

## GC/MSD と高分離能 GC/Q-TOF による、 ラバーガスケット抽出物で特定された 揮発性化合物の分析



### 著者

Sofia Nieto,  
Anastasia Andrianova,  
Bruce Quimby, and David Weil  
Agilent Technologies, Inc.

### 概要

ポリマー製の容器施栓系 (container closure systems, CCS) と薬物送達システムに含まれる化学物質が、製造、貯蔵、輸送、配送中に医薬品に入り込む可能性があります。最終製品の安全性を確保するには、これらを特定する必要があります。

このアプリケーションノートでは、ユニット質量分離能ガスクロマトグラフィー / 質量選択検出器 (GC/MSD) と高分離能ガスクロマトグラフィー / 四重極飛行時間型 (GC/Q-TOF) 質量分析計を用いて、GC で分析可能な抽出物および浸出物 (extractables and leachable, E&L) 化合物を特定するプロセスを確立するための、ラバーガスケットの抽出物の調査について説明します。

## はじめに

エラストマー（エラスティックポリマー）のガスケット、プランジャ、Oリングは、医薬品の製造、貯蔵、配送における溶出物の一般的な原因です。エラストマー成分由来の E&L は、低分子および高分子の医薬品の安定性と効能に影響を与える可能性があるため<sup>1</sup>、徹底的に特性解析する必要があります。一部の E&L 化学物質（フタレートやニトロソアミンなど）に曝露されると、たとえ低濃度であっても安全上の懸念が生じる可能性があります。<sup>2</sup> エラストマー製造プロセス由来の化学物質には一般的に、促進剤、活性剤、酸化防止剤、賦形剤、可塑剤（フタレートを含む）、離型剤、およびその他の添加物が含まれており<sup>3</sup>、これらが最終製品に浸出する可能性があります。エラストマー梱包材中に存在する一部の添加剤には、多環芳香族炭化水素（PAH）<sup>4</sup>と脂肪族炭化水素も含まれる場合があります。

GC/MS は、E&L に含まれる揮発性/半揮発性有機化合物の分析技法としてよく使用されています。この実験では、クロマトグラフィーのデコンボリューション（共溶出したピークの単離）とリテンションインデックス（RI）ベースのフィルタリングの組み合わせを利用して、ラバーガスケットの溶媒抽出物中に存在する GC で分析可能な化合物を同定するための GC/MSD の機能を紹介します。さらに、高分離能精密質量 GC/Q-TOF を E&L ワークフローに追加することで、より多くの化学物質を同定できました。これらの結果、化合物の同定の信頼性が向上し、未知化合物の構造を解明することができました。

この実験は Networked Workstation 構成で実施し、Agilent OpenLab 電子コンテンツ管理（ECM）XT をデータリポジトリとして使用しました。この構成では、国内および EU の電子記録に関する各種規則（監査証跡、ユーザー認証、ロールベースの権限管理、リモートデータストレージなど）に準拠しやすくするためのツールを利用できます。<sup>5</sup>

## 実験方法

### サンプル調製

テトラヒドロフラン（THF）溶媒を室温で 6 か月間使用して、ラバーシリンジガスケットを抽出しました。GC/MSD システムと GC/Q-TOF システムを用いて、抽出物と溶媒ブランクを分析しました。

### データ取り込み

Agilent 5977C GC/MSD システムと Agilent 7250 GC/Q-TOF システムを電子イオン化（EI）モードで使用して、GC/MS 分析を実行しました。また GC/Q-TOF を低エネルギー EI モードで使用して、未知化合物の分子イオンを同定しました。

注入条件は、E&L 化合物の幅広い沸点向けに最適化しました。パルスドスプリットレス注入モードを使用し、スプリットベントへのパージ流量を 1 ~ 2 分遅くすることで、低沸点、高沸点のいずれの化合物のレスポンスも最大化されました（図 1）。

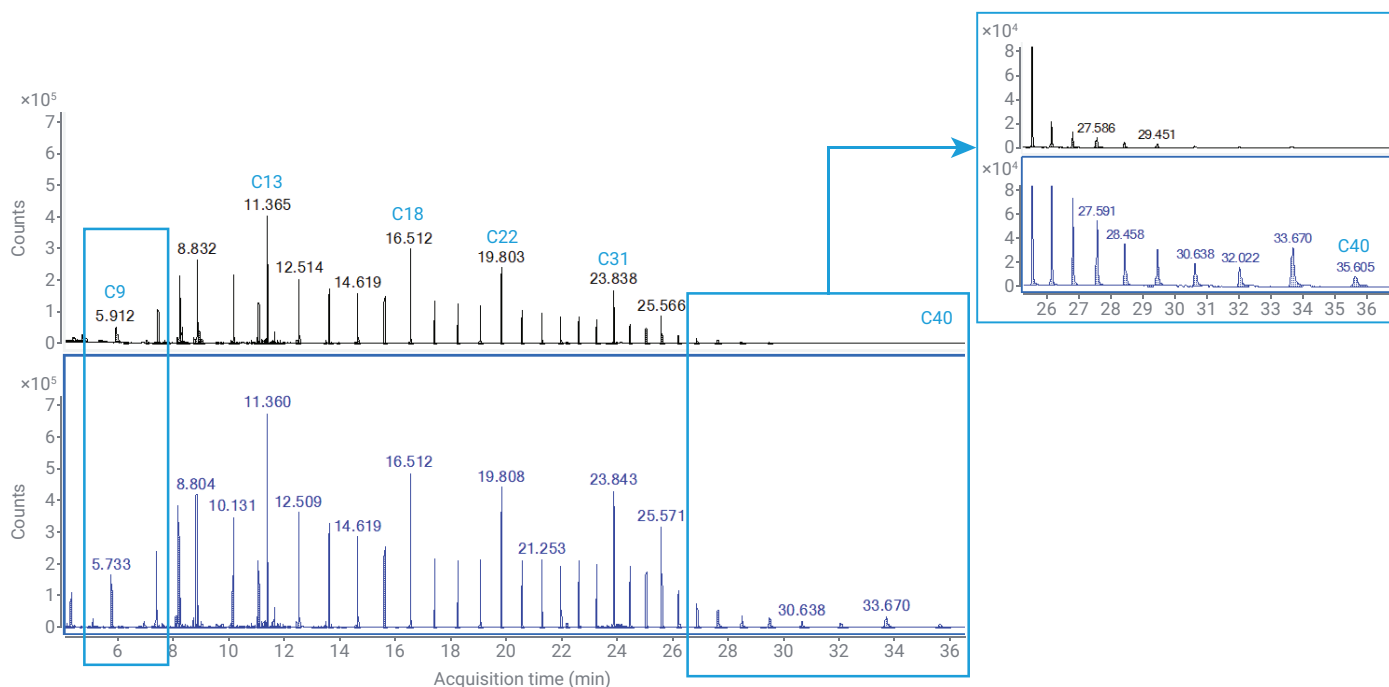


図 1. 初期条件（上）と最適化した条件（下）で分析した、C5 ~ C40 の *n*-アルカン標準の EIC (*m/z* 57)

最初に 30 m × 0.25 mm、0.25 μm と 20 m × 0.18 mm、0.18 μm の Agilent J&W DB-5ms ウルトライナートカラムについて、複雑な E&L 抽出物のクロマトグラフィー分離機能を評価し、さらに各カラム寸法のキャリアガス流量を最適化してから感度を評価しました。20 m のカラムは微量化合物に対してシャープなピークと高い感度を示し、30 m のカラムは高い分離能で多くの化合物を確実に同定できました。このため、30 m のカラムを選択しました。

すべてのデータは、新しい Agilent J&W DB-5Q 非極性低ブリードカラムと DB-5ms ウルトライナート GC カラムを用いて、フルスペクトル採取モードで取り込みました。測定ソフトウェアは、OpenLab ECM XT を用いた統一コンプライアンス環境で使用しました。表 1 に、一般的なデータ取り込みパラメータの一覧を示します。

表 1. データ取り込みパラメータ

パラメータ	設定値
MS	Agilent 7250 GC/Q-TOF、Agilent 5977C GC/MSD
GC	Agilent 8890 GC
カラム	Agilent J&W DB-5Q、30 m × 0.25 mm、0.25 μm (p/n 122-5532Q)
注入口	マルチモード注入口、4 mm ウルトライナートライナ、シングルテーパライナ (ウール入り)
注入力	1 μL
注入モード	パルスドスプリットレス (1 分間パージ、40 psi で 1.1 分間パルス)
注入口温度プログラム	65 °C で 0.01 分間、300 °C /min で 280 °C まで昇温
オープン温度プログラム	45 °C で 2 分間、12 °C /min で 325 °C まで昇温、11 分間保持
キャリアガス	ヘリウム
カラム流量	1 mL/min 定流量モード
トランスファーライン温度	325 °C
四重極温度	150 °C
イオン源温度	200 °C (Q-TOF) / 300 °C (MSD)
イオン化エネルギー	70 eV (標準 EI MSD、Q-TOF)、15 eV、12 eV、10 eV (低エネルギー EI、Q-TOF)
イオン化電流	5 μA (標準 EI、Q-TOF)、0.3 μA (低エネルギー EI、Q-TOF)、35 μA MSD
スペクトル採取レート	5 Hz (Q-TOF)、2 Hz (MSD)
質量範囲	m/z 50 ~ 1,000 (Q-TOF)、45 ~ 450 (MSD)

## データ処理

クロマトグラフィーデコンボリューションとライブラリ検索は、Agilent MassHunter Unknowns Analysis 12.1 Update 2 で実行しました。最初の化合物同定は、NIST23 ライブラリを使用して実行しました。構造解析は、Agilent Molecular Structure Correlator (MSC) ソフトウェア 8.2 を使用して実行しました。

GC/MSD システムと GC/Q-TOF システムの間のリテンションタイム (RT) の一貫性を確保するために、RT ロックを使用しました。RT ロックは、RI および RT マッチングの両方で利用しました。

## 結果と考察

### 新しい Agilent 低ブリード DB-5Q カラムを E&L アプリケーションに使用する利点

新しい Agilent DB-5Q カラムのベータ版の、E&L 分析への適合性を評価しました。多くの分析対象化合物 (フタレート、酸化防止剤、UV 吸収剤、安定剤など) は、沸点が高いです。このため、このような高沸点の化合物はカラムブリードからの干渉を受けやすく、これはオープン温度が高いとより影響が大きくなります。2 種類のカラムセット (DB-5Q と DB-5ms UI) を比較したところ、DB-5Q カラムは DB-5ms UI カラムより、高いオープン温度でカラムブリードが大幅に低下しました。1 つの代表例を図 2A に示します。GC/Q-TOF で 0.3 μA のイオン化電流を用いてデータを取り込んだところ、パーフルオロトリブチルアミン (PFTBA) のアバンダンスは類似していました。PFTBA とバックグラウンドスペクトルを記録する間、オープン温度を 325 °C に維持しました。

さらに、いくつかの高沸点化合物 (酸化防止剤や UV 吸収剤など) を 2 種類のカラムで分析して比較しました。このような条件で、DB-5Q カラムでのカラムブリードバックグラウンドは、UV 吸収剤の TIC が示すとおり低下しました (図 2B)。また、酸化防止剤 Irgafos 168 のスペクトルは、バックグラウンド除去なしで抽出されました (図 2C)。

E&L 抽出物に水が高い割合で含まれることはよくあります。このため、DB-5Q カラムに E&L 抽出物を 130 回注入する前後に、各種溶媒 (エタノール:水 (1:1) や THF など) でその性能をテストしました。カラムに抽出物を 130 回注入する前後に、1 pg のオクタフルオロナフタレン (OFN) を注入しました。水を含む抽出物を注入した後に、ピーク形状、レスポンス、スペクトルの完全性はすべて維持されました (図 3)。



図 2. GC/Q-TOF での Agilent DB-5ms UI および DB-5Q カラムブリードの比較。(A) オープン温度 325 °C、イオン化電流 0.3  $\mu$ A で採取したバックグラウンドおよび PFTBA スペクトル。(B) UV 吸収剤の TIC。(C) バックグラウンド除去なしの酸化防止剤 Irgafos 168 の生スペクトル (RI が 3,398、RT が 27.6 分の高沸点化合物)

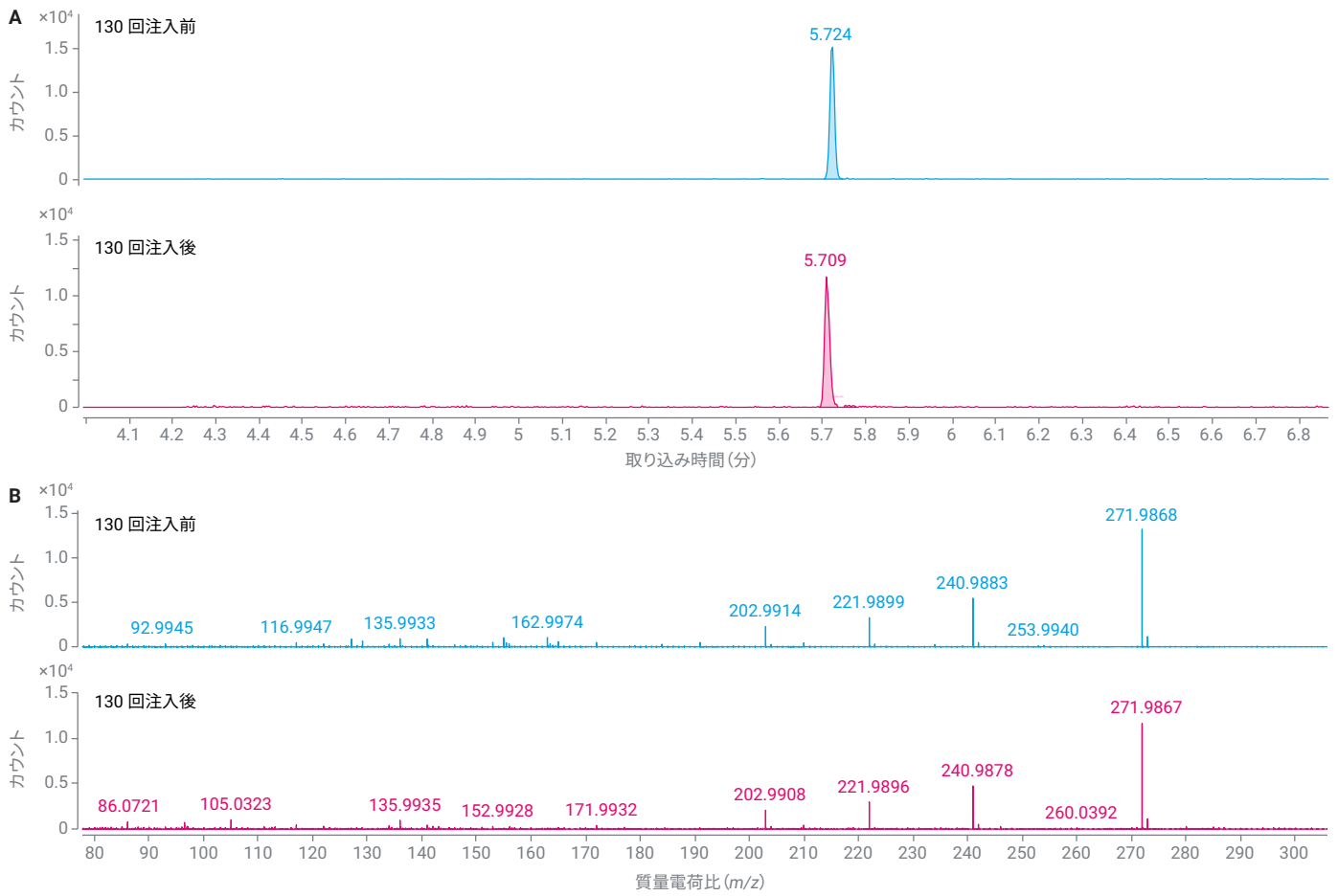


図 3. (A)  $m/z$  271.9867  $\pm$  20 ppm の OFN EIC と (B) OFN のスペクトル。Agilent DB-5Q カラムに 130 回注入する前後に、1 pg の OFN を注入しました。すべての注入はスプリットレスモードで実行しました。

さらに、DB-5Q カラムと標準的な DB-5ms UI カラムの間で、RT と RI の一貫性を評価しました。RT ロッキングメソッドで分析した C7 ~ C39 の *n*-アルカンの RT 値を 2 種類のカラム間で比較したところ、非常に近い値となりました (図 4A)。化学物質クラスと沸点が異なる 70 種類の化合物の RI は、DB-5Q カラムと DB-5ms カラムの間で一貫して

おり (0.97 RI 単位の平均デルタ RI)、NIST が実験した標準非極性カラム相の RI 値と同等でした (図 4B)。

新しい超低ブリード 5Q カラムの詳細については、別のテクニカルノートをご覧ください。<sup>6</sup>

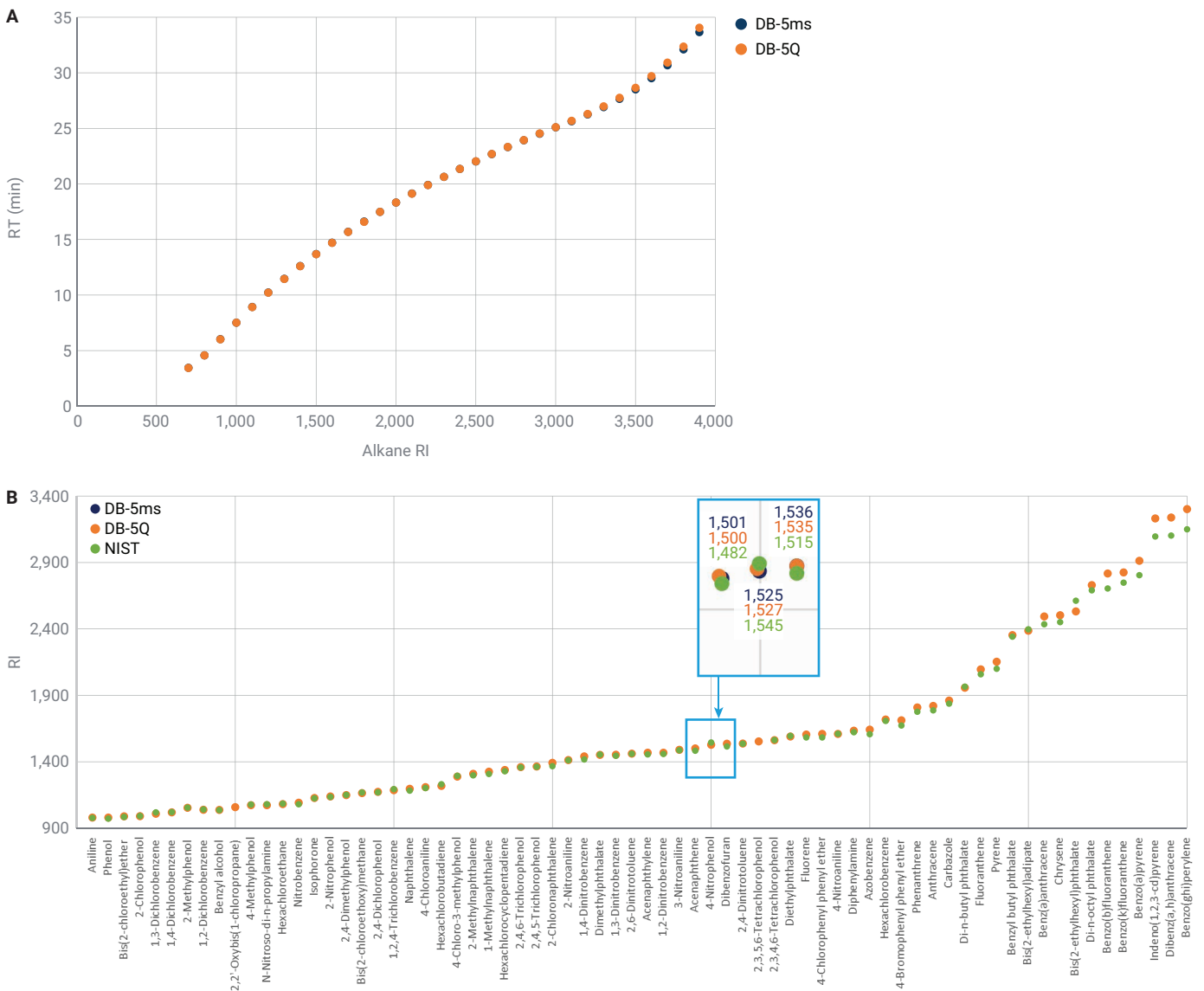


図 4. Agilent DB-5ms UI カラムと Agilent DB-5Q カラムの RT と RI の比較。(A) DB-5ms UI カラム (青) と DB-5Q カラム (オレンジ) での *n*-アルカンの RT (B) DB-5ms UI カラム (濃青) と DB-5Q カラム (オレンジ) の間の、70 種類の化合物の RI の一貫性。NIST23 の実験での RI は緑で表示

## GC/MSD と GC/Q-TOF によるラバーガスケット抽出物中の半揮発性化合物の同定

最初に GC/MSD を用いて、デコンボリュートしたスペクトルを NIST23 ライブラリで検索し、RI に基づいて結果をフィルタリングすることで、サンプル中の 100 種類以上の化合物を同定しました。図 5 に、共溶出成分の存在下で同定した化合物であるエイコシル酢酸の例を示します。ライブラリー一致スコア (library match score, LMS) と RI 一致度が高いことがわかります。

また精密質量、フルスペクトル採取モードでの高感度、および未知化合物の同定に役立つ MS/MS 機能を利用するため、GC/Q-TOF を用いて同じラバーガスケット抽出物を分析しました。GC/MSD と GC/Q-TOF で、80 種類以上の共通の化合物が同定されました。その一部を表 2 に示します。

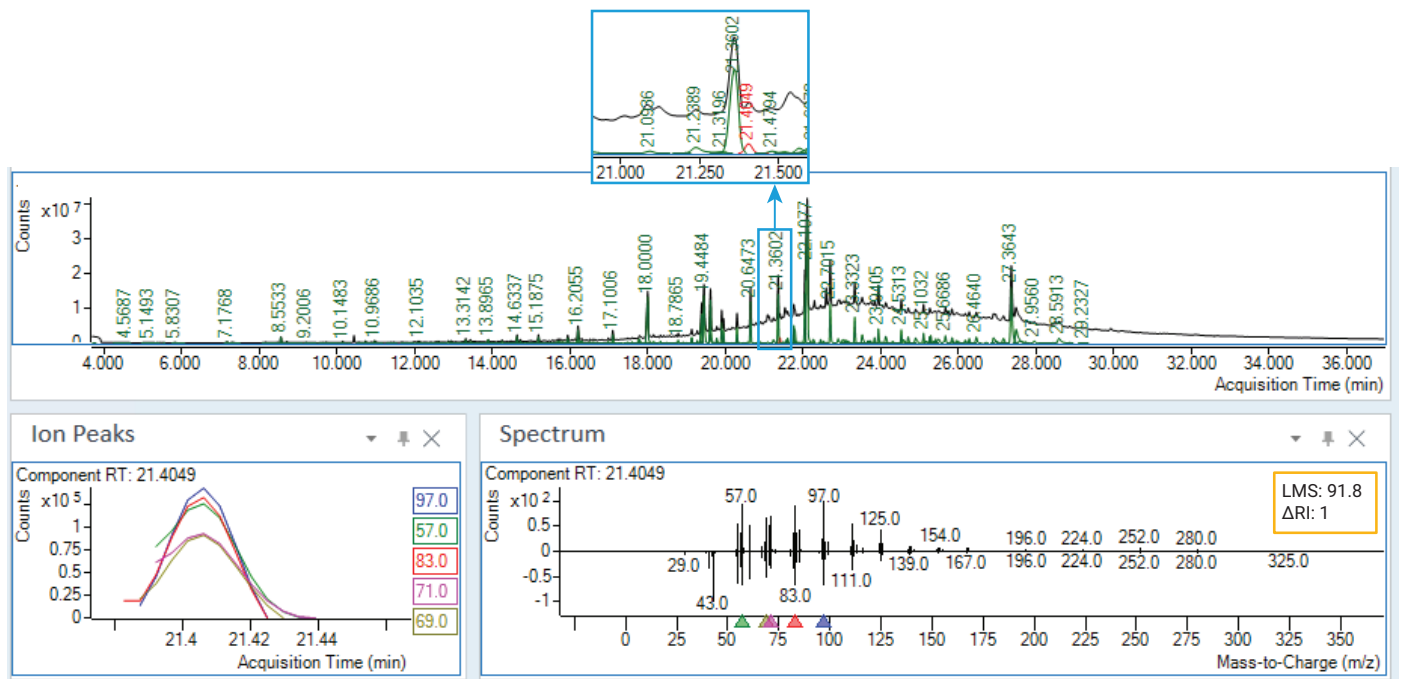


図 5. ラバーガスケットサンプルの TIC と、LMS が 91.8、RI デルタが 1 のエイコシル酢酸のデコンボリュートしたスペクトル

表 2. ライブラリー一致係数カットオフ 70 を用いて GC/MSD と GC/Q-TOF の両方で同定した共通の化合物

RT	化合物名	分子式	CAS No.	RT	化合物名	分子式	CAS No.
4.48	酪酸	C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	107-92-6	15.56	<i>n</i> -ヘキシルサリチル酸塩	C <sub>13</sub> H <sub>18</sub> O <sub>3</sub>	6259-76-3
5.11	ジプロピルアセタール	C <sub>8</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	105-82-8	15.62	3-ペンタデカノン	C <sub>15</sub> H <sub>30</sub> O	18787-66-1
5.68	N-エチルアセトアミド	C <sub>8</sub> H <sub>9</sub> NO	625-50-3	15.74	4-(1,1-ジメチルヘプチル)フェノール	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	30784-30-6
5.75	ペンタン酸	C <sub>5</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>	109-52-4	15.82	4-(7-メチルオクチル)フェノール	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	24518-48-7
7.13	ヘキサン酸	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	142-62-1	15.93	1-フェニル-1,3,3-トリメチルインダン	C <sub>18</sub> H <sub>20</sub>	3910-35-8
7.15	グリセリン	C <sub>3</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	56-81-5	16.20	テトラデカン酸	C <sub>14</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>	544-63-8
7.22	フェノール	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O	108-95-2	16.30	3,5-ジ-tert-ブチル-4-ヒドロキシベンズアルデヒド	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub>	1620-98-0
8.04	2-アセチル-5-メチルフラン	C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	1193-79-9	16.67	2,6,10,14-テトラメチルヘキサデカン (フィタン)	C <sub>20</sub> H <sub>42</sub>	638-36-8
8.44	ヘプタン酸	C <sub>7</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>	111-14-8	16.74	3,5-ジ-tert-ブチル-4-ヒドロキシアセトフェノン	C <sub>16</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub>	14035-33-7
8.53	イソバレラルデヒドジプロピルアセタール	C <sub>11</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub>	1000431-60-3	16.81	ミスチン酸イソプロピル	C <sub>17</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	110-27-0
8.54	アセトフェノン	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O	98-86-2	16.98	2,4-ジフェニル-4-メチル-2(E)-ペンテン	C <sub>18</sub> H <sub>20</sub>	22768-22-5
8.55	<i>p</i> -クレゾール	C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> O	106-44-5	17.59	7,9-ジ-tert-ブチル-1-オキサスピロ(4,5)デカ-6,9-ジエン-2,8-ジオン	C <sub>17</sub> H <sub>24</sub> O <sub>3</sub>	82304-66-3
8.60	4-メチルベンズアルデヒド	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O	104-87-0	17.60	ファルネシルアセトン	C <sub>18</sub> H <sub>30</sub> O	1117-52-8
8.79	(1-メトキシプロピル)ベンゼン	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O	59588-12-4	17.98	フタル酸ジブチル	C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub>	84-74-2
9.23	トリアセトナミン	C <sub>9</sub> H <sub>17</sub> NO	826-36-8	17.99	<i>n</i> -ヘキサデカン酸	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	57-10-3
9.63	安息香酸	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	65-85-0	18.34	18-ノルアビエタ-8,11,13-トリエン	C <sub>19</sub> H <sub>28</sub>	1000197-14-1
9.72	オクタン酸	C <sub>8</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>	124-07-2	18.71	N,N-ジメチルテトラデカンアミド	C <sub>16</sub> H <sub>33</sub> NO	3015-65-4
10.95	ノナン酸	C <sub>9</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	112-05-0	19.38	リノール酸	C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	60-33-3
11.69	2,3-ジヒドロ-1H-ピロリジン-1-オン	C <sub>7</sub> H <sub>7</sub> NO	17266-64-7	19.60	オクタデカン酸	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	57-11-4
12.74	ジフェニルエーテル	C <sub>12</sub> H <sub>10</sub> O	101-84-8	19.80	<i>n</i> -ペンタデシルシクロヘキサン	C <sub>21</sub> H <sub>42</sub>	6006-95-7
12.85	<i>n</i> -tert-ブチルフェネトール	C <sub>12</sub> H <sub>18</sub> O	17269-94-2	20.31	N,N-ジメチルバルミチン酸アミド	C <sub>18</sub> H <sub>31</sub> NO	3886-91-7
12.93	ロンギホレン	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	475-20-7	21.40	エイコシル酢酸	C <sub>22</sub> H <sub>44</sub> O <sub>2</sub>	822-24-2
13.18	フタル酸ジメチル	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>	131-11-3	21.46	酸化防止剤 2246	C <sub>23</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	119-47-1
13.41	エチル 3-フェニルプロピオネート	C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	103-36-6	21.56	N,N-ジメチルリノールアミド	C <sub>20</sub> H <sub>37</sub> NO	2501-33-9
13.42	1-ドデカノール	C <sub>12</sub> H <sub>26</sub> O	112-53-8	21.60	N,N-ジメチルオレアミド	C <sub>20</sub> H <sub>39</sub> NO	2664-42-8
13.76	2,4-ジ-tert-ブチルフェノール	C <sub>14</sub> H <sub>22</sub> O	96-76-4	21.74	デヒドロアビエチン酸	C <sub>20</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>	1740-19-8
13.78	ブチル化ヒドロキシトルエン	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	128-37-0	22.09	酸化防止剤 425	C <sub>25</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	88-24-4
14.38	(3-デシル)ベンゼン	C <sub>16</sub> H <sub>26</sub>	4621-36-7	23.02	スクアラン	C <sub>30</sub> H <sub>62</sub>	111-01-3
14.54	サリチル酸ベンチル	C <sub>12</sub> H <sub>16</sub> O <sub>3</sub>	2050-08-0	23.83	13-ドコセンアミド, (Z)-	C <sub>22</sub> H <sub>43</sub> NO	112-84-5
14.63	フタル酸ジエチル	C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub>	84-66-2	26.81	コンドリラステロール	C <sub>29</sub> H <sub>48</sub> O	481-17-4
14.79	<i>p</i> -tert-オクチルフェノール	C <sub>14</sub> H <sub>22</sub> O	140-66-9	27.37	(24Z)-エチリデンコレステロール	C <sub>29</sub> H <sub>48</sub> O	481-14-1
15.12	リン酸トリブチル	C <sub>12</sub> H <sub>27</sub> O <sub>4</sub> P	126-73-8				
15.39	(1-エチルノニル)ベンゼン	C <sub>17</sub> H <sub>28</sub>	4536-87-2				



E&L 化合物の同定の信頼性を上げるため、精密質量情報を使用し、MassHunter Unknowns Analysis ソフトウェアの ExactMass ツールで化合物 ID の合格/不合格を判定しました。ExactMass ツールは、ライブラリでヒットした最上位の分子式のサブセットである式を使用して、フラグメントイオンを自動的に割り当てることが可能です。ほとんどの特定のフラグメントが、化合物の分子式と小さい質量誤差で一致しない場合は、ライブラリのヒットを偽陽性と見なすことができます。図 6 に、このような 2 つの例を示します。

GC/Q-TOF は GC/MSD よりもフルスペクトル採取モードでの感度が高く、データ取り込みレートが高いため、GC/Q-TOF によりいくつかの化合物が追加で同定されました (表 3)。これらの化合物には、ラバー製造で使用される触媒、溶媒、加硫促進剤、可塑剤、酸化防止剤、UV 安定剤が含まれます。精密質量と RI 情報を用いて、化合物の同定を確認しました。

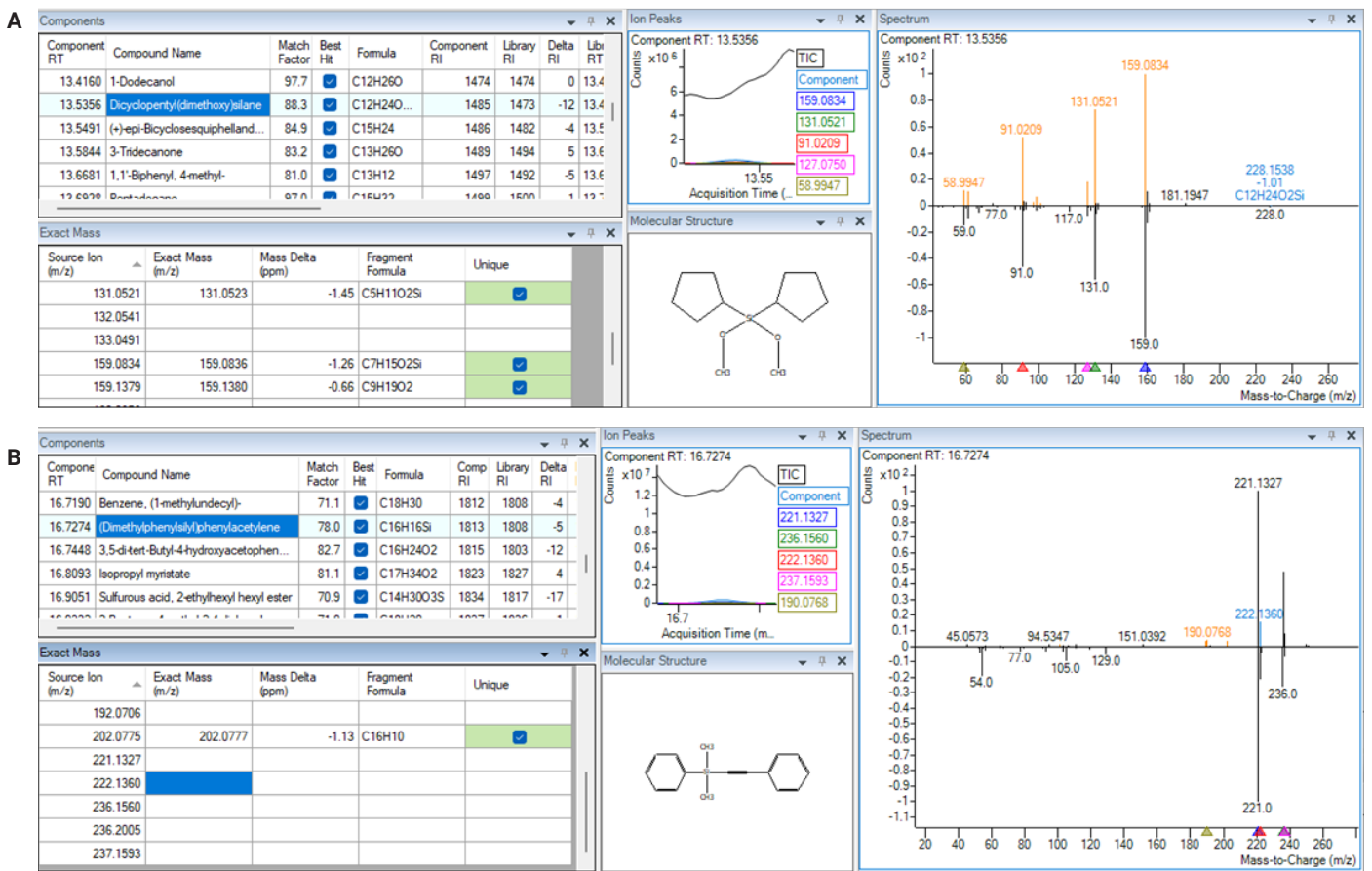


図 6. 精密質量を用いた化合物 ID の確認。フラグメント式は、ライブラリヒットの精密質量と分子式に基づいて割り当てられます。次に、顕著なフラグメントイオンごとの質量誤差が計算されて、ExactMass 表に表示されます。(A) GC/Q-TOF のみによって同定された確認済み化合物。(B) 精密質量に基づく GC/Q-TOF データの処理時に測定された偽陽性。ただし、高いライブラリー一致スコア (89) の GC/MSD ユニッドマスデータに基づいて、同じ化合物 ID がこのスペクトルに誤って割り当てられました。

表 3. GC/Q-TOF のみによって同定された化合物

RT	化合物名	一致率	分子式	デルタ RI	CAS No.
4.17	メチルイソブチルケトン (MIBK)	92.8	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O	-29.7	108-10-1
4.61	アセチルアセトン	87.7	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	-19.7	123-54-6
4.63	ジメチルホルムアミド	99.1	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> NO	-21.2	68-12-2
4.86	ヘキサナール	96.7	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O	-18.9	66-25-1
5.03	フルフラール	80.0	C <sub>8</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	1.1	98-01-1
5.80	o-キシレン	96.5	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub>	3.3	95-47-6
5.93	2,6-ルチジン (2,6-ジメチルピリジン)	82.0	C <sub>7</sub> H <sub>9</sub> N	-14.1	108-48-5
6.02	2-ヘプタノン	94.6	C <sub>7</sub> H <sub>14</sub> O	-9.3	110-43-0
6.21	ヘプタナール	94.6	C <sub>7</sub> H <sub>14</sub> O	-11.7	111-71-7
6.66	3-ヘプテン-2-オン	79.6	C <sub>7</sub> H <sub>12</sub> O	-6.2	1119-44-4
6.91	ピペリジン、2,2,6,6-テトラメチル-	91.0	C <sub>9</sub> H <sub>15</sub> N	-19.8	768-66-1
7.10	ベンズアルデヒド	90.9	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O	-10.8	100-52-7
7.36	α-メチルスチレン	95.6	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub>	-4.2	98-83-9
7.63	オクタナール	89.1	C <sub>8</sub> H <sub>16</sub> O	-5.5	124-13-0
7.96	2-エチルヘキサノール	92.6	C <sub>8</sub> H <sub>18</sub> O	-1.7	104-76-7
8.11	N-メチル-αピロリドン	84.7	C <sub>8</sub> H <sub>9</sub> NO	1.4	872-50-4
8.16	2-(2-ヒドロキシプロポキシ)-1-プロパノール	82.7	C <sub>8</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub>	0.1	106-62-7
9.01	ノナナール	96.3	C <sub>9</sub> H <sub>18</sub> O	-3.0	124-19-6
10.08	2,4-ジメチルチオフェノール	89.1	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> S	19.0	13616-82-5
10.29	ベンゼン、1,3-ジブロモ-	91.2	C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> Br <sub>2</sub>	14.1	108-36-1
10.70	ベンゾチアゾール	92.2	C <sub>7</sub> H <sub>5</sub> NS	-9.3	95-16-9
11.44	m-tert-ブチルフェノール	72.0	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O	-2.2	585-34-2
12.35	3-ヒドロキシ-2,2,4-トリメチルペンチル 2-メチルプロパン酸**	73.2	C <sub>12</sub> H <sub>24</sub> O <sub>3</sub>	-3.7	77-68-9
12.57	p-tert-ブチルフェノール	74.3	C <sub>11</sub> H <sub>16</sub> O	3.2	80-46-6
13.27	BHT-キノール	84.6	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub>	14.2	10396-80-2
13.54	ジシクロペンチル(ジメトキシ)シラン	88.3	C <sub>12</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub> Si	-11.9	126990-35-0
13.58	3-トリデカノン	83.2	C <sub>13</sub> H <sub>26</sub> O	4.6	1534-26-5
13.98	4-エトキシ安息香酸エチル	82.8	C <sub>11</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub>	-5.7	23676-09-7
14.77	(2-デシル)ベンゼン	88.2	C <sub>16</sub> H <sub>26</sub>	10.0	4537-13-7
15.06	(1-ブチルヘプチル)ベンゼン	83.8	C <sub>17</sub> H <sub>28</sub>	-4.1	4537-15-9
15.08	フェヌロン	73.1	C <sub>9</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O	-5.2	101-42-8
15.15	ベンゾフェノン	93.4	C <sub>13</sub> H <sub>10</sub> O	-10.0	119-61-9
15.55	2,4-ジ-tert-ブチル-6-ニトロフェノール	78.7	C <sub>14</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>3</sub>	1.7	20039-94-5
15.89	4-(1,1-ジメチルヘプチル)フェノール	83.2	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	-25.9	30784-30-6
16.69	アントラセン	86.4	C <sub>14</sub> H <sub>10</sub>	-23.5	120-12-7
17.17	フタル酸ジイソブチル	88.5	C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub>	5.0	84-69-5
17.70	ヘキサデカン酸メチル	74.6	C <sub>17</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	1.3	112-39-0
19.01	p-トリルジスルフィド	73.8	C <sub>14</sub> H <sub>14</sub> S <sub>2</sub>	3.4	103-19-5
21.05	デヒドロアビエチン酸メチル	79.9	C <sub>21</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	-17.2	1235-74-1
22.26	フタル酸ビス(2-エチルヘキシル) (DEHP)	69.6	C <sub>24</sub> H <sub>38</sub> O <sub>4</sub>	0.0	1000377-93-5
25.72	Tinuvin 770	87.1	C <sub>28</sub> H <sub>52</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	130.4*	52829-07-9

\* 予測 RI のみを使用可能

\*\* テキサノールの成分

### ラバーガasket抽出物中の未知化合物の同定

いくつかの未知化合物を選択して、さらに同定作業を進めました。未知化合物の一般的な構造解明ワークフローでは、最初のステップとして、分子イオンの同定が必要です。標準 EI を使用してこれを実行することは困難です。EI で分子イオンのアバンダンスが保持されることはまれであるからです。低エネルギー EI (Low-energy EI, LE-EI) は一種のソフトなイオン化であり、分子イオンの相対アバンダンスが上がるため、暫定的な同定に役立ちます。この技法は 7250 GC/Q-TOF の LE-EI 対応イオン源によって可能となるものであり、化学イオン化 (CI) を補完します。この技法では試薬ガスやイオン源の変更は不要であり、標準 EI と同じチューニングファイルを使用します。LE-EI の結果に基づいて、表 4 のとおり未知化合物の分子イオンを提示しました。

表 4. LE-EI 実験で暫定的に同定した未知化合物の分子イオン式

RT (分)	分子イオンの暫定的 m/z	分子式
5.59	98.0362	C <sub>5</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>
6.37	142.0988	C <sub>8</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>
7.82	155.1067	C <sub>9</sub> H <sub>15</sub> O <sub>2</sub>
8.44	143.1067	C <sub>8</sub> H <sub>15</sub> O <sub>2</sub>
10.72	154.0988	C <sub>9</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>
11.93	166.0988	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>
12.10	150.1039	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O
13.31	182.0937	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub>
13.89	206.1301	C <sub>13</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>
15.19	250.1927	C <sub>18</sub> H <sub>26</sub> O <sub>2</sub>

分子イオンの同定や確認に LE-EI を使用する方法については、図 7 をご覧ください。電子エネルギーが低くなると、暫定的な分子イオンの相対アバンダンスが徐々に上がっています。

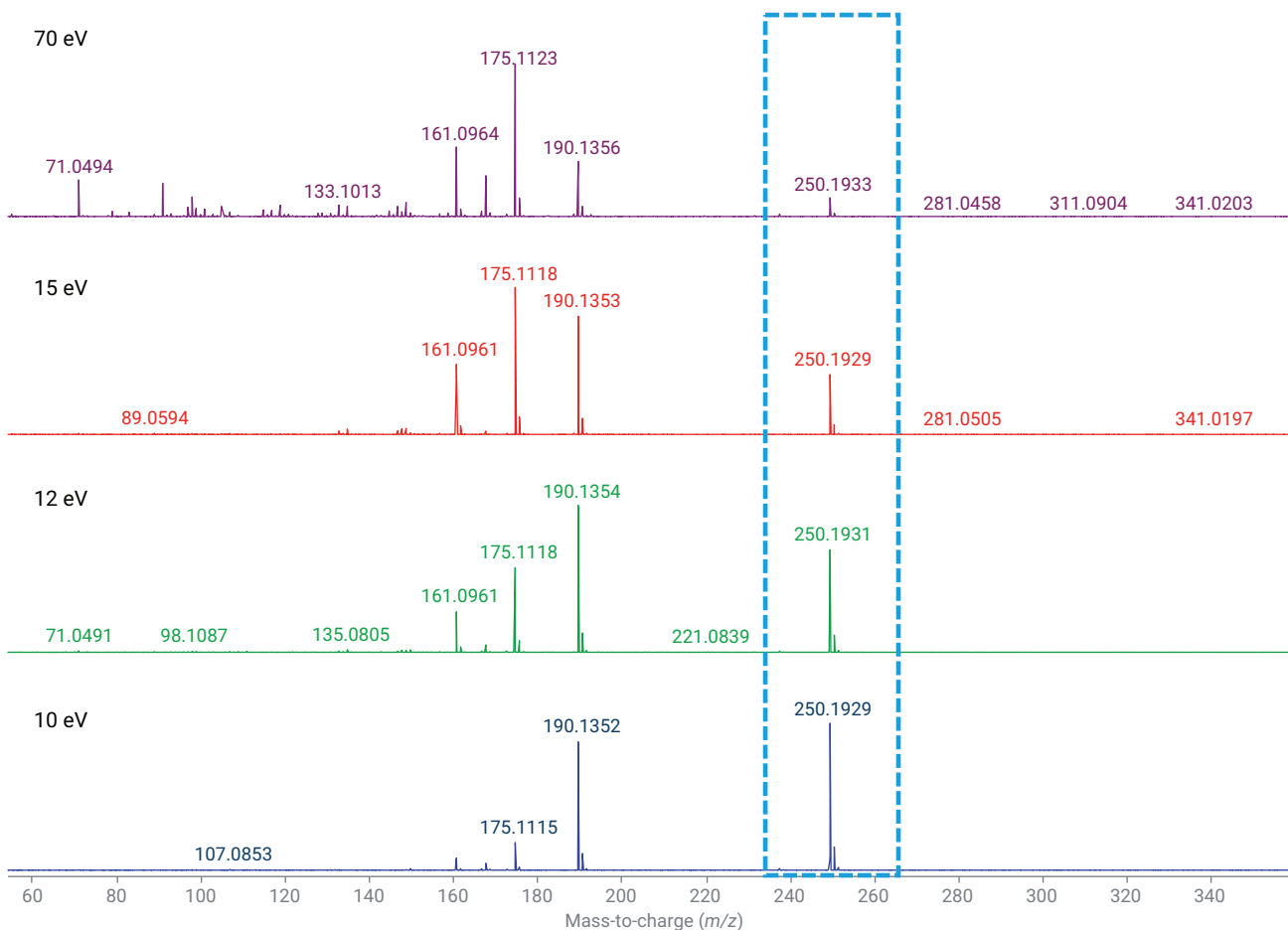


図 7. 分子イオンを同定または確認するための LE-EI の使用例。電子エネルギーが低くなるほど、分子イオンの相対アバンダンスが高くなります。暫定的分子イオンは長方形で囲っています。

LE-ESI で同定した暫定的な分子イオンを MS/MS 実験のプリカーサとして選択して (図 8)、構造の解明を進めました。ターゲット MS/MS は、MS/MS モードとフルスペクトル採取モードを切り替えて実行しました。プリカーサの精密  $m/z$  を Acquisition ソフトウェアに入力して、ダウンストリームデータ処理で分子イオンの  $m/z$  が正確に認識されるようになりました。各化合物のコリジョンエネルギー (CE) を最適化して最適なフラグメンテーションを生み出し、可能な場合はスペクトル中の高/中濃度  $m/z$  イオンのアバンダンスを保持しました。

構造の解明は MSC ソフトウェアで実行しました。分子式は、同じ RT でプリカーサの  $m/z$  と一致した、フルスペクトルデータの精密質量イオンに基づいて自動的に割り当てられました。各暫定的分子式の考える構造をすべて ChemSpider データベースから抽出し、フラグメンテーションパターンに基づいて評価しました。図 9 に、未知化合物の 1 つの提示された構造を示します。

この構造は、酸化防止剤の分解生成物に対応する可能性があるものです。

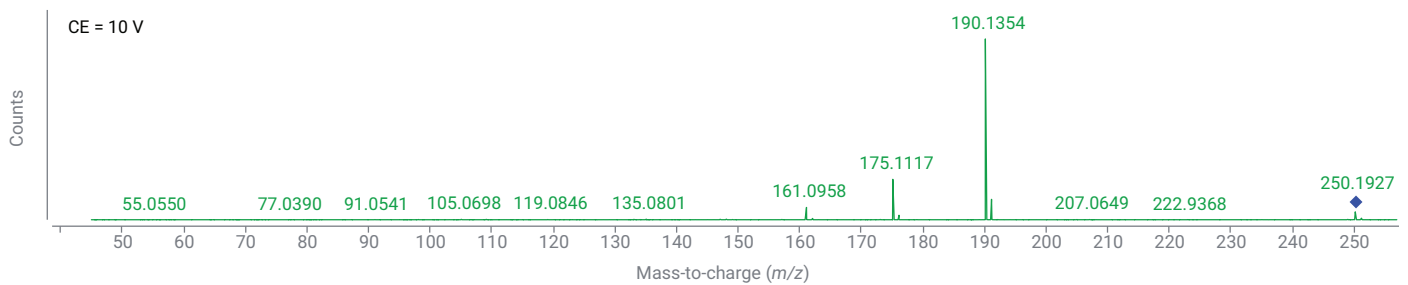


図 8. 暫定的な分子イオンをプリカーサとして使用した、未知化合物の 1 つの MS/MS スペクトル

1000 structures found for rt=15.171:ce20

Sort by # Reference Show structures for All Formulas Search

Structure #36 -- elucidated: 100.0% ions, 100.0% Weight

Mass	Intensity	Weight(%)	No. of candid.	Best score	
1	175.1119	374453.30	57.1	9	92.7
2	190.1353	108828.00	19.6	11	96.7
3	161.0961	84322.28	10.9	3	95.5
4	176.1150	38474.78	5.9	5	48.2
5	191.1384	12659.78	2.3	5	48.7
6	147.0803	10393.57	1.1	6	94.2
7	162.1002	9837.04	1.3	4	61.3
8	148.0879	7288.59	0.8	9	96.3
9	135.0802	6980.57	0.6	9	92.6
10	133.0645	4542.73	0.4	4	92.5

Penalty=4.5 dM=-0.9ppm F.D.S.=99.9 C12H18O-3H Score=92.7

Penalty=4.5 dM=-0.9ppm F.D.S.=99.9 C12H18O-3H Score=92.7

Penalty=6.5 dM=-0.9ppm F.D.S.=99.9 C12H20O-5H Score=85.4

Penalty=6.5 dM=-0.9ppm F.D.S.=99.9 C12H20O-5H Score=85.4

ChemSpider: 535935

ChemSpider: 5597362

ChemSpider: 28556942

図 9. MSC で提示されたラバーガasket抽出物中の未知化合物の 1 つの構造

## 結論

GC/MSD は、複雑な E&L 抽出物中の揮発性化合物と半揮発性化合物の分析に役立つ使いやすいツールです。確立しているワークフローには、規制対応環境で実行されるデータ取り込みを用いたデコンボリューションや RI ベースのライブラリ検索が含まれます。

高分離能の Agilent 7250 GC/Q-TOF により、より多くの成分をより確実に同定し、未知化合物の構造を解明することができました。

さらに、新しい超低ブリードの Agilent J&W DB-5Q GC カラムを使用するとバックグラウンドが大幅に低下するため、遅れて溶出する化合物（高沸点化合物）も同定できました。

## 参考文献

1. Zhang, F.; Chang, A.; Karaisz, K.; Feng, R.; Cai, J. Structural Identification of Extractables from Rubber Closures Used for Pre-filled Semisolid Drug Applicator by Chromatography, Mass spectrometry, and Organic Synthesis. *J. Pharma.Biomed. Anal.* **2004**, *34*, 841–849. DOI: 10.1016/j.jpba.2003.08.003
2. Baneshi, M.; Tonney-Gagne, J.; Halilu, F.; Pilavangan, K.; Abraham, B. S.; Prosser, A.; Marimuthu, N. K.; Kaliaperumal, R.; Britten, A. J.; Mkandawire, M. Unpacking Phthalates from Obscurity in the Environment. *Molecules* **2023**, *29*(1), 106. DOI: 10.3390/molecules29010106
3. Taylor, R.; Son, P. N. Encyclopedia of Chemical Technology. Interscience, New York. 1982, 20, pp. 337–365.
4. Bohrer, D.; Viana, C.; Barichello, M. M.; de Moura, J. F.; de Carvalho, L. M.; Nascimento, P. C. Presence of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Rubber Packaging Materials and in Parenteral Formulations Stored in Bottles With Rubber Stoppers. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* **2016**, *41*(6), 1037–1044. DOI: 10.1177/0148607116633801.
5. Support for Title 21 CFR Part 11 and Annex 11 Compliance: Agilent OpenLab Server and OpenLab ECM XT. *Agilent Technologies white paper*, publication number 5994-3228EN, **2024**.
6. ブリードが GC/MS データにおよぼす影響とその抑制方法, *Agilent Technologies technical overview*, publication number 5994-7586JAJP, **2024**.

ホームページ

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

カスタムコンタクトセンター

**0120-477-111**

[email\\_japan@agilent.com](mailto:email_japan@agilent.com)

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、医薬品医療機器等法に基づく登録を行っておりません。本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。

DE-000968

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2024

Printed in Japan, September 10, 2024

5994-7777JAJP