

府 食 第 7 6 8 号
令和 6 年 1 2 月 1 8 日

農林水産大臣
江藤 拓 殿

食品安全委員会
委員長 山本 茂貴

食品健康影響評価の結果の通知について

令和 6 年 7 月 31 日付け 6 消安第 2691 号をもって農林水産大臣から食品安全委員会に意見を求められた *Bacillus licheniformis* JPBL011 株を利用して生産されたアミラーゼを原体とする飼料添加物に係る食品健康影響評価の結果は下記のとおりですので、食品安全基本法（平成 15 年法律第 48 号）第 23 条第 2 項の規定に基づき通知します。

なお、食品健康影響評価の詳細は別添のとおりです。

記

Bacillus licheniformis JPBL011 株を利用して生産されたアミラーゼ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は、食品を通じて人の健康に影響を与える可能性は無視できる程度と考えられる。

別添

飼料添加物評価書

Bacillus licheniformis JPBL011 株
を利用して生産されたアミラーゼを
原体とする飼料添加物

令和6年（2024年）12月

食品安全委員会

目 次

	頁
○審議の経緯.....	2
○食品安全委員会委員名簿.....	2
○食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿.....	2
○要 約.....	3
I. 評価対象飼料添加物の概要.....	4
1. 用途.....	4
2. 原体等の名称等.....	4
3. 原体の製造方法の概要.....	4
4. 賦形物質等.....	4
5. 対象飼料及び添加量.....	5
6. 使用目的及び使用状況.....	5
II. 安全性に係る知見の概要.....	6
1. 原体及び賦形物質等.....	6
(1) 原体の有効成分（組換え物質）に関する知見.....	6
(2) 原体の製造工程に関する知見.....	6
(3) 賦形物質等に関する知見.....	7
2. 残留試験.....	7
3. 原体の安全性に関する情報.....	8
(1) 遺伝毒性試験.....	8
(2) 亜急性毒性試験.....	9
(3) その他の試験.....	9
4. 対象動物における安全性試験.....	10
(1) 牛の耐容性試験.....	10
(2) 豚の耐容性試験.....	11
(3) 鶏の耐容性試験.....	11
(4) 対象動物における飼養試験.....	12
III. 国際機関等における評価.....	14
1. JECFAにおける評価.....	14
2. 欧州における評価.....	14
3. 米国における評価.....	14
IV. 食品健康影響評価.....	15
・ 別紙：検査値等略称.....	16
・ 参照.....	17

〈審議の経緯〉

- 2024年 7月 31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（6消安第2691号）、関係資料の接受
- 2024年 8月 6日 第950回食品安全委員会（要請事項説明）
- 2024年 9月 9日 第201回肥料・飼料等専門調査会
- 2024年 10月 29日 第959回食品安全委員会（報告）
- 2024年 10月 30日から11月 28日まで 国民からの意見・情報の募集
- 2024年 12月 11日 肥料・飼料等専門調査会座長から食品安全委員会委員長へ報告
- 2024年 12月 17日 第966回食品安全委員会（報告）
- 12月 18日付けで農林水産大臣に通知

〈食品安全委員会委員名簿〉

（2024年7月1日から）

- 山本 茂貴（委員長）
浅野 哲（委員長代理 第一順位）
祖父江 友孝（委員長代理 第二順位）
頭金 正博（委員長代理 第三順位）
小島 登貴子
杉山 久仁子
松永 和紀

〈食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿〉

（2024年4月1日から）

- 山中 典子（座長*）
川本 恵子（座長代理*）
高橋 研（座長代理*）
赤沼 三恵 大山 和俊
新井 鐘蔵 佐々木一昭
井上 薫 平田 暁大
今井 俊夫 山田 雅巳
植田富貴子 吉田 敏則

*：2024年4月17日から

〈第201回肥料・飼料等専門調査会専門参考人名簿〉

- 森田 健（独立行政法人製品評価技術基盤機構化学物質管理センター上席技術専門官）

要 約

Bacillus licheniformis JPBL011 株を利用して生産されたアミラーゼ（以下「改変 amyS アミラーゼ」という。）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。

改変 amyS アミラーゼを原体とする飼料添加物には、液状及び粉末の 2 種類の製剤がある。推奨添加量は、牛用飼料については、飼料 1 kg 当たり 300～400 KNU（1,050～1,400 でんぷん糖化力単位）、豚及び鶏用飼料については、飼料 1 kg 当たり 60～120 KNU（210～420 でんぷん糖化力単位）とされている。

食品安全委員会では、改変 amyS アミラーゼについて、遺伝子組換え飼料添加物の安全性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は、人の健康を損なうおそれはないと評価している。

遺伝毒性試験については、*in vivo* 試験は実施されていないが、*in vitro* での細菌を用いた復帰突然変異試験及びヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験が実施され、いずれも陰性であった。改変 amyS アミラーゼの食品中の残留は通常無視できる程度と考えられることを考慮すると、改変 amyS アミラーゼは人にとって特段問題となる遺伝毒性を示さないと考えた。

ラットの 13 週間亜急性毒性試験では、投与に起因する毒性所見はみられず、NOAEL は最高用量である 16,689 KNU/kg 体重/日と判断した。改変 amyS アミラーゼの食品中の残留は通常無視できる程度と考えられることから、飼料添加物として適切に使用される限りは人への健康影響は無視できる程度と考えた。

本飼料添加物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飼料添加物の用法・用量を考慮すると、本飼料添加物の含有成分として摂取した家畜等に由来する食品を通じた人への健康影響は無視できる程度と考えた。

本飼料添加物を用いた対象動物の安全性試験の結果から、推奨添加量で使用された場合において、いずれの対象動物に対しても安全性に問題はないと考えた。

以上のことから、食品安全委員会は、本飼料添加物は、飼料添加物として適切に使用される限りにおいては、食品を通じて人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（参照 1）

2. 原体等の名称等

原体：*Bacillus licheniformis* JPBL011 株が生産するアミラーゼ（改変 amyS アミラーゼ）

有効成分：アミラーゼ

酵素名： α -アミラーゼ（ α -amylase）

酵素番号：EC 3.2.1.1

CAS 番号：9000-90-2

（参照1、2）

3. 原体の製造方法の概要

Bacillus licheniformis Ca63 株を宿主として、*Geobacillus stearothermophilus* ATCC7953 株由来の合成改変アミラーゼ遺伝子（改変 amyS 遺伝子）を導入した組換え体生産菌 *Bacillus licheniformis* JPBL011 株を培養し、培養を終了した後、培養物をろ過し、又は水で抽出した後、ろ過して菌体を除去し、ろ液を濃縮する。（参照 1）

4. 賦形物質等

本飼料添加物には、液状製剤及び粉末製剤があり、以下の賦形物質等を加えて製造する。

・液状製剤

原体に、ショ糖、塩化ナトリウム、ソルビン酸カリウム及び水を混合する。

・粉末製剤

原体に、カオリン、セルロース、植物油、ショ糖、硫酸ナトリウム、デキストリン及びメチオニンを加え、粉末化する。

（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、以下の用量とされている。

- ・牛用飼料

300～400 KNU¹/kg 飼料（1,050～1,400 でんぷん糖化力単位²/kg 飼料）

- ・豚用飼料

60～120 KNU/kg 飼料（210～420 でんぷん糖化力単位/kg 飼料）

- ・鶏用飼料

60～120 KNU/kg 飼料（210～420 でんぷん糖化力単位/kg 飼料）

（参照 1）

6. 使用目的及び使用状況

アミラーゼは、ヒトを含む動物の唾液や膵液に含まれるほか、多くの生物に存在する酵素であり、食物中のでんぷんのグルコシド結合を加水分解してオリゴ糖や二糖類、単糖類を産生する。アミラーゼを添加した飼料を摂取させることにより、消化管におけるでんぷんの消化が促進され、エネルギーの消化効率が上昇し、対象動物の成長が促進される。

国内においては、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、*Aspergillus oryzae* 又は *Rhizopus delemar*、*Bacillus subtilis* 又は *Bacillus amyloliquefaciens* により生産されたアミラーゼが飼料添加物として指定されている。（参照 1、3）

また、 α -アミラーゼは食品添加物（既存添加物）として使用されているほか、ジアスターゼとして動物用医薬品及び人用医薬品に使用されている。（参照 4、5、6、7）

今回の評価対象は、*Bacillus licheniformis* JPBL011 株が生産するアミラーゼであり、遺伝子組換え株は従来株よりアミラーゼ生産能が向上しているとされている（参照 1）。

米国では、牛用飼料添加剤として 2007 年に self-GRAS を取得している。EU では乳牛用飼料添加物として 2015 年に指定されている。その他諸外国では鶏、豚、乳牛及び魚類用飼料に添加して使用されている。（参照 1、8、9、10、11）

今般、DSM 株式会社から農林水産省へ、*Bacillus licheniformis* JPBL011 株を利用して生産されたアミラーゼを原体とする飼料添加物の指定について申請がなされたことに伴い、農林水産省より、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

¹ 1KNU（キロ・ノボ・ユニット）は、1.86mM の 4,6-ethylidene-G7-p-nitrophenyl-maltoheptaoside に pH7.0、37℃で作用するとき、1 分間に 6 μ mol の p-nitrophenol を生じる酵素量に相当する。

² 1 でんぷん糖化力単位は、アミラーゼがバレイショデンプンに 37℃で作用するとき、反応初期の 1 分間に 1 mg のブドウ糖に相当する還元力の増加をもたらす酵素量に相当する。

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一般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。

なお、本飼料添加物については、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。以下「省令」という。）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ついての確認を行うことに関して令和 5 年 7 月 4 日に農林水産省より評価要請がなされ、食品安全委員会は令和 6 年 6 月に「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は、人の健康を損なうおそれはないと判断した」と評価した。（参照 12）

II. 安全性に係る知見の概要

本評価書では、飼料添加物指定審査用資料等を基に、改変 amyS アミラーゼを原体とする飼料添加物について、原体に関する情報（II. 1. (1) (2)、2、3）及び本飼料添加物の安全性に関する情報（II. 1. (3)、4）を、「酵素を有効成分とする飼料添加物の食品健康影響評価の考え方について」（令和 2 年 11 月 13 日肥料・飼料等専門調査会決定）に基づき整理し、評価した。

検査値等略称を別紙に示した。

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アミラーゼは、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、令和 6 年 6 月に遺伝子組換え物質としての観点から本飼料添加物の安全性について、次のとおり評価している。（参照 12）

「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）に基づき食品健康影響評価を実施した結果、組換え体由来の新たな有害物質が生成され、肉、乳、卵等の畜産物中に移行する可能性、遺伝子組換えに由来する成分が畜産物中で有害物質に変換・蓄積される可能性及び当該成分が家畜の代謝系に作用し、新たな有害物質が産生する可能性はないと考えられることから、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）に準じて評価を行う必要はなく、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は、人の健康を損なうおそれはないと判断した。」

(2) 原体の製造工程に関する知見

原体を生産する菌株を培養し、培養終了後、培養物をろ過し、又は水で抽出した後、ろ過して菌体を除去し、さらに、ろ液を濃縮して製造する。（参照 1）

(3) 賦形物質等に関する知見

① 液状製剤

液状製剤の賦形物質として、ショ糖、塩化ナトリウム、ソルビン酸カリウム及び水が使用されている。(参照 1)

ショ糖(白糖)及び塩化ナトリウム(食塩)は、通常飼料として家畜に給餌されているが、これまで人の健康に及ぼす影響が確認されていない物質であり、飼料添加物の賦形物質及び希釈物質として、省令別表第 2 の 3(6)に定められている。

ソルビン酸カリウムは、食品添加物(指定添加物)として使用されている成分で、ソルビン酸として 0.050 g/kg までの使用基準が定められている。飼料 1 kg 当たりに添加される本飼料添加物中のソルビン酸カリウムの量は最大 0.665 mg であり、食品添加物として添加できる上限値を超えないことから、「動物用ワクチンの添加剤の食品健康影響評価の考え方」(平成 26 年 10 月 14 日食品安全委員会決定)の「2. 食品添加物として使用されている成分」に該当する。(参照 3、4)

② 粉末製剤

粉末製剤の賦形物質として、カオリン、セルロース、植物油、ショ糖、硫酸ナトリウム、デキストリン及び DL-メチオニンが使用されている。(参照 1)

カオリン、セルロース、植物油(植物性油脂)、ショ糖(白糖)及びデキストリンは、通常飼料として家畜に給餌されているが、これまで人の健康に及ぼす影響が確認されていない物質であり、飼料添加物の賦形物質及び希釈物質として、省令別表第 2 の 3(6)に定められている。

硫酸ナトリウム及び DL-メチオニンは、食品添加物(指定添加物)として使用されており、「動物用ワクチンの添加剤の食品健康影響評価の考え方」の「2. 食品添加物として使用されている成分」に該当する。(参照 3、4)

以上のことから、食品安全委員会は、本飼料添加物に含まれる賦形物質等は、その使用状況及び既存の評価並びに本飼料添加物の用法・用量を考慮すると、本飼料添加物の含有成分として摂取した家畜等に由来する食品を通じた人への健康影響は無視できる程度と考えた。

2. 残留試験

残留試験は実施されていないが、通常、酵素は対象動物の体内において消化され、又は消化されずに消化管を通過し排泄されることから、改変 amyS アミラーゼが対象動物の体内に吸収され食品に残留する可能性は極めて低く、通常無視できる程度であると考えられる。

3. 原体の安全性に関する情報

(1) 遺伝毒性試験

改変 amyS アミラーゼの遺伝毒性試験結果を表 1 に示した。

表 1 改変 amyS アミラーゼの遺伝毒性試験結果

試験	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、 WP2uvrA/pKM101	156、313、625、1,250、 2,500、5,000 µg/mL (±S9、プレインキュベーション変法 ^a) WP2uvrA のみ： 156、313、625、1,250、 2,500、5,000 µg/plate (±S9、プレート法)	陰性	1、13
	染色体異常試験	ヒト末梢血リンパ球 3,200、4,000、5,000 µg/mL (±S9) 及び 2,813、3,750、5,000 µg/mL (+S9) (3 時間処理、処理 終了 17 時間後標本作 製) 1,050、1,150、1,200 µg/mL (-S9) (20 時間処理、処理 終了後標本作製)	陰性	1、14

±S9：代謝活性系存在下及び非存在下

a：被験物質はトリプトファンやヒスチジンを含有しているため、直接プレートに播種するとアミノ酸要求性菌が増加することによりバックグラウンド菌叢が濃くなり、自然復帰変異体数が増加する。その影響を排除するため、37℃で 3 時間プレインキュベーション後、遠心分離により被験物質を除去し、緩衝液で 2 回洗浄した菌懸濁液をプレートに播種した。なお、プレインキュベーション法による試験の実施前に、WP2uvrA 株を用いて通常のプレート法による試験を実施し、影響を確認した。

in vitro での細菌を用いた復帰突然変異試験及びヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験の結果はいずれも陰性であった。

in vivo における遺伝毒性試験は実施されていないが、改変 amyS アミラーゼの食品中の残留は通常無視できる程度と考えられることを考慮すると、食品安

全委員会は、改変 amyS アミラーゼは人にとって特段問題となる遺伝毒性を示さないと考えた。

(2) 亜急性毒性試験

① 13 週間亜急性毒性試験 (ラット)

OECD ガイドライン No.408 に基づき、ラット (CrI : CD (SD)IGS BR 系、46~50 日齢、体重 : 雄 254~289 g、雌 171~209 g、雌雄各 10 匹/群) に、改変 amyS アミラーゼを 13 週間強制経口投与 (0、1,669、5,507、16,689 KNU/kg 体重/日相当 (それぞれ 0、0.07、0.22、0.66 g TOS/kg 体重/日相当 (0、1.0、3.3、10 mL/kg 体重/日))) した。

試験期間中、一般状態の観察、感覚反応応答、握力、運動量、体重、摂餌量、摂水量、飼料効率の測定、眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査、臓器重量測定及び病理組織学的検査を行った。

対照群及び 5,507 KNU/kg 体重/日投与群で雌各 1 例が死亡したが、被験物質の影響とはみなさなかった。

血液生化学的検査では、5,507 及び 16,689 KNU/kg 体重/日投与群で摂水量の増加、5,507 KNU/kg 体重/日投与群で血清カルシウム濃度の増加、16,689 KNU/kg 体重/日投与群で血清リン及びカルシウム濃度の増加がみられたが、被験物質の組成により生じた電解質異常に対する生理的反応と考えられた。

肉眼的所見として、16,689 KNU/kg 体重/日投与群では盲腸内腔の拡張がみられたが、盲腸内容物の浸透圧変化に対する生理的な適応と考えられ、毒性学的意義はないと考えられた。(参照 1、9、15、16)

食品安全委員会は、被験物質投与に起因する毒性所見がみられなかったことから、本試験における NOAEL は最高用量である 16,689 KNU/kg 体重/日と判断した。

(3) その他の試験

① 皮膚刺激性試験 (ウサギ)

OECD ガイドライン No.404 に基づき、皮膚刺激性試験が実施された。ウサギ (系統不明、アルビノ色、3 匹) の皮膚に、改変 amyS アミラーゼを塗布し、除去後 1、24、48 及び 72 時間の皮膚を観察した。1、24 時間後に軽微な発赤が全羽で観察されたが、48、72 時間後に皮膚刺激の兆候は観察されなかったことから、改変 amyS アミラーゼは皮膚刺激性を有さないと考えられた。(参照 9)

② 眼刺激性試験 (ウサギ)

OECD ガイドライン No.405 に基づき、眼刺激性試験が実施された。ウサギ (ニュージーランドホワイト種、アルビノ色、雄 3 匹) の眼に、改変 amyS アミラーゼを点眼した。1、24 時間後には結膜のわずかな発赤が全羽でみられ、軽微な腫脹を伴うものもあったが、48 時間後にはすべての症状が消失していたことから、改変 amyS アミラーゼは眼刺激性を有さないと考えられた。(参

照 9)

4. 対象動物における安全性試験

(1) 牛の耐容性試験

① 搾乳牛の耐容性試験

搾乳牛（ホルスタイン種、4～8歳齢、600～800 kg、雌 12頭/群、複数回経産）に改変 amyS アミラーゼを 8週間混餌投与（0、600、60,000 KNU/kg 飼料（それぞれ 0、21.6、2,153.4 KNU/kg 体重/日相当³（0、4,200、420,000 でんぷん糖化力単位/kg 飼料相当（0、75.6、7536.9 でんぷん糖化力単位/kg 体重/日相当）））した。なお、使用した濃厚飼料を 4回分析した結果、飼料中のアミラーゼ活性は、中用量投与群で最大至適添加量（400 KNU/kg 飼料）の 2.8～8.4倍、高用量投与群で 97.6～105.9倍であった。

被験物質投与群と対照群で、体重、乾物摂取量、乳量、乳成分、乳腺炎の発症率及び跛行の発生率に有意差はみられなかった。

60,000 KNU/kg 飼料投与群で、乳腺炎の指標である乳中体細胞数が対照群と比較して有意に減少していた。国際的な基準として用いられている EU の基準では、乳中体細胞数は 400,000 個/mL 以下と定められており、すべての投与群においてこの基準を満たしていたことから、投与による悪影響ではないと考えられた。（参照 1、17、18）

以上の結果から、食品安全委員会は、牛は最大推奨添加量の約 100 倍量⁴まで耐容し、安全性に懸念はないと判断した。

② 肉用牛の耐容性試験<参考資料⁵>

肉用牛（ネロール種、8±1.0月齢、225±13.2 kg、雄 6頭（6×6ラテン方格法）、胃カニューレ装着）に改変 amyS アミラーゼを 24日間混餌投与（0、11,400 KNU/kg 飼料⁶）した。

アミラーゼ投与群と他群で、乾物、有機物、でんぷん、中性デタージェント繊維、粗タンパク質、総消化可能栄養の摂取量に有意差はみられなかった。

アミラーゼ投与群で、乾物・有機物の全腸消化率及び胃内でんぷん消化率が向上し、胃液流量が増加した。中性デタージェント繊維、粗タンパク質の消化率に有意差はみられなかった。（参照 19）

³ アミラーゼ添加量（KNU/kg 飼料）、最終体重（kg）及び乾物摂取量（kg/日）を用いて算出した。

⁴ 飼料を分析した結果、高用量投与群におけるアミラーゼ活性が最大至適添加量の 97.6～105.9倍であったことに基づく。

⁵ 本飼料添加物以外の添加物を同時投与しているため、参考資料とした。

⁶ アミラーゼ添加飼料には、D-リモネンも添加された。アミラーゼ非添加飼料は、炭酸水素塩＋酸化マグネシウム添加飼料、ラサロシドナトリウム添加飼料、モネンシンナトリウム添加飼料、バージニアマイシン添加飼料、モネンシンナトリウム＋バージニアマイシン添加飼料の 5種類。

(2) 豚の耐容性試験

豚 (PIC L1050×L337 交雑種、約 21 日齢、 7.7 ± 0.4 kg、雌雄各 2 頭×6 区画/群) に改変 amyS アミラーゼを 42 日間混餌投与 (0、90、450、900 KNU/kg 飼料 (それぞれ 0、2.4、11.9、23.8 KNU/kg 体重/日相当⁷ (0、315、1575、3150 でんぷん糖化力単位/kg 飼料相当 (0、8.3、41.5、83.2 でんぷん糖化力単位/kg 体重/日相当)))) した。

被験物質投与群と対照群で、一般状態、体重、飼料摂取量、飼料要求率、尿検査結果、血液学的検査結果及び臓器重量に有意差は見られなかった。

血液生化学的検査では、90 KNU/kg 飼料投与群で総タンパク質及びグロブリンが対照群と比較して有意に高かったが、総タンパク質が背景データの基準範囲内であったことから、毒性学的意義は少ないと考えられた。また LDH が投与量にしたがって有意に増加したが、LDH はエネルギー摂取量の増加により増加することが知られており、アミラーゼの投与によりでんぷんの消化率が高まり、エネルギー摂取量が高くなったことが考えられることと、いずれも背景データの基準範囲内であったことから、投与による影響ではないと考えられた。

剖検時の病理学的検査では、対照群を含め肺に点状出血等の所見が見られたが、発生頻度に差がないことから、投与による影響ではないと考えられた。(参照 1、20)

以上の結果から、食品安全委員会は、豚は最大推奨添加量の 7.5 倍量まで耐容し、安全性に懸念はないと判断した。

(3) 鶏の耐容性試験

肉用鶏 (Ross 308、1 日齢、 41 ± 0 g、雄 18 羽×12 区画/群) に改変 amyS アミラーゼを 36 日間混餌投与 (0、80、400、800 KNU/kg 飼料 (それぞれ 0、4.3、20.9、41.2 KNU/kg 体重/日相当⁸ (0、280、1,400、2,800 でんぷん糖化力単位/kg 飼料相当 (0、14.9、73.1、144.1 でんぷん糖化力単位/kg 体重/日相当)))) した。

被験物質投与群と対照群で、試験期間を通じた死亡率、体重増加量、飼料摂取量、飼料要求率、血液学的検査結果、血液化学的検査結果及び臓器重量に有意差はなかった。

病理学的検査では、肝臓の色及び硬さの変化並びに心膜水腫が対照群を含め全群でみられた。これらの変化に用量相関性がみられなかったことから、投与による影響ではないと結論づけた。(参照 1、21)

以上の結果から、食品安全委員会は、肉用鶏は最大推奨添加量の 6.7 倍量まで耐容し、安全性に懸念はないと判断した。

また、卵用鶏を用いた耐容性試験は実施されていないが、酵素は対象動物の

⁷ アミラーゼ添加量(KNU/kg 飼料)、最終体重 (kg) 及び飼料摂取量 (kg/日) を用いて算出した。

⁸ アミラーゼ添加量(KNU/kg 飼料)、最終体重 (kg) 及び飼料摂取量 (kg/日) を用いて算出した。

体内において消化され、又は消化されずに消化管を通過し排泄されることから、卵用鶏についても本飼料添加物の安全性に懸念が生じる可能性は低いと考えた。

(4) 対象動物における飼養試験

牛、豚及び鶏を用いて、本飼料添加物の有効性を確認するための飼養試験が実施されている。飼養試験の概要を表2に示した。

いずれの試験においても、本飼料添加物の推奨添加量での対象動物への混餌投与において、本飼料添加物投与に起因した異常は報告されなかった。

表2 対象動物を用いた飼養試験の概要

動物種	品種、日齢（月齢）、体重等	性別、動物数	投与量 (KNU/kg 飼料)	投与期間	参照
搾乳牛	ホルスタイン種、 643±49kg、複数 回経産、泌乳期 51 ±22 日	雌 12 頭/群	0、300 ⁹	12 週間	1、9、 22
	ホルスタイン種、 651～657kg、複数 回経産、泌乳期 71 ～72 日	雌 35 頭/群	0、300	12 週間	1、9、 23
	ホルスタイン種、 複数回経産	雌 100 頭/群	0、300	12 週間	9
	ホルスタイン種、 泌乳期 171±08 日	雌 14 頭/群 計 28 頭（初産 4 頭、経産 24 頭）	0、300	63 日間	24
	ホルスタイン種、 複数回経産、泌乳 期 70～130 日	雌 12 頭（4×4 ラ テン方格法）	0、405 ¹⁰	28 日間	25
肉用牛	<参考資料 ¹¹ > ネロール種	<試験 1> 雄 5 頭×12 区画/	0、336 ¹²	<試験 1> 93 日間	1、26

⁹ アミラーゼ非添加飼料は、通常でんぷん飼料（でんぷん 27.1%）とでんぷん削減飼料（でんぷん 21.8%）の 2 種類。アミラーゼ添加飼料は、でんぷん削減飼料（でんぷん 20.7%）にアミラーゼを添加した。

¹⁰ アミラーゼ非添加飼料・添加飼料には、それぞれスクロース非添加飼料・添加飼料の 2 種類が含まれる。

¹¹ 本飼料添加物以外の添加物を同時投与しているため、参考資料とした。

¹² アミラーゼ非添加飼料は、モネンシンナトリウム添加飼料、精油添加飼料、精油+モネンシンナトリウム添加飼料の 3 種類。アミラーゼ添加飼料は、精油+アミラーゼ添加飼料、精油+アミラーゼ+プロテアーゼ添加飼料の 2 種類。

	<試験 1> 330±33kg <試験 2> 425±55kg	群 <試験 2> 去勢雄 5 頭 (胃カ ニューレ装着) (5 × 5 ラテン方格 法)		<試験 2> 20 日間	
子豚	21 日 齡、 5.793±0.762 kg	雄 3 頭×10 区画/ 群	0、40、80、 120 ¹³	42 日間	1、27
肥育豚	PIC、63 日齡、平 均 21.41kg	3 頭×8 区画/群	0、80	98 日間	1、28
肉用鶏	Ross 308、1 日齡、 44.4g	雄 25 羽×12 区画 /群	0、80	42 日間	1、29
	Cobb 500、 0 日齡・52 g、11 日齡・403 g、21 日齡・1,145 g、 42 日齡・3,112~ 3,113 g	雄 25 羽×8 区画/ 群 (0-11 日)、 雄 20 羽×8 区画/ 群 (11-21 日)、 雄 16 羽×8 区画/ 群 (21-42 日)、 雄 10 羽×8 区画/ 群 (42-56 日)	0、80	11 日間 10 日間 21 日間 14 日間	1、30
	Ross 308、5 日齡	雄 60 羽/群	0、80	37 日間	31
	<参考資料 ¹⁴ > Cobb 500、14 日 齡	雄 6 羽×10 区画/ 群	0、80 ¹⁵	7 日間	32

¹³ アミラーゼ非添加飼料は、基礎飼料 1 (とうもろこし飼料) と基礎飼料 2 (アルファ化とうもろこし飼料) の 2 種類。アミラーゼ添加飼料は、基礎飼料 1 にアミラーゼ (40、80、120 KNU/kg 飼料) を添加した飼料と、基礎飼料 2 にアミラーゼ (80 KNU/kg 飼料) を添加した飼料の 4 種類。

¹⁴ 本飼料添加物以外の添加物を同時投与しているため、参考資料とした。

¹⁵ 基礎飼料にはフィターゼが添加された。アミラーゼ非添加飼料は、基礎飼料、追加フィターゼ添加飼料、非でんぷん性多糖類分解酵素添加飼料、追加フィターゼ+非でんぷん性多糖類分解酵素添加飼料の 4 種類。アミラーゼ添加飼料は、アミラーゼ添加飼料、アミラーゼ+追加フィターゼ添加飼料、アミラーゼ+非でんぷん性多糖類分解酵素添加飼料、アミラーゼ+追加フィターゼ+非でんぷん性多糖類分解酵素添加飼料の 4 種類。

Ⅲ. 国際機関等における評価

1. JECFA における評価

JECFA は 2022 年に、*Geobacillus stearothermophilus* 由来遺伝子を導入した *Bacillus licheniformis* 遺伝子組換え株が産生する 2 種類の α -アミラーゼ (JECFA95-1 及び 95-2) について、食品添加物としての安全性を評価した。ラットを用いた 13 週間亜急性毒性試験の結果から、NOAEL をそれぞれ 67 及び 660mg TOS/kg 体重/日とし、MOE がそれぞれ 330 及び 8,000 と算出されることと、遺伝毒性の懸念がないことから、暫定基準ではあるが、ADI を特定しない (not specified) とした。(参照33)

2. 欧州における評価

EFSA では、2012 年に乳牛用飼料添加物としての本飼料添加物の安全性を評価し、でんぷん含有率 30%未満の乳牛用混合飼料に添加する場合、最大推奨添加量 (400 KNU/kg 飼料) で安全性への懸念はないとした。また、消費者への安全性にも懸念は示されなかったとした。(参照 9)

EU においては、2015 年に乳牛用飼料添加物として承認されている。(参照 1、11)

また、2024 年に肉用鶏用飼料添加物としての本飼料添加物の安全性を評価し、ラットを用いた 13 週間亜急性毒性試験の結果から、NOAEL を 16,689 KNU/kg 体重/日と判断し、推奨添加量 (80 KNU/kg 飼料) で安全であるとした。また、QPS アプローチへの適格性を満たすことから、消費者への安全性にも懸念はないとした。(参照34)

なお、EFSA の BIOHAZ パネルは、2022 年 3 月までに推薦された物質について検討し、*Bacillus licheniformis* に関する評価は完了していないものの、QPS リストに挙げている。(参照35)

3. 米国における評価

米国では 2007 年に self-GRAS を取得しており、飼料添加物として使用が認められている。(参照 1、8)

IV. 食品健康影響評価

Bacillus licheniformis JPBL011 株が産生するアミラーゼ（改変 amyS アミラーゼ）を原体とする飼料添加物は、消化管内でのでんぷんの消化を促進するため、牛、豚及び鶏の飼料に添加して使用される。

食品安全委員会では、改変 amyS アミラーゼについて、遺伝子組換え飼料添加物の安全性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は、人の健康を損なうおそれはないと評価している。

遺伝毒性試験については、*in vivo* 試験は実施されていないが、*in vitro* での細菌を用いた復帰突然変異試験及びヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験が実施され、いずれも陰性であった。改変 amyS アミラーゼの食品中の残留は通常無視できる程度と考えられることを考慮すると、改変 amyS アミラーゼは人にとって特段問題となる遺伝毒性を示さないと考えた。

ラットの 13 週間亜急性毒性試験では、投与に起因する毒性所見はみられず、NOAEL は最高用量である 16,689 KNU/kg 体重/日と判断した。改変 amyS アミラーゼの食品中の残留は通常無視できる程度と考えられることから、飼料添加物として適切に使用される限りは人への健康影響は無視できる程度と考えた。

本飼料添加物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飼料添加物の用法・用量を考慮すると、本飼料添加物の含有成分として摂取した家畜等に由来する食品を通じた人への健康影響は無視できる程度と考えた。

本飼料添加物を用いた対象動物の安全性試験の結果から、推奨添加量で使用された場合において、いずれの対象動物に対しても安全性に問題はないと考えた。

以上のことから、食品安全委員会は、本飼料添加物は、飼料添加物として適切に使用される限りにおいては、食品を通じて人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
BIOHAZ パネル	Panel on Biological Hazards：生物学的ハザードに関する パネル
EFSA	European Food Safety Authority：欧州食品安全機関
EU	European Union：欧州連合
JECFA	FAO/WHO Joint Expert Committee on Food Additives： FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議
LDH	lactate dehydrogenase：乳酸脱水素酵素
MOE	Margin of Exposure：暴露マージン
NOAEL	No Observed Adverse Effect Level：無毒性量
OECD	Organisation for Economic Cooperation and Development：経済協力開発機構
QPS	Qualified presumption of safety: 安全性適格推定
Self-GRAS	Self-affirmed - Generally Recognized As Safe(GRAS)：自 己 GRAS 認証
TOS	Total organic solids：全有機固形分

〈参照〉

- 1 DSM 株式会社：アミラーゼについての試験成績等の抄録（非公表）
- 2 PubChem
<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/substance/135330182>
- 3 農林水産省：飼料及び飼料添加物の成分規格等に関する省令（昭和 51 年農林水産省令第 35 号）
- 4 厚生労働省、消費者庁：第 10 版食品添加物公定書（2024）
- 5 DSM 株式会社：飼料添加物指定審査用資料（資料 4）
動物用医薬品検査所：動物用医薬品データベース パンスターゼ
<https://www.vm.nval.go.jp/>
- 6 DSM 株式会社：飼料添加物指定審査用資料（資料 5）
動物用医薬品検査所：動物用医薬品データベース トモジンーネオ
<https://www.vm.nval.go.jp/>
- 7 厚生労働省：日本薬局方第十八改正
- 8 AAFCO：2024 Official Publication
- 9 DSM 株式会社：飼料添加物指定審査用資料（資料 1）EFSA: Scientific Opinion on the safety and efficacy of Ronozyme RumiStar (alpha-amylase) as a feed additive for dairy cows, EFSA Journal 2012; 10(7):2777
- 10 DSM 株式会社：飼料添加物指定審査用資料（資料 2）EFSA : Scientific Opinion on the efficacy of Ronozyme® Rumistar (alpha-amylase) as a feed additive for dairy cows, EFSA Journal 2013; 11(10):3434
- 11 DSM 株式会社：飼料添加物指定審査用資料（資料 3）EU : COMMISSION IMPLEMENTING REGULATION (EU) 2015/47 of January 2015 concerning the authorisation of a preparation of alpha-amylase produced by *Bacillus licheniformis* (DSM 21564) as a feed additive for dairy cows (holder of the authorisation DSM Nutritional products Ltd, represented by DSM Nutritional Products Sp. Z.o.o), Official Journal of the European Union 2015
- 12 食品安全委員会：遺伝子組換え食品等評価書「JPBL011 株を利用して生産された α-アミラーゼ」2024
- 13 DSM 株式会社：飼料添加物指定審査用資料（資料 18）（非公表）
- 14 DSM 株式会社：飼料添加物指定審査用資料（資料 19）（非公表）
- 15 DSM 株式会社：飼料添加物指定審査用資料（資料 17）（非公表）
- 16 DSM 株式会社：飼料添加物指定審査用資料（別表 2-1）（非公表）
- 17 DSM 株式会社：飼料添加物指定審査用資料（資料 22）（非公表）
- 18 EC : COMMISSION REGULATION (EC) No 1662/2006 of 6 November 2006 amending Regulation (EC) No 853/2004 of the European Parliament and of the Council laying down specific hygiene rules for food of animal origin, Official Journal of the European Union 2006

- 19 Silva BdC, Pacheco MVC, Godoi LA, de Souza GAP, Tropia NV, Pucetti P, et al. : Feed intake, nutrient digestibility, and selected rumen parameters in feedlot bulls fed diets with different feed additives. PLoS ONE, 2021, (16)11: e0259414.
- 20 DSM 株式会社 : 飼料添加物指定審査用資料 (資料 21) (非公表)
- 21 DSM 株式会社 : 飼料添加物指定審査用資料 (資料 20) (非公表)
- 22 DSM 株式会社 : 飼料添加物指定審査用資料 (資料 15) H. Gencoglu, R.D. Shaver, W. Steinberg, J. Ensink, L.F. Ferraretto, S.J. Bertics, et al. : Effect of feeding a reduced-starch diet with or without amylase addition on lactation performance in dairy cows. Journal of Dairy Science, Volume 93, Issue 2, 2010, Pages 723-732.
- 23 DSM 株式会社 : 飼料添加物指定審査用資料 (資料 16) Toth T, Tothi R : EFFECT OF FEEDING SUPPLEMENTAL EXOGENOUS AMYLASE ON THE PERFORMANCE OF HIGH YIELDING DAIRY COWS. 24th Int. Symp. "Animal Science Days", Ptuj, Slovenia, Sept. 21st-23rd, Acta agriculturae Slovenica, 2016. 5 (suppl): p80-83.
- 24 Andreazzi ASR, Pereira MN, Reis RB, Pereira RAN, Morais Júnior NN, Acedo TS, et al. : Effect of exogenous amylase on lactation performance of dairy cows fed a high-starch diet. J. Dairy Sci. 2018, 101:7199-7207.
- 25 Vargas-Rodriguez CF, Engstrom M, Azem E, Bradford BJ. : Effects of dietary amylase and sucrose on productivity of cows fed low-starch diets. J. Dairy Sci. 2014, 97 :4464-4470.
- 26 DSM 株式会社 : 飼料添加物指定審査用資料 (資料 24) Meschiatti MAP, Gouvêa VN, Pellarin LA, Batalha CDA, Biehl MV, Acedo TS, et al. : Feeding the combination of essential oils and exogenous α -amylase increases performance and carcass production of finishing beef cattle. J. Anim. Sci. 2019, 97:456-471.
- 27 DSM 株式会社 : 飼料添加物指定審査用資料 (資料 13) (非公表)
- 28 DSM 株式会社 : 飼料添加物指定審査用資料 (資料 14) (非公表)
- 29 DSM 株式会社 : 飼料添加物指定審査用資料 (資料 11) (非公表)
- 30 DSM 株式会社 : 飼料添加物指定審査用資料 (資料 12) Aderibigbe A, Cowieson AJ, Sorbara O, Adeola O. Growth phase and dietary α -amylase supplementation effects on nutrient digestibility and feedback enzyme secretion in broiler chickens. Poultry Science 2020, 99:6867-6876.
- 31 Bassi LS, Hejdysz M, Pruszyńska-Oszmalek E, Wolc A, Cowieson AJ, Sorbara JOB, et al. : The effect of amylase supplementation on individual variation, growth performance, and starch digestibility in broiler chickens. Poultry Science 2023,102:102563.
- 32 Woyengo TA, Jerez Bogota K, Noll SL, Wilson J. : Enhancing nutrient

- utilization of broiler chickens through supplemental enzymes. *Poultry Science* 2019, 98:1302–1309.
- 33 WHO : Evaluation of certain food additives Ninety-fifth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, 2022
 - 34 EFSA : Safety and efficacy of a feed additive consisting of alpha-amylase (produced with *Bacillus licheniformis* DSM 34315)(Ronozyme® HiStarch) for chickens for fattening, turkeys for fattening and minor growing poultry species (DSM Nutritional Products Ltd), *EFSA Journal* 2024
 - 35 EFSA : Update of the list of QPS-recommended microbiological agents intentionally added to food or feed as notified to EFSA 16: suitability of taxonomic units notified to EFSA until March 2022, *EFSA Journal* 2022