

2) 米国 FDA における評価⁴²⁾

米国 FDA は、1982 年の Federal Register において以下のように評価している。

亜酸化窒素は比較的安定な気体であり、ほ乳動物において代謝されることを示す証拠はほとんどない。亜酸化窒素に曝露された食物を摂餌させる試験がなく、吸入投与によって実施されたものだけである。これらの曝露はヒトの食品を介する摂取とは程遠く、食品に添加した亜酸化窒素の摂取量に外挿することは困難である。吸入による亜酸化窒素の毒性所見はあるが、その用量は曝露された食品由来の推定摂取量と比べるとはるかに大きい。

ほとんどの気体は食品として噴射調理される間、又は噴射後、おそらく拡散する。歯科医や口腔外科医を対象とした疫学調査では、週 3 時間以上麻酔時に曝露された場合、有害作用を示したが、特異な作用は亜酸化窒素の使用に起因したものではなかった。

亜酸化窒素が現在使用されている含量又は将来予測される含量で、加圧容器中の乳脂肪等の噴射剤として使用される場合、消費者への危険を疑わせる合理的な根拠を示唆する入手可能な情報はない。

亜酸化窒素に関する全ての入手可能な情報を評価した結果、現行の GRAS 指定に変更はない。

7 一日摂取量の推計等

米国における亜酸化窒素含有ホイップクリーム（ホイップクリーム缶）の年間総生産量は 2003 年に 43,389 t であり⁴³⁾、米国における一人当たりのホイップクリーム缶中クリームの一日本摂取量は 6.8 mg/kg 体重/日と算出される。亜酸化窒素のホイップクリーム中含量は 2.76 ~ 5.63 mg/g とされている^{44), 45), 46)}ことから、米国における亜酸化窒素の一日本摂取量は 0.02 ~ 0.04 mg/kg 体重/日と推定されている。

また、正確には指定後の追跡調査による確認が必要と考えるが、米国及び我が国におけるクリーム生産量（2003 年）に基づく摂取量の差を考慮すると、我が国における亜酸化窒素含有ホイップクリームの摂取量は、米国の約 30% より少ないものと推定される^{43), 47)}ことから、我が国におけるホイップクリーム由来の亜酸化窒素の一日本摂取量は、0.006 ~ 0.01 mg/kg 体重/日を超えないと想定される。

缶から吐出したクリーム中に含まれている亜酸化窒素は、時間と共に徐々に大気中に拡散していくため、実際の摂取量はより少なくなると考えられる。ただし、缶中クリームが残り少なくなると、吐出された液状クリーム中の亜酸化窒素濃度が高くなることから、当該クリームを摂取するようなケースでは、上記推定より実際の摂取量が多くなる可能性もあるが、例外的な状況であると思われる。

8 評価結果

亜酸化窒素について、得られた毒性試験成績等は吸入曝露によるものがほとんどであり、経口投与によるものは限られているが、経口で摂取した場合、消化管を通して生体内に吸収されることはほとんどないものと考えられ、ラットを用いた 28 日間反復経口投与試験の結果においても、安全性を懸念するような特段の毒性影響は認められていない。また、生体にとって特段問題となる遺伝毒性を有するとは考えられず、吸入曝露による試験において発がん性も認められていない。ヒトにおいては、医薬品分野において、吸入麻酔薬として古くから単独で歯科治療と分娩第 1 期に鎮痛目的で間欠的に用いられ、また他薬との併用で全身麻酔に広く用いられており、歯科領域での使用経験においても特筆すべき副作用は認められていないとの報告がある。

本物質の現在想定されている使用方法に基づく推定摂取量は非常に僅かであり、吸入曝露による動物試験成績及びヒトにおける医薬品分野での使用経験等において影響が認められる投与（曝露）量とは大きく乖離している。

JECFA では、第 29 回の会合において、影響が認められる用量（濃度）は、エアゾール噴射剤により食品に分散する量（濃度）よりはるかに多いとされ、本物質の噴射剤としての食品への使用は「Acceptable」と評価されている。

以上から、亜酸化窒素を乳脂肪及び／又は植物性脂肪のエアゾール缶入り加工食品（ホイップクリーム缶）に添加物として適切に使用する限りにおいては、安全性に懸念がないと考えられ、ADI を設定する必要がないと評価した。

なお、亜酸化窒素の薬理作用を考慮すると、通常の使用方法によらない本物質の直接摂取等、本物質の過剰な摂取には注意が必要と考える。

【引用文献】

- 1) 21 CFR Ch. I (4-1-2001 Edition) Food and Drug Administration, §184.1545, §173.345, §173.360.
- 2) Official Journal of the European Communities 1995 L61 Volume 38.
- 3) 第十四改正日本薬局方 財団法人日本公定書協会編 2001 年 p.209-210.
- 4) WHO 1978. Evaluation of certain food additives and contaminants; WHO Technical Report Series 631 Twenty-second Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives.
- 5) WHO 1986. Evaluation of certain food additives and contaminants; WHO Technical Report Series 733 Twenty-ninth Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives.
- 6) Joint FAO/WHO expert committee on food additives 2000, 55th meeting, Summary and conclusions.

- 7) 株式会社大雄会医科学研究所 亜酸化窒素のラットを用いた5日間反復投与毒性試験 (試験番号 0029) 最終報告書 2000年9月
- 8) 株式会社大雄会医科学研究所 亜酸化窒素のラットを用いた28日間反復投与毒性試験 (試験番号 0109) 最終報告書 2001年8月
- 9) Lewis SC, Lynch JR, Nikiforov AI. A new approach to deriving community exposure guideline from "no-observed-adverse-effect-levels". *Regul. Toxicol. Pharmacol.* (1990) 11: 314-330.
- 10) Roberts MW, Mathiesen KA, Ho HS, Wolfe BM. Cardiopulmonary responses to intravenous infusion of soluble and relatively insoluble gases. *Surg. Endosc.* (1997) 11: 341-346.
- 11) Parbrook GD. Leucopenic effects of prolonged nitrous oxide treatment. *Brit. J. Anaesth.* (1967) 39: 119-127.
- 12) Healy CE, Drown DB, Sharma RP. Short term toxicity of nitrous oxide on the immune, hemopoietic, and endocrine systems in CD-1 mice. *Toxicol. Ind. Health.* (1990) 6: 57-70.
- 13) Mazze RI, Wilson AI, Rice SA, Baden JM. Reproduction and fetal development in mice chronically exposed to nitrous oxide. *Teratology* (1982) 26: 11-16.
- 14) Kripke BJ, Kelman AD, Shah NK, Balogh K, Handler AH. Testicular reaction to prolonged exposure to nitrous oxide. *Anesthesiology* (1976) 44: 104-113.
- 15) Kripke BJ, Sherwin RP. Nitrogen dioxide exposure - Influence on rat testes. *Anesth. Analg.* (1984) 63: 526-528.
- 16) Shepard TH, Fink BR. Teratogenic activity of nitrous oxide in rats. *Toxicity Anesth. Proc. Res. Symp.* (1967) 308-323.
- 17) Mazze RI, Wilson AI, Rice SA, Baden JM. Reproduction and fetal development in rats exposed to nitrous oxide. *Teratology.* (1984) 30: 259-265.
- 18) Vieira E, Cleaton-Jones P, Moyes D. Effects of low intermittent concentrations of nitrous oxide on the developing rat fetus. *Br. J. Anaesth.* (1983) 55: 67-69.
- 19) Vieira E, Cleaton-Jones P, Austin JC, Moyes DG, Shaw R. Effects of low concentrations of nitrous oxide on rat fetuses. *Anesth. Analg.* (1980) 59: 175-177.
- 20) Vieira E. Effect of the chronic administration of nitrous oxide 0.5% to gravid rats. *Br. J. Anaesth.* (1979) 51: 283-287.
- 21) Vieira E, Cleaton-Jones PE, Austin J, Fatti PL. Intermittent exposure of gravid rats to 1% nitrous oxide and the effect on the postnatal growth of their offspring. *S. Afr. Med. J.* (1978) 53: 106-108.
- 22) Baden JM, Kundomal YR, Luttrupp ME Jr, Mazze RI, Kosek JC. Carcinogen bioassay of nitrous oxide in mice. *Anesthesiology* (1986) 64: 747-750.
- 23) Baden JM, Monk SJ. Mutagenicity and toxicity studies with high pressure nitrous oxide. *Toxicol. Lett.* (1981) 7: 259-262.

- 24) White AE, Takehisa S, Eger EI 2nd, Wolff S, Stevens WC. Sister chromatid exchanges induced by inhaled anesthetics. *Anesthesiology* (1979) 50: 426-430.
- 25) Sturrock J. Lack of mutagenic effect of halothane or chloroform on cultured cells using the azaguanine test system. *Br. J. Anaesth.* (1977) 49: 207-210.
- 26) Yoshida H, Takaori M. Halothane induced chromosome aberration of human lymphocyte. *Kawasaki Med. J.* (1979) 5: 171-176.
- 27) Szeles A. Effect of nitrous oxide on plant cell division the cytological side effect of nitrous oxide treatment. *Acta Biol. Szeged.* (1983) 29: 23-32.
- 28) グッドマン・ギルマン薬理書 薬物治療の基礎と臨床 第9版
- 29) Green CD, Eastwood DW. Effect of nitrous oxide inhalation on hemopoiesis in rats. *Anesthesiology* (1963) 24: 341-345.
- 30) Eastwood DW, Green CD, Lambdin MA, Gardner R. Effect of nitrous oxide on the white-cell count in leukemia. *New Engl. J. Med.* (1963) 268: 297-299.
- 31) Bloch M. Some systemic effects of nitrous oxide. *Brit. J. Anaesthesia* (1963) 35: 631-639.
- 32) Eisele JH, Smith NT. Cardiovascular effects of 40 percent nitrous oxide in man. *Anesth. Analg.* (1972) 51: 956-963.
- 33) Green CD. The effect of N₂O on ribonucleic and deoxyribonucleic acid content of rat bone marrow and thymus. *Toxicity Anesth., Proc. Res. Symp.* (1968) 1967: 114-122.
- 34) 上久保康夫. 亜酸化窒素による吸入麻酔についての基礎的研究. *麻酔* (1958) 7: 273-277.
- 35) 上塚昭逸. 笑気の吸収と低流量による笑気麻酔についての研究. *熊本医学会雑誌* (1959) 33: 1522-1528.
- 36) Kety SS, Harmel MH, Broomell HT, Rhode CB. The solubility of nitrous oxide in blood and brain. *J. Biol. Chem.* (1948) 173: 487-496.
- 37) Blechner JN, Makowski EL, Cotter JR, Meschia G, Barron DH. Nitrous oxide transfer from mother to fetus in sheep and goats. *Am. J. Obstet. Gynecol.* (1969) 105: 368-373.
- 38) Hong K, Trudell JR, O'Neil JR, Cohen EN. Metabolism of nitrous oxide by human and rat intestinal contents. *Anesthesiology* (1980) 52: 16-19.
- 39) 住友精化株式会社 全身麻酔剤・笑気ガス 添付文書
- 40) Ruben H. Nitrous oxide analgesia in dentistry: its use during 15 years in Denmark. *Br. Dent. J.* (1972) 132: 195-196.
- 41) Wagner SA, Clark MA, Wesche DL, Doedens DJ, Lloyd AW. Asphyxial deaths from the recreational use of nitrous oxide. *J. Forensic. Sci.* (1992) 37: 1008-1015.
- 42) Federal Register / Vol.47, No.191 / Friday, October 1, 1982 / Proposed Rules
- 43) 三栄源エフ・エフ・アイ株式会社 米国におけるホイップクリーム缶およびクリーム摂取量の推定 (社内資料)

- 44) GAS DATA BOOK 6th Edition, Matheson Gas Products (1980) 550-555.
- 45) キョーワ工業株式会社 社内報告書 ホイップクリームを射出した際に空气中に拡散する亜酸化窒素量及び射出されたホイップクリーム中に含有される亜酸化窒素量の実測 2003 年 7 月
- 46) キョーワ工業株式会社 社内報告書 ホイップクリーム使用時に放出される亜酸化窒素について (2004 年 5 月 12 日)
- 47) 三栄源エフ・エフ・アイ株式会社 日本におけるクリーム摂取量の推定 (社内資料)

亜酸化窒素 (N₂O) の安全性に関する試験結果 (その1)

試験種類	投与期間	供試動物	投与方法	動物数/群	投与濃度 (換算 N ₂ O 摂取量 (mg/kg 体重) ²⁾)	試験結果	文献 No.
急性毒性	5 日間	ラット	経口 ¹⁾	4	0、5、10、15 g/kg (ホイップクリーム重量) (0、29.8、59.6、89.4)	15 g/kg 投与群で、投与直後、口腔内へのクリームの逆流がみられた。5 g/kg 投与群以上においてそれぞれ 1、3、3 例にガス貯留による胃の膨張がみられた。病理学的検査では影響はみられなかった。	7
	30 分間	ブタ	静脈内投与	6	0.1 mL/kg/min	死亡例はなく、血液 pH、血中 CO ₂ 分圧、心拍数、平均動脈圧、終末呼気 CO ₂ 濃度に有意な変化はみられなかった。	10
反復投与毒性	28 日間	ラット	経口 ¹⁾	6	0、2.5、5、10 g/kg (ホイップクリーム重量) (0、16.8、22.6、67.1)	摂餌量、摂水量、尿検査及び血液生化学的検査においてみられた変化は、クリームの影響と推察され、N ₂ O によると考えられる影響は認められなかった。 (NOAEL : 67.1 mg/kg 体重/日)	8
	14 日間	ラット	吸入	12	25%、60%N ₂ O (1、2 週間) (25% : 約 40,000)	N ₂ O 曝露により、用量に相関して白血球数が有意に減少した。	11
	2 又は 13 週間	雄マウス	吸入	6	50、500、5,000 ppm N ₂ O、6 時間/日、5 日/週 (500 ppm : 231)	5,000 ppm の 2 週間曝露及び 13 週間曝露で、肝重量の減少、白血球減少等が認められた。	12
生殖毒性	雌 : 妊娠 6-15 日 雄 : 交配前 9 週間	マウス	吸入	生存児 : 761	0.5、5.0、50% N ₂ O、4 時間/日 (50% : 216,000)	雄の受精能、同腹児数、胎児重量に影響はみられなかった。	13
	最長 35 日間	雄ラット	吸入	4-5	20%N ₂ O、20%O ₂ 、60%N ₂ (108,000)	精細管の精子形成細胞の傷害、精子数の減少がみられた。	14 15
	妊娠中 2-6 日間	雌ラット	吸入	生存児 : 105	50%N ₂ O 2 L/min (592,457)	胎児死亡、胎児の内臓・骨格異常が観察された。	16
	妊娠 5-11 日のうち 1 日			生存児 : 108 (妊娠 9 日目投与)	70%N ₂ O、30%O ₂ 24 時間 (165,888)	妊娠 9 日の曝露で、生存児 108 例中 54 例に何らかの異常があり、この 54 例中 51 例は椎体の完全分離であった。	
	妊娠 9 日	ラット	吸入	総数 323	0.75、7.5、25、75%N ₂ O 24 時間 (0.75% : 1,777)	75%で初期及び後期の吸収胚の増加、催奇形性がみられたが、25%では有害影響は認められなかった。	17
	妊娠中 3 週間	ラット	吸入	12	0.025、0.05、0.1、0.5%N ₂ O、6 時間/日、5 日/週	0.5%で平均胎児数が減少した。吸収胚や骨格奇形の増加の兆候はなかった。	18

試験種類	投与期間	供試動物	投与法	動物数/群	投与濃度 (換算 N ₂ O 摂取量 (mg/kg 体重) ²⁾	試験結果	文献 No.
生殖発生毒性	妊娠中 19 日間	ラット	吸入	12	0.025、0.05、0.1%N ₂ O	0.1%で胎児数の減少、吸収胚の増加等が認められた。	19
	妊娠中 19 日間	ラット	吸入	12	0.5%N ₂ O	胎児数の減少、吸収胚の増加、骨格異常、胎児重量の減少等が認められた。	20
	妊娠第 1 週、第 1 ~ 2 週、第 1 ~ 3 週	ラット	吸入	8	1%、6 時間/日、5 日/週	平均胎児数の減少、全亜酸化窒素曝露群を合計して対照群と比較したとき出生児の体重減少等が認められた。	21
	78 週間	マウス	吸入	75-91	10、40%N ₂ O 4 時間/日、5 日/週 (30,857)	40%群で、5%程度の体重増加抑制がみられた他は、投与の影響はみられなかった。腫瘍の発生数に有意な差は認められていない。	22
遺伝毒性	インキュベーション 40 時間	サモネラ菌 TA98、TA100	インキュベーション	/	N ₂ O 分圧 ; 0.5-6 気圧	いずれの分圧においても変異原性は示さなかった。	23
	インキュベーション 1、24 時間	チャイニーズハムスター卵巣細胞	インキュベーション	/	75%N ₂ O	姉妹染色分体交換 (SCE) の有意な誘発はみられなかった。	24
	インキュベーション 24 時間	チャイニーズハムスター培養線維芽細胞	インキュベーション	/	75%N ₂ O	変異原性は示さなかった。	25
	48 時間曝露	ヒトリンパ球	曝露	/	ハロタン : N ₂ O : O ₂ = 1 : 74 : 25、N ₂ O : O ₂ = 75 : 25、ハロタン : 空気 = 99 : 1、空気	染色体異常の誘発は認められなかった。	26
薬理作用		ヒト	吸入			20%で鎮痛作用。30%で意識喪失する例があるが、大半は 30 ~ 80%で鎮静状態。心血管系への作用は軽微、中枢系への副作用はなく、80%で骨格筋は弛緩しない。術後 15%患者に悪心、嘔吐。ビタミン B ₁₂ 不活性化による造血機能障害等が知られている。	28
	2、4、6 日間	ラット	吸入	対照 : 33 投与 : 24	80%N ₂ O、20%O ₂	5 日目に生存していた動物の半数が 6 日目に死亡。投与群では、酩酊状態を呈し、睡眠時間延長等、白血球数の減少、大腿骨骨髓標本における進行性の形成不全等がみられた。	29
	6 日間	ラット	吸入	対照 : 32 投与 : 25	80%N ₂ O、20%O ₂	白血球数が急激に減少し、急性骨髓形成不全を示し、細胞有糸分裂や再生が停止した。	30
	不明	白血病患者	吸入	2 例	N ₂ O 治療	白血球数が減少した。	
	不明	健常成人	吸入	25-30 例	72%N ₂ O : 5 L/min、28%O ₂ : 2 L/min	低濃度のハロタン、メトキシフルランと併用投与したとき、徐脈、血圧低下、筋の緊張の低下がみられた。	31

試験種類	投与期間	供試動物	投与方法	動物数/群	投与濃度 (換算 N ₂ O 摂取量 (mg/kg 体重) ^{*2})	試験結果	文献 No.
薬理作用	21-28 日間以上	健常成人	吸入	10 例	40%N ₂ O (または 40%N ₂)、60%O ₂ 、30 ~ 45 分間/日	心拍数低下、BCG (心機能評価) 低下、尿中カテコールアミンが有意ではないが上昇。	32
				6 例		心拍数低下、BCG 低下、総末梢抵抗増加、前腕血流量低下、中心静脈圧の上昇、血漿ノルエピネフリンが有意ではないが上昇。	
使用経験	不明	ヒト	吸入	約 300 万例	鎮痛薬として 30-35%N ₂ O	15 年間にわたる調査において、吸入による合併症の発症なし。	40
その他	8 日間	ラット (SD、Long-Evans)	吸入	SD : 対照 17、投与 13 Long-Evans : 対照 14、投与 18	70%N ₂ O (8 日間)	DNA 含量は両系統とも著しく減少し、Long-Evans 系では胸腺で RNA 含量が著しく上昇した。	33

*1 N₂O 含有ホイップクリームの強制経口投与

*2 吸入による試験に関しては、Lewis らの論文⁹⁾に基づく事務局換算

亜酸化窒素 (N₂O) の安全性に関する試験結果 (その 2)

試験種類	投与期間	供試動物	投与方法	動物数/群	投与濃度	試験結果	文献 No.
吸収	20-45 分間	ヒト (健常人)	吸入	5 例	80%N ₂ O、20%O ₂	吸入直後は大量に吸収され、個体飽和量の 50%は吸入開始後 5 分以内に吸収。吸収量に個体差が大きい。	34
	15-240 分間	ヒト (手術患者)	吸入	14 例	75%N ₂ O	吸入開始直後から急速に吸収され、吸収量は開始から早くても 5 分、遅くても 20 分までに吸収は低下した。	35
分布	2 時間	イヌ、ヒト (in vitro)	吸入	7	40%N ₂ O、60%O ₂	イヌにおいて、脳と中心静脈血中の N ₂ O 分圧は 10 分の吸入で平衡に達した。	36
	20-30 分間	妊娠ヒツジ、妊娠ヤギ	吸入 (カテーテルを気管内に挿入)	ヒツジ : 5、ヤギ : 2	40、50%N ₂ O	速やかに母動物から胎児に移行して、子宮静脈及び臍帯静脈中の N ₂ O 濃度はほぼ等しく、投与後 25 分で平衡に達した。	37
代謝	16 時間	ヒト及びラット腸内容物、ラット腸管壁 (in vitro)	曝露		[¹⁵ N]N ₂ O、0、5、10、20% O ₂	ヒト及びラットにおいて、腸内微生物叢により N ₂ O は N ₂ に還元された。この還元活性は、O ₂ 濃度を上げると抑制され、抗生物質等によって阻害された。	38
排泄	60 分間		吸入		75%N ₂ O	排泄が始まると直ちに肺と血液中の分圧は非常に低い (非麻酔の) レベルに下がる。脳への血液量は多いので脳における分圧も急激に下がる。	28

平成 16 年 12 月 17 日

薬事・食品衛生審議会
食品衛生分科会
分科会長 吉倉 廣 殿

薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会
添加物部会長 長尾 美奈子

食品添加物の指定等に関する薬事・食品衛生審議会
食品衛生分科会添加物部会報告について

平成 16 年 11 月 12 日厚生労働省発食安第 1112012 号をもって厚生労働大臣から諮問された亜酸化窒素の食品添加物としての指定の可否について、当部会において審議を行った結果を別添のとおり取りまとめたので、これを報告する。

亜酸化窒素の食品添加物の指定に関する添加物部会報告書

1. 品目名：亜酸化窒素

Nitrous oxide

2. 分子式及び分子量

N₂O 分子量：44.01

3. 用途

加圧容器入りのホイップクリーム（乳脂肪又は植物性脂肪を主原料として泡立てたもの）の噴射剤

4. 概要及び諸外国での使用状況

亜酸化窒素は、無色のガスであり、20 カ国以上で食品添加物として用いられている。米国では、加圧容器入りの乳脂肪等の噴射剤として GRAS (Generally Recognized as Safe) 物質として使用が認められており、欧州連合 (EU) においても、幅広い食品に一般的に使用可能な食品添加物とされている。

医療分野では、国内外で古くから吸入麻酔薬として用いられており、我が国では日本薬局方に収載されている。

5. 有効性

(1) 食品添加物としての有効性

① 食品への亜酸化窒素の使用

加圧容器入りのホイップクリームの噴射剤として使用される亜酸化窒素は、その気体の圧力により製品と亜酸化窒素の混合物がバルブから放出されて発泡するものである。

② 乳製品等への亜酸化窒素の溶解性

亜酸化窒素は乳製品等に対し高い溶解性を示す。

乳製品等への亜酸化窒素溶解度 (5 °C、pH 4.7)

	チーズ	チーズ（無脂肪）	クリーム	ホエイ	水
平均溶解度 g/kg.b*	6.52	6.67	7.02	7.04	6.55
標準偏差	0.19	0.12	0.29	0.26	0.13
脂肪含量 (w/w) %	8.20	0.05	40.36	0.00	0.00
タンパク含量 (w/w) %	7.22	8.85	1.95	0.50	0.00
炭水化物含量 (w/w) %	4.88	4.97	3.69	4.45	0.00
水分含量 (w/w) %	79.90	86.13	54.00	94.05	100.00

* 5 bar, 1 bar = 750.06 mmHg = 0.98693 気圧