

グルタミルバリルグリシンの食品添加物の指定に関する部会報告書（案）

今般の添加物としての新規指定並びに使用基準及び成分規格の設定の検討については、事業者より指定等の要請がなされた当該添加物について、食品安全委員会において食品健康影響評価がなされたことを踏まえ、添加物部会において審議を行い、以下の報告を取りまとめるものである。

1. 品目名

和名：グルタミルバリルグリシン

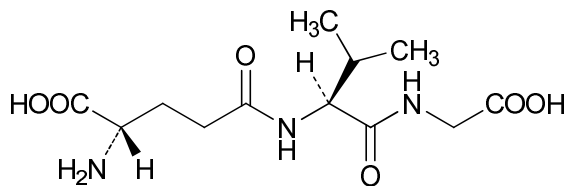
英名： Glutamyl-Valyl-Glycine

化学名： (2S)-2-amino-4-[(1S)-1-[(carboxymethyl)carbamoyl]-2-methylpropyl]carbamoylbutanoic acid

CAS 番号： 38837-70-6

2. 構造式、分子式及び分子量

構造式：



分子式及び分子量：

$C_{12}H_{21}N_3O_6$ 303.31

3. 用途

調味料

4. 概要及び諸外国での使用状況

(1) 概要

グルタミルバリルグリシンは、 γ グルタミル構造¹を有するトリペプチド²の調味料である。魚醤や醤油等の食品中に微量含まれており、コク味³機能を有する成分とさ

¹ グルタミン酸の γ 位のカルボキシル基とアミノ酸のアミノ基がペプチド結合した構造。

² 本物質は、L- γ -グルタミン酸とL-バリルグリシンが縮合した構造を有しているが、要請者によると、立体特異的に製造され、D体を含む異性体が混入する可能性は低いとされている。

³ 要請者によると、コク味とは甘味、塩味、酸味、苦味、うま味の5基本味では表せない味を指し、基本味及び基本味の周辺の味の厚み・ひろがり・持続性・まとまりなどをも増強する効果

れている。

JECFA (The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives) では、2012年にフレーバーとして⁴「安全性上の懸念は無い」と評価されている。

米国では、2010年にフレーバーモディファイヤーとしてFEMA GRAS (FEMA: The Flavor and Extract Manufacturers Association, GRAS: Generally Recognized As Safe) として認められている。

欧州連合 (EU) においては、2013年10月現在評価が行われているところである。

(2) 諸外国での使用状況等

コーデックス委員会では、フレーバーはCCFA (コーデックス食品添加物部会) が作成する添加物の使用基準であるGSFA (食品添加物に関するコーデックス一般規格) の対象とされておらず、特段使用基準は設定されていない。

米国では、2010年にFEMA GRASとして認められており、スナック菓子 (使用上限値 160ppm) やスープ (使用上限値 50ppm) 等の食品に対して使用が認められているが、2013年現在使用実態はない。

その他諸外国等については、2013年10月現在、タイ、韓国、台湾及びFEMA-GRAS認可をもって使用が承認される国において使用が認可されている。タイ、韓国、台湾においては使用基準は定められておらず、既にタイ及びマレーシアにおいてフレーバーとして添加濃度100ppm以下で使用されている。

5. 食品添加物としての有効性

グルタミルバリルグリシンは、コク味²付与機能を有する調味料とされている。

グルタミルバリルグリシンと同様にコク味を有するとされる物質としてグルタチオン (GSH)⁵が挙げられる。要請者によると、コク味とカルシウムセンシングレセプター (CaSR) 活性には正の相関があり、各種ペプチドの CaSR 活性を評価した結果、グルタミルバリルグリシンは GSH と比べて約 10 倍活性が高いことが分かった⁶。また、[コク味に関する官能評価を行った結果、CaSR 活性と同様に、グルタミルバリルグリシンは GSH と比べて約 10 倍活性が高いことが示された⁵ \(図A及び図B参照\)](#)。GSH

を持つとされている。

⁴ 米国及び欧州等におけるフレーバーは、日本でいう「香料」だけでなく、日本では「香料」に分類されない「調味料」(旨味等を付与する物質等) が含まれる場合がある。なお、コーデックスにおける「フレーバー」の定義は、「フレーバーは、食品の風味を添え、変化させ、又は高めるために食品に添加される製品である。」とされ、また「風味とは、口に取り込まれ、主に味覚と嗅覚、また口内全体の疼痛及び触覚受容体によって認識され、脳によって受け取られ解釈される物質の特徴の総体である。」とされている。

⁵ 我が国においては、グルタチオンは2013年11月現在、食品添加物としては認められていない。

⁶ Takeaki Ohsu, *et al.*, Involvement of the Calcium-sensing Receptor in Human Taste Perception. *J Biol. Chem.* (2010) 285(2):1016-22

は天然由来として肉、レバー、魚介、野菜等に高度に含有されている他、スープやスナックといったコク味が好まれる食品群に対して GSH 高含有の調味料が使用されている。

グルタミルバリルグリシンはこういったスープやスナックといったコク味が好まれる食品の他、アイスクリーム、チーズやヨーグルトなど様々な食品に対して平均 15~80ppm の濃度での使用が想定される。

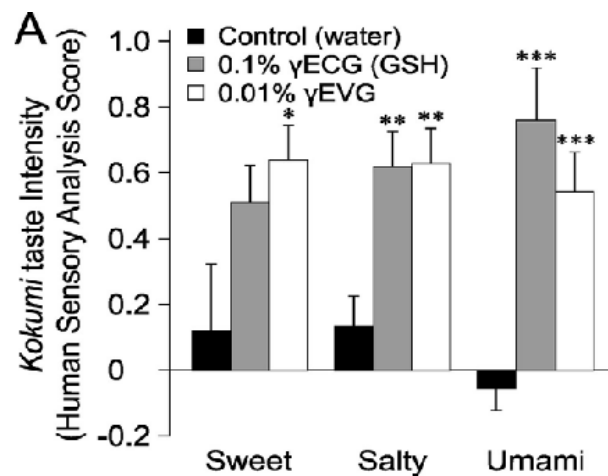
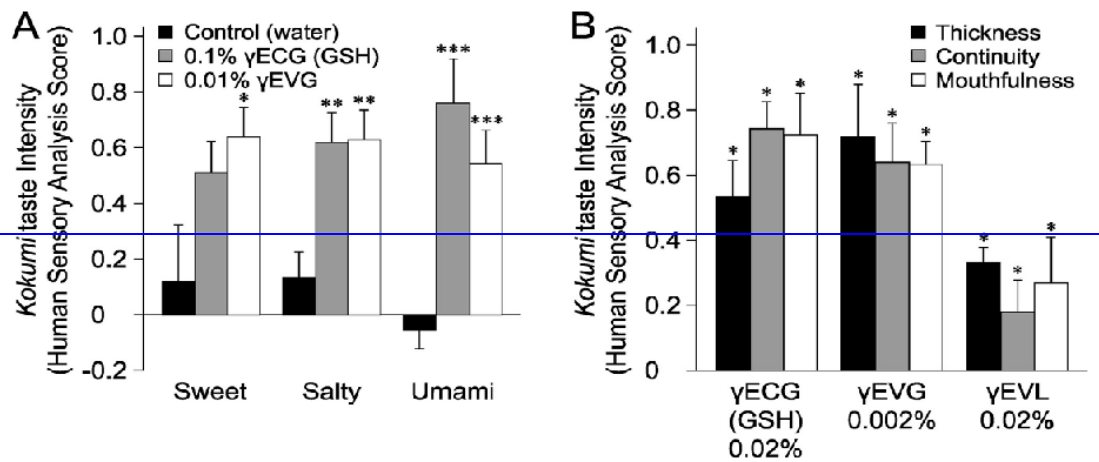


図 A ; 3 つの基本味に対するグルタチオンとグルタミルバリルグリシンによる味の増強効果

<試験方法>

3.3%スクロース溶液 (Sweet)、0.9%塩化ナトリウム溶液 (Salt) 及び0.5%L-グルタミン酸溶液 (Umami) のそれぞれに、水、0.1%グルタチオン、0.01%グルタミルバリルグリシンを添加し、口に含んで5秒後のそれぞれの味の増強を評価。評価は、-2~+2の5段階評価 (-2 ; 明らかに弱まった、+2 ; 明らかに強まった) で行

い、20 人の評価者のスコアの平均を比較。

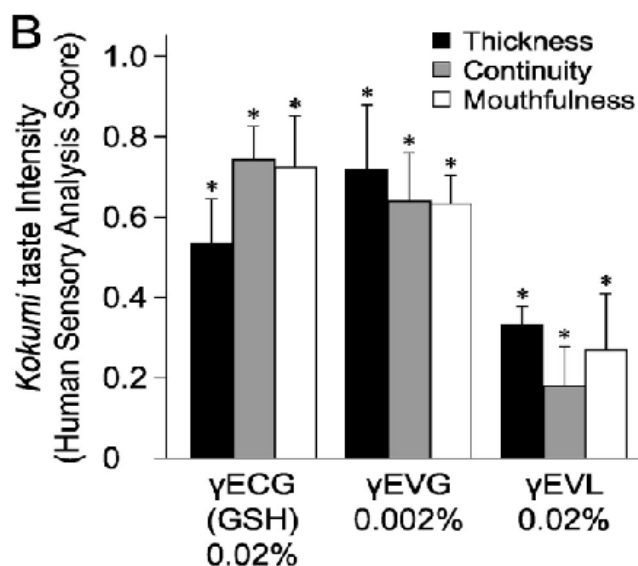


図 B ; グルタチオンとグルタミルバリルグリシンのコク味の比較

※ γ ECG ; グルタチオン、 γ EVG ; グルタミルバリルグリシン、 γ EVL ; γ -Glu-Val-Leu

<試験方法>

チキンコンソメに、0.02%グルタチオン、0.002%グルタミルバリルグリシン、0.02% γ EVL (弱いコク味機能を有するペプチド) を添加し、①口に含んで 5 秒後の味の強さ (Thickness)、②20 秒後の味の強さ (Continuity)、③口の中全体の味の強さ (Mouthfulness) を評価。評価は、-2 ~ +2 の 5 段階評価 (-2 ; 明らかに弱まった、+2 ; 明らかに強まった) で行い、20 人の評価者のスコアの平均を比較。

GSH は天然由来として肉、レバー、魚介、野菜等に高度に含有されている他、スープやスナックといったコク味が好まれる食品群に対して GSH 高含有の調味料が使用されている。

グルタミルバリルグリシンはこういったスープやスナックといったコク味が好まれる食品の他、アイスクリーム、チーズやヨーグルトなど様々な食品に対して平均 15~80ppm の濃度での使用が想定される。

6. 食品安全委員会における評価状況

食品安全基本法 (平成 15 年法律第 48 号) 第 24 条第 1 項第 1 号の規定に基づき、平成 24 年 12 月 11 日付け厚生労働省発食安 1211 第 1 号により食品安全委員会あて意見を求めたグルタミルバリルグリシンに係る食品健康影響評価については、以下の評価結果が平成 25 年 8 月 5 日付け府食第 648 号で通知されている。

【食品健康影響評価(添加物評価書抜粋)】

本委員会としては、添加物「グルタミンバリングリシン」が「添加物に関する食品健康影響評価指針」における「食品常在成分であること又は食品内若しくは消化管内で分解して食品常在成分になることが科学的に明らかである場合」に該当すると判断したことから、添加物「グルタミンバリングリシン」の安全性について、同指針に基づき、試験の一部について省略し、遺伝毒性及び28日間反復投与毒性に係る試験成績を用いて評価を行うこととした。

本委員会としては、グルタミンバリングリシンについての毒性に係る知見を検討した結果、添加物「グルタミンバリングリシン」については、遺伝毒性、反復投与毒性の懸念はないと判断した。

以上のことから、本委員会としては、添加物「グルタミンバリングリシン」について、添加物として適切に使用される場合、安全性に懸念がないと考えられ、ADIを特定する必要はないと評価した。

7. 摂取量の推計

上記の食品安全委員会の評価の結果によると、以下のとおりである。

【一日摂取量の推計等(添加物評価書抜粋)】

指定等要請者によれば、添加物「グルタミンバリングリシン」は、スープやスナックといったGSH高含有の調味料が使用されている食品群のほか、アイスクリーム、チーズやヨーグルトといったコク味が好まれる食品群に、平均添加濃度15~80 ppm、また最大添加濃度30~160 ppmで使用するものとされている。添加物「グルタミンバリングリシン」の使用が想定されるそれぞれの食品分類の一日摂取量の全年齢平均値と添加物「グルタミンバリングリシン」の最大添加濃度を乗じて各食品分類から摂取される添加物「グルタミンバリングリシン」の量を求め、これらを合計して添加物「グルタミンバリングリシン」の推定一日摂取量を算出すると、約44 mg/人/日(約0.88 mg/kg 体重/日)になるとされている。(参照2、11)

指定等要請者によれば、グルタミンバリングリシンの使用が想定される食品(コーヒー飲料、アイスクリーム、飲料、マーガリン、クリーマー、ビール様飲料、スープ類、つゆ・たれ類、粉体調味料、ハム・ソーセージ、乳系使用冷凍食品)の市場規模は、8,400,000 トンとされている。平均的な喫食時濃度を40 ppmとし、すべての商品に添加されるわけではないことから納入率1%とすると年間

消費量は約 4,000 kg と計算される。日本の人口 1 億 2751 万人の 1 割がグルタミンバリンを摂取すると想定すると、推定一日摂取量は 0.859 mg/人/日（約 0.017 mg/kg 体重/日）になるとされている。（参照 2、12）

本委員会としては、添加物「グルタミンバリン」の推計値が過小にならないよう留意し、一日摂取量を 44 mg/人/日（0.88 mg/kg 体重/日）と考えた。

8. 新規指定について

要請された使用方法に基づき、添加物として適切に使用する範囲において安全性に懸念がないことを食品安全委員会が確認していることから、グルタミンバリンを食品衛生法（昭和 22 年法律第 233 号。以下「法」という。）第 10 条の規定に基づく添加物としてグルタミンバリンを指定することは、要請された使用方法において、添加物として適切に使用される場合には安全性に懸念がない旨が食品安全委員会により確認されていることから、差し支えない。

9. 規格基準の設定について

同法第 11 条第 1 項の規定に基づく規格基準については、次のとおり設定することが適当である。

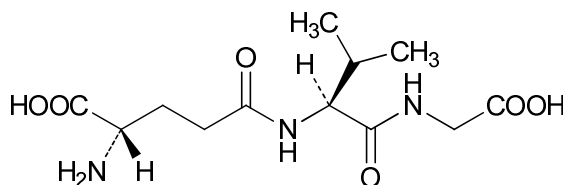
（1）使用基準について

グルタミンバリンについては、①消化管内で分解して食品常在成分になることが科学的に明らかであるため、ヒトが摂取する際の安全性の懸念は低いこと、②食品安全委員会の評価結果及び摂取量の推計等、を踏まえて、使用基準を設定しないこととするのが適当である。

（2）成分規格について

成分規格を別紙 1 のとおり設定することが適当である（設定根拠は別紙 2 のとおり）。

グルタミルバリルグリシン
 Glutamyl-Valyl-Glycine
 L- γ -Glutamyl-L-Valyl-Glycine



$C_{12}H_{21}N_3O_6$

分子量 303.31

(2S)-2-amino-4-[(1S)-1-[(carboxymethyl)carbamoyl]-2-methylpropyl]carbamoylbutanoic acid
 [38837-70-6]

含量 本品を乾燥物換算したものは、グルタミルバリルグリシン ($C_{12}H_{21}N_3O_6$) 95.0~102.0% を含む。

性状 本品は白~淡赤色の粉末である。

確認試験 本品を赤外吸収スペクトル測定法中の臭化カリウム錠剤法により測定するとき、 $3,321\text{cm}^{-1}$ 、 $3,282\text{cm}^{-1}$ 、 $1,712\text{cm}^{-1}$ 、 $1,654\text{cm}^{-1}$ 、 $1,619\text{cm}^{-1}$ 及び $1,541\text{cm}^{-1}$ のそれぞれの付近に吸収帯を認める。

純度試験

(1) 鉛 Pbとして $1.0\mu\text{g/g}$ 以下

本品 4.0g を量り、白金製、石英製若しくは磁製のるつぼ又は石英製ビーカーに入れる。硫酸 (1→4) を加えて試料全体を潤した後、徐々に温度を上げ、試料が炭化し、硫酸の白煙が発生しなくなるまで加熱する。必要があれば硫酸 (1→4) を更に加え、試料がほとんど炭化するまで加熱する。試料が炭化した後、必要があれば容器に緩くふたをして電気炉に入れ、徐々に温度を上げて $450\sim 600^\circ\text{C}$ で強熱して灰化する。炭化物が残る場合は、必要があればガラス棒で砕き、硫酸 (1→4) 1 ml 及び硝酸 1 ml で潤し、白煙が発生しなくなるまで加熱した後、電気炉で強熱して完全に灰化する。残留物に塩酸 (1→4) 10ml を入れ、水浴上で加熱して蒸発乾固する。残留物に少量の硝酸 (1→100) を加え、加温して溶かし、冷後、更に硝酸 (1→100) を加えて正確に 10ml とし、検液とする。別に、鉛標準原液 1 ml を正確に量り、水を加えて正確に 100ml とする。この液 4 ml を正確に量り、硝酸 (1→100) を加えて正確に 10ml とし、比較液とする。検液及び比較液につき、鉛試験法第1法により試験を行う。

(2) ヒ素 As_2O_3 として $1.0\mu\text{g/g}$ 以下

本品 2.0g を量り、水 20ml を加え、加温し、必要があれば超音波処理して溶かし、検液とする。装置 B を用いる。

乾燥減量 1.0%以下(105°C , 1時間)

定量法 本品及び定量用グルタミルバリルグリシン約 0.05g ずつを精密に量り、それぞれを水に溶かし、正確に 50ml とする。それぞれの液 5ml ずつを正確に量り、それぞれに水を加え、正確に 20ml とし、検液及び標準液とする。検液及び標準液をそれぞれ 20 μl ずつ量り、次の操作条件で液体クロマトグラフィーを行う。検液及び標準液のグルタミルバリルグリシンのピーク面積 A_T 及び A_S を測定し、次式により含量を求める。

グルタミルバリングリシン (C₁₂H₂₁N₃O₆) の含量 (%)

$$= \frac{\text{乾燥物換算した定量用グルタミルバリングリシンの採取量 (g)}}{\text{乾燥物換算した試料の採取量 (g)}} \times \frac{A_T}{A_S} \times 100$$

操作条件

検出器 紫外吸光光度計(測定波長 210 nm)

カラム充てん剤 5 μm の液体クロマトグラフィー用オクタデシルシリル化シリカゲル

カラム管 内径 4.6mm, 長さ 25cm のステンレス管

カラム温度 30 ~40°Cの一定温度

移動相 A リン酸二水素カリウム 6.8 g を水 1,000ml に溶かし, リン酸で pH3.0 に調整する。

移動相 B 移動相 A 400ml にアセトニトリル 600ml を加える。

濃度勾配 A : B (100 : 0) で 25 分間保持した後, A : B (100 : 0) から (0 : 100) までの直線濃度勾配を 25 分間行う。

流量 1.0 ml/分

試薬・試液

グルタミルバリングリシン, 定量用 C₁₂H₂₁N₃O₆ 本品は白～淡赤色の粉末である。

含量 本品を乾燥物換算したものは, グルタミルバリングリシン (C₁₂H₂₁N₃O₆) 99.0%以上を含む。

確認試験 本品を赤外吸収スペクトル測定法中の臭化カリウム錠剤法により測定するとき, 3,321cm⁻¹, 3,282cm⁻¹, 1,712cm⁻¹, 1,654cm⁻¹, 1,619cm⁻¹及び 1,541cm⁻¹のそれぞれの付近に吸収を認める。

純度試験 類縁物質 本品 25mg を量り, 水を加えて溶かして 25ml とし, 検液とする。この液 5 ml を正確に量り, 水を加えて正確に 50ml とする。この液 5 ml を正確に量り, 水を加えて正確に 50ml とし, 比較液とする。検液及び比較液 20μl につき, 次の操作条件で液体クロマトグラフィーを行い, 検液の主ピーク以外のピークの面積及び比較液の主ピーク的面積を測定し, 次式より類縁物質の量を求めるとき, 0.50%以下である。

$$\text{類縁物質の量 (\%)} = \frac{\text{検液の主ピーク以外のピークの合計面積}}{\text{標準液の主ピーク的面積}}$$

操作条件 「グルタミルバリングリシン」の定量法の操作条件を準用する。

乾燥減量 1.0%以下 (105°C, 1時間)

定量法 本品約 0.4g を精密に量り, ギ酸 3ml を加えて溶かし, 酢酸 50ml を加え, 0.1mol/L 過塩素酸で滴定する。終点の確認は, 通例, 電位差計を用いる。別に空試験を行い補正し, 更に乾燥物換算する。

0.1mol/L 過塩素酸 1 ml = 30.33mg C₁₂H₂₁N₃O₆

定量用グルタミルバリングリシン グルタミルバリングリシン, 定量用を見よ。

グルタミンバリルグリシン規格設定の根拠

グルタミンバリルグリシンは、第76回(2012年)JECFA会議において、フレーバーの中のE. アミノ酸及び関連物質の一つとして評価され、香料規格が設定されている。また、フレーバーモディファイヤー(うま味調味料)として、FEMA GRAS(FEMA GRAS No. 4709)の認証を取得した。日本では、調味料は香料以外の食品添加物であるため、JECFAの香料規格を参照しつつも、指定要請者により提出された成分規格案(指定要請規格案)を参考に成分規格案を設定した。

含量

JECFAの香料規格では、99.0%以上と規定されているが、指定要請者によれば、FEMAへの申請の際には、製造規格として「>95.0% purity」の情報を記述しており、規格はFEMAに提出した1ロットの分析データのみから規定されたと推察されるとのことであった。また、指定要請の資料によれば、複数ロットの実測定の結果、下限は96.5%、上限は99.0%であったが、定量法は、標準品を対照とするHPLCによる分析であるため、分析のばらつきを考慮してグルタミンバリルグリシン(C₁₂H₂₁N₃O₆) 95.0~102.0% (乾燥物換算)と規定しており、本規格案ではこれを採用した。

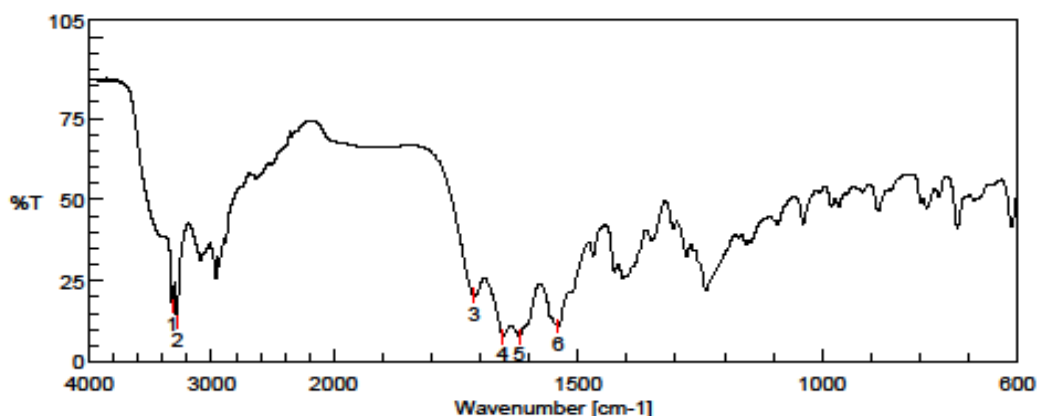
性状

指定要請規格案では、実測定の結果を基に、「本品は白~淡赤色の粉末である。」と規定しており、本規格案ではこれを採用した。

した。

確認試験

指定要請規格案では、確認試験として赤外吸収スペクトル法の臭化カリウム錠剤法が採用され、「本品につき赤外吸収スペクトル測定法の臭化カリウム錠剤法により、試験を行うとき、3321cm⁻¹, 3282cm⁻¹, 1712cm⁻¹, 1654cm⁻¹, 1619cm⁻¹および1541cm⁻¹付近に吸収を認める。」とされていたことから、同法を採用することとした。参考のため、特徴的な吸収波数帯及び赤外吸収スペクトルを示す。



[ピーク検出結果]

No.	位置	強度	No.	位置	強度	No.	位置	強度
1	3319.86	17.0836	2	3282.25	12.1237	3	1711.51	20.2798
4	1653.66	7.75925	5	1619.91	7.72467			
6	1540.85	10.9285						

波数	帰属
3, 321cm ⁻¹ 付近	N-H 伸縮振動
3, 282cm ⁻¹ 付近	N-H 伸縮振動
1, 712cm ⁻¹ 付近	C=O 伸縮振動
1, 654cm ⁻¹ 付近	カルボン酸イオン伸縮振動
1, 619cm ⁻¹ 付近	アミド I 吸収帯
1, 541cm ⁻¹ 付近	アミド II 吸収帯

純度試験

(1) 鉛 指定要請規格案では、規格値「Pb として 1.0μg/g 以下」が規定され、JECFA においても、グルタミン酸塩類の鉛規格を「1μg/g 以下」としていることから、試験法は、乾式灰化—原子吸光光度法（フレイム方式）を採用し、「Pb として 1.0μg/g」を採用した。本試験法における添加回収率は、93.6%（相対標準偏差 3.4%）と良好であった。

(2) ヒ素 指定要請規格案では、規格値「As₂O₃ として 1.0μg/g 以下」が規定されたことから、これを採用した。なお、ヒ素試験法の検液の調製 第 1 法は、「別に規定する量の試料を量り、水 5ml を加え、必要があれば加温して溶かし、検液とする。」と規定されているが、試料 2.0g は水 5ml に溶けにくいため、検液の調製には、水 20ml を用いることとした。また、本試験法における添加回収率は、89.8%（相対標準偏差 1.8%）であった。

乾燥減量 指定要請規格案では、「1.0%以下(105℃, 1 時間)」が規定されたことから、これを採用した。なお、実測値は 0.13%（相対標準偏差 8.5%）であった。

定量法 指定要請規格案では、純度 99.0%以上の定量用グルタミンバリルグリシンを標準物質とする定量法が提案されたことから、本規格案でもこれを採用した。なお、指定要請者の報告書によれば、カラムとして、Hydrosphere C18（内径 4.6mm，長さ 25cm，粒径 5 μ m，ワイエムシィ）を用い、カラム温度 30 $^{\circ}$ Cで分析した場合、グルタミンバリルグリシンの保持時間は、17.4 分であったが、L-column ODS-V（内径 4.6mm，長さ 25cm，粒径 5 μ m，化学物質評価研究機構）を用いた場合、保持時間は、カラム温度 30 $^{\circ}$ Cでは 23 分と遅くなり、他の規格試験法で比較的多く用いられている 40 $^{\circ}$ Cでは 19 分と、指定要請者の試験結果と近くなったことから、カラム温度については幅を持たせることとし、「30～40 $^{\circ}$ Cの一定温度」とした。

これまでの経緯

平成24年12月11日	厚生労働大臣から食品安全委員会委員長あてに 食品添加物の指定に係る食品健康影響評価を依頼
平成24年12月17日	第458回食品安全委員会（要請事項説明）
平成25年4月25日	第117回食品安全委員会添加物専門調査会
平成25年5月16日	第118回食品安全委員会添加物専門調査会
平成25年6月24日	第479回食品安全委員会（報告）
平成25年6月25日	食品安全委員会における国民からの意見募集 （～平成25年7月24日）
平成25年8月5日	第484回食品安全委員会（報告）
平成25年8月5日	食品安全委員会より食品健康影響評価の結果の 通知
平成25年11月7日	薬事・食品衛生審議会へ諮問
平成25年11月27日	薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会添加物部会
平成26年1月29日	薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会添加物部会

●薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会添加物部会
[委員]

氏名	所属
穂山 浩	国立医薬品食品衛生研究所食品添加物部長
井手 速雄	東邦大学名誉教授
井部 明広	実践女子大学生生活科学部食生活科学科教授
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
鎌田 洋一	岩手大学農学部共同獣医学科教授
北田 善三	畿央大学健康科学部健康栄養学科長・教授
佐藤 恭子	国立医薬品食品衛生研究所食品添加物部第一室長
中島 春紫	明治大学農学部農芸化学科教授
堀江 正一	大妻女子大学家政学部食物学科教授
山内 明子	日本生活協同組合連合会執行役員組織推進本部本部長
由田 克士	大阪市立大学大学院生活科学研究科教授
吉成 浩一	東北大学大学院薬学研究科薬物動態学分野准教授
若林 敬二※	静岡県立大学環境科学研究所教授

※部会長