

ポリビニルイミダゾール /ポリビニルピロリドン共重合体
(PVI/PVP) の食品添加物新規指定のための概要書

令和 2 年 7 月 13 日
独立行政法人酒類総合研究所

目次

用語の定義	p.3
序 PVI/PVP の食品添加物指定の必要性	p.5
I. 添加物の概要	
1. 名称及び用途	p.5
2. 起源または発見の経緯	p.5
3. 諸外国における使用状況	p.6
(1) CODEX	p.6
(2) OIV	p.7
(3) EU	p.7
(4) アメリカ	p.8
(5) オーストラリア・ニュージーランド	p.8
(6) 日本	p.8
4. 国際機関等における安全性評価	
(1) 日本国内の評価	p.9
(2) JECFA における安全性評価	p.10
(3) EFSA における安全性評価	p.11
(4) FDA の安全性評価	p.12
(5) FSANZ における評価	p.12
(6) 国際がん研究機関 (IARC) における評価	p.13
5. 物理化学的性質	
(1) 構造式等	p.13
(2) 製造方法	p.13
(3) 成分規格	p.19
(4) 食品添加物の安定性	p.29
(5) 食品中の食品添加物の分析法	p.29
6. 使用基準案	p.29
II. 有効性に関する知見	
1. 食品添加物としての有効性及び同種の添加物との効果の比較	p.30
2. 食品中での安定性	p.35
3. 食品中の栄養成分に及ぼす影響	p.36
III. 安全性に係る知見	
1. 体内動態試験	p.37
2. 毒性試験	p.57
3. 一日摂取量の推計等	p.89
IV. 海外添加物取り扱い社	p.92
V. 引用文献一覧	p.93

用語の定義

この概要書で用いる用語の定義は、次による。

用語	定義
酒税法	昭和 28 年法律第 6 号
ぶどう酒	酒税法第 3 条第 13 号に掲げる果実酒及び同条第 14 号に掲げる甘味果実酒のうちぶどうを原料としたもの
果汁	果実を絞って得られる汁でアルコール発酵が終了していないもの。アルコール分の有無は問わない。本概要書では専らぶどう果汁を指す。
エノロジスト	フランス語でエノログとも呼ばれる。高等教育又は大学の学位によって確認された科学的・技術的知識を基に、ワイン専門分野の職務を行なうことができる醸造技術者。
ワイン	酒税法第 3 条第 13 号に掲げる果実酒及び同条第 14 号に掲げる甘味果実酒
マスト	ブドウを除梗・破碎してできた、果汁に果皮、種子等の固形物が混合したものでアルコール発酵が終了していないものを指す。アルコール分の有無は問わない。
サイダー	リンゴを原料とした酒類。
ペリー	洋ナシを原料とした酒類。
ADI	Acceptable Daily Intake : 一日摂取許容量
CAS	Chemical Abstracts Service
DVI	N,N'-divinylimidazolidin-2-on(1-3-ジビニルイミダゾリジン-2-オン)
EC	European Commission
ECHA	European Chemicals Agency : 欧州化学機関
EFSA	European Food Safety Authority : 欧州食品安全機関
EU	European Union: 欧州連合
FAO	Food and Agriculture Organisation: 国際連合食糧農業機関
FAS	WHO Food Additives Series : オーストラリア・ニュージーランド食品基準機関
FDA	Food and Drug Administration. 米国食品医薬品局
FSANZ	Food Standards Australian New Zealand
GMP	Good Manufacturing Practice : 適正製造規範
GRAS	Generally Recognized As Safe
HPLC-MS ²	High performance liquid chromatography- Dual Mass Spectrometry
IARC	International Agency for Research on Cancer
INS	International Numbering System : 食品添加物国際番号システム
JECFA	FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議
LD50	Lethal Dose 50 : 半数致死量
LOAEL	Lowest Observed Adverse Effect Level : 最小毒性量
LLNA	局所リンパ節アッセイ

NOAEL	無毒性量
4MMP	4-メルカプト-4-メチルペンタン-2-オン
NICNAS	National Industrial Chemicals Notification and Assessment Scheme
NVI	N-Vinylimidazole (2- Vinylpyrrolidone)
NVP	N-Vinylpyrrolidone (1-vinymI 2-pyrrolidone)
OECD	Organisation for Economic Cooperation and Development
OECD SIDS	OECD Screening Information DataSet
OIV	Organisation internationale de la vigne et du vin : 国際ブドウ・ワイン機構
PVI	Polyvinylimidazole
PVP	Polyvinylpyrrolidone
PVI/PVP	Polyvinylimidazole- polyvinylpyrrolidone copolymers
RTECS	Registry of Toxic Effects of Chemical Substances
SCF	Scientific Committee for Food
UNEP	United Nations Environment Programme

序 PVI/PVP の食品添加物指定の必要性

この概要書により指定要請するポリビニルイミダゾール/ポリビニルピロリドン共重合体 (PVI/PVP) は、その使用対象食品をぶどう酒とする。ぶどう酒の鉄、銅などに対する吸着剤としての効果がある。金属イオンによるワインの混濁やピンキングを防止することができ、吸着剤の他に清澄剤およびろ過剤としての作用がある。これまでは、鉄や銅などの金属を原因とする混濁防止策が個別に取られていたが、PVI/PVP は複合的にこうしたワインの混濁防止を行うことが可能な非常に有用な添加物 (処理剤) である [1]。

I. 添加物の概要

1. 名称及び用途

名称 : (和名) ポリビニルイミダゾール /ポリビニルピロリドン共重合体 (PVI/PVP)・・・ [2]
PVI/PVP・・・ [2]

*引用文献中ではポリビニルイソブチルエーテル/ポリビニルピロリドンとなっているが英語原文を確認したところ、ポリビニルイミダゾール/ポリビニルピロリドン共重合体が適切であると考える。

(英名) Polyvinylimidazole-polyvinylpyrrolidone copolymers (PVI/PVP) … [3] [4] [5]

CAS 登録番号 : 87865-40-5 [5] [6]

用途 : ろ過助剤 (清澄剤、重金属の除去) [6]

2. 起源または発見の経緯

ワインの透明度は飲む人々にワインの品質を保証する印象を与えている。ワインが変質した時には何らかの沈殿と共に濁りを生じる場合がある。ワインの混濁の原因として考えられるのは、大きく分けて次の3つである。

- ①酸化酵素
- ②微生物
- ③化学的原因

①の酸化酵素による混濁はポリフェノールオキシダーゼによるものである。白ワインでは瓶内に茶褐色の濁りを生じるものがあり、赤ワインではアントシアニン色素が酸化してチョコレート色になるものがある。②の微生物による混濁は酵母、バクテリア、乳酸菌などによっておこる。③の化学的混濁には鉄や銅による混濁、タンパク質による混濁、酒石による混濁が挙げられる [7] [8]。

ワイン中には少量ながらもいくつかの重金属イオンを含んでおり、鉄、銅、鉛、カドミウムなどのワイン中の金属汚染はワインの物理化学的安定性に影響を与え、褐変、白濁、沈殿物の形成を引き起こす [1] [8] [9]。ワイン中の過剰な金属の典型的な除去方法は、フェロシアン化カリウム ($K_4[Fe(CN)_6] \cdot 3H_2O$) による処理で「ブルーファイニング」とも呼ばれる方法であった。1923年のドイツではフェロシアン化カリウムでワインを処理することが推奨されており、フランスでは、1962年にスパークリングワインを含む白ワインおよびロゼワインへの使用が許可された [9]。フェロシアン化カリウムをワインに使用すると、表1のように金属イオンが除去されることが知られている。

表1. フェロシアン化カリウムの影響

	フェロシアン化カリウム		
	未処理	50 mg/L	90 mg/L
鉄	14	7	1
銅	4	0.4	0.2
亜鉛	2.5	1.0	0.2
鉛	2.5	2.0	0.8
マグネシウム	1.5	1.5	0.5
アルミニウム	10	10	10

しかし、過剰なフェロシアン化カリウムの添加による「過剰清澄化」は遊離シアン化物イオンの形成をもたらす可能性があるため、フェロシアン化カリウムの使用は非常に慎重に制御されなければならない。さらに鉄の濃度が低いワイン中の銅を除去するときに除去率が悪いことも知られている [9]。そのため長年、代替方法が探求されてきた。その中で最も有望な物質が [1]、1992年 Fussnegger らによって報告された不溶錯体形成ポリマーの化合物であり [10]、それを商品化したのが、吸着樹脂 Divergan HM（登録商標）である [5]。この樹脂は、いわゆるポップコーンポリマーであり、9：1の比の1-ビニルイミダゾールと1-ビニル-2-ピロリドンと架橋剤としての1-3-ジビニルイミダゾリジン-2-オンからなるPVI/PVPである。この吸着剤は、水および他の液体に不溶であり、鉄、銅およびアルミニウムのような金属を選択的に結合するイミダゾール基を機能部位として有する。さらに、滴定酸度およびフェノール酸、特にケイ皮酸の減少の効果も報告されている [1]。

3. 諸外国における使用状況

ワインに関する国際機関であるOIV（我が国は未加盟。）やEUを始め多くの国では、ワイン（ブドウ生産物）についてはその製造に関し、全ての操作や使用資材等をポジティブリストとしてまとめている。これはOenological Practices（仏Pratique œnologique）と呼ばれ、資材等については一般にその使用目的に応じ添加物又は加工助剤（Processing aid）に区別し、リストとして定めている。各国・地域が定めているOenological Practicesについては国・地域により違いがあるが、ワインが国際性の高い商品であることから、相互に承認する協定（一方の国・地域でそのOenological Practicesに従い製造されたワインは、他方の国・地域で市場流通させることができる）が締結されている例もある [11] [12] [13]。

（1）CODEX

CODEXのGSFA（General Standard for Food Additives）では、PVI/PVPは登録されていない。原料である1-ビニル-2-ピロリドン（NVP）の重合体である添加物ポリビニルピロリドン（PVP）については、Table 1に登録されている。ワインについての記載はないが、飲料のカテゴリーでは水ベースのフレーバードリンクで上限500 mg/kg、ビールや麦芽飲料で10 mg/kg、サイダーとペリーで2 mg/kgとされている [14]。

(2) OIV

日本は未加盟ではあるが、OIV の定めるワインに関する各種の定義やルール、特に製造方法に関する醸造規則は世界的な標準として扱われ始めた [15]。PVI/PVP に関してはマストとワインでの使用に関する国際的なワイン醸造における実践規範を作成している [3] [16]。それによると以下のような規制事項が書かれている。

- ・使用量は 500 mg / L 未満。
- ・マスト、ワインの 2 段階で処理を行う場合は累計投与量が 500 mg / L 未満。
- ・添加後 2 日以内にろ過を実施する。(保留粒子径が 3 μm 以下のろ紙を用いて、ろ過圧を 0.8 bars 以下にしてろ過する [16]。)
- ・使用する PVI/PVP は International Oenological Codex の規定 [16]、特にモノマーの制限に適合しなければならない。
- ・使用の際はエノロジストもしくは専門技術者の監督下で行う。

(3) E U

E U 域内で使用が認められている食品添加物は、欧州議会・閣僚理事会規則 1333/2008 [18]と欧州委員会規則 1129/2011 [19]で定められており、この中の Annex II 及びIIIで認可された食品添加物名と使用条件が記載されているが、PVI/PVP の記載はない。なお、これらの規則(Annex II、III)は加工助剤 (Processing aid) には対応していない (欧州議会・閣僚理事会規則 1333/2008 article 2)。ワインに使用できる物品について、欧州委員会規則 2019/934 [20]の Article9 で「欧州委員会規則 231/2012 に記載があるものについては同規則でその純度及び仕様を定めるが、記載がないものについては欧州委員会規則 2019/934 に記載の OIV Codex file に従う」とあり、PVI/PVP は欧州委員会規則 231/2012 [21]に記載のない物品であるため、EU 各国は PVI/PVP の使用について、EU の醸造規則と OIV 規格の双方を遵守する必要があるということになる。

EU 域内で適用されるワインに関する醸造規則は、別の欧州委員会規則 606/2009 [22]の Annex I A に記載され、PVI/PVP についてはこの中に記載がある。この中で銅、鉄および金属の含有量を減らす際に使用することが許可されている。使用量については「No more than 500 mg/l (where added to both the must and the wine, the total overall quantity must not exceed 500 mg/l)」マスト、ワイン両方の状態で加えた場合は合算して 500 mg/L 以下でなければならないという記載がある。Appendix11 に追加要件として以下の使用制限がある。

- ・PVI/PVP はワインに添加した場合、2 日以内にろ過することによって除去しなければならない
- ・マストの場合、ろ過前 48 時間以内に添加しなければならない。
- ・エノロジストまたは資格のある技術者の責任の下で使用する。
- ・PVI/PVP は、最大単量体含有量に関して、OIV によって公表された International Oenological Codex の要件を満たさなければならない。

(4) アメリカ

アメリカで食品、食品加工に使用できる物質については、CFR（連邦規則集）Title 21 の中に纏められている [23]。具体的な物質名は複数の Part から構成され、Part172（直接食品添加物）、Part173（二次的 direct 食品添加物）、Part175～178（間接食品添加物）、Part180（条件付き食品添加物）、Part182（GRAS 物質）、Part184（直接食品利用 GRAS 物質）、Part186（間接食品利用 GRAS 物質）となっている。Part173 のサブパート A の 173.50 にポリビニルポリピロリドン、173.55 にポリビニルピロリドンが記載されている。さらにアメリカでは食品接触物質届出制度（FCN）によって食品への技術的効果を目的とせず使用される食品の製造、包装、包装材、輸送及び貯蔵に使用される原材料の一部を認証している [24]。PVI/PVP は FDA FCN No. 320 に基づき、ビールやワインを含むアルコール飲料からの重金属イオン除去を目的とした時のみ使用が許可されている。使用量は、100L あたり 80 g を超えてはならない [25]。さらに FCN は Divergan HM という商品で申請されているため、この商品のみが使用可能である。

2005 年より自国の醸造規則を満たしたワインの流通を相手国が認めるとする 2 国間協定が EU とアメリカで結ばれている。そのため、EU 域内からの輸入ワインについては PVI/PVP を EU の醸造規則（欧州委員会規則 606/2009 [22]）を遵守して使用したワインもアメリカ国内で流通できることとなっている¹ [26][143]。

(5) オーストラリア・ニュージーランド

オーストラリア・ニュージーランドにおいては、食品添加物や加工助剤はポジティブリスト制となっており、食品添加物と加工助剤は別の法律にまとめられている。ここで加工助剤については、Australia New Zealand Food Standards Code の schedule 18 にまとめられている [27]。こちらのリストに PVI/PVP が記載されており、ワイン、スパークリングワイン、酒精強化ワインの製造において、脱色剤、清澄剤、ろ過剤及び吸収剤として、GMP のもとでの使用が認められている。また、ワイン製造に使用可能な資材は一般食品に関する規則とは別に、ワイン製造についての規則（Oenological Practices）に記載されている [144]。こちらの規則はオーストラリアにのみ適用されているものであり、この中で PVI/PVP は 2017 年 10 月に Table to clause 4 の Processing aid に追加された。

(6) 日本

わが国においては PVI/PVP は食品添加物として指定されていない。類似物質のポリビニルピロリドンとポリビニルポリピロリドンが指定されている [29]。

¹ 当該 2 国間協定は欧州委員会決定 2011/751 において欧州委員会規則 606/2009 に記載されている添加物を対象に含めるよう変更されている。なお、当該規則は 2019 年 12 月 7 日に廃止され、欧州委員会規則 2019/934 に切り替わっており、当該 2 国間協定に反映されていないが、いずれの欧州委員会規則においても PVI/PVP の記載が存在する。

4. 国際機関等における安全性評価

(1) 日本国内の評価

わが国の食品安全委員会において、PVI/PVP は未評価である。しかし、添加物 PVP と夾雑物である NVP とヒドラジンについて、食品安全委員会は「添加物評価書 ポリビニルピロリドン」(2013年7月)において、次のようにまとめている [30]。

『(引用開始)

添加物「ポリビニルピロリドン」(以下「本添加物」という。)には、ポリビニルピロリドン(以下「PVP」という。)のほか、不純物として PVP の残存モノマー(1-ビニル-2-ピロリドン(以下、「NVP」という。))及びヒドラジンが含まれている。評価に用いた試験成績は、PVP、NVP 及びヒドラジンを被験物質とした遺伝毒性、反復投与毒性、発がん性、生殖発生毒性等に関するものである。

本委員会としては、PVP の体内動態に係る知見を検討した結果、PVP を経口的に摂取した場合、消化管からはほとんど吸収されずに、そのまま糞便中に排泄されると考えた。

入手したヒトにおける知見からは、PVP を含砂医薬品等の経口摂取によるアレルギー発症事例がまれではあるが認められることから、PVP のアレルギー誘発性を否定することはできず、また、認められた症例報告にはいずれも用量に関する記載がなく、アレルギー誘発性を示す用量を特定することは困難と考えた。また、PVP が感作性物質ではないという知見が認められたが、一部の症例報告においては PVP に特異的な IgE 抗体の産生が確認されており、メカニズムは不明ながら、特定のヒトに対しては感作性物質となり得るものと考えた。しかしながら、体内動態に係る知見において、経口摂取された PVP がほとんど吸収されないと考えられたこと、経口摂取による感作の成立を示唆する知見が認められないことから、PVP の経口摂取によるアレルギーの多くは、局所投与等で摂取されたポビドンヨード等による感作の獲得によるものと考えられる。また、PVP の経口摂取のみによる感作が成立する可能性は極めて低いと考えた。

また、本委員会としては、PVP の毒性に係る知見を検討した結果、遺伝毒性、急性毒性、反復投与毒性、発がん性及び生殖発生毒性の懸念はないと判断した。本委員会としては、NVP の安全性に係る知見、本添加物の規格基準案(NVP は 0.001%以下)及び我が国において使用が認められた場合の本添加物の推定摂取量(480 mg/人/日)を検討した結果、遺伝毒性、急性毒性及び反復投与毒性の懸念はないと判断した。

NVP の発がん性については、経口投与による試験は行われておらず、吸入暴露試験から上気道と肝臓に発がん性が認められたとの知見があるが、遺伝毒性が認められないことから、遺伝毒性メカニズムに基づくものではないと考えた。経口投与の場合でも同様に発がん性を示す可能性は否定できないと考えられたが、発がん用量を特定することは困難であることから、本添加物に含まれる NVP の摂取量を考慮した発がん性を評価することは困難であると判断した。

本委員会としては、ヒドラジンの安全性に係る知見を検討した結果、ヒドラジンには発がん性及び遺伝毒性が認められることから、その発がん機序への遺伝毒性メカニズムの関与の可能性を否定できないと考え、NOAELを評価することはできないと判断した。

米国及び欧州におけるヒドラジンの発がんリスクの定量評価結果及びヒドラジンの含有量（過剰に見積もっても 500ppb）に基づき、本添加物を我が国の推定摂取量(480mg/人/日) 摂取した場合の発がんリスクの値(9.0×10^{-7} (約 110 万分の 1))は、一般に遺伝毒性発がん物質の無視しうるレベルとされる 100 万分の 1 レベルを下回っており、そのリスクは極めて低いと考えられることから、本添加物に含まれるヒドラジンの摂取については、安全性に懸念がないと判断した。

以上より、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、本添加物の ADI を特定する必要はないと判断した。ただし、まれではあるが、ポビドンヨード等の局所投与等により PVP に対する感作が成立することがあり、その感作を受けたヒトにおいては、アナフィラキシー症状の発生の危険性を否定できず、また、現在の知見ではその閾値を特定することが困難であるため、本添加物の使用にあたっては、リスク管理機関において適切な管理措置を行い、アレルギー発生の予防に努める必要がある。また、ヒドラジンについて、リスク管理機関としては、引き続き、技術的に可能なレベルで低減化を図るよう留意すべきである。

（引用終わり）』

そして、食品健康影響評価の結論としては、「添加物として適切に使用される場合、安全性に懸念が無いと考えられ、添加物「ポリビニルピロリドン」の ADI を特定する必要はないと判断した」とされている。

（2）JECFA における安全性評価

PVI/PVP について、FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議(JECFA)における評価は確認できない。

PVI/PVP の原料である 1-ビニル-2-ピロリドン (NVP) の重合体である添加物ポリビニルピロリドン (PVP) について以下のような記載がある。

1966 年の第 10 回会合において、JECFA は、添加物「ポリビニルピロリドン」について 0~1 mg/kg 体重/日の conditional ADI (条件付 ADI) を設定した [31]。

1973 年の第 17 回会合において、この物質が腸間膜リンパ節などの細網内皮系細胞に取り込まれて体内に貯留する可能性についての懸念からこれを撤回した[28]。その後、1981 年の第 25 回会合において、それまでの研究データを審査して ADI(0~1 mg/kg 体重/日) を復活させた [32]。

1983 年の第 27 回会合において、JECFA は、添加物「ポリビニルピロリドン」に関する毒性データを再調査したところ、長期毒性試験において明らかな有害影響がみられないことから、暫定 ADI を 0~25 mg/kg 体重/日に変更した [33]。

1985 年の第 29 回会合において、PVP を反復投与したイヌを用いた免疫機能に関する研究が審査され、細網内皮系細胞に蓄積しても有害影響は惹起されないと判断された。また

この会合では、PVP に極めて微量に混在するヒドラジンの発がん性が問題になったが、PVP を 100 g/kg 飼料の濃度で添加した飼料によるラットの 2 年間投与試験で腫瘍の誘発がなかったことから、食品添加物としての通常の使用条件においてヒトに対する発がんの懸念はないとされ、暫定 ADI 0~25 mg/kg 体重/日を維持するとされた [34]。

さらに 1986 年の第 30 回会合において、現状での添加物「ポリビニルピロリドン」中のヒドラジンの混入濃度が 1 mg/kg 以下であるとの情報に基づき、添加物「ポリビニルピロリドン」について 0~50 mg/kg 体重/日の ADI が設定された [35]。

さらに PVI/PVP の夾雑物であるイミダゾールについては、経済協力開発機構 (OECD) において高生産量化学物質についてのスクリーニング用データセット (SIDS) による初期リスク評価が行われ、2005 年に国連環境計画 (UNEP) から評価報告書が公表された。同報告書のヒトへの健康影響の箇所に体内動態試験、急性毒性試験、反復投与毒性試験、発生毒性試験、遺伝毒性試験などの情報が記載されている。イミダゾールは、追加調査の候補物質とされた [36]。

(3) EFSA における安全性評価

PVI/PVP について、欧州食品安全機関(EFSA)における評価は確認できない。

添加物 PVP については、2006 年の EFSA Journal [37]で PVP は評価が行われ SCF List 3 (ADIまたはTDIを確立できなかったが、現在の使用を受け入れることができる物質 [38]) に区分されているが2018年の再評価対象リストに記載され EFSA で再評価中である [39]。PVI/PVP の夾雑物であり、また、添加物 PVP の夾雑物である NVP については、欧州食品科学委員会 (SCF) において以下のように評価された [40]。PVP が食品添加物として使用される場合には、それから食品に移行する程度の NVP をヒトが摂取しても安全上の懸念はないとしている[41]。しかしながら、添加物「ポリビニルピロリドン」を栄養補助食品に使用する場合の安全性を保証するためには添加物「ポリビニルピロリドン」中に残留する NVP の限界濃度についての規格を現状のものから 10 mg/kg (10 ppm) と改訂する必要があると結論している [40]。

更に NVP については、OECD における高生産量化学物質についての Screening Information Dataset (SIDS) による初期リスク評価の一環として欧州地域における評価が行われ[145]、2003 年に欧州連合からリスク評価報告書が公表された [42]。この評価書は OECD 共同化学物質評価プログラムと EFSA の両方で評価され、EFSA によって公開されている。評価書は UNEP Chemicals の出版物には含まれないが、OECD 加盟国によって承認されている[145]。同評価書のヒトへの健康影響の箇所に NVP の健康影響について、医薬品、義歯固定剤、化粧品、粉末洗剤及びコンタクトレンズなど多種の製品からのばく露量から検討した結果が記載されている。これらの製品から毎日 100% の NVP を吸収したと仮定すると、60kg の成人に対し 46µg/日のばく露量及び 0.8µg/ kg /日の全身負荷を生じるが、肝臓腫瘍を発症するリスクとの関連で、5 ppm の NVP を 1 日 6 時間吸入したラットに生じる身体負荷の 2,000 分の 1 であり、この程度のばく露は健康被害への懸念とはな

らないことから、現在のところ、更なる情報、試験又は既に採用されている以上のリスク削減対策は必要ないとされた [42]。

PVI/PVP の夾雑物である 1-3-ジビニルイミダゾリジン-2-オン (DVI) と 1-ビニルイミダゾール (NVI) については、SCF において、食品に接触する物質に使用されるモノマーや添加物として評価が行われた。1998 年の SCF の意見書では、これら 2 つの物質の食事中濃度、遺伝毒性試験結果が記載されている。1-3-ジビニルイミダゾリジン-2-オン (DVI) は第 114 回 SCF 会議 (1998 年 12 月 10 日) で $R=0.05 \text{ mg/kg}$ 食品で利用可能であり、重合体からの残留物が食品内 $<0.08 \text{ ppb}$ であると計算された。遺伝毒性試験は細菌を使用した遺伝子突然変異アッセイ (陰性)、哺乳動物培養細胞における染色体異常アッセイ (陽性)、培養哺乳類細胞における遺伝子突然変異アッセイ (陰性)、小核アッセイ (陰性); *in vivo* UDS アッセイ (陰性) という結果がしめされた。

NVI は第 114 回 SCF 会議 (1998 年 12 月 10 日) で $R=0.05 \text{ mg/kg}$ 食品で利用可能であり、重合体からの残留物が食品内 $<0.17 \text{ ppb}$ であると計算された。遺伝毒性試験は 3 つの変異原性試験を行ったところ陰性であったという記述がある。

以上の結果を受けて DVI と NVI は ADI または耐容一日摂取量 (TDI) は設定できなかったが、現状での使用は許容できるとされた [43]。

(4) FDA の安全性評価

米国食品医薬品庁 (FDA) は、2003 年に企業 (BASF) から、Divergan HM (PVI/PVP) をビールやワインを含むアルコール飲料からの重金属イオンや硫化物の除去に用いることを目的とする Food Contact Substances (FCS) (当該食品には技術的影響を与えることを意図としないで、食品の製造、包装、輸送及び保持に用いる物資) として使用するための許可申請について [44]、企業から提出されたヒトの環境影響評価報告書を基に評価を行い、ヒトの環境影響の質に対して No Significant Impact と結論した。PVI/PVP は、飲料 100 L 当たり 80 g を越えない範囲で熟成期にアルコール飲料に直接加えられ、ろ過により完全に除去される。企業の環境影響評価報告書に添付された安全性データシート (SDS) は公開されていない [25]。

(5) FSANZ における評価

オーストラリアと欧州連合とのワインについての合意に基づくオーストラリア側の義務に関係して、オーストラリアワイン製造協会から、ワイン製造に関する新規の加工助剤として PVI/PVP の使用許可申請があり、オーストラリア・ニュージーランド食品基準機関 (FSANZ) は評価を実施し 2017 年に結果を公表した。PVI/PVP について、ワイン製造における適正使用規範 (GMP) に基づく加工助剤としての使用を認めている。

安全性評価の概要は次のとおり。

PVI/PVP の消化管からの吸収は無視できると予測される。また、PVI/PVP のラットにおける急性毒性の情報から毒性は非常に低いことを示している。

PVI/PVP の夾雑物としては、ポリビニルイミダゾール (PVI)、PVP、2-ピロリドン及びイミダゾールの可能性がある。PVI の毒性情報は欠落している。しかし、NVI 及びイミダゾールの毒物試験データは、低毒性であることを示している。PVP は医薬品産業で広く使用されている。また、PVP の消化管からの吸収は無視できる。PVP は、実質的に人間に対する毒性はないと考えられる。JECFA は、PVP の ADI を 0-50 mg/kg 体重/日と設定した。PVI/PVP とその夾雑物が遺伝毒性を示す情報は無い。PVI/PVP は、欧州で、2009 年からワインへの使用が許可されている [46]。

PVI/PVP の ADI を設定する情報は不十分である。しかし、提案の使用方法で、FSANZ は消費者へのハザード (有害性影響) はないと結論した [46]。

ワインにおける PVI/PVP とその夾雑物の残留は無視できるので、ばく露評価は行わなかった [46]。

この申請における、ワイン製造での加工助剤としての PVI/PVP の使用については、公衆衛生や安全性についての懸念はない [45]。

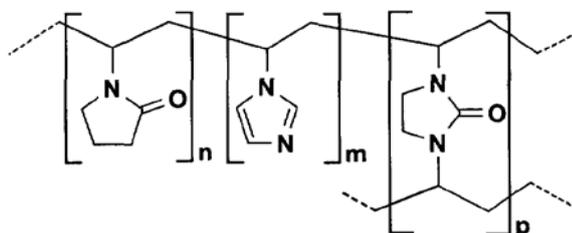
(6) 国際がん研究機関 (IARC) における評価

IARC は、1999 年に PVP と NVP の評価結果を公表し、共にヒトに対する発がん性を Group 3 (ヒトに対する発がん性について分類できない) としている [47]。

5. 物理化学的性質

(1) 構造式等

構造式 :



示性式 : $(C_6H_9NO)_n(C_5H_6N_2)_m(C_7H_{10}N_2O)_p$ [6]

分子量 : PVI/PVP は事実上全ての溶媒に不溶であるため、分子量を測定することは不可能である [6]。

(2) 製造方法

1-ビニルイミダゾール (CAS 番号 1072-63-5) および 1-ビニル-2-ピロリドン (CAS 番号 88-12-0) を 9 : 1 の比でポップコーン重合によって製造される。その際、1-3-ジビニルイミダゾリジン-2-オン (CAS 番号 13811-50-2) は、モノマーの総量の 2% 未満のレベルで架橋剤として使用される [6]。ポップコーン重合はモノマーを含む重合系内に種重合体が 1 つでもできるとそれが起点となって重合が次々と起こる [48]。



・ 夾雑物

ワイン醸造用の PVI/PVP には OIV では製品の夾雑物として 1-ビニル-2-ピロリドン、1-ビニルイミダゾール、1,3-ジビニルイミダゾリジン-2-オン、2-ピロリドン及びイミダゾールの 5 つのモノマーが挙げられる [6]。ワインを醸造する場合には架橋剤の 1,3-ジビニルイミダゾリジン-2-オンは非常に微量であり、pH3.7 において 3.75 分の半減期で不安定で分解されるため、イミダゾリジノンとアセトアルデヒドに分解する。さらに、イミダゾリジノンは尿素とエチレングリコールに分解する [6]。



用対象食品であるワインの pH 領域は通常 3 ~4 である [50]。そのため、1,3-ジビニルイミダゾリジン-2-オンはアセトアルデヒド、尿素、エチレングリコールに分解すると考えられる。そこで分解産物の定量化を試みた。アセトアルデヒドは酢酸とエタノールを含む溶液で自然に形成されるため、通常ワイン中には 4 ~500mg/L のアセトアルデヒドが含まれている[130]。そのため、1,3-ジビニルイミダゾリジン-2-オン由来のアセトアルデヒドの定量化は不可能である。尿素とエチレングリコールは

1,3-ジビニルイミダゾリジン-2-オン由来の含有量が非常に少なく定量化が不可能であり、詳しくは体内動態試験の項目に記載するがワインの推計最大含有量も検出限界値以下と考えられる[141][142]。 [REDACTED]

[REDACTED] 以上のことから夾雑物として規定しなかった。

類似物質の PVPP では発がん性のあるヒトラジンも夾雑物の類として安全性を考慮されているが PVI/PVP の製造工程は重合の開始にラジカル開始剤を使用しないためヒドラジンの形成は起こらない [49] (製造メーカー非公開資料)。

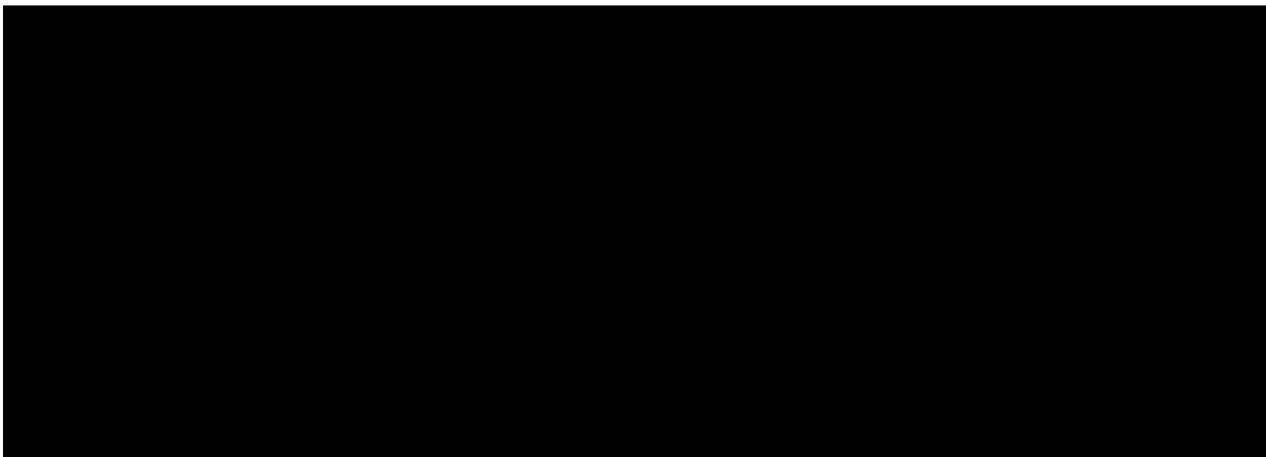
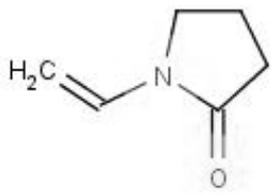
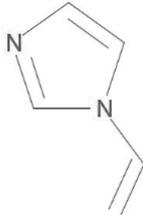
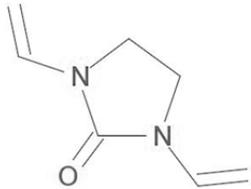
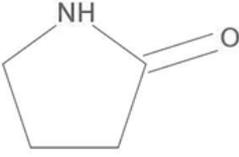
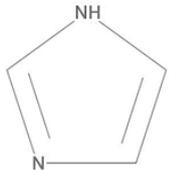


表 3. 夾雑物の構造式

1-ビニル-2-ピロリドン (CAS : 88-12-0) [51]	1-ビニルイミダゾール (CAS : 1072-63-5) [52]
	
1-3-ジビニルイミダゾリジン-2-オン (CAS:13811-50-2) [53]	2-ピロリドン (CAS:616-45-5) [54]
	
イミダゾール(CAS:288-32-4) [55]	
	

(3) 成分規格

①成分規格案

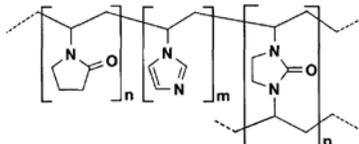
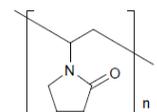
項目	成分規格案	参照規格
① 名称	ポリビニルイミダゾール /ポリビニルピロリドン共重合体 (PVI/PVP)	1
② 英名	Polyvinylimidazole-polyvinylpyrrolidone copolymers (PVI/PVP)	2、3
③ CAS 登録番号	87865-40-5	2、4
④ 定義	本品は、1-ビニルイミダゾール及び1-ビニル-2-ピロリドンを9：1の比でポップコーン重合によって製造される。その際、1-3-ジビニルイミダゾリジン-2-オンは、モノマーの総量の2%未満のレベルで架橋剤として使用される。	2、3
⑤ 含量	本品を乾燥物換算したものは、窒素 (N=14.01) 26.0~29.0%を含む。	2、5
⑥ 性状	本品は、白~帯黄白色の粉末である。	2、3
⑦ 確認試験	本品を赤外吸収スペクトル測定法中のペースト法により測定し、本品のスペクトルを参照スペクトルと比較するとき、同一波数のところに、同様の強度の吸収を認める。	5
⑧ 純度試験	水可溶物 0.5%以下 100 mLの水に試験物質 10 g を入れ、24 時間静置。ろ過膜(2.5 μ m)、ろ過膜(0.8 μ m)でろ過。濾液を蒸発させた後に残る乾燥残留物を測定する。	2、5
	鉛 Pd として 2 μ g / g 以下 (2.0 g、第 1 法、比較液 鉛標準液 4.0mL、フレイム方式)	2、5
	ヒ素 As として 2 μ g / g 以下 (0.50g、第 2 法、標準色 ヒ素標準液 2.0mL、装置 B)	2
	ビニルピロリドン 5 μ g / g 以下 ビニルイミダゾール 10 μ g / g 以下 ジビニルイミダゾリジン-2-オン 2 μ g / g 以下 ピロリドン 50 μ g / g 以下 イミダゾール 50 μ g / g 以下 本品約 2 g を計量し (計量には 0.1 mg の精度の天秤を使用)、1 mL の内部標準溶液 (ベンズニトリル 250 μ g / mL アセトン溶媒) 及び 24 mL のアセトンと混合。ロータリーミキサーで 4 時間かくはんする。上澄液を次の操作条件でガスクロマトグラフィーを行う。各々のピーク面積を測定し、面積百分率法により主ピークの量を求める。	2、3

	<p>操作条件</p> <p>検出器：窒素固有検出器（NSD）</p> <p>カラム：ポリエチレングリコールフィルム付きフェーズドシリカキャピラリーカラム（長さ：30 m、内径：0.25 mm、膜厚：0.5μm）</p> <p>カラム温度：160°Cその後、210°Cまで5°C /分の速度で昇温し、7分間保持する。</p> <p>カラムヘッド圧力：140 kPa（1.4 bar）</p> <p>注入口温度：220°C</p> <p>検出器温度 250°C</p> <p>キャリアーガス ヘリウム</p> <p>スプリット比 1：10</p> <p>セプタムパージ：5 mL/分</p> <p>注入量：1.0μL</p>	
⑨ 乾燥減量	5.0%以下（140°C, 1 時間）	2、5
⑩ 灰分	0.3%以下（800±25°C、6 時間以上）	2、4、6
⑪ 定量法	本品約 0.1 g を精密に量り、OIV の窒素定量法により窒素を定量し、さらに乾燥物換算を行う。	2、5
<p>参考規格</p> <p>1. 食品安全委員会 資料管理 ID: syu04700710208 [2]</p> <p>2. International CEnological Codex, PVI/PVP、COEI-1-PVIPVP [6]</p> <p>3. OIV, “COPOLYMERES ADSORBANTS PVI/PVP - CODEX,” 2014. [16]</p> <p>4. [REDACTED]</p> <p>5. 厚生労働省, “第 9 版食品添加物公定書 [56]</p> <p>6. [REDACTED]</p>		

②成分規格案と既存の規格の対照表

表 4 に既存の国際機関の成分規格及び類似の指定添加物に係る第 9 版食品添加物公定書における規格を示す。EU では加工助剤としての使用制限の記載はあるが成分規格に関する記載はない。その他、わが国の類似物質であるポリビニルポリピロリドン (PVPP)、ポリピロリドン (PVP) の成分規格を示した。

表 4. 成分規格案と既存の規格の対照表

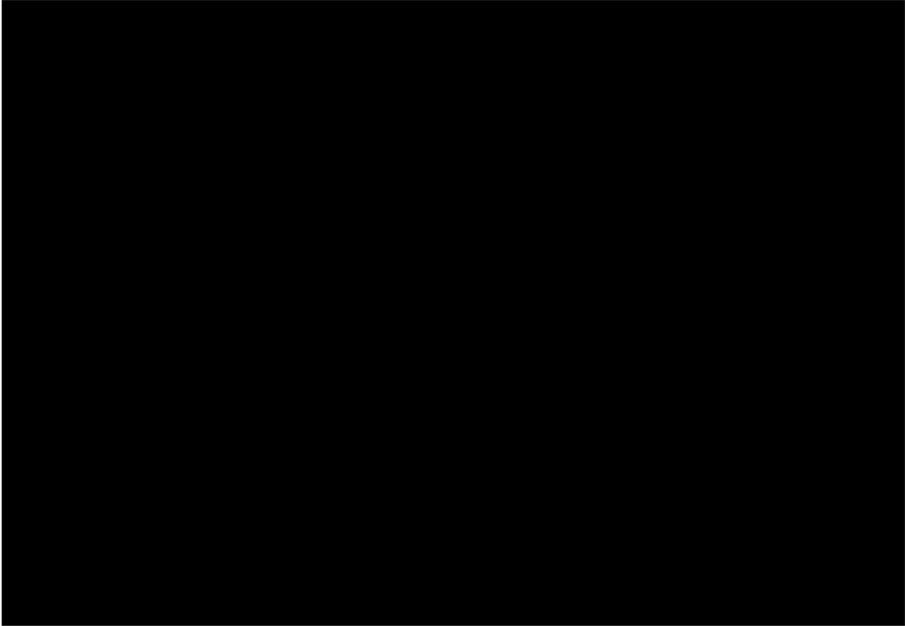
	本規格案	OIV 規格 [6] [16]	第 9 版食品添加物公定書 [56]	
			PVPP	PVP
名称	ポリビニルイミダゾール /ポリビニルピロリドン共重合体 (PVI/PVP)	—	ポリビニルポリピロリドン	ポリビニルピロリドン
英名	Polyvinylimidazole-polyvinylpyrrolidone copolymers (PVI/PVP)	ADSORBENT COPOLYMERS OF POLYVINYLIMIDAZOLE /POLYVINYLPIRROLIDONE (PVI/PVP)	Polyvinylpolypyrrolidone	Polyvinylpyrrolidone
日本名別名	—	—	—	ポビドン
構造式又は示性式	—		—	
分子式又は組成式	—	$(C_6H_9NO)_n(C_5H_6N_2)_m(C_7H_{10}N_2O)_p$	—	$(C_6H_9NO)_n$
化学名	—	Terpolymer of 1-vinylimidazole, 1-vinylpyrrolidone, and 1,3-divinylimidazolidinone. Cross-linked copolymer of vinylimidazole/vinylpyrrolidone.	Cross linked poly[(2-oxopyrrolidin-1-yl)ethylene]	Poly[1-(2-oxopyrrolidin-1-yl)ethylene]
CAS 登録番号	87865-40-5	87865-40-5	25249-54-1	9003-39-8
定義	1-ビニルイミダゾールおよび1-ビニル-2-ピロリドンを9：1の比でポップコーン重合によって製造される。その際、1-3-ジビニルイミダゾリジン-2-オンは、モノマーの総量の		—	—

	2%未満のレベルで架橋剤として使用される。			
含量	本品を乾燥物換算したものは、窒素 (N=14.01) 26.0~29.0%を含む。	無水物換算したものは窒素 (N) を 26.0%~29.0%含む。	無水物換算したものは窒素 (N=14.01) を 11.0~12.8%含む。	無水物換算したものは窒素 (N=14.01) を 11.5~12.8%含む。
性状	本品は、白~帯黄白色の粉末	白~帯黄色の粉末	本品は白~微黄白色の粉末でない。	本品は白~微黄色の粉末である。
確認試験	本品を赤外吸収スペクトル測定法中のペースト法により測定し、本品のスペクトルを参照スペクトルと比較するとき、同一波数のところに、同様の強度の吸収を認める。	—	本品を 105℃で 6 時間乾燥し、赤外吸収スペクトル測定法中の錠剤法により測定し、本品のスペクトルを参照スペクトルと比較するとき、同一波数のところに同様の強度の吸収を認める。	本品を赤外吸収スペクトル測定法中のペースト法により測定し、本品のスペクトルを参照スペクトルと比較するとき、同一波数のところに、同様の強度の吸収を認める。
純度試験				
水可溶物	0.5%以下 100 mL の水に試験物質 10 g を入れ、24 時間静置。ろ過膜(2.5μm)、ろ過膜(0.8μm)でろ過。濾液を蒸発させた後に残る乾燥残留物を測定する。	0.5%未満	1.5%以下 本品約 25 g を精密に量り、平底フラスコに入れ、これに水 225mL を加え、還流冷却器を付け、かくはん機を用いてかき混ぜながら 20 時間穏やかに煮沸する。冷後、これをメスフラスコに移	

			し、水を加えて正確に250mLとし、15分間放置した後、上澄液を遠心管に移し、10000×gで1時間遠心分離する。上澄液をメンブランフィルター（孔径0.45μm）でろ過し、ろ液50mLを正確に量り、あらかじめ精密に質量を量ったガラス製蒸発皿に入れ、蒸発乾固し、90°Cで3時間乾燥し、デシケーター中で放冷した後、質量を精密に量る。	
酸.アルコール可溶物	—	1%未満	—	—
pH	—	—	5.0～8.0 (1.0g、水100ml)	3.0～7.0 (1.0g、水20ml)
亜鉛	—	1mg/kg 未満	—	—
鉄	—	5mg/kg 未満	—	—
銅	—	1mg/kg 未満		
鉛	2 μg/g 以下	2mg/kg 未満	2μg/g 以下	2 μg/g 以下
水銀	—	1mg/kg 未満	—	—
カドミウム	—	1mg/kg 未満	—	—
ヒ素	2 μg/g 以下	2mg/kg 未満	3μg/g 未満	—
アルデヒド	—	—	—	500μg/g 以下
ヒドラジン	—	—	—	1 μg/g 以下
水分	—	—	6.0%以下	5.0%以下

ビニルピロリドン	5µg/g 以下	5 mg/kg 未満	0.1%以下	10µg/g 以下
ビニルイミダゾール	10µg/g 以下	10 mg/kg 未満	—	—
ジビニルイミダゾリジン-2-オン	2µg/g 以下	2mg/kg 未満		
ピロリドン	50µg/g 以下	50 mg/kg 未満	—	10µg/g 以下
イミダゾール	50µg/g 以下	50 mg/kg 未満	—	—
乾燥減量	5.0%以下 (140°C1 時間)	5 %未満 (140°C1 時間)		
強熱残分	—	—	0.4%以下	0.1%以下 (1g 600±50°C)
灰分	0.3%以下 (800±25°C、6 時間以上)	0.02% 未満 (800±25°C 6 時間)	—	—
保存基準	—	乾燥冷涼な場所で保存	—	—
定量法	本品約 0.1 g を精密に量り、OIV の窒素定量法により窒素を定量し、さらに乾燥物換算を行う。	本品約 0.45 g を量り、窒素定量法中のケルダール法により窒素を定量し、さらに無水物換算を行う。	本品 0.2 g を精密に量り、窒素定量法中のケルダール法により窒素を定量し、さらに無水物換算を行う。	本品 0.1 g を精密に量り、専用の分析装置に入れ、所定の試薬を加え加熱後、所定の試薬を用いつつ水蒸気蒸留し、ブロモクレゾールグリーン・メチルレッド混合試液を加えて硫酸で滴定して定量す

				る。別に空試験を 行い補正する。
--	--	--	--	---------------------



③成分規格案の設定根拠

本指定要請の背景において、EU域内において製造・流通している物品の利用を想定していることから、実際に使用されている製品規格とEUの成分規格を採用することとした。実際に使用されている製品に関してはBASF社の「ダイバガンHM」の安全データシートを参考にした。EUでのPVI/PVPの規格はOIVの成分規格に準ずるため、OIVの成分規格 [6] [16]を採用する。

(イ) 含量

OIVにおける成分規格では「無水物換算したものは窒素 (N) 26.0~29.0%含む」とされており、これを満たす物品が実際にEUでのワイン製造に利用されていることから、我が国としてもこの規格を採用する [6] [16]。OIVの窒素定量法により窒素を定量し、さらに乾燥無水物換算を行う。

(ロ) 性状

OIVにおいては”Powder with a white to yellowish colour.”とされている [6] [16]。一方、我が国における類似の指定添加物であるポリビニルポリピロリドンにおいては「本品は白~微黄白色の粉末で匂いはない。」との規格が採用されているが、構成モノマーの数が異なるため性状が違う可能性もある。そこでOIVの規格である「白~帯黄白色の粉末。」を採用する。

(ハ) 確認試験

類似の指定添加物であるポリビニルポリピロリドンにおいては、B一般試験法21. 赤外吸収スペクトル測定法 (ペースト法) における参照スペクトルとの比較による方法としている。本品についても、参照スペクトル又は標準品のスペクトルと比較し、同一波数のところに、同様の強度の吸収を認めるという規格を設定する [56]。

(ニ) 純度試験

次のとおり成分規格及び試験法を採用する。

(I) 水可溶物

OIVにおいて設定されている。0.5%以下とする [6] [16]。

我が国では類似のポリマー化合物であるポリビニルポリピロリドン (PVPP) は1.5%以下で水可溶性が設定されているがPVPPとPVI/PVPでは性質が異なり、比較は難しい。わが国のPVPPで行われている試験方法とOIVの試験方法に大きな差異はないのでOIVの規格値と試験法を採用した [56]。

試験方法

100 mLの水に試験物質10gを入れ、24時間静置。ろ過膜(2.5 μ m)、ろ過膜(0.8 μ m)でろ過。濾液を蒸発させた後に残る乾燥残留物を測定する。

(II) 酸・アルコール可溶物

製造方法の項に記載したように製造方法上の酸、アルコール可溶物として考えられる物質に関しては別途夾雑物として基準値を設定しているため、規格を設定しないこととした。なお、類似の指定添加物であるポリビニルポリピロリドンにおいては、OIV 規格では同様の分析法による規格が設定されているものの公定法に定める方法においては規格が設定されていない。

(III) 亜鉛

2020 年の日本人の食事摂取基準で考えられる亜鉛の耐容上限量は摂取状況をはるかに下回り、サプリメントや亜鉛強化食品の不適切な利用がない限り過剰摂取が生じる可能性はない [58]。また、指定等要請者は前述の製造方法から多量に混入するリスクがないと考えたことから規格を設定しないこととした。

(IV) 鉄

2020 年の日本人の食事摂取基準で考えられる鉄の耐容上限量は摂取状況をはるかに下回り、サプリメントや鉄強化食品の不適切な利用がない限り過剰摂取が生じる可能性はない [58]。また、指定等要請者は前述の製造方法から多量に混入するリスクがないと考えたことから規格を設定しないこととした。

(V) 銅

2020 年の日本人の食事摂取基準で考えられる銅の耐容上限量は摂取状況をはるかに下回り、サプリメントの不適切な利用がない限り過剰摂取が生じる可能性はない [58]。また、指定等要請者は前述の製造方法から多量に混入するリスクがないと考えることから規格を設定しないこととした。

(VI) 鉛

我が国の類似物質である PVPP では 10 µg/g 以下と PVP では 2 µg/g 以下に設定されている。OIV の成分規格は 2 µg/g 未満であり、本品は Pb として 2 µg/g 以下 (2.0g、第 1 法、比較液 鉛標準液 4.0mL、フレイム方式) とする。試験法については第 9 版食品添加物公定書に定める方法によることとする。試料の調整については、類似の指定添加物であるポリビニルポリピロリドンに倣い、第 1 法に定める方法とする [56]。

(VII) 水銀

2004 年の食品安全委員会の評価書では [59]、食品からの水銀摂取量は耐容摂取量の 5 割程度であり、食品からの摂取が健康に悪影響を及ぼす可能性は低

い。また、指定等要請者は前述の製造方法から多量に混入するリスクがないと考えることから規格を設定しないこととした。

(VIII) カドミウム

2009年の薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会、食品規格部会報告書に記載されている我が国における食品からのカドミウム摂取量は耐容摂取量の4割程度であり、食品からの摂取が健康に悪影響を及ぼす可能性は低い [60]。また、指定等要請者は前述の製造方法から多量に混入するリスクがないと考えることから規格を設定しないこととした。

(IX) ヒ素

我が国の類似物質である PVPP では $10 \mu\text{g}/\text{g}$ 以下と PVP では $2 \mu\text{g}/\text{g}$ 以下に設定されている。OIV の成分規格は $2 \mu\text{g}/\text{g}$ 未満であり、本品は As として $2 \mu\text{g}/\text{g}$ 以下 (0.50g、第2法、標準色 ヒ素標準液 2.0mL、装置 B) とする。試験法については第9版食品添加物公定書に定める方法によることとする [56]。

(X) 夾雑物

PVI/PVP の構成モノマーである5つは OIV の規格によって以下のように設定されている。我が国で指定されている類似の指定添加物であるポリビニルポリピロリドンにおいては、ビニルピロリドンについてビニル基とヨウ素の反応を利用した滴定を採用しているが、本品では複数のビニル化合物が混在しうるため採用できない。そこで、OIV の規格と方法 (キャピラリーガスクロマトグラフィー法) を設定した。

ビニルピロリドン	$5 \mu\text{g}/\text{g}$ 以下
ビニルイミダゾール	$10 \mu\text{g}/\text{g}$ 以下
ジビニルイミダゾリジン-2-オン	$2 \mu\text{g}/\text{g}$ 以下
ピロリドン	$50 \mu\text{g}/\text{g}$ 以下
イミダゾール	$50 \mu\text{g}/\text{g}$ 以下

試験法については OIV 規格の定める方法によることとする [6] [16]。

試験方法

本品約 2g を計量し (計量には 0.1 mg の精度の天秤を使用)、1 mL の内部標準溶液 (ベンゾニトリル $250 \mu\text{g}/\text{ml}$ アセトン溶媒) 及び 24 mL のアセトンと混合。ロータリーミキサーで 4 時間かくはんする。上澄液を次の操作条件でガスクロマトグラフィーを行う。各々のピーク面積を測定し、面積百分率法により主ピークの量を求める。

操作条件

検出器：窒素固有検出器（NSD）

カラム：ポリエチレングリコールフィルム付きフューズドシリカキャピラリー
カラム（長さ：30 m、内径：0.25 mm、膜厚：0.5 μ m）

カラム温度：160 $^{\circ}$ Cその後、210 $^{\circ}$ Cまで5 $^{\circ}$ C /分の速度で昇温し、
7分間保持する。

カラムヘッド圧力：140 kPa（1.4 bar）

注入口温度：220 $^{\circ}$ C

検出器温度 250 $^{\circ}$ C

キャリアガス ヘリウム

スプリット比 1：10

セプタムパージ：5 mL /分

注入量：1.0 μ L

（ホ） 乾燥減量

我が国で指定されている類似物質では乾燥減量は定められていない。一方、OIVの成分規格は5.0%以下（140 $^{\circ}$ C、1時間）に設定されており、食品添加物公定書第9版の定める乾燥減量試験法とOIVで実施されている試験法は同等の方法であるため、第9版食品添加物公定書の定める方法でOIVの規格である5.0%以下（140 $^{\circ}$ C、1時間）を採用した [56]。

（ヘ） 灰分

OIVの成分規格では第9版食品添加物公定書の灰分0.02%以下（800 $^{\circ}$ C、6時間）に相当する。しかし、第9版食品添加物公定書の通則38より「乾燥又は強熱するとき、恒量とは、別に規定するもののほか、引き続き更に1時間乾燥又は強熱するとき、前後のひょう量差が前回に量った乾燥物又は強熱した残留物の質量の0.1%以下であることを示す。」と記載されており [56]、灰分0.02%は恒量の誤差範囲内であり規格として成立しないため、OIVの0.02%以下という成分規格には疑義がある [6] [16]。そのため、流用実態を考慮して[]製造会社の参考規格値0.3%以下（800 \pm 25 $^{\circ}$ C、6時間以上）を採用する [57]（製造メーカー非公開資料）。試験方法に関して製造会社の試験法[]は第9版食品添加物公定書の定める灰分試験と同等の試験である [61]（製造メーカー非公開資料）。試験法については第9版食品添加物公定書に定める方法によることとする [56]。

（ト） 定量法

OIVでは窒素定量法中のケルダール法により窒素を定量して乾燥物換算を行うと示されている。これを満たす物品が実際にEUでのワイン製造に利用されている

ことから、我が国としてもこの試験法を採用する。試験方法は OIV の試験方法に従う [6] [16]。分析する試料の量は窒素 20~30 mg に対応する約 0.1 g とした [56]。

(チ) 保存基準

OIV では成分規格が定められているが、製造元である BASF の資料によると、乾燥密閉した状態で 36 ヶ月安定であると記載がある。さらに pH 3.0 ~ 11.0 の水溶液中でも安定であり、最大 200°C まで安定で 220°C から熱劣化が観察されたという報告がある [49]。非常に安定した物質であり安全性の観点から細かな保存基準を記載しなくても問題ないと判断した。また、我が国の類似物質にも設定されていない。

④ 試験法の検証データ及び試験成績

イ 試験法の検証データ

(イ) 夾雑物定量法

PVI/PVP の構成モノマーのガスクロマトグラフィーによる検証法については、OIV に記載がある。分析の信頼度を測定するため、1-ビニル-2-ピロリドン、1-ビニルイミダゾール、1-3-ジビニルイミダゾリジン-2-オン、2-ピロリドン及びイミダゾールをそれぞれ 2 µg/g 追加したサンプルで測定した結果を Fig 1 と Table 1 に記載した。その結果サンプルに混入しているモノマーの 90% 以上が検出されていることが示された [16]。(本試験は Divergan HM を使用した結果である)

検量線に関しては参考資料 [16] に記載してあるが本概要書では省略した。

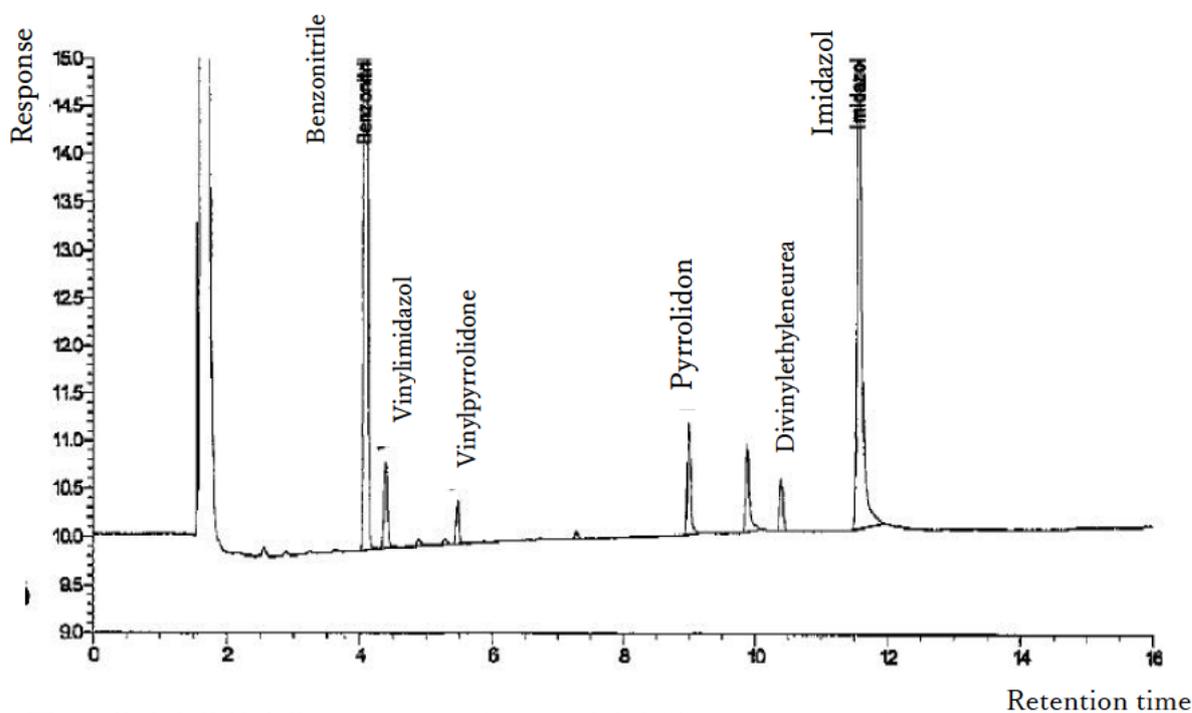


図1. 共重合体抽出物のクロマトグラム (内部標準+モノマーを含む)

		Vinylimidazole	Vinylpyrrolidone	Pyrrolidone	Divinylethyleneurea	Imidazole
1. Determination	[%]	102.3	112.4	97.0	103.3	90.7
2. Determination	[%]	98.5	101.9	89.6	102.1	91.7
3. Determination	[%]	111.8*	111.5	105.7	111.1	112.6*
4. Determination	[%]	102.7	103.3	91.9	104.8	94.5
5. Determination	[%]	104.2	101.0	89.3	102.7	97.0
6. Determination	[%]	100.4	104.9	90.4	110.3	95.4
Average	[%]	101.6	105.8	94.0	105.7	93.9
Standard deviation	[%]	2.2	4.9	6.4	3.9	2.6
Coeff. of variation	[%]	2.2	4.7	6.8	3.7	2.8
Measurement uncertainty	[%]	6.6	14.8	19.2	11.8	7.8
Relative measurement uncertainty	[%]	7	14	20	11	8

* = outlier value according to the Dixon test

Table 1. 共重合体抽出物のクロマトグラム (内部標準+モノマーを含む)

(ロ) その他の試験法

本成分規格案において採用した試験法は、既存の指定添加物に用いられているものであり、PVI/PVP においても理論上同等の結果が得られることから、記述は省略する。

ロ 試験成績

本指定要請の背景において、EU 域内において製造・流通している物品の利用を想定している。EU 域内において広く使用されている BASF 社の Divergan® HM 非公開の試験成績を参考資料として添付する [62]。

(4) 食品添加物の安定性

PVI/PVP は様々な物質と物理的な結合性を有するがそれ自体は化学的にも安定した物質であり、水、有機溶媒に不溶性を示して、400°Cでも自己分解性を示さない [63]。また、製造元である BASF の資料によると、乾燥密閉した状態で 36 ヶ月安定であると記載がある。さらに pH 3.0 ~ 11.0 の水溶液中でも安定であり、最大 200°Cまで安定で 220°Cから熱劣化が観察されたという報告がある [49] (製造メーカー非公開資料)。このことから水やアルコールに不溶で食品の酸性度、特定の成分で化学変化することはない。

(5) 食品中の食品添加物の分析法

PVI/PVP は (4) の食品添加物の安定性でも述べたように水やアルコールに不溶であり、共重合体であるので対象が均質でないことから分析法は確認できず、検出限界値も設定できない。また、最終食品からはすべて除去されるため分析は不要であると考えられる。

6. 使用基準案

(1) 使用基準案

PVI/PVP は、ぶどう酒及びぶどう酒の製造に用いる果汁以外に使用してはならない。PVI/PVP は、ろ過助剤以外の用途に使用してはならない。PVI/PVP の使用量は、最終食品にあっては、その 1kg につき、その合計が 0.50g 以下でなければならない。また、使用した PVI/PVP は、最終食品の完成前に除去しなければならない。

(2) 使用基準案の設定根拠

本概要書では、原料果汁とワインへの使用を目的としているため、これを前提とした使用基準案を記載する。PVI/PVP はその性質上、水やアルコールに溶解しない。ろ過助剤としての使用が目的とされているため、我が国の類似物質である PVPP の「ろ過助剤以外の用途に使用してはならない」「最終食品完成前に完全に除去しなければならない」という項目を設定した。

II. 有効性に関する知見

1. 食品添加物としての有効性及び他の同種の添加物との効果の比較

1. ワイン中の無機成分

ワインやマストの無機成分はイオン形態か有機酸や多糖類等の他の化合物とコロイド錯体を形成した状態で存在する。ワイン中のカチオンとしてはカリウムが最も多く約 3/4 を占め、カルシウム、マグネシウム、ナトリウムがそれに続く。微量ないしは痕跡量含まれるものとしてはマンガン、鉄、銅、アルミニウム、鉛、亜鉛などがあげられる [50]。

Eder らの 2003 年の報告によると [1]、鉄、銅、亜鉛などの金属の含有量が多くなると、ワイン製造中に不快な味、褐変、沈殿物の形成など、さまざまな問題が発生する可能性がある。中でも鉄や銅の重金属は混濁を形成することが知られており、重金属の消長としては、①製法による影響、②酵母等の微生物による代謝、③吸着、結合等の作用によるオリや沈殿としての系外への除去が主たる要因として知られている [50]。

ワイン中の鉄はアミノ酸やポリフェノールなどと安定な複合体を形成したり、遊離のイオンとして存在したりする。それらの複合体はワインの貯蔵や熟成中に形成され、ワインの色や味と香りに影響を及ぼす。2010 年の田村の報告で [64]、世界各国で生産されたワイン中の鉄含有量の範囲と平均値、国産ワインの鉄含有量がまとめられている。これらの報告から鉄含有量は、非常に多様であることが示された。国産ワイン全体では白ワインも赤ワインも平均して 4.0mg/L 以上の鉄含有量を示している。

ワイン中の遊離の鉄イオンは酸化還元状態で Fe^{2+} と Fe^{3+} で存在している [9]。 Fe^{3+} がリン酸と結合すれば不溶性の複合体を作り、白色の混濁物を生じるほか、ポリフェノールと結合すると青色の混濁物を生じる [8]。鉄混濁はワイン中の鉄イオンが 10 mg/L 以上存在すれば起こる可能性があるといわれている。一方で 25 mg/L でも清澄を保つワインもあり、一概にワイン中の鉄イオン濃度だけで鉄混濁の可能性を論じることはできない [8]。しかし、混濁を引き起こさない場合にも、ワイン中の成分の酸化還元反応に対して、ワイン中の鉄は触媒的な作用を示すことが知られている [9]。鉄はアセトアルデヒドとフェノール化合物の結合を触媒し、ポートワインにおいては硫酸鉄を添加すると酸化が早まるとされている [65]。そのため、鉄の除去はワインの品質を保持するために重要な工程と考えられる。わが国で使用ができる鉄の除去剤としてフィチン酸がある [56] [66]。

ワイン中の銅の由来として、ブドウ栽培時の銅殺菌剤の使用が挙げられる。銅殺菌剤は世界各地で使用されている。銅殺菌剤は病原菌が殺菌剤に対して抵抗性が発生しないうえ、EU 加盟国では有機栽培に使用できる殺菌剤として銅殺菌剤が許可されている [67]。ブドウの銅殺菌剤として古くから使用されているのがボルドー液である。ボルドー液は日本でも JAS が定める有機栽培農産物に使用が可能である [68]。JAS で定めた有機栽培農作物に関しては EU 加盟国やアメリカ等に「organic」等と表示して輸出することが可能である [69]。硫酸銅溶液と石灰乳懸濁液との混合液であるボルドー液の散布がブドウの病害発生を著しく防止することが 1885 年に MILLADET によって発表された。ボルドー液はうどんこ病、褐斑病、白腐病、さび病、べと病などの予防に効果があり、晩腐病、黒痘病にも一定の効果があると知られている。わが国におい

てはこの処方 は明治 30 年に導入され、それ以降も使用されている [70]。有機栽培ブドウでのべと病などを防ぐことができる反面、銅含有量が高くなる危険がある。白ワインは、果汁を清澄化すると、銅が混濁物と一緒に除かれ減少し、発酵と共に液中の銅量は 90%以上がオリの方に移行する [71]。ワイン中に銅イオンが 0.5~0.6 mg/L 以上存在すれば、銅混濁が発生する可能性があると考えられている。この時、鉄混濁とは逆に Cu^{2+} が還元されて Cu^+ となり、ワイン中のイオウ化合物とコロイド状の硫酸銅を作る。これがタンパク質とフロックを形成し、不溶化して混濁を発生させる。混濁は細かい粉状の場合やフロック状の場合があり、褐色から赤褐色であることが多い。混濁の形成は嫌気的条件下でのみ、極めてゆっくり進行する。温度が高い場合や光が照射された場合は進行が早まる。このため、ワイン瓶では透明瓶で混濁が発生しても褐色瓶では混濁が発生していない場合も見受けられる。また、この現象はタンパク質の存在が必要であるため、赤ワインや色の濃いロゼワインでみられることはない。現実的に白ワインのみに起こるリスクとして考えてよい。混濁状のワインに通気をするか、48 時間ほど空気にさらせば混濁は消失する [8]。さらにワイン中の銅はワインの品種に特徴的な香り成分であるチオールのスルフヒドリル基と結合、または酸化させることで特性香を消失させる [72]。各国のワインの銅含有量は鉄と同様に各国の銅含有量には多様性がある [50]。近年、オーガニックワインに関心が高まっており、ワインの銅混濁防止は非常に重要な問題となっている。安定化の処置方法としてはイオン交換や加熱処理後のろ過、オリ下げ剤などにより銅イオンを減少させる方法や、ベントナイト処理も有効である [8]。

2. ピンキング (Pinking)

ピンキングは白ぶどう品種のみから製造されたボトル入り白ワインに見られる赤みを帯びた色の外観を表すのに使用される用語である。白ワイン特有の現象で Sauvignon Blanc, Muscat, Riesling, Semillon などのブドウ種で作ったワインに多く見られる [73]。ピンキングは、白ワインが還元条件下で処理されるときに主に検出される。ピンキングの正確なメカニズムについては解明されていないが、白ワインの酸化的変化によるものと考えられている。近年、少なくとも 10 種類の化合物と高分子化合物によって引き起こされ、少量のアントシアニンが関与していることが示された [74]。わが国では PVPP の添加によって防止が可能である [66]。

3. わが国で使用を認められている清澄剤と PVI/PVP

ワイン中には、酸化褐変、混濁、沈殿などの品質劣化を引き起こすたんぱく質、ペプチド、タンニン、重金属などが存在している。これらを分離除去するために、目的に合った清澄剤が選択される [66]。ワインでの使用が行われ、わが国で使用を認められている清澄剤と PVI/PVP について表 6 に記載する。

表 6.わが国で使用を認められている清澄剤と PVI/PVP [6] [8] [66]

清澄剤	用途	推奨使用量	処理時間
卵白	① 赤ワインの清澄 ② 白ワインの香味改善 ③ 褐変物質の除去	2~3 個/100L 80~160g/kL	4 日~ 6 週間
ゼラチン	① 清澄化 ② 色素の低減 ③ タンニンの低減 ④ タンパク質の除去 (コロイドシリカと併用時)	20~100g/kL	4 日~ 6 週間
ベントナイト	① タンパク質の除去 ② 香味の改善 ③ アミン類の除去 ④ 銅の安定化と除去	50~2500g/kL	1 ~ 7 日
活性炭	① 香味の改善 ② 褐変物質の除去	100~500g/kL	1 ~ 2 日
フィチン酸	① 過剰鉄の除去	除鉄量の 5 倍	1 ~ 3 日
PVPP	① 褐変物質の除去 ② ポリフェノールの除去 ③ タンパク質の除去 ④ ピンキングの防止	白ワイン 100~700mg/L 赤ワイン 100~200 mg/L	1 ~ 2 日
PVI/PVP	① 重金属イオンの除去 ② 褐変物質の除去 ③ ピンキングの防止 ④ 香味の保持	20~50g/hL	1 ~ 2 日

本概要書で指定要請している PVI/PVP は重金属イオン除去などの特有の用途を有するほか、上記表 6 の他の清澄剤と比べても多くの目的を一度に果たすことが可能である。

(1) 重金属イオンの除去

序でも述べたようにワインは醸造過程で鉄、銅などの重金属が過剰にあると混濁の原因になる可能性がある。わが国では鉄の除去には清澄剤ではフィチン酸、銅の除去にはベントナイトなどが有用である。本概要書で申請している PVI/PVP は先で述べたように 1-ビニルイミダゾールと 1-ビニル-2-ピロリドンの重合体で大量のイミダゾール官能基が存在するので金属をキレート化することができる。PVI/PVP は図 2 のように通常ルイス酸として作用する金属原子と結合して、非常に安定な錯体を作成する。金属は PVP 分子と PVI 分子との間でキレート化され、次いでキレート錯体は解離することなく永久的に沈殿している [75]。

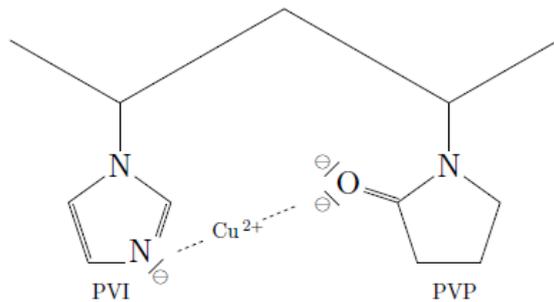


図2. PVI/PVP の金属イオンのキレート化 [75]

これまでの研究で PVI/PVP はワイン中のいくつかの金属イオンを除去できることが示されている。表7では Metal Addition A は 5 mg / mL の鉄と 0.5 mg / mL の銅、Metal Addition B は 15 mg / mL の鉄と 1 mg / mL の銅を添加したワインに PVI/PVP を 25g/hL もしくは 50g/hL を加えて 15 分ほど攪拌させて 48 時間後に沈殿物を取り除いて金属イオンを測定した [76]。

表7. PVI/PVP によるモデルワインの金属イオンの影響 [76]

Metal Addition		PVI/PVP	銅 (mg/L)	鉄 (mg/L)	鉛 (µg/L)	カドミウム (mg/L)	アルミニウム (µg/L)
A	白	Control	0.5	4.9	35.6	0.7	414
		25g/hL	0.3	1.5	29.4	0.7	334
		50g/hL	0.3	1.4	26.6	0.6	267
	赤	Control	0.48	4.9	41.4	0.3	928
		25g/hL	0.26	3.8	33.9	0.4	679
		50g/hL	0.15	2.8	33.7	0.4	437
B	白	Control	0.7	9.4	35.4	0.7	429
		25g/hL	0.3	5.3	29.8	0.8	345
		50g/hL	0.3	2.6	27.0	0.7	259
	赤	Control	0.97	10.0	40.6	0.3	752
		25g/hL	0.40	7.9	36.9	0.4	454
		50g/hL	0.25	5.3	35.0	0.4	409

表7を見ると鉄と銅、鉛、アルミニウムは赤、白どちらでも PVI/PVP を添加することによって濃度が下がることが示された。

(2) 酸化防止による褐変とピンキングの防止

序で述べたように白ワインでは酸化による褐変やピンキングと呼ばれる現象が起こることがある。新鮮な白ブドウの果汁はほぼ無色であるが、醸造の過程で白ワインは薄い黄色～黄金色、褐色の色合いを増す、黄色～黄金色はヒドロキシシナム酸塩やフラボノイドから酸化的に生じた白ワインの正常な色である。一方で褐色は過剰な酸化によって生成したフラボノイドポリマーに由来する [77]。PVI/PVP はフラボノイドポリマーの構成成分であるフェノール化合物の吸着を行う。表8は白ワインのマストとワインに PVI/PVP を処理した時の総フェノール量を示している。白ワインのマストには 100 mg/L の亜硫酸を加えた後、PVI/PVP を処理した。ワイン

ではマストの状態でも硫酸処理をした後、PVI/PVP を加えずに醸造した後、PVI/PVP を処理した [76]。

表 8.PVI/PVP 処理による総フェノール化合物の変化 [76]

PVI/PVP	マスト			ワイン		
	無処理	10 g/hL	20 g/hL	無処理	30 g/hL	50 g/hL
総フェノール化合物 (ua)	10.8(b)	10.4(a)	10.2(a)	10.8(c)	9.6(b)	9.2(a)

* L*a*b*色空間によって統計学的に同じカテゴリーのサンプルには同じアルファベットを記載している。(アルファベットが異なる値の差：p ≤ 0.01)

総フェノール化合物の量は PVI/PVP を処理すると統計学的に有意な差で低下することが表 8 で確認された [76]。

さらにワインの酸化はワイン中に溶けた酸素が金属イオン（主に Fe²⁺や Cu⁺）によって還元され電子が増えることで活性酸素のような状態になることが原因と考えられる。PVI/PVP はこれらの酸化を担う金属イオンのキレート化により、酸化反応を抑えて褐変、ピンクングを抑制している [75]。

(3) 香味の保持

ワインの香味は品種や地域の特徴を如実に示し、ワインの多様性を広げる重要な要因になっている。卵白、ゼラチンなどのタンパク質系の清澄剤やベントナイトは混濁を予防するが、味や香りの個性が損なわれる場合があることが知られている [78]。その一方で PVI/PVP は官能評価の結果から香味が損なわれることがないことが示されている [76]。表 9 では白ワインと赤ワインをそれぞれ PVI/PVP で処理後官能評価を行った結果を記す。

表 9. PVI/PVP 処理をしたワインの官能評価

PVI/PVP	白ワイン			赤ワイン		
	無処理	30 g/hL	50 g/hL	無処理	30 g/hL	50 g/hL
視覚	3.3	3.2	3.5	3.8	3.9	3.7
香り	3.0	2.7	2.8	3.0	3.3	3.2
味わい	3.0	2.7	2.9	2.6	2.4	2.5
総合評価	13.5	12.6	13.2	13.5	13.1	13.1

*総合評価は 1～20、その他は 1～5 で値の大きい方が好ましい結果である。

表 9 の官能評価の結果から白ワインも赤ワインも PVI/PVP の処理で大きな影響を与えないことが示された。

さらにワインの香りを決定する香気成分は金属イオンによって消失してしまう場合があるが、PVI/PVP 処理によってそれが軽減されることが示されている。図 3 では PVI/PVP 処理を行ったワインと行っていないワインの香気成分の含有量を示した [75]。

図3 PVI/PVP 処理と香気成分の含有量

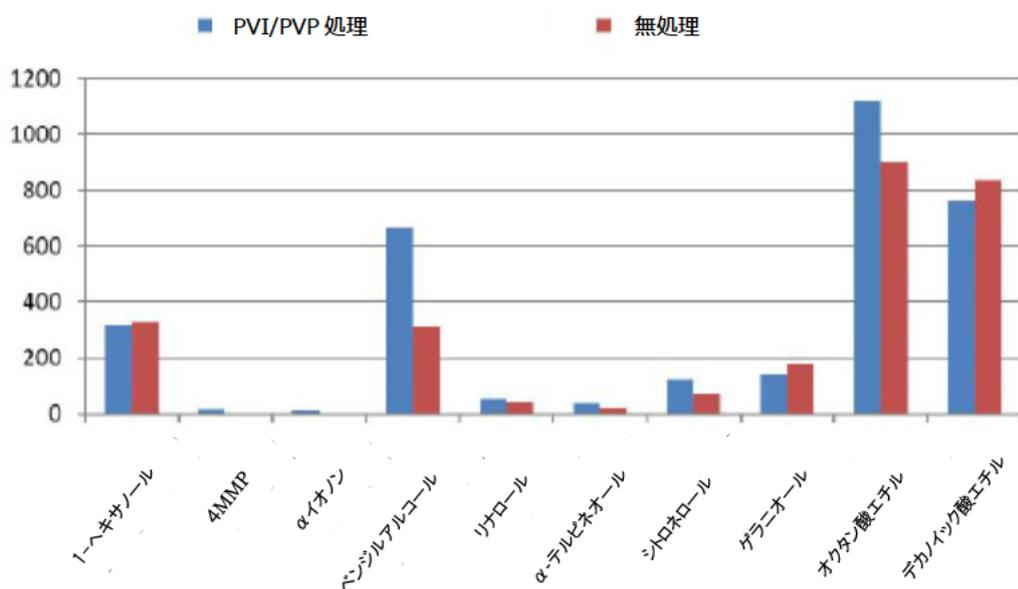


図3からグリーンな香りを示す 1-ヘキサノール、バラやゼラニウムの香りのゲラニオール、ワイン粕様の甘い香りのデカノイック酸エチル等は PVI/PVP 処理によって減少が見られるが、その他の物質では無処理の時よりも PVI/PVP 処理を行った時の方が含有量が多くなっている。含有量自体が少なく上の図では分かりにくいのが 4-メルカプト-4-メチルペンタン-2-オン(4MMP)はソービニオンブラン、リースリング、シャルドネなどの白ブドウのワインに含まれ、フルーツのような甘い匂いを感じさせる物質である [79]。また、 α -イオノン は白ブドウでスマレのような香りを感させる物質である。この二つは非常に微量物質である。図3でも無処理の時にはほとんど検出できないが PVI/PVP 処理を行うと検出が可能になる。さらに別の実験では PVI/PVP 処理の前後で 4MMP と α -イオノンの量を測定するといずれも含有量が変わらないことが示された [75]。

2. 食品中での安定性

PVI/PVP は様々な物質と結合するが、化学的にとても安定した物質であり、水、有機溶媒に不溶性を示すこと [63]、pH 3.0 ~ 11.0 の水溶液中でも安定であること（製造メーカー非公開資料） [49]から水やアルコールに不溶であり、食品の酸性度や特定の成分で化学変化することはないと考えられる。更に本品はろ過助剤であることから、例えば酒石（主成分は L-酒石酸水素カリウム）といった不溶物とともに、ワイン中で沈降する（「おり」と呼ばれる。）。おりは製品ワインに残存すると商品としての価値を損なうことから、製成後の各種ろ過工程において徹底的に除去される。PVI/PVP の場合は添加後 1 晩以上静置した上清をデプスシート 6-15 μm 程度等でろ過後さらにデプスシート 1-7 μm 程度でろ過、瓶詰め前にも除菌フィルター等でろ過をする製成後の各種ろ過工程において除去される [8]。製品ワイン中に (PVI/PVP を含む) おりが残存しないことは目視等で確認される。そのため食品中に残存することはない。また、類似物質 PVPP 製品であるダイバガン F、RS の平均粒径が 40~100 μm 程度であることから [146]、上記孔径のフィルターを用いたろ過により PVI/PVP を取り除くことができると考えられる。

2010年にSchubertとGlomnの報告によると [80]、実際にモデルワインにPVI/PVPまたはPVPPを添加後30分で夾雑物であるイミダゾールと2-ピロリドンの量をHPLC-MS²で測定したところ、表10の結果が得られた。この試験ではPVI/PVP、PVPPを0.5g/L添加した。その結果PVI/PVPにおいて、2-ピロリドンは検出限界の8mg/kgを下回る値を、イミダゾールは34-36mg/kgを示した。OIVにおいて指定要請する規格値のPVI/PVPを使用した際にモデルワインに残存する夾雑物の規格値として、2-ピロリドンは25µg/L、イミダゾールは150µg/Lが設定されている [6]。2010年のSchubertとGlomnの実験結果はOIVのモデルワインに残存する夾雑物の規格値を大きく下回る。そのため、PVI/PVPはワイン中で分解されることはなく、安定であることが裏付けされた [80]。

表10 モデルワインへのPVI/PVPとPVPPの処理後30分の夾雑物量

	イミダゾール (mg/kg)	2-ピロリドン (mg/kg)
PVI/PVP-1	34	<8
PVI/PVP-2	36	<8
PVPP-1	Nd	69
PVPP-2	Nd	108
PVPP-3	Nd	103
PVPP-4	Nd	103
PVPP-5	Nd	77
PVPP-6	Nd	79

3. 食品中の栄養成分に及ぼす影響

食品成分に及ぼす影響は以下のとおり。

- (1) PVI/PVPはワイン中の鉄と銅、鉛、アルミニウムなどの金属イオンを減少させる。
- (2) PVI/PVPはワイン中のフェノール化合物を減少させる。
- (3) PVI/PVPはワイン中の香気成分を保持させる。

PVI/PVPは製造元であるBASFの資料によると、乾燥密閉した状態で36ヶ月安定であると記載がある。さらにpH3.0～11.0の水溶液中でも安定であり、最大200°Cまで安定で220°Cから熱劣化がみられたという報告がある（製造メーカー非公開資料） [49]。使用対象食品であるワインのpH領域は通常3～4である [50]。したがって、ワイン中でPVI/PVPが溶解することはない。また、使用基準で使用したPVI/PVPは最終食品の完成前に除去しなければならない、と定めている。そのため、ワイン成分中にPVI/PVPやその夾雑物が持ち込まれる懸念はない。

Ⅲ. 安全性に係る知見

1. 体内動態試験

PVI/PVP は食品添加物の安定性の項で前述したように水やアルコールに不溶で食品の酸性度、特定の成分で化学変化することはない[49] [63]。そのため分解産物に関して考慮する必要はない。しかし、物理化学的性質の(2) 製造方法の項で記載しているように交雑物として1-ビニル-2-ピロリドン、1-ビニルイミダゾール、1-3-ジビニルイミダゾリジン-2-オン、2-ピロリドン及びイミダゾールがあげられる。そのため、これら5つのモノマーに関しては別途考察する必要があると考えた。

(1) PVI/PVP

PVI/PVP に関する体内動態知見は確認することが出来なかった [81] [82]。ただし、FSANZ (2017) によれば、PVI/PVP は不溶性共重合体であり、消化管からの吸収は無視できるとされている [46]

これらは毒性知見ではあるが血液検査は PVI/PVP の血液への吸収による影響に関して、内臓器官については PVI/PVP の体内分布における内臓器官への影響から分布について、尿検査については PVI/PVP の尿への影響から排泄に関連する考察の指針になると考えて記載を行った。

①血液検査

②体内の内臓器官への影響

③尿検査

[REDACTED]

④PVI/PVP の体内動態のまとめ

物理化学的性質の項で述べたように PVI/PVP は水、有機溶媒にも不溶性で、400°Cでも自己分解性を示さない [63]。さらに、PVI/PVP の商品の安全データシートには生体蓄積性の項目に「構造的な特性から、ポリマーは生物利用性がなく、生体蓄積性はないと考えられる。本品は未試験である。記述は、本品の構造に基づくものである」という記載があり、さらに「本製品は、PBT(persistent(残留性)/bioaccumulative(生物蓄積性)/toxic(毒性))又はvPvB(very persistent(極難分解性)/very bioaccumulative(極高蓄積性))の基準を満たすような物質を含有していない。」と記載がある [63]

[REDACTED]

以上のことから指定等要請者は、PVI/PVP を経口摂取した場合、消化管からの吸収は無視できるという FSANZ の考察に同意し、生物学的蓄積も起こらないと考える。

(2) PVI/PVP の夾雑物である 1-ビニル-2-ピロリドン (NVP)

PVI/PVP の夾雑物である NVP に関する体内動態については、EU Risk Assessment Report (2003) においてまとめられている [42]。また、記載に関しては本概要書において食品添加物として申請を行うことから経口試験を主に記載すると共に経口試験による明確な結果がない代謝や排泄の項目に関しては該当する記載を選抜した。

① 吸収

1990 年の Digenis の報告によると [84]、

[REDACTED]

これを受けて、EU Risk Assessment Report (2003) において以下のようにまとめられている [42]。絶食ラット 5 匹(性別不明)に NVP を 0.5mg/kg、7 匹に NVP を 5mg

/kg 強制経口投与した後、0.5、1、2、3、4、5、7 時間後に血液中の NVP の量を調べた。その結果ラットにおいて、投与した濃度に関係なく 0.5 時間から 3 時間の間に血漿中 NVP 濃度が最高値を示した。血漿中 NVP 最高値は経口投与した NVP の濃度に対して正比例の相関を示し、時間曲線下面積も同じく投与した NVP の濃度に対して正比例の相関を示した。NVP の血漿中半減期は約 3 から 4 時間であった。NVP 投与から 7 時間経過しても、血漿中から NVP を検出され、絶対的バイオアベイラビリティは NVP 投与の約 80% であると判断された。

非絶食ラット（各群 5 匹）に NVP を 5mg / kg 単回強制経口投与した。NVP 投与直前と、投与後 0.5、1、2、3、4、5、7 時間に血液を採取し、血漿中の NVP 濃度を測定した。別の非絶食ラット（5 匹）に 12 時間ごと 6 日間、NVP を 0.5mg / kg 反復して経口投与した。NVP 投与直前と、投与後 0.5、1、2、3、4、5、7 時間に血液を採取し、血漿中の NVP 濃度を測定した。その結果、両実験共に約 0.5 時間で NVP の血漿中濃度は最高値を記録し、体内に蓄積されなかった。本試験において、反復経口投与群の非絶食ラットの動態パラメーターは単回経口投与群のものとよく類似していた。

絶食イヌ 3 匹（性別不明）に NVP を 5、10、20 mg / kg 強制経口投与、非絶食イヌ（匹数、性別不明：一晩絶食条件下で過ごさせ、食事の 30 分前に食事を許可した）に NVP を 20 mg/kg 強制経口投与した後、0、0.25、0.5、0.75、1、1.5、2、3、4 時間後に血液中の NVP の量を調べた。それに加え、NVP と同時に Tc99m-DTPA（Technetium-99m-diethylenetriamine-pentaacetic acid）50 μ Ci を経口投与し、少なくとも 1 時間ガンマシンチレーションカメラで観察することで胃排出の時間経過を追跡した。その結果、血漿中の NVP は 0.25~0.75 時間で最高濃度に達した。血漿中の NVP 濃度は NVP 投与量に依存する傾向があるが、個体によって値は異なる。血漿中の NVP 濃度の上昇は胃内容排出時間と相関し、時間曲線下面積も NVP 投与量と比例している。血漿中の NVP の半減期は 0.3~0.6 時間であった。絶食イヌの絶対的バイオアベイラビリティは、5、10、20 mg / kg の場合においてそれぞれ約 29、69、89% だった。20 mg/kg の NVP を与えられた非絶食イヌにおける絶対的バイオアベイラビリティは約 92% だったが、NVP 摂取量が同じ絶食イヌと比べて NVP の胃排出容量はわずかに減少した。

NVP が血漿タンパク質に結合する割合を調べるために、新たにイヌ（匹数、性別不明、絶食、非絶食不明）に 5、20 mg/kg となるように NVP を経口投与した後、血液中の NVP の量を調べる実験も行った。（血液サンプルを採取するまでの時間は明記されていない。）その結果、5 mg/kg 摂取させたイヌは摂取量の 13%、20 mg/kg 摂取させたイヌは摂取量の 10% が血漿タンパク質と結合していた。

さらに広範な研究では、絶食イヌ（beagle）2 匹に 5mg/kg となるように NVP を強制経口投与して血漿中濃度を決定した。血液中の NVP 濃度は、他の実験で確認できている 5mg/kg となるように摂取した場合の結果と似通っていた。

以上の結果から、EU Risk Assessment Report (2003) では以下のようにまとめている [42]。経口摂取された NVP は少量が吸収前に加水分解や重合されるため、経口投与量が少ないとバイオアベイラビリティが減少する。イヌは NVP の経口摂取量が少ないほど、NVP を加水分解や重合させることができる機構を持つと考えられる。NVP の加水分解や重合を阻害したい場合は胃の pH を上げる食事をすれば効果があると考えられる。これらの考察はイヌを使った実験により得られたものだが、イヌの胃の pH はヒトの胃の pH に似ていると考えられるため、ヒトの場合でも同じような結果が得られることが予想される。加えてイヌの場合、NVP は消化管でよく吸収される。

② 分布

1990 年の Digenis の報告によると [84]

これを受けて、EU Risk Assessment Report (2003) において以下のようにまとめられている [42]。ラット雄各 3 匹 (系統未記載) に ^{14}C -NVP (1mg/kg) 強制経口投与を行った後、2, 5, 7 時間後に各臓器 (心臓、肺、脾臓、腎臓、肝臓、すい臓、精巣、副腎、脳、胃、小腸、大腸、盲腸、目) における ^{14}C -の放射線量を測定した。その結果、すべての組織で ^{14}C -の放射線が検出され、全体では 2 時間後では投与量の 52%, 5 時間後では投与量の 22%, 7 時間後では投与量の 30% が観測された。ほとんどの組織は投与された放射能の 1% 未満で、時間経過と共に変動することはなかった。変動を示した肝臓は 2 時間後に 3.4%、7 時間後には 10.4% と時間経過に伴って変動を示していた。この結果から肝臓における NVP の蓄積は時間経過と共に増加することが考えられるが代謝産物などを考慮にいれた考察はない。その他の臓器の中では腎臓、小腸、脾臓で高いレベルの放射線が検出され、合わせて血液と組織液でも比較的高いレベルで検出された。腎臓などと比べると少ないが精巣も検出が認められた。以上の事から ^{14}C -NVP は全身に広く分布していることが示される。ただし、今回の結果では ^{14}C -NVP の状態での分布と ^{14}C を含む NVP の代謝物を表しているのかは不明である。

③ 代謝

2003年のEU Risk Assessment Reportで引用されている1987年のHawiらの報告(原著論文非公開かつ入手不可能)によると[42]、37°Cにおける1.2-7.2の範囲内での様々なpHでのNVPの加水分解について検討し、NVPは酸性条件下で加水分解されることを報告している。加水分解の速度はpHに反比例し、水溶液中のNVPの半減期は、pH 1.2で1.5分、pH 2.2-2.5で20-40分、pH 3.5で6時間、pH 7.2で24時間後も安定に存在していた。加水分解されたNVPの約95%を占める主要な加水分解生成物は、2-ピロリドンとアセトアルデヒド(水和物)として同定され、残りの5%はアセトアルデヒド半水和物であったが、自発重合を受けることも知られているが、生理学的条件下でのこの現象に関する情報は入手できていない。

さらに1992年のYamakitaらの報告では[118]、イヌ及びラットについて、NVPを経口又は静脈注射投与した後の血漿中のNVPをHPLCにより定量し、血漿中におけるNVPのタンパクへの結合に関して検討している。血漿に内部標準物質及び0.5%ラウリル硫酸ナトリウムを加えた溶液を限外ろ過した試料から血漿中のNVPの総量を、血漿に内部標準物質を加えた溶液を限外ろ過した試料から血漿中のタンパクと結合していないNVP量を定量し、血漿中でのNVPのタンパクへの結合比率を算出している。解析の結果、血漿中では9~13%のNVPがタンパクと結合していたと報告している。EU Risk Assessment Report(2003)では、前述のYamakitaらの報告とマイクロソームタンパク質への結合を調査した。

2003年のEU Risk Assessment Reportで引用されている1983年のMcClanahanの報告(原著論文非公開かつ入手不可能)を踏まえ[42]、NVPまたは代謝産物の約12%がタンパク質に結合しており、NVPはアルキル化能を持つ化学種に代謝されないと結論しており、指定等要請者はこの検討結果を支持する。

④ 排泄

1984年のMcClanahanらの報告によると[125]、麻酔下の雄ラット(Sprague-Dawley各群2匹または4匹：平均体重 230.9 ± 42.6 g)に ^{14}C -NVP(1.7 mCi/mmol)水溶液を1.16 μCi (2匹)、2.0 μCi (4匹)、2.86 μCi (2匹)、5.0 μCi (4匹)の用量で頸静脈から投与後、個体別に尿、糞便、呼気(1.16、2.86 μCi の投与群のみ)を採取した。12時間後には2.0、5.0 μCi の投与群で投与の $85.8 \pm 14.3\%$ 、 $74.9 \pm 13.7\%$ が尿から、 $1.06 \pm 0.34\%$ 、 $0.43 \pm 0.3\%$ が糞便から検出された。最初の12時間で ^{14}C -NVPの状態のまま尿中に排出されたのは2.0 μCi の投与群で $0.0 \sim 0.389\%$ 、5.0 μCi の投与群 $0.0 \sim 0.585\%$ と記載されている。2.86 μCi (2匹)の投与群(投与後24時間まで)は投与量の 70.23% ($58.33 + 11.19 + 0.71$)又は 66.05% ($48.88 + 17.17$)が尿から、投与量の 7.84% ($6.32 + 1.52$)又は 1.9% ($1.20 + 0.70$)が糞便から、 2.07% ($1.16 + 1.24 + 0.27$)又は 0.81% ($0.49 + 0.06 + 0.26$)が呼気から検出された。1.16 μCi (2匹)の投与群(投与後24時

間²まで)は投与量の92.53%(65.39+27.14)又は75.07%(66.73+8.34)が尿から、投与量の1.03%(0.87+0.16)又は1.56%(0.52+1.04)が糞便から、1.96%(1.44+0.52)又は2.63%(1.86+0.77)が呼気から検出された。呼気は2.86 µCiの投与群で48時間後まで、1.16 µCiの投与群で54時間後まで測定したが総測定量が3.5%を超える個体はなかった。呼気での総排出量は1.16 µCiの投与群(54時間)で3.06%³と1.29%⁴、2.86 µCiの投与群(48時間)で3.21%であった。(2.86 µCiの投与群の1匹は30時間以降の測定ができていないため、指定等要請者は総排出に結果を記載しなかった。)

また同報告において、麻酔下の雄ラット(Sprague-Dawley、4匹、平均体重285.5±20.3 g)に¹⁴C-NVP(1.7 mCi/mmol)水溶液を5.0 µCiの用量で頸静脈から単回投与し投与後6時間まで胆汁のサンプルを収集し、総放射能と親化合物であるNVP濃度を測定した。その結果、投与量の18.7±0.09%の放射線量が胆汁で検出された。その中で代謝されていないと考えられる¹⁴C-NVPは0.46±0.003%であった。

これを受けて2003年のEU Risk Assessment Reportでは以下のように記載している。麻酔下の雄ラット(Sprague-Dawley各群2匹または4匹)に¹⁴C-NVP水溶液を0.3、0.5、0.8または1.3 mg/kgの用量⁵で頸静脈から投与後、代謝ケージで個体別に最長6日間、尿、糞便、呼気を採取した。尿は総放射能濃度測定のために分析され、さらに親化合物であるNVP濃度測定尿中代謝物の化学特性を同定するために分析された。糞便の分析は総放射能に関してのみ行われ、ある群から採取した呼気中の¹⁴CO₂濃度が分析された。投与量の70~90%は投与後18時間で尿から排泄された。1日目の糞便の排泄は、投与量の1~8%を占め、呼気では投与量の1~3%を吐き出した。その後6日目までの尿、糞便、または呼気のサンプルから回収された用量は1%未満であった。

² 測定は6時間と18時間後の2回

³ 1.16+1.24+0.27+0.09+0.30=3.06%

⁴ 0.49+0.06+0.26+0.11+0.37=1.29%

⁵ 1984年のMcClanahanらの報告から¹⁴C-NVP(1.7 mCi/mmol)、使用した雄ラットの平均体重は230.9±42.6 gである。2003年のEU Risk Assessment ReportからNVPの分子量=111.14 gである。以上の値を用いて1984年のMcClanahanらの報告の1.16、2.0、2.86、5.0 µCiは下記のように換算できる。

$$1.16 \mu\text{Ci} \div 1.7 \mu\text{Ci} \times 111.14 \mu\text{g} \div 230.9 \text{ g} = 0.328 \mu\text{g/g} \doteq 0.3 \text{ mg/kg}$$

$$2.0 \mu\text{Ci} \div 1.7 \mu\text{Ci} \times 111.14 \mu\text{g} \div 230.9 \text{ g} = 0.566 \mu\text{g/g} \doteq 0.5 \text{ mg/kg}$$

$$2.86 \mu\text{Ci} \div 1.7 \mu\text{Ci} \times 111.14 \mu\text{g} \div 230.9 \text{ g} = 0.806 \mu\text{g/g} \doteq 0.8 \text{ mg/kg}$$

$$5.0 \mu\text{Ci} \div 1.7 \mu\text{Ci} \times 111.14 \mu\text{g} \div 230.9 \text{ g} = 1.415 \mu\text{g/g} \doteq 1.4 \text{ mg/kg}$$

5.0 µCiの値が2003年のEU Risk Assessment Reportで示されている値と誤差がある。指定等要請者は投与されたラットすべての平均体重の値(230.9 g)としているが、McClanahanらの報告には平均体重の誤差が±42.6 gと示されており、投与群によって匹数も異なる。平均体重に誤差分を加えた場合は $5.0 \mu\text{Ci} \div 1.7 \mu\text{Ci} \times 111.14 \mu\text{g} \div (230.9 + 42.6) \text{ g} = 1.195 \mu\text{g/g}$ と計算される。以上の事から2003年のEU Risk Assessment Reportで $5.0 \mu\text{Ci} \doteq 1.3 \text{ mg/kg}$ は妥当性のある換算といえる範囲内であると指定等要請者は考える。

また同報告において麻酔下の雄ラット (Sprague-Dawley、4 匹) に約 1.1 mg / kg⁶の ¹⁴C-NVP 水溶液を頸静脈から単回投与し投与後 6 時間までの間隔で胆汁のサンプルを収集し、総放射能と親化合物である NVP 濃度を測定した結果、投与された放射能の 19%がこの経路で排泄されたことが明らかになった。投与された放射能のわずか 0.4%がこの用量の投与の 12 時間後に糞便から回収されたとすると、これは NVP の胆汁代謝物が大規模な腸肝再循環を受けることを示している。

2003 年の EU Risk Assessment Report で引用されている 1987 年の McClanahan らの報告 (原著論文入手不可能) によると [42]、雄ラット (4 匹、系統不明) に側鎖を ¹⁴C で標識した N- [¹⁴C-ビニル]-2-ピロリドンと環を ³H で標識した [4-³H]-N-ビニル-2-ピロリドンを混合した状態で 6 mg/kg 静脈注射で投与した。その後、尿内の放射線量を 6 時間と 12 時間後、以降 6 日目まで 1 日毎に測定、糞便からの放射線量も 1 日毎に測定した。その結果、¹⁴C と ³H の尿および糞便の排泄プロフィールは非常に類似していた。¹⁴C と ³H のいずれも投与後 12 時間以内に投与量の約 68%が尿から検出され、2 日目までに 90%が尿から検出されたが、NVP の未変化体としては尿からの検出はほとんどなかった。また、¹⁴C と ³H の糞便からの排泄はいずれも 6 日までで 5~8%であった。尿でのサンプルからより詳細な分析を行い、代謝産物について構造の特定を図った。その結果、投与量の 50%と 33%を占め、¹⁴C と ³H の両方を含む 2 つの主要代謝物の存在が明らかになったが、これらの構造は特定できなかった。3 つの少量代謝産物は、N-ビニルスクシンイミド、2-ピロリドン、および N-アセチル- γ -アミノ酪酸として同定され、それぞれ投与量の約 5、6、5.6%を占めている。そのほか、微量代謝産物として ¹⁴C を含む代謝産物と ³H を含む代謝産物の 2 種類がそれぞれ投与量の約 5、2.2%を占めているが、これらの構造を特定することはできなかった。

以上のことから EU Risk Assessment Report では以下のようにまとめられている [42]。

ヒトにおける NVP の毒物 (薬物) 動態 (トキシコキネティクス) に関する有用な情報は得られていない。動物に関しては、NVP の毒物 (薬物) 動態 (トキシコキネティクス) は、ラットを用いて詳細に検討され、明らかにされている。イヌにおける情報も得られている。NVP は経口および吸入経路により急速に、かつほとんどが吸収される。その物理化学的特性は、皮膚も容易に透過することを示唆している。母化合物 NVP の経口投与による生物学的利用能 (バイオアベイラビリティ) は、胃内での NVP の加水分解及び/又は重合により、低下する可能性があることを示す証拠がある。ラットにおいて、NVP の血漿中半減期は約 3 時間であるが、イヌではわずか 20~40 分である。この種差の理由は不明である。代謝研究は、ラットでのみで行われている。本動物種において、

⁶ 1984 年の McClanahan らの報告から ¹⁴C-NVP (1.7 mCi/mmol)、使用した雄ラットの平均体重は 285.5 ± 20.3 g である。2003 年の EU Risk Assessment Report から NVP の分子量 = 111.14 g である。以上の値を用いて 1984 年の McClanahan らの報告の 5.0 μ Ci は下記のように換算できる。

$5.0 \mu\text{Ci} \div 1.7 \mu\text{Ci} \times 111.14 \mu\text{g} = 285.5 \text{ g} = 1.144 \mu\text{g/g} \doteq 1.1 \text{ mg/kg}$

NVP は広範に代謝され、極性の高い化合物が形成されるが、これらは主に尿中に、急速に排泄される。しかし、NVP の 2 種の尿中主要代謝物についての特性は明らかにされていない。他の排泄経路には糞便（胆汁経由）及び CO₂として呼気中への排泄があり、それぞれ投与量の 5~8%および 3%を占めている。NVP とその代謝物の血漿タンパク質や DNA に対する結合はそれほど高くはない。

この考察を受けて指定等要請者は 1990 年の Digenis の報告を受けて、EU Risk Assessment Report (2003) 報告しているように NVP を経口投与した時にイヌやラットで数十分から数時間で血中の NVP 濃度が上昇することから急速に吸収されると考えられる [42]。また、2003 年の EU Risk Assessment Report で引用されている 1987 年の McClanahan らの報告によると排泄の項にあるように投与後 18~48 時間以内にその 90%以上が尿から排泄されることが示されている [42]。さらに分布を見ると 1990 年の Digenis の報告を受けて、EU Risk Assessment Report (2003) でも報告しているように [42]、7 時間後に肝臓に 10%の分布が見られるがその他の臓器は総じて低い値を示している。肝臓は体重の約 50 分の 1 の重さを持つ臓器で血液の保有量も多い[126]。そのため血液中に吸収された NVP の影響を強く受けたと考えられる。上記の実験では 7 時間後以降のデータはないため考察となるが、1984 年の McClanahan らの報告によると投与後 6 日後までに尿や糞便から投与量の最大 98%が排泄されるため、肝臓に特異的に蓄積していくとは考えにくい[125]。以上のことから NVP は経口投与後、急速に吸収、排泄されることが示され、生物学的蓄積はないと指定等要請者は考えた。

(3) PVI/PVP の夾雑物である 1-ビニルイミダゾール (NVI)

PVI/PVP の夾雑物である NVI の体内動態知見は確認することが出来なかった [81] [82]。

2020 年の ECHA の報告では、20°Cの水に NVI は完全に混和することが記載されている [85]。さらに、解離定数を元に化学構造—物性計算ソフトウェアである SPARC v4.5 を使用して求められたオクタノール/水分配係数は 0.54 であり、生物学的蓄積はないという考察がされている。また、ECHA は動物福祉の理由から、生体内蓄積に関する研究を行わないとしている [86]。

指定等要請者は以上のことから NVI の生物学的蓄積はないという考察を支持するが毒性知見を踏まえて安全性を考慮する必要があると考えた。

(4) PVI/PVP の夾雑物である 1-3-ジビニルイミダゾリジン-2-オン (DVI)

PVI/PVP の夾雑物である DVI の体内動態知見は確認することが出来なかった [81] [82]。

酸性条件下（低い pH 値）では 1,3-ジビニルイミダゾリジン-2-オンは不安定であるため、イミダゾリジノンとアセトアルデヒドに分解され、イミダゾリジノンは尿素とエチレングリコールに分解する [6]

用対象食品であるワインの pH は一般的に 3.0~4.0 の酸性を示す[50]。

そこでアセトアルデヒド、尿素及びエチレングリコールの体内動態に関する知見についても記載する。

(ア) アセトアルデヒド

我が国でアセトアルデヒドは第 9 版食品添加物公定書に添加物として記載されている [56]。2006 年に規格が新設され、2020 年 1 月まで改正されていない [87]。使用基準の項目でアセトアルデヒドは、「着香の目的以外に使用してはならない。」という記載されている [56]。2005 年 7 月の食品安全委員会の食品健康影響評価に関する審議結果によるとわが国におけるアセトアルデヒドの一日当たりの想定される推定摂取量は約 19 mg/ヒト/日であり、摂取許容値は 1,800 µg/ヒト/日として以下のように記載されている [88]。

『引用開始

アセトアルデヒドは水にも油にも極めて溶けやすく、経口で容易に吸収されるが、初回通過効果によって大部分が肝臓で代謝、若しくは肝細胞の膜表面タンパクとの結合等により除去されることから、循環血中に入る量は極めて少ない。また一部は、食道粘膜、胃、結腸といった消化管内でもアルデヒド脱水素酵素 (ALDH) により代謝される。ALDH によるアセトアルデヒドから酢酸への代謝は、フリーラジカル又は他の毒性を有する中間代謝物の生成を伴うものではなく、ALDH 以外にもアルデヒド酸化酵素等による代謝といった別ルートも存在する。

なお、ALDH は、成人のみでなく胎児及び幼児においても肝臓等で認められ、ヒト胎児の肝臓におけるアルデヒド酸化能は、成人の約 1/10~1/5 に相当するとの報告がある。アセトアルデヒドの生体内生成量については、測定に大きなばらつきがあるものの、正常人の血中濃度として 1.3 µM²⁶⁾ 及び 3.9 µM²⁷⁾ 程度のアセトアルデヒドが検出されるとの報告がある。過大な見積もりではあるが、わが国におけるアセトアルデヒドの一日当たりの想定される推定摂取量 (約 19 mg/ヒト/日) を一度に摂取し、かつ摂取したアセトアルデヒドが

100%吸収され、また初回通過効果による代謝を受けずに体内に分布したとしても、血中濃度は14 μM を超えることはないと考えられる。しかしながら、香料として使用される量（濃度）程度のアセトアルデヒドを含む食品を日常の食生活において摂取する状況は、この仮定とは大きく異なり、実際には、経口摂取したアセトアルデヒドの全てが直接体内に吸収されることはなく、消化管及び肝臓のALDH等で大部分が酢酸に代謝されると考えられる。

なお、ヒトのデータではないものの、哺乳類のアセトアルデヒドの代謝（酸化）速度は、肝臓1gあたり0.75 $\mu\text{mol}/\text{分}$ との報告もあり、ヒトでも同様とすると成人の肝臓（約1kg）の処理能力は750 $\mu\text{mol}/\text{分}$ （約33 mg/分）であり、例えば前述のような摂取状況（約19 mg/日を一度に摂取し、かつ100%吸収されるとした場合）であったとしても、肝臓において1分以内に代謝されると考えられ、初回通過効果によって循環血中に入る量は極めて少ないと考えられる。ちなみに、推定摂取量（約0.38 mg/kg 体重/日）の約24倍に相当する約9 mg/kg 体重のアセトアルデヒドを雄ラットの胃内に一度に投与した後の全身循環血液中アセトアルデヒドの最高濃度は10 μM 以下であった。

なお、ALDHの遺伝的多型性とアルコール代謝との関連が報告されており、日本人ではALDH₂型欠損のヒトが多いことが知られている。ALDH₂型の欠損により、アルコール感受性が高いヒトの場合は、感受性が低いヒトと比較して血中アルデヒド濃度が上昇しやすい可能性はあるが、別の代謝経路が補完的に働くものと考えられる。

1.1. 評価結果

アセトアルデヒドは、高用量の吸入暴露により発がん性を示す。Ames試験では陰性であったものの、その他の遺伝毒性試験等において陽性の結果が得られていることから、定性的には遺伝毒性を有するものと考えられるが、今後は定量的評価も必要となろう。なお、発がん標的臓器における遺伝毒性に関する試験データは得られていない。

また、本物質の想定される推定摂取量はクラスIの摂取許容量を超えており、11週間反復投与試験に基づく安全マージンは適切な安全マージン1,000を下回っている。

しかしながら、

- ・吸入試験の用量は、想定されるヒトの暴露量より高いレベルであり、認められた発がん性は細胞毒性の強いアセトアルデヒドの直接暴露によるものと推定される。
- ・本物質は、果物や酒類など日常の食品から摂取しており、その量は香料として意図的に添加されて摂取する量よりも多いと想定される。
- ・食品として摂取していると想定される量のレベルでは、消化管粘膜にあるアルデヒド脱水素酵素(ALDH)により酢酸へと代謝を受けたり、タンパク質との結合により除去されること、また、たとえ消化管から吸収されたとしても肝臓における初回通過効果により大部分が代謝され、全身循環血中にはほとんど入らないと考えられる。
- ・本物質は生体成分であり、長年欧米における使用実績があり、香料としての使用による健康被害の報告はない。

・JECFA では、本物質はクラス I に分類され、推定摂取量はクラス I の摂取許容量を上回るが、完全に生体成分に代謝され、かつそのレベルは生理的範囲を超えないと予測されるため香料としての安全性の問題はないと評価されている。

以上を総合的に判断すると、アセトアルデヒドは、完全に生体成分に代謝され、かつそのレベルは生理的範囲を超えないと予測されるため、食品の着香の目的で使用する場合、安全性に懸念がないと考えられると評価した。

引用終了』

2005 年の食品安全委員会の報告以降、評価結果を変更するようなアセトアルデヒドの毒性試験の報告はない[147]。そのため、この審議結果を受けて PVIPVP をぶどう酒における製造用剤として使用した場合の夾雑物 DVI の分解から摂取されるアセトアルデヒドの量と評価書でのわが国におけるアセトアルデヒドの一日当たりの想定される推定摂取量と比較して審議結果を準用できると考えた。PVI/PVP に含まれる DVI の規格値は $2\mu\text{g}/\text{g}$ 以下であるので単純に分子量で換算するとアセトアルデヒドは $1.28\mu\text{g}/\text{g}$ ⁷ 以下と考えられる。使用基準案に沿って PVI/PVP を最大量 ($0.5\text{g}/\text{L}$) 使用した場合、DVI 由来のアセトアルデヒドは $0.64\mu\text{g}/\text{L}$ ⁸ と算出される。つまり、仮にワインを 1 日に 1 L 飲んだとしてもわが国におけるアセトアルデヒドの一日当たりの想定される推定摂取量である $19\text{mg}/\text{ヒト}/\text{日}$ の 0.0034% ⁹、約 10 万分の 3 の摂取量しかない。さらに、我が国のぶどう酒の 1 日摂取量はぶどう酒を好んで摂取したとしても $49.3\text{mL}/\text{人}/\text{日}$ と推計される。(詳しい計算式は 1 日の摂取量の推計に記載) 49.3mL 中の DVI 由来のアセトアルデヒドは $0.032\mu\text{g}$ ¹⁰ と算出される。これはわが国におけるアセトアルデヒドの一日当たりの推定摂取量の 100 万分の 1¹¹ の摂取量である。

1996 年の Matysiak-Budnik らの報告によると[127]、Wistar ラット (雄、8 匹、体重が $432\text{-}540\text{g}$) を用いて、グループ A (4 匹) は食道から、グループ B (4 匹) は結腸から 20mM のアセトアルデヒド溶液をそれぞれ 5ml 又は 3ml 投与した。その後、血中のアセトアルデヒド濃度を投与から 0、5、15 及び 30 分後の時間に測定した。その結果、どちらのグループにおいても、アセトアルデヒドの濃度ピークが投与 5 分後に観察された。また、その濃度は門脈において大腿よりも約 10 倍高い値を示した。これらの結果から、

⁷ $2\mu\text{g}/\text{g} \div 138.17$ (DVI 分子量) $\times 44.1$ (アセトアルデヒド分子量) $\times 2$ (DVI1 分子から分解されるアセトアルデヒド) $= 1.28\mu\text{g}/\text{g}$

⁸ $1.28\mu\text{g}/\text{g} \times 0.5\text{g}/\text{L} = 0.64\mu\text{g}/\text{L}$

⁹ $0.64\mu\text{g} \div 19\text{mg} \times 100 = 0.0034\%$

¹⁰ $0.64\mu\text{g}/\text{L} \times 49.3\text{mL} = 0.032\mu\text{g}$

¹¹ $0.032\mu\text{g} \div 19\text{mg} = 1.7 \times 10^{-6}$

Matysiak-Budnik らは、胃内や内部結腸から投与されたアセトアルデヒドが効率的に門脈循環に吸収され、結合や代謝されていることを示すと考察している。

2000 年の Nakao らの報告によると[128]、EPR スピントラップ法を用いた In vitro（牛肉心臓ミトコンドリア）や In vivo（Sprague-Dawley ラット（雄、体重が 300-450 g））の試験において、アセトアルデヒドを投与した群からアセチルラジカルやメチルラジカルに起因する EPR スペクトルの変化が観察されている。これらの結果から、Nakao らは、アセトアルデヒドが生体内や生体外でアセチルラジカルやメチルラジカルに代謝されることが証明されたと考察している。

1984 年の Yoshida らの報告によると[129]、東洋人の約 50%が ALDH₂を保有していない非定型であるが、その代わりに交差反応性の生成物である CRM を有しており、ALDH₂と CRM の違いについて報告している。その結果、ペプチドマッピングや逆相クロマトの結果において違いが見出されている。ただし、Yoshida らは ALDH₂の欠損はアルコール感受性が鋭い可能性があることを除けば、生理的に正常であり、中には ALDH₂のみを有する者もいることから、ALDH₁と ALDH₂は各々を補っているものと考察している。

指定等要請者はこれらの報告をから、以下のように考えた。2005 年 7 月の食品安全委員会の食品健康影響評価に関する審議結果の評価結果として『アセトアルデヒドは、高用量の吸入暴露により発がん性を示す。Ames 試験では陰性であったものの、その他の遺伝毒性試験等において陽性の結果が得られていることから、定性的には遺伝毒性を有するものと考えられるが、今後は定量的評価も必要となろう。なお、発がん標的臓器における遺伝毒性に関する試験データは得られていない。』と記載されている。しかし、同報告書で記載しているように 1996 年の Matysiak-Budnik らの報告より[127]、食品として摂取していると想定される量のレベルでは、消化管粘膜にあるアルデヒド脱水素酵素(ALDH)により酢酸へと代謝を受けたり、タンパク質との結合により除去される。また、たとえ消化管から吸収されたとしても肝臓における初回通過効果により大部分が代謝され、全身循環血中にはほとんど入らないと考えられる。1984 年の Yoshida らの報告より[129]、日本人では ALDH₂型欠損のヒトが多いことが知られているため、ALDH₂型の欠損により、アルコール感受性が高いヒトの場合は、感受性が低いヒトと比較して血中アルデヒド濃度が上昇しやすい可能性はあるが、別の代謝経路が補完的に働くものと考えられる。アセトアルデヒドは第 9 版食品添加物公定書に添加物として記載されている指定添加物であり [56]、PVI/PVP に含まれる DVI を起源とするアセトアルデヒドの対象食品から摂取量は現状の指定添加物の摂取量の 100 万分の 1 以下であることから安全性に懸念はないと考える。さらに、通常ワイン中には 4～500mg/L のアセトアルデヒドが含まれている[130]。そのためワイン中の DVI 由来のアセトアルデヒドのみを検出することは困難である。以上のことから安全性に懸念はない摂取量と考え、以降の検証対象から除いた。

(イ) 尿素

人体における尿素はアンモニウムイオンを尿素に変換する尿素回路によって生産され、尿中に速やかに排泄される [89]。そのため、人体に尿素は通常存在しており、尿中に排泄されると考えられる。これを裏付けるために 2001 年に ^{14}C で標識した尿素をラットに経口投与した報告がある [90]。

①吸収

2001 年の野村らの報告によると [90]、SD ラット (7~8 週齢雄 3 匹) に 15 時間の絶食の後、 ^{14}C 尿素 (2mg/kg) を強制経口投与した。投与した後、5、15、30 分、1、2、4、6、8、10、24 時間で血液サンプルを採取した。その結果、血漿中の放射線量は 30 分後に最も高い値を示し、その後時間経過と共に減少していき 24 時間後にはほぼ検出されなかった。

②分布

2001 年の野村らの報告によると [90]、SD ラット (7~8 週齢雄 3 匹) に 15 時間の絶食の後、 ^{14}C 尿素 (2mg/kg) を強制経口投与した。投与した後、30 分、4、8、24、72 時間で脱血死させ、臓器 (脳、松果体、下垂体、甲状腺、副腎、心臓、大動脈 (胸部)、脾臓、胸腺、腸間膜リンパ節、顎下リンパ節、顎下腺、舌、肝臓、膵臓、胃、小腸、大腸、胃内容物、小腸内容物、大腸内容物、気管、肺、腎臓、膀胱、精巣、精囊腺、前立腺、精巣上体、眼球、ハーダー腺、筋肉 (大腿部)、脂肪、褐色脂肪、皮膚、骨 (大腿部)、骨髄) の放射線量を測定した。脳および眼球中放射能濃度は投与後 4 時間で最高値を示したが、ほとんどの組織中放射能濃度は血漿中放射能濃度の最高値 (1675ng eq./mL) である 30 分において最も高かった。投与後 4 時間では腎臓および膀胱に高い放射能濃度が認められ、血漿中濃度 (811ng eq./mL) のそれぞれ 3.3 倍および 2.4 倍を示した。最高濃度到達時間以後、消化管、脳、膀胱を除く各組織中濃度は血漿中濃度と平行して減少し、膀胱中濃度は 8 時間まで血漿中濃度よりも 2.4~10.1 倍高い濃度で推移した。投与後 24 時間では、大腸およびハーダー腺にそれぞれ最高濃度の 6% および 2% の濃度が認められた以外はすべて測定信頼限界未満に低下し、投与後 72 時間ではすべての組織中濃度は信頼限界未満に低下した。

③代謝

2001 年の野村らの報告によると [90]、SD ラット (7~8 週齢雄 3 匹) に 15 時間の絶食の後、 ^{14}C 尿素 (2mg/kg) を強制経口投与した。投与した後、30 分、8 時間における血漿中のメタノール抽出物のラジオクロマトグラムで代謝物を確認した。その結果、どちらの時間においても 98% 以上が未変化体の尿素として測定された。さらに、投与後 24 時間の尿においても同様にラジオクロマトグラムで代謝物を確認した。その結果、すべて未変化体の尿素として確認された。

④排泄

2001年の野村らの報告によると [90]、SD ラット (7~8 週齢雄 3 匹) に 15 時間の絶食の後、 ^{14}C 尿素 (2mg/kg) を強制経口投与した。投与した後、4、8、24、48、72、96 時間まで呼気を分別回収し、呼気中の ^{14}C を測定した。また、尿及び糞は投与した後、24、48、72、96 時間まで分別回収し ^{14}C を測定した。その結果、96 時間後までの排泄量は尿中に 95.1%、糞中に 1.2%、呼気中 3.5%であった。また、呼気や糞からは 24 時間以降 ^{14}C は測定限界以下であった。

以上の結果を受けて指定等要請者は尿素を経口摂取した場合、95%以上が尿から排泄され、残りの尿素も糞や呼気から排泄され投与後 48 時間でほぼ 100%排泄されることが示された。また、代謝物の確認や組織特異的な蓄積も確認されなかったこと、人類も尿素回路を保持していることから尿素は経口摂取後、速やかに吸収され排泄が行われるため指定等要請者は生物学的蓄積を考慮に入れる必要はないと考えられる。PVI/PVP に含まれる DVI の規格値は $2 \mu\text{g}/\text{g}$ 以下であるので単純に分子量で換算すると尿素は $0.87 \mu\text{g}/\text{g}$ ¹²以下と考えられる。使用基準案に沿って PVI/PVP を最大量 ($0.5 \text{g}/\text{L}$) 使用した場合、DVI 由来の尿素は $0.435 \mu\text{g}/\text{L}$ ¹³と算出される。つまり、仮にワインを 1 日に 1 L 飲んだとしても、DVI 由来の尿素は $0.435 \mu\text{g}$ である。さらに、我が国のぶどう酒ワインの 1 日摂取量はぶどう酒を好んで摂取したとしても $49.3 \text{mL}/\text{人}/\text{日}$ と推計される。(詳しい計算式は 1 日の摂取量の推計に記載) 49.3mL 中の DVI 由来の尿素は $0.021 \mu\text{g}$ ¹⁴と算出される。これは極めて微量である。尿素は人体で尿素回路によって生産され速やかに排泄されること、尿素の微量分析の検出限界値は $0.1 \mu\text{g}/\text{g}$ であり [141]、PVI/PVP に含まれる尿素は検出限界以下であることから指定等要請者は DVI 由来の尿素は安全性に懸念がない摂取量と考え、検証対象から除いた。

(ウ) エチレングリコール

エチレングリコールは自然界では植物ホルモンの 1 つであるエチレンが加水分解することで形成される。哺乳類の体内器官がエチレンを産生する報告や脊椎動物の代謝によってエチレンが発生するという報告はないが、植物や微生物がエチレンを生成し代謝する [91]。また、エチレングリコールはポリエチレンテレフタレート製造や不凍剤としても使用されている [92]。そのため、我々の日常生活において接触する機会が多い。2006 年に国立医薬品食品衛生研究所が報告したエチレングリコール：ヒトの健康への影響をまとめた報告書 (2002 : WHO 作成) では [93]、エチレングリコールの推定最大摂取量は $248.3 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日と試算されている。この数値は各種媒体(大気、土壌、食品、消費者製品)の最大エチレングリコール濃度 (100%) を吸収しているという想定に基づく。また、同報告書ではエ

¹² $2 \mu\text{g}/\text{g} \div 138.17$ (DVI 分子量) $\times 60.06$ (尿素分子量) $= 0.87 \mu\text{g}/\text{g}$

¹³ $0.87 \mu\text{g}/\text{g} \times 0.5 \text{g}/\text{L} = 0.435 \mu\text{g}/\text{L}$

¹⁴ $0.435 \mu\text{g}/\text{L} \times 49.3 \text{mL} = 0.021 \mu\text{g}$

エチレングリコールは実験動物およびヒトでグリコアルデヒドやアルコールデヒドロゲナーゼが触媒する反応によって代謝されエチレングリコール、グリコール酸、シュウ酸カルシウム、グリシンとして尿中に排泄されると記載がある。また、同報告書ではエチレングリコールの毒性に関して以下のようにまとめている。

引用開始

『 エチレングリコールの毒性は、主に代謝産物(特に、グリコール酸とシュウ酸)を介して発現するという有力な証拠がある。エチレングリコールの代謝に関与すると考えられる経路はヒトと他の哺乳類で定性的には類似するが、定量的な違いについては十分に研究されていない。

エチレングリコールは、経口、吸入、皮膚暴露後の実験動物に対して低い急性毒性を示す。ヒトと動物双方でごく弱い皮膚刺激を誘発している。鼻や咽喉の刺激がエチレングリコールを吸入した少数の被験者で報告されたが、高濃度では重篤な刺激をもたらした。実験動物では、は永久的な角膜の損傷を伴わないきわめて弱い結膜刺激のみを誘発している。エチレングリコールによる感作誘発に関するデータは確認されていない。

エチレングリコールは、ラットとマウスを用いた 2 年間バイオアッセイと、主に限られた初期のバイオアッセイでは、発がん性を示していない。少数の確認された *in vitro* および *in vivo* 試験では、遺伝毒性を示していない。

急性中毒症例(ヒト)と反復投与毒性試験(実験動物)からの入手データは、ヒトと実験動物双方で腎臓がエチレングリコール毒性の決定臓器であることを示している。一貫して、代謝性アシドーシスと腎の非腫瘍性退行性変化(尿細管拡張・変性およびシュウ酸カルシウム沈着を含む)が、さまざまな動物種において最も低い用量で観察されている。

かなり広範なデータベースによると、エチレングリコールは全ての暴露経路を介してラットとマウスに発生毒性を誘発するが、雄ラットの腎毒性誘発量より高い用量においてである。実際、ときには母体毒性量より低い用量で、おもに骨格変異と外表奇形を誘発する催奇形性を示しているが、その感受性はマウスのほうがラットより高い。生殖能に対するエチレングリコールの影響は、マウスとラットを用いた適切な試験で広く研究されている。反復投与毒性試験では、生殖器官に対する有害作用の証拠はない。ラットの 3 世代試験やマウスの継続繁殖試験などの特殊毒性試験では、生殖毒性の証拠はマウスに限られ(ラットやウサギではみられない)、マウスの発生毒性あるいはラットの腎毒性誘発量よりかなり高用量への暴露においてであった。

神経行動・神経学的障害がヒトの急性エチレングリコール中毒例で報告されているが、長期暴露に関連する神経学的または免疫学的影響を評価するのに十分といえるデータはない。これまで確認されている少数の研究では、神経学的影響は腎毒性誘発用量よりも低い用量では認められていない。動物数種をエチレングリコールに経口あるいは吸入暴露した反復投与毒性試験では、免疫系関連パラメータへの投与に起因する一貫した影響は観察されていない。

動物での非腫瘍性の腎毒性に対して算出された 1 日当たり 49mg/kg 体重というベンチマークドースおよび不確実性係数 1000 に基づいて、1 日当たり 0.05 mg/kg 体重という耐容摂取量が算定された。しかしながら、最も感受性の高い動物モデルでの腎病変の進行に関する情報がおもに

欠如しているため、この耐容摂取量は不確実である。点排出源付近の一部の年齢層での、または消費者製品から吸収する成人での極めて不確実な推定例では、暴露量は耐容摂取量にほぼ等しいか、これを上回る。腎病変の進行をよく見極め、暴露推定値の精度を高めるための追加試験が望まれる。引用終了』

2006年の国立医薬品食品衛生研究所が報告以降、エチレングリコールの耐容摂取量を変更するような報告はない[148]。2006年に国立医薬品食品衛生研究所が報告でエチレングリコールの物質の特性は無色透明無臭の、比較的揮発性の粘稠液体である。甘味を有し、口に入れると舌に温感を与える。蒸気圧は比較的低く(20°Cで7~12 Pa)、ヘンリー定数も低く $5.8 \times 10^{-6} \sim 6.0 \times 10^{-3} \text{ Pa}\cdot\text{m}^3/\text{mol}$ である。水に完全に混和する。吸湿性が強く、相対湿度100%ではその重量の2倍の水を吸収する。オクタノール/水分配係数(log Kow)は、-1.36と非常に低い[93]。そのため、本概要書の対象食品であるぶどう酒中では完全に混和していると考えられる。さらに、同報告書の中にイタリアワインの44試料すべてでガスクロマトグラフ質量分析によりエチレングリコールが検出されている[93]。このことからぶどう酒にエチレングリコールが含まれた場合、分解などは起こらず混和していると考えられる。そこで2006年に国立医薬品食品衛生研究所が報告にある推定最大摂取量と経口曝露耐容摂取量からPVI/PVP由来のエチレングリコールの安全性を考察することにした。2006年に国立医薬品食品衛生研究所が報告にあるように、ヒトはエチレングリコールを日常的に摂取し、代謝、排泄している。安全性に関する評価を行うために、アセトアルデヒドや尿素と同様にPVI/PVPに含まれるエチレングリコールの量を推計し、報告書と比較した。PVI/PVPに含まれるDVIの規格値は $2\mu\text{g}/\text{g}$ 以下であるので単純に分子量で換算するとエチレングリコールは $0.898\mu\text{g}/\text{g}^{15}$ 以下と考えられる。使用基準案に沿ってPVI/PVPを最大量(0.5g/L)使用した場合、DVI由来のエチレングリコールは $0.449\mu\text{g}/\text{L}^{16}$ と算出される。つまり、仮にワインを1日に1L飲んだとしても、DVI由来のエチレングリコールは $0.449\mu\text{g}$ である。これはエチレングリコールの検出限界値(水試料 $0.8\mu\text{g}/\text{L}$)よりも少ない[142]。さらに、我が国のぶどう酒ワインの1日摂取量はぶどう酒を好んで摂取したとしても $49.3\text{mL}/\text{人}/\text{日}$ と推計される。(詳しい計算式は1日の摂取量の推計に記載)49.3mL中のDVI由来のエチレングリコールは $0.022\mu\text{g}^{17}$ と算出される。この値に食品安全委員会が定める食品健康影響評価に用いる平均体重である55.1kgで割ることでmg/kg体重/日を推計すると[119]、ぶどう酒から摂取されるDVI由来のエチレングリコールは $4.00 \times 10^{-4}\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日¹⁸と推計された。これは2002年のWHOのエチレングリコールの推定最大摂取量の100万分の1程度($4.00 \times 10^{-4} \div 248.4 = 1.61 \times 10^{-6}$)である。また、2006年の国立医薬品食品衛生研究所の報告書によると、経口曝露によるエチレングリコールの耐容摂

¹⁵ $2\mu\text{g}/\text{g} \div 138.17$ (DVI分子量) $\times 62.07$ (エチレングリコール分子量) = $0.898\mu\text{g}/\text{g}$

¹⁶ $0.898\mu\text{g}/\text{g} \times 0.5\text{g}/\text{L} = 0.449\mu\text{g}/\text{L}$

¹⁷ $0.449\mu\text{g}/\text{L} \times 49.3\text{mL}/\text{日} = 0.022\mu\text{g}/\text{日}$

¹⁸ $0.022\mu\text{g}/\text{日} \div 55.1\text{kg} = 4.00 \times 10^{-4}\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日

取量は最も低い値が 0.05mg/kg 体重/日と記載がある（同報告書ではこの値について入手できるデータは不十分で、データから得た値を用いて不確実性要素の毒物動態学的・動力学的側面をさらに吟味することはできないと記載がある） [93]。エチレングリコールの耐容摂取量の信用性に関しては別として、ぶどう酒から摂取される DVI 由来のエチレングリコールは経口曝露耐容摂取量の 100 万分の 8 ($4.00 \times 10^{-4} \div 50 = 8.0 \times 10^{-6}$) である。これは極めて微量である。検出限界以下であり、PVI/PVP に含まれるエチレングリコールの推定最大摂取量の 100 万分の 1 程度で耐容摂取量の 100 万分の 8 よりも低く、極めて微量であることから安全性に懸念はない摂取量と考え検証対象から除いた。

(5) PVI/PVP の夾雑物である 2-ピロリドン

PVI/PVP の夾雑物である 2-ピロリドンの体内動態知見は確認することが出来なかった [81] [82]。

また 2020 年の ECHA の報告 [94]でも、水生または陸生区画での 2-ピロリドンの生体蓄積の可能性を考慮した実験データはなかった。そこで生物学的蓄積を化学構造—物性計算ソフトウェアである SPARC v4.5 を使用して求められたオクタノール/水分配係数は -0.71 と非常に低いため、生物学的蓄積はないという考察がされている。

指定等要請者は以上のことから 2-ピロリドンの生物学的蓄積はないという考察を支持するが試験成績がないため、毒性知見を踏まえて安全性を考慮する必要があると考えた。

(6) PVI/PVP の夾雑物であるイミダゾール

PVI/PVP の夾雑物であるイミダゾールの体内動態について、指定等要請者は OECD SIDS (2005)を参照して、以下のようにまとめた [36]。

① 吸収

1983 年の Pagella の報告によると [95]、イミダゾールは、雄ラット (Wistar ラット) 4 ~5 匹に約 17 mg/kg 体重/日で投与した際に、15~30 分以内に血漿中で最高濃度に達し、4 時間以内に消失した。同様な結果は、ITF182 におけるイミダゾールでも得られている。ITF182 はプロトン化イミダゾールと 2-ヒドロキシ安息香酸を 1:1 モル比の塩で Selezen と称される新規薬物で、66mg イミダゾール/kg 体重用量まで認められている。

1988 年の Nosedra らの報告によると [96]、10 人の健康なボランティア (男性:4 人、女性 6 人:平均体重 66.4 kg:平均年齢:36.1 歳) にクロスオーバー試験で各群 5 人に ITF182 (0 mg もしくは 750mg 含む錠剤と坐薬:イミダゾールとして 248mg) を投与後 8 時間以内の血液サンプルをもとに薬物動態学パラメーター (薬物血中濃度推移) を推計した。その結果、錠剤及び坐薬ともに 1 時間~2 時間の間に血漿中で最高濃度に達した。この結果については以前の動物実験の結果 (未公表) と一貫していると考察している。

1987年のKuemmerleらの報告によると [97]、健康なボランティア（男性：各群 18 人：年齢：18～25 歳）にクロスオーバー試験で臨床薬理的にはイミダゾールとサリチル酸の混合物と同等である Imidazole 2-hydroxybenzoate(I2H)を 1錠（750 mg）もしくは 40 滴定（I2H=400mg）を単回または反復投与した（計 4 群）。単回投与試験では朝に試薬投与後 0、15、30、45、60、75、90、105、120、135、150、165、180、195、210、225、240、360、480 分及び 24 時間の血液サンプルを採取した。また、反復投与試験では初回の試薬投与後 48 時間あけてから 1 日 3 回の反復投与を 3 日繰り返し、反復投与最終日の 4 日目には 3 回/日の投与のうち初回 1 回のみを実施した。その際初回単回投与後 15、30、45、60、90、120、180、240 分及び 5、6、7、8、9、10、12、24、36、48 時間の血液サンプルを採取し、さらに 4 日目までの 12 時間ごとに加え、4 日目の最終投与から 0、30、60、90、120、180、240、300、360 分、8、24、36 時間後の血液サンプルを採取した。血液サンプルをもとに薬物動態学パラメーター（薬物血中濃度推移）を推計した。その結果、ヒトにおける薬物動態学パラメーター（薬物血中濃度推移）は、別の研究、例えば、単回や反復投与、経口あるいは皮膚適用、あるいは経口錠剤や経口ドロップ剤、においても著明な影響は示さなかった。また、表 11 にイミダゾールの基本的な薬物動態及びバイオアベイラビリティパラメーターを示す。ここで、表 11 にあるとおり、イミダゾールの血漿中濃度は I2H 経口投与後速やかにピークに達した。したがってイミダゾールは急速に吸収されたことを意味する。

表 11. I2H 錠剤・ドロップ剤経口投与時の基本的な薬物体内動態(イミダゾール)

	C_{max} ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	T_{max} (h)	$AUC_{0^{\infty}}$ ($\mu\text{g}/\text{mL}\cdot\text{h}$)	$t_{1/2\beta}$ (h)
錠剤単回投与	3.59±0.96	0.79±0.54	16.00±0.96	2.98±1.13
錠剤反復投与 (初回投与時)	2.87±0.84	1.04±0.50	14.53±4.02	2.85±1.25
錠剤反復投与 (最終投与時)	3.11±0.78	0.68±0.51	8.93±3.15	1.86±0.78
ドロップ剤単回投与	3.30±1.22	0.71±0.59	12.29±9.96	2.48±1.19
ドロップ剤反復投与 (初回投与時)	2.67±1.22	0.96±0.67	13.29±4.12	3.47±2.64
ドロップ剤反復投与 (最終投与時)	2.30±0.61	0.51±0.52	7.40±3.47	2.12±0.91

C_{max} :血漿中最大濃度 T_{max} :最大濃度到達時間 $AUC_{0^{\infty}}$:濃度-時間曲線下面積 $t_{1/2\beta}$:血漿中半減期

また、OECD SIDS (2005) においてヒトにおける経口投与後の薬物動態学パラメーターは、次のようにまとめられている[36]。血漿中最高濃度は約 3 時間で達し、除去半減期は約 1.8～3 時間であった。バイオアベイラビリティは完全で、タンパク結合は 5～15% の範囲であった。対照的に、パイロット試験における皮膚適用では、何の影響もなかった。

② 分布

1987年のKuemmerleらの報告によると [97]、イミダゾールのタンパク結合を調べるために既知濃度のイミダゾール 10 mL を 10 mM リン酸バッファー及びヒト血清アルブミンを混合し、結合平衡に到達するのに十分な条件である、25~37°Cの範囲の温度で最低 1 時間保持したサンプルを分析したところ、タンパクと結合したイミダゾールは 5~15%であった。

③ 代謝

1987年のKuemmerleらの報告によると [97]、健康なボランティア（男性：各群 18 人：年齢：18~25 歳）にクロスオーバー試験で臨床薬理的にはイミダゾールとサリチル酸の混合物と同等である Imidazole 2-hydroxybenzoate (I2H) を 1 錠 (750 mg) もしくは 40 滴 (I2H = 400mg) を単回または反復投与した(計 4 群)。単回投与試験では朝に試薬投与後 0、15、30、45、60、75、90、105、120、135、150、165、180、195、210、225、240、360、480 分及び 24 時間の血液サンプルを採取した。また、反復投与試験では初回の試薬投与後 48 時間あけてから 1 日 3 回の反復投与を 3 日繰り返し、反復投与最終日の 4 日目には 3 回/日の投与のうち初回 1 回のみを実施した。その際初回単回投与後 15、30、45、60、90、120、180、240 分及び 5、6、7、8、9、10、12、24、36、48 時間の血液サンプルを採取し、さらに 4 日目までの 12 時間ごとに加え、4 日目の最終投与から 0、30、60、90、120、180、240、300、360 分、8、24、36 時間後の血液サンプルを採取した。また、尿サンプルについては、単回投与試験では試薬投与後 0~2、2~4、4~6、8~24、24~36 および 36~48 時間に採取し、反復投与試験では 1~3 日目は 0~12 および 12~24 時間、4 日目は 0~2、2~4、4~6、6~8、8~24、24~36、36~48 時間に採取した。その結果、イミダゾールの代謝産物であるヒダントイン及びヒダントイン酸がいずれも血漿、尿中に存在していたが、検出限界以下であった。

1985年のReinkeらの報告によると [98]、雌の SD ラット（匹数不明）にイミダゾール 200 mg/kg 体重/日を 4 日間混水投与し、肝臓での薬物代謝に関与する酵素の応答を調べた。その結果、ミクロソーム総 P450 含量の変動はなかった。7-エトキシマリン O-脱メチル化酵素は 1.7 倍、とアミノピリン N-脱メチル化酵素は 1.26 倍に増加した（統計的有意差 5%）。一方、アニリンと p-ニトロフェノール水酸化酵素は減少傾向を示した。

1985年のKoopらの報告によると [99]、雄の NZ 白色ウサギ（5 匹）にイミダゾール（200 mg/kg 体重、4 日間）処置し、肝臓での薬物代謝に関与する酵素の応答を調べた。その結果、肝臓の総 P450 含量は対照に比べ増加し、アイソザイム 3a は約 4.5 倍に増加した。

1987年のRitterとFranklinの報告によると [100]、雌雄のシリアンハムスターへの処置（200 mg/kg 体重、4 日間）では、相対肝重量、総ミクロソーム P450 含量、ミクロソームの第 1 相代謝（p-ニトロアニソールとエチルモルヒネの脱メチル化、NADPH シトクロ

ムc還元酵素)及び細胞質の第2相薬物代謝(スルフトランスフェラーゼ、グルタチオントランスフェラーゼ)酵素活性に有意な変化は認められなかった。

④ 排泄

1987年のKuemmerleらの報告によると[97]、健康なボランティア(男性:各群18人:年齢:18~25歳)を4群に分け、クロスオーバー試験で臨床薬理的にはイミダゾールとサリチル酸の混合物と同等であるImidazole 2-hydroxybenzoate(I2H)を1錠(750mg)もしくは40滴(I2H=400mg)を単回または反復投与した(計4群)。単回投与試験では朝に試薬投与後0、15、30、45、60、75、90、105、120、135、150、165、180、195、210、225、240、360、480分及び24時間の血液サンプルを採取した。また、反復投与試験では初回の試薬投与後48時間あけてから1日3回の反復投与を3日繰り返し、最終日の4日目には3回/日の反復投与の初回1回のみを実施した。その際初回単回投与後15、30、45、60、90、120、180、240分及び5、6、7、8、9、10、12、24、36、48時間の血液サンプルを採取し、さらに4日目までの12時間ごとに加え、4日目の最終投与から0、30、60、90、120、180、240、300、360分、8、24、36時間後の血液サンプルを採取した。また、尿サンプルについては単回投与試験では試薬投与後0~2、2~4、4~6、8~24、24~36および36~48時間で採取し、反復投与試験では1~3日目は0~12および12~24時間、4日目は0~2、2~4、4~6、6~8、8~24、24~36、36~48時間で採取した。ここで、表11にもあり、血漿中のイミダゾールは最大濃度到達後急速に減少したことから蓄積経口の兆候はないことが示された。また、尿中のイミダゾールの測定結果から腎臓からの排泄は約10-15%であることが示された。このことから筆者らは、イミダゾールは主に腎臓以外、例えば腸肝循環により排泄されると考察した。

結論としてOECD SIDSは以下のようにまとめている。

ヒトにおける経口投与後のイミダゾールの薬物動態学パラメーターは血漿中最高濃度は約3時間で達し、除去半減期は約1.8~3時間であった。バイオアベイラビリティは完全で、タンパク結合は5~15%の範囲であった。対照的に、パイロット試験における皮膚適用では、何の影響もなかった[36]。

また、イミダゾールはヒトや試験動物において、経口及び直腸内投与後に、容易に吸収され、排泄される。血漿中最高濃度へは、ラットでは15~30分以内に、ヒトでは約3時間以内に到達する。ヒトにおける除去半減期は、約2~3時間である。従って、生物学的蓄積の可能性はないであろう。ラットやウサギ肝細胞ミクロソームのP450酵素の誘導は、7-エトキシマリンO-脱エチル酵素や3aアイソザイムのようなある種のアイソザイムに限定されている。しかし、シリアンゴールデンハムスターではこのような誘導は認められなかった。

以上のことから指定等要請者はイミダゾールに生物学的蓄積の可能性はないというOECD SIDSの考察を支持する。

(7) 体内動態まとめ

PVI/PVP は不溶性の安定な物質である。体内動態試験成績はないが、消化管からの吸収は無視できるとされている [46]。PVI/PVP の安全データシートには構造的な特性から、ポリマーは生物利用性がなく、生体蓄積性はないと考えられ、PBT(persistent(残留性)/bioaccumulative(生物蓄積性)/toxic(毒性))又は vPvB(very persistent(極難分解性)/very bioaccumulative(極高蓄積性))の基準を満たすような物質を含有していないと記載がある [63]。以上のことから、指定等要請者は PVI/PVP の生物学的蓄積はないと考えた。

PVI/PVP の夾雑物である NVP、NVI、DVI、2-ピロリドン及びイミダゾールの内 DVI を除いた 4 種類は PVI/PVP 処理を行ったワイン中にごく微量であるが存在する [80]。NVP は経口および吸入経路により急速に、かつほとんどが吸収される。その物理化学的特性は、皮膚も容易に透過することを示唆された。NVP は広範に代謝され、極性の高い化合物が形成されるが、これらは主に尿中に排泄される。他の排泄経路には糞便(胆汁経路)及び CO₂ として呼気中への排泄があり、それぞれ投与量の 5~8% および 3% を占めている [42]。イミダゾールはヒトや試験動物において、経口及び直腸内投与後に、容易に吸収され、排泄される。血漿中最高濃度へは、ラットでは 15~30 分以内に、ヒトでは約 3 時間以内に到達する。ヒトにおける消失半減期は、約 2~3 時間である。従って、生物学的蓄積の可能性はないと考えられた [36]。NVI と 2-ピロリドンに関してはオクタノール/水分配係数から生物学的蓄積はないと考察されている。しかし、試験成績がないため毒性知見を踏まえて ADI を設定する必要があると考えられる。DVI に関しては

ワインに添加された DVI はすべてアセトアルデヒドと尿素とエチレングリコールに分解されると考えられたためアセトアルデヒドと尿素とエチレングリコールの体内動態試験について考察する必要があると考えたが、尿素とエチレングリコールは検出限界以下であり、ヒトの体内で代謝、排泄されることが知られているため検証対象から除外した。アセトアルデヒドに関してはワイン中に通常存在しているため PVI/PVP 由来の摂取量は測定が不可能であり、DVI 由来のアセトアルデヒドは極めて微量であることから検証対象から除いた。

以上のことから PVI/PVP は不溶性の物質であり、尚且つ添加後 1 晩以上静置した上清をデプスシート 6-15 μm 程度等でろ過後さらに、デプスシート 1-7 μm 程度でろ過、瓶詰め前にも除菌フィルター等でろ過をするなど、製成後の各種ろ過を行うことで取り除かれる [8]。また、類似物質 PVPP 製品であるダイバガン F、RS の平均粒径が 40~100 μm 程度であることから [146]、上記孔径のフィルターを用いたろ過により PVI/PVP を取り除くことができると考えられる。これらのことから消化管からの吸収は無視できると考えられ、ADI の設定はその夾雑物の毒性を踏まえて決定するのが妥当だと指定等要請者は判断した。

2. 毒性試験

PVI/PVP を被験物質とした毒性に係る知見は非常に限られており、FSANZ が報告書で引用している未公表の急性毒性試験結果と BASF 社でのアレルギー性試験、遺伝毒性試験、

28 日間のラットにおける経口摂取試験がある。PVI/PVP をモデルワインに添加すると夾雑物として、NVP、NVI、2-ピロリドン及びイミダゾールがごく微量に観察されることが示された [80]。PVI/PVP の規格基準では、本品目の夾雑物として NVP、NVI、DVI、2-ピロリドン及びイミダゾールを規定している。しかし、DVI は体内動態試験の項目で述べたように酸性条件下（低い pH 値）で不安定になり、イミダゾリジノンとアセトアルデヒドに分解され、イミダゾリジノンは尿素とエチレングリコールに分解する [6]。

アセトアルデヒドは第 9 版食品添加物公定書に添加物として記載されている指定添加物であり [56]、PVI/PVP に含まれる DVI を起源とするアセトアルデヒドの対象食品からの摂取量は現状の指定添加物の摂取量の 100 万分の 1 以下であることから安全性に懸念はないと考える。さらに、通常ワイン中には 4~500mg/L のアセトアルデヒドが含まれている [130]。

尿素は人体で尿素回路によって生産され速やかに排泄されること、DVI 由来の製造方法の項目で述べたように PVI/PVP に含まれる尿素は検出限界以下で極めて微量である。

エチレングリコールは我々が日常的に摂取しているエチレングリコールの推定最大摂取量の 100 万分の 1 程度で耐容摂取量の 100 万分の 8 よりも極めて微量である。

以上のことからアセトアルデヒド、尿素、エチレングリコールに安全性に懸念はないと考え、検証対象から除いた。

そこで DVI を除いた 4 つの夾雑物についても毒性に係る知見を参照し、総合的に PVI/PVP の毒性に関する検討を行うこととした。

(1) PVI/PVP

PVI/PVP を被験物質とした毒性に係る知見は非常に限られており、FSANZ が報告書で引用している未公表の急性毒性試験結果と BASF 社での 28 日間のラットにおける経口摂取試験、遺伝毒性試験、アレルギー性試験がある。発がん性試験、生殖毒性試験、出生前発生試験、一般薬理試験、の知見は確認できなかった [81] [82]。

① 急性毒性試験

2018 年 BASF 社の安全データシートから [63] [49]、Wistar ラット（雌雄各 3 匹）に経口投与した場合 LD₅₀値は 2000 mg/kg 以上とされている。

FSANZ が 2017 年の報告書 [46]で引用している Enartis 社の 2015 年の安全性データシート（SDS）（非公開）によると、PVI/PVP のラット（雌雄、匹数不明）に経口投与した場合の LD₅₀値は 2000 mg/kg より大きいとされている。

② 反復毒性試験

BASF 社の 2005 年の未公表データ（GLP）から [5] [49]、経済協力開発機構（OECD）の化学物質の試験におけるガイドライン 407 のげっ歯類における 28 日間反復経口投与毒性試験に沿って、Wistar ラット（各群雌雄各 5 匹以上）

に PVI/PVP (0,100,300,1000 mg/kg 体重/日) を 28 日間強制経口投与した。死亡率、組織検査、血液検査を行った結果

どの用量でも投与による変化は確認されなかった。筆者らは本試験における NOAEL を最高用量である 1000 mg/kg 体重/日に設定した (製造メーカー非公開資料)。

③ 遺伝毒性試験

BASF 社の 1998 年の未公表データ (GLP) から [101]、PVI/PVP について細菌株 (*Salmonella typhimurium* TA 1535、TA 100、TA 1537、TA 98/ *E. coli* WP2 uvrA) を用いた復帰突然変異試験 (最高用量 5 mg/plate) が実施され、代謝活性化系の有無にかかわらず陰性であった (製造メーカー非公開資料)。さらに 2011 年の Nelson らの報告 [102] にも詳しい実験方法は書かれていないが Ames 試験の結果が陰性であると記されている。

④ アレルゲン性試験

BASF 社の 2005 年の非公開データ (GLP) [103] から、CBA/CaHsdRcc (SPF) マウス (雌各群 5 匹) の各耳の背側表面全体に PVI/PVP (2.5%、5%、および 5%) を処理しマウス LLNA が実施された。すべての濃度の SI 値が 3 未満であり、感作性陰性であった (製造メーカー非公開資料)。

⑤ ヒトにおける知見

PubMed 及び Toxline で検索したがポリビニルイミダゾール/ポリビニルピロリドン共重合体 (PVI/PVP) のヒトにおける知見を見いだすことは出来なかった [81] [82]。また、PVI/PVP には夾雑物の NVP、NVI、2-ピロリドン及びイミダゾールも含まれることから、夾雑物についても毒性に係る知見を参照し、総合的に PVI/PVP の毒性に関する検討を行う。

⑥ PVI/PVP まとめ

PVI/PVP の毒性試験成績は全て非公開資料であるが、GLP 基準を満たしたガイドラインに沿った試験で信用に値する結果である。PVI/PVP の遺伝毒性もアレルギー性試験陰性であった。ラットにおける 28 日の経口投与試験において NOAEL が算出され、最高容量である 1000 mg/kg 体重/日となっている。指定等要請者はこれらの試験結果から PVI/PVP の ADI を算出することとした。2007 年の経済産業省が発行した化学物質のリスク評価のためのガイドブックによると[131]、不確実係数として試験動物との種差 (10)、個人の感受性の違い (10) を使用することになっている。本試験概要書に記載する試験成績では、長期の反復毒性試験、発がん性試験、生殖毒性試験成績、出生前発生毒性試験の試験成績がない。そこで BASF 社の 2005 年の未公表データである 28 日の反復毒性試験を使用することとした。実験の期間を踏まえ不確実係数として試験期間 (10) を使用することにした。また、この BASF 社の 2005 年の未公表データでは組織検査もされており、発がん性や生殖組織の変化は確認されていないことからこの試験による不確実定数で補えると指定等要請者は考えた。出生前発生毒性に関する知見はないが我が国において厚生労働省の飲酒のガイドラインによると妊娠、授乳中はノーアルコールとしているため、妊娠中や授乳中の曝露量は 0 と考えられる。そのため、本概要書の使用基準内での使用に関しては省略できると考えた。そこで本概要書における PVI/PVP の ADI は NOAEL の 1000 分の 1 用量の 1 mg/kg 体重/日と考えた。

また、PVI/PVP には夾雑物の NVP、NVI、2-ピロリドン及びイミダゾールも含まれることから、夾雑物についても毒性に係る知見を参照し、総合的に PVI/PVP の毒性に関する検討を行う。

(2) PVI/PVP の夾雑物

PVI/PVP の規格基準では、夾雑物として NVP、NVI、DVI、2-ピロリドン及びイミダゾールを規定している。このうち検証不要とした DVI を除いた 4 種の夾雑物についての毒性試験成績をまとめる。

(イ). 1-ビニル-2-ピロリドン (NVP)

①. 急性毒性試験

食品安全委員会でも、「添加物評価書 ポリビニルピロリドン (2013 年 7 月)」において、EU Risk Assessment Report (2003) の報告に基づき、次のようにまとめている [30]。

Schwach; Hofer (1978) は、マウス (各群雌雄各 10 匹) に NVP 溶液 (420、630、940、1,400 mg/kg 体重) を単回強制経口投与する試験を実施しており、その結果、LD₅₀ 値は 940 mg/kg 体重であり、Huntingdon Research Centre (1978) は、ラット (各群雌

雄各 2 匹) に NVP 溶液 (0, 834, 1,314, 2,085 mg/kg 体重) を単回強制経口投与する試験を実施しており、その結果、LD₅₀値は 834~1,314 mg/kg 体重であったとされている [42]。

以上の 2013 年の報告以降、NVP に関する急性毒性試験の報告はない [104]。

②.反復毒性試験

1997 年の Klimisch らの報告によれば [107]、Wistar ラット (各群雌雄各 10 匹) に NVP (0, 5, 12, 30, 75ppm ; 0, 0.5, 1.2, 3.0, 7.5 mg/kg 体重/日) を 3 か月間飲水投与する試験が実施されている。その結果、体重、一般状態、尿検査及び血液学的検査において明らかな変化は認められなかったが、血液生化学的検査では 75ppm 投与群で総タンパク及びグロブリン、さらに雌ではアルブミンの減少が認められたとされている。しかし、臓器重量及び病理組織学的検査において明らかな変化は観察されなかったとされている。また、同報告において、Wistar ラット (各群雌雄各 5 匹) に NVP 水溶液 (0, 40, 60, 100 mg/kg 体重/日) を週に 5 日、3 か月間強制経口投与する試験が実施されている。その結果、100 mg/kg 体重/日投与群で摂餌量のわずかな減少が認められたが、飲水量は用量相関的に増加が認められたとされている。体重、一般状態及び尿検査において投与による明らかな変化は認められなかったとされている。血液学的検査において 60 mg/kg 体重/日以上投与群で血小板数の増加、肝ホモジネートでは 40 mg/kg 体重/日以上投与群で γ -GTP 増加が認められたとされている。剖検及び病理組織学的検査において、40 mg/kg 体重/日以上投与群の雌及び 60 mg/kg 体重/日以上投与群の雄で肝重量の増加、100 mg/kg 体重/日投与群で肝臓に変異細胞巣が認められた。以上のことから、Klimisch らは NVP の 3 か月間飲水投与試験からの NOAEL を 3.0 mg/kg 体重/日とした。

この報告を受けて、食品安全委員会は「添加物評価書 ポリビニルピロリドン(2013年7月)」で以下のように記載している。

引用開始

『 本委員会としては、3 か月間飲水投与試験における NOAEL を本試験の高用量である 7.5 mg/kg 体重/日と判断した。また、3 か月間強制経口投与試験における肝ホモジネートの γ -GTP 増加、肝重量の増加に係る LOAEL を 40 mg/kg 体重/日と判断した。』

引用終わり

また、2003 年の EU Risk Assessment Report (2003) [42]では 1997 年の Klimisch らの同様の報告に対して、BASF の非公開資料を追加し以下のように考察している。Wistar ラット (各群雌雄各 5 匹) に NVP 水溶液 (0, 40, 60, 100 mg/kg 体重/日) を週に 5 日、3 か月間強制経口投与する試験が実施した試験では 1997 年の Klimisch と同様の報告を行っていた。しかし、Wistar ラット (各群雌雄各 10 匹) に NVP

(0、5、12、30、75ppm；0、0.5、1.3、3.6、8.3 mg/kg 体重/日) を3か月間飲水投与した結果、3.6 mg/kg 体重/日では雌雄ともに異常は確認されず、8.3 mg/kg 体重/日で雄の投与群の腎臓重量の増加、雌雄ともに異常タンパク血症が確認された。これによって NOEL：3.6 mg/kg 体重/日とすると記載がある。2014年のBASF社に同様の報告がある [49][149]。

EU Risk Assessment Report (2003) [42]ではこれらの結果を受けて、NVPの経口投与による毒性試験結果として、NOAELを3.6 mg/kg 体重/日と記載している。さらに60 mg/kg/日以下の強制経口投与では、有意な肝臓の変化はなく、わずかな生化学的および血液学的変化しかなかったとまとめている。これらの報告から指定等要請者は以下のように考えた。1997年のKlimischらの報告の中でNVP(0、5、12、30、75ppm；0、0.5、1.2、3.0、7.5 mg/kg 体重/日)として換算するとしているが[107]、2003年のEU Risk Assessment Report [42]ではNVP(0、5、12、30、75ppm；0、0.5、1.3、3.6、8.3 mg/kg 体重/日)としている。1997年のKlimischらの報告では[107]、詳しい計算式についての記載はないがkg体重は雄と雌合わせた値で換算している。NVP 5、12、30、および75 ppmの濃度の飲料水は週2回取り替えられ、試験開始時、6週間後、試験終了時に測定した結果平均値が5、11.5、28.7、および76.3 ppmであった。水の消費量は週に2回測定され、総投与量(ml/kg 体重/日)を計算したとしている。EU Risk Assessment Reportでは詳しい計算式が記載されていないので換算式の妥当性に関して考察することができない。そのため、原著論文である1997年のKlimischらの報告に従い、NVP(0、5、12、30、75ppm；0、0.5、1.2、3.0、7.5 mg/kg 体重/日)として換算することにした。

2013年の「添加物評価書 ポリビニルピロリドン(2013年7月)」で食品安全委員会は1997年のKlimischらの報告[107]と2003年のEU Risk Assessment Report (2003) [42]から75 ppmの血液生化学検査で総タンパク質とグロブリン、雌でのアルブミンの減少が認められたが臓器重量、病理組織学的検査において明らかな変化は観察されなかったことから、本試験でのNOAELを最高容量の7.5 mg/kg 体重/日と判断している。また、同報告書におけるNVP水溶液(0、40、60、100 mg/kg 体重/日)を週に5日、3か月間強制経口投与する試験から剖検及び病理学的組織学的検査において、40 mg/kg 体重/日の雌の投与群において肝重量の増加が確認された。以上のことから、LOAELを40 mg/kg 体重/日と設定し、NOAELの75 ppmは最高容量であったためにLOAELの40 mg/kg 体重/日を使用している[30]。

2013年の「添加物評価書 ポリビニルピロリドン(2013年7月)」で述べられているように、75 ppmでは臓器重量、病理組織学的検査において明らかな変化は観察されていないが、血液生化学検査で総タンパク質とグロブリン、雌でのアルブミンの減少が認められていることから、過小評価を避けるべきであると考え、本概要書におけるNVPのNOAELを30 ppm=3.0 mg/kg 体重/日として考えることにした。30 ppmは試験の最高容量ではないため、LOAELではなくNOAELを使用する。

③.発がん性試験

NVP の発がん性について、経口投与による試験成績は認められなかった[132]。なお、参考データとして、経口投与以外の試験については食品安全委員会が、SCF (2001、2002)、IARC (1999)、EU Risk Assessment Report (2003) の報告でも引用されている Klimisch ら (1997b) の報告に基づき、次のように報告している [30]。

1997 年の Klimisch らの報告によると [111]、SD ラット (各群雌雄各 100 匹) に NVP (0、22、45、90 mg/m³ : 0、5、10、20 ppm) を 24 か月間 (1 日 6 時間、週に 5 日) 吸入暴露させる試験が実施されている。その結果、上気道で鼻腔に腺腫が用量に相関して認められ、10 ppm 以上投与群の雄及び 20ppm 投与群の雌で腺癌が認められたとされている。20ppm 投与群で喉頭に扁平上皮癌がわずかに認められたとされている。これらの腫瘍は炎症に伴う壊死と再生が繰り返される結果として増加した細胞増殖状態が持続したことによる非遺伝毒性メカニズムによることが指摘されている。また、各群 (0、5、10 及び 20 ppm) の雄で 1.4、10.0、8.3 及び 28.3%、雌で 1.4、5.0、10.0 及び 43.3%の肝細胞癌が認められたとされている。NVP 暴露群での発がんメカニズムに関しては NVP の肝毒性による肝細胞再生の持続した刺激による可能性が考えられるとしているが、基本的なメカニズムに関しては未解明であると指摘されている。

SCF は、Klimisch ら (1997b) の報告における NOEL の判断はできないものとしている [40] [41] [42] [47] [111]。食品安全委員会としては、NVP には吸入暴露において上気道と肝臓に発がん性が認められており、経口投与においても発がん性を示す可能性は否定できないと考えた。その機序については、上気道においては強い炎症が生じており、Klimisch らが主張する非遺伝毒性メカニズムによる発がん機序を是認した。一方、肝臓における発がんメカニズムについては、肝臓における障害が非常に軽微であったことから、上気道における発がんメカニズムと異なる可能性が考えられたが、本物質が生体にとって問題となる遺伝毒性はないことから、その詳細は不明ながら遺伝毒性メカニズムの関与の可能性はないものと考えた。食品安全委員会としては、当該試験は吸入暴露によるものであるため、本試験成績によって添加物「ポリビニルピロリドン」に含まれる NVP の発がん用量を特定することはできず、NVP の摂取量を考慮した発がん性を評価することは困難と判断している。

以上の 2013 年の報告以降、NVP に関する発がん性試験の報告はない [104]。これらのことから指定等要請者は食品安全委員会の「添加物評価書 ポリビニルピロリドン (2013 年 7 月)」評価書[30]、と同様に NVP の摂取量を考慮した発がん性を評価することは困難と判断した。

④. 生殖毒性試験

NVP の生殖発生毒性について、単量体の経口投与による試験成績は見当たらない [133]。参考データとして、経口投与以外の試験について、食品安全委員会は次のよう

に報告している [30]。

SCF (2001)、EU Risk Assessment Report (2003) によれば、Wistar ラット (各群雌 25 匹) に NVP (0、1、5、20ppm) を妊娠 6~19 日の間 1 日 6 時間吸入暴露させた後、妊娠 20 日に母動物を帝王切開する試験が実施されており、その結果、母動物では死亡は認められなかったが、5 及び 20 ppm 投与群で体重増加抑制が認められたとされている。妊娠子宮重量、着床前及び着床後胚死亡率及び生存胎児数においても群間に差は認められなかったとされている。しかし、20ppm 投与群で胎児体重の減少、上後頭骨及び舌骨骨化遅延、波状肋骨に発現頻度の上昇が認められたが、各群で胎児奇形の発現率の上昇は認められなかったとされている。以上より、当該試験における NOAEL は母動物で 1 ppm、胎児で 5 ppm とされている [41] [42]。食品安全委員会としては、当該試験は吸入暴露によるものであるため、当該試験成績に基づく NVP の添加物としての摂取に係る発生毒性の評価は困難と判断した。また、吸入暴露においても、胎児に対して選択的に重篤な影響を及ぼす結果は得られていない。

その他、反復経口投与試験において、雌雄とも生殖器系の病理組織学的検査では異常は観察されておらず、NVP による生殖毒性を示唆する知見は認められていないとしている。

以上の 2013 年の報告以降、NVP に関する生殖毒性試験の報告はない [104]。これらのことから指定等要請者は食品安全委員会と同様に雌雄とも生殖器系の病理組織学的検査では異常は観察されておらず、NVP による生殖毒性を示唆する知見は認められていないと判断した。

⑤. 出生前発生毒性試験

NVP の出生前発生毒性試験について、経口投与による試験成績は見当たらない [134]。参考データとして、経口投与以外の試験について以下のような報告がある。

2001 年の BASF の報告によると (unpublished data)、Wistar ラット (各群雌 25 匹) に NVP (0、1、5、20ppm) を妊娠 6~19 日の間 1 日 6 時間吸入暴露させる試験が行われている。結果として母動物では死亡は認められなかったが、最大用量である 20 ppm で外観上の毒性が確認されている。また、5 及び 20 ppm 投与群で体重増加抑制が認められている。妊娠子宮重量、着床前及び着床後胚死亡率及び生存胎児数においても群間に差は認められなかったとされている。胎児については、最大用量である 20 ppm で体重の減少、上後頭骨及び舌骨の骨化遅延、波状肋骨に発現頻度の上昇が認められたとされている。胎児への毒性については 1 及び 5 ppm の濃度において明らかではなく、どの用量の群においても NVP が奇形を誘発したという証拠にはならなかった。以上より、SCF (2001) [41]、EU Risk Assessment Report (2003) は [42]、NOAEL を母動物で 1 ppm、胎児で 5 ppm と設定している。また、これを受けて食品安全委員会は「添加物評価書 ポリビニルピロリドン (2013 年 7 月)」評価書において [30]、本試験は吸

入暴露によるものであるため、本試験成績に基づく NVP の添加物としての摂取に係る発生毒性の評価は困難と判断した。また、吸入暴露においても、胎児に対して選択的に重篤な影響を及ぼす結果は得られていない。

以上の 2013 年の報告以降、NVP に関する出生前発生毒性試験の報告はない [104]。これらのことから指定等要請者は食品安全委員会と同様に吸入暴露によるものであるため、本試験成績に基づく NVP の添加物としての摂取に係る発生毒性の評価は困難と判断した。また、吸入暴露においても、胎児に対して選択的に重篤な影響を及ぼす結果は得られていないと判断した。

⑥. 一般薬理試験

PubMed 及び Toxline で検索したが NVP の一般薬理試験に関する知見を見いだすことは出来なかった [81] [82]。

⑦. 遺伝毒性

1. 微生物を用いる復帰突然変異試験

1985 年の Knaap らの報告によると [135]、*Klebsiella pneumoniae* を用いた fluctuation 試験、細菌株 (*Salmonella typhimurium* TA98、TA100) を用いた復帰突然変異試験マウスリンパ腫細胞 L5178Y を用いた HPRT、TK-loci 突然変異試験が実施されており、陰性の結果が得られている。

1980 年の Simmon & Baden の報告によると [112]、細菌株 (*Salmonella typhimurium* TA1535、TA98、TA100) を用いた復帰突然変異試験 (最高用量 1.0 ml/9 L デシケーター) が実施されており、代謝活性化の有無にかかわらず陰性の結果が得られている。

2003 年の EU Risk Assessment Report によれば [42] (原著論文入手不可)、細菌株 (*Salmonella typhimurium* TA 1535, TA 1537, TA 98, TA 100) を用いた復帰突然変異試験 (最高用量 10 mg/plate) が実施されており、代謝活性化の有無にかかわらず陰性の結果が得られている。

2. ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験

1985 年の Knaap らの報告によると [135]、マウスリンパ腫細胞 L5178Y を用い染色体異常試験が実施されており、陰性の結果が得られている。

2003 年の EU Risk Assessment Report によれば [42] (原著論文入手不可)、ヒトリリンパ球細胞を用いた染色体異常試験 (最高濃度 900 $\mu\text{g}/\text{mL}$) が実施された。処理濃度は 20~60 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (without S9-Mix、24 時間連続処理)、300~900 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (with S9-Mix、24 時間連続処理) で、代謝活性化有無にかかわらず陰性であった。

2003年のEU Risk Assessment Reportによれば[42]（原著論文入手不可）、1980年のLitton Bioneticsの報告によるとマウスリンパ腫細胞 L5178Y を用い染色体異常試験が実施された。処理濃度は0.39～10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ （4時間連続処理）で、10日間観察すると代謝活性化有無にかかわらず7.5 $\mu\text{l}/\text{ml}$ 以上の濃度で重度の細胞毒性が明らかであり、5 $\mu\text{l}/\text{ml}$ の濃度で中程度の細胞毒性が見られた。

2003年のEU Risk Assessment Reportによれば[42]（原著論文入手不可）、1980年のLitton Bioneticsの報告によるとラット肝細胞を用いた不定期DNA合成（UDS）試験が実施されている。NVP濃度0.3～20 $\mu\text{l}/\text{ml}$ 中の3つの濃度で処理でUDSについて分析した結果、有意な増加は示されなかった。

3. げっ歯類等をもちいた小核試験

2003年のEU Risk Assessment Reportによれば[42]（原著論文入手不可）、1993年のBASF社の報告によるとNMRIマウス（雌雄各5匹）にNPV（0, 150, 300, 600 mg/kg 単回腹腔内投与16時間、24時間及び48時間）をした。その結果、すべての用量において、小核出現率の増加は認められず、陰性との結果が得られている。

これらの報告をうけての食品安全委員会の「添加物評価書 ポリビニルピロルドン（2013年7月）」のでは総合的に判断し、NVPには生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないものと判断した、と記載がある。それ以外の2013年の報告以降、NVPに関する遺伝毒性試験の報告はない[104]。以上のことから2003年のEU Risk Assessment Reportによれば[42]（原著論文入手不可）、マウスリンパ腫細胞 L5178Y を用い染色体異常試験でNVPにおいて7.5 $\mu\text{l}/\text{ml}$ 以上の濃度で重度の細胞毒性が明らかであり、5 $\mu\text{l}/\text{ml}$ の濃度で中程度の細胞毒性が示されたが同報告にヒトリンパ球細胞で最高容量900 $\mu\text{g}/\text{mL}$ で陰性である結果とマウスを用いた小核試験結果で陰性が示されていることから、生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないという食品安全委員会の判断を指定等要請者は支持する。

また、試験成績を下記の表12にまとめた。

表 12.NVP の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	参考文献番号
遺伝子突然変異	復帰突然変異試験 (in vitro)	<i>Klebsiella pneumoniae</i> , 細菌株 (<i>Salmonella typhimurium</i> TA98、TA100)	記載なし	陰性	[135]
		細菌 (<i>Salmonella typhimurium</i> TA1535、TA98、TA100)	最高用量 1.0 ml/9 L デシケーター	陰性 (代謝活性化の有無にかかわらず)	[112]
		細菌株 (<i>Salmonella typhimurium</i> TA 1535, TA 1537, TA 98 ,TA 100)	最高用量 10 mg/plate	陰性 (代謝活性化の有無にかかわらず)	[42]
染色体異常	染色体異常試験	マウスリンパ腫細胞 L5178Y	記載なし	陰性	[135]
		ヒトリンパ球細胞	最高容量 900 µg/mL、 24 時間連続処理	陰性 (代謝活性化の有無にかかわらず)	[42]
		マウスリンパ腫細胞 L5178Y	0.39~10 µg/ml (4 時間連続処理)	7.5 µl/ ml 以上の濃度で 重度の細胞毒性が明らかであり、 5 µl/ ml の濃度で中程度の細胞毒性 が見られた。	[42]
	不定期 DNA 合成 (UDS)	ラット肝細胞	濃度 0.3~20 µl/ ml 中の 3 つの濃度	陰性	[42]
小核試験 (in vivo)	NMRI マウス(雌雄各 5 匹)	0, 150, 300, 600 mg/kg 単回腹腔内投与 16 時間、24 時間及び 48 時間	陰性	[42]	

⑧.アレルゲン性試験

PubMed 及び Toxline で検索したが NVP においてアレルゲン性試験成績に関する知見を見いだすことは出来なかった [81] [82]。

⑨.ヒトにおける知見

PubMed 及び Toxline で検索したが NVP においてヒトにおける経口投与の知見を見いだすことは出来なかった [81] [82]。しかし、国際機関等における評価の項目でも述べたが以下のような報告がされているため記載する。

OECD における高生産量化学物質についてのリスク評価では医薬品、義歯固定剤、化粧品、粉末洗剤及びコンタクトレンズなど多種の製品からのばく露量から検討した結果が記載されている。これらの製品から毎日 100% の NVP を吸収したと仮定すると、60kg の成人に対し 46 μ g/日のばく露量及び 0.8 μ g/ kg /日の全身負荷を生じるが、肝臓腫瘍を発症するリスクとの関連で、5 ppm の NVP を 1 日 6 時間吸入したラットに生じる身体負荷の 2,000 分の 1 であり、この程度のばく露は健康被害への懸念とはならないことから、現在のところ、更なる情報、試験又は既に採用されている以上のリスク削減対策は必要ないとされた [42]。

IARC は、1999 年に PVP と NVP の評価結果を公表し、共にヒトに対する発がん性を Group 3（ヒトに対する発がん性について分類できない）としている [47]。

⑩. NVP の毒性試験結果のまとめ

NVP の毒性試験に関して提出状況下記の表 13 にまとめた。遺伝毒性の項目で述べたように NVP において生体にとって特段問題となる遺伝毒性はなかった。アレルギー性試験に関しては知見を見出すことができなかったが、PVI/PVP の毒性試験で PVI/PVP の LLNA 試験が実施されており、陰性を示していることから PVI/PVP の夾雑物に含まれている場合の夾雑物に関してアレルギー性は示さないと考えられる。記載されているラットを用いた 90 日試験の結果から NOAEL が 3.0 mg/kg 体重/日という結果が得られた。発がん性試験、生殖毒性試験、出生前発生毒性試験に関しては吸入曝露による試験成績であったため本概要書の使用目的と異なることから試験成績として不十分と考えた。しかし、吸入曝露においても NVP による生殖毒性を示唆する知見や胎児に重篤な影響を及ぼす結果は得られていない。2007 年の経済産業省が発行した化学物質のリスク評価のためのガイドブックによると [131]、不確実係数として試験動物との種差 (10)、個人の感受性の違い (10)、試験機関の長さ (3 ヶ月の場合：5) を使用することになっている。そこで本概要書における NVP の ADI を 90 日試験から得られた NOAEL に不確実係数 500 で除した、6 μ g /kg 体重/日とすることにした。ヒトにおける知見からもこの ADI を引き下げる必要がある報告はないと指定等要請者は判断した。

表 13.NVP 毒性試験提出状況まとめ

試験名	提出状況	使用文献番号	国際機関評価
①急性毒性	○	[30]、[42]	食品安全委員会 (2013) [30] EU (2003) [42]
②反復毒性	○	[30]、[42]、[49]、[107]	食品安全委員会 (2013) [30] EU (2003) [42]
③発がん性	×	[30]、[40]、[41]、[42]、[47]、 [111]	食品安全委員会 (2013) [30] SCF(2001,2002) [40]、[41] EU (2003) [42] IARC(1999) [47]

④生殖毒性	×	[30]、[41]、[42]	食品安全委員会 (2013) [30] SCF(2001) [41] EU (2003) [42]
⑤発生毒性	×	[30]、[41]、[42]	食品安全委員会 (2013) [30] SCF(2001) [41] EU (2003) [42]
⑥一般薬理	×	—	—
⑦遺伝毒性	○	[30]、[42]、[112]、[135]	食品安全委員会 (2013) [30] EU (2003) [42]
⑧アレルギー性	×	—	—
⑨ヒトにおける知見	×	[42]、[47]	EU (2003) [42] IARC(1999)[47]

(ロ) 1-ビニルイミダゾール (NVI)

①.急性毒性試験

2012年のEbelらのレビューによれば [105]、ラット (性別匹数不明) に経口投与した際のビニルイミダゾールのLD₅₀値は1100 mg/kg 体重と報告されている。

また、2020年のECHAのデータベースによれば [106]、ラット (各群5匹) にNVI (520, 1040, 2080 mg/kg 体重) を5日間飲水投与した結果。1040 mg/kg 体重の投与群で2匹、2080 mg/kg 体重の投与群ではすべてのラットが死亡したことからLD₅₀値は1040 mg/kg 体重と報告されている。

②.反復毒性試験

European Chemicals Agency (ECHA : 欧州化学品庁) のCLH(Harmonised Classification and Labelling) report(調和の取れた分類及び表示のための報告書)、1-vinylimidazole (2016年) にラットを用いた反復投与毒性試験と生殖/発生毒性スクリーニング試験の併合試験 (OECD TG422) に従って実施された試験成績 (BASF SE, 2013 : 未公表) を引用しているので記載する [108] [109] (非公開)。

1. 亜急性毒性試験

1-1 ラットにおける30日試験

2013年のBASFの社内レポート [109](非公開)を引用したCLH report(2016)によると[108]、Wistar ラット (各群雌雄各10匹) に1-vinylimidazoleが0 (対照群)、5、15、35 mg/kg 体重/日の用量で強制経口投与された。投与期間は雄では、交配前2週間及び交配期間中、そして、投与開始後30日間投与が継続された。一方雌では、交配前2週間、交配期間、妊娠期間及び授乳期間 (約2週間) に亘って投与され、投与開始から50日後に屠殺される試験が実施されている。

その結果、被験物質に起因した動物の死亡は認められなかったが、対照群の雌

の1匹が試験の第1週に瀕死の状態となり屠殺された。

一般状態では、15及び35 mg/kg 体重/日群の雌雄の一部の動物で交配前に立毛及び眼瞼下垂が観察された。また、15 mg/kg 体重/日群の雌の1匹に出産後1日目と2日目に立毛が観察された。

摂餌量は、15及び35 mg/kg 体重/日群の雄で交配前の全期間、また、35 mg/kg 体重/日群の雌では交配前の0~13日、妊娠期間、そして授乳期間を通して、15 mg/kg 体重/日群の雌では交配前の全期間を通して対照群と比べ統計学的に有意に低下した。体重では、35 mg/kg 体重/日群の雌雄で最終体重が統計学的に有意に減少した。そして、15及び35 mg/kg 体重/日群の雄で交配前に体重増加量が有意に減少した。

血液学的検査では、被験物質投与に関連した影響は認められなかった。

血液化学的検査では、15及び35 mg/kg 体重/日群の雌で、アルカリホスファターゼ (ALP) が対照群と比較して高値を示したが、その値はヒストリカルコントロール (データベース値) の範囲内であった。すべての被験物質投与群の雄で一部の検査項目が有意に増加したが、トリグリセリド及びクロールはヒストリカルコントロールの範囲内であった。カリウムと無機リンの値はわずかにヒストリカルコントロールの範囲を超えていたが、用量依存的な変化ではなく、これらの変化は偶発的で、被験物質投与に関連したものではないとしている。15及び35 mg/kg 体重/日群の雄で尿素濃度が対照と比べて有意に高値を示したが、用量依存的ではなかった。しかし、ヒストリカルコントロールの範囲をわずかに上回っており、被験物質投与に関連した増加と見なされたが、有害影響とは見なされなかった。

尿検査では、すべての被験物質投与群の雌雄で、尿の pH が対照と比べて高値を示した。おそらくアルカリ性塩の尿中での析出により、35 mg/kg 体重/日群の雌雄及び15 mg/kg 体重/日群の雌で尿沈査中に雄ではリン酸塩結晶、雌では主に未知の結晶が見出された。リン酸塩結晶は対照群の尿沈査中では一般的であり、総ビリルビン、アルブミン等のその他の尿パラメーターに被験物質投与に関連したいかなる変化も認められず、pH の高値それ自体は被験物質投与に関連しているとは見なされたが、有害影響とは考えられないとしている。15及び35 mg/kg 体重/日群の雄及び35 mg/kg 体重/日群の雌で認められた肝重量の統計学的に有意な増加と関連して、病理学的検査で小葉中心性の肝細胞肥大が明らかにされた。しかし、この変化は適応性であり有害影響ではないと評価されている。腎臓では、15及び35 mg/kg 体重/日群の雌雄で重量が有意に増加したが、尿検査で観察された結晶と関連する組織所見は観察されなかった。35 mg/kg 体重/日群の雄で、精巢の相対重量が増加したが、これらの動物の最終体重の減少と関連していると考えられた。その他の臓器重量は、対照群との間に有意差は認められなかった。また、その他の組織所見も対照群と投与群で同等に分布しており、投与と関連性は

ないと考えられた。

以上、臨床症状および体重/体重増加量の減少に基づき、ECHA は本試験条件下における 1-vinylimidazole の無毒性量 (NOAEL) は原著の判断のとおり、5 mg/kg 体重/日と判断された。

1-2. ラットにおける 90 日試験 (GLP)

CLH report (2016) [108]によると、Wistar ラット (各群雌雄各 10 匹) に 1-vinylimidazole を 0 (対照群)、90、180 mg/kg 体重/日の用量を週 5 日で 90 日間強制経口投与する試験が実施されている。その結果、90 mg/kg 体重/日群で、投与後 1 時間以内に一過性に軽度から激しい流涎が観察されたが、その他の臨床症状は観察されなかった。雌雄ラットで摂餌量は減少 (雄: 最大-42%、雌: 最大-21%) し、飲水量は増加 (雄: 最大 48%、雌: 最大 105%) した。雄でのみ体重増加が抑制された (投与終了時: -31%)。雌の肝重量は増加 (絶対重量: 17%、相対重量: 27%) し、雄では減少 (絶対重量: -33%) した。180 mg/kg 体重/日群で生き残った雌雄の動物は全身状態が著しく低下し、摂餌量が減少、そして、体重増加が抑制されたため、早期に屠殺された (投与開始後、雄: 14 日、雌: 21 日)。肝臓ホモジネートの γ -グルタミルトランスフェラーゼ活性が 90 及び 180 mg/kg 体重/日群の雄で 14 日目 (128 及び 480%) 及び雌では 21 日目 (238 及び 280%) に増加した。肝臓に組織所見が観察されなかったため、 γ -グルタミルトランスフェラーゼ活性の増加と組織所見との間に相関性がみられなかった。

以上のことより、ECHA は肝酵素活性の変化に基づいて、本試験における雌雄の最低毒性量 (LOAEL) 90 mg/kg 体重/日が明らかにされた [108]。また、同様の報告が BASF の社内レポート (非公表) に記載されており同様に LOAEL の判断がされている [109][139]。

2. 亜急性毒性試験まとめ

指定等要請者はラットに 1-vinylimidazole (1-ビニルイミダゾール) を 0、5、15、35 mg/kg 体重/日の用量で 30 日間反復経口投与した結果、15 mg/kg 体重/日以上の群で立毛や眼瞼下垂が観察され、体重も有意に減少したことから、反復投与毒性試験における NOAEL は 5 mg/kg 体重/日と考える。LOAEL に関しては 0 (対照群)、90、180 mg/kg 体重/日の用量を週 5 日で 90 日間強制経口投与する試験では肝酵素活性の変化から ECHA と同様に 90 mg/kg 体重/日であると考察した。

③. 発がん性試験

PubMed 及び Toxline で検索したが NVI の発がん性試験に関する知見を見いだすことは出来なかった [81] [82]。

④. 生殖毒性試験

European Chemicals Agency (ECHA : 欧州化学品庁) の CLH(Harmonised Classification and Labelling) report(調和の取れた分類及び表示のための報告書)、1-vinylimidazole (2016年) [108]において、ラットを用いた反復投与毒性試験と生殖/発生毒性スクリーニング試験の併合試験 (OECD TG422) に従って実施した出生前発生毒性試験についての BASF の 2013 年の報告 (未公表) [109]を引用している。CLH report 報告 (2016年) によると、Wistar ラット (各群雌雄各 10 匹) に NVI を 0 (対照群)、5、15、35 mg/kg 体重/日の用量で強制経口投与した。投与期間は雄では、交配前 2 週間及び交配期間中、そして、投与開始後 30 日間投与が継続された。一方雌では、交配前 2 週間、交配期間、妊娠期間及び授乳期間 (約 2 週間) に亘って投与され、投与開始から 50 日後に屠殺される試験が実施されている。

その結果、F1 児を得るために雌と雄を同居させたところ全ての F0 親動物で交尾が確認され、雌雄の交尾率は対照群を含む全ての群で 100%であったが、対照群を含む各群で 1 匹に妊娠が認められず、受胎率は投与用量とは関係なく 88.9%から 90%であった。同居後、精子が確認されるまでの平均期間は、投与とは無関係に 1.9~3.0 日の範囲であった。対照群を含む各群 1 匹の動物を除いて、精子が確認されたすべてのラットは児を出産し、子宮内に受精卵が着床しており、妊娠率は 100%であった。平均妊娠期間は、対照群を含むすべての群で 22.2~22.9 日と類似していた。

試験終了時の肉眼的検査で妊娠が成立しなかった雌と同居した雄ラットに不妊と関連する肉眼的病変はみられず、また、妊娠が成立しなかった雌ラットにも関連する肉眼的病変は確認出来なかった。精巣及び精巣上体の重量、及び雌雄の親動物を対象にした病理組織学的検査で、精巣、精巣上体、精囊、卵巣、子宮及び膣に被験物質投与と関連した変化は認められなかった。

以上のことより、雌雄の交尾率及び妊娠率、受胎率、交尾成立前の期間は被験物質投与による影響を受けていないことより、生殖能力障害作用に対する NOAEL を ECHA は原著の判断のとおり最高用量の 35 mg/kg 体重/日に設定している [108]。指定等要請者は上記の実験結果からこの ECHA の設定した NOAEL を支持する。

⑤. 出生前発生毒性試験

European Chemicals Agency (ECHA : 欧州化学品庁) の CLH(Harmonised Classification and Labelling) report(調和の取れた分類及び表示のための報告書)、1-vinylimidazole (2016年) [108]において、ラットを用いた反復投与毒性試験と生殖/発生毒性スクリーニング試験の併合試験 (OECD TG422) に従って実施した出生前発生毒性試験についての BASF の 2013 年の報告 (未公表) [109]を引用している。

CLH report (2016年) 報告によると、Wistar ラット (各群雌雄各 10 匹) に NVI を 0 (対照群)、5、15、35 mg/kg 体重/日の用量で強制経口投与した。投与期間は、雄で

は交配前 2 週間及び交配期間中を含む計 30 日間、雌では交配前 2 週間、交配期間、妊娠期間及び授乳期間（約 2 週間）の計 50 日間である。結果、35 mg/kg 体重/日投与群において、死産でない割合と F1 の 4 日目の生存率はそれぞれ 74.5%と 59.6%と、対照群（それぞれ 98.9%、100%）と比較して有意に低下しており、これらの影響は被験物質に依存し、有害であると判断された。5 mg/kg 体重/日投与群及び 15 mg/kg 体重/日投与群では、出生数及び F1 の生存率は対照群と同程度であった。出生日および生後 4 日における生存 F1 の性分布および性比は対照群と被験物質投与群との間に本質的な差はみられなかった。

生後 4 日における 15 mg/kg 体重/日投与群及び 35 mg/kg 体重/日投与群の F1 の平均体重、ならびに 35 mg/kg 体重/日投与群の F1 の生後 1~4 日の体重増加量は統計学的に有意に減少した。これらの影響は被験物質に依存し、有害であると考えられた。F1 の臨床観察では、被験物質に関連した変化は明らかに出来なかった。F1 の肉眼的検査では、多数の 15 mg/kg 体重/日投与群及び 35 mg/kg 体重/日投与群に心臓の大血管の動脈瘤が観察された。15 mg/kg 体重/日投与群及び 35 mg/kg 体重/日投与群で肉眼的に拡張した心膜血管を有するすべての F1 を Hart/Masson-Goldner Trichrome で染色し、動脈瘤の存在について組織病理学的に検査した。これらの肉眼的変化の組織学的検査では、拡張した血管（大動脈、動脈または動脈管）における解離性動脈瘤を明らかにしており、全体的に肉眼所見と相関していた。影響を受けた母動物数は、15 mg/kg 体重/日投与群と 35 mg/kg 体重/日投与群でそれぞれ 2 匹であった。顕微鏡検査のために選択されたすべての F1 に拡張した血管が観察された。35 mg/kg 体重/日投与群では、拡張した大動脈弓を有するすべての F1 に拡張した動脈も観察されたが、15 mg/kg 体重/日投与群では、拡張した大動脈弓を有する 3 匹の F1 のうち 1 匹のみに拡張した大動脈が観察された。F1 におけるこれらの所見はすべて被験物質投与による影響であり、有害であると考えられた。

要約すると、この反復投与毒性試験と生殖/発生毒性スクリーニング併合試験の条件下で、雌雄の Wistar ラットに NVI を強制経口投与した結果として、15 mg/kg 体重/日投与群及び 35 mg/kg 体重/日投与群で全身毒性の徴候（母動物で臨床徴候、体重及び摂餌量の減少）、及び 35 mg/kg 体重/日投与群で出生率及び生存率の低下が観察され、15 mg/kg 体重/日投与群及び 35 mg/kg 体重/日投与群の F1 の心臓で大血管の解離性動脈瘤が観察された。

以上のことより、本試験条件下における発生毒性の NOAEL は、15 及び 35 mg/kg 体重/日投与での新生児体重の減少、周産期死亡率及び心臓の大血管における解離性動脈瘤に基づき ECHA は 5 mg/kg 体重/日と設定している [108]。指定等要請者は上記の実験結果からこの ECHA の NOAEL を支持する。

⑥. 一般薬理試験

PubMed 及び Toxline で検索したが NVI の一般薬理試験に関する知見を見いだすことは出来なかった [81] [82]。

⑦.遺伝毒性

FSANZ (2017) において、BASF Safety Data Sheet (2016) が 1-ビニルイミダゾールについての細菌及びほ乳類培養細胞による遺伝毒性試験では陰性の結果が得られていることを引用している。但し、具体的な試験の種類や試験条件等については記載されていない [46]。

1. 微生物を用いる復帰突然変異試験 (GLP)

ECHA の 1997 年の報告によると [113]、1-ビニルイミダゾールについて細菌株 (*Salmonella typhimurium* TA98、TA100、TA1535、TA1537、*E.coli*/WP2) を用いた復帰突然変異試験 (最高用量 5,000 µg/plate) が実施されており、代謝活性化の有無にかかわらず陰性の結果が得られている。

以上のことから NVI において生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないと指定等要請者は考えた。また、試験成績を下記の表 14 にまとめた。

表 14.NVI の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	参考文献番号
遺伝子突然変異	復帰突然変異試験 (in vitro)	細菌 (<i>Salmonella typhimurium</i> TA98、TA100、TA1535、TA1537、 <i>E.coli</i> /WP2)	最高用量 5,000 µg/plate	陰性	[113]

⑧.アレルギー性試験

PubMed 及び Toxline で検索したが NVI においてアレルギー性試験成績に関する知見を見いだすことは出来なかった [81] [82]。

⑨. ヒトにおける知見

PubMed 及び Toxline で検索したが NVI においてヒトにおける経口投与の知見を見いだすことは出来なかった [81] [82]。しかし、国際機関等における評価の項目でも述べたが以下のような報告がされているため記載する。

NVI は第 114 回 SCF 会議 (1998 年 12 月 10 日) で R = 0.05 mg / kg 食品で利用可能であり、重合体からの残留物が食品内 < 0.17 ppb であると計算され、ADI または耐容一日摂取量 (TDI) は設定できなかったが、現状での使用は許容できるとされた [43]。

⑩.NVI の毒性試験結果のまとめ

NVI の毒性試験に関して提出状況下記の表 15 にまとめた。NVI は生体にとって特段問題となる遺伝毒性はなかった。アレルギー性試験に関しては NVI の知見を見出すことができなかったが、PVI/PVP の毒性試験で PVI/PVP の LLNA 試験が実施されており、陰性を示していることから PVI/PVP の夾雑物に含まれている場合の夾雑物に関してアレルギー性は示さないと考えられる。反復毒性と出生前発生毒性から NOAEL 5 mg/kg 体重/日、生殖毒性から NOAEL 35 mg/kg 体重/日が得られた。過小評価を避けるために本概要書における NVI の NOAEL を 5 mg/kg 体重/日とした。2007 年の経済産業省が発行した化学物質のリスク評価のためのガイドブックによると[131]、不確実係数として試験動物との種差 (10)、個人の感受性の違い (10)、試験機関の長さ (1 ヶ月の場合:10) を使用することになっている。そこで本概要書における NVI の ADI を 30 日試験から得られた NOAEL に不確実係数 1000 で除した、5 µg /kg 体重/日とすることにした。

表 15.NVI 毒性試験提出状況まとめ

試験名	提出状況	使用文献番号	国際機関評価
①急性毒性	○	[105]、[106]	
②反復毒性	○	[108]、 [109]	ECHA CLH report (2016) [108]
③発がん性	×	—	—
④生殖毒性	○	[108]	ECHA CLH report (2016) [108]
⑤発生毒性	○	[108]、 [109]	ECHA CLH report (2016) [108]
⑥一般薬理	×	—	—
⑦遺伝毒性	○	[46]、 [113]	ECHA CLH report (2016) [108] FSANZ (2017) [46]
⑧アレルギー性	×	—	—
⑨ヒトにおける知見	×	[43]	SCF (1998) [43]

(ハ) 2-ピロリドン

①.急性毒性試験

2020 年の ECHA のデータベースによると[136]、BASF 社が OECD ガイドライン 401 に従って Sprague-Dawley ラット (雌雄各 5 匹) に 2-ピロリドン (5000 mg/kg 体重) を経口投与した。その結果すべてのラットにおいて死亡が確認されなかった。このことから 2-ピロリドンの LD₅₀ 値は 5000 mg/kg 体重より大きいと報告された。同様の報告が BASF 社の 2014 年の非公開資料にされている [5]。

2020 年の ECHA のデータベースによると[136]、 OECD ガイドライン 401 に従って Sprague-Dawley ラット (雌雄各 5 匹) に 2-ピロリドン (2000 mg/kg 体重) を単回経口投与した。その結果すべてのラットにおいて死亡が確認されなかった。このことから 2-ピロリドンの LD₅₀ 値は 2000 mg/kg 体重より大きいと報告された。

②.反復毒性試験

オーストラリアの National Industrial Chemicals Notification and Assessment Scheme (NICNAS: 国家工業化学品届出審査機構) の報告書(1-(2-Hydroxyethyl)-2-pyrrolidone 2005 年) の中にラットを用いた 2-pyrrolidone の 90 日間反復投与毒性試験成績 (2003 年 Toxicology and Regulatory Affairs の試験成績) を引用しているので記載する。

各群雌雄各 10 匹の Wistar ラットに 2-pyrrolidone (純度 99.7%) を飲料水に溶解し下記の様な用量を設定して 90 日間投与する試験 (GLP) が実施されている [110]。

表 16. 90 日間試験投与量

群	I (対照群)	II (低用量)	III (中用量 1)	III (中用量 2)	IV (高用量)
用量設定 (ppm)	0	600	2400	7200	15000
mg/kg 体重/日	0	37	207	586	1125

その結果、試験期間中に動物の死亡は認められなかった。体重増加量の減少が対照と比較して第IV群 (雄で9%、雌で8%減少) 及び第III群 (雄で7%、雌で6%減少) 両群で認められた。摂餌量の減少 (詳細不明) が第IV群の雌雄及び第III群の雌で、また、飲水量の減少 (詳細不明) が第IV群及び第III群の雌雄の両群で認められた。

血液学的検査では、プロトロンビン時間の延長が第IV群の雌雄で確認されたが、第I群、第II群及び第III群では確認されなかった。臨床化学的検査では、クレアチニンの低下 (詳細不明) が第IV群及び第II群の雌雄の両群で観察された。総たんぱくの低下 (詳細不明) が第IV群の雌雄及び第II群の雌で観察された。グロブリン及び中性脂肪の低下 (詳細不明) が第IV群の雌雄において観察された。第I群及び第II群の動物においては被験物質投与の影響は確認されなかった。

尿検査では、第IV群と第III群両群の雄で、尿量が減少し、尿比重が増加 (詳細不明)、また、尿の色調が暗色化 (dark discolouration) して観察されたが、第I群及び第II群においては被験物質投与の影響は観察されなかった。

臓器重量では、平均腎相対重量の統計学的に有意な増加が第IV群 (雄で13.2%、雌で12.6%増加) 及び第III群 (雄で7.3%増加) の両群で認められた。

組織学的検査では、雌の全ての投与群で「胸腺皮質に変異細胞組織 (altered cellular composition)」が観察された。この変異した胸腺皮質の有意性を調査するために、別途各群5匹の雌性ラットに0、50及び15000ppmで90日間飲水投与した結果、この追加試験では対照群を含め同様な所見が観察された。さらに、その他の試験における対照群の胸腺スライドを調査したところ、同様な所見を有する動物も確認されており、本病変は偶発的で、被験物質と関連したものではないと考えられた

以上のことから、被験物質投与と関連した影響が第IV群と第III群両群で認められていることを基に、NICNAS の報告書では本試験条件下における 2-pyrrolidone の NOAEL を 2400ppm (207 mg/kg 体重/日) と設定している。指定等要請者は上記の実

験結果から NICNAS の NOAEL の値を支持する。

③. 発がん性試験

PubMed 及び Toxline で検索したが 2-ピロリドンの発がん性試験に関する知見を見いだすことは出来なかった [81] [82]。

④. 生殖毒性試験

PubMed 及び Toxline で検索したが 2-ピロリドンの生殖毒性試験に関する知見を見いだすことは出来なかった [81] [82]。

⑤. 出生前発生毒性試験

ECHA は 2-ピロリドンの出生前発生毒性試験について以下のようにまとめている [137]。

2019 年の ECHA の非公開資料から OECD のガイドライン 414 に沿って妊娠中の New Zealand White ウサギ（各群 24 匹）に妊娠 7 日目から 28 日目に 1 日 1 回 2-ピロリドン（0、250、500、1000 mg/kg 体重/日）を強制経口投与し、妊娠 29 日目に安楽死を行った。安楽死後、母体毒性と胎児への影響を調べた。その結果、500 および 1000 mg/kg 体重/日の投与量では母体の摂食量が対照群（0 mg/kg 体重/日）に比べて統計学的に優位に減少し、平均体重も減少している。しかし、妊娠 29 日目の組織学的検査ではどの投与群も肝臓重量もその他の臓器に関しても被験物質に関連した所見はなかった。胎児の生存率に関しては 1000 mg/kg 体重/日の投与量で母体 1 匹が流産したが、着床後の損失の同腹仔比率、生存可能な胎児の平均数と割合、胎児の性比に関してはどの投与群も統計学的な差はなかった。胎児の発育に関しては 500 および 1000 mg/kg 体重/日の投与量では胎児の平均体重が優位に減少した。500 mg/kg 体重/日では対象群に比べて雄の胎児の平均体重が 14.5%、雌の胎児の平均体重が 11.6%、すべての胎児において平均体重 14.1%の減少が認められた。1000 mg/kg 体重/日では対象群に比べて雄の胎児の平均体重が 19.6%、雌の胎児の平均体重が 19.8%、すべての胎児において平均体重 20.0%の減少が認められた。250 mg/kg 体重/日では統計学的有意な差はなかった。奇形児に関しては 1000 mg/kg 体重/日で大動脈大静脈、小心室の発生、および心室中隔欠損が被験物質に由来する奇形と考えられた。その他の投与群で被験物質由来の奇形児の発生は確認されなかった。以上のことから ECHA は 2-ピロリドンの出生前発生毒性の NOAEL を 250 mg/kg 体重/日と考えた。

さらに、1990 年のレポートから OECD のガイドライン 414 に沿って妊娠中 Sprague Dawley ラット（各群 25 匹）に 2-ピロリドン（190、600、1900 mg/kg 体重/日）を妊娠 6～15 日目まで経口投与した。その結果、母体に関しては 600、1900 mg/kg 体重/日で平均体重の減少がそれぞれ 5%、8.5%確認され、摂食量も減少が認められた。しかし、解剖による組織学的な所見は被験物質由来の物はなかった。1900 mg/kg 体重/日

では奇形児が確認された。肛門閉鎖症（5匹中5匹が同腹児）、無名動脈形成（2匹中2匹が同腹児）、側脳室の拡張（4匹中2匹が同腹児）が組み合わされた大きな奇形が観察された。その他の用量では胎児への毒性は観察されなかった。そこで発生毒性に関して ECHA は NOAEL を 600 mg/kg 体重/日と記載している。

この1990年のレポートを受けて指定等要請者は胎児への毒性はないが600 mg/kg 体重/日で母体への軽微な毒性知見が確認されているため過小評価を避けるために NOAEL を 190 mg/kg 体重/日とすることにした。2014年の BASF の非公開資料にでも同様の試験結果から指定等要請者と同じ NOAEL が記載されている [49]。

⑥. 一般薬理試験

PubMed 及び Toxline で検索したが 2-ピロリドンの一般薬理試験に関する知見を見いだすことは出来なかった [81] [82]。

⑦. 遺伝毒性

1. 微生物を用いる復帰突然変異試験

酵母 (*Saccharomces cerevisiae* D61.M) を用いた染色体異数性誘発試験 (最高用量 445.0mM) では陽性の結果が得られている [114]。

2. ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験 (GLP)

ECHA の 1987 年の報告によると [115]、2-ピロリドンについてヒトのリンパ球を用いた染色体異常試験 (OECD Guideline 473 に従う) (最高濃度 6 mg/mL) が実施された。処理濃度は 1250~3500 µg/ml (without S9-Mix), 2500~ 6000 µg/ml (with S9-Mix) で、代謝活性化有無にかかわらず陰性であった。

3. げっ歯類を用いる小核試験 (GLP)

ECHA の 1993 年の報告によると [116]、NMRI マウス (各群雌雄各 5 匹) に 2-ピロリドン処理 (500, 1000, 2000 mg/kg を単回腹腔内投与 24 時間、2000 mg/kg を単回腹腔内投与 16 時間及び 48 時間) を行った。シクロホスファミド (CPP) およびビンクリスチン (VCR) 処理を行ったマウスの骨髄塗抹標本をポジティブコントロールとした。その結果、すべての 2-ピロリドン処理結果において陰性であった。

NICNAS の 2005 年の報告によると [110]、NMRI マウス (各群雌雄各 5 匹) に 2-ピロリドン (純度 99.5%) を用いて処理 (500, 1000, 2000 mg/kg を単回腹腔内投与 24 時間、2000 mg/kg を単回腹腔内投与 16 時間及び 48 時間) を行った。シクロホスファミド (CPP) およびビンクリスチン (VCR) 処理を行ったマウスの骨髄塗抹標本をポジティブコントロールとした。その結果、すべての用量において、小核出現率の増加は認められず、陰性との結果が得られている。

これらの報告をうけて 2-ピロリドンにおいて生体にとって特段問題となる遺伝毒

性はないと指定等要請者は考えた。また、試験成績を下記の表 17 にまとめた。

表 17. 2-ピロリドンの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	参考文献番号
遺伝子突然変異	復帰突然変異試験 (in vitro)	<i>Saccharomces cerevisiae</i> D61.M	最高用量 445.0mM	陰性	[114]
染色体異常	染色体異常試験	ヒトリンパ球細胞	最高濃度 6 mg/mL	陰性 (代謝活性化の有無にかかわらず)	[115]
	小核試験 (in vivo)	NMRI マウス(雌雄各 5 匹)	500, 1000, 2000 mg/kg を単回腹腔内投与 24 時間、2000 mg/kg を単回腹腔内投与 16 時間及び 48 時間	陰性	[116] [110]

⑧.アレルゲン性試験

PubMed 及び Toxline で検索したが 2-ピロリドンにおいてアレルゲン性試験成績に関する知見を見いだすことは出来なかった [81] [82]。

⑨.ヒトにおける知見

PubMed 及び Toxline で検索したが NVP においてヒトにおける経口投与の知見を見いだすことは出来なかった [81] [82]。

⑩.2-ピロリドンの毒性試験結果のまとめ

2-ピロリドンの毒性試験に関して提出状況下記の表 18 にまとめた。2-ピロリドンは生体にとって特段問題となる遺伝毒性はなかった。アレルゲン性試験に関しては 2-ピロリドンにおいて知見を見出すことができなかったが、PVI/PVP の毒性試験で PVI/PVP の LLNA 試験が実施されており、陰性を示していることから PVI/PVP の夾雑物に含まれている場合の夾雑物に関してアレルゲン性は示さないと考えられる。反復毒性から NOAEL 207mg/kg 体重/日、発生毒性から NOAEL 190 mg/kg 体重/日が得られた。過小評価を避けるために本概要書における 2-ピロリドンの NOAEL を 190mg/kg 体重/日とした。2007 年の経済産業省が発行した化学物質のリスク評価のためのガイドブックによると [131]、不確実係数として試験動物との種差 (10)、個人の感受性の違い (10)、試験機関の長さ (3 ヶ月の場合 : 5) を使用することになっている。本概要書では 90 日の反復毒性試験結果よりも低い NOAEL を使用しているので出生前発生毒性試験の NOAEL を使用するが試験期間は反復毒性試験の 90 日を使用して問題ないと指定等要

請者は考えた。そこで本概要書における 2-ピロリドンの ADI を出生前発生毒性試験から得られた NOAEL に不確実係数 500 で除した、380 µg/kg 体重/日とすることにした。

表 18. 2-ピロリドン毒性試験提出状況まとめ

試験名	提出状況	使用文献番号	国際機関評価
① 急性毒性	○	[136]、[5]	—
② 反復毒性	○	[110]	NICNAS (2005) [110]
③発がん性	×	—	—
④生殖毒性	×	—	—
⑤発生毒性	○	[137]、[49]	—
⑥一般薬理	×	—	—
⑦遺伝毒性	○	[110]、[114]、[115]、[116]	NICNAS (2005) [110]
⑧アレルギー性	×	—	—
⑨ヒトにおける知見	×	—	—

(ニ)．イミダゾール

①.急性毒性試験

OECD SIDS (2003) の急性経口毒性試験 (BASF (1956) : 未公表) の報告を引用しているので記載する [36]。ラット経口投与におけるイミダゾールの LD₅₀値は 960-970 mg/kg 体重とされている。投与時の症状は、動物は痙攣し、横臥位で不均衡となり、死亡は投与後 1 日以内に認められており、生存動物は無気力となり、呼吸数が増加していた。

また、OECD SIDS が引用している RTECS (1991) 及び Nishie ら (1969) の報告によれば、マウス経口投与における LD₅₀値は 880 mg/kg 体重及び 1880mg/kg 体重とされている [36]。しかし、RTECS (1991) については科学的ではない、Nishie ら (1969) については仔細な記録がないと言及している。

②.反復毒性試験

OECD SIDS (Screening Information Data Set:スクリーニング用データセット) (2003) の反復投与毒性試験 (BASF (1976) : 未公表) の報告を引用しているので記載する [36]。

1. 亜急性毒性試験

1-1.ラットにおける 28 日試験

1976 年の BASF 非公開資料によると、各群雌雄各 10 匹の SD 系ラットにイミダゾールを 0 (対照群)、62.5、125、250 及び 500 mg/kg 体重/日の用量で 28 日間 (但し、投与は 5 回/週) 経口投与する試験が実施されている。

その結果、死亡動物はみられず、62.5 及び 125 mg/kg 体重/日群では一般状態に異常は見られなかった。しかし、250 mg/kg 体重/日群では 17 日目以降に全動物で唾液分

泌が増加し、500 mg/kg 体重/日群では、全ての動物が 15 日目以降、不安定歩行、顕著な唾液分泌（血液を混在）、そして 17 日目以降、被毛が粗造となった。

雄ではいかなる用量においても体重及び摂餌量に統計学的に有意差はみられなかったが、雌では 125 mg/kg 体重/日以上群で試験終了時に体重及び摂餌量が統計学的に有意に増加した。

血液学的検査では、ヘモグロビンが 125 mg/kg 体重/日以上群の雌及び 500 mg/kg 体重/日群の雄、ヘマトクリット値が 250 mg/kg 体重/日以上群の雌及び 500 mg/kg 体重/日群の雄、及び赤血球数が 250 mg/kg 体重/日以上群の雌で統計学的に有意に減少した。臨床化学的検査では、クレアチニンと ALT がどちらも 500 mg/kg 体重/日群の雄で増加した。尿検査では、被験物質投与に関連した影響は見られなかった。

肉眼的に肝肥大が、125 mg/kg 体重/日以上群のほとんどの雄及び 500 mg/kg 体重/日群の雌で 10 匹中 5 匹に認められた。また、腎肥大が雄では 125 mg/kg 体重/日以上群でみられ、この現象は用量に相関して顕著であったが、雌では見られなかった。

相対重量の統計的に有意な増加が、肝臓では 125、250 及び 500 mg/kg 体重/日群の雄で 1.9、11.7 及び 14.8%、雌で 19.1、14.9 及び 33%認められた。また、250 及び 500 mg/kg 体重/日群の雄の腎臓、500 mg/kg 体重/日群の雄の副腎、及び 500 mg/kg 体重/日群の雌の心臓で相対重量の有意な増加が認められた。

病理組織学的検査では心臓、肺、肝臓、腎臓、精巣及び卵巣に被験物質投与に関連した変化は認められなかった。

以上のことより OECD SIDS のレポートでは本試験における無毒性量（NOAEL）は 62.5 mg/kg 体重とされているが、赤血球に対する影響は最高 180mg/kg 体重/日を受ける 90 日試験では確認されなかった [36]。なお、BASF 社非公開資料に同様の記載がある [140]（非公開）。

1-2. ラットにおける 90 日試験

1976 年の BASF 非公開資料によると、各群雌雄各 10 匹の Wistar ラットにイミダゾールを 0（対照群）、20、60 及び 180 mg/kg 体重/日の用量で 3 カ月間経口投与する試験が実施されている。

その結果、対照群の雄 1 匹が 40 日目に死亡し、20 mg/kg 体重/日群の雄 1 匹が 86 日目に瀕死の状態で見つめられた。その他、試験期間を通して一般状態、体重、摂餌量、飲水量、眼科学的検査、機能検査、自発運動及び性周期に被験物質と関連した影響は認められなかった。

血液学的検査では被験物質投与と関連した影響は認められなかった。臨床化学的検査では 180 mg/kg 体重/日群の雌雄でクロール及び血清グロブリンが減少、さらに雌で総タンパクやアルブミンの減少がみられたが、その他、被験物質投与と関連した影響は認められなかった。試験終了時に実施した尿検査では、180 mg/kg 体重/日群の雌雄で尿沈渣に変性した移行上皮細胞が増加したが、その他に被験物質投与と関

連した影響は認められなかった。精子検査ではいかなる用量群においても被験物質投与に関連した影響は認められなかった。

臓器重量では、180 mg/kg 体重/日群の肝相対重量¹⁹（雄：107.5%、雌：102.6%）及び腎相対重量²⁰（雄：109.1%）が統計学的に有意に増加した。肉眼的検査では、被験物質投与に関連した影響は見られなかった。

組織病理学的に被験物質投与に関連した所見が腎臓及び肝臓で認められた。腎臓では、180 mg/kg 体重/日群の雄で腎皮質の近位尿細管の上皮及び管腔に Mallory-Heidenhain 染色で着色し、免疫組織化学的染色によって証明された $\alpha 2u$ -ミクログロブリンの蓄積が認められた。 $\alpha 2u$ -ミクログロブリンの蓄積は被験物質と関連した影響と見なされたが、ラット特異的な現象と考えられ、ヒトに対して毒性影響はないとされている。肝臓では 180 mg/kg 体重/日群で軽微な小葉中心性の肝細胞肥大が雄（10 匹中 9 匹）及び雌（10 匹中 2 匹）で観察されたが、その他の組織学的変化は観察されなかった。

以上より、被験物質と関連した所見は高用量群の動物に限られており、低用量群及び中用量群の動物には観察されなかったことから、OECD SIDS のレポートでは本試験条件下における無毒性量（NOAEL）は雌雄ともに 60 mg/kg 体重/日とされている [36]。なお、BASF 社非公開資料に同様の記載がある [140]（非公開）。

2. 亜急性毒性試験まとめ

OECD SIDS のレポートから [36]、ラットを用いた 28 日間反復投与毒性試験では 125 mg/kg 体重/日以上以上の群の雌雄で肝相対重量、また、250 mg/kg 体重/日以上以上の群の雄で腎相対重量が統計学的に有意に増加した。この試験結果から NOAEL は 62.5 mg/kg 体重と記載がある。また、ラットを用いた 90 日間反復投与毒性試験でも 180 mg/kg 体重/日の雌雄で肝相対重量が有意に増加し、組織学的に小葉中心性肝細胞肥大が観察され、また、雄で腎相対重量が有意に増加し、組織学的に腎皮質の近位尿細管に $\alpha 2u$ -グロブリンの蓄積が観察されていることから、NOAEL は雌雄ともに 60 mg/kg 体重/日とされている。これらの結果を踏まえて指定等要請者は試験期間が長いことと過小評価を避けるという観点からイミダゾールの NOAEL は 60 mg/kg 体重/日と考えた。

③. 発がん性試験

PubMed 及び Toxline で検索したがイミダゾールの発がん性試験に関する知見を見いだすことは出来なかった [81] [82]。

¹⁹ 肝相対重量は 180 mg/kg 体重/日群の雄が+7.5%、雌が+2.6%増加したと文献[36]に記載があるため、雄：107.5%、雌：102.6%とした。

²⁰ 腎相対重量は 180 mg/kg 体重/日群の雌で+9.1%増加したと文献[36]に記載があるため、109.1%とした。

④. 生殖毒性試験

OECD SIDS (Screening Information Data Set:スクリーニング用データセット) (2003) の生殖毒性 (BASF (2002):未公表) の報告を引用しているので記載する。

各群雌雄各 10 匹²¹の Wistar ラットにイミダゾールを 0 (対照群)、20、60 及び 180 mg/kg 体重/日の用量で強制経口投与し、92 日目に屠殺した反復投与毒性試験が実施されており、その結果を基に生殖毒性を考察している。試験終了時に実施した精巣及び精巣上体の秤量では被験物質投与の影響は認められず、全ての雄性動物を対象とした精巣及び精巣上体の精子数、精子の運動性及び精子形態に被験物質投与の影響は観察されなかった。また、組織病理学的検査においても、雄の精巣、精巣上体、前立腺及び精囊、さらに雌の卵巣、子宮及び乳腺に被験物質投与の影響は観察されていないことから、イミダゾールが雄ラットの精子産生および精子機能に対して、また、雌雄の生殖器官に対して毒性影響を及ぼすことはないことが示されたとして、生殖毒性に係る NOAEL を 180 mg/kg 体重/日としている [36]。雌雄の Wistar ラットにイミダゾールを経口投与した結果、最高用量の 180 mg/kg 体重/日においても雄ラットの精子産生および精子機能に対して、また、雌雄の生殖器官に毒性影響が確認出来ないことから、イミダゾールが雌雄の生殖能に影響を及ぼす可能性は極めて低いと考えられる。指定等要請者は生殖毒性における NOAEL を OECD の考えを支持し、180 mg/kg 体重/日と考えた。

⑤. 出生前発生毒性試験

OECD SIDS (Screening Information Data Set:スクリーニング用データセット) (2003) の出生前発生毒性試験 (BASF (2002):未公表) の報告を引用しているので記載する。

妊娠 Wistar ラット (各群各 22~4 匹) にイミダゾールを 0 (対照群)、20、60 及び 180 mg/kg 体重/日の用量で妊娠 6 日~19 日の間強制経口投与し、妊娠 20 日目に全てのラットを屠殺し、検査する試験が実施されている。

その結果、どの群においても死亡動物は見られなかった。

試験期間中、20 mg/kg 体重/日では被験物質に関連した影響は見られず、60 mg/kg 体重/日では交尾後 6~8 日目に体重増加がわずかではあるが有意に減少したことを除いて、被験物質に関連した影響は見られなかった。

180 mg/kg 体重/日では、一過性の流涎が 15~19 日に 6/25 匹の動物で投与数分後から 15~20 分間認められた。20 日目に膣出血が 1 匹の動物で見られた。

摂餌量が 6~8 日の被験物質投与期間に対照群と比べ 13%と有意に減少した。体重増加も対照と比較して 6~8 日に 45%、また、17~20 に 34%と統計学的に有意に減少した。

²¹ OECD TG 408 に沿った試験との記載があり、当該ガイドラインは各投与群を 20 匹 (雄 10 匹、雌 10 匹) 以上と定めていること、文献[36]INCLID Data Set の P89~93 記載の亜慢性毒性試験 (P99~100 記載の当該試験と同一) において各群 10 匹との記載があることから、P15 の各 5 匹との記載は OECD SIDS の誤りであり、各 10 匹が正しいものと考えられる。

母動物の検査では、子宮重量が対照群と比べて約 26%と有意に減少した。着床後胚損失率の有意な増加（高用量：43%、対照群：8%）は、後期吸収によるものであった。3/24 匹の雌では被験物質投与期間にすべての胚が吸収され、試験終了時に生存胎児はみられなかった。一腹あたりの生存胎児数は有意に減少した。さらに、同腹仔あたりの生存雄性胎児数も有意に減少した。

胎児検査では、性分布は、全ての被験物質投与群で対照群と同程度であった。

高用量の動物では、胎盤重量が対照群と比べて 22%増加したが、平均胎児体重は雌雄合わせて 14%減少した。外表奇形（全身浮腫及び/または口蓋裂）が高用量群 7/21 匹（33%）の 13/132 胎児（約 10%）と有意に増加した。軟部組織の変化（腎盂及び尿管の拡張）が、対照の 6.4%と比較して 27.1%と統計的に有意に増加した。骨格の奇形（肩甲骨短縮、橈骨／尺骨の湾曲）、位置異常、及び胸骨分節分割）が 5/21 匹（24%）の 7/73 胎児（9.6%）と有意に増加した。また、胎児で骨化の遅延が対照群の 91.1%に対して高用量群では 98.4%と有意に増加した。

以上のことより、母体毒性は、試験開始時の摂餌量と 6～8 日目の体重増加量の有意な減少によって立証されるように、180 mg/kg 体重/日のみで認められ、60 mg/kg 体重/日以下の用量では見られていない。胎児発達は着床後胚損失率の増加をもたらした高率の後期吸収及び胎児体重の減少によって立証されるように、180 mg/kg 体重/日で有害影響が認められた。また、催奇形性が、外部奇形および骨格奇形の発生の増加によって示され、そのうち全身浮腫、口蓋裂、肩甲骨短縮及び不完全または遅発性骨形成が顕著であったが、20 または 60 mg/kg 体重/日では増加は見られていないことより、本試験条件下における母体毒性および出生前発生毒性の NOAEL を 60 mg/kg 体重/日と設定している [36]。指定等要請者は出生前発生毒性における NOAEL を OECD の考えを支持し、60 mg/kg 体重/日と考えた。

⑥. 一般薬理試験

PubMed 及び Toxline で検索したがイミダゾールの一般薬理試験に関する知見を見いだすことは出来なかった [81] [82]。

⑦. 遺伝毒性

1. 微生物を用いる復帰突然変異試験

Imidazole OECD SIDS 288324 [36]において 1992 年の BASF AG 社内非公表資料から、細菌（*Salmonella typhimurium* TA98、TA100、TA1535、TA1537）を用いた復帰突然変異試験（最高用量 5,000 µg/plate）が実施されており、代謝活性化の有無にかかわらず陰性の結果が得られている。

1992 年の Forster の報告によると [117]、細菌（*Salmonella typhimurium* TA97、TA98、TA100、TA102）を用いた復帰突然変異試験（最高用量 10,000 µg/plate）が実施されており、代謝活性化の有無にかかわらず陰性が得られている。

2. ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験

1992年のForsterの報告によると [117]、ラット肝細胞を用いた不定期 DNA 合成試験（処理濃度 0.25～4 mg/mL）では陰性が得られている。

1992年のForsterの報告によると [117]、マウス線維芽細胞を用いた細胞形質転換試験（処理濃度 0.1～4 mg/mL）では陰性が得られている。

これらの報告をうけてイミダゾールにおいて生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないと指定等要請者は考えた。また、試験成績を下記の表 19 にまとめた。

表 19. イミダゾールの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	参考文献番号
遺伝子突然変異	復帰突然変異試験 (in vitro)	細菌 (<i>Salmonella typhimurium</i> TA98、TA100、TA1535、TA1537)	最高用量 5,000 µg/plate	陰性（代謝活性化の有無にかかわらず）	[36]
		細菌 (<i>Salmonella typhimurium</i> TA97、TA98、TA100、TA102)	最高用量 10,000 µg/plate	陰性（代謝活性化の有無にかかわらず）	[117]
染色体異常	不定期 DNA 合成 (UDS) 試験	ラット肝細胞	処理濃度 0.25～4 mg/mL	陰性	[117]
	細胞形質転換試験	マウス線維芽細胞	処理濃度 0.1～4 mg/mL	陰性	[117]

⑧. アレルゲン性試験

PubMed 及び Toxline で検索したがイミダゾールにおいてアレルゲン性試験成績に関する知見を見いだすことは出来なかった [81] [82]。

⑨. ヒトにおける知見

イミダゾールでは体内動態試験の項目に記載した以下の報告がある。

1988年のNosedaraの報告によると [96]、10人の健康なボランティア（男性：4人、女性6人：平均体重 66.4 kg：平均年齢：36.1歳）にクロスオーバー試験で各群5人にITF182（0 mgもしくは750 mg含む錠剤と坐薬：イミダゾールとして248 mg）を投与後8時間以内の血液サンプルをもとに薬物動態学パラメーター（薬物血中濃度推移）を推計した。その結果、錠剤及び坐薬ともに1時間～2時間の間に血漿中で最高濃度に達

した。この結果については以前の動物実験の結果（未公表）と一貫していると考察している。

1986年のKuemmerleらの報告によると [97]、18人の健康なボランティア（男性：各群18人：年齢：18～25歳）にクロスオーバー試験で臨床薬理学的にはイミダゾールとサリチル酸の混合物と同等であるImidazole 2-hydroxybenzoate(I2H)を1錠(750mg)もしくは40滴(I2H=400mg)を単回または反復投与した(計4群)。単回投与試験では朝に試薬投与後0、15、30、45、60、75、90、105、120、135、150、165、180、195、210、225、240、360、480分及び24時間の血液サンプルを採取した。また、反復投与試験では初回の試薬投与後48時間あけてから1日3回の反復投与を3日繰り返し、反復投与最終日の4日目には3回/日の投与のうち初回1回のみを実施した。その際初回単回投与後、15、30、45、60、90、120、180、240分及び5、6、7、8、9、10、12、24、36、48時間の血液サンプルを採取し、さらに4日目までの12時間ごとに加え、4日目の最終投与から0、30、60、90、120、180、240、300、360分、8、24、36時間後の血液サンプルを採取した。血液サンプルをもとに薬物動態学パラメーター（薬物血中濃度推移）を推計した。その結果、ヒトにおける薬物動態学パラメーター（薬物血中濃度推移）は、別の研究、例えば、単回や反復投与、経口あるいは皮膚適用、あるいは経口錠剤や経口ドロップ剤、においても著明な影響は示さなかった。薬物動態学パラメーターについては、単回投与での半減期は約3時間、反復投与では約2時間であり、イミダゾールは速やかに吸収、排泄され、蓄積傾向は観察されなかったと考察している。また、OECD SIDS (2005)においてヒトにおける経口投与後の薬物動態学パラメーターは、次のようにまとめられている；血漿中最高濃度は約3時間で達した。除去半減期は約1.8～3時間であった。バイオアベイラビリティは、完全であった。タンパク結合は、5～15%の範囲であった。対照的に、パイロット試験における皮膚適用では何の影響もなかった。

⑩.イミダゾールの毒性試験結果のまとめ

イミダゾールの毒性試験に関して提出状況下記の表20にまとめた。イミダゾールは生体にとって特段問題となる遺伝毒性はなかった。アレルギー性試験に関してはイミダゾールの知見を見出すことができなかったが、PVI/PVPの毒性試験でPVI/PVPのLLNA試験が実施されており、陰性を示していることからPVI/PVPの夾雑物に含まれている場合の夾雑物に関してアレルギー性は示さないと考えられる。反復毒性と出生前発生毒性試験からNOAEL 60mg/kg体重/日、生殖毒性からNOAEL 180 mg/kg体重/日が得られた。過小評価を避けるために本概要書におけるイミダゾールのNOAELを60mg/kg体重/日とした。2007年の経済産業省が発行した化学物質のリスク評価のためのガイドブックによると[131]、不確実係数として試験動物との種差(10)、個人の感受性の違い(10)、試験機関の長さ(3ヶ月の場合：5)を使用することになっている。そこで本概要書におけるイミダゾールのADIを出生前発生毒性試験から得られたNOAELに不確実係数500

で除した、120 µg /kg 体重/日とすることにした。ヒトにおける知見からもこの ADI を引き下げる必要はないと指定等要請者は判断した。

表 20. イミダゾール毒性試験提出状況まとめ

試験名	提出状況	使用文献番号	国際機関評価
①急性毒性	○	[36]	OECD(2005) [36]
②反復毒性	○	[36]	OECD(2005) [36]
③発がん性	×	—	—
④生殖毒性	○	[36]	OECD(2005) [36]
⑤発生毒性	○	[36]	OECD(2005) [36]
⑥一般薬理	×	—	—
⑦遺伝毒性	○	[36]、[117]	OECD(2005) [36]
⑧アレルギー性	×	—	—
⑨ヒトにおける知見	○	[96]、[97]	OECD(2005) [36]

(3) PVI/PVP の毒性まとめ

PVI/PVP は水にもアルコールにも不溶性の重合体であり、消化管からの PVI/PVP の吸収は無視できると予想され、ラットの急性毒性に関する情報は毒性が非常に低いことを示している。PVI/PVP とその夾雑物のうち検証対象とした、NVP、NVI、2-ピロリドン及びイミダゾールらの遺伝毒性は陰性である。このことから指定等要請者は、PVI/PVP はその夾雑物を含めて遺伝毒性は陰性と考えた。PVI/PVP の毒性試験のまとめから PVI/PVP の ADI を NOAEL の 1000 分の 1 用量の 1 mg/kg 体重/日と考えることができる。この値から PVI/PVP に含まれる夾雑物を規格値をもとに算出すると下記のように考えられる。

PVI/PVP 1 mg/kg 体重/日に含まれる夾雑物の量

1-ビニル-2-ピロリドン (NVP)

$$1 \text{ mg/kg 体重/日} \times 5 \text{ } \mu\text{g}/1000 \text{ mg} = 0.005 \mu\text{g/kg 体重/日}$$

1-ビニルイミダゾール (NVI)

$$1 \text{ mg/kg 体重/日} \times 10 \text{ } \mu\text{g}/1000 \text{ mg} = 0.01 \mu\text{g/kg 体重/日}$$

1-3-ジビニルイミダゾリジン-2-オン (DVI)

$$1 \text{ mg/kg 体重/日} \times 2 \text{ } \mu\text{g}/1000 \text{ mg} = 0.002 \mu\text{g/kg 体重/日}$$

2-ピロリドン

$$1 \text{ mg/kg 体重/日} \times 50 \text{ } \mu\text{g}/1000 \text{ mg} = 0.05 \mu\text{g/kg 体重/日}$$

イミダゾール

$$1 \text{ mg/kg 体重/日} \times 50 \text{ } \mu\text{g}/1000 \text{ mg} = 0.05 \mu\text{g/kg 体重/日}$$

さらに DVI から得られると考えられるアセトアルデヒドは下記のように算出される。ADI の値で PVI/PVP を使用した場合でも体内動態試験の項目で述べたように極微量にしか含まれないことから検証対象から除外して問題ないと指定等要請者は考えた。

$$\frac{\text{PVI/PVP } 1 \text{ mg/kg 体重/日から得られるアセトアルデヒド}}{0.002 \mu\text{g/kg 体重/日}} \times 44.1 / 138.17 = 6.38 \times 10^{-4} \mu\text{g/kg 体重/日}$$

(2) PVI/PVP の夾雑物の毒性試験からそれぞれの ADI は下記のように考えられる。

<u>1-ビニル-2-ピロリドン (NVP)</u>	<u>7.2 μg /kg 体重/日</u>
<u>1-ビニルイミダゾール (NVI)</u>	<u>5 μg /kg 体重/日</u>
<u>2-ピロリドン</u>	<u>380 μg /kg 体重/日</u>
<u>イミダゾール</u>	<u>120 μg /kg 体重/日</u>

PVI/PVP の ADI から算出された夾雑物の値は夾雑物自体の ADI の最大で 500 分の 1 以下である ($\text{NVI}: 0.01 \div 5 = 2.0 \times 10^{-3} = 500 \text{ 分の } 1$)。このことから PVI/PVP の ADI は NOAEL の 1000 分の 1 用量の 1 mg/kg 体重/日とし、その際夾雑物の毒性は ADI の 500 分の 1 の含有量しかないと考えられることから生体に影響を及ぼす可能性はないと考えた。また、体内動態試験の項で述べたように、夾雑物の生物学的蓄積はないと考えられる。このことから指定等要請者は PVI/PVP の 1 mg/kg 体重/日は安全性に十分に配慮した値で ADI として問題ないとする。

3. 一日摂取量の推計等

(1) わが国における摂取量

添加分「PVI/PVP」は我が国で未指定であるため、我が国における摂取量のデータはない。その他の夾雑物においても食品添加物としての指定はないため、我が国における摂取量のデータはない。

夾雑物である 1-ビニル-2-ピロリドンの重合体であるポリビニルポリピロリドン (PVP) は 2013 年の評価書によると PVP の 1 日の摂取量は 480 mg/人/日 (9.6 mg/kg 体重/日) としている。しかし、PVI/PVP の製造工程で PVP が生成されることはない。我が国に市販されている PVP の夾雑物として NVP は 0.001%以下と規格基準に定められているため PVP 使用時の NVP の最大摂取量は 0.096 μ g/kg 体重/日と考えられる。これは本概要書で設定した NVP の ADI の 1.3% ($0.096 \div 7.2 \times 100 = 1.33$) に相当する。

今回申請している PVI/PVP は、使用基準として果実酒、甘味果実酒の製造にあたり、最大使用量を 500 mg/kg 以下としなければならない。また、最終食品完成前に除去しなければならない、ということを提案している。

実際には、PVI/PVP は発酵工程終了後半製品のワインに添加され、液中の重金属（銅、鉄など）と結合することにより、過剰な重金属による最終製品の劣化を防ぐ。PVI/PVP は使用后、約 3 μ m の孔径をもつ濾紙を用いて約 0.8bar を圧力をかけてろ過し除去される [6]。PVI/PVP は水にもアルコールにも不溶性の物質で、最終製品のワインには製造工程における過によって取り除かれることから存在しないため（詳しくは食品での安定性に記載）、基本的には摂取されないと推定される。さらに、PVI/PVP は食品添加物の安定性でも述べたように水やアルコールに不溶であり、共重合体であるので対象が均質でないことから分析法は確認できず、検出限界値も設定できない。そのため夾雑物のように PVI/PVP が最大使用量で使用された場合の残存量を検出限界値などから求めることはできない。そこで仮に PVI/PVP が上記最大使用量で使用され、その全てがワインに残存したと考えた場合、我が国でのワイン消費量から以下のように PVI/PVP の最大摂取量を推計した。

1. 酒税課税実績からのわが国のワイン摂取量

酒税課税実績からわが国のワイン摂取量を推計した。ワインはブドウ又はブドウ果汁を発酵させたアルコール飲料であるが、国内においては酒税法上、果実酒（果実を原料として発酵させたもの（アルコール分 20 度未満）、若しくは、果実、糖類を原料として発酵させたもの（アルコール分 15 度未満）と、甘味果実酒（果実酒に糖類、ブランデー、香味成分などを混和したもの、ポートワイン、シェリー、ベルモット、サングリアなど）の 2 種類に大別される（以下、果実酒と甘味果実酒を合わせて果実酒類と総称する。）。果実酒にはブドウのほかリンゴ、ナシなどの果実を原料とするものもあるが、ブドウを原料としたものが主である。甘味果実酒は、製法が異なる多品種のものが含まれるが、果実酒に比べ消費量は果実酒の 2~3%程度である。果実酒の国内消費量は近年増加、ま

た、国内生産量も少しずつ増加してきたものの、消費量の約7割は外国からの輸入品である [120]。国税庁は、酒税法に基づき酒類の課税実績及び販売（消費）数量を調査・公表している。直近の平成29年分販売数量の資料に報告されている成人1人当たりの果実酒及び甘味果実酒の販売数量の全国総計から算定された成人1人、年間販売（消費）量は以下の通りである [121]。若干過大にはなるが、この数量をもってワインの年間飲酒量と見なすこととする。

果実酒 3.5 L; 甘味果実酒 0.1 L 果実酒類合計 3.6 L (成人人口 104.011 千人)

したがって、果実酒類由来のPVI/PVPの夾雑物の平均1人一日摂取量は、PVI/PVPの使用基準案最大値、500 mg/kg より、下記の通りに推計した。

果実酒類 1人一日飲酒量 9.86 mL (3600÷365=9.86)

PVI/PVP

500 mg/1000 mL × 9.86 mL = 4.93 mg/人/日

この値に食品安全委員会が定める、食品健康影響評価に用いる平均体重である55.1 kgで割ることで下記のmg/kg体重/日を推計した [119]。

4.93 mg/人/日 ÷ 55.1 kg = 0.089 mg/kg 体重/日

2. ぶどう酒を好んで摂取する場合の摂取量

ぶどう酒が特定の集団で好んで摂取され、摂取量に差が生じる可能性を考慮し、平成29年国民健康・栄養調査において、飲酒習慣のある者（週に3度以上、飲酒日1日あたり清酒換算で1合以上すると回答した者）の割合（20.0%）を成人人口にかけて計算した場合、当該対象者すべてがぶどう酒を摂取したと仮定した1人当たりのぶどう酒推定摂取量は49.3mL/人/日と推計される[138]単純にこの量にPVI/PVPの最大使用量かけた場合下記の式となる。

PVI/PVP

500 mg/1000 mL × 49.3 mL = 24.65 mg/人/日

この値に食品安全委員会が定める、食品健康影響評価に用いる平均体重である55.1 kgで割ることで下記のmg/kg体重/日を推計した [119]。

24.65 mg/人/日 ÷ 55.1 kg = 0.45 mg/kg 体重/日

3. 対象食品由来の摂取量のまとめ

ぶどう酒が特定の集団で好んで摂取される可能性を考慮し、飲酒習慣がある者から算出した49.3mL/人/日をぶどう酒の推定摂取量とする。PVI/PVPが上記最大使用量で使用され、そのすべてがぶどう酒に残存したと考えた場合、PVI/PVPの推定摂取量は

0.45 mg /kg 体重/日 となる。この時の夾雑物の値は規格値より表 21 のように考えられる。

表 21. ADI と推定摂取量のまとめ

物質名	ADI	推定摂取量	推定摂取量 ÷ ADI
PVI/PVP	1 mg/kg 体重/日	<u>0.45 mg /kg 体重/日</u>	0.45
NVP	7.2 µg /kg 体重/日	0.0023 µg /kg 体重/日 ²²	3.2×10^{-4}
NVI	5 µg /kg 体重/日	0.0045 µg /kg 体重/日 ²³	9.0×10^{-4}
2-ピロリドン	380 µg /kg 体重/日	0.0225 µg /kg 体重/日 ²⁴	5.9×10^{-5}
イミダゾール	120 µg /kg 体重/日	0.0225 µg /kg 体重/日 ²⁵	1.9×10^{-4}

(2). 1日の摂取量のまとめ

対象食品であるぶどう酒からの PVI/PVP の推定摂取量は多少過大評価ではあるが好んで摂取する場合で 0.45 mg /kg 体重/日 である。これは PVI/PVP の ADI の 50% 以下である。さらに先に記述したとおり、ワインに使用される PVI/PVP の全てがろ過により除去されることから安全性に問題はないと考えられる。夾雑物である NVP、NVI、2-ピロリドン、イミダゾールはそれぞれ表 19 の値が含まれると推計される。これらはすべて ADI の 1000 分の 1 以下の含有量しかないと考えられるため、PVI/PVP が使用基準に従ってぶどう酒製造に使用される場合、安全性に問題はないと考えられる。

²² 0.45 mg /kg 体重/日 × 5 µg/1000 mg = 0.0023µg/kg 体重/日

²³ 0.45 mg /kg 体重/日 × 10 µg/1000 mg = 0.0045 µg /kg 体重/日

²⁴ 0.45 mg /kg 体重/日 × 50 µg/1000 mg = 0.0225 µg /kg 体重/日

²⁵ 0.45 mg /kg 体重/日 × 50 µg/1000 mg = 0.0225 µg /kg 体重/日

IV. 海外添加物取り扱い社

A) Divergan® HM [122]

・ BASF Japan Ltd. Head office OVOL Nihonbashi Building 3F, 3-4-4 Nihonbashi Muromachi, Chuo-ku, Tokyo 103-0022

B) PVI/PVP [123]

・ Enartis MAIN BRANCH 7795 BELL ROAD WINDSOR, CA 95492 USA

C) DIWINE® AFFINAGE [124]

・ OENOFRANCE SAS SOFRALAB 79, av. A.A. Thévenet – CS 11031 51530 MAGENTA – France

V. 参考文献

[1]	R. EDER, A. SCHREINER, G. SCHLAGER, S. WENDELIN, “Metal reduction of wines,” Bull.O I V (Off. Int. Vigne Vin) 76, 243-260., 2003.
[2]	食品安全委員会, “食品安全関係情報詳細,” 26 4 2017. [オンライン]. Available: http://www.fsc.go.jp/fsciis/foodSafetyMaterial/show/syu04700710208 .
[3]	OIV, “BEHANDLUNG MIT COPOLYMEREN PVI/PVP (KAPITEL WEINE),” 2007. [オンライン]. Available: http://www.oiv.int/public/medias/914/oeno-2-2007.pdf .
[4]	Food Standards Australia New Zealand, “Risk and technical assessment – Application A1127,” Food Standards Australia New Zealand, 2017.
[5]	
[6]	OIV, “International C enological Codex, PVI/PVP、COEI-1-PVIPVP,” 2014. [オンライン]. Available: http://www.oiv.int/public/medias/4289/f-coei-1-pvipvp-en-2.pdf .
[7]	岩野 貞雄, “ワイン辞典,” 柴田書店, 1979.
[8]	山梨県ワイン酒造組合, 山梨県ワイン製造マニュアル 2016 年版, 山梨県ワイン酒造組合, 2016.
[9]	P. Rib ´ ereau-Gayon, Y. Glories, A. Maujean. D, Dubourdieu, Christine Rychlewski, Handbook of Enology: The Chemistry of Wine, John Wiley & Sons Ltd., 2006.
[10]	FUSSNEGGER, B., MAURER, R. and DETERING,, “Unlosliche komplexbildende Polymere als potentielle Substitutionsprodukte fur Kaliumhexacyanoferrat (II) zur Schwermetallverminderung in Wein.,” Wein-Wissenschaft, 1992.
[11]	Agreement in the form of an exchange of letters, “between the European Community and the Republic of Chile concerning amendment of Appendix V to the Agreement on Trade in Wines of the Association Agreement between the European Community and its Member States, of the one part, and the Republic of Chile,” of the other part., Annex 2. (17), Brussels, 4 January 2009. [オンライン]. Available: http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=uriserv:OJ.L_.2009.037.01.0008.01.ENG&toc=OJ:L:2009:037:FULL#L_2_009037EN.01000901 http://eur-lex.europa.eu/resource.html?uri=cellar:f8efcd14-a327-4e01-99eb-7482ec819cf2.0006.01/DOC_2&format=PDF .
[12]	“Proposal for a Council Decision on the conclusion of the Agreement between the European Community and Australia on trade in wine /* COM/2008/0653 final - ACC 2008/0197 */,” [オンライン]. Available: https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?qid=1535618808042&uri=CELEX:52008PC0653 .
[13]	“COUNCIL DECISION of 20 December 2005 on the conclusion of the Agreement between the European Community and the United States of America on trade in wine (2006/232/EC),” [オンライン]. Available: https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?qid=1535337332854&uri=CELEX:32006D0232 .

[14]	“GENERAL STANDARD FOR FOOD ADDITIVES CODEX STAN 192-1995 Adopted in 1995. Revision 1997, 1999, 2001, 2003, 2004, 2005, 2006, 2007, 2008, 2009, 2010,,” [オンライン]. Available: http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCODEX%2B192-1995%252FCXS_192e.pdf .
[15]	Official Journal of the European Union, “REGULATION (EU) No 1308/2013 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL,” 17 12 2013. [オンライン]. Available: https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?qid=1535696899857&uri=CELEX:32013R1308 .
[16]	OIV, “BEHANDLUNG MIT ADSORBIERENDEN PVI/PVP-COPOLYMEREN (KAPITEL MOSTE),” 2007. [オンライン]. Available: http://www.oiv.int/public/medias/913/oeno-1-2007.pdf .
[17]	OIV, “COPOLYMERES ADSORBANTS PVI/PVP - CODEX,” 2014,2017. [オンライン]. Available: http://www.oiv.int/public/medias/1628/oiv-oeno-262-2014-fr.pdf . http://www.oiv.int/public/medias/5380/oiv-oeno-605-2017-en.pdf
[18]	Regulation (EC), “No. 1333/2008 of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on food Additives,,” [オンライン]. Available: http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32008R1333&rid=1 http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?qid=1517806056389&uri=CELEX:02008R1333-20170818 .
[19]	Commission Regulation (EU), “No. 1129/2011,” 11 November 2011. [オンライン]. Available: http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32011R1129&rid=1 .
[20]	EU, “COMMISSION REGULATION (EC) No 2019/934,” 12 3 2019. [オンライン]. Available: https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32019R0934&from=EN .
[21]	EU publications, “Commission Regulation (EU) No 231/2012 of 9 March 2012 laying down specifications for food additives listed in Annexes II and III to Regulation (EC) No 1333/2008 of the European Parliament and of the Council (Text with EEA relevance),” 3 2012. [オンライン]. Available: https://op.europa.eu/en/publication-detail/-/publication/a42dd9b2-b63f-438b-a790-1fa5995b7d41/language-en . [アクセス日: 1 2020].
[22]	Commission Regulation (EC), “COMMISSION REGULATION (EC) No 606/2009,” [オンライン]. Available: https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A32019R0934 .
[23]	Office of the Federal Register, “Electronic Code of Federal Regulations (CFR TITLE 21—Food and Drugs),” 30 1 2020. [オンライン]. Available: https://www.ecfr.gov/cgi-bin/text-idx?SID=6fe25760c68e8043aec30b050d55f3ce&mc=true&tpl=/ecfrbrowse/Title21/21cfr173_main_02.tpl .

[24]	食品安全委員会, “米国食品医薬品庁 (FDA)、食品と接触する物質の事前届出作成：化学的提言と題するガイドラインを更新,” 2007. [オンライン]. Available: http://www.fsc.go.jp/fsciis/foodSafetyMaterial/show/syu02210160105 .
[25]	FDA, “Packaging & Food Contact Substances (FCS) , FCN No.000320, 2003.,” FDA, 2003. [オンライン]. Available: https://www.fda.gov/food/ingredientspackaginglabeling/packagingfcs/default.htm . [アクセス日: 5 3 2019].
[26]	Official Journal of the European Union, “AGREEMENT between the European Community and the United States of America on trade in wine,” 2006. [オンライン]. Available: http://ec.europa.eu/world/agreements/downloadFile.do?fullText=yes&treatyTransId=2541..
[27]	Australia New Zealand Food Standards Code . “Schedule 18 Processing aids” 2018. . [オンライン]. Available: https://www.foodstandards.gov.au/code/Documents/Sched%2018%20Processing%20aids%20v159.pdf
[28]	WHO TRS539 , “Seventeenth Report of the JECFA. Toxicological evaluation of certain food,” WHO Technical Report Series 539, FAO Nutrition Meeting Report Series 53, 1973. [オンライン]. Available: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/41072/WHO_TRS_539.pdf;jsessionid=A6F6AB58F78E5C9D57A8B5AC6953F6CA?sequence=1
[29]	日本食品化学研究振興財団, “指定添加物リスト,” 2019. [オンライン]. Available: https://www.ffcr.or.jp/tenka/list/post-11.html#list_30 .
[30]	食品安全委員会, “添加物評価書ポリビニルピロリドン,” 食品安全委員会, 2013.
[31]	WHO TRS 373, “Specifications for the identity and purity of food additives and their toxicological evaluation: some emulsifiers and stabilizers and certain other substances,” WHO, 1967.
[32]	WHO TRS669, “Twenty-fifth Report of the JECFA. Evaluation of certain food additives.,” WHO Technical Report Series 669 , 1981.
[33]	WHO TRS696 , “Twenty-seventh Report of the JECFA. Evaluation of certain food additives,” WHO Technical Report Series 696, 1983.
[34]	WHO TRS733 , “Twenty-ninth Report of the JECFA. Evaluation of certain food additives and contaminants.,” WHO Technical Report Series 733, 1986.
[35]	WHO TRS751, “Thirtieth Report of the JECFA. Evaluation of certain food additives and contaminants.,” WHO Technical Report Series 751, 1987.
[36]	UNEP, “Imidazole,” UNEP, 2005.
[37]	EFSA, “Opinion of the Scientific Panel on food additives, flavourings, processing aids and materials in contact with food (AFC) on a request related to a 12th list of substances for food contact materials,” 2006. [オンライン]. Available: https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2006.395 .

[38]	EFSA, “Additional List of Monomers and Additives Evaluated by the WG “Food Contact Materials” of the SCF During the 69th-70th Meetings,” 12,13 6 1997. [オンライン]. Available: https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/sci-com_scf_7_out12_en.pdf .
[39]	EFSA, “EC: Summary table of permitted food additives and status of their re-evaluation by EFSA (status as of 1 March 2019).,” 2019. [オンライン]. Available: https://ec.europa.eu/food/safety/food_improvement_agents/additives/re-evaluation_en . [アクセス日: 5 3 2019].
[40]	Scientific Committee on Food:, “Opinion of the Scientific Committee on Food on the Safety of N-vinyl-2-pyrrolidone residues in polyvinylpyrrolidone and polyvinylpyrrolidone (insoluble polyvinyl pyrrolidone) when used as food additives 2002,” 2 0 0 2 .
[41]	European Commission. Scientific Committee on Toxicity, Ecotoxicity and the Environment (CSTEE), “Opinion on the Results of the Risk Assessment of: 1-vinyl-2-Pyrrolidone. CAS No.:88-12-0, EINECS No.:201-800-4 Report Version (Human Health),” 2001.
[42]	EC, “European Union Risk Assessment Report. 1-vinyl-2-pyrrolidone. 2nd Priority List vol. 39, Final Report,” European Chemicals Bureau, 2003.
[43]	SCF, “Opinion on an additional list of monomers and additives for food contact materials,” SCF, 1988.
[44]	BASF, “Notification for new use of a food contact substance Divergan HM, Environmental assessment.,” 2003.
[45]	“FSANZ: Processing Aids in Wine. Approval report – Application A1127.,” 21 8 2017. [オンライン]. Available: http://www.foodstandards.gov.au/code/applications/Pages/A1127-ProcessingAidsForWine.aspx . [アクセス日: 5 3 2019].
[46]	FSANZ, “Processing Aids in Wine. Supporting document 1: Risk and technical assessment – Application A1127.,” 26 4 2017. [オンライン]. Available: http://www.foodstandards.gov.au/code/applications/Pages/A1127-ProcessingAidsForWine.aspx . [アクセス日: 5 3 2019].
[47]	IARC., “ N-vinyl-2-pyrrolidone and polyvinyl pyrrolidone. IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum. 1999;71 Pt 3:1181-1187.,” 1999. [オンライン]. Available: https://monographs.iarc.fr/wp-content/uploads/2018/06/mono71-57.pdf . [アクセス日: 5 3 2019].
[48]	大木 道則、大沢 利昭、田中 元治、千原 秀昭, 化学大辞典, 東京化学同人, 1989.
[49]	
[50]	日本醸造協会, 醸造物の成分, 新日本印刷株式会社, 1999.
[51]	ECHA, “1-vinyl-2-pyrrolidone,” 24 6 2019. [オンライン]. Available: https://echa.europa.eu/de/registration-dossier/-/registered-dossier/15035 . [アクセス日: 7 8 2019].

[52]	ECHA, “1-vinylimidazole,” 28 6 2019. [オンライン]. Available: https://echa.europa.eu/es/registration-dossier/-/registered-dossier/12790/1 . [アクセス日: 7 8 2019].
[53]	ECHA, “1,3-divinylimidazolidin-2-one,” 13 11 2018. [オンライン]. Available: https://echa.europa.eu/de/registration-dossier/-/registered-dossier/16731 . [アクセス日: 7 8 2019].
[54]	ECHA, “2-pyrrolidone,” 27 6 2019. [オンライン]. Available: https://echa.europa.eu/de/registration-dossier/-/registered-dossier/14900/1 . [アクセス日: 7 8 2019].
[55]	ECHA, “Imidazole,” 15 11 2018. [オンライン]. Available: https://echa.europa.eu/es/registration-dossier/-/registered-dossier/2052/1 . [アクセス日: 7 8 2019].
[56]	厚生労働省, “第9版食品添加物公定書,” [オンライン]. Available: http://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/shokuhin/syokuten/koutei_sho9e.html .
[57]	
[58]	「日本人の食事摂取基準」策定検討会, “日本人の食事摂取基準 (2020年版),” 12 2019. [オンライン]. Available: https://www.mhlw.go.jp/content/10904750/000586553.pdf . [アクセス日: 1 2020].
[59]	食品安全委員会, “魚介類に含まれるメチル水銀について,” 7 2004. [オンライン]. Available: http://www.fsc.go.jp/hyouka/hy/hy-hyouka-methylmercury.pdf . [アクセス日: 1 2020].
[60]	薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会, “食品中のカドミウムの規格基準の一部改正について,” 10 2009. [オンライン]. Available: https://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/iyaku/syoku-anzen/cadmium/pdf/mcadmium01.pdf . [アクセス日: 1 2020].
[61]	
[62]	
[63]	BASF, “Divergan® HM—安全データシート,” BASF, 2018.
[64]	田村 隆幸, “ワイン中の鉄は, 魚介類とワインの組み合わせにおける不快な生臭み発生の一因である,” 日本醸造協会誌, 2010.
[65]	Juan Cacho, J. Enrique Castells, Adoración Esteban, Berta Laguna, Nuria Sagristá, “Iron, Copper, and Manganese Influence on Wine Oxidation,” Am J Enol Vitic, 1995.
[66]	ワイン学編集委員会, ワイン学, 産調出版, 1991.
[67]	COMMISSION REGULATION (EC, “COMMISSION REGULATION (EC) No 889/2008,” 2008. [オンライン]. Available: https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX:32008R0889 .
[68]	農林水産省, “有機農産物の日本農林規格,” 2018. [オンライン]. Available: http://www.maff.go.jp/j/jas/jas_kikaku/attach/pdf/yuuki-31.pdf .

[69]	農林水産省, “有機 JAS マークが付された有機農産物等に「organic」等と表示して EU 加盟諸国へ輸出することが可能となったことについて,” 2011. [オンライン]. Available: http://www.maff.go.jp/j/jas/jas_kikaku/attach/pdf/yuuki-98.pdf .
[70]	農文協 編, 果樹園芸大辞典 3 ブドウ, 農山漁村文化協会, 2003.
[71]	大塚謙一・戸塚昭・伊藤政光・菊池敬, “ブドウ酒醸造における酸化防止に関する研究(第 13 報),” J.Soc.Brew.Japan, 1973.
[72]	R. Moss, “From Harvest to Bottle,” 2015. [オンライン]. Available: https://winesvinesanalytics.com/features/article/160143/Thiols-From-Harvest-to-Bottle .
[73]	Y. Margalit, “Concepts in wine chemistry,” The wine appreciation guild, 2004.
[74]	F. Cosme, J. Andrea-Silva, L. Filipe-Ribeiro, A.S.P. Moreira, A.C. Malheiro, M.A. Coimbra, M.R.M. Domingues and F.M. Nunes, “The origin of pinking phenomena in white wines,” BIO Web Conf, 2019.
[75]	G. Qualizza, “Quality improvement and wholesomeness of wines through the use of demetallizing agents,” Anno scolastico, 2017/2018.
[76]	Mira.H, Lette.P, Catarino.S, Ricardo-da-silva.M.J, Curvelo-garcia.S,A, “Metal reduction in wine using PVI-PVP copolymer and its effects on chemical and sensory characters,” Vitis, 2007.
[77]	横塚弘毅, “ワインの品質とフェノール化合物,” J. ASEV Jpn. Vol. 7, 1996.
[78]	富永敬俊, きいろの香り, フレグランスジャーナル社, 2003.
[79]	ワイナート編集部, ワインテイスティング基本ブック, 美術出版社, 2012.
[80]	A.M, Schubert.M and Glomn., “Analysis and Chemistry of Migrants from Wine Fining Polymers,” J. Agric. Food Chem., 2010.
[81]	PUBMED, “PUBMED 検索結果,” PUBMED, [オンライン]. Available: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/ . [アクセス日: 19 10 2018].
[82]	Toxline, “Toxline,” National Library of Medicine, [オンライン]. Available: https://toxnet.nlm.nih.gov/ . [アクセス日: 19 10 2018].
[83]	
[84]	
[85]	ECHA, “1-vinylimidazole—Water solubility,” ECHA, [オンライン]. Available: https://echa.europa.eu/registration-dossier/-/registered-dossier/12790/4/9 . [アクセス日: 29 1 2020].
[86]	ECHA, “1-vinylimidazole-Bioaccumulation: aquatic / sediment,” 29 1 2020. [オンライン]. Available: https://echa.europa.eu/registration-dossier/-/registered-dossier/12790/5/4/2 .
[87]	厚生労働省, “食品添加物> 法令・通知,” 厚生労働省, [オンライン]. Available: https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/shokuhin/syokuten/kakot_suchi.html . [アクセス日: 1 2020].

[88]	食品安全委員会, “アセトアルデヒドを添加物として定めることに係る食品健康影響評価に関する審議結果,” 21 7 2005. [オンライン]. Available: http://www.fsc.go.jp/fsciis/evaluationDocument/show/kya20031121192 . [アクセス日: 1 2020].
[89]	入村達郎、岡山博人、清水孝雄 監訳, ストレイヤー生化学第 5 版, 東京化学同人, 2004.
[90]	野村 成章, 松本 聡, 西村 由香, 寺内 嘉章, 藤井 敏彦, 関 英昌, 市毛 一美, 佐久間 智子, “14CUrea の体内動態(第 1 報);絶食ラットにおける吸収, 分布, 代謝, 排泄,” 薬物動態, 2001.
[91]	L.テイツ、E.ザイガー編、西谷和彦、島崎健一郎 監訳, テイツザイガー植物生理学第 3 版, 培風館, 2004.
[92]	興洋海運株式会社, “エチレングリコール (MEG, DEG, TEG),” 興洋海運株式会社, [オンライン]. Available: https://www.koyotky.co.jp/ja/fleet/cargo/eg.html . [アクセス日: 1 2020].
[93]	国立医薬品食品衛生研究所 安全情報部, “エチレングリコール: ヒトの健康への影響,” 国立医薬品食品衛生研究所, 2006.
[94]	ECHA, “2-pyrrolidoneーBioaccumulation: aquatic / sediment,” ECHA, 2020. [オンライン]. [アクセス日: 1 2020].
[95]	Pagella PG, Bellavite O, Agozzino S, Donà GC, Cremonesi P, De Santis F., “Pharmacological studies of imidazole 2-hydroxybenzoate (ITF 182), an antiinflammatory compound with an action on thromboxane A2 production.,” <i>Arzneimittelforschung.</i> , 1983.
[96]	Nosedo G, Fragiaco C, Peruzzi M, Cremonesi P, China B., “Comparative absorption kinetics of imidazole and salicylic acid in volunteers after administration of ITF 182 tablets and suppositories.,” <i>Int J Clin Pharmacol Res.</i> , 1988.
[97]	Kuemmerle HP, Dominguez-Gil A, Koepcke K, Hitzenberger G., “Pharmacokinetic profile of imidazole 2-hydroxybenzoate, a novel nonsteroidal antiinflammatory agent.,” <i>Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol.</i> , 1986.
[98]	Reinke LA, Sexter SH, Rikans LE., “Comparison of ethanol and imidazole pretreatments on hepatic monooxygenase activities in the rat.,” <i>Res Commun Chem Pathol Pharmacol.</i> , 1985.
[99]	Koop DR, Crump BL, Nordblom GD, Coon MJ., “Immunochemical evidence for induction of the alcohol-oxidizing cytochrome P-450 of rabbit liver microsomes by diverse agents: ethanol, imidazole, trichloroethylene, acetone, pyrazole, and isoniazid.,” <i>Proc Natl Acad Sci U S A.</i> , 1985.
[100]	JK Ritter, MR Franklin, “Induction of hepatic oxidative and conjugative drug metabolism in the hamster by N-substituted imidazoles,” <i>oxicology letters</i> , 1987.
[101]	
[102]	Nelson CP, Patton GW, Arvidson K, Lee H, Twaroski ML., “Assessing the toxicity of polymeric food-contact substances,” <i>Food Chem Toxicol</i> , 2011.

[103]	
[104]	NCBI, "PUBMED," NCBI, 21 01 2020. [オンライン]. Available: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed . [アクセス日: 21 01 2020].
[105]	Ebel K, Koehler H, Gamer AO, Jäckh R, "Imidazole and derivatives.," Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry vol.18, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 2012.
[106]	ECHA, "1-vinylimidazole Acute Toxicity: oral," ECHA, [オンライン]. Available: https://echa.europa.eu/registration-dossier/-/registered-dossier/12790/7/3/2 . [アクセス日: 1 2020].
[107]	Klimisch HJ, Deckardt K, Gembardt C, Hildebrand B, Küttler K, Roe FJ., "Subchronic inhalation and oral toxicity of N-vinylpyrrolidone-2. Studies in rodents.," Food Chem Toxicol, 1997.
[108]	ECHA, "Proposal for harmonised classification and labelling. CLH-Report for 1-Vinylimidazole.," 2016 . [オンライン]. Available: https://echa.europa.eu/documents/10162/2f059316-df28-80f7-cd3f-a1a1cfa73680 .
[109]	
[110]	NICNAS, "2-Pyrrolidinone, 1-(2-hydroxyethyl)-.," National Industrial Chemicals Notification and Assessment Scheme File No: STD/11342005, 2005.
[111]	Klimisch HJ, Deckardt K, Gembardt C, Hildebrand B, Küttler K, Roe FJ., "Long-term inhalation toxicity of N-vinylpyrrolidone-2 vapours. Studies in rats.," Food Chem Toxicol, 1997.
[112]	Simmon VF, Baden JM., "Mutagenic activity of vinyl compounds and derived epoxides.," Mutat Res. , 1980.
[113]	ECHA, "1-vinylimidazole-Genetic toxicity: in vitro," 1997. [オンライン]. Available: https://echa.europa.eu/de/registration-dossier/-/registered-dossier/12790/7/7/2 . [アクセス日: 6 8 2019].
[114]	Mayer VW, Goin CJ, Taylor-Mayer RE, "Aneuploidy induction in Saccharomyces cerevisiae by two solvent compounds 1-Methyl-2-Pyrrolidinone and 2-Pyrrolidinone.," Environmental and Molecular Mutagenesis , 1988.
[115]	ECHA, "2-pyrrolidone-Genetic toxicity: in vitro," 1987, [オンライン]. Available: https://echa.europa.eu/de/registration-dossier/-/registered-dossier/14900/7/7/2 . [アクセス日: 6 8 2019].
[116]	ECHA, "2-pyrrolidone-Genetic toxicity: in vivo," 1993. [オンライン]. Available: https://echa.europa.eu/de/registration-dossier/-/registered-dossier/14900/7/7/3 . [アクセス日: 6 8 2019].
[117]	Forster R, Blowers SD, Cinelli S, Marquardt H, Westendorf J, "Mutagenicity testing of imidazole and related compounds.," Mutation Research , 1992.

[118]	Yamakita H, Page. R C & Digenis. G A., “Determinaiton of n-vinyl-2-pyrrolidone (N-VP) in rat and dog plasma by high-performance liquid chromatography,,” Environmental and Molecular Mutagenesis , 1992. Journal ofliquid chromatography 15(1), 83-99
[119]	食品安全委員会, “食品健康影響評価に用いる平均体重の変更について,” 31 3 2014. [オンライン]. Available: https://www.fsc.go.jp/iinkai/heikintaijyu_260331.pdf .
[120]	国税庁, “国税庁平成 29 年度分酒税課税実績等の状況表 第 1、2、4 表,” [オンライン]. Available: https://www.nta.go.jp/taxes/sake/tokei/kazeikankei2017/01.htm .
[121]	国税庁, “国税庁平成 29 年度分酒類販売（消費）数量等の状況表,” [オンライン]. Available: https://www.nta.go.jp/taxes/sake/tokei/kazeikankei2017/01.htm .
[122]	BASF, “Divergan®,” BASF, [オンライン]. Available: https://nutrition.basf.com/en/Human-nutrition/Divergan.html . [アクセス日: 10 9 2019].
[123]	Enartis, “PVI/PVP,” [オンライン]. Available: https://shop-usa.enartis.com/winemaking-products/maturation-products/fining-agents/pvi-pvp-8#page=1 . [アクセス日: 10 9 2019].
[124]	OENOFRANCE, “DIWINE® AFFINAGE,” [オンライン]. Available: https://www.oenofrance.com/en/our-products/fining-agents-wines/diwiner-affinage . [アクセス日: 10 9 2019].
[125]	McClanahan JS, Lin YC and Digenis GA, “Disposition of N-vinyl-2-pyrrolidone in the rat,,” . 1984. Drug and Chemical Toxicology 7(2),1 29-148., 83-99
[126]	坂井 建雄,岡田 隆夫. 解剖生理学, 医学書院, 2018.
[127]	T Matysiak-Budnik , K Jokelainen, P Kärkkäinen, H Mäkisalo, J Ohisalo, M Salaspuro, “Hepatotoxicity and Absorption of Extrahepatic Acetaldehyde in Rats,,” . 1996. J Pathol. 178(4):469-74.
[128]	L S Nakao , M B Kadiiska, R P Mason, M T Grijalba, O Augusto, “Metabolism of acetaldehyde to methyl and acetyl radicals: in vitro and in vivo electron paramagnetic resonance spin-trapping studies,,” .2000. Free Radic Biol Med. 29(8):721-9.
[129]	A Yoshida, I Y Huang, M Ikawa, “Molecular Abnormality of an Inactive Aldehyde Dehydrogenase Variant Commonly Found in Orientals,” . 1984. Proc Natl Acad Sci U S A. 258-61.
[130]	Acetaldehyde Waterhouse Lab, “A key yeast metabolite and oxidation product. Tyler Thomas, 2004” [オンライン]. Available: https://waterhouse.ucdavis.edu/whats-in-wine/acetaldehyde [アクセス日: 1 5 2020].
[131]	経済産業省. 化学物質のリスク評価のためのガイドブック実践編, 2007 年 5 月.
[132]	PUBMED, “PUBMED 検索結果発がん性試験,” PUBMED, [オンライン]. Available: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/ . [アクセス日: 07 05 2020].
[133]	PUBMED, “PUBMED 検索結果生殖毒性試験,” PUBMED, [オンライン]. Available: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/ . [アクセス日: 07 05 2020].
[134]	PUBMED, “PUBMED 検索結果発生毒性試験,” PUBMED, [オンライン]. Available: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/ . [アクセス日: 07 05 2020].

[135]	Knaap, A.G.A., C.E. Voogd and P.G.N. Kramers, “Mutagenicity of vinyl compounds,” . 1985. National Institute of Public Health and Environmental Hygiene, Bilthoven (The Netherlands).
[136]	ECHA, “2-pyrrolidone Acute Toxicity,”2020. [オンライン]. Available: https://echa.europa.eu/registration-dossier/-/registered-dossier/14900/7/3/1 . [アクセス日: 7 5 2020].
[137]	ECHA, “2-pyrrolidone,”2020. [オンライン]. Available: https://echa.europa.eu/registration-dossier/-/registered-dossier/14900/7/9/1#collapseReference1CollapseGroup1 [アクセス日: 7 5 2020].
[138]	厚生労働省, “平成 29 年国民健康・栄養調査報告,” 厚生労働省, 2018.
[139]	
[140]	
[141]	株式会社 UBE 科学分析センター, “尿素の微量分析,”2020. [オンライン]. Available: https://www.ube-ind.co.jp/usal/documents/o548_142.htm [アクセス日: 5 2020].
[142]	国立医薬品食品衛生研究所 安全情報部, “エチレングリコール：環境への影響,” 国立医薬品食品衛生研究所, 2005.
[143]	COMMISSION IMPLEMENTING DECISION 2011751EU
[144]	Australia New Zealand Food Standards Code - Standard 4.5.1 - Wine Production Requirements (Australia Only)
[145]	OECD, “Published Assessments,” [オンライン]. Available: http://www.oecd.org/env/ehs/risk-assessment/publishedassessments.htm [アクセス日: 6 2020].
[146]	BASF AG. “ダイバガン FRS Technical information,” [オンライン]. Available: http://www.shinwa-fc.jp/download/2daibagan.pdf [アクセス日: 6 2020].
[147]	PUBMED, “PUBMED 検索結果 acetaldehyde,” PUBMED, [オンライン]. Available: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/ . [アクセス日: 23 06 2020].
[148]	PUBMED, “PUBMED 検索結果エチレングリコール毒性試験,” PUBMED, [オンライン]. Available: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/ . [アクセス日: 23 06 2020].
[149]	