

資 料

酒類中のカルバミン酸エチルの生成

篠原 隆

山梨大学工学部発酵化学研究施設
〒400 甲府市北新1-13-1

Ethyl Carbamate Formation in Alcoholic Beverages

Takashi Shinohara

*Institute of Enology and Viticulture, Yamanashi University
Kofu, 400*

Abstract

The presence of ethyl carbamate (EC) in wine, sake, liqueurs and spirits is a relatively new problem. EC is a natural product, whose strength is expressed in micrograms per liter, which has been found to exhibit carcinogenic activity in laboratory animals. A considerable amount of research has been conducted at a number of institutions ; urea and cyanate have been determined as the major sources of EC. This review summarizes research reports on the EC content in alcoholic beverages, regulation of the content, sources, formation and evolution, prevention and elimination of EC, and its toxicity.

発酵食品および酒類中に微量のカルバミン酸エチル ($\text{NH}_2 \cdot \text{COO} \cdot \text{C}_2\text{H}_5$ 、CEと略す)の含有されていることが、かなり以前から報告¹⁾された。最近、カナダ政府保健局は酒類毎のCE含有量の規制を発表した(1985)。そのとき、一部の酒類に規制値を越えるものがあった。それ以来、CEの成因の解明とその抑制は、日本をはじめとして世界の酒類生産国の重要な研究課題となった^{2, 3)}。次いでアメリカ合衆国食品医薬局は、ワインおよびウイスキー中のCE含有量のガイドラインを発表した(1988)。また、スイス政府は、果実ブランデー中のCE含有量を規制すべく検討した(1989)⁴⁾。

CEは動物実験において発ガン性を示したことから、このように規制されるに至った。しかしCEの酒類中の含有量は極微量であって、当初、その正確な分析は困難であった。そのためにCE分析法が

種々に検討された^{1, 2, 3, 5, 6, 8, 17, 20)}。これまでのところ、市販酒類などの分析結果ならびにその成因に関する研究から、一般の酒類中のCE含有量は微量であって、食品衛生的に問題はないとされた^{1, 4, 7, 8, 17, 32)}。以下に現在までの酒類のCEに関する研究報文を紹介する。

Table 1. Ethyl carbamate in alcoholic beverages

Beverage type	Ethyl carbamate (ppb)
Beer	0.5-3.5 ¹⁾ , 0-13 ⁷⁾ , 12 ⁴⁾
Sake	154-192 ¹⁾ , 25, 29 ¹⁰⁾
Wine	1.3-5.8 ¹⁾ , 0-33 ⁴⁾ , 4-22 ⁸⁾ , 0-46 ³⁸⁾
Whisky	50-308 ⁴⁾ , 15-100 ¹⁷⁾
Brandy	5-366 ⁴⁾ , 25, 40 ¹⁷⁾
Spirit	4-110 ⁴⁾ , less than 5 ¹⁷⁾
Stone fruit spirit ^{a)}	1517(average), 7138(max) ⁴⁾
Liqueur	10-600, 167(average) ⁴⁾

a) Stone fruit: cherry, plum, berry...

1. 酒類中のCE含有量ならびにその規制値 酒類の分析値をTable 1に示した。

CE含有量は酒類によって相当に異なった。高アルコール濃度の酒類は、CE含有量が高い傾向であった。また、硬い果実を原料としたスピリッツおよびリキュールには、比較的高濃度のCEが含有された。

国別CEの規制値をTable 2に示した。

Table 2. Regulatory limits on ethyl carbamate in alcoholic beverages

Beverage type	Canada(1985) ^{a)}	U.S.A.(1989)	Swiss(1990)
Table wine	30 ppb	15 ppb	- ppb
Dessert wine	100	60	-
Distilled spirit	150	125 ^{b)}	400 ^{c)}
Fruit brandy and liqueur	400	-	-

a)Enforcement year. b)Whisky. c)Stone fruit brandy.

これまで3カ国(カナダ、アメリカ合衆国、スイス)が規制を発表した^{4, 28, 37)}。

2. CEの成因

CEの生成は、窒素化合物、とくに尿素およびシアン化合物とエタノールとの反応に由来することが明らかにされた。その反応機構は次の様に解明された。

(1) 尿素、カルバミルリン酸、シトルリン、カルバミルアスパラギン酸、酵母菌体、蛋白などの窒素化合物とエタノールの反応^{1, 3, 4, 7, 11, 12, 15, 16, 38)}：尿素ならびに尿素代謝に関する窒素化合物はエタノール反応として、CEを生成した。尿素はアルコール発酵中に生成されており、CEの主たる成因とされた。また、尿素的生成が原料・もろみ中の高濃度のアミノ酸とくにアルギニンの存在によって促進された。

(2) シアン化合物のエタノール反応^{3, 4, 5, 10, 13, 14, 34)}：シアン化合物は果実や穀類中に配糖体として含有されるが、醸造経過中に酵素分解されて遊離シアン酸となって発酵もろみあるいは酒類中に蓄積し、これがエタノールと反応してCEを生成した。蒸留酒において、加熱工程および高濃度のエタノールや蒸留機内のシアン化金属(シアン化銅、チオシアン化銅など)の生成が、CE生成を促進した。

(3) ジエチル二炭酸塩(Diethyl dicarbonate)とアンモニアの反応^{1, 10)}：ジエチル二炭酸塩は飲料の殺菌剤として開発された。しかし、アンモニアと反応してCEを副生したことから禁止された。

3. CEの低減化方法

酒類中のCEを低減させるために以下のことが検討された。

(1) 低窒素濃度原料の使用；とくに低尿素、低ルギニン、低シアン化合物原料の利用；果実原料場において、果実の種類および窒素肥料の施肥がCE生成と関係した^{18, 19, 22)}。ウイスキー用原料大麦に低シアン化合物含有の品種が見い出された¹⁴⁾。原料植物の栽培法、品種および成分組成を検討する必要性が示唆された。

(2) 原料処理：清酒醸造の場合、無機塩添加²⁾原料米の加圧蒸し、酸浸漬²¹⁾などがもろみ中のミノ酸濃度を低下させた。果実原料の場合、種子部の除去が尿素濃度を低下させた¹⁹⁾。

(3) 尿素低生産性酵母の選択と育種：ワイン醸の尿素生成能は菌株によって相違した^{24, 32)}。清酵母の場合、尿素低生成菌株を造成する研究が行われた。それはアルギニン低資化性変異株²⁵⁾、アギナーゼ欠損突然変異株²⁷⁾、カルバミド低生産異株²⁶⁾およびアルギナーゼ遺伝子(CAR1)をラスミド導入によって破壊した尿素非生産性酵母育種²⁸⁾であって、いずれも試験醸造によって、素の低生産性が確かめられた。

(4) 尿素的酵素分解による低減：尿素分解酵「ウレアーゼ」の利用が清酒^{29, 30)}およびワイン^{12, 31)}で検討された。その有効性が認められて日本では酒類への使用が許可された(1987)。

(5) 発酵もろみから微生物菌体や蛋白成分の除去：発酵を終了したもろみ中の酵母および乳酸菌存在はCE生成に関係した^{12, 14, 32, 33, 38)}。フンデ蒸留に際して、その原料ワインをおり引き蒸留することが、CE低減に有効であった⁴⁾。

(6) 酒類の製造工程における加温・加熱工程(入れ殺菌など)を避けて、低温管理・低温貯蔵をう；CEは化学反応によって生成し、その生成速は温度に影響された^{5, 9, 10)}。すなわち、高温・熱条件がCE生成を促進することから、その抑制は、低温条件下の工程管理が望まれた³⁾。

(7) アルコール濃度を下げる：CE生成はアルコール濃度にはほぼ比例し⁵⁾、また、酒類へのアルコール添加によって促進された³⁵⁾。アルコール(エタノール)はCE生成に直接に関係しておりその濃度低下はCE抑制に有効となる。

(8) 酒類への光照射を避ける：ワイン³⁶⁾および蒸留酒^{4, 14)}の光照射はCE生成を促進した。しかし光照射によるCE生成の反応機構は解明されていないので、今後の研究課題である。

4. CEの許容摂取量

ネズミを用いた動物実験において、発ガン濃度CE0.1あるいは0.5mg/kg・日以上であって、これから計算された人の許容摂取量が0.0003mg/kg・

重・日となった³⁷⁾。また、別の動物実験の結果に基づいて、百万倍の安全性をみた人の許容摂取量は0.000001~0.000020mg/kg・体重・日であった⁴⁾。なお、一日当たり食品から摂取するCE量は約0.000020mg/kg・体重と推定された(アルコール飲料を除く)⁴⁾。

今後とも、より健全で衛生的な酒類製造を目標として、CEの成因の解明とその抑制は、重要な研究課題である。

文 献

- 1) C. S. Ough: J. Agric. Food Chem., **24**, 323, 326 (1976) .
- 2) G. Gaetano, M. Matta: Bull. L'O. I. V., **60**, 37 (1987) .
- 3) 原、高橋、中村: 醸協, **83**, 57 (1988) .
- 4) M. Feuillat: Bull. L'O. I. V., **62**, 193 (1989) .
- 5) 原、高橋、吉沢: 醸協, **83**, 64 (1988) .
- 6) 戸塚、高橋、北野: 醸協, **83**, 420 (1988) .
- 7) B. J. Canas, D. C. Harvery, L. R. Robinson, M. P. Sullivan, F. L. Joe JR, G. W. Diachenko: J. ASSOC. OFF. ANAL. CHEM., **72**, 873 (1989) .
- 8) 渡辺、飯野、萩野、富士縄: 醸協, **85**, 428 (1990) .
- 9) 吉沢、高橋: 醸協, **83**, 69 (1988) .
- 10) C. S. Ough, E. A. Crowell, B. R. Gutlone: Am. J. Enol. Vitic., **39**, 239 (1988) .
- 11) C. S. Ough, E. A. Crowell, L. A. Mooney: Am. J. Enol. Vitic., **39**, 243 (1988) .
- 12) J. F. Schopfer: Bull. L'O. I. V., **61**, 590 (1988) .
- 13) W. M. Mackenzie, A. H. Clyne, L. M. MacDonald: J. Inst. Brew., **96**, 223 (1990) .
- 14) R. Cook, N. McCaig, J. B. McMillan, W. B. Lumsden: J. Inst. Brew., **96**, 233 (1990) .
- 15) H. L. Riffkin, R. Wilson, T. A. Bringhurst: J. Inst. Brew., **95**, 121 (1989) .
- 16) F. F. Monteiro, E. K. Trousdale, L. F. Bisson: Am. J. Enol. Vitic., **40**, 1 (1989) .
- 17) R. I. Aylott, A. S. McNeish, D. A. Walker: J. Inst. Brew., **93**, 382 (1987) .
- 18) C. S. Ough, D. Stevens, J. Almy: Am. J. Enol. Vitic., **40**, 219 (1989) .
- 19) 戸塚、高橋、北野、原、吉沢: 醸造試験所報告、No.160, 35 (1988) .
- 20) 加藤、下飯、蓼沼、吉沢、田村: 醸協, **84**, 349 (1989) .
- 21) 齊藤、佐藤、下飯、蓼沼、吉沢: 醸協, **83**, 145 (1988) .
- 22) 戸塚、高橋、北野: 醸協, **83**, 424 (1988) .
- 23) 北本、三宅、河野、渡辺、高橋、戸塚、中村: 醸協, **80**, 59 (1985) .
- 24) C. S. Ough, D. Stevens, T. Sendovski, Z. Huang, D. An: Am. J. Enol. Vitic., **41**, 68 (1990) .
- 25) 原、飯村、五味、吉沢、中村: 醸協, **83**, 351, 355 (1989) .
- 26) 田中、永井、中沢、三島、竹村: 醸協, **84**, 413 (1989) .
- 27) 北本、小田、五味、熊谷: 醸協, **85**, 669 (1990) .
- 28) 小田、北本: 醸協, **86**, 99 (1991) .
- 29) 吉沢、高橋: 醸協, **83**, 142 (1988) .
- 30) 下飯、近藤、山崎、家藤、佐藤、蓼沼、原、吉沢: 醸協, **84**, 418 (1989) .
- 31) C. S. Ough, G. Trioli: Am. J. Enol. Vitic., **39**, 303, (1988) ; **40**, 245 (1989) .
- 32) A. Bertrand, P. Barros: Bull. L'O. I. V., **62**, 214 (1989) .
- 33) 吉沢、高橋、佐藤: 醸協, **83**, 348 (1988) .
- 34) D. J. McGill, A. S. Morley: J. Inst. Brew., **96**, 245 (1990) .
- 35) I. M. Tegmo-Larsson, T. Henick-Kling: Am. J. Enol. Vitic., **41**, 269 (1990) .
- 36) I. M. Tegmo-Larsson, T. D. Spittler: J. Food Sci., **55**, 1166 (1990) .
- 37) H. L. Riffkin, R. Wilson, D. Howie, S. B. Muller: J. Inst. Brew., **95**, 115 (1989) .
- 38) W. R. Sponholz, H. Kürbel, H. H. Dittrich: Die Wein-Wiss., **46**, 11 (1991) .