

文章编号: 1004-7271(2008)05-0616-04

固相萃取-气相色谱法测定 葡萄酒中的氨基甲酸乙酯

牛栋平¹, 陶宁萍¹, 李学惠²

(1. 上海海洋大学食品学院, 上海 200090;
2. 张裕集团有限公司技术中心, 山东烟台 264000)

摘要: 采用固相萃取法提取葡萄酒中氨基甲酸乙酯, 然后用气相色谱法测定, 色谱条件为: 载气流速 1.0 mL/min; 程序升温 50 °C (1 min) → 10 °C/min → 150 °C → 3 °C/min → 220 °C (5 min); 进样量 2.0 μL。分析时间为 38 min。比较了 5 种净化柱提取除杂效果, 选择 Cleanert Silica 柱作为葡萄酒中氨基甲酸乙酯的萃取柱。以内标法定量, 测得相对标准偏差为 1.6%、1.2%, 回收率在 90.4% ~ 101.5% 之间。采用本方法测定了 8 种葡萄酒, 氨基甲酸乙酯含量为 11.6 ~ 30.1 μg/L。

关键词: 固相萃取; 气相色谱; 葡萄酒; 氨基甲酸乙酯

中图分类号: TS 201.2 文献标识码: A

Determination of ethyl carbamate in grape wine by solid phase extraction and gas chromatography

NIU Dong-ping¹, TAO Ning-ping¹, LI Xue-hui²

(1. College of Food Science and Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 200090, China;
2. The Center of Science and Technology of Changyu Co Ltd, Yantai, Shandong 264000, China)

Abstract: Sample was extracted by solid-phase extraction (SPE) and then analyzed by gas chromatography (GC). The optimal separation conditions were as follows: flow rate was 1.0 mL/min, column temperature as temperature program: 50 °C (1 min) → 10 °C/min → 150 °C → 3 °C/min → 220 °C (5 min), sample size was 2.0 μL; The time of determination was 38 min. The efficiencies on extraction of five extraction column were compared and the cleanert silica column was chosen. Internal standard method was used as the quantitative determination. The RSDs were 1.6%、1.2% and the recovery rates were 90.4% - 101.5% respectively. With this method, 8 wine samples were determined, the contents of ethyl carbamate were 11.6 - 30.1 μg/L.

Key words: Solid-phase extraction; Gas chromatography; Grape wine; Ethyl carbamate

氨基甲酸乙酯 (ethyl carbamate, EC) 是一种致癌物质, 可以引起肺肿瘤、淋巴癌、肝癌、皮肤癌等。它是烟草叶及香烟的天然成分, 也是发酵食品和酒精饮料的副产物^[1-3]。目前氨基甲酸乙酯的测定方法有 GC、GC/MS 法^[4-8]。我国进出口商品检验行业标准 SN 0285-93—出口酒类中氨基甲酸乙酯残留

收稿日期: 2007-11-28

基金项目: 国家发展和改革委员会计划项目 (2007-406)

作者简介: 牛栋平 (1981-), 男, 山东烟台人, 硕士研究生, 专业方向为食品营养与卫生。E-mail: dpniu@163.com

通讯作者: 陶宁萍, E-mail: npta@shfu.edu.cn

量检测采用二氯甲烷提取^[9],然后进行 GC/MS 分析,该方法回收率低,色素等杂质多;国外多采用固相提取净化技术进行样品提取。本研究采用固相萃取技术对葡萄酒中氨基甲酸酯进行提取净化,然后采用气相色谱法分析,并以内标法定量。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

葡萄酒:市售干红

正己烷、乙醚、乙醇、甲醇等为分析纯;硅胶、Cle-SLE、Cle-C18 净化柱(3 000 mg/12 mL):购自杭州福裕科技服务公司,Cleanert Silica、Cleanert Florisil 净化柱(1 000 mg/6 mL):购自北京艾杰尔科技有限公司;标准品氨基甲酸酯、氨基甲酸丙酯购自 Sigma 公司。

1.2 仪器与设备

Varian CP-3800 气相色谱仪,配有氢火焰离子化检测器(美国 Varian 公司),涡流混合器,氮吹仪,0.45 μm 针头微孔滤膜过滤器。

1.3 样品处理

1.3.1 标准溶液

标准储备液:分别取 10.0 mg 氨基甲酸酯和氨基甲酸丙酯于 10 mL 容量瓶中,用乙醇溶解并定容至刻度,存放在冰箱中备用;标准使用液:取 1.0 mg/mL 储备液,用乙醇稀释成 0.004、0.02、0.1 mg/mL 使用。

1.3.2 样品

取 5 mL 乙醇加到 Cleanert Silica 固相萃取柱上,活化萃取柱,然后取 5.0 mL 酒样,加到萃取柱上,静止使之吸附 10 min,先用 10 mL 正己烷淋洗除杂,然后用 10 mL 乙醚将氨基甲酸酯洗脱收集,将洗脱液于氮吹仪上 30 $^{\circ}\text{C}$ 下氮气吹干,最后用无水乙醇定容至 0.5 mL,振荡混匀,过 0.45 μm 微孔滤膜,滤液可直接进气相色谱测定。

1.4 色谱条件

色谱柱:SUPELWAXTM-10 石英毛细管柱(60 m \times 0.32 mm \times 1.0 μm);进样口温度 200 $^{\circ}\text{C}$,检测温度 210 $^{\circ}\text{C}$,柱温程序:初温 50 $^{\circ}\text{C}$,保持 1 min,然后以 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至 150 $^{\circ}\text{C}$,再以 3 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至 220 $^{\circ}\text{C}$,保持 5 min;载气流速 1.0 mL/min,不分流进样,进样量 2.0 μL 。

2 结果与讨论

2.1 氨基甲酸酯色谱特征

氨基甲酸酯为水溶性极性化合物,经过比较,选择 SUPELWAXTM-10 柱作为氨基甲酸酯的分析柱,氨基甲酸酯的保留时间为 28.26 min 左右,内标物氨基甲酸丙酯的保留时间为 31.38 min 左右,整个分析时间为 38 min。典型的酒样分析色谱图如图 1 所示。

2.2 提取方法

取同一酒样 2.5 mL、5 mL、10 mL 分别加入到固相萃取柱上,经过处理都定容至 0.5 mL,即分别浓缩了 5 倍、10 倍、20 倍,每种浓缩倍数做三个平行试样,分别进气相色谱测定氨基甲酸酯的含量,结

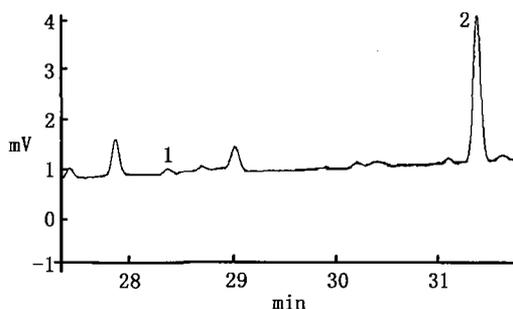


图 1 葡萄酒样的色谱图

Fig.1 Chromatogram of ethyl carbamate in wine

1. 氨基甲酸酯 2. 氨基甲酸丙酯内标物

果见表 1。

由表 1 可知,浓缩 5 倍,其在气相色谱上出峰过小,甚至不能出峰,无法准确测定其含量;浓缩 10 倍,所测数值保持稳定,数据可靠;浓缩 20 倍,所测数值差别较大,究其原因可能是固相萃取柱超过最大吸附量,部分氨基甲酸酯不能吸附,故所测数值偏小。故样品处理时,取 5 mL 加入萃取柱为宜。

2.3 固相萃取柱的选择

实验过程中比较了几种固相萃取柱的净化效果,硅胶、Cle-SLE、Cleanert Silica、Cleanert Florisil 净化柱为正相吸附柱,Cle-C18 净化柱为反相吸附柱。

硅胶柱对葡萄酒中的氨基甲酸酯不吸附;Cleanert Silica 柱和 Cle-SLE 柱是吸附氨基甲酸酯效果最好的两种萃取柱,图 1 为 Cleanert Silica 柱处理后的色谱图,图 2 为 Cle-SLE 柱处理后的色谱图,经过比较可以看出 Cleanert Silica 柱的脱色除杂效果明显好于 Cle-SLE 柱,且基线较为平稳,更易定量;通过除杂、脱色效果,回收率等比较,最后选择 Cleanert Silica 柱用于样品净化。

2.4 氨基甲酸酯的线性曲线、相关系数

将不同浓度的氨基甲酸酯标准溶液从低浓度到高浓度加入内标依次进样,做标准曲线和相关系数,其回归方程为 $Y = 6.0305e - 0.01X$ (Y : 峰面积, $mV \cdot S$; X : 含量, mg/L), 相关系数 $R^2 = 0.9999$ 。

2.5 样品回收率与精密度的测定

取 5 mL 葡萄酒样分别加标 20 $\mu g/L$ 、100 $\mu g/L$,分别测定加标样品和未加标样品的氨基甲酸酯含量,根据加入量和检出量计算回收率,结果见表 2。

表 2 样品回收率

Tab.2 Recoveries of samples

测定序号	底值($\mu g/L$)	添加量($\mu g/L$)	测定值($\mu g/L$)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
1	14.5	20.0	31.2	90.4		
2	14.5	20.0	32.2	93.3	91.9	1.6
3	14.5	20.0	31.7	91.9		
4	14.5	100.0	114.7	100.2		
5	14.5	100.0	113.5	99.1	100.3	1.2
6	14.5	100.0	116.2	101.5		

由表 2 可知,回收率在 90.4% ~ 101.5% 之间,相对标准偏差(RSD)为 1.6%、1.2%,方法的准确度较高。

3 结论

我国进出口商品检验行业标准 SN 0285-93—出口酒类中氨基甲酸酯残留量检测采用二氯甲烷提

表 1 试样中氨基甲酸酯含量

Tab.1 Content of ethyl carbamate in samples

试样编号	浓缩倍数	测定值($\mu g/L$)
1	5	0.0
2		0.0
3		0.0
4	10	11.3
5		10.8
6		11.5
7	20	8.2
8		7.5
9		6.1

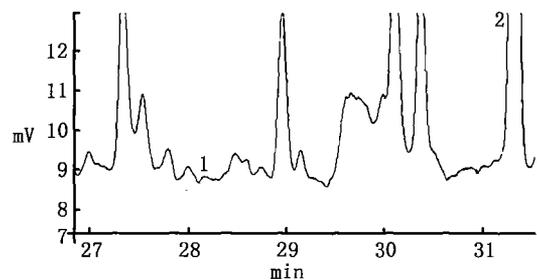


图 2 Cle-SLE 柱色谱图

Fig.2 Chromatogram of Cle-SLE column

1. 氨基甲酸酯 2. 内标

取,然后进行 GC/MS 分析,该方法回收率低,色素等杂质多;本试验采用 Cleanert Silica 固相萃取柱对葡萄酒中的氨基甲酸乙酯进行吸附萃取,然后用气相色谱法分析,并以内标法定量,结果表明,方法简单快速,使用方便,测定中干扰少,灵敏度高,可用于葡萄酒中氨基甲酸乙酯的测定。

采用本方法对市售的 6 种葡萄酒及自酿的 2 种葡萄酒进行氨基甲酸乙酯含量的测定,自酿葡萄酒由于工艺控制严格,氨基甲酸乙酯的含量较低,而有 2 种市售葡萄酒含量超过国际标准规定的 $20 \mu\text{g/L}$ 。氨基甲酸乙酯已经引起了世界各国的普遍关注,因此当前迫切需要对我国酒类氨基甲酸乙酯制定限量标准,进一步对降低氨基甲酸乙酯的生成做深入研究。

参考文献:

- [1] 陆 健,曹 钰. 葡萄酒中氨基甲酸乙酯的研究[J]. 食品与发酵工业,1996,(3):79-80.
- [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,(3):51.
- [3] 高年发,宝菊花. 氨基甲酸乙酯的研究进展[J]. 中国酿造,2006,(9):1-4.
- [4] 周英田,孙咏梅,邓 峰. 毛细管色谱/质谱选择离子监测法测定酒精饮料中氨基甲酸乙酯[J]. Chinese Journal of Chromatography, 1996,(3):190-191.
- [5] 李记明,马佩选. 国际葡萄酒与葡萄汁分析方法汇编[M]. 北京:中国计量出版社,2005.
- [6] 马娅萍,孙守威,邓富全. 用二维色谱技术直接定量测定白酒中氨基甲酸乙酯[J]. 分析测试学报,1996,(5):47-48.
- [7] 马永民,刘玉莹,李跃红. 气相色谱/热离子检测器法测定粮食中的氨基甲酸乙酯残留量[J]. 职业与健康,1998,(4):35-36.
- [8] Arminda A. Beatriz O. Paulo H. Determination of ethyl carbamate in alcoholic beverages: an interlaboratory study to compare HPLC-FLD with GC-MS methods[J]. Anal Bioanal Chem, 2005, 382:498-503.
- [9] 郑自强,杨建民,徐 亮. 出口酒类中氨基甲酸乙酯残留量检测方法[M]. 中华人民共和国国家进出口商品检验检疫局,1993.