

白酒中氨基甲酸甲酯农药残留量的测定与调查

李艳清, 付大友, 袁 东

(四川理工学院材料与化学工程系, 四川 自贡 643000)

摘要: 白酒中氨基甲酸甲酯的来源和形成机理主要有: 在已发酵的和未蒸馏的酒精饮料中尿素和甲醇自发的化学反应生成氨基甲酸甲酯; 以谷物为原料生产的酒精中, 氨基甲酸甲酯形成的途径来源于谷物的氰化物前体在发酵和蒸馏时反应形成的氰酸盐, 氰酸盐在酒精中转化为氨基甲酸甲酯。对样品的预处理方法有超临界流体萃取法(SFE)、固相萃取法(SPE)、固相微萃取法(SPME)和基质固相分散萃取法(MSPDE)等; 氨基甲酸酯类农药残留量的测定方法主要有气相色谱-质谱联用(GC/MS)和液相色谱与质谱联用技术(LC/MS)。(孙悟)

关键词: 白酒; 氨基甲酸甲酯; 农药; 残留量; 测定

中图分类号:TS262.3;TS261.7;O65 文献标识码:A 文章编号:1001-9286(2006)09-0021-04

Determination of Methyl Carbamate Pesticide Residue in Liquor

LI Yan-qing, FU Da-you and YUAN Dong

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

Abstract: The source and formation mechanism of methyl carbamate in liquor covered the followings: methyl carbamate formed by spontaneous chemical reaction of carbamide and methanol in fermented and undistilled alcoholic beverage; in alcohol produced by grains as raw materials, cyanide precursor of grains formed into cyanate during fermentation and distillation, which further developed into methyl carbamate in alcohol. The pretreatment methods of the samples included Supercritical Fluid Extraction (SFE), Solid-phase Extraction (SPE), Solid-phase Micro-extraction (SPME), Matrix Solid-phase Disperse Extraction (MSPDE) and so on. The determination methods of carbamate pesticides residue included gas chromatography and high performance liquid chromatography (GC/MS) and LC/MS. (Tran. by YUE Yang)

Key words: liquor; methyl carbamate; pesticide residue; determination

氨基甲酸甲酯(Methyl carbamate)简称MC或称尿素基烷(Urethylane),是一种发酵过程产生的天然副产物,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]。受到多方面的限制,我国在酒精性饮料包括黄酒、葡萄酒、白酒、啤酒中均尚未制定MC限量标准,因此我们应积极开展酒精性饮料中MC含量的测定与调查,做好氨基甲酸甲酯成为酒精性饮料卫生指标的技术准备。

1 研究进展

白酒中MC的含量低(mg/L, $\mu\text{g/L}$ 级),常规化学分析法难于检出,需用高灵敏度的仪器进行分析。目前MC含量的测定主要来自两类气相色谱法。一是以氮型

热能分析器[GC-TEA(N)]为检测器的气相色谱法;二是气相色谱-质谱联用仪测定法,质谱仪用选择性离子检测器(GC-MS-SIM)。TEA(N)检测器对含氮有机化合物有高灵敏度和高专一性,已广泛用于测定酒类、含酒精饮料等的MC含量的检测,最小检出限为 $1\sim 2\ \mu\text{g/kg}$ 。高分辨的质谱检测器SIM,也可对酒样进行较好的测定,且GC-MS-SIM的灵敏度还更高,最小检出限为 $0.1\ \mu\text{g/kg}$ 。据报道,用GC-TEA(N)法对产地在加拿大、美国、法国和德国等国的白酒中的MC进行测定,其含量分别为 $N\sim 1, N\sim 2 (< 1), N$ 和 $N\sim 1.4\ \mu\text{g/kg}$;用GC-TEA(N)法和GC-MS-SIM法测定白酒中的MC含量分别为 $1.9\sim 2.2\ \mu\text{g/kg}$ 和 $N\sim 1.9\ \mu\text{g/kg}$ ($N=$ 未检出)^[1]。

据对48种酒精饮料中氨基甲酸甲酯、氨基甲酸乙酯用气相色谱热能分析仪及气相色谱高解析质谱分析

基金项目:四川省科技厅项目资助。

收稿日期:2006-05-29

作者简介:李艳清(1982-),女,天津人,硕士研究生。

仪分析鉴定结果:氨基甲酸酯含量除两种水果白兰地分别达 $9 \mu\text{g}/\text{kg}$ 和 $27.7 \mu\text{g}/\text{kg}$ 外,其他皆低于 $5 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。氨基甲酸乙酯含量,在雪利酒中高达 $69 \mu\text{g}/\text{kg}$,威士忌中为 $247 \mu\text{g}/\text{kg}$,水果白兰地中高达 $432 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。

加拿大有学者报道了对酒中氨基甲酸甲酯和氨基甲酸乙酯同时测定的方法。用二氯甲烷萃取酒样,浓缩萃取液,然后用以氦型热能分析器为检测器的气-液色谱测定 MC 和 EC 的含量。此方法的灵敏度高 ($1 \sim 2 \text{ ng}/\text{mL}$),准确度高(回收率高于 80%),精密度高(CV, $5\% \sim 10\%$)。在对 27 个酒样的分析中,19 种酒含有痕量的 MC ($2.7 \text{ ng}/\text{mL}$),大多数酒中含有 EC 的量达 $70 \text{ ng}/\text{mL}$,实验室用 $200 \text{ mg}/\text{L}$ 二甲基焦炭酸酯(DMPC)处理酒样后可以使酒中 MC 的含量达到 $10 \text{ ng}/\text{mL}$ 。附加的研究表明,在经过 DMPC 处理过的酒样中 MC 的形成主要取决于酒样的 pH 和氮含量。在一些选定的样品中对 MC 用气-液色谱-高分辨率(10 K)质谱联用的方法来确定。并发现这些酒样中的 MC 含量极微,还没有对人类的健康造成危害^[2]。

2 样品的前处理技术

氨基甲酸酯的萃取、净化技术是农药残留分析的关键。近年来在农药残留分析中,样品前处理方面的研究主要是对样品提取和净化方法的简单化、微型化和自动化,如超临界流体萃取(SFE)、固相萃取(SPE)、固相微萃取(SPME)、基质固相分散萃取技术(MSPDE)等。这些前处理方法可在短时期内,快速有效地完成多种农药在样品中的提取、分离和净化过程,自动化程度高,大大缩短了样品的前处理时间,提高了样品中农药的提取率,保证检测数据的准确性,完全符合现代人们对农药残留分析的环境友好、健康安全和高效经济的三大要求。

2.1 超临界流体萃取技术

SFE 利用超临界流体密度大、粘度低、扩散系数高,并兼有气体粘度小、扩散速度快、渗透力强和液体对样品溶解性能好,可在高温下操作的特点,将样品中的待测物溶解并从基体中分离出来,能同时完成萃取和分离两步操作,具有分离效率高,操作周期短,传质速度快,溶解能力强,选择性高,不污染环境等优点。目前,最常用的超临界流体是 CO_2 ,超临界 CO_2 分子无毒,其分子的极性比较小,可用于提取非极性或弱极性农药残留,为了改进对极性农药的萃取效力,通常要在 CO_2 中加入少量极性溶剂,如甲醇、乙醇等来调节其极性,据此可最大限度地提取不同极性的农药残留而最低限度地减少杂质的提取。Lehotay 等报道了在水果和蔬菜中提取西维因、呋喃丹等约 40 种农药残留分析的 SFE 方法;Ainsley Jones 从蜂蜜中提取有机磷和氨基甲酸酯类农

药,用 GC(FPD/NPD)测定,并用 GC/MS 方法证实。SFE 在多项农药残留分析中是一项具有应用发展前景的样品前处理新技术,可替代溶剂提取方法,但在常规分析中还未得到广泛的应用^[3]。

2.2 固相萃取技术

SPE 是近年来发展最快,应用范围越来越广泛的技术之一,是基于液相色谱技术原理、采用固体色谱填料净化样品本底或提取溶液中目标组分的样品前处理技术。与液液萃取技术相比,SPE 技术操作简便、提取效率高、溶剂消耗低、容易自动化,更容易获得高回收率^[4]。

SPE 技术是利用固体吸附剂吸附液体样品中的目标化合物,使样品的基体和干扰物分离,再利用洗脱液洗脱或加热解吸,达到分离和富集目标化合物的目的。依据填料特性可分为吸附型(如硅胶、大孔吸附树脂等)、分配型(C_8 , C_{18} 、苯基柱等)和离子交换型。根据待测农药性质、样品种类等,在选择合适的微型萃取柱和洗脱液及其他优化条件后,可使萃取、富集、净化一次完成,直接进行气相色谱(GC)或高效液相色谱(HPLC)分析。Holland 等用 C_{18} 柱筛选葡萄酒中 74 种农药,方法快速,重现性好,将其与 HPLC/LC 在线结合,可实现多种农药残留的全自动分析^[3]。

2.3 固相微萃取技术

SPME 是在 SPE 基础上发展起来的一种萃取分离技术,提高了分析速度和灵敏度,非常适合于基体复杂样品的萃取分离。其原理是将分析组分在样品基质与提取剂之间达到平衡,是一种无溶剂,集采样、萃取、浓缩、进样于一体的样品前处理过程^[3]。SPME 克服了回收率低、吸附剂孔道易堵塞的缺点,大大降低了分析时间,无需有机溶剂,操作简单。SPME 装置类似普通样品注射器,由手柄和萃取头两部分组成。萃取头是一根涂有不同固定相或吸附剂的熔融石英纤维,石英纤维接不锈钢针,外套系不锈钢管(用来保护石英纤维),纤维头可在不锈钢管内伸缩。

固相微萃取技术包括吸附和解吸两个过程,即样品中待测物在石英纤维上的涂层与样品间的扩散、吸附、浓缩过程和浓缩的待测物脱附进入分析仪器完成分析过程。吸附过程中待测物在涂层与样品之间平衡分配,遵循相似相溶原则。这一步主要是物理吸附过程。解吸过程随 SPME 后续分离手段不同而不同,对于 GC,萃取纤维直接插入进样口进行热解吸。固相微萃取的选择性、灵敏度可通过改变石英纤维表面固定液的类型、厚度、pH 值、基质种类、样品加热或冷却处理等因素来实现^[3]。由于萃取过程中样品基质与涂层对待测物存在竞争吸附,所以在进行 SPME 时,涂层对分析物亲和力的

大小很重要^[9]。目前 SPME 主要与 GC/MS 联用, 用来分析环境、医药、食品和动植物样品中挥发和半挥发性农药残留量。

2.4 基质固相分散萃取技术

MSPDE 是 1989 年美国 Louisiana 州立大学的 Barke 教授首次提出并给予理论解释的一种崭新的萃取技术, 其优点是不需要进行组织匀浆、沉淀、离心、pH 调节和样品转移等操作步骤。它的基本操作是将试样直接与适量反相填料(C₁₄ 或 C₁₅)研磨、混匀得到半干状态的混合物, 并将其作为填料装柱, 然后用不同的溶剂淋洗柱子, 将各种待测物洗脱下来。MSPDE 浓缩了传统的样品前处理中所需的样品均化、组织细胞裂解、提取、净化等过程, 是简单高效的提取净化方法, 适用于各种分子结构和极性农药残留的提取净化, 特别适合于进行一类化合物或单个化合物的分离, 内源物或外源物均可。除动物组织外, 还适合于植物样品, 在蔬菜、水果的残留农药检测中得到了广泛的应用^[9]。

3 检测技术

氨基甲酸酯类农药残留量的测定方法主要为气相色谱法和高效液相色谱法, 近年来国内外对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。质谱仪是目前灵敏度最高的检测器, 对化合物结构的定性最准确, 是色谱技术中具有高灵敏度和高选择性的最理想检测器。

3.1 气相色谱-质谱联用技术(GC/MS)

GC/MS 是将气相色谱仪和质谱仪串联起来, 成为一个整机使用的检测技术。它既具有气相色谱的高分离性能, 又具有质谱准确鉴定化合物结构的特点, 可达到同时定性、定量的目的。多用于农药代谢物、降解物的检测和多残留物的检测。随着气相色谱-质谱的进一步发展, 目前它正被广泛应用于农药残留量的检测工作中, 特别是农药代谢物、降解物的检测和多残留物检测; 但由于仪器比较昂贵, 因此还不能被普遍使用^[9]。

GC/MS 法不仅根据样品中待测组分在图谱上的保留时间, 更主要是根据在此保留时间内残留农药裂解的特征离子碎片原理, 由质谱仪按其分子量和分子结构对农药准确定性分析, 并以此作为定量的依据, 从而克服了由于未净化掉的杂质峰与农药保留时间重叠而造成将杂质峰误判为农药的缺点。

GC/MS 技术在农药残留检测中已有许多成功的实例。王利平、刘杨岷等^[7]采用固相微萃取气质联用选择离子采集分析了黄酒中的氨基甲酸乙酯(EC), 其方法的线性范围为 5~400 μg/L, 方法简单方便, 重复性好, 干扰少, 灵敏度高。吴平谷、陈正冬^[8]采用固相萃取法提取

酒精饮料中的氨基甲酸乙酯, 然后进行 GC/MS 法测定。此方法中氨基甲酸乙酯最低检测浓度为 2.0 μg/L, 加标 20.0 μg/L, 200.0 μg/L, 回收率为 90.0%~101.3%, 变异系数分别为 2.0% 和 1.1%。采用此方法测定市场中的 7 种黄酒、8 种葡萄酒, 氨基甲酸乙酯含量黄酒为 88.2~240.8 μg/L, 葡萄酒为 15.3~24.5 μg/L。但随着农药残留限量要求的进一步提高, 以及样品基质的影响, 这种技术的应用也受到了一定的限制。

3.2 液相色谱与质谱联用技术(LC/MS)

LC/MS 可首先由色谱将待测混合物进行分离, 再由质谱检测器检测, 依次得到化合物的分子、离子及碎片信息, 质谱数据用作化合物的确证鉴定, 此过程不仅可以得到更有意义的质谱数据, 而且可以在一定程度上排除基质的干扰, 克服离子抑制现象, 优化质谱检测信号。

LC/MS 技术是残留分析的理想检测手段^[9,10]。对于需要高灵敏度、宽适用范围、复杂基质的多残留物快速筛选工作而言, 液质联用无疑是首选的最佳检测手段。现代液质联用技术的发展, 尤其是常规台式液质联用系统的发展, 使质谱作为 HPLC 高灵敏度的通用型检测器在常规分析中已发挥越来越大的作用^[4]。陈剑刚、赵倩铃等^[11]采用固相萃取-高效液相色谱-质谱法检测研究了水中氨基甲酸酯农药残留。此法具有非常高的选择性、灵敏度和准确度, 完全能满足水中痕量氨基甲酸酯农药的高灵敏度分析。胡玉玲、钟伟健等^[12]采用固相微萃取-高效液相色谱联用技术分析了环境水样中的氨基甲酸酯农药, 方法的检出限在 0.12~1.7 μg/L 之间, 相对标准偏差在 2.8%~6.1% 之间, 回收率在 98.3%~102% 之间, 适合于环境水样中痕量氨基甲酸酯农药的分析。

近年来, 串联质谱也应用于农药残留的检测中^[13,14], LC 与 MS/MS 的联用技术具有比单纯的 LC/MS 有更高的专一性和灵敏度。因 MS/MS 可以进行两次离子选择作用, 即通过 MS1 将离子预分离, 选择一定质量的母离子, 与气体碰撞断裂后, 再经 MS2 选择一定质量的子离子检测分析, 这样大大提高了分析的专一性, 同时也改善了信噪比。若样品经过色谱柱再进入质谱仪可进一步分离杂质, 减小背景干扰, 从而改善信噪比, 提高灵敏度, 可以进行多组分的同时快速定量分析^[15]。

4 结语

近年来, 人们对白酒的认识正在逐渐深入, 而且对白酒的质量要求也越来越高, 因此, 有关白酒中农药残留的问题也摆在了生产厂家的面前。白酒中的农药残留来自于酿酒所用的原料。白酒中氨基甲酸酯的来源和形成机理主要有: 在已发酵的和未蒸馏的酒精饮料中尿素和甲醇自发的化学反应生成氨基甲酸酯; 以谷

物为原料生产的发酵酒精中氨基甲酸甲酯形成的途径来源于谷物的氰化物前体在发酵和蒸馏时反应形成的氰酸盐,氰酸盐在酒精中转化为氨基甲酸甲酯^[16]。

由于白酒中的农药残留含量极微,这也相应地给检测仪器提出了更严格的要求,利用高灵敏度和高精密度分析仪器及其在线联用技术来分析农药残留已成为必然趋势。在线联用技术可避免样品在转移中的损失,减少各种人为的偶然误差,因此色谱与其他仪器联用技术已成为白酒分析的主要研究方向^[17]。另外,在样品的制备和前处理方面也呈现出微量化、自动化、无毒化、快速化和低成本的趋势。国外在农药残留方面的限制非常严格,并且有相应的标准,相比之下,国内在白酒中的农药残留的检测还未引起足够的重视。因此,我们应尽快在相应的部门建立白酒中相应的农药残留检测方法,尽早白酒行业中制定出相应的标准,尽量减少酿酒原料的农药施用量。

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] Sen NP,SW Seaman and D Weber. A method for the determination of methyl carbamate and ethyl carbamate in wines[J]. Food Addit Contam, 1992, 9:149-160.
- [3] 杨莉萍.氨基甲酸酯类农药残留分析方法的研究进展(一)[J].甘肃农业科技,2005,(7):60-62.
- [4] 安蓉.液相色谱技术及液质联用技术在食品及农产品残留检测中的应用[J].现代科学仪器,2003,(1):20-23.
- [5] 耿昱,郭寅龙.固相微萃取/气相色谱/质谱联用技术在农药残留物分析中的应用[J].分析测试技术与仪器,2001,7(4):230-235.
- [6] 王运浩,江用文,等.食品农药残留与分析控制技术展望[J].现代科学仪器,2003,(1):8-12.
- [7] 王利平,刘杨岷,等.固相微萃取气质联用分析黄酒中的氨基甲酸乙酯[J].江苏食品与发酵,2003,(4):3-6.
- [8] 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,2004,33(5):627-628.
- [9] Jingcun Wu,Charalambos Tragas,et al. J. Chromatogr. A 2002,(976):357-367.
- [10] M. Liu, Y. Hashi, et al. J. Chromatogr. A 2005,(1097):183-187.
- [11] 陈剑刚,赵倩铃,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.
- [12] 胡玉玲,钟伟健,等.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.
- [13] T. Goto, Y. Ito, H. Oka, et al. Analytica Chimica Acta 2005(531):79-86.
- [14] C. Jansson, T. Pihlström, et al. Journal of Chromatography A, 2004(1023):93-104.
- [15] 陈晓红,张卫红,等.液相色谱和液质联用技术在水产品安全检测中的应用[J].广州化工,2005,33(3):16-24.
- [16] Woo IS,Kim IH,Yun UJ,et al. An improved method for determination of ethyl carbamate in Korean traditional rice wine[J]. J Ind Microbiol Biotechnol,2001,26:363-368.
- [17] 王绪卿,吴永宁,等.色谱在食品安全分析中的应用[M].北京:化学工业出版社,2005.

《酿酒科技(世纪光盘)》征订启事

《酿酒科技(世纪光盘)》由中国学术学期刊(光盘版)电子杂志社和酿酒科技杂志社联合编辑,清华同方光盘电子出版社出版,酿酒科技杂志社发行。

随着科学技术的发展和时代的进步,电子出版物不断涌现。近年来,很多读者向本刊索取以前出版的《酿酒科技》,由于历史原因和原刊印数,不可能大量印刷存放,有的期次仅存孤本。为了抢救和保护历史文献及满足广大读者的需求,我们特出版发行了《酿酒科技(世纪光盘)》。

《酿酒科技》是中国酿酒工业的龙头刊物,为“中国科技核心期刊”、“全国中文核心期刊”、“中国期刊方阵双效期刊”、“第三届国家期刊奖百种重点期刊”,全面报道中国酿酒工业科学技术的专业杂志,在全国酿酒界影响最大、发行面最广,涵盖全国32个省、市、区、特区,并发行海外,是中国酒业发行量最大的专业杂志,被誉为中国酿酒工业科技进步的向导。

《酿酒科技(世纪光盘)》是中国酿酒业学术期中第一部集成化全文电子期刊,它全文收录了《酿酒科技》1980年创刊至2000年,20

年102期的论文,共3007篇。内容包括:微生物·制曲、白酒、酒精、啤酒、葡萄酒、黄酒、果酒、配制酒、分析与检测、专家论坛、酿酒新技术、新产品等。《酿酒科技(世纪光盘)》定价380元/套,数量不多,欲购者请与酿酒科技杂志社吴萍同志联系。电话:(0851)5796163
传真:(0851)5776394

