

令和4年度

既存添加物の安全性評価 に関する調査研究

調査研究報告書



国立医薬品食品衛生研究所

調査研究報告書

既存添加物の安全性評価に関する調査研究

令和 5 年 3 月

主任研究者

平林容子

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

北嶋聡	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毒性部	部長
杉本直樹	国立医薬品食品衛生研究所食品添加物部	部長
今井俊夫	国立がん研究センター研究所動物実験施設長	
山田雅巳	防衛大学校応用科学群応用化学科	教授
諫田泰成	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薬理部	部長
小川久美子	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	部長
杉山圭一	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変異遺伝部	部長
増村健一	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安全性予測評価部	部長
広瀬明彦	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安全性予測評価部	客員研究員

目次

A. 研究要旨	3
B. 研究目的	3
C. 研究方法	3
D. 研究結果	4
E. 考察	4
F. 結論	5
G. 各論	6
オリゴガラクチュロン酸	7
キハダ抽出物	11
ペクチン分解物	16
別添 1	20
別添 2	21
別添 3	22
略号	23

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、「基原、製法、本質からみて、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」に分類された 109 品目のうち、令和 4 年度に安全性評価に関する情報が得られたオリゴガラクトース、キハダ抽出物、ペクチン分解物について、その安全性の評価を目的として調査研究を行った。

本事業において評価したオリゴガラクトースについて、国立医薬品食品衛生研究所（国衛研）で実施した安全性試験及び使用実態から総合的に判断して、食品添加物としての使用においては安全性に懸念はないと結論された。

キハダ抽出物及びペクチン分解物については、遺伝毒性試験の結果から変異原性を有する可能性が否定できず、いずれもフォローアップ試験としてトランスジェニックマウス遺伝子突然変異試験を追加で実施した上であらためて安全性評価を行う必要があると判断された。

B. 研究目的

平成 7 年の食品衛生法（昭和 22 年法律第 233 号）の改正において、既存添加物名簿（平成 8 年厚生省告示第 120 号）に収載された既存添加物は、引き続き使用等が認められることとされ、それに伴い、安全性の見直しを行うこととされた。これらの既存添加物について、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、国際的な評価結果、欧米での許認可状況、並びに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、①「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もの」、②「基原、製法、本質からみて、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」、③「入手した試験成績の評価により、安全性の検討を早急に行う必要はないもの」、

④「既に国際的な評価がなされており基本的な安全性は確認されているもの」と分類された。本調査研究は、②に分類された 109 品目のうち、令和 4 年現在安全性試験結果が得られたオリゴガラクトース、キハダ抽出物、ペクチン分解物について安全性を評価（考察）することを目的とした。

C. 研究方法

「基原、製法、本質からみて、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」と分類された既存添加物 109 品目のうち、オリゴガラクトース、キハダ抽出物、ペクチン分解物について、急性毒性試験、反復投与毒性試験、変異原性試験等の結果等について取り纏めた安全性評価書案を、食品添加物安全性評価検討会ワーキンググループ（別添 2）を中心に作成した。この安全性評価書案を基に、複数の専門家から構成された食品添加物

安全性評価検討会（別添1）において、対象品目の安全性に関する評価（考察）を行った。

D. 研究結果

1) オリゴガラクチュロン酸

オリゴガラクチュロン酸を用い、0、100、300、1000 mg/kg 体重/日の用量で強制経口投与にてラット 90 日間反復投与毒性試験が実施され、無毒性量（NOAEL）は雌雄ともに 1000 mg/kg 体重/日と判断された。遺伝毒性に関しては、Ames 試験、染色体異常試験、*in vivo* 小核試験が実施され、いずれも陰性と判定されたことから、オリゴガラクチュロン酸は生体にとって懸念すべき遺伝毒性はないものと考えられた。

以上の情報から、現状の使用においては、ヒトの健康影響に対する懸念はないと結論された。

2) キハダ抽出物

キハダ抽出物を用い、0、80、250、800 mg/kg 体重/日の用量で強制経口投与にてラット 90 日間反復投与毒性試験が実施され、NOAELは雌雄ともに 800 mg/kg 体重/日と判断された。遺伝毒性に関しては、Ames 試験、染色体異常試験、*in vivo* 小核試験が実施され、Ames 試験が陽性と判定された。

以上より、Ames 試験の結果からキハダ抽出物は変異原性を有する可能性が否定できず、フォローアップ試験としてトランスジェニックマウス遺伝子突然変異試験を実施の上、あらためて安全性評価を行う必要があると判断された。

3) ペクチン分解物

日本における推定摂取量は 0.09 mg/人/日である（平成 29 年度実績）。ペクチン分解物を用い、0、0.15、0.5、1.5、5%の濃度で飲水投与によりラット 90 日間反復投与毒性試験が実施され、NOAEL は雌雄ともに 0.5%（雄で 545 mg/kg 体重/日、雌で 657 mg/kg 体重/日）と判断された。遺伝毒性に関しては、Ames 試験、染色体異常試験、*in vivo* 小核試験が実施され、Ames 試験が陽性、染色体異常試験が陽性及び *in vivo* 小核試験が陰性と判定された。

以上より、本剤の遺伝毒性評価において、Ames 試験の結果からペクチン分解物は変異原性を有する可能性が否定できず、フォローアップ試験としてトランスジェニックマウス遺伝子突然変異試験を実施の上、あらためて安全性評価を行う必要があると判断された。

E. 考察

本事業において評価したオリゴガラクチュロン酸について、安全性試験の成績から食品添加物としての使用においては安全性に懸念はないと考えられた。

キハダ抽出物及びペクチン分解物については、遺伝毒性試験の結果から変異原性を有する可能性が否定できず、いずれもフォローアップ試験としてトランスジェニックマウス遺伝子突然変異試験を被験物質とする剤の妥当性を考慮した上で実施し、あらためて安全性評価を行う必要があると判断された。

F. 結論

平成8年度厚生科学研究「林班報告書」において「基原、製法、本質からみて、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」に分類された既存添加物109品目のうち、オリゴガラクチュロン酸について安全性の評価を行った結果、毒性試験に関する情報から総合的に判断

すると、食品添加物として使用する限りにおいて安全性上の懸念はないと結論された。キハダ抽出物及びペクチン分解物については、現在までに得られている遺伝毒性に関する情報から遺伝毒性の情報から変異原性を有する可能性が否定できず、引き続き追加の安全性試験を実施の上安全性について検討の必要があると判断された。

G. 各論

オリゴガラクチュロン酸

英名： Oligogalacturonic acid

CAS No. 該当なし

JECFA No. 該当なし

別名： 該当なし

化学式： —

分子量： —

構造式： —

1. 基原・製法

「ペクチン」をペクチナーゼで酵素分解し、限外ろ過して得られたものであって、ガラクチュロン酸の 1～9 量体の混合物からなる。

2. 主な用途

製造用剤（清涼飲料水、粉末・濃縮飲料等の沈殿防止、清涼飲料水、調味液等の比重・食感調整、そうざい、液体食品等の日持向上剤）

3. 流通実態

1) 消除対象¹

消除対象から復活²

2) 流通実態

日添協等を対象とした平成 26 年¹⁾、平成 29 年²⁾における生産量調査において報告なし

3) 食品添加物公定書の規格

規格なし

4. 安全性試験の概要

1) 急性毒性試験

急性毒性試験として経口投与の情報なし

¹ 「消除予定添加物名簿の作成に係る既存添加物の販売等調査について（周知依頼）」（平成 29 年 12 月 22 日付け薬生食基発 1222 第 1 号）の別添 1「食品添加物として販売の用に供されていない既存添加物（案）（196 品目）」に収載

² 一度消除候補となったが、その後使用していることの申出があったことから、消除候補から除かれた。

2) 反復投与毒性試験

6 週齢の雌雄 Crl:CD(SD)ラットにオリゴガラクトン酸を 0、100、300、1000 mg/kg 体重/日の用量で 91 日間強制経口投与（媒体：蒸留水）し、一般状態観察、体重測定、摂餌量測定、尿検査、血液学的検査、血清生化学検査、臓器重量測定、肉眼病理学的検査及び病理組織学的検査を実施した。その結果、いずれの検査項目においても被験物質投与による毒性影響は認められなかった。よって、本試験条件下におけるオリゴガラクトン酸の NOAEL は雌雄ともに 1000 mg/kg 体重/日以上と判断された³⁾。

3) 遺伝毒性試験

オリゴガラクトン酸の細菌を用いる復帰突然変異試験をプレインキュベーション法により実施し、遺伝子突然変異誘発性（変異原性）の有無を検討した。溶媒は注射用水（溶解）とし、純度換算は行わなかった。検定菌として、ネズミチフス菌（TA100、TA1535、TA98、TA1537）及び大腸菌（WP2 *uvrA*）を用い、プレインキュベーション法により、非代謝活性化及び代謝活性化条件下で試験を行った。

用量設定試験の結果に基づき、全ての検定菌で 313、625、1250、2500 及び 5000 µg/plate の 5 用量を設定して本試験を行った。その結果、生育阻害は、非代謝活性化及び代謝活性化条件下のいずれの検定菌においても認められなかった。陰性対照値の 2 倍以上となる変異コロニー数の増加は、非代謝活性化及び代謝活性化条件下のいずれの検定菌においても認められなかった。

以上の結果に基づき、オリゴガラクトン酸は、用いた試験系において遺伝子突然変異誘発性を有しない（陰性）と判定した⁴⁾。

オリゴガラクトン酸について、CHL/IU 細胞（チャイニーズ・ハムスター、雌肺由来）を用いる染色体異常試験を実施し、染色体異常誘発作用の有無を検討した。溶媒は注射用水（溶解）とし、純度換算は行わなかった。短時間処理（6 時間処理及び 18 時間の回復時間）の非代謝活性化及び代謝活性化条件下並びに連続処理（24 時間処理）について、陰性対照群及び被験物質処理群を設定して用量設定試験を行った。

用量設定試験の結果に基づき、各処理条件について、陰性対照群、0.13、0.25、0.50、1.0 及び 2.0 mg/mL の濃度の被験物質処理群、陽性対照群を設定して染色体異常試験を行った。その結果、沈殿（処理終了時）は、いずれの処理条件においても認められなかった。また、40%未満となる相対細胞数増加率は、いずれの処理条件においても認められなかった。したがって、0.50、1.0 および 2.0 mg/mL の濃度の被験物質処理群について染色体分析を行った。染色体分析の結果、いずれの処理条件においても、構造異常を有する細胞数及び倍数性細胞数の統計学的に有意な増加は認められなかった。一方、陽性対照群については構造異常を有する細胞の有意な増加が認められた。

以上の結果より、当該試験条件下において、オリゴガラクトン酸は CHL/IU 細胞に対する染色体異常誘発作用を有しない（陰性）と結論した⁴⁾。

オリゴガラクトン酸の生体内での染色体異常誘発性の有無を、マウス（CrI:CD1(ICR)系の雄）骨髄を用いる小核試験において検討した。被験物質は混合物のため純度 100%として試験を実施した。溶媒は注射用水（溶解）とし、純度換算は行わなかった。

毒性予備試験は、雌雄マウスを用いて、被験物質を 250、500、1000 及び 2000 mg/kg 体重/日の用量で、1 日 1 回、24 時間間隔で 2 日間強制経口投与した。その結果、いずれの投与群においても一般状態の変化及び死亡は認められず、最大耐量は雌雄マウスともに 2000 mg/kg 体重/日であった。

毒性予備試験の結果に基づき、小核本試験は、陰性対照群（日局注射用水）、被験物質投与群（500、1000 及び 2000 mg/kg 体重/日）及び陽性対照群（cyclophosphamide monohydrate）の計 5 群を設定し、雄マウスを用いて行った。陰性対照群及び被験物質投与群は、1 日 1 回、24 時間間隔で 2 日間強制経口投与した。陽性対照群は 50 mg/kg の用量で、単回強制経口投与した。いずれの投与群も、最終投与の 18～24 時間後に骨髄塗抹標本作製して小核の観察を行った。その結果、被験物質投与群の小核出現頻度に統計学的な有意差は認められなかった。一方、陽性対照群の小核出現頻度は 1%水準で有意な増加が認められ、本試験系の妥当性が確認された。赤血球中に占める幼若赤血球の比率は、被験物質投与群と陰性対照群との間に統計学的な有意差は認められなかった。

以上の結果から、本試験条件下では、オリゴガラクトン酸は、マウス骨髄細胞において染色体異常誘発作用を示さない（陰性）と結論した⁴⁾。

遺伝毒性試験のまとめ

Ames 試験	陰性
染色体異常試験	陰性
<i>in vivo</i> 小核試験	陰性
総合判定	陰性

4) 海外評価書における扱い

情報なし

5. 検討結果のまとめ

上記の安全性試験の結果を踏まえ、現状の添加物としての使用において、ヒトの健康影響に対する懸念はないと結論された。

6. 参考資料

1. 佐藤恭子、生産量統計調査を基にした食品添加物摂取量の推定に係る研究 その2
既存添加物品目、平成28年度厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）「食品添加物の安全性確保のための研究」分担研究「食品添加物の摂取量推計及び香料規格に関する研究」、2017年3月
2. 佐藤恭子、生産量統計調査を基にした食品添加物摂取量の推定に係る研究 その2
既存添加物品目、令和元年度厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）「食品添加物の安全性確保に資する研究」分担研究「食品添加物の摂取量推計及び香料規格に関する研究」、2020年3月
3. 赤根弘敏、豊田武士、松下幸平、森川朋美、小川久美子、令和3年度 既存添加物の安全性に関する試験「ラットを用いたオリゴガラクチュロン酸の90日間反復経口投与毒性試験」、最終報告書、2022年3月29日
4. 杉山圭一、令和2年度 指定添加物・既存添加物の安全性に関する試験報告書、2021年3月31日

キハダ抽出物

英名： Phellodendron bark extract

CAS No. なし

JECFA No. 該当なし

別名： オウバク軟稠エキス

構造式： ー

1. 基原・製法

ミカン科キハダ (*Phellodendron amurense* RUPR.) の樹皮より、水又はエタノールで抽出して得られたものである。主成分はベルベリンである。

2. 主な用途

苦味料等（飲料、漬物等）

3. 流通実態

1) 消除対象³

消除対象から復活

2) 流通実態

日添協等を対象とした平成 26 年¹⁾、平成 29 年²⁾における生産量調査において報告なし

3) 食品添加物公定書の規格

規格なし

4. 安全性試験の概要

1) 急性毒性試験

キハダ抽出物：

急性毒性試験として経口投与の情報なし

ベルベリン塩酸塩³⁾：

マウス、経口、LD₅₀ 329 mg/kg 体重、

ラット、経口、TDLo 100 mg/kg 体重

マウス、経口、TDLo 93.75~200 mg/kg 体重

³ 「消除予定添加物名簿の作成に係る既存添加物の販売等調査について（周知依頼）」（平成 29 年 12 月 22 日付け薬生食基発 1222 第 1 号）の別添 1「食品添加物として販売の用に供されていない既存添加物（案）（196 品目）」に収載

2) 反復投与毒性試験

CrI:CD(SD)ラット (6 週齢、雌雄各群 10 匹) を用いたキハダ抽出物の強制経口投与 (媒体: 注射用水、0、80、250、800 mg/kg 体重/日) による 90 日間反復投与毒性試験が実施された⁴⁾。当該試験を実施するにあたり被験物質の入手可能最大量が 2 kg であったことから、調整可能な最大量を考慮して投与量が設定された。なお、試験実施期間中の被験物質および投与検体の含量および安定性については、キハダ抽出物液中の塩化ベルベリン濃度を指標に確認され、試験実施施設における塩化ベルベリン濃度の測定値 (測定日: 2021 年 7 月 1 日、HPLC 法) は 2.244% であった。(製造事業者における成分含量についての測定値 (測定日: 2020 年 7 月 1 日~2020 年 7 月 6 日): 乾燥重量 52.5%、灰分 3.1%、ベルベリン 5.1%)

試験の結果、投与期間中に雌雄とも死亡動物はみられず、一般状態、体重、摂餌量、摂水量、眼科学的検査、尿検査、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検所見及び病理組織学的検査のいずれにおいても被験物質投与による影響は認められなかった。

以上の結果より、本試験条件下におけるキハダ抽出物の NOAEL は、雌雄ともに 800 mg/kg 体重/日と判断された⁴⁾。

3) 遺伝毒性試験

キハダ抽出物の細菌を用いる復帰突然変異試験を実施し、遺伝子突然変異誘発性 (変異原性) の有無を検討した。被験物質は混合物のため純度 100% として試験を実施した。溶媒は注射用水 (溶解) とし、純度換算は行わなかった。

検定菌として、ネズミチフス菌 (TA100、TA1535、TA98、TA1537) 及び大腸菌 (WP2 *uvrA*) を用い、プレインキュベーション法により、非代謝活性化及び代謝活性化条件下で試験を行った。

用量設定試験の結果に基づき、非代謝活性化条件下の TA100 及び TA1537 と代謝活性化条件下の TA1537 については 6 用量 (156、313、625、1250、2500 及び 5000 µg/plate)、非代謝活性化条件下の TA1535 については 7 用量 (39.1、78.1、156、313、625、1250 及び 2500 µg/plate)、非代謝活性化条件下の WP2 *uvrA* 及び TA98 と代謝活性化条件下の TA100、TA1535、WP2 *uvrA* 及び TA98 については 5 用量 (313、625、1250、2500 及び 5000 µg/plate) を設定して本試験を行った。その結果、生育阻害は、非代謝活性化条件下の TA100、TA1535 及び TA1537 と代謝活性化条件下の TA1537 で認められた。陰性対照値の 2 倍以上となる変異コロニー数の増加は、非代謝活性化条件下の全ての検定菌と、代謝活性化条件下の TA1535、WP2 *uvrA* 及び TA98 で認められ、代謝活性化条件下の TA98 以外の検定菌については変異コロニー数の増加に用量依存性及び再現性が認められた。陽性結果が得られた検定菌に関して、変異コロニー数が陰性対照値の 2 倍以上に増加した用量について比活性を算出した。その結果、本被験物質について、最大比活性は 181[TA98、非代謝活性化条件下、625 µg/plate (本試験)] であった。

以上の結果に基づき、キハダ抽出物は、用いた試験系において遺伝子突然変異誘発性を有する（陽性）と判定した⁵⁾。

キハダ抽出物について、CHL/IU 細胞（チャイニーズ・ハムスター、雌肺由来）を用いる染色体異常試験を実施し、キハダ抽出物についての染色体異常誘発作用の有無を検討した。被験物質は混合物のため純度 100%として試験を実施した。溶媒は注射用水（溶解）とし、純度換算は行わなかった。

短時間処理（6 時間処理及び 18 時間の回復時間）の非代謝活性化及び代謝活性化条件下、並びに連続処理（24 時間処理）について、陰性対照群及び被験物質処理群を設定して用量設定試験を行った。用量設定試験の結果に基づき、各処理条件について、陰性対照群、0.063、0.13、0.25、0.50、1.0 及び 2.0 mg/mL の濃度での被験物質処理群及び陽性対照群を設定して染色体異常試験を行った。その結果、沈殿（処理終了時）は、全ての処理条件において、0.50 mg/mL 以上の被験物質処理群で認められた。また、40%未満となる相対細胞数増加率は、いずれの処理条件においても認められなかった。したがって、0.25、1.0 及び 2.0 mg/mL の濃度での被験物質処理群について染色体分析を行った。染色体分析の結果、いずれの処理条件においても構造異常を有する細胞数及び倍数性細胞数の統計学的に有意な増加は認められなかった。

以上の結果より、当該試験条件下で、キハダ抽出物は CHL/IU 細胞に対する染色体異常誘発作用を有しない（陰性）と結論された⁵⁾。

キハダ抽出物の生体内における染色体異常誘発性の有無を評価するため、マウス（CrI:CD1(ICR)系の雄）骨髓細胞を用いる小核試験を実施した。被験物質は混合物のため純度 100%として試験を実施した。溶媒は注射用水（溶解）とし、純度換算は行わなかった。

毒性予備試験は、雌雄マウスを用いて、被験物質を 250、500、1000 及び 2000 mg/kg 体重/日の用量で、1 日 1 回、24 時間間隔で 2 日間強制経口投与した。その結果、いずれの投与群においても一般状態の変化及び死亡は認められず、最大耐量は雌雄マウスともに 2000 mg/kg 体重/日以上であった。

毒性予備試験の結果に基づき、小核本試験は、陰性対照群（日局注射用水）、被験物質投与群（500、1000 及び 2000 mg/kg 体重/日）及び陽性対照群（cyclophosphamide monohydrate）の計 5 群を設定し、雄マウスを用いて行った。陰性対照群及び被験物質投与群は、1 日 1 回、24 時間間隔で 2 日間強制経口投与した。陽性対照群は 50 mg/kg 体重の用量で、単回強制経口投与した。いずれの投与群も、最終投与の 18～24 時間後に骨髓塗抹標本作製して小核の観察を行った。その結果、被験物質投与群の小核出現頻度に統計学的な有意差は認められなかった。一方、陽性対照群の小核出現頻度は 1%水準で有意な増加が認められ、本試験系の妥当性が確認された。赤血球

中に占める幼若赤血球の比率は、被験物質投与群と陰性対照群との間に統計学的な有意差は認められなかった。

以上の結果から、本試験条件下では、キハダ抽出物は、マウス骨髄細胞において染色体異常誘発作用を示さない（陰性）と結論された⁵⁾。

遺伝毒性試験のまとめ

Ames 試験	陽性
染色体異常試験	陰性
<i>in vivo</i> 小核試験	陰性
総合判定	判定保留

4) その他

その他試験に関する情報なし

5) 海外評価書における扱い

海外での評価情報なし

5. 検討結果のまとめ

本剤の遺伝毒性について、Ames 試験陽性を示しており、変異原性物質である可能性が否定できない。適切な安全性評価のためにはフォローアップ試験としてトランスジェニックマウス遺伝子突然変異試験を、被験物質として使用する剤の妥当性を考慮した上で実施し、あらためて安全性評価を行う必要があると判断された。

6. 参考資料

1. 佐藤恭子、生産量統計調査を基にした食品添加物摂取量の推定に係る研究 その2 既存添加物品目、平成28年度厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）「食品添加物の安全性確保のための研究」分担研究「食品添加物の摂取量推計及び香料規格に関する研究」、2017年3月
2. 佐藤恭子、生産量統計調査を基にした食品添加物摂取量の推定に係る研究 その2 既存添加物品目、令和元年度厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）「食品添加物の安全性確保に資する研究」分担研究「食品添加物の摂取量推計及び香料規格に関する研究」、2020年3月
3. RTECS: Berbinium, 7,8,13,13a-tetrahydro-9,10-dimethoxy-2,3-(methylenedioxy)
RTECS Number: DR9870000
4. 北嶋聡、令和3年度「既存添加物の安全性に関する試験」に係る報告書、キハダ抽出物のラットを用いた90日間反復経口投与毒性試験、2022年3月

5. 杉山圭一、令和2年度 指定添加物・既存添加物の安全性に関する試験報告書、2021年3月31日

ペクチン分解物

英名：	Pectin digests
CAS No.	該当なし
JECFA No.	該当なし
EC No.	該当なし
別名：	分解ペクチン
化学式：	—
分子量：	—
構造式：	—

1. 基原・製法

ペクチン（サトウダイコン（*Beta vulgaris* L. var. *rapa* Dum.）、ヒマワリ（*Helianthus annuus* L.）、アマダイダイ（*Citrus sinensis* (L.) Osbeck）、グレープフルーツ（*Citrus × paradisi* Macfad.）、ライム（*Citrus aurantiifolia* (Christm.) Swingle）、レモン（*Citrus limon* (L.) Burm. f.）又はリンゴ（*Malus pumila* Mill.）から、水若しくは酸性水溶液で抽出したものから得られたもの又はこれをアルカリ性水溶液若しくは酵素で分解したものから得られたメチル化ポリガラクトロン酸等の多糖類を成分とするものをいう。）を酵素で分解して得られた、ガラクトロン酸を主成分とするものである¹⁾。

2. 主な用途

保存料（めんつゆ、各種のタレ・ソース、漬物、生珍味等）

3. 流通実態

1) 消除対象

対象外

2) 流通実態

あり（出荷量：5,000 kg、一日摂取量：0.09 mg/人/日）¹⁾

3) 食品添加物公定書の規格

規格あり

4. 安全性試験の概要

1) 急性毒性試験

マウス、経口、LD₅₀ 4,350 mg/kg 体重²⁾

2) 反復投与毒性試験

雌雄の6週齢F344/DuCrjラットにペクチン分解物を0、0.15、0.5、1.5及び5%の濃度で13週間飲水投与した²⁾。その結果、体重増加抑制が雄の5%群にみられた。血清生化学的検査では、BUNの高値が雄の5%群に、Creの高値が雄の1.5%群以上でみられた。臓器重量の検索では、肝臓の絶対及び相対重量の増加が雌の1.5%群以上でみられた。

以上の結果よりNOAELは0.5%（雄：545 mg/kg 体重/日、雌：657 mg/kg 体重/日）と判断された。

3) 遺伝毒性試験

ペクチン分解物の細菌を用いる復帰突然変異試験を実施し、遺伝子突然変異誘発性（変異原性）の有無を検討した。被験物質は混合物のため純度100%として試験を実施した。溶媒は注射用水（溶解）とし、純度換算は行わなかった。

検定菌として、ネズミチフス菌（TA100、TA1535、TA98、TA1537）及び大腸菌（WP2 *uvrA*）を用い、プレインキュベーション法により、非代謝活性化及び代謝活性化条件下で試験を行った。

用量設定試験の結果に基づき、すべての検定菌で313、625、1250、2500及び5000 µg/plateの5用量を設定して本試験を行った。その結果、生育阻害は、非代謝活性化及び代謝活性化条件下のいずれの検定菌においても認められなかった。陰性対照値の2倍以上となる変異コロニー数の増加は、非代謝活性化条件下のTA100及びTA98で認められ、用量依存性及び再現性が認められた。陽性結果が得られた検定菌に関して、変異コロニー数が陰性対照値の2倍以上に増加した用量について比活性を算出した。その結果、本被験物質について、最大比活性は80 [TA100、非代謝活性化条件下、5000 µg/plate（用量設定試験及び本試験）]であった。

以上の結果に基づき、ペクチン分解物は、用いた試験系において遺伝子突然変異誘発性を有する（陽性）と判定した³⁾。

ペクチン分解物について、CHL/IU細胞（チャイニーズ・ハムスター、雌肺由来）を用いる染色体異常試験を実施し、ペクチン分解物についての染色体異常誘発作用の有無を検討した。被験物質は混合物のため純度100%として試験を実施した。溶媒は注射用水（溶解）とし、純度換算は行わなかった。

短時間処理（6時間処理及び18時間の回復時間）の非代謝活性化及び代謝活性化条件下、ならびに連続処理（24時間処理）について、陰性対照群及び被験物質処理群を設定して用量設定試験を行った。

用量設定試験の結果に基づき、各処理条件について、陰性対照群、被験物質処理群（短時間処理の非代謝活性化条件下及び連続処理の0.050、0.10、0.20、0.30、0.40、0.50 mg/mL、短時間処理の非代謝活性化条件下の0.25、0.50、1.0、1.5、2.0 mg/mL）、

陽性対照群を設定して染色体異常試験を行った。その結果、沈殿（処理終了時）は、いずれの処理条件においても認められなかった。また、40%未満となる相対細胞数増加率は、いずれの処理条件においても認められなかった。したがって、短時間処理の非代謝活性化条件下及び連続処理の 0.30、0.40 及び 0.50 mg/mL、短時間処理の代謝活性化条件下の 1.0、1.5 及び 2.0 mg/mL の被験物質処理群について染色体分析を行った。

染色体分析の結果、連続処理の被験物質処理群 0.50 mg/mL において、構造異常を有する細胞数の増加が 5%水準で認められた。また、短時間処理の非代謝活性化条件下の被験物質処理群 0.40 及び 0.50 mg/mL 並びに連続処理の被験物質処理群 0.30、0.40、0.50 mg/mL の用量において、倍数性細胞数の増加が 5%水準で認められた。傾向性については、いずれも 1%水準で有意な用量依存性が認められた。一方、短時間処理の代謝活性化条件下においては、構造異常を有する細胞数及び倍数性細胞数の統計学的に有意な増加は認められなかった。

以上の結果より、当該試験条件下においてペクチン分解物は CHL/IU 細胞に対する染色体異常誘発作用を有する（陽性）と結論した³⁾。

ペクチン分解物の生体内における染色体異常誘発性の有無を評価するため、マウス（CrI:CD1(ICR)系の雄）骨髓細胞を用いる小核試験を実施した。被験物質は混合物のため純度 100%として試験を実施した。溶媒は注射用水（溶解）とし、純度換算は行わなかった。

毒性予備試験は、雌雄マウスを用いて、被験物質を 250、500、1000 及び 2000 mg/kg 体重/日の用量で、1 日 1 回、24 時間間隔で 2 日間強制経口投与した。その結果、いずれの投与群においても一般状態の変化及び死亡は認められず、最大耐量は雌雄マウスともに 2000 mg/kg 体重/日であった。

毒性予備試験の結果に基づき、小核本試験は、陰性対照群（日局注射用水）、被験物質投与群（500、1000 及び 2000 mg/kg 体重/日）及び陽性対照群（cyclophosphamide monohydrate）の計 5 群を設定し、雄マウスを用いて行った。陰性対照群および被験物質投与群は、1 日 1 回、24 時間間隔で 2 日間強制経口投与した。陽性対照群は 50 mg/kg 体重の用量で単回強制経口投与した。いずれの投与群も、最終投与の 18～24 時間後に骨髓塗抹標本作製して小核の観察を行った。その結果、被験物質投与群の小核出現頻度に統計学的な有意差は認められなかった。一方、陽性対照群の小核出現頻度は 1%水準で有意な増加が認められ、本試験系の妥当性が確認された。赤血球中に占める幼若赤血球の比率は、被験物質投与群と陰性対照群との間に統計学的な有意差は認められなかった。

以上の結果から、本試験条件下では、ペクチン分解物は、マウス骨髓細胞において染色体異常誘発作用を示さない（陰性）と結論した³⁾。

遺伝毒性試験のまとめ

Ames 試験	陽性
染色体異常試験	陽性
<i>in vivo</i> 小核試験	陰性
総合判定	判定保留

4) その他

その他試験に関する情報なし

5) 海外評価書における扱い

海外での評価情報なし

5. 検討結果のまとめ

本剤の遺伝毒性について、*in vivo* 小核試験が陰性であったことから生体で染色体異常を誘発する可能性が低いと考えられる一方、Ames 試験陽性を示しており、変異原性物質である可能性が否定できない。適切な安全性評価のためにはフォローアップ試験としてトランスジェニックマウス遺伝子突然変異試験を、被験物質として使用する剤の妥当性を考慮した上で実施し、あらためて安全性評価を行う必要があると判断された。

6. 参考資料

1. 佐藤恭子、生産量統計調査を基にした食品添加物摂取量の推定に係る研究 その2 既存添加物品目、令和元年度厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）「食品添加物の安全性確保に資する研究」分担研究「食品添加物の摂取量推計及び香料規格に関する研究」、2020年3月
2. Takagi H, Yasuhara K, Mitsumori K, Onodera H, Takegawa K, Takahashi M. 13-week Subacute Oral Toxicity Study of Pectin digests in Rats. Bull. Natl. Inst. Health Sci. 1997; 115: 119-124.
3. 杉山圭一、令和2年度 指定添加物・既存添加物の安全性に関する試験報告書、2021年