

# 清酒中カルバミン酸エチルの低減方法の検討

向井 伸彦・木曾 邦明

Methods for Reducing Ethylcarbamate in Sake

Nobuhiko MUKAI and Kuniaki KISO

## 緒 言

発ガン性が疑われているカルバミン酸エチル(示性式： $\text{H}_2\text{NCOOC}_2\text{H}_5$ ，分子量：89.09) (カルバミド酸エチルあるいはウレタンとも呼ばれる) (以下 EC と略す) は，広く発酵食品中に存在していることが知られている。

FAO (国連食糧農業機関) / WHO (世界保健機関) 合同食品添加物専門家会議 (Joint Expert Committee on Food Additives, JECFA) は，平成17年2月9～17日にイタリア・ローマにおいて第64回会議を開催した。EC，アクリルアミド，カドミウム等の化学物質の安全性に関する議論が行われており<sup>1)</sup>，将来酒類中の EC 含有量の規制が実施されることも考えられる。

清酒中の EC の生成を抑える方法としては，(1) 尿素非生産性酵母の使用により EC の前駆物質である尿素的生成を抑える，あるいは酸性ウレアーゼを用いて清酒中の尿素をアンモニアに分解させることで尿素的の低減を図る，(2) EC が主に火入れや貯蔵により生成されることから，火入れ後の速やかな冷却や，貯蔵温度が高くないように管理する，などの方法がある。上記の方法により EC の生成を抑制することは可能であるが，いったん清酒中に EC が生成した場合は減少させることは難しい。

現在，酒類中の微量の有機物質の除去法として，その吸着力を利用して活性炭が一般に用いられる。一方，活性炭以外に優れた吸着力を持ち，石

油精製など様々な分野で気体や液体の乾燥・精製・分離などに幅広く利用されているものとして，合成ゼオライト (モレキュラーシーブ) がある。また，清酒の矯正法として酒粕を清酒に添加する方法もある。

酒類中の EC の生成には前駆物質として尿素が関与するほか様々な経路が知られているが，いったん生成した酒類中の EC 自身を減少させる方法はほとんど報告されていない。そこで，今回種々の方法 (酵母添加処理，酒粕添加処理，ゼオライト添加処理，及び活性炭添加処理) により，清酒中の EC を直接減少できないか検討した。

## 実 験 方 法

### 1 試 料

市販本醸造酒 (EC 含有量 0.02～0.03mg/kg) を実験に用いた。

### 2 EC 分析

EC 分析は財団法人日本食品分析センター大阪支所に依頼し実施した。ここで，分析方法の詳細は図1に示す。なお，分析における定量限界は 0.01mg/kg であった。

### 3 酵母添加による方法

EC 10g/l 水溶液を作成した。清酒に 1.0mg/l 濃度で EC 水溶液を添加し，EC 添加清酒とした。

YPDプロス (Becton Dickinson) を 100ml

当たり 5 g 使用して作成した Y P D 培地 100ml × 5 個に酵母添加用の清酒酵母 (K-9) を接種し、25℃、3 日間培養後、滅菌水にて洗浄した。

EC 添加清酒 50ml に、上記酵母を  $1 \times 10^6$  個/ml、 $1 \times 10^7$  個/ml、 $1 \times 10^8$  個/ml となるように添加し、4℃ 及び 20℃ にて 3 日間静置した。そして、遠心分離により酵母を取り除いたものを EC 分析に供した。

#### 4 酒粕添加による方法

清酒に 0.6mg/l 濃度で EC 水溶液を添加し、EC 添加清酒とした。EC 添加清酒 100ml に、市販酒粕を 2 g、5 g、10 g、及び 20 g 添加し、室温にて 2 日間静置した。その後、ろ紙 (アドバンテック東洋, No. 5C) でろ過し、さらにメンブレンフィルター (孔径 0.45  $\mu$ m) でろ過したものを EC 分析に供した。

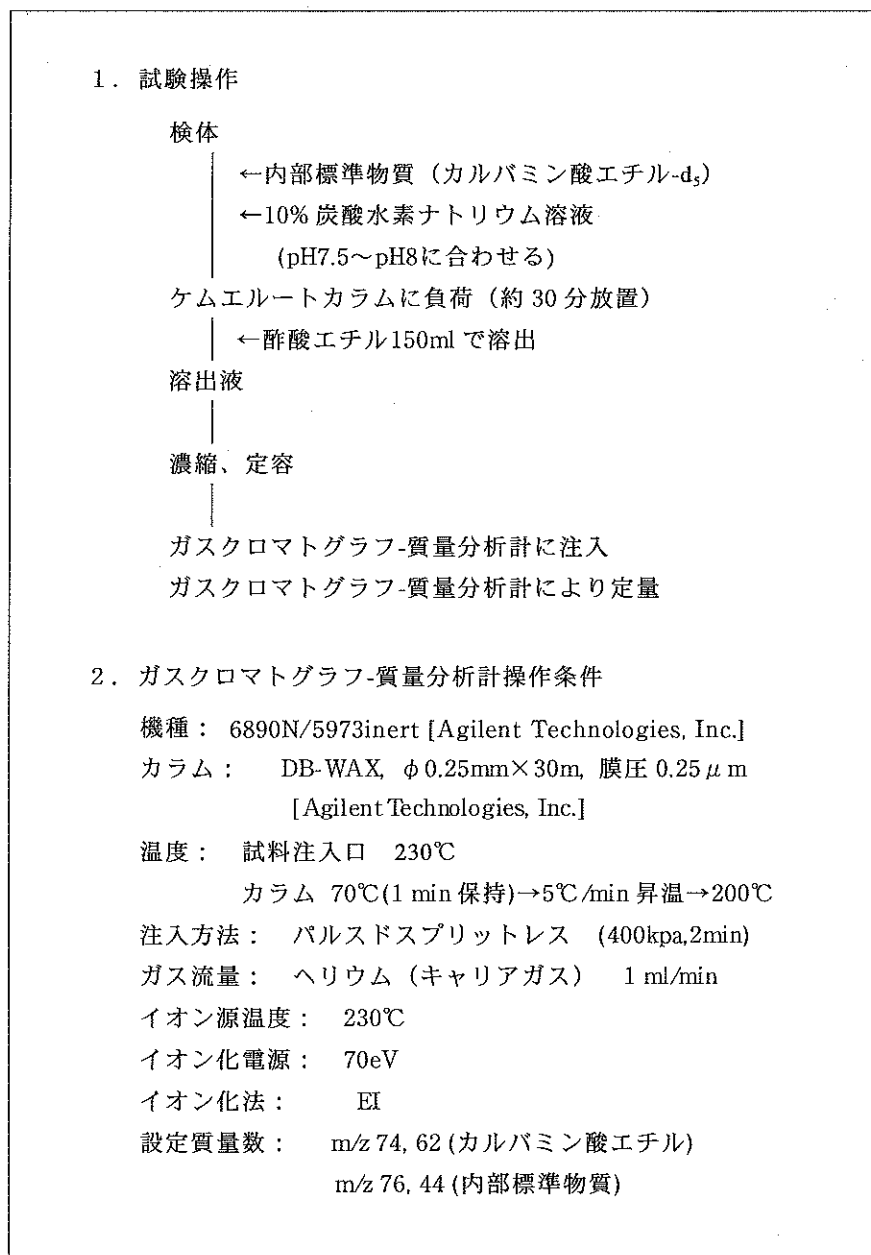


図1 カルバミン酸エチル分析フローシート

## 5 ゼオライト（モレキュラーシーブ）添加による方法

清酒に 0.6mg/l 濃度で EC 水溶液を添加し、EC 添加清酒とした。EC 添加清酒 100ml に、ゼオライト（東ソー株式会社製：HSZ-390HUA）、モレキュラーシーブ（ユニオン昭和株式会社製：ABSCENTS-5000）を 2 g, 5 g, 及び 10 g 添加し、室温にて 2 日間静置した。その後、ろ紙（アドバンテック東洋, No. 5C）でろ過し、さらにメンブレンフィルター（孔径 0.45 μm）でろ過したものを EC 分析に供した。

## 6 活性炭添加による方法

清酒に 0.6mg/l の濃度で EC 水溶液を添加し、EC 添加清酒とした。EC 添加清酒 100ml に、活性炭（キリン武田食品株式会社製、特製白鷺、白鷺RM、白鷺MCL）を 0.1 g, 0.5 g, 5 g, 及び 10 g 添加し、室温にて 2 日間静置した。その後、ろ紙（アドバンテック東洋, No. 5C）でろ過し、さらにメンブレンフィルター（孔径 0.45 μm）でろ過したものを EC 分析に供した。

## 実験結果

### 1 酵母添加による低減化

酵母添加処理による EC 低減化を図った結果を表 1 に示す。EC 添加清酒に清酒酵母 K-9 を  $1 \times 10^6$  cells/ml ~  $1 \times 10^8$  cells/ml の範囲で添加しても、EC を減少させることはできなかった。

表 1 カルバミン酸エチル濃度減少に及ぼす酵母添加の効果

酵母添加 (cells/ml)	静置温度 (°C)	カルバミン酸エチル 濃度 (mg/kg)
添加無し	—	1.1
$1 \times 10^6$	4	1.0
$1 \times 10^7$	4	1.1
$1 \times 10^8$	4	1.0
$1 \times 10^6$	20	1.0
$1 \times 10^7$	20	1.0
$1 \times 10^8$	20	1.0

### 2 酒粕添加による低減化

酒粕添加処理による EC 低減化を図った結果を図 2 に示す。EC 添加清酒 100ml に対して、酒粕の 0 ~ 20 g の添加では、EC はほとんど減少しないことがわかった。なお、結果は示さないが 3 種類の酒粕を用いて試験したが、同様の結果だった。

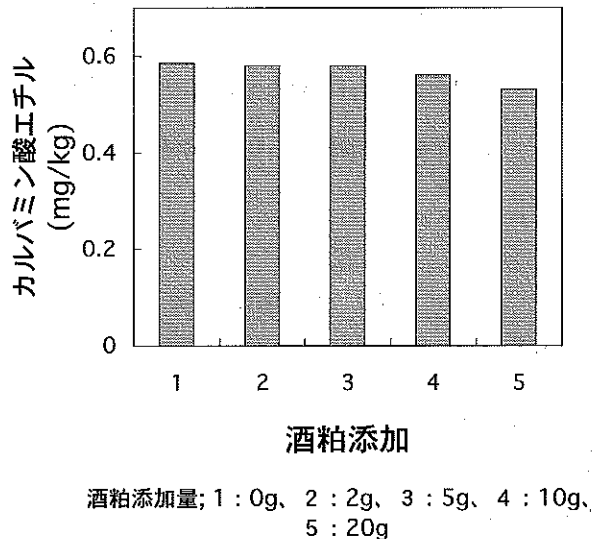


図 2 カルバミン酸エチル濃度減少に及ぼす酒粕添加の効果

### 3 ゼオライト（モレキュラーシーブ）添加による低減化

ゼオライト（モレキュラーシーブ）添加処理による EC 低減化を図った結果を図 3 に示す。EC 添加清酒 100ml に対して、ゼオライト（モレキュラーシーブ）0.5 g まで添加した場合は、EC は減少しなかったが、5 g の添加で 13~18% 減少した。さらに、ABSCENTS-5000 の 10 g の添加では、EC 濃度は 25% 減少した。

### 4 活性炭添加による低減化

最後に、活性炭添加処理による EC 低減化を図った結果を図 4 に示す。EC 添加清酒 100ml に対して、活性炭 0.5 g までを添加した場合は、EC は減少しなかったが、活性炭 5 g の添加で 29~45% 減少し、10 g の添加で 45~61% 減少した。

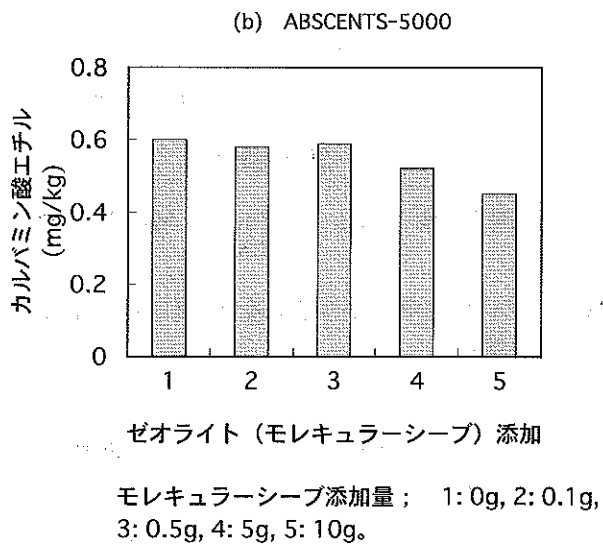
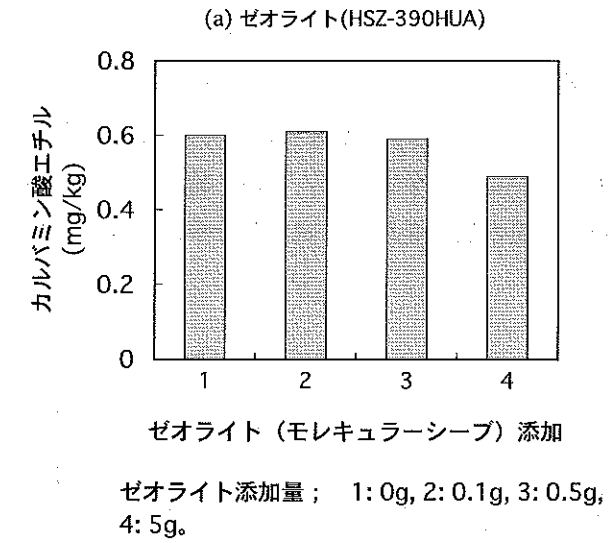
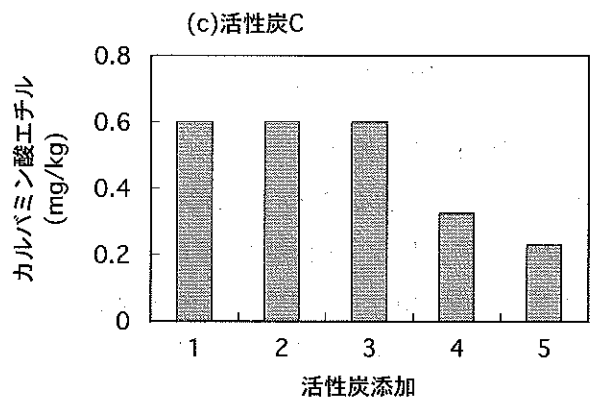
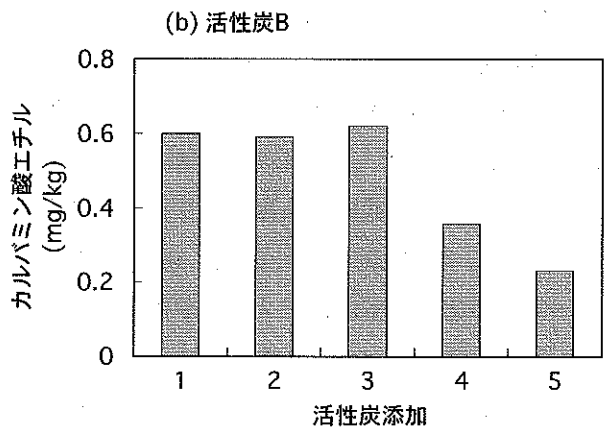
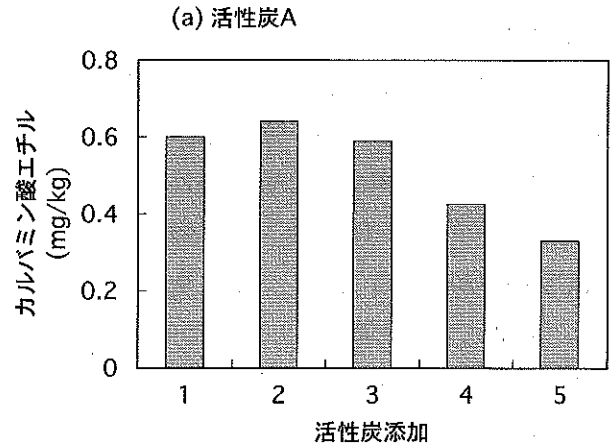


図3 カルバミン酸エチル濃度減少に及ぼすゼオライト (モレキュラーシーブ) の効果



活性炭; A: 特製白鷺, B: 白鷺-RM, C: 白鷺-MCL。  
活性炭添加量 ; 1: 0g, 2: 0.1g, 3: 0.5g, 4: 5g, 5: 10g.

図4 カルバミン酸エチル濃度減少に及ぼす活性炭の効果

## 考 察 要 約

EC は発ガン性が疑われているが、従来安全性について国際的な議論がほとんどされていなかった。平成17年2月のJECFA会議において、ECの安全性について初めて議論された<sup>1)</sup>。今後、JECFAにおいてECの安全性が問題になった場合、酒類中の含有量の規制が実施されることも考えられる。しかし、従来ECの生成を抑える方法はいくつか報告されているが、酒類中に生成されたEC自身を低減される方法はほとんど報告されていなかった。そこで、今回清酒中のECの低減法について検討した。

ECを添加した清酒に、培養清酒酵母を添加してもECの減少はみられなかった。このことから、ECは清酒酵母に吸着または吸収されないことがわかった。同様に酒粕を添加しても、ECの減少はほとんどみられず、酒粕への吸着・除去についても期待できないことがわかった。

ゼオライト（モレキュラーシーブ）及び活性炭を添加した場合は、EC添加清酒100mlに対し0.5gまでの添加では、ECの減少はみられなかった。5gや10gといった多量に添加した場合に初めてECの減少がみられた。このことから、ECは酒類中から非常に除去しにくい物質であることがわかった。今回の実験では、ゼオライト（モレキュラーシーブ）の添加により最高で25%のECが除去でき、活性炭の添加により最高で61%のECが除去できた。今回添加処理酒のきき酒は実施しなかったが、ゼオライト（モレキュラーシーブ）あるいは活性炭の多量の添加は、酒類の香味にも大きな影響を与え、風味が損なわれることが考えられる。従って、酒類中にECが生成しないようにすることが肝要と考えられる。今後とも、酒類の安全性に関して国際機関の動向には十分注意を向ける必要がある。

発ガン性が疑われているカルバミン酸エチル（EC）に関して、清酒中から減少させる方法について検討した。

あらかじめECを1.0mg/l濃度で添加した清酒50mlに、培養した清酒酵母を $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^8$  cells/mlになるように添加し3日間静置したが、ECは減少しなかった。また、ECを0.6mg/l濃度で添加した清酒100mlに酒粕0g~20gを添加し2日間静置したが、ECはほとんど減少されなかった。さらに、ECを0.6mg/l濃度で添加した清酒100mlにゼオライト（モレキュラーシーブ）及び活性炭を添加し、2日間静置したところ、0.5gまでの添加ではECの減少はみられなかった。モレキュラーシーブ10gを添加した場合は最高で25%、同様に活性炭10gの添加では最高で61%ECが減少した。以上のことから、清酒中からECを減少させるためには、多量の活性炭を添加する必要があることがわかった。ただし、多量の活性炭の添加は酒類の香味に少なからず影響を与えられとされる。

## 文 献

- 1) JOINT FAO/WHO EXPERT COMMITTEE ON FOOD ADDITIVES Sixty-fourth meeting SUMMARY AND CONCLUSIONS:平成17年 [http://www.who.int/ipcs/food/jecfa/summaries/en/summary\\_report\\_64\\_final.pdf](http://www.who.int/ipcs/food/jecfa/summaries/en/summary_report_64_final.pdf)