

# 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会 添加物部会

日時 平成20年9月24日(水)  
14時00分～16時00分まで  
場所 中央合同庁舎5号館  
専用第21会議室

## 議事次第

### 1 議題

- (1) ジメチルピラジン類（3品目）の添加物指定の可否について
- (2) デンプンリン酸エステルナトリウムの添加物指定削除の可否について
- (3) ナイシンの成分規格の一部改正等について

### 2 その他

## 資料一覧

- 資料 1 - 1 2,3-ジメチルピラジンの新規指定の可否に関する薬事・食品衛生審議会への諮問について
- 資料 1 - 2 2,3-ジメチルピラジンの新規指定の可否に関する薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会添加物部会報告書（案）
- 資料 2 - 3 2,3-ジメチルピラジンを添加物として定めることに係る食品健康影響評価に関する審議結果
- 資料 2 - 1 2,5-ジメチルピラジンの新規指定の可否に関する薬事・食品衛生審議会への諮問について
- 資料 2 - 2 2,5-ジメチルピラジンの新規指定の可否に関する薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会添加物部会報告書（案）
- 資料 2 - 3 2,5-ジメチルピラジンを添加物として定めることに係る食品健康影響評価に関する審議結果
- 資料 3 - 1 2,6-ジメチルピラジンの新規指定の可否に関する薬事・食品衛生審議会への諮問について
- 資料 3 - 2 2,6-ジメチルピラジンの新規指定の可否に関する薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会添加物部会報告書（案）
- 資料 3 - 3 2,6-ジメチルピラジンを添加物として定めることに係る食品健康影響評価に関する審議結果
- 資料 4 - 1 デンプンリン酸エステルナトリウムの指定削除の可否に関する薬事・食品衛生審議会への諮問について
- 資料 4 - 2 デンプンリン酸エステルナトリウムの指定削除の可否に関する薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会添加物部会報告書（案）
- 資料 5 - 1 ナイシンの新規指定の可否に関する薬事・食品衛生審議会への諮問について
- 資料 5 - 2 ナイシンの新規指定の可否に関する薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会添加

物部会報告書（案）

資料5-3 ナイシンを添加物として定めることに係る食品健康影響評価に関する審議結果

資料5-4 ナイシンの新規指定に係わる意見募集の結果

報告資料1-1 平成19年度調査報告書「既存添加物の安全性の見直しに関する調査研究」  
について

報告資料1-2 既存添加物の安全性見直しの状況

報告資料2 食品安全委員会への意見聴取及び食品健康影響評価の結果について

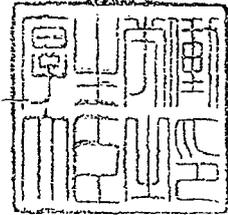


資料1-1

厚生労働省発食安第0909003号  
平成20年9月9日

薬事・食品衛生審議会  
会長 望月 正隆 殿

厚生労働大臣 舩添 要



諮 問 書

食品衛生法（昭和22年法律第233号）第10条及び第11条第1項の規定に基づき、下記の事項について、貴会の意見を求めます。

記

1. 2,3-ジメチルピラジンの添加物としての指定の可否について
2. 2,3-ジメチルピラジンの添加物としての使用基準及び成分規格の設定について



## 2,3-ジメチルピラジンの食品添加物の指定に関する部会報告書（案）

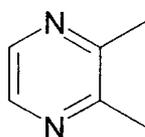
### 1. 品目名：2,3-ジメチルピラジン

2,3-dimethylpyrazine

[CAS 番号：5910-89-4]

### 2. 構造式、分子式及び分子量

構造式：



分子式及び分子量：

$C_6H_8N_2$  108.14

### 3. 用途

香料

### 4. 概要及び諸外国での使用状況

2,3-ジメチルピラジンは、生落花生、緑茶等の食品中に天然に存在するほか、牛肉、豚肉、エビ、ポテト等の加熱調理、及びコーヒー、カカオ等の焙煎により生成する成分である。欧米では、焼き菓子、アイスクリーム、清涼飲料水、肉製品等の様々な加工食品において香りを再現し、風味を向上させるために添加されている。

### 5. 食品安全委員会における評議結果

食品安全基本法（平成15年法律第48号）第24条第1項第1号の規定に基づき、平成20年2月7日付厚生労働省発食安第0207001号により食品安全委員会あて意見を求めた2,3-ジメチルピラジンに係る食品健康影響評価については、平成20年4月15日及び5月26日に開催された添加物専門調査会の議論を踏まえ、以下の評価結果が平成20年7月31日付けで通知されている。

評価結果：2,3-ジメチルピラジンは、食品の着香の目的で使用する場合、安全性に懸念がないと考えられる。

## 6. 摂取量の推計

上記の食品安全委員会の評価結果によると次のとおりである。

本物質の香料としての年間使用量の全量を人口の 10%が消費していると仮定する JECFA の PCTT (PerCapita intake Times Ten) 法による 1995 年の米国及び欧州における一人一日当たりの推定摂取量は、それぞれ 4 µg、16 µg である。正確には認可後の追跡調査による確認が必要と考えられるが、既に認可されている香料物質のわが国と欧米の推定摂取量が同程度との情報があることから、わが国での本物質の推定摂取量は、おおよそ 4 µg から 16 µg の範囲になると推定される。なお、米国では食品中にもともと存在する成分としての本物質の摂取量は、意図的に添加された本物質の約 280 倍であると報告されている。

## 7. 新規指定について

2,3-ジメチルピラジンを食品衛生法第 10 条の規定に基づく添加物として指定することは差し支えない。ただし、同法第 11 条第 1 項の規定に基づき、次のとおり使用基準と成分規格を定めることが適当である。

(使用基準案)

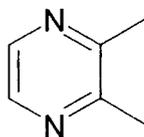
香料として使用される場合に限定して食品健康影響評価が行われたことから、使用基準は「着香の目的以外に使用してはならない。」とすることが適当である。

(成分規格案)

成分規格を別紙 1 のとおり設定することが適当である。(設定根拠は別紙 2、JECFA 規格等との対比表は別紙 3 のとおり。)

2,3-ジメチルピラジン (案)

2,3-Dimethylpyrazine



$C_6H_8N_2$

分子量 108.14

2,3-Dimethylpyrazine [5910-89-4]

含 量 本品は、2,3-ジメチルピラジン、2,5-ジメチルピラジン及び2,6-ジメチルピラジンの混合物 ( $C_6H_8N_2$ ) 95.0 %以上を含む。

性 状 本品は、無～淡黄色の透明な液体で、特有のにおいがある。

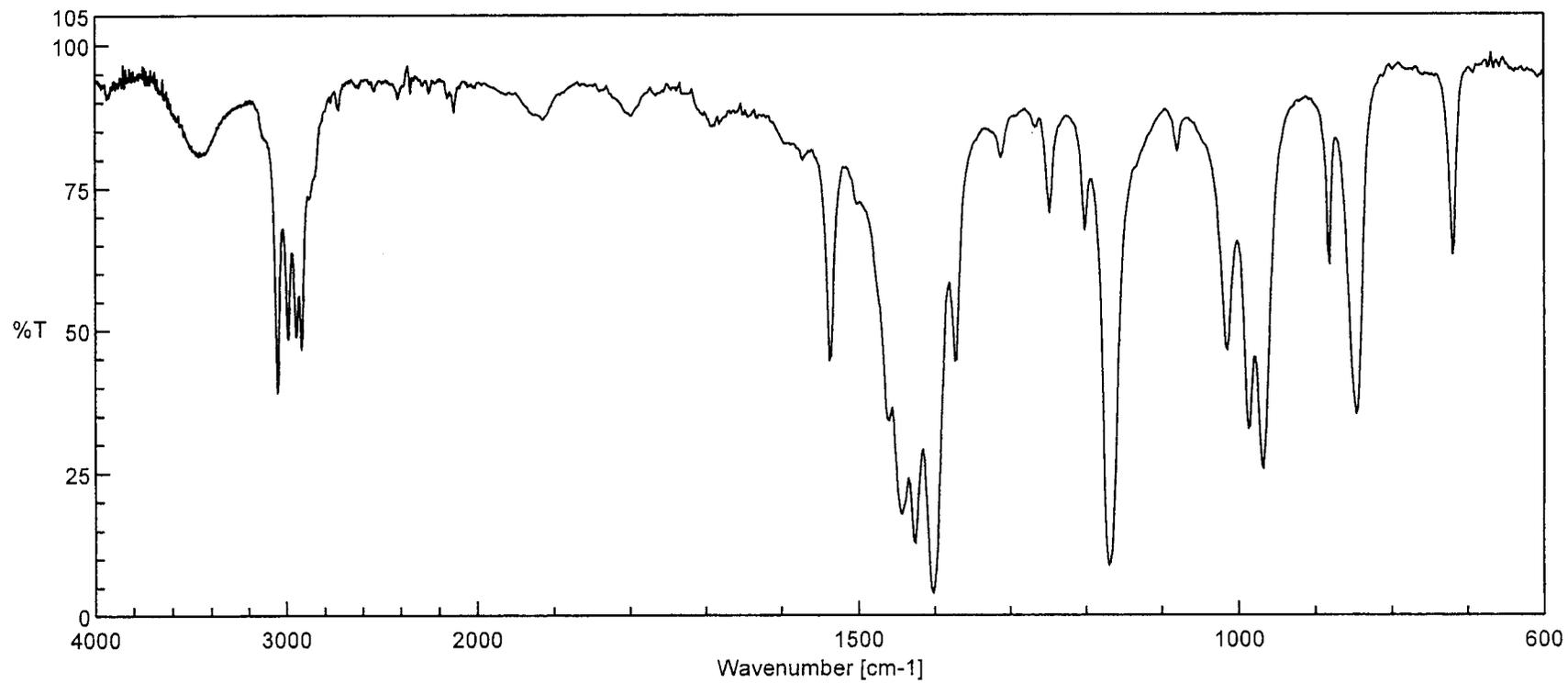
確認試験 本品を赤外吸収スペクトル測定法中の液膜法により測定し、本品のスペクトルを参照スペクトルと比較するとき、同一波数のところに同様の強度の吸収を認める。

純度試験 (1) 屈折率  $n_D^{20} = 1.501 \sim 1.510$

(2) 比重  $d_{25}^{25} = 0.997 \sim 1.030$

定 量 法 香料試験法中の香料のガスクロマトグラフィーの面積百分率法の操作条件(1)により定量する。

2, 3-ジメチルピラジン



## 2,3-ジメチルピラジンに係る成分規格等の設定根拠

### 含量

JECFA は 2,3-、2,5-、2,6-ジメチルピラジンの異性体総量値として「95%以上」、FCC は  $C_6H_8N_2$  の異性体総量値として「95.0%以上」を規格値としている。本規格案では、国際整合性を考慮して FCC 規格及び JECFA 規格と同水準の規格値とするが、他の添加物の規格値との整合性を考慮して小数点下一桁までを有効数字とし、「本品は、2,3-ジメチルピラジン、2,5-ジメチルピラジン及び 2,6-ジメチルピラジンの混合物 ( $C_6H_8N_2$ ) 95.0%以上を含む。」とした。

### 性状

JECFA、FCC ともに「ナッツ、カカオ様のおいしの無色から淡黄色の液体」を規格としている。

本品は特有の香りを持つが、香気は人により必ずしも同一に感ずるとは限らないことから、本規格案では「無～淡黄色の透明な液体で、特有のおいがある。」とした。

### 確認試験

JECFA、FCC、いずれも確認試験に IR 法を採用していることから本規格でも IR 法を採用した。

### 純度試験

- (1) 屈折率 JECFA は「1.501～1.510 (20℃)」、FCC は「1.506～1.509 (20℃)」としている。本規格案では国際整合性を考慮して JECFA が規格値としている「1.501～1.510 (20℃)」を採用した。
- (2) 比重 JECFA は「0.997～1.030 (25/25℃)」、FCC は「1.000～1.022 (25/25℃)」としている。本規格案では国際整合性を考慮して JECFA が規格値としている「0.997～1.030 (25/25℃)」を採用した。

### 定量法

JECFA、FCC ともに GC 法により含量測定を行っている。また、香料業界及び香料を利用する食品加工メーカーにおいても GC 装置が広く普及しており、測定機器を含めた測定環境に実務上問題は無いことから本規格案でも GC 法を採用することとした。

2,3-ジメチルピラジンは、沸点が 150℃以上(156℃)のため、香料試験法の 9. 香料のガスクロマトグラフィーの面積百分率法の操作条件(1)により定量する。

JECFA、FCC では設定されているが、本規格では採用しなかった項目

### 溶解性

JECFA では「水、有機溶剤、油脂に溶ける」、FCC では、「有機溶剤、水に溶ける」

としている。また「エタノールへの溶解性」として JECFA では「室温で混ざる」とし、FCC では「1ml の 95%アルコールに 1ml 溶ける」としている。しかしながら、本規格案では IR による確認試験を規定しており、「溶解性」の必要性は低いため、本規格では採用しないこととした。

#### 沸点及び蒸留範囲

JECFA、FCC、いずれの規格においても沸点は「156℃」とされている。また、FCC には蒸留範囲（152～157℃）の規定があるが、JECFA には規格項目が無い。

一般に、香料化合物は、加熱分解臭をつけないように精密蒸留による一定の範囲の留分を得たものであり、その品質管理は GC 法、IR 法等により十分担保される。したがって、沸点及び蒸留範囲は必ずしも香料化合物の品質規格管理項目として重要ではないと考えられることから、本規格案では「沸点及び蒸留範囲」に係る規格を採用しないこととした。

#### 凝固点

FCC には凝固点（11～13℃）の規定があるが、JECFA には規格項目が無い。本品の品質管理は GC 法、IR 法等により実施されるため、凝固点は必ずしも香料化合物の品質規格管理項目として重要ではないと考えられることから、本規格案では「凝固点」に係る規格を採用しないこととした。

#### トリ、テトラメチルピラジン含量

FCC にはトリ、テトラメチルピラジン含量（5%以下）の規定があるが、JECFA には規格項目が無い。一般に、香料化合物は、精密蒸留による一定の範囲の留分を得たものであり、その品質管理は GC 法、IR 法等により十分担保される。したがって、トリ、テトラメチルピラジン含量は必ずしも香料化合物の品質規格管理項目として重要ではないと考えられることから、本規格案では「トリ、テトラメチルピラジン含量」に係る規格を採用しないこととした。

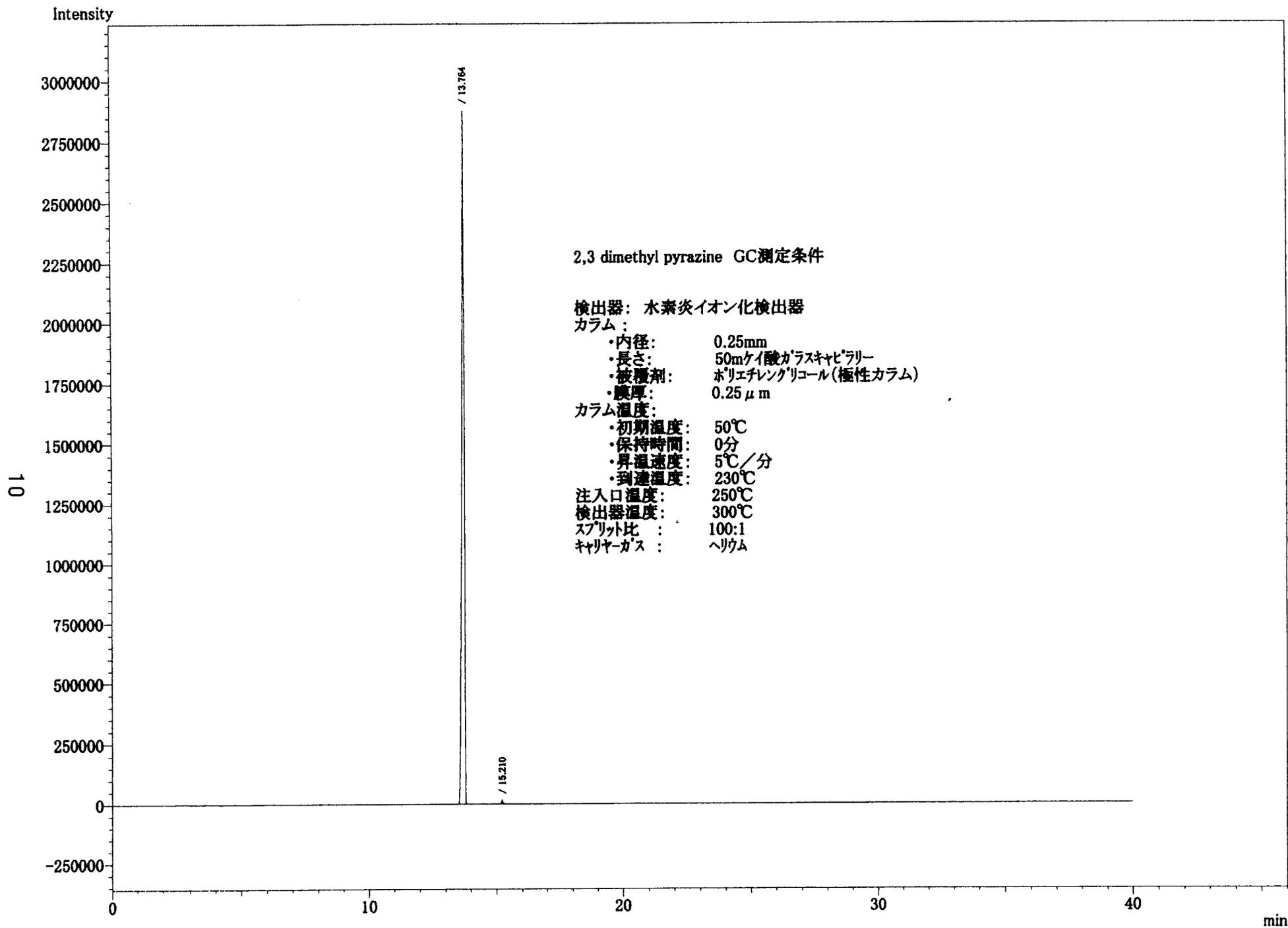
#### 水分

FCC には水分含量（0.5%以下）の規定があるが、JECFA には規格項目が無い。本品は蒸留精製され製造過程で生じる水は十分除去されていること、本品は吸湿性ではないこと、また水分含量は必ずしも香料化合物の品質規格管理項目として重要ではないと考えられることから、本規格案では「水分」に係る規格を設定しないこととした。

香料「2,3-ジメチルピラジン」の規格対比表

	規格案	JECFA	FCC
含量	95%以上 (異性体合計)	95%以上 (2,3- 2,5- and 2,6-isomersの合計として)	95.0%以上 (C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub> として)
性状	本品は、無～淡黄色の透明な液体で、特有のにおいがある。	colourless to light yellow liquid with a nutty, cocoa-like odour	colorless to slightly yellow liquid nutty, cocoa
確認試験	IR法(参照スペクトル法)	IR法(参照スペクトル法)	IR法(参照スペクトル法)
屈折率	1.501～1.510(20°C)	1.501～1.510(20°C)	1.506～1.509(20°C)
比重	0.997～1.030(25°C/25°C)	0.997～1.030(25°C/25°C)	1.000～1.022(25°C/25°C)
溶解性	(設定せず)	soluble in water, organic solvents, oils	miscible in organic solvents, water
エタノール溶解性	(設定せず)	miscible at room temperature	1 mL in 1 mL 95% ethanol
沸点	(設定せず)	156°C	～156°C
蒸留範囲	(設定せず)	-	between 152°C and 157°C (Appendix II B)
凝固点	(設定せず)	-	11°C～13°C
トリ、テトラピラジン	(設定せず)	-	5%以下(GC)
水分	(設定せず)	-	0.5% 以下 (カールフィッシャー)
定量法	GC(1)	GC	GC(極性カラム)

(参考)



(参考)

・ これまでの経緯

平成20年2月8日	厚生労働大臣から食品安全委員会委員長あてに添加物の指定に係る食品健康影響評価について依頼
平成20年2月14日	第226回食品安全委員会（依頼事項説明）
平成20年4月15日	第57回食品安全委員会添加物専門調査会
平成20年5月26日	第58回食品安全委員会添加物専門調査会
平成20年6月5日 ～平成20年7月4日	第241回食品安全委員会（報告） 食品安全委員会における国民からの意見聴取
平成20年7月31日	第249回食品安全委員会（報告） 食品安全委員会より食品健康影響評価結果の通知
平成20年9月24日	薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会添加物部会

●薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会添加物部会（平成20年9月現在）

[委員]

氏名	所属
石田 裕美	女子栄養大学教授
井手 速雄	東邦大学薬学部教授
井部 明広	東京都健康安全研究センター
北田 善三	畿央大学健康科学部教授
佐藤 恭子	国立医薬品食品衛生研究所食品添加物部第一室長
棚元 憲一	国立医薬品食品衛生研究所食品添加物部長
長尾 美奈子※	慶應義塾大学薬学部客員教授
堀江 正一	埼玉県衛生研究所 水・食品担当部長
米谷 民雄	静岡県立大学 食品栄養科学部 客員教授
山内 明子	日本生活協同組合連合会組織推進本部 本部長
山川 隆	東京大学大学院農学生命科学研究科准教授
山添 康	東北大学大学院薬学研究科教授
吉池 信男	青森県立保健大学健康科学部 栄養学科長 公衆栄養学教授
由田 克士	独立行政法人国立健康・栄養研究所 栄養疫学プログラム国民健康・栄養調査プロジェクトリーダー

※部会長

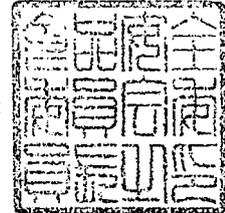




府食第837号  
平成20年7月31日

厚生労働大臣  
舛添 要一 殿

食品安全委員会  
委員長 見上 彪



食品健康影響評価の結果の通知について

平成20年2月7日付け厚生労働省発食安第0207001号をもって貴省から当委員会に意見を求められた2,3-ジメチルピラジンに係る食品健康影響評価の結果は下記のとおりですので、食品安全基本法（平成15年法律第48号）第23条第2項の規定に基づき通知します。

なお、食品健康影響評価の詳細は別添のとおりです。

記

2,3-ジメチルピラジンは、食品の着香の目的で使用する場合、安全性に懸念がないと考えられる。

# 添加物評価書

## 2,3-ジメチルピラジン

2008年7月

食品安全委員会

## 目次

	頁
○審議の経緯 .....	2
○食品安全委員会委員名簿 .....	2
○食品安全委員会添加物専門調査会専門委員名簿 .....	2
○要 約 .....	3
I. 評価対象品目の概要 .....	4
1. 用途 .....	4
2. 化学名 .....	4
3. 分子式 .....	4
4. 分子量 .....	4
5. 構造式 .....	4
6. 評価要請の経緯 .....	4
II. 安全性に係る知見の概要 .....	5
1. 反復投与毒性 .....	5
2. 発がん性 .....	5
3. 遺伝毒性 .....	5
4. その他 .....	5
5. 摂取量の推定 .....	5
6. 安全マージンの算出 .....	6
7. 構造クラスに基づく評価 .....	6
8. JECFA における評価 .....	6
9. 食品健康影響評価 .....	6
<別紙：香料構造クラス分類（2,3-ジメチルピラジン）> .....	7
<参照> .....	8

＜審議の経緯＞

2008年2月8日 厚生労働大臣から添加物の指定に係る食品健康影響評価について要請（厚生労働省発食安第0207001号）、関係書類の接受

2008年2月14日 第226回食品安全委員会（要請事項説明）

2008年4月15日 第57回添加物専門調査会

2008年5月26日 第58回添加物専門調査会

2008年6月5日 第241回食品安全委員会（報告）

2008年6月5日より7月4日 国民からの御意見・情報の募集

2008年7月29日 添加物専門調査会座長より食品安全委員会委員長へ報告

2008年7月31日 第249回食品安全委員会（報告）  
（同日付け厚生労働大臣に通知）

＜食品安全委員会委員名簿＞

見上 彪（委員長）  
小泉 直子（委員長代理）  
長尾 拓  
野村 一正  
畑江 敬子  
廣瀬 雅雄  
本間 清一

＜食品安全委員会添加物専門調査会専門委員名簿＞

福島 昭治（座長）  
山添 康（座長代理）  
石塚 真由美  
井上 和秀  
今井田 克己  
梅村 隆志  
江馬 眞  
久保田 紀久枝  
頭金 正博  
中江 大  
中島 恵美  
林 眞  
三森 国敏  
吉池 信男

＜参考人＞

森田 明美

## 要 約

食品の香料に使用される添加物「2,3-ジメチルピラジン」(CAS 番号 : 5910-89-4) について、各種試験成績等を用いて食品健康影響評価を実施した。

評価に供した試験成績は、反復投与毒性及び遺伝毒性である。

本物質の 90 日間反復投与毒性試験において、大腸（結腸）の粘膜の過形成が認められているが、本物質には生体にとって問題となるような遺伝毒性はないと考えられることから、毒性影響の閾値が設定できると評価される。従って、少なくとも香料として用いられる低用量域では、生体にとって特段問題となる毒性はないと考えられる。また、「国際的に汎用されている香料のわが国における安全性評価法」により、クラスⅡに分類され、安全マージン（10,000～40,000）は 90 日間反復投与毒性試験の適切な安全マージンとされる 1,000 を上回り、かつ想定される推定摂取量（4～16  $\mu\text{g}$  /ヒト/日）が構造クラスⅡの摂取許容値（540  $\mu\text{g}$ /ヒト/日）を下回ることを確認した。

2,3-ジメチルピラジンは、食品の着香の目的で使用する場合、安全性に懸念がないと考えられる。

## I. 評価対象品目の概要

### 1. 用途

香料

### 2. 化学名 (参照 1、2)

和名：2,3-ジメチルピラジン

英名：2,3-Dimethylpyrazine

CAS 番号：5910-89-4

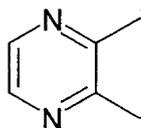
### 3. 分子式 (参照 2)

$C_6H_8N_2$

### 4. 分子量 (参照 2)

108.14

### 5. 構造式 (参照 2)



### 6. 評価要請の経緯

2,3-ジメチルピラジンは、生落花生、緑茶等の食品中に天然に存在するほか牛肉、豚肉、エビ、ポテト等の加熱調理、及びコーヒー、カカオ等の焙煎により生成する成分である (参照 1)。欧米では、焼き菓子、アイスクリーム、清涼飲料、肉製品等の様々な加工食品において香りを再現し、風味を向上させるために添加されている (参照 2)。

厚生労働省は、2002 年 7 月の薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会での了承事項に従い、①FAO/WHO 食品添加物合同専門家会議 (JECFA) で国際的に安全性評価が終了し、一定の範囲内で安全性が確認されており、かつ、②米国及び欧州連合 (EU) 諸国等で使用が広く認められていて国際的に必要性が高いと考えられる食品添加物については、企業等からの指定要請を待つことなく、国が主体的に指定に向けた検討を開始する方針を示している。今般香料の成分として、2,3-ジメチルピラジンについて評価資料がまとまったことから、食品安全基本法に基づき、食品健康影響評価が食品安全委員会に依頼されたものである。

なお、香料については厚生労働省が示していた「食品添加物の指定及び使用基準改正に関する指針」には基づかず、「国際的に汎用されている香料の安全性評価の方法について」に基づき資料の整理が行われている。(参照 3)

## II. 安全性に係る知見の概要

### 1. 反復投与毒性

5 週齢の SD ラット（各群雌雄各 10 匹）への強制経口投与による 90 日間反復投与毒性試験（0、0.32、3.2、32 mg/kg 体重/日）において、雌雄の 32 mg/kg 体重/日投与群の病理組織学的検査で大腸（結腸）の粘膜の過形成がみられたが、これら以外の変化は、いずれの投与群においても認められなかった。この結果より、無毒性量（NOAEL）は、3.2 mg/kg 体重/日と考えられた。（参照 4）

### 2. 発がん性

発がん性試験は行われておらず、国際機関（International Agency for Research on Cancer（IARC）、European Chemicals Bureau（ECB）、U. S. Environmental Protection Agency（EPA）、National Toxicology Program（NTP））でも、発がん性の評価はされていない。

### 3. 遺伝毒性

細菌（*Salmonella typhimurium* TA98、TA100、TA102）を用いた復帰突然変異試験（最高濃度 0.9 mmol/plate（97.3 mg/plate））では、代謝活性化の有無に関わらず陰性であった。（参照 5）

チャイニーズ・ハムスター培養細胞（CHO 細胞）を用いた染色体異常試験（最高濃度 1.1 µg/mL）では陰性であった。（参照 6）

以上の結果から、本物質には生体にとって問題となるような遺伝毒性はないものと考えられた。

### 4. その他

3 週齢の Wistar ラット（各群雄 5～7 匹）への皮下投与による 2 週間の試験（0、10、30、70、100 mg/kg 体重/日）において、生殖器もしくは副生殖器への影響はみられなかった。（参照 7）

### 5. 摂取量の推定

本物質の香料としての年間使用量の全量を人口の 10%が消費していると仮定する JECFA の PCTT（Per Capita intake Times Ten）法による 1995 年の米国及び欧州における一人一日当たりの推定摂取量は、それぞれ 4 µg、16 µg（参照 8）である。正確には認可後の追跡調査による確認が必要と考えられるが、既に認可されている香料物質のわが国と欧米の推定摂取量が同程度との情報があることから（参照 9）、わが国での本物質の推定摂取量は、おおよそ 4 µg から 16 µg の範囲になると推定される。なお、米国では食品中にもともと存在する成分としての本物質の摂取量は、意図的に添加された本物質の約 280 倍であると報告されている。（参照 10）

## 6. 安全マージンの算出

90日間反復投与毒性試験のNOAEL 3.2 mg/kg 体重/日と、想定される推定摂取量 (4~16 µg /ヒト/日) を日本人平均体重 (50 kg) で割ることで算出される推定摂取量 (0.00008~0.00032 mg/kg 体重/日) と比較し、安全マージン 10,000~40,000 が得られる。

## 7. 構造クラスに基づく評価

本物質は構造クラスⅡに分類される。ピラジン誘導体に分類される食品成分であり、ピラジン環の2位及びそれに隣接する3位にメチル基が置換しており、立体障害が生じることから、主にピラジン環の水酸化が進行するが、同時に一部メチル基の酸化も進行するので、水酸化されたヒドロキシピラジン、ピラジンカルボン酸として排泄される。本物質及びその推定代謝産物は生体成分ではないが、上述の両方の代謝経路が存在し、雄のWistarラットへの100 mg/kg 体重の投与で24時間以内に代謝産物の50%以上が排泄される。(参照3、8、11、12)

## 8. JECFAにおける評価

JECFAでは、2001年にピラジン誘導体のグループとして評価され、想定される推定摂取量 (4~16 µg /ヒト/日) は、クラスⅡの摂取許容値 (540 µg /ヒト/日) を下回るため、香料としての安全性の問題はないとしている。(参照8)

## 9. 食品健康影響評価

本物質の90日間反復投与毒性試験において、大腸(結腸)の粘膜の過形成が認められているが、本物質には生体にとって問題となるような遺伝毒性はないと考えられることから、毒性影響の閾値を設定できると評価される。従って、少なくとも香料として用いられる低用量域では、生体にとって特段問題となる毒性はないと考えられる。また、「国際的に汎用されている香料のわが国における安全性評価法」により、クラスⅡに分類され、安全マージン (10,000~40,000) は90日間反復投与毒性試験の適切な安全マージンとされる1,000を上回り、かつ想定される推定摂取量 (4~16 µg /ヒト/日) が構造クラスⅡの摂取許容値 (540 µg /ヒト/日) を下回ることを確認した。

2,3-ジメチルピラジンは、食品の着香の目的で使用する場合、安全性に懸念がないと考えられる。

# 香料構造クラス分類 (2,3-ジメチルピラジン)

YES : → , NO : .....→

START

1. 生体成分、或いはその光学異性体であるか

2. 以下の官能基を持つか  
脂肪族第2級アミンとその塩, cyano, N-nitroso, diazo, triazeno, 第4級窒素 (例外あり)

3. 構造に C,H,O,N, 2価のS以外の要素があるか

5. 単純に分岐した、非環状脂肪族炭化水素が炭水化物か

6. ベンゼン環の以下の置換構造物質か  
a. 炭化水素またはその 1-hydroxy or hydroxy ester 体 かつ  
b. 一つ又は複数の alkoxy 基があり、このうち一つは a の炭化水素のパラ位

7. heterocyclic 構造である

8. lactone か cyclic diester であるか

10. 3員の heterocyclic 化合物か

11. いかなる環における hetero 原子を無視して、複素環は以下の置換基以外の置換基をもつか  
単純な炭化水素 (架橋及び単環 aryl or alkyl を含む)、alkyl alcohol、aldehyde、acetal、ketone、ketal、acid、ester (ラクトン以外のエステル)、mercaptan、sulphide、methyl ethers、水酸基、これらの置換基以外の置換基をもたない単一の環 (hetero 又は aryl)

12. hetero 芳香族化合物か

13. 置換基を有するか

14. 二つ以上の芳香族の環を有するか

22. 食品の一般的な成分又はその成分と構造的に良く類似しているか

II

<参照>

- 1 TNO Volatile compounds in food. Ed. By L.M.Nijssen et.al. 7<sup>th</sup>.ed. Index of compounds. TNO Nutrition and Food Research Institute. Zeist. (1996)
- 2 RIFM-FEMA Database, (Accessed in 2005) Material Information on 2,3-Dimethylpyrazine (未公表)
- 3 香料安全性評価法検討会. 国際的に汎用されている香料の安全性評価の方法について (最終報告・再訂正版) . (2003)
- 4 2,3-ジメチルピラジンのラットにおける 90 日間反復経口投与毒性試験 (株)ボゾリサーチセンター (厚生労働省委託試験) (2005)
- 5 Aeschbacher, U. W., et. al., Contribution of coffee aroma constituents to the mutagenicity of coffee, *Fd. Chem. Toxicol.* (1989) 27 (4) : 227-232
- 6 2,3-ジメチルピラジンのチャイニーズ・ハムスターを用いる染色体異常試験 (財) 食品薬品安全センター 秦野研究所 (厚生労働省委託試験) (2005)
- 7 Yamada K. et al., Effects of dimethylpyrazine isomers on reproductive and accessory reproductive organs in male rats. *Biol. Pharm. Bull.*, (1993) 16 (2) : 203-206
- 8 WHO Food Additives Series 48.Safety Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants, Pyrazine Derivatives (Report of 57th JECFA meeting)
- 9 平成 14 年度厚生労働科学研究報告書「日本における食品香料化合物の使用量実態調査」、日本香料工業会
- 10 Adams T. B. et.al. The FEMA GRAS assessment of pyrazine derivatives used as flavor ingredients. *Fd. Chem. Toxicol.* (2002) 40: 429-451
- 11 Hawksworth, G. et.al. Metabolism in the rat of some pyrazine derivatives having flavour importance in foods. *Xenobiotica*, (1975) 5 (7) : 389-399
- 12 アルキルピラジン類の構造クラス (要請者作成資料)

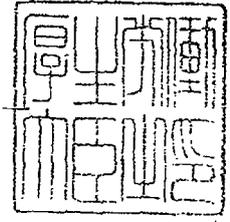


厚生労働省発食安第0909004号

平成20年9月9日

薬事・食品衛生審議会  
会長 望月 正隆 殿

厚生労働大臣 舛添 要



諮 問 書

食品衛生法（昭和22年法律第233号）第10条及び第11条第1項の規定に基づき、下記の事項について、貴会の意見を求めます。

記

1. 2,5-ジメチルピラジンの添加物としての指定の可否について
2. 2,5-ジメチルピラジンの添加物としての使用基準及び成分規格の設定について

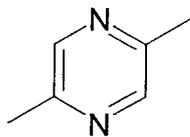


## 2,5-ジメチルピラジンの食品添加物の指定に関する部会報告書（案）

1. 品目名：2,5-ジメチルピラジン  
2,5-dimethylpyrazine  
〔CAS 番号：123-32-0〕

2. 構造式、分子式及び分子量

構造式：



分子式及び分子量：

$C_6H_8N_2$  108.14

3. 用途

香料

4. 概要及び諸外国での使用状況

2,5-ジメチルピラジンは、アスパラガス、生落花生、緑茶等の食品中に天然に存在するほか、牛肉、豚肉、エビ、ポテト等の加熱調理、及びコーヒー、カカオ等の焙煎により生成する成分である。欧米では、焼き菓子、アイスクリーム、清涼飲料水、肉製品等の様々な加工食品において香りを再現し、風味を向上させるために添加されている。

5. 食品安全委員会における評議結果

食品安全基本法（平成15年法律第48号）第24条第1項第1号の規定に基づき、平成20年2月7日付厚生労働省発食安第0207002号により食品安全委員会あて意見を求めた2,5-ジメチルピラジンに係る食品健康影響評価については、5月26日に開催された添加物専門調査会の議論を踏まえ、以下の評価結果が平成20年7月31日付けで通知されている。

評価結果：2,5-ジメチルピラジンは、食品の着香の目的で使用する場合、安全性に懸念がないと考えられる。

## 6. 摂取量の推計

上記の食品安全委員会の評価結果によると次のとおりである。

本物質の香料としての年間使用量の全量を人口の 10%が消費していると仮定する JECFA の PCTT (PerCapita intake Times Ten) 法による 1995 年の米国および欧州における一人一日当たりの推定摂取量は、それぞれ 8、22  $\mu\text{g}$  である。正確には認可後の追跡調査による確認が必要と考えられるが、既に認可されている香料物質のわが国と欧米の推定摂取量が同程度との情報があることから、わが国での本物質の推定摂取量は、おおよそ 8  $\mu\text{g}$  から 22  $\mu\text{g}$  の範囲になると推定される。なお、米国では食品中にもともと存在する成分としての本物質の摂取量は、意図的に添加された本物質の約 630 倍であると報告されている。

## 7. 新規指定について

2,5-ジメチルピラジンを食品衛生法第 10 条の規定に基づく添加物として指定することは差し支えない。ただし、同法第 11 条第 1 項の規定に基づき、次のとおり使用基準と成分規格を定めることが適当である。

(使用基準案)

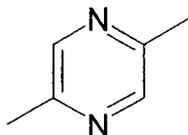
香料として使用される場合に限定して食品健康影響評価が行われたことから、使用基準は「着香の目的以外に使用してはならない。」とすることが適当である。

(成分規格案)

成分規格を別紙 1 のとおり設定することが適当である。(設定根拠は別紙 2、JECFA 規格等との対比表は別紙 3 のとおり。)

2,5-ジメチルピラジン (案)

2,5-Dimethylpyrazine



C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub>

分子量 108.14

2,5-Dimethylpyrazine [123-32-0]

含 量 本品は、2,5-ジメチルピラジン、2,3-ジメチルピラジン及び2,6-ジメチルピラジンの混合物 (C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub>) 98.0 %以上を含む。

性 状 本品は、無～淡黄色の透明な液体で、特有のにおいがある。

確認試験 本品を赤外吸収スペクトル測定法中の液膜法により測定し、本品のスペクトルを参照スペクトルと比較するとき、同一波数のところに同様の強度の吸収を認める。

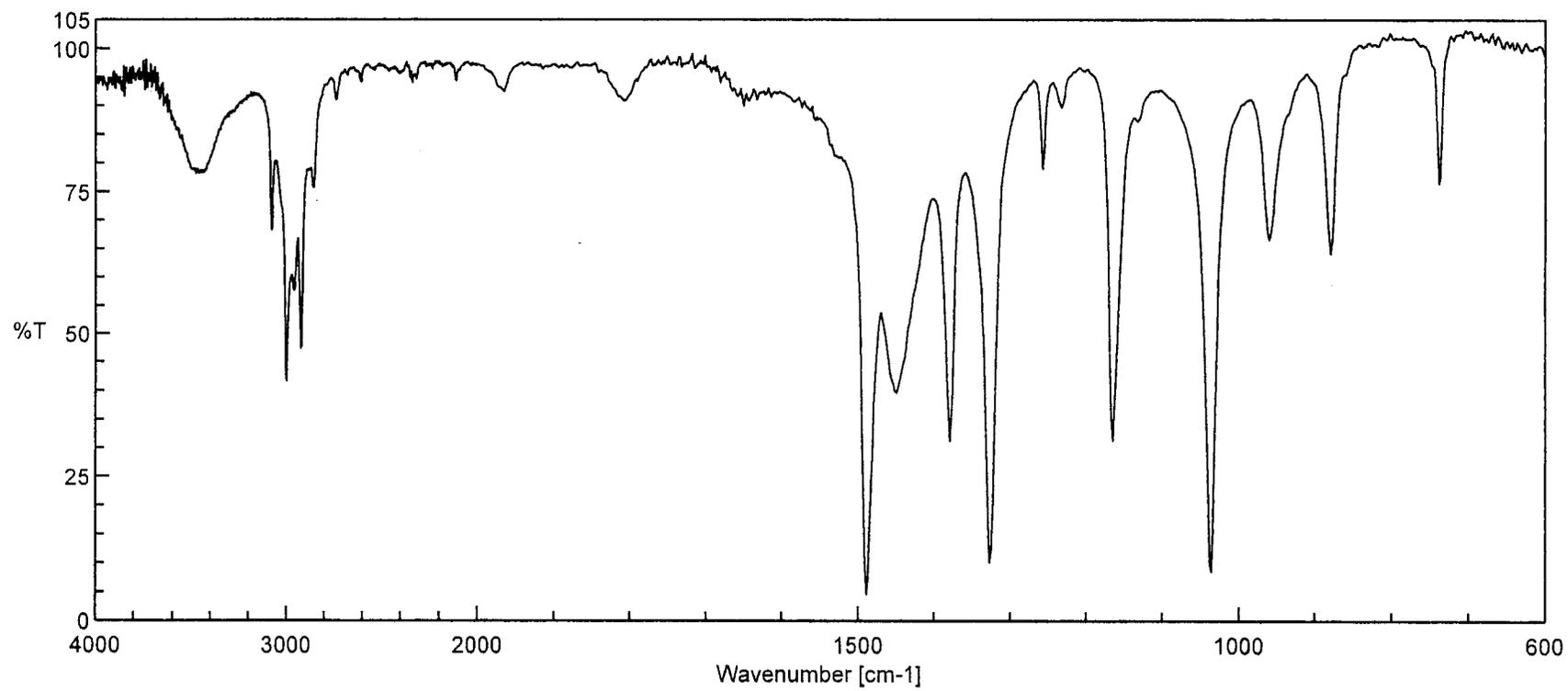
純度試験 (1) 屈折率  $n_D^{20} = 1.497 \sim 1.503$

(2) 比重  $d_{25}^{25} = 0.982 \sim 1.000$

定 量 法 香料試験法中の香料のガスクロマトグラフィーの面積百分率法の操作条件(1)により定量する。

参照赤外吸収スペクトル

2, 5-ジメチルピラジン



## 2,5-ジメチルピラジンに係る成分規格等の設定根拠

### 含量

JECFA は 2,5-、2,3-、2,6-ジメチルピラジンの異性体総量値として「98%以上」、FCC は  $C_6H_8N_2$  の異性体総量値として「99.0%以上」を規格値としている。本規格案では国際的整合性を考慮して JECFA 規格と同水準の規格値とするが、他の添加物の規格値との整合性を考慮して小数点下一桁までを有効数字とし、「2,5-ジメチルピラジン、2,3-ジメチルピラジン及び 2,6-ジメチルピラジンの混合物 ( $C_6H_8N_2$ ) 98.0 %以上を含む」とした。

### 性状

JECFA、FCC ともに「土っぽい、ないし、生ジャガイモ様のおいの無色から淡黄色の液体」を規格としている。

本品は特有の香りを持つが、香気は人により必ずしも同一に感ずるとは限らないことから、本規格案では「無～淡黄色の透明な液体で、特有のにおいがある。」とした。

### 確認試験

JECFA、FCC、いずれも確認試験に IR 法を採用していることから本規格でも IR 法を採用した。

### 純度試験

- (1) 屈折率 JECFA は「1.497～1.503 (20℃)」、FCC は「1.497～1.501 (20℃)」としている。本規格案では国際整合性を考慮して JECFA が規格値としている「1.497～1.503 (20℃)」を採用した。
- (2) 比重 JECFA は「0.982～1.000 (25/25℃)」、FCC は「0.980～1.000 (25/25℃)」としている。本規格案では国際整合性を考慮して JECFA が規格値としている「0.982～1.000 (25/25℃)」を採用した。

### 定量法

JECFA、FCC ともに GC 法により含量測定を行っている。また、香料業界及び香料を利用する食品加工メーカーにおいても GC 装置が広く普及しており、測定機器を含めた測定環境に実務上問題は無いことから本規格案でも GC 法を採用することとした。

2,3-ジメチルピラジンは、沸点が 150℃以上(155℃)のため、香料試験法の 9. 香料のガスクロマトグラフィーの面積百分率法の操作条件(1)により定量する。

JECFA、FCC では設定されているが、本規格では採用しなかった項目

### 溶解性

JECFA では「水、有機溶剤、油脂に溶ける」、FCC では、「有機溶剤、水に溶ける」としている。また「エタノールへの溶解性」として JECFA では「室温で混ざる」とし、

FCC では「1ml の 95%アルコールに 1ml 溶ける」としている。しかしながら、本規格案では IR による確認試験を規定しており、「溶解性」の必要性は低いため、本規格では採用しないこととした。

#### 沸点

JECFA、FCC、いずれの規格においても沸点は「155℃」とされている。

一般に、香料化合物は、加熱分解臭をつけないように精密蒸留による一定の範囲の留分を得たものであり、その品質管理は GC 法、IR 法等により十分担保される。したがって、沸点は必ずしも香料化合物の品質規格管理項目として重要ではないと考えられることから、本規格案では沸点に係る規格を採用しないこととした。

#### 凝固点

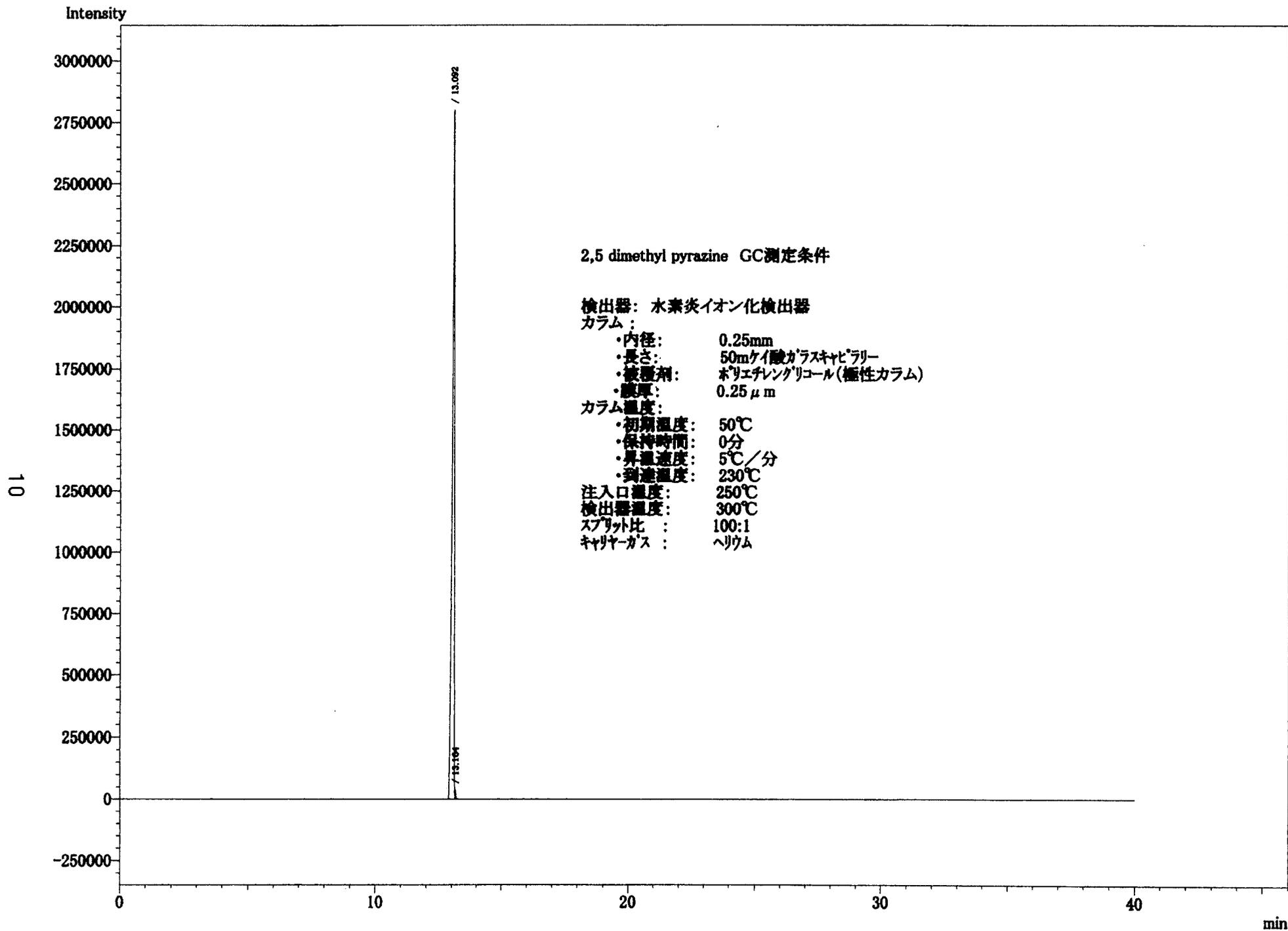
FCC には凝固点（12～17℃）の規定があるが、JECFA には規格項目が無い。本品の品質管理は GC 法、IR 法等により実施されるため、凝固点は必ずしも香料化合物の品質規格管理項目として重要ではないと考えられることから、本規格案では「凝固点」に係る規格を採用しないこととした。

#### 水分

FCC には水分含量（0.5%以下）の規定があるが、JECFA には規格項目が無い。本品は蒸留精製され製造過程で生じる水は十分除去されていること、本品は吸湿性ではないこと、また水分含量は必ずしも香料化合物の品質規格管理項目として重要ではないと考えられることから、本規格案では「水分」に係る規格を設定しないこととした。

香料「2,5-ジメチルピラジン」の規格対比表

	規格案	JECFA	FCC
含量	98.0%以上(異性体合計)	98%以上(2,3- 2,5- and 2,6-isomersの合計として)	99.0%以上(C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub> として)
性状	本品は、無～淡黄色の透明な液体で、特有のにおいがある。	colourless to slightly yellow liquid with an earthy, potato-like odour	colorless to slightly yellow liquid. earthy, potato
確認試験	IR法(参照スペクトル法)	IR法(参照スペクトル法)	IR法(参照スペクトル法)
屈折率	1.497～1.503(20℃)	1.497～1.503(20℃)	1.497～1.501(20℃)
比重	0.982～1.000(25℃/25℃)	0.982～1.000(25℃/25℃)	0.980～1.000(25℃/25℃)
溶解性	(設定せず)	soluble in water, organic solvents, oils	miscible in water, organic solvents
エタノール溶解性	(設定せず)	miscible at room temperature	-
沸点	(設定せず)	155℃	～155℃
凝固点	(設定せず)	-	12℃～17℃
水分	(設定せず)	-	0.5% 以下 (カールフィッシャー)
定量法	GC(1)	GC	GC(極性カラム)



(参考)

これまでの経緯

平成20年2月8日	厚生労働大臣から食品安全委員会委員長あてに添加物の指定に係る食品健康影響評価について依頼
平成20年2月14日	第226回食品安全委員会（依頼事項説明）
平成20年5月26日	第58回食品安全委員会添加物専門調査会
平成20年6月5日 ～平成20年7月4日	第241回食品安全委員会（報告） 食品安全委員会における国民からの意見聴取
平成20年7月31日	第249回食品安全委員会（報告） 食品安全委員会より食品健康影響評価結果の通知
平成20年9月24日	薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会添加物部会

●薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会添加物部会（平成20年9月現在）

[委員]

氏名	所属
石田 裕美	女子栄養大学教授
井手 速雄	東邦大学薬学部教授
井部 明広	東京都健康安全研究センター
北田 善三	畿央大学健康科学部教授
佐藤 恭子	国立医薬品食品衛生研究所食品添加物部第一室長
棚元 憲一	国立医薬品食品衛生研究所食品添加物部長
長尾 美奈子※	慶應義塾大学薬学部客員教授
堀江 正一	埼玉県衛生研究所 水・食品担当部長
米谷 民雄	静岡県立大学 食品栄養科学部 客員教授
山内 明子	日本生活協同組合連合会組織推進本部 本部長
山川 隆	東京大学大学院農学生命科学研究科准教授
山添 康	東北大学大学院薬学研究科教授
吉池 信男	青森県立保健大学健康科学部 栄養学科長 公衆栄養学教授
由田 克士	独立行政法人国立健康・栄養研究所 栄養疫学プログラム国民健康・栄養調査プロジェクトリーダー

※部会長





資料2-3

府食第838号

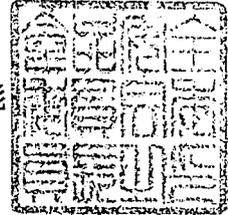
平成20年7月31日

厚生労働大臣

舛添 要一 殿

食品安全委員会

委員長 見上 彪



食品健康影響評価の結果の通知について

平成20年2月7日付け厚生労働省発食安第0207002号をもって貴省から当委員会に意見を求められた2,5-ジメチルピラジンに係る食品健康影響評価の結果は下記のとおりですので、食品安全基本法（平成15年法律第48号）第23条第2項の規定に基づき通知します。

なお、食品健康影響評価の詳細は別添のとおりです。

記

2,5-ジメチルピラジンは、食品の着香の目的で使用する場合、安全性に懸念がないと考えられる。

# 添加物評価書

## 2,5-ジメチルピラジン

2008年7月

食品安全委員会

## 目次

	頁
○審議の経緯 .....	2
○食品安全委員会委員名簿 .....	2
○食品安全委員会添加物専門調査会専門委員名簿 .....	2
○要 約 .....	3
I. 評価対象品目の概要 .....	4
1. 用途 .....	4
2. 化学名 .....	4
3. 分子式 .....	4
4. 分子量 .....	4
5. 構造式 .....	4
6. 評価要請の経緯 .....	4
II. 安全性に係る知見の概要 .....	5
1. 反復投与毒性 .....	5
2. 発がん性 .....	5
3. 遺伝毒性 .....	5
4. その他 .....	5
5. 摂取量の推定 .....	6
6. 安全マージンの算出 .....	6
7. 構造クラスに基づく評価 .....	6
8. JECFA における評価 .....	7
9. 食品健康影響評価 .....	7
<別紙：香料構造クラス分類（2,5-ジメチルピラジン）> .....	8
<参照> .....	9

<審議の経緯>

2008年2月8日 厚生労働大臣から添加物の指定に係る食品健康影響評価について要請（厚生労働省発食安第0207002号）、関係書類の接受

2008年2月14日 第226回食品安全委員会（要請事項説明）

2008年5月26日 第58回添加物専門調査会

2008年6月5日 第241回食品安全委員会（報告）

2008年6月5日より7月4日 国民からの御意見・情報の募集

2008年7月29日 添加物専門調査会座長より食品安全委員会委員長へ報告

2008年7月31日 第249回食品安全委員会（報告）  
（同日付け厚生労働大臣に通知）

<食品安全委員会委員名簿>

見上 彪（委員長）  
小泉 直子（委員長代理）  
長尾 拓  
野村 一正  
畑江 敬子  
廣瀬 雅雄  
本間 清一

<食品安全委員会添加物専門調査会専門委員名簿>

福島 昭治（座長）  
山添 康（座長代理）  
石塚 真由美  
井上 和秀  
今井田 克己  
梅村 隆志  
江馬 眞  
久保田 紀久枝  
頭金 正博  
中江 大  
中島 恵美  
林 眞  
三森 国敏  
吉池 信男

<参考人>

森田 明美

## 要 約

食品の香料に使用される添加物「2,5-ジメチルピラジン」(CAS 番号：123-32-0)について、各種試験成績等を用いて食品健康影響評価を実施した。評価に供した試験成績は、反復投与毒性及び遺伝毒性である。

本物質には、生体にとって特段問題となる毒性はないと考えられる。また、「国際的に汎用されている香料のわが国における安全性評価法」により、クラスⅡに分類され、安全マージン(100,000~275,000)は90日間反復投与毒性試験の適切な安全マージンとされる1,000を上回り、かつ想定される推定摂取量(8~22 µg /ヒト/日)が構造クラスⅡの摂取許容値(540 µg /ヒト/日)を下回ることを確認した。

2,5-ジメチルピラジンは、食品の着香の目的で使用する場合、安全性に懸念がないと考えられる。

## I. 評価対象品目の概要

### 1. 用途

香料

### 2. 化学名 (参照 1)

和名：2,5-ジメチルピラジン

英名：2,5-Dimethylpyrazine

CAS 番号：123-32-0

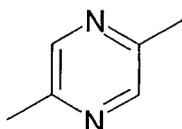
### 3. 分子式 (参照 2)

$C_6H_8N_2$

### 4. 分子量 (参照 2)

108.14

### 5. 構造式 (参照 2)



### 6. 評価要請の経緯

2,5-ジメチルピラジンは、アスパラガス、生落花生、緑茶等の食品中に天然に存在するほか牛肉、豚肉、エビ、ポテト等の加熱調理、及びコーヒー、カカオ等の焙煎により生成する成分である(参照 1)。欧米では、焼き菓子、アイスクリーム、清涼飲料、肉製品等の様々な加工食品において香りを再現し、風味を向上させるために添加されている(参照 2)。

厚生労働省は、2002 年 7 月の薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会での了承事項に従い、①FAO/WHO 食品添加物合同専門家会議(JECFA)で国際的に安全性評価が終了し、一定の範囲内で安全性が確認されており、かつ、②米国及び欧州連合(EU)諸国等で使用が広く認められていて国際的に必要性が高いと考えられる食品添加物については、企業等からの指定要請を待つことなく、国が主体的に指定に向けた検討を開始する方針を示している。今般香料の成分として、2,5-ジメチルピラジンについて評価資料がまとまったことから、食品安全基本法に基づき、食品健康影響評価が食品安全委員会に依頼されたものである。

なお、香料については厚生労働省が示していた「食品添加物の指定及び使用基準改正に関する指針」には基づかず、「国際的に汎用されている香料の安全性評価の方法について」に基づき資料の整理が行われている。(参照 3)

## II. 安全性に係る知見の概要

### 1. 反復投与毒性

5 週齢の SD ラット（各群雌雄各 10 匹）への強制経口投与による雄 90 日間、雌 91 日間の反復投与毒性試験（0、0.44、4.4、44 mg/kg 体重/日）において、すべての投与群の一般状態の観察、体重測定、摂餌量測定、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、眼科的検査、臓器重量測定、病理解剖検査及び病理組織学的検査において、明らかな毒性変化は認められなかった。この結果より、無毒性量（NOAEL）は、44 mg/kg 体重/日と考えられた。（参照 4）

### 2. 発がん性

発がん性試験は行われておらず、国際機関（International Agency for Research on Cancer (IARC)、European Chemicals Bureau (ECB)、U. S. Environmental Protection Agency (EPA)、National Toxicology Program (NTP)) でも、発がん性の評価はされていない。

### 3. 遺伝毒性

細菌（*Salmonella typhimurium* TA98、TA100、TA102）を用いた復帰突然変異試験（最高濃度 0.9 mmol/plate (97.3 mg/plate)）では、代謝活性化の有無に関わらず陰性であった。（参照 5）

細菌（*S. typhimurium* TA98、TA100、TA1537）を用いた復帰突然変異試験（最高濃度 200 mg/plate）では、代謝活性化の有無に関わらず陰性であった。（参照 6）

酵母（*Saccharomyces cerevisiae* D5）を用いた分裂組換え及び突然変異誘発試験（最高濃度 135 mg/mL）では、一部の用量群において陽性の結果が散見されたが、現行ガイドラインで設定されている限界用量より高い用量のみでの反応であり、毒性学的に意義のあるものとは考えられなかった。（参照 6）

チャイニーズ・ハムスター培養細胞（CHO 細胞）を用いた染色体異常試験（最高濃度 40 mg/mL）では最高濃度において陽性の結果が認められたが、現行ガイドラインで設定されている限界用量より高い用量のみでの反応であり、毒性学的に意義のあるものとは考えられなかった。（参照 6）

9 週齢の ICR マウス（各群雄 5 匹）を用いて GLP 下で行われた *in vivo* 骨髄小核試験（最高用量 1,000 mg/kg 体重/日×2、強制経口投与）では、陰性であった。（参照 7）

以上の結果から、本物質には生体にとって問題となる遺伝毒性はないものと考えられた。

### 4. その他

Wistar ラット（各群雌 6～10 匹）に膈開口まで 1 日 1 回 100 mg/kg 体重/日を皮下投与した試験において、子宮重量は有意に減少した。また、卵巣摘出ラット

に1日2回100 mg/kg 体重を前処理し、エストラジオールを投与したところ、子宮の重量の増加が阻害され、子宮による<sup>3</sup>H 標識エストラジオールの取り込みが有意に減少した。(参照 8)

4週齢及び6週齢のWistar ラット(各群雄5匹)への皮下投与による2週間の試験(4週齢の群10、30、70、100、300 mg/kg 体重/日、6週齢の群100及び300 mg/kg 体重/日)において、4週齢の群では、70 mg/kg 体重/日以上用量では、前立腺のスペルミジン濃度及び血漿中テストステロンの減少が、更に、100 mg/kg 体重/日以上用量では、前立腺のスペルミン濃度及び酸性フォスファターゼ減少が認められたが、生後6週齢の群にはこれらの影響はみられなかった。(参照 9)

3週齢のWistar ラット(各群雄5~7匹)への皮下投与による2週間の試験(0、10、30、70、100 mg/kg 体重/日)において、70及び100 mg/kg 体重/日投与群において投与後、前立腺及び精嚢の重量が、100 mg/kg 体重/日投与群において血漿中テストステロン濃度、前立腺の酸性フォスファターゼ活性、精嚢の果糖含有量が、それぞれ減少した。(参照 10)

いずれも経口投与による試験成績ではないことから、NOAEL の設定根拠には用いなかった。

## 5. 摂取量の推定

本物質の香料としての年間使用量の全量を人口の10%が消費していると仮定するJECFAのPCTT(Per Capita intake Times Ten)法による1995年の米国および欧州における一人一日当たりの推定摂取量は、それぞれ8、22 µgである(参照 11)。正確には認可後の追跡調査による確認が必要と考えられるが、既に認可されている香料物質のわが国と欧米の推定摂取量が同程度との情報があることから(参照 12)、わが国での本物質の推定摂取量は、おおよそ8 µgから22 µgの範囲になると推定される。なお、米国では食品中にもともと存在する成分としての本物質の摂取量は、意図的に添加された本物質の約630倍であると報告されている。(参照 13)

## 6. 安全マージンの算出

90日間反復毒性投与試験のNOAEL 44 mg/kg 体重/日と、想定される推定摂取量(8~22 µg/ヒト/日)を日本人平均体重(50 kg)で割ることで算出される推定摂取量(0.00016~0.00044 mg/kg 体重/日)と比較し、安全マージン100,000~275,000が得られる。

## 7. 構造クラスに基づく評価

本物質は構造クラスIIに分類される。ピラジン誘導体に分類される食品成分であり、ピラジン環の2及び5位に置換しているメチル基が酸化されてピラジンカ

ルボン酸を生成し、排泄されるが、一部はその後グリシン抱合されて排泄される。本物質及びその推定代謝産物は生体成分ではないが、雄の Wistar ラットへの 100 mg/kg 体重の投与で 24 時間以内に代謝産物のほとんどが排泄される。(参照 3、11、14、15)

#### 8. JECFA における評価

JECFA では、2001 年にピラジン誘導体のグループとして評価され、推定摂取量 (8~22 µg /ヒト/日) は、クラス II の摂取許容値 (540 µg /ヒト/日) を下回るため、香料としての安全性の問題はないとされている。(参照 11)

#### 9. 食品健康影響評価

本物質には、生体にとって特段問題となる毒性はないと考えられる。また、「国際的に汎用されている香料のわが国における安全性評価法」により、クラス II に分類され、安全マージン (100,000~275,000) は 90 日間反復投与毒性試験の適切な安全マージンとされる 1,000 を上回り、かつ想定される推定摂取量 (8~22 µg /ヒト/日) が構造クラス II の摂取許容値 (540 µg /ヒト/日) を下回ることを確認した。

2,5-ジメチルピラジンは、食品の着香の目的で使用する場合、安全性に懸念がないと考えられる。



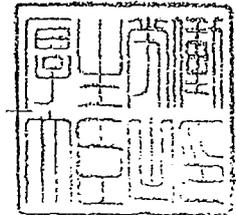
<参照>

- 1 TNO Volatile compounds in food. Ed. By L.M.Nijssen et.al. 7<sup>th</sup>.ed. Index of compounds. TNO Nutrition and Food Research Institute. Zeist. (1996)
- 2 RIFM-FEMA Database, (Accessed in 2005) Material Information on 2,5-Dimethylpyrazine (未公表)
- 3 香料安全性評価法検討会. 国際的に汎用されている香料の安全性評価の方法について (最終報告・再訂正版) . (2003)
- 4 2,5-ジメチルピラジンのラットにおける 90 日間反復経口投与毒性試験 (財) 食品薬品安全センター 秦野研究所 (厚生労働省委託試験) (2005)
- 5 Aeschbacher, U. W., et. al., Contribution of coffee aroma constituents to the mutagenicity of coffee, *Fd. Chem. Toxicol.* (1989) 27 (4) : 227-232
- 6 Stich, H. F., et. al., Mutagenic activity of pyrazine derivatives : a comparative study with *Salmonella typhimurium*, *Saccharomyces cerevisiae* and Chinese hamster ovary cells., *Fd. Cosmet.. Toxicol.* (1980) 18: 581-584
- 7 2,5-ジメチルピラジンのマウスを用いる小核試験 (財) 食品薬品安全センター 秦野研究所 (厚生労働省委託試験) (2005)
- 8 Yamada K. et al., Effects of 2,5-dimethylpyrazine on reproductive and accessory reproductive organs in female rats. *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.*, (1992) 75 (1) : 99-107
- 9 Yamada K. et al., Effects of 2,5-dimethylpyrazine on plasma testosterone and polyamines and acid phosphatase-levels in the rat prostate., *Biol. Pharm Bull.* (1994) 17 (5) : 730-731
- 10 Yamada K. et al., Effects of dimethylpyrazine isomers on reproductive and accessory reproductive organs in male rats. *Biol. Pharm. Bull.*, (1993) 16 (2) : 203-206
- 11 WHO Food Additives Series 48. Safety Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants, Pyrazine Derivatives (Report of 57th JECFA meeting)
- 12 平成 14 年度厚生労働科学研究報告書「日本における食品香料化合物の使用量実態調査」、日本香料工業会
- 13 Adams T. B. et.al. The FEMA GRAS assessment of pyrazine derivatives used as flavor ingredients. *Fd. Chem. Toxicol.* (2002) 40: 429-451
- 14 Hawksworth, G. et.al. Metabolism in the rat of some pyrazine derivatives having flavour importance in foods. *Xenobiotica*, (1975) 5 (7) : 389-399
- 15 アルキルピラジン類の構造クラス (要請者作成資料)

厚生労働省発食安第0909005号  
平成20年9月9日

薬事・食品衛生審議会  
会長 望月 正隆 殿

厚生労働大臣 舩添 要



諮 問 書

食品衛生法（昭和22年法律第233号）第10条及び第11条第1項の規定に基づき、下記の事項について、貴会の意見を求めます。

記

1. 2,6-ジメチルピラジンの添加物としての指定の可否について
2. 2,6-ジメチルピラジンの添加物としての使用基準及び成分規格の設定について

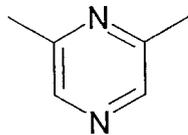


## 2,6-ジメチルピラジンの食品添加物の指定に関する部会報告書（案）

1. 品目名：2,6-ジメチルピラジン  
2,6-dimethylpyrazine  
[CAS 番号：108-50-9]

## 2. 構造式、分子式及び分子量

構造式：



分子式及び分子量：

C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub> 108.14

3. 用途  
香料

## 4. 概要及び諸外国での使用状況

2,6-ジメチルピラジンは、アスパラガス、生落花生、緑茶等の食品中に天然に存在するほか、牛肉、豚肉、エビ、ポテト等の加熱調理、及びコーヒー、カカオ等の焙煎により生成する成分である。欧米では、焼き菓子、アイスクリーム、清涼飲料水、肉製品等の様々な加工食品において香りを再現し、風味を向上させるために添加されている。

## 5. 食品安全委員会における評議結果

食品安全基本法（平成 15 年法律第 48 号）第 24 条第 1 項第 1 号の規定に基づき、平成 20 年 2 月 7 日付厚生労働省発食安第 0207003 号により食品安全委員会あて意見を求めた 2,6-ジメチルピラジンに係る食品健康影響評価については、5 月 26 日に開催された添加物専門調査会の議論を踏まえ、以下の評価結果が平成 20 年 7 月 31 日付けで通知されている。

評価結果：2,6-ジメチルピラジンは、食品の着香の目的で使用する場合、安全性に懸念がないと考えられる。

## 6. 摂取量の推計

上記の食品安全委員会の評価結果によると次のとおりである。

本物質の香料としての年間使用量の全量を人口の 10%が消費していると仮定する JECFA の PCTT (PerCapita intake Times Ten) 法による 1995 年の米国および欧州における一人一日当たりの推定摂取量は、両者ともに 2  $\mu\text{g}$  である。正確には認可後の追跡調査による確認が必要と考えられるが、既に認可されている香料物質のわが国と欧米の推定摂取量が同程度との情報があることから、わが国での本物質の推定摂取量は、おおよそ 2  $\mu\text{g}$  になると推定される。なお、米国では食品中にもともと存在する成分としての本物質の摂取量は、意図的に添加された本物質の 2,600 倍であると報告されている。

## 7. 新規指定について

2,6-ジメチルピラジンを食品衛生法第 10 条の規定に基づく添加物として指定することは差し支えない。ただし、同法第 11 条第 1 項の規定に基づき、次のとおり使用基準と成分規格を定めることが適当である。

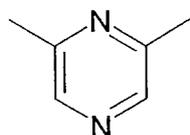
(使用基準案)

香料として使用される場合に限定して食品健康影響評価が行われたことから、使用基準は「着香の目的以外に使用してはならない。」とすることが適当である。

(成分規格案)

成分規格を別紙 1 のとおり設定することが適当である。(設定根拠は別紙 2、JECFA 規格等との対比表は別紙 3 のとおり。)

2,6-ジメチルピラジン (案)  
2,6-Dimethylpyrazine



$C_6H_8N_2$

分子量 108.14

2,6-Dimethylpyrazine [108-50-9]

含 量 本品は、2,6-ジメチルピラジン、2,3-ジメチルピラジン及び2,5-ジメチルピラジンの混合物 ( $C_6H_8N_2$ ) 98.0%以上を含む。

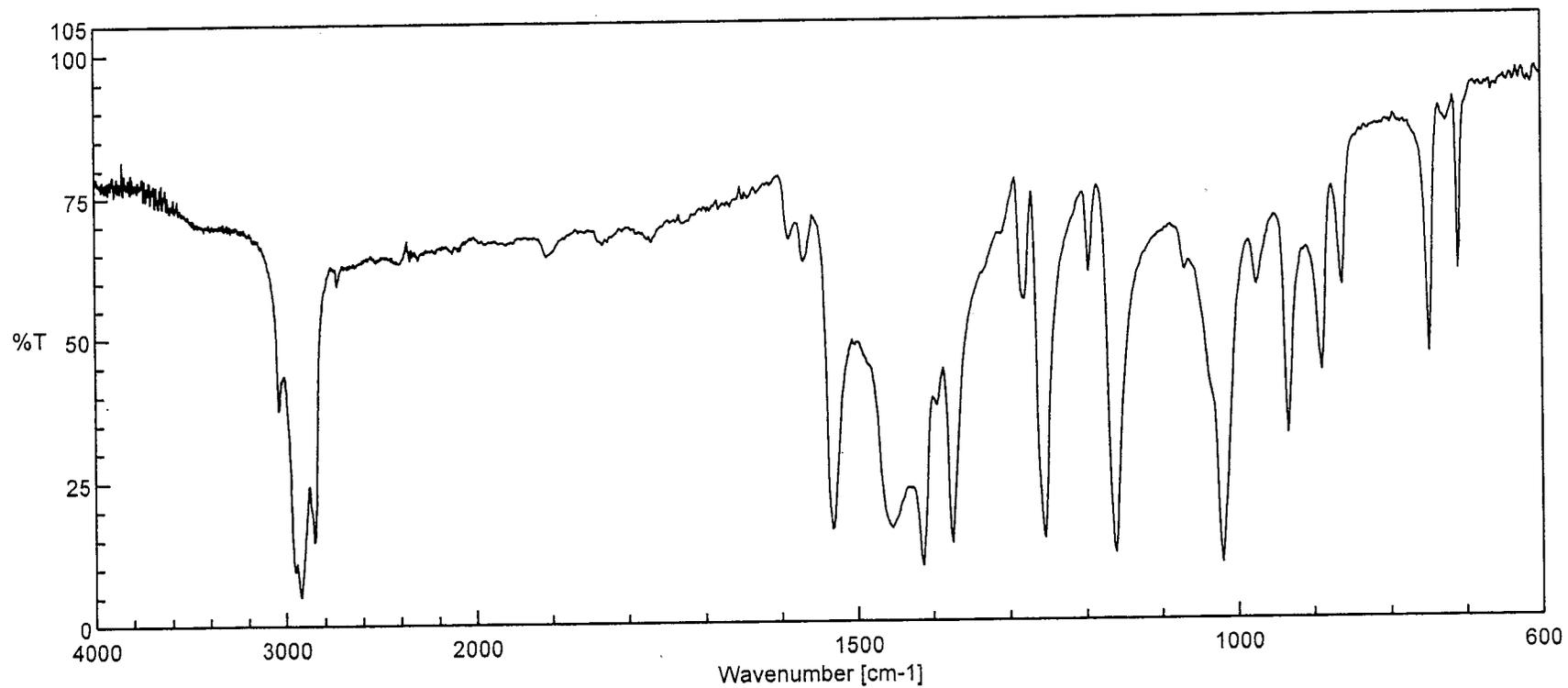
性 状 本品は、白～黄色の結晶で、特有のにおいがある。

確認試験 本品を赤外吸収スペクトル測定法中のペースト法により測定し、本品のスペクトルを参照スペクトルと比較するとき、同一波数のところに同様の強度の吸収を認める。

純度試験 (1) 融点 35～40°C

定 量 法 本品約 0.2g を精密に量り、エタノールを加えて溶かして正確に 20ml とし、香料試験法中の香料のガスクロマトグラフィーの面積百分率法の操作条件(1)により定量する。

2, 6-ジメチルピラジン



## 2,6-ジメチルピラジンに係る成分規格等の設定根拠

### 含量

JECFA は 2,6-, 2,3-, 2,5-ジメチルピラジンの異性体総量値として「98%以上」、FCC は  $C_6H_8N_2$  の異性体総量値として「98.0%以上」を規格値としている。本規格案では、国際整合性を考慮して FCC 規格及び JECFA 規格と同水準の規格値とするが、他の添加物の規格値との整合性を考慮して小数点下一桁までを有効数字とし、「2,6-ジメチルピラジン、2,3-ジメチルピラジン及び 2,5-ジメチルピラジンの混合物 ( $C_6H_8N_2$ ) 98.0%以上を含む」とした。

### 性状

JECFA、FCC とともに「ナッツ、コーヒー様のおいの白色から黄色のごつごつした結晶 (lumpy crystals)」を規格としている。

本品は特有の香りを持つが、香気は人により必ずしも同一に感ずるとは限らないことから、本規格案では「白～黄色の結晶で、特有のおいがある。」とした。

### 確認試験

JECFA、FCC、いずれも確認試験に IR 法を採用していることから本規格でも IR 法を採用した。

### 純度試験

- (1) 融点 JECFA は「48℃」、FCC は「35～40℃」としている。含量 98.1%の本品の融点を測定したところ 37℃であったため、JECFA の「48℃」は誤りと考え、本規格案では FCC が規格値としている「35～40℃」を採用した。

### 定量法

JECFA、FCC とともに GC 法により含量測定を行っている。また、香料業界及び香料を利用する食品加工メーカーにおいても GC 装置が広く普及しており、測定機器を含めた測定環境に実務上問題は無いことから本規格案でも GC 法を採用することとした。

2,6-ジメチルピラジンは、常温で固体であり（融点 35～40℃）、また沸点が 150℃以上（154～155℃）のため、テトラメチルピラジンの定量法に準じて「本品約 0.2g を精密に量り、エタノールを加えて溶かして正確に 20ml とし、香料試験法中の香料のガスクロマトグラフィーの面積百分率法の操作条件(1)により定量する」とした。

JECFA、FCC では設定されているが、本規格では採用しなかった項目

### 溶解性

JECFA では「水、有機溶剤、油脂に溶ける」、FCC では、「有機溶剤、水に溶ける」としている。また「エタノールへの溶解性」として JECFA では「よく溶ける」として

いる。しかしながら、本規格案では IR による確認試験を規定しており、「溶解性」の必要性は低いため、本規格では採用しないこととした。

#### 沸点

沸点の規格は JECFA では「154℃」、FCC では「155℃」とされている。

一般に、香料化合物は、加熱分解臭をつけないように精密蒸留による一定の範囲の留分を得たものであり、その品質管理は GC 法、IR 法等により十分担保される。したがって、沸点は必ずしも香料化合物の品質規格管理項目として重要ではないと考えられることから、本規格案では沸点に係る規格を採用しないこととした。

#### 比重

FCC には比重 (0.965/50℃) の規定があるが、JECFA には規格項目が無い。本品は融点が 35~40℃の常温で固体であり、また本品の品質管理は GC 法、IR 法等により実施されるため、本規格案では「比重」に係る規格を設定しないこととした。

#### 強熱残分

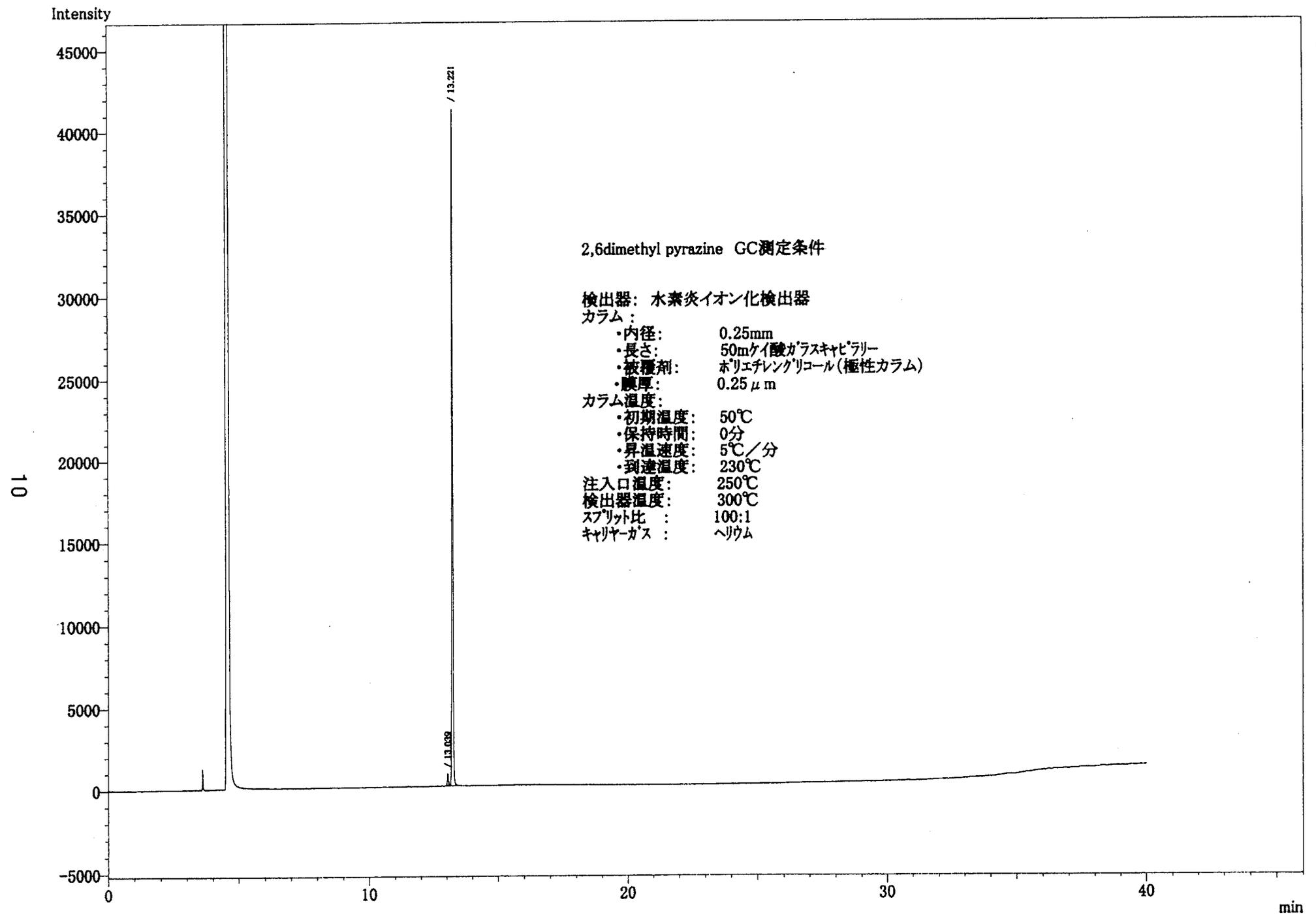
FCC には強熱残分 (0.1%以下) の規定があるが、JECFA には規格項目が無い。一般に、香料化合物は、加熱分解臭をつけないように減圧精密蒸留による一定の範囲の留分を得たものである。また、本品は保管中に重合等、新たなる不揮発成分の生成が考えにくい。したがって、本規格案では「強熱残分」に係る規格を採用しないこととした。

#### 水分

FCC には水分含量 (0.5%以下) の規定があるが、JECFA には規格項目が無い。本品は蒸留精製され製造過程で生じる水は十分除去されていること、本品は吸湿性ではないこと、また水分含量は必ずしも香料化合物の品質規格管理項目として重要ではないと考えられることから、本規格案では「水分」に係る規格を設定しないこととした。

香料「2,6-ジメチルピラジン」の規格対比表

	規格案	JECFA	FCC
含量	98.0%以上 (異性体合計)	98%以上 (2,3- 2,5- and 2,6-isomersの合計として)	98.0%以上 (C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub> として)
性状	本品は、白～黄色の結晶で、特有のにおいがある。	white to yellow lumpy crystals with a nutty, coffee-like odour	white to yellow, lumpy crystals. nutty, coffee
確認試験	IR法(参照スペクトル法)	IR法(参照スペクトル法)	IR法(参照スペクトル法)
融点	35～40℃	48℃	35℃～40℃
溶解性	(設定せず)	soluble in water, organic solvents	soluble in water, organic solvents
エタノール溶解性	(設定せず)	very soluble	-
沸点	(設定せず)	154℃	～155℃
比重	(設定せず)	-	0.965 (50℃)
強熱残分	(設定せず)	-	0.1%以下
水分	(設定せず)	-	0.5% 以下 (カールフィッシャー)
定量法	GC(1)	GC	GC(極性カラム)



2,6dimethyl pyrazine GC測定条件

検出器: 水素炎イオン化検出器

カラム:

- 内径: 0.25mm
- 長さ: 50mケイ酸ガラスキャピラリー
- 被覆剤: ポリエチレングリコール(極性カラム)
- 膜厚: 0.25 μm

カラム温度:

- 初期温度: 50℃
- 保持時間: 0分
- 昇温速度: 5℃/分
- 到達温度: 230℃

注入口温度:

検出器温度:

スプリット比:

キャリアガス:

- 250℃
- 300℃
- 100:1
- ヘリウム

10

min

(参考)

これまでの経緯

平成20年2月8日	厚生労働大臣から食品安全委員会委員長あてに添加物の指定に係る食品健康影響評価について依頼
平成20年2月14日	第226回食品安全委員会（依頼事項説明）
平成20年5月26日	第58回食品安全委員会添加物専門調査会
平成20年6月5日 ～平成20年7月4日	第241回食品安全委員会（報告） 食品安全委員会における国民からの意見聴取
平成20年7月31日	第249回食品安全委員会（報告） 食品安全委員会より食品健康影響評価結果の通知
平成20年9月24日	薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会添加物部会

●薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会添加物部会（平成20年9月現在）

[委員]

氏名	所属
石田 裕美	女子栄養大学教授
井手 速雄	東邦大学薬学部教授
井部 明広	東京都健康安全研究センター
北田 善三	畿央大学健康科学部教授
佐藤 恭子	国立医薬品食品衛生研究所食品添加物部第一室長
棚元 憲一	国立医薬品食品衛生研究所食品添加物部長
長尾 美奈子※	慶應義塾大学薬学部客員教授
堀江 正一	埼玉県衛生研究所 水・食品担当部長
米谷 民雄	静岡県立大学 食品栄養科学部 客員教授
山内 明子	日本生活協同組合連合会組織推進本部 本部長
山川 隆	東京大学大学院農学生命科学研究科准教授
山添 康	東北大学大学院薬学研究科教授
吉池 信男	青森県立保健大学健康科学部 栄養学科長 公衆栄養学教授
由田 克士	独立行政法人国立健康・栄養研究所 栄養疫学プログラム国民健康・栄養調査プロジェクトリーダー

※部会長

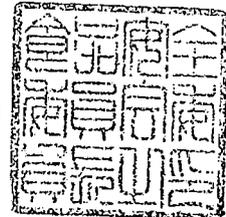




府食第839号  
平成20年7月31日

厚生労働大臣  
舛添 要一 殿

食品安全委員会  
委員長 見上 彪



食品健康影響評価の結果の通知について

平成20年2月7日付け厚生労働省発食安第0207003号をもって貴省から当委員会に意見を求められた2,6-ジメチルピラジンに係る食品健康影響評価の結果は下記のとおりですので、食品安全基本法（平成15年法律第48号）第23条第2項の規定に基づき通知します。

なお、食品健康影響評価の詳細は別添のとおりです。

記

2,6-ジメチルピラジンは、食品の着香の目的で使用する場合、安全性に懸念がないと考えられる。

# 添加物評価書

## 2,6-ジメチルピラジン

2008年7月

食品安全委員会

## 目次

	頁
○審議の経緯 .....	2
○食品安全委員会委員名簿 .....	2
○食品安全委員会添加物専門調査会専門委員名簿 .....	2
○要 約 .....	3
I. 評価対象品目の概要 .....	4
1. 用途 .....	4
2. 化学名 .....	4
3. 分子式 .....	4
4. 分子量 .....	4
5. 構造式 .....	4
6. 評価要請の経緯 .....	4
II. 安全性に係る知見の概要 .....	5
1. 反復投与毒性 .....	5
2. 発がん性 .....	5
3. 遺伝毒性 .....	5
4. その他 .....	6
5. 摂取量の推定 .....	6
6. 安全マージンの算出 .....	6
7. 構造クラスに基づく評価 .....	6
8. JECFA における評価 .....	6
9. 食品健康影響評価 .....	6
<別紙：香料構造クラス分類 (2,6-ジメチルピラジン) > .....	8
<参照> .....	9

<審議の経緯>

- 2008年2月8日 厚生労働大臣から添加物の指定に係る食品健康影響評価について要請（厚生労働省発食安第0207003号）、関係書類の接受
- 2008年2月14日 第226回食品安全委員会（要請事項説明）
- 2008年5月26日 第58回添加物専門調査会
- 2008年6月5日 第241回食品安全委員会（報告）
- 2008年6月5日より7月4日 国民からの御意見・情報の募集
- 2008年7月29日 添加物専門調査会座長より食品安全委員会委員長へ報告
- 2008年7月31日 第249回食品安全委員会（報告）  
（同日付け厚生労働大臣に通知）

<食品安全委員会委員名簿>

見上 彪（委員長）  
小泉 直子（委員長代理）  
長尾 拓  
野村 一正  
畑江 敬子  
廣瀬 雅雄  
本間 清一

<食品安全委員会添加物専門調査会専門委員名簿>

福島 昭治（座長）  
山添 康（座長代理）  
石塚 真由美  
井上 和秀  
今井田 克己  
梅村 隆志  
江馬 眞  
久保田 紀久枝  
頭金 正博  
中江 大  
中島 恵美  
林 眞  
三森 国敏  
吉池 信男

<参考人>

森田 明美

## 要 約

食品の香料に使用される添加物「2,6-ジメチルピラジン」(CAS 番号 : 108-50-9) について、各種試験成績等を用いて食品健康影響評価を実施した。

評価に供した試験成績は、反復投与毒性及び遺伝毒性である。

本物質には、生体にとって特段問題となる毒性はないと考えられる。また、「国際的に汎用されている香料のわが国における安全性評価法」により、クラスⅡに分類され、安全マージン (100,000) は 90 日間反復投与毒性試験の適切な安全マージンとされる 1,000 を上回り、かつ想定される推定摂取量 (2 µg /ヒト/日) が構造クラスⅡの摂取許容値 (540 µg /ヒト/日) を下回ることを確認した。

2,6-ジメチルピラジンは、食品の着香の目的で使用する場合、安全性に懸念がないと考えられる。

## I. 評価対象品目の概要

### 1. 用途

香料

### 2. 化学名 (参照 1)

和名：2,6-ジメチルピラジン

英名：2,6-Dimethylpyrazine

CAS 番号：108-50-9

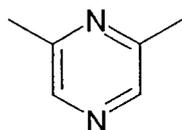
### 3. 分子式 (参照 2)

$C_6H_8N_2$

### 4. 分子量 (参照 2)

108.14

### 5. 構造式 (参照 2)



### 6. 評価要請の経緯

2,6-ジメチルピラジンは、アスパラガス、生落花生、緑茶等の食品中に天然に存在するほか牛肉、豚肉、エビ、ポテト等の加熱調理、及びコーヒー、カカオ等の焙煎により生成する成分である (参照 1)。欧米では、焼き菓子、アイスクリーム、清涼飲料、肉製品等の様々な加工食品において香りを再現し、風味を向上させるために添加されている (参照 2)。

厚生労働省は、2002 年 7 月の薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会での了承事項に従い、①FAO/WHO 食品添加物合同専門家会議 (JECFA) で国際的に安全性評価が終了し、一定の範囲内で安全性が確認されており、かつ、②米国及び欧州連合 (EU) 諸国等で使用が広く認められていて国際的に必要性が高いと考えられる食品添加物については、企業等からの指定要請を待つことなく、国が主体的に指定に向けた検討を開始する方針を示している。今般香料の成分として、2,6-ジメチルピラジンについて評価資料がまとまったことから、食品安全基本法に基づき、食品健康影響評価が食品安全委員会に依頼されたものである。

なお、香料については厚生労働省が示していた「食品添加物の指定及び使用基準改正に関する指針」には基づかず、「国際的に汎用されている香料の安全性評価の方法について」に基づき資料の整理が行われている。(参照 3)

## II. 安全性に係る知見の概要

### 1. 反復投与毒性

5週齢のSDラット（各群雌雄各10匹）への強制経口投与による90日間反復投与毒性試験（0、0.04、0.4、4 mg/kg 体重/日）において、雄4 mg/kg 体重/日投与群の1例で一般状態等の悪化が見られたため、83日目に屠殺して病理学的検査を行った結果、悪性リンパ腫が認められたが、1例のみの変化であることから被験物質の影響によるものではないと判断された。それ以外のすべての投与群の一般状態の観察、体重測定、摂餌量測定、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、眼科的検査、臓器重量測定、病理解剖検査及び病理組織学的検査において、毒性変化は認められなかった。

この結果より、無毒性量（NOAEL）は、4 mg/kg 体重/日と考えられる。（参照4）

### 2. 発がん性

発がん性試験は行われておらず、国際機関（International Agency for Research on Cancer（IARC）、European Chemicals Bureau（ECB）、U. S. Environmental Protection Agency（EPA）、National Toxicology Program（NTP））でも、発がん性の評価はされていない。

### 3. 遺伝毒性

細菌（*Salmonella typhimurium* TA98、TA100、TA102）を用いた復帰突然変異試験（最高濃度0.5 mmol/plate（54.1 mg/plate））では、代謝活性化の有無に関わらず陰性であった。（参照5）

細菌（*S. typhimurium* TA98、TA100）を用いた復帰突然変異試験（最高濃度100 µmol/plate（10.8 mg/plate））では、代謝活性非存在下の一部の用量群で陽性であったが、再現性がないこと、代謝活性化系の導入により陰性となることから、毒性学的に問題ないものと考えた。（参照6）

細菌（*S. typhimurium* TA98、TA100、TA1537）を用いた復帰突然変異試験（最高濃度200 mg/plate）では、代謝活性化の有無に関わらず陰性であった。（参照7）

酵母（*Saccharomyces cerevisiae* D5）を用いた分裂組換え及び突然変異誘発試験（最高濃度33.8 mg/mL）では、全ての用量群において陽性の結果が認められたが、現行ガイドラインで設定されている限界用量より高い用量のみでの反応であり、毒性学的に意義のあるものとは考えられなかった。（参照7）

チャイニーズ・ハムスター培養細胞（CHO細胞）を用いた染色体異常試験（最高濃度10 mg/mL）では最高濃度において陽性の結果が認められたが、現行ガイドラインで設定されている限界用量より高い用量のみでの反応であり、毒性学的に意義のあるものとは考えられなかった。（参照7）

9週齢のICRマウス（各群雄5匹）を用いてGLP下で行われた *in vivo* 骨髄小核試験（最高用量1,000 mg/kg 体重/日×2、強制経口投与）では、陰性であった。

(参照 8)

以上の結果から、本物質には生体にとって問題となる遺伝毒性はないものと考えられた。

#### 4. その他

3 週齢の Wistar ラット(各群雄 5~7 匹)への皮下投与による 2 週間の試験(0、10、30、70、100 mg/kg 体重/日)において、100 mg/kg 体重/日投与群で精囊重量が有意に減少した。(参照 9)

本試験は経口投与による試験成績ではないことから、NOAEL の設定根拠には用いなかった。

#### 5. 摂取量の推定

本物質の香料としての年間使用量の全量を人口の 10%が消費していると仮定する JECFA の PCTT (Per Capita intake Times Ten) 法による 1995 年の米国および欧州における一人一日当たりの推定摂取量は、両者ともに 2 µg (参照 10) である。正確には認可後の追跡調査による確認が必要と考えられるが、既に認可されている香料物質のわが国と欧米の推定摂取量が同程度との情報があることから(参照 11)、わが国での本物質の推定摂取量は、おおよそ 2 µg になると推定される。なお、米国では食品中にもともと存在する成分としての本物質の摂取量は、意図的に添加された本物質の 2,600 倍であると報告されている。(参照 12)

#### 6. 安全マージンの算出

90 日間反復投与毒性試験の NOAEL 4 mg/kg 体重/日と、想定される推定摂取量 (2 µg /ヒト/日) を日本人平均体重 (50 kg) で割ることで算出される推定摂取量 (0.00004 mg/kg 体重/日) と比較し、安全マージン 100,000 が得られる。

#### 7. 構造クラスに基づく評価

本物質は構造クラス II に分類される。ピラジン誘導体に分類される食品成分であり、ピラジン環の 2 位及び 6 位に置換しているメチル基が酸化されてピラジンカルボン酸を生成し、排泄される。本物質及びその推定代謝産物は生体成分ではないが、雄の Wistar ラットへの 100 mg/kg 体重の投与で 24 時間以内に代謝産物のほとんどが排泄される。(参照 3、10、13、14)

#### 8. JECFA における評価

JECFA では、2001 年にピラジン誘導体のグループとして評価され、推定摂取量 (2 µg /ヒト/日) は、クラス II の摂取許容値 (540 µg/ヒト/日) を下回るため、香料としての安全性の問題はないとされている。(参照 10)

#### 9. 食品健康影響評価

本物質には、生体にとって特段問題となる毒性はないと考えられる。また、「国

際的に汎用されている香料のわが国における安全性評価法」により、クラスⅡに分類され、安全マージン（100,000）は90日間反復投与毒性試験の適切な安全マージンとされる1,000を上回り、かつ想定される推定摂取量（2 μg /ヒト/日）が構造クラスⅡの摂取許容値（540 μg /ヒト/日）を下回ることを確認した。

2,6-ジメチルピラジンは、食品の着香の目的で使用する場合、安全性に懸念がないと考えられる。



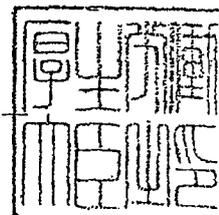
<参照>

- 1 TNO Volatile compounds in food. Ed. By L.M.Nijssen et.al. 7<sup>th</sup>.ed. Index of compounds. TNO Nutrition and Food Research Institute. Zeist. (1996)
- 2 RIFM-FEMA Database, (Accessed in 2005) , Material Information on 2,6-Dimethylpyrazine (未公表)
- 3 香料安全性評価法検討会. 国際的に汎用されている香料の安全性評価の方法について (最終報告・再訂正版) . (2003)
- 4 2,6-ジメチルピラジンのラットにおける 90 日間反復経口投与毒性試験 (財) 化学物質評価研究機構 (厚生労働省委託試験) (2005)
- 5 Aeschbacher, U. W., et. al., Contribution of coffee aroma constituents to the mutagenicity of coffee, *Fd. Chem. Toxicol.* (1989) 27 (4) : 227-232
- 6 Lee H., et. al., Genotoxicity of 1,3-dithian and 1,4-dithiane in the CHO/SCE assay and the Salmonella/microsomal test, *Mutation Research* (1994) 321:213-218
- 7 Stich, H. F., et. al., Mutagenic activity of pyrazine derivatives : a comparative study with *Salmonella typhimurium*, *Saccharomyces cerevisiae* and Chinese hamster ovary cells., *Fd. Cosmet.. Toxicol.* (1980) 18: 581-584
- 8 2,6-ジメチルピラジンのマウスを用いる小核試験 (財) 食品薬品安全センター 秦野研究所 (厚生労働省委託試験) (2005)
- 9 Yamada K. et al., Effects of dimethylpyrazine isomers on reproductive and accessory reproductive organs in male rats. *Biol. Pharm. Bull.*, (1993) 16 (2) : 203-206
- 10 WHO Food Additives Series 48. Safety Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants, Pyrazine Derivatives (Report of 57th JECFA meeting)
- 11 平成 14 年度厚生労働科学研究報告書「日本における食品香料化合物の使用量実態調査」、日本香料工業会
- 12 Adams T. B. et.al. The FEMA GRAS assessment of pyrazine derivatives used as flavor ingredients. *Fd. Chem. Toxicol.* (2002) 40: 429-451
- 13 Hawksworth, G. et.al. Metabolism in the rat of some pyrazine derivatives having flavour importance in foods. *Xenobiotica*, (1975) 5 (7) : 389-399
- 14 アルキルピラジン類の構造クラス (要請者作成資料)

厚生労働省発食安第0909006号  
平成20年9月9日

薬事・食品衛生審議会  
会長 望月 正隆 殿

厚生労働大臣 舛添 要



諮 問 書

食品衛生法（昭和22年法律第233号）第10条及び第11条第1項の規定に基づき、下記の事項について、貴会の意見を求めます。

記

1. デンプンリン酸エステルナトリウムの添加物としての指定削除の可否について
2. デンプンリン酸エステルナトリウムの添加物としての使用基準及び成分規格の削除について



## デンプンリン酸エステルナトリウムの添加物としての指定削除に関する部会報告書（案）

## 1. 品目名：デンプンリン酸エステルナトリウム

Sodium Starch Phosphate

## 2. 概要

デンプンリン酸エステルナトリウムは、昭和 39 年 7 月 15 日に指定された添加物である。

平成 19 年 11 月 28 日に開催された添加物部会において、加工デンプン 11 品目の指定について審議が行われた。その際に、加工デンプンの 1 つであるリン酸化デンプンとデンプンリン酸エステルナトリウムの成分規格が一部重複していること<sup>1)</sup>が明らかとなった。このことは、リン酸化デンプンが添加物として指定された場合に、1 つの物質に対し、2 つの成分規格が存在することを意味し、規定上の混乱を招く可能性が示唆された。一方で、デンプンリン酸エステルナトリウムは、平成 10 年、13 年、17 年の生産量調査によると、食品添加物としての使用実績が無いとされている<sup>2)3)</sup>。以上の点を踏まえ、都道府県等を通じてデンプンリン酸エステルナトリウムの流通実態の調査<sup>4)</sup>を行ったところ、販売等の使用実績は確認されなかった。

## 3. 指定及び規格基準の削除について

デンプンリン酸エステルナトリウムを食品衛生法第 10 条の規定に基づく添加物としての指定を削除するとともに、同法 11 条第 1 項の規定に基づく規格基準を削除することが適当である。

1) 両者ともデンプンにリン酸塩を作用させてエステル化を行う。結合リンの規格は、デンプンリン酸エステルナトリウムでは 0.2~3%、リン酸化デンプンでは 0.5%以下と設定されている。成分規格の詳細については参考資料 1 及び参考資料 2 を参照のこと。

2) 平成 16 年度厚生労働科学研究費補助金報告書 生産量統計を基にした食品添加物の摂取量の推定

3) 平成 18 年度厚生労働科学研究費補助金報告書 生産量統計を基にした食品添加物の摂取量の推定

4) 平成 20 年 2 月 18 日 「デンプンリン酸エステルナトリウムの販売等調査及び加工デンプンの添加物指定に伴う食品表示の変更及び製造業の許可の取得等に関する情報提供について（周知依頼）」（食安基発第 0218003 号）

## デンプンリン酸エステルナトリウム

### Sodium Starch Phosphate

**性 状** 本品は、白～類白色の粉末で、ほとんどにおいが無い。

**確認試験** (1) 本品 0.1g に水 10ml を加え、必要があれば振り混ぜながら加熱して均等な糊状とした後、冷却する。この液 5 滴に水 10ml を加えて振り混ぜ、ヨウ素試液 1 滴を加えるとき、液は、青～赤紫色を呈する。

(2) 本品を乾燥し、その約 4g を精密に量り、水 70ml を加え、かき混ぜながら加熱して均等な糊状とした後、40℃で 30 分間放置する。これにアミラーゼ試液 20ml を加え、更に 40℃で 30 分間放置した後、冷却する。この液を内径 1cm のカラム管に強酸性陽イオン交換樹脂約 20ml を詰めた樹脂柱に注いで流出させる。流速は、1 分間約 2ml の速さに調整する。流出後、水 150ml で樹脂柱を洗い、洗液を流出液に合わせ、水を加えて 250ml とし、A 液とする。

A 液 100ml を量り、内径 1cm のカラム管に弱塩基性陰イオン交換樹脂約 15ml を詰めた樹脂柱に注いで流出させる。流速は、1 分間約 2ml の速さに調整する。流出後、水 80ml で樹脂柱を洗い、洗液を流出液に合わせ、水を加えて 200ml とし、B 液とする。

B 液 20ml を量り、分解フラスコに入れ、弱く加熱して約 2ml になるまで濃縮し、冷後、硫酸 5ml 及び過酸化水素 3ml を加え、液が白煙を生じるまで穏やかに加熱する。冷後、水 50ml を加えて 15 分間再び穏やかに煮沸する。冷後、冷却しながらアンモニア水又はアンモニア試液で中和し、水を加えて 100ml とし、C 液とする。

C 液 10ml に硫酸(3→10) 1ml、モリブデン酸アンモニウム試液 2ml 及び 1-アミノ-2-ナフトール-4-スルホン酸試液 1ml を加えるとき、液は、5 分以内に緑青～青色を呈する。

(3) 本品 1g を 450～550℃で 3 時間強熱して得た残留物は、ナトリウム塩の反応を呈する。

**純度試験** (1) 液性 pH6.0～7.5

本品 0.50g を量り、水 50ml を加え、必要があれば振り混ぜながら加熱して均等な糊状とし、放冷した液について測定する。

(2) 重金属 Pb として 30 μg/g 以下(1.0g, 第 2 法, 比較液 鉛標準液 3.0ml)

(3) ヒ素 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> として 4.0 μg/g 以下(0.50g, 第 3 法, 装置 B)

(4) 結合リン 0.2～3.0%

確認試験(2)の C 液 10ml を量り、硫酸(3→10) 1ml、モリブデン酸アンモニウム試液 2ml、1-アミノ-2-ナフトール-4-スルホン酸試液 1ml 及び水を加えて 25ml とし、30 分

間放置した後、検液とし、波長 740nm における吸光度を測定する。必要があれば C 液の採取量を調整し、吸光度が 0.2~0.7 になるようにする。別にリン酸一カリウム標準液 5.0ml を量り、水を加えて 1,000ml とする。この液 5.0ml, 10ml 及び 20ml をそれぞれ量り、それぞれに硫酸(3→10) 1ml, モリブデン酸アンモニウム試液 2ml, 1-アミノ-2-ナフトール-4-スルホン酸試液 1ml 及び水を加えてそれぞれ 25ml とし、30 分間放置した後、波長 740nm におけるそれぞれの吸光度を測定し、検量線を作成する。これらの対照液として硫酸(3→10) 1ml, モリブデン酸アンモニウム試液 2ml 及び 1-アミノ-2-ナフトール-4-スルホン酸試液 1ml を量り、水を加えて 25ml とした液を用いる。ここに得た検量線と検液の吸光度から結合リン量(mg)を求め、試料の採取量に対する割合を求める。

(5) 無機リン 総リンに対し 20%以下

確認試験(2)の A 液 10ml を量り、分解フラスコに入れ、以下確認試験(2)で B 液より C 液を調製するときと同様に操作して得た液を D 液とする。D 液 10ml を量り、硫酸(3→10) 1ml, モリブデン酸アンモニウム試液 2ml, 1-アミノ-2-ナフトール-4-スルホン酸試液 1ml 及び水を加えて 25ml とし、30 分間放置した後、波長 740nm における吸光度を測定する。必要があれば D 液の採取量を調整し、吸光度が 0.2~0.7 になるようにする。以下(4)と同様に操作し、総リンの量(mg)を求める。この値及び(4)で得た結合リンの量(mg)から次式により無機リンの総リンに対する割合を求める。

無機リンの総リンに対する割合

$$= \frac{\text{総リンの量(mg)} - \text{結合リンの量(mg)}}{\text{総リンの量(mg)}} \times 100 (\%)$$

乾燥減量 15.0%以下(105°C, 4 時間)

アセチル化アジピン酸架橋デンプン、アセチル化リン酸架橋デンプン、アセチル化酸化デンプン、オクテニルコハク酸デンプンナトリウム、酢酸デンプン、酸化デンプン、ヒドロキシプロピルデンプン、ヒドロキシプロピル化リン酸架橋デンプン、リン酸モノエステル化リン酸架橋デンプン、リン酸化デンプン及びリン酸架橋デンプンの食品添加物の指定に関する添加物部会報告書

1. 品目名

① アセチル化アジピン酸架橋デンプン

英名 : Acetylated distarch adipate

簡略名 : 加工デンプン

[CAS 番号 : なし]

② アセチル化リン酸架橋デンプン

英名 : Acetylated distarch phosphate

簡略名 : 加工デンプン

[CAS 番号 : 68130-14-3]

③ アセチル化酸化デンプン

英名 : Acetylated oxidized starch

簡略名 : 加工デンプン

[CAS 番号 : 68187-08-6]

④ オクテニルコハク酸デンプンナトリウム

英名 : Starch sodium octenylsuccinate

簡略名 : 加工デンプン、オクテニルコハク酸デンプン Na

[CAS 番号 : なし]

⑤ 酢酸デンプン

英名 : Starch acetate

簡略名 : 加工デンプン

[CAS 番号 : 9045-28-7]

⑥ 酸化デンプン

英名 : Oxidized starch

簡略名 : 加工デンプン

[CAS 番号 : なし]

⑦ ヒドロキシプロピルデンプン

英名 : Hydroxypropyl starch

簡略名 : 加工デンプン

[CAS 番号 : 9049-76-7]

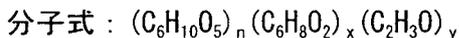
- ⑧ ヒドロキシプロピル化リン酸架橋デンプン  
 英名：Hydroxypropyl distarch phosphate  
 簡略名：加工デンプン  
 [CAS 番号：53124-00-8]
- ⑨ リン酸モノエステル化リン酸架橋デンプン  
 英名：Phosphated distarch phosphate  
 簡略名：加工デンプン  
 [CAS 番号：なし]
- ⑩ リン酸化デンプン  
 英名：Monostarch phosphate  
 簡略名：加工デンプン  
 [CAS 番号：63100-01-6]
- ⑪ リン酸架橋デンプン  
 英名：Distarch phosphate  
 簡略名：加工デンプン  
 [CAS 番号：55963-33-2]

## 2. 製法、分子式、性質

製法、分子式、性質は以下の通り。なお、性質はデンプンと比較した場合の付加的性質を示す。

### ① アセチル化アジピン酸架橋デンプン

製法：デンプンを無水酢酸と無水アジピン酸でエステル化する。

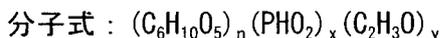


デンプン分子間のいくつかの水酸基がアジピン酸基で架橋されている。また、デンプン分子の水酸基のうち、いくつかがアセチル化されている。

性質：糊化開始温度が低い。加熱時に膨潤しにくい。離水等のデンプン老化が遅い。耐せん断性、耐酸性を有する。（酢酸デンプンと架橋デンプンの性質を併せ持つ。）

### ② アセチル化リン酸架橋デンプン

製法：デンプンをオキシ塩化リン又はトリメタリン酸及び無水酢酸又は酢酸ビニルでエステル化する。

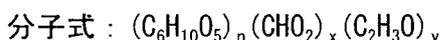


デンプン分子間のいくつかの水酸基がリン酸で架橋されている。また、デンプン分子の水酸基のうち、いくつかがアセチル化されている。

性質：アセチル化アジピン酸架橋デンプンと同様。

### ③ アセチル化酸化デンプン

製法：デンプンを次亜塩素酸ナトリウムで処理（酸化）後、無水酢酸でエステル化する。

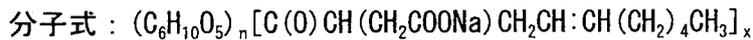


デンプン分子の水酸基のうち、いくつかがアセチル化、酸化されている。

性質：糊化開始温度が低い。糊液の粘性が低い。透明性が高い。老化が遅い。色が白い。（酢酸デンプンと酸化デンプンの性質を併せ持つ。）

④ オクテニルコハク酸デンプンナトリウム

製法：デンプンを無水オクテニルコハク酸でエステル化する。

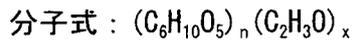


デンプン分子の水酸基のうち、いくつかがおクテニルコハク酸でエステル化されている。

性質：糊化温度はやや低い。粘性が高い。保存安定性も高い。乳化能を持つ。

⑤ 酢酸デンプン

製法：デンプンを無水酢酸又は酢酸ビニルでエステル化する。

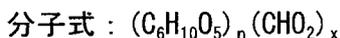


デンプン分子の水酸基のうち、いくつかがアセチル化されている。

性質：グルコース1残基当たりの置換基の数（以下「置換度」という。）が増すほど糊化温度が低下し、弾力が減少し、粘着性が強い。デンプンを含む食品の調理後の老化に対する安定性と透明性が高い。

⑥ 酸化デンプン

製法：デンプンを次亜塩素酸ナトリウムで処理（酸化）したもの。

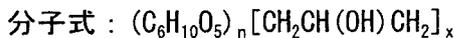


デンプン分子の水酸基のうち、いくつかは酸化されている。

性質：糊化開始温度が低い。糊液の粘性が低い。糊液の粘度安定性が高い。老化が遅い。透明性が高い。色が白い。

⑦ ヒドロキシプロピルデンプン

製法：デンプンをプロピレンオキシドでエーテル化したもの。

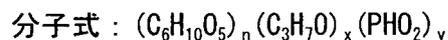


デンプン分子の水酸基のうち、いくつかはヒドロキシプロピル基でエーテル化されている。

性質：ヒドロキシプロピル基の導入により親水性が増大する（置換度 0.1 で糊化温度が10℃程度低下する）。水と加熱すると均一な糊液となる。糊液は冷却しても透明であり、冷蔵や、凍結融解に対して優れた安定性を持つ。

⑧ ヒドロキシプロピル化リン酸架橋デンプン

製法：デンプンをトリメタリン酸ナトリウム又はオキシ塩化リンでエステル化し、プロピレンオキシドでエーテル化したもの。

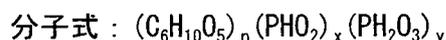


デンプン分子間のいくつかの水酸基がリン酸で架橋されている。また、デンプン分子の水酸基のうち、いくつかはヒドロキシプロピル基でエーテル化されている。

性質：ヒドロキシプロピル基の導入により親水性が増大し、糊化温度が低下する、加熱時に糊液が膨潤しにくい。粘性が調節されている。冷却時、凍結、融解時及び加熱時の透明性・安定性が高い。（ヒドロキシプロピルデンプンとリン酸架橋デンプンの性質を併せ持つ。）

⑨ リン酸モノエステル化リン酸架橋デンプン

製法：リン酸化デンプンとリン酸架橋デンプンの製造法を組み合わせ製造したもの。



デンプン分子間のいくつかの水酸基がリン酸で架橋されている。また、デンプン

ン分子の水酸基のうち、いくつかがリン酸化されている。

性質：透明で安定性が高い。凍結に対する安定性が高い。電解性があるので耐塩性、耐酸性が低い。

#### ⑩ リン酸化デンプン

製法：デンプンをオルトリン酸、又はオルトリン酸カリウム、又はオルトリン酸ナトリウム、又はトリポリリン酸ナトリウムでエステル化する。

分子式： $(C_6H_{10}O_5)_n(PH_2O_3)_x$

デンプン分子の水酸基のうち、いくつかがリン酸化されている。

性質：置換度が上がるにつれて糊化しやすくなる。置換度 0.05 付近から冷水でも膨潤する。糊液は高粘性で透明である。保水性が強く老化しにくいので耐冷凍性が高い。

#### ⑪ リン酸架橋デンプン

製法：デンプンをトリメタリン酸ナトリウム又はオキシ塩化リンでエステル化する。

分子式： $(C_6H_{10}O_5)_n(PHO_2)_x$

デンプン分子間のいくつかの水酸基がリン酸で架橋されている。

性質：デンプン粒の膨潤や糊化が抑制され、かく拌や酸による粘度低下に抵抗性を持つ。低架橋度のものは、デンプン粒の膨潤が適度に抑制されて粘度が上昇するが、高架橋度のものはデンプン粒の膨潤が強く抑制され、粘度は低下する。

### 3. 用途

糊料、乳化剤、増粘安定剤等

### 4. 概要及び諸外国での使用状況

#### (1) 加工デンプンの指定の経緯

加工デンプンは、一般にデンプン本来の物理的性状（高粘性、冷却時のゲル化等）を改善するために、物理的、酵素的又は化学的に処理を行ったものを称しており、糊料、乳化剤、増粘安定剤及び食品の製造用剤として広く利用されている。

このうち、通常の調理過程でも起こりうる加熱処理等の物理的処理を行ったもの及びアミラーゼ等の酵素による処理を行ったものについては、我が国及び EU においては食品として取扱われているが、米国においては添加物として取扱われている。一方、各種化学物質を用いて化学的処理を行ったものは、米国及び EU ではともに添加物として取扱われている。

我が国においては、化学的処理を行ったもののうち、デンプングリコール酸ナトリウム及びデンプンリン酸エステルナトリウムの 2 品目が昭和 30 年代に添加物として指定されている。その他の化学的処理を行ったものは、昭和 54 年以降、FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議 (JECFA) において安全性評価が終了しているものに限って、食品として取扱われている。

このようなことから、化学的処理を行ったものは、米国及び EU においては添加物として取扱われており、我が国においても該当する 11 品目については、添加物として指定を行うものである。

#### (2) 加工デンプンの概要

加工デンプンは、デンプンを食品に工業的に利用する際に冷水、室温溶解性がない、糊化温度が高い、加熱溶解時粘性が安定しない、放冷時、保存時の物性安定性に欠け、離水するといった欠点を克服するために、デンプンに物理的、酵素的、又は化学的に加工を加えたものである。物理的加工は、乾燥、加熱、かく拌等の処理、酵素的加工は  $\alpha$ -アミラーゼなどでの酵素処理、化学的加工は各種の化学物質を用いてデンプンを構成するグルコー

ス鎖を化学的に修飾する、又はデンプン分子間若しくは分子内架橋処理を行うものをいう。化学的処理による加工デンプンは、グルコースの水酸基に種々の官能基を導入して様々な特性を付与したもので、欧米を始めとする諸外国において使用されている。

### (3) 諸外国での使用状況

米国では、加工デンプンは1950年代からFDAの管理下で使用されており、現在は、FDAの連邦規則集21(21CFR)の中で、ヒトが摂取する食品への直接添加が認められる食品添加物とされている。ただし、21CFRでは個々の食品添加物名を記載するのではなく、化学的処理に使用する物質名が記載されており、今回指定の対象としている11品目の加工デンプンを製造するための物質は全てこの中に含まれている。

EUでは、1995年に今回対象としている11品目の加工デンプンの使用を認めている。ただし、乳幼児を対象とする食品に対し、以下のとおり使用基準を設定している。

- ・ Infant Formulae for infant 及び Follow-on Formulae for infant に対しては加工デンプンを使用してはならない。
- ・ Weaning Food for Infant and Young Children に対しては、ヒドロキシプロピルデンプン、ヒドロキシプロピル化リン酸架橋デンプン以外の9品目の加工デンプンが、5%を上限として使用することができる。

JECFAでは、今回対象としている11品目の加工デンプンは1969年から2001年にかけて、各時点で入手可能な資料に基づき安全性に関して慎重な検討が行われ、最終的に各物質について「ADIを特定しない(not specified)」と評価されている。

## 5. 食品添加物としての有効性

デンプンは、増粘性の付与(例:ソース)、食感・外観の改善(例:プディング)、粘度調整(例:洋菓子の詰め物)、乳化安定(例:ドレッシング)、固結防止(例:アイシング)など、技術的機能性を期待して食品に使用される場合が多いが、未加工のデンプンは原料や製造法の違いなどにより構造や物性は一様ではなく、食品加工に利用するにあたり一般に以下のような欠点がある。

### ① 水への溶解性

冷水、温水に溶解性がなく、水を加えただけでは増粘効果が得られない

### ② 加熱による糊化とその安定性

水を加えたけん濁液を加熱するとデンプンの種類によって異なる一定の温度からデンプン粒は水を吸収して膨潤を始め、粘度が上がり糊化する。液は透明になり溶解状態になる。加熱を続けると膨潤が進み、粘度も最高値を記録するが、ある温度を過ぎるとデンプン粒が崩壊し、粘度が下降し、デンプン分子は加熱前の結晶状態からコロイド状に分散する。このように未加工のデンプンは加熱処理で物性が変化するため、デンプンを加えた食品の物性(例えば粘性)が安定しない。(図1)

### ③ 老化

加熱して糊化したデンプン糊液は、放冷により流動性を失い、白濁し、粘性を失い離水する。コロイド状に分散したデンプン分子は再び結晶化する。このため、未加工のデンプンを加えた食品、特に冷蔵、冷凍食品では組織、粘度の変化、離水が起きやすい。

### ④ 熱、酸、機械的せん断による物性変化

糊化しコロイド状に分散したデンプンは高温・加圧(例:レトルト殺菌)、酸(酸性食品)、

機械的せん断力（例：強い攪拌）などによってデンプン分子が低分子に切断され粘度低下等の組織、物性変化が起き易い。

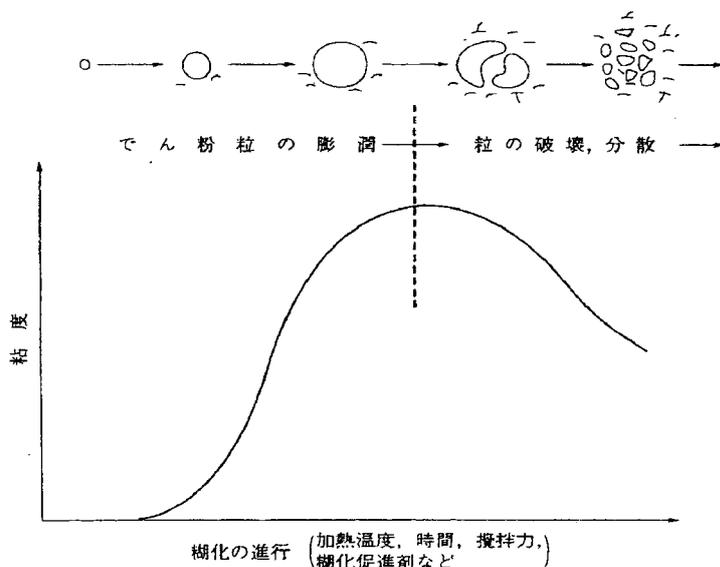
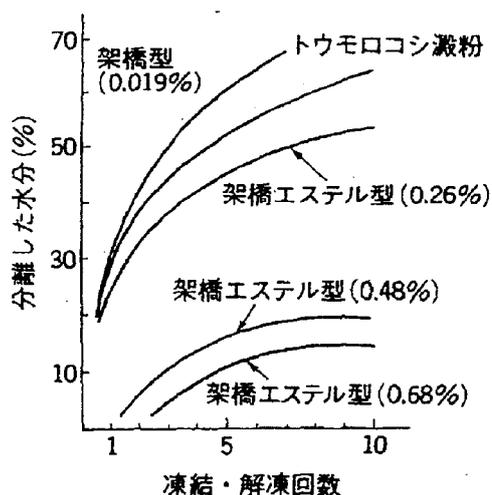


図1 デンプンの糊化の模式図

加工デンプンは、このような欠点を補うと共に、様々な機能性を増強・付与し、さらに、食品の調理・加工性を改善する点で有用性がある。

(1) 保存時の老化抑制

未加工のデンプンを含む食品、特にチルド流通食品や冷凍食品では保存に伴い質感、粘性の低下、離水が起き品質の劣化や冷凍変性が起きることがあるが、エステル基やエーテル基を導入した加工デンプンの使用によってこのような変化を抑えることができる（図2）。



(澱粉濃度 4%, 括弧内数字は結合リン含量 (%))

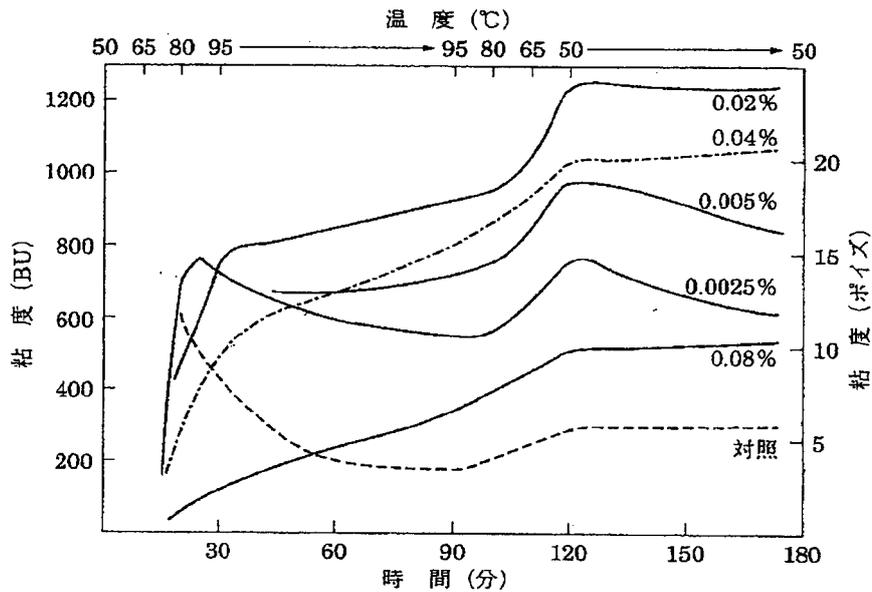
図2 リン酸デンプンの凍結—解凍特性図

(2) 機能性の増強・付与

加工デンプンは、官能基や架橋の導入、酸化処理によって、加工前のデンプンが持っている性質、例えば、糊化温度、粘性、結着性・崩壊性、食感、膨化性、外観、粉末化、油脂吸着性等を改善し、改変することによって食品の嗜好性を高める。

例として、架橋度の異なるリン酸架橋デンプンについて、加熱に伴う粘度変化の状況（アミログラム）を図3に示す。デンプンにトリメタリン酸塩を僅か0.0025%添加し処理した場合でも無処理デンプンと違いが認められ、デンプン粒の膨化、糊化が抑えられ安定な粘度が確保されている。架橋度の増大に伴い、粘度は上昇するが、0.02%以上では逆に粘度は低下し、0.08%では粘度はあまり上昇しない。

このような機能性の増強した加工デンプンを食品に添加して用いることにより、例えば、麺類におけるゆで時間の短縮、畜肉食品製造時のドリップ防止、もちやおでん等の調理時の煮崩れ防止、揚げ物における衣のはがれ防止など、調理加工作業性の向上にも役立つ。



(図中の数字はデンプンに対する架橋化剤、トリメタリン酸の添加率)

図3 架橋ワキシーモロコシデンプンのアミログラム

### (3) 食品への使用試験

#### ① リン酸化デンプンの水系食品への利用<sup>1)</sup>

無処理コーンスターチ、0.13%オルトリン酸処理コーンスターチ (EB 851)、0.37%オルトリン酸処理コーンスターチ (EB 852) を試料とし、それら7.5 gを試験溶液 (クランベリー果汁、水) 100 ml にそれぞれ加え懸濁し、加熱攪拌して 190° F (87.8°C) まで加熱し、10 分間同温度で静置した。ショ糖 15g を加え攪拌しながら溶かし、容器を 60° F (15.6°C) の水浴に漬け、攪拌せず 5 時間置き、性状や透明性を観察したところ、リン酸の置換度が高いほど、老化しにくく、透明性に優れているという結果が得られた (表 1)。

表 1 リン酸化デンプンの水系食品における性状等

試料	クランベリー果汁 (約 pH3)		水 (約 pH6)	
	性状	透明性	性状	透明性
無処理	硬いゲル	白濁	硬いゲル	白濁

1) National Starch and Chemical Co. Starch Phosphate 申請書及び資料 1967

EB 851	やや柔らかいゲル	濁り抑制	硬いゲル	濁り抑制
EB 852	老化しない	透明	やや柔らかいゲル	透明性向上

② アセチル化アジピン酸架橋デンプンの凍結—解凍安定性<sup>2)</sup>

無水アジピン酸(デンプンに対し、0.12%)及び無水酢酸(デンプンに対し3.0、5.0、9.0、10.0%)でそれぞれ処理したワキシコーンスターチを試料とし、それら7.5gを試験溶液(クランベリー果汁、水)100mlにそれぞれ加え懸濁し、加熱攪拌して190°F(87.8°C)まで加熱し、10分間同温度で静置した。ショ糖15gを加え攪拌しながら溶かし、容器を60°F(15.6°C)の水浴に漬け、攪拌せず5時間置き、0°F(-17.8°C)で16時間保存後、室温に6時間おき解凍。これを1サイクルとし、数回繰り返した時の外観と食感を調べた。その結果アセチル基が多いほど、透明性に優れ、食感の改良や老化の遅れが見られた(表2)。

表2 アセチル化アジピン酸架橋デンプンの凍結—解凍安定性

無水酢酸処理濃度(%)	アセチル化度(%)	クランベリー果汁(pH3)	水
3.0	0.96	サイクルを2回繰り返すと透明性が低下。3回目以降乳白。7回以降離水し、塊あり。	サイクルを4回繰り返すと曇る。5回目以降乳白。
5.0	1.61	サイクルを3回繰り返すと曇る。6回目以降乳白、塊あり。9回以降離水し、塊状。	サイクルを4回繰り返すと曇る。6回目以降乳白。
9.0	2.85	サイクルを6回繰り返すと曇る。10回以上でも離水なく、柔らかく滑らかな食感。	サイクルを6回繰り返すと曇る8回目以降乳白。
10.0	3.22	サイクルを6回繰り返すと曇る。10回以上でも離水なく、柔らかく滑らかな食感。	サイクルを8回繰り返すと曇る9回目以降乳白。

6. 食品安全委員会における評価結果について

食品安全基本法(平成15年法律第48号)第24条第1項第1号の規定に基づき、平成16年11月26日厚生労働省発食安第1126002号により食品安全委員会あて意見を求めた加工デンプン(アセチル化アジピン酸架橋デンプン、アセチル化リン酸架橋デンプン、アセチル化酸化デンプン、オクテニルコハク酸デンプンナトリウム、酢酸デンプン、酸化デンプン、ヒドロキシプロピルデンプン、ヒドロキシプロピル化リン酸架橋デンプン、リン酸モノエステル化リン酸架橋デンプン、リン酸化デンプン及びリン酸架橋デンプンに限る。)に係る食品健康影響評価については、平成17年3月23日、平成17年5月17日、平成19年8月27日及び平成19年9月28日に開催された添加物専門調査会の議論を踏まえ、以下の評価結果が平成19年11月28日付けで通知されている。

今回評価の対象となった11種類の加工デンプンが添加物として適切に使用される場合、安全性に懸念がないと考えられ、一日摂取許容量(ADI)を特定する必要はないと評価した。

2) National Starch and Chemical Co. Starch Phosphate 申請書及び資料 1966

但し、リスク管理機関は今後、乳幼児向け食品における加工デンプンの使用についてモニタリングを実施することを検討するべきである。また、プロピレンオキシドが残留する可能性のある加工デンプンについては、技術的に可能なレベルでプロピレンオキシドの低減化を図るよう留意するべきである。

なお、その詳細は下記の通りである。

今回評価の対象となった11種類の加工デンプンについて、提出された毒性試験成績等は必ずしも網羅的なものではないが、それぞれの化学構造の類似性及び認められている毒性影響から総合的に判断し、これらをグループとして評価することは可能と判断した。

加工デンプンの安全性試験成績（表1～11）を評価した結果、発がん性、生殖発生毒性及び遺伝毒性を有さないと考えられる。また、反復投与毒性試験では、高用量投与群で、主に盲腸や腎臓に変化が認められているが、これらの変化は通常の未加工のデンプンでも発生するラットに特異的な所見であり、ヒトに対する安全性評価にほとんど関係しないと考えられた。

EUにおいては、加工デンプンのうち9種類について、ラットの長期毒性試験でみられた腎臓の変化を根拠に乳幼児向け食品に対し、5%の使用制限を設けているが、その論拠は明確となっておらず、EUの規制の妥当性は判断できない。従って、以下の理由から、わが国でEUと同様の規制を設ける必要性は低いと考えられる。

1. 規制の根拠とされている腎臓の変化は、未加工のデンプンでも発生するラットに特異的な所見であり、ヒトの安全性評価においては重要なものではないと考えられること。
2. わが国の乳幼児（1～3歳）の平均の加工デンプン推定摂取量は、4.90～6.31g/ヒト/日であり、乳幼児向け食品の摂取量は不明であるが、より安全側にたつて炭水化物の平均摂取量に対する割合を算出したところ、5%を超えないと推察されること。

また、EUにおいては、ヒドロキシプロピルデンプン及びヒドロキシプロピル化リン酸架橋デンプンの2種類の加工デンプンについては、エーテル化剤として用いられるプロピレンオキシド等の安全性情報が不足していることから、乳幼児向け食品には用いるべきではないとされている。プロピレンオキシドは、遺伝毒性発がん物質であることが否定できないことから、米国における発がんリスクの定量評価結果をもとに、わが国の推定摂取量に基づく生涯リスクを導いたところ、一般に遺伝毒性発がん物質の無視しうるレベルとされる100万分の1レベルを下回った。また、生体組織に吸収されたプロピレンオキシドは、グルタチオン抱合や加水分解により代謝、解毒されるとされており、そのリスクは極めて低いと考えられた。

今回評価の対象となった11種類の加工デンプンについては、わが国においても、食品として長い食経験があり、これまでに安全性に関して特段の問題は指摘されていない。JECFAでは、「ADIを特定しない（not specified）」と評価している。

以上から、今回評価の対象となった11種類の加工デンプンが添加物として適切に使用される場合、安全性に懸念がないと考えられ、ADIを特定する必要はないと評価した。

但し、リスク管理機関は今後、乳幼児向け食品における加工デンプンの使用についてモニタリングを実施することを検討するべきである。また、プロピレンオキシドが残留する可能性のある加工デンプンについては、技術的に可能なレベルでプロピレンオキシドの低減化を図るよう留意するべきである。

## 7. 摂取量の推計

上記の食品安全委員会の評価結果によると以下の通りである。

わが国に輸入される加工デンプンの量は、2002 年度合計量で 171 千トン、うちタイ国からが全体の約 55%と多く約 95 千トン、ほかドイツ 14.2 千トン、オーストラリア 13.7 千トン、米国 13.7 千トン、スウェーデン 11.1 千トンなどとなっている。国内における加工デンプンの生産量は、デキストリン（食品）を除いて約 40 万トンで、輸入分を加えると約 60 万トンとなり、このうち、約 15 万トンが食品に使用されていると推定されている。

平成 16 年の国民健康・栄養調査報告によると、1～6 歳までの食品の総摂取量は 1273.5 g/ヒト/日とされ、このうち炭水化物の平均摂取量は 186.7 g/ヒト/日とされている。

また、国民健康・栄養調査報告による各食品の各年齢段階における摂取量データに、関連事業者より提供された加工デンプンの各食品への添加率をかけあわせることにより、一人当たりの一日の加工デンプンの平均摂取量は、1～3 歳の乳幼児で 4.90～6.31 g/ヒト/日、4 歳以上で 8.19 g/ヒト/日と推定される。

米国における NAS/NRC 調査報告書では、焙焼デンプン、漂白デンプン等も含む加工デンプンの摂取量は 38,300 トン（米国の人口を 2.1 億人として約 0.5 g/ヒト/日に相当）と報告されている。

英国における食品添加物の摂取量調査報告では、化学的加工デンプン類の摂取量は 1509.3 mg/ヒト/日とされている。

## 8. 新規指定について

アセチル化アジピン酸架橋デンプン、アセチル化リン酸架橋デンプン、アセチル化酸化デンプン、オクテニルコハク酸デンプンナトリウム、酢酸デンプン、酸化デンプン、ヒドロキシプロピルデンプン、ヒドロキシプロピル化リン酸架橋デンプン、リン酸モノエステル化リン酸架橋デンプン、リン酸化デンプン及びリン酸架橋デンプンを食品衛生法第 10 条に基づく添加物として指定することは差し支えない。ただし、同法第 11 条第 1 項の規定に基づき、次の通り成分規格を定めることが適当である。

また、食品安全委員会による評価結果や、米国において GMP のもとで使用することとされ、特段の使用基準が設定されていないこと、また、EU において離乳食等を除いた一般の食品に対して、必要量を使用することができることとされ、特段の使用基準が設定されていないことを踏まえ、使用基準は設定しないこととすることが適当である。ただし、その添加は食品中で目的とする効果を得る上で必要とされる量を超えないものとするのが前提であり、その旨を関係業界等に周知すること。

ただし、食品安全委員会の評価結果では、EU における離乳食等に対する規制を考慮し、「今回評価の対象となった 11 種類の加工デンプンが添加物として適切に使用される場合、安全性に懸念がないと考えられ、ADI を特定する必要はないと評価した。」としながらも、「乳幼児向け食品における加工デンプンの使用についてモニタリングを実施することを検討するべきである。」としている。これを踏まえ、食品添加物としての指定後、調製粉乳\*及び離乳食に対する加工デンプンの使用の実態を調査整理した上で、改めて食品安全委員会に報告することが適当である。

\* 調製粉乳は、乳又は乳製品のほか、その種類及び混合割合につき厚生労働大臣の承認を受けて使用するもの以外のものの使用が認められていない。

### (1) 成分規格について

アセチル化アジピン酸架橋デンプン、アセチル化酸化デンプン、アセチル化リン酸架橋デンプン、オクテニルコハク酸デンプンナトリウム、酢酸デンプン、酸化デンプン、ヒドロキシプロピル化リン酸架橋デンプン、ヒドロキシプロピルデンプン、リン酸架橋デンプン、リン酸化デンプン及びリン酸モノエステル化リン酸架橋デンプンの成分規格をそれぞれ別紙1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21のとおり設定することが適当である。(各成分規格(案)とそれぞれ対応する国際規格等との比較は別紙2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、設定根拠は別紙23のとおり。)

なお、ヒドロキシプロピルデンプン及びヒドロキシプロピル化リン酸架橋デンプンに残存するプロピレンオキシドについては、JECFA等において規格が設定されていないこと及びサンプルとして提出された検体からは、検出されなかった(検出限界約0.006 $\mu$ g/g)ことから成分規格としては設定する必要はないが、不純物として含有されることは好ましくないため、技術的に可能な範囲で低減化を図るよう関係業界等に周知すること。

### (2) デンプンリン酸エステルナトリウムについて

デンプンリン酸エステルナトリウム\*は、今回指定するリン酸化デンプンと成分規格が一部重複するものと考えられる。つまり、1つの物質に対し、成分規格が2つ存在することになり、規定上混乱することになる。一方で、デンプンリン酸エステルナトリウムは、平成10年、13年、17年の生産量調査によると、食品添加物としての使用実績が無いとされている<sup>3)4)</sup>。

このことを踏まえ、デンプンリン酸エステルナトリウムについて、都道府県等を通じて念のため流通実態の調査を行ったところ、販売等の使用実績は確認できなかった。については、リン酸化デンプンの指定の際に、本品目の指定を削除するのが適当である。

\* デンプンリン酸エステルナトリウムは、昭和39年に食品添加物として指定されている。

デンプンに、リン酸塩を作用させて、エステル化して得られるものであり、結合リンの規格として、0.2~3.0%が設定されている。リン酸化デンプンの結合リンの規格(案)は0.5%以下としている。

3) 平成16年度厚生労働科学研究費補助金報告書 生産量統計を基にした食品添加物の摂取量の推定  
4) 平成18年度厚生労働科学研究費補助金報告書 生産量統計を基にした食品添加物の摂取量の推定

リン酸化デンプン  
Monostarch Phosphate

[63100-01-6]

**定 義** 本品は、デンプンをオルトリン酸、そのカリウム塩若しくはナトリウム塩又はトリポリリン酸ナトリウムでエステル化して得られたものである。

**性 状** 本品は、白～類白色の粉末、薄片又は顆粒で、においが無い。

**確認試験** (1) 「アセチル化アジピン酸架橋デンプン」の確認試験(1)を準用する。

(2) 「アセチル化アジピン酸架橋デンプン」の確認試験(2)を準用する。

**純度試験** (1) リン Pとして0.5%以下

「アセチル化リン酸架橋デンプン」の純度試験(3)を準用する。

(2) 鉛 Pbとして $2.0\mu\text{g/g}$ 以下 (5.0g, 第1法)

(3) ヒ素  $\text{As}_2\text{O}_3$ として $4.0\mu\text{g/g}$ 以下 (0.50g, 第3法, 装置B)

(4) 二酸化硫黄  $50\mu\text{g/g}$ 以下

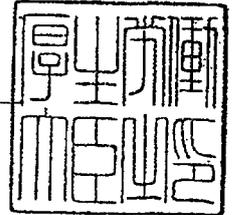
「アセチル化アジピン酸架橋デンプン」の純度試験(5)を準用する。

**乾燥減量** 21.0%以下 (120°C, 13.3kPa 以下, 4時間)

厚生労働省発食安第0913010号  
平成19年9月13日

薬事・食品衛生審議会  
会長 望月 正隆 殿

厚生労働大臣 舩添 要



諮 問 書

食品衛生法（昭和22年法律第233号）第10条の規定に基づき、下記の事項について、貴会の意見を求めます。

記

ナイシンの食品添加物としての指定の可否について



## ナイシンの食品添加物の指定に関する添加物部会報告書（案）

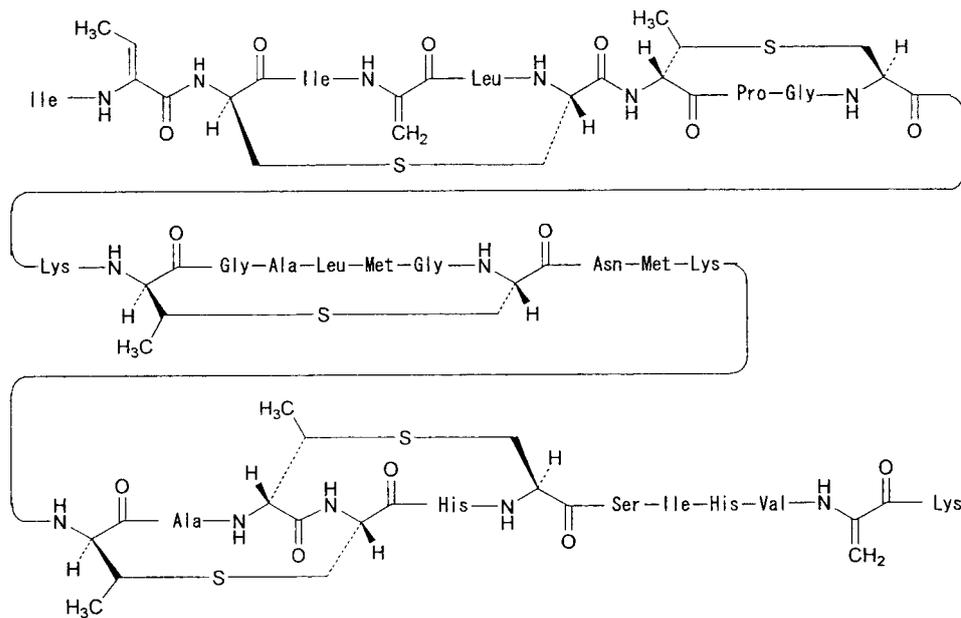
### 1. 品目名

ナイシン

英名：Nisin

[CAS 番号：1414-45-5]

### 2. 構造式、分子式及び分子量



主たる抗菌性成分は、発酵乳から分離されたラクトコッカス・ラクティス (*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*) が産生する 34 個のアミノ酸からなるペプチド (ナイシン A)

分子式： $C_{143}H_{230}N_{42}O_{37}S_7$

分子量：3354.07

### 3. 用途

保存料、製造用剤

### 4. 概要及び諸外国での使用状況

ナイシンは発酵乳から分離された *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* が産生する 34 個のアミノ酸から成るペプチドである。乳酸菌などが産生する抗菌性物質にバクテリオシンと呼ばれるものがあり、これらは、主に、生産菌の類縁細菌に殺菌的に作用するタンパク質又はペプチドである。ナイシンは、ランチオニンなどの特殊な構造のアミノ酸を含んでおり、ランチビオティクス系のバクテリオシンに分類されている。

ナイシンは、現在、50カ国以上で保存料として、チーズ、乳製品、缶詰等に使用されている。米国では、「Nisin preparation」（ナイシン製剤）は一般に安全と認められる物質（GRAS 物質）として、低温殺菌チーズスプレッド、低温殺菌プロセスチーズスプレッド等に抗菌剤

として使用されている。また、欧州連合（EU）では、ナイシンは保存料としてチーズ等への使用が認められている。

FAO/WHO合同食品添加物専門家会議（JECFA）では、第12回（1968年）会議において評価され、ADIが設定されている。

## 5. 食品添加物としての有効性

ナイシンは *Bacillus* 属と *Clostridium* 属を含むグラム陽性菌に対して、効果がある保存料であり、様々な食品の細菌による腐敗を防ぐ。作用機序として、細胞膜に作用して、膜孔を形成することにより、細胞膜の膜機能を破壊するということが挙げられている。また、ナイシンは常温及び酸性条件下（pH 3 で最も安定）の加熱に安定である。

### 1) 細菌芽胞増殖に対する抑制作用について

ナイシンの細菌芽胞の増殖に対する抑制作用について、以下に列記する。

- (1) 芽胞菌を含む培養液を用いて、ナイシンを 14mg/kg (=560 IU/g) で加えたものと、加えていないもの（コントロール）それぞれについて 250° F (121°C) における D 値\*を測定した。ナイシンを加えたものの D 値はコントロールの D 値と比較して、以下のとおりであった。*C. thermosaccharolyticum* を除く芽胞の試験で D 値が低下した。（表 1）<sup>1</sup>

表 1

試験対象の細菌芽胞	培養液中の芽胞の数(個/mL)	D 値 (コントロールに対する割合)
P. A. 3679**	22,500	40%
<i>C. thermosaccharolyticum</i> 3814	28,000	111%
<i>B. coagulans</i> 43P	800	7%
<i>B. stearothermophilus</i> 1518	4,400	30%

\* D値とは、細菌数を1/10に減少させるのに要する、一定温度における加熱時間を表す。

\*\* putrefactive anaerobe（腐敗性嫌気性菌）の略

- (2) *B. coagulans* (31 株) を  $1 \times 10^5$  個/mL となるように、それぞれトマトジュース (pH 5.3) に接種し、35°C、45°C、55°C でそれぞれ計 7 日間培養し、pH が 5.3 から 4.0~4.2 まで低下することを指標として菌の増殖を調べた。その結果、濃度 0.1mg/L (=4.0 IU/g) のナイシンでは 4 菌株について、1.0mg/L (=40 IU/g) のナイシンでは 19 菌株について、5mg/L (=200 IU/g) のナイシンでは試験した 31 菌株の全てについて増殖が抑制される結果が得られた。<sup>2</sup>

- (3) ナイシンを 14mg/kg (=560 IU/g) で加えたものと、加えていないもの（コントロール）それぞれについて以下の通り各食品における D 値を測定した。試験を行った全芽胞の試験で D 値が低下した。（表 2）<sup>3</sup>

<sup>1</sup> O'Brien R T, Titus D S, Devlin K A, Stumbo C R, Lewis J C. 'Antibiotics in food preservation. II. Studies on the influence of subtilin and nisin on the thermal resistance of food spoilage bacteria'. 1954. Fd. Technol 10: 352-355

<sup>2</sup> Campbell L L and Sniff E E. 'Nisin sensitivity of *Bacillus coagulans*'. 1959. Appl Microbiol 7: 289-291

<sup>3</sup> Campell L L, Sniff E E, O'Brien R T. 'Subtilin and nisin as additives that lower the heat-process requirements of canned foods'. 1959. Fd Technol 12: 462-464

表 2

試験対象の芽胞菌	試験温度	食品中の芽胞の数 (個/g)	対象食品	コントロールのD値 (分)	ナイシンを添加した場合のD値 (分)
P. A. 3679	240° F(116°C)	4,230	エンドウピューレ	5.59	2.18
P. A. 3679	240° F(116°C)	4,230	カリフラワーピューレ	2.10	0.74
<i>B. stearothermophilus</i>	250° F(121°C)	657	カーネルコーン	2.67	0.53
<i>B. coagulans</i>	212° F(100°C)	9,600	トマトジュース	5.93	0.51

(4) ナイシン産生菌の培養液を用いて、以下の芽胞菌について、その生育とガス産生を調べた。その結果、ナイシン産生菌の培養液濃度依存的に芽胞の発芽後生育が阻害された。(表 3)<sup>4</sup>

表 3

試験対象の芽胞菌	培養液中の芽胞の数 (個/mL)	ナイシン産生菌の培養液の希釈率																	
		コントロール		1/10		1/20		1/40		1/80		1/160		1/320		1/640		1/1280	
		生	ガ	生	ガ	生	ガ	生	ガ	生	ガ	生	ガ	生	ガ	生	ガ	生	ガ
<i>C. butyricum</i> N. C. T. C. 7423	3,500	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	+++	+++	+++	+++				
	30	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++	+++	+++	+++	
<i>C. sporogenes</i> Cl. 6	800	+++	+++	-	-	-	-	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++				
	8	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++	+++	+++	+++	
<i>C. bifermentans</i> N. C. T. C. 2914	800	+++	+++	-	-	-	-	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++				
	8	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++	++	

十、一の符号は試験細菌の生育、不生育の程度を示す。

<sup>4</sup> Hirsch A and Grinstead E. 'Methods for the growth enumeration of anaerobic spore formers from cheese, with observations on the effect of nisin'. 1954. J Dairy Res 21: 101-110

## 2) 食品における効果について

### (1) プロセスチーズ及びプロセスチーズ製品に対するナイシンの効果<sup>5</sup>

水分含量40~60%の様々なプロセスチーズにナイシン2.5又は6.25 mg/kg(=100又は250IU/g)を添加し、加工の溶解段階で *Clostridium* 属の混合物 (*C. butyricum*, *C. tyrobutyricum*, *C. sporogenes*) 160~240 CFU/g を接種してインキュベートした。製造されたチーズを37°Cで保存し、週単位で変質を調べた。

その結果、ナイシンを添加しなかったチーズが直ちに腐敗したのに対して、ナイシン2.5 mg/kg を添加したチーズでは腐敗するまでの日数が延長され、ナイシン6.25 mg/kg を添加したチーズでは、試験期間内では腐敗しなかった(表4)

表4 37°Cで保存したプロセスチーズ製品の腐敗率

製品	ナイシン 添加量 (mg/kg)	試料10個中腐敗した個数					
		保存週数					
		1	2	3	4	5	6
プロセスチェダー チーズ	0	0	0	1	1	1	1(B)
	2.5	0	0	0	0	0	0
	6.25	0	0	0	0	0	0
プロセスチェダー チーズ付きハム	0	0	0	0	0	0	0
	2.5	0	0	0	1	1	1(S)
	6.25	0	0	0	0	0	0
プロセスチェダー チーズスプレッド	0	0	3	3	4	5	7(B)
	2.5	0	0	2	2	2	2(B)
	6.25	0	0	0	0	0	0
プロセスチェダー チーズスプレッド付きハム	0	2	2	3	4	7	7(B)
	2.5	0	0	2	2	2	2(B+S)
	6.25	0	0	0	0	0	0
プロセスエメンタール チーズ	0	0	0	1	2	3	3(B)
	2.5	0	0	0	0	0	0
	6.25	0	0	0	0	0	0
プロセスエメンタール チーズスプレッド	0	0	5	6	6	8	8(B+S)
	2.5	0	0	0	3	3	3(B+S)
	6.25	0	0	0	0	0	0

(B) = 主として酪酸生成クロストリジウム属による腐敗; (S) = 主として *C. sporogenes* による腐敗

### (2) 液状卵に対するナイシンの保存効果<sup>6</sup>

ナイシン5 mg/L (=200 IU/g) を液状全卵に添加した後に64.4°C、2.5分で殺菌した。次に無菌的に個分けした後、6°Cで保存し、試験1では1~23日に総細菌数、嫌気性菌数、pH、性状、異臭を、試験2では1~21日に総細菌数、*Bacillus cereus* 数、pH、性状、異臭を測定した。その結果は、以下のとおり。

<sup>5</sup> Delves-Broughton J and Gasson M J. 'Nisin'. In: *Natural Antimicrobial Systems and Food Preservation*. 1994. CAB International. (Editors: Dillon V M and Board R G). Chapter 4, 99-131

<sup>6</sup> Delves-Broughton J, Williams G C, Wilkinson S. 'The use of the bacteriocin, nisin, as a preservative in pasteurized liquid whole egg'. 1992. *Letters in Appl Microbiol* 15: 133-136

## 細菌学検査

試験 1 (表 5) : ナイシン非添加コントロール群では、4~6 日で腐敗がみられ、この原因菌は *Bacillus cereus* と同定された。ナイシン添加群では 17~20 日で性状の変化がみられ、腐敗の原因菌はグラム陰性桿菌 (*Pseudomonads* 属) であった。

試験 2 (表 6) : コントロール群の保存期間は 11 日、ナイシン添加群では 20 日であった。コントロール群の腐敗原因菌は主に *Pseudomonads* であった。ナイシン添加群の腐敗菌は *Bacillus* 属 (長さ 3~8  $\mu\text{m}$ ) で、カタラーゼ陽性、ムコイド形成コロニーを示した。分離株に芽胞は存在しなかった。

## pH、性状、異臭

試験 1 (表 5) : コントロール群では、強い異臭、退色、卵の凝固、pH の低下がみられた。一方、ナイシン添加群では、退色及び pH の低下程度が小さかった。

試験 2 (表 6) : コントロール群では果物臭、粘稠、若干の pH 低下がみられた。ナイシン添加群では明確な異臭、pH 低下はみられなかった。

表 5 殺菌液状全卵を 6°C で保存した時のナイシンの効果 (試験 1)

日	総細菌数	嫌気性菌	pH	性状	異臭
1. ナイシン添加 (5 mg/L)					
1	3	3	7.67	良好	なし
4	10*	<10	7.55	良好	なし
7	$4.0 \times 10^2$ *	<10	7.46	良好	なし
10	$2.0 \times 10^1$ *	50	7.72	良好	なし
14	$7.0 \times 10^4$ *	<10	7.68	良好	なし
17	$2.0 \times 10^2$	<10	7.67	良好	なし
21	—	—	7.74	やや退色	なし
22	$>10^7$ *	<10	7.46	やや退色	なし
23 (1)	$>10^7$ *	<10	7.59	やや退色	なし
23 (2)	$>10^7$ *	<10	7.56	やや退色	なし
23 (3)	$>10^7$ *	<10	7.59	やや退色	なし
2. コントロール (ナイシン非添加)					
1	90 †	$2.7 \times 10^2$ ‡	7.59	良好	なし
4	$2.4 \times 10^4$ †	$3.0 \times 10^2$ ‡	7.55	良好	なし
7	$5.3 \times 10^6$ †	$5.0 \times 10^3$	6.88	やや退色	弱い
10	$7.3 \times 10^7$ †	$3.0 \times 10^2$	6.23	完全な退色/ 分離/凝固	強い

\* グラム陰性桿菌 (*Pseudomonads*)

† *Bacillus* (*Bacillus cereus* と同定)

‡ グラム陽性球菌

表6 殺菌液状全卵を6°Cで保存した時のナイシンの効果（試験2）

日	総細菌数	<i>Bacillus cereus</i> /mL	pH	性状	異臭
1. ナイシン添加 (5 mg/L)					
1	<10	<10	7.72	良好	なし
4	<10	<10	7.71	良好	なし
5	<10	<10	7.67	良好	なし
6	10	<10	7.71	良好	なし
7	<10	<10	7.66	良好	なし
8	10	<10	7.68	良好	なし
9	10	<10	7.70	良好	なし
10	10	<10	7.72	良好	なし
11	50	<10	7.69	良好	なし
12	10	<10	7.71	良好	なし
13	15	<10	7.74	良好	なし
14	100*	<10	7.70	良好	なし
15	25*	<10	7.72	良好	なし
16	2 × 10 <sup>3</sup> *	<10	7.72	良好	なし
17	4.8 × 10 <sup>3</sup> *	<10	7.72	良好	なし
18	1.5 × 10 <sup>4</sup> *	<10	7.74	良好	なし
19	1.0 × 10 <sup>4</sup> *	<10	7.67	良好	なし
20	5.0 × 10 <sup>3</sup> *	<10	7.71	良好	なし
21	3.3 × 10 <sup>6</sup> *	<10	7.71	良好	なし
2. コントロール (ナイシン非添加)					
1	8.3 × 10 <sup>2</sup> †	<10	7.67	良好	なし
4	1.2 × 10 <sup>3</sup> †	<10	7.64	良好	なし
5	1.1 × 10 <sup>3</sup> †	<10	7.68	良好	なし
6	8.0 × 10 <sup>2</sup> † ‡	<10	7.64	良好	なし
7	1.3 × 10 <sup>3</sup> †	<10	7.65	良好	なし
8	1.9 × 10 <sup>3</sup> † ‡	<10	7.67	良好	なし
9	1.5 × 10 <sup>3</sup> †	<10	7.61	良好	なし
10	1.5 × 10 <sup>3</sup> †	<10	7.66	良好	なし
11	1.6 × 10 <sup>3</sup> * †	<10	7.68	良好	なし
12	1.7 × 10 <sup>8</sup> §	10	7.57	良好	わずかな果実臭
13	1.9 × 10 <sup>8</sup> §	<10	7.58	良好	弱い果実臭

\* ムコイドコロニー、グラム陰性好気性桿菌（長さは主に3-4μm、最大7-8μm）、芽胞なし、カタラーゼ陽性 *Bacillus*

† 主に黄色コロニー、グラム多様小型桿菌、カタラーゼ陽性、コリネ型

‡ *Bacillus* コロニー。数は少ない。

§ グラム陰性、オキシダーゼ陽性 *Pseudomonads*

### (3) 味噌麴に対するナイシンの効果

#### 1) 製麴工程での使用<sup>7</sup>

ナイシンとクエン酸の水溶液（蒸留水 150g）に、米 300g を入れて 5℃にて 16 時間浸漬した。蒸留水と米の総量に対して、ナイシンを 75mg/kg (3000IU/g) とした。浸漬した米を 1 時間蒸した後、室温にて放冷したものに、*Bacillus subtilis* ssp. *subtilis* 芽胞液を 10CFU/g となるように接種した。芽胞液を接種した米に種麴を接種し、芽胞接種後及び 38℃で 48 時間保存後に *Bacillus subtilis* ssp. *subtilis* 菌数及びナイシンの活性を調べた。その結果、対照群では菌の増殖が見られたものの、ナイシンを添加したものでは、接種後直ちに抑制され、保存後においても菌の増殖は見られなかった。また、保存後にナイシンの活性の低下が見られた。（表 7）

表 7 味噌麴の製麴工程における菌数及びナイシン活性の変化

試験区		芽胞液接種後	30℃、48 時間保存後*
コントロール	菌数 [CFU/g]	1.0 × 10	1.5 × 10 <sup>3</sup>
	ナイシン活性 [IU/g (mg/kg)]	0 (0)	0 (0)
ナイシン添加	菌数 [CFU/g]	<10	<10
	ナイシン活性 [IU/g (mg/kg)]	1700 (42.5)	148 (3.70)

\* 麴は通常、蒸米に種麴を接種してから約 40 時間で出来上がることを踏まえ設定

#### 2) 熟成工程での使用<sup>8</sup>

水に一晩浸漬した大豆を 120℃60 分蒸した後、放冷、磨砕し蒸煮大豆とした。市販の味噌用麴と蒸煮大豆を等量混合し、食塩を最終濃度が 8% となるように添加し、更に、ナイシン添加区はナイシンを 200IU/g (5mg/kg) 及び 400IU/g (10mg/kg) となるよう添加した。30℃で保存し、熟成中の一般生菌数を測定した結果、ナイシン無添加区は熟成期間とともに、菌数の増加が認められ、熟成 13 日後では、腐敗レベルの菌数となった。しかしナイシン添加区では顕著な増殖は認められなかった。（図 1）

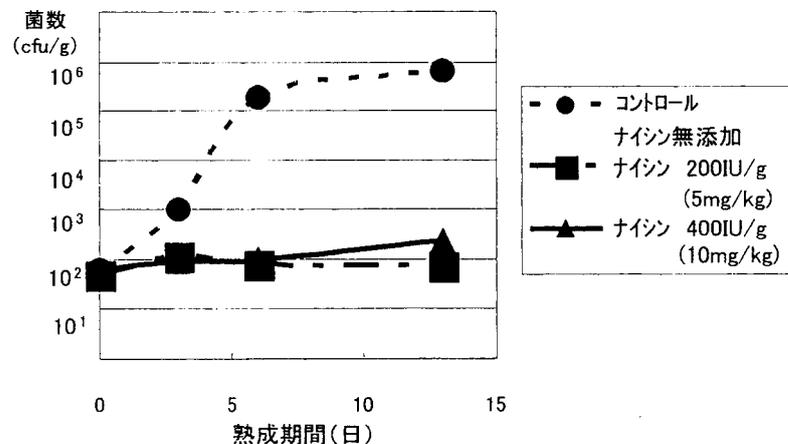


図 1. 味噌（食塩含量 8%）の熟成中の細菌数の推移

<sup>7</sup>味噌麴における *Bacillus subtilis* ssp. *subtilis* の挙動とナイシンによる増殖抑制効果（三栄源エフ・エフ・アイ株式会社）

<sup>8</sup>味噌熟成中における一般細菌数の挙動とナイシンによる増殖抑制効果（三栄源エフ・エフ・アイ株式会社）

## 6. 食品安全委員会における評価結果について

食品安全基本法（平成15年法律第48号）第24条第1項第1号の規定に基づき、平成15年10月20日付け厚生労働省発第1020002号により食品安全委員会あて意見を求めたナイシンに係る食品健康影響評価については、添加物専門調査委員会の議論を踏まえ、以下の評価結果が平成20年1月31日付けで報告されている。

ナイシンのNOAEL の最小値は、ラット3世代繁殖毒性試験の1.0%（12.5mg/kg 体重/日相当）と考えられる。安全係数は、繁殖毒性試験で認められている毒性が重篤なものではないことから、通常の100 を適用することとした。

上記を踏まえ、ナイシンのADI は、0.13 mg/kg 体重/日と評価した。

ADI 0.13 mg/kg 体重/日

（ADI 設定根拠資料） 3 世代繁殖毒性試験

（動物種） ラット

（投与方法） 混餌投与

（NOAEL 設定根拠所見） F0：体重増加抑制、F2B：低体重

（NOAEL） 12.5 mg/kg 体重/日

（安全係数） 100

なお、その詳細は以下の通りである。

ナイシンについて、*in vitro* 及び *in vivo* における遺伝毒性試験において全て陰性の結果が得られており、生体にとって問題となる遺伝毒性を有するとは考えられず、また発がん性を有するものではないと考えられる。

JECFA 及び米国FDA が根拠としているラット2年間慢性毒性試験は、1960年代に実施された試験であり信頼性が担保できないことから、一日摂取許容量（ADI）設定には用いず、あくまで評価の参考に用いることとした。

欧州SCF の評価の根拠とされているラット3世代繁殖毒性試験については、親動物F0の5.0%投与群の雄群で認められた体重増加抑制、児動物F2Bの5.0%投与群で認められた低体重を根拠に、NOAEL は1.0%（12.5 mg/kg 体重/日相当）と評価した。追加資料として提出されたラットの90日間反復投与毒性試験では、5.0%投与群の雌雄で認められた血液学的検査項目（MCH、HGB等）の変動を根拠に、NOAEL は1.0%（45 mg/kg 体重/日相当）と評価した。

以上より、ナイシンのNOAEL の最小値は、ラット3世代繁殖毒性試験の1.0%（12.5mg/kg 体重/日相当）と考えられる。安全係数は、繁殖毒性試験で認められている毒性が重篤なものではないことから、通常の100 を適用することとした。

上記を踏まえ、ナイシンのADI は、0.13 mg/kg 体重/日と評価した。

ADI 0.13 mg/kg 体重/日

（ADI 設定根拠資料） 3 世代繁殖毒性試験

(動物種) ラット

(投与方法) 混餌投与

(NOAEL 設定根拠所見) F0 : 体重増加抑制、F2B : 低体重

(NOAEL) 12.5 mg/kg 体重/日

(安全係数) 100

ナイシンは、グラム陽性菌の芽胞の生育を阻害する乳酸菌バクテリオシン（ペプチド）であり、上部腸管でパンクレアチン等により分解され、不活化される。

耐性菌の選択に関する専門家の意見のポイントは以下のとおりである。

- ・経口摂取したとしても体内には吸収されず、腸管への移行も少量であり、また、移行したナイシンは腸内酵素により分解又は不活性化されると考えられ、下部腸管における腸内細菌叢への影響も極めて少ない。
- ・近年、リステリア菌のナイシン耐性及び他のバクテリオシンとの交差耐性に関する報告があるものの、医療用抗生物質との交差耐性は実験的に認められておらず、医療上の問題となったとの臨床における報告も得られていない。
- ・仮に添加物としての使用により、耐性菌が選択されるとしても、海外における長期の使用経験の中で、ヒトの健康に重大な影響を及ぼしたとする報告は現時点で得られていない。

以上、現時点で得られている知見から判断して、添加物として適切に使用される場合にあっては、交差耐性を含む耐性菌出現による医療上の問題を生じる可能性は極めて少ないと考えられる。

なお、ナイシンを添加物として適切に使用するためには、使用基準を慎重に検討することが重要であり、欧米における使用状況を勘案した上で、耐性菌出現により有効性等に影響を及ぼすことがないよう十分な配慮が必要と考えられる。

また、新たな知見が得られた場合には、必要に応じて再評価を検討する必要があると考える。

糖培地を用いて製造されたナイシン製剤（変更行程品）は、乳培地を用いて製造されたナイシン製剤（従来行程品）と同等の力価を有し、より純度が高く、また、乳由来の不純物の含有がないことから乳アレルギーのリスクの低減化が図れると考える。

以上から、従来行程品の評価結果は変更品の評価にも適用することが可能であると判断した。

## 7. 摂取量の推計

上記の食品安全委員会の評価結果によると以下の通りである。

米国では、プロセスチーズスプレッド、フランクフルトのケーシング等に使用されており、ナイシンの食品からの推定摂取量は2.15 mg/ヒト/日（体重60 kgとして0.036 mg/kg 体重/日）とされている。また、EU では、チーズ等に使用されており、推定摂取量は0.008 mg/kg 体重/日との情報がある。要請者により提案されている使用基準案に基づき、添加

物として使用された場合のわが国における推定摂取量は、国民健康・栄養調査を参考にして算出すると0.045 mg/kg 体重/日とされている。

## 8. 新規指定について

ナイシンを食品衛生法第10条に基づく添加物として指定することは差し支えない。ただし、同法第11条第1項の規定に基づき、次の通り使用基準及び成分規格を定めることが適当である。

### 1) 使用基準について

要請者は、CODEX 基準、米国、EU での使用基準等を踏まえたうえで、以下の使用基準（案）\*を提案している。食品安全委員会における評価結果を踏まえ、要請者の提案する使用基準（案）のとおりとすることが適当である。ただし、当然の事ながら、その使用に当たっては、食品汚染菌の管理を行ううえで適正な量が用いられるべきである。

### 使用基準案

ナイシンは、穀類及びでん粉を主原料とする洋生菓子、ソース類、卵加工品、チーズ、ドレッシング、食肉製品、ホイップクリーム類（乳脂肪分を主成分とする食品を主要原料として泡立てたものをいう。以下この目において同じ。）、味噌及び洋菓子以外の食品に使用してはならない。

ナイシンの使用量は精製ナイシンとしてチーズ（プロセスチーズを除く。）、食肉製品及びホイップクリーム類にあつては1kgにつき0.0125g以下、ソース類、マヨネーズ及びドレッシングにあつては1kgにつき0.010g以下、プロセスチーズ、洋菓子にあつては1kgにつき0.00625g以下、卵加工品及び味噌にあつては1kgにつき0.0050g以下、穀類及びでん粉を主原料とする洋生菓子にあつては1kgにつき0.0030g以下でなければならない。但し、特別用途表示の許可又は承認を受けた場合は、この限りではない。

穀類及びでん粉を主原料とする洋生菓子：ライスプディングやタピオカプディング等をいい、団子のような和生菓子は含まない。

ソース類：果実ソースやチーズソースなどのほか、ケチャップも含む。ただし、ピューレー及び菓子などに用いるいわゆるフルーツソースのようなものは含まない。

---

\*当初、アイスクリーム類、いくら、かずのご調味加工品、辛子明太子、魚介乾製品、魚肉練り製品、麴、すじこ、ソーセージ類、卵加工品、たれ、たらこ、チーズ、つゆ、豆腐、ドレッシング、生菓子、乳飲料、ハム、フラワーペースト類、ホイップクリーム及び洋菓子に対する使用についても要請されていたが、要請者より、海外における使用実態を踏まえ、使用基準（案）の訂正申し出があり、以下の通り変更している。

1. アイスクリーム類、いくら、かずのご調味加工品、辛子明太子、魚介乾製品、魚肉練り製品、麴、すじこ、たらこ、つゆ、豆腐、乳飲料、フラワーペースト類は対象食品から除外する。
2. チーズに対して0.015g/kgからチーズ（プロセスチーズを除く。）に対して0.0125g/kg、プロセスチーズに対して0.00625g/kgに変更する。
3. 生菓子を穀類及びでん粉を主原料とする洋生菓子に変更するとともに、これに対して0.0050g/kgから0.0030g/kgに変更する。
4. たれをソース類、マヨネーズに変更する。

(参考1) 各対象食品とそれに対する推定摂取量について

使用基準案の 食品名	国民健康・栄養調査 食品分類 (H16)	摂取量 (g/日)	使用基準案 (mg/kg)	ナイシン摂取量 (mg/日)
ホイップクリーム類(乳脂肪分を主成分とする食品を主要原料として泡立てたものをいう。)	74: その他の乳製品	8.2	12.5	0.103
チーズ(プロセスチーズを除く。)	72: チーズ	2.3	12.5	0.029*
プロセスチーズ			6.25	
穀類及びでん粉を主原料とする洋生菓子	85: その他の菓子類	5.3	3.0	0.016
洋菓子	5: 菓子パン	6.4	6.25	0.086
	82: ケーキ・ペストリー類	7.4		
食肉製品	63: ハム、ソーセージ	11.4	12.5	0.143
ソース類、マヨネーズ、ドレッシング	92: ソース	2.1	10.0	0.622
	95: マヨネーズ	3.3		
	97: その他の調味料	56.8		
卵加工品	70: 卵類	34.4	5.0	0.172
味噌	96: 味噌	11.7	5.0	0.059
合計				1.230**

\* プロセスチーズへの使用量は 12.5mg/kg として計算

\*\* 対ADI比 18.9% (ヒト体重を 50kg とした場合)

## 2) 成分規格案について

ナイシンの成分規格をそれぞれ別紙1のとおり設定することが適当である。(設定根拠は別紙2、成分規格と対応する国際規格等との比較は別紙3のとおり。)

## 3) 耐性菌について

食品安全委員会の評価結果では、「現時点で得られている知見から判断して、添加物として適切に使用される場合にあつては、耐性菌出現による医療上の問題を生じる可能性は極めて少ないと考えられる。なお、ナイシンを添加物として適切に使用するためには、使用基準を慎重に検討することが重要であり、欧米における使用状況を勘案した上で、耐性菌出現により有効性等に影響を及ぼすことがないように十分な配慮が必要と考えられる。」とされている。本使用基準案は、味噌以外は欧米等で広く使用されている範囲となっており、これらの対象食品に使用を認めることは、差し支えないと考えられる。なお、味噌については、味噌中の乳酸菌の16SrRNA解析からナイシン産生菌 *Lactococcus lactis* が同定されている<sup>9</sup>。したがって、食品添加物としてナイシンを使用することで、味噌についても使用を認めることは差し支えないと考えられる。

一方で、耐性菌の出現に関する情報を入手することは、添加物の適切な使用を指導するうえで重要であるため、ナイシン耐性菌に関して情報を収集し、安全性、有効性の点で問題となるような新たな知見があれば、速やかに報告するよう事業者等に対し周知を図ることが適当である。

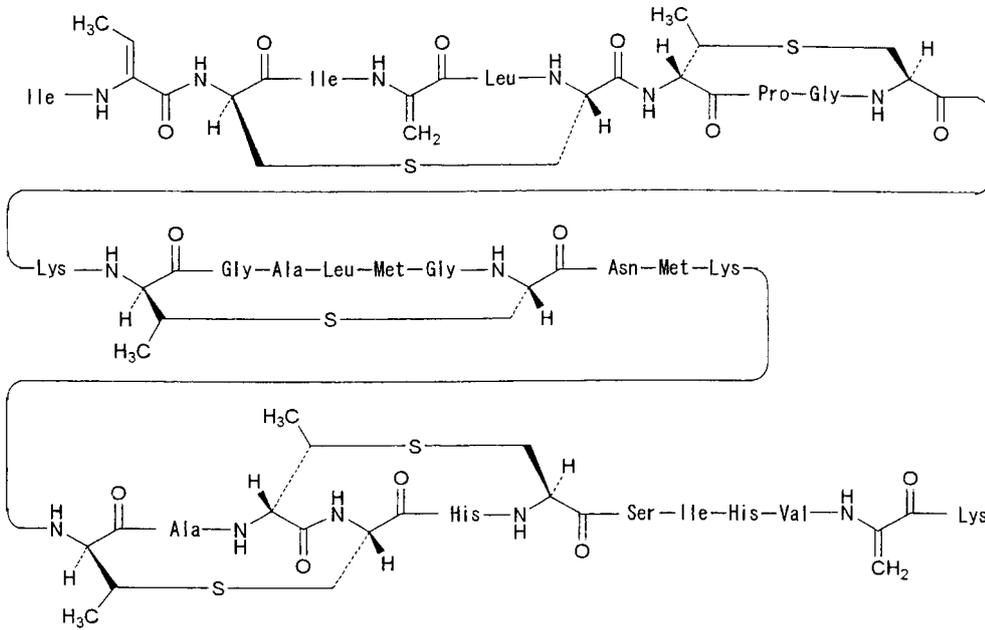
---

<sup>9</sup> 恩田匠 味噌中に高頻度で存在するバクテリオシン産生乳酸球菌の同定 山梨県工業技術センター 研究報告 p.132  
No. 15(2001)

成分規格

ナイシン

Nisin



C<sub>143</sub>H<sub>230</sub>N<sub>42</sub>O<sub>37</sub>S<sub>7</sub>

分子量 3354.07

[1414・45・5]

定義 本品は、*Lactococcus lactis* subsp. *lactis* の培養液から得られた抗菌性ポリペプチドの塩化ナトリウムとの混合物である。無脂肪乳培地又は糖培地由来の成分を含む。主たる抗菌性ポリペプチドはナイシン A である。

力価及び含量 本品は、1mg 当たり 900 単位以上の力価を有する。ただし、本品の力価は、ナイシン (C<sub>143</sub>H<sub>230</sub>N<sub>42</sub>O<sub>37</sub>S<sub>7</sub>) としての量を単位で示し、その 1 単位はナイシン (C<sub>143</sub>H<sub>230</sub>N<sub>42</sub>O<sub>37</sub>S<sub>7</sub>) 0.025µg に対応する。また、塩化ナトリウム 50% 以上を含む。

性状 本品は、白〜うすい黄赤色の粉末で、においがなく又はわずかに特異なにおいがある。

確認試験 (1) 本品 0.100g を正確に量り、塩酸(1→600)80ml に懸濁する。2 時間室温に置き、更に塩酸(1→600)を加えて 100ml とし、試料液とする。

(i) 試料液を水浴中で 5 分間加熱する。加熱した試料液 1ml を正確に量り、塩酸(1→600)を用いて 200ml とし、検液とする。この検液につき、定量法に示す方法により力価を求めるとき、検液の力価は、定量法の検液の力価の 100±5% である。

(ii) (i) の加熱した試料液の残りの液に、水酸化ナトリウム溶液(1→5)を加えて pH11 に調整

削除: 淡黄白
削除: 0.2µm のフィルターを通して滅菌した 0.02mol/L
削除: 0.02mol/L
削除: する。この液 1ml を正確に量り、0.02mol/L 塩酸を用いて 200ml
削除: 比較液とする。比較液 20ml を
削除: 煮沸
削除: 検液及び比較液につき、
削除: ,
削除: 測定する
削除: 比較液
削除: 別に検液 20ml に 5mol/L

した後、65℃、30分間加熱する。冷後、塩酸を加えてpH2.0に調整し、この液1mlを量り、塩酸(1→600)を用いて200mlとし、検液とする。定量法に示す方法により、力価を測定するとき、その活性は失われている。

(2) 滅菌した脱脂粉乳の懸濁液(1→10)中で *Lactococcus lactis* (ATCC 11454 又は NCIMB 8586) を30℃、18時間培養し、試験菌液とする。リトマスミルク100mlを入れたフラスコを121℃で15分間高圧蒸気滅菌する。滅菌したリトマスミルクに本品0.1gを加え、室温に2時間放置する。この液に試験菌液を0.1ml加え、30℃、24時間培養するとき、*Lactococcus lactis* の生育を認める。

削除: 水溶液

純度試験 (1) 鉛 Pbとして1.0 µg/g以下

本品10.0gを量り、硫酸5mlを入れた耐熱性ビーカーに入れ、徐々に加熱し、更に硫酸少量を加え、できるだけ低温でほとんど灰化する。更に、500℃で灰化するまで強熱した後、放冷する。残留物に40mlの水を加えて溶かし、試料液とする。試料液にクエン酸水素二アンモニウム溶液(1→2)10mlを加え、チモールブルー試液を指示薬として、アンモニア水で弱アルカリ性とする。冷後、この液を200mlの分液漏斗に移し、ビーカーを水で洗い、洗液を分液漏斗に合わせ、約100mlとする。ピロリジンジチオカルバミン酸アンモニウム溶液(3→100)5mlを加えて5分間放置し、酢酸ブチル10mlを加えて5分間振とうした後、静置する。酢酸ブチル層をとり、これを検液とする。別に、鉛標準原液1mlを正確に量り、水を加えて正確に100mlとする。この液10mlを正確に量り、試料液と同様に操作し、比較液とする。検液及び比較液につき、鉛試験法第1法により試験を行う。

削除: 5mlの

削除: さらに

削除:

(2) ヒ素 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>として2.0 µg/g以下 (1.0g, 第3法, 装置B)

乾燥減量 3.0%以下 (105℃, 2時間)

微生物限度 微生物限度試験法(発育阻止物質の確認試験を除く)により試験を行うとき、本品1gにつき、細菌数は100以下である。また大腸菌は認めない。ただし、細菌数については、生菌数試験のメンブランフィルター法により求める。試料液は、本品1gを量り、ペプトン食塩緩衝液と混和して1,000mlとする。試料液100mlをセルロース混合エステル製メンブランフィルターでろ過した後、フィルターをろ過洗浄し、ソイビーン・カゼイン・ダイジェスト寒天培地の表面に置き、30~35℃で少なくとも5日間培養する。また大腸菌については、本品1gを量り、乳糖ブイヨン培地を加えて100mlとし、30~35℃で24~72時間培養する。

さらに、下記の試験を行うとき、サルモネラは認めない。

試験の手順

試料10gを量り、ソイビーン・カゼイン・ダイジェスト培地を加えて500mlとし、30~35℃で24~72時間培養する。増殖が観察された場合は、培養液を軽く振った後、1mlずつを10mlのテトラチオネート液体培地及びラパポート液体培地に接種し、30~35℃で18~24時間培養する。培養後、それぞれの液体培地からブリリアントグリーン寒天培地及びXLD寒天培地上に塗抹し、30~35℃で42~48時間培養する。ブリリアントグリーン寒天培地上で小型で無色透明又は不透明で白~桃色の集落、又はXLD寒天培地上で赤色の集落が見出されない場合はサルモネラ陰性と判定する。なお、ブリリアントグリーン寒天培地上に見られる小型で無色透明又は不透明で白~桃色の集落には、しばしば周囲に桃~赤色の帯が形成され、XLD寒天培地上で見られる赤色の集落には、中心部に黒点が現れる場

削除: 乳糖

削除: ブイヨン

削除: 200

合がある。これらの特徴を有するグラム陰性桿菌の集落が見出された場合は白金線を用いて TSI 斜面寒天培地の深部と斜面に疑われる集落を接種し、35～37℃で 18～24 時間培養する。サルモネラが存在する場合、深部は黄色となり、斜面部は赤色のまま変化しない。通常、深部でガスの産生が見られるが、硫化水素は産生される場合とされない場合がある。キット使用を含む、更に詳細な生化学的試験と血清学的試験を併用することで、サルモネラの同定、型別試験を行うことが望ましい。

培地の性能試験

試験には、非病原性又は病原性の弱いサルモネラ菌株を、乳糖ブイヨン培地を用い、30～35℃で18～24時間培養して使用する。次に、ペプトン食塩緩衝液、リン酸緩衝液、乳糖ブイヨン培地等を用いて、1ml当たり約1,000個の生菌を含む菌液を調製する。必要に応じて、約1,000個/mlの生菌を含むサルモネラの菌液0.1mlを混和して培地の有効性を試験する。

削除：及び発育阻止物質の確認試験

再試験

不確定な結果やあいまいな結果が得られた場合は、初回の2.5倍量の試料を用いて再試験を行う。方法は最初の試験法と同じであるが、試料の増加に比例して、培地などの量を増加させて行う。

削除：、試料の存在下及び非存在下において、

削除：、抗菌性物質の存在等

培地

(i) テトラチオネート液体培地

カゼイン製ペプトン	2.5g
肉製ペプトン	2.5g
デソキシコール酸ナトリウム	1.0g
炭酸カルシウム	10.0g
チオ硫酸ナトリウム 5 水和物	30.0g
水	1,000ml

全成分を煮沸して溶かす。使用当日に水 20ml にヨウ化カリウム 5g 及びヨウ素 6g を溶かした液を加える。更に滅菌ブリリアントグリーン溶液 (1→1,000) 10ml を加え、混和する。その後は培地に熱を加えてはならない。

(ii) ラパポート液体培地

ダイズ製ペプトン	5.0g
塩化ナトリウム	8.0g
リン酸二水素カリウム	1.6g
マラカイトグリーンシュウ酸塩	0.12g
塩化マグネシウム 6 水和物	40.0g
水	1,000ml

マラカイトグリーンシュウ酸塩と塩化マグネシウム 6 水和物及び残りの成分をそれぞれ別々に水に溶かして、121℃で 15～20 分間高圧蒸気滅菌する。滅菌後、混和して使用する。液性は pH 5.4～5.8。

(iii) ブリリアントグリーン寒天培地

ペプトン(肉製及びカゼイン製)	10.0g
酵母エキス	3.0g
塩化ナトリウム	5.0g

乳糖 1 水和物	10.0g
白糖	10.0g
フェノールレッド	0.080g
ブリリアントグリーン	0.0125g
寒天	20.0g
水	1,000ml

全成分を混和し、1 分間煮沸する。使用直前に 121℃で 15～20 分間高圧蒸気滅菌する。滅菌後の液性は pH 6.7～7.1。約 50℃に冷却してペトリ皿に分注する。

(iv) XLD(キシロース・リジン・デソキシコール酸)寒天培地

D-キシロース	3.5g
塩酸 L-リジン	5.0g
乳糖 1 水和物	7.5g
白糖	7.5g
塩化ナトリウム	5.0g
酵母エキス	3.0g
フェノールレッド	0.080g
デソキシコール酸ナトリウム	2.5g
チオ硫酸ナトリウム 5 水和物	6.8g
クエン酸アンモニウム鉄(III)	0.80g
寒天	13.5g
水	1,000ml

全成分を混和し、煮沸して溶かす。煮沸後の液性は pH 7.2～7.6。高圧蒸気滅菌をしてはならない。過剰な加熱は避ける。約 50℃に冷却してペトリ皿に分注する。

(v) TSI(トリプルシュガーアイアン)寒天培地

カゼイン製ペプトン	10.0g
肉製ペプトン	10.0g
乳糖 1 水和物	10.0g
白糖	10.0g
ブドウ糖	1.0g
硫酸アンモニウム鉄(II)6 水和物	0.20g
塩化ナトリウム	5.0g
チオ硫酸ナトリウム 5 水和物	0.20g
フェノールレッド	0.025g
寒天	13.0g
水	1,000ml

全成分を混和し、煮沸して溶かした後、小試験管に分注して、121℃で 15～20 分間高圧蒸気滅菌する。滅菌後の液性は pH 7.1～7.5。斜面寒天培地として使用する。なお、上記の組み合わせに加えて、肉エキスや酵母エキス 3g を含むものや、硫酸アンモニウム鉄(II)6 水和物の代わりにクエン酸アンモニウム鉄(III)を含むものも使用して差し支えない。

定量法 (1) 力価

穿孔寒天平板を用いて得られる試験菌の発育阻止円の大きさを指標として、抗菌活性を測定する。水、試薬・試液及び計器・器具は、必要に応じ、滅菌したものを用いる。

(i) 試験菌 *Micrococcus luteus* (ATCC 10240, NCIMB 8166)を用いる。

(ii) 培地 培地の液性は水酸化ナトリウム試液又は塩酸(1→10)を用いて調整し、滅菌後の液性が規定の値になるようにする。なお、規定の培地と類似の成分を有し、同等又はより優れた菌の発育を示す他の培地を用いることができる。滅菌は高圧蒸気法で行う。

① 種層用寒天培地

トリプトン	10 g
肉汁	3 g
塩化ナトリウム	3 g
酵母エキス	1.5 g
ショ糖	1 g
寒天	15 g
水	1,000 ml

全成分を混和し、121℃、15分間滅菌する。滅菌後の液性はpH7.4~7.6とする。滅菌後、培地と同温度の50%ポリソルベート20溶液を2ml添加する。

② 試験菌移植用斜面寒天培地

ブレインハートインフュージョン寒天	52g
水	1,000 ml

全成分を混和し、121℃、15分間滅菌する。滅菌後の液性はpH7.2~7.6とする。この寒天培地9mlを内径約16mmの試験管に分注して斜面とする。

(iii) 試験菌液の調製 試験菌を試験菌移植用斜面寒天培地を用いて30℃で48時間培養する。この菌を滅菌した生理食塩水7mlに懸濁させ、試験菌液とする。菌を移植した試験菌移植用斜面寒天培地は4℃で最大14日間保存することができる。

(iv) 種層寒天培地の調製 試験菌液を生理食塩水で希釈した液(1→10)2mlを48~51℃に保った種層用寒天培地100mlに加え、十分に混合し、種層寒天培地とする。

(v) 穿孔寒天平板の調製 内径90mm、高さ20mmのペトリ皿に約20mlの種層寒天培地を入れ、寒天が水平になるように広げて室温にて固化させたものを種層寒天平板とする。種層寒天平板上の半径約25~28mmの円周上に、円筒をその中心間の距離が30mm以上となるように一定間隔で4個並べる。円筒を置いた状態で種層寒天培地20mlを分注し、固化させた後、4℃にて30~60分保持し、滅菌したピンセット等を用いて培地より円筒を静かに抜き、穿孔寒天平板とする。円筒は、外径7.9~8.1mm、内径5.9~6.1mm、高さ9.9~10.1mmのステンレス製のもので、試験に支障をきたさないものを用いる。穿孔寒天平板は用時調製する。

(vi) ナイシン標準液の調製 ナイシン標準品約0.1gを精密に量り、塩酸(1→600)80mlに懸濁する。2時間室温に置き、塩酸(1→600)を加えて100mlとし、これを標準原液とする。更に1.25, 2.5, 5.0, 10.0, 20.0(単位/ml)となるよう、標準原液を塩酸(1→600)を用いて希釈し、標準液とする。ナイシン標準液は用時調製する。

- 削除: pH
- 削除: 1mol/L
- 削除: 調製
- 削除: pH

- 削除: pH

- 削除: pH

- 削除: シャーレ (
- 削除: ,
- 削除: ) の場合は
- 削除: , 大型皿の場合は培地の厚さが2~3mmとなるように
- 削除: (ペニシリンカップ)
- 削除: 00
- 削除: 正確
- 削除: 0.2µmのフィルターを通して滅菌した0.02mol/L
- 削除: 0.02mol/L
- 削除: (1,000 単位/ml)
- 削除: 0.02mol/L

(vii) ナイシン標準曲線の作成 穿孔寒天平板 5 枚を 1 組として用いる。ナイシン標準液を濃度ごとに異なる穿孔寒天平板へ 0.2ml ずつ 4 箇所 の 穴 に入 れる。標準液分注後、プレートに蓋をし、30℃で 18 時間培養する。培養後、形成された阻止円の直径をノギスを用いて 0.1mm 単位で測定する。ナイシン濃度  $x$  (単位/ml) の常用対数値  $\log x$  を横軸に、阻止円の直径  $y$  (mm) を縦軸にとり、ナイシン標準曲線 ( $y = \alpha \log x + \beta$ ) を作成し、定数  $\alpha$  及び  $\beta$  を求める。

(viii) 検液の調製 本品約 0.1g を精密に量り、塩酸(1→600)80ml に懸濁する。2 時間室温に置き、更に塩酸(1→600)を加えて 100 ml とし、試料液とする。試料液 1ml を正確に量り、塩酸(1→600)を用いて 200ml とし、検液とする。検液は用時調製する。

(ix) 力価の算出 標準曲線の作成の手法に従い、検液の阻止円の直径を測定し、以下の式により、本品の力価を求める。

$$I = \frac{\text{阻止円の直径(mm)} - \beta}{\alpha}$$

検液の力価 =  $10^I$  (単位/ml)

$$\text{本品の力価} = \frac{\text{検液の力価} \times 20}{\text{試料の採取量(g)}} \quad (\text{単位/mg})$$

(2) 塩化ナトリウムの定量

本品約 0.1g を精密に量り、水 100ml を加えて溶かし、さらに硝酸を加えて酸性とし、指示電極に銀電極、参照電極に銀・塩化銀電極を用い、0.1mol/L 硝酸銀溶液で滴定する。別に空試験を行い補正して消費量  $a$  ml を求め、次式により含量を求める

$$\text{塩化ナトリウム (NaCl) の含量} = \frac{a \times 5.85}{\text{試料の採取量(g)} \times 10} \quad (\%)$$

試薬・試液

生理食塩水 日本薬局方生理食塩液を用いる。

ブレインハートインフュージョン寒天 微生物試験用に製造したもの。

トリプトン 微生物試験用に製造したもの

50%ポリソルベート 20 溶液 ポリソルベート 20 と水を 1 : 1 の割合で混合し、121℃で 15 分間高圧蒸気滅菌を行う。

マラカイトグリーンシュウ酸塩  $C_{22}H_{54}N_{10}O_{12}$  [マラカイトグリーン(しゅう酸塩), K 8878]

リトマス [K 8940:1961] 本品は、青～帯紫青色の粉末又は塊で、水又はエタノールに溶け、その溶液は青～紫青色を呈する。

確認試験 本品 0.5g を温水 50ml に溶かし、赤色を呈するまで希硫酸を滴加し、10 分間煮沸する。この間青色を呈するときは赤色となるまで希硫酸を滴加する。さらに、紫色を呈するまで水酸化バリウム飽和溶液を加えてろ過し、A 液とする。煮沸して冷却した水 100ml に A 液 0.5ml 及び塩酸(1→120)0.05ml を加えるとき、赤色を呈する。また、煮沸して冷却した水 100ml に A 液 0.5ml 及び水酸化ナトリウム(1→500)0.05ml を加えるとき、青色を呈する。

削除: (大型皿穿孔寒天平板の場合にはこれに順ずる枚数)

削除: 試料液

削除: ナイシン濃度測定

削除: 00

削除: 正確

削除: 0.2µm のフィルターを通して滅菌した 0.02mol/L

削除: 0.02mol/L

削除: 試料

削除: この

削除: 液 1ml を正確に量り、

削除: 0.02mol/L

削除: 塩酸(1→600)を用いて 200ml とし、検液とする。検液は用時調製する。

削除: の

削除: を行う。検液は用時調製する。また、標準液及び検液は阻止円の測定は同時に試験を行う。阻止円測定後、得られた値より標準曲線から力価(単位/mg)を求める。

(ix) 力価の算出

削除: 検液の力価 =  $10^I$  (単位/ml)

削除: ×1,000

削除: 5

削除: クエン酸二アンモニウム  $C_6H_{14}N_2O_7$ , [K 8284]

削除: 0.1mol/L

削除: 0.1mol/L

リトマスミルク 脱脂粉乳 10g、リトマス 0.05g 及び無水硫酸ナトリウム 0.05g に水 100ml を  
加えて混和する。用時調製する。

削除: 0

削除: , 0

削除: し, 115°C, 15 分間滅菌

リン酸一カリウム リン酸二水素カリウムを見よ

リン酸二水素カリウム  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  [りん酸二水素カリウム, K 9007]

リン酸三ナトリウム 12 水和物  $\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  [りん酸三ナトリウム・12 水, K 9012]

ナイシン標準品 厚生労働大臣の登録を受けた者が製造する標準品

## ナイシンの規格設定の根拠

主に、JECFA 規格及び FCC 規格を参考とし、EU の食品添加物規格も参考に成分規格案を設定した。なお、本品は、原体としてではなく、塩化ナトリウムを含む製剤としてのみ流通するため、ナイシンの製剤として規格を設定した。

### 名称、構造式、分子式及び分子量

名称は、JECFA 規格及び FCC 規格では Nisin Preparation, EU では Nisin (製剤規格) とされている。製剤としてのみ流通することから、製剤の文字を省略し、単に「ナイシン」とした。今回の指定の対象となっているのはナイシン A であるため、構造式、分子式及び分子量については、Nisin A のものを採用した。なお、分子量は、JECFA では約 3354, FCC では~3348, EU では 3354.12 としているが、2005 年の原子量表に基づき、3354.07 とした。

### 定義

JECFA において、ナイシンは、*Lactococcus lactis* subsp. *lactis* が産生する関連性が高い抗菌性ポリペプチドの混合物であり、活量調整のために添加される塩化ナトリウム、及び無脂肪乳固形分又はその他の発酵源由来の固形分を含むことが定義されている。FCC では *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* 菌株が産生する関連性が高いポリペプチドの混合物であり、活量調整のために、塩化ナトリウム及び固形無脂肪乳を加えると記載されている。EU においては、*Streptococcus lactis* (*Lactococcus lactis* subsp. *Lactis* の旧菌株名) から産生される数種の関連性の高いポリペプチドから成ると定義されている。本規格案では、菌名は、JECFA 及び FCC に準拠した。また、抗菌活性の本質はナイシン A であることから、明確に定義する為、「主たる抗菌性ポリペプチドはナイシン A である。」と記載した。また、培地(乳培地又は糖培地)由来の成分を含むことから、そのことを記載した。

### 含 量

JECFA, FCC 及び EU とともに、900 国際単位/mg 以上と設定されており、これらの規格に準拠し、単位当たりのナイシン量を明確に示した。また、本品は塩化ナトリウムを加えて、活性を調整した製剤であり、JECFA, FCC 及び EU において、塩化ナトリウムの含量を規定しているため、本規格案でも採用した。

### 性 状

JECFA においては白~淡褐色の微粉末、FCC では白色の流動性粉末 (free-flowing powder) とされている。色については JIS 色名帳(JIS Z 8102)に準拠した。

### 確認試験

JECFA 及び FCC とともに他の抗菌剤との識別を確認する為、酸に対する安定性及び *Lactococcus lactis* のナイシンに対する耐性試験を設定している。JECFA, FCC に準拠して設定した。

### 純度試験

- (1) 鉛 JECFA では 1 mg/kg 以下、FCC では 2 mg/kg 以下、EU では、5mg/kg と設定されている。JECFA に準拠し、1.0µg/g と設定した。
- (2) ヒ素 JECFA、FCC とともに設定されていないが、EU に As として 1mg/kg と設定されている。本規格案では EU の規格を踏まえ、As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> として 2.0µg/g とした。

### 乾燥減量

JECFA、FCC 及び EU とともに 3.0% で設定されている。これらの規格に準拠し、設定した。

### 微生物限度

JECFA 及び FCC において、微生物限度が設定されていることから、本規格案でも、採用した。JECFA では、サルモネラ陰性(試料 25g)、大腸菌群 30/g、大腸菌陰性(試料 25g)が規定され、一方、FCC では、生菌数 10cfu/g、大腸菌陰性(試料 25g)、サルモネラ陰性(試料 25g)が規定されている。本規格案では、FCC 規格に準じ、生菌数、大腸菌及びサルモネラを設定し、試験法は、一般試験法及び日本薬局方に準拠した。ただし、生菌数試験では発育阻止が認められたため、試験液濃度を 1mg/ml とし、100ml を試験に用い、メンブランフィルターの材質を規定した。また、大腸菌試験では、本品の抗菌性を考慮し、「本品 1g を量り、乳糖ブイオン培地と混和して 100ml とし、30~35℃ で 24~72 時間培養する。」とした。サルモネラ試験では、本品の抗菌性を考慮し、前培養にはソイビーン・カゼイン・ダイジェスト培地 500ml を用いることとし、選択培地は試験法の検討に用いたものに限定した。

### 定量法

#### (1) 力価

JECFA では試験菌に *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* を用い、比色法による力価測定法を採用している。JECFA の比色法では目視により検液と標準液を比較し、計算を行っているため、半定量的である。一方、FCC では、*Micrococcus luteus* を試験菌として用い、穿孔平板法により得られる発育阻止円の大きさを指標として力価測定を採用している。FCC の方法は、発育阻止円の標準曲線に基づき定量的に力価測定ができる。本規格では、FCC の規格に準拠した。ただし、培地の調製方法は、より感度が高く、検量線の直線性が良好となる方法を採用した。

#### (2) 塩化ナトリウム

JECFA では及び FCC では、指示薬を用いて滴定を行っているが、いずれも操作が煩雑であるため、本規格案では、電位差滴定を採用した。

### JECFA または FCC 等に設定され、本規格では採用しなかった項目

JECFA では、「溶解性」として、「水に可溶、無極性溶媒に不溶」としているが、確認試験として、溶解性の項を設定する必要はないと考えられるため、本規格案では溶解性に係る規格は採用しないこととした。

削除: 溶解性

削除: 「試料 10g を量り、乳糖ブイオン

削除: を加えて

削除: 200

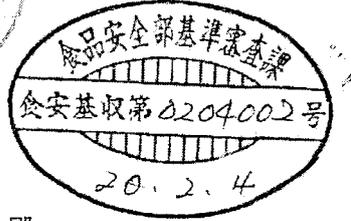
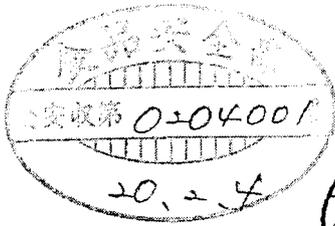
削除: とし」

削除: また、穿孔平板法は、日本薬局法 一般試験法 4.02 抗生物質の微生物学的力価試験法とほぼ同等である。

削除: 定量性、及び日本における公定試験法との整合性から、

他の規格との対比表

	本規格案	JECFA	FCC	EU
品名	ナイシン	Nisin Preparation	Nisin Preparation	Nisin
CAS No.	1414-45-5	1414-45-5	1414-45-5	
Einecs No.				215-807-5
化学式	$C_{143}H_{230}N_{42}O_{37}S_7$	$C_{143}H_{230}N_{42}O_{37}S_7$	$C_{143}H_{230}O_{37}N_{42}S_7$	$C_{143}H_{230}N_{42}O_{37}S_7$
分子量	3354.07	約3354	~3348	3354.12
定義	本品は、 <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> の培養液から得られた抗菌性ポリペプチドの塩化ナトリウムとの混合物である。無脂肪乳培地又は糖培地由来の成分を含む。主たる抗菌性ポリペプチドはナイシンAである。	<i>Lactococcus lactis</i> , subsp. <i>lactis</i> により産生される関連性の高い抗菌性ポリペプチドの混合物。ナイシンは固形無脂乳又は無乳培養源(酵母抽出物、炭水化物)の滅菌培地で産生される。ナイシンはいろいろな方法で回収される。ナイシン製剤は、ナイシンと塩化ナトリウムからなり、900IU/mg以上の活量を持つ。活量は、塩化ナトリウムの添加によって調整する。製剤には、固形無脂乳又はその他の発酵源が存在する。ナイシン製剤は室温及び酸性下での加熱に安定である。	成長に適した培養液中で、ランズフィールド分類N群の <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> により産生される関連性の高いポリペプチドの混合物である。ナイシンは、いろいろな方法で回収される。製品は、ナイシンと塩化ナトリウムからなり、活性度が900IU/mg以上となるよう、塩化ナトリウムと無脂乳固形物の添加により調整されている。(Description)	ナイシンはランズフィールド分類N群の <i>Streptococcus lactis</i> の自然菌株から産生される数種の関連性の高いポリペプチドから成る。
含量	ナイシン 900単位 / mg 以上	ナイシン 900 IU / mg 以上	ナイシン900 IU /mg以上	ナイシン 900 IU /mg 以上
	塩化ナトリウム 50%以上	塩化ナトリウム 50%以上	塩化ナトリウム 50.0%以上 (Requirements))	塩化ナトリウム 50%以上
性状	本品は白~うすい黄赤色の粉末でにおいがなく又はわずかに特異なおいがある	白~うす茶色の微粉末	白色, free-flowing powder.	白色粉末
<b>確認試験</b>				
他の抗菌物質との区別	・酸に対する安定性 ・高濃度ナイシンに対する <i>Lactococcus lactis</i> の耐性	・酸に対する安定性 ・高濃度ナイシンに対する <i>Lactococcus lactis</i> の耐性	・酸に対する安定性 ・高濃度ナイシンに対する <i>Lactococcus lactis</i> の耐性	—
溶解性	設定しない	水に可溶、 無極性溶媒に不溶	—	—
<b>純度試験</b>				
鉛	1.0 μg/g以下	1mg/kg 以下	2mg/kg以下	5mg/kg以下
ヒ素	2.0 μg/g以下 (1g, 第3法, 装置B)	—	—	1mg/kg以下
重金属 (Pbとして)	設定しない	—	—	10mg/kg以下
水銀	設定しない	—	—	1mg/kg以下
乾燥減量	3.0%以下 (105°C, 2時間)	3.0%以下 (105°C, 2時間)	3.0%以下 (105°C, 2時間)	3%以下 (102~103°C, 恒量)
<b>微生物限度</b>				
細菌数	1gにつき100以下	—	10 CFU/g	—
大腸菌	陰性 (試料1g中)	陰性 (試料25g中)	陰性 (試料25g中)	—
サルモネラ菌	陰性 (試料10g中)	陰性 (試料25g中)	陰性 (試料25g中)	—
大腸菌群	設定しない	30以下/g	—	—
<b>定量法</b>				
(1)力価	<i>Micrococcus</i> を用いた発育阻止円サイズによる力価の測定	<i>Lactococcus</i> を用いた比色法による力価の測定	<i>Micrococcus</i> を用いた発育阻止円サイズによる力価の測定	—
(2)塩化ナトリウム	0.1mol/L硝酸銀溶液で滴定(電位差滴定)	0.1N硝酸銀で滴定(ジクロロフルオロセイン)	過剰の硝酸銀を0.2Nチオシアン酸アンモニウム溶液で滴定(硫酸アンモニウム鉄試液)	



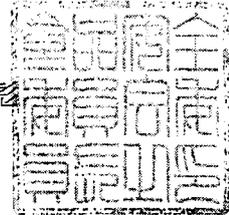
府食第00108号  
平成20年1月31日

厚生労働大臣

舛添 要一 殿

食品安全委員会

委員長 見上 彪



食品健康影響評価の結果の通知について

平成15年10月20日付け厚生労働省発食安第1020002号をもって貴省から当委員会に意見を求められたナイシンに係る食品健康影響評価の結果は下記のとおりですので、食品安全基本法（平成15年法律第48号）第23条第2項の規定に基づき通知します。

なお、食品健康影響評価の詳細は別添のとおりです。

記

ナイシンの一日摂取許容量を0.13 mg/kg 体重/日と設定する。

添加物評価書

ナイシン

2008年1月

食品安全委員会

## 目次

○ 審議の経緯.....	1
○ 食品安全委員会委員名簿.....	1
○ 食品安全委員会添加物専門調査会専門委員名簿.....	1
○ ナイシンを添加物として定めることに係る食品健康影響評価に関する審議結果.....	3
・ 要約 .....	3
1. はじめに.....	5
2. 背景等.....	5
3. 添加物指定の概要.....	5
4. 物理化学的性質等.....	6
5. 安全性.....	6
(1) 体内動態.....	6
(2) ナイシン様抗生物質産生菌のウシ及びヒトにおける存在.....	7
(3) 微生物の耐性.....	7
(4) 毒性.....	8
①急性毒性.....	8
②亜急性毒性.....	8
③慢性毒性.....	11
④慢性毒性(/繁殖毒性).....	11
⑤発がん性.....	11
⑥繁殖毒性.....	11
⑦遺伝毒性.....	12
⑧抗原性.....	12
⑨一般薬理.....	12
6. 国際機関等における安全性評価.....	12
(1) JECFA における評価.....	12
(2) 米国食品医薬品庁 (FDA) における評価.....	13
(3) 欧州食品科学委員会 (SCF) における評価.....	13
7. 一日摂取量の推計.....	14
8. 評価結果.....	14
【引用文献】.....	17
安全性試験結果一覧.....	20
(別添)ナイシンの使用予定食品及び推定摂取量.....	23

〈審議の経緯〉

平成15年10月20日	厚生労働大臣から添加物の指定に係る食品健康影響評価について要請、関係書類の接受
平成15年10月23日	第21回食品安全委員会（要請事項説明）
平成16年4月9日	第7回添加物専門調査会
平成16年11月16日	第14回添加物専門調査会
平成17年1月26日	第17回添加物専門調査会
平成19年7月30日	第46回添加物専門調査会
平成19年8月27日	第47回添加物専門調査会
平成19年8月30日	第204回食品安全委員会（報告）
平成19年8月30日	
から平成19年9月28日	国民からの意見・情報の募集
平成19年12月25日	第52回添加物専門調査会
平成20年1月29日	添加物専門調査会座長から食品安全委員会委員長へ報告
平成20年1月31日	第224回食品安全委員会（報告） （同日付け厚生労働大臣に通知）

〈食品安全委員会委員〉

平成18年6月30日まで

寺田 雅昭（委員長）	中村 靖彦
寺尾 允男（委員長代理）	本間 清一
小泉 直子	見上 彪
坂本 元子	

平成18年12月20日まで

寺田 雅昭（委員長）	野村 一正
見上 彪（委員長代理）	畑江 敬子
小泉 直子	本間 清一
長尾 拓	

平成18年12月21日から

見上 彪（委員長）	畑江 敬子
小泉 直子（委員長代理*）	廣瀬 雅雄**
長尾 拓	本間 清一
野村 一正	*平成19年2月1日から
	**平成19年4月1日から

〈食品安全委員会添加物専門調査会専門委員〉

平成15年9月25日から平成17年9月30日まで

福島 昭治（座長）	大野 泰雄
山添 康（座長代理）	西川 秋佳
井上 和秀	林 真
今井田 克己	三森 国敏
江馬 眞	吉池 信男

平成19年9月30日まで

福島 昭治（座長）	久保田 紀久枝
山添 康（座長代理）	中島 恵美

石塚 真由美  
井上 和秀  
今井田 克己  
江馬 眞  
大野 泰雄

西川 秋佳  
林 眞  
三森 国敏  
吉池 信男

平成19年10月1日から

福島 昭治 (座長)  
山添 康 (座長代理)  
石塚 真由美  
井上 和秀  
今井田 克己  
梅村 隆志  
江馬 眞

久保田 紀久枝  
頭金 正博  
中江 大  
中島 恵美  
林 眞  
三森 国敏  
吉池 信男

〈参考人〉

河村 葉子  
中澤 裕之

## ナイシンを添加物として定めることに係る 食品健康影響評価に関する審議結果

### 要 約

保存料として使用される添加物「ナイシン」（CAS 番号：1414-45-5）について、各種試験成績等を用いて食品健康影響評価を実施した。

評価に供した試験成績は、ナイシン及びそれを含有する製剤もしくは加水分解物を被験物質としたものも含め、反復投与毒性、発がん性、生殖発生毒性、遺伝毒性等である。

ナイシンについて、*in vitro* 及び *in vivo* における遺伝毒性試験において全て陰性の結果が得られており、生体にとって問題となる遺伝毒性を有するとは考えられず、また発がん性を有するものではないと考えられる。

JECFA 及び米国 FDA が根拠としているラット 2 年間慢性毒性試験は、1960 年代に実施された試験であり信頼性が担保できないことから、一日摂取許容量（ADI）設定には用いず、あくまで評価の参考に用いることとした。

欧州 SCF の評価の根拠とされているラット 3 世代繁殖毒性試験については、親動物 F0 の 5.0% 投与群の雄群で認められた体重増加抑制、児動物 F2B の 5.0% 投与群で認められた低体重を根拠に、無毒性量（NOAEL）は 1.0%（12.5 mg/kg 体重/日相当）と評価した。

追加資料として提出されたラットの 90 日間反復投与毒性試験では、5.0% 投与群の雌雄で認められた血液学的検査項目（MCH、HGB 等）の変動を根拠に、NOAEL は 1.0%（45 mg/kg 体重/日相当）と評価した。

以上より、ナイシンの NOAEL の最小値は、ラット 3 世代繁殖毒性試験の 1.0%（12.5 mg/kg 体重/日相当）と考えられることから、安全係数を 100 とし、ナイシンの ADI を 0.13 mg/kg 体重/日と設定した。

現時点で得られている知見から判断して、添加物として適切に使用される場合にあっては、交差耐性を含む耐性菌出現による医療上の問題を生じる可能性は極めて少ないと考えられる。

なお、ナイシンを添加物として適切に使用するためには、使用基準を慎重に検討することが重要であり、欧米における使用状況を勘案した上で、耐性菌出現により有効性等に影響を及ぼすことがないよう十分な配慮が必要と考えられる。

また、新たな知見が得られた場合には、必要に応じて再評価を検討する必要があると考える。

糖培地を用いて製造されたナイシン製剤（変更工程品）は、乳培地を用いて製造されたナイシン製剤（従来工程品）と同等の力価を有し、より純度が高く、また、乳由来の不純物の含有がないことから乳アレルギーのリスクの低減化が図れると考える。以上から、従来工程品の評価結果は変更工程品の評価にも適用することが可能であると判断した。

## 1 はじめに

ナイシンは発酵乳から分離されたラクトコッカス・ラクティス (*Lactococcus lactis*) が産生する 34 個のアミノ酸から成るペプチド (ランチビオティック<sup>註1</sup>系バクテリオシン<sup>註2</sup>) で、*Bacillus*属と*Clostridium*属を含むグラム陽性菌の熱処理後における芽胞の発芽後生育を低濃度で阻害する。

ナイシンは、現在、50 カ国以上で保存料として、チーズ、乳製品、缶詰等に使用されている。米国では、「Nisin preparation」(ナイシン製剤) は一般に安全と認められる物質 (Generally Recognized as Safe; GRAS物質) として、低温殺菌チーズスプレッド、低温殺菌プロセスチーズスプレッド等に抗菌剤として使用されている<sup>1)</sup>。欧州連合 (EU) では、ナイシンは保存料としてチーズ等への使用が認められている (E234)<sup>2)</sup>。

FAO/WHO合同食品添加物専門家会議 (JECFA) では、第 12 回 (1968 年) 会議においてナイシンが評価され、ラットの 2 年間慢性毒性試験の結果より、NOAELは 3,330,000 U/kg体重\*とされ、ADIは 0-33,000 U/kg体重とされている<sup>3)</sup>。

(\*原著によると、3,330,000 U/kg は飼料中濃度である。9 ページ参照)

## 2 背景等

厚生労働省は、平成 14 年 7 月の薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会での了承事項に従い、①JECFA で国際的に安全性評価が終了し、一定の範囲内で安全性が確認されており、かつ、②米国及び EU 諸国等で使用が広く認められていて国際的に必要性が高いと考えられる食品添加物 46 品目については、企業等からの指定要請を待つことなく、指定に向けた検討を開始する方針を示している。これに該当するナイシンについては、関係企業からの指定の要請もあったことから、食品安全基本法に基づき食品健康影響評価が食品安全委員会に依頼されたものである。(平成 15 年 10 月 20 日、関係書類を接受)

## 3 添加物指定の概要

今般、ナイシンについて、チーズ、アイスクリーム類、乳飲料、ホイップクリーム、ハム、ソーセージ類、たれ、つゆ、ドレッシング、フラワーペースト類、洋菓子、卵加工品、生菓子、魚介乾製品、魚肉練り製品、いくら、すじこ、たらこ、辛子明太子、かずのこ調味加工品、豆腐、味噌、麴への使用に関する基準を定め、JECFA の規格等を参考に規格を定めた上で、新たに添加物として指定しようとするものである。

---

注1 乳酸菌バクテリオシンは一般的に 3 つあるいは 4 つのクラスに分けられ、クラス I はランチビオティックと呼ばれ、細胞膜攻撃性の耐熱性低分子ペプチド (分子量 5,000 未満) である。

注2 細菌が産生し、別の細菌を殺すことができる抗菌性タンパク質あるいはペプチド。

#### 4 物理化学的性質等<sup>3)</sup>

ナイシン<sup>注3</sup>

英名：Nisin

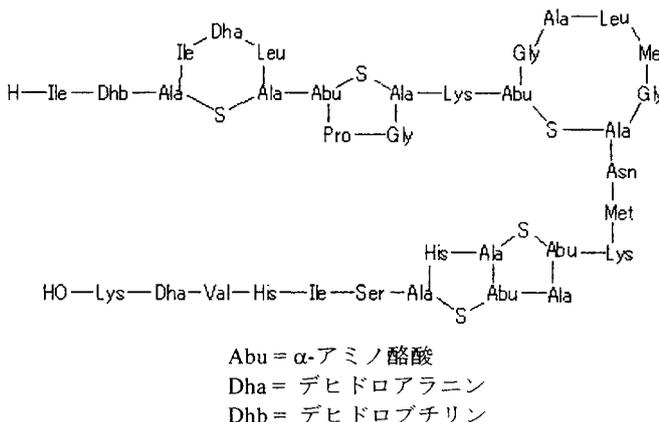
CAS 番号：1414-45-5

化学式：C<sub>143</sub>H<sub>230</sub>N<sub>42</sub>O<sub>37</sub>S<sub>7</sub>

分子量：3354.07

性状：白色～淡黄白色の粉末で、においがいいか又はわずかに特異なにおいがある。

ナイシン製剤は、*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*の培養液から得られたナイシンAを主成分とした塩化ナトリウム (NaCl) との混合物であり、1 mg当たり 900 IU<sup>注4</sup>以上のナイシンを含む。なお、精製されたナイシンは1 mg当たり 4～5×10<sup>4</sup> IU程度のナイシンを含む。



乳培地を用いて製造されたナイシン製剤（従来工程品）と糖培地を用いて製造されたナイシン製剤（変更工程品）について、組成分析、HPLC及びSDS-PAGEによる分析に関する資料に基づき評価した。その結果、組成の比較から、変更工程品は従来工程品と同等の力価を有し、より純度が高く、ナイシンA以外のタンパク質の残留物質、脂質、炭水化物及び乳糖の含有が少ないと考えられた<sup>4)</sup>。HPLCによる分析により、従来工程品、変更工程品においてともに共通のピークが検出され、そのピークはナイシンAと同定された。また、従来工程品においてはナイシンA以外にも主要なピークが認められた<sup>5)-7)</sup>。SDS-PAGE分析においても同様の結果であった<sup>8)</sup>。

#### 5 安全性

##### (1) 体内動態

###### ① ヒトにおける試験

ナイシン約 200 RU<sup>注4</sup>/mL [5 µg/mL] 含有のチョコレートミルクを、11 名に摂取させ、残存時間と口腔内細菌叢への影響を検討したところ、投与後の唾液中のナイシンは 1 分以内に大部分が消失し、5 分後には対照と同程度になった。10 分後

注<sup>3</sup> 本評価書でいうところのナイシンは、ナイシンAである。

注<sup>4</sup> U：Unit

IU：International Unit

RU：Reading Unit

1 ml ミルク中の *Streptococcus agalacticae* の 1 細胞を阻害するのに必要なナイシン量 (DANISCO 社より)  
H.U.M：Hoemoglobin Unit of Mochida (Anson 氏の Hoemoglobin 法による)

の唾液中濃度が低下していない例もあったが、実験誤差とされている<sup>9)</sup>。

ボランティアに、ナイシン含有チョコレートミルク (25,000 IU/日) を 14 日間摂取させたところ、唾液中の一般細菌数及びナイシン耐性細菌数に对照群との差は認められなかった<sup>10)</sup>。

## ② *In vitro* 試験

ナイシン製剤 100~100,000 U<sup>注4)</sup>/mL を唾液由来プチアリン (500 U/mL、pH 6.8) 又はトリプシン (1,000 H.U.M<sup>注4)</sup>/mL、pH 7.1) と反応させ、阻止円に及ぼす影響が検討された。いずれの実験においても、低濃度では阻止円の縮小が認められ、ナイシンの抗菌性は低下したが、高濃度では阻止円の縮小は認められなかった<sup>11)</sup>。

ナイシン 80 RU/mL [2 µg/mL] を 37°C で、濃度 2.5~25.6 mg/100 mL のパンクレアチンと反応させたところ、2.5 mg/100 mL 以外の濃度において、30 分後にはナイシン活性が 0 となり、ナイシンは速やかに分解された<sup>12)</sup>。

ナイシンは精製パンクレアチンと $\alpha$ -キモトリプシンによって分解され、精製トリプシンでは分解されなかったことから、パンクレアチンによるナイシンの分解は $\alpha$ -キモトリプシンによると結論されている<sup>13)</sup>。

*In vitro* 試験から、摂取されたナイシンはタンパク質分解酵素により不活性化され、ナイシン分子としては吸収されないと予測され、*in vivo* におけるナイシンの代謝は、他のポリペプチド代謝と類似していると考えられている。

## (2) ナイシン様抗生物質産生菌のウシ及びヒトにおける存在

ウシ及びヒトの各種検体を調べた結果、ヒト鼻咽喉粘膜及び糞便から 320 倍希釈液で *Lactococcus agalactiae* に対する増殖阻害能を有する 10 菌株が得られ、これらより分泌される抗菌性物質の抗菌スペクトルはナイシンと類似していた。ウシ由来の生乳から 320 倍希釈液で阻害能を有する 3 菌株が得られ、これらより分泌される抗菌性物質の抗菌スペクトルもナイシンと類似していた<sup>14)</sup>。

ナイシン様抗生物質産生菌は、頻度は低いがヒト及びウシの腸内や鼻腔内に常在している<sup>14)</sup>こと、摂取されたナイシンはタンパク質分解酵素により不活性化されると予測される<sup>11) -13)</sup>ことから、ナイシンが腸まで到達したとしても、腸内細菌叢のバランスを崩す可能性は低いと考えられる。

## (3) 微生物の耐性<sup>注5)</sup>

ナイシンは、*L. lactis* が産生する 34 個のアミノ酸から成るランチビオティック系バクテリオシンであり、広範囲のグラム陽性菌とその芽胞に対し抗菌活性を有する。作用機序としては、細胞膜に作用して膜孔を形成することにより、膜電位や膜内外

<sup>注5)</sup> 一般に、環境条件や化学物質などに対する抵抗性。抗生物質に対する細菌の抵抗力など。

のpH勾配あるいは、その両者のバランスを崩し細胞死を引き起こすことが考えられている<sup>15)</sup>。

バクテリオシン感受性の*Listeria monocytogenes*などの菌を高濃度のバクテリオシン存在下で培養すると耐性変異株が出現するとの報告があり、このような耐性は、一般的に細胞膜の構造変化（特にリン脂質組成変化）に起因するとされている<sup>15)</sup>。

また、ナイシン耐性*Listetia*属の細菌が、他のクラスのバクテリオシン（ペディオシン等）に対し、感受性低下を示すとの報告もある<sup>16)-19)</sup>。

ナイシンへの暴露は、*L. monocytogenes*の抗生物質アンピシリンとクロラムフェニコールに対する耐性菌出現頻度に影響を与えない、種々のグラム陽性病原菌において、抗生物質多剤耐性獲得はナイシンに対する感受性に影響を与えない、ナイシンと33種の抗生物質間の交差耐性<sup>注6</sup>を調査した結果、*Staphylococcus aureus*のペニシリン耐性菌は野性株に比べナイシンに対して50倍以上の高い感受性を示した等の研究から、バクテリオシン耐性が抗生物質に対して交差耐性を示す可能性は極めて低いと考えられるとされている<sup>15)</sup>。

また、頻用される医療用抗生物質の標的となる一般的な病原微生物の感受性に、ナイシンが影響を与える可能性について検討するために、各菌株を2.5 µg/mLのナイシン含有培地又は非含有培地で24時間培養した後、抗生物質の最小発育阻止濃度（MIC）を測定した。全てのグラム陰性細菌はナイシン非感受性であった。感受性菌である*Staphylococcus*属では、ナイシン含有培地ではナイシンに対する感受性が低下した。その他の医療用抗生物質に対しては、有意な感受性の低下は認められなかった。以上から、ナイシンによる医療用抗生物質に対する交差耐性は認められないとされている<sup>20)</sup>。

ナイシンは、その化学構造、物性、作用機序、交差耐性、消化管酵素による影響などから、一般に言われる抗生物質又は抗菌性物質とは異なる範疇の物質と言える。海外における使用経験からも特段問題となる報告はなく、食品添加物として使用しても、ヒト腸内細菌をはじめとする各菌種に影響を与える可能性は極めて低いと考えられる。

#### （4）毒性

##### ①急性毒性

ラットへの経口投与でのLD<sub>50</sub>は2,000 mg/kg体重以上<sup>21)</sup>、マウスへの経口投与でのLD<sub>50</sub>は6,950 mg/kg体重<sup>11)</sup>等が報告されている。

##### ②亜急性毒性

白色マウス（雑種）（雌雄各25匹、体重8～10 g又は15～20 g）にナイシン製

<sup>注6</sup> ある薬物に対して形成された耐性が、他の薬物にもみられること。

剤（生物学的力価： $10^6$  IU/g）を2ヶ月間強制経口投与（0、0.4、4.0、400 mg/kg体重/日）したところ、雄の全投与群で体重増加の上昇がみられたが、生存率及び摂餌量には差はみられなかった。2ヶ月間投与後に実施した50%食餌制限では、高用量群で対照群の43%に対して70%と高い死亡率を示した<sup>22)</sup>。

白色マウス（雑種）（雌雄各50匹、体重8~10g）に4.0 mg/kg体重/日のナイシン製剤（生物学的力価、 $10^6$  IU/g）を3ヶ月間強制経口投与したところ、投与2.5ヶ月後の生存率が低下した。3ヶ月間投与後に実施した90%食餌制限の後では、死亡率は対照群で56.3%に対し、投与群では84.6%と高値を示した<sup>22)</sup>。

上記の白色マウス（雑種）を用いた試験については、対照群の死亡率が異常に高いこと、ナイシン投与群における死亡率が非常に高いにもかかわらず死因についての記載がないこと等から、試験自体が非常に粗雑でデータの信頼性が低いため、評価の対象とはしないこととした。

CrI:CDBRラット（雌雄各5匹）に、精製ナイシン（ナイシンとして0、500、1,000、2,000 mg/kg体重/日）を10日間強制経口投与したところ、一般状態、生存率、体重、摂餌量、血液生化学的検査、臓器重量、剖検所見及び病理組織学的検査において投与に関連した変化は認められなかった。血液学的検査では、雄でヘモグロビン濃度、赤血球数及び平均赤血球容積に用量に相関した減少がみられ、雌でも同じ項目において投与群が対照群より低値を示したが、用量相関性は認められていない<sup>23)</sup>。

CrI:CDBRラット（雌雄各10匹）に精製ナイシン（ナイシンとして0、500、1,000、2,000 mg/kg体重/日）を28日間強制経口投与したところ、一般状態、体重、摂餌量、血液生化学的検査、尿検査、眼科学的検査、剖検所見及び病理組織学的検査において、投与に関連した変化はみられていない。血液学的検査では、いくつかの項目に変化がみられ、臓器重量では、雌の高用量群において、肝臓重量が対照群に比べ有意に減少したが、この週齢と動物種で通常認められる範囲の値であり、生物学的意義はないとされている<sup>24)</sup>。

離乳Birmingham-Wistar雄性ラット（各群10匹）に12週間、投与群にはナイシン含有チーズ（(0、2.00、3.01、4.01)  $\times 10^7$  U/g飼料；(0、1.0、1.51、2.01)  $\times 10^6$  U/kg体重/日<sup>25)</sup>）、対照には非含有チーズを含む飼料を与えた。ナイシン投与群の体重、一般状態、行動及び剖検時の所見に対照群と差は認められなかった<sup>26)</sup>。

ラット（雌雄各5匹）に12週間、ナイシン製剤（生物学的力価： $10^6$  RU/g、飼料中濃度0、10,000 RU/g；0、 $0.5 \times 10^6$  RU/kg体重/日<sup>25)</sup>）を混餌投与した結果、対照群と投与群の体重増加に差は認められず、投与群には何ら異常は認められなかった。投与群と対照群の雄の生殖率は同等（100%）で、投与群と対照群の雌も同程度であった（それぞれ90%と85%）。すべての出生児は正常であった<sup>27)</sup>。

雄性Wistarラット（各群5匹）に0.5~5,000 U/kg体重/日のナイシン製剤を90日間強制経口投与したところ、一般状態、体重、血液学的検査、臓器重量、主要臓

器の病理組織学的検査において投与に起因した変化はみられなかった<sup>11)</sup>。

Birmingham-Wistar雄性ラット（各群10匹）にナイシン加水分解物（ナイシン製剤を1.0N塩酸で加水分解し、脱水して活性炭処理後に再結晶したもの）、又はナイシン（ $3.33 \times 10^6$  U/kg飼料）を10週間混餌投与した後、さらに25週間混餌投与したところ、ナイシン加水分解物を混餌投与した動物の体重増加に影響はなかった。個別ケージで飼育されたラットの脾臓重量の増加がみられたが、複数でケージに入れられた飼育群に同様の変化はみられず、また、評価された他の指標には影響がみられなかったことから、ストレスに起因すると結論されている<sup>26)</sup>。

F344/DuCrIjラット（雌雄各群10匹）にナイシンA（生物学的力価：3,000 IU/mg、飼料中濃度0、0.2、1.0及び5.0%；約0、120、600、3,000 mg/kg体重/日相当、参照対照群3.712%NaCl添加飼料（5.0%ナイシンA添加飼料中のNaCl含量；約2,200 mg/kg体重/日相当）を90日間反復投与したところ、投与期間中に死亡例はみられず、一般状態、体重、摂餌量、眼科的検査及び肉眼的病理検査において被験物質に起因すると考えられる変化は認められなかった。5.0%投与群の雌雄で血色素量（HGB）の上昇、平均赤血球色素量（MCH）の上昇、5.0%投与群の雌で平均赤血球血色素濃度（MCHC）の上昇が認められた。

ナイシンA投与群において、摂水量の高値、尿検査における尿量の高値、尿中Na及びClの高値、尿中Kの低値、血液生化学的検査におけるNaの低値、腎臓の絶対重量及び相対重量の高値、病理組織学的検査における前胃の境界線における扁平上皮過形成が観察された<sup>28)</sup>。しかし、これらの変化は参照対照群においても観察されており、被験物質に含まれるNaClに起因する変化と考えられる。なお、血液生化学的検査の総コレステロール（T-CHO）及びリン脂質（PL）の用量相関的な減少は、参照対照群では認められておらず、ナイシンの影響による影響と考えられるが、毒性学的な意義はないと考える。

よって、ナイシンのNOAELは1.0%（ナイシン1gは $40 \times 10^6$  IUに相当することから、45 mg/kg体重/日相当）と考えられる。

ビーグル犬（雌雄各2匹）に精製ナイシンを最大耐量（MTD：12日間かけて0（対照群）、あるいは500、1,000、2,000 mg/kg体重/日と増量）と固定用量（対照群について、続いて2,000 mg/kg体重/日を7日間）を強制経口投与したところ、MTD及び固定用量投与期間において、一般状態、生存率、体重、摂餌量、血液学的検査、尿検査、臓器重量、剖検所見及び病理組織学的検査において投与に起因する変化はみられず、精製ナイシン2,000 mg/kg体重/日投与での毒性は認められていない<sup>29)</sup>。

ビーグル犬（雌雄各3匹）への精製ナイシン（ナイシンとして0、150、500、2,000 mg/kg体重/日）の28日間強制経口投与により、一般状態、生存率、眼科学的検査、心電図検査、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、臓器重量、剖検所見及び病理組織学的検査結果では、投与に関連した変化はみられていない。2,000 mg/kg

体重/日投与群の雄及び150 mg/kg体重/日投与群以上の雌で、対照群と比較して体重増加抑制がみられ、500 mg/kg体重/日投与群以上の雌で摂餌量の減少が認められた<sup>30)</sup>。

### ③慢性毒性

Wistarラット（雌雄各10匹）に2.0 mg/kg体重/日のナイシン製剤（生物学的力価： $10^6$  IU/g）を通常の飼料を与える前にペースト状にして18ヶ月間混餌投与した結果、ナイシン投与群の平均摂餌量は対照群と同程度で、摂水量は雌の投与群で高値を示した。血液pH（blood alkalinity）、C反応性蛋白及び血液形態学的評価は、対照群と同程度であった<sup>22)</sup>。

### ④慢性毒性（／繁殖毒性）

Birmingham-Wistarラット（雌雄各10匹）に基礎飼料又はナイシン製剤 $3.33 \times 10^4$  U/kg含有飼料、 $3.33 \times 10^6$  U/kg含有飼料（1,665、166,500 U/kg体重/日<sup>25)</sup>）を最長約2年間与えた。16週間後、同一群の雌雄を交配させ、生殖能力を評価し、各投与群の出生児（F1）の雌30匹と雄10匹に親（F0）と同じ食餌を与えた。F0の対照群と投与群では生存率及び生殖能力に差はみられず、F1の血液学的検査、肝臓、腎臓、消化管の機能検査は正常であった。F0及びF1ともに、雄の投与群において体重増加の有意な減少がみられたが、これは摂餌量のわずかな低下に起因すると考えられている。雌の高用量群で腎臓、卵巣及び子宮の相対重量が有意に増加したが、肉眼的及び病理組織学的所見に特記すべき異常は認められなかった。よって、ナイシンのNOAELは $3.33 \times 10^6$  U/kg含有飼料と考えられる（JECFAは、4.16 mg/kg体重/日相当と換算し、FDAは、4.9 mg/kg体重/日相当と換算している）<sup>26)</sup>、注7、注8。

非げっ歯類を用いた慢性毒性試験は実施されていない。

### ⑤発がん性

発がん性試験は実施されていない。なお、ラット2年間慢性毒性試験の病理組織学的所見に異常はみられていない<sup>26)</sup>。

### ⑥繁殖毒性

3世代（F0、F1B、F2B）のCrI:CDBRラット（各群雄12匹、雌24匹）にナイシン製剤0、0.2、1.0、5.0%を含有する基礎飼料（ $(0, 0.1, 0.5, 2.5) \times 10^6$  IU/kg体重/

注7 ナイシン1gは $40 \times 10^6$  Uに相当し<sup>21)</sup>、「Principles for the Safety Assessment of Food Additives and Contaminants in Food (JECFA, 1987)」において示されたラット（old）の食餌中濃度の換算係数（1 ppm=0.050 mg/kg体重/日）を採用すると、NOAELは4.16 mg/kg体重/日となる。

注8 FDAは、実験者の仮定（ラットの体重を250g、摂餌量を15gと仮定）に基づき、高用量群の投与量が $1.96 \times 10^5$  U/kg体重（4.9 mg/kg体重）に相当することから、ADIを0.049 mg/kg体重/日と算出している。

日<sup>25)</sup>)、並びに参照対照群としてNaClを3.8%含有する飼料を与えた。親動物については、F0の5.0%投与群の雄群で体重増加抑制が観察されたが、食餌効率、交配行動、妊娠率、妊娠期間、肉眼的病理検査では、投与に起因した変化はみられなかった。児動物については、生存率、同腹児数、剖検所見、試験終了時の臓器重量及び病理組織学的検査に投与に起因した変化はみられなかったが、F2Bの5.0%投与群で低体重が観察された<sup>31)</sup>。よって、ナイシンのNOAELは1.0% (12.5 mg/kg体重/日相当) と考えられる<sup>注9)</sup>。

#### ⑦遺伝毒性

*Salmonella typhimurium* (TA98、TA100、TA1535、TA1537) と *Escherichia coli* (WP2/pKM101、WP2uvrA/pKM101) を用いた精製ナイシンの復帰突然変異試験において、S9mixの有無にかかわらず、試験した全ての用量 (0~1,500 µg/プレート) において陰性であった<sup>32)</sup>。

マウスリンパ腫L5178Y細胞を用いた精製ナイシンの遺伝毒性試験において、S9mixの有無にかかわらず、いずれの濃度 (最低濃度 25~50、最高濃度 300~1,000 µg/mL) においても陰性であった<sup>33)</sup>。

ヒトリンパ球初代培養細胞を用いた精製ナイシンの染色体異常試験において、S9mixの有無にかかわらず、いずれの用量 (62.5~500 µg/mL) においても染色体異常誘発性は認められていない<sup>34)</sup>。

*In vivo*マウス骨髄小核試験では、最高 2,000 mg/kg体重/日のナイシン強制経口投与マウスの骨髄の多染性赤血球 (PCE) において小核の誘発は認められず、生体内における染色体異常誘発性はないものと考えられる<sup>35)</sup>。

#### ⑧抗原性

モルモット回腸の収縮の測定による感作性の検討において、ナイシン製剤 50 mg (50,000 U) /日を3ヶ月間混餌投与した3匹の感作性は陰性であったが、等用量を単回腹腔内投与した3匹では全て陽性であった。これは、ナイシンが小腸内のタンパク質分解酵素やペプチダーゼによって分解されることと整合するとされている<sup>26)</sup>。

#### ⑨一般薬理

一般薬理試験は実施されていない。

### 6 国際機関等における評価

#### (1) JECFA における評価

JECFAでは、1968年に、ラット2年間慢性毒性試験<sup>26)</sup>の結果よりラットにおける

注9) 注7で用いた換算係数を採用すると、ナイシン製剤(ナイシン2.5%含有<sup>26)</sup>)1.0%投与群の投与量は12.5 mg/kg体重/日に相当する。

NOAELを最高用量の3,330,000 U/kgとして、ADIは33,000 U/kgと設定した<sup>3)</sup>が、原著論文によるとこの値は飼料中の濃度である。ヒト体重あたり、かつmg単位に換算すると、NOAELは4.16 mg/kg体重/日に相当し、ADIは0.042 mg/kg体重/日となる<sup>注7</sup>。

なお、細菌抵抗性について、細菌においてナイシン以外の抗生物質治療に影響する交差耐性が生じることを示した包括的な微生物学的研究は示されておらず、ナイシンの抗菌活性は上部消化管におけるタンパク質の分解消化により即座に失われるため、腸内細菌叢に対する影響が示されることはないとされている。

2007年の第68回JECFA会合において、従来の乳培地を用いて製造されたナイシン製剤に加え、糖培地を用いて製造されたナイシン製剤についても成分規格に含めるための変更がなされた<sup>36)</sup>。

## (2) 米国食品医薬品庁 (FDA) における評価

米国FDAでは、1984年に、JECFAが評価に用いたラット2年間慢性毒性試験<sup>26)</sup>の結果より、ナイシンのADIを2.9 mg/ヒト/日と設定した旨公表しており<sup>37), 38)</sup>、これは体重60 kg換算で、0.049 mg/kg体重/日となる<sup>注8</sup>。

なお、ナイシンはパンクレアチン(腸内酵素)により分解されることから、腸内細菌叢に影響を与えないと考えられ、病原微生物の交差耐性に影響するとの報告はないとしている。

## (3) 欧州食品科学委員会 (SCF) における評価

SCFが1990年に発表した報告書<sup>39)</sup>によると、SCFは、ラット及びマウスの急性毒性、亜急性並びに長期試験、及びラットの繁殖毒性試験についてJECFAが1968年にレビューした資料を入手し、さらに*in vitro*及び*in vivo*の遺伝毒性試験、繁殖毒性試験についてレビューし、遺伝毒性及び発がん性に関する入手可能なデータでは、現在の毒性試験基準を満たしていないが、投与に関連した有害作用は認められていないとし、3世代繁殖毒性試験の結果<sup>31)</sup>に基づき、ADIを0.13 mg/kg体重/日と設定しているが、NOAEL等の評価の詳細な内容は発表されていない<sup>注9</sup>。

なお、本報告書中で引用されているレポートでは、感受性菌である *Staphylococcus* 属がナイシン自身に耐性を示す証拠があるが、微生物がナイシンに暴露されることにより、抗生物質やその他の治療薬に対し耐性を生じる可能性はほとんどないとしている。

2006年1月、欧州食品安全機関(EFSA)のAFCパネルは、ADI 0.13 mg/kg体重/日を変更しなければならなくなるような新しいデータはないとしている。また、ナイシンはトリプシンとパンクレアチンにより不活性化されることから腸内細菌叢には影響しないと推察するとともに、食品へのナイシン使用により耐性を生じる懸念はないと指摘している<sup>40)</sup>。

2006年10月にAFCパネルは、糖培地を用いて製造されたナイシン(製剤)は、

従来の乳培地を用いて製造されたナisin（製剤）と同等であるが、より純度が高く、タンパク質（ナisinA以外）の残留物質、脂肪、炭水化物及び乳糖の含有が少ないと評価している。その上で、ADI 0.13 mg/kg体重/日を変更する必要はないことを確認するとともに、乳製品に対するアレルギーのリスクを回避できるだろうと結論している<sup>41)</sup>。

動物種	試験種類	試験期間	飼料中濃度	NOAEL 又は NOEL	備考
ラット	慢性毒性/ 繁殖 <sup>26)</sup>	2年間	3.33 × 10 <sup>4</sup> 、 3.33 × 10 <sup>6</sup> U/kg飼料 (0.83、83.3 mg/kg 飼料)	3.33 × 10 <sup>6</sup> U/kg飼料 (83.3 mg/kg 飼料) [4.16 mg/kg 体重/日相当 <sup>7)</sup>	JECFA(1968) ADI=3.3 × 10 <sup>4</sup> U/kg (0.042 mg/kg 体重/日)
				[4.9 mg/kg体重/日相当 <sup>8)</sup>	FDA(1984) ADI=0.049 mg/kg 体重/日
	繁殖 <sup>31)</sup>	26週間	0、0.2、1.0、5.0%	1.0% [12.5 mg/kg体重/日相当 <sup>9)</sup>	EU/SCF(1990) ADI=0.13 mg/kg 体重/日

## 7 一日推定摂取量の推計

米国では、プロセスチーズスプレッド、フランクフルトのケーシング等に使用されており、ナisinの食品からの推定摂取量は 2.15 mg/ヒト/日（体重 60 kgとして 0.036 mg/kg体重/日）とされている<sup>22), 37), 42)</sup>。また、EUでは、チーズ等に使用されており、推定摂取量は 0.008 mg/kg体重/日との情報がある<sup>2), 43)</sup>。

要請者により提案されている使用基準案に基づき、添加物として使用された場合のわが国における推定摂取量は、国民健康・栄養調査を参考にして算出すると 0.045 mg/kg体重/日とされている（別添：ナisinの使用予定品目及び推定摂取量）<sup>44)</sup>。

## 8 評価結果

ナisinについて、*in vitro* 及び *in vivo* における遺伝毒性試験において全て陰性の結果が得られており、生体にとって問題となる遺伝毒性を有するとは考えられず、また発がん性を有するものではないと考えられる。

JECFA 及び米国 FDA が根拠としているラット 2 年間慢性毒性試験は、1960 年代に実施された試験であり信頼性が担保できないことから、一日摂取許容量（ADI）設定には用いず、あくまで評価の参考に用いることとした。

欧州 SCF の評価の根拠とされているラット 3 世代繁殖毒性試験については、親動物

F0 の 5.0%投与群の雄群で認められた体重増加抑制、児動物 F2B の 5.0%投与群で認められた低体重を根拠に、NOAEL は 1.0% (12.5 mg/kg 体重/日相当) と評価した。

追加資料として提出されたラットの 90 日間反復投与毒性試験では、5.0%投与群の雌雄で認められた血液学的検査項目 (MCH、HGB 等) の変動を根拠に、NOAEL は 1.0% (45 mg/kg 体重/日相当) と評価した。

以上より、ナイシンの NOAEL の最小値は、ラット 3 世代繁殖毒性試験の 1.0% (12.5 mg/kg 体重/日相当) と考えられる。安全係数は、繁殖毒性試験で認められている毒性が重篤なものではないことから、通常の 100 を適用することとした。

上記を踏まえ、ナイシンの ADI は、0.13 mg/kg 体重/日と評価した。

ADI	0.13 mg/kg 体重/日
(ADI 設定根拠資料)	3 世代繁殖毒性試験
(動物種)	ラット
(投与方法)	混餌投与
(NOAEL 設定根拠所見)	F0 : 体重増加抑制、F2B : 低体重
(NOAEL)	12.5 mg/kg 体重/日
(安全係数)	100

ナイシンは、グラム陽性菌の芽胞の生育を阻害する乳酸菌バクテリオシン (ペプチド) であり、上部腸管でパンクレアチン等により分解され、不活化される。

耐性菌の選択に関する専門家の意見のポイントは以下のとおりである。

- ・経口摂取したとしても体内には吸収されず、腸管への移行も少量であり、また、移行したナイシンは腸内酵素により分解又は不活性化されると考えられ、下部腸管における腸内細菌叢への影響も極めて少ない。
- ・近年、リステリア菌のナイシン耐性及び他のバクテリオシンとの交差耐性に関する報告があるものの、医療用抗生物質との交差耐性は実験的に認められておらず、医療上の問題となったとの臨床における報告も得られていない。
- ・仮に添加物としての使用により、耐性菌が選択されるとしても、海外における長期の使用経験の中で、ヒトの健康に重大な影響を及ぼしたとする報告は現時点で得られていない。

以上、現時点で得られている知見から判断して、添加物として適切に使用される場合にあっては、交差耐性を含む耐性菌出現による医療上の問題を生じる可能性は極めて少ないと考えられる。

なお、ナイシンを添加物として適切に使用するためには、使用基準を慎重に検討することが重要であり、欧米における使用状況を勘案した上で、耐性菌出現により有効性等に影響を及ぼすことがないよう十分な配慮が必要と考えられる。

また、新たな知見が得られた場合には、必要に応じて再評価を検討する必要があると考える。

糖培地を用いて製造されたナイシン製剤（変更工程品）は、乳培地を用いて製造されたナイシン製剤（従来工程品）と同等の力価を有し、より純度が高く、また、乳由来の不純物の含有がないことから乳アレルギーのリスクの低減化が図れると考える。以上から、従来工程品の評価結果は変更工程品の評価にも適用することが可能であると判断した。

## 【引用文献】

- 1) 21 CFR Ch.I (4-1-03 Edition) Food and Drug Administration, HHS.§184.1538 2003.
- 2) European Parliament and Council Directive No 95/2/EC of 20 Feb 1995 on food additives other than colours and sweeteners
- 3) FAO Nutrition Meetings Report Series: 45A 1968 Specifications for the identity and purity of food additives and their toxicological evaluation: some antibiotics: 33-35.
- 4) Nisin (E234) new specification – process modification/ liquid eggs application (ダニスコ社が欧州委員会に提出した規格変更、液卵用途追加の要望資料 (2005年10月24日))
- 5) Re:Nisin (INS 234) - Specification Modification, November 24, 2006 (ダニスコ社がJECFAに提出した規格変更の要望資料 (2006年11月24日))
- 6) Nisin (INS 234) - Specification Revision, November 24, 2006 三栄源エフ・エフ・アイ(株) 社内資料 (ダニスコ社がJECFAに提出した規格変更の要望資料 (2006年11月24日))
- 7) 乳培地及び糖培地由来ナイシンAのHPLC分析比較. 三栄源エフ・エフ・アイ(株) 社内資料. (2007年11月)
- 8) SDS-PAGE Analysis of Nisaplin and Nisaplin Dairy、ダニスコ社内資料 (2007年11月14日)
- 9) Claypool L, Heinemann B, Voris L, Stumbo CR. Residence time of nisin in the oral cavity following consumption of chocolate milk containing nisin. *J. Dairy Sci.* (1966) 49: 314-316.
- 10) Cowell ND, Allen AR, Jarvis B. The *in vivo* effect of nisin on the microflora of the oral cavity. *J. Appl. Bact.* (1971) 34: 787-791.
- 11) Hara S, Yakazu K, Nakakawaji K, Takeuchi T, Kobayashi T, Sata M, Imai Z, Shibuya T. An investigation of toxicity of nisin with particular reference to experimental studies of its oral administration and influence by digestive enzymes. *J. Tokyo Med. Coll.* (1962) 20: 176-207.
- 12) Heinemann B, Williams R. Inactivation of nisin by pancreatin. *J. Dairy Sci.* (1966) 49: 312-314.
- 13) Jarvis B, Mahoney RR. Inactivation of nisin by alpha-chymotrypsin. *J. Dairy Sci.* (1969) 52: 1448-1450.
- 14) Hirsch A, Wheeler DM. The production of antibiotics by *Streptococci*. *J. Dairy Res.* (1951) 12: 193-197.
- 15) 川本伸一, 島純. 乳酸菌科学の最前線-どこに向かうのか 乳酸菌バクテリオシンとその利用. *Foods & Food Ingred. J. Jpn.* (2004) 209: 758-767.
- 16) Gravesen A, Kallipolitis B, Holmstrom K, Hoiby PE, Ramnath M, Knochel S. pbp2229-Mediated nisin resistance mechanism in *Listeria monocytogenes* confers cross-protection to class IIa bacteriocins and affects virulence gene expression. *Appl.*

- Environ. Microbiol.* (2004) 70: 1669-1679.
- 17) Rasch M, Knochel S. Variations in tolerance of *Listeria monocytogenes* to nisin, pediocin PA-1 and bavaricin A. *Lett. Appl. Microbiol.* (1998) 27: 275-278.
  - 18) Crandall AD, Montville TJ. Nisin resistance in *Listeria monocytogenes* ATCC 700302 is a complex phenotype. *Appl. Environ. Microbiol.* (1998) 64: 231-237.
  - 19) Song H-J, Richard J. Antilisterial activity of three bacteriocins used at sub minimal inhibitory concentrations and cross-resistance of the survivors. *Int. J. Food Microbiol.* (1997) 36: 155-161.
  - 20) Hossack DJN, Bird MC, Fowler GG. The effects of nisin on the sensitivity of microorganisms to antibiotics and other chemotherapeutic agents. *Antimicrobials and Agriculture* (1983) 425-433.
  - 21) 'Purified nisin: Acute oral toxicity (limit test) in the rat'. SPL Project Number: 867/002. SafePharm Laboratories, November 1995. Unpublished Confidential Report.
  - 22) Shtenberg AJ, Ignat'ev AD. Toxicological evaluation of some combinations of food preservatives. *Fd. Cosmet. Toxicol.*(1970) 8: 369-380.
  - 23) 'Ambicin N (purified nisin): 7 Day oral (gavage administration) toxicity study in the rat'. Corning Hazleton. Report No. 1334/3-1050. December 1995. Unpublished Confidential Report.
  - 24) 'Ambicin (purified nisin): 28 Day oral (gavage administration) toxicity study in the rat'. Corning Hazleton. Report No. 1334/1-1050. April 1996. Unpublished Confidential Report.
  - 25) Principles for the safety assessment of food additives and contaminants in food. Environmental Health Criteria 70. IPCS in cooperation with the JECFA. World Health Organization, Geneva. (1987).
  - 26) Frazer AC, Sharratt M, Hickman JR. The biological effects of food additives. I. -Nisin. *J. Sci. Food&Agri.* (1962) 13: 32-42.
  - 27) Pesquera TI. Nisin -its use, estimation and toxicity in sterilised milk. *Revista Espanola de Lecheria.* (1966) 59: 25-41.
  - 28) ナイシンAのラットを用いた90日間反復投与毒性試験 試験番号0637  
株式会社DIMS医科学研究所 (最終報告書 2007.6.27)
  - 29) 'Ambicin N (purified nisin): Maximum tolerated dose (MTD) toxicity study followed by a 7 day fixed dose oral (gavage administration) toxicity study in the dog'. Corning Hazleton. Report No. 1334/4-1050. December 1995. Unpublished Confidential Report.
  - 30) 'Ambicin (purified nisin): 28 Day oral (gavage administration) toxicity study in the dog'. Corning Hazleton. Report No. 1334/1-1050, Corning Hazelton (Europe), Harrogate N. Yorkshire, England. April 1996.
  - 31) 'Effect of nisaplin on reproductive function of multiple generations in the rat'. Huntingdon Research Centre. Report No. APL 1/801028, June 1981. Unpublished

- Confidential Report.
- 32) 'Ambicin N (purified nisin). Bacterial mutation assay'. Huntingdon Life Sciences. Report No. APM 1/952077, November 1995 and Protocol. Unpublished Confidential Report.
  - 33) 'Ambicin N. Mouse lymphoma mutation assay'. Inveresk Research International. Report number 12242, December 1995 and Protocol. Unpublished Confidential Report.
  - 34) 'Ambicin (purified nisin). Metaphase chromosome analysis of human lymphocytes cultured in vitro'. Huntingdon Life Sciences. Report No. APM 2/952601, April 1996 and Protocol. Unpublished Confidential Report.
  - 35) 'Ambicin N (purified nisin). Induction of micronuclei in the bone marrow treated mice'. Corning Hazleton. Report No. 1334/5-1052, January 1996 and Protocol. Unpublished Confidential Report.
  - 36) JECFA. 「NISIN PREPARATION」  
(<http://www.fao.org/ag/agn/jecfa-additives/specs/monograph4/additive-295-m4.pdf>)
  - 37) Federal Register : 53 FR 11247, Apr. 6, 1988, Food and Drug Administration, HHS.
  - 38) Memorandum of November 9, 1984, from Alfred N. Milbert to John W. Gordon.
  - 39) Food-science and techniques Reports of the Scientific Committee for Food (Twenty-sixth series). Commission of the European Communities. (1992)
  - 40) Opinion of the Scientific Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Materials in Contact with Food on a request from the Commission related to The use of nisin (E234) as a food additive. Question number EFSA-Q-2005-031 (Adopted on 26 January 2006) 314; 1-16
  - 41) Opinion of the Scientific Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Materials in Contact with Food on the safety in use of nisin as a food additive in an additional category of liquid eggs and on the safety of nisin produced using a modified production process as a food additive. Question number EFSA Q-2005-031b (Adopted on 20 October 2006) 314b; 1-8
  - 42) Agency Response Letter GRAS Notice No.GRN 000065.
  - 43) Shillinger Y, Bogoroditskaia VP, Osipova IN. Hygienic characteristics of a Soviet-made preparation nisin –an antibiotic employed for preservation of food products. (1969) 28:44-48
  - 44) 健康・栄養情報研究会編：国民栄養の現状（平成 16 年厚生労働省国民健康・栄養調査結果）平成 16 年
  - 45) Hirsch A, Mattick ATR. Some recent applications of nisin. *The Lancet*. (1949) 190: 190-7.

ナイシン 安全性試験結果

試験	投与期間	動物種	投与方法	1群当たりの動物数	被験物質	投与量 又は濃度	試験結果	参考資料
急性毒性	単回 (7日間 観察)	ラット	経口	記載なし	ナイシン製剤 ( $10^6$ U/g)	最高 $10^6$ U/kg 体重	$LD_{50}$ : $>10^6$ U/kg 体重	26
			腹腔内	記載なし	ナイシン製剤 ( $10^6$ U/g)	最高 $10^6$ U/kg 体重	$LD_{50}$ : $>10^6$ U/kg 体重	
	単回 (2週間 観察)	ラット	経口	雌雄各 5	精製ナイシン ( $52.2 \times 10^6$ U/g)	2,000 mg/kg 体重	$LD_{50}$ : $>2,000$ mg/kg 体重	21
	単回 (7日間 観察)	ラット	強制経口	3	ナイシン製剤 ( $10^6$ U/g)	(0.5、1.0、1.5) $\times 10^6$ RU/kg 体重	$LD_{50}$ : $>1.5 \times 10^6$ U/kg 体重	27
	単回	マウス	経口	10	ナイシン製剤 ( $10^6$ U/g)	6,000-8,000 mg/kg 体重	$LD_{50}$ : 6,950 mg/kg 体重	11
			腹腔内	10	ナイシン製剤 ( $10^6$ U/g)	3,500-6,000 mg/kg 体重	$LD_{50}$ : 4,750 mg/kg 体重	
			皮下注	10	ナイシン製剤 ( $10^6$ U/g)	3,500-5,000 mg/kg 体重	$LD_{50}$ : 4,450 mg/kg 体重	
	単回	ウサギ	静注	記載なし	精製ナイシン	記載なし	$LD_{50}$ : 約 30 mg/kg 体重	45
			筋注	記載なし	精製ナイシン	記載なし	$LD_{50}$ : 200 mg/kg 体重	
			皮下注	記載なし	精製ナイシン	記載なし	$LD_{50}$ : $>1,000$ mg/kg 体重	
亜急性毒性	2ヶ月間	マウス	経口	雌雄各 25	ナイシン製剤 ( $10^6$ IU/g)	0.4、4.0、400 mg/kg 体重/日	雄の全投与群で体重増加が上昇。生存率、摂餌量には変化なし。	22
	3ヶ月間	マウス	経口	雌雄各 50	ナイシン製剤 ( $10^6$ IU/g)	4.0 mg/kg 体重/日	投与後 2.5ヶ月の生存率が低下した。	22
	10日間	ラット	経口	雌雄各 5	精製ナイシン ( $51.6 \times 10^6$ IU/g)	0、500、1,000、2,000 mg/kg 体重/日	雄でヘモグロビン濃度、赤血球数、平均赤血球容積に用量に相関した減少がみられた。雌でも低値を示したが、用量相関性はなかった。	23
	28日間	ラット	経口	雌雄各 10	精製ナイシン ( $49.6 \times 10^6$ IU/g)	0、500、1,000、2,000 mg/kg 体重/日	投与に関連した変化はみられなかった。	24
	28日間	イヌ	経口	雌雄各 3	精製ナイシン ( $49.1-51.1$ ) $\times 10^6$ IU/g)	0、150、500、2,000 mg/kg 体重/日	2,000 mg/kg 体重/日投与群の雄及び 150 mg/kg 体重/日投与群以上の雌で、対照群と比較して体重増加抑制がみられ、500 mg/kg 体重/日投与群以上の雌で摂餌量の減少が認められた。	29
	12週間	ラット	混餌	雄 10	ナイシン製剤 ( $10^6$ U/g)	(0、2.00、3.01、4.01) $\times 10^7$ U/kg 飼料 [(0、1.0、1.51、2.01) $\times 10^6$ U/kg 体重/日]*4	投与群と対照群との間に体重、一般状態及び行動及び剖検時の所見に差は認められなかった。	26
	12週間	ラット	混餌	雌雄各 5 *1	ナイシン製剤 ( $10^6$ RU/g)	$10^4$ RU/g 飼料 [0.5 $\times 10^6$ RU/kg 体重/日]*4	投与群と対照群との間に体重増加、生殖率の差はみられず、胎児は全て正常であった。	27
	90日間	ラット	経口	雄 5	ナイシン製剤 ( $10^6$ U/g)	0.5 ~ 5,000 U/kg 体重/日	投与に起因した変化はみられなかった。	11

試験	投与期間	動物種	投与方法	1群当たりの動物数	被験物質	投与量又は濃度	試験結果	参考資料
亜急性毒性 (続き)	10+25週間*2	ラット	混餌	雄 10	ナイシン加水分解物	(ナイシンとして) 3.33 × 10 <sup>6</sup> U/kg飼料	体重増加に影響はみられなかった。個別ケージで飼育したラットの脾臓重量の増加がみられたが、グループ飼育群にはみられず、他の指標にも影響が認められなかった。	26
	90日間	ラット	混餌	雌雄各 10	ナイシン A (3×10 <sup>6</sup> IU/g)	0、0.2、1.0 及び 5.0%飼料中濃度 [約 120、600、3,000 mg/kg 体重/日相当]  参照対照群：3.712%NaCl 添加飼料 [約 2,200 mg/kg 体重/日相当]	投与期間中に死亡例はみられず、一般状態、体重、摂餌量、眼科的検査及び肉眼的病理検査において被験物質に起因すると考えられる変化は認められなかった。5.0%投与群の雌雄で HGB の上昇、MCH の上昇、5.0%投与群の雌で MCHC の上昇が認められた。また、ナイシン A 投与群において、一部の観察項目において、変動が認められているが、参照対照群においても観察されており、NaCl の影響と考えられる。 [NOAEL : 1.0% (45 mg/kg 体重/日相当)]	28
	12日間 (MTD Phase)/ 7日間 (Fixed Dose Phase)	イヌ	経口	雌雄各 2	MTD Phase : 精製ナイシン (51.6 × 10 <sup>6</sup> IU/g)  Fixed Dose Phase : 精製ナイシン (50.6 × 10 <sup>6</sup> IU/g)	0 (対照群)、あるいは 500、1,000、2,000 mg/kg 体重/日と増量  対照群について、続いて 2,000 mg/kg 体重/日	投与に起因する変化はみられず、2,000 mg/kg 体重/日投与で毒性はみられなかった。	29
慢性毒性	18ヶ月間	ラット	混餌 (ペースト状)	雌雄各 10	ナイシン製剤 (10 <sup>6</sup> IU/g)	2.0 mg/kg 体重/日	平均摂餌量は変化なし。摂水量が雌で高値を示した。血液 pH、C 反応性蛋白及び血液形態学的評価は対照群と同程度であった。	22
慢性毒性/繁殖	2年間	ラット	混餌	雄 15、雌 30	ナイシン製剤 (10 <sup>6</sup> U/g)	0、3.33×10 <sup>4</sup> 、3.33×10 <sup>6</sup> U/kg 飼料 [1,665、166,500 U/kg 体重/日]*4	雌の高用量群で腎臓、卵巣及び子宮の相対重量が有意に増加したが、肉眼的及び病理組織学的所見に異常は認められなかった。 [NOAEL : 3.33×10 <sup>6</sup> U/kg飼料 (4.16 又は 4.9 mg/kg 体重/日相当)]	26
繁殖	26週間*3	ラット	混餌	雄 12、雌 24	ナイシン製剤 (10 <sup>6</sup> IU/g)	0、0.2、1.0、5.0% [(0、0.1、0.5、2.5)×10 <sup>6</sup> IU/kg 体重/日]*4 参照対照群：3.8%NaCl 含有飼料	親動物：F0 の 5.0%投与群の雄群で体重増加抑制が観察されたが、投与に起因した変化はみられなかった。児動物：投与に起因した変化はみられなかったが、F2B の 5.0%投与群で低体重が観察された。 [NOAEL : 12.5 mg/kg 体重/日相当]	31

試験	投与期間	動物種	投与方法	1群当たりの動物数	被験物質	投与量 又は濃度	試験結果	参考資料
遺伝毒性		TA98、 TA100、 TA1535、 TA1537、 WP2pKM101、 WP2uvrA/pKM101	<i>in vitro</i>		精製ナイシン ( $52.2 \times 10^6$ IU/g)	5、15、50、150、 500、1,500 µg/plate	S9mixの有無にかかわらず陰性。	32
	(予備試験)	マウスリンパ L5178Y	<i>in vitro</i>		精製ナイシン ( $51.6 \times 10^6$ IU/g)	3.3-1,000 µg/ mL (6濃度)	予備試験では、100-1,000 µg/mL で 細胞毒性がみられたが、S9mixの有 無にかかわらず陰性。	33
	(本試験)	細胞			25-10,000 µg/ mL (7濃度)			
	処理時間21、 45時間	ヒトリン パ球初代 培養細胞	<i>in vitro</i>		精製ナイシン ( $52.2 \times 10^6$ IU/g)	62.5-500 µg/mL	S9mixの有無にかかわらず、染色体 異常誘発性を示さなかった。	34
単回 2回(2 日間)	マウス	経口		精製ナイシン ( $51.6 \times 10^6$ IU/g)	500、1,000、 2,000 mg/kg 体 重	小核誘発性を示さなかった。	35	
抗原性	3ヶ月 間	モルモツ ト	混餌	各3(対 照2)	精製ナイシン ( $10^6$ RU/g)	50,000 U/日	感作性は示さなかった。	26
	単回		腹腔内				感作性を示した。	

\*1 対照群は雌3匹、雄2匹からなる。

\*2 1匹ごとにケージで飼育したラットにナイシン加水分解物を10週間混餌投与後、5匹ずつケージで飼育し25週間混餌投与した。

\*3 F0、1世代：交配前に少なくとも60日間混餌投与。

\*4 「Principles for the Safety Assessment of Food Additives and Contaminants in Food (JECFA, 1987)」において示されたラット(old)の体重(0.40kg)及び摂餌量(20g)に基づく事務局換算<sup>25)</sup>。

(別添)

ナイシンの使用予定食品及び推定摂取量<sup>44)</sup>

使用基準案の 食品名	国民健康・栄養調査 食品分類 (H16)	摂取量 (g/日)	使用量 (mg/kg)	ナイシン 摂取量 (mg/日)
アイスクリーム類、乳飲料、 ホイップクリーム	74：その他の乳製品	8.2	12.5 mg/kg	0.103
チーズ	72：チーズ	2.3	15 mg/kg	0.035
生菓子	81：和菓子類	10.7	5 mg/kg	0.080
	85：その他の菓子類	5.3		
フラワーペースト類、洋菓子	5：菓子パン	6.4	6.25 mg/kg	0.086
	82：ケーキ・ペストリー 類	7.4		
ハム、ソーセージ類	63：ハム、ソーセージ	11.4	12.5 mg/kg	0.143
たれ、つゆ、ドレッシング	95：マヨネーズ類	3.3	10 mg/kg	0.601
	97：その他の調味料	56.8		
豆腐	19：豆腐	36.7	10 mg/kg	0.367
卵加工品	70：卵類	34.4	5 mg/kg	0.172
味噌、麴	96：味噌	11.7	5 mg/kg	0.059
魚介乾製品、魚肉練り製品、 いくら、すじこ、たらこ、辛 子明太子、かずのこ調味加工 品	56：魚介（塩蔵、生干し、 乾物）	15.8	25 mg/kg	0.63
	59：魚介練り製品	9.3		
合計				2.27

※ヒト体重を 50 kg とすると、ナイシン摂取量は 0.045 mg/kg 体重/日

**ナイシンの食品健康影響評価に関する審議結果  
についての御意見・情報の募集結果について**

1. 実施期間     平成19年8月30日～平成19年9月28日
2. 提出方法     インターネット、ファックス、郵送
3. 提出状況     4通
4. 御意見・情報の概要及びそれに対する添加物専門調査会の回答案

	御意見・情報の概要	専門調査会の回答
1	<p><b>【物理化学的性質等】</b>            添加物評価書に記載された <i>Lactococcus lactis</i> は種であり、4つの亜種が知られている。JECFAのモノグラフでは、「Nisin is a mixture of closely related antimicrobial polypeptides produced by strains of <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>」と記載されているので、国際的整合性の観点から JECFAと揃え、産生菌株を <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> に限定すべきである。</p>	<p>御指摘については、リスク管理に関する御意見であることから、担当の厚生労働省にお伝えします。なお、御指摘を踏まえ、評価書の「4 物理化学的性質等」における記載を <i>Lactococcus lactis</i> 菌株から <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> に訂正します。</p>

	御意見・情報の概要	専門調査会の回答
2	<p><b>【物理化学的性質等】</b></p> <p>第17回専門調査会配布資料1-2では、被験物質に関する化学的なデータが示されていないので、極論を言えば、ナイシンAが殆ど含まれていないこともあり得る。従って、ナイシンA含量を正確に分析するとともに、不明の部分についても分析化学的に明らかにされなければ、健康影響評価を実施したことにはならない。</p>	<p>御指摘は、第46回添加物専門調査会にて配布された資料1-2に関する事項と思われしますので、90日間反復投与毒性試験についての御意見と考えてお答えします。</p> <p>まず、ナイシンの含量は、その比活性から換算するものであり、例えば2.5%ナイシン製剤がナイシンの濃度として2.5%という訳ではありません(第47回添加物専門調査会配付資料4-1)。</p> <p>申請資料によると、欧州SCFでADIの設定根拠とされた試験で用いられたナイシンは、Aplin and Barrett社(現ダニスコ社)製の市販のナイシンA製剤(Nisaplin; 2.5%ナイシン製剤、1,000 IU/mg)であり、76%の塩化ナトリウムと20%の固形無脂肪乳を含有するとされています。これ以上の組成等については不明です(文献26)。</p> <p>また、JECFA及び米国FDAでADIの設定根拠とされた試験で用いられたナイシンは、市販のナイシン製剤(1,000 IU/mg)とされており、組成等は不明です(文献21)。</p> <p>一方、90日間反復投与毒性試験で用いられたナイシンは、市販のNisaplinと同様に製造し、NaClによって調整した製剤(3,000 IU/mg)であり、74.23%の塩化ナトリウムを含有するとされています。これ以上の組成等については、SCF等の評価に用いられた製剤と同様に不明です(文献23)。</p> <p>ただし、毒性試験に用いられたナイシンは、JECFA等でも評価に用いられたものでありJECFA等の成分規格に準じたものが使用されていると考えられます。</p> <p>添加物専門調査会としては、海外で評価の対象となった資料に加え、新たに実施された90日間反復投与毒性試験結果についても評価を行っており、最新の科学的知見も踏まえ、客観的かつ中立公正に評価を行っております。</p>
3	<p><b>【物理化学的性質等】</b></p> <p>ナイシンにはA、Z、Qが知られているが、今回の健康影響評価の対象物質がナイシンAに関するものかナイシン類に関するものか、明確にする必要がある。また、引用された文献がナイシンAに関するものかナイシン類に関するものが特定され、被験物質が明確にされるべきである。</p>	<p>今回の評価の対象物質はナイシンAです。わが国で新たに実施された90日間反復投与毒性試験の被験物質もナイシンAです。また、引用された文献の被験物質については、特段の記載がございませんが、いずれもJECFA、SCF等で評価された文献におけるものであり、ナイシンAであると考えております。</p> <p>なお、御指摘を踏まえ、「4 物理化学的性質等」の項に、今回の評価の対象物質がナイシンAであることを明記することといたしました。</p>

	御意見・情報の概要	専門調査会の回答
4	<p><b>【物理化学的性質等】</b>  主成分のナイシン A の分子量を訂正されたい。第 8 版食品添加物公定書に記載された原子量表に基づき計算すると、3354.07 となる。また、EFSA Journal (2005) 314, p3 にも、3354.07 と記載されている。</p>	<p>御指摘については、リスク管理に関する御意見であることから、担当の厚生労働省にお伝えします。なお、御指摘を踏まえ、第 8 版食品添加物公定書に基づき、評価書の「4 物理化学的性質等」における分子量の記載を 3354.07 に訂正します。</p>
5	<p><b>【物理化学的性質等】</b>  化学構造式を訂正されたい。1 番目のアミノ酸である Ile (イソロイシン) の左側は「NH<sub>2</sub>」(アミノ基)、34 番目のアミノ酸である Lys (リジン) の左側は、「COOH」と記載するのが一般的である。</p>	<p>添加物専門調査会としては、要請者たるリスク管理機関から入手した情報に基づき評価を行っております。なお、JECFA でも同様の化学構造式を使用していることを確認しております。御指摘については、リスク管理に関する御意見であることから、担当の厚生労働省にお伝えします。</p>

	御意見・情報の概要	専門調査会の回答
6	<p><b>【体内動態】</b></p> <p>体内動態に関して、<i>in vitro</i> 試験の結果から、「摂取されたナイシンは、蛋白質分解酵素により不活性化され、ナイシン分子としては吸収されない」とされているが、データが不十分であり、消化、吸収、代謝についてのデータを記述すべきである。</p> <p>また、「ヒトに牛乳あるいはヨーグルトを摂取させ、その後、消化管内でのペプチドの動態および血漿への出現が調べられ、投与1、2、4時間後に静脈血中にκ-カゼイン(106~116残基)とα<sub>1</sub>-SIカゼイン(1~23残基)のオリゴペプチドを検出した。」との報告があるように、ヒトでの吸収は否定できないことから、「ナイシン分子として吸収されないと予測され、」には根拠がない。</p>	<p>御指摘のようにナイシンの体内動態データは限られておりますが、ナイシンは、<i>in vitro</i> 試験では、パンクレアチン等の消化酵素によって不活性化されることが示されていることから、添加物専門調査会としては、現時点での国内外の知見について審議し、「摂取されたナイシンはタンパク分解酵素により不活性化され、ナイシン分子としては吸収されないと予測され、」との結論を導くことは可能と考えております。なお、JECFA、FDAに加え2006年1月にEFSAにおいても同様の評価(ナイシンは腸内酵素により分解又は不活性化される。)がなされている旨、評価書に記載することといたしました。</p> <p>なお、御懸念は、ナイシンより大きい分子量を有する、牛乳やヨーグルトの消化管での分解物が血中に吸収されるとする報告があることから、ナイシンも一部分子として吸収されるのではないかという点と思慮しますが、御指摘の文献はナイシンに関するものではないことから、最終的な食品健康影響評価を変更する必要はないと考えております。</p>
7	<p><b>【ナイシン様抗生物質産生菌の存在場所】</b></p> <p>ナイシン様抗生物質産生菌は、「頻度は低いヒト及びウシの腸内や鼻腔内に常在している」ことをもって、「腸内細菌叢のバランスを崩す可能性は低いと考えられる。」との結論は稚拙である。胃や十二指腸等の常在菌への影響について検討するなど、この結論を証明するための試験がなされるべきだ。</p>	<p>添加物専門調査会としては、現時点での国内外の知見について審議し、「腸内細菌叢のバランスを崩す可能性は低いと考えられる。」と評価しております。ナイシンが腸内酵素によって不活性化されることも、その根拠であると考えますので、評価書に根拠を追記することといたしました。なお、JECFA、FDAに加え2006年1月にEFSAにおいても同様の評価(ナイシンは腸内酵素により分解又は不活性化されることから、腸内細菌叢には影響しない。)がなされている旨、評価書に記載することといたしました。</p> <p>御指摘のようなデータはございませんが、他の体内動態や毒性試験のデータも総合的に評価して、「腸内細菌叢のバランスを崩す可能性は低いと考えられる。」との結論を導くことは可能と考えております。</p>

	御意見・情報の概要	専門調査会の回答
8	<p><b>【耐性】</b></p> <p>抗生物質に対する感受性の低下の概念については、近年の文献等を詳細に検討する必要があるのではないかと。引用文献以外にもたくさんの文献が公表されている。</p>	<p>耐性菌の問題については、「5 安全性」の項において、「ナイシンは、その化学構造、物性、作用機序、交差耐性、消化管酵素による影響などから、一般に言われる抗生物質又は抗菌性物質とは異なる範疇の物質と言える。海外における使用経験からも特段問題となる報告はなく、食品添加物として使用しても、ヒト腸内細菌をはじめとする各菌種に影響を与える可能性は極めて低いと考えられる。」と評価しています。また、「8 評価結果」に記載のとおり、近年、リステリア菌のナイシン耐性及び他のバクテリオシンとの交差耐性に関する報告がありますが、「現時点で得られている知見から判断して、添加物として適切に使用される場合にあつては、交差耐性を含む耐性菌出現による医療上の問題を生じる可能性は極めて少ない」と評価しております。</p> <p>ただし、幅広い使用が予定されていることから、評価結果には「ナイシンを添加物として適切に使用するためには、使用基準を慎重に検討することが重要であり、欧米における使用状況を勘案した上で、耐性菌出現により有効性等に影響を及ぼすことがないように十分な配慮が必要と考えられる。」と付記しているところです。</p>
9	<p><b>【毒性】</b></p> <p>第46回添加物専門調査会における議論にあるように、ラットの雌雄で背景データに100倍の差があること（福島座長の指摘）について、明快な回答も議論もないまま、それを毒性とは捉えないとする結論に飛躍しているのはおかしい。きちんと実験動物のバックグラウンドを精査し、慎重な議論をするべきである。雌雄に100倍の差があるとする、安全係数としてどの数値を採るのか。</p> <p>また、ヒトのADIは成人男性を基準に設定していることから、特に感受性の高い子どもにはそのまま当てはめることはできないと思われる。</p>	<p>添加物専門調査会においては、原則は、提出されたデータをもって評価すべきであつて、その上で必要であれば背景データを提出いただいて議論することとされました。なお、御指摘の件については、「トータルコレステロールやリン脂質が、肝臓あるいは甲状腺の疾患で二次的に下がることは知られており、そういう意味から、この毒性試験を見ると、そういうところに全く影響が見られていない。従って、恐らく影響ではあるけれども、明らかな毒性は見られていない。」との複数の御意見も踏まえ、総合的に、慎重に議論を尽くして判断したものです。</p> <p>安全係数については、今回、ADIの設定根拠資料とされたラット3世代繁殖毒性試験において、発生毒性のところから奇形が認められるであるとか、一般毒性よりも低い投与量で繁殖毒性が認められるなどの重大な影響は認められていないことなどから、追加の係数は必要なく、通常の100の値を採用すると評価されました。</p> <p>なお、繁殖毒性など、次世代への影響についても評価した上で評価結果をまとめております。</p>

	御意見・情報の概要	専門調査会の回答
10	<p><b>【毒性】</b></p> <p>今回の評価結果において、90日間反復投与毒性試験の結果が結論に反映されていない。また、繁殖毒性のデータを採用したことは恣意的に見える。慢性毒性または慢性毒性試験のデータからADIを0.04 mg/kg/日に設定すれば、一日推定摂取量の推計値はADIぎりぎりであって、食品添加物として指定することに疑問が生じる。</p> <p>海外での使用経験を評価材料としている以上、JECFA及び米国FDAの評価結果にないADIを0.042～0.049 mg/kg体重/日とするなど、ADIの設定について再検討することを要望する。</p>	<p>最終的な添加物としての一日内摂取量の推計、指定の可否については、リスク管理に関する御意見であることから、担当の厚生労働省にお伝えします。</p> <p>JECFA 及び米国 FDA の評価の根拠とされているラット2年間慢性毒性試験は、1960年代に実施された試験であり、剖検が可能であった動物にいずれも腫瘍が検出されなかった等の不可解な点があり、信頼性が担保できないことから、ADI設定には用いず、あくまで評価の参考に用いることとしました。</p> <p>一方、SCF の評価の根拠とされているラット3世代繁殖毒性試験については、1980年頃に実施されたGLP適合試験であり、評価の対象とすることとしました。</p> <p>また、ラット90日間反復投与毒性試験については、第46回添加物専門調査会において審議され、NOAELが設定されました。</p> <p>添加物専門調査会としては、これらの毒性データを評価し、NOAELの最小値であるラット3世代繁殖毒性試験結果を基にADIを設定することとしました。</p> <p>ADIの設定については、現時点での国内外の知見も踏まえ、客観的かつ中立公正に評価したものであり、見直す必要はないと考えております。</p>
11	<p><b>【一日推定摂取量の推計】</b></p> <p>オーストラリア・ニュージーランドでは、畜肉加工食品への使用について検討されているが、その中で子供への摂取への考慮もなされている。これは、他の添加物にも当てはまることであるが、子供の摂取については別途検討することも必要ではないか。</p>	<p>オーストラリア・ニュージーランドでは、現在、チーズ類の他、クリーム製品、小麦粉製品（パンケーキ、麺類、パスタを含む）等への使用が認められています。更に現在、御指摘のように、加工した肉、家禽製品への使用を検討中（昨年9月19日まで意見募集）です。使用対象食品を増やしても、幼児（2～6歳）の摂取量は多くてもADI（0～0.625 mg/kg体重/日）の10%で、ADIを十分に下回ることから、安全性の懸念は生じないことが記されております。</p> <p>なお、添加物専門調査会においては、繁殖毒性など、次世代への影響についても評価した上で評価結果をまとめております。</p>

	御意見・情報の概要	専門調査会の回答
12	<p><b>【一日推定摂取量の推計】</b></p> <p>別添の国民栄養調査における食品分類及び食品分類番号を、現在のものに修正する必要があるのではないかと。マヨネーズ及び味噌については、食品分類が変更されている。</p>	<p>御指摘を踏まえ、平成16年国民健康・栄養調査に基づき、評価書の「別添：ナイシンの使用予定食品及び推定摂取量」における食品分類及び食品分類番号を訂正します。</p> <p>併せて、「7 一日推定摂取量の推計」の項におけるナイシンの推定摂取量を訂正します。</p>
13	<p><b>【国際機関等における評価】</b></p> <p>2006年1月に承認されたEFSAの見解では、ADI 0.13 mg/kg bw を変更すべき新しいデータはないと指摘している。この再評価についても言及すべきではないかと。</p>	<p>御指摘については、「6 国際機関における評価（3）欧州食品科学委員会（SCF）における評価」の項の末尾に、追記することといたします。</p>
14	<p><b>【国際機関等における評価】</b></p> <p>コーデックスのGSFAを検討した結果を記載すべきではないかと。ナイシンについては、「01, 6, 6 Whey protein cheese MAX 12 mg/kg」とされている。</p>	<p>使用基準については、当委員会の審議結果を受けてリスク管理機関が検討を行います。御指摘については、リスク管理に関する御意見であり、必ずしも評価書に記載すべき事項ではないと考えます。</p>
15	<p><b>【全般的な事項】</b></p> <p>幅広い使用予定食品が記載されているが、ナイシンが中性から高いpHでは溶解性も悪く安定性も悪いことが知られているので、チーズ以外の記載された食品で安全性や効果が確かめられたのかは疑問である。</p>	<p>御指摘の有効性については、リスク管理に関する御意見であることから、担当の厚生労働省にお伝えします。</p> <p>なお、幅広い使用が予定されていることから、評価結果において「ナイシンを添加物として適切に使用するためには、使用基準を慎重に検討することが重要であり、欧米における使用状況を勘案した上で、耐性菌出現により有効性等に影響を及ぼすことがないよう十分な配慮が必要と考えられる。」と付記しているところです。</p>

	御意見・情報の概要	専門調査会の回答
16	<p><b>【全般的な事項】</b></p> <p>ナイシンについては、抗菌活性が高いペプチドであること、耐性に関する概念、抗菌スペクトルが極めて狭いこと、欧米ではチーズへの使用に限定されていること、使用予定食品は海外における使用食品に比べものにならないくらい多いことから、使用分野を限定すべきである。</p>	<p>申請者から提出された資料によると、欧米においてはチーズ以外にも液状卵等に使用が可能となっております。耐性菌の問題については、「現時点で得られている知見から判断して、添加物として適切に使用される場合にあつては、交差耐性を含む耐性菌出現による医療上の問題を生じる可能性は極めて少ない」と評価しております。ただし、幅広い使用が予定されていることから、評価結果において「ナイシンを添加物として適切に使用するためには、使用基準を慎重に検討することが重要であり、欧米における使用状況を勘案した上で、耐性菌出現により有効性等に影響を及ぼすことがないように十分な配慮が必要と考えられる。」と付記しているところです。</p> <p>なお、使用基準については、当委員会の審議結果を受けてリスク管理機関が検討を行うことになることから、御意見を担当の厚生労働省にお伝えいたします。</p>
17	<p><b>【全般的な事項】</b></p> <p>抗生物質が持つ毒性、耐性菌の発生、常在菌への影響など、いくつも問題点が考えられる。現段階では、これらの影響についての研究はまだ十分ではなく調査を続ける必要がある。将来予測されるリスクについて、もっと真摯な態度で臨んでほしい。</p> <p>特に、今回のナイシンのように、乳製品やハム・ソーセージ、調味料、豆腐など、乳幼児や子どもたちが日常的に多く摂取する食品への抗生物質の添加は、慎重であるべき。抗生物質が食品の一部として日常的に体内に取り込まれることの是非について、健康影響と耐性菌の発生などの面から、基本的な考え方の再検討を望む。</p>	<p>ナイシンの評価については、第14回、第17回、第46回、第47回の計4回にわたり当調査会において、慎重に審議を行ったところです。</p> <p>JECFA、FDA及びSCFにおいても議論されている耐性菌の問題に関しては、当調査会においても、微生物の専門家から御意見を伺うなど慎重に審議を行ったところであり、「現時点で得られている知見から判断して、交差耐性を含む耐性菌出現による医療上の問題を生じるなど安全性上の問題を生じる可能性は極めて少ない」と評価しております。</p> <p>また、添加物に対するものではないものの、薬剤耐性菌に関する最新の評価指針である「家畜等への抗菌性物質の使用により選択される薬剤耐性菌の食品健康影響に関する評価指針（平成16年9月30日食品安全委員会決定）」に基づいて整理、評価もしております（第14回配布参考資料1、第17回配布参考資料1、2）。</p> <p>ただし、幅広い使用が予定されていることから、評価結果において「ナイシンを添加物として適切に使用するためには、使用基準を慎重に検討することが重要であり、欧米における使用状況を勘案した上で、耐性菌出現により有効性等に影響を及ぼすことがないように十分な配慮が必要と考えられる。」と付記しているところです。</p> <p>なお、御指摘の、抗生物質を添加物として使用することの可否については、リスク管理に関する御意見であることから、担当の厚生労働省にお伝えします。</p>

	御意見・情報の概要	専門調査会の回答
18	<p><b>【全般的な事項】</b></p> <p>「耐性菌出現による医療上の問題を生じる可能性は極めて少ないと考えられる。」等の記載からみてとれるが、ナイシンに係る食品健康影響評価は、到底科学的・定量的評価とは言えない。</p>	<p>ナイシンの評価については、第14回、第17回、第46回、第47回の計4回にわたり当調査会において、慎重に審議を行ったところです。</p> <p>JECFA、FDA 及び SCF においても議論されている耐性菌の問題に関しては、当調査会においても、微生物の専門家から御意見を伺うなど慎重に審議を行ったところであり、「現時点で得られている知見から判断して、交差耐性を含む耐性菌出現による医療上の問題を生じるなど安全性上の問題を生じることは極めて少ない」と評価しております。</p> <p>また、添加物に対するものではないものの、薬剤耐性菌に関する最新の評価指針である「家畜等への抗菌性物質の使用により選択される薬剤耐性菌の食品健康影響に関する評価指針（平成16年9月30日食品安全委員会決定）」に基づいて整理、評価もしております（第14回配布参考資料1、第17回配布参考資料1、2）。</p> <p>ただし、幅広い使用が予定されていることから、評価結果において「ナイシンを添加物として適切に使用するためには、使用基準を慎重に検討することが重要であり、欧米における使用状況を勘案した上で、耐性菌出現により有効性等に影響を及ぼすことがないよう十分な配慮が必要と考えられる。」と付記しているところです。</p>

	御意見・情報の概要	専門調査会の回答
19	<p><b>【全般的な事項】</b></p> <p>ナイシンの指定後に、ナイシンを使用するのではなく、それらを産生する菌を食品に使用する場面が考えられる。また、各種のバクテリオシンの利用も研究され、特許なども数多く見られる。リスク管理機関である厚生労働省におかれては、規格や使用基準の設定にとどまらず、先の「照会」をもとに、監視・指導方針の詳細をお示しいただきたいと願っている。</p> <p>各種のバクテリオシンの食品への利用が考えられ、多種の類似物質の販売が予見される。ナイシンに関する健康影響評価の影響は極めて大きい。そのことを踏まえたリスク評価を望むものである。このような商業的な物質については、毒性評価にとどまらず、健康影響評価は、社会的側面からも検討されるべきである。</p>	<p>頂いた御意見は、リスク管理に関する御意見でもあることから、担当の厚生労働省にお伝えします。</p> <p>なお、食品安全委員会の行う食品健康影響評価は、最新の科学的知見に基づき、客観的かつ中立公正に行うこととしております。</p>

## 食品添加物の規格基準(ナイシン)に係るご意見の募集結果について(回答案)

	ご意見・情報の概要	回答案
1	<p>(成分規格(定量法(1)力価について))</p> <p>① (v)穿孔寒天平板の調製法が日本薬局方に記載されている方法と比較して、複雑なのですが、日本薬局方のおりでは、問題があるのでしょうか？</p> <p>② (vi)ナイシン標準液の調製において、0.02 mol/L塩酸80 mLに懸濁する。とあるのですが、実際は溶解すると思いますが、いかがでしょうか？また、その後の操作で2時間室温に置くのとありますが、この操作は必要なのでしょうか？</p> <p>③ ナイシン標準液は用時調製と記載がありますが、標準原液の保存条件及び使用期限は設定されているのでしょうか？</p> <p>④ (vii)ナイシン標準曲線の作成ですが、同一平板で同一の標準液を注入しているようですが、平板間の補正は必要ないのでしょうか？旧日本抗生物質医薬品基準に記載されている標準曲線法では、中心濃度の標準液を用いて、平板間の誤差を補正して標準曲線を作成しております。培養器内の温度分布を考慮すると、補正をしたほうが誤差がないように思いますがいかがでしょうか？</p> <p>⑤ (viii)ナイシン濃度測定についても、上記②、④と同様のことが言えないのでしょうか？</p> <p>⑥ (ix)力価の算出において、中心濃度の標準液で補正するのであれば、旧日本抗生物質医薬品基準の手法を適用すべきと思います。</p>	<p>ナイシンは、国際汎用添加物であるとともに企業からの指定要請品目であったため、規格試験法は、国際規格も踏まえううえで、基本的には要請者から提出された方法を採用しました。</p> <p>① 日本薬局方の穿孔寒天平板の調製法は、穿孔装置が必要なため、規格に採用しませんでした。また、本法は指定要請者から提出された調製法ですが、FCC規格の方法に比べて、感度が高く、良好な標準曲線が得られたために採用しました。同等性が確保できれば、日本薬局方に記載されている方法を用いても差し支えありません。</p> <p>②、⑤FCCの試験法に準拠したものです。ナイシンには、製造時に用いられた培地の成分も含まれており、試料によっては溶け残りがみられることがあるため、「懸濁」としました。「2時間室温に置く」も、必要な操作と考えています。</p> <p>③ナイシン標準原液も含めて、用時調製としています。なお、FCCでは、標準原液は4℃で7日間まで保存、または用時調製としています。</p> <p>④、⑤、⑥規格試験法で問題ないことを確認しています。</p>
2	<p>(成分規格等)</p> <p>①「ナイシン」としての指定の対象は「ナイシンA」であるが、規格においてナイシンZの混入について規定されていない。このため、規格に「その他の抗菌性ポリペプチド」の項目を設け、規制対象とする抗菌性ポリペプチドとその上限を定める必要がある。</p> <p>②わが国と中国とで使用基準が異なり、使用できる品目や最大使用量に相違がある。このため、定量分析を含めた検査法を確立する必要がある。また、ナイシンZが使用される可能性があるため、これを同定する方法も確立する必要がある。</p> <p>③指定要請においては、「食品添加物の指定及び使用基準改正に関する指針」(「ガイドライン」)に従い、食品中の食品添加物の分析法を国立医薬品食品衛生研究所がバリデーションチェックをした上で、食品添加物部会で審議する必要があるのではないかと。また、「ガイドライン」には、「同様の目的を持つ他の食品添加物との分離定量に留意すること。」と記載されているので、食品中のナイシンAとナイシンZの分離定量法を確立する必要がある。</p>	<p>ナイシンの成分規格については、JECFA、米国及びEUの成分規格との整合性にも配慮したうえで、その品質確保を図るうえで必要な項目を規格として設定しており、ナイシンZの混入について規定する項目を設定することは考えておりません。</p> <p>ナイシンの食品中の分析法については、ナイシンAとナイシンZを分離同定する方法も含め、国立医薬品食品衛生研究所で検討を進めており、ナイシンの添加物指定に合わせて当該分析法の通知を行うことを予定しています。</p>

3	<p>(表示) 味噌の製造工程においてナイシンが人為的に使用された場合には、製造用剤であっても適切に表示がなされるようにしていただきたい。</p>	<p>添加物の表示については、食品衛生法第19条に基づき、原則として食品に使用した添加物は、加工助剤等の一部例外を除いては全て表示することが義務づけられており、これらの表示基準に合致しない者の販売等は禁止されております。なお、加工助剤と見なされるためには、次の条件を満たす必要があります。</p>
4	<p>(表示) ナイシンの用途については、既存添加物 ε-ポリリンとの整合性を保つために、保存料のみとし、製造用剤とすることを認めず、表示免除させてはならない。公衆衛生上の見地のみでなく、消費者の選択に資するために明確に表示させるべきである。</p>	<p>「食品の加工の際に添加されたが、①最終食品として包装する前に食品から除去されるもの、②食品中に通常存在する成分に変えられ、食品中に天然に存在するその成分の量を有意に増加させないもの、③最終食品中にごくわずかなレベルでしか存在せず、その食品になんら影響を及ぼさないもの、のいずれかに該当すること。」 ナイシンを味噌等の製造工程において製造用剤として使用した場合においても、その他の添加物の取扱いと同様、加工助剤の定義に該当する場合を除いては、食品への添加物表示が必要となります。</p>
5	<p>(その他) ①使用実績の具体的データを示してください、味噌などに使用許可しないでください。 ②抗生物質を食品添加物として指定しないで下さい ③ナイシン耐性菌に関してのモニタリングを行なってください。</p>	<p>ナイシンは、国際基準であるコーデックス規格に記載されている添加物であり、既に欧米等では、クリーム製品、チーズ、小麦粉製品、食肉製品、液卵製品等での使用が認められています。 ナイシンを添加物として指定するにあたっては、食品安全委員会における食品健康影響評価として、食品安全委員会添加物専門調査会において、微生物の専門家からご意見を伺い、耐性菌出現による医療上の問題についても検討が行われるなど十分な審議が行われたものと考えております。なお、ナイシンの指定にあたっては、耐性菌に関する情報を収集し、問題となるような新たな知見があれば速やかに報告するよう事業者等に対して周知を図るとともに、必要に応じて再評価を検討する等、適切に対処していきたいと考えております。</p>
6	<p>(その他) 「国際汎用添加物」の「ナイシン」はナイシンAに限定されるものではないため、ナイシンZとの関係を明確にする必要がある。</p>	<p>国際汎用添加物として指定の評価・検討を行った「ナイシン」は、米国、EU及びJECFAでも評価がなされているナイシンAであり、成分規格においても「主たる抗菌性ポリペプチドはナイシンAである。」と規定しています。ナイシンZを添加物として使用する場合には、新たに指定要請を行っていただく必要があります。</p>

調査研究報告書

既存添加物の安全性の見直しに関する調査研究

平成20年3月

主任研究者

井上 達

国立医薬品食品衛生研究所  
安全性生物試験研究センター長

研究協力者

江馬 眞

国立医薬品食品衛生研究所総合評価研究室長

菅野 純

国立医薬品食品衛生研究所毒性部長

棚元 憲一

国立医薬品食品衛生研究所食品添加物部長

中江 大

東京都健康安全研究センター参事研究員

長尾 美奈子

共立薬科大学客員教授

中澤 憲一

国立医薬品食品衛生研究所薬理部長

西川 秋佳

国立医薬品食品衛生研究所病理部長

林 眞

国立医薬品食品衛生研究所変異遺伝部長

米谷 民雄

国立医薬品食品衛生研究所食品部長



## 目次

A. 研究要旨	1 頁
B. 研究目的	1 頁
C. 研究方法	2 頁
D. 研究結果	3 頁
E. 考察	3 頁
F. 結論	3 頁

### 別添

エラグ酸	4 頁
エレミ樹脂	6 頁
スクレロガム	8 頁
チャ種子サポニン	10 頁
トロロアオイ	12 頁
ハウセンカ抽出物	13 頁
マクロホモプシスガム	14 頁
ラカンカ抽出物	15 頁



## A. 研究要旨

平成8年度厚生科学研究報告書「既存天然添加物の安全性評価に関する調査研究」（主任研究者 林裕造）（以下、「林班報告書」という。）においては、国際的な評価結果、欧米での許認可状況、安全性試験成績結果等から、既存添加物の基本的な安全性について検討した結果、489品目のうち139品目について、今後、新たな毒性試験の実施も含め、安全性について検討することが必要であると報告されている。

本研究は、林班報告書において更に検討する必要があるとされた139品目のうち、以下に掲げるものを除く43品目を対象に、新たに安全性試験成績の収集できた品目について検討を行った。

- ・平成11年度「既存添加物の安全性評価に関する調査研究」（主任研究者 黒川雄二）（以下、「黒川班報告書」という。）において報告された13品目
- ・平成15年度「既存添加物の安全性の見直しに関する調査研究」（主任研究者 井上達）（以下、「平成15年度井上班報告書」という。）において報告された16品目
- ・平成16年度「既存添加物の安全性の見直しに関する調査研究」（主任研究者 井上達）（以下、「平成16年度井上班報告書」という。）において報告された14品目
- ・平成18年度「既存添加物の安全性の見直しに関する調査研究」（主任研究者 井上達）（以下、「平成18年度井上班報告書」という。）において報告された7品目
- ・これまでに既存添加物名簿から消除された品目（このうち安全性を確認する必要があるとされた添加物は46品目）

本報告書においては、エラグ酸、エレミ樹脂、スクレロガム、チャ種子サポニン、トロロアオイ、ハウセンカ抽出物、マクロホモプシスガム、ラカンカ抽出物の8品目についての検討結果をまとめて収載している。

検討した8品目については、90日間以上の反復投与試験及び変異原性試験の成績を入手し、これらの試験成績より、それらの既存添加物について基本的な安全性を評価することができた。結論としては、評価した8品目について、現時点で直ちにヒトの健康に対する有害性影響を示唆するような試験結果を認めず、したがって、新たな毒性試験を早急に実施する必要がないものと考えられた。

## B. 研究目的：

平成7年5月の食品衛生法改正によっては、食品添加物の指定範囲が、従来の化学的合成品から天然香料等を除くすべての添加物に拡大された。本改正に伴い

、従来から販売・製造・使用等がなされてきた「化学的合成品以外の添加物(天然香料等を除く。以下「天然添加物」という。)」については、経過措置として、その範囲を既存添加物名簿に掲載して確定させた上で、引き続き、販売・製造・輸入等を認めることとされた。

しかしながら、これら既存添加物名簿に掲げられた天然添加物については、従来から指定されている添加物と異なり、各品目毎に安全性のチェックがなされているものではなく、国会等において、その安全性の確認が求められているところである。

これを受けて、平成 8 年度に公表された林班報告書では、既存添加物 489 品目について、国際的な評価結果や欧米での許認可状況及び安全性試験成績結果等の情報を用いて、基本的な安全性について検討がなされ、「489 品目の内、159 品目については、既に国際的な評価がなされており、基本的な安全性が確認されている。さらに、41 品目については入手した試験成績の評価により、150 品目についてはその基原・製法・本質からみて、いずれも現段階において安全性の検討を早急に行う必要はないものと考えられた。」と報告されており、残る 139 品目についてさらに検討が必要であるとされている。平成 11 年度に公表された黒川班報告書では、「林班報告書により安全性の確認が必要とされた 139 品目の内、14 品目の既存添加物については、現時点で直ちにヒトへの健康影響を示唆するような試験結果が認められず、新たな安全性試験を早急に実施する必要がないものと考えられた。」(この内の 1 品目は、流通実態がないため、既存添加物名簿から削除された。)と報告されている。さらに、平成 15 年度に公表された井上班報告書では「安全性の見直しを行った 17 品目については、現時点において、直ちにヒトへの健康影響を示唆するような試験結果は認められなかった。」(この内の 1 品目については、念のため、追加試験の実施を検討している。)、平成 16 年度に公表された井上班報告書では「安全性の見直しを行った 14 品目については、現時点において、直ちにヒトへの健康影響を示唆するような試験結果は認められなかった。」、平成 18 年度に公表された井上班報告書では「安全性の見直しを行った 7 品目については、現時点において、直ちにヒトへの健康影響を示唆するような試験結果は認められなかった。」と報告されている。

本研究は、平成 8 年度林班報告書で安全性について検討することが必要と指摘された天然添加物 139 品目から、これまでに安全性の見直しが終了した品目及び既に既存添加物名簿から削除された品目を除く、43 品目を対象として、国内外の試験成績を収集し、その試験成績の評価を行うことにより、それらの基本的な安全性を検討することを目的とした。

### C. 研究方法

本研究は、林班報告書において安全性の確認が必要とされた既存添加物 139 品

目の内、これまでに安全性の見直しが終了した品目及び既に既存添加物名簿から削除された品目を除く 43 品目の中で、90 日間以上の反復投与試験成績及び変異原性試験成績の双方の資料を入手し得た 8 品目について、品目毎に安全性試験成績の評価を行った。

#### D. 研究結果

本研究で安全性の見直しを行った 8 品目については、現時点において、直ちにヒトへの健康影響を示唆するような試験結果は認められなかった。その概要は別添のとおりである。

#### E. 考察

本研究では、林班報告書において安全性の確認を必要とされた既存添加物の内、見直しの済んでいない 43 品目を対象に安全性評価のための試験成績の収集を行い、少なくとも 90 日間以上の反復投与試験成績及び変異原性試験成績の双方が入手できた 8 品目について、それらの試験成績を評価したところ、いずれの品目についても、現時点において、直ちにヒトへの健康影響を示唆するような試験結果が認められなかった。したがって、評価を行った 8 品目については、新たな安全性評価のための試験を早急に実施する必要がないものと考えられた。

なお、本報告に先立って、厚生労働省は、平成 16 年 7 月に、アカネ色素の発がん性に関する食品安全委員会及び薬事・食品衛生審議会の評価を踏まえて同色素を既存添加物名簿から削除し、その使用を禁止した。さらに、同省は、使用実態のない既存添加物として、平成 16 年 12 月に 38 品目、平成 19 年 9 月に 32 品目を削除した。

このように、既存添加物の見直し作業は、現時点までに着実に進行しているが、今後ともさらに使用実態の調査等を行い、必要な品目から効率的に見直しを進めていく必要があると考える。

#### F. 結論

本研究は、新たに 8 品目の天然添加物について、基本的な安全性が確認されていることを明らかとした。これらについては、いずれも現段階においてさらなる安全性の検討を早急に行う必要がないものと考えられた。



## エラグ酸

1. 食品添加物名  
エラグ酸

2. 基原、製法、本質

ウルシ科ヌルデ (*Rhus javanica*\_LINNE) に発生する五倍子、ミロバン (*Terminalia chebula* RETZ.) の実、ヒシ科ヒシ (*Trapa japonica* FLEROV.) の実、フトモモ科ユーカリ (*Eucalyptus globulus* LABILL.) の葉等を脱脂後、水又はエタノールで抽出して得られたものである。成分はエラグ酸である。

3. 主な用途  
酸化防止剤

4. 安全性試験成績の概要

(1) 90日間反復投与試験

F344系雌雄ラットに、混餌(1.25%、2.5%、5%)投与による13週間反復投与試験を行った。その結果、いずれの群の動物においても死亡は認められず、一般状態及び摂餌量において、被験物質に関連する変化は認められなかった。体重については、雌の全投与群において有意な増加抑制が認められた。

血液学的検査では、2.5%群の雄でMCVの増加が、1.25%群の雌でMCVの減少が認められたが、用量相関性も認められないことから、被験物質の影響ではないと考えられた。

血液生化学的検査では、1.25%群の雌雄でALPの減少が、2.5%群の雄でASTの減少が、5%群の雄でALPの減少、雌でCa及びPの減少及びClの増加が認められたが、散発的な変化であり、被験物質の影響ではないと考えられた。

器官重量では、5%群の雄で心臓の相対重量の低値が、雌の全投与群で脳の相対重量の高値が認められた。

病理組織学的検査では、被験物質の投与に起因すると考えられる変化はみられなかった。

以上から、無影響量は雄で5%(3011mg/kg/日)、雌で1.25%未満(778mg/kg/日)、無毒性量は雌雄で5%(3254mg/kg/日)と判断された。<sup>1)</sup>

(2) 遺伝毒性試験

細菌(TA98、TA100、TA1535、TA1537、WP2uvrA/pKM101)を用いた復帰突然変異試験は、10mg/プレートまで試験されており、S9mixの有無にかかわらず陰性であった。<sup>2)</sup>

哺乳類培養細胞(CHL)を用いて、最高処理濃度40 $\mu$ g/mL(短時間処理法、-S9mix)、80 $\mu$ g/mL(短時間処理法、+S9mix)及び10 $\mu$ g/mL(連続処理法)の染色体異常試験を行った結果、短時間処理法-S9mix、40 $\mu$ g/mLでのみ染色体異常の誘発が認められたが、用量依存性もみられず僅かな増加(5%)であり明確な陽性反応とは考えられなかった。以上から陰性であると結論された。<sup>3)</sup>

マウス(BDF<sub>1</sub>系、雄)の骨髄を用いた小核試験は、限界用量である2000mg/kg $\times$ 2まで試験されており、いずれの用量においても小核出現頻度の有意な増加は認められなかった。また、2000mg/kgにおいて多染性赤血球の割合が有意に減

少し、骨髄細胞の分裂抑制が確認された。以上から小核誘発性は陰性であると結論した。<sup>3)</sup>

以上から、エラグ酸には遺伝毒性はないと判断した。

(引用文献)

1. 西川秋佳：平成16年度食品添加物規格基準設定等試験、国立医薬品食品衛生研究所安全性生物試験研究センター病理部
2. 麻野間正晴：平成16年度厚生労働科学研究費補助金、既存添加物の安全性確保上必要な品質問題に関する研究
3. 中嶋圓：平成16年度厚生労働科学研究費補助金、既存添加物の安全性確保上必要な品質問題に関する研究

## エレミ樹脂

### 1. 食品添加物名

エレミ樹脂（エレミの分泌液から得られた、 $\beta$ -アミリンを主成分とするものをいう。）

### 2. 基原、製法、本質

カンラン科エレミ（*Canarium luzonicum* A.GRAY）の分泌液を、乾燥して得られたものである。主成分は $\beta$ -アミリンである。

### 3. 主な用途

ガムベース、増粘安定剤

### 4. 安全性試験成績の概要

#### (1) 90日間反復投与試験

F344/DuCrj 系雌雄ラットに、強制経口（30、200、1000 mg/kg 体重）投与による13週間反復投与試験を行った。その結果、いずれの群の動物においても死亡は認められず、一般状態、体重、摂餌量、眼科的検査、尿検査及び剖検において、被験物質に関連する変化は認められなかった。

血液学的検査では、200 mg/kg 以上の群の雄でPT及びAPTTの延長又は延長傾向が認められた。

血液生化学的検査では、30 mg/kg 以上の雌雄でリン脂質の高値、雌で総コレステロールの高値、雄で $\alpha_2$ -グロブリン比の高値とアルブミン値及びA/G比の低値が、200 mg/kg 以上の雌雄で $\beta$ -グロブリン比の高値、雌で $\gamma$ -GTP及び総蛋白質の高値とアルブミン値及びA/G比の低値、雄で $\alpha_1$ -グロブリン比の高値が、1000 mg/kg の雌で $\alpha_1$ -グロブリン比の高値、雄で $\gamma$ -GTP及び総コレステロールの高値が認められた。

器官重量では、200 mg/kg 以上の雌雄で副腎の絶対重量の高値、雌で肝臓の絶対及び相対重量の高値、1000 mg/kg 群の雌雄で副腎の相対重量の高値が認められた。

病理組織学的検査では、200 mg/kg 以上の群の雌で小葉辺縁部の肝細胞の脂肪変性が認められ、200 mg/kg 以上の群の雌雄で副腎束状帯の皮質細胞の脂肪変性が認められた。

以上から、肝臓への影響が30 mg/kg 以上の群の雌雄で、副腎への影響が200 mg/kg 以上の群の雌雄で認められた。30 mg/kg 群では、リン脂質を除く血液生化学検査値の変化はいずれも背景データの範囲内の変動であり、肝重量に変化はなく、肝臓の病理組織学的な変化も認められていないことを考慮すると、その毒性学的意義は乏しいと考えられた。したがって、無影響量は雌雄とも30 mg/kg/日未満、無毒性量は雌雄とも30 mg/kg/日と考えられる。<sup>1)</sup>

#### (2) 遺伝毒性試験

細菌を用いた復帰突然変異試験及び哺乳類培養細胞（CHL/IU）を用いた染色体異常試験が行われており、いずれも陰性であった。<sup>2)</sup> また、枯草菌を用いるDNA修復試験（Rec-assay法）が行われており、陰性であった。<sup>3)</sup>

マウス (ddY 系、雄) の骨髄を用いた小核試験は、限界用量である 2000 mg/kg × 2 まで試験されており、いずれの用量においても小核の誘発は認められなかった。<sup>4)</sup>

以上から、エレミ樹脂には遺伝毒性はないと判断した。

(引用文献)

1. 小野宏：平成 15 年度既存添加物の安全性に関する試験、(財) 食品薬品安全センター 秦野研究所
2. 林真：厚生省等による食品添加物の変異原性評価データシート (昭和 54 年度～平成 10 年度分)
3. 祖父尼俊雄：食品添加物の変異原性試験成績 (その 11) (平成元年度厚生省試験研究費による)
4. 宮澤真紀：平成 16 年度既存添加物の安全性確保上必要な品質問題に関する研究、神奈川県衛生研究所

## スクレロガム

### 1. 食品添加物名

スクレロガム（スクレロチウムの培養液から得られた、多糖類を主成分とするものをいう。）

### 2. 基原、製法、本質

不完全菌類（*Sclerotium gluconicum*）の培養液より、分離して得られたものである。主成分は多糖類である。

### 3. 主な用途

増粘安定剤

### 4. 安全性試験成績の概要

#### (1) 90日間反復投与試験

F344/DuCrj系SPFラットに被験物質100、300、1000mg/kgの用量で強制経口投与し、90日間反復投与試験を行った。その結果、1000mg/kg群の1例において死亡が見られ、死亡前日には口並びに鼻周囲の被毛の汚染、排便量の減少、自発運動の低下、腹部膨満、異常呼吸音等の一般状態の異常が見られたが、病理学的に直接死因に結びつくと考えられる変化が見られなかったこと、一般状態の悪化後早期に死に至ったこと、1000mg/kg群において同様の症状を呈した1例では、投与を継続したにも関わらず、一般状態の異常が回復し、血液学的検査ならびに血液生化学的検査成績、病理組織検査等の所見にも異常が見られなかったことから、死亡原因は投与過誤による誤嚥性肺炎によるものである可能性が高いと考えられた。

一方、その他の動物では一般状態、体重推移、摂餌量の異常は見られず、尿検査、眼科学的検査、血液学的検査ならびに血液生化学的検査の成績、器官重量、剖検所見ならびに病理組織学所見にスクレロガムの投与に起因すると考えられる特異な変化は認められなかった。

以上から、無毒性量は雌雄で1000mg/kg/日であると考えられる。<sup>1)</sup>

#### (2) 遺伝毒性試験

ネズミチフス菌（*Salmonella typhimurium* TA98、TA100、TA1535、TA1537）および大腸菌（*Escherichia coli* WP2uvrA/pKM101）を用いた復帰突然変異試験は、5000 $\mu$ g/プレートまで試験されており、S9mixの有無にかかわらず陰性であった。<sup>2)</sup>

哺乳類培養細胞（CHL/IU）を用いて、最高処理濃度5000 $\mu$ g/mLの染色体異常試験を行った結果、いずれの処理条件下においても染色体異常の誘発は認められなかった。<sup>3)</sup>

マウス（BDF<sub>1</sub>系、雄）の骨髄を用いた小核試験は、限界用量である2000mg/kg $\times$ 2まで試験されており、いずれの用量においても小核の誘発は認められなかった。<sup>4)</sup>

以上から、スクレロガムには遺伝毒性はないと判断した。

#### (引用文献)

1. 高島宏昌：平成15年度既存添加物の安全性に関する試験、財団法人食品薬品安全センター秦野研究所
2. 嶋田佐和子：平成16年度食品・添加物等規格基準に関する試験検査等について、財団法人食品農医薬品安全性評価センター

3. 嶋田佐和子：平成16年度食品・添加物等規格基準に関する試験検査等について、財団法人食品農医薬品安全性評価センター
4. 嶋田佐和子：平成16年度食品・添加物等規格基準に関する試験検査等について、財団法人食品農医薬品安全性評価センター

## チャ種子サポニン

### 1. 食品添加物名

チャ種子サポニン（チャの種子から得られた、サポニンを主成分とするものを言う。）

### 2. 基原、製法、本質

ツバキ科チャ (*Camellia sinensis* O.KZE.) の種子を、ヘキサンで脱脂した後、エタノールで還流抽出して得られたものである。主成分はサポニン（ティールサポニン等）である。

### 3. 主な用途

乳化剤

### 4. 安全性試験成績の概要

#### (1) 90日間反復投与試験

F344/DuCrj系SPFラットに、強制経口（30, 100, 300, 1000mg/kg）投与による90日間反復投与試験を行った。その結果、1000mg/kg投与群では、雌雄動物の少数例で異常呼吸音が観察され、死亡が発現（雌雄各2例）したが、これらの死亡例では、剖検の結果、肺に浮腫および鬱血が認められたが、肺の病理学的影響は死亡例にのみ認められた。他の例でも急性毒性として一過性の浮腫が起こった可能性が高い。一方、死亡例、生存例とも副腎の束状帯に瀰漫性の肥大が認められ、雄では総コレステロールの低下が、雌では副腎重量の増加ならびに血糖値の低下が認められた。また、低体重並びに摂餌量の低下が認められ、貧血傾向が認められた。

一般状態観察では、1000mg/kg投与群で軟便、餌こぼし、投与後の一過性の流涎や排便量の減少が見られ、血液生化学検査の結果、グロブリン・総タンパク濃度、尿素窒素濃度、トリグリセライド濃度の低下、ALT活性や $\gamma$ -GTP活性、Na濃度の増加が認められた。また、雄では胸腺重量の低下、雌では肝臓重量の増加が認められた。300mg/kg投与群では、雌雄で副腎の束状帯細胞に瀰漫性の肥大、雄における総コレステロールの低下、一般状態観察における軟便および餌こぼし、雄のA/G比の増加とトリグリセライド濃度の低下、 $\alpha_1$ -グロブリン並びに $\gamma$ -グロブリン分画比の低下が認められた。

以上から、無毒性量(NOEL)は雌雄で100mg/kg/日であると考えられる。<sup>1)</sup>

#### (2) 遺伝毒性試験

細菌(TA98、TA100、TA1535、TA1537、WP2uvrA/pKM101)を用いた復帰突然変異試験は、5000 $\mu$ g/プレートまで試験されており、S9 mixの有無にかかわらず陰性であった。<sup>2)</sup>

哺乳類培養細胞(CHL)を用いて、最高処理濃度120 $\mu$ g/mL(-S9 mix)、80 $\mu$ g/mL(+S9 mix)の染色体異常試験を行った結果、いずれの処理条件下においても染色体異常の誘発はみとめられなかった。<sup>3)</sup>

マウス(ICR系(Crj:CD-1)、雄、各用量5匹)の骨髄における小核試験は、最大耐量である500mg/kg $\times$ 2まで試験されており、いずれの用量においても小核の誘発は認められなかった。<sup>3)</sup>

以上から、チャ種子サポニンには遺伝毒性はないと判断した。

(引用文献)

1. 小野宏：平成15年度既存添加物の安全性に関する試験、(財)食品薬品安全センター秦野研究所
2. 松島泰治郎：平成12年度食品添加物規格基準作成等の試験検査、日本バイオアッセイ研究センター
3. 岩本毅：平成12年度食品添加物規格基準作成等の試験検査、(財)残留農薬研究所

## トロロアオイ

### 1. 食品添加物名

トロロアオイ（トロロアオイの根から得られた、多糖類を主成分とするものをいう。）

### 2. 基原、製法、本質

アオイ科トロロアオイ（*Abelmoschus manihot* MED.）の根を、乾燥、粉碎して得られたものである。主成分は多糖類である。

### 3. 主な用途

増粘安定剤

### 4. 安全性試験成績の概要

#### (1) 90日間反復投与試験

F344系ラットを用いた混餌（0.5、1.5、5.0%）投与による、90日反復投与試験を行った。その結果、動物の死亡は認められず、一般状態においても著変を認めなかった。また、体重、摂餌量、摂水量、尿検査、眼科検査、血液学的検査、血液生化学的検査、肉眼的病理検査、器官重量及び病理組織学的検査において、被験物質投与に起因すると考えられる毒性学的な影響はみられなかった。

以上より、本試験条件下における無毒性量は5.0%（雄：2939 mg/kg/日、雌：3325 mg/kg/日）と判断された。<sup>1)</sup>

#### (2) 遺伝毒性試験

細菌を用いた復帰突然変異試験及び哺乳類培養細胞（CHL/IU）を用いた染色体異常試験が行われており、いずれも陰性であった。<sup>2)</sup> また、枯草菌を用いるDNA修復試験（Rec-assay法）が行われており、陰性であった。<sup>2)</sup>

マウス（ICR系、雄）の骨髄を用いた小核試験は、限界用量である2000 mg/kg × 2まで試験されており、いずれの用量においても小核を誘発しないものと判断された。<sup>3)</sup>

以上から、トロロアオイには遺伝毒性はないと判断した。

#### (引用文献)

1. 玉野静光：平成17年度食品・添加物等規格基準に関する試験検査等について、（株）DIMS医科学研究所
2. 林真：厚生省等による食品添加物の変異原性評価データシート（昭和54年度～平成10年度分）
3. 小野宏：平成16年度食品・添加物等規格基準に関する試験検査等について、（財）食品薬品安全センター秦野研究所



## ホウセンカ抽出物

### 1. 食品添加物名

ホウセンカ抽出物（ホウセンカの全草から抽出して得られたものをいう。）

### 2. 基原、製法、本質

ツリガネソウ科ホウセンカ (*Impatiens balsamina* LINNE) の全草より、室温時含水エタノールで抽出して得られたものである。

### 3. 主な用途

酸化防止剤

### 4. 安全性試験成績の概要

#### (1) 90日間反復投与試験

F344/DuCrj 系ラットに、混合水 (1.25、2.5、5.0%) の自由摂取による 90 日間反復投与試験を行った。その結果、被験物質投与群での死亡は認められず、また、一般状態、体重、摂餌量、摂水量、血液学的検査、器官重量及び病理組織学的検査において被験物質に関連した明らかな変化は認められなかった。

血清生化学的検査では、塩素、ナトリウム、カリウム、無機リンの値において投与に関連する変化が認められたが、毒性学的意義は乏しいと考えられた。

以上から、無毒性量は雌雄で 5.0% (雄：3997 mg/kg/日、雌：4577 mg/kg/日) と判断された。<sup>1)</sup>

#### (2) 遺伝毒性試験

細菌 (TA98、TA100、TA1535、TA1537、WP2uvrA/pKM101) を用いた復帰突然変異試験は、100 mg/プレートまで試験されており、代謝活性化の有無にかかわらず陰性であった。<sup>2)</sup>

哺乳類培養細胞 (CHL) を用いて、最高処理濃度 5000  $\mu$ g/mL の染色体異常試験を行った結果、代謝活性化系の有無に係わらずいずれの処理条件下においても染色体異常の誘発は認められず、陰性であると結論された。<sup>3)</sup>

マウス (ICR 系、雄) の骨髄を用いた小核試験は、限界用量である 2000 mg/kg  $\times$  2 まで試験されており、いずれの用量においても小核出現頻度の有意な増加は認められず、陰性であると結論した。<sup>4)</sup>

以上から、ホウセンカ抽出物には遺伝毒性はないと判断した。

#### (引用文献)

1. 広瀬雅雄：平成 16 年度食品添加物規格基準設定等試験検査、国立医薬品食品衛生研究所
2. 麻野間正晴：既存添加物の安全性確保上必要な品質問題に関する研究、名古屋市衛生研究所
3. 松元郷六：平成 16 年度既存添加物の安全性確保上必要な品質問題に関する研究 (ホウセンカ抽出物の哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験)、(財) 残留農薬研究所
4. 松元郷六：平成 16 年度既存添加物の安全性確保上必要な品質問題に関する研究 (ホウセンカ抽出物のマウスを用いる小核試験)、(財) 残留農薬研究所



## マクロホモプシスガム

### 1. 食品添加物名

マクロホモプシスガム（マクロホモプシスの培養液から得られた、多糖類を主成分とするものをいう。）

### 2. 基原、製法、本質

不完全菌類 (*Macrophomopsis*) の培養液より、分離して得られたものである。主成分は多糖類である。

### 3. 主な用途

増粘安定剤

### 4. 安全性試験成績の概要

#### (1) 90日間反復投与試験

F344/DuCrj系SPFラットに、強制経口（100、300、1000mg/kg）投与による90日間反復投与試験を行った。その結果、1000mg/kg投与群の雄では、軽微にとどまる有意差であるが、血中のアルブミン濃度および総コレステロール濃度の低下が認められた。一方、被験物質の毒性に起因すると考えられる一般状態、体重推移、摂餌量の異常は認められず、尿検査、眼科学検査、血液学検査成績ならびに器官重量、剖検所見ならびに病理組織学所見に特異な変化は認められなかった。

以上から、無毒性量（NOEL）は雌雄で300mg/kg/日であると考えられる。<sup>1)</sup>

#### (2) 遺伝毒性試験

細菌（TA98、TA100、TA1535、TA1537、WP2uvrA/pKM101）を用いた復帰突然変異試験は、5000 $\mu$ g/プレートまで試験されており、S9 mixの有無にかかわらず陰性であった。<sup>2)</sup>

哺乳類培養細胞（CHL）を用いて、最高処理濃度5000 $\mu$ g/mLの染色体異常試験を行った結果、S9 mixの有無に関わらず、短時間および長時間処理のいずれの処理条件下においても染色体異常の誘発はみとめられなかった。<sup>3)</sup>

マウス（ICR系（Crj:CD-1）、雄 各用量5匹）の骨髄における小核試験は、限界用量である2000mg/kg $\times$ 2まで試験されており、いずれの用量においても小核の誘発は認められなかった。<sup>3)</sup>

以上から、マクロホモプシスガムには遺伝毒性はないと判断した。

#### (引用文献)

1. 小野宏：平成15年度既存添加物の安全性に関する試験、（財）食品薬品安全センター 秦野研究所
2. 松島泰治郎：平成12年度食品添加物規格基準作成等の試験検査、日本バイオアッセイ研究センター
3. 岩本毅：平成12年度食品添加物規格基準作成等の試験検査、（財）残留農薬研究所



## ラカンカ抽出物

### 1. 食品添加物名

ラカンカ抽出物（ラカンカの果実から得られた、モグロシド類を主成分とするものをいう。）

### 2. 基原、製法、本質

ウリ科ラカンカ (*Memordica grosvenori* SWINGLE) の果実より、水、含水メタノール若しくはエタノールで抽出して得られたもの、又は室温時～温時含水メタノールで抽出し、植物油を用いて油溶性成分を除去したものより得られたものである。主甘味成分はモグロシド類である。

### 3. 主な用途

甘味料

### 4. 安全性試験成績の概要

#### (1) 急性毒性試験

ICR系マウスに、強制経口(2000mg/kg)投与による急性毒性試験を行った。その結果、試験動物に異常もしくは死亡例は観察されず、致死量は雌雄ともに2000 mg/kg以上であると認められた。<sup>1)</sup>

#### (2) 90日間反復投与試験

F344ラットに、被験物質0.25、0.5、1.0、2.0%の濃度で飲水に混入し、90日間反復投与試験を行った。その結果、体重減少や死亡などの毒性は全く認められなかった。また主要臓器などに病変は認められず、血清生化学的にも異常所見は認められなかった。<sup>2)</sup>

Wistar Hannover(GALAS)ラットに、被験物質0.04、0.2、1、5%の濃度で飼料に混入し、90日間反復投与試験を行った。その結果、いずれの群の動物においても死亡は認められず、体重増加量、血液学的及び血清生化学的検査、臓器重量、病理組織学的検査においても被験物質投与に起因した変化は認められなかった。

以上から、無毒性量は雌雄で5%以上(雄:2523.5mg/kg/日、雌:3202.7mg/kg/日)であると考えられる。<sup>3)</sup>

#### (3) 遺伝毒性試験

細菌(TA98、TA100、TA1535、TA1537、WP2uvrA)を用いた復帰突然変異試験は、5000 $\mu$ g/プレートまで試験されており、S9 mixの有無にかかわらず陰性であった。<sup>4)</sup>また、細菌(TA98、TA100、TA1535、TA1537、WP2uvrA/pKM101)を用いた復帰突然変異試験は、5000 $\mu$ g/プレートまで試験されており、S9 mixの有無にかかわらず陰性であった。<sup>5)</sup>

哺乳類培養細胞(CHL/IU)を用いて、顕微鏡観察可能な最高用量の625 $\mu$ g/mLの染色体異常試験を行った結果、連続処理法では、染色体構造異常の誘発(11.5%)が認められ、短時間処理法(-S9および+S9処理)においても擬陽性と判定される誘発(5.0~7.0%)が認められたことから、染色体異常誘発性は陽性と判断された。変異原性の強さに関する相対的比較値であるD<sub>20</sub>値の最小値は1.27mg/mLと算出された。<sup>6)</sup>

マウス（BDF<sub>1</sub>系、雄、各用量5匹）の骨髄における小核試験は、限界用量である 2000mg/kg×2まで試験されており、いずれの用量においても小核の誘発は認められなかった。<sup>6)</sup>

以上から、ラカンカ抽出物には遺伝毒性はないと判断した。

（引用文献）

1. 自社データ
2. 廣瀬育生：平成11年食品添加物安全性再評価等の試験検査、広島大学
3. 三森国敏：平成16年度食品・添加物等規格基準に関する試験検査等について、東京農工大学
4. 自社データ
5. 松島泰治郎：平成11年度食品添加物規格基準作成等の試験検査、日本バイオアッセイ研究センター
6. 菊池正憲：平成15年度食品・添加物等規格基準に関する試験検査等、（財）食品農医薬品安全性評価センター

## 既存添加物の安全性見直しの状況(平成20年8月現在)

<b>既存添加物名簿収載品目数</b>		<b>418</b>
<b>1. 安全性評価済みの品目</b>		<b>259</b>
	平成8年度厚生科学研究(※1)(※2)	39
	平成11年度既存添加物の安全性評価に関する調査研究(※3)	13
	平成15年度既存添加物の安全性の見直しに関する調査研究(※2)	16
	平成16年度既存添加物の安全性の見直しに関する調査研究	14
	平成18年度既存添加物の安全性の見直しに関する調査研究	7
	平成19年度既存添加物の安全性の見直しに関する調査研究	8
	国際的な評価が終了しているもの(JECFA、FDA等)	162
<b>2. 安全性情報を収集している品目</b>		<b>35</b>
	国立医薬品食品衛生研究所の専門家からなる検討会において整理検討中のもの	11
	反復投与毒性試験及び遺伝毒性試験の実施中のもの(※2)	11
	反復投与毒性試験及び遺伝毒性試験の結果から、慢性毒性試験/発がん性試験等の追加試験を実施しているもの(※2)	13
<b>3. 基原、製法、本質等からみて安全と考えられ、早急に検討を行う必要はない品目</b>		<b>124</b>

<b>既存添加物名簿から削除された品目数</b>		<b>71</b>
	流通実態が無く削除された品目(※3)	70
	安全性に問題があるとされ削除された品目(※1)	1

※1:「アカネ色素」はその後の情報に基づき追加試験を実施し、安全性に問題があるとされ既存添加物名簿から削除された。

※2:1品目については、念のため、追加試験を実施。

※3:「氷核菌細胞質液」は流通実態がなく既存添加物名簿から削除された。

食品安全委員会への意見聴取及び食品健康影響評価結果について(平成20年9月現在)

案件	根拠条文	意見聴取年月日	文書番号	結果通知年月日	文書番号	備考	告示
添加物の指定(L-グルタミン酸アンモニウム)	食品安全基本法第24条第1項第1号	H18.5.22	厚生労働省発食安第0522006号	H20.3.13	府食第277号	H20.4.11添加物部会 H20.6.18パブコメ開始	
添加物の指定(亜塩素酸水)	食品安全基本法第24条第1項第1号	H18.8.14	厚生労働省発食安第0814001号	H20.6.19	府食第677号		
添加物の指定(ウッドロジングリセリンエステル)	食品安全基本法第24条第1項第1号	H18.8.29	厚生労働省発食安第0829001号				
添加物の指定(ステアロイル乳酸ナトリウム)	食品安全基本法第24条第1項第1号	H19.2.6	厚生労働省発食安第0206001号	H20.7.10	府食第766号	H20.7.4添加物部会 H20.9.16パブコメ開始	
添加物の指定(乳酸カリウム)	食品安全基本法第24条第1項第1号	H19.2.6	厚生労働省発食安第0206002号				
添加物の指定(バレラルデヒド)	食品安全基本法第24条第1項第1号	H19.3.19	厚生労働省発食安第0319023号	H20.3.27	府食第324号	H20.7.4添加物部会 H20.9.16パブコメ開始	
添加物の指定(イソバレラルデヒド)	食品安全基本法第24条第1項第1号	H19.3.19	厚生労働省発食安第0319024号	H20.3.27	府食第325号	H20.7.4添加物部会 H20.9.16パブコメ開始	
添加物の指定(ソルビン酸カルシウム)	食品安全基本法第24条第1項第1号	H19.3.19	厚生労働省発食安第0319025号				
添加物の指定(プロテイングルタミナーゼ)	食品安全基本法第24条第1項第1号	H19.8.2	厚生労働省発食安第0802001号				
添加物の指定(5-メチルテトラヒドロ葉酸カルシウム)	食品安全基本法第24条第1項第1号	H19.8.2	厚生労働省発食安第0802002号				
添加物の指定(2,3-ジメチルピラジン)	食品安全基本法第24条第1項第1号	H20.2.7	厚生労働省発食安第0207001号	H20.7.31	府食第837号	H20.9.24添加物部会	
添加物の指定(2,5-ジメチルピラジン)	食品安全基本法第24条第1項第1号	H20.2.7	厚生労働省発食安第0207002号	H20.7.31	府食第838号	H20.9.24添加物部会	
添加物の指定(2,6-ジメチルピラジン)	食品安全基本法第24条第1項第1号	H20.2.7	厚生労働省発食安第0207003号	H20.7.31	府食第839号	H20.9.24添加物部会	
添加物の指定(2-エチルピラジン)	食品安全基本法第24条第1項第1号	H20.5.22	厚生労働省発食安第0522006号				
添加物の指定(2-メチルピラジン)	食品安全基本法第24条第1項第1号	H20.5.22	厚生労働省発食安第0522007号				

食品安全委員会への意見聴取及び食品健康影響評価結果について(平成20年9月現在)

案件	根拠条文	意見聴取 年月日	文書番号	結果通知 年月日	文書番号	備考	告示
添加物の指定(アルギン酸アンモニウム)	食品安全基本法 第24条第1項第1号	H17.3.28	厚生労働省発食 安第0328001号	H18.3.30	府食第239号	H18.3.23添加物部会 H18.8.22パブコメ開始	H18.12.26
添加物の指定(アルギン酸カリウム)	食品安全基本法 第24条第1項第1号	H17.3.28	厚生労働省発食 安第0328002号	H18.3.30	府食第239号	H18.3.23添加物部会 H18.8.22パブコメ開始	H18.12.26
添加物の指定(アルギン酸カルシウム)	食品安全基本法 第24条第1項第1号	H17.3.28	厚生労働省発食 安第0328003号	H18.3.30	府食第239号	H18.3.23添加物部会 H18.8.22パブコメ開始	H18.12.26
添加物の指定(リン酸一水素マグネシウム)	食品安全基本法 第24条第1項第1号	H17.3.28	厚生労働省発食 安第0328004号				
添加物の使用基準改正(ヒドロキシプロピルメチルセルロース)	食品安全基本法 第24条第1項第1号	H17.4.26	厚生労働省発食 安第0426001号	H18.8.24	府食第675号	H18.6.22添加物部会 H18.11.22パブコメ開始	H19.2.27
添加物の指定(ポリビニルピロリドン)	食品安全基本法 第24条第1項第1号	H17.6.20	厚生労働省発食 安第0620005号				
添加物の指定(アルミノケイ酸ナトリウム)	食品安全基本法 第24条第1項第1号	H17.8.15	厚生労働省発食 安第0815001号				
添加物の指定(ケイ酸カルシウム)	食品安全基本法 第24条第1項第1号	H17.8.15	厚生労働省発食 安第0815002号	H19.7.26	府食第719号	H19.8.9添加物部会 H19.10.29パブコメ開始	H20.4.30
添加物の指定(ケイ酸カルシウムアルミニウム)	食品安全基本法 第24条第1項第1号	H17.8.15	厚生労働省発食 安第0815003号				
添加物の指定(ケイ酸マグネシウム)	食品安全基本法 第24条第1項第1号	H17.8.15	厚生労働省発食 安第0815004号				
添加物の指定(L-アスコルビン酸カルシウム)	食品安全基本法 第24条第1項第1号	H17.10.3	厚生労働省発食 安第1003002号	H19.8.23 H20.6.19	府食第799号 府食第678号	H19.8.9添加物部会 H19.10.29パブコメ開始	H20.4.30
添加物の指定(イソブチルアルデヒド)	食品安全基本法 第24条第1項第1号	H17.12.19	厚生労働省発食 安第1219009号	H18.12.7	府食第989号	H18.12.8添加物部会 H19.3.23パブコメ開始	H19.8.3
添加物の指定(ブチルアルデヒド)	食品安全基本法 第24条第1項第1号	H17.12.19	厚生労働省発食 安第1219010号	H19.3.22	府食第296号	H19.3.20添加物部会 H19.8.1パブコメ開始	H19.10.26
添加物の指定(2-メチルブタノール)	食品安全基本法 第24条第1項第1号	H17.12.19	厚生労働省発食 安第1219011号	H18.10.12	府食第808号	H18.12.8添加物部会 H19.3.23パブコメ開始	H19.8.3
添加物の指定(トコフェロール酢酸エステル)	食品安全基本法 第24条第1項第1号	H17.12.19	厚生労働省発食 安第1219013号	H18.9.21	府食第745号	H18.9.28添加物部会 H19.1.15パブコメ開始	H19.4.26
添加物の指定(d- $\alpha$ -トコフェロール酢酸エステル)	食品安全基本法 第24条第1項第1号	H17.12.19	厚生労働省発食 安第1219013号	H18.9.21	府食第745号	H18.9.28添加物部会 H19.1.15パブコメ開始	H19.4.26
添加物の指定(水酸化マグネシウム)	食品安全基本法 第24条第1項第1号	H18.3.9	厚生労働省発食 安第0309001号	H19.11.1	府食第1079号	H19.10.24添加物部会 H20.2.7パブコメ開始	H20.7.4
添加物の指定(サッカリンカルシウム)	食品安全基本法 第24条第1項第1号	H18.5.22	厚生労働省発食 安第0522005号				

食品安全委員会への意見聴取及び食品健康影響評価結果について(平成20年9月現在)

案件	根拠条文	意見聴取年月日	文書番号	結果通知年月日	文書番号	備考	告示
添加物の指定(プロパノール)	食品安全基本法第24条第1項第1号	H15.11.21	厚生労働省発食安第1121005号	H16.9.9	府食第929号	H16.8.26添加物部会 H16.9.13パブコメ開始	H17.2.24
添加物の使用基準改正(グルコン酸亜鉛)	食品安全基本法第24条第1項第1号	H15.12.2	厚生労働省発食安第1202004号	H16.5.27	府食第589号	H16.4.8添加物部会 H16.5.10パブコメ開始	H16.12.24
添加物の使用基準改正(グルコン酸銅)	食品安全基本法第24条第1項第1号	H15.12.2	厚生労働省発食安第1202005号	H16.5.27	府食第588号	H16.4.8添加物部会 H16.5.10パブコメ開始	H16.12.24
添加物の指定(イソプロパノール)	食品安全基本法第24条第1項第1号	H15.12.15	厚生労働省発食安第1215002号	H16.12.9	府食1235号	H16.10.28添加物部会 H16.11.19パブコメ開始	H17.4.28
添加物の指定(ステアリン酸カルシウム)	食品安全基本法第24条第1項第1号	H16.3.4	厚生労働省発食安第0304001号	H16.7.29	府食第795号	H16.6.24添加物部会 H16.8.19パブコメ開始	H16.12.24
食品添加物「アカネ色素」を既存添加物名簿から削除すること	食品安全基本法第24条第1項第11号	H16.6.18	厚生労働省発食安第0618001号	H16.7.2	府食第719号	H16.7.9パブコメ開始	H16.7.9
添加物の指定(ヒドロキシプロピルセルロース)	食品安全基本法第24条第1項第1号	H16.8.16	厚生労働省発食安第0816001号	H17.3.10	府食第258号	H17.2.24添加物部会 H17.3.14パブコメ開始	H17.8.19
添加物の指定(イソアミルアルコール)	食品安全基本法第24条第1項第1号	H16.11.5	厚生労働省発食安第1105001号	H17.3.17	府食第289号	H17.2.24添加物部会 H17.3.14パブコメ開始	H17.8.19
添加物の指定(2,3,5-トリメチルピラジン)	食品安全基本法第24条第1項第1号	H16.11.5	厚生労働省発食安第1105002号	H17.3.17	府食第290号	H17.2.24添加物部会 H17.3.14パブコメ開始	H17.8.19
添加物の指定(アミルアルコール)	食品安全基本法第24条第1項第1号	H16.11.5	厚生労働省発食安第1105003号	H17.3.17	府食第291号	H17.2.24添加物部会 H17.3.14パブコメ開始	H17.8.19
添加物の指定(加工デンプン11品目)	食品安全基本法第24条第1項第1号	H16.11.26	厚生労働省発食安第1126002号	H19.11.29	府食第1172号	H19.11.28添加物部会 H20.7.4添加物部会 H20.3.13パブコメ開始	
添加物の指定(ネオテーム)	食品安全基本法第24条第1項第1号	H17.1.31	厚生労働省発食安第0131001号	H18.10.19	府食第826号	H19.7.4添加物部会 H19.9.3パブコメ開始	H19.12.28
添加物の成分規格の改正(次亜塩素酸水)	食品安全基本法第24条第1項第1号	H17.1.31	厚生労働省発食安第0131002号	H19.1.25	府食第94号	H19.3.20添加物部会 H20.2.7パブコメ開始	
添加物の指定(2-エチル-3-メチルピラジン)	食品安全基本法第24条第1項第1号	H17.3.7	厚生労働省発食安第0307001号	H17.8.18	府食第804号	H17.7.28添加物部会 H17.8.19パブコメ開始	H18.5.16
添加物の指定(ブタノール)	食品安全基本法第24条第1項第1号	H17.3.7	厚生労働省発食安第0307002号	H17.9.22	府食第936号	H17.11.24添加物部会 H18.5.1パブコメ開始	H18.9.12
添加物の指定(5-メチルキノキサリン)	食品安全基本法第24条第1項第1号	H17.3.7	厚生労働省発食安第0307003号	H17.8.18	府食第805号	H17.7.28添加物部会 H17.8.19パブコメ開始	H18.5.16

## 食品安全委員会への意見聴取及び食品健康影響評価結果について(平成20年9月現在)

案件	根拠条文	意見聴取 年月日	文書番号	結果通知 年月日	文書番号	備考	告示
添加物の指定(Ｌ-アスコルビン酸2-グルコシド、ステアリン酸マグネシウム、リン酸三マグネシウム)	食品安全基本法 第24条第1項第1号	H15.7.1	厚生労働省発食 安第0701016号	H15.7.31	府食第34号	ステアリン酸マグネシウム、リン酸三マグネシウム	H16.1.20
				H15.9.25	府食第129号	Ｌ-アスコルビン酸2-グルコシド	H16.1.20
添加物の使用基準の改正(アセスルファムカリウム、亜硫酸塩類、酸化マグネシウム、炭酸マグネシウム)	食品安全基本法 第24条第1項第1号	H15.7.1	厚生労働省発食 安第0701017号	H15.7.31	府食第35号	酸化マグネシウム、炭酸マグネシウム	H16.1.20
				H15.8.28	府食第69号	アセスルファムカリウム	H16.1.20
				H15.9.25	府食第130号	亜硫酸塩	H16.1.20
添加物の規格の改正(メチルヘスペリジン)	食品安全基本法 第24条第1項第1号	H15.7.1	厚生労働省発食 安第0701018号	H15.7.24	府食第28号		H15.10.16
添加物の基準の設定(コウジ酸)	食品安全基本法 第24条第1項第1号	H15.7.1	厚生労働省発食 安第0701019号	H15.7.24	府食第29号		H15.10.16
添加物の規格の改正(タール色素)	食品安全基本法 第24条第1項第1号	H15.7.1	厚生労働省発食 安第0701023号	H15.9.25	府食第131号		H16.2.27
添加物の指定(ポリソルベート20,60,65,80)	食品安全基本法 第24条第1項第1号	H15.10.8	厚生労働省発食 安第1008003号	H19.6.7	府食第573号	H19.8.9添加物部会 H19.10.29パブコメ開始	H20.4.30
添加物の指定(ナタマイシン)	食品安全基本法 第24条第1項第1号	H15.10.20	厚生労働省発食 安第1020001号	H17.5.6	府食第460号	H17.3.24添加物部会 H17.6.13パブコメ開始	H17.11.28
添加物の指定(ナイシン)	食品安全基本法 第24条第1項第1号	H15.10.20	厚生労働省発食 安第1020002号	H20.1.31	府食第108号	H19.10.24添加物部会 H20.2.28添加物部会 H20.6.11パブコメ開始	
添加物の指定(亜酸化窒素)	食品安全基本法 第24条第1項第1号	H15.10.20	厚生労働省発食 安第1020003号	H16.12.9	府食第1236号	H16.12.17添加物部会 H16.12.28パブコメ開始	H17.3.22
添加物の使用基準の改正(亜塩素酸ナトリウム)	食品安全基本法 第24条第1項第1号	H15.10.20	厚生労働省発食 安第1020004号	H16.11.18 H20.6.19	府食第1166号 府食第677号	H16.10.07添加物部会 H17.3.24添加物部会 H17.4.6パブコメ開始	H17.9.16
添加物の指定(アセトアルデヒド)	食品安全基本法 第24条第1項第1号	H15.11.21	厚生労働省発食 安第1121001号	H17.7.21	府食第716号	H17.6.23添加物部会 H17.7.7パブコメ開始	H18.5.16
添加物の指定(イソブタノール)	食品安全基本法 第24条第1項第1号	H15.11.21	厚生労働省発食 安第1121002号	H16.5.27	府食第590号	H16.4.23添加物部会 H15.5.17パブコメ開始	H16.12.24
添加物の指定(2-エチル3(5or6)-ジメチルピラジン)	食品安全基本法 第24条第1項第1号	H15.11.21	厚生労働省発食 安第1121003号	H16.5.27	府食第591号	H16.4.8添加物部会 H16.5.10パブコメ開始	H16.12.24
添加物の指定(2,3,5,6-テトラメチルピラジン)	食品安全基本法 第24条第1項第1号	H15.11.21	厚生労働省発食 安第1121004号	H16.5.27	府食第592号	H16.4.8添加物部会 H16.5.10パブコメ開始	H16.12.24