

# 团 体 标 准

T/JPMA 036—2025

## 血清中 15 种胆汁酸的测定 液相色谱-串联质谱法

Determination of 15 bile acids in serum—  
Liquid chromatography-tandem mass spectrometry

2025 - 09 - 15 发布

2025 - 09 - 22 实施

江苏省预防医学会

发 布

# 目 次

前言 .....	II
引言 .....	III
1 范围 .....	1
2 规范性引用文件 .....	1
3 术语和定义 .....	1
4 原理 .....	1
5 试剂和材料 .....	1
6 仪器设备 .....	2
7 检验过程 .....	3
8 检验结果质量控制 .....	4
附录 A（规范性） 分析物及内标离子通道参数 .....	5
附录 B（资料性） 标准品工作液浓度 .....	7
附录 C（资料性） 标准溶液提取离子色谱图 .....	8



## 前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》给出的规则起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由南京市妇幼保健院提出。

本文件由江苏省预防医学会归口。

本文件起草单位：南京市妇幼保健院（南京医科大学附属妇产医院）、杭州佰辰医学检验所有限公司。

本文件主要起草人：陈辰、陈亚军、孙宁、刘翔翔、刘纪松、林思丽。



## 引 言

胆汁酸是一种评估肝胆系统功能的新指标,采用液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)技术检测血清中的胆汁酸亚型和比例,分析胆汁酸的代谢情况,用于肝胆系统疾病的诊断和疗效监测。胆汁酸组成和结构较为复杂,包含几百种亚型,临床最常见的有15种,包括5种游离型胆汁酸:胆酸(CA)、石胆酸(LCA)、脱氧胆酸(DCA)、熊脱氧胆酸(UDCA)、鹅脱氧胆酸(CDCA);以及10种结合型胆汁酸:甘氨酸(GCA)、甘氨石胆酸(GLCA)、甘氨脱氧胆酸(GDCA)、甘氨熊脱氧胆酸(GUDCA)、甘氨鹅脱氧胆酸(GCDCA)、牛磺胆酸(TCA)、牛磺石胆酸(TLCA)、牛磺脱氧胆酸(TDCA)、牛磺熊脱氧胆酸(TUDCA)、牛磺鹅脱氧胆酸(TCDCA)。



# 血清中 15 种胆汁酸的测定

## 液相色谱-串联质谱法

### 1 范围

本文件规定了血清中15种胆汁酸的液相色谱-串联质谱测定方法。

本文件适用于血清中15种胆汁酸的定性定量分析,包括:胆酸(CA)、石胆酸(LCA)、脱氧胆酸(DCA)、熊脱氧胆酸(UDCA)、鹅脱氧胆酸(CDCA)、甘氨酸(GCA)、甘氨石胆酸(GLCA)、甘氨酸脱氧胆酸(GDCA)、甘氨酸熊脱氧胆酸(GUDCA)、甘氨酸鹅脱氧胆酸(GCDCA)、牛磺胆酸(TCA)、牛磺石胆酸(TLCA)、牛磺脱氧胆酸(TDCA)、牛磺熊脱氧胆酸(TUDCA)、牛磺鹅脱氧胆酸(TCDCA)。进样量为10.0 μL时,15种胆汁酸的最低检测摩尔浓度分别为CA 3.80 nmol/L、LCA 3.00 nmol/L、DCA 15.0 nmol/L、UDCA 10.0 nmol/L、CDCA 3.80 nmol/L、GCA 23.0 nmol/L、GLCA 3.80 nmol/L、GDCA 7.50 nmol/L、GUDCA 3.80 nmol/L、GCDCA 11.0 nmol/L、TCA 5.00 nmol/L、TLCA 1.90 nmol/L、TDCA 3.80 nmol/L、TUDCA 10.0 nmol/L、TCDCA 11.0 nmol/L。

### 2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中,注日期的引用文件,仅该日期对应的版本适用于本文件;不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

GB/T 22576.1 医学实验室 质量和能力的要求 第1部分:通用要求

WS/T 415 无室间质量评价时的临床检验质量评价

WS/T 641 临床检验定量测定室内质量控制

WS/T 661 静脉血液标本采集指南

WS/T 804 临床化学检验基本技术标准

### 3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

### 4 原理

血清样本用乙腈沉淀蛋白后取上清液,浓缩后用乙腈-水溶液复溶,液相色谱-串联质谱法测定,保留时间和特征离子对定性,同位素内标法定量。

### 5 试剂和材料

除非另有说明,本方法所用试剂均为分析纯,水为GB/T 6682规定的一级水。

#### 5.1 试剂

5.1.1 甲醇(CH<sub>3</sub>OH):色谱纯。

5.1.2 乙腈(CH<sub>3</sub>CN):色谱纯。

5.1.3 乙酸铵(CH<sub>3</sub>COONH<sub>4</sub>)。

5.1.4 乙酸(CH<sub>3</sub>COOH)。

5.1.5 牛血清。

## 5.2 标准品

- 5.2.1 胆酸 (C<sub>24</sub>H<sub>40</sub>O<sub>5</sub>, CAS 81-25-4) : 95.0 %。
- 5.2.2 石胆酸 (C<sub>24</sub>H<sub>40</sub>O<sub>3</sub>, CAS 434-13-9) : 95.0 %。
- 5.2.3 脱氧胆酸 (C<sub>24</sub>H<sub>40</sub>O<sub>4</sub>, CAS 83-44-3) : 95.0 %。
- 5.2.4 熊脱氧胆酸 (C<sub>24</sub>H<sub>40</sub>O<sub>4</sub>, CAS 128-13-2) : 95.0 %。
- 5.2.5 鹅脱氧胆酸 (C<sub>24</sub>H<sub>40</sub>O<sub>4</sub>, CAS 474-25-9) : 95.0 %。
- 5.2.6 甘氨酸胆酸 (C<sub>26</sub>H<sub>43</sub>NO<sub>6</sub>, CAS 475-31-0) : 95.0 %。
- 5.2.7 甘氨石胆酸 (C<sub>26</sub>H<sub>43</sub>NO<sub>4</sub>, CAS 474-74-8) : 95.0 %。
- 5.2.8 甘氨脱氧胆酸钠 (C<sub>26</sub>H<sub>42</sub>NO<sub>5</sub>·Na, CAS 16409-34-0) : 95.0 %。
- 5.2.9 甘氨熊脱氧胆酸 (C<sub>26</sub>H<sub>43</sub>NO<sub>5</sub>, CAS 64480-66-6) : 95.0 %。
- 5.2.10 甘氨鹅脱氧胆酸钠 (C<sub>26</sub>H<sub>42</sub>NO<sub>5</sub>·Na, CAS 16564-43-5) : 95.0 %。
- 5.2.11 牛磺胆酸钠 (C<sub>26</sub>H<sub>44</sub>NO<sub>7</sub>S·Na, CAS 145-42-6) : 95.0 %。
- 5.2.12 牛磺石胆酸钠 (C<sub>26</sub>H<sub>44</sub>NO<sub>5</sub>S·Na, CAS 6042-32-6) : 95.0 %。
- 5.2.13 牛磺脱氧胆酸钠 (C<sub>26</sub>H<sub>44</sub>NO<sub>6</sub>S·Na, CAS 1180-95-6) : 95.0 %。
- 5.2.14 牛磺熊脱氧胆酸钠 (C<sub>26</sub>H<sub>44</sub>NO<sub>6</sub>S·Na, CAS 35807-85-3) : 95.0 %。
- 5.2.15 牛磺鹅脱氧胆酸钠 (C<sub>26</sub>H<sub>44</sub>NO<sub>6</sub>S·Na, CAS 6009-98-9) : 95.0 %。
- 5.2.16 胆酸-D<sub>4</sub> (CA-D<sub>4</sub>, C<sub>24</sub>D<sub>4</sub>H<sub>36</sub>O<sub>5</sub>, CAS 116380-66-6) : 97.0 %。
- 5.2.17 石胆酸-D<sub>4</sub> (LCA-D<sub>4</sub>, C<sub>24</sub>D<sub>4</sub>H<sub>36</sub>O<sub>3</sub>, CAS 83701-16-0) : 97.0 %。
- 5.2.18 脱氧胆酸-D<sub>4</sub> (DCA-D<sub>4</sub>, C<sub>24</sub>D<sub>4</sub>H<sub>36</sub>O<sub>4</sub>, CAS 112076-61-6) : 97.0 %。
- 5.2.19 熊脱氧胆酸-D<sub>4</sub> (UDCA-D<sub>4</sub>, C<sub>24</sub>H<sub>36</sub>D<sub>4</sub>O<sub>4</sub>, CAS 347841-46-7) : 97.0 %。
- 5.2.20 甘氨酸胆酸-D<sub>4</sub> (GCA-D<sub>4</sub>, C<sub>26</sub>D<sub>4</sub>H<sub>39</sub>NO<sub>6</sub>, CAS 1201918-15-1) : 97.0 %。
- 5.2.21 甘氨石胆酸-D<sub>4</sub> (GLCA-D<sub>4</sub>, C<sub>26</sub>D<sub>4</sub>H<sub>39</sub>NO<sub>4</sub>, CAS 2044276-16-4) : 97.0 %。
- 5.2.22 甘氨脱氧胆酸-D<sub>4</sub> (GDCA-D<sub>4</sub>, C<sub>26</sub>H<sub>39</sub>D<sub>4</sub>NO<sub>5</sub>, CAS 1069132-37-1) : 97.0 %。
- 5.2.23 甘氨熊脱氧胆酸-D<sub>4</sub> (GUDCA-D<sub>4</sub>, C<sub>26</sub>H<sub>39</sub>D<sub>4</sub>NO<sub>5</sub>, CAS 2044276-17-5) : 97.0 %。
- 5.2.24 牛磺胆酸-D<sub>4</sub> 钠 (TCA-D<sub>4</sub>, C<sub>26</sub>D<sub>4</sub>H<sub>40</sub>NO<sub>7</sub>S·Na, CAS 2410279-93-3) : 97.0 %。
- 5.2.25 牛磺石胆酸-D<sub>4</sub> 钠 (TLCA-D<sub>4</sub>, C<sub>26</sub>D<sub>4</sub>H<sub>40</sub>NO<sub>5</sub>S·Na, CAS 6042-32-6) : 97.0 %。
- 5.2.26 牛磺脱氧胆酸-D<sub>4</sub> 钠 (TDCA-D<sub>4</sub>, C<sub>26</sub>D<sub>4</sub>H<sub>40</sub>NO<sub>6</sub>S·Na, CAS 2410279-82-0) : 97.0 %。
- 5.2.27 牛磺熊脱氧胆酸-D<sub>4</sub> 钠 (TUDCA-D<sub>4</sub>, C<sub>26</sub>D<sub>4</sub>H<sub>40</sub>NO<sub>6</sub>S·Na, CAS 2410279-95-5) : 97.0 %。

## 5.3 标准溶液

- 5.3.1 标准储备液配制：分别准确称取 15 种胆汁酸标准品，用甲醇溶解并转移到 10.0 mL 容量瓶，定容至刻度，配成浓度为 5.00 mmol/L 的标准储备液，在 -20 °C 冰箱中避光保存，有效期为 6 个月。
- 5.3.2 标准中间液配制：准确移取各标准储备液于 25 mL 容量瓶中，用 30% 乙腈-水 (3:7, v/v) 溶液稀释至刻度，配成 LCA 浓度为 4.00 μmol/L, GLCA 和 TLCA 浓度为 10.0 μmol/L, CA、TCA、TDCA、TUDCA、UDCA、CDCA、GDCA 和 GUDCA 浓度均为 20.0 μmol/L, DCA 浓度为 40.0 μmol/L, GCDCA、TCDC、GCA 浓度为 60.0 μmol/L 的标准中间液。
- 5.3.3 内标储备液配制：分别准确称取各胆汁酸内标，用甲醇溶解并转移到 10.0 mL 容量瓶，定容至刻度，配成浓度为 5.00 mmol/L 的内标储备液，在 -20 °C 冰箱中避光保存。
- 5.3.4 内标工作液：准确移取各胆汁酸内标储备液于 250 mL 容量瓶中，用乙腈定容至刻度，配成 CA-D<sub>4</sub> 浓度为 100 nmol/L, LCA-D<sub>4</sub> 浓度为 40.0 nmol/L, DCA-D<sub>4</sub> 浓度为 200 nmol/L, UDCA-D<sub>4</sub> 浓度为 100 nmol/L, GCA-D<sub>4</sub> 浓度为 300 nmol/L, GLCA-D<sub>4</sub> 浓度为 80.0 nmol/L, GDCA-D<sub>4</sub> 浓度为 100 nmol/L, GUDCA-D<sub>4</sub> 浓度为 200 nmol/L, TCA-D<sub>4</sub> 钠浓度为 200 nmol/L, TLCA-D<sub>4</sub> 钠浓度为 80.0 nmol/L, TDCA-D<sub>4</sub> 钠浓度为 150 nmol/L、TUDCA-D<sub>4</sub> 钠浓度为 150 nmol/L 的内标工作液。

## 6 仪器设备

- 6.1 分析天平：感量为 0.01 mg。
- 6.2 液相色谱-串联质谱仪：配备电喷雾离子源。
- 6.3 离心机：离心力 ≥ 9000 g；最低温度 ≤ 4 °C。

- 6.4 涡旋混合器。  
6.5 超声波清洗器。

## 7 检验过程

### 7.1 标本采集

- 7.1.1 标本采集符合 WS/T 661 的要求。  
7.1.2 使用添加有惰性分离胶和促凝剂的真空采血管。  
7.1.3 标本采集后 2 小时内分离血清，在室温下保存不超过 1 天；如不能及时检测，在 2℃~8℃ 避光保存，保存时间不超过 7 天，-20℃ 条件下可稳定保存 3 个月；允许使用冻融样品，冻融次数不宜超过 3 次，注意避光保存。

### 7.2 样本前处理

- 7.2.1 使用蛋白沉淀法，取 100 μL 样品，加入 300 μL 内标工作液，涡旋 3 分钟，12000 转/分钟，2℃~8℃ 离心 3 分钟；取上清液 300 μL，浓缩 2 小时至干；取 100 μL 的 30% 乙腈-水 (3:7, v/v) 复溶，涡旋 3 分钟，离心 3 分钟，取上清液用于液相色谱串联质谱分析。  
7.2.2 检测结果“超出线性范围”的标本，用水对标本进行稀释后测定，按上述步骤处理再重新进行检测。

### 7.3 色谱分析参考条件

- 7.3.1 色谱柱：填料为十八烷基硅烷键合硅胶（柱长 50 mm，内径 2.1 mm，粒径 1.7 μm），或等效色谱柱。  
7.3.2 流动相：A 相为 2 mmol/L 乙酸铵-0.1% 乙酸水溶液 (v:v)；B 相为 2 mmol/L 乙酸铵-0.1% 乙酸-乙腈：甲醇 (3:1, v:v) 溶液。  
7.3.3 流速：0.4 mL/min。  
7.3.4 柱温：40℃。  
7.3.5 进样量：10 μL。  
7.3.6 液相色谱洗脱条件见表 1。

表1 液相色谱洗脱条件

时间 (min)	流动相A (%)	流动相B (%)
0	65	35
0.6	65	35
5.5	40	60
7.0	5	95
8.2	5	95
8.4	65	35
9.0	65	35

### 7.4 质谱参考条件

选择电喷雾负电离子源做质谱信号采集；扫描方式：多反应检测；毛细管电压：2.5 kV；离子源温度：150℃；脱溶剂气温度：400℃；脱溶剂气流速：900 L/h；锥孔气流速：20 L/h；分析物及内标离子通道参数见附录 A。

### 7.5 检测

#### 7.5.1 标准工作曲线制作

7.5.1.1 准确移取标准中间液，用 30%乙腈-水（3:7，v/v）溶液稀释至少 6 个浓度水平，得到标准品工作液，浓度详见附录 B，临用现配。

7.5.1.2 按照“7.2 样本前处理”中的步骤操作，编辑检测序列后上机检测，以被测组分的定量离子峰面积与内标物定量离子峰面积比的摩尔浓度绘制标准曲线。采用加权最小二乘法进行线性拟合。每个检测批次都需建立标准工作曲线。

## 7.5.2 色谱图

各化合物标准溶液提取离子色谱图参见附录C。

## 7.5.3 定性测定

在同样测试条件下，应当与浓度相近的标准溶液中离子的相对丰度一致，其丰度比偏差应符合表 2 要求。

表2 定性测定时相对离子丰度的最大允许偏差

相对离子丰度/%	>50	>20~≤50	>10~≤20	≤10
允许的相对偏差/%	±20	±25	±30	±50

## 7.5.4 结果计算

样品的胆汁酸浓度为仪器输出浓度乘以稀释倍数，单位纳摩尔每升（nmol/L）。

## 8 检验结果质量控制

### 8.1 室内质量控制

按照WS/T 641要求执行。质控品用牛血清作为基质添加一定浓度值的标准溶液，制备低值、高值2个浓度水平，每天实验前、后分别检测低、高两个浓度质控品各1次（共4个质控），采用WESTGARD多规则质控（13s、22s、R4s、41s）规则判定结果。

### 8.2 室间比对

依照WS/T 804 要求按时参加室间质量评价活动；应符合GB/T 22576.1或WS/T 415的相关规定，对尚未开展室间质评项目，应用分割样品程序，与外部实验室比对，判断检验结果的可接受性。每半年执行1次，每次比对至少5份患者样本（浓度应覆盖测量范围），应有80%以上的结果符合要求。

### 8.3 其他要求

单空白样本：除不加样本或者不加内标外，采用完全相同的测定步骤进行操作。双空白样本：不加样本和内标，采用完全相同的测定步骤进行操作。双空白样本待测物色谱峰面积应小于定量下限处分析物峰面积的20%，内标峰面积应小于预期保留时间处内标峰面积的5%；在每个分析批的开始和结尾处分析一个单空白样品。

附 录 A  
(规范性)  
分析物及内标离子通道参数

表A.1给出了分析物及内标离子通道参数。

表A.1 分析物及内标离子通道参数

分析物	对应内标	定量/定性	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	锥孔电压 (V)	碰撞能量 (ev)
CA	CA-d4	定量	407.3	407.3	-80	10
		定性	407.3	343.1	-80	30
CA-d4	/	定量	411.3	411.3	-80	10
		定性	411.3	347.1	-80	30
LCA	LCA-d4	定量	375.3	375.3	-80	10
LCA-d4	/	定量	379.3	379.3	-80	10
DCA	DCA-d4	定量	391.3	391.3	-84	10
		定性	391.3	345.4	-84	33
DCA-d4	/	定量	395.3	395.3	-84	10
		定性	395.3	349.4	-84	33
UDCA	UDCA-d4	定量	391.3	391.3	-84	10
		定性	391.3	373.3	-84	35
UDCA-d4	/	定量	395.3	395.3	-84	10
		定性	395.3	377.3	-84	35
CDCA	DCA-d4	定量	391.3	391.3	-84	10
		定性	391.3	373.3	-84	35
TCA	TCA-d4	定量	514.3	80	-90	67
		定性	514.3	107	-90	56
TCA-d4	/	定量	518.3	84	-90	67
		定性	518.3	107	-90	56
GCA	GCA-d4	定量	464.3	74	-76	42
		定性	464.3	402.3	-76	30
GCA-d4	/	定量	468.3	78	-76	42
		定性	468.3	406.3	-76	30
TLCA	TLCA-d4	定量	482.3	80	-88	60
		定性	482.3	107	-88	50
TLCA-d4	/	定量	486.3	84	-88	60
		定性	486.3	107	-88	50
GLCA	GLCA-d4	定量	432.3	74	-64	36
		定性	432.3	388.3	-64	28
GLCA-d4	/	定量	436.3	78	-64	36
		定性	436.3	392.3	-64	28
TDCA	TDCA-d4	定量	498.3	80	-92	62
		定性	498.2	107	-92	50
TDCA-d4	/	定量	502.3	84	-92	62
		定性	502.3	107	-92	50

表A.1 分析物及内标离子通道参数(续)

分析物	对应内标	定量/定性	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	锥孔电压 (V)	碰撞能量 (ev)
TUDCA	TUDCA-d4	定量	498.3	80	-92	62
		定性	498.3	107	-92	50
TUDCA-d4	/	定量	502.3	84	-92	62
		定性	502.3	107	-92	50
TCDCA	TDCA-d4	定量	498.3	80	-92	62
		定性	498.3	107	-92	50
GDCA	GDCA-d4	定量	448.3	74	-74	40
		定性	448.3	386.4	-74	28
GDCA-d4	/	定量	452.3	78	-74	40
		定性	452.3	390.4	-74	28
GCDCA	GDCA-d4	定量	448.3	74	-74	40
		定性	448.4	386.4	-74	28
GUDCA	GUDCA-d4	定量	448.3	74	-74	40
		定性	448.4	386.3	-74	28
GUDCA-d4	/	定量	452.3	78	-74	40
		定性	452.3	390.4	-74	28

附 录 B  
(资料性)  
标准品工作液浓度

表B.1给出了标准品工作液浓度。

表 B.1 标准品工作液浓度

胆汁酸	浓度单位 (nmol/L)							
	J1	J2	J3	J4	J5	J6	J7	J8
CA	10	20	50	100	200	500	1000	2000
TCA	10	20	50	100	200	500	1000	2000
GCA	30	60	150	300	600	1500	3000	6000
TDCA	10	20	50	100	200	500	1000	2000
TUDCA	10	20	50	100	200	500	1000	2000
LCA	2	4	10	20	40	100	200	400
DCA	20	40	100	200	400	1000	2000	4000
UDCA	10	20	50	100	200	500	1000	2000
CDCA	10	20	50	100	200	500	1000	2000
GLCA	5	10	25	50	100	250	500	1000
GDCA	10	20	50	100	200	500	1000	2000
GUDCA	10	20	50	100	200	500	1000	2000
GCDCA	30	60	150	300	600	1500	3000	6000
TLCA	5	10	25	50	100	250	500	1000
TCDCA	30	60	150	300	600	1500	3000	6000

附录 C  
(资料性)  
标准溶液提取离子色谱图

图C.1 给出了标准溶液提取离子色谱图。

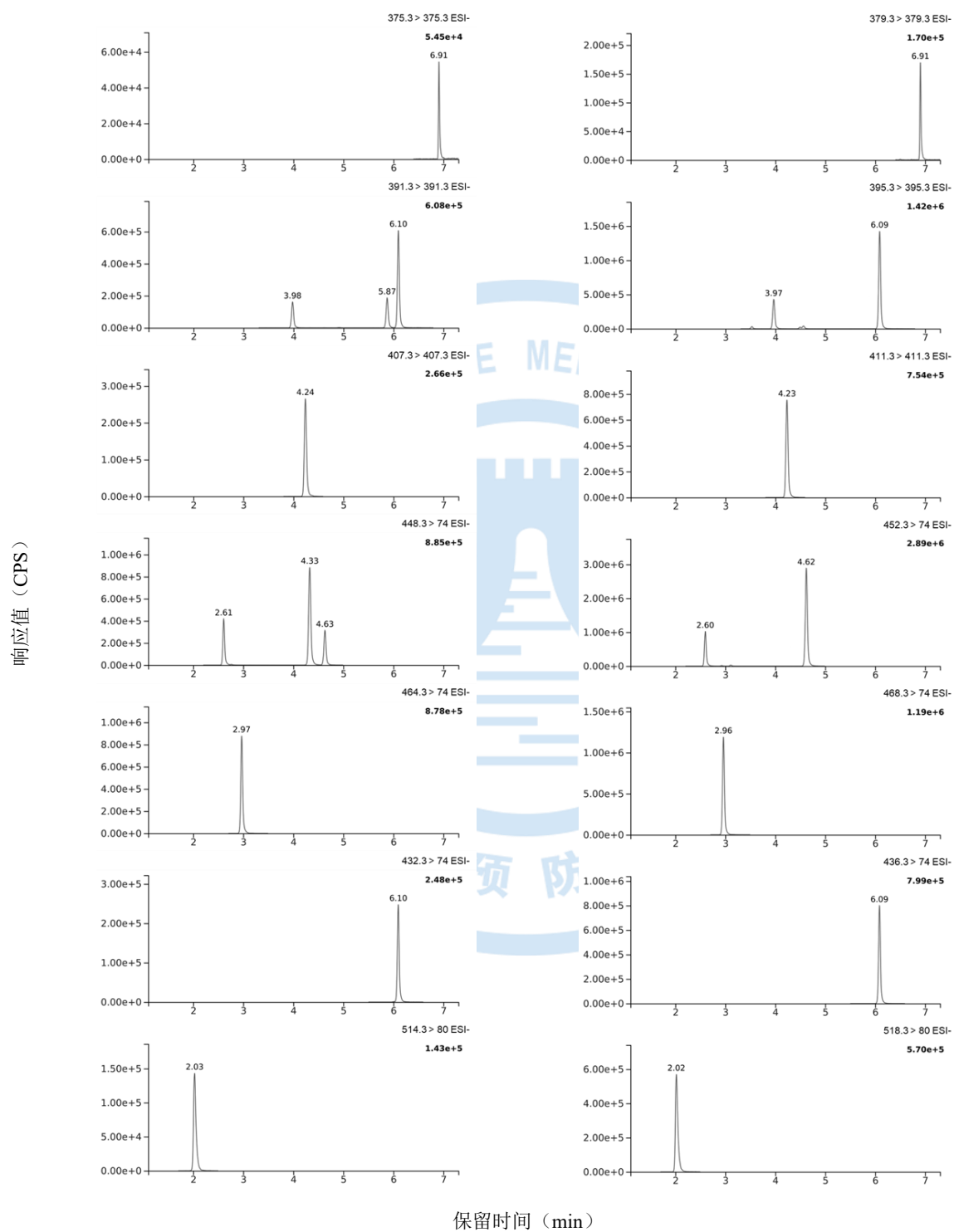


图 C.1 标准溶液提取离子色谱图

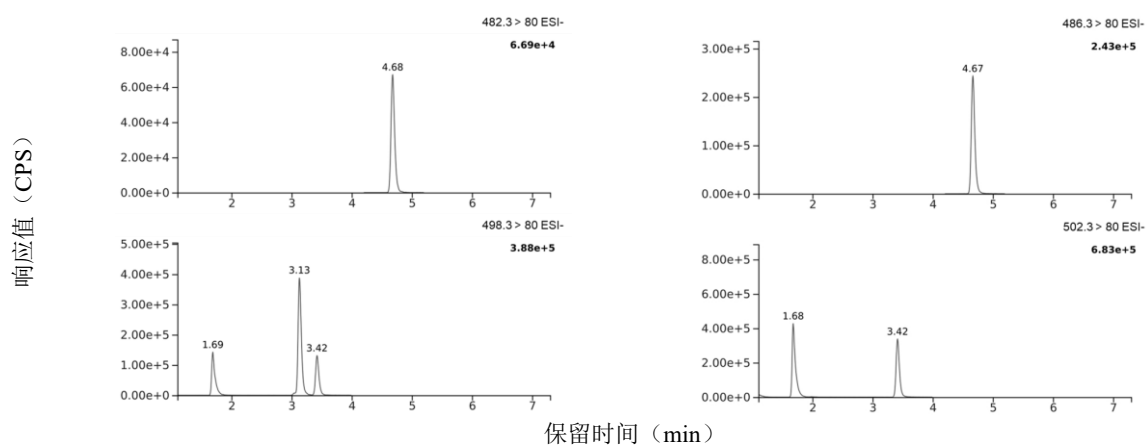


图 C.1 标准溶液提取离子色谱图（续）

注：

1-LCA(6.91min)	2-LCA-D <sub>4</sub> (6.91min)	3-UDCA(3.98min)	4-CDCA(5.87min)
5-DCA(6.10min)	6-UDCA-D <sub>4</sub> (3.97min)	7-DCA-D <sub>4</sub> (6.09min)	8-CA(4.24min)
9-CA-D <sub>4</sub> (4.23min)	10-GUDCA(2.61min)	11-GCDCA(4.33min)	12-GDCA(4.63min)
13-GUDCA-D <sub>4</sub> (2.60min)	14-GDCA-D <sub>4</sub> (4.62min)	15-GCA(2.97min)	16-GCA-D <sub>4</sub> (2.96min)
17-GLCA(6.10min)	18-GLCA-D <sub>4</sub> (6.09min)	19-TCA(2.03min)	20-TCA-D <sub>4</sub> (2.02min)
21-TLCA(4.68min)	22-TLCA-D <sub>4</sub> (4.67min)	23-TUDCA(1.69min)	24-TCDC(3.13min)
25-TDCA(3.42min)	26-TUDCA-D <sub>4</sub> (1.68min)	27-TDCA-D <sub>4</sub> (3.42min)	