

# 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会

平成20年4月21日(月)  
15時00分から17時30分まで  
航空会館 501、502会議室

## 議 事 次 第

### 1 開 会

### 2 審 議

#### 議 事：1 議題

- (1) 食品添加物の指定の可否について
- (2) 食品中の農薬・動物用医薬品の残留基準設定について
- (3) ガラス製、陶磁器製又はホウロウ引きの器具又は容器包装の規格の改正について
- (4) アレルギー物質を含む食品に関する表示について

#### 2 報告事項

- (1) ネオテームの告示改正について
- (2) 特定保健用食品（2件）
- (3) 厚生労働省におけるリスクコミュニケーションの取組について
- (4) 体細胞クローン家畜由来食品について
- (5) 食品による窒息の現状把握と原因分析に関する研究

### 3 閉 会

平成20年4月 薬事・食品衛生審議会  
食 品 衛 生 分 科 会

<議題>

- 資料1-1 食品添加物の指定の可否について（ナイシン）
- 資料2-1 食品中の農薬・動物用医薬品の残留基準設定について（イソプロチオラン）
- 資料3-1-1 食品中の動物用医薬品の残留基準設定について  
（豚サーコウイルス（2型）感染症不活化ワクチン（油性アジュバンド加懸濁用液））
- 資料3-2-1 食品中の動物用医薬品の残留基準設定について  
（孵化を目的としたニシン目魚類のブロノポールを有効成分とする魚卵用消毒剤）
- 資料3-3-1 食品中の動物用医薬品の残留基準設定について  
（鶏サルモネラ症（サルモネラ・エンテリティディス・サルモネラ・ティフィウム（アジュバンド加）不活化ワクチン））
- 資料4-1-1 食品中の農薬の残留基準設定について（アメトリン）
- 資料4-2-1 食品中の農薬の残留基準設定について（インダノファン）
- 資料4-3-1 食品中の農薬の残留基準設定について（エスプロカルブ）
- 資料4-4-1 食品中の農薬の残留基準設定について（カフェンストロール）
- 資料4-5-1 食品中の農薬の残留基準設定について（クロルフェナピル）
- 資料4-6-1 食品中の農薬の残留基準設定について（シエノピラフェン）
- 資料4-7-1 食品中の農薬の残留基準設定について（ジチオピル）
- 資料4-8-1 食品中の農薬の残留基準設定について（シラフルオフエン）
- 資料4-9-1 食品中の農薬の残留基準設定について（チオベンカルブ）
- 資料4-10-1 食品中の農薬の残留基準設定について（ピラフルフェンエチル）
- 資料4-11-1 食品中の農薬の残留基準設定について（ピリフタリド）
- 資料4-12-1 食品中の農薬の残留基準設定について（フルトラニル）
- 資料4-13-1 食品中の農薬の残留基準設定について（フルベンジアミド）
- 資料4-14-1 食品中の農薬の残留基準設定について（ベンゾビシクロン）
- 資料4-15-1 食品中の農薬の残留基準設定について（メフェナセット）
- 資料5 ガラス製、陶磁器製又はホウロウ引きの器具又は容器包装の規格の改正について
- 資料6 アレルギー物質を含む食品に関する表示について  
（食品衛生法施行規則（昭和23年厚生省令第23号）別表第6に定める特定原材料に「えび」及び「かに」を追加することについて）

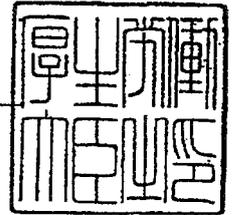
<報告事項>

- |        |  |
|--------|--|
| 報告資料 1 | ネオテームの規格基準「第 2 添加物の部 D 成分規格・保存基準各条」<br>新旧表 |
| 報告資料 2 | 特定保健用食品に係る新開発食品調査部会の審議結果について               |
| 報告資料 3 | 厚生労働省におけるリスクコミュニケーションの取組について               |
| 報告資料 4 | 体細胞クローン家畜由来食品について                          |
| 報告資料 5 | 食品による窒息の現状把握と原因分析に関する研究                    |

厚生労働省発食安第0913010号  
平成 1 9 年 9 月 1 3 日

薬事・食品衛生審議会  
会長 望月 正隆 殿

厚生労働大臣 舛添 要



諮 問 書

食品衛生法（昭和 2 2 年法律第 2 3 3 号）第 1 0 条の規定に基づき、下記の事項について、貴会の意見を求めます。

記

ナイシンの食品添加物としての指定の可否について



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

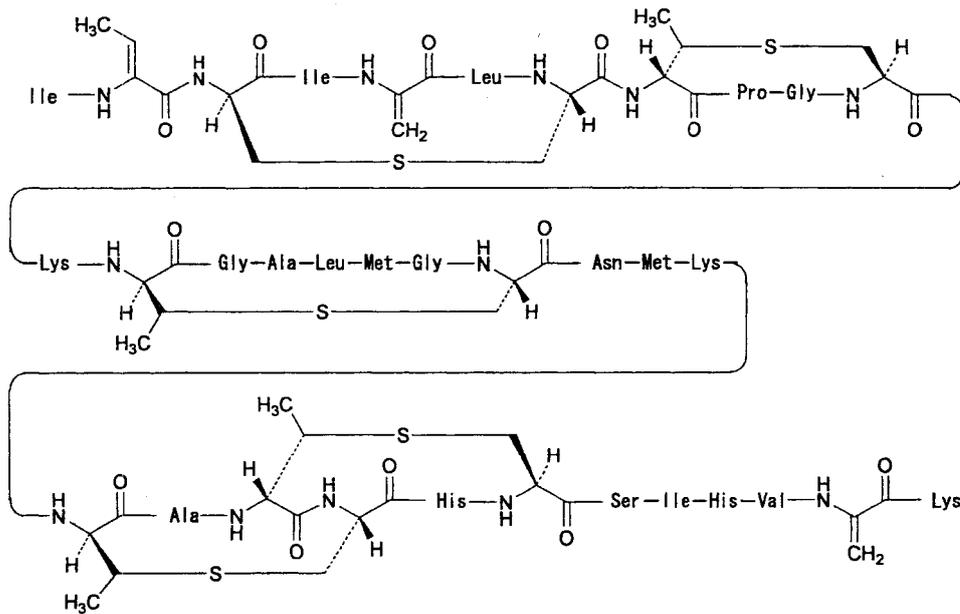
### 1. 品目名

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、ランチピ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> N.C.T.C. 7423	3,500	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	+++	+++	+++	+++				
	30	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++	+++	+++	+++	
<i>C. sporogenes</i> Cl.6	800	+++	+++	-	-	-	-	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++				
	8	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++	+++	+++	+++	
<i>C. bifermentans</i> 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 添加量 (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 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 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 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 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 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 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/ 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、磨砕し蒸煮大豆とした。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）

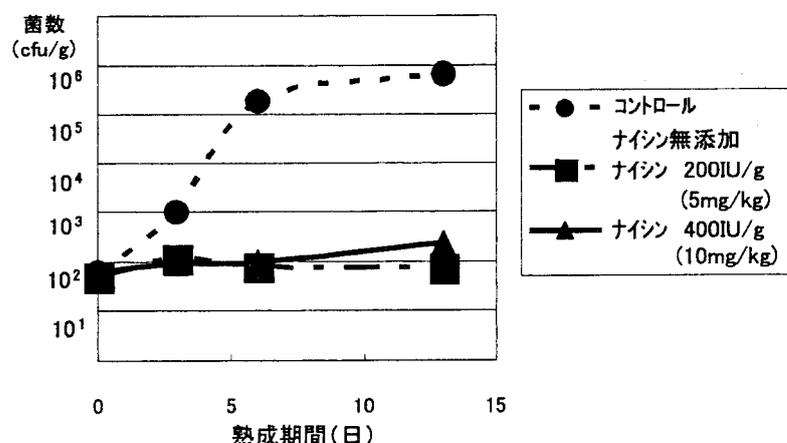


図 1. 味噌（食塩含量 8%）の熟成中の細菌数の推移

<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 食品名	国民健康・栄養調査 食品分類 (H16)	摂取量 (g/日)	使用基準案 (mg/kg)	ナイシン摂取量 (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)



ている。

- (2) 滅菌した脱脂粉乳の水溶液(1→10)中で *Lactococcus lactis* (ATCC 11454 又は NCIMB 8586) を 30℃, 18 時間培養し, 試験菌液とする。リトマスミルク 100 ml を入れたフラスコを 121℃で 15 分間高圧蒸気滅菌する。滅菌したリトマスミルクに本品 0.1g を加え, 室温に 2 時間放置する。この液に試験菌液を 0.1ml 加え, 30℃, 24 時間培養するとき, *Lactococcus lactis* の生育を認める。

**純度試験 (1) 鉛 Pb として 1.0 µg/g 以下**

本品 10.0g を量り, 5ml の硫酸を入れた耐熱性ビーカーに入れ, 徐々に加熱し, 更に硫酸少量を加え, できるだけ低温でほとんど灰化する。さらに, 500℃で灰化するまで強熱した後, 放冷する。残留物に 40ml の水を加えて溶かし, 試料液とする。試料液にクエン酸二アンモニウム溶液(1→2)10ml を加え, チモールブルー試液を指示薬として, アンモニア水で弱アルカリ性とする。冷後, この液を 200ml の分液漏斗に移し, ビーカーを水で洗い, 洗液を分液漏斗に合わせ, 約 100ml とする。ピロリジンジチオカルバミン酸アンモニウム溶液(3→100)5ml を加えて 5 分間放置し, 酢酸ブチル 10ml を加えて 5 分間振とうした後, 静置する。酢酸ブチル層をとり, 検液とする。別に, 鉛標準原液 1ml を正確に量り, 水を加えて正確に 100ml とする。この液 10ml を正確に量り, 試料液と同様に操作し, 比較液とする。検液及び比較液につき, 鉛試験法第 1 法により試験を行う。

- (2) ヒ素 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> として 2.0 µg/g 以下 (1.0g, 第 3 法, 装置 B)

**乾燥減量 3.0%以下 (105℃, 2 時間)**

**微生物限度** 微生物限度試験法により試験を行うとき, 本品 1g につき, 細菌数は 100 以下である。また大腸菌は認めない。ただし, 細菌数については, 生菌数試験のメンブランフィルター法により求める。試料液は, 本品 1g を量り, ペプトン食塩緩衝液と混和して 1,000ml とする。試料液 100ml をセルロース混合エステル製メンブランフィルターでろ過した後, フィルターをろ過洗浄し, ソイビーン・カゼイン・ダイジェスト寒天培地の表面に置き, 30~35℃で 5 日間培養する。また大腸菌については, 本品 1g を量り, 乳糖ブイオン培地を加えて 100ml とし, 30~35℃で 24~72 時間培養する。

さらに, 下記の試験を行うとき, サルモネラは認めない。

**試験の手順**

試料 10g を量り, 乳糖ブイオンを加えて 200ml とし, 30~35℃で 24~72 時間培養する。増殖が観察された場合は, 培養液を軽く振った後, 1ml ずつを 10ml のテトラチオネート液体培地及びラポポート液体培地に接種し, 30~35℃で 18~24 時間培養する。培養後, それぞれの液体培地からブリリアントグリーン寒天培地及び XLD 寒天培地上に塗抹し, 30~35℃で 42~48 時間培養する。ブリリアントグリーン寒天培地上で小型で無色透明又は不透明で白~桃色の集落, 又は XLD 寒天培地上で赤色の集落が見出されない場合はサルモネラ陰性と判定する。なお, ブリリアントグリーン寒天培地上に見られる小型で無色透明又は不透明で白~桃色の集落には, しばしば周囲に桃~赤色の帯が形成され, XLD 寒天培地上で見られる赤色の集落には, 中心部に黒点が現れる場合がある。これらの特徴を有するグラム陰性桿菌の集落が見出された場合は白金線を用いて TSI 斜面寒天培地の深部と斜面に疑われる集落を接種し, 35~37℃で 18~24 時間培養する。サルモネラが存在する場

合、深部は黄色となり、斜面部は赤色のまま変化しない。通常、深部でガスの産生が見られるが、硫化水素は産生される場合とされない場合がある。キット使用を含む、更に詳細な生化学的試験と血清学的試験を併用することで、サルモネラの同定、型別試験を行うことが望ましい。

#### 培地の性能試験及び発育阻止物質の確認試験

試験には、非病原性又は病原性の弱いサルモネラ菌株を、乳糖ブイオン培地を用い、30～35℃で18～24時間培養して使用する。次に、ペプトン食塩緩衝液、リン酸緩衝液、乳糖ブイオン培地等を用いて、1ml当たり約1,000個の生菌を含む菌液を調製する。必要に応じて、約1,000個/mlの生菌を含むサルモネラの菌液0.1mlを混和して、試料の存在下及び非存在下において、培地の有効性、抗菌性物質の存在等を試験する。

#### 再試験

不確定な結果やあいまいな結果が得られた場合は、初回の2.5倍量の試料を用いて再試験を行う。方法は最初の試験法と同じであるが、試料の増加に比例して、培地などの量を増加させて行う。

#### 培地

##### (i) テトラチオネート液体培地

カゼイン製ペプトン	2.5g
肉製ペプトン	2.5g
デソキシコール酸ナトリウム	1.0g
炭酸カルシウム	10.0g
チオ硫酸ナトリウム 5 水和物	30.0g
水	1,000ml

全成分を煮沸して溶かす。使用当日に水 20ml にヨウ化カリウム 5g 及びヨウ素 6g を溶かした液を加える。更に滅菌ブリリアントグリーン溶液 (1→1000) 10ml を加え、混和する。その後は培地に熱を加えてはならない。

##### (ii) ラパポート液体培地

ダイズ製ペプトン	5.0g
塩化ナトリウム	8.0g
リン酸二水素カリウム	1.6g
マラカイトグリーンシュウ酸塩	0.12g
塩化マグネシウム 6 水和物	40.0g
水	1,000ml

マラカイトグリーンシュウ酸塩と塩化マグネシウム 6 水和物及び残りの成分をそれぞれ別々に水に溶かして、121℃で 15～20 分間高圧蒸気滅菌する。滅菌後、混和して使用する。液性は pH 5.4～5.8。

##### (iii) ブリリアントグリーン寒天培地

ペプトン(肉製及びカゼイン製)	10.0g
酵母エキス	3.0g
塩化ナトリウム	5.0g
乳糖 1 水和物	10.0g

白糖	10.0g
フェノールレッド	0.080g
ブリリアントグリーン	0.0125g
寒天	20.0g
水	1,000ml

全成分を混和し、1分間煮沸する。使用直前に121℃で15～20分間高圧蒸気滅菌する。滅菌後の液性はpH 6.7～7.1。約50℃に冷却してペトリ皿に分注する。

(iv) XLD(キシロース・リジン・デソキシコール酸)寒天培地

D-キシロース	3.5g
塩酸 L-リジン	5.0g
乳糖 1水和物	7.5g
白糖	7.5g
塩化ナトリウム	5.0g
酵母エキス	3.0g
フェノールレッド	0.080g
デソキシコール酸ナトリウム	2.5g
チオ硫酸ナトリウム 5水和物	6.8g
クエン酸アンモニウム鉄(III)	0.80g
寒天	13.5g
水	1,000ml

全成分を混和し、煮沸して溶かす。煮沸後の液性はpH 7.2～7.6。高圧蒸気滅菌をしてはならない。過剰な加熱は避ける。約50℃に冷却してペトリ皿に分注する。

(v) TSI(トリプルシュガーアイアン)寒天培地

カゼイン製ペプトン	10.0g
肉製ペプトン	10.0g
乳糖 1水和物	10.0g
白糖	10.0g
ブドウ糖	1.0g
硫酸アンモニウム鉄(II)6水和物	0.20g
塩化ナトリウム	5.0g
チオ硫酸ナトリウム 5水和物	0.20g
フェノールレッド	0.025g
寒天	13.0g
水	1,000ml

全成分を混和し、煮沸して溶かした後、小試験管に分注して、121℃で15～20分間高圧蒸気滅菌する。滅菌後の液性はpH 7.1～7.5。斜面寒天培地として使用する。なお、上記の組み合わせに加えて、肉エキスや酵母エキス 3g を含むものや、硫酸アンモニウム鉄(II)6水和物の代わりにクエン酸アンモニウム鉄(III)を含むものも使用して差し支えない。

定量法 (1) 力価

穿孔寒天平板を用いて得られる試験菌の発育阻止円の大きさを指標として、抗菌活性を測定する。水、試薬・試液及び計器・器具は、必要に応じ、滅菌したものをを用いる。

- (i) 試験菌 *Micrococcus luteus* (ATCC 10240, NCIMB 8166)を用いる。  
(ii) 培地 培地の pH は水酸化ナトリウム試液又は 1mol/L 塩酸を用いて調製し、滅菌後の pH が規定の値になるようにする。なお、規定の培地と類似の成分を有し、同等又はより優れた菌の発育を示す他の培地を用いることができる。滅菌は高圧蒸気法で行う。

① 種層用寒天培地

トリプトン	10 g
肉汁	3 g
塩化ナトリウム	3 g
酵母エキス	1.5 g
ショ糖	1 g
寒天	15 g
水	1,000 ml

全成分を混和し、121℃、15 分間滅菌する。滅菌後の pH は 7.4~7.6 とする。滅菌後、培地と同温度の 50%ポリソルベート 20 溶液を 2 ml 添加する。

② 試験菌移植用斜面寒天培地

ブレインハートインフュージョン寒天	52g
水	1,000 ml

全成分を混和し、121℃、15 分間滅菌する。滅菌後の pH は 7.2~7.6 とする。この寒天培地 9ml を内径約 16mm の試験管に分注して斜面とする。

- (iii) 試験菌液の調製 試験菌を試験菌移植用斜面寒天培地を用いて 30℃で 48 時間培養する。この菌を滅菌した生理食塩水 7ml に懸濁させ、試験菌液とする。菌を移植した試験菌移植用斜面寒天培地は 4℃で最大 14 日間保存することができる。
- (iv) 種層寒天培地の調製 試験菌液を生理食塩水で希釈した液(1→10) 2ml を 48~51℃に保った種層用寒天培地 100ml に加え、十分に混合し、種層寒天培地とする。
- (v) 穿孔寒天平板の調製 シャーレ (内径 90mm, 高さ 20mm) の場合は約 20 ml, 大型皿の場合は培地の厚さが 2~3 mm となるように種層寒天培地を入れ、寒天が水平になるように広げて室温にて固化させたものを種層寒天平板とする。種層寒天平板上の半径約 25~28 mm の円周上に、円筒 (ペニシリンカップ) の中心間の距離が 30 mm 以上となるように一定間隔で 4 個並べる。円筒を置いた状態で種層寒天培地 20 ml を分注し、固化させた後、4℃にて 30~60 分保持し、滅菌したピンセット等を用いて培地より円筒を静かに抜き、穿孔寒天平板とする。円筒は、外径 7.9~8.1 mm, 内径 5.9~6.1 mm, 高さ 9.9~10.1 mm のステンレス製のもので、試験に支障をきたさないものを用いる。穿孔寒天平板は用時調製する。
- (vi) ナイシン標準液の調製 ナイシン標準品 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、0.02mol/L 塩酸を加えて 100 ml とし、これを標準原液 (1,000 単位/ml) とする。更に 1.25, 2.5, 5.0, 10.0, 20.0 (単位/ml) となるよう、標準原液を 0.02mol/L 塩酸を用いて希釈し、標準液とする。

ナイシン標準液は用時調製する。

(vii) ナイシン標準曲線の作成 穿孔寒天平板 5 枚(大型皿穿孔寒天平板の場合はこれに順ずる枚数)を 1 組として用いる。ナイシン標準液を濃度ごとに異なる穿孔寒天平板へ 0.2 ml ずつ 4 箇所(の)の穴に入れる。標準液分注後、プレートに蓋をし、30℃で 18 時間培養する。培養後、形成された阻止円の直径をノギスを用いて 0.1 mm 単位で測定する。ナイシン濃度  $x$  (単位/ml) の常用対数值  $\log x$  を横軸に、阻止円の直径  $y$  (mm) を縦軸にとり、ナイシン標準曲線 ( $y = \alpha \log x + \beta$ ) を作成し、定数  $\alpha$  及び  $\beta$  を求める。

(viii) ナイシン濃度測定 本品 0.100g を正確に量り、0.2 $\mu$ m 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、検液とする。標準曲線の作成の手法に従い、検液の阻止円の測定を行う。検液は用時調製する。また、標準液及び検液は阻止円の測定は同時に試験を行う。阻止円測定後、得られた値より標準曲線から力価 (単位/mg) を求める。

(ix) 力価の算出 以下の式により、本品の力価を求める。

検液の力価 =  $10^I$  (単位/ml)

$$I = \frac{\text{阻止円の直径(mm)} - \beta}{\alpha}$$

$$\text{本品の力価} = \frac{\text{検液の力価}}{5} \times 1000 \text{ (単位/mg)}$$

## (2) 塩化ナトリウムの定量

本品 0.1g を精密に量り、水 100ml を加えて溶かし、さらに硝酸を加えて酸性とし、指示電極に銀電極、参照電極に銀・塩化銀電極を用い、0.1mol/L 硝酸銀溶液で滴定する。別に空試験を行い補正して消費量  $a$  ml を求め、次式により含量を求める

$$\text{塩化ナトリウム (NaCl) の含量} = \frac{a \times 5.85}{\text{試料の採取量(g)} \times 10} \text{ (\%)}$$

## 試薬・試液

クエン酸二アンモニウム  $C_6H_4N_2O_7$  [K 8284]

生理食塩水 日本薬局方生理食塩液を用いる。

ブレインハートインフュージョン寒天 微生物試験用に製造したもの。

トリプトン 微生物試験用に製造したもの

50%ポリソルベート 20 溶液 ポリソルベート 20 と水を 1 : 1 の割合で混合し、121℃で 15 分間高圧蒸気滅菌を行う。

マラカイトグリーンシュウ酸塩  $C_{52}H_{54}N_4O_{12}$  [マラカイトグリーン(しゅう酸塩), K 8878]

リトマス [K 8940:1961] 本品は、青～帯紫青色の粉末又は塊で、水又はエタノールに溶け、その溶液は青～紫青色を呈する。

確認試験 本品 0.5g を温水 50ml に溶かし、赤色を呈するまで希硫酸を滴加し、10 分間煮沸する。この間青色を呈するときは赤色となるまで希硫酸を滴加する。さらに、紫色を呈するまで水酸化バリウム飽和溶液を加えてろ過し、A 液とする。煮沸して冷却した水 100ml

に A 液 0.5ml 及び 0.1mol/L 塩酸 0.05ml を加えるとき、赤色を呈する。また、煮沸して冷却した水 100ml に A 液 0.5ml 及び 0.1mol/L 水酸化ナトリウム 0.05ml を加えるとき、青色を呈する。

リトマスミルク 脱脂粉乳 100g, リトマス 0.5g 及び無水硫酸ナトリウム 0.5g に水 1,000ml を加えて混和し, 115°C, 15 分間滅菌する。

リン酸一カリウム リン酸二水素カリウムを見よ

リン酸二水素カリウム  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  [りん酸二水素カリウム, K 9007]

リン酸三ナトリウム 12 水和物  $\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  [りん酸三ナトリウム・12 水, K 9012]

ナイシン標準品 厚生労働大臣の登録を受けた者が製造する標準品

## ナイシンの規格設定の根拠

主に、JECFA 規格及び FCC 規格を参考とし、EU の食品添加物規格も参考に成分規格案を設定した。なお、本品は、原体としてではなく、塩化ナトリウムを含む製剤としてのみ流通するため、ナイシンの製剤として規格を設定した。

### 名称、構造式、分子式及び分子量

名称は、JECFA 規格及び FCC 規格では Nisin Preparation, EU では Nisin (製剤規格) とされている。製剤としてのみ流通することから、製剤の文字を省略し、単に「ナイシン」とした。今回の指定の対象となっているのはナイシン A であるため、構造式、分子式及び分子量については、Nisin A のものを採用した。なお、分子量は、JECFA では約 3354, FCC では~3348, EU では 3354.12 としているが、2005 年の原子量表に基づき、3354.07 とした。

### 定義

JECFA において、ナイシンは、*Lactococcus lactis* subsp. *lactis* が産生する関連性が高い抗菌性ポリペプチドの混合物であり、活量調整のために添加される塩化ナトリウム、及び無脂肪乳固形分又はその他の発酵源由来の固形分を含むことが定義されている。FCC では *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* 菌株が産生する関連性が高いポリペプチドの混合物であり、活量調整のために、塩化ナトリウム及び固形無脂肪乳を加えると記載されている。EU においては、*Streptococcus lactis* (*Lactococcus lactis* subsp. *Lactis* の旧菌株名) から産生される数種の関連性の高いポリペプチドから成ると定義されている。本規格案では、菌名は、JECFA 及び FCC に準拠した。また、抗菌活性の本質はナイシン A であることから、明確に定義する為、「主たる抗菌性ポリペプチドはナイシン A である。」と記載した。また、培地 (乳培地又は糖培地) 由来の成分を含むことから、そのことを記載した。

### 含 量

JECFA, FCC 及び EU とともに、900 国際単位/mg 以上と設定されており、これらの規格に準拠し、単位当たりのナイシン量を明確に示した。また、本品は塩化ナトリウムを加えて、活性を調整した製剤であり、JECFA, FCC 及び EU において、塩化ナトリウムの含量を規定しているため、本規格案でも採用した。

### 性 状

JECFA においては白~淡褐色の微粉末、FCC では白色の流動性粉末 (free-flowing powder) とされている。色については JIS 色名帳 (JIS Z 8102) に準拠した。

### 確認試験

JECFA 及び FCC とともに他の抗菌剤との識別を確認する為、酸に対する安定性及び *Lactococcus lactis* のナイシンに対する耐性試験を設定している。JECFA, FCC に準拠して設定した。

#### 純度試験

- (1) 鉛 JECFA では1 mg/kg 以下, FCC では2 mg/kg 以下, EU では, 5mg/kg と設定されている。JECFA に準拠し, 1.0µg/g と設定した。
- (2) ヒ素 JECFA, FCC とともに設定されていないが, EU にAs として1mg/kg と設定されている。本規格案ではEU の規格を踏まえ, As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> として2.0µg/g とした。

#### 乾燥減量

JECFA, FCC 及びEU とともに3.0%で設定されている。これらの規格に準拠し, 設定した。

#### 微生物限度

JECFA 及び FCC において, 微生物限度が設定されていることから, 本規格案でも, 採用した。JECFA では, サルモネラ陰性(試料 25g), 大腸菌群 30/g, 大腸菌陰性(試料 25g)が規定され, 一方, FCC では, 生菌数 10cfu/g, 大腸菌陰性(試料 25g), サルモネラ陰性(試料 25g)が規定されている。本規格案では, FCC 規格に準じ, 生菌数, 大腸菌及びサルモネラを設定し, 試験法は, 一般試験法及び日本薬局方に準拠した。ただし, 生菌数試験では発育阻止が認められたため, 試験液濃度を1mg/ml とし, 100ml を試験に用い, メンブランフィルターの材質を規定した。また, 大腸菌試験では, 本品の抗菌性を考慮し, 「本品1g を量り, 乳糖ブイオン培地と混和して100ml とし, 30~35℃で24~72 時間培養する。」とした。サルモネラ試験では, 本品の溶解性を考慮し, 「試料10g を量り, 乳糖ブイオンを加えて200ml とし」とし, 培地は試験法の検討に用いたものに限定した。

#### 定量法

##### (1) 力価

JECFA では試験菌に *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* を用い, 比色法による力価測定法を採用している。JECFA の比色法では目視により検液と標準液を比較し, 計算を行っているため, 半定量的である。一方, FCC では, *Micrococcus luteus* を試験菌として用い, 穿孔平板法により得られる発育阻止円の大きさを指標として力価測定を採用している。FCC の方法は, 発育阻止円の標準曲線に基づき定量的に力価測定ができる。また, 穿孔平板法は, 日本薬局法 一般試験法4.02 抗生物質の微生物学的力価試験法とほぼ同等である。本規格では, 定量性, 及び日本における公定試験法との整合性から, FCC の規格に準拠した。

##### (2) 塩化ナトリウム

JECFA では及び FCC では, 指示薬を用いて滴定を行っているが, いずれも操作が煩雑であるため, 本規格案では, 電位差滴定を採用した。

#### JECFA または FCC 等に設定され, 本規格では採用しなかった項目

JECFA では, 「溶解性」として, 「水に可溶, 無極性溶媒に不溶」としているが, 確認試験として, 溶解性の項を設定する必要はないと考えられるため, 本規格案では溶解性に係る規格は採用しないこととした。

## 1の規格との対比表

	本規格案	JECFA	FCC	EU
品名	ナイシン	Nisin Preparation	Nisin Preparation	Nisin
CAS No.	1414-45-5	1414-45-5	1414-45-5	
Einecs No.				215-807-5
化学式	$C_{143}H_{230}N_{42}O_{37}S_7$	$C_{143}H_{230}N_{42}O_{37}S_7$	$C_{143}H_{230}O_{37}N_{42}S_7$	$C_{143}H_{230}N_{42}O_{37}S_7$
分子量	3354.07	約3354	~3348	3354.12
定義	本品は、 <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> 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。	<i>Lactococcus lactis</i> , subsp. <i>lactis</i> により産生される関連性の高い抗菌性ポリペプチドの混合物。ナイシンは固形無脂肪乳又は無乳培養源(酵母抽出物、炭水化物)の滅菌培地で産生される。ナイシンはいろいろな方法で回収される。ナイシン製剤は、ナイシンと塩化ナトリウムからなり、900IU/mg以上の活量を持つ。活量は、塩化ナトリウムの添加によって調整する。製剤には、固形無脂肪乳又はその他の発酵源が存在する。ナイシン製剤は室温及び酸性下での加熱に安定である。	成長に適した培養液中で、ランズフィールド分類N群の <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> により産生される関連性の高いポリペプチドの混合物である。ナイシンは、いろいろな方法で回収される。製品は、ナイシンと塩化ナトリウムからなり、活性度が900IU/mg以上となるよう、塩化ナトリウムと無脂肪乳固形物の添加により調整されている。(Description)	ナイシンはランズフィールド分類N群の <i>Streptococcus lactis</i> の自然菌株から産生される数種の関連性の高いポリペプチドから成る。
含量	ナイシン 900単位 / mg 以上	ナイシン 900 IU /mg 以上	ナイシン900 IU /mg以上	ナイシン 900 IU /mg 以上
	塩化ナトリウム 50%以上	塩化ナトリウム 50%以上	塩化ナトリウム 50.0%以上 (Requirements)	塩化ナトリウム 50%以上
性状	本品は白~淡黄色の粉末でにおいがなく又はわずかに特異なおいがある	白~うす茶色の微粉末	白色, free-flowing powder.	白色粉末
<b>試験</b>				
他の抗菌物質との区別	・酸に対する安定性 ・高濃度ナイシンに対する <i>Lactococcus lactis</i> の耐性	・酸に対する安定性 ・高濃度ナイシンに対する <i>Lactococcus lactis</i> の耐性	・酸に対する安定性 ・高濃度ナイシンに対する <i>Lactococcus lactis</i> の耐性	—
溶解性	設定しない	水に可溶, 無極性溶媒に不溶	—	—
<b>純度試験</b>				
鉛	1.0 µg/g以下	1mg/kg 以下	2mg/kg以下	5mg/kg以下
ヒ素	2.0 µg/g以下 (1g 第3法, 装置B)	—	—	1mg/kg以下
重金属 (Pbとして)	設定しない	—	—	10mg/kg以下
水銀	設定しない	—	—	1mg/kg以下
乾燥減量	3.0%以下 (105°C, 2時間)	3.0%以下 (105°C, 2時間)	3.0%以下 (105°C, 2時間)	3%以下 (102~103°C, 恒量)
微生物限度				
細菌数	1gにつき100以下	—	10 CFU/g	—
大腸菌	陰性 (試料1g中)	陰性 (試料25g中)	陰性 (試料25g中)	—
サルモネラ菌	陰性 (試料10g中)	陰性 (試料25g中)	陰性 (試料25g中)	—
大腸菌群	設定しない	30以下/g	—	—
<b>計量法</b>				
(1)力価	<i>Micrococcus</i> を用いた発育阻止円サイズによる力価の測定	<i>Lactococcus</i> を用いた比色法による力価の測定	<i>Micrococcus</i> を用いた発育阻止円サイズによる力価の測定	—
(2)塩化ナトリウム	0.1mol/L硝酸銀溶液で滴定(電位差滴定)	0.1N硝酸銀で滴定(ジクロロフルオロセイン)	過剰の硝酸銀を0.2Nチオシアン酸アンモニウム溶液で滴定(硫酸アンモニウム鉄試液)	

(参考)

これまでの経緯

平成15年10月20日	厚生労働大臣から食品安全委員会委員長あてに添加物の指定に係る食品健康影響評価について依頼
平成15年10月23日	第15回食品安全委員会(依頼事項説明)
平成16年4月9日	第7回食品安全委員会添加物専門調査会
平成16年11月16日	第14回食品安全委員会添加物専門調査会
平成17年1月26日	第17回食品安全委員会添加物専門調査会
平成19年7月30日	第46回食品安全委員会添加物専門調査会
平成19年8月27日	第47回食品安全委員会添加物専門調査会
平成19年8月30日	第204回食品安全委員会(報告)
～平成19年9月28日	食品安全委員会における国民からの意見聴取
平成19年9月13日	薬事・食品衛生審議会へ諮問
平成19年9月26日	薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会添加物部会
平成19年10月24日	薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会添加物部会
平成20年1月31日	第224回食品安全委員会(報告)
	食品安全委員会より食品健康影響評価が通知
平成20年2月28日	薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会添加物部会

● 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会添加物部会

(平成19年9月26日、平成19年10月24日、平成20年2月28日開催)

[委員]

石田 裕美	女子栄養大学教授
井手 速雄	東邦大学薬学部教授
井部 明広	東京都健康安全研究センター
北田 善三	畿央大学健康科学部教授
佐藤 恭子	国立医薬品食品衛生研究所食品添加物部第一室長
棚元 憲一	国立医薬品食品衛生研究所食品添加物部長
○ 長尾 美奈子	共立薬科大学客員教授
堀江 正一	埼玉県衛生研究所水・食品担当部長
米谷 民雄	国立医薬品食品衛生研究所食品部長
山内 明子	日本生活協同組合連合会組織推進本部 本部長
山川 隆	東京大学大学院農学生命科学研究科准教授
山添 康	東北大学大学院薬学研究科教授
吉池 信男	独立行政法人国立健康・栄養研究所研究企画評価主幹

(○：部会長)



## 答申（案）

ナイシンについては、食品添加物として人の健康を損なうおそれはないことから、指定することは、差し支えない。

なお、指定に当たっては、以下のとおり使用基準及び成分規格を設定することが適当である。

## 使用基準

使用基準の食品名	使用基準 (mg/kg)
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。）	12.5
チーズ（プロセスチーズを除く。）	12.5
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	3.0
洋菓子	6.25
食肉製品	12.5
ソース類、マヨネーズ、ドレッシング	10.0
卵加工品	5.0
味噌	5.0

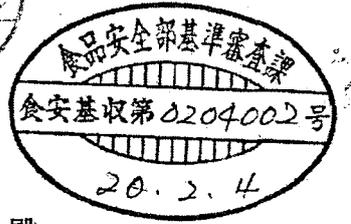
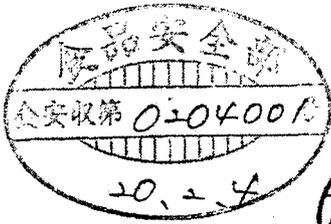
## 成分規格

部会報告書 別紙1 (p.17)に記載のとおり。





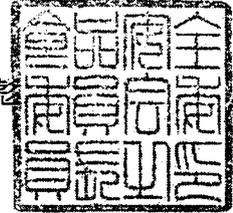
資料 1-3



府食第 00108号  
平成 20年 1月 31日

厚生労働大臣  
舛添 要一 殿

食品安全委員会  
委員長 見上 彪



食品健康影響評価の結果の通知について

平成15年10月20日付け厚生労働省発食安第1020002号をもって貴省から当委員会に意見を求められたナイシン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

ナイシンの一日摂取許容量を 0.13 mg/kg 体重/日と設定する。

添加物評価書

ナイシン

2008年1月

食品安全委員会

## 目次

○ 審議の経緯.....	1
○ 食品安全委員会委員名簿.....	1
○ 食品安全委員会添加物専門調査会専門委員名簿.....	1
○ ナイシンを添加物として定めることに係る食品健康影響評価に関する審議結果.....	3
・ 要約 .....	3
1. はじめに.....	5
2. 背景等.....	5
3. 添加物指定の概要.....	5
4. 物理化学的性質等.....	6
5. 安全性.....	6
(1) 体内動態.....	6
(2) ナイシン様抗生物質産生菌のウシ及びヒトにおける存在.....	7
(3) 微生物の耐性.....	7
(4) 毒性.....	8
①急性毒性.....	8
②亜急性毒性.....	8
③慢性毒性.....	11
④慢性毒性(/繁殖毒性).....	11
⑤発がん性.....	11
⑥繁殖毒性.....	11
⑦遺伝毒性.....	12
⑧抗原性.....	12
⑨一般薬理.....	12
6. 国際機関等における安全性評価.....	12
(1) JECFA における評価.....	12
(2) 米国食品医薬品庁 (FDA) における評価.....	13
(3) 欧州食品科学委員会 (SCF) における評価.....	13
7. 一日摂取量の推計.....	14
8. 評価結果.....	14
【引用文献】.....	17
安全性試験結果一覧.....	20
(別添)ナイシンの使用予定食品及び推定摂取量.....	23

〈審議の経緯〉

平成15年10月20日	厚生労働大臣から添加物の指定に係る食品健康影響評価について要請、関係書類の接受
平成15年10月23日	第21回食品安全委員会（要請事項説明）
平成16年4月9日	第7回添加物専門調査会
平成16年11月16日	第14回添加物専門調査会
平成17年1月26日	第17回添加物専門調査会
平成19年7月30日	第46回添加物専門調査会
平成19年8月27日	第47回添加物専門調査会
平成19年8月30日	第204回食品安全委員会（報告）
平成19年8月30日	
から平成19年9月28日	国民からの意見・情報の募集
平成19年12月25日	第52回添加物専門調査会
平成20年1月29日	添加物専門調査会座長から食品安全委員会委員長へ報告
平成20年1月31日	第224回食品安全委員会（報告） （同日付け厚生労働大臣に通知）

〈食品安全委員会委員〉

平成18年6月30日まで

寺田 雅昭（委員長）	中村 靖彦
寺尾 允男（委員長代理）	本間 清一
小泉 直子	見上 彪
坂本 元子	

平成18年12月20日まで

寺田 雅昭（委員長）	野村 一正
見上 彪（委員長代理）	畑江 敬子
小泉 直子	本間 清一
長尾 拓	

平成18年12月21日から

見上 彪（委員長）	畑江 敬子
小泉 直子（委員長代理*）	廣瀬 雅雄**
長尾 拓	本間 清一
野村 一正	

\*平成19年2月1日から

\*\*平成19年4月1日から

〈食品安全委員会添加物専門調査会専門委員〉

平成15年9月25日から平成17年9月30日まで

福島 昭治（座長）	大野 泰雄
山添 康（座長代理）	西川 秋佳
井上 和秀	林 真
今井田 克己	三森 国敏
江馬 眞	吉池 信男

平成19年9月30日まで

福島 昭治（座長）	久保田 紀久枝
山添 康（座長代理）	中島 恵美

石塚 真由美  
井上 和秀  
今井田 克己  
江馬 眞  
大野 泰雄

西川 秋佳  
林 眞  
三森 国敏  
吉池 信男

平成19年10月1日から

福島 昭治 (座長)  
山添 康 (座長代理)  
石塚 真由美  
井上 和秀  
今井田 克己  
梅村 隆志  
江馬 眞

久保田 紀久枝  
頭金 正博  
中江 大  
中島 恵美  
林 眞  
三森 国敏  
吉池 信男

〈参考人〉

河村 葉子  
中澤 裕之

## ナイシンを添加物として定めることに係る 食品健康影響評価に関する審議結果

### 要 約

保存料として使用される添加物「ナイシン」(CAS 番号: 1414-45-5)について、各種試験成績等を用いて食品健康影響評価を実施した。

評価に供した試験成績は、ナイシン及びそれを含有する製剤もしくは加水分解物を被験物質としたものも含め、反復投与毒性、発がん性、生殖発生毒性、遺伝毒性等である。

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、無毒性量 (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% (12.5 mg/kg 体重/日相当) と考えられることから、安全係数を 100 とし、ナイシンの ADI を 0.13 mg/kg 体重/日と設定した。

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おいては、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（変更工程品）は、乳培地を用いて製造されたナイシン製剤（従来工程品）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、従来工程品の評価結果は変更工程品の評価にも適用することが可能であると判断した。

## 1 はじめに

ナイシン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*) が産生する 34 個のアミノ酸から成るペプチド (ランチビオティック<sup>注1</sup>系バクテリオシン<sup>注2</sup>) で、*Bacillus* 属と *Clostridium* 属を含むグラム陽性菌の熱処理後における芽胞の発芽後生育を低濃度で阻害する。

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 (Generally Recognized as Safe ; 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<sup>1)</sup>。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 (E234)<sup>2)</sup>。

FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議 (JECFA) では、第 12 回 (1968 年) 会議においてナイシンが評価され、ラットの 2 年間慢性毒性試験の結果より、NOAEL は 3,330,000 U/kg 体重\*とされ、ADI は 0-33,000 U/kg 体重とされている<sup>3)</sup>。

(\*原著によると、3,330,000 U/kg は飼料中濃度である。9 ページ参照)

## 2 背景等

厚生労働省は、平成 14 年 7 月の薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会での了承事項に従い、①JECFA で国際的に安全性評価が終了し、一定の範囲内で安全性が確認されており、かつ、②米国及び EU 諸国等で使用が広く認められていて国際的に必要性が高いと考えられる食品添加物 46 品目については、企業等からの指定要請を待つことなく、指定に向けた検討を開始する方針を示している。これに該当するナイシンについては、関係企業からの指定の要請もあったことから、食品安全基本法に基づき食品健康影響評価が食品安全委員会に依頼されたものである。(平成 15 年 10 月 20 日、関係書類を接受)

## 3 添加物指定の概要

今般、ナイシンについて、チーズ、アイスクリーム類、乳飲料、ホイップクリーム、ハム、ソーセージ類、たれ、つゆ、ドレッシング、フラワーペースト類、洋菓子、卵加工品、生菓子、魚介乾製品、魚肉練り製品、いくら、すじこ、たらこ、辛子明太子、かずのこ調味加工品、豆腐、味噌、麴への使用に関する基準を定め、JECFA の規格等を参考に規格を定めた上で、新たに添加物として指定しようとするものである。

---

注1 乳酸菌バクテリオシンは一般的に 3 つあるいは 4 つのクラスに分けられ、クラス I はランチビオティックと呼ばれ、細胞膜攻撃性の耐熱性低分子ペプチド (分子量 5,000 未満) である。

注2 細菌が産生し、別の細菌を殺すことができる抗菌性タンパク質あるいはペプチド。

#### 4 物理化学的性質等<sup>3)</sup>

ナイシン<sup>注3</sup>

英名：Nisin

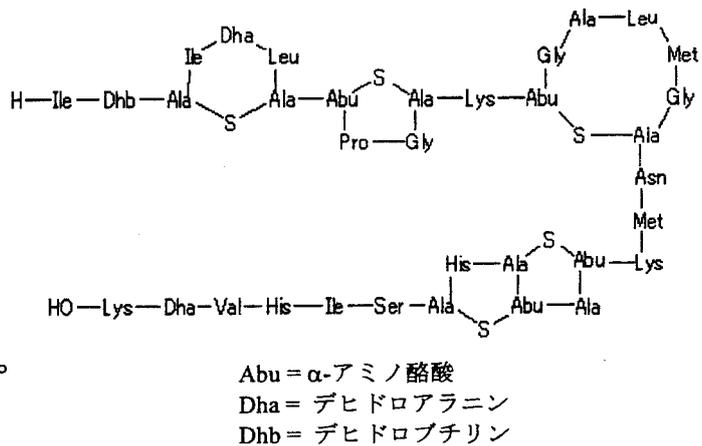
CAS 番号：1414-45-5

化学式：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

性状：白色～淡黄白色の粉末で、においがいいか又はわずかに特異なにおいがある。

ナイシン製剤は、*Lactococcus lactis* subsp. *lactis* の培養液から得られたナイシン A を主成分とした塩化ナトリウム (NaCl) との混合物であり、1 mg 当たり 900 IU<sup>注4</sup> 以上のナイシンを含む。なお、精製されたナイシンは 1 mg 当たり 4~5×10<sup>4</sup> IU 程度のナイシンを含む。



乳培地を用いて製造されたナイシン製剤（従来工程品）と糖培地を用いて製造されたナイシン製剤（変更工程品）について、組成分析、HPLC 及び SDS-PAGE による分析に関する資料に基づき評価した。その結果、組成の比較から、変更工程品は従来工程品と同等の力価を有し、より純度が高く、ナイシン A 以外のタンパク質の残留物質、脂質、炭水化物及び乳糖の含有が少ないと考えられた<sup>4)</sup>。HPLC による分析により、従来工程品、変更工程品においてともに共通のピークが検出され、そのピークはナイシン A と同定された。また、従来工程品においてはナイシン A 以外にも主要なピークが認められた<sup>5)-7)</sup>。SDS-PAGE 分析においても同様の結果であった<sup>8)</sup>。

#### 5 安全性

##### (1) 体内動態

###### ①ヒトにおける試験

ナイシン約 200 RU<sup>注4</sup>/mL [5 µg/mL] 含有のチョコレートミルクを、11 名に摂取させ、残存時間と口腔内細菌叢への影響を検討したところ、投与後の唾液中のナイシンは 1 分以内に大部分が消失し、5 分後には対照と同程度になった。10 分

<sup>注3</sup> 本評価書でいうところのナイシンは、ナイシン A である。

<sup>注4</sup> U : Unit

IU : International Unit

RU : Reading Unit

1 ml ミルク中の *Streptococcus agalacticae* の 1 細胞を阻害するのに必要なナイシン量 (DANISCO 社より)  
H.U.M : Hoemoglobin Unit of Mochida (Anson 氏の Hoemoglobin 法による)

後の唾液中濃度が低下していない例もあったが、実験誤差とされている<sup>9)</sup>。

ボランティアに、ナイシン含有チョコレートミルク (25,000 IU/日) を 14 日間摂取させたところ、唾液中の一般細菌数及びナイシン耐性細菌数に対照群との差は認められなかった<sup>10)</sup>。

## ② *In vitro* 試験

ナイシン製剤 100~100,000 U<sup>注4)</sup>/mL を唾液由来プチアリン (500 U/mL, pH 6.8) 又はトリプシン (1,000 H.U.M<sup>注4)</sup>/mL, pH7.1) と反応させ、阻止円に及ぼす影響が検討された。いずれの実験においても、低濃度では阻止円の縮小が認められ、ナイシンの抗菌性は低下したが、高濃度では阻止円の縮小は認められなかった<sup>11)</sup>。

ナイシン 80 RU/mL [2 µg/mL] を 37°C で、濃度 2.5~25.6 mg/100 mL のパンクレアチンと反応させたところ、2.5 mg/100 mL 以外の濃度において、30 分後にはナイシン活性が 0 となり、ナイシンは速やかに分解された<sup>12)</sup>。

ナイシンは精製パンクレアチンと $\alpha$ -キモトリプシンによって分解され、精製トリプシンでは分解されなかったことから、パンクレアチンによるナイシンの分解は $\alpha$ -キモトリプシンによると結論されている<sup>13)</sup>。

*In vitro* 試験から、摂取されたナイシンはタンパク質分解酵素により不活性化され、ナイシン分子としては吸収されないと予測され、*in vivo* におけるナイシンの代謝は、他のポリペプチド代謝と類似していると考えられている。

## (2) ナイシン様抗生物質産生菌のウシ及びヒトにおける存在

ウシ及びヒトの各種検体を調べた結果、ヒト鼻咽喉粘膜及び糞便から 320 倍希釈液で *Lactococcus agalactiae* に対する増殖阻害能を有する 10 菌株が得られ、これらより分泌される抗菌性物質の抗菌スペクトルはナイシンと類似していた。ウシ由来の生乳から 320 倍希釈液で阻害能を有する 3 菌株が得られ、これらより分泌される抗菌性物質の抗菌スペクトルもナイシンと類似していた<sup>14)</sup>。

ナイシン様抗生物質産生菌は、頻度は低いがヒト及びウシの腸内や鼻腔内に常在している<sup>14)</sup>こと、摂取されたナイシンはタンパク質分解酵素により不活性化されると予測される<sup>11)-13)</sup>ことから、ナイシンが腸まで到達したとしても、腸内細菌叢のバランスを崩す可能性は低いと考えられる。

## (3) 微生物の耐性<sup>注5)</sup>

ナイシンは、*L. lactis* が産生する 34 個のアミノ酸から成るランチビオティック系バクテリオシンであり、広範囲のグラム陽性菌とその芽胞に対し抗菌活性を有する。作用機序としては、細胞膜に作用して膜孔を形成することにより、膜電位や膜内外

<sup>注5)</sup> 一般に、環境条件や化学物質などに対する抵抗性。抗生物質に対する細菌の抵抗力など。

の pH 勾配あるいは、その両者のバランスを崩し細胞死を引き起こすことが考えられている<sup>15)</sup>。

バクテリオシン感受性の *Listeria monocytogenes* などの菌を高濃度のバクテリオシン存在下で培養すると耐性変異株が出現するとの報告があり、このような耐性は、一般的に細胞膜の構造変化（特にリン脂質組成変化）に起因するとされている<sup>15)</sup>。

また、ナイシン耐性 *Listeria* 属の細菌が、他のクラスのバクテリオシン（ペディオシン等）に対し、感受性低下を示すとの報告もある<sup>16)-19)</sup>。

ナイシンへの暴露は、*L. monocytogenes* の抗生物質アンピシリンとクロラムフェニコールに対する耐性菌出現頻度に影響を与えない、種々のグラム陽性病原菌において、抗生物質多剤耐性獲得はナイシンに対する感受性に影響を与えない、ナイシンと 33 種の抗生物質間の交差耐性<sup>注6)</sup>を調査した結果、*Staphylococcus aureus* のペニシリン耐性菌は野性株に比べナイシンに対して 50 倍以上の高い感受性を示した等の研究から、バクテリオシン耐性が抗生物質に対して交差耐性を示す可能性は極めて低いと考えられるとされている<sup>15)</sup>。

また、頻用される医療用抗生物質の標的となる一般的な病原微生物の感受性に、ナイシンが影響を与える可能性について検討するために、各菌株を 2.5 µg/mL のナイシン含有培地又は非含有培地で 24 時間培養した後、抗生物質の最小発育阻止濃度（MIC）を測定した。全てのグラム陰性細菌はナイシン非感受性であった。感受性菌である *Staphylococcus* 属では、ナイシン含有培地ではナイシンに対する感受性が低下した。その他の医療用抗生物質に対しては、有意な感受性の低下は認められなかった。以上から、ナイシンによる医療用抗生物質に対する交差耐性は認められないとされている<sup>20)</sup>。

ナイシンは、その化学構造、物性、作用機序、交差耐性、消化管酵素による影響などから、一般に言われる抗生物質又は抗菌性物質とは異なる範疇の物質と言える。海外における使用経験からも特段問題となる報告はなく、食品添加物として使用しても、ヒト腸内細菌をはじめとする各菌種に影響を与える可能性は極めて低いと考えられる。

#### （4）毒性

##### ①急性毒性

ラットへの経口投与での LD<sub>50</sub> は 2,000 mg/kg 体重以上<sup>21)</sup>、マウスへの経口投与での LD<sub>50</sub> は 6,950 mg/kg 体重<sup>11)</sup>等が報告されている。

##### ②亜急性毒性

白色マウス（雑種）（雌雄各 25 匹、体重 8～10 g 又は 15～20 g）にナイシン製

注6 ある薬物に対して形成された耐性が、他の薬物にもみられること。

剤（生物学的力価： $10^6$  IU/g）を2ヶ月間強制経口投与（0、0.4、4.0、400 mg/kg 体重/日）したところ、雄の全投与群で体重増加の上昇がみられたが、生存率及び摂餌量には差はみられなかった。2ヶ月間投与後に実施した50%食餌制限では、高用量群で対照群の43%に対して70%と高い死亡率を示した<sup>22)</sup>。

白色マウス（雑種）（雌雄各50匹、体重8~10g）に4.0 mg/kg 体重/日のナイシン製剤（生物学的力価、 $10^6$  IU/g）を3ヶ月間強制経口投与したところ、投与2.5ヶ月後の生存率が低下した。3ヶ月間投与後に実施した90%食餌制限の後では、死亡率は対照群で56.3%に対し、投与群では84.6%と高値を示した<sup>22)</sup>。

上記の白色マウス（雑種）を用いた試験については、対照群の死亡率が異常に高いこと、ナイシン投与群における死亡率が非常に高いにもかかわらず死因についての記載がないこと等から、試験自体が非常に粗雑でデータの信頼性が低いため、評価の対象とはしないこととした。

CrI:CDBR ラット（雌雄各5匹）に、精製ナイシン（ナイシンとして0、500、1,000、2,000 mg/kg 体重/日）を10日間強制経口投与したところ、一般状態、生存率、体重、摂餌量、血液生化学的検査、臓器重量、剖検所見及び病理組織学的検査において投与に関連した変化は認められなかった。血液学的検査では、雄でヘモグロビン濃度、赤血球数及び平均赤血球容積に用量に相関した減少がみられ、雌でも同じ項目において投与群が対照群より低値を示したが、用量相関性は認められていない<sup>23)</sup>。

CrI:CDBR ラット（雌雄各10匹）に精製ナイシン（ナイシンとして0、500、1,000、2,000 mg/kg 体重/日）を28日間強制経口投与したところ、一般状態、体重、摂餌量、血液生化学的検査、尿検査、眼科学的検査、剖検所見及び病理組織学的検査において、投与に関連した変化はみられていない。血液学的検査では、いくつかの項目に変化がみられ、臓器重量では、雌の高用量群において、肝臓重量が対照群に比べ有意に減少したが、この週齢と動物種で通常認められる範囲の値であり、生物学的意義はないとされている<sup>24)</sup>。

離乳 Birmingham-Wistar 雄性ラット（各群10匹）に12週間、投与群にはナイシン含有チーズ（(0、2.00、3.01、4.01)  $\times 10^7$  U/g 飼料；(0、1.0、1.51、2.01)  $\times 10^6$  U/kg 体重/日<sup>25)</sup>）、対照には非含有チーズを含む飼料を与えた。ナイシン投与群の体重、一般状態、行動及び剖検時の所見に対照群と差は認められなかった<sup>26)</sup>。

ラット（雌雄各5匹）に12週間、ナイシン製剤（生物学的力価： $10^6$  RU/g、飼料中濃度0、10,000 RU/g；0、 $0.5 \times 10^6$  RU/kg 体重/日<sup>25)</sup>）を混餌投与した結果、対照群と投与群の体重増加に差は認められず、投与群には何ら異常は認められなかった。投与群と対照群の雄の生殖率は同等（100%）で、投与群と対照群の雌も同程度であった（それぞれ90%と85%）。すべての出生児は正常であった<sup>27)</sup>。

雄性 Wistar ラット（各群5匹）に0.5~5,000 U/kg 体重/日のナイシン製剤を90日間強制経口投与したところ、一般状態、体重、血液学的検査、臓器重量、主要

臓器の病理組織学的検査において投与に起因した変化はみられなかった<sup>11)</sup>。

Birmingham-Wistar 雄性ラット (各群 10 匹) にナイシン加水分解物 (ナイシン製剤を 1.0 N 塩酸で加水分解し、脱水して活性炭処理後に再結晶したもの)、又はナイシン ( $3.33 \times 10^6$  U/kg 飼料) を 10 週間混餌投与した後、さらに 25 週間混餌投与したところ、ナイシン加水分解物を混餌投与した動物の体重増加に影響はなかった。個別ケージで飼育されたラットの脾臓重量の増加がみられたが、複数でケージに入れられた飼育群に同様の変化はみられず、また、評価された他の指標には影響がみられなかったことから、ストレスに起因すると結論されている<sup>26)</sup>。

F344/DuCrIj ラット (雌雄各群 10 匹) にナイシン A (生物学的力価: 3,000 IU/mg、飼料中濃度 0、0.2、1.0 及び 5.0% ; 約 0、120、600、3,000 mg/kg 体重/日相当、参照対照群 3.712% NaCl 添加飼料 (5.0% ナイシン A 添加飼料中の NaCl 含量; 約 2,200 mg/kg 体重/日相当)) を 90 日間反復投与したところ、投与期間中に死亡例はみられず、一般状態、体重、摂餌量、眼科的検査及び肉眼的病理検査において被験物質に起因すると考えられる変化は認められなかった。5.0% 投与群の雌雄で血色素量 (HGB) の上昇、平均赤血球色素量 (MCH) の上昇、5.0% 投与群の雌で平均赤血球血色素濃度 (MCHC) の上昇が認められた。

ナイシン A 投与群において、摂水量の高値、尿検査における尿量の高値、尿中 Na 及び Cl の高値、尿中 K の低値、血液生化学的検査における Na の低値、腎臓の絶対重量及び相対重量の高値、病理組織学的検査における前胃の境界縁における扁平上皮過形成が観察された<sup>28)</sup>。しかし、これらの変化は参照対照群においても観察されており、被験物質に含まれる NaCl に起因する変化と考えられる。なお、血液生化学的検査の総コレステロール (T-CHO) 及びリン脂質 (PL) の用量相関的な減少は、参照対照群では認められておらず、ナイシンの影響による影響と考えられるが、毒性学的な意義はないと考える。

よって、ナイシンの NOAEL は 1.0% (ナイシン 1 g は  $40 \times 10^6$  IU に相当することから、45 mg/kg 体重/日相当) と考えられる。

ビーグル犬 (雌雄各 2 匹) に精製ナイシンを最大耐量 (MTD : 12 日間かけて 0 (対照群)、あるいは 500、1,000、2,000 mg/kg 体重/日と増量) と固定用量 (対照群について、続いて 2,000 mg/kg 体重/日を 7 日間) を強制経口投与したところ、MTD 及び固定用量投与期間において、一般状態、生存率、体重、摂餌量、血液学的検査、尿検査、臓器重量、剖検所見及び病理組織学的検査において投与に起因する変化はみられず、精製ナイシン 2,000 mg/kg 体重/日投与での毒性は認められていない<sup>29)</sup>。

ビーグル犬 (雌雄各 3 匹) への精製ナイシン (ナイシンとして 0、150、500、2,000 mg/kg 体重/日) の 28 日間強制経口投与により、一般状態、生存率、眼科学的検査、心電図検査、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、臓器重量、剖検所見及び病理組織学的検査結果では、投与に関連した変化はみられていない。2,000 mg/kg

体重/日投与群の雄及び 150 mg/kg 体重/日投与群以上の雌で、対照群と比較して体重増加抑制がみられ、500 mg/kg 体重/日投与群以上の雌で摂餌量の減少が認められた<sup>30)</sup>。

### ③慢性毒性

Wistar ラット（雌雄各 10 匹）に 2.0 mg/kg 体重/日のナイシン製剤（生物学的力価： $10^6$  IU/g）を通常の飼料を与える前にペースト状にして 18 ヶ月間混餌投与した結果、ナイシン投与群の平均摂餌量は対照群と同程度で、摂水量は雌の投与群で高値を示した。血液 pH（blood alkalinity）、C 反応性蛋白及び血液形態学的評価は、対照群と同程度であった<sup>22)</sup>。

### ④慢性毒性（／繁殖毒性）

Birmingham-Wistar ラット（雌雄各 10 匹）に基礎飼料又はナイシン製剤  $3.33 \times 10^4$  U/kg 含有飼料、 $3.33 \times 10^6$  U/kg 含有飼料（1,665、166,500 U/kg 体重/日<sup>25)</sup>）を最長約 2 年間で与えた。16 週間後、同一群の雌雄を交配させ、生殖能力を評価し、各投与群の出生児（F1）の雌 30 匹と雄 10 匹に親（F0）と同じ食餌を与えた。F0 の対照群と投与群では生存率及び生殖能力に差はみられず、F1 の血液学的検査、肝臓、腎臓、消化管の機能検査は正常であった。F0 及び F1 とともに、雄の投与群において体重増加の有意な減少がみられたが、これは摂餌量のわずかな低下に起因すると考えられている。雌の高用量群で腎臓、卵巣及び子宮の相対重量が有意に増加したが、肉眼的及び病理組織学的所見に特記すべき異常は認められなかった。よって、ナイシンの NOAEL は  $3.33 \times 10^6$  U/kg 含有飼料と考えられる（JECFA は、4.16 mg/kg 体重/日相当と換算し、FDA は、4.9 mg/kg 体重/日相当と換算している）<sup>26)</sup>。  
注7、注8。

非げっ歯類を用いた慢性毒性試験は実施されていない。

### ⑤発がん性

発がん性試験は実施されていない。なお、ラット 2 年間慢性毒性試験の病理組織学的所見に異常はみられていない<sup>26)</sup>。

### ⑥繁殖毒性

3 世代（F0、F1B、F2B）の Cri:CDBR ラット（各群雄 12 匹、雌 24 匹）にナイシン製剤 0、0.2、1.0、5.0% を含有する基礎飼料（(0、0.1、0.5、2.5)  $\times 10^6$  IU/kg 体

注7 ナイシン 1 g は  $40 \times 10^6$  U に相当し<sup>21)</sup>、「Principles for the Safety Assessment of Food Additives and Contaminants in Food (JECFA, 1987)」において示されたラット (old) の食餌中濃度の換算係数（1 ppm=0.050 mg/kg 体重/日）を採用すると、NOAEL は 4.16 mg/kg 体重/日となる。

注8 FDA は、実験者の仮定（ラットの体重を 250 g、摂餌量を 15 g と仮定）に基づき、高用量群の投与量が  $1.96 \times 10^5$  U/kg 体重（4.9 mg/kg 体重）に相当することから、ADI を 0.049 mg/kg 体重/日と算出している。

重/日<sup>25)</sup>、並びに参照対照群としてNaClを3.8%含有する飼料を与えた。親動物については、F0の5.0%投与群の雄群で体重増加抑制が観察されたが、食餌効率、交配行動、妊娠率、妊娠期間、肉眼的病理検査では、投与に起因した変化はみられなかった。児動物については、生存率、同腹児数、剖検所見、試験終了時の臓器重量及び病理組織学的検査に投与に起因した変化はみられなかったが、F2Bの5.0%投与群で低体重が観察された<sup>31)</sup>。よって、ナイシンのNOAELは1.0% (12.5 mg/kg 体重/日相当) と考えられる<sup>注9)</sup>。

#### ⑦遺伝毒性

*Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537) と *Escherichia coli* (WP2/pKM101, WP2uvrA/pKM101) を用いた精製ナイシンの復帰突然変異試験において、S9mixの有無にかかわらず、試験した全ての用量 (0~1,500 µg/プレート) において陰性であった<sup>32)</sup>。

マウスリンパ腫 L5178Y 細胞を用いた精製ナイシンの遺伝毒性試験において、S9mixの有無にかかわらず、いずれの濃度 (最低濃度 25~50、最高濃度 300~1,000 µg/mL) においても陰性であった<sup>33)</sup>。

ヒトリンパ球初代培養細胞を用いた精製ナイシンの染色体異常試験において、S9mixの有無にかかわらず、いずれの用量 (62.5~500 µg/mL) においても染色体異常誘発性は認められていない<sup>34)</sup>。

*In vivo* マウス骨髄小核試験では、最高 2,000 mg/kg 体重/日のナイシン強制経口投与マウスの骨髄の多染性赤血球 (PCE) において小核の誘発は認められず、生体内における染色体異常誘発性はないものと考えられる<sup>35)</sup>。

#### ⑧抗原性

モルモット回腸の収縮の測定による感作性の検討において、ナイシン製剤 50 mg (50,000 U) /日を3ヶ月間混餌投与した3匹の感作性は陰性であったが、等用量を単回腹腔内投与した3匹では全て陽性であった。これは、ナイシンが小腸内のタンパク質分解酵素やペプチダーゼによって分解されることと整合するとされている<sup>26)</sup>。

#### ⑨一般薬理

一般薬理試験は実施されていない。

### 6 国際機関等における評価

#### (1) JECFA における評価

JECFA では、1968年に、ラット2年間慢性毒性試験<sup>26)</sup>の結果よりラットにおける

<sup>注9)</sup> 注7で用いた換算係数を採用すると、ナイシン製剤(ナイシン2.5%含有<sup>26)</sup>)1.0%投与群の投与量は12.5 mg/kg 体重/日に相当する。

NOAEL を最高用量の 3,330,000 U/kg として、ADI は 33,000 U/kg と設定した<sup>3)</sup>が、原著論文によるとこの値は飼料中の濃度である。ヒト体重あたり、かつ mg 単位に換算すると、NOAEL は 4.16 mg/kg 体重/日に相当し、ADI は 0.042 mg/kg 体重/日となる<sup>注7</sup>。

なお、細菌抵抗性について、細菌においてナイシン以外の抗生物質治療に影響する交差耐性が生じることを示した包括的な微生物学的研究は示されておらず、ナイシンの抗菌活性は上部消化管におけるタンパク質の分解消化により即座に失われるため、腸内細菌叢に対する影響が示されることはないとされている。

2007 年の第 68 回 JECFA 会合において、従来の乳培地を用いて製造されたナイシン製剤に加え、糖培地を用いて製造されたナイシン製剤についても成分規格に含めるための変更がなされた<sup>36)</sup>。

## (2) 米国食品医薬品庁 (FDA) における評価

米国 FDA では、1984 年に、JECFA が評価に用いたラット 2 年間慢性毒性試験<sup>26)</sup>の結果より、ナイシンの ADI を 2.9 mg/ヒト/日と設定した旨公表しており<sup>37), 38)</sup>、これは体重 60 kg 換算で、0.049 mg/kg 体重/日となる<sup>注8</sup>。

なお、ナイシンはパンクレアチン (腸内酵素) により分解されることから、腸内細菌叢に影響を与えないと考えられ、病原微生物の交差耐性に影響するとの報告はないとしている。

## (3) 欧州食品科学委員会 (SCF) における評価

SCF が 1990 年に発表した報告書<sup>39)</sup>によると、SCF は、ラット及びマウスの急性毒性、亜急性並びに長期試験、及びラットの繁殖毒性試験について JECFA が 1968 年にレビューした資料を入手し、さらに *in vitro* 及び *in vivo* の遺伝毒性試験、繁殖毒性試験についてレビューし、遺伝毒性及び発がん性に関する入手可能なデータでは、現在の毒性試験基準を満たしていないが、投与に関連した有害作用は認められていないとし、3 世代繁殖毒性試験の結果<sup>31)</sup>に基づき、ADI を 0.13 mg/kg 体重/日と設定しているが、NOAEL 等の評価の詳細な内容は発表されていない<sup>注9</sup>。

なお、本報告書中で引用されているレポートでは、感受性菌である *Staphylococcus* 属がナイシン自身に耐性を示す証拠があるが、微生物がナイシンに暴露されることにより、抗生物質やその他の治療薬に対し耐性を生じる可能性はほとんどないとしている。

2006 年 1 月、欧州食品安全機関 (EFSA) の AFC パネルは、ADI 0.13 mg/kg 体重/日を変更しなければならなくなるような新しいデータはないとしている。また、ナイシンはトリプシンとパンクレアチンにより不活性化されることから腸内細菌叢には影響しないと推察するとともに、食品へのナイシン使用により耐性を生じる懸念はないと指摘している<sup>40)</sup>。

2006 年 10 月に AFC パネルは、糖培地を用いて製造されたナイシン (製剤) は、

従来の乳培地を用いて製造されたナイシン（製剤）と同等であるが、より純度が高く、タンパク質（ナイシン A 以外）の残留物質、脂肪、炭水化物及び乳糖の含有が少ないと評価している。その上で、ADI 0.13 mg/kg 体重/日を変更する必要はないことを確認するとともに、乳製品に対するアレルギーのリスクを回避できるだろうと結論している<sup>41)</sup>。

動物種	試験種類	試験期間	飼料中濃度	NOAEL 又は NOEL	備考
ラット	慢性毒性/ 繁殖 <sup>26)</sup>	2年間	3.33×10 <sup>4</sup> 、 3.33×10 <sup>6</sup> U/kg 飼料 (0.83、83.3 mg/kg 飼料)	3.33×10 <sup>6</sup> U/kg 飼料 (83.3 mg/kg 飼料) [4.16 mg/kg 体重/日相当 <sup>注7)</sup>	JECFA(1968) ADI=3.3×10 <sup>4</sup> U/kg (0.042 mg/kg 体重/日)
				[4.9 mg/kg 体重/日相当 <sup>注8)</sup>	FDA(1984) ADI=0.049 mg/kg 体重/日
	繁殖 <sup>31)</sup>	26週間	0、0.2、1.0、5.0%	1.0% [12.5 mg/kg 体重/日相当 <sup>注9)</sup>	EU/SCF(1990) ADI=0.13 mg/kg 体重/日

## 7 一日推定摂取量の推計

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<sup>22), 37), 42)</sup>。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<sup>2), 43)</sup>。

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（別添：ナイシンの使用予定品目及び推定摂取量）<sup>44)</sup>。

## 8 評価結果

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%（12.5 mg/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（変更工程品）は、乳培地を用いて製造されたナイシン製剤（従来工程品）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、従来工程品の評価結果は変更工程品の評価にも適用することが可能であると判断した。

## 【引用文献】

- 1) 21 CFR Ch.I (4-1-03 Edition) Food and Drug Administration, HHS.§184.1538 2003.
- 2) European Parliament and Council Directive No 95/2/EC of 20 Feb 1995 on food additives other than colours and sweeteners
- 3) FAO Nutrition Meetings Report Series: 45A 1968 Specifications for the identity and purity of food additives and their toxicological evaluation: some antibiotics: 33-35.
- 4) Nisin (E234) new specification – process modification/ liquid eggs application (ダニスコ社が欧州委員会に提出した規格変更、液卵用途追加の要望資料 (2005年10月24日))
- 5) Re:Nisin (INS 234) - Specification Modification, November 24, 2006 (ダニスコ社がJECFAに提出した規格変更の要望資料 (2006年11月24日))
- 6) Nisin (INS 234) - Specification Revision, November 24, 2006 三栄源エフ・エフ・アイ(株) 社内資料 (ダニスコ社がJECFAに提出した規格変更の要望資料 (2006年11月24日))
- 7) 乳培地及び糖培地由来ナイシンAのHPLC分析比較. 三栄源エフ・エフ・アイ(株) 社内資料. (2007年11月)
- 8) SDS-PAGE Analysis of Nisaplin and Nisaplin Dairy、ダニスコ社内資料 (2007年11月14日)
- 9) Claypool L, Heinemann B, Voris L, Stumbo CR. Residence time of nisin in the oral cavity following consumption of chocolate milk containing nisin. *J. Dairy Sci.* (1966) 49: 314-316.
- 10) Cowell ND, Allen AR, Jarvis B. The *in vivo* effect of nisin on the microflora of the oral cavity. *J. Appl. Bact.* (1971) 34: 787-791.
- 11) Hara S, Yakazu K, Nakakawaji K, Takeuchi T, Kobayashi T, Sata M, Imai Z, Shibuya T. An investigation of toxicity of nisin with particular reference to experimental studies of its oral administration and influence by digestive enzymes. *J. Tokyo Med. Coll.* (1962) 20: 176-207.
- 12) Heinemann B, Williams R. Inactivation of nisin by pancreatin. *J. Dairy Sci.* (1966) 49: 312-314.
- 13) Jarvis B, Mahoney RR. Inactivation of nisin by alpha-chymotrypsin. *J. Dairy Sci.* (1969) 52: 1448-1450.
- 14) Hirsch A, Wheeler DM. The production of antibiotics by *Streptococci*. *J. Dairy Res.* (1951) 12: 193-197.
- 15) 川本伸一, 島純. 乳酸菌科学の最前線-どこに向かうのか 乳酸菌バクテリオシンとその利用. *Foods & Food Ingred. J. Jpn.* (2004) 209: 758-767.
- 16) Gravesen A, Kallipolitis B, Holmstrom K, Hoiby PE, Ramnath M, Knochel S. pbp2229-Mediated nisin resistance mechanism in *Listeria monocytogenes* confers cross-protection to class IIa bacteriocins and affects virulence gene expression. *Appl.*

- Environ. Microbiol.* (2004) 70: 1669-1679.
- 17) Rasch M, Knochel S. Variations in tolerance of *Listeria monocytogenes* to nisin, pediocin PA-1 and bavaricin A. *Lett. Appl. Microbiol.* (1998) 27: 275-278.
  - 18) Crandall AD, Montville TJ. Nisin resistance in *Listeria monocytogenes* ATCC 700302 is a complex phenotype. *Appl. Environ. Microbiol.* (1998) 64: 231-237.
  - 19) Song H-J, Richard J. Antilisterial activity of three bacteriocins used at sub minimal inhibitory concentrations and cross-resistance of the survivors. *Int. J. Food Microbiol.* (1997) 36: 155-161.
  - 20) Hossack DJN, Bird MC, Fowler GG. The effects of nisin on the sensitivity of microorganisms to antibiotics and other chemotherapeutic agents. *Antimicrobials and Agriculture* (1983) 425-433.
  - 21) 'Purified nisin: Acute oral toxicity (limit test) in the rat'. SPL Project Number: 867/002. SafePharm Laboratories, November 1995. Unpublished Confidential Report.
  - 22) Shtenberg AJ, Ignat'ev AD. Toxicological evaluation of some combinations of food preservatives. *Fd. Cosmet. Toxicol.*(1970) 8: 369-380.
  - 23) 'Ambicin N (purified nisin): 7 Day oral (gavage administration) toxicity study in the rat'. Corning Hazleton. Report No. 1334/3-1050. December 1995. Unpublished Confidential Report.
  - 24) 'Ambicin (purified nisin): 28 Day oral (gavage administration) toxicity study in the rat'. Corning Hazleton. Report No. 1334/1-1050. April 1996. Unpublished Confidential Report.
  - 25) Principles for the safety assessment of food additives and contaminants in food. Environmental Health Criteria 70. IPCS in cooperation with the JECFA. World Health Organization, Geneva. (1987).
  - 26) Frazer AC, Sharratt M, Hickman JR. The biological effects of food additives. I. -Nisin. *J. Sci. Food&Agri.* (1962) 13: 32-42.
  - 27) Pesquera TI. Nisin -its use, estimation and toxicity in sterilised milk. *Revista Espanola de Lecheria.* (1966) 59: 25-41.
  - 28) ナイシンAのラットを用いた90日間反復投与毒性試験 試験番号0637  
株式会社DIMS医科学研究所 (最終報告書 2007.6.27)
  - 29) 'Ambicin N (purified nisin): Maximum tolerated dose (MTD) toxicity study followed by a 7 day fixed dose oral (gavage administration) toxicity study in the dog'. Corning Hazleton. Report No. 1334/4-1050. December 1995. Unpublished Confidential Report.
  - 30) 'Ambicin (purified nisin): 28 Day oral (gavage administration) toxicity study in the dog'. Corning Hazleton. Report No. 1334/1-1050, Corning Hazelton (Europe), Harrogate N. Yorkshire, England. April 1996.
  - 31) 'Effect of nisaplin on reproductive function of multiple generations in the rat'. Huntingdon Research Centre. Report No. APL 1/801028, June 1981. Unpublished

Confidential Report.

- 32) 'Ambicin N (purified nisin). Bacterial mutation assay'. Huntingdon Life Sciences. Report No. APM 1/952077, November 1995 and Protocol. Unpublished Confidential Report.
- 33) 'Ambicin N. Mouse lymphoma mutation assay'. Inveresk Research International. Report number 12242, December 1995 and Protocol. Unpublished Confidential Report.
- 34) 'Ambicin (purified nisin). Metaphase chromosome analysis of human lymphocytes cultured in vitro'. Huntingdon Life Sciences. Report No. APM 2/952601, April 1996 and Protocol. Unpublished Confidential Report.
- 35) 'Ambicin N (purified nisin). Induction of micronuclei in the bone marrow treated mice'. Corning Hazleton. Report No. 1334/5-1052, January 1996 and Protocol. Unpublished Confidential Report.
- 36) JECFA. 「NISIN PREPARATION」  
(<http://www.fao.org/ag/agn/jecfa-additives/specs/monograph4/additive-295-m4.pdf>)
- 37) Federal Register : 53 FR 11247, Apr. 6, 1988, Food and Drug Administration, HHS.
- 38) Memorandum of November 9, 1984, from Alfred N. Milbert to John W. Gordon.
- 39) Food-science and techniques Reports of the Scientific Committee for Food (Twenty-sixth series). Commission of the European Communities. (1992)
- 40) Opinion of the Scientific Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Materials in Contact with Food on a request from the Commission related to The use of nisin (E234) as a food additive. Question number EFSA-Q-2005-031 (Adopted on 26 January 2006) 314; 1-16
- 41) Opinion of the Scientific Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Materials in Contact with Food on the safety in use of nisin as a food additive in an additional category of liquid eggs and on the safety of nisin produced using a modified production process as a food additive. Question number EFSA Q-2005-031b (Adopted on 20 October 2006) 314b; 1-8
- 42) Agency Response Letter GRAS Notice No. GRN 000065.
- 43) Shillinger Y, Bogoroditskaia VP, Osipova IN. Hygienic characteristics of a Soviet-made preparation nisin –an antibiotic employed for preservation of food products. (1969) 28:44-48
- 44) 健康・栄養情報研究会編：国民栄養の現状（平成 16 年厚生労働省国民健康・栄養調査結果）平成 16 年
- 45) Hirsch A, Mattick ATR. Some recent applications of nisin. *The Lancet*. (1949) 190: 190-7.

ナイシン 安全性試験結果

試験	投与期間	動物種	投与方法	1群当たりの動物数	被験物質	投与量又は濃度	試験結果	参考資料
急性毒性	単回 (7日間観察)	ラット	経口	記載なし	ナイシン製剤 ( $10^6$ U/g)	最高 $10^6$ U/kg 体重	LD <sub>50</sub> : $>10^6$ U/kg 体重	26
			腹腔内	記載なし	ナイシン製剤 ( $10^6$ U/g)	最高 $10^6$ U/kg 体重	LD <sub>50</sub> : $>10^6$ U/kg 体重	
	単回 (2週間観察)	ラット	経口	雌雄各 5	精製ナイシン ( $52.2 \times 10^6$ U/g)	2,000 mg/kg 体 重	LD <sub>50</sub> : $>2,000$ mg/kg 体重	21
	単回 (7日間観察)	ラット	強制経口	3	ナイシン製剤 ( $10^6$ U/g)	(0.5, 1.0, 1.5) $\times 10^6$ RU/kg 体 重	LD <sub>50</sub> : $>1.5 \times 10^6$ U/kg 体重	27
	単回	マウス	経口	10	ナイシン製剤 ( $10^6$ U/g)	6,000-8,000 mg/kg 体重	LD <sub>50</sub> : 6,950 mg/kg 体重	11
			腹腔内	10	ナイシン製剤 ( $10^6$ U/g)	3,500-6,000 mg/kg 体重	LD <sub>50</sub> : 4,750 mg/kg 体重	
			皮下注	10	ナイシン製剤 ( $10^6$ U/g)	3,500-5,000 mg/kg 体重	LD <sub>50</sub> : 4,450 mg/kg 体重	
	単回	ウサギ	静注	記載なし	精製ナイシン	記載なし	LD <sub>50</sub> : 約 30 mg/kg 体重	45
			筋注	記載なし	精製ナイシン	記載なし	LD <sub>50</sub> : 200 mg/kg 体重	
皮下注			記載なし	精製ナイシン	記載なし	LD <sub>50</sub> : $>1,000$ mg/kg 体重		
亜急性毒性	2ヶ月間	マウス	経口	雌雄各 25	ナイシン製剤 ( $10^6$ IU/g)	0.4, 4.0, 400 mg/kg 体重/日	雄の全投与群で体重増加が上昇。生存率、摂餌量には変化なし。	22
	3ヶ月間	マウス	経口	雌雄各 50	ナイシン製剤 ( $10^6$ IU/g)	4.0 mg/kg 体重/ 日	投与後 2.5 ヶ月の生存率が低下した。	22
	10日間	ラット	経口	雌雄各 5	精製ナイシン ( $51.6 \times 10^6$ IU/g)	0, 500, 1,000, 2,000 mg/kg 体 重/日	雄でヘモグロビン濃度、赤血球数、平均赤血球容積に用量に相関した減少がみられた。雌でも低値を示したが、用量相関性はなかった。	23
	28日間	ラット	経口	雌雄各 10	精製ナイシン ( $49.6 \times 10^6$ IU/g)	0, 500, 1,000, 2,000 mg/kg 体 重/日	投与に関連した変化はみられなかった。	24
	28日間	イヌ	経口	雌雄各 3	精製ナイシン ( $(49.1-51.1)$ $\times 10^6$ IU/g)	0, 150, 500, 2000 mg/kg 体 重/日	2,000 mg/kg 体重/日投与群の雄及び 150 mg/kg 体重/日投与群以上の雌で、対照群と比較して体重増加抑制がみられ、500 mg/kg 体重/日投与群以上の雌で摂餌量の減少が認められた。	29
	12週間	ラット	混餌	雄 10	ナイシン製剤 ( $10^6$ U/g)	(0, 2.00, 3.01, 4.01) $\times 10^7$ U/kg 飼料 [(0, 1.0, 1.51, 2.01) $\times 10^6$ U/kg 体重 / 日]*4	投与群と対照群との間に体重、一般状態及び行動及び剖検時の所見に差は認められなかった。	26
	12週間	ラット	混餌	雌雄各 5 *1	ナイシン製剤 ( $10^6$ RU/g)	$10^4$ RU/g 飼料 [0.5 $\times 10^6$ RU/kg 体重 / 日]*4	投与群と対照群との間に体重増加、生殖率の差はみられず、胎児は全て正常であった。	27
90日間	ラット	経口	雄 5	ナイシン製剤 ( $10^6$ U/g)	0.5 ~ 5,000 U/kg 体重/日	投与に起因した変化はみられなかった。	11	

試験	投与期間	動物種	投与方法	1群当たりの動物数	被験物質	投与量又は濃度	試験結果	参考資料
亜急性毒性 (続き)	10+25週間*2	ラット	混餌	雄10	ナイシン加水分解物	(ナイシンとして) 3.33 × 10 <sup>6</sup> U/kg 飼料	体重増加に影響はみられなかった。個別ケージで飼育したラットの脾臓重量の増加がみられたが、グループ飼育群にはみられず、他の指標にも影響が認められなかった。	26
	90日間	ラット	混餌	雌雄各10	ナイシンA (3×10 <sup>6</sup> IU/g)	0、0.2、1.0及び5.0%飼料中濃度 [約120、600、3,000 mg/kg 体重/日相当]  参照対照群：3.71%NaCl 添加飼料 [約2,200 mg/kg 体重/日相当]	投与期間中に死亡例はみられず、一般状態、体重、摂餌量、眼科的検査及び肉眼的病理検査において被験物質に起因すると考えられる変化は認められなかった。5.0%投与群の雌雄でHGBの上昇、MCHの上昇、5.0%投与群の雌でMCHCの上昇が認められた。 また、ナイシンA投与群において、一部の観察項目において、変動が認められているが、参照対照群においても観察されており、NaClの影響と考えられる。 [NOAEL：1.0% (45 mg/kg 体重/日相当)]	28
	12日間 (MTD Phase)/ 7日間 (Fixed Dose Phase)	イヌ	経口	雌雄各2	MTD Phase：精製ナイシン (51.6 × 10 <sup>6</sup> IU/g)  Fixed Dose Phase：精製ナイシン (50.6 × 10 <sup>6</sup> IU/g)	0 (対照群)、あるいは500、1,000、2,000 mg/kg 体重/日と増量  対照群について、続いて2,000 mg/kg 体重/日	投与に起因する変化はみられず、2,000 mg/kg 体重/日投与で毒性はみられなかった。	29
慢性毒性	18ヶ月間	ラット	混餌 (ペースト状)	雌雄各10	ナイシン製剤 (10 <sup>6</sup> IU/g)	2.0 mg/kg 体重/日	平均摂餌量は変化なし。摂水量が雌で高値を示した。血液pH、C反応性蛋白及び血液形態学的評価は対照群と同程度であった。	22
慢性毒性/繁殖	2年間	ラット	混餌	雄15、雌30	ナイシン製剤 (10 <sup>6</sup> U/g)	0、3.33×10 <sup>4</sup> 、3.33×10 <sup>6</sup> U/kg 飼料 [1,665、166,500 U/kg 体重/日]*4	雌の高用量群で腎臓、卵巣及び子宮の相対重量が有意に増加したが、肉眼的及び病理組織学的所見に異常は認められなかった。 [NOAEL：3.33×10 <sup>6</sup> U/kg 飼料 (4.16又は4.9 mg/kg 体重/日相当)]	26
繁殖	26週間*3	ラット	混餌	雄12、雌24	ナイシン製剤 (10 <sup>6</sup> IU/g)	0、0.2、1.0、5.0% [(0、0.1、0.5、2.5)×10 <sup>6</sup> IU/kg 体重/日]*4 参照対照群：3.8%NaCl 含有飼料	親動物：F0の5.0%投与群の雄群で体重増加抑制が観察されたが、投与に起因した変化はみられなかった。 児動物：投与に起因した変化はみられなかったが、F2Bの5.0%投与群で低体重が観察された。 [NOAEL：12.5 mg/kg 体重/日相当]	31

試験	投与期間	動物種	投与方法	1群当たりの動物数	被験物質	投与量又は濃度	試験結果	参考資料
遺伝毒性		TA98、 TA100、 TA1535、 TA1537、 WP2/pKM101、 WP2uvrA/pKM101	<i>in vitro</i>		精製ナイシン ( $52.2 \times 10^6$ IU/g)	5、15、50、150、 500、1,500 µg/plate	S9mixの有無にかかわらず陰性。	32
	(予備試験)	マウスリンパ L5178Y	<i>in vitro</i>		精製ナイシン ( $51.6 \times 10^6$ IU/g)	3.3-1,000 µg/ mL (6濃度)	予備試験では、100-1,000 µg/mLで細胞毒性がみられたが、S9mixの有無にかかわらず陰性。	33
	(本試験)	細胞			25-10,000 µg/ mL (7濃度)			
		処理時間21、 45時間	ヒトリンパ球初代 培養細胞	<i>in vitro</i>		精製ナイシン ( $52.2 \times 10^6$ IU/g)	62.5-500 µg/mL	S9mixの有無にかかわらず、染色体異常誘発性を示さなかった。
	単回 2回(2日間)	マウス	経口		精製ナイシン ( $51.6 \times 10^6$ IU/g)	500、1,000、 2,000 mg/kg 体重	小核誘発性を示さなかった。	35
抗原性	3ヶ月間	モルモット	混餌	各3(対照2)	精製ナイシン ( $10^6$ RU/g)	50,000 U/日	感作性は示さなかった。	26
	単回		腹腔内				感作性を示した。	

\*1 対照群は雌3匹、雄2匹からなる。

\*2 1匹ごとにケージで飼育したラットにナイシン加水分解物を10週間混餌投与後、5匹ずつケージで飼育し25週間混餌投与した。

\*3 F0、1世代：交配前に少なくとも60日間混餌投与。

\*4 「Principles for the Safety Assessment of Food Additives and Contaminants in Food (JECFA, 1987)」において示されたラット (old) の体重 (0.40 kg) 及び摂餌量 (20 g) に基づく事務局換算<sup>25)</sup>。

(別添)

ナイシンの使用予定食品及び推定摂取量<sup>4)</sup>

使用基準案の 食品名	国民健康・栄養調査 食品分類 (H16)	摂取量 (g/日)	使用量 (mg/kg)	ナイシン 摂取量 (mg/日)
アイスクリーム類、乳飲料、 ホイップクリーム	74：その他の乳製品	8.2	12.5 mg/kg	0.103
チーズ	72：チーズ	2.3	15 mg/kg	0.035
生菓子	81：和菓子類	10.7	5 mg/kg	0.080
	85：その他の菓子類	5.3		
フラワーペースト類、洋菓子	5：菓子パン	6.4	6.25 mg/kg	0.086
	82：ケーキ・ペストリー 類	7.4		
ハム、ソーセージ類	63：ハム、ソーセージ	11.4	12.5 mg/kg	0.143
たれ、つゆ、ドレッシング	95：マヨネーズ類	3.3	10 mg/kg	0.601
	97：その他の調味料	56.8		
豆腐	19：豆腐	36.7	10 mg/kg	0.367
卵加工品	70：卵類	34.4	5 mg/kg	0.172
味噌、麴	96：味噌	11.7	5 mg/kg	0.059
魚介乾製品、魚肉練り製品、 いくら、すじこ、たらこ、辛 子明太子、かずのこ調味加工 品	56：魚介（塩蔵、生干し、 乾物）	15.8	25 mg/kg	0.63
	59：魚介練り製品	9.3		
			合計	2.27

※ヒト体重を 50 kg とすると、ナイシン摂取量は 0.045 mg/kg 体重/日

ナイシンの食品健康影響評価に関する審議結果  
についての御意見・情報の募集結果について

1. 実施期間 平成19年8月30日～平成19年9月28日
2. 提出方法 インターネット、ファックス、郵送
3. 提出状況 4通
4. 御意見・情報の概要及びそれに対する添加物専門調査会の回答案

	御意見・情報の概要	専門調査会の回答
1	<p><b>【物理化学的性質等】</b>            添加物評価書に記載された <i>Lactococcus lactis</i> は種であり、4つの亜種が知られている。JECFAのモノグラフでは、「Nisin is a mixture of closely related antimicrobial polypeptides produced by strains of <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>」と記載されているので、国際的整合性の観点から JECFAと揃え、産生菌株を <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> に限定すべきである。</p>	<p>御指摘については、リスク管理に関する御意見であることから、担当の厚生労働省にお伝えします。なお、御指摘を踏まえ、評価書の「4 物理化学的性質等」における記載を <i>Lactococcus lactis</i> 菌株から <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> に訂正します。</p>

	御意見・情報の概要	専門調査会の回答
2	<p><b>【物理化学的性質等】</b></p> <p>第17回専門調査会配布資料1-2では、被験物質に関する化学的なデータが示されていないので、極論を言えば、ナイシンAが殆ど含まれていないこともあり得る。従って、ナイシンA含量を正確に分析するとともに、不明の部分についても分析化学的に明らかにされなければ、健康影響評価を実施したことにはならない。</p>	<p>御指摘は、第46回添加物専門調査会にて配布された資料1-2に関する事項と思われますので、90日間反復投与毒性試験についての御意見と考慮してお答えします。</p> <p>まず、ナイシンの含量は、その比活性から換算するものであり、例えば2.5%ナイシン製剤がナイシンの濃度として2.5%という訳ではありません(第47回添加物専門調査会配付資料4-1)。</p> <p>申請資料によると、欧州SCFでADIの設定根拠とされた試験で用いられたナイシンは、Aplin and Barrett社(現ダニスコ社)製の市販のナイシンA製剤(Nisaplin; 2.5%ナイシン製剤、1,000 IU/mg)であり、76%の塩化ナトリウムと20%の固形無脂肪乳を含有するとされています。これ以上の組成等については不明です(文献26)。</p> <p>また、JECFA及び米国FDAでADIの設定根拠とされた試験で用いられたナイシンは、市販のナイシン製剤(1,000 IU/mg)とされており、組成等は不明です(文献21)。</p> <p>一方、90日間反復投与毒性試験で用いられたナイシンは、市販のNisaplinと同様に製造し、NaClによって調整した製剤(3,000 IU/mg)であり、74.23%の塩化ナトリウムを含有するとされています。これ以上の組成等については、SCF等の評価に用いられた製剤と同様に不明です(文献23)。</p> <p>ただし、毒性試験に用いられたナイシンは、JECFA等でも評価に用いられたものでありJECFA等の成分規格に準じたものが使用されていると考えられます。</p> <p>添加物専門調査会としては、海外で評価の対象となった資料に加え、新たに実施された90日間反復投与毒性試験結果についても評価を行っており、最新の科学的知見も踏まえ、客観的かつ中立公正に評価を行っております。</p>
3	<p><b>【物理化学的性質等】</b></p> <p>ナイシンにはA、Z、Qが知られているが、今回の健康影響評価の対象物質がナイシンAに関するものかナイシン類に関するものか、明確にする必要がある。また、引用された文献がナイシンAに関するものかナイシン類に関するものかが特定され、被験物質が明確にされるべきである。</p>	<p>今回の評価の対象物質はナイシンAです。わが国で新たに実施された90日間反復投与毒性試験の被験物質もナイシンAです。また、引用された文献の被験物質については、特段の記載がございませんが、いずれもJECFA、SCF等で評価された文献におけるものであり、ナイシンAであると考えております。</p> <p>なお、御指摘を踏まえ、「4 物理化学的性質等」の項に、今回の評価の対象物質がナイシンAであることを明記することといたしました。</p>

	御意見・情報の概要	専門調査会の回答
4	<p><b>【物理化学的性質等】</b></p> <p>主成分のナイシン A の分子量を訂正されたい。第 8 版食品添加物公定書に記載された原子量表に基づき計算すると、3354.07 となる。また、EFSA Journal (2005) 314, p3 にも、3354.07 と記載されている。</p>	<p>御指摘については、リスク管理に関する御意見であることから、担当の厚生労働省にお伝えします。なお、御指摘を踏まえ、第 8 版食品添加物公定書に基づき、評価書の「4 物理化学的性質等」における分子量の記載を 3354.07 に訂正します。</p>
5	<p><b>【物理化学的性質等】</b></p> <p>化学構造式を訂正されたい。1 番目のアミノ酸である Ile (イソロイシン) の左側は「NH<sub>2</sub>」(アミノ基)、34 番目のアミノ酸である Lys (リジン) の左側は、「COOH」と記載するのが一般的である。</p>	<p>添加物専門調査会としては、要請者たるリスク管理機関から入手した情報に基づき評価を行っております。なお、JECFA でも同様の化学構造式を使用していることを確認しております。御指摘については、リスク管理に関する御意見であることから、担当の厚生労働省にお伝えします。</p>

	御意見・情報の概要	専門調査会の回答
6	<p><b>【体内動態】</b></p> <p>体内動態に関して、<i>in vitro</i> 試験の結果から、「摂取されたナイシンは、蛋白質分解酵素により不活性化され、ナイシン分子としては吸収されない」とされているが、データが不十分であり、消化、吸収、代謝についてのデータを記述すべきである。</p> <p>また、「ヒトに牛乳あるいはヨーグルトを摂取させ、その後、消化管内でのペプチドの動態および血漿への出現が調べられ、投与1、2、4時間後に静脈血中にκ-カゼイン(106~116残基)とα<sub>1</sub>sIカゼイン(1~23残基)のオリゴペプチドを検出した。」との報告があるように、ヒトでの吸収は否定できないことから、「ナイシン分子として吸収されないと予測され、」には根拠がない。</p>	<p>御指摘のようにナイシンの体内動態データは限られておりますが、ナイシンは、<i>in vitro</i> 試験では、パンクレアチン等の消化酵素によって不活性化されることが示されていることから、添加物専門調査会としては、現時点での国内外の知見について審議し、「摂取されたナイシンはタンパク分解酵素により不活性化され、ナイシン分子としては吸収されないと予測され、」との結論を導くことは可能と考えております。なお、JECFA、FDAに加え2006年1月にEFSAにおいても同様の評価(ナイシンは腸内酵素により分解又は不活性化される。)がなされている旨、評価書に記載することといたしました。</p> <p>なお、御懸念は、ナイシンより大きい分子量を有する、牛乳やヨーグルトの消化管での分解物が血中に吸収されるとする報告があることから、ナイシンも一部分子として吸収されるのではないかという点と思慮しますが、御指摘の文献はナイシンに関するものではないことから、最終的な食品健康影響評価を変更する必要はないと考えております。</p>
7	<p><b>【ナイシン様抗生物質産生菌の存在場所】</b></p> <p>ナイシン様抗生物質産生菌は、「頻度は低いヒト及びウシの腸内や鼻腔内に常在している」ことをもって、「腸内細菌叢のバランスを崩す可能性は低いと考えられる。」との結論は稚拙である。胃や十二指腸等の常在菌への影響について検討するなど、この結論を証明するための試験がなされるべきだ。</p>	<p>添加物専門調査会としては、現時点での国内外の知見について審議し、「腸内細菌叢のバランスを崩す可能性は低いと考えられる。」と評価しております。ナイシンが腸内酵素によって不活性化されることも、その根拠であると考えますので、評価書に根拠を追記することといたしました。なお、JECFA、FDAに加え2006年1月にEFSAにおいても同様の評価(ナイシンは腸内酵素により分解又は不活性化されることから、腸内細菌叢には影響しない。)がなされている旨、評価書に記載することといたしました。</p> <p>御指摘のようなデータはございませんが、他の体内動態や毒性試験のデータも総合的に評価して、「腸内細菌叢のバランスを崩す可能性は低いと考えられる。」との結論を導くことは可能と考えております。</p>

	御意見・情報の概要	専門調査会の回答
8	<p><b>【耐性】</b></p> <p>抗生物質に対する感受性の低下の概念については、近年の文献等を詳細に検討する必要があるのではないかと。引用文献以外にもたくさんの文献が公表されている。</p>	<p>耐性菌の問題については、「5 安全性」の項において、「ナイシンは、その化学構造、物性、作用機序、交差耐性、消化管酵素による影響などから、一般に言われる抗生物質又は抗菌性物質とは異なる範疇の物質と言える。海外における使用経験からも特段問題となる報告はなく、食品添加物として使用しても、ヒト腸内細菌をはじめとする各菌種に影響を与える可能性は極めて低いと考えられる。」と評価しています。また、「8 評価結果」に記載のとおり、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りますが、「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、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」と評価しております。</p> <p>ただし、幅広い使用が予定されていることから、評価結果には「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。」と付記しているところです。</p>
9	<p><b>【毒性】</b></p> <p>第46回添加物専門調査会における議論にあるように、ラットの雌雄で背景データに100倍の差があること（福島座長の指摘）について、明快な回答も議論もないまま、それを毒性とは捉えないとする結論に飛躍しているのはおかしい。きちんと実験動物のバックグラウンドを精査し、慎重な議論をするべきである。雌雄に100倍の差があるとする、安全係数としてどの数値を採るのか。</p> <p>また、ヒトのADIは成人男性を基準に設定していることから、特に感受性の高い子どもにはそのまま当てはめることはできないと思われる。</p>	<p>添加物専門調査会においては、原則は、提出されたデータをもって評価すべきであつて、その上で必要であれば背景データを提出いただいて議論することとされました。なお、御指摘の件については、「トータルコレステロールやリン脂質が、肝臓あるいは甲状腺の疾患で二次的に下がることのあることは知られており、そういう意味から、この毒性試験を見ると、そういうところに全く影響が見られていない。従って、恐らく影響ではあるけれども、明らかな毒性は見られていない。」との複数の御意見も踏まえ、総合的に、慎重に議論を尽くして判断したものです。</p> <p>安全係数については、今回、ADIの設定根拠資料とされたラット3世代繁殖毒性試験において、発生毒性のところ奇形が認められるであるとか、一般毒性よりも低い投与量で繁殖毒性が認められるなどの重大な影響は認められていないことなどから、追加の係数は必要なく、通常の100の値を採用すると評価されました。</p> <p>なお、繁殖毒性など、次世代への影響についても評価した上で評価結果をまとめております。</p>

	御意見・情報の概要	専門調査会の回答
10	<p><b>【毒性】</b></p> <p>今回の評価結果において、90日間反復投与毒性試験の結果が結論に反映されていない。また、繁殖毒性のデータを採用したことは恣意的に見える。慢性毒性または慢性毒性試験のデータからADIを0.04 mg/kg/日に設定すれば、一日推定摂取量の推計値はADIぎりぎりであって、食品添加物として指定することに疑問が生じる。</p> <p>海外での使用経験を評価材料としている以上、JECFA及び米国FDAの評価結果にならないADIを0.042～0.049 mg/kg体重/日とするなど、ADIの設定について再検討することを要望する。</p>	<p>最終的な添加物としての一日摂取量の推計、指定の可否については、リスク管理に関する御意見であることから、担当の厚生労働省にお伝えします。</p> <p>JECFA 及び米国 FDA の評価の根拠とされているラット2年間慢性毒性試験は、1960年代に実施された試験であり、剖検が可能であった動物にいずれも腫瘍が検出されなかった等の不可解な点があり、信頼性が担保できないことから、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ました。</p> <p>一方、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、1980年頃に実施されたGLP適合試験であり、評価の対象とすることとしました。</p> <p>また、ラット90日間反復投与毒性試験については、第46回添加物専門調査会において審議され、NOAELが設定されました。</p> <p>添加物専門調査会としては、これらの毒性データを評価し、NOAELの最小値であるラット3世代繁殖毒性試験結果を基にADIを設定することとしました。</p> <p>ADIの設定については、現時点での国内外の知見も踏まえ、客観的かつ中立公正に評価したものであり、見直す必要はないと考えております。</p>
11	<p><b>【一日推定摂取量の推計】</b></p> <p>オーストラリア・ニュージーランドでは、畜肉加工食品への使用について検討されているが、その中で子供への摂取への考慮もなされている。これは、他の添加物にも当てはまることであるが、子供の摂取については別途検討することも必要ではないか。</p>	<p>オーストラリア・ニュージーランドでは、現在、チーズ類の他、クリーム製品、小麦粉製品（パンケーキ、麺類、パスタを含む）等への使用が認められています。更に現在、御指摘のように、加工した肉、家禽製品への使用を検討中（昨年9月19日まで意見募集）です。使用対象食品を増やしても、幼児（2～6歳）の摂取量は多くてもADI（0～0.625 mg/kg体重/日）の10%で、ADIを十分に下回ることから、安全性の懸念は生じないことが記されております。</p> <p>なお、添加物専門調査会においては、繁殖毒性など、次世代への影響についても評価した上で評価結果をまとめております。</p>

	御意見・情報の概要	専門調査会の回答
12	<p><b>【一日推定摂取量の推計】</b> 別添の国民栄養調査における食品分類及び食品分類番号を、現在のものに修正する必要があるのではないか。マヨネーズ及び味噌については、食品分類が変更されている。</p>	<p>御指摘を踏まえ、平成16年国民健康・栄養調査に基づき、評価書の「別添：ナイシンの使用予定食品及び推定摂取量」における食品分類及び食品分類番号を訂正します。 併せて、「7 一日推定摂取量の推計」の項におけるナイシンの推定摂取量を訂正します。</p>
13	<p><b>【国際機関等における評価】</b> 2006年1月に承認されたEFSAの見解では、ADI 0.13 mg/kg bw を変更すべき新しいデータはないと指摘している。この再評価についても言及すべきではないか。</p>	<p>御指摘については、「6 国際機関における評価（3）欧州食品科学委員会（SCF）における評価」の項の末尾に、追記することといたします。</p>
14	<p><b>【国際機関等における評価】</b> コーデックスのGSFAを検討した結果を記載すべきではないか。ナイシンについては、「01, 6, 6 Whey protein cheese MAX 12 mg/kg」とされている。</p>	<p>使用基準については、当委員会の審議結果を受けてリスク管理機関が検討を行います。御指摘については、リスク管理に関する御意見であり、必ずしも評価書に記載すべき事項ではないと考えます。</p>
15	<p><b>【全般的な事項】</b> 幅広い使用予定食品が記載されているが、ナイシンが中性から高いpHでは溶解性も悪く安定性も悪いことが知られているので、チーズ以外の記載された食品で安全性や効果が確かめられたのかは疑問である。</p>	<p>御指摘の有効性については、リスク管理に関する御意見であることから、担当の厚生労働省にお伝えします。 なお、幅広い使用が予定されていることから、評価結果において「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に十分な配慮が必要と考えられる。」と付記しているところです。</p>

	御意見・情報の概要	専門調査会の回答
16	<p><b>【全般的な事項】</b></p> <p>ナイシンについては、抗菌活性が高いペプチドであること、耐性に関する概念、抗菌スペクトルが極めて狭いこと、欧米ではチーズへの使用に限定されていること、使用予定食品は海外における使用食品に比べものにならないくらい多いことから、使用分野を限定すべきである。</p>	<p>申請者から提出された資料によると、欧米においてはチーズ以外にも液状卵等に使用が可能となっております。耐性菌の問題については、「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」と評価しております。ただし、幅広い使用が予定されていることから、評価結果において「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に十分な配慮が必要と考えられる。」と付記しているところです。</p> <p>なお、使用基準については、当委員会の審議結果を受けてリスク管理機関が検討を行うことになることから、御意見を担当の厚生労働省にお伝えいたします。</p>
17	<p><b>【全般的な事項】</b></p> <p>抗生物質が持つ毒性、耐性菌の発生、常在菌への影響など、いくつも問題点が考えられる。現段階では、これらの影響についての研究はまだ十分ではなく調査を続ける必要がある。将来予測されるリスクについて、もっと真摯な態度で臨んでほしい。</p> <p>特に、今回のナイシンのように、乳製品やハム・ソーセージ、調味料、豆腐など、乳幼児や子どもたちが日常的に多く摂取する食品への抗生物質の添加は、慎重であるべき。抗生物質が食品の一部として日常的に体内に取り込まれることの是非について、健康影響と耐性菌の発生などの面から、基本的な考え方の再検討を望む。</p>	<p>ナイシンの評価については、第14回、第17回、第46回、第47回の計4回にわたり当調査会において、慎重に審議を行ったところです。</p> <p>JECFA、FDA 及び SCF においても議論されている耐性菌の問題に関しては、当調査会においても、微生物の専門家から御意見を伺うなど慎重に審議を行ったところであり、「現時点で得られている知見から判断して、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など安全性上の問題を生じる可能性は極めて少ない」と評価しております。</p> <p>また、添加物に対するものではないものの、薬剤耐性菌に関する最新の評価指針である「家畜等への抗菌性物質の使用により選択される薬剤耐性菌の食品健康影響に関する評価指針（平成16年9月30日食品安全委員会決定）」に基づいて整理、評価もしております（第14回配布参考資料1、第17回配布参考資料1、2）。</p> <p>ただし、幅広い使用が予定されていることから、評価結果において「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に十分な配慮が必要と考えられる。」と付記しているところです。</p> <p>なお、御指摘の、抗生物質を添加物として使用することの可否については、リスク管理に関する御意見であることから、担当の厚生労働省にお伝えします。</p>

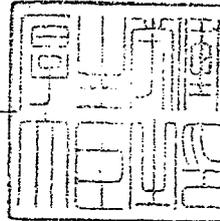
	御意見・情報の概要	専門調査会の回答
18	<p>【全般的な事項】</p> <p>「耐性菌出現による医療上の問題を生じる可能性は極めて少ないと考えられる。」等の記載からみてとれるが、ナイシンに係る食品健康影響評価は、到底科学的・定量的評価とは言えない。</p>	<p>ナイシンの評価については、第14回、第17回、第46回、第47回の計4回にわたり当調査会において、慎重に審議を行ったところです。</p> <p>JECFA、FDA 及び SCF においても議論されている耐性菌の問題に関しては、当調査会においても、微生物の専門家から御意見を伺うなど慎重に審議を行ったところであり、「現時点で得られている知見から判断して、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など安全性上の問題を生じることは極めて少ない」と評価しております。</p> <p>また、添加物に対するものではないものの、薬剤耐性菌に関する最新の評価指針である「家畜等への抗菌性物質の使用により選択される薬剤耐性菌の食品健康影響に関する評価指針（平成16年9月30日食品安全委員会決定）」に基づいて整理、評価もしております（第14回配布参考資料1、第17回配布参考資料1、2）。</p> <p>ただし、幅広い使用が予定されていることから、評価結果において「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に十分な配慮が必要と考えられる。」と付記しているところです。</p>

	御意見・情報の概要	専門調査会の回答
19	<p><b>【全般的な事項】</b></p> <p>ナイシンの指定後に、ナイシンを使用するのではなく、それらを産生する菌を食品に使用する場面が考えられる。また、各種のバクテリオシンの利用も研究され、特許なども数多く見られる。リスク管理機関である厚生労働省におかれては、規格や使用基準の設定にとどまらず、先の「照会」をもとに、監視・指導方針の詳細をお示しいただきたいと願っている。</p> <p>各種のバクテリオシンの食品への利用が考えられ、多種の類似物質の販売が予見される。ナイシンに関する健康影響評価の影響は極めて大きい。そのことを踏まえたリスク評価を望むものである。このような商業的な物質については、毒性評価にとどまらず、健康影響評価は、社会的側面からも検討されるべきである。</p>	<p>頂いた御意見は、リスク管理に関する御意見でもあることから、担当の厚生労働省にお伝えします。</p> <p>なお、食品安全委員会の行う食品健康影響評価は、最新の科学的知見に基づき、客観的かつ中立公正に行うこととしております。</p>

厚生労働省発食安第0123004号  
平成 2 0 年 1 月 2 3 日

薬事・食品衛生審議会  
会長 望月 正隆 殿

厚生労働大臣 舛添 要



諮 問 書

食品衛生法（昭和 2 2 年法律第 2 3 3 号）第 1 1 条第 1 項の規定に基づき、下記の  
事項について、貴会の意見を求めます。

記

次に掲げる農薬及び動物用医薬品の食品中の残留基準設定について

イソプロチオラン



平成 20 年 4 月 7 日

薬事・食品衛生審議会  
食品衛生分科会長 吉倉 廣 殿

薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会  
農薬・動物用医薬品部会長 大野 泰雄

薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会  
農薬・動物用医薬品部会報告について

平成 20 年 1 月 23 日厚生労働省発食安第 0123004 号をもって諮問された、食品衛生法（昭和 22 年法律第 233 号）第 11 条第 1 項の規定に基づくイソプロチオランに係る食品規格（食品中の農薬及び動物用医薬品の残留基準）の設定について、当部会で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。



(別添)

## イソプロチオラン

1. 品目名：イソプロチオラン (Isoprothiolane)

2. 用途：殺菌剤／牛の肝疾患用剤

農薬としてはマロン酸エステル系殺菌剤であり、いもち病菌を始め白紋羽病菌等に対して強い菌糸生育阻害作用を有する。いもち病菌に対しては、付着器からの侵入過程を強く阻害する。また本剤は、ウンカ・ヨコバイ類に対し殺虫活性を示し、寿命を短縮させたり、産卵数を減少させる。さらに稲に対しては、根の伸長及び発根を促進する効果も確認されている。

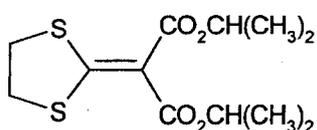
動物用医薬品としては牛の肝疾患用剤であり、作用機構としては、肝細胞に作用し、肝臓におけるタンパク質合成を促進することにより、脂質代謝を含めた肝機能を向上させる。

3. 化学名：

diisopropyl 1,3-dithiolan-2-ylidenemalonate(IUPAC)

bis (1-methylethyl) 1,3-dithiolan-2-ylidenepropanedioate(CAS)

4. 構造式及び物性



分子式  $C_{12}H_{18}O_4S_2$

分子量 290.39

水溶解度 0.0485g/L (20°C)

分配係数  $\log_{10}Pow=2.80$

(メーカー提出資料より)

5. 適用病害虫の範囲及び使用方法

(1) 農薬としての使用方法

本薬の適用病害虫の範囲及び使用方法は以下のとおり。

使用液量、使用時期となっているものについては、今回農薬取締法（昭和 23 年法律第 82 号）に基づく適用拡大申請がなされたものを示している。

①2.5%イソプロチオラン粉剤

作物名	適用病害虫名	使用量	使用時期	本剤の使用回数	使用方法	イソプロチオランを含む農薬の総使用回数
稲	いもち病	3~4kg/10a	<u>収穫 45 日前まで</u>	3 回以内	散布	3 回以内 (床土への混和及び育苗箱への処理は合計 1 回)

②40.0%イソプロチオラン乳剤

作物名	適用病害虫名	希釈倍数	使用液量	使用時期	本剤の使用回数	使用方法	イソプロチオランを含む農薬の総使用回数
稲	いもち病	1000 倍	—	<u>収穫 45 日前まで</u>	3 回以内	散布	3 回以内 (床土への混和及び育苗箱への処理は合計 1 回以内)
		30 倍	<u>3L/10a</u>			空中散布	
		8 倍	800mL/10a			無人ヘリコプターによる散布	

作物名	使用目的	希釈倍数	使用液量	使用時期	本剤の使用回数	使用方法	イソプロチオランを含む農薬の総使用回数
稲	登熟歩合向上	1000 倍	150L/10a	穂ばらみ期～ 穂揃い期 <u>但し、収穫 45 日前まで</u>	3 回以内	散布	3 回以内 (床土への混和及び育苗箱への処理は合計 1 回以内)

③40.0%イソプロチオラン水和剤

作物名	適用病害虫名	希釈倍数	使用液量	使用時期	本剤の使用回数	使用方法	イソプロチオランを含む農薬の総使用回数
稲	いもち病	25倍	-	箱育苗の苗の緑化期から移植直前まで	1回	育苗箱 (30×60×3 cm、 使用土壌約 5L) 1箱当たり 500mL を灌注する。	3回以内 (床土への混和及び 育苗箱への処理 は合計 1回以内)
		1000倍		収穫 45 日前まで	3回	散布	
		30倍	3L/10a		以内	空中散布	

作物名	使用目的	希釈倍数	使用時期	本剤の使用回数	使用方法	イソプロチオランを含む農薬の総使用回数
稲	ムレ苗防止	50～ 100倍	箱育苗の苗の 緑化始期	1回	育苗箱 (30×60×3 cm、 使用土壌約 5L) 1箱当たり 500mL を灌注する。	3回以内 (床土への混和及び 育苗箱への処理 は合計 1回以内)

④12.0%イソプロチオラン粒剤

作物名	適用病害虫名	使用量	使用時期	本剤の使用回数	使用方法	イソプロチオランを含む農薬の総使用回数
稲	いもち病	3～5kg/10a	葉いもちに対しては 初発 7～10 日前 穂いもちに対しては 出穂 10～30 日前 但し、収穫 45 日前まで	3回以内	湛水散布	3回以内 (床土への混和及び 育苗箱への処理 は合計 1回以内)
		育苗箱 (30×60×3 cm、 使用土壌約 5L) 1箱当たり 50～75g	苗の緑化期から 移植直前まで	1回	本剤の所定量を育苗箱中の苗の上から均一に散粒する。	
	小粒菌核病	4～5kg/10a	出穂 10～30 日前まで 但し、収穫 45 日前まで	3回以内	湛水散布	

④12.0%イソプロチオラン粒剤 (つづき)

作物名	適用病害虫名	使用量	使用時期	本剤の使用回数	使用方法	イソプロチオランを含む農薬の総使用回数
稲	トビイロウンカ	育苗箱 (30×60×3 cm、 使用土壌約 5L) 1 箱当り 75g と 本田 4～5kg の体系処理	育苗箱： 苗の緑化から移植直前まで 本田： 第 2 世代老令幼虫～ 第 3 世代若令幼虫期 <u>但し、収穫 45 日前まで</u>	育苗箱：1 回、 本田：3 回以内	育苗箱： 本剤の所定量 を育苗箱中の 苗の上から均 一に散粒する。 本田：湛水散布	3 回以内 (床土への混和及 び育苗箱への処理 は合計 1 回以内)
		本田 1 回目 3～5kg/10a と 本田 2 回目 4～5kg/10a の体系処理	1 回目： 第 2 回成虫飛来期 2 回目： 第 2 世代老令幼虫～ 第 3 世代若令幼虫期 <u>但し、収穫 45 日前まで</u>			
なし	白紋羽病	3～5kg/樹	落花直後まで	2 回以内	土壌混和	2 回以内
りんご			収穫 60 日前まで	1 回		
うめ						
ぶどう		3kg/樹	萌芽期まで	1 回		1 回
びわ			開花前			
もも			発芽前			

作物名	使用目的	使用量	使用時期	本剤の使用回数	使用方法	イソプロチオランを含む農薬の総使用回数
稲	ムレ苗防止	育苗箱 (30×60×3 cm、 使用土壌 5L) 1 箱当り 15g	は種前	1 回	本剤の所定量を育 苗箱用の床土に均 一に混和する。	3 回以内 (床土への混和及 び育苗箱への処理 は合計 1 回以内)
		育苗箱 (30×60×3 cm、 使用土壌 5L) 1 箱当り 25～50g	苗の緑化 始期		本剤の所定量を育 苗箱中の苗の上か ら均一に散粒する。	
	登熟歩合向上	4kg/10a	出穂 10～20 日前 <u>但し、収穫 45 日前まで</u>	3 回以内	湛水散布	

④12.0%イソプロチオラン粒剤（つづき）

作物名	使用目的	使用量	使用時期	本剤の使用回数	使用方法	イソプロチオランを含む農薬の総使用回数
りんご (わい性樹)	野鼠の食害回避	200g/樹	根雪前	2回以内	本剤の所定量を樹冠下半径約50cmの範囲の土壌と均一に混和する。	2回以内

⑤36.0%イソプロチオラン粒剤

作物名	適用病害虫名	使用量	使用時期	本剤の使用回数	使用方法	イソプロチオランを含む農薬の総使用回数
稲	いもち病	1~1.5kg/10a	葉いもちに対しては 初発7~10日前 穂いもちに対しては 出穂10~30日前 但し、収穫45日前まで	3回以内	湛水散布	3回以内 (床土への混和及び育苗箱への処理は合計1回以内)
					無人ヘリコプターによる散布	

(2) 動物用医薬品としての使用方法

対象動物、品目名及び使用方法			使用国	休薬期間
牛	フジックス	50 mg/kg 体重/日を、1日1回28日間連続経口投与	日本	最終投与後14日
泌乳牛				最終投与後24時間

6. 作物残留試験

(1) 分析の概要

① 分析対象の化合物

- ・ イソプロチオラン

② 分析法の概要

試料をアセトン（またはアセトン/ベンゼン）で抽出し、必要に応じアセトニトリル、ヘキサン、ジクロロメタンで分配後、カラムクロマトグラフィーにより精製しガスクロマトグラフ（ECDまたはFPD<sup>注</sup>）もしくは高速液体クロマトグラフで定量する。

注) ECD：電子捕獲検出器 (Electron Capture Detector)

FPD：炎光光度検出器 (Flame Photometric Detector)

定量限界：0.001~1 ppm

## (2) 作物残留試験結果

### ① 稲

稲（玄米）を用いた作物残留試験（2例）において、12%粉剤を計1～3または2回散布（4kg/10a）したところ、散布後64～78日の最大残留量<sup>注1)</sup>は0.026、0.012ppmであった。

稲（玄米）を用いた作物残留試験（1例）において、12%粉剤を計2回散布（5kg/10a）したところ、散布後71～78日の最大残留量は0.008 ppmであった。

稲（玄米）を用いた作物残留試験（2例）において40%乳剤の1,000倍希釈液を計2または3回散布（100～180L/10a）したところ、散布後43<sup>注2)</sup>～84日の最大残留量は0.36、0.34 ppmであった。

稲（玄米）を用いた作物残留試験（2例）において、2.5%粉剤を計3回散布（4、3-4kg/10a）したところ、散布後31、32日の最大残留量は0.104、0.300 ppmであった。ただし、これらの試験は適用範囲内で行われていない。

稲（稲わら）を用いた作物残留試験（2例）において、2.5%粉剤を計3回散布（4、3-4kg/10a）したところ、散布後31、32日の最大残留量は0.90、1.27 ppmであった。ただし、これらの試験は適用範囲内で行われていない。

稲（玄米）を用いた作物残留試験（2例）において、2.5%粉剤を計3回散布（4、3-4kg/10a）したところ、散布後31、29日の最大残留量は0.178、0.709 ppmであった。ただし、これらの試験は適用範囲内で行われていない。

稲（稲わら）を用いた作物残留試験（2例）において、2.5%粉剤を計3回散布（4、3-4kg/10a）したところ、散布後31、29日の最大残留量は1.68、1.24 ppmであった。ただし、これらの試験は適用範囲内で行われていない。

稲（玄米）を用いた作物残留試験（2例）において、40%乳剤の1,000倍希釈液を計3回散布（120-150, 150L/10a）したところ、散布後30日の最大残留量は0.80、0.80 ppmであった。ただし、これらの試験は適用範囲内で行われていない。

稲（稲わら）を用いた作物残留試験（2例）において、40%乳剤の1,000倍希釈液を計3回散布（120-150, 150L/10a）したところ、散布後30日の最大残留量は0.65、1.97 ppmであった。ただし、これらの試験は適用範囲内で行われていない。

稲（玄米）を用いた作物残留試験（2例）において、40%乳剤の1,000倍希釈液を計3回散布（120-150, 150L/10a）したところ、散布後30日の最大残留量は0.56、0.68 ppmであった。ただし、これらの試験は適用範囲内で行われていない。

稲（稲わら）を用いた作物残留試験（2例）において、40%乳剤の1,000倍希釈液を計3回散布（120-150, 150L/10a）したところ、散布後30日の最大残留量は0.68、1.80 ppmであった。ただし、これらの試験は適用範囲内で行われていない。

稲（玄米）を用いた作物残留試験（2例）において、7%微粒剤を計3回散布（3-4、4kg/10a）したところ、散布後45日の最大残留量は0.23、1.28 ppmであった。た

だし、これらの試験は適用範囲内で行われていない。

稲（稲わら）を用いた作物残留試験（2例）において、7%微粒剤を計3回散布（3-4, 4kg/10a）したところ、散布後45日の最大残留量は1.32、8.25 ppmであった。ただし、これらの試験は適用範囲内で行われていない。

稲（玄米）を用いた作物残留試験（2例）において、12%粒剤を計2または3回散布（3, 3-5kg/10a）したところ、散布後44<sup>註2)</sup>、45日の最大残留量は0.53、0.06 ppmであった。

稲（稲わら）を用いた作物残留試験（2例）において、12%粒剤を計2または3回散布（3, 3-5kg/10a）したところ、散布後44<sup>註2)</sup>、45日の最大残留量は25.8、43.2 ppmであった。

稲（玄米）を用いた作物残留試験（2例）において、40%乳剤の8倍希釈液を計2回空中散布（0.8L/10a）したところ、散布後41、48日の最大残留量は0.020、0.10 ppmであった。ただし、散布後41日後に行われた試験は適用範囲内で行われていない。

稲（稲わら）を用いた作物残留試験（2例）において、40%乳剤の8倍希釈液を計2回空中散布（0.8L/10a）したところ、散布後41、48日の最大残留量は1.44、0.20 ppmであった。ただし、散布後41日後に行われた試験は適用範囲内で行われていない。

稲（玄米）を用いた作物残留試験（2例）において、40%乳剤の1,000倍希釈液を計3回散布（120, 150L/10a）したところ、散布後54、48日の最大残留量は0.030、0.205 ppmであった。

稲（稲わら）を用いた作物残留試験（2例）において、40%乳剤の1,000倍希釈液を計3回散布（120, 150L/10a）したところ、散布後54、48日の最大残留量は0.54、0.32 ppmであった。

稲（玄米）を用いた作物残留試験（2例）において、30%液剤を計2回空中散布（0.15L/10a）したところ、散布後56、36日の最大残留量は0.03、0.515 ppmであった。ただし、これらの試験は適用範囲内で行われていない。

稲（稲わら）を用いた作物残留試験（2例）において、30%液剤を計2回空中散布（0.15L/10a）したところ、散布後56、36日の最大残留量は0.08、0.26 ppmであった。ただし、これらの試験は適用範囲内で行われていない。

稲（玄米）を用いた作物残留試験（1例）において、40%乳剤の1,000倍希釈液を1回散布（150L/10a）したところ、散布後56日の最大残留量は0.018 ppmであった。

稲（稲わら）を用いた作物残留試験（1例）において、40%乳剤の1,000倍希釈液を1回散布（150L/10a）したところ、散布後56日の最大残留量は0.27 ppmであった。

稲（玄米）を用いた作物残留試験（1例）において、30%液剤の1,000倍希釈液を計2回散布（150L/10a）したところ、散布後42日の最大残留量は0.588 ppmであった。ただし、この試験は適用範囲内で行われていない。

稲（稲わら）を用いた作物残留試験（1例）において、30%液剤の1,000倍希釈液を計2回散布（150L/10a）したところ、散布後42日の最大残留量は0.32 ppmであった。ただし、この試験は適用範囲内で行われていない。

稲（玄米）を用いた作物残留試験（2例）において、40%乳剤の1,000倍希釈液を1回散布（180L/10a）したところ、散布後50～60日の最大残留量は<0.01、<0.01 ppmであった。

稲（稲わら）を用いた作物残留試験（2例）において、40%乳剤の1,000倍希釈液を1回散布（180L/10a）したところ、散布後50～60日の最大残留量は0.16、0.64 ppmであった。

稲（玄米）を用いた作物残留試験（2例）において、40%乳剤の8倍希釈液を計3回散布（0.8L/10a）したところ、散布後14日の最大残留量は0.378、0.840 ppmであった。ただし、これらの試験は適用範囲内で行われていない。

稲（玄米）を用いた作物残留試験（2例）において、12%粒剤を計3回湛水散布（5kg/10a）したところ、散布後43<sup>註2)</sup>、42日の最大残留量は0.42、0.60 ppmであった。ただし、これらの試験は適用範囲内で行われていない。

稲（稲わら）を用いた作物残留試験（2例）において、12%粒剤を計3回湛水散布（5kg/10a）したところ、散布後43<sup>註2)</sup>、42日の最大残留量は10、29.6 ppmであった。ただし、これらの試験は適用範囲内で行われていない。

稲（玄米）を用いた作物残留試験（2例）において、12%粒剤を計2回湛水散布（5kg/10a）し、2.5%粉剤を1回湛水散布（4kg/10a）したところ、散布後42、41日の最大残留量は0.42、0.34 ppmであった。ただし、これらの試験は適用範囲内で行われていない。

稲（稲わら）を用いた作物残留試験（2例）において、12%粒剤を計2回湛水散布（5kg/10a）し、2.5%粉剤を1回湛水散布（4kg/10a）したところ、散布後42、41日の最大残留量は3.8、8.0 ppmであった。ただし、これらの試験は適用範囲内で行われていない。

稲（玄米）を用いた作物残留試験（2例）において、12%粒剤を計2回湛水散布（5kg/10a）し、40%乳剤の1,000倍希釈液を1回湛水散布（150L/10a）したところ、散布後42、41日の最大残留量は0.94、0.42 ppmであった。ただし、これらの試験は適用範囲内で行われていない。

稲（稲わら）を用いた作物残留試験（2例）において、12%粒剤を計2回湛水散布（5kg/10a）し、40%乳剤の1,000倍希釈液を1回湛水散布（150L/10a）したところ、散布後42、41日の最大残留量は4.1、4.3 ppmであった。ただし、これらの試験は適用範囲内で行われていない。

稲（玄米）を用いた作物残留試験（2例）において、40%乳剤の300倍希釈液を計3回散布（25L/10a）したところ、散布後14日の最大残留量は0.28、0.91 ppmであった。ただし、これらの試験は適用範囲内で行われていない。

稲（稲わら）を用いた作物残留試験（2例）において、40%乳剤の300倍希釈液を計3回散布（25L/10a）したところ、散布後14日の最大残留量は3.18、3.78 ppmであった。ただし、これらの試験は適用範囲内で行われていない。

#### ②りんご

りんご（果実）を用いた作物残留試験（2例）において、12%粒剤を計1または2回土壌混和（5kg/樹）したところ、混和後133～210日の最大残留量は<0.01、<0.01 ppmであった。

#### ③なし

なし（果実）を用いた作物残留試験（2例）において、12%粒剤を計1または2回土壌混和（5kg/樹）したところ、混和後97～155日の最大残留量は<0.01、<0.01 ppmであった。

#### ④びわ

びわ（果実）を用いた作物残留試験（2例）において、12%粒剤を1回土壌混和（3kg/樹）したところ、混和後252、244日の最大残留量は<0.005、<0.005 ppmであった。

#### ⑤うめ

うめ（果実）を用いた作物残留試験（2例）において、12%粒剤を1回土壌混和（5kg/樹）したところ、混和後61、89日の最大残留量は<0.005、0.007 ppmであった。

#### ⑥ぶどう

ぶどう（果実）を用いた作物残留試験（2例）において、12%粒剤を1回土壌混和（5kg/樹）したところ、混和後169、152日の最大残留量は<0.005、<0.005 ppmであった。

#### ⑦もも

もも（果実）を用いた作物残留試験（2例）において、12%粒剤を1回土壌混和（3kg/樹）したところ、混和後160、112日の最大残留量は<0.005、<0.005 ppmであった。

注1) 最大残留量：当該農薬の申請の範囲内で最も多量に使い、かつ最終使用から収穫までの期間を最短とした場合の作物残留試験（いわゆる最大使用条件下の作物残留試験）を実施し、それぞれの試験から得られた残留量。

(参考：平成10年8月7日付「残留農薬基準設定における暴露評価の精密化に関する意見具申」)  
注2) 経過日数43、44日の試験については、本来最大使用条件下として定められた45日の試験成績の誤差範囲内とみなし、当該試験成績を暴露評価の対象としている。

## 7. 魚介類への推定残留量

本農薬については水系を通じた魚介類への残留が想定されることから、農林水産省から魚介類に関する個別の残留基準の設定について要請されている。このため、本農薬の水産動植物被害予測濃度<sup>注1)</sup>及び生物濃縮係数(BCF:Bioconcentration Factor)から、以下の通り魚介類中の推定残留量を算出した。

### (1) 水産動植物被害予測濃度

本農薬が水田及び水田以外のいずれの場面においても使用されることから、水田PECtier2<sup>注2)</sup>及び非水田PECtier1<sup>注3)</sup>について算出したところ、水田PECtier2は9.7ppb、非水田PECtier1は0.26ppbとなったことから、水田PECtier2の9.7ppbを採用した。

### (2) 生物濃縮係数

本農薬はオクタノール/水分配係数( $\log_{10}Pow$ )が2.80であることから、魚類濃縮性試験が実施されていないことから、BCFについては実測値が得られていない。このため、 $\log_{10}Pow$ から、相関式( $\log_{10}BCF=0.80\log_{10}Pow-0.52$ )を用いて52と算出された。

### (3) 推定残留量

(1)及び(2)の結果から、水産動植物被害予測濃度:9.7ppb、BCF:52とした。

$$\text{推定残留量} = 9.7 \text{ ppb} \times (52 \times 5) = 2522 \text{ ppb} = 2.522 \text{ ppm}$$

注1) 農薬取締法第3条第1項第6号に基づく水産動植物の被害防止に係る農薬の登録保留基準設定における規定に準拠

注2) 水田中や河川中での農薬の分解や土壌・底質への吸着、止水期間等を考慮して算出したもの。

注3) 既定の地表流出率、ドリフト率で河川中に流入するものとして算出したもの。

(参考：平成19年度厚生労働科学研究費補助金食品の安心・安全確保推進研究事業「食品中に残留する農薬等におけるリスク管理手法の精密化に関する研究」分担研究「魚介類への残留基準設定法」報告書)

## 8. 乳牛における残留試験

50ppmおよび500ppmのイソプロチオランを含む飼料を4.5kg/頭/日(227及び2249mg/頭/日)で4週間摂食させた後、回復期間として2週間普通飼料を与え、投与開始後1、3、7、14、21及び28日目並びに回復期間の3、7及び14日目の乳汁中のイソプロチオ

ランを分析したところ、全て定量限界未満であった（定量限界：0.001 ppm）。

## 9. 動物用医薬品の対象動物における残留試験

### (1) 分析の概要

#### ①分析対象化合物

イソプロチオラン

#### ②分析法の概要：

高速液体クロマトグラフ法により、対象動物各組織における残留性が検証されている。

### (2) 組織における残留

① ウシにイソプロチオランとして 50 mg/kg 体重/日を 28 日間連続して経口投与した。最終投与後 2 時間、1、3、5 及び 7 日の各組織におけるイソプロチオラン濃度を以下に示す。

イソプロチオランとして、50 mg/kg 体重/日を 28 日間連続して経口投与した時の食用組織中のイソプロチオラン濃度 (ppm)

試験日 (投与後)	筋肉	脂肪	肝臓	腎臓	小腸
2 時間	<0.02 (2), 0.03, 0.05	1.53±0.91	0.15±0.09	0.07±0.05	1.61±1.26
1 日	<0.02	0.65±0.22	0.05±0.02	<0.02	0.21±0.13
3 日	<0.02	<0.02, 0.06, 0.13, 0.26	<0.02	<0.02	<0.02
5 日	<0.02	<0.02 (3), 0.04	<0.02	<0.02	<0.02
7 日	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02

数値は、分析値又は平均値±標準偏差で示し、括弧内は検体数を示す。

検出限界：0.02 ppm

② 泌乳牛にイソプロチオランとして 50 mg/kg 体重/日を 28 日間連続して経口投与した。最終投与後 3、6、9、12、15、18、21 及び 24 時間の乳中におけるイソプロチオラン濃度を以下に示す。

イソプロチオランとして、50 mg/kg 体重/日を 28 日間連続して経口投与した時の乳中のイソプロチオラン濃度 (ppm)

試験日 (投与後時間)	乳
3	0.09±0.08
6	0.07±0.03
9	0.06±0.03
12	0.08±0.07
15	0.04±0.02
18	<0.02
21	<0.02
24	<0.02

数値は、分析値又は平均値±標準偏差で示す。

検出限界：0.02 ppm

## 10. ADIの評価

食品安全基本法（平成 15 年法律第 48 号）第 24 条第 1 項第 1 号及び同条第 2 項の規定に基づき、平成 19 年 8 月 21 日付け厚生労働省発食安第 0821001 号により食品安全委員会あて意見を求めたイソプロチオランに係る食品健康影響評価について、以下のとおり評価されている。

無毒性量：10 mg/kg 体重/day

(動物種)	イヌ
(投与方法)	強制経口投与
(試験の種類)	慢性毒性試験
(期間)	1 年間

安全係数：100

ADI：0.1mg/kg 体重/day

### 11. 諸外国における状況

JMPR及びJECFAにおける毒性評価はなされておらず、国際基準も設定されていない。

米国、カナダ、欧州連合（EU）、オーストラリア及びニュージーランドについて調査した結果、いずれの国及び地域においても基準値が設定されていない。

### 12. 基準値案

#### (1) 残留の規制対象

イソプロチオラン本体

なお、食品安全委員会によって作成された食品健康影響評価においては、暴露評価対象物質としてイソプロチオランを設定している。

(2) 基準値案

別紙2のとおりである。

(3) 暴露評価

各食品について基準値案の上限まで又は作物残留試験成績等のデータから推定される量のイソプロチオランが残留していると仮定した場合、国民栄養調査結果に基づき試算される、1日当たり摂取する農薬の量（理論最大1日摂取量(TMDI)）のADIに対する比は、以下のとおりである。詳細な暴露評価は別紙3参照。

なお、本暴露評価は、各食品分類において、加工・調理による残留農薬の増減が全くないとの仮定の下におこなった。

	TMDI / ADI (%) <sup>注)</sup>
国民平均	12.3
幼小児 (1~6歳)	20.9
妊婦	10.2
高齢者 (65歳以上)	12.3

注) TMDI 試算は、基準値案×摂取量の総和として計算している。

(4) 本剤については、平成17年11月29日付け厚生労働省告示第499号により、食品一般の成分規格7に食品に残留する量の限度（暫定基準）が定められているが、今般、残留基準の見直しを行うことに伴い、暫定基準は削除される。

## イソプロチオラン作物残留試験一覧表

農作物	試験圃場数	試験条件				最大残留量 (ppm)
		剤型	使用量・使用方法	回数	経過日数	
稲 (玄米)	2	12%粒剤	4kg/10a散布	1-3回	64日	圃場A:0.026 (3回、64日) 圃場B:0.012 (2回、71日)
				2回	71, 78日	
稲 (玄米)	1	12%粒剤	5kg/10a散布	2回	71, 78日	圃場A:0.008 (2回、71日)
稲 (玄米)	2	40%乳剤	1000倍散布 100-180L/10a	2-3回	44, 48日	圃場A:0.36(2回、44日) 圃場B:0.34(2回、43日)
					43, 84日	
稲 (玄米)	2	2.5%粉剤	4, 3-4kg/10a散布	3回	31日	圃場A:0.104(3回、31日) (#) 圃場B:0.300(3回、32日) (#)
					32日	
稲 (稲わら)	2	2.5%粉剤	4, 3-4kg/10a散布	3回	31日	圃場A:0.90(3回、31日) (#) 圃場B:1.27(3回、32日) (#)
					32日	
稲 (玄米)	2	2.5%粉剤	4, 3-4kg/10a散布	3回	31日	圃場A:0.178(3回、31日) (#) 圃場B:0.709(3回、29日) (#)
					29日	
稲 (稲わら)	2	2.5%粉剤	4, 3-4kg/10a散布	3回	31日	圃場A:1.68(3回、31日) (#) 圃場B:1.24(3回、29日) (#)
					29日	
稲 (玄米)	2	40%乳剤	1000倍散布 120-150, 150L/10a	3回	30日	圃場A:0.80(3回、30日) (#) 圃場B:0.80(3回、30日) (#)
稲 (稲わら)	2	40%乳剤	1000倍散布 120-150, 150L/10a	3回	30日	圃場A:0.65(3回、30日) (#) 圃場B:1.97(3回、30日) (#)
稲 (玄米)	2	40%水和剤	1000倍散布 120-150, 150L/10a	3回	30日	圃場A:0.56(3回、30日) (#) 圃場B:0.68(3回、30日) (#)
稲 (稲わら)	2	40%水和剤	1000倍散布 120-150, 150L/10a	3回	30日	圃場A:0.68(3回、30日) (#) 圃場B:1.80(3回、30日) (#)
稲 (玄米)	2	7%微粒剤	3-4, 4kg/10a散布	3回	45日	圃場A:0.23(3回、45日) (#) 圃場B:1.28(3回、45日) (#)
稲 (稲わら)	2	7%微粒剤	3-4, 4kg/10a散布	3回	45日	圃場A:1.32(3回、45日) (#) 圃場B:8.25(3回、45日) (#)
稲 (玄米)	2	12%粒剤	3, 3-5kg/10a散布	2-3回	44日	圃場A:0.53(3回、44日) 圃場B:0.06
					45日	
稲 (稲わら)	2	12%粒剤	3, 3-5kg/10a散布	2-3回	44日	圃場A:25.8(3回、44日) 圃場B:43.2
					45日	
稲 (玄米)	2	40%乳剤	8倍空中散布 0.8L/10a	2回	41日	圃場A:0.02(2回、41日) (#) 圃場B:0.10(2回、48日)
					48日	
稲 (稲わら)	2	40%乳剤	8倍空中散布 0.8L/10a	2回	41日	圃場A:1.44(2回、41日) (#) 圃場B:0.20(2回、48日)
					48日	
稲 (玄米)	2	40%乳剤	1000倍地上散布 120, 150L/10a	2回	54日	圃場A:0.03(2回、54日) 圃場B:0.205(2回、48日)
					48日	
稲 (稲わら)	2	40%乳剤	1000倍地上散布 120, 150L/10a	2回	54日	圃場A:0.54(2回、54日) 圃場B:0.32(2回、48日)
					48日	
稲 (玄米)	2	30%液剤	原液空中散布 0.15L/10a	2回	56日	圃場A:<0.03(2回、56日) (#) 圃場B:0.515(2回、36日) (#)
					36日	
稲 (稲わら)	2	30%液剤	原液空中散布 0.15L/10a	2回	56日	圃場A:0.08(2回、56日) (#) 圃場B:0.26(2回、36日) (#)
					36日	
稲 (玄米)	1	40%乳剤	1000倍散布 150L/10a	1回	56日	圃場A:0.018(2回、56日)
稲 (稲わら)	1	40%乳剤	1000倍地上散布 150L/10a	1回	56日	圃場A:0.27(2回、56日)
稲 (玄米)	1	30%液剤	1000倍散布 150L/10a	2回	42日	圃場A:0.588(2回、42日) (#)

農作物	試験圃 場数	試験条件				最大残留量 (ppm)
		剤型	使用量・使用方法	回数	経過日数	
稲 (稲わら)	1	30%液剤	1000倍地上散布 150L/10a	2回	42日	圃場A:0.32(2回、42日) (#)
稲 (玄米)	2	40%乳剤	1000倍散布 180L/10a	1回	50, 60日	圃場A:<0.01(1回、50日) 圃場B:<0.01(1回、50日)
稲 (稲わら)	2	40%乳剤	1000倍散布 180L/10a	1回	50, 60日	圃場A:0.16(1回、60日) 圃場B:0.64(1回、50日)
りんご (果実)	2	12%粒剤	土壌混和 5kg/樹	1-2回	133, 168日 168, 210日	圃場A:<0.01(2回、133日) 圃場B:<0.01(2回、168日)
なし (果実)	2	12%粒剤	土壌混和 5kg/樹	1-2回	97, 155日 113, 152日	圃場A:<0.01(2回、97日) 圃場B:<0.01(2回、113日)
びわ (果実)	2	12%粒剤	土壌混和 3kg/樹	1回	252日 244日	圃場A:<0.005(1回、252日) 圃場B:<0.005(1回、244日)
うめ (果実)	2	12%粒剤	土壌混和 5kg/樹	1回	61日 89日	圃場A:<0.005(1回、61日) 圃場B:0.007(1回、89日)
ぶどう (果実)	2	12%粒剤	土壌混和 5kg/樹	1回	169日 152日	圃場A:<0.005(1回、169日) 圃場B:<0.005(1回、152日)
もも (果実)	2	12%粒剤	土壌混和 3kg/樹	1回	160日 112日	圃場A:<0.005(1回、160日) 圃場B:<0.005(1回、112日)
稲 (玄米)	2	40%乳剤	8倍空中散布 0.8L/10a	3回	14日	圃場A:0.378(3回、14日) (#) 圃場B:0.840(3回、14日) (#)
稲 (玄米)	2	12%粒剤	5kg/10a湛水散布	3回	43日 42日	圃場A:0.42(3回、43日) 圃場B:0.60(3回、42日) (#)
稲 (稲わら)	2	12%粒剤	5kg/10a湛水散布	3回	43日 42日	圃場A:5.50(3回、43日) 圃場B:29.6(3回、42日) (#)
稲 (玄米)	2	12%粒剤 +2.5%粉剤	5kg/10a 散布 +4kg/10a 散布	1+2回	42日 41日	圃場A:0.42(3回、42日) (#) 圃場B:0.34(3回、41日) (#)
稲 (稲わら)	2	12%粒剤 +2.5%粉剤	5kg/10a 散布 +4kg/10a 散布	1+2回	42日 41日	圃場A:3.8(3回、42日) (#) 圃場B:8.0(3回、41日) (#)
稲 (玄米)	2	12%粒剤 +40%乳剤	5kg/10a 散布 +1000倍湛水散布 150L/10a	1+2回	42日 41日	圃場A:0.94(3回、42日) (#) 圃場B:0.42(3回、41日) (#)
稲 (稲わら)	2	12%粒剤 +40%乳剤	5kg/10a 散布 +1000倍湛水散布 150L/10a	1+2回	42日 41日	圃場A:4.1(3回、42日) (#) 圃場B:4.3(3回、41日) (#)
稲 (玄米)	2	40%乳剤	300倍散布 25L/10a	3回	14日	圃場A:0.28(3回、14日) (#) 圃場B:0.91(3回、14日) (#)
稲 (稲わら)	2	40%乳剤	300倍散布 25L/10a	3回	14日	圃場A:3.18(3回、14日) (#) 圃場B:3.78(3回、14日) (#)

(#) これらの作物残留試験は、申請の範囲内で試験が行われていない。

最大使用条件下の作物残留試験条件に、アンダーラインを付している。

なお、食品安全委員会農薬専門調査会の農薬評価書「インプロチオラン」に記載されている作物残留試験成績は、各試験条件における残留農薬の最高値及び各試験場、検査機関における最高値の平均値を示したものであり、上記の最大残留量の定義と異なっている。

食品名	基準値案 ppm	基準値 現行 ppm	登録 有無	参考基準値		残留試験成績 ppm
				国際 基準 ppm	外国 基準値 ppm	
米	2		○			0.026, 0.012, 0.008, 0.36, 0.34, 0.104(#), 0.300(#), 0.178(#), 0.709(#), 0.80(#), 0.80(#), 0.56(#), 0.68(#), 0.23(#), 1.28(#), 0.53, 0.06, 0.020(#), 0.10, 0.030, 0.205, <0.03(#), 0.515(#), 0.018, 0.588(#), <0.01, <0.01, 0.370(#), 0.840(#), 0.42(#), 0.60(#), 0.42(#), 0.34(#), 0.94(#), 0.42(#), 0.28(#), 0.92(#)
すいか メロン類果実 まくわうり						
みかん なつみかんの果実全体 レモン オレンジ グレープフルーツ ライム その他のかんきつ類果実						
りんご 日本なし 西洋なし マルメロ びわ	0.05 0.05 0.05 0.02		○ ○ ○ ○			<0.01, <0.01 <0.01, <0.01 <0.005, <0.005
もも ネクタリン あんず(アプリコットを含む) すもも(プルーンを含む) うめ おうとう(チェリーを含む)	0.02 0.03		○ ○			<0.005, <0.005 <0.005, 0.007
いちご ラズベリー ブラックベリー ブルーベリー クランベリー ハックルベリー その他のベリー類果実						
ぶどう かき	0.02		○			<0.005, <0.005
バナナ キウイ パパイヤ アボカド パイナップル グアバ マンゴー パッションフルーツ なつめやし						
その他の果実						
ひまわりの種子 ごまの種子						

べにばなの種子		0.1				
綿実		0.1				
なたね		0.1				
その他のオイルシード		0.1				
ぎんなん		0.1				
くり		0.1				
ペカン		0.1				
アーモンド		0.1				
くるみ		0.1				
その他のナッツ類		0.1				
その他のスパイス		0.1				
魚介類	3					

(#)で示した作物残留試験成績は、適用範囲内で行われていない。  
平成17年11月29日厚生労働省告示第499号において新しく設定した基準値については、網をつけて示した。

食品名	基準値 案 ppm	基準値 現行 ppm	参考基準値		休薬期間	残留試験成績	
			国際 基準 ppm	外国 基準値 ppm		試験日	参照値 ppm
牛の筋肉	0.02	0.02			14日	7日	<0.02
牛の脂肪	0.02	0.02			14日	7日	<0.02
牛の肝臓	0.02	0.02			14日	7日	<0.02
牛の腎臓	0.02	0.02			14日	7日	<0.02
牛の食用部分	0.02	0.02			14日	7日	<0.02(小腸)
乳	0.02	0.02			24時間	24時間	<0.02

平成17年11月29日厚生労働省告示第499号において新しく設定した基準値については、網をつけて示した。

(別紙3)

イソプロチオラン推定摂取量 (単位:  $\mu\text{g}/\text{人}/\text{day}$ )

食品群	基準値案 (ppm)	国民平均 TMDI	幼小児 (1~6歳) TMDI	妊婦 TMDI	高齢者 (65歳以上) TMDI
米(玄米)	2	370.2	195.4	279.4	377.6
りんご	0.05	1.8	1.8	1.5	1.8
日本なし	0.05	0.3	0.2	0.3	0.3
西洋なし	0.05	0.0	0.0	0.0	0.0
びわ	0.02	0.0	0.0	0.0	0.0
もも	0.02	0.0	0.0	0.1	0.0
うめ	0.03	0.0	0.0	0.0	0.0
ぶどう	0.02	0.1	0.1	0.0	0.1
牛の肉類	0.02	0.4	0.2	0.4	0.4
牛の乳類	0.02	2.9	3.9	3.7	2.9
魚介類	3	282.3	128.4	282.3	282.3
計		658.0	330.1	567.7	665.3
ADI比 (%)		12.3	20.9	10.2	12.3

妊婦及び高齢者については水産物の摂取量データがないため、国民平均の摂取量を参考とした。

TMDI: 理論最大1日摂取量 (Theoretical Maximum Daily Intake)

(参考)

これまでの経緯

- 昭和49年 7月17日 初回農薬登録  
平成17年11月29日 残留基準値の告示  
平成19年 8月 2日 農林水産省より厚生労働省へ基準設定依頼（魚介類）  
平成19年 8月21日 厚生労働大臣から食品安全委員長あてに残留基準設定に係る食品健康影響評価について要請  
平成19年 8月23日 食品安全委員会（要請事項説明）  
平成19年 9月10日 第7回農薬専門調査会確認評価第二部会  
平成19年10月19日 第29回農薬専門調査会幹事会  
平成19年11月27日 第85回動物用医薬品専門調査会  
平成19年12月20日 食品安全委員会における食品健康影響評価（案）の公表  
平成20年 1月23日 薬事・食品衛生審議会へ諮問  
平成20年 2月28日 食品安全委員会（報告）  
平成20年 2月28日 食品安全委員会委員長から厚生労働大臣あてに食品健康影響評価について通知  
平成20年 3月 4日 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会農薬・動物用医薬品部会

●薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会農薬・動物用医薬品部会

[委員]

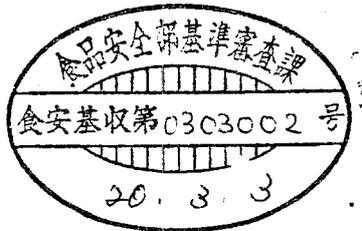
- |         |                                   |
|---------|-----------------------------------|
| 青木 宙    | 東京海洋大学大学院海洋科学技術研究科教授              |
| 井上 松久   | 北里大学副学長                           |
| ○大野 泰雄  | 国立医薬品食品衛生研究所副所長                   |
| 尾崎 博    | 東京大学大学院農学生命科学研究科教授                |
| 加藤 保博   | 財団法人残留農薬研究所理事                     |
| 斉藤 貢一   | 星薬科大学薬品分析化学教室准教授                  |
| 佐々木 久美子 | 国立医薬品食品衛生研究所客員研究員                 |
| 志賀 正和   | 元独立行政法人農業技術研究機構中央農業総合研究センター虫害防除部長 |
| 豊田 正武   | 実践女子大学生活科学部生活基礎化学研究室教授            |
| 米谷 民雄   | 国立医薬品食品衛生研究所食品部長                  |
| 山内 明子   | 日本生活協同組合連合会組織推進本部 本部長             |
| 山添 康    | 東北大学大学院薬学研究科医療薬学講座薬物動態学分野教授       |
| 吉池 信男   | 独立行政法人国立健康・栄養研究所研究企画評価主幹          |
| 鰐淵 英機   | 大阪市立大学大学院医学研究科都市環境病理学教授           |

(○：部会長)

答申 (案)

イソプロチオラン

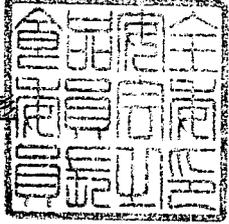
食品名	残留基準値
	ppm
米	2
りんご	0.05
日本なし	0.05
西洋なし	0.05
びわ	0.02
もも	0.02
うめ	0.03
ぶどう	0.02
牛の筋肉	0.02
牛の脂肪	0.02
牛の肝臓	0.02
牛の腎臓	0.02
牛の食用部分	0.02
乳	0.02
魚介類	3



府食第216号  
平成20年2月28日

厚生労働大臣  
舛添 要一 殿

食品安全委員会  
委員長 見上 殿



食品健康影響評価の結果の通知について

平成19年8月21日付け厚生労働省発食安第0821001号をもって貴省から当委員会に対して求められたイソプロチオラン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

イソプロチオランの一日摂取許容量を 0.1 mg/kg体重/日とする。



# 農薬・動物用医薬品評価書

## イソプロチオラン

2008年2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
○ 食品安全委員会農薬専門調査会専門委員名簿.....	4
○ 食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門委員名簿.....	4
○ 要約.....	5
I. 評価対象農薬及び動物用医薬品の概要.....	6
1. 用途.....	6
2. 有効成分の一般名.....	6
3. 化学名.....	6
4. 分子式.....	6
5. 分子量.....	6
6. 構造式.....	6
7. 開発の経緯.....	6
II. 安全性に係る試験の概要.....	7
1. 動物体内運命試験.....	7
(1) 薬物動態.....	7
(2) 排泄.....	8
(3) 体内分布.....	8
(4) 代謝物同定・定量.....	9
2. 植物体内運命試験.....	9
(1) 水稻.....	9
(2) ひめりんご.....	10
(3) ばれいしょ.....	11
3. 土壌中運命試験.....	12
(1) 好氣的湛水土壌中運命試験.....	12
(2) 好氣的土壌中運命試験.....	12
(3) 土壌吸着試験.....	13
4. 水中運命試験.....	13
(1) 加水分解試験.....	13
(2) 水中光分解試験(蒸留水及び自然水).....	13
5. 土壌残留試験.....	13
6. 作物等残留試験.....	14
(1) 作物残留試験.....	14

(2)	魚介類における最大推定残留値.....	14
(3)	子牛における臓器中残留試験.....	14
(4)	育成牛における臓器中残留試験.....	15
7.	乳汁への移行試験.....	15
(1)	連続投与後の乳汁移行試験①.....	15
(2)	連続投与後の乳汁移行試験②.....	16
(3)	連続投与後の乳汁移行試験③.....	16
8.	一般薬理試験.....	16
9.	急性毒性試験.....	18
10.	眼・皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性試験.....	20
11.	亜急性毒性試験.....	20
(1)	16週間亜急性毒性試験(ラット)[参考資料].....	20
(2)	90日間亜急性毒性試験(ラット)①[参考資料].....	20
(3)	90日間亜急性毒性試験(ラット)②.....	20
(4)	16週間亜急性毒性試験(マウス).....	21
(5)	90日間亜急性毒性試験(マウス)[参考資料].....	21
12.	慢性毒性試験及び発がん性試験.....	21
(1)	1年間慢性毒性試験(イヌ).....	21
(2)	2年間慢性毒性/発がん性併合試験(ラット).....	22
(3)	18ヶ月間発がん性試験(マウス).....	23
13.	生殖発生毒性試験.....	23
(1)	3世代繁殖試験(ラット).....	23
(2)	発生毒性試験(ラット).....	23
(3)	発生毒性試験(ウサギ).....	24
14.	遺伝毒性試験.....	24
Ⅲ.	食品健康影響評価.....	25
・	別紙1:代謝物/分解物略称.....	29
・	別紙2:検査値等略称.....	30
・	別紙3:作物残留試験成績.....	32
・	参照.....	35

< 審議の経緯 >

- 1974年 7月 17日 初回農薬登録
- 2005年 11月 29日 残留農薬基準告示 (参照 1)
- 2007年 8月 2日 農林水産省より厚生労働省へ基準設定依頼 (魚介類)
- 2007年 8月 21日 厚生労働大臣より残留基準設定に係る食品健康影響評価について要請 (厚生労働省発食安第 0821001 号)、同  
接受 (参照 2~4)
- 2007年 8月 23日 第 203 回食品安全委員会 (要請事項説明) (参照 5)
- 2007年 9月 10日 第 7 回農薬専門調査会確認評価第二部会 (参照 6)
- 2007年 10月 19日 第 29 回農薬専門調査会幹事会 (参照 7)
- 2007年 11月 27日 第 85 回動物用医薬品専門調査会
- 2007年 12月 20日 第 220 回食品安全委員会 (報告)
- 2007年 12月 20日 より 2008年 1月 18日 国民からの御意見・情報の募集
- 2008年 2月 26日 農薬専門調査会座長及び動物用医薬品専門調査会座長  
より食品安全委員会委員長へ報告
- 2008年 2月 28日 第 228 回食品安全委員会 (報告)  
同日付で厚生労働大臣に通知

< 食品安全委員会委員名簿 >

見上 彪 (委員長)

小泉直子 (委員長代理)

長尾 拓

野村一正

畑江敬子

廣瀬雅雄

本間清一

<食品安全委員会農薬専門調査会専門委員名簿>

鈴木勝士 (座長)	三枝順三	布柴達男
林 真 (座長代理)	佐々木有	根岸友恵
赤池昭紀	代田真理子	平塚 明
石井康雄	高木篤也	藤本成明
泉 啓介	玉井郁巳	細川正清
上路雅子	田村廣人	松本清司
臼井健二	津田修治	柳井徳磨
江馬 眞	津田洋幸	山崎浩史
大澤貫寿	出川雅邦	山手丈至
太田敏博	長尾哲二	與語靖洋
大谷 浩	中澤憲一	吉田 緑
小澤正吾	納屋聖人	若栗 忍
小林裕子	西川秋佳	

<食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門委員名簿>

(2007年9月30日まで)

三森 国敏 (座長)	
井上 松久 (座長代理)	
青木 宙	寺本 昭二
明石 博臣	長尾 美奈子
江馬 眞	中村 政幸
小川 久美子	林 眞
渋谷 淳	平塚 明
嶋田 甚五郎	藤田 正一
鈴木 勝士	吉田 緑
津田 修治	

(2007年10月1日から)

三森 国敏 (座長)	
井上 松久 (座長代理)	
青木 宙	寺本 昭二
今井 俊夫	頭金 正博
今田 由美子	戸塚 恭一
江馬 眞	中村 政幸
小川 久美子	林 眞
下位 香代子	山崎 浩史
津田 修治	吉田 緑
寺岡 宏樹	

## 要 約

ジチオラン環を有する殺菌剤（農薬）であり、牛の肝疾患用剤（動物用医薬品）である「イソプロチオラン」（CAS：50512-35-1）について、農薬抄録及び動物用医薬品承認申請時の添付資料概要を用いて食品健康影響評価を実施した。

評価に供した試験成績は、動物体内運命（ラット、牛）、植物体内運命（水稲、ひめりんご及びばれいしょ）、土壌中運命、水中運命、土壌残留、作物等残留、急性毒性（ラット、マウス、ハムスター及びウサギ）、亜急性毒性（ラット及びマウス）、慢性毒性（イヌ）、慢性毒性/発がん性併合（ラット）、発がん性（マウス）、3世代繁殖（ラット）、発生毒性（ラット及びウサギ）、遺伝毒性試験等である。

試験結果から、イソプロチオラン投与による影響は主に肝臓に認められた。繁殖能に対する影響、催奇形性及び遺伝毒性は認められなかった。

発がん性試験においてラットに皮膚角化棘細胞腫の増加が認められたが、遺伝毒性が認められないことから発生機序は遺伝毒性メカニズムとは考え難く、評価にあたり閾値を設定することは可能であると考えられた。

各試験の無毒性量の最小値が、ラットを用いた90日間亜急性毒性試験の3.4 mg/kg 体重/日であったが、より長期の2年間慢性毒性/発がん性併合試験での10.9 mg/kg 体重/日が、ラットにおける無毒性量としてより適切であると判断した。また、イヌを用いた1年間慢性毒性試験の無毒性量が10 mg/kg 体重/日であったので、これを根拠として、安全係数100で除した0.1 mg/kg 体重/日を一日摂取許容量（ADI）と設定した。

## I. 評価対象農薬及び動物用医薬品の概要

### 1. 用途

殺菌剤（農薬）、牛の肝疾患用剤（動物用医薬品）

### 2. 有効成分の一般名

和名：イソプロチオラン

英名：isoprothiolane (ISO 名)

### 3. 化学名

IUPAC

和名：ジイソプロピル・1,3-ジチオラン・2-イリデンマロネート

英名：diisopropyl 1,3-dithiolan-2-ylidenemalonate

CAS (No. 50512-35-1)

和名：ビス (1-メチルエチル) 1,3-ジチオラン・2-イリデンプロパンジオエート

英名：bis (1-methylethyl) 1,3-dithiolan-2-ylidenepropanedioate

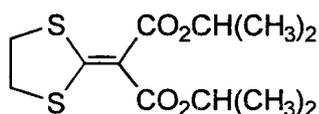
### 4. 分子式

$C_{12}H_{18}O_4S_2$

### 5. 分子量

290.39

### 6. 構造式



### 7. 開発の経緯

イソプロチオランは、1968年に日本農薬株式会社により開発されたジチオラン環を有する殺菌剤であり、稲いもち病菌を始め、小球菌核病菌、小黑菌核病菌、褐色葉枯病菌及び白紋羽病菌に対して強い菌糸生育阻害作用を有する。いもち病菌に対して、生活環のあらゆるステージに強く作用するが、特に付着器からの侵入過程を強く阻害する。また本剤は、植物病原菌のみならず、ウンカ・ヨコバイ類に対して殺虫活性を示し、稲の根の伸長及び発根を促進し、同時にムレ苗を防止する効果も確認されている。我が国では1974年に初回農薬登録されている。動物用医薬品としては、牛の肝障害に対する試験で本剤の肝機能改善作用がみられ、臨床面においても分娩後に多発する肝疾患及び肝機能異常を伴うケトーシス症に対して優れた治療効果を示した。

ポジティブリスト制度導入に伴う残留基準値が設定されている。また、魚介類への残留基準値の設定が申請されている。

## II. 安全性に係る試験の概要

農薬抄録（2007年）及び動物用医薬品承認申請時の添付資料概要を基に、毒性に関する主な科学的知見を整理した。（参照 2、8）

各種運命試験（II-1~4）は、イソプロチオランのジチオラン環の 4, 5 位の炭素を  $^{14}\text{C}$  で標識したもの（ $^{14}\text{C}$ -イソプロチオラン）を用いて実施された。放射能濃度及び代謝物濃度は特に断りがない場合はイソプロチオランに換算した。代謝物/分解物略称及び検査値等略称は別紙 1 及び 2 に示されている。

### 1. 動物体内運命試験

#### (1) 薬物動態

##### ① ラットにおける薬物動態試験

SD ラット（一群雌雄各 4 匹）に  $^{14}\text{C}$ -イソプロチオランを低用量及び高用量（5 及び 500 mg/kg 体重）で単回経口投与し、薬物動態試験が実施された。

血液中及び血漿中放射能濃度推移は表 1 に示されている。

イソプロチオランの吸収は速やかであり、雌雄の低用量群において、血液中及び血漿中放射能は投与 6 時間後に最高濃度（ $C_{\max}$ ）に達し、以降は投与 48 時間後までは急速に、その後緩やかに減衰する二相性の減衰が認められた。高用量群では、最高濃度到達時間（ $T_{\max}$ ）が低用量群と比べ若干遅く、投与後 9~12 時間であったが、概ね低用量群と類似した濃度推移が見られた。（参照 2）

表 1 血液中及び血漿中放射能濃度推移

性別	雄				雌				
	低用量		高用量		低用量		高用量		
投与量	血液	血漿	血液	血漿	血液	血漿	血液	血漿	
供試試料									
$T_{\max}$ (時間)	6	6	12	9	6	6	12	12	
$C_{\max}$ ( $\mu\text{g/g}$ )	2.12	3.24	133	209	2.15	3.39	161	233	
$T_{1/2}$ (日)	( $\alpha$ 相)	1.36	0.89	1.47	0.92	1.28	0.91	1.64	1.35
	( $\beta$ 相)	5.27	2.68	4.17	2.23	4.47	2.49	3.24	1.89

##### ② 牛における薬物動態試験

牛（ホルスタイン、雌、3 頭）にイソプロチオランを 50mg/kg 体重の用量で 1 日 1 回、21 日間連続経口投与し薬物動態試験が実施された。

初回投与 24 時間後までの血清中濃度の推移は表 2 に示されている。初回投与 30 分後に最高 0.06mg/kg が検出されたが、それ以降は検出限界（0.02mg/kg）あるいは検出限界未満であった。

表 2 初回投与後の血清中濃度の経時的推移 (mg/kg)

個体 No	経過時間 (時間)								
	0.5	1	2	3	4	5	6	12	24
1	0.06	0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02
2	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02
3	0.03	<0.02	<0.02	0.02	<0.02	0.02	0.02	0.02	<0.02

検出限界 : 0.02mg/kg

21 日間連続投与試験最終投与後の血清中濃度の推移は表 3 に示されている。最終投与終了当日および 1 日後ともに検出限界未満であった。

表 3 連続投与後の血清中濃度の経時的推移(mg/kg)

個体 No	経過時間 (日)			
	最終投与当日	1	2	3
1	<0.02	<0.02	—	—
2	<0.02	<0.02	—	—
3	<0.02	<0.02	—	—

検出限界 : 0.02mg/kg

— : 不検出

## (2) 排泄

SD ラット (一群雌雄各 4 匹) に  $^{14}\text{C}$ -イソプロチオランを低用量及び高用量 (5 及び 500 mg/kg 体重) で単回経口投与し、排泄試験が実施された。

イソプロチオランの主要排泄経路は尿及び呼気中であり、投与後 168 時間で総投与放射能 (TAR) の 23.7~53.3% 及び 29.2~33.4% TAR が排泄された。糞中への排泄は 6.6~23.1% TAR であった。何れの投与量においても、投与後 168 時間までの総排泄量は 77.6~89.4% TAR であった。(参照 2)

## (3) 体内分布

SD ラット (1 群雌雄各 4 匹) に  $^{14}\text{C}$ -イソプロチオランを低用量及び高用量 (5 及び 500 mg/kg 体重) で単回経口投与し、 $T_{\max}$  付近 (低用量群では、投与 6 時間後、高用量群では投与 9 時間後)、投与 24 時間後及び 168 時間後の組織及び臓器中放射能濃度が測定された。

なお、投与 168 時間後の組織・臓器中放射能濃度測定には [1.(2)] のラットを用いた。

低用量群では、雌雄とも多くの組織・臓器で放射能濃度は投与 6 時間後に最も高かった。消化管 (内容物含む) を除くと投与 6 時間後では、肝臓中濃度が最も

高く (7.71~8.03  $\mu\text{g/g}$ )、次いで腎臓中濃度が高かった (3.14~3.35  $\mu\text{g/g}$ )。その他の臓器においては血漿中濃度よりも低かった。投与 168 時間後においても肝臓中濃度が最も高く、次いで腎臓中濃度が高かった。その他多くの臓器において、血漿中濃度より高い傾向が見られた。また、脂肪及び皮膚 (比較的高濃度) における濃度は投与 6~168 時間後までほとんど変化が見られなかった。

高用量群では、雌雄ともほぼ全ての組織・臓器の放射能濃度は投与 9 時間後に最も高かったが、雌では肝臓、脂肪及び骨髄等で投与 24 時間後に最も高かった。投与 6 及び 24 時間後では、消化管 (内容物含む) を除くと肝臓中濃度が最も高く (雄: 408  $\mu\text{g/g}$ 、雌: 468  $\mu\text{g/g}$ )、次いで腎臓中濃度が高かった (173~220  $\mu\text{g/g}$ )。投与 168 時間後においても肝臓中濃度が最も高く、次いで腎臓中濃度が高かった。その他多くの臓器において、血漿中濃度より高い傾向が見られた。低用量群で見られた傾向とは異なり、脂肪及び皮膚における濃度は経時的に減衰したが、骨髄における濃度は投与 6 時間後における濃度が最も低かった。雄では低用量及び高用量群で 168 時間後に毛において最も高い濃度が観察された。皮膚及び毛においては雌雄共にケラチンに取りこまれていることが確認された。(参照 2)

#### (4) 代謝物同定・定量

排泄試験 [1.(2)] における投与後 72 時間の糞、尿及び胆汁を用いて、代謝物同定・定量試験が実施された。

尿中における主要成分としてモノエステル体 (C) のグルクロン酸抱合体が検出され、5.8~19.9% TAR を占めた。その他、C (1.1~6.0% TAR) 及びビニルチオ酢酸体 (K) (2.8~7.8% TAR) が検出された。糞中における主要成分として、親化合物 (0.06~4.8% TAR)、4-ヒドロキシ体 (B) (0.2~0.6% TAR) 及び C (0.2~1.3% TAR) が検出された。投与量及び性差による代謝物の生成パターンに差異は見られなかった。 $T_{\text{max}}$  時点の肝臓中代謝物として、親化合物 (0.02~0.1% TAR)、B (0.04~0.2% TAR)、C (0.1~0.3% TAR) 及びジデヒドロ体 (E) (0.04~0.05% TAR) が検出された。

イソプロチオランの主要代謝経路は、イソプロピルエステルの加水分解による C の生成及びグルクロン酸抱合体の生成、ジチオラン環 4 位の水酸化による B の生成及び脱水による E の生成、更にジチオラン環の開裂による K の生成と考えられた。ジチオラン環開裂後は速やかに様々な低分子化合物に代謝されると推察された。また、非 GLP 試験ではあるが、マウスにおいて代謝物モノスルホキシド体 (D)、F 及び G が検出された。(参照 2)

## 2. 植物体内運命試験

### (1) 水稻

水稻 (品種: ひとめぼれ) に  $^{14}\text{C}$ -イソプロチオランをそれぞれ 80 mg/L の濃度 (最大施用量: 0.6 kg ai/ha) で出穂 1 ヶ月後に散布し、水稻における植物体

内運命試験が実施された。

処理後の各部位における放射能濃度推移は表 6 に示されている。処理後日数にかかわらず玄米及び根部の総残留放射能 (TRR) 濃度は低く、主に籾殻及び茎葉部に高濃度の放射能が認められたが、経時的変化は少なかった。このことから、穂に付着したイソプロチオラン及びその代謝物の玄米への移行性は小さいことが示唆された。

何れの部位においても親化合物が最も多く検出され、16.4~75.5%TRR を占めた。その他には玄米、籾殻及び茎葉部において B、C、D 及び E が検出されたが、何れも 10%TRR 未満であった。また、高極性物質は、大部分が酵素処理により 10%TRR 未満の分解物に分離した。

イソプロチオランの稲における主要代謝経路は、イソプロピルエステルの加水分解による C の生成、ジチオラン環の水酸化による B の生成及び脱水による E の生成、イオウの酸化による D の生成と考えられた。(参照 2)

表 6 各部位における放射能濃度推移

部位	処理後経過日数 (日)							
	7				28			
	玄米	籾殻	茎葉	根	玄米	籾殻	茎葉	根
放射能濃度 (mg/kg)	0.21	5.38	1.91	0.03	0.20	4.05	1.36	0.02

## (2) ひめりんご

ひめりんごに  $^{14}\text{C}$ -イソプロチオランを樹高約 30 cm、幹径 1~2 cm のポット植え個体に 2.27 g/L の施用量 (360 g ai/樹に相当) で土壌処理及び樹高約 40 cm、幹径 3~4 cm のポット植え個体の果実及び葉に 310 mg/L (果実一個あたり) と 160 mg/L (葉一枚あたり) の施用量で塗布処理し、ひめりんごにおける植物体内運命試験が実施された。

塗布処理によるひめりんごの果実及び葉における代謝物分布は表 7 に示されている。

土壌処理試験では処理後日数にかかわらず、果実における TRR 濃度は低く、処理 61 日後に 0.01 mg/kg が認められたのみであった。一方、葉においては処理 7 日後から極低濃度ではあるものの放射能が検出され、処理 61 日後では 0.36 mg/kg であった。

果実については、何れの採取時期における試料も TRR が極低濃度であったため、代謝物分析はされなかった。処理 61 日後の葉中には低濃度の親化合物 (<0.01 mg/kg)、D (0.05 mg/kg)、C のグルコース抱合体 (0.01 mg/kg) が検出された。

イソプロチオランを果実及び葉に塗布したところ、処理7日後で果実及び葉における TRR 濃度は 0.81 mg/kg 及び 6.02 mg/kg が検出され、親化合物はそれぞれ 49.3%TRR (果実) 及び 53.9%TRR (葉) を占めた。処理14日後で TRR 濃度は 0.76 mg/kg 及び 5.18 mg/kg が検出され、親化合物はそれぞれ 26.6%TRR (果実) 及び 40.3%TRR (葉) に減衰した。親化合物の減衰に伴い B、C、D 及び E の生成が認められたが、何れも 10%TRR 未満であった。

イソプロチオランのひめりんごにおける主要代謝経路は、イソプロピルエステルの加水分解による C の生成及びグルコース抱合体の生成、ジチオラン環の水酸化による B の生成及びグルコース抱合体の生成、B の脱水による E の生成、イオウの酸化による D の生成と考えられた。(参照2)

表7 ひめりんごにおける代謝物分布 (塗布処理試験)

	放射能濃度 (mg/kg)			
	果実		葉	
	処理7日後	処理14日後	処理7日後	処理14日後
イソプロチオラン	0.40 (49.3)	0.20 (26.6)	3.24 (53.9)	2.09 (40.3)
B	0.02 (2.1)	<0.01 (1.0)	0.09 (1.4)	0.13 (2.6)
C	ND	ND	ND	<0.01 (0.1)
D	0.03 (4.2)	0.03 (4.1)	0.45 (7.5)	0.47 (9.0)
E	0.05 (6.6)	0.04 (4.9)	0.23 (3.8)	0.17 (3.4)

ND: 不検出、( ) : %TRR

### (3) ばれいしよ

ばれいしよ (品種: 男爵) に  $^{14}\text{C}$ -イソプロチオランを、蕾をつける前の植物体 (高さ: 約 70 cm) に 2,260 mg/L の施用量 (7.2 kg ai/ha 相当) で株元に添加し、ばれいしよにおける植物体内運命試験が実施された。

ばれいしよの各部位における代謝物分布が表8に示されている。

葉及び茎における放射能濃度は、処理31日後で 2.72 mg/kg 及び 0.72 mg/kg が検出され、うち親化合物は 1.18 (41.7%TRR) 及び 0.30 mg/kg (41.2%TRR) であり、経時的に増加する傾向が認められた。また、一方、塊茎における処理10日後及び31日後の TRR 濃度は 0.28 mg/kg 及び 0.15 mg/kg が検出され、親化合物の放射能濃度は処理10日後及び31日後とも 0.02 mg/kg であり、増加傾向は認められなかった。

葉及び茎における主要代謝物は E であり、その他に B、C 及び D も少量検出された。塊茎では B、C 及び D が検出されたが、何れも少量であった。それ以外に一部 10%TRR 以上が認められた原点画分 (葉及び塊茎) については、 $\beta$ -グルコシダーゼ処理及び誘導化 (メチル化及びアセチル化) による特徴分析を行った。葉については主に B のグルコース抱合体 (0.31 mg/kg, 9.7%TRR) が認められた。塊茎については、グルコース抱合体ではない未同定物質の集合体であること

が示唆された。

ばれいしょに土壤埋設処理したイソプロチオランは、経時的に植物体に取り込まれ、未変化体の親化合物が最も多く、B、C、D、E ならびに B 及び C のグルコース抱合体に代謝されるものと考えられた。(参照 2)

表 8 各部位における代謝物分布

	放射能濃度(mg/kg)					
	処理 10 日後			処理 31 日後		
	塊茎	葉	茎	塊茎	葉	茎
イソプロチオラン	0.02 (7.0)	0.08 (25.4)	0.07 (29.9)	0.02 (11.2)	1.18 (41.7)	0.30 (41.2)
B	0.01 (5.2)	0.01 (3.8)	<0.01 (2.2)	ND	0.06 (2.2)	0.02 (2.5)
C	ND	ND	ND	0.01 (7.2)	<0.01 (0.3)	<0.01 (0.4)
D	<0.01 (3.0)	ND	ND	ND	0.01 (0.5)	<0.01 (0.6)
E	ND	0.03 (10.4)	0.02 (6.8)	ND	0.18 (6.9)	0.04 (5.1)

ND : 不検出、( ) : %TRR

### 3. 土壤中運命試験

#### (1) 好氣的湛水土壌中運命試験

<sup>14</sup>C-イソプロチオランを蒸留水で湛水状態にした軽埴土(茨城)に乾土あたり 6 mg/kg (有効成分換算で 6 kg ai/ha 相当)となるように添加し、25℃の暗条件下で 180 日間インキュベートする好氣的湛水土壌中運命試験が実施された。

イソプロチオランは比較的緩やかに減衰し、試験終了時点で親化合物は 63.1% TAR を占め、土壌中での推定半減期は 326 日と算出された。主要分解物として D が検出されたが、0.9% TAR と僅かであった。他には B (0.1% TAR 未満)、C (0.9% TAR) 及び E (0.1% TAR 未満) が検出された。親化合物の減少に伴い非抽出性画分の増加が認められたが、処理後の経過時間にかかわらず放射能はフルボ酸画分に最も多く分布し(13.9% TAR)、ついでフミン(9.2% TAR)、フミン酸(6.9% TAR)の順に減少する傾向が認められ、<sup>14</sup>CO<sub>2</sub>の生成も認められた(0.6% TAR)。(参照 2)

#### (2) 好氣的土壌中運命試験

<sup>14</sup>C-イソプロチオランを、軽埴土(茨城)に乾土あたり 5 mg/kg となるように添加し、25℃の暗条件下で 180 日間インキュベートする好氣的土壌中運命試験が実施された。

イソプロチオランは比較的緩やかに減衰し、試験終了時点で親化合物は 44.9% TAR を占め、土壌中での推定半減期は 82 日と算出された。主要分解物は、湛水条件下と同様に D であった(2.4% TAR)。他には B (0.1% TAR 未満)、C

(0.4%TAR) 及び E (0.4%TAR) が検出された。親化合物の減少に伴い、非抽出性画分の増加が認められたが、処理後の経過時間にかかわらず放射能はフルボ酸画分に最も顕著に分布し (16.1%TAR)、ついでフミン (12.6%TAR)、フミン酸 (9.3%TAR) の順に減少する傾向が認められ、 $^{14}\text{CO}_2$  の生成も認められた (10.9%TAR)。

イソプロチオランの土壌での主要分解経路は、イオウの酸化による D の生成、イソプロピルエステルの加水分解による C の生成、ジチオラン環の水酸化による B の生成及び脱水による E の生成、最終的には  $\text{CO}_2$  への分解と考えられた。

(参照 2)

### (3) 土壌吸着試験

4 種類の国内土壌 (軽埴土: 北海道、新潟及び茨城、砂壤土: 鹿児島) を用いた土壌吸着試験が実施された。

Freundlich の吸着係数  $K_{\text{ads}}$  は 3.44~28.3、有機炭素含有率により補正した吸着係数  $K_{\text{oc}}$  は 196~2,300 であった。(参照 2)

## 4. 水中運命試験

### (1) 加水分解試験

非標識イソプロチオランを pH 5 (フタル酸塩)、pH 7 (リン酸塩) 及び pH 9 (ホウ酸塩) にそれぞれ濃度 1 及び 10 mg/L となるように添加後、25°C で 28 日間インキュベートする加水分解試験が実施された。

イソプロチオランは各緩衝液中で加水分解に対して安定であった。(参照 2)

### (2) 水中光分解試験 (蒸留水及び地下水)

$^{14}\text{C}$ -イソプロチオランを滅菌蒸留水及び自然水 (地下水: 大阪府 河内長野) に 24.3 mg/L となるように添加後、25°C で 6 日間キセノンアークランプ光 (光強度: 322 MJ/m<sup>2</sup>、波長: 300~800 nm) を連続照射する水中光分解試験が実施された。

蒸留水中及び自然水中において、減衰を示さず 6 日後 (東京、春の太陽光換算で 37.7 日) にはそれぞれ 104% 及び 95.1% が残存し、推定半減期の算出は不可能であった。(参照 2)

## 5. 土壌残留試験

火山灰・埴壤土 (三重)、沖積・埴壤土 (兵庫)、火山灰・壤土 (茨城)、洪積・埴壤土 (大阪)、洪積・埴土 (岩手)、沖積・埴土 (愛媛)、洪積・砂壤土 (福島・愛知) 及び火山灰・軽埴土 (茨城) を用い、イソプロチオランを分析対象化合物とした水田 (湛水) 及び畑地状態における土壌残留試験 (容器内及び圃場) が実施された。推定半減期は表 9 に示されている。(参照 2)

表 9 土壌残留試験成績（推定半減期）

No	試験	状態	濃度*	土壌	半減期（日）
1	容器内試験	水田	5 mg/kg	火山灰・埴壤土	160
2				沖積・埴壤土	138
3		畑	18 mg/kg	火山灰・壤土	104
4				洪積・埴壤土	52
5	圃場試験	水田	480 g ai/ha	洪積・埴土	76
6				沖積・埴土	27
7		畑	720 g ai/10a	洪積・砂壤土	40
8				火山灰・軽埴土	1
9			1800 g ai/10a	火山灰・壤土	178
10				沖積・砂壤土	264

\*：容器内試験で純品、圃場試験で粒剤を使用(No.9 及び 10 は水和剤を使用)

## 6. 作物等残留試験

### (1) 作物残留試験

イソプロチオランを分析対象化合物とした作物残留試験が実施された。結果は別紙 3 に示されている。イソプロチオランの最高値は、稲わらを除くと、720 g ai/ha を 1 回散布処理し、散布 20 日後に収穫した玄米の 1.81 mg/kg であった。（参照 2）

### (2) 魚介類における最大推定残留値

イソプロチオランの公共用水域における予測濃度である水産動植物被害予測濃度（水産 PEC）及び生物濃縮係数（BCF）を基に、魚介類の最大推定残留値が算出された。

イソプロチオランの水産 PEC は 9.7 ppb、BCF は 52（計算値）、魚介類における最大推定残留値は 2.52 ppm であった。（参照 4）

### (3) 子牛における臓器中残留試験

子牛にイソプロチオランを 50、150mg/kg 体重の用量で 4 週間連続経口投与して、臓器中の残留試験が実施された。

主要臓器・組織及び血清中におけるイソプロチオランの経時的残留濃度の推移は、表 10 に示されている。最終投与 7 日後には、150mg/kg（3 倍量）投与群の肝臓及び脂肪で 0.04－0.10 mg/kg が検出されたのみで、その他は検出限界未満となった。（参照 8）

表 10 臓器中残留濃度の経時的推移 (子牛) (mg/kg)

投与量 (mg/kg)	試料	経過日数 (日)									
		0		1		3		5		7	
50 (常用量)	筋肉	0.05	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	—	—	—	—
	肝臓	0.28	0.16	0.05	0.08	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	—	—
	腎臓	0.14	0.05	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	—	—	—	—
	脂肪	2.8	1.6	0.78	0.47	0.13	0.06	0.04	<0.02	<0.02	<0.02
	小腸	3.4	1.6	0.40	0.15	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	—	—
	血清	0.05	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	—	—	—	—
150 (3 倍量)	筋肉	0.20	0.14	0.03	0.04	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	—	—
	肝臓	2.1	0.73	0.35	0.27	0.08	0.12	0.04	0.06	0.04	<0.02
	腎臓	0.73	0.23	0.11	0.11	<0.02	0.04	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02
	脂肪	25	14	9.2	9.4	0.98	1.5	0.40	0.29	0.06	0.10
	小腸	20	2.8	0.49	0.52	0.06	0.04	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02
	血清	0.28	0.07	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	—	—	—	—

検出限界：0.02mg/kg                      —：不検出

対照群はすべて検出限界未満

#### (4) 育成牛における臓器中残留試験

育成牛にイソプロチオランを 50mg/kg 体重の用量で 4 週間連続経口投与して、臓器中の残留試験が実施された。

血清は最終投与当日、筋肉及び腎臓では最終投与 1 日後、肝臓及び小腸では最終投与 3 日後には検出限界未満になり、最終投与 5 日後には脂肪を含む全例で検出限界未満 (検出限界：0.02mg/kg) となった。(参照 8)

### 7. 乳汁への移行試験

#### (1) 連続投与後の乳汁移行試験①

乳牛 (一群 3 頭) にイソプロチオランを 50mg/kg 体重の用量で 4 週間連続経口投与して乳汁中移行 (残留) 試験が実施された。

連続経口投与後の乳汁中残留濃度の経時的推移は、表 11 に示されている。投与 24 時間後以降は検出限界未満となった。(参照 8)

表 11 連続経口投与後の乳汁中残留濃度の経時的推移(mg/kg)

個体 No.	経過時間 (時間)				
	投与直前	6	12	24	36
1	<0.02	0.06	0.03	<0.02	<0.02
2	<0.02	0.06	0.20	<0.02	<0.02

3	<0.02	0.08	0.04	<0.02	<0.02
---	-------	------	------	-------	-------

検出限界：0.02mg/kg

### (2) 連続投与後の乳汁移行試験②

牛（一群1~2頭）に、イソプロチオランを0、227及び2,249 mg/頭/日の用量で28日間連続経口投与後、2週間の回復期間を設けた乳汁移行試験が実施された。

両投与群とも、試験期間を通してイソプロチオランの残留値は定量限界未満(<0.001 mg/kg)であった。（参照2）

### (3) 連続投与後の乳汁移行試験③

乳牛（一群2~3頭）にイソプロチオランを50及び100 mg/kg体重の用量で4週間連続経口投与して乳汁中移行（残留）試験が実施された。

連続経口投与後の乳汁中残留濃度の経時的推移は、表12に示されている。50mg/kg投与群では最終投与18時間後には検出限界未満となり、100mg/kg投与群では最終投与48時間後以降検出限界未満となった。（参照8）

表12 連続経口投与後の乳汁中残留濃度の経時的推移(mg/kg)

投与量 (mg/kg)	個体 No.	経過時間（時間）					
		最終投与直前	6	12	18	24	48
50	1	<0.02	0.06	0.02	<0.02	<0.02	
	2	<0.02	0.12	0.14	<0.02	<0.02	
	3	<0.02	0.03	0.05	<0.02	<0.02	
100	4*	<0.02	1.3	0.76		0.12	<0.02
	6*	<0.02	0.43	0.16		<0.02	<0.02

検出限界：0.02mg/kg

4\*及び6\*の試験は（1）と同一試験場で実施

## 8. 一般薬理試験

マウス、ラット、モルモット、ウサギ及びカエルを用いた一般薬理試験が実施された。結果は表13に示されている。（参照2）

表13 一般薬理試験概要

試験の種類		動物種	動物数 匹/群	投与量* (mg/kg体重) (投与経路)	無作用量 (mg/kg体重)	作用量 (mg/kg体重)	結果の概要
中 枢 神	一般状態	ddN マウス	雄 10	0、50、100、 200、400、800 (経口)	50	100	自発運動の低下、敏捷性の低下、刺激への反応性低下

試験の種類	動物種	動物数 匹/群	投与量* (mg/kg 体重) (投与経路)	無作用量 (mg/kg 体重)	作用量 (mg/kg 体重)	結果の概要	
経系	一般状態	カエル	4	0、33.3 (胸リンパ腔)	<33.3	33.3	刺激への反応性低下、起き上がり能力低下、呼吸抑制、反射運動消失
	ヘキソバルビタール睡眠	ddN マウス	雄 8	0、50、100 (経口)	50	100	投与後2~6時間に睡眠時間が延長し、24時間以降は短縮した。
	体温	ddN マウス	雄 5	0、200、400 (経口)	200	400	体温低下
	鎮痛作用 (熱板法)	ddN マウス	雄 20	0、100、200 (経口)	200	—	影響なし。
	鎮痛作用 (Writhing test)	ddN マウス	雄 5~10	0、100、200 (経口)	100	200	鎮痛作用あり
	抗痙攣作用 (ストリキニーネ)	ddN マウス	雄 11	0、200 (経口)	<200	200	200 mg/kg体重投与群において、ストリキニーネによる死亡までの時間を遅らせる傾向が認められた
	筋弛緩 (懸垂法)	ddN マウス	—	(経口)	—	ED <sub>50</sub> : 352	
	筋弛緩 (斜面法)	ddN マウス	—	(経口)	—	ED <sub>50</sub> : 407	
	正向反射	ddN マウス	—	(経口)	—	ED <sub>50</sub> : >800	
自律神経系	摘出腸管	モルモット	1	0、10 <sup>-6</sup> 、10 <sup>-5</sup> (g/mL) <i>in vitro</i>	10 <sup>-6</sup> g/mL	10 <sup>-5</sup> g/mL	自動運動を抑制、ACh、His、5-Ht、ニコチン及び KCl による収縮を抑制
	摘出子宮	ラット	1	0、10 <sup>-5</sup> (g/mL) <i>in vitro</i>	10 <sup>-5</sup> g/mL	—	

試験の種類	動物種	動物数 匹/群	投与量* (mg/kg 体重) (投与経路)	無作用量 (mg/kg 体重)	作用量 (mg/kg 体重)	結果の概要	
摘出輸精管	モルモット	1	0、10 <sup>-5</sup> (g/mL) <i>in vitro</i>	10 <sup>-5</sup> g/mL	—		
呼吸 循環 器系	血圧・ 呼吸	ウサギ	1	0、30 (静脈内)	30	—	影響なし。
	心臓運動 (Engel-mann 法)	カエル	1	0、0.1% (還流)	0.1%	—	影響なし。
知覚 神経	角膜反射	ウサギ	雄 3	10 mg/眼 (点眼)	10 mg/眼	—	影響なし。
薬物 代謝	肝薬物代謝 酵素活性	ラット	—	0、250	—	250	NADM** 及び AH*** が、投与2~15時間 後までは阻害され たが、24時間以降は 誘導された。

\* : 経口投与の試験においては、イソプロチオラン原体をオリーブオイルに懸濁して投与した。静脈内投与の試験では、原体を 30%オリーブ油+エタノール溶液として投与した。眼への適用では原体を用いた。

\*\* : パラニトロアニソールの脱メチル化活性

\*\*\* : アニリンを基質とした環の水酸化活性

## 9. 急性毒性試験

イソプロチオランを用いた急性毒性試験が実施された。結果は表 14 に示されている。(参照 2)

表 14 急性毒性試験概要

投与 経路	動物種 (溶媒)	LD <sub>50</sub> (mg/kg 体重)		症状
		雄	雌	
経口	ドンリュウラット 雌雄各 10 匹	1,190	1,340	雌雄で眼出血、尿失禁、鼻汁、 流涎、下痢 死亡前に後肢の痙攣
経口	dd マウス 雌雄各 10 匹	1,350	1,520	雌雄で身体の動揺、よろめき 歩行、動作緩慢、発汗、流涎、

				流涙、鼻汁、高用量において角膜の白濁 死亡例の一部で死亡前に後肢の強直性痙攣が認められた。
経口	ゴールデンハムスター 雄 10 匹	4,220	—	失調性歩行、自発運動の減少、流涎、流涙、尿失禁、一部の動物で正向反射の消失 死亡例あり
経口	日本白色種ウサギ 雄 10 匹	6,150	—	生存例では中毒症状はほとんど見られなかった。 死亡例では、死亡前に摂餌量減少、運動失調、横臥
経皮 <sup>1)</sup>	ドンリュウラット 雌雄各 10 匹	>10,300	>10,300	症状及び死亡例なし
経皮 <sup>1)</sup>	dd マウス 雌雄各 10 匹	>10,300	>10,300	症状及び死亡例なし
吸入 <sup>2)</sup>	SD ラット 雌雄各 10 匹	LC <sub>50</sub> (mg/L)		雌雄で暴露中に自発運動の減少、鼻汁、立毛等 死亡例なし
		>2.77	>2.77	
腹腔	ドンリュウラット 雌雄各 10 匹	480	640	雌雄で鼻汁、流涎、尿失禁、高用量群の数例に眼出血 死亡例あり
腹腔	dd マウス 雌雄各 10 匹	440	600	雌雄で発汗、動作緩慢、鼻汁、流涎、尿失禁、高用量群の数例で狂暴化 死亡例あり
腹腔	ゴールデンハムスター 雄 15 匹	1,310	—	中毒症状なし 死亡例あり
皮下 <sup>3)</sup>	SD ラット 雌雄各 10 匹	>5,000	>5,000	雌雄で虚脱状態、軽度の流涎、流涙 10 例中 1 例死亡
皮下 <sup>3)</sup>	dd マウス 雌雄各 10 または 20 匹	>5,000	>5,000	雌雄で歩行不調、虚脱状態、流涎、流涙、一部で角膜の白濁化 死亡率は各投与群で 30% 以下であった。

注) 溶媒として<sup>1)</sup> はアセトンを、<sup>2)</sup> は原体を賦形剤 (ホワイトカーボン及びカオリンクレー) に 70% となるように混合したものを用了。 <sup>3)</sup> はオリーブ油とエタノールの混合液を、それ以外はオリーブ油を用了。

## 10. 眼・皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性試験

日本白色種ウサギを用いた眼刺激性試験及び皮膚刺激性試験が実施された。皮膚刺激性は認められなかったが、眼に対して軽度の刺激性が認められた。(参照2)

Hartley モルモットを用いた皮膚感作性試験(Maximization 法)が実施された。その結果、皮膚感作性は認められなかった。(参照2)

## 11. 亜急性毒性試験

### (1) 16 週間亜急性毒性試験 (ラット) [参考資料]

SD ラット (一群雌雄各 10 匹) を用いた混餌 (原体: 0、20、100、300、900 及び 2,700 ppm) 投与による 16 週間 (雄: 112 日、雌: 113 日) 亜急性毒性試験が実施された。

本試験において、2,700 ppm 投与群雌雄で肝絶対及び比重量<sup>1</sup>の増加、雌で体重増加抑制が認められたことから、無毒性量は雌雄とも 900 ppm (雄: 53.0 mg/kg 体重/日、雌: 61.7 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照2)

### (2) 90 日間亜急性毒性試験 (ラット) ① [参考資料]

SD ラット (一群雌雄各 10 匹) を用いた混餌 (原体: 0、40、100、400、1,000 及び 4,000 ppm) 投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

本試験において、4,000 ppm 投与群雌雄で体重増加量抑制、摂餌量減少、肝絶対及び比重量の増加が認められたことから、無毒性量は雌雄とも 1,000 ppm (雄: 61.4 mg/kg 体重/日、雌: 67.9 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照2)

### (3) 90 日間亜急性毒性試験 (ラット) ②

SD ラット (一群雌雄各 12 匹) を用いた混餌 (原体: 0、50、300 及び 3,000 ppm) 投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

各投与群で認められた毒性所見は表 15 に示されている。

本試験において、300 ppm 以上投与群雄で肝及び腎比重量増加等、3,000 ppm 投与群の雌で肝絶対及び比重量の増加等が認められたので、無毒性量は雄で 50 ppm (3.4 mg/kg 体重/日)、雌で 300 ppm (23.4 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照2)

表 15 90 日間亜急性毒性試験 (ラット) で認められた所見

投与群	雄	雌
3,000 ppm	・ 体重増加抑制 ・ 摂餌量減少	・ 体重増加抑制 ・ 摂餌量減少

<sup>1</sup>: 体重比重量のことを比重量という (以下同じ)

	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ GPT、GOT 上昇</li> <li>・ TP、Alb、T. Chol 及び血中 Ca 増加</li> <li>・ 肝絶対重量増加</li> <li>・ 小葉中心性肝細胞肥大</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ RBC、Hb、Ht 減少及び網状赤血球数増加</li> <li>・ PT 短縮、APTT 延長</li> <li>・ GGT 上昇</li> <li>・ T. Chol 増加</li> <li>・ 肝絶対及び比重量増加</li> <li>・ 腎比重量増加</li> <li>・ 小葉中心性肝細胞肥大</li> <li>・ 脾ヘモジデリン沈着増加</li> </ul>
300 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ GGT 上昇</li> <li>・ 肝比重量増加</li> <li>・ 腎比重量増加</li> </ul>	300 ppm 以下毒性所見なし
50 ppm	毒性所見なし	

#### (4) 16 週間亜急性毒性試験 (マウス)

ICR マウス (一群雌雄各 10 匹) を用いた混餌 (原体: 0、20、100、300、900 及び 2,700 ppm) 投与による 16 週間 (雄: 114 日、雌: 115 日) 亜急性毒性試験が実施された。

本試験において、2,700 ppm 投与群雌雄で肝絶対及び比重量増加が認められたので、無毒性量は雌雄とも 900 ppm (雄: 132 mg/kg 体重/日、雌: 140 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 2)

#### (5) 90 日間亜急性毒性試験 (マウス) [参考資料]

ICR マウス (一群雌雄各 10 匹) を用いた混餌 (原体: 0、40、100、400、1,000 及び 4,000 ppm) 投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

本試験において、4,000 ppm 投与群雌雄で肝絶対重量の増加が認められたので、無毒性量は雌雄とも 1,000 ppm (雄: 145 mg/kg 体重/日、雌: 177 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 2)

### 1 2. 慢性毒性試験及び発がん性試験

#### (1) 1 年間慢性毒性試験 (イヌ)

ビーグル犬 (一群雌雄各 4 匹) を用いたカプセル経口 (原体: 0、2、10 及び 50 mg/kg 体重/日) 投与による 1 年間慢性毒性試験が実施された。

本試験において、50 mg/kg 体重/日投与群雌雄で ALP 上昇、雄で肝比重量増加、雌で体重増加抑制、副腎比重量増加、甲状腺絶対及び比重量の増加が認められたので、無毒性量は雌雄とも 10 mg/kg 体重/日であると考えられた。(参照 2)

(2) 2年間慢性毒性/発がん性併合試験 (ラット)

SD ラット (一群雌雄各 50 匹、26 週、52 週及び 78 週に中間と殺群雌雄各 10 匹) を用いた混餌 (原体: 0、50、300 及び 3,000 ppm) 投与による 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験が実施された。

各投与群で認められた毒性所見及び皮膚角化棘細胞腫の発生頻度は表 16 及び 17 に示されている。

本試験において、3,000 ppm 投与群雌雄で T. Chol 増加及び体重増加抑制等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 300 ppm (雄: 10.9 mg/kg 体重/日、雌: 12.6 mg/kg 体重/日) であると考えられた。

3,000 ppm 投与群の雄で皮膚角化棘細胞腫の発生頻度が有意に増加し、背景データよりも高かった。(参照 2)

表 16 2年間慢性毒性/発がん性併合試験 (ラット) で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
3,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 体重増加抑制</li> <li>・ 摂餌量及び摂餌効率減少</li> <li>・ T. Chol 増加</li> <li>・ 肝絶対及び比重量増加</li> <li>・ 腎比重量増加</li> <li>・ 変異肝細胞巣 (好酸性細胞)、小葉周辺性肝細胞脂肪化、肝海綿状変性、肝細胞の細胞質内に好酸性封入体</li> <li>・ 脾褐色色素沈着増加</li> <li>・ 肺泡沫細胞集簇</li> <li>・ 皮膚角化棘細胞腫増加</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 体重増加抑制</li> <li>・ 摂餌量及び摂餌効率減少</li> <li>・ RBC 減少、MCV、MCH 及び PLT 増加</li> <li>・ T. Chol、BUN 増加及び GOT、Glu、Cre 減少</li> <li>・ 肝絶対重量及び比重量増加</li> <li>・ 腎比重量増加</li> <li>・ 変異肝細胞巣 (好酸性細胞)、小葉中心性肝細胞肥大</li> <li>・ 脾褐色色素沈着増加</li> <li>・ 胸腺上皮性細胞網細胞過形成</li> </ul>
300 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

表 17 皮膚角化棘細胞腫の発生頻度

検査時期	臓器	用量群 (ppm)	雄				雌			
			0	50	300	3000	0	50	300	3000
		所見/検査動物数	80	80	80	80	80	80	80	80
全動物	皮膚	角化棘細胞腫	3	4	2	↑13	0	1	0	0

\* 全て良性腫瘍である。↑: p<0.01 (Fisher の直接確率計算法)

### (3) 18ヶ月間発がん性試験 (マウス)

ICR マウス (一群雌雄各 60 匹) を用いた混餌 (原体: 0、200、1,000 及び 5,000 ppm) 投与による 18ヶ月間発がん性試験が実施された。

各投与群で認められた毒性所見は表 18 に示されている。

本試験において、1,000 ppm 以上投与群雄及び 5,000 ppm 投与群雌で小葉周辺性肝細胞肥大等が認められたので、無毒性量は雄で 200 ppm (20.0 mg/kg 体重/日)、雌で 1,000 ppm (95.6 mg/kg 体重/日) であると考えられた。発がん性は認められなかった。(参照 2)

表 18 18ヶ月間発がん性試験 (マウス) で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
5,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 摂餌量及び摂餌効率減少</li> <li>・ 肝比重量増加</li> <li>・ 副腎比重量増加</li> <li>・ 肝暗調化及び肥大</li> <li>・ 小葉中心性肝細胞脂肪化減少</li> <li>・ 全身性アミロイド沈着</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 体重増加抑制</li> <li>・ 摂餌量及び摂餌効率減少</li> <li>・ 肝絶対及び比重量増加</li> <li>・ 肝暗調化及び肥大</li> <li>・ 全身性アミロイド沈着</li> <li>・ 小葉周辺性肝細胞肥大</li> </ul>
1,000 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 体重増加抑制</li> <li>・ 小葉周辺性肝細胞肥大</li> </ul>	1,000 ppm 以下毒性所見なし
200 ppm	毒性所見なし	

### 1.3. 生殖発生毒性試験

#### (1) 3世代繁殖試験 (ラット)

SD ラット (一群雌雄各 30 匹) を用いた混餌 (原体: 0、30、300 及び 3,000 ppm) 投与による 3世代繁殖試験が実施された。

本試験において、親動物では 3,000 ppm 投与群雌雄で体重増加抑制、児動物では 3,000 ppm 投与群の F<sub>2</sub> 児動物雌及び F<sub>3</sub> 児動物雌雄の離乳時に低体重が認められたので、無毒性量は親動物及び児動物とも 300 ppm (P 雄: 19.2 mg/kg 体重/日、P 雌 16.1 mg/kg 体重/日、F<sub>1</sub> 雄: 24.5 mg/kg 体重/日、F<sub>1</sub> 雌: 25.6 mg/kg 体重/日、F<sub>2</sub> 雄: 23.5 mg/kg 体重/日、F<sub>2</sub> 雌: 27.1 mg/kg 体重/日) であると考えられた。繁殖能に対する影響は認められなかった。(参照 2)

#### (2) 発生毒性試験 (ラット)

SD ラット (一群雌 24 匹) の妊娠 6~19 日に強制経口 (原体: 0、12、50 及び 200 mg/kg 体重/日、溶媒: アラビアゴム水溶液) 投与して発生毒性試験が実施された。

本試験において、母動物では 200 mg/kg 体重/日投与群で体重増加抑制、胎児では 50 mg/kg 体重/日以上投与群で胸椎等の軽微な化骨遅延が認められたことから、無毒性量は母動物で 50 mg/kg 体重/日、胎児で 12 mg/kg 体重/日と考えられた。催奇形性は認められなかった。（参照 2）

### （3）発生毒性試験（ウサギ）

NZW ウサギ（一群雌 18 匹）の妊娠 6~18 日に強制経口（原体：0、15、80 及び 400 mg/kg 体重/日、溶媒：アラビアゴム水溶液）投与して発生毒性試験が実施された。

本試験において、母動物では 400 mg/kg 体重/日投与群で体重増加抑制傾向及び摂餌量減少、胎児では最高用量群でも投与による関連した所見は認められなかったことから、無毒性量は母動物で 80 mg/kg 体重/日、胎児で 400 mg/kg 体重/日と考えられた。催奇形性は認められなかった。（参照 2）

### 14. 遺伝毒性試験

イソプロチオランの細菌を用いた DNA 修復試験、復帰突然変異試験、ヒトリンパ球を用いた染色体異常試験、マウスを用いた宿主経路試験及び小核試験が実施された。結果は表 19 に示されている。いずれの試験においても結果は陰性であった。イソプロチオランに遺伝毒性はないものと考えられた。（参照 2）

表 19 遺伝毒性試験概要

試験		対象	処理濃度・投与量	結果
<i>in vitro</i>	DNA 修復試験	<i>Bacillus subtilis</i> (H17、M45 株)	0~2,000 µg/disc (+/-S9)	陰性
	復帰突然変異試験 ①	<i>Salmonella typhimurium</i> (TA98、TA100、TA1535、 TA1537、TA1538 株) <i>Escherichia coli</i> (WP2 <i>hcr</i> 株)	0~5,000 µg/plate (+/-S9)	陰性
	復帰突然変異試験 ②	<i>S.typhimurium</i> (TA98、TA100、TA102、 TA1535、TA1537、 TA1538 株) <i>E.coli</i> (WP2 <i>uvrA</i> 株)	0~1,000 µg /plate (-S9) 0~5,000 µg/plate (+S9)	陰性
	染色体異常試験	ヒトリンパ球	0~40 µg/mL (+/-S9)	陰性
<i>in vivo</i> <i>in vitro</i>	復帰突然変異試験 (宿主経路)	ICRマウス <i>S. typhimurium</i> (G46株)	0、200 mg/kg 体重 (100×2 回)、 600 mg/kg 体重 (300×2 回) (経口投与)	陰性
<i>in vivo</i>	小核試験	ddY マウス (一群雄 6 匹)	0~600 mg/kg 体重 (単回腹腔内投与)	陰性

注) +/-S9：代謝活性化系存在下及び非存在下

### III. 食品健康影響評価

参照に挙げた資料を用いて農薬及び動物用医薬品「イソプロチオラン」の食品健康影響評価を実施した。

ラットを用いた動物体内運命試験において、単回投与後の全血中放射能濃度は低用量群の雌雄で6時間後に、高用量群で9~12時間後に  $C_{max}$  に達した。組織内では  $T_{max}$  付近で、肝臓、腎臓及び消化管で比較的高濃度に認められた。主な排泄経路は尿及び呼気中であつた。尿中における主要成分として、C、Cのグルクロン酸抱合体及びKが検出された。糞中における主要成分として親化合物、B及びCが検出された。 $T_{max}$  時点の肝臓における主要成分として、親化合物、B、C及びEが検出された。主要代謝経路は、イソプロピルエステルの加水分解によるCの生成及びグルクロン酸抱合体の生成、ジチオラン環4位の水酸化によるBの生成及び脱水によるEの生成、更にジチオラン環の開裂によるKの生成と考えられた。ジチオラン環開裂後は速やかに様々な低分子化合物に代謝されると推察された。なお非GLP試験ではあるが、マウスにおいて代謝物D、F及びGが検出された。

水稻、ひめりんご及びばれいしょを用いた植物体内運命試験が実施されており、代謝物としてB、C、D及びEが認められた。

イソプロチオランを分析対象化合物とした作物残留試験の結果、イソプロチオランの最高値は、稲わらへの残留を除くと、720 g ai/ha を1回散布処理し、散布20日後に収穫した玄米の1.81 mg/kgであつた。また、魚介類における最大推定残留値は、2.52 ppmであつた。また、牛における残留試験の結果、50 mg/kg 体重程度の投与において、臓器中残留は最終投与5-7日後、乳汁中は最終投与18時間後に検出限界(0.02mg/kg)未満となつた。

各種毒性試験結果から、イソプロチオラン投与による影響は主に肝臓に認められた。繁殖能に対する影響、催奇形性及び遺伝毒性は認められなかつた。

発がん性試験においてラットに皮膚角化棘細胞腫の増加が認められたが、遺伝毒性が認められなかつたことから発生機序は遺伝毒性メカニズムとは考え難く、評価にあたり閾値を設定することは可能であると考えられた。

各種試験結果から、食品中の暴露評価対象物質をイソプロチオラン(親化合物のみ)と設定した。

各試験における無毒性量等は表20に示されている。

食品安全委員会は、各試験の無毒性量の最小値が、ラットを用いた90日間亜急性毒性試験の3.4 mg/kg 体重/日であつたが、より長期の2年間慢性毒性/発がん性併合試験での10.9 mg/kg 体重/日が、ラットにおける無毒性量としてより適切であると判断した。また、イヌを用いた1年間慢性毒性試験の無毒性量が10 mg/kg 体重/日であつたので、これを根拠として、安全係数100で除した0.1 mg/kg 体重/日を一日摂取許容量(ADI)と設定した。

ADI	0.1 mg/kg 体重/日
(ADI 設定根拠資料)	慢性毒性試験
(動物種)	イヌ
(期間)	1年間
(投与方法)	カプセル経口投与
(無毒性量)	10 mg/kg 体重/日
(安全係数)	100

暴露量については、当評価結果を踏まえて暫定基準値の見直しを行う際に確認することとする。

表 20 各試験における無毒性量等

動物種	試験	投与量 (mg/kg 体重/日)	無毒性量 <sup>1)</sup> (mg/kg 体重/日)
ラット	16 週間亜急性 毒性試験 [参考資料]	0、20、100、300、900、 2,700 ppm ----- 雄：0、1.17、5.92、17.3、 53.0、158 雌：0、0.69、7.27、21.6、 61.7、182	雄：53.0 雌：61.7  雌雄：肝絶対及び比重量増加等
	90 日間亜急性 毒性試験① [参考資料]	0、40、100、400、1,000、 4,000 ppm ----- 雄：0、2.4、5.9、22.9、 61.4、254 雌：0、2.8、6.8、26.5、 67.9、266	雄：61.4 雌：67.9  雄：肝及び腎比重量増加等 雌：肝絶対及び比重量増加等
	90 日間亜急性 毒性試験	0、50、300、3,000 ----- 雄：0、3.4、20.5、201 雌：0、4.0、23.4、223	雄：3.4 雌：23.4  雌雄：肝絶対及び比重量増加等
	2 年間慢性毒 性/発がん性 併合試験	0、50、300、3,000 ppm ----- 雄：0、1.82、10.9、115 雌：0、2.06、12.6、139	雄：10.9 雌：12.6  雌雄：T. Chol 増加及び体重増加抑制等  (雄で皮膚角化棘細胞腫増加)
	3 世代 繁殖試験	0、30、300、3,000 ppm ----- P 雄：0、2.0、19.2、193 P 雌：0、1.4、16.1、161 F <sub>1</sub> 雄：0、2.4、24.5、259 F <sub>1</sub> 雌：0、2.5、25.6、283 F <sub>2</sub> 雄：0、2.5、23.5、253 F <sub>2</sub> 雌：0、2.6、27.1、319	親動物及び児動物 P 雄：19.2 P 雌：16.1 F <sub>1</sub> 雄：24.5 F <sub>1</sub> 雌：25.6 F <sub>2</sub> 雄：23.5 F <sub>2</sub> 雌：27.1  親動物：体重増加抑制 児動物：低体重  (繁殖能に対する影響は認められない)
	発生毒性試験	0、12、50、200	母動物：50 胎 児：12  母動物：体重増加抑制 胎 児：軽微な化骨遅延  (催奇形性は認められない)
マウス	16 週間亜急性 毒性試験	0、20、100、300、900、 2,700 ppm ----- 雄：0、3.32、14.8、48.0、 132、472 雌：0、2.81、14.3、47.2、 140、444	雄：132 雌：140  雌雄：肝絶対及び比重量増加

	90日間亜急性 毒性試験 [参考資料]	0、40、100、400、1,000、 4,000 ppm ----- 雄：0、5.5、13.2、53.9、 145、581 雌：0、6.3、16.3、66.6、 177、738	雄：145 雌：177  肝絶対重量増加等
	18ヶ月間 発がん性試験	0、200、1,000、5,000 ----- 雄：0、20.0、104、501 雌：0、18.2、95.6、558	雄：20.0 雌：95.6  雌雄：小葉周辺性肝細胞肥大等  (発がん性は認められない)
イヌ	1年間慢性 毒性試験	0、2、10、50	雌雄：10  雌雄：ALP上昇等
ウサギ	発生毒性試験	0、15、80、400	母動物：80 胎児：400  母動物：体重増加抑制傾向及び摂餌量減少 胎児：毒性所見なし  (催奇形性は認められない)
ADI			NOAEL：10 ADI：0.1 SF：100
ADI設定根拠資料			イヌ1年間慢性毒性試験

NOAEL：無毒性量 SF：安全係数 ADI：一日摂取許容量

1)：無毒性量欄には、最小毒性量で認められた主な毒性所見等を記した。

<別紙1：代謝物/分解物略称>

記号	名称 (略称)	化学名
B	4-ヒドロキシ体	ジイソプロピル 4-ヒドロキシ-1,3-ジチオラン-2-イリデンマロネート
C	モノエステル体	モノイソプロピル 1,3-ジチオラン-2-イリデンマロネート
D	モノスルホキシド体	ジイソプロピル 1-オキソ-1,3-ジチオラン-2-イリデンマロネート
E	ジデヒドロ体	ジイソプロピル 1,3-ジチオレン-2-イリデンマロネート
F	脱モノイソプロポキシカルボニル体	イソプロピル 1,3-ジチオラン-2-イリデンアセテート
G	脱ジイソプロポキシカルボニル体	2-メチレン-1,3-ジチオラン
K	ビニルチオ酢酸体	(2-イソプロポキシカルボニル-1-メチルチオ) ビニルチオ酢酸

<別紙 2：検査値等略称>

略称	名称
ACh	アセチルコリン
A/G 比	アルブミン/グロブリン比
ai	有効成分量
ALP	アルカリホスファターゼ
APTT	活性化部分トロンボプラスチン時間
BCF	生物濃縮係数
BUN	血液尿素窒素
C <sub>max</sub>	最高濃度
Cre	クレアチニン
GGT	γ-グルタミルトランスぺプチダーゼ
Glu	グルコース (血糖)
GOT	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (=グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ[AST])
GPT	アラニンアミノトランスフェラーゼ (=グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ[ALT])
Hb	ヘモグロビン (血色素量)
His	ヒスタミン
Ht	ヘマトクリット値
5-Ht	セロトニン
LC <sub>50</sub>	半数致死濃度
LD <sub>50</sub>	半数致死量
MCH	平均赤血球血色素量
MCV	平均赤血球容積
PEC	環境中予測濃度
PHI	最終使用から収穫までの日数
PLT	血小板数
PT	プロトロンビン時間
RBC	赤血球数
T <sub>1/2</sub>	消失半減期
TAR	総投与 (処理) 放射能
T. Bil	総ビリルビン
T. Chol	総コレステロール
T <sub>max</sub>	最高濃度到達時間
TP	総蛋白質

TRR	総残留放射能
WBC	白血球数

<別紙3：作物残留試験成績>

作物名 実施年度	試験 圃場数	使用量 (g ai/ha)	回数 (回)	PHI (日)	残留値(mg/kg)	
					インプロチオラン	
					最高値	平均値
稲 (玄米) 1971年度	1	4,800 <sup>G</sup>	1	64	0.008	0.008
			2	64	0.025	0.023
			3	64	0.031	0.024
稲 (玄米) 1971年度	1	4,800 <sup>G</sup>	2	71	0.012	0.010
				78	0.013	0.011
稲 (玄米) 1971年度	1	6,000 <sup>G</sup>	2	71	0.009	0.007
				78	0.008	0.006
稲 (玄米) 1971年度	1	400-720 <sup>EC</sup>	2	44	0.44	0.32
			3	28	1.30	1.08
			3	48	0.22	0.17
稲 (玄米) 1971年度	1	400-720 <sup>EC</sup>	2	43	0.39	0.34
			3	36	0.61	0.56
			3	84	0.037	0.030
稲 (玄米) 1974年度	2	750-1,000 <sup>D</sup>	3	22-23	0.88	0.39
			3	31-32	0.32	0.19
			4	14-16	0.484	0.34
稲 (稲わら) 1974年度	2	750-1,000 <sup>D</sup>	3	22-23	3.03	1.44
			3	31-32	1.32	0.99
			4	14-16	7.75	3.94
稲 (玄米) 1974年度	2	750-1,000 <sup>D</sup>	3	20-22	0.894	0.46
			3	29-31	0.734	0.41
			4	13-14	0.342	0.25
稲 (稲わら) 1974年度	2	750-1,000 <sup>D</sup>	3	20-22	2.68	2.21
			3	29-31	1.90	1.37
			4	13-14	6.25	3.77
稲 (玄米) 1975年度	2	480-600 <sup>EC</sup>	3	14-15	0.55	0.27
				21-22	0.26	0.18
				30	0.80	0.63
稲 (稲わら) 1975年度	2	480-600 <sup>EC</sup>	3	14-15	3.77	2.88
				21-22	2.50	1.46
				30	2.26	1.01
稲 (玄米) 1975年度	2	480-600 <sup>WP</sup>	3	14-15	0.109	0.08
				21-22	0.17	0.09
				30	0.70	0.46
稲 (稲わら) 1975年度	2	480-600 <sup>WP</sup>	3	14-15	2.20	1.48
				21-22	1.05	0.64
				30	2.10	1.12
稲 (玄米) 1975年度	2	2,100-2,800 <sup>FG</sup>	3	21-22	0.47	0.15
				30	0.93	0.61
				45	1.30	0.58
稲 (稲わら) 1975年度	2	2,100-2,800 <sup>FG</sup>	3	21-22	5.62	3.09
				30	8.35	5.03
				45	9.50	3.66
稲 (玄米) 1975年度	2	3,600-6,000 <sup>G</sup>	2	28-30	0.21	0.10
			2	44-45	0.50	0.20
			3	28-30	0.55	0.22
			3	44-45	0.59	0.23
稲 (稲わら) 1975年度	2	3,600-6,000 <sup>G</sup>	2	28-30	20.0	10.5
			2	44-45	27.0	17.1
			3	28-30	20.0	13.2
			3	44-45	23.0	27.4
稲 (玄米) 1975年度	2	400 (空散) <sup>EC</sup>	2	41-48	0.14	0.06
稲 (玄米) 1975年度	2	480-600 <sup>EC</sup>	2	48-54	0.25	0.11

作物名 実施年度	試験 圃場数	使用量 (g ai/ha)	回数 (回)	PHI (日)	残留値(mg/kg)					
					イソプロチオラン					
					最高値	平均値				
稲 (稲わら) 1975年度	2	400 (空散) <sup>EC</sup>	2	41-48	1.64	0.43				
稲 (稲わら) 1975年度	2	480-600 <sup>EC</sup>	2	48-54	0.63	0.26				
稲 (玄米) 1977年度	1	450 (空散) <sup>L</sup>	2	56	<0.03	<0.03				
稲 (玄米) 1977年度	1	450 (空散) <sup>L</sup>	2	36	0.525	0.41				
稲 (玄米) 1977年度	1	600 <sup>EC</sup>	1	56	0.018	0.024*				
稲 (玄米) 1977年度	1	450 <sup>L</sup>	2	42	0.605	0.49				
稲 (稲わら) 1977年度	1	450 (空散) <sup>L</sup>	2	56	0.09	0.06				
稲 (稲わら) 1977年度	1	450 (空散) <sup>L</sup>	2	36	0.27	0.21				
稲 (稲わら) 1977年度	1	600 <sup>EC</sup>	1	56	0.29	0.20				
稲 (稲わら) 1977年度	1	450 <sup>L</sup>	2	42	0.38	0.28				
稲 (玄米) 1977年度	2	720 <sup>EC</sup>	1	10	0.44	0.25				
				20	1.81	1.57				
				28-30	1.65	0.91				
				40	0.44	0.26				
				50	<0.01	<0.01				
稲 (稲わら) 1977年度	2	720 <sup>EC</sup>	1	10	3.10	1.92				
				20	7.00	4.66				
				28-30	1.82	1.76				
				40	0.47	0.34				
				50	0.64	0.40				
稲 (玄米) 1990年度	2	400 (空散) <sup>EC</sup>	3	14	0.848	0.609				
				稲 (玄米) 1991年度	2	6,000 <sup>G</sup>	3	33-37	0.63	0.50
								42-43	0.62	0.48
				稲 (稲わら) 1991年度	2	6,000 <sup>G</sup>	3	33-37	61	34
								42-43	37.6	16
稲 (玄米) 1991年度	2	6,000 <sup>G</sup> ×1 <sup>G</sup> 1,000 <sup>D</sup> ×1 <sup>D</sup> 600 <sup>EC</sup> ×1 <sup>EC</sup>	3	14	0.78	0.35				
				41-42	0.98	0.53				
				稲 (稲わら) 1991年度	2	6,000 <sup>G</sup> ×1 <sup>G</sup> 1,000 <sup>D</sup> ×1 <sup>D</sup> 600 <sup>EC</sup> ×1 <sup>EC</sup>	3	14	10.4	7.9
41-42	8.0	5.1								
稲 (玄米) 1994年度	2	333 <sup>EC</sup>	3	14	0.93	0.60				

作物名 実施年度	試験 圃場数	使用量 (g ai/ha)	回数 (回)	PHI (日)	残留値(mg/kg)	
					イソプロチオラン	
					最高値	平均値
稲 (稲わら) 1994年度	2	333 <sup>EC</sup>	3	14	3.81	3.48
りんご (無袋・果実) 1984年度	2	600/樹 <sup>G</sup>	1 2	168-210 133-168	<0.01 <0.01	<0.01 <0.01
なし (無袋・果実) 1984年度	2	600/樹 <sup>G</sup>	1 2	152-155 97-113	<0.01 <0.01	<0.01 <0.01
びわ (有袋・果実) 1984年度	2	3,600/樹 <sup>G</sup>	1	244-252	<0.005	<0.005
うめ (果実) 1985年度	2	6,000/樹 <sup>G</sup>	1	61-84	0.008	0.006*
ぶどう (露地・無袋・果実) 1986年度	2	6,000/樹 <sup>G</sup>	1	152-169	<0.005	<0.005
もも (有袋・無袋・果実) 1986年度	2	3,600/樹 <sup>G</sup>	1	112-160	<0.005	<0.005

注) G: 粒剤、FG: 微粒剤F、D: 粉剤、EC: 乳剤、L: 液剤、WP: 水和剤

- ・一部に定量限界未満を含むデータの平均を計算する場合は定量限界値を検出したものとして計算し、\*印を付した。
- ・全てのデータが定量限界未満の場合は定量限界値の平均に<を付して記載した。

<参照>

- 1 食品、添加物等の規格基準（昭和 34 年厚生省告示第 370 号）の一部を改正する件（平成 17 年 11 月 29 日付、平成 17 年厚生労働省告示第 499 号）
- 2 農薬抄録イソプロチオラン（殺菌剤）：平成 19 年 8 月 9 日改訂：日本農薬株式会社、一部公表予定
- 3 食品健康影響評価について：食品安全委員会第 203 回会合資料 1-1  
(URL : <http://www.fsc.go.jp/iinkai/i-dai203/dai203kai-siryoku1-1.pdf>)
- 4 イソプロチオランの魚介類における最大推定残留値に係る資料
- 5 「イソプロチオラン」の食品安全基本法第 24 条第 1 項に基づく食品健康影響評価について：食品安全委員会第 203 回会合資料 1-4  
(URL : <http://www.fsc.go.jp/iinkai/i-dai203/dai203kai-siryoku1-4.pdf>)
- 6 食品安全委員会農薬専門調査会確認評価第二部会第 7 回会合  
(URL : [http://www.fsc.go.jp/senmon/nouyaku/kakunin2\\_dai7/index.html](http://www.fsc.go.jp/senmon/nouyaku/kakunin2_dai7/index.html))
- 7 食品安全委員会農薬専門調査会幹事会第 29 回会合  
(URL : [http://www.fsc.go.jp/senmon/nouyaku/kanjikai\\_dai29/index.html](http://www.fsc.go.jp/senmon/nouyaku/kanjikai_dai29/index.html))
- 8 承認申請時の添付資料概要（成分名：イソプロチオラン）：日本農薬株式会社