

令和7年9月30日

食品安全委員会

委員長 山本 茂貴 殿

肥料・飼料等専門調査会 座長 山中 典子

飼料添加物に係る食品健康影響評価に関する審議結果について

令和7年5月7日付け7消安第783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たん白質の加水分解により製造されたL-イソロイシンを原体とする飼料添加物に係る食品健康影響評価について、当専門調査会において審議を行った結果は別添のとおりですので報告します。

(案)

飼料添加物評価書

たん白質の加水分解により  
製造された L-イソロイシンを  
原体とする飼料添加物

令和7年（2025年）9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.....                          | 3  |
| ○食品安全委員会委員名簿.....                    | 3  |
| ○食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿.....       | 3  |
| ○要 約.....                            | 5  |
| <br>                                 |    |
| I. 評価対象飼料添加物の概要.....                 | 7  |
| 1. 原体に関する情報.....                     | 7  |
| (1) 有効成分に関する情報.....                  | 7  |
| (2) 原体の製造方法.....                     | 7  |
| (3) 原体混在物に関する情報.....                 | 7  |
| 2. 製剤に関する情報.....                     | 7  |
| 3. 用途.....                           | 7  |
| 4. 対象飼料及び添加量.....                    | 8  |
| 5. 使用目的及び使用状況.....                   | 8  |
| <br>                                 |    |
| II. 安全性に係る知見の概要.....                 | 8  |
| 1. 原体及び賦形物質等に関する知見.....              | 8  |
| (1) 原体に関する知見.....                    | 8  |
| (2) 賦形物質等に関する知見.....                 | 10 |
| 2. 体内動態試験.....                       | 10 |
| 3. 残留試験.....                         | 10 |
| 4. 遺伝毒性試験.....                       | 10 |
| 5. 急性毒性試験.....                       | 12 |
| 6. 亜急性毒性試験.....                      | 12 |
| (1) 13週間亜急性毒性試験（ラット）＜参考資料＞.....      | 12 |
| (2) 13週間亜急性毒性試験（ラット）＜参考資料＞.....      | 13 |
| (3) 90日間亜急性毒性試験（ラット）＜参考資料＞.....      | 13 |
| 7. 慢性毒性・発がん性試験.....                  | 14 |
| (1) 104週間慢性毒性・発がん性試験（ラット）＜参考資料＞..... | 14 |
| 8. 生殖発生毒性試験.....                     | 14 |
| (1) 1世代繁殖試験（ラット）＜参考資料＞.....          | 14 |
| (2) 発生毒性試験（ラット）＜参考資料＞.....           | 15 |
| ＜各種毒性試験のまとめ＞.....                    | 15 |
| 9. 対象動物における安全性.....                  | 15 |
| (1) 安全性試験（豚）＜参考資料＞.....              | 15 |
| (2) 飼養試験（鶏）＜参考資料＞.....               | 16 |

|                       |    |
|-----------------------|----|
| Ⅲ. 国際機関等における評価.....   | 17 |
| 1. JECFA における評価 ..... | 17 |
| 2. 欧州における評価 .....     | 17 |
| 3. 米国における評価 .....     | 17 |
| Ⅳ. 食品健康影響評価 .....     | 18 |
| ・ 別紙：検査値等略称 .....     | 20 |
| ・ 参照 .....            | 21 |

### 〈審議の経緯〉

- 2025年 5月 7日 農林水産大臣から飼料添加物の基準及び規格の設定に係る食品健康影響評価について要請（7 消安第 783号）、関係資料の接受
- 2025年 5月 13日 第 982 回食品安全委員会（要請事項説明）
- 2025年 6月 6日 第 208 回肥料・飼料等専門調査会
- 2025年 7月 16日 第 209 回肥料・飼料等専門調査会
- 2025年 8月 26日 第 995 回食品安全委員会（報告）
- 2025年 8月 27日 から 9月 25 日まで 国民からの意見・情報の募集
- 2025年 9月 30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

### 〈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 208 回肥料・飼料等専門調査会専門参考人名簿〉

- 小林 健一（独立行政法人労働者健康安全機構 労働安全衛生総合研究所化学物質情報管理研究センター有害性評価研究部統括研究員）  
森田 健（元 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第三室長）

〈第 209 回肥料・飼料等専門調査会専門参考人名簿〉

小林 健一（独立行政法人労働者健康安全機構 労働安全衛生総合研究所化学  
物質情報管理研究センター有害性評価研究部統括研究員）

## 要 約

たん白質の加水分解により製造された L-イソロイシン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。

本飼料添加物は全畜種を対象とした飼料に使用され、推奨添加量は 0.01～0.5%とされている。

本飼料添加物は原体をそのまま製剤としたものである。本飼料添加物は動物由来たん白質を原料として製造されるが、製造工程を踏まえ、最終製品に動物由来たん白質は残存しないものとして農林水産省より評価要請がなされた。本飼料添加物中に動物由来 DNA は残存せず、安全性に影響を及ぼすと考えられる成分は未検出又は影響を与えない量であった。製造工程を踏まえると、L-イソロイシン以外のアミノ酸が含まれる可能性もあると考えられるが、飼料添加物として適切に使用される限りにおいては、食品中の残留は無視できる程度と考えられる。したがって、原体混在物を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。

体内動態試験及び残留試験は実施されていないが、飼料添加物として適切に使用される限りにおいては、有効成分である L-イソロイシンの食品中の残留は無視できる程度であると考えられる。

本飼料添加物を用いた遺伝毒性試験は実施されていないが、異なる方法によって製造された L-イソロイシンを用いた *in vitro* における復帰突然変異試験、染色体異常試験、遺伝子突然変異試験、DNA 修復試験及び姉妹染色分体交換試験の結果はすべて陰性であったことから、有効成分である L-イソロイシンは、飼料添加物として適切に使用される限りにおいては、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。

本飼料添加物を用いた急性毒性試験、亜急性毒性試験、慢性毒性・発がん性試験及び生殖発生毒性試験は実施されていないが、異なる方法によって製造された L-イソロイシンを用いた試験の結果から、有効成分である L-イソロイシンの毒性は極めて低いと考えられた。L-イソロイシンは、動物及び人において食経験が十分にある。また、飼料添加物として適切に使用される限りにおいては、食品中の残留は無視できる程度と考えられる。このことから、有効成分である L-イソロイシンは、飼料添加物として適切に使用される限りにおいては、投与による毒性影響を生じないと考えた。

なお、本飼料添加物を用いた対象動物の安全性試験及び飼養試験は実施されていないが、異なる方法によって製造された L-イソロイシンを用いた試験の結果から、有効成分である L-イソロイシンは、飼料添加物として適切に使用される限りにおいては、対象動物に対する安全性に問題はないと考えた。

以上のことから、食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、たん白質の加水分解により製造された L-イソロイシン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た。

## I. 評価対象飼料添加物の概要

### 1. 原体に関する情報

#### (1) 有効成分に関する情報

##### ①一般名

L-イソロイシン

##### ②化学名等

IUPAC : (2*S*,3*S*) -2-Amino-3-methylpentanoic acid

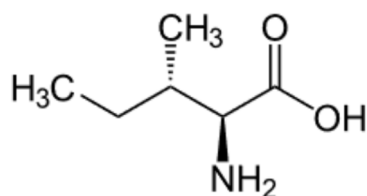
分子式 : C<sub>6</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>2</sub>

CAS 番号 : 73-32-5

##### ③分子量

131.17

##### ④構造式



(参照1)

#### (2) 原体の製造方法

羽毛又は羊毛を原料として、塩酸にて加水分解後、アンモニアで中和、ろ過、イオン交換樹脂にて吸着・分離し、溶液をアンモニアで中和して、L-イソロイシンの結晶を沈殿させる。結晶を塩酸で溶解し、濃縮後、活性炭で脱色、アンモニアで中和・結晶化し、遠心分離、乾燥させて原体を得る。(参照 1、2)

#### (3) 原体混在物に関する情報

原体はL-イソロイシン (C<sub>6</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>2</sub>) 98.0%以上を含有する。(参照 1)

比旋光度、アンモニウム塩 (0.30%以下)、鉛 (2 µg/g 以下) 及びヒ素 (2 µg/g 以下) について、純度試験の規格が設定されている。(参照 1)

### 2. 製剤に関する情報

原体をそのまま製剤としたものである。

### 3. 用途

飼料の栄養成分その他の有効成分の補給 (参照 1)

#### 4. 対象飼料及び添加量

全畜種を対象とした飼料添加物であり、評価要請者による本飼料添加物の配合飼料への推奨添加量は、0.01～0.5%である。(参照 1)

#### 5. 使用目的及び使用状況

L-イソロイシンは、ほ乳動物、家きん、魚類及び甲殻類の必須アミノ酸である。環境負荷低減を目的として粗たん白質量を抑えた飼料に添加することで、効率的なアミノ酸の供給に資する。(参照 1)

今回の評価対象は、たん白質(羽毛又は羊毛)の加水分解により製造された L-イソロイシンである。国内においては、飼料の栄養成分その他有効成分の補給を目的とし、令和 4 年に *Corynebacterium glutamicum* KCCM80189 株により生産された L-イソロイシンが全畜種を対象とした飼料添加物として指定された。今回、新たな製造方法を追加することにより、L-イソロイシンの安定した供給が可能になるとされている。(参照 1)

また、L-イソロイシンは食品添加物(指定添加物)及び人用医薬品として使用されている。今回の評価対象と同一の方法により製造された L-イソロイシンは、国内で食品添加物として流通している。(参照 3、4、5)

EU では、化学合成又はたん白質の加水分解により製造された L-イソロイシンが、全畜種を対象とした飼料添加物として使用されている。(参照 6)

今般、農林水産省から、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 項の規定に基づき、たん白質の加水分解により製造された L-イソロイシンの製造の方法等の基準及び成分の規格を設定することに係る食品健康影響評価の要請がなされた。

## 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用いて、本飼料添加物の安全性に関する主な知見を整理した。

検査値等略称を別紙に示した。

### 1. 原体及び賦形物質等に関する知見

#### (1) 原体に関する知見

##### ① 原体の有効成分

原体の有効成分である L-イソロイシンは、多くの生物にとっての必須アミノ酸であり、飼料原料や食品中に広く存在している。家畜の飼料に添加することにより、効率的なアミノ酸の供給に資する。(参照 1)

##### ② 原体の製造工程

羽毛又は羊毛を加水分解した後、粗結晶を精製し、得られた固形物を乾燥して製造する。(図 1) (参照 1)

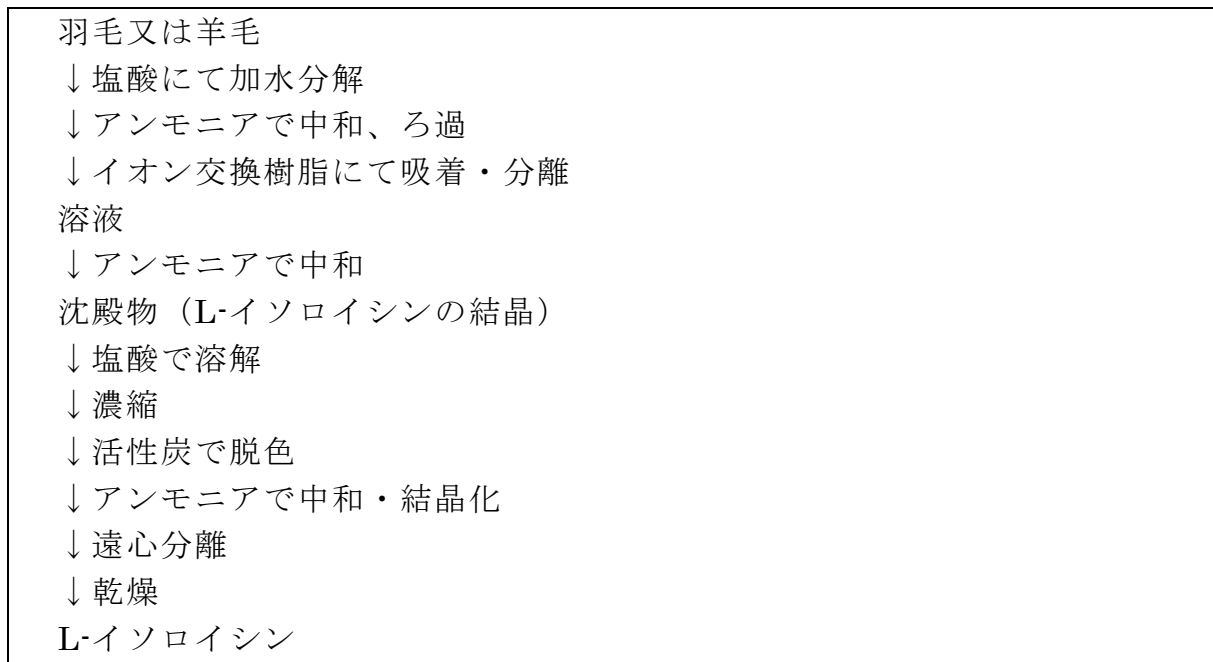


図 1 L-イソロイシンの製造フロー

### ③原体混在物

原体は、L-イソロイシン 98.0%以上を含む。

純度試験については、比旋光度、アンモニウム塩 (0.30%以下)、鉛 (2 µg/g 以下) 及びヒ素 (2 µg/g 以下) について、*Corynebacterium glutamicum* KCCM80189 株により生産された L-イソロイシンと同じ規格が設定されており、これらの規格に合致していることが確認された。(参照 1、7)

本飼料添加物は動物由来たん白質を原料として製造されるが、製造工程を踏まえ、最終製品に動物由来たん白質は残存しないものとして農林水産省より評価要請がなされた。また、羽毛又は羊毛を原料として製造された本飼料添加物各 3 ロットを等重量混合したものをを用いて、PCR 法により、家きん由来 DNA、反すう動物由来 DNA 及びほ乳動物由来 DNA の存在について分析<sup>1</sup>した結果、これらの DNA は検出されなかった。(参照 8)

また、製造工程が本飼料添加物と同一である、食品添加物として流通している製剤を 5 ロット分析した結果、すべてのロットで L-イソロイシン 99.7% 以上が含まれており、安全性に影響を及ぼすと考えられる成分は未検出又は影響を与えない量であった。製造工程を踏まえると、原体混在物として L-イソロイシン以外の分岐鎖アミノ酸が含まれる可能性もあると考えられるが、飼料添加物として適切に使用される限りにおいては、食品中の残留は無視できる程度と考えられる。(参照 5、9、10)

以上のことから、食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、原体混在物を

<sup>1</sup> 羽毛を原料として製造された製品は、家きん由来 DNA 及びほ乳動物由来 DNA、羊毛を原料として製造された製品は、反すう動物由来 DNA 及びほ乳動物由来 DNA の存在について分析した。

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) 賦形物質等に関する知見

本飼料添加物は原体をそのまま製剤としたものであり、賦形物質等の添加はない。(参照 1)

## 2. 体内動態試験

本飼料添加物を用いた体内動態試験は実施されていないが、一般的な L-イソロイシンの体内動態については多くの知見がある。

一般に、たん白質の分解によって生じた遊離アミノ酸は、小腸粘膜を通りナトリウム依存能動輸送によって吸収される。吸収された遊離アミノ酸は、細胞内たん白質の連続的な代謝に利用される。吸収されたアミノ酸の約 75%は再利用され、新しいたん白質にすぐに取り込まれないアミノ酸は速やかに両性代謝中間体に代謝されるため、生体内に過剰なアミノ酸は蓄積されない。アミノ酸の分解によって生じた過剰な窒素を、魚類はアンモニアとして直接排泄し、鳥類はアンモニアを尿酸に変換し、高等脊椎動物はアンモニアを尿素に変換して排泄する。本飼料添加物を混餌投与した場合、L-イソロイシンは速やかに遊離アミノ酸として吸収され、同様の体内動態を示すと考えられる。

また、イソロイシンは、トランスアミナーゼによってアミノ基が転移し、 $\alpha$ -ケト- $\beta$ -メチル吉草酸になり、次いで酸化脱炭酸を受け、炭素原子が一つ少ない  $\alpha$ -メチルブチリル CoA になる。それ以後は脂肪酸酸化の経路に似た反応で酸化を受け、最終的にはアセチル CoA とプロピオニル CoA 各 1 分子を生じる。プロピオニル CoA はスクシニル CoA へと変換されクエン酸回路において利用される。(参照 1)

## 3. 残留試験

本飼料添加物を用いた残留試験は実施されていないが、「2. 体内動態試験」のとおり、生体内に過剰なアミノ酸は蓄積されず、飼料添加物として適切に使用される限りにおいては、有効成分である L-イソロイシンの食品中の残留は無視できる程度であると考えられる。

## 4. 遺伝毒性試験

本飼料添加物を用いた遺伝毒性試験は実施されていないが、異なる方法によって製造された L-イソロイシンを用いた遺伝毒性試験の結果を表 1 に示した。

表 1 L-イソロイシンの遺伝毒性試験結果

| 試験                          | 対象  | 用量  | 結果 | 参照 |
|-----------------------------|---|---|----|----|
| <i>in vitro</i><br>復帰突然変異試験 | <i>Salmonella typhimurium</i><br>TA92, TA94, TA98,<br>TA100, TA1535, TA1537<br><参考資料 <sup>2</sup> >                           | ~3.3 mg/plate<br>(±S9)                    | 陰性 | 11 |
|                             | <i>S. typhimurium</i><br>TA97, TA102<br><参考資料 <sup>2</sup> >  | 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1<br>mg/plate (±S9) | 陰性 | 12 |
|                             | <i>S. typhimurium</i><br>TA100, TA98, TA1535,<br>TA1537<br><i>Escherichia coli</i><br>WP2 <i>uvrA</i><br><参考資料 <sup>3</sup> > | 0.062~5 mg/plate<br>(±S9)                 | 陰性 | 13 |
|                             | <i>E. coli</i><br><i>uvrB, uvrB umuC, uvrB</i><br><i>lexA</i><br><参考資料 <sup>2</sup> >   | 2 mM (262 µg/mL)<br>(-S9)                 | 陰性 | 14 |
| 染色体異常<br>試験                 | チャイニーズハムスター肺<br>線維芽細胞 (CHL)<br><参考資料 <sup>2</sup> >   | ~2.0 mg/mL, 48 時<br>間処理 (-S9)             | 陰性 | 11 |
|                             | チャイニーズハムスター卵<br>巣由来細胞 (CHO)<br><参考資料 <sup>3</sup> >   | ~1.31 mg/mL<br>(±S9)                      | 陰性 | 13 |
| 遺伝子突然<br>変異試験               | マウスリンパ腫細胞<br>(L5178Y)<br><参考資料 <sup>3</sup> >   | 0.076~1.25 mg/mL<br>(±S9)                 | 陰性 | 13 |
| DNA 修復<br>試験 (Rec<br>アッセイ)  | <i>Bacillus subtilis</i><br>H17, M45<br><参考資料 <sup>2</sup> >  | 2 mg/plate<br>10 mg/mL<br>(±S9)           | 陰性 | 14 |
| 姉妹染色分<br>体交換試験              | ヒトリンパ球<br><参考資料 <sup>2</sup> >  | 47, 87, 137 µg/mL<br>(-S9)                | 陰性 | 14 |
|                             | ヒト末梢血リンパ球<br><参考資料 <sup>2</sup> >   | ~100 µg/mL (-S9)<br>(D,L-体不明)             | 陰性 | 14 |

±S9:代謝活性化系存在下及び非存在下

有効成分である L-イソロイシンについて、*in vivo*における遺伝毒性試験は実施されていないが、*in vitro*における復帰突然変異試験、染色体異常試験、遺伝子突然変異試験、DNA 修復試験及び姉妹染色分体交換試験の結果はすべて陰性

<sup>2</sup> 試験に用いた L-イソロイシンの製造方法が不明であることから参考資料とした。

<sup>3</sup> 本飼料添加物とは異なる方法によって製造された L-イソロイシンを用いた試験であることから参考資料とした。

であった。このことから、食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、有効成分である L-イソロイシンは、飼料添加物として適切に使用される限りにおいては、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。

## 5. 急性毒性試験

本飼料添加物を用いた急性毒性試験は実施されていないが、異なる方法によって製造された L-イソロイシンを用いた急性毒性試験の結果を表 2 に示した。

表 2 L-イソロイシンの急性毒性試験結果 (mg/kg 体重)

| 動物種 | 投与経路                       | LD <sub>50</sub> (mg/kg 体重)    |        | 参照 |
|-----|----------------------------|--------------------------------|--------|----|
|     |                            | 雄                              | 雌      |    |
| ラット | 経口<br><参考資料 <sup>4</sup> > | —                              | >2,000 | 15 |
|     | 経口<br><参考資料 <sup>5</sup> > | >2,000 (性不明)                   |        | 13 |
|     | 吸入<br><参考資料 <sup>6</sup> > | LC <sub>50</sub> > 5.07 (mg/L) |        | 16 |

## 6. 亜急性毒性試験

本飼料添加物を用いた亜急性毒性試験は実施されていないが、異なる方法によって製造された L-イソロイシンを用いた亜急性毒性試験の結果を以下に示した。

### (1) 13 週間亜急性毒性試験 (ラット) <参考資料<sup>7</sup>>

ラット (F344 系、4 週齢、雌雄各 10 匹/群) に L-イソロイシンを 13 週間混餌投与 (0、1.25、2.5、5.0 又は 8.0%飼料) する亜急性毒性試験が実施された。

試験期間を通して死亡例はなく、健康状態、体重及び摂餌量に、投与に関連する影響はみられなかった。

試験者らは、5.0%飼料以上の投与群で、尿 pH、尿量及び血清電解質に変動がみられ、腎臓の相対重量がわずかに増加したと報告した。しかし、腎障害に関連するパラメータが対照群と同等であり、病理組織学的変化がみられなかったため、これらの変動は尿量の増加に起因すると推察した。また、5.0%飼料以上の投与群の雄で ALP が上昇したが、関連する他の血液生化学値や病理組織学的変化はみられず、毒性学的意義は乏しいと考えられた。

<sup>4</sup> 試験に用いた L-イソロイシンの製造方法が不明であることから参考資料とした。

<sup>5</sup> 本飼料添加物とは異なる方法によって製造された L-イソロイシンを用いた試験であることから参考資料とした。

<sup>6</sup> 本飼料添加物とは異なる方法によって製造された L-イソロイシンを用いた試験であることと、投与経路が経口ではなく吸入であることから参考資料とした。

<sup>7</sup> 試験に用いた L-イソロイシンの製造方法が不明であることから参考資料とした。

試験者らは、本試験における L-イソロイシンの NOEL を 2.5%飼料とした。  
(参照17)

### (2) 13 週間亜急性毒性試験 (ラット) <参考資料<sup>8</sup>>

ラット (SD 系、6 週齢、雌雄各 12 匹/群) に L-イソロイシンを 13 週間混餌投与 (0、1.25、2.5 又は 5.0%飼料 (雄: 0、783.0±22.9、1564.8±60.1、3007.6±112.9 mg/kg 体重/日、雌: 0、944.0±46.1、1646.3±95.0、3701.6±227.3 mg/kg 体重/日)) し、その後無作為に抽出した雌雄各 6 匹/群に 5 週間の回復期を設ける亜急性毒性試験が実施された。

試験期間を通して死亡例はなく、健康状態、体重、摂餌量、摂水量、眼科的検査、血液学的検査、病理学的検査及び病理組織学的検査において、投与に関連する影響はみられなかった。

尿検査において、投与 5 週では、2.5%飼料以上の投与群で尿たん白質の増加傾向がみられたが、対照群における変動の範囲内であった。投与 13 週では、5.0%飼料投与群で Na、K 及び Cl の尿中排泄量が対照群と比較して有意に低かった。

血液化学的検査において、投与 13 週では、2.5%飼料投与群の雄でトロンボプラスチン時間が低下、5.0%飼料投与群の雌で AST 及び ALT が増加したが、回復期間終了後にはみられなかった。

試験者らは、本試験における L-イソロイシンの NOAEL を 2.5%飼料 (雄: 1564.8±60.1 mg/kg 体重/日、雌: 1646.3±95.0 mg/kg 体重/日) とした。(参照18)

### (3) 90 日間亜急性毒性試験 (ラット) <参考資料<sup>9</sup>>

OECD ガイドライン No.408 に基づき、ラット (系統不明、雌雄各 10 匹/群) に L-イソロイシンを 90 日間混餌投与 (0、2,000、10,000 又は 50,000 mg/kg 飼料 (0、100、600、3,000 mg/kg 体重相当)) する亜急性毒性試験が実施された。

高用量投与群<sup>10</sup>において、雄では赤血球数及びヘモグロビンの増加、雌では血小板数の低下及び発情周期の長期化がみられた。

EFSA は、観察された所見の毒性学的意義には疑問があるとしながら、本試験における L-イソロイシンの NOAEL を 10,000 mg/kg 飼料 (600 mg/kg 体重/日) とした。(参照 13)

<sup>8</sup> 試験に用いた L-イソロイシンの製造方法が不明であることから参考資料とした。

<sup>9</sup> 本飼料添加物とは異なる方法によって製造された L-イソロイシンを用いた試験であることから参考資料とした。

<sup>10</sup> 参照資料に明記されていないが、50,000 mg/kg 飼料 (3,000 mg/kg 体重/日) と考えられる。

## 7. 慢性毒性・発がん性試験

本飼料添加物を用いた慢性毒性・発がん性試験は実施されていないが、異なる方法によって製造された L-イソロイシンを用いた慢性毒性・発がん性試験の結果を以下に示した。

### (1) 104 週間慢性毒性・発がん性試験 (ラット) <参考資料<sup>11</sup>>

ラット (系統不明、雌雄各 50 匹/群) に L-イソロイシン (純度 100%) を 104 週間混餌投与 (0、25,000 又は 50,000 mg/kg 飼料) した。

投与 104 週の雄及び雌の生存率は、対照群で 86% 及び 84%、25,000 mg/kg 飼料群で 82% 及び 86%、50,000 mg/kg 飼料群で 74% 及び 76% であった。試験終了時の投与群の体重は対照群に比べ高値であったが、摂餌量に差はみられず、尿検査、血液学的検査において、投与に起因する影響はみられなかった。血液生化学的検査においては差が見られたが、そのほとんどは最高用量の雌雄一方に限られていた。50,000 mg/kg 飼料投与群の雄で、腎臓の相対重量が増加し、精巣の相対重量は低下した。腎臓では組織学的変化はみられなかったが、精巣では萎縮がみられた。病理組織学的検査の結果、いずれの臓器・組織においても、発がん性は認められなかった。

EFSA は、本試験における L-イソロイシンの NOAEL を 924.7 mg/kg 体重/日とした。(参照 13)

## 8. 生殖発生毒性試験

本飼料添加物を用いた生殖発生毒性試験は実施されていないが、異なる方法によって製造された L-イソロイシンを用いた生殖発生毒性試験の結果を以下に示した。

### (1) 1 世代繁殖試験 (ラット) <参考資料<sup>12</sup>>

OECD ガイドライン No.415 に基づき、ラット (系統不明、雌雄各 28 匹/群) に L-イソロイシンを交配前 14 日～分娩後 21 日に混餌投与 (0、10,000、20,000、30,000、40,000 又は 50,000 mg/kg 飼料 (雄: 0、550、1,080、1,580、2,110 又は 2,720 mg/kg 体重/日相当、雌: 0、880、1,750、2,610、3,430 又は 4,280 mg/kg 体重/日相当)) した 1 世代繁殖試験が実施された。

最高用量投与群では、他群に比べ発育不良児数が有意に多かった。試験者らは、平均体重に差がなかったことから、投与による影響とはしなかったが、EFSA は、完全に影響がないと考えることはできないとした。(参照 13)

<sup>11</sup> 本飼料添加物とは異なる方法によって製造された L-イソロイシンを用いた試験であることから参考資料とした。

<sup>12</sup> 本飼料添加物とは異なる方法によって製造された L-イソロイシンを用いた試験であることから参考資料とした。

## (2) 発生毒性試験 (ラット) <参考資料<sup>13</sup>>

OECD ガイドライン No.414 に基づき、ラット (系統不明、供試数不明) に L-イソロイシンを妊娠 0~21 日混餌投与 (0、2,000、10,000 又は 50,000 mg/kg 飼料 (0、90~150、480~750 又は 2,320~3,640 mg/kg 体重/日相当)) する発生毒性試験が実施された。

最高用量投与群で摂餌量の低下がみられたが、体重に差はなく、試験期間を通して、投与に起因する影響はみられなかった。(参照 13)

## <各種毒性試験のまとめ>

本飼料添加物を用いた急性毒性試験、亜急性毒性試験、慢性毒性・発がん性試験及び生殖発生毒性試験は実施されていないが、異なる方法によって製造された L-イソロイシンについては複数の報告がある。

各種毒性試験では、5.0%飼料以上の高用量投与群においてのみ毒性学的意義があると考えられる影響がみられたと報告されており、有効成分である L-イソロイシンの毒性は極めて低いと考えられた。L-イソロイシンは多くの生物にとっての必須アミノ酸として、飼料中や食物中に広く存在するほか、食品添加物としても使用されており、動物及び人において食経験が十分にある。また、飼料添加物として適切に使用される限りにおいては、食品中の残留は無視できる程度と考えられる。

このことから、食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、有効成分である L-イソロイシンは、飼料添加物として適切に使用される限りにおいては、投与による毒性影響を生じないと考えた。

## 9. 対象動物における安全性

本飼料添加物を用いた対象動物の安全性試験及び飼養試験は実施されていないが、異なる方法によって製造された L-イソロイシンを用いた試験の結果を以下に示した。

### (1) 安全性試験 (豚) <参考資料<sup>14</sup>>

子豚 (12~21.4 kg、16 頭/群) に L-イソロイシン及び L-バリンを 21 日間混餌投与 (L-イソロイシン及び L-バリンをそれぞれ通常量及び 10 倍量にした 4 群) する安全性試験が実施された。

L-イソロイシン及び L-バリンの添加濃度を表 3 に示した。

安全性試験の結果を表 4 に示した。

L-イソロイシン 10 倍量投与群における摂餌量及び増体量は増加したが、血清バリン濃度及び血清ロイシン濃度に変化は認められなかった。

<sup>13</sup> 本飼料添加物とは異なる方法によって製造された L-イソロイシンを用いた試験であることから参考資料とした。

<sup>14</sup> 本飼料添加物とは異なる方法によって製造された L-イソロイシンを用いていること及び L-バリンを同時投与していることから参考資料とした。

EFSA は、本試験の結果は対象動物に対する安全性を裏付けるとした。(参照 13)

表 3 各投与群における L-イソロイシン及び L-バリンの添加濃度 (%)

|              | L-イソロイシン<br>通常量投与群 | L-イソロイシン<br>10 倍量投与群 |
|--------------|--------------------|----------------------|
| L-イソロイシン添加濃度 | 0.0760             | 0.7605               |
| L-バリン添加濃度    | 0.1019             | 0.1019               |

表 4 L-イソロイシン及び L-バリン 21 日間混餌投与試験 (豚) の結果

|                 | L-イソロイシン<br>通常量投与群 | L-イソロイシン<br>10 倍量投与群 |
|-----------------|--------------------|----------------------|
| 摂餌量 (g/日)       | 767                | 786                  |
| 増体量 (g/日)       | 459                | 475                  |
| 血清イソロイシン (mg/L) | 15.9               | 20.6                 |
| 血清バリン (mg/L)    | 23.7               | 23.7                 |
| 血清ロイシン (mg/L)   | 23.0               | 20.3                 |

## (2) 飼養試験 (鶏) <参考資料<sup>15</sup>>

鶏 (単冠白色レグホーン種、雄、8 日齢、4 羽/群) に L-イソロイシンを 10 日間混餌投与 (0 又は 3%飼料) する飼養試験を実施した。

試験者らは、摂餌量及び 1 日当たりの増体量は、対照群と比較して低値であったが、飼料要求率に差はみられず、成長阻害はほとんどみられなかったことから、投与による影響はないかわずかな影響であると結論付けた。(参照 19)

本飼料添加物を用いた対象動物の安全性試験及び飼養試験は実施されていないが、異なる方法によって製造された L-イソロイシンを用いた試験において、投与による毒性学的意義のある影響は報告されていない。また、L-イソロイシンは多くの生物にとっての必須アミノ酸として、飼料中や食物中に広く存在し、動物において食経験が十分にある。

このことから、食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、有効成分である L-イソロイシンは、飼料添加物として適切に使用される限りにおいては、対象動物に対する安全性に問題はないと考えた。

<sup>15</sup> 試験に用いた L-イソロイシンの製造方法が不明であることから参考資料とした。

### Ⅲ. 国際機関等における評価

#### 1. JECFA における評価

JECFA は 2005 年に食品添加物(着香料)としての L-イソロイシンを評価し、推定摂取量に基づき安全上の懸念はないと結論付けた。(参照20)

2012 年の評価においては、L-イソロイシンは主要な栄養素であり、たん白質の構成要素であることから、食品を介した人へのばく露量は着香料としての使用から予想される量よりはるかに多く、着香料としての使用により安全性に懸念は生じないとした。(参照21)

#### 2. 欧州における評価

EFSA は 2008 年に、食品添加物(着香料)としての L-イソロイシンについて、MSDI 法に基づき安全性の懸念はないとする 2005 年の JECFA の結論に同意した。(参照22)

2010 年に、*E.coli* FERM ABP-10641 株を用いて生産された L-イソロイシンについて、全畜種を対象とした飼料添加物として評価し、対象動物及び消費者に対して安全であるとした。また、2020 年の再評価においても引き続き安全であるとした。(参照 13、23)

2014 年に、D,L-イソロイシンを含む 19 種類のアミノ酸について、全畜種を対象とした飼料添加物(最大推奨添加量: 25 mg/kg 飼料)として評価し、対象動物及び消費者に対して安全であるとした。また、安全性に関する結論は、化学合成及びたん白加水分解によって得られたアミノ酸並びにすでに安全性評価を受けた菌株を用いた発酵法によって生産されたアミノ酸に外挿できるとした。(参照24)

2020 年に *C.glutamicum* KCCM 80189 株、2021 年及び 2023 年に *C.glutamicum* KCCM 80185 株、2024 年に *C.glutamicum* CGMCC 20437 株を用いた発酵法により生産された L-イソロイシンについて、全畜種を対象とした飼料添加物として評価し、対象動物及び消費者に対して安全であるとした。(参照25、26、27、28)

なお、飼料と同時に飲水に添加することについては、栄養バランスや衛生に関する懸念を示したが、最大添加量は示さなかった。飲水添加する場合には、飼料由来の必須アミノ酸の摂取量を考慮するよう、使用者に注意喚起することが適当とされた。(参照29、30、31)

#### 3. 米国における評価

FDA は、L-イソロイシン及び D,L-イソロイシンは、飼料添加物として安全であるとしている。(参照32)

FEMA は、L-イソロイシンを着香料として評価し、GRAS としている。(参照33)

#### IV. 食品健康影響評価

たん白質の加水分解により製造された L-イソロイシンを原体とする飼料添加物は、環境負荷低減のために粗たん白質を低減した飼料への効率的なアミノ酸の供給を目的として、全畜種を対象とした飼料に添加して使用される。

原体は、L-イソロイシン 98.0%以上を含み、本飼料添加物は原体をそのまま製剤としたものである。同一の方法によって製造された製剤は国内で食品添加物として使用されている。本飼料添加物は動物由来たん白質を原料として製造されるが、製造工程を踏まえ、最終製品に動物由来たん白質は残存しないものとして農林水産省より評価要請がなされた。本飼料添加物中に動物由来 DNA は残存せず、安全性に影響を及ぼすと考えられる成分は未検出又は影響を与えない量であった。また、製造工程を踏まえると、原体混在物として L-イソロイシン以外のアミノ酸が含まれる可能性もあると考えられるが、飼料添加物として適切に使用される限りにおいては、食品中の残留は無視できる程度と考えられる。したがって、原体混在物を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体内動態試験及び残留試験は実施されていないが、一般にアミノ酸は生体内に過剰に蓄積されないため、飼料添加物として適切に使用される限りにおいては、有効成分である L-イソロイシンの食品中の残留は無視できる程度であると考えられる。

本飼料添加物を用いた遺伝毒性試験は実施されていないが、異なる方法によって製造された L-イソロイシンを用いた *in vitro* における復帰突然変異試験、染色体異常試験、遺伝子突然変異試験、DNA 修復試験及び姉妹染色分体交換試験の結果はすべて陰性であったことから、有効成分である L-イソロイシンは、飼料添加物として適切に使用される限りにおいては、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。

本飼料添加物を用いた急性毒性試験、亜急性毒性試験、慢性毒性・発がん性試験及び生殖発生毒性試験は実施されていないが、異なる方法によって製造された L-イソロイシンについては複数の報告がある。各種毒性試験では、5.0%飼料以上の高用量投与群においてのみ毒性学的意義があると考えられる影響がみられたと報告されており、有効成分である L-イソロイシンの毒性は極めて低いと考えられた。L-イソロイシンは多くの生物にとっての必須アミノ酸として、飼料中や食物中に広く存在するほか、食品添加物としても使用されており、動物及び人において食経験が十分にある。また、飼料添加物として適切に使用される限りにおいては、食品中の残留は無視できる程度と考えられる。このことから、有効成分である L-イソロイシンは、飼料添加物として適切に使用される限りにおいては、投与による毒性影響を生じないと考えた。

なお、本飼料添加物を用いた対象動物の安全性試験及び飼養試験は実施されていないが、異なる方法によって製造された L-イソロイシンを用いた試験において、投与による毒性学的意義のある影響は報告されておらず、有効成分であ

る L-イソロイシンは、飼料添加物として適切に使用される限りにおいては、対象動物に対する安全性に問題はないと考えた。

以上のことから、食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、たん白質の加水分解により製造された L-イソロイシン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た。

〈別紙：検査値等略称〉

| 略称等              | 名称  |
|------------------|---|
| ALP              | Alkaline Phosphatase：アルカリ性ホスファターゼ                                     |
| ALT              | Alanine aminotransferase：アラニンアミノ基転移酵素                                 |
| AST              | Aspartate aminotransferase：アスパラギン酸アミノ基転移酵素                            |
| EFSA             | European Food Safety Authority：欧州食品安全機関                               |
| EU               | European Union：欧州連合   |
| FDA              | US Food and Drug Administration：米国食品医薬品庁                              |
| FEMA             | Flavor and Extract Manufacturers Association：米国食品香料製造者協会              |
| GRAS             | Generally Recognized as Safe：一般に安全とみなされる                              |
| JECFA            | Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives：FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議 |
| LD <sub>50</sub> | Lethal Dose 50：半数致死量  |
| NOAEL            | No-Observed-Adverse-Effect Level：無毒性量                                 |
| NOEL             | No-Observed-Effect Level：無作用量   |
| OECD             | Organisation for Economic Co-operation and Development：経済協力開発機構       |

## 〈参照〉

- 1 株式会社サンクト：飼料添加物指定審査用資料（抄録）（非公表）
- 2 株式会社サンクト：飼料添加物指定審査用資料（資料 10）（非公表）
- 3 厚生労働省、消費者庁：第 10 版食品添加物公定書（2024）
- 4 厚生労働省：日本薬局方第十八改正
- 5 株式会社サンクト：飼料添加物指定審査用資料（回答書）（非公表）
- 6 Official Journal of the European Union. COMMISSION IMPLEMENTING REGULATION (EU) 2018/249 of 15 February 2018, concerning the authorisation of taurine, beta-alanine, L-alanine, L-arginine, L-aspartic acid, L-histidine, D,L-isoleucine, L-leucine, L-phenylalanine, L-proline, D,L-serine, L-tyrosine, L-methionine, L-valine, L-cysteine, glycine, monosodium glutamate and L-glutamic acid as feed additives for all animal species and L-cysteine hydrochloride monohydrate for all species except cats and dogs.
- 7 株式会社サンクト：飼料添加物指定審査用資料（資料 28）（非公表）
- 8 株式会社サンクト：飼料添加物指定審査用資料（資料 11）（非公表）
- 9 株式会社サンクト：飼料添加物指定審査用資料（回答書参考資料 2）（非公表）
- 10 株式会社サンクト：飼料添加物指定審査用資料（回答書参考資料 3）（非公表）
- 11 石館、祖父尼、吉川. 食品添加物の変異原性試験成績（その 3）. 変異原と毒性. 1982, 5:579-587.
- 12 藤田、佐々木. *Salmonella typhimurium* TA97, TA102 を用いた食品添加物の変異原性試験（第 5 報）
- 13 EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed (FEEDAP) and EFSA Panel on Genetically Modified Organisms (GMO) . Scientific Opinion on the safety and efficacy of L-isoleucine for all animal species. EFSA Journal 2010; 8(1):1425.
- 14 EFSA. 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 Flavouring Group Evaluation 26: Amino acids from chemical group 34 (Commission Regulation (EC) No 1565/2000 of 18 July 2000). The EFSA Journal (2006) 373, 1-48.
- 15 ECHA. L-isoleucine REACH registration Dossier. [L-isoleucine 100.000.726 | 9448f4cf-626a-4baa-91c8-abbf438eddbf - ECHA CHEM](#)
- 16 EFSA FEEDAP Panel (EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed). Scientific Opinion on the Safety and efficacy of L-isoleucine produced by fermentation with *Corynebacterium glutamicum* KCCM 80189 for all animal species. EFSA Journal 2020;

- 18(2):6021.
- 17 Kawabe M, Takesada Y, Tamano S, Hagiwara A, Ito N, Shirai T. Subchronic toxicity study of L-isoleucine in F344 rats. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 47:499-508, 1996.
  - 18 Tsubuku S, Hatayama K, Katsumata T, Nishimura N, Mawatari K, Smriga M, Kimura T. Thirteen-Week Oral Toxicity Study of Branched-Chain Amino Acids in Rats. *International Journal of Toxicology* 23:119-126, 2004.
  - 19 Okumura J and Yamaguchi K. Effect of Excess of Individual Essential Amino Acids in Diets on Chicks. *Japan Poultry Science*, 17(3), :135-139, 1980.
  - 20 JECFA. Evaluation of certain food additives. Sixty-third report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO Technical Report Series, no. 928.
  - 21 JECFA. Safety evaluation of certain food additives. WHO FOOD ADDITIVES SERIES: 67.2012.
  - 22 EFSA. Scientific Opinion of the Panel on Food Additives, Flavouings, Processing Aids and Materials in Contact with Food on request from Commission on Flavouring Group Evaluation 79, (FGE.79) , Consideration of amino acids and related substances evaluated by JECFA (63rd meeting) structurally related to amino acids from chemical group 34 evaluated by EFSA in FGE. 26Rev1 (2008) . *The EFSA Journal* (2008) 870, 1-46.
  - 23 EFSA FEEDAP Panel (EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed). Scientific Opinion on the assessment of the application for renewal of authorization of L-isoleucine produced by *Escherichia coli* FERM ABP-10641 as a nutritional additive, its extension of use in water for drinking and a new use as flavouring additive for all animal species. *EFSA Journal* 2020; 18(2):6022.
  - 24 EFSA FEEDAP Panel (EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed). Scientific Opinion on the safety and efficacy of the use of amino acids (chemical group 34) when used as flavourings for all animal species. *EFSA Journal* 2014;12(5):3670.
  - 25 EFSA FEEDAP Panel (EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed). Scientific Opinion on the safety and efficacy of L-isoleucine produced by fermentation with *Corynebacterium glutamicum* KCCM 80189 for all animal species. *EFSA Journal* 2020; 18(2):6021.
  - 26 EFSA FEEDAP Panel (EFSA Panel on Additives and Products or

- Substances used in Animal Feed). Scientific Opinion on the safety and efficacy of a feed additive consisting of L-isoleucine produced by *Corynebacterium glutamicum* KCCM 80185 for all animal species (CJ Europe GmbH). EFSA Journal 2021; 19(12):6977.
- 27 EFSA FEEDAP Panel (EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed). Scientific Opinion on the presence of DNA in the feed additive consisting of L-isoleucine produced by *Corynebacterium glutamicum* KCCM 80185 for all animal species (CJ Europe GmbH). EFSA Journal 2023; 21(4):7957.
- 28 EFSA FEEDAP Panel (EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed). Scientific Opinion on the safety and efficacy of a feed additive consisting of l-isoleucine produced with *Corynebacterium glutamicum* CGMCC 20437 for all animal species (Eppen Europe SAS). EFSA Journal 2024; 22(4), e8726
- 29 EFSA FEEDAP Panel (EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed). Scientific Opinion on the use of feed additives authorised/applied for use in feed when supplied via water, EFSA Journal 2010; 8(12): 1956.
- 30 Official Journal of the European Union. COMMISSION IMPLEMENTING REGULATION (EU) 2020/1397 of 5 October 2020, concerning the renewal of the authorisation of L-isoleucine produced by *Escherichia coli* FERM ABP-10641 as a nutritional additive, its extension of use and the authorisation of L-isoleucine produced by *Corynebacterium glutamicum* KCCM 80189 as a feed additive for all animal species, and repealing Regulation (EU) No 348/2010.
- 31 Official Journal of the European Union. COMMISSION IMPLEMENTING REGULATION (EU) 2023/2583 of 20 November 2023, concerning the authorisation of L-isoleucine produced by *Corynebacterium glutamicum* KCCM 80185 as a feed additive for all animal species.
- 32 Food and Drugs, 21 CFR 582.5381(2024).
- 33 Smith, R.L., Waddell, W.J., Cohen, S.M., Fukushima, S., Gooderham, N.J., Hecht, S.S., et al. GRAS Flavoring Substances 25, The 25th publication by the Expert Panel of the Flavor and Extract Manufacturers Association provides an update on recent progress in the consideration of flavoring ingredients generally recognized as safe under the Food Additive Amendment. Food Technology, 65(7), 44-75.

たん白質の加水分解により製造された L-イソロイシンを原体とする飼料添加物に係る食品健康影響評価に関する審議結果(案)についての意見・情報の募集結果について

1. 実施期間 令和 7 年 8 月 27 日～令和 7 年 9 月 25 日
2. 提出方法 インターネット、ファックス、郵送
3. 提出状況 たん白質の加水分解により製造された L-イソロイシンを原体とする飼料添加物に係る食品健康影響評価に関する審議結果(案)について、上記のとおり、意見・情報の募集を行ったところ、期間中に意見・情報はありませんでした。