工作，提高效率。另自动前处理可降低人为失误，同时减少有机溶剂对实验人员造成的身体危害。

## ■ 结论

本文建立了一种使用 ATLAS-LEXT NHD 自动前处理装置及液质联用仪测定血浆中乙醇标志性代谢物 - 乙基葡萄糖醛酸苷 (EtG) 的方法。实验结果表明：该方法重复性良好，不同浓度基质加标样品以 ATLAS-LEXT NHD 各自处理 6 个平行样，保留时间 RSD 在 0.11~0.16% 之间，峰面积 RSD 在 2.88~4.96% 之间；加标回收率在 78.1%~80.3% 之间。该方法具有自动化程度高、通量高、回收率和重复性好的特点，利用了 ATLAS-LEXT NHD 自定义编程功能进行蛋白沉淀，可减少人为操作带来的误差并和化学试剂暴露风险，可用于血样中 EtG 的测定，供公安司法相关检测人员参考。

岛津应用云

