

参考資料 2

2024 年 9 月 6 日

第 3 回食品衛生基準審議会

文書配布による報告事項
に関する参考資料

目次

発芽スイートルーパーン抽出たんぱく質（参考資料）	3
アナカルド酸（参考資料）	34

発芽スイートルーピン抽出たんぱく質

今般の残留基準の検討については、農薬取締法（昭和23年法律第82号）に基づく新規の農薬登録申請に伴う基準値設定依頼が農林水産省からなされたことに伴い、食品衛生法（昭和22年法律第233号）に基づく人の健康を損なうおそれのないことが明らかであるものとして内閣総理大臣が定める物質（以下「対象外物質」という。）として設定することについて、食品安全委員会において食品健康影響評価がなされたことを踏まえ、農薬・動物用医薬品部会において以下の報告を取りまとめるものである。

1. 概要

(1) 品目名：発芽スイートルーピン抽出たんぱく質¹ [BLAD]

(2) 分類：農薬

(3) 用途：殺菌剤

菌細胞膜の糖タンパク質に対して高い親和性を有し、かつ非特異的に結合することにより細胞細孔を閉塞し、代謝機能を阻害すること、また、細胞壁のキチン質を分解する *N*-acetylglucosaminidase 活性により細胞壁に穴を開けることで細胞死に至らしめるものと考えられている。

(4) 化学名及びCAS番号

米国・カナダ・豪州・ニュージーランド：BLAD、

EU：Aqueous extract from the germinated seeds of sweet *Lupinus albus*

IUPAC：なし

CAS：No. 1219521-95-5

(5) アミノ酸配列及び物性

```
RRQRNPYHFSSQRFQTLTKNRNGKIRVLERFDQRTNRLENLQNYRIVE
FQSKPNTLILPKHSDADYVLVVLNGRATITIVNPDRRQAYNLEYGDALR
IPAGSTSYILNPDDNQKL RVVKLAIPINNPGYFYDFYPSSTKDQQSYFSG
FSRNTLEATFNTRYEEIQRILGNED
```

¹ 原体には発芽スイートルーピン抽出たんぱく質が 20%含まれている。英名の BLAD は、ポルトガル語「Banda de *Lupinus albus* doce」（訳： *Lupinus albus* のスイート種の電気泳動のバンド）の頭文字に由来する。なお、米国生物工学情報センターが提供する GenBank においても「BLAD」として登録されている。

2. 適用の範囲及び使用方法

本剤の適用の範囲及び使用方法は以下のとおり。

(1) 国内での使用方法

作物名	剤型	希釈倍数	使用液量	使用時期	本剤の使用回数	使用方法	発芽スイートルーピン抽出たんぱく質を含む農薬の総使用回数
野菜類	20.0% SL	400～600倍	100～300 L/10 a	発病前～ 発病初期	—	散布	—
トマト ミニトマト	20.0% SL	300～500倍					

SL：液剤

—：規定されていない項目

3. 食品健康影響評価

食品安全基本法（平成15年法律第48号）第24条第1項第1号の規定に基づき、食品安全委員会あて意見を求めた発芽スイートルーピン抽出たんぱく質に係る食品健康影響評価において、以下のとおり評価されている。

発芽スイートルーピン抽出たんぱく質は天然に存在する種子貯蔵たんぱく質の構成成分であり、農薬として使用した場合でも自然界において微生物等により急速に分解され、農作物への残留性が低く、また、仮に摂取したとしても動物の腸管に存在するトリプシン等のたんぱく質分解酵素によって速やかに分解されることから、発芽スイートルーピン抽出たんぱく質の吸収は極めて低いと考えられる。

発芽スイートルーピン抽出たんぱく質のアレルゲン性について、使用基準の範囲で農薬として使用した場合の農作物への残留は低いこと、トリプシン等のたんぱく質分解酵素により速やかに分解されること及び海外におけるこれまでの使用実績の中でアレルギー反応の報告がないことを総合的に考察して、人においてアレルギー反応が誘発される可能性は低いと考えられる。

ただし、今後新たな情報が得られた場合は、更なる議論が必要となる可能性があるため、引き続き情報収集を行うことが重要である。以上のことから、発芽スイートルーピン抽出たんぱく質は、農薬として想定しうる使用方法に基づき通常使用される限りにおいて、食品に残留することにより人の健康を損なうおそれのないことが明らかであると考えられる。

4. 諸外国における状況

JMPR における毒性評価は行われておらず、国際基準も設定されていない。

米国、カナダ、EU、豪州及びニュージーランドについて調査した結果、米国、カナダ、EU、豪州、ニュージーランドにおいて基準値は設定不要とされている。

5. 対象外物質としての設定

発芽スイトルーピン抽出たんぱく質は、農薬として適切に使用される限りにおいて、食品に残留することにより人の健康を損なうおそれのないことが明らかであると考えられている。

食品安全委員会における評価結果を踏まえ、発芽スイトルーピン抽出たんぱく質を食品衛生法第13条第3項の規定に基づく対象外物質として設定することは妥当である。

なお、今回対象外物質として設定する発芽スイトルーピン抽出たんぱく質については、その特定のため、告示施行通知にアミノ酸配列等の必要な情報を示すこととする。

(参考)

これまでの経緯

令和 3 年 2 月 1 2 日	農林水産省から厚生労働省へ農薬登録申請に係る連絡及び基準値設定依頼（新規：野菜類、トマト等）
令和 5 年 3 月 8 日	厚生労働大臣から食品安全委員会委員長あてに人の健康を損なうおそれのないことが明らかであるものとして定めることに係る食品健康影響評価について要請
令和 6 年 1 月 2 5 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
令和 6 年 6 月 2 5 日	食品衛生基準審議会農薬・動物用医薬品部会

● 食品衛生基準審議会農薬・動物用医薬品部会

[委員]

◎ 穂山 浩	星薬科大学薬学部教授
大山 和俊	一般財団法人残留農薬研究所業務執行理事・化学部長
○ 折戸 謙介	学校法人麻布獣医学園理事（兼）麻布大学獣医学部教授
加藤 くみ子	北里大学薬学部教授
神田 真軌	東京都健康安全研究センター食品化学部副参事研究員
近藤 麻子	日本生活協同組合連合会組織推進本部長
佐藤 洋	岩手大学農学部教授
佐野 元彦	東京海洋大学学術研究院海洋生物資源学部門教授
須恵 雅之	東京農業大学応用生物科学部教授
瀧本 秀美	国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所理事
田口 貴章	国立医薬品食品衛生研究所食品部第一室長
堤 智明	国立医薬品食品衛生研究所食品部長
中島 美紀	金沢大学ナノ生命科学研究所
野田 隆志	一般社団法人日本植物防疫協会技術顧問

(◎：部会長、○：部会長代理)

府 食 第 1 8 号
令和 6 年 1 月 25 日

厚生労働大臣
武見 敬三 殿

食品安全委員会
委員長 山本 茂貴

食品健康影響評価の結果の通知について

令和 5 年 3 月 8 日付け厚生労働省発生食 0308 第 5 号をもって厚生労働大臣から食品安全委員会に意見を求められた発芽スイトルーピン抽出たんぱく質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 1 のとおりです。

また、本件に関して行った国民からの意見・情報の募集において、貴省に関連する意見・情報が別添 2 のとおり寄せられましたので、お伝えします。

記

発芽スイトルーピン抽出たんぱく質は、農薬として想定しうる使用方法に基づき通常使用される限りにおいて、食品に残留することにより人の健康を損なうおそれのないことが明らかであると考えられる。

別添 1

対象外物質※評価書

発芽スィートルーピン 抽出たんぱく質

令和6年（2024年）1月

食品安全委員会

※ 食品衛生法（昭和22年法律第233号）第13条第3項の規定に基づき、人の健康を損なうおそれのないことが明らかであるものとして厚生労働大臣が定める物質

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第四専門調査会専門委員名簿.....	3
○ 要 約.....	5
 I. 評価対象農薬の概要.....	 6
1. 用途.....	6
2. 有効成分の一般名.....	6
3. 化学名.....	6
4. アミノ酸配列.....	6
5. 分子量.....	6
6. 構造式.....	6
7. 物理的・化学的性状.....	6
8. 開発の経緯等.....	7
 II. 安全性に係る知見の概要.....	 8
1. 吸収・分布・代謝・排泄.....	8
2. 毒性に関する知見.....	8
(1) 急性毒性試験.....	8
(2) 眼・皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性試験.....	8
(3) 90日間亜急性毒性試験（ラット）.....	9
(4) 21日間亜急性経皮毒性試験（ラット）.....	9
(5) 慢性毒性試験（ラット）＜参考資料＞.....	10
(6) 3世代繁殖試験（ラット）＜参考資料＞.....	10
(7) 遺伝毒性試験.....	10
3. 残留性について.....	11
(1) 植物代謝について.....	11
(2) 作物残留試験.....	12
(3) 希釈液への浸漬による薬液付着量測定試験＜参考資料＞.....	12
4. その他.....	13
(1) たんぱく質分解酵素による加水分解試験.....	13
(2) 土壌中及び水中動態試験.....	13
(3) 生分解性試験.....	13
(4) イムノブロット試験.....	14
5. 国際機関等における評価の概要.....	14
(1) 米国環境保護庁（EPA）における評価.....	14

（２）欧州委員会（EC）及び欧州食品安全機関（EFSA）における評価.....	15
（３）オーストラリア農薬・動物用医薬品局（APVMA）における評価.....	16
（４）カナダ保健省（Health Canada）における評価	16
III. 食品健康影響評価.....	17
・ 別紙１：検査値等略称.....	18
・ 別紙２：作物残留試験成績（海外）	19
・ 参照.....	22

＜審議の経緯＞

- 2021 年 2 月 12 日 農林水産省から厚生労働省へ農薬登録申請に係る連絡及び
基準値設定依頼（新規：トマト、ミニトマト等）
- 2023 年 3 月 8 日 厚生労働大臣から食品衛生法第 13 条第 3 項の規定に基づき、
人の健康を損なうおそれのないことが明らかである物質を
定めることに係る食品健康影響評価について要請（厚生労働
省発生食 0308 第 5 号）
- 2023 年 3 月 9 日 関係書類の接受（参照 1～15）
- 2023 年 3 月 14 日 第 893 回食品安全委員会（要請事項説明）
- 2023 年 3 月 17 日 追加資料受理（参照 28～31）
- 2023 年 4 月 17 日 第 23 回農薬第四専門調査会
- 2023 年 6 月 15 日 追加資料受理（参照 35～40）
- 2023 年 7 月 26 日 追加資料受理（参照 41～46）
- 2023 年 8 月 10 日 第 25 回農薬第四専門調査会
- 2023 年 10 月 10 日 第 916 回食品安全委員会（報告）
- 2023 年 10 月 11 日 から 11 月 9 日まで 国民からの意見・情報の募集
- 2024 年 1 月 15 日 農薬第四専門調査会座長から食品安全委員会委員長へ報告
- 2024 年 1 月 23 日 第 926 回食品安全委員会（報告）
（1 月 25 日付け厚生労働大臣へ通知）

＜食品安全委員会委員名簿＞

（2021 年 7 月 1 日から）

山本茂貴（委員長）
浅野 哲（委員長代理 第一順位）
川西 徹（委員長代理 第二順位）
脇 昌子（委員長代理 第三順位）
香西みどり
松永和紀
吉田 充

＜食品安全委員会農薬第四専門調査会専門委員名簿＞

（2022 年 4 月 1 日まで）

小野 敦（座長）	楠原洋之	中山真義
佐藤 洋（座長代理）	小林健一*	納屋聖人
石井雄二	杉原数美	藤井咲子
太田敏博	永田 清	安井 学

*：2023 年 9 月 30 日まで

<第 23 回農薬第四専門調査会専門参考人名簿>

高木篤也（国立医薬品食品衛生研究所安全性生物試験研究センター毒性部 主任研究官）

本多一郎（前橋工科大学工学部情報・生命工学群教授）

<第 25 回農薬第四専門調査会専門参考人名簿>

安達玲子（食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会専門委員）

高木篤也（元国立医薬品食品衛生研究所安全性生物試験研究センター毒性部 動物管理室長）

本多一郎（前橋工科大学工学部情報・生命工学群教授）

要 約

殺菌剤「発芽スイートルーピン抽出たんぱく質」（CAS No. 1219521-95-5）について、食品衛生法（昭和 22 年法律第 233 号）第 13 条第 3 項の規定に基づき、人の健康を損なうおそれのないことが明らかであるものとして厚生労働大臣が定める物質（対象外物質）として定めることについて、各種資料を用いて食品健康影響評価を実施した。

各種毒性試験の結果から、発芽スイートルーピン抽出たんぱく質の投与によるラットを用いた急性毒性試験における LD₅₀ 値は 5,000 mg/kg 体重超、ラットを用いた 90 日間亜急性毒性試験における無毒性量は 500 mg/kg 体重/日であった。遺伝毒性試験の結果、生体において問題となる遺伝毒性は認められなかった。

発芽スイートルーピン抽出たんぱく質は天然に存在する種子貯蔵たんぱく質の構成成分であり、農薬として使用した場合でも自然界において微生物等により急速に分解され、農作物への残留性が低く、また、仮に摂取したとしても動物の腸管に存在するトリプシン等のたんぱく質分解酵素によって速やかに分解されることから、発芽スイートルーピン抽出たんぱく質の吸収は極めて低いと考えられる。

発芽スイートルーピン抽出たんぱく質のアレルゲン性について、使用基準の範囲で農薬として使用した場合の農作物への残留は低いこと、トリプシン等のたんぱく質分解酵素により速やかに分解されること及び海外におけるこれまでの使用実績の中でアレルギー反応の報告がないことを総合的に考察して、人においてアレルギー反応が誘発される可能性は低いと考えられる。

ただし、今後新たな情報が得られた場合は、更なる議論が必要となる可能性があるため、引き続き情報収集を行うことが重要である。

以上のことから、発芽スイートルーピン抽出たんぱく質は、農薬として想定しうる使用方法に基づき通常使用される限りにおいて、食品に残留することにより人の健康を損なうおそれのないことが明らかであると考えられる。なお、原体混在物について規格で規定された範囲内で管理されることを前提として判断したものである。

I. 評価対象農薬の概要

1. 用途

殺菌剤

2. 有効成分の一般名¹

和名：発芽スィートルーピン抽出たんぱく質

英名：BLAD

3. 化学名

IUPAC

和名：なし

英名：なし

CAS (No. 1219521-95-5)

和名：なし

英名：なし

4. アミノ酸配列

RRQRNPYHFSSQRFQTLYKNRNGKIRVLERFDQRTNRLLENLQNYRIVE
FQSKPNTLILPKHSDADYVLVVLNGRATITIVNPDRRQAYNLEYGDALR
IPAGSTSYILNPDDNQKLRVVKLAIPINNPgyfydfypsSTKDQQSYFSG
FSRNTLEATFNTRYEEIQRILGNED

5. 分子量

20,408.95

6. 構造式

省略

7. 物理的・化学的性状

融点 : —

沸点 : —

密度 : —

外観(色調及び形状)、臭気 : 白色粉末、無臭(90% w/w)

¹ 原体には発芽スィートルーピン抽出たんぱく質が 20%含まれている。英名の BLAD は、ポルトガル語「Banda de *Lupinus albus* doce」（訳： *Lupinus albus* のスィート種の電気泳動のバンド）の頭文字に由来する。なお、米国生物工学情報センターが提供する GenBank においても「BLAD」として登録されている。

水溶解度	: -
オクタノール/水分配係数	: -
解離定数	: -

- : 複雑な構造を有するたんぱく質であり、試験が実施されていない。

8. 開発の経緯等

発芽スイートルーピン抽出たんぱく質は 1991 年に CEV 社（ポルトガル）により発見された殺菌剤であり、食用及び飼料用として用いられているマメ科植物のスイートルーピン (*Lupinus albus*)²の発芽種子から抽出して得られる 173 個のアミノ酸残基からなる約 20 kDa のポリペプチドである。本成分は植物中の貯蔵たんぱく質である β -コングルチン³を構成するサブユニットの一つで、種子発芽後に β -コングルチンから分離され、子葉中に存在している。

発芽スイートルーピン抽出たんぱく質の殺菌剤としての作用機構はまだ十分明らかとなっていないが、酵母を用いた研究において、発芽スイートルーピン抽出たんぱく質が細胞膜の糖たんぱく質への非特異的な高い親和性を有し、細胞細孔の閉塞によると考えられる細胞死をもたらすことが確認されている。また、ぶどううどんこ病菌 (*Uncinula necator*) を用いた研究結果から、*N*-acetylglucosaminidase 活性による細胞壁のキチン質の分解作用が確認されている。

海外では、米国、EU、豪州等で農薬登録されている。

今回、農薬取締法に基づく農薬登録申請（新規：トマト、ミニトマト等）がなされ、食品衛生法（昭和 22 年法律第 233 号）第 13 条第 3 項の規定に基づき、発芽スイートルーピン抽出たんぱく質を人の健康を損なうおそれのないことが明らかであるものとして厚生労働大臣が定める物質（対象外物質）として定めることについて、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、厚生労働大臣から食品安全委員会に食品健康影響評価の要請がなされた。

² ルーピンは豪州、欧州等においては長い食経験を有するが、日本では一般に食用とされておらず、食用目的では醤油製造の原料として輸入されているのみである。また、ルーピンは飼料用としても豪州等から輸入されており、飼料の公定規格が設定されている。豪州、欧州等では食用目的で利用されるルーピン中のアルカロイド (lupanine 等) 含有量について、基準値 (200 mg/kg) が設定されており、日本に食用目的で輸入されるルーピンは、その基準値以下となるよう品種改良された豪州産スイートルーピンである。本剤の製造に用いられるスイートルーピンは、上記のアルカロイド含有量の基準値を満たす品種のみが用いられており、原体中のアルカロイド含有量は製造過程で更に減少する。

³ グロブリンはマメ類種子の主要な貯蔵たんぱく質であり、沈降係数 7S (150~200 kDa) 及び 11S (300~450 kDa) の 2 つの部分から構成される。7S は vicilin 型グロブリン、11S は legumin 型グロブリンと呼ばれ、 β -コングルチンは vicilin 型グロブリンに該当する。（参照 2）

II. 安全性に係る知見の概要

各種試験成績、海外の評価機関（EPA、EFSA、APVMA 等）の評価書等を基に、発芽スイトルーピン抽出たんぱく質に関する科学的知見を整理した。

検査値等略称は別紙 1 に示されている。

1. 吸収・分布・代謝・排泄

発芽スイトルーピン抽出たんぱく質は、原料であるスイトルーピン（*Lupinus albus*）の構成成分として存在しており、スイトルーピンは海外において食品等に広く利用されていることから、吸収、分布、代謝及び排泄の試験は実施されていない。

2. 毒性に関する知見

（1）急性毒性試験

発芽スイトルーピン抽出たんぱく質（原体）のラットを用いた急性毒性試験が実施された。

結果は表 1 に示されている。（参照 2、4～6）

表 1 急性毒性試験結果概要

投与経路	動物種 性別・匹数	LD ₅₀ (mg/kg 体重)		観察された症状
		雄	雌	
経口 ^{a、b}	SD ラット 雌 3 匹	/	>5,000	投与量：5,000 mg/kg 体重 体重減少(1 例、投与後 7～14 日) 死亡例なし
経皮 ^b	SD ラット 雌雄各 5 匹		>2,000	雌雄：赤い鼻汁 雌：体重減少(1 例) 死亡例なし
吸入 ^c	SD ラット 雌雄各 5 匹	LC ₅₀ (mg/L)		雌雄：異常呼吸、活動低下及び体重減少 死亡例なし
		>5.34	>5.34	

/：該当なし

a：上げ下げ法による評価。

b：被験物質は原液のまま投与された。

c：4 時間ばく露（エアロゾル）

（2）眼・皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性試験

発芽スイトルーピン抽出たんぱく質（原体）の NZW ウサギを用いた眼及び皮膚刺激性試験が実施された。その結果、軽度の眼刺激性（角膜混濁及び結膜炎）及び軽度の皮膚刺激性（紅斑及び浮腫）が認められた。

Hartley モルモットを用いた皮膚感作性試験（Buehler 法）が実施され、結果

は陰性であった。（参照 2、3、7～9）

（3）90 日間亜急性毒性試験（ラット）

Wistar Hannover ラット（一群雌雄各 10 匹）を用いた強制経口投与（原体：0、250、500 及び 1,000 mg/kg 体重/日⁴）による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

1,000 mg/kg 体重/日投与群の雌 1 例で、脳〔背側中脳（上丘）及び延髄〕及び脊髄（前後角）空胞化が認められた。所見の程度は軽微～軽度で、両側対称性に認められた⁵。空胞形成に伴う炎症細胞浸潤又は炎症性変化は認められず、一般状態の変化や FOB に検体投与による影響は認められなかった。当該所見は切片作成における固定作業が不完全であったことに起因するアーティファクトの可能性が考えられたが、ほかに人工的变化は認められず、両側対称性の分布であること、本試験に用いられたほかの個体及び試験実施施設における Wistar ラットの背景データで同所見が認められていないことから、投与による影響の可能性も否定できず、食品安全委員会は毒性所見と判断した。

本試験において、雄ではいずれの投与群においても毒性所見は認められず、1,000 mg/kg 体重/日投与群の雌で脳及び脊髄空胞化が認められたことから、無毒性量は雄で本試験の最高用量 1,000 mg/kg 体重/日、雌で 500 mg/kg 体重/日であると考えられた。（参照 2、10）

（4）21 日間亜急性経皮毒性試験（ラット）

Wistar Hannover ラット（一群雌雄各 5 匹）を用いた経皮投与（原体：0、100、300 及び 1,000 mg/kg 体重/日、6 時間/日）による 21 日間亜急性経皮毒性試験が実施された。本試験において、皮膚及び腎臓の病理組織学的検査は、対照群及び 1,000 mg/kg 体重/日投与群でのみ実施された。

1,000 mg/kg 体重/日投与群の雌雄で投与部位の過角化が認められ、100 mg/kg 体重/日以上投与群の雌雄で投与部位の紅斑及び痂皮が認められた。

1,000 mg/kg 体重/日投与群の雄で腎硝子滴沈着⁶の程度増強が認められた。

本試験において、いずれの検体投与群においても投与部位の紅斑及び痂皮が認められたことから、皮膚の局所作用に対する無毒性量は雌雄とも 100 mg/kg 体重/日未満であると考えられた。（参照 2、11）

⁴ 希釈されずに原液のまま投与された。

⁵ 本試験では透過型電子顕微鏡を用いた確認は行われていない。

⁶ 近位尿細管上皮細胞における好酸性細胞質封入体として認められた。免疫染色による確認は実施されていない。

（５）慢性毒性試験（ラット）＜参考資料⁷⁾＞

雄 Hooded-Lister ラットにルーピン (*Lupinus angustifolius*) を 320 g/kg 飼料の濃度で 700 又は 800 日間混餌投与した結果、毒性所見や体重への影響は認められず、検体投与により発生頻度の増加した腫瘍性病変は認められなかったと EPA において評価されている。なお、ルーピンを 700 日投与したオリジナルの論文では盲腸及び結腸の肥大が報告されている。いずれにしても、これらの試験では病理組織学的検査が実施されていないことから、食品安全委員会は慢性毒性の影響評価には不十分であると判断した。（参照 17、18、32、33）

（６）３世代繁殖試験（ラット）＜参考資料⁸⁾＞

Wistar ラット（一群雌雄各 20 匹）にルーピン (*Lupinus albus*) 粉由来のたんぱく質を混餌投与（7～35.4 g たんぱく質/kg 体重/日）して、３世代繁殖試験が実施された。

第 2 及び 3 世代の動物で雌雄とも肝臓の比重量の減少が認められたが、病理組織学的変化は認められなかった。繁殖能に対する影響は認められなかった。（参照 17、18、34）

（７）遺伝毒性試験

発芽スイートルーピン抽出たんぱく質（原体）の細菌を用いた復帰突然変異試験、マウスリンパ腫細胞（L5178Y）を用いた遺伝子突然変異試験（マウスリンフォーマ TK 試験）、ヒト末梢血リンパ球を用いた *in vitro* 小核試験及びラットを用いた *in vivo* コメット試験が実施された。

結果は表 2 に示されている。

当該遺伝毒性試験を用いて、たんぱく質の遺伝毒性の評価を行うことは難しいが、原体を用いた試験結果において、マウスリンフォーマ TK 試験の代謝活性化系存在下で陽性の結果が得られたことについては、ラットを用いた *in vivo* コメット試験では陰性の結果であり、原体について生体における DNA 損傷性はないと考えられた。また、ほかの試験は陰性であったことから、これらの結果を総合的に判断し、生体において問題となる遺伝毒性はないものと考えられた。（参照 2、12～15）

⁷⁾ 被験物質が原体と同一であるか不明であること、1 用量で実施された試験であること、病理組織学的検査が実施されていないことから、参考資料とした。

⁸⁾ 被験物質が原体と同一であるか不明であること、1 用量で実施された試験であること、繁殖能に対するデータが限定的であることから、参考資料とした。

表 2 遺伝毒性試験結果概要

試験		対象	処理濃度・投与量	結果
in vitro	復帰突然変異試験	<i>Salmonella typhimurium</i> (TA98、TA100、TA1535、TA1537 株) <i>Escherichia coli</i> (WP2 <i>uvrA</i> /pKM101 株)	16～5,000 μg /プレート(+/-S9)	陰性
	マウスリンフォーマ TK 試験	マウスリンパ腫細胞 (L5178Y TK ^{+/+})	①500～2,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (-S9) 150～900 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (+S9) ②600～2,500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (-S9) 300～1,200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (+S9) (いずれも 3 時間処理)	陽性 ^a
	小核試験	ヒト末梢血リンパ球	①800～2,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (+/-S9) (3 時間処理、21 時間培養後に標本作製) ②200～1,600 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (-S9) (24 時間処理、24 時間培養後に標本作製)	陰性
in vivo	コメット試験	Wistar Hannover ラット (胃) (一群雄 6 匹)	500、1,000、2,000 mg/kg 体重/日 (21 時間間隔で 2 回強制経口投与、最終投与 3 時間後に標本作製)	陰性

注) +/-S9：代謝活性化系存在下及び非存在下

^a：代謝活性化系存在下の 900～1,200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の濃度で、染色体異常誘発性（小コロニーの増加）のメカニズムによる突然変異体発現頻度の増加が認められた。

3. 残留性について

(1) 植物代謝について

① ぶどう及びトマト

ぶどう及びトマトに発芽スイートルーピン抽出たんぱく質の用量が 0.4 mg/mL になるよう調整した水溶液を散布して、植物代謝試験が実施された。処理 18 時間後に、ぶどうでは葉、トマトでは果皮が試料としてそれぞれ採取された。

試料の抽出液を電気泳動した結果、発芽スイートルーピン抽出たんぱく質のバンドは認められなかったことから、ぶどう（葉）及びトマト（果皮）において、発芽スイートルーピン抽出たんぱく質は処理後 18 時間で完全に代謝又は分解されたと考えられた。（参照 23、24、36）

② いちご及びトマト

海外（米国）における作物残留試験 [3.(2)②] のいちご及びトマトの分析値を用いて、各作物における発芽スイートルーピン抽出たんぱく質の半減期が算出された。

通常薬量処理区においては、いずれも定量限界未満であったことから、半減期は算出されなかった。5 倍薬量処理区においては、いちご及びトマトにおける発

芽スイートルーピン抽出たんぱく質の半減期はいずれも 2 日と算出された。(参照 20、29)

(2) 作物残留試験

① 国内

国内における作物残留試験は実施されていない。

② 海外(米国)

野菜及び果樹に米国での通常薬量又は 5 倍薬量を処理し、発芽スイートルーピン抽出たんぱく質⁹を分析対象化合物とした作物残留試験¹⁰が実施された。

結果は別紙 2 に示されている。

発芽スイートルーピン抽出たんぱく質は、通常薬量処理区ではいずれの試料においても定量限界(抽出液における残留値: 0.02、試料重量当たりの残留値: 0.4 mg/kg)又は検出限界(抽出液における残留値: 0.005、試料重量当たりの残留値: 0.1 mg/kg)未満であった。5 倍薬量処理区では、いちごで最終処理当日及び 1 日後に 0.492~0.558 mg/kg の残留が認められたが、最終処理 3 日後以降の試料では定量限界(0.4 mg/kg)未満であり、いちご以外の作物(トマト、きゅうり、りんご、おうとう及びぶどう)では、いずれの試料においても定量限界又は検出限界未満であった。

なお、トマト、きゅうり及びいちごにおける処理量は、通常薬量処理区で 792~873 g ai/ha、5 倍薬量処理区で 3,950~4,210 g ai/ha であり、日本での登録に当たり申請された使用方法は 1,260~2,510 g ai/ha と算出される。(参照 2、28、37、38)

(3) 希釈液への浸漬による薬液付着量測定試験<参考資料¹¹>

発芽スイートルーピン抽出たんぱく質製剤の 300 倍希釈液を用いて、果菜類(きゅうり、トマト及びピーマン)、葉菜類(キャベツ及び小松菜)、未成熟豆類(さやえんどう)及び果樹類(ぶどう)の可食部を浸漬処理して、薬液の平均付着量が測定された。

各作物への薬液平均付着量は表 3 に示されている。

⁹ ELISA 法を用いて分析。

¹⁰ 発芽スイートルーピン抽出たんぱく質の残留特性を明らかにすることを目的として実施された試験であり、残留基準値設定を目的として実施されたものではない。

¹¹ 本試験は申請されている使用方法のうち、最も高濃度である製剤の 300 倍希釈液を用いて実施されたが、申請された使用方法は散布であること、付着した農薬製剤中の発芽スイートルーピン抽出たんぱく質が全て作物中に残留するわけではないことから、残留性を評価することはできないため、参考資料とした。

表 3 各作物への薬液平均付着量

作物		付着量(g/g)
果菜類	きゅうり	0.0053
	トマト	0.0043
	ピーマン	0.0149
葉菜類	キャベツ	0.0837
	小松菜	0.102
未成熟豆類	さやえんどう	0.0170
果樹類	ぶどう	0.0084

注) 各作物とも 5 試料の平均値

本試験の処理条件は申請されている使用方法に対して過剰な条件ではあるが、葉菜類において、ほかの作物と比べ 5～20 倍程度の付着が認められた。(参照 2)

4. その他

(1) たんぱく質分解酵素による加水分解試験

5 つのたんぱく質分解酵素（臍液に含まれる酵素：トリプシン、 α -キモトリプシン、微生物から生成される酵素：プロナーゼ、プロテイナーゼ K 及びサブチリシン）を用いた発芽スイートルーピン抽出たんぱく質¹²の加水分解試験が実施された¹³。

その結果、いずれのたんぱく質分解酵素処理区においても、発芽スイートルーピン抽出たんぱく質は酵素処理後 1～2 時間で速やかに分解された。また、たんぱく質分解酵素処理 2 時間後にマーカーたんぱく質（リブローズニリン酸カルボキシラーゼ）を添加して更に 1 時間インキュベートした結果、マーカーたんぱく質の分解が確認されたことから、発芽スイートルーピン抽出たんぱく質の分解によって各たんぱく質分解酵素の阻害又は抗栄養因子として作用するフラグメントは生じないと考えられた。(参照 2)

(2) 土壌中及び水中動態試験

製剤（25%液剤）を用いて土壌中及び水中動態試験が実施された。

推定半減期は、土壌中で 30 日、水中で 15 日と算出された。(参照 25)

(3) 生分解性試験

製剤（20%液剤）を 2 mg ai/L の用量で添加して、密閉容器中で、19.0～22.0℃

¹² 発芽させたスイートルーピンから抽出しているが、原体との同等性については不明であった。一方で、電気泳動により発芽スイートルーピン抽出たんぱく質のバンドを確認していることから、発芽スイートルーピン抽出たんぱく質に対する加水分解試験と判断した。

¹³ Sara Monteiro, Alexandra Carreira, Regina Freitas, Ana Margarida Pinheiro, Ricardo Boavida Ferreira. Nontoxic Polypeptide Oligomer with a Fungicide Potency under Agricultural Conditions Which Is Equal or Greater than That of Their Chemical Counterparts, PLOS ONE, April 7, 2015

の暗条件下で 28 日間インキュベートして、生分解性試験が実施された。

生分解率は、処理 4 日後で 65.9%、処理 14 日後で 81.4%、処理 28 日後で 91.7% であった。（参照 26）

（４）イムノブロット試験

ルーピン又はピーナッツにアレルギー感受性のある集団に対する発芽スイトルーピン抽出たんぱく質の潜在的アレルギー性及び交差反応性を評価する目的で、スキンプリックテスト又はアレルギー特異的 IgE 抗体検査によりルーピン又はピーナッツにアレルギー感受性を示した被験者（年齢 10～70 代、男女計 31 名）の血清を用いたイムノブロット試験が実施された。本試験では発芽スイトルーピン抽出たんぱく質¹⁴への反応性との比較として、ルーピンの総たんぱく質及び β-コングルチン並びにピーナッツの総たんぱく質に対する抗原抗体反応についても確認された。

本試験の結果、各血清におけるルーピンの総たんぱく質及び β-コングルチン並びにピーナッツの総たんぱく質に対する抗原抗体反応は、個々の被験者のアレルギー感受性に合わせて明確に認められた一方で、いずれの被験者の血清においても発芽スイトルーピン抽出たんぱく質との抗原抗体反応は認められず、発芽スイトルーピン抽出たんぱく質はルーピン又はピーナッツに感受性の高い集団に対しても潜在的なアレルギー性及び交差反応性を示さないと考えられた。（参照 20～22、30、31）

5. 国際機関等における評価の概要

（１）米国環境保護庁（EPA）における評価

発芽スイトルーピン抽出たんぱく質は EPA において、2013 年に評価され、慢性参照用量（cRfD）及び急性参照用量（aRfD）は設定されていない¹⁵。

スイトルーピンは米国において食品及び飼料として利用されてきた歴史があり、発芽スイトルーピン抽出たんぱく質は速やかに生分解される点も踏まえ、使用基準に基づいて農薬として使用する限りにおいて、一般の集団のほか、特に乳幼児及び児童に毒性影響は生じないと判断された。

他方、2015 年及び 2020 年に行われた評価において、アレルギー性について議論された。ルーピンは米国において食品及び飼料として一般的に利用されていることから、発芽スイトルーピン抽出たんぱく質を農薬として使用した場合の食品を介した摂取量への寄与は僅かであり、ピーナッツ由来の既知のアレルギーたんぱく質（Ara h 1）とのアミノ酸配列に相同性（58%）があるものの、イムノ

¹⁴ 発芽スイトルーピン抽出たんぱく質（原体）を電気泳動し、得られたバンドの分子量から発芽スイトルーピン抽出たんぱく質と判断され、試験に用いられていることから、発芽スイトルーピン抽出たんぱく質に対するイムノブロット試験と判断した。

¹⁵ 米国では、有効成分名は *Banda de Lupinus albus doce* (BLAD)として登録されている。

ブロット試験の結果ではピーナッツとの交差反応がみられず、たんぱく質分解酵素による分解性及び処理後のトマトにおける残留量を踏まえると、発芽スイートルーピン抽出たんぱく質のアレルゲン性に対する懸念は低リスクと考えられた。しかしながら、アレルゲン性については感受性の高い集団に対するアレルギー反応を惹起させる閾値の決定が困難であり、作物残留試験結果から、使用基準の範囲での残留性は低いと考えられたものの、残留基準値の設定が免除される場合においては制限のないばく露を受けるおそれを排除できないとの考えに基づき、2020 年の評価において残留基準値設定の提案がなされたが、現時点で基準値設定に係る新たな情報は示されていない。（参照 16～22、41、46）

（２）欧州委員会（EC）及び欧州食品安全機関（EFSA）における評価

発芽スイートルーピン抽出たんぱく質は EFSA において、2020 年に評価され、ラットを用いた 90 日間亜急性毒性試験で得られた無毒性量 500 mg/kg 体重/日¹⁶を根拠として、不確実係数 100 で除した 5 mg/kg 体重/日を許容一日摂取量 (ADI) と設定された。急性参照用量 (ARfD) は設定の必要がないと判断された¹⁷。

他方、原体の主要成分である発芽スイートルーピン抽出たんぱく質は天然に存在する種子貯蔵たんぱく質であり、使用基準に基づき施用された場合に速やかに分解されること、発芽スイートルーピン抽出たんぱく質には残留の定義として最適な成分がないことから、ばく露評価対象物質は設定されておらず、最大残留基準値 (MRL) は設定不要とされている。

本剤のアレルゲン性については、スイートルーピン及びその加工品について、EU においてアレルゲンに指定されており食品表示が義務付けられており、本剤のアレルゲン性について十分な情報が得られていないことから、農薬として散布した場合に食品中にアレルゲンが残留する可能性も考慮すると、感受性の高い集団に対する潜在的なアレルギーリスクは否定できないと判断された。一方で、代表的な使用基準では収穫前日数が設定されていないことから、アレルゲンの可能性が完全に排除されるわけではないが、製剤 (20%液剤) を用いた試験において、処理後 18 時間以内にぶどう葉及びトマト果皮での代謝又は分解が確認されたことから、果実収穫日に処理されたとしても、発芽スイートルーピン抽出たんぱく質にばく露する可能性は低い（むしろ起こり難い）と判断された。

また、原体中に含まれる Lupanine を含むキノリジジンアルカロイド (QAs) について、神経毒性を有する可能性が考えられるが、原体中の Lupanine 含有量から推定された総 QAs の最大量は毒性学的観点からは問題ないと考えられた。しかしながら、QAs の測定は人や動物における摂取量を考える上で重要であり、測定にはより高い精度が必要と判断されている。（参照 23、24、39）

¹⁶ 1,000 mg/kg 体重/日投与群の雌 1 例に認められた脳及び脊髄空胞化について、毒性所見と判断された。

¹⁷ 欧州では、有効成分名は発芽スイートルーピン (*Lupinus albus*) 水抽出物として登録されている。

（３）オーストラリア農薬・動物用医薬品局（APVMA）における評価

発芽スイートルーピン抽出たんぱく質は APVMA において、2017 年に評価され、豪州ではスイートルーピン種子に食用及び飼料用作物としての長い使用実績があり、急性毒性は低く、速やかな代謝/分解により作物への残留性がないと考えられることから、発芽スイートルーピン抽出たんぱく質¹⁸の ADI 及び ARfD は設定不要と評価されている。

アレルギー性については、情報検索、プロテアーゼによる分解性及び食品を介した推定摂取量から、農薬として使用した場合に、発芽スイートルーピン抽出たんぱく質は人にアレルギー反応を引き起こす可能性、ピーナッツや大豆等のほかのマメ科作物に由来する既知のアレルゲンとの交差反応を起こす可能性はいずれも低いと判断された。（参照 25）

（４）カナダ保健省（Health Canada）における評価

発芽スイートルーピン抽出たんぱく質は Health Canada において、2015 年に評価され、ADI 及び ARfD は設定されていない¹⁹。

また、急性毒性は低く、作物残留試験〔3.(2)②〕の結果のほかアレルギー反応が生じる可能性の低さも考慮して、食品を介したリスクは無視できると考えられたことから、最大残留基準値（MRL）は設定されていない。

本剤のアレルゲン性については、ルーピンを用いた加工食品の喫食に起因するアレルギーの事例報告が増えており、本剤がアレルゲンとなる可能性が懸念されたが、情報検索、プロテアーゼによる分解性、食品を介した推定摂取量からは、発芽スイートルーピン抽出たんぱく質が人にアレルギー反応を引き起こす可能性、ピーナッツや大豆等のほかのマメ科作物に由来する既知のアレルゲンとの交差反応を引き起こす可能性はいずれも低いと考えられた。この主張は、イムノブロット試験〔4.(4)〕において、ルーピンやほかのマメ科植物に感受性のある人の血清に対してアレルギー反応は認められなかったことから更に裏付けられ、感受性の高い人にアレルギー反応を引き起こすたんぱく質は発芽スイートルーピン抽出たんぱく質及びその製剤には含まれていないと判断されている。

また、原体中に含まれるアルカロイド（Lupanine）については、定量的に考えて、健康に懸念を及ぼすとは予測されないと判断されている。（参照 26、27、40）

¹⁸ 豪州では、有効成分名は BLAD として登録されている。

¹⁹ カナダでは、有効成分名は BLAD ポリペプチドとして登録されている。

Ⅲ. 食品健康影響評価

参照に挙げた資料を用いて、殺菌剤「発芽スイートルーピン抽出たんぱく質」の食品健康影響評価を実施した。

発芽スイートルーピン抽出たんぱく質の投与によるラットを用いた急性毒性試験における LD₅₀ 値は 5,000 mg/kg 体重超、ラットを用いた 90 日間亜急性毒性試験における無毒性量は 500 mg/kg 体重/日であった。遺伝毒性試験の結果、生体において問題となる遺伝毒性は認められなかった。

発芽スイートルーピン抽出たんぱく質は天然に存在する種子貯蔵たんぱく質の構成成分であり、農薬として使用した場合でも自然界において微生物等により急速に分解され、農作物への残留性が低く、また、仮に摂取したとしても動物の腸管に存在するトリプシン等のたんぱく質分解酵素によって速やかに分解されることから、発芽スイートルーピン抽出たんぱく質の吸収は極めて低いと考えられる。

発芽スイートルーピン抽出たんぱく質のアレルゲン性について、使用基準の範囲で農薬として使用した場合の農作物への残留は低いこと、トリプシン等のたんぱく質分解酵素により速やかに分解されること及び海外におけるこれまでの使用実績の中でアレルギー反応の報告がないことを総合的に考察して、人においてアレルギー反応が誘発される可能性は低いと考えられる。

ただし、今後新たな情報が得られた場合は、更なる議論が必要となる可能性があるため、引き続き情報収集を行うことが重要である。

以上のことから、発芽スイートルーピン抽出たんぱく質は、農薬として想定しうる使用方法に基づき通常使用される限りにおいて、食品に残留することにより人の健康を損なうおそれのないことが明らかであると考えられる。なお、原体混在物について規格で規定された範囲内で管理されることを前提として判断したものである。

<別紙 1 : 検査値等略称>

略称	名称
APVMA	オーストラリア農薬・動物用医薬品局
EC	欧州委員会
EFSA	欧州食品安全機関
EPA	米国環境保護庁
FOB	機能観察総合検査
LC ₅₀	半数致死濃度
LD ₅₀	半数致死量

<別紙 2 : 作物残留試験成績 (海外) >

・ 米国

作物名 [分析部位] 実施年	ほ 場 数	使用量 (g ai/ha)	回数 (回)	PHI (日)	残留値 ^b (mg/kg)	残留値 ^c (mg/kg)
トマト [果実]	2	838～ 873 ^{SC}	5	0 ^a	<LOQ(0.0062)、 <LOQ(0.0056)、 <LOD、<LOD	
				1	<LOD、<LOD、 <LOD、<LOD	
				3	<LOD、<LOD、 <LOD、<LOD	
				5	<LOD、<LOD、 <LOD、<LOD	
				7	<LOD、<LOD、 <LOD、<LOD	
	1	4,160～ 4,210 ^{SC}	5	0 ^a	<LOQ(0.0056)、<LOD	
				1	<LOQ(0.0067)、 <LOQ(0.0053)	
				3	<LOD、<LOD	
				5	<LOD、<LOD	
				7	<LOD、<LOD	
きゅうり [果実]	1	792～806	5	0 ^a	<LOQ(0.006)、 <LOQ(0.006)	<LOQ(0.12)、 <LOQ(0.12)
				1	<LOQ(0.006)、 <LOQ(0.006)	<LOQ(0.12)、 <LOQ(0.12)
				3	<LOQ(0.005)、 <LOQ(0.005)	<LOQ(0.10)、 <LOQ(0.10)
				5	<LOQ(0.005)、<LOD	<LOQ(0.10)、<LOD
				7	<LOQ(0.008)、 <LOQ(0.006)	<LOQ(0.16)、 <LOQ(0.12)
		3,950～ 4,030	5	0 ^a	<LOQ(0.011)、 <LOQ(0.009)	<LOQ(0.22)、 <LOQ(0.18)
				1	<LOQ(0.009)、 <LOQ(0.007)	<LOQ(0.18)、 <LOQ(0.14)
				3	<LOQ(0.008)、 <LOQ(0.007)	<LOQ(0.16)、 <LOQ(0.14)
				5	<LOQ(0.006)、 <LOQ(0.006)	<LOQ(0.12)、 <LOQ(0.12)
				7	<LOQ(0.008)、 <LOQ(0.005)	<LOQ(0.16)、 <LOQ(0.10)
りんご [果実]	1	812～821	5	0 ^a	<LOD、<LOD	<LOD、<LOD
				1	<LOD、<LOD	<LOD、<LOD
				3	<LOD、<LOD	<LOD、<LOD
				6	<LOD、<LOD	<LOD、<LOD
				7	<LOD、<LOD	<LOD、<LOD
		3,990～	5	0 ^a	<LOD、<LOD	<LOD、<LOD

作物名 [分析部位] 実施年	ほ 場 数	使用量 (g ai/ha)	回数 (回)	PHI (日)	残留値 ^b (mg/kg)	残留値 ^c (mg/kg)
		4,090		1	<LOD、<LOD	<LOD、<LOD
				3	<LOD、<LOD	<LOD、<LOD
				6	<LOD、<LOD	<LOD、<LOD
				7	<LOD、<LOD	<LOD、<LOD
おとう [果実]	1	809～839	5	0 ^a	<LOD、<LOD	<LOD、<LOD
				1	<LOD、<LOD	<LOD、<LOD
				3	<LOD、<LOD	<LOD、<LOD
				5	<LOD、<LOD	<LOD、<LOD
				7	<LOD、<LOD	<LOD、<LOD
		4,030～ 4,130	5	0 ^a	<LOQ(0.006)、 <LOQ(0.005)	<LOQ(0.12)、 <LOQ(0.10)
				1	<LOD、<LOD	<LOD、<LOD
				3	<LOD、<LOD	<LOD、<LOD
				5	<LOD、<LOD	<LOD、<LOD
				7	<LOD、<LOD	<LOD、<LOD
いちご [果実]	1	820～ 848 ^{SC}	5	0 ^a	<LOD、<LOD	<LOD、<LOD
				1	<LOD、<LOD	<LOD、<LOD
				3	<LOD、<LOD	<LOD、<LOD
				5	<LOD、<LOD	<LOD、<LOD
				7	<LOD、<LOD	<LOD、<LOD
	1	3,970～ 4,190 ^{SC}	5	0 ^a	0.0279、0.0273	0.558、0.546
				1	0.0247、0.0246	0.495、0.492
				3	<LOQ(0.0095)、<LOD	<LOQ (0.190)、<LOD
				5	<LOQ(0.0084)、 <LOQ(0.0050)	<LOQ(0.168)、 <LOQ(0.100)
				7	<LOD、<LOD	<LOD、<LOD
ぶどう [果実]	2	803～ 878 ^{SC}	5	0 ^a	<LOD、<LOD、 <LOD、<LOD	
				1	<LOD、<LOD、 <LOD、<LOD	
				3	<LOD、<LOD、 <LOD、<LOD	
				5	<LOD、<LOD、 <LOD、<LOD	
				7	<LOD、<LOD、 <LOD、<LOD	

注) SC：フロアブル剤

/：参照した資料に記載がなかった。

・1週間間隔で計5回処理された。

・いずれの作物においても、ELISA法により分析された。

LOD：検出限界、LOQ：定量限界、括弧内の数値はLOD（抽出液中の残留値：0.005、試料重量当たりの残留値：0.1 mg/kg）以上、LOQ（抽出液中の残留値：0.02、試料重量当たりの残留値：0.4 mg/kg）未満であることを示す。

^a：最終処理直後（処理液乾燥後）

- b : 分析に用いた抽出液中の残留値
- c : 分析に用いた試料重量当たりの残留値

<参照>

- 1 食品健康影響評価について（令和 5 年 3 月 8 日付け厚生労働省発生食 0308 第 5 号）
- 2 試験成績の概要及び考察：発芽スイートルーピン抽出たんぱく質（殺菌剤）（令和 2 年 3 月 4 日提出）：CEV S.A.、一部公表
- 3 試験成績の概要及び考察：プロブラッド液剤（令和 2 年 3 月 4 日提出）：CEV S.A.、一部公表
- 4 Acute Oral Toxicity Up And Down Procedure In Rats（GLP 対応）：Eurofins Product Safety Labs（米国）、2011 年、未公表
- 5 Acute Dermal Toxicity Study in Rats - Limit Test（GLP 対応）：Eurofins Product Safety Labs（米国）、2011 年、未公表
- 6 Acute Inhalation Toxicity Study in Rats - Limit Test（GLP 対応）：Eurofins Product Safety Labs（米国）、2011 年、未公表
- 7 Primary Eye Irritation Study in Rabbits（GLP 対応）：Eurofins Product Safety Labs（米国）、2011 年、未公表
- 8 Primary Skin Irritation Study in Rabbits（GLP 対応）：Eurofins Product Safety Labs（米国）、2011 年、未公表
- 9 Dermal Sensitization Study in Guinea Pigs (Buehler Method)（GLP 対応）：Eurofins Product Safety Labs（米国）、2011 年、未公表
- 10 13 Week Oral (Gavage) Administration Toxicity Study in the Rat（GLP 対応）：Covance Laboratories Ltd.（英国）、2016 年、未公表
- 11 21 Day Dermal Administration Toxicity Study in the Rat (OECD 410)（GLP 対応）：Covance Laboratories Ltd.（英国）、2015 年、未公表
- 12 Bacterial Reverse Mutation Assay using a Treat and Plate Modification（GLP 対応）：Covance Laboratories Ltd.（英国）、2016 年、未公表
- 13 *In Vitro* L5178Y Gene Mutation Assay at the *tk* locus（GLP 対応）：Covance Laboratories Ltd.（英国）、2016 年、未公表
- 14 *In Vitro* Human Lymphocyte Micronucleus Assay（GLP 対応）：Covance Laboratories Ltd.（英国）、2015 年、未公表
- 15 Rat Alkaline Comet Assay（GLP 対応）：Covance Laboratories Ltd.（英国）、2016 年、未公表
- 16 EPA①：Biopesticides registration action Document; BLAD, 20 kDa polypeptide of Beta-Conglutin, PC Code : 030006 （2012）
- 17 EPA②：Memorandum, Request for new product registration for β -Conglutin Section 3 with tolerance. （2012）
- 18 EPA③：Federal Register; “Banda de Lupinus albus doce (BLAD)” Vol. 78, No. 56, 17600-17604 （2013）
- 19 EPA④：Federal Register; “Banda de Lupinus albus doce (BLAD)” Vol. 80, No.

- 103, 30640-30644 (2015)
- 20 EPA⑤ : Memorandum, Evaluation of new serum testing and field residue decline study for BLAD. (2014)
- 21 EPA⑥ : Memorandum, Review of Allergenicity Decisions on BLAD. (2015)
- 22 EPA⑦ : Federal Register; “Banda de *Lupinus albus* doce (BLAD)” Vol. 85, No. 28, 7698-7708 (2020)
- 23 EFSA : Peer review of the pesticide risk assessment of the active substance aqueous extract from the germinated seeds of sweet *Lupinus albus*. EFSA Journal ;18(7):6190, 2020 年
- 24 EC : Final Review report for the active substance aqueous extract from the germinated seeds of sweet *Lupinus albus* Finalised by the Standing Committee on Plants, Animals, Food and Feed at its meeting on 26 January 2021 in view of the approval of aqueous extract from the germinated seeds of sweet *Lupinus albus* as a low risk substance in accordance with Regulation (EC) No 1107/2009. 2021 年
- 25 APVMA: Public release summary on the evaluation of the new active BLAD (Banda de *Lupinus albus* doce) in the product PROBLAD PLUS FUNGICIDE.2017 年
- 26 Health Canada ① : Proposed Registration Decision, BLAD Polypeptide, PRD2015-01.2015 年
- 27 Health Canada② : Proposed Registration Decision, BLAD Polypeptide Problad Technical Fungicide and Problad Plus Fungicide, PRD2019-02. 2019 年
- 28 Magnitude and Decline of BLAD Residues Following Application of ProBLAD Plus to Grapes, Strawberries, and Tomatos (GLP 対応) : Eurofins Agroscience Services, Inc. (米国) 、2014 年、未公表
- 29 CEV Report Calculation Residue decline curves – Strawberry and tomato:CEV S.A. (ポルトガル) 、未公表
- 30 Evaluation of the Allergenic and Cross-allergenic Potential of the BLAD Polypeptide : CEV S.A. (ポルトガル) 、2013 年、未公表
- 31 Evaluate the Allergenic and Cross-allergenic Potential of the BLAD Polypeptide (Supplement to Study Report) : CEV S.A. (ポルトガル) 、2014 年、未公表
- 32 Grant G.,Dorward P.M., Pusztai A.: Pancreatic enlargement is evident in rats fed diets containing raw soybeans (*Glycine max*) or cowpeas (*Vigna unguiculata*) for 800 days but not in those fed diets based on kidney beans (*Phaseolus vulgaris*)or lupinseed (*Lupinus angustifolius*): Journal of Nutrition 123(12):2207-2215 (1993)
- 33 Grant G., Dorward P.M. , Buchan W. C., Armour J. C.,Pusztai A.:Consumption

- of diets containing raw soya beans (*Glycine max*), kidney beans (*Phaseolus vulgaris*), cowpeas (*Vigna unguiculata*) or lupin seeds (*Lupinus angustifolius*) by rats for up to 700 days: effects on body composition and organ weights: British Journal of Nutrition 73(1):17-29 (1995)
- 34 Ballester D. R., Brunster O., Saitua M. T., Egana J. I., Yanez E. O., Owen D. F. ; Safety evaluation of sweet lupin (*Lupinus albus* cv. Multolupa). II. Nine-month feeding and multigeneration study in rats. ; Food Chem Toxicol 22 (1):45-48 (1984)
- 35 発芽スイートルーピン抽出たんぱく質の確認事項についての回答 : CEV S.A.、有限会社 Joy Consulting、2023 年、未公表
- 36 BLAD residue tests on grapevine leaves and tomato fruits surfaces using an Immunoblotting methodology : CEV SA. (ポルトガル) 、2011 年、未公表
- 37 Magnitude and Decline of BLAD Residues Following 1X and 5X Applications of ProBLAD Plus to Cherries and Cucurbits (GLP 対応) : Eurofins Agroscience Services, Inc. (米国) 、2016 年、未公表
- 38 Magnitude and Decline of BLAD Residues Following 1X and 5X Applications of ProBLAD Plus Fungicide to Apples (GLP 対応) : Eurofins Agroscience Services, Inc. (米国) 、2017 年、未公表
- 39 EU : REGISTRATION REPORT Part A Risk Management ,PROBLAD、2022 年
- 40 Health Canada③ : Registration Decision, BLAD Polypeptide, RD2015-18、2015 年
- 41 食品健康影響評価に係る提出資料について : CEV S.A.、有限会社 Joy Consulting、2023 年、未公表
- 42 食品健康影響評価に係る提出資料について (補足) 、農林水産省、2023 年、未公表
- 43 CEV S.A : PROBLAD Safety Data Sheet、2021 年、未公表
- 44 EPA⑧ : Federal Register; “Banda de Lupinus albus doce (BLAD)” Vol. 85, No. 77, 22065 (2020)
- 45 USDA : Re: USDA comments on EPA’s proposal to revoke exemption and establish pesticide tolerances for banda de *Lupinus albus* doce; EPA-HQ-OPP-2015-0230 (2020) 、未公表
- 46 EPA⑨ : Non-PRIA (Pesticide Registration Improvement Act) Labeling Amendment – Submission of Label Amendment to add Container Handling statement for larger than 5 gallons, and brackets to indicate optional language (2023) 、未公表

別添 2

発芽スイトルーピン抽出たんぱく質に係る食品健康影響評価に関する審議結果（案）についての意見・情報の募集結果について

1. 実施期間 令和5年10月11日～令和5年11月9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 1通

4. 頂いた意見・情報及びそれに対する食品安全委員会の回答

頂いた意見・情報※	食品安全委員会の回答
引用されている国だけではなくすべての外国の事例を集めて一番厳しい基準に合わせてください。	・本剤については、食品衛生法（昭和22年法律第233号）第13条第3項の規定に基づき、人の健康を損なうおそれのないことが明らかであるものとして厚生労働大臣が定める物質（対象外物質）として定めることについて、厚生労働大臣から食品安全委員会に食品健康影響評価の要請がなされたものです。 ・食品安全委員会では、「残留農薬に関する食品健康影響評価指針」（令和元年10月1日付け食品安全委員会決定）に基づき、リスク管理機関から提出された適切な資料を用いて、海外の評価結果も参考に、農薬の評価を行っています。 ・本剤について、食品安全委員会は、農薬として想定しうる使用方法に基づき通常使用される限りにおいて、食品に残留することにより人の健康を損なうおそれのないことが明らかであると考えられると判断しました。 ・農薬の使用基準及び残留基準については、食品安全委員会による食品健康影響評価の結果を踏まえてリスク管理機関である農林水産省及び厚生労働省が設定いたします。これらの基準に関するご意見については、リスク管理に係るものと考えられることから、農林水産省及び厚生労働省に情報提供いたします。

※頂いたものをそのまま掲載しています。

アナカルド酸

今般の残留基準の検討については、飼料の安全性の確保及び品質の改善に関する法律（昭和28年法律第35号）に基づく飼料添加物の指定並びに基準及び規格の設定等について農林水産大臣から意見聴取があったことに伴い、食品衛生法（昭和22年法律第233号）に基づく人の健康を損なうおそれのないことが明らかであるものとして内閣総理大臣が定める物質（以下「対象外物質」という。）として設定することについて、食品安全委員会において厚生労働大臣からの依頼に伴う食品健康影響評価がなされたことを踏まえ、農薬・動物用医薬品部会において、以下の報告を取りまとめるものである。

1. 概要

（１）品目名：アナカルド酸[Anacardic acid]

（２）分 類：飼料添加物

（３）用 途：飼料の栄養成分その他の有効成分の補給（メタン生成抑制）

カシューナッツ殻液^注の主成分で、アルキルフェノールである。人が食用とするカシューナッツにも含有されている。反芻動物の第一胃内において、メタン産生菌に作用することにより、メタンガスの生成を抑制すると考えられている。

国内では、アナカルド酸を含むカシューナッツ殻液は飼料添加物として指定されていないが、飼料原料として使用されている。今回、カシューナッツ殻液について、メタン生成抑制に効果がある飼料添加物として指定される予定である。

海外では、米国において、カシューナッツ殻抽出物が飼料用香料として使用されている。

注）アルキルフェノールであるアナカルド酸を61.7%、カルダノールを3.3%及びカルドールを19.7%、また、その他のフェノール類を10.6%含有する混合物であると考えられている。

（４）化学名及びCAS番号

アナカルド酸

Anacardic acid (CAS : No. 11034-77-8)

アナカルド酸は、側鎖の二重結合の有無及び位置が異なる4種類の混合物として存在し、C15:0^注を3%、C15:1を34～36%、C15:2を21～22%及びC15:3を40～41%程度含有すると考えられている。

注）Ca:b : aは側鎖の炭素数、bは側鎖の二重結合数を示す。

アナカルド酸 (C15:0)

2-Hydroxy-6-pentadecylbenzoic acid (IUPAC)

Anacardic acid (CAS : No. 16611-84-0)

アナカルド酸 (C15:1)

(Z)-2-Hydroxy-6-(pentadec-8-en-1-yl)benzoic acid (IUPAC)

Ginkgoic acid (CAS : No. 22910-60-7)

アナカルド酸 (C15:2)

2-Hydroxy-6-[(8Z, 11Z)-pentadeca-8, 11-dien-1-yl]benzoic acid (IUPAC)

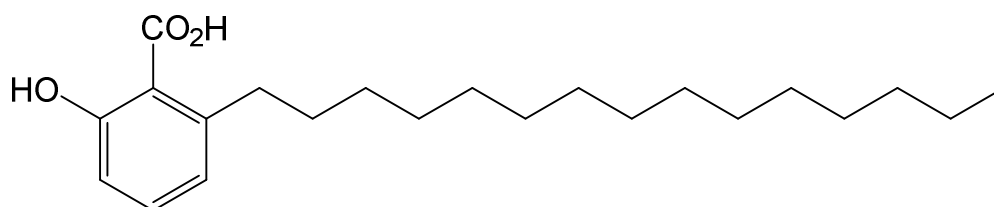
Anacardic acid diene (CAS : No. 103904-74-1)

アナカルド酸 (C15:3)

2-Hydroxy-6-[(8Z, 11Z)-pentadeca-8, 11, 14-trien-1-yl]benzoic acid (IUPAC)

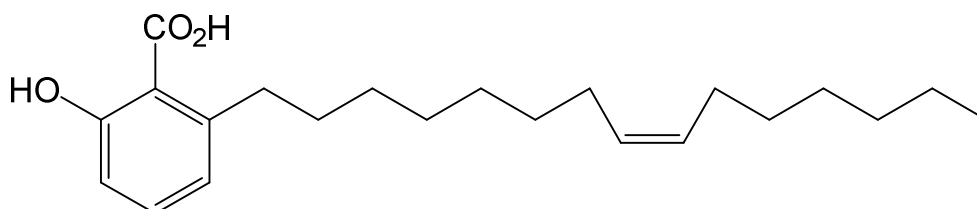
Anacardic acid triene (CAS : No. 103904-73-0)

(5) 構造式及び物性



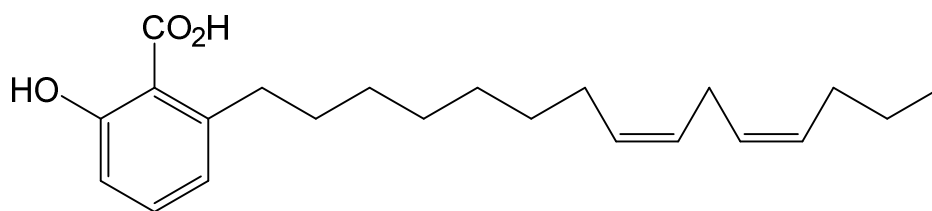
アナカルド酸 (C15:0)

分子式	$C_{22}H_{36}O_3$
分子量	348.52



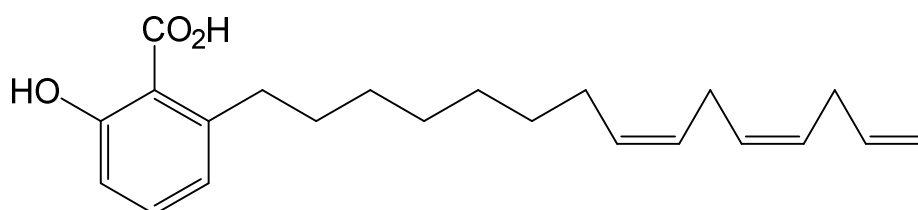
アナカルド酸 (C15:1)

分子式	$C_{22}H_{34}O_3$
分子量	346.50



アナカルド酸 (C15:2)

分子式 $C_{22}H_{32}O_3$
分子量 344.49



アナカルド酸 (C15:3)

分子式 $C_{22}H_{30}O_3$
分子量 342.47

2. 適用方法及び用量

本剤の適用の範囲及び使用方法是以下のとおり。

今般、飼料の安全性の確保及び品質の改善に関する法律に基づく意見聴取がなされている項目を四角囲いしている。

(1) 国内での使用方法

製剤	対象動物及び使用方法		休薬期間
アナカルド酸を有効成分とする飼料添加物 (カシューナッツ殻液)	牛	飼料中濃度として0.1% (1,000 ppm) 以下の量を混餌投与する。	-

- : 休薬期間は設定されていない。

3. 食品健康影響評価

食品安全基本法（平成15年法律第48号）第24条第1項第1号の規定に基づき、食品安全委員会あて意見を求めたアナカルド酸に係る食品健康影響評価において、以下のとおり評価されている。

アナカルド酸は、カシューナッツ殻液（Cashew nut shell liquid : CNSL）に含まれ、牛からのメタンの生成を抑制するアルキルフェノールである。人がカシューナッツとして通常食している部位（仁）にも同成分が含まれることが確認されている。

体内動態試験及び残留試験の結果、大部分のアナカルド酸は分解、吸収されずに、糞便中へ排泄された。また、組織、乳汁等においてアナカルド酸等のアルキルフェノール成分は検出されなかった。このため、牛に投与されたアナカルド酸は動物体内に残留しないと考えた。

遺伝毒性試験では、アナカルド酸を用いた *in vivo* の試験の陰性結果並びに CNSL、CNSE^{注)} 等を用いた *in vitro* 及び *in vivo* の試験の報告を総合的に勘案し、アナカルド酸に遺伝毒性はないと判断した。

亜急性毒性試験の結果、血液及び腎臓に関する毒性所見が雌のみで認められ、NOAELは雌では600 mg/kg体重/日、雄では最大用量である1,000 mg/kg体重/日と判断した。

アナカルド酸を用いた慢性毒性試験及び発がん性試験は実施されていないが、本成分の残留性が低いこと、同成分を含むカシューナッツの食経験があることを踏まえ、懸念される慢性影響は亜急性毒性試験の結果をもって確認できると考えた。

アナカルド酸を用いた生殖発生毒性試験は実施されていないが、本成分の残留性は低く、同成分を含むカシューナッツの食経験において生殖機能や次世代への毒性影響の報告はない。

国内では2012年より、アナカルド酸を含むCNSLが飼料原料として家畜に使用されており、当該飼料原料を使用した家畜及びその生産物について、これまでに安全性に関する問題は報告されていない。また、カシューナッツの仁部分にも含まれる成分として、これまでの食経験があることに加え、アナカルド酸を含むCNSLを牛に混餌投与しても、組織、乳汁等からアナカルド酸等のアルキルフェノール成分が検出されていないことを考慮すると、食品を通じて飼料添加物由来のアナカルド酸を人が過剰に摂取することはないと考えた。

以上のことから、食品安全委員会は、アナカルド酸は、飼料添加物として通常使用される限りにおいて、食品に残留することにより人の健康を損なうおそれのないことが明らかであると考えた。

注) CNSE (Cashew nut shell extract) : 申請された飼料添加物の製造方法と異なり、有機溶媒を用いて成分を抽出した物が被験物質に用いられた場合には、CNSEと表記されている。

4. 諸外国における状況

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、EU、豪州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。

5. 対象外物質としての設定

食品安全委員会において、アナカルド酸は、飼料添加物として通常使用される限りにおいて、食品に残留することにより人の健康を損なうおそれのないことが明らかであると評価されたことから、この評価結果を踏まえ、アナカルド酸を食品衛生法第13条第3項の規定に基づく対象外物質として設定する。

(参考)

これまでの経緯

令和 5 年	8 月 24 日	農林水産大臣から厚生労働大臣あてに飼料添加物の指定並びに基準及び規格の設定等について意見聴取（牛）
令和 5 年	8 月 30 日	厚生労働大臣から食品安全委員会委員長あてに人の健康を損なうおそれのないことが明らかであるものとして定めることに係る食品健康影響評価について要請
令和 6 年	5 月 22 日	食品安全委員会委員長から内閣総理大臣あてに食品健康影響評価について通知
令和 6 年	7 月 31 日	食品衛生基準審議会農薬・動物用医薬品部会

● 食品衛生基準審議会農薬・動物用医薬品部会

[委員]

◎ 穂山	浩	星薬科大学薬学部教授
大山	和俊	一般財団法人残留農薬研究所業務執行理事・化学部長
○ 折戸	謙介	学校法人麻布獣医学園理事（兼）麻布大学獣医学部教授
加藤	くみ子	北里大学薬学部教授
神田	真軌	東京都健康安全研究センター食品化学部副参事研究員
近藤	麻子	日本生活協同組合連合会組織推進本部長
佐藤	洋	岩手大学農学部教授
佐野	元彦	東京海洋大学学術研究院海洋生物資源学部門教授
須恵	雅之	東京農業大学応用生物科学部教授
瀧本	秀美	国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所理事
田口	貴章	国立医薬品食品衛生研究所食品部第一室長
堤	智昭	国立医薬品食品衛生研究所食品部長
中島	美紀	金沢大学ナノ生命科学研究所教授
野田	隆志	一般社団法人日本植物防疫協会技術顧問

(◎：部会長、○：部会長代理)

府 食 第 3 4 7 号
令 和 6 年 5 月 2 2 日

内閣総理大臣
岸田 文雄 殿

食品安全委員会
委員長 山本 茂貴

食品健康影響評価の結果の通知について

令和5年8月30日付け厚生労働省発生食 0830 第4号をもって厚生労働大臣から食品安全委員会に意見を求められたアナカルド酸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

アナカルド酸は、飼料添加物として通常使用される限りにおいて、食品に残留することにより人の健康を損なうおそれのないことが明らかであると考えられる。

別添

対象外物質※評価書

アナカルド酸

令和6年（2024年）5月

食品安全委員会

※ 食品衛生法（昭和22年法律第233号）第13条第3項の規定に基づき、人の健康を損なうおそれのないことが明らかであるものとして内閣総理大臣が定める物質

目 次

	頁
○審議の経緯	3
○食品安全委員会委員名簿	3
○食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿	3
○要 約	4
 I. 評価対象飼料添加物の概要	5
1. 用途	5
2. 有効成分の一般名	5
3. 化学名	5
4. 分子式	6
5. 分子量	6
6. 構造式	6
7. 使用目的及び使用状況	7
 II. 安全性に係る知見の概要	7
1. 体内動態試験	8
(1) 体内動態試験 (<i>in vitro</i>)	8
(2) 体内動態試験 (<i>in vitro</i>)	8
(3) 体内動態試験 (牛)	8
(4) 体内動態試験 (牛)	9
2. 残留試験	9
(1) 残留試験 (肉用牛)	9
(2) 残留試験 (非泌乳牛)	9
(3) 残留試験 (泌乳牛①)	10
(4) 残留試験 (子牛)	10
(5) 残留試験 (泌乳牛②)	11
3. 遺伝毒性試験	11
4. 急性毒性試験	13
5. 亜急性毒性試験	13
(1) 30 日間亜急性毒性試験 (マウス①)	13
(2) 7 日間亜急性毒性試験 (マウス②)	14
(3) 14 日間亜急性毒性試験 (ラット①)	14
(4) 28 日間亜急性毒性試験 (ラット②)	15
(5) 28 日間亜急性毒性試験 (ラット③)	16
6. 慢性毒性及び発がん性試験	16
(1) 二段階発がん性試験 (マウス①)	16
(2) 二段階発がん性試験 (マウス②)	17

7. 生殖発生毒性試験	17
(1) 発生毒性試験 (マウス)	17
8. ヒトにおける知見	18
(1) 食品由来のアナカルド酸の摂取量の推計	18
III. 国際機関等の評価	18
(1) 米国での評価	18
(2) 欧州での評価	19
IV. 食品健康影響評価	20
▪ 別紙：検査値等略称	21
▪ 参照	22

〈審議の経緯〉

2023 年 8 月 31 日 厚生労働大臣より食品衛生法第 13 条第 3 項の規定に基づき、人の健康を損なうおそれのないことが明らかであるものとして、本物質を定めることに係る食品健康影響評価について要請（厚生労働省発生食 0830 第 4 号）、関係資料の接受

2023 年 9 月 5 日 第 911 回食品安全委員会（要請事項説明）

2024 年 3 月 4 日 第 196 回肥料・飼料等専門調査会

2024 年 4 月 2 日 第 936 回食品安全委員会（報告）

2024 年 4 月 3 日から 5 月 2 日まで 国民からの意見・情報の募集

2024 年 5 月 15 日 肥料・飼料等専門調査会座長から食品安全委員会委員長へ報告

2024 年 5 月 21 日 第 940 回食品安全委員会（報告）

5 月 22 日付けで内閣総理大臣に通知

〈食品安全委員会委員名簿〉

（2021 年 7 月 1 日から）

山本 茂貴（委員長）
 浅野 哲（委員長代理 第一順位）
 川西 徹（委員長代理 第二順位）
 脇 昌子（委員長代理 第三順位）
 香西 みどり
 松永 和紀
 吉田 充

〈食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿〉

（2024 年 3 月 31 日まで）

森田 健（座長*）
 川本 恵子（座長代理*）
 吉田 敏則（座長代理*）
 赤沼 三恵 佐々木 一昭
 新井 鐘蔵 高橋 研
 井上 薫 平田 暁大
 今井 俊夫 山田 雅巳
 植田 富貴子 山中 典子

*：2022 年 4 月 25 日から

（2024 年 4 月 1 日から）

山中 典子（座長*）
 川本 恵子（座長代理*）
 高橋 研（座長代理*）
 赤沼 三恵 大山 和俊
 新井 鐘蔵 佐々木 一昭
 井上 薫 平田 暁大
 今井 俊夫 山田 雅巳
 植田 富貴子 吉田 敏則

*：2024 年 4 月 17 日から

要 約

牛の第一胃においてメタンの生成を抑制するアルキルフェノールであるアナカルド酸（CAS No.11034-77-8）について、飼料添加物指定審査用資料等を用いて食品健康影響評価を実施した。

評価に用いた試験成績は、体内動態（牛等）、残留試験（牛）、遺伝毒性、急性毒性（マウス）、亜急性毒性（マウス）等である。

体内動態試験及び残留試験の結果、大部分のアナカルド酸は分解、吸収されずに、糞便中へ排泄された。また、組織、乳汁等においてアナカルド酸等のアルキルフェノール成分は検出されなかった。このため、牛に投与されたアナカルド酸は動物体内に残留しないと考えた。

遺伝毒性試験では、アナカルド酸を用いた *in vivo* の試験の陰性結果並びに CNSL、CNSE 等を用いた *in vitro* 及び *in vivo* の試験の報告を総合的に勘案し、アナカルド酸に遺伝毒性はないと判断した。

亜急性毒性試験の結果、血液及び腎臓に関する毒性所見が雌のみで認められ、NOAEL は雌では 600 mg/kg 体重/日、雄では最大用量である 1,000 mg/kg 体重/日と判断した。

アナカルド酸を用いた慢性毒性試験及び発がん性試験は実施されていないが、本成分の残留性が低いこと、同成分を含むカシューナッツの食経験があることを踏まえ、懸念される慢性影響は亜急性毒性試験の結果をもって確認できると考えた。

アナカルド酸を用いた生殖発生毒性試験は実施されていないが、本成分の残留性は低く、同成分を含むカシューナッツの食経験において生殖機能や次世代への毒性影響の報告はない。

国内では 2012 年より、アナカルド酸を含む CNSL が飼料原料として家畜に使用されており、当該飼料原料を使用した家畜及びその生産物について、これまでに安全性に関する問題は報告されていない。また、カシューナッツの仁部分にも含まれる成分として、これまでの食経験があることに加え、アナカルド酸を含む CNSL を牛に混餌投与しても、組織、乳汁等からアナカルド酸等のアルキルフェノール成分が検出されていないことを考慮すると、食品を通じて飼料添加物由来のアナカルド酸を人が過剰に摂取することはないと考えた。

以上のことから、食品安全委員会は、アナカルド酸は、飼料添加物として通常使用される限りにおいて、食品に残留することにより人の健康を損なうおそれのないことが明らかであると考えた。

I. 評価対象飼料添加物の概要

1. 用途

飼料添加物（飼料の栄養成分その他の有効成分の補給（牛の暖気¹中のメタンの削減））（参照 1）

2. 有効成分の一般名

和名：アナカルド酸

英名：Anacardic Acid

アナカルド酸は、均一な化合物ではなく、側鎖の二重結合の有無と位置によって C15:0、C15:1、C15:2 及び C15:3 の 4 種類が報告されており、それらの混合物として存在する。混合物中の各種濃度は 3%、34～36%、21～22% 及び 40～41% 程度と報告されている。（参照 1、2、3）

3. 化学名

アナカルド酸（C15:0）：

IUPAC

英名：2-hydroxy-6-pentadecyl benzoic acid

CAS (No.16611-84-0)

英名：Anacardic acid

アナカルド酸（C15:1）：

IUPAC

英名：(Z)-2-hydroxy-6-(pentadec-8-en-1-yl)benzoic acid

CAS (No.22910-60-7)

英名：Ginkgoic acid

アナカルド酸（C15:2）：

IUPAC

英名：2-hydroxy-6-[(8Z,11Z)-pentadeca-8,11-dien-1-yl]benzoic acid

CAS (No.103904-74-1)

英名：Anacardic acid diene

アナカルド酸（C15:3）：

IUPAC

英名：2-hydroxy-6-[(8Z,11Z)-pentadeca-8,11,14-trien-1-yl]benzoic acid

CAS (No.103904-73-0)

英名：Anacardic acid triene

（参照 4、5）

¹ 「あいき」という。げっぷのこと。

4. 分子式

アナカルド酸 (C15:0) : $C_{22}H_{36}O_3$

アナカルド酸 (C15:1) : $C_{22}H_{34}O_3$

アナカルド酸 (C15:2) : $C_{22}H_{32}O_3$

アナカルド酸 (C15:3) : $C_{22}H_{30}O_3$

(参照 4、5)

5. 分子量

アナカルド酸 (C15:0) : 348.5

アナカルド酸 (C15:1) : 346.5

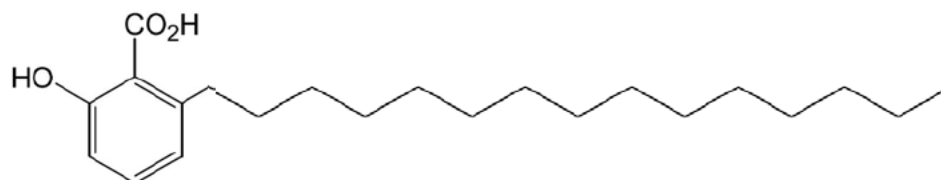
アナカルド酸 (C15:2) : 344.5

アナカルド酸 (C15:3) : 342.5

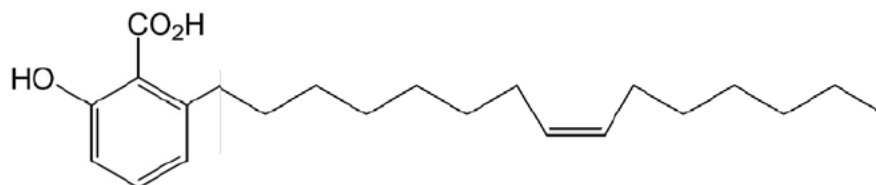
(参照 5)

6. 構造式

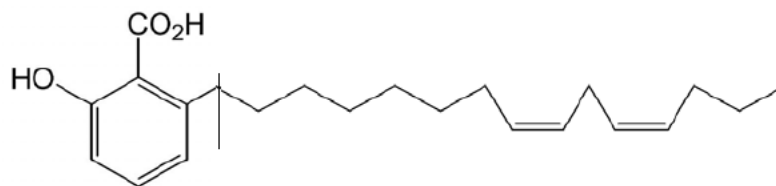
アナカルド酸 (C15:0) :



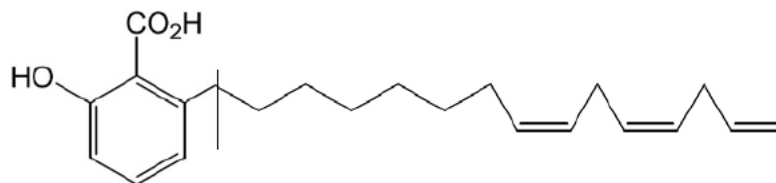
アナカルド酸 (C15:1) :



アナカルド酸 (C15:2) :



アナカルド酸 (C15:3) :



(参照 1、2、6)

7. 使用目的及び使用状況

アナカルド酸は、カシューナッツ殻液（Cashew nut shell liquid: CNSL）の主成分として含まれるアルキルフェノールである。食用として用いられる仁部分（カシューナッツ）にも同じ物質が含まれていることが確認されている。また、CNSLは国内では2012年より飼料原料として家畜に使用されている。（参照1）

アナカルド酸は、サリチル酸に炭素数15のアルキル側鎖が結合した構造を有する化合物である。本成分は、反芻動物（牛）の第一胃において、メタン産生菌に作用することで、牛からのメタン生成を抑制すると考えられている。そのため、本成分の作用により、二酸化炭素の25倍の温室効果も有するとされる温室効果ガスの一つであるメタンの生成を低減させることを目的としている。（参照7）

米国においては、2022年より本成分を含むカシューナッツ殻の抽出物が、家畜の飼料用香料として流通・使用されている。欧州では、EFSAにおいてCNSL及びひまし油の混合物を飼料の抗酸化剤として用いることについて安全性の検証が行われた。使用者への影響について皮膚及び眼刺激性並びに皮膚感作性があるとしたが、対象動物、消費者等への影響について根拠資料が十分でないことから評価は定まっていない。（参照1、8、9）

今般、株式会社エス・ディー・エス バイオテックからアナカルド酸を主成分とする飼料添加物「カシューナッツ殻液」について飼料添加物の新規指定に関する申請が行われたことに伴い、厚生労働省からアナカルド酸について、食品衛生法（昭和22年法律第233号）第13条第3項の規定に基づき、「人の健康を損なうおそれのないことが明らかであるものとして内閣総理大臣が定める物質（対象外物質）」として定めることについて、食品健康影響評価の要請がなされた。

II. 安全性に係る知見の概要

本評価書では、飼料添加物指定申請資料等を用いて、アナカルド酸の安全性に係る知見を整理した。なお、アナカルド酸はC15:0～C15:3の分子種が存在する。また、CNSLは、主成分であるアルキルフェノールのアナカルド酸（61.7%）、カルダノール（3.3%）及びカルドール（19.7%）並びにその他のフェノール類（10.6%）を含有する混合物として牛の飼料に添加される（参照4）。そのため、検証可能な資料がある部分については、一部それらを含めた情報を記載した。検証可能とした資料のうち、申請された飼料添加物の製造方法と異なり、有機溶媒を用いて成分を抽出した物を被験物質に用いていた場合は、CNSE（Cashew nut shell extract）と表記し、CNSLと区別して記載した。

検査値等略称は別紙に示した。

1. 体内動態試験

(1) 体内動態試験 (*in vitro*)

牛（ホルスタイン種）の第一胃から採取した胃液等の混合物²（75 mL）を培養ボトルに入れ、アナカルド酸（純度 99.44%）を添加（最終濃度 0.75 $\mu\text{L/mL}$ ）して、ボトルを 39°C の温浴中で 48 時間振とう培養した。培養 48 時間後まで、TLC を用いて経時的にアナカルド酸を定性分析した。

TLC の結果、培養開始の前後で検出されたスポットが変化しており、これは培養開始前に不飽和態で存在していたアナカルド酸が、培養により水素化され飽和態のアナカルド酸に変換されたことによるものと考えられた。培養開始後に検出された物質は、培養 12 時間後で最大となり、培養 24～48 時間後ではほとんど検出できなくなった。

in vitro の試験系で添加したアナカルド酸が完全消失するまでに 24 時間以上要したことから、アナカルド酸は第一胃で容易に分解されないことが示唆された。（参照 3）

(2) 体内動態試験 (*in vitro*)

牛（系統不明）から第一胃液（150 mL）を採取し、人工唾液（150 mL）とともに、CNSL を添加（150 g（最終濃度 0.5 $\mu\text{L/mL}$ ））して、37°C で 22 時間振とう培養した。培養 0 及び 22 時間後の時点でサンプルを採取し、HPLC を用いて CNSL 成分を分析した。

培養 0 時間後では、サンプル中の CNSL 成分は添加量の約 90%であったが、培養 22 時間後では、添加量の約 70%であった。CNSL 成分であるアナカルド酸、カルダノール及びカルドールの組成比は、培養による変化はほとんどみられなかった（アナカルド酸含有比率は培養前 62%、培養後 59%）。

培養 0 時間後及び 22 時間後の CNSL 量の減少が、代謝によるものか、抽出操作によるものか検討するために、高圧滅菌処理（121°C、15 分）した第一胃液を用いて、同様の培養工程で、試験を再度実施した。その結果、培養 0 時間後のサンプル中の CNSL 成分は添加量の約 90%で、培養 22 時間後では添加量の約 70%であった。また、アナカルド酸等の組成比についても変化はほとんどみられなかった（アナカルド酸含有比率は培養前 62%、培養後 58%）。

これらのことから、*in vitro* における第一胃液内ではアナカルド酸が培養 22 時間後まで安定的に存在することが示唆された。（参照 1、10）

(3) 体内動態試験（牛）

牛（ホルスタイン種、泌乳牛、平均体重 612 ± 54 kg、2 頭×2 区画/群）に CNSL（22% CNSL 製剤）を 19 日間混餌投与（40 mg/kg 体重/日）した。第一胃液、乳及び糞便を採取し、HPLC を用いて試料中の CNSL 含有アルキルフェノール成分を測

² 第一胃液、重炭酸緩衝溶液、マクロミネラル溶液、ミクロミネラル溶液、レサズリン、蒸留水及び還元剤溶液を混合したもの。

定した。なお、CNSL 投与期と CNSL を含まない基礎飼料を与えた対照期の順序により 2 区画とした。

また、タイ在来牛（体重 412 ± 20 kg）及び沼沢水牛（体重 491 ± 44 kg）（各 4 頭/群）に対しても、CNSL（22% CNSL 製剤）を 4 週間混餌投与（40 mg/kg 体重/日）し、採取した第一胃液についてホルスタイン種と同様に HPLC を用いて CNSL 含有アルキルフェノール成分を測定した。なお、CNSL 投与前を対照期として、CNSL を含まない基礎飼料を与えた。

ホルスタイン種を対象とした混餌投与試験では、第一胃液及び糞便中のアルキルフェノール成分はカルダノール及びカルドールの含有量が高く、アナカルド酸の含有量は低かった。第一胃液中のアナカルド酸含有比率は約 15% であり、CNSL ではアナカルド酸が約 60% を占めることを考慮すると、アナカルド酸は第一胃内の微生物のはたらきによりカルダノール等へ変換されていることが示唆された。また、乳からはアルキルフェノール成分は検出されなかった（検出下限値は 0.1ppm）。

タイ在来牛及び沼沢水牛を対象とした混餌投与試験では、第一胃液中のカルダノール及びカルドールの含有量はわずか（1.0～1.1ppm）であり、アナカルド酸が安定的に存在（4.6～5.1ppm）していた。

これらのことから、ホルスタイン種の乳汁中には少なくともアナカルド酸は移行しないこと、第一胃液内微生物によっては、アナカルド酸はカルダノール等へ変換される可能性が示唆された。（参照 11）

（４）体内動態試験（牛） <参考資料³>

牛（系統不明、非泌乳牛、2 頭×2 区画/群）に CNSL を 8 日間混餌投与（24 g/頭/日）し、投与終了後に第一胃液及び糞便を採取して、HPLC を用いて試料中の CNSL 成分を測定した。なお、CNSL 投与前を対照期として、CNSL を含まない基礎飼料を与えた。

投与終了後に採取した第一胃液及び糞便中から、いずれもアナカルド酸が検出された。（参照 1、12）

2. 残留試験

（１）残留試験（肉用牛）

牛（肉用種（系統不明）、体重 600～700 kg、雌 8 頭）に CNSL を 31 日間混餌投与（5 g/頭/日）し、投与終了後に筋肉（骨格筋）及び脂肪組織を採取して、LC-MS/MS 法により CNSL 成分濃度を測定した。

結果を表 1 に示した。（表 1 には試験〔2.（2）（3）〕の結果も併記）

いずれの組織においても CNSL 成分濃度は検出限界未満であった。（参照 13）

（２）残留試験（非泌乳牛）

牛（ホルスタイン種、非泌乳牛、体重 700 kg、雌 1 頭）に CNSL を 31 日間混餌

³ 検出結果のアナカルド酸の含有比率が不明のため、参考資料とした。

投与（25 g/頭/日）し、投与終了後に筋肉（骨格筋）、脂肪組織、肝臓、腎臓、結腸及び小腸を採取して、LC-MS/MS 法により CNSL 成分濃度を測定した。

結果を表 1 に示した。（表 1 には試験〔2.（1）（3）〕の結果も併記）

いずれの組織においても CNSL 成分濃度は検出限界未満であった。（参照 14）

（3）残留試験（泌乳牛①）

牛（泌乳牛（系統不明）、雌 1 頭/群）に CNSL を 7 日間混餌投与（5、15、25 g/頭/日）し、投与前及び投与終了後に乳汁を採取して、LC-MS/MS 法により CNSL 成分濃度を測定した。

結果を表 1 に示した。（表 1 には試験〔2.（1）（2）〕の結果も併記）

乳汁中の CNSL 成分濃度はいずれの投与群においても検出限界未満であった。（参照 15）

表 1 各種組織等における CNSL 成分濃度(μg/g)

試験※1	組織	AA (C15:1)	AA (C15:2)	AA (C15:3)	CN (C15:1)	CN (C15:2)	CN (C15:3)	CD (C15:1)	CD (C15:3)
〔（1） （2）〕	筋肉（骨格筋）	<0.0490	<0.0445	<0.0495	<0.0890	<0.100	<0.0980	<0.0440	<0.100
	脂肪	<0.123	<0.111	<0.124	<0.223	<0.250	<0.245	<0.110	<0.250
〔（2）〕	肝臓	<0.123	<0.111	<0.124	<0.223	<0.250	<0.245	<0.110	<0.250
	腎臓	<0.123	<0.111	<0.124	<0.223	<0.250	<0.245	<0.110	<0.250
	結腸	<0.245	<0.223	<0.248	<0.445	<0.500	<0.490	<0.220	<0.500
	小腸	<0.245	<0.223	<0.248	<0.445	<0.500	<0.490	<0.220	<0.500
〔（3）〕 ※2	乳汁	<0.123	<0.111	<0.124	<0.223	<0.250	<0.245	<0.110	<0.250

AA：アナカルド酸、CN：カルダノール、CD：カルドール（C_m:_n は側鎖の炭素数 m 及び二重結合数 n を示す。）

数値は検出限界値

※1（1）及び（2）の試験については、31 日間混餌投与後に測定した結果を、（4）の試験については、7 日間混餌投与後に測定した結果を示した。

※2（3）の試験については、3 用量のいずれにおいても検出限界未満であった。

（4）残留試験（子牛） ＜参考資料⁴＞

牛（ホルスタイン種、3 か月齢、雄 5 頭/群）に CNSL を 92 日間混餌投与（33 g/頭/日）し、投与終了後に血液及び直腸便を採取して、HPLC を用いて試料中の CNSL 成分を測定した（検出限界：10ppm）。

CNSL 成分は、血液中では検出限界以下であったが、直腸便中からは検出された。なお、並行して実施された第一胃、第四胃、肝臓、腎臓及び小腸の病理組織学的検査では、投与に関連した異常はみられなかった。（参照 16）

⁴ 残留の結果についてアナカルド酸の含有比率が不明のため、参考資料とした。

(5) 残留試験（泌乳牛②） ＜参考資料⁵⁾＞

牛（ホルスタイン種、泌乳牛、雌3頭）に CNSL を7日間混餌投与（60 g/頭/日）し、投与期間中（7日間）の乳汁を合わせて試料とし、試料中の CNSL 成分を測定した（検出限界：10ppm）。

試料中の CNSL 成分は検出限界以下であった。（参照 17）

3. 遺伝毒性試験

アナカルド酸の遺伝毒性試験の結果を表2に示した。

また、CNSL、CNSE 等の遺伝毒性試験結果を参考資料として表3に示した。

表2 アナカルド酸の遺伝毒性試験結果

試験	対象	用量	結果	参照
<i>in vivo</i>	小核試験	BALB/c マウス（雌雄、骨髓細胞）	250 mg/kg 体重（単回強制経口投与）；投与24時間後に試料採取	陰性 18
		Swiss マウス（雌、末梢血）	2.25、112.5 µg/kg 体重（ゼインナノ粒子 ⁶⁾ カプセル化、7日間強制経口投与）＜参考資料 ⁷⁾ ＞	陰性 19
	コメットアッセイ	Swiss マウス（雄、海馬及び前頭葉の細胞）	10、25、50 mg/kg 体重（腹腔内投与）	陰性 20

表3 CNSL、CNSE 等の遺伝毒性試験結果 ＜参考資料⁸⁾＞

試験	対象	用量	結果	参照
<i>in vitro</i>	復帰突然変異試験	<i>Salmonella typhimurium</i> TA98、TA100、TA1535	CNSE ⁹⁾ （石油エーテル抽出物）：0.001、0.02、0.03%；TA98（±S9）、TA100、TA1535（-S9）	陰性 21
	umu 試験	<i>S. typhimurium</i> NM2009	CNSL：12.5、25、50、100、200、400、800、1,600ppm（±S9）	陰性 22

⁵⁾ 残留の結果についてアナカルド酸の含有比率が不明のため、参考資料とした。

⁶⁾ トウモロコシ中のアルコール可溶性タンパク質。球状ナノ粒子に自己集合する性質がある。

⁷⁾ ゼインナノ粒子カプセル化されており、アナカルド酸自体の遺伝毒性を評価できるか不明なため、参考資料とした。

⁸⁾ 被験物質中のアナカルド酸以外の成分による影響が不明であることから、参考資料とした。

⁹⁾ アナカルド酸の含有比率不明。

<i>in vivo</i>	小核試験	Swiss マウス（雌雄、骨髓細胞）	CNSE ¹⁰ （n-ヘキサン抽出物）：17.37、34.75、69.5 mg/kg 体重（単回強制経口投与）；投与24時間後に試料採取	陰性	23
		Swiss マウス（雌雄、末梢血）	CNSE ¹¹ （エタノール抽出物）及びひまし油の1：4の混合物：5、50 mg/kg 体重（妊娠1～18日強制経口投与）、最終投与後試料採取	陰性	24
		Wistar ラット（雄、骨髓細胞）	CNSE ¹² （石油エーテル抽出物）：25、50、100 µL（3回/週、6週間塗布、約2.5、5、10 mg/kg 体重/回）	陽性 ^a	25
	コメットアッセイ	Swiss マウス（雌雄、骨髓細胞）	CNSE ¹³ （n-ヘキサン抽出物）：17.37、34.75、69.5 mg/kg 体重（単回強制経口投与）；投与24時間後に試料採取	陽性 ^b （雌のみ）	23

a：食品健康影響評価に用いる上では試験デザイン及びデータ解析の不備があることから、100 µL 投与群でみられた弱い陽性（対照群 1/1,000 に対し 2.2/1,000）は、生物学的妥当性に疑問があると考えられる。

b：食品健康影響評価に用いる上では試験デザインの不備があること及び同様の処理による小核試験が陰性であったことから、雌のみでみられた陽性の証拠に重みは低いと考えられる。

アナカルド酸は、*in vitro* の復帰突然変異試験や染色体異常試験等は実施されていないが、*in vivo* の小核試験及びコメットアッセイの結果は、いずれも陰性であった。アナカルド酸はサリチル酸誘導体のアルキルフェノールであり、復帰突然変異試験陽性を示すような警告構造を有していない。

加えて、参考資料ではあるが、アナカルド酸を含む CNSL、CNSE 等の遺伝毒性試験では *in vitro* の復帰突然変異試験及び umu 試験並びに *in vivo* の強制経口投与による小核試験で結果は陰性との報告があった。なお、参考資料とした試験のうち、一部の小核試験とコメットアッセイでは陽性との報告があったが、経皮投与による小核試験については生物学的妥当性に疑問があり、食品健康影響評価に用いることは適当とは考えられず、また、強制経口投与によるコメットアッセイについては雌雄で実施されているものの雌のみでの陽性であり、同様の処理による小核試験では

¹⁰ アナカルド酸を 70%含む。

¹¹ アナカルド酸を 62.3%含む。

¹² アナカルド酸の含有比率不明。

¹³ アナカルド酸を 70%含む。

雌雄ともに陰性であることから証拠の重みが低いと考えられる。

これらのことを総合的に勘案し、食品安全委員会は、アナカルド酸に遺伝毒性はないと判断した。

4. 急性毒性試験

アナカルド酸の急性毒性試験結果を表 4 に示した。

表 4 アナカルド酸の急性毒性試験結果

動物種	性別	投与経路	投与物質	LD ₅₀ (mg/kg 体重)	参照
BALB/c マウス	雌雄	経口	アナカルド酸	>2,000	18
ICR マウス	雌雄	経口	CNSL < 参考資料 ¹⁴ >	>2,000	26
Wistar ラット	雌雄	経口	CNSE (n-ヘキサン抽出物) < 参考資料 ¹⁵ >	1,000	27
Wistar ラット	雌	経口	CNSE (エタノール抽出物) < 参考資料 ¹⁶ >	2,018	28

5. 亜急性毒性試験

(1) 30 日間亜急性毒性試験 (マウス①)

マウス (BALB/c、体重 20～25 g、雌雄各 5 匹/群) にアナカルド酸を 30 日間強制経口投与 (0、300、600、1,000 mg/kg 体重/日) した。

試験期間中に一般状態の観察、体重及び摂餌量の測定、血液学的及び血液生化学的検査並びに病理組織学的検査を行った。

結果を表 5 に示した。

雌雄ともに、試験期間中に死亡例及び一般状態への毒性兆候はみられなかった。

600 mg/kg 体重/日投与群の雌雄で脾臓の相対重量が増加したが、用量相関性はみられず、病理組織学的変化もみられなかったことから、被験物質投与に関連した異常ではないと考えた。(参照 18)

食品安全委員会は、1,000 mg/kg 体重/日投与群の雌における Hb 及び Ht の低下並びに血中尿素値の上昇から、本試験の NOAEL を雌では 600 mg/kg 体重/日、雄では最高用量である 1,000 mg/kg 体重/日と判断した。

¹⁴ 被験物質中のアナカルド酸以外の成分の影響が不明のため、参考資料とした。

¹⁵ 被験物質中のアナカルド酸の含有比率及びアナカルド酸以外の成分の影響が不明のため、参考資料とした。

¹⁶ 被験物質中のアナカルド酸の含有比率及びアナカルド酸以外の成分の影響が不明のため、参考資料とした。

表 5 マウスの 30 日間亜急性毒性試験における毒性所見

投与量 (mg/kg 体重/日)	雄	雌
1,000	毒性所見なし (1,000 以下)	Hb 及び Ht 低下 血中尿素値増加
600 以下		毒性所見なし

(2) 7 日間亜急性毒性試験 (マウス②) <参考資料¹⁷⁾>

マウス (Swiss、体重 25～30 g、雌 5 匹/群) にアナカルド酸 (ゼインナノ粒子カプセル化) を 7 日間強制経口投与 (0、2.25、112.5 µg/kg 体重/日) した。

試験期間中に一般状態の観察、体重の測定、各臓器・組織の重量測定並びに肉眼的観察及び病理組織学的検査を行った。

試験期間中に、投与群に体重減少がみられたが、行動異常、重篤な毒性兆候及び死亡はみられなかった。なお、体重減少については、アナカルド酸を含まないゼインナノ粒子カプセルのみを投与した群においてもみられた。112.5 µg/kg 体重/日投与群において、胃、肺及び心臓の相対重量が増加したが、体重減少によるものと考えられ、各臓器の絶対重量に対照群との差はみられなかった。また、いずれの臓器・組織においても被験物質投与による毒性所見はみられなかった。(参照 19)

(3) 14 日間亜急性毒性試験 (ラット①) <参考資料¹⁸⁾>

ラット (Wistar、体重 150～180 g、雌雄各 6 匹/群) に CNSE (n-ヘキサン抽出物) を 14 日間強制経口投与 (0、20、40、60 mg/kg 体重/日) した。

試験期間中に一般状態の観察、体重の測定、血液生化学的検査、抗酸化酵素測定並びに肝臓及び腎臓の病理組織学的検査を行った。また、一部のラット (雌雄各 3 匹/群) に対して、血液学的検査を行った。

対照群においては雌雄とも投与開始前と比較して体重が増加したが、全ての投与群の雌雄で体重は投与開始前と比較して減少した。

血液生化学的検査では、全ての投与群の雌雄において、トリグリセリド、LDL-C、AST、ALP 及びクレアチニンの増加がみられた。全ての投与群の雄及び 40 mg/kg 体重/日以上投与群の雌において、総タンパク質及びアルブミンの減少がみられた。全ての投与群の雄及び 20 mg/kg 体重/日投与群の雌において、総コレステロールの増加がみられた。全ての投与群の雌及び 40 mg/kg 体重/日以上投与群の雄において、ALT 及びビリルビンの増加がみられた。全ての投与群の雌のみに HDL-C の減少がみられた。40 mg/kg 体重/日以上投与群の雄に VLDL-C の増加が、40 mg/kg 体重/日以上投与群の雌に尿素の増加がみられた。抗酸化酵素の測定結果では、全ての投与群の雌

¹⁷⁾ ゼインナノ粒子カプセル化されており、体内動態が異なる可能性が検証できていないことに加え、アナカルド酸を含まないゼインナノ粒子カプセルのみを投与した群においても体重減少がみられており、アナカルド酸自体の毒性を評価できるか不明なため、参考資料とした。

¹⁸⁾ 被験物質中のアナカルド酸の含有比率が不明であることに加え、血液学的及び血液生化学的検査の個別の検査値が不明であり、血液学的検査は 3/6 例の統計解析であること、肝臓及び腎臓の病理組織学的検査の所見の詳細や例数が不明であることから、参考資料とした。

雄において、GSH の減少がみられた。40 mg/kg 体重/日以上投与群の雄において、SOD の減少がみられた。

病理組織学的検査では、60 mg/kg 体重/日投与群の雄において、肝臓の構造異常及び壊死の所見を示す個体が、60 mg/kg 体重/日投与群の雄及び全ての投与群の雌において、腎臓の構造異常及び壊死の所見を示す個体が確認された。

一部のラットで実施された血液学的検査では、全ての投与群の雌雄において、WBC 及び単球の増加がみられた。全ての投与群の雄及び 40 mg/kg 体重/日以上投与群の雌において、好中球の減少及びリンパ球の増加がみられた。全ての投与群の雌及び 20 mg/kg 体重/日投与群の雄において、血小板の減少がみられた。40 mg/kg 体重/日以上投与群の雌雄において、PCV の減少、Hb の減少、MCHC の増加がみられた。40 mg/kg 体重/日以上投与群の雄及び 60 mg/kg 体重/日投与群の雌において、RBC の減少がみられた。40 mg/kg 体重/日以上投与群の雌に好酸球の低下がみられた。(参照 27)

(4) 28 日間亜急性毒性試験 (ラット②) <参考資料¹⁹⁾>

ラット (Wistar、平均体重 120 g、雄 5 匹/群) に CNSE (n-ヘキサン抽出物) を 28 日間 (隔日投与) 強制経口投与 (0、50、100、150、200、250、300、350、400 mg/kg 体重/日) した。

血液学的検査を行うとともに、脳及び精巣については酸化ストレスマーカー (SOD、カタラーゼ、GST、GPx、マロンジアルデヒド) の活性測定及び病理組織学的検査を行った。

血液学的検査では、全ての投与群で WBC の減少及び血小板数の増加傾向がみられた。顆粒球数については、増加及び減少があり、用量依存性もみられなかった。

酸化ストレスマーカーの活性測定において、脳では 150 mg/kg 体重/日以上投与群の SOD 活性及び全ての投与群のカタラーゼ活性の低下がみられた。精巣では、全ての投与群において、カタラーゼ活性の低下及び SOD 活性の上昇がみられた。GPx 活性、GST 活性及びマロンジアルデヒド量は、対照群と比較して投与群に有意な差はなかった。

病理組織学的検査の結果、250 mg/kg 体重/日以上投与群では、脳の錐体神経細胞の細胞質の減少等の所見や、精巣の間質組織の歪曲、精細管の空洞化、セルトリ細胞の縮小等の所見を示す個体が確認された。(参照 29)

¹⁹⁾ 被験物質中のアナカルド酸の含有比率が不明であることに加え、病理組織学的検査で得られた所見が、各投与群の試験動物のうち何例で確認されているか不明であること及び試験動物の行動異常等につながった変化かどうかを観察されておらず、神経・精巣組織の形態異常の影響が不明であるため、参考資料とした。

（５）28 日間亜急性毒性試験（ラット③） ＜参考資料²⁰>

ラット（Wistar、平均体重 149.21 g、雄 5 匹/群）に CNSE（メタノール抽出物）を 28 日間（隔日投与）強制経口投与（0、50、100、150、200、250、300、350、400 mg/kg 体重/日）した。

血液学的検査を行うとともに、肺及び肝臓における酸化ストレスマーカー（SOD、カタラーゼ、GPx、GST、マロンジアルデヒド）の測定並びに病理組織学的検査を行った。

血液学的検査では、全ての CNSE 投与群で MCHC は増加がみられた。また、250 mg/kg 体重/日投与群を除く投与群にて、MCH の増加がみられ、最高用量である 400 mg/kg 体重/日投与群のみで、Ht の減少がみられたが、いずれの影響も用量依存性がみられなかった。

酸化ストレスマーカーの測定の結果、CNSE 投与群の肺では SOD 活性の増加及びカタラーゼの減少がみられたが、肝臓では SOD 活性の減少及びカタラーゼ活性の増加がみられた。GPx 活性、GST 活性及びマロンジアルデヒド量については、肺及び肝臓のどちらにおいても影響はみられなかった。

病理組織学的検査の結果、250 及び 400 mg/kg 体重/日投与群の肺において、肺実質の虚脱が確認された。また、250 及び 400 mg/kg 体重/日投与群の肝臓においては、中心静脈にうっ血、肝細胞の核濃縮及び線維化が確認された。（参照 30）

6. 慢性毒性及び発がん性試験

アナカルド酸を用いた慢性毒性試験及び発がん性試験は実施されていない。以下に示すように、CNSE を用いた皮膚二段階発がん性試験が実施され、CNSE は皮膚発がん誘発作用を示さないこと及び弱い皮膚発がん促進作用を示す可能性があることが報告されている。

（１）皮膚二段階発がん性試験（マウス①） ＜参考資料²¹>

マウス（Swiss、8～10 週齢、雌 15 匹/群）に 10% CNSE²²（石油エーテル抽出物）を皮膚に塗布し、2 週間経過後に発がん促進物質であるハズ油²³（10%/0.2 mL アセトン溶液、2 回/週）を 6 週間同部位に処置して、皮膚発がん誘発作用について検討した。また、マウス（Swiss、8～10 週齢、雌 15 匹/群）に DMBA（120 µg/0.2 mL アセトン）を背部皮膚に塗布し、2 週間経過後に CNSE（石油エーテル抽出物）（2% 又は 5%/0.2 mL アセトン溶液、2 回/週）を 20 週間同部位に処置して、発がん促進作用について検討した。さらに、マウス（Swiss、8～10 週齢、雌 15 匹/群）に DMBA

²⁰ 被験物質中のアナカルド酸の含有比率が不明であることに加え、病理組織学的検査で得られた所見が、各投与群の試験動物のうち何例で確認されているか不明で、群間比較がなされていないため、参考資料とした。

²¹ 皮膚局所における発がん性を検索するもので、全身に対する発がん性は評価できないと考えられるため、参考資料とした。

²² アナカルド酸の含有比率不明。

²³ ホルボールエステル類を含み、発がん促進作用を示す。

(120 µg/0.2 mL アセトン) を塗布し、2 週間経過後にベンゾ[a]ピレン ($2 \times 10^{-6}\%$) とともに、CNSE (石油エーテル抽出物) (2%又は 5%/0.2 mL アセトン溶液、2 回/週) を 20 週間同部位に処置して、発がん促進作用について検討した。

10% CNSE 塗布後にハズ油を処置したところ、皮膚腫瘍は発生しなかった。DMBA により誘発される皮膚の腫瘍形成は、ハズ油で促進され (発生率: 100%)、一方で、2%及び 5% CNSE 群での発生率はそれぞれ 13% (有意差なし) 及び 21% (有意差あり) で、CNSE の弱い皮膚発がん促進作用が示された。本結果について著者らは、CNSE は皮膚炎を引き起こす可能性があり、刺激や炎症過程において、腫瘍形成の促進を誘発する活性酸素種の放出を誘発した可能性がある」と報告した。また、DMBA 塗布後にベンゾ[a]ピレンを併用した試験において、5% CNSE までの処置で腫瘍の発生頻度は統計学的に有意に上昇しなかった。(参照 21)

(2) 皮膚二段階発がん性試験 (マウス②) <参考資料²⁴>

マウス (Swiss、6 週齢、雌 15 匹/群) に DMBA (0.05 mg/0.05 mL アセトン) を塗布し、1 週間経過後にカシューナッツ抽出油²⁵ (仁由来: cashew nut kernel oil、アセトン抽出物) (2.5%又は 5%、3 回/週) を 120 日間同部位に処置し、発がん促進作用について検討した。DMBA を塗布し、1 週間経過後にハズ油 (2%、3 回/週) を 3 週間同部位に処置した群を陽性対照とした。

DMBA により誘発される皮膚乳頭腫は、ハズ油で促進された (発生率: 86%) が、カシューナッツ抽出油では促進されなかった (発生率: 0%)。また、カシューナッツ抽出油単独での塗布においても皮膚乳頭腫は発生しなかった (発生率: 0%)。(参照 31)

7. 生殖発生毒性試験

アナカルド酸を用いた生殖発生毒性試験は実施されていない。以下に示すように、CNSE 及びひまし油の混合物のけん化反応生成物を用いた発生毒性試験が実施され、被験物質について胚・胎児の発育への影響は報告されていない。

(1) 発生毒性試験 (マウス) <参考資料²⁶>

マウス (Swiss、8~10 週齢、平均体重 30 g) を雄:雌=1:2 で交配させた後、妊娠マウス (10 匹/群) に CNSE (エタノール抽出物) 及びひまし油の混合物 (CNSE:ひまし油=1:4 の割合で混合) のけん化反応生成物を妊娠 1 日~18 日の

²⁴ 皮膚局所における発がん性を検索するもので、全身に対する発がん性は評価できないと考えられるため、参考資料とした。

²⁵ アナカルド酸の含有比率不明。

²⁶ CNSE (アナカルド酸を 62.3%含む。) 及びひまし油の混合物に対して、水酸化ナトリウムでけん化した反応生成物を被験物質としており、反応生成物中ではアナカルド酸ナトリウムとして存在しているため、けん化後のアナカルド酸の最終含有量が不明である。さらに、被験物質中のひまし油には妊娠動物への経口投与により、分娩が誘発される作用が報告されており、アナカルド酸自体の発生毒性を評価できるか不明なため、参考資料とした。

間、強制経口投与（0、5、50 mg/kg 体重/日）し、親動物及び児動物への影響を調べた。

親動物について、試験開始前の対照群の体重が他群に比べ高く、その傾向は試験終了時でより顕著であったが、妊娠中の親動物の体重増加量には統計学的有意差はみられなかった。5 mg/kg 体重/日投与群において、肺の絶対及び相対重量の増加、腎臓及び肝臓の絶対及び相対重量の減少がみられたが、用量相関性のない変化であった。

50 mg/kg 体重/日投与群では、着床数、胎児数（生存及び死亡を含む）、性比等に群間で差はみられなかったが、胎児の生存率及び胎児重量は、対照群と比較して有意に低下した。これらの変動に関わらず、胎児重量は対応する妊娠日齢における標準的な値であった。

児動物について、四肢及び尾に外表奇形がみられたが、その頻度は低く、群間に差はみられなかった。また、水腎症及び水頭症がみられたが、群間に差はみられなかった。骨格の異常では、口蓋骨及び前蝶形骨の骨化遅延が 5 mg/kg 体重/日以上で増加した。しかしながら、これらの所見があった胎児は、発生早期に採取されたために骨化形成が中断されたことによるもので、生後の骨化形成の進行によって回復されるものと報告された。また、これらの結果について著者らは、被験物質として用いた CNSE 及びひまし油の混合物のけん化反応生成物について、胚・胎児の発育に対して影響を及ぼさないと報告した。（参照 24）

8. ヒトにおける知見

（1）食品由来のアナカルド酸の摂取量の推計

食品摂取頻度・摂取量調査の特別集計業務報告書（平成 22 年度厚生労働省）の農産物・畜水産物平均摂取量（中間食品群）（男女計：年齢階級別）によると、1 日当たりのカシューナッツ摂取量は、全体では 0.039 g、高齢者（65 歳以上）では 0.039 g、小児（1～6 歳）では 0.035 g であった。カシューナッツに含まれるアナカルド酸量は 1,060 µg/g とされていることから、1 日当たりのカシューナッツ由来のアナカルド酸の摂取量は、全体では 41.34 µg、高齢者では 41.34 µg、小児では 37.10 µg と考えられた。（参照 32、33）

Ⅲ. 国際機関等の評価

（1）米国での評価

AAFCO は 2018 年に CNSL（アナカルド酸 59%以上）を牛用飼料の香料として完全飼料中 500ppm を超えない範囲で添加することについて審査し、2022 年よりカシューナッツ殻抽出物として流通・使用されている。（参照 1、8）

（２）欧州での評価

EFSA（FEEDAP）は 2016 年に CNSL²⁷及びひまし油の混合物を全畜種の飼料に対する飼料添加物（抗酸化剤）として使用した場合の安全性について検討した。本飼料添加物には皮膚及び目に対して刺激性があるとした一方で、対象動物、消費者等への影響について現状では評価のための資料が十分でないとして、結論が出せないとした。（参照 9）

²⁷ CNSL の抽出過程で、カシューナッツ殻に加熱処理を行っている。

IV. 食品健康影響評価

アナカルド酸は、カシューナッツ殻液（Cashew nut shell liquid: CNSL）に含まれ、牛からのメタンの生成を抑制するアルキルフェノールである。人がカシューナッツとして通常食している部位（仁）にも同成分が含まれることが確認されている。

体内動態試験の結果、一部のアナカルド酸は第一胃（ルーメン）内の微生物により脱炭酸を受ける可能性も示されたが、大部分は分解、吸収されずに、糞便中へ排泄された。また、牛へ CNSL を混餌投与した試験（7 又は 31 日間）では、組織、乳汁等においてアナカルド酸等のアルキルフェノール成分は検出されなかった。このため、牛に投与されたアナカルド酸は動物体内に残留しないと考えた。

遺伝毒性試験の結果、アナカルド酸を用いた *in vivo* の小核試験及びコメットアッセイはいずれも陰性であった。また、CNSL、CNSE 等を用いた *in vitro* の試験及び *in vivo* の小核試験で結果は陰性との報告があった。なお、CNSL、CNSE 等を用いた試験の一部では陽性との報告があったが、当該試験は、生物学的妥当性や試験結果の一貫性に疑問があり、証拠の重みが低いと考えられる。これらのことを総合的に勘案し、アナカルド酸に遺伝毒性はないと判断した。

亜急性毒性試験の結果、血液及び腎臓に関する毒性所見が雌のみで認められ、NOAEL は雌では 600 mg/kg 体重/日、雄では最大用量である 1,000 mg/kg 体重/日と判断した。

アナカルド酸を用いた慢性毒性試験及び発がん性試験は実施されていないが、本成分の残留性が低いこと、同成分を含むカシューナッツの食経験があることを踏まえ、懸念される慢性影響は亜急性毒性試験の結果をもって確認できると考えた。

アナカルド酸を用いた生殖発生毒性試験は実施されていないが、本成分の残留性は低く、同成分を含むカシューナッツの食経験において生殖機能や次世代への毒性影響の報告はない。

国内では 2012 年より、アナカルド酸を含む CNSL が飼料原料として家畜に使用されており、当該飼料原料を使用した家畜及びその生産物について、これまでに安全性に関する問題は報告されていない。また、カシューナッツの仁部分にも含まれる成分として、これまでの食経験があり、同成分のカシューナッツ由来の 1 日当たりの摂取量は、全体では 41.34 µg、高齢者（65 歳以上）では 41.34 µg、小児（1～6 歳）では 37.10 µg と考えられることに加え、アナカルド酸を含む CNSL を牛に混餌投与しても、組織、乳汁等からアナカルド酸等のアルキルフェノール成分が検出されていないことを考慮すると、食品を通じて飼料添加物由来のアナカルド酸を人が過剰に摂取することはないと考えた。

以上のことから、食品安全委員会は、アナカルド酸は、飼料添加物として通常使用される限りにおいて、食品に残留することにより人の健康を損なうおそれのないことが明らかであると考えた。

＜別紙：検査値等略称＞

略称等	名称
AAFCO	Association of American Feed Control Office：米国飼料検査官協会
ALP	Alkaline phosphatase：アルカリフォスファターゼ
ALT	Alanine aminotransferase：アラニンアミノトランスフェラーゼ
AST	Aspartate aminotransferase：アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
DMBA	Dimethyl benz(a)anthracene：ジメチルベンズ(a)アントラセン
EFSA	European Food Safety Authority：欧州食品安全機関
FEEDAP	The Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed：EFSA の動物用飼料に使用する添加物及び製品又は物質に関する科学パネル
GPx	Glutathione Peroxidase：グルタチオンペルオキシダーゼ
GSH	Glutathione：グルタチオン
GST	Glutathione-S-transferase：グルタチオン-S-トランスフェラーゼ
Hb	Hemoglobin：ヘモグロビン
HDL-C	High-density lipoprotein cholesterol：高密度リポタンパク質コレステロール
HPLC	High-performance liquid chromatography：高速液体クロマトグラフィー
Ht	Hematocrit：ヘマトクリット
LC-MS/MS	Liquid chromatography / tandem Mass Spectrometry：液体クロマトグラフィータンデム質量分析
LD ₅₀	50% lethal dose：半数致死量
LDL-C	Low-density lipoprotein cholesterol：低密度リポタンパク質コレステロール
MCH	Mean Corpuscular Hemoglobin：平均赤血球ヘモグロビン量
MCHC	Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration：平均赤血球ヘモグロビン濃度
NOAEL	No-Observed-Adverse-Effect Level：無毒性量
RBC	Red blood cell：赤血球（数）
SOD	Superoxide dismutase：スーパーオキシドジスムターゼ
TLC	Thin-layer chromatography：薄層クロマトグラフィー
VLDL-C	Very-low-density lipoprotein cholesterol：超低密度リポタンパク質コレステロール
WBC	White blood cell：白血球（数）

<参照>

- 1 株式会社エス・ディー・エス バイオテック：カシューナッツ殻液についての試験成績等の抄録（効果安全性）、2022<非公表>
- 2 株式会社エス・ディー・エス バイオテック：飼料添加物指定審査用資料 添付資料 1；Trevisan MTS, Pfundstein B, Haubner R, Wurtele G, Spiegelhalter B, Bartsc H, Owen RW.：Characterization of alkyl phenols in cashew (*Anacardium occidentale*) products and assay of their antioxidant capacity. Food and Chemical Toxicology 2006, 44:188-197.
- 3 Saenab A, Wiryawan KG, Retnani Y, Wina E.: Anacardic Acid Isolated From Cashew Nut Shell (*Anacardium occidentale*) Affect Methane and Other Products in the Rumen Fermentation. Media Peternakan 2017, 40(2):94-100.
- 4 株式会社エス・ディー・エス バイオテック：CNSL 成分に関する回答
- 5 Pubchem
<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>
- 6 Tyman JH.：Determination of the Component Phenols in Narurak and Technical Cashew Nut-Shell Liquid by Gas-Liquid Chromatography. Analytical Chemistry 1976, 48(1):30-34.
- 7 環境省：温室効果ガスインベントリの概要
<https://www.env.go.jp/earth/ondanka/ghg-mrv/overview.html>
- 8 AAFCO：Ingredient definitions committee report, 2018
- 9 EFSA. Safety and efficacy of a feed additive consisting of cashew nutshell liquid for all animal species (Oligobasic Europe). j.efsa.2021.6892.
- 10 株式会社エス・ディー・エス バイオテック：飼料添加物指定審査用資料 添付資料 10；ルーメン液中でのカシューナッツ殻油の動態について
- 11 株式会社エス・ディー・エス バイオテック：参考文献 2；小林、乳肉および反芻家畜体内の抗酸化能を高める新飼料の機能評価（平成 25 年度食肉に関する助成研究調査成果報告書）
- 12 株式会社エス・ディー・エス バイオテック：飼料添加物指定審査用資料 添付資料 9；カシューナッツ殻油の牛給与試験について
- 13 株式会社エス・ディー・エス バイオテック：飼料添加物指定審査用資料 Attachment (XIII) Safety of CNSL to human, Experiment-1
- 14 株式会社エス・ディー・エス バイオテック：飼料添加物指定審査用資料 Attachment (XIII) Safety of CNSL to human, Experiment-2
- 15 株式会社エス・ディー・エス バイオテック：飼料添加物指定審査用資料 Attachment 3-A Safety of CNSL to human
- 16 株式会社エス・ディー・エス バイオテック：飼料添加物指定審査用資料 添付資料 7；CNSL 子牛給与試験について
- 17 株式会社エス・ディー・エス バイオテック：飼料原料届出用資料 添付資料 10；カシューナッツ殻油の泌乳牛給与試験について

- 18 株式会社エス・ディー・エス バイオテック：飼料添加物指定審査用資料 添付資料 13；Carvalho ALN, Annoni R, Silva PRP, Borelli P, Fockb RA, Trevisan MTS, Mauad T.: Acute, subacute toxicity and mutagenic effects of anacardic acids from cashew (*Anacardium occidentale* Linn.) in mice. J Ethnopharmacol. 2011, 135:730-736.
- 19 de Araújo JTC, Lima LA, Vale EP, Martin-Pastor M, Lima RA, Silva PGB, de Sousa FFO.: Toxicological and genotoxic evaluation of anacardic acid loaded-zein nanoparticles in mice. Toxicology Reports 7. 2020, 1207-1215.
- 20 Gomes Júnior AL, Tchekalarova JD, Machado KDC, Moura AKS, Paz MFCJ, da Mata AMOF, Nogueira TR, Islam MT, Rios MAS, Graças Lopes Citó AMD, Uddin SJ, Shilpi JA, Das AK, Lopes LDS, Melo-Cavalcante AAC.: Anxiolytic effect of anacardic acids from cashew (*Anacardium occidentale*) nut shell in mice.
- 21 株式会社エス・ディー・エス バイオテック：飼料添加物指定審査用資料 添付資料 14；George J, Kuttan R.: Mutagenic, carcinogenic and cocarcinogenic activity of cashewnut shell liquid. Cancer Letter 1997, 112: 11-16.
- 22 株式会社エス・ディー・エス バイオテック：飼料添加物指定審査用資料 添付資料 15；変異原性試験について
- 23 Leite AS, Islam MT, PazMFCJ, Gomes Junior AL, Oliveira GLS, Cito AMGL, Melo-Cavalcante AAC, Lopes JAD.: Cytogenotoxic and mutagenic profiling of cashew nut shell liquids and cardanol. Clinical Phytoscience 2019, 5:37.
- 24 Vani JM, Monreal MTFD, Auharek SA, Cunha-Laura AL, de Arruda EJ, Lima AR, da Silva CM, Antonioli-Silva ACMB, Lima DP, Beatriz A, Juliano Oliveira RJ.: Themixture of cashew nut shell liquid and castor oil results in an efficient larvicide against *Aedes aegypti* that does not alter embryo-fetal development, reproductive performance or DNA integrity. PLOS ONE, 2018, 13(3): e0193509.
- 25 Owumi SE, Fatoki JO, Gbadegesin MA, Odunola OA.: Clastogenic and toxicological assessment of cashew (*Anacardium occidentale*) nut bark extracts in Wistar rats. Acta Biochimica Polonica, 2015, 62:563-567
- 26 株式会社エス・ディー・エス バイオテック：飼料添加物指定審査用資料 添付資料 12；マウスを用いた急性毒性試験
- 27 Okereke G, Emmanuel O, Ude VC, Ekweogu CN, Ikpeazu VO, Ugbogu EA: Physicochemical characteristics, acute and subacute toxicity of cashew nut shell oil in Wistar rats. Scientific African. 2020, 8: e00391.
- 28 Harlita, Satuti NHN, Sagi M, Astuti P.: Acute Toxicity of Cashew Nut Shell Extract (*Anacardium occidentale* L.) In Albino Rat (*Rattus norvegicus* Berkenhout 1769). Pakistan Journal of Biological Sciences. 2016,19: 89- 94.
- 29 Adeleke GE, Adedosu OT, Adeagbo DP, Oyebamiji AJ, Adegboyega TE, Babalola KD, Adegbola PI, Gbolagade AM.: Toxicological Profile of *Anacardium occidentale* Nut Shell Extract on Hematologic and Antioxidant Parameters in

- Brain and Testicular Tissues of Wistar Rats. Inter J Scie & Rearch 2022,7:942.
- 30 Adeleke GE, Adedeji L A, Ojurongbe TE, Adedoyin ED, Orisadiran PK, Kamorudeen IB, Yusuf MO: Toxicity Assessment of Cashew Nut Shell Methanol Extract on Hematology and Redox Status in Lungs and Liver of Wistar Rats. International Journal of Pharmaceutical and Bio-Medical Science, 2022, 2:339-346.
- 31 Singh B, Kale RK, Rao AR.: Modulation of antioxidant potential in liver of mice by kernel oil of cashew nut (*Anacardium occidentale*) and its lack of tumour promoting ability in DMBA induced skin papillomagenesis. Indian J Exp Biol. 2004, 42(4):373-7.
- 32 厚生労働省：食品摂取頻度・摂取量調査の特別集計業務報告書（平成 22 年度）
- 33 株式会社エス・ディー・エス バイオテック：提出資料；Exposure Estimate