

同位素内标-超高效液相色谱-高分辨质谱法 测定酒醅中氨基甲酸乙酯

尹艳艳, 黎露露, 杨军林, 冯小兵, 蒋力力, 田栋伟, 尤小龙, 程平言*

[贵州茅台酒厂(集团)习酒有限责任公司, 遵义 564622]

摘要: **目的** 建立同位素内标法结合超高效液相色谱-高分辨质谱法检测酒醅中氨基甲酸乙酯(ethyl carbamate, EC)含量的分析方法。**方法** 酒醅样品经超纯水超声提取离心过滤后, 以 0.10%甲酸水溶液-甲醇溶液为流动相梯度洗脱, 通过 Hypersil GOLD Amino 色谱柱分离目标物, 在电喷雾正离子模式下采用一级全扫模式内标法定量分析。**结果** 同位素内标定量法能有效补偿样品中基质干扰, EC 含量在 4.00~300.00 $\mu\text{g/L}$ 质量浓度范围内线性关系良好($r^2=0.9993$), 定量限为 6.25 $\mu\text{g/kg}$, 检出限为 3.75 $\mu\text{g/kg}$ 。实际样品加标回收率为 85.17%~97.40%, 相对标准偏差为 1.12%~4.11%。**结论** 该方法线性、准确度和精密度均满足 GB/T 27417—2017《化学分析方法确认和验证指南》的要求, 适用于酒醅中 EC 的分析检测。

关键词: 氨基甲酸乙酯; 酒醅; 同位素内标法; 超高效液相-高分辨质谱法; 基质效应

Determination of ethyl carbamate in fermented grains by isotope internal standard-ultra performance liquid chromatography-high resolution mass spectrometry

YIN Yan-Yan, LI Lu-Lu, YANG Jun-Lin, FENG Xiao-Bing, JIANG Li-Li,
TIAN Dong-Wei, YOU Xiao-Long, CHENG Ping-Yan*

[Guizhou Maotai Distillery (Group) Xijiu Co., Ltd., Zunyi 564622, China]

ABSTRACT: Objective To establish an analytical method for ethyl carbamate (EC) in fermented grains by isotope internal standard method combined with ultra performance liquid chromatography-high resolution mass spectrometry.

Methods Fermented grains were extracted by ultrapure water, filtered after centrifugation. The 0.10% formic acid aqueous solution and methanol solution were used as mobile phase for gradient elution. The samples were separated by Hypersil GOLD Amino chromatographic column; the internal standard method with full mass scan mode was

基金项目: 遵义市优秀青年科技创新人才培养项目([2019]1 号)、贵州省科技计划项目([2020]2Y042)、遵义市科技计划项目([2019]4 号)、贵州省十大千亿级工业(优质烟酒)产业振兴专项([2019]226 号)、贵州省基本建设(非涉农)投资专项([2019]303 号)、贵州省工业和信息化发展专项([2021]165 号)

Fund: Supported by the Zunyi City Outstanding Young Technological and Innovative Talent Cultivation Project ([2019]1), the Guizhou Province Science and Technology Plan Project ([2020]2Y042), the Zunyi City Science and Technology Plan Project ([2019]4), the Guizhou Province Ten Hundred Billion Level Industrial (High Quality Tobacco and Alcohol) Industry Revitalization Special Fund ([2019]226), the Guizhou Province Capital Construction (Non-agriculture-related) Investment Special Fund ([2019]303), and the Guizhou Province Industry and Information Development Special Fund ([2021]165)

*通信作者: 程平言, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为白酒酿造及产业化推广。E-mail: xjjszx149@sina.com

*Corresponding author: CHENG Ping-Yan, Master, Senior Engineer, Guizhou Maotai Distillery (Group) Xijiu Co., Ltd., Xishui County, Zunyi 564622, China. E-mail: xjjszx149@sina.com

used for quantitative analysis in electrospray positive ion mode. **Results** The matrix interference was effectively compensated by internal standard quantitative method. The calibration curve of EC showed good linearity in the range of 4.00–300.00 $\mu\text{g/L}$ ($r^2=0.9993$), the limit of quantification was 6.25 $\mu\text{g/kg}$, and the limit of detection was 3.75 $\mu\text{g/kg}$. The recoveries of the actual samples ranged from 85.17%–97.40%, and range of relative standard deviations were 1.12%–4.11%. **Conclusion** The linearity, accuracy and precision of this method meet the requirements of GB/T 27417—2017 *Guidelines for the confirmation and verification of chemical analysis methods*, and it is suitable for the detection of EC in fermented grains.

KEY WORDS: ethyl carbamate; fermented grains; isotope internal standard method; ultra performance liquid chromatography-high resolution mass spectrometry; matrix effects

0 引言

白酒在世界 6 大蒸馏酒中占有重要地位, 深受广大消费者喜爱^[1]。随着白酒产业的高速发展, 对白酒产品质量安全要求更为严格^[2-4], 其中白酒生产全过程中食品安全风险因子是衡量白酒质量安全的关键性指标^[5-7]。氨基甲酸乙酯(ethyl carbamate, EC), 又名尿烷, 是白酒生产过程中产生的一种内源性风险物质^[8-9], 具有一定的神经毒性、遗传毒性和致癌性^[10]。国际癌症研究机构在 2007 年将 EC 归为 2A 类致癌物^[11]。联合国食品添加剂法规委员会报道, 酒精饮料是人体摄入 EC 的主要途径之一^[12-15]。许多国家针对酒精饮料中 EC 最大允许限量进行相关规定, 目前国内尚未出台白酒中 EC 限量标准, 主要参考加拿大的限值 150 $\mu\text{g/L}$ ^[16]。

EC 作为一种内源性风险物质, 在白酒生产过程中是无法完全避免的^[17-18]。据相关报道, 在白酒酿造和贮存过程中均会产生 EC^[19-20], 白酒中 EC 源于从发酵酒醅通过蒸馏过程迁入及其前体与乙醇反应产生^[21-23]。因此, 建立酒醅中 EC 的检测技术, 同时研究酒醅中 EC 的生成机制及变化规律, 以降低酒醅中 EC 含量, 对降低白酒生产中 EC 的风险具有重要的现实意义^[24]。目前, 酒醅中 EC 检测方法主要有液相色谱法^[25]、气相色谱-质谱法(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)^[26-27]。王莉等^[25]通过对 EC、尿素进行荧光衍生化预处理, 开发一种酒醅中 EC 和尿素液相色谱荧光检测方法。但该方法需要复杂的衍生化前处理, 且衍生产物的不稳定性以及酒醅基质干扰均影响测定结果的准确性。范文来等^[26]通过超声萃取大曲和酒醅中的 EC, 采用顶空固相萃取技术进行富集, 通过气相色谱-质谱法检测 EC 含量, 但该方法前处理烦琐、检测效率低。因此, 建立一种快速、准确适用于酒醅中 EC 检测方法尤为重要。

高效液相色谱-高分辨质谱技术是以目标物定量离子的精确质量数对目标物实现定量, 可有效避免了假阳性的问题, 具有分离速度快、检测灵敏度高等优点。熊晓通等^[28]利用 EC 源内裂解的特殊性质, 采用一级子离子外标定量法, 建立了高效液相色谱-串联高分辨质谱法测定酱香型白酒中的 EC 含量。白酒和酒醅存在基质不同, 酒醅为白

酒发酵过程中的固态样品, 提取液中基质复杂、干扰物多, 因此该方法并不适用于酒醅中 EC 检测。同位素内标法已被广泛应用于代谢组学、环境污染物来源分析、分析检测等领域^[29]。在分析检测领域, 同位素内标法是以同位素作为内标物的定量方法。因同位素内标与待测目标物的化学性质相近, 同位素内标物引入较好地补偿外标法因基质效应引起的响应变化, 解决因基质效应造成定量不准的问题, 已被广泛应用于复杂基质样品中化合物的分析检测。张震等^[30]运用液相色谱-质谱法比较了内标法与外标法在检测生鲜乳中黄曲霉素 M₁ 含量的差异性, 实验结果也证实了内标法在准确度和精密度方面明显优于外标法。常瑞红等^[27]采用内标法建立了酒醅中 EC 的 GC-MS 检测方法, 酒醅样品以乙醇溶液为萃取剂经超声提取后, 使用活性炭净化后上机检测, 但该方法前处理烦琐且分析时间较长, 故不适合酒企大批量样品分析检测。

鉴于此本研究以氘代氨基甲酸乙酯(ethyl-D₅ carbamate, EC-D₅)作为氨基甲酸乙酯的内标物, 采用同位素内标法结合超高效液相色谱-高分辨质谱法对酒醅中 EC 实现定量分析, 以提高检测效率和检测准确度, 为白酒发酵过程中 EC 生成机制及变化规律研究提供新方法。

1 材料与方法

1.1 主要材料与试剂

EC 标准品(纯度>99.50%, 德国 Dr. Ehrenstorfer 公司); EC-D₅ 标准品(纯度>98%, 北京百灵威科技有限公司); 甲醇、甲酸(色谱纯, 美国 Thermo Fisher Scientific 公司); 实验用水均为超纯水(18.2 M Ω ·cm⁻²), 实验所用酒醅样品由某酱香酒厂提供。

1.2 主要仪器与设备

Q Exactive Focus 高分辨质谱仪、Hypersil GOLD Amino 色谱柱(150 mm×2.1 mm, 1.9 μm)(美国 Thermo Fisher Scientific 公司); UltiMate 3000 超高效液相色谱仪(美国 Dionex 公司); QT-1 涡旋振荡器(上海琪特分析仪器有限公司); HC-3518 高速离心机(安徽中科中佳科学仪器有限公司); SB-25-

12DT 超声波清洗机(宁波新芝生物科技股份有限公司); AR2130 万分之一电子天平(美国 Ohaus 公司); A3S-05-05-CE 艾科普超纯水机(美国 Millipore 公司)。

1.3 分析条件

1.3.1 色谱条件

流动相: 水相 A 为 0.1% (V:V) 甲酸水溶液, 有机相 B 为甲醇; 流速: 0.3 mL/min; 色谱柱: Hypersil GOLD Amino 色谱柱(150 mm×2.1 mm, 1.9 μm); 柱温: 35°C; 进样量: 10 μL; 梯度洗脱程序: 0~1.0 min, 95% A、5% B; 1.0~4.0 min, 95%~5% A、5%~95% B; 4.0~5.5 min, 5% A、95% B; 5.5~6.0 min, 5%~95% A、95%~5% B; 6.0~11.0 min, 95% A、5% B。

1.3.2 质谱条件

离子化模式: 电喷雾离子源正离子模式; 喷雾电压: 2.3 kV; 鞘气流速: 30 psi; 辅助气流速: 15 arb; 辅助气加热温度: 200°C; 离子传输管温度: 350°C; 扫描模式: 选择性离子扫描模式, 扫描范围: 50~100 *m/z*。化合物定量离子的精确质量数及保留时间详见表 1。

表 1 EC 及内标物 EC-D₅ 的质谱参数
Table 1 Mass spectrometric parameters of EC and EC-D₅

化合物名称	分子式	定量离子精确质量数(<i>m/z</i>)	保留时间/min
EC	C ₃ H ₇ NO ₂	62.02436	3.65
EC-D ₅	C ₃ D ₅ H ₂ NO	63.03062	3.55

1.4 分析方法

1.4.1 样品前处理

湿酒醅样品使用破碎机在 30000 r/min 转速下粉碎 30 s 后混合均匀, 准确称取 2.000 g 置于 15 mL 离心管中, 加入 0.25 mL 1 mg/L EC-D₅ 内标工作溶液和 4.75 mL 超纯水, 超声提取 60 min 后 10000 r/min 离心 10 min, 上清液经 0.22 μm 水相滤膜过滤后上机检测。

1.4.2 标准溶液的配制

准确称取(精确至 0.0001 g)一定量 EC 标准品及 EC-D₅ 内标物分别置于 50 mL 容量瓶中, 加水定容配制成质量浓度为 50 mg/L EC 标准储备液、1 mg/L EC-D₅ 内标工作溶液, 再用超纯水配制成质量浓度为 4、10、50、100、150、300 μg/L 的标准系列溶液, 其中 EC-D₅ 内标质量浓度为 50 μg/L, 置于 4°C 冰箱中储存备用。

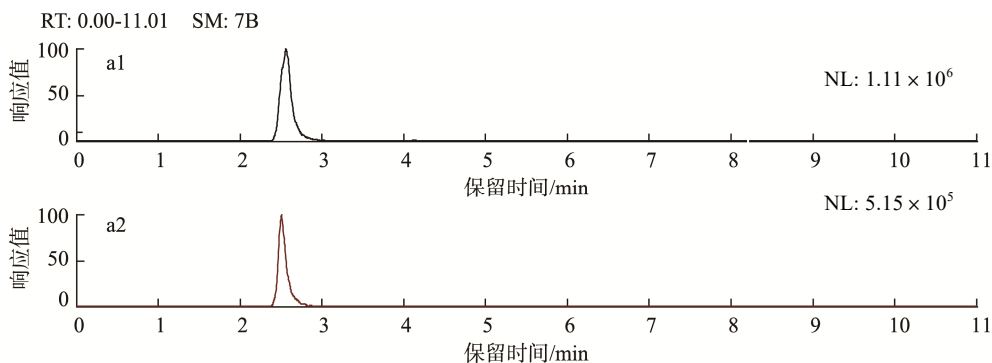
1.5 数据处理

采用 Q Exactive Focus UPLC-MS/MS 结合 Xcalibur 定性定量分析软件处理实验数据。使用 Microsoft Excel 2010 进行初步统计分析, 实验数据以平均值±标准偏差表示, 每个实验至少重复测定 3 次。

2 结果与分析

2.1 色谱条件优化

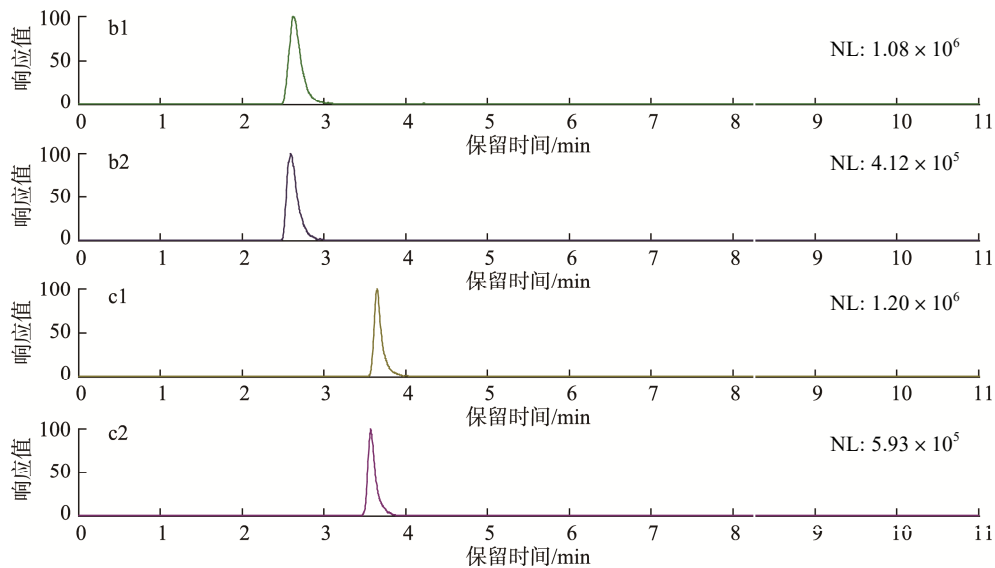
利用 EC 在 Q Exactive Focus 高分辨质谱仪一级全扫描模式下出现源内裂解性质, 采用一级子离子定量法^[28], EC 定量离子为 62.02436, EC-D₅ 定量离子为 63.03061。对色谱柱进行优化, 分析比较 SynchronisHilic (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm) 液相色谱柱、Accucore aQ (150 mm×2.1 mm, 2.6 μm) 液相色谱柱以及 Hypersil GOLD Amino (150 mm×2.1 mm, 3 μm) 液相色谱柱对 EC 及 EC-D₅ 分离效果影响, 如图 1 所示, Hypersil GOLD Amino 色谱柱对 EC 及 EC-D₅ 保留最好。此外, 对流动相进行了优化, 流动相水相比较 0.05%、0.10%、0.20% 甲酸水溶液, 与有机相甲醇组合时 EC 及 EC-D₅ 色谱峰响应, 如图 2 所示, 0.10% 的甲酸水相下 EC 及 EC-D₅ 响应最高。因此色谱条件选择 Hypersil GOLD Amino (150 mm×2.1 mm, 3 μm) 作为液相色谱柱, 0.1% 甲酸水溶液-甲醇作为流动相体系。



注: a1、a2 分别为 SynchronisHilic 色谱柱下 EC 及 EC-D₅ 提取离子色谱图; b1、b2 分别为 Accucore aQ 色谱柱下 EC 及 EC-D₅ 提取离子色谱图; c1、c2 分别为 Hypersil GOLD Amino 色谱柱下 EC 及 EC-D₅ 提取离子色谱图。NL 为响应值, 图 2 同。

图 1 不同色谱柱下 EC 及 EC-D₅ 的离子色谱图(EC、EC-D₅: 50 μg/L)

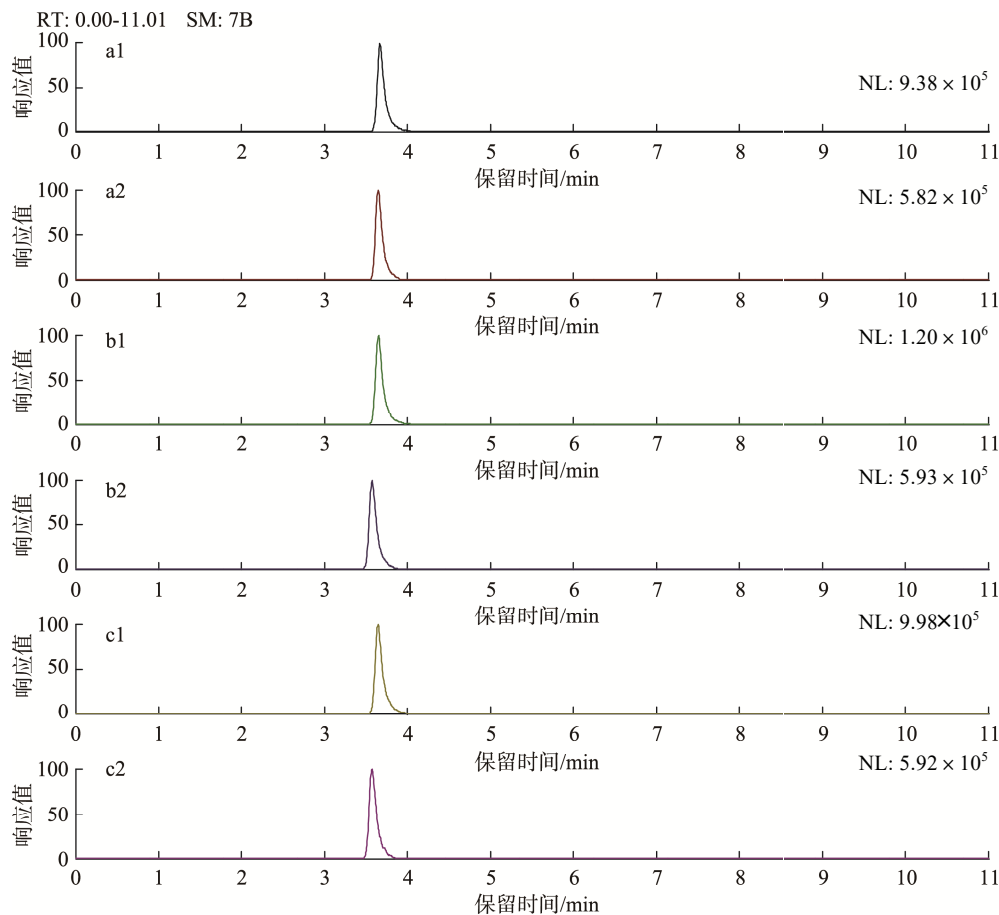
Fig.1 Ion chromatograms of EC and EC-D₅ in different chromatographic columns (EC, EC-D₅: 50 μg/L)



注: a1、a2 分别为 SynchronisHilic 色谱柱下 EC 及 EC-D₅ 提取离子色谱图; b1、b2 分别为 Accucore aQ 色谱柱下 EC 及 EC-D₅ 提取离子色谱图; c1、c2 分别为 Hypersil GOLD Amino 色谱柱下 EC 及 EC-D₅ 提取离子色谱图。NL 为响应值, 图 2 同。

图 1(续) 不同色谱柱下 EC 及 EC-D₅ 的离子色谱图(EC、EC-D₅: 50 μg/L)

Fig.1 Ion chromatograms of EC and EC-D₅ in different chromatographic columns (EC, EC-D₅: 50 μg/L)



注: a1、a2 分别为 0.05% 甲酸水相下 EC 及 EC-D₅ 提取离子色谱图; b1、b2 分别为 0.10% 甲酸水相下 EC 及 EC-D₅ 提取离子色谱图; c1、c2 分别为 0.20% 甲酸水相下 EC 及 EC-D₅ 提取离子色谱图。

图 2 不同酸度的流动相下 EC 及 EC-D₅ 提取离子色谱图(EC、EC-D₅: 50 μg/L)

Fig.2 Ion chromatograms of EC and EC-D₅ at different acidity (EC, EC-D₅: 50 μg/L)

2.2 前处理条件的优化

2.2.1 提取方式优化

酒醅样品经研磨粉碎混合均匀后, 称取 2.000 g 于 15 mL 离心管中, 加入 EC 内标物及超纯水, 分别采用浸泡 12 h、超声 1 h、涡旋振荡 15 min 方式提取酒醅中 EC, 分析不同提取方式对 EC 提取效果的影响。如表 2 所示, 涡旋提取方式的相对标准偏差(relative standard deviations, RSDs)较大, 表明涡旋提取效果重现性较差。浸泡、超声提取方式的加标回收率及 RSDs 均满足实验室检测的需求, 但浸泡提取方式耗时较长, 综合考虑提取方式的时效性, 故选择超声提取方法。

表 2 不同提取方式下 EC 检测结果($n=3$)
Table 2 Detection results of EC under different extraction ways ($n=3$)

提取方式	本底值±标准偏差/($\mu\text{g}/\text{kg}$)	加标水平/($\mu\text{g}/\text{kg}$)	平均回收率/%	RSDs/%
超声	32.93±1.51	50	93.84	4.89
		100	93.21	4.52
浸泡	33.27±1.68	50	102.82	4.01
		100	97.13	3.71
涡旋	29.53±2.42	50	88.83	9.81
		100	91.47	7.71

2.2.2 提取液体积优化

以酒醅为实际样品, 对比 3.0、5.0、7.0、9.0 mL 提取液体积对 EC 提取效果的影响。基质样品中干扰物在质谱中同目标化合物发生竞争电离, 从而影响目标化合物检测的灵敏度和重现性^[31]。如表 3 所示, 随着提取液体积增加, 测定结果重现性越好, 内标物峰面积响应越高, 表明基质效应越小。加大提取液体积有利于降低基质效应, 但同时

会降低方法的检出能力。提取液体积为 5.0 mL 时准确性和重现性较好, 综合考虑测定结果准确性及方法检出限, 故选择提取液体积为 5.0 mL。

2.3 基质效应

采用标准曲线比较法对基质效应进行评估^[32]。分别绘制了相同浓度的基质工作曲线和溶剂标准曲线, 在同一剂量方法下比较曲线斜率 k 的比值评价目标化合物基质效应(matrix effect, ME)影响程度, 即: $\text{ME}/\%=(k_{\text{基质}}/k_{\text{溶剂}})\times 100\%$, 当 $\text{ME}<80\%$ 为基质抑制, $80\%<\text{ME}<120\%$ 为无基质效应, $\text{ME}>120\%$ 为基质增强。测定结果如表 4 所示, 外标法的 ME 为 38.18%, 因酒醅提取液中基质复杂、干扰物多, 存在基质抑制效应, 故采用外标法定量酒醅中 EC 存在误差; 内标法的 ME 为 99.67%, 无基质效应, 采用同位素内标法, 同位素内标与待测目标物的化学性质相近, 同位素内标物引入较好地补偿外标法因基质效应引起的响应变化, 解决因基质效应造成定量不准的问题。

2.4 方法学考察

2.4.1 方法线性范围、定量限和检出限

以 EC 及内标物 EC-D₅ 定量离子峰面积比值为纵坐标(Y), EC 标准溶液质量浓度为横坐标(X, $\mu\text{g}/\text{L}$), 绘制标准曲线。结果表明, EC 浓度在 4.00~300.00 $\mu\text{g}/\text{L}$ 范围线性关系良好, 线性回归方程为 $Y=0.9588+0.0396X$, 相关系数 r^2 为 0.9993。以信噪比(S/N)为 3 和 10 分别确定方法的检出限(limit of detection, LOD)和定量限(limit of quantification, LOQ), 换算成酒醅中 EC 含量检出限为 3.75 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 定量限为 6.25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。相对于其他检测酒醅中 EC 方法(表 5), 该方法前处理简单、分析效率高, 满足酒醅中 EC 检测需求。

表 3 不同提取液体积下 EC 及内标物 EC-D₅ 的检测结果
Table 3 Detection results of EC and EC-D₅ under different extraction volume

提取液体积/mL	提取液测定质量浓度/($\mu\text{g}/\text{L}$) (RSDs/%)	样品浓度/($\mu\text{g}/\text{kg}$) (RSDs/%)	内标物峰面积(响应值)(RSDs/%)
3.0	32.49±3.09(9.55)	48.44±4.75(9.82)	338627±57296(16.92)
5.0	22.16±0.95(4.29)	53.68±2.29(4.27)	499501±7835(1.57)
7.0	15.81±0.79(4.98)	54.54±2.79(5.11)	642083±21473(3.34)
9.0	12.22±0.38(3.07)	54.40±1.41(2.59)	703526±7835(1.11)

表 4 不同定量方式与基质效应的关系
Table 4 Relationships between matrix effects and different quantitative methods

类别	定量方法	曲线方程	相关系数(r^2)	MEs/%
内标法	基质	$Y=1.5633+0.0394X$	0.9990	99.67
	溶剂	$Y=0.9588+0.0396X$	0.9993	
外标法	基质	$Y=6.9420\times 10^5+2.5859\times 10^4X$	0.9978	38.18
	溶剂	$Y=8.4975\times 10^4+6.7732\times 10^4X$	0.9997	

表 5 酒醅中 EC 分析方法对比
Table 5 Comparison of analytical methods for detection of EC in fermented grains

检测方法	预处理方法	仪器分析时间/min	线性范围/($\mu\text{g/L}$)	定量限/($\mu\text{g/kg}$)	参考文献
液相色谱法	衍生化	40	10.00~500.00	13.40	[25]
气相色谱-质谱法	顶空固相微萃取	37	7.80~600.00	—	[26]
气相色谱-质谱法	萃取后净化	25	10.00~800.00	9.20	[27]
同位素内标-超高效液相色谱-高分辨质谱法	超声提取后分析	11	4.00~300.00	6.25	本方法

注:—文献未体现该数据。

2.4.2 方法正确度和精密度

通过实际样品加标回收率分析该方法准确度和精密度。酒醅样品中加入适量标准溶液,加标水平分别为 20、100、250 $\mu\text{g/kg}$,每个样品设置 3 个平行样,连续测定 3 d,并计算加标回收率以及日内、日间 RSDs。结果如表 6 所示,EC 在酒醅样品中平均加标回收率在 85.17%~97.40% 范围之间, RSDs 均小于等于 4.11%,表明该方法的准确度和精密度满足酒醅样品中 EC 分析要求。

2.4.3 实际样品的测定

用所建立的方法对不同车间酒醅蒸馏前、酒醅蒸馏后及蒸馏酒中 EC 含量进行检测,每个样品平行测定 3 次,测量结果取平均值,并计算蒸馏过程酒醅中 EC 的增幅。增幅/ $\% = [(C_{\text{蒸馏后}} - C_{\text{蒸馏前}}) / C_{\text{蒸馏前}}] \times 100\%$, $C_{\text{蒸馏前}}$ 为蒸馏前酒醅中 EC 含量, $C_{\text{蒸馏后}}$ 为蒸馏后酒醅中 EC 含量。实验结果如表 7 所示,蒸馏酒中均检出 EC,表明在蒸馏过程酒醅中 EC 会迁移到酒中。此外,不同车间蒸馏后酒醅中 EC 均高于蒸

馏前酒醅中 EC 含量,不同车间酒醅中 EC 增幅在 76.62%~87.32% 范围之间,表明蒸馏过程会促进 EC 生成,与文献报道一致^[33]。图 3 为酒醅样品中 EC 的总离子流图和提取离子流色谱图,通过总离子流图可以看出酒醅样品中杂质较多,但运用本方法能够排除基质干扰的影响,实现准确测定酒醅中 EC 含量。

3 结论

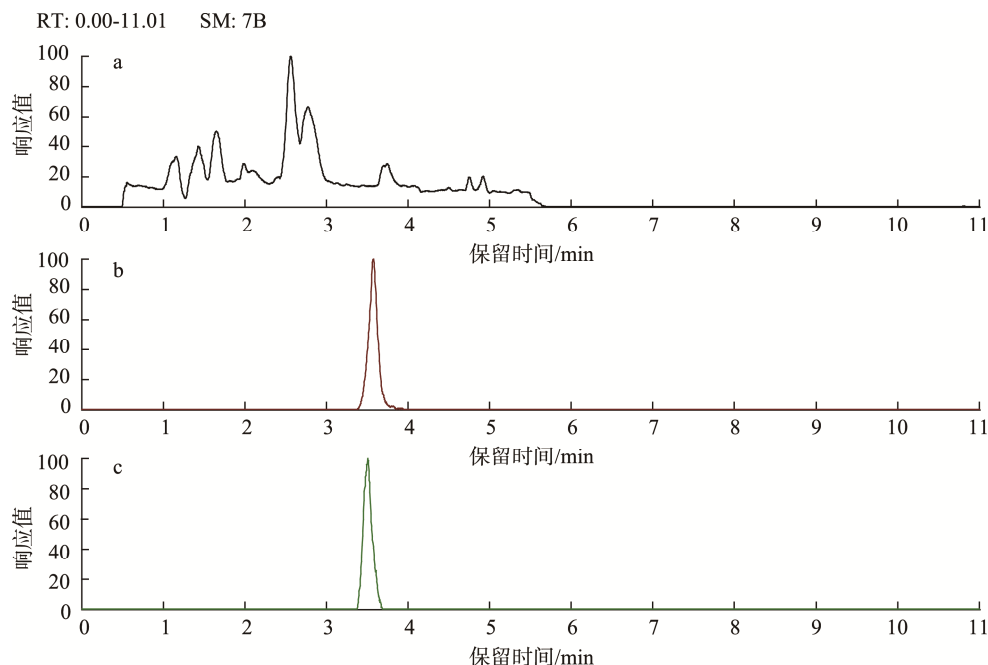
本研究建立了酒醅中 EC 的同位素内标-高效液相色谱-高分辨质谱法的检测方法。酒醅中 EC 采用超声提取后离心过滤,便可上机分析。通过同位素内标法定量分析可有效补偿外标法因基质干扰效应造成的检测准确性不高的问题。该方法具有操作简单、结果准确、稳定性高等优点,适用于酒醅中 EC 定量分析,为开展酒醅中 EC 的控制技术研究提供了检测新方法。

表 6 酒醅样品中 EC 的加标回收率、日内和日间的精密度
Table 6 Average recoveries, intra-day and inter-day RSDs of EC spiked in fermented grains

样品编号	本底值 \pm 标准偏差/($\mu\text{g/kg}$)	加标水平/($\mu\text{g/kg}$)	平均回收率/ $\%$	日内 RSDs/ $\%$	日间 RSDs/ $\%$
样品 1	42.83 \pm 1.21	20	85.17	3.78	4.11
		100	89.57	2.71	3.15
		250	97.40	1.12	1.47
样品 2	39.27 \pm 1.41	20	86.21	2.78	3.92
		100	91.87	3.01	3.75
		250	96.37	2.91	3.04

表 7 酒醅中 EC 含量分析
Table 7 EC content in fermented grains

车间编号	蒸馏前酒醅中 EC 含量 \pm 标准偏差/($\mu\text{g/kg}$)	蒸馏后酒醅中 EC 含量 \pm 标准偏差/($\mu\text{g/kg}$)	蒸馏过程酒醅中 EC 增幅/ $\%$	蒸馏酒中 EC 含量 \pm 标准偏差/($\mu\text{g/L}$)
A 车间	32.97 \pm 1.42	63.07 \pm 2.61	87.32	44.19 \pm 1.02
B 车间	35.94 \pm 1.29	66.66 \pm 1.46	85.49	38.71 \pm 1.63
C 车间	39.37 \pm 1.84	72.62 \pm 1.71	84.56	46.56 \pm 2.11
D 车间	44.49 \pm 1.41	78.57 \pm 2.01	76.62	42.31 \pm 1.49



注: a 为酒醅样品的总离子流图; b、c 分别为酒醅样品中 EC 及 EC-D₅ 提取离子流色谱图。

图 3 酒醅样品的色谱图

Fig.3 Chromatograms of fermented grains

参考文献

- [1] 龙亚飞, 唐佳代, 王相勇, 等. 中国白酒中健康因子及其富集途径的研究进展[J]. 中国酿造, 2022, 41(2): 23–28.
LONG YF, TANG JD, WANG XY, *et al.* Research progress on health factors and their enrichment pathways in Baijiu [J]. China Brew, 2022, 41(2): 23–28.
- [2] 王庆亮. 白酒品质分析及质量安全控制研究进展[J]. 酿酒科技, 2021, (8): 97–101.
WANG QL. Research progress in quality analysis and quality control of Baijiu [J]. Liquor-Mak Sci Technol, 2021, (8): 97–101.
- [3] 胡康, 王雅洁, 杨冰, 等. 白酒质量安全风险分析与防范[J]. 中国酿造, 2019, 38(8): 216–223.
HU K, WANG YJ, YANG B, *et al.* Risk analysis and prevention of Baijiu quality safety [J]. China Brew, 2019, 38(8): 216–223.
- [4] 钟敏, 路虎, 唐云容, 等. 白酒生产中潜在风险因子识别研究现状[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(14): 4566–4574.
ZHONG M, LU H, TANG YR, *et al.* Research status of potential risk factors identification in Baijiu producing process [J]. J Food Saf Qual, 2022, 13(14): 4566–4574.
- [5] 范文来, 王栋. 近 10 年我国传统饮料酒白酒和黄酒品质安全研究现状与展望[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(15): 4811–4829.
FAN WL, WANG D. Current practice and future trends of alcoholic beverages safety of China traditional Baijiu and Huangjiu in recent decades [J]. J Food Saf Qual, 2019, 10(15): 4811–4829.
- [6] 王涛, 张文学, 邹强, 等. 我国蒸馏白酒中内生性风险物质现状浅析[J]. 中国酿造, 2019, 38(5): 13–17.
WANG T, ZHANG WX, ZOU Q, *et al.* Brief analysis of endogenous risk substances in distilled Baijiu in China [J]. China Brew, 2019, 38(5): 13–17.
- [7] 熊秋萍. 特香型白酒生产全过程质量安全控制技术的研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2018.
XIONG QP. Investigation of quality and safety control techniques in the production of Texiang liquor [D]. Nanchang: Nanchang University, 2018.
- [8] 辛茜, 贾少杰, 郑欣欣, 等. 白酒中氨基甲酸乙酯的研究进展[J]. 酿酒科技, 2022, (1): 42–46.
XIN X, JIA SJ, ZHENG XX, *et al.* Research progress in ethyl carbamate in Baijiu [J]. Liquor-Mak Sci Technol, 2022, (1): 42–46.
- [9] 唐云容, 杨军林. 中国白酒氨基甲酸乙酯形成的代谢机制及控制技术研究进展[J]. 酿酒科技, 2022, (5): 108–116.
TANG YR, YANG JL. Research progress in the forming mechanism and control measures of ethyl carbamate in Baijiu [J]. Liquor-Mak Sci Technol, 2022, (5): 108–116.
- [10] LACHENMEIER DW, LIMA MC, NÓBREGA IC, *et al.* Cancer risk assessment of ethyl carbamate in alcoholic beverages from Brazil with special consideration to the spirits cachaça and tiquira [J]. BioMed Central, 2010, 10(1): 1–15.
- [11] AUTHORITY E. Ethyl carbamate and hydrocyanic acid in food and beverages scientific opinion of the panel on contaminants [J]. EFSA J, 2007, 551: 1–44.
- [12] LEE JB, KIM MK, KIM BK, *et al.* Analysis of ethyl carbamate in plum wines produced in Korea [J]. Food Sci Biotechnol, 2018, 27(1): 277–282.
- [13] 张宇晨, 程国霞, 张巍, 等. 市售酒类中氨基甲酸乙酯的暴露评估及消费量建议[J]. 宁夏医学杂志, 2022, 44(1): 52–55.
ZHANG YC, CHENG GX, ZHANG W, *et al.* Exposure assessment and consumption recommendations of ethyl carbamate in commercial alcohol [J]. Ningxia Med J, 2022, 44(1): 52–55.
- [14] 董文静, 何啸峰, 沈洁, 等. 固相萃取-气相色谱串联质谱法测定梅州地区客家娘酒中的氨基甲酸乙酯及其食用风险评估[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(9): 3508–3513.

- DONG WJ, HE XF, SHEN J, *et al.* Determination of ethyl carbamate in Hakkaniang wine in Meizhou region by solid phase extraction-gas chromatography tandem mass spectrometry and its edible risk assessment [J]. *J Food Saf Qual*, 2021, 12(9): 3508–3513.
- [15] JUNG S, KIM S, KIM I. Risk assessment of ethyl carbamate in alcoholic beverages in Korea using the margin of exposure approach and cancer risk assessment [J]. *Food Control*, 2021, 124(11): 107867.
- [16] JIAO Z, DONG Y, CHEN Q. Ethyl carbamate in fermented beverages: Presence, analytical chemistry, formation mechanism, and mitigation proposals [J]. *Compr Rev Food Sci Food Saf*, 2014, 13(4): 611–626.
- [17] GUAN TW, TIAN XQ, WU J, *et al.* Investigation and risk assessment of ethyl carbamate in Chinese Baijiu [J]. *LWT*, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112340>
- [18] WANG C, WANG M, ZHANG MP. Ethyl carbamate in Chinese liquor (Baijiu): Presence, analysis, formation, and control [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2021, 105(11): 1–13.
- [19] 尹艳艳, 杨军林, 蒋力力, 等. 酱香轮次酒酿造过程氨基甲酸乙酯影响因素分析[J]. *食品科技*, 2022, 47(5): 149–153.
- YIN YY, YANG JL, JIANG LL, *et al.* Analysis on influencing factors of ethyl carbamate in Moutai-flavor rounds Baijiu during brewing process [J]. *Food Sci Technol*, 2022, 47(5): 149–153.
- [20] 王金龙, 程平言, 熊晓通, 等. 存储环境对浓香型基酒中氨基甲酸乙酯的影响[J]. *中国酿造*, 2021, 40(7): 189–193.
- WANG JL, CHENG PY, XIONG XT, *et al.* Effect of storage conditions on ethyl carbamate in strong-flavor base liquor [J]. *China Brew*, 2021, 40(7): 189–193.
- [21] 张庄英. 白酒蒸馏和贮存过程中氨基甲酸乙酯的研究[D]. 无锡: 江南大学, 2014.
- ZHANG ZY. Research of ethyl carbamate during the distillation and storage of Chinese liquors [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2014.
- [22] 孙洁敏, 宁淮梅, 张翠格, 等. 崇明老白酒酿造贮存过程中氨基甲酸乙酯变化及检测方法优化[J]. *食品科学*, 2015, 36(18): 193–198.
- SUN JM, NING ZM, ZHANG CG, *et al.* Change in ethyl carbamate content during fermentation and storage of chongming rice wine and sample pretreatment optimization for ethyl carbamate (EC) detection [J]. *Food Sci*, 2015, 36(18): 193–198.
- [23] 李拥军, 陈雯, 皮小弟, 等. 芝麻香型与浓香型白酒固态发酵过程中氨基甲酸乙酯的形成研究[J]. *现代食品科技*, 2021, 37(8): 67–74.
- LI YJ, CHEN W, PI XD, *et al.* Ethyl carbamate formation during solid-state fermentation of sesame-flavored and strongly flavored Baijiu [J]. *Mod Food Sci Technol*, 2021, 37(8): 67–74.
- [24] 李焱鑫, 黄晓媛, 白卫东, 等. 发酵食品中氨基甲酸乙酯的形成途径及消减策略研究进展[J]. *食品安全质量检测学报*, 2022, 13(14): 4551–4558.
- LI YX, HUANG XY, BAI WD, *et al.* Research progress on formation pathway and reduction strategy of ethyl carbamate in fermented food [J]. *J Food Saf Qual*, 2022, 13(14): 4551–4558.
- [25] 王莉, 聂叶, 刘松, 等. 一种同时测定酒醅中氨基甲酸乙酯和尿素含量的方法: 中国: CN113281438A[P]. 2021-08-20.
- WANG L, NIE Y, LIU S, *et al.* A method for simultaneous determination of ethyl carbamate and urea in fermented grains: China, CN113281438A [P]. 2021-08-20.
- [26] 范文来, 徐岩, 史斌斌. 酒醅发酵过程中氨基甲酸乙酯与尿素的变化[J]. *食品工业科技*, 2012, 33(23): 171–174.
- FAN WL, XU Y, SHI BB. Evolvement of ethyl carbamate and urea from fermented grains in the fermentation process of Chinese liquor [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2012, 33(23): 171–174.
- [27] 常瑞红, 刁亚琴, 郭亚飞, 等. 气相色谱-质谱联用法检测酒醅中氨基甲酸乙酯的方法研究[J]. *酿酒科技*, 2022, (8): 131–134.
- CHANG RH, DIAO YQ, GUO YF, *et al.* Determination of ethyl carbamate in fermented grains by GC-MS [J]. *Liquor-Mak Sci Technol*, 2022, (8): 131–134.
- [28] 熊晓通, 胡峰, 尤小龙, 等. 超高效液相色谱-高分辨质谱测定白酒中氨基甲酸乙酯含量[J]. *食品科学*, 2021, 42(8): 283–287.
- XIONG XT, HU F, YOU XL, *et al.* Determination and quantitation of ethyl carbamate in Chinese Baijiu by ultra-high performance liquid chromatography-high resolution mass spectrometry [J]. *Food Sci*, 2021, 42(8): 283–287.
- [29] 徐仲杰, 张雨, 雷雯, 等. 稳定同位素标记化合物在我国分析检测领域中的应用进展[J]. *肥料与健康*, 2021, 48(5): 5–11.
- XU ZJ, ZHANG Y, LEI W, *et al.* Application progress of stable isotope labeled compounds in analysis and detection field in China [J]. *Fert Health*, 2021, 48(5): 5–11.
- [30] 张震, 张俊, 闫跃飞, 等. 液相色谱串联质谱内标法与外标法检测生鲜乳中黄曲霉素 M₁ 含量的比较[J]. *黑龙江畜牧兽医*, 2018, (13): 211–214.
- ZHANG Z, ZHANG J, YAN YF, *et al.* Comparison of internal and external standard methods for determination of aflatoxin M₁ in fresh milk by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Heilongjiang J Anim Sci Vet Med*, 2018, (13): 211–214.
- [31] 詹胜群, 张浩, 周钧, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定婴幼儿配方乳粉中氯酸盐和高氯酸盐[J]. *食品科技*, 2022, 47(1): 312–318.
- ZHAN SQ, ZHANG H, ZHOU J, *et al.* Determination of chlorate and perchlorate in infant formula milk powder by UPLC-MS/MS [J]. *Food Sci Technol*, 2022, 47(1): 312–318.
- [32] 周晓晴, 吕小丽, 万建春, 等. 高效液相色谱-串联质谱法测定奶粉中氯酸盐和高氯酸盐[J]. *色谱*, 2019, 37(10): 1064–1070.
- ZHOU XQ, LV XL, WAN JC, *et al.* Determination of chlorate and perchlorate in milk powder by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Chromatogr*, 2019, 37(10): 1064–1070.
- [33] 丁霞. 酒醅中氨基甲酸乙酯及其前体的控制与消除[D]. 无锡: 江南大学, 2018.
- DING X. Reduction of ethyl carbamate and its precursor in fermented grains [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2018.

(责任编辑: 韩晓红 张晓寒)

作者简介



尹艳艳, 硕士, 工程师, 主要研究方向为食品质量安全。

E-mail: 1262827470@qq.com



程平言, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为白酒酿造及产业化推广。

E-mail: xjjszx149@sina.com