

20031177

厚生労働科学研究研究費補助金
食品安全確保研究事業
油脂加工食品中に生成する脂質酸化物の安全性に関する研究
平成15年度 総括研究報告書
主任研究者 和田 俊
平成16(2004)年 4月

厚生労働科学研究費補助金（食品安全確保研究事業）

総括研究報告書

油脂加工食品中に生成する脂質酸化物の安全性に関する研究
主任研究者 和田 俊 東京海洋大学（旧東京水産大学）教授

研究要旨

現在、油脂加工食品の油脂酸化に係る安全性を確保する観点から、食品衛生の基準として、即席麺、菓子、惣菜、弁当について過酸化価（PV）及び酸価（AV）が定められているか、設定後、既に20年以上経過しており、食品の一層の安全性確保を図るために、基準値の妥当性についての検証が求められている。特に即席麺におけるPVおよびAVの基準値に関しては、現在、日本の基準値をCodexへ世界基準として提案を行っているか、PVを設定する意義、およびその基準値の根拠が問題となっており、その規格化がペンディング状態となっている。そこで本研究では、これら問題を解決するために、

- 1) 世界15カ国より収集した即席麺のAVおよびPV測定。
 - 2) 即席麺保存時における酸化指標の変化の精査。
 - 3) 劣化即席より抽出した油脂を用いた急性毒性試験を実施した。その結果、
 - ①即席麺中でのAVとPV変化には相関がないことを明確にし、毒性との関連よりPV測定の必要性を再確認した。
 - ②即席麺中の油脂の酸化に光が大きな影響を与えることを確認した。
 - ③加速試験で、PV=40meq/kgあたりから急激な酸化が起ることを確認し、食品衛生法で規定されているPV=30meq/kgという値か、急激な酸化を起こす手前の値としてCodexへ提案できる可能性が出てきた。
 - ④急性毒性と過酸化脂質の間には強い相関は無いものと考えられた。
 - ⑤二次酸化生成物量か下痢などの症状と相関があるとは考えられるものの、その詳細に関しては明らかにするには至らなかった。
- 以上のような結論を得た。

A 研究目的

現在、油脂加工食品の油脂酸化に係る安全性を確保する観点から、食品衛生の基準として、即席麺、菓子、惣菜、弁当について過酸化価（PV）及び酸価（AV）が定められているか、設定後、既に20年以上経過しており、食品の一層の安全性確保を図るために、基準値の妥当性についての検証が求められている。中でも即席麺は日本で誕生した食品で、主に日本および東南アジアを中心に製造され、年間499億食が世界で消費されている。そこで日本は、製品の品質と安全性の保持が重要との認識から、即席麺の世界規格（Codex規格）を策定すべく提案を行った。その結果、昨年のCodexアジア調整部会Step3からStep5への移行が認められたか、日本が提案した含有脂質の規格基準において、AV測定

だけで即席麺の品質管理は十分との意見が多く、PVの不必要論から、現在、PV測定の規格化はペンディング状態となっている。日本は昭和39年～40年に、即席ラーメン中の脂質酸化による集団食中毒を経験している。そしてこれは即席麺中の脂質酸化が原因であることが報告されている。食品中の脂質の酸化状態は、AV測定のみでは把握することは出来ず、このことより、PVを測定することは必須と考えられる。実際、食品衛生法で即席麺の規格値としてPV値30以下、AV値3以下を規定したことにより、即席麺による中毒は日本では皆無となっている。東南アジア諸国のPV不必要論の理由として、AVとPVは、即席麺の劣化過程において同時に増加する指標であるため、AV測定のみで十分とする根拠の無い理由付けが背景にある。実際、即席麺の酸化挙動

についての科学的研究は希薄で、油脂そのものの酸化劣化過程はかなり解明されているものの、即席麺そのものの酸化劣化挙動についてはほとんど理解されていない。また発生する毒性物質の量的変化、さらには酸化状態と毒性との関係に関する基礎的知見は乏しい。

そこで本研究では、油脂加工食品の油脂酸化物に係る安全性を評価に資することを目的に、喫緊の課題となっている我が国から提案した即席麺に係る Codex 規格の、PV 値、AV 値の妥当性について具体的な即席麺の酸化試験から検討するものである。すなわち即席麺を、地域や保存性を考慮して各種劣化（温度、湿度、光など）条件下に保存し、その際の脂質酸化劣化挙動を PV 測定から明らかにするとともに、急性毒性試験も実施し、これらを総合して油脂加工食品中の品質と安全性を担保する指標としての PV 値、AV 値の意義を明らかにする。

B 研究方法

提出した計画案に従い、大きく 3 つの研究を行った。

1 世界中で入手した即席麺中の AV および PV の測定(完了)

東南アジア諸国の、「AVとPVは、即席麺の劣化過程において同時に増加する指標であるため、AV測定のみで十分。」との考えの真意を確認するために、世界から集めた全218種類の袋麺およびカップ麺のAVおよびPVを測定した。これら即席麺は、社団法人日本即席食品工業協会に依頼し、日本を含む世界15カ国より集めた。集めた袋麺およびカップ麺はJAS法に従い、油脂抽出およびAV測定を行った。さらに電位差滴定法（社団法人日本油化学会制定・基準

油脂分析法）によりPV測定を行った。

2 即席麺中の油脂の保存期間中での酸化

市販されている袋麺およびカップ麺を以下の条件で保存し、即席麺油脂中の、AVおよびPV変化を精査した。測定は1カ月おきに行った（継続中）。

保存条件

- ①温度 23℃、湿度 75%（那覇市の平均気温および平均湿度）
- ②温度 30℃、湿度 75%
- ③温度 23℃、湿度 60%
- ④温度 60℃（加速試験）
- ⑤光酸化、温度 23℃、湿度 75%
- ⑥光酸化（展示用コントラて明所、室温保存）

油脂の抽出方法および測定方法は、前述の方法に従った。

保存条件①を軸にし、温度が変化した場合の影響を見る条件を②に設定した。また湿度が変化した場合の影響を見るために③の条件を設定した。④の条件は加速試験のための条件であり、ここで得られた酸化劣化即席麺は、急性毒性試験用試料としても使用した。⑤は食品のショーケース内での展示を仮定した条件であり、⑥は東京都内で室温下にて保存・販売された場合を仮定した条件である。

3 酸化即席麺およびその抽出油の急性毒性試験(継続中)

保存酸化試験で作成した各種劣化即席麺から、JAS法に従い抽出した油脂をラットに投与し、急性毒性試験を行った。試験はすべて、専門的経験を高度に有している株式会社富士ンネンテクノファームに依頼して行った。

試験動物は4週齢のSDラットを用い、各群、雄5匹、雌5匹とした。試料は各劣化麺から抽出した油脂を用いた。投与は、胃ゾンデによる強制経口投与により行った。

観察項目および測定項目は、(1) 一般状態
急性症状ならびに糞便状態（下痢）について、
(2) 体重、に関して行った。昭和 39 年～40
年の即席麺食中毒事件においては、悪寒、嘔
吐、下痢、腹痛などの症状は見られた
ものの、死者は出ていない。よって、劣化即
席麺による食中毒では、下痢や立毛などの状
態観察はきわめて重要と考え、本試験におい
てはこれら状態観察に重きをおいた。剖検は、
各群代表例として雌雄 1 例をとりあげ、最終
観察（14日）終了後、過麻酔による安楽死後、
主要臓器について肉眼観察した。

大きく 3 つの試験を実施した。

- (1) 最大投与可能容量における急性毒性試験
- (2) 無影響量を調べる試験
- (3) 無影響量における急性毒性試験
（倫理面への配慮）

C 研究結果

1 世界中で入手した即席麺中のAV、およびPV の測定(完了)

AVとPVが同時に増加するのであれば、これ
らプロットは右肩上がりの傾向を示すはずで
ある。そこで測定した結果を、x軸にAV、y
軸にPVをプロットし、ピアソンの相関係数

(Pearson's product-moment coefficient of
correlation) にて相関を確認したところ、2
因子間に正の相関は全く認められず（相関係
数 -0.1083 ）、逆に相関係数は負の値とな
った。また、相関係数が絶対値で 0.2 より小さ
くなった。

2 即席麺中の油脂の保存期間中での酸化(PV に対する結果)(継続中)

①、②、③、⑥の条件では、PVは5meq/kg
以下で、賞味期限内（6ヶ月）に食品衛生法で
定められた、PV 30meq/kgの値を超えること

はなかった。特にカノブ麺ではほとんど変化
が起きていなかった。ところか条件⑤では、
袋麺中のPV値が6ヶ月目で50meq/kgに達し
た。またカノブ麺でも10meq/kg近くまで達し
ていた（条件①のカノブ麺の3倍の値）。④の
加速試験においては、PV値が40meq/kgを越
えた地点から急激なPV上昇が始まり、150me
q/kgを超えた時点から減少が始まった。

3 酸化即席麺およびその抽出油の急性毒性試 験(継続中)

試験(1)では、60℃で酸化した即席麺から抽
出した油2g（最大投与可能容量）を投与し、
経過を観察した。劣化油脂は、60℃で0、4、
8、10、12、14、16、18週間劣化させた即席
麺から抽出したものを使用した。その結果、
脂質酸化が進むに従い、立毛や下痢などの状
態が観察されたか、これら現象の変化は過酸
化脂質の上昇とは関係なく、PV減少後もこれ
ら状態が観察される頻度が増加した。ただし
立毛に関しては、酸化0週間の油脂を用いた場
合でも観察され、胃中へ過剰の油脂が強制投
与されたことによる物理的な影響が大きいも
の判断した。そこで試験(2)を行い、物理的な
影響が現れない量（無作用量）を求めた。方
法としては投与量を、1g、500mg、250mg、
100mgと減少させ、立毛や下痢などが起こる
か否かを観察した。結果、250mg投与（体重
換算で60kgの人間が即席麺を2.5袋食べた
ときの摂取油量）で立毛が観察されなくなった。
試験(3)では、試験(2)でも求めた投与量を用い
て同様の試験を実施した。その結果、12週間
以上酸化させた油脂を投与した場合に下痢が
起こることか判明したか、立毛に関しては、
18週間酸化させた油脂を投与したときだけ
検察された。

D 考察

1 世界中で入手した即席麺中のAV、およびPVの測定(完了)

ピアソンの相関係数にて相関を確認したところ、2因子間に正の相関は全く認められず(相関係数 -0.1083)、逆に相関係数は負の値となった。また、相関係数が絶対値で0.2より小さくなった。よってプロットは相関を持たないものと判断された。

これらの結果より、AVを用いてPVを予測することは不可能であること。即席麺中の脂質過酸化の程度を知るためには、AVとは別にPVの測定が必須であり、AVおよびPVの両方を測定する必要があることが判明した。さらに東南アジア諸国の認識は完全な誤りであることも明らかとなった。

2 即席麺中の油脂の保存期間中での酸化(PVに対する結果)(継続中)

⑤の保存試験結果と、①、②、③、⑥の結果との比較より、即席麺中の油脂の酸化劣化には光が大きく関係することか判明した。

また、④の加速試験においては、PV値が40meq/kgを越えた地点から急激なPV上昇が始まり、150meq/kgを超えた時点から減少が始まった。これは、PV=40meq/kg付近で即席麺中の油脂の抗酸化性が急激に低下したことを意味する。一方、150meq/kgを超えた地点で頭打ちとなったのは、脂質過酸化物の分解速度が脂質過酸化物の生成速度より速くなったためと考えられる。これらのことより、(あくまでも加速試験のデータであるか、)食品衛生法で定められているPV=30meq/kg以下にPVを抑えれば、即席麺中の油脂の急激な酸化は抑制することか可能であることかわかった。さらにこの値以下に保つことで、過酸化脂質の分解を抑制し、ひいては毒性の強い二

次酸化生成物の発生を抑制することか可能となるものと考えられる。

昭和39年~40年に起きた即席麺による食中毒事件では、即席麺中の油脂のPVが、高いもので1000meq/kg近くまで達していた。これは60℃の保存試験での結果と大きく異なる。この理由として、

- 1 実際の即席麺では、保存温度の値が高く40℃くらいの酸化であったため、生成した過酸化脂質の分解が抑制されていたこと。
- 2 光による酸化(ene反応)が主であったため、ランカルを生成することなく過酸化脂質を蓄積したこと。

か考えられる。実際に条件①と⑤の比較でも示した通り、光は過酸化脂質生成に非常に大きな影響を与える。当時の即席麺の販売時における保管状態を考えると、当時は個人商店主体の販売であり、太陽光線に直接曝される機会も多かったものと考えられる。さらにインターネットで当時の即席麺の包装を調べた結果、袋麺の中央部が透明になっており、中の麺を意図的に見せる構造となっていたことも判明した。即席麺はこのことによりさらに太陽光線の影響を強く受けたものと考えられる。よって今後は、強い太陽光線下での暴露実験、さらに透明な袋に入れ替えての暴露実験も行い、即席麺中の油脂酸化の経時変化をさらに詳細に把握する予定である。その一方で、現在実施している保存試験を継続し、PVの急激な上昇が起る地点を確認する。さらには、各実験から得られたサンプルの急性毒性試験による評価も実施する予定である。

3 酸化即席麺およびその抽出油の急性毒性試験(継続中)

即席麺の60℃における強制劣化試験におい

て、PVは8週目まで上昇し、その後減少している。これは8週目以降に急激な二次酸化生成物の生成が開始されたことを意味している。

このことより、下痢などの症状は、過酸化脂質の量 (PV) よりも二次酸化生成量と関係があるものと推察された。現在、脂質過酸化により発生する毒物としては、4-ヒドロペルオキシノ-2-ノネナール、4-ヒドロキノン-2-ノネナール、マロンアルデヒドなど知られているか、これらはすべて脂質の二次酸化生成物である。今後、これら生成物と毒性との関係を精査する必要があると考える。

なお今回の急性毒性試験で、試験期間 14 日以内での死亡は認められなかった。

E 結論

AVとPVとの間には相関がないことを明確にし、毒性との関連よりPV測定の必要性を再確認した。

即席麺中の油脂の酸化に光が大きな影響を与えることを確認した。さらに高温 (60°C) における即席麺の酸化ではPV=40meq/kgあたりから急激な酸化が起こることを確認した。その一方で、23°Cや30°Cなどの通常の保存条件下では、賞味期限内でもほとんどPVは上昇せず、5meq/kg以下であった。現在、食品衛生法で規定されているPV=30meq/kgという値が、急激な酸化を起こす手前の値として規定されたのであれば、23°Cや30°Cなどの通常の保存条件下でも同じことが観察されるはずである。PV=30meq/kgという値が持つ意味を精査するために、通常の保存条件下での試験を継続し、今後どのようにPVが変化するかを調べていく必要があると考える。また60°Cでの劣化試験では、中毒事件の即席麺の劣化状態が再現できていないことが判明した。

今後は太陽光を用いた保存条件や包装を検討した条件を検討し、実際のもとの近い状態を再現し、急性毒性試験での評価を行う必要がある。

急性毒性と過酸化脂質との間には強い相関は無いものと考えられた。また、二次酸化生成物量か下痢などの症状と相関があるとは考えられるものの、その詳細に関しては明らかにするには至らなかった。今後さらに、抗酸化物質の残存量、各種アルデヒド量などの測定項目を増やし、急性毒性と即席麺中の油脂から生成する毒性物質との関係を明確にする予定である。

G 研究発表

1 論文発表

・ Naohiro Gotoh, Ai Iwasawa, Jiro Yokota and Shun Wada, "Distribution of Peroxide Value and Acid Value in Instant Noodles Collected in the commercial market of the world", submitting to *J Am Oil Chem Soc*

2 学会発表

Shun Wada, "The quality and safety evaluation using peroxide value on instant noodles for worldwide distribution" *The 4th World Ramen Summit*, 2004 03 10, Shanghai, China

Naohiro Gotoh, Ai Iwasawa and Shun Wada, "Distribution of Peroxide Value and Acid Value in Instant Noodles Obtained in Asian Countries", *JS2004*, 2004 05 10, Cincinnati, OH

H 知的財産権の出願・登録状況
なし

II 分担研究報告

なし

III 研究成果の刊行に関する一覧表

なし

IV 研究成果の刊行物 別刷

なし