

市售酒類中胺基甲酸乙酯含量之調查研究

葉全益 蔡政融
經國管理暨健康學院食品科技系

摘 要

針對市售暢銷之不同酒類中所含致癌物胺基甲酸乙酯進行分析，包括蒸餾酒的威士忌酒，白蘭地酒。非蒸餾酒則有葡萄酒，水果酒，啤酒，和清酒等共 24 種樣品。結果顯示，不同國家生產之威士忌酒中胺基甲酸乙酯含量，由大到小為蘇格蘭，日本，台灣。白蘭地酒中胺基甲酸乙酯含量則為台灣多於法國。非蒸餾酒中除一件葡萄酒和梅酒以及兩件清酒外，大多為微量(< 40 ppb)或未檢出。清酒檢出量方面為台灣多於日本。本研究顯示市售酒類中胺基甲酸乙酯含量均於安全範圍。

關鍵詞：胺基甲酸乙酯，蒸餾酒，非蒸餾酒

Survey of Ethyl Carbamate in Alcoholic Liquor on Market

Chuan-Yi Yeh* and Cheng-Jong Tsai

Department of Food Health, Ching Kuo Institute of Management and Health

Abstract

Carcinogen of ethyl carbamate in different well-selling alcoholic liquor sold on market was chosen for analysis. There are 24 samples of distilled alcoholic liquor (Whisky and Brandy) and non-distilled alcoholic liquor (grape wine, fruit wine, beer, and sake). The results showed that the order of the content of ethyl carbamate in different Whisky produced by different country was Scotch > Japan > Taiwan. The content of ethyl carbamate in Brandy from Taiwan was higher than France. In non-distilled alcoholic liquor, most of samples were trace of ethyl carbamate (< 40 ppb) or undetected except one sample of grape wine and two samples of sake. The detected data of sake from Taiwan was higher than Japan. This study indicated that the content of ethyl carbamate in alcoholic liquor on market were in safe scope.

Key words : Ethyl carbamate, Distilled alcoholic liquor, Non-distilled alcoholic liquor

前 言

胺基甲酸乙酯 (ethyl carbamate, 簡稱 EC), 又稱 urethane, 最早在 1943 年被發現對動物具有致癌作用, 為一已知之致癌物^(1,2,3)。EC 亦為發酵過程之副產物, 廣泛存在於各種發酵食品及酒類中^(4,5)。在 1970 年初期, 食品及酒類被報告含有 EC, 尤其是酒精性飲料⁽⁶⁾。由於 EC 可能導致癌症, 因此在近幾年來有關酒類中 EC 含量之問題受到相當之重視。Ough (1976) 指出食物及酒類中, 尤其酒精性飲料含有 EC⁽⁷⁾。加拿大在 1985 年訂定各種酒類 EC 含量標準⁽⁸⁾。在 1985 年之前, 各國對於酒類中 EC 含量並無任何規定, 但由於加拿大的酒類會被發現含高量 EC, 因此由其健康保護局訂定各種酒類之 EC 含量標準⁽⁹⁾, 且在 1985 年下令由市場回收含 EC 超過規定量 (150 ppb) 之某些廠牌之美國酒類。Hasegawa 等⁽¹⁰⁾在 1990 年發表醬油及日本清酒中含高量 EC。

除了酒類以外, Ough 也指出酸酪乳、牛乳、麵包、橄欖、醬油及柑橘汁中含有 EC⁽⁷⁾。Zimmerli 等⁽¹¹⁾對非酒精性食品之 EC 含量加以研究, 並估計成年人每日對 EC 之攝取量為 20 $\mu\text{g}/\text{kg bw}$ 。Dennis 等⁽¹²⁾也曾探討麵包、酸酪乳及乾酪申 EC 之含量。Canas 等⁽¹³⁾研究不同發酵食品及飲料中 EC 之含量, 發現非酒精性食品中以醬油所含之 EC 量最高。Hasegawa 等⁽¹⁰⁾分析各種發酵食品中 EC 之含量, 結果發現醬油及日本清酒含有相當高量之 EC。另外 Hartman 等⁽¹⁴⁾在研究以蛋白質為基質之調味醬料中 EC 之含量, 亦指出傳統醬油含量達 102.1 ppb。由這些研究可知, EC 除存在於酒類外, 亦存在於其他發酵食品中。

由於 EC 具有危害性, 近年來頗受各國之重視, 紛紛致力於研究其在食品中之含量、形成原因及降低生成量的方法, 以便減少其對人體健康之危害。國內傳統之各式酒精性飲料種類相當多, 加上酒類的開放進口, 國人對酒類的消費量相當高。根據菸酒公賣局的資料顯示, 國內自從 1987 年開放酒類進口, 消費量大大上升, 進口酒類從 1987 年的 2.77%, 到 1998 年的 23.96%, 增加近 10 倍, 但是對其中可能存在的 EC 並未引起廣泛的重視, 因此, 有必要建立國內酒類中 EC 含量之基本衛生安全資料, 以維護國人飲食之安全性。黃等⁽¹⁵⁾和王等⁽¹⁶⁾曾探討國產和部份進口酒類中 EC 之含量。本研究針對市售暢銷酒類, 比較同類酒中國產和進口酒類之 EC 含量差異。根據酒客雜誌對台灣在 1999 年的暢銷酒統計, 蒸餾酒方面, 取國產及進口暢銷威士忌和白蘭地酒, 非蒸餾酒方面, 取國產及進口暢銷啤酒、葡萄酒、水果酒和清酒, 比較其中 EC 含量差異。

材 料 與 方 法

一、材料

1. 樣品:

(1) 非蒸餾酒:

(a) 啤 酒: 台灣啤酒、麥格黑啤酒(德國)、Kirin 啤酒(日本)、美樂啤酒(美國)、海尼根啤酒(德國)。

(b) 葡萄酒: 省產玫瑰紅(台灣)、省產白葡萄酒(台灣)、B&W 特級玫瑰紅(台灣)。

(c) 水果酒: CHOYA 梅酒(日本)、玉泉梅酒(台灣)、清涼水果酒(原味,

台灣)。

(d) 清 酒：月桂冠清酒(日本)、玉泉清酒(台灣)。

(2) 蒸餾酒：

(a) 威士忌：山多利(日本)、約翰走路(黑牌，法國)、台灣威士忌。

(b) 白蘭地：省產扁瓶白蘭地(台灣)、軒尼特 VSOP(法國)、人頭馬 VSOP(法國)。

2. 化學試劑：

Celite 545 (CP 級), Alumina (active neutral, activity I 級)、Sodium sulfate (anhydrous, EP 級), *n*-Butyl carbamate, Ethyl carbamate

二、胺基甲酸乙酯含量之測定

1. 樣品製備及萃取：

(a) 非蒸餾酒類：

參考王等⁽¹⁶⁾方法稍加修飾。取 10 g 樣品至 125 mL 分液漏斗中，加入 1.5 mg 之 *n*-butyl carbamate 為內部標準品 (internal standard)，加入約二倍樣品體積的石油醚，搖動約 30 秒後，棄去石油醚層，再重複一次。將處理過之樣品漏至內含有 10 g deactivated alumina (使用前 alumina 加 10% (w/w) 的去離子水以去活化，並劇烈搖動至無團塊存在) 及上層有 20 g sodium sulfate 及 10 g celite (經 700°C，16 小時灰化) 之管柱 (21 mm i.d. x 350 mm) 中。用 20 mL 二氯甲烷漂洗分液漏斗，並將之漏至此固相淨化管柱中，重複一次此步驟。再以 20 mL 二氯甲烷溶析層析管三次 (20 mL x 3)，收集析出液於梨形濃縮瓶 (150 mL) 中，使用 rotary vacuum evaporator (Buchi Rotavapor, Model RE-111) 進行減壓濃縮至 1~2 mL。將濃縮瓶中之樣品轉移至 5 mL 棕色樣品瓶，以氮氣吹送濃縮至約 50 μ L，以便進行 GC 分析。所有樣品的 EC 含量分析皆為雙重複。

(b) 蒸餾酒類：

參考王等⁽¹⁶⁾方法稍加修飾。取 5 mL 樣品至 125 mL 分液漏斗中，以去離子水稀釋至酒精度 25% (v/v)，加入 1.5 μ g 之 *n*-butyl carbamate 為內部標準品，加入約兩倍稀釋液體積的石油醚，搖動約 30 秒後，棄去石油醚層 (上層液)，重複一次。再加入約兩倍稀釋液體積的二氯甲烷，搖動約 60 秒後，收集二氯甲烷層 (下層液)。重複萃取一次，合併收集二氯甲烷層。收集析出液於梨形濃縮瓶 (150 mL) 中，使用 rotary vacuum evaporator (Buchi Rotavapor, Model RE-111) 進行減壓濃縮至 1~2 mL。將濃縮瓶中之樣品轉移至 5 mL 棕色樣品瓶，以氮氣吹送濃縮至約 50 μ L，以便進行 GC 分析。所有樣品的 EC 含量分析皆為雙重複。

(c) 啤酒類：

同非蒸餾酒類之製備與萃取。

(d)其他進口酒類：

酒精度高於 25 %者以蒸餾酒類之製備與萃取方式處理之；酒精度低於 25 %者以非蒸餾酒類之製備與萃取方式處理之。

2. 氣相層析條件：

參考王等⁽¹⁶⁾方法稍加修飾。氣相色層分析儀機型為 Shimadzu GC-14A，裝設火焰離子偵測器 (F. I. D.) 及 30 m×0.54 mm i. d.，1 μm 膜厚之 DB-WAX 毛細管層析管柱 (J&W Scientific, Inc.)。操作條件：偵測器與注射器溫度分別為 230 及 250°C；管柱烘箱以 100°C 為起始溫度，維持 4 分鐘後，以每分鐘 5°C 速度上升至 150°C，再維持 6 分鐘。分析完成後首柱烘箱以每分鐘 3°C 速度上升至 200°C，維持 15 分鐘以去除毛細管層析管柱中之雜物。攜帶氣體為氮氣 (100 kPa) 注射量為 0.5 μL。在此操作條件下，標準品尖峰出現先後次序分別為 EC 及 n-butyl carbamate。使用訊華 Chem-Lab 記錄軟體記錄 EC 及 n-butyl carbamate，以為定量之依據。

3. 標準曲線：

(a)儲藏溶液之製備：

Ethyl carbamate：濃度為 1mg/mL。利用 25mL 定量瓶，以甲醇溶解 25mg 之 EC 至定量並混合均勻。

(b)標準溶液：

利用甲醇將 ethyl carbamate 液作適當的稀釋，配製 EC 濃度為 2、4、10、20、40、60、80、100、120、150 μg/mL，作為工作標準溶液。

(c)標準曲線製作

取 0.5 μL 上述標準溶液進行 GC 分析。以 EC 之尖峰面積為縱軸，注射量所含 EC 濃度 (ng/μL) 為橫軸，作標準曲線。每一濃度行雙重複分析。

4. 胺基甲酸乙酯之定量：

EC 尖峰高度對 n-butyl carbamate 尖峰高度的比率對注射量所含 EC 濃度，便可得樣品中 EC 濃度。非蒸餾和蒸餾酒 EC 濃度單位以 ppb 表示。

結果與討論

以 GC-FID 分析 EC 標準品所得之標準曲線如圖一。由 EC 尖峰高度對 n-butyl carbamate 尖峰高度的比率對注射量所含 EC 濃度 (ng/uL) 作圖，得到良好的直線關係，線性迴歸方程式為 $Y=0.0425X + 0.1494$ ，線性迴歸係數 $r^2=0.9961$ 。

威士忌酒中 EC 含量的測量結果如圖二。蘇格蘭威士忌所含 156 ppb 最高，其次為日本威士忌 76 ppb，台灣威士忌 36 ppb 最低。1989 年美國 FDA 曾公布蘇格

蘭威士忌 EC 含量介於 n. d. ~142 ppb，王等⁽¹⁶⁾亦檢出蘇格蘭威士忌 EC 含量為 176 ppb，但台灣威士忌為未檢出。Sen 等⁽¹⁷⁾曾報告威士忌 EC 含量可能高達 247 ppb。本次檢驗結果均在 1985 年加拿大對蒸餾酒所制訂的 150 ppb EC 含量以下或附近。

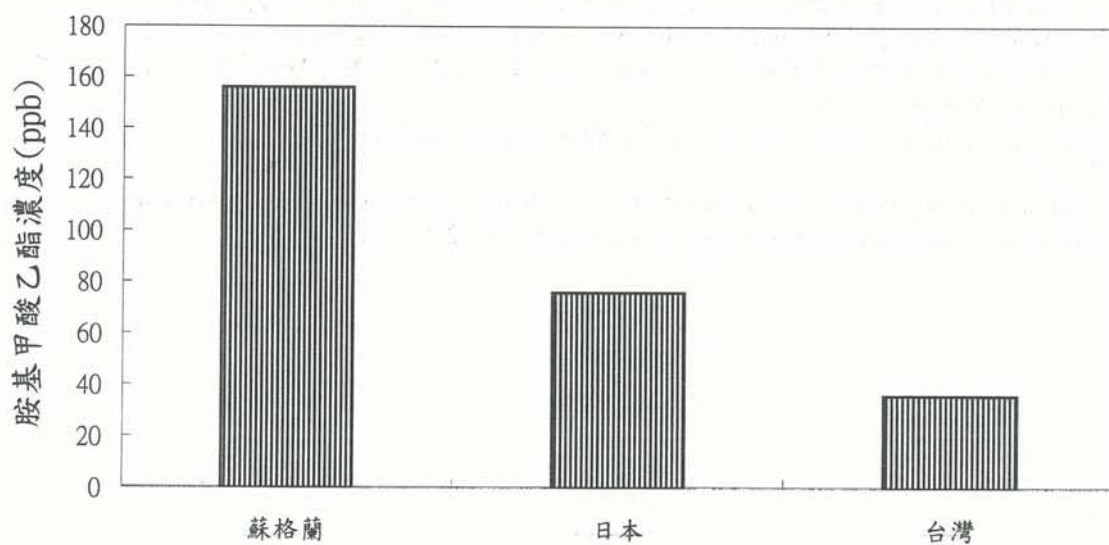
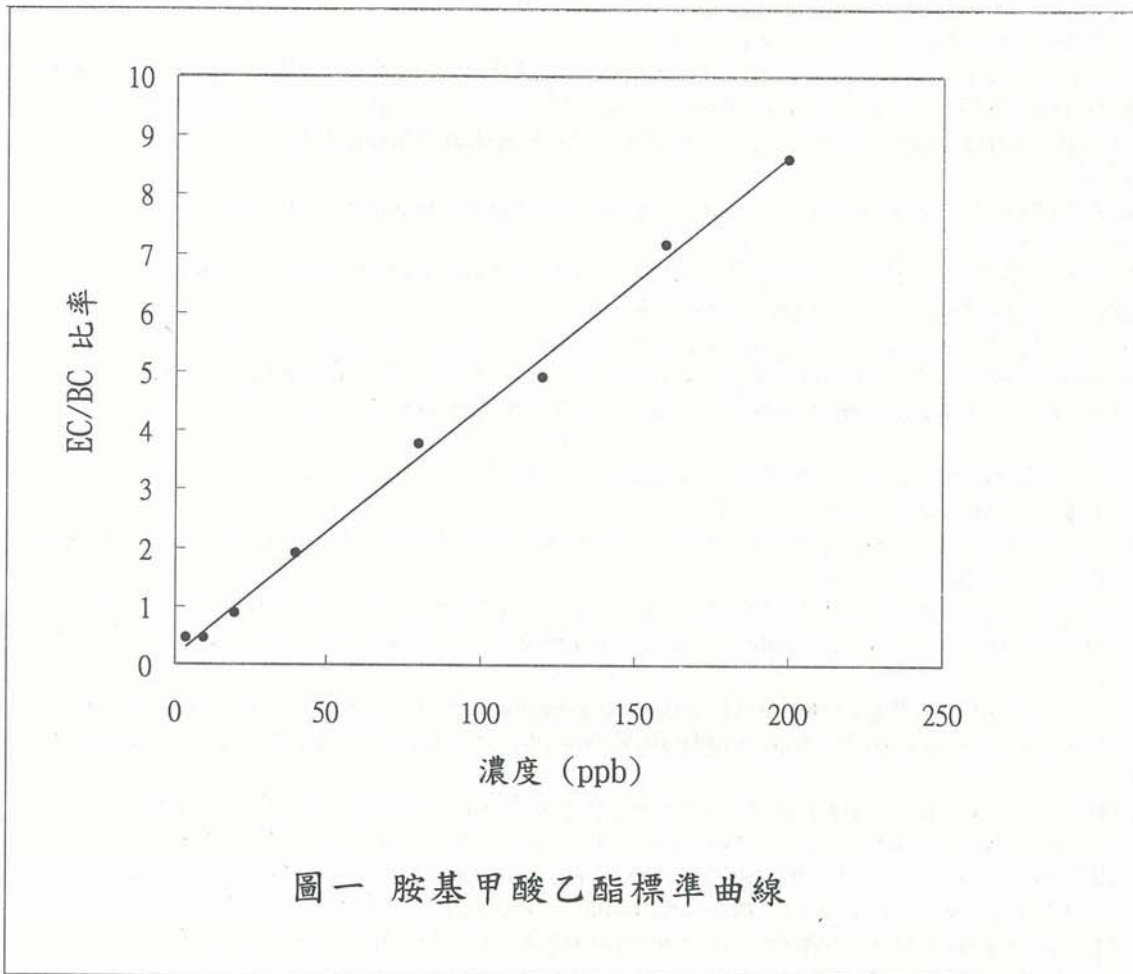
白蘭地酒樣本中 EC 含量的測量結果如圖三。台灣白蘭地最高為 68.8 ppb，而法國白蘭地的兩個品牌分別為 4.6 ppb 及 12.6 ppb。王等⁽¹⁶⁾檢出法國白蘭地 EC 含量為 69.8 ppb，台灣白蘭地為 28 ppb。其報告中亦提出美國 FDA 及 BATF 白蘭地酒中 EC 含量調查，平均值為 41.9 ppb。加拿大制訂白蘭地酒中 EC 含量的標準為 400 ppb。Sen 等⁽¹⁷⁾報告指出水果白蘭地 EC 含量可能高達 432 ppb。由以上資料得知國人飲用量較高的蒸餾酒中的威士忌酒和白蘭地酒均符合現今安全標準，而其中蘇格蘭威士忌 EC 含量在標準值附近，值得注意。

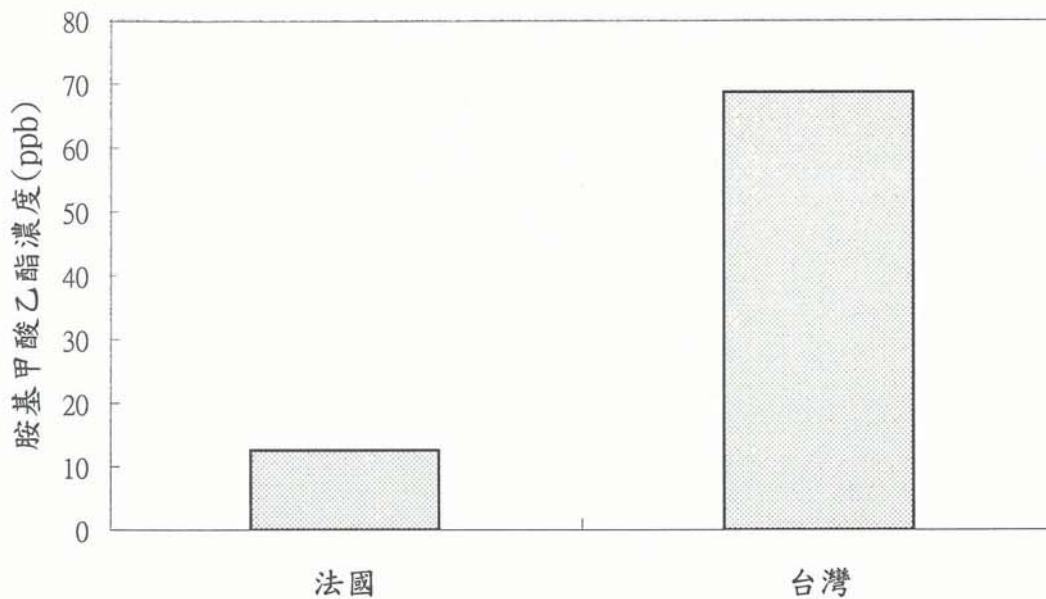
取暢銷的德國、美國、日本、台灣和荷蘭啤酒樣本共五件，檢測 EC 含量，結果均未檢出，與 Hasegawa 等⁽¹⁰⁾，黃等⁽¹⁵⁾及王等⁽¹⁸⁾的報告相符。國內 1999 年銷售量最多的葡萄酒前三名均為國產，其 EC 含量如表一，檢測結果玫瑰紅酒及白葡萄酒均未檢出有 EC，與王等⁽¹⁸⁾的報告相似，但本試驗檢測 B&W 特級玫瑰紅酒發現其 EC 含量為 14.6 ppb，推測可能與其存放時間及銷售時擺放環境的溫度有關。而在暢銷的水果酒方面，日本梅酒及台灣清涼水果酒(原味)均未檢出 EC，但在台灣梅酒則檢出 EC 含量為 9 ppb。另外，取日本及台灣清酒分析其中 EC 含量比較如表一，日本清酒 EC 含量為 19.6 ppb，台灣清酒 EC 含量為 38.4 ppb。Hasegawa 等⁽¹⁰⁾曾檢測日本清酒發現 EC 含量在 5-120 ppb 範圍。

本研究顯示市售暢銷酒類中胺基甲酸乙酯含量均於安全範圍。

參考文獻

- (1). Battaglia, R., Conacher, H.B.S. and Page, B.D. 1990 Ethyl carbamate (urethane) in alcoholic beverages and foods : a review. *Food Add. Contam.* 7 : 477 – 496.
- (2). Diachenko, G.W., Canas, B.J., Joe, F.L. and DiNovi, M. 1992 Ethyl carbamate in alcoholic beverages and fermented foods. Ch. 34, In “ Food Safety Assessment “. Finley, J.W., Robinson S.F. and Armstrong, D.J. (Ed.), ACS Symposium Series No. 484, pp.419 – 428. American Chemical Society Press, Washington
- (3). Mirvish S.S. 1968 The carcinogenic action and metabolism of urethane and N-hydroxyurethane. *Adv. Cancer Res.*, II: 1-42.
- (4). Battaglia, R., H.B.S. Conacher and B.D. Page 1990 Ethyl carbamate (urethane) in alcoholic beverages and Foods: a review. *Food Add. Contam.* 7: 477-496.
- (5). Diachenko, G. W., B. J. Canas, F.L. Joe and M. DiNovi 1992 Ethyl carbamate in alcoholic beverages and fermented foods. Ch. 34. In "Food Safety Assessment". J. W. Finley, S. F. Robinson and D.J. Armstrong(Ed.), ACS Symposium Series No. 484, pp. 419-428. American Chemical Society Press, Washington .
- (6). Ough C.S 1976 Ethylcarbamate in fermented beverages and foods. I. Naturally occurring ethylcarbamate. *J. Agric. Food Chem.*, 24: 323-328
- (7). Ough, C.S. 1976 Ethylcarbamate in fermented beverages and foods. I. Naturally occurring ethylcarbamate. *J. Agric. Food Chem.*, 24: 323 –328
- (8). Conacher, H.B.S. and Page, B.D. 1986 Ethylcarbamate in alcoholic beverages : A Canadian case history. *Proceedings of Euro Food Tox II, Interdisciplinary Conference on Natural Toxicants in Food, Zurich*, pp. 237– 242.
- (9). Conacher H.B.S. and B.D. Page 1986 Ethyl carbamate in alcoholic beverages: A Canadian case history. 'Proceedings of Euro Food Tox II, Interdisciplinary Conference on Natural Toxicants in Food, Zurich, pp. 237-242..
- (10). Hasegawa, Y., Nakamura, Y., Tonogai, Y., Terasawa, S. Ito, Y. and Uchiyama, M. 1990 Determination of ethyl carbamate in various fermented foods by ion monitoring. *J. Food Prot.* 53: 1058 – 1061.
- (11). Zimmerli, U. Baumann, P. Neil and R. Battaglia 1986 Occurrence and formation of ethyl carbamate (urethane) in fermented foods, Some preliminary results. In *Proceedings of Euro Food Tox II, Interdisciplinary Conference on Natural Toxicants in Food*, pp. 243-248, Institute of Toxicology, University of Zurich, Switzerland.
- (12). Dennis, M.J., N. Howarth, P.E. Key, M. Pointer and R.C. Massey 1989 Investigation of ethyl carbamate levels in some fermented foods and alcoholic beverages. *Food Add. Contam.*, 6: 383-389.
- (13). Canas, B.J., D.C. Havery, L.R. Robinson, M.P. Sullivan, F.L. Jr. Joe and G.W. Diachenko 1989 Ethyl carbamate levels in selected fermented foods and beverages. *J. Ass. Offic. Anal. Chem.*, 72: 873- 876.
- (14). Hartman T.G. and R.T. Rosen 1989 Determination of ethyl carbamate in commercial protein based condiment sauces by gas chromatography-mass spectrometry. *J. Food Safety*, 9: 173-182.
- (15). 黃淑媛、江茂輝 1989 酒中胺基甲酸乙酯之測定 (第二報) 省產酒類基甲酸之分析與比較。78年度酒類試驗所研究年報， 51-61
- (16). 王慧雯、張淑芬、顏國欽 1996 台灣市售酒精性飲料中胺基甲酸乙酯含量之探討。中國農化會誌 35(1) : 40-51.
- (17). Sen, N.P., Seaman, S. W., Boyle, M and Weber, D 1993. Methyl carbamate and ethyl carbamate in alcoholic beverages and other fermented foods. *Food Chem.*, 48: 359 – 366.





圖三 白蘭地酒之胺基甲酸乙酯含量比較

表一 各種不同酒類胺基甲酸乙酯含量之比較

| 酒類樣本 | 胺基甲酸乙酯 (ppb) |
|--------|--------------------|
| 葡萄酒 | |
| 玫瑰紅 | n. d. ¹ |
| 白葡萄酒 | n. d. |
| 特級玫瑰紅 | 14.6 |
| 水果酒 | |
| 日本梅酒 | n. d. |
| 台灣水果涼酒 | n. d. |
| 台灣梅酒 | 9 |
| 清酒 | |
| 日本清酒 | 19.6 |
| 台灣清酒 | 38.4 |

1: n. d. 表示未檢出