气相色谱-质谱联用测定白酒中的氨基甲酸甲酯和氨基甲酸乙酯

谭文渊，袁 东，付大友，李艳清，王 蓉
(四川理工学院材料与化学工程学院，四川 自贡 643000)

摘 要：建立一种测定白酒中的氨基甲酸甲酯和氨基甲酸乙酯的气相色谱-质谱联用(gas chromatography-mass spectrometry，GC-MS)方法。GC-MS条件为：色谱柱HP-55%苯甲基硅氧烷(30.0m×0.25mm，0.25μm)，进样1μL(分流比50:1)，柱温170℃，质谱离子源温度230℃，四极杆温度150℃，全扫描方式的质量扫描范围*m/z* 30～500，溶剂延迟3min。样品采用氨基固相小柱萃取净化、氮吹浓缩定容。结果表明：氨基甲酸甲酯和氨基甲酸乙酯在2～30μg/mL范围内线性关系良好，相关系数为0.9923和0.9811，平均回收率为76.10%和75.43%，RSD为4.48%和4.00%。该方法可应用于白酒检测。

关键词：气质联用；氨基甲酸甲酯；氨基甲酸乙酯；白酒

Determination of Methyl Carbamate and Ethyl Carbamate in White Liquor by GC-MS

TAN Wen-yuan，YUAN Dong，FU Da-you，LI Yan-qing，WANG Rong
(Sichuan University of Science and Engineering, Zigong 643000, China)

Abstract：A gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) method has been established for the determination of methyl carbamate and ethyl carbamate in white liquor. The GC-MS conditions were column HP-55% phenylmethyl Siloxane (30.0 m × 0.25 mm, 0.25 μm) as the chromatography column, injection volume of 1 μL (split ratio, 50:1), column temperature of 170 ℃, ion source temperature of 230 ℃, quadrupole temperature of 150 ℃, mass scanning range (*m/z*) of 30－500 and solvent delay time of 3 min. The samples were purified by amino solid phase extraction column and then the eluent was evaporated to dryness using nitrogen blow. The results showed that the standard curves of methyl carbamate and ethyl carbamate revealed an excellent linear relationship in the concentration range of 2－30 μg/mL with a correlation coefficient of respectively 0.9923 and 0.9811. The average recovery rates of this determination method for methyl carbamate and ethyl carbamate were 76.10% and 75.43% with a RSD of 4.48% and 4.00%, respectively.

Key words：GC-MS；methyl carbamate；ethyl carbamate；liquor
中图分类号：TS207.3 文献标识码：A 文章编号：1002-6630(2011)16-0305-03

氨基甲酸甲酯(methyl carbamate，MC)和氨基甲酸乙酯(ethyl carbamate，EC)，无色无味，常温呈白色晶体或白色粉末状，在碱性和高温条件下易分解，沸点为177℃和183℃。EC是多位点致癌物，可导致肺肿瘤、淋巴癌、肝癌、皮肤癌等疾病[1]。国际癌症研究机构(international agency for research on cancer，IARC)指出，氨基甲酸乙酯对人类的致病毒性为2B群[2]。由于受多方面的限制，我国在酒精饮料中包括黄酒、葡萄酒、白酒、啤酒中均尚未制定MC和EC的限量标准。而MC和EC是酒精饮料酿制过程中(如白酒、葡萄酒、苹果酒等)的天然副产物[3-4]，在国内外已有报道在酒精饮料中检测出MC[5-6]和EC[7-11]。白酒是我国大众喜爱的酒精饮料，对于其中含有MC和EC残留的多少，尚有待进一步调查与分析。因此，白酒中MC和EC残留量的测定与调查的研究对于关注食品安全和公众健康都有着极为重要的意义。本研究对样品采用氨基固相萃取小柱纯化及氮吹浓缩处理，然后用气相色谱-质谱联用(gas chromatography-mass spectrometry，GC-MS)方法进行定性定量分析。

收稿日期：2010-11-01
基金项目：四川省教育厅应用技术研究与开发项目(08ZQ026-059)
作者简介：谭文渊(1980—)，男，实验师，硕士，主要从事仪器分析研究。E-mail：twyhyx@126.com

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

白酒样品为市售12种不同品牌白酒。

甲醇(色谱纯)；乙醇(分析纯)；乙酸乙酯、丙酮、二氯甲烷、正己烷等(均为分析纯)。MC和EC标准储备液：分别准确称取MC和EC各50.0mg，分别置于25mL容量瓶中，用乙腈溶解并稀释至刻度，制成2.0mg/mL的标准储备液，并用乙腈稀释成2、4、6、8、10、20、30μg/mL的使用液。

6890N GC-5975B intert XL MSD气相色谱-质谱联用仪配683B Series自动动进样器 美国Agilent公司；ASE-12固相萃取装置、MTN-2800D氮吹浓缩装置 天津奥特赛恩斯仪器有限公司；RE-2000旋转蒸发器 上海亚荣生化仪器厂；Mettle AB265-S型电子分析天平 瑞士梅特勒-托利多公司。

1.2 样品处理

用量筒准确量取300mL待测白酒样品于旋转蒸发烧瓶中，调节加热水温到70℃，调节转速，使烧瓶以较慢的转速转动。使300mL酒样在旋转蒸发器上蒸至30～50mL后，将酒样移于球型滴液漏斗中，用5mL甲醇-乙酸乙酯(2:3，*V/V*)溶液活化氨基柱，调节漏斗开关，缓慢将酒样通过活化好的氨基柱，再将5mL甲醇-乙酸乙酯(2:3，*V/V*)溶液淋洗萃取柱后，用10mL甲醇-乙酸乙酯(2:3，*V/V*)溶液洗脱萃取柱，将淋洗液和洗脱液合并装入氮吹管中，在氮吹仪上吹干，用乙睛定容至2mL，待GC-MS分析。

1.3 分析条件

气相色谱条件：HP-5(30.0m × 0.25mm，0.25μm)色谱柱；进样口温度200℃；进样量1μL(分流比：50:1)；柱温170℃。

质谱条件：离子源温度230℃；四极杆温度150℃；全扫描方式的质量扫描范围*m/z*30～500；溶剂延迟3min。

2 结果与分析

2.1 检测条件优化

考察固相萃取条件和GC-MS检测条件的选择。固相萃取中洗脱剂的种类及用量选择对方法的回收率有较大影响，MC和EC为极性较强的化合物，本实验分别用乙腈-水(1:1)(0.1%乙酸)(20:80，*V/V*)、正己烷-丙酮(95:5，*V/V*)、甲醇-乙酸乙酯(20:80，*V/V*)、甲醇-乙酸乙酯(40:60，*V/V*)等洗脱溶剂分别淋洗负载有100μg/mL的MC和EC标准溶液的NH_2萃取柱，收集流分进行GC-MS分析，考察回收与净化效果，结果表明，甲醇-乙酸乙酯(40:60，*V/V*)的洗脱效果最好；通过对洗脱剂用量的考察，结果发现，回收率随洗脱溶剂体积增加而增加，当体积达到8mL时，回收率几乎保持不变。因此，实验确定了SPE最佳洗脱剂的种类及用量洗为8mL甲醇-乙酸乙酯(40:60，*V/V*)；GC-MS检测条件的优化是使MC和EC样品色谱峰取得较好的分离效果且干扰较小，并在此基础上，进一步优化其他参数。结果表明，在1.3节分析条件下，可满足分析的要求。在该条件下得到的MC和EC总离子流色谱图和离子峰图见图1和图2。

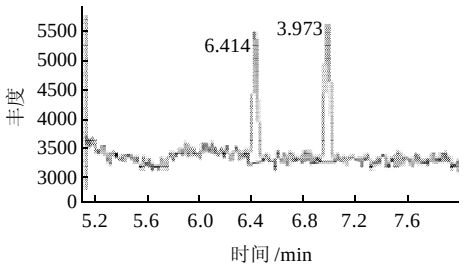

图1 氨基甲酸甲酯和氨基甲酸乙酯总离子流图

Fig.1 Total ion chromatograms of methyl carbamate and ethyl carbamate

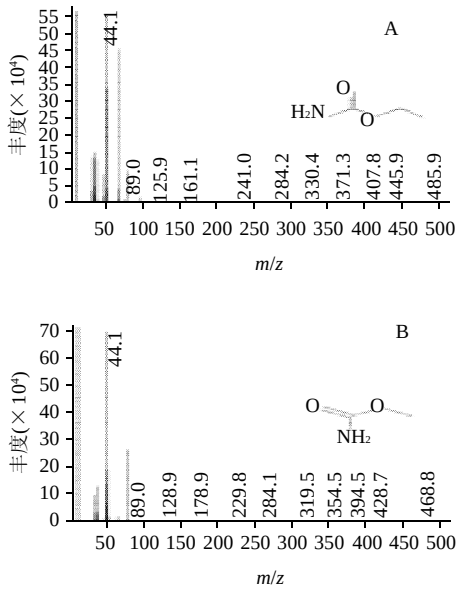

图2 氨基甲酸甲酯离子(A)和氨基甲酸乙酯离子(B)峰图

Fig.2 Mass spectra of methyl carbamate and ethyl carbamate

2.2 标准曲线和检出限

分别配制一系列不同质量浓度的MC和EC标准溶液。按上述操作条件进行测定，以质量浓度(*X*)/(μg/mL)对相应的峰高(*Y*)进行线性回归，获得MC和EC的标准曲线及相关系数，并得到其检出限(表1)。结果MC和

表3 实际酒样的分析结果(n=6)

Table 3 Determination results of methyl carbamate and ethyl carbamate in white liquor samples (n=6)

样品编号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
MC检出质量浓度/(μg/L)	—	—	—	—	—	—	—	—	7.8	—	—	—	—	—	—	—	21.9	—	35.5	25.6	—	—	—	—
EC检出质量浓度/(μg/L)	—	—	—	—	2.2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	28.6	—	—	—

注：—为未检出。

EC质量浓度在2～30μg/mL范围内与峰高呈良好的线性关系，说明本测定方法可对白酒中的MC和EC进行准确定性、定量分析。

表1 方法的线性范围、线性方程、相关系数及检出限

Table 1 Linear ranges, linear equations, correlation coefficients and detection limits of the determination method for methyl carbamate and ethyl carbamate

标样名称	线性范围/(μg/mL)	线性方程	相关系数	检出限/(μg/L)
MC	2～30	$Y=32099X+159128$	0.9923	64.5
EC	2～30	$Y=40037X+102254$	0.9811	52.5

2.3 方法的回收率和精密度

在未检出MC和EC的酒样中添加水平分别为50.0、100.0、150.0μg/L的MC和EC标准溶液，按照1.2节方法处理酒样，在选择的实验条件下测定MC和EC的含量并计算样品回收率见表2。求得MC和EC平均加样回收率为76.10%和75.43%，相对标准偏差RSD为4.48%和4.00%。

表2 方法的加标回收率和精密度

Table 2 Recovery rates and relative standard deviations of the determination method for methyl carbamate and ethyl carbamate

标样名称	添加质量浓度/(μg/L)	回收率/%							平均回收率/%	RSD/%
MC	50	69.7	76.8	74.9	82.5	77.6	76.9	69.8	76.4	4.12
	100	74.5	82.6	76	90.1	88.6	82.5	79.7	82.0	5.88
	150	72.7	76	70.2	66.5	68.9	68.9	66.5	69.9	3.43
EC	50	75.2	69	75.3	79.5	67.5	72.2	72.8	73.1	4.07
	100	88.6	82.3	86.7	85.2	80.1	79.6	78.5	83.0	3.89
	150	66.5	72.3	71.5	65.8	69.6	68.2	77.6	70.2	4.05

2.4 样品的测定

按照上述方法，对市场上随机买来的24种白酒样品中MC和EC的含量进行测定与调查，每种酒样平行测定6次取平均，结果见表3。从结果可见，有些市售白酒中含有一定浓度的MC和EC，其余酒样未被检出。

3 结 论

本实验采用旋转蒸发处理白酒样后，再用氨基固相萃取小柱对白酒中的MC和EC进行有效提取，氮吹浓缩，并建立了一种GC-MS方法对MC和EC进行定性定量分析方法。选定的色谱质谱条件为：HP-5(30.0m×0.25mm，0.25μm)色谱柱；进样口温度200℃；进样量1μL(分流比：50:1)；柱温170℃。EI离子源温度230℃；四极杆温度150℃；全扫描方式的质量扫描范围m/z 30～500；溶剂延迟3min。通过对方法精密度和准确度的考察，所建立的方法具有良好的精密度和准确度，并且简便快速，实现了白酒中MC和EC含量检测的快速分析，对白酒质量控制具有重大作用。

参考文献：

[1] PARK S K，KIM C T，LEE J W. Analysis of ethyl carbamate in Korean soy sauce using high-performance liquid chromatography with fluorescence detection or tandem mass spectrometry and gas chromatography with mass spectrometry[J]. Food Control, 2007, 18(8): 975-982.

[2] 夏艳秋, 朱强, 汪志君. 谨防黄酒中氨基甲酸乙酯的危害[J]. 酿酒, 2004, 31(5): 51-53.

[3] 李艳清. 白酒中氨基甲酸甲酯农药残留量的测定与调查[J]. 酿酒科技, 2006, 147(9): 21-24.

[4] 高年发, 宝菊花. 氨基甲酸乙酯的研究进展[J]. 中国酿造, 2006,162(9): 1-4.

[5] 袁东, 李艳清, 付大友. 高效液相色谱 - 质谱法测定白酒中的氨基甲酸甲酯[J]. 酿酒科技, 2007, 154(4): 121-123.

[6] 李艳清, 谭文渊, 王蓉, 等. 白酒中氨基甲酸甲酯农药残留量的GC/MS测定方法研究[J]. 酿酒科技, 2008, 168(6): 106-109.

[7] 吴平谷, 陈正冬. 固相萃取结合GC/MS法测定酒中氨基甲酸乙酯[J]. 卫生研究, 2003, 33(5): 627-628.

[8] LACHENMEIER D W. Automated determination of ethyl carbamate in stone-fruitspirits using headspacesolid-phase microextraction and gas chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography A, 2006, 1108(10): 116-120.

[9] 高年发, 孙晓雯, 张健, 等. HPLC测定白兰地中的氨基甲酸乙酯[J]. 中国酿造, 2008, 190(13): 84-87.

[10] 牛栋平, 陶萍, 李学惠. 固相萃取 - 气相色谱法测定葡萄酒中的氨基甲酸乙酯[J]. 上海水产大学学报, 2008, 17(9): 616-619.

[11] MADRER R R. Determination of ethyl carbamate in ciderspirits by HPLC-FLD[J]. Food Control, 2009, 20(2): 139-143.