

日本生協連が食品安全委員会に提出した意見とその回答

※日本生協連の意見は、前文と参考文献を省略しています。

日本生協連の意見	食品安全委員会の回答
<p>(1) 基原微生物の毒素非産生性の確認について</p> <p>近年、Frisvad らは 180 種類の <i>A. niger</i> 菌株を調査し、81%の菌株がフモニシン B<sub>2</sub>、B<sub>4</sub> および B<sub>6</sub> を産生し、17%の菌株がオクラトキシン A を産生すること（評価書案の参照 12 でも引用されています）、およびフモニシン B<sub>2</sub> の産生が使用する培地によって異なることを報告しています。</p> <p>一方、評価書案の p.11 にはオクラトキシンとフモニシン類は検出されなかったと記載されていますが、どのような試験で確認されたのか、資料（評価書案の参照 13、16、17）が未公表とされており知ることができません。</p> <p>今後の酵素の評価においても、基原微生物の毒素非産生性の確認は最重要と考えられますので、例えば、以下のような事項について十分な確認、検討が必要と考えます。</p> <p>① <i>A. niger</i> ASP-72 株が、既知のマイコトキシン産生能を持つ菌株とは異なる菌株であることを確認し、評価書に記載することが必要ではないでしょうか。</p> <p>② マイコトキシンの産生が培養条件により変化しうることを考慮して、確認試験の条件を検討すべきではないでしょうか。</p>	<p>(1) について</p> <p>① について</p> <p>指定等要請者による提出資料（参照 13）によれば、マイコトキシンを含む二次代謝産物を最も産生しやすいとされる 3 種類の培地で培養した本品目の生産菌株である <i>A. niger</i> ASP-72 株（以下「本生産菌株」という。）について、HPLC により分析を行ったところ、信頼に足るかび毒のデータライブラリに収載されているマイコトキシンが検出されなかったとされており、他の提出資料とも併せて、本生産菌株は、マイコトキシン産生能を持たないものと判断しました。</p> <p>なお、御指摘を受け、評価書の参照 13 に関する記載部分に上記の旨を追記いたします。</p> <p>② について</p> <p>御指摘のとおりマイコトキシンの産生は培養条件により変化しうるものですが、本生産菌株については、上記のとおり、最もマイコトキシンを産生しやすいとされている 3 種類の培地において培養した本生産菌株について、信頼に足るかび毒のデータライブラリに収載されているマイコトキシンは検出されなかったとされております。</p> <p>また、最終製品についても、指定等要請者委託試験報告（2013b）（参照 18）によれば、フモニシン B<sub>1</sub> 及び B<sub>2</sub> のほか、3-AC-デオキシニバレノール、アフラトキシン B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、G<sub>1</sub> 及び G<sub>2</sub>、デオキシニバレノール、ジアセトキシスシルペノール、HT-2 トキシン、ニバレノール、オクラトキシン A、ステリグマトシスチン、T-2 トキシン並びにゼアラレノンの確認試験が実施されており、いずれも検出限界以下とされております。</p>

③評価書中に分析条件（検出限界等）を記載することが必要ではないでしょうか。

④幅広いマイコトキシンについて最終製品での確認を行うべきではないでしょうか。また、検体数を増やす必要があるのではないのでしょうか。（評価書案には「フモニシン B<sub>1</sub> 及び B<sub>2</sub> は検出されなかった」と書かれていますが、その他のフモニシン類やオクラトキシンが確認されていないように思えます。また、2 検体しか分析されていません。）

⑤以上も含め、酵素の基原微生物の毒素非産生性の確認に必要なデータのあり方（質や量）を検討するべきではないでしょうか。

以上から、提出された試験結果を検討した結果、本生産菌株についてはマイコトキシン産生の懸念はなく、最終製品にもマイコトキシンは含まれないものと判断しました。

なお、御指摘を受け、評価書には試験項目（培地の種類及び最終製品において確認したマイコトキシンの種類）について追記いたします。

③について

本品目の評価において、マイコトキシンのうち、特に確認が必要と考えた、最終製品中のオクラトキシン A 並びにフモニシン B<sub>1</sub> 及び B<sub>2</sub> について、検出限界を評価書に追記いたします。

④について

上記のとおり、最終製品について、各種マイコトキシンの分析がされていることを確認しております。

検体数につきましては、本専門調査会においては、工業生産においては培養条件が一定であること及び継代において毒素を新たに産生するような突然変異は考え難いと判断し、異なるロットの 2 検体の分析結果で本生産菌株のマイコトキシン産生性の懸念はないものと判断しました。

⑤について

酵素の基原微生物の毒素非産生性の確認に必要なデータについては、その微生物種ごとに既に得られている知見を踏まえ、検討する必要があると考えます。

本生産菌株については、Schuster ら（2002）（参照 3）による *A. niger* のレビュー及び Frisvad ら（2011）（参照 12）による *A. niger* の各株のフモニシン検出結果の知見から、オクラトキシン及びフモニシンの産生能の有無の確認が特に必要であると

	<p>判断し、提出された試験結果から検討する限り、毒素産生性の懸念はないものと判断しました。</p>
<p>(2) 酵素の評価における「食品常在成分と同一物質になること」の確認について</p> <p>評価書案では、アスパラギナーゼは「人工胃液によって3,500 Da以下の低分子に分解されることが示された」とされています。また、コンピュータシミュレーションから「オリゴペプチドまで分解されることが示唆され」「最終的に食品常在成分であるアミノ酸まで分解されると考えられる」とされています。しかし、アスパラギナーゼが人工胃液によって3,500 Da以下の低分子に分解されることは実験的に明らかにされた事実ですが、それら低分子がすべて消化管内でアミノ酸まで分解されるとするのはコンピュータシミュレーションも含めた予測であり、実験的に証明されたものではないと考えます。厳密に言えば、これら低分子の中には食品常在成分ではないペプチドも存在し、それが吸収されることもあり得るように思えます。</p> <p>一方、JECFA (FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議) や EFSA (欧州食品安全機関) では、酵素の評価において、必ずしも「食品常在成分と同一物質になること」の確認を必要としていません。</p> <p>したがって、</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・ 貴委員会が「食品常在成分と同一物質になる」という点を重視して酵素の安全性評価を行うのであれば、アミノ酸まで分解されることが厳密な検証を求めるべきではないでしょうか。</li> <li>・ あるいは、酵素の安全性評価においては、必ずしも「食品常在成分と同一物質になる」ことまで言及するには無理があるのではないのでしょうか。ただし、人工消化液等による分解試験自体は、アレルギー性等の評価の参考になるた</li> </ul>	<p>(2) について</p> <p>御指摘のとおり、本品目について試験的に証明されているのは、体内で3,500 Da以下の低分子に分解されることのみであり、全てがアミノ酸まで分解されて吸収されることは専門調査会の予測としての判断です。</p> <p>しかしながら、一般的な事実として、食肉由来、植物由来等から様々なたん白質が食品として摂取され、その消化・分解に伴い最終的に様々なオリゴペプチドが体内で生成し、吸収されていると考えます。本品目の評価においては、消化管内において消化される時間も確認できるよう、本品目を人工胃液で処理した後、SDS-PAGEを実施する試験も確認しており、その結果、本品目に由来するバンドが30秒未満で消失するとともに、本試験における最小マーカの3,500 Daまでのバンドが認められませんでした。このことから、本品目が胃内で3,500 Da以下の低分子に分解されることが確認されております。さらにコンピュータシミュレーションにおいて、胃及び腸管内でオリゴペプチド及びアミノ酸となることが示唆されたこと、そしてペプチダーゼにより更なる分解を受けると考えられることから、通常を摂取した場合と同様に、毒性に懸念のある物質が生成し吸収される可能性は極めて低くなると考えられ、本品目については、消化管内で最終的にアミノ酸まで分解され、「食品常在成分と同一物質になる」と判断しました。</p> <p>なお、アレルギー性の評価においても、人工胃液で処理した試験結果も含めて確認しております。</p> <p>本品目の評価に用いた毒性に関する資料は、JECFAにおける本品目の評価結果<sup>(2)</sup></p>

め、有用と考えます。

なお、評価書案 p.13、13 行目には「体内で低分子に分解される」、同 27 行目および p.14、6 行目には「体内で速やかに分解され」との記載がありますが、「体内」は「消化管内」とすべきと思います。

や、EFSA における酵素の評価に必要な資料のガイダンス<sup>(3)</sup>を参照する限り、両機関が評価に必要とする資料を網羅しており、さらに消化管内での分解性に関する資料を加えたものです。したがって、アレルギー性を含めた各種安全性の懸念について、より適切な評価を行うことができたと考えています。

p.13 及び p.14 については、御指摘のとおり「体内」を「消化管内」とするよう評価書を修正いたします。

(2) WHO Food Additive Series; 60: 3-13 (2009)

(3) The EFSA Journal; 1305: 1-26 (2009)