

分科会 報告事項（食品添加物関係）

- ・亜塩素酸ナトリウム（使用基準改正） 1-1 ~ 1-116
- ・アスパラギナーゼ（成分規格改正） 2-1 ~ 2-49
- ・硫酸亜鉛（使用基準改正） 3-1 ~ 3-61

各品目について

- ・ 諮問書（厚生労働大臣から薬事・食品衛生審議会会長へ）
- ・ 評価書（食品安全委員会委員長から厚生労働大臣へ）

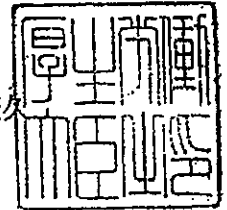
と2文書がございます。

厚生労働省発食安0326第1号

平成25年3月26日

薬事・食品衛生審議会
会長 西島 正弘 殿

厚生労働大臣 田村 憲久



諮 問 書

食品衛生法（昭和22年法律第233号）第11条第1項の規定に基づき、下記の事項について、貴会の意見を求めます。

記

亜塩素酸ナトリウムの添加物としての使用基準の改正について

平成 28 年 2 月 22 日

薬事・食品衛生審議会
食品衛生分科会
会長 岸 玲子 殿

薬事・食品衛生審議会
食品衛生分科会添加物部会
会長 若林 敬二

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 25 年 3 月 26 日付け厚生労働省発食安 0326 第 1 号をもって厚生労働大臣から諮問された、下記の事項について、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。

記

亜塩素酸ナトリウムの添加物としての使用基準の改正について

亜塩素酸ナトリウムの使用基準の改正に関する部会報告書

今般の添加物としての規格基準の改正の検討については、事業者より規格基準の改正にかかる要請がなされたことに伴い、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、添加物部会において審議を行い、以下の報告を取りまとめるものである。

1. 品目名

亜塩素酸ナトリウム

英名 : Sodium Chlorite

CAS 番号 : 7758-19-2

INS 番号 : なし

2. 分子式及び分子量

NaClO₂ 90.44

3. 用途

漂白剤、殺菌料

4. 概要及び諸外国での使用状況

(1) 概要

亜塩素酸ナトリウムは、漂白、殺菌を目的とした添加物で、我が国では、昭和38年に添加物に指定されている。その後、平成7年12月、平成17年9月及び平成22年5月に使用基準が改正され、現在では、かずのこの加工品（干しかずのこ及び冷凍かすのこを除く。）、かんきつ類果皮（菓子製造に用いるものに限る。）、さくらんぼ、生食用野菜類、卵類（卵殻の部分に限る。）、ふき、ぶどう及びももへの使用が認められている。また、漂白又は殺菌力を高める目的で、使用の直前に塩酸又はクエン酸等の酸を混合した酸性化亜塩素酸ナトリウム（Acidified sodium chlorite。以下「ASC」という。）としても使用されている。

(2) 諸外国での使用状況等

コーデックス委員会では、殺菌剤は添加物ではなく加工助剤に分類される¹。このた

¹ コーデックス委員会では、「加工助剤とは、装置若しくは器具類を含まず、それ自体では食品の原材料として消費されることのない物質又は材料であって、処理若しくは加工過程において技術的な目的を達成すべく、原料、食品又はその原材料を加工する際に意図的に使用するものをいう。ただし、「加工助剤」を使用することで、意図的ではないが、その残渣又は派生物が最終製品中に存在することが回避できない場合がある。」と定義されている。

め、コーデックス食品添加物部会 (CCFA) が作成する添加物の使用基準 (食品添加物に関するコーデックス一般規格 (GSFA²)) に規格は設定されていない。

FAO/WHO 合同添加物専門家会議 (JECFA) では、2007 年の第 68 回会合において、ASC の評価が行われており、ASC の一日摂取許容量 (ADI) を亜塩素酸イオンとして 0~0.03 mg/kg 体重/日、塩素酸イオンとして 0~0.01 mg/kg 体重/日に設定している。また、WHO は、2005 年に亜塩素酸を飲料水質ガイドライン対象物の一つとして評価し、耐容一日摂取量 (TDI) を 30 μ g/kg 体重/日に設定している。

米国では、ASC が副次的直接添加物として、牛肉、家禽肉、野菜、果実及び魚介類に対して 500~1200ppm の範囲で使用が認められている。

欧州連合 (EU) では、欧州食品安全機関 (EFSA) で家禽肉への使用に安全性上の問題はないと評価しているが、現時点では、使用は認められていない。

カナダでは、ASC が加工助剤として、牛肉、家きん肉、魚介類に対して 500~1200ppm の範囲で使用が認められている。

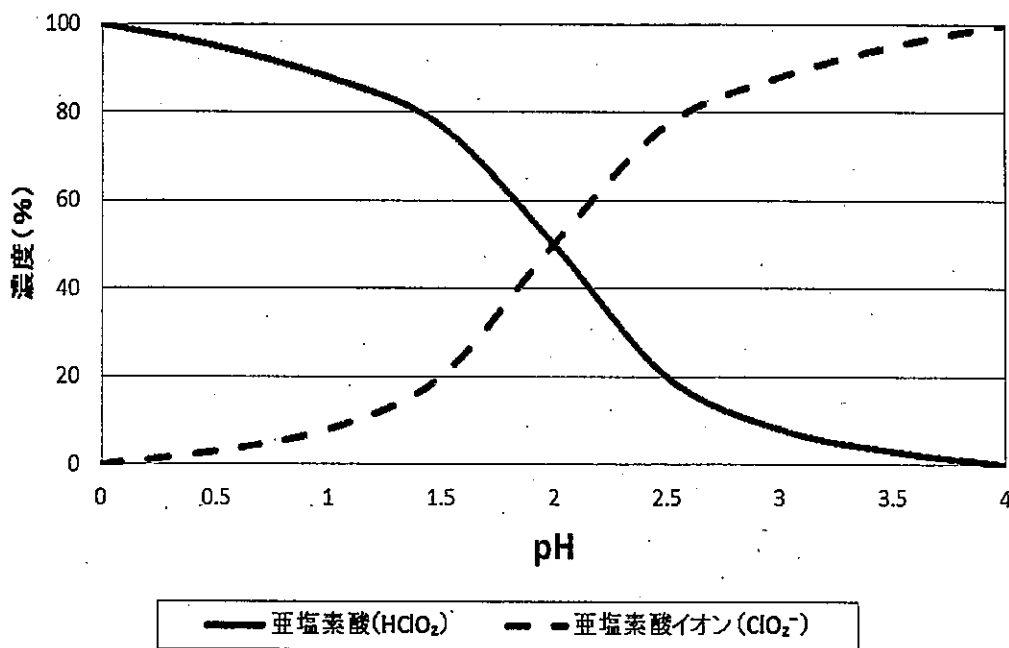
オーストラリア、ニュージーランドでは、ASC が加工助剤として、牛肉、家禽肉、野菜、果実及び魚介類に使用が認められている。

5. 食品添加物としての有効性

亜塩素酸ナトリウムの水溶液に酸を混合すると、平衡反応により亜塩素酸が生じる (図参照)。亜塩素酸は、アミノ酸のスルフィド S-H 基と酵素のジスルフィド S-S 結合を酸化して細胞の機能を破壊するとともに、細胞膜を直接的に破壊して抗菌活性を示すとされ、事業者の提出した資料によれば、一般生菌、大腸菌 (*E. coli*)、サルモネラ属 (*Salmonella* spp.)、カンピロバクター属 (*Campylobacter* spp.) 及びリステリア・モノゲネス菌 (*L. monocytogenes*) 等への効果がある (別紙 1 参照)。

² コーデックスにおける食品添加物の最も基本的な規格。食品添加物の使用に関する一般原則 (食品添加物の安全性、使用の妥当性、適正製造規範 (GMP) の考え方等)、食品へのキャリーオーバー (食品の原材料の製造等に使用された食品添加物が食品中に存在すること) の考え方等の他、生鮮食品及び加工食品を階層的に分類した「食品分類システム」や、個別の食品添加物について、使用が認められている食品分類ごとに食品中の最大濃度を規定した「食品添加物条項」等から構成されている。

図 pH による亜塩素酸と亜塩素酸イオンの存在比の変化 (事業者提供資料より)



※ ASC の pH 範囲は pH2.3~2.9

6. 食品安全委員会における評価結果

食品添加物としての規格基準改正のため、食品安全基本法(平成15年法律第48号)第24条第1項第1号に基づき、平成27年8月11日付け厚生労働省発食安0811第1号により、食品安全委員会に対して意見を求めた亜塩素酸ナトリウムにかかる食品健康影響評価については、添加物専門調査会での審議を踏まえ、以下の結果が平成27年12月22日付け府食第946号により通知された。

【食品健康影響評価(添加物評価書抜粋)】

添加物「亜塩素酸ナトリウム」は、溶液の pH の状態により、塩化物イオン (Cl⁻)、塩素酸イオン (ClO₃⁻)、二酸化塩素 (ClO₂)、亜塩素酸イオン (ClO₂⁻) に解離し、溶液中に存在する可能性があり、ASC においては、亜塩素酸イオン (ClO₂⁻) から亜塩素酸 (HClO₂) が生成され、続いて、亜塩素酸イオン (ClO₂⁻)、塩素酸イオン (ClO₃⁻)、二酸化塩素 (ClO₂)、塩化物イオン (Cl⁻) が生成される。

JECFA (2008) によれば、二酸化塩素は揮発性であり、塩化物イオンは食品に既に存在する量と比較して無視できるとされている。

規格基準改正要請者は、今般の添加物「亜塩素酸ナトリウム」の使用基準改正は、ASC として使用することを要請するものとしている。

本委員会としては、以上を踏まえ、添加物「亜塩素酸ナトリウム」の安全性を評価するにあたっては、亜塩素酸イオン及び塩素酸イオンの安全性を評価することが適当

であると考えた。

さらに、混入の可能性が指摘された臭素酸について、市販の亜塩素酸ナトリウム製剤を用いて調製した水溶液中の実測データを基に評価した限りにおいて、臭素酸が検出されないことを確認した。

1. 亜塩素酸イオン

本委員会としては、亜塩素酸ナトリウムは、生体中で亜塩素酸、塩化物イオン、二酸化塩素及び亜塩素酸イオン等に変換されると考えた。また、亜塩素酸イオンは速やかに生体内に吸収され全身に分布するものの、主に塩化物イオンとして尿中に排泄されると考えた。

そのため、本委員会としては、主に亜塩素酸ナトリウム、亜塩素酸イオン、二酸化塩素に関する種々の動物及びヒトでの試験から得られた知見を基に、次亜塩素酸水及び次亜塩素酸ナトリウムに係る知見も適宜参照しつつ亜塩素酸イオンの毒性を検討することとした。

亜塩素酸ナトリウム等の知見を評価した結果、本物質の摂取による最も一般的で主要な影響は、酸化ストレスによる赤血球の損傷と考えられた。

本委員会としては、亜塩素酸イオンについて、生体にとって特段問題になる遺伝毒性はないと考えた。

本委員会としては、亜塩素酸ナトリウムについて急性毒性、反復投与毒性、生殖発生毒性の試験成績を検討した結果、ラット二世代生殖毒性試験から、2.9 mg/kg 体重/日（亜塩素酸イオンとして）を亜塩素酸イオンの NOAEL と判断した。また、発がん性は認められなかった。

本委員会としては、添加物「亜塩素酸ナトリウム」又は添加物「亜塩素酸水」の使用に係る亜塩素酸イオンの我が国における推定一日摂取量（0.025 mg/kg 体重/日）を勘案すると、亜塩素酸イオンの ADI を特定することが必要と判断した。

本委員会としては、ラット二世代生殖毒性試験から得られた NOAEL 2.9 mg/kg 体重/日（亜塩素酸イオンとして）を根拠とし、安全係数 100 で除した 0.029 mg/kg 体重/日を亜塩素酸イオンの ADI と評価した。

なお、ヒトへの亜塩素酸ナトリウム投与による試験データは、いずれも上記 ADI を支持するものと考えた。

ADI	0.029 mg/kg 体重/日（亜塩素酸イオンとして）
（ADI 設定根拠資料）	二世代生殖毒性試験
（動物種）	ラット
（投与方法）	飲水投与
（NOAEL 設定根拠所見）	F _{2b} ：聴覚驚愕反応の低下
（NOAEL）	2.9 mg/kg 体重/日（亜塩素酸イオンとして）

2. 塩素酸イオン

塩素酸イオンは、速やかに生体内に吸収され全身に分布するものの、主に塩化物イオンとして尿中に排泄されると考えた。

本委員会としては、塩素酸イオンについて、生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないと考えた。

本委員会としては、塩素酸イオンについて急性毒性、亜急性毒性、慢性毒性及び生殖発生毒性の試験成績を検討した結果、ラット2年間慢性毒性/発がん性試験から、4 mg/kg 体重/日 (塩素酸イオンとして) を塩素酸イオンの LOAEL と判断した。

本委員会としては、塩素酸イオンについて発がん性があるとは判断できないと考えた。

また、ヒトにおける知見を検討した結果、介入試験において NOAEL が 36 µg/kg 体重/日 (塩素酸イオンとして) と得られたものの、当該試験における最高用量であることから、上記 LOAEL を支持するものと考えた。

本委員会としては、添加物「亜塩素酸ナトリウム」又は添加物「亜塩素酸水」の使用に係る塩素酸イオンの我が国における推定一日摂取量 (0.0008 mg/kg 体重/日) を勘案すると、LOAEL 4 mg/kg 体重/日 (塩素酸イオンとして) との間に十分なマージンが存在することから、添加物「亜塩素酸ナトリウム」が添加物として適切に使用される場合、塩素酸イオンの安全性に懸念がないと考えた。

7. 一日摂取量の推計等

食品安全委員会の評価結果によると次のとおりである。

【一日摂取量の推計等 (添加物評価書抜粋)】

(1) JECFAにおける摂取量推計

2007年、JECFAは、ASC残留物である亜塩素酸塩及び塩素酸塩の摂取量を推計している。この推計は、使用対象である食肉類、魚介類、果実類及び野菜類の全ての食品が、500~1,200 mg/L、pH2.5~2.9のASCに噴霧又は浸漬、又は50~150 mg/L、pH2.8~3.2のASCに浸漬によって処理されたと仮定して行われている。対象食品の摂取量は、WHO/FAOが提供する13 GEMS/Food Consumption Cluster Dietsデータベース及びEUの食品摂取データベースを基に推計されている。

JECFAは、GEMS/Foodのデータベースを用いた場合、亜塩素酸塩の摂取量は0.2~0.7 µg/kg 体重/日 (亜塩素酸イオンとして)、塩素酸塩の摂取量は0.1~0.6 µg/kg 体重/日 (塩素酸イオンとして) であったとしている。また、EUの食品摂取

データベースを用いた場合、亜塩素酸塩の摂取量の平均値～95パーセンタイル値は0.9～2.8 µg/kg 体重/日（亜塩素酸イオンとして）、塩素酸塩は0.3～0.6 µg/kg 体重/日（塩素酸イオンとして）であったとしている。いずれのデータベースを使った結果も、亜塩素酸イオン、塩素酸イオンの各 ADI の 10%以下であったとしている。（参照 4）

（2）我が国における一日摂取量の推計

規格基準改正要請者は、添加物「亜塩素酸ナトリウム」の一日摂取量を、亜塩素酸イオン及び塩素酸イオンについて、別紙 3 の表 57 及び表 58 のように推計している。

食品の摂取量は平成 24 年の国民健康・栄養調査を用い、日本人の平均体重を 55.1 kg としている。なお、卵殻からの摂取量は無視しうる量と考えられるため、推計には含めていない。（参照 19、79）

上述（p66）の報告のように、牛肉又は鶏肉に残留する亜塩素酸イオン及び塩素酸イオンは ASC 処理の 48 時間後には検出されていないが、摂取量の推計にあたっては、過大な見積りとなる可能性があるが、検出下限値の量が残留すると仮定している。推計に当たっては、既に使用が認められている添加物「亜塩素酸ナトリウム」及び添加物「亜塩素酸水」が使用された場合に残留する亜塩素酸イオン及び塩素酸イオンの摂取量も含めたとしている。

なお、複数の亜塩素酸系の殺菌料の使用が認められている食品群については、亜塩素酸系の殺菌料の性質から、同じ食品が二度以上これら殺菌料で処理されることが考えにくいと、いずれか一つの殺菌料で処理されると仮定している。また、精白米の摂取量については、穀類（米・加工品）の摂取量である 329.1 g に換算係数 0.47（参照 80）を乗じて換算している。

① 亜塩素酸イオンの摂取量推計

規格基準改正要請者は、亜塩素酸イオンの検出下限値について、ASC 処理時の検出下限値と、食品安全委員会による添加物評価書「亜塩素酸ナトリウム」（第 3 版）及び添加物評価書「亜塩素酸水」（第 2 版）において使用された検出下限値を比較し、過大な見積りとなる可能性があるが以下のように、より高い方の検出下限値の値を使用している。（参照 19、22）

添加物「亜塩素酸水」のみが対象である精白米、豆類及び藻類には、亜塩素酸水の分析法の検出下限値 1 mg/kg を、ASC 又は添加物「亜塩素酸水」の対象となる肉類には、ASC の分析法の検出下限値より高い値である亜塩素酸水の分析法の検出下限値 5 mg/kg を、添加物「亜塩素酸ナトリウム」又は添加物「亜塩素酸水」の対象となる魚介類には、亜塩素酸水の分析法の検出下限値より高い値である亜塩素酸ナトリウムの分析法の検出下限値 5 mg/kg を、添加物「亜塩素酸ナトリウム」又は

添加物「亜塩素酸水」の対象となる野菜類及び果実類には、いずれの分析法でも同じ検出下限値 1 mg/kg を用いている。

その結果、別紙3の表 57 のように、添加物「亜塩素酸ナトリウム」又は添加物「亜塩素酸水」の使用に係る亜塩素酸イオンの一日摂取量は 0.0254 mg/kg 体重/日と推定されている。

本委員会としては、添加物「亜塩素酸ナトリウム」又は添加物「亜塩素酸水」の使用に係る亜塩素酸イオンの一日摂取量は 0.025 mg/kg 体重/日と判断した。

② 塩素酸イオンの摂取量推計

規格基準改正要請者は、塩素酸イオンの検出下限値について、ASC の対象である肉類には、上述 (p66) の報告の抽出液の検出下限値である 0.043 µg/mL を牛肉又は鶏肉の重量当りに換算した残留濃度のうち、最も高い値である鶏肉の 0.109 mg/kg を用いている。添加物「亜塩素酸ナトリウム」以外の亜塩素酸系殺菌料の使用を仮定した肉類以外の食品群については、JECFA (2008) で用いられた塩素酸イオンの残留データを使用し、野菜類及び果実類には検出下限値の 0.01 mg/kg、魚介類には検出下限値の 0.1 mg/kg を用いている。残留データがない精白米、豆類及び藻類については、過剰な見積もりとなる可能性があるが、より高い方の検出下限値の魚介類の検出下限値の 0.1 mg/kg を用いている。(参照 4、79)

その結果、別紙3の表 58 のように、添加物「亜塩素酸ナトリウム」又は添加物「亜塩素酸水」の使用に係る塩素酸イオンの一日摂取量は 0.0008 mg/kg 体重/日と推定されている。

本委員会としては、添加物「亜塩素酸ナトリウム」又は添加物「亜塩素酸水」の使用に係る塩素酸イオンの一日摂取量は 0.0008 mg/kg 体重/日と判断した。

8. 規格基準の改正について

食品衛生法 (昭和 22 年法律第 233 号) 法第 11 条第 1 項の規定に基づく規格基準については、次のとおり改正することが適当である。

(1) 使用基準について

食品安全委員会の評価結果、摂取量の推計結果等を踏まえ、以下のとおり規格基準を改めることが適当である。

(現行)

亜塩素酸ナトリウムは、かずのこの加工品 (干しかずのこ及び冷凍かずのこを除く。)、かんきつ類果皮 (菓子製造に用いるものに限る。)、さくらんぼ、生食用野菜類、

卵類（卵殻の部分に限る。以下この目において同じ。）、ふき、ぶどう、もも以外の食品に使用してはならない。

亜塩素酸ナトリウムの使用量は、亜塩素酸ナトリウムとして、かずのこの加工品（干しかずのこ及び冷凍かずのこを除く。）生食用野菜類、卵類にあつては浸漬液 1kg につき 0.50 g 以下でなければならない。また、使用した亜塩素酸ナトリウムは、最終食品の完成前に分解し、又は除去しなければならない。

(改正案)

亜塩素酸ナトリウムは、かずのこの加工品（干しかずのこ及び冷凍かずのこを除く。）、かんきつ類果皮（菓子製造に用いるものに限る。）、さくらんぼ、生食用野菜類、食肉及び食肉製品、卵類（卵殻の部分に限る。以下この目において同じ。）、ふき、ぶどう及びもも以外の食品に使用してはならない。

亜塩素酸ナトリウムの使用量は、亜塩素酸ナトリウムとして、かずのこの加工品（干しかずのこ及び冷凍かずのこを除く。）、生食用野菜類及び卵類にあつては浸漬液 1kg につき 0.50 g 以下、食肉及び食肉製品にあつては浸漬液又は噴霧液 1kg につき 0.50 ~1.20g でなければならない。また、使用した亜塩素酸ナトリウムは、最終食品の完成前に分解し、又は除去しなければならない。

亜塩素酸ナトリウムは、食肉及び食肉製品に使用するとき、pH2.3~2.9の浸漬液又は噴霧液を30秒以内で使用しなければならない。

(2) 成分規格について

成分規格は別紙2のとおり亜塩素酸ナトリウム及び亜塩素酸ナトリウム液が設定されている。本規格基準改正において変更の必要はない。

(参考) 現行の使用基準及び改正後の使用基準(案)の比較

改正部分は下線箇所

		現行			改正後		
	対象食品	使用量の 最大限度等	残存 基準	対象食品	使用量の 最大限度等	残存 基準	
果実類	かんきつ類果皮 ※、さくらんぼ、 ぶどう、もも	なし	し、 最終食品の完成前に分解 し、 又は除去すること	かんきつ類果皮 ※、さくらんぼ、 ぶどう、もも	なし	し、 最終食品の完成前に分解 し、 又は除去すること	
		ふき			なし		
野菜類	生食用野菜類	0.50g/kg		ふき	0.50g/kg 浸漬		
				生食用野菜類			

魚介類	かすのこの加工品（干しかずのこ及び冷凍かすのこを除く）	浸漬液	かすのこの加工品（干しかずのこ及び冷凍かすのこを除く）	液	
卵類	卵殻		卵殻		
食肉類			<u>食肉、食肉製品</u> (保存品を含む)	<u>0.50~1.2 g/kg</u> <u>浸漬又は噴霧液</u> (pH 2.3~2.9)	最終食品の完成前に分解し、又は除去すること 浸漬又は噴霧は30秒以内

※ 菓子製造に用いるものに限る。

亜塩素酸ナトリウムの殺菌効果

1. 家きん肉に対する有効性

(1) 一般生菌に対する有効性

①水洗浄した場合（対照）と、②クエン酸で酸性化した1200 ppm (pH 2.3又は2.5)のASCで処理した(ASCに5秒間浸漬後に30秒間液切り、又は噴霧後に30秒間液切り)場合に、鶏枝肉に残る一般生菌数を比較した(表1-1)。その結果、ASC処理した場合はいずれも一般生菌数の減少効果がみられた。

表1-1 鶏枝肉の一般生菌に対するASCの殺菌効果

処理条件	温度 (°C)	水洗浄(対照) (Log ₁₀ CFU/g)	1200 ppm ASC pH2.5 (Log ₁₀ CFU/g)	1200 ppm ASC pH2.3 (Log ₁₀ CFU/g)
浸漬5秒間後、 液切り30秒間	21.1	2.79	2.03	未実施
	17.3	2.95	未実施	2.13
	26.9	3.51	2.75	未実施
150 ml 噴霧後、 液切り30秒間	18.6	2.83	2.30	未実施
	15.0	3.20	未実施	2.67
	25.4	3.57	3.35	未実施

(2) 大腸菌、大腸菌群、サルモネラ、カンピロバクター、リステリアに対する有効性

①内部/外部鶏洗浄(IOBW)を25 ppmの塩素水で行った後、40 ppmの塩素冷却水に浸漬した場合と、②IOBWを25 ppmの塩素水で行った後、リン酸で酸性化した500 ppm又は850 ppm (pH 2.3~2.9)のASCに5秒間浸漬、30秒間の液切りを経て、塩素を含まない冷却水に浸漬した場合とで、鶏枝肉に残る大腸菌(*Escherichia coli*)及び大腸菌群(Total coliform count)の数を測定した(表1-2)。

また、サルモネラ属(*Salmonella* spp.)、カンピロバクター属(*Campylobacter* spp.)及びリステリア属(*Listeria* spp.)についても定性的分析を行った(表1-3)。その結果、IOBWを塩素水のみでの処理よりも、ASCを加えた処理の方が菌数の減少や検出率が低くなった。

表 1-2 鶏肉の大腸菌群等に対する ASC の殺菌効果

処理	検査対象菌種	IOBW 後の 菌数	冷却水 浸漬処理後の 菌数	対数 減少数
塩素水 (25 ppm、IOBW) →塩素冷却水 (40 ppm) に浸漬	大腸菌群 (total coliform count)	3.91	2.82	1.09
	大腸菌 (<i>E. coli</i>)	3.72	2.44	1.28
塩素水 (25 ppm、IOBW) →ASC (500 ppm、pH2.3~2.9) 5 秒間浸漬後、液切り 30 秒 →塩素を含まない冷却水に浸漬	大腸菌群 (total coliform count)	5.55	2.58	2.97
	大腸菌 (<i>E. coli</i>)	5.42	2.24	3.18
塩素水 (25 ppm、IOBW) →ASC (850 ppm、pH2.3~2.9) 5 秒間浸漬後、液切り 30 秒 →塩素を含まない冷却水に浸漬	大腸菌群 (total coliform count)	4.20	1.00	3.20
	大腸菌 (<i>E. coli</i>)	4.06	0.78	3.28

IOBW=内部-外部鶏洗浄 (Log₁₀ CFU/mL)

表 1-3 鶏肉のサルモネラ属等に対する ASC の殺菌効果

処理	検査対象菌種	冷却水 浸漬処理後の 検出率
塩素水 (25 ppm、IOBW) →塩素冷却水 (40 ppm) に浸漬	<i>Salmonella</i> spp.	10%
	<i>Campylobacter</i> spp.	70%
	<i>Listeria</i> spp.	30%
塩素水 (25 ppm、IOBW) →ASC (500 ppm、pH2.3~2.9) 5 秒間浸漬後、液切り 30 秒 →塩素を含まない冷却水に浸漬	<i>Salmonella</i> spp.	0%
	<i>Campylobacter</i> spp.	15%
	<i>Listeria</i> spp.	10%
塩素水 (25 ppm、IOBW) →ASC (850 ppm、pH2.3~2.9) 5 秒間浸漬後、液切り 30 秒 →塩素を含まない冷却水に浸漬	<i>Salmonella</i> spp.	0%
	<i>Campylobacter</i> spp.	20%
	<i>Listeria</i> spp.	0%

2. 食肉（赤身肉）に対する有効性

(1) 一般生菌に対する有効性

①無処理の場合と、②クエン酸で酸性化した 1000 ppm (pH 2.3~2.9) の ASC を噴霧した場合に、牛枝肉に残る一般生菌数を比較した。その結果、ASC 処理した場合には、一般生菌数に減少効果がみとめられた。また、2 ガロン (7.6 L) で処理したほうが 1 ガロン (3.8 L) で処理より有効であった (表 1-4)。

表 1-4 赤身肉の一般生菌に対する ASC の殺菌効果

処理条件	対照 (無処理)	ASC (1000 ppm)
10 秒間噴霧：1 ガロン/片側面	2.31	1.49
10 秒間噴霧：2 ガロン/片側面	2.37	1.21
15 秒間噴霧：1 ガロン/片側面	2.23	1.59
15 秒間噴霧：2 ガロン/片側面	2.43	1.33

菌数 (Log_{10} CFU/cm²)、1 ガロン=3.8 L

2. 食肉（赤身肉）に対する有効性

(1) リステリアに対する有効性 (ソーセージ)

5 種のリステリア・モノサイトゲネス (*L. monocytogenes* ATCC 13932、49594、43256、51414、7647) を接種したフランクフルトソーセージについて、①無処理 (対照群)、②水洗浄、③クエン酸で酸性化した 1100 ppm (pH 2.5) の ASC に浸漬又は噴霧 (流量：約 1.33 L/min) 処理、それぞれの場合に残る菌数を比較した。その結果、ASC に 15 又は 30 秒間浸漬させるか、30 秒間噴霧することにより、水洗浄に比べて効果的な殺菌効果がみとめられた (表 1-5)。

表 1-5 食肉製品 (ソーセージ) のリステリア・モノサイトゲネスに対する ASC の殺菌効果

処理	処理後の菌数	対数減少数
無処理 (対照群)	6.08	—
水洗浄	4.75	1.33
ASC 10 秒浸漬	4.62	1.46
ASC 15 秒浸漬	3.94	2.15
ASC 30 秒浸漬	3.33	2.76
無処理 (対照群)	6.09	—
水洗浄	5.08	1.01

ASC 10 秒噴霧	4.65	1.43
ASC 15 秒噴霧	4.20	1.88
ASC 30 秒噴霧	3.84	2.24

菌数 Log_{10} CFU/ソーゼツ

亜塩素酸ナトリウム

Sodium Chlorite

NaClO₂

分子量 90.44

Sodium chlorite [7758-19-2]

含 量 本品は、亜塩素酸ナトリウム(NaClO₂) 70.0%以上を含む。

性 状 本品は、白色の粉末で、においがなく又はわずかににおいがある。

確認試験 (1) 本品は、ナトリウム塩の反応及び亜塩素酸塩の反応を呈する。

(2) 本品の水溶液(1→100) 2ml にリン酸緩衝液(pH8) 100ml を加えた液は、波長 258~262nm に極大吸収部がある。

純度試験 (1) 重金属 Pbとして 10μg/g 以下

本品 4.0g を量り、水 20ml を加えて溶かし、硝酸 1ml 及び塩酸 20ml を加え、水浴上で蒸発乾固した後、残留物に水を加えて 50ml とし、試料液とする。試料液 25ml を量り、アンモニア水(1→6)を加えて中和した後、酢酸(1→20) 2ml 及び水を加えて 50ml とし、検液とする。比較液は、鉛標準液 2.0ml を量り、酢酸(1→20) 2ml 及び水を加えて 50ml とする。

(2) ヒ素 As₂O₃として 1.0μg/g 以下

(1)と同様に調製した試料液 25ml を量り、検液とする。装置 B を用いる。

定 量 法 本品約 1g を精密に量り、水を加えて溶かし、正確に 250ml とする。この液 20ml を正確に量り、ヨウ素ビンに入れ、硫酸(3→100) 12ml、水 20ml 及びヨウ化カリウム 4g を加え、直ちに密栓をして暗所に 15 分間放置し、遊離したヨウ素を 0.1mol/L チオ硫酸ナトリウム溶液で滴定する(指示薬 デンプン試液)。別に空試験を行い補正する。

0.1mol/L チオ硫酸ナトリウム溶液 1ml = 2.261mg NaClO₂

亜塩素酸ナトリウム液
Sodium Chlorite Solution

含 量 本品は、亜塩素酸ナトリウム($\text{NaClO}_2=90.44$) 4.0~25.0%で、その表示量の95~100%を含む。

性 状 本品は、無~淡黄色の澄明な液体で、においがいいか又はわずかににおいがある。

確認試験 (1) 本品は、ナトリウム塩の反応及び亜塩素酸塩の反応を呈する。

(2) 本品は、アルカリ性である。

(3) 測定する吸光度が0.2~0.7の範囲になるように、本品の水溶液(1→100)の一定量を量り、リン酸緩衝液(pH8)を加えて一定量とした液は、波長258~262nmに極大吸収部がある。

純度試験 (1) 重金属 Pbとして $10\mu\text{g/g}\cdot\text{NaClO}_2$ 以下

NaClO_2 として4.0gに対応する量の本品を量り、硝酸2ml及び塩酸20mlを加え、水浴上で蒸発濃縮した後、残留物に水を加えて溶かし、50mlとし、試料液とする。試料液25mlを量り、アンモニア水(1→6)を加えて中和し、酢酸(1→20)2ml及び水を加えて50mlとし、検液とする。比較液は、鉛標準液2.0mlを量り、酢酸(1→20)2ml及び水を加えて50mlとする。

(2) ヒ素 As_2O_3 として $1.0\mu\text{g/g}\cdot\text{NaClO}_2$ 以下

(1)と同様に調製した試料液25mlを量り、検液とする。装置Bを用いる。

定 量 法 本品約10gを精密に量り、水を加えて正確に100mlとし、試料液とする。 NaClO_2 として約0.06gに対応する量の試料液を正確に量り、ヨウ素ビンに入れ、硫酸(3→100)12mlを加え液量が約55mlとなるように水を加えた後、ヨウ化カリウム4gを加え、直ちに密栓をして暗所に15分間放置し、0.1mol/Lチオ硫酸ナトリウム溶液で滴定する(指示薬 デンプン試液)。別に空試験を行い補正する。

0.1mol/Lチオ硫酸ナトリウム溶液1ml=2.261mg NaClO_2

これまでの経緯

当初、事業者より、対象食品を食肉、野菜、果実、魚介類全般に拡大するとともに、使用量の最大限度値を0.50 g/kgから1.20 g/kgに変更する旨の改正要望が提出されたが、添加物部会の報告書案で記載された亜塩素酸水の有効性データの引用が適切でないことが判明したため、事業者において対象食品及び使用条件の検討が行われ、再度提出された。

平成25年	3月 8日	厚生労働大臣から食品安全委員会委員長宛てに 使用基準の改正に係る食品健康影響評価について要請
平成25年	3月18日	第467回食品安全委員会(要請事項説明)
平成25年	3月18日	食品安全委員会より食品健康影響評価の結果の通知
平成25年	3月26日	薬事・食品衛生審議会へ諮問
平成25年	4月 3日	薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会添加物部会
平成25年	6月12日	厚生労働省における国民からの意見募集 (~平成25年 7月11日)
平成25年	11月27日	薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会添加物部会
平成26年	4月23日	薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会添加物部会
平成27年	6月19日	薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会添加物部会
平成27年	8月11日	厚生労働大臣から食品安全委員会委員長宛てに 使用基準の改正に係る食品健康影響評価について要請
平成27年	8月18日	第573回食品安全委員会(要請事項説明)
平成27年	9月 9日	第147回添加物専門調査会
平成27年	9月30日	第148回添加物専門調査会
平成27年	11月10日	第583回食品安全委員会(報告)
平成27年	11月11日	食品安全委員会における国民からの意見募集 (~平成27年12月10日)
平成27年	12月22日	第589回食品安全委員会(報告)
平成27年	12月22日	食品安全委員会より食品健康影響評価の結果の通知
平成28年	1月29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

[委員]

氏名	所属
穠山 浩	国立医薬品食品衛生研究所食品部長
石見 佳子	国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所国立健康・栄養研究所食品保健機能研究部長
井手 速雄	東邦大学薬学部名誉教授
井部 明広	実践女子大学生活科学部食生活科学科教授
小川 久美子	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病理部長
鎌田 洋一	岩手大学農学部共同獣医学科教授
杉本 直樹	国立医薬品食品衛生研究所食品添加物部第二室長
戸塚 ゆ加里	国立研究開発法人国立がん研究センター研究所発がん・予防研究分野ユニット長
中島 春紫	明治大学農学部農芸化学科教授
二村 睦子	日本生活協同組合連合会組織推進本部組合員活動部長
由田 克士	大阪市立大学大学院生活科学研究科教授
吉成 浩一	静岡県立大学薬学部衛生分子毒性学分野教授
若林 敬二※	静岡県立大学特任教授

※部会長



府食第946号

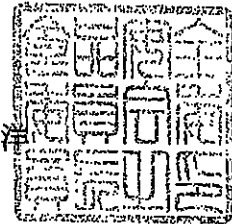
平成27年12月22日

厚生労働大臣

塩崎 恭久 殿

食品安全委員会

委員長 佐藤 洋



食品健康影響評価の結果の通知について

平成27年8月11日付け厚生労働省発食安0811第1号をもって貴省から当委員会に意見を求められた亜塩素酸ナトリウム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

亜塩素酸イオン：一日摂取許容量を0.029 mg/kg 体重/日と設定する

塩素酸イオン：添加物「亜塩素酸ナトリウム」が添加物として適切に使用される場合、安全性に懸念がない

添加物評価書
亜塩素酸ナトリウム
(第4版)

2015年12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.....	5
○食品安全委員会添加物専門調査会専門委員名簿.....	6
○要 約.....	9
I. 評価対象品目の概要.....	11
1. 用途.....	11
2. 化学名.....	11
3. 分子式.....	11
4. 分子量.....	11
5. 性状.....	11
6. 安定性.....	11
7. 関連物質等.....	11
8. 我が国及び諸外国における使用状況.....	13
9. 国際機関等における評価.....	14
10. 評価要請の経緯.....	18
11. 使用基準の改正の概要.....	18
II. 安全性に係る知見の概要.....	19
1. 体内動態（吸収、分布、代謝及び排泄）.....	20
(1) 亜塩素酸イオン及び二酸化塩素.....	20
(2) 塩素酸イオン.....	21
(3) 体内動態のまとめ.....	25
2. 毒性.....	25
(1) 亜塩素酸イオン、次亜塩素酸水、二酸化塩素.....	25
① 遺伝毒性.....	25
② 急性毒性.....	27
③ 反復投与毒性.....	27
④ 発がん性.....	33
⑤ 生殖発生毒性.....	35
⑥ その他（細胞毒性）.....	42
⑦ アレルゲン性.....	42
⑧ ヒトにおける知見.....	43
(2) 塩素酸イオン.....	45
① 遺伝毒性.....	45

② 急性毒性	47
③ 反復投与毒性	47
④ 発がん性	58
⑤ 生殖発生毒性	59
⑥ ヒトにおける知見	64
(3) その他	65
① 次亜塩素酸水に係る知見（添加物評価書「次亜塩素酸水」（2007）より引用）	65
III. 一日摂取量の推計等	65
1. 最終食品への残留	65
(1) 牛肉及び鶏肉における亜塩素酸イオン及び塩素酸イオンの残留性試験	66
2. 一日摂取量の推計	67
(1) JECFA における摂取量推計	67
(2) 我が国における一日摂取量の推計	67
IV. 食品健康影響評価	69
<別紙1：略称>	72
<別紙2：塩素系化合物の関係図>	73
<別紙3：一日摂取量の推計>	74
<別紙4：各種毒性試験成績>	75
<参照>	89

＜審議の経緯＞

第1版関係（使用基準の改正に係る食品健康影響評価）

- 2003年10月20日 厚生労働大臣から添加物の使用基準の改正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1020004号）、関係書類の接受
- 2003年10月23日 第16回食品安全委員会（要請事項説明）
- 2003年11月18日 第2回添加物専門調査会
- 2004年9月8日 第12回添加物専門調査会
- 2004年9月30日 第63回食品安全委員会（報告）
- 2004年9月30日より2004年10月27日 国民からの御意見・情報の募集
- 2004年11月16日 添加物専門調査会座長より食品安全委員会委員長へ報告
- 2004年11月18日 第70回食品安全委員会（報告）
（同日付け厚生労働大臣に通知）
- 2005年9月16日 食品、添加物等の規格基準の一部を改正する件（平成17年厚生労働省告示第245号）公布

第2版関係（亜塩素酸水の食品健康影響評価に伴う改訂）

- 2008年4月15日 第57回添加物専門調査会（NOAEL設定根拠所見の変更を確認）
- 2008年6月17日 添加物専門調査会座長より食品安全委員会委員長へ報告
- 2008年6月19日 第243回食品安全委員会（報告）
（同日付け厚生労働大臣に通知）

第3版関係（使用基準の改正に係る食品健康影響評価に伴う改訂）

- 2009年4月16日 厚生労働大臣から使用基準の改正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0413001号）、関係書類の接受
- 2009年4月23日 第283回食品安全委員会（要請事項説明）
- 2009年5月18日 第71回添加物専門調査会
- 2009年6月11日 第289回食品安全委員会（報告）
- 2009年6月11日より2009年7月10日 国民からの御意見・情報の募集
- 2009年7月17日 添加物専門調査会座長より食品安全委員会委員長へ報告
- 2009年7月23日 第295回食品安全委員会（報告）
（同日付け厚生労働大臣に通知）
- 2010年5月28日 食品、添加物等の規格基準の一部を改正する件（平成22年厚生労働省告示第222号）公布

第4版関係（使用基準の改正に係る食品健康影響評価に伴う改訂）

2015年8月12日 厚生労働大臣から使用基準の改正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0811第1号）、関係書類
の接受

2015年8月18日 第573回食品安全委員会（要請事項説明）

2015年9月9日 第147回添加物専門調査会

2015年9月30日 第148回添加物専門調査会

2015年11月10日 第583回食品安全委員会（報告）

2015年11月11日から12月10日まで 国民からの意見・情報の募集

2015年12月16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

2015年12月22日 第589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名簿>

(2006年6月30日まで)

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

(2006年12月20日まで)

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

(2009年6月30日まで)

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

* 2007年2月1日から

** 2007年4月1日から

(2011年1月6日まで)

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

* 2009年7月9日から

(2012年6月30日まで)

小泉 直子 (委員長)
熊谷 進 (委員長代理)
長尾 拓
野村 一正
畑江 敬子
廣瀬 雅雄
村田 容常

(2015年6月30日まで)

熊谷 進 (委員長)
佐藤 洋 (委員長代理)
山添 康 (委員長代理)
三森 国敏 (委員長代理)
石井 克枝
上安平 冽子
村田 容常

(2015年7月1日から)

佐藤 洋 (委員長)
山添 康 (委員長代理)
熊谷 進
吉田 緑
石井 克枝
堀口 逸子
村田 容常

<食品安全委員会添加物専門調査会専門委員名簿>

(2005年9月30日まで)

福島 昭治 (座長)
山添 康 (座長代理)
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

(2007年9月30日まで)

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
江馬 眞
大野 泰雄
久保田 紀久枝
中島 恵美
西川 秋佳
林 眞
三森 国敏
吉池 信男

<参考人>

梅村 隆志

(2009年9月30日まで)

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

(2010年12月20日まで)

今井田 克己 (座長)
山添 康 (座長代理)
石塚 真由美
伊藤 清美
井上 和秀
梅村 隆志
江馬 眞
久保田 紀久枝
塚本 徹哉
頭金 正博
中江 大
林 眞
三森 国敏
森田 明美
山田 雅巳

<参考人>

久保田 浩樹
森田 明美

(2011年9月30日まで)

今井田 克己 (座長)
梅村 隆志 (座長代理)
石塚 真由美
伊藤 清美
井上 和秀
江馬 眞
久保田 紀久枝
塚本 徹哉
頭金 正博
中江 大
林 眞
三森 国敏
森田 明美
山添 康
山田 雅巳

(2012年6月30日まで)

今井田 克己 (座長)
梅村 隆志 (座長代理)
石塚 真由美
伊藤 清美
江馬 眞
久保田 紀久枝
塚本 徹哉
頭金 正博
中江 大
三森 国敏
森田 明美
山添 康
山田 雅巳

(2012年9月30日まで)

今井田 克己 (座長)
梅村 隆志 (座長代理)
石塚 真由美
伊藤 清美
江馬 眞
久保田 紀久枝
塚本 徹哉
頭金 正博
中江 大
森田 明美
山田 雅巳

(2013年9月30日まで)

今井田 克己 (座長)
梅村 隆志 (座長代理)
石井 邦雄
石塚 真由美
伊藤 清美
江馬 眞
久保田 紀久枝
高橋 智
塚本 徹哉
頭金 正博
中江 大
森田 明美
山田 雅巳

(2015年9月30日まで)

梅村 隆志 (座長)
頭金 正博 (座長代理)
穉山 浩
石井 邦雄
石塚 真由美
伊藤 清美
今井田 克己
宇佐見 誠
久保田 紀久枝
祖父江 友孝
高橋 智
塚本 徹哉
戸塚 ゆ加里
中江 大
北條 仁
森田 明美
山田 雅巳

<参考人>

佐藤 恭子
高須 伸二

要 約

漂白剤及び殺菌料として使用される添加物「亜塩素酸ナトリウム」(NaClO_2) (CAS No.7758-19-2) 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。

評価に用いた試験成績は、亜塩素酸ナトリウム及び塩素酸ナトリウム等を被験物質とした遺伝毒性、反復投与毒性、発がん性、生殖発生毒性、ヒトにおける知見等に関するものである。

添加物「亜塩素酸ナトリウム」は、溶液の pH の状態により、塩化物イオン (Cl^-)、塩素酸イオン (ClO_3^-)、二酸化塩素 (ClO_2)、亜塩素酸イオン (ClO_2^-) に解離し、溶液中に存在する可能性があり、クエン酸、リン酸等により酸性化した亜塩素酸ナトリウム (Acidified Sodium Chlorite ; ASC) においては、亜塩素酸イオン (ClO_2^-) から亜塩素酸 (HClO_2) が生成され、続いて、亜塩素酸イオン (ClO_2^-)、塩素酸イオン (ClO_3^-)、二酸化塩素 (ClO_2)、塩化物イオン (Cl^-) が生成される。

JECFA (2008) によれば、二酸化塩素は揮発性であり、塩化物イオンは食品に既に存在する量と比較して無視できるとされている。

規格基準改正要請者は、今般の添加物「亜塩素酸ナトリウム」の使用基準改正は、ASC として使用することを要請するものとしている。

本委員会としては、以上を踏まえ、添加物「亜塩素酸ナトリウム」の安全性を評価するにあたっては、亜塩素酸イオン及び塩素酸イオンの安全性を評価することが適当であると考えた。

さらに、混入の可能性が指摘された臭素酸について、市販の亜塩素酸ナトリウム製剤を用いて調製した水溶液中の実測データを基に評価した限りにおいて、臭素酸が検出されないことを確認した。

1. 亜塩素酸イオン

本委員会としては、亜塩素酸ナトリウムは、生体中で亜塩素酸、塩化物イオン、二酸化塩素及び亜塩素酸イオン等に変換されると考えた。また、亜塩素酸イオンは速やかに生体内に吸収され全身に分布するものの、主に塩化物イオンとして尿中に排泄されると考えた。

そのため、本委員会としては、主に亜塩素酸ナトリウム、亜塩素酸イオン、二酸化塩素に関する種々の動物及びヒトでの試験から得られた知見を基に、次亜塩素酸水及び次亜塩素酸ナトリウムに係る知見も適宜参照しつつ亜塩素酸イオンの毒性を検討することとした。

亜塩素酸ナトリウム等の知見を評価した結果、本物質の摂取による最も一般的で主要な影響は、酸化ストレスによる赤血球の損傷と考えられた。

本委員会としては、亜塩素酸イオンについて、生体にとって特段問題になる遺伝毒性はないと考えた。

本委員会としては、亜塩素酸ナトリウムについて急性毒性、反復投与毒性、生殖発生毒性の試験成績を検討した結果、ラット二世代生殖毒性試験から、2.9 mg/kg 体重/日（亜塩素酸イオンとして）を亜塩素酸イオンの NOAEL と判断した。また、発がん性は認められなかった。

本委員会としては、添加物「亜塩素酸ナトリウム」又は添加物「亜塩素酸水」の使用に係る亜塩素酸イオンの我が国における推定一日摂取量（0.025 mg/kg 体重/日）を勘案すると、亜塩素酸イオンの ADI を特定することが必要と判断した。

本委員会としては、ラット二世代生殖毒性試験から得られた NOAEL 2.9 mg/kg 体重/日（亜塩素酸イオンとして）を根拠とし、安全係数 100 で除した 0.029 mg/kg 体重/日を亜塩素酸イオンの ADI と評価した。

なお、ヒトへの亜塩素酸ナトリウム投与による試験データは、いずれも上記 ADI を支持するものと考えた。

2. 塩素酸イオン

塩素酸イオンは、速やかに生体内に吸収され全身に分布するものの、主に塩化物イオンとして尿中に排泄されると考えた。

本委員会としては、塩素酸イオンについて、生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないと考えた。

本委員会としては、塩素酸イオンについて急性毒性、亜急性毒性、慢性毒性及び生殖発生毒性の試験成績を検討した結果、ラット 2 年間慢性毒性/発がん性試験から、4 mg/kg 体重/日（塩素酸イオンとして）を塩素酸イオンの LOAEL と判断した。

本委員会としては、塩素酸イオンについて発がん性があるとは判断できないと考えた。

また、ヒトにおける知見を検討した結果、介入試験において NOAEL が 36 µg/kg 体重/日（塩素酸イオンとして）と得られたものの、当該試験における最高用量であることから、上記 LOAEL を支持するものと考えた。

本委員会としては、添加物「亜塩素酸ナトリウム」又は添加物「亜塩素酸水」の使用に係る塩素酸イオンの我が国における推定一日摂取量（0.0008 mg/kg 体重/日）を勘案すると、LOAEL 4 mg/kg 体重/日（塩素酸イオンとして）との間に十分なマージンが存在することから、添加物「亜塩素酸ナトリウム」が添加物として適切に使用される場合、塩素酸イオンの安全性に懸念がないと考えた。

I. 評価対象品目の概要

1. 用途

漂白剤及び殺菌料（参照 1、2）

2. 化学名

和名：亜塩素酸ナトリウム

英名：Sodium chlorite

CAS 登録番号：7758-19-2（参照 3）

3. 分子式

NaClO_2 （参照 3）

4. 分子量

90.44（参照 3）

5. 性状

白色の粉末で、においがいいか又はわずかににおいがある。（参照 3）

6. 安定性

添加物「亜塩素酸ナトリウム」の規格基準の改正を要請した者（以下「規格基準改正要請者」という。）は、本品は溶液の pH の状態により、塩化物イオン (Cl^-)、塩素酸イオン (ClO_3^-)、二酸化塩素 (ClO_2)、亜塩素酸イオン (ClO_2^-) に解離し、溶液中に存在する可能性があるとしている。また、亜塩素酸ナトリウム水溶液を酸性化した際には、亜塩素酸イオンが酸性化され、亜塩素酸 (HClO_2) が生成されるとしている。（参照 1）

FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議 (JECFA) ⁽¹⁾によれば、クエン酸、リン酸等により酸性化した亜塩素酸ナトリウム (Acidified Sodium Chlorite ; ASC) において、亜塩素酸イオン (ClO_2^-) から亜塩素酸が生成され、続いて、亜塩素酸イオン (ClO_2^-)、塩素酸イオン (ClO_3^-)、二酸化塩素 (ClO_2)、塩化物イオン (Cl^-) が生成されるとしている。（参照 4）

7. 関連物質等

(1) 塩素酸について

JECFAは、ASCを使用した場合、二酸化塩素は揮発性であり、ASC処理に由来する塩化物イオンは、食品に既に存在する量と比較して無視できることから、ASCの毒性を評価するにあたり、亜塩素酸イオンと塩素酸イオンを対象としたとしている。（参照 4）

¹ 本文中で用いられた略称については、別紙 1 に名称等を示す。

オーストラリア・ニュージーランド食品基準機関 (FSANZ) によれば、酸性化した亜塩素酸ナトリウムを食品表面に用いる際に、混合溶液中及び食品表面接触後に、塩素酸が生成されるとされている。(参照 5)

(2) 臭素酸、トリハロメタン及び活性酸素種等について

亜塩素酸ナトリウムによる食品処理におけるトリハロメタン及び活性酸素種等の生成、市販の亜塩素酸ナトリウム製剤を用いて使用基準上限濃度に調製した水溶液中の臭素酸含有量についても検討した。

① 臭素酸

添加物評価書「亜塩素酸水」(第 1 版) (2008) の付帯事項に従って、市販の亜塩素酸ナトリウム製剤のロットの異なるもの 3 品それぞれを希釈して調製した亜塩素酸ナトリウムの 500 µg/mL (亜塩素酸ナトリウムの使用基準の上限²⁾) 水溶液中の臭素酸含量について、繰り返し 3 回ずつ分析測定したところ、いずれも定量下限値 (0.002 µg/mL) 未満であったとされている。(参照 6、7)

清涼飲料水評価書「臭素酸」(2008) においては、臭素酸の非発がん毒性を指標とした場合の TDI を 11 µg/kg 体重/日、発がん性を指標とした場合の発がんユニットリスクは 2.8×10^{-2} (mg/kg 体重/日) とされている。飲料水中の濃度は、前者に基づき寄与率を 10% として体重 50 kg の人が 1 日あたり 2 L 摂水すると仮定して算定すると 0.03 µg/mL となり、一方、後者に基づき生涯剰余発がんリスクが 10^{-5} になるレベル³⁾ を算定すると 0.009 µg/mL となる。(参照 8)

上記試験における定量下限値はこれらのいずれをも下回っており、試験に用いた亜塩素酸ナトリウム 500 µg/mL 水溶液中の臭素酸濃度は存在したとしても生涯剰余発がんリスクが 10^{-5} になるレベルに相当する濃度より低いものと判断される。したがって、亜塩素酸ナトリウム水溶液の濃度が 500~1,200 µg/mL の範囲で当該水溶液中の臭素酸濃度が亜塩素酸ナトリウム濃度に比例して直線的に推移すると仮定した場合、亜塩素酸ナトリウム 1,200 µg/mL 水溶液中の理論的な臭素酸濃度は 0.0048 µg/mL より低いものと推定され、この濃度は生涯剰余発がんリスクが 10^{-5} になるレベルである 0.009 µg/mL を下回ると判断した。

② トリハロメタン

亜塩素酸ナトリウムは、次亜塩素酸ナトリウムと比較して有機物と反応しにくく刺激臭が少ない等の特徴があり、トリハロメタンの生成が少ないと考えられて

² 添加物評価書「亜塩素酸ナトリウム」(第 3 版) (2009) 当時の記載

³ WHO 飲料水水質ガイドラインにおいては、 10^{-5} 発がんリスクに相当する飲料水中の濃度を無視し得るレベルと判断している。(参照 28)

いる。さらに、豆腐300 gを亜塩素酸ナトリウム100ppm水溶液100 mL中に2～9 6時間浸漬処理してクロロホルムを指標に検索したところ、トリハロメタンの生成を認めなかった。(参照6)

また、亜塩素酸水 (pH5.5、有効塩素濃度 100 mg/kg) に 10 分間浸漬した後、10 分間すすぎ洗いしたキャベツを被験物質として測定した試験でも、トリハロメタンの生成を認めなかった。(参照9)

JECFA (2008) によれば、ASC から生成された二酸化塩素は酸化剤として働くため、亜塩素酸イオン及び塩素酸イオン以外の副生成物やトリハロメタンは生成しないとされている。(参照4)

③ 活性酸素種等

亜塩素酸ナトリウムを500ppm (亜塩素酸ナトリウムの使用基準の上限⁽²⁾) の濃度で含有する5%塩化ナトリウム水溶液に24時間浸漬することによるかすのこの中のビタミンE含量の低下は認められないことから、亜塩素酸ナトリウム処理によって生体影響を起こすレベルの活性酸素種等は発生していないと推測される。(参照6)

また、亜塩素酸水 (有効塩素濃度 100 mg/kg) に 10 分間浸漬処理したキャベツにおいても、還元型アスコルビン酸レベルの低下は認められていないことから、亜塩素酸水処理によって生体影響を起こすレベルの活性酸素種等は生成していないと推測される。(参照9)

JECFA (2008) においては、ASC の使用における活性酸素種の評価は行っていない。(参照4) また、亜塩素酸ナトリウムの食肉への処理で活性酸素種が発生するという報告もないことから、本委員会としては、亜塩素酸ナトリウム処理によって生体影響を起こすレベルの活性酸素種等は生成していないものと考えた。

8. 我が国及び諸外国における使用状況

(1) 我が国における使用状況

① 亜塩素酸ナトリウム

添加物「亜塩素酸ナトリウム」は、我が国において、殺菌及び漂白を目的とした添加物として1963年に指定され、さくらんぼ、ふき、ぶどう及びももへの使用が認められた。

その後、1995年、2005年、2010年に使用基準の拡大が認められ、現在は、かすのこの加工品 (干しかすのこ及び冷凍かすのこを除く。)、かんきつ類果皮 (菓子製造に用いるものに限る。)、さくらんぼ、生食用野菜類、卵類 (卵殻の部分に限る。)、ふき、ぶどう及びももに使用が認められている。(参照1)

② その他の塩素化合物

我が国では、殺菌、漂白等の目的で用いられる塩素化合物の添加物として、添加物「亜塩素酸ナトリウム」以外に、1950年に「次亜塩素酸ナトリウム」、1953年に「二酸化塩素」、1959年に「高度サラン粉」、2002年に「次亜塩素酸水」、2013年に「亜塩素酸水」が指定されている。(参照1)

(2) 諸外国における使用状況

① コーデックス委員会

コーデックス委員会において、加工助剤に関するデータベースが作成されており、ASCが登録されている。(参照10)

② 米国における使用状況

米国では、ASC⁴⁾は、1990年代後半にFDAと米国農務省(USDA)により、殺菌料として、家きん肉、赤身肉、魚介類、生食用の野菜や果物等に対する使用が認可されている。

また、二酸化塩素についても、殺菌料として、鶏肉加工や生食用以外の果物や野菜への使用が認められている。(参照11、12、13、14)

③ 欧州における使用状況

規格基準改正要請者は、欧州連合(EU)では、ASCは、現在までのところ殺菌料としての食品への使用は認められていないとしている。(参照1)

④ カナダにおける使用状況

カナダでは、ASCは、1999年以降に、殺菌料(microbial control agent)として家きん肉、赤身肉、魚介類に対して使用することが認められている。(参照15)

⑤ オーストラリア及びニュージーランドにおける使用状況

オーストラリア及びニュージーランドでは、ASCは、2004年に、家きん肉、食肉、食肉加工品、魚、果実及び野菜に対して殺菌目的で加工助剤としての使用が認められている。(参照5、16)

9. 国際機関等における評価

(1) 我が国における評価

食品安全委員会において、2004年、2008年、2009年及び2013年に添加物「亜塩素酸ナトリウム」、2007年に添加物「次亜塩素酸水」、2008年及び2012年に添加物「亜塩素酸水」、2008年に清涼飲料水「亜塩素酸」、2007年に清涼

⁴ 亜塩素酸ナトリウム水溶液に一般的に安全とみなされる(GRAS)酸類を反応させることにより生成される酸性の水溶液。FDAでは、亜塩素酸ナトリウムの調製時の使用濃度を50~1,200 ppmと規定している。pH2.3~3.0の範囲ではHClO₂は理論上5~20%生成するとされている。

飲料水「清涼飲料水に係る化学物質の食品健康影響評価について 塩素酸」の評価が実施されている。

① 亜塩素酸ナトリウム

a. 添加物評価書「亜塩素酸ナトリウム」(2004)

2004年、食品安全委員会は、添加物「亜塩素酸ナトリウム」の使用基準の改正に係る食品健康影響評価の結果、「亜塩素酸ナトリウムのADIを亜塩素酸イオンとして0.029 mg/kg 体重/日と設定する。」と評価している。(参照 17)

b. 添加物評価書「亜塩素酸ナトリウム」(第2版)(2008)及び(第3版)(2009)

2008年、食品安全委員会は、添加物「亜塩素酸水」に係る食品健康影響評価に伴い、添加物「亜塩素酸ナトリウム」の評価書を改訂し、また、2009年、添加物「亜塩素酸ナトリウム」の使用基準の改正に係る食品健康影響評価を行い、2004年の食品健康影響評価を追認している。(参照 18、19)

c. 添加物「亜塩素酸ナトリウム」の食品健康影響評価(2013)

2013年、食品安全委員会は、添加物「亜塩素酸ナトリウム」の使用基準の改正に係る食品健康影響評価の結果、「改正後の使用基準においても、当該添加物は最終食品の完成前に分解又は除去しなければならないとされており、同添加物の分解により新たな物質が生成されることがないことを前提とする限りにおいて、同添加物を改正後の使用基準に則り使用したとしても人の健康に悪影響を及ぼすおそれはなく、食品安全基本法(平成15年法律第48号)第11条第1項第2号の人の健康に及ぼす悪影響の内容及び程度が明らかであるときに該当すると認められる」と評価している。(参照 20)

② 亜塩素酸水

a. 添加物評価書「亜塩素酸水」(2008)

2008年、食品安全委員会は、添加物「亜塩素酸水」の指定に係る食品健康影響評価の結果、「添加物として適切に使用され、最終食品の完成前に除去する旨の使用基準が遵守される限り、安全性に特段の懸念はないと考えられる。亜塩素酸水のADIは、亜塩素酸イオンとして0.029 mg/kg 体重/日と設定する。」と評価している。(参照 21)

b. 添加物評価書「亜塩素酸水」(第2版)(2012)

2012年、食品安全委員会は、添加物「亜塩素酸水」の規格基準の改正に係る食品健康影響評価の結果、2008年の食品健康影響評価を追認している。(参照 22)

③ 添加物評価書「次亜塩素酸水」(2007)

2007年、食品安全委員会は、添加物「次亜塩素酸水」の成分規格の改正に係る食品健康影響評価の結果、「今回、食品健康影響評価を求められた2種類の次亜塩素酸水は、使用后、最終食品の完成前に除去される場合、安全性に懸念がないと考えられる。」と評価している。(参照 23)

④ 清涼飲料水評価書「亜塩素酸」(2008)

2008年、食品安全委員会は、清涼飲料水中の亜塩素酸の規格基準改正に係る食品健康影響評価の結果、添加物評価書「亜塩素酸ナトリウム」(第2版)(2008)の評価結果を妥当であるとし、「亜塩素酸の耐容一日摂取量を 29 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日(亜塩素酸イオンとして)とする。」と評価している。(参照 24)

⑤ 清涼飲料水評価書「清涼飲料水に係る化学物質の食品健康影響評価について塩素酸」(2007)

2007年、食品安全委員会は、清涼飲料水の規格基準の改正に係る食品健康影響評価の結果、「塩素酸の耐容一日摂取量を 30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日と設定する。」と評価している。(参照 25)

(2) JECFA における評価

2007年、JECFA は、ASC について評価を行っている。

JECFA は、亜塩素酸ナトリウムを用いたラット二世世代生殖毒性試験結果に基づき、 F_0 と F_1 における肝重量の低下を根拠に、亜塩素酸イオンの NOAEL を 3.0 mg/kg 体重/日とし、不確実係数を 100 として、亜塩素酸イオンの ADI を 0.03 mg/kg 体重/日と設定している。

また、JECFA は、塩素酸ナトリウムを用いたラット二年間発がん性試験結果に基づき、甲状腺の非腫瘍性所見を根拠に塩素酸イオンの BMDL₁₀ を 1.1 mg/kg 体重/日とし、不確実係数を 100 として、塩素酸イオンの ADI を 0.01 mg/kg 体重/日と設定している。(参照 4)

(3) WHO 飲料水水質ガイドラインにおける評価

2004年、WHO は、亜塩素酸ナトリウムを用いたラットの二世世代生殖毒性試験(参照 26、27)に基づき、驚愕反応の低下、 F_1 と F_2 における脳重量の減少及び F_0 と F_1 における肝重量の低下を根拠に、NOAEL を 2.9 mg/kg 体重/日と判断している。この NOAEL に不確実係数として 100(個体差及び種差に各 10)を用い、TDI は亜塩素酸イオンとして 30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日と設定している。亜塩素酸の暴露による最も重要な影響は、その酸化ストレスに基づく赤血球の変化であるとしている。また、慢性毒性試験及び二世世代生殖試験を含め、亜塩素酸のヒトの TDI を評価するための十分なデータが存在するとしている。

なお、亜塩素酸の暫定ガイドライン値で二酸化塩素の安全性を十分確保できると考えられることから、二酸化塩素のガイドライン値は設定されていない。
(参照 28)

(4) 米国における評価

① EPA における評価

a. 2000 年 (亜塩素酸イオン)

2000 年、米国環境保護庁 (EPA) は、亜塩素酸ナトリウムを用いたラットの発生毒性試験の結果に基づき、児動物に認められた探索行動の低下を根拠に、NOAEL を 3 mg/kg 体重/日と判断している。この NOAEL に不確実係数として 100 を用い、参照用量 (RfD) を亜塩素酸イオンとして 0.03 mg/kg 体重/日と設定している。(参照 26、28、29)

EPA は、亜塩素酸及び二酸化塩素について、二酸化塩素は亜塩素酸として毒性を発現すると考え、両化合物の神経行動学的影響や発達毒性の知見から、二酸化塩素について NOAEL は設定せず、亜塩素酸イオンの NOAEL を設定することで十分に安全を確保できるとしている。

b. 2006 年 (塩素酸イオン)

2006 年、EPA は、塩素酸ナトリウムを用いたラットの 2 年間慢性毒性試験の結果に基づき、甲状腺濾胞上皮肥大及び石灰化の増加を根拠に、BMDL を 0.9 mg/kg 体重/日と判断している。この BMDL に不確実係数として 30 を用い、cPAD⁽⁵⁾ (Chronic Population Adjusted Dose) を塩素酸イオンとして 0.03 mg/kg 体重/日と設定している。(参照 30)

② FDA における評価

FDA は、ASC について、亜塩素酸ナトリウム及び二酸化塩素の安全性評価は EPA の評価を引用して行っている。

また、二酸化塩素についても、亜塩素酸イオンとして評価している。(参照 11、12、14)

(5) EU における評価

① 2003 年 (ASC)

2003 年、SCF は、二酸化塩素、ASC 等により殺菌された家きん肉について、毒性学的なリスクは無視しうると評価している。しかし、二酸化塩素、ASC 等反応性の高い物質は、家きん肉中で化学変化を起こす可能性があるが、反応生成物は同定されておらず、結果として、毒性学的評価はできないとされている。
(参照 31)

⁵ 特定の集団に対する ADI に相当する指標

② 2005年 (ASC)

2005年、EFSAは、ASC処理した家きん肉について安全性の評価を行っている。

EUにおける摂取量の平均、95パーセンタイル、99パーセンタイル値は、亜塩素酸イオンとして0.04、0.07、0.09 µg/kg 体重/日、塩素酸イオンとして0.05、0.08、0.11 µg/kg 体重/日と、いずれもIPCS、EPA及びWHOが設定したTDIを下回るものであった。このことから、ASC処理した家きん肉について安全性の懸念はないと結論付けている。(参照 3 2)

③ 2008年 (ASC)

2008年、EFSAは、ASCを含む殺菌料の使用による薬剤耐性菌の出現の可能性について評価している。評価の結果、この可能性を肯定する報告はないものの、さらなる資料が必要であるとしている。(参照 3 3)

④ 2015年 (塩素酸 (汚染物質として))

2015年、EFSAのフードチェーンにおける汚染物質に関する科学パネル (CONTAM パネル) は、甲状腺のヨウ素取り込みを塩素酸が持続的に拮抗阻害することで生じる甲状腺腫を、ヒトにおけるエンドポイントとして、過塩素酸で定められているTDI (0.3 µg/kg 体重/日) に、10倍の係数を乗じて、塩素酸のTDIを3 µg/kg 体重/日としている。(参照 3 4)

(6) IARCにおける評価

1991年、国際がん研究機関 (IARC) は、亜塩素酸ナトリウムの発がん性について Group 3 (ヒトへの発がん性について分類できない) と評価している。(参照 2 8、3 5)

10. 評価要請の経緯

今般、添加物「亜塩素酸ナトリウム」について、厚生労働省に使用基準改正の要請がなされ、関係書類が取りまとめられたことから食品安全基本法第24条第1項第1号の規定に基づき、食品安全委員会に対して、食品健康影響評価の依頼がなされたものである。

11. 使用基準の改正の概要

規格基準改正要請者は、今般の使用基準改正は、ASCとして使用することを要請するものとしている。(参照 1)

厚生労働省は、食品安全委員会の食品健康影響評価結果の通知を受けた後に、添加物「亜塩素酸ナトリウム」の使用基準について、表1のとおり改正を検討す

るものであるとしている。

表 1 添加物「亜塩素酸ナトリウム」の使用基準改正

<p>現行基準⁽⁶⁾</p>	<p>亜塩素酸ナトリウムは、<u>かずのこの加工品（干しかずのこ及び冷凍かずのこを除く。）</u>、かんきつ類果皮（菓子製造に用いるものに限る。）、さくらんぼ、生食用野菜類、卵類（卵殻の部分に限る。以下この目において同じ。）、ふき、ぶどう及びもも以外の食品に使用してはならない。亜塩素酸ナトリウムの使用量は、亜塩素酸ナトリウムとして、<u>かずのこの加工品（干しかずのこ及び冷凍かずのこを除く。）</u>、生食用野菜類及び卵類にあつては浸漬液 1 kg につき 0.50 g 以下でなければならない。また、使用した亜塩素酸ナトリウムは、最終食品の完成前に分解し、又は除去しなければならない。</p>
<p>改正案</p>	<p>亜塩素酸ナトリウムは、<u>かずのこの加工品（干しかずのこ及び冷凍かずのこを除く。）</u>、かんきつ類果皮（菓子製造に用いるものに限る。）、さくらんぼ、生食用野菜類、<u>食肉及び食肉製品</u>、卵類（卵殻の部分に限る。以下この目において同じ。）、ふき、ぶどう及びもも以外の食品に使用してはならない。</p> <p>亜塩素酸ナトリウムの使用量は、亜塩素酸ナトリウムとして、<u>かずのこの加工品（干しかずのこ及び冷凍かずのこを除く。）</u>、生食用野菜類及び卵類にあつては浸漬液 1 kg につき 0.50 g 以下、<u>食肉及び食肉製品にあつては浸漬液又は噴霧液 1 kg につき 0.50～1.20 g</u>でなければならない。また、使用した亜塩素酸ナトリウムは、最終食品の完成前に分解し、又は除去しなければならない。</p> <p><u>亜塩素酸ナトリウムは、食肉及び食肉製品に使用するとき、pH2.3～2.9 の浸漬液又は噴霧液を 30 秒以内で使用しなければならない。</u></p>

II. 安全性に係る知見の概要

本委員会としては、上述（p11）の安定性に係る知見及び上述（p18）の使用基準の改正の概要を踏まえれば、添加物「亜塩素酸ナトリウム」の安全性を評価するにあたっては、亜塩素酸イオン及び塩素酸イオンの安全性を評価することが適当であると考えた。

本委員会としては、主に亜塩素酸ナトリウム、亜塩素酸イオン及び二酸化塩素に関する種々の動物及びヒトにおける試験成績を基に、次亜塩素酸水及び次亜塩素酸ナトリウムに係る知見も適宜参照しつつ、亜塩素酸イオンの安全性を検討す

⁶ 最終の使用基準改正は 2010 年

ることとした。

また、塩素酸ナトリウム及び塩素酸イオンの試験成績を基に、塩素酸イオンの安全性を検討することとした。

1. 体内動態（吸収、分布、代謝及び排泄）

(1) 亜塩素酸イオン及び二酸化塩素

① 関連物質の生成 (Ni and Yin (1998))

亜塩素酸ナトリウムは、経口投与すると胃液中で亜塩素酸 (HClO_2) になると推定され、生体中では代謝等により亜塩素酸 (HClO_2) のほか、塩化物イオン (Cl^-)、二酸化塩素 (ClO_2)、亜塩素酸イオン (ClO_2^-) 等の生成も考えられるとされている。(参照 36)

② 亜塩素酸イオンのラット経口投与試験 (Abdel-Rahman ら (1984))

SD ラット (雄 4 匹) に ^{36}Cl 亜塩素酸イオン (10 mg/L を 3 mL) を経口投与する試験が実施されている。

その結果、血漿中濃度は 2 時間後にピーク値に達し、半減期は 35 時間であった。投与から 72 時間後、放射活性は血液、胃、精巣、皮膚、肺、腎臓、小腸、と体、脾臓、回腸、脳、骨髄及び肝臓に高い濃度で認められた。48~72 時間後には ^{36}Cl 亜塩素酸イオンのほとんどが塩化物イオンに変化し、一部は亜塩素酸イオンとして、また僅かに塩素酸イオンとして排泄された。尿中排泄が主要な経路であり、投与後 72 時間までに約 35% が尿中に、約 5% が糞中に排泄され、呼気中には ^{36}Cl は検出されなかった。(参照 37)

③ ASC のラット経口投与試験 (JECFA (2008) で引用 (Scatina ら (1983))

SD ラット (各群雌 3~5 匹) に ^{36}Cl 亜塩素酸イオンを 19.05 mg (平均 70 mg/kg 体重) 含有する ASC を 3 mL 単回強制経口投与する試験が実施されている。

その結果、 ^{36}Cl の血漿中濃度は 8 時間後にピーク値に達し、半減期は 48 時間であった。投与から 144 時間後、放射活性は血漿中で最も高く、続いて肺、腎臓、皮膚、骨髄、胃、卵巣、十二指腸、回腸、脾臓、脂肪、脳、肝臓及びと体で認められた。また 144 時間後までに、 ^{36}Cl の 45% が塩化物イオン及び亜塩素酸イオンとして尿中に排泄され、塩素酸イオンは検出されなかった。さらに、 ^{36}Cl の 10% が糞中に排泄され、呼気中には検出されなかった。(参照 4)

④ 二酸化塩素のラット経口投与試験 (Abdel-Rahman ら (1980))

SD ラット (各群雄 4 匹) に ^{36}Cl 二酸化塩素水 (100 mg/L を 3 mL、又は、15 日間 100 mg/L を投与した後に 300 mg/L を 3 mL) を飲水投与する試験が実施されている。

その結果、 ^{36}Cl の半減期はそれぞれ43.9時間、31.0時間であった。 ^{36}Cl 二酸化塩素(100 mg/L)を単回投与した72時間後に、肝臓に分布していた ^{36}Cl の約25%は、タンパク画分に残存していた。投与後72時間までの代謝を標識同位元素測定で追跡したところ、二酸化塩素は塩化物イオン、亜塩素酸イオン及び塩素酸イオンに代謝された。各2匹で2回試験を実施したところ、 ^{36}Cl は投与後72時間までに約30%が尿中に、約10%が糞中に排泄され、臓器、皮膚、と体及び排泄物からの総回収率は95%であった。また、呼気中には ^{36}Cl は検出されなかった。(参照38)

(2) 塩素酸イオン

- ① ラット経口投与試験 (Abdel-Rahmanら (1982) (JECFA (2008) で引用))
SDラット(雄4匹)に ^{36}Cl 塩素酸カリウム(KClO_3) (0.065 mg/kg 体重)を強制経口投与する試験が実施されている。

その結果、50%吸収時間は 1.74 ± 0.66 時間であり、血漿中から ^{36}Cl が50%排泄される時間は 36.7 ± 5.8 時間であった。72時間後の放射活性は、血漿中に最も高く検出され、続いて、胃、肺、精巣、腎臓、皮膚、十二指腸、脾臓、回腸、と体、肝臓及び骨髄に検出された。血液中には、主に血漿中に分布した。尿中の主な代謝物は塩化物であり、投与量の20.5%であった。また、その他に、投与量の3.95%が亜塩素酸イオンとして、8.2%が塩素酸イオンとして排泄された。投与後72時間以内に、投与量の43%が排泄され、約40%が尿中へ、約3%が糞中に排泄されたが、呼気中には排泄されなかった。(参照39)

- ② ラット経口投与試験 (Abdel-Rahmanら (1984) (EFSA (2015) で引用))
(再掲)

上述(p20)の報告において、SDラット(雄4匹)に ^{36}Cl 塩素酸イオン(5 mg/Lを3 mL)を投与する試験が実施されている。

その結果、血漿中濃度は30分後にピーク値に達し、半減期は36.7時間であった。投与から72時間後、放射活性は血液、胃、精巣、皮膚、肺、腎臓、小腸、と体、脾臓、回腸、脳、骨髄及び肝臓に高濃度で認められた。48~72時間後には ^{36}Cl 塩素酸イオンのほとんどが塩化物イオンに変化し、一部は亜塩素酸イオンとして、また僅かに塩素酸イオンとして排泄された。吸収された ^{36}Cl の主要な消失経路は尿中排泄であり、投与後72時間までに約40%が尿中に、約3%が糞中に排泄され、呼気中には検出されなかった。(参照37)

- ③ ラット経口投与試験 (Hakkら (2007) (EFSA (2015) で引用))

SDラット(各群雄4匹)に ^{36}Cl 塩素酸ナトリウム(3 mg/kg 体重)を単回強制経口投与する試験が実施されている。

その結果、 ^{36}Cl の吸収率は88~95%であった。投与72時間後の放射活性は、

と体で投与量の4.6%、皮膚で3.2%、消化管で1.3%であり、その他の組織においては投与量の1%以下であった。尿中の代謝物は塩素酸イオンと塩化物イオンのみであった。吸収された³⁶Clの主要な消失経路は尿中排泄であった。投与6時間後の尿中³⁶Clにおける塩素酸イオンの割合はおよそ98%であり、48時間後にはその割合は10%に低下した。(参照40)

④ ウシ経口投与試験 (Smithら (2005a) (EFSA (2015) で引用))

ウシ (去勢雄2頭) に³⁶Cl塩素酸ナトリウム (62.5 及び 130.6 mg/kg 体重) を3日間経口投与する試験が実施されている。

その結果、³⁶Clの吸収率は62~68%であった。投与後の骨格筋における放射活性の28~57%が塩素酸イオンであり、肝臓、腎臓及び脂肪組織では塩素酸イオンの割合がより小さかった。塩素酸イオン以外の代謝物は塩化物イオンのみであった。吸収された³⁶Clの主要な消失経路は尿中排泄であった。投与期間中及びその後8時間の尿中³⁶Clにおける塩素酸イオンの割合は65~100%であり、残りは塩化物イオンであった。(参照41)

⑤ ウシ胃内投与試験 (Smithら (2005b) (EFSA (2015) で引用))

ウシ (去勢雄及び若雌各1頭) に³⁶Cl塩素酸ナトリウム (総量21、42 及び 63 mg/kg 体重) を4回に分けて第一胃内投与する試験が実施されている。

その結果、最終投与24時間後の肝臓、腎臓、骨格筋及び脂肪組織における総放射活性のうち、98%以上が塩化物イオンであり、塩素酸イオンは検出限界以下もしくは微量が検出された。いずれの組織においても亜塩素酸イオンは認められなかった。最終投与24時間後までの糞及び尿中への³⁶Clの排泄率は、各投与群 (21、42 及び 63 mg/kg 体重) でそれぞれ投与量の20、33 及び 48%であった。尿中からは塩素酸イオンと塩化物イオンのみが検出された。(参照42)

⑥ ブタ経口投与試験 (Smithら (2006) (EFSA (2015) で引用))

ブタ (各群去勢雄1頭及び未経産雌1頭) に³⁶Cl塩素酸ナトリウム (20、40 及び 60 mg/kg 体重) を飲水投与する試験が実施されている。

その結果、塩素酸イオンの肝臓、腎臓、骨格筋及び脂肪組織の濃度は、各投与群平均で、それぞれ0.01~0.04ppm、0.18~0.20ppm、0.07~0.18ppm 及び 0.13~0.49ppmの濃度範囲であり、甲状腺では7.7~25.4ppmの濃度範囲であった。総放射活性に対する尿中排泄率の平均は、各投与群でそれぞれ81.6%、83.7%及び83.9%であり、糞中への排泄率は、全投与群平均で1.1%であった。また、全投与群において、尿中の³⁶Clのうち97.4%以上が塩素酸イオン、残りが塩化物イオンであり、糞中では、各投与群でそれぞれ38.8~65.1%、50.9~73.1%及び53.3~76.6%が塩素酸イオンであった。

なお、亜塩素酸イオンは排泄物中又は組織中に確認されなかった。(参照 4 3)

⑦ ニワトリ経口投与試験 (Smithら (2007) (EFSA (2015) で引用))

ニワトリ (各群 4 羽) に $[^{36}\text{Cl}]$ 塩素酸ナトリウム (7.4、15.0 及び 22.5 mmol/L) を 24 時間飲水投与する試験が実施されている。

その結果、投与終了 30 時間後の脂肪組織、砂囊、肝臓、白筋、赤筋及び皮膚における総放射活性は、投与量に比例しており、総放射活性の 98.5%以上が塩化物イオンであった。塩素酸イオンの濃度は、特に皮膚 (0.33~0.82ppm)、砂囊 (0.10~0.14ppm) 及び赤筋 (0.05~0.14ppm) で高く、脂肪組織で 0.05~0.13ppm、肝臓で 0.06~0.10ppm、白筋で 0.03~0.09ppm であった。 ^{36}Cl は速やかに排泄され、投与終了 30 時間後までの排泄率は、各投与群で平均 69.4%~77.9%であった。(参照 4 4)

⑧ レビュー (Smithら (2012) (EFSA (2015) で引用))

反芻動物及び非反芻動物に $[^{36}\text{Cl}]$ 塩素酸塩を経口投与する試験の報告がレビューされている。その結果は、以下の表 2 及び表 3 のとおりであった。

なお、反芻動物及び非反芻動物に経口投与された塩素酸塩は、急速に吸収されたとされている。(参照 3 4、4 5)

表 2 $[^{36}\text{Cl}]$ 塩素酸塩を経口投与した動物における消化管吸収率

動物種	投与量 (mg/kg 体重)	被験物質	採取 時間 (時間)	動物 数	測定対象	累積吸収率 (%)	参照文献	
ラット	1.3	$[^{36}\text{Cl}]\text{KClO}_3$	8	4	総放射活性	21.6	Abdel-Rahmanら (1984) (EFSA (2015) で引用)	
			16			27.8		
			24			36.4		
			48			37.4		
			72			40.1		
	3	$[^{36}\text{Cl}]\text{NaClO}_3$	6	4	総放射活性	36.1	Hakkら (2007) (EFSA (2015) で引用)	
			12			62.4		
			18			68.2		
			24			70.5		
			32			71.9		
40			73.3					
48			74.9					
60			76.7					
72	79.1							
イヌ	500	KClO_3	2	6 ⁽⁷⁾	塩素酸イオン	19.8±6.0	Ross (1925) (EFSA (2015) で引用)	
			4			46.0±6.9		
			6			59.9±4.0		
			24			84.4±7.0		
			48			88.9±7.4		
ウシ	63	$[^{36}\text{Cl}]\text{NaClO}_3$	56	各	総放射活性	67.9	Smithら (2005a)	
			131	1		62.1		
			21	各	2	総放射活性	1.4±0.4	Smithら (2005b)
	24						5.1±2.3	
	36						10.3±1.7	
	48						15.1±1.4	
	12						3.8±2.2	
	42		24	12.5±0.9				
				36	17.3±1.0			
				48	22.7±3.4			
	63		36	10.9±13.2				
				24	20.3±14.8			
				36	28.3±17.7			
				48	35.6±16.3			
ブタ	20	$[^{36}\text{Cl}]\text{NaClO}_3$	12	各	総放射活性	50.8±5.9	Smithら (2006) (EFSA (2015) で引用)	
			24			77.7±3.5		
			30			81.6±2.7		
	40		12			62.7±0.5		
						24		75.4±12.8
						30		83.7±4.4
	60		12			55.1±13.5		
						24		81.0±2.9
						30		83.9±1.2
						30		83.9±1.2

⁷ 採取時間が6時間の場合のみ、n=5

表 3 [36Cl]塩素酸ナトリウムを経口投与した動物における組織中の塩素酸イオン濃度

動物種	投与量 (mg/kg 体重)	剖検時間	動物数	組織中濃度 (µg/g)							参考文献	
				脂肪	腎臓	肝臓	筋肉	砂囊	皮膚	甲状腺		
ラット	3	72	4	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	—	—	—	Hakkら (2007)	
ウシ	63	8	各1 ⁽⁸⁾	2.0	25.9	0.7	14.1	—	—	—	Smithら (2005a)	
	131			11.7	67.0	1.3	21.1					
	21	24	各2	0.02	0.27	0.13	0.05	—	—	—	Smithら (2005b)	
	42			0.13	0.40	0.10	0.20					
63			0.21	0.04	0.08	0.41						
ブタ	20	24	各2	0.19	0.18	0.01	0.07	—	—	8.4	Smithら (2006)	
	40			0.13	0.20	0.02	0.07					7.7
	60			0.49	0.19	0.04	0.18					25.4
ニワトリ	164	30	各4	0.077	—	0.063	0.068 ⁽⁹⁾	0.136	0.329	—	Smithら (2007)	
							0.053 ⁽¹⁰⁾					
	292			0.050		0.095	0.090 ⁽⁹⁾	0.137	0.570			
							0.097 ⁽¹⁰⁾					
407	0.129	0.087	0.030 ⁽⁹⁾	0.100	0.819							
					0.135 ⁽¹⁰⁾							

(3) 体内動態のまとめ

本委員会としては、亜塩素酸ナトリウムは、生体内で亜塩素酸、塩化物イオン、二酸化塩素及び亜塩素酸イオン等に変換されると考えた。また、亜塩素酸ナトリウム又はASCのラット経口投与試験によれば、亜塩素酸イオンは速やかに生体内に吸収され全身に分布するものの、主に塩化物イオンとして尿中に排泄されると考えた。

本委員会としては、塩素酸イオンは、速やかに生体内に吸収され全身に分布するものの、主に塩化物イオンとして尿中に排泄されると考えた。

2. 毒性

(1) 亜塩素酸イオン、次亜塩素酸水、二酸化塩素

① 遺伝毒性

亜塩素酸ナトリウム及び微酸性次亜塩素酸水に関する遺伝毒性の試験成績は、表4のとおりである。

⁸ 被検物質は0、24及び48時間に投与された。

⁹ 白筋における残留量

¹⁰ 赤筋における残留量

表 4 亜塩素酸ナトリウム及び微酸性次亜塩素酸水に関する遺伝毒性の試験成績

指標	試験種類	試験対象	被験物質	用量等	試験結果概要	参照
遺伝子突然変異 (<i>in vitro</i>)	復帰突然変異試験	細菌 (<i>Salmonella typhimurium</i> TA92、TA94、 TA98、 TA100、 TA1535、 TA1537)	亜塩素酸ナトリウム	最高用量 0.3 mg/plate	TA100 の最高用量でのみ弱い陽性 (代謝活性化系存在下、対照群の2倍程度)	Ishidate ら (1984) (EPA (2000)、WHO (2005) で引用) (参照 26、28、46)
		細菌 (<i>S. typhimurium</i> TA98、 TA100、 TA1535、 TA1537、 <i>Escherichia coli</i> WP2uvrA)	微酸性次亜塩素酸水 (pH 5.0~5.5)	3.91~1,000 μ L/plate (有効塩素濃度 50~80 mg/kg)	陰性 (代謝活性化系の有無にかかわらず)	添加物評価書「次亜塩素酸水」(2007) (参照 23)
染色体異常 (<i>in vitro</i>)	染色体異常試験	ほ乳類培養細胞 (CHL)	亜塩素酸ナトリウム	最高用量 0.02 mg/mL	最高用量のみで陽性	Ishidate ら (1984) (EPA (2000) で引用) (参照 26、46)
	小核試験	ほ乳類培養細胞 (HepG2)	亜塩素酸ナトリウム	最高用量 0.2 mg/L	陰性	Feretti ら (2008) (参照 47)
染色体異常 (<i>in vivo</i>)	染色体異常試験	マウス (Swiss CD-1、各群雌雄 4 匹、骨髄)	亜塩素酸ナトリウム	10、25、50 mg/kg 体重/日 強制経口投与 (24 時間間隔で 5 回)	陰性	Meier ら (1985) (EPA (2000)、WHO (2005) で引用) (参照 26、28、48)
	小核試験	マウス (ddY、各群 6 匹)	亜塩素酸ナトリウム	37.5~300 mg/kg 体重 単回強制経口投与	陰性	Hayashi ら (1988) (EPA (2000) で引用) (参照 26、49)
		マウス (Swiss CD-1、各群雌雄各 5 匹)	亜塩素酸ナトリウム	10、25、50 mg/kg 体重/日 強制経口投与 (24 時間間隔で 5 回)	陰性	Meier ら (1985) (EPA (2000) で引用) (参照 26、48)
		マウス (ddY) (参考資料)	亜塩素酸ナトリウム	7.5~60 mg/kg 体重 腹腔内投与	陽性	Hayashi ら (1988) (EPA (2000) で引用) (参照 26、49)

以上を総合的に判断すると、細菌を用いた復帰突然変異試験で認められた陽性反応は弱いものであり、また、染色体異常試験では *in vitro* 試験で陽性の

結果が得られているものの、*in vivo* 試験では陰性であった。さらに、マウスを用いて経口投与で高用量まで試験された小核試験においても陰性であったことから、*in vitro* の系で検出された遺伝毒性が生体内で発現する可能性は低いと考えられた。

したがって、本委員会としては、亜塩素酸ナトリウム及び微酸性次亜塩素酸水のデータを基に亜塩素酸イオンの遺伝毒性を評価し、生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないと考えた。

② 急性毒性

亜塩素酸ナトリウム及び ASC を被験物質とした急性毒性に関する試験成績は、表 5 のとおりである。

表 5 亜塩素酸ナトリウム及び ASC 単回経口投与試験における LD₅₀

動物種	被験物質	LD ₅₀ (mg/kg 体重)	参照
マウス(雌雄不明)	亜塩素酸ナトリウム	350 (267-433) ⁽¹¹⁾	4 (JECFA (2008) で引用 (Pisko ら (1980)))
ラット	亜塩素酸ナトリウム	105 ⁽¹²⁾	4、28、50 (Musil ら (1964) (JECFA (2008) 及び WHO (2005) で引用))
ラット(雌雄不明)	亜塩素酸ナトリウム	350 (251-449) ⁽¹¹⁾	4 (JECFA (2008) で引用 (Pisko ら (1980)))
ラット ⁽¹³⁾	ASC	雄 292 ⁽¹²⁾ 雌 340 ⁽¹²⁾	4 (JECFA (2008) で引用 (Abdel-Rahman ら (1982b)))
ラット	亜塩素酸ナトリウム	雄 158 ⁽¹¹⁾ 雌 177 ⁽¹¹⁾	4 (JECFA (2008) で引用 (Seta ら (1991)))
ラット(雌雄不明)	亜塩素酸ナトリウム	165 ⁽¹¹⁾	4 (JECFA (2008) で引用 (Perry ら (1994)))
モルモット(雌雄不明)	亜塩素酸ナトリウム	300 ⁽¹¹⁾	4 (JECFA (2008) で引用 (Pisko ら (1980)))
ウズラ(雌雄不明)	亜塩素酸ナトリウム	493 ⁽¹²⁾	4、28、51 (Fletcher (1973) (JECFA (2008) 及び WHO (2005) で引用))

③ 反復投与毒性

a. マウス 30 日間経口投与試験 (Moore & Calabrese (1982) (EPA (2000) で引用))

A/J マウス (グルコース-6-リン酸デヒドロゲナーゼ (G6PD) 活性が正常な系統、性別不明、各群 11~23 匹) 及び C57L/J マウス (G6PD 活性が低下して

¹¹ 亜塩素酸ナトリウムとして又は亜塩素酸イオンとして、のいずれかで LD₅₀ を設定しているか不明。

¹² 亜塩素酸イオンとして、LD₅₀ を設定

¹³ 14 日観察期間

いる系統、性別不明、各群 11～23 匹) に亜塩素酸ナトリウムを表 6-1 のような投与群を設定して、30 日間飲水投与する試験が実施されている。

表 6-1 用量設定

用量設定	0 (対照群)、1、10、100 mg/L
------	-----------------------

その結果、各投与群で認められた毒性所見は表 6-2 のとおりである。

表 6-2 毒性所見

投与群	毒性所見
100 mg/L (A/J 及び C57L/J マウス)	赤血球の G6PD 活性、浸透圧脆弱性及び平均容積の上昇

EPA は、本試験における NOAEL を 10 mg/L (1.9 mg/kg 体重/日 (亜塩素酸イオンとして)) としている。(参照 26、52)

本委員会としては、当該試験の最小毒性量 (LOAEL) と NOAEL の間の用量差が 10 倍と大きく、当該試験の NOAEL をそのまま ADI 設定の根拠として用いることが適切でないと考えた。

b. マウス 30、90、180 日間経口投与試験 (Moore & Calabrese (1982) (EPA (2000) で引用)) (再掲)

上述 (p27) の報告において、C57L/J マウス (各群雄 55～60 匹) に亜塩素酸ナトリウムを表 7 のような投与群を設定して、30、90 又は 180 日間飲水投与する試験が実施されている。

表 7 用量設定

用量設定	0 (対照群)、4、20、100 mg/L
亜塩素酸イオンとして換算	0、3、15、75 mg/L

その結果、全ての投与群において、腎病理組織学的検査、腎重量及びその比重量、体重並びに飲水量に有意な影響は認められなかったとされている。(参照 26、52)

c. ラット 30～90 日間経口投与試験 (Heffernan ら (1979) (WHO (2005) で引用))

CD ラット (各群雄 6 匹) に亜塩素酸イオンを含む蒸留水を表 8-1 のような

投与群を設定して、30～90日間飲水投与する試験が実施されている。

表 8-1 用量設定

用量設定	0 (対照群)、10、50、100、250、500 mg/L
mg/kg 体重/日 として換算	0、1、5、10、25、50 mg/kg 体重/日

その結果、各投与群で認められた毒性所見は表 8-2 のとおりである。

表 8-2 毒性所見

投与群	毒性所見
100 mg/L 以上	一時的な貧血
100 mg/L	赤血球グルタチオン濃度 (対照群に対して) : 31%減少 (30日後) 及び 40%減少 (90日後)
50 mg/L	赤血球グルタチオン濃度 (対照群に対して) : 15%減少 (30日後) 及び 30%減少 (90日後)

Heffernan らは、亜塩素酸イオンの摂取による主要な影響は、赤血球の損傷と考えられるとしている。

WHO は、本試験における NOAEL を 10 mg/L (1 mg/kg 体重/日) (亜塩素酸イオンとして) としている。(参照 28、53)

本委員会としては、供試動物数が少なく、また、当該試験の用量設定は公比にばらつきがみられ、LOAEL と NOAEL の間の用量差が 5 倍と大きく、当該試験の NOAEL をそのまま ADI 設定の根拠として用いることが適切でないと考えた。

なお、特に後述 (p44) の溶血性貧血に対し感受性の高い G6PD 欠損のヒトにおける試験では、42 µg/kg 体重/日 (亜塩素酸ナトリウムとして) 相当の投与量レベルにおいて赤血球への影響が認められていない。

d. ラット 13 週間経口投与試験 (Harrington ら (1995) (TERA (1995)、EPA (2000) 及び WHO (2005) で引用))

CD ラット (各群雌雄各 15 匹) に亜塩素酸ナトリウムを表 9-1 のような投与群を設定して、13 週間強制経口投与する試験が実施されている。

表 9-1 用量設定

用量設定	0 (対照群)、10、25、80 mg/kg 体重/日
亜塩素酸イオン として換算	0、7.4、18.6、59.7 mg/kg 体重/日

その結果、各投与群で認められた毒性所見は表 9-2 のとおりである。

表 9-2 毒性所見

投与群	毒性所見	
	雄	雌
80 mg/kg 体重/日	<ul style="list-style-type: none"> ・被験物質によると考えられる死亡 (4 匹) ・脾臓相対重量及び副腎相対重量の増加 ・前胃の扁平上皮過形成、角化、潰瘍形成、慢性炎症及び浮腫 (7 匹) 	<ul style="list-style-type: none"> ・メトヘモグロビン濃度の減少 ・赤血球の形態変化 (3 匹) ・前胃の扁平上皮過形成、角化、潰瘍形成、慢性炎症及び浮腫 (8 匹)
25 mg/kg 体重/日以上	<ul style="list-style-type: none"> ・赤血球数、ヘマトクリット値及びヘモグロビン濃度の減少 ・メトヘモグロビン濃度及び好中球数の上昇 	<ul style="list-style-type: none"> ・赤血球数の減少 ・脾臓相対重量及び副腎相対重量の増加
25 mg/kg 体重/日	<ul style="list-style-type: none"> ・潰瘍形成、慢性炎症及び浮腫 (2 匹) 	

なお、以下のような所見が認められたとされている。

- ・ 10 mg/kg 体重/日投与群で、赤血球数の減少 (雄)

Harrington ら及び WHO は、本試験における NOAEL を 10 mg/kg 体重/日 (7.4 mg/kg 体重/日 (亜塩素酸イオンとして)) としている。(参照 26、28、54、55)

e. ラット 1 年間経口投与試験 (Couri & Abdel-Rahman (1980) (EPA (2000) 及び TERA (1998) で引用))

SD ラット (各群雄 4 匹) に亜塩素酸ナトリウムを表 10 のような投与群を設定して、1 年間飲水投与 (20 時間/日、7 日/週) する試験が実施されている。

表 10 用量設定

用量設定	0 (対照群)、10、100 mg/L
------	---------------------

その結果、以下のような所見が認められたとされている。

- ・ 100 mg/L 投与群で、体重増加抑制 (2 か月目以降から)
- ・ 10 mg/L 投与群で、体重増加抑制 (投与開始後 10、11 か月目)

なお、赤血球数、ヘマトクリット値及びヘモグロビン値には変化は認められなかったとされている。

EPA は、上記の他にも種々の変化を認めたが、一貫した用量反応関係がみられず、また供試動物数が少なく、影響自体が軽微であることから、結果の解釈は複雑であるとしている。(参照 26、55、56)

本委員会としては、EPA の評価を妥当と考えた。

f. ラット 2 年間経口投与試験 (EPA (2000)、WHO (2005) 及び TERA (1998) で引用 (Haag (1949)))

アルビノラット (各群雌雄各 7 匹) に亜塩素酸ナトリウムを表 11-1 のような投与群を設定して、2 年間飲水投与する試験が実施されている。

表 11-1 用量設定

用量設定	0 (対照群)、1、2、4、8、100、1,000 mg/L
亜塩素酸イオンとして換算	0、0.09、0.18、0.35、0.7、9.3、81 mg/kg 体重/日

その結果、各投与群で認められた毒性所見は表 11-2 のとおりである。

表 11-2 毒性所見

投与群	毒性所見
100 mg/L 以上	腎病変

なお、全ての投与群でラットの生存期間に変化は認められなかったとされている。

Haag によれば、認められた腎病変は、ナトリウムによる影響であると結論しているが、腎病変に基づいて、NOAEL を 8 mg/L (0.7 mg/kg 体重/日 (亜塩素酸イオンとして)) としている。

EPA は、供試動物数が少なく、また、より感受性の高い指標を用いた評価が行われていないとしている。(参照 26、28、55)

本委員会としては、EPA の評価が妥当であり、当該試験の NOAEL をそのまま ADI 設定の根拠として用いることが適切でないと考えた。

g. サル 30~60 日間経口投与試験 (Bercz ら (1982) (JECFA (2008)、EPA (2000) 及び WHO (2005) で引用)

アフリカミドリザル (雄 5 匹及び雌 7 匹) に用量漸増法で亜塩素酸ナトリウムを表 12 のような投与群を設定して、30~60 日間飲水投与する試験が実施さ

れている。

表 12 用量設定

用量設定	0 (対照群)、25、50、100、400 mg/L (亜塩素酸イオンとして)
mg/kg 体重/日として換算 ⁽¹⁴⁾	0、3、6、13、50 mg/kg 体重/日

その結果、メトヘモグロビン血症と貧血が用量依存的に認められたとされている。(参照4、26、28、57)

本委員会としては、当該試験は同一個体を用いた用量漸増法による試験であり、NOAELの設定に使用できるものではないと考えた。

h. 参考資料 (二酸化塩素)

WHO 飲料水水質ガイドラインにおける飲水投与試験のうち、亜塩素酸イオンの安全性評価に関与すると考えられるものは以下のとおりである。

なお、これらの試験結果は、非常に酸性度の強い水溶液を用いていることから、二酸化塩素でなく、酸による影響を検出している可能性がある。

このことも踏まえ、本委員会としては、これらの報告を ADI 設定において考慮すべきでないと考えたため、参考資料として記載する。

(a) ラット 90 日間経口投与試験 (TERA (1998)、EPA (2000) 及び WHO (2005) で引用 (Daniel ら (1990)))

ラット (各群雌雄各 10 匹) に二酸化塩素水溶液を表 13 のような投与群を設定して、90 日間飲水投与する試験が実施されている。

表 13 用量設定

用量設定	0 (対照群)、25、50、100、200 mg/L
mg/kg 体重/日として換算	雄：0、2、4、6、12 mg/kg 体重/日 雌：0、2、5、8、15 mg/kg 体重/日

その結果、以下のような所見が認められたとされている。

- ・ 200 mg/L 投与群で、摂餌量の減少
- ・ 100 mg/L 以上投与群で、鼻甲介の杯細胞の過形成 (雌)
- ・ 50 mg/L 以上投与群で、水の味の変化に起因すると考えられる飲水量の減少
- ・ 25 mg/L 以上投与群で、鼻腔の炎症 (雌雄) 及び鼻甲介の杯細胞の過形

¹⁴ WHO による換算。なお、EPA による換算では、400 mg/L が 58.4 mg/kg 体重/日とされている。

成 (雄)

Daniel らによれば、本試験における LOAEL は 25 mg/L (2 mg/kg 体重/日相当) であるとされている。

EPA は、本試験で認められた鼻腔の炎症等の病変は、他の同様の試験では観察されないことから、経口によるものではなく、本物質の鼻からの吸入による直接的な作用によるものとされている。(参照 26、28、55)

本委員会としては、EPA の評価が妥当と考えた。

(b) ラット 2 年間経口投与試験 (TERA (1998)、EPA (2000) 及び WHO (2005) で引用 (Haag (1949)))

ラット (各群 7 匹) に二酸化塩素水溶液を表 14 のような投与群を設定して、2 年間飲水投与する試験が実施されている。

表 14 用量設定

用量設定	0 (対照群)、0.5、1、5、10、100 mg/L
mg/kg 体重/日として換算	0、0.07、0.13、0.7、1.3、13 mg/kg 体重/日

その結果、以下のような所見が認められたとされているが、病理組織学的な所見との明らかな相関関係は認められなかったとされている。

・ 100 mg/L 投与群で、生存率の大きな低下 (雌雄) 及び平均生存期間の減少 (対照群に対して)

Haag によれば、本試験の NOAEL は 10 mg/L (1.3 mg/kg 体重/日相当) とされている。

WHO は、1949 年に行われた試験であるため、現在の評価に用いる価値は限定的である (1949 study has serious limitations) としている。

EPA は、供試動物数が少なく、感受性の高いエンドポイントが限られていることから、本試験の解釈が困難であるとしている。(参照 26、28、55)

本委員会としては、WHO 及び EPA の評価を妥当と考えた。

④ 発がん性

a. マウス 85 週間発がん性試験 (Kurokawa ら (1986) (EPA (2000) 及び WHO (2005) で引用))

B6C3F₁ マウス (各群雌雄各 50 匹) に亜塩素酸ナトリウムを表 15 のような

投与群を設定して、85 週間飲水投与する試験が実施されている。

表 15 用量設定

用量設定	0 (対照群)、250、500 mg/L
亜塩素酸イオン として換算	0、36、71 mg/kg 体重/日

その結果、腫瘍発生率の有意な増加は認められなかったとされている。(参照 26、28、58)

- b. ラット 85 週間発がん性試験 (Kurokawa ら (1986) (EPA (2000) 及び WHO (2005) で引用))

F344 ラット (各群雌雄各 50 匹) に亜塩素酸ナトリウムを表 16 のような投与群を設定して、85 週間飲水投与する試験が実施されている。

表 16 用量設定

用量設定	0 (対照群)、300、600 mg/L
亜塩素酸イオン として換算	雄：0、18、32 mg/kg 体重/日相当 雌：0、28、41 mg/kg 体重/日相当

その結果、腫瘍発生率の有意な増加は認められなかったとされている。(参照 26、28、58)

- c. ラット 2 年間発がん性試験 (EPA (2000)、WHO (2005) 及び TERA (1998) で引用 (Haag (1949))) (再掲)

上述 (p31) の試験においても、腫瘍は認められなかったとされている。

- d. 参考資料 (次亜塩素酸ナトリウム)

- (a) マウス 103 週間及びラット 104 週間発がん性試験 (添加物評価書「次亜塩素酸水」(2007) で引用 (Kurokawa (1986)))

マウス又はラットに次亜塩素酸ナトリウムを表 17 のような投与群を設定して、103 週間又は 104 週間飲水投与する試験が実施されている。

表 17 用量設定

用量設定	500、1,000 mg/kg 体重/日 (マウス) 500~2,000 mg/kg 体重/日 (ラット)
------	--

その結果、用量依存的な体重増加抑制が認められたが、生存率及び腫瘍発生率の有意な増加は認められなかったとされている。(参照 23)

⑤ 生殖発生毒性

a. マウス生殖毒性試験 (Moore & Calabrese (1982) (EPA (2000) 及び WHO (2005) で引用)) (再掲)

上述 (p27) の報告において、A/J マウス (F₀: 各群 10 匹) に亜塩素酸ナトリウムを表 18-1 のような投与群を設定して、妊娠期から授乳期にかけて飲水投与する試験が実施されている。

表 18-1 用量設定

用量設定	0 (対照群)、100 mg/L (亜塩素酸イオンとして)
mg/kg 体重/日として換算	0、22 mg/kg 体重/日

その結果、各投与群で認められた毒性所見は表 18-2 のとおりである。

表 18-2 毒性所見

投与群	毒性所見
100 mg/L	<ul style="list-style-type: none"> ・ 受胎率 39% (対照群 56%) ・ 児動物の離乳時体重の 14%減少 (対照群比)

Moore & Calabrese によれば、本試験の LOAEL は 100 mg/L (22 mg/kg 体重/日 (亜塩素酸イオンとして)) と推定されている。(参照 26、28、52)

b. ラット生殖毒性試験 (Calton ら (1987) (EPA (2000)、WHO (2005) 及び TERA (1998) で引用))

Long-Evans ラット (各群雄 12 匹) に亜塩素酸ナトリウムを表 19 のような投与群を設定して、72~76 日間飲水投与する試験が実施されている。

表 19 用量設定

用量設定	0 (対照群)、1、10、100、500 mg/L
亜塩素酸イオンとして換算	0、0.075、0.75、7.5、27 mg/kg 体重/日

その結果、以下のような所見が認められたとされているが、Calton らは、毒性学的に比較的小さいものであるとしている。

- ・ 100 mg/L 以上投与群で、異常精子数の増加及び精子の直進運動性の低下

なお、投与に関連する一般状態の変化、生殖能及び生殖器官の病理組織学的変化は認められなかった。

WHO 及び EPA は、精子への影響に基づいて、NOAEL を 10 mg/L (0.75 mg/kg 体重/日 (亜塩素酸イオンとして)) としている。(参照 26、28、55、59)

本委員会としては、精子への影響が認められているが軽微であり、設定された用量の公比が大きく、また、他の報告 (Gill (2000) (参照 27)、Meier (1985) (参照 60)) において、より高用量まで同様の影響がみられていないことから、当該試験の NOAEL をそのまま ADI 設定の根拠として用いることは適切でないと判断した。

c. ラット生殖毒性試験 (Calton ら (1987) (TERA (1998)、EPA (2000) 及び WHO (2005) で引用) (再掲)

上述 (p35) の報告において、Long-Evans ラット (各群雄 12 匹又は雌 24 匹) に亜塩素酸ナトリウムを表 20 のような投与群を設定して、雄では交配前 56 日間及び交配中 10 日間飲水投与し、雌では交配前 14 日から分娩後 21 日の離乳時まで、交配、妊娠及び授乳期間中を通じて飲水投与する試験が実施されている。

表 20 用量設定

用量設定	0 (対照群)、1、10、100 mg/L
亜塩素酸イオンとして換算	0、0.075、0.75、7.5 mg/kg 体重/日

その結果、以下のような所見が認められたとされている。

- ・ 100 mg/L 投与群で、トリヨードチロニン (T₃) の低下 (21 日齢の雌児、40 日齢の雄児) 及びチロキシシン (T₄) 濃度の低下 (40 日齢の雌雄児)。

なお、母動物の生殖及び児動物の生存及び成長に投与の影響はみられなかったとされている。

WHO は、生殖毒性が認められなかったことから、NOAEL を 100 mg/L (7.5 mg/kg 体重/日 (亜塩素酸イオンとして)) としている。(参照 26、28、55、59)

d. ラット二世世代生殖毒性試験 (Gill ら (2000) (TERA (1998)、EPA (2000) 及び WHO (2005) で引用)、GLP)

SD ラット (F₀: 各群雌雄各 30 匹) を用いて亜塩素酸ナトリウムを表 21-1 のような投与群を設定して、雄の交配前 10 週間及び交配期間中、雌の交配前 10 週間、交配、妊娠及び授乳期間中を通じて飲水投与する試験が実施されている。

F₀及びF₁における各群の25母体から初産の雌雄の離乳児各1匹を、次世代を得るための親動物として選抜し、親動物と同濃度の飲水を加え、生後14週齢で同群内の雌雄を交配させている。70 mg/L 投与群で、F_{2a} 児数が減少したため、F_{2a} の離乳後にF₁を再交配して得られた児をF_{2b} としている。

表 21-1 用量設定

用量設定	0 (対照群)、35、70、300 mg/L
亜塩素酸イオン として換算	F ₀ (雄) : 0、3.0、5.6、20.0 mg/kg 体重/日
	F ₀ (雌) : 0、3.8、7.5、28.6 mg/kg 体重/日
	F ₁ (雄) : 0、2.9、5.9、22.7 mg/kg 体重/日
	F ₁ (雌) : 0、3.8、7.9、28.6 mg/kg 体重/日

その結果、各投与群で認められた毒性所見は表 21-2 のとおりである。

表 21-2 毒性所見

投与群		毒性所見
300 mg/L	F ₁	・脳重量の低下 (生後 11 日雄) ・赤血球指標の低下
	F ₁ 、F ₂	・生存率低下 ・出生時及び授乳期間中の体重減少 ・正向反射達成率の低下 ・性成熟の遅延
70 mg/L 以上	F ₂	・聴覚驚愕反応の低下 (F _{2b} : 生後 24 日)
	F ₀ 、F ₁ 、 F ₂	・嗜好性の低下による飲水量、摂餌量及び体重増加の減少

また、以下のような所見が認められたとされている。

- ・35 及び 70 mg/L 投与群の F₁で、赤血球指標の軽微であるが有意な変化。なお、背景データの範囲内の変化であったとされている。

なお、生殖、生殖器官の病理組織学的所見、精子数及び精子の形態に投与の影響は認められなかったとされている。

Gill らは、血液毒性に対する NOAEL を 70 mg/L、神経毒性に対する NOAEL を 300 mg/L としている。(参照 27、55)

WHO は、70 mg/L 投与群における聴覚驚愕反応の低下、F₁及びF₂における脳重量の低下、F₀及びF₁における肝重量の低下を根拠に、NOAEL を 35 mg/L (2.9 mg/kg 体重/日 (亜塩素酸イオンとして)) としている⁽¹⁵⁾。(参照 28)

EPA は、70 mg/L 投与群における聴覚驚愕反応の低下、F₀及びF₁における

¹⁵ WHO において亜塩素酸イオンとしての耐容一日摂取量 (TDI) の設定根拠とされた試験成績である。

肝重量の低下を根拠に、NOAELを35 mg/L (2.9 mg/kg 体重/日 (亜塩素酸イオンとして)) としている。(参照26)

本委員会としては、F_{2b}の70 mg/L 投与群で認められた聴覚驚愕反応の低下に基づいて、NOAELを35 mg/L (2.9 mg/kg 体重/日 (亜塩素酸イオンとして)) と評価した。

e. ラット発生毒性試験 (Couriら (1982) (EPA (2000) で引用))

SDラット (各群4~13匹) の妊娠8~15日に亜塩素酸ナトリウムを表22-1のような投与群を設定して、飲水投与する第1試験と強制経口投与する第2試験が実施されており、胎児及び新生児に対する影響を検査している。

表 22-1 用量設定

第1試験	用量設定	0 (対照群)、0.1、0.5、2%
	亜塩素酸イオンとして 換算	0、70、440、610 mg/kg 体重/日
第2試験	用量設定	200 mg/kg 体重/日

その結果、各投与群で認められた毒性所見は表22-2のとおりである。

表 22-2 毒性所見

	投与群	毒性所見
第1試験	2%	吸収胚の増加

また、第1試験において、以下のような所見が認められたとされている。

- ・0.5%以上投与群で、体重、摂餌量及び飲水量の低下
- ・0.1%以上投与群で、分娩児の頭臀長の短縮 (体重には差は認められなかった。)
- ・0.1%投与群で、飲水量の低下

さらに、第2試験においては、全ての母動物が死亡したとされている。

なお、奇形の発現頻度及び児の生後発育には投与の影響はみられなかったとされている。

Couriらは、0.1及び0.5%投与群では発生毒性はみられなかったとしている。

EPAは、影響レベルを0.1% (亜塩素酸ナトリウムとして) としている。(参照26、61)

本委員会としては、0.1%以上投与群で、分娩児の頭臀長の短縮を毒性とは判断せず、2%投与群でみられた吸収胚の増加に基づいて、NOAELを0.5% (亜

塩素酸ナトリウムとして) (440 mg/kg 体重/日 (亜塩素酸イオンとして)) と評価した。

f. ラット生殖毒性試験 (Mobley ら (1990) (EPA (2000) 及び WHO (2005) で引用))

ラット (各群雌 12 匹) に亜塩素酸ナトリウムを表 23-1 のような投与群を設定して、9 週間 (交配 10 日前～受胎後 35～42 日後) 飲水投与し、無処置雄ラットと交配させて児を得る試験が実施されている。

表 23-1 用量設定

用量設定	0 (対照群)、20、40 mg/L
亜塩素酸イオンとして換算	0、3、6 mg/kg 体重/日

その結果、各投与群で認められた毒性所見は表 23-2 のとおりである。

表 23-2 毒性所見

投与群	毒性所見
40 mg/L	一貫した探索行動の低下 (受胎後 36～39 日の児、40 日では変化は認められなかった)

WHO 及び EPA は、行動影響から、NOAEL を 20 mg/L (3 mg/kg 体重/日 (亜塩素酸イオンとして)) としている⁽¹⁶⁾。(参照 26、28、29)

g. ラット発生毒性試験 (Suh ら (1983) (TERA (1998)、EPA (2000) 及び WHO (2005) で引用))

SD ラット (各群 6～9 匹) に亜塩素酸イオンを含む蒸留水を表 24 のような投与群を設定して、交配前と妊娠期間中の 2.5 か月間投与する試験が実施されている。

表 24 用量設定

用量設定	0 (対照群)、1、10 mg/L
mg/kg 体重/日として換算	0、0.1、1 mg/kg 体重/日

その結果、投与群で異常発生率が増加したが、被験動物数が少ないため、統計学的に有意とはみなされなかったとされている。(参照 26、28、55、62)

¹⁶ EPA において亜塩素酸イオンとしての参照用量 (RfD) の設定根拠とされた試験成績である。

h. ウサギ発生毒性試験 (Harrington ら (1996) (EPA (2000) 及び WHO (2005) で引用))

ニュージーランドホワイトウサギ (各群 16 匹) に亜塩素酸ナトリウムを表 25-1 のような投与群を設定して、妊娠 7 日から 19 日まで飲水投与する試験が実施されている。

表 25-1 用量設定

用量設定	0 (対照群)、200、600、1,200 mg/L
亜塩素酸イオンとして換算	0、10、26、40 mg/kg 体重/日

その結果、各投与群で認められた毒性所見は表 25-2 のとおりである。

表 25-2 毒性所見

投与群	毒性所見
600 mg/L 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・妊娠ウサギの飲水量及び摂餌量の減少 ・胎児重量の僅かな低下及び化骨遅延胎児の僅かな増加

なお、催奇形性は認められなかったとされている。

Harrington らは、NOAEL を 200 mg/L (10 mg/kg 体重/日 (亜塩素酸イオンとして)) と推定している。(参照 26、28、63)

i. ラット発生毒性試験 (酒見ら (1999))

Wistar ラット (各群雌 20~24 匹) に亜塩素酸ナトリウムを表 26-1 のような投与群を設定して、妊娠 6~15 日の間、強制経口投与し、妊娠 20 日に胎児検査をする試験が実施されている。

表 26-1 用量設定

用量設定	0 (対照群)、25、50、100 mg/kg 体重/日
------	------------------------------

その結果、各投与群で認められた毒性所見は表 26-2 のとおりである。

表 26-2 毒性所見

投与群	毒性所見
100 mg/kg 体重/日	<ul style="list-style-type: none"> ・死亡 ・摂餌量の減少 ・貧血、鎮静、血尿

なお、胎児に対する影響は認められなかったとされている。(参照 64)

本委員会としては、本試験における、母動物の一般毒性に係る NOAEL を 50 mg/kg 体重/日、発生毒性に係る NOAEL を最高用量である 100 mg/kg 体重/日と判断した。また、ラットにおける催奇形性は認められないと判断した。

j. 参考資料

(a) マウス精子形態異常試験 (Meier ら (1985))

B6C3F₁マウス (各群雄 10 匹) に亜塩素酸ナトリウムを表 27 のような投与群を設定して、5 日間強制経口投与した後の 1、3 及び 5 週に精巢上体尾部から採取した精子頭部の形態を観察する試験が実施されている。

表 27 用量設定

用量設定	0 (対照群)、0.2、0.5、1 mg/mL
亜塩素酸イオンとして換算	0、8、20、40 mg/kg 体重/日

その結果、形態異常精子の出現率に被験物質投与の影響は認められなかったとされている。(参照 48)

k. 参考資料 (二酸化塩素)

WHO 飲料水水質ガイドラインにおける飲水投与試験のうち、亜塩素酸イオンの安全性評価に関与すると考えられるものは以下のとおりである。

なお、これらの試験結果は、非常に酸性度の強い水溶液を用いていることから、二酸化塩素でなく、酸による影響を検出している可能性がある。

このことも踏まえ、本委員会としては、これらの報告を ADI 設定において考慮すべきでないと考えたため、参考資料として記載する。

(a) ラット発生毒性試験 (Suh ら (1983) (TERA (1998) 及び WHO (2005) で引用)

SD ラット (各群雌 6~8 匹) に二酸化塩素水溶液を表 28 のような投与群を設定して、交配前と妊娠期間中の 2.5 か月間飲水投与する試験が実施されている。

表 28 用量設定

用量設定	0 (対照群)、1、10、100 mg/L
mg/kg 体重/日として換算	0、0.1、1、10 mg/kg 体重/日

その結果、以下のような所見が認められたとされている。

- ・ 100 mg/L 投与群で、着床数及び出生児数の減少

WHO は、NOAEL を 10 mg/L (1 mg/kg 体重/日) としている。(参照 28、55、62)

本委員会としては、被験動物数が少なく用量の公比が大きく設定されているため、NOAEL は判断できないと考えた。

(b) ラット発生毒性試験 (Toth (1990) (TERA (1998) 及び WHO (2005) で引用))

Long-Evans ラットに二酸化塩素水溶液を表 29 のような投与群を設定して、生後 1~20 日に強制経口投与する試験が実施されている。

表 29 用量設定

用量設定	0 (対照群)、14 mg/kg 体重/日
------	-----------------------

その結果、以下のような所見が認められている。

- ・ 体重の低値 (生後 11、21 及び 35 日)
- ・ 前脳重量及びタンパク質量の低下 (生後 21 及び 35 日)
- ・ 前脳の DNA 量の低下 (生後 11 及び 21 日)

なお、小脳、嗅球の細胞増殖には、対照群との間に有意な差は認められず、前脳、小脳、脳幹の病理組織学的変化も認められなかったとされている。

WHO は、LOAEL を 14 mg/kg 体重/日としている。(参照 28、55、65)

本委員会としては、認められた影響は、ラットの低体重に起因するものであり、毒性学的に重要な所見ではないと判断した。

⑥ その他 (細胞毒性)

a. 参考資料 (微酸性次亜塩素酸水)

(a) コロニー形成阻害試験 (添加物評価書「次亜塩素酸水」(2007) で引用)

チャイニーズハムスター培養細胞 (V79 細胞) を用いた微酸性次亜塩素酸水 (pH5.0~5.5、有効塩素濃度 50~80 mg/kg) のコロニー形成阻害試験が実施されており、次亜塩素酸水の含有率 12.5%以上で明確な細胞毒性作用が認められたとされている。また、50.0%以上ではコロニーの出現が観察されず、試験から試算した IC₅₀値は 20.0%以下であったとされている。(参照 23)

⑦ アレルゲン性

a. 参考資料（微酸性次亜塩素酸水）

(a) ウサギ抗原性試験（添加物評価書「次亜塩素酸水」（2007）で引用）

ニュージーランドホワイトウサギ（雌）を用いた微酸性次亜塩素酸水の皮膚一次刺激性試験、皮膚累積刺激性試験及び眼刺激試験が実施されており、異常は認められなかったとされている。（参照 23）

(b) モルモット抗原性試験（添加物評価書「次亜塩素酸水」（2007）で引用）

ハートレイモルモットを用いた微酸性次亜塩素酸水の感作性試験が実施されており、異常は認められなかったとされている。（参照 23）

⑧ ヒトにおける知見

a. 介入試験（Lubbers ら（1981、1982、1984a）（WHO（2005）で引用））

21～35歳の健常男性（各群 10 名）に亜塩素酸イオンを含む飲料水（1 L/日）を表 30 のような投与群を設定して用量漸増法で飲水経口摂取させる試験が実施されている。

表 30 用量設定

用量設定	0.01、0.1、0.5、1.0、1.8、2.4 mg/L
mg/kg 体重/日 として換算 ⁽¹⁷⁾	0.00014、0.0014、0.0071、0.014、0.026、0.034 mg/kg 体重/日

その結果、以下のような所見が認められたとされている。

- ・血清中の尿素窒素、クレアチニン及びその両者の比（群平均値）の変化。
Lubbers らは、臨床病理学的意義はないと結論付けている。（参照 66、67、68）

WHO は、NOAEL を 2.4 mg/L（0.034 mg/kg 体重/日⁽¹⁸⁾）とすることが可能であると判断している。（参照 28）

b. 介入試験（Lubbers ら（1981、1982、1984a）（WHO（2005）で引用））

上述（p43）の報告において、同じ被験者に、亜塩素酸ナトリウムを表 31 のような投与群を設定して、約 12 週間摂取させ、その後 8 週間観察する試験が実施されている。

表 31 用量設定

用量設定	5 mg/L（飲水中、0.5 L/日、亜塩素酸イオンとして）
------	--------------------------------

¹⁷ 体重を 70 kg として換算

¹⁸ WHO による換算

µg/kg 体重/日として換算 ⁽¹⁸⁾	36 µg/kg 体重/日
---------------------------------	---------------

その結果、以下のような所見が認められたとされている。

- ・平均赤血球ヘモグロビン量（群平均値）の変化。（Lubberらは、時間経過との関連が無く、数値は正常範囲内にあることから、臨床病理学的意義を否定している。）（参照 6 6、6 7、6 8）

WHO は、NOAEL を 5 mg/L（36 µg/kg 体重/日相当）（亜塩素酸イオンとして）としている。（参照 2 8）

c. 介入試験（Lubberら（1984b））

G6PD 欠損の健康な成人男性（3 名）に亜塩素酸ナトリウムを表 32 のような投与群を設定して、12 週間摂取させ、その後 8 週間観察する試験が実施されている。

表 32 用量設定

用量設定	5 mg/L（500 mL/日、42 µg/kg 体重/日相当 ⁽¹⁹⁾ ）
------	---

その結果、生化学的及び生理学的指標について、亜塩素酸イオンの摂取による臨床病理学的意義のある変化は認められなかったとされている。（参照 6 9）

d. 参考資料（飲料水の副生成物としての亜塩素酸イオン、塩素酸イオン）

(a) 症例対照研究（Righiら（2012）（EFSA（2015）で引用））

2002 年から 2005 年の間に、イタリアにおいて、先天性異常をもつ子供 1917 名とその母親を対象に、子供の先天性異常と飲料水に含まれる消毒剤（次亜塩素酸ナトリウム又は二酸化塩素）の副生成物（トリハロメタン、亜塩素酸イオン、塩素酸イオン）への母親のばく露量の関連を検証する症例対照研究が実施されている。妊娠初期の母親の亜塩素酸イオンへの平均ばく露量は 427±184 µg/L、塩素酸イオンへの平均ばく露量は 283±79 µg/L であったとされている。

その結果、700 µg/L を超える亜塩素酸イオンにばく露した女性では、腎臓障害（OR（調整オッズ比）：3.30；95% IC（信頼区間）：1.35～8.09）、腹壁障害（OR：6.88；95% IC：1.67～28.33）、口蓋裂（OR：4.1；95% IC：0.98～16.8）をもつ子供が生まれるリスクが高いことが示され、また、200 µg/L を超える塩素酸イオンにばく露した女性では、閉塞性尿路障害（OR：2.88；95% IC：1.09～7.63）、口蓋裂（OR：9.60；95% IC：1.04～88.9）、二分脊椎（OR：

¹⁹ 体重を 60 kg として換算

4.94 ; 95%IC: 1.10~22) をもつ子供が生まれるリスクが高いことが示された。

Righi らは、上記の異常の母体由来の原因（食事、アルコール及びコーヒーの摂取、喫煙習慣、水道水の摂取、水泳及びシャワーや入浴の習慣）は認められず、異常例数も 13~36 例（塩素酸の場合）と少数であることから、他の試験で確認する必要があるとしている。（参照 34、70）

(b) 疫学試験（Aggazzotti ら（2004）（JECFA（2008）及び EFSA（2015）で引用）

1999 年から 2000 年の間に、イタリアにおいて、症例対照研究が実施されている。総症例数 1,194 例において、343 例が早産（26~37 週）、239 例が低体重出生児、612 例が正常児であったとされている。消毒剤の副産物のばく露は、妊娠中の母親の習慣についてのアンケート、母親の自宅に供給されている水を直接サンプリングすることにより評価されている。

その結果、トリハロメタンレベルは低く（中央値 1.1 µg/L）、亜塩素酸塩及び塩素酸塩レベルは比較的高い（亜塩素酸塩：中央値 216.5 µg/L、塩素酸塩：中央値 76.5 µg/L）とされている。（参照 71）

Aggazzotti らは、消毒剤の副産物と早産の関連はないが、低体重出生児との用量相関性を示唆している。しかし、本試験結果は、統計学的に有意ではなく（信頼区間は 1.0 と低い）、吸入ばく露も含まれることから、亜塩素酸塩又は塩素酸塩の直接的ばく露の影響の証拠であるとは説明できないとしている。（参照 4、34、71）

(2) 塩素酸イオン

① 遺伝毒性

塩素酸塩に関する遺伝毒性の試験成績は、表 33 のとおりである。

表 33 塩素酸塩に関する遺伝毒性の試験成績

指標	試験種類	試験対象	被験物質	用量等	試験結果概要	参照
DNA 損傷 (<i>in vitro</i>)	コメット試験	ほ乳類培養細胞 (HepG2)	塩素酸ナトリウム	0.001、0.01、0.1、0.2 mg/L	0.001 mg/L (最低用量) で陽性	Feretti ら (2008) (参照 47)
遺伝子突然変異 (<i>in vitro</i>)	復帰突然変異試験	細菌 (<i>S. typhimurium</i> TA98、TA100、TA1537)	塩素酸ナトリウム	最高用量 10,000 µg/plate	陰性 (代謝活性化系の有無にかかわらず)	EFSA (2015) で引用 (Hossack ら (1978)) (参照 34)
		細菌 (<i>S. typhimurium</i> TA98、	塩素酸ナトリウム	最高用量 3,600 µg/plate	陽性 (TA1535、12 µmole/plate、代	Gocke ら (1981) (EFSA (2015) で

		TA100、 TA1535、 TA1537、 TA1538)			謝活性化系存 在下のみ)	引用) (参照 34、72)
		細菌 (<i>S.</i> <i>typhimurium</i> TA98、 TA100、 TA1535、 TA1537、 TA1538)	塩素酸ナト リウム	最高用量 5,000 µg/plate	陰性 (代謝活性 化系の有無に かかわらず)	EFSA (2015) で 引用 (May & Hodson-Wal ker (1989)) (参照34)
	復帰突然変 異試験 (GLP)	細菌 (<i>S.</i> <i>typhimurium</i> TA97、TA98、 TA100、 TA102、 TA104、 TA1535)	塩素酸ナト リウム	最高用量 10,000 µg/plate	陰性 (代謝活性 化系の有無に かかわらず)	NTP (2005) (参照73)
	変異原性試 験	チャイニーズ ハムスター卵 巣由来細胞	塩素酸ナト リウム	最高用量 5,000 µg/mL	陰性 (代謝活性 化系の有無に かかわらず)	ECHA (2015) (参 照74)
染色 体異 常 (<i>in</i> <i>vitro</i>)	小核試験	ほ乳類培養細 胞 (HepG2)	塩素酸ナト リウム	最高用量 0.2 mg/L	陰性 (代謝活性 化系非存在下)	Feretti ら (2008) (参照47)
染色 体異 常 (<i>in</i> <i>vivo</i>)	染色体異常 試験	マウス (CD-1、 各群雌雄各 4 匹、骨髄)	塩素酸ナト リウム	0.2、0.5、1 mg/日 単回又は 5 日間強制経 口投与	陰性	Meier ら (1985) (参照48)
	小核試験	マウス (NMRI、各群 雌雄各 2 匹、 骨髄)	塩素酸ナト リウム	2,128、 3,192、4,265 mg/kg 体重 強制経口投 与	陰性	Gocke ら (1981) (EFSA (2015) で 引用) (参照 34、72)
		マウス (CD-1、 各群雌雄各 5 匹、骨髄)	塩素酸ナト リウム	0.2、0.5、1 mg/日 5 日間強制経 口投与	陰性	Meier ら (1985) (参照48)
		マウス (CD-1、 骨髄)	塩素酸ナト リウム	200~5,000 mg/kg 体重 強制経口投 与	陰性	EFSA (2015) で 引用 (Mackay & Bootman (1989)) (参照34)
	小核試験 (GLP)	マウス (B6C3F ₁ 、末 梢血)	塩素酸ナト リウム	125~2,000 mg/L 3 週間飲水投	陰性	NTP (2005) (参照73)

				与		
--	--	--	--	---	--	--

本委員会としては、塩素酸ナトリウムは、細菌を用いた復帰突然変異試験において TA1535 で弱い陽性の結果が得られているが、GLP 準拠試験を含む他の 3 試験では陰性であることから、遺伝子突然変異誘発の懸念はないと考えた。また、コメント試験の陽性結果については、Feretti らは DNA-DNA クロスリンクの生成を示唆するものと考えているが、本委員会としては、塩素酸イオンもしくは塩素酸ナトリウムによる DNA-DNA クロスリンクの生成は考えにくく、また、用量依存性がないことから、遺伝子突然変異がないことと矛盾すると考えた。さらに、同じ系 (HepG2) で実施された *in vitro* 小核試験でも陰性の結果が得られている。したがって、塩素酸ナトリウムの *in vitro* での遺伝毒性はないと考えた。

一方、*in vivo* のマウスを用いた染色体異常試験及び小核試験でも陰性の結果が得られている。

以上より、本委員会としては、塩素酸イオンについては、生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないと考えた。

② 急性毒性

塩素酸ナトリウムを被験物質とした急性毒性に関する試験成績は、表 34 のとおりである。

表 34 塩素酸ナトリウムの経口投与試験における LD₅₀

動物種	LD ₅₀ (mg/kg 体重)	参照
ラット	7,000~8,000	4 5 (Smith (2012) で引用 (Frank (1948)))
ラット	雄 4,950 雌 6,250	3 4 (EFSA (2015) で引用 (Damske & Meckler (1981)))
ラット	雌雄 >5,000	3 4 (EFSA (2015) で引用 (Shapiro (1991)))

③ 反復投与毒性

a. 亜急性毒性

(a) マウス 21 日間経口投与試験 (NTP (2005) 及び EFSA (2015) で引用 (Hooth ら (2001)))

B6C3F₁ マウス (各群雌雄各 10 匹) に塩素酸ナトリウムを表 35 のような投与群を設定して、21 日間飲水投与する試験が実施されている。

表 35 用量設定

用量設定	0 (対照群)、125、250、500、1,000、2,000 mg/L
mg/kg 体重/日	雄：0、20、45、90、175、350 mg/kg 体重/日
として換算	雌：0、20、45、95、190、365 mg/kg 体重/日

塩素酸イオンとして換算 ⁽²⁰⁾	雄：0、16、35、70、137、273 mg/kg 体重/日 雌：0、16、35、74、148、285 mg/kg 体重/日
-----------------------------	--

その結果、平均体重及び摂水量に変化はなく、臨床学的所見にも投与に関連した影響は認められなかったとしている。(参照 3 4、7 3、7 5)

また、平均赤血球ヘモグロビン濃度 (MCHC) の僅かな減少が雌雄で認められたが、溶血がないことから投与に関係していないとしている。

EFSA (2015) は、本試験の NOAEL を最高用量である 2,000 mg/L (雄：350 mg/kg 体重/日、雌：365 mg/kg 体重/日) としている。(参照 3 4)

本委員会としても、本試験の NOAEL を最高用量である 2,000 mg/L (雄：273 mg/kg 体重/日 (塩素酸イオンとして)、雌：285 mg/kg 体重/日 (塩素酸イオンとして)) と判断した。

- (b) マウス 105 日間経口投与試験 (EFSA (2015) で引用 (Hooth ら (2001)))
B6C3F₁ マウス (各群雌 6 匹) に塩素酸ナトリウムを表 36 のような投与群を設定して、105 日間飲水投与する試験が実施されている。

表 36 用量設定

用量設定	0 (対照群)、0.5、1.0、2.0、4.0、6.0 g/L
塩素酸イオンとして換算 ⁽²⁰⁾	0、50、100、200、400、600 mg/kg 体重/日

その結果、甲状腺において投与に関連した毒性所見は、観察されなかった。(参照 7 5)

EFSA (2015) は、甲状腺に組織学的な影響は認められなかったが、詳細は報告されていないとしている。(参照 3 4)

本委員会としては、甲状腺に毒性所見がないことを除き、詳細が不明であるため、本試験における NOAEL を判断できないと考えた。

- (c) ラット 90 日間経口投与試験 (WHO (2005)、JECFA (2008) 及び EFSA (2015) で引用 (Barrett (1987a) (原著論文未確認)))

SD ラット (各群雌雄各 15 匹) に塩素酸ナトリウムを表 37-1 のような投与群を設定して、3 か月間強制経口投与する試験が実施されている。

表 37-1 用量設定

用量設定	0 (対照群)、10、100、1,000 mg/kg 体重/日
------	---------------------------------

²⁰ EFSA による換算

塩素酸イオンとして換算 ⁽²¹⁾	0、8、79、788 mg/kg 体重/日
-----------------------------	-----------------------

その結果、各投与群で認められた毒性所見は表 37-2 のとおりである。

表 37-2 毒性所見

投与群	毒性所見
1,000 mg/kg 体重/日	<ul style="list-style-type: none"> ・赤血球数、ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の低下（貧血、ただし統計学的有意差は雌のみ） ・副腎の絶対・相対重量減少

なお、死亡率、肉眼的所見、行動、体重、摂餌量、臨床化学的所見、解剖学的所見、病理組織学的所見において、投与に関連した影響はなかったとしている。（参照 4、28）

JECFA(2008)は、本試験における NOEL を 100 mg/kg 体重/日 (79 mg/kg 体重/日 (塩素酸イオンとして)) と判断している。また、WHO (2005) 及び EFSA(2015)は、本試験における NOAEL を 100 mg/kg 体重/日 (79 mg/kg 体重/日 (塩素酸イオンとして)) と判断している。（参照 4、28、34）

本委員会としても、本試験の NOAEL を雌雄ともに 100 mg/kg 体重/日 (79 mg/kg 体重/日 (塩素酸イオンとして)) と判断した。

(d) ラット 90 日間経口投与試験 (McCauley ら (1995) (WHO (2005)、JECFA (2008) 及び EFSA (2015) で引用)

SD ラット (各群雌雄各 10 匹) に塩素酸ナトリウムを表 38-1 のような投与群を設定して、90 日間飲水投与する試験が実施されている。

表 38-1 用量設定

用量設定	0 (対照群)、3、12、48 mmol/L
mg /kg 体重/日として換算 (塩素酸イオンとして) ⁽²⁰⁾	雄：0、30、100、510 mg/kg 体重/日 雌：0、41、158、797 mg/kg 体重/日

その結果、各投与群で認められた毒性所見は表 38-2 のとおりである。

²¹ JECFA による換算

表 38-2 毒性所見

投与群	毒性所見	
	雄	雌
48 mmol/L	<ul style="list-style-type: none"> ・最終体重の減少 ・相対重量の減少（心臓、腎臓及び肝臓） ・相対重量の増加（脳及び精巣） ・赤血球数、白血球数及びヘマトクリット値の減少 ・血清コレステロール増加 ・脳下垂体前葉クロム親和性細胞及び好酸性細胞の細胞質空胞化の重篤度の増加 	<ul style="list-style-type: none"> ・最終体重の減少 ・相対重量の減少（副腎、胸腺及び脾臓） ・相対重量の増加（脳） ・脳下垂体前葉クロム親和性細胞及び好酸性細胞の細胞質空胞化の頻度及び重篤度の増加
12 mmol/L 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・甲状腺の病理組織学的変化（コロイドの減少、小型でコロイドを持たない腺管の増加）の頻度及び重篤度の増加 	<ul style="list-style-type: none"> ・甲状腺の病理組織学的変化（コロイドの減少、小型でコロイドを持たない腺管の増加）の頻度及び重篤度の増加

なお、以下のような臨床化学的所見が認められたとされているが、McCauley らは、雄の血清コレステロール増加も含めて、正常値の範囲内であることから、塩素酸塩に由来する所見であるか疑わしいとしている。

- ・48 mmol/L 投与群の雄で、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）、アラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）及び無機リンの血中濃度の減少
- ・12 mmol/L 以上投与群の雄で、カルシウム及びクレアチニンの血中濃度の減少
- ・3.0 mmol/L 投与群の雌で、尿素窒素の血中濃度の減少

McCauley らは、本試験の NOAEL を、雄で 30 mg/kg 体重/日（塩素酸イオンとして）、雌で 41 mg/kg 体重/日（塩素酸イオンとして）⁽²²⁾としている。（参照 3 4、7 6）

WHO (2005) 及び JECFA (2008) は、本試験の NOAEL を 30 mg/kg 体重/日（塩素酸イオンとして）と判断している。（参照 4、2 8）

²² 原著では、本試験の NOAEL を、雄で 0.36 mM/kg 体重/日、雌で 0.50 mM/kg 体重/日としているが、本評価書では、EFSA (2015) による換算値を用いて記載した。

本委員会としても、本試験のNOAELを3 mmol/L（雄：30 mg/kg 体重/日（塩素酸イオンとして）、雌：41 mg/kg 体重/日（塩素酸イオンとして））と判断した。

(e) ラット 21 日間経口投与試験 (Hooth ら (2001) (NTP (2005) 及び EFSA (2015) で引用))

F344/N ラット (各群雌雄各 10 匹) に塩素酸ナトリウムを表 39-1 のような投与群を設定して、21 日間飲水投与する試験が実施されている。

表 39-1 用量設定

用量設定	0 (対照群)、125、250、500、1,000、2,000 mg/L
mg/kg 体重/日として換算	雄：0、20、35、75、170、300 mg/kg 体重/日 雌：0、20、40、75、150、340 mg/kg 体重/日
塩素酸イオンとして換算 ⁽²⁰⁾	雄：0、16、27、59、133、234 mg/kg 体重/日 雌：0、16、31、59、117、265 mg/kg 体重/日

その結果、各投与群で認められた毒性所見は表 39-2 のとおりである。

表 39-2 毒性所見

投与群	毒性所見
2,000 mg/L	心臓重量の減少 (雄)
1,000 mg/L 以上	甲状腺の病理組織学的変化 (コロイド枯渇・濾胞上皮過形成) の頻度及び重篤度の増加 (雌)
500 mg/L 以上	甲状腺の病理組織学的変化 (コロイド枯渇・肥大・濾胞上皮過形成) の頻度及び重篤度の増加 (雄)
250 mg/L 以上	甲状腺肥大頻度の増加 (雌)
125 mg/L 以上	用量依存的な分葉核好中球数の減少 (2,000 mg/L 投与群での減少率は、雄で 64% 及び雌で 51%)

また、以下のような所見が認められたとされている。

- ・2,000 mg/L 投与群の雄で、赤血球数、ヘマトクリット値及びヘモグロビン濃度の僅かな減少

平均体重及び摂水量に変化はなかったとされている。

また、分葉核好中球数の減少の原因については、明らかでないとしながらも、循環好中球プールから辺縁好中球プールに再分配されたことを意味する可能性があると考えしている。(参照 7 3、7 5)

なお、EFSA (2015) は、以下の所見を追加している。

- ・1,000 mg/L 投与群以上の雌で、ヘモグロビン濃度の減少

EFSA (2015) は、本試験における NOAEL を雄で 35 mg/kg 体重/日 (27 mg/kg 体重/日 (塩素酸イオンとして))、雌で 40 mg/kg 体重/日 (31 mg/kg 体重/日 (塩素酸イオンとして)) としている。(参照 3 4)

本委員会としては、本試験における LOAEL を雌雄ともに 125 mg/L (16 mg/kg 体重/日 (塩素酸イオンとして)) と判断した。

(f) ラット 4、21、90 日間経口投与試験 (Hooth ら (2001) (EFSA (2015) で引用))

F344 ラット (各群雌雄各 10 匹) に塩素酸ナトリウムを表 40-1 のような投与群を設定して、4、21 及び 90 日間飲水投与する試験が実施されている。

表 40-1 用量設定

用量設定	0 (対照群)、0.125、1.0、2.0 g/L
塩素酸イオンとして換算 ⁽²⁰⁾	雄：0、16、133、234 mg/kg 体重/日 雌：0、16、117、265 mg/kg 体重/日

その結果、各投与群で認められた毒性所見は表 40-2 のとおりである。(参照 7 5)

表 40-2 毒性所見

投与群	毒性所見
2.0 g/L	・T ₃ 量及びT ₄ 量の減少 (雌雄：21 日) ・TSH 量の増加 (雄：90 日、雌：21 日及び 90 日)
1.0 g/L 以上	・T ₃ 量及びT ₄ 量の減少 (雌雄：4 日) ・TSH 量の増加 (雄：4 日及び 21 日、雌：4 日) ・甲状腺の病理組織学的変化 (コロイドの枯渇、濾胞上皮過形成) (雌雄：21 日)

EFSA (2015) は、本試験における NOAEL を 16 mg/kg 体重/日 (塩素酸イオンとして) としている。(参照 3 4)

本委員会としては、本試験における NOAEL を雌雄ともに 0.125 g/L (16 mg/kg 体重/日 (塩素酸イオンとして)) と判断した。

(g) ラット 90 日間経口投与試験 (Hooth ら (2001) (EFSA (2015) で引用))
F344 ラット (各群雄 10 匹) に塩素酸ナトリウムを表 41-1 のような投与

群を設定して、90日間飲水投与する試験が実施されている。

表 41-1 用量設定

用量設定	0 (対照群)、1、10、100、1,000、2,000 mg/L
塩素酸イオンとして換算 ⁽²⁰⁾	0、0.07、0.7、7、70、140 mg/kg 体重/日

その結果、各投与群で認められた毒性所見は表 41-2 のとおりである。

表 41-2 毒性所見

投与群	毒性所見
1,000 mg/L 以上	甲状腺濾胞上皮過形成の増加
1 mg/L 以上	甲状腺の病理組織学的変化（コロイドの枯渇、肥大 ⁽²³⁾ ）の頻度の増加

Hooth らは、甲状腺におけるコロイドの枯渇の頻度は、1 mg/L 以上投与群の雌雄で同等であったとしている。肥大の頻度については、用量依存的でないとしている。（参照 7 5）

EFSA (2015) は、甲状腺濾胞細胞の過形成の発生と重症度は、投与量に依存しており、1,000 mg/L 以上で有意に増加しているとしている。（参照 3 4）

本委員会としては、本試験における LOAEL を雄で 1 mg/L (0.07 mg/kg 体重/日（塩素酸イオンとして））と判断した。

- (h) ラット 105 日間経口投与試験 (Hooth ら (2001) (EFSA (2015) で引用))
F344 ラット (各群雌 6 匹) に塩素酸ナトリウムを表 42-1 のような投与群を設定して、105 日間飲水投与する試験が実施されている。

表 42-1 用量設定

用量設定	0 (対照群)、500、1,000、2,000、4,000、6,000 mg/L
塩素酸イオンとして換算 ⁽²⁰⁾	0、35、70、140、281、421 mg/kg 体重/日

その結果、各投与群で認められた毒性所見は表 42-2 のとおりである。

²³ 1,000 mg/L においては統計学的有意差が認められていない。

表 42-2 毒性所見

投与群	毒性所見
6,000 mg/L	甲状腺肥大の頻度及び重篤度の増加
2,000 mg/L 以上	甲状腺の病理組織学的変化（コロイドの枯渇、濾胞上皮過形成）の頻度及び重篤度の増加

(参照 34、75)

本委員会としては、本試験における NOAEL を雌で 1,000 mg/L (70 mg/kg 体重/日 (塩素酸イオンとして)) と判断した。

(i) イヌ 90 日間経口投与試験 (WHO (2005)、JECFA (2008) 及び EFSA (2015) で引用 (Barrett (1987b) (原著論文未確認))

ビーグル犬 (各群雌雄各 4 匹) に塩素酸ナトリウムを表 43 のような投与群を設定して、90 日間強制経口投与する試験が実施されている。

表 43 用量設定

用量設定	0 (対照群)、10、60、360 mg/kg 体重/日
塩素酸イオンとして換算	0、8、47、284 mg/kg 体重/日

その結果、以下のような所見が認められたとされている。

- ・ 60 mg/kg 体重/日以上投与群 (第 6 週) 及び 10 mg/kg 体重/日以上投与群の雌において、メトヘモグロビン血症。なお、試験実施者によれば、これらの所見は、正常範囲であり、投与に関連する影響ではないとされている。

体重、摂餌量、臨床化学的所見、臓器重量、肉眼所見、解剖学的所見、病理組織学的所見に投与に関連した影響はなかったとされている。

WHO (2005)、JECFA (2008) 及び EFSA (2015) は、本試験における NOAEL を、360 mg/kg 体重/日 (282 mg/kg 体重/日 (塩素酸イオンとして)) と判断している。(参照 4、28、34)

本委員会としては、メトヘモグロビン血症に関する詳細が不明であるため、本試験における NOAEL を判断できないと考えた。

(j) サル 30~60 日間経口投与試験 (Bercz ら (1982) (JECFA (2008) 及び EFSA (2015) で引用))

アフリカミドリザル (雄 5 匹及び雌 7 匹) に用量漸増法で塩素酸ナトリウムを表 44-1 のような投与群を設定して、投与期間に 6~9 週間の休薬期間を

設けて 30～60 日間飲水投与する試験が実施されている。

表 44-1 用量設定

用量設定	0 (対照群)、25、50、100、200、400 mg/L
mg/kg 体重/日 として換算 ⁽²⁴⁾	0、3、6、12、23、46 (54.2±38) mg/kg 体重/日
塩素酸イオンと して換算 ⁽²⁰⁾	0、2.3、4.7、9.4、18、36 mg/kg 体重/日

その結果、各投与群で認められた毒性所見は表 44-2 のとおりである。

表 44-2 毒性所見

投与群	毒性所見
25 mg/L 以上	赤血球数、赤血球指数及びヘモグロビン量の減少 (ただし、安定した変化ではない)

なお、亜塩素酸塩の投与途中にみられたヘモグロビン及び赤血球の合成についてのリバウンド効果は、塩素酸ナトリウム投与の場合、明らかでなかったとされている。

EFSA (2015) は、本試験は、実験手法に不備があるため、用量を正確に判断することは難しいとしている。(参照 4、34、57)

本委員会としては、当該試験は同一個体を用いた用量漸増法による試験であり、NOAEL を判断できないと考えた。

(k) 亜急性毒性のまとめ

本委員会としては、塩素酸塩を被験物質とした亜急性毒性試験における重要なエンドポイントは、甲状腺毒性であると考えた。

ラット 90 日間経口投与試験 (Hooth ら (2001))、ラット 4、21、90 日間経口投与試験 (Hooth ら (2001)) 及びラット 105 日間経口投与試験 (Hooth ら (2001)) の知見を総合的に判断すると、本委員会としては、少なくともラット 90 日間経口投与試験 (Hooth ら (2001)) の 100 mg/L (7 mg/kg 体重/日 (塩素酸イオンとして)) 以下投与群で認められた、コロイドの枯渇及び肥大の頻度の増加は、甲状腺ホルモンの増加を伴うものではなく、一過性の変化であると考えられることから、同試験の 1,000 mg/L (70 mg/kg 体重/日 (塩素酸イオンとして)) 以上投与群で認められた同所見とは質的に異なるものであり、恒常性・進展性のない変化であると考えた。

したがって、本委員会としては、ラット 90 日間経口投与試験 (Hooth ら

²⁴ JECFA (2008) により、飲水量 580 mL/日、平均体重 5 kg として換算された。

(2001)) において 100 mg/L (7 mg/kg 体重/日 (塩素酸イオンとして)) 以下投与群で認められた所見を、食品健康影響評価に用いるのは適当でないと判断した。

b. 慢性毒性

(a) マウス 2 年間慢性毒性/発がん性試験 (NTP (2005)、JECFA (2008) 及び EFSA (2015) で引用)

B6C3F₁ マウス (各群雌雄各 50 匹) に塩素酸ナトリウムを表 45-1 のような投与群を設定して、2 年間飲水投与する試験が実施されている。

表 45-1 用量設定

用量設定	0 (対照群)、500、1,000、2,000 mg/L
mg/kg 体重/日 として換算	雄：0、40、80、160 mg/kg 体重/日 雌：0、30、60、120 mg/kg 体重/日
塩素酸イオンと して換算 ⁽²⁰⁾	雄：0、31、62、125 mg/kg 体重/日 雌：0、23、47、94 mg/kg 体重/日

その結果、各投与群で認められた毒性所見は表 45-2 のとおりである。

表 45-2 毒性所見

投与群	毒性所見
2,000 mg/L	<ul style="list-style-type: none"> ・ 軽微な甲状腺濾胞細胞肥大の増加 (雌) ・ 卵巣の顆粒膜細胞過形成の増加 (雌)
500 mg/L 以上	骨髄の過形成の増加 (雌)

なお、生存率及び飲水量は対照群と変わらず、投与 84 週以後の 500 mg/L 又は 1,000 mg/L 投与群及び投与 88 週以後の 2,000 mg/L 投与群の雌では、対照群より体重が低かったとしている。

試験実施者によれば、1,000 mg/L 投与群の雌では、甲状腺の嚢胞状変性が有意に増加していたが、加齢性病変であって投与に関連した変化でなかったとしている。

EFSA (2015) は、本試験の最低用量投与群の雌で認められた体重増加の抑制及び脾臓ランゲルハンス島細胞の腺腫発生の増加の結果では、NOAEL を設定できず、LOAEL を 30mg/kg 体重 (23 mg/kg 体重 (塩素酸イオンとして)) と判断している。(参照 4、34、73)

本委員会としては、本試験について、雄で NOAEL を最高用量である 2,000 mg/L (125 mg/kg 体重/日 (塩素酸イオンとして))、雌で LOAEL を 500 mg/L (23 mg/kg 体重/日 (塩素酸イオンとして)) と判断した。

(b) ラット 2 年間慢性毒性／発がん性試験 (NTP (2005)、JECFA (2008) 及び EFSA (2015) で引用、GLP)

F344/N ラット (各群雌雄各 50 匹) に塩素酸ナトリウムを表 46-1 のような投与群を設定して、2 年間飲水投与する試験が実施されている。

表 46-1 用量設定

用量設定	0 (対照群)、125、1,000、2,000 mg/L
mg/kg 体重/日 として換算 ⁽²⁰⁾	雄：0、5、35、75 mg/kg 体重/日 雌：0、5、45、95 mg/kg 体重/日
塩素酸イオンと して換算 ⁽²⁰⁾	雄：0、4、27、59 mg/kg 体重/日 雌：0、4、35、74 mg/kg 体重/日

その結果、各投与群で認められた毒性所見は表 46-2 のとおりである。

表 46-2 毒性所見

投与群	毒性所見	
	雄	雌
2,000 mg/L	脾臓の造血細胞の増加	甲状腺濾胞上皮石灰化の増加
1,000 mg/L 以上	骨髄の過形成の増加	甲状腺濾胞上皮の肥大及び石灰化の増加
125 mg/L 以上	甲状腺濾胞上皮肥大の増加	

なお、生存率、平均体重及び飲水量は対照群と変わらなかったとしている。

EFSA (2015) は、雌における甲状腺濾胞細胞に限局した石灰化の重症度は、2,000 mg/L で増加していたが、これが一般的な加齢変化であるものの、塩素酸ナトリウムのばく露で発生が増加した可能性があるとしている。

EFSA (2015) は、雄の最低投与量での甲状腺濾胞細胞の肥大の増加の結果からでは NOAEL は設定できず、LOAEL を 5 mg/kg 体重/日 (4 mg/kg 体重/日 (塩素酸イオンとして)) と判断している。

JECFA (2008) は、本試験から NOAEL を得られなかったことから、雄における甲状腺濾胞細胞の肥大の増加を根拠にベンチマークドース (BMD) アプローチを適用し、BMDL₁₀ を 1.1 mg/kg 体重/日 (塩素酸イオンとして) としている。(参照 4、34、73)

本委員会としては、本試験について、雄で LOAEL を 125 mg/L (4 mg/kg 体重/日 (塩素酸イオンとして))、雌で NOAEL を 125 mg/L (4 mg/kg 体重/日 (塩素酸イオンとして)) と判断した。

④ 発がん性

a. マウス 2 年間慢性毒性／発がん性試験 (NTP (2005)、JECFA (2008) 及び EFSA (2015) で引用) (再掲)

上述 (p56) の試験の結果、500 mg/L 以上投与群の雌で、膵島の腺腫及び癌合算での増加傾向 (500 mg/L : 4%、1,000 mg/L : 4%、2,000 mg/L : 8%) が認められ、特に 2,000 mg/L 投与群では背景値 (0%~4%) を超えたとされているが、統計学的有意差はないとされている。

なお、試験実施者によれば、雄では、本試験の投与量で発がん性は認められないとしている。また、雌では、500 mg/L 又は 1,000 mg/L 投与群で肝細胞癌の発生頻度が有意に高く、2,000 mg/L 投与群でも統計学的に有意でないが増加していたが、用量相関性がないこと及び肝細胞腺腫と合算すると発生頻度の増加がないことより、投与に関連した変化ではないとしている。

EFSA (2015) は、雌において、膵島の腫瘍が僅かに増加しているが、発がん性が明確でないとしている。(参照 4、34、73)

本委員会としては、本試験において認められた膵島の腺腫及び癌合算での増加傾向について、発がん性があるとは判断できないと考えた。

b. ラット 2 年間慢性毒性／発がん性試験 (NTP (2005)、JECFA (2008) 及び EFSA (2015) で引用、GLP) (再掲)

上述 (p57) の試験の結果、2,000 mg/L 投与群の雄で、甲状腺濾胞細胞癌の増加傾向 (9%) が、2,000 mg/L 投与群の雌で、甲状腺濾胞細胞腺腫及び癌合算での増加傾向 (9%) が認められ、それぞれの背景値 (雄 : 0%~2%、雌 : 2%~4%) を超えたとされているが、統計学的有意差はないとされている。

なお、2,000 mg/L 投与群の雄で単核球性白血病が増加したが、試験実施者は、その頻度が全投与群で背景値の範囲であるとともに、対照群の頻度が背景値の下限及び投与群の頻度の平均値に近似することより、この病変の増加が塩素酸ナトリウムの投与に関係したものでないと結論付けている。(参照 73)

EFSA (2015) は、雌雄ともに、甲状腺の腫瘍が増加していることから、発がん性を示す可能性があるとしている。(参照 4、34)

本委員会としては、本試験において認められた甲状腺濾胞細胞腺腫及び癌の増加傾向については、2,000 mg/L 投与群で背景値を超えたとされているものの、統計学的有意差はないとされていることから、発がん性があるとは判断できないと考えた。

c. 参考資料

(a) ラット 27 週間二段階発がん性試験 (JECFA (2008) 及び EFSA (2015))

で引用 (Kurokawa ら (1985)))

F344 ラット (各群雄 15 匹) に *N*-エチル-*N*-ヒドロキシエチル-ニトロサミン (EHEN) (500 mg/L) 又は蒸留水をイニシエーション処理期の 2 週間に、3 回/週投与した後、塩素酸ナトリウム又は塩素酸カリウムを表 47 のような投与群を設定して、25 週間飲水投与する試験が実施されている。

表 47 用量設定

用量設定	EHEN イニシエーション処理 (+) 0 g/L (対照群: 蒸留水)、10 g/L (塩素酸ナトリウム)、 10 g/L (塩素酸カリウム)
	EHEN イニシエーション処理 (-) (蒸留水) 0 g/L、10 g/L (塩素酸ナトリウム)、10 g/L (塩素酸カリウム)
mg/kg 体重/日 として換算 ⁽¹⁹⁾	EHEN イニシエーション処理 (+) 0、686 (塩素酸ナトリウム)、675 (塩素酸カリウム) mg/kg 体重/日
	EHEN イニシエーション処理 (-) (蒸留水) 0、654 (塩素酸ナトリウム)、667 (塩素酸カリウム) mg/kg 体重/日
塩素酸イオンと して換算 ⁽²⁰⁾	EHEN イニシエーション処理 (+) 0、535 (塩素酸ナトリウム)、510 (塩素酸カリウム) mg/kg 体重/日
	EHEN イニシエーション処理 (-) (蒸留水) 0、459 (塩素酸ナトリウム)、460 (塩素酸カリウム) mg/kg 体重/日

その結果、EHEN イニシエーション処理をした群でもしない群でも、塩素酸ナトリウムの投与により、腫瘍を含む腎増殖性病変の発生が増強されなかったとされている。

EFSA (2015) によれば、塩素酸ナトリウムに腎臓がんに対するプロモーション作用はないとされている。(参照 4、34)

⑤ 生殖発生毒性

a. ラット発生毒性試験 (WHO (2005)、NTP (2005) 及び JECFA (2008) で引用 (Bio/dynamics Inc. (1987b) (原著論文未確認)))

CD ラット (雌、匹数不明) に塩素酸ナトリウムを表 48 のような投与群を設定して、妊娠 6~15 日の間、強制経口投与し、妊娠 20 日に剖検する試験が実施されている。

表 48 用量設定

用量設定	0 (対照群)、10、100、1,000 mg/kg 体重/日
------	---------------------------------

その結果、母動物の体重・体重増加量、摂餌量、臨床所見、子宮内着床数及び剖検所見に、投与に関連した影響はなかったとしている。

また、胎児の体重と性比に影響はなく、外表、内臓及び骨格の検査で被験物質投与に関連する影響は認められなかったとしている。

試験実施者は、本試験条件下における生殖発生毒性の NOAEL を、1,000 mg/kg 体重/日と判断している。(参照 28、73)

JECFA (2008) は、本試験の NOAEL を最高用量である 1,000 mg/kg 体重/日としている。(参照 4)

本委員会としても、本試験における、母動物の一般毒性及び発生毒性に係る NOAEL を最高用量である 1,000 mg/kg 体重/日と判断した。また、ラットにおける催奇形性は認められないと判断した。

b. ラット発生毒性試験 (EU DAR (2008) 及び EFSA (2015) で引用 (Schroeder (1987b) (未公表))、GLP)

SD ラット (各群雌 24 匹、9 週齢) に塩素酸ナトリウムを表 49 のような投与群を設定して、妊娠 6~15 日の間、強制経口投与し、妊娠 20 日に胎児検査をする試験が実施されている。

表 49 用量設定

用量設定	0 (対照群)、10、100、1,000 mg/kg 体重/日
塩素酸イオンとして換算 ⁽²⁰⁾	0、8、78、780 mg/kg 体重/日

その結果、被験物質投与による母動物及び胎児に対する毒性は認められなかったとしている。

EU 評価報告書素案 (Draft Assessment Report ; DAR) (2008) 及び EFSA (2015) は、本試験の NOAEL を最高用量である 1,000 mg/kg 体重/日 (780 mg/kg 体重/日 (塩素酸イオンとして)) としている。また、EU DAR (2008) は、ラットにおける催奇形性は認められないとしている。(参照 34、77)

本委員会としては、本試験における、母動物の一般毒性及び発生毒性に係る NOAEL を最高用量である 1,000 mg/kg 体重/日と判断した。また、ラットにおける催奇形性は認められないと判断した。

c. ラット一世代生殖毒性試験 (EU DAR (2008) 及び EFSA (2015) で引用 (Gaoua (2004a) (未公表)))

SD ラット (各群雌雄各 6 匹、6 週齢) に塩素酸ナトリウムを表 50-1 のよう

な投与群を設定して、交配前 10 週間から離乳又は交尾後 25 日まで（雄については交配期間終了まで）強制経口投与し、投与終了時に剖検する試験が実施されている。

表 50-1 用量設定

用量設定	0 (対照群)、40、200、1,000 mg/kg 体重/日
塩素酸イオンとして換算 ⁽²⁰⁾	0、31、156、780 mg/kg 体重/日

その結果、各投与群で認められた毒性所見は、表 50-2 のとおりである。

表 50-2 毒性所見

投与群	毒性所見
1,000 mg/kg 体重/日	<ul style="list-style-type: none"> ・甲状腺濾胞上皮細胞の過形成（親動物：雌） ・下垂体前葉細胞の空胞化（親動物：雌雄） ・低体重、体重増加の抑制（児動物）
200 mg/kg 体重/日以上	甲状腺濾胞上皮細胞の過形成（親動物：雄）

なお、親動物について、死亡、臨床所見及び摂餌量に、投与に関連した影響はなかったとされている。

EU DAR (2008) 及び EFSA (2015) は、生殖毒性に係る NOAEL を 1,000 mg/kg 体重/日 (780 mg/kg 体重/日 (塩素酸イオンとして)) とし、親動物の一般毒性に係る NOAEL を雄で 40 mg/kg 体重/日、雌で 200 mg/kg 体重/日と判断している。また、児動物に対する毒性に係る NOAEL を 200 mg/kg 体重/日と判断している。(参照 3 4、7 7)

本委員会としては、本試験における親動物の一般毒性に係る NOAEL は 40 mg/kg 体重/日、生殖毒性に係る NOAEL は 1,000 mg/kg 体重/日、児動物に対する毒性に係る NOAEL は 200 mg/kg 体重/日と判断した。

d. ラット二世世代生殖毒性試験 (EU DAR (2008) 及び EFSA (2015) で引用 (Gaoua (2004b) (未公表)), GLP)

SD ラット (各群雌雄各 25 匹、6 週齢) に塩素酸ナトリウムを表 51-1 のような投与群を設定して、F₀ 及び F₁ 動物について、交配前 10 週間からそれぞれ F₁ 及び F₂ 動物の離乳まで強制経口投与し、投与終了時に剖検する試験が実施されている。なお、F₁ ラットでは血液学的検査は実施されていない。

表 51-1 用量設定

用量設定	0 (対照群)、10、70、500 mg/kg 体重/日
塩素酸イオンとして換算 ⁽²⁰⁾	0、8、55、390 mg/kg 体重/日

その結果、各投与群で認められた毒性所見は、表 51-2 のとおりである。

表 51-2 毒性所見

投与群		毒性所見
500 mg/kg 体重/日	F ₀	<ul style="list-style-type: none"> ・脾臓相対重量の増加 (雄) ・甲状腺濾胞上皮細胞の過形成 (雌雄) ・甲状腺濾胞上皮細胞の機能亢進 (雌) ・赤血球数及びヘモグロビン量の減少 (雄) ・平均赤血球ヘモグロビン濃度の減少 (雌雄)
	F ₁	<ul style="list-style-type: none"> ・脾臓相対重量の増加 (親動物：雄) ・甲状腺濾胞上皮細胞の過形成 (親動物：雌雄) ・甲状腺濾胞上皮細胞の機能亢進 (親動物：雌)
70 mg/kg 体重/日以上	F ₀	<ul style="list-style-type: none"> ・脾臓相対重量の増加 (雄) ・甲状腺濾胞上皮細胞の機能亢進 (雄) ・赤血球数及びヘモグロビン量の減少 (雌)
	F ₁	<ul style="list-style-type: none"> ・甲状腺濾胞上皮細胞の機能亢進 (親動物：雄)

なお、以下のような所見も認められている。

- ・ 500 mg/kg 体重/日投与群で、原始卵胞数の増加 (F₀雌)、発育卵胞数の減少 (F₀雌) 及び下垂体細胞の空胞化 (F₀雄及び F₁雄)

また、F₀雄及び F₁雄で認められた脾臓重量の増加は、損傷した赤血球が脾臓で除去される時に見られる現象と推測されている。

さらに、F₀雌で認められた卵胞数の変化は、個体変動の範囲内とされ、F₀雄及び F₁雄で認められた下垂体細胞の空胞化は被験物質の投与とは関連していないとされている。

なお、離乳時までの児動物には、被験物質の投与に関連した影響は認められなかったとされている。

EU DAR (2008) は、本試験の親動物の一般毒性に係る NOAEL を雌雄とも 70 mg/kg 体重/日とし、生殖毒性及び児動物に対する毒性に係る NOAEL を雌雄とも 500 mg/kg 体重/日としている。(参照 7 7)

EFSA(2015)は、本試験の親動物の一般毒性に係る NOAEL を雄で 10 mg/kg 体重/日、雌で 70 mg/kg 体重/日とし、生殖毒性及び児動物に対する毒性に係る

NOAELを雌雄とも500 mg/kg 体重/日としている。(参照34)

本委員会としては、本試験における親動物の一般毒性に係るNOAELを10 mg/kg 体重/日、生殖毒性に係るNOAELを500 mg/kg 体重/日、児動物に対する毒性に係るNOAELを500 mg/kg 体重/日と判断した。

e. ウサギ発生毒性試験 (EU DAR (2008)、NTP (2005) 及びEFSA (2015) で引用 (Georgeら (2002)))

ニュージーランドホワイトウサギ (各群雌24匹) に塩素酸ナトリウムを表52-1のような投与群を設定して、妊娠6日から29日の間、強制経口投与し、妊娠30日に胎児検査をする試験が実施されている。

表 52-1 用量設定

用量設定	0、100、250、475 mg/kg 体重/日
塩素酸イオンとして換算 ⁽²⁰⁾	0、78、195、371 mg/kg 体重/日

その結果、各投与群で認められた毒性所見は、表52-2のとおりである。

表 52-2 毒性所見

投与群	毒性所見
250 mg/kg 体重/日以上	・ 橙色/暗橙色の尿あるいは褐色/濃褐色の尿：頻度の増加 (母動物) ・ 無尿/乏尿：頻度の増加 (母動物)

また、投与期間中に各投与群で妊娠雌ウサギが1匹ずつ死亡したが、被験物質投与に関連するものではないとされている。

さらに、胚の死亡・吸収、胎児の生存率、胎児の体重並びに胎児の外表、内臓及び骨格の所見に被験物質投与に関連する影響は認められなかったとされている。

EU DAR (2008)、NTP (2005) 及びEFSA (2015) によれば、本試験条件下において、被験物質投与に関連した発生毒性は認められないとしている。(参照34、73、77)

EU DAR (2008) は、250 mg/kg 体重/日以上投与群の母動物に臨床所見としてみられた血尿を示唆する尿の色及び腎疾患を示唆する尿の排泄量の変化を毒性影響とし、本試験の母動物の一般毒性に係るNOAELを100 mg/kg 体重/日とし、発生毒性に係るNOAELを475 mg/kg 体重/日としている。(参照77)

本委員会としても、本試験における母動物の一般毒性に係るNOAELは100

mg/kg 体重/日、発生毒性に係る NOAEL は 475 mg/kg 体重/日と判断した。また、ウサギにおける催奇形性は認められないと判断した。

f. 参考資料

(a) マウス精子形態異常試験 (Meier ら (1985))

B6C3F₁マウス (各群雄 10 匹) に塩素酸ナトリウムを表 53 のような投与群を設定して、5 日間強制経口投与した後の 1、3 及び 5 週に精巣上体尾部から採取した精子頭部の形態を観察する試験が実施されている。

表 53 用量設定

用量設定	0 (対照群)、0.2、0.5、1 mg/mL
塩素酸イオンとして換算	0、8、20、40 mg/kg 体重/日

その結果、形態異常精子の出現率に被験物質投与の影響は認められなかったとされている。(参照 4 8)

⑥ ヒトにおける知見

a. 介入試験 (Lubbers ら (1981、1982、1984a) (EFSA (2015) で引用))

上述 (p43) の報告において、21~35 歳の健常男性 (各群 10 名) に塩素酸イオンを含む飲料水 (1 L/日) を表 54 のような投与群を設定して用量漸増法で経口摂取させる試験が実施されている。

表 54 用量設定

用量設定	0.01、0.1、0.5、1.0、1.8、2.4 mg/L
mg/kg 体重/日として換算 ⁽¹⁷⁾	0.00014、0.0014、0.0071、0.014、0.026、0.034 mg/kg 体重/日

その結果、いずれの処理群においても、摂取に関連した影響は認められなかったとされている。(参照 6 6、6 7、6 8)

EFSA (2015) は、総ビリルビン量、血清鉄及びメトヘモグロビン量に僅かな変化が認められたが、臨床的に重要な所見はなかったとしている。(参照 3 4)

b. 介入試験 (Lubbers ら (1981、1982、1984a) (EFSA (2015) で引用))

上述 (p43) の報告において、同じ被験者に、塩素酸ナトリウムを表 55 のような投与群を設定して、12 週間経口摂取させる試験が実施されている。

表 55 用量設定

用量設定	5 mg/L (飲水中、0.5 L/日、塩素酸イオンとして)
------	--------------------------------

μg/kg 体重/日と して換算 ⁽²⁵⁾	36 μg/kg 体重/日
-------------------------------------	---------------

その結果、ヘモグロビン電気泳動において異常ヘモグロビンの僅かな産生が認められたが、投与群及び対照群のいずれにおいても散在していたとされている。

また、尿素窒素量及び平均赤血球ヘモグロビン量に線形傾向は認められなかったとされている。その他、いずれの処理群においても、摂取に関連した影響は認められなかったとされている。(参照 6 6、6 7、6 8)

EFSA (2015) は、尿素窒素量に変化の傾向が認められたが、生理学的に重要な所見は認められなかったとしている。(参照 3 4)

c. 介入試験まとめ

EFSA (2015) は、以上の 2 試験を踏まえ、NOAEL を 36 μg/kg 体重/日 (塩素酸イオンとして) と判断している。(参照 3 4)

本委員会としても以上の 2 試験を踏まえ、介入試験における NOAEL を最高用量である 36 μg/kg 体重/日 (塩素酸イオンとして) と判断した。

(3) その他

① 次亜塩素酸水に係る知見 (添加物評価書「次亜塩素酸水」(2007) より引用)

次亜塩素酸水の安全性については、強酸性 (pH 2.5、有効塩素濃度 50~60 mg/kg) 及び微酸性 (pH 5.5、有効塩素濃度 70 mg/kg) 次亜塩素酸水について多くの報告があり、その中で急性経口毒性試験、皮膚刺激性試験、急性眼刺激性試験、皮膚感作性試験、口腔粘膜刺激性試験、復帰突然変異試験及び染色体異常試験において、変化は認められなかったとされている。また、細胞毒性に関しては、高濃度においてやや細胞の増殖が抑制されたが、他の市販の消毒薬と比較して毒性の少ないことを認めている。弱酸性次亜塩素酸水 (pH 2.7~5.0、有効塩素濃度 10~60 mg/kg) については、「弱酸性次亜塩素酸水 (pH 2.7~5.0) の主要な化学種は、現在、食品添加物として使用されている強酸性次亜塩素酸水、次亜塩素酸ナトリウム、高度サラシ粉等に含まれるものとほぼ同じであり、また、使用後の残留性も無いことから、申請者は安全性に問題はないと考えている」とされている。(参照 2 1)

III. 一日摂取量の推計等

1. 最終食品への残留

²⁵ EFSA により、体重を 70 kg として換算されている。

規格基準改正要請者によれば、ASC で処理した食品に残留が考えられる化合物として、亜塩素酸塩及び塩素酸塩を対象とした残留性試験が実施されている。

なお、規格基準改正要請者によれば、二酸化塩素については、ASC を使用した場合の生成量は非常に少ないこと、また生成されたとしても揮発性が非常に高く残留が考えられないこと、塩化物イオンについては、食品に本来含まれる塩化物成分と比較してごく僅かであることから、いずれも試験の対象としなかったとされている。(参照 1)

JECFA によれば、二酸化塩素の生成量は、どのような場合も 1~3 mg/L を超えない程度であるという報告があるとされている。また、上述 (p11) のとおり、二酸化塩素は揮発性であることから、ASC が適切に使用された場合、二酸化塩素は対象食品に残留しないとしている。さらに、ASC 処理に由来する塩化物イオンは、食品に既に存在する量と比較して無視できるとしている。(参照 4)

(1) 牛肉及び鶏肉における亜塩素酸イオン及び塩素酸イオンの残留性試験

規格基準改正要請者によれば、EPA の公定法 (Method 300.1 Determination of Inorganic Anions in Drinking Water by Ion Chromatography) に準じて残留性試験が実施されている。

市販の赤身肉及び鶏肉 (3×1×1.5 インチ (約 7.62×2.54×3.81 cm、重量 40~50 g)) を、100 mL の ASC 水溶液 (1200 µg/mL、pH2.5) に 30 秒間浸漬させ、1、2、18、22 及び 48 時間液切りをし、液切り完了後、試料を 100 mL の水に浸漬させ 30 秒間攪拌し、表面に付着している ASC 水溶液残渣を水中に抽出し、抽出液中の亜塩素酸イオン又は塩素酸イオン含量の残留濃度をイオンクロマトグラフィーにより測定する試験が実施されている。

その結果、表 56 のとおり、赤身肉、鶏肉いずれにおいても、48 時間までに亜塩素酸イオン、塩素酸イオン共に検出下限値を下回る残留量に減少した。亜塩素酸イオンは、赤身肉では液切り 1 時間以降で検出下限値未滿、鶏肉では液切り 18 時間以降で定量下限値未滿、48 時間で検出下限値未滿となった。塩素酸イオンについては、赤身肉では液切り 48 時間で検出下限値未滿、鶏肉では液切り 18 時間以降で検出下限値未滿となった。

なお、試料中の各イオンの残留濃度は、抽出液中の各イオン濃度 (µg/mL) ×101⁽²⁶⁾ (mL) / (赤身肉 : 45 g 又は鶏肉 : 40 g) を用いて換算されている。また、抽出液中の濃度が検出下限値 (亜塩素酸イオン < 0.025 µg/mL 及び塩素酸イオン < 0.043 µg/mL) 又は定量下限値 (亜塩素酸イオン < 0.075 µg/mL 及び塩素酸イオン < 0.074 µg/mL) を下回った場合、試料中の残留濃度は、検出下限値又は定量下限値を用いて換算されている。(参照 7 8)

²⁶ 抽出液 100 mL + エチレンジアミン溶液(亜塩素酸イオンおよび塩素酸イオンの保存料として添加) 1 mL = 試料液 101 mL

表 56 亜塩素酸イオン及び塩素酸イオンの残留濃度

時間	赤身肉		鶏肉	
	亜塩素酸イオン残留濃度 (mg/kg)	塩素酸イオン残留濃度 (mg/kg)	亜塩素酸イオン残留濃度 (mg/kg)	塩素酸イオン残留濃度 (mg/kg)
1	<0.056 ⁽²⁷⁾	1.481	1.338	<0.187 ⁽²⁸⁾
2	<0.056 ⁽²⁷⁾	0.651	0.354	<0.187 ⁽²⁸⁾
18	<0.056 ⁽²⁷⁾	0.224	<0.189 ⁽²⁸⁾	<0.109 ⁽²⁷⁾
22	<0.056 ⁽²⁷⁾	0.224	<0.189 ⁽²⁸⁾	<0.109 ⁽²⁷⁾
48	<0.056 ⁽²⁷⁾	<0.097 ⁽²⁷⁾	<0.063 ⁽²⁷⁾	<0.109 ⁽²⁷⁾

2. 一日摂取量の推計

(1) JECFAにおける摂取量推計

2007年、JECFAは、ASC残留物である亜塩素酸塩及び塩素酸塩の摂取量を推計している。この推計は、使用対象である食肉類、魚介類、果実類及び野菜類の全ての食品が、500～1,200 mg/L、pH2.5～2.9のASCに噴霧又は浸漬、又は50～150 mg/L、pH2.8～3.2のASCに浸漬によって処理されたと仮定して行われている。対象食品の摂取量は、WHO/FAOが提供する13 GEMS/Food Consumption Cluster Dietsデータベース及びEUの食品摂取データベースを基に推計されている。

JECFAは、GEMS/Foodのデータベースを用いた場合、亜塩素酸塩の摂取量は0.2～0.7 µg/kg 体重/日（亜塩素酸イオンとして）、塩素酸塩の摂取量は0.1～0.6 µg/kg 体重/日（塩素酸イオンとして）であったとしている。また、EUの食品摂取データベースを用いた場合、亜塩素酸塩の摂取量の平均値～95パーセントイル値は0.9～2.8 µg/kg 体重/日（亜塩素酸イオンとして）、塩素酸塩は0.3～0.6 µg/kg 体重/日（塩素酸イオンとして）であったとしている。いずれのデータベースを使った結果も、亜塩素酸イオン、塩素酸イオンの各ADIの10%以下であったとしている。（参照4）

(2) 我が国における一日摂取量の推計

規格基準改正要請者は、添加物「亜塩素酸ナトリウム」の一日摂取量を、亜塩素酸イオン及び塩素酸イオンについて、別紙3の表57及び表58のように推計している。

食品の摂取量は平成24年の国民健康・栄養調査を用い、日本人の平均体重を55.1 kgとしている。なお、卵殻からの摂取量は無視しうる量と考えられる

²⁷ 検出下限値を下回った試料

²⁸ 定量下限値を下回った試料

ため、推計には含めていない。(参照19、79)

上述(p66)の報告のように、牛肉又は鶏肉に残留する亜塩素酸イオン及び塩素酸イオンはASC処理の48時間後には検出されていないが、摂取量の推計にあたっては、過大な見積りとなる可能性があるが、検出下限値の量が残留すると仮定している。推計にあたっては、既に使用が認められている添加物「亜塩素酸ナトリウム」及び添加物「亜塩素酸水」が使用された場合に残留する亜塩素酸イオン及び塩素酸イオンの摂取量も含めたとしている。

なお、複数の亜塩素酸系の殺菌料の使用が認められている食品群については、亜塩素酸系の殺菌料の性質から、同じ食品が二度以上これら殺菌料で処理されることが考えにくいいため、いずれか一つの殺菌料で処理されると仮定している。また、精白米の摂取量については、穀類(米・加工品)の摂取量である329.1gに換算係数0.47(参照80)を乗じて換算している。

① 亜塩素酸イオンの摂取量推計

規格基準改正要請者は、亜塩素酸イオンの検出下限値について、ASC処理時の検出下限値と、食品安全委員会による添加物評価書「亜塩素酸ナトリウム」(第3版)及び添加物評価書「亜塩素酸水」(第2版)において使用された検出下限値を比較し、過大な見積りとなる可能性があるが以下のように、より高い方の検出下限値の値を使用している。(参照19、22)

添加物「亜塩素酸水」のみが対象である精白米、豆類及び藻類には、亜塩素酸水の分析法の検出下限値1mg/kgを、ASC又は添加物「亜塩素酸水」の対象となる肉類には、ASCの分析法の検出下限値より高い値である亜塩素酸水の分析法の検出下限値5mg/kgを、添加物「亜塩素酸ナトリウム」又は添加物「亜塩素酸水」の対象となる魚介類には、亜塩素酸水の分析法の検出下限値より高い値である亜塩素酸ナトリウムの分析法の検出下限値5mg/kgを、添加物「亜塩素酸ナトリウム」又は添加物「亜塩素酸水」の対象となる野菜類及び果実類には、いずれの分析法でも同じ検出下限値1mg/kgを用いている。

その結果、別紙3の表57のように、添加物「亜塩素酸ナトリウム」又は添加物「亜塩素酸水」の使用に係る亜塩素酸イオンの一日摂取量は0.0254mg/kg体重/日と推定されている。

本委員会としては、添加物「亜塩素酸ナトリウム」又は添加物「亜塩素酸水」の使用に係る亜塩素酸イオンの一日摂取量は0.025mg/kg体重/日と判断した。

② 塩素酸イオンの摂取量推計

規格基準改正要請者は、塩素酸イオンの検出下限値について、ASCの対象である肉類には、上述(p66)の報告の抽出液の検出下限値である0.043µg/mLを牛肉又は鶏肉の重量当たりに換算した残留濃度のうち、最も高い値である鶏

肉の 0.109 mg/kg を用いている。添加物「亜塩素酸ナトリウム」以外の亜塩素酸系殺菌料の使用を仮定した肉類以外の食品群については、JECFA (2008) で用いられた塩素酸イオンの残留データを使用し、野菜類及び果実類には検出下限値の 0.01 mg/kg、魚介類には検出下限値の 0.1 mg/kg を用いている。残留データがない精白米、豆類及び藻類については、過剰な見積もりとなる可能性があるが、より高い方の検出下限値の魚介類の検出下限値の 0.1 mg/kg を用いている。(参照 4、79)

その結果、別紙 3 の表 58 のように、添加物「亜塩素酸ナトリウム」又は添加物「亜塩素酸水」の使用に係る塩素酸イオンの一日摂取量は 0.0008 mg/kg 体重/日と推定されている。

本委員会としては、添加物「亜塩素酸ナトリウム」又は添加物「亜塩素酸水」の使用に係る塩素酸イオンの一日摂取量は 0.0008 mg/kg 体重/日と判断した。

IV. 食品健康影響評価

添加物「亜塩素酸ナトリウム」は、溶液の pH の状態により、塩化物イオン (Cl^-)、塩素酸イオン (ClO_3^-)、二酸化塩素 (ClO_2)、亜塩素酸イオン (ClO_2^-) に解離し、溶液中に存在する可能性があり、ASC においては、亜塩素酸イオン (ClO_2^-) から亜塩素酸 (HClO_2) が生成され、続いて、亜塩素酸イオン (ClO_2^-)、塩素酸イオン (ClO_3^-)、二酸化塩素 (ClO_2)、塩化物イオン (Cl^-) が生成される。

JECFA (2008) によれば、二酸化塩素は揮発性であり、塩化物イオンは食品に既に存在する量と比較して無視できるとされている。

規格基準改正要請者は、今般の添加物「亜塩素酸ナトリウム」の使用基準改正は、ASC として使用することを要請するものとしている。

本委員会としては、以上を踏まえ、添加物「亜塩素酸ナトリウム」の安全性を評価するにあたっては、亜塩素酸イオン及び塩素酸イオンの安全性を評価することが適当であると考えた。

さらに、混入の可能性が指摘された臭素酸について、市販の亜塩素酸ナトリウム製剤を用いて調製した水溶液中の実測データを基に評価した限りにおいて、臭素酸が検出されないことを確認した。

1. 亜塩素酸イオン

本委員会としては、亜塩素酸ナトリウムは、生体中で亜塩素酸、塩化物イオン、二酸化塩素及び亜塩素酸イオン等に変換されると考えた。また、亜塩素酸イオンは速やかに生体内に吸収され全身に分布するものの、主に塩化物イオンとして尿中に排泄されると考えた。

そのため、本委員会としては、主に亜塩素酸ナトリウム、亜塩素酸イオン、二

酸化塩素に関する種々の動物及びヒトでの試験から得られた知見を基に、次亜塩素酸水及び次亜塩素酸ナトリウムに係る知見も適宜参照しつつ亜塩素酸イオンの毒性を検討することとした。

亜塩素酸ナトリウム等の知見を評価した結果、本物質の摂取による最も一般的で主要な影響は、酸化ストレスによる赤血球の損傷と考えられた。

本委員会としては、亜塩素酸イオンについて、生体にとって特段問題になる遺伝毒性はないと考えた。

本委員会としては、亜塩素酸ナトリウムについて急性毒性、反復投与毒性、生殖発生毒性の試験成績を検討した結果、ラット二世世代生殖毒性試験から、2.9 mg/kg 体重/日（亜塩素酸イオンとして）を亜塩素酸イオンの NOAEL と判断した。また、発がん性は認められなかった。

本委員会としては、添加物「亜塩素酸ナトリウム」又は添加物「亜塩素酸水」の使用に係る亜塩素酸イオンの我が国における推定一日摂取量（0.025 mg/kg 体重/日）を勘案すると、亜塩素酸イオンの ADI を特定することが必要と判断した。

本委員会としては、ラット二世世代生殖毒性試験から得られた NOAEL 2.9 mg/kg 体重/日（亜塩素酸イオンとして）を根拠とし、安全係数 100 で除した 0.029 mg/kg 体重/日を亜塩素酸イオンの ADI と評価した。

なお、ヒトへの亜塩素酸ナトリウム投与による試験データは、いずれも上記 ADI を支持するものと考えた。

ADI	0.029 mg/kg 体重/日（亜塩素酸イオンとして）
（ADI 設定根拠資料）	二世世代生殖毒性試験
（動物種）	ラット
（投与方法）	飲水投与
（NOAEL 設定根拠所見）	F _{2b} ：聴覚驚愕反応の低下
（NOAEL）	2.9 mg/kg 体重/日（亜塩素酸イオンとして）
（安全係数）	100

2. 塩素酸イオン

塩素酸イオンは、速やかに生体内に吸収され全身に分布するものの、主に塩化物イオンとして尿中に排泄されると考えた。

本委員会としては、塩素酸イオンについて、生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないと考えた。

本委員会としては、塩素酸イオンについて急性毒性、亜急性毒性、慢性毒性及び生殖発生毒性の試験成績を検討した結果、ラット 2 年間慢性毒性/発がん性試験から、4 mg/kg 体重/日（塩素酸イオンとして）を塩素酸イオンの LOAEL と判断した。

本委員会としては、塩素酸イオンについて発がん性があるとは判断できないと考えた。

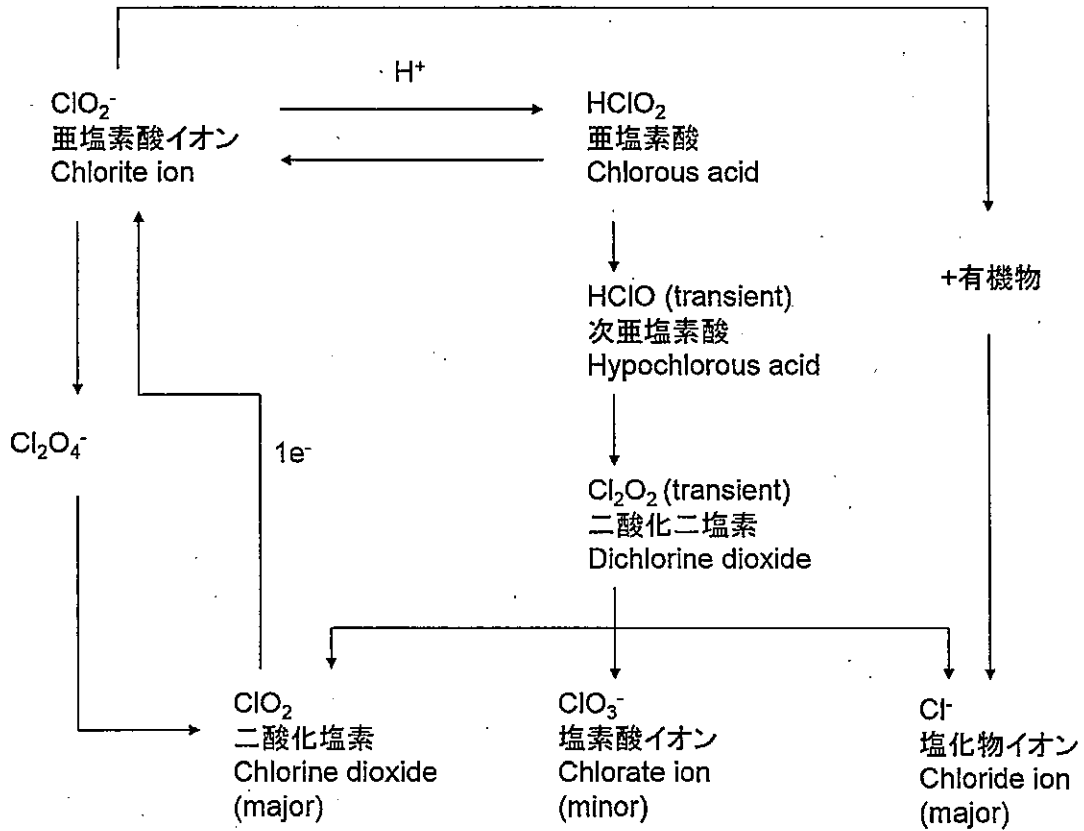
また、ヒトにおける知見を検討した結果、介入試験において NOAEL が 36 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日（塩素酸イオンとして）と得られたものの、当該試験における最高用量であることから、上記 LOAEL を支持するものと考えた。

本委員会としては、添加物「亜塩素酸ナトリウム」又は添加物「亜塩素酸水」の使用に係る塩素酸イオンの我が国における推定一日摂取量（0.0008 mg/kg 体重/日）を勘案すると、LOAEL 4 mg/kg 体重/日（塩素酸イオンとして）との間に十分なマージンが存在することから、添加物「亜塩素酸ナトリウム」が添加物として適切に使用される場合、塩素酸イオンの安全性に懸念がないと考えた。

<別紙1：略称>

略称	名称等
ALT	Alanine aminotransferase：アラニンアミノトランスフェラーゼ
ASC	Acidified Sodium Chlorite：酸性化亜塩素酸ナトリウム
AST	Aspartate aminotransferase：アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
BMD	Benchmark Dose：ベンチマークドーズ
BMDL	Benchmark Dose Lower Confidence Limit：ベンチマークドーズ信頼性下限値
CONTAM パネル	Panel on Contaminants in the Food Chain：EFSAの「フードチェーンにおける汚染物質に関する科学パネル」
cPAD	Chronic Population Adjusted Dose
EFSA	European Food Safety Authority：欧州食品安全機関
EHEN	N-ethyl-N-(2-hydroxyethyl)nitrosamine：N-エチル-N-ヒドロキシエチルニトロサミン
EPA	Environmental Protection Agency：米国環境保護庁
EU	European Union：欧州連合
EU DAR	European Union Draft Assessment Report：欧州連合 評価報告書素案
FSANZ	Food Standards Australia New Zealand：オーストラリア・ニュージーランド食品基準機関
GEMS	Global Environment Monitoring System：地球環境モニタリングシステム
GLP	Good Laboratory Practice：優良試験所規範
GRAS	generally recognized as safe：一般的に安全とみなされる
G6PD	Glucose-6-phosphate dehydrogenase：グルコース-6-リン酸デヒドロギナーゼ
HSDB	Hazardous Substances Data Bank：有害物質データバンク
IARC	International Agency for Research on Cancer：国際がん研究機関
JECFA	Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives：FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議
NTP	National Toxicology Program：米国国家毒性プログラム
OECD	Organization for Economic Co-operation and Development：経済協力開発機構
RfD	reference dose：参照用量
SCF	Scientific Committee for Food：欧州食品科学委員会
TERA	Toxicology excellence for risk assessment
TSH	Thyroid Stimulating Hormone：甲状腺刺激ホルモン
T3	Triiodothyronine：トリヨードチロニン
T4	Thyroxine：チロキシン
USDA	United States Department of Agriculture：米国農務省
WHO	World Health Organization：世界保健機関
WTO	World Trade Organization：世界貿易機関

<別紙 2 : 塩素系化合物の関係図>



参考資料 : U.S.FDA Environmental Assessment (1999): 64 Federal Register (1999) Sep.15
 p.49982

<別紙3：一日摂取量の推計>

表 57 亜塩素酸イオンの摂取量推計

食品分類	食品の摂取量 (g/日)	食品への亜塩素酸イオン の残留量 (mg/kg)	亜塩素酸イオンの摂取量 (mg/kg 体重/日) 日本人の平均体重：55.1 kg
肉類	88.9	5.0	0.0081
魚介類	70.0	5.0	0.0064
精白米	154.7	1.0	0.0028
豆類	57.9	1.0	0.0011
野菜類	274.6	1.0	0.0050
果実類	107.0	1.0	0.0019
藻類	9.9	1.0	0.0002
合計			0.0254

表 58 塩素酸イオンの摂取量推計

食品分類	食品の摂取量 (g/日)	食品への塩素酸イオンの 残留量 (mg/kg)	塩素酸イオンの摂取量 (mg/kg 体重/日) 日本人の平均体重：55.1 kg
肉類	88.9	0.109	0.0002
魚介類	70.0	0.100	0.0001
精白米	154.7	0.100	0.0003
豆類	57.9	0.100	0.0001
野菜類	274.6	0.010	0.0000
果実類	107.0	0.010	0.0000
藻類	9.9	0.100	0.0000
合計			0.0008

＜別紙4：各種毒性試験成績＞

試験項目	試験種類	動物種等	試験期間	投与方法	群設定	被験物質	投与量	試験結果概要及び本委員会の判断	参照
反復投与毒性 (亜塩素酸イオン)	30日間試験	マウス	30日間	飲水	A/Jマウス 及び C57L/Jマウス (各11～23)	亜塩素酸ナトリウム	0、1、10、100 mg/L	何れの系統のマウスにおいても100 mg/L投与群で赤血球のG6PD活性、浸透圧脆弱性及び平均容積の有意な上昇が認められた。 (NOAEL：ClO ₂ ⁻ として10 mg/L (1.9 mg/kg体重/日) (EPAによる))	Moore & Calabrese (1982) (EPA (2000)で引用) (参照26、52)
	30、90、180日間試験	マウス	30、90、180日間	飲水	雄55～60	亜塩素酸ナトリウム	0、4、20、100 mg/L (ClO ₂ ⁻ として0、3、15、75 mg/L)	腎病理組織学的検査、腎重量及びその比重量、体重並びに飲水量に有意な影響は認められなかった。	Moore & Calabrese (1982) (EPA (2000)で引用) (参照26、52)
	30～90日間試験	ラット	30～90日間	飲水	雄6	亜塩素酸イオン	0、10、50、100、250、500 mg/L (0、1、5、10、25、50 mg/kg体重/日相当)	血液学的検査の結果、100 mg/L以上の投与群で一時的な貧血が認められた。30日後には50及び100 mg/L投与群で赤血球グルタチオン濃度が対照群よりもそれぞれ15及び31%減少し、90日後には50及び100 mg/L投与群で30及び40%減少した。 (NOAEL：ClO ₂ ⁻ として10 mg/L (1 mg/kg体重/日) (WHOによる))	Heffernanら (1979) (WHO (2006)で引用) (参照28、53)

試験項目	試験種類	動物種等	試験期間	投与方法	群設定	被験物質	投与量	試験結果概要及び本委員会の判断	参照
	13週間試験	ラット	13週間	経口	雌雄各15	亜塩素酸ナトリウム	0、10、25、80 mg/kg 体重/日 (ClO ₂ として0、7.4、18.6、59.7 mg/kg 体重/日相当)	<p>80 mg/kg 体重/日投与群で被験物質によると考えられる4例の死亡例が認められた。</p> <p>血液学的検査では、10 mg/kg 体重/日以上、25 mg/kg 体重/日以上、80 mg/kg 体重/日以上、赤血球数の有意な減少が認められた。また、25 mg/kg 体重/日以上、80 mg/kg 体重/日以上、ヘマトクリット及びヘモグロビン濃度の有意な減少と、メトヘモグロビン濃度及び好中球数の有意な上昇が認められた。一方、80 mg/kg 体重/日投与群の雌では、メトヘモグロビン濃度の有意な減少がみられたほか、3匹に赤血球の形態変化を観察した。</p> <p>80 mg/kg 体重/日投与群の雄及び25 mg/kg 体重/日以上、80 mg/kg 体重/日以上の投与群の雌で、脾臓比重量の有意な増加が、80 mg/kg 体重/日の投与群の雄及び25 mg/kg 体重/日以上の投与群の雌で、副腎比重量の有意な増加が認められた。</p> <p>病理組織学的検査では、80 mg/kg 体重/日投与群の雄7匹及び雌8匹に、前胃の扁平上皮過形成、角化、潰瘍形成、慢性炎症及び浮腫が認められた。潰瘍形成、慢性炎症及び浮腫は、25 mg/kg 体重/日投与群の雄2匹にも認められた。</p> <p>(NOAEL: 10 mg/kg 体重/日 (ClO₂として7.4 mg/kg 体重/日))</p>	Harringtonら (1995) (TERA (1995)、EPA (2000)) 及び WHO (2006) で引用 (参照2 6、28、54、55)

試験項目	試験種類	動物種等	試験期間	投与方法	群設定	被験物質	投与量	試験結果概要及び本委員会の判断	参照
	1年間試験	ラット	1年間	飲水	雄4	亜塩素酸ナトリウム	0、10、100 mg/L (20時間/日、7日/週)	10 mg/L投与群で投与開始後10、11ヶ月目に有意な体重増加抑制が認められ、100 mg/L投与群では2ヶ月目以降から認められた。赤血球数、ヘマトクリット値、ヘモグロビン値には変化は認められなかった。	Couri & Abdel-Rahman (1980) (EPA (2000) 及び TERA (1998) で引用) (参照26、55、56)
	2年間試験	ラット	2年間	飲水	雌雄7	亜塩素酸ナトリウム	0、1、2、4、8、100、1,000 mg/L (ClO ₂ ⁻ として0、0.09、0.18、0.35、0.7、9.8、81 mg/kg 体重/日相当)	全ての投与群でラットの生存期間に変化は認められなかった。100及び1,000 mg/L投与群では、投与に起因すると考えられる腎病変が認められた。 (NOAEL: 8 mg/L (ClO ₂ ⁻ として0.7 mg/kg 体重/日) (著者による))	EPA (2000)、WHO (2005) 及び TERA (1998) で引用 (Haag (1949)) (参照26、28、55)
	30~60日間試験	サル	30~60日間 (rising dose 法)	飲水	雄5、雌7	亜塩素酸ナトリウム	ClO ₂ ⁻ として0、25、50、100、400 mg/L; 0、3、6、18、50 mg/kg 体重/日相当 (WHOによる)、400 mg/Lが58.4 mg/kg 体重/日に相当 (EPAによる)	メトヘモグロビン血症と貧血が用量依存的に認められた。	Berezら (1982) (JECFA (2008)、EPA (2000) 及び WHO (2005) で引用) (参照4、26、28、57)
発がん性 (亜塩素酸イオン)	発がん性試験	マウス	85週間	飲水	雌雄各50	亜塩素酸ナトリウム	0、250、500 mg/L (ClO ₂ ⁻ として0、86、71 mg/kg 体重/日)	腫瘍発生率の有意な増加は認められなかった。	Kurokawaら (1986) (EPA (2000) 及び WHO (2005) で引用) (参照26、28、58)

試験項目	試験種類	動物種等	試験期間	投与方法	群設定	被験物質	投与量	試験結果概要及び本委員会の判断	参照
生殖発生毒性 (亜塩素酸イオン)	発がん性試験	ラット	85週間	飲水	雌雄各 50	亜塩素酸ナトリウム	0、800、600 mg/L (ClO ₂ ⁻ として) 雄：0、18、32、雌： 0、28、41 mg/kg 体重/日)	腫瘍発生率の有意な増加は認められなかった。	Kurokawaら (1986) (EPA (2000) 及び WHO (2005) で引用) (参照 26、28、58)
	発がん性試験	ラット	2年間	飲水	雌雄各 7	亜塩素酸ナトリウム	0、1、2、4、8、100、 1,000 mg/L	腫瘍はみられなかった。	EPA (2000)、WHO (2005) 及び TERA (1998) で引用 (Haag (1949)) (参照 26、28、55)
	生殖毒性試験	マウス	妊娠期～授乳期	飲水	雌 10	亜塩素酸ナトリウム	ClO ₂ ⁻ として 0、 100 mg/L (0、22 mg/kg 体重/日)	受胎率は対照群で 56%、投与群で 39% であり、児動物の離乳時の体重は対照群より 14%減少した。 (LOAEL: ClO ₂ ⁻ として 100 mg/L (22 mg/kg 体重/日))	Moore & Calabrese (1982) (EPA (2000) 及び WHO (2005) で引用) (参照 26、28、52)
生殖毒性試験	ラット	72～76日間	飲水	雄 12	亜塩素酸ナトリウム	0、1、10、100、 500 mg/L (ClO ₂ ⁻ として 0、0.075、 0.75、7.5、27 mg/kg 体重/日相 当)	投与に関連する一般状態の変化、生殖能及び生殖器官の病理組織学的変化は認められなかったが、異常精子数の増加及び精子の直進運動性の低下が 100 mg/L 以上の投与群で認められた。 (NOAEL: 10 mg/L (ClO ₂ ⁻ として 0.75 mg/kg 体重/日) (WHO 及び EPA による))	Caltonら (1987) (EPA (2000)、WHO (2006) 及び TERA (1998) で引用) (参照 26、28、55、59)	

試験項目	試験種類	動物種等	試験期間	投与方法	群設定	被験物質	投与量	試験結果概要及び本委員会の判断	参照
	生殖毒性試験	ラット	雄：交配前56日間及び交配中10日間 雌：交配前14日から分娩後21日の離乳時まで	飲水	雄12、雌24 (F ₀)	亜塩素酸ナトリウム	0、1、10、100 mg/L (ClO ₂ ⁻ として0、0.075、0.75、7.5 mg/kg体重/日)	母動物の生殖及び子動物の生存及び成長に投与の影響はみられなかった。100 mg/L投与群において21日齢の雌児、40日齢の雄児のT ₃ の低下及び40日齢の雌児のT ₄ 濃度の低下が認められた。 (NOAEL：100 mg/L (ClO ₂ ⁻ として7.5 mg/kg体重/日))	Caltonら (1987) (TERA (1998)、EPA (2000) 及びWHO (2005) で引用) (参照 26、28、55、59)
	生殖毒性試験	ラット	雄：交配前10週間、交配期間中 雌：交配前10週間、交配、妊娠、授乳期間	飲水	雌雄各30 (F ₀)	亜塩素酸ナトリウム	0、35、70、300 mg/L (ClO ₂ ⁻ として F ₀ ： 雄：0、3.0、5.6、20.0、雌：0、3.8、7.5、28.6 F ₁ ： 雄：0、2.9、5.9、22.7、雌：0、3.8、7.9、28.6 mg/kg体重/日)	生殖、生殖器官の病理組織学的所見、精子数及び精子の形態に投与の影響は認められなかった。主に70及び300 mg/L投与群の全世代の雌雄で嗜好性の低下による飲水量、摂餌量、体重増加の減少が認められた。300 mg/L投与群のF ₁ 、F ₂ の生存率低下、出生時及び授乳期間中の体重減少、正方向反射達成率の低下及び雌雄の性成熟の遅延、F ₁ の生後11日齢の脳重量の低下、F ₁ の赤血球指標の低下が認められた。また、70及び300 mg/L投与群でF ₀ の生後24日に聴覚驚愕反応の低下が認められた。35及び70 mg/L投与群のF ₁ では赤血球指標の軽微であるが有意な変化がみられたが、背景データの範囲内の変化であった。 (NOAEL：35 mg/L (ClO ₂ ⁻ として2.9 mg/kg体重/日))	Gillら (2000) (TERA (1998)、EPA (2000) 及びWHO (2005) で引用) (参照 26、27、28、55)
	発生毒性試験	ラット	妊娠8～15日目	飲水	雌4～13	亜塩素酸ナトリウム	0、0.1、0.5、2%；ClO ₂ ⁻ として0、70、440、610 mg/kg体重/日)	200 mg/kg体重強制経口投与群では全てのラットが死亡したが、飲水投与では死亡はみられなかった。0.5及び2%投与群では体重、摂餌量及び飲水量の低下がみられ、0.1%投与群で摂水量の	Couriら (1982) (EPA (2000) で引用) (参照 26、61)

試験項目	試験種類	動物種等	試験期間	投与方法	群設定	被験物質	投与量	試験結果概要及び本委員会の判断	参照
				強制経口			200 mg/kg 体重	低下がみられた。2%投与群で吸収率の増加がみられた。0.1%以上投与群の分娩児の頭骨長の短縮がみられたが、体重には差は認められなかった。奇形の発現頻度及び児の生後発育には投与の影響はみられなかった。 (NOAEL: ClO ₂ ⁻ として0.5% (440 mg/kg 体重/日))	
生殖毒性試験	ラット	9週間 (交配10日前～受胎後35～42日後)	飲水	雌12	亜塩素酸ナトリウム	0、20、40 mg/L (ClO ₂ ⁻ として0、3、6 mg/kg 体重/日)	40 mg/L 投与群の受胎後36～39日の児に一貫した探索行動の低下が認められたが、40日では変化は認められなかった。 (NOAEL: 20 mg/L (ClO ₂ ⁻ として3 mg/kg 体重/日))	Mobleyら (1990) (EPA (2000) 及び WHO (2005) で引用) (参照 26、28、29)	
発生毒性試験	ラット	2.5ヶ月間 (交配前と妊娠期間中)	飲水	各6～9	亜塩素酸イオン	0、1、10 mg/L (0、0.1、1 mg/kg 体重/日)	投与群で異常発生率が増加したが、投与群の匹数が少ないため、統計学的に有意とはみなされなかった。	Suhら (1988) (TERA (1998)、EPA (2000) 及び WHO (2005) で引用) (参照 26、28、55、62)	
発生毒性試験	ウサギ	妊娠7～19日	飲水	16	亜塩素酸ナトリウム	0、200、600、1,200 mg/L (ClO ₂ ⁻ として0、10、26、40 mg/kg 体重/日)	600 mg/L 以上の投与群で、妊娠ウサギの飲水量及び摂餌量の減少がみられ、胎児重量の僅かな低下及び骨遅延胎児の僅かな増加がみられた。催奇形性は認められなかった。 (NOAEL: 200 mg/L (ClO ₂ ⁻ として10 mg/kg 体重/日) (著者による))	Harringtonら (1996) (EPA (2000) 及び WHO (2005) で引用) (参照 26、28、63)	

試験項目	試験種類	動物種等	試験期間	投与方法	群設定	被験物質	投与量	試験結果概要及び本委員会の判断	参照
	発生源性試験	ラット	妊娠 6~15 日	経口投与	各群雌 20 ~24 匹	亜硫酸ナトリウム	0, 25, 50, 100 mg/kg 体重/日	<ul style="list-style-type: none"> ・100 mg/kg 体重/日投与群において、死亡、摂餌量の減少、貧血、鎮静、血尿 ・NOAEL: 50 mg/kg 体重/日 (母動物の一般毒性)、100 mg/kg 体重/日 (発生源性) ・催奇形性は認められない 	酒見ら (1999) (参照 6 4)
ヒトにおける知見 (亜硫酸イオン)	介入試験	ヒト	rising dose 法	飲水	男性 10 名	亜硫酸イオン	0.01, 0.1, 0.5, 1.0, 1.8, 2.4 mg/L, 1 L/日	<ul style="list-style-type: none"> 血清中の尿素窒素、クレアチニン及びその両者の比 (群平均値) の変化が認められた。 〈NOAEL: ClO₂⁻として 2.4 mg/L (0.034 mg/kg 体重/日)〉 	Lubbers ら (1981, 1982, 1984a) (WHO (2005) で引用) (参照 2 8, 6 6, 6 7, 6 8)
	介入試験	ヒト	約 12 週間	飲水	男性 10 名	亜硫酸ナトリウム	5 mg/L, 0.5 L/日	<ul style="list-style-type: none"> 平均赤血球ヘモグロビン量 (群平均値) の変化が認められたが、時間経過との関連が無く、数値は正常範囲内にあった。 〈NOAEL: ClO₂⁻として 5 mg/L (36 µg/kg 体重/日相当)〉 	Lubbers ら (1981, 1982, 1984a) (WHO (2005) で引用) (参照 2 8, 6 6, 6 7, 6 8)
	介入試験	ヒト	12 週間	飲水	G6PD 欠損健康男性 3 名	亜硫酸ナトリウム	5 mg/L, 500 mL/日 (体重 60 kg と仮定すると 42 µg/kg 体重/日相当)	<ul style="list-style-type: none"> 生化学的及び生理学的指標について、亜硫酸イオンの摂取による臨床病理学的意義のある変化は認められなかった。 	Lubbers ら (1984b) (参照 6 9)
急性毒性 (硫酸イオン)	21 日間試験	マウス	21 日間	飲水	雌雄各 10 匹	硫酸ナトリウム	0, 125, 250, 500, 1,000, 2,000 mg/L (ClO ₃ ⁻ として) 雄: 0, 16, 35, 70, 187, 273 mg/kg 体重/日 雌: 0, 16, 35, 74, 148, 285 mg/kg 体重/日	<ul style="list-style-type: none"> ・毒性所見なし ・NOAEL: 雄で 273 mg/kg 体重/日 (ClO₃⁻として)、雌で 285 mg/kg 体重/日 (ClO₃⁻として) 	NTP (2005) 及び EFSA (2015) で引用 (Hooth ら (2001)) (参照 3 4, 7 3, 7 5)

試験項目	試験種類	動物種等	試験期間	投与方法	群設定	被験物質	投与量	試験結果概要及び本委員会の判断	参照
	90日間試験	ラット	90日間	強制経口	雌雄各15匹	塩素酸ナトリウム	0、10、100、1,000 mg/kg 体重/日 (ClO ₃ ⁻ として0、8、79、788 mg/kg 体重/日)	<ul style="list-style-type: none"> ・1,000 mg/kg 体重/日投与群において、赤血球数、ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の低下(貧血、ただし統計学的有意差は雌のみ)、副腎の絶対・相対重量減少 ・NOAEL: 雌雄ともに79 mg/kg 体重/日 (ClO₃⁻として) 	WHO (2005)、JECFA (2008) 及びEFSA (2015) で引用 (Barrett (1987a) (原著 (論文未確認) (参照4、28、34)
	90日間試験	ラット	90日間	飲水	雌雄各10匹	塩素酸ナトリウム	0、3、12、48 mmol/L (ClO ₃ ⁻ として雄: 0、30、100、510 mg/kg 体重/日 雌: 0、41、158、797 mg/kg 体重/日)	<ul style="list-style-type: none"> ・48 mmol/L 投与群の雌において、最終体重の減少、相対重量の増加(心臓、腎臓及び肝臓)、相対重量の増加(脳及び精巣)、赤血球数、白血球数及びヘマトクリット値の減少、血清コレステロール増加、脳下垂体前葉クロム親和性細胞及び好酸性細胞の細胞質空胞化の重篤度の増加 ・48 mmol/L 投与群の雌において、最終体重の減少、相対重量の減少(副腎、胸腺及び脾臓)、相対重量の増加(脳)、脳下垂体前葉クロム親和性細胞及び好酸性細胞の細胞質空胞化の重篤度の増加 ・12 mmol/L 以上投与群の雌において、甲状腺の病理組織学的変化(コロイドの減少、小型でコロイドを保持しない腺管の増加)の頻度及び重篤度の増加 ・NOAEL: 雄で80 mg/kg 体重/日 (ClO₃⁻として)、雌で41 mg/kg 体重/日 (ClO₃⁻として) 	McCauley (1995) (WHO (2005)、JECFA (2008) 及びEFSA (2016) で引用 (参照4、28、34、76)

試験項目	試験種類	動物種等	試験期間	投与方法	群設定	被験物質	投与量	試験結果概要及び本委員会の判断	参照
	21日間試験	ラット	21日間	飲水	雌雄各10匹	塩素酸ナトリウム	0、125、250、500、1,000、2,000 mg/L (ClO ₃ ⁻ として) 雄：0、16、27、59、133、234 mg/kg 体重/日 雌：0、16、31、59、117、265 mg/kg 体重/日)	<ul style="list-style-type: none"> ・2,000 mg/L 投与群の雌において、心臓重量の減少 ・1,000 mg/L 以上投与群の雌において、甲状腺の病理組織学的変化（コロイド枯渇・濾胞上皮過形成）の頻度及び重篤度の増加 ・500 mg/L 以上投与群の雌において、甲状腺の病理組織学的変化（コロイド枯渇・肥大・濾胞上皮過形成）の頻度及び重篤度の増加 ・250 mg/L 以上投与群の雌において、甲状腺肥大頻度の増加 ・125 mg/L 以上投与群の雌において、用量依存的な分葉核好中球数の減少（2,000 mg/L 投与群での減少率は、雄で64%及び雌で51%） 	Hoothら(2001) (NTP (2006) 及びEFSA (2015)で引用) (参照34、73、75)
	4、21、90日間試験	ラット	4、21、90日間	飲水	雌雄各10匹	塩素酸ナトリウム	0、0.125、1.0、2.0 g/L (ClO ₃ ⁻ として) 雄：0、16、133、234 mg/kg 体重/日 雌：0、16、117、265 mg/kg 体重/日)	<ul style="list-style-type: none"> ・LOAEL：雌雄ともに16 mg/kg 体重/日 (ClO₃⁻として) ・2.0 g/L 投与群において、T₃量及びT₄量の減少（雌雄：21日）、TSH量の増加（雄：90日、雌：21日及び90日） ・1.0 g/L 以上投与群において、T₃量及びT₄量の減少（雌雄：4日）、TSH量の増加（雄：4日及び21日、雌：4日）、甲状腺の病理組織学的変化（コロイドの枯渇、濾胞上皮過形成）（雌雄：21日） ・NOAEL：雌雄ともに16 mg/kg 体重/日 (ClO₃⁻として) 	Hoothら(2001) (EFSA (2015)で引用) (参照34、75)

試験項目	試験種類	動物種等	試験期間	投与方法	群設定	被験物質	投与量	試験結果概要及び本委員会の判断	参照
	90日間試験	ラット	90日間	飲水	雄10匹	塩素酸ナトリウム	0, 1, 10, 100, 1,000, 2,000 mg/L (ClO ₃ ⁻ として0, 0.07, 0.7, 7, 70, 140 mg/kg 体重/日)	<ul style="list-style-type: none"> 1,000 mg/L以上投与群において、甲状腺濾胞上皮過形成の増加 1 mg/L以上投与群において、甲状腺の病理組織学的変化(コロイドの枯渇、肥大)の頻度の増加 LOAEL: 雄で0.07 mg/kg 体重/日 (ClO₃⁻として) 	Hoothら(2001)(EFSA(2015)で引用)(参照34, 75)
	105日間試験	ラット	105日間	飲水	雌6匹	塩素酸ナトリウム	0, 500, 1,000, 2,000, 4,000, 6,000 mg/L (ClO ₃ ⁻ として0, 35, 70, 140, 281, 421 mg/kg 体重/日)	<ul style="list-style-type: none"> 6,000 mg/L投与群において、甲状腺肥大の頻度及び重篤度の増加 2,000 mg/L以上投与群において、甲状腺の病理組織学的変化(コロイドの枯渇、濾胞上皮過形成)の頻度及び重篤度の増加 NOAEL: 雄で70 mg/kg 体重/日 (ClO₃⁻として) 	Hoothら(2001)(EFSA(2015)で引用)(参照34, 75)
慢性毒性(塩素酸イオン)	2年間慢性毒性/死がんに試験	マウス	2年間	飲水	雌雄各50匹	塩素酸ナトリウム	0, 500, 1,000, 2,000 mg/L (ClO ₃ ⁻ として雄:0, 31, 62, 125 mg/kg 体重/日、雌:0, 28, 47, 94 mg/kg 体重/日)	<ul style="list-style-type: none"> 2,000 mg/L投与群の雌において、軽微な甲状腺濾胞過形成の増加、卵巣の顆粒膜細胞過形成の増加 500 mg/L以上投与群の雌において、骨髄の過形成の増加 NOAEL: 雄で125 mg/kg 体重/日 (ClO₃⁻として) LOAEL: 雌で23 mg/kg 体重/日 (ClO₃⁻として) 	NTP(2005)、JECFA(2008)及びEFSA(2016)で引用(参照4, 34, 73)

試験項目	試験種類	動物種等	試験期間	投与方法	群設定	被験物質	投与量	試験結果概要及び本委員会の判断	参照
	2年間慢性毒性/発がん性試験	ラット	2年間	飲水	雌雄各50匹	塩素酸ナトリウム	0、125、1,000、2,000 mg/L (ClO ₃) -として雄: 0、4、27、59 mg/kg 体重/日、雌: 0、4、35、74 mg/kg 体重/日)	<ul style="list-style-type: none"> ・2,000 mg/L 投与群の雄において、脾臓の造血細胞の増加 ・2,000 mg/L 投与群の雌において、甲状腺濾胞上皮石灰化の増加 ・1,000 mg/L 以上投与群の雄において、骨髄の過形成の増加 ・1,000 mg/L 以上投与群の雌において、甲状腺濾胞上皮の肥大及び石灰化の増加 ・125 mg/L 以上投与群の雄において、甲状腺濾胞上皮肥大の増加 <ul style="list-style-type: none"> ・LOAEL: 雄で 4 mg/kg 体重/日 (ClO₃) ・NOAEL: 雌で 4 mg/kg 体重/日 (ClO₃) 	NTP (2005)、JECFA (2008) 及び EFSA (2015) で引用 (参照 4、3、4、7、3)
発がん性 (塩素酸イオン)	2年間慢性毒性/発がん性試験	マウス	2年間	飲水	雌雄各50匹	塩素酸ナトリウム	0、500、1,000、2,000 mg/L (ClO ₃) -として雄: 0、31、62、125 mg/kg 体重/日、雌: 0、23、47、94 mg/kg 体重/日)	<ul style="list-style-type: none"> ・500 mg/L 以上投与群の雄で、脾臓の腺腫及び癌合算での増加傾向 (500 mg/L: 4%、1,000 mg/L: 4%、2,000 mg/L: 8%) が認められ、特に 2,000 mg/L 投与群では背景値 (0%~4%) を超えたとされているが、統計学的有意差はない ・発がん性があるとは判断できない 	NTP (2005)、JECFA (2008) 及び EFSA (2015) で引用 (参照 4、3、4、7、3)
	2年間慢性毒性/発がん性試験	ラット	2年間	飲水	雌雄各50匹	塩素酸ナトリウム	0、125、1,000、2,000 mg/L (ClO ₃) -として雄: 0、4、27、59 mg/kg 体重/日、雌: 0、4、35、74 mg/kg 体重/日)	<ul style="list-style-type: none"> ・2,000 mg/L 投与群の雄で、甲状腺濾胞細胞腫の増加傾向 (9%) が認められ、甲状腺濾胞細胞腫及び癌合算での増加傾向 (9%) が認められ、それぞれの背景値 (雄: 0%~2%、雌: 2%~4%) を超えたとされているが、統計学的有意差はない ・発がん性があるとは判断できない 	NTP (2005)、JECFA (2008) 及び EFSA (2015) で引用 (参照 4、3、4、7、3)

試験項目	試験種類	動物種等	試験期間	投与方法	群設定	被験物質	投与量	試験結果概要及び本委員会の判断	参照
生殖発生毒性 (塩素酸イオン)	発生毒性試験	ラット	妊娠6~15日	強制経口	雌、匹数不明	塩素酸ナトリウム	0、10、100、1,000 mg/kg 体重/日	<ul style="list-style-type: none"> ・毒性所見なし ・NOAEL: 1,000 mg/kg 体重/日 (母動物の一般毒性及び発生毒性) ・催奇形性は認められない 	WHO (2005)、NTP (2005) 及び JECFA (2008) で引用 (Bio/dynamics Inc. (1987b) (原著論文未確認) (参照4、28、73))
	発生毒性試験	ラット	妊娠6~15日	強制経口	雌 24匹	塩素酸ナトリウム	0、10、100、1,000 mg/kg 体重/日 (ClO ₃ ⁻ として0、8、78、780 mg/kg 体重/日)	<ul style="list-style-type: none"> ・毒性所見なし ・NOAEL: 1,000 mg/kg 体重/日 (母動物の一般毒性及び発生毒性) ・催奇形性は認められない 	EU DAR (2008) 及び EFSA (2015) で引用 (Schroeder (1987b) (未公表) (参照34、77))
	一世代生殖毒性試験	ラット	交配前10週前から雌乳又は交尾後25日まで (雄については交配期間終了まで)	強制経口	雌雄各6匹	塩素酸ナトリウム	0、40、200、1,000 mg/kg 体重/日 (ClO ₃ ⁻ として0、31、156、780 mg/kg 体重/日)	<ul style="list-style-type: none"> ・1,000 mg/kg 体重/日投与群の親動物の雄において、甲状腺濾胞上皮細胞の過形成 ・1,000 mg/kg 体重/日投与群の親動物の雌雄において、下垂体前葉細胞の空胞化 ・1,000 mg/kg 体重/日投与群の親動物において、低体重、体重増加の抑制 ・200 mg/kg 体重/日以上投与群の親動物の雄において、甲状腺濾胞上皮細胞の過形成 ・NOAEL: 40 mg/kg 体重/日 (親動物の一般毒性)、1,000 mg/kg 体重/日 (生殖毒性)、200 mg/kg 体重/日 (児動物に対する毒性) 	EU DAR (2008) 及び EFSA (2015) で引用 (Gaoua (2004a) (未公表) (参照34、77))

試験項目	試験種類	動物種等	試験期間	投与方法	群設定	被験物質	投与量	試験結果概要及び本委員会の判断	参照
	二世代生殖毒性試験	ラット	F ₀ 及びF ₁ 動物について、交配前10週間からそれぞれF ₁ 及びF ₂ 動物の離乳まで	強制経口	雌雄各25匹	塩素酸ナトリウム	0、10、70、500 mg/kg 体重/日 (ClO ₃ ⁻ として0、8、55、380 mg/kg 体重/日相当)	<ul style="list-style-type: none"> ・500 mg/kg 体重/日投与群のF₀雌において、脾臓相対重量の増加、赤血球数及びヘモグロビン量の減少 ・500 mg/kg 体重/日投与群のF₀雌において、甲状腺濾胞上皮細胞の機能亢進 ・500 mg/kg 体重/日投与群のF₀雌において、甲状腺濾胞上皮細胞の過形成、平均赤血球ヘモグロビン濃度の減少 ・500 mg/kg 体重/日投与群のF₁親動物の雄において、脾臓相対重量の増加 ・500 mg/kg 体重/日投与群のF₁親動物の雌において、甲状腺濾胞上皮細胞の機能亢進 ・500 mg/kg 体重/日投与群のF₁親動物の雌において、甲状腺濾胞上皮細胞の過形成 ・70 mg/kg 体重/日以上投与群のF₀雌において、脾臓相対重量の増加、甲状腺濾胞上皮細胞の機能亢進 ・70 mg/kg 体重/日以上投与群のF₀雌において、赤血球数及びヘモグロビン量の減少 ・70 mg/kg 体重/日以上投与群のF₁親動物の雄において、甲状腺濾胞上皮細胞の機能亢進 	EU DAR (2008) 及び EFSA (2015) で引用 (Gaoua (2004b) (未公表)) (参照 3 4、7 7)
								<ul style="list-style-type: none"> ・NOAEL: 10 mg/kg 体重/日 (親動物の一般毒性)、500 mg/kg 体重/日 (生殖毒性)、500 mg/kg 体重/日 (児動物に対する毒性) 	

試験項目	試験種類	動物種等	試験期間	投与方法	群設定	被験物質	投与量	試験結果概要及び本委員会の判断	参照
	発生源性試験	ウサギ	妊娠6日から29日	強制経口	雌24匹	塩素酸ナトリウム	0、100、250、475 mg/kg 体重/日 (ClO ₃ ⁻ として0、78、195、371 mg/kg 体重/日)	<ul style="list-style-type: none"> ・250 mg/kg 体重/日以上投与群の母動物において、橙色/暗橙色の尿あるいは褐色/濃褐色の尿の頻度の増加、無尿/乏尿の頻度の増加 ・NOAEL: 100 mg/kg 体重/日 (母動物の一般毒性)、475 mg/kg 体重/日 (発生源性) 	EU DAR (2008)、NTP (2005) 及び EFSA (2015) で引用 (George ら (2002)) (参照34、73、77)
ヒトにおける知見 (塩素酸イオン)	介入試験	ヒト	用量漸増法	飲水	男性10名	塩素酸イオン	0.01、0.1、0.5、1.0、1.8、2.4 mg/L、1L/日 (0.00014、0.0014、0.0071、0.014、0.026、0.034 mg/kg 体重/日)	<ul style="list-style-type: none"> ・毒性所見なし ・NOAEL: 36 µg/kg 体重/日 (ClO₃⁻として) 	Lubbers ら (1981、1982、1984a) (EFSA (2015) で引用) (参照34、66、67、68)
	介入試験	ヒト	12週間	飲水	男性10名	塩素酸イオン	5 mg/L、0.5 L/日 (36 µg/kg 体重/日)		

<参照>

- 1 エコラボ合同会社, 食品添加物「亜塩素酸ナトリウム」の使用基準改正に関する要請資料, 平成 27 年 8 月
- 2 厚生労働省, 亜塩素酸ナトリウムに係る添加物使用基準改正に関する食品健康影響評価について, 第 573 回食品安全委員会 (平成 27 年 8 月 18 日)
- 3 亜塩素酸ナトリウム. 厚生労働省編, 第 8 版食品添加物公定書, 2007 ; 195
- 4 JECFA/WHO. WHO FOOD ADDITIVES SERIES 59 Safety evaluation of certain food additives and contaminants: Acidified Sodium Chlorite. 2008; 3-54.
- 5 FSANZ. Final Assessment Report, Application A476 Acidified Sodium Chlorite as a Processing aid. 2003. Available online at: <http://www.foodstandards.gov.au/code/applications/pages/applicationa476acidifiedsodiumchloriteasaprocessingaid/index.aspx> [Accessed on March 24, 2015].
- 6 カズノコに係わる亜塩素酸ナトリウムの使用認可申請に関する資料 (要請者作成資料)
- 7 亜塩素酸ナトリウム液中の臭素酸試験法 (当会考案法) に関する照会事項への回答書 (要請者作成資料)
- 8 食品安全委員会: 食品健康影響評価の結果の通知について (清涼飲料水評価書「臭素酸」(2008 年 11 月)) (平成 20 年 11 月 6 日府食第 1190 号)
- 9 亜塩素酸水 トリハロメタン等の生成について (2007 年 12 月 25 日第 52 回添加物専門調査会資料 2-4)
<http://www.fsc.go.jp/senmon/tenkabutu/t-dai52/tenkabutu52-siryoku2-4.pdf-siryoku1-1.pdf>
- 10 IPA Database by CCFA. <http://www.ccfa.cc/IPA/>
- 11 Code of Federal Regulations, Title 21, Sec. 173.325. Available online at: <http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?fr=173.325> [Accessed on March 24, 2015].
- 12 Kemp GK, Alcide Corp.: Food Additive Petition 0A4724-Acidified solutions of sodium chlorite for processing water applied to processed, comminuted or formed meat products 2001
- 13 Food Safety and Inspection Service, USDA: Safe and Suitable Ingredients Used in the Production of Meat and Poultry Products 7120.1_Amend_6, June 1 (2006)

-
- ¹⁴ FDA 21CFR § 173. 300
- ¹⁵ Health Canada. No objection letters (poultry, red meat, fish)
- ¹⁶ FSANZ. STANDARD 1.3.3 Processing Aids Table 14
- ¹⁷ 食品安全委員会. 添加物評価書 亜塩素酸ナトリウム. 2004.
- ¹⁸ 食品安全委員会. 添加物評価書 亜塩素酸ナトリウム (第2版). 2008.
- ¹⁹ 食品安全委員会. 添加物評価書 亜塩素酸ナトリウム (第3版). 2009.
- ²⁰ 食品安全委員会. 食品健康影響評価の結果の通知について (回答). 府食第212号 (平成25年3月18日)
- ²¹ 食品安全委員会. 添加物評価書 亜塩素酸水 (2008年6月) (平成20年6月19日府食第677号)
- ²² 食品安全委員会. 添加物評価書 亜塩素酸水 (第2版). 2012.
- ²³ 食品安全委員会. 添加物評価書 次亜塩素酸水 (2007年1月) (平成19年1月25日府食第94号)
- ²⁴ 食品安全委員会. 清涼飲料水評価書 亜塩素酸. 2008.
- ²⁵ 食品安全委員会. 清涼飲料水評価書 清涼飲料水に係る化学物質の食品健康影響評価について 塩素酸. 2007.
- ²⁶ U.S. EPA: Toxicological review of chlorine dioxide and chlorite, in support of summary information on the integrated risk information system (IRIS), September 2000, EPA/635/R-00/007
- ²⁷ Gill MW, Swanson MS, Murphy SR and Bailey GP: Two-generation reproduction and developmental neurotoxicity study with sodium chlorite in the rat. J. Appl. Toxicol. (2000) 20: 291-303.
- ²⁸ WHO: Chlorite and Chlorate in Drinking Water. Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality. (2005)
- ²⁹ Mobley SA, Taylor DH, Laurie RD and Pfohl RJ: Chlorine dioxide depresses T3 uptake and delays development of locomotone activity in young rats. The Toxicology. 1990: 347-524
- ³⁰ U.S. EPA: Reregistration Eligibility Decision (RED) for Inorganic Chlorates, July 2006, EPA/738/R-06/014

-
- ^{3 1} European Commission: Opinion of the Scientific Committee on Veterinary Measures Relating to Public Health on the Evaluation of Antimicrobial Treatments for Poultry Carcasses (adopted on 14-15 April 2003)
- ^{3 2} EFSA. Opinion of the Scientific Panel on food additives, flavourings, processing aids and materials in contact with food (AFC) on a request from the Commission related to Treatment of poultry carcasses with chlorine dioxide, acidified sodium chlorite, trisodium phosphate and peroxyacids. Question N° EFSA Q-2005-002. The EFSA Journal (2005) 297, pp.1-27. Available online at: <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/297.htm> [Accessed on: February 27, 2015].
- ^{3 3} EFSA. Assessment of the possible effect of the four antimicrobial treatment substances on the emergence of antimicrobial resistance, Scientific Opinion of the Panel on Biological Hazards (Question No EFSA-Q-2007-203). The EFSA Journal (2008) 659, pp. 1-26. Available online at: www.efsa.europa.eu/en/scdocs/doc/659.pdf [Accessed on: March 24, 2015].
- ^{3 4} EFSA. Opinion of Risks for public health related to the presence of chlorate in food. EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). The EFSA Journal (2015) 13 (5):4135. Available online at: <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/4135.htm> [Accessed on: July 6, 2015].
- ^{3 5} International Agency for Research on Cancer: Chlorinated drinking-water; chlorination byproducts; some other halogenated compounds; cobalt and cobalt compounds. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to human 1991; 52: 145-139
- ^{3 6} Ni Y and Yin G: Disproportionation of chlorous acid at a strong acidity. Ind. & Engin. Chem. Res. 1998; 37: 2367-72
- ^{3 7} Abdel-Rahman MS, Couri D and Bull RJ: The kinetics of chlorite and chlorate in the rat. J. Am. Coll. Toxicol. 1984; 3: 261-7
- ^{3 8} Abdel-Rahman MS, Couri D and Bull RJ: Kinetics of ClO₂ and effects of ClO₂, ClO₂ and ClO₃ in drinking water on blood glutathione and hemolysis in rat and chicken. J. Environ. Path. & Toxicol. 1980; 3: 431-49
- ^{3 9} Abdel-Rahman MS, Couri D and Bull RJ: Metabolism and pharmacokinetics of alternate drinking water disinfectants. Environ. Health Perspect. 1982; 46: 19-23.
- ^{4 0} Hakk H, Smith DJ and Shappell NW: Tissue residues, metabolism and excretion of radiolabeled sodium chlorate (Na[³⁶CL]O₃) in rats. J. Agri. Food Chem. 2007; 55: 2034-42.

-
- ⁴¹ Smith DJ, Anderson RC, Ellig DA and Larsen GL: Tissue distribution, elimination, and metabolism of dietary sodium [³⁶Cl] chlorate in beef cattle. *J Agric Food Chem.* 2005a; 53(10): 4272-80.
- ⁴² Smith DJ, Oliver CE, Caron JS and Anderson RC: Effect of sodium [³⁶Cl] chlorate dose on total radioactive residues and residues of parent chlorate in beef cattle. *J. Agric. Food Chem.* 2005b; 53: 7352-60.
- ⁴³ Smith DJ, Anderson RC and Huwe JK: Effect of sodium [³⁶Cl]chlorate dose on total radioactive residues and residues of parent chlorate in growing swine. *J Agric Food Chem.* 2006 Nov 1;54(22):8648-53.
- ⁴⁴ Smith DJ, Byrd JA and Anderson RC: Total radioactive residues and residues of [³⁶Cl]chlorate in market size broilers. *J Agric Food Chem.* 2007 Jul 11;55(14):5898-903. Epub 2007 Jun 16.
- ⁴⁵ Smith DJ, Oilver CE, Taylor JB and Anderson RC: Invited review: Efficacy, metabolism, and toxic responses to chlorate salts in food and laboratory animals. *J. Anim. Sci.* 2012; 90: 4098-117.
- ⁴⁶ Ishidate M, Sofuni T, Yoshikawa K, Hayashi M, Nohmi T, Sawada M et al.: Primary mutagenicity screening of food additives currently used in Japan. *Food. Chem. Toxicol.* 1984; 22: 623-36
- ⁴⁷ Feretti D, Zerbini I, Ceretti E, Villarini M, Zani C, Moretti M, Fatigoni C, Orizio G, Donato F and Monarca S: Evaluation of chlorite and chlorate genotoxicity using plant bioassays and in vitro DNA damage tests. *Water Research.* 2008; 42: 4075-82.
- ⁴⁸ Meier JR, Bull RJ, Stober JA and Cimino MC: Evaluation of chemicals used for drinking water disinfection for production of chromosomal damage and sperm-head abnormalities in mice. *Environ. Mutagen.* 1985; 7: 201-11.
- ⁴⁹ Hayashi M, Kishi M, Sofuni T and Ishidate M: Micronucleus test in mice on 39 food additives and eight miscellaneous chemicals. *Food. Chem. Toxicol.* 1988; 26: 487-500
- ⁵⁰ Musil J, Knotek Z, Chalupa J and Schmidt P: Toxicologic aspects of chlorine dioxide application for the treatment of water containing phenols. *Technol. Water* 1964; 8:327-46
- ⁵¹ Fletcher D: Acute oral toxicity study with sodium chlorite in bobwhite quail. IndustrialBio-Test Laboratory's report to Olin Corporation (1973) (IBT No. J2119). (Cited in 10)).
- ⁵² Moore GS and Calabrese EJ: Toxocological effects of chlorite in the mouse.

Environ. Hlt. Perspect. 1982; 46: 31-7

- ⁵³ Heffernan WP, Guion C and Bull RJ: Oxidative damage to the erythrocyte induced by sodium chlorite in vivo. *Journal of Environmental Pathology & Toxicology* 1979; 2: 1487-99
- ⁵⁴ Harrington RM, Romano RR, Gates D and Ridgway P: Subchronic toxicity of sodium chlorite in the rat. *J. Am. Coll. Toxicol.* 1995; 14: 21-33
- ⁵⁵ TERA Toxicology excellence for risk assessment - Health risk assessment/characterization of the drinking water disinfection by-products chlorine dioxide and chlorite (8W-0766-NTLX). Cincinnati, Ohio (1998)
- ⁵⁶ Couri D and Abdel-Rahman MS: Effect of chlorine dioxide and metabolites on glutathione dependent system in rat, mouse and chicken blood. *Journal of Environmental Pathology & Toxicology.* 1980; 3: 451-60
- ⁵⁷ Bercz JP, Jones L, Garner L, Murray D, Ludwig A and Boston J: Subchronic toxicity of chlorine dioxide and related compounds in drinking water in nonhuman primate. *Environ. Hlt. Perspect.* 1982; 46: 47-55
- ⁵⁸ Kurokawa Y, Takayama S, Konishi Y, Hiasa Y, Asahina S, Takahashi M et al.: Long-term in vivo carcinogenicity tests of potassium bromate, sodium hypochlorite and sodium chlorite conducted in Japan. *Environ. Hlt. Perspect.* 1986; 69: 221-35
- ⁵⁹ Carlton BD, Habash DL, Basaran AH, George EL and Smith MK: Sodium chlorite administration in Long-Evans rats: reproductive and endocrine effects. *Environ. Res.* 1987; 42: 238-45
- ⁶⁰ Meier JR, Bull RJ, Stober JA and Cimino MC. Evaluation of chemicals used for drinking water disinfection for production of chromosomal damage and sperm-head abnormalities in mice. *Environ. Mutagen.* (1985) 7: 201-11.
- ⁶¹ Couri D, Miller CH, Bull RJ, Delphia JM and Ammer EM: Assessment of maternal toxicity, embryotoxicity and teratogenic potential of sodium chlorite in Sprague-Dawley rats. *Environ. Hlt. Perspect.* 1982; 46: 25-9
- ⁶² Suh DH, Abdel-Rahman MS and Bull RJ: Effect of chlorine dioxide and its metabolites in drinking water on fetal development in rats. *J. Appl. Toxicol.* 1983; 3: 75-9
- ⁶³ Harrington RM, Romano RR and Irvine L: Developmental toxicity of sodium chlorite in the rabbit. *J. Am. Coll. Toxicol.* 1996; 14: 108-18
- ⁶⁴ 酒見 和枝, 宇佐見 誠, 紅林 秀雄, 大野 泰雄: 亜塩素酸ナトリウム (NaClO₂) のラットを用いた経口投与による催奇形性試験. 国立医薬品食品衛生研究所報告.

-
- 1999; 117: 99-103
- ^{6 5} Toth GP: Effects of chlorine dioxide on the developing rat brain. *J. Toxicol. Environ. Health.* 1990; 31: 29-44
- ^{6 6} Lubbers JR, Chauhan S and Bianchine JR: Controlled clinical evaluations of chlorine dioxide, chlorite and chlorate in man. *Fundam. Appl. Toxicol.* 1981; 1: 334-8.
- ^{6 7} Lubbers JR, Chauhan S and Bianchine JR: Controlled clinical evaluations of chlorine dioxide, chlorite and chlorate in man. *Environ. Health Perspect.* 1982; 46: 57-62.
- ^{6 8} Lubbers JR and Bianchine JR: Effects of the acute rising dose administration of chlorine dioxide, chlorate and chlorite to normal healthy adult male volunteers. *J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol.* 1984; 5: 215-28.
- ^{6 9} Lubbers JR, Chauhan S, Miller JL and Bianchine JR: The effects of chronic administration of chlorite to glucose-6-phosphate dehydrogenase deficient healthy adult, and chlorate to normal healthy adult male volunteers. *J. Environ. Pathol. Toxicol. & Oncol.* 1984; 5: 239-42
- ^{7 0} Righi E, Bechtold P, Tortorici D, Lauriola P, Calzolari E, Astolfi G, Nieuwenhuijsen MJ, Fantuzzi G and Aggazzotti G: Trihalomethanes, chlorite, chlorate in drinking water and risk of congenital anomalies: A population-based case-control study in Northern Italy. *Environmental Research.* 2012; 116: 66-73.
- ^{7 1} Aggazzotti G, Righi E, Fantuzzi G, Biasotti B, Ravera G, Kanitz S et al.: Chlorination byproducts (CBPs) in drinking water and adverse pregnancy outcomes in Italy. *J. Water Health* 2004; 2(4): 233-47.
- ^{7 2} Gocke E, King M-T, Eckhardt K and Wild D: Mutagenicity of cosmetics ingredients licensed by the European Communities. *Mutation Research.* 1981; 90: 91-109
- ^{7 3} National Toxicology Program (2005) TR-517: Toxicology and carcinogenesis studies of sodium chlorate (CAS No. 7775-09-9) in F344/N rats and B6C3F₁ mice (drinking water studies). Research Triangle Park, MD, USA, United States Department of Health and Human Services, National Institutes of Health
<http://ntp.niehs.nih.gov/index.cfm?objectid=00132319-F1F6-975E-778A4E6504EB9191>
- ^{7 4} ECHA. REACH registered substances and published dossiers (25 February 2015). Sodium chlorate. Exp Key Genetic toxicity in vitro. 002.

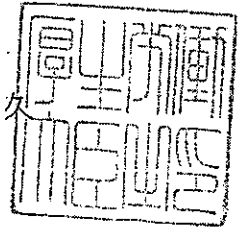
-
- ^{7 5} Hooth MJ, DeAngelo AB, George MH, Gaillard ET, Travlos GS, Boorman GA, et al. : Subchronic sodium chlorate exposure in drinking water results in a concentration-dependent increase in rat thyroid follicular cell hyperplasia. *Toxicol. Pathol.* 2001; 29(2): 250–9.
- ^{7 6} McCauley PT, Robinson M, Daniel FB and Olson GR: The effects of subchronic chlorate exposure in Sprague-Dawley rats. *Drug Chem. Toxicol.* 1995; 18: 185–99.
- ^{7 7} EU DAR (EU Draft Assessment Report). Initial risk assessment provided by the rapporteur Member State France for the existing active substance chlorate of the third stage (part B) of the review programme referred to in Article 8(2) of Council Directive 91/414/EEC. Volume 1. 2008.
- ^{7 8} Ecolab. Chlorite and Chlorate Decay on Meat and Poultry and Validation of Iron Chromatography Method. 2014.
- ^{7 9} 厚生労働省. 平成 24 年国民健康・栄養調査報告. 2014.
- ^{8 0} 文部科学省 科学技術・学術審議会 資源調査分科会. 日本食品標準成分表 2010



厚生労働省発生食1210第3号
平成27年12月10日

薬事・食品衛生審議会
会長 橋田 充 殿

厚生労働大臣 塩崎 恭 久



諮 問 書

食品衛生法（昭和22年法律第233号）第11条第1項の規定に基づき、下記の事項について、貴会の意見を求めます。

記

アスパラギナーゼの添加物としての規格基準の改正について

平成 28 年 2 月 22 日

薬事・食品衛生審議会

食品衛生分科会

会長 岸 玲 子 殿

薬事・食品衛生審議会

食品衛生分科会添加物部会

会長 若 林 敬 二

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 27 年 12 月 10 日付け厚生労働省発生食 1210 第 3 号をもって厚生労働大臣から諮問された、下記の事項について、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。

記

アスパラギナーゼの添加物としての規格基準の改正について

アスパラギナーゼの規格基準改正に関する部会報告書

今般の添加物としての規格基準の改正の検討については、事業者より規格基準の改正にかかる要請がなされたことに伴い、食品安全委員会において食品影響評価がなされたことを踏まえ、添加物部会において審議を行い、以下の報告を取りまとめるものである。

1. 品目名

和名：アスパラギナーゼ (*Aspergillus oryzae* NZYM-SP 株を用いて生産されたもの)

英名：Asparaginase from *Aspergillus oryzae* expressed in *Aspergillus oryzae*

CAS 番号：9015-68-3

INS 番号：なし

EC 番号：EC 3.5.1.1

2. 構造式及び質量

構造式：アミノ酸配列 (359 アミノ酸) は以下のとおり。

```
SPLLYPRATDSNVTYVFTNPNGLNFTQMNTTLPNVTIFATGGTIAGSSADNTATTGYKAGAVGIQTLIDAV  
PEMLNVANVAGVQVTNVGSPDITSDILLRLSKQINEVVCNDPTMAGAVVTHGDTLEESAFFLDATVNCRK  
PVVIVGAMRPSTAISADGPLNLLQSVTVAASPKARDGALIVMNDRIVSAFYASKTNANTVDTFKAIEMGN  
LGEVVSINKPYFFYPPVKPTGKTEVDIRNITSIPRVDILYSYEDMHNDTLÝSAIDNGAKGIVIAGSGSGSVS  
TPFSAAMEDITTKHNIPIVASTRTGNGEVPPSSAESSQIASGYLNPAKSRVLLGLLLAQGKSI EEMRAVFER  
IGVA
```

質量：

アミノ酸配列から計算される質量は 37. kDa である。

3. 用途

製造用剤 (食品加工の際のアクリルアミド生成抑制)

4. 概要及び諸外国での使用状況

(1) 概要

アスパラギナーゼ (*Aspergillus oryzae* NZYM-SP 株を用いて生産されたもの) は、*A. oryzae* (こうじ菌) が本来有しているアスパラギナーゼ遺伝子を増幅して、アスパラギナーゼの生産性を向上させた菌より得られたものである。

アスパラギナーゼは、食品加工の際に生じるアクリルアミド¹の生成の起因となるアスパラギンをアスパラギン酸とアンモニアに加水分解する作用を有する酵素であり、食品加工の際に生成するアクリルアミドを低減する目的で使用される。

JECFA では、平成 19 (2007) 年に、適正製造規範 (GMP) に沿って適切に製造され、特定の目的 (アクリルアミド生成の低減) で使用される場合、一日摂取許容量 (ADI) は特定しない (not specified) と評価している。

我が国では、アスパラギナーゼは、製造用剤 (食品加工の際のアクリルアミド生成抑制) の目的で平成 26 年に *Aspergillus niger* ASP-72 株を用いて生産されたアスパラギナーゼが指定されている。

なお、本品目に関しては、平成 27 年 9 月に食品安全委員会より、「遺伝子組換え微生物を利用して製造された添加物の安全性評価基準」(平成 16 年 3 月 25 日食品安全委員会決定) に基づき評価した結果、ヒトの健康を損なうおそれはないと判断されている。

(参考) アクリルアミドの主な生成経路

食品中のアクリルアミドの主要な生成経路は、アミノ酸の一種である遊離アスパラギンと還元糖に分類されているグルコース等によるアミノ・カルボニル反応であるとされている。グルコースやアスパラギンは、穀類、いも類及び野菜類等に豊富に含まれており、これらを原料にして、①揚げる、②焼く、③焙る等の高温での加熱 (120°C以上) で加工した食品にアクリルアミドが含まれる。

¹ 国際がん研究機関 (IARC: International Agency for Research on Cancer) による発がん性分類において、アクリルアミドは 2A (人に対しておそらく発がん性がある) に分類されている。国内では、食品安全委員会が自ら行う食品健康影響評価の案件として、加熱時に生じるアクリルアミドの食品健康影響評価を実施している。

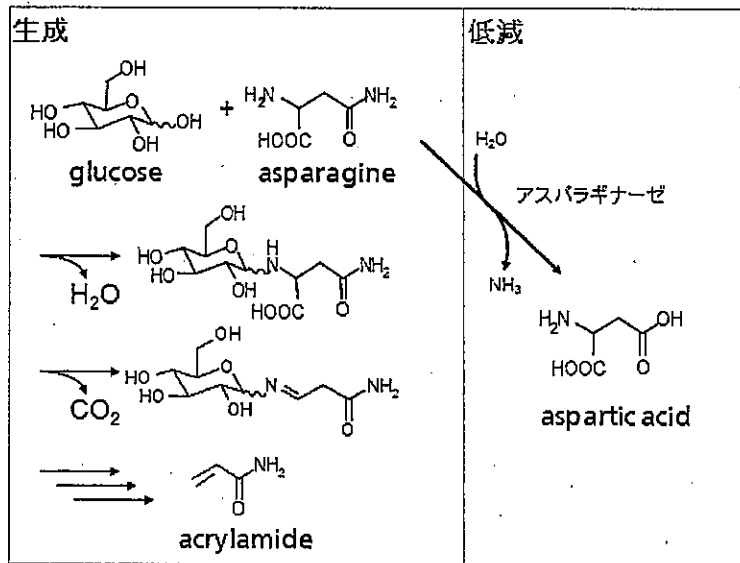


図 1 メイラード反応によるアクリルアミドの生成及び
アスパラギナーゼによるアクリルアミドの生成の低減

(2) 諸外国での使用状況等

コーデックス委員会では、加工助剤は食品添加物に分類されない²ため、コーデックス委員会食品添加物部会 (CCFA) が作成する添加物の使用基準 (食品添加物に関するコーデックス一般規格 (GSFA³)) に規格は設定されていない。

米国では、一般に安全と認められている (GRAS) 物質として認定されている。

欧州連合 (EU) では、デンマーク及びフランスでは、個別に認可されている。その他の国においては、現時点では、加工助剤としての酵素の使用に規制はない。

オーストラリア及びニュージーランドでは、2008 年に加工助剤としての使用が認められている。

² コーデックス委員会では、加工助剤は、「装置若しくは器具類を含まず、それ自体では食品の原材料として消費されることのない物質又は材料であって、処理若しくは加工過程において技術的な目的を達成すべく、原料、食品又はその原材料を加工する際に意図的に使用するものをいう。ただし、「加工助剤」を使用することで、意図的ではないが、その残渣又は派生物が最終製品中に存在することが回避できない場合がある。」と定義されている。

³ コーデックスにおける食品添加物の最も基本的な規格。食品添加物の使用に関する一般原則 (食品添加物の安全性、使用の妥当性、適正製造規範 (GMP) の考え方等)、食品へのキャリーオーバー (食品の原材料の製造等に使用された食品添加物が食品中に存在すること) の考え方等の他、生鮮食品及び加工食品を階層的に分類した「食品分類システム」や、個別の食品添加物について、使用が認められている食品分類ごとに食品中の最大濃度を規定した「食品添加物条項」等から構成されている。

5. 食品添加物としての有効性

(1) アスパラギナーゼの有効性

(i) アスパラギナーゼの機能

アスパラギナーゼは、アクリルアミドの生成の起因となるアスパラギンをアスパラギン酸とアンモニアに加水分解する作用を持つ。食品加工の際にアスパラギナーゼを添加することにより、アクリルアミドの生成が低減される。

(ii) ビスケット、ジンジャースナップ及びクラッカーに対する効果

アスパラギナーゼをビスケット、ジンジャースナップ及びクラッカーの原材料たる小麦粉に添加し、各食品を製造した場合のアクリルアミド含有量を測定し、アスパラギナーゼのアクリルアミドの低減効果を調べた。ビスケット、ジンジャースナップ及びクラッカーの原材料たる小麦粉の重量当たり、それぞれ、60～180、570～1430、145～715 ppm のアスパラギナーゼを添加したところ、アスパラギナーゼを添加していない対照群に比べて最大でそれぞれ 90、50、85%のアクリルアミドの低減効果が認められた（図2-1～図2-3）。

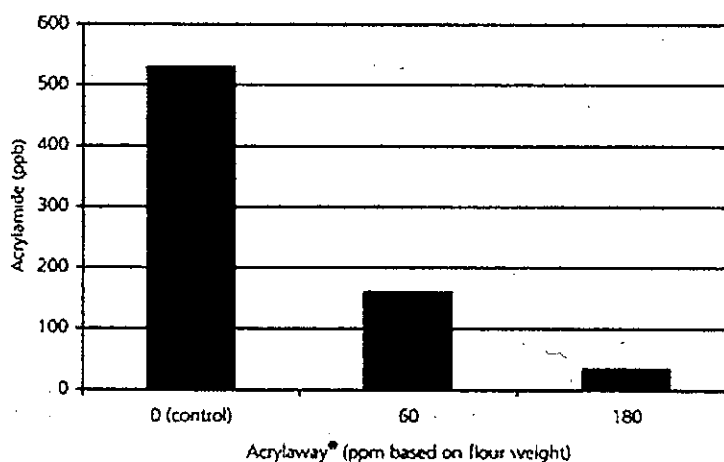


図 2-1 ビスケットにおけるアスパラギナーゼによるアクリルアミド低減効果
(Acrylaway®はアスパラギナーゼの商品名)

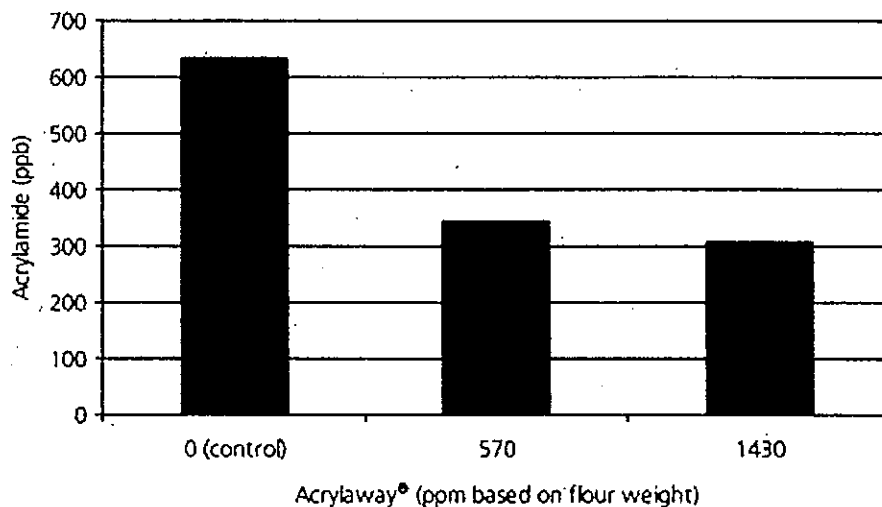


図 2-2 ジンジャースナップにおけるアスパラギナーゼによるアクリルアミド低減効果

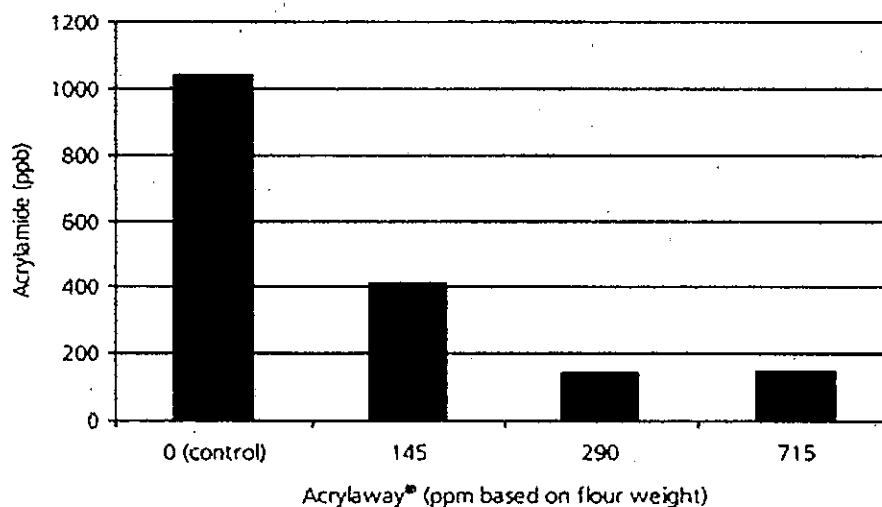


図 2-3 クラッカーにおけるアスパラギナーゼによるアクリルアミド低減効果

(iii) コーデックス委員会におけるアクリルアミド生成の低減対策

コーデックス委員会では、行政、食品事業者等の関係者向けの手引きとして2009年に「食品中のアクリルアミド低減のための実施規範」を採択した。この規範には、大きく分けて以下の3つの有効な対策が示されている。

- ①適切な原材料の選択
- ②原材料の配合比率や組成の見直し
- ③調理加工条件、特に加熱条件の見直し

このうち、②の原材料の配合比率や組成の見直しの中で、アクリルアミド生成原因物質であるアスパラギンを酵素によって特異的に分解することが方法の1つと

して挙げられている。

(2) 食品中での安定性

アスパラギナーゼの至適温度は、pH7において 50℃であり、80℃で失活する。実際の食品加工工程において、アスパラギナーゼで処理された食品はアクリルアミドが生成される 120℃以上の温度で加熱されるが、アスパラギナーゼは 120℃以上では失活する。

(3) 食品中の栄養素に及ぼす影響

アスパラギナーゼは、食品中のアスパラギンをアスパラギン酸とアンモニアに分解する。

6. 食品安全委員会における評価結果

食品添加物としての規格基準改正のため、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26年10月17日付け厚生労働省発食安1017第1号により、食品安全委員会に対して意見を求めたアスパラギナーゼに係る食品健康影響評価については、添加物専門調査会の議論を踏まえ、以下の評価結果が平成27年12月8日付け府食第902号で通知されている。

【食品健康影響評価(添加物評価書抜粋)】

本委員会としては、本品目の製造を目的として適切に管理された本生産菌株については、本品目の添加物としての摂取において問題となるような病原性及び毒素産生性の懸念はないと判断した。

本委員会としては、本品目が「添加物に関する食品健康影響評価指針」における「酵素が消化管内で分解して食品常在成分になることが科学的に明らかである場合」に該当すると判断したことから、本品目の毒性について、同指針に基づき、遺伝毒性、反復投与毒性及びアレルギー性に係る試験成績を用いて評価を行うこととした。

本委員会としては、本品目の毒性に係る知見を検討した結果、本品目については、遺伝毒性、反復投与毒性の懸念はないと判断した。

本委員会としては、本品目のアレルギー性の懸念は極めて低いと判断した。

以上を踏まえ、本委員会としては、ラットを用いた13週間反復経口投与毒性試験における最高用量から得られたNOAEL 10.0 mL/kg 体重/日 (TOS換算: 880 mg TOS/kg 体重/日) と、本品目の推定一日摂取量 114 µgTOS/kg 体重/日とを比較して得られる安全マージンが十分であること及び本品目が食経験のある基原微生物である *A. oryzae* を用いて生産されることを勘案して、本品目について、添加物として適切に使用される場合、安全性に懸念がないと考えられ、ADIを特定する必要はないと判断

した。

7. 摂取量の推計

食品安全委員会の評価結果によると次のとおりである。

【一日摂取量の推計等（添加物評価書抜粋）】

1. 国際機関等における推計

(1) JECFA における推計

上述 (p11) の通り、JECFA は保守的な推定を行った場合の本品目の一日摂取量を 0.4 mgTOS/kg 体重/日としている。(参照 3、18)

2. 我が国における推計

指定等要請者によれば、本品目は、小麦・加工品（パン類等）、その他の穀類・加工品、いも類、ケーキ・ペストリー類、ビスケット類、その他の菓子類（ポテトチップス等）、その他の調味料といった食品（群）に直接使用されるものであるとされている。

本委員会としては、本品目の一日摂取量について、指定等要請者の推計を基に、最大添加量について一部修正し、当該食品（群）又はそれらの原材料の全てに本品目が表 1 の最大添加量で添加され、全量がそのまま最終食品に移行して、消費されたとした場合を想定し、平成 24 年国民健康・栄養調査から得られる食品（群）の一日摂取量を用いて、表 1 のとおり算出した。その結果、本委員会としては、本品目の一日摂取量を 6.26 mgTOS/人/日（114 μ gTOS/kg 体重/日）と判断した。なお、日本人の平均体重 55.1 kg を用いている。(参照 2、11、21)

表 1 本品目の推定一日摂取量

食品（群）	a 食品摂取量	b 本品目最大添加量	c 本品目一日摂取量 $a \times b / 1000000 \times 1000$	d 本品目由来 TOS 一日摂取量 $c \times 0.04$	e 本品目由来 TOS 一日摂取量 $d \times 1000 / 55.1$
	g/人/日	ppm ^{*1}	mg/人/日	mgTOS ^{*2} /人/日	μ gTOS/kg 体重/日
小麦・加工品（パン類等）	102.4	570 ^{*3}	58.37	2.335	42.38
その他の穀類・加工品	8.1	715 ^{*4}	5.79	0.232	4.20
いも類	54.3	715 ^{*4}	38.82	1.553	28.18

ケーキ・ペストリー類	7.1	715 ^{*4}	5.07	0.203	3.68
ビスケット類	1.9	570 ^{*5}	1.08	0.043	0.78
その他の菓子類 (ポテトチップス等)	6.2	715 ^{*4}	4.43	0.177	3.22
その他の調味料	59.9	715 ^{*4}	42.83	1.713	31.09
合計	239.9		124.2	6.26	114

*1 最終製品の重量に対する数値

*2 本品目のTOSを4%として算出

*3 指定等要請者は小麦・加工品(パン類等)の本品目最大添加量を290 ppmとしているが、本委員会としては、中嶋(2009)(参照11)のクリスピーブレッドの値を用い、最大添加量を570 ppmと判断した。

*4 アスパラギナーゼ添加量のデータがないため、本委員会としては、中嶋(2009)(参照11)の様々な食品の推奨添加量のうち最大添加量の値である715 ppmを用いて算出した。

*5 指定等要請者はビスケット類の本品目最大添加量を290 ppmとしているが、本委員会としては、中嶋(2009)(参照11)のジンジャークッキーの値を用い、最大添加量を570 ppmと判断した。

8. 規格基準の改正について

食品衛生法(昭和22年法律第233号)法第11条第1項の規定に基づく規格基準については、次のとおり改正することが適当である。

(1) 使用基準について

アスパラギナーゼは使用基準が設定されていない。*Aspergillus oryzae* NZYM-SP株を用いて生産されたアスパラギナーゼについては、*Aspergillus niger* ASP-72株を用いて生産されたアスパラギナーゼと同様、①消化管内で分解して食品常在成分になることが科学的に明らかであるため、ヒトが摂取する際の安全性の懸念は低いこと、②食品安全委員会の評価結果において、ADIを特定する必要はないこと等を踏まえて、本規格基準の改正においても使用基準を設定しないこととするのが適当である。

(2) 成分規格について

別紙1のとおり改正することが適当である(設定根拠は別紙2、JECFA規格との対比表は別紙3のとおり)。

成分規格 (案)

アスパラギナーゼ

Asparaginase

定 義 本品は、糸状菌 (*Aspergillus niger* 及び *Aspergillus oryzae* に限る。) が本来有するアスパラギナーゼ遺伝子を増幅させて生産性を向上させた糸状菌 (*A. niger* ASP-72 株及び *A. oryzae* NZYM-SP 株に限る。) より得られた、アスパラギン酸とアンモニアに加水分解する酵素である。本品には、アスパラギナーゼ (*A. niger* ASP-72 株由来) 及びアスパラギナーゼ (*A. oryzae* NZYM-SP 株由来) がある。グリセリン、デキストリン、マルトデキストリン、食塩又は小麦粉を含むことがある。

アスパラギナーゼ (*A. niger* ASP-72 株由来)

酵素活性 本品は、1 g あるいは 1 ml 当たり 2,375 単位以上の酵素活性を有する。

性 状 本品は、黄～褐色の澄明な液体又はごくうすい灰色若しくはごくうすい黄色を帯びた白色の顆粒である。

確認試験 本品は、酵素活性測定法により試験を行うとき、活性を示す。

純度試験 (1) 鉛 Pb として $5.0\mu\text{g}/\text{g}$ 以下

本品 0.8 g を量り、白金製、石英製若しくは磁製のるつぼ又は石英製のビーカーに入れる。硫酸 (1→4) を加えて試料全体を潤した後、徐々に温度を上げ、試料が炭化し、硫酸の白煙が発生しなくなるまで加熱する。必要があれば硫酸 (1→4) を更に加え、試料がほとんど炭化するまで加熱する。なお、液体試料及び炭化しにくい試料の場合には、硫酸 (1→4) の代わりに硫酸を用いてもよい。試料が炭化した後、必要があれば容器に緩くふたをして電気炉に入れ、徐々に温度を上げて 450～600℃ で強熱して灰化する。炭化物が残る場合は、必要があればガラス棒で炭化物を砕き、硫酸 (1→4) 1 ml 及び硝酸 1 ml で潤し、白煙が発生しなくなるまで加熱した後、電気炉で強熱して完全に灰化する。残留物に塩酸 (1→4) 10 ml を入れ、水浴上で加熱して蒸発乾固する。残留物に少量の硝酸 (1→100) を加え、加温して溶かし、冷後、更に硝酸 (1→100) を加えて正確に 10 ml とし、検液とする。なお、500℃ 以下で灰化操作を行う場合には、耐熱ガラス製のビーカーを使用することができる。別に、鉛標準原液 1 ml を正確に量り、水を加えて正確に 100 ml とする。この液 4 ml を正確に量り、硝酸 (1→100) を加えて正確に 10 ml とし、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_2O_3 として $4.0\mu\text{g}/\text{g}$ 以下 (0.50 g, 第 3 法, 装置 B)

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 1 g につき、細菌数は 50,000 以下である。また、大腸菌及びサルモネラは認めない。なお、サルモネラの

試験は、「ナイシン」の微生物限度試験を準用する。

酵素活性測定法

(1) 基質溶液

L-アスパラギン 1 水和物 1.50 g を量り、クエン酸・水酸化ナトリウム緩衝液 (pH5.0) を加え、かくはんして完全に溶かした後、更にクエン酸・水酸化ナトリウム緩衝液 (pH5.0) を加えて正確に 100ml とする。用時調製する。

(2) 試料溶液

本品約 2.5 g を精密に量り、クエン酸・水酸化ナトリウム緩衝液 (pH5.0) 20 ml を加えて溶かし、更にクエン酸・水酸化ナトリウム緩衝液 (pH5.0) を加えて正確に 25ml とする。この液をクエン酸・水酸化ナトリウム緩衝液 (pH5.0) で希釈して、1 ml 中に 6 単位を含む液を調製し、試料溶液とする。

(3) 比較原液

4,000 単位に対応する量の酵素活性測定用アスパラギナーゼを量り、クエン酸・水酸化ナトリウム緩衝液 (pH5.0) 20ml を加えて溶かし、更にクエン酸・水酸化ナトリウム緩衝液 (pH5.0) を加えて正確に 25ml とする。この液をクエン酸・水酸化ナトリウム緩衝液 (pH5.0) で希釈して、1 ml 中に 6 単位を含む液を調製し、比較原液とする。

(4) 硫酸アンモニウム標準液

硫酸アンモニウム約 3.9 g を精密に量り、クエン酸・水酸化ナトリウム緩衝液 (pH5.0) 40ml を加えて 15 分間かくはんする。更にクエン酸・水酸化ナトリウム緩衝液 (pH5.0) を加えて 50ml とし、標準原液とする。標準原液をクエン酸・水酸化ナトリウム緩衝液 (pH5.0) で 4 倍、6 倍、10 倍、30 倍及び 60 倍に希釈し、硫酸アンモニウム標準液とする。

(5) 操作法

2 本の試験管に、基質溶液 2.0ml ずつを入れ、37°C で 10 分間加温する。1 本の試験管に試料溶液 0.100ml を、もう 1 本の試験管に比較原液 0.100ml を加えて混和する。これらの試験管を 37°C で正確に 30 分間加温した後、トリクロロ酢酸溶液 (1→4) 0.400ml を加えて混和し、更に水 2.5ml を加えて混和する。2 本の試験管からそれぞれ 0.100ml を量り、水 4.0ml に加え、塩基性フェノール・ニトロプルシド試液 0.850ml を加えて混合し、アスパラギナーゼ活性試験用次亜塩素酸ナトリウム・水酸化ナトリウム試液 0.850ml を加えて 37°C で 10 分間放置した液を検液及び比較液とする。検液及び比較液につき、水を対照として、波長 600nm における吸光度 A_T 及び A_C を測定する。また、別の 2 本の試験管に、基質溶液 2.0ml ずつを入れ、それぞれにトリクロロ酢酸溶液 (1→4) 0.400ml を加えて混和し、試料溶液又は比較原液 0.100ml を加えて混和し、37°C で 30 分間加温した後、水 2.5ml を加えて混和する。これらの液それぞれ 0.100ml を量り、水 4.0ml に加え、塩基性フェノール・ニトロプルシド試液 0.850ml を加えて混合し、アスパラギナーゼ活性試験用次亜塩素酸ナトリウム・

水酸化ナトリウム試液 0.850ml を加えて 37°C で 10 分間放置した液をそれぞれ検液の対照液及び比較液の対照液とする。対照液につき、水を対照として、波長 600nm における吸光度 A_{BT} 及び A_{BC} を測定する。別に、基質溶液 2.0ml ずつを量り、5本の試験管に入れ、37°C で 10 分間加温し、試料溶液の代わりに、それぞれの試験管に異なる濃度の硫酸アンモニウム標準液 0.100ml ずつを加えて、以下検液の調製と同様に操作して得られた液につき、水を対照として、波長 600nm における吸光度を測定する。硫酸アンモニウム標準液の硫酸アンモニウムの濃度と得られた吸光度により検量線を作成し、その傾きを a (ml/mg) とする。次式により、酵素活性測定用アスパラギナーゼの酵素活性を求め、酵素活性が表示量の 91~109% のとき、試料の酵素活性を求める。その酵素活性の単位は、操作法の条件で試験するとき、L-アスパラギンから、1 分間にアンモニア 1 μ mol を遊離させる酵素量を 1 単位とする。

$$\text{酵素活性 (単位/g)} = \frac{A \times D_f \times 25 \times 2 \times 10^3}{a \times W \times 132.14 \times 30}$$

ただし、 A : 検液又は比較液の吸光度 (A_T 又は A_C) から対照液の吸光度 (A_{BT} 又は A_{BC}) を引いた値

D_f : 試料溶液又は比較原液の希釈係数

W : 試料又は酵素活性測定用アスパラギナーゼの採取量 (g)

アスパラギナーゼ (*A. oryzae* NZYM-SP 株由来)

酵素活性 本品は、1 g あるいは 1 ml 当たり 3,500 単位以上の酵素活性を有する。

性状 本品は、淡褐色の液体又は白~灰白色の顆粒である。

確認試験 本品は、酵素活性測定法により試験を行うとき、活性を示す。

純度試験 (1) 鉛 Pb として 5.0 μ g/g 以下

本品 0.8 g を量り、以下「アスパラギナーゼ (*A. niger* ASP-72 株由来)」の純度試験(1)を準用する。

(2) ヒ素 As_2O_3 として 4.0 μ g/g 以下 (0.50 g, 第3法, 装置B)

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 1 g につき、細菌数は 50,000 以下である。また、大腸菌及びサルモネラは認めない。なお、サルモネラの試験は、「ナイシン」の微生物限度試験を準用する。

酵素活性測定法

(1) 基質溶液

L-アスパラギン 1 水和物 0.25g を量り、MOPS 緩衝液 (0.1mol/L, pH7.0) 15ml を加え、かくはんして完全に溶かした後、遮光し、A液とする。 β -ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド二ナトリウム水和物 (還元型) 0.011g, 2-ケト

グルタル酸二ナトリウム 0.063g 及び 1,680 単位以上に対応する量の L-グルタミン酸デヒドロゲナーゼ (ウシ肝臓由来) を量り, A液に加えてかくはんして溶かし, MOPS 緩衝液 (0.1mol/L, pH7.0) を加えて正確に 25ml とする。用時調製する。

(2) 試料溶液

本品約 1.0g を精密に量り, 酢酸緩衝液 (0.1mol/L, pH5.0, ポリオキシエチレン (23) ラウリルエーテル含有) を加えて溶かし, 正確に 100ml とする。この溶液を酢酸緩衝液 (0.1mol/L, pH5.0, ポリオキシエチレン (23) ラウリルエーテル含有) で希釈して, 1ml 中に約 0.6 単位を含む溶液を調製し, 試料溶液とする。

(3) 標準原液

775 単位に対応する量の酵素活性測定用アスパラギナーゼ (*A. oryzae* 由来) を量り, 酢酸緩衝液 (0.1mol/L, pH5.0, ポリオキシエチレン (23) ラウリルエーテル含有) を加えて溶かし, 正確に 100ml とする。この液を酢酸緩衝液 (0.1mol/L, pH5.0, ポリオキシエチレン (23) ラウリルエーテル含有) を用いて 8, 10, 15, 20 及び 30 倍に希釈して, 1ml 中に 0.9688, 0.7750, 0.5167, 0.3875 及び 0.2583 単位を含む 5 つの液を調製し, 標準原液とする。

(4) 操作法

試験管に基質溶液 4.6ml を正確に量り, 37.0±0.5°C で 8 分間加温した後, 試料溶液 0.4ml を正確に加えてかくはんし, 37.0±0.5°C で 90 秒間加温した液を検液とする。検液につき, 水を対照として, 波長 340nm における吸光度 A を測定する。別に, 基質溶液 4.6ml ずつを正確に量り, 5 本の試験管に入れ, 37.0±0.5°C で 8 分間加温し, 試料溶液の代わりに, それぞれの試験管に異なる濃度の標準原液 0.4ml ずつを加えて, 以下検液の調製と同様に操作し, 標準液とする。標準液につき, 水を対照として, 波長 340nm における吸光度を測定する。得られた吸光度と標準原液 1ml 中の酵素活性 (単位/ml) から検量線を作成する。試料溶液中の酵素活性 U (単位/ml) を検量線から求め, 次式により, 試料の酵素活性を求める。その酵素活性の単位は, 操作法の条件で試験するとき, 1 分間にアンモニア 1μmol を遊離させる酵素量を 1 単位とする。

$$\text{酵素活性 (単位/g)} = \frac{U \times D \times 100}{\text{試料の採取量 (g)}}$$

ただし, U : 試料溶液中の酵素活性 (単位/ml)

D : 試料溶液の希釈係数

試薬・試液 (案)

アスパラギナーゼ (*A. oryzae* 由来), 酵素活性測定用 本品は, 糸状菌 (*Aspergillus*

*oryzae*に限る。)が本来有するアスパラギナーゼ遺伝子を増幅させて生産性を向上させた糸状菌 (*A. oryzae* NZYM-SP 株に限る。)より得られた、淡褐色の液体又は白～灰白色の顆粒である。本品は、既知の酵素活性を有する。本品の1単位は、L-アスパラギンを基質として、pH7.0, 37°Cにおいて1分間に1 μ molのアンモニアを遊離する酵素量とする。

3- (*N*-モルホリノ) プロパンスルホン酸 $C_7H_{15}NO_4S$ 本品は、白色の結晶性粉末で、水に溶解やすく、エタノール (99.5) にほとんど溶けない。
融点 275~280°C

ポリオキシエチレン (23) ラウリルエーテル $(C_2H_4O)_n C_{12}H_{26}O$ 日本薬局方ラウロマクロゴールを用いる。

ポリオキシエチレン (23) ラウリルエーテル試液 ポリオキシエチレン (23) ラウリルエーテル 15g に水を加えて 100ml とする。

β -ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド二ナトリウム水和物 (還元型) $C_{21}H_{27}N_7Na_2O_{14}P_2$ 本品は、白～淡黄色の粉末で、水に溶ける。

2-ケトグルタル酸二ナトリウム $C_5H_4Na_2O_5$ 本品は、白色の粉末で、水に溶ける。

L-グルタミン酸デヒドロゲナーゼ (ウシ肝臓由来) 本品は、ウシの肝臓から得られた、L-グルタミン酸デヒドロゲナーゼである。本品は、既知の酵素活性を有する。本品の1単位は、2-ケトグルタル酸を基質として、pH7.3, 25°Cにおいて1分間に1 μ molのL-グルタミン酸を遊離する酵素量とする。

酵素活性測定用アスパラギナーゼ (*A. oryzae* 由来) アスパラギナーゼ (*A. oryzae* 由来), 酵素活性測定用を見よ。

酢酸緩衝液 (0.1mol/L, pH5.0, ポリオキシエチレン (23) ラウリルエーテル含有)
酢酸緩衝液 (1mol/L, pH5.0) 500ml に水 3,500ml を加え、さらにポリオキシエチレン (23) ラウリルエーテル試液 7.5ml を加える。適当な濃度の水酸化ナトリウム溶液で pH5.0 に調整し、水を加えて正確に 5 L とする。

酢酸緩衝液 (1mol/L, pH5.0) 酢酸ナトリウム三水和物 88.8g を水 1,800ml に溶かし、酢酸で pH5.0 に調整し、水を加えて正確に 2,000ml とする。

MOPS 緩衝液 (0.1mol/L, pH7.0) 3 - (N-モルホリン) プロパンスルホン酸 21g
を量り, 水 900ml を加えて溶かし, 適当な濃度の水酸化ナトリウム溶液で pH7.0
に調整し, 水を加えて正確に 1,000ml とする。

アスパラギナーゼ (*A. oryzae* NZYM-SP株由来) の規格設定の根拠

アスパラギナーゼは、JECFA Combined Compendium of Food Additive Specifications (JECFA規格) には、*ASPARAGINASE FROM ASPERGILLUS NIGER EXPRESSED IN A. NIGER* と *ASPARAGINASE FROM ASPERGILLUS ORYZAE EXPRESSED IN A. ORYZAE* という2つの規格が設定されている。*Aspergillus niger* ASP-72 株を用いて生産されたアスパラギナーゼ (アスパラギナーゼ (*A. niger* ASP-72株由来)) については、平成26年11月に指定されており、今回、*Aspergillus oryzae* NZYM-SP株を用いて生産されたアスパラギナーゼについて指定要請があったことから、JECFA規格の *ASPARAGINASE FROM ASPERGILLUS ORYZAE EXPRESSED IN A. ORYZAE*, アスパラギナーゼ (*A. niger* ASP-72株由来) の成分規格及び指定要請書の成分規格案 (以下「指定要請規格案」という。) を参考に成分規格案を設定した。なお、成分規格案は、最終的にアスパラギナーゼ (*A. niger* ASP-72株由来) の成分規格と合わせてまとめた。

定義

アスパラギナーゼ (*A. niger* ASP-72 株由来) では、基原及び本質並びに賦形剤等の添加される可能性のある化合物を規定していることから、本規格案では、JECFA 規格及び指定要請書の記載を参考に、基原及び本質を、「本品は、糸状菌 (*Aspergillus oryzae* に限る) が本来有するアスパラギナーゼ遺伝子を増幅させて生産性を向上させた糸状菌 (*A. oryzae* NZYM-SP 株に限る) より得られた、アスパラギンとアスパラギン酸とアンモニアに加水分解する酵素である。」とし、含まれる可能性のある化合物は、アスパラギナーゼ (*A. niger* ASP-72 株由来) の記載に、要請のあったデキストリンと食塩を加え、「グリセリン、デキストリン、マルトデキストリン、食塩又は小麦粉を含むことがある。」とした。

酵素活性

JECFA 規格には規格値は設定されていないが、アスパラギナーゼ (*A. niger* ASP-72 株由来) の記載方法に合わせて酵素活性を設定することとし、「酵素活性 本品は、1 g あるいは1 ml 当たり 3,500 単位以上の酵素活性を有する。」とした。

性状

JECFA 規格では、「淡褐色の液体である。」、指定要請規格案では、「淡褐色液状 (液状品)、白色～灰白色顆粒 (顆粒品)。」としている。本規格案は、「本品は、淡褐色の液体又は白～灰白色の顆粒である。」とした。

確認試験

JECFA 規格及び指定要請規格案では、いずれも酵素 (アスパラギナーゼ) 活性を示すとしていることから、本規格案では、「本品は、酵素活性測定法により試験を行うとき、活性を示す。」とした。

純度試験及び微生物限度

JECFAの酵素一般規格では、鉛 (5mg/kg以下)、微生物限度 (サルモネラ: 不検出/25g 試料、大

腸菌群：30/g以下，大腸菌：不検出/25 g）及び抗菌物質活性（微生物由来の製剤に活性がないこと）を規定しているが，アスパラギナーゼ（*A. niger* ASP-72株由来）では，鉛（Pbとして5.0μg/g以下），ヒ素（As₂O₃として4.0μg/g以下），微生物限度（細菌数は50,000/g以下，大腸菌，サルモネラは認めない）を規定していることから，本規格案では，純度試験は，鉛（Pbとして5.0μg/g以下），ヒ素（As₂O₃として4.0μg/g以下）を規定し，微生物限度は，「微生物限度試験法により試験を行うとき，本品1 gにつき，細菌数は50,000以下である。また，大腸菌及びサルモネラは認めない。なお，サルモネラの試験は，「ナイシン」の微生物限度試験を準用する。」を規定した。

酵素活性測定法

JECFA規格及び指定要請規格案では，アスパラギナーゼによるL-アスパラギンの分解によって生じるアンモニアにα-ケトグルタル酸を結合させ，L-グルタミン酸を生成させる際に消費されるNADH（NADに変換されるNADH）を測定する方法により酵素活性を求めていることから，本規格案でもこれを採用した。

アスパラギナーゼ(*A. oryzae* NZYM-SP株由来)の規格対比表

		本規格案	JECFA
定義		本品は、糸状菌(<i>Aspergillus oryzae</i> に限る)が本来有するアスパラギナーゼ遺伝子を増幅させて生産性を向上させた糸状菌(<i>A. oryzae</i> NZYM-SP株に限る)より得られた、アスパラギンをアスパラギン酸とアンモニアに加水分解する酵素である。グリセリン、デキストリン、マルトデキストリン、食塩又は小麦粉を含むことがある。	(起源)アスパラギナーゼは、 <i>Aspergillus oryzae</i> に由来したアスパラギナーゼ遺伝子を含む <i>Aspergillus oryzae</i> の遺伝子組換え菌株の流加法(fed-batch)の液体培養によって生産される。酵素はバイオマスを除くためにろ過によって発酵培養液から分離され、限外濾過又は蒸発によって濃縮される。酵素濃縮物は細菌ろ過され、次いで、食品グレードの化合物を使用して調合され、要求された活性に、規格化される。
酵素活性		本品は、1gあるいは1ml当たり3,500単位以上の酵素活性を有する。	—
性状		本品は、淡褐色の液体又は白～灰白色の顆粒である。	淡褐色の液体である。
確認試験		酵素活性を示す	アスパラギナーゼ活性を示す
純度試験			
鉛		Pbとして5.0 μ g/g以下	Pbとして5.0mg/kg以下*
ヒ素		As ₂ O ₃ として4.0 μ g/g以下	—
抗菌活性		設定しない	微生物由来の製剤に活性がない*
微生物限度	細菌数	50,000以下	—
	大腸菌	認めない	不検出/25 g *
	サルモネラ	認めない	不検出/25 g *
	総大腸菌群	設定しない	30以下/g *
酵素活性測定法		NADHの定量(340nm) (アスパラギナーゼによるL-アスパラギンの分解によって生じるアンモニアに α -ケトグルタル酸を反応させてL-グルタミン酸を生じる際に消費されるNADHを測定)	NADHの定量(340nm) (アスパラギナーゼによるL-アスパラギンの分解によって生じるアンモニアに α -ケトグルタル酸を反応させてL-グルタミン酸を生じる際に消費されるNADHを測定)

*General Specifications and Considerations for Enzyme Preparations used in Food Processing

(参考)

これまでの経緯

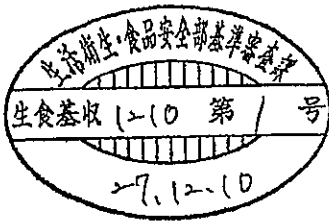
平成26年10月17日 厚生労働大臣から食品安全委員会委員長宛てに食品添加物の規格基準改正に係る食品健康影響評価を依頼
平成26年10月21日 第534回食品安全委員会(要請事項説明)
平成26年11月17日 第136回添加物専門調査会
平成27年8月31日 第146回添加物専門調査会
平成27年10月13日 第580回食品安全委員会(報告)
平成27年10月14日 食品安全委員会における国民からの意見募集
(~平成27年11月12日)
平成27年12月8日 食品安全委員会より食品健康影響評価の結果の通知
平成27年12月10日 薬事・食品衛生審議会へ諮問
平成27年12月25日 薬事・食品衛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

[委員]

氏名	所属
穂山 浩	国立医薬品食品衛生研究所食品部長
石見 佳子	国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所国立健康・栄養研究所食品保健機能研究部長
井手 速雄	東邦大学薬学部名誉教授
井部 明広	実践女子大学生活科学部食生活科学科教授
小川 久美子	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病理部長
鎌田 洋一	岩手大学農学部共同獣医学科教授
杉本 直樹	国立医薬品食品衛生研究所食品添加物部第二室長
戸塚 ゆ加里	国立研究開発法人国立がん研究センター研究所がん・予防研究分野ユニット長
中島 春紫	明治大学農学部農芸化学科教授
二村 睦子	日本生活協同組合連合会組織推進本部組合員活動部長
由田 克士	大阪市立大学大学院生活科学研究科教授
吉成 浩一	静岡県立大学薬学部衛生分子毒性学分野教授
若林 敬二※	静岡県立大学特任教授

※部会長



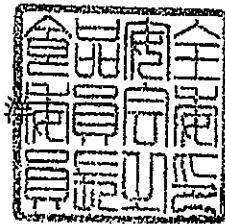
府食第902号
平成27年12月8日

厚生労働大臣

塩崎 恭久 殿

食品安全委員会

委員長 佐藤



食品健康影響評価の結果の通知について

平成26年10月17日付け厚生労働省発食安1017第1号をもって貴省から当委員会に意見を求められた *Aspergillus oryzae* NZYM-SP 株を用いて生産されたアスパラギナーゼ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

Aspergillus oryzae NZYM-SP 株を用いて生産されたアスパラギナーゼが添加物として適切に使用される場合、安全性に懸念がないと考えられ、一日摂取許容量を特定する必要はない。

添加物評価書

Aspergillus oryzae NZYM-SP 株を用いて生産されたアスパラギナーゼ

2015年12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
○食品安全委員会添加物専門調査会専門委員名簿.....	3
○要 約.....	5
I. 評価対象品目の概要.....	6
1. 用途.....	6
2. 名称等.....	6
3. 基原、製造方法、成分、性状等及び使用方法.....	6
(1) 基原.....	6
(2) 製造方法.....	7
(3) 成分.....	8
(4) 性状等.....	9
(5) 使用方法.....	9
4. 起源又は発見の経緯等.....	10
5. 我が国及び諸外国における使用状況.....	10
(1) コーデックス委員会.....	10
(2) 米国における使用状況.....	10
(3) EUにおける使用状況.....	10
(4) その他の国における使用状況.....	10
(5) 我が国における使用状況.....	10
6. 国際機関等における評価.....	11
(1) JECFA における評価.....	11
(2) 米国における評価.....	11
(3) EU における評価.....	11
(4) その他の機関における評価.....	11
(5) 我が国における評価等.....	11
7. 評価要請等の経緯、指定の概要.....	11
II. 一日摂取量の推計等.....	12
(1) 国際機関等における推計.....	12
(2) 我が国における推計.....	12
III. 安全性に係る知見の概要.....	13
1. 生産菌株の安全性.....	13
(1) 非病原性の確認.....	13

(2) 非毒素産生性の確認.....	14
(3) その他.....	16
(4) まとめ.....	16
2. 本品目の安全性.....	16
(1) 消化管内での分解性等.....	16
(2) 毒性.....	18
IV. 食品健康影響評価.....	20
○別紙1：略称.....	22
○別紙2：毒性試験成績.....	23
○参照.....	24

<審議の経緯>

2014年10月17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(厚生労働省発食安1017第1号)、関係書類の接受
2014年10月21日	第534回食品安全委員会(要請事項説明)
2014年11月17日	第136回添加物専門調査会
2014年12月24日	補足資料の提出依頼
2015年7月27日	補足資料の接受
2015年8月31日	第146回添加物専門調査会
2015年10月13日	第580回食品安全委員会(報告)
2015年10月14日から11月12日まで	国民からの意見・情報の募集
2015年12月2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
2015年12月8日	第587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名簿>

(2015年6月30日まで)

熊谷 進 (委員長)
佐藤 洋 (委員長代理)
山添 康 (委員長代理)
三森 国敏 (委員長代理)
石井 克枝
上安平 洸子
村田 容常

(2015年7月1日から)

佐藤 洋 (委員長)
山添 康 (委員長代理)
熊谷 進
吉田 緑
石井 克枝
堀口 逸子
村田 容常

<食品安全委員会添加物専門調査会専門委員名簿>

(2015年9月30日まで)

梅村 隆志 (座長)
頭金 正博 (座長代理)
穂山 浩
石井 邦雄
石塚 真由美
伊藤 清美
今井田 克己
宇佐見 誠
久保田 紀久枝
祖父江 友孝

高橋 智
塚本 徹哉
戸塚 ゆ加里
中江 大
北條 仁
森田 明美
山田 雅巳

<参考人>

鎌田 洋一
高須 伸二

要 約

酵素として使用される添加物「*Aspergillus oryzae* NZYM-SP 株を用いて生産されたアスパラギナーゼ」（EC 番号：3.5.1.1、CAS 登録番号：9015-68-3）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、*A. oryzae* NZYM-SP 株の病原性及び毒素産生性に関するもの並びに *A. oryzae* NZYM-SP 株を用いて生産されたアスパラギナーゼを被験物質とした遺伝毒性、反復投与毒性、アレルギー性等に関するものである。

本委員会としては、本品目の製造を目的として適切に管理された本生産菌株については、本品目の添加物としての摂取において問題となるような病原性及び毒素産生性の懸念はないと判断した。

本委員会としては、本品目が「添加物に関する食品健康影響評価指針」における「酵素が消化管内で分解して食品常在成分になることが科学的に明らかである場合」に該当すると判断したことから、本品目の毒性について、同指針に基づき、遺伝毒性、反復投与毒性及びアレルギー性に係る試験成績を用いて評価を行うこととした。

本委員会としては、本品目の毒性に係る知見を検討した結果、本品目については、遺伝毒性、反復投与毒性の懸念はないと判断した。

本委員会としては、本品目のアレルギー性の懸念は極めて低いと判断した。

以上を踏まえ、本委員会としては、ラットを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験における最高用量から得られた NOAEL 10.0 mL/kg 体重/日（TOS 換算：880 mg TOS/kg 体重/日）と、本品目の推定一日摂取量 114 µgTOS/kg 体重/日とを比較して得られる安全マージンが十分であること及び本品目が食経験のある基原微生物である *A. oryzae* を用いて生産されることを勘案して、本品目について、添加物として適切に使用される場合、安全性に懸念がないと考えられ、ADI を特定する必要はないと判断した。

I. 評価対象品目の概要

1. 用途

加工助剤（参照 1）

2. 名称等

和名：*Aspergillus oryzae* NZYM-SP 株を用いて生産されたアスパラギナーゼ

英名：Asparaginase from *Aspergillus oryzae* expressed in *Aspergillus oryzae* NZYM-SP

EC⁽¹⁾番号：3.5.1.1（L-アスパラギン酸アミドヒドロラーゼとして）

CAS 登録番号：9015-68-3（L-アスパラギン酸アミドヒドロラーゼとして）（参照 1、2、3）

3. 基原、製造方法、成分、性状等及び使用方法

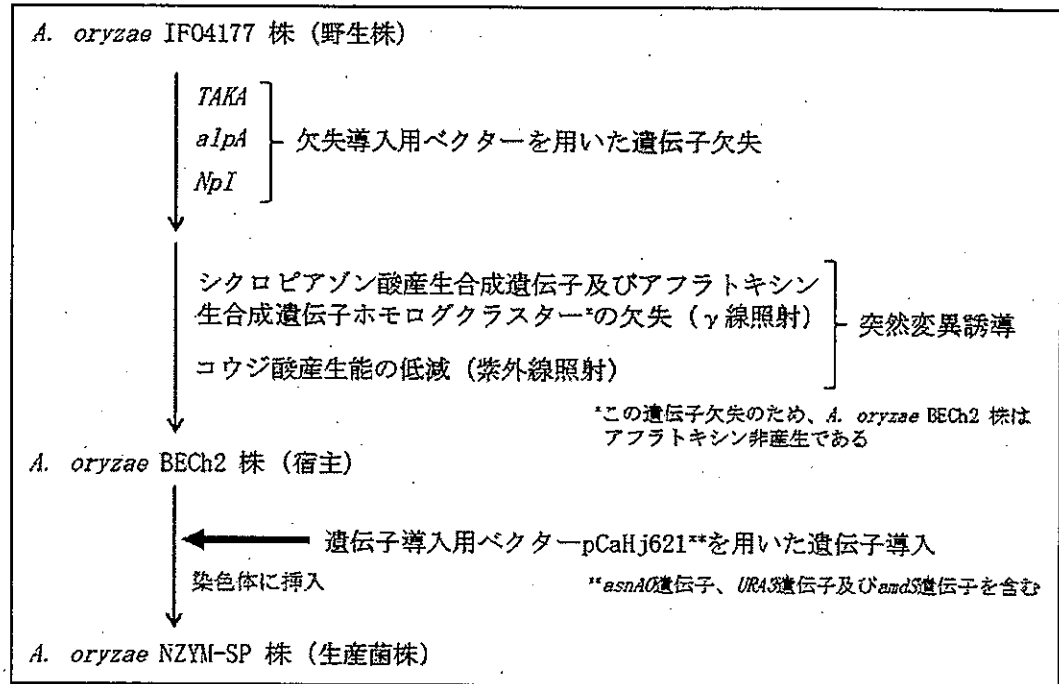
(1) 基原

添加物「*Aspergillus oryzae* NZYM-SP 株を用いて生産されたアスパラギナーゼ」の生産菌株の宿主である *A. oryzae* は様々な食品用酵素の産生菌として安全な工業的利用実績があり、製パンや味噌、醤油、酒の醸造等の食品分野で長年広く使用されてきた歴史を有するとされている。（参照 4）

今般、厚生労働省に添加物「*Aspergillus oryzae* NZYM-SP 株を用いて生産されたアスパラギナーゼ」（以下「本品目」という。）の添加物としての指定及びそれに関連した規格基準の設定を要請した者（以下「指定等要請者」という。）並びに FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議（JECFA）の Chemical and Technical Assessment (CTA)（2007）によれば、本品目の生産菌株である *A. oryzae* NZYM-SP 株は、清酒麹から分離された野生株である *A. oryzae* IFO4177 株の夾雑酵素活性（ α -アミラーゼ、アルカリプロテアーゼ、中性メタロプロテアーゼ）並びにアフラトキシン及びシクロピアゾン酸の産生能を欠損させ、コウジ酸の産生能を低減させた改良株（*A. oryzae* BECh2 株）を宿主とし、*A. oryzae* IFO4177 株が菌体外に産生するアスパラギナーゼの遺伝子を導入して作成されたものであるとされている。（図 1）（参照 2、5、6）

¹ 本文中で用いられた略称については、別紙 1 に名称等を示す。

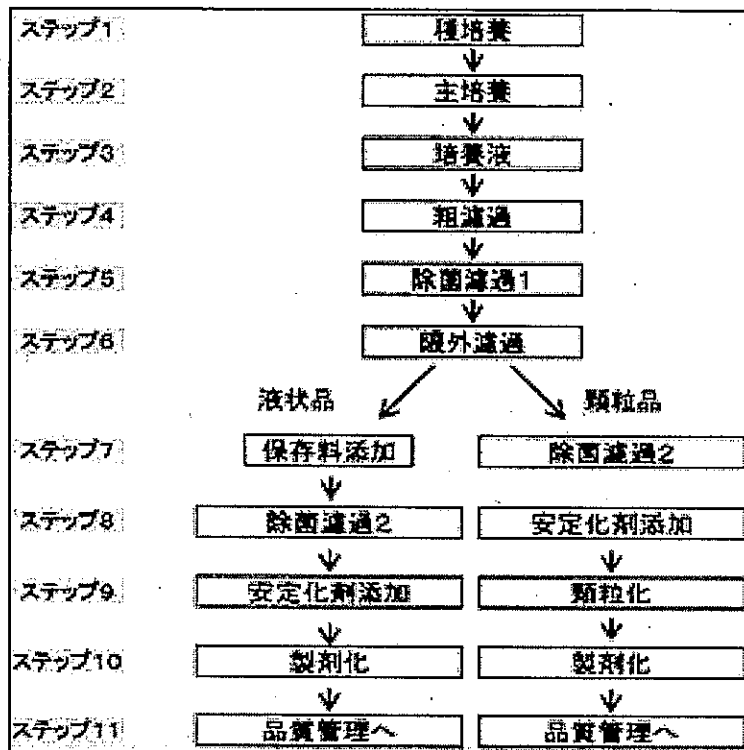
図1 *Aspergillus oryzae* NZYM-SP 株作製の概略



(2) 製造方法

指定等要請者によれば、本品目の製造方法の概略は図2のとおりとされている。この製造方法においては、*A. oryzae* NZYM-SP 株を液体培養（ステップ1～3）した後、ステップ4以降に示す複数回の微生物分離除去専用の濾過によって、生産菌は生産物より分離除去され、その後に製剤化されることから、生産菌は最終製品に残存することはないとされている。（参照2）

図 2. アスパラギナーゼ製造方法の概略



また、最終製品には液状品と顆粒品の2種類があり、いずれも全有機固形物(TOS)は4% (w/w) であるとされている。また、評価に供した試験成績の主な被験物質であるバッチ PPV24743 は、最終製品の製造過程の途中(図2におけるステップ5の後)で濃縮を行ったものであり、保存剤、安定化剤を含まない。バッチ PPV24743 の TOS は 8.4% であるとされている。(参照 2、7、8、9)

(3) 成分

指定等要請者によれば、本品目の有効成分は、生産菌株により産生される359アミノ酸からなるタンパク質であり、当該359アミノ酸の一次配列は図3のとおりであるとされている。当該有効成分の質量は約37 kDa であるとされている。その等電点は4.9 であるとされている。(参照 2)

図3 有効成分のアミノ酸一次配列⁽²⁾

SPLLYPRATDSNVTYVFTNPNGLNFTQMNTTLPNVTIFAT	40
GGTIAGSSADNTATTGYKAGAVGIQTLIDAVPEMLNVANV	80
AGVQVRNVGSPDITSDILLRLSKQINEVVCNDPTMAGAVV	120
THGDTLEESAFFLDATVNCRKPVVIVGAMRPSTAISADG	160
PLNLLQSVTVAAAPKARDRGALIVMNDRIVSAFYASKTNA	200
NTVDTFKAIEMGNLGEVVSINKPYFFYPVKPTGKTEVDIR	240
NITSIPRVDILYSYEDMHNDTLYSAIDNGAKGIVIAGSGS	280
GSVSTPFSAAMEDITTKHNIPIVASTRTGNGEVPSSAESS	320
QIASGYLNPAKSRVLLGLLLAQGKSIEMRAVFERIGVA	360

JECFA-CTA (2007) によれば、*A. oryzae* NZYM-SP 株を用いて生産されたアスパラギナーゼは、TOS が 4% (w/w)、水分が 46% (w/w)、グリセロールが 50%、安息香酸ナトリウムが 0.3%、ソルビン酸カリウムが 0.1%であるとされている。(参照5)

指定等要請者委託試験 (2006) によれば、本品目のバッチ PPV24743 は、水分が 89.5% (w/w)、乾燥物が 10.5% (w/w)、灰分 (600°C) が 2.1% (w/w)、TOS が 8.4% (w/w)、比重が 1.049 g/mL、pH が 5.4 であるとされている。(参照9)

指定等要請者の成分規格案によれば、本品目は、1 g 当たり 3,500 単位以上の力価 (酵素活性) を有することとされている。(参照2)

(4) 性状等

指定等要請者の成分規格案によれば、本品目の性状は、液状品については淡褐色液状、顆粒品については白色～灰白色顆粒とされている。(参照2)

(5) 使用方法

指定等要請者等によれば、本品目は、食品の加工の際に原材料に添加し、原材料に含まれるアスパラギンをアスパラギン酸とアンモニアに加水分解することにより、当該加工食品について、味、色等に影響を与えずに、アクリルアミド生成を低減させるものであるとされている。また、本品目の使用において副反応があることは知られていないとされている。

指定等要請者等によれば、本品目の有効成分の至適温度は、pH 7 において 50°C であり、80°C で失活するとされている。本品目の使用方法では、すべて 120°C を超える加熱を伴うものであり、最終食品において本品目の活性が残存することはないとされている。(参照2、10、11)

² 指定等要請者によれば、*A. oryzae* 由来のアスパラギナーゼは菌体外に分泌される酵素であり、当該アスパラギナーゼの遺伝子が翻訳される際はメチオニンから始まる配列 (N 末端側) を持つが、分泌の際には N 末端側の 19 アミノ酸残基 (菌体外分泌シグナル配列) が菌体内のシグナルペプチダーゼによって切断され、成熟型となったアスパラギナーゼ (S (セリン) から始まる配列を持つ) のみが菌体外に分泌されるとされている。

4. 起源又は発見の経緯等

2002年4月、スウェーデン政府は、ストックホルム大学と共同で行った研究の結果、じゃがいも等炭水化物を多く含む材料を高温で加熱して作った食品中に、アクリルアミドが生成されることを発表した。その後の調査研究の結果、食品中のアスパラギンが、高温により、ブドウ糖、果糖等の還元糖と反応して、アクリルアミドが生成されることが明らかにされている。国際がん研究機関 (IARC) は、アクリルアミドについて、発がん性を「2A」（ヒトに対しておそらく発がん性がある。）と分類している。（参照 12）

2009年、コーデックス委員会において、食品中のアクリルアミドの低減に関する実施規範が採択されている。本採択においては、アクリルアミド生成原因物質であるアスパラギンをアスパラギナーゼによって特異的に分解することがアクリルアミド低減の方法の1つとして挙げられている。（参照 13）

5. 我が国及び諸外国における使用状況

(1) 我が国における使用状況

我が国において、本品目の添加物としての使用は認められていない³⁾。

(2) コーデックス委員会

コーデックス委員会の策定したコーデックス食品添加物一般基準 (GSFA) では、加工助剤（酵素を含む）は対象とされていない。

(3) 米国における使用状況

米国では、指定等要請者が本品目について一般に安全とみなされる (GRAS) 物質としての届出を行ったところ、2006年、FDA から当該届出に異議がない旨の回答がなされている。（参照 14）

(4) EU における使用状況

欧州連合 (EU)（フランス及びデンマークを除く。）では、加工助剤たる食品用酵素を添加物として規制していなかったが、2008年に公布された新たな欧州議会・欧州理事会規則により、加工助剤たる食品用酵素についても添加物としての規制の対象となる見込みである⁴⁾。（参照 15、16）

(5) その他の国における使用状況

2008年5月、オーストラリア・ニュージーランド食品基準機関 (FSANZ) は、本品目について加工助剤としての使用を認めるとしている。（参照 17）

³⁾ なお、本品目とは生産菌株が異なるが、2014年11月、添加物「*Aspergillus niger* ASP-72株を用いて生産されたアスパラギナーゼ」について、添加物としての使用が認められた。

⁴⁾ 指定等要請者によれば、加工助剤たる酵素を規制しているフランス及びデンマークにおいては、添加物としての使用が認められているとされている。

6. 国際機関等における評価

(1) 我が国における評価等

我が国において、本品目の食品健康影響評価は行われていない⁵⁾。

(2) JECFA における評価

2007 年の第 68 回会合において、JECFA は、本品目の 13 週間反復投与毒性試験における NOEL 880 mgTOS/kg 体重/日と、保守的な推定を行った場合の一日摂取量 0.4 mgTOS/kg 体重/日とのマージンが 2,200 であることから、適正使用規範 (GMP) に基づき特定の目的で使用される限りにおいては、ADI を特定しないとしている。(参照 3、18)

(3) 米国における評価

上述 (p10) のとおり 2006 年、FDA は、意図した条件下において使用される限りにおいて、本品目を GRAS 物質とする指定等要請者からの届出に対し、異論はない旨の回答をしている。(参照 14)

(4) EU における評価

上述 (p10) のとおり EU (フランス及びデンマークを除く。) では、2008 年に公布された欧州議会・欧州理事会規則により、加工助剤たる食品用酵素が添加物としての規制の対象とされる見込みであるものの、現在のところ本品目についての安全性評価は行われていない。(参照 15)

なお、フランスにおいては、2008 年 12 月、仏食品衛生安全庁 (AFSSA) が本品目にかかる安全性評価を行った結果、本品目の 90 日間反復投与毒性試験における NOAEL 880 mgTOS/kg 体重/日と一日推定摂取量とのマージンが 2,500 であり、安全性に懸念がないと評価している。(参照 19)

(5) その他の機関における評価

2008 年、FSANZ は、本品目にかかる安全性評価を行った結果、組換え DNA は安定で、安全性に懸念がないこと、ラットの 90 日間毒性試験で毒性が認められず、NOAEL は 880 mgTOS/kg 体重/日以上であること、*in vitro* 遺伝毒性試験において陰性であることなどを根拠として、安全性に懸念がないと評価している。(参照 17)

7. 評価要請等の経緯、指定の概要

今般、本品目について、指定等要請者から厚生労働省に添加物としての指定及び規格基準の設定の要請がなされ、関係書類が取りまとめられたことから、食品

⁵⁾ なお、本品目とは生産菌株が異なるが、2014 年 1 月、食品安全委員会は、添加物「*Aspergillus niger* ASP-72 株を用いて生産されたアスパラギナーゼ」の食品健康影響評価をとりまとめた。

安全基本法第 24 条第 1 項第 1 号の規定に基づき、食品安全委員会に対して、食品健康影響評価の要請がなされたものである。

なお、厚生労働省は、本品目における組換え DNA 技術に関する安全性審査について、食品安全基本法第 24 条第 1 項第 14 号の規定に基づき、食品安全委員会に対して、食品健康影響評価の要請を行い、2015 年 9 月、食品安全委員会において、人の健康を損なうおそれはないと判断されている。（参照 20）

厚生労働省は、食品安全委員会の食品健康影響評価結果の通知を受けた後に、本品目の添加物としての指定及びそれに関連した規格基準の設定の可否等について検討するとしている。なお、使用基準は設けないこととしている。

II. 一日摂取量の推計等

1. 国際機関等における推計

(1) JECFA における推計

上述 (p11) の通り、JECFA は保守的な推定を行った場合の本品目の一日摂取量を 0.4 mgTOS/kg 体重/日としている。（参照 3、18）

2. 我が国における推計

指定等要請者によれば、本品目は、小麦・加工品（パン類等）、その他の穀類・加工品、いも類、ケーキ・ペストリー類、ビスケット類、その他の菓子類（ポテトチップス等）、その他の調味料といった食品（群）に直接使用されるものであるとされている。

本委員会としては、本品目の一日摂取量について、指定等要請者の推計を基に、最大添加量について一部修正し、当該食品（群）又はそれらの原材料の全てに本品目が表 1 の最大添加量で添加され、全量がそのまま最終食品に移行して、消費されたとした場合を想定し、平成 24 年国民健康・栄養調査から得られる食品（群）の一日摂取量を用いて、表 1 のとおり算出した。その結果、本委員会としては、本品目の一日摂取量を 6.26 mgTOS/人/日（114 µgTOS/kg 体重/日）と判断した。なお、日本人の平均体重 55.1 kg を用いている。（参照 2、11、21）

表 1 本品目の推定一日摂取量

食品（群）	a 食品摂取量	b 本品目最大添加量	c 本品目一日摂取量 $a \times b / 1000000 \times 1000$	d 本品目由来 TOS 一日摂取量 $c \times 0.04$	e 本品目由来 TOS 一日摂取量 $d \times 1000 / 55.1$
	g/人/日	ppm*1	mg/人/日	mgTOS*2/ 人/日	µgTOS/kg 体重/日
小麦・加工品 （パン類等）	102.4	570*3	58.37	2.335	42.38
その他の穀類・ 加工品	8.1	715*4	5.79	0.232	4.20

いも類	54.3	715*4	38.82	1.553	28.18
ケーキ・ペスト リー類	7.1	715*4	5.07	0.203	3.68
ビスケット類	1.9	570*5	1.08	0.043	0.78
その他の菓子類 (ポテトチップ ス等)	6.2	715*4	4.43	0.177	3.22
その他の調味料	59.9	715*4	42.83	1.713	31.09
合計	239.9		124.2	6.26	114

*1 最終製品の重量に対する数値

*2 本品目のTOSを4%として算出

*3 指定等要請者は小麦・加工品（パン類等）の本品目最大添加量を290 ppmとしているが、本委員会としては、中嶋（2009）（参照11）のクリスピーブレッドの値を用い、最大添加量を570 ppmと判断した。

*4 アスパラギナーゼ添加量のデータがないため、本委員会としては、中嶋（2009）（参照11）の様々な食品の推奨添加量のうち最大添加量の値である715 ppmを用いて算出した。

*5 指定等要請者はビスケット類の本品目最大添加量を290 ppmとしているが、本委員会としては、中嶋（2009）（参照11）のジンジャークッキーの値を用い、最大添加量を570 ppmと判断した。

Ⅲ. 安全性に係る知見の概要

1. 生産菌株の安全性

上述（p6）のとおり、本品目の生産菌株の宿主及び導入遺伝子の供与体は、ともに *A. oryzae* であるとされている。

指定等要請者によれば、上述（p7）のとおり、生産菌は最終製品に残存することはないとされている。さらに、以下のように生産菌株の非病原性及び非毒素産生性を確認している。

(1) 非病原性の確認

本品目の生産菌株である *A. oryzae* NZYM-SP 株とは株の種類が異なるものの、Barbesgaardら（1991）によれば、*A. oryzae* がアスペルギルス症に関連する可能性がある事例があるとされている。しかし、これは非常に稀な場合であり、*A. oryzae* は一般的に非病原性の微生物であるとされている。（参照4）*A. oryzae* は、国立感染症研究所病原体等安全管理規程別冊1「病原体等のBSL分類等」（平成22年6月）におけるバイオセーフティレベル（BSL）1、米国NIHの“Guidelines for Research Involving Recombinant DNA Molecules”の定義では Risk Group1 に分類され、非病原性の微生物とみなされている。（参照22、23）

なお、指定等要請者からは、本品目の生産菌株である *A. oryzae* NZYM-SP 株に関して、病原性に関する知見は提出されていない。（参照2）

(2) 非毒素産生性の確認

① アフラトキシン類産生性

a. *A. oryzae* ATCC14895 株のアフラトキシン生合成遺伝子クラスターホモログの解析 (Watson ら (1999))

本品目の生産菌株である *A. oryzae* NZYM-SP 株とは株の種類が異なるものの、Watson ら (1999) によれば、*A. oryzae* ATCC14895 株は、アフラトキシン生合成遺伝子クラスターホモログと調節遺伝子を有するが、アフラトキシン産生遺伝子の発現は見られないとされている。(参照 24)

b. *A. oryzae* NRC-MCCU-1 株のマイコトキシン産生能試験 (Attalla ら (2003))

本品目の生産菌株である *A. oryzae* NZYM-SP 株とは株の種類が異なるものの、Attalla ら (2003) によれば、*A. oryzae* NRC-MCCU-1 株がアフラトキシン類などのマイコトキシンを産生するとされている。(参照 25)

c. *A. oryzae* NZYM-SP 株のアフラトキシン産生能試験 (指定等要請者委託試験報告 (2015))

指定等要請者委託試験 (2015) によれば、*A. oryzae* NZYM-SP 株の培養液を除菌ろ過、濃縮した溶液及び本品目 (液状品及び顆粒品) について、総アフラトキシン量 (アフラトキシン B₁、B₂、G₁ 及び G₂ の総和) は定量限界である 1 µg/kg 以下であったとされている。(参照 26)

指定等要請者は、本品目の生産菌株である *A. oryzae* NZYM-SP 株は、宿主である *A. oryzae* BECh2 株を作製する際に、γ線照射を用いた突然変異により、アフラトキシン生合成遺伝子クラスターホモログを欠失しているため⁶⁾、アフラトキシン非産生性であるとしている。したがって、本品目にアフラトキシンが含まれることはないとされており、本結果は、このことを裏付けるものであると考察している。(参照 2、6、27)

② CPA 産生性

a. CPA 生合成遺伝子クラスターの同定及び CPA 産生能試験 (Kim ら (2014))

発酵食品から単離された 18 株の *A. oryzae* において、シクロピアゾン酸 (CPA) 生合成遺伝子クラスターの存在及び CPA の産生性を調べた。その結果、12 株の *A. oryzae* にその遺伝子クラスターが存在することが示されたが、その中で CPA を産生するものは 7 株であった。(参照 28)

b. CPA 生合成遺伝子クラスターの同定および CPA 産生能試験 (Tokuoka ら (2008))

Tokuoka らによれば、*A. oryzae* NBRC4177 (IFO4177) 株はアフラトキシ

⁶⁾ 指定等要請者によれば、アフラトキシン生合成遺伝子クラスターホモログのサザンブロット解析の結果、*A. oryzae* BECh1 株及び BECh2 株において不検出であったとされている。

ン生合成遺伝子クラスターホモログ近隣に CPA 生合成遺伝子クラスターを有し、CPA を産生するとされている。(参照 29)

指定等要請者によれば、本生産菌株の親株である *A. oryzae* IFO4177 株は CPA を産出するが、(参照 27) 宿主である *A. oryzae* BECh2 株を作製する際に、 γ 線照射を用いた突然変異により、アフラトキシン生合成遺伝子クラスターホモログとともに CPA 生合成遺伝子クラスターを欠失しているため、本品目の生産菌株である *A. oryzae* NZYM-SP 株は CPA 産生能を失っているとされている。(参照 2、5)

③ β -ニトロプロピオン酸産生性

a. β -ニトロプロピオン酸産生能 (Blumenthal (2004)、Barbesgaard ら (1991) (再掲))

Blumenthal によれば、 β -ニトロプロピオン酸は *A. oryzae* から産生されるマイコトキシンの 1 つであり、*A. oryzae* より食品用酵素を生産する際に、その産生を確認するべきであるとされている。(参照 30)

また、Barbesgaard ら (1991) によれば、Iwasaki and Kosikowski (1973) を引用し、6 種類の *A. oryzae* のうち 4 種類に β -ニトロプロピオン酸の産生がみられたとされている。(参照 4)

b. β -ニトロプロピオン酸産生能試験 (指定等要請者社内資料 (2005))

指定等要請者によれば、*A. oryzae* NZYM-SP 株について、製造バッチ PPV24743 等におけるコウジ酸及び β -ニトロプロピオン酸の産生量の分析を、液体クロマトグラフィー質量分析法を用いて行った結果、 β -ニトロプロピオン酸は検出限界 (0.6 mg/kg) 未満であることが示されたとされている。(参照 2、5、31)

④ コウジ酸産生性

a. コウジ酸産生能 (Blumenthal (2004) (再掲)、Barbesgaard ら (1991) (再掲))

Blumenthal (2004) は、通常の食品摂取においては、コウジ酸が安全上の懸念を生じさせることはないと評価している。(参照 30)

一方、Barbesgaard ら (1991) によれば、Manabe ら (1984) を引用し、47 種類の *A. oryzae* のうち 19 種類にコウジ酸の産生がみられたとされている。(参照 4)

b. コウジ酸産生能試験 (指定等要請者社内資料 (2005) (再掲))

上述 (p15) のとおり、*A. oryzae* NZYM-SP 株について、製造バッチ PPV24743 等におけるコウジ酸及び β -ニトロプロピオン酸の産生量の分析を、液体クロマトグラフィー質量分析法を用いて行った結果、コウジ酸は検出限界

(1.4 mg/kg) 未満であることが示されたとされている。(参照 2、5、31)

指定等要請者によれば、*A. oryzae* NZYM-SP 株において、*A. oryzae* BECh2 株を作製する際に、紫外線照射を用いた突然変異により、コウジ酸産生能を低減させたとされており、本試験結果は、このことを裏付けるものであると考察している。(参照 2、5、31)

(3) その他

「食品衛生法に基づく添加物の表示等について」(平成 22 年 10 月 20 日消費表第 377 号) 別添 1「既存添加物名簿収載品目リスト」においては、*A. oryzae* を基原とする添加物として α -アミラーゼ等が掲げられており、(参照 32) 既に *A. oryzae* を基原とする添加物が我が国において使用されている。

(4) まとめ

以上を踏まえ、本委員会としては、本品目の製造を目的として適切に管理された本生産菌株である *A. oryzae* NZYM-SP 株については、本品目の添加物としての摂取において問題となるような病原性及び毒素産生性の懸念はないと判断した。

2. 本品目の安全性

(1) 消化管内での分解性等

本品目は、359 アミノ酸からなるタンパク質を主たる成分とするものであるとされていることから、消化管内で速やかに分解し、その結果生じるペプチド又はアミノ酸は、他の食品由来のタンパク質の場合と同様に体内へ吸収されると考えられる。このことをより明確にするため、「添加物に関する食品健康影響評価指針」(2010 年 5 月食品安全委員会決定)における「酵素が消化管内で分解して食品常在成分になることが科学的に明らかである場合」に該当するか否かについて、以下のとおり整理した。

① 添加物の通常の使用条件下で、当該物質が容易に食品内又は消化管内で分解して食品常在成分と同一物質になること。

a. 人工胃液による消化試験(指定等要請者社内資料(2015a))

指定等要請者によれば、本品目(Lot 番号:HON30029)を 99℃で 5 分間の加熱処理したもの⁷⁾及び非加熱処理のサンプルを、人工胃液中⁸⁾において、37℃で 0.5、2、10 分間インキュベーションを行った後、ドデシル硫酸ナトリウム-ポリアクリルアミドゲル電気泳動(SDS-PAGE)及びウエスタンブロッ

⁷⁾ 指定等要請者によれば、通常の使用条件では、本品目はアクリルアミドが生成される 120℃以上の温度で加熱処理されるが、常圧では 100℃以上の実験系を組むことができないため、処理温度は 99℃としたとされている。

⁸⁾ 人工胃液の組成は USP23 (NF18) に拠ったとされている。

ト分析に供する試験が実施されている。その結果、SDS-PAGE 及びウエスタンブロット分析の結果から、人工胃液処理 0.5 分のサンプルにおいて、アスパラギナーゼのバンドが消失し、人工胃液由来のペプシンのバンドのみ確認された。指定等要請者によれば、本品目は人工胃液処理により、SDS-PAGE の最小の分子量マーカーサイズ (2 kDa) より小さなペプチド又はアミノ酸レベルにまで分解されたためと考えられるとされている。

なお、本品は加熱処理の有無に関わらず、人工胃液中における分解が確認されたため、人工腸液を用いた処理による試験は行っていないとされている⁽⁹⁾。(参照 6、33、34)

b. *in silico* 酵素分解シミュレーション (指定等要請者社内資料 (2015b))

指定等要請者によれば、ウェブサーバ ExPASy⁽¹⁰⁾において提供されている分析ツールである「ペプチドカッター」を用いて、コンピュータ上で、本品目のアミノ酸配列をペプシン (pH1.3 又は pH>2)、トリプシン及びキモトリプシンで分解させるシミュレーションを行ったところ、表 2 のように分解されることが示唆されたとされている。指定等要請者によれば、この結果は、本品目が胃における初回の酵素反応において、既に 1~40 アミノ酸程度のオリゴペプチドにまで分解されることを示唆しているとされている。(参照 35)

表 2 酵素処理によるアミノ酸残基数

酵素	アミノ酸残基数 (個)
ペプシン (pH1.3)	1~40
ペプシン (pH>2)	1~39
キモトリプシン (高特異性)	1~75
キモトリプシン (低特異性)	1~26
トリプシン	2~51

② 食品内又は消化管内での分解に関わる主要な因子 (pH、酵素等) が明らかであること。

指定等要請者によれば、上述 (p16) の①の試験成績において、本品目の分解に関わる主要な因子は、pH1~2 の酸性条件及びペプシンであるとされている。(参照 6)

⁹ 指定等要請者は、別途、本品目の有効成分 (特定のバッチ) を人工胃液で、本品目を人工腸液で処理した試料を SDS-PAGE に供する試験を実施しているが、検出限界分子量 (最小分子量マーカーの分子量) が 14,400 Da と比較的大きいため、本委員会としては、分解性試験としては適切でないと判断し、記載していない。

¹⁰ スイスバイオインフォマティクス研究所の集学的研究班により提供され、タンパク質及びプロテオミクス (網羅的タンパク質解析) についての種々のデータベース及び分析ツールを利用できるウェブサーバであり国際的に食品のアレルゲン性評価の際に用いられている実績があるとされている。

- ③ 添加物の通常の使用条件下で適正な量を使用した場合、当該添加物の体内への吸収が食品成分と同程度であり、他の栄養成分の吸収を阻害しないこと。

指定等要請者によれば、上述 (p16) のとおり、本品目は消化管内で容易に分解し、その他の食品由来のタンパク質と同様に体内へ吸収されること、また本品目が食品中に含まれる量は微量であることから、(参照 1 1) 糖質、ミネラル、ビタミン等その他の栄養成分の吸収を阻害する懸念はないとされている。(参照 6)

- ④ 摂取された添加物の未加水分解物又は部分加水分解物が大量に糞便中に排泄されないこと。さらに、未加水分解物又は部分加水分解物が生体組織中に蓄積しないこと。

指定等要請者によれば、上述 (p16) のとおり、本品目は消化管内で速やかに食品常在成分に分解し、通常の代謝経路をたどるとされている。したがって、本品目の未加水分解物、部分加水分解物が大量に糞便中に排泄されること、又は生体組織中に蓄積することは考え難いとされている。(参照 6)

- ⑤ 添加物を使用した食品を摂取したとき、当該食品の主成分の過剰摂取の問題が起きないこと。

指定等要請者によれば、上述 (p12) のとおり、本品目のタンパク質としての一日摂取量は最大で 4.97 mg/人/日と推定され、日本人のタンパク質の平均一日摂取量 68.0 g の約 0.007%に過ぎず、本品目の主成分の過剰摂取の問題がおこることはないとされている。(参照 2、2 1)

以上を踏まえ、本委員会としては、本品目が「添加物に関する食品健康影響評価指針」における「酵素が消化管内で分解して食品常在成分になることが科学的に明らかである場合」に該当すると判断した。

(2) 毒性

(1) のとおり、本品目が「消化管内で分解して食品常在成分になることが科学的に明らかである場合」に該当すると考えられた。したがって、本委員会では、本品目の毒性について、「添加物に関する食品健康影響評価指針」に基づき、遺伝毒性、反復投与毒性及びアレルギー性に係る試験成績を用いて評価を行うこととした。

① 遺伝毒性

本品目の有効成分(製造バッチ PPV24743)に関する遺伝毒性の試験成績は、表 3 のとおりである。

表 3 本品目に関する遺伝毒性の試験成績

指標	試験種類	試験対象	用量等	試験結果概要	参照
遺伝子突然変異	復帰突然変異試験 (<i>in vitro</i> , GLP)	細菌 (<i>Salmonella typhimurium</i> TA98、TA100、TA1535、TA1537 及び <i>Escherichia coli</i> WP2uvrA)	最高用量 5 mg/plate	陰性 (代謝活性化系の有無に関わらず)	指定等要請者社内資料 (2006a) (参照 3 6)
染色体異常	染色体異常試験 (<i>in vitro</i> , GLP)	ヒト末梢血リンパ球	最高用量 5 mg/mL	陰性 (代謝活性化系の有無に関わらず)	指定等要請者社内資料 (2006b) (参照 3 7)

以上の結果を踏まえ、本委員会としては、本品目が消化管内で分解して食品常在成分になることが科学的に明らかであることも勘案し、本品目には生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないと判断した。

② 反復投与毒性

a. ラットを用いた 13 週間経口投与試験 (指定等要請者委託試験報告 (2006c)、GLP)

CD ラット (各群雌雄各 10 匹) に、本品目の有効成分 (製造バッチ PPV24743) を、表 4 のような投与群を設定して、13 週間強制経口投与する試験が実施されている。

表 4 用量設定

用量設定	0、1.0、3.3、10.0 mL/kg 体重/日
酵素活性換算	0、4,658、15,370、46,576 単位/kg 体重/日
TOS 換算	0、88、290、880 mg TOS/kg 体重/日

その結果、以下の所見が認められたとされている。なお、腎機能への影響を示唆する血液及び組織病理学的所見は認められなかったとされている。(参照 9)

- ・ 10.0 mL/kg 体重/日投与群の雌において、肺胞マクロファージの顕著な増加
- ・ 3.3 mL/kg 体重/日投与群の雄と 10.0 mL/kg 体重/日投与群の雌雄において、血漿カリウム濃度の有意な上昇

なお、10.0 mL/kg 体重/日投与群の雌の所見である肺胞マクロファージの顕著な増加については、試験実施機関は、以下の理由により、本所見に被験物質投与との関連性及び毒性学的意義がないと考察している。(参照 3 8)

- ・ 本所見の重篤度はいずれも最小であり、発現頻度は背景データの範囲内であること。

- ・ 本所見の多くは限局性であり、肺胞上皮過形成等の、被験物質投与に関連する炎症性反応又は有害性反応を示唆する肺の病理学的所見を伴っていないこと。
- ・ 関連する臨床所見（呼吸困難等）が認められないとともに、体重への影響や他の検査項目における毒性学的所見がない等、動物の健康全般において悪影響を及ぼしていないと考えられること。
- ・ 被験物質検体投与に関連した泡沫状肺胞マクロファージの増加を伴わないこと。

また、その他の電解質に変化はなかったため、試験実施者は、血漿カリウム濃度の変化に毒性学的な意義はないとしている。

以上の結果より、試験実施者は、本試験における NOAEL を最高用量である 10.0 mL/kg 体重/日（TOS 換算：880 mg TOS/kg 体重/日）としている。

本委員会としては、指定等要請者の判断を妥当と考え、本試験における NOAEL を最高用量である 10.0 mL/kg 体重/日（TOS 換算：880 mg TOS/kg 体重/日）と判断した。

③ アレルゲン性

本品目のアレルゲン性については、食品安全委員会の遺伝子組換え食品等評価書「*Aspergillus oryzae* NZYM-SP 株を用いて生産されたアスパラギナーゼ」において以下のとおり評価がなされている。

A. oryzae NZYM-SP 株の宿主である *A. oryzae* BECh2 株は *TAKA* 遺伝子を欠失しており、 α -アミラーゼ産生性を失っている。そのため、*A. oryzae* BECh2 株によるアレルギー誘発性の可能性は低いと考えられるとしている。

また、上述（p16）の人工胃液を用いた消化試験において、本品目は、試験開始後 0.5 分以内に消化されることが確認されたとしている。

さらに、導入遺伝子である *asnA0* 遺伝子、*amdS* 遺伝子、*URA3* 遺伝子を含む導入領域に同定された open reading frame (ORF) 及びベクター導入により生じる新たな ORF に、既知のアレルゲン及び毒性タンパク質と相同性を示すものがないことが確認されている。（参照 20）

本委員会としても、遺伝子組換え食品等評価書を是認し、添加物として適切に使用される場合、本品目のアレルゲン性の懸念は極めて低いと判断した。

IV. 食品健康影響評価

本委員会としては、本品目の製造を目的として適切に管理された本生産菌株については、本品目の添加物としての摂取において問題となるような病原性及び毒素産生性の懸念はないと判断した。

本委員会としては、本品目が「添加物に関する食品健康影響評価指針」におけ

る「酵素が消化管内で分解して食品常在成分になることが科学的に明らかである場合」に該当すると判断したことから、本品目の毒性について、同指針に基づき、遺伝毒性、反復投与毒性及びアレルギー性に係る試験成績を用いて評価を行うこととした。

本委員会としては、本品目の毒性に係る知見を検討した結果、本品目については、遺伝毒性、反復投与毒性の懸念はないと判断した。

本委員会としては、本品目のアレルギー性の懸念は極めて低いと判断した。

以上を踏まえ、本委員会としては、ラットを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験における最高用量から得られた NOAEL 10.0 mL/kg 体重/日 (TOS 換算: 880 mg TOS/kg 体重/日) と、本品目の推定一日摂取量 114 µgTOS/kg 体重/日とを比較して得られる安全マージンが十分であること及び本品目が食経験のある基原微生物である *A. oryzae* を用いて生産されることを勘案して、本品目について、添加物として適切に使用される場合、安全性に懸念がないと考えられ、ADI を特定する必要はないと判断した。

<別紙1：略称>

略称	名称等
AFSSA	Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments：仏食品衛生安全庁
BSL	biosafety level：バイオセーフティレベル
CPA	シクロピアゾン酸
CTA	Chemical and Technical Assessment
EC	Enzyme Commission：国際生化学・分子生物学連合酵素委員会
EU	European Union：欧州連合
FSANZ	Food Standards Australia New Zealand：オーストラリア・ニュージーランド食品基準機関
GRAS	Generally Recognized As Safe：一般的に安全とみなされる
GSFA	General Standard for Food Additives：コーデックス食品添加物一般基準
IARC	International Agency for Research on Cancer：国際癌研究機関
JECFA	Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives：FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議
ORF	open reading frame
SDS-PAGE	Sodium Dodecyl Sulfate-Poly-Acrylamide Gel Electrophoresis：ドデシル硫酸ナトリウム-ポリアクリルアミドゲル電気泳動
TOS	total organic solids：総有機固形分

<別紙2：毒性試験成績>

試験項目	試験種等	試験期間	投与方法	群設定	被験物質	投与量	試験結果概要及び本委員会の判断	参照
反復投与毒性	13週間経口投与試験 ラット	13週間	強制経口	各群雌雄 各10匹	本品目の 有効成分	0, 1.0, 3.3, 10.0 mL/kg 体重/日 (TOS換算 0, 88, 290, 880 mg TOS/kg 体重/日)	毒性所見なし 最高用量 NOAEL, 10.0 mL/kg 体重/日 (TOS換算：880 mg TOS/kg 体重/日)	指定等要請者委託試験報告 (2006c) (参照9)

<参照>

- 1 厚生労働省, 「*Aspergillus oryzae* NZYM-SP 株を用いて生産されたアスパラギナーゼ」の添加物指定及び規格基準の設定に関する食品健康影響評価について, 第 534 回食品安全委員会 (平成 26 年 10 月 21 日)
- 2 ノボザイムズ ジャパン (株), 食品添加物の指定要請添付資料 *Aspergillus oryzae* NZYM-SP 株由来のアスパラギナーゼ, 2014 年 10 月 3 日
- 3 Asparaginase from *Aspergillus oryzae* expressed in *A. oryzae*. In WHO (ed.); Technical Report Series 947, Evaluation of certain food additives and contaminants, Sixty-eighth meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, Geneva, 19-28 June 2007, WHO, Geneva, 2008; 55-63.
- 4 Barbesgaard P, Heldt-Hansen HP, Diderichsen B: On the Safety of *Aspergillus oryzae*: a review. Appl. Microbiol. Biotechnol. 1992; 36: 569-72
- 5 In WHO (ed.), Chemical and Technical Assessments, Evaluation of certain food additives and contaminants, Sixty-eighth meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, Zofia Olempska-Beer; Asparaginase from *aspergillus oryzae* encoded by the asparaginase gene from *A. oryzae*.; 2007; 1-7
- 6 厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課, 「食品健康影響評価に係る補足資料の提出について」, 2015 年 7 月
- 7 ノボザイムズ ジャパン (株): Typical Composition - Acrylaway 3500 BG (ノボザイムズ ジャパン (株)) (未公表)
- 8 ノボザイムズ ジャパン (株): Typical Composition - Acrylaway L (ノボザイムズ ジャパン (株)) (未公表)
- 9 Huntingdon Life Sciences Ltd.: Asparaginase, PPV 24743 - Toxicity Study by Oral Administration to CD Rats for 13 weeks. 2006 (ノボザイムズ ジャパン (株)) (未公表)
- 10 ノボザイムズ ジャパン (株): Application sheet of Acrylaway®, (ノボザイムズ ジャパン (株)) (未公表)
- 11 中嶋 康之: 酵素による加熱食品中のアクリルアミド低減. 食品の包装 2009; 40: 2 平成 21 年
- 12 食品安全委員会, 加工食品中のアクリルアミドについて. 参考: <http://www.mhlw.go.jp/houdou/2002/10/h1031-2.html>
- 13 Codex Alimentarius Commission, Code of practice for the reduction of acrylamide in foods, CAC/RCP 67-2009

-
- 1⁴ U.S. Food and Drug Administration, Agency Response Letter, GRAS Notice No. GRN 000201, November 24, 2006
参考：
<http://www.fda.gov/Food/IngredientsPackagingLabeling/GRAS/NoticeInventory/ucm153693.htm>
- 1⁵ European Parliament and Council of the European Union: Regulation (EC) No 1332/2008 of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on food enzymes and amending Council Directive 83/417/EEC, Council Regulation (EC) No 1493/1999, Directive 2000/13/EC, Council Directive 2001/112/EC and Regulation (EC) No 258/97, Official Journal of the European Union, 31.12.2008, L354/7-15
- 1⁶ Ministry of Food, Agriculture and Fisheries. Danish Veterinary And Food Administration (DVFA), Preventase/Approval, File: 2006-20-5406-00107 and 2011-20-25-02414/BICB, April 1, 2011.
- 1⁷ Food Standards Australia New Zealand (FSANZ): Application A606 Asparaginase as a Processing Aid (Enzyme), Final Assessment Report 8-08, May 22, 2008
参考：
<http://www.foodstandards.gov.au/foodstandards/applications/applicationa606aspar3637.cfm>
- 1⁸ Asparaginase from *Aspergillus niger* expressed in *A. niger*. In WHO (ed.), Food Additives Series 59, Safety evaluation of certain food additives, prepared by the sixty-eighth meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA), Geneva, 19-28 June 2007, WHO, Geneva, 2008; 55-63.
- 1⁹ 食品安全委員会, 食品安全関係情報詳細, 平成 20 年 12 月 15 日
参考：<http://www.fsc.go.jp/fsciis/foodSafetyMaterial/show/syu02730410188>
- 2⁰ 食品安全委員会, 遺伝子組換え食品等評価書「*Aspergillus oryzae* NZYM-SP 株を用いて生産されたアスパラギナーゼ」, 平成 27 年 9 月
- 2¹ 厚生労働省, 平成 24 年国民健康・栄養調査報告, 平成 26 年 3 月
参考：<http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/eiyuu/h23-houkoku.html>
- 2² 国立感染症研究所, 国立感染症研究所病原体等安全管理規程別冊 1「病原体等の BSL 分類等」, 平成 22 年 6 月
- 2³ National Institutes of Health (NIH). NIH Guidelines for Research Involving Recombinant DNA Molecules. Office of biotechnology activities
参考：http://oba.od.nih.gov/oba/rac/guidelines_02/APPENDIX_B.htm
- 2⁴ Watson AJ, Fuller LJ, Jeenes DJ and Archer DB: Homologs of Aflatoxin

-
- biosynthesis genes and sequence of *afR* in *Aspergillus oryzae* and *Aspergillus sojae*. Appl. Environ. Microb. 1999; 65 (1): 307-10
- ²⁵ Atalla MM, Hassanein NM, El-Beih AA and Youssef YA: Mycotoxin production in wheat grains by different *Aspergilli* in relation to different relative humidities and storage periods. Nahrung/Food 2003; 1: 6-10
- ²⁶ 一般財団法人 食品環境検査協会, 試験成績証明書. 2015
- ²⁷ ノボザイムズ ジャパン (株), *Aspergillus oryzae* BECh2 株に関する情報 (ノボザイムズ ジャパン (株)) (未公表)
- ²⁸ Kim NY, Lee JH, Lee I and Ji GE: An evaluation of aflatoxin and cyclopiaxonic acid production in *Aspergillus oryzae*. J. Food Protect. 2014; 77(6): 1010-6
- ²⁹ Tokuoka M, Seshime Y, Fujii I, Kitamoto K, Takahashi T and Koyama Y: Identification of a novel polyketide synthase-nonribosomal peptide synthetase (PKS-NRPS) gene required for the biosynthesis of cyclopiaxonic acid in *Aspergillus oryzae*. Fungal Genet. Biol. 2008; 45, 1608-15
- ³⁰ Blumenthal CZ: Production of toxic metabolites in *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, and *Trichoderma reesei*: justification of mycotoxin testing in food grade enzyme preparations derived from the three fungi Regul. Toxicol. Pharm. 2004; 39, 214-28
- ³¹ ノボザイムズ ジャパン (株), Analysis of beta-nitropropionic acid and kojic acid in 4 batches of asparaginase produced by *Aspergillus oryzae* (ノボザイムズ ジャパン (株)). 2005 (未公表)
- ³² 消費者庁, 既存添加物名簿収載品目リスト, 平成 26 年 1 月 30 日
- ³³ The United States Pharmacopoeia(USP)(ed.), The United States Pharmacopoeia 26(NF21) - the National Formulary 21, 2003; 2053
- ³⁴ ノボザイムズ ジャパン (株), Artificial digestion test of AoASP in Simulated Gastric Fluid (SGF) (ノボザイムズ ジャパン (株)). 2015a (未公表)
- ³⁵ ノボザイムズ ジャパン (株), 「ペプチドカッター*」を用いたアスパラギナーゼ (Acrylaway®) の酵素分解シミュレーション (ノボザイムズ ジャパン (株)). 2015b (未公表)
- ³⁶ Asparaginase, PPV 24743: Test for Mutagenic Activity with Strains of *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli* (ノボザイムズ ジャパン (株)). 2006 (未公表)
- ³⁷ Covance Laboratories Ltd., Asparaginase, PPV 24743 – Introduction of

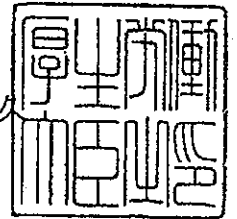
Chromosome Aberrations in Cultured Human Peripheral Blood Lymphocytes
(ノボザイムズ ジャパン (株)) . 2006 (未公表)

³⁸ Asparaginase, Batch PPV 24743: Toxicity Study by Oral Administration to
CD Rats for 13 weeks (ノボザイムズ ジャパン (株)) . 2015 (未公表)

厚生労働省発食安0930第4号
平成27年9月30日

薬事・食品衛生審議会
会長 橋田 充 殿

厚生労働大臣 塩崎 恭 久



諮 問 書

食品衛生法(昭和22年法律第233号)第11条第1項の規定に基づき、下記の事項について、貴会の意見を求めます。

記

硫酸亜鉛の添加物としての規格基準の改正について

平成 28 年 2 月 22 日

薬事・食品衛生審議会

食品衛生分科会

会長 岸 玲 子 殿

薬事・食品衛生審議会

食品衛生分科会添加物部会

会長 若 林 敬 二

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 27 年 9 月 30 日付け厚生労働省発食安 0930 第 4 号をもって厚生労働大臣から諮問された、下記の事項について、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。

記

硫酸亜鉛の添加物としての規格基準の改正について

硫酸亜鉛の規格基準の改正に関する部会報告書

今般の添加物としての規格基準の改正の検討については、事業者より規格基準の改正にかかる要請がなされたことに伴い、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、添加物部会において審議を行い、以下の報告を取りまとめるものである。

1. 品目名

和名：硫酸亜鉛

英名：Zinc sulfate

化学名：Zinc sulfate heptahydrate

CAS 番号：7446-20-0

INS 番号：なし

2. 分子式及び分子量

分子式及び分子量：

$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 287.58 (分子量)

3. 用途

栄養強化剤、製造用剤（イーストフード）

4. 概要及び諸外国での使用状況

(1) 概要

硫酸亜鉛は、硫酸と亜鉛の塩である白色の結晶性の粉末であり、我が国では、母乳代替食品の栄養強化剤の目的で使用する食品添加物として、昭和58年に指定されている。

FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議（JECFA）では、1982年の第26回会合において、亜鉛について最大耐容一日摂取量（MTDI）を暫定的に、0.3~1.0mg/kg 体重/日と評価されている。

また、1985年の第25回会合において、硫酸イオンのADIについて「特定しない(not specified)」と評価している。

(2) 諸外国での使用状況

コーデックス委員会では、栄養素及び加工助剤（イーストフード）は食品添加物に分類されないため、コーデックス食品添加物部会（CCFA）が作成する添加物の使用基

準（食品添加物に関するコーデックス一般規格（GSFA¹））に規格は設定されていない。

米国では、硫酸亜鉛は一般に安全と認められている物質（GRAS物質）として、食品全般に対して、適正製造規範（GMP）の下で必要量を食品に使用することが認められており、ビールのほか、乳幼児用の栄養強化品、フレーバー飲料、シリアル、スナック、ヨーグルト、卵製品等に使用されている。

欧州連合では、ビール²、乳幼児の栄養強化品等への使用が認められており、使用目的、使用基準等は設定されていない。

我が国では、母乳代替食品への栄養強化剤として使用が認められている。

5. 食品添加物としての有効性

（1）食品添加物としての有効性

ビール醸造における麦汁中の亜鉛含量が欠乏すると酵母発酵が緩慢になることが知られており、欧米等では、ビール醸造の発酵過程における酵母の必須栄養源として硫酸亜鉛が使用されている。

硫酸亜鉛を、使用される酵母や仕込工程、発酵工程等の製造工程中に添加することにより、発酵工程において酵母の栄養状態を良好に維持し、健全な発酵（遅延のない発酵、製品ビール類の良好な香味）となる効果が確認されている。

また、欧州のビール醸造学会では、硫酸亜鉛を含む幾つかの亜鉛の塩を用いて、麦汁の発酵に対する亜鉛の影響に関する試験が行われている。亜鉛含有量が低い麦汁に硫酸亜鉛を亜鉛濃度として、0.3、0.6、1.6mg/Lとなるように添加し、添加後の麦汁の発酵度合いを経時的に確認した。その結果、0.6mg/L添加した場合において、最大の発酵促進効果が認められ、その効果は0.3mg/L及び1.6mg/L群では減弱する結果となった。（図1）

¹ コーデックスにおける食品添加物の最も基本的な規格。食品添加物の使用に関する一般原則（食品添加物の安全性、使用の妥当性、適正製造規範（GMP）の考え方等）、食品へのキャリーオーバー（食品の原材料の製造等に使用された食品添加物が食品中に存在すること）の考え方等の他、生鮮食品及び加工食品を階層的に分類した「食品分類システム」や、個別の食品添加物について、使用が認められている食品分類ごとに食品中の最大濃度を規定した「食品添加物条項」等から構成されている。

² なお、ドイツでは、ビール純粋令が制定されており、ドイツ国内業者がドイツ国内向けにビール醸造を行う場合は、大麦麦芽、ホップ、酵母及び水（上面発酵ビールの一部は、小麦麦芽やサトウキビから抽出した糖分も含む。）以外の原料を使用してはならないこととされているため、ビールへの硫酸亜鉛の使用は認められていない。

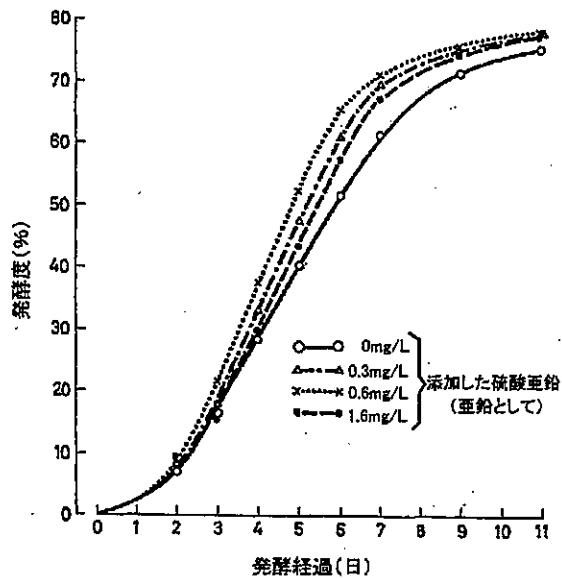


図1 亜鉛不足の麦汁における発酵速度に対する硫酸亜鉛の影響について

(2) 食品中での安定性

硫酸亜鉛は比較的水によく溶け、水中ではよく解離し、水溶液中では硫酸イオン及び亜鉛イオンとして存在することから、麦汁中においても、硫酸イオン及び亜鉛イオンに分離する。また、硫酸イオン及び亜鉛イオンはビールの醸造過程において酵母により利用されるため、ほとんど麦汁中には残存しない。

(3) 食品中の栄養成分（亜鉛）に及ぼす影響

硫酸亜鉛はビールの醸造過程における麦汁中で解離し、また、後述の基準案のとおり使用される限りは、亜鉛イオンは大部分が酵母によって消費される。このため、硫酸亜鉛の添加は、製造されるビール中の亜鉛量にほとんど影響を与えない。

6. 食品安全委員会における評価結果

食品添加物としての使用基準改正のため、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27年1月21日付け厚生労働省発食安0121第1号により食品安全委員会に対して意見を求めた硫酸亜鉛に係る食品健康影響評価については、添加物専門調査会の議論を踏まえ、以下の評価結果が平成27年9月15日付け府食第730号で通知されている。

【食品健康影響評価（添加物評価書抜粋）】

本委員会としては、添加物「硫酸亜鉛」については、亜鉛としての摂取を評価することが適当であり、亜鉛が生物学的に必須な栄養成分であることに留意する必要がある。

ると考えた。

本委員会としては、体内動態の知見から、硫酸亜鉛は水に易溶性とされていることから、添加物「硫酸亜鉛」は、胃液中において硫酸イオンと亜鉛イオンに解離すると考えた。また、胃液中においては、pHが十分に低ければ、多くの亜鉛化合物は解離し、亜鉛イオンとして存在すると考えた。また、亜鉛イオンは大部分が小腸で吸収されると考えた。

本委員会としては、添加物「硫酸亜鉛」には生体にとって特段問題となるような遺伝毒性はないと判断した。

本委員会としては、添加物「硫酸亜鉛」の亜鉛としての評価については、体内動態における検討の結果を踏まえ、添加物「グルコン酸亜鉛」における評価と同様に、ヒト介入研究において 65.92 mg/人/日 (0.94 mg/kg 体重/日) (亜鉛として) の摂取で認められた赤血球 SOD 活性の低下について、直ちに臨床症状に直結するとは考えにくい、ヒトの知見に関する複数の報告において生体影響として認められたことは毒性学的に意義があると判断し、この所見を摂取に起因する変化と考え、65.92 mg/人/日 (0.94 mg/kg 体重/日) (亜鉛として) を硫酸亜鉛の毒性に係る LOAEL と考えた。

本委員会としては、認められた毒性所見及び我が国において添加物「硫酸亜鉛」の使用基準改正が認められた場合の亜鉛の推定一日摂取量 24.6 mg/人/日 (0.45 mg/kg 体重/日) (亜鉛として) を勘案すると、添加物「硫酸亜鉛」について、亜鉛の摂取量に関する上限値を特定することが必要と判断した。

本委員会としては、添加物「グルコン酸亜鉛」における評価と同様に、ヒト介入研究の LOAEL 65.92 mg/人/日 (0.94 mg/kg 体重/日) (亜鉛として) の根拠の所見である赤血球 SOD 活性の低下は非常に軽微な所見であること、また、亜鉛が生物学的に必須な栄養成分であることに留意し、0.94 mg/kg 体重/日を 1.5 で除した 0.63 mg/kg 体重/日 (亜鉛として) を添加物「硫酸亜鉛」の亜鉛の摂取量に関する上限値とした。

また、通常の食事から摂取されている亜鉛の量を考慮し、亜鉛の摂取が過剰にならないよう、適切な注意喚起が行われるべきである。

なお、亜鉛の摂取量に関する上限値は、18歳以上の成人を対象としたものである。亜鉛は生物学的に必須な栄養成分ではあるが、亜鉛化合物の摂取にあたっては、小児、乳児、妊婦及び授乳婦の亜鉛の摂取が過剰にならないよう、適切な注意喚起が行われるべきである。

7. 摂取量の推計

食品安全委員会の評価の結果によると次のとおりである。

【一日摂取量の推計等（添加物評価書抜粋）】

現在、添加物「硫酸亜鉛」は、母乳代替食品に対してのみ使用が認められている。規格基準改正要請者によれば、添加物「硫酸亜鉛」は、今般の使用基準改正（以下「本改正」という。）により発泡性酒類に使用されることが想定されることから、本改正により、全てのヒトにおける亜鉛の摂取量に変更を及ぼすものではなく、発泡性酒類から亜鉛を摂取する成人においてのみ摂取量の変更が生じうるものと考えたとされている。また、病院食の代替として総合栄養食品を使用する者は一般に発泡性酒類を摂取しないと考え、成人の一日当たりの摂取量の推計に当たっては考慮しないこととしたとしている。

(1) 添加物「硫酸亜鉛」由来の亜鉛の摂取量

規格基準改正要請者は、添加物「硫酸亜鉛」の過剰摂取リスクの高い多量飲酒者⁽¹²⁾を基準として、以下のとおり摂取量を推計している。

規格基準改正要請者は、添加物「硫酸亜鉛」の使用基準（案）「硫酸亜鉛は、発泡性酒類に使用するとき、亜鉛として、その1 kgにつき0.0010 gを超えないようにしなければならない。」に基づき、全ての発泡性酒類に硫酸亜鉛が亜鉛として1.0 mg/kg使用され、多量飲酒者が一日当たり1.5 L相当の発泡性酒類を摂取すると仮定し、発泡性酒類に係る硫酸亜鉛の摂取量について亜鉛として1.5 mg/人/日⁽¹³⁾と推定している。（参照40）

(2) 栄養機能食品由来の亜鉛の摂取量

現在、亜鉛を含有する食品添加物として添加物「グルコン酸亜鉛」の使用が認められており、サプリメントなどの栄養機能食品に対して亜鉛として15 mgの一日摂取目安量が示されている。（参照10）

(3) 食事由来の亜鉛の摂取量

平成25年国民健康・栄養調査の結果によれば、成人男女平均で8.0 mg/人/日⁽¹⁴⁾の亜鉛を摂取しているとされている。（参照41、42）

(4) その他の亜鉛の摂取量

亜鉛の摂取は食事由来のほか、飲料水からの摂取も考えられるが、平成12年の水道統計調査によると、水道水の亜鉛濃度は調査地点の約99.2%で0.1 mg/L以下であることが報告されている。（参照43）規格基準改正要請者は、一日3 Lの水

道水を飲むと仮定しても、水道水からの亜鉛の摂取量は0.3 mg/人/日以下であり、亜鉛の一日摂取量に対して影響しないとしている。(参照2)

以上から、規格基準改正要請者は、食品添加物としての使用を含む亜鉛の摂取量について、(1)～(3)を合計し、24.5 mg/人/日としている。

本委員会としては、飲料水からの亜鉛の摂取については、NITE (2008) を参照し、0.1 mg/人/日⁽¹⁶⁾と判断した。添加物「硫酸亜鉛」の使用基準改正に係る亜鉛の推定一日摂取量については、(1)～(3)の合計に飲料水からの摂取量を加算し、成人において24.6 mg/人/日 (0.45 mg/kg 体重/日⁽¹⁶⁾) (亜鉛として) と判断した。

8. 規格基準の改正について

食品衛生法(昭和22年法律第233号)法第11条第1項の規定に基づく規格基準については、次のとおり改正することが適当である。

(1) 規格基準の改正について

食品安全委員会の評価結果、摂取量の推計結果等を踏まえ、以下のとおり規格基準を改めることが適当である。

(現行)

硫酸亜鉛は、母乳代替食品以外の食品に使用してはならない。

硫酸亜鉛は、乳及び乳製品の成分規格等に関する省令別表の二 乳等の成分規格並びに製造、調理及び保存の方法の基準の部(五) 乳等の成分又は製造若しくは保存の方法に関するその他の規格又は基準の款(5)の規定による厚生労働大臣の承認を受けて調整粉乳に使用する場合を除き、母乳代替食品を標準調乳濃度に調乳したとき、その1Lにつき、亜鉛として6.0mgを超える量を含有しないように使用しなければならない。

(改正案)

硫酸亜鉛は、母乳代替食品及び発泡性酒類^{※3}以外の食品に使用してはならない。

硫酸亜鉛は、乳及び乳製品の成分規格等に関する省令別表の二 乳等の成分規格並びに製造、調理及び保存の方法の基準の部(五) 乳等の成分又は製造若しくは保存の方法

³発泡性酒類とは、酒税法(昭和28年法律第6号)で規定されるものをいう。ビール、発泡酒及びその他の発泡性酒類(リキュール、スピリッツ等の発泡性を有するもの(アルコール分が10度未満のものに限る。))が該当する。

に関するその他の規格又は基準の款(6)の規定による厚生労働大臣の承認を受けて調製粉乳に使用する場合を除き、母乳代替食品を標準調乳濃度に調乳したとき、その1Lにつき、亜鉛として6.0mgを超える量含有しないように使用しなければならない。

硫酸亜鉛の使用量は、亜鉛として、発泡性酒類にあつてはその1kgにつき0.0010g以下でなければならない。

(2) 成分規格について

成分規格は別紙のとおり設定されている。本規格基準改正において変更の必要はない。

成分規格

硫酸亜鉛
Zinc Sulfate

$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$

分子量 287.58

Zinc sulfate heptahydrate [7446-20-0]

含量 本品を無水物換算したものは、硫酸亜鉛($\text{ZnSO}_4=161.47$)98.0%以上を含む。

性状 本品は、無色の結晶又は白色の結晶性の粉末で、においが無い。

確認試験 本品は、亜鉛塩の反応及び硫酸塩の反応を呈する。

純度試験 (1) 遊離酸 本品0.25gを量り、水5mlを加えて溶かし、メチルオレンジ試液1滴を加えるとき、液は、赤色を呈さない。

(2) 鉛 Pbとして $10\mu\text{g/g}$ 以下

本品1.00gを量り、硝酸1ml及び水20mlを加えて溶かし、水を加えて100mlとし、検液とする。鉛試験法第2法により試験を行う。

(3) アルカリ金属及びアルカリ土類金属 0.50%以下

本品2.0gを量り、水150mlを加えて溶かし、沈殿が生じなくなるまで硫化アンモニウム試液を加え、水を加えて200mlとし、乾燥ろ紙でろ過する。初めのろ液20mlを捨て、次のろ液100mlをとり、蒸発乾固し、 $450\sim 550^\circ\text{C}$ で恒量になるまで強熱し、残留物の質量を量る。

(4) ヒ素 As_2O_3 として $4.0\mu\text{g/g}$ 以下 (0.50g, 第1法, 装置B)

水分 43.5%以下 (0.1g, 直接滴定)

定量法 本品約0.4gを精密に量り、水100mlを加え、必要があれば加温して溶かし、アンモニア・塩化アンモニウム緩衝液 (pH10.7) 5mlを加え、 0.05mol/L EDTA溶液で滴定する (指示薬 エリオクロムブラックT試液0.1ml)。終点は、液が青色を呈するときとする。更に無水物換算を行う。

0.05mol/L EDTA溶液1ml= 8.074mg ZnSO_4

これまでの経緯

平成27年	1月21日	厚生労働大臣から食品安全委員会委員長宛てに食品添加物の使用基準改正に係る食品健康影響評価を依頼
平成27年	1月27日	第546回食品安全委員会(要請事項説明)
平成27年	2月27日	第2回食品安全委員会添加物専門調査会栄養成分関連添加物ワーキンググループ
平成27年	4月27日	第3回食品安全委員会添加物専門調査会栄養成分関連添加物ワーキンググループ
平成27年	6月12日	添加物専門調査会栄養成分関連添加物ワーキンググループ座長から添加物専門調査会座長へ報告
平成27年	6月12日	第142回食品安全委員会
平成27年	7月28日	第571回食品安全委員会(報告)
平成27年	7月29日	食品安全委員会における国民からの意見募集 (~平成27年 8月27日)
平成27年	9月15日	第577回食品安全委員会(報告)
平成27年	9月15日	食品安全委員会より食品健康影響評価の結果の通知
平成27年	9月30日	薬事・食品衛生審議会へ諮問
平成27年	10月23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27年10月現在)

[委員]

氏名	所属
穂山 浩	国立医薬品食品衛生研究所食品部長
石見 佳子	国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所国立健康・栄養研究所食品保健機能研究部長
井手 速雄	東邦大学薬学部名誉教授
井部 明広	実践女子大学生生活科学部食生活科学科教授
小川 久美子	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病理部長
鎌田 洋一	岩手大学農学部共同獣医学科教授
杉本 直樹	国立医薬品食品衛生研究所食品添加物部第二室長
戸塚 ゆ加里	国立研究開発法人国立がん研究センター研究所発がん・予防研究分野ユニット長
中島 春紫	明治大学農学部農芸化学科教授
二村 睦子	日本生活協同組合連合会組織推進本部組合員活動部長
由田 克士	大阪市立大学大学院生活科学研究科教授
吉成 浩一	静岡県立大学薬学部衛生分子毒性学分野教授
若林 敬二※	静岡県立大学特任教授

※部会長



府食第730号

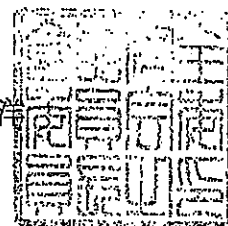
平成27年9月15日

厚生労働大臣

塩崎 恭久 殿

食品安全委員会

委員長 佐藤 洋



食品健康影響評価の結果の通知について

平成27年1月21日付け厚生労働省発食安0121第1号をもって貴省から当委員会に意見を求められた硫酸亜鉛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。

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、貴省に関する意見・情報が別添のとおり寄せられましたのでお伝えします。

記

硫酸亜鉛の亜鉛の摂取量に関する上限値を0.63 mg/kg 体重/日（亜鉛として）と設定する。

添加物評価書

硫酸亜鉛

2015年9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
○食品安全委員会添加物専門調査会専門委員名簿.....	3
○食品安全委員会添加物専門調査会栄養成分関連添加物ワーキンググループ専門委員名簿.....	4
○要 約.....	5
I. 評価対象品目の概要.....	7
1. 用途.....	7
2. 主成分の名称.....	7
3. 分子式.....	7
4. 分子量.....	7
5. 性状等.....	7
6. 起源又は発見の経緯.....	7
(1) 亜鉛の栄養成分としての機能.....	7
(2) 亜鉛の発酵工程における酵母の栄養源（イーストフード）としての機能.....	8
7. 我が国及び諸外国における使用状況等.....	9
(1) 我が国における使用状況.....	9
(2) 諸外国における使用状況.....	9
8. 国際機関等における評価.....	10
(1) 添加物としての評価.....	10
(2) 亜鉛の UL 等について.....	14
(3) その他（添加物評価書「グルコン酸亜鉛」（第2版）（2015）より引用）.....	15
9. 評価要請の経緯、指定の概要.....	15
II. 安全性に係る知見の概要.....	16
1. 体内動態.....	16
(1) 硫酸亜鉛に関する知見.....	17
(2) 亜鉛化合物に関する知見.....	17
(3) 硫酸化合物に関する知見.....	19
(4) 体内動態のまとめ.....	19
2. 毒性.....	19
(1) 遺伝毒性.....	20
(2) 急性毒性.....	20
(3) 反復投与毒性.....	21

(4) 発がん性	23
(5) 生殖発生毒性	24
3. ヒトにおける知見	25
(1) 硫酸亜鉛に関する知見	25
(2) 亜鉛化合物に関する知見	28
(3) 硫酸化合物に関する知見	33
(4) ヒトにおける知見のまとめ	33
III. 一日摂取量の推計等	35
1. 一日摂取量の推計	35
(1) 添加物「硫酸亜鉛」由来の亜鉛の摂取量	35
(2) 栄養機能食品由来の亜鉛の摂取量	35
(3) 食事由来の亜鉛の摂取量	36
(4) その他の亜鉛の摂取量	36
IV. 食品健康影響評価	36
別紙1：略称	38
別紙2：各種毒性試験成績	39
参照	46

<審議の経緯>

- 2015年1月21日 厚生労働大臣から添加物の使用基準改正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0121第1号）、関係書類の接受
- 2015年1月27日 第546回食品安全委員会（要請事項説明）
- 2015年2月27日 第2回添加物専門調査会栄養成分関連添加物ワーキンググループ
- 2015年4月27日 第3回添加物専門調査会栄養成分関連添加物ワーキンググループ
- 2015年6月12日 添加物専門調査会栄養成分関連添加物ワーキンググループ座長から添加物専門調査会座長へ報告
- 2015年6月12日 第142回添加物専門調査会
- 2015年7月28日 第571回食品安全委員会（報告）
- 2015年7月29日から8月27日まで 国民からの意見・情報の募集
- 2015年9月9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
- 2015年9月15日 第577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名簿>

（2015年6月30日まで）

熊谷 進（委員長）
佐藤 洋（委員長代理）
山添 康（委員長代理）
三森 国敏（委員長代理）
石井 克枝
上安平 冽子
村田 容常

（2015年7月1日から）

佐藤 洋（委員長）
山添 康（委員長代理）
熊谷 進
吉田 緑
石井 克枝
堀口 逸子
村田 容常

<食品安全委員会添加物専門調査会専門委員名簿>

（2013年10月1日から）

梅村 隆志（座長）
頭金 正博（座長代理）
穠山 浩
石井 邦雄
石塚 真由美
伊藤 清美
今井田 克己
宇佐見 誠

久保田 紀久枝
祖父江 友孝
高橋 智
塚本 徹哉
戸塚 ゆ加里
中江 大
北條 仁
森田 明美
山田 雅巳

<参考人>

高須 伸二
松井 徹
吉田 宗弘

<食品安全委員会添加物専門調査会栄養成分関連添加物ワーキンググループ専門委員名簿>

(2015年1月19日から)

頭金 正博 (座長)
梅村 隆志 (座長代理)
祖父江 友孝
森田 明美

<参考人>

石見 佳子
合田 幸広
柴田 克己
瀧本 秀美
松井 徹
吉田 宗弘

要 約

栄養強化剤（母乳代替食品に限る。）又は製造用剤（イーストフード）として使用される添加物「硫酸亜鉛」（CAS登録番号：7446-20-0（硫酸亜鉛・7水和物として））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。

評価に用いた試験成績は、硫酸亜鉛、硫酸化合物又は亜鉛化合物を被験物質とした遺伝毒性、急性毒性、反復投与毒性、発がん性、生殖発生毒性、ヒトにおける知見等に関するものである。

本委員会としては、添加物「硫酸亜鉛」については、亜鉛としての摂取を評価することが適当であり、亜鉛が生物学的に必須な栄養成分であることに留意する必要があると考えた。

本委員会としては、体内動態の知見から、硫酸亜鉛は水に易溶性とされていることから、添加物「硫酸亜鉛」は、胃液中において硫酸イオンと亜鉛イオンに解離すると考えた。また、胃液中においては、pHが十分に低ければ、多くの亜鉛化合物は解離し、亜鉛イオンとして存在すると考えた。また、亜鉛イオンは大部分が小腸で吸収されると考えた。

本委員会としては、添加物「硫酸亜鉛」には生体にとって特段問題となるような遺伝毒性はないと判断した。

本委員会としては、添加物「硫酸亜鉛」の亜鉛としての評価については、体内動態における検討の結果を踏まえ、添加物「グルコン酸亜鉛」における評価と同様に、ヒト介入研究において65.92 mg/人/日（0.94 mg/kg 体重/日）（亜鉛として）の摂取で認められた赤血球 SOD 活性の低下について、直ちに臨床症状に直結するとは考えにくい、ヒトの知見に関する複数の報告において生体影響として認められたことは毒性学的に意義があると判断し、この所見を摂取に起因する変化と考え、65.92 mg/人/日（0.94 mg/kg 体重/日）（亜鉛として）を硫酸亜鉛の毒性に係る LOAEL と考えた。

本委員会としては、認められた毒性所見及び我が国において添加物「硫酸亜鉛」の使用基準改正が認められた場合の亜鉛の推定一日摂取量 24.6 mg/人/日（0.45 mg/kg 体重/日）（亜鉛として）を勘案すると、添加物「硫酸亜鉛」について、亜鉛の摂取量に関する上限値を特定することが必要と判断した。

本委員会としては、添加物「グルコン酸亜鉛」における評価と同様に、ヒト介入研究の LOAEL 65.92 mg/人/日（0.94 mg/kg 体重/日）（亜鉛として）の根拠の所見

である赤血球 SOD 活性の低下は非常に軽微な所見であること、また、亜鉛が生物学的に必須な栄養成分であることに留意し、0.94 mg/kg 体重/日を 1.5 で除した 0.63 mg/kg 体重/日（亜鉛として）を添加物「硫酸亜鉛」の亜鉛の摂取量に関する上限値とした。

また、通常の食事から摂取されている亜鉛の量を考慮し、亜鉛の摂取が過剰にならないよう、適切な注意喚起が行われるべきである。

なお、亜鉛の摂取量に関する上限値は、18 歳以上の成人を対象としたものである。亜鉛は生物学的に必須な栄養成分ではあるが、亜鉛化合物の摂取にあたっては、小児、乳児、妊婦及び授乳婦の亜鉛の摂取が過剰にならないよう、適切な注意喚起が行われるべきである。

I. 評価対象品目の概要

1. 用途

栄養強化剤（母乳代替食品に限る。）又は製造用剤（イーストフード）（参照 1、2）

2. 主成分の名称

和名：硫酸亜鉛・7水和物

英名：Zinc sulfate heptahydrate

CAS 登録番号：7446-20-0（硫酸亜鉛・7水和物として）（参照 1、2、3）

3. 分子式

$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ （参照 1、2、3）

4. 分子量

287.58（参照 2、3）

5. 性状等

我が国において現在使用が認められている添加物「硫酸亜鉛」の成分規格において、含量として「本品を無水物換算したものは、硫酸亜鉛 ($ZnSO_4=161.47$) 98.0%以上を含む。」、性状として「本品は、無色の結晶又は白色の結晶性の粉末で、においが無い。」とされている。（参照 2、3）

6. 起源又は発見の経緯

添加物「硫酸亜鉛」は、硫酸と亜鉛の塩であり、水溶液中では硫酸イオン及び亜鉛イオンに容易に解離するとされている。（参照 4、5）

我が国においては、添加物「硫酸亜鉛」は亜鉛の栄養強化の目的で、母乳代替食品へ使用が認められている。（参照 1、2）

(1) 亜鉛の栄養成分としての機能

添加物「硫酸亜鉛」に含まれる亜鉛の栄養成分としての機能は、添加物評価書「グルコン酸亜鉛」（第2版）（2015）によれば以下のとおりである。

① 亜鉛の機能（添加物評価書「グルコン酸亜鉛」（第2版）（2015）より引用）

亜鉛は、亜鉛含有酵素（DNAポリメラーゼ、RNAポリメラーゼ、アルコール脱水素酵素等）等の構成成分として、種々の生理機能に重要な役割を果たしている。欠乏症としては、皮膚炎や味覚障害等が知られている。

Maret (2013) の報告によれば、亜鉛は様々な酵素の補因子となり、ま

た、Zinc Finger タンパク質の構成成分として生体内因子との相互作用に
関与しているとされている。

Haaseら(2008)の報告によれば、亜鉛の補給によって、複数の疾患の
治療に寄与するという報告が複数認められているとされている。Plum
(2010)の報告によれば、亜鉛の欠乏、あるいは過剰によって複数の疾患
が認められているとされている。(参照6)

② 亜鉛の推定平均必要量等の設定

「日本人の食事摂取基準(2015年版)策定検討会」報告書によれば、亜
鉛の推定平均必要量、推奨量及び目安量については、表1のとおりとされ
ている。(参照7)

表1 亜鉛の推定平均必要量、推奨量及び目安量 (mg/人/日)

性別 年齢等	男性			女性		
	推定平 均必要 量	推奨量	目安量	推定平 均必要 量	推奨量	目安量
0~5 (月)	-	-	2	-	-	2
6~11 (月)	-	-	3	-	-	3
1~2 (歳)	3	3	-	3	3	-
3~5 (歳)	3	4	-	3	4	-
6~7 (歳)	4	5	-	4	5	-
8~9 (歳)	5	6	-	5	5	-
10~11 (歳)	6	7	-	6	7	-
12~14 (歳)	8	9	-	7	8	-
15~17 (歳)	9	10	-	6	8	-
18~29 (歳)	8	10	-	6	8	-
30~49 (歳)	8	10	-	6	8	-
50~69 (歳)	8	10	-	6	8	-
70以上 (歳)	8	9	-	6	7	-
妊婦 (付加量)				+1	+2	-
授乳婦 (付加量)				+3	+3	-

(2) 亜鉛の発酵工程における酵母の栄養源 (イーストフード) としての機能

硫酸亜鉛は、ビール醸造における仕込み工程や発酵工程等の製造工程中に
添加することにより、発酵工程に使用する酵母の栄養状態を良好に維持し、
健全な発酵 (遅延のない発酵、製品ビール類の良好な香味) となる効果があ

るとされている。健全な発酵のためには、麦汁中の亜鉛濃度は 0.10～0.15 mg/L が最低限必要であるとの報告もある。(参照 8、9)

7. 我が国及び諸外国における使用状況等

(1) 我が国における使用状況

① 添加物「硫酸亜鉛」及び「グルコン酸亜鉛」

添加物「硫酸亜鉛」は、母乳代替食品の栄養強化の目的で、昭和 58 年に食品添加物として指定されている。使用基準は、「硫酸亜鉛は、母乳代替食品以外の食品に使用してはならない。硫酸亜鉛は、乳及び乳製品の成分規格等に関する省令別表の二 乳等の成分規格並びに製造、調理及び保存の方法の基準の部 (五) 乳等の成分又は製造若しくは保存の方法に関するその他の規格又は基準の款 (5) の規定による厚生労働大臣の承認を受けて調製粉乳に使用する場合を除き、母乳代替食品を標準調乳濃度に調乳したとき、その 1 L につき、亜鉛として 6.0 mg を超える量含有しないように使用しなければならない。」とされている。(参照 1、2)

なお、亜鉛の化合物として、添加物「グルコン酸亜鉛」が昭和 58 年に食品添加物として指定されており、母乳代替食品並びに特定保健用食品、特別用途表示の許可又は承認を受けた食品 (病者用のものに限る。) 及び栄養機能食品の亜鉛の栄養機能の強化目的での使用が認められている。

② 亜鉛に関する食品表示基準

食品表示基準 (平成 27 年内閣府令第 10 号) においては、栄養機能食品における亜鉛の一日当たりの摂取目安量の上限値として 15 mg が設定されている。また、亜鉛の機能として「亜鉛は、味覚を正常に保つのに必要な栄養素です。亜鉛は、皮膚や粘膜の健康維持を助ける栄養素です。亜鉛は、たんぱく質・核酸の代謝に関与して、健康の維持に役立つ栄養素です。」、摂取する上での注意事項として「本品は、多量摂取により疾病が治癒したり、より健康が増進するものではありません。亜鉛の摂り過ぎは、銅の吸収を阻害するおそれがありますので、過剰摂取にならないよう注意してください。1 日の摂取目安量を守ってください。乳幼児・小児は本品の摂取を避けてください。」と表示することとされている。(参照 10)

③ その他

硫酸亜鉛・7水和物は、医薬品における点眼薬等の用途で使用されている。(参照 4)

(2) 諸外国における使用状況

① 米国における使用状況

米国では、添加物「硫酸亜鉛」は一般に安全と認められる（GRAS⁽¹⁾）物質の一つとして指定されており、適正使用規範（GMP）の下で食品に使用することが認められている。（参照 1 1）

本品目の規格基準の改正を要請した者（以下「規格基準改正要請者」という。）によれば、米国において硫酸亜鉛は、乳児用調製粉乳、流動食、フレーバー飲料、シリアル、卵製品等に使用されている。（参照 2、1 2）

② カナダにおける使用状況

カナダでは、硫酸亜鉛は、イーストフードとしてビールに添加することが認められている。（参照 1 3、1 4）

規格基準改正要請者によれば、カナダにおいて硫酸亜鉛は、流動食に使用されている。（参照 1 2）

③ EUにおける使用状況

欧州連合（EU）では、硫酸亜鉛は食品に添加することが認められている。なお、使用目的、使用基準等は設定されていない。（参照 1 5）

規格基準改正要請者によれば、EU において硫酸亜鉛は、乳児用調製粉乳等に使用されている。（参照 2、1 2）

8. 国際機関等における評価

(1) 添加物としての評価

① 我が国における評価

添加物「硫酸亜鉛」の評価はなされていない。添加物「硫酸亜鉛」の構成成分である硫酸イオン及び亜鉛については、2013年に添加物「硫酸カリウム」、2015年に添加物「グルコン酸亜鉛」の評価が実施されている。

a. 添加物評価書「硫酸カリウム」（2013）

2011年4月に厚生労働省から食品安全委員会に食品安全基本法に基づく食品健康影響評価の依頼がなされ、2013年1月、食品安全委員会は、以下のように食品健康影響評価を取りまとめている。

「硫酸カリウムを被験物質とした十分な試験成績は確認することができなかった。しかしながら、強酸と強塩基との塩である硫酸カリウムは、添加物としての使用時においてはその他の硫酸塩類、カリウム塩類と同様に胃液中で硫酸イオンとカリウムイオンに解離すると推定されることから、本委員会としては、添加物「硫酸カリウム」の評価に

¹ 本文中で用いられた略称については、別紙1に名称等を示す。

において、硫酸塩類及びカリウム塩類を被験物質とした試験成績全般を用いて総合的に検討を行うことは可能であると判断した。

本委員会としては、硫酸塩類及びカリウム塩類で構成される物質の試験成績を検討した結果、添加物「硫酸カリウム」については、遺伝毒性、発がん性及び発生毒性の懸念はないと判断した。

硫酸アンモニウムを被験物質としたラットの、13 週間反復経口投与試験の結果、雄の 3.0% 投与群で見られた下痢を投与に起因する毒性と考え、硫酸アンモニウムの反復投与毒性に係る NOAEL を 1.5% (硫酸イオンとして 650 mg/kg 体重/日) と考えたが、添加物「硫酸カリウム」からの硫酸イオンの推定一日摂取量が 41.0 mg と少ないことを考慮し、添加物として適切に使用される場合、添加物「硫酸カリウム」に由来する硫酸イオンは安全性に懸念がないと判断した。

入手したカリウム塩を被験物質とした毒性試験成績からは、NOAEL を得られる知見はないと判断したが、カリウムがヒトの血中、尿中及び各器官中において広く分布する物質であること、多くのカリウム塩が既に添加物として指定され、長い食経験があること、ヒトに塩化カリウムを投与した試験において特段の有害影響が認められなかったこと、栄養素として摂取すべき目標量 (18 歳以上の男女で 2,700 ~ 3,000 mg/人/日) が定められていること及び添加物「硫酸カリウム」からのカリウムの推定一日摂取量 (カリウムとして 33.4 mg) が、現在のカリウムの一日摂取量 (2,200 mg) の約 1.5% と非常に少ないことを総合的に評価し、添加物として適切に使用される場合、添加物「硫酸カリウム」に由来するカリウムは安全性に懸念がないと判断した。

以上から、本委員会としては、添加物として適切に使用される場合、安全性に懸念がないと考えられ、添加物「硫酸カリウム」の ADI を特定する必要はないと評価した。(引用終わり)」(参照 16)

b. 添加物評価書「グルコン酸亜鉛」(第 2 版) (2015)

2014 年 4 月に厚生労働省から食品安全委員会に食品安全基本法に基づく食品健康影響評価の依頼がなされ、2015 年 1 月、食品安全委員会は、以下のように食品健康影響評価を取りまとめている。

「本委員会としては、添加物「グルコン酸亜鉛」については、亜鉛としての摂取を評価することが適当であり、亜鉛が生物学的に必須な

栄養成分であることに留意する必要があると考えた。「日本人の食事摂取基準（2015年版）策定検討会」報告書によれば、成人に対する亜鉛の推奨量は、7～10 mg/人（国民の平均体重を 55.1 kg とすると 0.13～0.18 mg/kg 体重/日）とされている。

今回の添加物「グルコン酸亜鉛」に係る評価要請は、病院食の代替としての総合栄養食品への亜鉛の補給を目的とした使用基準の拡大であるが、現在、添加物「グルコン酸亜鉛」は、保健機能食品についても、一日当たりの亜鉛の摂取目安量として 15 mg までの使用が認められている。したがって、亜鉛としての評価に当たっては、病者用総合栄養食品摂取者（添加物「グルコン酸亜鉛」を添加した病者用の総合栄養食品のみから亜鉛を摂取する人）のみならず、一般摂取者（食事のみから亜鉛を摂取している一般人又は食事及び保健機能食品から亜鉛を摂取している人）も考慮して評価することとした。

体内動態における知見を検討した結果、グルコン酸亜鉛は弱酸塩であることから、pH が低い胃液中においてはグルコン酸亜鉛として存在するが、pH の高い腸液においてはグルコン酸と亜鉛に解離し、体内に取り込まれると考えられた。

また、各亜鉛化合物の平均吸収率は 49.9%～61.3%であると報告されているが、グルコン酸塩又はクエン酸塩として摂取すると、消化管内における食物成分と亜鉛との結合が抑制される結果、これら亜鉛化合物の吸収率は 60%程度となり、49.9%の酸化亜鉛と比べて高値を示すものと考えた。

本委員会としては、体内動態における検討の結果を踏まえ、亜鉛としての摂取を評価するに当たっては、亜鉛化合物のうちグルコン酸亜鉛の知見を基に評価することが適当と考えた。

本委員会としては、添加物「グルコン酸亜鉛」には生体にとって特段問題となるような遺伝毒性はないと判断した。

本委員会としては、グルコン酸亜鉛について急性毒性、反復投与毒性、生殖発生毒性及びヒトにおける知見の試験成績を検討した結果、ヒト介入研究において亜鉛として 65.92 mg/人/日（0.94 mg/kg 体重/日）で認められた赤血球 SOD 活性の低下について、直ちに臨床症状に直結するとは考えにくい、ヒトの知見に関する複数の報告において生体影響として認められたことは毒性学的に意義があると判断し、こ

の所見を摂取に起因する変化と考え、亜鉛として 65.92 mg/人/日 (0.94 mg/kg 体重/日) をグルコン酸亜鉛の毒性に係る LOAEL と考えた。また、発がん性について判断できる知見は認められなかった。

本委員会としては、認められた毒性所見及び我が国において総合栄養食品への使用が認められた場合の添加物「グルコン酸亜鉛」の推定一日摂取量 (亜鉛として 30 mg/人/日 (0.54 mg/kg 体重/日)) を勘案すると、添加物「グルコン酸亜鉛」について、病者用総合栄養食品摂取者及び一般摂取者の両者に対する亜鉛の摂取量に関する上限値を特定することが必要と判断した。本委員会としては、ヒト介入研究の LOAEL 65.92 mg/人/日 (0.94 mg/kg 体重/日) (亜鉛として) の根拠の所見である赤血球 SOD 活性の低下は非常に軽微な所見であること、また、亜鉛が生物学的に必須な栄養成分であることに留意し、0.94 mg/kg 体重/日を 1.5 で除した 0.63 mg/kg 体重/日 (亜鉛として) を添加物「グルコン酸亜鉛」の病者用総合栄養食品摂取者及び一般摂取者の両者に対する亜鉛の摂取量に関する上限値とした。なお、「日本人の食事摂取基準 (2015 年版) 策定検討会」報告書及び IOM において耐容上限量を設定する際にも、不確実性因子の 1.5 が用いられている。

また、一般摂取者に対しては、通常の食事から摂取されている亜鉛の量を考慮し、亜鉛の摂取が過剰にならないよう、適切な注意喚起が行われるべきである。

なお、病者用総合栄養食品摂取者及び一般摂取者の両者に対する亜鉛の摂取量に関する上限値は、18 歳以上の成人を対象としたものである。亜鉛は生物学的に必須な栄養成分ではあるが、小児、乳児、妊婦及び授乳婦の亜鉛の摂取が過剰にならないよう、適切な注意喚起が行われるべきである。(引用終わり)」(参照 6)

② JECFA における評価

規格基準改正要請者によれば、FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議 (JECFA) における添加物「硫酸亜鉛」の評価実績はないとされている。(参照 2)

なお、硫酸イオン及び亜鉛については以下のように評価されている。

a. 硫酸イオンの評価

1985 年の第 25 回会合において、JECFA は、硫酸イオンを含む 24 種類の陰イオンの塩類について評価を行っている。硫酸イオンについ

ては、硫酸塩が動物における含硫物質代謝の最終産物であること及び硫酸塩を食品添加物として使用したとき、通常の食事におけるばく露においてはいかなる毒性を示唆する情報もないことから、ADIを特定しないと評価している。(参照16、17)

b. 亜鉛(汚染物質を含む)の評価

1982年の第26回会合において、JECFAは、亜鉛の安全性について評価し、硫酸亜鉛600mg/日(亜鉛として200mg/日)を数か月間摂取する臨床試験で有害事象が認められなかったことを基に、最大耐容一日摂取量(MTDI)を暫定的に0.3~1.0mg/kg体重/日としている。(参照18)

③ 米国における評価

1973年、米国生物実験科学連合(FASEB)は、添加物「硫酸亜鉛」及びその他の亜鉛の塩類について、「現在又は今後想定される摂取量で公衆への危害の疑いのある合理的な理由を示す根拠はない」としている。(参照19)

(2) 亜鉛のUL等について

亜鉛の耐容上限量(UL)等については以下のように評価されている。

① 厚生労働省における評価

2014年、「日本人の食事摂取基準(2015年版)策定検討会」報告書は、亜鉛のULについて、有害事象が認められた臨床試験における亜鉛サプリメントの摂取量(50mg/人/日)と食事由来の亜鉛摂取量の平均値(10mg/人/日)とを合わせた60mg/人/日を亜鉛のヒトにおけるLOAELとし、このLOAELを不確実係数1.5と被験者の参照体重61kg(アメリカ・カナダの19~30歳女性の体重)で除した0.66mg/kg体重/日を基に成人のULを35~45mg/人/日(年齢、性別によって異なる)としている。小児、乳児、妊婦及び授乳婦は十分な情報がないためULの設定を見合わせている。(参照7)

② IOM/FNBにおける評価(添加物評価書「グルコン酸亜鉛」(第2版)(2015)より引用)

2001年、米国医学研究所/食品栄養委員会(IOM/FNB)は、臨床試験で有害事象が認められた亜鉛の摂取量50mg/人/日と食事由来の10mg/人/日の合算により亜鉛のLOAELを60mg/人/日とし、不確実係数を1.5としてULを40mg/人/日としている。なお、乳児における亜鉛のNOAEL

(4.5 mg/人/日) を基に、亜鉛の乳児・小児 (0 か月～18 歳) における UL を 4～34 mg/人/日と設定している。(参照 6)

③ CRN における評価 (添加物評価書「グルコン酸亜鉛」(第 2 版) (2015) より引用)

2004 年、米国 Council for Responsible Nutrition (CRN) は、臨床試験における亜鉛の NOAEL (30 mg/人/日) と、LOAEL (50 mg/人/日) に十分な差が認められたことから、亜鉛の ULS (サプリメントとしての UL) を 30 mg/人/日としている。この ULS は、食事由来の亜鉛を含まないものであり、食事由来の亜鉛 (10 mg/人/日) を考慮すると、IOM (2001) の UL である 40 mg/人/日と同じ値になるとされている。(参照 6)

④ SCF における評価 (添加物評価書「グルコン酸亜鉛」(第 2 版) (2015) より引用)

2003 年、欧州食品科学委員会 (SCF) は、臨床試験で有害事象が認められなかった亜鉛の摂取量に関する複数の知見を基に、NOAEL を約 50 mg/人/日とし、不確実係数を 2 として亜鉛の UL を 25 mg/人/日としている。なお、17 歳以下の小児等については、成人の UL を体重で換算することにより、7～22 mg/人/日と設定している。(参照 6)

(3) その他 (添加物評価書「グルコン酸亜鉛」(第 2 版) (2015) より引用)

2001 年、世界保健機関 (WHO) が亜鉛について毒性等の試験成績をまとめ、人体、環境への影響を評価している。

2005 年、米国環境保護庁 (EPA) は、亜鉛化合物について毒性試験の成績をまとめ、経口の非発がん性については、4 報のヒトにおける知見に関する試験成績の平均を基に LOAEL を 0.91 mg/kg 体重/日、不確実係数を 3 として参照用量 (RfD) を 0.3 mg/kg 体重/日、発がん性については、評価に適切な試験成績が認められないとしている。(参照 6)

2008 年、独立行政法人 製品評価技術基盤機構 (NITE) が亜鉛化合物について毒性等の試験成績をまとめ、報告している。

9. 評価要請の経緯、指定の概要

今般、添加物「硫酸亜鉛」について、厚生労働省に表 2 のとおり使用基準の改正について要請がなされ、関係資料が取りまとめられたことから、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、食品安全委員会に対して、食品健康影響評価の依頼がなされたものである。(参照 1、

2)

厚生労働省は、食品安全委員会の食品健康影響評価結果の通知を受けた後に、添加物「硫酸亜鉛」について、表 2 のとおり使用基準の改正を検討している。(参照 1、2)

表 2 添加物「硫酸亜鉛」の使用基準改正案

現行基準	<p>硫酸亜鉛は、母乳代替食品以外の食品に使用してはならない。</p> <p>硫酸亜鉛は、乳及び乳製品の成分規格等に関する省令別表の二 乳等の成分規格並びに製造、調理及び保存の方法の基準の部(五) 乳等の成分又は製造若しくは保存の方法に関するその他の規格又は基準の款(5)の規定による厚生労働大臣の承認を受けて調整粉乳に使用する場合を除き、母乳代替食品を標準調乳濃度に調乳したとき、その1Lにつき、亜鉛として6.0mgを超える量を含有しないように使用しなければならない。</p>
改正案	<p>硫酸亜鉛は、母乳代替食品 <u>及び発泡性酒類</u> 以外の食品に使用してはならない。</p> <p>硫酸亜鉛は、乳及び乳製品の成分規格等に関する省令別表の二 乳等の成分規格並びに製造、調理及び保存の方法の基準の部(五) 乳等の成分又は製造若しくは保存の方法に関するその他の規格又は基準の款 <u>(6)</u>の規定による厚生労働大臣の承認を受けて調製粉乳に使用する場合を除き、母乳代替食品を標準調乳濃度に調乳したとき、その1Lにつき、亜鉛として6.0 mgを超える量を含有しないように使用しなければならない。</p> <p><u>硫酸亜鉛は、発泡性酒類に使用するとき、亜鉛として、その1 kgにつき 0.0010 gを超えないようにしなければならない。</u></p>

II. 安全性に係る知見の概要

1. 体内動態

硫酸亜鉛を被験物質とした体内動態に関する試験成績は限られたものである。

硫酸亜鉛は水に易溶性とされていることから(参照4、5)、胃液中において硫酸イオンと亜鉛イオンに解離すると考えられる。このことから、亜鉛化合物及び硫酸化合物に関する知見も併せ、総合的に添加物「硫酸亜鉛」の体内動

態に関する評価を行うこととした。

なお、硫酸化合物の評価に当たっては、添加物評価書「硫酸カリウム」(2013)、亜鉛化合物の評価に当たっては、添加物評価書「グルコン酸亜鉛」(第2版)(2015)も参照した。

(1) 硫酸亜鉛に関する知見

① ヒト経口投与試験 (Nèveら (1991))

21～25歳の成人男性(10例)に10時間の絶食後、硫酸亜鉛・7水和物(亜鉛として45 mg/人/日)を摂取させる試験が実施されている。その結果、血中からの消失半減期は1.3時間であり、血清中の亜鉛濃度を投与後8時間にわたり測定したところ、最高血中濃度(C_{max})には投与後2.3時間で達し、その値は8.2 μmol/L (53.6 μg/dL²)であったとされている。(参照20)

② ヒト経口投与試験 (Prasadら (1993))

51～66歳の成人10例(女性6例、男性4例)に水溶性の硫酸亜鉛、酢酸亜鉛又は非水溶性の酸化亜鉛(亜鉛として50 mg/日相当)をカプセルで経口摂取させる第一試験と、その2週間後に1回目とは異なる化合物を摂取させる第二試験が実施されている。血漿中の亜鉛濃度を測定したところ、C_{max}は投与後約2.5時間で観察され、その値は硫酸亜鉛、酢酸亜鉛及び酸化亜鉛で、それぞれ221、225及び159 μg/dLであったとされている。(参照21)

(2) 亜鉛化合物に関する知見

① グルコン酸亜鉛(添加物評価書「グルコン酸亜鉛」(第2版)(2015)より引用)

a. ヒト経口投与試験 (Dreno (1984))

健常人にグルコン酸亜鉛(100 mg)を経口摂取させる試験が実施されている。その結果、投与後24時間で血漿中亜鉛濃度の上昇が認められ、摂取後72時間には亜鉛が皮膚に到達したとされている。(参照6)

b. ヒト経口投与試験 (Nève (1992))

ヒトにグルコン酸亜鉛を経口摂取させる試験が実施されている。その結果、絶食状態では亜鉛の吸収が速くなり、C_{max}も高くなる等、食事状態の違いにより、亜鉛の吸収が影響されたとされている。(参照

² 亜鉛の原子量(65.39)を用いて換算

6)

c. ヒト経口投与試験 (Wegmüller (2014))

健康な成人 (15 例) にグルコン酸亜鉛、クエン酸亜鉛又は酸化亜鉛 (それぞれ亜鉛として 10 mg/人) を経口摂取させる試験が実施されている。

その結果、各亜鉛化合物の平均吸収率は、クエン酸亜鉛で 61.3%、グルコン酸亜鉛で 60.9%、酸化亜鉛で 49.9%であったとされている。(参照 6)

② 亜鉛

a. 亜鉛トランスポーター (添加物評価書「グルコン酸亜鉛」(第2版) (2015) より引用 (Jeongら (2013)、Cousins (2010)))

ヒト体内には二種類の亜鉛トランスポーター (SLC30 (ZnT)、SLC39 (ZIP)) が存在し、細胞内の亜鉛濃度の調節を行っていると考えられている。消化管にはZIPのサブタイプの一つであるZIP4が発現しており、主として亜鉛の刷子縁膜を介した取込みに関与していると考えられている。(参照 6)

b. 亜鉛トランスポーター (Fujimuraら (2011))

ラットに酸化亜鉛 (亜鉛として 24 (対照群)、1016、2008又は3000 mg/kg食餌) を10日間混餌投与する試験が実施されている。その結果、いずれの投与群においても、小腸上皮における *Zip4* 遺伝子及び *ZnT1* 遺伝子の発現が低下したとされている。(参照 2 2)

c. 亜鉛と他のミネラルとの相互作用について (Couzyら (1993)、O'Dellら (1988))

亜鉛の吸収に対して、カルシウム、銅及び鉄が拮抗するとされている。(参照 2 3、2 4)

d. 亜鉛と他のミネラルとの相互作用について (添加物評価書「グルコン酸亜鉛」(第2版) (2015) より引用 (Peteringら (1978)、Chowdhuryら (1987)、Flodinら (1990)))

亜鉛はカドミウム及び鉛の毒性を軽減するとされている。また、セレンと拮抗し、セレンの抗癌作用を低減させるとされている。(参照 6)

e. 亜鉛のホメオスタシス (Jackson (1989)、Lowe (2009))

ヒト体内に存在する亜鉛は2.6 g³⁾であり、骨格筋に57%、骨に29%、それ以外は皮膚やその他の臓器等に分布しているとされている。(参照 2 5)

これら組織内亜鉛の代謝回転は活発ではなく、食事に含まれる亜鉛の摂取による影響は少ないとされている。

肝臓その他の臓器に含まれる10%以下の亜鉛が血漿中の亜鉛と交換される機能的なプールを形成し、亜鉛欠乏症の原因は、この機能的なプールの枯渇によるものとされている。(参照 2 6)

f. 亜鉛のホメオスタシス (レビュー) (Hambidgeら (2010))

ヒトにおいて、亜鉛の摂取量が推定平均必要量を超過して増加すると、亜鉛の吸収率は急速に低下し、ホメオスタシスの維持に寄与しているとされている。(参照 2 7)

(3) 硫酸化合物に関する知見

添加物評価書「硫酸カリウム」(2013)において、硫酸イオンの体内動態について以下のとおりまとめられている。

硫酸イオンはヒトの血中、尿中及び各器官中において広く分布する物質の一つである。経口投与された硫酸イオンは、消化管からその一部が吸収される。吸収された場合においても、腎臓からの排泄機構により、血漿中の硫酸イオン濃度の恒常性が維持されている。体内では、軟骨ムコ多糖類の硫酸化、外来異物の硫酸抱合化等に利用されている。(参照 1 6)

(4) 体内動態のまとめ

硫酸亜鉛は水に易溶性とされていることから、胃液中において硫酸イオンと亜鉛イオンに解離すると考えられる。また、胃液中においては、pH が十分に低ければ、多くの亜鉛化合物は解離し、亜鉛イオンとして存在すると考えられる。また、亜鉛イオンは大部分が小腸で吸収されると考えた。したがって、硫酸亜鉛の硫酸イオンとしての体内動態については添加物評価書「硫酸カリウム」(2013)を参照し、亜鉛としての体内動態を検討するに当たっては、添加物評価書「グルコン酸亜鉛」(第2版)(2015)において参照された亜鉛化合物に関する知見も参照することが可能であると考えた。

2. 毒性

³ Jackson(1989)では、70 kgの体重のヒトにおける亜鉛の量について組織別に記載されており、それらの数値を合計すると約2.6 gとなる。なお、Lowe(2009)では1.5~2.5 mgとされている。

硫酸亜鉛を被験物質とした毒性に関する試験成績は限られたものである。体内動態のまとめに基づき、添加物「硫酸亜鉛」の毒性を評価するに当たっては、硫酸イオンについては添加物評価書「硫酸カリウム」(2013)を参照し、亜鉛イオンについては、添加物評価書「グルコン酸亜鉛」(第2版)(2015)を参照して評価することが適切と考えた。

(1) 遺伝毒性

硫酸亜鉛を被験物質とした遺伝毒性に関する試験成績については、表 3 のとおりである。

表 3 硫酸亜鉛に関する遺伝毒性の試験成績

指標	試験種類	試験対象	用量等	試験結果概要	参照
遺伝子突然変異	復帰突然変異試験 (<i>in vitro</i>)	細菌 (<i>Salmonella typhimurium</i> TA98、 TA100、 TA1535、 TA1537、 TA1538)	3,600 μg/plate	陰性(代謝活性化系の有無にかかわらず)	添加物評価書「グルコン酸亜鉛」(第2版)(2015)で引用(Gockeら(1981))(参照6)
		細菌(<i>S. typhimurium</i> TA102)	3,000 nmol/plate	陰性(代謝活性化系非存在下)	添加物評価書「グルコン酸亜鉛」(第2版)(2015)で引用(Marzin & Vo(1985))(参照6)
染色体異常	小核試験 (<i>in vivo</i>)	マウス(NMRI、各群4匹、骨髄)	0、28.8、57.5、86.3 mg/kg 体重を24時間間隔で2回腹腔内投与	陰性	添加物評価書「グルコン酸亜鉛」(第2版)(2015)で引用(Gockeら(1981))(参照6)

以上より、本委員会としては、添加物「硫酸亜鉛」には生体にとって特段問題となるような遺伝毒性はないと判断した。

(2) 急性毒性

硫酸亜鉛を被験物質とした急性毒性に関する試験成績は、表 4 のとおりである。

表 4 硫酸亜鉛 単回経口投与試験における LD₅₀

動物種	LD ₅₀ (mg/kg 体重)	参照
マウス	1,180	6 (添加物評価書「グル コン酸亜鉛」 (第2版) (2015) で引用 (科薬抗 研 (1979)))
マウス	611	6 (添加物評価書「グル コン酸亜鉛」 (第2版) (2015) で引用 (Caujolle ら (1964)))
ラット	1,374	
ラット	750	6 (添加物評価書「グル コン酸亜鉛」 (第2版) (2015) で引用 (Hahn ら (1955)))
マウス	307~766 (亜 鉛として)	5 (NITE (2008) で引 用 (Courtois ら (1978)、Domingo ら (1988)、Sanders (2011b)))
ラット	227 ~ 1,194 (亜鉛として)	

(3) 反復投与毒性

① 硫酸亜鉛

添加物評価書「グルコン酸亜鉛」 (第2版) (2015) において、硫酸亜鉛を被験物質とした反復投与毒性に関する試験成績について、以下のとおり評価されている。(参照6)

a. マウス及びラット 13 週間混餌投与毒性試験 (添加物評価書「グルコン酸亜鉛」 (第2版) (2015) より引用 (Maita ら (1981)))

マウス及びラット (いずれも各群雌雄各 12 匹) に硫酸亜鉛を表 5-1 のような投与群を設定して、13 週間混餌投与する試験が実施されている。

表 5-1 用量設定

用量設定	0、300、3,000、30,000 ppm
(mg/kg 体重/日 として換算) (4)	0、45、450、4,500 mg/kg 体重/日 (マウス) 0、30、300、3,000 mg/kg 体重/日 (ラット)

⁴ JECFA で用いられている換算値 (IPCS: EHC240) を用いて摂取量を推定

種	最終体重 (kg)	摂餌量 (g/動物/日)	摂餌量 (g/kg 体重/日)
マウス	0.02	3	150
ラット (若)	0.1	10	100

その結果、各投与群で認められた毒性所見は表 5-2 のとおりである。

表 5-2 毒性所見

用量	毒性所見
4,500 (mg/kg 体重/日) (マウス)	体重増加抑制、摂餌量の低下及び脾臓腺房細胞の壊死、腫大
3,000 (mg/kg 体重/日) (ラット)	

食品安全委員会は、添加物評価書「グルコン酸亜鉛」(2015)において、本試験における NOAEL をマウスで硫酸亜鉛として 450 mg/kg 体重/日、ラットで硫酸亜鉛として 300 mg/kg 体重/日と判断している。

b. ラット 21 か月混餌投与毒性試験 (添加物評価書「グルコン酸亜鉛」(第 2 版) (2015) より引用 (Hagen ら (1953)))

ラット (各群雌雄各 4 匹) に硫酸亜鉛を表 6 のような投与群を設定して、21 か月間混餌投与する試験が実施されている。

表 6 群設定

用量設定	0、100、500、1,000 ppm
(mg/kg 体重/日として換算) (4)	0、10、50、100 mg/kg 体重/日

その結果、以下の所見が認められたとされている。

- ・ 500 ppm 以上の雄で腎腫大

本試験で認められた腎腫大について、腎重量は測定されていない。病理組織学検査の結果、雄の腎で対照群を含めた全群で軽度の腎炎が認められており、500 ppm 以上の雄 5 匹では腎炎の程度がより高度であったとしているがその詳細は不明であり、統計学的解析も実施されていない。食品安全委員会は、添加物評価書「グルコン酸亜鉛」(2015)において、これらの点から、本試験による NOAEL の判断はできないとしている。

② 参考資料

以下の知見については、添加物評価書「硫酸カリウム」(2013) 又は添加物評価書「グルコン酸亜鉛」(第 2 版) (2015) において評価された硫

酸イオン又は亜鉛化合物の反復投与毒性の試験成績に関するものであるが、硫酸亜鉛を被験物質としたものではないことから、参考資料として記載する。

a. 硫酸イオン

硫酸イオンについては、添加物評価書「硫酸カリウム」(2013)において、硫酸アンモニウムのラット 13 週間反復経口投与試験の結果、雄の 3.0%投与群で見られた下痢を投与に起因する毒性と考え、硫酸アンモニウムの反復投与毒性に係る NOAEL を 1.5%(硫酸イオンとして 650 mg/kg 体重/日)と考えたとされている。(参照 16)

なお、規格基準改正要請者によれば、反復投与毒性について、添加物評価書「硫酸カリウム」(2013)以降の新しい知見はないとされている。(参照 2)

b. 亜鉛化合物

亜鉛化合物については、添加物評価書「グルコン酸亜鉛」(第 2 版)(2015)において、酢酸亜鉛二水和物のラット 3 か月間飲水投与毒性試験の NOAEL を酢酸亜鉛二水和物として 160 mg/kg 体重/日と判断したとされている。(参照 6)

(4) 発がん性

① 硫酸亜鉛

添加物評価書「グルコン酸亜鉛」(第 2 版)(2015)において、硫酸亜鉛を被験物質とした発がん性に関する試験成績を参照し、発がん性を判断できるものは得られなかったと評価されている。(参照 6)

② 参考資料

以下の知見については、添加物評価書「硫酸カリウム」(2013)又は添加物評価書「グルコン酸亜鉛」(第 2 版)(2015)において評価された硫酸イオン又は亜鉛化合物の発がん性の試験成績に関するものであるが、硫酸亜鉛を被験物質としたものではないことから、参考資料として記載する。

a. 硫酸イオン

硫酸イオンについては、添加物評価書「硫酸カリウム」(2013)において、硫酸塩類及びカリウム塩類で構成される物質の試験成績を検討した結果、添加物「硫酸カリウム」については、発がん性の懸念はないとされている。

規格基準改正要請者によれば、発がん性について、添加物評価書「硫

酸カリウム」(2013)以降の新しい知見はないとされている。(参照2)

b. 亜鉛化合物

亜鉛化合物については、添加物評価書「グルコン酸亜鉛」(第2版)(2015)において、亜鉛化合物を被験物質とした発がん性に関する試験成績を参照し、亜鉛化合物の試験成績については、発がん性を判断できるものは得られなかったと評価されている。(参照6)

(5) 生殖発生毒性

① 硫酸亜鉛

添加物評価書「グルコン酸亜鉛」(第2版)(2015)において、硫酸亜鉛を被験物質とした生殖発生毒性に関する試験成績を参照し、生殖発生毒性を判断できるものは得られなかったと評価されている。(参照6)

② 参考資料

以下の知見については、添加物評価書「硫酸カリウム」(2013)又は添加物評価書「グルコン酸亜鉛」(第2版)(2015)において評価された硫酸イオン又は亜鉛化合物の生殖発生毒性の試験成績に関するものであるが、硫酸亜鉛を被験物質としたものではないことから、参考資料として記載する。

a. 硫酸イオン

硫酸イオンについては、上述(p10)のとおり、添加物評価書「硫酸カリウム」(2013)において、硫酸カリウム又は硫酸塩類で構成される物質の試験成績を検討した結果、添加物「硫酸カリウム」については、発生毒性の懸念はないとされている。

規格基準改正要請者によれば、生殖発生毒性について、添加物評価書「硫酸カリウム」(2013)以降の新しい知見はないとされている。(参照2)

b. 亜鉛化合物

亜鉛化合物については、添加物評価書「グルコン酸亜鉛」(第2版)(2015)において、硫酸亜鉛を含めた亜鉛化合物を被験物質とした生殖発生毒性に関する試験成績を参照し、以下のとおり評価されている。

亜鉛化合物の試験成績については、塩化亜鉛のラット二世世代生殖毒性試験では、塩化亜鉛として7.5 mg/kg 体重/日以上において親動物に対する一般毒性がみられ、30 mg/kg 体重/日において生殖及び児動物に及

ばす影響が認められた。また、塩化亜鉛のラット一代生殖毒性試験では、塩化亜鉛として 7.5 mg/kg 体重/日以上において親動物に対する一般毒性と生殖に及ぼす影響がみられたが、児動物に及ぼす影響は高用量 (30 mg/kg 体重/日) においても認められなかった。本委員会としては、親動物の一般毒性及び生殖毒性に関する LOAEL を塩化亜鉛として 7.5 mg/kg 体重/日、児動物に及ぼす影響に関する NOAEL を塩化亜鉛として 15.0 mg/kg 体重/日と判断し、亜鉛化合物は、親動物に対する毒性影響がみられない状況においては、生殖に影響を及ぼさないと考えた。(参照 6)

3. ヒトにおける知見

硫酸亜鉛を被験物質としたヒトにおける知見に関する試験成績は限られたものである。ここでは、体内動態の項と同様に、亜鉛化合物及び硫酸化合物に関する知見も併せ、総合的に添加物「硫酸亜鉛」のヒトにおける知見に関する評価を行うこととした。

なお、亜鉛化合物の評価に当たっては、添加物評価書「グルコン酸亜鉛」(第 2 版) (2015) も参照した。

(1) 硫酸亜鉛に関する知見

① 症例報告

a. 症例報告 (Porter (1977) (NITE (2008) で引用))

59歳のセリアック病⁵⁾患者 (女性) が硫酸亜鉛660 mg/人/日を1年以上服用した結果、ヘモグロビン濃度低下、好中球減少を伴う白血球数減少並びに血清中铁濃度及び銅濃度の低下が認められたが、硫酸銅 4 mg/人/日の服用により、4週間で回復したとされている。(参照 28)

b. 症例報告 (添加物評価書「グルコン酸亜鉛」(第 2 版) (2015)、NITE (2008) で引用 (Prasad (1978)))

26歳の鎌状赤血球貧血患者 (男性) が治療目的で硫酸亜鉛又は酢酸亜鉛200~660 mg/人/日 (亜鉛として150~200 mg/人/日) を2年以上服用したところ、ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の低下、好中球減少を伴う白血球数減少、MCV低値、MCHC低値並びに血清中銅濃度の低下が認められたが、硫酸銅1 mg/人/日の服用により1か月程度で回復した。(参照 5、6)

⁵⁾ グルテン過敏症と上部小腸粘膜萎縮を特徴とする小児及び成人におこる病気。(参照「ステッドマン医学大辞典」(メジカルビュー社))

c. 症例報告 (Hoffman ら (1988) (NITE (2008) で引用))

35歳の女性が口腔内及び舌のアフタ性潰瘍を治療する目的で硫酸亜鉛 (80 mg) を含むビタミン剤と硫酸亜鉛440~660 mg/人/日 (亜鉛として110~165 mg/人/日) を10か月間服用したところ、服用中の数か月間、胃腸管からの出血はないにもかかわらず、ヘモグロビン濃度の低下及びMCV低値がみられ、小球性低色素性貧血が悪化したとされている。そのほか、白血球数が減少、血清中フェリチン濃度及び銅濃度が低下しており、血清中セルロプラスミン濃度は0 mg/dLであったとされている。その後、塩化銅溶液を静脈内注射し、酢酸銅2 mg/人/日を服用し続けたことにより、半年程で回復したとされている。(参照 29)

d. 症例報告 (NITE (2008) で引用 (Ramadurai ら (1993)))

36歳の女性が硫酸亜鉛600 mg/人/日を健康食品として3年間服用した結果、ヘモグロビン濃度の低下、重度の好中球減少を伴う白血球数減少及び血清中銅濃度の低下が認められたが、いずれも服用中止4か月以内に回復したとされている。(参照 5)

e. 症例報告 (小児) (Moore (1978) (NITE (2008) で引用))

15歳の女児がざ瘡を治療する目的で硫酸亜鉛440 mg (亜鉛として2.6 mg/kg 体重/日相当⁽⁶⁾) を含む錠剤を摂取した結果、胃上部の不快感、下血が認められ、ヘモグロビン濃度が5.4 g/dLであったとされている。(参照 30)

② 介入研究

a. 介入研究 (Greaves and Skillen (1970) (NITE (2008) で引用))

静脈性下腿潰瘍患者18例に硫酸亜鉛660 mg/人/日 (亜鉛として約450 mg/人/日⁽⁷⁾) を16~26週間摂取させ、血液学的検査及び血液生化学的検査を行ったところ、血液毒性、肝毒性及び腎毒性を示す徴候はみられなかったとされている。(参照 31)

b. 介入研究 (Hooper ら (1980) (NITE (2008) で引用))

23~35歳の男性 (12例) に硫酸亜鉛440 mg/人/日 (亜鉛として0 (プラセボ)、2.3 mg/kg 体重/日相当⁽⁸⁾) を含むカプセルを5週間摂取

⁶ NITEによれば、EUによる換算とされている。

⁷ NITEによる換算

⁸ NITEによれば、EU及びATSDRによる換算とされている。

させる試験が実施されている。その結果、投与群で、HDLコレステロールが7週目に減少したが、16週目には回復したとされている。総コレステロール、トリグリセリド及びLDLコレステロールについては変化がみられなかったとされている。(参照32)

c. 介入研究 (Chandraら (1984) (NITE (2008) で引用))

成人男性 (11例) に硫酸亜鉛 (亜鉛として300 mg/人/日 (4.3 mg/kg 体重/日相当⁽⁶⁾)) を6週間摂取させる試験が実施されている。その結果、摂取4、6週目に血清中の亜鉛濃度が増加し、フィットヘマグルチニン (PHA) へのリンパ球の刺激反応が低下したとされている。また、HDLコレステロールが減少し、LDLコレステロールは僅かに増加したとしている。(参照33)

d. 介入研究 (Samman and Roberts (1987, 1988) (NITE (2008) で引用))

成人 (女性26例、男性21例) に、硫酸亜鉛660 mg/人/日 (亜鉛として0 (プラセボ⁽⁹⁾)、男性2.0 mg/kg 体重/日、女性2.4 mg/kg 体重/日相当⁽⁷⁾) をカプセルで6週間摂取させる二重盲検試験が実施されている。その結果、投与群の男女ともに頭痛、吐き気、嘔吐、食欲不振及び腹部けいれんがみられたとされている。投与群の男女ともに亜鉛濃度が増加し、投与群の女性でLDLコレステロールの低下、セルロプラスミンが減少し、赤血球スーパーオキシドジスムターゼ (SOD) 活性の低下が認められたとされている。(参照34、35)

e. 介入研究 (NITE (2008) で引用 (Mahomedら (1988)))

妊娠女性 (494例) のうち、246例に硫酸亜鉛 (亜鉛として20 mg、0.3 mg/kg 体重/日⁽⁸⁾) を、248例に对照群としてプラセボを6か月間摂取させる二重盲検試験が実施されている。その結果、母体及び出生児に異常は見られなかったとされている。(参照5)

f. 介入研究 (Brandao - Netoら (1990) (NITE (2008) で引用))

22~26歳の成人 (女性9例、男性9例) に12時間絶食後に硫酸亜鉛・7水和物 (亜鉛として0 (対照として8例に生理食塩水)、25、女性37.5及び男性50 mg) を含む水溶液20 mLを経口投与し、投与30分前、投与直前及び30分おきに投与4時間後まで血液を採取する第一試験と、成人 (女性6例、男性6例) に12時間絶食後に硫酸亜鉛 (亜鉛と

⁹ 対照として同一被験者に6週間プラセボを摂取させる交差試験

して0（対照として6例に生理食塩水）、50 mg）を含む水溶液20 mLを経口投与し、第一試験と同様に血液を採取する第二試験が実施されている。その結果、第一試験において、全ての群で血漿中コルチゾール濃度の低下が認められ、特に投与群で血漿中コルチゾール濃度の低下は顕著であったことから、投与群の血漿中コルチゾール濃度低下には日内変動以外の影響もあったとされている。（参照36）

本委員会としては、投与群における血漿中コルチゾール濃度の低下の程度について、試験期間を通して対照群との間に差は認められていないと判断した。

g. 介入研究（乳児）（添加物評価書「グルコン酸亜鉛」（第2版）（2015）で引用（Walravens & Hambidge（1976）））

正常な乳児（68例）に硫酸亜鉛（亜鉛として1.8、5.8 mg/L）を含有するミルクを6か月間摂取させる試験が実施されている。その結果、検査が実施された42例について、血中亜鉛、銅、コレステロール濃度その他の悪影響は認められなかったとされている。

IOM（2001）は、乳児のミルク摂取量（0.78 L/日）を考慮し、本試験におけるNOAELを4.5 mg/人/日（亜鉛として）とし、この値を基に、亜鉛の乳児・小児（0か月～18歳）におけるULを設定している。

食品安全委員会は、添加物評価書「グルコン酸亜鉛」（第2版）（2015）において、試験期間中の被験者の脱落が多く認められ、その理由等の詳細が明らかでないこと、ミルクの組成が不明であることから、本試験からNOAELの判断を行うことは適切でないと考えたとしている。（参照6）

（2）亜鉛化合物に関する知見

① 亜鉛過剰症について

a. 添加物評価書「グルコン酸亜鉛」（第2版）（2015）より引用（和田（1995）、和田及び柳沢（1997））

亜鉛の経口摂取による過剰症の報告は少ないが、銅や鉄の吸収阻害による銅欠乏、鉄欠乏に起因する諸症状の発現が報告されている。胃腸の刺激やアミラーゼの増加は、ヒトでは亜鉛として100 mg/日以上の経口投与で認められているとされている。血清脂質に対する影響が確認されているが、銅の吸収阻害による影響と考えられている。免疫能に関して100 mg/日以上多量の亜鉛投与で影響が認められているが、亜鉛欠乏時にも免疫能は低下するとされている。亜鉛の過剰摂取において最も問題になる症状は、銅及び鉄の欠乏症とされている。（参照6）

- b. 「日本人の食事摂取基準（2015年版）策定検討会」報告書（2014）より引用

亜鉛自体の毒性は極めて低いと考えられるが、多量の亜鉛の継続的摂取は、銅の吸収阻害による銅欠乏、スーパーオキシドジスムターゼ（SOD）活性の低下、貧血、汎血球減少、胃の不快感などを起こすとされている。（参照7）

② グルコン酸亜鉛

a. 成人に関する知見

- (a) 介入研究（Fischerら（1984）（添加物評価書「グルコン酸亜鉛」（第2版）（2015）で引用）

成人男性（26例）にグルコン酸亜鉛（亜鉛として0（プラセボ）、50 mg/人/日）を6週間摂取させる試験が実施されている。その結果、4週間後に赤血球 SOD 活性の低下傾向、6週間後には有意な低下が認められたとしている。（参照37）

EPA（2005）は、本試験において、食事由来の亜鉛の摂取量を15.92mg/人/日、男性の体重を70kgとしてLOAELを0.94 mg/kg 体重/日（亜鉛として）とし、最終的にその他の知見も踏まえ亜鉛のRfDを評価している。（参照6）

- (b) 介入研究（Blackら（1988）（添加物評価書「グルコン酸亜鉛」（第2版）（2015）で引用）

米国の19～29歳の成人男性（各群9～13例）にグルコン酸亜鉛（亜鉛として0、50、75 mg/人/日）を12週間摂取させる二重盲検試験が実施されている。その結果、50 mg/人/日（亜鉛として）以上摂取群でHDLコレステロールの減少が認められたとされている。（参照38）

厚生労働省（2014）は、本試験の結果を踏まえ、通常食に含まれる亜鉛量（10 mg/人/日）を考慮してLOAELを60 mg/人/日（亜鉛として）とし、その他の知見も踏まえ亜鉛のULを評価している。（参照6）

- (c) 介入研究（添加物評価書「グルコン酸亜鉛」（第2版）（2015）で引用（Samman & Roberts（1988））

成人（女性26例、男性21例）にグルコン酸亜鉛（亜鉛として150 mg/人/日、女性2.5 mg/kg 体重/日、男性2.0 mg/kg 体重/日）を6週間摂取させる二重盲検試験が実施されている。

その結果、投与群の男女ともに腹痛、嘔吐及び嘔気が認められたとされている。投与群の女性で LDL コレステロールの低下、HDL₂ の上昇及び HDL₃ の低下、血中セルロプラスミン中のフェロキシダーゼ及び赤血球 SOD 活性の低下が認められたとされている。

本知見は、国際機関における UL 等の根拠とはされていない。
(参照 6)

(d) 介入研究 (Yadrick ら (1989)、Fosmire (1990) (添加物評価書「グルコン酸亜鉛」(第 2 版) (2015) で引用))

米国の 25~40 歳の成人女性 18 例にグルコン酸亜鉛 (亜鉛として 50 mg/人/日) を 10 週間摂取させる試験が実施されている。その結果、血清鉄、ヘマトクリット及び赤血球 SOD 活性の低下が認められたとしている。(参照 39)

IOM (2001) 及び厚生労働省 (2014) は、本試験の結果を踏まえ、通常食に含まれる亜鉛量 (10 mg/人/日) を考慮して LOAEL を 60 mg/人/日 (亜鉛として) とし、その他の知見も踏まえ亜鉛の UL を評価している。

EPA (2005) は、本試験における LOAEL を 0.99 mg/kg 体重/日 (亜鉛として) とし、その他の知見も踏まえ亜鉛の RfD を評価している。(参照 6)

(e) 介入研究 (添加物評価書「グルコン酸亜鉛」(第 2 版) (2015) で引用 (Davis ら (2000)))

閉経後女性 (25 例) ⁽¹⁰⁾ にグルコン酸亜鉛 (亜鉛として 3 (対照群)、53 mg/人/日) ⁽¹¹⁾ を 90 日間摂取させる試験が実施されている。その結果、赤血球 SOD 活性の低下傾向が認められ、赤血球 (SOD) を除く細胞外 SOD 活性、血清亜鉛、遊離チロキシン濃度等が上昇したとしている。

SCF (2003) は、本試験を含めた複数の知見から NOAEL を 50 mg/人/日 (亜鉛として) とし、亜鉛の UL を評価している。

EPA (2005) は、本試験における LOAEL を 0.81 mg/kg 体重/日 (亜鉛として) とし、その他の知見も踏まえ亜鉛の RfD を評価している。(参照 6)

¹⁰ 被験者の銅の摂取量について、1mg 銅/人/日と 3 mg 銅/人/日の 2 群に分けて実施。

¹¹ 銅の摂取量の異なる 2 群について、それぞれ、亜鉛について、食事由来の 3mg 亜鉛/人/日を 90 日間摂取させた後、10 日間の平衡期間を設け、グルコン酸亜鉛 50mg/人/日を追加した 53mg 亜鉛/人/日を 90 日間摂取。

(f) 介入研究 (添加物評価書「グルコン酸亜鉛」(第2版)(2015)で引用 (Milne ら (2001)))

閉経後の女性 (21 例) ⁽¹⁰⁾ にグルコン酸亜鉛 (亜鉛として 3 (対照群)、53 mg/人/日) ⁽¹¹⁾ を 90 日間摂取させる試験が実施されている。その結果、赤血球 SOD 活性の低下傾向が認められ、全血グルタチオン濃度及び赤血球グルタチオンパーオキシダーゼ活性が低下したとしている。

SCF (2003) は、本試験を含めた複数の知見から NOAEL を 50 mg/人/日 (亜鉛として) とし、亜鉛の UL を評価している。

EPA (2005) は、本試験における LOAEL を 0.81 mg/kg 体重/日 (亜鉛として) とし、その他の知見も踏まえ亜鉛の RfD を評価している。(参照 6)

(g) 介入研究 (添加物評価書「グルコン酸亜鉛」(第2版)(2015)で引用 (Hininger-Favier ら (2006)))

成人 (55~70 歳 188 例、70~85 歳 199 例) にグルコン酸亜鉛 (亜鉛として 0、15、30 mg/人/日) を 6 か月間摂取させる二重盲検試験が実施されている。

食品安全委員会は、添加物評価書「グルコン酸亜鉛」(第2版)(2015)において、本試験において投与群で認められる変化は血清亜鉛濃度及び尿中亜鉛濃度の増加のみで、赤血球 SOD 活性について有意な変化が認められるものの、増加か減少かの判断が出来ないと考えた。よって、本試験から NOAEL の判断を行うことは適切でないと考えたとしている。(参照 6)

b. 小児、乳児への影響 (添加物評価書「グルコン酸亜鉛」(第2版)(2015)より引用)

(a) 症例報告 (Botash ら (1992))

13 か月の女兒にグルコン酸亜鉛 (亜鉛として、120 mg/人/日を 6 か月間、その後 180 mg/人/日を 1 か月間) を 7 か月間摂取させる試験が実施されている。その結果、骨髓検査で環状鉄芽球がみられ、銅の欠乏が示唆されたとしている。

IOM (2001) は、小児、青年期における亜鉛の有害事象の報告は本知見のみとしている。(参照 6)

(b) 症例報告 (Matthew ら (1998))

7 歳の男児がグルコン酸亜鉛含有の錠剤 80~85 錠 (亜鉛として約 570 mg) を衝動的に経口摂取した時の症状及び経過について報

告されている。その結果、摂取直後、激しいおう吐症状が発現したが、吐血、胸部痛、下痢等の症状はなかったとされている。(参照6)

c. 妊婦、授乳婦への影響 (添加物評価書「グルコン酸亜鉛」(第2版)(2015)より引用)

亜鉛の妊婦、授乳婦への影響に係る知見は認められなかった。IOM(2001)は、妊婦、授乳婦については、非妊婦、非授乳婦と同じULを適用するとしている。(参照6)

③ その他の亜鉛 (化学形が不明なものを含む)

a. 介入研究 (添加物評価書「グルコン酸亜鉛」(第2版)(2015)で引用 (Bonhamら(2003a, b)))

成人男性(19例)に亜鉛グリシンキレート(亜鉛として30 mg/人/日)を14週間摂取させる試験が実施されている。その結果、銅の指標、リポタンパク代謝及び恒常性、免疫能の指標に有害影響は認められなかったとしている。

CRN(2004)は、本試験におけるNOAELを30 mg/人/日(亜鉛として)として亜鉛のULS(サプリメントとしてのUL)を評価している。なお、通常食に含まれる亜鉛量(10 mg/人/日)も考慮すれば40 mg/人/日(亜鉛として)となるとしている。

SCF(2003)は、本試験を含めた複数の知見からNOAELを50 mg/人/日(亜鉛として)とし、亜鉛のULを評価している。(参照6)

b. 介入研究 (NITE(2008)で引用 (Freeland-Gravesら(1982)))

女性(32例)に酢酸亜鉛(0(対照群)、15、50、100 mg/日(亜鉛として0、0.25、0.83、1.7 mg/kg体重/日))を60日間摂取させる試験が実施されている。その結果、血清中の亜鉛濃度は用量依存的に増加し、100 mg投与群で血漿HDLコレステロールが一過性であるが有意に減少したとしている。(参照5)

c. 追跡コホート研究 (添加物評価書「グルコン酸亜鉛」(第2版)(2015)で引用 (Leitzmannら(2003)))

米国の男性46,974例について14年間の追跡コホート研究が実施されている。その結果、調査対象のうち約25%が亜鉛のサプリメントを摂取しており、2,901例に前立腺がんの発生があり、434例が進行性であったとされている。前立腺がんの相対危険度は、100 mg(亜鉛として)超群では2.29(95%CI=1.06~4.95)、10年以上長期にわたって摂取した者では2.37(95%CI=1.42~3.95)とされている。

Leitzmannらは、亜鉛摂取と前立腺がん発生とを関連付ける特定の作用機序は不明で、亜鉛の過剰摂取と前立腺がん発生との関連についてはさらなる調査が必要であるとしている。

食品安全委員会は、添加物評価書「グルコン酸亜鉛」(第2版)(2015)において、亜鉛摂取以外の要因による影響を完全には排除できないこと、摂取量についての正確さが劣ることから、本試験に基づき亜鉛摂取と前立腺がん発生とを関連付けることはできないと考えたとしている。(参照6)

(3) 硫酸化合物に関する知見

硫酸化合物について、添加物評価書「硫酸カリウム」(2013)においては、硫酸イオンに関するヒトにおける知見は参照されていない。

(4) ヒトにおける知見のまとめ

① グルコン酸亜鉛(添加物評価書「グルコン酸亜鉛」(第2版)(2015)におけるまとめ)

添加物評価書「グルコン酸亜鉛」(第2版)(2015)は、ヒトにおける知見について、以下のとおり評価している。

「ヒトにおける知見については、グルコン酸亜鉛以外の亜鉛化合物による報告もあるが、本委員会としては、体内動態において他の亜鉛化合物より吸収率が高いと判断したグルコン酸亜鉛による試験成績を用いて評価することとした。

グルコン酸亜鉛の経口摂取に関するヒトにおける知見を確認した結果、Fischerら(1984)、Samman & Roberts(1988)、Yadrickら(1989)、Davisら(2000)及びMilneら(2001)といった複数の報告において、共通して血液学的検査値の変化(赤血球SOD活性の低下)が認められた。本委員会としては、赤血球SOD活性の低下は、直ちに臨床症状に直結するとは考えにくい、ヒトの知見に関する複数の報告において生体影響として認められたことは毒性学的に意義があると判断し、赤血球SOD活性の低下をエンドポイントとして用いることとした。なお、Blackら(1988)で認められたHDLコレステロールの減少については、複数の報告に共通する所見ではないことから、エンドポイントとして用いないこととした。

本委員会としては、Davisら(2000)及びMilneら(2001)の報告は、食事の銅の量をコントロールした試験方法であり3mg銅/日の摂取は日本人の摂取量より高いこと、対照群の亜鉛の量が3mg亜鉛/日と日本人の摂取量より少ない量であること及び閉経後の女性を対象とした報告であるが亜鉛の排泄経路として月経血があるため成人に外挿できないことから、これらの知見については、エンドポイントの判断に用いる知見としては重

要であるものの、LOAELの判断に用いることは適当でないと考えた。

赤血球 SOD 活性の低下をエンドポイントとする Fischer ら (1984)、Samman & Roberts (1988) 及び Yadrack ら (1989) の知見のうち、Fischer ら (1984) 及び Yadrack ら (1989) の知見において、50 mg/人/日 (亜鉛として) の摂取で赤血球 SOD 活性の低下が認められたため、この2つの知見を基に LOAEL の判断を行うこととした。

Fischer ら (1984) の知見については、前述の EPA (2005) において、試験が実施された地域における食事由来の亜鉛摂取量を 15.92 mg/人/日とし、これらの値を合計した 65.92 mg/人/日 (男性の体重を 70 kg として 0.94 mg/kg 体重/日) (亜鉛として) を、食事由来、添加物由来を合わせた亜鉛の LOAEL と判断されている。本委員会としては、EPA (2005) の判断を是認することが適当と考えた。

Yadrack ら (1989) の知見については、上述のとおり、厚生労働省 (2014) 及び IOM/FNB (2001) における耐容上限量の評価において、試験が実施された地域における食事由来の亜鉛摂取量の平均値を 10 mg/人/日とし、これらの値を合計した 60 mg/人/日 (米国・カナダ人女性の体重を 61 kg として 0.98 mg/kg 体重/日) (亜鉛として) を、食事由来、添加物由来を合わせた亜鉛の LOAEL と判断されている。本委員会としては、厚生労働省 (2014) 及び IOM/FNB (2001) の判断を是認することが適当と考えた。

以上より、Fischer ら (1984) 又は Yadrack ら (1989) の知見から得られた LOAEL (kg 体重に換算した値) は、それぞれ亜鉛として 0.94 mg/kg 体重/日又は 0.98 mg/kg 体重/日であり、あまり差がなかった。本委員会としては、ヒトにおける知見の LOAEL を、kg 体重に換算した値が低い 65.92 mg/人/日 (0.94 mg/kg 体重/日) (亜鉛として) と判断した。

なお、乳児に関する知見の検討も踏まえ、上述の我が国における耐容上限量の評価と同様に、小児、乳児、妊婦及び授乳婦については、十分な情報が認められないと考えた。(引用終わり)」(参照6)

② 添加物「硫酸亜鉛」のうち、亜鉛についてのまとめ

本委員会としては、亜鉛については、体内動態の知見から、硫酸亜鉛は水に易溶性とされていることから、胃液中において硫酸イオンと亜鉛イオンに解離すると考えた。また、胃液中においては、pH が十分に低ければ、多くの亜鉛化合物は解離し、亜鉛イオンとして存在すると考えられる。また、添加物「硫酸亜鉛」の亜鉛の吸収性は添加物「グルコン酸亜鉛」の亜鉛の吸収性を上回ることはないと考えられた。

さらに、上述 (p27) の Samman and Roberts ら (1987, 1988) の報告によれば、硫酸亜鉛 660 mg (亜鉛として、男性 2.0 mg/kg 体重/日、女性 2.4 mg/kg 体重/日相当) を 6 週間摂取させる二重盲検試験において、赤血

球 SOD 活性の低下が認められたとされており、この所見は添加物「グルコン酸亜鉛」において認められたエンドポイントである。

以上より、添加物「硫酸亜鉛」の亜鉛としての NOAEL/LOAEL の評価に当たっては、グルコン酸亜鉛と同様に、LOAEL を 65.92 mg/人/日 (0.94 mg/kg 体重/日) (亜鉛として) と判断した。

Ⅲ. 一日摂取量の推計等

1. 一日摂取量の推計

現在、添加物「硫酸亜鉛」は、母乳代替食品に対してのみ使用が認められている。

規格基準改正要請者によれば、添加物「硫酸亜鉛」は、今般の使用基準改正 (以下「本改正」という。) により発泡性酒類に使用されることが想定されることから、本改正により、全てのヒトにおける亜鉛の摂取量に変更を及ぼすものではなく、発泡性酒類から亜鉛を摂取する成人においてのみ摂取量の変更が生じうるものと考えたとされている。また、病院食の代替として総合栄養食品を使用する者は一般に発泡性酒類を摂取しないと考え、成人の一日当たりの摂取量の推計に当たっては考慮しないこととしたとしている。

(1) 添加物「硫酸亜鉛」由来の亜鉛の摂取量

規格基準改正要請者は、添加物「硫酸亜鉛」の過剰摂取リスクの高い多量飲酒者¹²⁾を基準として、以下のとおり摂取量を推計している。

規格基準改正要請者は、添加物「硫酸亜鉛」の使用基準 (案)「硫酸亜鉛は、発泡性酒類に使用するとき、亜鉛として、その 1 kg につき 0.0010 g を超えないようにしなければならない。」に基づき、全ての発泡性酒類に硫酸亜鉛が亜鉛として 1.0 mg/kg 使用され、多量飲酒者が一日当たり 1.5 L 相当の発泡性酒類を摂取すると仮定し、発泡性酒類に係る硫酸亜鉛の摂取量について亜鉛として 1.5 mg/人/日¹³⁾と推定している。(参照 4 0)

(2) 栄養機能食品由来の亜鉛の摂取量

現在、亜鉛を含有する食品添加物として添加物「グルコン酸亜鉛」の使用が認められており、サプリメントなどの栄養機能食品に対して亜鉛とし

¹²⁾ 厚生労働省の健康日本 21 によれば、1 日あたり純アルコール換算で 60g (発泡性酒類 (平均アルコール濃度: 5V/V%)、1.5 L 相当) を超えて摂取する人を多量飲酒者としている。なお、1.5L の算出は以下のとおり。

多飲者のビール摂取量/日

=多飲者のアルコール摂取量 g/日 ÷ (ビール中のアルコール濃度 V/V% × アルコール比重) × 100

=60 g/日 ÷ (5V/V% × 0.7947) × 100

≒1.5L

¹³⁾ 発泡性酒類の比重を 1 として算出している。

て 15 mg の一日摂取目安量が示されている。(参照 1 0)

(3) 食事由来の亜鉛の摂取量

平成 25 年国民健康・栄養調査の結果によれば、成人男女平均で 8.0 mg/人/日⁽¹⁴⁾の亜鉛を摂取しているとされている。(参照 4 1、4 2)

(4) その他の亜鉛の摂取量

亜鉛の摂取は食事由来のほか、飲料水からの摂取も考えられるが、平成 12 年の水道統計調査によると、水道水の亜鉛濃度は調査地点の約 99.2%で 0.1 mg/L 以下であることが報告されている。(参照 4 3) 規格基準改正要請者は、一日 3 L の水道水を飲むと仮定しても、水道水からの亜鉛の摂取量は 0.3 mg/人/日以下であり、亜鉛の一日摂取量に対して影響しないとしている。(参照 2)

以上から、規格基準改正要請者は、食品添加物としての使用を含む亜鉛の摂取量について、(1) ~ (3) を合計し、24.5 mg/人/日としている。

本委員会としては、飲料水からの亜鉛の摂取については、NITE (2008) を参照し、0.1 mg/人/日⁽¹⁵⁾と判断した。添加物「硫酸亜鉛」の使用基準改正に係る亜鉛の推定一日摂取量については、(1) ~ (3) の合計に飲料水からの摂取量を加算し、成人において 24.6 mg/人/日 (0.45 mg/kg 体重/日⁽¹⁶⁾) (亜鉛として) と判断した。

IV. 食品健康影響評価

本委員会としては、添加物「硫酸亜鉛」については、亜鉛としての摂取を評価することが適当であり、亜鉛が生物学的に必須な栄養成分であることに留意する必要があると考えた。

本委員会としては、体内動態の知見から、硫酸亜鉛は水に易溶性とされていることから、添加物「硫酸亜鉛」は、胃液中において硫酸イオンと亜鉛イオンに解離すると考えた。また、胃液中においては、pH が十分に低ければ、多くの亜鉛化合物は解離し、亜鉛イオンとして存在すると考えた。また、亜鉛イオンは大部分が小腸で吸収されると考えた。

¹⁴ 中央値は 7.6 mg/人/日

¹⁵ NITE (2008) は、亜鉛の飲料水中濃度を浄水測定結果から求めた 95%タイル値の 50µg/L とし、飲料水からの亜鉛の摂取量について、50µg/L×2L/人/日=100µg/人/日としている。

¹⁶ 国民の平均体重を 55.1kg として算出した。

本委員会としては、添加物「硫酸亜鉛」には生体にとって特段問題となるような遺伝毒性はないと判断した。

本委員会としては、添加物「硫酸亜鉛」の亜鉛としての評価については、体内動態における検討の結果を踏まえ、添加物「グルコン酸亜鉛」における評価と同様に、ヒト介入研究において 65.92 mg/人/日 (0.94 mg/kg 体重/日) (亜鉛として) の摂取で認められた赤血球 SOD 活性の低下について、直ちに臨床症状に直結するとは考えにくい、ヒトの知見に関する複数の報告において生体影響として認められたことは毒性学的に意義があると判断し、この所見を摂取に起因する変化と考え、65.92 mg/人/日 (0.94 mg/kg 体重/日) (亜鉛として) を硫酸亜鉛の毒性に係る LOAEL と考えた。

本委員会としては、認められた毒性所見及び我が国において添加物「硫酸亜鉛」の使用基準改正が認められた場合の亜鉛の推定一日摂取量 24.6 mg/人/日 (0.45 mg/kg 体重/日) (亜鉛として) を勘案すると、添加物「硫酸亜鉛」について、亜鉛の摂取量に関する上限値を特定することが必要と判断した。

本委員会としては、添加物「グルコン酸亜鉛」における評価と同様に、ヒト介入研究の LOAEL 65.92 mg/人/日 (0.94 mg/kg 体重/日) (亜鉛として) の根拠の所見である赤血球 SOD 活性の低下は非常に軽微な所見であること、また、亜鉛が生物学的に必須な栄養成分であることに留意し、0.94 mg/kg 体重/日を 1.5 で除した 0.63 mg/kg 体重/日 (亜鉛として) を添加物「硫酸亜鉛」の亜鉛の摂取量に関する上限値とした。

また、通常の食事から摂取されている亜鉛の量を考慮し、亜鉛の摂取が過剰にならないよう、適切な注意喚起が行われるべきである。

なお、亜鉛の摂取量に関する上限値は、18 歳以上の成人を対象としたものである。亜鉛は生物学的に必須な栄養成分ではあるが、亜鉛化合物の摂取にあたっては、小児、乳児、妊婦及び授乳婦の亜鉛の摂取が過剰にならないよう、適切な注意喚起が行われるべきである。

<別紙 1 : 略称>

略称	名称等
CRN	Council for Responsible Nutrition : 米国栄養評議会
EPA	Environmental Protection Agency : 米国環境保護庁
EU	European Union : 欧州連合
FASEB	Federation of American Societies for Experimental Biology : 米国生物実験科学連合
FNB	Food and Nutrition Board : 食品栄養委員会
GMP	Good Manufacturing Practice : 適正使用規範
GRAS	Generally Recognized As Safe : 一般的に安全とみなされる
HDL	High Density Lipoprotein : 高密度リポタンパク質
IOM	Institute of Medicine : 米国医学研究所
JECFA	Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives : FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議
LDL	Low Density Lipoprotein : 低密度リポタンパク質
MCHC	Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration : 平均赤血球ヘモグロビン濃度
MCV	Mean Corpuscular Volume : 平均赤血球容積
NITE	National Institute of Technology and Evaluation : 独立行政法人 製品評価技術基盤機構
PHA	Phytohemagglutinin : フィトヘマグルチニン
RfD	Reference Dose : 参照用量
SCF	Scientific Committee for Food : 欧州食品科学委員会
SOD	Superoxide Dismutase : スーパーオキシドジスムターゼ
UL	Tolerable Upper Intake Level : 耐容上限量
WHO	World Health Organization : 世界保健機関

＜別紙2：各種毒性試験成績＞

試験項目	試験種類	動物種等	試験期間	投与方法	群設定	被験物質	投与量	試験結果概要及び本委員会の判断	参照
反復投与毒性	13週間試験	マウス、ラット	13週間	混餌	各群雌雄 各12匹	硫酸亜鉛	0、300、3,000、 30,000 ppm； (マウス) 0、 45、450、4,500 mg/kg 体重/日 (ラット) 0、 30、300、3,000 mg/kg 体重/日	マウスの4,500 mg/kg 体重/日投与 群、ラットの3,000 mg/kg 体重/日 投与群で、体重増加抑制、摂餌量の 低下及び脾臓臓房細胞の壊死、腫 大。 NOAEL 450 mg/kg 体重/日 マウス (硫酸亜鉛として) NOAEL 300 mg/kg 体重/日 ラット (硫酸亜鉛として)	添加物評価書 「グルコン酸亜 鉛」(第2版) (2016)で引用 (Maïta ら (1981)) 参照6
ヒトにおける知 見 (硫酸亜鉛)	21か月試験	ラット	21か月間	混餌	各群雌雄 各4匹	硫酸亜鉛	0、100、500、 1,000 ppm；0、 10、50、100 mg/kg 体重/日	本試験で認められた腎腫大につい て、腎重量は測定されていない。病 理組織学検査の結果、雄の腎で対照 群を含めた全群で軽度の腎炎が認め られており、500ppm 以上の雄5匹 では腎炎の程度がより高度であった としているがその詳細は不明であ り、統計学的処理も実施されていな い。これらの点から、本試験による NOAELの判断はできない。	添加物評価書 「グルコン酸亜 鉛」(第2版) (2016)で引用 (Hagen ら (1958)) 参照6
	症例報告	ヒト (セリアッ ク病)	1年以上	経口	59歳女性	硫酸亜鉛	660 mg/人/日	ヘモグロビン濃度低下、好中球減少 を伴う白血球数減少並びに血清中鉄 濃度及び銅濃度の低下。硫酸銅 4 mg/人/日の服用により、4週間で回 復。	Porter (1977) (NITE (2008)で引 用) 参照28

試験項目	試験種類	動物種等	試験期間	投与方法	群設定	被験物質	投与量	試験結果概要及び本委員会の判断	参照
ヒトにおける知見(硫酸亜鉛又は酢酸亜鉛)	症例報告	ヒト(鎌状赤血球症)	2年以上	経口	26歳男性	硫酸亜鉛又は酢酸亜鉛	150~200 mg/人/日(亜鉛として)	ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の低下、好中球減少を伴う白血球数減少、MCV低値、MCHC低値並びに血清中銅濃度の低下。硫酸銅1 mg/人/日の服用により1か月程度で回復。	添加物評価書「グルコン酸亜鉛」(第2版)(2016)、NITE(2008)で引用(Prasadら(1978))参照5、6
ヒトにおける知見(硫酸亜鉛)	症例報告	ヒト(口腔内及び舌のアフタ性潰瘍)	10か月間	経口	35歳女性	硫酸亜鉛を含むビタミン剤 硫酸亜鉛	80 mg/人/日(硫酸亜鉛として) 110~165 mg/人/日(亜鉛として)	服用中の数か月間、胃腸管からの出血はないにもかかわらず、ヘモグロビン濃度の低下及びMCV低値がみられ、小球性低色素性貧血が悪化。白血球数が減少、血清中フェリチン濃度及び銅濃度が低下、血清中セロロプラズミン濃度は0 mg/dL。塩化銅、酢酸銅2 mg/人/日の投与により半年程度で回復	Hoffmanら(1988)(NITE(2008)で引用)参照29
ヒトにおける知見(硫酸亜鉛)	症例報告	ヒト	3年間	経口	36歳女性	硫酸亜鉛	600 mg/人/日	ヘモグロビン濃度の低下、重度の好中球減少を伴う白血球数減少及び血清中銅濃度の低下。 服用中止4か月以内に回復。	NITE(2008)で引用(Ramaduraiら(1993))参照5
ヒトにおける知見(硫酸亜鉛)	症例報告	ヒト(さ瘡)	不明	経口	15歳女児	硫酸亜鉛	440 mg/人/日; 2.6 mg/kg 体重/日相当(亜鉛として)	胃上部の不快感、下血、ヘモグロビン濃度5.4 g/dL	Moore(1978)(NITE(2008)で引用)参照30
ヒトにおける知見(硫酸亜鉛)	介入研究	ヒト(静脈性下腿潰瘍)	16~26週間	経口	18例	硫酸亜鉛	450 mg/人/日(亜鉛として)	なし	Greaves and Skillen(1970)(NITE(2008)で引用)参照31

試験項目	試験種類	動物種等	試験期間	投与方法	群設定	被験物質	投与量	試験結果概要及び本委員会の判断	参照
ヒトにおける知見(硫酸亜鉛)	介入研究	ヒト	5週間	経口	男性12例	硫酸亜鉛	0、440 mg/人/日；0、2.3 mg/kg 体重/日相当(亜鉛として)	HDLコレステロールが7週目に減少、16週目に回復。	Hooperら(1980)(NITE(2008)で引用)参照32
ヒトにおける知見(硫酸亜鉛)	介入研究	ヒト	6週間	経口	男性11例	硫酸亜鉛	300 mg/人/日(亜鉛として)；4.3 mg/kg 体重/日相当(亜鉛として)	摂取4、6週目に血清中の亜鉛濃度が増加、フィトヘマグルチニン(PHA)へのリンパ球の刺激反応が低下。HDLコレステロールが減少、LDLコレステロールは僅かに増加。	Chandraら(1984)(NITE(2008)で引用)参照33
ヒトにおける知見(硫酸亜鉛)	介入研究	ヒト	6週間	経口	女性26例、男性21例	硫酸亜鉛	0、660 mg/人/日；0、男性2.0 mg/kg 体重/日、女性2.4 mg/kg 体重/日相当(亜鉛として)	男性、女性：頭痛、吐き気、嘔吐、食欲不振及び腹部けいれん。亜鉛濃度が増加。 女性：LDLコレステロールの低下、セルロブラスミンの減少、赤血球スーパーオキシドジスムターゼ(SOD)活性の低下。	Samman and Roberts(1987、1988)(NITE(2008)で引用)参照34、35
ヒトにおける知見(硫酸亜鉛)	介入研究(二重盲検試験)	ヒト	6か月間	経口	248例(対照群)、妊娠女性246例	硫酸亜鉛	偽薬、20 mg/人/日(亜鉛として)；0.3 mg/kg 体重/日(亜鉛として)	なし	NITE(2008)で引用(Mahomedら(1988))参照5
ヒトにおける知見(硫酸亜鉛)	介入研究	ヒト	単回	経口	第一試験8例(対照群)、女性9例、男性9例 第二試験6例(対照群)、女性6例、男性6例	硫酸亜鉛	0、25、女性37.5及び男性50 mg(亜鉛として) 0、50 mg(亜鉛として)	第一試験の投与群と群における血漿中コルチゾール濃度の低下の程度について、試験期間を通して対照群との間に差は認められなかった。	Brandao - Netoら(1990)(NITE(2008)で引用)参照36

試験項目	試験種類	動物種等	試験期間	投与方法	群設定	被験物質	投与量	試験結果概要及び本委員会の判断	参照
ヒトにおける知見(硫酸亜鉛)	介入研究	ヒト(乳児)	6か月間	経口	68例	硫酸亜鉛	1.8、5.8 mg/L (亜鉛として)	検査が実施された42例について、毒性所見なし。 試験期間中の被験者の脱落が多く認められ、その理由等の詳細が不明でないことから、ミルグの組成が不明であることから、本試験からNOAELの判断を行うことは適切でないと考えた。	添加物評価書「グルコン酸亜鉛」(第2版)(2015)で引用(Walravens & Hambidge (1976)) 参照 6
ヒトにおける知見(グルコン酸亜鉛)	レビュー	ヒト		経口				亜鉛の経口摂取による過剰症の報告は少ないが、銅や鉄の吸収阻害による銅欠乏、鉄欠乏に起因する諸症状の発現が報告されている。 亜鉛として100 mg/日以上投与で胃腸の刺激やアミラーゼの増加、免疫能への影響。	添加物評価書「グルコン酸亜鉛」(第2版)(2015)で引用(和田(1981)、和田及び柳沢(1997)) 参照 6
ヒトにおける知見(グルコン酸亜鉛)	介入研究	ヒト	6週間	経口	男性26例	グルコン酸亜鉛	0 (プラセボ)、 50 mg/人/日 (亜鉛として)	4週間後に赤血球SOD活性の低下傾向、6週間後には有意な低下。	Fischerら(1984) 参照 3 7
ヒトにおける知見(グルコン酸亜鉛)	介入研究	ヒト	12週間	経口	男性各群 9~13例	グルコン酸亜鉛	0、50、75 mg/人/日 (亜鉛として)	50 mg/人/日以上摂取群で、HDLコレステロールの減少。	Blackら(1988) 参照 3 8
ヒトにおける知見(グルコン酸亜鉛)	介入研究	ヒト	6週間	経口	女性26例、男性21例	グルコン酸亜鉛	150 mg/人/日 (亜鉛として) ; 女性 2.5 mg/kg 体重/日、 男性 2.0 mg/kg 体重/日	投与群の男女ともに腹痛、嘔吐及び嘔気。 投与群の女性でLDLコレステロールの低下、HDL ₂ の上昇及びHDL ₃ の低下、血中セロブラスミン中のフェロキシンダーゼ及び赤血球SOD活性の低下。	添加物評価書「グルコン酸亜鉛」(第2版)(2015)で引用(Samman & Roberts (1988)) 参照 6

試験項目	試験種類	動物種等	試験期間	投与方法	群設定	被験物質	投与量	試験結果概要及び本委員会の判断	参照
ヒトにおける知見(グルルコン酸亜鉛)	介入研究	ヒト	10週間	経口	女性 18例	グルルコン酸亜鉛	50 mg/人/日(亜鉛として)	血清鉄、ヘマトクリット及び赤血球SOD活性の低下。	Yadrickら(1989)、Fosmire(1990)参照3.9
ヒトにおける知見(グルルコン酸亜鉛)	介入研究	ヒト	90日間	経口	閉経後の女性 25例	グルルコン酸亜鉛	3(対照群)、53 mg/人/日(亜鉛として)	赤血球SOD活性の低下傾向が認められ、赤血球(SOD)を除く細胞外SOD活性、血清亜鉛、遊離チロキシン濃度等が上昇。	添加物評価書「グルルコン酸亜鉛」(第2版)(2016)で引用(Davisら(2000))参照6
ヒトにおける知見(グルルコン酸亜鉛)	介入研究	ヒト	90日間	経口	閉経後の女性 21例	グルルコン酸亜鉛	3(対照群)、58 mg/人/日(亜鉛として)	赤血球SOD活性の低下傾向が認められ、全血グルルチオオキシダーゼ血球グルルチオオキシダーゼ活性が低下。	添加物評価書「グルルコン酸亜鉛」(第2版)(2016)で引用(Milneら(2001))参照6
ヒトにおける知見(グルルコン酸亜鉛)	介入研究	ヒト	6か月間	経口	成人(55~70歳 188例、70~85歳 199例)	グルルコン酸亜鉛	0、15、30 mg/人/日(亜鉛として)	本試験において投与群で認められる変化は血清亜鉛濃度及び尿中亜鉛濃度の増加のみで、赤血球SOD活性について有意な変化が認められないと考えた。よって、本試験からNOAELの判断を行うことは適切でないと考えた。	添加物評価書「グルルコン酸亜鉛」(第2版)(2016)で引用(Himinger-Favierら(2006))参照6
ヒトにおける知見(グルルコン酸亜鉛)	症例報告	ヒト	7ヶ月間	経口	18か月女児	グルルコン酸亜鉛	120 mg/ヒト/日を6か月間、その後、180 mg/ヒト/日を1か月間(亜鉛として)	骨髄検査で環状鉄芽球がみられ、銅の欠乏が示唆された。	添加物評価書「グルルコン酸亜鉛」(第2版)(2016)で引用(Botashら(1992))参照6

試験項目	試験種類	動物種等	試験期間	投与方法	群設定	被験物質	投与量	試験結果概要及び本委員会の判断	参照
ヒトにおける知見(グルコン酸亜鉛)	症例報告	ヒト	単回	経口	7歳男児	グルコン酸亜鉛	約570 mg(亜鉛として)	採取直後、激しいおう吐症状が発現。	添加物評価書「グルコン酸亜鉛」(第2版)(2016)で引用(Matthewら(1998)) 参照6
ヒトにおける知見(その他の亜鉛)	介入研究	ヒト	14週間	経口	男性19例	亜鉛グリシン ンキレート	30 mg/人/日(亜鉛として)	毒性所見なし	添加物評価書「グルコン酸亜鉛」(第2版)(2016)で引用(Bonhamら(2003a, b)) 参照6
ヒトにおける知見(その他の亜鉛)	介入研究	ヒト	60日間	経口	女性32例	酢酸亜鉛	0, 0.25, 0.83, 1.7 mg/kg体重/日(亜鉛として)	血清中の亜鉛濃度が用量依存的に増加。100 mg 投与群で血漿HDLコレステロールが一過性であるが有意に減少。	NITE(2008)で引用(Freeland-Gravesら(1982)) 参照5

試験項目	試験種類	動物種等	試験期間	投与方法	群設定	被験物質	投与量	試験結果概要及び本委員会の判断	参照
ヒトにおける知見(その他の亜鉛)	追跡コホート研究	ヒト	14年間	経口	男性 46,974例	亜鉛		<p>調査対象のうち約25%が亜鉛のサプリメントを摂取しており、2,901例に前立腺がんの発生があり、434例が進行性であったとされている。前立腺がんの相対危険度は、100mg(亜鉛として)超群では2.29(95%CI=1.06~4.95)、10年以上長期にわたって摂取した者では2.37(95%CI=1.42~3.95)とされている。</p> <p>亜鉛摂取以外の要因による影響を完全には排除できないこと、摂取量についての正確さが劣ることから、本試験に基づき亜鉛摂取と前立腺がん発生とを関連付けることはできないと考えた。</p>	<p>添加物評価書「グルコン酸亜鉛」(第2版)(2016)で引用(Leitzmannら(2008))参照6</p>

1 <参照>

- 1 厚生労働省, 「硫酸亜鉛」の規格基準の改正に関する食品健康影響評価について, 第546回食品安全委員会 (平成27年1月21日)
- 2 ビール酒造組合「硫酸亜鉛」の使用基準改正に関する概要書, 2015年1月
- 3 厚生労働省, 食品添加物公定書 (第8版) 2007年
- 4 参天製薬株式会社, サンチンク点眼液0.2%, 医療用医薬品の添付文書情報
- 5 独立行政法人 製品評価技術基盤機構, 財団法人 化学物質評価研究機構, 化学物質の初期リスク評価書 Ver. 1.0 No.131 亜鉛の水溶性化合物, Zinc compounds (water-soluble) 2008年9月
- 6 食品安全委員会, 添加物評価書 グルコン酸亜鉛 (第2版) 2015年1月
- 7 厚生労働省, 「日本人の食事摂取基準 (2015年版) 策定検討会」報告書
- 8 Kreder GC. Yeast Assimilation of Trub-Bound Zinc J Am Soc Brew Chem.1999; 57(4): 129-32
- 9 Bromberg SK, Bower PA, Duncombe GR, Fehring J, Gerber L, Lau VK and Tata M. Requirement for Zinc, Manganese, Calcium and Magnesium in Wort. J Am Soc Brew Chem. 1997; 55(3): 123-8
- 10 消費者庁, 平成27年内閣府令第10号, 食品表示基準
- 11 Food and Drug Administration, Code of Federal Regulations Title21
- 12 Mintel, Global New Product Database 世界49ヶ国の消費者用包装商品の新製品とその動向をモニタリングする会員専用データベース, 表示成分に硫酸亜鉛の記載がある食品および飲料の商品数と過去1年間の商品一覧 (1996年6月以降を収録)
- 13 Health Canada, Food and Drug Regulations C.R.C., c. 870, 2014-05-16
- 14 Health Canada, Food Additive Dictionary, 2006-04-21
- 15 Food Standards Agency, REGULATION (EC) No 1925/2006 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 20 December 2006 on the addition of vitamins and minerals and of certain other substances to foods. Official Journal of the European Union, 2006-12-30
- 16 食品安全委員会, 添加物評価書 硫酸カリウム 2013年1月

-
- ^{1 7} Inorganic acid and organic acids and their salts. In WHO (ed.), Technical Report Series 733, Evaluation of certain food additives and contaminants, Twenty-ninth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, Geneva, 3-12 June 1985, WHO, Geneva, 1986; pp.11-5, 26, and 47-55.
 - ^{1 8} Zinc. In WHO (ed.), Technical Report Series 683, Evaluation of certain food additives and contaminants, Twenty-sixth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, Rome, 19-28 April 1982, WHO, Geneva, 1982; pp.32-3 and 43.
 - ^{1 9} Evaluation of the Health Aspects of Certain Zinc Salts as Food Ingredients, Technical Report Series PB266879, FDA, Bethesda, MD, Fed of American Societies for Experimental Biology, November 1973
 - ^{2 0} Nève J, Hanocq M, Peretz A, Khall FA, Pelen F, Famaey JP and Fontaine J. Pharmacokinetic study of orally administered zinc in humans: Evidence for an enteral recirculation. *Eur J Drug Metabolism and pharmacokinetics* 1991; 16(4): 315-23
 - ^{2 1} Prasad AS, Beck FWJ and Nowak J. Comparison of absorption of five zinc preparations in humans using oral zinc tolerance test. *J Trace Elem Exp Med* 1993; 6: 109-15
 - ^{2 2} Fujimura T, Matui T and Funaba M. Regulatory responses to excess zinc ingestion in growing rats. *British J of Nutrition* 2011; 107: 1655-63
 - ^{2 3} Couzy F, Keen C, Gershwin ME, Mareschi JP: Nutritional implications of the interactions between minerals. *Progress in Food and Nutrition Science* 1993; 17: 65-87
 - ^{2 4} O'Dell BL: Mineral interactions relevant to nutrient requirements, upper limits of nutrients in infant formulas. *J Nutr* 1989; 119: 1832-8 (Symposium), November 7-8, 1988, Iowa, IA, USA.
 - ^{2 5} Jackson MJ: Physiology of zinc: general aspects. In Mills CF (ed.), *Zinc in human biology*. London, UK, Springer-Verlag 1989; p. 1-14.
 - ^{2 6} Lowe NM, Fekete Kand Decsi T. Methods of assessment of zinc status in humans: a systematic review. *Am J Clin Med* 2009; 89: 2040-51
 - ^{2 7} Hambidge KM, Miller LV, Westcott JE, Sheng X and Krebs NF. Zinc bioavailability and homeostasis. *Am J Clin Nutr* 2010; 91: 1478-83
 - ^{2 8} Porter KG, McMaster D, Elmes ME and Love AHG. Anemia and low serum-copper during zinc therapy. *Lancet* 1977; 774

-
- ²⁹ Hoffmann HN II, Phylly RL and Fleming CR. Zinc-induced copper deficiency. *Gastroenterology* 1988; 94: 508-12
- ³⁰ Moore R. Bleeding gastric erosion after oral zinc sulfate. *British Medical J.* 1978; 1: 754
- ³¹ Greaves MW and Skillen AW. Effects of Long-Continued Ingestion of Zinc Sulphate in Patients with Venous Leg Ulceration, *Lancet* 1970; 2(7679): 889-91
- ³² Hooper PL, Visconti L, Garry PJ and Johnson GE. Zinc lowers high-density lipoprotein-cholesterol levels. *The J. of the American medical Association* 1980; 244: 1960-1
- ³³ Chandra RK. Excessive intake of zinc impairs immune responses. *The J. of the American medical Association* 1984; 252: 1443-6
- ³⁴ Samman S and Roberts DCK The effect of zinc supplements on plasma zinc and copper levels and the reported symptoms in healthy volunteers. *Medical J. of Australia* 1987; 146: 246-9
- ³⁵ Samman S and Roberts DCK. The effect of zinc supplements on lipoproteins and copper status. *Atherosclerosis* 1988; 70: 247-52
- ³⁶ Brandao-Neto J, Vieira JGH, Shuhama T, Russo EMK, Piesco RV and Curi PR. Interrelationships of zinc with glucose and insulin metabolism in humans. *Biological Trace Element Reserch* 1990; 24: 73-82
- ³⁷ Fischer PWF, Giroux A, L'Abbe MR: Effect of zinc supplementation on copper status in adult man. *Am J Clin Nutr* 1984; 40: 743-6
- ³⁸ Black MR, Medeiros DM, Brunett E, Welke R: Zinc supplements and serum lipids in young adult white males. *Am J Clin Nutr* 1988; 47: 970-5
- ³⁹ Yadrick MK, Kenney MA, Winterfeldt EA: Iron, copper, and zinc status: Response to supplementation with zinc or zinc and iron in adult females. *Am J Clin Nutr* 1989; 49: 145-50
- ⁴⁰ 厚生労働省, 健康日本21 アルコールの項,
http://www1.mhlw.go.jp/topics/kenko21_11/b5.html (accessed 2015-01-13)
- ⁴¹ 厚生労働省, 平成25年国民健康・栄養調査結果の概要
- ⁴² 厚生労働省, 平成25年国民健康・栄養調査報告 2015年3月
- ⁴³ 厚生労働省, 水質基準の見直しにおける検討概要, 亜鉛,
<http://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/kenkou/suido/kijun/dl/k31.pdf>