

SCIEX 液相色谱串联质谱系统同时检测人血浆中6种短链脂肪酸

Simultaneous Determination six SCFAs in Human Plasma by SCIEX LC-MSMS

胡凤梅, 黄超, 赵祥龙

Hu Fengmei, Huang Chao, Zhao Xianglong

Key words: Lecanemab, Protein G Magnetic Beads; LC-MS/MS

引言

短链脂肪酸 (SCFAs) 是一类具有2-6个碳的线性或支链有机羧酸, SCFAs 是肠道微生物重要代谢产物, 不仅可作为营养物质被机体吸收和利用, 而且对机体有着重要的生物学作用, 例如研究发现 SCFAs 可以影响结肠上皮细胞的转运, 促进结肠细胞和小肠细胞的代谢生长及分化、提供能量和调节电解质平衡、影响肝脂质与碳水化合物化合物的调控、刺激胃肠激素、维持肠道菌群平衡、减少炎症发生、抗肿瘤等。

本试验在 SCIEX 液质系统上, 建立了一种同时测定人血浆中6种短链脂肪酸的方法, 该法操作简单, 专一性强, 灵敏度高, 可以满足人血浆中短链脂肪酸检测的需要。检测化合物相关信息见表1。

实验部分

样品前处理

样品前处理: 采用衍生化法对短链脂肪酸进行处理, 衍生化试剂为3NPH。短链脂肪酸中的羧基和衍生化试剂的氨基在催化剂的

作用下发生加成反应, 生成苯胺类衍生物再进行液质检测, 如图1。向1.5 mL离心管里依次加入50 μ L 血浆、内标、衍生化试剂和催化剂, 涡旋混匀后反应一段时间后取上清液进行LC-MS/MS分析。

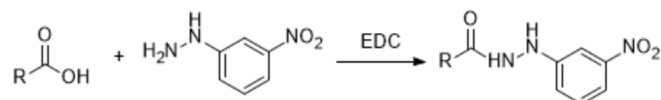


图1. 短链脂肪酸的化学衍生反应

色谱条件

色谱柱: Kinetex C8 100 $\times$ 2.1mm, 2.6 μ m, Phenomenex

流动相: A相: 含0.1%FA的水溶液

B相: 含0.1%FA的50%甲醇-异丙醇

流速: 0.3 mL/min

柱温: 40 C

进样体积: 10 μ L

洗脱方式: 梯度洗脱, 见表2

表1. 待测化合物信息列表

中文名	英文名	缩写	CAS编号	分子式
丙酸	Propionic acid	PA	79-09-4	C ₃ H ₆ O ₂
乳酸	Lactic acid	LA	50-21-5	C ₃ H ₆ O ₃
2-甲基丁酸	2-Methylbutyric acid	2-MBA	116-53-0	C ₅ H ₁₀ O ₂
异戊酸	Isovaleric acid	IVA	503-74-2	C ₅ H ₁₀ O ₂
戊酸	Valeric Acid	VA	109-52-4	C ₅ H ₁₀ O ₂
3-羟基异戊酸	3-Hydroxyisovaleric acid	3-HIVA	625-08-1	C ₅ H ₁₀ O ₃

表2. 液相梯度洗脱条件

Time(min)	A(%)	B(%)
0	80.0	20.0
1.0	80.0	20.0
3.0	70.0	30.0
3.5	63.0	37.0
5.5	60.0	40.0
6.5	60.0	40.0
7.4	55.0	45.0
8.0	5.0	95.0
9.0	5.0	95.0
9.1	80.0	20.0
10	80.0	20.0

质谱条件

采用负离子电喷雾离子源（Electrospray Ionization, ESI）和多反应监测（Multiple Reaction Monitoring, MRM）模式进行质谱检测。离子源参数：喷雾针（IonSpray Voltage, IS）负模式电压为-4500V，加热气（GS1）和辅助加热气（GS2）分别为50 psi和50 psi，离子源温度为550 ℃；气帘气（Curtain Gas, CUR）为30 psi，碰撞气（Collision Gas, CAD）为10。为了获取较好的稳定性和灵敏度，各化合物监测离子对的去簇电压（Declustering Potential, DP）和碰撞电压（Collision Energy, CE），目标物离子对以及内标物监测离子对等参数均经过系统优化，离子对信息见表3。

表3. 待测组分的MRM离子通道参数

Name	ID	Q1	Q3	DP	CE
Propionic acid	PA	208.1	137.1	-114	-23
Lactic acid	LA	223.9	137.1	-113	-23
2-Methylbutyric acid	2-MBA	236.1	137.1	-128	-28
Isovaleric acid	IVA	236.1	137.1	-131	-29
Valeric Acid	VA	236.1	137.1	-130	-29
3-Hydroxyisovaleric acid	3-HIVA	252.0	137.1	-120	-35

结果与讨论

本实验使用负离子检测模式同时对6种短链脂肪酸进行定量，典型的色谱图如图2。

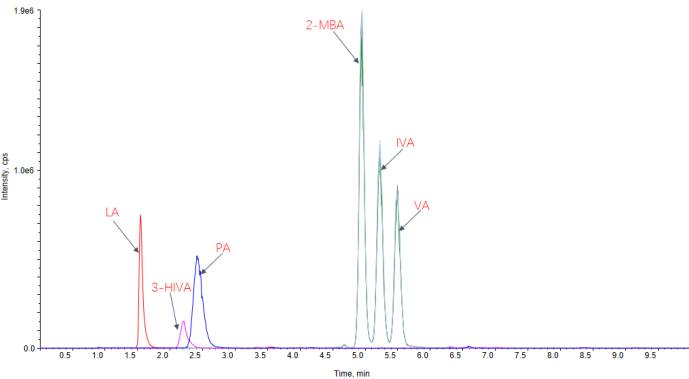


图2. 6种短链脂肪酸的典型色谱图

本实验中使用甲醇作为替代基质，经衍生后的各短链脂肪酸色谱图峰形良好，灵敏度较高，其中2-甲基丁酸、戊酸和异戊酸互为同分异构体，在本液相洗脱条件下，具有较好的分离度，能完全分开不会相互干扰。

6种短链脂肪酸的线性范围和相关系数见表4，r均大于0.995，各化合物在其相应的浓度范围内线性良好。

以混合实际人血浆添加标液的形式制备质控样本，对6种短链脂肪酸定量的加标回收率进行验证。从表5可以看出，不同浓度质控样本的准确度均在85.0~115.0%之内，满足FDA和CLSI相关法规要求。

表4. 6种短链脂肪酸的线性范围和相关系数

化合物	线性范围 (ng/mL)	相关系数
Propionic acid	0.02-10	0.9979
Lactic acid	0.05-10	0.9972
2-Methylbutyric acid	0.01-10	0.9985
Isovaleric acid	0.05-10	0.9979
Valeric Acid	0.01-10	0.9987
3-Hydroxyisovaleric acid	0.02-10	0.9974

表5. 6种短链脂肪酸的加标回收率

Analyte	Recovery	
	L	H
Propionic acid	92.3%	113.2%
Lactic acid	89.9%	91.4%
2-Methylbutyric acid	104.6%	111.3%
Isovaleric acid	94.1%	102.1%
Valeric Acid	97.8%	99.5%
3-Hydroxyisovaleric acid	104.7%	100.2%

总结

本方法采用负离子搭配ESI电喷雾离子源采集模式和MRM多反应监测模式，可对人血浆中6种短链脂肪酸进行快速的定量分析。该方法具有特异性高、线性好、准确度高等优点，可以满足临床检测短链脂肪酸的需要。

仅限专业展会等使用、仅向专业人士提供的内部资料。

SCIEX临床诊断产品线仅用于体外诊断。仅凭处方销售。这些产品并非在所有国家地区都提供销售。获取有关具体可用信息，请联系当地销售代表或查阅<https://sciex.com.cn/diagnostics>。所有其他产品仅用于研究。不用于临床诊断。本文提及的商标和/或注册商标，也包括相关的标识、标志的所有权，归属于AB Sciex Pte. Ltd. 或在美国和/或某些其他国家地区的各权利所有人。

© 2025 DH Tech. Dev. Pte. Ltd. MKT-35670-A



SCIEX中国

北京分公司
北京市昌平区生命科学园科学园路
18号院A座一层
电话：010-5808-1388
传真：010-5808-1390
全国咨询电话：800-820-3488, 400-821-3897

上海公司及中国区应用支持中心
上海市长宁区福泉北路518号
1座502室
电话：021-2419-7201
传真：021-2419-7333
官网：sciex.com.cn

广州办公室
广州国际生物岛星岛环北路1号
B2栋501、502单元
电话：020-8842-4017
官方微信：[SCIEX-China](#)