

酒精性飲料中胺基甲酸乙酯之檢驗方法之探討及建立

蔡雯茹 張美華 曾素香 高雅敏 周秀冠 陳惠芳

食品藥物管理署研究檢驗組

摘 要

胺基甲酸乙酯(ethyl carbamate)為發酵過程中自然產生之物質，廣泛存在於發酵食品及發酵飲料中，因可能具有致癌性而被各國所關注。各國針對不同種類的酒訂立不同之限量標準，規範為15-1000 ng/mL，其中法國針對水果白蘭地訂定限量標準1000 ng/mL。酒類檢體添加同位素內部標準品(20 ng/mL)載入矽藻土固相萃取匣進行液/液分配萃取，以正戊烷沖洗及乙醚沖提後，檢液以氣相層析串聯質譜儀(GC/MS/MS)配合多重反應偵測(MRM)模式偵測，以內部標準品法進行定量。選取葡萄酒、清酒、白蘭地、高粱及啤酒進行添加回收試驗，於檢體添加標準溶液使每毫升檢體含有10、50及100 ng胺基甲酸乙酯，同日間平均回收率介於87.6-113.0%，變異係數為0.4-8.0%，異日間所得之平均回收率介於90.9-108.1%，變異係數為0.4-10.2%，本檢驗方法之定量極限為10 ng/mL。以建立之方法進行市售31件酒品之檢驗，穀類釀造酒類9件的胺基甲酸乙酯濃度範圍為未檢出-1720 ng/mL，其中有3件濃度超出1000 ng/mL，水果釀造酒類6件為未檢出-48 ng/mL，啤酒類3件為未檢出，再製酒類2件為43-124 ng/mL，蒸餾酒類11件為未檢出-92 ng/mL，檢驗結果已提供相關管理單位參考。

關鍵詞：酒精性飲料、胺基甲酸乙酯、氣相層析串聯質譜儀

前 言

胺基甲酸乙酯(ethyl carbamate, EC)又名脲烷(urethane)，是胺基甲酸的乙酯類，分子式為 $C_3H_7NO_2$ ，柱狀結晶或白色粉末外觀，幾乎無味，可溶於水、乙醚、氯仿、乙醇及甘油⁽¹⁾，為發酵過程中自然產生之物質，廣泛存在於發酵食品及發酵飲料中。國際癌症研究署(International Agency for Research on Cancer, IARC)於2007年對胺基甲酸乙酯的致癌性重新分類，由原先的2B族之可能為致癌因子(possibly carcinogenic to humans)提高至2A族之極有可能為致癌因子(probably carcinogenic to humans)。大部分胺基甲酸乙酯的代謝是由肝

臟微粒酯酶(liver microsomal esterases)水解成乙醇、氨及二氧化碳⁽²⁾，少部分會經由細胞色素P450 (cytochrome P450)代謝產生胺基甲酸乙基環氧化物(vinyl carbamate epoxide)，然而，此胺基甲酸乙基環氧化物會與去氧核糖核酸(deoxyribonucleic acid, DNA)行加成反應而具有致癌性⁽³⁾。為顧及民眾的健康，1986年加拿大率先建立酒類中胺基甲酸乙酯之限量標準⁽⁴⁾，其他各國也紛紛制定其在酒類中的限量標準，如美國針對葡萄酒及強化葡萄酒限量標準分別為15 ng/mL及60 ng/mL，法國則針對蒸餾酒及水果白蘭地限量標準為150 ng/mL及1000 ng/mL，德國於水果白蘭地限量標準為800 ng/mL及韓國於葡萄酒限量標準為30 ng/mL (表

一)，目前台灣尚未針對酒類訂定胺基甲酸乙酯之限量標準。

酒類中胺基甲酸乙酯形成的主要機制推測如下：(1)乙醇與尿素⁽⁵⁾、尿素的降解物氰酸鹽(cyanate)或異氰酸鹽(isocyanate)反應生成(2)果實酒中之生氰配糖體(cyanogenic glycosides)經由酵素產生氰化物(cyanide)，氰化物氧化成氰酸鹽(cyanate)與乙醇反應作用生成⁽⁶⁾。此外，胺基甲酸乙酯的產生量與儲存年限有關，有文獻研究指出酒品的儲存年限愈長，胺基甲酸乙酯相對生成的濃度也愈高⁽⁷⁾。故藉由控制溫度、酸鹼值等因子減少尿素及氰酸鹽之前驅物質的生成就能減少胺基甲酸乙酯的產生。

針對酒類中胺基甲酸乙酯有不同的分析方法，如檢體經固相萃取管柱(solid-phase extraction, SPE)萃取後以氣相層析質譜儀(gas chromatograph/mass spectrometer, GC/MS)檢測分析⁽⁸⁾、傅立葉轉換紅外線光譜儀(fourier transform infrared spectrometer, FTIR)結合偏最小平方法(partial least squares, PLS)迴歸分析檢測⁽⁹⁾、頂空固相微萃取(headspace-solid phase microextraction)搭配GC/MS分析⁽¹⁰⁾、預先衍生化後以液相層析儀搭配螢光檢出器(high performance liquid chromatograph/fluorescence detector, HPLC/FLD)檢測⁽¹¹⁾等。其中最廣泛使用的分析方法為檢體經矽藻土萃取匣萃取後以GC/MS檢測，國際公定分析化學家協會(Association of Official Analytical Chemists, AOAC)官方方法994.07分析酒精性飲料及醬油中胺基甲酸乙酯即是採用該方法⁽¹²⁾。

基於國際間有制定酒類中胺基甲酸乙酯之限量標準及檢驗方法，因此本研究之目的參考國際文獻開發酒中胺基甲酸乙酯之檢驗方法，探討檢體經矽藻土萃取匣液/液萃取前處理並予以優化，以GC/MS/MS進行分析的檢測方法，方法經確效評估後進行市售酒類調查並擬擬檢驗方法供外界引用。

材料與方法

一、材料

胺基甲酸乙酯(純度 $\geq 99\%$)購自Sigma-Aldrich公司；同位素胺基甲酸乙酯(urethane- d_5)購自Toronto Research Chemicals公司。乙醚、正戊烷及甲醇採用試藥級(J.T.Baker)，購自Avantor Performance Materials公司；無水乙醇(純度99.8%) GC級，購自Sigma-Aldrich公司。液/液萃取匣，多孔性矽藻土(Varian Chem Elut cartridge)，檢液負荷量20 mL，購自Varian公司。

二、儀器設備

本實驗使用氣相層析系統為Aglient 7890B GC Oven、自動注射系統為Aglient 7693、串聯式質譜儀為Aglient 7000 GC/MS Triple Quad配置7000 ALS Enhance MassHunter軟體及QQQ Quantitative Analysis及Qualitative資料處理系統(Aglient 7000 GC/MS Triple Quad, Aglient Technologies Inc., USA)。減壓濃縮裝置(Rotavapor® R-210, BÜCHI Inc., Switzerland)。振盪器(Genie-2, Scientific Industries Inc., USA)。

三、實驗方法

(一)氣相層析串聯質譜儀分析條件

層析管為HP-INNOWAX 毛細管，內膜厚度0.25 μm ，內徑0.25 mm $\times$ 30 m；移動相流速為氮氣1 mL/min；注入器溫度220 $^{\circ}\text{C}$ ；離子源溫度230 $^{\circ}\text{C}$ ；介面溫度250 $^{\circ}\text{C}$ ；注射模式為不分流；離子化模式為電子撞擊游離70 eV；升溫速率及多重反應偵測模式離子對之質荷比(mass-to-charge ratio, m/z)見表一及表二。

表一、梯度分析條件

升溫速率(mL/min)	溫度($^{\circ}\text{C}$)	時間(min)
0	50	1
5	160	0
30	220	5

表二、胺基甲酸乙酯之多重反應偵測模式條件

分析物	離子對	碰撞能量 (eV)
	前驅離子(m/z) > 產物離子(m/z)	
胺基甲酸乙酯	62 > 44 ^a	5
	74 > 44	20
同位素胺基甲酸乙酯	64 > 44 ^a	20

a. 定量離子對

(二)檢液之調製

檢體以超音波振盪10分鐘，取5 mL置於離心管中，加入1 µg/mL內部標準溶液100 µL，振盪均勻後，注入液/液萃取匣，靜置10分鐘。以正戊烷10 mL潤洗離心管後注入液/液萃取匣，再注入正戊烷20 mL沖洗萃取匣2次，棄流出液。以乙醚90 mL分3次注入液/液萃取匣進行沖提，收集沖提液至濃縮瓶。於30°C及300 mbar下水浴減壓濃縮至約2-3 mL，殘留液移至濃縮管，以乙醚2 mL潤洗濃縮瓶，將潤洗液併入濃縮管中，經氮氣吹乾至0.5 mL，以無水乙醇定容至1 mL，混合均勻，以GC/MS/MS分析。

(三)內部標準溶液之配置

取同位素胺基甲酸乙酯內部標準品約10 mg，精確稱定，以甲醇溶解並定容至10 mL，作為內部標準原液，於4°C避光貯存備用。臨用時，取適量內部標準原液，以無水乙醇稀釋至1 µg/mL，供作檢液調製及標準曲線製作之內部標準溶液。

(四)標準溶液之配置

取胺基甲酸乙酯對照用標準品約10 mg，精確稱定，以甲醇溶解並定容至10 mL，作為標準原液，於4°C避光貯存備用。臨用時，取適量標準溶液，以無水乙醇稀釋至10 µg/mL及1 µg/mL，供作標準曲線製作之標準溶液。

(五)標準曲線之製作

取適量標準溶液及內部標準溶液，以無水乙醇稀釋至20-1000 ng/mL (含內部標準品濃度100 ng/mL)，供作標準溶液。精確

量取標準溶液各2 µL注入氣相層析串聯質譜儀中，依儀器設定條件進行分析，就胺基甲酸乙酯與內部標準品之波峰面積比，與對應之胺基甲酸乙酯濃度，製作標準曲線。

(六)鑑別試驗及含量測定

精確量取檢液及標準溶液2 µL，分別注入GC/MS/MS中，依儀器測定條件進行氣相層析，就檢液與標準溶液所得波峰之滯留時間及多重反應偵測相對離子強度鑑別之，並依下列計算式求出檢體中胺基甲酸乙酯之含量：

$$\text{檢體中胺基甲酸乙酯含量}(\text{ng/mL}) = \frac{C \times V}{M}$$

C：由標準曲線求得檢液中胺基甲酸乙酯之濃度(ng/mL)

V：檢液最後定容之體積(mL)

M：取樣分析檢體之體積(mL)

(七)添加回收試驗

取市售不同酒精濃度之酒類如白蘭地、清酒及高粱酒(酒精濃度分別為40、13及58%)各5 mL，分別加入10 µg/mL標準溶液25 µL、50 µL及1 µg/mL內部標準溶液100 µL，相當於每毫升檢體中分別添加50及100 ng之標準品及20 ng之內部標準品，另葡萄酒及啤酒5 mL，分別加入10 µg/mL標準溶液5 µL、25 µL、50 µL及1 µg/mL內部標準溶液100 µL，相當於每毫升檢體中添加10、50及100 ng之標準品及20 ng之內部標準品，依檢體調製流程操作並進行分析，經代入標準曲線比對後，與添加濃度比較。前述方法進行三重複試驗，同時操作空白試驗，計算三重複試驗間之平均回收率及變異係數(coefficient of variation, CV)以評估本方法之回收率及重複性。

(八)基質效應(matrix effect)評估

分別建立溶劑中檢量線(calibration curve in solvent)及基質匹配檢量線(matrix-matched calibration curve)，基質匹配檢量線製作是取經測試之空白檢體(葡萄酒)，經檢體

萃取流程後，以氮氣吹乾至0.5 mL，以後添加方式加入適當之標準溶液及內部標準溶液。其測定結果依基質效應計算公式評估之⁽¹³⁾：基質效應=(基質匹配檢量線之斜率-標準品溶劑中檢量線之斜率)/標準品溶劑中檢量線之斜率×100%。

(九)定量極限(Limit of Quantification, LOQ)

取混合標準溶液分別進行樣品之一系列添加回收試驗，依前述方法進行分析，就所得分析物波峰或定量離子波峰訊號強度之訊噪比(S/N ratio) 10：1時之濃度作為檢驗方法之定量極限(LOQ)。

結果與討論

一、前處理方式之探討

酒類檢體胺基甲酸乙酯濃度需大於200 ng/mL才能以GC/MS直接進樣分析⁽²⁾，為避免基質干擾又可測得低濃度的胺基甲酸乙酯，故採用多數文獻及AOAC所採用的固相萃取或液相萃取前處理法。Huang等人比較中性氧化鋁(neutral alumina)、矽酸鎂(florisil)及矽藻土(diatomaceous earth)三種不同萃取匣，發現矽藻土萃取匣較其它兩種萃取匣可減少低分子量化合物的干擾⁽¹⁴⁾，因此本研究採用矽藻土萃取匣。為達目標物最佳化的萃取效率，萃取溶劑的選擇極為重要。參考AOAC的萃取流程，檢體注入萃取匣以去離子水潤洗後，用二氯甲烷沖提(方法A)，另參考Huang及Lachenmeier等

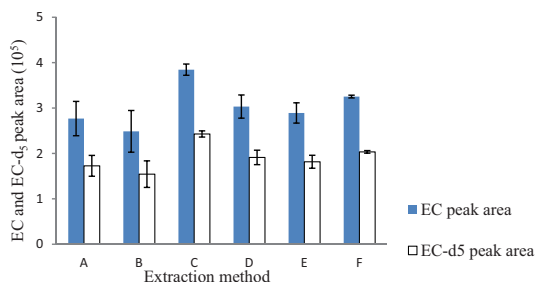
人之研究^(14,15)，將檢體注入萃取匣以正戊烷潤洗後，以二氯甲烷沖提(方法B)、乙醚沖提(方法C)亦或是混合比例為95:5 (v/v)、90:10 (v/v)及85:15 (v/v)之乙醚及乙酸乙酯(方法D-E)之混合溶液進行沖提。圖一結果顯示，以乙醚沖提(方法C)之胺基甲酸乙酯及同位素胺基甲酸乙酯面積反應最高，故後續實驗採用乙醚為沖提液。

二、儀器分析條件的選擇

偵測酒類中胺基甲酸乙酯多採用GC/MS之選擇離子偵測(selected ion monitoring, SIM)模式，胺基甲酸乙酯分子離子[M]⁺ m/z為89，而碎片離子為[M-CH₃]⁺、[NH₂CO]⁺、[C₂H₅O]⁺及[M-C₂H₃]⁺，m/z分別為74、44、45及62，SIM模式通常用m/z 62、74及89來鑑別胺基甲酸乙酯⁽¹⁶⁾。實際以SIM模式偵測樣品添加100 ng/mL標準品，圖二質譜圖顯示m/z 89波峰訊號隱藏在基質樣品中，此外，訊號強度較強的m/z 44顯然被二氧化碳(背景值)所干擾，造成相對離子比率(ion ratio)不符合歐盟規範(SANCO/12495/2011)及判定上的困難。參考Lachenmeier等人⁽¹⁵⁾以多重反應偵測模式(multiple reaction monitoring, MRM)檢測胺基甲酸乙酯，在MRM偵測模式下(圖三)，其波峰訊號明顯增強，可以獲得較高的感度及專一性，因此，胺基甲酸乙酯檢測採用MRM偵測模式，以m/z 62 > 44為定量離子對，m/z 74 > 44為定性離子對，內部標準品同位素胺基甲酸乙酯則是以m/z 64 > 44為定量離子對。

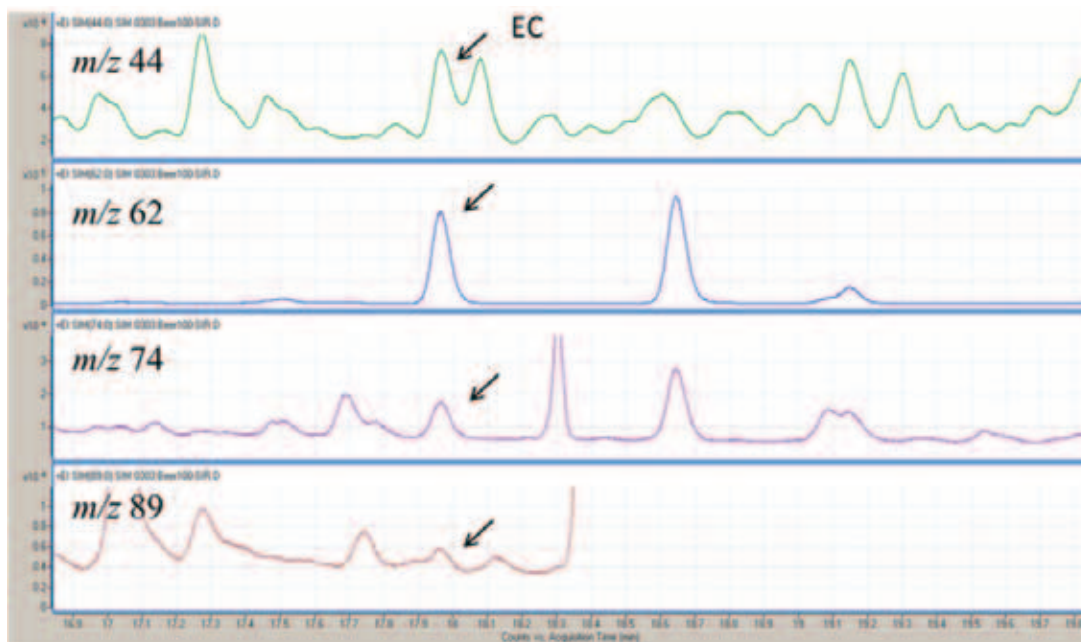
三、基質效應評估

分別製作標準曲線及基質匹配檢量線，以評估基質效應，標準曲線係由溶於乙醚：乙醇(1:1, v/v)溶液之0.05-1 µg/mL標準溶液所製備，另取空白檢體依檢液調製流程後添加標準品製作0.05-1 µg/mL之基質匹配檢量線，結果如表三所示，標準曲線及基質匹配檢量線之線性回歸方程式之r²值皆在0.995以上，顯示於該濃度範圍內線性關係良好。基質效應評估結

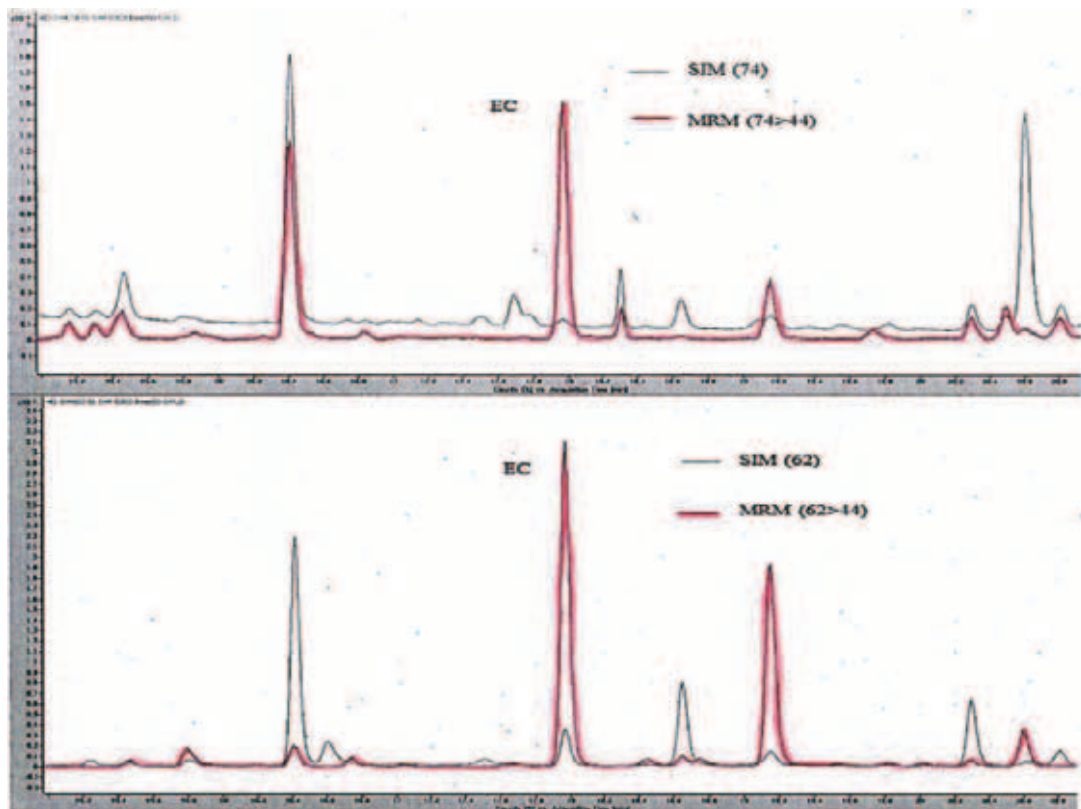


圖一、不同萃取流程對胺基甲酸乙酯及同位素胺基甲酸乙酯於矽藻土萃取匣萃取效率的影響

酒精性飲料中胺基甲酸乙酯之檢驗方法之探討及建立



圖二、檢體添加100 ng/mL胺基甲酸乙酯以SIM模式偵測之質譜圖



圖三、檢體添加50 ng/mL胺基甲酸乙酯以GC/MS SIM模式與GC/MS/MS MRM模式偵測之質譜圖

表三、基質效應之評估

分析物	標準曲線(SCC)		基質匹配檢量線(MCC)		基質效應 ^a (%)
	斜率 (slope)	決定係數 (r ²)	斜率 (slope)	決定係數 (r ²)	
胺基甲酸乙酯	0.013	0.9997	0.0122	0.999	-6

a. 基質效應= (MCC 之斜率-SCC 之斜率)/SCC 之斜率 × 100%

表四、酒類基質中胺基甲酸乙酯之回收率及變異係數(同日間)

分析物	酒精標示 濃度(%)	添加濃度 (ppm)	回收率 (%)	變異係數 (%)
紅酒	8.5	10	103.9	4.6
		50	102.3	3.6
		100	99.7	0.8
清酒	13.0	50	105.5	0.4
		100	99.5	1.3
白蘭地	40.0	50	87.6	0.8
		100	92.2	1.6
高粱	58.0	50	94.4	2.4
		100	96.9	0.4
啤酒	5.0	10	113.0	8.0
		50	110.4	1.9
		100	103.5	0.8

果顯示，胺基甲酸乙酯基質效應僅有6%，其CV值小於15%，故基質效應不顯著，因此，本研究以標準曲線及內部標準品法定量。

四、方法確效實驗

於每毫升白蘭地、清酒及高粱之酒類檢體中分別添加50及100 ng之標準溶液及20 ng之內部標準溶液，另葡萄酒及啤酒於每毫升檢體中添加10、50及100 ng之標準溶液及20 ng之內部標準溶液，經代入標準曲線比對後，同日間所得之平均回收率介於87.6-113.0% (表四)，異日間所得之平均回收率介於90.9-108.1% (表五)，符合食品化學檢驗方法之確效規範⁽¹⁷⁾中該濃度下所要求之回收率70-120%之內。同日間之變異係數介於0.4-8.0%之間，異日間之變異係數介於0.4-10.2%，結果均低於食品化學檢驗方

法之確效規範中的20% (同日間)及22% (異日間)，顯示本方法有良好之精密度。本方法已完成低酒精濃度的啤酒、清酒及高酒精濃度的高粱、白蘭地多種酒類方法確效，其他酒類檢驗可採用方法並經方法確效評估。

五、小型市調市售酒品

自行抽驗市售酒精性飲料31件檢體，胺基甲酸乙酯平均濃度如表六所示，水果釀造酒類平均濃度為8 ng/mL、啤酒類為未檢出、再製酒類平均濃度為84 ng/mL、蒸餾酒類平均濃度為36 ng/mL及穀類釀造酒類平均濃度為579 ng/mL，結果顯示穀類釀造酒類胺基甲酸乙酯濃度遠高於其他類別酒。本研究已研擬完成「酒類中胺基甲酸乙酯之檢驗方法」，並公開於食藥署建議檢驗方法網頁，供外界引用。

表五、酒類基質中胺基甲酸乙酯之回收率及變異係數(異日間)

分析物	酒精標示 濃度(%)	添加濃度 (ppm)	回收率 (%)	變異係數 (%)
紅酒	8.5	10	101.0	2.7
		50	103.1	0.9
		100	99.1	0.6
清酒	13.0	50	108.1	2.7
		100	97.9	2.9
白蘭地	40.0	50	90.9	1.6
		100	95.5	2.1
高粱	58.0	50	97.6	1.2
		100	98.1	1.3
啤酒	5.0	10	102.4	10.2
		50	105.9	3.7
		100	101.6	1.8

表六、市售酒類中胺基甲酸乙酯之含量

分類	品項	樣品數	EC含量(ng/mL) 平均值(含量範圍)
A 穀類釀造酒類	紹興酒、紅露酒、花雕酒、清酒	9	579 (ND ^a -1720)
B 水果釀造酒類	紅葡萄酒、白葡萄酒、強化葡萄酒	6	8 (ND-48)
C 啤酒類	黃啤酒、黑啤酒	3	ND
D 再製酒類	藥酒	2	84 (43-124)
E 蒸餾酒類	米酒、威士忌、伏特加、高粱酒、白蘭地	11	36 (ND-92)

a. ND < 10 ng/mL

參考文獻

1. Hirschbaeck, J. S., Lindert, M. C., Chase, J. and *et al.* 1948. Effects of urethane in the treatment of leukemia and metastatic malignant tumors. J Am Med Assoc. 136: 90-95.
2. Weber, J. V. and Sharypov, V. I. 2009. Ethyl carbamate in foods and beverages: a review. Environ Chem Lett. 7: 233-247.
3. Beland, F. A., Benson, R. W., Mellick, P. W. and *et al.* 2005. Effect of ethanol on the tumorigenicity of urethane (ethyl carbamate) in B6C3F1 mice. Food Chem Toxicol. 43: 1-19.
4. Conacher, H. B. S. and Page, B. D. 1986. Ethyl carbamate in alcoholic beverages: a Canadian case history. Proceedings of Euro Food Tox II, European Society of Toxicology. Schwerzenbach, Switzerland. 237-242.
5. Monteiro, F. F., Trousdale, E. K. and Bisson, L. F. 1989. Ethyl carbamate formation in wine: use of radioactively labeled precursors to demonstrate the involvement of urea. Am J Enol Vitic. 40: 1-8.
6. Cook, R., McCaig, N., McMillan, J. M. B. and *et al.* 1990. Ethyl carbamate formation in grain-based spirits: part III. 96: 233-244.

7. Fu, M. L., Liu, J., Chen, Q. H. and *et al.* 2010. Determination of ethyl carbamate in Chinese yellow rice wine using high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Int J Food Sci Tech.* 45: 1297-1302.
8. Canas, B. J., Joe, F. L., Diachenko, G. W. and *et al.* 1994. Determination of ethyl carbamate in alcoholic beverages and soy sauce by gas chromatography with mass detection: collaborative study. *J AOAC Int.* 77: 1530-1536.
9. Lachenmeier, D. W. 2005. Rapid screening for ethyl carbamate in stone-fruit spirits using FTIR spectroscopy and chemometrics. *Anal Bioanal Chem.* 382: 1407-1412.
10. Liu, J., Xu, Y. and Zhao, G. A. 2012. Rapid determination of ethyl carbamate in Chinese rice wine using headspace solid-phase micro-extraction and gas chromatography-mass spectrometry. *J Inst Brew.* 118: 217-222.
11. Herbert, P., Santos, L., Bastos, M. and *et al.* 2002. New HPLC method to determine ethyl carbamate in alcoholic beverages using fluorescence detection. *J Food Sci.* 67: 1616-1620.
12. Canas, B.J., Joe, F.L., Diachenko, G.W. and *et al.* 1994. Determination of ethyl carbamate in alcoholic beverages and soy sauce by gas chromatography with mass selective detection: collaborative study. *J AOAC Int.* 77: 1530-1536.
13. Chambers, E., Diane, M., Diehl, W. and *et al.* 2007. Systematic and comprehensive strategy for reducing matrix effects in LC/MS/MS analyses. *J Chromatogr B.* 852: 22-34.
14. Huang, Z., Pan, X. D., Wu, P. G. and *et al.* 2013. Validation (in-house and collaborative) of the quantification method for ethyl carbamate in alcoholic beverages and soy sauce by GC-MS. *Food Chem.* 141: 4161-4165.
15. Lachenmeier, D. W., Frank, W. and Kuballa, T. 2005. Application of tandem mass spectrometry combined with gas chromatography to the routine analysis of ethyl carbamate in stone-fruit spirits. *Rapid Commun mass spectrom.* 19: 108-112.
16. Lau, B. P., Weber, D. and Page, B. D. 1987. Gas chromatographic-mass spectrometric determination of ethyl carbamate in alcoholic beverages. *J Chromatogr.* 402: 233-241.
17. 衛生福利部。2012。食品化學檢驗方法之確效規範。[<http://www.fda.gov.tw/TC/siteList.aspx?sid=4199>]。

Investigation and Establishment on the Test Method for Ethyl Carbamate in Alcoholic Beverages

WEN-JU TSAI, MEI-HUA CHANG, SU-HSIANG TSENG,
YA-MIN KAO, HSIU-KUAN CHOU AND HWEI-FANG CHENG

Division of Research and Analysis, TFDA

ABSTRACT

Ethyl carbamate (EC) was found as a natural constituent in many fermented foods and alcoholic beverages. The international community concerned about the carcinogenic potential of EC to humans. Hence, numerous countries has established their own maximum allowed levels of EC in various alcoholic beverages from 15 to 1000 ng/mL, such as, France had set not more than 1000 ng/mL in fruit brandy. In this study, each sample of alcoholic beverages was added of internal standard (20 ng/mL) and then loaded into diatomaceous earth cartridge. The cartridge was rinsed with pentane then eluted by diethyl ether. The extract was analyzed by the gas chromatograph/tandem mass spectrometer (GC/MS/MS) with multiple reaction monitoring (MRM) mode. The quantification was done by internal standard method. Samples of wine, sake, brandy, spirits, and beer (1 mL) were fertilized with different levels of EC, including 10, 50 and 100 ng for recovery studies. The intraday average recoveries of alcohol beverages were from 87.6 to 113.0% with the coefficients of variation (CVs) between 0.4 and 8.0%. The interday average recoveries ranged from 90.9 to 108.1% with the CVs between 0.4 and 10.2%. The limit of quantification was estimated as 10 ng/mL for this method. The established method was applied for survey of 31 alcoholic beverages from retail stores. The results showed the EC in 9 grain brewed beverages, 6 fruit wines, 2 reprocessed wines and 11 spirits were from not detected to 1720, 48, 124 and 92 ng/mL, respectively. 3 beers were not detected. Amount 9 grain brewed beverages, 3 of them were above 1000 ng/mL. The survey reports had provided to authorities for references.

Key words: alcoholic beverages, ethyl carbamate, gas chromatograph/tandem mass spectrometer