

### 加工助剤に関するリスク評価指針案

#### 第1 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食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。

#### 第2 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。

#### 第3 安全性に係る知見

##### I 酵素

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。

## 1 基原生物の安全性

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。

## 2 本品目の安全性

### 2.1 消化管内での分解性

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<sup>1, 2</sup>。

- (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) 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。

### 2.2 毒性

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って行うが、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性試験に関わる資料に省略できる。

### 2.3 アレルギー性

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。なお（１）から（３）までの事項で判断できない場合には、（４）の事項を含め、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。

（１）酵素（タンパク質）についてそのアレルゲン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ゲン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ゲン性の評価に係る試験」を用いてアレルゲン性の懸念がなくなる最低質量まで分解を確認すること<sup>3</sup>。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。

（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<sup>4</sup>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。

（４）酵素（タンパク質）の IgE 結合能の検討

（１）から（３）までの事項等により、ヒトの健康を損なう恐れがないと判断できない時は、酵素（タンパク質）の IgE 結合能を検討すること。使用するアレルギー患者血清の選択は、下記①から④のいずれか該当するものを選択する。

- ① 基原生物がアレルギー誘発性を持つ場合はその生物に対する特異的 IgE 抗体価が高値な血清
- ② 既知アレルゲンとの構造相同性が認められた場合は当該アレルゲンを含む生物に対する特異的 IgE 抗体価が高値な血清
- ③ 既知のアレルゲンとの構造相同性が示されないが、（１）～（３）の項目で、アレルギー誘発性を否定しきれない場合は、基原生物の近縁種生物に対して特異的 IgE 抗体価が高値な血清
- ④ ①から③で適切な血清が得られない場合は、主要なアレルゲン（卵、ミルク、大豆、米、小麦、そば、たら、えび及びピーナッツ）に対して特異的 IgE 抗体価が高値な血清を用いる。

基原生物がアレルギー誘発性を持つ場合で、酵素（タンパク質）に対するアレルギー患者血清を用いた IgE 結合能の検討で陰性結果が得られたものの、なお安全性の証

明が十分ではないと考えられた場合は、皮膚テストや経口負荷試験などの臨床試験データが必要とされる。

#### 2. 4 消化管内での分解性およびアレルギー性に係る試験

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が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）

## II 殺菌料、抽出溶媒

安全性に係る知見に関して必要な資料は、従来の「添加物に関する食品健康影響評価指針」に則る。使用中に生じる可能性がある生成物についても、安全性に係る知見を評価する。

### 第4 一日摂取量の推計等

#### I 酵素

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とした場合を想定し、一般的に使用される条件下での最大添加量を用いて一日摂取量を推定する。ただし、過剰な見積もりになる可能性があることに留意する。

#### II 殺菌料、抽出溶媒

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

#### I 酵素

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、摂取量と比較してばく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ばく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、ばく露マージンの評価を行う。

## II 殺菌料、抽出溶媒

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ばく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ばく露マージンの評価を行う。

## 注釈

---

- 1 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、酵素の消化管内での分解性を検討するための評価項目に改変した。
- 2 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して記載されているが、この記述に関しては、今後検討する必要がある。
- 3 Russell (2000) によれば、アレルゲンは最低 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、アレルゲンは 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。
- 4 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。