

令和3年度アミノ酸液を原材料に含むしょうゆ中のクロロプロパノール類含有実態 調査の結果

令和5年3月24日

令和6年5月29日修正

農林水産省 消費・安全局 食品安全政策課

1 調査の背景と経緯

3-モノクロロプロパン-1,2-ジオール（3-MCPD）をはじめとするクロロプロパノール類は、アミノ酸液（大豆等の植物性たんぱく質を酸により処理したもの）を製造する工程で意図せず生成される。アミノ酸液は、混合醸造方式しょうゆ又は混合方式しょうゆ、めんつゆ、たれ、ソース類、漬物の調味液等に使用されている。

中国・東南アジアから欧州へ輸出された調味料からしばしばクロロプロパノール類が検出されたことを受け、農林水産省は、クロロプロパノール類について主要な摂取源と考えられるしょうゆ及びアミノ酸液の安全性を向上させる措置の必要性、その方法等を検討するため、平成16年度から平成18年度までにかけてクロロプロパノール類の含有実態を調査した。

調査の結果、混合醸造方式しょうゆ又は混合方式しょうゆのうち、製造事業者が自ら製造したアミノ酸液（以下「自製アミノ酸液」という。）及びこれを使用したしょうゆの一部にクロロプロパノール類を高濃度で含むものがあることがわかった。このため、農林水産省は、関係業界へクロロプロパノール類の低減対策の導入を要請するとともに、クロロプロパノール類の低減対策の有効性の検証のため、平成21年度、平成23年度及び平成28年度に、平成18年度当時に自製アミノ酸液を用いていた製造事業者が製造するしょうゆ及び原材料として用いられるアミノ酸液中の3-MCPD含有実態と低減対策の実施状況等を調査した（参考）。

2 調査の目的

平成18年度当時に自製アミノ酸液を用いていた製造事業者が製造する混合醸造方式しょうゆ又は混合方式しょうゆ及び製造事業者が使用するアミノ酸液について、前回の平成28年度の調査から5年が経過した令和3年度に、製造事業者の自主的な低減対策の効果及び取組状況を検証することを目的として調査を行った。

3 調査方法

（1）試料の入手

調査対象の事業者：平成28年度に調査対象とした混合醸造方式しょうゆ又は混合方式しょうゆ製造事業者

試料の入手方法：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

試料入手時期：令和3年9月から12月まで

試料点数：33事業者から提供された混合醸造方式しょうゆ又は混合方式しょうゆ55点及びアミノ酸液46点

あわせて、クロロプロパノール類の低減対策の実施状況等について、日本醤油協会の協力を得て調査対象の事業者にアンケート調査を実施。

(2) 分析項目

3-モノクロロプロパン-1,2-ジオール (3-MCPD)

3-MCPDの分析法及び分析法の性能検証結果は、別添のとおり。

4 調査結果及び解析結果

(1) 混合醸造方式しょうゆ又は混合方式しょうゆ中の3-MCPD濃度

今回調査した混合醸造方式しょうゆ又は混合方式しょうゆ中の3-MCPD濃度の調査結果の統計値を表1に、ヒストグラムを図1に、過去の調査結果(既報^{1,2,3,4})とともにそれぞれ示した。

表1 混合醸造方式しょうゆ又は混合方式しょうゆ中の3-MCPD濃度の概要

調査年度	調査点数	最小値(mg/kg)	最大値(mg/kg)	平均値(mg/kg)	中央値(mg/kg)	0.2 mg/kg以下の試料の割合(%)	0.4 mg/kg以下の試料の割合(%)
R3	55	0.008	1.6	0.16	0.024	80	91
H28	55	0.007	1.2	0.22	0.035	71	82
H23	55	0.008	3.4	0.45	0.087	62	65
H21	55	0.009	4.6	0.49	0.069	60	64
H18	54	0.010	20	2.2	0.83	35	35

定量下限⁵ H28年度：0.003 mg/kg、H18～R3年度：0.004 mg/kg

定量下限未満の濃度である試料はなかった。

令和3年度の調査対象しょうゆ中の3-MCPD濃度は、平成28年度と統計的に有意差はなく概ね同水準であり(Mann-WhitneyのU検定、有意水準5%)、平成18年度と比較し平均値は10分の1以下、中央値は30分の1以下であった。

¹ 調味料中の3-MCPD含有実態調査の結果について(平成18年度) (http://www.maff.go.jp/j/syuan/seisaku/c_propanol/pdf/h18_report.pdf)

² 調味料中の3-MCPD含有実態調査の結果について(平成21年度) (http://www.maff.go.jp/j/syuan/seisaku/c_propanol/pdf/h21_report.pdf)

³ 調味料中の3-MCPD含有実態調査の結果について(平成23年度) (http://www.maff.go.jp/j/syuan/seisaku/c_propanol/pdf/h23.pdf)

⁴ 調味料中の3-MCPD含有実態調査の結果について(平成28年度) (http://www.maff.go.jp/j/syuan/seisaku/c_propanol/pdf/h28_report.pdf)

⁵ 適切な精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。

しょうゆ中の 3-MCPD 濃度の中央値は、平成 18 年度から平成 21 年度までで 10 分の 1 以下に低減した後、平成 21 年度と平成 23 年度でほぼ同水準であったが、平成 23 年度から平成 28 年度まででさらに 2 分の 1 程度に低減し、令和 3 年度は同水準に維持されていた。

また、3-MCPD 濃度が 0.2 mg/kg 以下の試料の割合が、平成 18 年度は 35% であったが、平成 21 年度は 60% に、令和 3 年度は 80% まで増加し、過去の調査と比較し 3-MCPD 濃度の低い製品の割合が増えたことがわかった。また、Codex 基準値 (0.4 mg/kg) 以下の試料の割合も平成 28 年度と比較して増加し、令和 3 年度は 91% であった。

本結果は、混合醸造方式しょうゆ又は混合方式しょうゆ中の 3-MCPD 濃度を低減させるため、製造事業者が低減対策に継続的に取り組んだことを示すものと考えられる。

なお、製造事業者の統廃合等により、令和 3 年度に調査した製造事業者と過去に調査した製造事業者は全く同じではない。

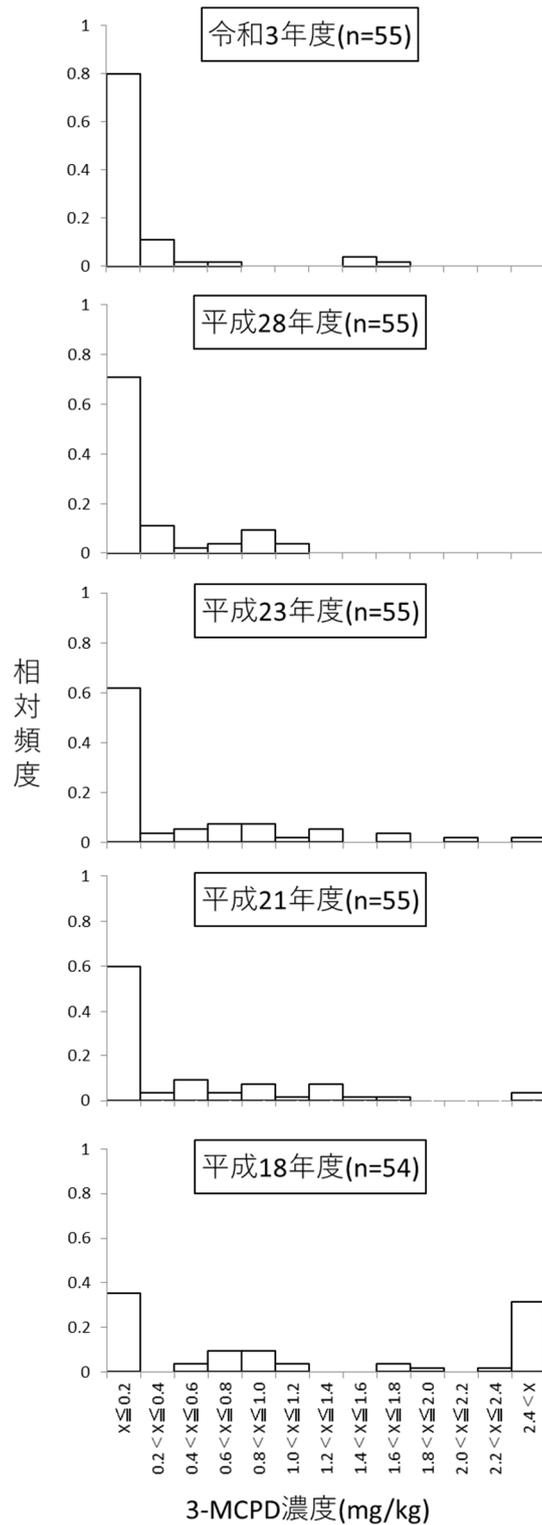


図1 平成18年度の調査時点で自製アミノ酸液を使用していた製造事業者の混合醸造方式しょうゆ又は混合方式しょうゆ中の3-MCPD濃度のヒストグラム(平成18、21、23、28年度、令和3年度)

(2) アミノ酸液中の 3-MCPD 濃度

今回調査した製造事業者が使用していたアミノ酸液（自製アミノ酸液（表 2 において「自製」という。）、またはアルカリ処理（主要な低減対策の 1 つ）がされて大規模に製造・販売されているアミノ酸液（表 2 において「大規模」という。））中の 3-MCPD 濃度の調査結果の統計値を表 2 に、ヒストグラムを図 2 に過去の調査結果（既報）とともにそれぞれ示した。

表 2 製造事業者が使用していたアミノ酸液中の 3-MCPD 濃度の概要

調査年度	大規模・自製の別	調査点数	最小値 (mg/kg)	最大値 (mg/kg)	平均値 (mg/kg)	中央値 (mg/kg)
R3	大規模+自製	46	0.022	5.5	0.46 0.47	0.065
	（うち大規模）	30	0.022	0.44	0.073	0.061
	（うち自製）	16	0.024	5.5	1.2	0.35
H28	大規模+自製	45	0.014	5.5	0.64	0.072
	（うち大規模）	26	0.020	0.11	0.062	0.062
	（うち自製）	19	0.014	5.5	1.4	0.68
H23	大規模+自製	44	0.009	5.0	0.67	0.070
	（うち大規模）	26	0.009	0.21	0.061	0.054
	（うち自製）	18	0.023	5.0	1.5	0.63
H21	大規模+自製	48	0.017	10	1.3	0.14
	（うち大規模）	18	0.017	0.42	0.085	0.060
	（うち自製）	30	0.033	10	2.0	1.3
H18	自製	81	0.009	57	6.6	2.2

定量下限 H28 年度 : 0.003 mg/kg、H18~R3 年度 : 0.004 mg/kg

定量下限未満の濃度である試料はなかった。

調査対象アミノ酸液中の 3-MCPD 濃度は、平成 23 年度の調査時点で、平成 18 年度と比較して平均値は 10 分の 1 程度、中央値は 30 分の 1 以下と著しく低減し、令和 3 年度は、平成 28 年度と統計的に有意差はなく同水準で維持されていた（Mann-Whitney の U 検定、有意水準 5%）。

また、製造事業者が使用していたアミノ酸液のうち、アルカリ処理がされて大規模に製造・販売されているアミノ酸液中の 3-MCPD 濃度の中央値は、平成 21 年度から大きな変動はなかった。

自製アミノ酸液中の 3-MCPD 濃度の中央値は、平成 18 年度から平成 21 年度までで約 6 割、平成 21 年度から平成 23 年度までで 2 分の 1 程度に低減した後、平成 23 年度と平成 28 年度でほぼ同水準であったが、平成 28 年度から令和 3 年度まででさらに 2 分の 1 程度に低減したことがわかった。

本結果は、製造事業者が自製アミノ酸液からアルカリ処理がされて大規模に製

造・販売されているアミノ酸液への変更が進んだことに加えて、自製アミノ酸液中の3-MCPD濃度の低減にも取り組んだことを示すものと考えられる。

なお、製造事業者の統廃合等により、令和3年度に調査した製造事業者と過去に調査した製造事業者は全く同じではない。

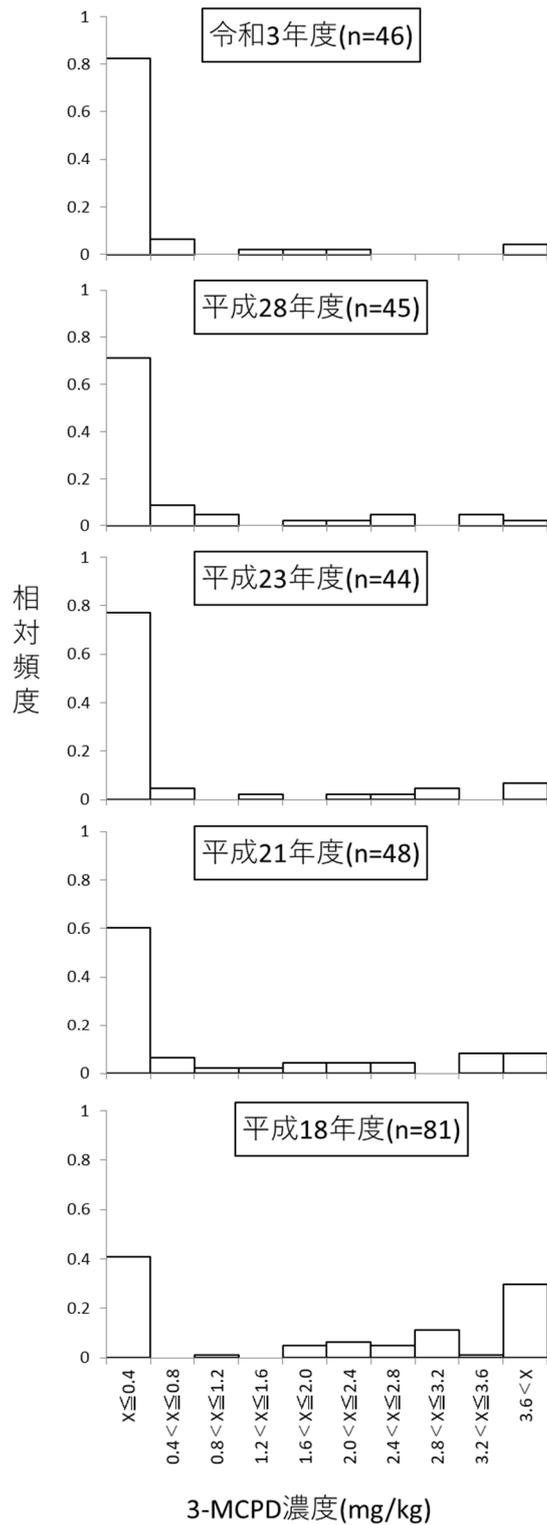


図2 平成18年度の調査時点で自製アミノ酸液を使用していた製造事業者のアミノ酸液中の3-MCPD濃度のヒストグラム（平成18、21、23、28年度、令和3年度）

(3) 製造事業者の低減対策の実施状況と 3-MCPD 濃度の低減効果

製造事業者へのアンケート結果

アンケート調査を行った全ての製造事業者（33 事業者）から回答があった。クロロプロパノール類の低減対策として挙げられた主な内容は表 3 のとおりである（複数回答あり）。

今回の調査では、32 事業者から低減対策に取り組んだとの回答を得た。平成 28 年度当時、自製アミノ酸液とアルカリ処理がされて大規模に製造・販売されているアミノ酸液を混合して使用していた 4 事業者及び自製アミノ酸液の製造工程でアルカリ処理を実施していた 1 事業者が、5 年の間に自製アミノ酸液の製造を中止し、アルカリ処理がされて大規模に製造・販売されているアミノ酸液のみの使用に変更したことを確認した。

アンケート調査時点で、低減対策を実施しておらず、今後さらなる対策を実施予定と回答した 1 事業者については、令和 4 年 9 月時点で、アルカリ処理がされて大規模に製造・販売されているアミノ酸液を今後使用する方針であることを確認した。

表 3 製造事業者へのアンケート調査結果

クロロプロパノール類の低減対策	回答事業者数		
	R3	H28 [※]	H23 [※]
現在実施中			
自製アミノ酸液の製造を中止し、アルカリ処理がされて大規模に製造・販売されているアミノ酸液のみの使用に変更	21	16	9
自製アミノ酸液と、アルカリ処理がされて大規模に製造・販売されているアミノ酸液を混合して使用	4	10	8
自製アミノ酸液の製造工程にアルカリ処理を導入	7	6	7
自製アミノ酸液の製造における酸加水分解工程を見直し（反応時間、反応温度、使用する塩酸の分量の変更等）	3	4	6
今後さらなる対策を実施予定（アルカリ処理がされて大規模に製造・販売されているアミノ酸液を使用）	1	1	-

※ 平成 23 年度は、34 事業者のうち 28 事業者から回答
平成 28 年度は、33 事業者全てから回答

混合醸造方式しょうゆ又は混合方式しょうゆ

今回調査した 55 点の混合醸造方式しょうゆ又は混合方式しょうゆについて、製造事業者の低減対策の実施状況で分類したときの 3-MCPD 濃度の統計値を表 4 に示した。

表4 低減対策の実施状況別の混合醸造方式しょうゆ又は混合方式による
しょうゆ中の3-MCPD濃度の概要（令和3年度）

低減対策の実施状況	調査 点数	最小値 (mg/kg)	最大値 (mg/kg)	平均値 (mg/kg)	中央値 (mg/kg)
自製アミノ酸液の製造を中止し、アルカリ処理がされて大規模に製造・販売されているアミノ酸液のみの使用に変更	35	0.008	0.090	0.021	0.017
自製アミノ酸液を製造	20	0.013	1.6	0.41	0.21
アルカリ処理	12	0.013	1.6	0.39	0.10
酸加水分解工程を見直し	5	0.15	0.39	0.25	0.22
アルカリ処理がされて大規模に製造・販売されているアミノ酸液と混合して使用	7	0.12	1.6	0.70	0.39

定量下限：0.004 mg/kg

定量下限未満の濃度である試料はなかった。

アルカリ処理がされて大規模に製造・販売されているアミノ酸液のみの使用に変更した製造事業者の混合醸造方式しょうゆ又は混合方式しょうゆ（35点）中の3-MCPD濃度は、自製アミノ酸液を使用している製造事業者の混合醸造方式しょうゆ又は混合方式しょうゆ（20点）と比較して、中央値は10分の1以下であった。

自製アミノ酸液の製造工程でアルカリ処理を実施している製造事業者の混合醸造方式しょうゆ又は混合方式しょうゆ（12点）中の3-MCPD濃度は、酸加水分解工程の見直しに取り組んでいる製造事業者の混合醸造方式しょうゆ又は混合方式しょうゆ（5点）、及び自製アミノ酸液と、アルカリ処理がされて大規模に製造・販売されているアミノ酸液を混合して使用している製造事業者の混合醸造方式しょうゆ又は混合方式しょうゆ（7点）と比較し、それぞれ中央値は2分の1、4分の1程度であった。

以上のことから、使用するアミノ酸液を、アルカリ処理がされて大規模に製造・販売されているアミノ酸液のみの使用に変更したり、自製アミノ酸液の製造工程でアルカリ処理を実施したりすると、3-MCPD濃度の低減効果が大きいことが確認された。なお、アルカリ処理を実施していると回答があった自製アミノ酸液を使用したしょうゆのうち1点で、3-MCPDを高濃度で含むものが見られた。

自製アミノ酸液

今回調査した16点の自製アミノ酸液について、製造事業者の低減対策の実施状況で分類したときの3-MCPD濃度の統計値を表5に示した。

表5 低減対策の実施状況別の自製アミノ酸液中の3-MCPD濃度の概要
(令和3年度)

自製アミノ酸液の製造における 低減対策の実施状況	調査 点数	最小値 (mg/kg)	最大値 (mg/kg)	平均値 (mg/kg)	中央値 (mg/kg)
実施	14	0.024	5.5	0.86	0.33
アルカリ処理	10	0.024	5.5	1.0	0.30
酸加水分解工程を見直し	4	0.31	0.66	0.41	0.33
実施せず(アルカリ処理がされて大規模に製造・販売されているアミノ酸液と混合して使用されるものを含む)	2	2.3	4.8	3.6	3.6

定量下限 : 0.004 mg/kg

定量下限未満の濃度である試料はなかった。

自製アミノ酸液の製造において、低減対策を実施していると回答のあった製造事業者の自製アミノ酸液中の3-MCPD濃度(14点)は、低減対策を実施していないと回答のあった製造事業者の自製アミノ酸液(混合醸造方式しょうゆ又は混合方式しょうゆを製造する際に、自製アミノ酸液と、アルカリ処理がされて大規模に製造・販売されているアミノ酸液とを混合して使用されるものを含む)(2点)と比較し中央値は10分の1以下であった。

また、低減対策を実施していると回答のあった製造事業者の自製アミノ酸液のうち、アルカリ処理を実施していると回答のあった製造事業者の自製アミノ酸液(10点)と酸加水分解工程の見直しに取り組んでいると回答のあった製造事業者の自製アミノ酸液(4点)中の3-MCPD濃度の中央値は概ね同水準であった。

以上のことから、低減対策を実施することにより自製アミノ酸液中の3-MCPD濃度を低減できることが確認された。なお、アルカリ処理を実施していると回答のあった製造事業者の自製アミノ酸液1点において、3-MCPD濃度が5.5 mg/kgと高濃度で検出されたことから、アルカリ処理の方法が適切かどうか、本調査後に当該事業者への聞き取りをしたところ、令和7年を目途に自製アミノ酸液の製造を中止し、アルカリ処理がされて大規模に製造・販売されているアミノ酸液に原材料を変更する方針であるとの回答があった。

(4) 混合醸造方式しょうゆ又は混合方式しょうゆからの3-MCPD摂取量の推定

混合醸造方式しょうゆ又は混合方式しょうゆは独特の風味を持ち、地域によっては好んで使用されている。そこで、1日に摂取するしょうゆの全量が混合醸造方式しょうゆ又は混合方式しょうゆであると仮定し、今回の調査で得られた3-MCPD含有濃度データとしょうゆの平均消費量データを用いて、混合醸造方式しょうゆ又は混合方式しょうゆに由来する3-MCPDの平均摂取量を推定した。なお、国内のしょうゆの生産量のうち混合醸造方式しょうゆ及び混合方式しょうゆが占め

る割合は約1割であることから、平均的な日本人と比べると1日に摂取するしょうゆの全量を混合醸造方式しょうゆ又は混合方式しょうゆと仮定することにより過大な推定となっている。推定した3-MCPDの平均摂取量から、JECFAが設定した暫定最大耐容一日摂取量⁶に対する比率を計算し、表6に示した。

① しょうゆの平均消費量から推定した3-MCPD摂取量

以下のデータを用いて、混合醸造方式しょうゆ又は混合方式しょうゆ由来の3-MCPDの平均的な摂取量(μg/kg 体重/日)を推定した(A×B÷C)。

A. 3-MCPD濃度

本調査から得られた混合醸造方式しょうゆ又は混合方式しょうゆ中の3-MCPD濃度の中央値(0.024 mg/kg)又は最大値(1.6 mg/kg)

B. 1日当たりのしょうゆの消費量

令和元年国民健康・栄養調査におけるしょうゆ消費量の平均値(11.7 g)

C. 平均体重

食品安全委員会が食品健康影響評価に用いる日本人の平均体重(55.1 kg)

表6 混合醸造方式しょうゆ又は混合方式しょうゆからの3-MCPDの推定摂取量及び暫定最大耐容一日摂取量に対する比率

	推定摂取量 (μg/kg bw/day)	暫定最大耐容 一日摂取量に 対する比率(%)
中央値(0.024 mg/kg) を使用した場合	0.005	0.13
最大値(1.6 mg/kg) を使用した場合	0.34	8.5

② 摂取量推定に関する留意点

①により推定した混合醸造方式しょうゆ又は混合方式しょうゆ由来の3-MCPD摂取量は、以下のとおり過大又は過少推定となっている可能性があることに留意する必要がある。

- 混合醸造方式しょうゆ及び混合方式しょうゆ中の3-MCPD濃度の中央値(0.024 mg/kg)を推定に使用した。国内で流通しているしょうゆの大部分を占める本醸造方式しょうゆは、平成16年度の調査の結果、3-MCPD濃度が定量下限(0.004 mg/kg)未満であり、全てのしょうゆ中の3-MCPD濃度の中央値(0.004 mg/kg以下)より高い濃度を推定に使用したため、平均的な日本

⁶ JECFAは2016年、動物試験において腎臓への悪影響が認められるとして、3-MCPD及びその脂肪酸エステル単独又は組合せに対して暫定最大耐容一日摂取量を4 μg/kg 体重(3-MCPD換算)とした。

人に対しては3-MCPD摂取量を過大に見積もっている。

- 他の調味料等の原材料として使用されるしょうゆは消費量に含まれていないため、3-MCPD摂取量を過少に見積もっている可能性がある。

③ 健康影響に関する考察

①により、中央値 (0.024 mg/kg) を用いて推定した混合醸造方式しょうゆ又は混合方式しょうゆ由来の3-MCPD摂取量は、JECFAが2016年に設定した暫定最大耐容一日摂取量 (4 µg/kg 体重) の0.13%に相当し、暫定最大耐容一日摂取量よりも十分低いことがわかった。

また、特定の銘柄に愛着がある人を想定し、最大値 (1.6 mg/kg) で3-MCPDを含む製品だけを摂取し続けると仮定した場合、3-MCPD摂取量は、JECFAが設定した暫定最大耐容一日摂取量の8.5%に相当し、混合醸造方式しょうゆ又は混合方式しょうゆ由来の3-MCPDの摂取量は、暫定最大耐容一日摂取量と比べ十分に低いことがわかった。

JECFAが2016年に設定した暫定最大耐容一日摂取量の対象は、3-MCPD及び3-MCPD脂肪酸エステル類 (3-MCPD換算) であることから、食品を通じた3-MCPDの摂取による健康リスクを考察する際には、しょうゆ又はアミノ酸液を含む加工食品並びに油脂及び油脂を含む加工食品を含めた食品全体からの3-MCPD摂取量を考える必要がある。①により推定したしょうゆ由来の3-MCPD推定摂取量は、暫定最大耐容一日摂取量よりも十分に低いため、日本で流通するしょうゆを毎日平均的な量摂取し続けても3-MCPDによる健康への悪影響が生じる可能性は低いと考えられる。

なお、しょうゆは塩分を多く含むため、しょうゆの摂りすぎには注意が必要である。

5 まとめ

農林水産省は令和3年度に、平成28年度に調査対象とした製造事業者を対象に、混合醸造方式しょうゆ又は混合方式しょうゆ及びアミノ酸液中の3-MCPDの含有実態を調査した。その結果、

- ① 混合醸造方式しょうゆ又は混合方式しょうゆ中の3-MCPD濃度について、
 - 平成28年度と概ね同水準であり、平成18年度と比較し平均値は10分の1以下、中央値は30分の1以下に低減した
 - 3-MCPD濃度が0.2 mg/kg以下の試料の割合が80%であり、前回の調査と比較し3-MCPD濃度の低い製品の割合がさらに増えた
 - 使用するアミノ酸液を、アルカリ処理がされて大規模に製造・販売されているアミノ酸液のみに変更した混合醸造方式しょうゆ又は混合方式しょうゆ中の濃度は、自製アミノ酸液を使用しているものと比較し低い

- ② アミノ酸液中の3-MCPD濃度について、
- 平成28年度と概ね同水準であり、平成18年度と比較し平均値は10分の1以下、中央値は30分の1以下に低減した
 - アルカリ処理がされて大規模に製造・販売されているアミノ酸液は、平成21年度から大きな変動はなく低い水準であった
 - 自製アミノ酸液の製造工程でアルカリ処理や酸加水分解工程の見直し等の低減対策を実施していると回答のあった製造事業者のアミノ酸液中の濃度は低い
- ③ 低減対策の実施状況（アンケート結果）について、
- 1事業者を除く全ての製造事業者がクロロプロパノール類の低減に取り組んでいるとの回答があった
 - 平成28年度から、新たに5事業者が自製アミノ酸液の製造を中止し、アルカリ処理がされて大規模に製造・販売されているアミノ酸液のみの使用に変更したとの回答があった
- ④ 混合醸造方式しょうゆ又は混合方式しょうゆに由来する3-MCPDの推計摂取量について、
- 3-MCPD濃度の中央値を用いて、混合醸造方式しょうゆ又は混合方式しょうゆ由来の3-MCPDの摂取量を推定すると、平均的にしょうゆを摂取している日本人では、JECFAが設定した暫定最大耐容一日摂取量と比べて十分低い
 - 特定の銘柄に愛着がある人を想定し、一日に摂取するしょうゆの全量が最大値で3-MCPDを含む混合醸造方式しょうゆ又は混合方式しょうゆであると仮定したとしても、JECFAが設定した暫定最大耐容一日摂取量と比べて十分低い

ことが判明した。すなわち、自製アミノ酸液を使用していた製造事業者が低減対策を実施したことにより、我が国の混合醸造方式しょうゆ又は混合方式しょうゆ中の3-MCPD濃度が大きく低減したこと、継続した取組により前回調査以降も低い水準で維持されていること及び農林水産省が策定した低減措置が有効であることが確認された。

6 今後の対応

農林水産省は、関係業界に対し、低減対策の継続を要請するとともに、さらなるクロロプロパノール類の低減が望まれる一部製造事業者に対しては、より効果の大きい低減対策を可能な範囲で実施するよう指導の徹底を要請する。農林水産省は、今後とも、関係業界による取組状況のフォローアップ、必要な助言等を行い、しょうゆ及びアミノ酸液のより一層の安全性向上に向けた製造事業者の取組を後押しする。

(別添)

1 3-MCPDの分析方法

(1) 試験溶液の調製

分析試料4 gを20 ml試験管に採取し、3-MCPD-d₅を0.8 µg添加した後、液量が20 mlとなるように水を加えて定容した。10 mlを分取し、多孔性ケイソウ土カラム (Extrelut® NT20) に負荷し、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2 mlに定容した。この液1 mlを分取し、2 w/v%フェニルホウ酸の酢酸エチル溶液0.3 mlを加え、ボルテックスミキサーで5秒間混合し誘導体化を行った。誘導体化後の液を減圧濃縮後、乾固させ、シリカベース順相カートリッジカラム (Inert Sep® Slim-J FL-PR) にヘキサン10 mlを用いて負荷し、流下液は捨て、20 v/v%エタノール及び酢酸エチルの混液 (20 : 80) 30 mlを用いて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。

(2) 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 [Agilent Technologies Inc.]
カラム	DB-5 MS [Agilent Technologies Inc.] φ0.25 mm×30 m, 膜厚 0.25 µm
温度	試料注入口 240～300 °C, カラム : 70 °C (1 min 保持)→10 °C/min昇温→280 °C
注入方法	スプリットレス
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 °C
イオン化法	EI
設定質量数 (m/z)	3-MCPD誘導体化物 147, 196, 198 3-MCPD-d ₅ 誘導体化物 150

(3) 分析法の出典

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

2 分析法の性能の検証結果

(1) 定量下限及び検出下限

定量下限⁷及び検出下限⁸は、市販の本醸造しょうゆ試料に、0.004 mg/kg相当の3-MCPDを添加し、7回繰り返し分析をしたときの測定値の標準偏差から次式により算出した。

$$\text{計算式 検出下限} = 2 \times t(n-1, 0.05) \times \text{標準偏差}$$

$$\text{定量下限} = 10 \times \text{標準偏差}$$

$t(n-1, 0.05)$; 自由度 $n-1$ のときの、危険率5%(片側)のt-分布表の値 ($t=1.943$)

この結果、検出下限は0.002 mg/kg、定量下限は0.004 mg/kgに設定した。

(2) 検量線

0.002～5 mg/lの3-MCPD標準溶液を用いて検量線を作成した。検量線は、相関係数が0.999以上を示した。

(3) 添加回収率

市販の本醸造しょうゆ試料に、定量下限及び検量線の間付近の濃度に相当する3-MCPDを添加して分析する操作を、それぞれの濃度で3回ずつ行い、それぞれの濃度における添加回収率及び併行相対標準偏差 (RSD_r) を算出した結果を下表に示す。平均添加回収率が許容できる範囲であることを確認した。

なお、使用した試料は検出下限0.002 mg/kgと同等濃度含有試料であり、定量下限0.004 mg/kg相当添加試料ではその影響が大きいため、各測定値は、添加試料から差し引きにて算出した。一方、検量線の間付近の濃度2.5 mg/kg相当添加試料ではその影響は無視できる程度と判断し、差し引きは実施せず算出した。

添加濃度 (mg/kg)	添加回収率の範囲 (%)	平均添加 回収率(%)	RSD _r %
0.004	94 - 104	100	4.9
2.5	102 - 105	103	1.7

(4) 測定の不確かさ

市販の本醸造しょうゆ試料に、定量下限及び検量線の間付近の濃度に相当する3-MCPDを添加して、それぞれ7回の繰り返し試験を異なる3日間で実施し、一元配置分散分析により室内再現精度 (RSD_i%) を算出した結果を下表に示す。室内再現精度 (RSD_i%) は、許容できる範囲であることを確認した。

添加濃度 (mg/kg)	室内再現精度 (RSD _i %)
0.004	6.3
2.5	3.3

⁷ 適切な精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。

⁸ 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。

(5) 内部精度管理

測定日ごとに、市販の本醸造しょうゆ試料に、定量下限及び検量線の間近の濃度に相当する3-MCPDを添加して、添加回収試験を行い、添加回収率が許容できる範囲であることを確認した。また、各試験日より1ヶ月以内に、定量下限及び検量線の間近の濃度で5回の繰り返し試験を行い、併行相対標準偏差（RSDr）が許容できる範囲であることを確認した。

(6) 外部精度管理

農林水産省が、分析機関がしょうゆ及びアミノ酸液中の3-MCPDの定量分析について、ISO/IEC17025の認定を受けていることを確認した。

(参考)

平成16年度以降に農林水産省が行ったしょうゆ及びアミノ酸液中の クロロプロパノール類に関する調査結果

1 平成16～18年度の調査結果

農林水産省が、しょうゆ及びアミノ酸液について、クロロプロパノール類の含有実態及び製品の製造実態を調査した結果、

- ① 国内のしょうゆ生産量の8割以上を占める本醸造方式しょうゆは、クロロプロパノール類(3-MCPD)を定量限界以上に含まないこと
 - ② 加工食品の原材料用として、大規模に製造・販売されているアミノ酸液は、クロロプロパノール類の低減対策(アルカリ処理※)が既に講じられており、それらを用いた混合醸造方式しょうゆ又は混合方式しょうゆ中のクロロプロパノール類(3-MCPD)の濃度は低いこと
 - ③ 製造事業者が混合醸造方式しょうゆ又は混合方式しょうゆ等の原料として自ら製造したアミノ酸液(以下「自製アミノ酸液」という。)及びこれらを用いた混合醸造方式しょうゆ又は混合方式しょうゆの一部には、クロロプロパノール類(3-MCPD)を高濃度で含むものがあること
 - ④ 自製アミノ酸液であっても、アルカリ処理を実施したものは、実施しないものよりクロロプロパノール類(3-MCPD)の濃度が極めて低いこと
- 等が判明した。

※アルカリ処理

植物たんぱくを塩酸で加水分解し、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方法。コーデックス委員会が策定した「酸加水分解植物性たん白やそれを原料とする製品の製造過程で3-MCPDを低減するための実施規範⁹」にも記載。農林水産省は、アルカリ処理を導入したアミノ酸液の製造法及び3-MCPD低減の有効性に関する情報を提供し、実施規範の策定に貢献。

混合醸造方式しょうゆ又は混合方式しょうゆは独特の風味を持ち、地域によっては好んで使用されている。そこで、たまたま高濃度の3-MCPDを含む特定の銘柄の混

⁹ CAC/RCP 64-2008 Code of Practice for the Reduction of 3-Monochloropropane-1,2-diol (3-MCPD) during the Production of Acid-Hydrolyzed Vegetable Protein (Acid-HVPs) and Products that Contain Acid-HVPs
http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCAC%2BRCP%2B64-2008%252FCXP_064e.pdf

合醸造方式しょうゆ又は混合方式しょうゆしか使わない人が、その製品から摂取する3-MCPDの摂取量を推計した。その場合、3-MCPD摂取量は、FAO/WHO合同食品添加物専門家委員会（JECFA）¹⁰が設定した暫定最大耐容一日摂取量¹¹を超える可能性があった。

そこで農林水産省は、平成20年6月に、アミノ酸液製造工程へのアルカリ処理の導入、アルカリ処理がされたアミノ酸液の購入・使用などクロロプロパノール類の低減対策の導入を関係業界に要請した。

2 平成21、23年度の調査結果

混合醸造方式しょうゆ又は混合方式しょうゆ及びアミノ酸液中のクロロプロパノール類の低減対策の有効性を検証するため、農林水産省は、平成18年度の調査時点で自製アミノ酸液を原料として混合醸造方式しょうゆ又は混合方式しょうゆを製造していた事業者（以下「製造事業者という」。）を対象に、混合醸造方式しょうゆ又は混合方式しょうゆ及びアミノ酸液中の3-MCPDの含有実態を調査した。

その結果、

- ① 製造事業者が低減対策を導入したことにより、混合醸造方式しょうゆ又は混合方式しょうゆ及びアミノ酸液中の3-MCPD濃度の中央値が、平成18年度と比較し10分の1以下に低減したこと
- ② アミノ酸液の中でも、混合醸造方式しょうゆ又は混合方式しょうゆ等の原料用に購入されたアルカリ処理がされたアミノ酸液や、自製アミノ酸液のうちアルカリ処理がされたアミノ酸液中の3-MCPD濃度が、より低いこと。混合醸造方式しょうゆ又は混合方式しょうゆについても、アルカリ処理がされたアミノ酸液を購入・使用した製造事業者や、自製アミノ酸液の製造工程でアルカリ処理を実施した製造事業者の混合醸造方式しょうゆ又は混合方式しょうゆ中の3-MCPD濃度がより低いこと
- ③ 低減対策に取り組んでいない製造事業者や、低減対策の効果が十分現れていない製造事業者の混合醸造方式しょうゆ又は混合方式しょうゆやアミノ酸液では、依然3-MCPD濃度が高いこと
- ④ 平均的にしょうゆを摂取している日本人では、混合醸造方式しょうゆ又は混合方式しょうゆに由来する3-MCPD摂取量は、暫定最大耐容一日摂取量と比べ十分低いこと。3-MCPD濃度が特に高い製品だけを摂取し続けると想定した場合は、日本人の3-MCPD摂取量は暫定最大耐容一日摂取量を下回るものの、やや高い水準であること

¹⁰ FAO（国際連合食糧農業機関）とWHO（世界保健機関）が合同で開催する専門家会合で、FAOとWHOの加盟国及びコーデックス委員会に対する科学的な助言機関として、食品添加物、汚染物質、動物用医薬品などの安全性評価を行っている。

¹¹ FAO/WHO合同食品添加物専門家委員会は、2001及び2006年に、動物試験において腎臓への悪影響が認められるとして、暫定最大耐容一日摂取量を2 g/kg 体重とした。

が判明した。

これらの結果を受けて、農林水産省は、平成24年10月に、低減対策を実施していない製造事業者に対しては低減対策を実施すること、既に低減対策を実施している製造事業者に対しても、3-MCPD濃度が高い場合は、より効果の大きい低減対策を可能な範囲で実施することを関係業界に再度要請した。

3 平成28年度の調査結果

混合醸造方式しょうゆ又は混合方式しょうゆ及びアミノ酸液中のクロロプロパノール類の低減対策の有効性を検証するため、農林水産省は、製造事業者を対象に、混合醸造方式しょうゆ又は混合方式しょうゆ及びアミノ酸液中の3-MCPDの含有実態を調査した。

その結果、

- ① 製造事業者が低減対策に継続的に取り組んだことにより、混合醸造方式しょうゆ又は混合方式しょうゆ中の3-MCPD濃度について、平成18年度と比較し平均値が10分の1、中央値が20分の1以下に、平成21年度及び平成23年度と比較し平均値及び中央値が2分の1程度に低減したこと
- ② アミノ酸液中の3-MCPD濃度について、平成23年度の調査時点と同様に低い水準であったこと
- ③ 全ての製造事業者が低減対策に取り組んでいること。平成23年度と比較し、自製アミノ酸液を、アルカリ処理がされて大規模に製造・販売されているアミノ酸液に変更した事業者数が大幅に増加したこと
- ④ 平均的にしょうゆを摂取している日本人では、混合醸造方式しょうゆ又は混合方式しょうゆに由来する3-MCPD摂取量は、暫定最大耐容一日摂取量と比べ十分低いこと。3-MCPD濃度が特に高い製品だけを摂取し続けると想定した場合でも、日本人の3-MCPD摂取量は暫定最大耐容一日摂取量と比べ十分低いこと

が判明した。

これらの結果を受けて、農林水産省は引き続き、製造事業者を対象に低減措置の普及及び有効性の検証を5年に1度実施することとした。