

# 岛津单四极杆液质联用仪 LCMS-2050应用文集



# 前言

单四极杆液质联用仪 (Single Quadrupole Liquid Chromatography-Mass Spectrometry, 简称 LCMS) 是一种非常重要的分析工具。LCMS 由液相色谱和质谱两部分组成, 样品在液相色谱中分离, 然后分离后的组分在质谱系统进行鉴定和检测, 从而实现了对复杂样品的高效分析。

LCMS 具有许多优势, 首先, LCMS 分析可以获得分子量信息, 从而对目标物进行确证, 实现定性分析; 其次, LCMS 具有较高的选择性和灵敏度, 可以通过质谱系统的选择性离子监测(SIM)对特定离子进行监测, 提高分析的选择性, 能够检测样品中较低浓度的化合物含量, 实现定量分析。所以 LCMS 在医药、临床检验、工业制造、食品安全等行业都有着非常广泛的应用。在医药行业, LCMS 能够对药物分子进行高效分离, 并通过质谱检测器获取其质量信息, 这对新药研发阶段的候选化合物确认, 以及药品质量控制中的结构确证都极其重要。在药品生产过程中, 可能会产生一些杂质, 包括合成副产物、降解产物等。LCMS 能够有效地将药物主成分与各种潜在杂质分离, 并对杂质进行定性和定量分析, 以确保药品质量和安全性符合法规要求; 在临床检验行业, LCMS 用于监测血液、尿液中药物及其代谢物含量的变化, 通过对这些物质浓度的动态监测, 实现个体化给药, 提高治疗效果; 在工业制造行业, LCMS 还可高灵敏度高选择性的同时完成多种有毒有害物质的定量分析, 有效防止有毒有害物质对人类健康造成潜在威胁, 从而为保障公众健康贡献力量。

岛津作为全球知名的分析仪器制造商, 目前在售的单四极杆质谱仪有两款, 一款为经典且久经市场考验的型号 LCMS-2020。这款仪器自 2008 年上市以来, 凭借其稳定可靠的性能、精确的定量能力以及高效的分析速度, 在 CRO、制药以及第三方检测等行业赢得了良好的口碑和广泛的用户基础。为了满足用户对质谱更高效、更便捷的需求, 岛津于 2022 年推出了最新的单四极杆质谱仪 LCMS-2050, 其兼具小型化、高性能、操作简便等特点。LCMS-2050 称之为“检测器”级质谱仪, 其占地小, 可像其他液相检测器一样与 LC 无缝融合。另外, LCMS-2050 标配加热型的 DUIS 源 (APCI+ESI), 无需更换硬件即可实现对不同极性化合物的同时或连续分析, 大大提高了分析效率和应用范围。LCMS-2050 设计上的另一大亮点就是用户友好性和便捷性, 它在启动后 6 分钟完成抽真空工作, 即可开始进样分析, 且允许用户在不需泄真空的情况下徒手完成 DL 的更换等维护工作, 这一特点极大地提升了实验室工作效率和仪器的可用性, 最大程度地满足了客户对高效、便捷使用仪器的需求。

为了方便客户了解 LCMS-2050 在不同行业的解决方案, 岛津分析中心编写了《岛津单四极杆液质联用仪 LCMS-2050 应用文集》, 涉及化学药、中药、生物药、临床检验和工业制造等多个行业的应用案例, 供相关行业从业人员参考。

岛津企业管理 (中国) 有限公司  
分析中心

# 目 录

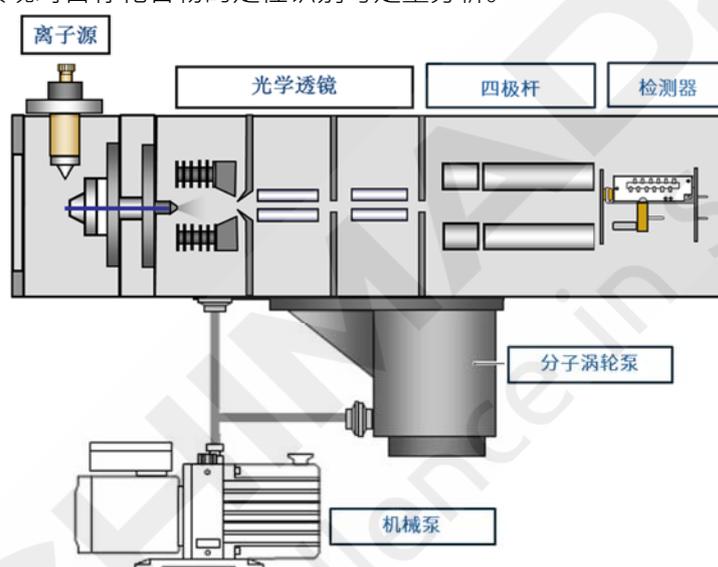
前 言.....	I
LCMS-2050 简介.....	1
<b>第 1 章 化学药.....</b>	<b>5</b>
LCMS-2050 检测扑热息痛中遗传毒性杂质 4-氯苯胺含量.....	6
LCMS-2050 定性分析阿托伐他汀杂质.....	11
质谱引导型制备液相用于药物中多组分鉴别及分离.....	16
LCMS-2050 测定药品中 5 种芳基磷酸酯类遗传毒性杂质.....	22
LabSolutions MD 用于阿托伐他汀钙有关物质测定的分析方法开发.....	28
<b>第 2 章 中药.....</b>	<b>32</b>
LCMS 测定川楝子中川楝素的含量.....	33
LCMS 测定中药千里光内源性毒素阿多尼弗林碱.....	37
<b>第 3 章 生物药.....</b>	<b>41</b>
LCMS 测定反义寡核苷酸分子量.....	42
LCMS 测定小干扰核苷酸 siRNA 分子量.....	46
LCMS-2050 在多肽分子量定性分析检测中的应用.....	52
利用 LCMS 对 mRNA 和 DNA 生产用核苷酸原料进行定性分析.....	56
利用 LCMS 对寡核苷酸合成用亚磷酰胺单体原料进行定性分析.....	61
<b>第 4 章 临床检验.....</b>	<b>66</b>
LCMS 检测血浆中多黏菌素 B 浓度.....	67
LCMS 用于血清中万古霉素治疗药物监测应用.....	71
LCMS 检测血浆中抗癌药紫杉醇的浓度.....	75
<b>第 5 章 工业制造.....</b>	<b>79</b>
LCMS 法分析纺织品中 38 种染料成分.....	80
LCMS 法分析纺织品中的烷基酚聚氧乙烯醚成分.....	87
使用 LCMS-2050 定性定量分析化工材料中抗氧化剂.....	91
LCMS-2050 在宽极性范围的 SVHC 类物质检测中的应用.....	96

# LCMS-2050 简介

## 1. LCMS 原理

单四极杆质谱仪是液相色谱-质谱联用系统（LCMS）中的核心分析单元，主要由离子源、接口、离子光学透镜系统、四极杆质量分析器以及检测器五大模块组成。其工作过程如下：

首先，目标化合物在离子源中通过电喷雾电离（ESI）或其他电离方式转化为带电离子；随后，离子经由接口区域完成脱溶剂化处理，去除残留溶剂分子，以提高离子传输效率。接下来，离子束进入透镜系统，在此阶段，通过精确调控电场对离子进行聚焦和引导，确保离子高效、稳定地传输至质量分析器。进入四极杆质量分析器后，系统根据离子的质荷比（ $m/z$ ）进行选择性的过滤。通过调节施加在四极杆上的射频（RF）和直流（DC）电压，仅允许特定质荷比的离子稳定通过并抵达检测器。检测器将离子信号转换为电信号，经过数据处理系统后实现对目标化合物的定性识别与定量分析。



单四极杆质谱仪结构示意图

LCMS 有两种采集模式，分别为全扫描模式（简称 Scan）和选择离子监测模式（简称 SIM），在全扫描模式下，质谱仪在设定的质量范围内对所有离子进行连续扫描并记录，适用于未知化合物的定性分析或对样品中多种成分进行初步筛查，具有较广的覆盖性和较好的信息完整性，但灵敏度相对较低。而在选择离子监测模式中，质谱仪对预先设定的一个或几个特定质量数的离子进行检测，该模式具有更高的灵敏度和选择性，特别适合对目标化合物进行定量分析，广泛应用于药物有效成分含量、纺织品或电子产品中有害物质、治疗药物监测等领域的精准检测。这两种采集模式各有优势，可根据实验目的和样品特性灵活选择，以实现定性筛查或定量分析的不同需求。

## 2. LCMS 应用领域

LCMS 因其选择性强、灵敏度高、适合与 HPLC 系统联用等特点，广泛应用于药物分析、临床诊断、工业制造等多个领域。在药物分析中，LCMS 可用于药物成分的定性定量分析、杂质鉴定、代谢产物检测以及药物质量控制，尤其适用于复杂样品中微量成分的检测。在临床诊断方面，该技术被用于血液中药物浓度的测定、新生儿遗传病筛查、激素水平检测以及毒物分析等，为疾病诊断和个体化用药提供依据。在

工业制造领域，LCMS 常用于产品质量监控、生产过程中副产物的追踪及有毒有害物质监测，有助于提升产品安全性、稳定性和生产效率。此外，该技术也应用于环境科学、食品安全等研究方向，在复杂基质样品的分析中表现出良好的适应性和可靠性。随着仪器性能的不断提升和应用方法的优化，LCMS 在科研和实际应用中的作用日益增强，成为现代分析测试中不可或缺的重要手段。

### 3. LCMS-2050 特点

2022 年岛津推出了最新单四极杆质谱仪 LCMS-2050，其融合了 LC 检测器的简便性和 MS 检测器的高灵敏度与高选择性，兼具小型化与高性能的特点。

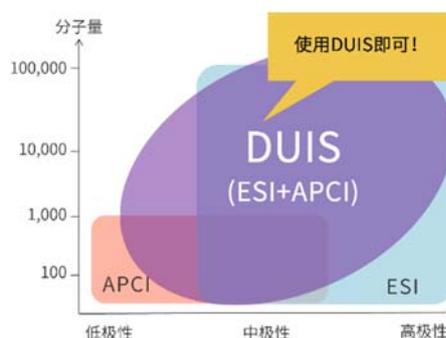
#### (1) 无缝融合——与 LC 化为一体的小型化单四极杆质谱仪

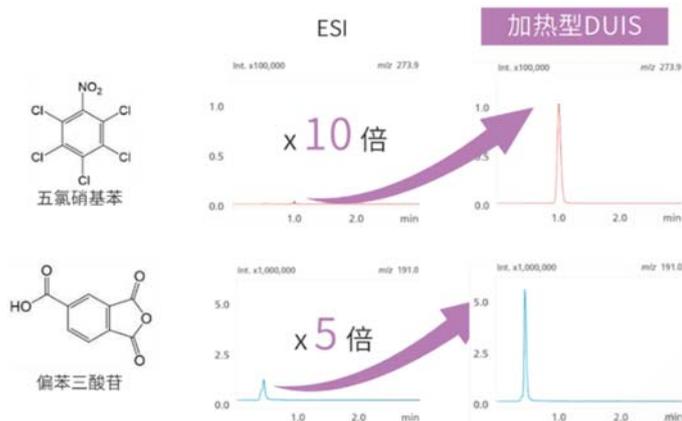
LCMS-2050 占地面积小，高度低，与 Nexera 系列 HPLC 及制备系列均能无缝融合。而且，LCMS-2050 只需简单的参数设置，如同其他液相色谱检测器一样，可操作性与使用 LC 时相同，轻松实现从质谱数据采集到数据分析的全部流程。



#### (2) 性能优异——精彩表现，出类拔萃

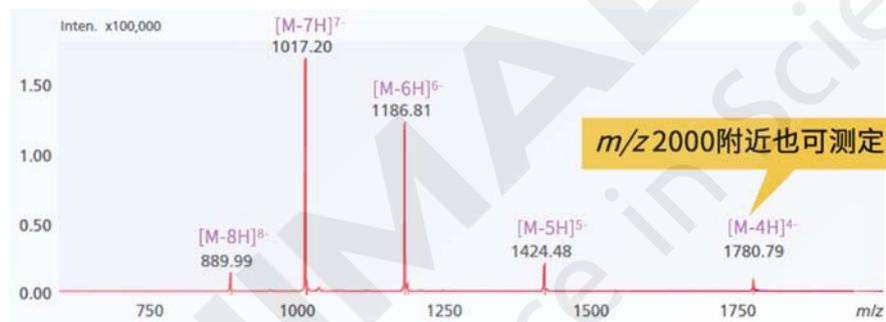
岛津 LCMS-2050 标配复合型离子源（DUIS），支持 APCI（大气压化学电离）和 ESI（电喷雾电离）两种电离方式，无需更换硬件即可根据样品极性特点进行 APCI 和 ESI 离子化。这一设计大大拓展了仪器对不同极性化合物的适用范围，尤其适用于从弱极性到强极性化合物的同时分析，显著提升了方法开发的灵活性和样品覆盖能力。





对ESI检测困难的低极性化合物进行高灵敏度分析

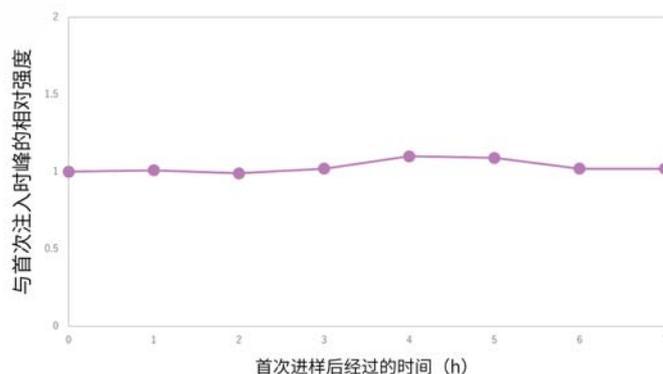
此外，LCMS-2050 采用加热型离子源技术，有助于提升脱溶剂效果与离子化效率，从而有效增强检测灵敏度。特别是对于中高分子量化合物检测（多电荷离子分析），如寡核苷酸、多肽、聚合物类化合物，可有效提高高电荷质荷比离子的灵敏度，从而扩展检测的分子量范围，满足了现代生物医药、功能材料等领域日益增长的分析需求。



### (3) 操作简便——节省时间、电力和成本

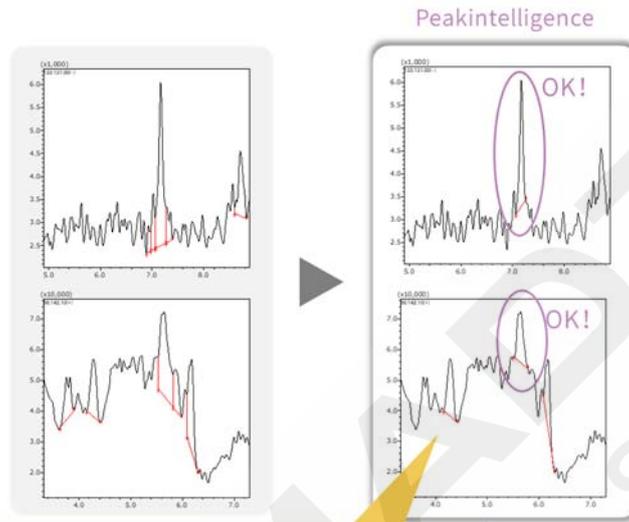
在真空停止状态下，LCMS-2050 可在启动后约 6 分钟内迅速完成系统抽真空过程，随即进入可分析状态，显著提升了仪器的开机效率和整体分析通量。该特性尤其适用于需要频繁启停的检测场景。

在系统启动完成后，用户可通过软件系统检查的功能，对质谱关键运行参数进行全面检测，包括真空度、温度、最大质量漂移、半峰宽（FWHM）以及离子强度等参数。若检测结果未达到预设标准，仪器将自动执行调谐与校正程序，以恢复最佳性能状态。该智能化设计有效减少了人工干预频率，降低了调谐操作次数及检测器电压的调整需求，不仅提升了仪器稳定性与数据一致性，也进一步延长了设备使用寿命，提高了日常分析工作的便捷性与可靠性。



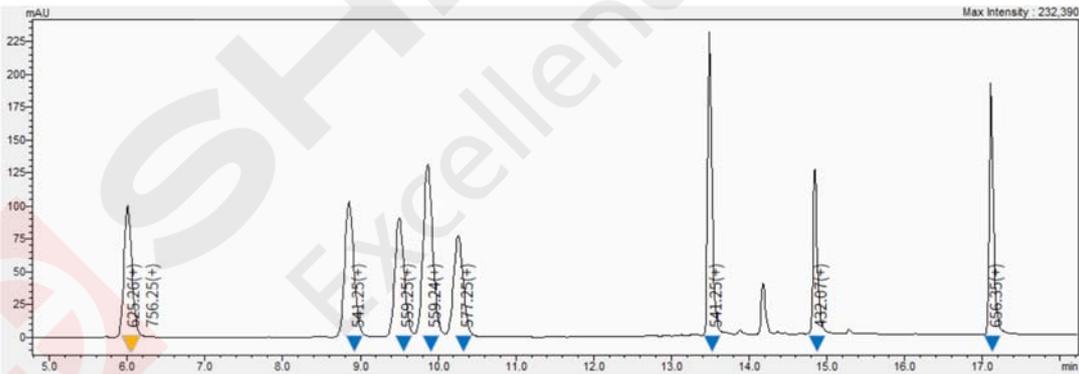
#### (4) 软件操作智能化——提升分析准确性和便捷性

质谱数据采集完成后，用户仅需选择 Peakintelligence 积分方法，软件即可自动应用基于人工智能的积分算法对色谱峰进行积分，无需手动设置复杂的积分参数。这样有效避免了因操作人员经验水平、判断标准不一而导致的积分偏差，显著提升了积分结果的一致性与准确性。同时，AI 积分大幅减少了人为干预和重复调整的时间成本，提高了数据分析的效率与自动化水平，特别适用于高通量、复杂样本、含量低的质谱分析需求。



即使不设定参数，也能进行准确的峰积分！

此外，LCMS-2050 还带有 Mass-it™ 功能，它是一项显示质谱信息的新功能。使用 Mass-it 功能时，质谱检测到的特征质量数信息同步叠加到 UV/PDA 色谱图上，这使得可以发现多个组分在单个色谱峰中共流出的位置，以及没有紫外吸收的“隐藏”组分的位置。



# 第 1 章 化学药

化学药物是指通过化学合成或对天然物质进行化学修饰而得到的，用于预防、治疗和诊断疾病的一类药物。这类药物种类繁多，包括抗生素、抗病毒药、抗肿瘤药、心血管药、神经系统用药、解热镇痛药、激素类药物等。化学药物的生产和储存过程中，不可避免地会引入或产生杂质，这些杂质可能来源于原料、中间体、反应副产物、降解产物、生产过程中的污染等。杂质的存在不仅可能影响药品的疗效和安全性，还可能对人体健康造成潜在风险。因此，对化药杂质的控制是药品质量控制的重要组成部分，各国药品监管机构如中国 NMPA、美国 FDA 等都对此有严格的规定和标准。

有机杂质是药物杂质中占比非常大的一部分，可分为已知有机杂质和未知有机杂质，其中已知的有机杂质一般采用液相色谱仪、紫外检测器和单四极杆质谱联用（LC-UV-MS）进行定性定量分析。其中紫外检测器对杂质进行定量分析，MS 检测器能够给出有关化合物的质量信息，对色谱峰进行进一步确证。岛津 LCMS-2050 拥有质量签名技术（Mass-it），可自动提取质谱信息，在紫外色谱图中显示  $m/z$  信息，因此可以直观的了解各色谱峰的质谱信息。



# LCMS-2050 检测扑热息痛中遗传毒性杂质 4-氯苯胺含量

**摘要：**本文建立了一种使用岛津高效液相色谱质谱联用仪 LCMS-2050 检测扑热息痛中遗传毒性杂质 4-氯苯胺含量的新方法。样品以 50%甲醇水溶液溶解定容，滤过后上机分析。采用外标法定量，在 1~500 µg/L 范围内，相关系数大于 0.999。三个浓度下保留时间和峰面积的相对标准偏差（RSD）分别在 0.05~0.07%和 0.37~1.26%之间。该方法灵敏可靠，4-氯苯胺定量限为 1 ppm，远低于浓度限度值 17 ppm；三个浓度样品加标回收率在 93.1~97.4%之间；残留实验结果为阴性，可为扑热息痛中遗传毒性杂质 4-氯苯胺含量测定提供参考。

**关键词：**单四极杆质谱 4-氯苯胺 扑热息痛 遗传毒性杂质

## 技术特点：

- ❖ 使用 LCMS-2050 建立了一种检测扑热息痛中遗传毒性杂质 4-氯苯胺含量的新方法。
- ❖ 方法定量限为 1 ppm，远低于浓度限值 17 ppm，灵敏度高。

遗传毒性杂质（Genotoxic Impurity, GTI）是指化合物本身直接或间接损伤细胞 DNA，产生基因突变或体内诱变，具有致癌可能。其在极低浓度时即可造成人体遗传物质的损伤，导致基因突变并促使肿瘤发生。因其毒性很强，对药物的安全性造成巨大威胁。

扑热息痛又名对乙酰氨基酚，具有解热镇痛作用，是感冒药中的主要成分。据荷兰媒体报道，曾在一家制药公司生产的扑热息痛中检测到 4-氯苯胺。4-氯苯胺是苯胺类遗传毒性杂质，作为药物合成的起始物料和中间体而被广泛应用。4-氯苯胺对细胞存在潜在毒性，因此需要控制其在药物中的含

量。ICH M7 指南《评估和控制药品中 DNA 反应性/诱变性杂质以限制潜在致癌风险》附录中所规定的 4-氯苯胺可接受摄入量为 34 µg/day，通常成人服用扑热息痛的最大日摄入量为 2 g，故 4-氯苯胺浓度限度为 17 ppm。

目前尚无质量标准收录 4-氯苯胺遗传毒性杂质含量测定方法。本文建立了一种采用单四极杆液质联用仪 LCMS-2050 定量检测扑热息痛中遗传毒性杂质 4-氯苯胺的分析方法。LCMS-2050 标配加热 DUIS 源，灵敏度高、耐用性好、节省空间、操作简单、维护方便，适合用于药物杂质的定性定量分析，可显著提高分析效率。

## 1. 实验部分

### 1.1 仪器

本实验采用岛津高效液相色谱质谱联用仪 LCMS-2050。

具体配置为：

系统控制器	: SCL-40	脱气机	: DGU-405
输液泵	: LC-40B XR	自动进样器	: SIL-40 XR
柱温箱	: CTO-40C	二极管阵列检测器	: SPD-M40
质谱仪	: LCMS-2050	色谱工作站	: LabSolutions Ver.5.114

## 1.2 分析条件

### 色谱条件

色 谱 柱 : Shimadzu Shim-pack Velox SP-C18 100 mm x 2.1 mm I.D., 1.8  $\mu$ m;  
P/N: 227-32001-03; 岛津 (上海) 实验器材有限公司

流 动 相 : A-0.1%乙酸水溶液; B-0.1%乙酸甲醇溶液

流 速 : 0.4 mL/min 柱 温 : 40°C

进 样 体 积 : 2  $\mu$ L 检 测 波 长 : 254 nm

洗 脱 方 式 : 梯度洗脱, B 相初始浓度为10%, 时间程序见表1。

表 1. 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
1.00	Pumps	Pump B Conc.	10
2.30	Oven	CTO.RVR	1*
4.50	Pumps	Pump B Conc.	90
5.00	Pumps	Pump B Conc.	90
5.01	Pumps	Pump B Conc.	10
8.00	Controller	Stop	

注: \* “1” 表示流路切换至质谱。

### 质谱条件

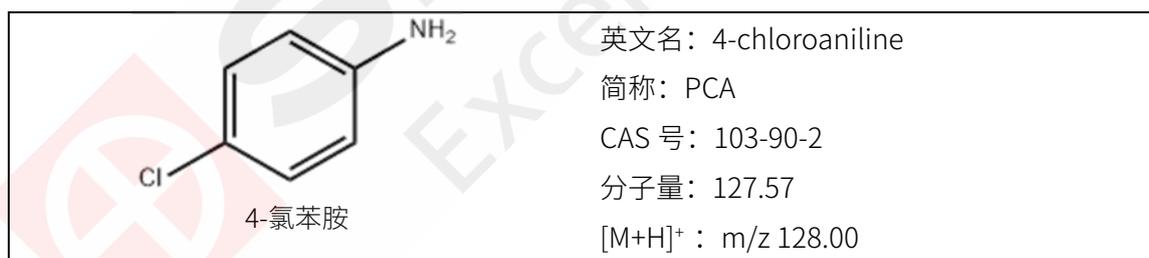
离子化模式 : DUIS, 正离子模式 脱溶剂温度 : 450 °C

雾化气流速 : 3 L/min D L 温度 : 200 °C

加热气流速 : 5 L/min 接口电压 : 0.5 kV

干燥气流速 : 7 L/min 扫描模式 : SIM

采样周期 : 0.3 sec



## 1.3 标准溶液配制

取 4-氯苯胺标准贮备液 (100 mg/L), 以 50% 甲醇水逐级稀释为 1、2、5、10、20、50、100、200、500  $\mu$ g/L 的九个标准系列工作溶液, 待测。

## 1.4 样品前处理

准确称取扑热息痛片 (规格: 每片含扑热息痛 0.3 g) 粉末样品 (含扑热息痛 10.0 mg) 至 10 mL 容量瓶中, 加入 50% 甲醇水溶液, 摇匀至样品溶解, 定容至刻度, 过 0.22  $\mu$ m 尼龙滤膜后, 上机分析。

## 2. 结果与讨论

### 2.1 色谱条件选择

本实验针对扑热息痛片剂进行遗传毒性杂质分析，主药（扑热息痛）的浓度约为 mg/mL 级别，遗传毒性杂质浓度约为  $\mu\text{g/L}$  级别。为了准确测定低浓度的遗传毒性杂质，并且避免高浓度的主药和辅料进入质谱，造成污染，需要通过流路切换阀将此类物质切至废液，只让待测杂质进入质谱检测，故主药及辅料与待测杂质的分离度至关重要。本文对流动相组成和梯度时间程序进行了优化，优选的乙酸流动相体系以及缓和梯度时间程序，实现了主药等与待测杂质的良好分离。本方法中通过设置阀切换程序将 2.3 min 以后洗脱液切入质谱进行分析，其余时间切入废液。扑热息痛样品 PDA 色谱图和 4-氯苯胺 SIM 谱图见图 1。

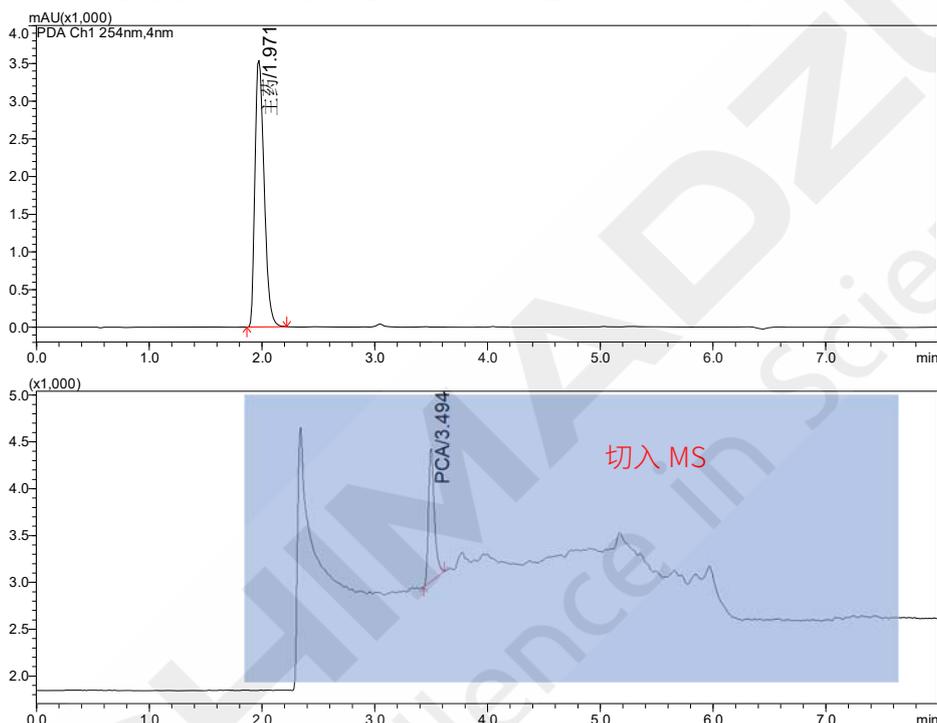


图 1. 扑热息痛片样品 PDA 色谱图（上，主药浓度 1 mg/mL）和 4-氯苯胺 SIM 色谱图（下，4-氯苯胺浓度 1  $\mu\text{g/L}$ ）

### 2.2 专属性

溶剂空白样品与 4-氯苯胺标准溶液（1  $\mu\text{g/L}$ ）SIM 重叠谱图显示，目标峰保留时间处，未见明显干扰，方法专属性好。

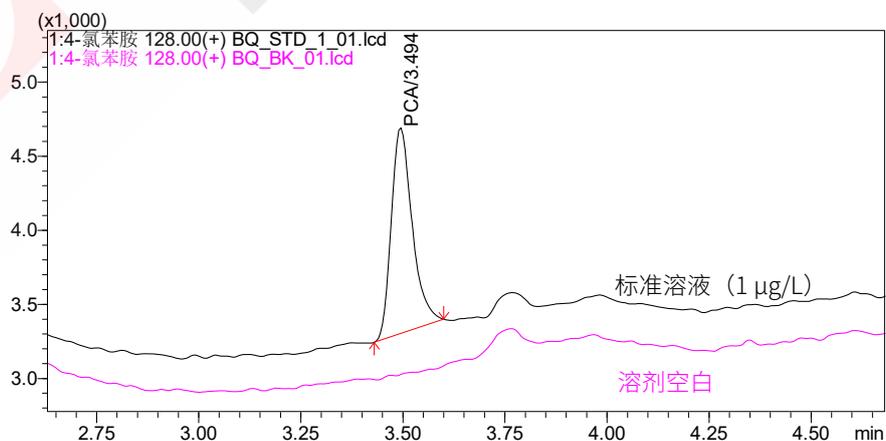


图 2. 4-氯苯胺标准溶液（1  $\mu\text{g/L}$ ）和溶剂空白的重叠色谱图（基线移位模式）

## 2.3 线性关系

按照1.3配制九个不同浓度的标准系列溶液，按照1.2中的分析条件进行测定。以峰面积为纵坐标，以浓度为横坐标，外标法绘制校准曲线。4-氯苯胺校准曲线见图3，线性方程、相关系数和定量限见表2。

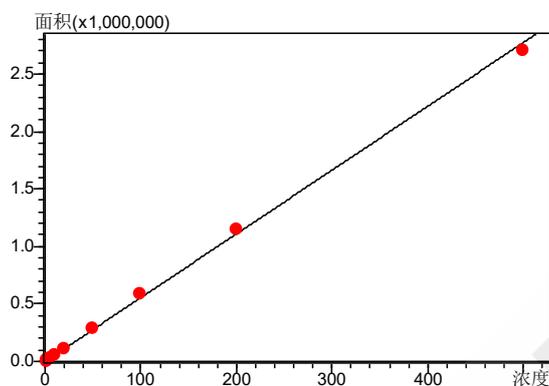


图3. 4-氯苯胺校准曲线

表 2. 线性关系和定量限 (权重: 1/C)

名称	线性范围 ( $\mu\text{g/L}$ )	准确度(%)	相关系数 r	定量限 ( $\mu\text{g/L}$ )	定量限 S/N
4-氯苯胺	1~500	93.7~105.3	0.9994	1	20.6

## 2.4 精密度实验

对三个浓度的标准溶液连续 6 次进样，考察仪器的精密度，保留时间和峰面积的精密度结果如表 3 所示。三个浓度标准品的保留时间和峰面积的 RSD 分别在 0.05~0.07%和 0.37~1.26%之间，仪器精密度良好。

表 3. 精密度结果 (n=6)

名称	RSD% (2 $\mu\text{g/L}$ )		RSD% (20 $\mu\text{g/L}$ )		RSD% (200 $\mu\text{g/L}$ )	
	R.T.	Area	R.T.	Area	R.T.	Area
4-氯苯胺	0.07	1.26	0.05	0.83	0.05	0.37

## 2.5 加标回收实验

在扑热息痛片样品中添加三个不同浓度的标准溶液，加标回收结果见表 4。所测扑热息痛片样品中未检出 4-氯苯胺杂质，色谱图见图 4。三个不同浓度加标回收率在 93.1~97.4%之间。

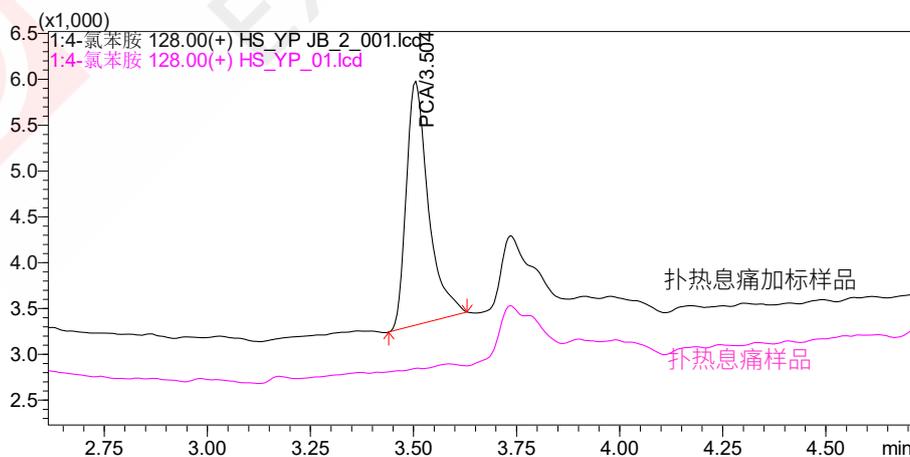


图 4.扑热息痛样品 (1 mg/mL) 和加标样品 (4-氯苯胺加标浓度 2  $\mu\text{g/L}$ ) 重叠色谱图 (基线移位模式)

表 4. 样品加标回收率

化合物名称	样品测定结果 ( $\mu\text{g/g}$ )	回收率/%		
		2 $\mu\text{g/g}$	20 $\mu\text{g/g}$	200 $\mu\text{g/g}$
4-氯苯胺	N.D.	93.1	95.4	97.4

注：N.D.表示未检出。

## 2.6 残留实验

高浓度标准样品（500  $\mu\text{g/L}$ ）分析完成后，进样分析溶剂空白，分析结果与定量限（1  $\mu\text{g/L}$ ）比对，残留考察结果表明，4-氯苯胺检测通道中无干扰。

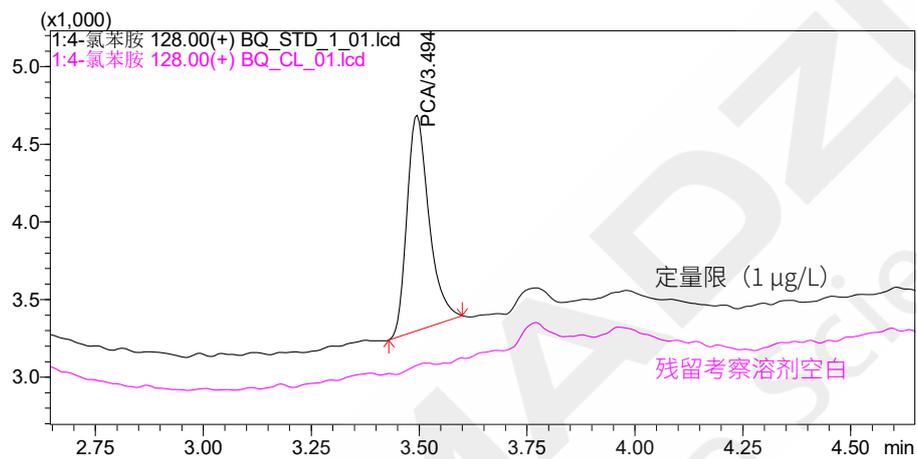


图 5. 残留考察溶剂空白样品和定量限（1  $\mu\text{g/L}$ ）重叠色谱图（基线移位模式）

## 3. 结论

本文建立了一种使用高效液相色谱质谱联用仪 LCMS-2050 定量测定扑热息痛片中 4-氯苯胺遗传毒性杂质的新方法。本方法线性范围宽、灵敏度高、重复性好、准确度高、前处理简单，可实现扑热息痛中痕量遗传毒性杂质 4-氯苯胺的高灵敏度、快速检测。

# LCMS-2050 定性分析阿托伐他汀杂质

**摘要:** 本文建立了使用超高效液相串联 LCMS-2050 分析阿托伐他汀钙片中杂质的方法,展示了 LCMS-2050 新功能在杂质分析中的应用。Mass-it 技术的引入,可以直观的了解色谱峰中的质量信息,并且不会遗漏低紫外吸收的成分;同时可以使用源内 CID 辅助对杂质结构的解析。

**关键词:** 单四极杆质谱仪 杂质分析 阿托伐他汀

杂质是指药物在生产和贮存过程中产生的影响药物纯度的物质,杂质无治疗作用,且可能会影响药物的疗效和稳定性,对用药安全带来很大的威胁。随着药物杂质逐渐受到人们的重视,药物质量的定义也发生了新的变化。不仅要进行药物研发,还要对药物可能产生的杂质进行研究。传统的药物杂质分析技术已经越来越无法适应当前的发展需求,高效液相色谱-质谱联用技术(HPLC-MS)具有高灵敏

度,高选择性,分离效率高,分析速度快等特点,同时能够给出有关化合物的质量信息,已成为药物杂质定性分析及鉴定中强有力的工具。

本文建立了超高效液与质谱 LCMS-2050 联用分析阿托伐他汀钙片中杂质的方法,该方法分析速度快、稳定性好,同时介绍了 LCMS-2050 新功能在杂质分析中的应用,为制药行业对药物中杂质的分析提供参考。

## 1. 实验部分

### 1.1 仪器

本实验采用岛津 LC-40 与单杆质谱仪 LCMS-2050 联用系统。具体配置为:

输 液 泵	: LC-40B X3	检 测 器	: SPD-M40
柱 温 箱	: CTO-40S	质 谱 仪	: LCMS-2050
自 动 进 样 器	: SIL-40C X3	色 谱 工 作 站	: LabSolutions Ver. 5.114

### 1.2 分析条件

液相条件

色 谱 柱	: Shim-pack XR-ODS II 2.0 mm I.D.×100 mm L,2.2 μm (岛津(上海)实验器材有限公司, P/N: 228-41623-92)		
流 动 相	: A相-20 mmol/L 醋酸铵溶液(冰醋酸调节 pH 值至 4.4); B相-乙腈		
流 速	: 0.3 mL/min	柱 温	: 50°C
进 样 体 积	: 1μL	洗 脱 方 式	: 梯度洗脱,初始浓度为 B 相 38%

质谱条件

离 子 源	: ESI+/-	脱 溶 剂 温 度	: 500°C
雾 化 气 流 速	: 3.0 L/min	DL 温 度	: 250°C
加 热 气 流 速	: 7.0 L/min	干 燥 气 流 速	: 5.0 L/min
Scan 参 数	: 100~800	扫 描 模 式	: Scan

表 1. 梯度洗脱程序

Time	Module	Command	Value
10.00	Pumps	Pump B Conc.	44
16.00	Pumps	Pump B Conc.	95
19.00	Pumps	Pump B Conc.	95
19.10	Pumps	Pump B Conc.	38
22.00	Pumps	Pump B Conc.	38

### 1.3 样品前处理

样品溶液制备：取阿托伐他汀钙与杂质I、杂质II、杂质III、杂质IV、杂质V、杂质VI、杂质VII对照品各约 2.5 mg，置 50 mL 量瓶中，加二甲基甲酰胺稀释至刻度，摇匀。

## 2. 结果与讨论

### 2.1 Mass-it 功能

通过质量签名技术 (Mass-it) 技术，可自动提取 MS 数据，在紫外色谱图中显示 m/z 信息；因此可以直观的了解各色谱峰的质谱信息，并且还可以检测是否有低紫外吸收的成分。

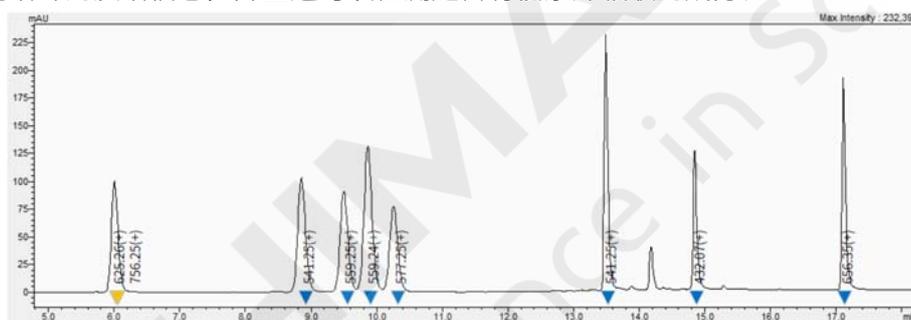


图 1. 使用 Mass-it 功能后的紫外色谱图

先对 TIC 色谱图中的色谱峰进行定性积分，可自动提取各个色谱峰中主要的质量数，并将获得的质量信息随保留时间叠加到 PDA/紫外色谱图中 (图 1)。其紫外色谱图显示的主要质量数对应的提取离子流图以及 TIC 图，如图 2 所示。

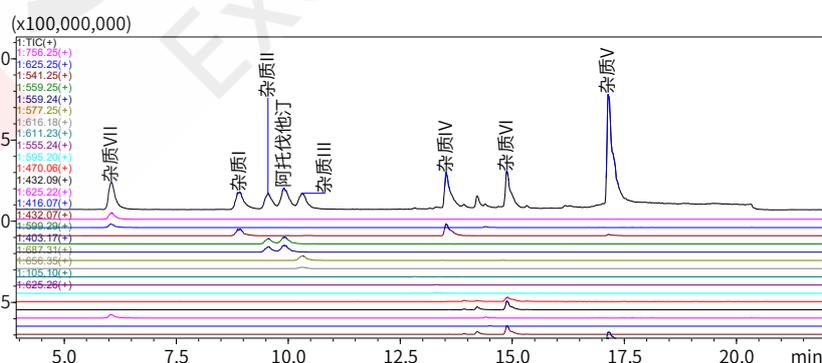


图 2. 样品溶液 TIC 色谱图以及各色谱峰主要离子提取离子流图

### 2.2 精密度实验

按照 1.2 的分析条件测定，取样品溶液连续进样 6 次，考察仪器的精密度。阿托伐他汀及其杂质等 8 种化合物的保留时间 RSD 为 0.01~0.39%，峰面积 RSD 为 1.16~3.81%，结果见表 2。实验结果表明 LCMS-

2050 具有良好的精密度。

表 2. 重复性实验测试结果 (MS) (n=6)

No.	化合物	保留时间 RSD (%)	峰面积 RSD (%)
1	阿托伐他汀	0.22	3.29
2	杂质 I	0.23	2.01
3	杂质 II	0.24	2.41
4	杂质 III	0.17	3.81
5	杂质 IV	0.01	1.48
6	杂质 V	0.02	3.76
7	杂质 VI	0.01	2.02
8	杂质 VII	0.39	1.16

### 2.3 源内CID辅助结构解析

LCMS-2050 可以在分析物进入质量分析器之前诱导分子的碰撞解离来获得化合物的 MS/MS 谱图，这种获得离子碎片以辅助结构解析的技术称为源内 CID。可以通过增加 Qarray 的电压增大化合物的源内裂解程度。如图 3 所示，通过增大 Qarray 的电压，杂质 I 的源内裂解程度增大，碎片 m/z 422.23 的响应也随之增强，杂质 I 的可能断裂方式如图 4 所示。

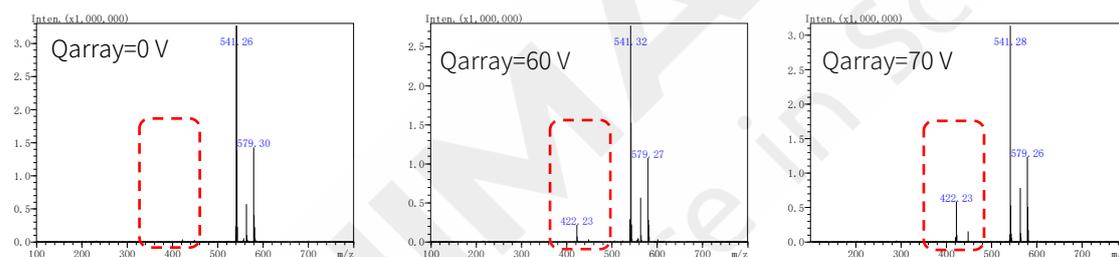


图 3. 不同 Qarray 电压下杂质 I 的质谱图

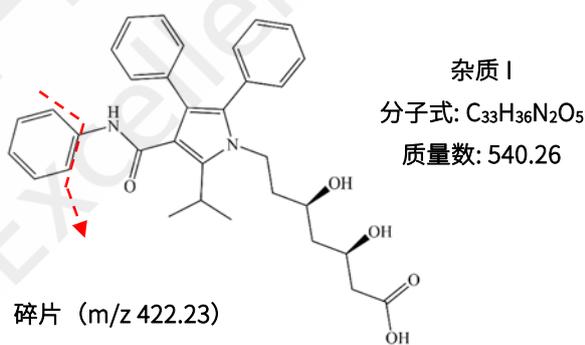
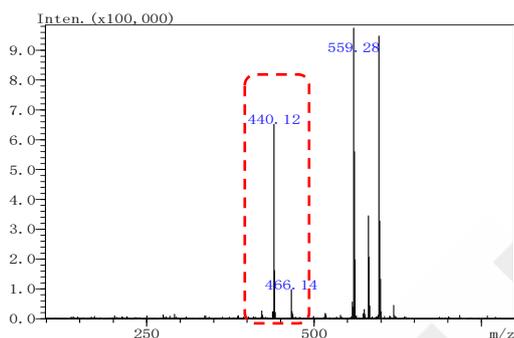
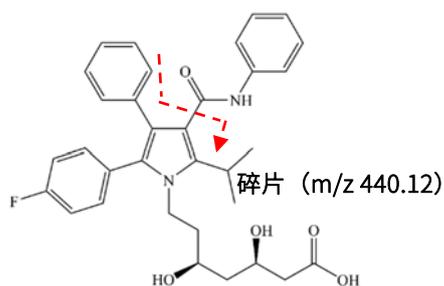
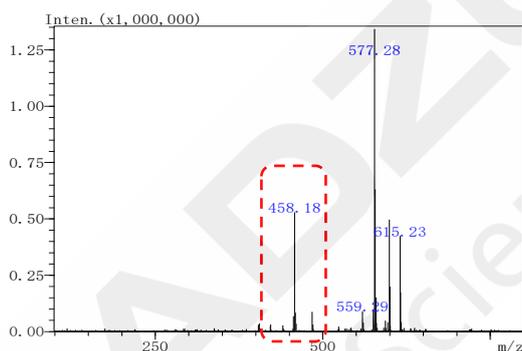
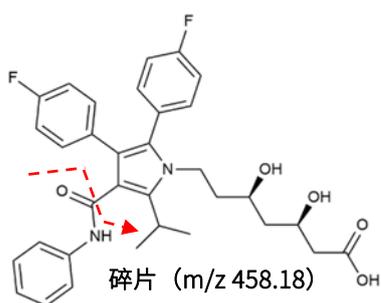


图 3. 杂质 I 结构式和推断的碎片

## 2.4 杂质的质谱图与结构解析

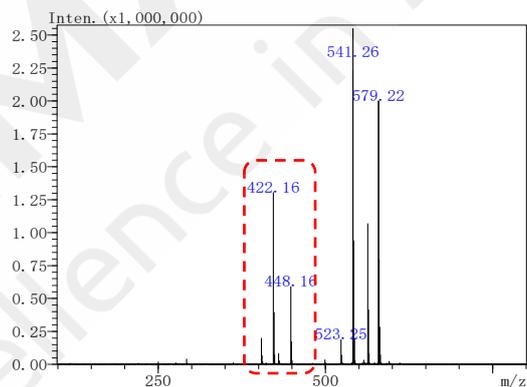
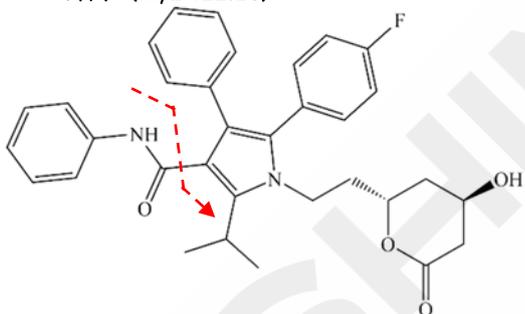


杂质 II 分子式:  $C_{33}H_{35}FN_2O_5$  质量数: 558.25



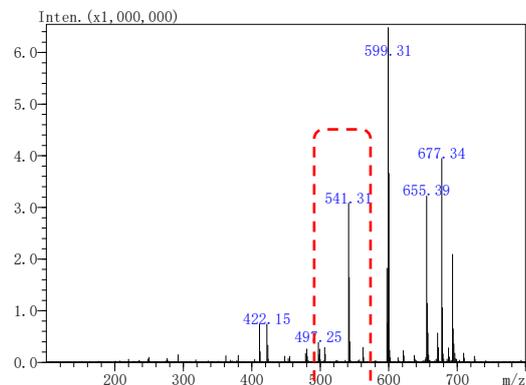
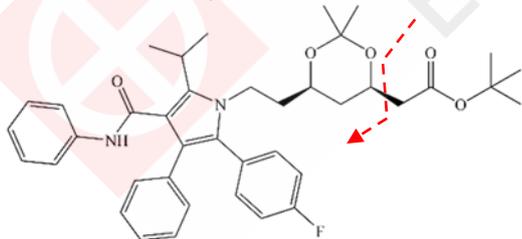
杂质 III 分子式:  $C_{33}H_{34}F_2N_2O_5$  质量数: 576.24

碎片 (m/z 422.16)

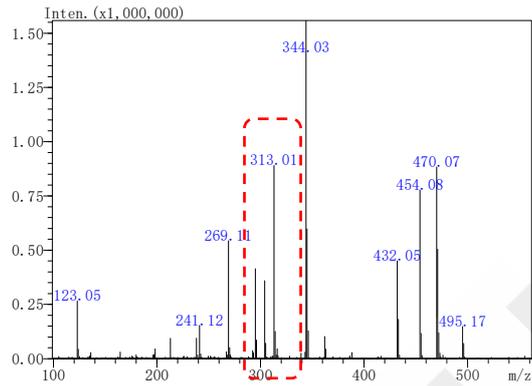
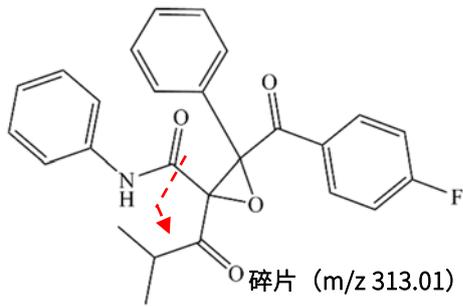


杂质 IV 分子式:  $C_{33}H_{33}FN_2O_4$  质量数: 540.24

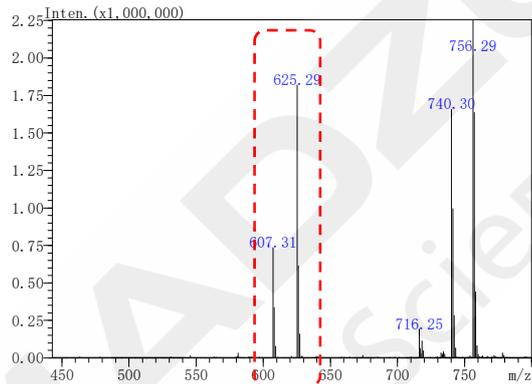
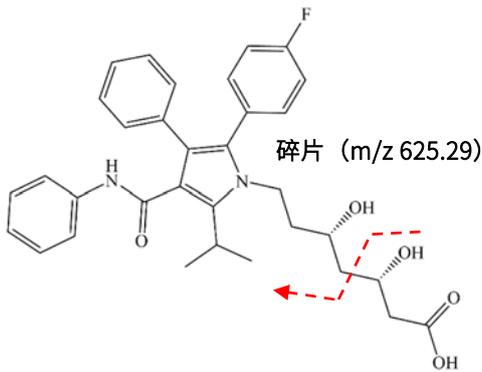
碎片 (m/z 541.31)



杂质 V 分子式:  $C_{40}H_{47}FN_2O_5$  质量数: 654.35



杂质 VI 分子式:  $C_{26}H_{22}FNO_4$  质量数: 431.15



杂质 VI 分子式:  $C_{40}H_{48}FN_3O_8$  质量数: 717.34

### 3. 结论

本文建立了使用岛津超高效液相色谱单四极杆质谱联用仪 LCMS-2050 分析药物中杂质的方法。该方法分析速度快、稳定性好。LCMS-2050 的 Mass-it 技术,可以直观的了解各色谱峰的质量信息,并且可以检测是否有低紫外吸收的成分,确保不会遗漏待分析组分。源内 CID 技术可以辅助对杂质的结构解析。

# 质谱引导型制备液相用于药物中多组分鉴别及分离

**摘要：**本文建立了一种使用岛津质谱引导型高效液相制备色谱用于药物中多组分的制备分离的方法。以分离制备阿托伐他汀钙片中的有关物质为例，采用反向液相色谱，分别以紫外，质谱以及紫外和质谱同时触发馏分收集，详细说明了不同触发方式的参数设置以及 LH-40 的制备模拟功能，使用不同的触发方式都可以对目标组分进行准确的收集。多种触发收集模式，满足不同性质的化合物制备需求。

**关键词：**LH-40 质谱 制备分离 阿托伐他汀钙

## 技术特点：

- ❖ 详细说明了 LH-40 馏分收集的参数设置。
- ❖ 分别演示了各种触发馏分收集方式，均能实现准确收集。

色谱是根据混合物中各组分的化学特性差异对其进行分离的一种分离方法。制备型色谱则是指利用色谱方法分离出一定量达到足够纯度的化合物用于后续实验或处理的过程。按样品的分离目的和规模可以分为分析型、半制备型和制备型。

紫外检测器对于大多化合物有良好的响应，已成为高效液相色谱仪中常用的检测器，同时在制备液相中也被广泛的使用。但是在实际的馏分收集，目标峰紫外信号响应较弱时使用紫外触发制备会显著降低样品的回收率；对于样品中多个色谱峰中目标峰的定性确认需要花费大量时间；对于无紫外吸

收的样品，则无法使用紫外触发馏分收集，以上都是紫外检测器对制备分离应用的制约。质谱检测器的加入可以很好的弥补紫外检测器的短板，可以更快的对多个色谱峰进行定性确认；可以在目标组分没有紫外响应或者响应较弱时使用质谱触发馏分收集，得到的结果更加准确。

本文采用岛津新型液体处理器 LH-40 作为进样器和馏分收集器，同时采集紫外和质谱两路信号，提供紫外和质谱两种检测模式的多种触发馏分收集方式，为相关仪器提供一种高效、灵敏、可靠的液相制备分离手段。

## 1. 实验部分

### 1.1 仪器

本实验中仪器具体配置为：

系 统 控 制 器	： SCL-40	检 测 器	： SPD-40
输 液 泵	： LC-40D XS	质 谱 仪	： LCMS-2050
柱 温 箱	： CTO-40C	色 谱 工 作 站	： LabSolutions Ver. 5.114
进样器和馏分收集器	： LH-40		

### 1.2 分析条件

液相条件

色 谱 柱 ： InertSustain™ C18 200 mm×4.6 mm I.D., 5 μm

输 液 泵 : A相-20 mmol/L 乙酸铵水溶液 (含 0.1%甲酸), B相-乙腈  
 流 速 : 1.0 mL/min 柱 温 : 40°C  
 进 样 体 积 : 20  $\mu$ L 检 测 波 长 : 254 nm  
 洗 脱 方 式 : 梯度洗脱, 初始浓度为 B 相 45%, 洗脱程序见表 1

表 1. 梯度洗脱程序

Time	Module	Command	Value
10.00	Pumps	Pump B Conc.	45
25.00	Pumps	Pump B Conc.	50
30.00	Pumps	Pump B Conc.	95
37.00	Pumps	Pump B Conc.	95
37.10	Pumps	Pump B Conc.	45
45.00	Controller	Stop	

#### 质谱条件

离 子 源 : ESI+/- 接 口 温 度 : 350°C  
 雾 化 气 流 速 : 1.5 L/min D L 温 度 : 250°C  
 加 热 块 温 度 : 400°C 干 燥 气 流 量 : 15 L/min  
 S c a n 参 数 : m/z 350~800 质 谱 监 测 类 型 : 质 量 数 色 谱 图 (MC)

### 1.3 样品前处理

样品溶液配制: 取阿托伐他汀钙与杂质I、杂质II、杂质III、杂质IV、杂质V、杂质VI、杂质VII对照品各约 2.5 mg, 置50 mL量瓶中, 加二甲基甲酰胺稀释至刻度, 摇匀。

## 2. 结果与讨论

### 2.1 分离条件探索

将上述样品溶液按 1.2 中的分析条件进行测定, 色谱图如图 1 所示。阿托伐他汀钙及部分杂质的色谱峰信息见表 2。

表 2. 色谱峰信息表

No.	名称	保留时间	[M+H] <sup>+</sup>	[M-H] <sup>-</sup>
1	杂质 VII	12.3	718.30	716.25
2	杂质 I	21.0	541.45	539.25
3	杂质 II	22.1	559.60	557.15
4	阿托伐他汀	23.0	559.40	557.25
5	杂质 III	23.8	577.30	575.20
6	杂质 IV	30.4	541.40	539.20
7	杂质 VI	32.8	432.05	430.05
8	杂质 V	34.9	655.50	653.25

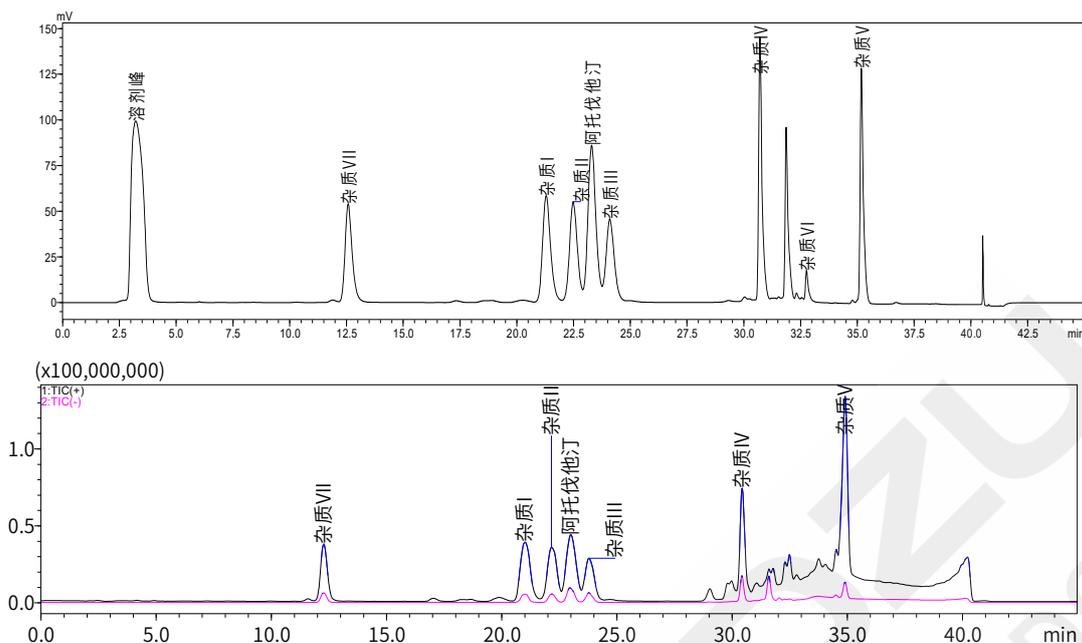


图 1. 样品 UV 色谱图和离子流色谱图

## 2.2 馏分收集

### 2.2.1 馏分收集的参数设置流程如下：

步骤 1. 选择合适的触发馏分收集的方式，若需要使用 MS 触发收集，需要在“模拟输出”项下选择 MS 对应的通道，以及需要监控的质量数。

仪器参数视图 常规 高级 结束时间：45.00 min

MS 接口 模拟输出 数据采集时间 时间程序 泵 检测器 A 柱温箱 控制器 自动排气 进样器 馏分收集器

使用通道1(1) 编辑通道1(1)

使用通道2(2) 编辑通道2(2)

输出强度最大值(M) 10000000 1计数 = 0.1uV

	输出	分析时间 (min)	类型	m/z(1)	m/z(2)	m/z(3)	m/z(4)
1	<input checked="" type="checkbox"/>	0.000 - 45.000	MC	718.20	577.20	541.20	
2	<input type="checkbox"/>	0.000 - 45.000	TIC				

如下图所示，勾选“启用馏分收集器”，根据触发模式在“制备触发器”的开始和结束选项中选择对应的通道和命令，可根据需要选择：满足单独通道的参数或者同时满足两个通道的参数。

仪器参数视图 常规 高级 结束时间：45.00 min

MS 接口 模拟输出 数据采集时间 时间程序 泵 检测器 A

制备参数

启用馏分收集器(V)

制备时间(C): 45.00 min

制备触发器(T):

开始: Ch2

结束: Ch2

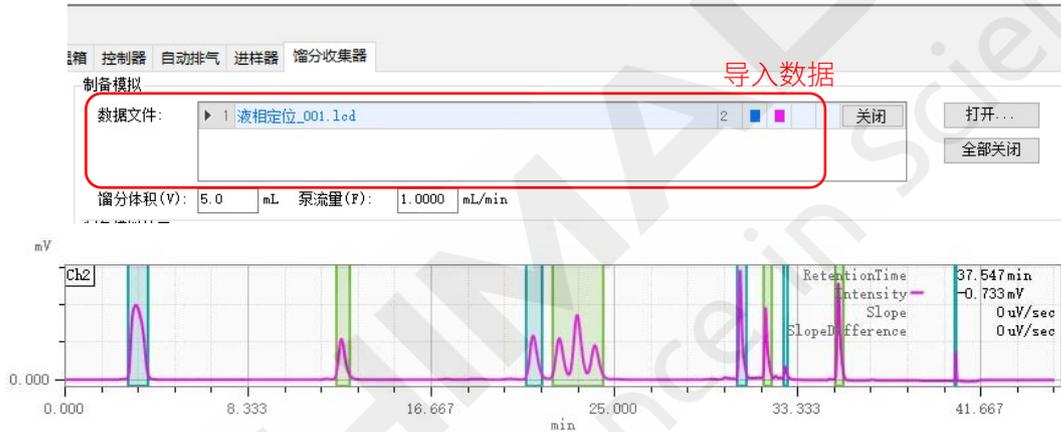
MS UV 时间程序 其他

步骤 2. 编辑馏分收集开始和结束的命令，如下图所示，可以选择根据色谱峰的级别或者斜率触发馏

分收集开始和结束的命令。



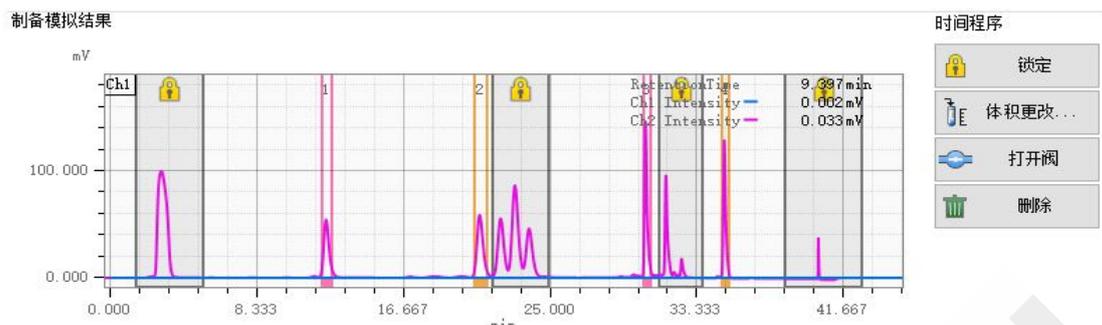
步骤 3. 如下图所示，可将最终确定的液相条件时采集的色谱峰导入，点击步骤 2 示意图中“模拟”按钮，会在制备模拟结果显示当前条件下的收集结果。其中颜色区域是会进行馏分收集的区域。



步骤 4. 可根据需要添加其它条件，以添加锁定区域为例说明。如下图所示，可在时间程序列表中添加处理命令，包括锁定时间段，更改参数值等命令；



也可以直接在模拟制备结果右侧的时间程序中添加命令，添加后点击步骤 2 示意图中“应用”按钮，即可自动生成时间程序列表。



设置完所有的参数后，点击步骤 2 示意图中“模拟”按钮，在制备模拟结果中显示的就是所有命令下的模拟收集结果。

### 2.2.2 UV触发馏分收集

选择Ch2，使用UV触发馏分收集，“制备触发器”的开始和结束均选择Ch2。按照级别进行收集，级别参数设置为7000  $\mu\text{V}$ ，添加了4个锁定的时间段，此处锁定对该时间段内色谱峰不进行收集，模拟收集结果如步骤4中所示。按照上述馏分收集参数进行馏分收集，结果如图2所示。实际的馏分收集结果与模拟馏分收集结果一致。

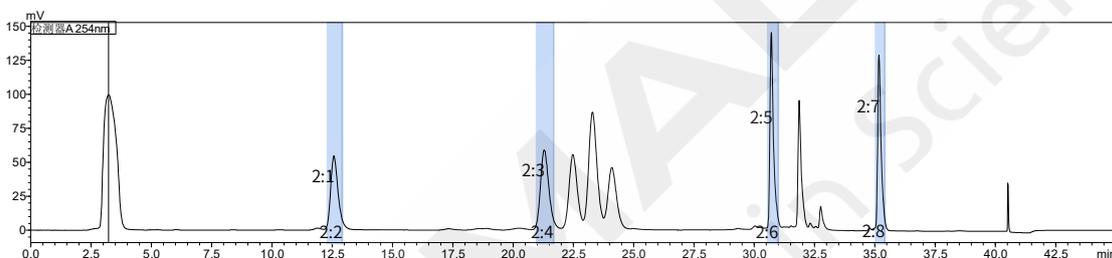


图 2. UV 触发馏分收集结果

### 2.2.3 MS触发馏分收集

选择Ch1，使用MS触发馏分收集，选择MS模拟信号输出m/z分别为718.20、577.20和541.20。“制备触发器”的开始和结束均选择Ch1。按照级别进行收集，级别参数设置为50000  $\mu\text{V}$ ，添加了4个锁定的时间段。

按照上述馏分收集参数进行馏分收集，结果如图3所示。杂质III的模拟信号满足级别要求，但由于保留时间在锁定区间内，因而未收集该馏分；根据图4所示，杂质V在的质谱图中也能提取到m/z 541，因而也对该杂质进行了馏分收集。

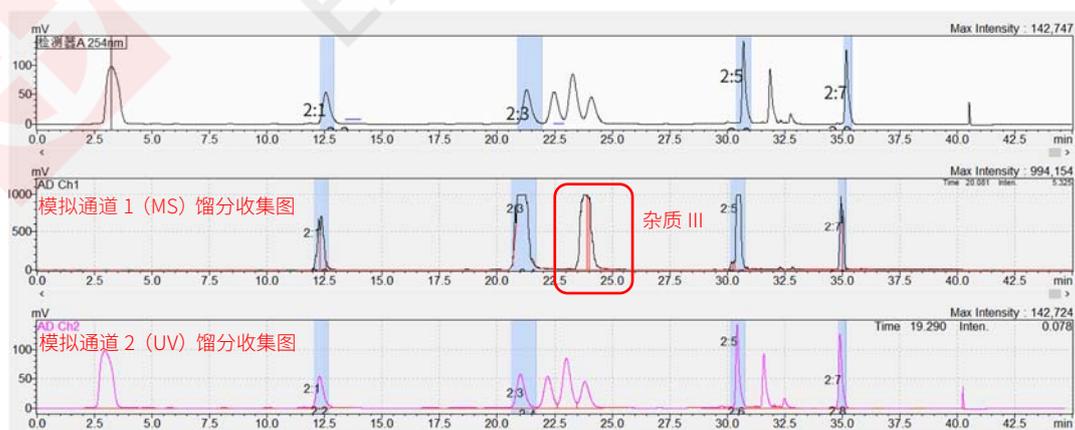


图 3. MS 触发馏分收集结果

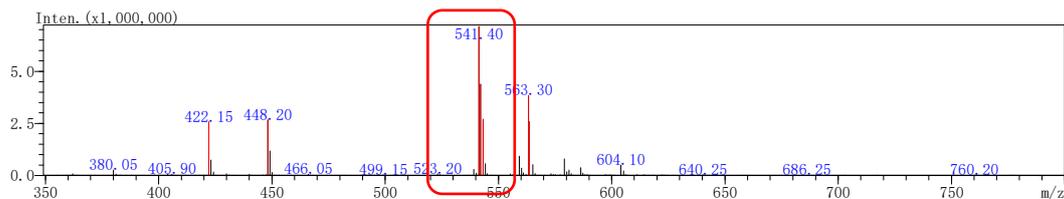


图 4. 杂质 V 质谱图

#### 2.2.4 UV和MS共同触发馏分收集

选择Ch1和Ch2，使用MS和UV联合触发馏分收集，选择MS模拟信号输出m/z分别为718.20、577.20和655.20。“制备触发器”的开始选择Ch1 AND Ch2（需要同时满足MS和UV条件），制备触发器结束选择Ch1 OR Ch2（MS和UV满足其中一个条件）。按照级别进行收集，Ch1级别参数设置为50000  $\mu\text{V}$ ，Ch2级别参数设置为7000  $\mu\text{V}$ 。添加了4个锁定的时间段。

按照上述馏分收集参数进行馏分收集，结果如图5所示。杂质III的模拟信号满足级别要求，但由于保留时间在锁定区间内，因而未收集该馏分；其余馏分正常收集。

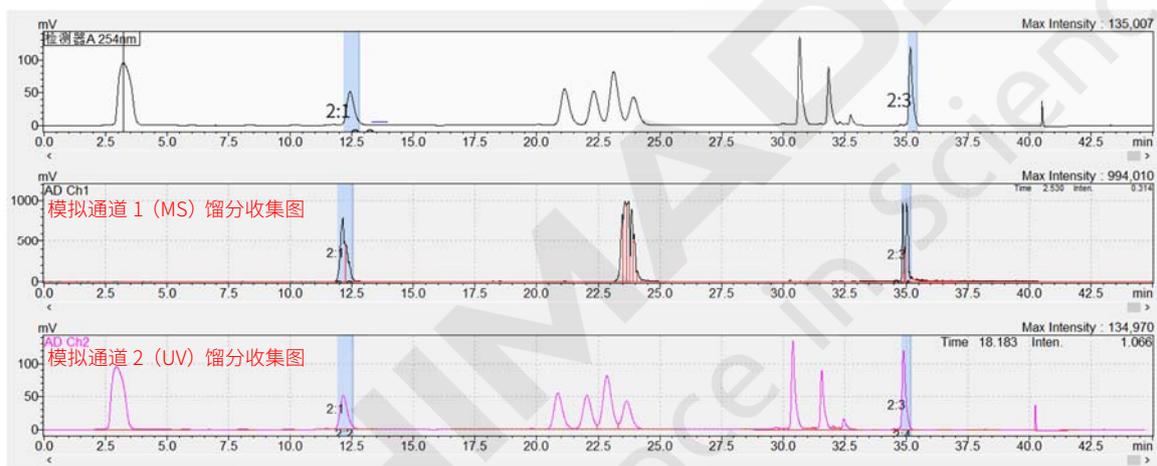


图 5. UV 和 MS 共同触发馏分收集结果

### 3. 结论

本文采用岛津新型液体处理器 LH-40 作为进样器和馏分收集器，单四极杆质谱 LCMS-2020 作为质谱检测单元，以分离制备阿托伐他汀钙片中的有关物质为例，分别以紫外，质谱以及紫外和质谱同时触发馏分收集，详细说明了不同触发方式的参数设置以及 LH-40 的制备模拟功能，并且对不同参数设定得到的不同结果进行了说明。相对于紫外检测器引导的制备色谱而言，质谱的加入可以很好的弥补紫外检测器不足，两者相辅相成，可以使得收集结果更加的准确、收集方式更加多样化，以适用于不同性质的化合物制备需求。

# LCMS-2050 测定药品中 5 种芳基磺酸酯类遗传毒性杂质

**摘要：**本文建立了一种使用岛津高效液相色谱质谱联用仪 LCMS-2050 检测药品中 5 种芳基磺酸酯遗传毒性杂质含量的新方法。在 5~500  $\mu\text{g/L}$  浓度范围内，5 种芳基磺酸酯遗传毒性杂质相关系数均大于 0.994。在药品中添加三个浓度的混合标准溶液，各组分回收率在 110.5~115.3%之间。此方法前处理简单、特异性好、灵敏度高，可为药品中 5 种芳基磺酸酯遗传毒性杂质含量测定提供参考。

**关键词：**单四极杆质谱 药品 芳基磺酸酯遗传毒性杂质

## 技术特点：

- ❖ 使用 LCMS-2050 建立了一种检测药品中 5 种芳基磺酸酯遗传毒性杂质含量的新方法。
- ❖ 方法前处理简单，线性范围宽，准确率高。

遗传毒性杂质 (Genotoxic Impurity, GTI) 是指化合物本身直接或间接损伤细胞 DNA，产生基因突变或体内诱变，具有致癌可能或者倾向的物质。遗传毒性杂质特点是在很低浓度即可造成人体遗传物质的损伤，进而导致基因突变并促使肿瘤的发生。由于遗传毒性杂质的潜在危害，则必须对原料药或药品中任何可能存在、未在早期合成步骤中清除的所有遗传毒性杂质进行监测。

在制药行业，药物活性成分如以烷基磺酸盐、苯磺酸盐、对甲苯磺酸盐及羟乙基磺酸盐形式存在或药物合成过程中使用到了磺酸类试剂，磺酸酯就

会被视为潜在的遗传毒性杂质而存在。磺酸酯遗传毒性杂质根据取代基不同可分为烷基磺酸酯和芳基磺酸酯。

此前已有相关文献报道了部分磺酸酯遗传毒性杂质的定量检测方法，主要采用 GC-MS、GC-FID、LC-MS/MS 等，同时可能需要对样品采用复杂的衍生化处理。而本研究主要采用 LCMS 对 5 种芳基磺酸酯遗传毒性杂质进行定量分析，该方法前处理简单、准确度高，可以为药品中芳基磺酸酯遗传毒性杂质的检测提供参考。

## 1. 实验部分

### 1.1 仪器

本实验采用岛津高效液相色谱质谱联用仪 LCMS-2050。

具体配置为：

系统控制器	： SCL-40	脱气机	： DGU-405
输液泵	： LC-40B XR	自动进样器	： SIL-40 XR
柱温箱	： CTO-40C	二极管阵列检测器	： SPD-M40
质谱仪	： LCMS-2050	色谱工作站	： LabSolutions Ver.5.114

### 1.2 分析条件

#### 液相色谱条件

色 谱 柱 : Shim-pack GISS C18 (100 mm x 2.1 mm I.D., 1.9  $\mu$ m)  
P/N: 227-30048-02; 岛津 (上海) 实验器材有限公司  
流 动 相 : A- 5 mmol/L 甲酸铵水溶液; B- 甲醇  
流 速 : 0.3 mL/min 柱 温 : 40°C  
进 样 体 积 : 2  $\mu$ L 检 测 波 长 : 280 nm  
洗 脱 方 式 : 梯度洗脱, B 相初始浓度为35%, 时间程序见表1。

表 1. 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
2.80	Oven	CTO.RVR	1*
3.50	Pumps	Pump B Conc.	50
4.50	Pumps	Pump B Conc.	90
7.00	Pumps	Pump B Conc.	90
7.00	Oven	CTO.RVR	0*
7.01	Pumps	Pump B Conc.	35
9.00	Controller	Stop	

注: \* “1” 表示流路切换至质谱, “0” 表示流路切换至废液。

### 质谱条件

离子化模式 : DUIS, 正离子模式 脱溶剂温度 : 150 °C  
雾化气流速 : 3 L/min D L 温度 : 100 °C  
加热气流速 : 5 L/min 接口电压 : 2.0 kV  
干燥气流速 : 7 L/min 扫描模式 : SIM  
采样周期 : 0.5 sec

表 2. 化合物信息

序号	化合物名称	CAS	分子量	m/z	保留时间
1	苯磺酸甲酯	80-18-2	172.01	190.04	3.714
2	苯磺酸乙酯	515-46-8	186.03	204.06	4.975
3	对甲苯磺酸甲酯	80-48-8	186.03	204.06	5.324
4	对甲苯磺酸乙酯	80-40-0	200.05	218.08	6.179
5	对甲苯磺酸异丙酯	2307-69-9	214.06	232.09	6.471

### 1.3 标准溶液配制

取混合标准贮备液 (100 mg/L), 以甲醇逐级稀释为 5、10、20、50、100、200、500  $\mu$ g/L 的标准系列工作溶液, 待测。

### 1.4 样品前处理

准确称取某药品粉末45 mg至1 mL容量瓶中, 用甲醇定容至刻度, 摇匀超声10 min, 取出容量瓶冷却至室温, 用甲醇补足至刻度, 混匀过0.22  $\mu$ m尼龙滤膜后, 上机分析。

## 2. 结果与讨论

### 2.1 色谱条件选择

本实验通过优化质谱条件，对比了不同流动相，发现在 5 mmol/L 甲酸铵水溶液和甲醇的梯度洗脱下，目标物有相对较高的响应。同时由于遗传毒性杂质在主药中的含量极少，为了分析遗传杂质含量且保证灵敏度，避免高浓度的主药和辅料进入质谱，造成污染，需要通过流路切换阀将主药和辅料切至废液，只让待测杂质进入质谱检测。

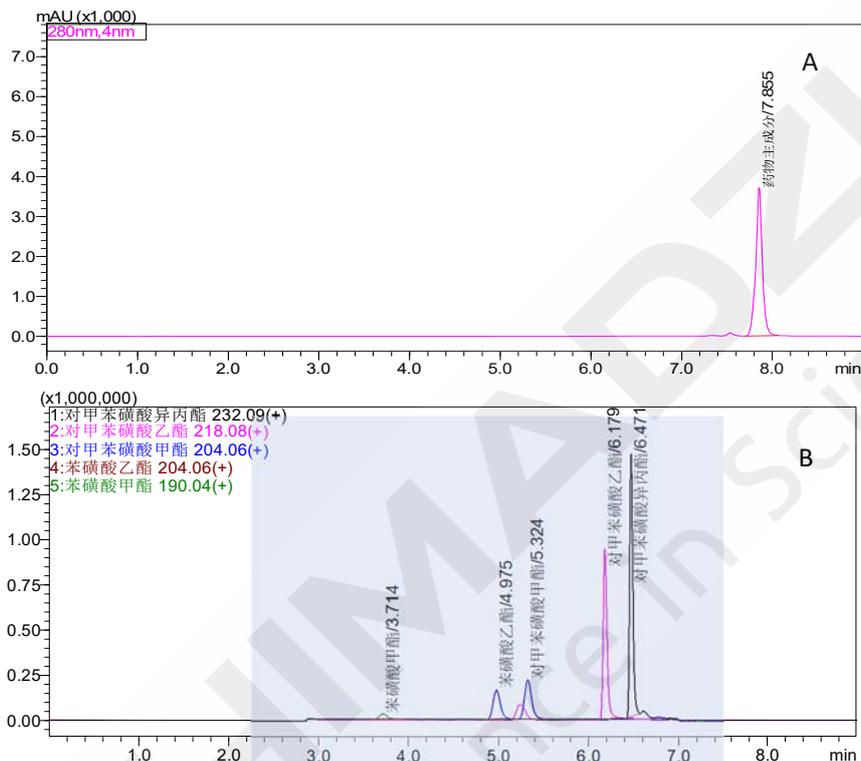
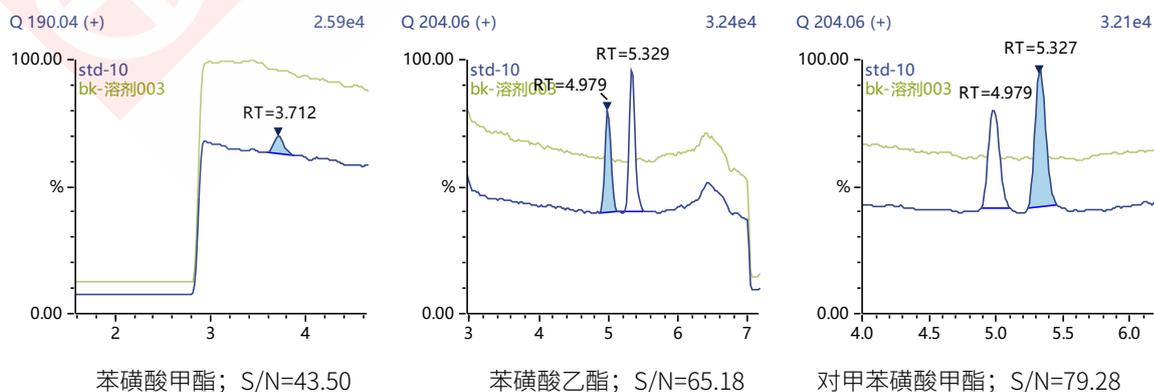


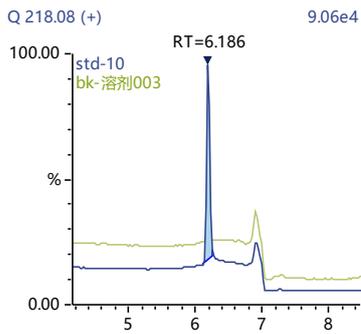
图 1. 样品 PDA 色谱图 (A, 主药浓度 0.8 mg/mL) 和混合标准溶液 SIM 色谱图 (B, 浓度 100  $\mu$ g/L)

本方法中通过设置阀切换程序将 2.8 ~7min 内的切入 LCMS 进行分析，其余时间切入废液。

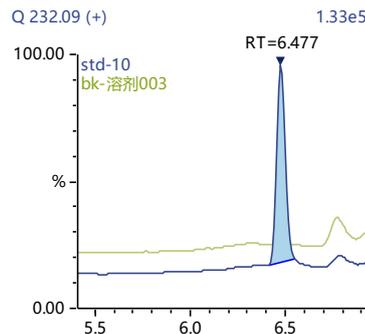
### 2.2 方法专属性

溶剂空白样品与混合标准溶液 (10  $\mu$ g/L) SIM 色谱图显示，目标峰保留时间处，未见明显干扰，方法专属性好。





对甲苯磺酸乙酯; S/N=669.99



对甲苯磺酸异丙酯; S/N=362.52

图 2. 溶剂空白和混合标准溶液 (10 μg/L) 的 SIM 色谱图

### 2.3 线性关系考察

以峰面积为纵坐标，以浓度为横坐标，外标法绘制校准曲线。线性方程、相关系数、检出限和定量限见表3。

表 3.5 种芳基磺酸酯遗传毒性杂质的校准曲线结果 (加权 1/C)

#	名称	浓度范围 (μg/L)	准确度 (%)	相关系数 r	LOQ (μg/L)	LOD (μg/L)
1	苯磺酸甲酯	5~500	87.3~114.1	0.9994	2.42	0.80
2	苯磺酸乙酯	5~500	96.9~102.4	0.9998	1.56	0.51
3	对甲苯磺酸甲酯	5~500	96.7~102.2	0.9997	1.27	0.42
4	对甲苯磺酸乙酯	5~500	89.3~103.1	0.9999	0.14	0.04
5	对甲苯磺酸异丙酯	5~500	90.4~106.9	0.9995	0.27	0.09

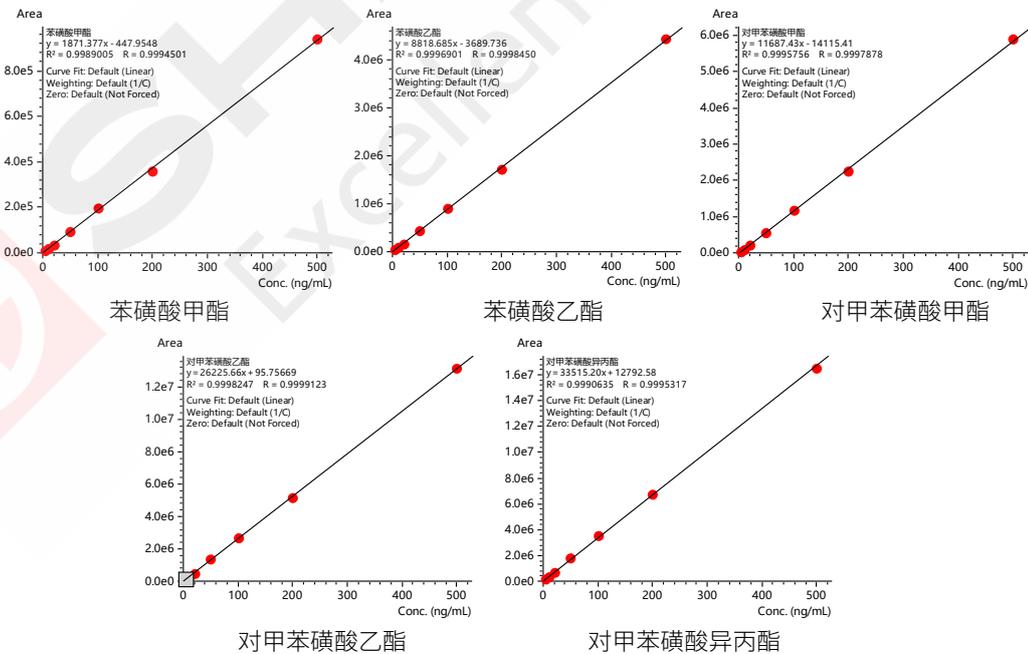


图3. 5种芳基磺酸酯遗传毒性杂质校准曲线

## 2.4 精密度实验

对三个浓度的混合标准溶液连续 6 次进样，考察仪器的精密度，保留时间和峰面积的精密度结果如表 4 所示。三个浓度标准品的保留时间和峰面积的 RSD 分别在 0.03~0.12%和 0.67~5.26%之间，仪器精密度良好。

表 4. 精密度结果 (n=6)

#	名称	RSD% (10 µg/L)		RSD% (50 µg/L)		RSD% (500 µg/L)	
		R.T.	Area	R.T.	Area	R.T.	Area
1	苯磺酸甲酯	0.10	5.26	0.12	2.74	0.12	0.75
2	苯磺酸乙酯	0.08	1.53	0.10	1.34	0.10	2.19
3	对甲苯磺酸甲酯	0.08	1.66	0.09	0.73	0.10	1.80
4	对甲苯磺酸乙酯	0.03	0.67	0.05	1.07	0.06	1.19
5	对甲苯磺酸异丙酯	1.22	4.29	0.06	0.61	0.06	2.38

## 2.5 样品测试和回收率实验

按照 1.4 步骤进行样品处理，经上机分析，所测样品中 5 种芳基磺酸酯遗传毒性杂质均未检测出，色谱图见图 4。向该药品中添加不同浓度的标准溶液进行回收率实验，每个添加量平行测定 3 次，回收率见表 5，结果显示回收率满足药典要求。

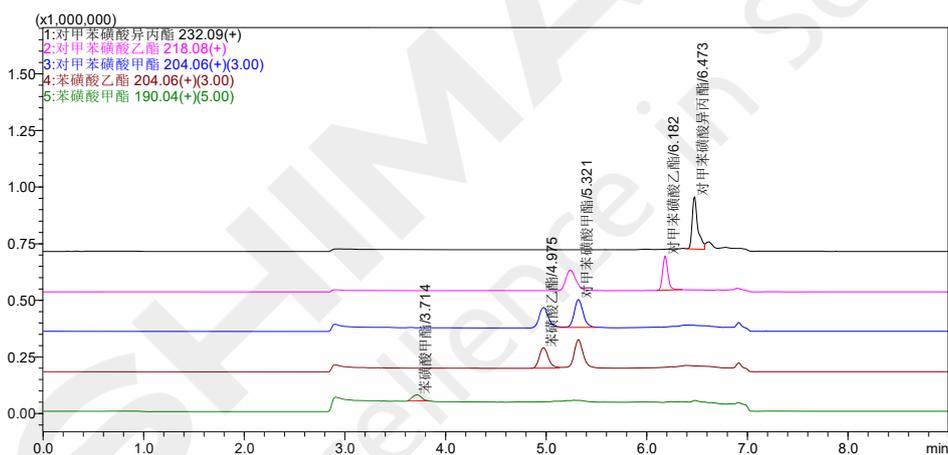


图 4. 药品样品色谱图 (混合标准品添加量为 0.44 µg/g)

表 5. 样品加标回收率结果 (n=3)

#	名称	检测结果 (µg/g)	添加量 (0.22 µg/g)		添加量 (0.44 µg/g)		添加量 (2.2 µg/g)	
			平均回收率 (%)	RSD (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	苯磺酸甲酯	N.D	111.1	5.51	105.7	0.91	106.6	1.64
2	苯磺酸乙酯	N.D	112.6	1.63	108.4	0.40	110.5	0.38
3	对甲苯磺酸甲酯	N.D	115.3	1.03	112.6	2.41	108.2	0.59
4	对甲苯磺酸乙酯	N.D	104.1	2.33	100.5	0.84	106.3	0.81
5	对甲苯磺酸异丙酯	N.D	110.9	2.16	115.0	1.39	108.7	0.58

注：N.D 表示未检出

### 3. 结论

本文建立了一种使用高效液相色谱质谱联用仪 LCMS-2050 定量测定药品中 5 种芳基磺酸酯遗传毒性杂质的新方法。该方法前处理简单，线性范围宽、重复性好、准确度高，可为药品中芳基磺酸酯遗传毒性杂质的检测提供参考。



# LabSolutions MD 用于阿托伐他汀钙有关物质测定的分析方法开发

**摘要:** 本实验使用岛津方法开发系统结合 LabSolutions MD 对阿托伐他汀钙有关物质的测定进行了方法开发,展示了 LabSolutions MD 软件的在 HPLC 方法开发中自动和智能化的功能与特点。LabSolutions MD 软件是基于 AQBd 理念的方法开发软件,可根据实验设计 (DoE) 分析样品,并构建设计空间,开发出稳健可靠的分析方法。

**关键词:** LabSolutions MD 阿托伐他汀钙 方法开发

## 技术特点:

- ❖ 使用 LabSolutions MD 开发出阿托伐他汀钙有关物质的稳健可靠分析方法。
- ❖ 与现行《中国药典》阿托伐他汀钙片检查项下有关物质测定方法相比,液相质谱溶剂兼容性更高,分析时间也大大缩短。

阿托伐他汀钙片为高胆固醇血症和冠心病药物,能有效降低非致死性心肌梗死的风险,降低致死性和非致死性卒中的风险、降低血管重建术的风险,降低因充血性心力衰竭而住院的风险,降低心绞痛的风险。

现行《中国药典》中阿托伐他汀钙片检查项下有关物质有检定要求,其中杂质I(去氟阿托伐他汀钙)、杂质II(阿托伐他汀钙非对映异构体)、杂质III(二氟阿托伐他汀钙)和阿托伐他汀钙的结构相近,色谱保

留行为类似,因此本文使用LabSolutions MD软件结合方法开发系统,对其进行方法开发。Labsolutions MD软件可帮助分析工作者“轻松高效”“科学系统”的实现稳健的分析方法开发,包括根据实验设计分析样品,利用分析结果构建设计空间,以及在确定最佳分析条件后评估其稳健性。使用Labsolutions MD开发软件,即使缺乏经验的分析人员也同样能够得到稳健的分析方法。

## 1. 实验部分

### 1.1 仪器

本实验采用岛津高效液相色谱仪,具体配置为:

系统控制器	: CBM-40	输液泵	: LC-40D XS ×2
脱气机	: DGU-403	自动进样器	: SIL-40C XS
柱温箱	: CTO-40C	检测器	: SPD-M40
质谱检测器	: LCMS-2050	色谱工作站	: Labsolutions Ver.5.118 Labsolutions MD Ver.2.01

### 1.2 混合对照品溶液的配制

实验设计溶液制备:取阿托伐他汀钙与杂质 I 对照品、杂质 II 对照品、杂质 III 对照品各约 2.5 mg,置 50 mL 量瓶中,加二甲基甲酰胺溶解并稀释至刻度,摇匀。

系统适用性溶液制备:参照中国药典阿托伐他汀钙检查项下有关物质测定法,取阿托伐他汀钙与杂质 I、

杂质 II、杂质 III、杂质 IV、杂质 V、杂质 VI、杂质 VII 对照品各约 2.5mg，置 50 ml 量瓶中，加二甲基甲酰胺稀释至刻度，摇匀。

## 2. 结果与讨论

### 2.1 实验设计

从色谱分离原理看，影响分离要素关键因素包含固定相类型、流动相类型、以及洗脱条件。为更加全面的研究阿托伐他汀钙有关物质的保留行为，本例在已经确定了色谱柱及流动相种类的基础上进行了后续细致研究，考察了流动相初始变化、柱温箱温度以及流速大小对阿托伐他汀钙与有关物质的分离的影响，阿托伐他汀钙有关物质的 HPLC 实验设计如表 1 所示，共 27 (3 × 3 × 3) 种方案。只需单击选择要考察的实验因子，LabSolutions MD 软件即可自动创建批处理表格，大大减少了手动创建时间，提高分析效率。

表 1. 实验设计表

<b>液相条件</b>	
流动相：	
A 相：	20 mM 乙酸铵溶液 (冰醋酸调节 pH 值至 4.4)
B 相：	乙腈
色谱柱：	Shim-pack GIST-HP AQ (100 mm × 2.1 mm I.D., 1.9 μm), P/N: 227-30807-02, 岛津 (上海) 实验器材有限公司
分析条件：	
B 相起始浓度：	35, 40, 45% (3 水平)
B 相终止浓度：	95%
流速：	0.3, 0.4, 0.5 mL/min (3 水平)
进样量：	1 μL
柱温：	30, 40, 50°C (3 水平)
检测波长：	PDA (254 nm)
洗脱方式：	梯度洗脱，时间程序如下， B conc 40% (0-15 min) ~ 95% (18-21 min) ~ 40% (21.1-26 min)
<b>质谱条件</b>	
离子化模式：	DUIS (±)
脱溶剂温度：	500°C
雾化气流速：	3 L/min
D L 温度：	250°C
加热气流速：	7 L/min
扫描模式：	SCAN (m/z 100-800)
干燥气流速：	5 L/min

### 2.2 色谱峰追踪功能

LabSolutions MD 具有针对不同数据的化合物精准识别、高效追踪的峰追踪功能，大大减少手动识别的繁琐程度，进而实现设计空间的精确构建。LabSolutions MD 自动峰追踪功能支持多种专属性追踪方式，如峰洗脱顺序、UV 光谱、MS 质谱相似度、峰面积及峰面积百分比、峰高度及峰高度百分比等，大大提高工作效率。本实验采用峰洗脱顺序、MS 质谱相似度对色谱峰进行追踪，结果如图 1 所示。



图 1. 峰追踪功能 (1 杂质 I、2 杂质 II、3 阿托伐他汀钙、4 杂质 III)

UV 峰追踪色谱图(a); 阿托伐他汀正离子模式比较质谱图(b) ; 阿托伐他汀负离子模式比较质谱图(c)

### 2.3 设计空间——分析条件可视化

基于峰追踪的结果，使用 LabSolutions MD 软件的根据已识别化合物的保留时间回归功能

[Regression using Identified RT] 对分析条件和分离关系进行评价，从而创建设计空间。创建得到的模型热力图如图 2 所示，其可以同时研究流速、柱温及 B 相起始浓度对色谱峰分离度的影响，将分析条件可视化，因此可以比较直观地确认阿托伐他汀钙分离良好的分析条件。

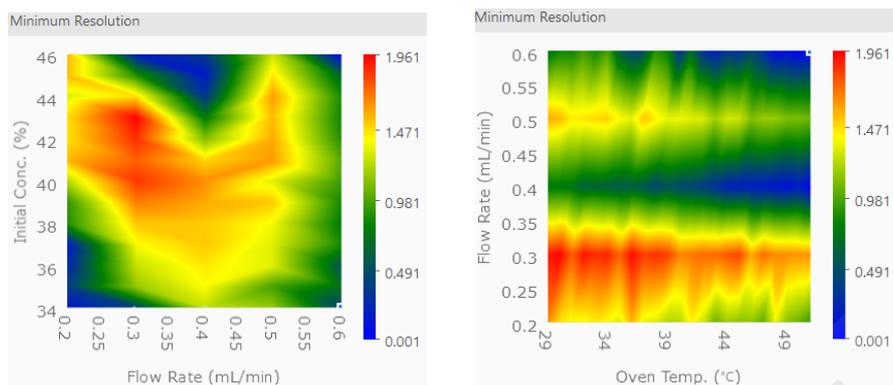


图 2. 最小分离度的设计空间

(左: B 起始浓度与流速的最小分离度设计空间; 右: 流速与柱温的最小分离度设计空间)

## 2.4 计算最佳分析条件

LabSolutions MD 软件可以根据绘制的设计空间来预测出最佳的分析条件。图 3 蓝色正方形为 LabSolutions MD 给出最佳分析参数, 根据 LabSolutions MD 给出的最佳分析参数上机分析, 色谱图如图 4 所示, 各峰分离度均大于 1.5, 结果参见表 2。

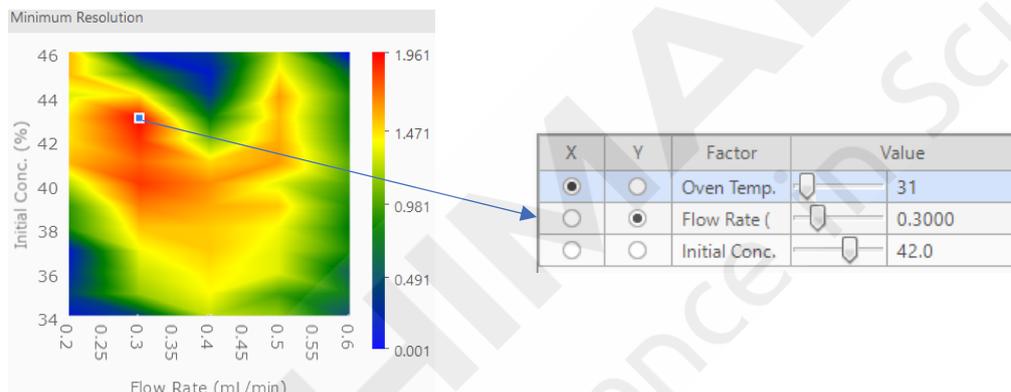


图 3. 最佳分析参数

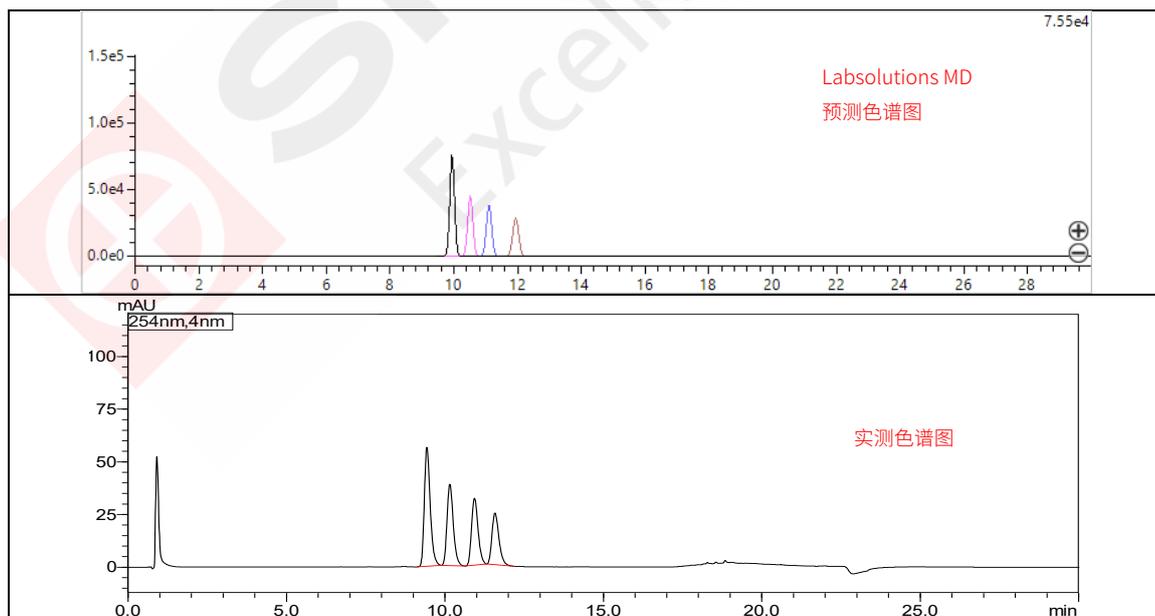


图 4. 最佳分析条件的色谱图

表 2. 最佳条件实测色谱图各峰分离度结果

化合物名称	杂质 I	杂质 II	阿托伐他汀钙	杂质 III
分离度	-	2.032	2.059	1.627

## 2.5 耐用性考察

使用LabSolutions MD软件进行耐用性考察，在软件中输入分析条件波动的允许范围，软件自动根据序贯设计创建批处理表，进行耐用性评估。在本例中，流速波动0.1 mL/min、起始比例波动1%、柱温波动1°C，来验证对分离的影响。各响应因子的方差分析如图5所示，通过方差分析，柱温的p Value均大于0.05，而起始浓度、流速的p Value均小于0.05，说明在一定范围内各化合物的分离度与柱温的关联性较小，但起始浓度和流速对整个分离相对影响程度更大，在后续方法转移及稳定性测试的时候要严格控制。

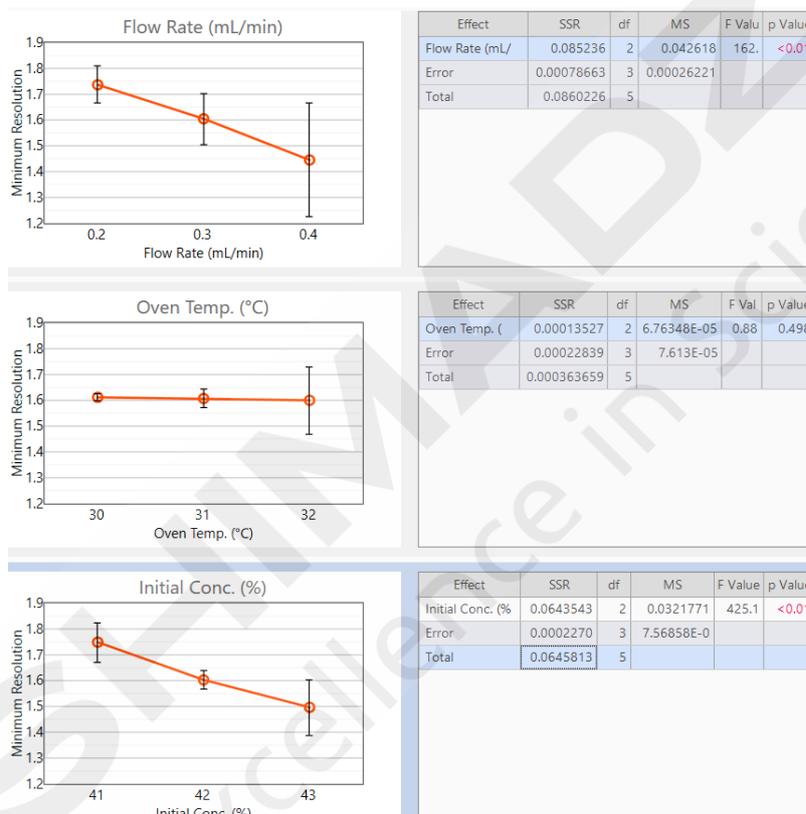


图 5. 方差分析结果

## 2.6 阿托伐他汀钙有关物质确证

《中国药典》阿托伐他汀钙检查项下有关物质测定法共检测七种杂质，其中杂质 I、杂质 II、杂质 III 和阿托伐他汀钙的结构相近，色谱保留行为类似，实现完全分离存在挑战；而杂质 VII 极性较强、反相色谱保留小，杂质 VI 和杂质 V 极性较弱，反相色谱保留强。相对而言实现杂质 VII、杂质 VI 和杂质 V 的基线分离，难度较小。因此本实验初期以四种难分离的化合物（杂质 I、杂质 II、杂质 III 和阿托伐他汀钙）建模，实现方法开发的效率最大化。为研究的充分性及方法的普适性，将《药典》中剩余四种杂质加入，验证新建方法的适用性。

按照 2.4 预测的分析条件测定系统适用性溶液，色谱图如图 6 所示。结果表明，系统适用性溶液色谱图中，出峰顺序为杂质 VII、杂质 I、杂质 II、阿托伐他汀钙、杂质 III、杂质 IV、杂质 VI、杂质 V，阿托伐他汀钙与杂质 II 之间的分离度为 2.068，以上符合系统适用性要求（《药典》项下有关物质系统适用性要求阿托伐他汀钙与杂质 II 之间的分离度应不小于 1.5），可用于阿托伐他汀钙有关物质的测定。与《药典》阿托伐他汀

钙片检查项下有关物质测定方法相比，该方法流动相未使用 THF，液相及质谱溶剂兼容性更高，且分析时间与《药典》中的 130 min 相比，仅为 25 min，大大提高分析效率。

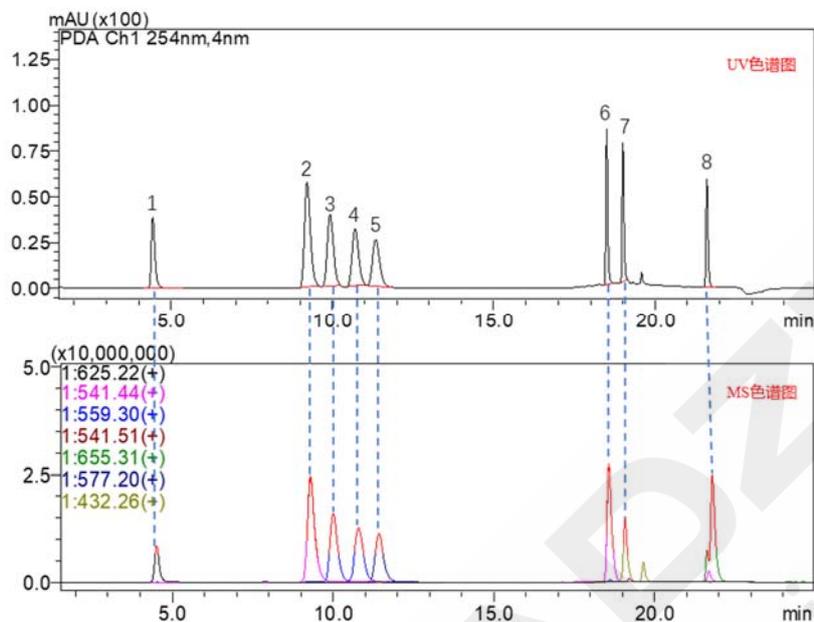


图 6. 系统适用性溶液色谱图

(1 杂质 VII、2 杂质 I、3 杂质 II、4 阿托伐他汀钙、5 杂质 III、6 杂质 IV、7 杂质 VI、8 杂质 V)

### 3. 结论

本文使用岛津 HPLC 方法开发系统结合 LabSolutions MD 对阿托伐他汀有关物质测定进行了方法开发。在 LabSolutions MD 软件的使用了峰追踪、设计空间构建、方差分析等功能，获得了最佳分析条件。与 2020 版《中国药典》阿托伐他汀钙片检查项下有关物质测定方法相比，液相质谱溶剂兼容性更高，分析时间也大大缩短。Labsolutions MD 软件为分析方法开发的工作流程提供支持，确保方法稳定、数据可靠。

## 第 2 章 中药

中药材主要来源于天然的植物、动物、矿物等，经过特定炮制加工后，还可制成中药饮片和中成药等药物。中药材的品种繁多、成分复杂、产地分散，加上生长环境、采收季节、加工炮制等因素，可能造成其所含化学成分及临床疗效的差异。测定某一味中药的有效成分、活性成分或者毒性成分含量，可以衡量中药材的质量优劣，以保证中药的质量。

2020 年版《中国药典》中规定了不同中药材特征组分含量要求及检测方法，大部分方法采用 HPLC，但对于一些含量较低，且容易被干扰的组分，采用常规 HPLC 方法时可能出现峰形差、检出限高、假阳性等问题，影响定量的准确性。此时，药典中推荐采用 LCMS 分析，如川楝子中川楝素、千里光内源性毒素阿多尼弗林碱等中药组分的检测。LCMS 法可有效提高方法的灵敏度、准确度和抗干扰能力，并简化前处理过程，有效提高分析效率。



# LCMS 测定川楝子中川楝素的含量

**摘要:** 本文利用岛津小型化单四极杆液质联用仪,对川楝子中川楝素的含量进行测定。在 0.2~10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  浓度范围内线性关系良好,相关系数大于 0.999,方法检出限为 0.018  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。0.2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  标准品溶液连续进样 6 针,峰面积 RSD 均小于 0.97%。三个浓度水平的加标回收率为 91.16%~103.04%。该方法灵敏度高,重复性好,能够有效的测定川楝子中川楝素的含量。

**关键词:** 川楝子 川楝素 液质联用法

## 技术特点:

- ❖ 此方法测定中药中的川楝素,干扰少,准确性好,更适用于中药领域用户使用。
- ❖ 灵敏度高,检出限可达 2020 版中国药典规定限度的百分之一以下。

川楝子为楝科植物川楝 *Melia toosendan* Sieb.et Zucc.的干燥成熟果实,收录于2020版中国药典中,川楝子性味苦寒,有小毒,具有疏肝泄热、行气止痛、杀虫等功能,主要用于肝郁化火,胸胁、脘腹胀痛,疝气疼痛,虫积腹痛,现代研究发现川楝子也具有杀虫、抗炎镇痛、抗肿瘤、抗肉毒素等药理作用。

川楝素为川楝子的主要活性成分,也是其主要的毒性成分,在2020版中国药典中规定川楝素的含量应在0.060%~0.20%范围内,含量过少则功效难以达到,含量过多则产生毒性。因此,川楝素的含量是中药材川楝子质量控制的关键。

据文献报道,川楝子的中川楝素可采用LC-UV的

检测方式。但是,由于川楝素最大吸收波长为210nm,在分析实际药材时,药材中的复杂成分对于检测的结果干扰大。而采用LCMS可有效提高方法的灵敏度、准确度和抗干扰能力,并简化前处理过程,有效提高检测效率。

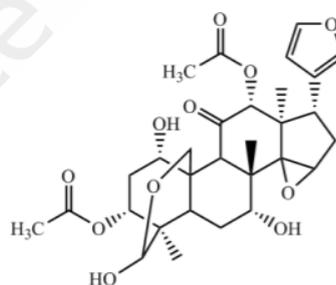


图 1. 川楝素

## 1. 实验部分

### 1.1 仪器

岛津单四极杆液质联用仪 LCMS-2050, 配置信息如下:

系统控制器	: CBM-40	脱气机	: DGU-405
输液泵	: LC-40D xs×2	柱温箱	: CTO-40C
自动进样器	: SIL-40C xs	质谱仪	: LCMS-2050
色谱工作站	: Labsolutions Ver. 5.114		

### 1.2 分析条件

色谱条件

色谱柱：Shim-pack Scepter C18 (100 mm x 2.1 mm I.D., 1.9  $\mu$ m, 岛津(上海)实验器材有限公司, P/N:227-31012-05)

流动相：A-0.01%甲酸水；B-乙腈

进样体积：2  $\mu$ L 柱温：40 $^{\circ}$ C

流速：0.4 mL/min 洗针液：甲醇/水=1:1 (v:v)

洗脱方式：等度洗脱，流动相 A/B=31/69。

质谱条件

离子化模式：ESI- 雾化气流速：2.0 L/min

接口电压：-3.5 kV 干燥气流速：5.0 L/min

脱溶剂温度：400 $^{\circ}$ C 加热气流速：7.0 L/min

接口温度：300 $^{\circ}$ C D L 温度：250 $^{\circ}$ C

选择离子模式：SIM m/z: 573.23

## 2. 样品前处理

取川楝子中药材粉末约0.05 g，精密称定，置于具塞锥形瓶中，精密加入甲醇50 mL，称定重量，加热回流1小时，放冷，再称定重量，用甲醇补足减失的重量，摇匀，滤过，取续滤液，即得。

## 3. 结果与讨论

### 3.1 川楝素标准溶液谱图

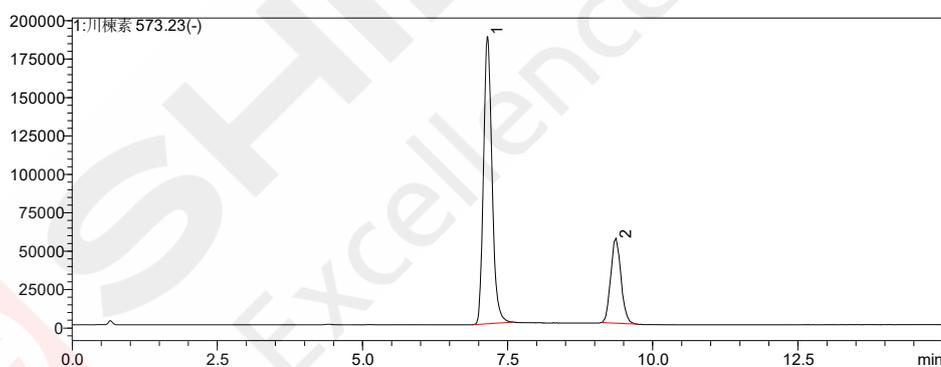


图 2. 川楝素标准溶液选择性离子图 (2  $\mu$ g/mL)

2020版中国药典规定，峰1、峰2均为川楝素。川楝素1的理论塔板数为11112，川楝素2的理论塔板数为12756，满足2020版中国药典中理论塔板数以川楝素峰计不低于8000的要求。

### 3.2 校准曲线和检出限

2020版中国药典规定，川楝素的两个峰之和进行计算。配制0.2、0.5、1、2、5、10  $\mu$ g/mL的川楝素系列浓度标准溶液，取2  $\mu$ L进样，以浓度为横坐标，两个峰面积之和为纵坐标做标准曲线，标准曲线如图2所示，相关系数(R)为0.9995，准确度为93.1%~103.8%。根据0.2  $\mu$ g/mL标样数据，以3倍信噪比(峰至峰)计算川楝素方法检出限，川楝素的方法检出限为0.018  $\mu$ g/mL，低于限度的百分之一以下。

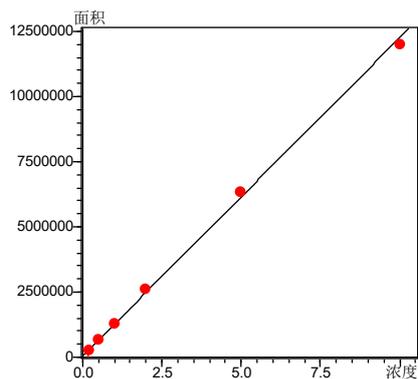


图 3. 川楝素标准曲线

### 3.3 重复性实验

取0.2 μg/mL标准品溶液，连续进样6次，考察仪器的精密度，测定结果见表1。

表 1. 川楝素峰 1,2 精密度结果

序号	川楝素峰 1		川楝素峰 2	
	保留时间 min	峰面积	保留时间 min	峰面积
1	7.158	205811	9.366	71605
2	7.148	205611	9.356	73450
3	7.153	208635	9.356	73465
4	7.133	208451	9.328	72949
5	7.163	207695	9.380	73316
6	7.153	205338	9.365	73226
平均值	7.151	206924	9.359	73002
RSD%	0.15	0.73	0.18	0.97

### 3.4 样品含量测定

将川楝素样品按照上述前处理方法进行处理，上机进行测定，样品中川楝素选择性离子图如图4所示。平行测定6份样品含量以及考察RSD，具体结果如表2所示。

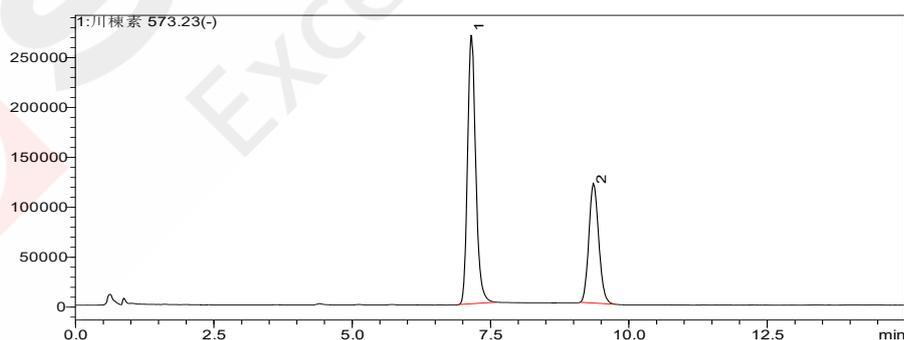


图 4. 样品中川楝素的选择性离子图

表 2. 6 份平行样品川楝素含量结果

名称	称样质量 g	定容体积 mL	浓度 μg/mL	含量%	平均值%	RSD%
平行样 1	0.0590	50.00	3.430	0.291		
平行样 2	0.0591	50.00	3.435	0.291	0.289	0.70
平行样 3	0.0591	50.00	3.407	0.288		

平行样 4	0.0589	50.00	3.383	0.287
平行样 5	0.0592	50.00	3.397	0.287
平行样 6	0.0590	50.00	3.441	0.292

### 3.5 加标回收率

将川楝素样品中分别加入不同浓度水平的川楝素标准品，按照上述前处理方法处理，分别制备出80 μg、100 μg、120 μg三个添加水平的加标样品，平行6份样品考察回收率和RSD，三个不同水平样品的加标回收率在91.16~103.04%范围内，RSD结果如表3所示。

表 3. 不同浓度水平川楝素添加回收率结果

添加量μg	平均回收率%	RSD%
80	93.95	0.67
100	92.94	0.70
120	101.18	0.76

## 4. 结论

本文利用岛津 LCMS-2050 单四极杆液质联用仪测定川楝子中川楝素的含量。结果显示：对川楝素标准品溶液进行重复性测试，川楝素两个峰的保留时间及峰面积的 RSD 分别在 0.15~0.18%和 0.73~0.97%之间；以两个峰的峰面积之和采用外标法定量，其结果显示校准曲线相关系数大于 0.999；使用 0.2 μg/mL 标样数据，以 3 倍信噪比(峰至峰)计算川楝素方法检出限，低于限度的百分之一以下。使用川楝子药材作为加标基质，考察三个不同浓度水平加标回收以及 RSD，结果显示，三个不同水平的加标回收率在 91.16~103.04%之间；该方法满足 2020 版中国药典中川楝子中川楝素的定性定量分析的要求。综上所述，各项数据表明本方法灵敏度高、稳定性和重复性好，分析效率高，适用于川楝子中川楝素的含量测定。

# LCMS 测定中药千里光内源性毒素阿多尼弗林碱

**摘要:** 本文参考 2020 版《中国药典》千里光检查项阿多尼弗林碱的相关条件, 采用岛津单四极杆质谱仪 LCMS-2050 对千里光中阿多尼弗林碱进行测定。实验结果显示: 在本色谱质谱系统下, 空白溶液不干扰含量测定, 方法专属性较好; 校正因子溶液重复进样 6 次, 目标峰阿多尼弗林碱和内标野百合碱色谱峰保留时间和峰面积的 RSD 分别为 0.10%、0.07%和 1.06%、0.90%, 重复性好、仪器精密度良好; 采用内标法定量, 方法准确度高, 可为千里光中阿多尼弗林碱含量测定提供参考。

**关键词:** 单四极杆质谱 阿多尼弗林碱 千里光

## 技术特点:

- ❖ 使用 LCMS-2050 测定千里光中阿多尼弗林碱的含量, 丰富单四极杆质谱应用范围。
- ❖ 参考 2020 版《中国药典》, 符合标准要求。

中草药千里光为菊科千里光属, 具有清热解毒、明目、利湿作用, 用于治疗痈肿疮毒、感冒发热、目赤肿痛、泄泻痢疾、皮肤湿疹。阿多尼弗林碱是千里光中的吡咯里西啶类生物碱 (pyrrolizidine alkaloids, PAs), 是该属植物的特征性成分之一。阿多尼弗林碱具有强烈的肝毒性, 直接靶器官为肝脏, 在体内通过代谢活化而致毒, 可引起肝细胞出血性坏死等症状。近年来引起了国际社会的广泛关注, 国外有因服用了含欧洲千里光植物的药茶而致死的报道。

由于 PAs 的毒性, 许多国家和地区对其限量作

出了规定。但由于千里光属植物中 PAs 含量相对较低, 且该类化合物结构上无生色团, 紫外响应弱, 故采用液相色谱-质谱联用法测定千里光中的阿多尼弗林碱含量, 对千里光安全用药进行质量控制, 以保障用药安全。

2020版《中国药典》对千里光药材品种检查项下要求使用液相色谱-单四极杆质谱进行阿多尼弗林碱测定, 要求千里光药材中含量不得超过0.004% (40 μg/g)。本实验使用岛津LCMS-2050建立了单四极杆质谱测定千里光中阿多尼弗林碱的含量。

## 1. 实验部分

### 1.1 仪器

岛津超高效液相色谱-单四极杆质谱联用仪 LCMS-2050, 具体配置为:

系统控制器	: SCL-40	脱气机	: DGU-405
输液泵	: LC-40D XR (LPGE)	自动进样器	: SIL-40CXR
柱温箱	: CTO-40C	质谱仪	: LCMS-2050 单四极杆质谱仪
色谱工作站	: LabSolutions Ver. 5.114		

### 1.2 分析条件

色谱条件

色谱柱 : Shim-pack GIST C18 (100 mm×2.1 mm I.D., 2 μm);

岛津（上海）实验器材有限公司, P/N: 227-32001-03

流动相：A相-0.5%甲酸溶液，B相-乙腈

进样体积：2  $\mu$ L

流速：0.4 mL/min

柱温：40 $^{\circ}$ C

洗脱方式：等度洗脱，A: B=93: 7

质谱条件

离子源：DUIS (ESI+APCI)

脱溶剂温度：450  $^{\circ}$ C

雾化气：2.0 L/min

接口电压：-2 kV

干燥气：5.0 L/min

Q array 电压：-50 V

加热气：7.0 L/min

扫描模式：SIM 366、326(+)

D L 温度：250  $^{\circ}$ C

## 2. 样品前处理

供试品溶液：取千里光粉末（过三号筛）约 0.2 g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入 0.5% 甲酸溶液 50 mL，称定重量，超声处理（功率 250 W，频率 40 kHz）40 分钟，放冷，再称定重量，用 0.5% 甲酸溶液补足减失的重量，摇匀，滤过，精密量取续滤液 2 mL，置 5 mL 量瓶中，精密加入内标溶液 1 mL，加 0.5% 甲酸溶液至刻度，摇匀，吸取 2  $\mu$ L，注入液相色谱-质谱联用仪，测定，即得。

内标溶液：取野百合碱对照品适量，精密称定，加 0.5% 甲酸溶液制成每 1 mL 含 0.2  $\mu$ g 的溶液。

对照品溶液：取阿多尼弗林碱对照品适量，置 5 mL 量瓶中，精密加入内标溶液 1 mL，加 0.5% 甲酸溶液至刻度，稀释成分别含阿多尼弗林碱 0.01、0.02、0.04、0.06、0.08  $\mu$ g/mL，含内标野百合碱 0.04  $\mu$ g/mL 的对照品溶液。其中 0.04  $\mu$ g/mL 对照品溶液为药典中规定的校正因子浓度。

## 3. 结果与讨论

### 3.1 专属性

溶剂空白样品与校正因子溶液 SIM 重叠谱图显示，目标峰保留时间处未见明显干扰，方法专属性好。

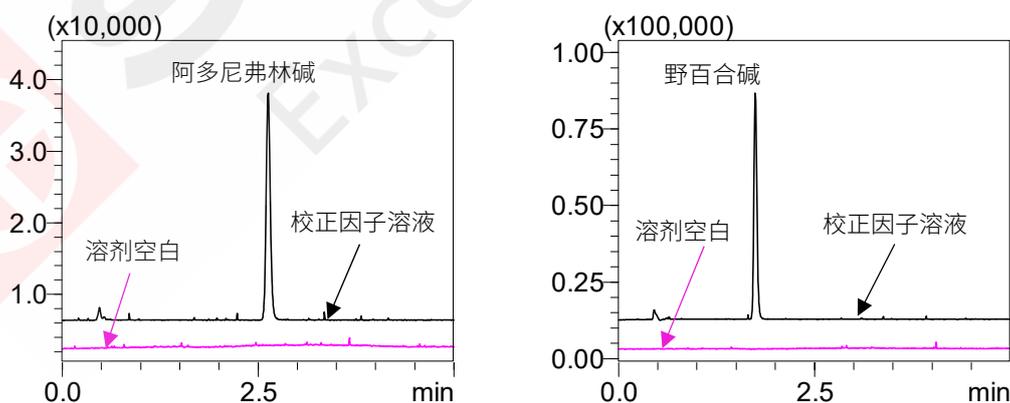


图 2. 专属性色谱图

### 3.2 线性

将配制的 0.01、0.02、0.04、0.06、0.08  $\mu$ g/mL（分别含内标野百合碱 0.04  $\mu$ g/mL）的校准曲线溶液，按 1.2 中的分析条件进行测定，以浓度比为横坐标，峰面积比为纵坐标，内标法制作校准曲线，阿多尼弗林

碱校准曲线方程、相关系数见图 3。所得校准曲线线性关系良好，相关系数大于 0.999，准确度在 96.7%-100.9%之间。

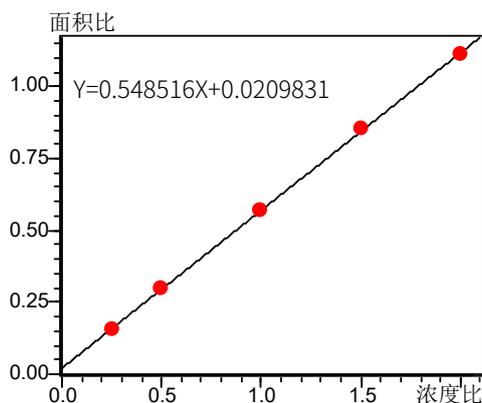


图 3. 阿多尼弗林碱校准曲线

### 3.3 精密度

校正因子溶液连续 6 次进样，进行精密度测试。校正因子溶液中阿多尼弗林碱和内标野百合碱的保留时间和峰面积的 RSD 分别为 0.10%、0.07%和 1.06%、0.90%，仪器精密度良好。

表 1. 重复性测试保留时间及峰面积 RSD 值

名称	化合物	保留时间 RSD%	峰面积 RSD%
校正因子溶液	阿多尼弗林碱	0.10	1.06
	野百合碱	0.07	0.90

### 3.4 加标回收率

对供试品溶液进行上机分析，采用内标法计算供试品含量，定量结果为检出阿多尼弗林碱为 0.0021%，低于限度要求。向供试品样品中加入标准品溶液进行回收率试验，使加标浓度为 0.01  $\mu\text{g}/\text{mL}$  (0.0021%)、0.02  $\mu\text{g}/\text{mL}$  (0.0006) 和 0.04  $\mu\text{g}/\text{mL}$  (0.0013)，其回收率在 90%到 105%之间。

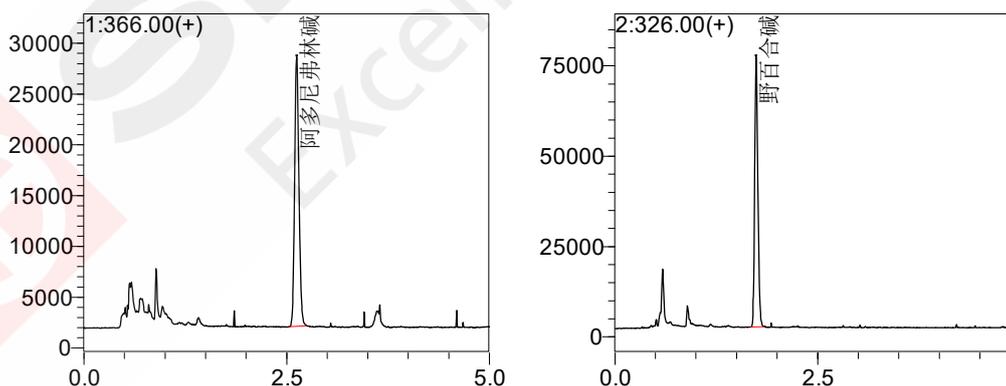


图 4. 供试品溶液色谱图

表 2. 千里光供试品加标回收率结果

化合物	加标浓度 (%)	回收率 (%)
阿多尼弗林碱	0.0021	90
	0.0006	105
	0.0013	102.5

#### 4. 结论

采用岛津 LCMS-2050 单四极杆质谱仪，参考 2020 版《中国药典》建立了测定千里光中阿多尼弗林碱的含量。该方法线性关系良好，相关系数  $r$  大于 0.999，精密度、准确度均符合标准，可以为千里光中阿多尼弗林碱杂质含量测定提供参考。



## 第 3 章 生物药

生物药物，也称生物制剂或生物制药，是指通过生物学、生物化学、遗传学、细胞生物学等现代生物技术手段，利用微生物、动植物、人体细胞或组织等生物资源进行研发和生产的药物。这类药物主要包括疫苗、抗体、重组蛋白药物、细胞与基因治疗产品、寡核苷酸药物、血液制品及多肽类药物等。生物药物具有靶向性强、疗效显著、副作用相对较小等特点，在治疗癌症、自身免疫性疾病、代谢疾病、感染性疾病等方面展现出了巨大优势。随着生物技术的飞速发展，生物药物已成为全球医药产业的重要发展方向之一。

在生物药研发和质量控制过程中，测定分子量是一项至关重要的工作，这是因为分子量是蛋白质、多肽、核酸等生物药物的重要理化性质之一。通过测定药物分子的实际分子量，可以验证其是否与预期设计或理论计算的分子量相符，从而确认药物分子的完整性，判断是否存在剪切、降解、修饰等异常情况。多肽和寡核苷酸类药物为中高分子量化合物，且极性较强，在 ESI 源中容易带多电荷，所以在低质量区域可以获得良好的信号响应，可采用 LCMS 测定分子量信息。

LCMS-2050 离子源为加热型离子源，有利于增加化合物的离子化效率，有效提高分析灵敏度和准确性。此外，岛津 LCMS 软件 LabSolutions 自带解卷积功能，可对多电荷进行解卷积分析，一键得到多肽和寡核苷酸药物分子量。除多肽和寡核苷酸药物外，为了确保原料的准确性，也可采用 LCMS 测定原料分子量，如不同的核苷酸分子量的测定。

本章节收录了最新 LCMS-2050 测定寡核苷酸、多肽以及核苷酸原料分子量的应用文章，供相关从业人员参考。



# LCMS 测定反义寡核苷酸分子量

**摘要：**本文使用生物惰性超高效液相色谱四极杆质谱联用仪 LCMS-2050 测定反义寡核苷酸分子量。采用 DUIS (ESI+APCI) 负离子模式对待测样品进行质谱扫描，使用 LabSolutions 软件对质谱图进行多电荷分析。结果表明，质谱图中含 5 种多电荷离子，电荷数量为 4~8。通过多电荷解卷积分析计算得到该反义寡核苷酸样品分子量为 6681.57 Da，与理论值的偏差为 0.4 Da，质量准确度高。LCMS-2050 具有质量范围宽的特点，适合分子量较大的反义寡核苷酸分子量检测。

**关键词：**单四极杆质谱 反义寡核苷酸 分子量 质谱多电荷分析

## 技术特点：

- ❖ 使用岛津最新单四极杆质谱仪，其采用 ESI/APCI (DUIS) 加热型离子源，灵敏度高。
- ❖ 反义寡核苷酸在 LCMS-2050 上形成数个多电荷，通过 LabSolutions 软件中“质谱多电荷分析”功能可准确测定其分子量。

小核酸药物是长度较短、碱基少于30nt的一类核酸药物，其通过作用于致病靶基因或者靶mRNA，从根源上调控致病基因的表达，达到疾病治疗的目的。小核酸药物主要有反义寡核苷酸（antisense oligonucleotide, ASO）、小干扰RNA（small interference RNA, siRNA）、微小RNA（micro RNA, miRNA）、RNA适配体（RNA aptamer）、抗体核酸偶联药物（antibody-siRNA conjugate ARC）等。

其中，ASO药物实质上是单链DNA，或者DNA与RNA杂合链，分子量的测定是其质量控制中非常重要的步骤之一。本文采用LCMS-2050采集得到ASO质谱图，并结合岛津LabSolutions软件的“质谱多电荷分析”功能对质谱图进行解卷积分析，可以准确测定ASO分子量。LCMS-2050具有质量范围宽的特点，适合分子量较大的ASO分子量测定。

## 1. 实验部分

### 1.1 仪器

生物惰性液相色谱仪 Nexera XS Inert 与单四极杆质谱仪 LCMS-2050 联用系统，具体配置信息如下：

系统控制器	: CBM-40	自动进样器	: SIL-40C XSi
脱气机	: DGU-405	柱温箱	: CTO-40C
输液泵	: LC-40D XSi×2	质谱仪	: LCMS-2050 单四极杆质谱仪
色谱工作站	: LabSolutions Ver. 5.114		

### 1.2 分析条件

色谱条件

色谱柱 : Shim-Pack Scepter C18-120[Metal free] (50 mm×2.1 mm I.D., 3μm)，岛津（上海）实验器材有限公司，P/N: 227-31073-01)

流动相 : A相-10mM DIPEA+100mM HFIP,

B相-乙腈

进样体积 : 5 μL

流 速 : 0.3 mL/min 柱 温 : 55°C

洗脱方式 : 梯度洗脱, B 相初始浓度为 5%, 时间程序见表 1。

表 1. 梯度洗脱程序

Time(min)	Module	Command	Value
1.00	Pumps	Pump B Conc.	5
6.00	Pumps	Pump B Conc.	30
6.10	Pumps	Pump B Conc.	95
7	Pumps	Pump B Conc.	95
7.1	Pumps	Pump B Conc.	5
12.00	Control	Stop	

### 质谱条件

离 子 源 : DUIS (ESI+APCI) 脱 溶 剂 温 度 : 450 °C  
雾 化 气 : 2.0 L/min 接 口 电 压 : -2 kV  
干 燥 气 : 5.0 L/min 扫 描 模 式 : Scan (-)  
加 热 气 : 7.0 L/min 扫 描 范 围 : 50~2000  
D L 温 度 : 250 °C

## 1.3 样品前处理方法

将反义寡核苷酸样品用水溶解, 并稀释至 50  $\mu\text{g/mL}$ 。

## 2. 结果与讨论

### 2.1 反义寡核苷酸样品色谱图与质谱图

该反义寡核苷酸为单链 DNA, 其总离子流图如图 1 所示, 质谱图如图 2 所示。从质谱图得知, 样品中不同电荷数的离子质谱信号明显。

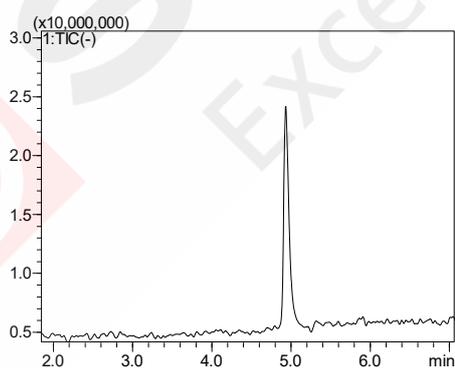


图 1. 反义寡核苷酸总离子流图

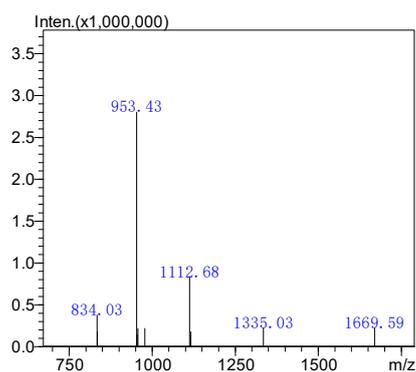


图 2. 反义寡核苷酸质谱图

### 2.2 质谱多电荷分析结果

通过岛津 LabSolutions™ 软件的解卷积“质谱多电荷分析”功能对样品质谱图进行分析, 操作步骤如图 3 所示。多电荷分析结果如图 4 所示, 从结果得知, 该反义寡核苷酸质谱图含 5 个不同电荷数离子峰, 电荷数量为 4~8, 软件解卷积计算得到分子量为 6681.57 Da, 各多电荷峰的质量数标准偏差为 0.436 Da。

该反义寡核苷酸样品序列为 G\*C\*G\*T\*T\*T\*G\*C\*T\*C\*T\*T\*C\*T\*T\*C\*T\*T\*G\*C\*G,理论分子量为 6681.57 Da, 计算分子量与理论分子量偏差为 0.4 Da, 计算结果准确度高。



图 3. 岛津 LabSolutions™ 的解卷积功能设置

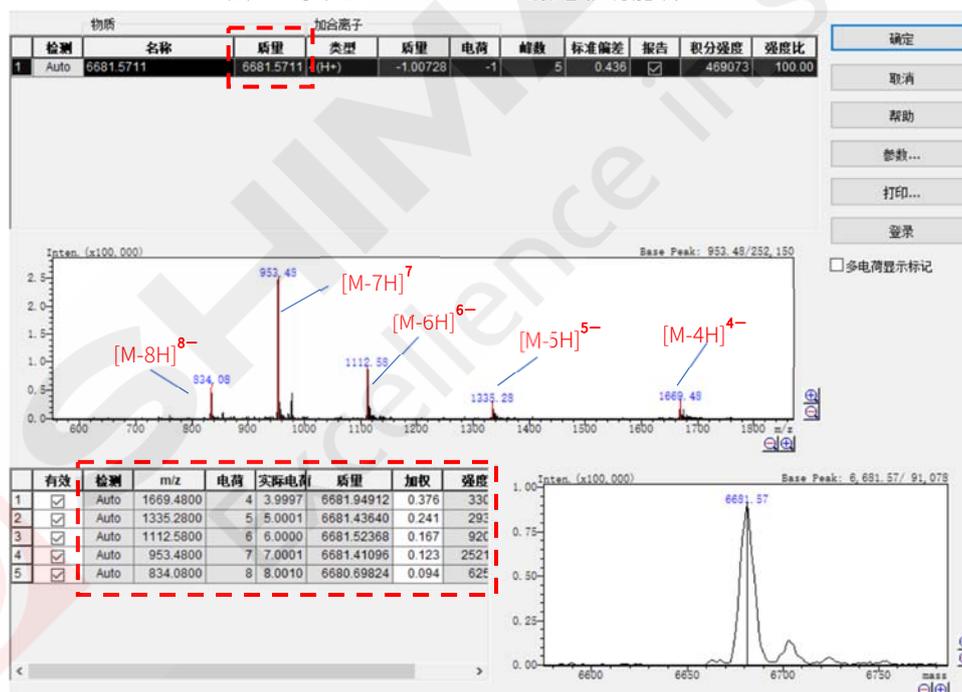


图 4. 反义寡核苷酸分子量解卷积结果

表 2. 理论分子量与实测分子量比较

样品名	序列	理论分子量 (Da)	实测分子量 (Da)	偏差 (Da)
反义寡核苷酸	G*C*G*T*T*T*G*C*T*C*T*T*C*T*T*G*C*G *T*C*T*T*G*C*G	6681.17	6681.57	0.4

### 3. 结论

本文使用生物惰性超高效液相色谱四极杆质谱联用仪 LCMS-2050 测定反义寡核苷酸分子量。采用 DUIS (ESI+APCI) 负离子模式对待测样品进行质谱扫描, 使用 LabSolutions 软件的“质谱多电荷分析”功能对质谱图进行解卷积分析。结果显示, 质谱图中含 5 种多电荷离子, 电荷数量为 4~8。通过解卷积分析确认了该反义寡核苷酸样品分子量为 6681.57 Da, 与理论分子量的偏差为 0.4 Da, 质量准确度高。LCMS-2050 具有质量范围宽的特点, 适合分子量较大的反义寡核苷酸分子量检测。



# LCMS 测定小干扰核苷酸 siRNA 分子量

**摘要：**本文使用生物惰性超高效液相色谱仪 Nexera XS inert 与 LCMS-2050 连用，测定了小干扰核苷酸 siRNA 分子量。采用 DUIS (ESI+APCI) 离子源的负离子模式分析待测样品，通过优化流动相和质谱采集参数，去除干扰质谱峰，使用 LabSolutions 软件自带的“质谱多电荷分析”功能准确测定 siRNA 分子量。结果显示，siRNA 正义链质谱图中含 8 种多电荷离子，电荷数量分布为 4~11，多电荷分析测定分子量为 6631.63 Da，与理论值的偏差为 0.34 Da。siRNA 反义链质谱图中含 7 种多电荷离子，电荷数量为 4~10，多电荷分析测定分子量为 6637.64 Da，与理论值的偏差为 0.39 Da，质量准确度高。LCMS-2050 具有质量范围宽的特点，结合 LabSolutions 软件自带的“质谱多电荷分析”功能，可以用于测定 siRNA 分子量。

**关键词：**单四极杆质谱 siRNA 分子量 质谱多电荷分析

## 技术特点：

- ❖ 在流动相中添加微量 EDTA，络合系统中 Na<sup>+</sup>，排除了加钠峰对分子量的干扰。
- ❖ 调整 MS 参数中 Qarray 电压，可充分去除六氟异丙醇加和离子。

小核酸药物是长度较短、碱基少于 30 nt 的一类核酸药物，其通过作用于致病靶基因或者靶 mRNA，从根源上调控致病基因的表达，达到疾病治疗的目的。小核酸药物主要有反义寡核苷酸 (antisense oligonucleotide, ASO)、小干扰 RNA (small interference RNA, siRNA)、微小 RNA (micro RNA, miRNA)、RNA 适配体 (RNA aptamer)、抗体核酸偶联药物 (antibody-siRNA conjugate ARC) 等。

其中，siRNA 为双链 RNA，分子量的测定是其质量控制中非常重要的步骤之一。本文采用 LCMS-2050 采集得到 siRNA 质谱图，并结合岛津 LabSolutions 软件的“质谱多电荷分析”功能对质谱图进行解卷积分析，可以准确测定 siRNA 分子量。LCMS-2050 具有质量范围宽的特点，适合分子量较大的 siRNA 分子量测定。

## 1. 实验部分

### 1.1 仪器

生物惰性超高效液相色谱四极杆质谱联用仪 LCMS-2050，具体配置信息如下：

系统控制器	: CBM-40	脱气机	: DGU-405
输液泵	: LC-40D XSi×2	自动进样器	: SIL-40C XSi
柱温箱	: CTO-40C	质谱仪	: LCMS-2050 单四极杆质谱仪
色谱工作站	: LabSolutions Ver. 5.114		

### 1.2 分析条件

色谱条件

色谱柱 : Shim-Pack Scepter C18-120[Metal free] (50 mm×2.1 mm I.D., 3μm)，岛津（上海）实验器材有限公司，P/N: 227-31073-01

流动相：A相-10mM DIPEA+25mM HFIP+10 $\mu$ M EDTA, B相-乙腈  
 进样体积：10  $\mu$ L 流速：0.3 mL/min  
 柱温：55 $^{\circ}$ C  
 洗脱方式：梯度洗脱，B相初始浓度为5%，时间程序见表1。

表 1. 梯度洗脱程序

Time(min)	Module	Command	Value
1.00	Pumps	Pump B Conc.	5
2.00	Pumps	Pump B Conc.	6
10.00	Pumps	Pump B Conc.	8
10.10	Pumps	Pump B Conc.	95
12.00	Pumps	Pump B Conc.	95
12.10	Pumps	Pump B Conc.	5
16	Control	Stop	

#### 质谱条件

离子源：DUIS (ESI+APCI) 脱溶剂温度：450  $^{\circ}$ C  
 雾化气：2.0 L/min 接口电压：-2 kV  
 干燥气：5.0 L/min Qarray 电压：-50 V  
 加热气：7.0 L/min 扫描模式：SCAN (-)  
 D L 温度：250  $^{\circ}$ C 扫描范围：50~2000

### 1.3 样品前处理方法

将 siRNA 样品用水溶解，并稀释至 50  $\mu$ g/mL。

## 2. 结果与讨论

### 2.1 方法优化

该 siRNA 样品为双链 RNA，分别为正义链和反义链。在色谱条件下分离为两个峰，其总离子流图如图 1 所示，质谱图如图 2 所示。从质谱图可以看出，质谱峰非常杂乱，这对 siRNA 分子量的确定造成了严重的干扰，所以需优化方法，去除干扰质谱峰。

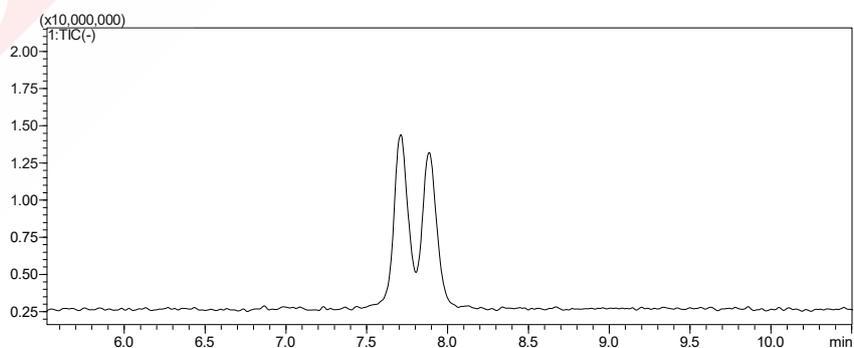


图 1. siRNA 总离子流图

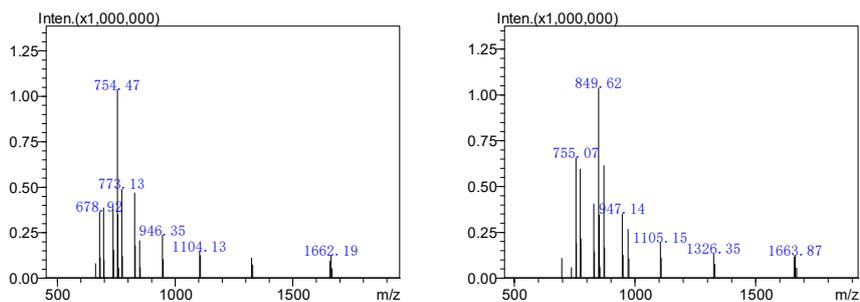


图 2. siRNA 质谱图 (左图: 正义链; 右图: 反义链)

以下以正义链为例, 描述方法优化过程。通过岛津 LabSolutions™ 软件“质谱多电荷分析”功能对质谱图进行解卷积分析, 分析结果如图 3 所示。质谱图解卷积后得到 4 个分子量, 分别为 6799.1、6631.1、6652.8、6821.2Da, 其比例分别为 100: 96: 46: 35。其中 6631.1 为 siRNA 正义链分子量, 6799.1 与 6631.1 相差 168.0, 推测其为正义链加和流动相中六氟异丙醇 (HFIP, 分子量为 169) 加和后得到的分子量。6652.8 与 6631.1 相差 21.7, 推测其为正义链加和系统中钠离子。6821.2 与 6631.1 相差 190.1, 推测为正义链加和 HFIP 和 Na 后得到的分子量。

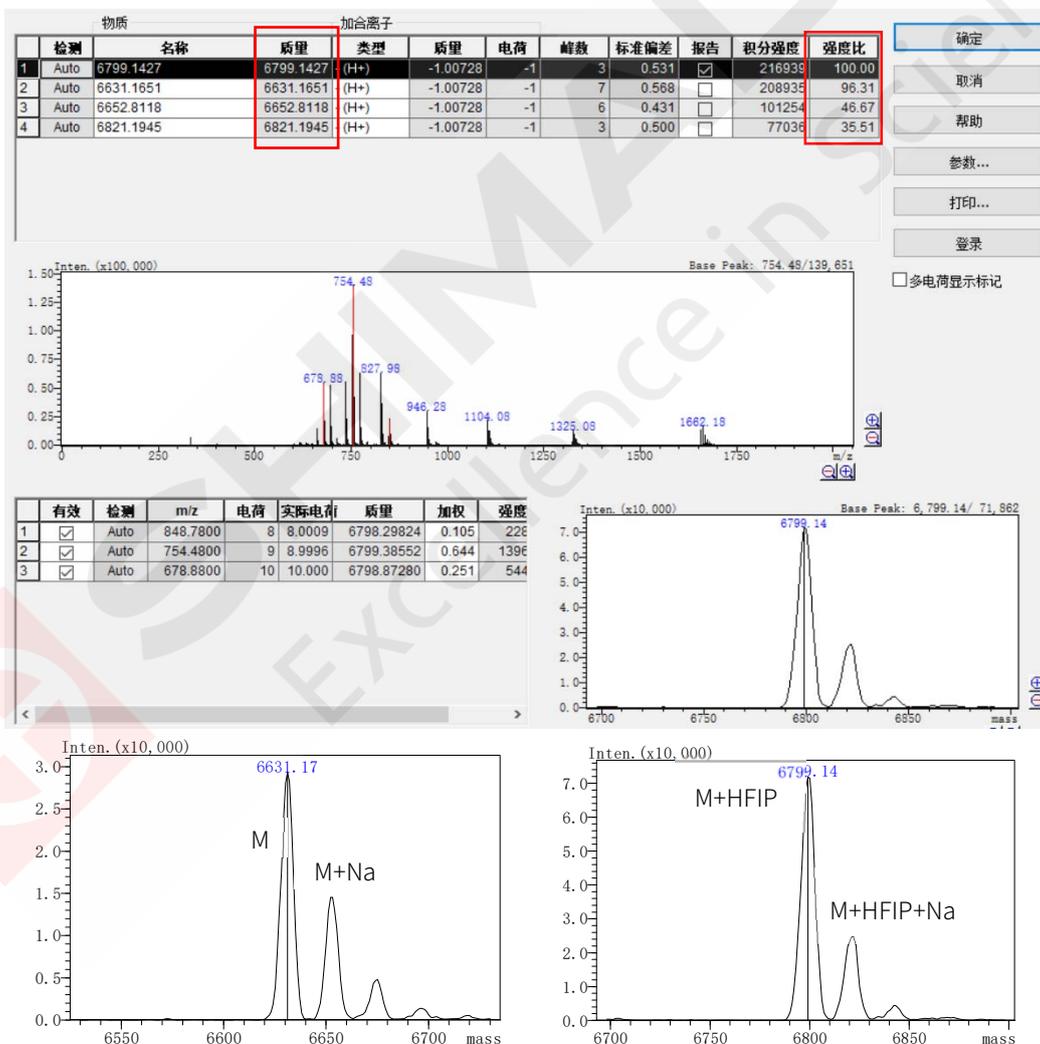


图 3. siRNA 分子量解卷积结果

为了去除质谱图中的加和离子, 首先在流动相中添加 10  $\mu$ M EDTA, 用于络合系统中  $\text{Na}^+$ , 去除 M+Na 峰。多电荷解卷积结果如图 4 所示, 结果显示 siRNA 已无明显加钠峰。

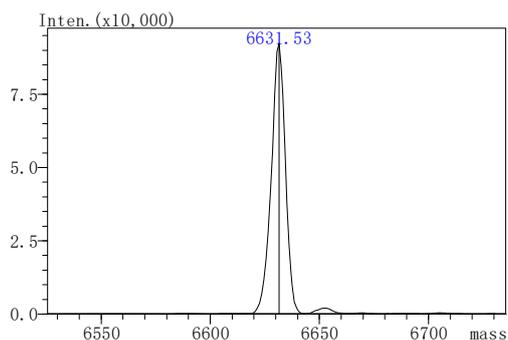


图 4. 流动相加入 EDTA 后 siRNA 分子量解卷积结果

为了去除 HFIP 加和峰，本实验对 Qarray 电压进行调整。将 Qarray 电压分别设置为-20、-50、-80 V，得到的质谱图如图 5 所示。从图可知，当 Qarray 电压为-20V 时，质谱图中还是有 678.81、754.31 等正义链加和 HFIP 后的多电荷峰。当 Qarray 电压为-50 V 时，去除了正义链加和 HFIP 的多电荷峰，质谱图变得非常干净。当进一步加大 Qarray 电压至-80V 时，带电荷较多的质谱峰响应明显下降，且产生了新的碎裂。所以最终确定 Qarray 电压为-50 v。

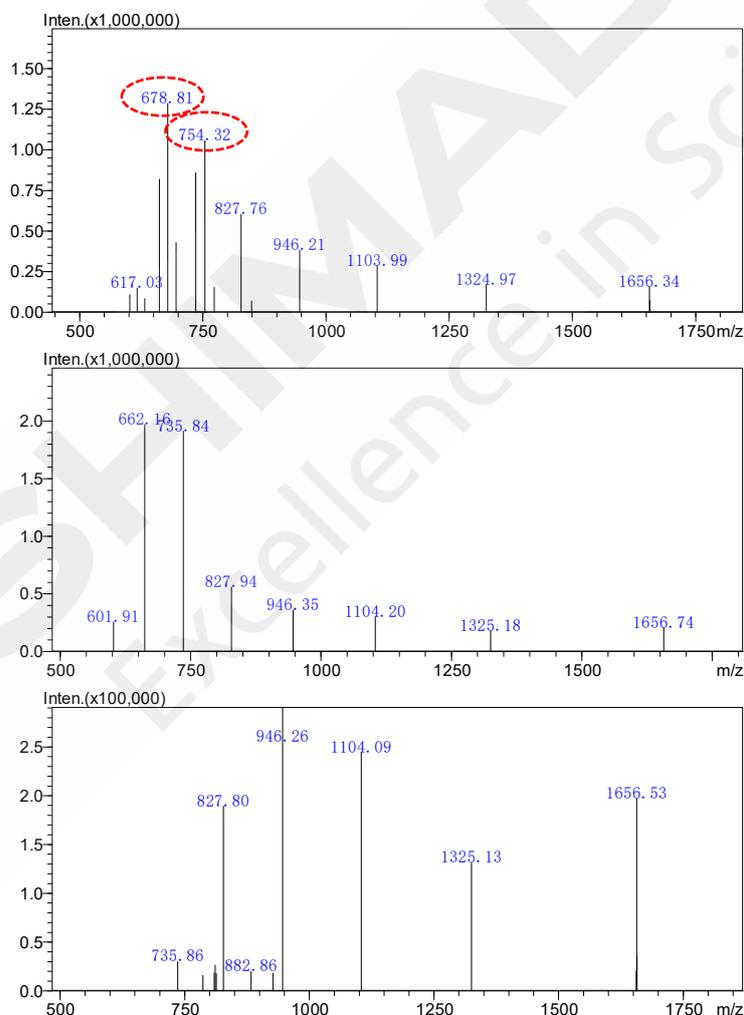


图 5. 不同 Qarray 电压得到的 siRNA 质谱图 (上: -20V, 中: -50V, 下: -80V)

## 2.2 质谱多电荷分析结果

对优化后得到的质谱图进行多电荷解卷积分析，分析结果如图 6 所示。从结果得知，该 siRNA 正义链

质谱图含 8 个不同电荷数离子峰，电荷数量为 4~11，软件解卷积计算得到分子量为 6631.63 Da，各多电荷峰的质量数标准偏差为 0.422 Da。siRNA 反义链质谱图含 7 个不同电荷数离子峰，电荷数量为 4~10，软件解卷积计算得到分子量为 6637.64 Da，各多电荷峰的质量数标准偏差为 0.569 Da。

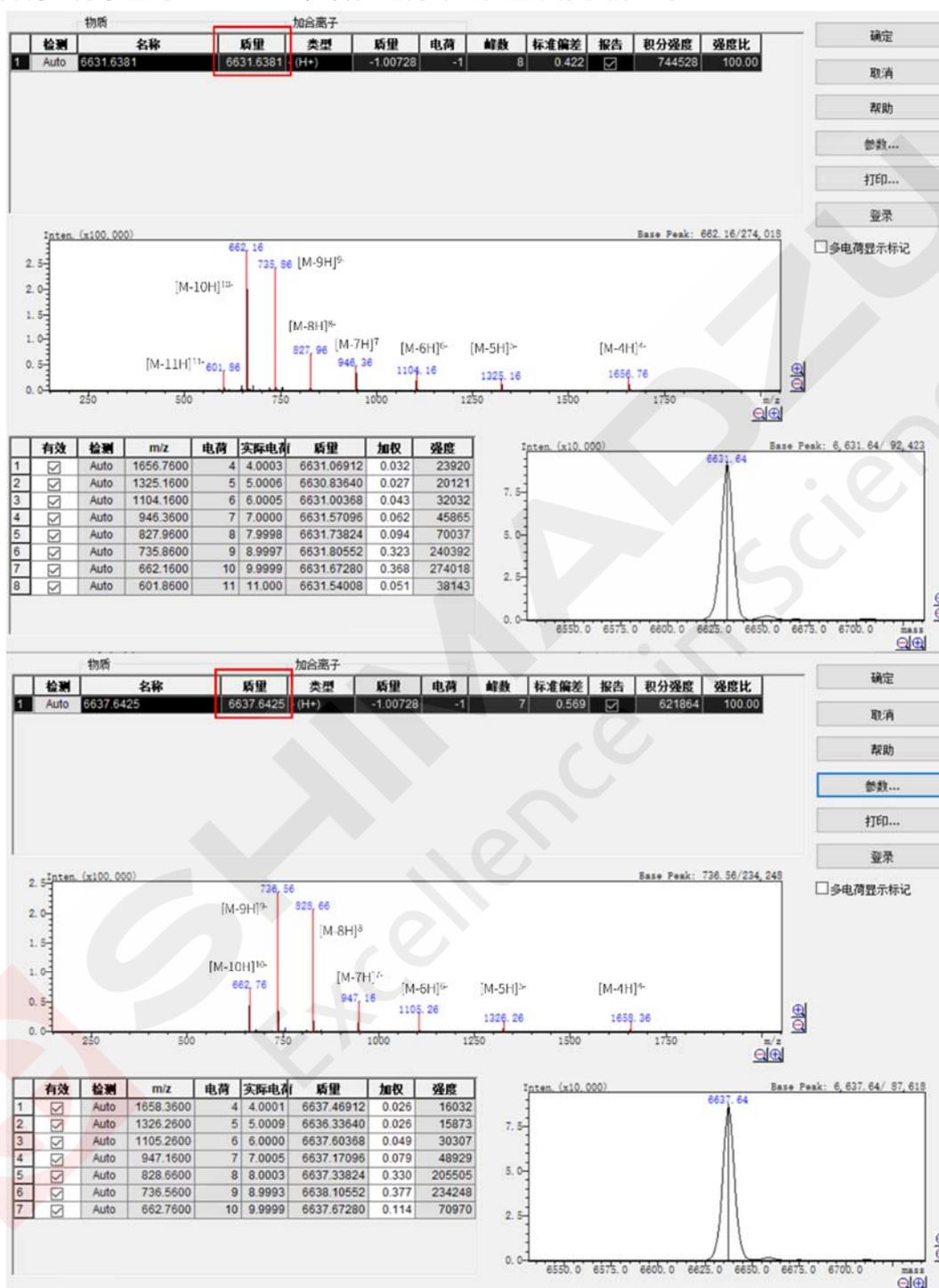


图 6. siRNA 正义链与反义链分子量解卷积结果

该 siRNA 正义链和反义链序列如表 2 所示，理论分子量分别为 6631.97 和 6638.03Da，实测分子量与理论分子量的偏差分别为 0.34 和 0.39 Da。

表 2. 理论分子量与实测分子量比较

样品名	序列	理论分子量 (Da)	实测分子量 (Da)	偏差 (Da)
siRNA 正义链	AUGGAAUACUCUUGGUUACdTdT	6631.97	6631.63	0.34
siRNA 反义链	GUAACCAAGAGUAUCCAUDTdT	6638.03	6637.64	0.39

### 3. 结论

本文使用生物惰性超高效液相色谱仪 Nexera XS inert 与 LCMS-2050 连用，测定了小干扰核苷酸 siRNA 分子量。通过方法优化，去除了质谱图中干扰离子峰，结合 LabSolutions 软件质谱多电荷分析功能准确测得了 siRNA 分子量。

# LCMS-2050 在多肽分子量定性分析检测中的应用

**摘要：**本文使用高效液相色谱四极杆质谱联用仪 LCMS-2050 对泛素 (Ubiquitin) 多肽进行分子量测定。采用 DUIS (ESI+APCI) 正离子模式对待测样品进行质谱扫描，以 LabSolutions 软件对质谱扫描图进行解卷积多电荷分析，各质谱扫描图中均能观测到对应多肽的不同电荷数离子信号。结果显示，8 种多电荷离子通过解卷积分析确认了分子量为 8564.81，与理论值的偏差为-0.03Da，质量准确度高，体现了 LCMS-2050 质量范围宽的特点，适合多肽、寡核苷酸等大分子物质的分子量检测。

**关键词：**单四极杆质谱 多肽 分子量

多肽是由三个或三个以上氨基酸分子组成，分子量通常低于10000 Da。泛素 (Ubiquitin) 是一种由76个氨基酸合成的多肽，可以通过酶促反应相互连接，进而介导靶蛋白降解。蛋白质泛素化参与许多细胞过程，例如蛋白酶体降解、胞吞、DNA修复、细胞周期调控及基因表达等。在泛素化过程中，泛素连接酶 (E3酶) 对底物的识别是决定泛素化修饰特异性的关键。因此，理解各种E3酶的底物特异性和催化机制成为泛素领域的热点问题。

为了探究泛素化反应机制，通常利用蛋白质化学合成技术先获取大量泛素化中间体模拟物，再对大量合成模拟物进行分子量监控和预判，单四极杆

质谱由于质量范围受限以及质量数准确度较低，在大分子物质分子量测定上具有一定局限性。LCMS-2050作为小型化高端分析仪器，宽质量范围 ( $m/z$  最大可设到2000) 是测定大分子化合物分子量的有力工具，例如寡核苷酸、多肽、蛋白质、聚合物等。LabSolutions软件的解卷积多电荷分析功能还可进行高精度中高分子量化合物检测，是大分子化合物和高通量实验室的理想检测器。

本文采用LCMS-2050对泛素多肽进行分子量测定，并结合岛津LabSolutions软件多电荷分析功能对质谱扫描数据进行解卷积，质量准确度高，体现了LCMS-2050的宽质量范围的特点。

## 1. 实验部分

### 1.1 仪器

系统控制器	: SCL-40	柱温箱	: CTO-40C
脱气机	: DGU-405	检测器	: SPD-40
输液泵	: LC-40D XR (含 LPGE)	质谱仪	: LCMS-2050 单四极杆质谱仪
自动进样器	: SIL-40C XR	色谱工作站	: LabSolutions Ver. 5.114

### 1.2 分析条件

色谱条件

色谱柱	: Shim-pack GIST C18 Column (2.1 mm I.D.×100 mm L., 2.0 $\mu$ m, P/N: 227-30001-04, 岛津 (上海) 实验器材有限公司)		
流动相	: A相-0.1%甲酸/水, B相-0.1%甲酸/甲醇	进样体积	: 10 $\mu$ L
流速	: 0.3 mL/min	柱温	: 35 $^{\circ}$ C
洗脱方式	: 梯度洗脱, B相初始浓度为 10%, 时间程序见表 1。		

表 1. 时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
10.00	Pumps	Pump B Conc.	100
13.00	Pumps	Pump B Conc.	100
14.00	Pumps	Pump B Conc.	10
20.00	Controller	Stop	

#### 质谱条件

离子源 : DUIS (ESI+APCI)                      脱溶剂温度 : 450 °C  
 雾化气 : 2.0 L/min                                接口电压 : +3 kV  
 干燥气 : 5.0 L/min                                扫描模式 : SCAN (+)  
 加热气 : 7.0 L/min                                扫描范围 : 500~2000  
 D L 温度 : 250 °C

### 1.3 样品前处理方法

将泛素标准品溶液用去离子水稀释至 0.1 mg/mL，待测。

## 2. 结果与讨论

### 2.1 泛素的色谱图

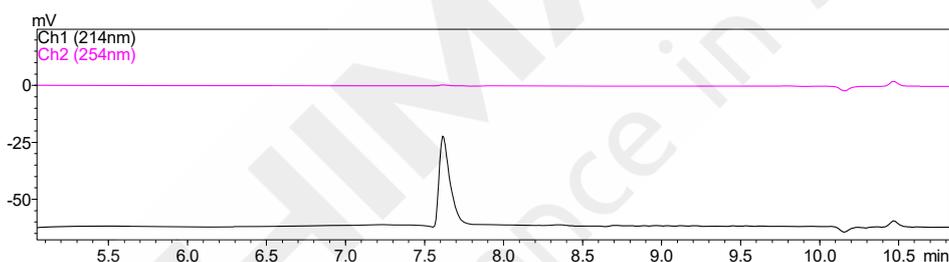


图 1. 泛素 UV 色谱图

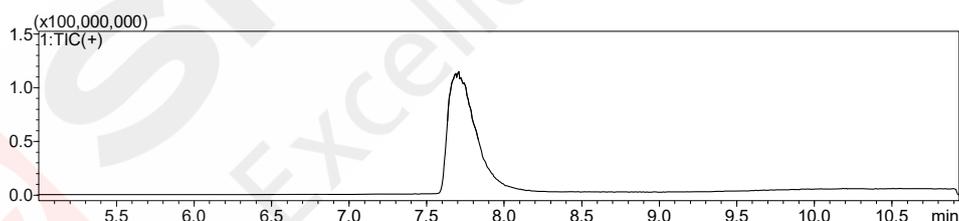


图 2. 泛素 TIC 色谱图

### 2.2 多电荷分析结果

通过泛素的 TIC 色谱图 (图 2) 获得 MS 数据, 质谱图结果显示, 该样品在  $m/z$  500~2000 范围内存在 8 种多电荷离子信号 (图 3)。通过岛津 LabSolutions™ 的解卷积功能进行多电荷分析得到待测物的分子量, 解卷积操作步骤见图 4。

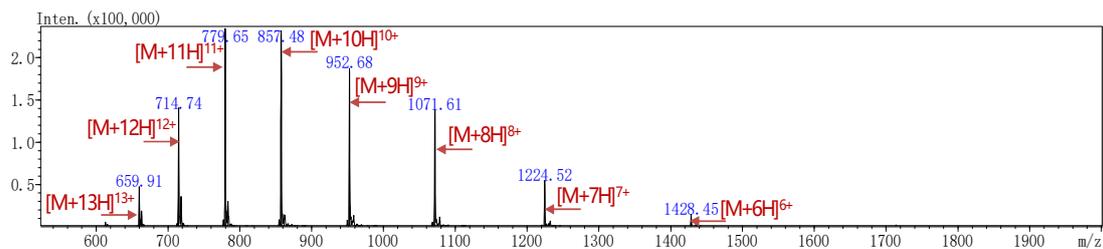


图 3. 胰岛素的质谱图 ( $m/z$ 500~2000)

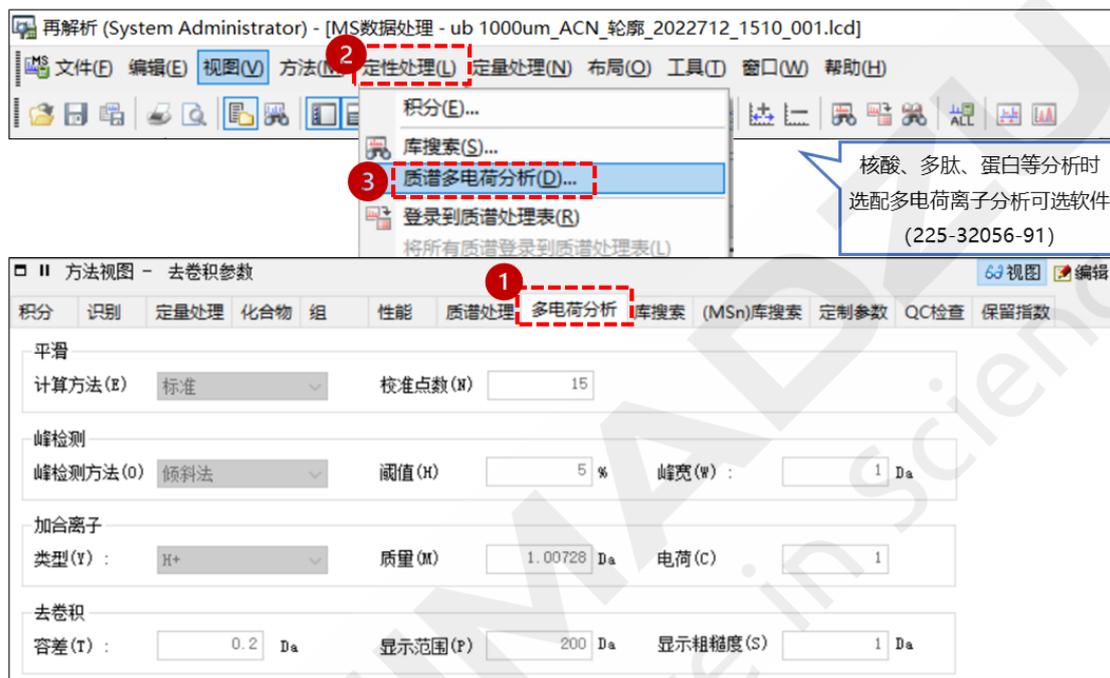


图 4. 岛津 LabSolutions™ 的解卷积功能设置

胰岛素的扫描质谱图经解卷积多电荷分析，结果如图 5 所示，该多肽的 8 个带不同电荷数离子峰均被准确识别且解析得到相应电荷数和质量数，确认该多肽的分子量为 8564.81，各多电荷峰的质量数标准偏差为 0.389，质量数精准。

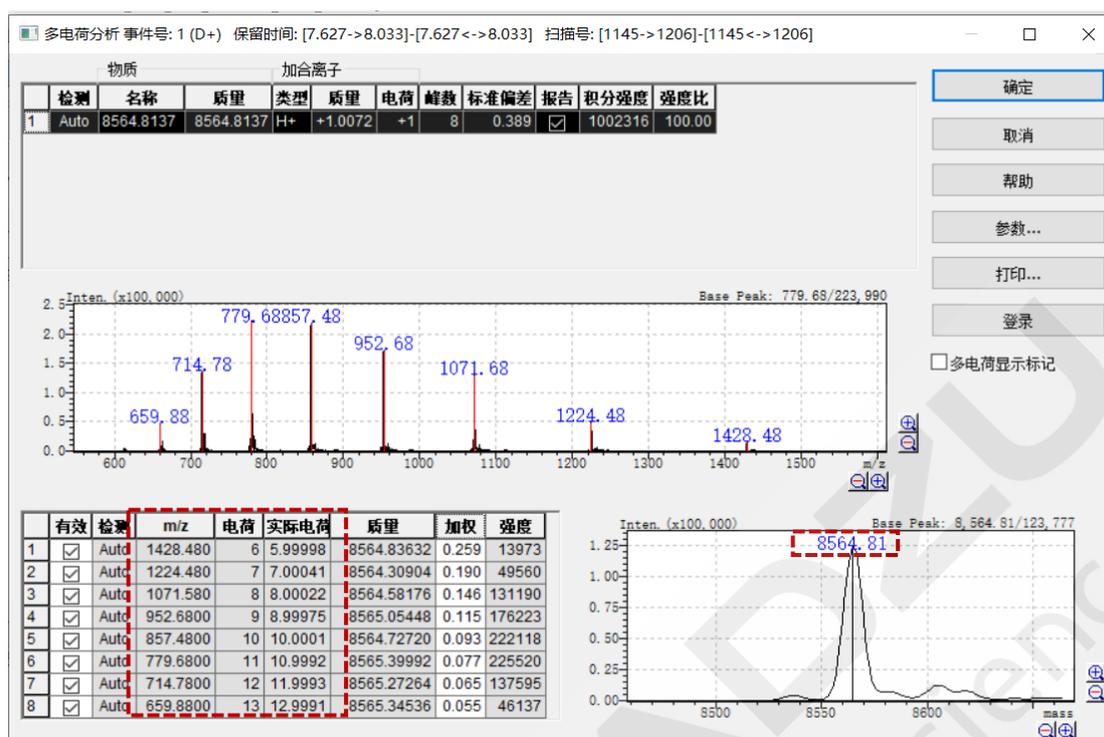


图 5. 泛素的解卷积图谱

### 2.3 质量准确度结果

LCMS-2050 检测到了泛素 8 种电荷数的离子信号， $m/z$  范围最大可到 2000。以 LabSolutions 软件对泛素的质谱图进行解卷积多电荷分析，各质谱图中均能观测到对应多肽的不同电荷数离子信号。并且，解卷积后的实测分子量与理论分子量的偏差为-0.03Da，质量准确度高。

表 2. 质量准确度测试结果

中文名	英文名	理论分子量	实测分子量	偏差 (Da)
泛素	Ubiquitin	8564.84	8564.81	-0.03

## 3. 结论

LCMS-2050 的宽质量范围是测定大分子化合物分子量的有力工具，例如寡核苷酸、多肽、蛋白质、聚合物等。本文以定性分析泛素多肽的分子量测定为例，检测到  $m/z$  500 到 2000 一系列的从 6 价到 13 价的 8 种不同电荷数的离子信号。使用 LabSolutions LCMS 的解卷积功能，泛素的分子量计算为 8564.81，与理论值的误差为-0.03 Da，宽质量范围有利于此类型分析，因为包含了更多的解卷积峰使得分子量计算结果更可靠，是分析宽质量范围的大分子物质的理想手段。

# 利用 LCMS 对 mRNA 和 DNA 生产用核苷酸原料进行定性分析

**摘要：**本文采用Nexera XS Inert生物惰性超高效液相色谱和单四极杆质谱LCMS-2050联用仪对mRNA和DNA生产用核苷酸原料NTP和dNTP进行定性分析。NTP和dNTP中含磷酸基团，易与金属产生吸附作用，Nexera XS Inert在保证超高耐压的前提下，管路经peek材料内衬，实现全流路惰性化，抑制金属吸附，使NTP和dNTP的色谱峰型良好。通过优化流动相和质谱采集参数，采用DUIS (ESI+APCI) 离子源的负离子模式分析待测样品。结果显示，该方法无需复杂的样品前处理、操作简单，检测的NTP和dNTP色谱峰型良好且均有较好的保留，适用于mRNA和DNA原料进厂质控分析，可对其原料进行快速分子量确认。

**关键词：** mRNA DNA 原料 NTP dNTP

## 技术特点：

- ❖ Nexera XS Inert 和 LCMS-2050 联用可抑制金属吸附，峰型良好，获得分子量信息。
- ❖ 本方法无需复杂的样品前处理，操作简便，分析速度快，可以进行高通量检测。

核苷三磷酸 (NTP) 是一种含有三个磷酸基团的核苷酸，包括ATP、UTP、CTP、GTP，是mRNA生产过程中体外转录的原料。若将NTP中核糖替换成去氧核糖，那么会使核苷三磷酸变成去氧核苷三磷酸 (dNTP) ,包括dATP、dCTP、dGTP和dTTP。dNTP是合成DNA的原料，常用于PCR、qPCR、RT-PCR、cDNA或普通DNA合成、引物延伸反应、DNA测序、DNA标记等各种常规分子生物反应。核苷酸原料的检测与分析是mRNA和DNA生产物料质控的重要一环。

NTP和dNTP中含磷酸基团，若使用常规高效液相色谱仪分析，易与系统中不锈钢管路等金属部件

产生吸附作用，影响色谱峰峰形，且易产生残留。岛津最新推出Nexera XS Inert生物惰性超高效液相色谱仪，在保证超高耐压的前提下，管路经peek材料内衬，实现全流路惰性化，抑制金属吸附，使NTP和dNTP的色谱峰型良好。

本实验采用Nexera XS Inert生物惰性超高效液相色谱和单四极杆质谱LCMS-2050联用仪对mRNA和DNA生产用核苷酸原料进行定性分析，无需复杂的样品前处理、操作简单、分析速度快，适用于mRNA和DNA原料进厂质控分析，可对其原料进行快速分子量确认。

## 1. 实验部分

### 1.1 仪器

Nexera XS Inert 生物惰性超高效液相色谱与单四极杆质谱 LCMS-2050 联用系统，具体配置信息如下：

系统控制器	: CBM-40	自动进样器	: SIL-40C XSi
脱气机	: DGU-405	柱温箱	: CTO-40C
输液泵	: LC-40D XSi×2	质谱仪	: LCMS-2050 单四极杆质谱仪
色谱工作站	: LabSolutions Ver. 5.114		

## 1.2 分析条件

### 色谱条件

色 谱 柱 : Shim-Pack Scepter C18-120 [Metal free] (50 mm×2.1 mm I.D., 3μm) , 岛津 (上海) 实验器材有限公司, P/N: 227-31073-01)

流 动 相 : A相-10mM DIPEA+25mM HFIP, B相-甲醇

进 样 体 积 : 5 μL 柱 温 : 40°C

流 速 : 0.3 mL/min 洗 针 液 : 甲醇/水=1:1 (v:v)

洗脱方式 : 梯度洗脱, B相初始浓度为 0%, 时间程序见表 1。

表 1. 梯度洗脱程序

Time(min)	Module	Command	Value
0.50	Pumps	Pump B Conc.	0
3	Pumps	Pump B Conc.	30
4	Pumps	Pump B Conc.	30
4.1	Pumps	Pump B Conc.	0
8.00	Control	Stop	

### 质谱条件

离 子 源 : DUIS (ESI+APCI) 雾 化 气 流 速 : 2.0 L/min

D L 温 度 : 250 °C 干 燥 气 流 速 : 5.0 L/min

脱 溶 剂 温 度 : 300 °C 加 热 气 流 速 : 7.0 L/min

扫 描 模 式 : Scan (-) 扫 描 范 围 : 200~600

## 1.3 样品前处理方法

将 NTP 和 dNTP 样品用水溶解, 并稀释至 100 μmol/L。

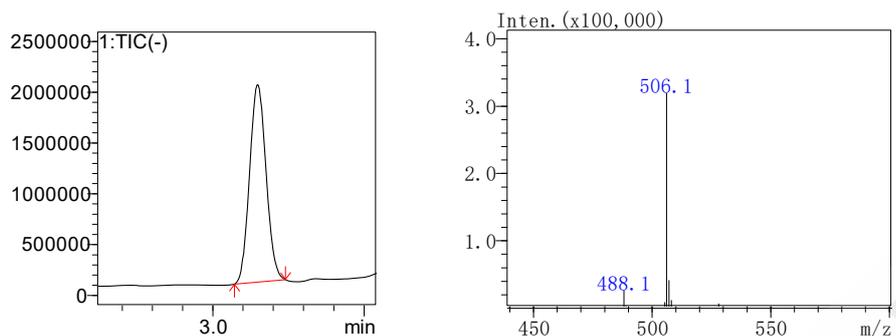
## 2. 结果与讨论

### 2.1 mRNA 体外转录原料 NTP 分子量及分析结果

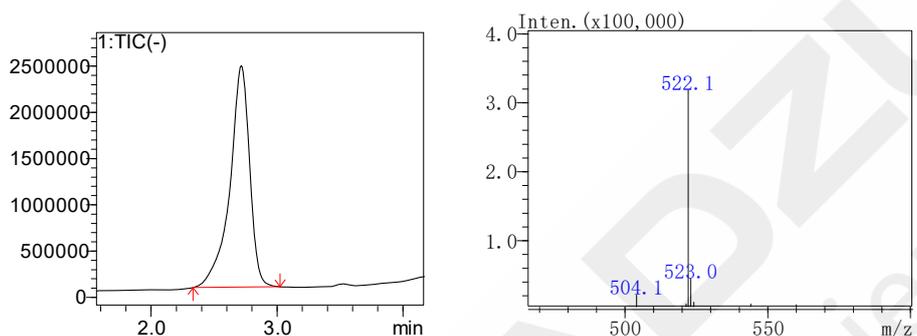
对 mRNA 体外转录原料 ATP、GTP、CTP、UTP 进行检测, 总离子流图和质谱图见图 1, 核苷酸的分子式、理论分子量、实测分子量见表 2。其中 ATP 检测到 m/z 506.1 峰、GTP 检测到 m/z 522.1 峰、CTP 检测到 m/z 482.1 峰、GTP 检测到 m/z 483.1 峰, 均为[M-H]<sup>-</sup>峰。

表2. NTP分子式及分子量检测结果

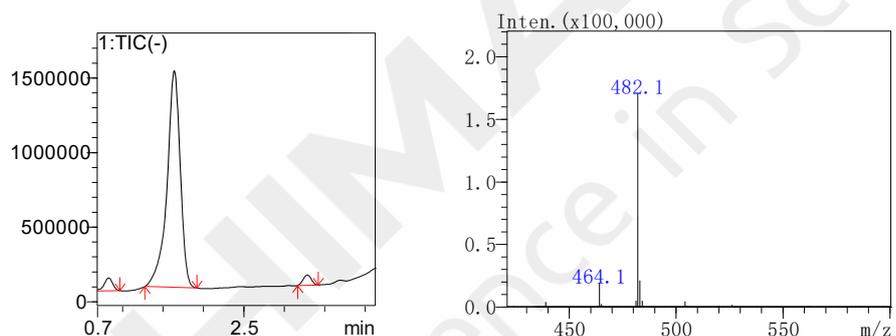
序号	名称	分子式	分子量	实测值
1	ATP	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> N <sub>5</sub> O <sub>13</sub> P <sub>3</sub>	507.0	506.1
2	GTP	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> N <sub>5</sub> O <sub>14</sub> P <sub>3</sub>	523.0	522.1
3	CTP	C <sub>9</sub> H <sub>16</sub> N <sub>3</sub> O <sub>14</sub> P <sub>3</sub>	483.0	482.1
4	UTP	C <sub>9</sub> H <sub>15</sub> N <sub>2</sub> O <sub>15</sub> P <sub>3</sub>	484.0	483.1



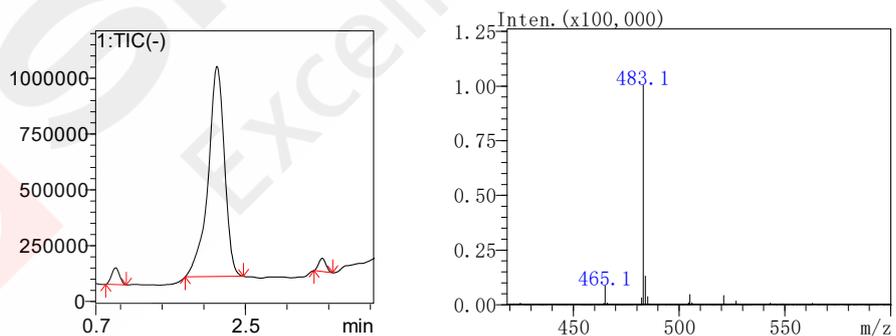
1a. ATP 总离子流色谱图和质谱图



1b. GTP 总离子流色谱图和质谱图



1c. CTP 总离子流色谱图和质谱图

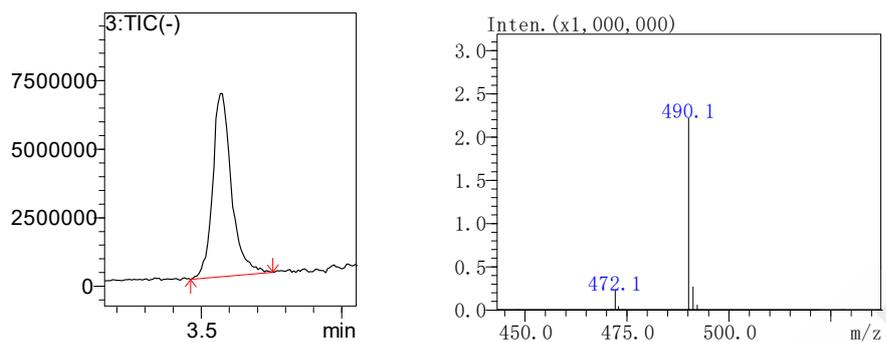


1d. UTP 总离子流色谱图和质谱图

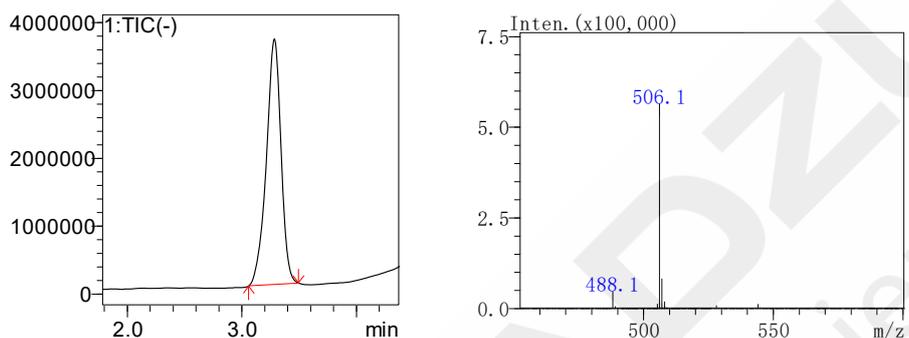
图 1. NTP 总离子流色谱图和质谱图

## 2.2 聚合酶链式反应生产 DNA 药物原料 dNTP 分子量及分析结果

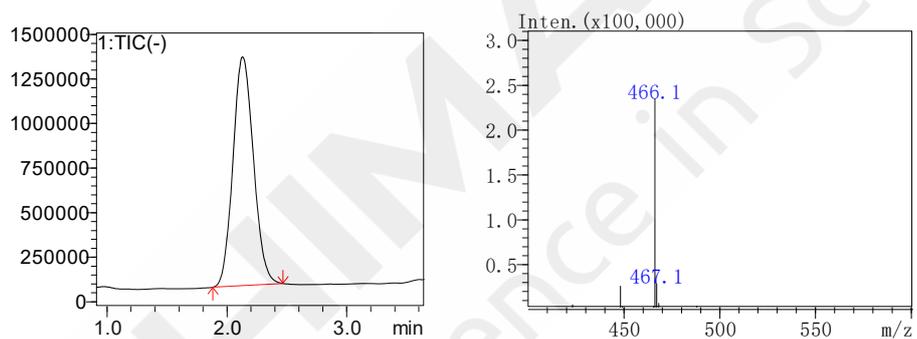
对聚合酶链式反应生产 DNA 药物原料 dATP、dGTP、dCTP、dTTP 进行检测，总离子流图和质谱图见图 2，脱氧核苷酸的分子式、理论分子量、实测分子量见表 3。其中 dATP 检测到  $m/z$  490.1 峰、dGTP 检测到  $m/z$  506.1 峰、dCTP 检测到  $m/z$  466.1 峰、dGTP 检测到  $m/z$  481.1 峰，均为  $[M-H]^-$  峰。



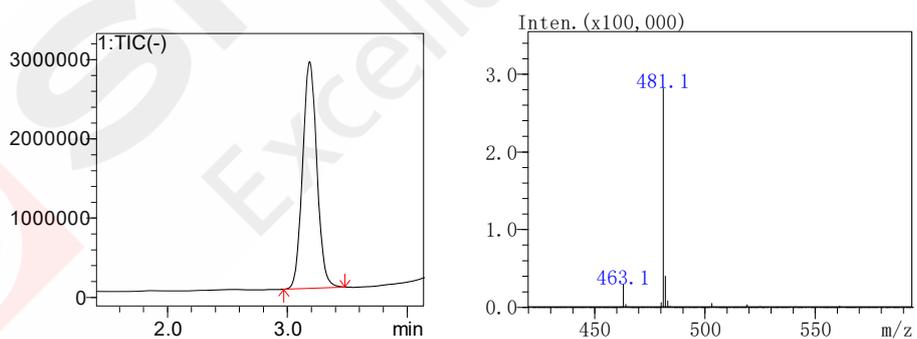
2a. dATP 总离子流色谱图和质谱图



2b. dGTP 总离子流色谱图和质谱图



2c. dCTP 总离子流色谱图和质谱图



2d. dTTP 总离子流色谱图和质谱图

图 2. dNTP 总离子流色谱图和质谱图

表 3. dNTP 分子式及分子量检测结果

序号	名称	分子式	分子量	实测值
1	dATP	$C_{10}H_{16}N_5O_{12}P_3$	491.0	490.1
2	dGTP	$C_{10}H_{16}N_5O_{13}P_3$	507.0	506.1
3	dCTP	$C_9H_{16}N_3O_{13}P_3$	467.0	467.1
4	dTTP	$C_{10}H_{17}N_2O_{14}P_3$	482.0	482.1

### 3. 结论

本文采用Nexera XS Inert生物惰性超高效液相色谱和单四极杆质谱LCMS-2050联用仪对mRNA和DNA生产用核苷酸原料进行定性分析，利用液相色谱进行分离，单四极杆质谱检测原料的分子量。该方法无需复杂的样品前处理、操作简单、分析速度快，可分离出原料中杂质，结果可靠，适用于mRNA和DNA原料进厂质控分析，可对其原料进行快速分子量确认。



# 利用 LCMS 对寡核苷酸合成用亚磷酰胺单体原料进行定性分析

**摘要：**本文采用超高效液相色谱和单四极杆质谱LCMS-2050联用仪对寡核苷酸合成用亚磷酰胺单体原料进行定性分析。采用DUIS (ESI+APCI) 离子源的正离子模式分析待测样品，通过优化色谱条件和质谱采集参数，使得亚磷酰胺单体色谱峰型良好并有较好的保留，且亚磷酰胺单体结构中磷原子处存在的两种非对映异构体均得到很好的分离。本方法适用于亚磷酰胺单体合成质控分析和原料进厂质控分析，可对其进行分子量确认。

**关键词：** LCMS 寡核苷酸 亚磷酰胺单体

## 技术特点：

- ❖ 通过优化色谱条件，实现亚磷酰胺两种非对映异构体良好分离。
- ❖ 本方法操作简便，可以进行高通量检测。

随着核酸药物研究的日益增长，将各种各样的寡核苷酸药物进行大规模生产将逐渐成为未来的趋势，其中化学合成法是合成短链寡聚核酸的主要方法。化学合成寡核苷酸的方法历经了半个多世纪的发展，其演变历程从最初的磷酸二酯法，到磷酸三酯法、氢磷酸法，再到目前比较成熟的亚磷酰胺法。

亚磷酰胺单体相互偶联，形成不断增长的寡核苷酸链。每次加入的亚磷酰胺原料所包含的杂质会在整个寡核苷酸的合成过程中累积，所以亚磷酰胺的品质对于确保寡核苷酸化学合成的工艺稳定性至

关重要。为了保证亚磷酰胺单体原料的品质，一般寡核苷酸药物企业会对原料进行进厂质控，确保原料主成分分子量准确。

本实验采用超高效液相色谱和单四极杆质谱LCMS-2050联用仪分别对8种不同的亚磷酰胺进行定性分析，操作简单、分析速度快，适用于亚磷酰胺单体合成质控分析和原料进厂质控分析，可对其进行分子量确认。

## 1. 实验部分

### 1.1 仪器

Nexera XS Inert 生物惰性超高效液相色谱与单四极杆质谱 LCMS-2050 联用系统，具体配置信息如下：

系统控制器	： CBM-40	自动进样器	： SIL-40CXS <sub>i</sub>
脱气机	： DGU-405	柱温箱	： CTO-40C
输液泵	： LC-40D XS <sub>i</sub> ×2	质谱仪	： LCMS-2050 单四极杆质谱仪
色谱工作站	： LabSolutions Ver. 5.114		



## LCMS-2050

SIMPLY EFFORTLESS

兼顾小型化和高性能

灵敏度 (S/N) Resopline 1 pg	100: 1 (RMS)
质量范围	m/z 2-2000
离子化单元	加热型ESI/APCI (DUIS™)
正负离子切换时间	10 msec
扫描速度	15,000 u/s

图 1. 单四极杆液质联用仪 LCMS-2050

## 1.2 分析条件

### 色谱条件

色谱柱：Shim-pack GIST-HP C18-AQ (100 mm x 2.1 mm I.D., 1.9  $\mu$ m, 岛津(上海)实验器材有限公司, PN:227-30807-02)

流动相：A相-2 mM 甲酸铵水溶液, B相-乙腈溶液

进样体积：1  $\mu$ L

柱温：40  $^{\circ}$ C

流速：0.3 mL/min

洗针液：甲醇/水=1:1 (v:v)

洗脱方式：等度洗脱, B相浓度为 77%

### 质谱条件

离子源：DUIS (ESI+APCI)

雾化气流速：2.0 L/min

D L 温度：250  $^{\circ}$ C

干燥气流速：5.0 L/min

脱溶剂温度：300  $^{\circ}$ C

加热气流速：7.0 L/min

扫描模式：Scan (+)

扫描范围：m/z 500~1500

## 1.3 样品前处理

### 1.3.1 亚磷酰胺样品信息

表1. 亚磷酰胺样品信息

序号	名称	简称	CAS
1	DMT-dA(Bz)-CE 亚磷酰胺	dA	98796-53-3
2	DMT-dG(dmf)-CE 亚磷酰胺	dG	330628-04-1
3	DMT-dC(Ac)-CE 亚磷酰胺	dC	154110-40-4
4	DMT-dT-CE 亚磷酰胺	dT	98796-51-1
5	DMT-2'-O-TBDMS-A(Bz)-CE 亚磷酰胺	A	104992-55-4
6	DMT-2'-O-TBDMS-G(iBu)-CE 亚磷酰胺	G	147201-04-5
7	DMT-2'-O-TBDMS-C(Ac)-CE 亚磷酰胺	C	121058-88-6
8	DMT-2'-O-TBDMS-U-CE 亚磷酰胺	U	118362-03-1

### 1.3.2 亚磷酰胺样品溶液配制

分别称量不同种类亚磷酰胺样品 1.0 mg, 用乙腈溶解, 并用乙腈逐级稀释成 50  $\mu$ g/mL 样品溶液上机分析。(亚磷酰胺特别容易由 P(III)氧化为 P(V), 因此通常将其低温储存于惰性气体中, 并用无水乙腈制备,

现配现用，以尽量减少与水的接触)

## 2. 结果与讨论

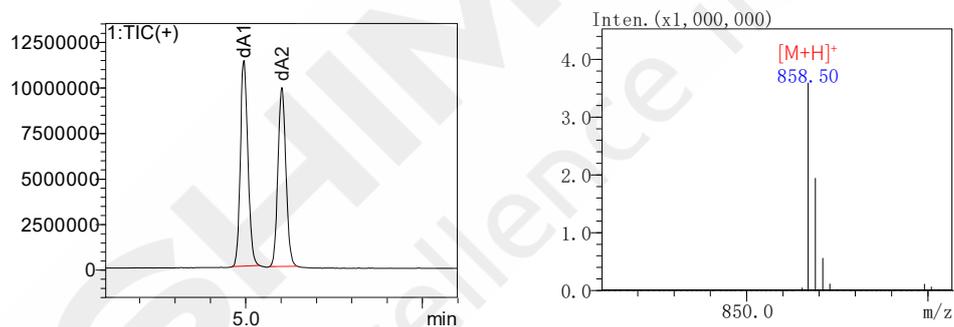
亚磷酰胺结构中磷原子处存在两种非对映异构体，通过优化色谱条件，使得各种亚磷酰胺的两种非对映异构体均得到很好的分离。

### 2.1 合成 DNA 用亚磷酰胺分子量及分析结果

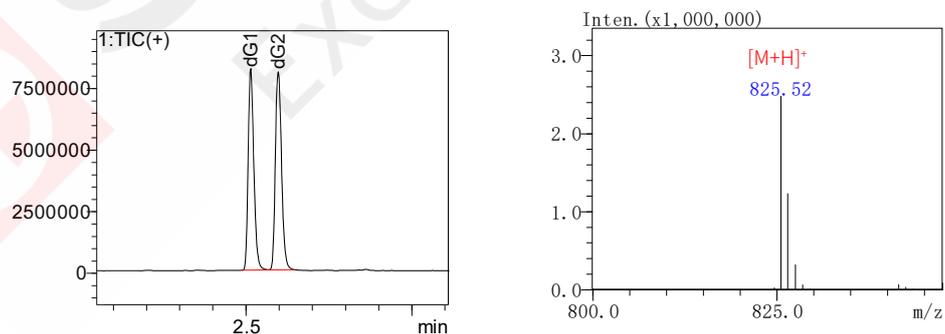
对合成 DNA 用亚磷酰胺 dA、dG、dC 和 dT 分别进行检测，总离子流图和质谱图见图 1，亚磷酰胺的分子式、理论分子量、实测分子量见表 2。其中 dA 检测到  $m/z$  858.5 峰、dG 检测到  $m/z$  825.5 峰、dC 检测到  $m/z$  772.5 峰均为  $[M+H]^+$  峰。dT 检测到  $m/z$  745.4  $[M+H]^+$  峰， $m/z$  767.4  $[M+Na]^+$  峰和  $m/z$  783.4  $[M+K]^+$  峰。

表2. 合成DNA用亚磷酰胺分子式及分子量检测结果

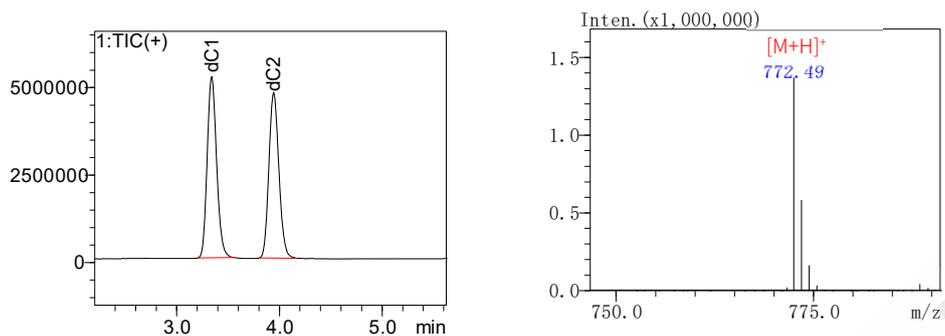
序号	名称	分子式	理论分子量	实测值
1	dA	$C_{47}H_{52}N_7O_7P$	857.4	858.5
2	dG	$C_{43}H_{53}N_8O_7P$	824.4	825.5
3	dC	$C_{41}H_{50}N_5O_8P$	771.3	772.5
4	dT	$C_{40}H_{49}N_4O_8P$	744.3	745.4



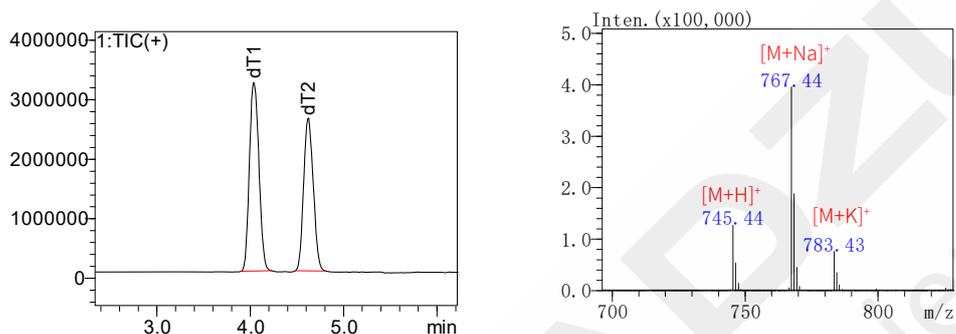
1a. dA 总离子流色谱图和质谱图



1b. dG 总离子流色谱图和质谱图



1c. dC 总离子流色谱图和质谱图



1d. dT 总离子流色谱图和质谱图

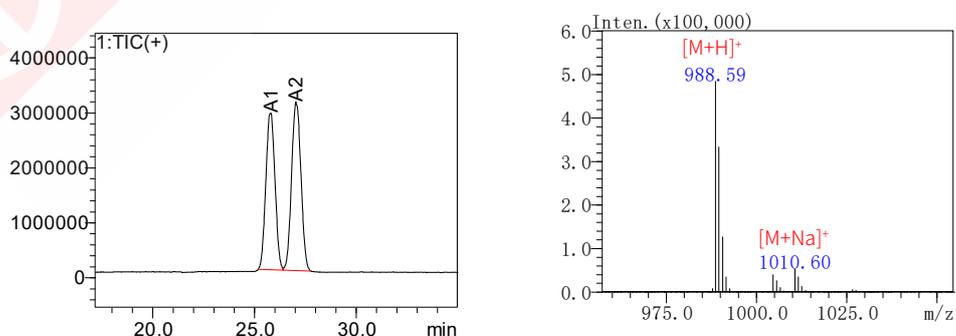
图 1. 合成 DNA 用亚磷酸胺总离子流色谱图和质谱图

## 2.2 合成 RNA 用亚磷酸胺分子量及分析结果

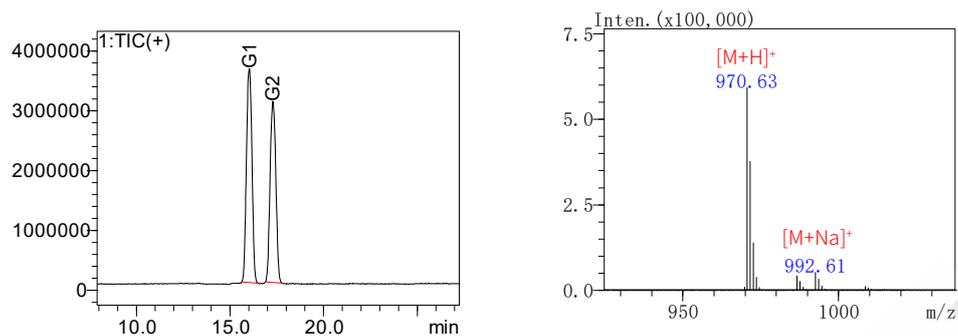
对合成 RNA 用亚磷酸胺 A、G、C 和 U 分别进行检测，总离子流图和质谱图见图 2，亚磷酸胺的分子式、理论分子量、实测分子量见表 3。其中 A 检测到  $m/z$  988.6  $[M+H]^+$ 峰和  $m/z$  1010.6  $[M+Na]^+$ 峰、G 检测到  $m/z$  970.6  $[M+H]^+$ 峰和  $m/z$  992.6  $[M+Na]^+$ 峰、C 检测到  $m/z$  902.6  $[M+H]^+$ 峰和  $m/z$  924.6  $[M+Na]^+$ 峰、U 检测到  $m/z$  861.5  $[M+H]^+$ 峰、 $m/z$  883.5  $[M+Na]^+$ 峰和  $m/z$  899.5  $[M+K]^+$ 峰。

表 3. 合成 RNA 用亚磷酸胺分子式及分子量检测结果

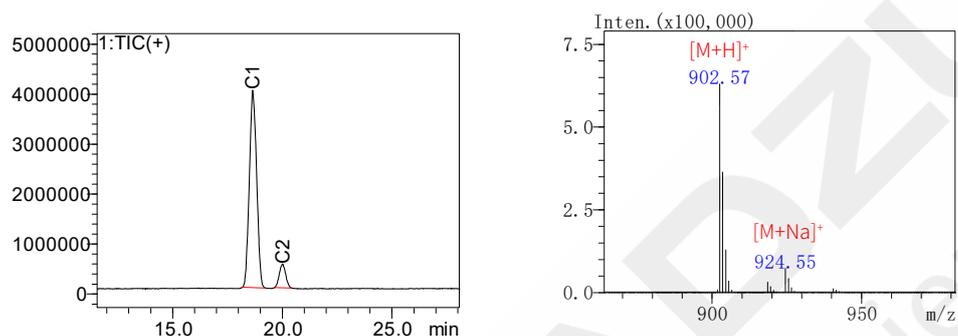
序号	名称	分子式	理论分子量	实测值
1	A	$C_{53}H_{66}N_7O_8PSi$	987.4	988.6
2	G	$C_{50}H_{68}N_7O_9PSi$	969.5	970.6
3	C	$C_{47}H_{64}N_5O_9PSi$	901.4	902.6
4	U	$C_{45}H_{61}N_4O_9PSi$	860.4	861.5



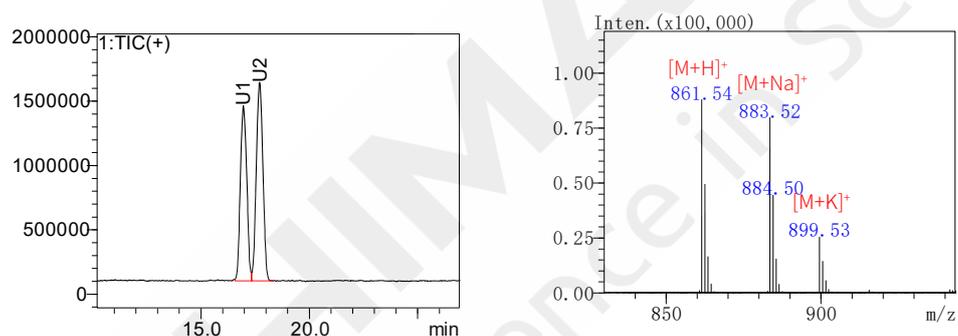
2a. A 总离子流色谱图和质谱图



2b. G 总离子流色谱图和质谱图



2c. C 总离子流色谱图和质谱图



2d. U 总离子流色谱图和质谱图

图 2.合成 RNA 用亚磷酰胺总离子流色谱图和质谱图

### 3. 结论

本文采用超高效液相色谱和单四极杆质谱LCMS-2050联用仪对寡核苷酸化学合成用亚磷酰胺原料进行定性分析，利用液相色谱进行分离，单四极杆质谱检测原料的分子量。该方法操作简单、分析速度快，亚磷酰胺单体结构中磷原子处存在的两种非对映异构体均得到很好的分离，结果可靠，适用于亚磷酰胺单体合成质控分析和原料进厂质控分析，可对其进行分子量确认。

## 第 4 章 临床检验

在临床检验行业，为了提高药物疗效，避免或减少药物毒副作用，达到最佳治疗效果，往往需要进行治疗药物监测（Therapeutic drug monitoring, TDM）。TDM 是以药物动力学与药效动力学理论为指导，借助现代先进检测技术，检测患者血液或其他体液中药物浓度，从而实现给药方案个体化。

目前常用的血药浓度检测方法有免疫法、分光光度法、色谱法、质谱法等。免疫法主要基于抗原-抗体特异性结合的原理来测定药物浓度，该方法灵敏度高，特异性强，但可能受到交叉反应的影响，对新型药物或结构复杂的药物测定可能存在困难。分光光度法操作简便快捷，成本相对较低，但灵敏度和精确度相对于免疫法和色谱法略低，且易受样品基质干扰。色谱法分离度高，准确度高，可同时测定多种药物，但对于含量较低、复杂基质中的药物浓度测定仍有一定的困难。质谱法则很好的解决了色谱法存在的问题，具有灵敏度高，专属性强的特点，能准确测定痕量药物，特别适合于新药、代谢物以及结构复杂药物的测定。

本文集收录了单四极杆质谱仪 LCMS-2050 测定血液中多黏菌素 B、万古霉素、紫杉醇含量的解决方案，供相关从业人员参考。



# LCMS 检测血浆中多黏菌素 B 浓度

**摘要：**使用岛津小型单四极杆质谱仪建立了血浆中多黏菌素 B 测定方法。使用标准品及质控品进行了方法的线性、准确度及精密度的考察。结果显示该方法线性良好，校准曲线相关系数大于 0.999，质控品测定准确度结果与理论值接近，多黏菌素 B1 及多黏菌素 B2 回收率分别在在 98.7%~102.8%之间及 99.6%~101.3%之间，RSD 分别在 0.9%~1.0%之间及 0.9%~2.2%之间，该方法前处理简便，分析速度快，灵敏度高，专属性强，可用于多黏菌素 B 治疗药物监测。

**关键词：**小型单四极杆质谱仪 血浆 多黏菌素 B 治疗药物监测

## 技术特点：

- ❖ 方法快速高效，分析时间仅需 6 min。
- ❖ 方法前处理简单，仅需简单蛋白沉淀即可上样分析。

多黏菌素B (polymyxin B, PMB) 是一种由N-端脂肪酰基链、线性三肽、环状七肽构成的超过30多种多肽混合物，由于其化学结构式上的氨基酸种类、构型及N-端脂肪酰基链取代基的不同造成PMB中同系物、异构体较多，临床上多用多黏菌素B1 (PMB1)和多黏菌素B2 (PMB2) 表征其体内药动学特征。多黏菌素B对大多数革兰氏阴性菌有抑制作用，其主要应用于绿脓杆菌及其他假单孢菌引起的创面、尿路以及眼、耳、气管等部位感染，也可用于败血症、腹膜炎。但多粘菌素的不合理使用，可能会造成肾毒性、引起头晕等副作用。多粘菌素导致的肾毒性，可导致患者肾功能下降，并可引起蛋白尿、肾小管尿、氮质血症和肌酐水平升高，这是

对肾功能的主要损害。并且多粘菌素在使用过程中可能导致患者头晕、共济失调、嗜睡和外周感觉异常。因此，为避免不良反应、提高临床疗效，应尽可能通过治疗药物监测(TDM) 控制来指导PMB的临床应用。目前常用的PMB血药浓度监测方法包括高效液相色谱法、毛细管电泳法、高效液相色谱-串联质谱法等，而使用LCMS法测定多黏菌素B的报道较少。

使用岛津小型单四极杆质谱仪LCMS-2050，建立了血浆中多黏菌素B测定方法，该方法前处理简便，分析速度快，灵敏度高，专属性强，可用于多黏菌素B治疗药物监测。

## 1. 实验部分

### 1.1 仪器

本实验使用单四极杆质谱 LCMS-2050 系统。具体配置为：

系统控制器	： CBM-40	在线脱气机	： DGU-405
输液泵	： LC-40DXS×2	柱温箱	： CTO-40C
自动进样器	： SIL-40C XS	质谱仪	： LCMS-2050
色谱工作站	： Labsolutions Ver.5.114		

## 1.2 分析条件

### 色谱条件

色 谱 柱 : Shim-pack GIST 100 mm×2.1 mm I.D., 3 μm; P/N: 227-30008-05;  
岛津(上海)实验器材有限公司

流 动 相 : A相为 0.1%甲酸水溶液;  
B相为 0.1%甲酸乙腈溶液

进 样 体 积 : 5 μL 柱 温 : 45°C

流 速 : 0.4 mL/min 洗 针 液 : 甲醇/水=1:1 (v:v)

洗 脱 方 式 : 梯度洗脱, B相起始浓度为 5%, 时间程序如表 1 所示。

表 1. 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
0.5	泵	B.Conc	5
3.00	泵	B.Conc	40
3.50	泵	B.Conc	95
4.00	泵	B.Conc	95
4.10	泵	B.Conc	5
6.00	控制器	Stop	

### 质谱条件

离子化模式 : ESI+ 雾化气流速 : 2.0 L/min

接口电压 : 3 kV 干燥气流速 : 5.0 L/min

脱溶剂温度 : 450°C 加热气流速 : 7.0 L/min

D L 温度 : 150°C 扫描模式 : 选择离子监测(SIM)

M R M 参数 : 见表2

表 2. SIM 参数

编号	中文名	英文名	分子式	分子量	CAS 号	SIM 离子	电荷数
1	多黏菌素 B1	PMB1	C <sub>56</sub> H <sub>98</sub> N <sub>16</sub> O <sub>13</sub>	1203.5	4135-11-9	401.8	3
2	多黏菌素 B2	PMB2	C <sub>55</sub> H <sub>96</sub> N <sub>16</sub> O <sub>13</sub>	1189.5	34503-87-2	397.2	3

## 1.3 校准品及样品制备

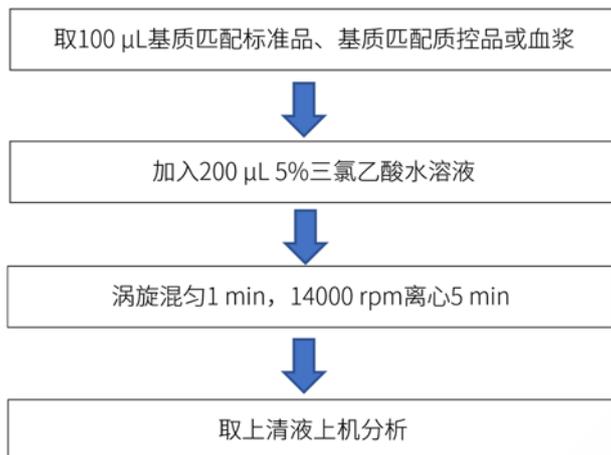
基质匹配校准曲线制备: 取 PMB1 及多黏菌素 PMB2 校准样品 L1~L6 各 10 μL, 加入 90 μL 空白血浆, 涡旋混匀 1 min, 得基质校准溶液, 基质校准曲线浓度见表 3。

基质匹配质控品溶液制备: 取低中高浓度质控品 LQC, MQC, HQC 各 10 μL, 加入 90 μL 空白血浆, 涡旋混匀 1 min, 得基质匹配质控品溶液, 浓度分别为 0.75 μg/mL, 2.5 μg/mL, 10.0 μg/mL。

表 3. 校准曲线浓度表 (μg/mL)

名称	L1	L2	L3	L4	L5	L6
PMB1	0.5	1.0	2.0	5.0	15.0	20.0
PMB2	0.5	1.0	2.0	5.0	15.0	20.0

校准品、质控品及样品前处理:



## 2. 结果讨论

### 2.1 SIM 色谱图

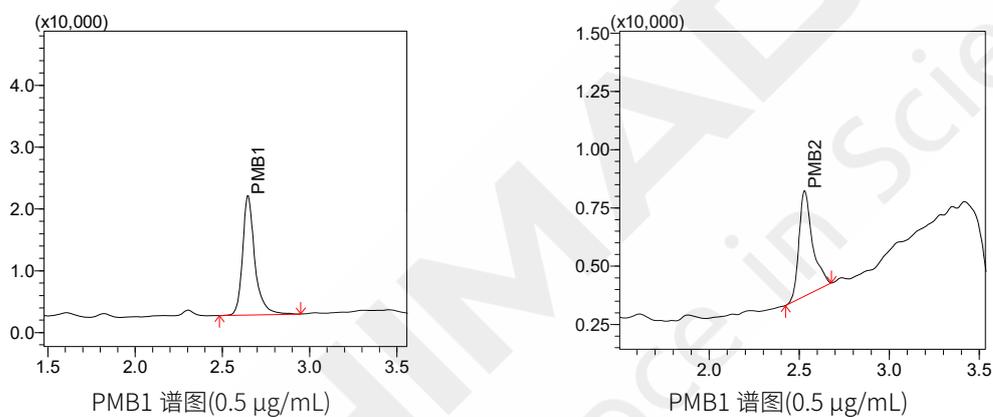


图 1. PMB1 及 PMB2 谱图

### 2.2 线性测定结果

对校准品按 1.2 中的分析条件进行分析，外标法制作校准曲线。校准曲线结果见表 4，PMB1 及 PMB2 在校准曲线浓度范围内线性相关系数大于 0.999，准确度分别在 98.6%~102.0%及 95.0~106.0%之间，满足测定需求。

表 4. 校准曲线结果

名称	线性范围( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	相关系数	准确度(%)
PMB1	0.5~20.0	0.9999	98.6%~102.0%
PMB2	0.5~20.0	0.9990	95.0%~106.0%

### 2.3 准确度及精密度测定结果

按 1.3 中的前处理方法对低中高浓度质控品进行前处理，每个浓度质控品重复制备 6 份，按 1.2 中的分析条件对质控品进行分析。质控品的准确度结果如表 5 所示，结果显示质控品测定准确度结果与理论值接近，PMB1 及 PMB2 回收率分别在在 98.7%~102.8%及 99.6%~101.3%之间，RSD 分别在 0.9%~1.0%及 0.9%~2.2%之间，满足临床测定需求。

表 5. 质控准确度考察结果(n=6, 浓度单位  $\mu\text{g/mL}$ )

质控	项目	PMB1	PMB2
LQC	理论浓度	0.75	0.75
	测定浓度	0.74	0.76
	质控准确度%	98.7	101.3
	RSD%	0.9	2.2
MQC	理论浓度	2.5	2.5
	测定浓度	2.51	2.49
	质控准确度%	100.4	99.6
	RSD%	0.9	0.9
HQC	理论浓度	10.0	10.0
	测定浓度	10.28	10.09
	质控准确度%	102.8	100.9
	RSD%	1.0	1.2

### 3. 结论

使用岛津小型单四极杆质谱仪 LCMS-2050, 建立了血浆中多黏菌素 B1 及多黏菌素 B2 测定方法。使用校准品及质控品进行了方法的线性、准确度及精密度的考察。结果显示该方法线性良好, 校准曲线相关系数均大于 0.999, 质控品测定准确度结果与理论值接近, PMB1 及 PMB2 回收率分别在在 98.7%~102.8% 之间及 99.6%~101.3% 之间, RSD 分别在 0.9%~1.0% 之间及 0.9%~2.2% 之间, 该方法前处理简便, 分析速度快, 灵敏度高, 专属性强, 可用于多粘菌素 B 治疗药物监测。

# LCMS 用于血清中万古霉素治疗药物监测应用

**摘要：**使用岛津小型单四极杆质谱仪建立了血清中万古霉素测定方法。使用内标、校准品及质控品进行了方法的线性、准确度及精密度的考察。结果显示该方法线性良好，校准曲线相关系数大于 0.999，质控品测定准确度结果与理论值接近，回收率在 92.5%~101.1%之间，RSD 在 1.5%~1.8%之间，该方法前处理简便，分析速度快，灵敏度高，专属性强，可用于万古霉素治疗药物监测。

**关键词：**小型单四极杆质谱仪 万古霉素 治疗药物监测

## 技术特点：

- ❖ 使用 LCMS 结合检测试剂盒，建立了血清中万古霉素测定方法。
- ❖ 前处理使用更简便 96 孔蛋白沉淀板，提高了前处理效率。
- ❖ 分析时间仅需 5 min，提高了万古霉素检测效率。

万古霉素 (Vancomycin) 是一种糖肽类抗生素，传统上，万古霉素被用作“最后一线药物”。万古霉素对葡萄球菌属包括金黄色葡萄球菌和凝固酶阴性葡萄球菌中甲氧西林敏感及耐药株、各种链球菌、肺炎链球菌及肠球菌属等多数革兰阳性菌均有良好抗菌作用，用来治疗所有抗生素均无效的严重感染。临床万古霉素使用量的增加会导致细菌对其敏感性发生变化，易诱发产生耐万古霉素的金黄色葡萄球菌，耐万古霉素的肠球菌，后果十分严重。保持万古霉素血药浓度可避免耐药菌株产生。因万古霉素治疗窗相对较窄、个体差异大、且具有明显的肾毒性，因此在临床应用时，应定时对其血药浓度检测，及时调整剂量，制定合理的给药方案以实现个体化给药，减少

不良反应发生率。国际上推荐对应用大剂量万古霉素并且使用疗程较长的患者、肾功能不稳定(如明显恶化或明显改善)的患者、联合使用其它肾毒性药物的患者、儿童及老人等高风险人群进行治疗药物监测。目前临床上万古霉素血药浓度测定方法主要有免疫法、直接化学发光法、高效液相色谱法、高效液相色谱-串联质谱法。而使用 LCMS 法测定万古霉素少有报道。

本文使用岛津小型单四极杆质谱仪 LCMS-2050，建立了血清中万古霉素测定方法，该方法前处理简便，分析速度快，灵敏度高，专属性强，可用于万古霉素治疗药物监测。

## 1. 实验部分

### 1.1 仪器

本实验使用单四极杆质谱 LCMS-2050 系统。具体配置为：

系统控制器	: CBM-40	在线脱气机	: DGU-405
输液泵	: LC-40D XS×2	柱温箱	: CTO-40C
自动进样器	: SIL-40C XS	质谱仪	: LCMS-2050
色谱工作站	: Labsolutions Ver.5.114		

## 1.2 分析条件

### 色谱条件

色谱柱 : Shim-pack GISS C18 (50 mm×2.1 mm I.D., 1.9 μm); P/N: 227-30048-01; 岛津 (上海) 实验器材有限公司  
流动相 : 试剂盒提供 流速 : 0.5 mL/min  
柱温 : 40°C 进样量 : 2 μL  
洗脱方式 : 梯度洗脱, B 相初始浓度为 1%, 时间程序见表 1。

表 1. 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
0.50	泵	B.Conc	1
2.00	泵	B.Conc	50
2.50	泵	B.Conc	98
3.00	泵	B.Conc	98
3.10	泵	B.Conc	1
5.00	控制器	Stop	

### 质谱条件:

离子化模式 : ESI+ 雾化气流速 : 2.0 L/min  
接口电压 : 3 kV 干燥气流速 : 5.0 L/min  
脱溶剂温度 : 250 °C 加热气流速 : 7.0 L/min  
D L 温度 : 150 °C 扫描模式 : 选择离子监测(SIM)  
MRM 参数 : 见表2

表 2. MRM 参数

编号	中文名	英文名	CAS 号	SIM 离子
1	万古霉素	Vancomycin	1404-90-6	725.1
2	万古霉素内标	Vancomycin-IS	-	690.9

## 1.3 校准品及样品制备

使用万古霉素测定试剂盒 (山东英盛生物技术有限公司) 参照试剂盒说明书进行实验。试剂盒包含高浓度万古霉素校准品、低中高浓度质控品 LQC、MQC、HQC、万古霉素内标、万古霉素校准品稀释液、万古霉素提取液、流动相 A、流动相 B、96 孔蛋白沉淀板。

内标浓缩液制备: 取 100 μL 纯水加入到万古霉素内标干粉小瓶中, 超声 2 min, 涡旋震荡 1 min, 冰箱冷冻保存。

内标工作液制备: 取内标浓缩液, 按 1:199 用内标提取液稀释混匀, 得内标工作液, 现用现配。

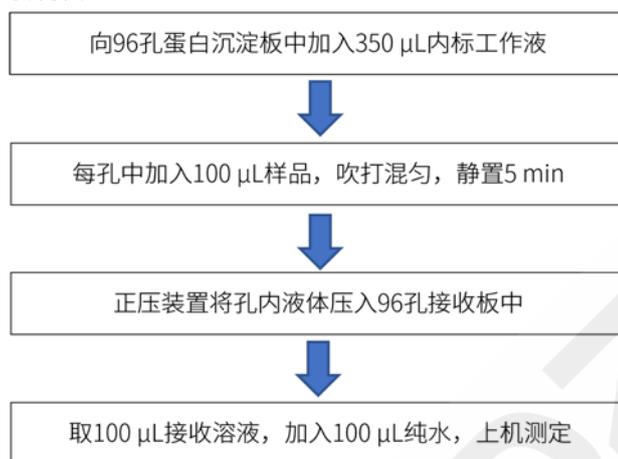
高浓度校准品溶液制备: 取 1 mL 纯水加入到万古霉素校准品冻干粉小瓶中, 溶解混匀。

万古霉素校准品稀释液制备: 取 3 mL 纯水加入到万古霉素校准品稀释液冻干粉小瓶中, 溶解混匀。

基质匹配校准曲线制备: 用校准品稀释液, 依此按 1:1 等比例稀释校准品溶液, 共 6 个浓度, 得基质校准溶液, 基质校准曲线浓度分别为 50 μg/mL、25 μg/mL、12.5 μg/mL、6.25 μg/mL、3.125 μg/mL、1.5625 μg/mL。

基质匹配质控品溶液制备：取 1 mL 纯水加入到万古霉素质控品冻干粉小瓶中，溶解混匀，低中高浓度质控品浓度分别为 4.72  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、9.62  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、37.81  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

校准品、质控品及样品溶液制备：



## 2. 结果讨论

### 2.1 SIM 色谱图

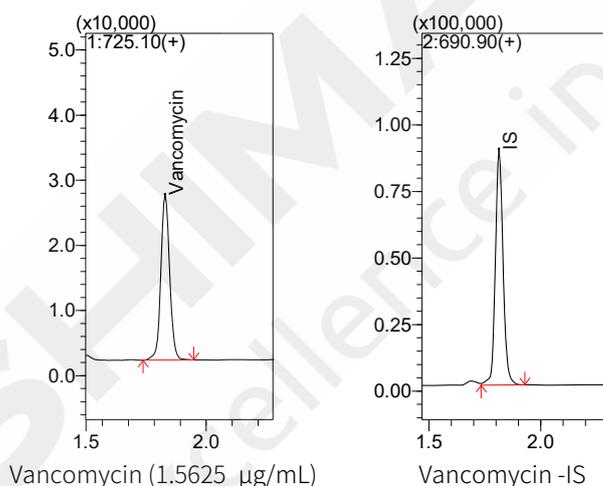


图 1. 校准曲线最低点谱图

### 2.2 线性测定结果

对校准品按 1.2 中的分析条件进行分析，内标法制作校准曲线。万古霉素在 1.5625~50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  浓度范围内线性相关系数为 0.9992，准确度在 95.3%~103.6%之间，满足测定需求。

### 2.3 准确度及精密度测定结果

按 1.3 中的前处理方法对低中高浓度质控品进行前处理，每个浓度质控品重复制备 6 份，按 1.2 中的分析条件对质控品进行分析，质控品的准确度结果如表 3 所示，结果显示质控品测定准确度结果与理论值接近，回收率在 92.5%~101.1%之间，RSD 在 1.5%~1.8%之间，满足临床测定需求。

表 3. 质控准确度考察结果(n=6, 浓度单位 $\mu\text{g}/\text{mL}$ )

质控	项目	数值
LQC	理论浓度	4.72
	测定浓度	4.69
	质控范围	4.013~5.429
	质控准确度%	99.4
	RSD%	1.8
MQC	理论浓度	9.62
	测定浓度	9.73
	质控范围	8.179~11.065
	质控准确度%	101.1
	RSD%	1.5
HQC	理论浓度	37.81
	测定浓度	34.98
	质控范围	32.140~43.484
	质控准确度%	92.5
	RSD%	1.6

### 3. 结论

使用岛津小型单四极杆质谱仪 LCMS-2050, 建立了血清中万古霉素测定方法。使用内标、校准品及质控品进行了方法的线性、准确度及精密度的考察。结果显示该方法线性良好, 校准曲线相关系数大于 0.999, 质控品测定准确度结果与理论值接近, 回收率在 92.5%~101.1%之间, RSD 在 1.5%~1.8%之间, 该方法前处理简便, 分析速度快, 灵敏度高, 专属性强, 可用于万古霉素治疗药物监测。

# LCMS 检测血浆中抗癌药紫杉醇的浓度

**摘要：**使用岛津小型单四极杆质谱仪建立了血浆中抗癌药紫杉醇测定方法。使用内标、标准品及质控品进行了方法的线性、准确度及精密度的考察。结果显示该方法线性良好，校准曲线相关系数大于 0.999，质控品测定准确度结果与理论值接近，回收率在 102%~108%之间，RSD 在 1.0%~1.7%之间，该方法前处理简便，分析速度快，灵敏度高，专属性强，可用于紫杉醇治疗药物监测。

**关键词：**小型单四极杆质谱仪 抗癌药 紫杉醇 治疗药物监测

## 技术特点：

- ❖ 使用小型单四极杆质谱仪结合检测试剂盒，建立紫杉醇血药浓度测定方法。
- ❖ 方法快速高效，分析时间仅需 4 min。

紫杉醇是从短叶紫杉树皮中提取的一种天然生物碱，其抗肿瘤活性发现于20世纪70年代，于1992年首次通过了美国FDA认证。在化学结构上紫杉醇是紫杉烷环的二萜类化合物，通过促进微管蛋白装配和抑制微管解聚来发挥抗肿瘤作用。紫杉醇是发现的第一个能与微管蛋白聚合体相互作用的药物，即通过与微管紧密地结合，使它们稳定而起作用，同时发现紫杉醇对多种实体瘤细胞显示出良好的作用。紫杉醇在临床上已经广泛用于乳腺癌、卵巢癌和部分头颈癌和肺癌的治疗。但研究表明，紫杉醇

有骨髓抑制不良反应，监测紫杉醇血药浓度可预测化疗毒性及疗效，对提高患者用药的安全性和有效性具有重要意义。目前常用的血药浓度监测方法包括高效液相色谱法(HPLC)、免疫试剂盒测试法、高效液相色谱-质谱联用分析法(LC-MS/MS)等，而使用LCMS法测定紫杉醇的报道较少。

本文使用岛津小型单四极杆质谱仪LCMS-2050，建立了血浆中抗癌药紫杉醇测定方法，该方法前处理简便，分析速度快，灵敏度高，专属性强，可用于紫杉醇治疗药物监测。

## 1. 实验部分

### 1.1 仪器

本实验使用单四极杆质谱 LCMS-2050 系统。具体配置为：

系统控制器	: CBM-40	在线脱气机	: DGU-405
输液泵	: LC-40D XS×2	柱温箱	: CTO-40C
自动进样器	: SIL-40C XS	质谱仪	: LCMS-2050
色谱工作站	: Labsolutions Ver.5.114		

### 1.2 分析条件

色谱条件

色谱柱 : Shim-pack GIST C18 (50 mm×2.1 mm I.D., 2 μm); P/N: 227-30001-02;  
岛津(上海)实验器材有限公司

流动相：A相为 0.1%甲酸水溶液（含 2 mmol/L 乙酸铵）；

B相为 0.1%甲酸甲醇溶液

进样体积：2  $\mu$ L 柱温：40  $^{\circ}$ C

流速：0.4 mL/min 洗针液：甲醇/水=1:1 (v:v)

洗脱方式：梯度洗脱，B相起始浓度为 70%，时间程序如表 1 所示。

表 1. 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
1.00	泵	B.Conc	70
2.00	泵	B.Conc	95
2.50	泵	B.Conc	95
2.60	泵	B.Conc	70
4.00	控制器	Stop	

质谱条件

离子化模式：ESI+

雾化气流速：2.0 L/min

接口电压：3 kV

干燥气流速：5.0 L/min

脱溶剂温度：450  $^{\circ}$ C

加热气流速：7.0 L/min

D L 温度：150  $^{\circ}$ C

扫描模式：选择离子监测(SIM)

M R M 参数：见表2

表 2. SIM 参数

编号	中文名	英文名	CAS 号	SIM 离子
1	紫杉醇	Paclitaxel	33069-62-4	854.2
2	紫杉醇内标	Paclitaxel-IS	-	859.2

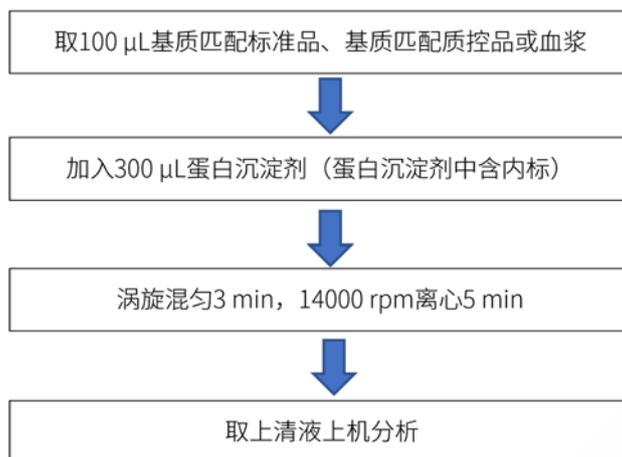
### 1.3 标准品及样品制备

使用紫杉醇测定试剂盒（液相色谱-串联质谱法，江苏豪思生物科技有限公司）按照试剂盒说明书进行实验。试剂盒包含紫杉醇标准品 L1~L7，低中高浓度质控品 LQC, MQC, HQC 及蛋白沉淀剂（蛋白沉淀剂中含内标）。

基质匹配校准曲线制备：取试剂盒中紫杉醇校准样品 L1~L7 各 10  $\mu$ L，加入 90  $\mu$ L 空白血浆，涡旋混匀 1 min，得基质校准溶液，浓度分别为 20 ng/mL、100 ng/mL、500 ng/mL、1000 ng/mL、2000 ng/mL、4000 ng/mL、8000 ng/mL。

基质匹配质控品溶液制备：取低中高浓度质控品 LQC, MQC, HQC 各 10  $\mu$ L，加入 90  $\mu$ L 空白血浆，涡旋混匀 1 min，得基质匹配质控品溶液，浓度分别为 38.90 ng/mL，407.67 ng/mL，3886.67 ng/mL。

标准品、质控品及样品前处理：



## 2. 结果讨论

### 2.1 SIM 色谱图

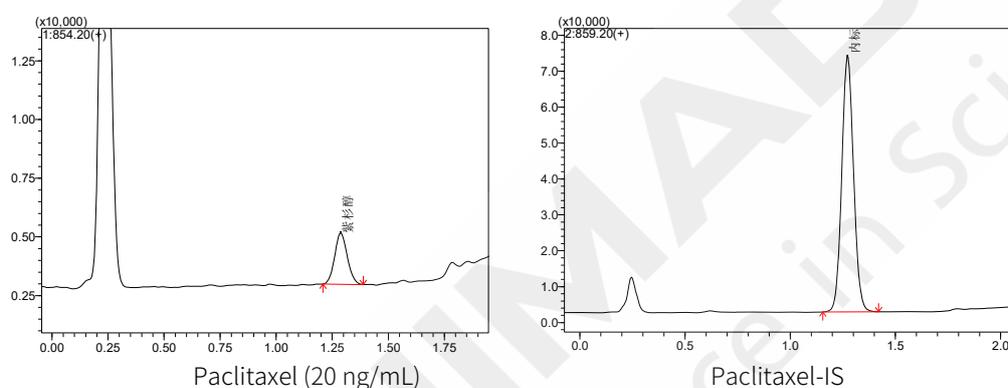


图 1. 校准曲线最低点谱图

### 2.2 线性测定结果

对标准品按 1.2 中的分析条件进行分析，内标法制作校准曲线。紫杉醇在 20 ng/mL~8000 ng/mL 校准曲线浓度范围内线性相关系数大于 0.999，准确度在 98.0%~104.7%之间，满足测定需求。

### 2.3 准确度及精密度测定结果

按 1.3 中的前处理方法对低中高浓度质控品进行前处理，每个浓度质控品重复制备 6 份，按 1.2 中的分析条件对质控品进行分析，质控品的准确度结果如表 3 所示，结果显示质控品测定准确度结果与理论值接近，回收率在 102%~108%之间，RSD 在 1.0%~1.7%之间，满足临床测定需求。

表 3. 质控准确度考察结果(n=6, 浓度单位 ng/mL)

质控	项目	数值
LQC	理论浓度	38.90
	测定浓度	41.98
	质控范围	31.12~46.68
	质控准确度%	108
	RSD%	1.7

MQC	理论浓度	407.67
	测定浓度	413.85
	质控范围	346.52~468.82
	质控准确度%	102
	RSD%	1.5
HQC	理论浓度	3886.67
	测定浓度	3999.58
	质控范围	3303.67~4469.67
	质控准确度%	103
	RSD%	1.0

### 3. 结论

使用岛津小型单四极杆质谱仪 LCMS-2050，建立了血浆中抗癌药紫杉醇测定方法。使用内标、标准品及质控品进行了方法的线性、准确度及精密度的考察。结果显示该方法线性良好，校准曲线相关系数大于 0.999，质控品测定准确度结果与理论值接近，回收率在 102%~108%之间，RSD 在 1.0%~1.7%之间，该方法前处理简便，分析速度快，灵敏度高，专属性强，可用于紫杉醇治疗药物监测。

## 第 5 章 工业制造

工业制造行业范围非常广泛，如纺织业、电子电器、化工、建筑材料等，工业制造行业中有害物质的检测是确保产品安全、环境保护和人类健康的重要环节。常见需要监控的物质包括但不限于重金属、多环芳烃、挥发性有机物、邻苯二甲酸酯、甲醛、石棉、染料、抗氧化剂等，化合物种类繁多，涉及的分析仪器有 ICP、GCMS、LCMS 等多种仪器。对于沸点较高的有机化合物可采用 LC 或 LCMS 分析，其中 LCMS 抗干扰能力更强，选择性更佳，适合复杂基质样品的多组分同时分析。

LCMS-2050 采用复合双离子源(DUIS)，可同时进行 ESI 和 APCI 离子化，从而实现高低极性化合物的离子化，有利于组分多、极性范围大的样品分析。在此基础上 LCMS-2050 新增辅助加热气设计，有利于提高化合物离子化效率。

本文集收录了工业制造行业部分检测项目，如纺织品中染料、电子电器产品中 SVHC 等，供相关从业人员参考。



# LCMS 法分析纺织品中 38 种染料成分

**摘要:** 本文利用岛津单四极杆质谱仪建立了纺织品中 38 种染料成分的分析方法。样本经甲醇浸泡、振荡、超声提取后,以液相色谱-单四极杆质谱法进行测定。根据各成分的保留时间、定性离子进行定性检验,并基于选定的定量离子采用 SIM 模式进行定量分析。此外,采用阴性纺织品作为阴性基质,对该方法的回收率及基质效应进行考察,其结果显示,回收率和基质效应均表现良好。基于岛津 LCMS-2050 具备的高效真空设计、便于清洗的特点和纺织品检测行业的应用需求,本方法适用于纺织品中 38 种染料成分的测定,也可为相关从业人员分析检测提供参考。

**关键词:** 单四极杆质谱仪 纺织品 染料成分

## 技术特点:

- ❖ LCMS-2050 的高效真空设计、便于清洗的特点,满足纺织品检测行业实际应用需求。
- ❖ LCMS-2050 具有可调节的 Qarray 电压,使多组分检测具有更大的优化空间。

随着社会的发展,纺织品行业变得多样化、多元化。伴之而来的商品规范化趋势,使得纺织品中工业染料成分的检测工作也显得愈发重要。

工业染料因色彩鲜亮、成色好,且不易褪色、价格低廉,深受不法商贩喜爱。工业染料对于人体具有伤害性,甚至诱发癌变。对于纺织品中染料成分的检测,本文中所示方法是目前使用较为广泛的方法之一:高效液相色谱-串联质谱法。因此,纺织品中染料成分的准确定性、定量对于该行业具有重要

意义。纺织品中染料成分的分子离子峰的准确选取,是保证待测化合物被筛查定性、准确定量的重要前提。本文利用岛津单四极杆质谱仪,建立了纺织品中 38 种染料成分的分析方法。该方法既具备良好的稳定性,也具有高灵敏度。此外,基于染料成分难以购置高纯度标准品和成分复杂的现状,以及单四极杆质谱的分析特点,分析时可能存在干扰的情况,本方法对于其它染料成分的检测,也可提供有效实验依据和参考。

## 1. 实验部分

### 1.1 仪器

岛津 LCMS-2050 单四极杆液质联用仪,具体配置信息如下:

系统控制器	: CBM-40	输液泵	: LC-40B X3×2
柱温箱	: CTO-40S	自动进样器	: SIL-40C X3
质谱仪	: LCMS-2050	色谱工作站	: Labsolutions Ver. 5.99

### 1.2 分析条件

#### 1.2.1 液相-质谱分析条件 (一)

色谱条件

色谱柱 : Shim-pack GIST-HP C18-AQ (150 mm×2.1 mm., 3.0 μm, 岛津 (上海) 实验器材有限公司, P/N: 227-30765-04)

流动相：A-20 mmol 甲酸铵-0.08 %甲酸水；B-0.02%甲酸甲醇

进样体积：5  $\mu$ L 柱温：30 $^{\circ}$ C

流速：0.5 mL/min 洗针液：甲醇/水=1:1 (v:v)

洗脱方式：梯度洗脱，B相起始浓度为40%，时间程序如表1所示。

表1. 梯度洗脱时间程序

时间(min)	单元	处理命令	值
1.00	泵	B Conc	40
1.01	泵	B Conc	90
5.00	泵	B Conc	90
5.01	泵	B Conc	100
10.00	泵	B Conc	100
10.01	泵	B Conc	40
13.00	控制器	STOP	

质谱条件

离子化模式：DUIS<sup>TM</sup>

雾化气流速：2.0 L/min

接口电压：3 kV/-2 kV

干燥气流速：5.0 L/min

D L 温度：250  $^{\circ}$ C

加热气流速：5.0 L/min

加热模块温度：400  $^{\circ}$ C

扫描模式：SIM

S I M 参数：见表2

表2. SIM 参数

组别	序号	化合物	+/-	m/z	接口电压(V)	Qarray(V)	序号	化合物	+/-	m/z	接口电压(V)	Qarray(V)
一 组	1	分散蓝 26	+	299.10	3.0	Auto	11	分散橙 149	+	459.21	3.0	Auto
	2	分散红 151	+	532.16	3.0	Auto	12	分散黄 3	+	270.12	3.0	Auto
	3	分散橙 1	+	319.12	3.0	Auto	13	分散红 17	+	345.16	3.0	10.0
	4	分散橙 11	+	238.09	3.0	Auto	14	分散红 11	+	269.09	3.0	10.0
	5	分散蓝 1	+	268.04	3.0	Auto	15	分散黄 7	+	317.14	3.0	10.0
	6	分散橙 37	+	392.07	3.0	Auto	16	分散红 1	+	315.14	3.0	3.0
	7	分散棕 1	+	433.02	3.0	Auto	17	分散蓝 3	+	297.17	3.0	1.0
	8	分散蓝 102	+	366.12	3.0	Auto	18	溶剂红 23	+	353.14	3.0	Auto
	9	分散橙 3	+	243.09	3.0	Auto	19	分散黄 9	-	273.06	-2.0	3.0
	10	分散蓝 7	+	359.12	3.0	Auto	20	海军蓝	-	901.03	-2.0	Auto
二 组	21	分散蓝 106	+	336.11	3.0	Auto	26	分散黄 23	-	301.11	-2.0	3.0
	22	分散黄 49	+	375.25	3.0	10.0	27	分散黄 1	-	274.05	-2.0	3.0
	23	分散黄 39	+	265.09	3.0	1.0	28	酸性红 114	+	787.12	3.0	Auto
	24	溶剂黄 2	+	226.13	3.0	Auto	29	酸性红 126	-	435.03	-2.0	Auto
	25	溶剂黄 1	+	198.10	3.0	Auto						
三 组	30	碱性紫 14	+	302.17	3.0	Auto	32	碱性红 9	+	288.15	3.0	Auto
	31	碱性绿 4	+	329.20	3.0	Auto	33	碱性紫 3	+	372.24	3.0	Auto

## 1.2.2 液相-质谱分析条件 (二)

液相色谱条件

色 谱 柱 : Shim-pack GIST-HP C18-AQ ( 150 mm×2.1 mm., 3.0 μm, 岛津 (上海) 实验器材有限公司, P/N: 227-30765-04 )

流 动 相 : A-20 mmol 甲酸铵-0.08 %甲酸水; B-乙腈

进 样 体 积 : 20 μL 柱 温 : 30°C

流 速 : 0.7 mL/min 洗 针 液 : 甲醇/水=1:1 (v:v)

洗 脱 方 式 : 梯度洗脱, B 相起始浓度为 20%, 时间程序如表 3 所示。

表 3. 梯度洗脱时间程序

时间(min)	单元	处理命令	值
4.00	泵	B Conc	20
6.00	泵	B Conc	95
10.00	泵	B Conc	95
12.00	泵	B Conc	20
15.00	控制器	STOP	

质谱条件

离子化模式 : DUIS<sup>TM</sup> 雾化气流速 : 3.0 L/min

接口电压 : -2 kV 干燥气流速 : 5.0 L/min

D L 温度 : 150°C 加热气流速 : 5.0 L/min

加热模块温度 : 400°C 扫描模式 : SIM

S I M 参 数 : 见表4

表 4. SIM 参数

组别	序号	化合物	+/-	m/z	接口电 压(V)	Qarray (V)	序号	化合物	+/-	m/z	接口电 压(V)	Qarray (V)
四 组	34	直接蓝 6	+	282.35	3.0	Auto	37	直接黑 38	-	736.14	-2.0	Auto
	35	直接红 28	-	651.11	-2.0	Auto	38	直接棕 95	-	325.04	-2.0	Auto
	36	直接蓝 15	-	451.02	-2.0	Auto						

## 2. 样品前处理

将纺织品剪碎至5mm×5mm以下碎块,称取约1.0g 于具盖离心管中,加入甲醇 10.0mL,密封后,于约70°C水浴下超声提取30min,冷却至室温,经微孔滤膜过滤,作为检材样品提取液,供仪器检测。

## 3. 结果与讨论

### 3.1 38 种染料成分标准溶液谱图

由于着色剂类标准品的纯度相较于其它类化合物标准品的纯度低,其中所含的杂质成分混合后会对检测产生干扰,故将38种着色剂进行分成4组,分组混合并测定。各组混合标准溶液浓度为1.0 μg/mL的色谱图和保留时间如下所示:

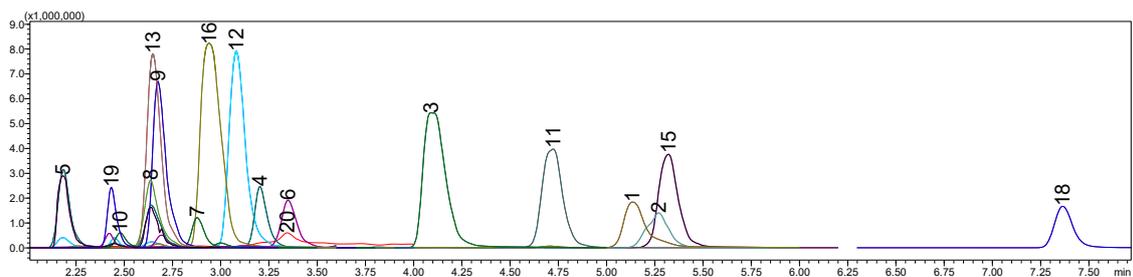


图 1. 第一组标准溶液 TIC 图

(1.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ; 1.分散蓝 26; 2.分散红 151; 3.分散橙 1; 4.分散橙 11; 5.分散兰 1; 6.分散橙 37; 7.分散棕 1; 8.分散蓝 102; 9.分散橙 3; 10.分散蓝 7; 11.分散橙 149; 12.分散黄 3; 13.分散红 17; 14.分散红 11; 15.分散黄 7; 16.分散红 1; 17.分散蓝 3; 18.溶剂红 23; 19.分散黄 9; 20.海军蓝)

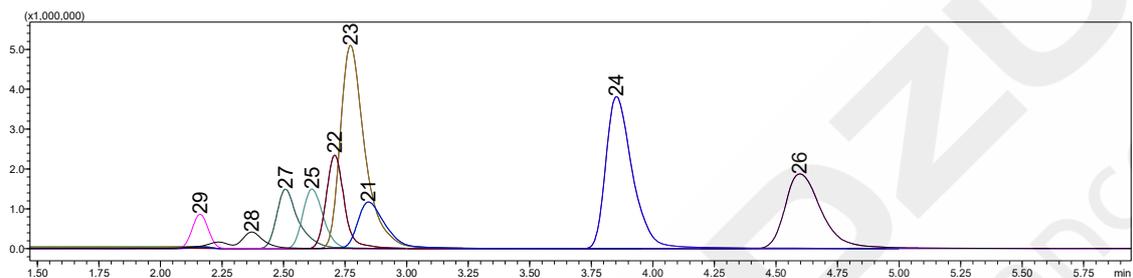


图 2. 第二组标准溶液 TIC 图

(1.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ; 21.分散蓝 106; 22.分散黄 49; 23.分散黄 39; 24.溶剂黄 2; 25.溶剂黄 1; 26.分散黄 23; 27.分散黄 1; 28.酸性红 114; 29.酸性红 126)

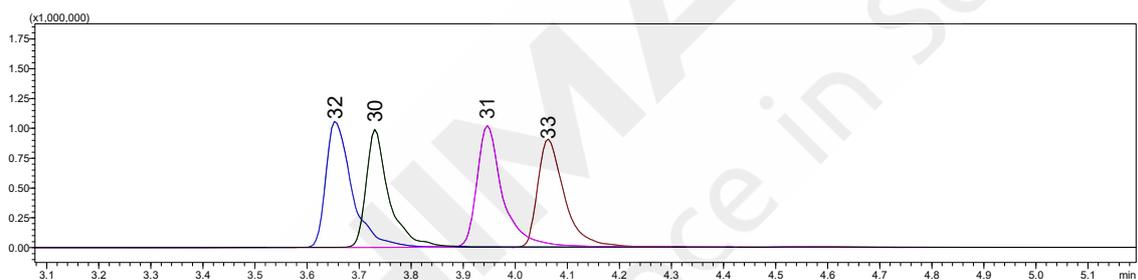


图 3. 第三组标准溶液 TIC 图

(1.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ; 30.碱性紫 14; 31.碱性绿 4; 32.碱性红 9; 33.碱性紫 3)

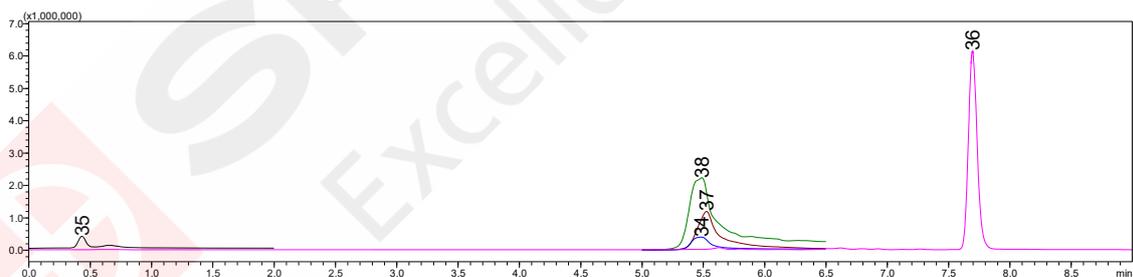


图 4. 第四组标准溶液 TIC 图

(1.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ; 34.直接红 28; 35.直接蓝 15; 36.直接蓝 6; 37.直接黑 38; 38.直接棕 95)

### 3.2 校准曲线与检出限

以初始流动相作为稀释溶液，将38种染料成分逐级稀释至曲线浓度。根据对各成分的检出限的测试结果显示，本方法中各染料成分的检出限均可满足标准GBT 20383-2006 《纺织品致敏性分散染料的测定》中检出限0.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的要求。校准曲线见图5，线性方程、检出限结果见表5。

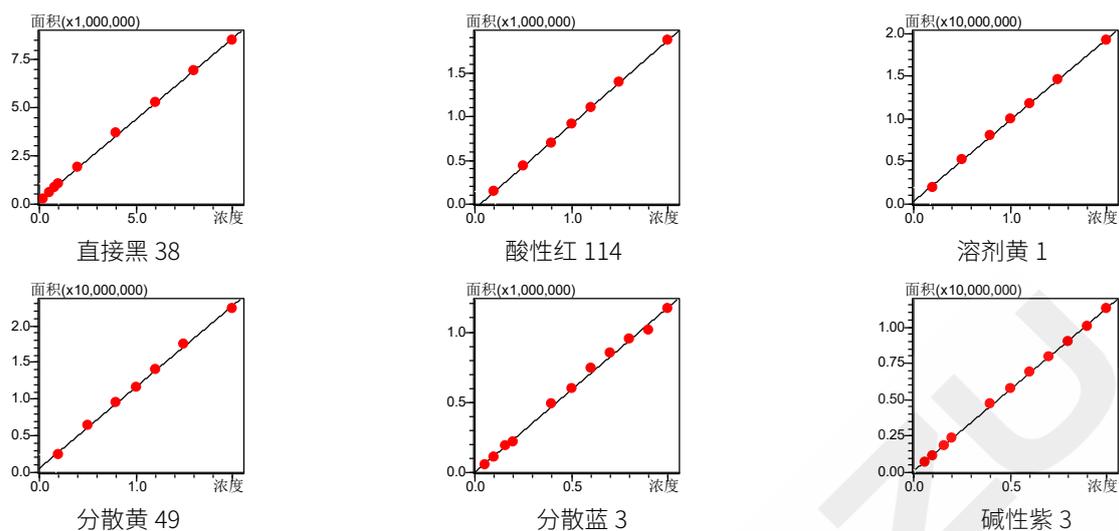


图 5. 部分染料成分校准曲线

表 5. 校准曲线的结果

组别	序号	化合物	浓度范围 ( $\mu\text{g/mL}$ )	准确度 %	相关系数 R	检出限 ( $\mu\text{g/mL}$ )
一组	1	分散蓝 26	0.3~5.0	97.2~113.6	0.9996	0.5
	2	分散红 151	0.5~5.0	93.7~114.6	0.9988	0.5
	3	分散橙 1	0.1~5.0	87.8~111.0	0.9983	0.5
	4	分散橙 11	0.1~5.0	95.8~112.9	0.9996	0.5
	5	分散兰 1	0.5~5.0	85.9~110.8	0.9978	0.5
	6	分散橙 37	0.3~5.0	96.8~113.8	0.9999	0.5
	7	分散棕 1	0.3~5.0	95.0~105.6	0.9996	0.5
	8	分散蓝 102	0.3~5.0	85.5~106.9	0.9991	0.5
	9	分散橙 3	0.8~5.0	86.6~107.9	0.9963	0.5
	10	分散蓝 7	0.3~5.0	91.5~102.8	0.9994	0.5
	11	分散橙 149	0.1~5.0	90.5~110.7	0.9998	0.5
	12	分散黄 3	0.3~5.0	89.9~102.4	0.9994	0.5
	13	分散红 17	0.3~5.0	86.1~106.8	0.999	0.5
	14	分散红 11	0.3~5.0	86.4~106.2	0.9994	0.5
	15	分散黄 7	0.3~5.0	93.8~113.8	0.9996	0.5
	16	分散红 1	0.3~4.0	85.0~108.2	0.9991	0.5
	17	分散蓝 3	0.3~5.0	91.7~104.7	0.9984	0.5
	18	溶剂红 23	0.3~5.0	86.2~107.2	0.9981	0.5
	19	分散黄 9	0.3~5.0	85.2~106.7	0.9997	0.5
	20	海军蓝	0.3~5.0	88.0~108.2	0.9995	0.5
二组	21	分散蓝 106	0.1~1.0	88.9~104.1	0.9944	0.1
	22	分散黄 49	0.1~1.0	85.0~104.3	0.9993	0.1
	23	分散黄 39	0.1~1.0	87.9~105.5	0.9958	0.1
	24	溶剂黄 2	0.1~1.0	98.5~100.7	0.9999	0.1
	25	溶剂黄 1	0.1~1.0	87.2~101.9	0.9998	0.1

	26	分散黄 23	0.1~1.0	92.0~102.1	0.9958	0.1
	27	分散黄 1	0.1~1.0	98.5~102.0	0.9993	0.1
	28	酸性红 114	0.1~1.0	97.5~105.2	0.9999	0.5
	29	酸性红 126	0.1~1.0	91.4~106.1	0.9956	0.5
三组	30	碱性紫 14	0.5~5.0	83.2~106.6	0.9959	0.1
	31	碱性绿 4	0.3~5.0	86.0~102.9	0.9991	0.1
	32	碱性红 9	0.5~5.0	97.4~103.6	0.9987	0.1
	33	碱性紫 3	0.3~5.0	93.3~102.4	0.9997	0.1
四组	34	直接蓝 6	0.2~2.0	85.7~104.0	0.9992	0.5
	35	直接红 28	0.2~10.0	91.6~107.1	0.9988	0.5
	36	直接蓝 15	0.5~7.0	86.7~102.6	0.999	0.5
	37	直接黑 38	0.5~10.0	93.4~104.2	0.9993	0.5
	38	直接棕 95	0.5~10.0	90.3~104.5	0.9991	0.5

### 3.3 重复性实验

对浓度为1.0 µg/mL的标液连续进样6次，保留时间RSD%在0.04~0.33%之间，峰面积的RSD%在0.41~4.86%之间，具体结果如表6所示：

表 6. 重复性结果

组别	序号	化合物	R.T. RSD (%)	峰面积 RSD (%)	序号	化合物	R.T. RSD (%)	峰面积 RSD (%)
一组	1	分散蓝 26	0.13	2.5	11	分散橙 149	0.13	0.65
	2	分散红 151	0.16	2.05	12	分散黄 3	0.13	1.23
	3	分散橙 1	0.16	0.89	13	分散红 17	0.17	1.78
	4	分散橙 11	0.13	1.07	14	分散红 11	0.15	1.35
	5	分散兰 1	0.13	1.06	15	分散黄 7	0.16	1.71
	6	分散橙 37	0.11	0.63	16	分散红 1	0.16	0.77
	7	分散棕 1	0.17	1.74	17	分散蓝 3	0.15	4.86
	8	分散蓝 102	0.16	1.96	18	溶剂红 23	0.09	2.26
	9	分散橙 3	0.16	0.95	19	分散黄 9	0.13	1.65
	10	分散蓝 7	0.18	2.98	20	海军蓝	0.15	1.96
二组	21	分散蓝 106	0.23	2.31	26	分散黄 23	0.34	1.74
	22	分散黄 49	0.33	1.52	27	分散黄 1	0.28	1.9
	23	分散黄 39	0.25	3.16	28	酸性红 114	0.31	2.03
	24	溶剂黄 2	0.16	1.25	29	酸性红 126	0.2	3.41
	25	溶剂黄 1	0.22	1.89				
三组	30	碱性紫 14	0.07	1.87	32	碱性红 9	0.07	1.3
	31	碱性绿 4	0.07	2.46	33	碱性紫 3	0.07	2.3
四组	34	直接蓝 6	0.04	0.8	37	直接黑 38	0.05	0.86
	35	直接红 28	0.05	0.45	38	直接棕 95	0.05	0.41
	36	直接蓝 15	0.3	1.78				

### 3.4 考察基质效应

阴性样本经前处理后，其提取液作为稀释基质，配置浓度为2  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的样本溶液，与2  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 标准溶液的峰面积进行比较，从而测定化合物的基质效应；其结果显示基质效应在85.8%~104.9%之间，基质效应影响可忽略。

### 3.5 考察回收率

称取约1.0 g纺织品，加入混合标准溶液，经前处理后，制备出2  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的加标样品；来考察考察回收率。结果显示，38种化合物的回收率在84.6%~113.9%之间，其回收率柱状图结果如图6所示：

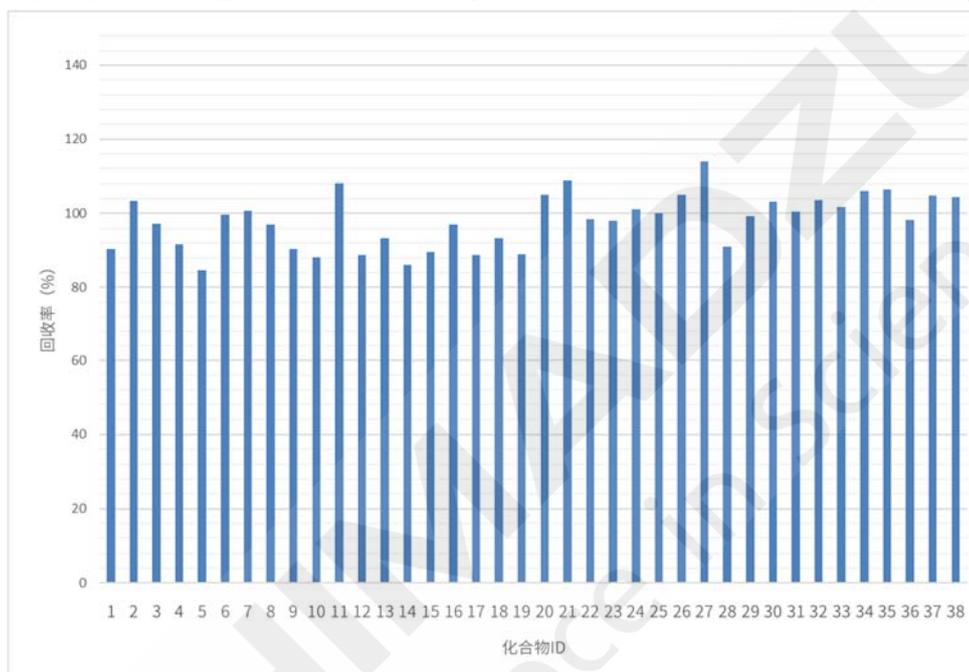


图 6. 回收率柱状图

## 4. 结论

本文利用岛津 LCMS-2050 单四极杆液质联用仪对纺织品中 38 种染料成分建立检验方法。结果显示：保留时间 RSD%在 0.04~0.33%之间，峰面积的 RSD%在 0.41~4.86%之间；以不同浓度的标准溶液分析，采用外标法定量，其结果显示各成分校准曲线相关系数均大于 0.999。以纺织品作为阴性样本，考察方法回收率和基质效应，结果显示，基质效应在 85.8%~104.9%之间，基质影响问题可以忽略；纺织品的加标回收率在 84.6%~113.9%之间，仪器可满足以标准 GBT 20383-2006 《纺织品致敏性分散染料的测定》为参考的染料成分定性定量分析。综上所述，各项数据表明本方法灵敏度高、稳定性和重复性好，分析效率高，适用于纺织品中 38 种染料成分的检测，也可为纺织品中相关化合物检测提供参考。

# LCMS 法分析纺织品中的烷基酚聚氧乙烯醚成分

**摘要:** 本文利用岛津单四极杆质谱仪 LCMS-2050, 建立了纺织品中烷基酚聚氧乙烯醚 (APnEO, n=2~16) 成分的分析方法。样本经甲醇浸泡、振荡、超声提取后, 以液相色谱-质谱法进行测定。根据各成分的保留时间、定性离子进行定性检验, 并基于选定的定量离子采用 SIM 模式进行定量分析。此外, 采用阴性纺织品作为阴性基质, 对该方法的回收率及基质效应进行考察, 其结果显示, 回收率和基质效应均表现良好。基于烷基酚聚氧乙烯醚 (APnEO, n=2~16) 常指的是辛基酚聚氧乙烯醚 (OPnEO) 和壬基酚聚氧乙烯醚 (NPnEO), 本方法中使用到 Labsolution 中组校准的方式进行定量处理。本方法适用于纺织品中烷基酚聚氧乙基醚成分的测定, 也可为相关从业人员分析检测提供参考。

**关键词:** 岛津单四极杆质谱仪 LCMS-2050 烷基酚聚氧乙烯醚 纺织品

## 技术特点:

- ❖ 针对聚合物多成分的情况, 采用可调节的电压优化更贴合实际检验需求。
- ❖ 针对同种多组分定量的情况, 使用组校准的方式进行定量处理。

烷基酚聚氧乙烯醚 (APEO) 是一种重要的聚氧乙烯型非离子表面活性剂。具有性质稳定、耐酸碱和成本低等特征, 主要用以生产高性能洗涤剂, 是印染助剂中最常用的主要原料之一。APEO 的生物降解性与阴离子表面活性剂和其它非离子表面活性剂相比是最差的。

由于烷基酚聚氧乙烯醚的生物降解性较差, 为了防止该类成分危害人体正常激素分泌, 从而导致精子数量减少, 生殖器官出现异常的情况, 中国在一些行业中禁止使用 APEO 成分。

目前, 对于纺织品中 APEO 成分的检测手段多为液相色谱法, 其主要差别在于检测器的选用不同。本文参考 GB/T 23322-2018 《纺织品 表面活性剂的测定 烷基酚和烷基酚聚氧乙烯醚》中的液相色谱-质谱 (LCMS) 法, 使用岛津单四极杆质谱仪 LCMS-2050, 建立了一套快速、准确分析纺织品中烷基酚聚氧乙烯醚 (APnEO, n=2~16) 的检测方法, 并用于测定纺织品中 APEO 的含量, 该方法对该行业的适用性强, 可为相关行业应用开发提供依据。

## 1. 实验部分

### 1.1 仪器

岛津三重四极杆液质联用仪 LCMS-8050, 配置信息如下:

系统控制器	: CBM-40	脱气机	: FCV-11AL
输液泵	: LC-40B X3×2	柱温箱	: CTO-40S
自动进样器	: SIL-40C X3	质谱仪	: LCMS-2050
色谱工作站	: Labsolutions Ver. 5.99		

## 1.2 分析条件

### 色谱条件

色 谱 柱 : Shim-pack Velox C18 (2.1 × 100 mm., 2.7 μm), 岛津 (上海) 实验器材有限公司, P/N:227-32009-03)

流 动 相 : A-20 mmol/mL 乙酸铵-水溶液; B-甲醇

进 样 体 积 : 10 μL 柱 温 : 40°C

流 速 : 0.3 mL/min 洗 针 液 : 甲醇/水=1:1 (v:v)

洗 脱 方 式 : 梯度洗脱, B 相起始浓度为 80%, 时间程序如表 1 所示。

表 1. 梯度洗脱时间程序

时间(min)	单元	处理命令	值
5.00	泵	B Conc	80
5.01	泵	B Conc	95
7.00	泵	B Conc	95
7.01	泵	B Conc	80
9.00	控制器	STOP	

### 质谱条件

离子化模式 : DUIS 雾化气流速 : 3.0 L/min

接口电压 : 3 kV 干燥气流速 : 5.0 L/min

检测器电压 : +0.25 kV 加热气流速 : 5.0 L/min

D L 温度 : 180 °C 脱溶剂温度 : 350 °C

扫描模式 : Scan(m/z 150-1000); SIM(如表2)

表 2. SIM 参数

序号	化合物名称	m/z	保留时间	序号	化合物名称	m/z	保留时间
1	OP2EO	312.20	3.009	16	NP2EO	326.24	4.362
2	OP3EO	356.31	3.071	17	NP3EO	370.29	4.485
3	OP4EO	400.36	3.132	18	NP4EO	414.32	4.485
4	OP5EO	444.37	3.194	19	NP5EO	458.37	4.547
5	OP6EO	488.42	3.135	20	NP6EO	502.42	4.627
6	OP7EO	532.45	3.167	21	NP7EO	546.52	4.577
7	OP8EO	576.52	3.230	22	NP8EO	590.52	4.547
8	OP9EO	620.55	3.167	23	NP9EO	634.55	4.608
9	OP10EO	664.54	3.167	24	NP10EO	678.58	4.609
10	OP11EO	708.58	3.136	25	NP11EO	722.63	4.609
11	OP12EO	752.62	3.136	26	NP12EO	766.62	4.563
12	OP13EO	796.67	3.136	27	NP13EO	810.67	4.577
13	OP14EO	840.65	3.134	28	NP14EO	854.69	4.609
14	OP15EO	884.69	3.195	29	NP15EO	898.76	4.607
15	OP16EO	928.73	3.073	30	NP16EO	942.80	4.487

## 2. 样品前处理

将待测样本剪成小于5 mm×5 mm的碎片，混匀。称取约1 g剪碎后样本于离心管中，加入30 mL甲醇并于70℃水浴下超声提取60 min。使用氮吹，40℃下将提取液吹至近干，准确加入2 mL甲醇涡旋振荡复溶，过膜装瓶后，待检测。

本方法中的 APnEO 标准品是含有辛基酚聚氧乙基醚[OPnEO, C<sub>8</sub>H<sub>17</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-(OC<sub>2</sub>H<sub>4</sub>)<sub>n</sub>OH] (n=2~16) 和壬基酚聚氧乙基醚[NPnEO, C<sub>9</sub>H<sub>19</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-(OC<sub>2</sub>H<sub>4</sub>)<sub>n</sub>OH] (n=2~16) 的标准品。该类标准品属于混合物，其主要成分为聚氧乙基型非离子表面活性剂，通过丙酮溶液配置高浓度储备液后，以初始流动相进行逐级稀释，配置对应的测试溶液。

## 3. 结果与讨论

### 3.1 烷基酚聚氧乙基醚标准溶液谱图

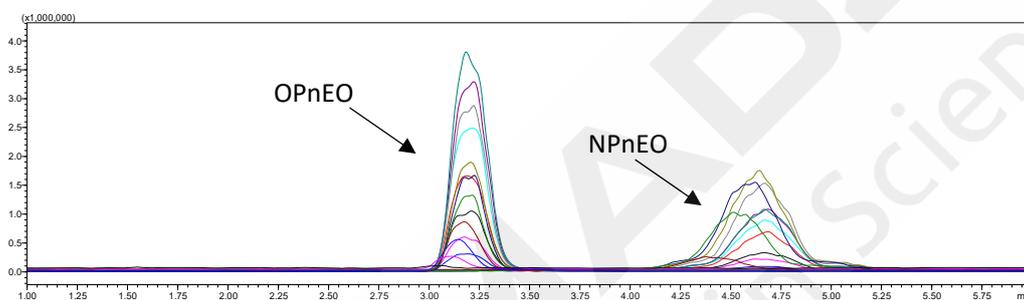


图 1. 烷基酚聚氧乙基醚标准溶液 TIC 图 (1 µg/mL)

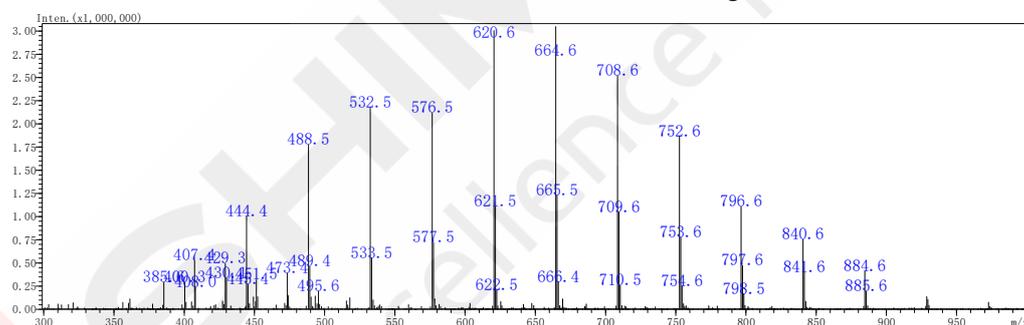


图 2. 部分 OPnEO 标准溶液质谱图 (1 µg/mL)

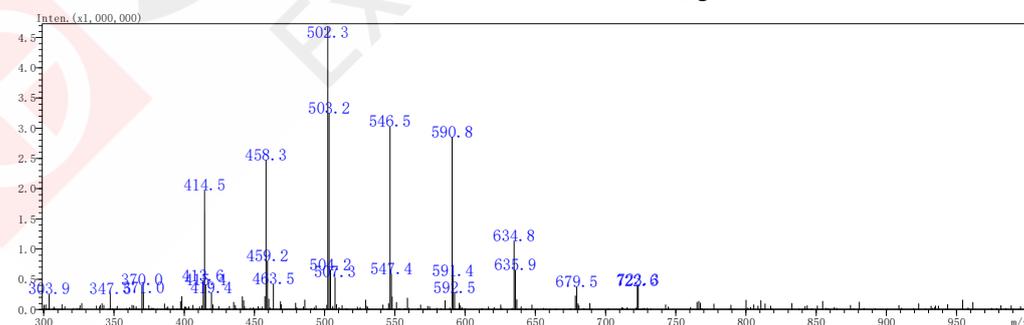


图 3. 部分 NPnEO 标准溶液质谱图 (1 µg/mL)

### 3.2 校准曲线和检出限

用初始流动相为稀释基质，将标准品溶液逐级稀释为校准曲线浓度后，进行分析，并以组校准进行定量（通过软件得到分组峰的面积总和，再创建该组的校准曲线以及执行该组的定量）。其结果显示，线性范围在 0.5 µg/mL~10.0 µg/mL 间，其相关系数大于 0.999，准确度在 95.3~105.7 间，可满足国家标准 GB/T

23322-2018 《纺织品 表面活性剂的测定烷基酚和烷基酚聚氧乙烯醚》中高效液相-液质法的测定要求。组校准曲线如图 4。

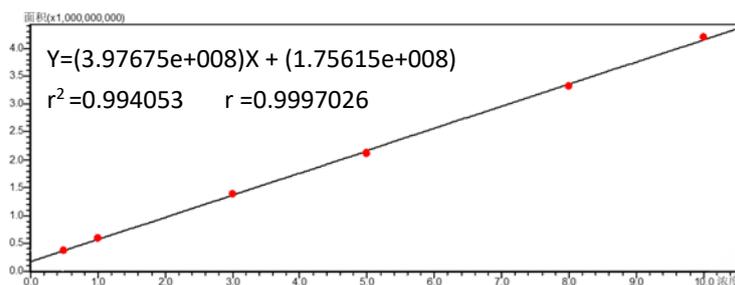


图 4. 校准曲线

### 3.3 重复性实验

取1 µg/mL和10 µg/mL标准品溶液，连续进样6次，考察仪器的重复性，其结果显示1 µg/mL浓度下RSD结果为2.11%，10 µg/mL浓度下RSD结果为0.46%，重复性良好，结果如下表所示：

表 3. 标准溶液重复性组校准结果

编号	峰面积 (1 µg/mL)	峰面积 (10 µg/mL)
1	397,897,028	1,021,326,322
2	412,868,066	1,021,335,680
3	413,190,102	1,014,745,587
4	407,618,393	1,011,550,712
5	395,680,221	1,010,645,536
6	395,066,453	1,016,690,756
平均值	403,720,044	1,016,049,099
RSD(%)	2.11	0.46

### 3.4 考察基质效应

阴性样本经前处理后，其提取液作为稀释基质，配置浓度为1 µg/mL的样本溶液，与1 µg/mL标准溶液的峰面积进行比较，平行三次实验，并通过组校准的方式进行计算，从而测定化合物的基质效应；其结果显示基质效应在95.9%~97.0%之间，基质效应影响可忽略。

### 3.5 考察回收率

称取约1.0 g纺织物，加入标准溶液，经前处理后，制备出3份平行样本为1 µg/mL的加标样品用于回收率考察。结果显示，烷基酚聚氧乙烯醚的回收率在89.6%~94.4%之间，回收率满足测试需求。

## 4. 结论

本方法采用岛津单四极杆质谱仪 LCMS-2050，建立了纺织品中烷基酚聚氧乙烯醚 (APnEO, n=2~16) 成分的分析方法。在 0.5 µg/mL~10 µg/mL 浓度范围内校准曲线线性良好，相关系数均在 0.999 以上，方法检出限在 0.5 µg/mL，满足标准 GB/T 23322-2018 《纺织品 表面活性剂的测定烷基酚和烷基酚聚氧乙烯醚》中的液相色谱-质谱 (LCMS) 法的检测要求。1 µg/mL 和 10 µg/mL 标准品溶液连续进样 6 针，峰面积 RSD 均小于 2.11%，精密度良好。1 µg/mL 加标浓度的加标回收率为 89.6%~94.4%。该方法简单方便，能够有效的检测纺织品中烷基酚聚氧乙烯醚成分的含量。

# 使用 LCMS-2050 定性定量分析化工材料中抗氧化剂

**摘要:** 本文建立了使用岛津单四极杆质谱 LCMS-2050 测定高分子材料中抗氧化剂四(3-十二烷基硫代丙酸)季戊四醇酯 (抗氧化剂 412S) 的方法。LCMS-2050 的参数设置更加简单, Scan 模式的参数设置与 PDA 参数设置类似; SIM 模式的参数设置与 UV 类似。使用该方法定量限可达到 0.05  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 足够应对大多数化工材料中该物质的检测, 同时对重复性和回收率进行了考察, 该方法稳定性好, 结果准确, 可用于化工材料中抗氧化剂 412S 的定性定量分析。

**关键词:** 单四极杆质谱仪 抗氧化剂412S 化工材料

## 技术特点:

- ❖ 对于质量数大于 1000 的物质, 依旧能够准确定性定量分析。。
- ❖ 使用 SIM 模式定量分析时参数设置更加简单。
- ❖ 可应对化工行业中较高浓度水平抗氧化剂含量的检测。

塑料材料具有成本低、耐酸碱腐蚀、防水耐用等很多优点, 广泛应用于我们的生活中的各个方面。但材料在成型、储存和使用的过程中会因受到热、光、电或化学介质等作用而老化, 从而导致抗冲击强度、抗张强度、伸长率等物理性能的大幅下降, 因此在生产过程中通常会加入抗氧化剂予以改善, 抑制或延缓其老化降解过程。因为抗氧化剂的含量直接影响材料的抗氧化能力; 同时作为食品或药品包装材料, 对抗氧化剂的迁移溶出量也有相应的规定。所以对抗

氧化剂含量的测定有着重要意义。

四(3-十二烷基硫代丙酸)季戊四醇酯是一种新型的塑料助剂, 该物质与塑料、橡胶材料相容性好; 具有低挥发和良好的稳定性; 与其它辅助抗氧化剂、稳定剂配合使用都呈现良好的增效作用, 广泛用于聚丙烯, 聚乙烯、聚酯、聚氯乙烯等合成树脂。

本文采用岛津 LCMS-2050 建立了化工材料中四(3-十二烷基硫代丙酸)季戊四醇酯的检测方法, 该方法稳定性好、结果准确, 供相关研究人员参考。

## 1. 实验部分

### 1.1 仪器

本实验采用岛津 LC-40 与单杆质谱仪 LCMS-2050 联用系统。具体配置为:

系统控制器:	SCL-40	自动进样器:	SIL-40C X3
输液泵:	LC-40B XR	质谱仪:	LCMS-2050
柱温箱:	CTO-40C	色谱工作站:	LabSolutions Ver. 5.114

### 1.2 分析条件

色谱条件

色谱柱: Shim-pack Scepter C4-300 100 mm $\times$ 2.1 mm I.D., 1.9  $\mu\text{m}$  (P/N 227-31175-05);

岛津（上海）实验器材有限公司

流动相：A相-0.01mol/L 甲酸铵水溶液（含0.1%甲酸），B相-乙腈

流速：0.4 mL/min 柱温：50°C

进样体积：1  $\mu$ L

洗脱方式：梯度洗脱，初始浓度为 B 相95%，洗脱程序见表1。

表 1. 梯度洗脱程序

Time	Module	Command	Value
2.00	Pumps	Pump B Conc.	100
4.00	Pumps	Pump B Conc.	100
4.10	Pumps	Pump B Conc.	950
10.00	Controller	Stop	

### 质谱条件

离子源：ESI+

脱溶剂温度：500°C

雾化气流速：3.0 L/min

D L 温度：250°C

加热气流速：7.0 L/min

干燥气流速：5.0 L/min

S I M 参数：见图 1

扫描模式：Scan, SIM

### 1.3 质谱参数设置

LCMS-2050 优化了 LabSolutions 软件中质谱参数的设置，编辑质谱参数变得更加简单。支持直接输入化学式，选择需要的加合离子，软件可自动计算出加合后的分子量，简便了查阅相关化合物分子量的工作。

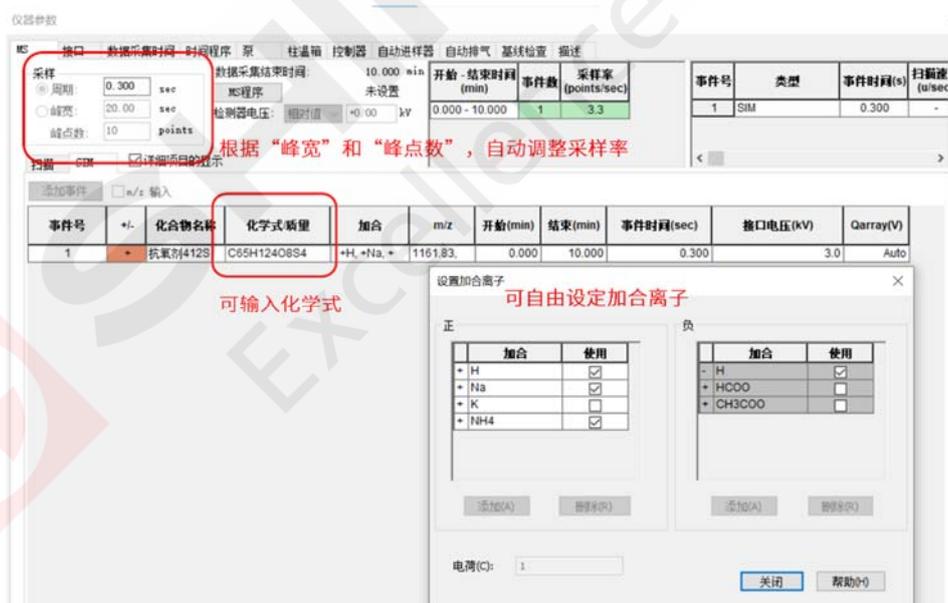


图 1. LabSolutions 质谱参数界面

### 1.4 样品前处理

校准溶液配制：称取适量抗氧化剂 412S，以稀释剂（异丙醇：甲苯=3：1）配置成高浓度的储备液，并逐级稀释成浓度为 0.05、0.1、0.2、0.5、1、5、10  $\mu$ g/mL 的校准工作溶液。

样品溶液配制：称取适量化工材料，剪碎成细小块状，置于圆底烧瓶内，加入适量甲苯回流提取，回流

时间为 4 h。冷却，加入异丙醇，过滤，最后经旋转蒸发、浓缩、定容至 10 mL，待测。

## 2. 结果与讨论

### 2.1 抗氧化剂 412S 定性分析

抗氧化剂 412S 的分子式为  $C_{65}H_{124}O_8S_4$ ，分子量为 1160.82。使用 Scan 模式采集，色谱图如图所示，412S 在 2.2 min 左右出峰。通过对质谱图 (ESI+) 分析可知，1161.83 为  $[M+H]^+$ ，1178.83 和 1183.77 分别为  $[M+NH_4]^+$  和  $[M+Na]^+$ ，可用 SIM 模式进行定量分析。

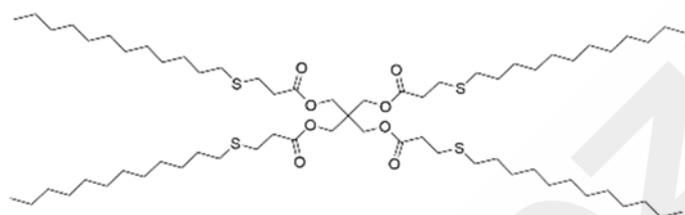


图 2. 412S 结构式

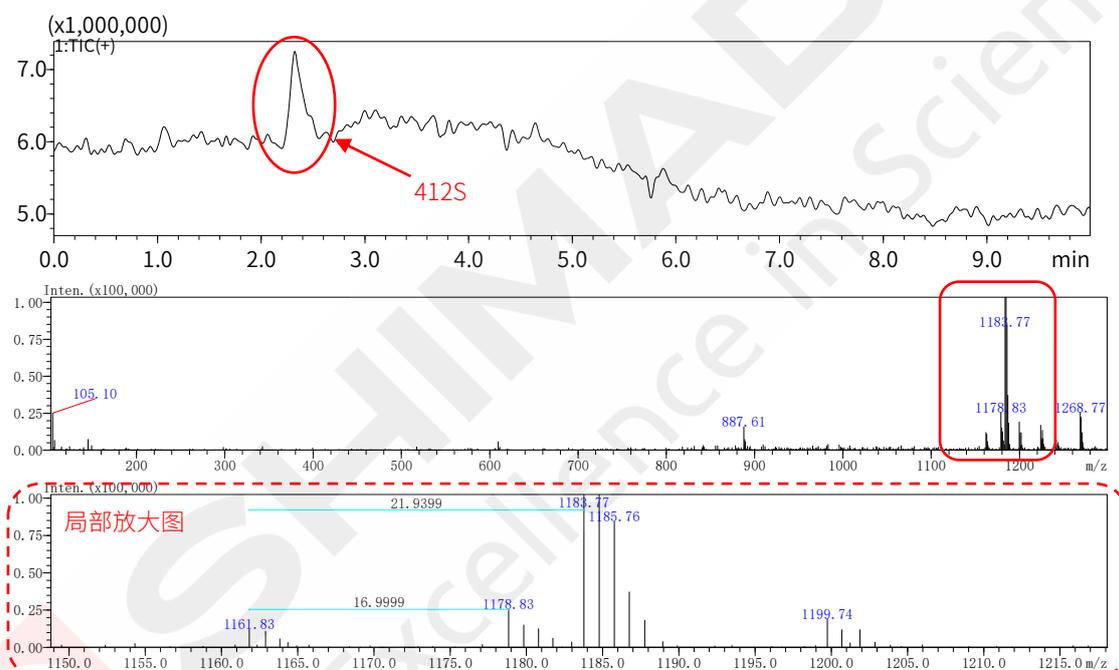


图 3. 412S 色谱图 (ESI+) 及质谱图 (ESI+)

### 2.2 校准曲线

将上述抗氧化剂 412S 系列校准工作溶液按 1.2 中的分析条件进行测定，色谱图如图 4 所示， $[M+NH_4]^+$  响应强度最高，作为定量离子。以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制校准曲线如图 5 所示。在 0.05~10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  线性范围内，线性方程为  $Y = (1.59554e+006)X + (9626.03)$ ，相关系数  $r = 0.9992$ ，准确度在 90.6~105.2% 之间。

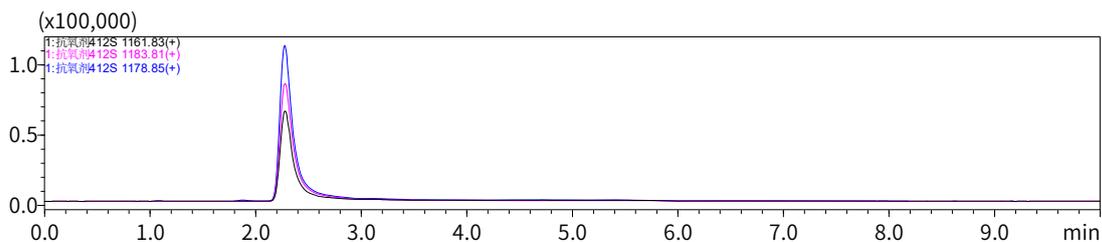


图 4. 412S 色谱图 (ESI+)

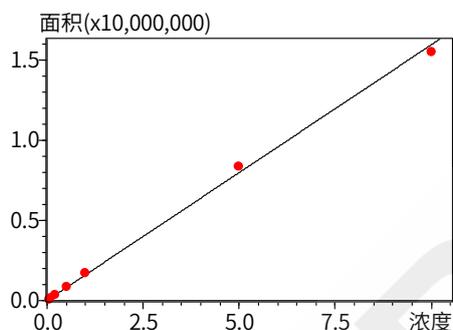


图 5. 412S 校准曲线

### 2.3 重复性实验

分别对 0.05  $\mu\text{g/mL}$ 、0.5  $\mu\text{g/mL}$  和 5  $\mu\text{g/mL}$  的对照品溶液连续测定 6 次，考察仪器精密度。结果显示：412S 色谱峰保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.05%~0.19%和 0.84%~1.99%，仪器精密度良好。

表 2. 412S 保留时间和峰面积重复性结果(n=6)

序号	0.05 $\mu\text{g/mL}$		0.5 $\mu\text{g/mL}$		5 $\mu\text{g/mL}$	
	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积
1	2.270	78542	2.266	767384	2.265	7519877
2	2.272	77096	2.271	770301	2.266	7581113
3	2.275	77409	2.273	752339	2.264	7428250
4	2.271	76843	2.269	754511	2.264	7429477
5	2.278	74750	2.267	744119	2.266	7438755
6	2.280	74759	2.273	756025	2.265	7447105
RSD(%)	0.19	1.99	0.13	1.30	0.05	0.84

### 2.4 加标回收率

取实际样品 9 份按照 1.5 步骤进行前处理，分别加入浓度为 2.0  $\mu\text{g/mL}$ 、4.0  $\mu\text{g/mL}$  的标准溶液，按照 1.2 中的分析条件测定加标回收率，每种浓度平行测定 3 次。抗氧化剂 412S 的回收率在 96.80%~108.15%之间，具体结果见表 3。

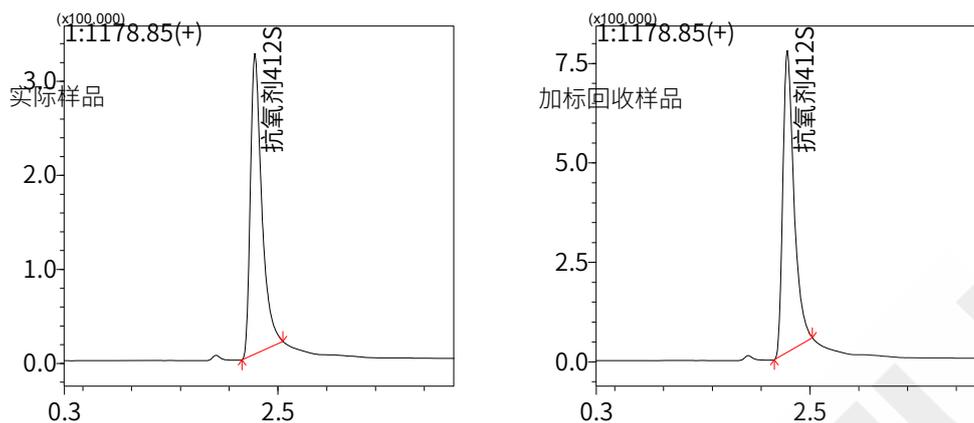


图 6. 实际样品色谱图（左）和加标样品色谱图（右）

表 3. 412S 回收率测试结果(n=3)

序号	样品浓度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	2.0 $\mu\text{g/mL}$ 加标		4.0 $\mu\text{g/mL}$ 加标	
		实测值 ( $\mu\text{g/mL}$ )	回收率(%)	实测值 ( $\mu\text{g/mL}$ )	回收率(%)
1		3.766	107.85	5.531	98.05
2	1.609	3.772	108.15	5.506	97.43
3		3.770	108.05	5.481	96.80
平均值	1.609	3.769	108.02	5.506	97.43

### 3. 结论

本文建立了使用岛津超高效液相色谱单四极杆质谱联用仪 LCMS-2050 测定化工产品中抗氧化剂 412S 的方法。抗氧化剂 412S 在 0.05  $\mu\text{g/mL}$ ~10  $\mu\text{g/mL}$  浓度范围内线性关系良好，且精密度及不同浓度的加标回收率实验结果良好。该方法稳定性好、结果准确，可用于化工产品中的抗氧化剂 412S 的检测。

# LCMS-2050 在宽极性范围的 SVHC 类物质检测中的应用

**摘要:** 本文使用高效液相色谱质谱联用仪 LCMS-2050 定性分析了 REACH 高度关注物质 (SVHC) 清单中 11 种极性差异较大的物质。结果显示, 浓度为 5 mg/L 的混合标准溶液中, LogP 值为-0.66~13.08 的 11 种物质在不同保留时间下均显示出良好峰形及灵敏度, S/N>120; 重复进样 6 针, 其保留时间和峰面积的 RSD% 分别为 0.044~0.319%和 0.343~6.256%, 仪器精密度良好, 体现了 LCMS-2050 中复合双离子源 (DUIS) 的宽极性范围特点, 是一种可以同时确定弱极性到强极性范围内化合物分子量的理想手段。

**关键词:** 单四级杆质谱 SVHC 宽极性

SVHC (Substance of Very High Concern), 即高度关注物质, 是指对人类健康和环境有严重且不可逆影响的物质。根据欧盟 REACH 法规, 若产品中含有 SVHC, 并且含量超过 0.1%, 必须向下游进口商进行相关信息传递, 同时出具相关证明文件说明; 若产品中含有 SVHC, 含量超过 0.1%, 同时年出口量超过 1 吨, 必须向 ECHA 进行通报。2022 年 6 月 10 日, 欧盟化学品管理局 (ECHA) 将第 27 批 1 项评议物质 (N-羟甲基丙烯酰胺) 纳入 SVHC 候选物质清单, 至此 REACH 高度关注物质 (SVHC) 清单正式增至 224 项。

SVHC 检测在快速确定物品中是否含有 SVHC 方面发挥着重要的作用, 很多企业选择以检测的方式应对 REACH 法规或者采购商的要求。由于 SVHC 物质数量繁多且化合物极性范围广, 对于部分弱极性物

质, 普通 ESI 离子源往往不能得到很好的结果, 而 LCMS-2050 采用复合双离子源 (DUIS), 可同时进行 ESI 和 APCI 离子化, 适于分析宽极性范围的化合物; 同时, 在此基础上新增辅助加热气设计, 提高化合物离子化效率。对于那些同时分析极性和非极性物质的药物检测或合成实验室十分有用。只需 6 分钟即可开始工作, 启动速度比 LCMS-2020 至少快 3 倍, 且维护拆卸较简单, 可最大限度地提高实验室生产力。

本文使用 LCMS-2050 定性分析了 11 种 SVHC 物质, 对于极性差距较大的化合物, 在灵敏度、峰形和重复性上均有良好表现, 显著提高分析效率, 该案例体现了 LCMS-2050 的加热复合离子源 (DUIS) 更于适用的宽极性范围的特点。

## 1. 实验部分

### 1.1 仪器

系统控制器	: SCL-40	柱温箱	: CTO-40C
脱气机	: DGU-405	检测器	: SPD-40
输液泵	: LC-40D XR (含 LPGE)	质谱仪	: LCMS-2050 单四级杆质谱仪
自动进样器	: SIL-40C XR	色谱工作站	: LabSolutions Ver. 5.114

### 1.2 分析条件

色谱条件

色谱柱	: Shim-pack GIST C18 Column (2.1 mm I.D. × 100 mm L., 2.0 μm, P/N: 227-30001-04, 岛津 (上海) 实验器材有限公司)		
流动相	: A 相-10mM 乙酸铵/水, B 相-甲醇	进样体积	: 5 μL
流速	: 0.3 mL/min	柱温	: 40°C

洗脱方式：梯度洗脱，B相初始浓度为20%，时间程序见表1。

表1. 时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
5.50	Pumps	Pump B Conc.	98
12.5	Pumps	Pump B Conc.	98
12.6	Pumps	Pump B Conc.	20
17.0	Controller	Stop	

#### 质谱条件

离子源	: DUIS (ESI+APCI)	D L 温度	: 200°C
雾化气	: 2.0 L/min	脱溶剂温度	: 450°C
干燥气	: 5.0 L/min	接口电压	: +3/-2kV
加热气	: 7.0 L/min	扫描模式	: SIM(±)

表2. 11种SVHC清单物质参数

No.	中文名	英文名	CAS No.	定性离子 m/z	LogP
1	偏苯三酸酐	TMA	552-30-7	-209	1.28
2	2-巯基咪唑啉	IMDT	96-45-7	+103	-0.66
3	2-甲氧基苯胺	2-Anisidine	90-04-0	+124	1.09
4	刚果红	Congo Red	573-58-0	-651	10.79
5	地乐酚	Dinoseb	88-85-7	-239	3.77
6	4,4-二氨基-3,3-二氯二苯甲烷	MOCA	1-1-14-4	+267	3.59
7	4,4-(1,3-二甲基丁基)二苯酚	13-DMBBP	6807-17-6	-269	4.84
8	邻-氨基偶氮甲苯	N5	97-56-3	+226	4.88
9	全氟十二烷酸	PF12A	307-55-1	-613	11.31
10	3-亚苄基樟脑	3-BC	15087-24-8	+241	4.10
11	全氟十四烷酸	PF14A	376-06-7	-713	13.08

### 1.3 样品前处理方法

精密量取11种REACH限用标准品适量，用甲醇溶液稀释成浓度为5 mg/L的混合标准溶液。

## 2. 结果与讨论

### 2.1 定性分析结果

通常，普通ESI源适用于中高极性化合物，低极性物质检测困难，化合物极性范围明显受限。采用LCMS-2050标配的双离子源（DUIS），即同时通过两种方法离子化样品：ESI电离适用于高极性化合物，而APCI电离适用于低到中等极性化合物。因此，它能够离子化的化合物范围较广，包括从低到高极性的各种化合物。化合物极性越弱，油水分配系数（LogP）越大；极性较强的物质往往LogP<0。如表2所示，11种SVHC类物质的LogP值在-0.66~13.08，极性差异较大。选择正和负离子SIM模式，结果显示，从低到高极性的11种SVHC清单物质的MS色谱峰峰形良好，如图2所示。灵敏度结果如下表3所示，S/N在121.23~1443.61。

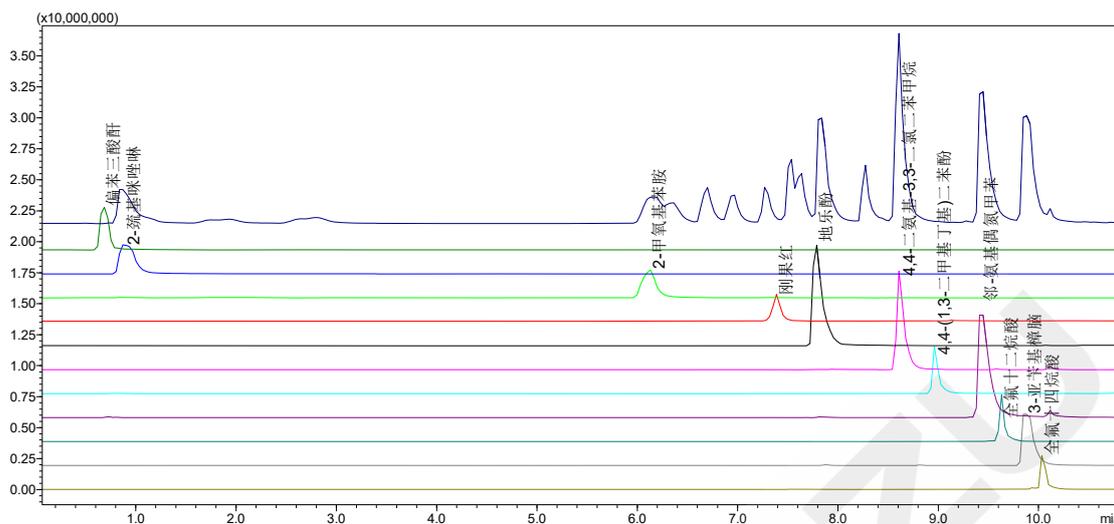


图 2. 11 种 SVCH 物质的 MS 色谱图 (浓度为 5 mg/L)

表 3. 灵敏度测试结果

No.	中文名	m/z	保留时间	面积	高度	S/N
1	偏苯三酸酐	209	0.683	4052876	680760	772.35
2	2-巯基咪唑啉	103	0.887	8318674	773031	1411.47
3	2-甲氧基苯胺	124	6.123	10584736	1109993	462.39
4	刚果红	651	7.387	344643	68942	121.23
5	地乐酚	239	7.785	55542639	8089227	307.2
6	4,4-二氨基-3,3-二氯二苯甲烷	267	8.616	41295866	7951431	1227.78
7	4,4-(1,3-二甲基丁基)二苯酚	269	8.967	3061148	762173	760.03
8	邻-氨基偶氮甲苯	226	9.43	65845692	8226412	1443.61
9	全氟十二烷酸	613	9.632	2594713	747210	1054.29
10	3-亚苄基樟脑	241	9.866	69479047	8253717	561.53
11	全氟十四烷酸	713	10.041	1901757	521933	856.94

## 2.2 重复性结果

连续进样 6 次, 考察保留时间和峰面积的重复性, 结果如下表 4 所示。混合标准溶液的保留时间和峰面积的相对标准偏差(RSD%)分别在 0.044~0.319%和 0.343~6.256%, 仪器精密度良好。

表 4. 重复性测试结果 (n=6)

No.	中文名	R.T.	Area	No.	中文名	R.T.	Area
1	偏苯三酸酐	0.216	0.710	7	4,4-(1,3-二甲基丁基)二苯酚	0.053	2.288
2	2-巯基咪唑啉	0.319	1.668	8	邻-氨基偶氮甲苯	0.116	4.749
3	2-甲氧基苯胺	0.151	0.343	9	全氟十二烷酸	0.044	2.509
4	刚果红	0.084	3.895	10	3-亚苄基樟脑	0.138	3.157
5	地乐酚	0.122	0.805	11	全氟十四烷酸	0.105	3.447
6	4,4-二氨基-3,3-二氯二苯甲烷	0.053	6.256				

### 3. 结论

高效液相色谱质谱联用仪 LCMS-2050 标配了双离子源 (DUIS) , 可同时进行 ESI 与 APCI, 正离子与负离子模式分析, 不需要进行离子化方式切换, 在一次进样中即可对从弱极性到强极性范围内化合物同时分析, 分析效率显著提高; 同时采用辅助加热气设计, 在保证灵敏度的同时仍可进行高可靠和可重现性的分析。本文以 11 种宽极性范围的 SVHC 物质为例, 介绍了 DUIS 源可以同时分析更大极性范围的化合物来提高实验室的效率, 且易于维护, 是同时分析极性差异较大的多组分物质的理想手段。



SHIMADZU  
Excellence in Science

分析测试仪器客服热线电话: 800-810-0439  
400-650-0439

本产品资料所宣传的内容, 以本版本为准, 资料中的试验数据除注明外均为本公司的试验数据。本资料所有信息仅供参考, 如有变动恕不另行通知。

岛津企业管理(中国)有限公司 / 岛津(香港)有限公司

<http://www.shimadzu.com.cn>

#### 北京

北京市朝阳区朝外大街16号中国人寿大厦14层  
邮政编码: 100020  
电话: (010)8525-2310/2312 传真: (010)8525-2531

#### 沈阳

沈阳市青年大街167号北方国际传媒中心11层  
邮政编码: 110016  
电话: 024-23255577 传真: (024)2325-5577

#### 西安

西安市锦业一路56号研祥城市广场A座501  
邮政编码: 710065  
电话: 029-62737878 传真: (029) 6273-7879

#### 乌鲁木齐

乌鲁木齐市中山路339号中泉广场14H座  
邮政编码: 830002  
电话: (0991)230-6271/6272 传真: (0991)230-6273

#### 郑州

郑州市中原路220号裕达国际贸易中心A座20层2011室  
邮政编码: 450007  
电话: (0371)8663-2981/2983 传真: (0371)8663-2982

#### 上海

上海市徐汇区宜州路180号华鑫慧享城B2栋  
邮政编码: 200233  
电话: (021)3419-3888 传真: (021)3419-3666

#### 成都

成都市锦江区创意产业商务区三色路38号博瑞·创意成都写字楼  
邮政编码: 610063 B座12层  
电话: (028)8619-8421/8422 传真: (028)8619-8420

#### 南京

南京市鼓楼区汉中路2号亚太商务楼27层B座  
邮政编码: 210005  
电话: (025)8689-0258 传真: (025)8689-0237

#### 重庆

重庆市渝中区长滨路2号来福士A座601  
邮政编码: 400011  
电话: (023)6380-6057 传真: (023)6380-6551

#### 武汉

武汉市武昌区临江大道96号武汉万达中心31层3112室  
邮政编码: 430060  
电话: (027) 5908-0488 传真: (027) 5908-0470

#### 广州

广州市天河区高唐路230号广电智慧大厦  
邮政编码: 510656  
电话: (020) 3718-3888 传真: (020) 3718-3804

#### 昆明

昆明市青年路432号天恒大酒店 908室  
邮政编码: 650021  
电话: (0871)6315-2986/2987 传真: (0871)6315-2991

#### 深圳

深圳市南山区粤海街道高新南七道18号高新技术产业园区R3-B座一楼  
邮政编码: 518057  
电话: (0755)8340-2852 传真: (0755)8389-3100

#### 长沙

湖南省长沙市芙蓉区解放西路188号国金中心T1大楼3115室  
邮政编码: 410005

#### 香港

香港九龙尖沙咀海洋中心1028室  
SUITE 1028,OCEAN CENTRE,HARBOUR CITY,  
TSIM SHA TSUI,KOWLOON,HONG KONG  
电话: (00852)2375-4979 传真: (00852)2199-7438

株式会社 岛津制作所

604-8511 京都市中京区西ノ京桑原町1  
电话: 81(75)823-1111 传真: 81(75)811-3188  
URL: <http://www.shimadzu.com>

本书中所记载的公司名称、产品服务名称及商标均为株式会社岛津制作所  
的注册商标或商标。本书中有未标明 TM 标志和 © 标志之处。  
本书中所使用的其他公司的商号、商标的所有权非株式会社岛津制作所所有。