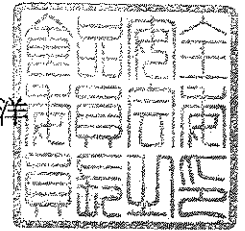




府食第557号
平成30年8月28日

農林水産大臣
齋藤 健 殿

食品安全委員会
委員長 佐藤 洋



食品健康影響評価の結果の通知について

平成30年1月16日付け29消安第4604号をもって貴省から当委員会に意見を求められたグアニジノ酢酸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

グアニジノ酢酸を原体とする飼料添加物が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られる。

飼料添加物評価書

グアニジノ酢酸を原体とする 飼料添加物

2018年8月

食品安全委員会

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
I. 評価対象飼料添加物の概要	6
1. 原体	6
(1) 一般名	6
(2) 化学名	6
(3) 分子量	6
(4) 構造式	6
2. 製剤	6
3. 用途	6
4. 対象飼料及び添加量	6
5. 開発の経緯等	6
II. 安全性に係る知見の概要.....	8
1. ヒトに対する安全性	8
2. 残留試験	8
(1) 残留試験 (鶏) ①	8
(2) 残留試験 (鶏) ②	10
(3) 残留試験 (鶏) ③	11
(4) 残留試験 (鶏) ④	12
(5) 残留試験 (鶏) ⑤	13
(6) 残留試験 (鶏) ⑥	14
(7) 残留試験 (鶏) ⑦	15
(8) 残留試験 (鶏) ⑧	16
(9) 残留試験 (鶏) ⑨	17
3. 対象動物に対する安全性	18
(1) 耐容性試験 (鶏)	18
(2) 飼養試験 (鶏) ①	19
(3) 飼養試験 (鶏) ②	20
III. 国際機関等の評価	21
1. EFSA における評価	21
IV. 食品健康影響評価	22

- ・ 別紙：検査値等略称23
- ・ 参照.....24

〈別添〉 飼料添加物評価書「グアニジノ酢酸」

〈審議の経緯〉

- 2018年 1月 17日農林水産大臣から飼料添加物の指定並びに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（29消安第4604号）、関係資料の接受
- 2018年 1月 23日第681回食品安全委員会（要請事項説明）
- 2018年 3月 23日第133回肥料・飼料等専門調査会
- 2018年 5月 28日第135回肥料・飼料等専門調査会
- 2018年 7月 10日第704回食品安全委員会（報告）
- 2018年 7月 11日から8月9日まで 国民からの意見・情報の募集
- 2018年 8月 22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
- 2018年 8月 28日第709回食品安全委員会（報告）
同日付で食品安全委員会委員長から農林水産大臣へ通知

〈食品安全委員会委員名簿〉

（2018年6月30日まで）（2018年7月1日から）

佐藤 洋（委員長）	佐藤 洋（委員長*）
山添 康（委員長代理）	山本 茂貴（委員長代理*）
吉田 緑	川西 徹
山本 茂貴	吉田 緑
石井 克枝	香西 みどり
堀口 逸子	堀口 逸子
村田 容常	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 戸塚 恭一
川本 恵子 中山 裕之
桑形 麻樹子 宮島 敦子
小林 健一 山田 雅巳
佐々木 一昭 吉田 敏則

〈第133回肥料・飼料等専門調査会専門参考人名簿〉

唐木 英明

〈第 135 回肥料・飼料等専門調査会専門参考人名簿〉

唐木 英明

要 約

グアニジノ酢酸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。

本製剤は、原体にデンプンを加えて粒状化したものであり、ブロイラー用飼料への推奨添加量は 0.06%とされている。

本飼料添加物の原体であるグアニジノ酢酸（GAA）は、飼料添加物として適切に使用される限りにおいて、ADI を特定する必要はないと評価している。

本製剤に含まれている物質は、その使用状況、既存の毒性評価及び本製剤の用法・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。

鶏を用いた飼養試験で、本製剤の 1,200 mg/kg 飼料の添加濃度まで悪影響はみられなかった。

以上から、GAA を原体とする飼料添加物が、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. 原体

(1) 一般名

グアニジノ酢酸

(2) 化学名

IUPAC

英名：2-(diaminomethylideneamino)acetic acid

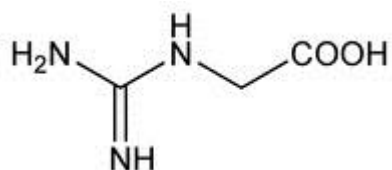
CAS No. 352-97-6

英名：N-(Aminoiminomethyl)-glycine (参照1)

(3) 分子量

117.11 (参照1)

(4) 構造式



(参照1)

2. 製剤

原体にデンプンを加えて粒状化し、乾燥したものである。(参照2)

3. 用途

飼料の栄養成分その他の有効成分の補給である。(参照2)

4. 対象飼料及び添加量

要請者による本飼料添加物のブロイラー用飼料への推奨添加量は、0.06% (600ppm) である。(参照2)

5. 開発の経緯等

本飼料添加物は、Alzchem Trostberg GmbH 社が製造するグアニジノ酢酸を原体とする製剤である。

原体であるグアニジノ酢酸 (GAA) は、家畜体内の代謝を通して動物の飼料要求率を改善すると考えられている。(参照2)

海外では、EU 及び米国を始めとして 20 か国以上において認可され、家禽及び豚の飼料へ添加されている。(参照2、3)

今般、農林水産省から、GAA を原体とする飼料添加物について、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 2 条第 3 項の規定に基づき GAA を飼料添加物に指定するとともに、同法第 3 条第 1 項の記載に基づく飼料添加物の基準及び規格並びに飼料の基準及び規格の改正に関す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

1. ヒトに対する安全性

原体である GAA は、別添のとおり、飼料添加物として適切に使用される限りにおいて、一日摂取許容量 (ADI) を特定する必要はないと評価している。

製剤化において使用されるデンプンについては、賦形物質及び希釈物質として使用が認められている物質であり、これまで飼料添加物の製造において使用されてきたものである (参照4)。食品安全委員会では 2007 年に、食品添加物の加工デンプンについて、「添加物として適切に使用される限り、安全性に懸念はなく、ADI を特定する必要はない」と評価している。(参照5)

以上のことから、本製剤に含まれている物質は、その使用状況、既存の毒性評価及び本製剤の用法・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. 残留試験

残留試験 (1) ~ (8) において、血液 (血漿) 及び組織中 GAA、クレアチン、クレアチニン及びホモシステイン (Hcy) 濃度の測定方法及び検出限界は、表 1 のとおりである。(参照6)

表 1 血液 (血漿) 及び組織中 GAA、クレアチン、クレアチニン及び Hcy 濃度の測定方法及び検出限界

試料	測定対象	測定方法	検出限界
血液	GAA	LC-MS/MS	0.9 µmol/L
	クレアチン	比色法	0.1 µmol/L
	クレアチニン	自動分析装置	0.1 µmol/L
	Hcy	LC-MS	0.1 µmol/L
組織	GAA	HPLC-UV	0.2 µg/g
	クレアチン	HPLC-UV	3 µg/g
	クレアチニン	HPLC-UV	1 µg/g
	Hcy	HPLC-FL	肝臓、筋肉 0.42 nmol/g 腎臓 0.65 nmol/g

(1) 残留試験 (鶏) ①

鶏 (肉用種、1 日齢、雄 256 羽/群) に GAA を 35 日間混餌投与 (0、600、1,500、3,000 又は 6,000 mg/kg 飼料) した。飼料は、投与開始 14 日後まではスターター飼料¹、残りの期間はグロワー飼料²を用いた。

最終投与 1 日後に各群 20 羽から肝臓及び胸部筋肉を採取し、組織中 GAA、クレアチン及びクレアチニン濃度を測定した。また、最終投与 1 日後に各

¹ 参照 4 におけるブロイラー用飼料の「前期用」に相当すると考えられる。

² 参照 4 におけるブロイラー用飼料の「後期用」に相当すると考えられる。

群 10 羽から血液を採取し、クレアチン、クレアチニン及び Hcy 濃度を測定した。

飼料中 GAA 濃度を表 2 に示した。

表 2 飼料中 GAA 濃度 (mg/kg 飼料)

GAA 投与量 (mg/kg 飼料)	飼料中 GAA 濃度	
	スターター飼料	グロワー飼料
0	<0.05	<0.05
600	592	586
1,200	1,451	1,529
3,000	3,496	2,966
6,000	5,534	5,883

肝臓及び胸部筋肉中 GAA、クレアチン及びクレアチニン濃度を表 3 に、血液中クレアチン、クレアチニン及び Hcy 濃度を表 4 に示した。

肝臓中 GAA 濃度は 3,000 mg/kg 飼料以上投与群で、胸部筋肉中 GAA 濃度は 1,500 mg/kg 飼料以上投与群で、GAA 投与量の増加に伴い減少した。組織及び血漿中クレアチン及びクレアチニン濃度は用量依存性に増加した。血漿中 Hcy 濃度の上昇が最高用量の 6,000 mg/kg 飼料投与群のみにみられた。

(参照 7~9)

表 3 鶏における GAA 35 日間混餌投与後の肝臓及び胸部筋肉中 GAA、クレアチン及びクレアチニン濃度 (µg/g)

組織	測定対象	GAA 投与量 (mg/kg 飼料)				
		0	600	1,500	3,000	6,000
肝臓	GAA	45.0 ^a	49.3 ^a	47.3 ^a	13.5 ^b	6.2 ^b
	クレアチン	67.3 ^c	90.0 ^{bc}	113.2 ^{ab}	114.2 ^{ab}	132.4 ^a
	クレアチニン	ND	ND	ND	ND	ND
胸部 筋肉	GAA	4.57 ^a	3.01 ^a	1.26 ^b	0.78 ^b	0.85 ^b
	クレアチン	4,741 ^c	5,157 ^b	5,678 ^a	5,863 ^a	5,920 ^a
	クレアチニン	11.8 ^c	12.3 ^c	15.3 ^{bc}	17.9 ^{ab}	21.4 ^a

n=4 ND: 検出限界未満

a、b、c: 測定対象ごとに、同じアルファベットが含まれる場合は有意差なし、同じアルファベットが含まれない場合は有意差あり (p<0.05)。

表 4 鶏における GAA 35 日間混餌投与後の血液中クレアチン、クレアチニン及び Hcy 濃度

測定対象	GAA 投与量 (mg/kg 飼料)				
	0	600	1,500	3,000	6,000
クレアチン(mg/dL)	1.2 ^c	1.1 ^c	1.3 ^{bc}	1.8 ^b	2.6 ^a
クレアチニン(μmol/L)	3.6 ^b	3.7 ^{ab}	4.0 ^{ab}	4.2 ^a	4.2 ^a
Hcy (μmol/L)	42.9 ^b	39.1 ^b	42.9 ^b	39.6 ^b	56.1 ^a

n=10

a、b、c: 測定対象ごとに、同じアルファベットが含まれる場合は有意差なし、同じアルファベットが含まれない場合は有意差あり(p≤0.05)。

(2) 残留試験 (鶏) ②

鶏 (肉用種、1 日齢、雄 17 羽/群³) に GAA 製剤⁴を 35 日間混餌投与 (0、600、1,200、3,000 又は 6,000 mg/kg 飼料) した。飼料は、最初の 21 日間はスターター飼料⁵、残りの 14 日間はグロワー飼料⁶を用いた。最終投与後に、各群 10 羽から、血液及び組織を採取し、GAA、クレアチン、クレアチニン濃度及び Hcy 濃度を測定した。

飼料中 GAA 濃度を表 5 に示した。

表 5 飼料中 GAA 濃度 (mg/kg 飼料)

製剤投与量 (mg/kg 飼料)	GAA 投与量 (mg/kg 飼料)	飼料中 GAA 濃度	
		スターター飼料	グロワー飼料
0	0	10	1
600	586	602	579
1,200	1,171	1,185	1,147
3,000	2,928	2,752	2,728
6,000	5,856	5,843	5,495

血漿中 GAA、クレアチン、クレアチニン及び Hcy 濃度を表 6 に示した。

GAA 製剤投与量の増加に伴い血漿中 GAA 濃度は上昇した。また、血漿中クレアチン濃度は 3,000 mg/kg 飼料以上投与群で、Hcy 濃度は 6,000 mg/kg 投与群で有意に上昇した。

³ 1,200 mg/kg 飼料投与群のみ n=16 であった。

⁴ 製剤は、GAA を 97.6%含んでいる。

⁵ 参照 4 におけるブロイラー用飼料の「前期用」に相当すると考えられる。

⁶ 参照 4 におけるブロイラー用飼料の「後期用」に相当すると考えられる。

表 6 鶏における GAA 製剤 35 日間混餌投与後の血漿中 GAA、クレアチン、クレアチニン及び Hcy 濃度 (μmol/L)

測定対象	製剤投与量 (mg/kg 飼料)				
	0	600	1,200	3,000	6,000
GAA	0.8 ^a	9.2 ^b	13.7 ^b	44.8 ^c	116.2 ^d
クレアチン	118 ^a	134 ^{ab}	123 ^{abc}	183 ^d	281 ^e
クレアチニン	4.1 ^a	3.8 ^a	3.1 ^a	4.2 ^a	4.4 ^a
Hcy	74 ^a	79 ^{ab}	58 ^{abc}	88 ^{abd}	131 ^e

n=10

a、b、c、d、e: 測定対象ごとに、同じアルファベットが含まれる場合は有意差なし、同じアルファベットが含まれない場合は有意差あり(p<0.01)。

肝臓、腎臓及び胸部筋肉中 GAA、クレアチン、クレアチニン及び Hcy 濃度を表 7 に示した。

6,000 mg/kg 飼料投与群の肝臓、腎臓及び胸部筋肉中 GAA 濃度は、対照群と比較して有意に高かった。腎臓中 GAA 濃度は、600 及び 3,000 mg/kg 飼料投与群も対照群と比較して有意に高かった。クレアチン濃度は、3,000 mg/kg 飼料以上投与群の肝臓及び 1,200 mg/kg 飼料以上投与群の腎臓において、対照群と比較して有意に高かった。(参照 7、10)

表 7 鶏における GAA 製剤 35 日間混餌投与後の肝臓、腎臓及び胸部筋肉中 GAA、クレアチン、クレアチニン及び Hcy 濃度 (μg/g)

組織	測定対象	製剤投与量 (mg/kg 飼料)				
		0	600	1,200	3,000	6,000
肝臓	GAA	26	22	24	19	319 ^a
	クレアチン	97	76	106	406 ^a	893 ^a
	クレアチニン	0.6	0.6	0.6	1.1	2.6 ^a
	Hcy	1.1	1.0	1.0	1.0	1.1
腎臓	GAA	27	50 ^a	45	139 ^a	253 ^a
	クレアチン	65	73	91 ^a	123 ^a	225 ^a
	クレアチニン	0.9	0.9	1.0	1.0	1.0
	Hcy	1.6	2.0	1.6	1.9	2.4 ^a
胸部 筋肉	GAA	6	5	5	4	12 ^a
	クレアチン	5,026	5,036	5,373	5,687	5,825
	クレアチニン	8.0	7.4	9.4	10.5	8.6
	Hcy	2.8	2.6	2.6	3.1	4.4 ^a

n=10 ND: 検出限界未満

a: 対照群と比較して有意差あり。

(3) 残留試験 (鶏) ③

鶏 (肉用種、1 日齢、雄、GAA 投与群各 240 羽/群、陽性及び陰性対照群各 280 羽/群) に GAA を 42 日間混餌投与 (0、314、628、942 又は 1,256 mg/kg 飼料) した。陽性対照群には、魚粉を投与した。飼料は、最初の 21

日間はスターター飼料、残りの 14 日間はグロワー飼料を用いた。最終投与後に、被験物質投与群の各 18 羽、陽性及び陰性対照群の各 21 羽から筋肉を採取し、GAA 及びクレアチン濃度を測定した。

飼料中 GAA 濃度を表 8 に示した。

表 8 飼料中 GAA 濃度 (mg/kg 飼料) ^a

飼料	投与量					
	0	314	628	942	1,256	魚粉
スターター	—	240	600	950	1,100	—
グロワー	—	200	600	970	1,400	—

a: 参照 8 の飼料中濃度を記載した。

筋肉中 GAA 及びクレアチン濃度を表 9 に示した。

全 GAA 投与群の筋肉中 GAA 濃度は、陰性対照群と比較して有意に低かった。一方、全 GAA 投与群の筋肉中クレアチン濃度は、陰性対照群と比較して有意に高かった。

なお、死亡率を算出するとともに、体重増加量及び飼料摂取量を測定し飼料効率を算出した。その結果、死亡率については、被験物質の投与による影響はみられなかった。体重増加量及び飼料摂取量については、被験物質の各投与群は、対照群と比較して有意な変化はみられなかったが、飼料効率については、628 mg/kg 飼料投与群を除いた被験物質投与群は、対照群と比較して有意に改善された。(参照 7、8)

表 9 鶏における GAA を 42 日間混餌投与後の筋肉中 GAA 及びクレアチン濃度 (µg/g)

測定対象	投与量 (mg/kg 飼料)					
	0	314	628	942	1,256	魚粉 (陽性対照)
GAA	7.59 ^a	1.30 ^b	1.78 ^b	1.21 ^b	0.91 ^b	1.41 ^b
クレアチン	4,665 ^a	5,337 ^b	5,370 ^b	5,322 ^b	5,689 ^c	5,215 ^d

n=18 (ただし、陰性(0 mg/kg 飼料)及び陽性(魚粉)対照群は n=21)

a、b、c、d: 測定対象ごとに、同じアルファベットが含まれる場合は有意差なし、同じアルファベットが含まれない場合は有意差あり(p≤0.05)。

(4) 残留試験 (鶏) ④

鶏 (肉用種、1 日齢、雄 780 羽/群) に GAA を 41 日間混餌投与 (0、200、400 又は 600 mg/kg 飼料) した。飼料は、試験開始 10 日後まではスターター飼料、11 から 28 日後まではグロワー飼料、残りの期間はフィニッシャー飼料⁷を用いた。最終投与後に、各群 30 羽から肝臓及び胸部筋肉を採取

⁷ 参照 4 におけるプロイラー用飼料の「後期用」に相当すると考えられるが、特に出荷前の期間に給餌する飼料 (仕上げ用) と考えられる。

し、GAA、クレアチン及びクレアチニン濃度を測定した。
飼料中 GAA 濃度を表 10 に示した。

表 10 飼料中 GAA 濃度 (mg/kg 飼料)

飼料	投与量			
	0	200	400	600
スターター	<0.08	158	338	499
グロワー	<0.08	177	375	542
フィニッシャー	<0.08	189	394	587

肝臓中 GAA 及びクレアチン及び胸部筋肉中 GAA、クレアチン及びクレアチニン濃度を表 11 に示した。

全 GAA 投与群の胸部筋肉中 GAA 濃度は、対照群と比較して有意に低かった。胸部筋肉中クレアチン濃度は、400 mg/kg 飼料以上投与群において対照群と比較して有意に高かった。

なお、死亡率を算出するとともに、体重増加量及び飼料摂取量を測定し飼料効率を算出した結果、被験物質の投与による影響はみられなかった。(参照 7、8)

表 11 鶏における GAA41 日間混餌投与後の肝臓及び筋肉中 GAA、クレアチン及びクレアチニン濃度 ($\mu\text{g/g}$)

組織	測定対象	投与量 (mg/kg 飼料)			
		0	200	400	600
肝臓	GAA	161.2 ^a	215.0 ^b	205.0 ^{ab}	222.5 ^b
	クレアチン	45.3	52.0	48.8	54.2
胸部 筋肉	GAA	23.7 ^a	13.7 ^b	6.2 ^c	3.7 ^c
	クレアチン	3896 ^a	4006 ^a	4357 ^b	4560 ^c
	クレアチニン	10.7 ^a	13.0 ^b	14.0 ^b	14.5 ^b

n=30

a、b、c: 測定対象ごとに、同じアルファベットが含まれる場合は有意差なし、同じアルファベットが含まれない場合は有意差あり ($p \leq 0.05$)。

(5) 残留試験 (鶏) ⑤

鶏 (肉用種、1 日齢、雌雄 96 羽/群) に GAA 製剤を 42 日間混餌投与 (GAA として 0 又は 800 mg/kg 飼料) した。飼料は、最初の 21 日間はスターター飼料、残りの 21 日間はグロワー飼料を用いた。最終投与後に、各群 24 羽から胸部筋肉を採取し、GAA、クレアチン及びクレアチニン濃度を測定した。

胸部筋肉中 GAA、クレアチン及びクレアチニン濃度を表 12 に示した。

GAA 投与群の GAA 濃度は低下傾向がみられ、クレアチン濃度は有意に高かった。

なお、死亡率を算出するとともに、体重増加量及び飼料摂取量を測定し飼料効率を算出した結果、被験物質投与群の飼料効率は、対照群と比較して有意に改善されたが、死亡率、体重増加量及び飼料摂取量に被験物質の投与による影響はみられなかった。(参照 6～8)

表 12 鶏における GAA 製剤 42 日間混餌投与後の胸部筋肉中 GAA、クレアチン及びクレアチニン濃度 (µg/g)

測定対象	投与量 (mg/kg 飼料(GAA として))	
	0	800 (737/765) ^a
GAA	1.81	0.70
クレアチン	4,481	5,045 ^b
クレアチニン	6.7	8.0

n=24

a: 飼料中 GAA 濃度の分析値 (左はスターター飼料、右はグロワー飼料)

b: 対照群と比較して有意差有り (p≤0.05)。

(6) 残留試験 (鶏) ⑥

鶏 (肉用種、1 日齢、羽数不明) に GAA を 42 日間混餌投与 (0、785、1,178 又は 7,850 mg/kg 飼料となるように、飼養前半はスターター飼料に、飼養後半はグロワー飼料にそれぞれ混餌投与) した。最終投与後に、各群 5 羽から肝臓及び胸部筋肉を採取し、肝臓では GAA 及びクレアチン、胸部筋肉では GAA、クレアチン及びクレアチニン濃度を測定した。

飼料中 GAA 濃度を表 13 に示した。

表 13 飼料中 GAA 濃度 (mg/kg 飼料)

飼料	投与量			
	0	785	1,178	7,850
スターター	NA	690	1,090	6,600
グロワー	NA	700	NA	7,750

NA: 分析せず

肝臓及び胸部筋肉中の GAA、クレアチン及びクレアチニン濃度を表 14 に示した。

肝臓については、最高用量の 7,850 mg/kg 飼料投与群の GAA 及びクレアチン濃度が対照群と比較して有意に高かった。

胸部筋肉については、各投与群の GAA 濃度は対照群と比較して有意には異ならなかった。クレアチン及びクレアチニン濃度は、対照群と比較して有意に高かった。(参照 7)

表 14 鶏における GAA 42 日間混餌投与後の肝臓及び胸部筋肉中 GAA、クレアチン及びクレアチニン濃度 ($\mu\text{g/g}$)

組織	測定対象	投与量 (mg/kg 飼料)			
		0	785	1,178	7,850
肝臓	GAA	22.7 ^a	14.6 ^a	12.4 ^a	103.9 ^b
	クレアチン	85.4 ^a	131.6 ^a	116.0 ^a	1,667.5 ^b
胸部 筋肉	GAA	1.5 ^{ab}	0.6 ^a	0.4 ^a	2.6 ^b
	クレアチン	4,051 ^a	5,109 ^b	5,192 ^b	5,667 ^b
	クレアチニン	14.9 ^a	23.6 ^b	24.4 ^b	34.0 ^c

n=5

a、b、c：測定対象ごとに、同じアルファベットが含まれる場合は有意差なし、同じアルファベットが含まれない場合は有意差あり ($p \leq 0.05$)。

(7) 残留試験 (鶏) ⑦

鶏 (品種不明、8 日齢、性別不明、40 羽/群) に GAA 製剤を 14 日間混餌投与 (GAA として 0、600 又は 1,200 mg/kg 飼料) した。GAA 投与前の週には、鶏にアルギニン欠乏の基礎飼料を給餌した。各 GAA 投与群は更に 2 群 (アルギニンの添加：0 又は 1.6 g/kg 飼料) に分けた。対照群は 3 群 (アルギニンの添加：0、1.6 又は 3.2 g/kg 飼料) に分けた。最終投与後に、各群 16 羽から血液を採取し、血清中 GAA、総クレアチン及びクレアチニン並びに血漿中 Hcy を測定した。また、各群 8 羽から胸部筋肉を採取し、GAA、クレアチン、クレアチニン、Hcy 及びホスホクレアチンを測定した。

血清中 GAA 及びクレアチン並びに血漿中 Hcy 濃度を表 15 に、胸部筋肉中総クレアチン、クレアチニン、Hcy 及びホスホクレアチン濃度を表 16 に示した。

血清中 GAA 及びクレアチン濃度は、アルギニン 1.6 g/kg 飼料投与群において GAA の用量依存性に増加した。血清中クレアチニン濃度は検出限界未満であった (データは示されなかった)。血漿中 Hcy 濃度は、GAA 投与によって影響しなかった。

胸部筋肉中 GAA 濃度は、多くの試料で検出限界未満であったことから、報告されなかった。胸部筋肉中総クレアチン及びホスホクレアチン濃度は、アルギニン添加飼料投与群内では GAA 用量依存性に増加した。胸部筋肉中 Hcy 濃度は、アルギニン欠乏飼料投与群内では GAA 投与によって増加する傾向がみられた。しかし、アルギニン添加飼料投与群内では、GAA の両投与群の濃度は、対照群と比較して有意に低かった。(参照 6、7)

表 15 鶏における GAA 製剤 14 日間混餌投与後の血清中 GAA 及びクレアチン濃度並びに血漿中 Hcy 濃度

測定対象	投与量 (mg/kg 飼料(GAA として))						
	0			600		1,200	
	10.1 ^a	11.6 ^a	13.1 ^a	10.1 ^a	11.6 ^a	10.1 ^a	11.5 ^a
血清中 GAA (μmol/L)	0.39	0.48	0.91	3.85	4.91	9.84	13.95
血清中クレアチン (μmol/L)	14.2	19.8	28.3	22.3	26.0	37.1	43.2
血漿中 Hcy (μmol/L)	155.4	178.2	134.4	151.6	170.5	150.5	157.7

n=8

a : 飼料中総アルギニン濃度 (g/kg 飼料)

表 16 鶏における GAA 製剤 14 日間混餌投与後の胸部筋肉中総クレアチン、クレアチニン、Hcy 及びホスホクレアチン濃度

測定対象	投与量 (mg/kg 飼料(GAA として))						
	0			600		1,200	
	10.1 ^a	11.6 ^a	13.1 ^a	10.1 ^a	11.6 ^a	10.1 ^a	11.5 ^a
総クレアチン (mg/g)	2.4	3.3	3.7	3.0	4.1	4.0	5.1
クレアチニン (μg/g)	5.1	6.5	8.3	6.8	12.3	12.6	8.0
Hcy (nmol/kg)	75.3	108.6	119.0	114.3	78.3	82.7	70.9
ホスホクレアチン (nmol/g 乾物)	37.6	61.7	74.4	56.1	82.4	91.0	108.7

n=8

a : 飼料中総アルギニン濃度 (g/kg 飼料)

(8) 残留試験 (鶏) ⑧

鶏 (肉用種、1 日齢、雄 192 羽/群) に GAA を 39 日間混餌投与 (0、600 又は 1,200 mg/kg 飼料) した。また、陽性対照群には基礎飼料に魚粉飼料を添加した飼料を給餌した。試験開始 13 日後まではスターター飼料、14 から 26 日後まではグロワー飼料、残りの期間はフィニッシャー飼料を用いた。投与開始 26 日後に、各群 12 羽から胸部筋肉を採取し、GAA、クレアチン、クレアチニン濃度及びホスホクレアチニン/ATP 比を測定した。

飼料中 GAA 濃度を表 17 に示した。

表 17 飼料中 GAA 濃度 (mg/kg 飼料)

飼料	投与量			
	0	600	1,200	魚粉 (陽性対照)
スターター	1	658	1,240	<1
グロワー	<1	575	1,196	<1
フィニッシャー	<1	545	1,190	<1

胸部筋肉中 GAA、クレアチン及びクレアチニン濃度並びにホスホクレアチン/ATP 比を表 18 に示した。

各 GAA 投与群の胸部筋肉中 GAA 濃度は低下し、クレアチン濃度は増加した。

なお、死亡率を算出するとともに、体重増加量及び飼料摂取量を測定し飼料効率を算出した。その結果、死亡率に被験物質の投与による影響はみられなかった。また、GAA 投与群の体重、体重増加量及び飼料効率は、陰性対照群と比較して有意に改善されたが、魚粉投与群とは差はみられなかった。(参照 7)

表 18 鶏における GAA 26 日間混餌投与後の胸部筋肉中 GAA、クレアチン及びクレアチニン濃度 (µg/g) 並びにホスホクレアチン/ATP 比

測定対象	投与量 (mg/kg 飼料)			
	0	600	1,200	魚粉 (陽性対照)
GAA	8.2 ^a	2.2 ^b	1.4 ^b	5.9 ^a
クレアチン	4,789 ^a	5,322 ^b	5,541 ^b	4,940 ^a
クレアチニン	5.5	6.0	6.1	5.7
ホスホクレアチン /ATP 比	2.4 ^a	2.7 ^{ab}	3.0 ^b	2.6 ^{ab}

a、b：測定対象ごとに、同じアルファベットが含まれる場合は有意差なし、同じアルファベットが含まれない場合は有意差あり(p≤0.05)。

(9) 残留試験 (鶏) ⑨

鶏 (肉用種、1 日齢、雄、被験物質投与群 240 羽/群、陰性及び陽性対照群 280 羽/群) に GAA 製剤又はクレアチン製剤を 42 日間混餌投与した。試験群の設定として、GAA 製剤投与群が 4 群 (GAA として 0.031、0.063、0.094 又は 0.126%添加)、クレアチン製剤投与群が 3 群 (クレアチンとして 0.04、0.08 又は 0.12%添加) 並びに陰性及び陽性対照群が各 1 群であった。投与開始後 21 日間はスターター飼料、残りの期間はグロワー飼料を給餌した。陰性対照群には植物性飼料から成る基礎飼料を、陽性対照群には基礎飼料にフィッシュミールを添加した飼料 (スターター飼料：50 g/kg 飼料、グロワー飼料：30 g/kg 飼料) を給餌した。

投与開始 21 日後及び最終投与後に体重及び摂餌量を測定した。最終投与

後に被験物質投与群は各 18 羽、対照群は各 21 羽から胸部筋肉を採取し、筋肉中 GAA 及びクレアチン濃度を HPLC によって測定した（定量限界不明）。

GAA 製剤及びクレアチン製剤投与群の体重増加量は、陽性対照群と同程度であった。

胸部筋肉中 GAA 及びクレアチン濃度を表 19 に示した。

GAA 製剤投与の全投与群、クレアチン製剤投与の 0.800 mg/kg 飼料以上投与群及び陽性対照群の胸部筋肉中 GAA 濃度は、陰性対照群より有意に低かったが、一方で、これらの試験群のクレアチン濃度は、陰性対照群より有意に高かった。

なお、死亡率及び摂餌量に投与の影響はみられなかった。（参照11）

表 19 鶏における GAA 製剤又はクレアチン製剤を 42 日間混餌投与後の胸部筋肉中 GAA 及びクレアチン濃度（ $\mu\text{g/g}$ ）

投与物質	添加濃度 ^a (mg/kg 飼料)	胸部筋肉中濃度	
		GAA	クレアチン
GAA 製剤	314	1.30 ^b	5,337 ^{bc}
	628	1.78 ^b	5,370 ^{bc}
	942	1.21 ^b	5,322 ^{bc}
	1,256	0.91 ^b	5,689 ^d
クレアチン製剤	400	6.96 ^c	4,713 ^e
	800	1.15 ^b	5,472 ^b
	1,200	0.00 ^b	5,893 ^f
陰性対照		7.59 ^c	4,665 ^e
陽性対照		1.41 ^b	5,215 ^c

n=18（ただし、陰性及び陽性対照群は n=21）

a：GAA 又はクレアチンとしての添加濃度

b、c、d、e、f：投与物質ごとに、同じアルファベットが含まれる場合は有意差なし、同じアルファベットが含まれない場合は有意差あり(p<0.05)。

3. 対象動物に対する安全性

(1) 耐容性試験（鶏）

[Ⅱ. 2. (1)]と同一の試験である。

鶏（肉用種、1 日齢、雄 256 羽/群）に GAA を 35 日間混餌投与（0、600、1,500、3,000 又は 6,000 mg/kg 飼料）した。投与開始 14 日後までスターター飼料、残りの期間はグロワー飼料を給餌した。各飼料とも、ビタミン B₁₂ が 7.5 $\mu\text{g/kg}$ 飼料、葉酸が 0.5 mg/kg 飼料、塩化コリンが 100 mg/kg 飼料の濃度で添加されている。一般状態は毎日観察し、体重及び飼料摂取量は投与開始 14 日後及び最終投与日に測定した。また、最終投与 1 日後に各群 10 羽から血液を採取し、血液学的及び血漿生化学的検査を実施した。

試験期間中の死亡率に、被験物質の投与による影響はみられなかった。

6,000 mg/kg 体重/日投与群では飼料摂取量が対照群と比較して有意に低く、また、体重増加量も有意に低かった。

血液学的検査で、1,500 mg/kg 飼料以上投与群の MCV 及び 3,000 mg/kg 飼料以上投与群の MCH に、対照群と比較して有意な増加がみられた。

血液生化学的検査で、被験物質の投与による影響はみられなかった。

EFSA は、1,500 mg/kg 飼料以上投与群の MCV の有意な増加の原因について、基礎飼料のビタミン B₁₂、葉酸及び塩化コリンの添加量が必要量の下限付近であり、特にメチル基供与体としてコリンが少なかったことによると考察した。(参照 7~9)

(2) 飼養試験 (鶏) ①

[II. 2. (2)]と同一の試験である。

鶏 (肉用種、1 日齢、雄 17 羽/群⁸) に GAA 製剤 (0、600、1,200、3,000 又は 6,000 mg/kg 飼料) を 35 日間混餌投与した。(1) の耐容性試験を踏まえ、本試験では、各飼料とも、ビタミン B₁₂ が 20 µg/kg 飼料、葉酸が 1 mg/kg 飼料及び塩化コリンが 460 mg/kg 飼料の濃度で添加されている。

体重及び飼料摂取量を毎週測定した。最終投与後に、各群 10 羽から、血液及び組織を採取した。血液学的及び血液生化学的検査、剖検並びに病理組織学的検査を実施した。また、血漿中 GAA 代謝関連物質 (GAA、クレアチン、クレアチニン、Hcy 及びアミノ酸) も測定した。

試験期間を通して、死亡率に被験物質の投与による影響はみられなかった。

体重は、投与開始 21 日後及び最終投与後において 6,000 mg/kg 飼料投与群のみが、対照群と比較して有意に低かった。これは、1 日当たりの飼料摂取量が、対照群と比較して有意に少なかったためと考えられた。

血液学的検査では、被験物質の投与による影響はみられなかった。

GAA の代謝に関連する血漿中アミノ酸濃度については、6,000 mg/kg 飼料投与群で血漿中シスチン濃度の有意な低下及びオルニチン濃度の有意な上昇がみられた。セリンは 3,000 mg/kg 飼料投与群で減少がみられた。申請者は、これらの変化は被験物質の投与と関連するものでないと考えた。その他の GAA、クレアチン、クレアチニン及び Hcy 濃度は、[II. 2. (2)]に記載している。

血液生化学的検査では、3,000 mg/kg 飼料以上投与群の血漿中コレステロール濃度は対照群と比較して低い傾向がみられた (3,000 mg/kg 飼料投与群のみ有意に低かった。)。1,200 及び 6,000 mg/kg 飼料投与群のトリグリセリド濃度は、対照群と比較して有意に低かった。600、3,000 及び 6,000 mg/kg 飼料投与群の総タンパク質濃度は、対照群と比較して有意に

⁸ 1,200 mg/kg 飼料投与群のみ n=16 であった。

低かった。3,000 mg/kg 飼料以上投与群のアルブミン濃度は、対照群と比較して有意に低かった。

臓器重量については、3,000 mg/kg 飼料投与群の肝臓及び腎臓の相対重量が対照群と比較して低かったが、より高用量の投与群には同様の変化がみられなかったことから、偶発的なものと考えられた。6,000 mg/kg 飼料投与群の肝臓、腎臓及び脳相対重量は、体重の減少のため、対照群と比較して有意に高くなった。

剖検及び病理組織学的検査では、被検物質の投与による影響はみられなかった。

申請者は、血漿中アルブミン及びタンパク質濃度の低下、更に血漿中コレステロール濃度を副作用と考えた場合、本試験における NOAEL は GAA 製剤として 1,200 mg/kg 飼料と考えた。

EFSA は、メチル基供与体を十分に含有する飼料が給餌された本試験では、最高用量である 6,000 mg/kg 飼料投与群においても血液学的検査での影響がみられなかったことから、(1) の試験での考察は正しかったと考えた。しかしながら、メチル基供与体が十分に添加された本試験においても、最高用量である 6,000 mg/kg 飼料投与群で、体重増加量及び飼料摂取量の低下がみられたことから、これを毒性影響と判断した。以上のこと及び本試験では各投与群に繰り返しがなく供試動物数が少ないことを踏まえ、EFSA は、6,000 mg/kg 飼料の次に低い用量である 3,000 mg/kg 飼料ではなく、さらにもう 1 段階低い用量である 1,200 mg/kg 飼料を肥育鶏における安全用量と判断した。(参照 7、10)

(3) 飼養試験 (鶏) ②

鶏 (肉用種 (種鶏)、雌 50 週齢、24 羽/群) に GAA を 10 週間混餌投与 (0、400、800、1,200 又は 1,600 mg/kg 飼料) した。60 週齢で授精し、その後採取した卵について、受精率、孵化率及び胚死亡率を検査した。また、孵化した鶏のうち雄 72 羽/群に、GAA を添加していない飼料を 42 週間給餌し、体重、飼料摂取量及び飼料効率を測定した。

800 及び 1,200 mg/kg 飼料投与群の孵化率は、対照群及び 1,600 mg/kg 飼料投与群に比べて有意に高かった。胚死亡率に被験物質の投与による影響はみられなかったため、孵化率の違いは、受精率の違いの結果であった。

孵化した雄鶏の体重及び飼料摂取量について、被験物質の投与による影響はみられなかった。800 及び 1,200 mg/kg 飼料投与群の飼料効率は、対照群及び 1,600 mg/kg 飼料投与群に比べて有意に高かった。(参照 7)

Ⅲ. 国際機関等の評価

1. EFSA における評価

FEEDAP パネルは、2009 年に肥育鶏用の飼料添加物として、2016 年に肥育鶏、種鶏、雄鶏及び豚用の飼料添加物としての評価を実施しており、その内容は、以下のとおりである。

2009 年の評価では、肥育鶏に対する安全性について、最高申請用量の 1,200 mg/kg 飼料の安全性に関する試験は実施されていなかったことから、最低申請用量の 600 mg/kg 飼料が対象動物に対して安全であると考えた。2016 年の評価では、本飼料添加物の対象動物に対する安全性は、メチル基供与体の供給に関係しているようであり、飼料に適切な量のメチル基供与体が含まれていれば、GAA として 1,200 mg/kg 飼料の添加は、肥育鶏及び子豚に対して安全であると考えた。また、子豚に対する結論は、肥育豚にも拡大できる。種鶏及び雄鶏に対する安全性は、データが不足しているため結論できなかった。

GAA に遺伝毒性はないと考えた。

実験動物を用いた 28 又は 90 日間投与試験でみられた影響は、概して、多量の間接代謝物に対する生理反応であり、予期せぬ毒性はみられなかった。

安全と考えられる GAA の飼料への最大添加量 (1,200 mg/kg 飼料) が守られるのであれば、GAA の飼料への添加によって、鶏及び豚の組織/器官中 GAA、クレアチン及び Hcy 濃度は消費者の安全性に関係するような濃度にはならないと判断した。

GAA に眼及び皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性はないと考えた。

2009 年の評価では、原体の規格としてジシアンジアミドは最大 0.5%及びシアナミドは最大 0.03%とすることを、2016 年の評価では、肥育鶏、子豚及び肥育豚用飼料への GAA の最大添加量の安全性は飼料に十分な量のメチル基供与物質 (メチオニン以外の物質。例えばコリン、ベタイン及び葉酸。) 及びビタミン B₁₂ が含まれていることが前提である旨を他の規定に明記することを推奨した。(参照 7、8)

IV. 食品健康影響評価

GAA を原体とする飼料添加物の食品健康影響評価を実施した。

本製剤は、原体にデンプンを加えて粒状化したものであり、ブロイラー用飼料への推奨添加量は 0.06%とされている。

本飼料添加物の原体である GAA は、飼料添加物として適切に使用される限りにおいて、ADI を特定する必要はないと評価している。

本製剤に含まれている物質は、その使用状況、既存の毒性評価及び本製剤の用法・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。

鶏を用いた飼養試験で、本製剤の 1,200 mg/kg 飼料の添加濃度まで悪影響はみられなかった。

以上から、GAA を原体とする飼料添加物が、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	一日摂取許容量
ATP	アデノシン三リン酸
EFSA	欧州食品安全機関
EMA	欧州医薬品庁
EU	欧州連合
FDA	米国医薬品庁
GAA	グアニジノ酢酸
Hcy	ホモシステイン
HPLC-FL	蛍光検出器付き高速液体クロマトグラフィー
HPLC-UV	紫外吸光検出器付き高速液体クロマトグラフィー
LC-MS	液体クロマトグラフィー・質量分析法
LC-MS/MS	液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析法
MCH	平均赤血球ヘモグロビン量
MCV	平均赤血球容積
NOAEL	無毒性量

<参照>

- 1 The Merck Index 15th edition, 2013
- 2 エボニック ジャパン株式会社：グアニジノ酢酸 飼料添加物指定審査用資料 抄録（非公表）
- 3 エボニック ジャパン株式会社：グアニジノ酢酸 飼料添加物指定審査用資料 添付資料 1-(2)（非公表）
- 4 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）
- 5 食品安全委員会：添加物評価書「加工デンプン」（アセチル化アジピン酸架橋デンプン、アセチル化リン酸架橋デンプン、アセチル化酸化デンプン、オクテニルコハク酸デンプンナトリウム、酢酸デンプン、酸化デンプン、ヒドロキシプロピルデンプン、ヒドロキシプロピル化リン酸架橋デンプン、リン酸モノエステル化リン酸架橋デンプン、リン酸化デンプン及びリン酸架橋デンプンに限る。）2007 年 11 月
- 6 エボニック ジャパン株式会社：照会に対する回答（非公表）
- 7 EFSA (Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed): Safety and efficacy of guanidinoacetic acid for chickens for fattening, breeder hens and roosters, and pigs. The EFSA Journal 2016; 14(2): 4394
- 8 EFSA (Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed): Safety and efficacy of guanidinoacetic acid as feed additive for chickens for fattening. The EFSA Journal 2009; 988: 1-30
- 9 エボニック ジャパン株式会社：グアニジノ酢酸 飼料添加物指定審査用資料 添付資料 5-(2)-ア（非公表）
- 10 エボニック ジャパン株式会社：グアニジノ酢酸 飼料添加物指定審査用資料 添付資料 5-(2)-イ（非公表）
- 11 Ringel J, lemme A, Knox A, MC Nab A and Redshaw MS: Effects of graded levels of creatine and guanidine acetic acid in vegetable-based diets on performance and biochemical parameters in muscle tissue. Proceedings of 16th European Symposium on Poultry Nutrition 2007; 387-90