

使用气相色谱和高分辨率质谱结合软电离技术分析喷鼻剂装置的萃取物

Rachel Sanig, Sarah Dowd, Jayne Kirk

Waters Corporation

摘要

出于对塑料组件安全性的考虑，筛选并鉴定药品包装和医疗器械中的潜在萃取物和可浸出物(E&L)至关重要。对于挥发性和半挥发性化合物，通常使用气质联用(GC-MS)结合电子轰击电离(EI)技术进行分析，并使用科学库确定化合物。但使用这种方法时，如果库中没有相应的化合物，或者EI-MS的灵敏度不足，鉴定过程会变得棘手。

本文介绍了一种通过大气压气相色谱(APGC)进行软电离，使用气相色谱和四极杆飞行时间高分辨率质谱仪(QToF-HRMS)的E&L筛查实验。该方法使用数据非依赖型采集(DIA)策略，采用同一套筛查软件解决方案完成了筛查和解析。

优势

- 使用APGC的GC-QToF MS作为LC-QToF-MS的正交技术，可实现化合物全面覆盖，并且与典型的EI技术相比具有更高的灵敏度
- waters_connect™平台上的UNIFI™应用程序提供自定义工作流程，可简化复杂数据集的筛查和结构表征工作
- Xevo™ G3 QToF质谱仪采用了新型离子光学元件和检测系统，可大幅提升传输效率，让您对复杂基质中E&L组分的鉴定信心十足
- 使用APGC™离子源的软电离技术可以检测分子离子，从中得出元素组成，用于帮助鉴定和确认化合物

- 数据非依赖型采集MS^E可在比对谱库进行筛查时提高鉴定结果的可信度，并提供附加信息来协助结构表征

简介

医疗器械、制药容器密封系统和生产组件含有各种化学物质，包括聚合物、聚合物添加剂、着色剂以及其他化合物。这些化学物质、其杂质和降解产物可能会从材料中迁移出来，成为存在潜在安全风险的物质。因此，为了保证消费者安全，筛查和鉴定潜在的萃取物和可浸出物(E&L)至关重要¹⁻³。

对于非挥发性E&L化合物，液相色谱-QToF-MS (LC-QToF-MS)是最常用的分析平台，而对于挥发性和半挥发性化合物，则通常使用气质联用(GC-MS)结合电子轰击电离(EI)技术进行分析。该技术通常使用科学库（例如NIST质谱库）来确定化合物⁴。传统EI是一个高能过程，几乎在所有情况下都会产生碎片离子，谱图中的分子离子通常很小甚至不存在。而核心挑战在于：未知化合物不在谱库中，或者EI的高能量导致灵敏度不足。

高分辨率质谱(HRMS)结合软电离技术是克服真空源EI局限性的有效手段。大气压气相色谱(APGC)利用一种类似于大气压化学电离的电离技术，通过电晕放电来实现更软的电离。这项电离技术比EI更温和，支持分子离子检测，有助于确认分子式以进行鉴定。APGC可与四极杆飞行时间质谱仪(QToF MS)联用，在MS^E模式下采集数据。这是一种数据非依赖型采集(DIA)策略，可同时采集低碰撞能量和高碰撞能量谱图。借助该技术，可以获得母离子和碎片离子的精确质量数信息并据此进行结构表征，最终辅助化合物鉴定⁵。

本文介绍了一种通过APGC进行软电离，使用气相色谱和四极杆飞行时间高分辨率质谱仪(GC-QToF-HRMS)的E&L筛查实验（图1）。该方法使用数据非依赖型采集(DIA)策略，采用同一套筛查软件工作流程解决方案完成了筛查和解析。

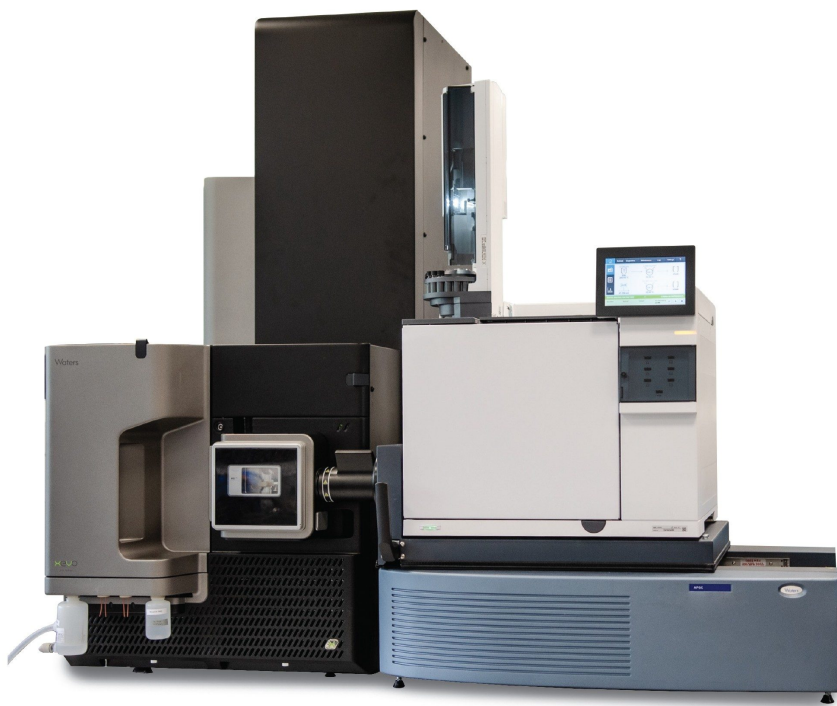


图1.GC与APGC和Xevo G3 QToF质谱仪联用系统

实验

样品描述

本实验购买了三款市售喷鼻剂。使用异丙醇在40 °C下萃取喷鼻剂容器密封系统和空白对照72 h。之前已经使用LC-QToF-MS采集了非挥发性化合物数据⁶。接下来，将MS平台切换到GC设置。将程序空白、萃取样品和E&L系统适应性(SST)混标各重复进样三次。

方法条件

APGC主要通过两种电离机制实现离子化：电荷转移和质子化。仪器在混合模式条件下运行，从而能够同时检测到自由基阳离子和质子化物质⁷。

GC条件

GC系统:	Agilent 8890
自动进样器:	PAL RSI (CTC Analytics)
汽化室模式:	不分流
进样口温度:	300 °C
隔垫吹扫流速:	3 mL/min
色谱柱:	Rtx-5MS, 30 m x 0.25 mm x 0.25 µm (购自RESTEK)
色谱柱流速:	1 mL/min (氦气)
柱温箱梯度:	40 °C (保持5 min) , 以10 °C/min升至330 °C (保持14 min)
GC总运行时间:	27.75 min

MS条件

质谱系统:	Xevo G3 QTof质谱仪
电离模式:	APGC
电晕电流:	2 µA
采样锥孔电压:	5 V
离子源温度:	150 °C

质量范围：	m/z 50~1200
扫描时间：	0.1 s
锥孔气流速：	140 L/h
辅助气体流速：	250 L/h
MSE碰撞能量：	低，6 V 高，15~45 V
GC接口温度：	300 °C

使用MassLynx™软件（版本：4.2）采集数据，并在waters_connect平台（版本：3.1.0.16）的UNIFI应用程序中处理数据。

结果与讨论

之前的研究使用LC-QToF-MS平台采集并报告了萃取样品中非挥发性化合物的数据⁶。本研究使用配备APGC的GC-QToF MS作为正交技术，旨在提高总体化合物覆盖率。与LC数据一样，E&L特定工作流程同样使用UNIFI应用程序进行萃取物数据分析（图2A）。此工作流程可根据用户需求进行自定义设置，有助于简化复杂数据集的分析。本文将介绍系统适应性审查、比对谱库进行筛查以及未知物解析。

系统适应性审查

进样分析E&L SST混标进行系统基准测试（图2）。与之前的产品相比，这款质谱仪的离子光学元件和检测系统均进行了更新，离子传输效率大幅提升⁸。SST混标的分析结果证明，这是一种高灵敏度且可重现的分析方法（保留时间RSD仅0.01%）。

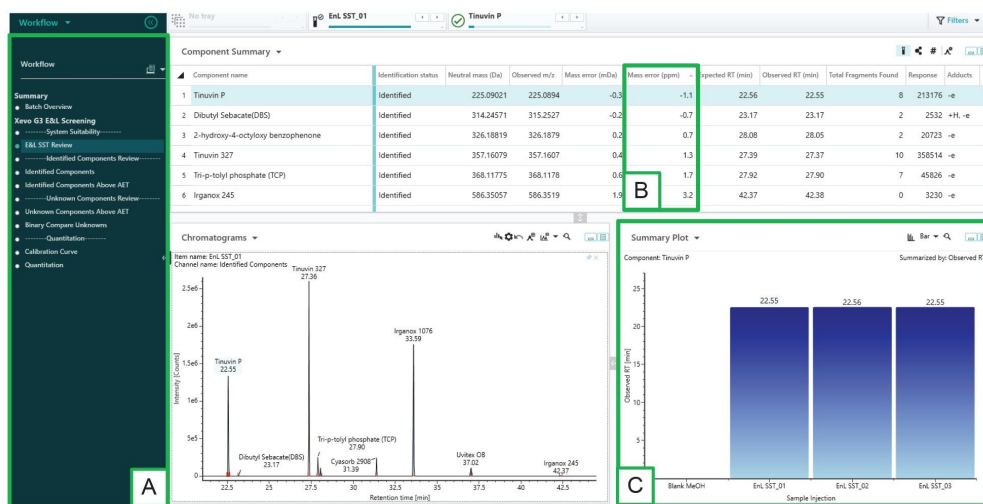


图2.便于进行数据解析的SST结果界面，包括每种分析物的实验结果、所有已鉴定分析物的提取离子流色谱图以及汇总图。[A]可定制的UNIFI工作流程示例。[B]每种分析物的质量精度。[C] Tinuvin P在每次SST进样中的保留时间。

比对E&L谱库进行筛查

通过比对Waters E&L科学库筛查样品⁹（额外添加了几种典型的GC化合物）。在分析中采用了分析评估阈值(AET)水平，筛除了任何低于AET的化合物，从而简化数据解析。AET是一个浓度，低于该浓度则无需对化合物进行鉴定和定量¹⁰。

使用配备APGC的GC-QToF MS作为LC-QToF-MS的正交技术，在萃取的喷鼻剂中鉴定出不同化合物，提高了总体化合物覆盖率⁶。图3显示了在保留时间34.95 min处鉴定出的一种化合物（[-e]，质量误差为2.6 ppm）。使用汇总图可以看到，所鉴定的化合物存在于萃取喷鼻剂样品的特征图中，但不存在于萃取空白样中。

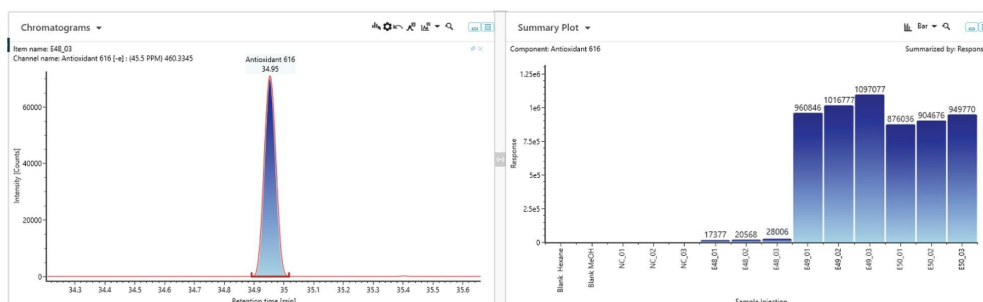


图3.鉴定出的抗氧化剂616的色谱图以及该化合物在每种样品中的响应值。NC为阴性对照（萃取空白样），E48、E49和E50为萃取喷嘴样品三次重复进样。

APGC软电离技术通常可以产生完整分子离子，因此可用于根据精确质量数进行筛查。此外，质谱仪在MS^F模式下运行，此模式下高低碰撞能量会交替出现，因此在整个色谱分析过程中能同时采集母离子和碎片离子⁵。UNIFI应用程序使用理论碎片离子匹配来确保鉴定结果的可信度。图4显示了鉴定出的化合物抗氧化剂616的注释谱图。

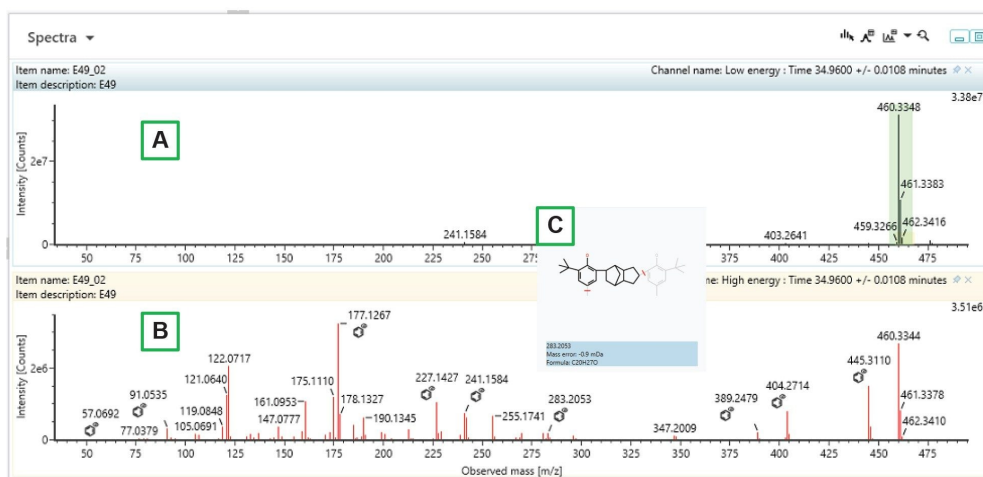


图4.[A]抗氧化剂616的母离子的低能量谱图（C₃₂H₄₄O₂，[-e]，质量误差2.6 ppm）。[B]碎片离子的高能量谱图。[C]选择高能谱图中的符号，可显示相应质量数的预测碎片离子以及与之相关的质量误差。

未知物鉴定

任何高于AET但通过比对数据库筛查无法识别的峰都需要进行解析。UNIFI应用程序的比较功能和解析工具包均可用于查找和表征未知组分。二元比较功能可比较样品与程序空白样，寻找样品中特有的组分或样品中相较于空白样含量升高的组分（图5）。

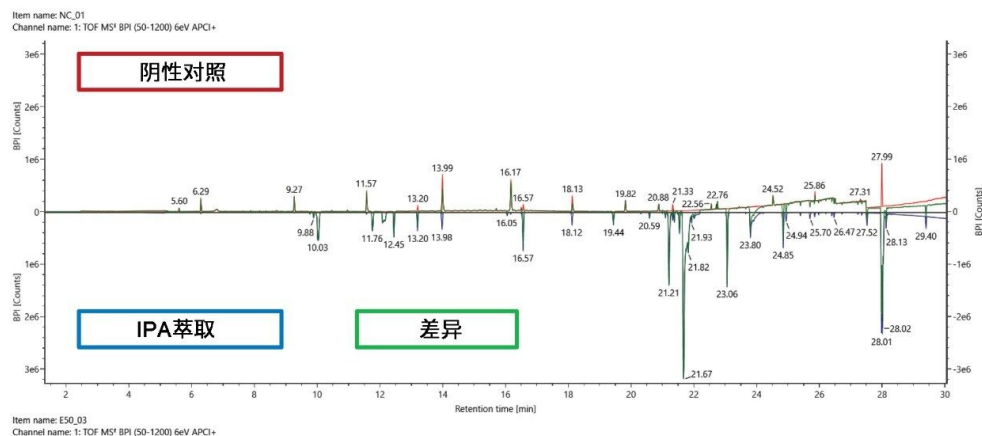


图5.基峰强度色谱图的差异图。红色迹线为阴性对照，蓝色迹线为样品E50，绿色迹线表示差异。

随后，可以使用解析工具包中的Discovery Tool（发现工具）研究高于AET的任何未知物¹¹。由于数据是使用软电离技术在MS^F模式下采集的，因此母离子和碎片离子的精确质量数均可用于解析每种未知物。21.52 min处的化合物(m/z 284.2703)为样品中特有的一种化合物，使用Discovery Tool（发现工具）初步鉴定为N-(2-(1-哌嗪基)乙基)癸酰胺 ([+H]，质量误差2.33 ppm)（图6）。

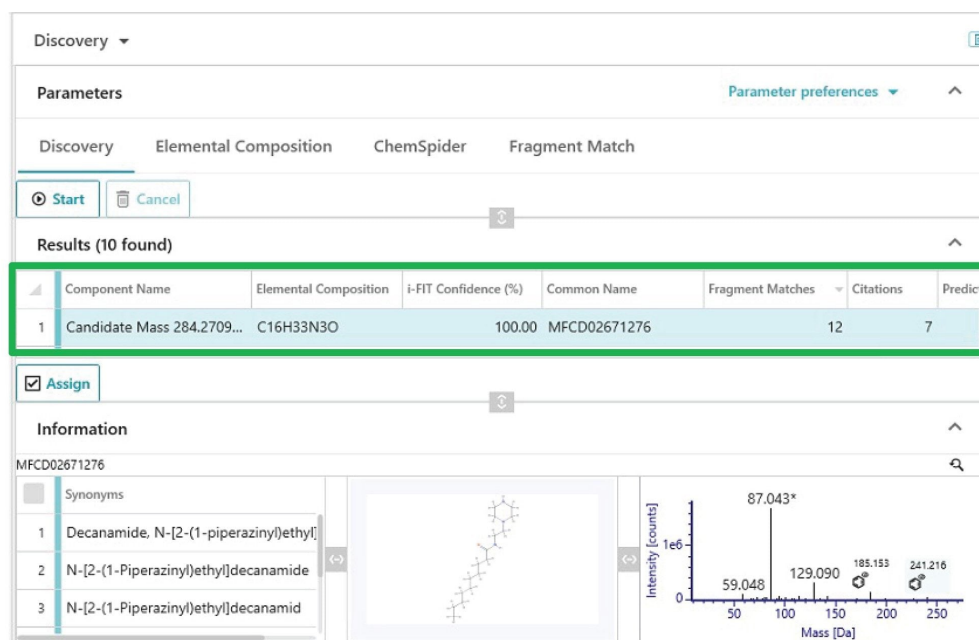


图6.软件将质子化 m/z 284.2703的未知物鉴定为 N -(2-(1-哌嗪基)乙基)癸酰胺（质量误差2.33 ppm）。结果中包含软件预测的这种标志物的元素组成、 i -FIT置信度（使用同位素分布算法给每个化学式打分）、化合物常用名、碎片离子匹配数以及引用数，还显示了这种化合物的别名、结构和高质量谱图。

结论

在进行E&L筛查分析时，使用一系列分析技术来分析不同化学特性的化合物至关重要。使用APGC的GC-QToF MS作为LC-QToF-MS的正交技术，可实现化合物全面覆盖，并且与典型的EI技术相比具有更高的灵敏度。由于APGC是一种软电离技术，因此谱图中通常存在完整的分子离子。该技术与数据非依赖型采集模式 MS^E 相结合，可实现母离子和碎片离子精确质量数信息的全谱图采集。

比对MS/MS谱库进行筛查时，该方法可提高组分鉴定的可信度，同时大幅减少假阳性结果。例如，在LC-QToF-MS中，样品E48在考虑了保留时间匹配、质量精度低于3 ppm以及存在至少一种碎片离子等因素后，仅发现了不足40种潜在化合物匹配。而使用配备APGC的GC-QToF MS，样品E48在考虑了质量精度低于3 ppm以及存在至少一种碎片离子等因素后，还初步鉴定了另外38种化合物匹配。

MS^E采集到的精确质量数和相应碎片离子数据还有助于未知物结构表征，进而辅助全面表征。这些数据可提高组分鉴定的可信度，辅助未知物结构表征，最终辅助全面表征。例如，软件将质子化 m/z 284.2703的未知物初步鉴定为N-(2-(1-哌嗪基)乙基)癸酰胺（质量误差2.33 ppm）。

针对鼻喷剂萃取物分析，waters_connect平台上的UNIFI应用程序提供了以下功能：SST基准测试、比对谱库进行筛查、绘制汇总图以识别趋势、筛选AET浓度、分离相关未知物的二元比较模式、用于解析未知物的Discovery Tool（发现工具）。

参考资料

1. USP-NF/PF, Assessment of Drug Product Leachables Associated with Pharmaceutical Packaging/Delivery Systems.1664. https://doi.usp.org/USPNF/USPNF_M7127_03_01.html <
https://doi.usp.org/USPNF/USPNF_M7127_03_01.html>
2. USP-NF/PF, Assessment of Extractables Associated with Pharmaceutical Packaging/Delivery Systems.1663. https://doi.usp.org/USPNF/PNF_M7126_03_01.html <
https://doi.usp.org/USPNF/PNF_M7126_03_01.html>
3. Norwood D., Paskiet D., Ruberto M., Feinberg T., Schroeder A., Poochikian G., Wang Q., Deng T., Degrazio F., Munos M., Nagao L. Best Practices for Extractables and Leachables in Orally Inhaled and Nasal Drug Products: An Overview of the PQRI Recommendations.*Pharmaceutical research*.25.727–39, 2008.
4. NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library Compound Scoring: Match Factor, Reverse Match Factor, and Probability.Jordi Labs.
5. Stevens D. M., Cabovska B., Bailey A. E. 检测和鉴定来自高分子材料的萃取物.沃特世应用纪要 [720004211ZH](#).2012年1月.
6. Sanig R., Kirk J., Cojocariu C. 使用液相色谱和高分辨率质谱结合数据非依赖型信息学策略筛查喷鼻剂中的萃取物和可浸出物.沃特世应用纪要, [720008000ZH](#), 2023年8月.
7. Atmospheric Pressure GC (APGC).Waters White Paper, 720004771, August 2013.
8. Reid L., Pickles D. 使用StepWave™ XS改善Xevo™ G3 QToF质谱仪上不稳定物质的传输.沃特世应用纪要,

[720007794ZH](#), 2022年11月.

9. McCullagh M., Mortishire-Smith R. J., Goshawk J., Cooper J., Obkircher M., Sprecher H., Koehling R., Nold m., Jacobsen J., Sanig R., 萃取物、可浸出物和接触材料：离子淌度增强质谱库的宝贵优势. 沃特世应用纪要, [720007655ZH](#), 2022年6月.
10. ISO 10993-18:2020 Biological Evaluation of Medical Devices—Part 18: Chemical Characterization of Medical Device Materials Within a Risk management process,
<https://www.iso.org/standard/64750.html> <<https://www.iso.org/standard/64750.html>>
11. Cabovska B. Screening Workflow for Extractable Testing Using the UNIFI Scientific Information System, Technical Note [720005688](#), April 2016.

特色产品

沃特世大气压气相色谱(APGC)离子源 <<https://www.waters.com/nextgen/global/products/mass-spectrometry/mass-spectrometry-systems/waters-atmospheric-pressure-gas-chromatography--apgc--source.html>>

Xevo G3 QTof 质谱仪 <<https://www.waters.com/nextgen/global/products/mass-spectrometry-systems/xevo-g3-qtof.html>>

waters_connect软件解决方案 <<https://www.waters.com/waters/nav.htm?cid=135040165>>

MassLynx MS软件 <<https://www.waters.com/513662>>

UNIFI科学信息系统 <<https://www.waters.com/134801648>>

720008298ZH, 2024年5月



© 2025 Waters Corporation. All Rights Reserved.

[使用条款](#) [隐私策略](#) [商标](#) [招聘](#) [法律和隐私声明](#) [危险化学品生产经营许可证](#) [Cookie Cookie 设置](#)

[沪ICP备06003546号-2](#) [京公网安备 31011502007476号](#)