

## 使用多种 GCMS/MS 技术对芝麻籽中环氧乙烷 (EtO) 和 2-氯乙醇 (2-CE) 进行痕量分析

Sanket Chiplunkar, Aseem Wagle, Rahul Dwivedi, Sujit Patil, Durvesh Sawant, Prashant Hase, Nitish Suryawanshi, Jitendra Kelkar, Pratap Rasam, Dheeraj Handique Shimadzu Analytical (India) Pvt. Ltd.

06-SAIP-GC-031-CN

### 特点描述

- ◆ 单次分析中，在无衍生 / 转化条件下轻松定量低于 MRL 5 倍水平的 EtO 和 2-CE。
- ◆ 低维护频率下，动态 HS 方法所需的样品制备量更少，产生的污染和受到的干扰也更少。
- ◆ 使用动态 HS 单独测量 EtO 和 2-CE 时，得到了更低定量限。

### 简介

**概述** EtO 是世界上生产最广泛的化学品之一。它是一种无色、无味、易燃气态环醚。EtO 的沸点为 10.4°C，其具有极强的抗菌性。由于体积小，EtO 具有高扩散性和强渗透特性，因此在干食品中灭虫或消毒杀菌方面十分有效。EtO 的有效性比其他熏蒸剂（如溴甲烷、磷化氢等）高于约 10 倍。

对于生物而言，EtO 是一种高致癌性、致突变性、遗传毒性杂质，因此在食品基质中定量 EtO 至关重要。

**EtO、2-CE 及其代谢物：**印度和其他发展中国家已开始将 EtO 熏蒸作为一项减少芝麻籽被沙门氏菌和其他粪便细菌污染的发生率的对策。食品用 EtO 熏蒸后，蒸发和与基质成分反应是食品中 EtO 的主要耗散途径。

一旦与食品接触，EtO 与基质进行各种反应并产生各种反应产物，包括乙二醇、二乙二醇、二恶烷、2-溴乙醇（也称作溴乙醇）和 2-CE（称二氯乙醇）。此外，EtO 直接与基质成分（如氨基酸、嘌呤和脂肪酸）反应，形成羟乙基加合物。

2-CE 是 EtO 最突出的反应产物，也是一种极其有害的物质。基质中，2-CE 与脂肪酸反应，形成 2-CE 酯。

通气仅能在有限范围内清除 EtO、2-CE（图 1）及其各种反应产物，其中很多组分可作为 EtO 熏蒸的标志物。

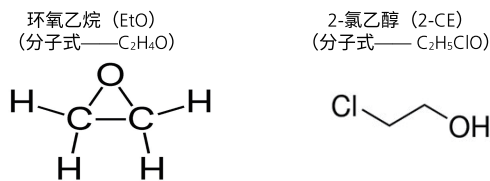


图 1 EtO 和 2-CE 的结构

**毒性 / 法规 / 方法：**欧洲化学品管理局 (ECHA) 已按致癌性、致突变性和生殖毒性将 EtO 归为 1B 类，按急性毒性将其归为 3 类。美国国立卫生研究院 (NIH) 基于人体研究包括传染病学研究和致癌作用机制研究中的致癌性的充分证据，将 EtO 归类为人体致癌物质。美国环保署 (EPA) 认定 EtO 通过吸入暴露途径对人体具有致癌性。

考虑到致癌性且无可接受暴露量阈值，尚未确定 EtO 的每日允许摄入量 (ADI)。

2-CE 和 2-溴乙醇也被认为具有微弱基因毒性和潜在致癌性。考虑到 2-CE 的不确定毒理学图，监管机构决定遵照预防方法，并认为 2-CE 的毒性等同于 EtO。

2008 年，监管机构决定为这两种成分引入一个联合残留的定义。“环氧乙烷与 2-氯乙醇之和，表示为环氧乙烷”且此残留定义在今天依然有效。

EtO 和 2-CE 的 EU-MRLS（按欧盟委员会最大残留量）总结见表 1。

表 1 EtO 和 2-CE 的 EU-MRLS

序号	产品	EtO 和 2-CE 的 EU-MRLS
1	茶、可可粉和香料	0.10 mg/kg
2	坚果、含油果和油籽	0.05 mg/kg
3	水果、蔬菜、含糖植物、真菌和豆类	0.02 mg/kg
4	谷类和动物源性产品	0.02 mg/kg
5	养蜂产品	0.05 mg/kg

与 EtO/2-CE 残留相关的商品主要包括香料、油籽和坚果。就此类商品（高含脂量和低含水量）而言，检测实验室广泛采用以下萃取方法：

A) QuEChERS 法 (EN 15662) 或

B) QuOil 法 (CEN/TS 17062:2019 改良)

使用配有液体进样器的 GC-MS 或 GC-MS/MS 分析利用上述方法获得的萃取溶液。不同基质需要优化清洗试剂，这可能对萃取效率产生不同的影响。

为克服这些困难，我们开发并优化了 3 种不同的动态顶空方法，使用配有 HS-20 NX & AOC™-20i/AOC™-20s 的 GCMS-TQ™ 8050 NX 对 EtO 和 2-CE 进行分析。



图 2 配有 HS-20 NX & AOC™-20i/AOC™-20s 的 GCMS-TQ™ 8050 NX

## 实验部分

使用全扫描模式分析 EtO 和 2-CE 标准品 (2 ppm) 的混合物。之后进行前体离子选择和不同碰撞能量 (CE) 下 MRM 优化, 得到了分段 MRM 和最佳碰撞能量的分析方法。

EtO 和 2-CE 标准品的优化 MRM 通道见表 2。

表 2 EtO 和 2-CE 的 MRM 通道

MRM 通道						
详情	MRM-1	CE	MRM-2	CE	MRM-3	CE
EtO	44>29	6	44>28	6	44>14	18
2-CE	80>31	6	80>44	5	82>31	6

## 方法

液体进样法简述见表 3。

表 3 液体进样法简述

方法详情	化合物名称	模式
方法 1	单一方法中的 EtO 和 2-CE	液体进样

所有三种顶空方法简述见表 4。

表 4 顶空方法简述

方法详情	化合物名称	模式
方法 2	单一方法中的 EtO 和 2-CE	顶空进样
方法 3	仅 2-CE	
方法 4	仅 EtO	

液体进样和顶空进样的分析条件相关简述见表 5。

表 5 分析条件

GCMS 系统	: GCMS-TQ8050 NX		
液体进样器	: AOC-20i 和 AOC-20s		
顶空进样器	: HS-20 NX (动态顶空)		
气相色谱法参数			
毛细管柱	: RTX-VMS (60 mx0.45 mm 内径 x2.55um df)		
进样模式	: 分流		
流量控制模式	: 柱流量		
载气	: 氮气		
柱流量	: 3.00 mL/min		
线速度	: 44.0 cm/s		
吹扫流量	: 3.0 mL/min		
分流比	: 5 (液体进样法)		
稀释剂	: 乙腈		
温度程序	升温速率 (°C/min)	温度 (°C)	保持时间 (min)
		35.0	5.00
	20	235.0	5.00
MS 参数			
离子化模式	: EI		
离子源温度	: 230 °C		
接口温度	: 230 °C		
CID 气	: 氩气		
CID 气体压力	: 200 kPa		
调谐	: 高灵敏度		

顶空参数和分流比				
方法	:	2	3	4
恒温炉温度	:	115 °C	110 °C	115 °C
样品流路温度	:	120 °C	120 °C	120 °C
传输线温度	:	130 °C	130 °C	130 °C
捕集阱冷却温度	:	-10 °C	-10 °C	-10 °C
捕集阱解吸温度	:	280 °C	260 °C	280 °C
捕集阱平衡温度	:	-10 °C	-10 °C	-10 °C
振荡水平	:	5	5	5
多次进样计数	:	1	10	1
加压气体压力 (kPa)	:	192	192	192
平衡时间 (min)	:	15	15	15
加压时间 (min)	:	0.5	0.5	0.5
压力平衡时间 (min)	:	0.1	0.1	0.1
导入时间 (min)	:	0.5	0.5	0.5
导入平衡时间 (min)	:	0.1	0.1	0.1
干吹扫时间 (min)	:	0	0	0
进样时间 (min)	:	10	15	10
洗针时间 (min)	:	10	15	10
GC 循环时间 (min)	:	35	35	35
分流比	:	20	5	20
总流量 (mL)	:	66	21	66
捕集管	:	Tenax TA		
带隔垫瓶盖	:	P/N - 226-84523-11		
20 mL 顶空瓶	:	P/N - 226-84520-02		

\* 对于此应用, 使用上述小瓶和带隔垫瓶盖

## 液体进样 (方法 1)

(液体进样法分析芝麻籽中的 EtO 和 2-CE)

## 样品分析

(液体进样法萃取芝麻籽中的 EtO 和 2-CE)

5000 mg 芝麻籽样品 +10000 µL 稀释剂 (乙腈),  
混合均匀并涡旋 15 min

以 5000 rpm 的速率在 10°C 下离心 5 min

从上述溶液中取 5000 µL 上清液, 转移至 15 mL 的 Tarson 管中

加入清洗试剂, 并涡旋 5 min

以 5000 rpm 的速率在 10°C 下离心 5 min

从上述溶液 (基质空白) 中取上清液, 使用配有液体取样器的 GC-MS/MS 继续进行分析。

对优化后的萃取方法和 GC-MS/MS 方法进行部分方法学验证 (依据 ICH 指导原则)。

## 线性溶液

线性标准储备液按表 6 所述进行制备。

表 6 线性标准储备液制备

线性水平	线性储备液浓度 (ppb)	从储备液中 所取体积 ( $\mu\text{L}$ )	稀释剂体积 ( $\mu\text{L}$ )	浓度 (ppb)
水平 1	1000	125	9875	12.5
水平 2		250	9750	25
水平 3		500	9500	50
水平 4		1250	8750	125
水平 5		2500	7500	250

## 基质匹配线性溶液

基质匹配线性标准溶液按表 7 所述进行制备。

表 7 基质匹配线性标准溶液制备

线性水平	线性水平溶液浓度 (ppb)	从线性水平 溶液中所取 体积 ( $\mu\text{L}$ )	基质空白体 积 ( $\mu\text{L}$ )	浓度 (ppb)
MM 水平 -1	12.5	200	800	2.5
MM 水平 -2	25	200	800	5
MM 水平 -3	50	200	800	10
MM 水平 -4	125	200	800	25
MM 水平 -5	250	200	800	50

MM= 基质匹配

注：在液体进样法回收研究中，使用了后加标的基质匹配校准标准溶液计算前加标的（前处理过程中加标的）芝麻籽样品中 EtO 和 2-CE 的浓度。

## 加标回收试验

称取 5000 mg ( $\pm 10\%$ ) 芝麻籽，加入相应  $\mu\text{L}$  的线性标准储备液。再加入稀释剂定容至 10000  $\mu\text{L}$ ，然后进行上述萃取程序。

图 3 和图 4 描绘了方法 1 中 EtO 和 2-CE 的校准曲线、线性标准品叠加和 LOQ 水平色谱图。

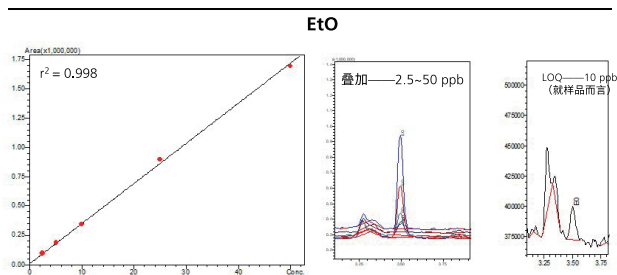


图 3 EtO 的校准曲线、线性标准品叠加及 LOQ 溶液色谱

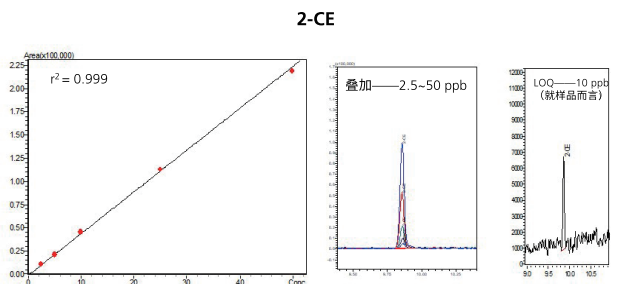


图 4 2-CE 的校准曲线、线性标准品叠加及 LOQ 溶液色谱图

## 验证参数

线性：

校准标准品汇总表 8。

表 8 线性汇总（每一水平 n=3）

方法 =>	方法 1	
	EtO	2-CE
线性水平 (柱上)	2.5, 5, 10, 25 & 50 ppb	
$r^2$ (n=3)	0.99889	0.99917

r= 线性相关系数

精密度：

精密度标准溶液汇总表 9。

表 9 精密度汇总 (n=6)

方法 =>	方法 1	
	EtO	2-CE
LOQ 水平浓度	10 ppb	10 ppb
%RSD (n=6)	7.7	9.4
S/N	14	34

RSD= 相对标准偏差

S/N= 信噪比

准确度：

准确度汇总表 10。

表 10 准确度汇总（每一水平 n=3）

方法 =>	方法 1	
	EtO	2-CE
加标 LOQ 浓度	10 ppb	10 ppb
平均回收率 % (n=3)	73%	85%
%RSD (n=3)	8.8	4.9
加标中浓度	20 ppb	20 ppb
平均回收率 % (n=3)	79%	96%
%RSD (n=3)	6.3	2.8
加标最高浓度	50 ppb	50 ppb
平均回收率 % (n=3)	85%	98%
%RSD (n=3)	2.3	2.9

### 液体进样法的优点

- 在单次分析中，可同时测定 LOQ 为 10 ppb 的 EtO 和 2-CE。
- 无需使用其他附件，也不要求进行其他样品制备（即衍生）。
- 非衍生方法杜绝了样品制备中不完全衍生或发生错误的可能性。

### 液体进样法的缺点

- 视基质类型而定，液体进样法可能要求开发样品清洗程序以清除基质干扰或基质效应。
- 即使经过适当清洗，基质被引入进样系统的几率仍然很高，而这种方法缩短了色谱柱、衬管、隔垫等耗材的寿命，并提高了维护需求。
- 基质效应可能需要制备基质匹配校准溶液，而这将导致需要制备额外的样品。
- 在进样口加热至高温的情况下，基质可能会对测试有干扰，从而导致定量错误。

## ■ 动态顶空进样（方法 2）

（单一方法分析芝麻籽中的 EtO 和 2-CE）

### ■ 线性溶液

线性标准溶液按表 11 所述进行制备。

表 11 线性标准溶液制备

线性水平	线性储备液浓度 (ppb)	从储备液中 所取体积 ( $\mu\text{L}$ )	稀释剂体积 ( $\mu\text{L}$ )	浓度 (ppb)
水平 1	100	1000	9000	10
水平 2		2000	8000	20
水平 3		3000	7000	30
水平 4		4000	6000	40
水平 5		5000	5000	50

从上述溶液中取 100  $\mu\text{L}$ ，转移至 20 mL 顶空瓶，并按优化后的方法进行分

### ■ 样品分析

#### 萃取芝麻籽中的 EtO 和 2-CE



### ■ 加标回收试验

称取 1000 mg ( $\pm 10\%$ ) 芝麻籽样品，然后加入 1000  $\mu\text{L}$  对应的线性标准溶液，之后进行上述萃取程序。

图 5 和图 6 描绘了方法 2 中 EtO 和 2-CE 的校准曲线、线性标准品叠加和 LOQ 水平色谱图。

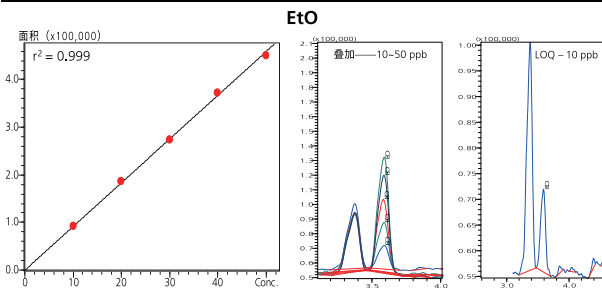


图 5 EtO 的校准曲线、线性标准品叠加及 LOQ 溶液色谱图

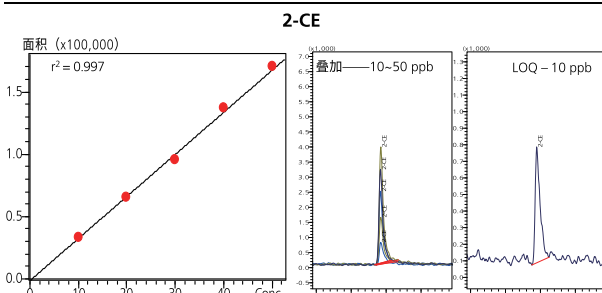


图 6 2-CE 的校准曲线、线性标准品叠加及 LOQ 溶液色谱图

## ■ 动态顶空进样（方法 3）

（仅分析芝麻籽中的 2-CE 的分法）

### ■ 线性溶液

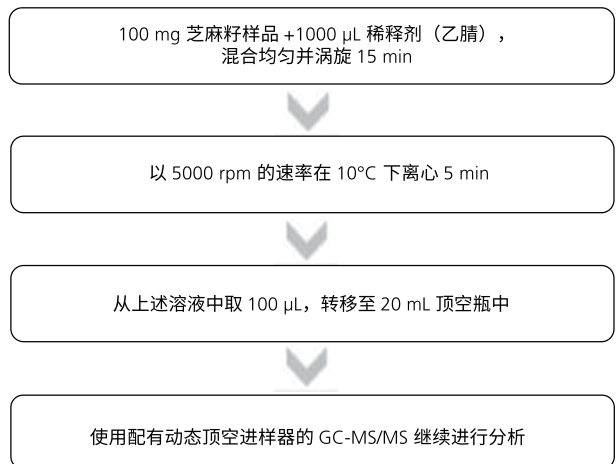
线性标准溶液按表 12 所述进行制备。

表 12 线性标准溶液制备

线性水平	线性储备液浓度 (ppb)	从储备液中 所取体积 ( $\mu\text{L}$ )	稀释剂体积 ( $\mu\text{L}$ )	浓度 (ppb)
水平 1	10	100	9900	0.1
水平 2		500	9500	0.5
水平 3		1000	9000	1.0
水平 4		2000	8000	2.0
水平 5		3000	7000	3.0
水平 6		4000	6000	4.0
水平 7		5000	5000	5.0

### ■ 样品分析

#### 萃取芝麻籽中的 2-CE



### ■ 加标回收试验

称取 100 mg ( $\pm 10\%$ ) 芝麻籽样品，然后加入 1000  $\mu\text{L}$  对应的线性标准溶液，之后进行上述萃取程序。

图 7 描绘了方法 3 中 2-CE 的校准曲线、线性标准品叠加和 LOQ 水平色谱图。

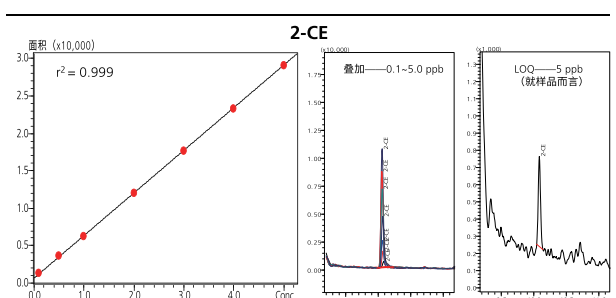


图 7 2-CE 的校准曲线、线性标准品叠加及 LOQ 溶液色谱图

## 动态顶空进样 (方法 4)

(仅分析芝麻籽中的 EtO 的分离法)

### 线性溶液

线性标准溶液按表 13 所述进行制备。

表 13 线性标准溶液制备

线性水平	线性储备液浓度 (ppb)	从储备液中 所取体积 ( $\mu\text{L}$ )	稀释剂体积 ( $\mu\text{L}$ )	浓度 (ppb)
水平 1	100	200	9800	2
水平 2		400	9600	4
水平 3		600	9400	6
水平 4		800	9200	8
水平 5		1000	9000	10

从上述溶液中取 1000  $\mu\text{L}$ ，转移至 20 mL 顶空瓶，并按优化后的方法进行分析。

### 样品分析

#### 萃取芝麻籽中的 EtO

5000 mg 芝麻籽样品 + 5000  $\mu\text{L}$  稀释剂 (乙腈)，  
混合均匀并涡旋 15 min

以 5000 rpm 的速率在 10°C 下离心 5 min

从上述溶液中取 1000  $\mu\text{L}$ ，转移至 20 mL 顶空瓶中

使用配有动态顶空进样器的 GC-MS/MS 继续进行分析

### 加标回收试验

称取 5000 mg ( $\pm 10\%$ ) 芝麻籽样品，然后加入 5000  $\mu\text{L}$  对应的线性标准溶液，之后进行上述萃取程序。

图 8 描绘了方法 4 中 EtO 的校准曲线、线性标准品叠加及 LOQ 水平色谱图。

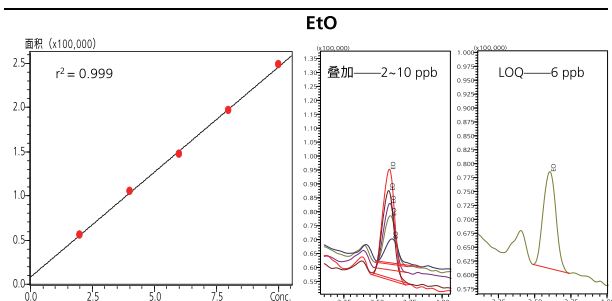


图 8 EtO 的校准曲线、线性标准品叠加及 LOQ 溶液色谱图

## 验证参数

线性:

校准标准品汇总表 14。

表 8 线性汇总 (每一水平 n=3)

方法 =>	方法 2	方法 3	方法 4
	EtO 和 2-CE	2-CE	EtO
线性水平 (柱上)	10、20、30、40 和 50 ppb	0.1、0.5、1.0、 2.0、3.0、4.0 和 5.0 ppb	2、4、6、8 和 10 ppb
$r^2$ (n=3)	EtO——0.99950	0.99974	0.99906
	2-CE——0.99785		

r = 线性相关系数

精密度:

精密度标准溶液汇总表 15。

表 15 精密度汇总 (n=6)

方法 =>	方法 2		方法 3	方法 4
	EtO	2-CE	2-CE	EtO
LOQ 水平浓度	10 ppb	10 ppb	5.0 ppb	6 ppb
%RSD (n=6)	2.1	4.9	9.1	1.7
S/N	16	57	53	26
中水平浓度	30 ppb	30 ppb	30 ppb	-
%RSD (n=6)	2.1	2.6	4.1	-
S/N	38	99	197	-
最高水平浓度	50 ppb	50 ppb	50 ppb	10 ppb
%RSD (n=6)	2.2	4.1	3.7	1.4
S/N	110	152	410	44

准确度:

准确度汇总表 16。

表 16 准确度汇总 (每一水平 n=3)

方法 =>	方法 2		方法 3	方法 4
	EtO	2-CE	2-CE	EtO
加标 LOQ 浓度	10 ppb	10 ppb	5 ppb	6 ppb
平均回收率 % (n=3)	91%	121%	102%	82%
%RSD (n=3)	1.9	2.0	1.3	1.0
加标中浓度	30 ppb	30 ppb	30 ppb	-
平均回收率 % (n=3)	88%	113%	98%	-
%RSD (n=3)	5.9	1.3	1.6	-
加标最高浓度	50 ppb	50 ppb	50 ppb	10 ppb
平均回收率 % (n=3)	91%	101%	100%	90%
%RSD (n=3)	3.0	2.6	2.2	1.4

#### 顶空进样法的优点

- 与液体进样技术相比，动态顶空在样品制备、更低的基质干扰和痕量水平定量方面颇具优势。
- 使用方法 2 可在单次分析中测量 LOQ 为 10 ppb 的 EtO 和 2-CE，而使用方法 3 可在 5 ppb LOQ 浓度下测量 2-CE，使用方法 4 可在 6 ppb LOQ 浓度下测量 EtO。
- 由于未使用清洗试剂或萃取盐，因此无需额外样品制备，最大限度降低了发生错误的几率。

#### 顶空进样法的缺点

- 动态顶空为额外的附件

比较两种分析模式 (液体和顶空) 获得的数据，结果汇总表 17。

表 17 比较数据汇总

方法 =>	液体进样法		顶空进样法			
	方法 1		方法 2		方法 3	方法 4
	EtO	2-CE	EtO	2-CE	2-CE	EtO
LOQ 水平浓度 (柱上)	5 ppb	5 ppb	10 ppb	10 ppb	0.5 ppb	6 ppb
LOQ 水平浓度 (就样品而言)	10 ppb	10 ppb	10 ppb	10 ppb	5 ppb	6 ppb
%RSD (n=6)	7.7	9.4	2.1	4.9	9.1	1.7
线性水平 (柱上)	2.5,5,10,25 & 50 ppb		10,20,30,40 & 50 ppb		0.1,0.5,1.0,2.0,3.0, 4.0 & 5.0 ppb	2,4,6,8 & 10 ppb
线性水平 (就样品而言)	5,10,20,50 & 100 ppb		10,20,30,40 & 50 ppb		1,5,10,20,30, 40 & 50 ppb	2,4,6,8 & 10 ppb
r <sup>2</sup> (每一水平 n=3)	0.99889	0.99917	0.99950	0.99785	0.99974	0.99906
加标 LOQ 水平 (柱上)	5 ppb	5 ppb	10 ppb	10 ppb	0.5 ppb	6 ppb
加标 LOQ 水平 (就样品而言)	10 ppb	10 ppb	10 ppb	10 ppb	5 ppb	6 ppb
平均回收率 % (n=3)	73%	85%	91%	121%	102%	82%
加标最高水平 (柱上)	25 ppb	25 ppb	50 ppb	50 ppb	5 ppb	10 ppb
加标最高水平 (就样品而言)	50 ppb	50 ppb	50 ppb	50 ppb	50 ppb	10 ppb
平均回收率 % (n=3)	85%	98%	91%	101%	100%	90%
最低浓度 (柱上)	2.5 ppb	2.5 ppb	10 ppb	10 ppb	0.1 ppb	2 ppb
最低浓度 (就样品而言)	5 ppb	5 ppb	10 ppb	10 ppb	1 ppb	2 ppb
样品制备时间	35-40 min		20-25 min		20-25 min	20-25 min
样品制备浓度	50%		100%		10%	100%
成本	清洗试剂 /QuEChERS——需要		清洗试剂 /QuEChERS——不需要			
法规依从性	符合 EU-MRL		符合 EU-MRL			

## 结果

- 使用配有 AOC-20i 和 AOC-20s 液体自动进样器 /HS-20 NX 顶空进样器 (动态) 的岛津 GCMS-TQ8050 NX 成功对芝麻籽中的 EtO 和 2-CE 杂质进行了痕量级定量。
- 配有 AOC-20i 和 AOC-20s 液体自动进样器 /HS-20 NX 顶空进样器 (动态) 的岛津 GCMS-TQ8050 NX 是分析 EtO 和 2-CE 的完整工具。

## 结论

- 在 EtO 和 2-CE 分析中, 动态顶空模式的表现强于当前法规限值。相较于液体进样技术, 动态顶空在样品制备、更低的基质干扰和精确定量方面有较大优势。
- 岛津 GCMS-TQ8050 NX 具有新型高效检测器以及优越的降噪、技术, 提高了灵敏度, 可在痕量水平上实现对 EtO 和 2-CE 的定量。

岛津应用云



GCMS-TQ 和 AOC 是岛津制作所在日本和 / 或其他国家的商标。



岛津企业管理 (中国) 有限公司  
岛津 (香港) 有限公司

<http://www.shimadzu.com.cn>

用户服务热线电话: 800-810-0439  
400-650-0439

免责声明:

\* 本资料未经许可不得擅自修改、转载、销售;  
\* 本资料中的所有信息仅供参考, 不予任何保证。  
如有变动, 恕不另行通知。

第一版发行日: 2022 年 6 月