Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.®

鉴定包装材料中的浸出物和可提取物

Baiba Čabovska,[1] Douglas M. Stevens,[1] A. John Cunningham[2] 和Arthur E. Bailey[2]
[1]沃特世公司（美国马萨诸塞州米尔福德市）
[2]曼恩凯德生物医疗公司（美国康涅狄格州丹伯里市）

应用优势

- 有利于为诸如制药、化工原料和食品工业等需要进行结构解析工作的领域解决未知化合物鉴定所面临的难题。
- 提供一套鉴定可提取物的系统化工作流程。
- 与QTof联用的GC或UPLC均可采用同一工作流程。

沃特世解决方案

Xevo® G2 QTof质谱仪

大气压气相色谱电离源（APGC）

MassLynx®软件

MS^{E}技术

MassFragment™软件

关键词

可提取物，浸出物，树脂，
单体和低聚物，增塑剂，
稳定剂，填充剂，着色剂，
抗氧化剂，抗静电剂，
元素组成

简介

根据美国FDA要求，制药行业需确保在预期产品保质期内药品的包装材料中不会有任何有毒或有害物质迁移到药品中[1-5]。同样，在食品和化妆品行业，人们对产品中存在的包装材料浸出物的研究也非常关注。根据定义可知，可提取物是指在可控的提取条件下从包装材料或设备组分中提取出的化合物。浸出物则是在正常保质期内从包装材料迁移至产品中的化合物。在理想情况下，浸出物也可视作一种可提取物。如果一个公司无法对所有潜在污染物进行全面准确的鉴定，或是至少清楚了解化合物类别，那么很可能会导致产品召回、经济损失和/或品牌形象受损等严重后果[6]。

因此，我们开展了一项名为受控提取研究的初步调查，其中涉及某些类型的溶剂提取，如回流法、微波法或超临界流体萃取法[7]。所选溶剂必须涵盖较大的极性范围，以确保非极性和极性分析物均能被提取。用于分析提取物的技术必须具有综合性，可以适用于尽可能多的分析物，包括GC-FID-MS（挥发性物质）和LC-UV-MS（非挥发性物质）[5]。

在受控提取研究中，我们发现对于化合物来说真正的挑战就是对它的鉴定。很少有树脂生产商能够提供包装材料聚合物中所使用的全部添加剂的完整清单。并且，原材料在生产过程中可能会降解或发生化学变化。此外，树脂生产商可能并不了解化合物中可能存在的污染物。典型的可提取物包括由不完全聚合反应生成的单体和低聚物；增塑剂、稳定剂、填充剂、着色剂、抗氧化剂和抗静电剂，以及它们的降解产物。除此之外，还有在模塑工艺后树脂中残留的洗涤剂和脱模剂。

实验

样品制备

采用微波提取法制备样品。将聚丙烯和尼龙样品(2 g)用10 mL异丙醇在70 °C下提取3 h。提取完成后，将上清液转移到GC样品瓶中。

MS条件

MS系统：	Xevo G2 QTof与7890A GC
色谱柱：	HP1-MS，30 m x 0.32 mm，1.0 µm膜
载气：	He，2 mL/min
升温程序：	35 °C下保持5 min，以20 °C/min升至320 °C，保持20.75 min
进样口：	300 °C
进样类型：	1 µL，不分流，1 min吹扫
辅助气体：	N_2，500 mL/min
扫描范围：	50至1000 Da
MS^E碰撞电压：	15至25 eV
数据管理：	MassLynx 4.1版软件

利用单四极杆GC/MS所获得的一些分析物数据可通过市售谱库(例如NIST)进行确认。但是，当谱库中未收录目标化合物或单四极杆MS灵敏度不足以进行分析物阳性鉴别时，挥发性物质分析所面临的难题就出现了。这时可以结合另一种技术，例如本应用资料所介绍的大气压气相色谱(APGC)和四极杆飞行时间(QTof)质谱[8]。由于谱库中没有LC/MS数据，因此精确质量数数据将十分有利于非挥发性物质的分析。对于本文中所进行的挥发性物质和半挥发性物质分析来说，使用市售结构解析工具在四极杆飞行时间质谱仪中采集的MS^E数据已被证明在未知化合物的鉴定中具有重要意义。

工作流程

结果与讨论

本研究采用了两种广泛使用的聚合物材料：聚丙烯和尼龙。在本应用纪要中，对三类不同的可提取物进行了鉴定：抗氧化剂、单体和单体降解产物。

如图1所示，在聚丙烯样品中，观察到一个色谱峰(峰A)出现在保留时间26.3 min处。在精确质量数APGC谱图中进行元素组成分析，如图2所示，结果表明其分子式为$C_{43}H_{63}O_3P$，如图3所示。元素组成软件通过观察到的质量数计算可能的分子式，并使用同位素模型算法，将每个候选分子式所观察到的模型与理论模型进行匹配。在这种情况下，对于该离子有两种选择，如果仅考虑质量数差异，则第二个更为接近。而结合质量数差异和同位素匹配可得到一个最佳的正确结果。

在干燥模式的源条件下进行APGC分析[9]，可以优先于质子化加合物($[M+H]^+$)促进分子离子($M.^+$)的形成。值得注意的是，在高能碰撞条件下，相比质子化加合物，分子离子碎片更易产生；因此，在两种通道中基峰存在显著差异(646.4与647.4)，如图2所示。

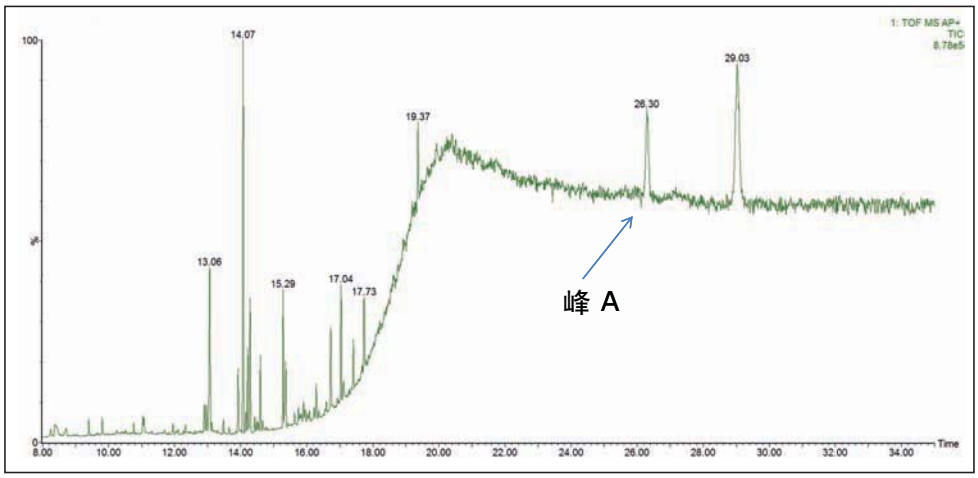

图1. 聚丙烯TIC。

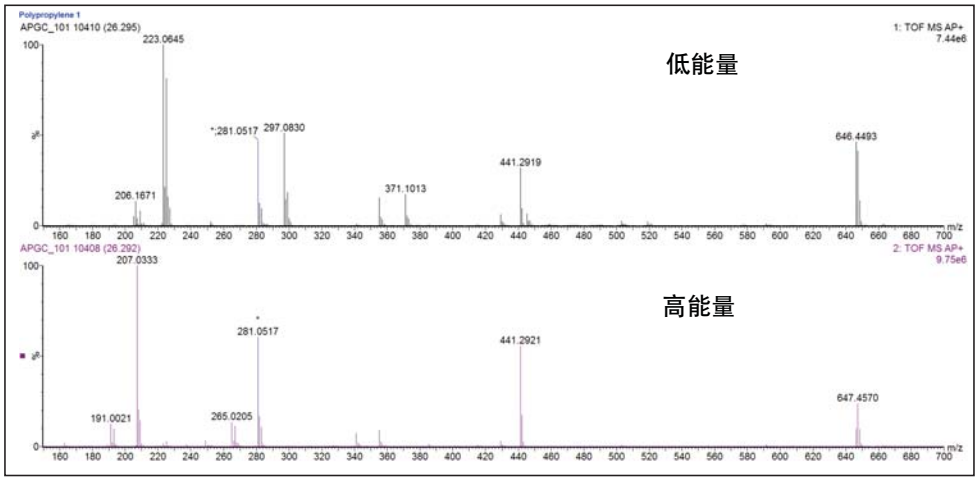

图2. 峰A的高能量和低能量谱图。

Single Mass Analysis
Tolerance = 3.0 mDa / DBE: min = -1.5, max = 50.0
Element prediction: Off
Number of isotope peaks used for i-FIT = 3
Monoisotopic Mass, Odd and Even Electron Ions
265 formula(e) evaluated with 2 results within limits (up to 50 best isotopic matches for each mass)
Elements Used:

Mass	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula	i-FIT	i-FIT Norm	Fit Conf %	C	H	O	P
646.4493	646.4515	-2.2	-3.4	12.0	C42 H63 O3 P	224.4	0.182	83.35	42	63	3	1
	646.4503	-1.0	-1.5	-1.0	C31 H66 O13	226.1	1.793	16.65	31	66	13	

图3. 峰A的元素组成数据。

在ChemSpider中搜索建议的元素组成分子式，结果为Irgafos 168，如图4所示，根据Little等人所述，按“# of References”(参考编号)排序，该结果为最佳答案[10]。Irgafos 168是一种亚磷酸三芳基酯加工稳定剂，可保护树脂聚合物(如聚丙烯)，防止其在树脂合成过程中发生氧化。

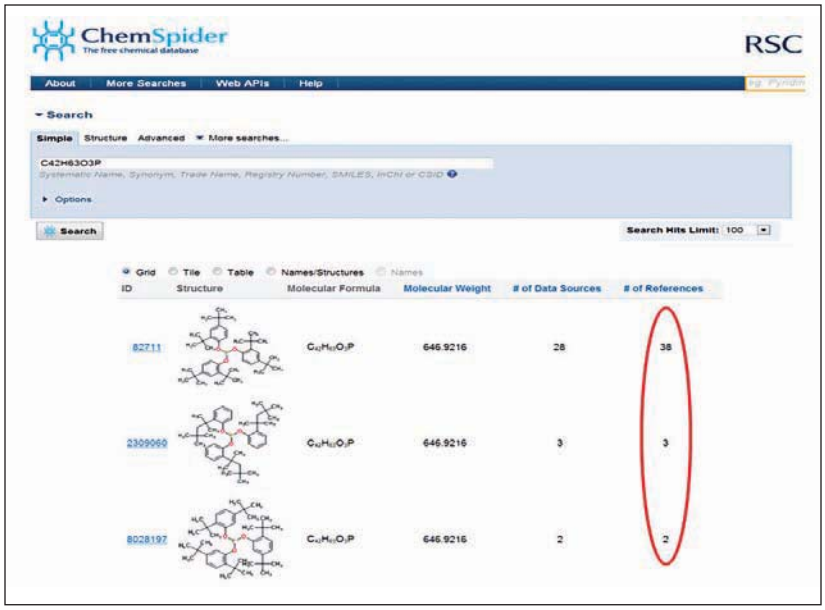

图4. $C_{42}H_{63}O_3P$的ChemSpider搜索，最佳匹配结果为Irgafos 168。将检索结果按参考编号和数据来源进行排序。

数个碎片与主要碎片离子Irgafos 168相匹配，从而增加了鉴定的可靠性，如图5所示。MassFragment可识别母离子结构中的化学键，并根据化学键断裂的类型和可能性分配一个分值。另外，还会列出化学键断裂的数目。分值越低(如，S:1.0，B:1.0与S:4.5，B:2.0)，产生该碎片结构的可能性越大。

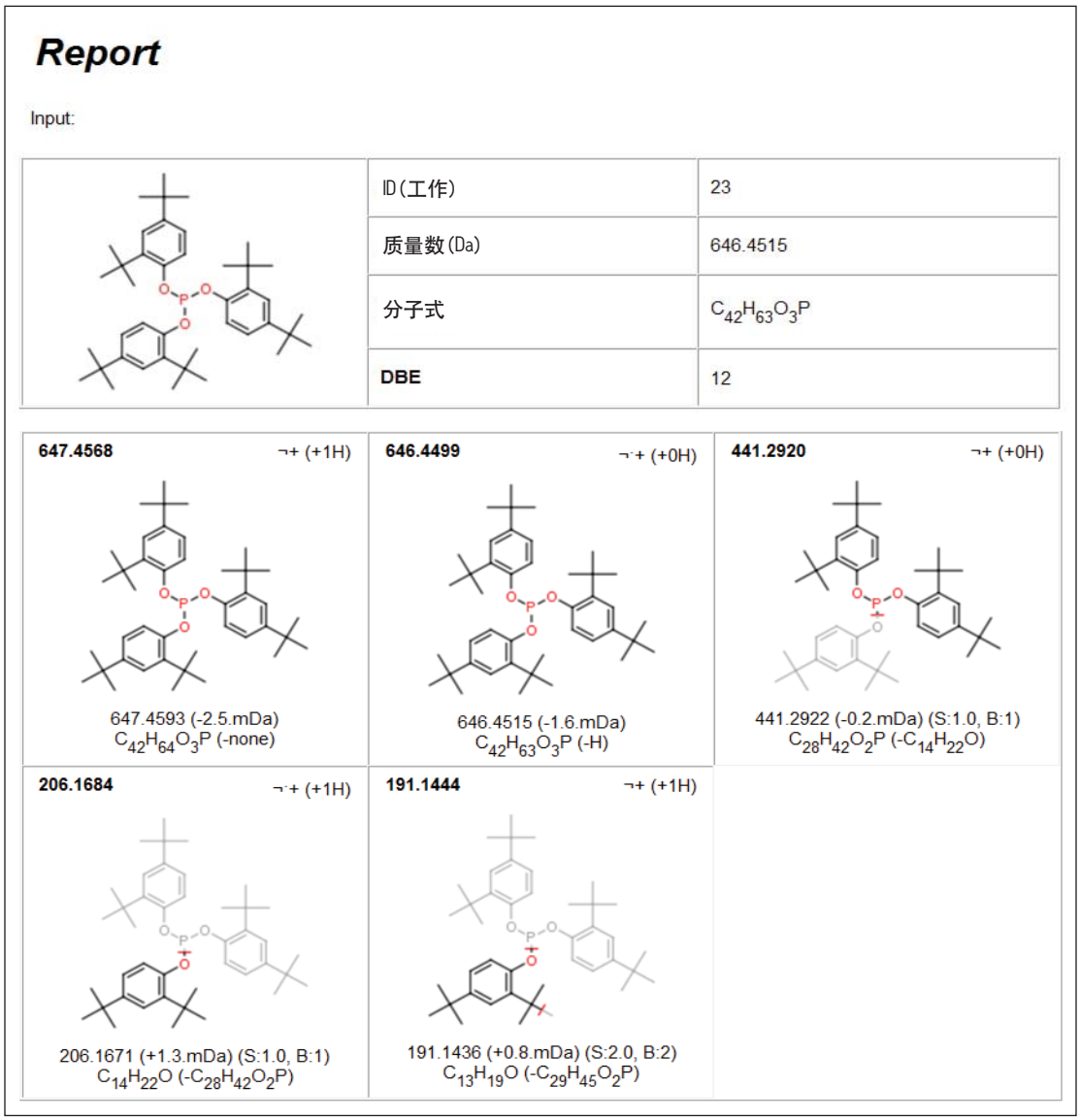

图5. 确认Irgafos 168的MassFragment软件报告。

此工作流程的下一个步骤是购买标准品，并与样品的保留时间和碎片离子图进行比较。

众所周知，月桂精内酰胺是一种生产尼龙的原材料。在尼龙提取物中，检测发现月桂精内酰胺单体(峰B)的保留时间为15.93 min，如图6所示。按照先前示例所述的工作流程通过分子式和MassFragment报告确认该峰。在保留时间16.07 min处观察到一个较小的峰(峰C)。测得的质量数与分子式$C_{12}H_{21}NO$相符，如图7所示，这表明该峰可能是分子内具有额外双键的月桂精内酰胺降解产物(月桂精内酰胺单体为$C_{12}H_{23}NO$)。通过存在的内源二聚体(2M+H)确认各个谱图中的母离子。对于月桂精内酰胺，所观察到的二聚体为*m/z* 395.3652，其降解产物的二聚体为*m/z* 391.3324。

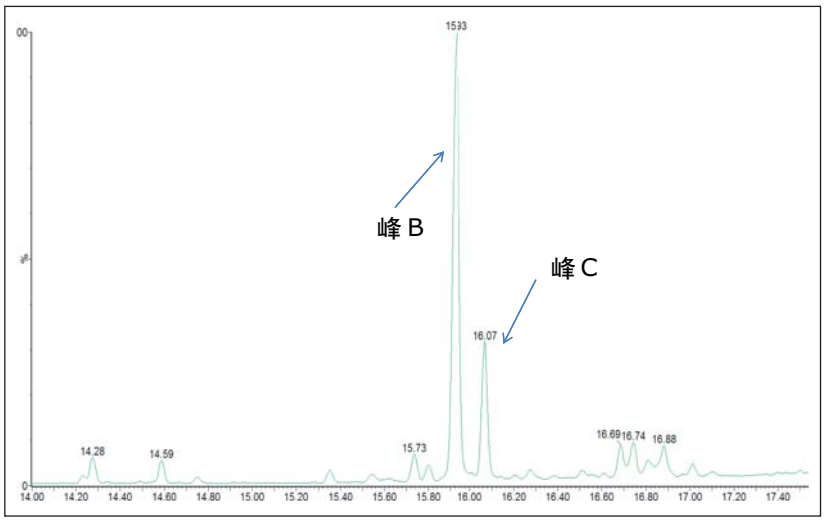

图6. 尼龙提取物TIC。

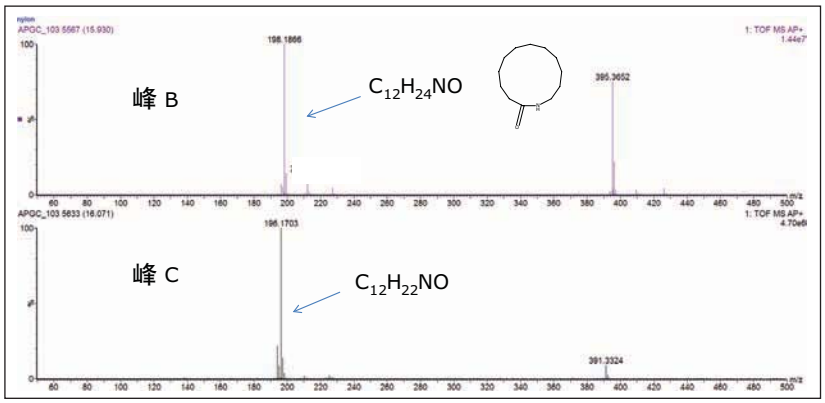

图7. 峰B和峰C的谱图和分子式$[M+H]^+$。

使用ChemSpider搜索$C_{12}H_{23}NO$，结果显示月桂精内酰胺为第二最佳选择。而搜索$C_{12}H_{21}NO$时，根据聚合物中的已知化合物未得到合适的匹配结果。

由于可能无法取得该降解产物的标准品，因此可以通过Xevo G2 QTof数据为此化合物指定一个结构。我们无法确定月桂精内酰胺环中双键的确切位置。然而，在这类研究中，并不一定必须确定化合物的确切结构，只需确定化合物的类别即可。显而易见的是，该降解产物与月桂精内酰胺相关，因此可以预计其毒理学特性与月桂精内酰胺相似。

结论

- Xevo G2 QTof是一种用于可提取物的鉴定和结构解析的重要工具。利用MS^E功能，可以同时采集母离子和碎片离子信息。精确质量数和碎片信息有助于确定许多未知化合物的结构。
- 当市售谱库中未提供目标化合物的信息时，元素组成和Mass Fragment软件可以提供与分析物相关的额外信息。
- 本文所述的工作流程有利于为诸如制药、化工原料和食品工业等需要进行结构解析工作的领域解决未知化合物鉴定所面临的难题。
- 通常，根据已知存在的组分并结合碎片、最可能的分子式和一些化学常识，便能够获得可能的化合物结构。在可提取物的研究中，如果目标是建立安全性阈值，那么一个可能的化学结构通常就能提供充分的依据。

参考文献

1. M P Balogh. “Testing the Critical Interface: Leachables and Extractables”. LCGC, June 1, 2011.
2. F Mofatt. Extractables and Leachables in Pharma-Serious Issue. http://www.solvias.com/sites/default/files/solvias_whitepaper_web.pdf
3. Containers Closure Systems for Packaging Human Drugs and Biologics; Guidance for Industry. U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research (CDER) and Center for Biologics Evaluation and Research (CBER), Rockville, MD. May 1999.
4. D L Norwood, Q Fenge. Strategies for the analysis of pharmaceutical excipients and their trace level impurities. Am Pharm Rev. 7(5): 92, 94, 96-99, 2004.
5. Safety Thresholds and Best Practices for Extractables and Leachables in Orally Inhaled and Nasal Drug Products, Leachables and Extractables Working Group. Product Quality Research Institute (PQRI), 2006. (WWW.PQRI.ORG).
6. http://www.webmd.com/pain-management/news/20110629/new-tylenol-recall-due-to-musty-odor
7. M Ariasa, I Penichet, F Ysambertt, R Bauza, M Zougaghc, Á Ríos. Fast supercritical fluid extraction of low- and high-density polyethylene additives: Comparison with conventional reflux and automatic Soxhlet extraction. J. of Supercritical Fluids, 50: 22-28, 2009.
8. Detection and Identification of Extractable Compounds from Polymers. Waters Technology Brief, no. 720004211en, January, 2012.
9. Determination of High Molecular Weight Phthalates in Sediments Using Atmospheric Pressure Chemical Ionization GC/MS. Waters poster, no. PSTR134667160.
10. J L Little, A J Williams, A Pshenichnov, V Tkachenko. Identification of “known unknowns” utilizing accurate mass data and ChemSpider. JASMS. 23(1): 179-185, 2012.

Waters

THE SCIENCE OF WHAT’S POSSIBLE.®

Waters、Xevo、UPLC、MassLynx和The Science of What’s Possible是沃特世公司的注册商标。MassFragment是沃特世公司的商标。其他所有商标均归各自的拥有者所有。

© 2012 年沃特世公司。印制于中国

2012 年 6 月 720004391ZH AG-PDF

沃特世科技（上海）有限公司
北京：010 - 5209 3866
上海：021 - 6156 2666
广州：020 - 2829 6555
成都：028 - 6554 5999

沃特斯中国有限公司
香港：852 - 2964 1800

免费售后服务热线：800 (400) 820 2676
www.waters.com