

酒精饮料中氨基甲酸酯类农药残留分析方法研究进展

谭文渊, 付大友, 袁东, 蒲天姿

(四川理工学院材料与化学学院, 四川 自贡 643000)

摘要: 文章介绍了酒精饮料中氨基甲酸酯类农药残留来源, 并对氨基甲酸甲酯和氨基甲酸乙酯的形成机理、分析方法等进行了综述, 同时阐述了氨基甲酸酯类有害致癌物质对人体的危害, 提出了建立酒精饮料中氨基甲酸酯类的限量标准的必要性和紧迫性。

关键词: 酒精饮料; 氨基甲酸酯类; 分析方法

中图分类号: O 657.7

文献标识码: B

酒精饮料系指供人们饮用且乙醇含量在 0.5% ~ 65% 的饮料, 包括各种发酵酒、蒸馏酒及配制酒。酒精饮料长久以来一直被世界各地的人们大量消耗, 从卫生和医学的角度看, 它是标准饮食的组成部分, 因为它们有弛缓和欣快的效用, 这还体现在别的方面, 比如休闲娱乐, 艺术灵感, 引起性欲等等。随着人们对饮食安全和自身健康的重视, 酒精饮料中可能因含有农药残留而导致中毒或其他不适症状等这一问题越来越被人们所关注。自 20 世纪 70 年代以来, 氨基甲酸酯类农药成为替代高毒有机氯农药的品种之一, 广泛的应用于粮食、蔬菜、水果及经济作物上的害虫防治。氨基甲酸酯类农药的结构特性是分子中含有一个 N-甲基基团, 代表品种有西维因、呋喃丹、涕灭威、叶蝉散、巴沙等^[1]。氨基甲酸酯类农药除了杀虫作用之外, 还有显著刺激作物生长的作用, 但由于其毒性大, 在粮食、蔬菜等中的残留对公众健康及环境都可产生极大的危害。我国酒的品种较多, 如葡萄酒、果酒等在酿制过程中因原料含有少量氨基甲酸酯类农药而被引入, 而酒精饮料当中除了因酿造原料中可能含有 N-甲基氨基甲酸酯农药残留外, 还可能在发酵中产生氨基甲酸甲酯 (Methyl carbamate 简称 MC 或称尿基烷 Urethylane) 和氨基甲酸乙酯 (Ethyl carbamate 简称 EC) 这类的天然副产物, 已有报道在发酵酒的饮料中被检测出来^[2-17]。MC 和 EC 都是致癌物质, 能诱发良性或恶性肿瘤, 特别是肺癌与肝癌^[3], 这一问题已被更多人所关注。因此, 对酒中氨基

甲酸酯类农药残留量测定与调查的研究对于关注食品安全和公众健康都有着极为重要的意义。

1 酒中氨基甲酸酯类农药残留来源及形成机理

1.1 N-甲基氨基甲酸酯类农药的来源

农药的毒性, 在喷洒农作物表面的时候, 除发挥其防病杀虫作用之外, 还被作物吸收或残留于籽实表面部分, 即在籽实中也有一定量的残留。而这种农药残留量若超过食用安全限量, 食用之后就会对人体健康造成危害。王功、张品、刘芑岩等人^[18-23]都在白酒的酿造原料大米中检测出 N-甲基氨基甲酸酯类农药残留。刘潇威等人^[24]利用高效液相色谱法测定出粮食中 9 种氨基甲酸酯类杀虫剂及代谢物残留量。陈笑梅等人^[25-27]也测量出各种粮食中多种氨基甲酸酯农药残留。

1.2 EC 和 MC 的来源及形成机理

MC 的来源和形成机理主要有: (1) 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 MC; (2) 以谷物为原料生产的发酵酒精中 MC 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 MC^[3]。EC 的来源和形成机理主要有: (1) 在已发酵的和未蒸馏的酒精饮料中尿素和乙醇自发的化学反应生成 EC; (2) 在蒸馏过程中氢化物被氧化成氰酸, 然后氰酸和乙醇反应而产生 EC^[24]。

2 样品分析前处理方法

在酒精饮料中氨基甲酸酯类农药残留的含量测定中, 样品的浓缩与净化是非常关键的一步, 直接影响到实验结果的准确和实验方法的好坏。目前采用的前处理方法主要有液液萃取-旋转蒸发浓缩、固相萃取-氮吹浓缩等, 但总的都向着简单化、微型化、自动化的方向发展。

2.1 液液萃取-旋转蒸发浓缩

液液萃取 (liquid-liquid extraction) 又称溶剂萃取或抽提, 是用溶剂分离和提取液体混合物中的组分的过程。在液体混合物中加入与其不相混溶 (或稍相混溶) 的选定的溶剂, 利用其组分在溶剂中的不同溶解度而达到分离或提取目的。高年发等人^[2]参照进出口商品检验行业标准 SN 0285-93-出口酒类中氨基甲酸酯类残留量的标准方法并进行了改进, 先将白酒样做初步处理, 在旋转蒸发器上浓缩后, 进气质联用仪分析, 方法回收率在 97.0% ~ 103.0% 之间。袁东等人^[3]将待测白酒样品准确量取 250 mL 于蒸发烧瓶中, 用旋转蒸发器在 50°C 水浴上浓缩至 2 mL, 取 10 L 进行 LC/MS 分析, 回收率为 80.7% ~ 97.0%。

2.2 固相萃取-氮吹浓缩

固相萃取 (SPE) 是一种用途广泛而且越来越受欢迎的样品前处理技术, 它建立在传统的液-液萃取 (LLE) 基础之上, 结合物质相互作用的相似相溶机理和目前广泛应用的 HPLC、GC 中的固定相基本知识逐渐发展起来的。在固相萃取中, 固相对分离物的吸附力比溶解分离物的溶剂更大, 当样品溶液通过吸附剂床时, 分离物浓缩在其表面, 其他样品成分通过吸附剂床, 通过只吸附分离物而不吸附其他样品成分的吸附剂, 可以得到高纯度和浓缩的分离物。SPE 具有有机溶剂用量少、便捷、安全、高效等特点。固相萃取仪与氮吹仪的配套使用对样品前处理过程尤其在痕量物质检测中显示出巨大的优越性, 目前国内主要应用在水中多环芳烃 (PAHs) 和多氯联苯 (PCBs) 等有机物质分析, 水果、蔬菜及食品中农药和除草剂残留分析, 抗生素分析, 临床药物分析等方面。牛栋平、吴平谷、李华等人^[46]采用固相萃取-氮吹法处理酒样, 分析酒样中 EC, 方法回收率在 85.76 ~ 102.82% 之间, 结果较为满意。王金芳等人^[7]用固相萃取-氮吹法处理葡萄酒样, 分析样品中 19 种农药残留, 平均添加回收率在 77.8% ~ 109.1% 之间。

3 分析方法

对于氨基甲酸酯类农药残留检测的所用的仪器分

析方法较多, 如光度法^[29]、色谱法、色谱质谱法以及酶抑制法^[30]等等, 但在酒精饮料中主要采用色谱法及色谱质谱联用法进行分析。

3.1 气相色谱法 (GC)

气相色谱分析法是 20 世纪 50 年代发展起来的, 在农药残留中的应用始于 60 年代初。由于其具有分离效率高、分析速度快、选择性好、样品用量少、检测灵敏度较高、操作简单、费用低等优点, 因此广泛应用于分离气体和易挥发或可转化为易挥发的液体及固体。目前该方法已成为环保、食品、石油等行业分析中最常用、最主要的方法。气相色谱法的 TEA (N) 检测器对含氮有机化合物有较高的灵敏度和专一性, 已广泛用于测定酒类、含酒精饮料等的氨基甲酸酯类含量。牛栋平等人^[4]采用固相萃取法提取葡萄酒中氨基甲酸酯, 然后用气相色谱法测定了 8 种葡萄酒, 氨基甲酸酯含量为 11.6 ~ 30.1 μg/L。朱学良等人^[8]采用基质固相分散的样品前处理方法, 替代传统的液-液萃取、固相萃取, 从葡萄酒中提取、净化 5 种农药, 气相色谱电子捕获检测器分析测定, 基质匹配标准校正方法补偿基质效应, 添加 3 水平 (0.01 ~ 0.10 mg/L) 的回收率为 85.7% ~ 104.6%。

3.2 液相色谱法 (LC)

目前, 高效液相色谱法逐步成为一种主要的分析方法, 尤其是对一些非挥发性和热稳定性差的农药, 如氨基甲酸酯类农药, 更显示其优越性。高年发等人^[2]采用高效液相结合荧光法 (HPLC-FLD) 检测 EC, 并通过与标准 GC/MS 方法进行对比研究, 并对 HPLC-FLD 方法进行了评价, 认为该方法操作简单, 重现性和精密度较好, 回收率较高, 是测定氨基甲酸酯的好方法, 可将该方法作为大量实验时筛选之用, 但不太适合于精确定量。钟其顶等人^[9]采用 SPE-GC/MS 和 HPLC-FLD 分别测定黄酒中 EC 含量, 并进行了系统优化和比对。结果表明, SPE-GC/MS 和 HPLC-FLD 法均能准确检测黄酒中的 EC 含量, 测定结果可靠。其中, SPE-GC/MS 法灵敏度较高, 已被国际权威机构 AOAC、OIV 和欧盟纳入标准检测方法, 宜选作我国黄酒 EC 含量检测方法标准。而 HPLC-FLD 法测定黄酒中 EC 更为简单快速, 成本较低, 易于掌握, 适用于生产企业过程监控。

3.3 气相色谱-质谱联用法 (GC/MS)

气相色谱-质谱联用仪既具有高分离效能, 又具有准确鉴定化合物结构的特点, 可以达到定性定量的检测目的, 随着气相色谱-质谱联用仪的进一步发展, 目前它正被广泛应用于农药残留量检测工作中。吴平谷等人^[5]采用固相萃取法提取酒精饮料中氨基甲酸酯, 然后进行 GC/MS 法测定。比较了 7 种净化柱提取除杂效

果,选择 CE-SLE 柱作为酒精饮料中 EC 的萃取柱,本方法回收率为 90.0% ~ 101.3%,测定市场中 7 种黄酒、8 种葡萄酒,EC 含量黄酒为 88.2 μ g/L ~ 240.8 μ g/L,葡萄酒为 15.3 μ g/L ~ 24.5 μ g/L。李华等人^[6]采用 Chem Elut 固相萃取柱,结合 GC/MS 方法检测葡萄酒中的 EC,方法的回收率为 85.76% ~ 102.82%。王利平等人^[10]采用固相微萃取气质联用选择离子采集分析了黄酒中的 EC 含量,对测定中的萃取时间、温度、萃取头种类、加盐浓度、pH 等条件进行了优化,采用 50/30 mDVB/cAR/PDMs 萃取头对样品中的 EC 进行了测定,方法的线性范围为 5 μ g/L ~ 4001 μ g/L,该方法简单方便,重复性好,干扰少,灵敏度高。

3.4 液相色谱-质谱联用法(LC/MS)

LC/MS 具有检测灵敏度高、选择性好、定性定量同时进行、结果可靠等优点,在最近几年的农药残留分析研究中应用逐渐增多,尤其对于一些难挥发、热稳定差的农药类。袁东等人^[3]在高效液相色谱-质谱法测定白酒中的氨基甲酸甲酯中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,以乙腈-0.11% 乙酸为梯度流动相,C18 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%,结果表明该方法的灵敏度高、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。

4 结论及展望

随着中国经济的高速发展和人们生活水平的不断提高,食品安全问题越来越被人们所关注。食品安全是目前公共健康面临的最主要威胁之一,也是中国国民经济可持续发展的一个重要挑战。2008 年三鹿奶粉的三聚氰胺事件,更是引发了人们对食品安全关注的高潮。而酒精饮料一直以来被世界各国的人们广泛的消费着,关注酒精饮料中农药残留对人体影响问题,已成为许多研究学者的共同课题。

在现代农业中氨基甲酸酯类农药的广泛使用,以至于在酒精饮料的原料中不可避免的引入了氨基甲酸酯类农药残留,提供可靠准确的酒精饮料中氨基甲酸酯类农药的分析检测方法,对于酒精饮料中氨基甲酸酯类农药的控制起着至关重要的作用。从而,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多农药残留成为了必然趋势。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。中国的酒精饮料产业尤其是白酒产业有着悠久的历史,随着世界经济的一体化,中国的酒精饮料类产品也将会走向世界更广阔的舞台,而国外在氨基甲酸酯类农药残留方面的限制又非常严格,并且有相应的标准,相比之下,中国在酒精饮料中的氨基甲酸酯类农药残留方面还未引起足够重视。就目前的严峻形势而言,我们需要的工作还很多。首先,尽快在相应的部门建立酒精饮料中相应的氨基甲酸酯类农药残留检测方法,其次,尽早在酒精饮料行业中制定出相应的标准,最后,根据酒精饮料中的氨基甲酸酯类农药残留量,更加明确的找出氨基甲酸酯类农药的引入机理,以便在生产环节加以控制。

参考文献:

- [1] 高希武. 新编实用农药手册[M]. 郑州: 中原农民出版社, 2002
- [2] 高年发, 宝菊花. HPLC 测定白兰地中的氨基甲酸乙酯[J]. 中国酿造, 2008, 190(13): 84-87.
- [3] 袁东. 高效液相色谱质谱法测定白酒中的氨基甲酸甲酯[J]. 酿酒科技, 2007, 154(4): 121-123
- [4] 牛栋平, 陶宁萍, 李学惠. 固相萃取气相色谱法测定葡萄酒中的氨基甲酸乙酯[J]. 上海水产大学学报, 2008, 17(9): 914-916
- [5] 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, 5(5): 627-628
- [6] 李华, 冯丽丹, 梁新红. 固相萃取结合 GC/MS 法测定葡萄酒中氨基甲酸乙酯[J]. 食品与生物技术学报, 2008, 27(1): 62-66
- [7] 朱学良, 戚向阳, 岳晶念. 基质固相分散气相色谱-电子捕获检测器测定葡萄酒中 5 种农药残留[J]. 分析化学研究简报, 2007, 35(2): 259-262
- [8] 钟其顶, 姚亮, 熊正河. 采用 GC/MS 和 HPLC-FLD 2 种方法测定黄酒中的 EC 含量[J]. 食品与发酵工业, 2007, 33(3): 115-119
- [9] 王利平. 固相微萃取气质联用分析黄酒中的氨基甲酸乙酯[J]. 苏食品与发酵, 2003, 115(4): 3-6
- [10] Sagratini G. The high throughput analysis of N-methyl carbamate pesticides in wine and juice by electrospray ionization liquid chromatography tandem mass Spectrometry with direct sample injection into a short column[J]. Journal of Chromatography A, 2007(1147): 134-143
- [11] Wu Jingcun, Zhang Ying, Zhang Jian. Optimization of headspace solid-phase micro extraction for analysis of ethyl carbamate in alcoholic beverage using a face-centered cube central composite design[J]. Journal of Chromatography A, 2002(976): 357-367.

- [12] Dijk W. Automated determination of ethyl carbamate in stone fruits spirits using headspace solid-phase micro extraction and gas Chromatography Tandem mass spectrometry [J]. *Journal of Chromatography A*, 2006 (1108): 116-120
- [13] Roberto Rodríguez M adre ra Beln Surez Vall Determination of ethyl carbamate in ciderspirits by HPLC-FLD [J]. *Food Control* 2009(20): 139-143
- [14] Park S R, H a S D. Exposure to ethyl carbamate in alcohol drinking and non drinking adults and its reduction by simple charcoal filtration [J]. *Food Control* 2009(20): 946-952
- [15] Xue Songhuan, Yuan Yuan. Simultaneous determination of 18 carbamate pesticides residue in nut by ultrahigh performance liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry [J]. *Fenxi Huaxue* 2009 37(5): 782-786
- [16] Chen Haq, Chen Ruiwen. Low-density extraction solvent-based solvent terminated dispersive liquid-liquid microextraction combined with gas chromatography-tandem mass spectrometry for the determination of carbamate pesticides in water samples [J]. *Journal of Chromatography A*, 2010(1217): 1244-1248
- [17] 李凤华, 曹艳平, 王锡宁. GC/MS法测定酒中的氨基甲酸乙酯 [J]. *中国卫生检验杂志*, 2009, 6(6): 1240-1241.
- [18] 王功. 采用最优色谱条件检测大米农药残留量 [J]. *吉林粮食高等专科学校学报*, 2003, 15(3): 27-32
- [19] 张品, 张洪玲, 王莹. 大米中氨基甲酸酯类农药的多残留检测 [J]. *世界农药*, 2006 28(5): 28-32
- [20] 刘芑岩. 大米中多种农药的固相萃取-气相色谱-质谱分析 [J]. *色谱*, 2006, 24(5): 228-234
- [21] 王龙根, 成强. 大米中有机磷和氨基甲酸酯农药残留检测方法研究 [J]. *安徽农业科学*, 2007, 35(13): 3783-3784
- [22] 陈琦. 高效液相色谱-柱后衍生和质谱联用测定大米中氨基甲酸酯类农药残留量 [J]. *分析试验室*, 2007, 35(9): 77-80
- [23] 胡敏. 高效液相色谱法测定大米中氨基甲酸酯类农药残留 [J]. *农药*, 2006, 45(2) 123-124
- [24] 刘潇威, 李凌云, 吕俊岗. 高效液相色谱法测定粮食中氨基甲酸酯类杀虫剂及其代谢物残留量 [J]. *分析试验室*, 2007, 26(4) 110-113
- [25] 陈笑梅. 高效液相色谱-串联质谱法测定粮谷中 9 种氨基甲酸酯类农药残留 [J]. *分析化学研究简报*, 2007, 35(1): 106-110
- [26] 黄琼辉, 康文斌. 高效液相色谱柱后衍生化法检测玉米粉中的氨基甲酸酯类农药残留 [J]. *农业科学与管理*, 2006 25(9): 10-12
- [27] 胡贝贞, 郭伟强. 小麦中氨基甲酸酯类农药残留的 HPLC/MS/MS 测定方法研究 [J]. *浙江大学学报: 理学版*, 2007, 34(7): 429-431.
- [28] 高年发, 宝菊花. 氨基甲酸乙酯的研究进展 [J]. *中国酿造*, 2006 162(9): 1-4
- [29] 杨剑飞. 分光光度法快速检测蔬菜、水果中的拟除虫菊酯类农药总量 [J]. *蔬菜*, 2008, 26(6): 26-27.
- [30] 李顺, 纪淑. 酶抑制法快速检测蔬菜中有机磷和氨基甲酸酯类农药残留的研究现状及展望 [J]. *食品与药品*, 2006 8(7): 29-30

Research Progression of Analytical Methods for Carbamate Pesticide Residue in Alcoholic Beverages

TAN Wen-yuan, FU Da-you, YUAN Dong, PU Tian-zi

(School of Material and Chemical Engineering, Sichuan University of Sciences & Engineering, Zigong 643000, China)

Abstract This paper introduces the sources of carbamate pesticide residue in alcoholic beverages, and gives a summary on the forming mechanism, analysis method of methyl carbamate, expounds the hazard of carcinogenic substance of carbamate pesticide to human health. The necessary and urgent to establish the limit standard of carbamate pesticide in alcoholic beverages is proposed in this paper.

Key words alcoholic beverages, carbamate pesticide, analysis method