

食品添加物規格基準設定等試験検査

食品添加物安全性再評価

ルチン酵素分解物の Wistar ラットにおける 90 日間反復投与毒性試験

【平成 11 年度品目，最終報告書】

[Redacted]

委託者： 厚生省生活衛生局食品化学課

受託者：

[Redacted]

[Redacted]

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 [Redacted]

[Redacted]

はじめに

ルチン酵素分解物は、ルチン（抽出物）を酵素（ナリンジナーゼ、ヘスペリジナーゼ又はラムノシダーゼ）処理した後、精製して得られたものである。主成分はイソクエルシトリンである。酸化防止剤として、あるいは酵素処理イソクエルシトリンの原料として使用される¹⁾。イソクエルシトリンのアグリコンでフラボノールの一種であるクエルセチンは、配糖体として植物に広く存在するが、遺伝毒性を示すことや²⁻⁴⁾雄ラットに腎腫瘍を誘発することが報告されている⁵⁾。しかし、イソクエルシトリンの毒性に関しての報告はみられない。今回、ルチン酵素分解物の安全性評価を目的として、Wistarラットにおける90日間反復投与毒性試験を実施した。

実験材料および方法

1. 被験物質および投与量

本試験では、XXXXXXXXXXより供与されたルチン酵素分解物を使用した。本品は、淡黄色～黄色の粉末で、水に難溶、エタノールおよびアルカリ溶液に可溶、油脂に不溶であり、遮光、室温保存下で安定である。本品を乾燥したものは、イソクエルシトリンを95%以上含む（添付資料1）。

本試験における添加飼料中の被験物質濃度は、本試験に先だって実施した2週間の予備試験の結果を基に決定した。すなわち、動物の混合飼料忌避および予備的毒性を確認する目的で、通常食品添加物の混餌投与試験における最高濃度の上限とされている5%あるいは2%の割合で添加した飼料をWistar系ラットに2週間混餌投与した。その結果、5%投与群において淡黄褐色の着色尿が観察されたが、体重増加抑制ならびにその他、明らかな毒性徴候は認められなかったことから、5.0%を最高投与用量として、以下公比5で減じ1.0および0.2%とした。

各投与群には、基礎飼料(CRF-1, オリエンタル酵母工業株)に各濃度のルチン酵素分解物を混合して調製した固型の添加飼料を自由に摂取させた。なお、本添加飼料は、冷暗所で1ヶ月間密閉保存後、室温ならびに室内散乱光下で2週間開封保存した際の安定性が確認されていることから、使用時まで冷蔵の飼料貯蔵庫で保管し、動物に与えた飼料は、安定性が確保されている期間内に適宜交換した。

2. 動物および方法

日本クレア(株)より供与された5週齢のWistarラット(BrlHan:WIST@Jcl(GALAS)ラット)、雌雄各40匹を搬入後1週間馴化飼育し、6週齢で実験に供した。動物は、投与開始前日の最新体重に基づいて、各群の平均体重が近似するように雌雄それぞれ1群10匹の4群に配した。動物は、温度 $23\pm 2^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $55\pm 5\%$ 、換気回数18回/時(オールフレッシュ)、12時間の明暗サイクル(7~19時点灯)に制御されたバリアーシステムの飼育室で、ソフトチップ(三協ラボサービス)の床敷を敷いたプラスチック

ク製ケージに1ケージあたり3~4匹ずつ収容して飼育した。被験物質投与群の動物には5.0, 1.0 および 0.2%のルチン酵素分解物添加飼料を, 対照群の動物には基礎飼料(CRF-1, オリエンタル酵母工業(株))をそれぞれ実験期間中自由摂取させた。また, 飲料水としては水道水を全群に自由に摂取させた。

3. 観察項目

1) 一般観察

試験期間中, 一般状態の確認を毎日行い, 体重および摂餌量を7日間隔で測定した。

2) 血液学的検査

投与期間終了後, 全生存動物を一晩絶食させた後, エーテル麻酔下で開腹し, 腹部大動脈より採血し, 赤血球数(RBC), ヘモグロビン量(Hb), ヘマトクリット値(Ht), 平均赤血球容積(MCV), 平均赤血球血色素量(MCH), 平均赤血球血色素濃度(MCHC), 白血球数(WBC)および血小板数(Plt)を多項目自動血球計数装置(M-2000型, 東亜医用電子(株))を用いて測定すると共に, Wright染色した塗抹標本を作製し, 桿状核好中球(Band), 分葉核好中球(Seg), 好酸球(Eosino), 好塩基球(Baso), リンパ球(Lympho), 単球(Mono)および有核赤血球(Ebl)について血液細胞自動分析装置(MICROX HEG-120A型, 立石電気(株))を用いて計測した。

3) 血液生化学的検査

採取した血液を遠心分離後血清を分離し, 総蛋白(TP), アルブミン(Alb), アルブミン/グロブリン比(A/G), 総コレステロール(T-Cho), トリグリセライド(TG), 総ビリルビン(T-BIL), γ -グルタミルトランスペプチダーゼ(γ -GTP), アラニントランスアミナーゼ(AIT), アスパラギン酸トランスアミナーゼ(AsT), アルカリホスファターゼ(ALP), 尿素窒素(BUN), クレアチニン(Cre), カルシウム(Ca), 無機リン(IP), ナトリウム(Na), カリウム(K)およびクロール(Cl)の各項目を [REDACTED] で測定した。

4) 病理学的検査

採血終了後, 動物を放血致死させ, 剖検を実施すると共に, 脳, 心臓, 肺, 肝臓, 腎臓, 脾臓, 副腎および精巣を摘出し, 重量を測定した。また, 上記組織に加えリンパ節(頸部・腸間膜), 唾液腺, 骨および骨髓(胸骨, 大腿骨), 胸腺, 気管, 甲状腺および上皮小体, 舌, 食道, 前胃, 腺胃, 十二指腸, 小腸(空腸, 回腸), 大腸(盲腸, 結腸, 直腸), 膵臓, 膀胱, 精囊, 前立腺, 精巣上体, 卵巣, 子宮, 膣, 下垂体, 坐骨神経, 骨格筋, 脊髄, 眼球およびその附属器を摘出し10%中性緩衝ホルマリン液で固定した。なお, 精巣については対照群と最高用量群の各5例をブアン液でそれぞれ固定した。これらの臓器・組織は常法に従いパラフィンに包埋後, 薄切標本を作製し, ヘマトキシリン・エオジン染色を施して, 対照群と最高用量群の

動物について病理組織学に検索した。

3. 統計学的処理

投与期間中の体重，血液学的検査，血清生化学的検査および器官重量の各成績は一元配置分散分析により群間比較を行い，有意水準5%で有意な項目については，さらに対照群との比較を，Dunnettの検定を用いて両側検定にて有意水準5%および1%で実施した。

結 果

1. 一般状態

実験期間中，5.0%投与群の雌雄において淡黄褐色の着色尿が観察された他は明らかな変化は認められなかった。

2. 体重および摂餌量

体重は雌雄とも実験期間を通して対照群と被験物質投与群との間に統計学的に有意な差は認められなかったが，雄では70日以降，僅かに増加抑制が認められた。(Fig 1, Table 1)。また，摂餌量においても対照群と被験物質投与群との間に明らかな差は認められなかった(Table 1)。ラット1匹あたりの被験物質1日平均摂取量および実験期間中のラット1匹あたりの総摂取量はそれぞれ0.2%群の雄で108 mg/kg/日，3,580 mg/ラット，雌で118 mg/kg/日，2,508 mg/ラット，1.0%群の雄で539 mg/kg/日，17,583 mg/ラット，雌で627 mg/kg/日，12,448 mg/ラット，5.0%群の雄で2,694 mg/kg/日，86,847 mg/ラット，雌で3,227 mg/kg/日，64,603 mg/ラットと被験物質投与用量に応じて増加した(Table 1)。

3. 血液学的検査

雄において5.0%群でヘモグロビン量およびヘマトクリット値の有意な減少および赤血球数の減少傾向が見られた他は，対照群と被験物質投与群との間に明らかな差は認められなかった(Table 2)。また，雌においても5.0%群の白血球百分比で単球の有意な減少が認められた他は群間に明らかな差は認められなかった (Table 3)。

4. 血清生化学的検査

雄の5.0%群でトリグリセライド，総ビリルビンおよび無機リンの有意な減少，また，1.0%群で尿素窒素の有意な増加が認められた他は，対照群と被験物質投与群との間に明らかな差は認められなかった(Table 4)。雌では1.0%群でクロールの有意な増加が認められた以外，明らかな変化は被験物質投与群において認められなかった (Table 5)。

5. 器官重量

雄雌とも臓器重量を測定した各臓器とも絶対重量では、対照群と被験物質投与群との間において統計学的に有意な差は認められなかった(Table 6, 7)が、相対重量では雄の5.0%群で肺および精巣において統計学的に有意な増加が認められた(Table 6)。

6. 病理組織学的検索

雄雌とも肉眼的検査で明らかな変化が認められなかったので、対照群と5.0%群について組織学的検査を実施したが、両群ともに明らかな変化は認められなかった。また、ブアン固定した精巣においても対照群と5.0%群ともに形態学的な異常は認められなかった。

考 察

ルチン酵素分解物の安全性を評価する目的で、0, 0.2, 1.0 および 5.0%ルチン酵素分解物を 90 日間混餌投与した結果、雄の5.0%群でルチン酵素分解物によると考えられる体重、血液及び血液生化学値に対する影響が認められた。

体重では、雌雄ともに対照群に比べ被験物質投与群で統計学的に有意な差は認められなかったが、雄の5%群において70日以降僅かに増加抑制が認められた。クエルセチンをラットに混餌投与した発がん性試験が3機関で実施され、2機関では5%添加飼料を混餌投与している。その1機関では雌雄とも⁶⁾、また1機関では雄のみに⁷⁾有意な体重増加抑制が認められたと報告されている。さらに、1機関では4%添加飼料を混餌投与し、雌雄ともに体重増加抑制が認められたとされている⁵⁾。また、酵素処理イソクエルシトリンをラットに13週間混餌投与した反復投与毒性試験において2.5%投与群で体重増加抑制が観察されたと報告されている⁸⁾。本試験において雄で観察された軽度な体重増加抑制は、クエルセチンや酵素処理イソクエルシトリンの混餌投与時と同様に被験物質による影響を示唆する変化と推察された。

血液学的検査では、5%群の雄でヘモグロビン量およびヘマトクリット値が対照群に比べ統計学的に有意に低値を示した。これらの減少は赤血球数の減少傾向を反映したものと考えられた。酵素処理イソクエルシトリンを13週間混餌投与した反復投与毒性試験において雌雄の0.625~2.5%投与群で網赤血球の軽度な高値が観察されたと報告されている⁸⁾。本試験において雄で観察されたヘモグロビン量およびヘマトクリット値の変化は、被験物質投与による赤血球に対する影響を示唆するものと考えられた。雌の5%群で観察された単球の減少については、その他の白血球関連項目に明らかな変化が認められていないことから、偶発的变化と考えられた。

血液生化学的検査では、雄の5%群でトリグリセライドの有意な減少が認められたが、同群でみられた軽度な体重増加抑制と関連する変化である可能性が考えられた。

また、雄の5%群で無機リンの有意な減少が認められたが、カルシウムなど他の指標に明らかな変化は認められず、偶発的変化と考えられた。さらに、同群で総ビリルビンの有意な減少が認められたが、軽微な変化であり、肝臓障害を示す他の変化は観察されていないことから偶発的なものと考えられた。なお、雄の尿素窒素で有意な増加が認められたが、5%群に明らかな変化は認められず、用量相関性が認められないことから、被験物質投与に起因する影響とは考えられなかった。雌でも1%群においてクロールの有意な増加が認められたが、5%群に明らかな変化は認められず、用量相関性もないことから、偶発的なものと考えられた。

臓器重量では、雄の5%群の肺および精巣の相対重量においてのみ対照群に比べ統計学的に有意な増加が認められた。しかし、組織学的検査において肺および精巣ともに形態的に変化は認められておらず、雄の5%群で体重が増加抑制を示したことによる2次的なものと考えられ、被験物質の影響とは判断されなかった。

病理組織学的検査において、対照群および5%群ともに明らかな変化は認められなかった。5%クエルセチンを投与した発がん性試験において雄で慢性腎症が増強したが、6あるいは15ヶ月目に実施した組織学的検査では腎臓を含めて明らかな変化は認められなかったと報告されている⁵⁾。本試験においても被験物質投与による病理組織学的変化は腎臓を含めいずれの臓器にもみられなかった。

以上の結果より、ルチン酵素分解物添加飼料をラットに90日間混餌投与した毒性試験において、雄の5%群で体重の増加抑制、ヘモグロビン量およびヘマトクリット値の低下及びトリグリセライドの増加が認められ、雌においては被験物質投与に起因した明らかな毒性影響が認められなかったことから、無毒性量は雄で1.0%群(539 mg/kg/日)、雌で5.0%群(3,227 mg/kg/日)と推察された。

参考資料

- 1) 既存添加物名簿収載品目リスト厚生省生活衛生局長通知 平成8年5月23日 衛化第56号:「食品衛生法に基づく添加物の表示等について」,別添1,番号475(1996).
- 2) Nagao, M., Morita, N., Yahagi, T., Shimizu, M., Kuroyanagi, M. Fukuoka, M., Yoshihira, K., Natori, S., Fujino, T. and Sugimura, T.: Mutagenicities of 61 flavonoids and 11 related compounds. *Environ. Mutagen.*, 3, 401-419 (1981)
- 3) Meltz, M.A. and MacGregor, J.T.: Activity of the plant flavonol quercetin in the mouse lymphoma L5178Y TK +/- mutation, DNA single-strand break and Balb/c 3T3 chemical transformation assay. *Mutat. Res.*, 88, 317-324 (1981)
- 4) Carver, J.H., Carrano, A.V. and MacGregor, J.T.: Genetic effects of the flavonols galangin, kaempferol and quercetin on chinese hamster ovary cells in vitro. *Mutat. Res.*, 113, 45-60 (1983)
- 5) Dunnick, J.K. and Hailey, J.R.: Toxicity and carcinogenicity studies of

quercetin, a natural component of foods. *Fundam. Appl. Toxicol.*, 19, 423-431 (1992)

- 6) Ito, N., Hagiwara, A., Tamano, S., Kagawa, M., Shibata, M., Kurata, Y. and Fukushima, S.: Lack of carcinogenicity of quercetin in F344/DuCrj rats. *Jpn. J. Cancer Res.*, 80, 317-325 (1989).
- 7) Hirono, I., Ueno, I., Hosaka, S., Takanashi, H., Matsushima, T., Sugimura, T. and Natori, S.: Carcinogenicity examination of quercetin and rutin in ACI rats. *Cancer Letters*, 13, 15-21 (1981)
- 8) Tamano, S., Hatahara, Y., Sano, M., Hagiwara, A., Nakamura, M., Washino, T. and Imaida, K.: 13-week oral toxicity and 4-week recovery study of enzymatically modified isoquercitrin in F344/DuCrj rats. *日本食品化学学会*. 8, 161-167 (2001)

Table 1 Body weights, food consumption and chemical intake in rats fed diet containing enzymatically decomposed rutin for 90 days

Sex	Dose level (%)	No. of animals		Body weights		Food consumption mg/kg/day	Intake of enzymatically decomposed rutin		
		Initial	Terminal	Initial (g)	Terminal (g)		Daily (mg/kg)	Total (mg/animal)	
Male									
	0 (Control)	10	10	161.5 ± 5.3 ^a	459.7 ± 42.5 ^a	19.8 ± 1.5 ^a	—	—	—
	0.2	10	10	161.9 ± 6.1	461.6 ± 37.4	19.7 ± 2.1	108 ± 19 ^a	3,580	3,580
	1.0	10	10	160.0 ± 2.8	456.9 ± 36.2	19.3 ± 2.4	539 ± 113	17,583	17,583
	5.0	10	10	162.0 ± 4.7	441.0 ± 43.6	19.1 ± 2.7	2,694 ± 442	86,847	86,847
Female									
	0 (Control)	10	10	130.4 ± 5.5	255.5 ± 17.7	13.8 ± 0.7	—	—	—
	0.2	10	10	130.8 ± 4.1	270.0 ± 22.4	13.8 ± 1.7	118 ± 13	2,508	2,508
	1.0	10	10	132.6 ± 5.2	256.8 ± 13.1	13.7 ± 0.8	627 ± 98	12,448	12,448
	5.0	10	10	133.5 ± 4.9	260.1 ± 19.5	14.2 ± 1.6	3,227 ± 396	64,603	64,603

^a Each value represents the mean ± S.D.

Table 2 Hematological changes in male rats fed diet containing enzymatically decomposed rutin for 90 days

Dose level (%)		0	0.2	1.0	5.0
No. of animals		10	10	10	10
RBC	10 ¹⁰ /L	897 ± 48	886 ± 32	889 ± 62	857 ± 39
Hb	g/dL	15.5 ± 0.8	15.1 ± 0.4	15.4 ± 0.9	14.6 ± 0.6*
Ht	%	45.0 ± 2.1	43.7 ± 1.3	44.4 ± 2.5	42.5 ± 1.9*
MCV	fL	50.2 ± 1.0	49.3 ± 1.1	50.0 ± 1.0	49.6 ± 1.3
MCH	pg	17.2 ± 0.4	17.1 ± 0.5	17.3 ± 0.3	17.0 ± 0.4
MCHC	g/dL	34.3 ± 0.3	34.7 ± 0.4	34.6 ± 0.6	34.3 ± 0.4
Plt	10 ¹⁰ /L	94.8 ± 11.1	92.1 ± 9.6	98.2 ± 11.4	92.2 ± 7.7
Ebl	count/200 WBC	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.2 ± 0.6	0.2 ± 0.4
WBC	10 ⁸ /L	47.4 ± 9.9	43.1 ± 8.3	46.8 ± 11.7	45.1 ± 8.4
Differential cell count (%)					
	Band	0.1 ± 0.2	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
	Seg	17.7 ± 7.2	18.1 ± 7.0	16.5 ± 5.8	20.6 ± 4.1
	Eosino	1.7 ± 1.3	1.9 ± 0.8	1.7 ± 0.9	1.0 ± 0.7
	Baso	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
	Lympho	79.9 ± 7.3	79.7 ± 7.8	81.7 ± 6.4	78.2 ± 4.6
	Mono	0.7 ± 0.7	0.3 ± 0.4	0.2 ± 0.2	0.3 ± 0.4

Each value represents the mean±S.D..

*: Significantly different from the control at p<0.05.

Table 3 Hematological changes in female rats fed diet containing enzymatically decomposed rutin for 90 days

Dose level (%)		0	0.2	1.0	5.0
No. of animals		10	10	10	10
RBC	10 ¹⁰ /L	804 ± 54	786 ± 42	784 ± 37	781.3 ± 46
Hb	g/dL	14.6 ± 0.7	14.3 ± 0.6	14.4 ± 0.6	14.5 ± 0.6
Ht	%	41.9 ± 2.5	41.2 ± 1.9	41.2 ± 1.6	41.7 ± 2.0
MCV	fL	52.2 ± 0.9	52.4 ± 1.4	52.6 ± 1.5	53.4 ± 1.1
MCH	pg	18.2 ± 0.5	18.3 ± 0.6	18.4 ± 0.6	18.5 ± 0.6
MCHC	g/dL	34.8 ± 0.8	34.8 ± 0.4	35.0 ± 0.4	34.7 ± 0.6
Plt	10 ¹⁰ /L	90.6 ± 6.6	97.2 ± 7.0	97.6 ± 7.6	95.7 ± 9.8
Ebl	count/200 WBC	0.6 ± 0.7	0.6 ± 0.7	0.8 ± 1.1	0.1 ± 0.3
WBC	10 ⁸ /L	26.9 ± 4.6	27 ± 5.9	29.0 ± 7.3	32.5 ± 7.7
Differential cell count (%)					
	Band	0.1 ± 0.2	0.1 ± 0.2	0.0 ± 0.0	0.1 ± 0.2
	Seg	15.4 ± 5.2	15.6 ± 5.1	14.9 ± 3.5	15.5 ± 5.7
	Eosino	2.0 ± 1.2	1.4 ± 0.7	1.4 ± 0.9	1.4 ± 1.2
	Baso	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
	Lympho	81.7 ± 5.3	82.5 ± 5.0	83.0 ± 3.7	82.7 ± 5.6
	Mono	0.9 ± 0.6	0.5 ± 0.2	0.8 ± 0.5	0.4 ± 0.2*

Each value represents the mean±S.D..

*: Significantly different from the control at p<0.05.

Table 4 Serum biochemistry in male rats fed diet containing enzymatically decomposed rutin for 90 days

Dose level (%)		0	0.2	1.0	5.0
No. of animals		10	10	10	10
TP	g/dL	6.4 ± 0.1	6.3 ± 0.2	6.3 ± 0.2	6.3 ± 0.1
Alb	g/dL	4.5 ± 0.2	4.4 ± 0.2	4.5 ± 0.2	4.5 ± 0.2
A/G		2.5 ± 0.4	2.4 ± 0.2	2.5 ± 0.3	2.5 ± 0.3
T-Cho	mg/dL	60.2 ± 14.7	64.4 ± 14.7	69.6 ± 16.1	61.7 ± 8.8
TG	mg/dL	128.2 ± 25.7	102.3 ± 26.0	113.2 ± 36.2	88.4 ± 23.9**
T-BIL	mg/dL	0.15 ± 0.05	0.12 ± 0.04	0.11 ± 0.03	0.10 ± 0.00*
γ-GTP	IU/L	< 2	< 2	< 2	< 2
AIT	IU/L	34.9 ± 7.1	32.1 ± 5.3	34.1 ± 6.9	35.0 ± 5.8
AsT	IU/L	83.5 ± 12.0	80.2 ± 10.6	74.9 ± 10.3	81.7 ± 21.5
ALP	IU/L	185.0 ± 24.2	167.7 ± 21.6	179.1 ± 37.9	202.5 ± 31.7
BUN	mg/dL	17.2 ± 1.2	16.6 ± 1.8	19.7 ± 2.7*	16.6 ± 1.1
Cre	mg/dL	0.28 ± 0.04	0.28 ± 0.04	0.28 ± 0.04	0.28 ± 0.04
Ca	mg/dL	10.2 ± 0.2	10.0 ± 0.3	10.2 ± 0.2	10.2 ± 0.2
IP	mg/dL	5.8 ± 0.6	5.5 ± 0.4	5.5 ± 0.6	5.0 ± 0.4**
Na	mEQ/L	146.7 ± 3.0	145.5 ± 3.5	146.1 ± 2.1	147.7 ± 2.2
K	mEQ/L	4.7 ± 0.3	4.6 ± 0.2	4.5 ± 0.3	4.6 ± 0.4
Cl	mEQ/L	109.2 ± 2.9	108.6 ± 3.2	109.3 ± 1.7	110.1 ± 1.3

Each value represents the mean±S.D.

*, **: Significantly different from the control at p<0.05 and p<0.01, respectively

Table 5 Serum biochemistry in female rats fed diet containing enzymatically decomposed rutin for 90 days

Dose level (%)		0	0.2	1.0	5.0
No. of animals		10	10	10	10
TP	g/dL	7.0 ± 0.3	6.7 ± 0.3	7.0 ± 0.4	6.7 ± 0.4
Alb	g/dL	5.4 ± 0.4	5.2 ± 0.2	5.4 ± 0.3	5.4 ± 0.4
A/G		3.5 ± 0.5	3.5 ± 0.7	3.4 ± 0.6	4.0 ± 0.5
T-Cho	mg/dL	57.0 ± 20.4	60.6 ± 17.6	57.7 ± 12.2	58.5 ± 17.1
TG	mg/dL	31.5 ± 15.2	31.9 ± 21.3	32.3 ± 28.2	28.0 ± 21.2
T-BIL	mg/dL	0.16 ± 0.05	0.11 ± 0.03	0.14 ± 0.05	0.12 ± 0.06
γ-GTP	IU/L	< 2	< 2	< 2	< 2
AIT	IU/L	25.8 ± 3.6	22.6 ± 2.5	25.2 ± 5.0	26.9 ± 7.5
AsT	IU/L	72.4 ± 9.6	73.3 ± 9.8	74.2 ± 15.3	81.3 ± 22.7
ALP	IU/L	74.2 ± 17.5	73.3 ± 19.1	64.5 ± 17.0	69.9 ± 21.3
BUN	mg/dL	16.1 ± 2.1	15.1 ± 1.6	17.1 ± 2.8	15.8 ± 1.7
Cre	mg/dL	0.31 ± 0.03	0.30 ± 0.00	0.31 ± 0.03	0.30 ± 0.00
Ca	mg/dL	10.3 ± 0.4	10.1 ± 0.2	10.1 ± 0.3	10.1 ± 0.3
IP	mg/dL	5.7 ± 0.6	5.3 ± 0.4	5.2 ± 0.6	5.2 ± 0.6
Na	mEQ/L	145.8 ± 1.5	146.0 ± 2.1	148.2 ± 2.3	145.7 ± 3.6
K	mEQ/L	4.2 ± 0.3	4.4 ± 0.2	4.4 ± 0.3	4.2 ± 0.2
Cl	mEQ/L	108.6 ± 1.7	110.2 ± 2.2	111.5 ± 1.8*	108.8 ± 3.1

Each value represents the mean±S.D.

*: Significantly different from the control at p<0.05.

Table 6 Organ weight of male rats fed diet containing enzymatically decomposed rutin for 90 days

Dose level (%)	0	0.2	1.0	5.0
No. of animals	10	10	10	10
Body weight (g)	444.0 ± 40.3	445.9 ± 37.5	438.4 ± 35.6	422.1 ± 43.5
Absolute				
Brain (g)	2.08 ± 0.13	2.05 ± 0.08	2.08 ± 0.08	2.03 ± 0.09
Heart (g)	1.08 ± 0.07	1.09 ± 0.09	1.13 ± 0.11	1.05 ± 0.09
Lungs (g)	1.31 ± 0.15	1.31 ± 0.16	1.34 ± 0.11	1.36 ± 0.16
Liver (g)	10.76 ± 0.91	10.37 ± 1.40	11.10 ± 1.26	10.52 ± 1.22
Kidneys (g)	2.45 ± 0.26	2.44 ± 0.23	2.46 ± 0.28	2.50 ± 0.24
Spleen (g)	0.70 ± 0.10	0.71 ± 0.15	0.73 ± 0.09	0.74 ± 0.13
Adrenals (mg)	58.3 ± 6.5	58.1 ± 10.2	65.1 ± 10.6	59.8 ± 10.0
Testes (g)	3.52 ± 0.22	3.50 ± 0.30	3.65 ± 0.28	3.75 ± 0.24
Relative (/100g B.W.)				
Brain (g%)	0.47 ± 0.02	0.46 ± 0.04	0.48 ± 0.04	0.48 ± 0.05
Heart (g%)	0.24 ± 0.02	0.24 ± 0.01	0.26 ± 0.02	0.25 ± 0.01
Lungs (g%)	0.30 ± 0.03	0.29 ± 0.02	0.31 ± 0.02	0.32 ± 0.02*
Liver (g%)	2.43 ± 0.10	2.32 ± 0.19	2.53 ± 0.23	2.49 ± 0.12
Kidneys (g%)	0.55 ± 0.04	0.55 ± 0.03	0.56 ± 0.05	0.59 ± 0.04
Spleen (g%)	0.16 ± 0.02	0.16 ± 0.03	0.17 ± 0.02	0.17 ± 0.02
Adrenals (mg%)	13.2 ± 1.8	13.1 ± 2.3	14.9 ± 2.2	14.2 ± 2.3
Testes (g%)	0.80 ± 0.08	0.79 ± 0.07	0.83 ± 0.05	0.90 ± 0.09*

Each value represents the mean±S.D.

* : Significantly different from the control group at p<0.05.

Table 7 Organ weight of female rats fed diet containing enzymatically decomposed rutin for 90 days

Dose level (%)	0	0.2	1.0	5.0
No. of animals	10	10	10	10
Body weight (g)	243.5 ± 18.0	257.2 ± 22.9	243.0 ± 12.9	242.8 ± 17.0
Absolute				
Brain (g)	1.94 ± 0.07	1.93 ± 0.05	1.94 ± 0.06	1.91 ± 0.08
Heart (g)	0.73 ± 0.05	0.75 ± 0.04	0.74 ± 0.08	0.77 ± 0.09
Lungs (g)	0.97 ± 0.10	0.98 ± 0.07	0.97 ± 0.07	0.98 ± 0.05
Liver (g)	5.68 ± 0.62	6.02 ± 0.56	5.82 ± 0.54	6.08 ± 0.56
Kidneys (g)	1.52 ± 0.14	1.63 ± 0.12	1.55 ± 0.12	1.58 ± 0.10
Spleen (g)	0.53 ± 0.07	0.51 ± 0.06	0.51 ± 0.05	0.52 ± 0.07
Adrenals (mg)	82.7 ± 10.4	80.5 ± 8.7	81.3 ± 11.8	80.8 ± 9.5
Relative (/100g B.W.)				
Brain (g%)	0.80 ± 0.05	0.75 ± 0.06	0.80 ± 0.05	0.79 ± 0.05
Heart (g%)	0.30 ± 0.03	0.30 ± 0.04	0.30 ± 0.03	0.32 ± 0.04
Lungs (g%)	0.40 ± 0.04	0.38 ± 0.03	0.40 ± 0.03	0.40 ± 0.04
Liver (g%)	2.33 ± 0.17	2.34 ± 0.13	2.40 ± 0.16	2.51 ± 0.18
Kidneys (g%)	0.63 ± 0.04	0.63 ± 0.03	0.64 ± 0.04	0.65 ± 0.02
Spleen (g%)	0.22 ± 0.03	0.20 ± 0.03	0.21 ± 0.02	0.21 ± 0.02
Adrenals (mg%)	34.1 ± 5.0 ^a	31.4 ± 3.7	33.4 ± 4.3	33.4 ± 4.3

Each value represents the mean±S.D. (^a: 9 animals).

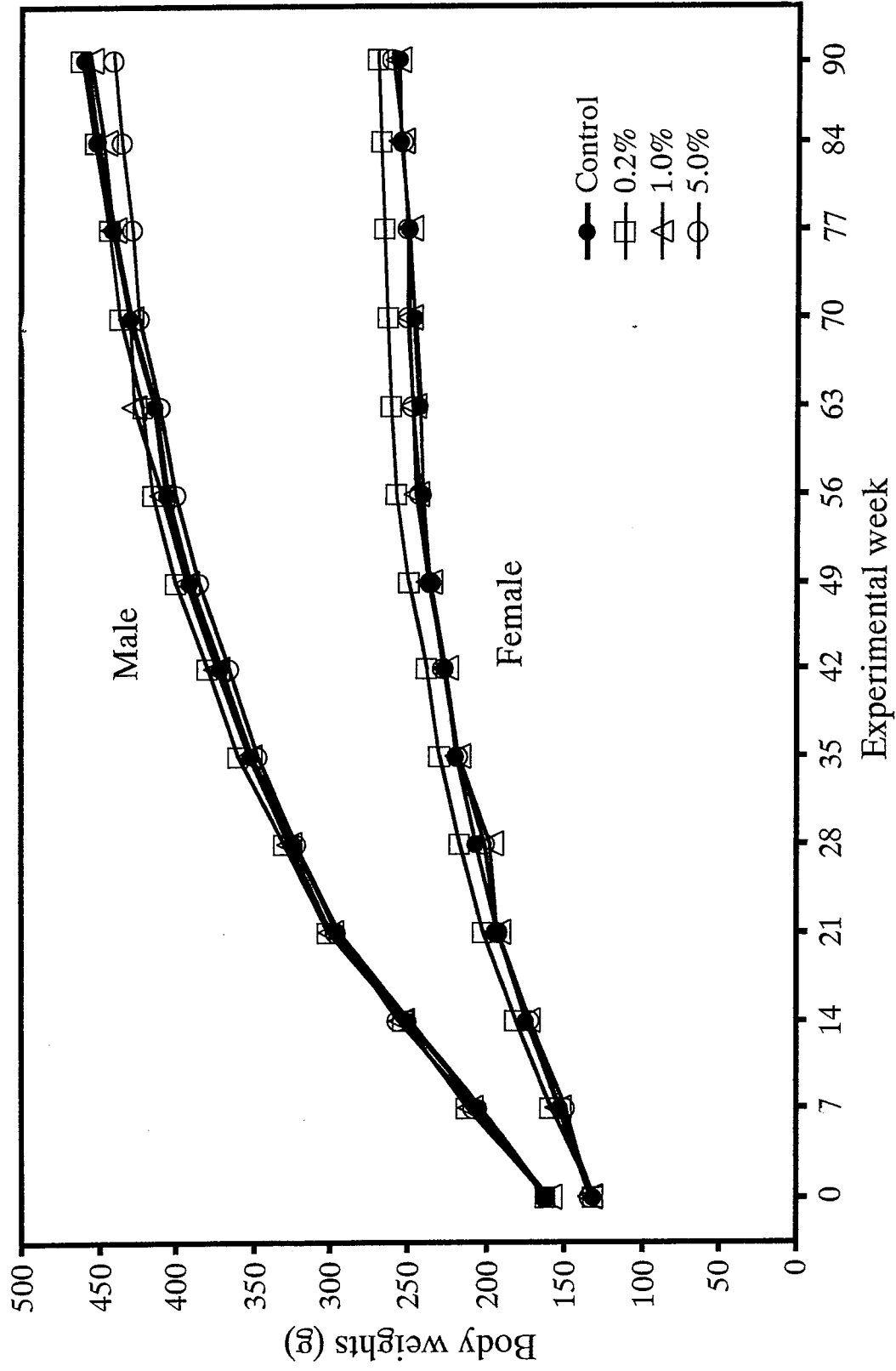


Fig. 1. Body weight curves in rats fed diet containing enzymatically decomposed rutin for 90 days



添付資料 1

検体概要説明書

1. 品名

ルチン酵素分解物

2. 物性と安定性：

本品は淡黄色～黄色の粉末で、本品を乾燥したものはイソクエルシトリンを 95%以上含む。

本品は水に難溶性で、エタノール、アルカリ溶液に可溶。油脂に不溶。

遮光・室温保存下で安定である。アルカリ溶液中では不安定で分解する。pH 3 以下の酸性溶液下で長時間加熱を続けると徐々に加水分解を受け、クエルセチンとブドウ糖に分解する。

3. 製法

ルチン（抽出物）と水の混合物にナリンギナーゼを添加し、部分加水分解反応をさせてラムノースを外す。酵素失活後冷却後し、析出してきたルチン酵素分解物をろ過して集め、水洗後乾燥・粉砕する。

4. 食品への利用状況

酵素処理イソクエルシトリンの原料として使用される。

5. 安全性に関する資料：

自社では行っておりません。