

微生物等関連原材料を用いる錠剤、カプセル剤等食品の
製品標準書の作成に関する指針に関する Q & A（案）

1. 指針の適用範囲について

問 1 この指針（以下「微生物等関連原材料指針」という。）が適用される錠剤、カプセル剤等食品の範囲を分かりやすく教えてほしい。

（答）

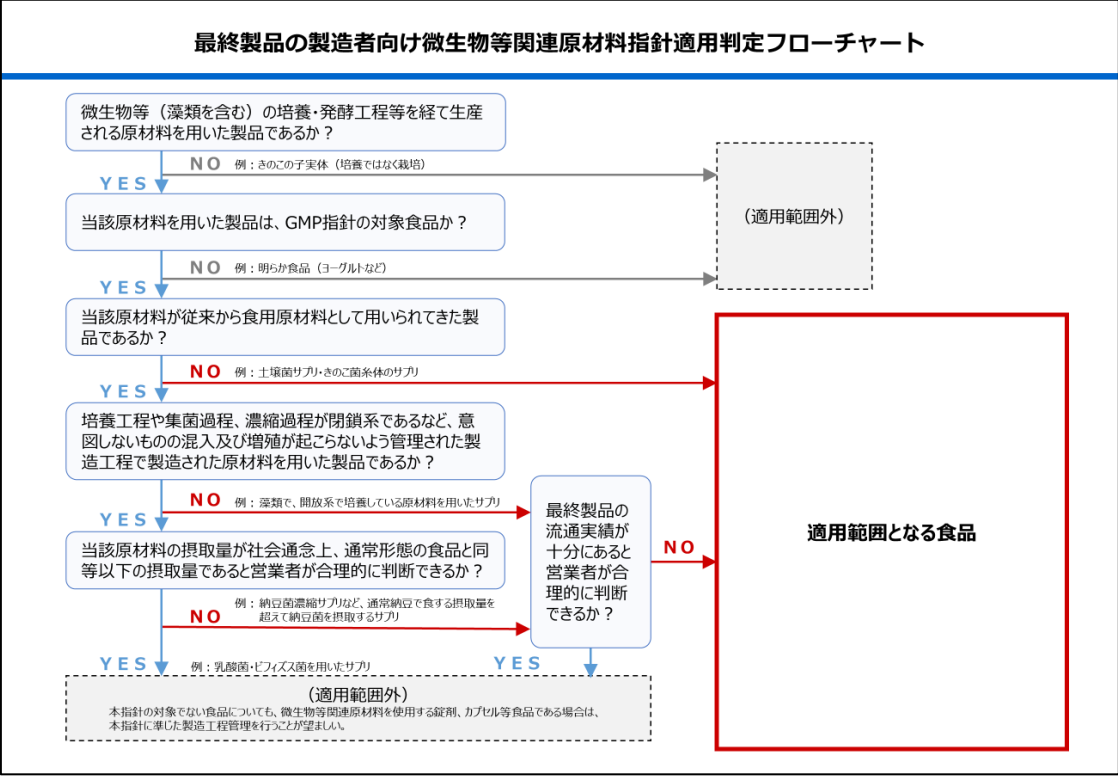
微生物等（藻類を含む。）の培養又は発酵工程を経て生産される原材料を用いて製造される食品のうち、「錠剤、カプセル剤等食品の製造管理及び品質管理（GMP）に関する指針（ガイドライン）」（以下「GMP 指針」という。）の「第 2 対象食品」に該当するものに適用します。ただし、従来から食用原材料として用いられてきた微生物等関連原材料を使用した製品であって、次のいずれかに該当する場合は除きます。

- ・ 培養工程や集菌過程、濃縮過程が閉鎖系であるなど、意図しないものの混入及び増殖が起こらないよう管理された製造工程で製造している、かつ微生物等関連原材料の摂取量が社会通念上通常形態の食品と同等以下であると、微生物等関連原材料指針の「第 3 対象営業者」に掲げる営業者（以下「製品製造者」という。）が合理的に判断できるもの。
- ・ 最終製品の流通実績が十分にあると製品製造者が合理的に判断できるもの。

流通実績の確認等に当たっては、適宜、販売者と連携して対応することが想定されます。

乳酸菌・ビフィズス菌については、通常の食生活において多くの食品から様々な乳酸菌・ビフィズス菌を摂取していることから、閉鎖系で培養される乳酸菌・ビフィズス菌を食品原材料として製造されたものは、社会通念上通常形態食品と同程度の摂取量であると判断し、適用範囲外とします。

次のページにフローチャートを示していますので、適用範囲となるかどうかの判断の参考としてください。



問１－１ 「微生物等（藻類を含む。）の培養・発酵工程等を経て生産される原材料」とは、具体的にどのようなものか。

（答）

味噌、醤油、ヨーグルト、納豆などの一般的な発酵食品由来の原材料の他、土壌菌など菌を培養したものや藻類が該当します。なお、微生物等関連原材料指針の対象については、問１の（答）も参照してください。

一方、きのこ類については、菌糸体を培養したものが該当しますが、子実体を使用したものについては、栽培によるものと解されるため、対象にはなりません。

問１－２ 「培養工程や集菌過程、濃縮過程が閉鎖系であるなど、意図しないものの混入及び増殖が起こらないよう管理された製造工程」というのは、具体的にどのようなものか。

（答）

例えば、以下の要件を全て満たしていることが考えられます。

① 種菌^{※１}が十分管理^{※２}されており、密閉系の清浄な容器内で培養や集菌・濃縮等が行われていること

※１ 種菌は製造のために用いる細菌や真菌（カビ・酵母・きのこの菌糸体）の株であり、複数株の調

製品、前培養による調製液、原材料中に直接添加するスターター等を含みます。

※2 十分管理されているとは、保存中の種菌に異常な変異が入らないなど安定的に維持されており、かつ他の菌が混入しない等が求められます。また、種菌添加後の培養過程において種菌以外の菌の増殖により腐敗や変質等が起こらないよう十分な管理がなされている必要があります。

② 培養後の中間品がある場合は、培養器と一連となった連結管による送達などにより、管理された環境下のみで集菌・濃縮過程を行う別容器内に送達されていること

③ 原材料（水を含む）の投入、培養に必要なエアの注入など、やむを得ず管理されていない環境に触れる工程がある場合には、意図しないものの混入等が起こらないよう清浄な作業環境での製造を行っているものであること（注入時に雑菌汚染がないように投入する（クリーンブースの設置等）、落下細菌・真菌検査による確認など）

問１－３ 「最終製品の流通実績が十分にある」と合理的に判断できる目安は、具体的にどのようなものか。

（答）

まず、ここでいう「最終製品の流通実績」とは、一般消費者に販売される形態（錠剤、カプセル剤等）の食品としての流通実績を指しています。例えば、納豆菌サプリの場合、納豆としての流通実績が十分にあるからといって、納豆菌サプリという最終製品の流通実績が十分にあるとは見なせません。また、原材料（納豆菌のパウダー）を用いて他社が製造した別の最終製品において使用されている実績が十分ある場合であっても、そのみを根拠に自社の最終製品の流通実績が十分であると見なせません。自社の最終製品の流通実績が十分にあることについて、製品の販売者と連携の上、製品製造者の責任において合理的に説明する必要があります。

そして、以下の全てを満たす場合に「流通実績が十分にある」と見なすことが出来ると考えられます。

① 最終製品に十分な流通実績があること

（製造工程の変更をしている場合は、変更後からの流通実績であるかを確認し、判断しなければなりません。なお、製品品質への影響が軽微であると営業者が合理的に説明できる場合は流通実績と判断することも可能と考えられます^{※1}。）

※1 例えば、製品規格及び賞味期限の変更が不要である場合などは、製品品質への影響が軽微であると判断できる場合があります。ただし、培養期間の延長など重要な製造工程が変更されている場合は、軽微であるとは判断できない場合があるため、当該変更による製品の品質への影響を評価すること。

② 最終製品に起因する健康被害と疑われる情報が得られていないこと

複数の製品製造者が同じ原材料製造者からの原材料で製品を製造している場合もあり、例えば、原材料として広範囲に目安を示している FDA の法律*等も参考に、最終製品の流通実績について、製品の販売者と連携の上、製品製造者の責務として、安全性確保を実行できるようご判断いただければと思います。

(*the Federal Food, Drug, and Cosmetic Act (the FD&C Act), 21 U.S.C. 350b(d))

2. 実施する内容について

問 2 - 1 「適切な製造工程で製造された原材料の規格の設定」として、具体的に何を定めなければならないか。

(答)

設定する規格としては、例えば以下のものが考えられます。

【想定していない成分や微生物等の確認のため必要なもの】

① 味（食感含む）、色（光沢の有無含む）、におい、触感、形状などの官能的な指標

② 微生物等関連原材料の全体プロファイル（パターン）分析

ここでいうプロファイル（パターン）分析とは混合物の特徴分析のことで、クロマトグラフィー等で分離した混合物の組成内容について、様々な検出方法を用いて、パターン化する分析を言います。特に個々の化合物がほぼ完全に分離される分離能が高いクロマトグラフィーの場合には、フィンガープリント分析と呼ぶこともあります。

分離方法としては、HPLC¹、GC²、キャピラリー電気泳動法、TLC³等があり、様々な検出方法と組み合わせてプロファイル（パターン）分析が行われるべきですが、高分解能 NMR⁴や、FT-IR⁵、FT-NIR⁶といった分解能が高いスペクトル分析の場合には、混合物全体のスペクトルを取得して、それを同等性/同質性を確認するためのプロファイル（パターン）分析とすることもできます。ただし、スペクトル分析で同等性/同質性が確認出来なかった場合、どのような化合物の増減で、スペクトルに変化が起きたかわからない場合が多いため、改めてクロマトグラフィーを利用して変化の原因を明確にすることが必要です。

¹ HPLC：高速液体クロマトグラフィー

² GC：ガスクロマトグラフィー

³ TLC：薄層クロマトグラフィー

⁴ NMR：核磁気共鳴法

⁵ FT-IR：フーリエ変換赤外分光法

⁶ FT-NIR：フーリエ変換近赤外分光法

【必要な場合に設定するもの】

③ 特に安全性を考慮すべき成分や微生物等（微生物が生成する物質を含む）が入りうる場合、その許容範囲、代表的名称、試験検査の方法等
例えばきのこ菌糸体中のフェニルヒドラジン類やかび毒であるシトリニン等が考えられます。

④ 微生物等関連原材料の同等性を確保するための指標となる成分¹⁾の含量
微生物等関連原材料の場合、全ての成分の規格化が不可能であるため、一部の成分を定量の指標となる成分に指定し、その含量を規定することが考えられます。なお、定量成分が必ずしも主成分である必要はありません。規格の設定に際しては、下限値を定めるだけでなく同時に上限値も定めることが推奨されます。

¹⁾ 第十八改正日本薬局方 参考情報 生薬等の定量指標成分について〈G5-2-170〉)

⑤ その他の物性的指標（比重、粘度、pH、融点、水分含量（%）など）

ただし、「微生物等関連原材料の全体プロファイル（パターン）分析」については、原材料に存在することを想定していない成分や微生物等の確認のため、食品の安全性確保を目的として、微生物等関連原材料の特性に応じてより適切な規格がある場合には、当該規格に代替することができます。

また、具体的な規格の設定が困難である場合、製品製造者が原料受入の判断のためには、原材料製造者において、GMP に則った製造管理及び品質管理を実施し、その管理内容について、製品の販売者と連携の上、製品製造者として妥当性を確認するとともに、ロットごとの試験成績書において GMP に則った製造が行われたことを確認するなどにより、原材料の同等性/同質性を確認することが必要になります。その場合、あらかじめ特定した想定されるリスク因子だけでなく、想定していない成分や微生物等を確認できることが必要です。例えば、培養又は発酵工程における微生物等の変異、混入、精製工程の変更といった重大な工程の変更、さらに複数の菌が混在する場合は組成の変化等のリスク因子を考慮し、不純物も含めた原材料の同等性/同質性を確認するための具体的な手順を製品標準書等に規定し、逸脱した場合には出荷を見合わせ、リスクを評価することが重要です。

問 2-2 官能試験として、どのようなことを行えばよいか。

（答）

錠剤、カプセル剤等食品については、その食品の形状等から味、色、においなど官能的に異常が感知できない性状であるものも多いため、原材料の段階で味

やにの異常、色の違い、見た目で分かる形状の変化（粘性の程度、触感などの物性的特徴）などがないかの確認が重要です。なお、適切に確認するためには、訓練を受けた人が同じ条件で継続的に実施することが望ましいと考えられます。

微生物等関連原材料が濃縮された状態の場合は、必要に応じて一定の希釈を行い、適切な濃度にし、変化について判断しやすくすることも重要です。

問 2-3 クロマトグラフィー等によるプロファイル（パターン）分析として、どのような方法があるか。

（答）

想定していない成分が入っていないか、あるいは不純物として入りうるものがある場合その許容範囲を超えていないかを、客観的に確認するための試験として以下のような方法が考えられます。

（1）薄層クロマトグラフィー（TLC：Thin Layer Chromatography）

薄層クロマトグラフィー（TLC）はガラスやアルミプレートの支持体に、シリカゲルやポリアミド、アルミナ、化学修飾されたシリカゲル、セルロースなどの担体を薄膜状に固定して作られた薄層プレートを用い、混合物を移動相で展開させてそれぞれの成分に分離するクロマトグラフィーの一種です。吸着クロマトグラフィーである順相系と分配クロマトグラフィーである逆相系の2種に分類されます。検出には、可視光だけでなく、発色試薬、加熱、UV ランプ等を利用します。薄層プレートの他に、溶媒、ガラス製の展開層、毛細管、ろ紙等があれば、特別な機器を使用しないで実施することも可能であり、クロマトグラフィーとしては安価な手法です。有害溶媒や有害試薬を使用する場合にはドラフトが、加熱を行う場合は、恒温のホットプレート等が必要となります¹⁾。

TLC は、HPLC と違い、グラジエント溶出が困難なので、1 条件の実施では、混合物に含まれるすべての成分を適切に分離・確認するのはほぼ不可能です。そのため、同等性/同質性を確認するためのプロファイル分析を行うためには、異なった極性の溶媒系を用いた複数の条件で分析を行うことが必須です。その場合、順相条件に加えて逆相条件で実施すること等も有効な手段となります。また、単色あるいは混合蛍光剤入り薄層プレートを用い、紫外線照射による検出を実施、その後同じプレートについてさらに発色試薬と加熱による発色パターンを確認することで、1 回の移動相展開の実施で、異なったプロファイルを検出することができます。

同等性/同質性を確認するための試験では、薄層プレート上の検出結果は、毎回画像として保存しておく必要があります。特に、同一の薄層プレートで継続して異なった検出方法による確認を実施する時には、それぞれの検出実施毎に写

真撮影等の記録を行なうことも必要となります。なお、検出されるスポットの分離が明瞭でなく、例えば UV 吸収による化合物検出の場合では、原点から展開溶媒の先端までまとまりなく連続的なスポットとして UV 吸収が表れたとしても、毎回、そのパターンが同質な結果として得られれば、同等性/同質性について一定レベルで確認されたとみなせます。

(¹) 第十八改正日本薬局方第二追補)

(2) 高速液体クロマトグラフィー (High Performance Liquid Chromatography)

高速液体クロマトグラフィー (HPLC) は、液体クロマトグラフィーの一種であり、短時間で高性能な分離分析を行うことのできる優れた方法です。液体試料中の種々の成分を分離カラムの固定相と移動相の相互作用により分離した後、それぞれの成分を検出器により検出しクロマトグラム (通例、横軸に保持時間、縦軸に信号強度) として出力します。移動相に用いる溶媒や分離カラムの組み合わせにより、逆相クロマトグラフィー、順相クロマトグラフィーなど種々の分離モードがあり、分析する成分の物性に応じて分離モードを選択します。また、検出器にも紫外・可視検出器 (フォトダイオードアレイ検出器など)、蛍光検出器、示差屈折率検出器、光散乱検出器など複数の種類があり、分析する成分の物性にあわせて適切な検出器を選択する必要があります²⁾。

特に、逆相クロマトグラフィーと紫外・可視検出器の組み合わせは、プロファイル (パターン) 分析に汎用されています。プロファイル (パターン) 分析を実施する際は、単一の波長で測定するのではなく、多数の波長で測定したクロマトグラムを取得することが、種々の成分を網羅的に検出する上で重要となります。フォトダイオードアレイ検出器を用いると、1 回の分析で多波長のクロマトグラムを取得することができますので、プロファイル (パターン) 分析には有用と考えられます。さらに原材料に含まれる成分をできる限り多く効率よく検出するためには、移動相の組成を時間とともに変化させるグラジエント分析が必須となります。

同等性/同質性を確認するための試験では、試料のクロマトグラムと分析条件を毎回、保存しておく必要があります。同様に調製した試料を同一の分析条件で分析することで、クロマトグラム上の各ピークの保持時間や強度 (ピーク高さ又は面積) などを比較してクロマトグラムのパターンを評価します。クロマトグラムのパターンが一致するようであれば、分析した試料の同等性/同質性が一定の基準で確認されたと判断できます。

(²) 衛生試験法注解 (2020))

(3) 赤外吸収スペクトル測定法

赤外吸収スペクトル測定法は、赤外線が試料を通過するときに吸収される度合いを、各波数について測定する方法です。赤外吸収スペクトルは通例、横軸に波数を、縦軸に透過率又は吸光度をとったグラフで示されます。赤外吸収スペクトルの吸収波数とその強度は、分析する成分の化学構造によって定まることから、成分の確認又は定量のために用いることができます³⁾。

赤外吸収スペクトルの測定には、分散型赤外分光光度計とフーリエ変換赤外分光光度計（FT-IR）の二種が用いられますが、現在ではFT-IRが主流となっています。特にFT-IRと全反射（ATR）法を組み合わせた方法は、固体や粉末、液体など多様な形状の試料が分析可能であることから広く使用されています。また、この方法では試料の非破壊分析が可能であることから、試料の調製（抽出など）が不要となります。さらに短時間で測定が終了することから、迅速かつ簡便に分析できる特徴があります。

同等性/同質性を確認するための試験では、試料のスペクトルと分析条件を毎回、保存しておく必要があります。試料を同一の分析条件で分析することで、スペクトル上の各ピークの波数や強度（ピーク高さ又は面積）などを比較してスペクトルのパターンを評価します。スペクトルのパターンが一致するようであれば、分析した試料の同等性/同質性が一定の基準で確認されたと判断できます。

³⁾ 第十八改正日本薬局方第二追補

問 2 - 4 微生物に関する規格の試験検査として、どのような方法があるか。

（答）

原材料の製造の際、不適切な培養工程で製造されたことにより、異常なおい、濁り、変色、粘性等が発生した場合は、官能検査で異常が確認できます。しかし、原材料や微生物によっては、官能検査では、判断が難しい場合もあります。また、混入した微生物が産生する物質が高分子である場合など、クロマトグラフィーでの検出が難しい場合も想定されます。このような場合や、原材料や製造方法に鑑みて、特に安全性を考慮すべき微生物が入りうる場合など、客観的に確認することも有効な方法です。

一般細菌数や大腸菌群等の衛生状態の確認のための試験検査のみならず、原材料中の同等性/同質性を判断するための微生物に関する規格を設定する際の試験検査として、以下のような方法が考えられます。

（１）原材料及びその培養物の顕微鏡観察

原材料から釣菌し直接作製、又は寒天平板培地上に形成したコロニーから釣菌して作製したプレパラートを鏡顕し、原材料として使用する微生物以外の微

生物の混入が無いかを確認します。細菌の観察の際には染色し、光学顕微鏡にて1,000倍前後まで拡大して観察します。真菌では孢子など細胞のサイズが細菌よりも大きいため、観察の際には必ずしも染色は必要なく、100～600倍程度で観察が可能です。その他にも、光源に紫外線を使用し、蛍光色素で染色又は蛍光色素標識抗体を結合させた菌体を観察する蛍光顕微鏡による観察法や、光学顕微鏡よりもさらに微細な構造の観察ができる電子顕微鏡による観察法などがあります。染色法やプレパレート作製法については、微生物種ごとに全く異なるため、参考文献を参照してください。

参考文献：食品衛生検査指針 微生物編 2018 改訂第2版 「第2章 細菌 1 総論 2. 形態観察」、
「第3章 真菌 1 総論 3. 一般試験法 (1) 直接顕微鏡法」

(2) 原材料の培養検査

正常に製造した際の原材料との同等性/同質性を判断するための培養検査については、細菌や真菌の有無を目視で観察して確認する試験、一般細菌数や大腸菌群等の衛生状態を確認する検査等があり、原材料や製造方法に鑑みて選択し、正常の範囲を規格として設定することが重要です。

なお、異常な結果が確認された際、再発防止のための原因究明のために、生化学性状試験や遺伝子検査等も活用し、菌の同定を行うことも重要です。

参考文献：食品衛生検査指針 微生物編 改訂第2版 2018 「Ⅱ. 試験法 第1章 総論 7 微生物試験における基本的事項」、「第2章 細菌」、「第3章 真菌」