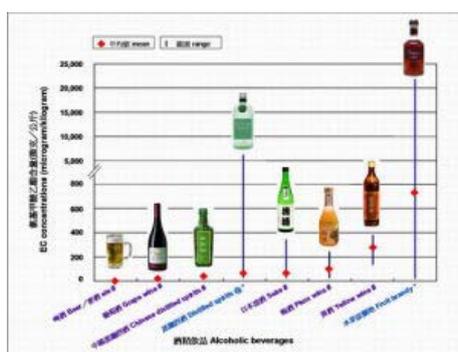




氨基甲酸乙酯强制标准出台！

博纳艾杰尔完全遵照 GB 5009.223-2014 帮您检测致癌物！

【事件背景】氨基甲酸乙酯是发酵食物和酒精饮品在发酵或贮存过程中天然产生的污染物，可以引起肺肿瘤、淋巴瘤、肝癌、皮肤癌等。氨基甲酸乙酯过去曾用于人类医药用途，但因为含有毒性且疗效欠佳，现已禁用。不同的酒精饮品检出的氨基甲酸乙酯含量不一（见图示）。



例如烈酒（特别是由樱桃、杏和梅等核果制造的烈酒）的含量一般较高，而啤酒的含量则偏低。不同种类的酒精饮品的氨基甲酸乙酯含量差异很大。由于氨基甲酸乙酯含基因毒性，小鼠长期口服此类物质会产生各种癌瘤。2007年，世界卫生组织的国际癌症研究机构(IARC)正式将氨基甲酸乙酯(Ethyl Carbamate)归为2A类致癌物。

2009年开始，已经有题为《固相萃取-气相色谱法测定葡萄酒中的氨基甲酸乙酯》的论文出版公示，自此酒精饮品中氨基甲酸乙酯的测定为民众关注。2012年，随着白酒中塑化剂事件愈演愈烈，酒精饮品和发酵物品中氨基甲酸乙酯检测问题再一次被提上日程。

【国标出台】2015年初，《食品安全国家标准 食品中氨基甲酸乙酯的测定》(GB 5009.223-2014)公布，其规定了啤酒、葡萄酒、黄酒、白酒等酒类以及酱油中氨基甲酸乙酯含量的气相色谱-质谱法测定。标准适用于啤酒、葡萄酒、黄酒、白酒等酒类以及酱油中氨基甲酸乙酯含量的测定。此标准为强制标准，即具有法律属性，在一定范围内通过法律、行政法规等手段强制执行的标准。





自此，致癌物-氨基甲酸乙酯的含量和检测，成为酒精饮品和发酵食品相关企业、机构、检验检测机构不得不说的“秘密”！在国家强制标准验证阶段，我们已经开发并优化了符合国家标准方法的碱性硅藻土柱，推出成熟的商品化产品 Cleanert EC 氨基甲酸乙酯专用固相萃取柱（碱性硅藻土），适逢 2015 年新版国标出台，此产品完美贴合此项标准！

GB 5009.223-2014 标准中提到的“碱性硅藻土固相萃取柱”并未提到填料处理方法，客户盲目寻找柱子，未必符合国家标准。（如图）

2 原理

未提到填料处理方法，客户盲目寻找柱子，未必符合国家标准！

试样加 D₃-氨基甲酸乙酯内标后，经过碱性硅藻土固相萃取柱净化、洗脱，洗脱液浓缩后，用气相色谱-质谱仪进行测定，内标法定量。

博纳艾杰尔经过大量标准验证，确保 Cleanert EC 柱（订货号：EC200012）结合国标产品进行白酒中氨基甲酸乙酯测定，检出限为 2.0 μg/kg，回收率在 98.3% ~ 104.5%，完全满足食品安全国家标准 GB5009.223-2014 方法的检测要求。（具体检测方法见附件）

与此同时，博纳艾杰尔还可为广大客户打包出售 DA-INNOVAX 气相柱（GB5009.223-2014 国标方法）、Venusil MP C18 液相色谱柱（非国标方法）、实验室通用耗材、仪器产品及全套解决方案，帮您一次性解决所有烦恼！敬请广大酒精饮品和发酵类物质相关企业，第三方检测实验室，质量监督检验检疫机构和出入境检验检疫局等企事业单位来电垂询！博纳艾杰尔全国统一客服热线：4006068099 中国区官方网站 <http://www.agela.com.cn/> 更多信息，可同时关注博纳艾杰尔官方微信（微信号：Agela_4006068099），帮您传达一手资料！



扫一扫，关注博纳艾杰尔！





附件:

酒中氨基甲酸乙酯的测定（应用编号：MF00013）

天津博纳艾杰尔科技有限公司

方法一、GC-MS 法 参照 GB 5009.223-2014

摘要: 本文参照食品安全国家标准方法《GB 5009.223-2003 食品中氨基甲酸乙酯的测定》，进行了白酒中氨基甲酸乙酯含量的测定。采用商品化Cleanert EC氨基甲酸乙酯专用固相萃取柱(碱性硅藻土)进行样品前处理, GC-MS法测定, 结果表明氨基甲酸乙酯检出限为 $2.0\mu\text{g}/\text{kg}$, 定量限为 $5.0\mu\text{g}/\text{kg}$ (取样 2.00g), 回收率在 $98.3\%\sim 104.5\%$; 白酒样品的日间精密度测试, $\text{RSD}<3\%$ 。方法简单, 产品稳定, 结果准确灵敏, 完全满足分析检测的要求。

氨基甲酸乙酯(Ethyl Carbamate, EC), 是一种致癌物, 可以引起肺肿瘤、淋巴癌、肝癌、皮肤癌等。它是发酵食物和酒精饮品在发酵或贮存过程中天然产生的污染物。2007年, 世界卫生组织的国际癌症研究机构(IARC) 正式将氨基甲酸乙酯(Ethyl Carbamate) 归为2A类致癌物。因此对相关食品中进行氨基甲酸乙酯的检测和监测是非常必要的。

一、试剂和材料

标准溶液配制

1.0 mg/mL D5-氨基甲酸乙酯贮备液: 准确称取 10.0 mg D5-氨基甲酸乙酯标准品, 用甲醇定容至 10 mL。

2.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ D5-氨基甲酸乙酯使用液: 准确吸取 1.0 mg/mL D5-氨基甲酸乙酯标准贮备液 0.1 mL, 用甲醇定容至 50 mL。

1.0 mg/mL 氨基甲酸乙酯贮备液: 准确称取 0.5000 g 氨基甲酸乙酯标准品, 用甲醇定容至 50 mL。

分别准确吸取一定量氨基甲酸乙酯标准, 加 100 μL 2.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 D5-氨基甲酸乙酯溶液, 用甲醇定容至 1.0 mL, 得到 10.0、25.0、50.0、100.0、200.0、400.0、1000.0 ng/mL 的标准使用液 (内含 200.0 ng/mL D5-氨基甲酸乙酯)

固相萃取柱: Cleanert EC 氨基甲酸乙酯专用固相萃取柱 (碱性硅藻土)

气相色谱柱: DA-INNOWAX 柱





二、实验方法

样品前处理

准确量取 2.00 ml 酒样(注:啤酒样品 EC 含量较低,取 4 mL 样品上样),加 100 μ L 2.0 μ g/mL D5-氨基甲酸酯内标使用液、氯化钠 0.3 g (白酒、酱油不加),超声溶解、混匀,然后加样到氨基甲酸酯上,抽真空,让试样慢慢渗入到 **Cleanert EC 氨基甲酸酯专用固相萃取柱**中,静置约 10 min,先用 10 mL 正己烷淋洗除杂,然后用 15 mL 5% 乙酸乙酯/乙醚溶液以 1 mL/min 流速洗脱并收集于 10 mL 具塞刻度试管中,在室温下用氮气缓缓吹至 0.5mL 左右,用甲醇定容至 1.0 mL 制成测定液供 GC/MS 分析,同时做空白。

GC-MS 条件

色谱柱: DA-INNOWAX 柱, 30 m*0.25 mm*0.25 μ m;

进样口温度: 220 $^{\circ}$ C; 柱温: 初温 50 $^{\circ}$ C, 保持 1 min, 然后以 8 $^{\circ}$ C/min 升至 180, 然后以 15 $^{\circ}$ C/min 升至 210 $^{\circ}$ C 保持 5 min;

载气: 氦气, 纯度 \geq 99.999% 流速 1 mL/min;

电离方式: EI 源 离子源温度: 230 $^{\circ}$ C;

进样方式: 不分流进样; 样量: 1-2 μ L;

氨基甲酸酯选择监测离子 (m/z): 62、76、89; 定量离子 62;

D5-氨基甲酸酯选择监测离子 (m/z) 64、76; 定量离子 64

三、实验结果

色谱图

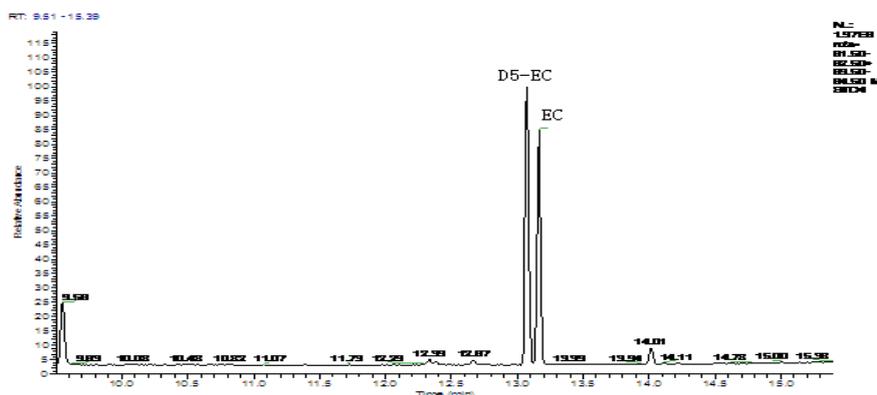


图 1 氨基甲酸酯及内标总离子图



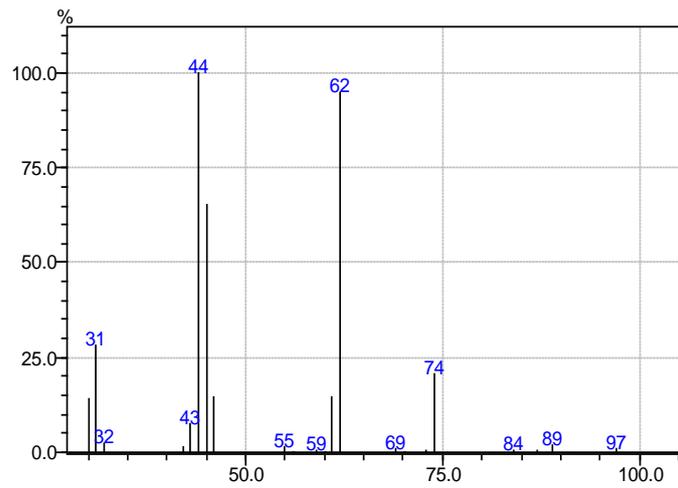


图 2 氨基甲酸酯质谱图

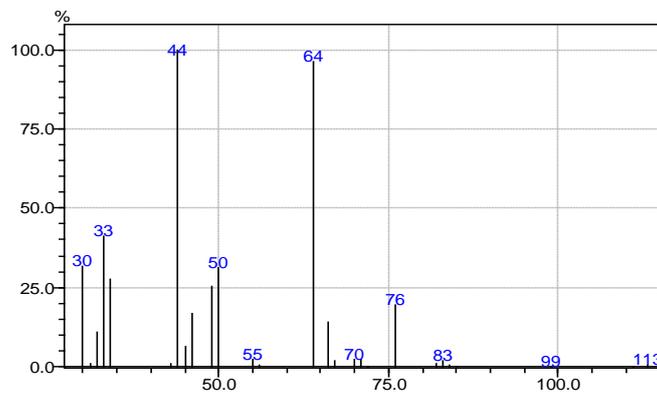
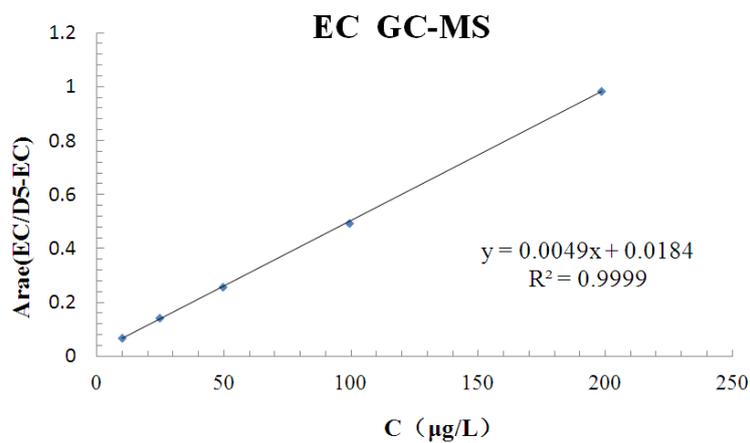


图 3 内标 D5-氨基甲酸酯质谱图

标准曲线





酒样加标的回收率及精密度

表 1 白酒样品加标的回收率及精密度

序号	白酒样品 (mg/L)	加标量 (mg/L)	测定浓度 (mg/L)	回收量 (mg/L)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD %
1		100	178.32	104.46	104.5		2.51
2		100	176.78	102.92	102.9	101.4	
3	73.86	100	175.64	101.78	101.8		
4		100	173.25	99.39	99.4		
5		100	172.20	98.34	98.3		

表 2 白酒样品日间精密度

测定数据 (mg/L)							平均值	RSD%
60.47	60.79	59.05	63.04	58.15	56.61	59.03	59.13	2.94
58.99	59.75	60.24	57.49	59.77	56.91	57.60		

注：相同的样品，，每天测定 2 次，连续 7 天内测定数据

方法检出限

当试样取 2.00g 时，本方法氨基甲酸乙酯检出限为 2.0 μ g/kg，定量限为 5.0 μ g/kg。

四、结论

本文采用商品化 Cleanert EC 氨基甲酸乙酯专用固相柱（碱性硅藻土）前处理结合 DA-INNOWAX 柱进行白酒中氨基甲酸乙酯的测定，结果表明氨基甲酸乙酯检出限为 2.0 μ g/kg，回收率在 98.3% ~ 104.5%，完全满足食品安全国家标准 GB5009.223-2014 方法的检测要求。





五、订货信息

产品名称	规格包装	订货号
Cleanert EC (氨基甲酸乙酯专用 固相萃取柱)	20 支/包	EC200012
DA-INNOWAX 柱	30 m×0.25 mm×0.25 μm	2025-3002
Qudura 卓睿全自动固相萃 取仪	4 通道, 可连续处理 24 个样品	SPE-40
甲醇	4×4L/箱	AH230-4
正己烷	4×4L/箱	AH216-4
乙酸乙酯	4×4L/箱	AH100-4
1.5mL 样品瓶	1.5 mL	1109-0519
1.5mL 样品瓶	与 1.5 mL 样品瓶瓶套	0915-1819
PTFE 滤膜	0.22 μm, 直径 13 mm; 200 个/pk	AS041320

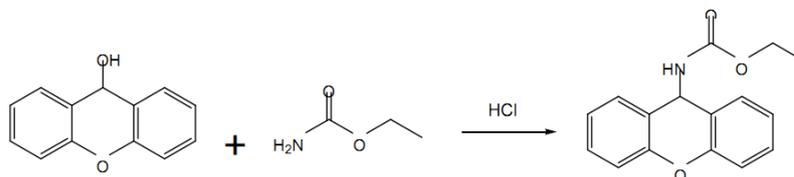




方法二、液相方法-荧光检测法

一、原理

在盐酸中，氨基甲酸乙酯与 9-羟基吨反应，生成具有荧光特性的衍生物，经色谱柱分离，荧光检测器检测，外标法定量



二、衍生方法

量取 0.02mol/L 的 9-羟基吨 500 μ L 添加到 1ml 酒精度调整至 40% 的样品或标样中，然后加入 100 μ L 的 1.5mol/L HCl 中，混匀使反应完全，放暗处衍生至少 60min，过 0.45 μ m 滤膜，待测。

三、样品前处理方法：同上

四、色谱条件

色谱柱：Venusil MP C18，4.6 mm*250 mm，5 μ m (P/N: VA952505-0)

流速：0.8 mL/min

柱温：30 $^{\circ}$ C

激发波长：233 nm

发射波长：600 nm

流动相：A: 0.02M 乙酸钠 (pH=7.2)，B: 乙腈，梯度程序如下

时间 (min)	A%	B%
0	70	30
5	50	50
25	25	75
26	10	90
29	10	90
30	70	30
38	70	30





注意事项:

1. 衍生试剂配置完成后, 应 4℃ 避光保存 (有效期 1 个月)
2. 在加样时, 尽量缩短操作时间, 避免衍生试剂见光时间过长分解
3. 该衍生反应需要在暗处进行
4. 衍生时间不得少于 30min
5. 流动相 pH 值要调整准确

五、订货信息

产品名称	规格包装	订货号
Cleanert EC (氨基甲酸乙酯专用固相萃取柱)	20 支/包	EC200012
Venusil MP C18 色谱柱	4.6 mm*250 mm, 5 μm	VA952505
Qudura 卓睿全自动固相萃取仪	4 通道, 可连续处理 24 个样品	SPE-40
甲醇	4×4L/箱	AH230-4
正己烷	4×4L/箱	AH216-4
乙酸乙酯	4×4L/箱	AH100-4
1.5mL 样品瓶	1.5mL	1109-0519
1.5mL 样品瓶	与 1.5mL 样品瓶瓶套	0915-1819
PTFE 滤膜	0.22μm, 直径 13mm; 200 个/pk	AS041320

