

湘产浓香型白酒酿造过程中氨基甲酸乙酯含量变化规律

Variation of ethyl carbamate content in the brewing process of strong-flavour liquor in Hunan Province

黄雄伟¹ 李文祥¹ 曾宪峰² 李青³ 张建辉³

HUANG Xiong-wei¹ LI Wen-xiang¹ ZENG Xian-feng² LI Qing³ ZHANG Jian-hui³

(1. 湖南省产商品评审中心, 湖南 长沙 410000; 2. 湖南志成食品技术服务有限公司,

湖南 长沙 410000; 3. 广电计量检测[湖南]有限公司, 湖南 长沙 410007)

(1. Hunan Product Evaluation Center, Changsha, Hunan 410000, China; 2. Hunan Zhicheng Food Technology Service Co., Ltd., Changsha, Hunan 410000, China; 3. GRG Metrology & TEST[Hunan] Co., Ltd., Changsha, Hunan 410007, China)

摘要:目的:提高湘产浓香型白酒的安全性。方法:采用气相色谱—质谱联用仪分析浓香型白酒原粮、窖泥、酒糟、酒醅、基酒中的氨基甲酸乙酯(EC)含量。结果:各工艺阶段中,基酒中的氨基甲酸乙酯平均含量最高,酒头和酒尾 EC 含量显著性检验 $P=0.041<0.05$, 差异显著,且酒头的 EC 含量高于酒尾;中间段基酒 EC 含量与酒头、酒尾间显著性检验 P 值分别为 0.516, 0.071, 不同层酒醅、基酒 EC 含量显著性检验 P 值分别为 0.770, 0.980, 不显著。基酒中的 EC 含量随贮藏时间的延长有不同程度的升高,绝对增长幅度为酒头>中间段基酒>酒尾。结论:湘产浓香型白酒酿造过程中,酒头的 EC 含量明显高于酒尾和中间段基酒,“掐头”有助于控制成品白酒中的 EC 含量。

关键词:浓香型白酒;氨基甲酸乙酯;气相色谱—质谱联用法;酿造

Abstract: Objective: This study aimed to improve the safety of the strong-flavour liquor in Hunan Province. **Methods:** The content of ethyl carbamate in raw grains, pit mud, distiller's grains, fermented grains and base liquor was detected by gas chromatography-mass spectrometry. **Results:** In each technological stage, the average concentration of ethyl carbamate in base liquor was the highest, and the significant test of EC content of head liquor and tail liquor $P<0.05$, there was a

significant difference between the two, and the head liquor was higher than the tail liquor. The significance test P values of EC content in the middle liquor between head liquor, tail liquor were 0.516 and 0.071, and the significance test P values of EC content in different layers of fermented grains and base liquor were 0.770 and 0.980, which showed no significant difference. The EC content in base liquor increased with the extension of storage time, and the absolute growth range was head liquor>middle liquor>tail liquor. **Conclusion:** During the brewing process of Hunan Strong-flavour Liquor, the EC content of the head liquor was significantly higher than that of the tail liquor and the middle liquor, and "Pinching the head" helped to control the EC content in white spirit.

Keywords: strong-flavor liquor; ethyl carbamate; gas chromatography-mass spectrometry; brewed

氨基甲酸乙酯(Ethyl carbamate, EC)又名尿烷、胺甲酸乙酯等,是一种具有致突变性、免疫抑制性及心率抑制性的 2A 类致癌物质^[1-2],广泛存在于酿造酒等发酵产品中^[3-4]。因此,部分国家制定了酒精饮料中 EC 的限量标准。如加拿大对佐餐葡萄酒限量值为 0.03 mg/L,加强葡萄酒限量值为 0.1 mg/L,蒸馏酒限量值为 0.15 mg/L,烈性酒和水果白兰地限量值为 0.4 mg/L^[5]。美国 FDA 规定:1988 年以后生产的佐餐葡萄酒(酒精度 $\leq 14\%$)EC 含量不能超过 0.015 mg/L,1989 年以后生产的甜葡萄酒(酒精度 $\geq 14\%$)EC 含量不能超过 0.06 mg/L。2002 年联合国粮农组织将其作为重点监控物质,并制定了国际标准,含量不得超过 0.02 mg/L^[6]。

基金项目:湖南省科技厅重点研发计划项目(编号:2020SK2140)

作者简介:黄雄伟,男,湖南省产商品评审中心高级工程师。

通信作者:张建辉(1982—),男,广电计量检测(湖南)有限公司高级工程师,硕士。E-mail: spy920@qq.com

收稿日期:2022-10-10 **改回日期:**2022-12-15

湘产浓香型白酒具有悠久的历史。近年来,白酒中 EC 的含量调查、机理形成,含量控制以及风险评估等研究日益引起人们的关注^[7-9],但研究对象均为基酒(包括生产企业自产的基酒和实验室蒸馏后的基酒),而有关窖泥、酒醅和酒糟中 EC 含量的测定及变化规律研究尚未见报道。研究拟对原粮、窖泥、酒醅、酒糟以及基酒中的 EC 含量进行检测,并采用统计分析手段对不同工艺流程中的含量进行分析,旨在为提高浓香型白酒的安全性提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

自 2021 年 3 月起,于湖南省内某浓香型白酒生产企业采集 183 批次样品,其中粮食原料样品 7 批次,窖泥样品 36 批次,酒醅样品 64 批次,酒糟样品 10 批次,新酿基酒样品 48 批次,贮存年份基酒 18 批次。

1.2 试剂和设备

二氯甲烷、正己烷、乙腈:色谱纯,默克化工技术(上海)有限公司;

氯化钠、乙二胺-*N*-丙基(PSA):分析纯,国药集团化学试剂有限公司;

氨基甲酸乙酯标准品:上海安谱实验科技股份有限公司;

气相色谱—质谱仪:Agilent 7890B-5977A 型,安捷伦科技(中国)有限公司;

旋转蒸发器:Hei-VAP Advantage ML/G3 型,广州市京度进出口有限公司;

电子天平:ME204E 型,梅特勒—托利多科技(中国)有限公司;

离心机:TDL-5A 型,广州云星科学仪器有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 色谱条件 毛细管色谱柱为 HP-INNOWAX, 30 m×0.25 mm×0.25 μm;进样口温度 220 ℃;不分流进样;进样量 1 μL;柱温:初温 50 ℃,保持 1 min,以 8 ℃/min 升至 180 ℃,以 20 ℃/min 升至 220 ℃。载气为氦气,纯度≥99.999%,流速 1 mL/min。

1.3.2 质谱条件 电子轰击源(EI),能量为 70 eV;四级杆温度 150 ℃;离子源温度 230 ℃;传输线温度 250 ℃;溶剂延迟 5 min;选择离子监测(SIM);氨基甲酸乙酯选择监测离子(*m/z*) 44,62,74,89,定量离子 62。

1.3.3 检测方法 准确称取 10.00 g 试样于浓缩瓶,40 ℃ 水浴减压浓缩至液体少于 2 mL,用水洗涤转移至 50 mL 离心管中,加水使液体最终体积为 10 mL,加入适量氯化钠振荡使其过饱和。加入 10 mL 二氯甲烷,涡旋混匀 1 min,4 000 r/min 离心 3 min,将下层有机相转移入浓缩瓶中。水相中加入 10 mL 二氯甲烷,重复提取 2 次,合并下层有机相,40 ℃ 水浴减压浓缩至近干。

准确移取 2 mL 乙腈至浓缩瓶中,溶解残渣并转移至 10 mL 离心管中,加入 2 mL 正己烷,涡旋混匀 1 min,4 000 r/min 离心 3 min,弃去正己烷相,加入 2 mL 正己烷重复净化 1 次。向乙腈相中加入 0.05 g PSA 填料,涡旋混匀 1 min,过 0.45 μm 有机相滤膜。GC-MS 外标法定量测定。

1.4 数据处理与统计

采用 Excel 2016 统计软件进行数据统计与整理;*t* 检验采用 SPSS 22.0 数据分析软件。

2 结果与分析

2.1 酿造过程中不同物料氨基甲酸乙酯含量

由表 1 可知,7 批次原粮均未检出 EC,窖泥、酒糟、酒醅、新酿基酒(含酒头、酒尾)和贮存基酒(贮存期 1~10 年不等)的 EC 平均检出值分别为 84,124,170,270,325 μg/kg,EC 检出率分别为 72.2%,90.0%,98.4%,98.0%,100.0%。

表 1 样品检测结果[†]

Table 1 Test results of the samples

样品类型	批次数	最小值/ (μg·kg ⁻¹)	最大值/ (μg·kg ⁻¹)	平均值/ (μg·kg ⁻¹)	检出 率/%
原粮	7	未检出	未检出	未检出	0.0
窖泥	36	未检出	275	84	72.2
酒糟	10	未检出	295	124	90.0
酒醅	64	未检出	1 004	170	98.4
新酿基酒	48	未检出	785	270	98.0
贮存基酒	18	50	880	325	100.0

[†] EC 检出限为 5.0 μg/kg。

原粮中未检出 EC,说明原粮本身不含有 EC,但原料产区 and 品种的不同会影响白酒中 EC 含量,这与原粮发酵过程产生的尿素等前体物质的含量高低有关^[10]。白酒中 EC 的产生和积累与前体物质尿素含量具有较大相关性^[11],由尿素与乙醇反应生成;窖泥中含有一定量的尿素,但乙醇含量较低,因此其 EC 含量相较于酒醅、酒糟的要低;白酒在蒸馏过程中温度可达 100 ℃,EC 沸点为 184 ℃,但由于其溶于水和乙醇,有少量酒醅中的 EC 经蒸汽流入基酒中,因此酒醅中的 EC 含量要高于酒糟;而基酒中的 EC 主要在蒸馏过程中和蒸馏后贮存过程中产生。

2.2 不同蒸馏段基酒中氨基甲酸乙酯含量

由表 2 可知,酒头和酒尾 EC 含量显著性检验 *P* = 0.041<0.05,说明酒头和酒尾间存在显著差异,且酒头 EC 含量显著高于酒尾;中间段基酒和酒头、酒尾间显著性检验 *P* 值分别为 0.516,0.071,不显著,具体原因尚需进一步研究,这与张莹等^[12]的结果基本一致,进一步证实了浓香型白酒在蒸馏过程中“掐头”的重要性。

表 2 不同蒸馏段基酒 *t* 检验方差分析表(LSD 多重比较)[†]

Table 2 *T*-test analysis of variance table (LSD multiple comparisons) for base liquor in different distillation stages

组号(I)	组号(J)	平均差 (I—J)	标准误差	显著性	95%置信区间	
					下限值	上限值
酒头	酒尾	177.389 9	83.835 3	0.041	7.817 0	346.962 8
	中间段	43.554 1	66.522 6	0.516	—91.000 6	178.108 8
酒尾	酒头	—177.389 9	83.835 3	0.041	—346.962 8	—7.817 0
	中间段	—133.835 8	72.153 9	0.071	—279.780 9	12.109 3
中间段	酒头	—43.554 1	66.522 6	0.516	—178.108 8	91.000 6
	酒尾	133.835 8	72.153 9	0.071	—12.109 3	279.780 9

[†] 显著性水平为 $P<0.05$ 。

2.3 不同层酒酯和基酒中氨基甲酸乙酯含量

对采集的上、中、下 3 层酒酯和基酒(掐头去尾后)按试验方法分别进行含量检测,采用 SPSS 对检测结果进行方差分析,结果表明不同层酒酯 EC 含量显著性 $P=0.770>0.05$,不同层基酒 EC 含量显著性 $P=0.980>0.05$,因此不同层酒酯和基酒间的 EC 含量无显著性差异。不同层酒酯 EC 含量无显著性差异可能是由于不同层酒酯之间的活性微生物数目差异较小,群落组成无明显差异^[13],使得产生的尿素等 EC 前体物质无显著性差异。而不同层基酒 EC 含量无显著性差异的原因与基酒中的 EC 含量形成机理(主要为蒸馏过程中产生)有关^[7]。

2.4 贮藏时间对氨基甲酸乙酯含量的影响

由图 1 可知,随着贮藏时间的延长,无论是酒头、酒尾还是中间段基酒,EC 含量均有不同程度的升高,升高幅度为 0.5~2.0 倍,EC 含量随贮藏时间的延长而升高的原因可能与其前体物质尿素或氰化物等含量有关^[14-15]。从绝对增长幅度来看,酒头>中间段基酒>酒尾,其原因可能是酒头、中间段基酒中 EC 的前体物质继续与乙醇生成 EC。

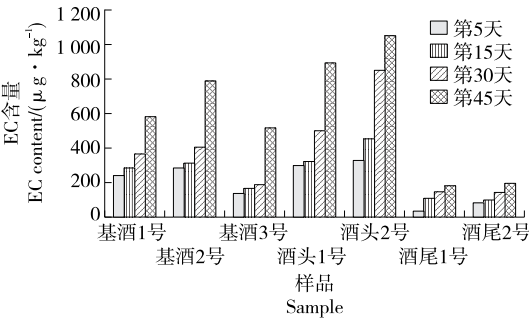


图 1 基酒 EC 含量与贮藏时间关系图

Figure 1 Relationship between EC content of base liquor and storage time

由图 2 可知,不同品种浓香型白酒贮存 3~5 年后,EC 含量逐渐达到峰值,随后慢慢回落至 1 年贮存期水平,与张莹等^[12]的结论基本一致,具体原因尚需进一步研究。

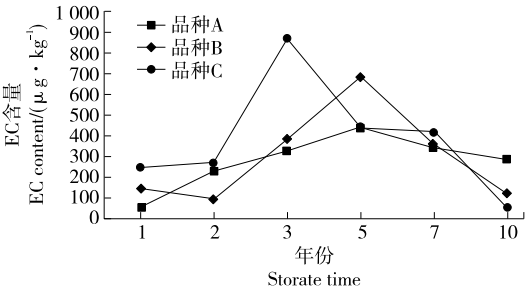


图 2 年份基酒 EC 含量与贮藏年份关系图

Figure 2 Relationship between EC content of Vintage base liquor and storage time

3 结论

试验表明,浓香型白酒各工艺阶段中,酒糟、酒酯、基酒以及窖泥中普遍存在氨基甲酸乙酯,酒酯中氨基甲酸乙酯含量高于酒糟,且不同蒸馏段基酒中酒头的氨基甲酸乙酯含量显著高于酒尾。基酒存放过程中,酒头中氨基甲酸乙酯含量的绝对增幅高于中间段基酒和酒尾,因此,“掐头”是降低成品酒中氨基甲酸乙酯含量的有效手段。浓香型白酒的基酒和酒酯中氨基甲酸乙酯含量无相关性,个别基酒中的氨基甲酸乙酯含量甚至高于酒酯,说明浓香型白酒中的氨基甲酸乙酯主要来源于蒸馏过程和贮存过程。因此如何降低发酵过程中产生的氨基甲酸乙酯前体物质含量,减少蒸馏和贮存过程中氨基甲酸乙酯的生成,是企业控制成品白酒中氨基甲酸乙酯含量的重点。同时,浓香型白酒贮存 3~5 年后,氨基甲酸乙酯含量逐渐达到峰值,随后有所下降,具体原因尚需进一步研究。

参考文献

[1] WEBER J, SHAR YPOV V. Ethyl carbamate in foods and beverages: A review[J]. Environ Chem Lett, 2009, 7(3): 233-247.
[2] FU M L, LIU J, CHEN Q H, et al. Determination of ethyl carbamate in Chinese yellow rice wine using high-performance liquid chromatography with fluorescence detection [J]. International

- Journal of Food Science and Technology, 2010, 45(6): 1 297-1 302.
- [3] 高年发, 宝菊花. 氨基甲酸乙酯的研究进展[J]. 中国酿造, 2006(9): 1-4.
- GAO N F, BAO J H. Research advancement of ethyl carbamate[J]. China Brewing, 2006(9): 1-4.
- [4] 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.
- XI Q, JIA S J, ZHENG X X, et al. Research progress in ethyl carbamate in Baijiu[J]. Liquor-Making Science & Technology, 2022(1): 42-46.
- [5] 苏金兰, 徐柏田, 林培. 中国白酒香型发展的进展研究[J]. 酿酒科技, 2017(8): 102-108.
- SU J L, XU B T, LIN P. Research on the development of Baijiu flavor types[J]. Liquor-Making Science & Technology, 2017(8): 102-108.
- [6] 梁新红. 中国葡萄酒中氨基甲酸乙酯的研究[D]. 西安: 西北农林科技大学, 2007: 25-28.
- LIANG X H. Study on ethyl carbamate in Chinese wine[D]. Xi'an: Northwest A & F University, 2007: 25-28.
- [7] 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进展[J]. 酿酒科技, 2022(5): 108-116.
- TANG Y R, YANG J L. Research progress in the forming mechanism and control measures of ethyl carbamate in Baijiu[J]. Liquor-Making Science & Technology, 2022(5): 108-116.
- [8] 田夏琼, 江华明, 关统伟, 等. 浓香型白酒发酵过程中氨基甲酸乙酯形成的关联因子探究[J]. 中国酿造, 2022, 41(1): 59-63.
- TIAN X Q, JIANG H M, GUAN T W, et al. Correlation factors of ethyl carbamate formation during the fermentation of strong-flavor Baijiu[J]. China Brewing, 2022, 41(1): 59-63.
- [9] 王开宇, 左惠君, 于欣欣, 等. 同位素稀释—气质法测定白酒中氨基甲酸乙酯的测量不确定度评定[J]. 食品与机械, 2021, 37(5): 66-72.
- WANG K Y, ZUO H J, YU X X, et al. Evaluation of uncertainty in the determination of ethyl carbamate in Chinese spirits by isotope dilution GC-MS method[J]. Food & Machinery, 2021, 37(5): 66-72.
- [10] 曹帅, 吴群, 徐岩. 白酒固态发酵过程中不同品种高粱原料对氨基甲酸乙酯形成的影响[J]. 食品与生物技术学报, 2016, 35(7): 677-683.
- CAO S, WU Q, XU Y. Effects of different sorghum cultivars on the formation of ethyl carbamate in the solid-state fermentation process of Chinese liquor [J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2016, 35(7): 677-683.
- [11] 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 Y J, CHEN W, PI X D, et al. Ethyl Carbamate formation during solid-state fermentation of sesame-flavored and strongly flavored Baijiu[J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(8): 67-74.
- [12] 张莹, 樊云, 孙跃鹏, 等. 浓香型白酒中氨基甲酸乙酯含量及控制方法的研究[J]. 食品工业, 2018, 39(4): 191-194.
- ZHANG Y, FAN Y, SUN Y P, et al. Contents and control method of EC for strong-flavour liquor[J]. The Food Industry, 2018, 39(4): 191-194.
- [13] 田瑞杰, 张勇, 冯大鸿, 等. 基于宏转录组学的浓香型白酒酒醋活性微生物群落空间异质性研究[J]. 轻工学报, 2022, 37(1): 1-11.
- TIAN R J, ZHANG Y, FENG D H, et al. Study on spatial heterogeneity of active microbial community in strong-flavor Baijiu fermented grains based on metatranscriptome[J]. Journal of Light Industry, 2022, 37(1): 1-11.
- [14] 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 Z Y. The study of Ethyl carbamate in liquor distillation and storage[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2014.
- [15] 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 J L, CHENG P Y, XIONG X T, et al. Effect of storage conditions on ethyl carbamate in strong-flavor base liquor [J]. China Brewing, 2021, 40(7): 189-193.

(上接第 14 页)

- [32] 金立明, 赵子龙, 焦熙栋, 等. 不同打印条件的鱼糜 3D 打印成型效果分析[J]. 现代食品科技, 2020, 36(5): 214-222.
- JIN L M, ZHAO Z L, JIAO X D, et al. Effect of printing conditions on 3D printing of surimi[J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(5): 214-222.
- [33] 潘禹希, 于婉莹, 赵文宇, 等. 鲢鱼糜和海参复配 3D 打印食品材料[J]. 现代食品科技, 2020, 36(8): 175-183, 30.
- PAN Y X, YU W Y, ZHAO W Y, et al. 3D printing food materials made with hypophthalmichthys molitrix surimi and sea cucumber pulp[J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(8): 175-183, 30.
- [34] 延浩立, 郭韵, 何芃. 食品 3D 打印喷头流道有限元优化分析[J]. 计算机时代, 2019(4): 1-4, 8.
- YAN H L, GUO Y, HE P. Finite element optimization analysis of food 3D printing nozzle flow channel[J]. Computer Era, 2019(4): 1-4, 8.
- [35] 任传奇, 魏正英, 张志同, 等. 气动挤压式 3D 打印食品单层单道形貌预测研究[J]. 食品工业, 2017, 38(12): 172-176.
- REN C Q, WEI Z Y, ZHANG Z T, et al. Research on morphology prediction of food 3D printing in pneumatic extrusion[J]. Food Industry, 2017, 38(12): 172-176.
- [36] SEVERINI C, DEROSI A, RICCI I, et al. Printing a blend of fruit and vegetables. New advances on critical variables and shelf life of 3D edible objects [J]. Journal of Food Engineering, 2018, 220: 89-100.