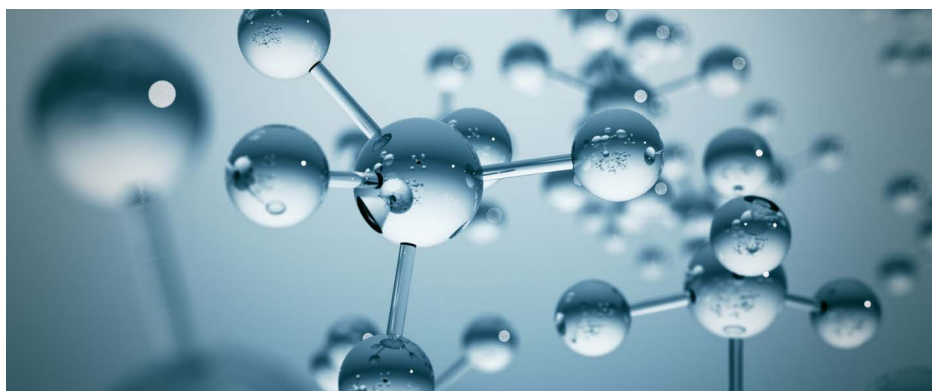


GC/MSD 및 고분해능 GC/Q-TOF를 사용하여 고무 개스킷 추출물에서 식별된 휘발성 화합물 분석



저자

Sofia Nieto,
Anastasia Andrianova,
Bruce Quimby 및 David Weil
Agilent Technologies, Inc.

개요

중합체 용기 마개 시스템(CCS)과 약물 전달 시스템을 구성하는 화학물질은 제조, 보관, 운송 및 전달 중에 약물 제품으로 유입될 가능성이 있으므로 최종 제품에서 이를 식별하여 안전성을 보장해야 합니다.

이 응용자료에서는 단위 질량 분해능 가스 크로마토그래피/질량 선택적 검출기(GC/MSD) 및 고분해능 가스 크로마토그래피/Quadrupole Time-of-Flight(GC/Q-TOF) 질량 분석기를 사용한 고무 개스킷 추출물 연구를 제시하여 GC에 적합한 추출물과 침출물(E&L) 화합물을 식별하는 프로세스를 확립합니다.

소개

탄성체 개스킷, 플런저 및 O-링은 의약품 제조, 보관, 전달 과정에서 용출성 화학물이 유입되는 일반적인 경로입니다. 탄성체 성분에서 유입된 E&L은 저분자 및 고분자 약물 제품의 안정성과 효능에 영향을 미칠 수 있으며¹, 따라서 철저하게 특성을 분석할 필요가 있습니다. 프탈레이트나 니트로사민 등 일부 E&L 화학물질에 노출되면 낮은 농도일지라도 안전 문제가 발생할 수 있습니다.² 탄성체 제조 공정에서 도입되는 화학물질에는 일반적으로 촉진제, 활성제, 산화방지제, 충전제, 가스제(프탈레이트 포함), 금형 이형제 및 기타 첨가제가 포함되며³, 이들 물질이 최종 제품에 침출되어 들어올 수 있습니다. 탄성체 포장재에 존재하는 일부 첨가제에는 다환방향족 탄화수소(PAH)⁴와 지방족 탄화수소가 포함되어 있을 수도 있습니다.

GC/MS는 E&L 부문에서 휘발성 및 반휘발성 유기 화합물을 분석하는 데 일반적으로 사용되는 기술입니다. 본 연구에서는 크로마토그래피 디콘볼루션과 머무름 지수(RI) 기반 필터링을 함께 이용하여 GC/MSD가 고무 개스킷의 용매 추출물에 존재하는 GC 처리 가능 화합물을 식별할 수 있음을 보여줍니다. E&L 워크플로에 고분해능 accurate mass GC/Q-TOF를 추가하면 더 많은 수의 화학물질을 식별할 수 있습니다. 또한 화합물 식별에 대한 신뢰도를 높이고 알려지지 않은 화합물의 구조를 밝히는 데에도 도움을 줍니다.

본 연구는 Agilent OpenLab Electronic Content Management(ECM) XT를 데이터 저장소로 사용하여 네트워크 워크스테이션 구성에서 수행했습니다. 이 구성을 이용하면 감사 추적, 사용자 인증, 역할 기반 권한 관리, 원격 데이터 저장을 포함하여 다양한 국가 및 EU 전자 기록 규정을 준수하는 데 도움이 되는 도구를 얻을 수 있습니다.⁵

실험

시료 전처리

실온에서 6개월 동안 테트라하이드로푸란(THF) 용매를 사용하여 고무 시린지 개스킷에서 추출을 수행했습니다. 추출물의 일부와 용매 블랭크를 GC/MSD 및 GC/Q-TOF 시스템을 사용하여 분석했습니다.

데이터 수집

GC/MS 분석은 Agilent 5977C GC/MSD와 Agilent 7250 GC/Q-TOF 시스템을 사용하여 전자 이온화(EI) 모드에서 수행했습니다. 미지 물질의 분자 이온을 식별하기 위해 GC/Q-TOF를 저에너지 TI 모드에서도 사용했습니다.

광범위한 E&L 화합물 비등점에 맞게 주입 조건을 최적화했습니다. 펄스 비분할형 주입 모드를 사용하고 분할 배출구로의 퍼지 흐름을 1-2분 지연시킴으로써 저비점 및 고비점 화합물 모두에 대한 반응을 극대화시켰습니다(그림 1).

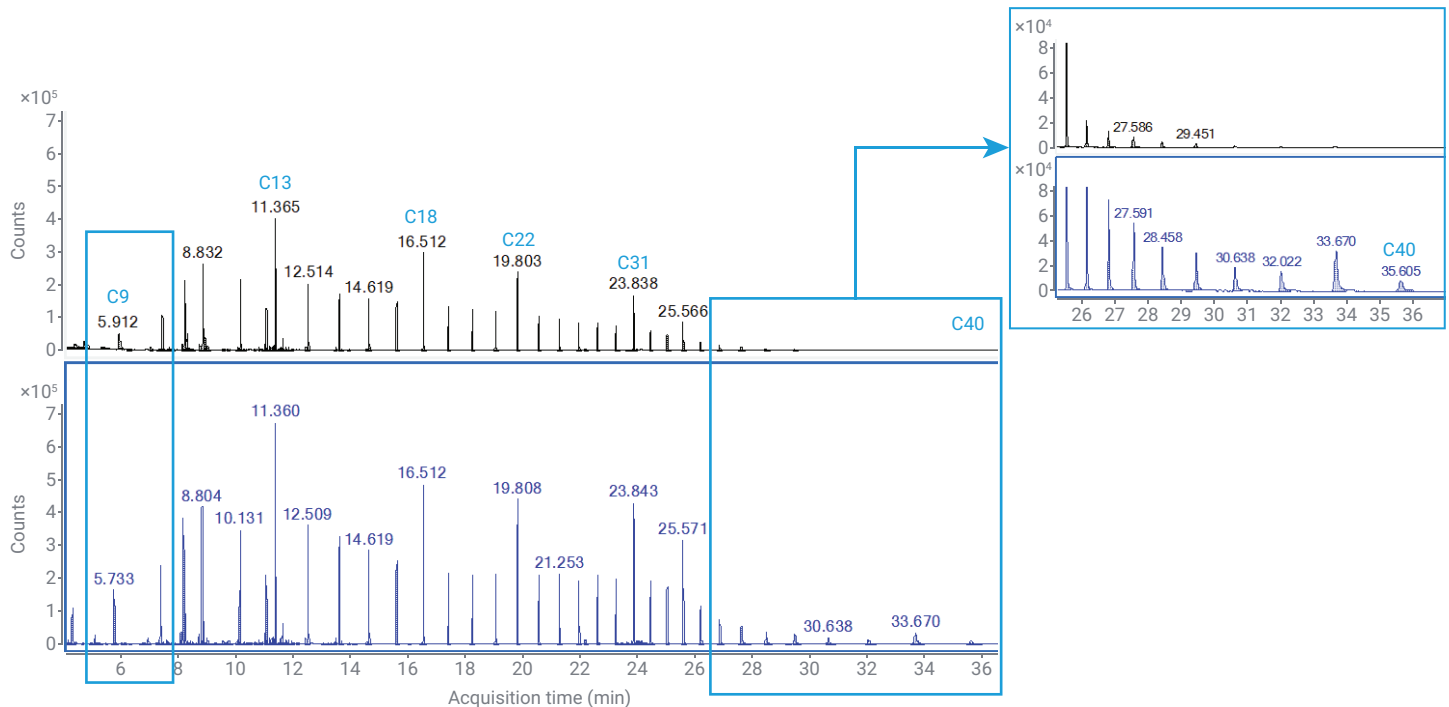


그림 1. 시작 조건(위)과 최적화된 조건(아래)에서 분석된 C5부터 C40 n-알케인 표준물질의 EIC(m/z 57).

처음에는 30m × 0.25mm, 0.25µm와 20m × 0.18mm, 0.18µm Agilent J&W DB-5ms Ultra Inert 컬럼을 모두 사용하여 복잡한 E&L 추출물의 크로마토그래피 분리 성능과 더불어 각 컬럼 크기에 대한 운반 가스 흐름을 최적화한 후의 감도를 평가했습니다. 20m 컬럼은 미량 화합물에 대해 더 날카로운 피크와 더 높은 감도를 제공하는 반면, 30m 컬럼은 더 나은 분리 성능을 보였으며 안정적으로 식별되는 화합물의 수도 많았습니다. 따라서 30m 컬럼을 선택했습니다.

모든 데이터는 새로운 Agilent J&W DB-5Q 비극성 Low-Bleed 컬럼과 DB-5ms Ultra Inert GC 컬럼을 사용하여 전체 스펙트럼 수집 모드에서 수집했습니다. 수집 소프트웨어는 OpenLab ECM XT를 사용하여 통합된 규정 준수 환경에서 운영되었습니다. 일반적인 데이터 수집 파라미터를 표 1에 나타내었습니다.

표 1. 데이터 수집 파라미터.

파라미터	값
MS	Agilent 7250 GC/Q-TOF; Agilent 5977C GC/MSD
GC	Agilent 8890 GC
컬럼	Agilent J&W DB-5Q, 30m × 0.25mm, 0.25µm (품목 번호 122-5532Q)
주입구	멀티모드 주입구, 4mm Ultra Inert 주입구 라이너, 유리솜이 있는 싱글 테이퍼
주입량	1µL
주입 모드	펄스 비분할(1분 퍼지, 40psi에서 1.1분 동안 펄스)
주입구 온도 프로그램	0.01분 동안 65°C 유지, 300°C/min으로 280°C까지 승온
오븐 온도 프로그램	2분 동안 45°C 유지; 12°C/min으로 325°C까지 승온, 11분 유지
운반 가스	헬륨
컬럼 유속	1mL/min의 일정한 유량
이송 라인 온도	325°C
사중극자 온도	150°C
이온 소스 온도	200°C(Q-TOF)/300°C(MSD)
전자 에너지	70eV(표준 EI MSD, Q-TOF); 15, 12 및 10eV(저에너지 EI, Q-TOF)
방출 전류	5µA(표준 EI, Q-TOF); 0.3µA(저에너지 EI, Q-TOF), 35µA MSD
스펙트럼 수집 속도	5Hz(Q-TOF), 2Hz(MSD)
질량 범위	m/z 50-1,000(Q-TOF), 45-450(MSD)

데이터 처리

크로마토그래피 디콘볼루션과 라이브러리 검색은 Agilent MassHunter Unknowns Analysis 12.1 업데이트 2에서 수행했습니다. NIST23 라이브러리는 초기 화합물 식별을 수행하는데 사용되었습니다. 구조 규명은 Agilent Molecular Structure Correlator(MSC) 소프트웨어 8.2를 사용하여 수행했습니다.

GC/MSD와 GC/Q-TOF 시스템 간의 일관된 RT를 보장하기 위해 머무름 시간(RT) 잠금을 사용했습니다. 또한 RI와 RT 매칭이 모두 가능했습니다.

결과 및 토의

E&L 응용 분야에 새로운 애질런트 Low-Bleed DB-5Q 컬럼을 사용할 때의 이점

새로운 Agilent DB-5Q 컬럼의 베타 버전을 E&L 연구에 사용하는 것이 적합하지 평가했습니다. 프탈레이트, 산화방지제, 자외선 흡수제, 안정제 등 많은 관심 화합물 중 다수는 비등점이 높습니다. 따라서 이러한 화합물의 검출은 컬럼 블리드로 인한 간섭에 더 취약하며, 이는 오븐 온도가 높을수록 더 분명하게 드러납니다. DB-5Q와 DB-5ms UI 컬럼 두 세트를 비교한 결과, DB-5ms UI에 비해 DB-5Q 컬럼의 경우에 높은 오븐 온도에서 컬럼 블리드가 상당히 낮은 것으로 관찰되었습니다. 대표적인 예가 그림 2A에 나와 있습니다. 0.3µA의 방출 전류를 사용하여 GC/Q-TOF에서 데이터를 수집했으며, 그 결과 유사한 퍼플루오로트리부틸아민(PFTBA) 존재비가 얻어졌습니다. PFTBA와 백그라운드 스펙트럼을 기록하는 동안 오븐을 325°C로 유지했습니다.

산화방지제와 자외선 흡수제와 같은 몇 가지 고비점 화합물도 비교를 위해 두 컬럼에서 분석했습니다. DB-5Q 컬럼은 이러한 조건에서 컬럼 블리드 백그라운드가 더 적었으며, 이는 UV 흡수제의 TIC(그림 2B) 및 백그라운드 제거 없이 추출한 산화방지제 Irgafos 168의 스펙트럼(그림 2C)에서 분명히 나타납니다.

E&L 추출물에는 상당한 비중의 물이 포함되어 있는 것이 일반적입니다. 따라서 에탄올:물(1:1) 및 THF를 포함한 다양한 용매로 E&L 추출물을 130회 주입하기 전과 후에 DB-5Q 컬럼 성능을 테스트했습니다. 추출물 130회 주입 전후에 1pg씩 컬럼에 옥타플루오로나프탈렌(OFN)을 주입했습니다. 물이 포함된 추출물을 주입한 후에도 피크 모양, 반응 및 스펙트럼 무결성이 모두 유지되었습니다(그림 3).

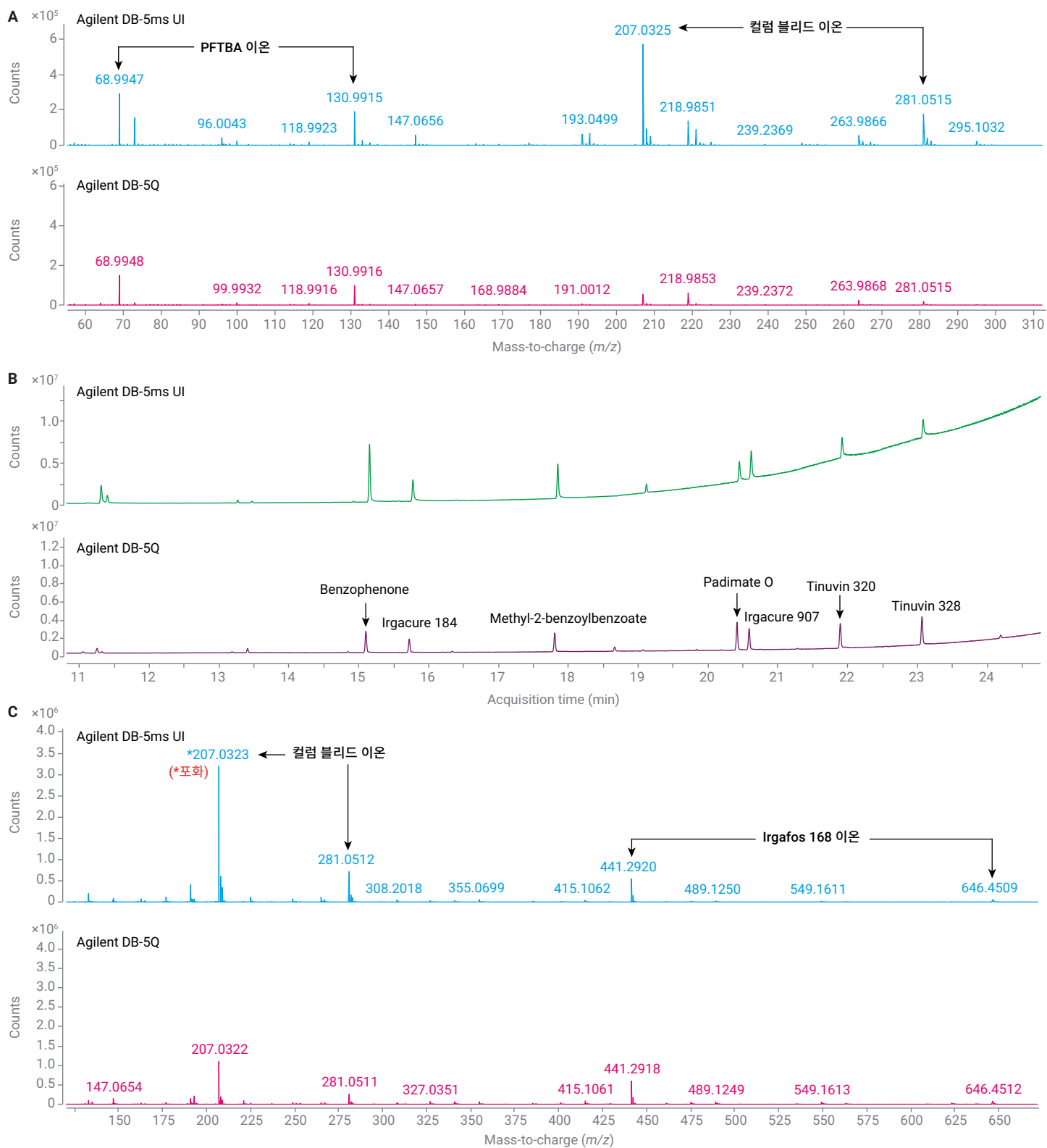


그림 2. GC/Q-TOF에서 Agilent DB-5ms와 DB-5Q 컬럼 블리드 비교 (A) 오븐 온도 325°C, 방출 전류 0.3 μ A에서 수집한 백그라운드 및 PFTBA 스펙트럼 (B) UV 흡수제의 TIC (C) 백그라운드를 제거하지 않은 산화방지제 Irgafos 168의 원시 스펙트럼(RI가 3,398, RT가 27.6분인 고비점 화합물)

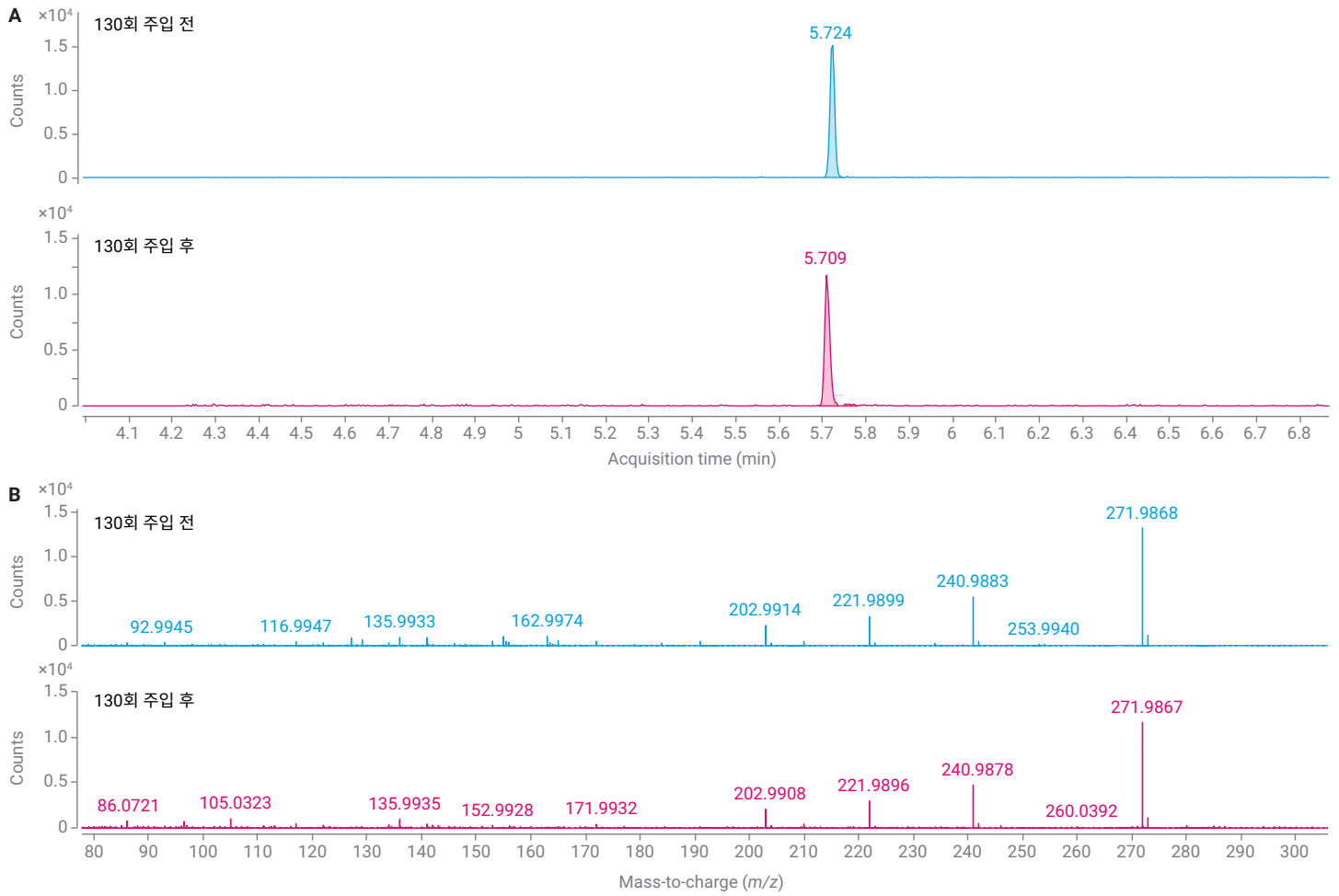


그림 3. (A) m/z 271.9867 \pm 20ppm에 대한 OFN EIC 및 (B) OFN 스펙트럼. OFN은 130회 주입 전후에 Agilent DB-5Q 컬럼에 1pg로 주입되었습니다. 모든 주입은 비분할 모드로 수행했습니다.

또한 DB-5Q와 표준 DB-5ms UI 컬럼 간의 RT와 RI의 일관성도 평가했습니다. RT 잠금 분석법을 사용하여 분석한 C7-C39 범위의 *n*-알케인에 대한 RT 값은 두 컬럼을 비교했을 때 매우 가까운 것으로 나타났습니다(그림 4A). 다양한 화학적 부류와 비등점을 가진 70가지 화합물의 RI는 DB-5Q 및 DB-5ms 컬럼 사이에서

놀라운 일관성을 나타냈으며(평균 델타 RI가 0.97 RI 단위) 반표준 비극성 컬럼 상에 대한 NIST 실험 RI 값과 유사했습니다(그림 4B). 새로운 Ultra Low-Bleed 5Q 컬럼에 대한 추가 정보는 별도의 기술 자료를 참조하세요.⁶

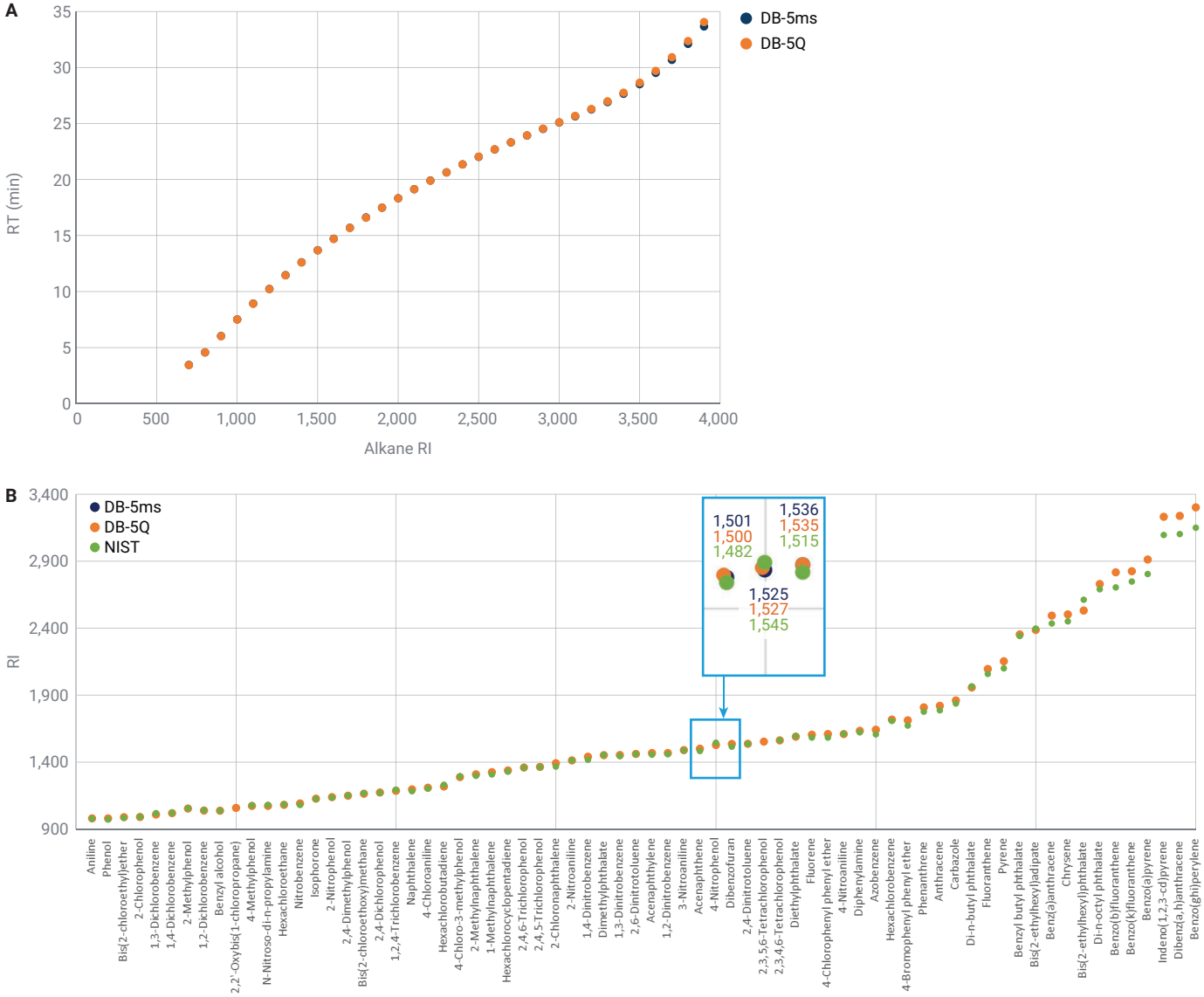


그림 4. Agilent DB-5ms UI 컬럼과 Agilent DB-5Q 컬럼의 RT와 RI를 비교한 결과입니다. (A) DB-5ms UI(파란색)와 DB-5Q(주황색) 컬럼의 *n*-알케인 RT. (B) DB-5ms(같은 파란색)와 DB-5Q(주황색) 컬럼 사이의 70개 화합물에 대한 RI 일관성. NIST23 실험적 RI는 녹색으로 표시했습니다.

**GC/MSD 및 GC/Q-TOF를 사용한 고무 개스킷 추출물의
반휘발성 화합물 식별**

GC/MSD 사용과 함께 NIST23 라이브러리에서 디콘볼루션된 스펙트럼을 검색하고 RI를 기준으로 결과를 필터링하여 처음에 시료에서 100개 이상의 화합물을 식별했습니다. 그림 5는 동시에 용출 성분의 존재 하에서 식별된 화합물인 eicosyl acetate의 예로, 높은 라이브러리 매치 스코어(LMS)와 뛰어난 RI 매칭을 보여줍니다.

Accurate mass, 전체 스펙트럼 수집 모드에서의 높은 감도, 및 미지 물질 식별에 유익한 MS/MS 기능의 이점을 활용하기 위해 동일한 고무 개스킷 추출물을 GC/Q-TOF로도 분석했습니다. GC/MSD와 GC/Q-TOF에서 공통적으로 80개 이상의 화합물을 발견했으며, 그 중 일부를 표 2에 나타내었습니다.

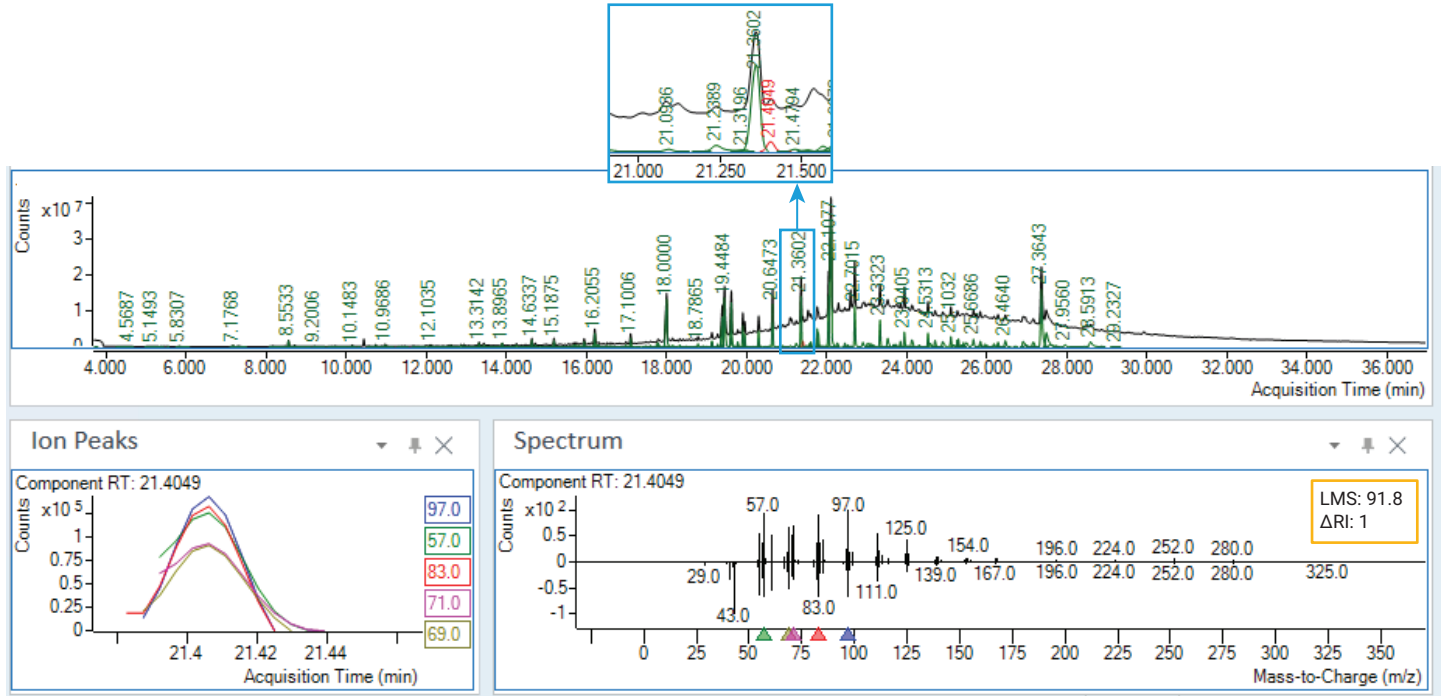


그림 5. 고무 개스킷 시료의 TIC, 및 LMS가 91.8이고 RI 델타가 1인 eicosyl acetate의 디콘볼루션된 스펙트럼.

표 2. 라이브러리 매치 계수 컷오프 70을 사용하여 GC/MSD와 GC/Q-TOF로 식별된 일반적인 화합물입니다.

RT	화합물 명칭	화학적식	CAS 번호	RT	화합물 명칭	화학적식	CAS 번호
4.48	Butanoic acid	C ₄ H ₈ O ₂	107-92-6	15.56	n-Hexyl salicylate	C ₁₃ H ₁₈ O ₃	6259-76-3
5.11	Dipropyl acetal	C ₈ H ₁₈ O ₂	105-82-8	15.62	3-Pentadecanone	C ₁₅ H ₃₀ O	18787-66-1
5.68	N-Ethylacetamide	C ₄ H ₉ NO	625-50-3	15.74	4-(1,1-Dimethylheptyl)phenol	C ₁₅ H ₂₄ O	30784-30-6
5.75	Pentanoic acid	C ₅ H ₁₀ O ₂	109-52-4	15.82	4-(7-Methyloctyl)phenol	C ₁₅ H ₂₄ O	24518-48-7
7.13	Hexanoic acid	C ₆ H ₁₂ O ₂	142-62-1	15.93	1-Phenyl-1,3,3-trimethylindane	C ₁₈ H ₂₀	3910-35-8
7.15	Glycerin	C ₃ H ₈ O ₃	56-81-5	16.20	Tetradecanoic acid	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	544-63-8
7.22	Phenol	C ₆ H ₆ O	108-95-2	16.30	3,5-di-tert-Butyl-4-hydroxybenzaldehyde	C ₁₅ H ₂₂ O ₂	1620-98-0
8.04	2-Acetyl-5-methylfuran	C ₇ H ₈ O ₂	1193-79-9	16.67	2,6,10,14-Tetramethylhexadecane (Phytane)	C ₂₀ H ₄₂	638-36-8
8.44	Heptanoic acid	C ₇ H ₁₄ O ₂	111-14-8	16.74	3,5-di-tert-Butyl-4-hydroxyacetophenone	C ₁₆ H ₂₄ O ₂	14035-33-7
8.53	Isovaleraldehyde dipropyl acetal	C ₁₁ H ₂₄ O ₂	1000431-60-3	16.81	Isopropyl myristate	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	110-27-0
8.54	Acetophenone	C ₈ H ₈ O	98-86-2	16.98	2,4-Diphenyl-4-methyl-2(E)-pentene	C ₁₈ H ₂₀	22768-22-5
8.55	p-Cresol	C ₇ H ₈ O	106-44-5	17.59	7,9-Di-tert-butyl-1-oxaspiro(4,5)deca-6,9-diene-2,8-dione	C ₁₇ H ₂₄ O ₃	82304-66-3
8.60	4-Methylbenzaldehyde	C ₈ H ₈ O	104-87-0	17.60	Farnesyl acetone	C ₁₈ H ₃₀ O	1117-52-8
8.79	(1-Methoxypropyl)benzene	C ₁₀ H ₁₄ O	59588-12-4	17.98	Dibutyl phthalate	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	84-74-2
9.23	Triacetoneamine	C ₉ H ₁₇ NO	826-36-8	17.99	n-Hexadecanoic acid	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	57-10-3
9.63	Benzoic acid	C ₇ H ₆ O ₂	65-85-0	18.34	18-Norabieta-8,11,13-triene	C ₁₉ H ₂₈	1000197-14-1
9.72	Octanoic acid	C ₈ H ₁₆ O ₂	124-07-2	18.71	N,N-Dimethyltetradecanamide	C ₁₆ H ₃₃ NO	3015-65-4
10.95	Nonanoic acid	C ₉ H ₁₈ O ₂	112-05-0	19.38	Linoleic acid	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	60-33-3
11.69	2,3-Dihydro-1H-pyrrolizin-1-one	C ₇ H ₇ NO	17266-64-7	19.60	Octadecanoic acid	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	57-11-4
12.74	Diphenyl ether	C ₁₂ H ₁₀ O	101-84-8	19.80	n-Pentadecylcyclohexane	C ₂₁ H ₄₂	6006-95-7
12.85	n-tert-Butylphenetole	C ₁₂ H ₁₈ O	17269-94-2	20.31	N,N-Dimethylpalmitamide	C ₁₈ H ₃₇ NO	3886-91-7
12.93	Longifolene	C ₁₅ H ₂₄	475-20-7	21.40	Eicosyl acetate	C ₂₂ H ₄₄ O ₂	822-24-2
13.18	Dimethyl phthalate	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	131-11-3	21.46	Antioxidant 2246	C ₂₃ H ₃₂ O ₂	119-47-1
13.41	Ethyl 3-phenylpropenoate	C ₁₁ H ₁₂ O ₂	103-36-6	21.56	N,N-Dimethylilinoleamide	C ₂₀ H ₃₇ NO	2501-33-9
13.42	1-Dodecanol	C ₁₂ H ₂₆ O	112-53-8	21.60	N,N-Dimethyloleamide	C ₂₀ H ₃₉ NO	2664-42-8
13.76	2,4-Di-tert-butylphenol	C ₁₄ H ₂₂ O	96-76-4	21.74	Dehydroabiatic acid	C ₂₀ H ₂₈ O ₂	1740-19-8
13.78	Butylated hydroxytoluene	C ₁₅ H ₂₄ O	128-37-0	22.09	Antioxidant 425	C ₂₅ H ₃₆ O ₂	88-24-4
14.38	(3-Decyl)benzene	C ₁₆ H ₂₆	4621-36-7	23.02	Squalane	C ₃₀ H ₆₂	111-01-3
14.54	Pentyl salicylate	C ₁₂ H ₁₆ O ₃	2050-08-0	23.83	13-Docosenamide, (Z)-	C ₂₂ H ₄₃ NO	112-84-5
14.63	Diethyl phthalate	C ₁₂ H ₁₄ O ₄	84-66-2	26.81	Chondrillasterol	C ₂₉ H ₄₈ O	481-17-4
14.79	p-tert-Octylphenol	C ₁₄ H ₂₂ O	140-66-9	27.37	(24Z)-Ethylidenecholesterol	C ₂₉ H ₄₈ O	481-14-1
15.12	Tributyl phosphate	C ₁₂ H ₂₇ O ₄ P	126-73-8				
15.39	(1-Ethylonyl)benzene	C ₁₇ H ₂₈	4536-87-2				

E&L 화합물 식별에 대한 신뢰도를 높이기 위해 accurate mass 정보를 사용하여 MassHunter Unknowns Analysis 소프트웨어의 ExactMass 도구를 통해 화합물 ID를 합격 또는 불합격 처리했습니다. ExactMass 도구는 가능한 경우 최상위 라이브러리 적중의 분자식 중 일부를 사용하여 조각 이온을 자동으로 할당합니다. 대부분의 특정 조각이 작은 질량 오차 범위 내에서 화합물 화학식과 일치하지 않을 경우, 라이브러리 적중은 허위 양성으로 간주될 수 있습니다. 그림 6은 이러한 두 가지 예를 보여줍니다.

GC/MSD에 비해 GC/Q-TOF는 전체 스펙트럼 수집 모드에서 감도와 데이터 수집 속도가 높기 때문에 GC/Q-TOF에 의해 몇 가지 추가 화합물이 확인되었습니다(표 3). 이러한 화합물에는 고무 제조에 사용되는 촉매, 용매, 가황 촉진제, 가소제, 산화방지제 및 자외선 안정제가 포함됩니다. Accurate mass 및 RI 정보를 사용하여 화합물 식별을 확인했습니다.

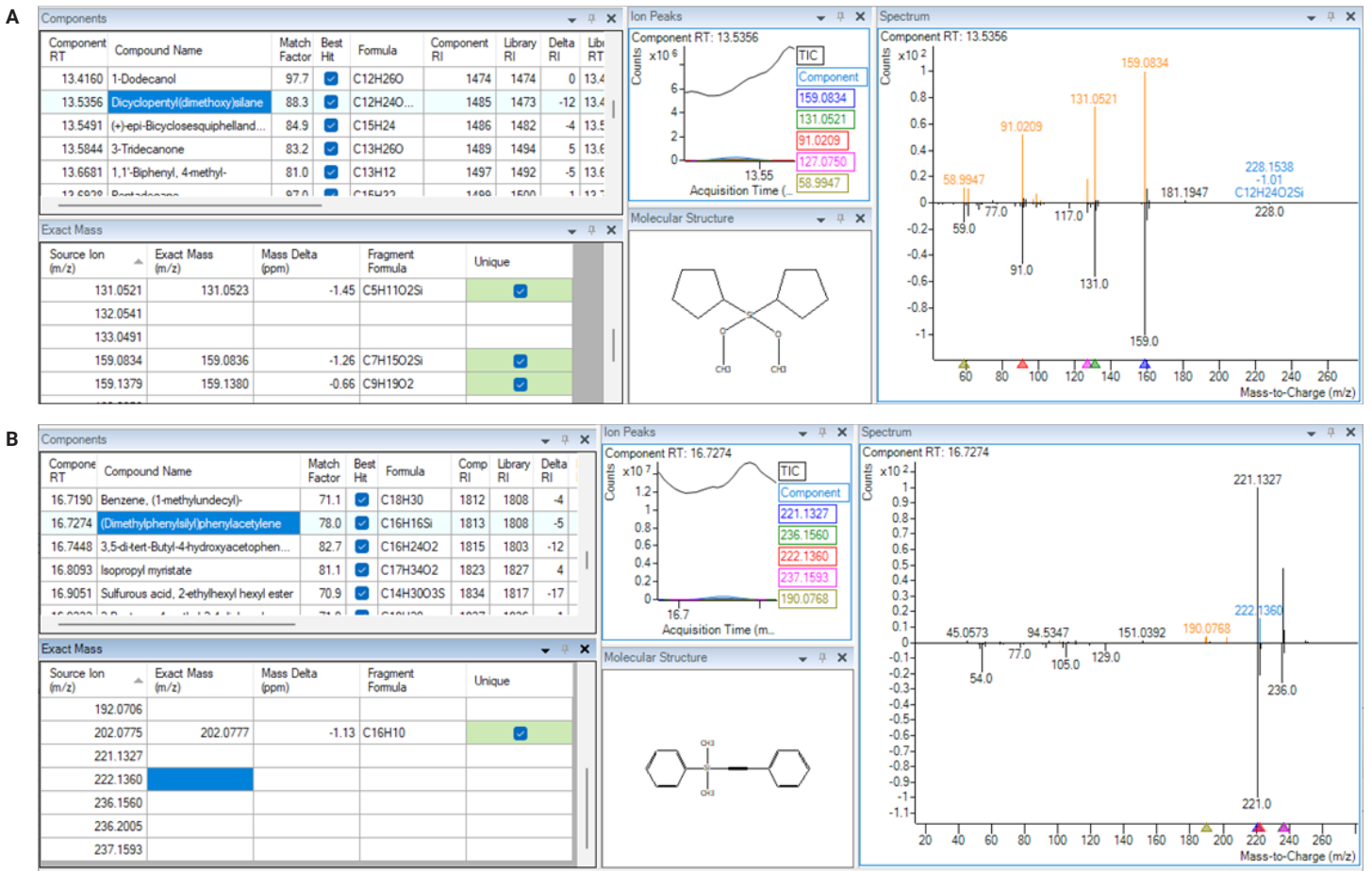


그림 6. Accurate mass를 사용하여 화합물 ID 확인. 조각 화학식은 accurate mass와 라이브러리 적중의 분자식을 기반으로 할당됩니다. 그런 다음 각각의 주요 조각 이온의 질량 오차가 계산되어 ExactMass 표에 표시됩니다. (A) GC/Q-TOF에 의해 고유하게 식별된 확인된 화합물. (B) Accurate mass를 기반으로 GC/Q-TOF 데이터를 처리할 때 결정되는 허위 양성. 그러나 라이브러리 매치 스코어가 89인 높은 GC/MSD 단위 질량 데이터를 기반으로 이 스펙트럼에 동일한 화합물 ID가 잘못 지정되었습니다.

표 3. GC/Q-TOF를 통해 고유하게 식별된 화합물.

RT	화합물 명칭	매치 계수	화학식	델타 RI	CAS 번호
4.17	Methyl isobutyl ketone	92.8	C ₆ H ₁₂ O	-29.7	108-10-1
4.61	Acetylacetone	87.7	C ₈ H ₈ O ₂	-19.7	123-54-6
4.63	Dimethylformamide	99.1	C ₃ H ₇ NO	-21.2	68-12-2
4.86	Hexanal	96.7	C ₆ H ₁₂ O	-18.9	66-25-1
5.03	Furfural	80.0	C ₅ H ₄ O ₂	1.1	98-01-1
5.80	<i>o</i> -Xylene	96.5	C ₈ H ₁₀	3.3	95-47-6
5.93	2,6-Lutidine (2,6-dimethylpyridine)	82.0	C ₇ H ₉ N	-14.1	108-48-5
6.02	2-Heptanone	94.6	C ₇ H ₁₄ O	-9.3	110-43-0
6.21	Heptanal	94.6	C ₇ H ₁₄ O	-11.7	111-71-7
6.66	3-Hepten-2-one	79.6	C ₇ H ₁₂ O	-6.2	1119-44-4
6.91	Piperidine, 2,2,6,6-tetramethyl-	91.0	C ₉ H ₁₉ N	-19.8	768-66-1
7.10	Benzaldehyde	90.9	C ₇ H ₆ O	-10.8	100-52-7
7.36	α -Methylstyrene	95.6	C ₉ H ₁₀	-4.2	98-83-9
7.63	Octanal	89.1	C ₈ H ₁₆ O	-5.5	124-13-0
7.96	2-Ethylhexanol	92.6	C ₈ H ₁₈ O	-1.7	104-76-7
8.11	N-Methyl- α -pyrrolidone	84.7	C ₅ H ₉ NO	1.4	872-50-4
8.16	2-(2-Hydroxypropoxy)-1-propanol	82.7	C ₆ H ₁₄ O ₃	0.1	106-62-7
9.01	Nonanal	96.3	C ₉ H ₁₈ O	-3.0	124-19-6
10.08	2,4-Dimethylthiophenol	89.1	C ₈ H ₁₀ S	19.0	13616-82-5
10.29	Benzene, 1,3-dibromo-	91.2	C ₆ H ₄ Br ₂	14.1	108-36-1
10.70	Benzothiazole	92.2	C ₇ H ₅ NS	-9.3	95-16-9
11.44	<i>m</i> -tert-Butylphenol	72.0	C ₁₀ H ₁₄ O	-2.2	585-34-2
12.35	3-Hydroxy-2,2,4-trimethylpentyl 2-methylpropanoate**	73.2	C ₁₂ H ₂₄ O ₃	-3.7	77-68-9
12.57	<i>p</i> -tert-Pentylphenol	74.3	C ₁₁ H ₁₆ O	3.2	80-46-6
13.27	BHT-quinol	84.6	C ₁₅ H ₂₄ O ₂	14.2	10396-80-2
13.54	Dicyclopentyl(dimethoxy)silane	88.3	C ₁₂ H ₂₄ O ₂ Si	-11.9	126990-35-0
13.58	3-Tridecanone	83.2	C ₁₃ H ₂₆ O	4.6	1534-26-5
13.98	Ethyl 4-ethoxybenzoate	82.8	C ₁₁ H ₁₄ O ₃	-5.7	23676-09-7
14.77	(2-Decyl)benzene	88.2	C ₁₆ H ₂₆	10.0	4537-13-7
15.06	(1-Butylheptyl)benzene	83.8	C ₁₇ H ₂₈	-4.1	4537-15-9
15.08	Fenuron	73.1	C ₉ H ₁₂ N ₂ O	-5.2	101-42-8
15.15	Benzophenone	93.4	C ₁₃ H ₁₀ O	-10.0	119-61-9
15.55	2,4-Ditert-butyl-6-nitrophenol	78.7	C ₁₄ H ₂₁ NO ₃	1.7	20039-94-5
15.89	4-(1,1-Dimethylheptyl)phenol	83.2	C ₁₅ H ₂₄ O	-25.9	30784-30-6
16.69	Anthracene	86.4	C ₁₄ H ₁₀	-23.5	120-12-7
17.17	Diisobutyl phthalate	88.5	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	5.0	84-69-5
17.70	Methyl hexadecanoate	74.6	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	1.3	112-39-0
19.01	<i>p</i> -Tolyl disulfide	73.8	C ₁₄ H ₁₄ S ₂	3.4	103-19-5
21.05	Methyl dehydroabietate	79.9	C ₂₁ H ₃₀ O ₂	-17.2	1235-74-1
22.26	Bis(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP)	69.6	C ₂₄ H ₃₈ O ₄	0.0	1000377-93-5
25.72	Tinuvin 770	87.1	C ₂₈ H ₃₂ N ₂ O ₄	130.4*	52829-07-9

* 예측된 RI만 사용 가능합니다.

** Texanol의 성분

고무 개스킷 추출물에서 알려지지 않은 화합물 식별

추가 식별을 위해 알려지지 않은 몇 가지 화합물이 선택되었습니다. 알려지지 않은 화합물의 일반적인 구조 규명 워크플로에는 첫 단계로 분자 이온의 식별이 필요합니다. 표준 티를 사용하는 경우 티의 분자 이온 존재비가 거의 보존되지 않으므로 이는 어려운 일입니다. 저에너지 티(LE-TI)는 분자 이온의 상대적 존재비를 높이고 이를 통해 임시 식별에 도움이 될 수 있는 일종의 소프트 이온화입니다. 이 기술은 7250 GC/Q-TOF의 LE-TI 지원 소스를 통해 가능하며 화학적 이온화(CI)를 보완합니다. 이 기술에는 시약 가스나 소스 변경이 필요하지 않으며 표준 티와 동일한 튜닝 파일이 사용됩니다. LE-TI 결과를 바탕으로, 알려지지 않은 화합물의 분자 이온을 제안하여 표 4에 나열했습니다.

표 4. LE-TI 실험에서 잠정적으로 확인된 미지 물질의 분자 이온 화학식입니다.

RT(분)	분자 이온의 잠정적 m/z	화학식
5.59	98.0362	C ₅ H ₆ O ₂
6.37	142.0988	C ₈ H ₁₄ O ₂
7.82	155.1067	C ₉ H ₁₅ O ₂
8.44	143.1067	C ₈ H ₁₅ O ₂
10.72	154.0988	C ₉ H ₁₄ O ₂
11.93	166.0988	C ₁₀ H ₁₄ O ₂
12.10	150.1039	C ₁₀ H ₁₄ O
13.31	182.0937	C ₁₀ H ₁₄ O ₃
13.89	206.1301	C ₁₃ H ₁₈ O ₂
15.19	250.1927	C ₁₆ H ₂₆ O ₂

LE-TI가 분자 이온의 식별 또는 확인에 어떻게 사용될 수 있는지에 대한 예가 그림 7에 나와 있는데, 여기서는 낮은 전자 에너지에서 잠정적인 분자 이온의 상대적 존재비가 점진적으로 증가하는 것이 관찰되었습니다.

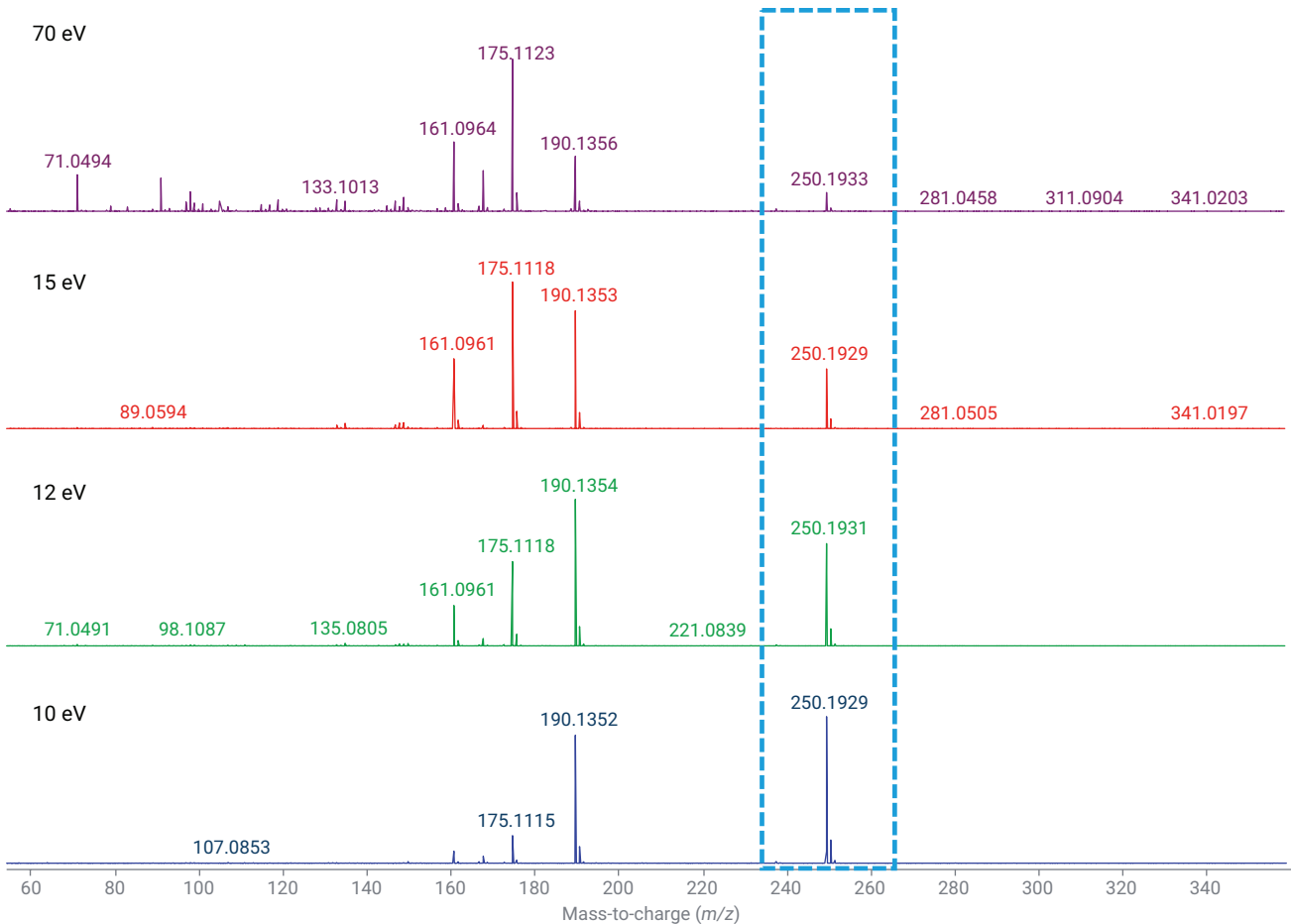


그림 7. LE-TI를 사용하여 분자 이온을 식별하거나 확인하는 예. 전자 에너지가 낮을수록 분자 이온의 상대적 존재비는 높아집니다. 잠정적 분자 이온은 사각형 윤곽으로 나타냈습니다.

구조를 추가로 규명하기 위해 LE-ET를 사용하여 식별된 잠정적 분자 이온을 MS/MS 실험의 전구체로 선택했습니다(그림 8). 표적 MS/MS는 MS/MS와 전체 스펙트럼 수집 모드를 번갈아가며 수행되었습니다. 이후 데이터 처리에서 분자 이온의 m/z 를 정확하게 인식할 수 있도록 전구체의 정확한 m/z 값을 수집 소프트웨어에 입력했습니다. 최적의 조각화를 실현하여 가능한 경우 스펙트럼에서 높은 범위와 중간 범위의 m/z 이온 존재비를 유지하기 위해 각 화합물의 충돌 에너지(CE)를 최적화했습니다.

구조 규명은 MSC 소프트웨어로 수행했습니다. 분자식은 동일한 RT에서 전구체의 m/z 와 일치하는 전체 스펙트럼 데이터의 accurate mass 질량을 기반으로 자동 할당되었습니다. 각 잠정적 분자식에 대한 가능한 모든 구조는 ChemSpider 데이터베이스에서 추출되었으며 조각화 패턴을 기반으로 평가되었습니다. 미지 물질 중 하나에 대해 제안된 구조를 그림 9에 나타내었습니다.

이 구조는 잠재적으로 산화방지제의 분해 산물에 해당할 수 있습니다.

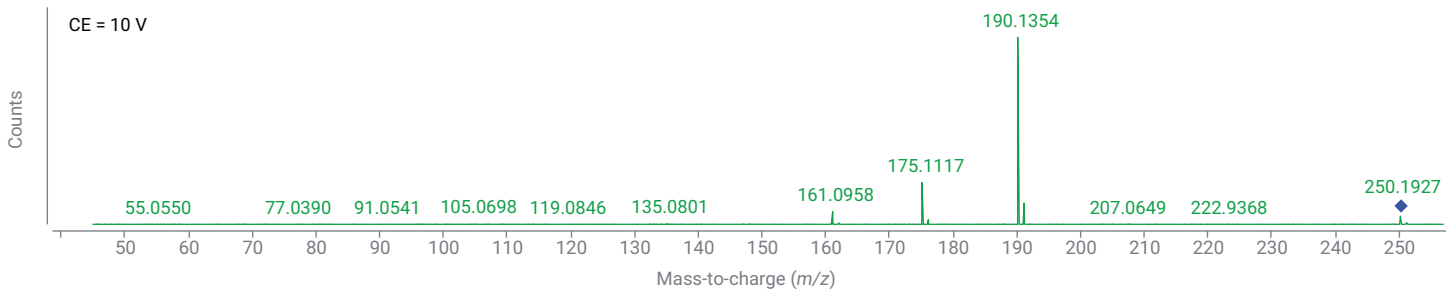


그림 8. 잠정적 분자 이온을 전구체로 사용하여 미지 물질 중 하나에 대해 얻은 MS/MS 스펙트럼.

1000 structures found for $rt=15.171:ce20$

Sort by # Reference Show structures for All Formulas Search

Structure #36 -- elucidated: 100.0% ions, 100.0% Weight

Rank	Mass	Intensity	Weight(%)	No. of candid.	Best score
1	175.1119	374453.30	57.1	9	92.7
2	190.1353	108828.00	19.6	11	96.7
3	161.0961	84322.28	10.9	3	95.5
4	176.1150	38474.78	5.9	5	48.2
5	191.1384	12659.78	2.3	5	48.7
6	147.0803	10393.57	1.1	6	94.2
7	162.1002	9837.04	1.3	4	61.3
8	148.0879	7288.59	0.8	9	96.3
9	135.0802	6980.57	0.6	9	92.6
10	133.0645	4542.73	0.4	4	92.5

Structure 36 details:

- Formula: C₁₆H₂₆O₂: 535935
- Scores: MFG=95.8 MSC=84.4 Overall=80.8
- ChemSpider: 535935

Structure 37 details:

- Formula: C₁₆H₂₆O₂: 55978362
- Scores: MFG=95.8 MSC=86.3 Overall=82.6
- ChemSpider: 55978362

Structure 38 details:

- Formula: C₁₆H₂₆O₂: 28556942
- Scores: MFG=95.8 MSC=84.8 Overall=81.2
- ChemSpider: 28556942

Structure 39 details:

- Formula: C₁₂H₁₈O₃: 3H
- Penalty=4.5 dM=-0.9ppm F.D.S.=99.9 Score=92.7

Structure 40 details:

- Formula: C₁₂H₂₀O₅: 5H
- Penalty=6.5 dM=-0.9ppm F.D.S.=99.9 Score=85.4

그림 9. MSC를 사용하여 고무 개스킷 추출물의 알려지지 않은 화합물 중 하나에 대해 제안된 구조.

결론

GC/MSD는 복잡한 E&L 추출물 내 휘발성 및 반휘발성 화합물을 분석하는 효과적이고 접근성이 뛰어난 도구입니다. 확립된 워크플로에는 디콘볼루션과 RI 기반 라이브러리 검색이 포함되며, 데이터 수집은 규정을 준수하는 환경에서 수행됩니다.

고분해능 Agilent 7250 GC/Q-TOF를 사용하면 더 높은 신뢰도로 추가 성분을 식별할 수 있을 뿐만 아니라 알려지지 않은 화합물의 구조도 규명할 수 있습니다.

또한, 새로운 Ultra Low-Bleed Agilent J&W DB-5Q GC 컬럼을 사용하면 백그라운드가 상당히 감소하여 늦게 용출되는 화합물을 식별하는 데 도움을 줍니다.

참고 자료

1. Zhang, F.; Chang, A.; Karaisz, K.; Feng, R.; Cai, J. Structural Identification of Extractables from Rubber Closures Used for Pre-filled Semisolid Drug Applicator by Chromatography, Mass spectrometry, and Organic Synthesis. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2004**, *34*, 841-849. DOI: 10.1016/j.jpba.2003.08.003
2. Baneshi, M.; Tonney-Gagne, J.; Halilu, F.; Pilavangan, K.; Abraham, B. S.; Prosser, A.; Marimuthu, N. K.; Kaliaperumal, R.; Britten, A. J.; Mkandawire, M. Unpacking Phthalates from Obscurity in the Environment. *Molecules* **2023**, *29*(1), 106. DOI: 10.3390/molecules29010106
3. Taylor, R.; Son, P. N. Encyclopedia of Chemical Technology. Interscience, New York. 1982, 20, pp. 337-365.
4. Bohrer, D.; Viana, C.; Barichello, M. M.; de Moura, J. F.; de Carvalho, L. M.; Nascimento, P. C. Presence of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Rubber Packaging Materials and in Parenteral Formulations Stored in Bottles With Rubber Stoppers. *JPEN J Parenter Enterol Nutr.* **2016**, *41*(6), 1037-1044. DOI: 10.1177/0148607116633801.
5. Title 21 CFR Part 11 및 Annex 11 규제 준수 지원: Agilent OpenLab Server 및 OpenLab ECM XT. *애질런트 백서*, 발행 번호 5994-3228KO, **2024**.
6. 블리드는 GC/MS 데이터에 어떤 영향을 미치며 어떻게 제어할 수 있습니까? *애질런트 기술 개요*, 발행 번호 5994-7586KO, **2024**.

www.agilent.com

DE-000968

이 정보는 사전 고지 없이 변경될 수 있습니다.

© Agilent Technologies, Inc. 2024
2024년 09월 10일, 한국에서 인쇄
5994-7777KO

한국애질런트테크놀로지스(주)
대한민국 서울특별시 서초구 강남대로 369,
A+ 에셋타워 9층, 06621
전화: 82-80-004-5090 (고객지원센터)
팩스: 82-2-3452-2451
이메일: korea-inquiry_lsca@agilent.com