

DBS22

吉 林 省 地 方 标 准

DBS22/011—2013

食品安全地方标准
饮料酒中氨基甲酸乙酯的测定
气相色谱-质谱法

2013-10-08 发布

2013-10-08 实施

吉林省卫生厅 发 布

前 言

本标准附录A为资料性附录。

本标准起草单位：吉林省疾病预防控制中心。

本标准起草人：刘思洁、范明、李青、杨大鹏、姜楠。

食品安全地方标准

饮料酒中氨基甲酸乙酯的测定

气相色谱-质谱法

1 范围

本标准规定了饮料酒中氨基甲酸乙酯的气相色谱-质谱测定方法。

本标准适用于白酒、啤酒、黄酒、葡萄酒等酒中氨基甲酸乙酯的测定。

本标准的检出限：当试样取2.0g时，本方法氨基甲酸乙酯含量的检出限为1.0 μg/kg。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

3 原理

饮料酒加氨基甲酸乙酯同位素内标后，经过硅藻土固相萃取柱净化、洗脱，洗脱液浓缩后，用气相色谱—质谱仪测定，内标法定量。

4 试剂和材料

除另有规定外，所用试剂均为分析纯。水为GB/T 6682规定的一级水。

- 4.1 无水硫酸钠(Na_2SO_4)：450℃灼烧4h，冷却后贮于干燥器中备用。
- 4.2 正己烷(C_6H_{14})：色谱纯。
- 4.3 乙酸乙酯($\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$)：色谱纯。
- 4.4 乙醚($\text{C}_4\text{H}_{10}\text{O}$)：色谱纯。
- 4.5 甲醇(CH_3OH)：色谱纯。
- 4.6 氨基甲酸乙酯标准品($\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_2\text{N}$, CAS: 51-79-6)：纯度>99.0%。
- 4.7 D5-氨基甲酸乙酯($\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_2\text{N}-\text{d}_5$)（内标）。
- 4.8 5%乙酸乙酯-乙醚溶液(V/V)。
- 4.9 D5-氨基甲酸乙酯溶液：准确称取适量的D5-氨基甲酸乙酯标准品，用甲醇配制成浓度为1.0 mg/mL的标准储备液，使用时用甲醇稀释至1.0 μg/mL。
- 4.10 氨基甲酸乙酯标准溶液：准确称取适量的氨基甲酸乙酯标准品，用甲醇配制成浓度为1.0 mg/mL的标准储备液，使用时用甲醇稀释至0.2 μg/mL。
- 4.11 氨基甲酸乙酯标准使用液：准确吸取0.2 μg/mL氨基甲酸乙酯标准溶液0.1 mL、0.2 mL、0.4 mL、0.6 mL、0.8 mL，各加1.0 μg/mL的D5-氨基甲酸乙酯溶液100 μL，用甲醇定容至1.0 mL，得到浓度为

20.0 ng/mL, 40.0 ng/mL, 80.0 ng/mL, 120.0 ng/mL, 160.0 ng/mL 的标准使用液（含 100.0 ng/mL D5-氨基甲酸乙酯）。

4.12 CLE-硅藻土固相萃取柱：4000 mg/12 mL。

5 仪器与设备

- 5.1 气相色谱单级四级杆质谱仪。
- 5.2 电子分析天平：感量 0.1 mg。
- 5.3 固相萃取仪，配有抽真空装置。
- 5.4 氮吹仪。
- 5.5 漩涡混匀器。

6 分析步骤

6.1 试样制备与保存

样品采集后应放阴凉处保存，尽快测定。样品开封后，应放冰箱 4℃ 冷藏，在 1 周内尽快分析。

6.2 提取

称取 2.0 g（准确到 0.01g）的酒样，加 100 μ L D5-氨基甲酸乙酯内标使用液，混匀。

6.3 净化

加样到硅藻土固相萃取柱上，抽真空，让试样慢慢渗入到固相萃取柱中，静置约 10 min，用 10 mL 5 % 乙酸乙酯-乙醚溶液（4.8）洗脱收集于具塞刻度试管中（需要抽真空），洗脱液经过无水硫酸钠脱水，在 30℃ 下用氮气缓缓吹至近干，用甲醇定容至 1.0 mL 制成测定液供气相色谱质谱仪分析。

6.4 测定

6.4.1 色谱参考条件

色谱柱：DB-INNOWAX 毛细管色谱柱：30m $\times$ 0.25mm（内径） $\times$ 0.25 μ m（膜厚）或相当色谱柱。

柱温：初温 50℃，保持 1min，以 8℃ / min 升至 180℃。程序运行完成后 240℃ post-run 5min。

载气：氮气，纯度 $\geq$ 99.999%，流速 1 mL/min。

进样口温度：200℃。

进样量：1 μ L。

6.4.2 质谱参考条件

电离方式：EI 源，70eV。

离子源温度：230℃。

进样方式：无分流进样。

氨基甲酸乙酯选择监测离子（m/z）：44、62、89，定量离子 62。

D5-氨基甲酸乙酯选择监测离子（m/z）44、64、76，定量离子 64。

6.5 标准曲线的制备

分别取不同氨基甲酸乙酯标准使用液，进样1μL，进行仪器分析，绘制标准曲线。

6.6 气相色谱-质谱检测及确证

在上述仪器条件下测定标准溶液及样品溶液。根据氨基甲酸乙酯保留时间及碎片离子进行定性、定量分析。根据标准曲线计算测定液中氨基甲酸乙酯的含量。各检测目标化合物以保留时间和特征离子与定量离子所对应的GC/MS 色谱峰面积相对丰度进行定性。要求被测试样中目标化合物的保留时间与标准溶液中目标化合物保留时间的相对偏差小于20%；样品特征离子的相对丰度与浓度相当混合标准溶液的相对丰度一致，相对丰度偏差不得超过表3 的规定，则可判断样品中存在相应的被测物。

表3 定性测定时相对离子丰度的最大允许偏差

相对离子丰度	>50%	20%—50%	10%—20%	<10%
允许的相对偏差	±10%	±15%	±20%	±50%

6.7 空白试验

除不加试样外，采用完全相同的测定步骤进行平行操作。

6.8 色谱图和质谱图

色谱图和质谱图参见附录A中图A. 1和图A. 2。

7 结果计算

以标准溶液浓度对定量离子峰面积绘制标准曲线，内标法定量。按式（1）计算

$$X = \frac{C}{m} \times \frac{1000}{1000} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

X ——试样中氨基甲酸乙酯含量，单位为微克每千克（μg/ kg）；

C ——测定液中色谱峰与内标色谱峰的峰面积比值对应的氨基甲酸乙酯的含量，单位为纳克（ng）；

m ——样品的取样量，单位为克（g）。

8 准确度和精密度

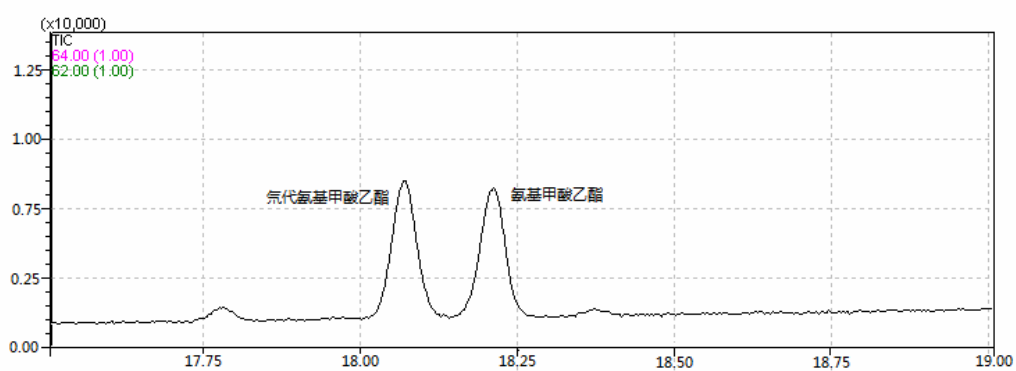
8.1 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的10%。

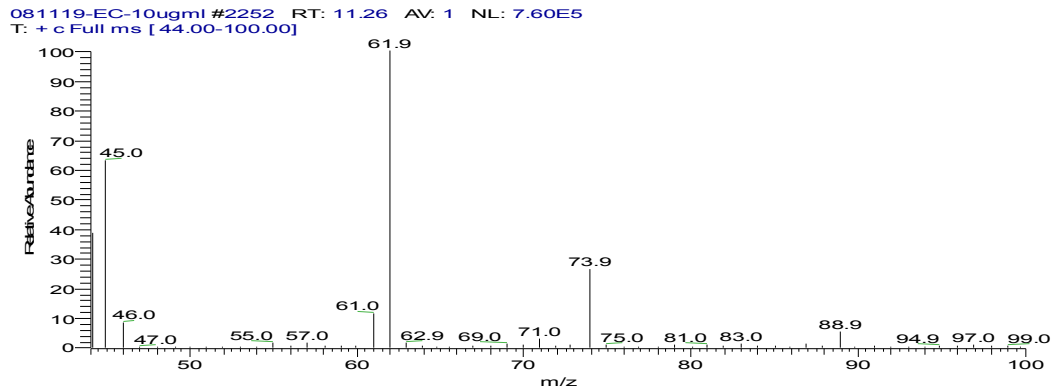
8.2 准确度

本方法添加浓度为20.5 μg/ kg-100.3 μg/ kg时，白酒样品本底值为25.6 μg/ kg时，加标回收率为87.8%~108.3%；啤酒样品本底值为10.2 μg/ kg时，加标回收率为87.8%~107.4%；黄酒样品本底值为19.8 μg/ kg时，加标回收率为85.9%~103.0%；葡萄酒样品本底值为15.8 μg/ kg时，加标回收率为94.0%~104.0%。

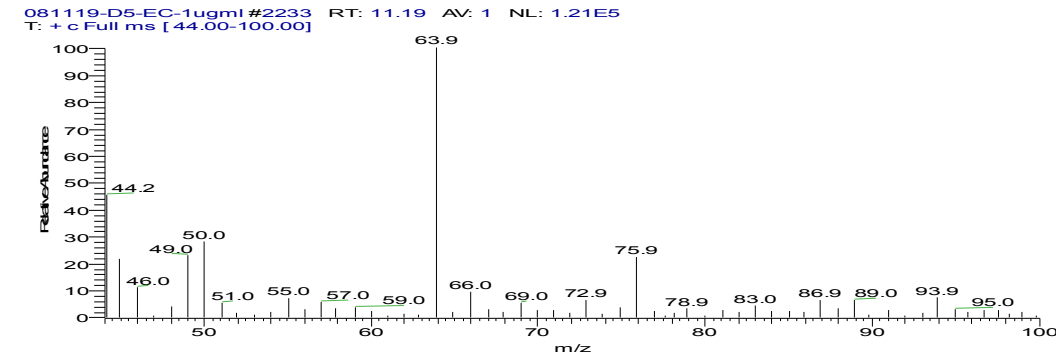
附 录 A
(资料性附录)
色谱图和质谱图



图A. 1 氨基甲酸乙酯和氘代氨基甲酸乙酯的总离子流色谱图



a 氨基甲酸乙酯



b 氘代氨基甲酸乙酯

图A. 2 氨基甲酸乙酯(a)和氘代氨基甲酸乙酯(b)全扫描质谱图