

# 岛津 LCMS-9030 液相串联四极杆飞行时间质谱仪定性分析医用橡胶中未知物质

LCMS-QTOF-008

**摘要：** 本文利用岛津公司 LCMS-9030 超高效液相色谱四极杆飞行时间质谱联用仪，找到了医用橡胶塞提取溶液中的未知物质。通过对一级质谱高准确度的测定（相对误差 < 1 ppm，同位素得分 99.37）确定了未知物的分子式。通过对二级质谱碎片的高准确度测定，特别是对  $m/z$  171.13887 和  $m/z$  171.10239 两个相近碎片的精确区分，推断出未知物的主要官能团和碳骨架。手动解谱与 ACDLabs 软件解析结果一致。综合分子式预测、二级质谱解析和物质实际用途，推断未知物为 9, 10- 二羟基硬脂酸（9,10-Dihydroxystearic acid, CAS# 120-87-6）。

**关键词：** LCMS-9030 四极杆飞行时间质谱 医用橡胶 未知物定性

根据国家药品监督管理局颁布的《化学药品与弹性体密封件相容性研究技术指导原则（试行）》指导原则（以下简称《原则》），药品包装系统中直接接触药品的橡胶密封件应与药品具有良好的相容性，即不可引入存在安全风险的浸出物，或浸出物水平符合安全要求。对医用橡胶浸出液中的未知物进行定性分

析，是判定该产品是否符合《原则》的重要依据

本文利用岛津公司 LCMS-9030 超高效液相色谱四极杆飞行时间质谱联用仪，对药用丁基橡胶可提取的浸出物进行研究，找到了其中的未知物质，并对其结构进行了合理推断。

## ■ 实验部分

### 1.1 仪器

岛津 LCMS-9030 超高效液相色谱四极杆飞行时间质谱联用仪，具体配置：LC-30AD×2 输液泵，DGU-20A<sub>5R</sub> 在线脱气机，SIL-30AC 自动进样器，CTO-20AC 柱温箱，CBM-20A 系统控制器，LCMS-9030 四极杆飞行时间质谱仪，LabSolutions V 5.96 工作站软件。质谱解析利用分子式预测软件 Formula Predictor 和 ACDLabs 2017 软件辅助完成。

### 1.2 分析条件

液相色谱条件

分析仪器：LC-30A 系统

色谱柱：Shim-pack GIST, 2.1 mm I.D. × 100 mm L., 2.0 μm

流动相：A：水；B：甲醇

流速：0.3 mL/min

进样体积：1 μL

柱温：40°C

洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 30%，时间程序见表 1。

表 1 液相梯度时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
1.50	Pumps	Pump B Conc.	30
3.00	Pumps	Pump B Conc.	70
6.00	Pumps	Pump B Conc.	100
11.00	Pumps	Pump B Conc.	100
11.10	Pumps	Pump B Conc.	30
14.00	Controller	Stop	

### 质谱条件

离子源：ESI (-)

离子源接口电压：-3.0 kV

雾化气：氮气 3.0 L/min

干燥气：氮气 10 L/min

加热气：空气 10 L/min

碰撞能量 (CE) : 15~55 V

碰撞气：氦气

脱溶剂管温度：250°C

加热模块温度：400°C

接口温度：300°C

扫描模式：MS Scan (m/z 150 -1500)

MS/MS (m/z 50 - 400)

## 样品前处理

称取医用溴化丁基橡胶密封圈适量，剪碎，加入 20% 乙醇 / 水溶液 (V/V) 进行提取，橡胶塞重量与提取溶剂比例为 0.5 g/mL，85°C 加热回流 1 小时。所得提取液经 0.22 μm 聚四氟乙烯滤膜过滤后上机分析。

## 结果与讨论

### 3.1 未知物查找与分子式测定

样品溶液的 TIC 图如图 1 所示，目标未知物保留时间为 7.328 分钟。提取该保留时间下的一级质谱图 (图 2)，得到未知物准分子离子的准确质荷比，从而得到未知物 XIC 图 (图 1)，确认相应离子为目标物而非背景干扰。

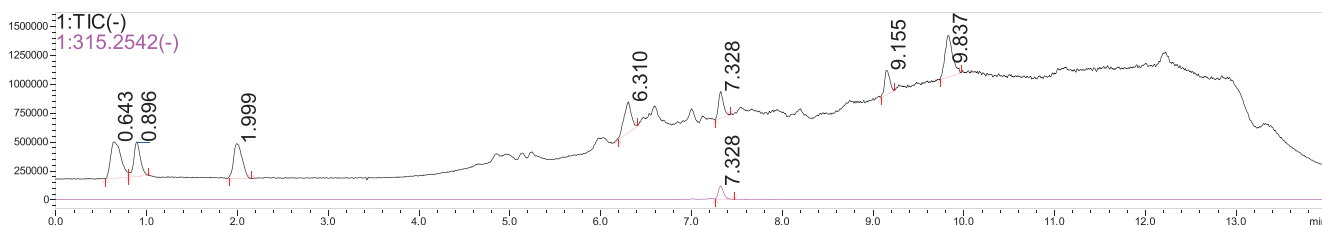
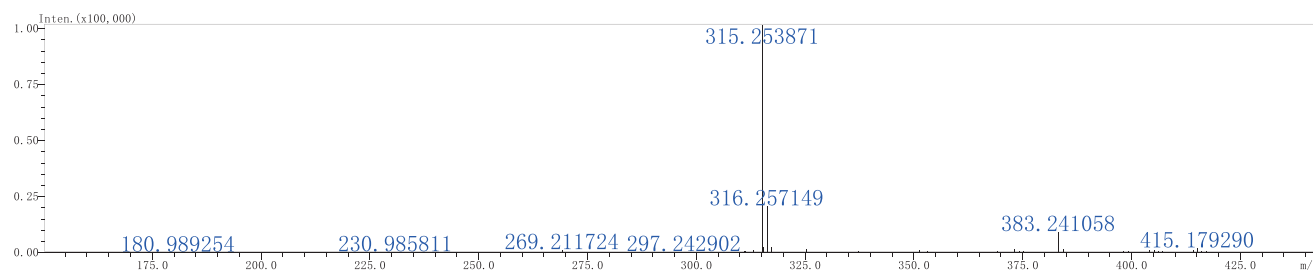


图 1 样品溶液 TIC 图和目标未知物 XIC 图


 图 2 目标未知物 MS<sup>1</sup> 图

将未知物的 MS<sup>1</sup> 谱图导入 Formula Predictor 软件，元素组成设置为有机物常见的 C、H、O、N、S、P、F (未观察到 M+2 峰，故 Cl 与 Br 不予设置)，误差范围设置为 2 ppm 以内，软件计算给出唯一结果 (图 3)：C<sub>18</sub>H<sub>36</sub>O<sub>4</sub>，质量相对误差 -0.86 ppm，同位素得分 99.37。元素组成合理，质量误差小，同位素得分高，认为此即目标未知物的分子式。

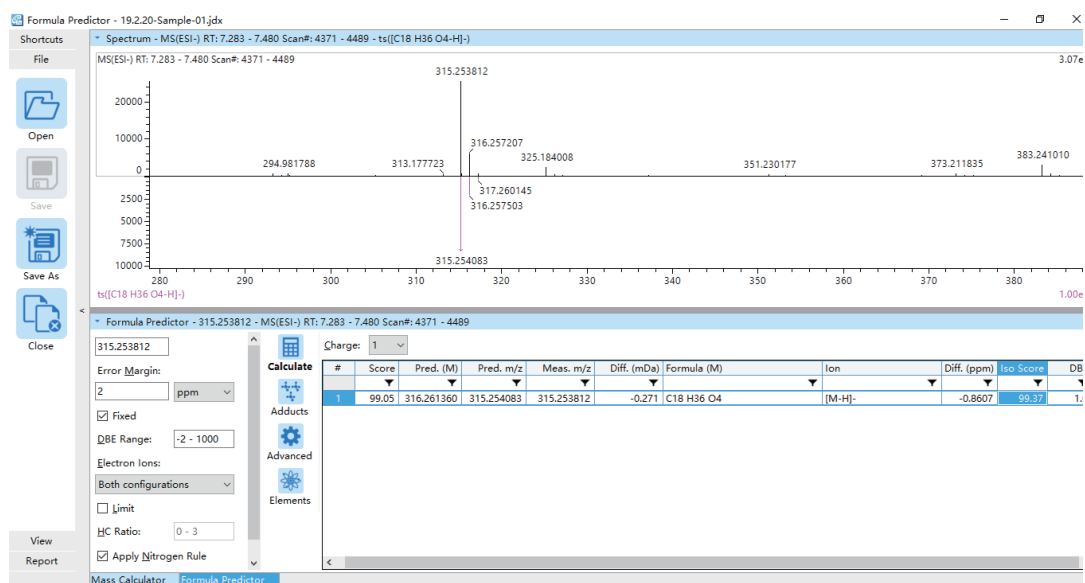
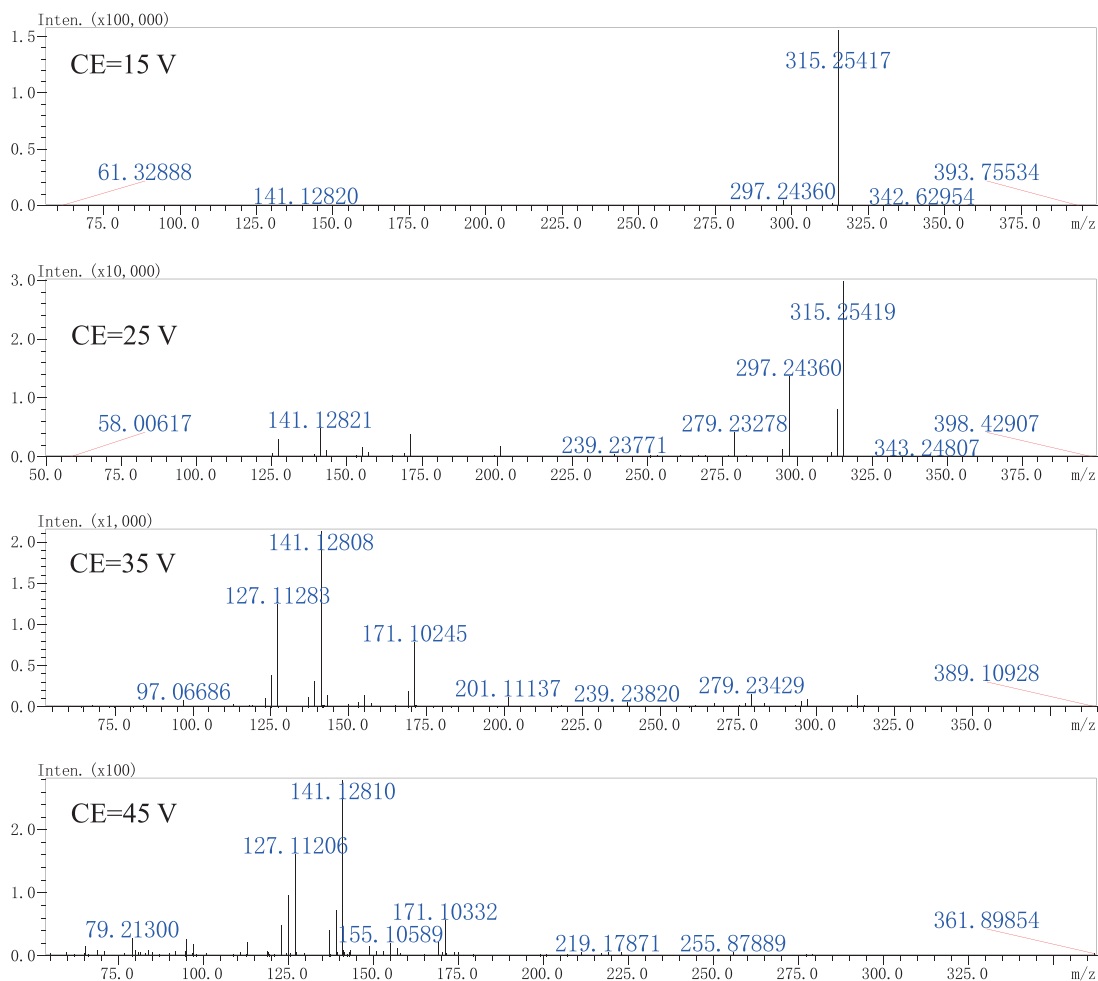


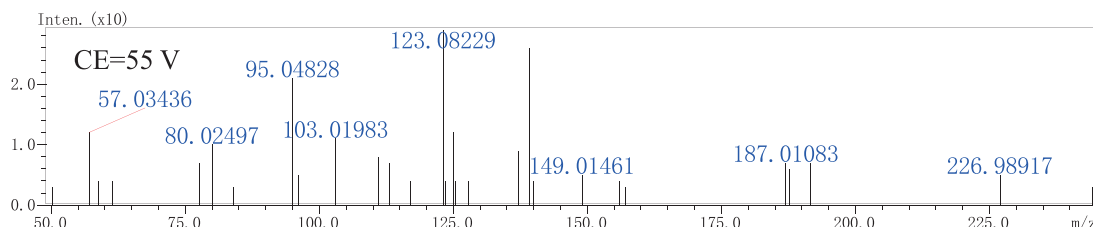
图 3 未知物分子式预测结果

## 3.2 未知物结构推断

### 3.2.1 特征基团推断

选定母离子 m/z 315.25 进行 MS/MS 分析，采集不同碰撞能量下 (CE 15~55 V) 的二级质谱图 (图 4)，无论从碎片离子丰富程度还是离子强度皆以 CE 25 V 最佳，接下来将以此为基础进行谱图解析。




 图 4 不同 CE 能量下目标物 MS<sup>2</sup> 谱图

将 CE 25 V 下质谱图导入 Formula Predictor, 并对主要碎片离子进行分子式预测, 结果如表 2 所示。

表 2 主要二级碎片分子式预测

理论 m/z [M-H] <sup>-</sup>	实测 m/z [M-H] <sup>-</sup>	分子式预测 (M)	偏差 (mDa)	偏差 (ppm)
313.23843	313.23829	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>4</sub>	-0.14	-0.46
297.24352	297.24360	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>3</sub>	0.08	0.28
279.23295	279.23278	C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	-0.18	-0.64
201.11323	201.11321	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O <sub>4</sub>	-0.02	-0.11
171.13905	171.13887	C <sub>10</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>	-0.18	-1.05
171.10267	171.10239	C <sub>9</sub> H <sub>16</sub> O <sub>3</sub>	-0.28	-1.65
141.12849	141.12821	C <sub>9</sub> H <sub>18</sub> O	-0.28	-1.97
127.11284	127.11246	C <sub>8</sub> H <sub>16</sub> O	-0.38	-2.96

未知物分子式 C<sub>18</sub>H<sub>36</sub>O<sub>4</sub>, 其不饱和度 Ω=1。在只有 C、H、O 的情况下, 该不饱和度可能由碳-碳双键 (C=C)、环或碳-氧 (C=O) 双键贡献, O 可能以羟基 (-OH)、醚键 (-O-)、过氧键 (-O-O-)、醛基 (-CHO)、酮基 (-C=O) 或羧基 (-COOH) 的形式存在。注意到碎片 m/z 171.10238 到碎片 m/z 127 发生了脱羧 (表 2、图 5), 可确定不饱和度和两个 O 由羧基贡献。同时, m/z 315、m/z 297、m/z 279 依次脱水 (表 2、图 5), 可判定另外两个 O 皆以 -OH 的形式存在。至此, 可判定未知物为二羟基取代的羧酸。

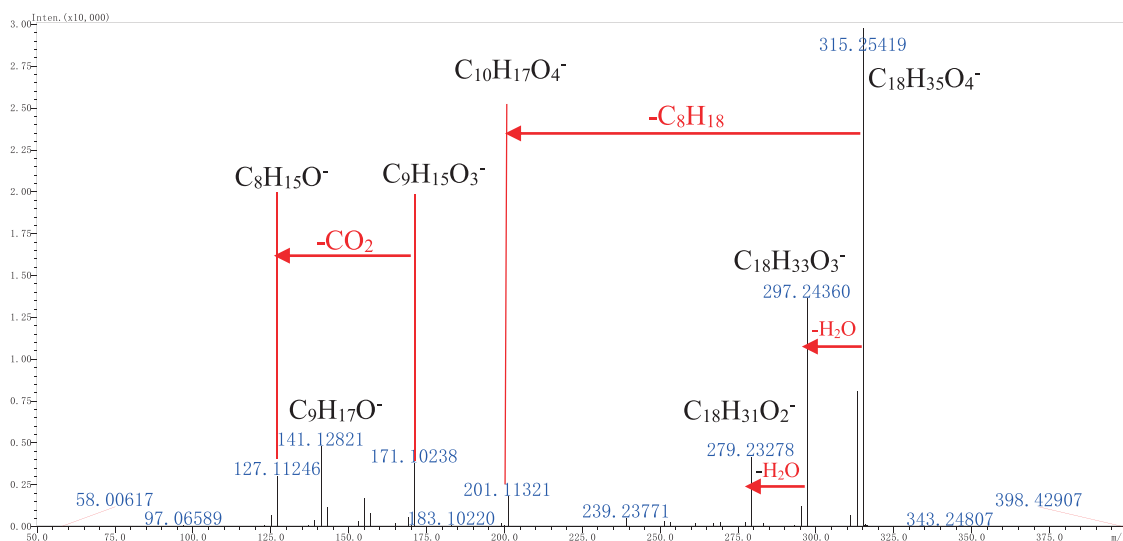


图 5 未知物二级质谱峰归属

### 3.2.2 骨架结构及取代基位置推断

准分子离子 m/z 315 到 m/z 201 丢失 C<sub>8</sub>H<sub>18</sub> 碳链 (图 5), 可判定羟基取代不在此碳链上。分子离子逐出 C<sub>8</sub>H<sub>18</sub> 生成 m/z 201 有两种可能: 羟基诱导的碳链断裂, 或者碳链分支处的断裂 (图 6)。

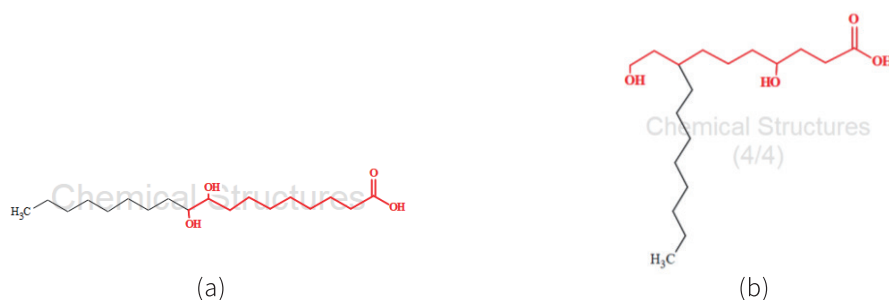


图 6 碎片  $m/z$  201 生成的两种可能：羟基诱导断裂 (a) 和碳链分支处断裂 (b)

我们还可以进一步判定的是，无论上述哪种情况， $C_8H_{18}$  碳链都没有分支，否则应当能够观察到该分支处断裂产生的碎片。如图 7 所示，在此情况中，应当观察到逐出  $C_2H_6$  生成  $m/z$  285 的碎片，然而实际谱图中， $C_8H_{18}$  是观察到的整体丢失的最小碳链单元。

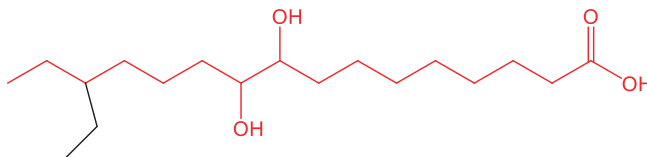


图 7  $C_8H_{18}$  碳链分支的一种情形

### 3.2.2.1 直链情形下的结构推断

如果为情况 1，即直链羧酸上羟基诱导的断裂，则可以判定一个羟基在  $C_{10}$ （诱导断裂生成  $m/z$  201），另一个羟基一定在  $C_{10}$  之前（否则无法逐出  $C_8H_{18}$ ）。

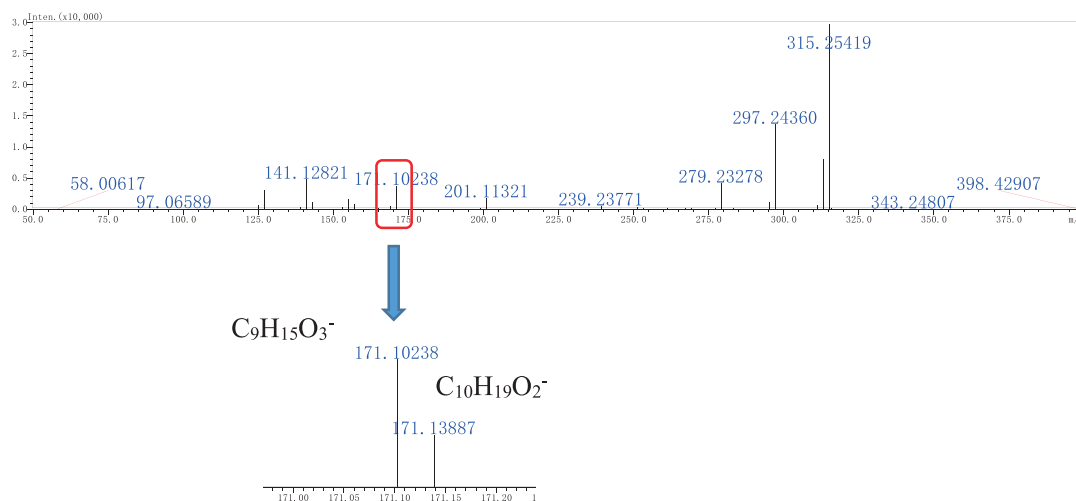


图 8 二级质谱图  $m/z$  171 附近局部放大

注意观察  $m/z$  171 附近，有两个不同的二级碎片（图 8）。 $m/z$  171.10238 预测分子式为  $C_9H_{16}O_3$ ， $m/z$  171.13887 预测分子式为  $C_{10}H_{20}O_2$ 。前文已经推断未知物中 4 个 O 全部在  $C_1 \sim C_{10}$ ，其中  $C_1$  上羧基占据 2 个 O， $C_{10}$  上羟基占据一个 O，还有一个羟基在  $C_2 \sim C_9$  上的某个位置。碎片  $m/z$  171.10238 ( $C_9H_{16}O_3$ ) 含 9 个 C，3 个 O，可以进一步确认上述推断：另一个羟基取代一定在  $C_2 \sim C_9$  上的某个位置。碎片  $m/z$  171.13887 含 10 个 C，但只含 2 个 O，可以推断其起点在  $C_1$  之后（否则会囊括羧基的 2 个 O）， $C_9$  之前（否则无法满足 C 数量要求）。极有可能，该碎片的起点即是羟基取代的位置（诱导断裂），再考虑到止点既不可能有羟基、也不可能分支帮助产生断裂，故止点只能是  $C_{18}$ ，从而起点是  $C_9$ ，从而另一个羟基的取代位置是  $C_9$ （图 9a）。倘若如图 9b 所示，碎片  $m/z$  171.13887 的起点，即 -OH 取代位置不在  $C_9$ ，而在  $C_n$  ( $n=2 \sim 8$ )，则止点  $C_{n+9}$  处需发生不合理的断裂（此

例  $n=4$ ,  $n+9=13$ )。此外,  $C_9$ 、 $C_{10}$  相邻位置发生  $-OH$  取代, 依次脱水后生成共轭双键, 更有利于  $m/z$  279 的稳定, 这也从侧面佐证图 10a 结构的合理性。

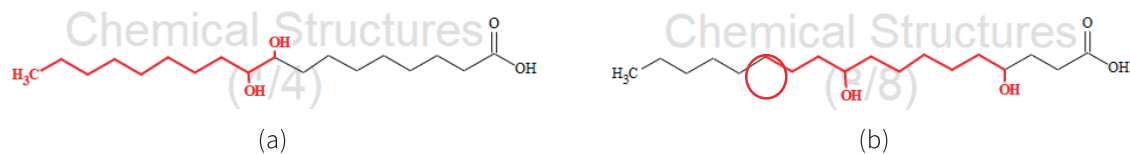


图 9 直链情况下羟基取代位置的推断

### 3.2.2.2 支链情形下的结构推断

若为碳链分支处断裂产生  $m/z$  201, 同样需要解释的是  $m/z$  171.13887 的生成 (图 10)。大部分情况下, 无论分支和羟基的位置如何排布, 都会遇到直链情况下类似的问题 (图 10a)。要合理地解释  $m/z$  171.13887, 分支和羟基的排布只能如图 10b 所示, 即  $C_9$  同时发生  $-OH$  和  $-CH_2OH$  的取代。

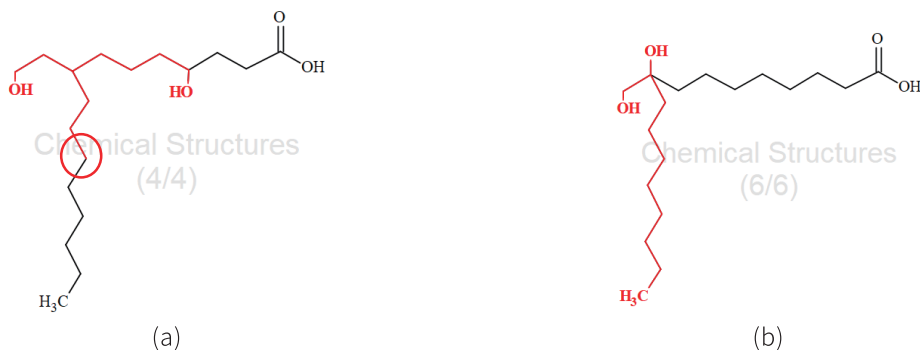


图 10 支链情况下分支和羟基取代位置的推断

在图 10b 的情形下, 虽然  $m/z$  171.13887 能合理地解释, 但在解释连续脱水生成  $m/z$  279 时遇到了困难 (图 11)。若按一般规律脱水形成双键, 则  $C_9$  需连接 5 个键, 显然不可能; 若夺取  $\beta$  位的 H 脱水, 则会在碳链中形成一个不饱和的三元环, 此结构虽然理论上可能, 但该结构环内张力很大, 通常不稳定, 较难生成。相比之下, 直链情况下生成共轭双键, 是更为合理的结构。

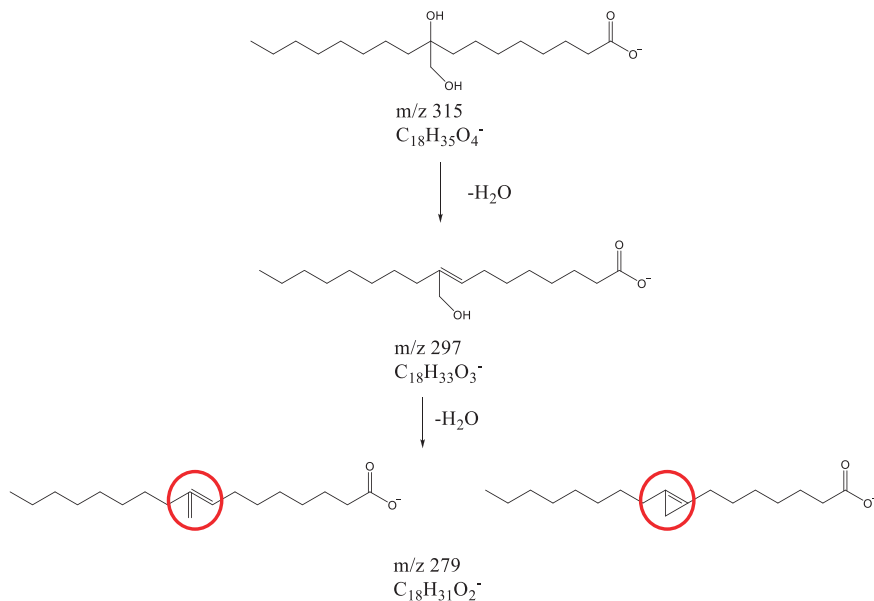


图 11 支链情况下  $m/z$  279 的解释遇到困难

### 3.2.3 质谱图解析和碎片峰归属

综合 3.2.2 的讨论，C<sub>9</sub>、C<sub>10</sub> 二羟基取代的直链羧酸是最合理的结构。观察图 4，m/z 315、171、141、127 附近皆有 [M-H-2]<sup>-</sup> 峰，经分子式预测（表 2）可确定此为脱 H<sub>2</sub> 峰。这样的脱 H<sub>2</sub> 峰簇与直链烷烃的特征峰簇类似，从侧面佐证了该结构推断。图 12 为主要碎片离子的生成机理解析。

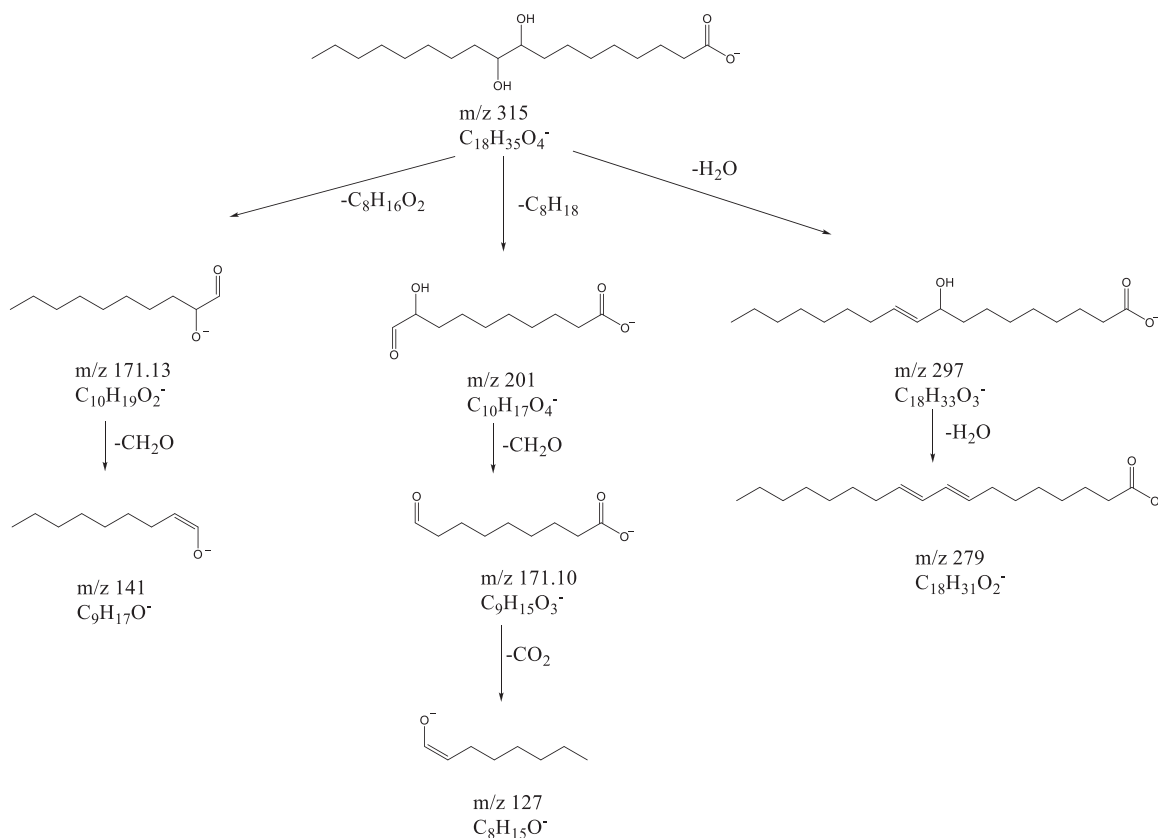


图 12 未知物主要二级质谱碎片解析

将图 6a 结构及图 5 质谱图导入 ACD 软件进行二级碎片归属，主要碎片都能得到合理归属（图 13），且与图 12 手动解析结果一致，进一步确认了该结构的合理性。

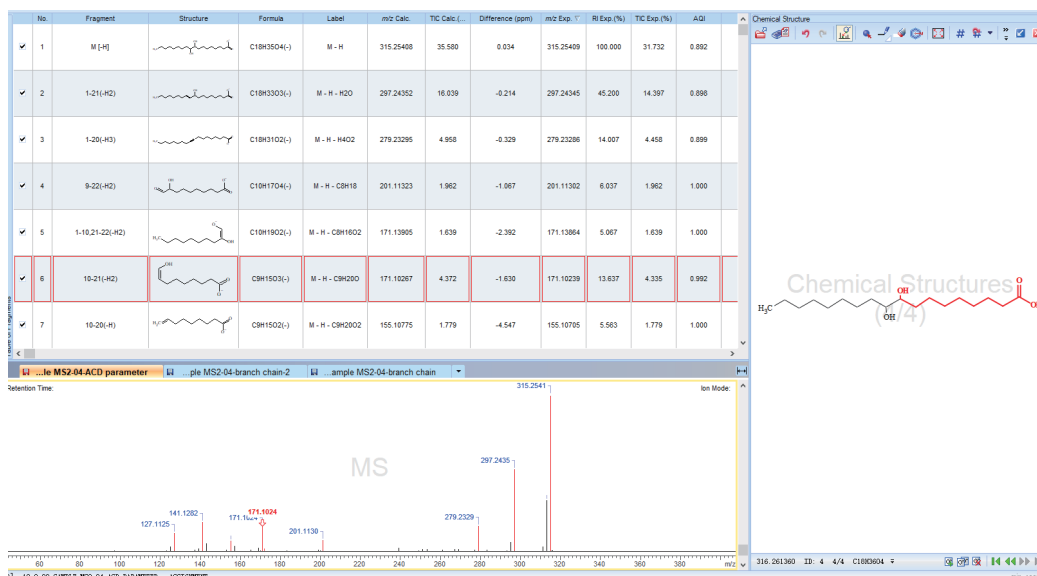


图 13 ACD 软件的二级碎片归属结果（红色为归属成功）

搜索该结构，可得此物质的名称为 9, 10- 二羟基硬脂酸 (9,10-Dihydroxystearic acid)，CAS# 120-87-6，是一种常见的化工中间原料，有可能在橡胶塞生产过程中引入。从实际角度出发，此结构推断亦是合理的。

## ■ 结论

本文利用岛津公司 LCMS-9030 超高效液相色谱四极杆飞行时间质谱联用仪，找到了医用橡胶塞提取溶液中的未知物质。在 LCMS-9030 高质量测定准确度和分子式预测软件的帮助下，确定了该未知物的分子式。对  $m/z$  171.13887 和  $m/z$  171.10239 两个碎片离子的准确区分为结构推断提供了关键信息。ACD 软件的碎片峰归属结果与手动解谱结果一致。综合分子式预测、二级质谱解析和物质实际用途，对未知物结构作出了合理推断，为 9, 10- 二羟基硬脂酸 (9,10-Dihydroxystearic acid, CAS# 120-87-6)。

岛津应用云

