

Оценка уровня окиси этилена и этиленхлоргидрина в семенах кунжута с помощью системы газовой хроматографии Agilent 8890 и трехквадрупольного масс-спектрометра 7000D

Авторы

Правин Арья (Praveen Arya),
Вивек Диани (Vivek Dhyani)
и д-р Самир Виас
(Dr. Samir Vyas)
Agilent Technologies, Inc.

Аннотация

В данных рекомендациях по применению описано использование системы газовой хроматографии Agilent 8890 совместно с ГХ-МС трехквадрупольным масс-спектрометром Agilent 7000D для количественного определения окиси этилена и этиленхлоргидрина в пробах семян кунжута. Методика позволяет получить максимально достоверные результаты при рутинном анализе в пищевой индустрии, в том числе при производстве, обработке, хранении или коммерческом тестировании проб семян кунжута, а также в академических целях. Во время пробоподготовки остаточная окись этилена в пробе превращается в этиленхлоргидрин, затем проводится жидкость-жидкостная экстракция (ЖЖЭ) с этилацетатом, после чего — очистка перед введением в ГХ/ТК. Предел количественного определения, достигнутый в матрице, составил 10 млрд д.

Окись этилена используется для стерилизации семян масличных культур и специй во время хранения. Остаточное количество окиси этилена и ее производного, этиленхлоргидрина (образуется вследствие химических реакций во время хранения), может быть обнаружено в указанных пищевых продуктах¹. Этиленхлоргидрин может использоваться в качестве маркера, подтверждающего применение обработки окисью этилена. Количество этиленхлоргидрина можно определить в семенах кунжута простым аналитическим методом ГХ/ТК. Такой метод также позволяет оценить изначальное количество окиси этилена в пробе с помощью расчетного коэффициента.

Методика, описанная в этой работе, позволяет обнаружить этиленхлоргидрин в качестве маркера обработки семян кунжута окисью этилена с помощью системы ГХ Agilent 8890 и трехквадрупольного МС 7000D (предел количественного определения — 10 нг/г, что соотносится с предельной допустимой концентрацией в Евросоюзе, равной 50 нг/г)².

Экспериментальная часть

Необходимые реактивы

- 0,1 N раствор серной кислоты (0,981 г серной кислоты, растворенной в 100 мл воды)
- Насыщенный водный раствор хлорида натрия
- Вода (Millipore, Milli-Q)
- Этилацетат (пригодный по степени чистоты для жидкостной хроматографии высокого давления)
- Набор для дисперсионной очистки Agilent QuEChERS (каталожный номер 5982-0028)
- Эталонный стандарт окиси этилена (Sigma-Aldrich, каталожный номер CRM48891)
- Эталонный стандарт этиленхлоргидрина (Merck, каталожный номер 8.00945.0100)

Необходимая аппаратура

В этом исследовании использовались система ГХ Agilent 8890, оборудованная универсальным многорежимным испарителем с настроенной опцией постколоночной обратной продувки и трехквadrupольный МС 7000D, ультразвуковая ванна, водяная баня, охлаждаемая центрифуга, настольная центрифуга и вихревая мешалка. Выполнялись следующие действия:

1. Взвесить 2 г пробы и поместить в центрифужную пробирку объемом 50 мл.
2. Добавить 2 мл воды, 2 мл 0,1 N H_2SO_4 и 1 мл насыщенного раствора хлорида натрия.
3. Поместить в ультразвуковую ванну на 20 минут.
4. Переместить пробу в водяную баню при температуре 50 °C на 1 час.
5. Перемешивать до достижения пробой комнатной температуры.
6. Добавить 5 мл этилацетата и перемешивать в течение 10 минут.
7. Отцентрифугировать при 8 000 об/мин в течение 5 мин при температуре 5 °C.
8. Взять 1 мл надосадочной жидкости и добавить ее в пробирку для дисперсионной очистки QuEChERS (универсальную) (каталожный номер 5982-0028).
9. Встряхнуть и отцентрифугировать при 5 000 об/мин в течение 5 мин.
10. Собрать надосадочную жидкость в виалу и ввести в ГХ-МС-МС.

Таблица 1. Методика ГХ.

Условия ГХ	
Колонка	Agilent VF-624 мс, 60 м × 0,25 мм, 1,4 мкм (каталожный номер CP9103)
Испаритель	Универсальный многорежимный испаритель Agilent 5190-2293, лайнер без деления потока Объем ввода: 2 мкл
Режим ввода пробы	Пульсами, без деления потока, 25 psi до 0,8 мин, продувка регулятора деления потока 40 мл/мин на 1,25 мин
Температура испарителя	250 °C
Термостат	60 °C (2 мин), на скорости 10 °C/мин до 150 °C, на скорости 40 °C/мин до 250 °C, ожидание 20 мин
Газ-носитель	99,9995% гелий, постоянный поток с расходом 1,0 мл/мин

Таблица 2. МС-параметры методики МС.

Режим МСД	
Температура квадрупольного масс-фильтра	150 °C
Температура источника ионизации	EI 280 °C
Температура транспортной линии	250 °C
MRM-переход для этиленхлоргидрина	82 → 31 (CE: 5) 80 → 43 (CE: 5) 80 → 31 (CE: 5)
Режим EMV	Коэффициент усиления: 10
Время задержки для каждого перехода	75
Задержка для устранения эффектов растворителя	9,5

Результаты и обсуждение

При использовании описанной методики оценочное значение предела количественного определения этиленхлоргидрина в пробах семян кунжута было равно 10 нг/г. Пик был легко отличим от базовой линии, соотношения сигнал — шум матрицы были $> 2,9$. На рис. 1 показаны хроматограммы по выделенным ионам, по которым проводились качественные и количественные расчеты при добавках на уровне предела количественного определения. Предел количественного определения соответствовал потребностям заказчиков и нормативным требованиям к предельно допустимой концентрации, равной 50 нг/г (в Евросоюзе). На рис. 2 показано соотношение сигнал — шум для уровней стандартов матриц 10 млрд д. и 50 млрд д.

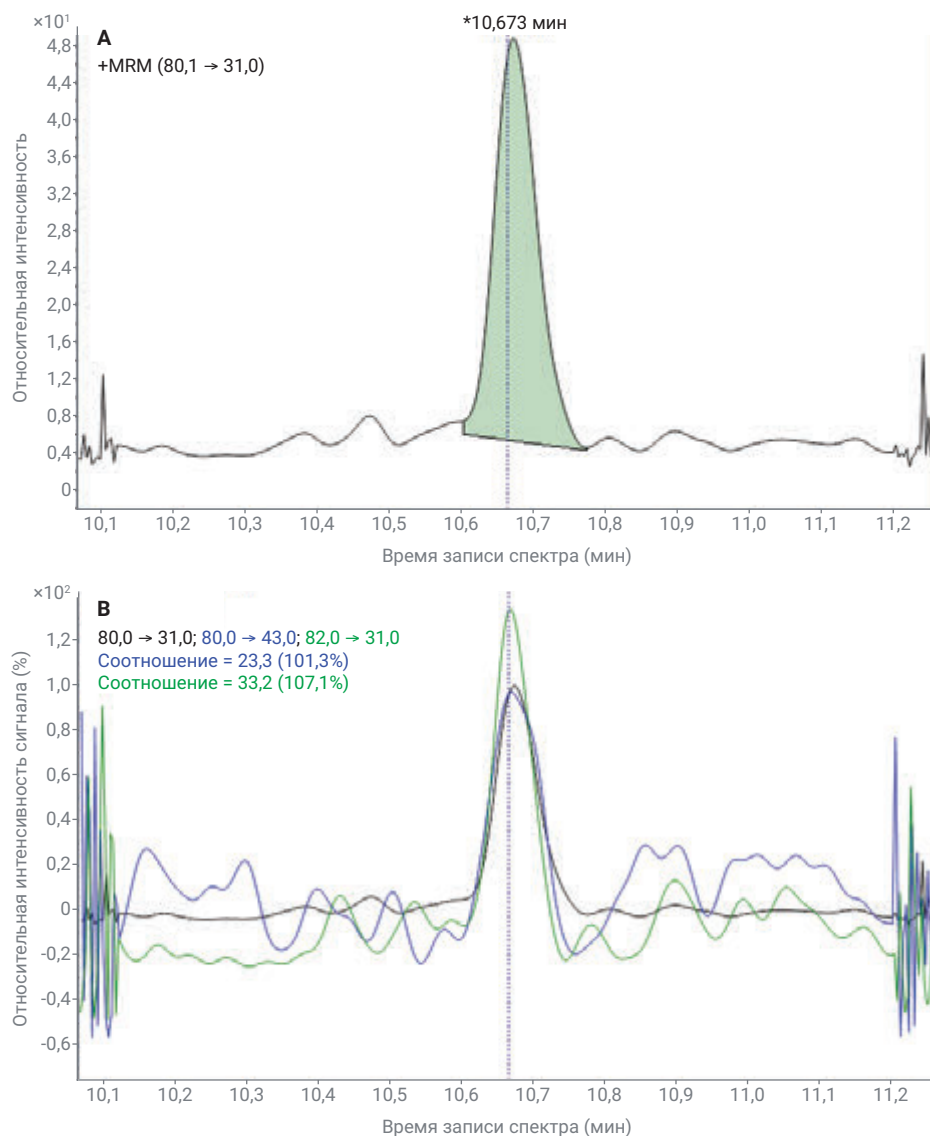


Рисунок 1. Пики ионов, по которым проводились количественные (1) и качественные (2) расчеты этиленхлоргидрина при заданной концентрации 10 нг/г.

Калибровка и линейность

Был сформирован график линейности матрицы до добавок для ответов (площадь пика) по уровням концентраций от 5 до 200 нг/г (рис. 4). Калибровка проводилась на шести уровнях: 5, 10, 20, 50, 100 и 200 нг/г. Отмечалась удовлетворительная линейность с $R^2 > 0,998$.

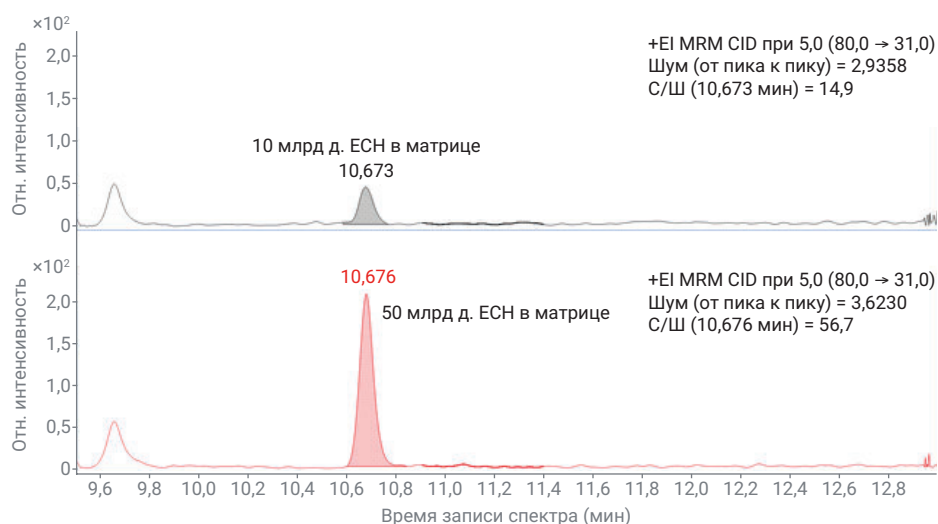


Рисунок 2. Чувствительность для этиленхлоргидрина: хроматограммы MRM заданных концентраций 10 нг/г и 50 нг/г.

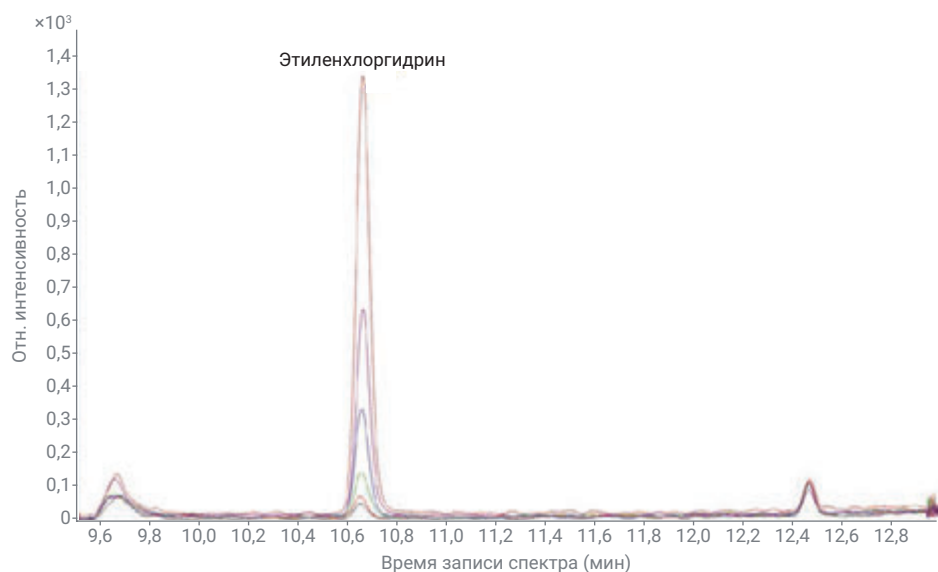


Рисунок 3. Наложение полных ионных хроматограмм MRM различных концентраций этиленхлоргидрина в матрице в диапазоне от 5 до 200 млрд д.

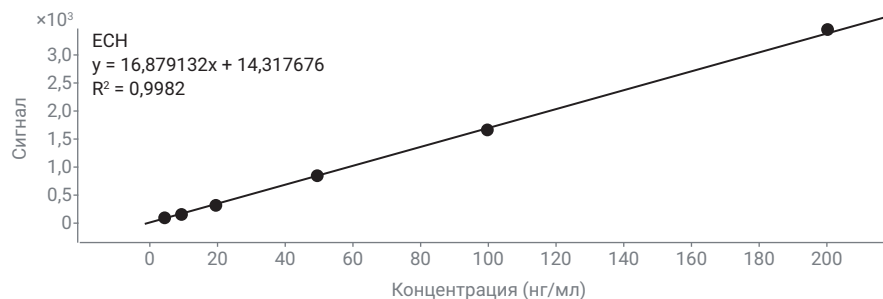


Рисунок 4. Калибровочная кривая для проверочных стандартов матрицы для этиленхлоргидрина.

Повторяемость

Повторяемость элюции была продемонстрирована путем введения стандарта этиленхлоргидрина в матрицу с концентрацией 50 млрд д. Относительное стандартное отклонение площадей пиков этиленхлоргидрина, рассчитанных на основании 6 параллельных введений стандартов матриц с концентрацией 50 млрд д, было равно 1,73%, как показано в табл. 3.

Количественный анализ проб семян кунжута

Описанная методика была применена к пробе семян кунжута, приобретенных на местном рынке с целью проведения анализа и исследования степени извлечения.

Исследование степени извлечения

Как показано в табл. 4, в холостой матрице семян кунжута не было выявлено пика, соответствующего этиленхлоргидрину. Извлечение этиленхлоргидрина и окиси этилена в пробах семян кунжута, доступных для приобретения, рассчитывалось на основании добавления в матрицу растворов анализируемых веществ с целью получения концентраций 10 и 50 млрд д. для этилена хлоргидрина и 10 млрд д. для окиси этилена.

Проводилось три исследования с добавлением в матрицу растворов анализируемых веществ с целью получения заданных концентраций:

1. Заданная концентрация этиленхлоргидрина в пробе семян кунжута 10 млрд д.
2. Заданная концентрация этиленхлоргидрина в пробе семян кунжута 50 млрд д.
3. Заданная концентрация окиси этилена в пробе семян кунжута 10 млрд д. Целью являлась проверка применимости методики для оценки содержания окиси этилена в пробе (в качестве множителя для расчета результатов пробы с заданной концентрацией окиси этилена использовался пересчетный коэффициент 0,55)². Полученные результаты определения степени извлечения в процентах обсуждаются в табл. 5.

Таблица 3. Процентное относительное стандартное отклонение (КВ) для этиленхлоргидрина для проверочного стандарта матрицы 50 млрд д.

Площадь ввода 1	Площадь ввода 2	Площадь ввода 3	Площадь ввода 4	Площадь ввода 5	Площадь ввода 6	ОСО, %
821	804	811	829	842	810	1,73

Таблица 4. Резюме данных количественного анализа для калибровки (от 5 до 200 млрд д.), извлечения в пробах с добавками до заданной концентрации (10 и 50 млрд д.) и испытания повторяемости (50 млрд д.).

Наименование пробы	Соединение	Тип пробы	ВУ	Интенсивность сигнала	Итоговая конц. (нг/г)
Холостая матрица_семена кунжута	Этиленхлоргидрин	Проба			н/о
Калибровочная матрица-1_5 млрд д.	Этиленхлоргидрин	Калибровка	10,646	115	5,97
Калибровочная матрица-2_10 млрд д.	Этиленхлоргидрин	Калибровка	10,650	165	8,9
Калибровочная матрица-3_20 млрд д.	Этиленхлоргидрин	Калибровка	10,654	324	18,32
Калибровочная матрица-4_50 млрд д.	Этиленхлоргидрин	Калибровка	10,654	856	49,85
Калибровочная матрица-5_100 млрд д.	Этиленхлоргидрин	Калибровка	10,657	1 676	98,46
Калибровочная матрица-6_200 млрд д.	Этиленхлоргидрин	Калибровка	10,657	3 449	203,5
Кунжут_доб. ЕСН_10 млрд д.	Этиленхлоргидрин	Проба	10,673	184	10,08
Кунжут_доб. ЕСН_50 млрд д.	Этиленхлоргидрин	Проба	10,676	859	50,04
Кунжут_доб. ЕТО_10 млрд д.	Этиленхлоргидрин	Проба	10,673	267	8,23
Доб. 50 млрд д. парал.-1	Этиленхлоргидрин	Проба	10,699	821	47,8
Доб. 50 млрд д. парал.-2	Этиленхлоргидрин	Проба	10,707	804	46,79
Доб. 50 млрд д. парал.-3	Этиленхлоргидрин	Проба	10,714	811	47,2
Доб. 50 млрд д. парал.-4	Этиленхлоргидрин	Проба	10,718	829	48,29
Доб. 50 млрд д. парал.-5	Этиленхлоргидрин	Проба	10,737	842	49,05
Доб. 50 млрд д. парал.-6	Этиленхлоргидрин	Проба	10,733	810	47,14

Таблица 5. Извлечение в пробе семян кунжута.

Название соединения	Заданная концентрация (нг/г)	Полученная концентрация (нг/г)	Итоговая концентрация (нг/г)	Извлечение (%)
Этиленхлоргидрин	10	10,078	10,078	100,8
	50	50,036	50,036	100,1
Окись этилена	10	14,96	8,228	82,3

Заключение

Разработан точный и грубый метод анализа окиси этилена и этиленхлоргидрина в семенах кунжута. Используемая методика пробоподготовки проста и занимает меньше времени. Предел количественного определения методики был равен 10 нг/г. В ходе исследования шести параллельных проб с добавлением анализируемого вещества для достижения заданной концентрации были получены повторяемые результаты. Для достигнутых заданных концентраций окиси этилена и этиленхлоргидрина в пробах семян кунжута, равных 10 нг/г, была получена удовлетворительная степень извлечения. Таким образом, описанная в данном исследовании методика доказала свою пригодность для рутинного анализа проб семян кунжута, подвергшихся стерилизации окисью этилена в указанных нормативных пределах.

Литература

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

www.agilent.com/chem

44419.2179050926

Информация в этом документе может быть изменена без предварительного уведомления.

© Agilent Technologies, Inc., 2021
Напечатано в США 11 августа 2021 г.
5994-3805RU