

平成27年度食品健康影響評価技術研究

栄養成分・加工助剤に関するリスク 評価方法の確立に関する研究

研究期間、目的および研究体制

1 研究期間 1年間(平成27年度)

2 研究目的

栄養成分及び加工助剤のそれぞれについて我が国に適したリスク評価手法の開発に資する指針案を提示する。

3 研究体制

研究担当者	所属機関	国際的な評価方法等の情報解析	栄養成分に関する指針案の策定	加工助剤に関する指針案の策定
梅村 隆志	国立医薬品食品衛生研究所	○	○	○
穂山 浩	国立医薬品食品衛生研究所	○		○
森田 明美	甲子園大学	○	○	
松井 徹	京都大学	○	○	
上西 一弘	女子栄養大学	○	○	
頭金 正博	名古屋市立大学		○	○
高須 伸二	国立医薬品食品衛生研究所		○	○

加工助剤に関する指針案 (酵素)

はじめに

現在、添加物の評価は、「添加物に関する食品健康影響評価指針(2010年5月食品安全委員会)」に基づき実施している。しかしながら、酵素、殺菌料、抽出溶媒等の加工助剤については、国際的には食品添加物とは分類されていない場合がある。また、加工助剤は本来、それ自体では食品の原材料として消費されることのない物質又は材料であるが、コーデックスの加工助剤の定義の中でも、非意図的にその残渣又は派生物が最終製品中に存在することは回避できない場合があることが指摘されている。さらに、微生物から得られる酵素の場合、基原微生物の安全性やアレルギー性への懸念がある一方、消化管内で分解して食品常在成分になる場合などの安全性評価の考え方など考慮すべき問題点がある。現在、上記のような問題点や特殊性に関して、「添加物に関する食品健康影響評価指針」の中で一定の考慮の必要性は述べられているが、具体的な指針は示されていない。

以上のことから、加工助剤に対して通常の商品添加物安全性評価方法を一律に適用できないとの認識に立ち、我が国での今後の加工助剤の安全性評価に適用する評価手法の指針案を提起する。

加工助剤指針案を策定するうえで重視したポイント

- ✓ 食品加工中に分解や除去されることで、食品の原材料として消費されることはない一方、非意図的にその残渣や派生物が最終製品中に存在することが回避できない場合がある。
- ✓ 微生物から得られる酵素の場合、基原微生物の安全性を考慮する必要がある。
- ✓ 酵素はタンパク質であることから、アレルギー性を重視する必要がある。
- ✓ 消化管内での分解性の評価および分解することが明らかな場合の安全性評価を考慮する必要がある。

評価対象品目の概要

加工助剤とは、我が国では食品添加物の表示の規制に関して、「食品衛生法第十九条第一項の規定に基づく表示の基準に関する内閣府令」(平成二十三年内閣府令第四十五号)第一条第二項第五号)において、「食品の加工の際に添加される物であって、当該食品の完成前に除去されるもの、当該食品の原材料に起因してその食品中に通常含まれる成分と同じ成分に変えられ、かつ、その成分の量を明らかに増加させるものでないもの又は当該食品中に含まれる量が少なく、かつ、その成分による影響を当該食品に及ぼさないものである」と規定されている。また、コーデックス委員会では、「加工助剤とは、装置若しくは器具類を含まず、それ自体では食品の原材料として消費されることのない物質又は材料であって、処理若しくは加工過程において技術的な目的を達成すべく、原料、食品又はその原材料を加工する際に意図的に使用するもの。ただし、「加工助剤」を使用することで、意図的ではないが、その残渣又は派生物が最終製品中に存在することが回避できない場合がある」とされており、食品添加物とは別に規定されている。本指針案は、加工助剤のうち酵素、殺菌料、抽出溶媒に関して適用する。評価対象品目の概要として評価に必要な資料は、「添加物に関する食品健康影響評価指針」に則る。

加工助剤(酵素)における基原生物の安全性評価

- ✓ 微生物から得られる酵素の場合、基原微生物の安全性を考慮する必要がある。
- ✓ 酵素はタンパク質であることから、アレルギー性を重視する必要がある。



酵素は微生物から得られるタンパク質であることが多いことから、酵素の基原、製造方法、成分等から、**基原生物の安全性及び産生されるタンパク質の毒性及びアレルギー性を評価する**。ただし、評価対象品目が**遺伝子組換え微生物を利用して製造された添加物である場合には、遺伝子組換え食品等専門調査会と連携を図り評価を行う**。

酵素を基原とする基原生物(動物、植物、細菌、ウイルス等)の**病原性および毒素産生性を検討する**。非病原性であることの確認は、原則として、添加物製造への利用経験又は食品としての食経験を確認する。非毒素産生種であることの確認は、マイコトキシン産生種等の毒素産生種であるか否かを確認する。毒素産生種の場合は、生産株において毒素産生がないことを試験で確認する、または、酵素原体・製剤の最終産物において試験で毒素が検出されないことを確認する。

消化管内での分解性およびアレルギー性の評価に係る試験

- ✓ 酵素はタンパク質であることから、アレルギー性を重視する必要がある。
- ✓ 消化管内での分解性の評価および分解することが明らかな場合の安全性評価を考慮する必要がある。



消化管内での分解性およびアレルギー性の評価に係る試験

以下の①から③の処理によって、酵素(タンパク質)の分子量、酵素活性、免疫反応性等が変化するかどうか明らかにされていること。酵素量が少ない場合には、免疫反応性は処理前の酵素(タンパク質)に対するポリクローナル抗体を用いてウエスタンブロット法及びELISA法あるいはこれらと同等の方法によって示されていること。

- ① 人工胃液による酸処理及び酵素(ペプシン)処理
- ② 人工腸液によるアルカリ処理及び酵素(パンクレアチン)処理
- ③ 加熱処理(加熱条件はヒトが経口摂取する際に処理される場合と同等の条件で行う)

加工助剤(酵素)における消化管内での分解性

- ✓ 酵素はタンパク質であることから、アレルギー性を重視する必要がある。
- ✓ 消化管内での分解性の評価および分解することが明らかな場合の安全性評価を考慮する必要がある。



評価対象品目の食品内又は消化管内での分解性を以下の項目を検討し評価する。

- (1) 難分解性ではないこと。酵素の分解性は、原則として、「消化管内での分解性およびアレルギー性の評価に係る試験」を用いて、アレルギー性の懸念がなくなる最低質量まで分解を確認する。
- (2) 食品内又は消化管内での分解に関わる主要な因子(pH、酵素等)が明らかであること。
- (3) 添加物の通常の使用条件下で適正な量を使用した場合、当該添加物又はその分解物の体内への吸収が食品成分と同程度であり、他の栄養成分の吸収を阻害しないこと。
- (4) 摂取された添加物の未加水分解物又は部分加水分解物が大量に糞便中に排泄されないこと。さらに、未加水分解物又は部分加水分解物が生体組織中に蓄積しないこと。
- (5) (5) 添加物を使用した食品を摂取したとき、当該添加物及びその分解物が当該食品の主要な成分の過剰摂取の問題を起こさないこと。

加工助剤(酵素)における毒性評価

- ✓ 消化管内での分解性の評価および分解することが明らかな場合の安全性評価を考慮する必要がある。



酵素の安全性に係る知見として必要な資料は、原則として「添加物に関する食品健康影響評価指針」の添加物の評価に必要な資料一覧のデータをもつて行うが、**評価対象品目が難分解性でないことが明らかな場合、90日間反復投与毒性試験(げっ歯類)、遺伝毒性試験およびアレルギー試験に関わる資料に省略できる。**

加工助剤(酵素)におけるアレルギー性評価

- ✓ 酵素はタンパク質であることから、アレルギー性を重視する必要がある。



酵素(タンパク質)のアレルギー性は、遺伝子組換え食品(微生物)の安全性評価基準(2008年6月 食品安全委員会)を参照に、次の(1)から(3)までの事項から総合的に判断し、安全性を確認する。

- (1) 酵素(タンパク質)についてそのアレルギー性に関する知見が明らかにされていること。
- (2) 酵素(タンパク質)の物理化学的処理に対する感受性に関する事項

酵素(タンパク質)が消化管内でアレルギー性の懸念がなくなるまで分解されることが明らかにされること。原則として、2.4の「消化管内での分解性およびアレルギー性の評価に係る試験」を用いてアレルギー性の懸念がなくなる最低質量まで分解を確認すること。また、分解物の生理活性ペプチドとの類似性についても検討する。

加工助剤(酵素)におけるアレルギー性評価

- ✓ 酵素はタンパク質であることから、アレルギー性を重視する必要がある。



- (3) 酵素(タンパク質)と既知のアレルゲン(グルテン過敏性腸疾患に関するタンパク質を含む。以下アレルゲン等)との構造相同性に関する事項

酵素(タンパク質)について、既知のアレルゲン等と一次構造を比較し、既知アレルゲン等と構造相同性を有しないこと。既知のアレルゲン等と一次構造の比較は、原則として*in silico*で8アミノ酸配列の連続一致検索及び80残基中35%以上のホモロジー解析を行う。抗原決定基(エピトープ)を示す可能性のある配列を明らかにするためには、アミノ酸配列に関する相同性検索などを実施する必要がある。その際、用いたアレルゲンデータベースの名称、検索条件、検索方法、検索結果を明らかにする。

なお(1)から(3)までの事項で判断できない場合には、酵素(タンパク質)のIgE結合能を含め、総合的に判断して安全性が確認されることが必要である。また合理的な理由がある場合には、一部を省略することができる。

加工助剤(酵素)における食品健康影響評価

- ✓ 食品加工中に分解や除去されることで、食品の原材料として消費されることはない一方、非意図的にその残渣や派生物が最終製品中に存在することが回避できない場合がある。



酵素の健康影響評価は、基原生物の安全性、食品中及び消化管内での分解性、酵素(タンパク質)の毒性およびアレルギー性に係る知見から総合的に判断するのが適当である。

酵素のうち、難分解性でないものに関しては、90日間反復投与毒性試験(げっ歯類)、遺伝毒性試験およびアレルギー性試験の知見を評価し、NOAELを算定した後に、摂取量と比較して曝露マージンの評価を行う。

ただし、酵素の一日摂取量の推計は全量がそのまま最終食品に移行して消費されるとした場合を想定し推計されるものであり、多くの酵素が最終食品中で分解・変性・失活していると考えられることを踏まえると、過剰な見積もりになる可能性があることに留意して曝露マージンの評価を行う。さらに、酵素は反復投与毒性試験で最高用量においても毒性を示さないことが多く、最高用量がNOAELとなる場合が多いことにも留意し、曝露マージンの評価を行う。

注釈および今後の検討課題

- ✓ 酵素の消化管内での分解性を検討するための評価項目は、平成8年厚生省ガイドライン「食品添加物の指定及び使用基準改正に関する指針」の表2「食品添加物が食品内又は消化管内で分解して食品常在成分となることを確認する場合の検討事項」を参照に改変した。
- ✓ JECFAのTechnical reports series 373では、特定の酵素の発現量が不足あるいは欠損しているヒトにおいては、分解性に影響をあたえる可能性がある」と記載されているが、この記述に関しては、今後検討する必要がある。
- ✓ 「アレルギー性の懸念がなくなる最低質量まで分解を確認すること」に関して、Russell(2000)によれば、アレルギーは最低2つのIgE結合部位をもち、1つの部位は最低でも15アミノ酸残基であるため、アレルギーは30アミノ酸残基でなければならない、分子量換算でおよそ3kDaの分子量を持つとされる。
- ✓ *in silico*でのアミノ酸配列の連続一致検索に関し、JECFAのTechnical reports series 995において、8アミノ酸配列の連続一致検索が推奨されている。

加工助剤に関する指針案 (殺菌料、抽出溶媒)

加工助剤(殺菌料、抽出溶媒)に関するリスク評価指針案

第4 一日摂取量の推計等

殺菌料または抽出溶媒の一日摂取量の推計は、**残留試験の結果から最終食品の想定される最大残留量を計算し、一日摂取量を推計する。**また、使用中に生じる可能性がある生成物についても、原則として残留試験の結果から最大残留量を計算し、**残留量より生成物の一日摂取量を推計する。****残留値が検出限界値以下である場合は、検出限界値を最大残留量とすることを原則とする。**

第5 食品健康影響評価

殺菌料および抽出溶媒の健康影響評価は、安全性に係る知見および一日摂取量の推計等から総合的に判断するのが適当である。**殺菌料、抽出溶媒の安全性に係る知見を評価し、NOAELを算定した後に使用される食品中の最大残留量から推計される摂取量と比較して曝露マージンの評価を行う。**ただし、**殺菌料および抽出溶媒の多くは、食品の製造過程において除去・分解されていると考えられることから、一日摂取量の推計は過剰な見積もりになる可能性があることに留意して曝露マージンの評価を行う。**