

平成 30 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

平成 31 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長
佐藤恭子	国立医薬品食品衛生研究所食品添加物部長
今井俊夫	国立がん研究センター研究所動物実験支援施設長
戸塚ゆ加里	国立がん研究センター研究所発がん・予防研究分野ユニット長
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長
本間正充	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長

目次

A. 研究要旨	4
B. 研究目的	5
C. 研究方法	5
D. 研究結果	6
E. 考察	7
F. 結論	8
G. 各論	9
α-アセトラクタートデカルボキシラーゼ	10
イソアミラーゼ	13
インベルターゼ	16
エキソマルトテトラオヒドロラーゼ	18
エステラーゼ	21
カシアガム	23
カルボキシペプチダーゼ	26
キシラナーゼ	28
キトサン	31
クリストバル石	34
グルコサミン	36
α-グルコシダーゼ	39
α-グルコシルトランスフェラーゼ	41
グルタミナーゼ	44
ケイソウ土	47
酵母細胞壁	49
植物性ステロール	51
水素	53
ステビア末	55
粗製海水塩化カリウム	58
粗製海水塩化マグネシウム	60
タウリン (抽出物)	62
テオブロミン	65
銅	68
d-γ-トコフェロール	77
d-δ-トコフェロール	80
トランスグルコシダーゼ	83

トレハロース	85
パーオキシダーゼ	89
フィターゼ	92
ホスホジエステラーゼ	94
ホスホリパーゼ	96
ポリフェノールオキシダーゼ	98
ムラミダーゼ	101
木炭	104
ラクトパーオキシダーゼ	106
ラクトフェリン濃縮物	109
D-リボース	111
略号	113

A. 研究要旨

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）に記載された天然添加物は、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）においては、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」とに分類された。本調査研究は、後者に分類された109品目のうち、平成29年現在海外での評価結果が得られた38品目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既存添加物38品目のうち、29品目については海外評価書において許容一日摂取量（acceptable daily intake：ADI）を設定しない、一般に安全とみなされている（Generally Recognized As Safe：GRAS）ものまたは摂取量の制限がないものと評価されており、食品添加物としての使用に際しては安全性に懸念がないと評価された。4品目についてはADIが設定されており、現状の使用においては安全性上の懸念はないと考えられた。このほかの5品目については、急性毒性試験、反復投与毒性試験及び変異原性試験の成績及び使用実態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。

本事業で評価した既存添加物は、海外評価書において評価されている剤とは日本において流通されているものと基原・製法が異なる剤もあるが、食品添加物として使用するかぎりにおいて安全性上の懸念はないと考えられた。

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）に記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」とに分類された。本調査研究は、後者に分類された109品目のうち、平成29年現在海外での評価結果が得られた38品目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、海外評価書が入手可能であった38品目について、急性毒性試験、反復投与毒性試験、変異原性試験、その他の毒性試験について取りまとめるとともに、海外評価書における扱いについて評価を

行った。評価対象とした品目は以下に記載する。

α-アセトラクタートデカルボキシラーゼ
イソアミラーゼ
インベルターゼ
エキソマルトテトラオヒドロラーゼ
エステラーゼ
カシアガム
カルボキシペプチダーゼ
キシラナーゼ
キトサン
クリストバル石
グルコサミン
α-グルコシダーゼ
α-グルコシルトランスフェラーゼ
グルタミナーゼ
ケイソウ土
酵母細胞壁
植物性ステロール
水素
ステビア末
粗製海水塩化カリウム
粗製海水塩化マグネシウム
タウリン（抽出物）
テオブロミン
銅
d-γ-トコフェロール
d-δ-トコフェロール
トランスグルコシダーゼ
トレハロース
パーオキシダーゼ
フィターゼ
ホスホジエステラーゼ

ホスホリパーゼ
ポリフェノールオキシダーゼ
ムラミダーゼ
木炭
ラクトパーオキシダーゼ
ラクトフェリン濃縮物
D-リボース

D. 研究結果

主成分が単糖または多糖類である食品添加物は、ADI を特定しない（カシアガム、トレハロース）、あるいは GRAS（キトサン、酵母細胞壁、D-リボース）と評価されている。増粘安定剤として使用されるグルコサミンは、急性毒性試験 $LD_{50} > 15,000 \text{ mg/kg}$ 体重、52 週間の反復投与毒性試験における NOAEL は $2,130 \text{ mg/kg}$ 体重/日、変異原性試験は陰性であることから安全性に懸念はないと考えられた。EFSA ではコウジカビ由来のグルコサミン塩酸塩については安全であると評価されている。

動物性ステロールに類似した植物性ステロールは、JECFA においてグループ ADI を 40 mg/kg 体重/日と設定され、現状の使用では安全性の懸念はない。

ビタミン E に分類される d- γ -トコフェロール及び d- δ -トコフェロールに関して、JECFA では、dl 体及び d 体の α -tocopherol のデータをもとに、グループ ADI として、 $0.15\text{-}2 \text{ mg/kg}$ 体重/日と設定している。EFSA では、利用可能な毒性データが限られているため ADI を設定することはできないが、ビタミン E は食品として広く摂取される必要な栄養素であり、現在の食品添加物としての用途及

び使用濃度では、トコフェロール類に安全性の懸念はないとしている。

キサントシン誘導体アルカロイドのテオブロミンはカフェインに類似した剤であり、EFSA において香味料としてのテオブロミンの使用に安全上の懸念はないと評価されている。日本国内ではテオブロミンの使用実績は非常に限られており、従って、現在の流通・摂取状況からみればテオブロミンに関しては安全性への懸念はないと考えられた。

鉱物に分類されるクリストバル石とケイソウ土の主成分は、二酸化ケイ素である。JECFA では、二酸化ケイ素及びケイ酸カルシウムを含むある種のケイ酸塩として評価しており、クリストバル石は ADI を特定しないとしている。ケイソウ土は FDA において GRAS と評価されている。

元素である水素については、FDA は GRAS と認定している。同様の性状にて用いられる木炭は活性炭に類似しており、JECFA では ADI を制限しないとしている。

本事業の評価対象剤には酵素が 17 品目含まれており、主として製造用剤として使用されている。これら酵素のうち ADI を設定しないと評価されているものが 7 品目（ α -アセトラクタートデカルボキシラーゼ、エキソマルトテトラオヒドロラーゼ、キシラナーゼ、 α -グルコシルトランスフェラーゼ、グルタミナーゼ、ホスホリパーゼ、ラクトパーオキシダーゼ）、GRAS 認定または ADI を設定しないとされているものが 8 品目（イソアミラーゼ、エステラーゼ、カルボキシペプチダーゼ、

α -グルコシダーゼ、トランスグルコシダーゼ、パーオキシダーゼ、ホスホジエステラーゼ、ポリフェノールオキシダーゼ)である。フィターゼについては、オーストラリア食品安全基準において *Aspergillus niger* 由来のフィターゼは食品グレード酵素としての使用が許可されている。ムラミダーゼ (リゾチーム) は JECFA では、卵白から生成されるリゾチームは動物及びヒトにおいて、卵白アルブミン、アルブミンなどの他のタンパクに比べてアレルギー反応は弱いとされ、検討可能なデータから、チーズからの少量の追加摂取は消費者健康を害する懸念がないと結論付けられている。特殊用途調製粉乳成分であるラクトフェリン濃縮物は、GRAS として評価され、FDA は懸念無しと回答している。

タウリン (抽出物) の推定摂取量は構造クラス I の摂取許容値を下回るため、現状の摂取レベルにおいて安全性に懸念をもたらすものではないとしている。

甘味料として用いられるステビア末について、JECFA ではステビオール配糖体 (ステビオシド) を評価しており、その ADI を 0-4 mg/kg 体重/日としている。

海水から製造される粗製海水塩化カリウム及び粗製海水塩化マグネシウムは、JECFA において食品用途では毒性影響は示さないとして「制限しない (Not limited)」と評価されている。

金属として銅の評価がなされているが単体としての安全性情報は少なく、化合物として評価されている。JECFA は、銅について ADI を設定していないが、イヌの 1 年間反復投与試験における

NOEL を約 5 mg/kg 体重/日とし、これに基づき、暫定 最大耐容 1 日摂取量 (maximum tolerable daily intake: MTDI) を 0.05 ~0.5 mg/kg と評価している。グルコン酸銅は強化剤として使用されており、FDA では GRAS 認定されている。日本におけるグルコン酸銅の許容上限摂取量 (upper limits: UL) は 9 mg/ヒト/日と設定されているが、先天性銅代謝異常症 (ウイルソン病) 及び乳幼児~小児には配慮が必要であるため、過剰摂取することがないように適切な注意喚起は必要である。

E. 考察

本事業において評価した既存添加物 38 品目のうち、29 品目は海外評価書において ADI を設定しない、GRAS 認定または摂取量の制限がないものと評価されており、4 品目は ADI が設定されており、いずれも、現状の使用においては安全性上の懸念はないと考えられた。摂取量の観点から安全性評価の結論がなされていない 5 品目については、毒性試験、品質、流通量及び推定摂取量の情報から以下のように考察された。

グルコサミンは、急性毒性試験、反復投与毒性試験及び変異原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。

フィターゼ及びムラミダーゼは酵素であり、食品グレードとして適正に製造される限りにおいては、一般に人の健康に影響を及ぼすことはないと考えられた。

テオブロミンは日本国内では多量摂取の実態は認められず、ばく露量の観点か

ら食品添加物としての安全性への懸念はないと考えられた。

タウリン（抽出物）は「アミノ酸及び関連物質」であり、推定摂取量から現状の摂取レベルにおいて安全性に懸念をもたらすものではないと考えられた。

海外評価書において評価されている剤は日本において流通されているものと基原・製法が異なる剤もあるが、食品添加物としての使用においては安全性上の懸念はないと考えられた。

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、海外評価書が入手可能であった 38 品目について安全性の評価を行った。評価対象とした剤には、酵素、単糖類、多糖類、鉱物、元素、塩類等が含まれており、海外評価書において評価されている剤とは日本において流通されているものと基原・製法が異なる剤もあるが、海外評価書における情報、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考えられた。

G. 各論

α-アセトラクターテデカルボキシラーゼ

英名： α-Acetolactate Decarboxylase
CAS No. 9025-02-9
JECFA No. 該当なし
別名： 該当なし
構造式： —

1. 基原・製法

細菌 (*Bacillus licheniformis*, *Bacillus subtilis* 及び *Serratia* 属に限る) の培養物から得られた、α-アセト乳酸のカルボキシ基を離脱する酵素である。食品 (賦形、粉末化、希釈、安定化、保存又は力価調整の目的に限る) 又は添加物 (賦形、粉末化、希釈、安定化、保存、pH 調整又は力価調整の目的に限る) を含むことがある。

2. 主な用途

発酵中に α-アセト乳酸から不快な味の α-ジアセチルが形成されるのを避けるため、醸造およびアルコール産業で加工助剤として使用される。

3. 安全性試験の概要

1) 急性毒性試験

経口投与の情報なし

2) 反復投与毒性試験

①CD ラット (雌雄各群 20 匹) に α-アセトラクターテデカルボキシラーゼの非安定型 ALDC (92.9% TOS)、グルタルアルデヒド安定型 d-ALDC (92.8% TOS) をそれぞれ 13 週間混餌投与したところ、500 mg/kg 群の雄でわずかな血小板数の増加が見られたが、それ以外に被験物質に起因する毒性影響はみられなかった¹⁾。

②Sprague-Dawley ラット (雌雄各群 10 匹) に α-アセトラクターテデカルボキシラーゼを 90 日間混餌投与したところ、NOAEL は最高用量の 1,018 mg TOS/kg 体重/日と考えられた²⁾。

3) 変異原性試験

Ames 試験、ほ乳類細胞を用いた染色体異常試験、小核試験及び遺伝子突然変異試験が

実施されており、すべて陰性と報告されている。

Ames 試験：陰性； TA100、TA1535、TA98、TA1537 30～10,000 µg/plate (代謝活性化および非代謝活性化) ³⁾

Ames 試験：陰性； TA100、TA1535、WP2uvrA(pKM101)、TA98、TA1537 156～5,000 µg/plate (代謝活性化および非代謝活性化) ²⁾

ほ乳類細胞を用いた染色体異常試験：陰性； ヒトリンパ球 44～5,000 µg/mL (代謝活性化および非代謝活性化) (20 時間および 44 時間処理) ³⁾

ほ乳類細胞を用いた小核試験：陰性； ヒトリンパ球 3,000～5,000 µg/mL (代謝活性化および非代謝活性化) (3 時間処理)、100～3,000 µg/mL (非代謝活性化) (24 時間処理) ²⁾

ほ乳類細胞を用いた遺伝子突然変異試験 (HGPRT 遺伝子)：陰性； L5178Y 細胞 1.58～5,000 µg/mL (代謝活性化および非代謝活性化) (2 時間処理) ³⁾

4) その他

毒性が懸念される報告はない。

5) 海外評価書における扱い

JECFA では、次の 2 種類の α-アセトラクターテデカルボキシラーゼについて毒性試験を行った。

① *Bacillus brevis* 由来の α-アセトラクターテデカルボキシラーゼ遺伝子を持つ細菌 (*Bacillus subtilis*) の深部発酵により得られたもの ⁴⁾。

② 遺伝子組み換え *Bacillus licheniformis* NZYM-LB 系統で生産したもの ²⁾。

その結果、α-アセトラクターテデカルボキシラーゼは毒性の弱い酵素であり、追加の毒性試験は必要ないと考え、暫定 ADI を特定しない (not specified) としている ^{3), 5)}。

4. 結論

本既存添加物は、日本国内で流通しているものについては、安全性に懸念はないと考えられる。

5. 参考資料

1) Broadmeadow, A. (1990) ALDC: Toxicity study by dietary administration to CD rats for 13-weeks. Unpublished report No. 90/0691 from Life Science Research Ltd (Submitted to WHO by Novo Nordisk A/S, Denmark).

(参考資料 1 は、参考資料 3 に引用されている)

- 2) EFSA (European Food Safety Authority), 2018. Safety evaluation of the food enzyme acetolactate decarboxylase from a genetically modified *Bacillus licheniformis* (strain NZYM-JB), EFSA Journal · November 2018
- 3) JECFA: Safety evaluation of certain food additives (1998), WHO FOOD ADDITIVES SERIES 40
- 4) JECFA: Safety evaluation of certain food additives and contaminants (1999), WHO Technical Report Series 884
- 5) JECFA: Evaluation of certain food additives (2000), WHO Technical Report Series 891

イソアミラーゼ

英名： Isoamylase
CAS No. 9067-73-6
JECFA No. 該当なし
別名： 該当なし
構造式： —

1. 基原・製法

本品は、細菌（*Bacillus* 属、*Flavobacterium odoratum*、*Naxibacter* sp. 及び *Pseudomonas amyloclavata* に限る）の培養物から得られた、デンプン系多糖類の α -1, 6-グルコシド 結合を加水分解する酵素である。食品（賦形、粉末化、希釈、安定化、保存又は力価調整の目的に限る）又は添加物（賦形、粉末化、希釈、安定化、保存、pH 調整又は力価調整の目的に限る）を含むことがある。

2. 主な用途

でんぷん由来の食材（グルコースシロップ、マルトース・マルチトール、トレハロース、シクロデキストリン、難消化でんぷん）の作製に使用される。

3. 安全性試験の概要

1) 急性毒性試験

マウス (ddy-N) 経口 $LD_{50} > 17,000$ mg/kg 体重¹⁾

2) 反復投与毒性試験

Wistar ラット（雌雄各群 20 匹）にイソアミラーゼを 13 週間強制経口投与したところ、被験物質に起因する毒性影響はみられず、NOEL は最高用量の 370 mg TOS/kg 体重/日と考えられた²⁾。

3) 変異原性試験

Ames 試験および染色体異常試験が実施されており、すべて陰性と報告されている。

<海外報告> ³⁾

Ames 試験：陰性； TA100、TA1535、WP2uvrA、TA98、TA1537 62~5,000 μ g/plate
(代謝活性化および非代謝活性化)

染色体異常試験：陰性； ヒトリンパ球 1,250～5,000 µg/mL (代謝活性化および非代謝活性化) (代謝活性化および非代謝活性化：3 時間処理) (非代謝活性化：20 および 44 時間処理)

<国内報告> 4)

Ames 試験：陰性； 5,000 µg/plate

染色体異常試験：陰性； 5,000 µg/mL

小核試験：2,000 mg/kg 体重

4) その他

毒性が懸念される報告はない。

5) 海外評価書における扱い

JECFA では、Isoamylase from *Pseudomonas amyloclavata* として評価しており、ADI を特定しない (not specified) としている 3)。

このイソアミラーゼは、*Pseudomonas amyloclavata* の野生 SB-15 株を化学的に変異させて選定したイソアミラーゼ高産生株 MU 1174 に産生させたものである 5)。イソアミラーゼは、MU 1174 株の純培養の過程で、発酵培養液に分泌されたものを回収・濃縮し、マルトース、グルコース、水、グリセロール脂肪酸、安息香酸で安定化、規格化、標準化した 6)。

米国 FDA は、食用としてイソアミラーゼの使用は安全として、generally recognized as safe (GRAS)としている 7)。

4. 結論

本既存添加物は、日本国内で流通しているものについては、安全性に懸念はないと考えられる。

5. 参考資料

- 1) Morimoto, H., Noro, H. & Ohtaki, H. (1979) Acute toxicity test with isoamylase (of *Pseudomonas amyloclavata* origin). Unpublished report No. 12110175-3 from Japan Food Research Laboratories, Tokyo, Japan. Submitted to WHO by Bioresco Ltd, Basel, Switzerland.
- 2) Lina, B.A.R. (2000) Sub-chronic (13-wk) oral toxicity study with isoamylase in rats. Unpublished report No. V99.646 from TNO Nutrition and Food Research Institute,

Zeist, Netherlands. Submitted to WHO by Bioresco Ltd, Basel, Switzerland.
(参考資料 1 および 2 は参考資料 6 に引用されている)

- 3) JECFA: Safety evaluation of certain food additives and contaminants (2008), WHO Food Additive Series 59
- 4) 林、田中：食品衛生学雑誌 46, 5, 177-184 (2005)
- 5) JECFA: Evaluation of certain food additives and contaminants (2007), WHO Technical Report Series 947
- 6) JECFA: Olempska-Beer, Z. (2007) Isoamylase from pseudomonas amyloclavata, Chemical and Technical Assessment.
<http://www.fao.org/fileadmin/templates/agns/pdf/jecfa/cta/68/Isoamylase.pdf>
- 7) FDA: GRAS Notice GRN 85

インベルターゼ

英名： Invertase
CAS No. 9001-57-4
JECFA No. 該当なし
別名： Saccharase
Sucrase
構造式： —

1. 基原・製法

糸状菌（*Aspergillus aculeatus*、*Aspergillus awamori*、*Aspergillus niger* 及び *Aspergillus japonicus* に限る）、酵母（*Kluyveromyces lactis* 及び *Saccharomyces cerevisiae* に限る。）又は細菌（*Arthrobacter* 属及び *Bacillus* 属に限る）の培養物から得られた、β-D-フラクトフラノシドの非還元末端側の残基を加水分解する酵素である。食品（賦形、粉末化、希釈、安定化、保存又は力価調整の目的に限る）又は添加物（賦形、粉末化、希釈、安定化、保存、pH 調整又は力価調整の目的に限る）を含むことがある。

2. 主な用途

チョコレートや菓子の製造

3. 安全性試験の概要

1) 急性毒性試験

経口投与の情報なし

2) 反復投与毒性試験

反復投与毒性に関する情報なし

3) 変異原性試験

変異原性に関する情報なし

4) その他

毒性が懸念される報告はない。

5) 海外評価書における扱い

JECFA では、出芽酵母由来のインベルターゼとして評価しており、現在の使用状況においては安全上の懸念はない (acceptable) としている¹⁾。

4. 結論

JECFA での見解をもとにすると、日本国内で流通している本既存添加物については、食品製造に使用される酵母由来のため、安全上の懸念はないと考えられる。

5. 参考資料

- 1) JECFA: Evaluation of certain food additives and contaminants (2001), WHO Technical Report Series 909

エキソマルトテトラオヒドロラーゼ

英名： Exomaltotetrahydrolase
CAS No. 37288-44-1
JECFA No. 該当なし
別名： Glucan 1,4- α -maltotetrahydrolase
4- α -D-glucan maltotetrahydrolase
構造式： —

1. 基原・製法

放線菌 (*Streptomyces thermoviolaceus* 及び *Streptomyces violaceoruber* に限る) 若しくは細菌 (*Pseudomonas stutzeri* に限る) の培養物から得られた、デンプンに作用し、非還元末端からマルトテトラオース単位で加水分解する酵素である。食品 (賦形、粉末化、希釈、安定化、保存又は力価調整の目的に限る) 又は添加物 (賦形、粉末化、希釈、安定化、保存、pH 調整又は力価調整の目的に限る) を含むことがある。

2. 主な用途

パン類の劣化の遅延と消費品質の維持

3. 安全性試験の概要

1) 急性毒性試験

ラット 経口 $LD_{50} > 2,000$ mg/kg 体重¹⁾

2) 反復投与毒性試験

Wistar HanTM:HsdRccHanTM:WIST ラット (雌雄各群 10 匹) にマルトテトラオヒドロラーゼを 90 日間強制経口投与したところ、被験物質に起因する毒性影響はみられず、NOAEL は最高用量の 79 mg 総タンパク/kg 体重/日 (90.9 mg TOS/kg 体重/日) と考えられた²⁾。

3) 変異原性試験

Ames 試験および染色体異常試験が実施されており、すべて陰性と報告されている³⁾。

Ames 試験：陰性； TA100、TA1535、WP2uvrA、TA98、TA1537 50~5,000 μ g/plate (代謝活性化および非代謝活性化)

染色体異常試験：陰性； ヒトリンパ球 19.5～625 µg/mL(代謝活性化および非代謝活性化)4 時間処理、19.5～312.5 µg/mL(非代謝活性化)24 時間処理

4) その他

食品安全委員会は「*Bacillus licheniformis* BRA7 株を宿主として、*Pseudomonas stutzeri* IAM 1504 株由来の改変エキソマルトテトラオヒドロラーゼ遺伝子 (*sas3* 遺伝子) を導入して作製された MDT06-228 株を利用して生産されたエキソマルトテトラオヒドロラーゼ」について、「遺伝子組換え微生物を利用して製造された添加物の安全性評価基準」(平成 16 年 3 月 25 日食品安全委員会決定)に基づき、挿入遺伝子の安全性、挿入遺伝子から産生されるタンパク質の毒性及びアレルギー誘発性、遺伝子の導入後の塩基配列の解析等 について確認した結果、従来の添加物と比較して新たに安全性を損なうおそれのある要因は認められなかったとし、ヒトの健康を損なうおそれはないと判断している 4)。

5) 海外評価書における扱い

JECFA では、改変 *Bacillus licheniformis* に産生されたマルトテトラオヒドロラーゼの ADI を特定しないとしている 3)。

FSANZ でも同様に、ADI を特定しないとしている 5), 6)。

4. 結論

本既存添加物は、日本国内で流通しているものについては、安全性に懸念はないと考えられる。

5. 参考資料

- 1) Pooles, A. (2008). SAS 3 amylase (*Bacillus licheniformis*)(GICC 03279): Acute oral toxicity in the rat – fixed dose method. (SPL Project No. 2420/0003, SafePharm Laboratories, United Kingdom).
(参考資料 5 に引用されている)
- 2) Dhinsa, N.K. & Brooks, P. (2008). SAS 3 amylase (*Bacillus licheniformis*)(GICC 03279): Ninety day repeated dose oral (gavage) toxicity study in the rat (SPL Project No. 2420/0008, SafePharm Laboratories, United Kingdom).
(参考資料 3 および 5 に引用されている)
- 3) JECFA: Safety evaluation of certain food additives and contaminants (2015), WHO Food Additives Series 71

- 4) 食品安全委員会：遺伝子組換え食品等評価書「MDT06-228 株を利用して生産されたエキソマルトテトラオヒドロラーゼ」(2017)
- 5) Food Standard Australia New Zealand (FSANZ): Risk Assessment Report, Application A1033 maltotetrahydrolase as a processing aid (enzyme) (2009).
- 6) Food Standard Australia New Zealand (FSANZ): Approval Report, Application A1033 maltotetrahydrolase as a processing aid (enzyme) (2010).

エステラーゼ

英名： Esterase
CAS No. 9013-79-0
JECFA No. 該当なし
別名： 該当なし
構造式： —

1. 基原・製法

動物の肝臓、魚類、糸状菌 (*Aspergillus* 属に限る)、酵母 (*Candida* 属及び *Torulopsis* 属に限る) 若しくは細菌 (*Pseudomonas* 属に限る) の培養物から得られた、エステルを加水分解する酵素である。食品 (賦形、粉末化、希釈、安定化、保存又は力価調整の目的に限る) 又は添加物 (賦形、粉末化、希釈、安定化、保存、pH 調整又は力価調整の目的に限る) を含むことがある。

2. 主な用途

酵素

3. 安全性試験の概要

1) 急性毒性試験

経口投与の情報なし

2) 反復投与毒性試験

Wistar ラット (雌雄各群 10 匹) に *T.reesei* RF6201 由来のペクチンエステラーゼを OECD TG 408 に従い 91 日間強制経口投与したところ、被験物質に起因する毒性影響はみられず、NOAEL は最高用量の 1,000 mg TOS/kg 体重/日と考えられた¹⁾。

3) 変異原性試験

Ames 試験および染色体異常試験が実施されており、すべて陰性と報告されている¹⁾。

Ames 試験：陰性； TA100、TA1535、TA98、TA1537、TA102 33~5,000 µg/plate (代謝活性化および非代謝活性化)

染色体異常試験：陰性； V79 細胞 最高 5,310 µg/mL (代謝活性化および非代謝活性化)

4) その他

毒性が懸念される報告はない。

5) 海外評価書における扱い

FDA では *Trichoderma Reesei* の改変株 *Aspergillus tubingensis* 由来のペクチンエステラーゼを generally recognized as safe (GRAS) と評価している¹⁾。

4. 結論

本既存添加物は、日本国内で流通しているものについては、安全性に懸念はないと考えられる。

5. 参考資料

- 1) AB ENZYMES GmbH, GRAS NOTICE FOR PECTIN ESTERASE FROM A GENETICALLY MODIFIED STRAIN OF TRICHODERMA REESEI (2014)
(FDA: GRAS Notice GRN 558)

カシアガム

英名： Cassia Gum
CAS No. 11078-30-1
JECFA No. 該当なし
別名： 該当なし
構造式： —

1. 基原・製法

マメ科エビスグサモドキ (*Cassia tora* LINNE) の種子の胚乳部を粉砕して得られたものである。主成分は多糖類である。

2. 主な用途

増粘剤、乳化剤、泡安定剤、保湿剤、プロセスチーズ、冷菓、肉類、家禽の食感剤

3. 安全性試験の概要

1) 急性毒性試験

ラット (Wistar-Han-Schering) 経口 $LD_{50} > 5,000$ mg/kg体重¹⁾

マウス (KM) 経口 $LD_{50} > 10,000$ mg/kg体重²⁾

2) 反復投与毒性試験

CrI:CD (SD)BR Sprague-Dawley ラット (雌雄各群 5 匹) に粗精製カシアガムを 28 日間混餌投与したところ、被験物質に起因する毒性影響はみられず、NOAEL は最高用量の 50,000 mg/kg 餌 (4,590 mg/kg 体重/日) と考えられた³⁾。

ビーグル犬 (雌雄各群 4 匹) に粗精製カシアガムを 90 日間混餌投与したところ、NOAEL は最高用量の 25,000 mg/kg 餌 (3,290 mg/kg 体重/日) と考えられた⁴⁾。

猫 (雌雄各群 5 匹) に粗精製カシアガムを 13 週間混餌投与したところ、被験物質に起因する毒性影響はみられず、NOEL は最高用量の 25,000 mg/kg 餌 (2,410 mg/kg 体重/日) と考えられた⁵⁾。

3) 変異原性試験

Ames 試験、培養細胞を用いた染色体異常試験、マウスリンフォーマ試験、骨髄小核試験及び精子形態異常試験が実施されており、すべて陰性と報告されている⁶⁾。

Ames 試験：陰性； TA100、TA1535、*E.coli* WP2uvrA、TA98、TA1537、TA97、TA102 5,000 µg /plate (代謝活性化および非代謝活性化) ⁶⁾

染色体異常試験：陰性； Human lymphocytes 10.0 µg/mL ⁶⁾

マウスリンフォーマ試験：陰性； Mouse lymphoma L5178Y TK^{+/+} 10.0 µg/mL ⁶⁾

骨髄小核試験：雌雄の KM マウス 陰性； 2,500 mg/kg 体重、経口投与 (30 時間内に 2 回投与、最終投与後 6 時間後に採材) ⁶⁾

精子形態異常試験：陰性； KM マウス 2,500 mg/kg 体重/日で 5 日間経口投与 (最終投与後 30 日後に採材) ⁶⁾

4) その他

Ico:OFA.SD Sprague-Dawle ラット (雌雄各群 25 匹) に粗精製カシアガムを混餌投与した OECD TG416 の 2 世代生殖毒性試験では、NOEL は最高用量の 50,000 mg/kg 餌 (5,280 mg/kg 体重/日) と考えられた ⁷⁾。

妊娠 SD ラット (28 匹) に粗精製カシアガムを混餌投与した OECD TG414 の出生前発生毒性試験では、NOAEL は最高用量の 1,000 mg/kg 体重/日と考えられた ⁸⁾。

5) 海外評価書における扱い

JECFA では、粗精製物で評価されており、暫定 ADI を特定しない (not specified) としている ^{9,10)}。

4. 結論

本既存添加物は、日本国内で流通しているものについては、安全性に懸念はないと考えられる。

5. 参考資料

- 1) Schöbel, C. (1986) Acute toxicity of Mucigel X-18-H in male rats after a single i.g. application with approximative LD₅₀ determination. Unpublished report No. FC 4/86 from Schering. Submitted to WHO by Lubrizol Advanced Materials Europe BVBA, Brussels, Belgium.
- 2) Weidu, H. (2006) Shanghai Institute for Preventive Medicine testing report: Summary of one and two stage toxicological tests on RheoRanger SR. Unpublished report No. 0021 from Shanghai Institute for Preventive Medicine, Shanghai, China. Submitted to WHO by Lubrizol Advanced Materials Europe BVBA, Brussels, Belgium.

- 3) Zühlke, U. (1990) Diagum CS - Twenty-eight day oral (dietary administration and gavage) range-finding subchronic toxicity study in the rat. Unpublished report No. 711-14/48 from Hazleton Laboratories Deutschland GmbH, Münster, Germany.
- 4) Schuh, W. (1990) Diagum-CS - Systemic tolerance study in Beagle-dogs after daily oral (dietary) administration over a period of 90 days. Unpublished report No. IC 4/90 from Schering. Submitted to WHO by Lubrizol Advanced Materials Europe BVBA, Brussels, Belgium.
- 5) Virat, M. (1984) 13 week toxicity study in the cat by the oral route. Unpublished report No. 411233 from Institut Français de Toxicologie, Saint Germain sur l'Arbresle, France. Submitted to WHO by Lubrizol Advanced Materials Europe BVBA, Brussels, Belgium.
- 6) JECFA, Safety evaluation of certain food additives, WHO Food additives series 62 (2010)
(参考資料 1～5 および 7, 8 は、参考資料 9 に引用されている)
- 7) McIntyre, M.D. (1990) Diagum CS - Two generation oral (dietary administration) reproduction toxicity study in the rat. Unpublished report No. 710791 from Hazleton – Institut Français de Toxicologie, Saint Germain sur l'Arbresle, France. Submitted to WHO by Lubrizol Advanced Materials Europe BVBA, Brussels, Belgium
- 8) Müller, W. (1989) Diagum CS - Oral (gavage) teratogenicity study in the rat. Unpublished report No. 725-14/50 from Hazleton Laboratories Deutschland GmbH, Münster, Germany. Submitted to WHO by Lubrizol Advanced Materials Europe BVBA, Brussels, Belgium.
- 9) JECFA: Safety evaluation of certain food additives and contaminants (2009), WHO Technical Report Series 956
- 10) JECFA: Evaluation of certain food additives and contaminants (2016), WHO Technical Report Series 1000

カルボキシペプチダーゼ

英名： Carboxypeptidase
CAS No. 9046-67-7 (EC 3.4.16.1 *Aspergillus* 由来)
JECFA No. 該当なし
別名： 該当なし
構造式： —

1. 基原・製法

コムギ (*Triticum aestivum* L.) の種皮及び果皮 (ふすま) 又は糸状菌 (*Aspergillus* 属に限る)、酵母 (*Pseudozyma hubeinsis* 及び *Saccharomyces cerevisiae* に限る) 及び放線菌 (*Streptomyces avermitilis*、*Streptomyces cinnamoneus*、*Streptomyces griseus*、*Streptomyces themoviolaceus* 及び *Streptomyces violaceoruber* に限る) の培養物から得られた、たん白質及びペプチドをカルボキシ末端から分解する酵素である。食品 (賦形、粉末化、希釈、安定化、保存又は力価調整の目的に限る) 又は添加物 (賦形、粉末化、希釈、安定化、保存、pH 調整又は力価調整の目的に限る) を含むことがある。

2. 主な用途

酵素

3. 安全性試験の概要

1) 急性毒性試験

経口投与の情報なし

2) 反復投与毒性試験

Wistar ラット (雌雄各群 10 匹) にカルボキシペプチダーゼを 90 日間強制経口投与したところ、被験物質に起因する毒性影響はみられず、NOAEL は最高用量の 11,000 mg/kg 体重/日 (1,056 mg TOS/kg 体重/日、48,851 CPGU/kg 体重/日) と考えられた¹⁾。

3) 変異原性試験

Ames 試験、培養細胞を用いた染色体異常試験及び骨髄小核試験が実施されており、すべて陰性と報告されている¹⁾。

Ames 試験 : 陰性 ; TA100、TA1535、*E.coli* WP2uvrA、TA98、TA1537 5,000 µg/plate

(代謝活性化および非代謝活性化) 1)

染色体異常試験：陰性； Human lymphocytes 5,000 µg/mL (代謝活性化および非代謝活性化) 1)

骨髄小核試験：陰性； NMRI BR マウス 2,000 mg/kg 体重、経口投与 1)

4) その他

食品安全委員会では遺伝子組換え食品等専門調査会において、カルボキシペプチダーゼ高生産株である遺伝子改変 *Aspergillus niger* PEG 株を利用して生産されたカルボキシペプチダーゼについて検討し、「組換え DNA 技術によって最終的に宿主に導入された DNA が、当該微生物と分類学上の同一の種に属する微生物の DNA のみである場合」に該当する微生物を利用して製造されたものであることから、遺伝子組換え微生物を利用して製造された添加物としての安全性評価は必要ないと判断した 2)。

5) 海外評価書における扱い

FDA では generally recognized as safe (GRAS) と評価している 1)。

4. 結論

本既存添加物は、日本国内で流通しているものについては、安全性に懸念はないと考えられる。

5. 参考資料

1) FDA: GRAS Notice GRN 345, Carboxypeptidase enzyme preparation from modified *Aspergillus niger* (2010).

2) 食品安全委員会：遺伝子組換え食品等評価書「PEG 株を利用して生産されたカルボキシペプチダーゼ」 (2016)

キシラナーゼ

英名： Xylanase
CAS No. 9025-57-4
JECFA No. 該当なし
別名： 該当なし
構造式： ー

1. 基原・製法

糸状菌 (*Aspergillus aculeatus*、*Aspergillus awamori*、*Aspergillus niger*、*Disporptrychum dimorphosporum*、*Humicola insolens*、*Rasamsonia emersonii*、*Trichoderma koningii*、*Trichoderma longibrachiatum*、*Trichoderma reesei* 及び *Trichoderma viride* に限る) 又は放線菌 (*Streptomyces avermitilis*、*Streptomyces thermoviolaceus* 及び *Streptomyces violaceoruber* に限る) の培養物から得られた、キシランを分解する酵素である。食品(賦形、粉末化、希釈、安定化、保存又は力価調整の目的に限る) 又は添加物(賦形、粉末化、希釈、安定化、保存、pH 調整又は力価調整の目的に限る) を含むことがある。

2. 主な用途

パン作製(生地の改良、容積の増量など)

3. 安全性試験の概要

1) 急性毒性試験

枯草菌 (*Bacillus subtilis*) の天然のキシラナーゼ由来の BS1、BS2、小麦粉のキシラナーゼ阻害耐性の変異型 BS3 をそれぞれ遺伝子導入して作製された株を用いて、純粋培養で生産されたキシラナーゼ酵素を回収、濃縮して得た¹⁾。

急性毒性試験の結果は以下の通りである。

ラット経口

キシラナーゼ BS1: LD₅₀ > 2,000 mg/kg 体重 [200,000 TXU/kg 体重]^{2), 3)}

キシラナーゼ BS2: LD₅₀ > 2,000 mg/kg 体重 [212,000 TXU/kg 体重]⁴⁾

キシラナーゼ BS3: LD₅₀ > 2,000 mg/kg 体重 [220,000 TXU/kg 体重]⁵⁾

2) 反復投与毒性試験

Wistar ラット（雌雄各群 10 匹）にキシラナーゼ BS1 を 13 週間強制経口投与したところ、投与に関連した変化はみられず、NOEL は最高用量の 80,000 TXU/kg 体重/日 (TOS として 63 mg/kg 体重/日相当)であった^{3),6)}。

Wistar ラット（雌雄各群 5 匹）にキシラナーゼ BS3 を 4 週間強制経口投与したところ、投与に関連した変化はみられず、NOEL は最高用量の 200,000 TXU/kg 体重/日 (TOS として 304 mg/kg 体重/日相当)であった⁷⁾。

3) 変異原性試験

Ames 試験、培養細胞を用いた染色体異常試験及び骨髄小核試験が実施されており、すべて陰性と報告されている^{8),9)}。

<国内報告>

Ames 試験：偽陽性；5,000 µg/plate。非代謝活性化群の TA1535 で 2 倍前後の復帰変異コロニーの増加が見られたが、被検物質にヒスチジンが含まれているための偽陽性と考えられる⁸⁾。

染色体異常試験：陰性；5,000 µg /mL⁸⁾

小核試験：陰性；2,000 mg/kg 体重⁸⁾

<海外報告>

Ames 試験：TA100、TA1535、TA98、TA1537、TA102 5,000 µg /plate (代謝活性化および非代謝活性化)⁹⁾

染色体異常試験：Human lymphocytes 5,000 µg /mL⁹⁾

4) その他

毒性が懸念される報告はない。

5) 海外評価書における扱い

JECFA では、枯草菌由来のキシラナーゼとして評価しており、現在の使用状況においては ADI を特定しない (not specified) と結論している^{1),9)}。

4. 結論

本既存添加物は、日本国内で流通しているものについては、安全性に懸念はないと考えられる。

5. 参考資料

- 1) JECFA: Evaluation of certain food additives and contaminants (2005), WHO Technical Report Series 928
- 2) Kaaber, K. (1999) Bacillus xylanase — acute oral toxicity study in the rat. Unpublished report No. 34762 from Scantox, Lille Skensved, Denmark. Submitted to WHO by Danisco USA Inc., Ardsley, NY, USA.
- 3) Harbak, L. & Thygesen, H.V. (2002) Safety evaluation of a xylanase expressed in Bacillus subtilis. Food Chem. Toxicol., 40, 1-8.
- 4) Bollen, L.S. (2003a) Xylanase BS2 — acute oral toxicity study in the rat. Unpublished report No. 51932 from Scantox, Lille Skensved, Denmark. Submitted to WHO by Danisco USA Inc., Ardsley, NY, USA.
- 5) Bollen, L.S. (2003b) Xylanase BS3 — acute oral toxicity study in the rat. Unpublished report No. 51228 from Scantox, Lille Skensved, Denmark. Submitted to WHO by Danisco USA Inc., Ardsley, NY, USA.
- 6) Glerup, P., (1999) Bacillus xylanase — a 13-week oral (gavage) toxicity study in rats. Unpublished report No. 34387 from Scantox, Lille Skensved, Denmark. Submitted to WHO by Danisco USA Inc., Ardsley, NY, USA. 1999
- 7) Kaaber, K. (2003) Xylanase BS3 — a 4-week oral (gavage) toxicity study in rats. Unpublished report No. 51173 from Scantox, Lille Skensved, Denmark. Submitted to WHO by Danisco USA Inc., Ardsley, NY, USA.
- 8) 林ら：食品衛生学雑誌 46, 177-184 (2005)
- 9) JECFA: Safety evaluation of certain food additives (2006), WHO Food additives series 54
(参考資料 2～6 が引用されている)

キトサン

英名： Chitosan
CAS No. 9012-76-4
JECFA No. 該当なし
別名： 該当なし
構造式： —

1. 基原・製法

「キチン」を、温時～熱時水酸化ナトリウム水溶液で脱アセチル化したもので、D-グルコサミンの多量体からなる。

2. 主な用途

ワイン、ビール、リンゴ酒、蒸留酒、食用エタノールの製造のための加工助剤

3. 安全性試験の概要

1) 急性毒性試験

ラット (SD) 経口 $LD_{50} > 2,000$ mg/kg 体重¹⁾

マウス (Kunming) 経口 $LD_{50} > 1,000$ mg/kg 体重²⁾

2) 反復投与毒性試験

Sprague-Dawley ラット (雌雄各群 9 匹) にオリゴマーのキトサンを 28 日間強制経口投与したところ、被験物質に起因する毒性影響はみられず、NOAEL は最高用量の 2,000 mg/kg 体重/日と考えられた³⁾。

F344 ラット (雌雄各群 10 匹) にオリゴ糖のキトサンの 90 日間の混餌投与試験で、最高用量の 1% 群での、摂餌量減少に伴う体重増加抑制の他、栄養不良とされる所見などが散見され、NOAEL は 0.2% (雄 124.0 mg/kg 体重/日、雌 142.0 mg/kg 体重/日) とされた⁴⁾。

Sprague-Dawley [CrI:CD(SD)] ラット (雌雄各群 10 匹) にキトサンを 26 週間強制経口投与したところ、死亡はみられず、4,500 mg/kg 群雌雄で体重増加量の 10% 程度の低下が求められたが、1,500 mg/kg 以下の群では影響はみられなかった⁵⁾。

3) 変異原性試験

Ames 試験、培養細胞を用いた染色体異常試験及び Rec-Assay が実施されており、す

べて陰性と報告されている^{6),7)}。また、キトサンのオリゴマーを用いて Ames 試験及び骨髄小核試験が実施されており、すべて陰性と報告されている⁷⁾。

<国内報告>

詳細な記載なし⁷⁾

<海外報告>

Ames 試験：陰性； TA100、TA1535、*E.coli* WP2uvrA、TA98、TA1537 1,000 µg /plate (代謝活性化および非代謝活性化)、5,000 µg /plate (オリゴマー、代謝活性化および非代謝活性化)⁷⁾

骨髄小核試験：陰性； ICR 及び Kunming マウス オリゴマーを 1% w/v、180 日間飲水投与及びオリゴマーを 5,000 mg/kg 体重、経口投与⁷⁾

4) その他

毒性が懸念される報告はない。

5) 海外評価書における扱い

FSANZでは、人での13例の6ヶ月のキトサンの経口摂取（平均日濃度3.5g）で毒性がみられないことなどから¹¹⁾、真菌キトサンの加工助剤としての使用は公衆衛生、安全性上の懸念はないと評価している。FDAではgenerally recognized as safe (GRAS) と評価した^{7), 8), 9), 10)}。

4. 結論

本既存添加物は、日本国内で流通しているものについては、安全性に懸念はないと考えられる。

5. 参考資料

- 1) Kitozyme (2008) Final Report Acute Oral toxicity in the rat. Study no TAO423-PH-08/0064: CONFIDENTIAL. Prepared by S. Segquier – Phycher Bio development (FR)
- 2) Qin C, Gao J, Wang L, Zeng L, Liu Y (2006) Safety evaluation of short-term exposure to chitooligomers from enzymic preparation. Food Chem Toxicol. 44(6):855–861.
- 3) Kim SK, Park PJ, Yang HP, Han SS (2001) Subacute toxicity of chitosan oligosaccharide in Sprague- Dawley rats. Arzneimittelforschung 51(9):769-774.

4) Naito Y, Tago K, Nagata T, Furuya M, Seki T, Kato H, Morimura T, Ohara N (2007)
A 90-day ad libitum administration toxicity study of oligoglucosamine in F344 rats.
Food Chem Toxicol. 45(9):1575- 1587.

(参考資料 1~4 は、参考資料 14 に引用されている)

5) NTP (2009) National Toxicology Program. Testing Status of Agents at NTP.
Chitosan. Study no.C20226. Available at:

https://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/st_rpts/tox093_508.pdf

6) 林ら : Environ. Mutagen Res.,22, 27-44 (2000)

7) FDA: GRAS Notice GRN 397, Chitosan from *Aspergillus niger*

8) FDA: GRAS Notice GRN 73

9) FDA: GRAS Notice GRN 170

10) FDA: GRAS Notice GRN 443

11) Jull AB, Ni Mhurchu C, Bennett DA, Dunshea-Mooij CA, Rodgers A (2008)
Chitosan for overweight or obesity. Cochrane Database Syst Rev. Jul
16;(3):CD003892.

12) EFSA: TECHNICAL REPORT (2013), Outcome of the consultation with Member
States and EFSA on the basic substance application for chitosan hydrochloride
and the conclusions drawn by EFSA on the specific points raised

13) Food Standard Australia New Zealand (FSANZ): Winemakers Federation of
Australia (2012): Application for a NEW PROCESSING AID. Fungal chitosan
from *Aspergillus niger*

14) Food Standard Australia New Zealand (FSANZ): Risk and Technical Assessment
Report, Application A1077-Fungal Chitosan as a Processing Aid (2013).

クリストバル石

英名： Cristobalite
CAS No. 14464-46-1
JECFA No. 該当なし
別名： 該当なし
構造式： —

1. 基原・製法

鉱床より採掘したクリストバル石を、粉碎乾燥、800～1200℃で焼成、又は塩酸処理して焼成したものである。

2. 主な用途

製造用剤

3. 安全性試験の概要

1) 急性毒性試験

ラット 経口 $LD_{50} = 3.16 \text{ mg/kg}$ 体重¹⁾

マウス 経口 $LD_5 > 5,000 \text{ mg/kg}$ 体重²⁾

2) 反復投与毒性試験

Wistar ラット（雌雄各群 20 匹）に非結晶シリカ (>98.3% SiO_2) を含むペレット飼料でシリカ含量 100 mg/kg 体重/日を毎日 2 年間経口投与したところ、被験物質に起因する毒性影響はみられなかった³⁾。

3) 変異原性試験

シリカとして、Ames 試験、培養細胞を用いた染色体異常試験及び小核試験が実施されており、すべて陰性と報告されている。また、石英は遺伝毒性有りとの報告があるが、不確定である⁴⁾。

Ames 試験： 詳細な記載なし⁴⁾

染色体異常試験： 陰性； 1,600 $\mu\text{g/mL}$ ⁴⁾

小核試験： 陰性； 500 mg/kg 体重、腹腔内投与⁴⁾

4) その他

IARC では、石英またはクルストバル石として結晶質シリカが職業ばく露により吸入された場合はヒトに発がん性を示す (Group 1)、非結晶質シリカの場合はヒトに発がん性を示すとしては分類できないと (Group 3) としている⁵⁾。

5) 海外評価書における扱い

JECFA では、二酸化ケイ素及びケイ酸カルシウムを含むある種のケイ酸塩として評価しており、ADI を特定しない (not specified) としている (JECFA 1985 年 第 29 回会議 WHO Food Additives Series 20)⁶⁾。

4. 結論

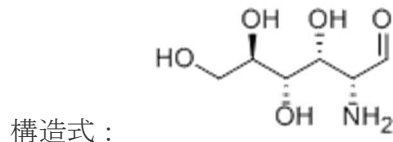
本既存添加物は、日本国内で流通しているものについては、安全性に懸念はないと考えられる。

5. 参考資料

- 1) Elsea, J. R. (1958a) Unpublished report, January 8, from Hazleton Laboratories, Inc.
- 2) Kimmerle (1968) Unpublished report submitted by Bayer
(参考資料 1 および 2 は、参考資料 3 に引用されている)
- 3) JECFA: Toxicological evaluation of some food additives including anticaking agents, antimicrobials, antioxidants, emulsifiers, and thickening agents. WHO Food Additives Series No.5 (1974)
- 4) JECFA, Concise International Chemical Assessment Document 24 (2000).
CRYSTALLINE SILICA, QUARTZ.
- 5) JECFA: International Agency for Research on Cancer (IARC) - Summaries & Evaluations. SILICA Crystalline silica - inhaled in the form of quartz or cristobalite from occupational sources (Group 1) Amorphous silica (Group 3) (1997)
- 6) JECFA: Toxicological evaluation of certain food additives and contaminants.
WHO Food Additives Series 20 (1985)

グルコサミン

英名： Glucosamine
CAS No. 3416-24-8（塩酸塩は 66-84-2）
JECFA No. 該当なし
別名： 該当なし



1. 基原・製法

「キチン」を、塩酸で加水分解し、分離して得られたものである。成分はグルコサミンである。

2. 主な用途

増粘安定剤、製造用剤

3. 安全性試験の概要

1) 急性毒性試験

マウス 経口 LD₅₀ > 15,000 mg/kg 体重¹⁾

雌雄ラット（系統不明）にグルコサミン塩酸塩を 5,000 mg/kg 体重で投与したところ、毒性影響はなく、経口の急性毒性は高くないと考えられた²⁾。

2) 反復投与毒性試験

ラット（系統不明）を用いた52週間反復投与毒性試験では、NOAELを2,130 mg/kg体重/日と考えられた（非公開）³⁾。

F344ラット（雌雄各群40匹）にグルコサミンを 0.5%、1.67%、5%で90日間混餌投与したところ、5%群で、雌では肝重量増加、雄では摂水量増加を伴う尿量増加及び尿比重の低下、腎重量増加と病理組織学的に好酸性小体の程度の増強が見られ、実験者はNOAELを1.67%（雄1,075 mg/kg体重/日、雌1,158 mg/kg体重/日）としている⁴⁾。

3) 変異原性試験

Ames 試験及び *in vivo* 小核試験が実施されており、全て陰性と報告されている^{3), 5)}。
(*in vivo* 染色体異常試験陽性結果も存在するが、標準的な試験法ではなく EFSA は信頼性が低いと判断している³⁾)

<国内報告> ⁵⁾

Ames 試験：5,000 µg/plate

<海外報告> ³⁾

Ames 試験：陰性； TA100、TA1535、WP2uvrA、TA98、TA1537 100～5,000 µg/plate
(代謝活性化および非代謝活性化)

小核試験：陰性； マウス 50～2,000 mg/kg 体重、経口投与

4) その他

毒性が懸念される報告はない。

5) 海外評価書における扱い

EFSAでは、コウジカビ由来のグルコサミン塩酸塩について安全であると評価している³⁾。

4. 結論

本既存添加物は、日本国内で流通しているものについては、安全性に懸念はないと考えられる。

5. 参考資料

- 1) 関鋼三郎：塩酸グルコサミンの一般薬理作用について 第10回北部会（岩手）記事 56, 64S (1960)
- 2) 社団法人 菓子総合技術センター：N-アセチルグルコサミン・グルコサミン、食品新素材有効利用技術シリーズ (2000)
- 3) EFSA, SCIENTIFIC OPINION, Opinion of the safety of glucosamine hydrochloride from *Aspergillus niger* as food ingredient, Scientific Opinion of the Panel on Dietetic

Products, Nutrition and Allergies, (Question No EFSA-Q-2008-306)^[1], The EFSA Journal 1099, 1-19 (2009)

- 4) 河部 真弓 他：グルコサミンのラットを用いた 90 日間反復投与毒性試験 日本食品化学学会誌 12(1): 15-22 (2005)
- 5) 麻野間、田村：名古屋市衛研報 52, 39-44 (2006)

α-グルコシダーゼ

英名： α-Glucosidase

CAS No. 9001-42-7

JECFA No. 該当なし

別名： Maltase

構造式： —

1. 基原・製法

糸状菌 (*Absidia* 属、*Acremonium* 属及び *Aspergillus* 属に限る)、酵母 (*Saccharomyces* 属に限る)、放線菌 (*Streptomyces avermitilis*、*Streptomyces griseus* 及び *Streptomyces violaceoruber* に限る) 又は細菌 (*Bacillus* 属、*Burkholderia ginsengisoli*、*Halomonas aquamarina* 及び *Pseudomonas* 属に限る) の培養物から得られた、マルトースやオリゴ糖の非還元 末端に存在する α-D-グルコシド結合を加水分解する酵素である。食品 (賦形、粉末化、希釈、安定化、保存又は力価調整の目的に限る) 又は添加物 (賦形、粉末化、希釈、安定化保存、pH 調整又は力価調整の目的に限る) を含むことがある。

2. 主な用途

酵素

3. 安全性試験の概要

1) 急性毒性試験

ラット 経口 LD₅₀ > 2,000 mg/kg 体重 (2,350 mg TOS/kg 体重) ¹⁾

2) 反復投与毒性試験

SPF-bred Wistar ラット (雌雄各群 10 匹) に α-グルコシダーゼを 13 週間強制経口投与したところ、被験物質に起因する毒性影響はみられず、NOAEL は最高用量の 63.64 mg/kg 体重/日 (74.8 mg TOS/kg 体重/日) と考えられた ²⁾。

3) 変異原性試験

Ames 試験、染色体異常試験及び *in vivo* 小核試験が実施されており、全て陰性と報告されている ³⁾。

Ames 試験：陰性 ; 5,000 µg/plate

染色体異常試験：陰性；5,000 µg/mL

小核試験：陰性；2,000 mg/kg 体重

4) その他

毒性が懸念される報告はない。

5) 海外評価書における扱い

FDA ではクロコウジカビ由来の α-グルコシダーゼ遺伝子をもつ糸状菌の産生した α-グルコシダーゼ酵素の加工助剤として使用を **generally recognized as safe (GRAS)** としている⁴⁾。

4. 結論

本既存添加物は、日本国内で流通しているものについては、安全性に懸念はないと考えられる。

5. 参考資料

- 1) Harlan Labs- Study No. C57481, Acute Oral Toxicity Study in Rats. December 15 (2009), FDA: GRAS Notice GRN 703
- 2) Harlan Labs- Study No: C57558, An 18-week Oral (Gavage) Toxicity Study in Wistar Rats. April 15 (2010), FDA: GRAS Notice GRN 703
- 3) 林、田中：食品衛生学雑誌 46, 5, 177-184 (2005)
- 4) FDA: GRAS Notice GRN 703, Alpha-glucosidase Enzyme Preparation Derived from *Trichoderma reesei* Expressing the Alpha-glucosidase Gene from *Aspergillus niger* Is Generally Recognized As Safe For Use in Food Processing, Notification Submitted by Danisco US Inc. (operating as DuPont Industrial Biosciences) April 24 (2017)

α-グルコシルトランスフェラーゼ

英名： α-Glucosyltransferase
CAS No. 9032-09-1
JECFA No. 該当なし
別名： 4-α-Glucanotransferase
6-α-Glucanotransferase
構造式： —

1. 基原・製法

バレイシヨ (*Solanum tuberosum* L.) の塊茎又は放線菌 (*Streptomyces avermitilis*, *Streptomyces cinnamoneus*, *Streptomyces griseus*, *Streptomyces thermoviolaceus* 及び *Streptomyces violaceoruber* に限る) 若しくは細菌 (*Agrobacterium radiobacter*, *Arthrobacter* 属、*Bacillus* 属、*Erwinia* 属、*Geobacillus pallidus*, *Geobacillus stearothermophilus*, *Gluconobacter oxydans*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Paenibacillus alginolyticus*, *Pimelobacter* 属、*Protaminobacter* 属、*Pseudomonas* 属、*Serratia* 属、*Sporosarcina globispora* 及び *Thermus* 属に限る) の培養物から得られた、グルコシル基、又はグルカン鎖を転移する酵素である。食品 (賦形、粉末化、希釈、安定化、保存又は力価調整の目的に限る) 又は添加物 (賦形、粉末化、希釈、安定化、保存、pH 調整又は力価調整の目的に限る) を含むことがある。

2. 主な用途

酵素

3. 安全性試験の概要

1) 急性毒性試験

ラット (Wistar) 経口 LD₅₀ > 2,000 mg/kg 体重¹⁾

2) 反復投与毒性試験

Sprague-Dawley [CrI:CD(SD)]ラット (雌雄各群10匹) に*B. stearothermophilus* 由来の1,4-α-Dグリカン分岐酵素の遺伝子を発現させた枯草菌により産生された1,4-α-Dグリカン分岐酵素を 13週間強制経口投与したところ、NOAELは最高用量の 870 mg/kg 体重/日と考えられた²⁾。

Sprague-Dawley [CrI:CD(SD)]ラット (雌雄各群 10 匹) に *Aquifex aeolicus* 由来の 1,4-

α -D グリカン分岐酵素の遺伝子を発現させた枯草菌により産生された 1,4- α -D グリカン分岐酵素を 13 週間強制経口投与したところ、NOAEL は最高用量の 900 mg/kg 体重/日と考えられた²⁾。

ラット（系統不明、雌雄各群 10 匹）に分岐型グルコシルトランスフェラーゼを 13 週間強制経口投与したところ、被験物質に起因する毒性影響はみられず、NOAEL は最高用量の 769 mg TOS/kg 体重/日と考えられた³⁾。

3) 変異原性試験

変異原性に関する情報なし。

4) その他

JECFA は、枯草菌により産生された 1,4- α -D グリカン分岐酵素について、ADI を特定しない (not specified) としている^{4), 5)}。

食品安全委員会は、「*Bacillus subtilis* BR151(pUAQ2) 株を利用して生産された 6- α -グルカノトランスフェラーゼ」については、ヒトの健康を損なうおそれはないと判断している⁶⁾。

5) 海外評価書における扱い

FDA には、加工助剤の目的で、枯草菌により産生された分岐型グルコシルトランスフェラーゼ、1,4- α -D グリカン分岐酵素が GRAS として申請されている^{3), 7)}。

4. 結論

本既存添加物は、日本国内で流通しているものについては、安全性に懸念はないと考えられる。

5. 参考資料

- 1) Choi SS, Danielewska-Nikiel B, Ohdan K, Kojima I, Takata H, Kuriki T (2009a). Safety evaluation of highly-branched cyclic dextrin and a 1,4- α -glucan branching enzyme from *Bacillus stearothermophilus*. Regul Toxicol Pharmacol 55(3):281-290
- 2) Choi SS, Danielewska-Nikiel B, Kojima I, Takata H (2009b). Safety evaluation of 1,4- α -glucan branching enzymes from *Bacillus stearothermophilus* and *Aquifex aeolicus* expressed in *Bacillus subtilis*. Food Chem Toxicol 47(8):2044-2051
(参考資料1および2は、FDA: GRAS Notice GRN 361 に引用されている)

- 3) FDA: GRAS Notice GRN 274, A branching glycosyltransferase produced by *Bacillus subtilis* expressing the *Rhodothermus obamensis* branching glycosyltransferase gene. December (2008)
- 4) JECFA: Evaluation of certain food additives and contaminants (2009), WHO Technical Report Series 956
- 5) JECFA: Safety evaluation of certain food additives and contaminants (2010), WHO Food Additives Series 62
- 6) 食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会:最終報告書 BE-02 のラットにおける 13 週間反復経口投与毒性試験(社内報告書)、(案) 遺伝子組換え食品等評価書、BR151(pUAQ2)株を利用して生産された 6- α -グルカノトランスフェラーゼ、2011 年 11 月
- 7) FDA: GRAS Notice GRN 406, Generally Recognized as Safe (GRAS) Exemption Claim for 1,4- α -D-Glucan Branching Enzyme for Use as a Processing Aid in Food Production, 2011

グルタミナーゼ

英名： Glutaminase
CAS No. 9001-47-2 (EC 3.5.1.2)
JECFA No. 該当なし
別名： 該当なし
構造式： —

1. 基原・製法

糸状菌 (*Aspergillus*属に限る)、酵母 (*Candida*属に限る) 又は細菌 (*Bacillus amyloliquefaciens*、*Bacillus circulans*及び*Bacillus subtilis*に限る) の培養物から得られた、L-グルタミンを加水分解してL-グルタミン酸とアンモニアを生成する酵素である。食品 (賦形、粉末化、希釈、安定化、保存又は力価調整の目的に限る) 又は添加物 (賦形、粉末化、希釈、安定化、保存、pH調整又は力価調整の目的に限る) を含むことがある。

2. 主な用途

酵素

3. 安全性試験の概要

1) 急性毒性試験

経口投与の情報なし

2) 反復投与毒性試験

Wistarラット (雌雄各群20匹) に*Bacillus amyloliquefaciens*由来のグルタミナーゼを13週間混餌投与したところ、2% (w/w) 群で体重増加量、摂餌量に低下が見られたが、餌の高用量の塩添加による嗜好への影響のためで、NOAELは2%、雄で1,239 mg/kg体重/日、雌で1,432 mg/kg体重/日と考えられた¹⁾。

Sprague-Dawley SPFラット [Crj:CD(SD)IGS] (雌雄各群12匹) に*Chryseobacterium proteolyticum*に産生させたグルタミナーゼ蛋白 (プロテイングルタミナーゼ CAS No. 62213-11-0) を90日間強制経口投与したところ、被験物質に起因する毒性影響はみられず、NOAELは2,538 mg/kg体重/日 (93 mg TOS/kg体重/日) と考えられた^{2),3)}。

3) 変異原性試験

Ames 試験、染色体異常試験及び *in vivo* 小核試験が実施されており、国内の Ames 試験を除き全て陰性と報告されている^{4),5)}。国内 Ames 試験陽性結果は、きょう雑物として含まれていたヒスチジンによるものと考えられる⁴⁾。

<国内報告> ⁴⁾

Ames 試験：偽陽性；5,000 µg/plate

染色体異常試験：陰性；5,000 µg/mL

小核試験：陰性；2,000 mg/kg 体重

<海外報告> ⁵⁾

Ames 試験：陰性；TA100、TA1535、TA98、TA1537 62~5,000 µg/plate (代謝活性化および非代謝活性化)、WP2uvrA 62~5,000 µg/mL (代謝活性化および非代謝活性化)

染色体異常試験：陰性；CHO K-1 細胞、0.05~200 µg/mL (代謝活性化および非代謝活性化)

4) その他

毒性が懸念される報告はない。

5) 海外評価書における扱い

FSANZ では、加工助剤の目的での *B. amyloliquefaciens* 由来のグルタミナーゼ酵素について評価し、健康への懸念はないとして、ADI を特定しないとしている⁵⁾。

4. 結論

本既存添加物は、日本国内で流通しているものについては、安全性に懸念はないと考えられる。

5. 参考資料

1) Appel, M.J. (1999). Sub-chronic (13-week) oral toxicity study with Glutaminase in rats. TNO report V99.442. Lab: TNO Nutrition and Food Research Institute, Zeist, The Netherlands (unpublished).

(参考資料 5 に引用されている)

- 2) FDA: GRAS Notice GRN 267, GRAS Notification for Protein-Glutaminase derived from *Chryseobacterium proteolyticum* (2008)
- 3) 食品安全委員会添加物専門調査会：添加物評価書、*Chryseobacterium proteolyticum* 9670 株を利用して生産されたプロテイングルタミナーゼ (2011)
- 4) 林、田中：食品衛生学雑誌 46, 5, 177-184 (2005)
- 5) Food Standard Australia New Zealand (FSANZ): Supporting document 1, Risk and technical assessment report (at Approval) – Application A1109, Glutaminase from *Bacillus amyloliquefaciens* as a Processing Aid (Enzyme), (2016)

ケイソウ土

英名： Diatomaceous Earth
CAS No. 61790-53-2
JECFA No. 該当なし
別名： 該当なし
構造式： —

1. 基原・製法

ケイソウに由来する二酸化ケイ素で、乾燥品、焼成品及び融剤焼成品があり、それぞれをケイソウ土（乾燥品）、ケイソウ土（焼成品）及びケイソウ土（融剤焼成品）と称する。焼成品は、800～1200℃で焼成したものであり、融剤焼成品は、少量の炭酸のアルカリ塩を添加して800～1200℃で焼成したものである。融剤焼成品のうち酸洗い品については、焼成品の規定（性状を除く）を準用する。

2. 主な用途

製造用剤

3. 安全性試験の概要

1) 急性毒性試験

経口投与の情報なし

2) 反復投与毒性試験

Wistar ラット（雌雄各群 15 匹）にケイソウ土を 90 日間 1%、3%、5%添加で混餌投与したところ、5%群で体重増加量の上昇が見られたが、1%、3%群では、被験物質に起因する毒性影響はみられなかった¹⁾。

3) 変異原性試験

Ames 試験が実施されており、陰性と報告されている²⁾。

Ames 試験：陰性；5,000 µg/plate²⁾

4) その他

毒性が懸念される報告はない。

5) 海外評価書における扱い

FDA では Perlite との混合物として generally recognized as safe (GRAS)と評価した³⁾。

4. 結論

本既存添加物は、日本国内で流通しているものについては、安全性に懸念はないと考えられる。

5. 参考資料

- 1) Bertke E. M., The Effect Of Ingestion Of Diatomaceous Earth In White Rats: A Subacute Toxicity Test. Toxicol Appl Pharmacol. 6: 284-91 (1964)
- 2) 林ら : Environ. Mutagen Res.,22, 27-44 (2000)
- 3) FDA: GRAS Notice GRN 087 (2002)

酵母細胞壁

英名： Yeast Cell Wall
CAS No. 8013-01-2 (酵母抽出物)
JECFA No. 該当なし
別名： 該当なし
構造式： —

1. 基原・製法

サッカロミセス属酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*、*Saccharomyces bayanus* 又は *Saccharomyces pastorianus* に限る) の細胞壁から得られた、多糖類を主成分とするものである。

2. 主な用途

増粘安定剤、製造用剤

3. 安全性試験の概要

1) 急性毒性試験

マウス 経口 LD₅₀ > 2,000 mg/kg 体重¹⁾

ラット 経口 LD₅₀ > 8,000 mg/kg 体重¹⁾

2) 反復投与毒性試験

Wistar ラット (雌雄各群 5 匹) に酵母抽出物 (一般的に酵母細胞壁を 8%~12%含有) を 2,000 mg/kg 体重/日、10 日間強制経口投与したところ、被験物質に起因する毒性影響はみられなかった¹⁾。

Wistar ラット (雌雄各群 5 匹) に酵母抽出物 (一般的に酵母細胞壁を 8%~12%含有) を 50、175、650 mg/kg 体重/日、27 日間強制経口投与したところ、被験物質に起因する毒性影響はみられなかった¹⁾。

3) 変異原性試験

Ames 試験、染色体異常試験及び *in vivo* 小核試験が実施されており、すべて陰性と報告されている²⁾。

Ames 試験：陰性；5,000 µg/plate

染色体異常試験：陰性；5,000 µg/mL

小核試験：陰性；2,000 mg/kg 体重

4) その他

毒性が懸念される報告はない。

5) 海外評価書における扱い

FSANZ では、安全上の懸念はないとして、ワインの安定性処理のための食品添加物として酵母細胞壁の使用を最高許容濃度 400 mg/L まで認めるとしている³⁾。

FDA では、パン酵母細胞壁のワイン安定のための使用を **generally recognized as safe (GRAS)** としている¹⁾。

4. 結論

本既存添加物は、日本国内で流通しているものについては、安全性に懸念はないと考えられる。

5. 参考資料

1) FDA: GRAS Notice GRN 284, GRAS Notification for Mannoprotein derived from an extract of bakers yeast (*Saccharomyces cerevisiae*), March 6 (2009)

2) 林ら：食品衛生学雑誌 46, 177-184 (2005)

3) Food Standard Australia New Zealand (FSANZ): FINAL ASSESSMENT REPORT, APPLICATION A605, YEAST MANNOPROTEINS AS A FOOD ADDITIVE FOR WINE, March 19 (2008)

植物性ステロール

英名： Vegetable Sterol
CAS No. 混合物のため該当なし
JECFA No. 該当なし
別名： Phytosterols
構造式： —

1. 基原・製法

油糧種子から得られた、フィトステロール類を主成分とするものである。本品には、遊離体高濃度品及び遊離体低濃度品がある。

2. 主な用途

乳化剤

3. 安全性試験の概要

1) 急性毒性試験

ラット 経口 $LD_{50} > 2,000 \text{ mg/kg}$ 体重^{1), 2)}

2) 反復投与毒性試験

Sprague-Dawley ラットに大豆由来のフィトステロールをオリーブ油の遊離脂肪酸でエステル化したものを 90 日間混餌投与したところ、最高用量 9g/kg 体重/日の雌雄で体重増加量の減少、雄で心筋症の頻度上昇がみられたため、NOAEL は 3g/kg 体重/日と考えられた^{3), 4)}。

3) 変異原性試験

遊離体低濃度品、及び遊離体高濃度品として、Ames 試験、染色体異常試験及び *in vivo* 小核試験が実施されており、すべて陰性と報告されている⁵⁾。

Ames 試験：陰性； $5,000 \mu\text{g/plate}$

染色体異常試験：陰性； $5,000 \mu\text{g/mL}$

小核試験：陰性； $2,000 \text{ mg/kg}$ 体重

4) その他

毒性が懸念される報告はない。

5) 海外評価書における扱い

JECFA では、植物性ステロールと植物性スタノール、ならびにそれらのエステル体の混合物のラットの 90 日間反復投与試験結果 NOAEL 4,200 mg/kg 体重/日からグループ ADI を 40 mg/kg 体重/日（遊離体の合計として）と設定した^{3), 4)}。

4. 結論

本既存添加物は、日本国内で流通しているものについては、安全性に懸念はないと考えられる。

5. 参考資料

1) Appel, M.J. (1998a) Acute oral toxicity study (limit study) with WD-041T97 in rats. Zeist, Netherlands, TNO Nutrition and Food Research Institute (TNO Report V98.212)

2) Appel, M.J. (1998e) Acute oral toxicity study (limit study) with PU-029P97 in rats. Zeist, Netherlands, TNO Nutrition and Food Research Institute (TNO Report V98.217).

(参考資料1および2は、参考資料3に引用されている)

3) JECFA: Safety evaluation of certain food additives. WHO Food Additives Series 60 (2009)

4) JECFA: Evaluation of certain food additives. WHO Technical Report Series 952 (2009)

5) 林ら：食品衛生学雑誌 46, 177-184 (2005)

水素

英名： Hydrogen
CAS No. 1333-74-0
JECFA No. 該当なし
別名： 該当なし
構造式： H-H

1. 基原・製法

H₂

2. 主な用途

製造用剤

3. 安全性試験の概要

1) 急性毒性試験

経口投与の情報なし

2) 反復投与毒性試験

反復投与毒性に関する情報なし

3) 変異原性試験

変異原性に関する情報なし。

4) その他

毒性が懸念される報告はない。

5) 海外評価書における扱い

EFSA では、室温以下での食物包装や飲み物での酸素除去のための使用は安全性に懸念はないとしている¹⁾。

FDA では飲み物での酸素除去のための使用は安全で、generally recognized as safe (GRAS)と評価した²⁾。

4. 結論

本既存添加物は、日本国内で流通しているものについては、安全性に懸念はないと考えられる。

5. 参考資料

- 1) EFSA: SCIENTIFIC OPINION, Scientific Opinion on the safety assessment of the active substances, palladium metal and hydrogen gas, for use in active food contact materials, EFSA Panel on Food Contact Materials, Enzymes, Flavourings and Processing Aids (CEF), European Food Safety Authority (EFSA), Parma, Italy, EFSA Journal 12 (2): 3558 (2014)
- 2) FDA: GRAS Notice GRN 520 (2014)

ステビア末

英名： Powdered Stevia
CAS No. 91722-21-3 (ステビア抽出物)
57817-89-7 (ステビオシド)
JECFA No. 該当なし
別名： Steviol Glycosides (主成分であるステビオール配糖体)
構造式： —

1. 基原・製法

キク科ステビア (*Stevia rebaudiana* BERTONI) の葉を、粉末としたものである。主甘味成分はステビオール配糖体 (ステビオシド及びレバウジオシド) である。

2. 主な用途

甘味料

3. 安全性試験の概要

1) 急性毒性試験

マウス (雄) 経口 LD₅₀ > 500 mg/kg 体重¹⁾
ラット (雄) 経口 LD₅₀ > 500 mg/kg 体重¹⁾
犬 (雌雄) 経口 LD₅₀ > 500 mg/kg 体重¹⁾

2) 反復投与毒性試験

ラット (系統不明) にステビオシドを 2 年間混餌投与したところ、5%群では雄の最終の生存率低下、雌雄の体重低下、腎実質重量の低下が見られ、NOAEL は 2.5%群の 970 mg/kg 体重/日、(ステビオールとして 383 mg/kg 体重/日) と考えられた²⁾。

3) 変異原性試験

<国内報告>³⁾

ステビオシドとして、純度 50%の場合において細菌を用いた復帰変異試験では陽性との報告があるが、純度 50%および 85%のステビオシドでは陰性の結果が得られている。また、細菌を用いた DNA 修復試験、細菌を用いた前進突然変異試験、Umu test および哺乳類細胞を用いた染色体異常試験はいずれも陰性と報告されている。

ステビオールとして、細菌を用いた前進突然変異試験、細菌を用いた DNA 修復試験及

び哺乳類培養細胞を用いた染色体異常試験において、代謝活性化条件下で陽性であった。一方、細菌を用いた復帰変異試験、細菌を用いた DNA 修復試験並びにマウスを用いた小核試験の結果は、いずれも陰性と報告されている。

<海外報告> 4)

純度不特定のステビオシドについて、ヒトのリンパ球細胞および口粘膜細胞を用いた *in vitro* 小核試験において陽性の報告があるが、純度 95%以上のステビオシドに対して細菌を用いた復帰突然変異試験、Rec-assay で陰性と報告されている。また、純度不特定のステビオシドについて、姉妹染色分体交換(SCE)試験および染色体異常試験が実施されているが、どちらも陰性と報告されている。純度 88.62%のステビオシドを使った *in vivo* コメット試験では、陽性との報告があるが、この試験結果の妥当性が他の研究者らから疑問視され、その遺伝毒性の証明には説得力が無いと報告されている。

純度不特定のステビオールについて、細菌 (*S. typhimurium* TM677) を用いた前進突然変異試験では陽性との報告があるが、その著者らは菌株は代謝活性化条件下 (ポリ塩化ビフェニルだけで誘発させたラット由来の S9 を使用) では、ステビオールに対して一意的に感受性を示し、*in vivo* の生体内環境とは無関係であると報告している。また、純度 90%のステビオールに対して、ラット、ハムスターおよびマウスを用いた骨髄小核試験が実施されており、すべて陰性と報告されている。

・ステビオシド

Ames 試験：陰性； TA100、TA1535、TA98、TA1537、TA1538、GA46、WP2her-10~10,000 µg/plate (代謝活性化および非代謝活性化)

染色体異常試験：陰性；ヒトリンパ球 0.01~10 µmol/L

SCE 試験：陰性；ヒトリンパ球 0.01~10 µmol/L

Rec-assay：陰性；B-subtilis H17(rec⁺)、M45(rec⁻) 500~2,000 µg/plate (代謝活性化および非代謝活性化)

In vitro 小核試験：陽性；ヒトリンパ球、ヒト口粘膜 0.01~10 µmol/L

In vivo コメット試験：偽陽性；Wistar rat 肝臓、脳、末梢血、脾臓 4 mg/mL 経口

・ステビオール

前進突然変異試験：偽陽性；*S. typhimurium* TM677 (代謝活性化および非代謝活性化)

骨髄小核試験：陰性；ラット、ハムスター、マウス 4~8 mg/kg 体重

以上のことからステビオシド、ステビオールを含むステビア末には生体にとって問題となる変異原性はないものと考えられた。

4) その他

毒性が懸念される報告はない。

5) 海外評価書における扱い

JECFA では、ステビオール配糖体を評価しており、ステビオールの ADI を 0-4 mg/kg 体重/日と判断している^{2), 5)}。

4. 結論

本既存添加物は、現状の使用において、ヒト健康影響に対する安全上の懸念は認められなかったと結論された。

5. 参考資料

- 1) Bazotte, R.B., Lonardonni, M.T.C., Alvarez, M., Gaeti, W.P. & Amado, C.A.B. (1986) [Determination of the lethal dose LD₅₀ of isosteviol in laboratory animals.] Arq. Biol. Tecnol., 29, 711–722 (in Portuguese).
- 2) JECFA: Evaluation of certain food additives, WHO Technical Report Series 952 (2009)
- 3) 平成 8 年度厚生科学研究報告書：既存添加物の安全性評価に関する調査研究
<https://www.ffcr.or.jp/houdou/1998/04/9C1A85A276A3290749256A4600080A21.html?OpenDocument>
- 4) JECFA: Safety evaluation of certain food additives. WHO Food Additives Series 60 (2009)
- 5) JECFA: Evaluation of certain food additives, WHO Technical Report Series 1000 (2016)

粗製海水塩化カリウム

英名： Crude Potassium Chloride (Sea Water)
CAS No. 7447-40-7 (塩化カリウム)
JECFA No. 該当なし
別名： 該当なし
構造式： K-Cl

1. 基原・製法

海水を濃縮し、塩化ナトリウムを析出分離させた後、そのろ液を室温まで冷却し、析出分離させたものである。主成分は塩化カリウムである。

2. 主な用途

調味料

3. 安全性試験の概要

1) 急性毒性試験

経口投与の情報なし

2) 反復投与毒性試験

反復投与毒性に関する情報なし

3) 変異原性試験

塩化カリウムとして、Ames 試験、染色体異常試験及び *in vivo* 小核試験が実施されており、すべて陰性と報告されている。

Ames 試験：陰性；5,000 µg/plate¹⁾

染色体異常試験：陰性；5,000 µg/mL¹⁾

小核試験：陰性；2,000 mg/kg 体重¹⁾

4) その他

毒性が懸念される報告はない。

5) 海外評価書における扱い

JECFA では自由にイオン化する塩類はそれぞれ関連する酸や塩基に基づいて ADI を設定するとしている。粗製海水塩化カリウムの主成分である塩化カリウムについては、アンモニウム塩、マグネシウム塩と共に塩酸及びその塩類のグループ ADI に含まれる²⁾。塩酸については、食品への添加用途では毒性影響は示さないとして、「制限しない (Not limited)」と評価されている³⁾。

4. 結論

本既存添加物は、日本国内で流通しているものについては、安全性に懸念はないと考えられる。

5. 参考資料

- 1) 林ら：食品衛生学雑誌 46, 177-184 (2005)
- 2) JECFA: Evaluation of certain food additives, Twenty-third Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives.(1980) WHO Food Additives Series No. 14, TRS 648
- 3) JECFA: Evaluation of certain food additives, Nine Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives.(1965) WHO Food Additives Series 67.29, TRS 339

粗製海水塩化マグネシウム

英名： Crude Magnesium Chloride (Sea Water)

CAS No. 7786-30-3

JECFA No. 該当なし

別名： 該当なし

構造式： Cl-Mg-Cl

1. 基原・製法

海水から塩化カリウム及び塩化ナトリウムを析出分離して得られた、塩化マグネシウムを主成分とするものである。

2. 主な用途

製造用剤

3. 安全性試験の概要

1) 急性毒性試験

経口投与の情報なし

2) 反復投与毒性試験

反復投与毒性に関する情報なし

3) 変異原性試験

Ames 試験、染色体異常試験及び *in vivo* 小核試験が実施されており、すべて陰性と報告されている。

Ames 試験：陰性；5,000 µg/plate¹⁾

染色体異常試験：陰性；5,000 µg/mL¹⁾

小核試験：2,000 mg/kg 体重¹⁾

4) その他

毒性が懸念される報告はない。

5) 海外評価書における扱い

JECFA では粗製海水塩化マグネシウムの主成分である塩化マグネシウムについては、塩酸並びにその塩類のグループ ADI に含まれる²⁾。塩酸については、食品への添加用途では毒性影響は示さないとして、「制限しない (Not limited)」と評価されている³⁾。

4. 結論

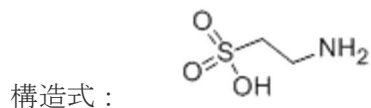
本既存添加物は、日本国内で流通しているものについては、安全性に懸念はないと考えられる。

5. 参考資料

- 1) 財団法人食品薬品安全センター:平成 14 年度既存添加物に関する遺伝毒性調査(2003)
- 2) JECFA: Evaluation of certain food additives, Twenty-third Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives.(1980) WHO Food Additives Series No. 14, TRS 648
- 3) JECFA: Evaluation of certain food additives, Nine Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives.(1965) WHO Food Additives Series 67.29, TRS 339

タウリン（抽出物）

英名： Taurine (Extract)
CAS No. 107-35-7
JECFA No. 該当なし
別名： 2-Aminoethanesulfonic Acid



1. 基原・製法

魚介類又は哺乳動物の臓器若しくは肉から得られた、タウリンを主成分とするものである。

2. 主な用途

調味料

3. 安全性試験の概要

1) 急性毒性試験

マウス 経口 LD₅₀ > 1,000 mg/kg 体重^{1), 4)}

2) 反復投与毒性試験

7週齢 Wistar ラット（各群雄9匹、雌7匹）にタウリンを0、0.5、5%（それぞれ0、500、5,000 mg/kg 体重/日相当）の濃度で18ヶ月混餌投与した結果、5%群において、統計学的に有意ではない僅かな成長抑制が認められた。また、5%群において中等度の胆管の増加が認められた。NOELは500 mg/kg 体重/日とされた^{2), 4)}。

離乳直後の Wistar ラット（雄各群6匹）にタウリンを0又は5%（5,000 mg/kg 体重/日相当）の濃度で8週間混餌投与した結果、血清AST、ALT、ALPに投与群間で有意な変化は認められず、肝及び腎相対重量も有意な変化は認められなかった^{3), 4)}。

3) 変異原性試験

Ames 試験、培養細胞を用いた染色体異常試験、姉妹染色分体交換 (SCE) 試験及び Rec-assay が実施されており、すべて陰性と報告されている。

<国内報告>

Ames 試験：陰性； TA100、TA1535、TA98、TA1537、TA1538 6,200 µg/plate (代謝活性化および非代謝活性化)⁶⁾

染色体異常試験：陰性； CHL 細胞 2,000 µg/mL^{5), 6)}

Rec-Assay: 陰性； B-subtilis M45(Rec⁻)、野生株 H17(Rec⁺) 2,500 µg/disc (代謝活性化および非代謝活性化)⁶⁾

<海外報告>

Ames 試験：陰性； TA100、TA98、TA102 100~50,000 µg/plate (非代謝活性化)^{8), 9)}

SCE：陰性； 125 µg/mL^{4), 8), 9)}

染色体異常試験：陰性； 125 µg/mL^{4), 8), 9)}

4) その他

毒性が懸念される報告はない。

5) 海外評価書における扱い

JECFA は、タウリンを「アミノ酸及び関連物質」として、香料評価手順に従いグループ評価している。タウリンの推定摂取量は構造クラス I の摂取許容値を下回るため、現状の摂取レベルにおいて安全性に懸念をもたらすものではないとしている⁴⁾。

4. 結論

本既存添加物は、日本国内で流通しているものについては、安全性に懸念はないと考えられる。

5. 参考資料

- 1) Doull, J., Plzak, V. & Brois, S.J. (1962) A Survey of Compounds for Radiation Protection, Arlington, Virginia: United States Air Force, Armed Services Technical Information Agency. pp. 1-124.
- 2) Takahashi, H., Mori, T., Fujihira, E. & Nakazawa, M. (1972) Long-term feeding of taurine in rats. Pharmacometrics, 6, 529-534.
- 3) Hwang, D.F., Hour, J.L. & Cheng, H.M. (2000) Effect of taurine on toxicity of oxidized fish oil in rats. Food Chem. Toxicol., 38, 585-591.

4) JECFA: Safety evaluation of certain food additives, WHO FOOD ADDITIVES SERIES: 54

(参考資料 1~3 は、参考資料 4 に引用されている)

5) 石館ら：トキシコロジーフォーラム 9, 628-633 (1986)

6) 食品安全委員会：飼料添加物評価書, 2008 年 6 月

7) Laidlaw SA et al., Antimutagenic effects of taurine in a bacterial assay system. Cancer Res. 49, 660-6604 (1989).

8) FDA: GRAS Notice 586, Taurine

9) Cozzi R et al., Taurine and ellagic acid: two differently acting natural antioxidants. Environ. Mol. Mutag., 26, 248-254 (1995).

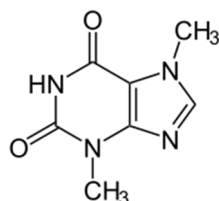
テオブロミン

英名： Theobromine

CAS No. 83-67-0

JECFA No. 該当なし

別名： 該当なし



構造式：

1. 基原・製法

アオギリ科カカオ (*Theobroma cacao* LINNE) の種子、アオギリ科コーラ (*Cola acuminata* SCHOTT et ENDL.) の種子又はツバキ科チャ (*Camellia sinensis* O. KZE.) の葉より、水又はエタノールで抽出し、分離して得られたものである。成分はテオブロミンである。

2. 主な用途

苦味料等

3. 安全性試験の概要

1) 急性毒性試験

経口投与の情報なし

2) 反復投与毒性試験

ラット・マウス・ハムスター（それぞれ系統不明）に、テオブロミンを 28 日間混餌投与した¹⁾。体重、臓器重量、一部臓器の病理組織学的検索が実施された。ラットでは、最低用量 0.2%（雄：94 mg/kg 体重/日、雌：110 mg/kg 体重/日）以上投与群で、胸腺重量の低下が認められ、0.6%群では病理組織学的変化を伴っていた。マウスでは、1.2% (1,800 mg/kg) 群において、死亡率の増加と病理組織学的変化を伴う精巣毒性が認められた。ハムスターでは、最高用量の 1.0% (1,027 mg/kg) 群においても毒性影響は認められなかった。

ラット（系統不明）にテオブロミンを 49 日間混餌投与した結果、精巣毒性に対する無毒性量（NOAEL）は 88 mg/kg 体重/日であった¹⁾。49 日時点で片側精巣を摘出し、さらに 49 日間の回復期間を置いたところ、88 mg/kg 群の残存精巣に傷害は認められなかったが、244 および 334 mg/kg 群では不可逆的な毒性がみられた。

ラットおよびウサギにおいて、児動物に骨格形成遅延が観察され、無毒性量（NOAEL）はそれぞれ 48 および 21 mg/kg 体重/日であった¹⁾。テオブロミンの生殖発生毒性についてレビューした結果、動物での無毒性量（NOAEL）は 50 mg/kg 体重/日と結論された¹⁾。

3) 変異原性試験

情報なし。カフェインの代謝物であり、カフェインの遺伝毒性評価が適用されると考えられる¹⁾。カフェインは香味物質として利用されるときは、遺伝毒性の懸念が無いと評価されている¹⁾。

4) その他

ラットおよびウサギにおいて、児動物に骨格形成遅延が観察され、無毒性量（NOAEL）はそれぞれ 48 および 21 mg/kg 体重/日であった¹⁾。テオブロミンの生殖発生毒性についてレビューした結果、動物での無毒性量（NOAEL）は 50 mg/kg 体重/日と結論された¹⁾。

健康なボランティア計 84 人に、テオブロミン 250、500、1,000 mg を単回経口投与するプラセボ対照二重盲検ランダム化比較試験が実施された¹⁾。有害作用として頭痛および吐き気が、特に 1,000 mg 投与群に多く観察された。500 mg 以上投与群において、心拍数低下が認められた。無毒性量は（NOAEL）250 mg/人と考えられた。

健康なボランティア計 42 人に、飲料に混ぜたテオブロミンを 106,979 mg/日（それぞれ 1.5、14.0 mg/kg 体重/日）の用量で 3 週間投与し、2 週間の休薬期間を設けるプラセボ対照二重盲検交叉比較試験が実施された¹⁾。14.0 mg/kg 体重/日投与群で血圧の有意な変動等が認められた。さらに、ボランティア計 38 人に、飲料に混ぜたテオブロミンを 150、850、1,000 mg/日（それぞれ 2.1、12.1、14.2 mg/kg 体重/日）の用量で 4 週間投与するプラセボ対照二重盲検ランダム化比較試験が実施された¹⁾。有害作用として吐き気、嘔吐、頭痛および下痢が観察され、頻度は 12.1 mg/kg 体重/日以上投与群で高かった。

5) 海外評価書における扱い

EFSA（2017）では、テオブロミンのヒト長期ばく露による毒性影響を評価した報告が存在しないことから、テオブロミンの安全性評価は、カフェインのデータに基づいて実施された¹⁾。経口摂取されたカフェインの約 11%がテオブロミンに変換されること、およびカフェインの参照用量（5.7 mg/kg 体重/日、子供・青年・妊娠中または授乳中の女性に対しては 3 mg/kg 体重/日）から、香味料としてのテオブロミンの参照用量を 0.6 mg/kg 体重/日、子供・青年・妊娠中または授乳中の女性に対しては 0.3 mg/kg 体重/日と設定した

1)。この数値はカフェイン摂取による有害作用を、概ね代謝後のテオブロミンの影響とする仮定に基づくものだが、実際にはテオブロミンの薬理活性はカフェインよりも低く、テオブロミンの有害影響を最大限に見積もった値であるとしている¹⁾。食事からの(カフェイン由来を含む)テオブロミン摂取量の推定値はほとんどの年代で0.3 mg/kg 体重/日を下回った一方、3-10歳の子供における95パーセンタイルは0.5 mg/kg 体重/日に達したが、参照用量は上記の通り保守的な値であり、香料としての摂取量はほとんど無視できるレベルであったことから、香料としてのテオブロミンの使用に安全上の懸念はないと評価されている¹⁾。

テオブロミンを対象とした複数のヒト臨床試験において、有害作用の認められない用量として1.5-2.1 mg/kg 体重/日が報告されているが、投与期間が短いことおよび安全性評価を目的とした試験ではないことから、参考情報に留めている。

IARC (1991) では、テオブロミンの発がん性について、データが不足しているとしてGroup 3 (ヒトに対する発がん性を分類できない) に分類している²⁾。

4. 結論

日本国内ではテオブロミンの使用実績は非常に限られている。従って、現在の流通・摂取状況からみれば、テオブロミンに関しては安全性への懸念はない。

5. 参考資料

- 1) EFSA Panel on Food Contact Materials, Enzymes, Flavourings and Processing Aids (CEF). (2017) Scientific Opinion on Flavouring Group Evaluation 49, Revision 1 (FGE.49Rev1): xanthine alkaloids from the priority list. EFSA Journal, 15(4):4729.
- 2) IARC (International Agency for Research on Cancer): (1991) Coffee, tea, mate, methylxanthines and methylglyoxal. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, 51:41-197.

銅

英名： Copper
CAS No. 7440-50-8
JECFA No. 該当なし
別名： 該当なし
構造式： —

1. 基原・製法

^{63}Cu , ^{65}Cu

2. 主な用途

製造用剤

3. 安全性試験の概要

1) 急性毒性試験

塩化銅：ラット 経口	LD ₅₀ = 140 mg/kg 体重 ¹⁾
硫化銅（無水）：ラット 経口	LD ₅₀ = 300 mg/kg 体重 ¹⁾
ウサギ 経口	LD ₁₀₀ = 50 mg/kg 体重 ²⁾
イヌ 経口	LD ₁₀₀ = 165 mg/kg 体重 ³⁾
ヒツジ 経口	LD ₁₀₀ = 9-20 mg/kg 体重 ⁴⁾
ウマ 経口	LD ₁₀₀ = 125 mg/kg 体重 ⁵⁾
硫化銅（水和物）：ラット 経口	LD ₅₀ = 960 mg/kg 体重 ⁶⁾
硝酸銅：ラット 経口	LD ₅₀ = 940 mg/kg 体重 ¹⁾
酢酸銅：ラット 経口	LD ₅₀ = 710 mg/kg 体重 ⁶⁾
炭酸銅：ラット 経口	LD ₅₀ = 159 mg/kg 体重 ¹⁾
酸化銅：ラット 経口	LD ₅₀ = 470 mg/kg 体重 ⁶⁾

2) 反復投与毒性試験

マウス（系統不明）に硫酸銅を 0.006%（1.52 mg/kg 体重/日）から 1.6%（407 mg/kg 体重/日）の濃度で 14 日間飲水投与した。結果、0.2%以下の群では毒性影響はみられなかったが、0.4%以上の群では対照群と比して成長の遅れがみられ、0.8 および 1.6%群では有意な体重減少、1.6%群ではさらに 80%の動物に死亡が確認された⁷⁾。

21日齢のラット（系統不明）に硫酸銅を0、500、1,000、2,000および4,000 ppmの濃度で4週間混餌投与した。結果、投与群の摂餌量は減少し、銅の1日平均摂取量は各群でそれぞれ5、8、11および8 mg/ratであった。4,000 ppm群では全例が1週間以内に死亡し、2,000 ppm群では4週目に8例中1例が死亡した。4,000 ppm群の死因は摂餌量の減少であると考えられた。500 ppm群では成長率が軽度に減少し、肝臓中の銅濃度が軽度に増加したものの、その他に異常は認められなかった⁸⁾。

90日齢の雄性ラット（系統不明、90-110g）に硫酸銅を100 mg/kg 体重/日の用量で20日間反復経口投与し、最終投与日から24時間絶食した後に安楽殺した。結果、投与群では著しい体重減少が認められ、血液学的検査ではHGB、HCTおよびRBCの有意な減少が認められた。病理組織学的検査では、肝臓における小葉中心帯の肝細胞壊死および小葉辺縁帯の線維化、腎臓における髄質領域の尿細管の壊死および増殖が認められた。肝臓において銅の沈着が小葉中心帯の肝細胞には重度にみられ、辺縁帯では軽度にみられた。腎臓では銅の沈着が遠位尿細管上皮、間質および髄質細胞にみられた⁹⁾。

雌雄ラット（系統不明）に硫化銅を0.135および0.406%（銅としてそれぞれ0.053および0.16%）あるいはグルコン酸銅を1.14%（銅として0.16%）の濃度で44週間混餌投与した（各群25例）。結果、硫化銅0.406%群およびグルコン酸1.14%群において体重増加抑制が26週目から認められた。硫化銅0.406%群では死亡率が上昇し、グルコン酸銅群においても90%が死亡した。血液学検査および尿検査では、硫化銅0.406%群およびグルコン酸銅群において血中非タンパク性窒素濃度が上昇していた一方で、アスコルビン酸の値に変化はみられなかった。グルコン酸銅群では子宮、卵巣および精嚢が肥大しており、グルコン酸銅群および硫化銅0.406%群では胃の大型化・拡張・肥大および潰瘍、腸管粘膜の変色（血色）、腎臓および肝臓の変色（銅色）がみられた。病理組織学的検査では、グルコン酸銅群および硫化銅0.406%群において肝臓、腎臓および精巣に異常がみられた。全投与群における肝臓、腎臓および脾臓において組織中の銅濃度の上昇が認められ、肝臓が最も顕著であった。組織中の鉄濃度がグルコン酸銅群および硫化銅0.406%群において減少していた¹⁰⁾。

離乳した雄性ラット（系統不明）に硫化銅を銅として0.2%の濃度で混餌投与し、1、2、3、6、9および15週後に安楽殺して肝臓および腎臓ならびに血清中酵素活性への影響について検討した。肝臓および腎臓における変化は3つの段階にて確認された。まず組織中の銅濃度が段階的に上昇して細胞障害がみられ、次いで組織中の銅濃度が最大（肝臓：0.3360%、腎臓：0.1447%）となり重度な細胞の崩壊がみられ、最終的には組織中の銅濃度は減少（肝臓：0.2144%、腎臓：0.114%）して組織の再生・修復へと至った。よって、ラットにおいては高濃度の銅投与に対する代謝の適応反応が存在することと考えられた。

対照群の肝臓中の銅濃度は 0.0018%、腎臓では 0.0034%であった¹¹⁾。

ウサギに酢酸銅を 0.2%の濃度で 105 日間混餌投与した。結果、肝臓において種々の程度の硬化および壊死が認められた。肝臓中の銅の濃度は 0.097 から 0.237%であった。投与期間の延長に伴い肝硬変の発生頻度が上昇した¹²⁾。

ブタ (2,000 例) に硫化銅を 0.07%の銅濃度で 10.5 カ月間混餌投与した。結果、400 例が死亡し、死亡直前の症状は食欲不振、体重の減少もしくは増加抑制、衰弱および蒼白であった。肉眼検査および病理組織学的検査では、肝臓における色素沈着 (黄褐色から橙色) および小葉中心性の壊死、胃における噴門部の潰瘍、水様性の血液、骨髄の赤色化および脾臓の骨髄化生がみられた。血液学検査では、小球性低色素性貧血、赤血球グルタチオン濃度の上昇、血清中総鉄結合能の増加および血清中铁濃度の減少がみられた。変化のみられた動物の肝臓中の銅濃度は 0.01 から 0.017%であり、対照群では 0.00008 から 0.00063%であった¹³⁾。

6 から 12 週齢のヒツジに銅を 0.008%の濃度で混餌投与した。結果、中枢神経、特に中脳、橋および小脳の白質においてスポンジ様変性がみられた¹⁴⁾。

雌雄のイヌにグルコン酸銅を 0.012、0.06 および 0.24%の濃度で 1 年間混餌投与した (摂取量はそれぞれ 3、15 および 60 mg/kg 体重/日)。結果、0.24%群の 12 例中 1 例に肝機能の軽度な変化が認められたが、12 週間の休薬によりその変化は消失した。0.24%群では肝臓、腎臓および脾臓に銅の蓄積が認められた。全投与群において投与に関連する死亡、肉眼変化および組織学的変化は認められなかった¹⁵⁾。

3) 変異原性試験

変異原性に関する情報無し。

グルコン酸銅^{16), 17)}、硫酸銅¹⁷⁾およびヨウ化銅¹⁸⁾の遺伝毒性は、Ames 試験および酵母による試験で陰性と報告されている。

グルコン酸銅

Ames 試験：陰性；TA97、TA102 10～1,000 μg/plate (代謝活性化および非代謝活性化)¹⁷⁾

硫酸銅

Ames 試験：陰性；TA97、TA102 10～1,000 μg/plate (代謝活性化および非代謝活性化)¹⁷⁾

4) その他

職業ばく露による銅中毒患者において毛髪の色化および緑色尿が報告されており、また粉塵あるいは蒸気の吸入による **copper fume fever** あるいは **brass chill** が報告されている (ばく露量不明) ¹⁸⁾。重症の広範な皮膚火傷に対して硫酸銅を反復塗布した小児において、血清中の銅、セルロプラスミンおよびアスパラギン酸トランスアミナーゼの上昇を伴う黄疸および重篤な溶血性貧血が報告されている (ばく露量不明) ¹⁹⁾。透析患者における銅中毒として、透析中あるいは透析後に頭痛、悪寒、吐き気、発汗および倦怠感といった症状が報告されている (ばく露量不明) ¹⁹⁻²²⁾。これらの症例では透析機器に銅を含有するチューブ等の部品が含まれており、それらを他の部品と交換することでこれらの症状は消失することが報告されている ²³⁾。

Chuttani らの急性銅中毒の症例報告では、48 例の緊急入院した患者および 5 例の死亡例を扱っている (ばく露経路およびばく露量不明) ²⁴⁾。入院患者において、各症例の正確な銅の摂取量は不明であるが患者らの申告では 1-112 g とされている。臨床症状として、金属味、上腹部の灼熱感、吐き気および緑色物の嘔吐が全症例に、下痢、ヘモグロビン尿および血尿が 30%の症例に、黄疸、乏尿および無尿が 8%の症例に観察されている。入院患者の 48 例中 7 例がショックもしくは肝臓あるいは腎臓の合併症により銅摂取後 24 時間以内に死亡した。全血液中の銅濃度は中毒の重篤度と相関していた (症状軽度：銅濃度 287 ± 126.8 ug/dl、症状重度：銅濃度 798 ± 396 ug/dl)。病理組織学的検査では、胃ならびに腸管粘膜の潰瘍および肝臓における中心静脈の拡張が認められ、肝臓ではさらには様々な程度の細胞死ならびに胆汁栓が観察されている。腎臓では、糸球体のうっ血、尿細管上皮の腫大ならびに壊死およびヘモグロビン円柱が認められている。

Singh らの報告では、硫化銅中毒の 40 症例において全血液中の銅濃度の持続的な上昇がみられ、うち 18 例 (40%) では高度の血中銅濃度と関連した溶血が認められており、さらに 4 例の死亡例中 3 例では重度の血管内容血が観察されている (ばく露量経路およびばく露量不明) ²⁵⁾。

Stain らは 44 歳女性の急性硫化銅中毒の症例を報告している ²⁶⁾。この症例ではアルコール-ジアゼパム中毒に対する治療のため、催吐剤として 10%の硫化銅を 2 および 10 cc (合計 2 g) 投与されている (ばく露経路不明)。剖検では小腸において急性出血性壊死が、肝臓において癒合性の不明瞭な黄色斑がみられており、肝臓中の銅濃度は 0.075%と報告されている (正常な銅の肝臓中濃度は 0.0008%)。腎臓では急性の尿細管壊死および円柱が認められている。

Chugh らは、急性硫化銅中毒の 29 例中 11 例 (摂取量：1-50 g) に急性腎不全がみら

れたことを報告している（ばく露経路不明）²⁷⁾。急性腎不全を発症した 11 例全例に重度な血管内溶血がみられ、これがその発症と最も関連の強い因子と考えられている。病理組織学的には尿細管の消失ならびに再生、間質の浮腫および散発性の炎症細胞浸潤が認められ、症状が回復した症例では扁平な上皮に裏打ちされた拡張した尿細管が認められている。

World Health Organization (WHO) は硫化銅、塩化銅、炭酸銅、水酸化銅および塩基性塩化銅を含む種々の銅塩のヒトの致死量は約 200 mg/kg 体重であると結論した²⁸⁾。銅に対する感受性に大きな個人差があることは明白である。

食料あるいは飲料からのばく露による銅中毒も報告されており、Nicholas の報告では 20 人の労働者がお茶から銅にばく露され、症状として吐き気、嘔吐および下痢が認められている（ばく露量不明）²⁹⁾。汚染源はガス湯沸かし器であり、お茶中の銅濃度は 0.003% であった。

McMullen は清涼飲料水（オレンジスカッシュおよびライムジュースコーディアル）から銅にばく露された 10 症例を報告している（ばく露量不明）³⁰⁾。これらの飲料のボトルの注ぎ口にはクロムにメッキされた銅製のチューブが付属しており、そのチューブは緑色に変色していた。銅の濃度はオレンジスカッシュで 0.019%、ライムジュースコーディアルで 0.0222% であった。これらの飲料は酸性であるため銅がチューブ内に溶出したものと考えられた。Witherell とも酸性の飲料からの銅のばく露による胃腸炎を報告している（ばく露量不明）³¹⁾。

銅の慢性中毒の報告は限定的である。慢性銅中毒の可能性が考えられる症例が Salmon らにより報告されており、15 ヶ月齢の男児において入院前の 5 週間にわたり行動の変化、下痢および進行性の marasmus が観察されている（ばく露経路およびばく露量不明）³²⁾。

Pratt らの報告では、7 人のヒトにグルコン酸銅を銅として 10 mg/ヒト/日の用量で 12 週間投与した結果、血清、尿ならびに毛髪中の銅濃度、血清中の亜鉛、Mg、HCT、中性脂肪、アスパラギン酸トランスアミナーゼ、アラニントランスアミナーゼ、乳酸脱水素酵素、CHO および ALP に影響はみられず、吐き気、下痢および胸焼けといった症状も対照群と同程度であった³³⁾。

5) 海外評価書における扱い

JECFA では食品汚染物質として評価されており、ADI（1 日許容摂取量）は設定していないが、PMTDI（暫定最大 1 日耐容摂取量）は 0.05-0.5 mg/kg 体重と評価している

34)。食品中の銅濃度は栄養要求量（大人：2-3 mg/日、小児：0.5-0.7 mg/日）を満たしており、また銅はヒトおよび動物に発がん性を示さず、塩化銅はげっ歯類において胎児毒性を示さないとしている。さらに、ウィルソン病患者を除き銅の高ばく露地域において銅が有害作用を示す可能性は低く、銅が蓄積することにより有害作用を示す可能性も低いとしている。

EU では Pratt らの報告における銅の 10 mg/ヒト/日の 12 週間投与により毒性影響がみられなかったという結果に基づき³³⁾、潜在的な個体差を考慮して不確実係数を 2 とし、許容上限摂取量 (UL) を 5 mg/ヒト/日としている。また、17 歳以下のヒトについてはより低い UL を年齢層別に別途設定してある³⁵⁾。

4. 結論

食品安全委員会ではグルコン酸銅について食品健康影響評価を実施しており、結果を以下のように記載している³⁷⁾。

我が国では、グルコン酸類として、グルコン酸銅の他、グルコノデルタラクトン、グルコン酸、グルコン酸亜鉛、グルコン酸カリウム、グルコン酸カルシウム、グルコン酸第一鉄及びグルコン酸ナトリウムが食品添加物として指定されており、グルコン酸類（グルコノデルタラクトン、グルコン酸カルシウム、グルコン酸マグネシウム、グルコン酸カリウム及びグルコン酸ナトリウム）については、1998 年に JECFA において ADI を「特定せず」と評価している。

グルコン酸銅については、銅としての摂取を評価することが適当であり、また、銅はヒトにとって必須元素であることを踏まえ、銅の UL について評価を行った。成人で銅を摂取した際の副作用の報告が見当たらないことから、銅について LOAEL は確立されていない。

ヒトに 1 日 10 mg のグルコン酸銅を 12 週間投与した結果、影響は認められていない。米国医学学会 (IOM) 及び EU もこの値を NOAEL と評価している。

JECFA は、銅について ADI を設定していないが、1982 年にイヌの 1 年間反復投与試験における NOEL を約 5 mg/kg 体重/日とし、これに基づき、暫定 MTDI を 0.05 ~ 0.5 mg/kg と評価している。

これまでの我が国の UL は 9 mg/ヒト/日と設定されているが、この値は、ヒト 12 週間投与試験の NOAEL 10 mg/ヒト/日より小さい値であり、今回入手した情報からは、これを変更する必要はないと考えられることから、グルコン酸銅の UL は銅として 9 mg/ヒト/日と評価した。

なお、今回評価を行った UL は成人を対象としたものであり、乳幼児～小児が過剰に銅を摂取することがないように、適切な注意喚起が行われるべきである。

また、その他として、成人においても、今後、銅の過剰摂取が生じないように注意が必要であり、実際の摂取量の把握及びその結果を踏まえた措置の検討も必要と考えられる、としている。

5. 参考資料

- 1) Spector W. S. (1956) In: Handbook of toxicology, Vol. 1 Acute Toxicities of Solids, Liquids and Gases to Laboratory Animals, Philadelphia. London. W. B. Saunders Company. 76-77.
- 2) Eden A. and Green H. H. (1939) The fate of copper in the blood stream. J. Compo Pathol. Ther., 52, 301.
- 3) Gubler C. J. et al. (1953) Studies of copper metabolism. IX. The transportation of copper in blood. J. Clin. Invest., 32, 405-414.
- 4) Buck W. B., Osweiler G. D. and van Gelder G. A. (1973) Clinical and diagnostic veterinary toxicology, Dubuque, Iowa, Kendall/Hunt Publ.
- 5) Bauer M. (1975) Copper sulfate poisoning in horses. Vet. Arch., 45, 257.
- 6) Smyth H. F. Jr et al. (1969) Bange-finding toxicity data. List, VII. Am. Ind. Hyg. Assn. J., 39, 849-945.
- 7) Kojima R. and Tanaka E. (1973) Effect of oral administration of copper sulfate on mice. Exp. Animal (Tokyo), 22, 247-250.
- 8) Boyden R., Potter V. R. and Elvehjem C. A. (1938) Effect of feeding high levels of copper to albino rats. J. Nutr., 15, 397.
- 9) Rana S. V. S. and Kumar A. (1980) Biological, hematological and histological observations in copper poisoned rats. Ind. Health, 18, 9-17.
- 10) Harrison J. W. E., Levin S. E. and Travin B. (1954) The safety and fate of potassium sodium copper chlorophyll in and other copper compounds. J. Amer. Pharm. Asso. Sci. Ed., 43. 722-737.
- 11) Haywood S. (1980) The effect of excess dietary copper on the liver and kidney of the male rat. J. Compo Path., 90, 217-232.

- 12) Wolff S. M. (1960) Copper deposition in the rat. *A.M.A. Arch. Path.*, 69, 217-223.
- 13) Hatch R. C. et al. (1979) Chronic copper toxicosis in growing swine. *J. Am. Vet. Med. Asso.*, 174, 616-619.
- 14) Doherty P. C., Barlow R. M. and Angus K. W. (1969) Spongy changes in the brains of sheep poisoned by excess dietary copper. *Res. Vet. Sci.*, 10, 303-304.
- 15) Shanaman J. E., Wazeter F. X. and Goldenthal E. I. (1972) One year chronic oral toxicity of copper gluconate, W10219A, in beagle dogs. *Bes. Rept. No. 955-0353*. Warner-Lanbert *Bes. Inst.*, Morris Plains, N.J
- 16) Litton Bionetics, Inc. (1975) Mutagenic evaluation of compound FDA 71-62: Copper gluconate. LBI Project No. 2468. Litton Bionetics, Inc., Kensington, MD
- 17) Litton Bionetics, Inc. (1977) Mutagenicity evaluation of FDA 75-70: Cuprous iodide (technical). LBI Project No. 2672. Litton Bionetics, Inc., Kensington, MD
- 18) Bureau of Mines (1953) Information circular, No. 7666.
- 19) Holtzman N. A., Elliott D. A. and Heller R. H. (1966) Copper intoxication. Report of a case with observations on ceruloplasmin. *N.E. J. Med.*, 276, 1209-1210.
- 20) Lyle W. H. (1967) Chronic dialysis and copper poisoning. *N. Engl. J. Med.*, 276, 1209-1210.
- 21) Blomfield J., Dixon S. R. and McCredie D. A. (1971) Potential hepatotoxicity of copper in recurrent hemodialysis. *Arch. Intern. Med.*, 128, 555-560.
- 22) Mahler D. J., Walsh J. R. and Haynie G. D. (1971) *Amer. J. Clin. Path.*, 56, 17.
- 23) Klein W. J. Jr, Metz F. N. and Price A. R. (1972) Acute copper intoxication. *Arch. Intern. Med.*, 129, 578-582.
- 24) Chuttani H. K. et al. (1965) Acute copper sulfate poisoning. *Am. J. Med.*, 39, 849-845.
- 25) Singh M. M. and Singh G. (1968) Biochemical changes in blood in cases of acute copper sulfate poisoning. *J. Indian Med. Asso.*, 50, 549-554.
- 26) Stein B. S., Jenkins D. and Kornis M. E. (1976) Death after use of cupric sulfate as emetic. *J. Am. Med. Asso.*, 235, 801.

- 27) Chugh K. S. et al. (1977) Acute renal failure following copper sulfate intoxication, *Postgrad. Med. J.*, 53, 18-23.
- 28) World Health Organization (1974) Toxicological evaluation of some food additives including anticaking agents, antimicrobials, antioxidants, emulsifiers and thickening agents: Cupric sulfate, WHO Food Additives Series No.5.
- 29) Nicholas P. O. (1968) Food-poisoning due to copper in the morning tea. *Lancet*, 2, 40-42.
- 30) McMullen W. (1971) Copper contamination in soft drinks from bottle pourers. *Health Bull.*, 29, 94-96.
- 31) Witherell L. E., Watson W. N. and Giguere, G. C. (1980) Outbreak of acute copper poisoning due to soft drink dispensers. *Am. J. Public Health*, 70, 1115.
- 32) Salmon M. A. and Wright T. (1971) Chronic copper poisoning presenting as pink disease. *Arch. Dis. Child.*, 46, 108-110.
- 33) Pratt W.B., Omdahl J.L., and Sorenson J.R. (1985) Lack of effects of copper gluconate supplementation. *Am. J. Clin. Nutr.*, 42, 681-682.
- 34) Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (1982) WHO Technical Report Series 683.
- 35) European Food Safe Authority (2003) Opinion of the Scientific Committee on Food on the Tolerable Upper Intake Level of Copper.
(参考資料 33 は、参考資料 35 に引用されている)
- 36) Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO Food Additives Series 17, <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v17je31.htm> (January, 2019)
(参考資料 1～15 および 18～32 は、参考資料 36 に引用されている)
- 37) 食品安全委員会: 添加物 グルコン酸銅の使用基準改正に係る食品健康影響評価に関する審議結果, 平成 16 年 5 月 27 日府食第 588 号
<https://www.fsc.go.jp/fsciis/evaluationDocument/show/kya20031202104>

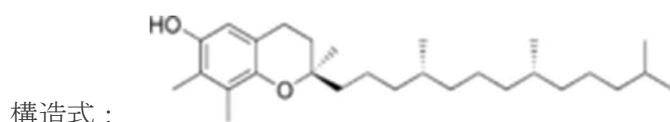
d-γ-トコフェロール

英名： d-γ-Tocopherol

CAS No. 54-28-4

JECFA No. 該当なし

別名： γ-Vitamin E



1. 基原・製法

油糧種子から得られた植物性油脂又はミックストコフェロール（植物性油脂から得られた d-α-トコフェロール、d-β-トコフェロール、d-γ-トコフェロール及び d-δ-トコフェロールを主成分とするものをいう）から分離して得られた、d-γ-トコフェロールを主成分とするものである。食用油脂を含むことがある。

2. 主な用途

酸化防止剤、強化剤

3. 安全性試験の概要

1) 急性毒性試験

経口投与の情報なし

2) 反復投与毒性試験

天然型である d-γ-トコフェロールを用いた試験の情報はなく、合成型の dl-γ-トコフェロールを用いた試験情報のみ認められる。

Wistar ラット（雌雄各群 6 匹）に、無処置群に加え、大豆オイルを溶媒として 0、800、1,600（雌のみ）mg/kg 体重/日の dl-γ-トコフェロールを 13 週間強制経口投与した。雌の両投与群では、血小板数、総脂質、T-CHO の有意な低下及び CK の増加、雌の 1,600 mg/kg 群では、BIL、ALT 及び肝臓と脾臓の絶対及び相対重量の増加を認めた。雄の 800 mg/kg 群（唯一の投与群）では、CK 及び ALT の増加を認めた。雌雄の投与群で、腸間膜リンパ節に貪食細胞の凝集を認めた。著者等は貪食細胞の凝集及び肝重量の増加は、それぞれ被験物質に対する生理的反応及び適応反応として判断した。NOAEL は得られなかった¹⁾。

Syrian golden ハムスター（雌雄各群 10 匹）に、無処置群に加え、大豆オイルを溶媒として 0、2,000 mg/kg 体重/日の dl- γ -トコフェロールを少なくとも 28 日間強制経口投与した。雌雄の投与群では、APTT 及び PT の有意な延長を認めた。雌の投与群では、総脂質、T-CHO 及び PL の有意な低下がみられた。著者等は、こられはトコフェロールのよく知られた作用としている。雄の投与群では、Cre の増加を認めた²⁾。

Syrian golden ハムスター（雌各群 10 匹）に、無処置群に加え、大豆オイルを溶媒として 0、800 mg/kg 体重/日の dl- γ -トコフェロールを 13 週間強制経口投与した。APTT 及び PT の有意な延長並びに BIL、ALP 及び γ -グルタミルトランスフェラーゼの有意な増加を認めた。腸間膜リンパ節に貪食細胞の凝集も認めた。動物の匹数及び投与群は限定的であるが¹⁾、EFSA panel は本試験の NOAEL は 800 mg/kg 体重/日以下としている³⁾。

3) 変異原性試験

Ames 試験、染色体異常試験及び *in vivo* 小核試験が実施されており、全て陰性と報告されている⁴⁾。

Ames 試験：陰性；5,000 μ g/plate

染色体異常試験：陰性；5,000 μ g/mL

小核試験：陰性；2,000 mg/kg 体重

4) その他

毒性が懸念される報告はない。

5) 海外評価書における扱い

JECFAでは、dl 体及びd 体の α -tocopherolのデータをもとに、グループADI として、0.15-2 mg/kg体重/日と設定している。Tocopherol concentrate, mixedとして d-alpha-, d-beta-, d-gamma-, d-delta-tocopherolsを含むとしている⁵⁾。

欧州食品安全機関（EFSA）では、利用可能な毒性データが限られているため、ADI を設定することはできないが、ビタミンEは食品として広く摂取される必要な栄養素であり、現在の食品添加物としての用途及び使用濃度では、トコフェロール類(E 306～E 309, tocopherol-rich extract of natural origin (E 306), synthetic α -tocopherol (*all-rac*- α -tocopherol; *dl*- α -tocopherol; E 307), synthetic γ -tocopherol (*dl*- γ -tocopherol; E 308) and synthetic δ -tocopherol)に安全性の懸念はないとしている³⁾。

4. 結論

本既存添加物は、日本国内で流通しているものについては、安全性に懸念はないと考え

られる。

5. 参考資料

- 1) Pfister T, Pfannkuch F, Wolz E and Richard D, 1999d. RRR- α -tocopheryl acetate (Ro 01-4147) and all-rac- γ -tocopherol (Ro 01-4159): 13-week oral toxicity (gavage) study in the rat and in the hamster (974V98). Unpublished report submitted by DSM, June 2010.
- 2) Pfister T, Pfannkuch F, Wolz E and Richard D, 1999d. RRR- α -tocopheryl acetate (Ro 01-4147) and all-rac- γ -tocopherol (Ro 01-4159): 28-day oral toxicity (gavage) study in the hamster (973V98). Unpublished report submitted by DSM, March 2010.
- 3) EFSA ANS Panel (EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food), 2015. Scientific Opinion on the re-evaluation of tocopherol-rich extract (E 306), α -tocopherol (E 307), γ -tocopherol (E 308) and δ -tocopherol (E 309) as food additives. EFSA Journal 2015;13(9):4247, 118 pp. doi:10.2903/j.efsa.2015.4247
Available online:
<https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2015.4247> (参考資料 1 および 2 は、参考資料 3 に引用されている)
- 4) 林、田中：食品衛生学雑誌 46, 5, 177-184 (2005)
- 5) JECFA: 30th meeting (1986) WHO Food Additives Series 21, TRS 751
<http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v21je05.htm>
http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/jecfa_additives/docs/Monograph1/additive-469-m1.pdf

小核試験：陰性；2,000 mg/kg 体重

<海外報告>²⁾

Ames 試験：陰性；TA100、TA1535、TA98、TA97、TA102 5～5,000 µg/plate (代謝活性化および非代謝活性化)

染色体異常試験：陰性；ヒトリンパ球、75～1,800 µg/mL (代謝活性化および非代謝活性化)

骨髄小核試験：陰性；マウス、30 もしくは 1,000 mg/kg 体重/日で 50 週経口投与

SCE 試験：陰性；マウス、30 もしくは 1,000 mg/kg 体重/日で 50 週経口投与

4) その他

毒性が懸念される報告はない。

5) 海外評価書における扱い

JECFAでは、*dl* 体及び*d* 体の α -tocopherolのデータをもとに、グループADI として、0.15-2 mg/kg体重/日と設定している。Tocopherol concentrate, mixedとして *d*- α -, *d*- β -, *d*- γ -, *d*- δ -tocopherolsを含むとしている³⁾。

欧州食品安全機関 (EFSA) では、利用可能な毒性データが限られているため、ADIを設定することはできないが、ビタミンEは食品として広く摂取される必要な栄養素であり、現在の食品添加物としての用途及び使用濃度では、トコフェロール類(E 306～E 309, tocopherol-rich extract of natural origin (E 306), synthetic α -tocopherol (*all-rac*- α -tocopherol; *dl*- α -tocopherol; E 307), synthetic γ -tocopherol (*dl*- γ -tocopherol; E 308) and synthetic δ -tocopherol)に安全性の懸念はないとしている²⁾。

4. 結論

本既存添加物は、日本国内で流通しているものについては、安全性に懸念はないと考えられる。

5. 参考資料

1) 林、田中：食品衛生学雑誌 46, 5, 177-184 (2005)

2) EFSA ANS Panel (EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food), 2015. Scientific Opinion on the re-evaluation of tocopherol-rich extract (E 306), α -tocopherol (E 307), γ -tocopherol (E 308) and δ -tocopherol (E 309) as food additives. EFSA Journal 2015;13(9):4247, 118 pp. doi:10.2903/j.efsa.2015.4247

Available online: <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2015.4247>

- 3) JECFA: 30th meeting (1986) WHO Food Additives Series 21, TRS 751,
<http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v21je05.htm>
http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/jecfa_additives/docs/Monograph1/additive-469-m1.pdf

トランスグルコシダーゼ

英名： Transglucosidase

CAS No. 9030-12-0

JECFA No. 該当なし

別名： 該当なし

構造式： —

1. 基原・製法

糸状菌 (*Aspergillus niger* 及び *Aspergillus usamii* に限る) 又は細菌 (*Sulfolobus solfataricus* に限る) の培養物から得られた、マルトースやオリゴ糖のグルコシド結合を加水分解し、同時にグルコシル基を転移する酵素である。食品 (賦形、粉末化、希釈、安定化、保存又は力価調整の目的に限る) 又は添加物 (賦形、粉末化、希釈、安定化、保存、pH 調整又は力価調整の目的に限る) を含むことがある。

2. 主な用途

酵素

3. 安全性試験の概要

1) 急性毒性試験

経口投与の情報なし

2) 反復投与毒性試験

反復投与毒性に関する情報なし

3) 変異原性試験

Ames 試験、染色体異常試験及び *in vivo* 小核試験が実施されており、全て陰性と報告されている¹⁾。

Ames 試験：陰性；5,000 µg /plate

染色体異常試験：陰性；5,000 µg /mL

小核試験：陰性；2,000 mg/kg 体重

4) その他

5) 海外評価書における扱い

米国 FDA は、*Aspergillus niger* 由来トランスグルコシダーゼ遺伝子を導入した糸状菌 (*Trichoderma reesei*) の培養物から得られたトランスグルコシダーゼについて、GRAS (GRN 315 および 703) としている^{2,3)}。

オーストラリア・ニュージーランド食品基準機関 (FSANZ) は、遺伝子修飾のない *Aspergillus niger* 株由来のトランスグルコシダーゼについて、”From the available information, it is concluded that the use of the transglucosidase from this source as a processing aid would pose no significant public health and safety risk.”としている⁴⁾。

フランス食品衛生安全庁 (AFSSA) は、非遺伝子組換え *Aspergillus niger* 株由来の α -グルコシダーゼ (トランスグルコシダーゼ) を、デンプンを含む調理済み食品の製造に使用する認可範囲拡大について、申請者の申請条件で使用しても消費者の健康リスクは無いと判断している⁵⁾。

4. 結論

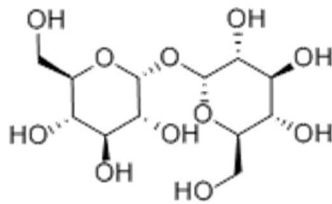
本既存添加物は、日本国内で流通しているものについては、安全性に懸念はないと考えられる。

5. 参考資料

- 1) 林、田中：食品衛生学雑誌 46, 5, 177-184 (2005)
- 2) FDA: GRAS Notice GRN 315. U.S. Food and Drug Administration. 2010.
- 3) FAD: GRAS Notice GRN 703. U.S. Food and Drug Administration. 2017.
- 4) Final Assessment Report: Application A466 Food Enzyme, Transglucosidase. Food Standard Australia New Zealand. 2003.
- 5) Agence française de sécurité sanitaire des aliments. 2009.

トレハロース

英名： Trehalose
CAS No. 99-20-7（無水物）
6138-23-4（二水和物）
JECFA No. 該当なし
別名： 該当なし



構造式： （無水物）

1. 基原・製法

担子菌（*Agiricus* 等）、細菌（*Arthrobacter*、*Brevibacterium*、*Pimelobacter*、*Pseudomonas*、*Thermus* 等）又は酵母（*Saccharomyces* 等）の培養ろ液又は菌体より、水若しくはアルコールで抽出して得られたもの、これを酵素によるでん粉の糖化液より分離して得られたもの、又はマルトースを酵素処理して得られたものである。成分はトレハロースである。

2. 主な用途

製造用剤

3. 安全性試験の概要

1) 急性毒性試験

マウス、ラットおよびイヌを用いた経口投与による急性毒性試験が実施されているが、いずれの試験においても死亡例はなく、被験物質に起因する毒性影響もみられなかった。

マウス (CD-1) 経口 LD₅₀ > 5,000 mg/kg 体重¹⁾

ラット 経口 LD₅₀ > 16,000 mg/kg 体重²⁾

ビーグル犬 経口 LD₅₀ > 5,000 mg/kg 体重³⁾

2) 反復投与毒性試験

Hanlbm.NMRL マウス (雌雄各群 20 匹) に、トレハロース (純度 99.2%) を 0、5,000、15,000、50,000 mg/kg (雄 : 0、760、2,200、7,300 mg/kg 体重/日、雌 : 0、910、2,700、9,300 mg/kg 体重/日に相当) の濃度で 13 週間混餌投与した。被験物質に起因する毒性影響はみられず、NOEL は雄の最高用量の 7,300 mg/kg 体重/日と考えられた⁴⁾。

ビーグル犬 (雌雄各群 3 匹) に、トレハロース (純度不記載) を 5,000 mg/kg 体重/日の用量で 14 日間カプセル経口投与実施したところ、被験物質に起因する毒性影響はみられなかった⁵⁾。

3) 変異原性試験

Ames 試験、染色体異常試験及び *in vivo* 小核試験が実施されており、全て陰性と報告されている⁶⁾。

Ames 試験 : 陰性 ; TA100、TA1535、WP2 *uvrA*、TA98、TA1537 310~5,000 µg/plate (代謝活性化および非代謝活性化)

染色体異常試験 : 陰性 ; CHO 細胞、1,250~5,000 µg/mL (代謝活性化および非代謝活性化)

小核試験 : 雌雄マウス : 陰性 ; 1,250~5,000 mg/kg 体重

4) その他

Wistar ラットを用いた二世代繁殖毒性試験を実施したところ、被験物質に起因する毒性影響はみられず、NOEL は最高用量の 5,000 mg/kg 体重/日と考えられた⁷⁾。

また、Wistar ラットとニュージーランドホワイトウサギを用いた発生毒性試験を実施したところ、いずれも被験物質に起因する毒性影響はみられず、NOEL はそれぞれ最高用量の 6,900 mg/kg 体重/日、2,800 mg/kg 体重/日と考えられた^{8),9)}。

5) 海外評価書における扱い

JECFA では ADI not specified とされている¹⁰⁾。

4. 結論

本既存添加物は、日本国内で流通しているものについては、安全性に懸念はないと考えられる。

5. 参考資料

- 1) Atkinson, J.E. & Thomas, B.J. (1994a) An acute toxicity study of trehalose in the

- albino mouse. Unpublished report No. 434 from Frederick Research Centre, Frederick, Maryland, USA. Submitted to WHO by Bioresco Ltd, Switzerland.
- 2) McRae, L.A. (1995) Trehalose crystals. Acute oral toxicity to the rat. Unpublished report from Huntingdon Research Centre Ltd, Huntingdon, United Kingdom. Submitted to WHO by Bioresco Ltd, Switzerland.
 - 3) Atkinson, J.E. & Thomas, B.J. (1994c) An acute toxicity study of trehalose in the beagle dog. Unpublished report No. 436 from Frederick Research Centre, Frederick, Maryland, USA. Submitted to WHO by Bioresco Ltd, Switzerland.
 - 4) Schmid, H., Biedermann, K., Luetkemeier, H., Weber, K. & Wilson, J. (1998) Subchronic 13-week oral toxicity (feeding) study with trehalose in mice. Unpublished report (RCC Project 639213) from Research Consulting Company, Ittingen, Switzerland. Submitted to WHO by Bioresco Ltd, Switzerland.
 - 5) Atkinson, J.E. & Thomas, B.J. (1994f) A 14-day toxicity study of trehalose in the beagle dog (Study No. 460), Unpublished report No. 460 from Frederick Research Centre, Frederick, Maryland, USA. Submitted to WHO by Bioresco Ltd, Switzerland.
 - 6) JECFA: WHO Technical Report Series 46 (2000)
(参考資料 1～5 および 7～10 は、参考資料 6 に引用されている)
 - 7) Wolterbeek, A.P.M. & Waalkens-Berendsen, D.H. (1999a) Oral two-generation reproduction study with trehalose in rats. Unpublished report No. V99.280 from TNO Nutrition and Food Research Institute, Zeist, Netherlands. Submitted to WHO by Bioresco Ltd, Switzerland.
 - 8) Waalkens-Berendsen, D.H. (1998) Oral embryotoxicity/teratogenicity study with trehalose in rats. Unpublished report No. V98.551 from TNO Nutrition and Food Research Institute, Zeist, Netherlands. Submitted to WHO by Bioresco Ltd, Switzerland.
 - 9) Wolterbeek, A.P.M. & Waalkens-Berendsen, D.H. (1999b) Oral embryotoxicity/teratogenicity study with trehalose in New Zealand white rabbits. Unpublished report No. V98.797 from TNO Nutrition and Food Research Institute, Zeist, Netherlands. Submitted to WHO by Bioresco Ltd, Switzerland.

10) JECFA: WHO Technical Report Series 901 (2001)

パーオキシダーゼ

英名： Peroxidase
CAS No. 9003-99-0
JECFA No. 該当なし
別名： 該当なし
構造式： —

1. 基原・製法

キュウリ (*Cucumis sativus* L.)、セイヨウワサビ (*Armoracia rusticana* P. Gaertn. 及び B. Mey. & Scherb.)、ダイコン (*Raphanus sativus* L.) 若しくはダイズ (*Glycine max* (L.) Merr.)、又は担子菌 (*Coprinus cinereus*)、糸状菌 (*Alternaria* 属、*Aspergillus oryzae* 及び *Oidiodendron* 属に限る)、放線菌 (*Streptomyces thermoviolaceus* 及び *Streptomyces violaceoruber* に限る) 若しくは細菌 (*Bacillus* 属に限る) の培養物から得られた、過酸化水素を還元分解する酵素である。食品(賦形、粉末化、希釈、安定化、保存又は力価調整の目的に限る)又は添加物(賦形、粉末化、希釈、安定化、保存、pH調整又は力価調整の目的に限る)を含むことがある。

2. 主な用途

酵素

3. 安全性試験の概要

1) 急性毒性試験

経口投与の情報なし

2) 反復投与毒性試験

Wistar ラット(雌雄各群 10 匹)に遺伝子修飾 *Aspergillus niger* 由来パーオキシダーゼ (tox-batch: DBL.GRZ.0914) を 0、0.7%、2%及び 4% (6、17、35 mg TOS あるいは 457、1,306、2,611 DBLU/g 飼料相当)の用量で 90 日間混餌投与したところ、被験物質に起因する毒性影響はみられず、NOAEL は 2,300 mg/kg 体重/日 (約 2,000 mg TOS あるいは 150,000 DBLU/kg 体重/日) と考えられた¹⁾。

3) 変異原性試験

Ames 試験及び染色体異常試験が実施されており、全て陰性と報告されている²⁾。

Ames 試験：陰性；TA100、TA1535、WP2uvrA、TA98、TA1537 62～5,000 µg/plate
(代謝活性化および非代謝活性化)

染色体異常試験：陰性；ヒトリンパ球、625～5,000 µg/mL (代謝活性化および非代謝活性化)

4) その他

毒性が懸念される報告はない。

5) 海外評価書における扱い

米国 FDA は、DSM からのデータ¹⁾に基づき、2012 年に遺伝子修飾 *Aspergillus niger* 由来パーオキシダーゼについて、現在の使用においては GRAS であるとしている²⁾。

欧州食品安全機関 EFSA は、大豆の外皮由来の食品用酵素のパーオキシダーゼの安全性評価に関して、科学的意見書を公表した³⁾。当該パーオキシダーゼは、ベーキング工程に使用することを意図している。最大推奨使用レベルに基づき、食品用酵素の総有機固形物(TOS)への摂食由来のばく露量を、EFSA の包括的欧州食品摂取データベースの個々のデータを基にして推定した。この推定ばく露量は、全大豆由来の食品の摂取量の結果から、食品用酵素の TOS に相当する大豆の分画へのばく露量よりもおよそ一桁低い。当該食品用酵素は、大豆の食用部分由来のため、食品用酵素の評価に関する指針書の必要条件に合致して、「食品接触材料、酵素、香料及び加工助剤に関する科学パネル」(CEF パネル)は、毒性学的データの提供は不必要であると結論付けた。

アレルギーの可能性は、Uniprot(訳注：たん白質の配列と機能に関する情報を提供するデータベース)のデータベースで検索した大豆のパーオキシダーゼのアミノ酸配列と既知のアレルゲンのアミノ酸配列間の類似性を検索することにより評価し、合致するものは見出されなかった。大豆の外皮由来のパーオキシダーゼは、アレルゲンのデータベースにおいて、アレルゲンとして記載されていない。しかしながら、幾つかの大豆及び大豆の外皮のたん白質は、呼吸器系又は食品のアレルゲンとして知られている。

大豆の食用部位由来の当該食品用酵素の起源、製造工程、提供された組成及び生化学データ並びに推定摂取量に基づき、CEF パネルは、当該食品用酵素が意図した使用条件下では安全性の懸念を引き起こさないと結論付けた。しかしながら、当該食品用酵素は、アレルギーを引き起こす大豆たんぱく質を含んでいる可能性があり、従って、大豆アレルギーに感受性の高い人においては、有害な反応が排除できないことに CEF パネルは留意した⁴⁾。

4. 結論

基原にダイズが含まれているため、アレルギーの可能性は考えられるが、現状の使用において、ヒト健康影響に対する安全上の懸念は認められなかった。

5. 参考資料

- 1) DSM (2011) Unpublished report submitted to FDA, United States.
- 2) FDA (2012): Agency response letter GRAS notice No. GRN 000402,
<https://wayback.archive-it.org/7993/20171031002315/https://www.fda.gov/Food/IngredientsPackagingLabeling/GRAS/NoticeInventory/ucm332201.htm#main>
- 3) EFSA Panel on food contact materials, enzymes, flavourings and processing aids (2017) Safety evaluation of the food enzyme peroxidase obtained from soybean (*Glycine max*) hulls. *EFSA Journal*, 15 (12), 5519.
<http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/5119>
- 4) 食品安全委員会：食品安全関係情報 syu04850090149, (2017)
<http://www.fsc.go.jp/fsciis/foodSafetyMaterial/show/syu04850090149>

フィターゼ

英名： Phytase
CAS No. 9001-89-2 (6-Phytase)
JECFA No. 該当なし
別名： 該当なし
構造式： —

1. 基原・製法

糸状菌 (*Aspergillus niger* に限る) の培養物から得られた、フィチン酸を分解する酵素である。食品 (賦形、粉末化、希釈、安定化、保存又は力価調整の目的に限る) 又は添加物 (賦形、粉末化、希釈、安定化、保存、pH 調整又は力価調整の目的に限る) を含むことがある。

2. 主な用途

フィターゼは、フィチン酸を分解して、無機リンを遊離する酵素群の総称であり、デンプンの加工助剤として用いられる¹⁾。

3. 安全性試験の概要

1) 急性毒性試験

経口投与の情報なし

2) 反復投与毒性試験

SD ラット (雌雄各群 10 匹) にフィターゼ (6-フィターゼ、SP 938, PPQ 5938、*Peniophora lycii* から分離したフィターゼ遺伝子から *Aspergillus niger* により製造) を 0、1、3 又は 10 mg/kg 体重/日 (それぞれ 0、0.11、0.32 又は 1.07 mg TOS/kg 体重/日相当) を 13 週間強制経口投与したところ、被験物質に起因する毒性影響はみられず、NOEL は 10 mg/kg 体重/日と考えられた¹⁾。

3) 変異原性試験

Ames 試験、培養細胞を用いた染色体異常試験及び小核試験が実施されており、Ames 試験で陽性、染色体異常試験で構造異常が観察されているが、Ames 試験陽性は被検物質にヒスチジンが含まれているための偽陽性と考えられ、また、小核試験が陰性であることから、生体における染色体異常誘発性は無いと考えられる³⁾。

Ames 試験：偽陽性；5,000 µg/plate。TA100(代謝活性化および非代謝活性化)、TA1535(代謝活性化)、TA98 (代謝活性化および非代謝活性化) で陽性であるが、被検物質にヒスチジンが含まれているための偽陽性と考えられる。

染色体異常試験：陽性；構造異常(非代謝活性化)；5,000 µg/mL

小核試験：陰性；2,000 mg/kg 体重

4) その他

情報なし

5) 海外評価書における扱い

オーストラリア食品安全基準 (Australian Food Standards Code) において、*Aspergillus niger*由来のフィターゼは評価され、食品グレード酵素 (food grade enzyme) としての使用が許可されている¹⁾。

4. 結論

本既存添加物は、日本国内で流通しているものについては、安全性に懸念はないと考えられる。

5. 参考資料

- 1) Australia New Zealand Food Authority, Full Assessment Report, Application A371-Phytase as a processing aid.
- 2) 林ら：食品衛生学雑誌 46, 177-184 (2005)

ホスホジエステラーゼ

英名： Phosphodiesterase
CAS No. 9025-82-5
JECFA No. 該当なし
別名： 該当なし
構造式： —

1. 基原・製法

糸状菌 (*Aspergillus niger*, *Leptographium procerum* 及び *Penicillium citrinum* に限る。) 又は放線菌 (*Streptomyces aureus*, *Streptomyces avermitilis*, *Streptomyces cinnamoneus*, *Streptomyces griseus*, *Streptomyces thermoviolaceus* 及び *Streptomyces violaceoruber* に限る) の培養物から得られた、核酸等のリン酸ジエステル結合を加水分解する酵素である。食品 (賦形、粉末化、希釈、安定化、保存又は力価調整の目的に限る) 又は添加物 (賦形、粉末化、希釈、安定化、保存、pH 調整又は力価調整の目的に限る) を含むことがある。

2. 主な用途

酵素

3. 安全性試験の概要

1) 急性毒性試験

経口投与の情報なし。

2) 反復投与毒性試験

Wistar ラット (雌雄各群 10 匹) に対し *Leptographium procerum* 由来のホスホジエステラーゼを、純水を溶媒として 0、100、300 および 1,000 mg TOS/kg 体重の用量で 90 日間強制経口投与した¹⁾。その結果、いずれの投与群においても被験物質に起因する毒性影響は認められず、NOAEL は最高用量の 1,000 mg TOS/kg 体重/日 (10,428 mg enzyme preparation/kg 体重/日) と考えられた。

3) 変異原性試験

Ames 試験及び培養細胞を用いた染色体異常試験が実施されており、すべて陰性と報告されている¹⁾。

Ames 試験：陰性；TA100、TA1535、*E.coli* WP2uvrA、TA98、TA1537 5,000 µg/plate
(代謝活性化および非代謝活性化)

染色体異常試験：陰性；Human lymphocytes 5,000 µg/mL (代謝活性化および非代謝活性化)

4) その他

情報なし

5) 海外評価書における扱い

米国 FDA (2014) は *Leptographium procerum* 由来のホスホジエステラーゼ I について、generally recognized as safe (GRAS) と判断している¹⁾。

4. 結論

本既存添加物は、日本国内で流通しているものについては、安全性に懸念はないと考えられる。

5. 参考資料

1) FDA: GRAS Notice GRN 505: GRAS notification for phosphodiesterase I produced with a strain of *Leptographium procerum*.

https://www.accessdata.fda.gov/scripts/fdcc/?set=GRASNotices&id=505&sort=GRN_No&order=DESC&startrow=1&type=basic&search=505

ホスホリパーゼ

英名： Phospholipase
CAS No. 9043-29-2 (Phospholipase A1)
JECFA No. 該当なし
別名： Lecithinase
構造式： —

1. 基原・製法

動物のすい臓、キャベツ (*Brassica oleracea L.*) 若しくはダイズ (*Glycine max (L.) Merr.*) 又は担子菌 (*Corticium*属に限る)、糸状菌 (*Aspergillus oryzae*及び *Aspergillus niger*に限る)、放線菌 (*Actinomadura*属、*Kitasatospora sp.*、*Nocardiosis* 属、*Streptomyces avermitilis*、*Streptomyces cinnamoneus*、*Streptomyces griseus*、*Streptomyces lividans*、*Streptomyces polychromogenes*、*Streptomyces thermoviolaceus*及び *Streptomyces violaceoruber*に限る) 若しくは細菌 (*Bacillus*属に限る) の培養物から得られた、レンチンを加水分解する酵素である。食品 (賦形、粉末化、希釈、安定化、保存又は力価調整の目的に限る) 又は添加物 (賦形、粉末化、希釈、安定化、保存、pH調整又は力価調整の目的に限る) を含むことがある。

2. 主な用途

酵素

3. 安全性試験の概要

1) 急性毒性試験

経口投与の情報なし

2) 反復投与毒性試験

SD ラット(雌雄各 10 匹)に *Fusarium venenatum* からの遺伝子を *Aspergillus oryzae* で発現させたホスホリパーゼ A1 liquid enzyme concentrate (batch PPW 23436; 乾物含量, 6.8% w/w; TOS content, 5.6% w/w; specific gravity, 1.027 g/ml) を 0、57.5、190 および 575 mg TOS/kg 体重の用量で 13 週間反復強制経口投与したところ、被験物質に起因する毒性影響はみられず、NOEL は最高用量の 575 mg TOS/kg 体重/日と考えられた¹⁾。

3) 変異原性試験

Ames 試験及び培養細胞を用いた染色体異常試験が実施されており、すべて陰性と報告されている²⁾。

Ames 試験： 陰性；TA100、TA1535、*E.coli* WP2uvrApKM101、TA98、TA1537 5,000 µg/plate (代謝活性化および非代謝活性化)

染色体異常試験： 陰性；Human lymphocytes 5,000 µg/mL (代謝活性化および非代謝活性化)

4) その他

毒性が懸念される報告はない。

5) 海外評価書における扱い

JECFA ではホスホリパーゼ A1 (*Fusarium venenatum* からの遺伝子を導入した *Aspergillus oryzae* 株由来) を食品添加物として評価しており、「GMP に従って特定された規格において使用される場合は ADI (1 日許容摂取量) を設定しない」とされている²⁾。

4. 結論

本既存添加物は、日本国内で流通しているものについては、安全性に懸念はないと考えられる。

5. 参考資料

- 1) Salanti, Z. (2004) Phospholipase - A 13-week oral (gavage) toxicity study in rats. Unpublished report No. 54663 from Scantox, Ejby, Lille Skensved, Denmark. Submitted to WHO by Novozymes A/S, Bagsværd, Denmark.
- 2) JECFA: WHO Technical Report Series 947. WHO Food Additives Series 59 (2007)

ポリフェノールオキシダーゼ

英名： Polyphenol Oxidase
CAS No. 9002-10-2
JECFA No. 該当なし
別名： Phenolase
構造式： —

1. 基原・製法

担子菌(*Cyathus*属、*Polyporus cinereus*, *Pycnoporus coccineus*, *Polyporus versicolor* 及び *Trametes*属に限る)、糸状菌(*Alternaria*属、*Aspergillus niger*, *Coriolus*属及び *Myrothecium verrucaria*に限る) 又は放線菌(*Streptomyces avermitilis*に限る)の培養物から得られた、ポリフェノールの水酸基を酸化する酵素である。食品(賦形、粉末化、希釈、安定化、保存又は力価調整の目的に限る)又は添加物(賦形、粉末化、希釈、安定化、保存、pH調整又は力価調整の目的に限る)を含むことがある。

2. 主な用途

酵素

3. 安全性試験の概要

1) 急性毒性試験

Myceliophthora Thermophila からの遺伝子を導入した *Aspergillus oryzae* で発現させたラッカーゼ(バッチ PPX 5720)が検討されている¹⁾。

ラット 経口 LD(C)₅₀ >12 ml/kg 体重 (39025LAMU 又は 2.07 g TOS/kg 体重相当)

2) 反復投与毒性試験

CDラット(雌雄各群10匹、30-37日齢)にラッカーゼ(バッチ PPX 5720)を0、0.1、1または10 mg/kg 体重/日(0、325、3,252 または 32,521 LAMU/kg 体重/日あるいは0、0.017、0.17 または 1.7 g/kg 体重/日 TOS 相当)の用量で13週間強制経口投与した。投与に関連した変化は見られず、NOELは最高用量の10 mg/kg 体重/日とされた^{1,2,3)}。

3) 変異原性試験

変異原性に関する情報なし。

4) その他

100名のボランティアに10%(w/v)ラッカーゼ溶液(バッチ PPX 5720) 0.5 mlを貼付するパッチテストを9回おこなった。パッチは2x2 cmのサイズで24時間ごとに月曜から金曜まで3週間貼付した。最後の貼付から2週後にパッチのあった腕に10%(w/v)ラッカーゼ溶液(バッチ PPX 5720)を貼付し、24時間後に取り除き、48時間後と96時間後に反応についてスコアを付けた。100名中3名は皮膚刺激性を示す可能性を示したが、同時に検討した1-2種類の他の酵素にも反応した。約1ヶ月後の検査ではその3名のいずれも皮膚刺激性は見られなかった^{1,3)}。

5) 海外評価書における扱い

JECFAでは、*Myceliophthora Thermophila*からの遺伝子を導入した*Aspergillus oryzae*で発現させたラッカーゼとして2003年に評価しており、GMPに従って用いられる場合はADI not specifiedと判断している¹⁾。

FDAでは、*Myceliophthora Thermophila*からの遺伝子を導入した*Aspergillus oryzae*で発現させたラッカーゼとして2003年に評価しており、息をすっきりさせる製品(ブレスミント及びチューイングガムなど)や他の食品にGMPに従って必要な最低限の量を用いる場合はgenerally recognized as safe (GRAS)としている⁴⁾。

4. 結論

本既存添加物は、日本国内で流通しているものについては、安全性に懸念はないと考えられる。

5. 参考資料

- 1) JECFA: WHO Technical Report Series 922, Food Additives Series 52 (2003)
- 2) Bolton N.(1997) Laccase, PPX 5720 : Toxicity study by oral (gavage) administration to CD rats for 13 weeks. Unpublished report No. NLE186/9703426 from Huntingdon Life Sciences Ltd., Suffolk, England. Submitted to WHO by Novozymes A/S, Bagsvaerd, Denmark.
- 3) Brinch, D.S. & Pedersen, P.B. (2002) Toxicological studies on laccase from *Myceliophthora thermophila* expressed in *Aspergillus oryzae*. *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, 35, 296–307.
- 4) GRAS Notice GRN 122 (2003): GRAS notification for Laccase enzyme preparation produced by *Aspergillus oryzae* expressing the gene encoding a laccase from

Myceliophthora Thermophila use in breath freshening products (such as breath mints and chewing gum) as an enzyme.

ムラミダーゼ

英名： Muramidase
CAS No. 9001-63-2
JECFA No. 該当なし
別名： Lysozyme
構造式： —

1. 基原・製法

放線菌 (*Actinomyces*属及び*Streptomyces*属に限る)、細菌 (*Bacillus*属に限る) の培養物から得られた、ムコ多糖類を加水分解する酵素である。食品 (賦形、粉末化、希釈、安定化、保存又は力価調整の目的に限る) 又は添加物 (賦形、粉末化、希釈、安定化、保存、pH調整又は力価調整の目的に限る) を含むことがある。

2. 主な用途

酵素

3. 安全性試験の概要

1) 急性毒性試験

リゾチームとして報告がある。

マウス 経口 LD₅₀ > 4,000 mg/kg 体重¹⁾

ラット 経口 LD₅₀ > 4,000 mg/kg 体重¹⁾

2) 反復投与毒性試験

リゾチームとして報告がある。

ニュージーランドウサギ (雄、2群、各群10匹) にリゾチーム塩酸塩 (500 mg/kg 体重/日) 又は卵白 (200 mg/kg 体重/日) を4週間 (5回/週) 経静脈投与したところ、リゾチーム塩酸塩に起因する毒性影響はみられなかった¹⁾。

3) 変異原性試験

変異原性に関する情報なし

4) その他

満期産児 15 名及び未熟児 18 名に、母乳のリゾチーム (2 mg/ml) の代用として卵白由来のリゾチーム (10 mg/100 ml) を調整乳に混じて第 1 週から 8 週まで投与し、免疫グロブリンの生成が検討された。調整乳を与えた満期産児 13 名及び未熟児 13 名、母乳を与えた新生児 20 名が対照群とされた。新生児の調整乳摂取を 600-900 ml/日とするとリゾチームの摂取量は 60-90 mg/日に相当する。新生児の健康状態に異常は見られず、リゾチーム群と対照群の間に血清免疫グロブリン産生について違いは見られなかった。満期産児のリゾチーム群及び母乳対照群では分泌型 IgA が便中に見られたが、他の群 (満期産児のリゾチームなし調整乳群、未熟児のリゾチームなし調整乳群及び未熟児のリゾチームあり調整乳群) では痕跡程度であった。リゾチーム投与は部分的に母乳からの分泌型 IgA の受動伝達の代わりとなった。リゾチーム投与児の血清中に、抗体は見られなかった。

5) 海外評価書における扱い

JECFA³⁾では、アレルギー反応に関しては、卵白から生成されるリゾチームは動物及びヒトにおいて、卵白アルブミン、アルブミンなどの他のタンパクに比べて弱いとされた。検討可能なデータから、チーズから少量の追加摂取は消費者健康を害する懸念がないと結論付けられた。リゾチームは一般的に食品として使われる食用動物組織から得られ、class I 酵素として指定でき、食品としてみなされる。従って、製造管理および品質管理に関する基準に従い使用された場合、食品加工での使用が許容できると考えられた。

4. 結論

本既存添加物は、日本国内で流通しているものについては、安全性に懸念はないと考えられる。

5. 参考資料

- 1) Bianchi, C. (1982) Antigenic properties of hen egg white lysozyme (Fleming's lysozyme) and notes on its acute/sub-acute toxicity. *Curr. Therap. Res.*, 31: 494-505.
- 2) Lodinová, R. & Jouja. V. (1977) Influence of oral lysozyme administration on serum immunoglobulin and intestinal secretory IgA levels in infants. *Acta. Paediatr. Scand*, 66: 709-712.
- 3) JECFA: 39th report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Assitive (1992) WHO Food Additives Series 30, WHO Technical Report Series 828
<http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v30je04.htm>
https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/40033/WHO_TRS_828.pdf;jsessionid=

nid=60E83A381A9E12205DD6B06F56BCFB8A?sequence=1

木炭

英名： Charcoal
CAS No. 7440-44-0 (Charcoal, activate)
JECFA No. 該当なし
別名： 該当なし
構造式： —

1. 基原・製法

イネ科マダケ (*Phyllostachys bambusoides* SIEB. et ZUCC.) 若しくはイネ科モウソウチク (*Phyllostachys heterocyclus* MITF.) の茎又はカバノキ科シラカバ (*Betula platyphylla* SUKAT. var. *japonica* HARA)、チョウセンマツ (*Pinus koraiensis* SIEB. et ZUCC.)、ブナ科ウバメガシ (*Quercus phylliraeoides*) 等の幹枝又は種子を、炭化して得られたものである。

2. 主な用途

製造用剤

3. 安全性試験の概要

1) 急性毒性試験

経口投与の情報なし

2) 反復投与毒性試験

反復投与に関する情報なし

3) 変異原性試験

変異原性に関する情報なし。

4) その他

毒性が懸念される報告はない。

5) 海外評価書における扱い

EFSA では Charcoal, activated について、ADI または TDI は設定されないが現行の使用条件下で許容される (ADI or a TDI could not be established, but where the present

use could be accepted) としている¹⁾。

基原、製法及び本質の類似した物質における評価として、JECFA では Activated carbon について ADI 制限せず (not limited)、Vegetable carbon について ADI 設定せず (ADI could not be established) としている²⁾。

4. 結論

本既存添加物は、日本国内で流通しているものについては、安全性に懸念はないと考えられる。

5. 参考資料

- 1) The EFSA Journal (2004) Opinion of the Scientific Panel on food additives, flavourings, processing aids and materials in contact with food (AFC) on a request from the Commission related to a 5th list of substances for food contact materials 109, 15-1
- 2) JECFA: WHO Technical Report Series 759 (1987)

ラクトパーオキシダーゼ

英名： Lactoperoxidase
CAS No. 9003-99-0
JECFA No. 該当なし
別名： 該当なし
構造式： —

1. 基原・製法

本品は、ほ乳類の乳から得られた、過酸化水素を還元分解する酵素である。食品（賦形、粉末化、希釈、安定化、保存又は力価調整の目的に限る）又は添加物（賦形、粉末化、希釈、安定化、保存、pH調整又は力価調整の目的に限る）を含むことがある。

2. 主な用途

酵素

3. 安全性試験の概要

1) 急性毒性試験

ラクトパーオキシダーゼ単独での公表データはないが、ラクトフェリンを 54.3%とラクトパーオキシダーゼを 40.6%含有する Milk Basic Protein (MBP®) のラットを用いた急性毒性試験が実施されていた^{1,2)}。

ラット (Crj:CD(SD)IGS) 経口
MBP® LD₅₀ > 2,000 mg/kg 体重

2) 反復投与毒性試験

ラクトパーオキシダーゼ単独での公表データはないが、Crj:CD(SD)IGS ラット（雌雄各群 10 匹）を用いた MBP®（溶媒：蒸留水）の 0、200 および 2,000 mg/kg 体重/日の投与量で 90 日間反復経口投与毒性試験では、MBP®のラットにおける NOAEL は雌雄ともに 2,000 mg/kg 体重/日と考えられた^{1,3)}。

3) 変異原性試験

変異原性に関する情報なし。

4) その他

毒性が懸念される報告はない。

5) 海外評価書における扱い

JECFA では Lactoperoxidase/Thiocyanate/Hydrogen peroxide system for milk preservation として評価され、ADI not specified とされている⁴⁾。

FSANZでは Lactoperoxidase 及びSodium thiocyanateについて、規格1.3.3の加工助剤としている。現在の使用レベルでは大多数のヒトにとって重大なリスクとはならないが、乳タンパク質にアレルギーのある消費者にとっては、食肉製品中に存在することを認識する必要があり、その潜在的リスクは表示によって適切に対応されるとしている⁵⁾。

MBP®については、GRAS Notice (GRN) No. 196 において評価され、2006年9月にFDAより“*No Questions*”とされている。

4. 結論

本既存添加物は、日本国内で流通しているものについては、安全性に懸念はないと考えられる。

5. 参考資料

- 1) Kruger, C.L., K.M. Marano, Y. Morita, Y. Takada, H. Kawakami, T. Kobayashi, M. Sunaga, M. Furukawa, K. and Kawamura. 2005. Safety evaluation of a milk basic protein fraction. Food and Chemical Toxicology.
- 2) Safety Research Institute for Chemical Compounds Co., Ltd. (2000a. A single dose oral toxicity study of milk basic protein (MBP) in rats. Study Number SR-99 100. Safety Research Institute for Chemical Compounds Co., Ltd. 363-24 Shin-ei, Kiyota-ku, Sapporo 004-0839, Japan. Unpublished.
- 3) Safety Research Institute for Chemical Compounds Co., Ltd. 2000c. A 13-week oral repeated dose toxicity study of milk basic protein (MBP) in rats. Study Number SR-9918. Safety Research Institute for Chemical Compounds Co., Ltd. 363-24 Shin-ei, Kiyota-ku, Sapporo 004-0839, Japan. Unpublished.
- 4) JECFA: WHO Technical Report Series 789 (1989)
- 5) Food Standard Australia New Zealand (FSANZ): Final Assessment report

Application A404; Lactoreroxidase system (2002)

ラクトフェリン濃縮物

英名： Lactoferrin Concentrates
CAS No. 146897-68-9 (Lactoferrin)
JECFA No. 該当なし
別名： 該当なし
構造式： —

1. 基原・製法

ほ乳類の乳から得られたラクトフェリンを主成分とするものである。

2. 主な用途

製造用剤

3. 安全性試験の概要

1) 急性毒性試験

bovine lactoferrin として、ラットを用いた急性毒性試験が実施されているが、死亡例はなく、被験物質に起因する毒性影響もみられなかった¹⁾。

ラット (系統不明) 経口 LD₅₀ > 2,000 mg/kg 体重

2) 反復投与毒性試験

Sprague–Dawley ラット (雌雄各群 12 匹) を用いた bovine lactoferrin (純度 95.0%) の 0、200、600 および 2,000 mg/kg の投与量で強制経口による 13 週間反復投与毒性試験を実施したところ、被験物質に起因する毒性影響はみられず、雌雄ともに NOAEL は最高用量の 2,000 mg/kg 体重/日と考えられた²⁾。

F344/Crj ラット (高用量及び対照群雌雄 25 匹、他群雌雄各群 10 匹) を用いた bovine lactoferrin の 0、0.02、0.2、2.0、5.0% の用量による 60 週間 (雄) あるいは 65 週間 (雌) の混餌投与試験が実施されている。著者らは明らかな変化はなかったとしているが詳細なデータが供与されていないため、FDA は NOAEL は設定できなかったとしている。

3) 変異原性試験

Ames 試験、染色体異常試験及び *in vivo* 小核試験が実施されており、すべて陰性と報告されている³⁾。

Ames 試験：陰性；5,000 µg/plate
染色体異常試験：陰性；5,000 µg/mL
小核試験：陰性；2,000 mg/kg 体重

4) その他

毒性が懸念される報告はない。

5) 海外評価書における扱い

EFSA では、2012 年に Safe under the proposed use and use levels としている⁴⁾。

GRAS Notice (GRN) No. 669 において評価され、2016 年 9 月に FDA より No Questions との回答を受けている。

JECFA では評価されていない。

4. 結論

本既存添加物は、日本国内で流通しているものについては、安全性に懸念はないと考えられる。

5. 参考資料

- 1) Nishimura N, 1991. Single dose oral toxicity study of monl-01 and monl-02 in rats (Study Number B1969). Gotemba Laboratory, Bozo Research Center Inc., Setagaya-ku, Tokyo, Japan. Unpublished.
- 2) Yamauchi K, Toida T, Nishimura S, Nagano E, Kusuoka O, Teraguchi S, Hayasawa H, Shimamura S and Tomita M, 2000. 13-Week oral repeated administration toxicity study of bovine lactoferrin in rats. Food Chem Toxicol, 38, 503-512.
- 3) 林、田中：食品衛生学雑誌 46, 5, 177-184 (2005)
- 4) European Food Safety Authority. Scientific Opinion on bovine lactoferrin. EFSA Journal 2012; 10(7): 2811. [14 pp.]

D-リボース

英名： D-Ribose
CAS No. 50-69-1
JECFA No. 該当なし
別名： 該当なし
構造式： —

1. 基原・製法

細菌（*Bacillus pumilus*又は*Bacillus subtilis*に限る）によるD-グルコースの発酵培養液から分離して得られたものである。成分は、D-リボースである。

2. 主な用途

甘味料

3. 安全性試験の概要

1) 急性毒性試験

情報なし

2) 反復投与毒性試験

Wistar ラット（雌雄各群 20 匹）に申請者から供与された D-リボースを 0、5、10 または 20%（雄；0、3.6、7.6 または 15.0 g/kg 体重/日及び雌；0、4.4、8.5 または 15.7 g/kg 体重/日相当）の用量で大麦の代わりにゲラチン処理をしたジャガイモスターチに混合して 13 週間混餌投与した。20% (15.0 g/kg) 群の雄および 10、20% (8.5、15.7 g/kg) 群の雌で体重増加抑制、雌雄で用量相関を伴う盲腸重量の増加などがみられたが、何れも、炭水化物摂取の増加に起因する生理的な変化と考えられた。投与に関連した明らかな変化は見られないことから、NOAEL は最高用量の 20% (15 g/kg 体重/日)とされた¹⁾。

3) 変異原性試験

Ames 試験、染色体異常試験及び *in vivo* 小核試験が実施されており、すべて陰性と報告されている²⁾。

Ames 試験：陰性；5,000 µg/plate

染色体異常試験：陰性；5,000 µg/mL

小核試験：陰性；2,000 mg/kg 体重

4) その他

12 週齢の Wistar ラットを交配させ、雌（各群 28 匹）には妊娠 0 日から 21 日まで申請者から供与された D-リボースを 0、5、10 または 20%（0、4.25、7.94 または 9.91 g/kg 体重/日相当）の用量で大麦の代わりにゲラチン処理をしたジャガイモスターチに混合して 13 週間混餌投与した。投与群で盲腸重量の増加が見られたが、炭水化物摂取の増加に起因する生理的な変化と考えられた。胎児及び胎盤には投与に関連した明らかな変化は見られないが、波状肋骨の頻度は 10、20%（7.94 または 9.91 g/kg）群で高いことから、催奇形性の NOAEL は最高用量の 20%（9.91 g/kg 体重/日）、発生毒性の NOAEL は 5%（3.64-4.61 g/kg 体重/日）とされた¹⁾。

21 名の非糖尿病の健康成人（男性 12 名、女性 7 名）に 10 g の D-リボースを 1 日 2 回 14 日間投与した。試験期間中、毎日の食事と運動は変化させなかった。最初と 7 日目 14 日目眼に血液を採取し血液生化学的検査をおこなった。一部の変動は見られたが、一貫性のある投与に関連した明らかな変動は見られなかった。

5) 海外評価書における扱い

FDA では、2007 年に評価しており、現在の GMP に従って飲料などに用いる場合は generally recognized as safe (GRAS) としている¹⁾。

4. 結論

本既存添加物は、日本国内で流通しているものについては、安全性に懸念はないと考えられる。

5. 参考資料

- 1) FDA: GRAS Notice GRN 243 (2007): GRAS notification for D-ribose
- 2) 林、田中：食品衛生学雑誌 46, 5, 177-184 (2005)

略号

RBC	赤血球数
HGB	ヘモグロビン量
HCT	ヘマトクリット値
MCV	平均赤血球容積
MCH	平均赤血球血色素量
MCH	平均赤血球血色素濃度
Retic	網赤血球率
PLT	血小板数
WBC	白血球数
PT	プロトロンビン時間
APTT	活性化部分トロンボプラスチン時間
FIB	フィブリノゲン量
AST	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ
γ-GTP	ガンマグルタミルトランスペプチターゼ
LDH	乳酸デヒドロゲナーゼ
ALP	アルカリホスファターゼ
T-CHO	総コレステロール
TG	トリグリセライド
PL	リン脂質
T-BIL	総ビリルビン
D-BIL	直接ビリルビン
I-BIL	間接ビリルビン
GLU	グルコース
BUN	尿素窒素
Cre	クレアチニン

CK	クレアチンキナーゼ
ChE	コリンエステラーゼ
Na	ナトリウム
K	カリウム
Cl	塩素
Ca	カルシウム
IP	無機リン
TP	総たん白質
A/G	アルブミン・グロブリン比
ALB	アルブミン
Alpha 1-G	α 1-グロブリン
Alpha 2-G	α 2-グロブリン
Beta-G	β -グロブリン
Gamma-G	γ -グロブリン
ADI	Acceptable Daily Intake
PDE	Permitted Daily Exposure :
UL	Upper Limits
GRAS	Generally Recognized As Safe
GLP	Good Laboratory Practice
GMP	Good Manufacturing Practice
NOAEL	No observable adverse effect level
EFSA	European Food Safety Authority
JECFA	Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives
FDA	US Food and Drug Administration
FSANZ	Food Standards Australia New Zealand
TOS	Total Organic Solids
TXU	Total Xylanase Units