

Zur Bildungsweise von Ethylcarbamat (Urethan) in Steinobstdestillaten = Origin and mechanisms of formation of ethyl carbamate (urethane) in stone-fruit brandies

Autor(en): **Baumann, U. / Zimmerli, B.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène**

Band (Jahr): **78 (1987)**

Heft 3-4

PDF erstellt am: **16.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-982988>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern. Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Zur Bildungsweise von Ethylcarbamat (Urethan) in Steinobstdestillaten

Origin and Mechanisms of Formation of Ethyl carbamate (Urethane)
in Stone-fruit Brandies

U. Baumann und B. Zimmerli

Bundesamt für Gesundheitswesen, Bern

Einleitung

Ethylcarbamat, eine im Tierversuch kanzerogene Substanz (1), wurde Ende 1985 von Kanadiern in Branntweinen bis zu mehreren mg/l festgestellt (2). Entsprechende Untersuchungen in der Schweiz (3, 4), aber auch in Deutschland (5), bestätigten den obigen Befund. Übereinstimmend wurden die höchsten Ethylcarbamatgehalte in Steinobstdestillaten gemessen.

Über die Bildungsweise von Ethylcarbamat in alkoholischen Getränken ist bis heute noch sehr wenig bekannt. *Ough* (6) versuchte 1976, die geringen Ethylcarbamatgehalte (wenige Nanogramm/Gramm) in durch Gärungsprozesse hergestellten Lebensmitteln durch die Reaktion von Carbamylphosphat, einem energiereichen Zwischenprodukt des Hefestoffwechsels, mit Ethanol zu erklären. Die Kanadier brachten das Auftreten der hohen Ethylcarbamatgehalte teilweise mit dem den Maischen als Stickstoffquelle zugesetzten Harnstoff in Verbindung (7).

Eine zwangslose Erklärung der hohen Ethylcarbamatgehalte in Steinobstdestillaten wurde in der lichtabhängigen Reaktion von Blausäure mit vicinalen Dicarbonylverbindungen und Ethanol gefunden und 1986 publiziert (8). In der vorliegenden Arbeit wird diese Bildungshypothese erneut aufgenommen und mit neuen experimentellen Daten gestützt.

Analytik

Urethanbestimmungen

Zur Bestimmung der Urethangehalte kam die Methode von *Baumann* und *Zimmerli* (3) sowie das einfache Clean-up-Verfahren von *Andrey* (4) zur Anwendung.

Resultate und Diskussion

Ethylcarbamatbildung aus Amygdalin bzw. Benzaldehyd und Blausäure?

Da die höchsten Ethylcarbamatgehalte ausschliesslich in Steinobstdestillaten festgestellt wurden, lag es nahe, Amygdalin, einen für Steinobst typischen Inhaltsstoff, für die Ethylcarbamatbildung in Betracht zu ziehen. Zur Überprüfung dieser Hypothese wurde ein Maischesimulans mit pH 4,0 aus Wasser, 8% Ethanol und Phosphorsäure hergestellt. Nach Zugabe von 500 mg Amygdalin pro l Maischesimulans wurde Destillat gewonnen. In diesem Destillat konnte kein Urethan nachgewiesen werden. Ein Versuch, bei dem anstelle von Amygdalin Benzaldehyd und Kaliumcyanid eingesetzt wurde, ergab ebenfalls kein Ethylcarbamate im Destillat. Amygdalin und seine Folgeprodukte Benzaldehyd und Blausäure scheinen somit für die Ethylcarbamatebildung nicht direkt verantwortlich zu sein.

Ethylcarbamatebildung aus Produkten des Harnstoffbiosynthesecyclus?

Wie in der Einleitung erwähnt, wurde von den Kanadiern der Zusatz von Harnstoff zur Maische mit der Ethylcarbamatebildung in Zusammenhang gebracht. Tatsächlich konnte im Destillat, das aus einem mit *Harnstoff* versetzten Maischesimulans gewonnen wurde, Ethylcarbamate nachgewiesen werden. Im Widerspruch zur Hypothese der Kanadier ist, dass bei den in der Schweiz hergestellten Steinobstdestillaten auch beachtliche Ethylcarbamategehalte festgestellt wurden, obwohl der Harnstoffzusatz zur Maische in der Schweiz untersagt ist und gemäss unserem Wissen auch nicht praktiziert wird. Doch auch ohne die absichtliche Zugabe von Harnstoff zur Maische muss mit dem Auftreten dieses Stoffes in Maischen gerechnet werden. Über den in den Mikroorganismen ablaufenden Harnstoffbiosynthesecyclus kann die Bildung von Harnstoff erfolgen.

Auch aus anderen mit dem Harnstoffcyclus im Zusammenhang stehenden Produkten konnte in Maischesimulationsexperimenten Ethylcarbamate gebildet werden, so bereits bei Zimmertemperatur aus *Carbamylphosphat* (siehe auch (6)) sowie bei Siedehitze ebenfalls aus *Citrullin*, nicht jedoch aus *Arginin*.

Die Hypothese, dass Ethylcarbamate im wesentlichen aus Produkten des Harnstoffbiosynthesecyclus gebildet wird, ist unvereinbar mit der experimentellen Tatsache, dass Ethylcarbamate in höheren Konzentrationen ausschliesslich in Steinobstdestillaten festgestellt wurde.

Ethylcarbamatebildung aus Abbauprodukten der Nucleinsäuren?

Auf der Suche nach weiteren möglichen Edukten der Ethylcarbamatebildung stiessen wir auf die Harnstoffderivate *Allantoin* und *Beta-Ureidopropionsäure*, Abbauprodukte der Nucleinsäurebasen. In älteren Maischen liegen nicht unwesentliche Mengen an Hefen vor, deren Nucleinsäuren zu den erwähnten Produkten

abgebaut werden können. Experimentell wurde diese Möglichkeit überprüft, indem Maischesimulans mit Allantoin bzw. Beta-Ureidopropionsäure versetzt wurde. Bei Zimmertemperatur konnte keine Ethylcarbamatbildung nachgewiesen werden, wohl aber in der Siedehitze.

Auch beim Zutreffen dieser Bildungsweise wäre es unverständlich, dass Ethylcarbamat in höheren Konzentrationen lediglich in Steinobstdestillaten festgestellt wurde.

Ethylcarbamatbildung unter Beteiligung der Blausäure?

Experimente von *Andrey* und *Tuor* (9) zeigten, dass in frisch gewonnenen Steinobstdestillaten nur unwesentliche Ethylcarbamatmengen vorliegen. Unter dem Einfluss des Lichtes jedoch beobachteten sie ein massives Ansteigen der Ethylcarbamatkonzentrationen. Diese lichtabhängige Ethylcarbamatbildungsweise wurde in der Zwischenzeit auch von *Mildau* et al. bestätigt (10). Abbildung 1 zeigt die in 7 Kirschproben beobachteten Ethylcarbamatkonzentrationen während der Lagerung bei Tageslicht. Die Proben wurden in Weissglaszylinder an ein nach Osten ausgerichtetes Fenster gestellt.

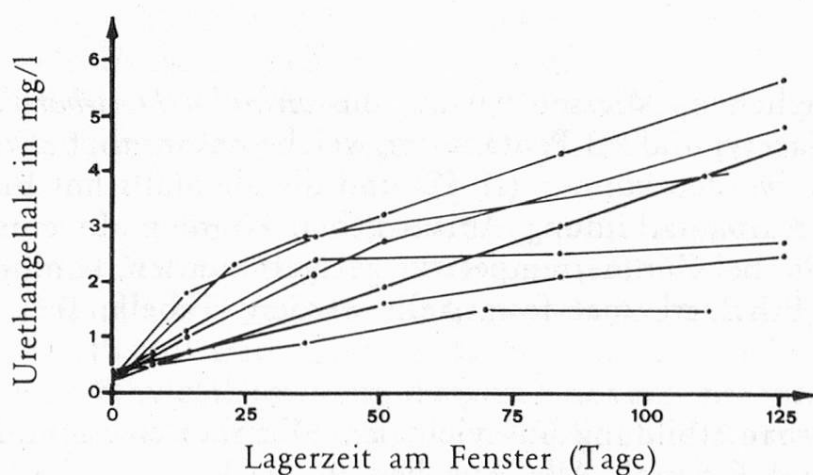


Abb. 1. Lichtabhängige Ethylcarbamatbildung in Kirschproben

Entsprechende lichtabhängige Ethylcarbamatbildungen wurden auch in den Steinobstdestillaten von Aprikosen, Zwetschgen, Mirabellen und Pflaumen festgestellt (siehe Abb. 2).

Somit stand fest, dass die Hauptmenge des Ethylcarbamats nicht in der Maische, sondern erst im Destillat gebildet wird.

Als für Steinobst typische Komponente wird in den Steinobstdestillaten die *Blausäure* angetroffen. Es drängte sich somit eine Beteiligung der Blausäure an der Ethylcarbamatbildung auf.

Als erste Möglichkeit wurde die Oxidation der Blausäure zur *Cyansäure* und deren Umsetzung mit Ethanol zu Ethylcarbamat in Betracht gezogen. Tatsächlich wird in Cyanat enthaltenden ethanolischen Lösungen bereits bei Zimmertemperatur Ethylcarbamat gebildet.

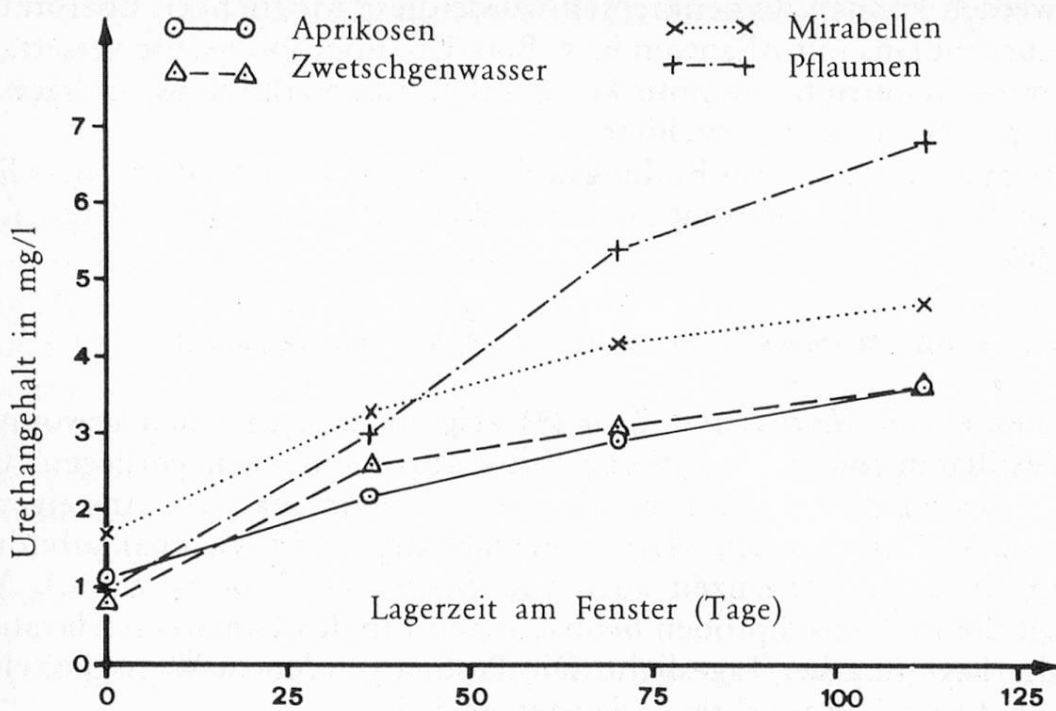


Abb. 2. Lichtabhängige Ethylcarbamatbildung in Steinobstdestillaten

Als zweite Möglichkeit stiessen wir auf die *vicinalen Dicarbonylverbindungen* Methylglyoxal, Diacetyl und 2,3-Pentandion, welche bekanntlicherweise in Spirituosen angetroffen werden können (11, 12) und die allenfalls mit Blausäure und Ethanol zur Ethylcarbamatbildung Anlass geben könnten. In entsprechenden Modellösungen, die bei Zimmertemperatur gelagert wurden, konnte tatsächlich die Bildung von Ethylcarbamat festgestellt werden (Tabelle 1).

Tabelle 1. Ethylcarbamatbildung aus vicinalen Dicarbonylverbindungen, Blausäure und Ethanol. Alle Angaben in mg/l

Reaktionszeit (h)	0,1% Methylglyoxal 40% Ethanol 20 mg/l HCN		0,1% Diacetyl 40% Ethanol 20 mg/l HCN		0,1% 2,3-Pentandion 40% Ethanol 20 mg/l HCN	
	dunkel	hell	dunkel	hell	dunkel	hell
66	0,7	0,2	0	1,3	0	0,7
184	1,1	0,8	0	4,4	0	2,4
329	1,9	1,9	0	5,9	0	3,2
520	3,1	3,0	0	11,8	0	3,3
690	3,5	3,0	0	12,5	0	3,8
Nachweis von Oxidationsmittel mit KJ, Stärke und H ₂ SO ₄	-	-	-	++	-	+

Interessant ist die Tatsache, dass die Ethylcarbamatbildung aus Diacetyl bzw. 2,3-Pentandion mit Blausäure und Ethanol lediglich in den dem Tageslicht ausgesetzten Modellösungen stattfand. Für die Ethylcarbamatbildung aus Methylglyoxal, Blausäure und Ethanol hingegen scheint Licht nicht nötig zu sein.

Aus Tabelle 1 ist weiterhin ersichtlich, dass in den Lösungen, die dem Licht ausgesetzt waren und die vicinale Diketone enthielten, mit Kaliumjodid, Stärke und Schwefelsäure das Vorhandensein einer *oxidierenden Spezies* nachgewiesen werden konnte.

Eine mögliche Erklärung dieses Befundes wäre, dass die vicinalen Diketone unter dem Einfluss des Lichtes mit Sauerstoff zu entsprechenden Peroxiden reagieren, aus denen dann erst mit Blausäure und Ethanol Ethylcarbamat entstehen könnte. Zur Überprüfung dieser Hypothese wurde eine Modellösung bestehend aus 0,1% Diacetyl, 40% Ethanol und 20 mg/l Blausäure einerseits unter Luft, andererseits unter Stickstoff dem Licht ausgesetzt und die Ethylcarbamatgehalte nach 142 Stunden bestimmt. Dabei wurde in der unter Stickstoff gelagerten Modellösung ein Ethylcarbamatgehalt von 0,1 mg/l, in derjenigen unter Luft gelagerten Lösung hingegen ein Ethylcarbamatgehalt von 1,6 mg/l festgestellt.

Die *Peroxidhypothese* steht auch in Übereinstimmung mit folgenden Befunden: In einer Modellösung bestehend aus 40% Ethanol, 0,6 mMol/l (16 mg/l) Blausäure und 0,6 mMol/l (0,005%) Diacetyl konnte nach 24stündiger Lagerzeit im Dunkeln kein Ethylcarbamat nachgewiesen werden. Wurde der obigen Lösung jedoch 1% Wasserstoffperoxid (ca. 0,3 Mol/l) beigefügt, konnten in der 24 Stunden im Dunkeln gelagerten Probe 4,9 mg/l Ethylcarbamat festgestellt werden.

Zur weiteren Überprüfung der Beteiligung von Peroxiden bei der Ethylcarbamatbildung wurde Diacetylperoxid synthetisiert (13). In einer Versuchslösung bestehend aus 650 mg/l Diacetylperoxid (jodometrisch bestimmt), 20 mg/l Blausäure und 40% Ethanol traten bereits nach einer Lagerdauer von 2 Tagen im Dunkeln 7,1 mg/l Ethylcarbamat auf. Aufgrund der experimentellen Daten könnte somit die Ethylcarbamatbildung wie in Abbildung 3 ersichtlich verlaufen.

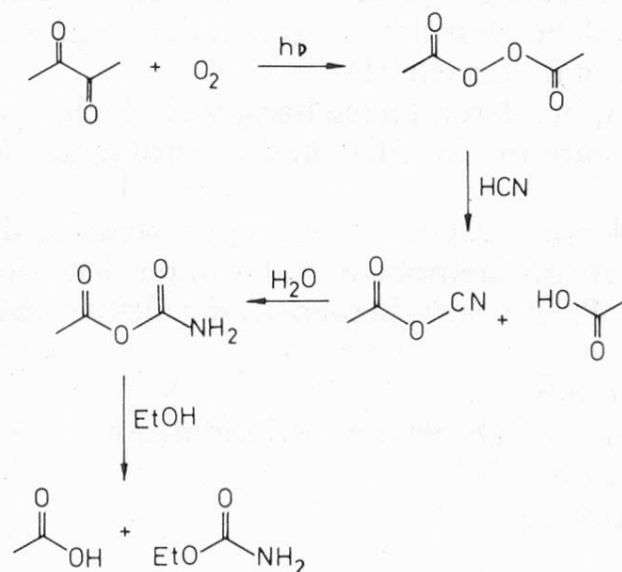


Abb. 3. Hypothetischer Mechanismus der Ethylcarbamatbildung

Auch die Oxidation der Blausäure durch Diacetylperoxid zur Cyansäure und deren Weiterreaktion mit Ethanol zum Ethylcarbamat wäre mit den experimentellen Daten im Einklang. Analog scheint auch die lichtabhängige Ethylcarbamatbildung aus Benzaldehyd, Blausäure und Ethanol abzulaufen. In diesem Fall dürfte die aus Benzaldehyd entstehende Perbenzoesäure für die Umwandlung der Blausäure in die Cyansäure verantwortlich sein. Die lichtabhängige Ethylcarbamatbildung aus Benzaldehyd, Blausäure und Ethanol verlief jedoch in Modellösungen wesentlich langsamer als diejenige aus Diacetyl, Blausäure und Ethanol. Die lichtabhängige Ethylcarbamatbildung aus Diacetyl, Blausäure und Ethanol zeigt eine stark ausgeprägte pH-Abhängigkeit. Tiefe pH-Werte begünstigen die Ethylcarbamatbildung.

Dass Ethylcarbamat in Steinobstdestillaten aus vicinalen Diketonen, Blausäure und Alkohol entsteht, wird durch folgende Fakten unterstützt:

- Die Ethylcarbamatbildung in Steinobstdestillaten zeigt eine entsprechende Lichtabhängigkeit wie die Ethylcarbamatbildung in Modellösungen aus Diacetyl, Blausäure und Ethanol.
- Sowohl beim intensiven Belichten (z. B. mit Hg-Hochdrucklampe TQ 150 mit Glastauchrohr, Heraeus AG) der Modellösung als auch von Steinobstdestillaten bilden sich oxidierende Spezien, die mit Kaliumjodid in schwefelsaurer Lösung nachgewiesen werden können. In solchen belichteten Modellösungen bzw. Steinobstdestillaten findet beim anschliessenden Lagern im Dunkeln eine Erhöhung der Ethylcarbamatkonzentration statt.
- In Steinobstdestillaten, in denen die Blausäure z. B. mit einem Anionenaustauscher entfernt wurde, fand keine Ethylcarbamatbildung mehr statt.
- Sowohl in der Modellösung als auch in Steinobstdestillaten wird nach Zugabe von Ascorbinsäure im Dunkeln Ethylcarbamat gebildet. Diese, von *Tanner* beobachtete Ethylcarbamatbildungsweise (14) wurde von ihm zu einem Verfahren zur Herstellung ethylcarbamatarmer Steinobstdestillate ausgenutzt (15).
- Destillate, die aus alten oder ungünstig gelagerten Maischen oder unter Einsatz von schlechter Ware gewonnen wurden, zeigen erfahrungsgemäss höhere Diacetylgehalte. Solche Destillate zeigen in der Folge auch häufig auffallende Ethylcarbamatkonzentrationen (14).
- Steinobstmaischen, bei deren Herstellung viele Steine gebrochen wurden, ergeben mehr Blausäure im Destillat und erfahrungsgemäss auch mehr Ethylcarbamat (14).

Zusammenfassend muss davon ausgegangen werden, dass die Hauptmenge des Ethylcarbamats erst im Steinobstdestillat unter dem Einfluss des Lichtes gebildet wird. Folgende Parameter scheinen an der Ethylcarbamatbildung beteiligt zu sein:

- Blausäurekonzentration
- Konzentration der vic. Dicarbonylverbindungen
- Ethanolkonzentration
- Sauerstoffkonzentration
- pH-Wert
- Belichtung (Wellenlänge, Energiedichte).

Dank

Für die exakte und speditive Durchführung der experimentellen Arbeiten möchten wir Herrn *D. Schöni* herzlich danken.

Dank gebührt auch Herrn Prof. *R. Keese* der Universität Bern für wertvolle Diskussionen betreffend dem Mechanismus der Ethylcarbamatbildung.

Zusammenfassung

Ziel dieser Arbeit war es, die Bildungsweise des vorwiegend in Steinobstdestillaten vorkommenden Ethylcarbamates aufzuklären. Als mögliche Ausgangsstoffe der Ethylcarbamatbildung werden Harnstoff, Citrullin, Carbamylphosphat, Cyanat, Allantoin und Beta-Ureidopropionsäure behandelt. Die wahrscheinlichste Bildungsweise des Ethylcarbamats scheint jedoch jene aus Blausäure, vicinalen Dicarbonylverbindungen wie Methylglyoxal, Diacetyl, 2,3-Pentandion und Ethanol zu sein. Diese Reaktion tritt vorwiegend im Destillat auf und zeigt eine ausgesprochene Lichtabhängigkeit.

Résumé

Le but de cette étude a été d'éclaircir le mécanisme de la formation du carbamate d'éthyle dans les eaux-de-vie de fruits. La cancérogénicité de cette substance, contenue en concentrations élevées surtout dans les eaux-de-vie de fruits à noyau, a été démontrée chez l'animal. Comme précurseurs potentiels, l'urée, la citrulline, le carbamoyl-phosphate, le cyanate, l'allantoïne et l'acide β -uréidopropionique ont été identifiés. La principale réaction dans la formation du carbamate d'éthyle semble toutefois comporter l'acide cyanhydrique, des composés renfermant deux groupes carbonyles vicinaux (tels méthylglyoxal, diacétyl, pentanedione-2,3) et l'éthanol. L'alternative du méthylglyoxal mise à part, la réaction est fortement dépendante de la lumière et s'effectue principalement dans le distillat. Quelques mécanismes de réaction, comprenant la formation intermédiaire de peroxydes, sont discutés.

Summary

The aim of this study was to investigate the mechanism of formation of ethyl carbamate in fruit brandies. This substance is proven to be carcinogenic in animals and is contained in high concentrations especially in stone-fruit brandies. Urea, citrulline, carbamyl-phosphate, cyanate, allantoin and beta-ureidopropionic acid have been identified as potential precursors. The most important reaction leading to ethyl carbamate, however, seems to include hydrocyanic acid, vicinal dicarbonyl compounds, e. g. methyl glyoxal, diacetyl, 2,3-pentandione and ethanol. Except for methyl glyoxal this reaction shows a strong light dependance and takes mainly place in the distillat. Some reaction mechanisms including the intermediate formation of peroxides, are discussed.

Literatur

1. *Schmähl, D., Port, R. and Wahrendorf, J.*: A dose-response study on urethan carcinogenesis in rats and mice. *Int. J. Cancer* **19**, 77–80 (1977).
2. Health and Welfare (Ottawa, Canada). News release, December 1985.
3. *Baumann, U. und Zimmerli, B.*: Gaschromatographische Bestimmung von Urethan (Ethylcarbamate) in alkoholischen Getränken. *Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg.* **77**, 327–332 (1986).
4. *Andrey, D.*: A simple gas chromatography method for the determination of ethylcarbamate in spirits. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* **185**, 21–23 (1987).
5. *Christoph, N., Schmitt, A. und Hildenbrand, K.*: Untersuchung zur Bildung und zum Destillationsverhalten von Aethylcarbamate bei der Branntweinherstellung. *Alkohol-Ind.* **15**, 347–354 (1986).
6. *Ough, C. S.*: Ethylcarbamate in fermented beverages and foods. *J. Agric. Food Chem.* **24**, 323–331 (1976).
7. *Conacher, H. B. S. and Page, B. D.*: Ethylcarbamate in alcoholic beverages: A Canadian case history. *Proceedings Euro Food Tox II*, October 15–18, Zürich, 237–242 (1986).
8. *Baumann, U. und Zimmerli, B.*: Entstehung von Urethan (Ethylcarbamate) in alkoholischen Getränken. *Schweiz. Z. Obst- und Weinbau* **122**, 602–607 (1986).
9. *Andrey, D. und Tuor, A.*: Persönliche Mitteilung Sommer 1986.
10. *Mildau, G., Preuss, W., Frank, W. und Heering, W.*: Ethylcarbamate (Urethan) in alkoholischen Getränken: Verbesserte Analyse und lichtabhängige Bildung. *Deut. Lebensm.-Rundsch.* **83**, 69–74 (1987).
11. *Niefind, H. J. und Reimerdes, E. H.*: Bildung, Bedeutung und Nachweis von Diacetyl in fermentierten Getränken; 1. Mitt.: Alkoholische Getränke. *Lebensmittelchem. Gerichtl. Chem.* **40**, 112 (1986).
12. *Tuszynski, T. and Bachman, B.*: Cherry distillates. Part II. Chemical and sensory assessment of distillates obtained from fermented cherries. *Acta Alimentaria Polonica VII (XXXI)*, No. 3–4, 169–178 (1981).
13. *Houben-Weyl*, herausgegeben von E. Müller: *Methoden der organischen Chemie*, **8**, (1952) 41. Verlag Georg Thieme, Stuttgart.
14. *Tanner, H.*: Möglichkeiten zur Reduktion des Urethangehaltes in Steinobstdestillaten. *Schweiz. Z. Obst- und Weinbau* **122**, 260–262 (1986).
15. *Tanner, H., Brunner, H.R. und Bill, R.*: Zur Herstellung von urethanarmen Steinobstdestillaten. *Schweiz. Z. Obst- und Weinbau* **123**, 661–665 (1987).

Dr. U. Baumann
Dr. B. Zimmerli
Bundesamt für Gesundheitswesen
Abteilung Lebensmittelkontrolle
Sektion Lebensmittel- und Radiochemie
Postfach
CH-3000 Bern 14