

平成 20 年 3 月 13 日

薬事・食品衛生審議会  
食品衛生分科会  
分科会長 吉倉 廣 殿

薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会  
添加物部会長 長尾 美奈子

食品添加物の指定等に関する薬事・食品衛生審議会  
食品衛生分科会添加物部会報告について

平成 19 年 9 月 13 日付け厚生労働省発食安第 0913010 号をもって厚生労働大臣から諮問されたナイシンの食品添加物としての指定の可否について、当部会において審議を行った結果を別添のとおり取りまとめたので、これを報告する。



## ナイシンの食品添加物の指定に関する添加物部会報告書

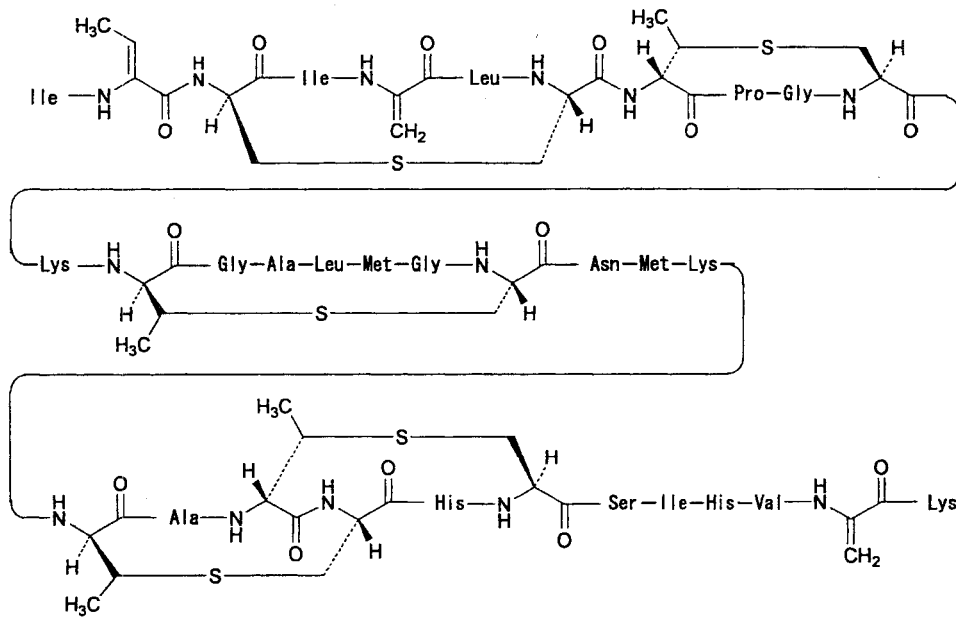
### 1. 品目名

ナイシン

英名 : Nisin

[CAS 番号 : 1414-45-5]

### 2. 構造式、分子式及び分子量



主たる抗菌性成分は、発酵乳から分離されたラクトコッカス・ラクティス (*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*) が産生する 34 個のアミノ酸からなるペプチド (ナイシン A)

分子式 :  $C_{143}H_{230}N_{42}O_{37}S_7$

分子量 : 3354.07

### 3. 用途

保存料、製造用剤

### 4. 概要及び諸外国での使用状況

ナイシンは発酵乳から分離された *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* が産生する 34 個のアミノ酸から成るペプチドである。乳酸菌などが産生する抗菌性物質にバクテリオシンと呼ばれるものがあり、これらは、主に、生産菌の類縁細菌に殺菌的に作用するタンパク質又はペプチドである。ナイシンは、ランチオニンなどの特殊な構造のアミノ酸を含んでおり、ランチビオティクス系のバクテリオシンに分類されている。

ナイシンは、現在、50カ国以上で保存料として、チーズ、乳製品、缶詰等に使用されている。米国では、「Nisin preparation」(ナイシン製剤) は一般に安全と認められる物質 (GRAS 物質) として、低温殺菌チーズスプレッド、低温殺菌プロセスチーズスプレッド等に抗菌剤

として使用されている。また、欧州連合（EU）では、ナイシンは保存料としてチーズ等への使用が認められている。

FAO/WHO合同食品添加物専門家会議（JECFA）では、第12回（1968年）会議において評価され、ADIが設定されている。

## 5. 食品添加物としての有効性

ナイシンは *Bacillus* 属と *Clostridium* 属を含むグラム陽性菌に対して、効果がある保存料であり、様々な食品の細菌による腐敗を防ぐ。作用機序として、細胞膜に作用して、膜孔を形成することにより、細胞膜の膜機能を破壊するということが挙げられている。また、ナイシンは常温及び酸性条件下（pH3で最も安定）の加熱に安定である。

### 1) 細菌芽胞増殖に対する抑制作用について

ナイシンの細菌芽胞の増殖に対する抑制作用について、以下に列記する。

- (1) 芽胞菌を含む培養液を用いて、ナイシンを 14mg/kg (=560 IU/g) で加えたものと、加えていないもの（コントロール）それぞれについて 250° F (121°C) における D 値\*を測定した。ナイシンを加えたものの D 値はコントロールの D 値と比較して、以下のとおりであった。*C. thermosaccharolyticum* を除く芽胞の試験で D 値が低下した。（表 1）<sup>1</sup>

表 1

| 試験対象の細菌芽胞                            | 培養液中の芽胞の数(個/mL) | D 値 (コントロールに対する割合) |
|--------------------------------------|-----------------|--------------------|
| P. A. 3679**                         | 22,500          | 40%                |
| <i>C. thermosaccharolyticum</i> 3814 | 28,000          | 111%               |
| <i>B. coagulans</i> 43P              | 800             | 7%                 |
| <i>B. stearothermophilus</i> 1518    | 4,400           | 30%                |

\* D値とは、細菌数を1/10に減少させるのに要する、一定温度における加熱時間を表す。

\*\* putrefactive anaerobe (腐敗性嫌気性菌) の略

- (2) *B. coagulans* (31株) を  $1 \times 10^5$  個/mL となるように、それぞれトマトジュース (pH5.3) に接種し、35°C、45°C、55°C でそれぞれ計 7 日間培養し、pH が 5.3 から 4.0~4.2 まで低下することを指標として菌の増殖を調べた。その結果、濃度 0.1mg/L (=4.0 IU/g) のナイシンでは 4 菌株について、1.0mg/L (=40 IU/g) のナイシンでは 19 菌株について、5mg/L (=200 IU/g) のナイシンでは試験した 31 菌株の全てについて増殖が抑制される結果が得られた。<sup>2</sup>

- (3) ナイシンを 14mg/kg (=560 IU/g) で加えたものと、加えていないもの（コントロール）それぞれについて以下の通り各食品における D 値を測定した。試験を行った全芽胞の試験で D 値が低下した。（表 2）<sup>3</sup>

<sup>1</sup> O'Brien R T, Titus D S, Devlin K A, Stumbo C R, Lewis J C. 'Antibiotics in food preservation. II. Studies on the influence of subtilin and nisin on the thermal resistance of food spoilage bacteria'. 1954. *Fd. Technol* 10: 352-355

<sup>2</sup> Campbell L L and Sniff E E. 'Nisin sensitivity of *Bacillus coagulans*'. 1959. *Appl Microbiol* 7: 289-291

<sup>3</sup> Campell L L, Sniff E E, O'Brien R T. 'Subtilin and nisin as additives that lower the heat-process requirements of canned foods'. 1959. *Fd Technol* 12: 462-464

表 2

| 試験対象の芽胞菌                     | 試験温度          | 食品中の芽胞の数 (個/g) | 対象食品       | コントロールのD値 (分) | ナイシンを添加した場合のD値 (分) |
|------------------------------|---------------|----------------|------------|---------------|--------------------|
| P.A. 3679                    | 240° F(116°C) | 4,230          | エンドウピューレ   | 5.59          | 2.18               |
| P.A. 3679                    | 240° F(116°C) | 4,230          | カリフラワーピューレ | 2.10          | 0.74               |
| <i>B. stearothermophilus</i> | 250° F(121°C) | 657            | カーネルコーン    | 2.67          | 0.53               |
| <i>B. coagulans</i>          | 212° F(100°C) | 9,600          | トマトジュース    | 5.93          | 0.51               |

(4) ナイシン産生菌の培養液を用いて、以下の芽胞菌について、その生育とガス産生を調べた。その結果、ナイシン産生菌の培養液濃度依存的に芽胞の発芽後生育が阻害された。(表 3)<sup>4</sup>

表 3

| 試験対象の芽胞菌                                   | 培養液中の芽胞の数 (個/mL) | ナイシン産生菌の培養液の希釈率 |     |      |   |      |   |      |   |      |     |       |     |       |     |       |     |        |     |
|--|------------------|-----------------|-----|------|---|------|---|------|---|------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|--------|-----|
|  |                  | コントロール          |     | 1/10 |   | 1/20 |   | 1/40 |   | 1/80 |     | 1/160 |     | 1/320 |     | 1/640 |     | 1/1280 |     |
|  |                  | 生               | ガ   | 生    | ガ | 生    | ガ | 生    | ガ | 生    | ガ   | 生     | ガ   | 生     | ガ   | 生     | ガ   | 生      | ガ   |
| <i>C. butyricum</i><br>N. C. T. C. 7423    | 3,500            | +++             | +++ | -    | - | -    | - | -    | - | -    | -   | +++   | +++ | +++   | +++ |       |     |        |     |
|  | 30               | +++             | +++ | -    | - | -    | - | -    | - | -    | -   | -     | -   | -     | -   | +++   | +++ | +++    | +++ |
| <i>C. sporogenes</i><br>Cl.6               | 800              | +++             | +++ | -    | - | -    | - | -    | - | +++  | +++ | +++   | +++ | +++   | +++ |       |     |        |     |
|  | 8                | +++             | +++ | -    | - | -    | - | -    | - | -    | -   | -     | -   | -     | -   | +++   | +++ | +++    | +++ |
| <i>C. bifermentans</i><br>N. C. T. C. 2914 | 800              | +++             | +++ | -    | - | -    | - | -    | - | +++  | +++ | +++   | +++ | +++   | +++ |       |     |        |     |
|  | 8                | +++             | +++ | -    | - | -    | - | -    | - | -    | -   | -     | -   | -     | -   | -     | -   | +++    | ++  |

+, - の符号は試験細菌の生育、不生育の程度を示す。

<sup>4</sup> Hirsch A and Grinstead E. 'Methods for the growth enumeration of anaerobic spore formers from cheese, with observations on the effect of nisin'. 1954. J Dairy Res 21: 101-110

## 2) 食品における効果について

### (1) プロセスチーズ及びプロセスチーズ製品に対するナイシンの効果<sup>5</sup>

水分含量 40~60% の様々なプロセスチーズにナイシン 2.5 又は 6.25 mg/kg (=100 又は 250 IU/g) を添加し、加工の溶解段階で *Clostridium* 属の混合物 (*C. butyricum*, *C. tyrobutyricum*, *C. sporogenes*) 160~240 CFU/g を接種してインキュベートした。製造されたチーズを 37°C で保存し、週単位で変質を調べた。

その結果、ナイシンを添加しなかったチーズが直ちに腐敗したのに対して、ナイシン 2.5 mg/kg を添加したチーズでは腐敗するまでの日数が延長され、ナイシン 6.25 mg/kg を添加したチーズでは、試験期間内では腐敗しなかった (表 4)

表 4 37°C で保存したプロセスチーズ製品の腐敗率

| 製品                         | ナイシン<br>添加量<br>(mg/kg) | 試料 10 個中腐敗した個数 |   |   |   |   |        |
|----------------------------|------------------------|----------------|---|---|---|---|--------|
|                            |                        | 保存週数           |   |   |   |   |        |
|                            |                        | 1              | 2 | 3 | 4 | 5 | 6      |
| プロセスCHEDAR<br>チーズ          | 0                      | 0              | 0 | 1 | 1 | 1 | 1(B)   |
|                            | 2.5                    | 0              | 0 | 0 | 0 | 0 | 0      |
|                            | 6.25                   | 0              | 0 | 0 | 0 | 0 | 0      |
| プロセスCHEDAR<br>チーズ付きハム      | 0                      | 0              | 0 | 0 | 0 | 0 | 0      |
|                            | 2.5                    | 0              | 0 | 0 | 1 | 1 | 1(S)   |
|                            | 6.25                   | 0              | 0 | 0 | 0 | 0 | 0      |
| プロセスCHEDAR<br>チーズスプレッド     | 0                      | 0              | 3 | 3 | 4 | 5 | 7(B)   |
|                            | 2.5                    | 0              | 0 | 2 | 2 | 2 | 2(B)   |
|                            | 6.25                   | 0              | 0 | 0 | 0 | 0 | 0      |
| プロセスCHEDAR<br>チーズスプレッド付きハム | 0                      | 2              | 2 | 3 | 4 | 7 | 7(B)   |
|                            | 2.5                    | 0              | 0 | 2 | 2 | 2 | 2(B+S) |
|                            | 6.25                   | 0              | 0 | 0 | 0 | 0 | 0      |
| プロセスエメンタール<br>チーズ          | 0                      | 0              | 0 | 1 | 2 | 3 | 3(B)   |
|                            | 2.5                    | 0              | 0 | 0 | 0 | 0 | 0      |
|                            | 6.25                   | 0              | 0 | 0 | 0 | 0 | 0      |
| プロセスエメンタール<br>チーズスプレッド     | 0                      | 0              | 5 | 6 | 6 | 8 | 8(B+S) |
|                            | 2.5                    | 0              | 0 | 0 | 3 | 3 | 3(B+S) |
|                            | 6.25                   | 0              | 0 | 0 | 0 | 0 | 0      |

(B) = 主として酪酸生成クロストリジウム属による腐敗 ; (S) = 主として *C. sporogenes* による腐敗

### (2) 液状卵に対するナイシンの保存効果<sup>6</sup>

ナイシン 5 mg/L (=200 IU/g) を液状全卵に添加した後に 64.4°C、2.5 分で殺菌した。次に無菌的に個分けした後、6°C で保存し、試験 1 では 1~23 日に総細菌数、嫌気性菌数、pH、性状、異臭を、試験 2 では 1~21 日に総細菌数、*Bacillus cereus* 数、pH、性状、異臭を測定した。その結果は、以下のとおり。

<sup>5</sup> Delves-Broughton J and Gasson M J. 'Nisin'. In: *Natural Antimicrobial Systems and Food Preservation*. 1994. CAB International. (Editors: Dillon V M and Board R G). Chapter 4, 99-131

<sup>6</sup> Delves-Broughton J, Williams G C, Wilkinson S. 'The use of the bacteriocin, nisin, as a preservative in pasteurized liquid whole egg'. 1992. *Letters in Appl Microbiol* 15: 133-136

## 細菌学検査

試験1 (表5) : ナイシン非添加コントロール群では、4~6日で腐敗がみられ、この原因菌は *Bacillus cereus* と同定された。ナイシン添加群では17~20日で性状の変化がみられ、腐敗の原因菌はグラム陰性桿菌 (*Pseudomonads* 属) であった。

試験2 (表6) : コントロール群の保存期間は11日、ナイシン添加群では20日であった。コントロール群の腐敗原因菌は主に *Pseudomonads* であった。ナイシン添加群の腐敗菌は *Bacillus* 属 (長さ 3~8 $\mu$ m) で、カタラーゼ陽性、ムコイド形成コロニーを示した。分離株に芽胞は存在しなかった。

## pH、性状、異臭

試験1 (表5) : コントロール群では、強い異臭、退色、卵の凝固、pHの低下がみられた。一方、ナイシン添加群では、退色及びpHの低下程度が小さかった。

試験2 (表6) : コントロール群では果物臭、粘稠、若干のpH低下がみられた。ナイシン添加群では明確な異臭、pH低下はみられなかった。

表5 殺菌液状全卵を6°Cで保存した時のナイシンの効果 (試験1)

| 日                   | 総細菌数                    | 嫌気性菌                    | pH   | 性状              | 異臭 |
|---------------------|-------------------------|-------------------------|------|-----------------|----|
| 1. ナイシン添加 (5 mg/L)  |                         |                         |      |                 |    |
| 1                   | 3                       | 3                       | 7.67 | 良好              | なし |
| 4                   | 10*                     | <10                     | 7.55 | 良好              | なし |
| 7                   | 4.0 × 10 <sup>2</sup> * | <10                     | 7.46 | 良好              | なし |
| 10                  | 2.0 × 10 <sup>1</sup> * | 50                      | 7.72 | 良好              | なし |
| 14                  | 7.0 × 10 <sup>4</sup> * | <10                     | 7.68 | 良好              | なし |
| 17                  | 2.0 × 10 <sup>2</sup>   | <10                     | 7.67 | 良好              | なし |
| 21                  | —                       | —                       | 7.74 | やや退色            | なし |
| 22                  | >10 <sup>7</sup> *      | <10                     | 7.46 | やや退色            | なし |
| 23 (1)              | >10 <sup>7</sup> *      | <10                     | 7.59 | やや退色            | なし |
| 23 (2)              | >10 <sup>7</sup> *      | <10                     | 7.56 | やや退色            | なし |
| 23 (3)              | >10 <sup>7</sup> *      | <10                     | 7.59 | やや退色            | なし |
| 2. コントロール (ナイシン非添加) |                         |                         |      |                 |    |
| 1                   | 90 †                    | 2.7 × 10 <sup>2</sup> ‡ | 7.59 | 良好              | なし |
| 4                   | 2.4 × 10 <sup>4</sup> † | 3.0 × 10 <sup>2</sup> ‡ | 7.55 | 良好              | なし |
| 7                   | 5.3 × 10 <sup>6</sup> † | 5.0 × 10 <sup>3</sup>   | 6.88 | やや退色            | 弱い |
| 10                  | 7.3 × 10 <sup>7</sup> † | 3.0 × 10 <sup>2</sup>   | 6.23 | 完全な退色/<br>分離/凝固 | 強い |

\* グラム陰性桿菌 (*Pseudomonads*)

† *Bacillus* (*Bacillus cereus* と同定)

‡ グラム陽性球菌

表6 殺菌液状全卵を6°Cで保存した時のナイシンの効果(試験2)

| 日                   | 総細菌数                  | <i>Bacillus cereus</i> /mL | pH   | 性状 | 異臭      |
|---------------------|-----------------------|----------------------------|------|----|---------|
| 1. ナイシン添加 (5 mg/L)  |                       |                            |      |    |         |
| 1                   | <10                   | <10                        | 7.72 | 良好 | なし      |
| 4                   | <10                   | <10                        | 7.71 | 良好 | なし      |
| 5                   | <10                   | <10                        | 7.67 | 良好 | なし      |
| 6                   | 10                    | <10                        | 7.71 | 良好 | なし      |
| 7                   | <10                   | <10                        | 7.66 | 良好 | なし      |
| 8                   | 10                    | <10                        | 7.68 | 良好 | なし      |
| 9                   | 10                    | <10                        | 7.70 | 良好 | なし      |
| 10                  | 10                    | <10                        | 7.72 | 良好 | なし      |
| 11                  | 50                    | <10                        | 7.69 | 良好 | なし      |
| 12                  | 10                    | <10                        | 7.71 | 良好 | なし      |
| 13                  | 15                    | <10                        | 7.74 | 良好 | なし      |
| 14                  | 100*                  | <10                        | 7.70 | 良好 | なし      |
| 15                  | 25*                   | <10                        | 7.72 | 良好 | なし      |
| 16                  | $2 \times 10^3$ *     | <10                        | 7.72 | 良好 | なし      |
| 17                  | $4.8 \times 10^3$ *   | <10                        | 7.72 | 良好 | なし      |
| 18                  | $1.5 \times 10^4$ *   | <10                        | 7.74 | 良好 | なし      |
| 19                  | $1.0 \times 10^4$ *   | <10                        | 7.67 | 良好 | なし      |
| 20                  | $5.0 \times 10^3$ *   | <10                        | 7.71 | 良好 | なし      |
| 21                  | $3.3 \times 10^6$ *   | <10                        | 7.71 | 良好 | なし      |
| 2. コントロール (ナイシン非添加) |                       |                            |      |    |         |
| 1                   | $8.3 \times 10^2$ †   | <10                        | 7.67 | 良好 | なし      |
| 4                   | $1.2 \times 10^3$ †   | <10                        | 7.64 | 良好 | なし      |
| 5                   | $1.1 \times 10^3$ †   | <10                        | 7.68 | 良好 | なし      |
| 6                   | $8.0 \times 10^2$ † ‡ | <10                        | 7.64 | 良好 | なし      |
| 7                   | $1.3 \times 10^3$ †   | <10                        | 7.65 | 良好 | なし      |
| 8                   | $1.9 \times 10^3$ † ‡ | <10                        | 7.67 | 良好 | なし      |
| 9                   | $1.5 \times 10^3$ †   | <10                        | 7.61 | 良好 | なし      |
| 10                  | $1.5 \times 10^3$ †   | <10                        | 7.66 | 良好 | なし      |
| 11                  | $1.6 \times 10^3$ * † | <10                        | 7.68 | 良好 | なし      |
| 12                  | $1.7 \times 10^8$ §   | 10                         | 7.57 | 良好 | わずかな果実臭 |
| 13                  | $1.9 \times 10^8$ §   | <10                        | 7.58 | 良好 | 弱い果実臭   |

\* ムコイドコロニー、グラム陰性好気性桿菌(長さは主に3-4μm、最大7-8μm)、芽胞なし、カタラーゼ陽性 *Bacillus*

† 主に黄色コロニー、グラム多様小型桿菌、カタラーゼ陽性、コリネ型

‡ *Bacillus*コロニー。数は少ない。

§ グラム陰性、オキシダーゼ陽性 *Pseudomonads*



(3) 味噌麴に対するナイシンの効果

1) 製麴工程での使用<sup>7</sup>

ナイシンとクエン酸の水溶液（蒸留水 150g）に、米 300g を入れて 5℃にて 16 時間浸漬した。蒸留水と米の総量に対して、ナイシンを 75mg/kg (3000IU/g) とした。浸漬した米を 1 時間蒸した後、室温にて放冷したものに、*Bacillus subtilis* ssp. *subtilis* 芽胞液を 10CFU/g となるように接種した。芽胞液を接種した米に種麴を接種し、芽胞接種後及び 38℃で 48 時間保存後に *Bacillus subtilis* ssp. *subtilis* 菌数及びナイシンの活性を調べた。その結果、対照群では菌の増殖が見られたものの、ナイシンを添加したものでは、接種後直ちに抑制され、保存後においても菌の増殖は見られなかった。また、保存後にナイシンの活性の低下が見られた。（表 7）

表 7 味噌麴の製麴工程における菌数及びナイシン活性の変化

| 試験区    |                       | 芽胞液接種後      | 30℃、48 時間保存後*         |
|--------|-----------------------|-------------|-----------------------|
| コントロール | 菌数 [CFU/g]            | 1.0 × 10    | 1.5 × 10 <sup>3</sup> |
|        | ナイシン活性 [IU/g (mg/kg)] | 0 (0)       | 0 (0)                 |
| ナイシン添加 | 菌数 [CFU/g]            | <10         | <10                   |
|        | ナイシン活性 [IU/g (mg/kg)] | 1700 (42.5) | 148 (3.70)            |

\* 麴は通常、蒸米に種麴を接種してから約 40 時間で出来上がることを踏まえ設定

2) 熟成工程での使用<sup>8</sup>

水に一晩浸漬した大豆を 120℃60 分蒸した後、放冷、磨碎し蒸煮大豆とした。市販の味噌用麴と蒸煮大豆を等量混合し、食塩を最終濃度が 8% となるように添加し、更に、ナイシン添加区はナイシンを 200IU/g (5mg/kg) 及び 400IU/g (10mg/kg) となるよう添加した。30℃で保存し、熟成中の一般生菌数を測定した結果、ナイシン無添加区は熟成期間とともに、菌数の増加が認められ、熟成 13 日後では、腐敗レベルの菌数となった。しかしナイシン添加区では顕著な増殖は認められなかった。（図 1）

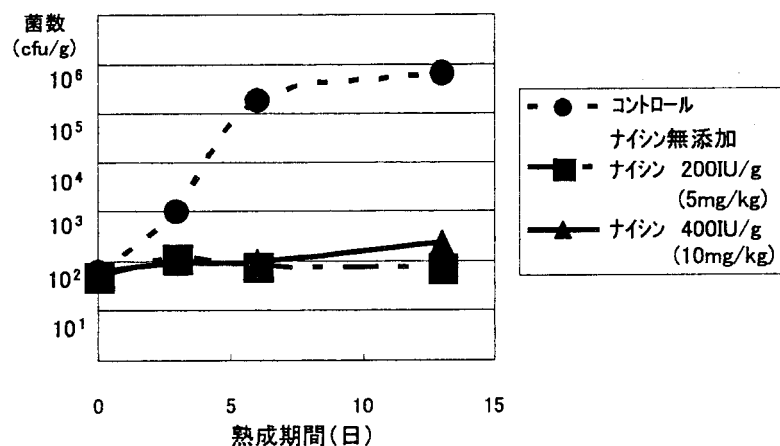


図 1. 味噌（食塩含量 8%）の熟成中の細菌数の推移

<sup>7</sup>味噌麴における *Bacillus subtilis* ssp. *subtilis* の挙動とナイシンによる増殖抑制効果（三栄源エフ・エフ・アイ株式会社）

<sup>8</sup>味噌熟成中における一般細菌数の挙動とナイシンによる増殖抑制効果（三栄源エフ・エフ・アイ株式会社）

## 6. 食品安全委員会における評価結果について

食品安全基本法（平成15年法律第48号）第24条第1項第1号の規定に基づき、平成15年10月20日付け厚生労働省発第1020002号により食品安全委員会あて意見を求めたナイシンに係る食品健康影響評価については、添加物専門調査委員会の議論を踏まえ、以下の評価結果が平成20年1月31日付けで報告されている。

ナイシンのNOAEL の最小値は、ラット3世代繁殖毒性試験の1.0%（12.5mg/kg 体重/日相当）と考えられる。安全係数は、繁殖毒性試験で認められている毒性が重篤なものではないことから、通常の100 を適用することとした。

上記を踏まえ、ナイシンのADI は、0.13 mg/kg 体重/日と評価した。

ADI 0.13 mg/kg 体重/日

（ADI 設定根拠資料） 3 世代繁殖毒性試験

（動物種） ラット

（投与方法） 混餌投与

（NOAEL 設定根拠所見） F0：体重増加抑制、F2B：低体重

（NOAEL） 12.5 mg/kg 体重/日

（安全係数） 100

なお、その詳細は以下の通りである。

ナイシンについて、*in vitro* 及び *in vivo* における遺伝毒性試験において全て陰性の結果が得られており、生体にとって問題となる遺伝毒性を有するとは考えられず、また発がん性を有するものではないと考えられる。

JECFA 及び米国FDA が根拠としているラット2年間慢性毒性試験は、1960年代に実施された試験であり信頼性が担保できないことから、一日摂取許容量（ADI）設定には用いず、あくまで評価の参考に用いることとした。

欧州SCF の評価の根拠とされているラット3世代繁殖毒性試験については、親動物F0の5.0%投与群の雄群で認められた体重増加抑制、児動物F2Bの5.0%投与群で認められた低体重を根拠に、NOAEL は1.0%（12.5 mg/kg 体重/日相当）と評価した。追加資料として提出されたラットの90日間反復投与毒性試験では、5.0%投与群の雌雄で認められた血液学的検査項目（MCH、HGB等）の変動を根拠に、NOAEL は1.0%（45 mg/kg 体重/日相当）と評価した。

以上より、ナイシンのNOAEL の最小値は、ラット3世代繁殖毒性試験の1.0%（12.5mg/kg 体重/日相当）と考えられる。安全係数は、繁殖毒性試験で認められている毒性が重篤なものではないことから、通常の100 を適用することとした。

上記を踏まえ、ナイシンのADI は、0.13 mg/kg 体重/日と評価した。

ADI 0.13 mg/kg 体重/日

（ADI 設定根拠資料） 3 世代繁殖毒性試験

(動物種) ラット

(投与方法) 混餌投与

(NOAEL 設定根拠所見) F0: 体重増加抑制、F2B: 低体重

(NOAEL) 12.5 mg/kg 体重/日

(安全係数) 100

ナイシンは、グラム陽性菌の芽胞の生育を阻害する乳酸菌バクテリオシン（ペプチド）であり、上部腸管でパンクレアチン等により分解され、不活化される。

耐性菌の選択に関する専門家の意見のポイントは以下のとおりである。

- ・経口摂取したとしても体内には吸収されず、腸管への移行も少量であり、また、移行したナイシンは腸内酵素により分解又は不活性化されると考えられ、下部腸管における腸内細菌叢への影響も極めて少ない。
- ・近年、リステリア菌のナイシン耐性及び他のバクテリオシンとの交差耐性に関する報告があるものの、医療用抗生物質との交差耐性は実験的に認められておらず、医療上の問題となったとの臨床における報告も得られていない。
- ・仮に添加物としての使用により、耐性菌が選択されるとしても、海外における長期の使用経験の中で、ヒトの健康に重大な影響を及ぼしたとする報告は現時点で得られていない。

以上、現時点で得られている知見から判断して、添加物として適切に使用される場合にあっては、交差耐性を含む耐性菌出現による医療上の問題を生じる可能性は極めて少ないと考えられる。

なお、ナイシンを添加物として適切に使用するためには、使用基準を慎重に検討することが重要であり、欧米における使用状況を勘案した上で、耐性菌出現により有効性等に影響を及ぼすことがないよう十分な配慮が必要と考えられる。

また、新たな知見が得られた場合には、必要に応じて再評価を検討する必要があると考える。

糖培地を用いて製造されたナイシン製剤（変更行程品）は、乳培地を用いて製造されたナイシン製剤（従来行程品）と同等の力価を有し、より純度が高く、また、乳由来の不純物の含有がないことから乳アレルギーのリスクの低減化が図れると考える。

以上から、従来行程品の評価結果は変更品の評価にも適用することが可能であると判断した。

## 7. 摂取量の推計

上記の食品安全委員会の評価結果によると以下の通りである。

米国では、プロセスチーズスプレッド、フランクフルトのケーシング等に使用されており、ナイシンの食品からの推定摂取量は2.15 mg/ヒト/日（体重60 kgとして0.036 mg/kg 体重/日）とされている。また、EU では、チーズ等に使用されており、推定摂取量は0.008 mg/kg 体重/日との情報がある。要請者により提案されている使用基準案に基づき、添加

物として使用された場合のわが国における推定摂取量は、国民健康・栄養調査を参考にして算出すると0.045 mg/kg 体重/日とされている。

## 8. 新規指定について

ナイシンを食品衛生法第10条に基づく添加物として指定することは差し支えない。ただし、同法第11条第1項の規定に基づき、次の通り使用基準及び成分規格を定めることが適当である。

### 1) 使用基準について

要請者は、CODEX 基準、米国、EU での使用基準等を踏まえたうえで、以下の使用基準（案）\*を提案している。食品安全委員会における評価結果を踏まえ、要請者の提案する使用基準（案）のとおりとすることが適当である。ただし、当然の事ながら、その使用に当たっては、食品汚染菌の管理を行ううえで適正な量が用いられるべきである。

### 使用基準案

ナイシンは、穀類及びでん粉を主原料とする洋生菓子、ソース類、卵加工品、チーズ、ドレッシング、食肉製品、ホイップクリーム類（乳脂肪分を主成分とする食品を主要原料として泡立てたものをいう。以下この目において同じ。）、味噌及び洋菓子以外の食品に使用してはならない。

ナイシンの使用量は精製ナイシンとしてチーズ（プロセスチーズを除く。）、食肉製品及びホイップクリーム類にあつては1kgにつき0.0125g以下、ソース類、マヨネーズ及びドレッシングにあつては1kgにつき0.010g以下、プロセスチーズ、洋菓子にあつては1kgにつき0.00625g以下、卵加工品及び味噌にあつては1kgにつき0.0050g以下、穀類及びでん粉を主原料とする洋生菓子にあつては1kgにつき0.0030g以下でなければならない。但し、特別用途表示の許可又は承認を受けた場合は、この限りではない。

穀類及びでん粉を主原料とする洋生菓子：ライスプディングやタピオカプディング等をいい、団子のような和生菓子は含まない。

ソース類：果実ソースやチーズソースなどのほか、ケチャップも含む。ただし、ピューレー及び菓子などに用いるいわゆるフルーツソースのようなものは含まない。

\*当初、アイスクリーム類、いくら、かずのご調味加工品、辛子明太子、魚介乾製品、魚肉練り製品、麴、すじこ、ソーセージ類、卵加工品、たれ、たらこ、チーズ、つゆ、豆腐、ドレッシング、生菓子、乳飲料、ハム、フラワーペースト類、ホイップクリーム及び洋菓子に対する使用についても要請されていたが、要請者より、海外における使用実態を踏まえ、使用基準（案）の訂正申し出があり、以下の通り変更している。

1. アイスクリーム類、いくら、かずのご調味加工品、辛子明太子、魚介乾製品、魚肉練り製品、麴、すじこ、たらこ、つゆ、豆腐、乳飲料、フラワーペースト類は対象食品から除外する。
2. チーズに対して0.015g/kgからチーズ（プロセスチーズを除く。）に対して0.0125g/kg、プロセスチーズに対して0.00625g/kgに変更する。
3. 生菓子を穀類及びでん粉を主原料とする洋生菓子に変更するとともに、これに対して0.0050g/kgから0.0030g/kgに変更する。
4. たれをソース類、マヨネーズに変更する。

(参考1) 各対象食品とそれに対する推定摂取量について

| 使用基準案の<br>食品名                              | 国民健康・栄養調査<br>食品分類<br>(H16) | 摂取量<br>(g/日) | 使用基準案<br>(mg/kg) | ナイシン摂取量<br>(mg/日) |
|--|----------------------------|--------------|------------------|-------------------|
| ホイップクリーム類(乳脂肪分を主成分とする食品を主要原料として泡立てたものをいう。) | 74: その他の乳製品                | 8.2          | 12.5             | 0.103             |
| チーズ(プロセスチーズを除く。)                           | 72: チーズ                    | 2.3          | 12.5             | 0.029*            |
| プロセスチーズ                                    |                            |              | 6.25             |                   |
| 穀類及びでん粉を主原料とする洋生菓子                         | 85: その他の菓子類                | 5.3          | 3.0              | 0.016             |
| 洋菓子  | 5: 菓子パン                    | 6.4          | 6.25             | 0.086             |
|  | 82: ケーキ・ペストリー類             | 7.4          |                  |                   |
| 食肉製品                                       | 63: ハム、ソーセージ               | 11.4         | 12.5             | 0.143             |
| ソース類、マヨネーズ、ドレッシング                          | 92: ソース                    | 2.1          | 10.0             | 0.622             |
|  | 95: マヨネーズ                  | 3.3          |                  |                   |
|  | 97: その他の調味料                | 56.8         |                  |                   |
| 卵加工品                                       | 70: 卵類                     | 34.4         | 5.0              | 0.172             |
| 味噌   | 96: 味噌                     | 11.7         | 5.0              | 0.059             |
| 合計   |                            |              |                  | 1.230**           |

\* プロセスチーズへの使用量は12.5mg/kgとして計算

\*\* 対ADI比18.9% (ヒト体重を50kgとした場合)

## 2) 成分規格案について

ナイシンの成分規格をそれぞれ別紙1のとおり設定することが適当である。(設定根拠は別紙2、成分規格と対応する国際規格等との比較は別紙3のとおり。)

## 3) 耐性菌について

食品安全委員会の評価結果では、「現時点で得られている知見から判断して、添加物として適切に使用される場合にあつては、耐性菌出現による医療上の問題を生じる可能性は極めて少ないと考えられる。なお、ナイシンを添加物として適切に使用するためには、使用基準を慎重に検討することが重要であり、欧米における使用状況を勘案した上で、耐性菌出現により有効性等に影響を及ぼすことがないよう十分な配慮が必要と考えられる。」とされている。本使用基準案は、味噌以外は欧米等で広く使用されている範囲となっており、これらの対象食品に使用を認めることは、差し支えないと考えられる。なお、味噌については、味噌中の乳酸菌の16SrRNA解析からナイシン産生菌 *Lactococcus lactis* が同定されている<sup>9</sup>。したがって、食品添加物としてナイシンを使用することで、味噌についても使用を認めることは差し支えないと考えられる。

一方で、耐性菌の出現に関する情報を入手することは、添加物の適切な使用を指導するうえで重要であるため、ナイシン耐性菌に関して情報を収集し、安全性、有効性の点で問題となるような新たな知見があれば、速やかに報告するよう事業者等に対し周知を図ることが適当である。

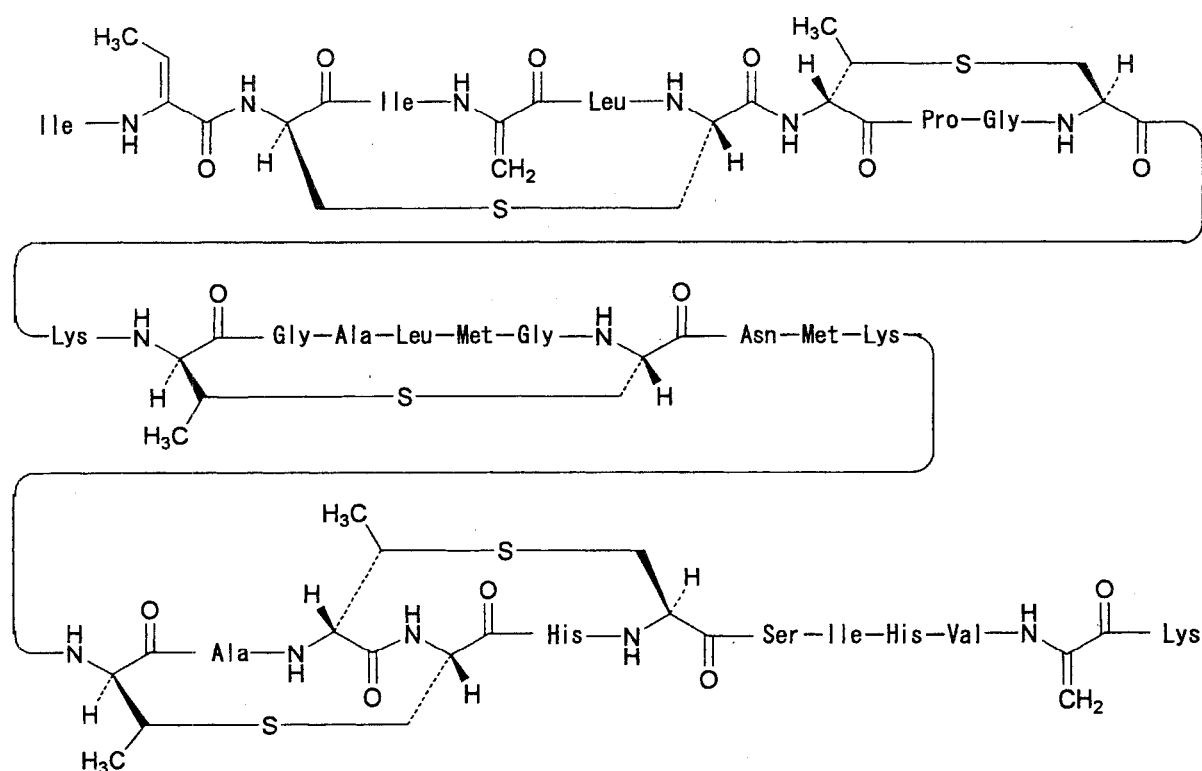
---

<sup>9</sup> 恩田匠 味噌中に高頻度で存在するバクテリオシン産生乳酸球菌の同定 山梨県工業技術センター 研究報告 p.132 No. 15(2001)

## 成分規格

## ナイシン

Nisin

C<sub>143</sub>H<sub>230</sub>N<sub>42</sub>O<sub>37</sub>S<sub>7</sub>

分子量 3354.07

[1414-45-5]

**定義** 本品は、*Lactococcus lactis subsp. lactis* の培養液から得られた抗菌性ポリペプチドの塩化ナトリウムとの混合物である。無脂肪乳培地又は糖培地由来の成分を含む。主たる抗菌性ポリペプチドはナイシン A である。

**力価及び含量** 本品は、1mg 当たり 900 単位以上の力価を有する。ただし、本品の力価は、ナイシン (C<sub>143</sub>H<sub>230</sub>N<sub>42</sub>O<sub>37</sub>S<sub>7</sub>) としての量を単位で示し、その 1 単位はナイシン (C<sub>143</sub>H<sub>230</sub>N<sub>42</sub>O<sub>37</sub>S<sub>7</sub>) 0.025µg に対応する。また、塩化ナトリウム 50%以上を含む。

**性状** 本品は、白～淡黄白色の粉末で、においがなく又はわずかに特異なにおいがある。

**確認試験** (1) 本品 0.100g を正確に量り、0.2µm のフィルターを通して滅菌した 0.02mol/L 塩酸 80 ml に懸濁する。2 時間室温に置き、更に 0.02mol/L 塩酸を加えて 100 ml する。この液 1ml を正確に量り、0.02mol/L 塩酸を用いて 200ml とし、比較液とする。比較液 20ml を 5 分間煮沸し、検液とする。検液及び比較液につき、定量法に示す方法により、力価を測定するとき、検液の力価は、比較液の力価の 100±5% である。別に検液 20ml に 5mol/L 水酸化ナトリウムを加えて pH11 に調整した後、65℃、30 分間加熱する。冷後、塩酸を加えて pH2.0 に調整し、定量法に示す方法により、力価を測定するとき、その活性は失われ