

使用Andrew+™移液机器人搭配Extraction+ 互联装置进行全自动固相萃取样品前处理

Mary Trudeau, Jonathan P. Danaceau

Waters Corporation

摘要

以下内容展示了由OneLab™软件控制的Andrew+移液机器人与Extraction+互联装置联用的新功能和灵活性，用于小柱和板上SPE规格的全自动固相萃取(SPE)样品前处理。

优势

- 使用Andrew+移液机器人和Extraction+互联装置进行全自动SPE样品萃取，无需用户干预
- 自动化功能与SPE板和小柱兼容
- 液体可灵活转移到板、试管和溶剂瓶中收集
- 完全可设定的真空压力曲线，减少性能差异性
- 自动化样品前处理和萃取提高了效率，让分析人员解放双手
- OneLab软件简单易用，可实现方法传输，使不同用户和不同实验室能够轻松进行相同的制备步骤

简介

液相色谱-质谱(LC-MS)生物分析SPE样品的制备耗时且复杂，通常被认为是LC-MS生物分析工作流程中的“瓶颈”，因为需要进行许多方案步骤来准确可靠地从各种生物基质中分离或纯化目标分析物。执行全自动SPE样品前处理极大地简化了分析工作流程，减少了人为误差，并提高了分析方法的重现性（不同日期之间、用户之间和实验室之间），让分析人员腾出时间执行其他任务。

本文介绍的研究展示了使用OneLab软件控制的Andrew+移液机器人(Andrew+)和新引入的Extraction+互联装置(Extraction+)进行的全自动样品前处理和SPE萃取方案（图1），以确保准确、可靠和稳定的SPE样品前处理。

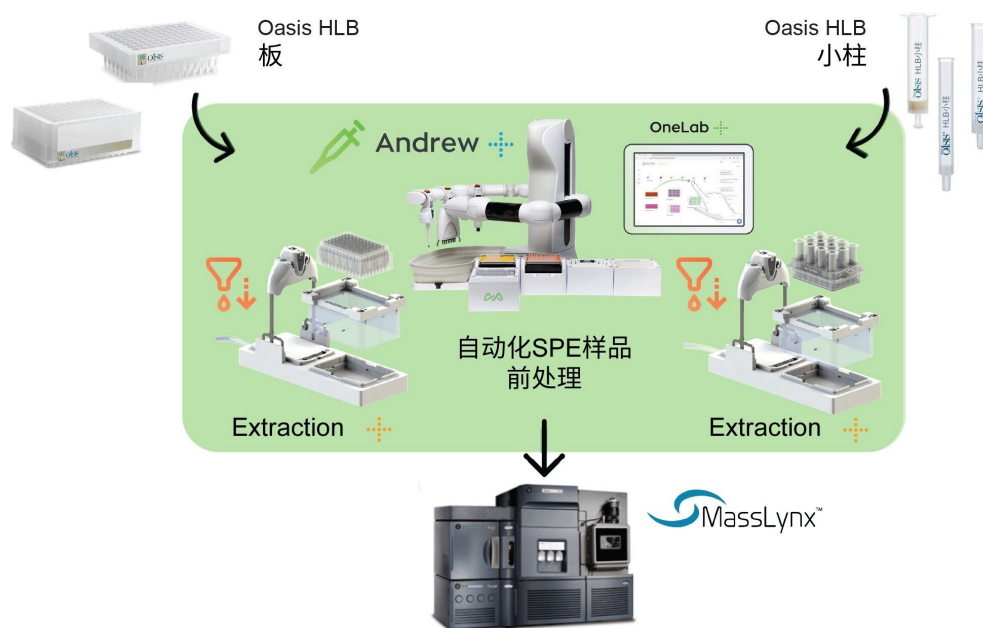


图1.使用Oasis HLB SPE板和小柱以及Andrew+移液机器人搭配Extraction+互联装置进行的全自动SPE样品萃取和LC-MS分析流程图示。

实验

LC-MS条件

LC系统:

ACQUITY UPLC I-Class, 配有固定定量环(FL)的色

	谱柱管理器(CMA)
MPA:	0.1% FA的水溶液
MPB:	0.1% FA的乙腈溶液
色谱柱/吸附剂:	HSS PFP 1.8 μm , 2.1 mm x 50 mm 色谱柱(P/N: 186005965)
柱温:	35 °C
样品温度:	10 °C
进样体积:	5 μL
WNW:	9:10 水:乙腈
SNW:	25:25:25:25 水:甲醇:乙腈:水
MS系统:	Xevo™ TQ-XS
毛细管电压(kV):	3.0
锥孔电压:	30 V
脱溶剂气温度:	500 °C
脱溶剂气流速:	1100 L/h
锥孔气流速:	150 L/h

液相色谱梯度

时间 (min)	流速 (mL/min)	% MPA	% MPB
0.0	0.5	100.0	0.0
5.0	0.5	5.0	95.0
6.0	0.5	5.0	95.0
6.1	0.5	100.0	0.0
7.0	0.5	100.0	0.0

MS设置

电离模式:	ESI+
采集范围:	MRM
毛细管电压:	2.00 kV
锥孔电压:	60 V
脱溶剂气温度:	500 °C
脱溶剂气流速:	1000 L/h
锥孔气流速:	150 L/h
碰撞气体流速:	0.2 mL/min
喷雾器气流:	7 bar

数据管理

仪器控制软件： MassLynx™ (v4.2)

定量软件： TargetLynx™

样品前处理和SPE萃取

将1.0 mg/mL的浓缩分析物储备液溶于甲醇中，制备含有小分子药物混合物(10 µg/mL)的储备液。然后用该储备液与水混合制备100 ng/mL的工作分析物储备液，用于评估自动和手动反相(RP) SPE的分析性能。使用100 ng/mL的分析物混合工作储备液在1、3和6 cc的Oasis HLB SPE小柱中，以及µElution和Macro 96孔Oasis HLB SPE板中（每种SPE规格N=4），使用简单的3步SPE方案（上样、清洗、洗脱）进行纯回收实验。有关基本RP SPE步骤的信息请参阅沃特世SPE挂图(P/N 720001981 <<https://www.waters.com/webassets/cms/library/docs/720001981en.pdf>>)。简单来说，将4%的磷酸溶液直接上样到SPE板或小柱中，然后加入加标的100 ng/mL分析物溶液，并通过六次移液管混合步骤进行混合。4%的磷酸溶液通常用于确保从生物基质蛋白质中充分破坏目标分析物。将该预处理样品上样到SPE小柱或板上。上样之后，用5%甲醇溶液清洗SPE设备，然后用甲醇溶液洗脱到合适的收集容器中。然后用水稀释样品，以确保与初始LC条件兼容。分别用于样品预处理、SPE萃取和样品稀释的液体体积见表1。SPE萃取后，得到的样品用螺旋盖或96孔盖封住并进行涡旋。随后用ACQUITY UPLC I-Class系统和Xevo TQ-XS质谱仪通过LC-MS/MS对萃取样品进行检测和分析。完整的LC-MS条件可以在实验部分找到，并使用表2所列的MS MRM参数对药物进行检测和分析。

步骤/SPE设备	1 cc小柱 (30 mg)	3 cc小柱 (60 mg)	6 cc小柱 (150 mg)	μElution 96孔板 (2 mg)	Macro Elution 96孔板 (30 mg)
OneLab方案	1	2	3	4	5
溶液	SPE移液体积(μL)				
样品	500	1000	2000	250	500
预处理	500	1000	2000	250	500
清洗	1000	1500	4000	300	700
洗脱	2 x 125	2 x 250	2 x 1000	2x50	2x125
稀释	250	500	2000	100	250
收集容器	沃特世2 mL LC/GC样品瓶	沃特世2 mL LC/GC样品瓶	5 mL VWR 离心管	700 μL 96孔圆孔 收集板	700 μL 96孔圆孔 收集板

表1. 在1、3和6 cc小柱以及96孔μElution和Macro Elution板中的每个反相Oasis HLB SPE步骤分别使用的液体体积。

化合物	M+H ⁺	碎片离子 (一级)	碰撞能量 (一级)	碎片离子 (确认)	碰撞能量 (确认)
乙酰唑胺	221.1	79.0	20	83.0	16
对乙酰氨基酚	152.1	65.0	24	110.1	14
强的松	359.2	313.1	12	147.1	28
2-甲基苯甲酰胺	136.2	77.1	18	44.1	16
可的松	361.2	163.0	22	121.1	26
美托洛尔	268.2	116.1	18	98.1	18
阿米替林	278.2	105.0	22	91.0	28
阿哌沙班	460.3	199.1	35	443.2	30

表2. 评估Andrew+搭配Extraction+的SPE分析性能所用的小分子药物MS参数设置

SPE自动萃取

Andrew+搭配Extraction+在OneLab软件控制下用于执行所有自动化SPE评估，如图2所示。SPE步骤中应用了真空负压，该真空负压使用由OneLab软件控制的压力梯度。OneLab方案中定义的典型压力曲线的图解如图3所示。用于Extraction+性能评估的OneLab方案SPE小柱和板图示，以及从Andrew Alliance OneLab library <<https://onelab.andrewalliance.com/library>> 可以下载的资料如图4-8所示。这些方案是使用表1中的SPE条件，针对不同SPE小柱和板而创建的。图中所示为OneLab方案，包括方案图示、拖放方法创建和一些关键信息，例

如系统组件（如Domino、互联装置、移液枪、移液枪吸头、溶剂瓶和试管等）、实验室消耗品以及便于执行自动方法和操作Extraction+的Andrew+工作台布局。

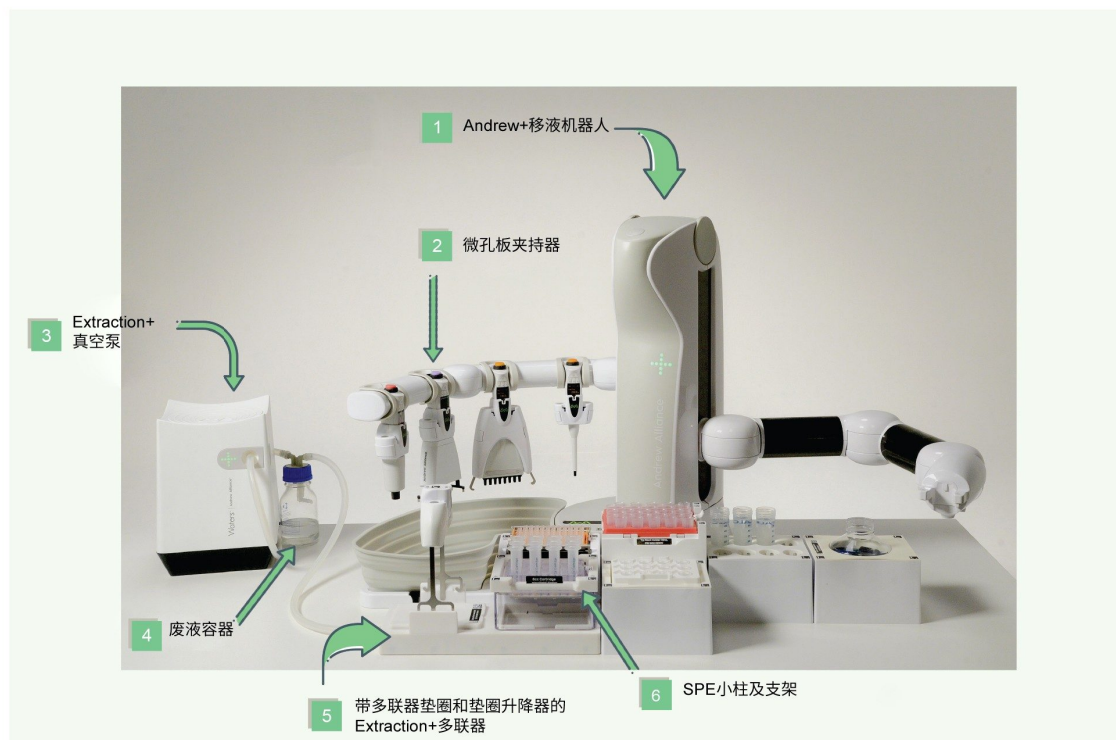


图2.Andrew+，配置所需的Domino、Andrew Alliance蓝牙电子移液枪和工具架上的微孔板夹持器，以及Extraction+系统，包括Extraction+互联真空泵、流通式废液瓶、带多联器垫圈和一体化垫圈升降器的Extraction+多联器以及位于相应适配器中的SPE小柱。

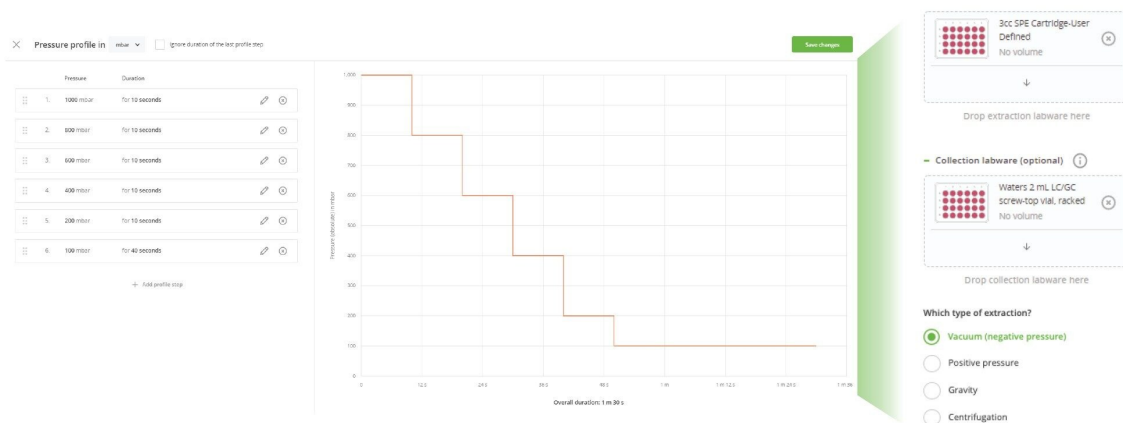
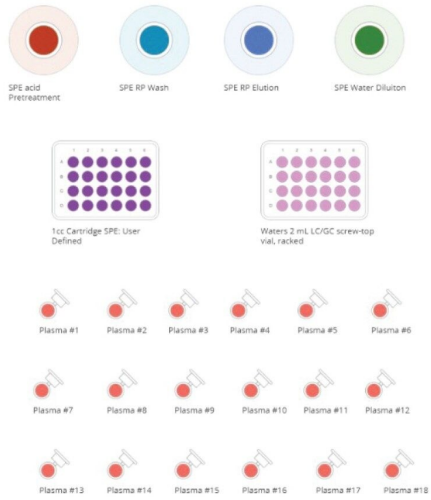


图3. OneLab全真空压力控制图，用于在SPE方法执行过程中从SPE小柱中抽取液体并收集到2 mL LC/GC样品瓶中。

OneLab方案1 | Oasis RP-HLB 1 cc小柱SPE

OneLab方案图示



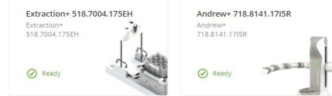
Andrew+系统组件

Domino、电子移液枪和吸头

← Material list

Check you've got all the required materials

Devices ²



Tools ³



Tips ³



Domino blocks ³



Andrew+工作台布局, 搭配Extraction+互联装置

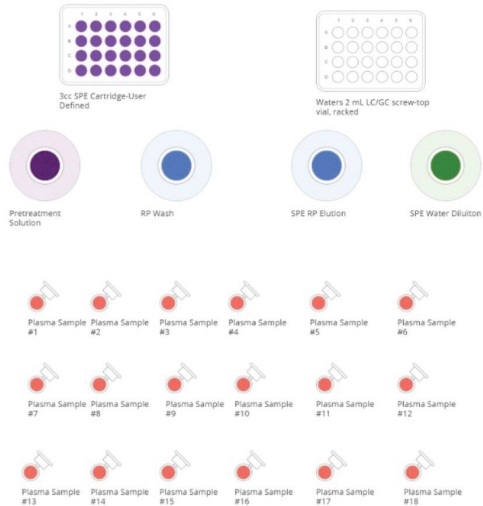
— 1 cc Oasis HLB SPE 小柱 —

位置	Domino、互联装置以及实验器皿
1, 2	吸头盒Domino
3	5 mL吸头架Domino
4	收集器血架Domino和2 mL LC/GC螺旋盖样品瓶
5	Extraction+互联装置和HLB Oasis 1 cc vac小柱
6	微量离心管Domino和2 mL卡扣盖离心管
7, 8	250 mL Duran瓶Domino

图4.Andrew+搭配Extraction+, 包括方案图示、系统组件标识和Andrew+工作台布局。

OneLab方案2 | Oasis RP-HLB 3 cc小柱SPE

OneLab方案图示



Andrew+系统组件

Domino、电子移液枪和吸头

Material list

Check you've got all the required materials

Devices ¹



Tools ³



Tips ³



Domino blocks ³



Andrew+工作台布局，搭配Extraction+互联装置

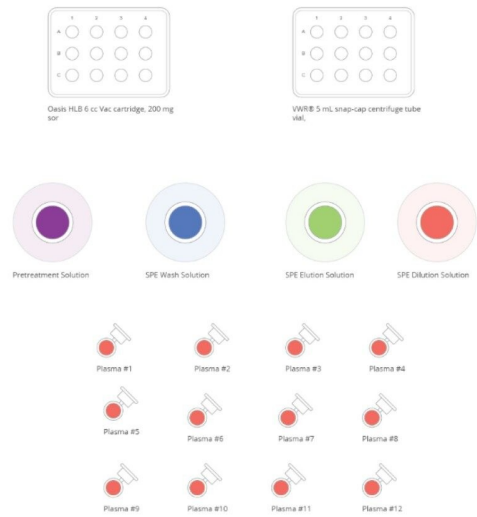
— 3 cc Oasis HLB SPE小柱 —

位置	Domino、互联装置以及实验器皿
1, 2	吸头盒Domino
3	5 mL 吸头架Domino
4	收集器皿架Domino和2 mL LC/GC螺旋盖样品瓶
5	Extraction+互联装置和 HLB Oasis 3 cc vac小柱
6	微量离心管Domino和2 mL卡扣盖离心管
7, 8	250 mL Duran瓶Domino

图5.Andrew+ 搭配Extraction+，包括方案图示、系统组件标识和Andrew+工作台布局。

OneLab方案3 | Oasis RP-HLB 6 cc小柱SPE

OneLab方案图示



Andrew+系统组件

Domino、电子移液枪和吸头

Material list

Check you've got all the required materials

Devices ²

Extraction+ 518.7004.175EH Extraction+ 518.7004.175EH Ready	Andrew+ 718.8141.1715R Andrew+ 718.8141.1715R Ready
---	---

Tools ²

1-ch 1000 Andrew Alliance Picos Pipette - 19044258 100%	1-ch 5000 Andrew Alliance Picos Pipe 98389973 100%	Microplate Gripper Microplate Gripper - 418.4522.1486 100%
---	--	--

Tips ²

50-1000 µL Opfit tips All Nest 28 tips 791000	100-5000 µL Opfit tips All Nest 28 tips 780304
--	---

Domino blocks ⁷

Extraction+ 518.7000	Microtube 218.2152	2 x 250mL Duran bottle 218.3701
Collection Labware Rack 218.8011	Tip Insertion System 218.1101	Tip Rack Holder 5mL 218.1232



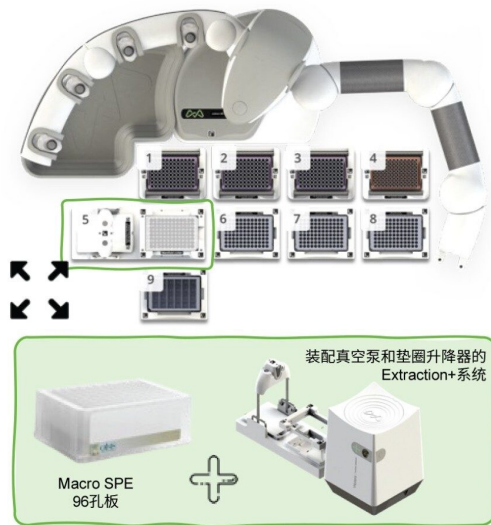
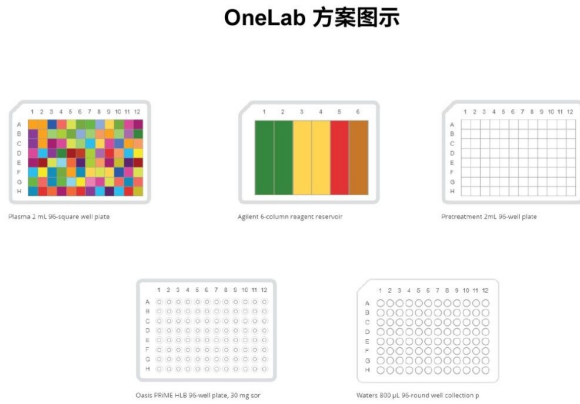
Andrew+工作台布局，搭配 Extraction+ 互联装置

— 6 cc Oasis HLB SPE小柱 —

位置	Domino、互联装置以及实验器皿
1	吸头盒Domino
2	5 mL吸头架Domino
3	收集器血架Domino和5 mL卡扣盖离心管
4	微量离心管Domino和2 mL卡扣盖离心管
5	Extraction+ 互联装置和HLB Oasis 6 cc vac小柱
6, 7	250 mL Duran瓶Domino

图6.Andrew+ 搭配Extraction+，包括方案图示、系统组件标识和Andrew+工作台布局。

OneLab方案4 | Oasis RP-HLB 96孔Macro板SPE



Andrew+ 系统组件

Domino、电子移液枪和吸头

Material list

Check you've got all the required materials

Devices ²

- Extraction+ 518.7004.175EH / 518.7004.175DH
- Andrew+ 718.8141.175R / 718.8141.175R

Tools ³

- 8-ch 300 Andrew+ Balance Pico Pipette + 38965294
- 8-ch 1200 Andrew+ Balance Pico Pipette + 38388519
- Microplate Gripper + 418.4522.1495

Tips ²

- 10-300 µL Opofits tips + 790350
- 50-1200 µL Opofits tips + 791210

Domino blocks ³

- Tip Insertion System 218.1101
- Storage plate 218.2801
- Extraction+ 518.7000
- Deepwell Microplate 218.2201

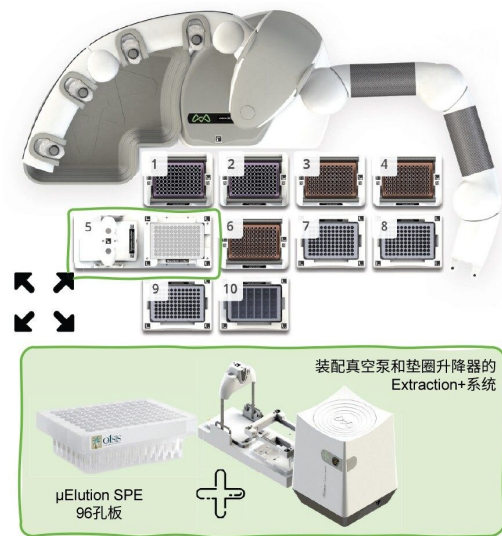
Andrew+ 工作台布局, 搭配Extraction+ 互联装置

— Oasis HLB SPE Macro 96孔板 —

位置	Domino、互联装置以及实验器皿
1 ~ 4	吸头盒Domino
5	Extraction+ 互联装置和Oasis HLB Macro 96孔板
6 ~ 8	储存板Domino
9	深孔微孔板Domino和六通色谱柱溶剂瓶

图7. Andrew+ 搭配Extraction+, 包括方案图示、系统组件标识和Andrew+ 工作台布局。

OneLab方案5 | Oasis RP-HLB 96孔 μ Elution板SPE



Andrew+系统组件

Domino、电子移液枪和吸头

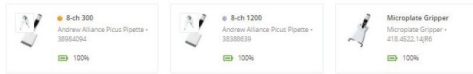
← Material list

Check you've got all the required materials

Devices ²



Tools ³



Tips ⁴



Domino blocks ¹⁰



Andrew+工作台布局, 搭配Extraction+互联装置

— Oasis HLB SPE μ Elution 96孔板 —

位置	Domino、互联装置以及实验器皿
1~4和6	吸头盒Domino
5	Extraction+互联装置和Oasis HLB μ Elution 96孔板
7~9	储存板Domino
10	深孔微孔板Domino和六通色谱柱溶剂瓶

图8.Andrew+搭配Extraction+, 包括方案图示、系统组件标识和Andrew+工作台布局。

结果与讨论

Extraction+是一种新的全自动SPE系统解决方案，与Andrew+搭配使用，在SPE样品前处理和萃取过程中无需用户干预。Extraction+装置由两个模块组成：SPE多联器和真空泵，两者都由OneLab软件控制。Extraction+搭配Andrew+的图示见图2。Extraction+的主要特点包括：

1. 具有在小柱和板上执行SPE的兼容性，
2. 可在板、试管或溶剂瓶中分配、收集和抽取溶液，
3. 流通式废液收集，
4. 在OneLab方案中定义全真空压力控制，用于在执行SPE方法时抽取液体（图3）。

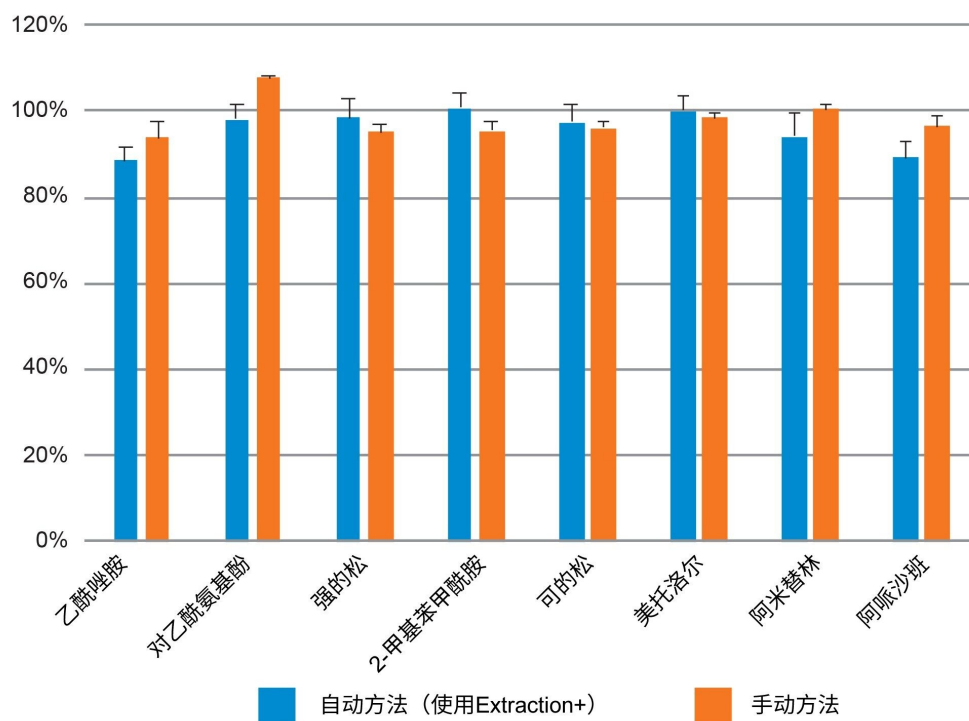
在将收集瓶安装至真空萃取装置上时，Extraction+多联器上的垫圈升降器将多联器垫圈和SPE设备移至“停放点”（空闲位置），Andrew+上安装的实验器皿夹持器将废液瓶和样品收集瓶移至Extraction+真空萃取装置或从中移出。

Andrew+和Extraction+都通过用户友好、基于云的OneLab软件进行控制。当Extraction+与Andrew+联用时，可以执行全自动液体处理和样品萃取（无需人工干预），实现完全无人值守的样品前处理，确保了不同实验室之间、日期之间和用户之间稳定且可靠的样品前处理。

Andrew+搭配Extraction+在1、3、6 cc RP Oasis HLB小柱和96孔Macro板上进行的SPE萃取与手动SPE的性能相当，结果见图9的A-D图。此外，在1 cc Oasis HLB小柱上进行SPE的稳定、可重现和自动化性能如表3和4，高亮显示了个位数的分析间和分析内性能（平均回收率和RSD）。图10展示了小柱和96孔板规格（都使用30 mg吸附剂床）的Oasis HLB自动化SPE提取的可比性能。总的来说，这些结果展示了使用OneLab软件创建的SPE方案，利用Andrew+移液机器人搭配Extraction+互联装置在小柱和板上执行的Oasis HLB SPE样品前处理的高度灵活性和重现性。

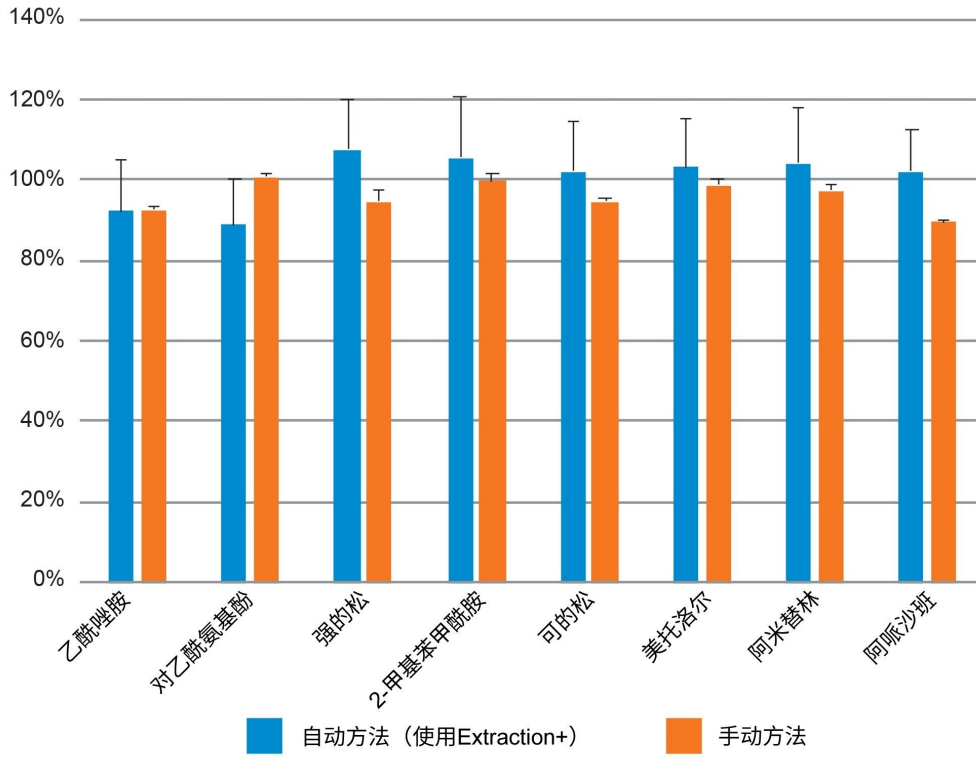
A**Oasis HLB 1 cc SPE小柱**

平均回收率(N=4)



B

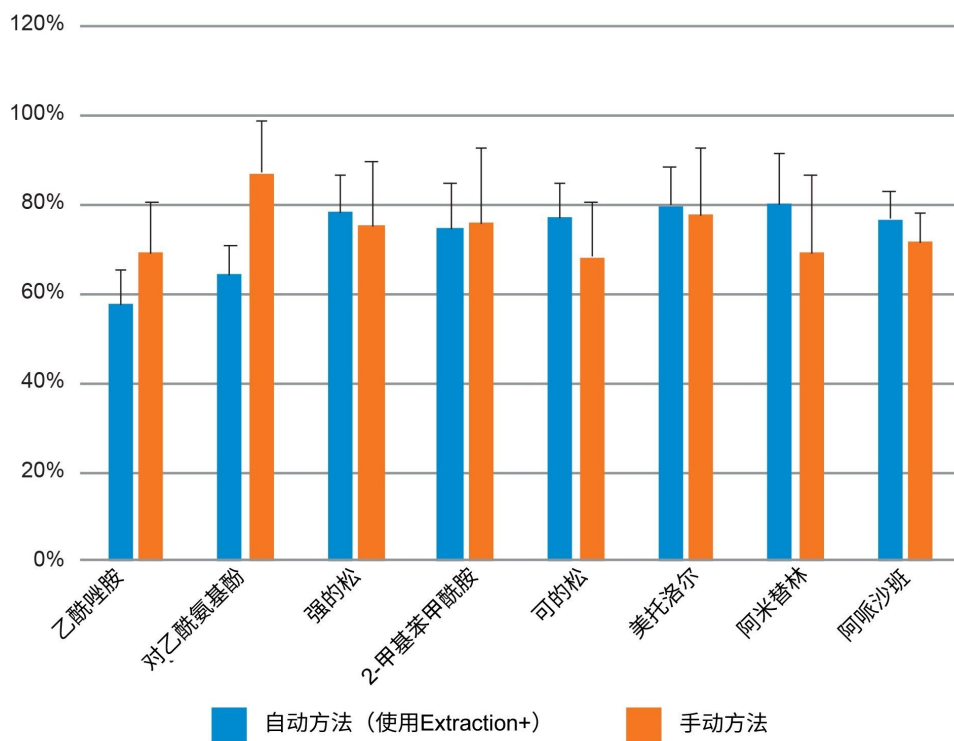
Oasis HLB 3 cc SPE小柱
平均回收率(N=4)



C

Oasis HLB 6 cc SPE小柱

平均回收率(N=4)



D**Oasis HLB Macro 96孔板**

平均回收率(N=4)

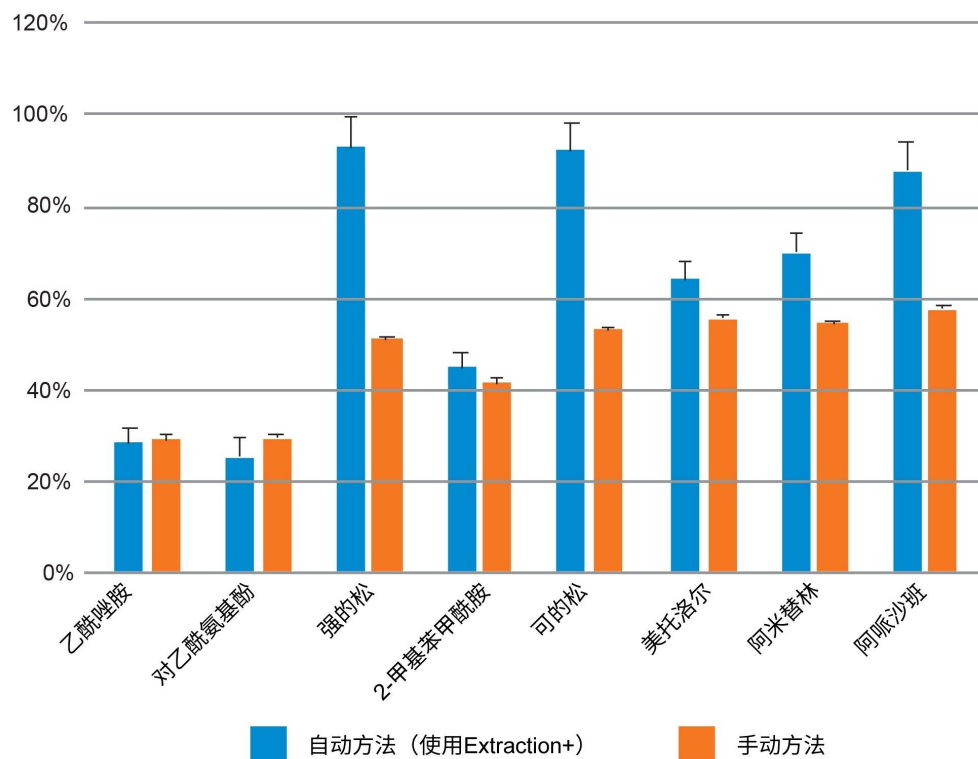


图9.使用Andrew+搭配Extraction+装置进行的自动化SPE萃取与手动SPE萃取的性能对比，分别使用：(A) 1 cc (B) 3 cc (C) 6 cc RP Oasis HLB小柱和(D) Macro 96孔板。

Oasis HLB 1 cc小柱(30 mg) vs. Macro 96孔板(30 mg)

平均回收率(N=4)

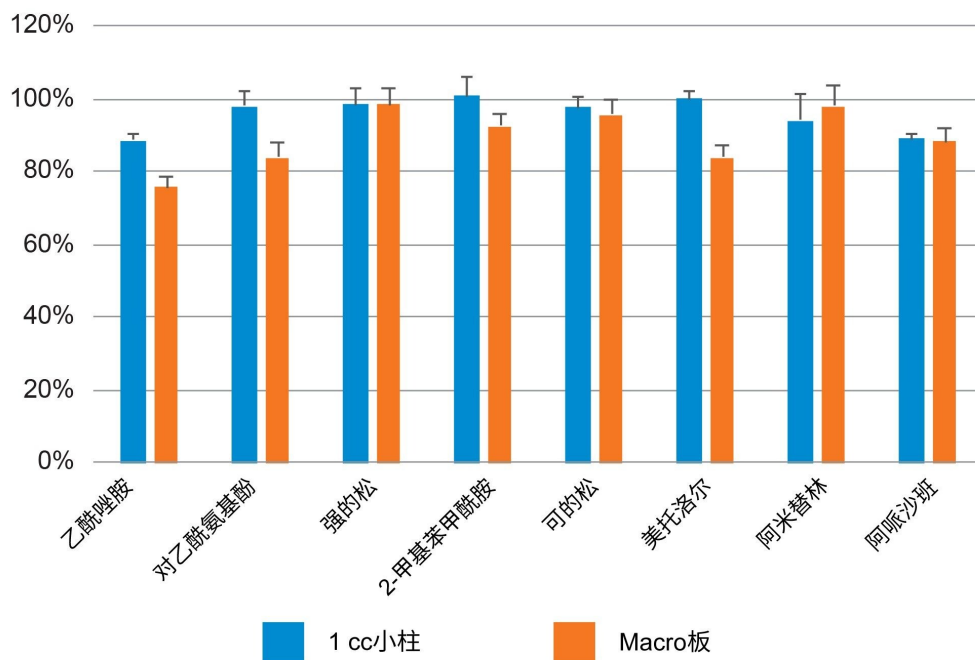


图10.利用Andrew+搭配Extraction+装置进行的自动化SPE萃取，使用1 cc Oasis HLB小柱(30 mg)和Oasis HLB Macro 96孔板(30 mg)。

目标分析物	用户1			用户2			用户3		
	平均回收率% (N=4)	标准偏差	%RSD	平均回收率% (N=4)	标准偏差	%RSD	平均回收率% (N=4)	标准偏差	%RSD
乙酰唑胺	91.2	1.4%	1.5	88.7	3.2%	3.6	102.2	4.0%	3.9
对乙酰氨基酚	99.3	4.0%	4.1	98.1	3.8%	3.9	110.6	4.4%	4.0
强的松	104.5	4.5%	4.3	98.6	4.4%	4.4	107.9	5.5%	5.1
2-甲基苯甲酰胺	105.6	5.2%	5.0	100.9	3.6%	3.6	114.7	6.1%	5.3
可的松	92.3	2.8%	3.0	97.5	4.2%	4.3	106.6	5.4%	5.1
美托洛尔	102.6	2.3%	2.3	100.2	3.3%	3.3	113.1	4.7%	4.1
阿米替林	92.7	7.6%	8.2	94.1	5.4%	5.8	107.9	5.7%	5.3
阿哌沙班	75.3	1.7%	2.3	89.1	4.0%	4.5	84.0	4.2%	4.9

表3.不同批次间利用Andrew+搭配Extraction+装置，使用1 cc RP Oasis HLB小柱的自动化SPE萃取性能，用个位数%RSD展示由三个分析人员执行的三个SPE实验的相当的分析物回收率百分比。

目标分析物	用户1 平均回收率% (N=4)	用户2 平均回收率% (N=4)	用户3 平均回收率% (N=4)	用户1-3 平均回收率%	标准偏差	用户1-3 平均%RSD
乙酰唑胺	91.2	88.7	102.2	94.0	7.2%	7.7
对乙酰氨基酚	99.3	98.1	110.6	102.6	6.9%	6.7
强的松	104.5	98.6	107.9	103.7	4.7%	4.5
2-甲基苯甲酰胺	105.6	100.9	114.7	107.1	7.0%	6.5
可的松	92.3	97.5	106.6	98.8	7.3%	7.3
美托洛尔	102.6	100.2	113.1	105.3	6.8%	6.5
阿米替林	92.7	94.1	107.9	98.2	8.4%	8.5
阿哌沙班	75.3	89.	84.0	82.8	7.0%	8.4

表4.批次内利用Andrew+搭配Extraction+装置，使用1 cc Oasis HLB SPE小柱的自动化SPE萃取性能。结果用个位数RSD ($\leq 8.5\%$)展示了由三个分析人员执行的三个SPE实验的相当的分析物回收率平均值百分比(83-107%)。

结论

本应用重点介绍了利用新引进的Extraction+互联装置搭配Andrew+进行的小柱和板规格自动化SPE样品前处理。结合完全由软件控制的移液、真空泵控制以及移液至收集板、试管和溶剂瓶，Extraction+与静态和核心夹持器联用可以方便地将容器移至萃取装置和从中移出，使SPE样品前处理无需人工干预。

所述SPE小柱和板规格的OneLab方案可从OneLab Library中下载，使用方法简单且可在不同Andrew+系统中传输，从而使来自同一实验室或不同实验室的不同用户轻松地执行相同的制备步骤。Andrew+搭配Extraction+可简化样品前处理和萃取步骤，尽可能提高生产率、减少失误，并且确保典型生物分析LC-MS工作流程的整体分析性能。

特色产品

<ht
[tps://www.andrewalliance.com/pipetting-robot/](https://www.andrewalliance.com/pipetting-robot/)

Andrew+移液机器人 >

<

<https://onelab.andrewalliance.com/>

[Onelab 软件
自动化工作流程套装和脚本 </nextgen/cn/zh/products/application-kits/automation-workflow-kits-and-scripts.html>](https://onelab.andrewalliance.com/nextgen/cn/zh/products/application-kits/automation-workflow-kits-and-scripts.html)

[ACQUITY UPLC I-Class PLUS 系统 </nextgen/cn/zh/products/chromatography/chromatography-systems/acquity-uplc-i-class-plus-system.html>](https://onelab.andrewalliance.com/nextgen/cn/zh/products/chromatography/chromatography-systems/acquity-uplc-i-class-plus-system.html)

[Xevo TQ-XS 三重四极杆质谱仪 <https://www.waters.com/waters/nav.htm?cid=134889751>](https://www.waters.com/waters/nav.htm?cid=134889751)

[Oasis 样品萃取产品 </nextgen/cn/zh/products/sample-preparation/oasis-sample-extraction-products.html>](https://onelab.andrewalliance.com/nextgen/cn/zh/products/sample-preparation/oasis-sample-extraction-products.html)

720007711ZH, 2022年9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](#)