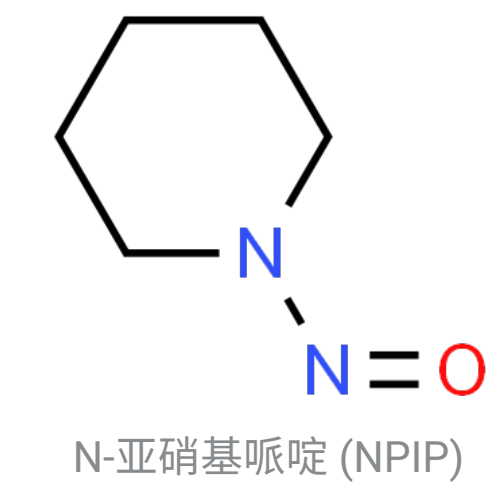
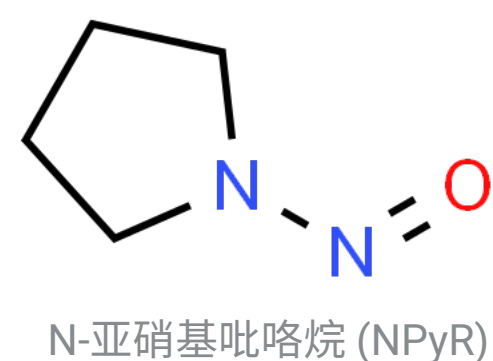
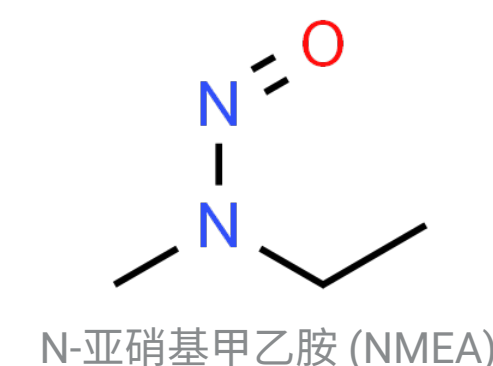


前言

目前已经开发了多种使用质谱来分析亚硝胺的高灵敏度定量方法^[1]。但是, 这些方法依赖于色谱分离, 每个样品需耗时数分钟。快速、稳定的杂质筛查和定量分析是各类实验室必不可少的分析工具。在高通量环境下, 必须确保此类分析的效率, 并大大降低成本, 避免样品积压。使用固相萃取三重四极杆质谱 (SPE-QQQ) 可实现对样品的超快速分析, 且不影响分析保真度。

本研究考察了在 15 秒内对一次进样中的一组亚硝胺进行同时定量。研究采用了美国食品药品监督管理局 (US FDA) 现有的分析方法^[2], 并增加了额外的亚硝胺以评估扩大检测范围的可行性和难度。



<https://www.chemspider.com/>

图 1. 本研究中添加的三种亚硝胺, 作为 FDA RapidFire 方法分析亚硝胺杂质的概念验证

实验部分

仪器

用于 SPE-QQQ 分析的仪器包括 RapidFire 高通量全自动质谱样品前处理系统和 Ultivo 三重四极杆液质联用系统。使用石墨化碳小柱进行在线固相萃取 (SPE), 将目标分析物与样品中的盐和其他干扰物分离。



图 2. Agilent RapidFire 400 高通量全自动质谱样品前处理系统和 Agilent Ultivo 三重四极杆液质联用系统

化学品与试剂

亚硝胺标准品、LC/MS 级甲醇和甲酸购自 Sigma-Aldrich

方法

优化的自动捕集、清洗和洗脱循环, 使每次进样的分析时间少于 15 秒。

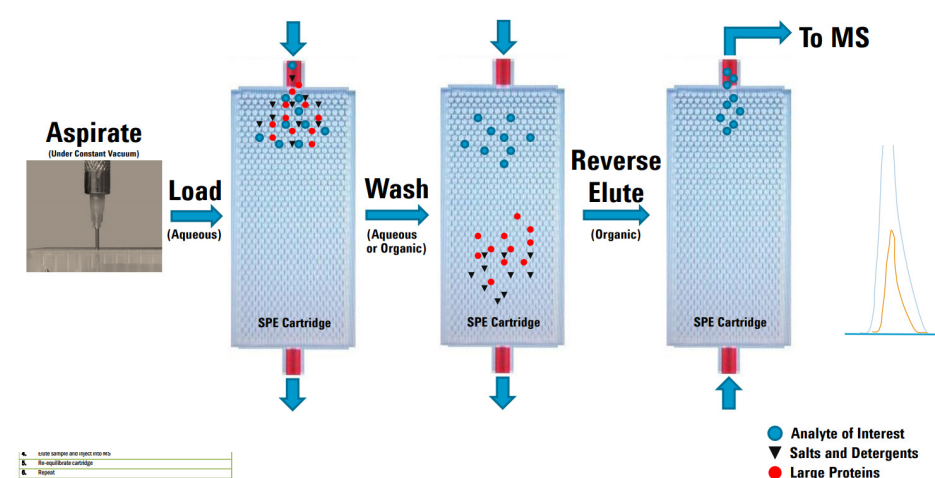


图 3. RapidFire 进样周期

仪器设置

RapidFire 条件

缓冲液 A: 水 + 0.1% 甲酸
缓冲液 B: 甲醇 + 0.1% 甲酸
SPE 小柱: 石墨化碳, D 类 (G9206A)

状态	时间 (ms)
吸液	600
上样/清洗	2000
洗脱	7000
再平衡	2000

Ultivo 条件

参数	值
离子模式	APCI
极性	正
干燥气体温度	300 °C
干燥气流速	6 L/min
雾化器	55 psi
APCI 加热器	350 °C
APCI 喷雾针	4 μA
毛细管电压	3000 V

结果与讨论

超快速数据采集

每个样品的进样速度约为 12.5 秒, 使用三重四极杆质谱采集数据。图 4 显示了在 15 分钟内获得的 72 个进样。在不同校准浓度之间运行数次空白进样以评估残留。

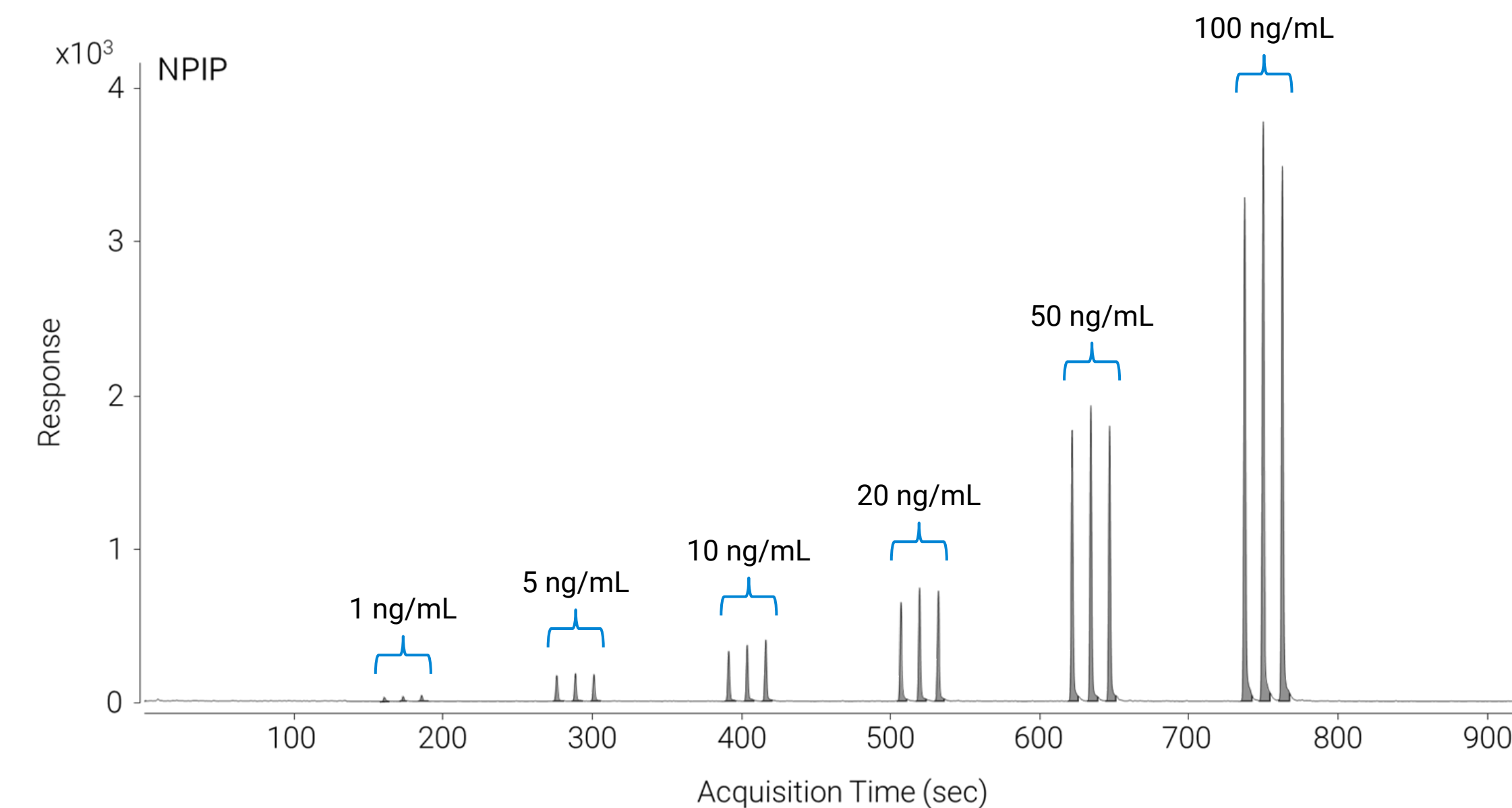


图 4. NPIP 6 点校准曲线的三次重复进样。每个校准浓度之间进行 6 次空白进样以评估残留

高重现性和准确性的结果

每个校准品的三次重复进样显示出出色的重现性。NPIP 的变异系数范围为 4.5%–9.0% (图 4), 代表了所有分析物。还观察到了出色的线性, R^2 为 0.997–0.999 (图 5)。

结果与讨论

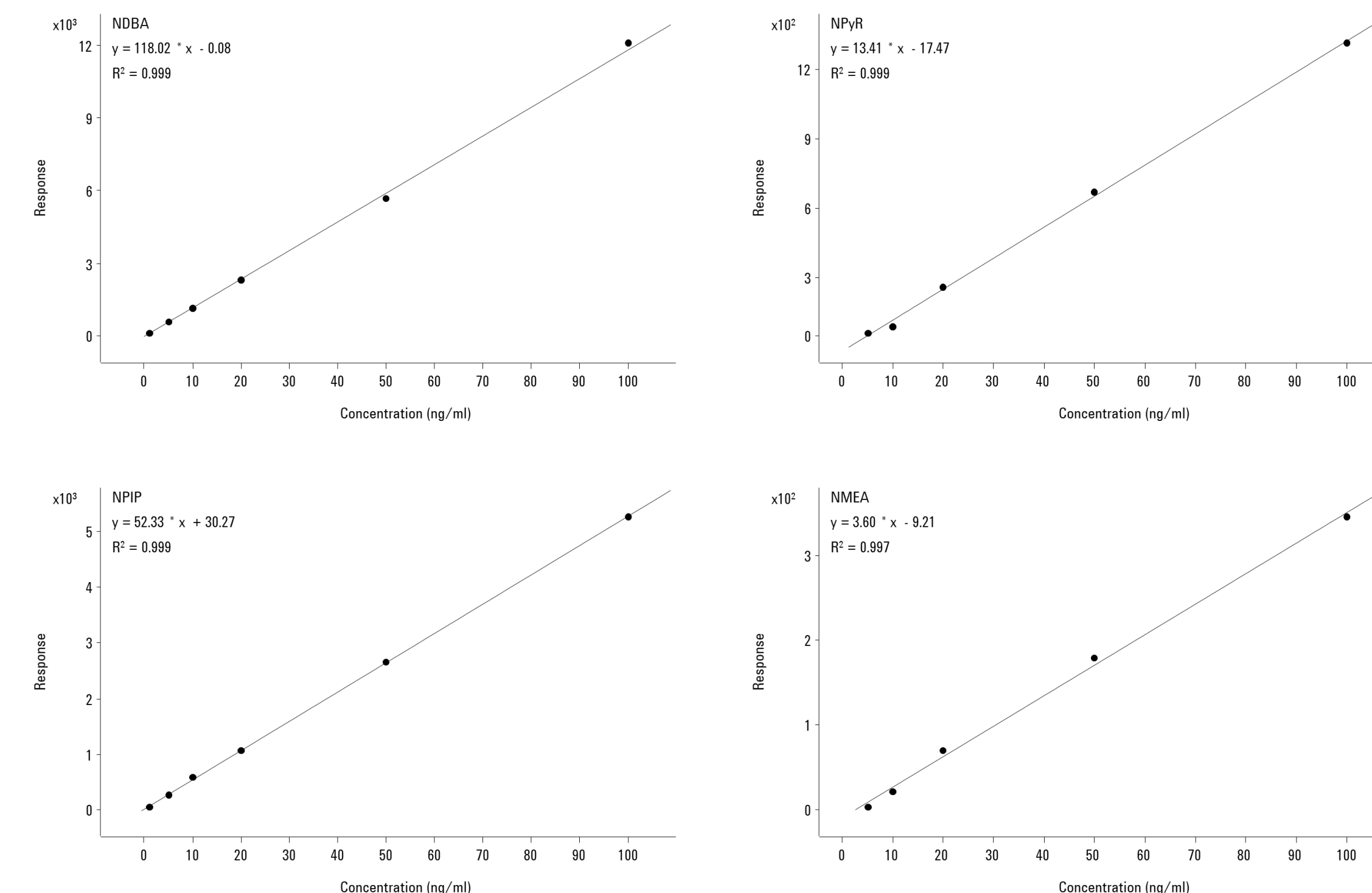


图 5. NDBA 和 NPIP 1–100 ng/mL 的校准曲线。NPYR 和 NMEA 5–100 ng/mL 的校准曲线

结论

本研究采用了 US FDA 的亚硝胺杂质快速分析方法, 并获得了一致的结果。进一步的概念验证实验表明, 无需大量方法开发, 即可在方法中添加其他亚硝胺分析物。

参考文献

- FDA Updates and Press Announcements on Angiotensin II Receptor Blocker (ARB) Recalls. (2019, November 13). FDA. Retrieved April 15, 2020. <https://www.fda.gov/drugs/drug-safety-and-availability/fda-updates-and-press-announcements-angiotensin-ii-receptor-blocker-arb-recalls-valsartan-losartan>
- Development and validation of a RapidFire-MS/MS method for screening of nitrosamine carcinogen impurities...in ARB drugs. (2019, July 24). FDA. Retrieved April 15, 2020. <https://www.fda.gov/media/125477/download>
- Information about Nitrosamine Impurities in Medications. (2020, February 3). FDA. Retrieved April 15, 2020. <https://www.fda.gov/drugs/drug-safety-and-availability/information-about-nitrosamine-impurities-medications>