

應用手冊

示範使用Andrew+移液機械臂執行自動化樣品製備的LC-MS亞硝酸不純物定量效能

Mary Trudeau, Nigel Skinner

Waters Corporation

這是一篇應用簡報，不含詳細的實驗內容章節。

Want to learn more about the Andrew+ Pipetting Robot?

REQUEST A DEMO

摘要

LC-MS分析方法開發要求樣品製備流程靈活且可再現，以利完成準確且可靠的分析物定量作業。本文強調使用Andrew+移液機械臂結合OneLab雲端軟體如何自動化產生校正曲線，使用ACQUITY UPLC I-Class PLUS系統和Xevo TQ-XS質譜儀對亞硝酸不純物進行LC-MS定量分析，獲取準確且可再現的結果。

優勢

- 準確、精準且可靠的分析定量效能
- 簡單易用、節省時間
- 提高效率並減少失誤，達到節約成本的目的
- 避免反覆移液
- 自動化進行方法轉移

簡介

樣品製備對實驗室分析人員而言往往是最耗時卻又最關鍵的步驟。在樣品製備步驟中，稍有閃失就會影響整個分析，有可能會導致效能出現高度異常，最嚴重的情況還可能造成分析失敗。此外，這些分析方法的開發、最佳化以及執行等作業著實耗時，並且難以在不同的科學家以及實驗室之間轉移¹。

所有定量分析都需要製備校正標準品和品質管控(QC)樣品。製備這些樣品時，會採用以濃縮溶液依序（或連續）稀釋分析物的基本技術²。樣品製備往往並不困難，但需反覆作業而且相當耗時，要求製備過程保持一致，才能讓分析方法實現可靠的效能。因此，這項任務非常適合使用實驗室自動化作業。讓分析人員有空處理其他任務、簡化樣品製備流程、減少發生人為錯誤的可能性，確保分析方法效能的一致性。

本應用簡報的目標在於使用Andrew+移液機械臂開發一種自動化樣品製備方法用於N-亞硝胺不純物的LC-MS定量作業並證明方法效能。N-亞硝胺不純物有致癌性並且存在於許多商品和藥物中，因此，無論是在藥物開發及製造的過程中以及結束之後，都必須運用穩定可靠的樣品製備與分析作業進行例行定量。

結果與討論

依據應用手冊720006899EN <<https://www.waters.com/nextgen/us/en/library/application-notes/2020/high-sensitivity-quantitation-of-nitrosamine-genotoxic-impurities-lc-ms-analysis-of-ranitidine-drug-product-using-the-waters-acquity-uplc-i-class-xevo-tq-xs-tandem-quadrupole-mass-spectrometer.html>> 中說明的樣品製備方法，為Andrew+移液機械臂建立校正樣品製備實驗步驟。簡而言之，我們使用水/甲醇溶液(80/20)分別製備了三個含六種亞硝胺不純物（NDMA、NDEA、NEIPA、NDIPA、NDBA和NMBA）的校正曲線樣品，以1 µg/mL濃縮儲備溶液在96孔樣品採集盤（P/N: 186005837 <<https://www.waters.com/nextgen/us/en/shop/vials->

containers--collection-plates/186005837-96-well-sample-collection-plate-700--l-round-well-25-pk.html>) 中製備。試劑製備實驗步驟和校正曲線實驗步驟在OneLab中產生，這是一套在Andrew+移液機械臂上設計和執行實驗步驟時所採用的雲端軟體。開發的實驗步驟不但能執行校正曲線樣品製備（濃度範圍0.025–100 ng/mL）的所有步驟，還能提供製備階段所用耗材與試劑的一切資訊。圖1強調這項分析所用OneLab連續稀釋/校正曲線(0.025–100 ng/mL)的產生方式。產生亞硝胺校正曲線後，使用矽膠/PTFE製96孔蓋墊（P/N: 186006332 <<https://www.waters.com/waters/partDetail.htm?partNumber=186006332>>）封住分析盤。使用Waters Xevo TQ-XS串聯質譜儀結合ACQUITY UPLC I-Class PLUS系統，以MassLynx軟體進行控制，對製備的樣品執行LC-MS/MS分析。應用手冊720006899EN <<https://www.waters.com/nextgen/us/en/library/application-notes/2020/high-sensitivity-quantitation-of-nitrosamine-genotoxic-impurities-lc-ms-analysis-of-ranitidine-drug-product-using-the-waters-acquity-uplc-i-class-xevo-tq-xs-tandem-quadrupole-mass-spectrometer.html>> 中也有詳細描述LC-MS方法的完整細節。



圖1.連續稀釋樣品及產生校正曲線的Andrew+移液機械臂台面配置

依據小分子分析方法開發準則^{3,4}，開發的分析方法必須要能夠證明線性（相關係數或 $R^2 \geq 0.98$ ）、準確度（ $\pm 15\%$ ）以及精密度（ $\pm 15\%$ ）。使用Andrew+移液機械臂透過OneLab樣品製備方法製備的六(6)種N-亞硝胺不純物在後續的LC-MS分析中全數輕鬆達到這些標準。表1示範的是平均(N=3)校正效能。六種N-亞硝胺不純物的線性動態範圍介於0.025–50 ng/mL之間，使用簡單1/x權重的線性擬合 ≥ 0.999 。此外，平均準確度介於90.7–108.0%之間，RSD介於0.2–14.0%之間，表示這種方法的準確度和再現性都相當高。圖2強調其中三種亞硝胺不純物的代表性校正曲線。

亞硝胺不純物	曲線 (ng/mL)	權重	線性擬合 (R^2)	平均準確度範圍 (%)	平均(N=3) RSD範圍(%)
NDMA	0.25–50.0	1/X	0.999	94.6–102.1	0.2–4.9
NDEA				95.4–104.6	0.4–8.1
NDBA				92.6–105.3	1.2–4.2
NMBA				96.7–101.8	0.7–14.0
NEIPA				93.0–108.0	0.9–7.5
NDIPA				90.7–105.5	0.7–3.6

表1.使用Andrew+移液機械臂連續稀釋樣品並產生校正曲線獲得的亞硝胺不純物LC-MS純標準品定量效能。

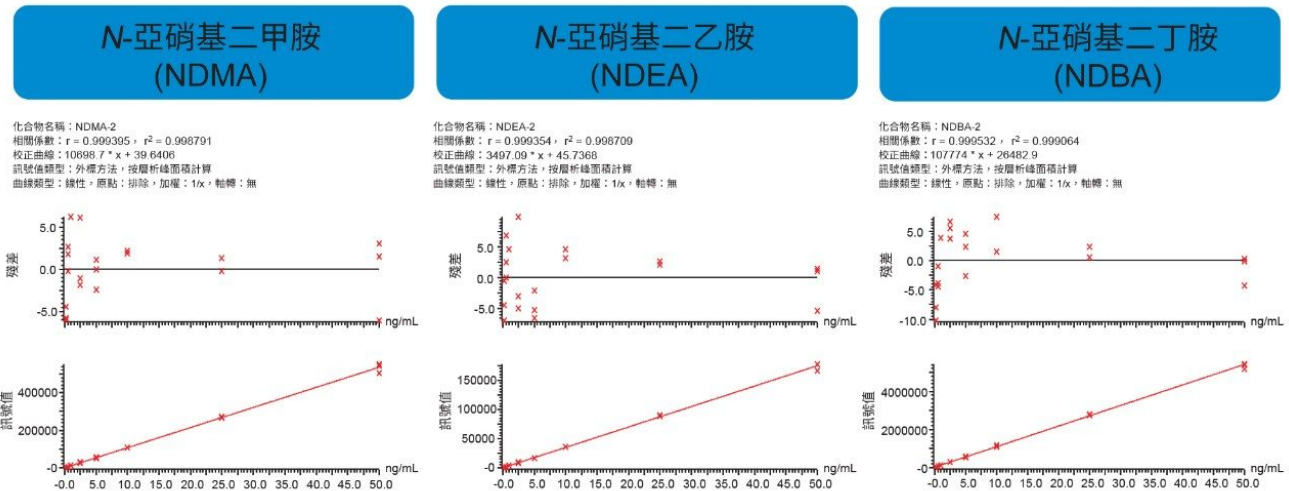


圖2.使用Andrew+移液機械臂連續稀釋樣品並產生校正曲線獲得的亞硝胺不純物標準品代表性校正曲線（NDMA、NDEA及NDBA）。

這套以OneLab建立並在Andrew+移液機械臂上執行的自動化方法，能夠執行簡單的連續稀釋，為亞硝酸不純物分析產生校正曲線，不需要分析人員人工處理。這套用途廣泛的方法可以獨立使用，也可以結合更精密的樣品工作流程，進行穩定的LC-MS定量分析。此外，OneLab方法可以溯源，轉移起來也相當容易，因此能夠保證方法再現效能：不分時間、不分使用者、不分系統，也不分實驗室。

參考資料

1. Christler, Anna & Felföldi, Edit & Mosor, Magdalena & Sauer, Dominik & Walch, N. & Dürauer, Astrid & Jungbauer, Alois.(2020).Semi-Automation of Process Analytics Reduces Operator Effect.*Bioprocess and Biosystems Engineering*.43.10.1007/s00449-019-02254-y.
2. Accurate and Consistent Serial Dilutions Made Easy with Andrew.Retrieved (22Feb2021) from https://www.andrewalliance.com/wp-content/uploads/2016/10/5_Serial_Dilutions_HD_20161005.pdf <https://www.andrewalliance.com/wp-content/uploads/2016/10/5_Serial_Dilutions_HD_20161005.pdf>
3. Viswanathan, C. T.; Bansal, S.; Booth, B.; DeStefano, A. J.; Rose, M. J.; Sailstad, J.; Shah, V. P.; Skelly, J. P.; Swann, P. G.; Weiner, R. Quantitative Bioanalytical Methods Validation and Implementation: Best Practices for Chromatographic and Ligand Binding Assays.*Pharm.Res.*2007, 24, 1962–1973.
4. Bansal, S.; DeStefano, A. Key Elements of Bioanalytical Method Validation for Small Molecules.*AAPS J.* 2007, 9, E109–114.

主要產品

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

Xevo TQ-XS三段四極桿質譜儀 <<https://www.waters.com/134889751>>

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

720007134ZF, 2021年1月



© 2023 Waters Corporation. All Rights Reserved.

[使用條款](#) [隱私權](#) [商標](#) [網站導覽](#) [就業機會](#) [Cookie](#) [Cookie](#) [偏好設定](#)