

黄酒中氨基甲酸乙酯直接减除技术的研究

刘俊, 赵光鳌, 徐岩*

(江南大学 生物工程学院酿酒科学与酶技术中心, 江苏 无锡 214122)

摘要: 黄酒中含有微量氨基甲酸乙酯(Ethyl Carbamate), 简称 EC, 直接降低黄酒中的 EC 含量, 具有重要的现实意义。在各种吸附性材料中, 优选得特异性功能树脂材料 L2、L3, 复配后以合适的添加量体积分数 10% 处理酒样, 对黄酒中的 EC 能较有效减除, 去除率在 60% 以上, 基本达到 EC 限量要求, 同时对酒体风味的保持较好。材料对 EC 的减除为吸热过程, 实际应用中需保证作用温度大于 20 °C。面向中国黄酒中 EC 含量的直接降低, 提供了一个实用、便捷的全新途径。

关键词: 树脂; 直接减除; 氨基甲酸乙酯(EC); 黄酒

中图分类号: TS 26, O 647. 32 **文献标志码:** A **文章编号:** 1673—1689(2012)02—171—06

Directly Removal of Ethyl Carbamate in Chinese Rice Wine

LIU Jun, ZHAO Guang-ao, XU Yan*

(Center for Brewing Science and Enzyme Technology, Jiangnan University, School of Biotechnology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: Ethyl carbamate (EC) is usually found in Chinese rice wine. It's very important to directly remove EC from Chinese rice wine. Among various absorptive materials, two specific resins (L2, L3) were selected and mixed for effectively removing EC at a suitable addition of 10% (v/v). The removal rate was higher than 60%, meeting the EC limitation requirement while maintaining most of the components in Chinese rice wine. The removal of EC absorbed heat. And the temperature should be kept higher than 20 °C when conducted the removal. These results provided an applicable and convinient approach for directly reduce EC content in Chinese rice wine.

Key words: resin, directly removal, ethyl carbamate, Chinese rice wine

氨基甲酸乙酯(Ethyl Carbamate, 简称 EC)主要产生于发酵食品和酒饮料(包括黄酒、清酒、葡萄酒等^[1,2])中, 对人体健康有潜在不利影响^[3,4]。中国黄酒有独特的工艺, 如麦曲酿造、煎酒、储存、年份酒勾兑等等, 目前出厂或经贮存的黄酒中尚有微

量 EC^[2,5], 直接降低 EC 在黄酒终端产品中的含量, 具有重要的现实意义。

人们早已发现带有表面活性物质的吸附现象^[6], 如活性炭的吸附^[7]、PVPP 对多酚的有效吸附^[8]等。另一大类广泛开发和应用的吸附性材料

收稿日期: 2011-11-10

基金项目: 国家“十一五”科技支撑计划重点项目(2007BAK36B02, 2008BAI63B06)。

作者简介: 刘俊(1981—), 男, 江苏南通人, 发酵工程博士研究生, 主要从事黄酒工艺技术研究。E-mail: liuj36@gmail.com

* 通信作者: 徐岩(1962—), 男, 浙江慈溪人, 工学博士, 教授, 博士研究生导师, 主要从事酿酒科学与工程研究。

E-mail: yxu@jiangnan.edu.cn

是合成树脂,其一般是指人工合成的高分子物质,具有多孔性立体结构的小颗粒,在整个颗粒内部及外部具有表面活性,其与物质间的相互作用能达到物质的分离、净化等目的^[9~11]。随着现代有机合成工业技术的迅速发展,研究制成了许多种性能优良的树脂,并开发了多种新的应用方法,树脂在许多行业特别是高新科技产业和科研领域中广泛应用^[12~13]。在规模应用中,树脂的优点主要是处理能力大,范围广,可以反复再生使用,工作寿命长,运行费用较低。树脂在酿酒行业有多方面应用,如用于果酒的降酸,去除低度白酒中的浑浊因素(高级脂肪酯类)等,操作步骤简单,成本较低。

EC 的直接去除尚未见报道,其难点与关键在于定向性,即相对专一性地去除 EC,同时最大限度地保持酒体的正常口感风味。作者对黄酒中 EC 的直接去除技术进行了研究,尝试各种具有吸附等作用的物料,寻找特异性功能材料对 EC 进行选择有效减除,进一步提高黄酒的 EC 安全性。

1 材料与方法

1.1 材料与设备

黄酒样:市售,乙醇体积分数 9.0%,半甜型。

PVPP: POLYCLAR 10, ISP Global Beverage Services 产品;活性炭、硅藻土、硅胶等:中国医药集团化学试剂有限公司产品;各种树脂材料:上海华震科技有限公司、江苏苏青水处理工程集团有限公司、西安蓝晓科技有限公司、天津市海光化工有限公司等产品;氨基甲酸乙酯、氨基甲酸丙酯:标准品, Sigma—Aldrich 公司产品;丙酮、NaOH、盐酸、乙醇、葡萄糖、甲基红、硫酸铜、次甲基蓝、酒石酸钾钠、亚铁氰化钾、甲醛溶液、NaCl 等:中国医药集团化学试剂有限公司产品。

摇床:恒温调速回转式摇床 DKY-II, 上海杜科自动化设备有限公司产品;GC-MS: Agilent 6890N GC-5973 MS 气质联用仪,美国安捷伦公司产品。

1.2 实验方法

1.2.1 EC 测定 固相萃取-GC-MS 法^[5]。

1.2.2 材料的预处理 各种材料需经过严格的预处理,除去可能影响风味的杂质等。经酮洗、碱洗、酸洗、醇洗等多个步骤。

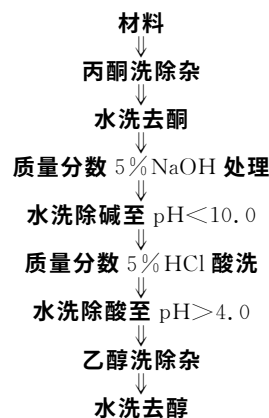


图 1 材料的预处理步骤

Fig. 1 Pretreatment steps of materials

1.2.3 功能性材料筛选 黄酒样分装成 100 mL 每份,装入 250 mL 的具塞三角瓶,各种材料以 0.20 g/mL 或湿体积 20% 的量加入后密封,30 °C 下 150 r/min 吸附处理 24 h。以吸附前后酒样中的 EC 含量计算去除率。同时与原酒品评比较,简易快速考察香气口味及颜色变化等;对较有去除效果的酒样详细品评,选较有黄酒品酒经验者 5 人进行,汇总结果综合比较酒样处理前后的风味保持情况。

1.2.4 温度和添加量对材料 EC 减除效果的影响

在温度 10、20、30 °C 条件下,分别考察不同湿体积积添加量(体积分数 2%、5%、10%、20%、40%)的材料对黄酒中 EC 的减除效果(1.2.3)。

1.2.5 材料的低温(10 °C)钝化 10 °C 考察材料的 EC 减除效果;酒样 30 °C 处理后降温至 10 °C 考察脱附情况;脱附后材料 30 °C 的 EC 减除效果。

1.2.6 常规指标测定 酒精度、总糖、总酸、氨基态氮、非糖固形物的测定:黄酒国标^[14]。

1.2.7 风味物质测定 顶空固相微萃取:吸取酒样 8 mL 置于 20 mL 的顶空瓶中,用微量进样器加入 10 μL 内标溶液(终浓 60.55 μg/L 的丙酸辛酯),再加入 3.1 g 氯化钠,旋紧瓶盖,插入三相萃取头(DVB/CAR/PDMS, 50/30 μm),50 °C 预热 5 min,萃取吸附 45 min,GC 解吸 5 min。

GC 条件:色谱柱 DB-Wax (60 m × 0.325 mm × 0.25 μm);升温程序:50 °C 保持 2 min,以 4 °C/min 的速率升至 230 °C,保持 15 min;进样口温度 250 °C,载气 He,流量 2 mL/min;进样量 1 μL,不分流。MS 条件,EI 电离源,离子源温度 230 °C,电子能量 70 eV,扫描范围 35.00 ~ 350.00。

半定量结果通过内标法计算,目标化合物峰面积积分采用选择离子模式(SIM)。

2 结果与分析

2.1 功能性材料预选

首先以常在酿酒工艺过程中使用的助剂进行EC减除效果的筛选。酒样静态饱和吸附后,各材料对EC均有一定吸附效果(图2),但处理后的酒体风味多数很不理想(表1),如活性炭严重影响风味。PVPP对酒体的影响虽然较其他材料小,但仍破坏了酒体风格,并且使用成本偏高,不易回收利用。所以这几种材料的效果均比较欠缺,需面向其他材料筛选具有较特异性减除能力的功能性材料。

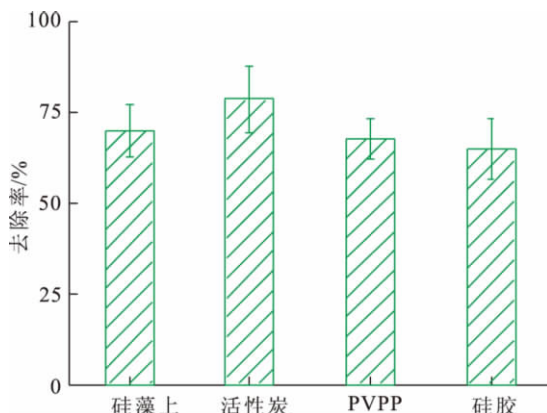


图2 不同材料的EC减除结果

Fig. 2 EC removal rate of various materials

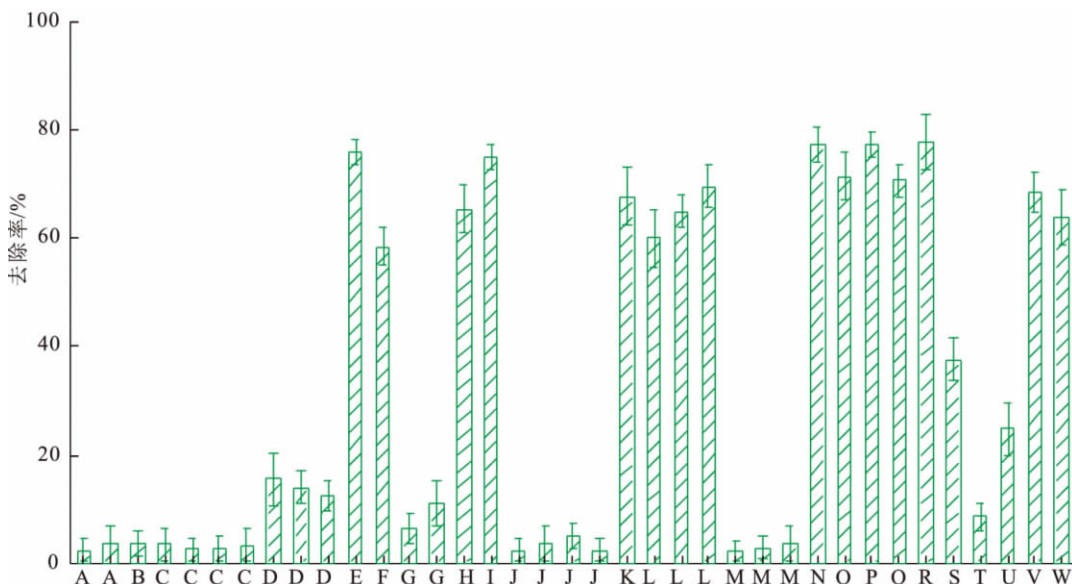


图3 各种树脂材料的EC减除结果

Fig. 3 EC removal rate of various resins

表1 不同材料处理酒样的风味变化

Tab. 1 Changes of Chinese rice wine samples after treatment by various materials

材料	处理后酒样风味的变化
硅藻土	色较淡,香气有损失,味淡,破坏酒体风格
活性炭	色很淡,香气损失很大,味很淡现水味,严重影响风味
PVPP	色微淡,香气有损失,味尚可,破坏了酒体风格
硅胶	色较淡,香气有损失,味淡失衡,破坏了酒体风格

2.2 功能性树脂材料筛选

选取多种树脂材料,对EC减除效果进行考察,各种树脂的吸附效果差异很大(图3),有不少种类(A1、A2、B等)几乎没有吸附效果,有些(D1、D2、D3)给酒样带来不愉快的异味而不能选用,也有些种类的去除率很高(N、O、P),但同时风味损失太大。而较好的现象是,有树脂的去除率和风味保持尚可。

在EC减除效果的基础上,处理后酒样初选后进行详细品评比较。L2、L3树脂对酒体风味的保持最好(表2),无论是颜色还是香气都与原酒比较接近,唯有口味上稍欠饱满。所以尽管L2、L3的EC去除率并非最高(图3),两者仍然是特异性效果最好的材料。

表 2 EC 减除效果较好树脂材料的酒样风味保持结果

Tab. 2 Flavour-maintainance of resins with relatively higher EC removal rate

树脂编号	处理后酒样风味的变化
E	色淡, 香气有很大损失, 味很淡现水味
F	色微淡, 香气有损失偏淡, 味很淡现水味
H	色稍偏淡, 香气损失较大, 味淡失衡, 突现酸味
I	色淡, 香气有很大损失, 味淡失衡, 酸味较突出
K	色极淡, 香气有很大损失, 味淡失衡, 突现酸味
L1	色几乎不变, 香较接近, 味稍欠饱满
L2	色几乎不变, 香相近, 味稍欠饱满
L3	色几乎不变, 香相近, 味稍欠饱满
Q	色稍淡, 香气有很大损失, 现水气, 味淡且失衡
R	色很淡, 香淡显酒精气, 味淡水味
V	色微淡, 香气有较大损失, 味淡有异且失衡
W	色微淡, 香气有较大损失, 味淡有异且失衡

2.3 温度和添加量对材料处理效果的影响

一般物理吸附为放热过程, 温度降低利于吸附; 化学吸附是吸热过程, 温度升高有利于吸附。吸附的类型和温度的变化都会影响到吸附效果。而在吸附应用中, 环境温度随着季节也会出现较大幅度波动, 所以研究不同温度对吸附效果的影响, 有很重要的意义。

在不同温度下, 考察材料 L2 和 L3 对黄酒中 EC 的减除效果。10 °C 处理后, 两材料对 EC 均几乎没有去除 (数据未显示), 而 30 °C 比 20 °C 时的去除率和单位材料吸附量均明显提高 (图 4, 图 5)。随着材料添加量的增加以至过量, 去除率和吸附量的差别逐渐缩小。说明较高温度有利于吸附, 此吸附为吸热过程, 所以这里 EC 去除的主导因素是化学作用。而化学作用往往比物理作用具有更好的选择性, 这也是 L2 和 L3 两材料对 EC 的减除表现出较好特异性的原因。

另一方面, 在材料添加量超过 10% 后, 增加添加量以至过量, 去除率的提高很小, 吸附容量明显下降 (图 4, 图 5)。表明材料并未吸附饱和。从去除效果看, 10% 的添加量已获较好效果, 继续增加材料添加量对去除率提高的贡献较小, 但对风味的影响有增加的趋势。所以 10% 的材料添加量是较为

合适的。

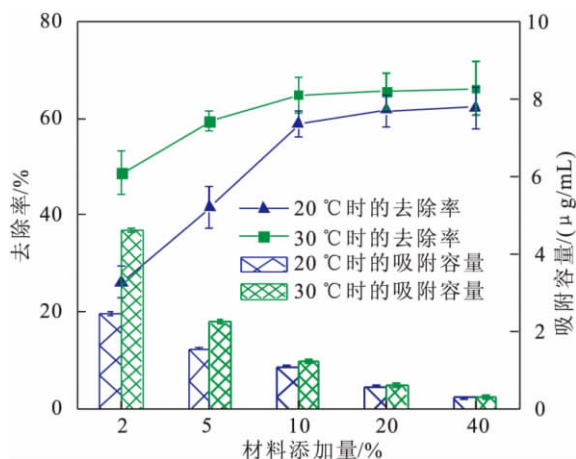


图 4 温度对 L2 材料 EC 减除效果的影响

Fig. 4 Effect of temperature on EC removal rate of L2

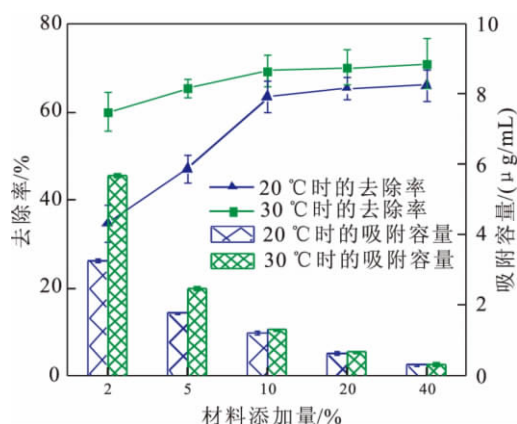


图 5 温度对 L3 材料 EC 减除效果的影响

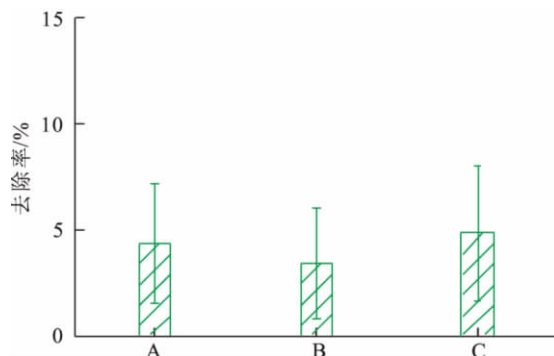
Fig. 5 Effect of temperature on EC removal rate of L3

2.4 材料的低温 (10 °C) 钝化

基于材料与 EC 间的化学性相互作用, 低温 (10 °C) 不利于此处去除的进行。以 L2 材料为对象, 进一步考察低温下此材料的作用特性。10 °C 时材料对 EC 几乎没有去除 (图 6(A))。推测低温虽然不利于吸附, 但可能有利于脱附也就是材料的再生。把酒样非低温 (30 °C) 有效处理后降温至 10 °C, 结果可见脱附效果显著 (图 6(B)), 酒样的 EC 含量升到原始水平, 去除率几乎降至 0。且经此脱附处理后的材料已几乎不再表现吸附作用 (图 6(C))。

由此可见, 低温虽然可以脱附, 但脱附后的材料可能因为非特异性物理吸附等, 附着上了其他物质而被钝化 (图 6(C))。由于化学性吸附的作用距离较短, 一般均是单分子层吸附, 所以钝化后的材

料对 EC 的吸附作用被封闭,几乎不再表现去除效果,必须再生才行。故实际应用中,需防止此功能性材料在低温环境下工作,必须保证作用温度大于 20 ℃ 为佳。



A:低温(10 ℃)处理酒样;B:非低温(30 ℃)处理后酒样的降温脱附;C:脱附后材料处理酒样

图 6 低温(10 ℃)对材料 EC 去除效果的影响

Fig. 6 Effect of low temperature (10 ℃) on EC removal rate

2.5 材料的复配增效

特异性功能材料 L2、L3 直接有效减除 EC 的同时,可以较好地保持酒体风味,但处理后的酒样仍有少量风味损失,且 L2 对香气的保持更好(图 7(a)),L3 对酒体味道的保持则更优(图 7(b))。两材料的风味保持能力各有优点,而前期研究表明两者的性质及对 EC 的去除效果相近(图 4,图 5),对两者进行复配,以期提高风味保持效果。

两者复配(1:1)后,按预期在风味保持上实现了优势互补,提高了处理后酒体的风味保持(图 7(c)),减少了损失,酒样的口感风味与原酒进一步接

近。同时,对 EC 含量 87.14 $\mu\text{g/L}$ 的酒样,EC 的减除效果 61.90% 与复配前的单体也吻合(图 4,图 5),说明复配确实提高了材料的应用效果。酒样的 EC 去除率在 60% 以上,基本达到要求。通过进一步研究,去除率尚有上升空间。

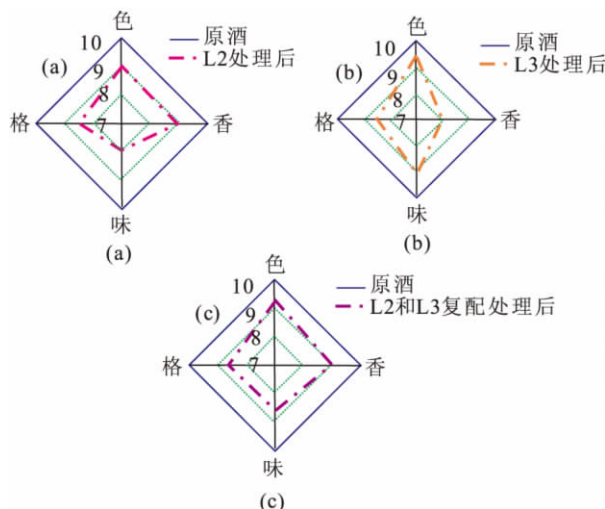


图 7 复配材料对酒体风味的影响

Fig. 7 Promotion of flavour-maintenance by mixing two materials

2.6 处理前后酒样的综合比较

对复配材料处理后的酒样,进行理化指标及风味保持情况的详细考察。在 EC 减除获得较好效果的基础上,处理后酒体成分稍有损失,总体差别较小(表 3),比较完整地保留着原酒样的风味骨架体系。说明此功能性材料能较特异地减除 EC。同时,如果封闭式批量处理,可以进一步减少挥发、夹带等损失。

表 3 处理前后酒样的综合比较

Tab. 3 Comparison of Chinese rice wine sample before and after treatment

酒样	乙醇体积 分数/%	总糖/ (g/L)	总酸/ (g/L)	氨基酸 态氮/ (g/L)	非糖 固形物/ (g/L)	β-苯乙醇/ (mg/L)	异丁醇/ (mg/L)	丁醇/ (mg/L)	异戊醇/ (mg/L)	2-庚醇/ (mg/L)	己醇/ (mg/L)
原酒	8.49	42.74	4.23	0.43	19.68	54.54	67.23	4.25	284.36	0.24	2.27
处理后酒样	8.09	42.18	3.86	0.39	19.25	53.61	54.22	2.89	251.37	0.22	2.20

酒样	乙酸/ (μg/L)	己酸甲酯/ (μg/L)	乙酸乙酯/ (μg/L)	丁酸乙酯/ (μg/L)	戊酸乙酯/ (μg/L)	己酸乙酯/ (μg/L)	庚酸乙酯/ (μg/L)	乳酸乙酯/ (μg/L)
原酒	57.44	21.41	221.11	1.82	0.51	7.36	0.31	309.63
处理后酒样	30.10	19.94	149.47	1.50	0.46	5.03	0.16	256.61

酒样	癸酸乙酯/ (μg/L)	苯乙酸乙酯/ (μg/L)	γ-壬内酯/ (μg/L)	2-壬酮/ (μg/L)	苯乙酮/ (μg/L)	糠醛/ (μg/L)	4-乙基愈 创木酚/ (μg/L)	风味物质 总量/ (mg/L)	风味 保持 率/%
原酒	1.19	17.99	1.53	1.00	8.12	34.82	0.50	413.57	—
处理后酒样	1.16	17.30	0.92	0.69	8.03	29.81	0.36	365.03	88.26

3 结 语

通过各种吸附性材料的筛选, 优选得特异性功能树脂材料 L2、L3, 复配后对黄酒中 EC 能较有效地减除, 应用中需保证作用温度大于 20 °C 效果更

佳, 去除率在 60% 以上, 基本达到 EC 限量要求, 同时对酒体风味的保持较好。本研究为中国黄酒中 EC 含量的直接降低, 提供了一个实用、便捷的全新途径。

参考文献(References):

- [1] Weber J, Sharypov V. Ethyl carbamate in foods and beverages; a review[J]. *Environmental Chemistry Letters*, 2009, 7(3): 233—247.
- [2] Fu ML, Liu J, Chen QH, et al. Determination of ethyl carbamate in Chinese yellow rice wine using high—performance liquid chromatography with fluorescence detection[J]. *International Journal of Food Science and Technology*, 2010, 45(6): 1297—1302.
- [3] JECFA. Summary and conclusions of the sixty—fourth meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA)[C]. Joint FAO/WHO expert committee on food additives sixty—fourth meeting. Rome: 2005. 1—47.
- [4] IARC. Alcoholic Beverage Consumption and Ethyl Carbamate (Urethane)[C]. Lyon: 2007: 1—5.
- [5] 钟其顶, 姚亮, 熊正河. 采用 GC/MS 和 HPLC—FLD 2 种方法测定黄酒中的 EC 含量[J]. *食品与发酵工业*, 2007, 33(3): 115—119.
ZHONG Qi-ding, YAO Liang, XIONG Zheng-he. Determination of EC in Chinese rice wine by GC/MS and HPLC—FLD Methods[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2007, 33(3): 115—119. (in Chinese)
- [6] Pignatello JJ, Xing B. Mechanisms of slow sorption of organic chemicals to natural particles[J]. *Environmental Science & Technology*, 1996, 30(1): 1—11.
- [7] Vanderborght BM, Van Grieken RE. Enrichment of trace metals in water by adsorption on activated carbon[J]. *Analytical Chemistry*, 1977, 49(2): 311—316.
- [8] McMurrough I, Madigan D, Smyth M R. Adsorption by polyvinylpolypyrrolidone of catechins and proanthocyanidins from beer[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1995, 43(10): 2687—2691.
- [9] 侯虎, 赵雪, 张朝辉, 等. 大孔聚苯乙烯吸附树脂对鳕鱼排免疫活性肽的脱盐[J]. *过程工程学报*, 2010, 10(5): 899—904.
HOU Hu, ZHAO Xue, ZHANG Chao-hui, et al. Desalination of immune activity peptide extracted from pollock frame with macroporous polystyrene resins[J]. *The Chinese Journal of Process Engineering*, 2010, 10(5): 899—904. (in Chinese)
- [10] 杨乐, 王洪新, 秦晓娟. 大孔树脂纯化笋壳中的黄酮物质[J]. *食品与生物技术学报*, 2011, (2): 218—223.
YANG Le, WANG Hong-xin, QIN Xiao-juan. Purification of flavonoids from bamboo shell by macroporous absorbent resins[J]. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 2011, (2): 218—223. (in Chinese)
- [11] 刘艳芳, 唐庆九, 杨焱, 等. 大孔树脂分离纯化发酵液中虫草素的研究[J]. *食品与生物技术学报*, 2011, (4): 627—631.
LIU Yan-fang, TANG Qing-jiu, YANG Yan, et al. Studies on purification of cordycepin from fermented broth by macroporous resin[J]. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 2011, (4): 627—631. (in Chinese)
- [12] Stucker V, Ranville J, Newman M, et al. Evaluation and application of anion exchange resins to measure groundwater uranium flux at a former uranium mill site[J]. *Water Research*, 2011, 45(16): 4866—4876.
- [13] Bowes BD, Lenhoff AM. Protein adsorption and transport in dextran-modified ion-exchange media. III. Effects of resin charge density and dextran content on adsorption and intraparticle uptake[J]. *Journal of Chromatography A*, 2011, 1218(40): 7180—7188.
- [14] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫局, 中国国家标准化管理委员会. GB/T 13662-2008 黄酒[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.