

Estimation de l'oxyde d'éthylène et de la chlorhydrine d'éthylène dans des graines de sésame à l'aide du système de GC Agilent 8890 et du système de MS triple quadripôle 7000D

Auteurs

Praveen Arya, Vivek Dhyani et
Dr. Samir Vyas
Agilent Technologies, Inc.

Résumé

Cette note d'application illustre l'utilisation du système de GC Agilent 8890 couplé au spectromètre de masse triple quadripôle du GC/MS Agilent 7000D pour détecter et quantifier de l'oxyde d'éthylène et de la chlorhydrine d'éthylène dans des échantillons de graines de sésame. La méthode permet d'obtenir des résultats d'une grande fiabilité pour les analyses de routine de l'industrie alimentaire, que ce soit pendant la production, la transformation, le stockage ou au cours de tests commerciaux d'échantillons de graines de sésame ou à des fins académiques. Pendant la préparation des échantillons, les résidus d'oxyde d'éthylène dans l'échantillon sont convertis en chlorhydrine d'éthylène, qui est ensuite soumise à une extraction liquide-liquide (LLE) avec de l'acétate d'éthyle, puis purifiée avant d'être injectée dans le système GC/TQ. Une limite de quantification (LOQ) de 10 ppb a été démontrée dans la matrice.

De l'oxyde d'éthylène est utilisé pour stériliser les graines oléagineuses ainsi que les épices pendant le stockage. Des résidus d'oxyde d'éthylène ainsi que son dérivé, à savoir la chlorhydrine d'éthylène (produite par des réactions pendant le stockage) peuvent être détectés dans ces denrées alimentaires.¹ La chlorhydrine d'éthylène peut être utilisée comme marqueur approprié pour confirmer l'utilisation de l'oxyde d'éthylène pour la fumigation. La chlorhydrine d'éthylène peut être évaluée dans les graines de sésame par une méthode analytique de GC/TQ simple. Cette évaluation permet également d'estimer la quantité d'oxyde d'éthylène réellement présent dans l'échantillon au départ par l'utilisation d'un facteur de conversion.

La méthode présentée dans cette étude est utile pour détecter la chlorhydrine d'éthylène comme marqueur de la fumigation de graines de sésame avec de l'oxyde d'éthylène à l'aide du système de GC Agilent 8890 couplé au spectromètre de masse triple quadripôle Agilent 7000D (la LOQ étant de 10 ng/g, laquelle est conforme à la LMR de 50 ng/g définie par l'UE).²

Méthode expérimentale

Produits chimiques nécessaires

- De l'acide sulfurique à 0,1 N (0,981 g d'acide sulfurique dissous dans 100 mL d'eau)
- Une solution saturée de chlorure de sodium dans l'eau
- De l'eau (Millipore, Milli-Q)
- De l'acétate d'éthyle (de qualité HPLC)
- Un kit de traitement de l'échantillon par SPE dispersive Agilent QuEChERS (référence 5982-0028)
- Un étalon de référence d'oxyde d'éthylène (référence Sigma-Aldrich CRM48891)
- Un étalon de référence de chlorhydrine d'éthylène (référence Merck 8.00945.0100)

Appareil nécessaire

Un système de GC Agilent 8890 équipé d'un injecteur MMI configuré avec l'option de rétrobalayage post-colonne et un spectromètre de masse triple quadripôle Agilent 7000D, un bain à ultra-sons, un bain-marie, une centrifugeuse à froid, une centrifugeuse de table et un mélangeur vortex ont été utilisés dans cette étude. La procédure est comme suit :

1. Peser 2 g d'échantillon dans un tube à centrifugeuse de 50 mL.
2. Ajouter 2 mL d'eau, 2 mL de H_2SO_4 à 0,1 N et 1 mL d'une solution saturée de chlorure de sodium.
3. Placer le tube dans le bain à ultra-sons pendant 20 minutes.
4. Laisser reposer l'échantillon dans le bain-marie à 50 °C pendant 1 heure.
5. Agiter au vortex et attendre jusqu'à ce que l'échantillon atteigne la température ambiante.
6. Ajouter 5 mL d'acétate d'éthyle et agiter au vortex pendant 10 minutes.
7. Centrifuger à 8 000 tr/min pendant 5 minutes à 5 °C.
8. Prélever 1 mL de surnageant et l'ajouter dans un tube (universel) de traitement de l'échantillon par SPE dispersive Agilent QuEChERS (référence 5982-0028).
9. Agiter et centrifuger à 5 000 tr/min pendant 5 minutes.
10. Récupérer le surnageant dans un flacon et l'injecter dans le système de GC/MS/MS.

Tableau 1. Méthode de GC.

Conditions de GC	
Colonne	Agilent VF-624 ms, 60 m × 0,25 mm, 1,4 µm (réf. CP9103)
Injecteur	Injecteur multimode d'Agilent 5190-2293, séparateur sans division de flux Volume d'injection : 2 µL
Mode d'injection	sans division de flux, pulsé, 25 psi jusqu'à 0,8 min, débit de purge de 40 mL/min à 1,25 min
Température de l'injecteur	250 °C
Four	60 °C pendant 2 min, jusqu'à 150 °C à 10 °C/min, jusqu'à 250 °C à 40 °C/min, palier de 20 min
Gaz vecteur	99,9995 % d'hélium à 1,0 mL/min, mode à débit constant

Tableau 2. Méthode MS.

Conditions du MSD	
Température du quadripôle	150 °C
Température de la source d'ionisation	El à 280 °C
Température de la ligne de transfert	250 °C
Transitions de MRM pour la chlorhydrine d'éthylène	82 → 31 (CE : 5) 80 → 43 (CE : 5) 80 → 31 (CE : 5)
Mode d'EMV	Facteur de gain : 10
Temps de mesure pour chaque transition	75
Délai du solvant	9,5

Résultats et discussion

Avec la méthode décrite ci-dessus, la LOQ a été estimée à 10 ng/g pour la chlorhydrine d'éthylène dans des échantillons de graines de sésame puisque, à cette concentration, le pic se distingue facilement de la ligne de base et de la matrice, avec des rapports signal sur bruit > 2,9. La figure 1 illustre les chromatogrammes d'ions extraits de quantification et de qualification avec une concentration de dopage à la LOQ. Cette LOQ, définie à 50 ng/g par l'UE, satisfait aux besoins des clients et aux exigences réglementaires de la LMR. La figure 2 illustre le rapport signal sur bruit pour des étalons matriciels à concentrations de 10 ppb et de 50 ppb.

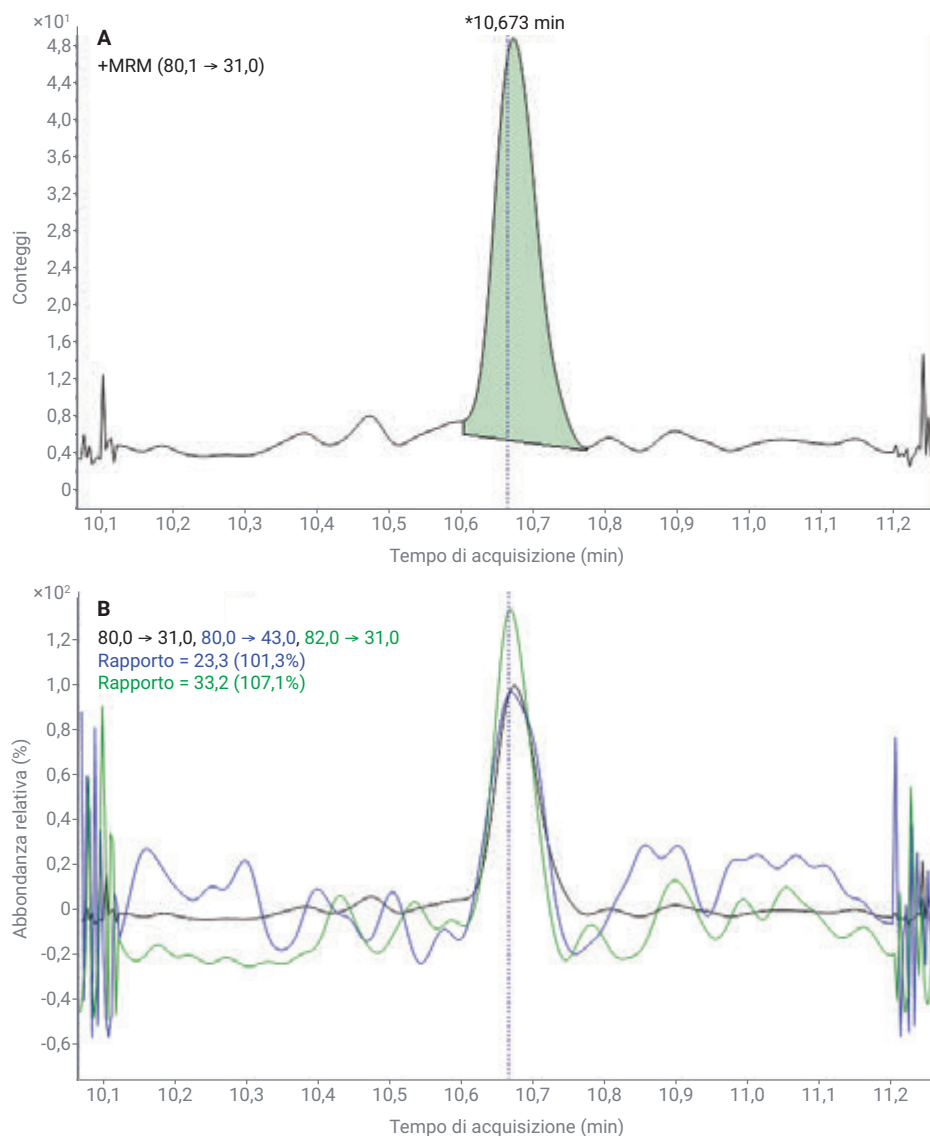


Figure 1. Un pic de quantification et deux pics de qualification de la chlorhydrine d'éthylène à une concentration de dopage de 10 ng/g.

Étalonnage et linéarité

Un graphique de la linéarité de la matrice avant le dopage a été généré pour présenter la réponse (aire de pic) en fonction de niveaux de concentration allant de 5 à 200 ng/g (Figure 4). L'étalonnage a été effectué à six concentrations : 5, 10, 20, 50, 100 et 200 ng/g. Une bonne linéarité avec un $R^2 > 0,998$ a été observée.

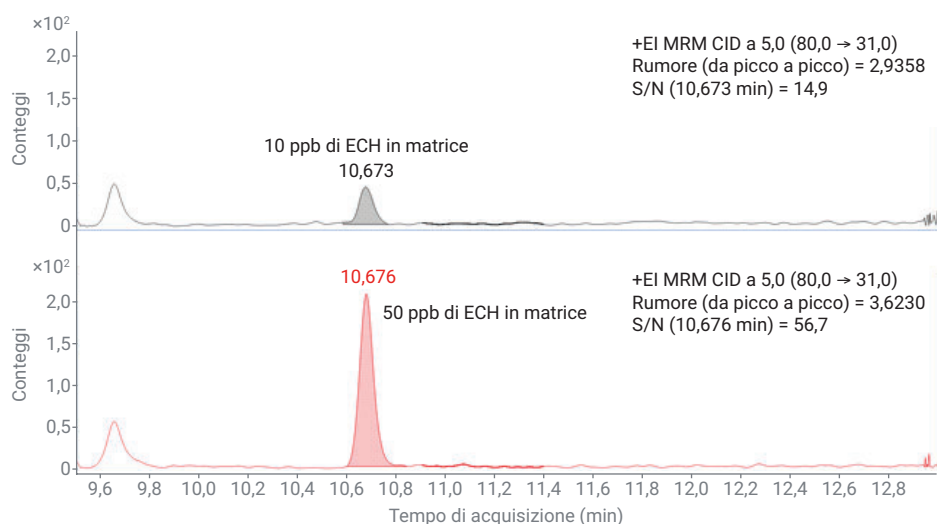


Figure 2. Sensibilité de la chlorhydrine d'éthylène : Chromatogrammes MRM de dopage à 10 ng/g et à 50 ng/g.

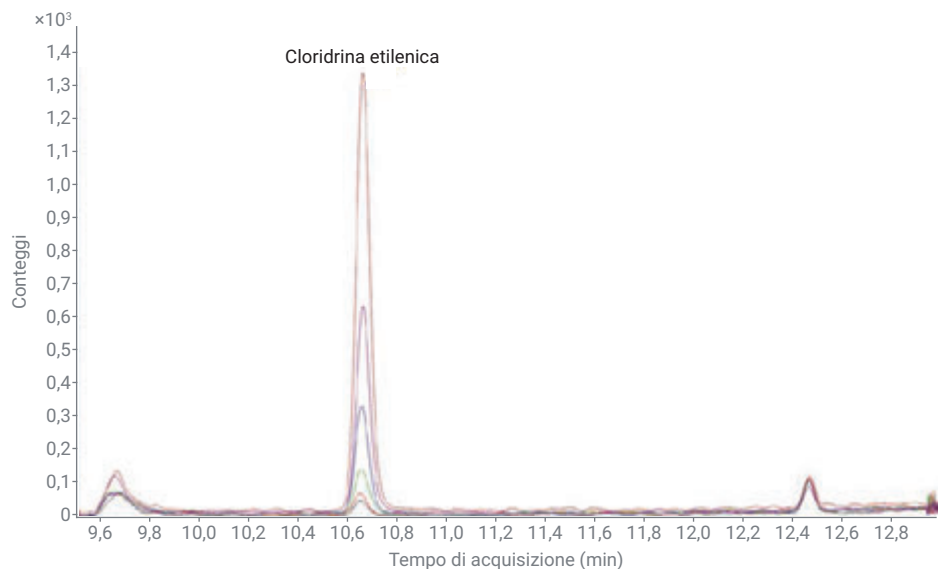


Figure 3. Superposition des TIC de MRM pour diverses concentrations de chlorhydrine d'éthylène dans la matrice allant de 5 ppb à 200 ppb.

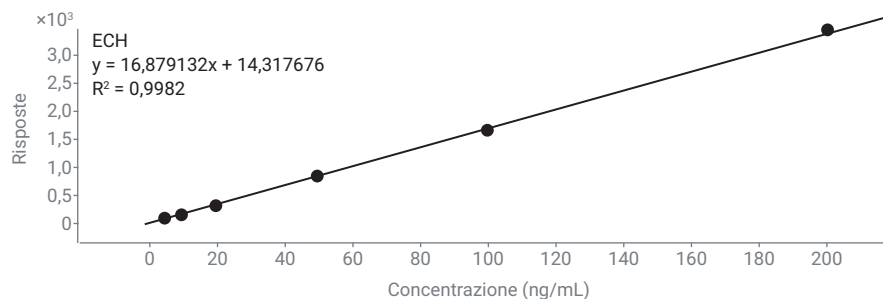


Figure 4. Courbe d'étalonnage pour les étalons de chlorhydrine d'éthylène dans une matrice adaptée.

Reproductibilité

La reproductibilité de l'élution a été démontrée en injectant un étalon de chlorhydrine d'éthylène dans la matrice à une concentration de 50 ppb. L'écart-type relatif, par rapport aux aires des pics de chlorhydrine d'éthylène calculées sur la base de six injections répétées d'étalon de matrice à 50 ppb, était de 1,73 % tel que présenté dans le tableau 3.

Quantification dans des échantillons de graines de sésame

La méthode examinée a été étendue à des échantillons de graines de sésame, lesquelles ont été achetées auprès d'un marché local pour des études d'analyse et de rendement.

Étude de rendement

Comme indiqué dans le tableau 4, aucun pic correspondant à la chlorhydrine d'éthylène n'a été observé dans le blanc de matrice de graines de sésame. Les rendements de chlorhydrine d'éthylène et d'oxyde d'éthylène des échantillons réels de graines de sésame ont été calculés à l'aide de concentrations de dopage de 10 ppb et de 50 ppb pour la chlorhydrine d'éthylène et de 10 ppb pour l'oxyde d'éthylène.

Trois études de dopage ont été effectuées comme suit :

1. Les échantillons de graines de sésame ont été dopés avec de la chlorhydrine d'éthylène à une concentration de 10 ppb.
2. Les échantillons de graines de sésame ont été dopés avec de la chlorhydrine d'éthylène à une concentration de 50 ppb.
3. Les échantillons de graines de sésame ont été dopés avec de l'oxyde d'éthylène à une concentration de 10 ppb. L'objectif était de vérifier l'applicabilité de la méthode à l'estimation de la teneur en oxyde d'éthylène dans l'échantillon. (Un facteur de conversion de 0,55 a été utilisé comme multiplicateur pour calculer les résultats pour l'échantillon de dopage à l'oxyde d'éthylène).² Les résultats obtenus pour le rendement en pourcentage sont présentés dans le tableau 5.

Tableau 3. RSD (CV) en pourcentage pour la chlorhydrine d'éthylène pour l'étalon à 50 ppb dans une matrice adaptée.

Aire - Inj. 1	Aire - Inj. 2	Aire - Inj. 3	Aire - Inj. 4	Aire - Inj. 5	Aire - Inj. 6	RSD (en %)
821	804	811	829	842	810	1,73

Tableau 4. Résumé de quantification pour l'étalonnage (de 5 à 200 ppb), le rendement de dopage (10 et 50 ppb) et l'exercice de reproductibilité (50 ppb).

Nom de l'échantillon	Composé	Type d'échantillon	TR	Réponse	Conc. finale (ng/g)
Blanc de matrice_graines de sésame	Chlorhydrine d'éthylène	Échantillon			ND
Étalonnage de matrice - 1 à 5 ppb	Chlorhydrine d'éthylène	Étalonnage	10,646	115	5,97
Étalonnage de matrice - 2 à 10 ppb	Chlorhydrine d'éthylène	Étalonnage	10,650	165	8,9
Étalonnage de matrice - 3 à 20 ppb	Chlorhydrine d'éthylène	Étalonnage	10,654	324	18,32
Étalonnage de matrice - 4 à 50 ppb	Chlorhydrine d'éthylène	Étalonnage	10,654	856	49,85
Étalonnage de matrice - 5 à 100 ppb	Chlorhydrine d'éthylène	Étalonnage	10,657	1 676	98,46
Étalonnage de matrice - 6 à 200 ppb	Chlorhydrine d'éthylène	Étalonnage	10,657	3 449	203,5
Sésame_ECH DOP_10 ppb	Chlorhydrine d'éthylène	Échantillon	10,673	184	10,08
Sésame_ECH DOP_50 ppb	Chlorhydrine d'éthylène	Échantillon	10,676	859	50,04
Sésame_ETO DOP_10 ppb	Chlorhydrine d'éthylène	Échantillon	10,673	267	8,23
Réplique-1 dop. à 50 ppb	Chlorhydrine d'éthylène	Échantillon	10,699	821	47,8
Réplique-2 dop. à 50 ppb	Chlorhydrine d'éthylène	Échantillon	10,707	804	46,79
Réplique-3 dop. à 50 ppb	Chlorhydrine d'éthylène	Échantillon	10,714	811	47,2
Réplique-4 dop. à 50 ppb	Chlorhydrine d'éthylène	Échantillon	10,718	829	48,29
Réplique-5 dop. à 50 ppb	Chlorhydrine d'éthylène	Échantillon	10,737	842	49,05
Réplique-6 dop. à 50 ppb	Chlorhydrine d'éthylène	Échantillon	10,733	810	47,14

Tableau 5. Rendement dans des échantillons de graines de sésame.

Nom du composé	Quantité de dopage (ng/g)	Quantité observée (ng/g)	Quantité finale (ng/g)	Recouvrement (%)
Chlorhydrine d'éthylène	10	10,078	10,078	100,8
	50	50,036	50,036	100,1
Oxyde d'éthylène	10	14,96	8,228	82,3

Conclusion

Une méthode robuste et exacte a été développée pour l'analyse de l'oxyde d'éthylène et de la chlorhydrine d'éthylène dans des graines de sésame. La méthode de préparation d'échantillons fait appel à des étapes simples et moins chronophages. Il a été démontré que la LOQ de la méthode était de 10 ng/g dans les échantillons. Des résultats reproductibles ont été obtenus pour six répliques d'échantillons dopés. Un rendement satisfaisant a été observé pour une concentration de dopage de 10 ng/g d'oxyde d'éthylène et de chlorhydrine d'éthylène dans des échantillons de graines de sésame. Ainsi, la méthode présentée dans cette étude s'avère utile pour l'analyse de routine d'échantillons de graines de sésame ayant subi une fumigation avec de l'oxyde d'éthylène dans les limites réglementaires établies.

Références

1. Tateo, F. ; Benoni, M. Determination of Ethylene Chlorohydrin as Marker of Spices Fumigation with Ethylene Oxide. *JFCA* **2006**, 19, 83–87.
2. Procedure for Control of Contamination of Salmonella, Residues of Pesticides Including Ethylene Oxide (EO) in Sesame Seeds for Export to EU Countries. Indian Oil Seeds and Produce Export Promotion Council.
http://www.iopepc.org/misc/2020/Procedure_1.pdf