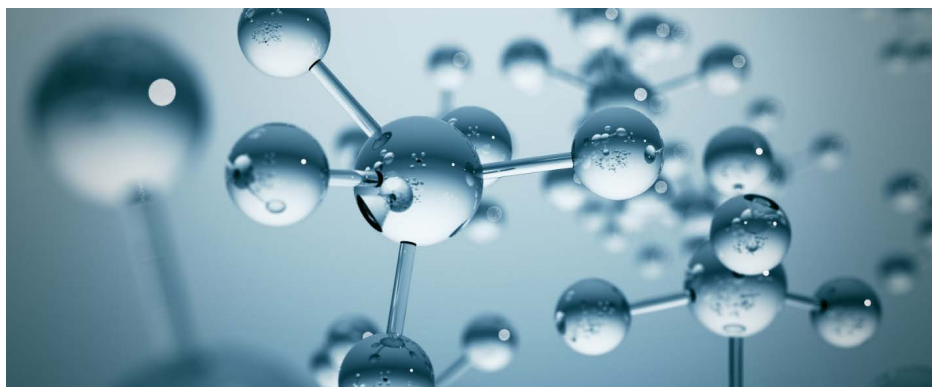


## 使用 GC/MSD 和高分辨率 GC/Q-TOF 分析橡胶垫浸提物中鉴定出的挥发性化合物



### 作者

Sofia Nieto,  
Anastasia Andrianova,  
Bruce Quimby, David Weil  
安捷伦科技有限公司

### 摘要

聚合物容器封闭系统 (CCS) 和药物递送系统中包含的化学物质有可能在生产、储存、运输和递送过程中迁移到药品中，因此为确保药品安全，必须在最终产品中进行鉴定。

本应用简报介绍了一种橡胶垫可浸提物研究，使用单位质量分辨率气相色谱/质量选择检测器 (GC/MSD) 以及高分辨率气相色谱/四极杆飞行时间 (GC/Q-TOF) 质谱仪，建立了一种对适合 GC 分析的浸提物与可沥滤物 (E&L) 的鉴定流程。

## 前言

弹性垫片、推杆和 O 形圈是药品生产、储存和递送过程中可沥滤物的常见来源。源自弹性组分的 E&Ls 可能会影响小分子和大分子药品的稳定性与药效<sup>[1]</sup>，因此需要对其进行全面表征。即使以低浓度暴露于某些 E&Ls 化学物质（如邻苯二甲酸酯和亚硝酸胺）中，仍可能会引起安全问题<sup>[2]</sup>。弹性体制造过程中产生的化学物质通常包括促进剂、活化剂、抗氧化剂、填充剂、增塑剂（包括邻苯二甲酸酯）、脱模剂和其他添加剂<sup>[3]</sup>，这些物质可能会渗入到药物成品中。弹性体包装材料中的一些添加剂也可能含有多环芳烃 (PAHs)<sup>[4]</sup> 和脂肪烃类化合物。

GC/MS 是分析 E&L 空间中挥发性和半挥发性有机化合物的常用技术。本研究利用色谱解卷积结合基于保留指数 (RI) 的筛选，证明了 GC/MSD 对橡胶垫溶剂浸提物中适用于 GC 分析的化合物的鉴定能力。在 E&L 工作流程中添加高分辨率精确质量 GC/Q-TOF，可以鉴定出更多化学物质。它还提升了化合物鉴定的可信度，并能对未知化合物进行结构解析。

本研究在网络化工作站配置中进行，使用 Agilent OpenLab 电子内容管理系统 (ECM) XT 作为数据存储库。此配置启用的工具可确保符合各个国家/地区及欧盟电子记录法规的要求，包括审计追踪、用户身份验证、基于角色的权限控制和远程数据存储<sup>[5]</sup>。

## 实验部分

### 样品前处理

在室温下使用四氢呋喃 (THF) 溶剂对橡胶注射器垫片浸提六个月。使用 GC/MSD 和 GC/Q-TOF 系统分析浸提物与溶剂空白。

### 数据采集

使用 Agilent 5977C GC/MSD 和 Agilent 7250 GC/Q-TOF 系统在电子电离 (EI) 模式下进行 GC/MS 分析。同时使用低能量 EI 模式下的 GC/Q-TOF 来鉴定未知的分子离子。

进样条件针对各种 E&L 化合物的沸点进行了优化。使用脉冲不分流进样模式并将分流出口吹扫流量延迟 1-2 分钟，尽可能提高低沸点和高沸点化合物的响应 (图 1)。

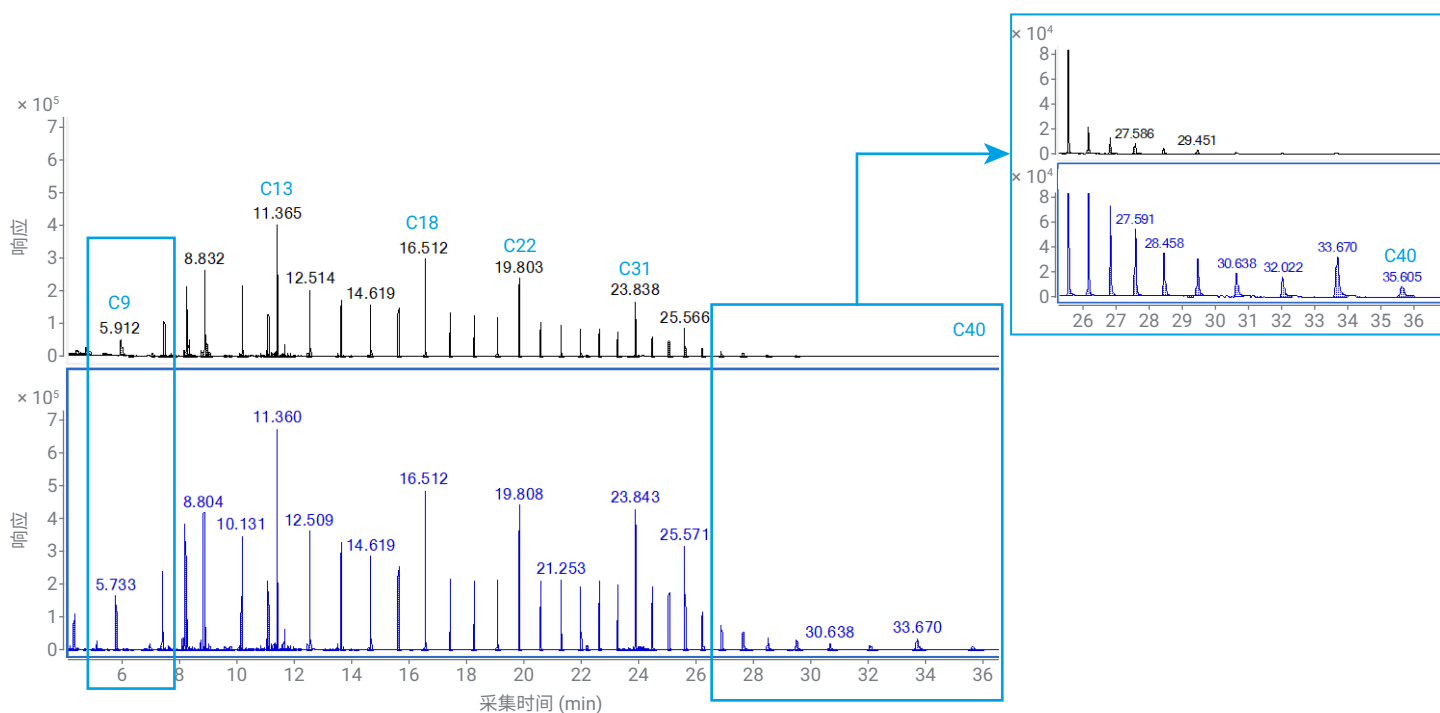


图 1. 在起始条件 (上图) 和优化条件 (下图) 下分析的 C5-C40 正构烷烃标准品的 EIC ( $m/z$  57)

研究中首先评估了 30 m × 0.25 mm, 0.25 μm 和 20 m × 0.18 mm, 0.18 μm Agilent J&W DB-5ms 超高惰性色谱柱对复杂 E&L 浸提物的色谱分离能力, 以及针对每种色谱柱尺寸优化载气流量后的灵敏度。20 m 色谱柱对痕量化合物的峰形更尖锐且灵敏度更高, 而 30 m 色谱柱的分离效果更好, 能够可靠地鉴定出更多组分, 因此选择 30 m 色谱柱。

所有数据都在全谱采集模式下采集, 使用 Agilent J&W DB-5Q 非极性低流失色谱柱和 DB-5ms 超高惰性气相色谱柱。采集软件使用 OpenLab ECM XT 在统一的合规环境下运行。典型数据采集参数见表 1。

表 1. 数据采集参数

参数	值
MS	Agilent 7250 GC/Q-TOF; Agilent 5977C GC/MSD
GC	Agilent 8890 GC
色谱柱	Agilent J&W DB-5Q, 30 m × 0.25 mm, 0.25 μm (部件号 122-5532Q)
进样口	多模式进样口, 4 mm 超高惰性进样口衬管, 单锥, 带玻璃毛
进样量	1 μL
进样模式	脉冲不分流进样 (1 min 吹扫, 40 psi 脉冲 1.1 min)
进样口升温程序	65 °C 保持 0.01 min, 然后以 300 °C/min 升至 280 °C
柱温箱升温程序	45 °C (保持 2 min); 以 12 °C/min 升至 325 °C, 保持 11 min
载气	氦气
色谱柱流速	1 mL/min 恒流模式
传输线温度	325 °C
四极杆温度	150 °C
离子源温度	200 °C (Q-TOF)/300 °C (MSD)
电子能量	70 eV (标准 EI MSD, Q-TOF); 15、12 和 10 eV (低能量 EI, Q-TOF)
发射电流	5 μA (标准 EI, Q-TOF); 0.3 μA (低能量 EI, Q-TOF), 35 μA MSD
谱图采集速率	5 Hz (Q-TOF), 2 Hz (MSD)
质量数范围	<i>m/z</i> 50–1000 (Q-TOF), 45–450 (MSD)

## 数据处理

采用 Agilent MassHunter 未知物分析软件 12.1 更新版 2 进行色谱解卷积和谱库搜索。使用 NIST23 谱库进行初步化合物鉴定。使用安捷伦分子结构关联 (MSC) 软件 8.2 进行结构解析。

使用保留时间 (RT) 锁定来确保 GC/MSD 和 GC/Q-TOF 系统之间的 RTs 保持一致, 该功能还可实现 RI 和 RT 匹配。

## 结果与讨论

### 全新安捷伦低流失 DB-5Q 色谱柱在 E&L 应用中的优势

本研究对全新 Agilent DB-5Q 色谱柱的 β 版本进行了 E&L 研究的适用性评估。包括邻苯二甲酸酯、抗氧化剂、UV 吸收剂和稳定剂在内的许多目标化合物都具有高沸点。因此, 这些化合物的检测更容易受到柱流失的干扰, 这在高柱温箱温度下更为明显。研究中比较了两组不同的 DB-5Q 和 DB-5ms UI 色谱柱, 与 DB-5ms UI 相比, DB-5Q 色谱柱在高柱温箱温度下的色谱柱流失明显较低。一则代表性实例如图 2A 所示。使用 0.3 μA 的发射电流在 GC/Q-TOF 上采集数据, 得到了相似的全氟三丁胺 (PFTBA) 丰度。将柱温箱温度保持在 325 °C, 同时记录 PFTBA 和背景谱图。

为便于比较, 还在两根色谱柱上分析了一些高沸点化合物, 如抗氧化剂和 UV 吸收剂。从 UV 吸收剂的 TIC (图 2B) 和抗氧化剂 Irgafos 168 的谱图 (提取时未经背景扣除) (图 2C) 可以明显看出, 在这些条件下 DB-5Q 色谱柱产生的柱流失背景较低。

E&L 浸提物通常含有比例相当大的水; 因此, 在进样 130 次含有各种溶剂 (包括乙醇:水 (1:1) 和 THF) 的 E&L 浸提物之前和之后, 分别测试了 DB-5Q 色谱柱的性能。在 130 次浸提物进样之前和之后, 分别将 1 pg 八氟萘 (OFN) 进样至色谱柱。进样含水浸提物后, 峰形、响应和谱图完整性均得以保持 (图 3)。

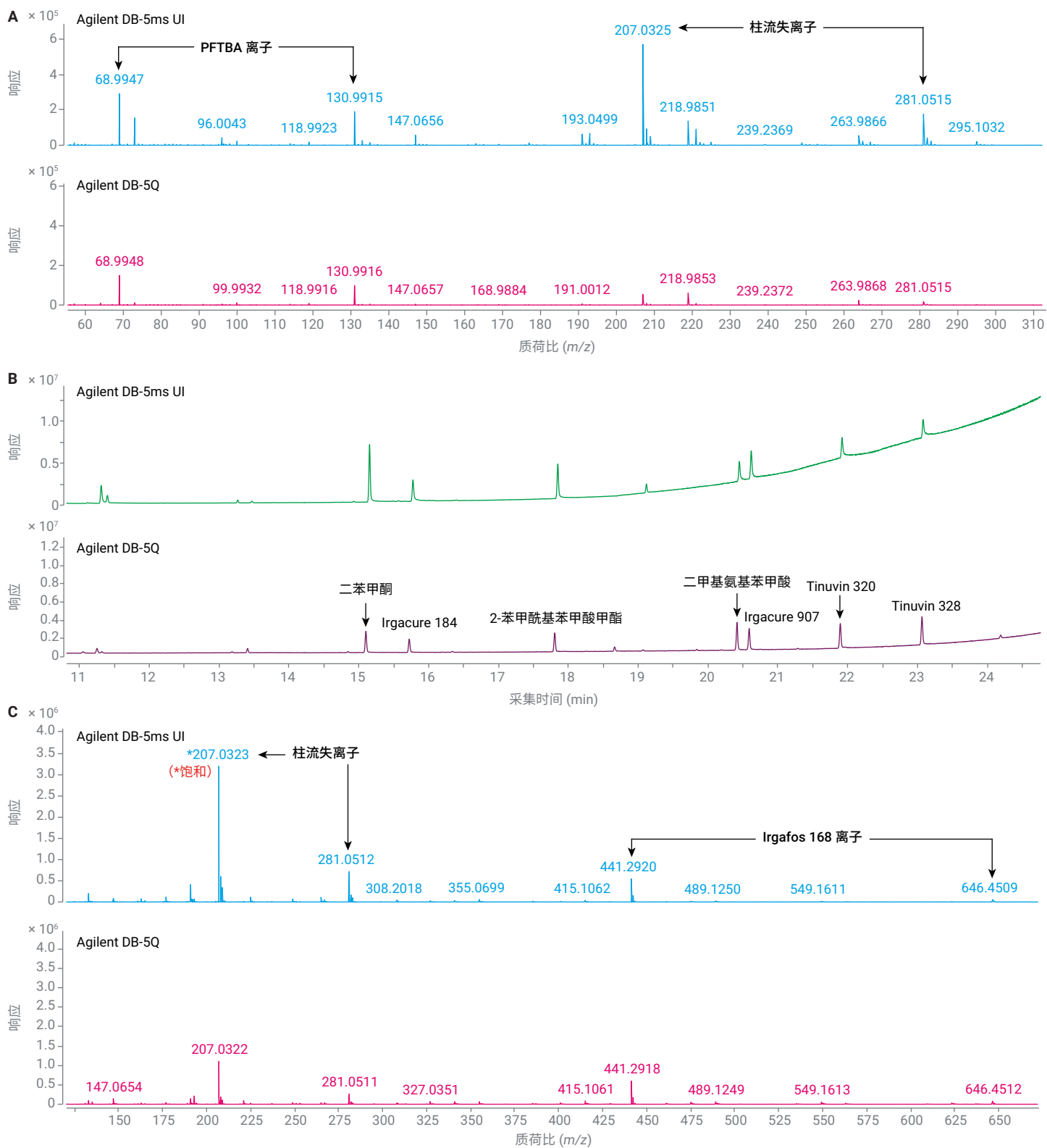


图 2. GC/Q-TOF 上的 Agilent DB-5ms 和 DB-5Q 柱流失结果对比。(A) 在柱温箱温度 325 °C 和发射电流 0.3  $\mu$ A 下采集的背景和 PFTBA 谱图。(B) UV 吸收剂的特异性离子色谱 (TIC)。(C) 未经背景扣除的抗氧化剂 Irgafos 168 的原始谱图 (高沸点化合物, RI 为 3398, RT 为 27.6 min)

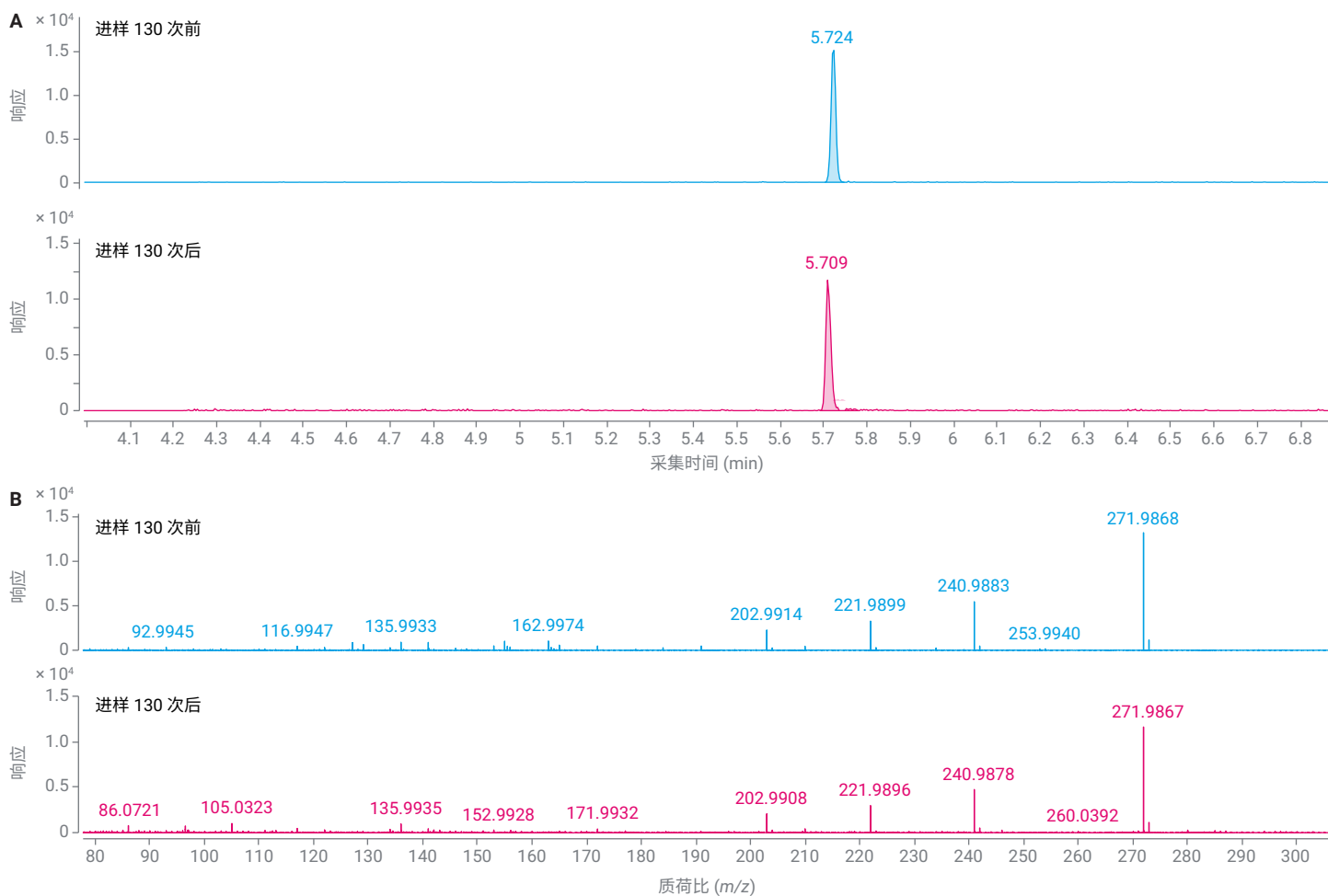


图 3. (A) OFN  $m/z$  271.9867  $\pm$  20 ppm 的 EIC 和 (B) OFN 质谱图。在 130 次浸提物进样之前和之后，分别将 1 pg OFN 进样至 Agilent DB-5Q 色谱柱。所有进样均在不分流模式下进行



## 使用 GC/MSD 和 GC/Q-TOF 鉴定橡胶垫浸提物中的半挥发性化合物

通过在 NIST23 谱库中搜索解卷积谱图并根据 RIs 对结果进行筛选, 使用 GC/MSD 在样品中初步鉴定出了 100 多种化合物。图 5 展示的示例, 是存在具有高谱库匹配得分 (LMS) 和良好 RI 匹配的共洗脱组分时, 鉴定出的二十烷基乙酸酯化合物。

为利用精确质量、全谱采集模式下的高灵敏度以及有利于鉴定未知物的 MS/MS 功能, 研究中还使用 GC/Q-TOF 分析了相同的橡胶垫浸提物。GC/MSD 和 GC/Q-TOF 共同鉴定出的化合物超过 80 种, 其中一些列于表 2 中。

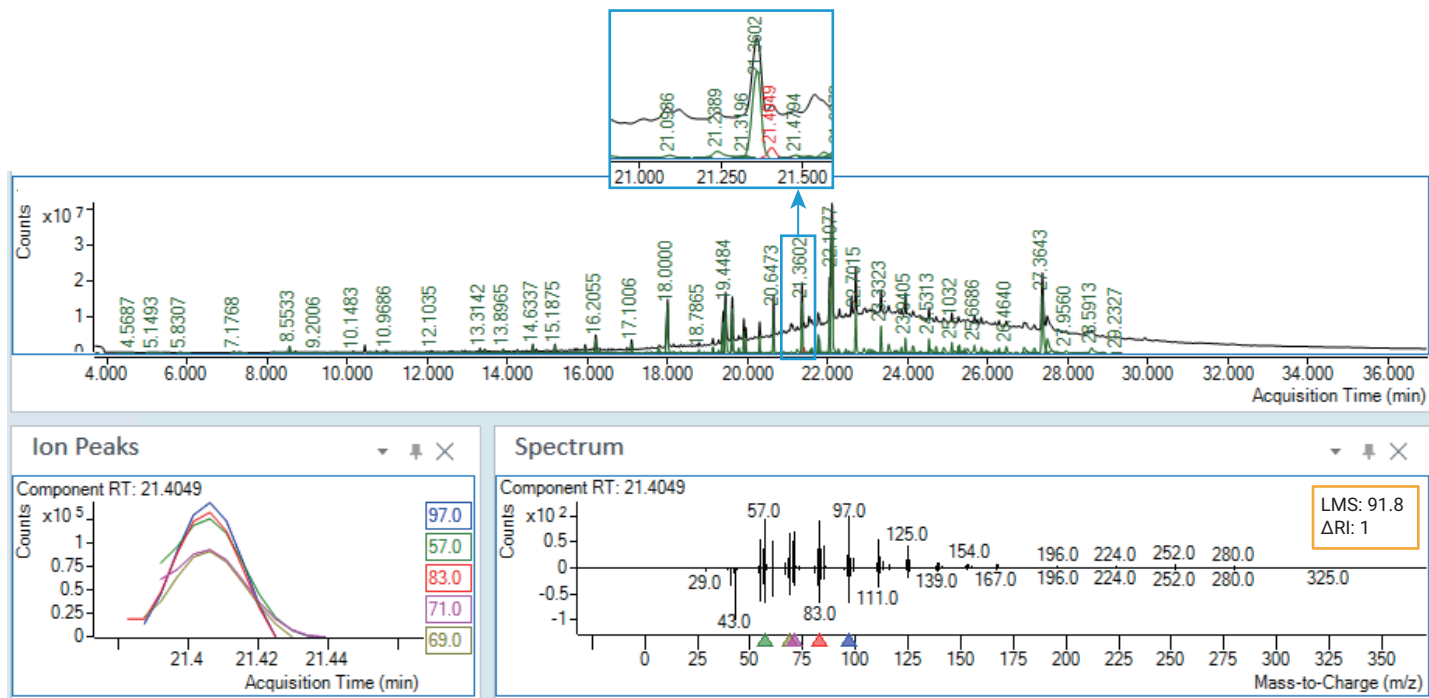


图 5. 橡胶垫样品的 TIC 和二十烷基乙酸酯的解卷积谱图, LMS 为 91.8,  $\Delta$ RI 为 1

表 2. 使用 GC/MSD 和 GC/Q-TOF 共同鉴定出的常见化合物, 谱库匹配因子截止值为 70

保留时间	化合物名称	分子式	CAS 号	保留时间	化合物名称	分子式	CAS 号
4.48	丁酸	C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	107-92-6	15.56	水杨酸己酯	C <sub>13</sub> H <sub>18</sub> O <sub>3</sub>	6259-76-3
5.11	二丙基乙缩醛	C <sub>8</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	105-82-8	15.62	3-十五烷酮	C <sub>15</sub> H <sub>30</sub> O	18787-66-1
5.68	N-乙酰乙酰胺	C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> NO	625-50-3	15.74	4-(1,1-二甲基庚基)苯酚	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	30784-30-6
5.75	戊酸	C <sub>5</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>	109-52-4	15.82	4-(7-甲基辛基)苯酚	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	24518-48-7
7.13	己酸	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	142-62-1	15.93	1-苯基-1,3,3-三甲基苄满	C <sub>18</sub> H <sub>20</sub>	3910-35-8
7.15	甘油	C <sub>3</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	56-81-5	16.20	十四酸	C <sub>14</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>	544-63-8
7.22	苯酚	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O	108-95-2	16.30	3,5-二叔丁基-4-羟基苯甲醛	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub>	1620-98-0
8.04	2-乙酰基-5-甲基咪喃	C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	1193-79-9	16.67	2,6,10,14-四甲基十六烷 (植烷)	C <sub>20</sub> H <sub>42</sub>	638-36-8
8.44	庚酸	C <sub>7</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>	111-14-8	16.74	3,5-二叔丁基-4-羟基苯乙酮	C <sub>16</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub>	14035-33-7
8.53	异戊醛二丙基缩醛	C <sub>11</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub>	1000431-60-3	16.81	肉豆蔻酸异丙酯	C <sub>17</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	110-27-0
8.54	苯乙酮	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O	98-86-2	16.98	2,4-二苯基-4-甲基-2(E)-戊烯	C <sub>18</sub> H <sub>20</sub>	22768-22-5
8.55	对甲酚	C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> O	106-44-5	17.59	7,9-二叔丁基-1-氧杂螺(4,5)癸-6,9-二烯-2,8-二酮	C <sub>17</sub> H <sub>24</sub> O <sub>3</sub>	82304-66-3
8.60	对甲基苯甲醛	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O	104-87-0	17.60	金合欢基丙酮	C <sub>18</sub> H <sub>30</sub> O	1117-52-8
8.79	(1-甲氧基丙基)苯	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O	59588-12-4	17.98	邻苯二甲酸二丁酯	C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub>	84-74-2
9.23	三丙酮胺	C <sub>9</sub> H <sub>17</sub> NO	826-36-8	17.99	正十六酸	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	57-10-3
9.63	苯甲酸	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	65-85-0	18.34	18-降松香-8,11,13-三烯	C <sub>19</sub> H <sub>28</sub>	1000197-14-1
9.72	辛酸	C <sub>8</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>	124-07-2	18.71	N,N-二甲基十四烷酰胺	C <sub>16</sub> H <sub>33</sub> NO	3015-65-4
10.95	壬酸	C <sub>9</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	112-05-0	19.38	亚油酸	C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	60-33-3
11.69	2,3-二氢-1H-咪唑-1-酮	C <sub>7</sub> H <sub>7</sub> NO	17266-64-7	19.60	十八酸	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	57-11-4
12.74	二苯醚	C <sub>12</sub> H <sub>10</sub> O	101-84-8	19.80	n-十五烷基环己烷	C <sub>21</sub> H <sub>42</sub>	6006-95-7
12.85	正叔丁基苯乙醚	C <sub>12</sub> H <sub>18</sub> O	17269-94-2	20.31	N,N-二甲基十六烷酰胺	C <sub>18</sub> H <sub>37</sub> NO	3886-91-7
12.93	长叶烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	475-20-7	21.40	二十烷基乙酸酯	C <sub>22</sub> H <sub>44</sub> O <sub>2</sub>	822-24-2
13.18	邻苯二甲酸二甲酯	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>	131-11-3	21.46	抗氧化剂 2246	C <sub>23</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	119-47-1
13.41	3-苯丙酸乙酯	C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	103-36-6	21.56	N,N-二甲基亚油酰胺	C <sub>20</sub> H <sub>37</sub> NO	2501-33-9
13.42	1-十二醇	C <sub>12</sub> H <sub>26</sub> O	112-53-8	21.60	N,N-二甲基油酰胺	C <sub>20</sub> H <sub>39</sub> NO	2664-42-8
13.76	2,4-二叔丁基苯酚	C <sub>14</sub> H <sub>22</sub> O	96-76-4	21.74	脱氢松香酸	C <sub>20</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>	1740-19-8
13.78	丁羟甲苯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	128-37-0	22.09	抗氧化剂 425	C <sub>25</sub> H <sub>38</sub> O <sub>2</sub>	88-24-4
14.38	3-苯基癸烷	C <sub>16</sub> H <sub>26</sub>	4621-36-7	23.02	角鲨烷	C <sub>30</sub> H <sub>62</sub>	111-01-3
14.54	水杨酸戊酯	C <sub>12</sub> H <sub>16</sub> O <sub>3</sub>	2050-08-0	23.83	(Z)-13-芥酰胺	C <sub>22</sub> H <sub>43</sub> NO	112-84-5
14.63	邻苯二甲酸二乙酯	C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub>	84-66-2	26.81	菠菜甾醇	C <sub>29</sub> H <sub>48</sub> O	481-17-4
14.79	4-叔辛基苯酚	C <sub>14</sub> H <sub>22</sub> O	140-66-9	27.37	(24Z)-燕麦甾醇	C <sub>29</sub> H <sub>48</sub> O	481-14-1
15.12	磷酸三丁酯	C <sub>12</sub> H <sub>27</sub> O <sub>4</sub> P	126-73-8				
15.39	(1-乙基壬基)苯	C <sub>17</sub> H <sub>28</sub>	4536-87-2				



为获得更高的 E&L 化合物鉴定可信度，在 MassHunter 未知物分析软件的 ExactMass 工具的帮助下，使用精确质量信息来确认或拒绝化合物 ID。如果可能，ExactMass 工具会自动为碎片离子分配分子式，该分子式是最匹配的谱库匹配结果的分子式的一部分。当多数特定碎片在较小的质量误差内与化合物分子式不匹配时，该谱库匹配结果可被视为假阳性。图 6 提供了两个这样的示例。

由于与 GC/MSD 相比，GC/Q-TOF 在全谱采集模式下具有更高的灵敏度以及更高的数据采集速率，因此 GC/Q-TOF 可以鉴定出一些额外的化合物（表 3），这些化合物包括橡胶制造中使用的催化剂、溶剂、硫化加速剂、增塑剂、抗氧化剂和 UV 稳定剂。使用精确质量和 RI 信息来确认化合物鉴定结果。

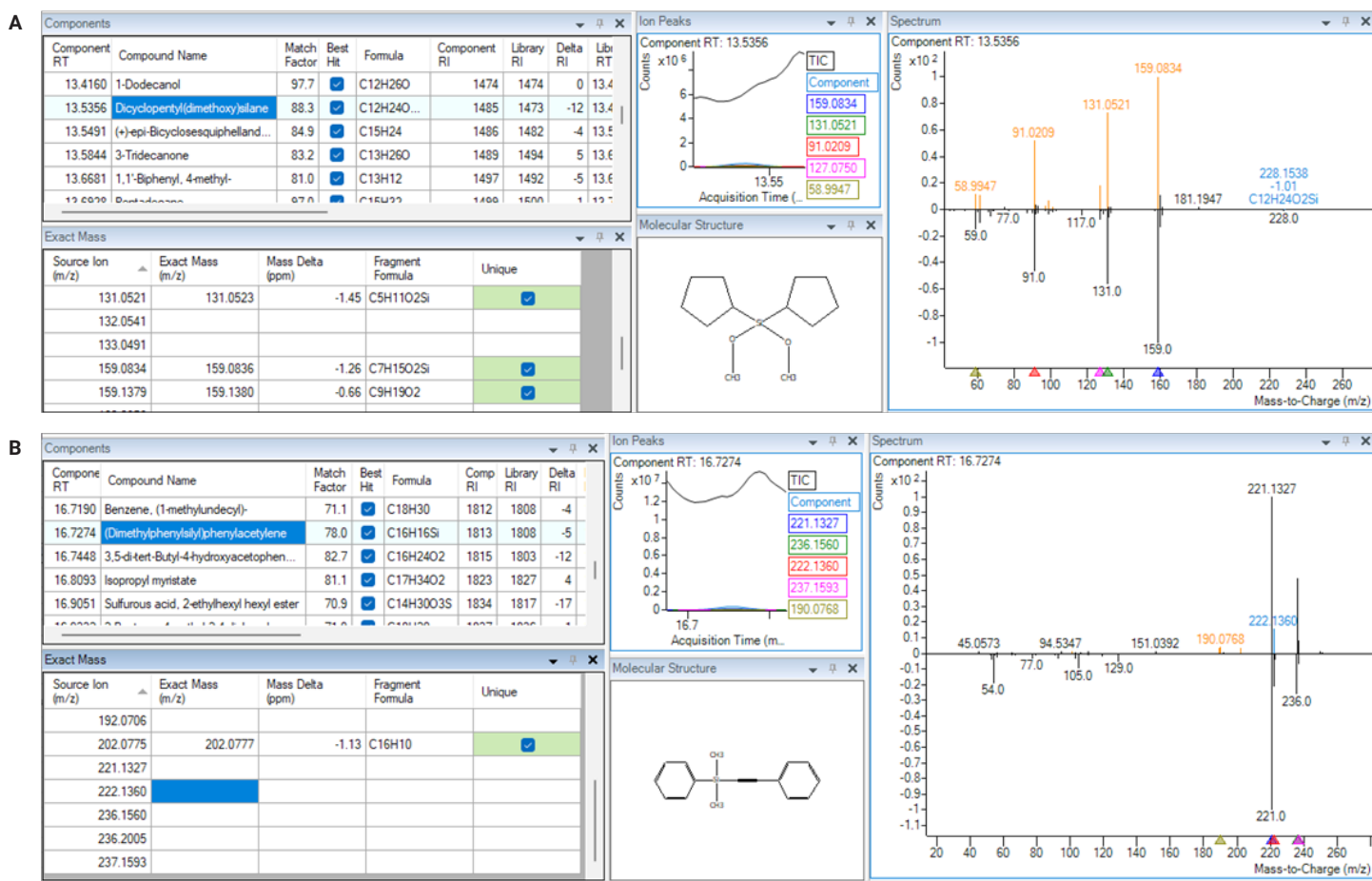


图 6. 使用精确质量来确认化合物 ID。碎片分子式是根据精确质量和谱库匹配的分子式分配的。然后计算每个主要碎片离子的质量误差，并将其显示在 ExactMass 表中。(A) 仅通过 GC/Q-TOF 鉴定出的确认化合物。(B) 根据精确质量数处理 GC/Q-TOF 数据时确定的假阳性。然而，根据谱库匹配得分较高 (89) 的 GC/MSD 单位质量数据，相同的化合物 ID 却被错误地分配给了该谱图

表 3. 仅通过 GC/Q-TOF 鉴定出的化合物

保留时间	化合物名称	匹配因子	分子式	$\Delta$ RI	CAS 号
4.17	甲基异丁基甲酮	92.8	C <sub>8</sub> H <sub>12</sub> O	-29.7	108-10-1
4.61	乙酰丙酮	87.7	C <sub>5</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	-19.7	123-54-6
4.63	二甲基甲酰胺	99.1	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> NO	-21.2	68-12-2
4.86	己醛	96.7	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O	-18.9	66-25-1
5.03	糠醛	80.0	C <sub>5</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	1.1	98-01-1
5.80	邻二甲苯	96.5	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub>	3.3	95-47-6
5.93	2,6-卢剔啶 (2,6-二甲基吡啶)	82.0	C <sub>7</sub> H <sub>9</sub> N	-14.1	108-48-5
6.02	2-庚酮	94.6	C <sub>7</sub> H <sub>14</sub> O	-9.3	110-43-0
6.21	庚醛	94.6	C <sub>7</sub> H <sub>14</sub> O	-11.7	111-71-7
6.66	3-庚烯-2-酮	79.6	C <sub>7</sub> H <sub>12</sub> O	-6.2	1119-44-4
6.91	2,2,6,6-四甲基哌啶	91.0	C <sub>9</sub> H <sub>19</sub> N	-19.8	768-66-1
7.10	苯甲醛	90.9	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O	-10.8	100-52-7
7.36	$\alpha$ -甲基苯乙烯	95.6	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub>	-4.2	98-83-9
7.63	辛醛	89.1	C <sub>8</sub> H <sub>16</sub> O	-5.5	124-13-0
7.96	2-乙基己醇	92.6	C <sub>8</sub> H <sub>18</sub> O	-1.7	104-76-7
8.11	N-甲基- $\alpha$ -吡咯烷酮	84.7	C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> NO	1.4	872-50-4
8.16	2-(2-羟基丙氧基)-1-丙醇	82.7	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub>	0.1	106-62-7
9.01	壬醛	96.3	C <sub>9</sub> H <sub>18</sub> O	-3.0	124-19-6
10.08	2,4-二甲基苯硫酚	89.1	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> S	19.0	13616-82-5
10.29	1,3-二溴苯	91.2	C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> Br <sub>2</sub>	14.1	108-36-1
10.70	苯并噻唑	92.2	C <sub>7</sub> H <sub>5</sub> NS	-9.3	95-16-9
11.44	3-叔丁基苯酚	72.0	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O	-2.2	585-34-2
12.35	3-羟基-2,2,4-三甲基戊基-2-甲基丙酸酯**	73.2	C <sub>12</sub> H <sub>24</sub> O <sub>3</sub>	-3.7	77-68-9
12.57	4-叔戊基苯酚	74.3	C <sub>11</sub> H <sub>16</sub> O	3.2	80-46-6
13.27	BHT-对苯二酚	84.6	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub>	14.2	10396-80-2
13.54	二环戊基二甲氧基硅烷	88.3	C <sub>12</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub> Si	-11.9	126990-35-0
13.58	3-十三酮	83.2	C <sub>13</sub> H <sub>26</sub> O	4.6	1534-26-5
13.98	对乙氧基苯甲酸乙酯	82.8	C <sub>11</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub>	-5.7	23676-09-7
14.77	2-苯基癸烷	88.2	C <sub>16</sub> H <sub>26</sub>	10.0	4537-13-7
15.06	(1-丁基庚基)苯	83.8	C <sub>17</sub> H <sub>28</sub>	-4.1	4537-15-9
15.08	非草隆	73.1	C <sub>9</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O	-5.2	101-42-8
15.15	二苯甲酮	93.4	C <sub>13</sub> H <sub>10</sub> O	-10.0	119-61-9
15.55	2,4-二叔丁基-6-硝基苯酚	78.7	C <sub>14</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>3</sub>	1.7	20039-94-5
15.89	4-(1,1-二甲基庚基)苯酚	83.2	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	-25.9	30784-30-6
16.69	蒽	86.4	C <sub>14</sub> H <sub>10</sub>	-23.5	120-12-7
17.17	邻苯二甲酸二异丁酯	88.5	C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub>	5.0	84-69-5
17.70	十六酸甲酯	74.6	C <sub>17</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	1.3	112-39-0
19.01	对甲苯二硫醚	73.8	C <sub>14</sub> H <sub>14</sub> S <sub>2</sub>	3.4	103-19-5
21.05	脱氢松香酸甲酯	79.9	C <sub>21</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	-17.2	1235-74-1
22.26	邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯 (DEHP)	69.6	C <sub>24</sub> H <sub>38</sub> O <sub>4</sub>	0.0	1000377-93-5
25.72	Tinuvin 770	87.1	C <sub>28</sub> H <sub>52</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	130.4*	52829-07-9

\* 仅提供预测 RI

\*\* texanol 的成分

## 橡胶垫浸提物中未知化合物的鉴定

选择几种未知物进行进一步鉴定。未知化合物的典型结构解析工作流程需要首先鉴定分子离子。使用标准 EI 时，这个步骤很有挑战性，因为 EI 中的分子离子丰度很少被保留。低能量 EI (LE-EI) 是一类软电离模式，有助于增加分子离子的相对丰度，从而实现初步鉴定。该技术由 7250 GC/Q-TOF 的 LE-EI 离子源实现，是对化学电离 (CI) 的补充。这项技术不需要反应气或更换离子源，并使用与标准 EI 相同的调谐文件。根据 LE-EI 结果提出未知化合物的分子离子，列于表 4 中。

表 4. LE-EI 实验中初步鉴定的未知物的分子离子化学式

RT (min)	分子离子的初步 $m/z$	分子式
5.59	98.0362	$C_5H_6O_2$
6.37	142.0988	$C_8H_{14}O_2$
7.82	155.1067	$C_9H_{15}O_2$
8.44	143.1067	$C_8H_{15}O_2$
10.72	154.0988	$C_9H_{14}O_2$
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	$C_{16}H_{26}O_2$

图 7 展示了 LE-EI 如何用于鉴定或确认分子离子的示例，图中显示较低电子能量下初步分子离子的相对丰度逐渐增加。

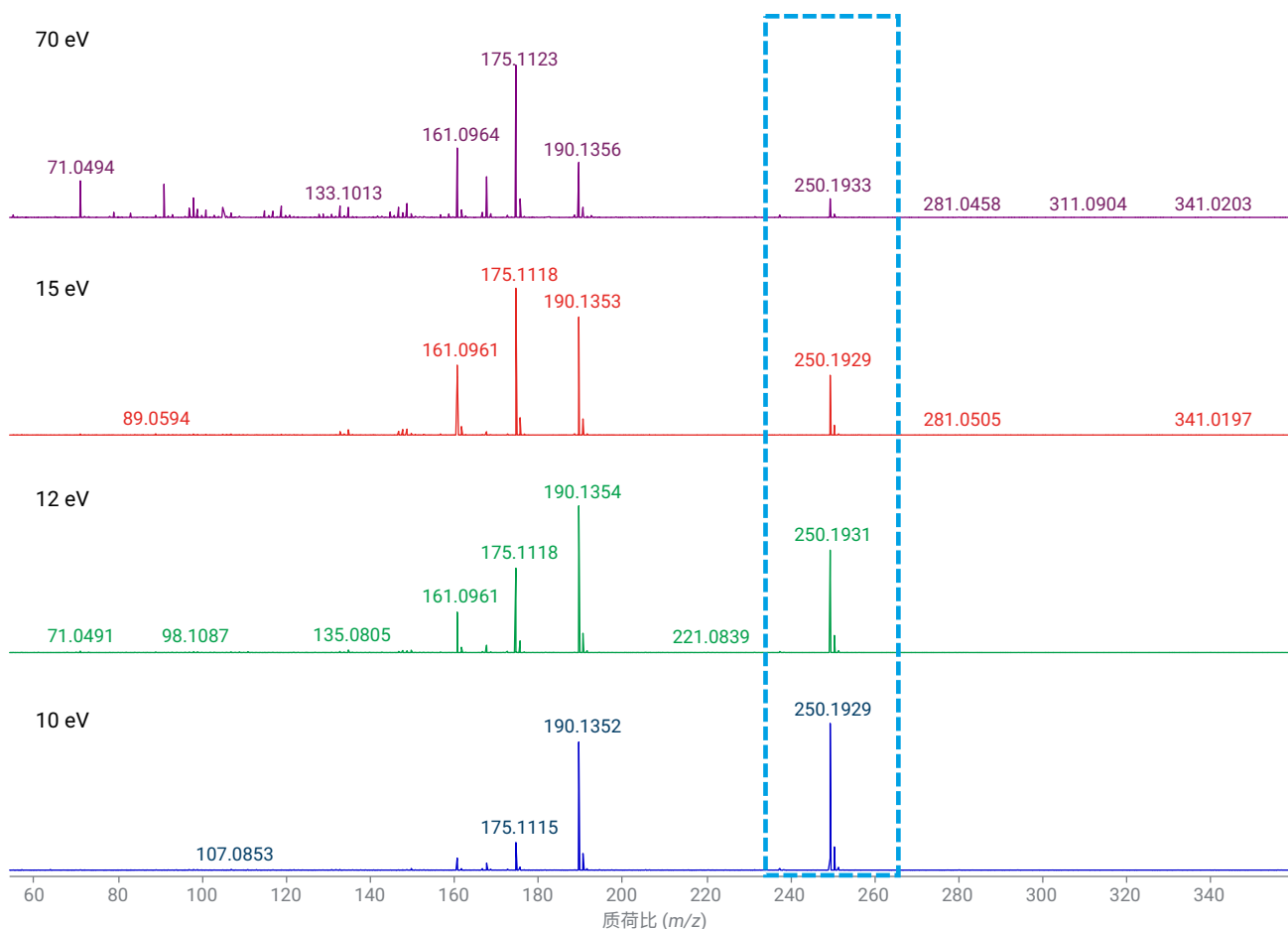


图 7. 使用 LE-EI 鉴定或确认分子离子的示例。电子能量越低，分子离子的相对丰度越高。矩形框出了初步的分子离子

使用 LE-EI 将初步分子离子作为母离子进行了 MS/MS 分析 (图 8), 以进一步进行结构解析。靶向 MS/MS 是通过交替 MS/MS 和全谱采集模式来执行的。将母离子的准确  $m/z$  输入采集软件中, 以便在下游数据处理中正确识别分子离子的  $m/z$ 。针对每种化合物优化了碰撞能量 (CE), 以实现理想碎裂, 并尽可能保留谱图中大量的高范围和中等范围  $m/z$  离子。

结构解析在 MSC 软件中进行。根据相同 RT 下与母离子  $m/z$  匹配的全谱数据中的精确质量离子, 自动分配分子式。从 ChemSpider 数据库中提取每个初步分子式的所有可能结构, 并根据碎裂模式进行评估。图 9 显示的是其中一个未知物的推测结构, 该结构可能对应于抗氧化剂的一个降解产物。

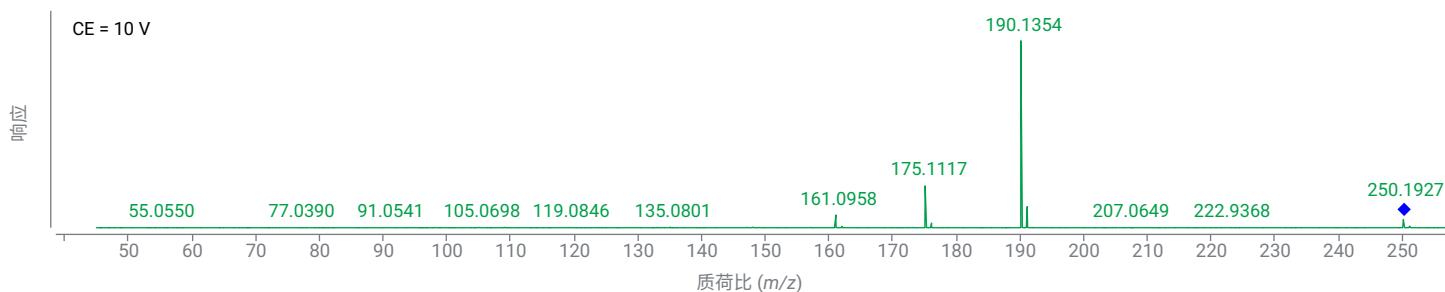


图 8. 一种未知物的 MS/MS 谱图, 使用初步的分子离子作为前体

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: C16H26O2: 535935

Scores: MFG=95.8 MSC=84.4 Overall=80.8

ChemSpider: 535935

Structure #37: C16H26O2: 55978362

Scores: MFG=95.8 MSC=86.3 Overall=82.6

ChemSpider: 55978362

Structure #38: C16H26O2: 28556942

Scores: MFG=95.8 MSC=84.8 Overall=81.2

ChemSpider: 28556942

Structure #39: C12H18O-3H

Penalty=4.5 dM=-0.9ppm F.D.S.=99.9 Score=92.7

Structure #40: C12H20O-5H

Penalty=6.5 dM=-0.9ppm F.D.S.=99.9 Score=85.4

Structure #41: C12H20O-5H

Penalty=6.5 dM=-0.9ppm F.D.S.=99.9 Score=85.4

图 9. 使用 MSC 对橡胶垫浸提物中的一种未知化合物拟定的结构

## 结论

GC/MSD 是一种有效且易于使用的工具，用于分析复杂 E&L 浸提物中的挥发性和半挥发性化合物。已建立的工作流程包括解卷积和基于 RI 的谱库搜索，并在合规环境中执行数据采集。

高分辨率 Agilent 7250 GC/Q-TOF 能以更高可信度鉴定其他组分，并对未知化合物进行结构解析。

此外，使用新型超低流失 Agilent J&W DB-5Q 气相色谱柱可显著降低背景，有助于鉴定后洗脱化合物。

## 参考文献

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 Enteral Nutr.* **2016**, 41(6), 1037–1044. DOI: 10.1177/0148607116633801.
5. 支持 21 CFR Part 11 和附录 11 的合规要求：Agilent OpenLab 服务器和 OpenLab ECM XT，安捷伦科技公司白皮书，出版号 5994-7586ZHCN，**2024**
6. 柱流失对 GC/MS 数据有何影响以及如何控制柱流失？安捷伦科技公司技术概述，出版号 5994-3228ZHCN，**2024**

查找当地的安捷伦客户中心：

[www.agilent.com/chem/contactus-cn](http://www.agilent.com/chem/contactus-cn)

免费专线：

800-820-3278，400-820-3278（手机用户）

联系我们：

[LSCA-China\\_800@agilent.com](mailto:LSCA-China_800@agilent.com)

在线询价：

[www.agilent.com/chem/erfq-cn](http://www.agilent.com/chem/erfq-cn)

[www.agilent.com](http://www.agilent.com)

DE-000968

本文中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2024  
2024 年 9 月 10 日，中国出版  
5994-7777ZHCN