

周 玮,徐文君,颜春荣,等. 全自动固相萃取-气质联用测定酒中氨基甲酸乙酯[J]. 江苏农业科学,2013,41(7):290-291.

全自动固相萃取-气质联用测定酒中氨基甲酸乙酯

周 玮,徐文君,颜春荣,徐春祥

(江苏省产品质量监督检验研究院食品检测中心,江苏南京 210007)

摘要:建立了 1 种用于测定酒中氨基甲酸乙酯含量的全自动固相萃取-气质联用的检测方法,并对测定方法进行了研究。结果表明:选用 DB-225MS(60 m×0.250 mm×0.25 μm)毛细管色谱柱,在 SIM 模式下选择定性离子为 m/z 62、 m/z 74、 m/z 89,定量离子为 m/z 62 可以较好地对酒中的氨基甲酸乙酯进行分析。试验所得检测方法在含量 10~100 μg/L 内的线性关系良好,相关系数为 0.999 1,加标回收率为 81.2%,重复进样 6 次的 RSD 为 0.36%,检出限为 1 μg/L,因此可被应用于测定市售的几种酒类中的氨基甲酸乙酯。

关键词:酒;氨基甲酸乙酯;固相萃取;气质联用

中图分类号: TS207.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)07-0290-02

氨基甲酸乙酯(ethyl carbamate, EC; 又称 urethane)早在 1943 年就被证实是一种致癌物质^[1]。研究表明,对于啮齿类动物,EC 是一种多位点致癌物,可导致啮齿类动物肺癌、淋巴瘤、肝癌和皮肤癌等疾病,并且发现乙醇对 EC 的致癌性有促进作用^[2]。1971 年, Lofroth 和 Gejvall 在葡萄酒中发现了 EC; 1976 年, Ough 在酸乳酪和葡萄酒中检测到了 EC^[3-4]。此后,在 20 世纪 70—80 年代,世界各国的研究学者先后在蒸馏酒、白兰地、威士忌、酱油和面包等发酵饮料和食品中检测到了 EC。这些发现引起了各国政府对发酵食品中 EC 含量的重视,世界卫生组织也提议规定酒类饮料中 EC 的限量标准。1985 年,加拿大卫生与预防部门(Health Protection Branch of Canada)对乙醇饮料中的 EC 含量制定了强制性限量标准:佐餐葡萄酒 30 μg/L,加强葡萄酒 100 μg/L,蒸馏酒 150 μg/L,烈性酒和水果白兰地 400 μg/L,日本清酒 100 μg/L。在随后的 1988 年,美国食品和药品管理局(US FDA)、美国葡萄酒研究所和美国酒商协会制定了有关葡萄酒中 EC 含量的非强制性标准:1988 年以后生产的佐餐葡萄酒(乙醇度≤14%)中 EC 含量不能超过 15 μg/L,1989 年以后生产的甜葡萄酒(乙醇度≥14%)中 EC 含量不能超过 60 μg/L。FAO/WHO 食品添加剂联合专家委员会(JECFA)第 64 次会议建议,为了保障人类的身体健康,应尽可能降低发酵饮料和食品中的 EC 含量。

为了降低乙醇饮料中的 EC 含量,各国政府都采取了相应措施,但我国对酒类中氨基甲酸乙酯的研究还比较滞后。目前我国尚无酒类中 EC 的限量标准,检测方法的标准仅有 SN 0285—1993《出口酒类中氨基甲酸乙酯残留量检测方法》^[5],但该方法的检出限和回收率难以满足实际检验工作的需要。本研究旨在建立一套能快速、准确地检验出酒类产品中 EC 的方法。

1 材料与方法

收稿日期:2012-12-25

作者简介:周 玮(1982—),男,江苏如东人,硕士,工程师,主要研究方向为食品安全。E-mail:oumiqiang@163.com。

1.1 试验仪器

7890A-5975C 气质联用仪(美国安捷伦);Preval SPE 304 全自动固相萃取仪(Polytech);离心机;氮吹仪;涡旋混匀器。

1.2 试验试剂

氨基甲酸乙酯、正己烷(色谱纯)、甲醇(色谱纯)、二氯甲烷(色谱纯),均购自国药集团;硅藻土固相萃取柱 EC20006,购自天津博纳艾杰尔科技有限公司。

1.3 标准曲线的绘制

准确称取 100 mg 氨基甲酸乙酯于 100 mL 容量瓶中,先用甲醇溶解再定容,即得浓度为 1.0 mg/mL 的储备液,存放于冰箱中备用。取 1.0 mg/mL 储备溶液,分别用甲醇稀释成 10、20、50、100 μg/L 的使用液。以氨基甲酸乙酯含量为横坐标、峰面积为纵坐标制作标准曲线。

1.4 试验条件

1.4.1 色谱条件 色谱柱:DB-225MS(60 m×0.250 mm×0.25 μm);进样口温度 230 ℃,柱温程序:初温 60 ℃,保持 5 min,然后以 10 ℃/min 的速度升至 200 ℃。载气为高纯氮气(99.999%),恒流模式,流速为 1.0 mL/min,不分流进样,进样量 1 μL。

1.4.2 质谱条件 EI 源源温 230 ℃;电子能量 70 eV;接口温度 280 ℃;电子倍增器电压 1 129 V;选择离子监测方式(SIM mode)中定性离子: m/z 62、 m/z 74、 m/z 89;定量离子 m/z 62;溶剂延迟:10 min。

1.5 前处理方法

固相萃取提取:称取 2.0 g 酒样加于固相萃取柱上,将固相萃取柱安置于自动固相萃取仪中。设置自动洗脱程序为:吸附时间 10 min,10 mL 正己烷(2 mL/min)淋洗除杂,10 mL 二氯甲烷(2 mL/min)洗脱收集。将收集的洗脱液于 30 ℃氮吹浓缩至 1 mL。

2 结果与讨论

2.1 色谱柱的选择

选用 HP-5MS 非极性色谱柱和 DB-225MS 极性色谱柱。结果表明:HP-5MS 的分离效果较差,在该色谱柱上的

溶剂峰和目标峰距离太近,容易产生干扰;DB-225MS 的分离效果较好,灵敏度和重现性好。EC 标准样品在 DB-225MS 上的表现见图 1。

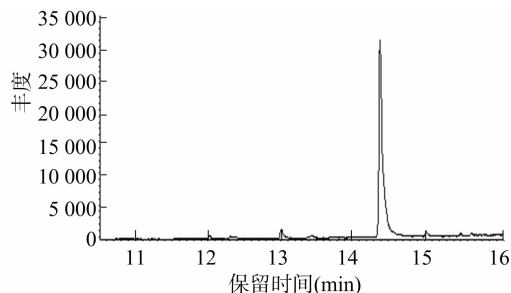


图1 EC标准图谱

2.2 目标离子的选择

在 SCAN 模式下,EC 的总离子如图 2 所示。丰度较高的离子为 m/z 31、 m/z 44、 m/z 62、 m/z 74、 m/z 89。其中 m/z 89 为分子离子, m/z 62 是大多数非氮取代的氨基甲酸类化合物的特征离子, m/z 74 也是特征性的碎片离子,但 m/z 89 和 m/z 74 的丰度较小,响应值弱,不宜作为定量离子。 m/z 31 和 m/z 44 在 NIST 库中也没有呈现(图 3),在实际试验中发现标样中的这 2 个碎片离子呈现一种不规律的变化,可能是由于溶剂中引入了杂质。

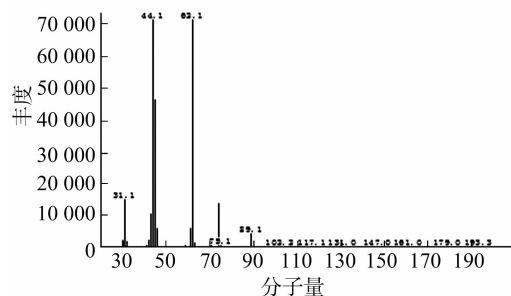


图2 EC总离子图

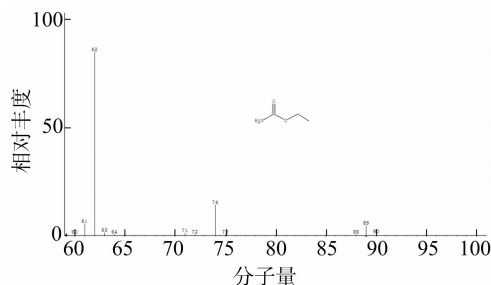


图3 NIST库中EC的离子图谱

2.3 工作曲线和检出限

按上述标准曲线的绘制方法,以标样峰面积和溶剂质量含量计算出回归方程和相关系数,并根据信噪比(S/N) = 3 计算出检出限。线性回归方程为: $y = 947x + 394$,线性相关系

数为 0.999 1。试验表明,在 10 ~ 100 $\mu\text{g/L}$ 范围内,该检测方法线性关系良好;当称样量为 2.00 g 时,检出限为 1 $\mu\text{g/L}$ 。

2.4 精密度和回收率

取浓度为 100 $\mu\text{g/L}$ 的标准工作溶液,进样 1 μL 进行仪器分析,重复测定 6 次,得到峰面积 RSD 为 0.36%。取试样并加入 1 mL 100 $\mu\text{g/L}$ 标准溶液,按上述方法进行样品前处理和测定,计算得到该方法的回收率为 81.2%。

2.5 酒样品的测定

测定了市售的 2 种黄酒和 2 种葡萄酒中的 EC 含量,部分样品的测定图谱见图 4。检测结果表明,2 种葡萄酒中的 EC 含量分别为 10.5、21.4 $\mu\text{g/kg}$,2 种黄酒中的 EC 含量分别为 10.4、33.0 $\mu\text{g/kg}$ 。

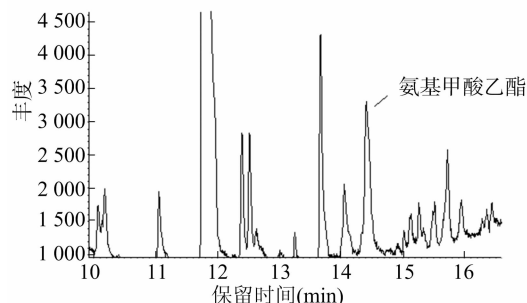


图4 酒样中的EC测定图谱

3 结论

本试验建立了酒中氨基甲酸乙酯的提取和测定方法。采用全自动固相萃取仪,提高了方法的精密度,降低了由于试验人员操作引入的误差。本研究采用了 DB-225MS 色谱柱,使酒中微量的氨基甲酸乙酯得到了良好的分离。本试验方法易于掌控、定量准确、重复性好。可以作为商检行业标准方法的替代方法使用。

参考文献:

- [1] Zimmerli B, Schlatter J. Ethyl carbamate; analytical methodology, occurrence, formation, biological activity and risk assessment[J]. Mutation Research/Genetic Toxicology, 1991, 259(3/4): 325-350.
- [2] Miller Y E, Dwyer-Nield L D, Keith R L, et al. Induction of a high incidence of lung tumors in C57BL/6 mice with multiple ethyl carbamate injections[J]. Cancer Letters, 2003, 198(2): 139-144.
- [3] Ough C S. Ethyl carbamate in fermented beverages and foods. II. Possible formation of ethyl carbamate from diethyl dicarbonate addition to wine[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1976, 24(2): 328-331.
- [4] Ough C S. Ethyl carbamate in fermented beverages and foods. I. Naturally occurring ethyl carbamate[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1976, 24(2): 323-328.
- [5] SN 0285—1993 出口酒类中氨基甲酸乙酯残留量检验方法[S].