

調味料中のクロロプロパノール類含有実態調査の結果について（平成18年度）

1. 経緯

農林水産省では「食品安全に関する有害化学物質のサーベイランス・モニタリング中期計画」*1 に基づいて、クロロプロパノール類の一種である 3-クロロプロパン-1,2-ジオール（3-MCPD）及び 1,3-ジクロロ-2-プロパノール（1,3-DCP）について、リスク管理措置の必要性やその方法等を検討するため、加工食品中の含有実態調査を実施している。

クロロプロパノール類は、特にしょうゆの原材料となるアミノ酸液の製造過程において副産物として生成され、意図せずにしょうゆに含有されることが知られている。

このため、しょうゆ及びアミノ酸液におけるクロロプロパノール類の含有実態について、平成 16 年度から調査を実施してきた。

これまでの実態調査において

- ① 本醸造方式のしょうゆ（アミノ酸液を原材料に含んでおらず、我が国のしょうゆの全生産量の 82%を占める。）にはクロロプロパノール類が検出されないこと
- ② 加工食品の原材料用としての製品販売を目的に、大規模に製造されているアミノ酸液（以下「販売用アミノ酸液」という。）は、クロロプロパノール低減のための自主的な取組が行われており、それらが加えられた混合醸造方式又は混合方式のしょうゆ（我が国のしょうゆの全生産量の 16%程度と見込まれる。）では、クロロプロパノール類の含有濃度が比較的低い傾向にあること
- ③ しょうゆ製造事業者により製造されたアミノ酸液（以下「自製アミノ酸液」という。）及びこれらのアミノ酸液が加えられた混合醸造方式又は混合方式しょうゆ（以下「自製アミノ酸液使用しょうゆ」という。我が国のしょうゆの全生産量の 2 %程度と見込まれる。）では、クロロプロパノール類の含有濃度が比較的高い傾向にあること

が確認された。

2. 平成18年度の調査目的

自製アミノ酸液及び自製アミノ酸液使用しょうゆにおいて、クロロプロパノール濃度が高い傾向が確認されたことから、平成 18 年度は、それらのクロロプロパノールの低減対策の取組実態、アミノ酸液の製造方法がクロロプロパノールの含有濃度に与える影響、低減対策の有効性等について知見を得るため、クロロプロパノール類の含有実態及び製造方法について調査した。

3. 調査及び解析の方法

（1）調査対象及び試料点数

自製アミノ酸液：81 点

自製アミノ酸液使用しょうゆ：54 点

*1 食品の安全性に関する有害化学物質のサーベイランス・モニタリング中期計画
http://www.maff.go.jp/j/syouan/seisaku/risk_analysis/survei/middle_chem.html

(2) 分析項目

3-クロロプロパン-1,2-ジオール (3-MCPD)
1,3-ジクロロ-2-プロパノール (1,3-DCP)

(3) 調査試料の採取方法

調査試料は、製造事業者の協力の下に、平成 18 年 10 月 31 日から平成 19 年 2 月 5 日の間に、日本醤油協会及び全国醤油工業協同組合連合会を通じて入手した。

(4) 分析方法

① 3-MCPD

ア) 試験溶液の調製

分析試料 4 g に 3-MCPD- d_5 を水溶液として 0.8 μg 添加した後、水 10 ml に溶解し、多孔性ケイソウ土カラム (Extrelut[®] NT20) に負荷した。約 30 分間放置した後、酢酸エチル 150 ml で 3-MCPD を溶出させた。溶出液を減圧濃縮し、酢酸エチルで 4 ml に定容した。この 1 ml をとり、2% (w/v) フェニルホウ酸の酢酸エチル溶液 0.1 ml を加え、室温で 5 分間静置し誘導体化反応を行った。反応液を減圧濃縮後、乾固させ Sep-Pac[®] フロリジルカラムにヘキサン 10 ml を用いて負荷し、流下液を捨て、エタノール及び酢酸エチル (20:80) の混合液 30 ml (15 ml で 2 回) で 3-MCPD のフェニルホウ酸誘導体化物を溶出させた。溶出液を減圧濃縮後、乾固させ、酢酸エチル 1 ml に溶解し試験溶液とした。

イ) 定量操作

試験溶液 1 μl をガスクロマトグラフ-質量分析計 (GC/MS) に注入し、検量線から試料中の 3-MCPD 濃度を算出した。GC/MS 操作条件は以下のとおり。

機種 : 6890/5973 [HEWLETT PACKARD Co.]

カラム : DB-5 MS [Agilent Technologies Inc.]

ϕ 0.25 mm \times 30 m、膜厚 0.25 μm

注入方法 : スプリットレス

温度 : 試料注入口 220 $^{\circ}\text{C}$

カラム 70 $^{\circ}\text{C}$ (1 min 保持) \rightarrow 15 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 昇温 \rightarrow 240 $^{\circ}\text{C}$

ガス流量 : ヘリウム (キャリアーガス) 1 ml/min

イオン源温度 : 230 $^{\circ}\text{C}$

イオン化電圧 : 70 eV

イオン化法 : EI

設定質量数 (m/z) : 3-MCPD 誘導体化物 196 (定量イオン)、147 (確認イオン)
3-MCPD- d_5 誘導体化物 150

ウ) 分析法の出典

食品衛生学雑誌 Vol. 36, No. 3, 360-364 (1995)

② 1,3-DCP

ア) 試験溶液の調製

分析試料 4 g に水 20 ml 及び塩化ナトリウム 8 g を添加した後、酢酸エチル 4 ml を加え約 1 分間振り混ぜて抽出し、酢酸エチル層を試験溶液とした。

イ) 定量操作

試験溶液 1 μ l をガスクロマトグラフ-質量分析計 (GC/MS) に注入し、検量線から試料中の濃度を算出した。

機種 : 6890N/5973 inert [Agilent Technologies Inc.]

カラム : DB-WAX [Agilent Technologies Inc.]

ϕ 0.25 mm \times 30 m, 膜厚 0.25 μ m

注入方法 : スプリットレス

温度 : 試料注入口 220 $^{\circ}$ C

カラム 70 $^{\circ}$ C (1 min 保持) \rightarrow 10 $^{\circ}$ C/min 昇温 \rightarrow 220 $^{\circ}$ C

ガス流量 : ヘリウム (キャリアーガス) 1 ml/min

イオン源温度 : 230 $^{\circ}$ C

イオン化電圧 : 70 eV

イオン化法 : EI

設定質量数 (m/z) : m/z 79 (定量イオン), m/z 81 (確認イオン)

③ 分析法の妥当性確認

3-MCPD 及び 1,3-DCP の分析法は、アミノ酸液及びしょうゆにおいて、添加回収率及び分析の不確かさが妥当かどうかを確認した上で採用した。

(5) 定量限界及び検出限界

定量限界^{*2} 及び検出限界^{*3} は、予想される定量限界相当濃度を含有している試料を、それぞれ7回繰り返し分析したときの測定値の標準偏差から算出した。各食品ごとの定量限界及び検出限界は表 1 のとおり。

計算式 検出限界 = $2 \times t(n-1, 0.05) \times$ 標準偏差

定量限界 = $10 \times$ 標準偏差

$t(n-1, 0.05)$: 自由度 n-1 のときの危険率 5% (片側) の t-分布表の値 ($t=1.945$)

*2 定量限界 : 適切な正確さをもって定量できる測定対象成分の最低量または最低濃度。

*3 検出限界 : 試料に含まれる測定対象成分の検出可能な最低量または最低濃度。

表 1. 定量限界及び検出限界

分析種	食品の種類	定量限界 (mg/kg)	検出限界 (mg/kg)
3-MCPD	アミノ酸液	0.004	0.002
	しょうゆ	0.004	0.002
1,3-DCP	アミノ酸液	0.004	0.002
	しょうゆ	0.004	0.002

(6) 添加回収率

標準添加回収試験は、異なる 2 種類の添加濃度で 3-MCPD については各 3 回、1,3-DCP については各 7 回実施し、その回収率の平均値を求めた。平均添加回収率 (表 2) は 84 ~ 111 % と許容できる値であることを確認した。

表 2. 添加回収率

分析種	食品の種類	添加濃度 (mg/kg)	平均回収率 (%)
3-MCPD	アミノ酸液	0.020	95
		1.97	101
	しょうゆ	0.020	111
		0.98	104
1,3-DCP	アミノ酸液	0.005	110
		0.051	84
	しょうゆ	0.005	103
		0.051	86

(7) 分析結果の解析

得られた分析値を基に、GEMS/Food^{*4} が示している方法に従い、自製アミノ酸液及び自製アミノ酸液使用しょうゆのそれぞれの 3-MCPD 濃度及び 1,3-DCP 濃度の平均値を算出した。また、自製アミノ酸液の 3-MCPD 濃度と 1,3-DCP 濃度の関係について解析した。

さらに、日本醤油協会及び全国醤油工業協同組合連合会の協力の下、試料を提供した製造事業者を対象に、自製アミノ酸液の製造方法についてアンケート調査を実施し、製造方法とクロロプロパノールの含有濃度の関係等についても解析した。

(8) 3-MCPD 摂取量の推定方法

しょうゆに由来する 3-MCPD の 1 日あたりの平均的な摂取量 (体重 1 kg 当たり)

*4 GEMS/Food (Global Environment Monitoring System - Food Contamination Monitoring and Assessment Programme) : 食品中の汚染物質濃度や傾向、そのヒトの暴露への寄与、ヒトの健康や貿易における重要性等について、各国政府やコーデックス委員会、一般市民等への情報提供を行ってきた国際的プログラム。WHO によって運営されている。

平均値は、GEMS/Food の "Instructions for Electronic Submission of Data on Chemical Contaminants in Food and the Diet" の付録 4 "Evaluation of Low Level Contamination of Foods" に示されている方法に従い算出した。

を、本醸造方式によるしょうゆ中の濃度とアミノ酸液が使用されたしょうゆ中の濃度の加重平均値に、日本人のしょうゆの1日の平均摂取量を乗じ、平均体重で除することで推計した。

$$\begin{aligned} \text{しょうゆの平均濃度(mg/kg)} &= \text{本醸造方式によるしょうゆの濃度(median)} \times \text{本醸造方式によるしょうゆ生産量シェア} \\ &+ \text{アミノ酸液使用しょうゆの濃度(median)} \times \text{アミノ酸液使用しょうゆの生産量シェア} \\ \text{平均的な日本人の3-MCPDの摂取量(}\mu\text{g/kg体重/日)} &= \frac{\text{しょうゆの平均濃度(mg/kg)} \times \text{しょうゆ平均摂取量(g/日)}}{\text{日本人の平均体重(kg体重)}} \end{aligned}$$

- ・本醸造方式によるしょうゆの3-MCPD濃度の中央値：<0.004 mg/kg
- ・アミノ酸液が使用されたしょうゆの3-MCPD濃度の中央値：0.016 mg/kg
(以上は平成16年度調味料中のクロロプロパノール類含有実態調査結果に基づく)
- ・日本人のしょうゆ平均摂取量：17 g/日
- ・日本人の平均体重：54 kg
(以上は平成15年～平成17年の国民健康・栄養調査報告(厚生労働省)から算出)
- ・しょうゆの製造方式ごとの生産量シェア
本醸造方式：82%、混合醸造及び混合方式：18%
(平成17年度米麦加工食品等の現況(農林水産省総合食料局))

4. 調査及び解析の結果

(1) 自製アミノ酸液使用しょうゆのクロロプロパノール類含有濃度

自製アミノ酸液使用しょうゆ中の3-MCPD及び1,3-DCPの含有濃度の分析結果を表3に、3-MCPD濃度の度数分布を図1に示した。54点の試料のうち約6割は3-MCPD濃度が1.0 mg/kg以下であるが、一方で、検体数としては少ないものの3-MCPD濃度が高いものが見られた。

表3. 自製アミノ酸液使用しょうゆのクロロプロパノール類の含有濃度の概要

分析種	調査点数	定量限界未満の点数(割合)	最大値(mg/kg)	最小値(mg/kg)	平均値 ⁽¹⁾ (mg/kg)	平均値 ⁽²⁾ (mg/kg)	平均値 ⁽³⁾ (mg/kg)	中央値(mg/kg)
3-MCPD	54	0 (0%)	20	0.010	-	-	2.2	0.83
1,3-DCP	54	48 (89%)	0.023	<0.004	0.001	0.003	-	<0.004

※ 1,3-DCPは、定量限界未満の点数が80%を超えていたことから、平均値⁽¹⁾及び平均値⁽²⁾の2種類の平均値を算出

※ 3-MCPDは、定量限界未満の点数が0であったことから平均値⁽³⁾を算出

平均値⁽¹⁾：定量限界未満及び検出限界未満の濃度を「0」として算出

平均値⁽²⁾：検出限界未満の濃度を検出限界値、検出限界以上かつ定量限界未満の濃度を定量限界値として算出

平均値⁽³⁾：実測値から算出

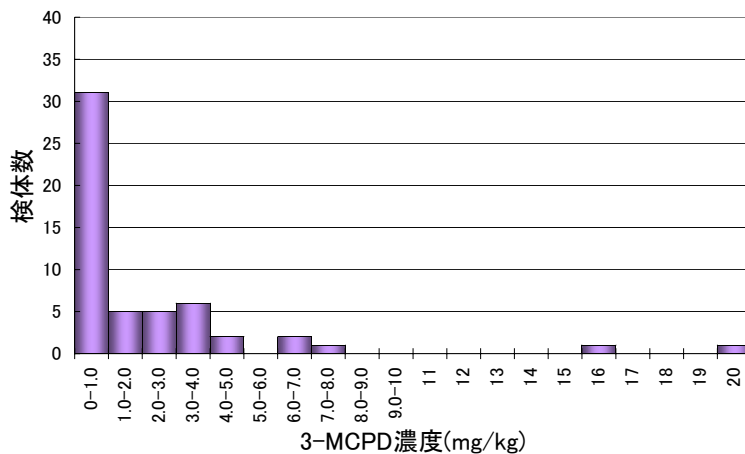


図 1. 自製アミノ酸液使用しようゆの3-MCPD濃度度数分布図 (n=54)

(2) 自製アミノ酸液のクロロプロパノール類含有濃度

自製アミノ酸液の 3-MCPD 及び 1,3-DCP の含有濃度の分析結果を表 4 に、3-MCPD 濃度の度数分布を図 2 に示した。

自製アミノ酸液の 3-MCPD 濃度は、81 点の試料の約 4 割は 1.0 mg/kg 以下にあるものの、0.009 mg/kg から 57 mg/kg までばらつきの大きい濃度分布を示した。

図 1 及び図 2 の度数分布図から見て、それぞれの母集団は単一ではなく、複数の母集団から構成されている可能性が考えられた。

表 4. 自製アミノ酸液のクロロプロパノール類の含有濃度の概要

分析種	調査 点数	定量限界未満 の点数(割合)	最大値 (mg/kg)	最小値 (mg/kg)	平均値 ⁽¹⁾ (mg/kg)	平均値 ⁽²⁾ (mg/kg)	平均値 ⁽³⁾ (mg/kg)	中央値 (mg/kg)
3-MCPD	81	0 (0%)	57	0.009	-	-	6.6	2.2
1,3-DCP	81	66 (81%)	1.0	<0.004	0.018	0.020	-	<0.004

※ 1,3-DCP は、定量限界未満の点数が 80 %を超えていたことから、平均値⁽¹⁾及び平均値⁽²⁾の 2 種類の平均値を算出

※ 3-MCPD は、定量限界未満の点数が 0 であったことから平均値⁽³⁾を算出

平均値⁽¹⁾：定量限界未満及び検出限界未満の濃度を「0」として算出

平均値⁽²⁾：検出限界未満の濃度を検出限界値、検出限界以上かつ定量限界未満の濃度を定量限界値として算出

平均値⁽³⁾：実測値から算出

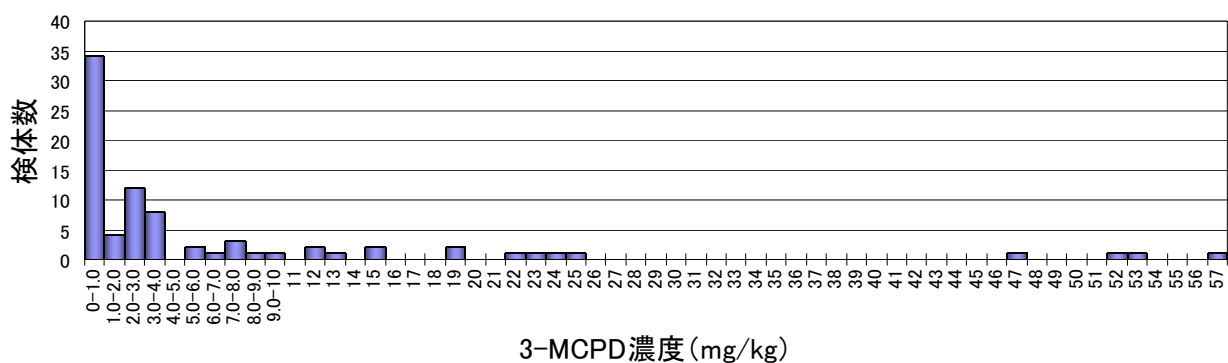


図 2 自製アミノ酸液の3-MCPD濃度度数分布図 (n=81)

(3) 自製アミノ酸液の製造方法とクロロプロパノール類の含有濃度の関係

アミノ酸液中のクロロプロパノール類の濃度の高低差の要因を確認するため、平成18年度は自製アミノ酸液の製造方法についてアンケート調査を併せて行った。

それぞれの試料の3-MCPD濃度と製造方法の関係について解析した結果、81点の自製アミノ酸液試料のうち、製造工程において「アルカリ処理」(※参考参照)が施された31点の試料の3-MCPD濃度は、平均値は0.099 mg/kg、最大値でも0.30 mg/kgと自製アミノ酸液の中では低濃度で、「アルカリ処理」が施されていない自製アミノ酸液50点の平均値(11 mg/kg)と比較して有意に低い(Wilcoxon-Mann-Whitney検定 $\alpha = 0.001$)ことが確認された。(表5)

このことから、自製アミノ酸液の3-MCPD濃度は、製造工程における「アルカリ処理」の有無が大きく影響しており、「アルカリ処理」は自製アミノ酸液の製造においてクロロプロパノール類の低減に有効であることが確認された。

したがって、自製アミノ酸液使用しようゆの3-MCPDを低減するためには、「アルカリ処理」が施されたアミノ酸液を使用することが有効であると考えられる。

表5. 自製アミノ酸液の製造方法ごとの3-MCPDの含有濃度

アミノ酸液の製造方法による分類	調査点数	定量限界未満の点数(割合)	最大値(mg/kg)	最小値(mg/kg)	中央値(mg/kg)	平均値(mg/kg)
アルカリ処理あり	31	0(0%)	0.30	0.009	0.053	0.099
アルカリ処理なし	50	0(0%)	57	0.13	3.3	11

※いずれの処理も、定量限界未満の点数が0であったことから、実測値から平均値を算出

(4) 3-MCPD濃度と1,3-DCP濃度の相関

自製アミノ酸液81点について、3-MCPD濃度と1,3-DCP濃度の散布図及び回帰直線を図3に示した。ただし、1,3-DCP含有濃度が検出限界未満の濃度を0 mg/kg、検出限界以上定量限界未満の試料の濃度を測定値とした。

この結果、自製アミノ酸液に含まれている3-MCPD濃度と1,3-DCP濃度の間に、強い正の相関($r^2=0.924$)が認められた。このような相関は、平成17年度の調査でも確認されている。

このことは、3-MCPDが低減されれば1,3-DCPも同時に低減されることを示しており、3-MCPDで低減効果が確認された「アルカリ処理」は、1,3-DCPの低減にも有効であると考えられる。

なお、自製アミノ酸液81点のうち、3-MCPD濃度が3.0 mg/kg以下であった50点からは1,3-DCPが検出されていない。したがって、3-MCPDを約3 mg/kg以下まで低減すれば、1,3-DCPの生成濃度をほぼ検出限界未満に抑制できると推定される。

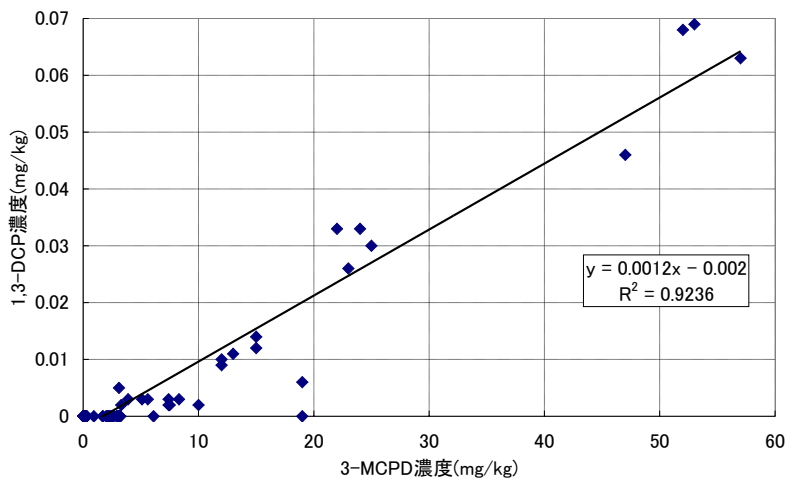


図3 3-MCPD濃度と1,3-DCP濃度の散布図及び回帰直線

(5) しょうゆからのクロロプロパノール類の摂取量の推定

本醸造方式によるしょうゆとアミノ酸液が使用されたしょうゆの生産量シェアを勘案し、日本人におけるしょうゆに由来する3-MCPDの平均的な摂取量を推定すると、0.002 µg/kg 体重/日となった。

また、アミノ酸液が使用されたしょうゆは、本醸造方式のしょうゆに比べて独特の風味を持ち、地域によってはこのしょうゆが本醸造方式のものよりも好まれて使用されている。そのため、1日に摂取するしょうゆの全量がアミノ酸液が使用されたしょうゆと仮定し、アミノ酸液が使用されたしょうゆを専ら摂取する日本人における、しょうゆに由来する3-MCPDの平均的な摂取量を推定すると、0.005 µg/kg 体重/日となった。

いずれの場合も、日本人におけるしょうゆに由来する3-MCPDの平均的な摂取量の推定値は、FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議 (JECFA) が設定した暫定耐容一日摂取量 (PMTDI) である2 µg/kg 体重/日の0.1～0.3%であった。

ただし、自製アミノ酸液使用しょうゆの中には、3-MCPDが高濃度のものもある。仮にそのようなしょうゆだけを摂取する場合を想定すると、しょうゆに由来する3-MCPDの摂取量が2 µg/kg 体重/日を超えることがありうる。そのため、そのようなしょうゆだけを一生にわたって毎日摂り続けた場合には、健康に悪影響が発生する可能性がある。

(6) まとめ

我が国で流通するしょうゆに含まれるクロロプロパノール類は、多くの試料で低濃度である。通常の食生活におけるしょうゆに由来する3-MCPDの平均的な摂取量の推定値はPMTDI(2 µg/kg 体重/日)の0.1～0.3%と非常に小さいことから、しょうゆの摂取に由来する健康リスクは低いと推定される。ただし、仮に、クロロプロパノールを高濃度に含むしょうゆだけを生涯にわたって摂り続けた場合は、健康への悪影響の発生が懸念されることから、自製アミノ酸液使用しょうゆに関しては、クロロプロ

パノール類のさらなる低減が必要である。

本調査からは、自製アミノ酸液の製造工程において、「アルカリ処理」を行った場合には「アルカリ処理」を行わない場合に比べて、クロロプロパノールの濃度は有意に低く、そのような技術によりクロロプロパノールの含有濃度を約 100 分の 1 に低減できることが確認された。このような低減技術は、我が国のアミノ酸液の製造において一般的に用いられており、「アルカリ処理」済みのアミノ酸液の使用又はアミノ酸液の自家製造工程における「アルカリ処理」技術の導入により、自製アミノ酸液使用ししょうゆ中のクロロプロパノールの大幅な低減が可能と推測される。

そこで、クロロプロパノール類による健康への悪影響が発生する可能性をできる限り低くするため、関係事業者に対し、「アルカリ処理」済みのアミノ酸液の購入・使用又はアミノ酸液の自家製造工程への「アルカリ処理」技術の導入に向けた自主的な取組を促す必要がある。

《参考：アミノ酸液の製造方法について》

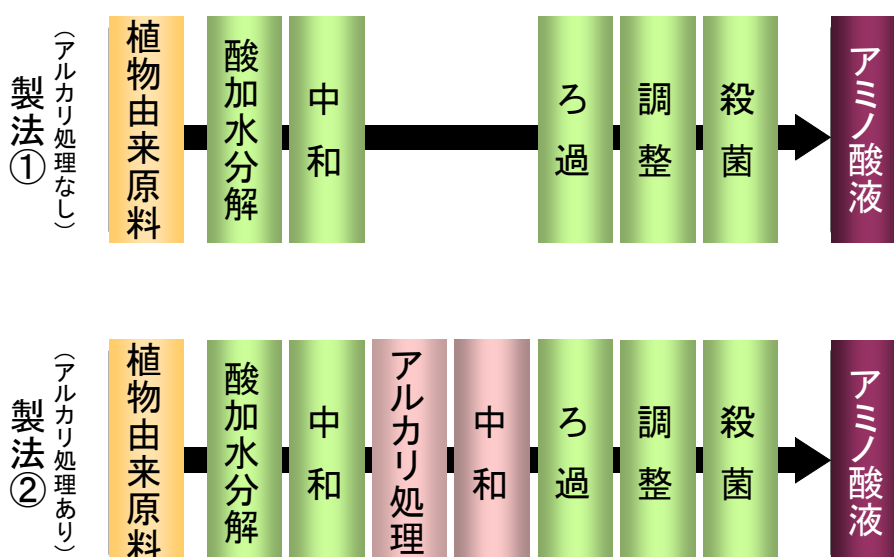
我が国におけるアミノ酸液の製造方法は、大きく次の 2 種類に分類される。

製法①（アルカリ処理なし）

脱脂加工大豆やコーングルテンなどの植物性たん白を含む植物由来原料を塩酸で加水分解した後に、水酸化ナトリウムなどで中和する製造方法

製法②（アルカリ処理あり）

植物由来原料を塩酸加水分解した後に水酸化ナトリウムなどで中和した後、さらに水酸化ナトリウム等を過剰に加えて、アルカリ性の条件下で加熱しクロロプロパノール類を加水分解し、その後再び塩酸などで中和する製造方法



※植物由来原料: 脱脂加工大豆、コーングルテン、小麦グルテンなど

アミノ酸液の製造工程の概略