

連載第 33 回 カルバミン酸エチルについて (後編)

text : 橋口 知一

前編では主にカルバミン酸エチルに関する過去の経緯について記述しました。後編では、カルバミン酸エチルの生成機構、低減法などについて、触れたいと思います。

●▲■ 各国の規制・二つの生成機構

前編の最後でも述べましたが、カルバミン酸エチルに関して現在のところ我が国の食品衛生法における規制値はありません。しかし、一部の国においては規制値があります(表1)。また、各酒類の定義も国により様々ですので、輸出する場合は輸出先政府機関に問い合わせるなどして規制値を確認してください。また、ブラジルにおいては、サトウキビ蒸留酒カシャッサ(cachaça)の規制値が 150 μg/L となる見込みです。

表1 各国における酒類中のカルバミン酸エチルの規制値 (μg/L)

	ワイン	酒精強化 ワイン	スピリッツ	清酒	フルーツ ブランデー
カナダ	30	100	150	200	400
アメリカ	15	60			
チェコ	30	100 ^{※)}	150	200	400 ^{※)}
フランス			150		1,000
ドイツ					800

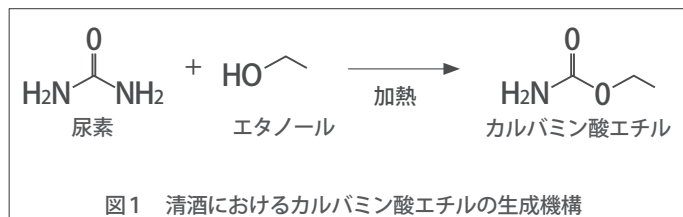
※) 酒類の定義に若干の違いあり

The EFSA Journal (2007) を一部改変

各種酒類におけるカルバミン酸エチルの生成は、二つに大別されます。一つ目は清酒やワインのように熱処理により大部分のカルバミン酸エチルが生成するものです。二つ目は核果蒸留酒やウイスキーのように、常温でカルバミン酸エチルが生成するものです。

●▲■ 清酒

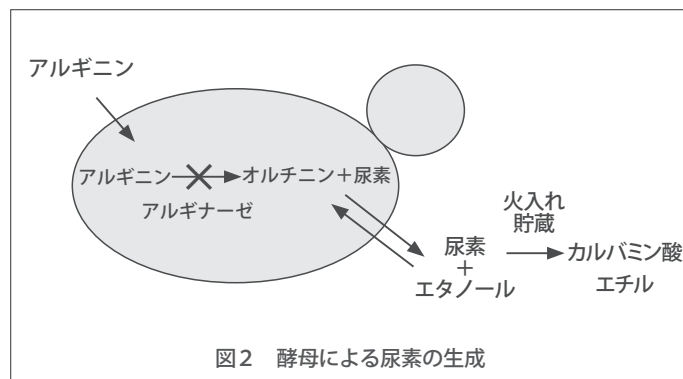
清酒中のカルバミン酸エチルの生成機構については、国税庁醸造試験所が中心となってその解明を行い、カルバミン酸エチルは尿素とエタノールの化学反応により、その大部分が熱処理によって生成することがわかりました(図1)。



したがって、清酒中のカルバミン酸エチルを減らすためには、尿素を分解すればよいということになります。国税庁醸造試験所では、清酒のカルバミン酸エチルが問題となる以前の 1981 年に、

酒質の劣化防止のために酒類中の尿素をウレアーゼという酵素でアンモニアと二酸化炭素に分解するという特許を取得していました。このウレアーゼを用いて尿素を分解した清酒は、加熱してもカルバミン酸エチルは生成しません。ウレアーゼは、国税庁長官指定告示物品となっているため、酒税法上は全酒類に使用することができ、国内酵素メーカーから販売されています。

カルバミン酸エチルの生成原因である尿素は、主に酵母によるアルギニンの分解で生じることが知られています(図2)。そこで、アルギニンを分解する酵素アルギナーゼの遺伝子を破壊した酵母を育種し、この酵母を用いて清酒の小仕込試験を行ったところ、製成酒に尿素は含まれず、火入れ・貯蔵してもカルバミン酸エチルは生成しませんでした。しかし、遺伝子操作を行った酵母は実際の酒類製造へ利用が制限されることから、それ以外の方法によるアルギナーゼ欠損酵母の育種が国税庁醸造試験所で行われました。具体的には、親株であるきょうかい9、10号酵母は生育できず、アルギナーゼ遺伝子が欠損した変異株だけが生育できる特殊な培地(CAO培地)を用いることで、尿素を生産しない酵母を育種することができました。これらの酵母は有用性が確認され、公益財団法人日本醸造協会から、きょうかい7、9、10号酵母及びそれらの泡なし酵母の尿素非生産性酵母が販売されています。なお、使用に当たっては、日本醸造協会と別途契約が必要となっています。



ウレアーゼや尿素非生産性酵母を使用しなくとも、ある程度カルバミン酸エチルを低減できる方法があります。カルバミン酸エチルが生成する化学反応は温度を下げるほど抑えられるので、火入れ後に速やかに冷却すると生成量を少なくすることができます。さらに、貯蔵、流通の段階でも低温に保つと生成が抑えられます。特にタンク火入れ後に速やかに冷却することが効果的で、火入れ後にタンクに水を掛けて冷却するか熱交換により酒の温度を下げることで、カルバミン酸エチルをかなり低減することができます。また、火入れ後の急冷は酒質の維持にも役立ちます。なお、火入れ温度を低くすることは、火落ちの原因となりますので避けてください。

瓶燗による火入れの場合も、タンク火入れと同様に火入れ後に急冷した方がカルバミン酸エチルを低減することができます。特に小容量の瓶で火入れを行い、扇風機などで速やかに冷却すれば、カルバミン酸エチルを低減できます。小瓶は表面積当りの体積が

小さいため、温度が下がりやすいという利点があります。

カルバミン酸エチルは、貯蔵により増加するので、古酒には通常の清酒よりも高濃度のカルバミン酸エチルが含まれることが知られています。通常の市販清酒 125 点のカルバミン酸エチル濃度が平均で 47 μ g/kg であったのに対して、市販清酒古酒 32 点のカルバミン酸エチル濃度は平均で 183 μ g/kg であったことが報告されています。

清酒中に生成したカルバミン酸エチルの活性炭による除去が検討されましたが、清酒 100mL に活性炭を 0.5g 使用した場合（清酒 1kL 当り 5kg）では、ほとんど除去されませんでした。活性炭を 10g 使用した場合（清酒 1kL 当り 100kg）は、おおよそ半減しましたが、清酒の香味の観点から現実的ではないと考えられます。現時点では、生成したカルバミン酸エチルを除去することは困難ですので、カルバミン酸エチルを生成させない前述の方法を行うのがよいと考えます。特に古酒用の清酒については、ウレアーゼ処理や尿素非生産性酵母の使用といった対策が望まれます。

清酒中のカルバミン酸エチルは、光照射によっても増加することが知られています。特に太陽光下においては、透明瓶や色の薄い瓶の方がカルバミン酸エチルは増加します。清酒の品質保持の観点からも、できるだけ光に当たらないようにした方がよいでしょう。

●▲■ ワイン・紹興酒

ワインにおけるカルバミン酸エチル生成の原因も、酵母により生産される尿素ですが、それ以外にシトルリンからもカルバミン酸エチルが生成すると考えられています。したがって、尿素などの物質を低減すること、高温にしないことがカルバミン酸エチル対策となります。アメリカ食品医薬品庁（U.S. Food and Drug Administration）は、ワイン中のカルバミン酸エチル予防マニュアルを公開していますので、その一部を紹介します（表 2）。

ワイン中の尿素はウレアーゼを用いて分解することができます。OIV は、International Code of Oenological Practices で、ワインをウレアーゼ処理することを認めており、EU、アメリカで

も認められています。しかし、リンゴ酸やフッ素がワイン中に多く存在している場合など、分解が遅く実質的に尿素を分解できない場合があるようです。

また、海外では、遺伝子組換えにより尿素を生産しない酵母が市販されているようですが、日本国内では法令による規制がありますので、十分注意してください。

中国の紹興酒などの黄酒（ホワンチュウ）にも、カルバミン酸エチルは比較的高濃度に含まれています。日本国内での市販紹興酒 38 点の分析値は、平均で 252.1ppb と報告されています。黄酒のカルバミン酸エチルは、火入れ、熱水瓶詰めの際に増加することが知られています。さらに、貯蔵においても増加し、その温度が高いほどより多くのカルバミン酸エチルが生成します。清酒と比べて紹興酒のカルバミン酸エチル濃度が比較的高いのは、貯蔵期間が長いことが関係していると思われます。また、黄酒におけるカルバミン酸エチルは尿素から生成するとされているので、清酒と同様の低減法が考えられます。

●▲■ 核果蒸留酒

核果蒸留酒は他の酒類と比較して高濃度のカルバミン酸エチルが含まれており、その生成機構は次のとおりです。核果の種に含まれているシアン配糖体がもろみで分解されてシアン化物が生じ、蒸留により製成酒に移行します。蒸留直後の酒に含まれているカルバミン酸エチルは少量で、その後の光照射や酒に含まれる銅などにより、カルバミン酸エチルが増加します（図 3）。つまり、カルバミン酸エチルを低減するには、シアン化物を減らす、銅を減らす、光照射を避けるといった対策が考えられます。シアン化物

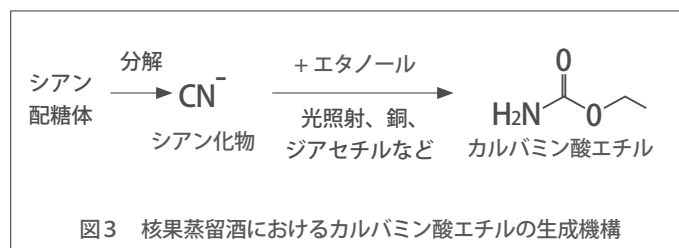


表 2 アメリカ食品医薬品庁のカルバミン酸エチル予防マニュアル（抜粋）

- ・ブドウ畑への過剰な窒素施肥を避ける
- ・窒素の吸収はブドウの品種、特に台木により大きく変化することに注意する
- ・果汁の窒素状態を監視する
- ・果汁への過剰な窒素の添加をしない
- ・窒素として尿素を果汁に添加しない
- ・果汁のアルギニン濃度を 1,000mg/L 超にしない
- ・尿素を排出しやすい酵母を使用しない
- ・マロラクティック発酵には性質が判っている乳酸菌を使用する
- ・ウレアーゼの使用により完全にカルバミン酸エチル生成が避けられる訳ではないことに注意する
- ・アルコールの添加は酵母による尿素排出を悪化させる可能性があることに注意する
- ・添加するアルコールのカルバミン酸エチル濃度を監視する
- ・貯蔵、輸送の際にワインの温度が上がらないようにする

を減らすためには、核果の種を除いて仕込むという方法がありますが、大変な労力がかかると思われます。他のシアン化物を減らす方法としては、銅製の蒸留器を使用し、蒸留前に蒸留器をよく洗浄することがあります。これは、シアン化物を蒸留器の銅と結合させて、蒸留酒中のシアン化物の濃度を下げためです。また、蒸留装置の冷却器は、ステンレス製が望ましいとされています。冷却器が銅製ですと、銅が蒸留酒に含まれてしまいカルバミン酸エチルが増加してしまうためです。製品は紫外線を通さない瓶や箱に入れて貯蔵することが推奨されます。核果蒸留酒中のカルバミン酸エチル低減についての詳細については、前編の実施規範をご覧ください。

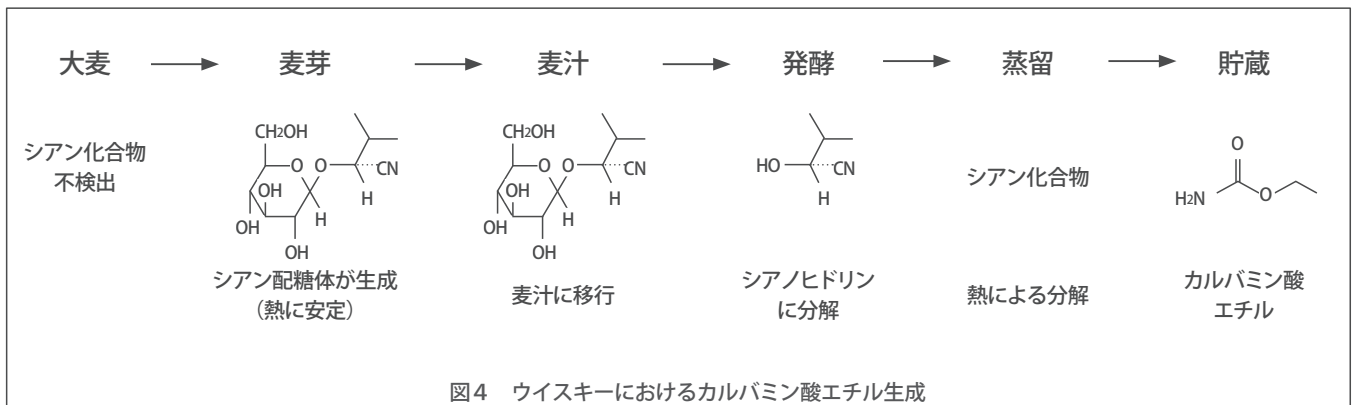


図4 ウイスキーにおけるカルバミン酸エチル生成

●▲■ ウイスキー・カシャッサ

ウイスキーにおけるカルバミン酸エチルもシアン化合物から生成します。大麦からはシアン化合物は検出されませんが、製麦工程において、エピヘテロデンドリンという熱に安定なシアン配糖体が作られます。エピヘテロデンドリンは麦汁に移行し、発酵工程において酵母の酵素により分解されて、イソブチルアルデヒドシアノヒドリンに変換されます。イソブチルアルデヒドシアノヒドリンは熱により分解され蒸留酒にシアン化合物が生成し、貯蔵によりカルバミン酸エチルが生成すると考えられています(図4)。ウイスキーを製造したときに生成するシアン化合物の量は、使用する麦の品種により大きく異なることが知られています。

ブラジルのサトウキビ蒸留酒カシャッサについても、サトウキビ搾汁に含まれるシアン化物からカルバミン酸エチルが生成するとされており、核果蒸留酒に準じた対策により、カルバミン酸エチルを低減できると考えられます。

●▲■ 梅酒・焼酎

これまでに紹介した酒類以外の日本独自の酒類として、梅酒や焼酎が挙げられます。市販梅酒 38 点のカルバミン酸エチル濃度は、平均で 0.12mg/L、濃度範囲 0.02 ~ 0.33mg/L と報告されています。また、近年では、清酒、本格焼酎などの各種の酒類を原料とした梅酒も市販されていますが、原料酒類による大きな差はないようです。しかし、梅酒原料酒類中のカルバミン酸エチルは、最終の梅酒製品に持ち込まれますので、原料酒類のカルバミン酸エチル濃度にも注意する必要があります。

梅酒のカルバミン酸エチルは、梅の種に含まれるシアン配糖体が分解されて生じるシアン化物に由来します。したがって、最も簡単なカルバミン酸エチルの低減法は梅の使用割合を減らすことですが、この方法は梅酒の香味への影響が出ると考えられます。それ以外の低減法としては、実験室における小仕込試験において仕込容器の空間部に脱酸素剤を置くことにより、シアン化物をある程度除去し、カルバミン酸エチルを低減できた例が報告されています。

また、最近では梅酒の多様化、高付加価値化に伴って樽貯蔵した製品も販売されていますが、樽貯蔵した製品はカルバミン酸エチル濃度が高い傾向があり、これは樽に含まれるリグニンが原因と考えられています。梅酒の樽貯蔵を行う場合は、その期間を最小限とするなどの対策が考えられます。

焼酎に含まれるカルバミン酸エチルについては、市販焼酎 19

点の分析を行い、うち 15 点は定量限界 (20µg/kg) 以下で、最大でも 37µg/kg であったとの報告があります。国税庁の調査によれば、市販単式蒸留焼酎 47 点の分析結果は、平均で 0.01mg/L となっています。いずれにせよ、他の酒類と比較すると低濃度となっています。

(Text. T.Hashiguchi)

主な参考文献

1. 特許第 1075917 号 酒類の酒質劣化防止方法
2. 北本 “ウレア非生産性清酒酵母の育種と実地醸造試験” 日本醸造協会誌 88, 106-114 (1993)
3. 向井ら “酒類の安全性に関する調査 (第 4 報) —カルバミン酸エチルの分析—” 日本醸造協会誌 100, 705-714 (2005)
4. 永田ら “アルコール飲料中のカルバミン酸エチル (ウレタン) の衛生学的実態調査” 食品衛生研究 45, 69-75 (1995)
5. U.S. Food and Drug Administration “Ethyl Carbamate Preventative Action Manual” (1997)
6. Cook ら “Ethyl Carbamate Formation in Grain-based Spirits Part III The Primary Source” J. Inst. Brew., 96, 233-244 (1990)
7. 橋口ら “The Concentration of Ethyl Carbamate in Commercial Ume (Prunus mume) Liqueur Products and a Method of Reducing It” Biosci. Biotechnol. Biochem. 74, 2060-2066 (2010)
8. 橋口ら “Lignin Is Linked to Ethyl-Carbamate Formation in Ume (Prunus mume) Liqueur” Biosci. Biotechnol. Biochem. 76, 148-152 (2012)

橋口 知一 (はしぐち ともかず)

独立行政法人酒類総合研究所 品質・安全性研究部門 (プロフィール)

1994 年	国税庁採用
1995 ~ 1999 年	福岡国税局 鑑定官室
1999 ~ 2000 年	東京国税局 鑑定指導室
2000 ~ 2002 年	国税庁 鑑定企画官付
2002 ~ 2004 年	東京国税局 鑑定官室
2004 ~ 2006 年	独立行政法人酒類総合研究所 酒類理化学研究室
2006 ~ 2007 年	独立行政法人酒類総合研究所 品質・安全性研究部門
2007 ~ 2009 年	独立行政法人酒類総合研究所 研究企画知財部門
2009 年~現在	独立行政法人酒類総合研究所 品質・安全性研究部門

QA? 本稿に関するご質問・ご意見等は、きた産業 (info@kitasangyo.com) にご連絡ください。筆者に転送いたします。