

高效液相色谱- 质谱法测定白酒中的氨基甲酸甲酯

袁 东, 李艳清, 付大友, 王 蓉, 谭文渊

(四川理工学院材料与化学工程系, 四川 自贡 643000)

摘 要: 建立了高效液相色谱- 电喷雾质谱测定白酒中氨基甲酸甲酯农药残留的检测方法。酒样用旋转蒸发器在 50 ℃ 水浴上浓缩, 以乙腈- 0.1 % 乙酸为梯度流动相, Eclipse XDB- C₁₈ (150 mm × 4.6 mm, 5 μm) 柱高效液相色谱分离。电喷雾正离子模式, 选择质子化氨基甲酸甲酯分子离子 $[M + H]^+$ 为定量离子进行 MS 测定。结果表明, 氨基甲酸甲酯的检测限为 7.6 ng, 方法的平均加标回收率为 80.7 % ~ 97.0 %, 相对标准偏差为 5.4 % ~ 9.2 %。该方法的灵敏度高、操作简便、快速, 满足白酒中痕量氨基甲酸甲酯农残的高灵敏分析。

关键词: 分析检测; 高效液相色谱; 电喷雾电离质谱; 氨基甲酸甲酯; 白酒

中图分类号: TS261.7; O657.63; O657.7 **文献标识码:** B **文章编号:** 1001- 9286(2007) 04- 0121- 03

Determination of Methyl Carbamate in Liquor by High Performance Liquid Chromatography/Mass Spectrometry (HPLC- MS)

YUAN Dong, LI Yan-qing, FU Da-you, WANG Rong and TAN Wen-yuan

(Material & Chemical Engineering Department of Sichuan Institute of Science and Technology, Zigong, Sichuan 643000, China)

Abstract: Liquid chromatographic method coupled with electrospray ionization mass spectrometry (LC-ESI-MS) has been developed for the determination of methyl carbamate residues in liquor. Liquor samples was concentrated on a revolving evaporator at 50 ℃. Chromatographic separation was performed on an eclipse XDB-C₁₈ column (150 mm × 4.6 mm i.d., 5 μm) with acetonitrile-0.1 % acetic acid gradient elution. The protonated molecular was selected as quantitative ion scanning in positive electrospray ionization mode. The detection limit of methyl carbamate was 7.6 ng, and the average recovery ranged from 80.7 % to 97.0 % with relative standard deviation in the range of 5.4 % ~ 9.2 %. This method is sensitive, fast and accurate and it could satisfy high sensitive analysis of methyl carbamate residues in liquor.

Key words: analysis and determination; high performance liquid chromatography; electrospray ionization mass spectrometry; methyl carbamate; liquor

氨基甲酸甲酯(Methyl carbamate)简称 MC 或称尿基烷(Urethylane), 是一种发酵天然副产物, 极有可能在发酵酒和蒸馏酒饮料中被检测出来。MC 是一种致癌物质, 能诱发良性或恶性肿瘤, 特别是肺癌与肝癌^[1]。因此, 有必要建立一种快速、灵敏、可靠的测定白酒中 MC 含量的方法。

由于氨基甲酸酯类农药具有热稳定性差和极性大特点, 不适合直接用气相色谱法测定。高效液相色谱法是最常用的分离测定方法^[2~3], 但 UV 检测器不够灵敏。近年来国内外对液相色谱与质谱的联用技术检测氨基甲酸酯农药残留量的研究较为活跃^[4~9]。目前尚未见关

于高效液相色谱- 质谱联用分析测定白酒中氨基甲酸甲酯农药残留的报道。

本文建立了高效液相色谱- 电喷雾质谱测定白酒中氨基甲酸甲酯农药残留的分析方法, 对方法的检出限、线性、样品加标回收率及精密度进行了研究, 取得了较为满意的结果。

1 材料与方法

1.1 药品与试剂

氨基甲酸甲酯(Methyl Carbamate, 99 %) 农药标准品(New Jersey, USA)。

基金项目: 四川省科技厅项目资助。

收稿日期: 2007- 01- 17

作者简介: 袁东(1968-), 女, 副教授, 主要从事食品分析检测、环境监测方法研究与应用。

通讯联系人: 付大友, E-mail: fdy888@263.net。

标准储备液制备: 准确称取氨基甲酸甲酯 50 mg, 置于 25 mL 容量瓶中, 用乙腈溶解并稀释至刻度, 制成 2.0 mg/mL 的标准储备液。再从储备液中移取 25 μ L 到 10 mL 的容量瓶中, 用乙腈定容为 5 μ g/mL 的标准溶液。

甲醇、乙腈均为 HPL C 级, 乙酸(分析纯), 娃哈哈纯净水(杭州娃哈哈集团)。

各种酒样均为市售商品。

1.2 主要仪器及设备

Agilent 1100 Series LC/MSD Trap VL 型高效液相色谱-质谱联用仪, 包括在线真空脱气机, 二元高压梯度泵, 恒温柱温箱(采用 Agilent 化学工作站和离子阱控制和数据处理软件对信号进行采集和数据处理), DAD 检测器, 手动进样器和 ESI 源;

旋转蒸发器: RE-2000(上海亚荣生化仪器厂);

分析天平: AB265-S。

1.3 色谱及质谱条件

1.3.1 色谱条件

Agilent Eclipse XDB- C_{18} (150 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m) 色谱柱; 流动相为 0.1 % 的乙酸溶液(A) 和乙腈(B), 梯度洗脱: 0 ~ 20 min, 90 %A, 流速 0.30 mL/min; 20 ~ 30 min, A 线性变化至 20 %, 流速线性变化至 1.0 mL/min; 然后保持 10 min。

手动进样 10 μ L; 柱温 20 $^{\circ}$ C, 二极管阵列检测波长 205 nm。

1.3.2 质谱条件

Agilent 1100(VL 型) 离子阱质谱仪, 离子源为 ESI 源, 正离子模式监测; 扫描范围(m/z): 50 ~ 400; 干燥气温度为 350 $^{\circ}$ C, 流速 9.0 mL/min; 雾化气压力 40.0 psi。

1.4 样品前处理

准确量取 250 mL 待测白酒样品于蒸发表瓶中, 用旋转蒸发器在 50 $^{\circ}$ C 水浴上浓缩至 2 mL, 取 10 μ L 进行 LC/MS 分析。

2 结果与分析

2.1 实验条件优化

为了得到较好的色谱图和改善分离效果, 对反相柱常用的流动相如甲醇、乙腈和 0.1 % 乙酸溶液进行了分离和质谱考察。由于乙腈的紫外截止波长比甲醇的小, 避免在测定波长下流动相的干扰, 选用乙腈作为流动相。通过标样的全光谱图发现, 氨基甲酸甲酯在 205 nm 处有最大吸收, 因此, 选择 DAD 检测波长为 205 nm。

通过在流动相中加入适量的乙酸, 不但可以增加分离度, 改善峰形, 而且可以使氨基甲酸甲酯在 ESI 正离

子模式的质谱信号得到增强, 提高检测灵敏度^[9]。试验发现, 在流动相中加入 0.1 % 的乙酸溶液有助于 $[M + H]^+$ 分子离子峰的形成。在全扫描总离子流图中, $[M + H]^+$ 峰度随 0.1 % 乙酸的加入而增加, 但基线噪声水平也明显加大, 质谱图中碎片峰也较多, 不利于 $[M + H]^+$ 定量离子的选择。在满足灵敏度条件下, 选定乙腈-0.1 % 乙酸溶液系统作为本方法的流动相。

对干燥气温度、干燥气流速、雾化气压力等分别进行调节优化, 使得待测组分的离子传输效率最高, 离子化程度最高, 优化后的仪器条件见 1.3。对 $[M + H]^+$ 作二级质谱分析, 图 1 中给出了氨基甲酸甲酯农药分子的二级质谱图; 图 2 给出了氨基甲酸甲酯农药的萃取离子流图。

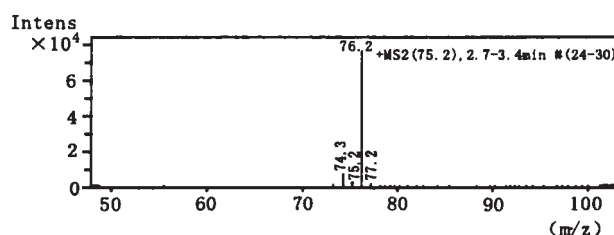


图 1 氨基甲酸甲酯的二级质谱图

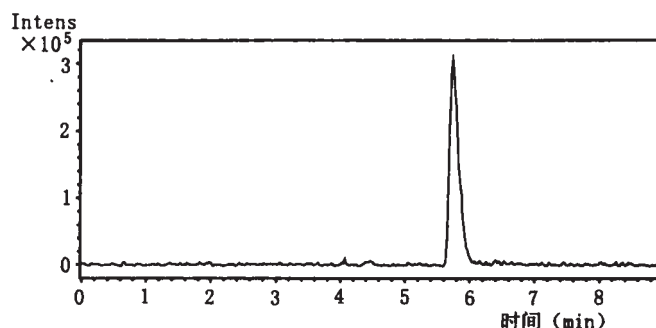


图 2 氨基甲酸甲酯萃取离子流图

2.2 标准曲线和检出限

分别配制一系列不同浓度的氨基甲酸甲酯标准溶液。按上述操作条件进行测定, 以浓度(X, μ g/mL) 对相应的峰高(Y) 进行线性回归, 获得氨基甲酸甲酯农药的标准曲线及相关系数, 标准曲线线性关系和检测限为: 回归方程 $Y=16468X+34119$, 相关系数(r) 为 0.9581, 线性范围 0.017 ~ 18 μ g/mL, 检出限 7.6 ng。氨基甲酸甲酯浓度在 0.017 ~ 18 μ g/mL 范围内与峰高呈良好的线性关系, 说明本测定方法可对氨基甲酸甲酯农药进行准确性、定量分析。

2.3 方法的回收率和精密度

量取 250 mL 酒样 5 份, 再分别添加 20 μ L、40 μ L、80 μ L、120 μ L 和 160 μ L 氨基甲酸甲酯标准溶液, 充分混合后按 1.4 方法浓缩, 每份样品测定 3 次, 结果见表 1。方法的平均回收率为 80.7 % ~ 97.0 %, 相对标准偏差

为 5.4 % ~ 9.2 %。

表 1 加标回收率和精密度

酒样	加入量 ($\mu\text{g/L}$)	测得量 ($\mu\text{g/L}$)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	0.5	0.485	97.0	5.4
2	1.0	0.807	80.7	9.2
3	2.0	0.172	86.0	7.4
4	3.0	2.60	86.7	7.8
5	4.0	3.81	95.3	5.9

2.4 实际样品的测定

按照上述方法, 分别对 11 种市售白酒进行氨基甲酸甲酯残留农药的分析。实验结果表明, 有 3 种酒样检出含有氨基甲酸甲酯, 其含量分别为 27.1 $\mu\text{g/L}$ 、32 $\mu\text{g/L}$ 和 49 $\mu\text{g/L}$, 其余酒样未检出。

3 结论

本实验建立了白酒中氨基甲酸甲酯残留量的测定方法: 以 Eclipse XDB- C_{18} 柱(150 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm)进行分析, 以乙腈-0.1 % 乙酸为梯度流动相, 酒样经高效液相色谱梯度淋洗后, 采用电喷雾电离选择离子监测模式定量测定白酒中的氨基甲酸甲酯农药残留, 回收率为 80.7 % ~ 97.0 %, 测定结果满意。该方法的样品处理简单, 可以对白酒中氨基甲酸甲酯残留进行快速、准确、有

效的分析。

参考文献:

- [1] 詹沛鑫. 发酵制品中氨基甲酸甲酯与乙酯的色谱测定法[J]. 发酵科技通讯, 1994, 23(4): 25-28.
- [2] 胡玉玲, 钟伟健, 李攻科. 固相微萃取-高效液相色谱联用分析环境水样中的氨基甲酸酯农药[J]. 中山大学学报, 2004, 43(6): 124-127.
- [3] 李娟, 赵永刚, 丁曦宁. 固相萃取/高效液相色谱法测定地表水中氨基甲酸酯类农药[J]. 环境监测管理与技术, 2006, 18(1): 27-28.
- [4] Jingcun Wu, Charalambos Tragas, et al[J]. J. Chromatogr. A 2002, 976: 357-367.
- [5] Tomomi Goto, Yuko Ito, Hisao Oka, et al[J]. Analytica Chimica Acta 2005, 531: 79-86.
- [6] Min Liu, Yuki Hashi, et al[J]. J. Chromatogr. A 2005, 1097: 183-187.
- [7] 陈剑刚, 赵倩铃, 连崇衍, 等. 高效液相色谱-质谱法分析测定水中氨基甲酸酯[J]. 分析化学, 2005, 33(8): 1167-1170.
- [8] 陈燕清, 谢宇, 颜流水, 等. 液相色谱/质谱法测定生鲜牛奶中的两种氨基甲酸酯农药残留[J]. 江西科学, 2006, 24(3): 242-244.
- [9] 陈晓红, 李小平, 金米聪. 蔬菜中氨基甲酸酯类农药残留的 HPLC/MS 测定研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2006, 16(9): 1041-1043.

饮酒与健康学术交流报告会在宜举行



饮酒与健康学术交流报告会

营养学的观点分析了酒的两面性功能, 提出了“酒不害人, 人自害”的观点; 稻花香酒业副总经理、中国白酒工业优秀专家、高级工程师谢永文推介了稻花香历时 6 年研制而成的健康活力酒; 徐占成、吴建峰、熊小毛、三峡大学教授陈超等专家、学者从不同的层面、根据自身开展科研活动获得的成果, 生动地介绍了白酒中的健康因子及适量饮用白酒与健康的关系。沈怡方教授做了总结性的发言, 倡导“科学饮酒观”, 主张文明饮酒、科学饮酒, 有条件的企业不妨在市场营销上走走“酒道馆”的路子, “酒道馆”与消费者见面的时日应该不会太久了。

与会专家一致认为, 中国传统白酒有着深厚的历史文化底蕴, 在酿造工艺上也日臻成熟, 白酒中富含多种有益人体健康的功能性成分, 适量饮用名优白酒, 有益人体健康。白酒有着其他酒类无法比拟的庞大消费群体, 白酒企业要自觉担负起引导消费者健康饮酒、饮健康好酒的责任。(小雨)

本刊讯:“饮酒与健康学术交流报告会”于 2007 年 3 月 26 日在宜昌国宾花园举行。本次学术交流报告会由湖北稻花香集团主办, 著名白酒专家陶家驰主持会议。中国酒界泰斗秦含章、中国食品协会副会长潘裕仁、中国酿酒工业协会理事长王延才、中国著名白酒专家沈怡方、高景炎、金佩章等及著名营养学专家索颖、湖北稻花香集团董事长蔡宏柱、四川剑南春集团总工程师徐占成、江苏今世缘酒业公司总工程师吴建峰、湖北白云边酒业股份有限公司总工程师熊小毛、湖北黄鹤楼酒业股份有限公司总经理陈佳等白酒界知名人士和有关科研院校的教授、学者, 宜昌市人大副主任谭春玉、夷陵区区长刘洪福等参加了会议。

报告会上, 秦含章先生首先发言, 阐述了适量饮酒有益人体健康的理念; 索颖教授从统计数据、科研成果、饮酒实例和分析的白酒成分等方面, 介绍了适量饮酒有益健康的研究成果, 以



秦含章先生发言