

(案)

飼料添加物評価書

*Aspergillus niger* LU17257 株が  
産生する 6-フィターゼを原体とする  
飼料添加物

2019年6月

食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会

## 目 次

|                                  | 頁  |
|----------------------------------|----|
| ○ 審議の経緯 .....                    | 2  |
| ○ 食品安全委員会委員名簿 .....              | 2  |
| ○ 食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿 ..... | 2  |
| ○ 要約 .....                       | 3  |
| <br>                             |    |
| I. 評価対象飼料添加物の概要 .....            | 4  |
| 1. 用途 .....                      | 4  |
| 2. 原体の名称等 .....                  | 4  |
| 3. 原体の製造方法の概要 .....              | 4  |
| 4. 製剤 .....                      | 4  |
| 5. 対象飼料及び添加量 .....               | 4  |
| 6. 使用目的及び使用状況 .....              | 5  |
| <br>                             |    |
| II. 安全性に係る知見の概要 .....            | 7  |
| 1. 成分の安全性に関する知見 .....            | 7  |
| (1) 原体の有効成分（組換え物質）に関する知見 .....   | 7  |
| (2) 原体の製造工程に関する知見 .....          | 7  |
| (3) 賦形物質等 .....                  | 7  |
| 2. 毒性試験 .....                    | 8  |
| (1) 遺伝毒性試験 .....                 | 8  |
| (2) 急性毒性試験 .....                 | 9  |
| (3) 亜急性毒性試験 .....                | 10 |
| (4) 対象動物における飼養試験 .....           | 11 |
| <br>                             |    |
| III. 国際機関等における評価 .....           | 12 |
| 1. EFSA における評価 .....             | 12 |
| 2. 米国における評価等 .....               | 12 |
| <br>                             |    |
| IV. 食品健康影響評価 .....               | 13 |
| <br>                             |    |
| ・ 別紙：検査値等略称 .....                | 14 |
| ・ 参照 .....                       | 15 |

### 〈審議の経緯〉

- 2019年 4月 10日 農林水産大臣から飼料添加物の基準及び規格並びに飼料添加物を含む飼料の基準の改正に係る食品健康影響評価について要請（30 消安第 5387 号）、関係資料の接受
- 2019年 4月 16日 第 739 回食品安全委員会（要請事項説明）
- 2019年 4月 25日 第 144 回肥料・飼料等専門調査会
- 2019年 6月 18日 第 746 回食品安全委員会（報告）

### 〈食品安全委員会委員名簿〉

（2018年7月1日から）

佐藤 洋（委員長\*）  
山本 茂貴（委員長代理\*）  
川西 徹  
吉田 緑  
香西 みどり  
堀口 逸子  
吉田 充

\*：2018年7月2日から

### 〈食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿〉

（2017年10月1日から）

今井 俊夫（座長）  
山中 典子（座長代理）  
新井 鐘蔵 下位 香代子  
荒川 宜親 菅井 基行  
今田 千秋 高橋 和彦  
植田 富貴子 中山 裕之  
川本 恵子 宮島 敦子  
栗形 麻樹子 山田 雅巳  
小林 健一 吉田 敏則  
佐々木 一昭

### 〈第 144 回肥料・飼料等専門調査会専門参考人名簿〉

唐木 英明（公益財団法人食の安全・安心財団理事長）

## 要 約

飼料添加物である *Aspergillus niger* LU17257 株が産生する 6-フィターゼを原体とする飼料添加物について、飼料添加物指定審査用資料等を用いて、食品健康影響評価を実施した。

*A. niger* LU17257 株が産生する 6-フィターゼであるフィターゼ LU17257 の濃縮物を原体とする飼料添加物の製剤は、液状製剤及び顆粒の 2 種類があり、推奨添加量は、豚及び鶏用飼料 1 kg 当たり 100~1,000 フィチン酸分解力単位 (FTU) とされている。

食品安全委員会では、本飼料添加物の有効成分であるフィターゼ LU17257 について、遺伝子組換え物質に関する評価を実施し、当該飼料添加物を摂取した家畜に由来する畜産物についての安全上の問題はないとしている。

本飼料添加物製剤に含まれている賦形物質等は、その使用状況及び既存の評価並びに本製剤の用法・用量を考慮すると、本製剤の含有成分として摂取した場合のヒトへの健康影響は無視できる程度と考えた。

本飼料添加物の原体 (フィターゼ LU17257 原体) を用いた遺伝毒性試験のうち、*in vitro* の染色体異常試験は陽性であったが *in vivo* の小核試験は陰性であった。遺伝子突然変異に関しては *in vitro* の復帰突然変異試験が陰性であり、DNA 傷害性に関しては *in vivo* のコメットアッセイが陰性であった。したがって、フィターゼ LU17257 には、飼料添加物として用いる限りにおいて、生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないと考えた。

ラットの 90 日間亜急性毒性試験において、フィターゼ LU17257 原体の投与による毒性所見はみられなかったことから、本試験における NOAEL は投与最高用量である 15,000 mg/kg 飼料 (フィターゼとして雄では 478,920 FTU/kg 体重/日、雌では 607,877 FTU/kg 体重/日) と判断した。

本飼料添加物製剤を用いた豚及び鶏の耐容試験では、推奨添加量の 50~500 倍量 (50,000 FTU/kg 飼料) を混餌投与しても、投与による毒性影響はみられなかった。

以上から、今回評価要請された、*A. niger* LU17257 株が産生する 6-フィターゼの濃縮物を原体とする飼料添加物は、飼料添加物として適切に使用される限りにおいて、食品を通じてヒトの健康に影響を与える可能性は無視できる程度と考えた。

## I. 評価対象飼料添加物の概要

### 1. 用途

飼料が含有している栄養成分の有効な利用の促進である。(参照1)

### 2. 原体等の名称等

原体：*Aspergillus niger* LU17257 株が産生する *Hafnia* sp. LU11047、  
*Yersinia mollarettii* ATCC43969 株及び *Buttiauxella gaviniae*  
DSM18930 株由来の合成 HF586 遺伝子由来 6-フィターゼ濃縮物  
(フィターゼ LU17257 原体)

有効成分：フィターゼ LU17257

酵素名：6-フィターゼ

(*myo*-inositol-hexakisphosphate 6-phosphohydrolase)

酵素番号：EC 3.1.3.26

CAS No.: 9001-89-2 (参照 1)

### 3. 原体の製造方法の概要

*A. niger* ISO-502 株を宿主株として、3種の微生物 (*Hafnia* sp. LU11047、  
*Y. mollarettii* ATCC43969 及び *B. gaviniae* DSM18930) 由来の 6-フィターゼハイブリッド酵素をコードする HF586 遺伝子を導入した組換え真菌 *A. niger* LU17257 株を培養し、得られた培養液から菌体成分の除去等の処理を行った後、限外ろ過によって濃縮する。(参照 1、2)

### 4. 賦形物質等

本飼料添加物の剤形は、液状及び固形(顆粒)があり、それぞれに以下の賦形物質等を加えて製造する。

#### (1) 液状製剤

原体に、グリセロール、安息香酸ナトリウム及び水を混合する。

#### (2) 固形製剤(顆粒)

原体に、ポリビニルアルコール(PVA)溶液及びアラビアガム溶液を加えた後、デンプンを加え、さらに、酸化ポリエチレンワックス、オレイン酸及び水酸化アンモニウムによってコーティング処理をする。(参照 1)

### 5. 対象飼料及び添加量

評価要請者によれば、本飼料添加物の飼料への推奨添加量は、豚及び鶏又は産卵鶏(うずらを含む。以下同じ。)用飼料 1 kg 当たりそれぞれ 300~1,000 又は 100~500 フィチン酸分解力単位 (FTU)<sup>1</sup>である。(参照 1)

<sup>1</sup> 1 FTU とは、フィチン酸分解力単位のことであり、1 FTU は、フィターゼがフィチン酸に 37℃で作用するとき、1 分間に 1 μmol のリン酸を遊離させる酵素量に相当する。(参照 3)

## 6. 使用目的及び使用状況

フィターゼは、フィチン酸<sup>2</sup>を加水分解して無機リン酸を遊離する酵素群の総称であり、今回の評価対象である遺伝子組換え体 *Aspergillus niger* LU17257 株が産生するフィターゼの濃縮物を原体とする飼料添加物は、飼料が含有している栄養成分の有効な利用の促進を目的として、豚、鶏及び産卵鶏の飼料に添加して使用される（100～1,000 FTU/kg 飼料）。（参照 1）

フィターゼの酵素活性は、フィチン酸のイノシトール環にあるリン酸エステル結合の加水分解であり、6-フィターゼは第 6 位に、3-フィターゼは第 3 位にあるリン酸エステル結合を優先的に加水分解する。フィターゼ LU17257 は、6-フィターゼとしての酵素活性を有する。（参照 1、4）

反すう動物では、消化管内に存在する微生物が産生するフィターゼによりフィチン酸が消化されるが、豚等の単胃動物及び鶏等の鳥類ではフィターゼの活性が弱いことから、飼料中のフィチン酸に含まれるリンの利用率は低いとされている。必要とされるリンを補充するためには、飼料に無機リンを添加することで対応可能ではあるが、利用率が低いことから、排泄されるリンも多くなる。そこで、飼料中のリンの利用率を改善するため、飼料添加物としてのフィターゼが開発された。フィターゼを豚又は鶏用飼料に添加することで、飼育成績を損なうことなく、糞便中へのリンの排泄量が低減される。（参照 4）

日本では、農林水産省における飼料添加物の製造方法等の基準及び成分の規格等の設定に関し、食品安全委員会が 2016 年に、飼料添加物として使用される *Schizosaccharomyces pombe* ASP595-1 株が産生する 6-フィターゼについて、「飼料添加物として適切に使用される限りにおいて、食品を通じてヒトの健康に影響を与える可能性は無視できると考えられる」と評価している（参照 4）。その後、食品安全委員会は、*Pichia pastoris* P-132 株等が産生する 3 種類のフィターゼを原体とする飼料添加物の評価を実施しており、いずれも同様の判断を行っている。

日本における飼料添加物としてのフィターゼの使用については、1996 年 9 月に *A. niger* を培養して得られたフィターゼが指定され（参照 5）、その後、現在（2019 年 6 月）までに、5 種類のフィターゼが規格化されている。これらのフィターゼを含有する対象家畜用飼料について、飼料中の含有量に関する基準は定められていない（参照 3）。また、動物用医薬品としては、製造販売承認されていない。（参照 6）食品添加物としては、*A. niger* の培養液から得られるフィターゼが既存添加物名簿に記載されている（参照 7）。

なお、海外でも、フィターゼは飼料添加物又は食品添加物として使用されている。（参照 1、8）

今般、農林水産省より、遺伝子組換え技術によって得られた *A. niger* から

---

<sup>2</sup> *myo*-inositol 1,2,3,4,5,6-hexakis(dihydrogen phosphate) (CAS No.: 83-86-3)。穀物等の植物種子に多く含まれる。植物にとっては主要なリン酸の貯蔵物質。（参照 4）

産生されるフィターゼについて、飼料の安全性の確保及び品質の改善に関する法律（昭和 28 年法律第 35 号）第 3 条第 1 項の規定に基づく飼料添加物の製造の方法等の基準及び成分の規格並びに当該飼料添加物を含む飼料の製造の方法の基準を設定することについて食品健康影響評価の要請がなされた。

本要請で評価対象となるフィターゼは、BASF 社が開発した遺伝子組換え体 *A. niger* LU17257 株が産生するフィターゼ濃縮物を原体とした飼料添加物製剤であり、BASF ジャパン社が国内販売を企図しているものである。（参照 1）

本製剤は、米国では、2015 年に GRAS として自己認証が行われているほか、EU では EFSA の評価を受けて 2018 年から登録されている。（参照 1、9、10）

なお、本飼料添加物の有効成分であるフィターゼ LU17257 については、遺伝子組換え技術を用いて生産していることから、農林水産省より、飼料及び飼料添加物の成分規格等に関する省令（昭和 51 年農林省令第 35 号）別表第 2 の 2 の規定に基づき、遺伝子組換え飼料添加物の安全性に関しても評価要請がなされ、食品安全委員会は 2019 年 5 月 21 日付けで、「当該飼料添加物を摂取した家畜に由来する畜産物について安全上の問題はないと判断した」と評価している。（参照 2）

## II. 安全性に係る知見の概要

本評価書は、飼料添加物指定審査用資料等を基に、遺伝子組換え体 *A. niger* LU17257 株が産生するフィターゼ LU17257 の濃縮物を原体とする飼料添加物の毒性に関する主な知見を整理した。

### 1. 原体及び賦形物質等

#### (1) 原体の有効成分（組換え物質）に関する知見

本飼料添加物の原体の有効成分であるフィターゼ LU17257 は、遺伝子組換え技術を利用して開発された酵素（タンパク質）である。食品安全委員会は、2019年5月に遺伝子組換え物質の観点から飼料添加物として利用された場合の食品を介したヒトへの安全性について、次のとおり評価している。（参照 2）

本飼料添加物中に組換え体由来の新たな有害物質が生成されることはなため、肉、乳、卵等の畜産物中に新たな有害物質が移行することは考えられない。また、遺伝子組換えに起因する成分が、畜産物中で有害物質に変換・蓄積される可能性や、家畜の代謝系に作用し、新たな有害物質が生成される可能性は考えられない。

以上のことから、本飼料添加物については、「遺伝子組換え飼料及び飼料添加物の安全性評価の考え方」（平成16年5月6日食品安全委員会決定）に基づき評価した結果、改めて「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）に準じて評価する必要はなく、当該飼料添加物を摂取した家畜に由来する畜産物について安全上の問題はないと判断した。

#### (2) 原体の製造工程に関する知見

原体の有効成分を含む培養上清について、安息香酸ナトリウムを用いた宿主菌の不活化処理後及び沈殿処理を行った後、フィルターを用いた細胞分離工程及び限外ろ過による濃縮工程により非酵素成分が除去されている。（参照 1、11）

#### (3) 賦形物質等に関する知見

##### ① 液状製剤

液状製剤の製造にはグリセロール、安息香酸ナトリウム及び水が使用される。グリセロールは食品添加物として指定されている。安息香酸ナトリウムは、国内では食品添加物として指定されており、JECFA では安息香酸類についてグループ ADI が 0～5 mg/kg 体重/日と設定されている。（参照 1、12、13）

## ② 固形製剤（顆粒）

顆粒製剤の製造では、PVA、アラビアガム、デンプン、酸化ポリエチレンワックス、オレイン酸及び水酸化アンモニウムが使用される。

PVA については、食品安全委員会が行った類縁のフィターゼ製剤の評価において、PVA を使用した製剤はヒトに対して安全であると評価している（参照14）。なお、JECFA では ADI を 50 mg/kg 体重/日としている（参照15）。

アラビアガムについては、1982 及び 1990 年に JECFA において評価され、利用可能な毒性試験において有害影響が認められなかったことに基づき、JECFA は ADI を「特定しない (Not specified)」と評価している。また、2017 年の EFSA における再評価では、ADI を設定する必要はなく、ばく露量評価においては、一般の人口集団に対する安全性に懸念はないとしている。（参照16～18）

デンプンは、食品に含有されている成分である。（参照19）

酸化ポリエチレンワックスについては、EFSA は NOAEL を 800 mg/kg 体重/日とし、推定されるヒトの高摂取量との間には十分な安全域が確保されており、現在承認されている使用方法での最大使用量では安全性に懸念はないとしている。オレイン酸は食品中に通常含有される脂肪酸で、水酸化アンモニウムは指定添加物であるアンモニアを水溶液にした成分であり、飼料から畜産物を介してヒトへの毒性が懸念されるものではない。（参照 12、19～21）

以上から、本製剤に含まれている賦形物質等は、その使用状況及び既存の評価並びに本製剤の用法・用量を考慮すると、本製剤の含有成分として摂取した場合のヒトへの健康影響は無視できる程度と考えた。

## 2. 毒性に関する試験結果

### (1) 遺伝毒性試験

フィターゼ LU17257 原体の遺伝毒性試験結果を表 1 に示した。

表 1 フィターゼ LU17257 原体の遺伝毒性試験結果

| 試験系             |          | 対象  | 用量  | 結果              | 参照              |
|-----------------|----------|---|---|-----------------|-----------------|
| <i>in vitro</i> | 復帰突然変異試験 | <i>Salmonella typhimurium</i> TA98、TA100、TA1535、TA1537、 <i>Escherichia coli</i> WP2uvrA | 原体<br>33、100、333、<br>1,000、2,750、5,500<br>μg/プレート <sup>a</sup> (±S9)                | 陰性              | 1、<br>10、<br>22 |
|                 | 染色体異常試験  | チャイニーズハムスターV79細胞  | 原体<br>0、156.3、312.5、<br>625、1,250、2,500、<br>5,000 μg/mL、(±S9)、<br>4時間ばく露、14時間<br>培養 | 陽性 <sup>b</sup> | 1、<br>10、<br>23 |
| <i>in vivo</i>  | 小核試験     | マウス (NMRI系、5～8週齢) 骨髄細胞<br>雄 5匹/群  | 原体<br>500、1,000、2,000<br>mg/kg 体重<br>単回強制経口投与<br>24及び48時間                           | 陰性              | 1、<br>10、<br>24 |
|                 | コメットアッセイ | ラット (Wistar Han系、雄 5匹/群)  | 原体<br>0、250、500、1,000、<br>2,000 mg/kg 体重、2日<br>間、経口投与、最終投<br>与 3～4時間後試料採取           | 陰性              | 10              |

a : インキュベーション及びプレインキュベーション試験を実施

b : +S9、5,000 μg/mL

フィターゼ LU17257 原体を用いた遺伝毒性試験のうち、*in vitro* の染色体異常試験は陽性であったが、*in vivo* の小核試験は陰性であった。遺伝子突然変異に関しては、*in vitro* の復帰突然変異試験が陰性であり、DNA 傷害性に関しては *in vivo* のコメットアッセイが陰性であった。したがって、食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、フィターゼ LU17257 には、飼料添加物として用いる限りにおいて、生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないと判断した。

## (2) 急性毒性試験 <参考資料<sup>3</sup>>

ラットにおける、フィターゼ LU17257 原体の急性毒性試験結果を表 2 に示した。

<sup>3</sup> 急性毒性試験の投与量については、酵素系飼料添加物の性状及び使用方法を踏まえると、通常、それを摂取した家畜由来の畜産物を介してヒトが摂取し得ない高用量となり、評価には直接関係しないと考えられるため、本評価書では参考資料とした。

表 2 フィターゼ LU17257 原体の急性毒性試験結果

| 動物種                             | 性別           | 投与物質・方法                                  | LD <sub>50</sub> | 参照      |
|---------------------------------|--------------|--|------------------|---------|
| ラット<br>(Wistar 系、<br>約 9~10 週齢) | 雌 12 匹/<br>群 | 原体 (25%水<br>溶液)<br>単回強制経<br>口投与<br>14 日間 | >8,000 mg/kg 体重  | 1、10、25 |

### (3) 亜急性毒性試験

#### ① 90 日間亜急性毒性試験 (ラット)

ラット (Wistar Han 系、42 日齢、雌雄各 10 匹/群) にフィターゼ LU17257 原体を 90 日間混餌投与 (0、1,500、5,000 及び 15,000 mg/kg 飼料) する亜急性毒性試験を実施した。

フィターゼ LU17257 原体の平均摂取量を表 3 に示した。

試験期間を通して、一般状態、摂餌量、体重等を調べるとともに、試験開始時及び終了時に眼科的検査を、試験後半に運動機能観察試験、自発運動量試験、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、病理検査及び病理組織学的検査を実施した。

試験期間を通し、死亡例はみられなかった。体重、摂餌量、眼科的検査、運動機能、自発運動量、血液学的検査、血液生化学的検査及び尿検査に毒性影響はみられず、各種組織の病理組織学的検査でも投与に関連する病理学的変化はみられなかった。

これらの結果から、試験者はラットへの 90 日間のフィターゼ LU17257 原体の混餌投与において毒性兆候はみられず、最大投与量 15,000 mg/kg 飼料に耐容したとしている。この結果、本試験での NOAEL は 15,000 mg/kg 飼料 (雄: 1,051 mg/kg 体重/日、雌: 1,334 mg/kg 体重/日) と結論した。

(参照 1、10、26)

食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、本試験ではいずれの用量でも毒性所見はみられなかったと考え、本試験の NOAEL は投与最高用量である 15,000 mg/kg 飼料 (雄: 1,051 mg/kg 体重/日 (478.920 FTU/kg 体重/日)、雌: 1,334 mg/kg 体重/日 (607,877 FTU/kg 体重/日) と判断した。

表 3 ラットにおけるフィターゼ LU17257 原体の平均摂取量

| 投与濃度 (mg/kg 飼料) | 摂取量 (mg/kg 体重/日) |       |
|-----------------|------------------|-------|
|                 | 雄                | 雌     |
| 1,500           | 95               | 117   |
| 5,000           | 321              | 383   |
| 15,000          | 1,051            | 1,334 |

#### (4) 対象動物等における飼養試験

##### ① 耐容試験

豚（子豚）、鶏（肉用鶏及び産卵鶏）及び七面鳥に高濃度のフィターゼ LU17257 製剤を混餌投与する複数の耐容試験が実施された。

豚及び鶏では、最高用量を推奨添加量の 50～500 倍となる 50,000 FTU/kg 飼料と設定し、豚及び肉用鶏では約 6 週間、産卵鶏では 8 週間混餌投与し、また、七面鳥では 100,000 FTU/kg 飼料（400 倍）を 96 日間混餌投与した結果、いずれもフィターゼ LU17257 製剤の投与による毒性影響はみられなかった。（参照 1、10、27～31）

##### ② 飼養試験（有効性確認試験）

豚（肥育豚、去勢豚及び繁殖雌豚）、鶏（肉用鶏及び産卵鶏）及び七面鳥に、推奨添加量の LU17257 製剤を混餌投与する飼養試験が実施された。

肥育豚では最長約 15 週間、繁殖雌豚では妊娠期間及び哺乳期間中、肉用鶏では最長 24 週間、産卵鶏では最長 36 週間及び七面鳥では最長 96 日間混餌投与した結果、いずれもフィターゼ LU17257 製剤の投与による毒性影響はみられなかった。（参照 1、9、32～42）

### Ⅲ. 国際機関等における評価

#### 1. EFSA における評価

2017年に、本製剤の鶏、七面鳥及び豚用飼料への飼料添加物としての使用に関する評価を実施している。概要は以下のとおりである。(参照10)

本製剤を産生する組換え株及び組換え DNA は発酵産物からは検出されなかった。

最小推奨用量は、肉用鶏用飼料へは 125 FTU/kg 飼料、七面鳥用飼料へは 250 FTU/kg 飼料、産卵鶏用飼料へは 200 FTU/kg 飼料並びに離乳子豚及び繁殖雌豚用飼料へは 100 FTU/kg 飼料としている。肉用鶏及び七面鳥では最小推奨用量の 400 倍まで、産卵鶏では 250 倍まで、離乳子豚及び繁殖雌豚では 25 倍まで耐容であったことから、最小推奨用量は安全としている。

*in vitro* (復帰突然変異試験) 及び *in vivo* (小核試験及びコメットアッセイ) の遺伝毒性試験で影響がみられなかったこと並びに 90 日間亜急性毒性試験で影響がみられなかったことから、本製剤の食用動物への使用による消費者への懸念は示唆されないとしている。

また、フィターゼ LU17257 は酵素であり、皮膚及び呼吸器において感作作用を有する可能性が示唆されたが、皮膚刺激性試験及び眼刺激性試験では毒性及び刺激性はみられなかった。

#### 2. 米国における評価等

評価資料は公表されていないが、提出された審査用資料によると、豚及び鶏飼料への飼料添加物が、2015年に GRAS として自己認証されている。添加量は 100~1,500 FTU/kg 飼料とされている。(参照43)

#### IV. 食品健康影響評価

*A. niger* LU17257 株が産生する 6-フィターゼであるフィターゼ LU17257 の濃縮物を原体とする飼料添加物の製剤は、液状製剤及び顆粒の 2 種類があり、推奨添加量は、豚及び鶏用飼料 1 kg 当たり 100~1,000 FTU とされている。

食品安全委員会では、本飼料添加物の有効成分であるフィターゼ LU17257 について、遺伝子組換え物質に関する評価を実施し、当該飼料添加物を摂取した家畜に由来する畜産物についての安全上の問題はないとしている。

本飼料添加物製剤に含まれている賦形物質等は、その使用状況及び既存の評価並びに本製剤の用法・用量を考慮すると、本製剤の含有成分として摂取した場合のヒトへの健康影響は無視できる程度と考えた。

フィターゼ LU17257 原体を用いた遺伝毒性試験のうち、*in vitro* の染色体異常試験は陽性であったが、*in vivo* の小核試験は陰性であった。遺伝子突然変異に関しては *in vitro* の復帰突然変異試験が陰性であり、DNA 傷害性に関しては *in vivo* のコメットアッセイが陰性であった。したがって、フィターゼ LU17257 には、飼料添加物として用いる限りにおいて、生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないと考えた。

ラットの 90 日間亜急性毒性試験において、フィターゼ LU17257 原体の投与による毒性所見はみられなかったことから、本試験における NOAEL は投与最高用量である 15,000 mg/kg 飼料（フィターゼとして雄では 478,920 FTU/kg 体重/日、雌では 607,877 FTU/kg 体重/日）と判断した。

本飼料添加物製剤を用いた豚及び鶏の耐容試験では、推奨添加量の 50~500 倍量（50,000 FTU/kg 飼料）を混餌投与しても、投与による毒性影響はみられなかった。

以上から、今回評価要請された、*A. niger* LU17257 株が産生する 6-フィターゼの濃縮物を原体とする飼料添加物は、飼料添加物として適切に使用される限りにおいて、食品を通じてヒトの健康に影響を与える可能性は無視できる程度と考えた。

〈別紙：検査値等略称〉

| 略称等              | 名称                                       |
|------------------|--|
| ADI              | Acceptable Daily Intake：許容一日摂取量          |
| EC Number        | Enzyme Commission Number：酵素番号            |
| EFSA             | European Food Safety Authority：欧州食品安全機関  |
| FDA              | Food and Drug Administration：米国食品医薬品庁    |
| FTU              | Phytase unit：フィチン酸分解力単位                  |
| EU               | European Union：欧州連合                      |
| GRAS             | Generally Recognized as Safe：一般に安全と認められる |
| LD <sub>50</sub> | 50% Leathal Dose：半数致死量                   |
| NOAEL            | No-Observed-Adverse-Effect Level：無毒性量    |
| PVA              | Polyvinyl alcohol：ポリビニルアルコール             |

## 〈参照〉

- 1 BASF ジャパン株式会社：フィターゼ（ナツフォス E）審査用資料．試験成績等の抄録． 2018.（非公表）
- 2 食品安全委員会：遺伝子組換え食品等評価書「LU17257 株を利用して生産されたフィターゼ」（2019年5月）
- 3 農林水産省．飼料料及び飼料添加物の成分規格等に関する省令（昭和五十一年七月二十四日農林省令第三十五号）
- 4 食品安全委員会：飼料添加物評価書「*Schizosaccharomyces pombe* ASP595-1 株が生産する 6-フィターゼ」（2016年3月）
- 5 農林水産省．飼料添加物の効果安全性について（案）フィターゼ 2016
- 6 農林水産省動物医薬品検査所：「動物用医薬品等データベース」
- 7 公益財団法人 日本食品化学研究振興財団：既存添加物名簿収載品目リスト（2014年1月30日）
- 8 JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives): 3-Phytase from *Aspergillus niger* expressed in *Aspergillus niger*. Safety evaluation of certain food additives. WHO Food Additives Series 67. 2012.
- 9 EU 規則：COMMISSION IMPLEMENTING REGULATION (EU) 2018/338 of 7 March 2018 concerning the authorisation of a preparation of 6-phytase, produced by *Aspergillus niger* (DSM 25770) as feed additive for chickens for fattening, chickens reared for laying, pigs for fattening, sows, minor porcine species for fattening or for reproduction, turkeys for fattening, turkeys reared for breeding, all other avian species (excluding laying birds) and weaned piglets (holder of the authorisation BASF SE)
- 10 EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed (FEEDAP): Safety and efficacy of Natuphos® E (6-phytase) as a feed additive for avian and porcine species. EFSA Journal 2017; 15(11):5024.
- 11 BASF ジャパン株式会社：フィターゼ（ナツフォス E）審査用資料 追加回答資料. 2019（非公表）
- 12 食品衛生法施行規則（昭和23年厚生省令第23号）（別表第1）12
- 13 JECFA (The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives): Benzyl derivatives. Evaluation of certain food additives and contaminants. WHO Technical Report Series. 2002; 909.
- 14 食品安全委員会：飼料添加物評価書「*Schizosaccharo myces pombe* ASP595-1 株が生産する 6-フィターゼ」（2016年10月）
- 15 JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives) : Polyvinyl Alcohol. Safety evaluation of certain food additives and contaminants. WHO Food Additives Series 52, 2004.
- 16 JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives): Toxicological evaluation of certain food additives, Series number 17, ID number 526. Arabic gum (gum arabic). Twenty-sixth Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, WHO Food Additive Series 17. 1982.
- 17 JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives),

Toxicological evaluation of certain food additives and contaminants, Series number 26, ID number 686. Gum arabic. Thirty-fifth Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, WHO Food Additive Series 26. 1990.

- 18 EFSA (Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food): Re-evaluation of acacia gum (E 414) as a food additive The EFSA Journal. 2017; 15(4): 4741.
- 19 今堀和友、山川民夫監修：生化学辞典（第4版）株式会社東京化学同人、2007年
- 21 BASF ジャパン株式会社. フィターゼ（ナツフォス E）に関する申請書 2018, 追加文献 1.（非公表）
- 22 BASF ジャパン株式会社. フィターゼ（ナツフォス E）審査用資料：添付資料 28.（非公表）
- 23 BASF ジャパン株式会社. フィターゼ（ナツフォス E）審査用資料：添付資料 30.（非公表）
- 24 BASF ジャパン株式会社. フィターゼ（ナツフォス E）審査用資料：添付資料 31.（非公表）
- 25 BASF ジャパン株式会社. フィターゼ（ナツフォス E）審査用資料：添付資料 26.（非公表）
- 26 BASF ジャパン株式会社. フィターゼ（ナツフォス E）審査用資料：添付資料 27.（非公表）
- 27 BASF ジャパン株式会社. フィターゼ（ナツフォス E）審査用資料：添付資料 21.（非公表）
- 28 BASF ジャパン株式会社. フィターゼ（ナツフォス E）審査用資料：添付資料 33.（非公表）
- 29 BASF ジャパン株式会社. フィターゼ（ナツフォス E）審査用資料：添付資料 13.（非公表）
- 30 BASF ジャパン株式会社. フィターゼ（ナツフォス E）審査用資料：添付資料 32.（非公表）
- 31 BASF ジャパン株式会社. フィターゼ（ナツフォス E）審査用資料：添付資料 16.（非公表）
- 32 BASF ジャパン株式会社. フィターゼ（ナツフォス E）審査用資料：添付資料 20.（非公表）
- 33 BASF ジャパン株式会社. フィターゼ（ナツフォス E）審査用資料：添付資料 22.（非公表）
- 34 BASF ジャパン株式会社. フィターゼ（ナツフォス E）審査用資料：添付資料 23.（非公表）
- 35 BASF ジャパン株式会社. フィターゼ（ナツフォス E）審査用資料：添付資料 24.（非公表）
- 36 BASF ジャパン株式会社. フィターゼ（ナツフォス E）審査用資料：添付資料 25.（非公表）
- 37 BASF ジャパン株式会社. フィターゼ（ナツフォス E）審査用資料：添付資料 12.（非公表）
- 38 BASF ジャパン株式会社. フィターゼ（ナツフォス E）審査用資料：添付資料 14.（非公表）

- 39 BASF ジャパン株式会社. フィターゼ (ナツフォス E) 審査用資料: 添付資料 15. (非公表)
- 40 BASF ジャパン株式会社. フィターゼ (ナツフォス E) 審査用資料: 添付資料 17. (非公表)
- 41 BASF ジャパン株式会社. フィターゼ (ナツフォス E) 審査用資料: 添付資料 18. (非公表)
- 42 BASF ジャパン株式会社. フィターゼ (ナツフォス E) 審査用資料: 添付資料 19. (非公表)
- 43 BASF ジャパン株式会社. フィターゼ (ナツフォス E) 審査用資料: 添付資料 2. (非公表)