

食品安全委員会

委員長 佐藤 洋 殿

添加物専門調査会

座長 梅村 隆志

添加物に係る食品健康影響評価に関する審議結果について

令和 2 年 2 月 18 日付け厚生労働省発生食 0218 第 1 号をもって厚生労働大臣から食品安全委員会に意見を求められた亜硫酸水素アンモニウム水に係る食品健康影響評価について、当専門調査会において審議を行った結果は別添のとおりですので報告します。



# 添加物評価書

## 亜硫酸水素アンモニウム水

2020年12月

食品安全委員会添加物専門調査会

## 目次

	頁
○審議の経緯.....	2
○食品安全委員会委員名簿.....	2
○食品安全委員会添加物専門調査会専門委員名簿.....	2
要 約.....	4
I. 評価対象品目の概要.....	6
1. 用途.....	6
2. 名称等.....	6
3. 分子式及び構造式.....	6
4. 分子量.....	6
5. 性状等.....	6
6. 製造方法.....	6
7. 安定性.....	7
8. 起源又は発見の経緯等.....	7
9. 我が国及び諸外国等における使用状況.....	7
10. 我が国及び国際機関等における評価.....	9
11. 評価要請の経緯及び添加物指定の概要.....	12
II. 安全性に係る知見の概要.....	13
1. 体内動態.....	13
2. 毒性.....	23
III. 一日摂取量の推計等.....	53
1. 現在の生産量等に基づく摂取量.....	53
2. 使用基準策定後の摂取量.....	54
3. 摂取量推計等のまとめ.....	56
IV. 食品健康影響評価.....	57
<参照>.....	60

## ○審議の経緯

- 2020年2月18日 厚生労働大臣から添加物の指定に係る食品健康影響評価について要請(令和2年2月18日厚生労働省発生食0218第1号)、関係書類の接受
- 2020年2月25日 第774回食品安全委員会(要請事項説明)
- 2020年5月25日 第176回添加物専門調査会
- 2020年6月22日 第177回添加物専門調査会
- 2020年8月21日 第179回添加物専門調査会
- 2020年9月24日 第180回添加物専門調査会
- 2020年10月20日 第794回食品安全委員会(報告)
- 2020年10月21日から11月19日まで 国民からの意見・情報の募集
- 2020年12月2日 添加物専門調査会座長から食品安全委員会委員長へ報告

## ○食品安全委員会委員名簿

(2018年7月1日から)

- 佐藤 洋 (委員長)
- 山本 茂貴 (委員長代理)
- 川西 徹
- 吉田 緑
- 香西 みどり
- 堀口 逸子
- 吉田 充

## ○食品安全委員会添加物専門調査会専門委員名簿

(2019年10月1日から)

- 梅村 隆志 (座長)
- 頭金 正博 (座長代理)
- 石井 邦雄
- 石塚 真由美
- 伊藤 裕才
- 宇佐見 誠
- 杉山 圭一
- 祖父江 友孝
- 高須 伸二
- 高橋 智
- 瀧本 秀美
- 多田 敦子
- 戸塚 ゆ加里
- 中江 大
- 西 信雄
- 北條 仁

松井 徹  
横平 政直

<専門参考人>

伊藤 清美 (武蔵野大学薬学部薬物動態学研究室 教授)

## 要 約

発酵助成剤、保存料、酸化防止剤として使用される添加物「亜硫酸水素アンモニウム水」(CAS 登録番号：10192-30-0 (亜硫酸水素アンモニウム、主たる有効成分として)) について、各種試験成績等を用いて食品健康影響評価を実施した。評価に用いた試験成績は、二酸化硫黄及び亜硫酸塩を被験物質とした体内動態、遺伝毒性、急性毒性、反復投与毒性、発がん性、生殖発生毒性、ヒトにおける知見等に関するものである。本専門調査会は、添加物「亜硫酸水素アンモニウム水」の体内動態及び毒性については、経口投与された際に体内で生じると予測されるアンモニウムイオン並びに二酸化硫黄及び亜硫酸塩のそれぞれの安全性に係る知見を基に、添加物「亜硫酸水素アンモニウム水」の安全性に関する検討を総合的に行うこととした。

アンモニウムイオンについては、過去に評価されており、その後、新たな知見は認められていないことから、体内動態及び毒性に関する検討は行わなかったが、添加物「亜硫酸水素アンモニウム水」由来のアンモニウムイオン摂取量は、ヒトにおいて食事から産生される量と比較して無視できることから、添加物として適切に使用される場合、添加物「亜硫酸水素アンモニウム水」に由来するアンモニウムイオンは安全性に懸念がないと判断した。

二酸化硫黄及び亜硫酸塩の体内動態については、主に二酸化硫黄、亜硫酸イオン又は亜硫酸水素イオンとして吸収され、吸収された亜硫酸は、肝臓の亜硫酸オキシダーゼなどによって酸化されるか、三酸化硫黄ラジカルの形成を通じて硫酸の形成に至る経路により代謝される。ラットでは、ウサギ又はサルと比較して亜硫酸オキシダーゼ活性が高く、ヒトと比較して約 10~20 倍の亜硫酸オキシダーゼ活性が肝臓で示されている。また、亜硫酸の摂取後に検出された *S*-スルホン酸の半減期は短く、蓄積性は低いと考えた。さらに、経口投与された亜硫酸は、その大半が硫酸として速やかに尿中や糞便中に排泄されると考えた。

遺伝毒性については、生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないと判断した。

急性毒性、反復投与毒性、生殖発生毒性等の試験成績を検討した結果、ブタ 48 週間経口投与試験 (Til ら (1972)) において、ピロ亜硫酸ナトリウムの 1.0%以上の投与群で軽度の胃及び食道の所見が認められたことから、NOAEL はこの報告の 0.5%投与群から算出した 71 mg/kg 体重/日 (二酸化硫黄として) と判断した。

発がん性については、マウス 2 年間発がん性試験 (Tanaka ら (1979)) 及びラット 2 年間反復投与毒性・生殖毒性・発がん性併合試験 (Til ら (1972)) において、発がん性は認められないと判断した。

入手したヒトにおける知見からは、亜硫酸水素アンモニウムに関するヒトにおけるアレルギー性の報告はないものの、添加物「亜硫酸水素アンモニウム水」由来の二酸化硫黄及び亜硫酸塩によるアレルギー性の可能性は否定できないと考えた。ただし、使用方法が「ぶどう酒の製造に用いる果汁及びぶどう酒 (発酵が終了したものを除く。)

以外に使用してはならない」とされており、ぶどう酒の製造にのみ用いられることを考慮すべきと考えた。

以上のことから、本専門調査会としては、亜硫酸水素アンモニウム水由来の二酸化硫黄及び亜硫酸塩の NOAEL は、71 mg/kg 体重/日（二酸化硫黄として）と判断した。

摂取量推計等については、飲酒習慣のある者から算出したぶどう酒推定一日摂取量（48.2 mL/人/日）及び添加物「亜硫酸水素アンモニウム水」の使用基準案の最大量（0.2 g/L）に基づき、それが全て残存した場合を仮定し、ぶどう酒からの二酸化硫黄の推定一日摂取量を推定した。

ぶどう酒からの二酸化硫黄の摂取量は、0.113 mg/kg 体重/日と推計され、これにマーケットバスケット調査に基づく現在の摂取量を合計し、添加物「亜硫酸水素アンモニウム水」の使用基準が策定された場合の二酸化硫黄の推定一日摂取量は、0.116 mg/kg 体重/日となると判断した。

ただし、添加物「亜硫酸水素アンモニウム水」の実際の摂取量は、以下の理由から、上述の推定一日摂取量よりも少ないと考えた。

- ① 発酵前あるいは発酵中の果汁やマスト<sup>2</sup>に添加され、本品目から生じた二酸化硫黄は、水と反応して亜硫酸を生じ、有害微生物の増殖防止及び酸化防止の効果を発揮しつつ大気中に揮散又は酸化により徐々に消失するとされていること
- ② 発酵前に添加した亜硫酸は、果汁等の固形分と結合し、その含有量は減少すると指摘されていること
- ③ 亜硫酸の使用時には、添加前後で分析を行い、使用量が適切であるかを確認することや使用記録を残すこととされており、添加物「亜硫酸水素アンモニウム水」の使用においては使用量等の管理が適切になされることが考えられること

したがって、本専門調査会は、毒性試験成績から NOAEL が得られているものの、NOAEL の根拠とした毒性所見は軽度の胃及び食道の所見であり、毒性影響は重篤ではないことを考慮し、亜硫酸水素アンモニウムの性質、使用方法、実際の摂取量、使用基準案等から、添加物「亜硫酸水素アンモニウム水」が添加物として適切に使用される場合、安全性に懸念がないと考えられ、ADI を特定する必要はないと判断した。

## I. 評価対象品目の概要

### 1. 用途

発酵助成剤、保存料、酸化防止剤（参照1、2）

### 2. 名称等

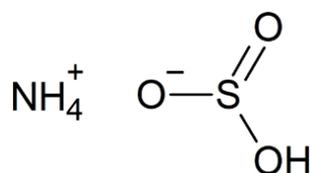
和名：亜硫酸水素アンモニウム水

英名：Ammonium Hydrogen Sulfite Water

CAS 登録番号：10192-30-0（亜硫酸水素アンモニウム、主たる有効成分として）  
（参照 1、2、3）

### 3. 分子式及び構造式

$\text{NH}_4\text{HSO}_3$



（亜硫酸水素アンモニウム、主たる有効成分として）（参照 1、3）

### 4. 分子量

99.11（亜硫酸水素アンモニウム、主たる有効成分として）（参照 2、3）

### 5. 性状等

今般、厚生労働省に「亜硫酸水素アンモニウム水」の添加物としての指定及び規格基準の設定を要請した者（以下「指定等要請者」という。）による添加物「亜硫酸水素アンモニウム水」の成分規格案では、定義として「亜硫酸水素アンモニウムを主成分とする水溶液である。」、性状として「本品は、淡黄色の液体である。」、含量は、二酸化硫黄として8.0%以上及びアンモニアとして2.1%以上を含む、としている。（参照 2、3）

### 6. 製造方法

指定等要請者は、添加物「亜硫酸水素アンモニウム水」の製造方法について、「アンモニア水溶液に気体の二酸化硫黄を吹き込んで製造する。」としている。（参照 2、4）

## 7. 安定性

指定等要請者は、欧州連合（EU<sup>1</sup>）流通品の情報を引用し、「未開封の状態で製造から2年間が使用期限とある。」と説明し、また、亜硫酸水素アンモニウムから解離した亜硫酸水素イオン及びアンモニウムイオンのうち、亜硫酸水素イオンは、水中で二酸化硫黄と平衡状態にあり、酸性条件ではその平衡は二酸化硫黄の側に大きく傾いているとしている。（参照2、3、5）

## 8. 起源又は発見の経緯等

指定等要請者は、食品添加物として国際ブドウ・ワイン機構（OIV）加盟国間で使用されてきたが、2017年にオーストラリアでもワインの製造に使用できる加工助剤に認可され、使用できるようになったと説明している。

また、亜硫酸水素アンモニウムはワインの原料となる発酵前あるいは発酵中の果汁やマスト<sup>2</sup>に加えることで、液中で二酸化硫黄及びアンモニウムイオンを生じ、アンモニウムイオンは遊離アミノ態窒素の一種として酵母が直接資化できる栄養源となり、円滑な果汁の発酵を促進する。一方、二酸化硫黄は果汁の酸化を防ぐ役割を果たす。さらに、果汁中では水と反応し、二酸化硫黄と亜硫酸水素イオンの形をとるが、主に二酸化硫黄が果汁の発酵に好ましくない有害微生物の発生及び増殖を抑制する効果を持つとしている。（参照2、3、6、7、8）

## 9. 我が国及び諸外国等における使用状況

### （1）我が国における使用状況

我が国において、亜硫酸水素アンモニウム水は添加物として指定されていない。（参照2、9）

（参考）

亜硫酸水素アンモニウム水に関連する物質として、指定等要請者は、亜硫酸ナトリウム、ピロ亜硫酸ナトリウム及びピロ亜硫酸カリウムが添加物として指定されていると説明している。（参照2、9）

### （2）諸外国等における使用状況

#### ① コーデックス委員会

亜硫酸水素アンモニウム水は、食品添加物に関するコーデックス一般規格（GSFA）のリストに記載されていない。（参照2、10）

<sup>1</sup> 本文中で用いられた略称については、別紙に名称等を示す。

<sup>2</sup> 指定等要請者は、用語の定義として、マストは「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。」としている。

(参考)

二酸化硫黄及び亜硫酸塩類<sup>3</sup>は GSFA のリストに記載されている。これらの最大使用基準値について、「ブドウ酒」(食品分類 14.2.3) では 350 mg/kg<sup>4</sup> (二酸化硫黄としての残存量) と規定されている。(参照 2、10)

## ② 米国における使用状況

亜硫酸水素アンモニウム水は、一般に安全とみなされる (GRAS) 物質のリストに記載されていない。(参照 2、11、12)

一方で、指定等要請者は、「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ため、EU 域内からの輸入ワインについては亜硫酸水素アンモニウムを EU の醸造規則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。」と説明している。(参照 2、13)

## ③ EU における使用状況

EU において、亜硫酸水素アンモニウム水は食品添加物として指定されていない<sup>5</sup>。(参照 2、14、15)

一方で、EU 域内で適用される醸造規則において、亜硫酸水素アンモニウムは、アルコール発酵の目的に限ってブドウや発酵中の果汁及びマスト<sup>2</sup>にのみ 0.2 g/L 以下 (塩として) の量で使用できるとされている。(参照 2、8、16)

(参考)

二酸化硫黄及び亜硫酸塩類<sup>6</sup>は添加物として指定されている。(参照 2、14、15)

## ④ オーストラリア及びニュージーランドにおける使用状況

オーストラリア及びニュージーランドでは、亜硫酸水素アンモニウムは、ワイン、発泡ワイン及び強化ワインの醸造における酵母の栄養とする目的で、適正製造規範 (GMP) 下での使用が認められている。(参照 2、17)

また、オーストラリアでは、亜硫酸水素アンモニウムは、2017 年に加工助剤

---

<sup>3</sup> 亜硫酸ナトリウム、亜硫酸水素ナトリウム、ピロ亜硫酸ナトリウム、ピロ亜硫酸カリウム、亜硫酸カリウム及びチオ硫酸ナトリウム

<sup>4</sup> 特定の白ワインでの使用は除く。(特定の白ワインの場合は、400 mg/kg)

<sup>5</sup> EU 域内で使用が認められている食品添加物が規定された欧州議会・閣僚理事会規則 1333/2008 又は欧州委員会規則 1129/2011 には記載されていない。なお、同規則は加工助剤には適用されない。

<sup>6</sup> 亜硫酸ナトリウム、亜硫酸水素ナトリウム、ピロ亜硫酸ナトリウム、ピロ亜硫酸カリウム、亜硫酸カルシウム、亜硫酸水素カルシウム及び亜硫酸水素カリウム

として追加された。(参照 2、6)

## 10. 我が国及び国際機関等における評価

### (1) 我が国における評価

食品安全委員会において、添加物「亜硫酸水素アンモニウム水」の評価はなされていない。

亜硫酸水素アンモニウム水に関連する物質として、二酸化硫黄及び亜硫酸塩類<sup>7</sup>については、平成 15 年 7 月の厚生労働省からの亜硫酸塩類の使用基準改正（干しぶどう又は乾燥じゃがいもの最大残存量について、新たに二酸化硫黄としてそれぞれ 1.5 g/kg 又は 0.50 g/kg と設定）に係る諮問に対して、食品安全委員会は、平成 15 年 9 月に以下のように通知している。(参照18)

「亜硫酸塩類について薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会毒性・添加物合同部会において行われた「その安全性について現段階で新たな対応をとる必要はないと考えられる」との評価の結果は、当委員会として妥当と考える。」

また、亜硫酸水素アンモニウム水の解離成分であるアンモニウムイオンについては、食品安全委員会は、添加物評価書「アンモニウムイソバレレート(第 2 版)」(2014)において、以下のように評価している。(参照19)

「アンモニアは、ヒトが食品を摂取することにより、消化管内において 1 日当たり十二指腸で 10 mg、結腸で約 3 g 産生されるとされている。産生されたアンモニアはほとんどが吸収された後、門脈循環に入るとされている。健常なヒトではアンモニウムイオンは肝臓で速やかに尿素に変換され、尿中に排泄されるとされている。添加物(香料)「アンモニウムイソバレレート」を摂取することで体内に取り込まれるアンモニアの量は、ヒトにおいて食事から産生されるアンモニアの量の変動の範囲内と考えられ、また、ヒト体内で産生されたアンモニアと同様に代謝されると考えられることから、ここではアンモニアに係る知見は参照しなかった。」

さらに、食品安全委員会は、添加物評価書「硫酸アルミニウムアンモニウム、硫酸アルミニウムカリウム」(2017)において、以下のように評価している。(参照20)

「アンモニウムイオンについては、添加物「アンモニウムイソバレレート(第 2 版)」の評価書(2014)において、ヒトが食品を摂取することにより、消化管内において、1 日当たり十二指腸で 10 mg、結腸で約 3 g のアンモニアが産生されるとされている。産生されたアンモニアはほとんどが吸収された後、門脈循

<sup>7</sup> 亜硫酸ナトリウム、次亜硫酸ナトリウム、ピロ亜硫酸ナトリウム及びピロ亜硫酸カリウム

環に入るとされている。健常なヒトではアンモニウムイオンは肝臓で速やかに尿素に変換され、尿中に排泄されるとされている。

「硫酸アルミニウムアンモニウム」を摂取することで体内に取り込まれるアンモニアの量は、ヒトにおいて食事から産生されるアンモニアの量の変動の範囲内と考えられること、また、ヒト体内で産生されたアンモニアと同様に代謝されると考えられることから、本評価書では体内動態及び毒性の検討は行わないこととした。」

## (2) 国際機関等における評価

### ① JECFA における評価

亜硫酸水素アンモニウム水の安全性評価は確認できなかった。

亜硫酸水素アンモニウム水に関連する物質として、FAO/WHO 食品添加物専門家会議 (JECFA) において、二酸化硫黄及び亜硫酸塩類に関する評価がなされており、それぞれ次のように取りまとめられている。

1973 年の第 17 回会合において、二酸化硫黄及び亜硫酸塩類<sup>8</sup>を評価した結果、二酸化硫黄及び亜硫酸塩類グループとしての ADI を、二酸化硫黄として 0-0.7 mg/kg 体重/日と設定した。(参照21、22)

1986 年の第 30 回会合において、二酸化硫黄及び亜硫酸塩類<sup>9</sup>を評価した結果、以前に設定した二酸化硫黄及び亜硫酸塩類グループとしての ADI (二酸化硫黄として 0-0.7 mg/kg 体重/日) が維持された。(参照23、24)

1998 年の第 51 回会合において、二酸化硫黄及び亜硫酸塩類<sup>10</sup>を評価した結果、以前に設定した二酸化硫黄及び亜硫酸塩類グループとしての ADI (二酸化硫黄として 0-0.7 mg/kg 体重/日) が維持された。また、それらの摂取量推計が行われた結果、各国ごとの使用基準の最高量を用いる摂取量推計では、ADI を下回ったが、GSFA 草案の最高使用量や食品群の範囲を用いる摂取量推計では、ADI を上回った。この点については、GSFA 草案に収載された食品群の範囲が各国より多く、特定の食品群の使用量が一般的に各国の最高使用量より高いためとされている。(参照 2、25、26、27)

2008 年の第 69 回会合において、二酸化硫黄及び亜硫酸塩類<sup>11</sup>のばく露評価が行われた結果、一般集団では ADI の範囲内であるが、高摂取者では ADI を超過しているとされた。この点については、いくつかの推計が一日のみの摂取

<sup>8</sup> ピロ亜硫酸ナトリウム、ピロ亜硫酸カリウム、亜硫酸ナトリウム及び亜硫酸水素ナトリウム

<sup>9</sup> ピロ亜硫酸ナトリウム、ピロ亜硫酸カリウム、亜硫酸ナトリウム、亜硫酸水素ナトリウム、亜硫酸水素カルシウム、チオ硫酸ナトリウム及び亜硫酸水素カリウム

<sup>10</sup> 亜硫酸水素カルシウム、亜硫酸水素カリウム、亜硫酸水素ナトリウム、ピロ亜硫酸カルシウム、ピロ亜硫酸カリウム、ピロ亜硫酸ナトリウム、亜硫酸カルシウム、亜硫酸カリウム、亜硫酸ナトリウム及びチオ硫酸ナトリウム

<sup>11</sup> 亜硫酸水素カルシウム、亜硫酸水素カリウム、亜硫酸水素ナトリウム、ピロ亜硫酸カリウム、ピロ亜硫酸ナトリウム、亜硫酸カリウム、亜硫酸ナトリウム及びチオ硫酸ナトリウム

量調査結果に基づいており、まれに摂取する食品について過大推計となることが知られていること、国ごとに食品への使用方法が異なることを指摘しつつ、ADI を超過しないよう代替の保存方法に対する研究の推奨や食品への亜硫酸塩の使用量の減少等を考慮すべきとされている。(参照 2、28)

## ② 米国における評価

亜硫酸水素アンモニウム水の安全性評価は確認できなかった。

なお、亜硫酸水素アンモニウム水に関連する物質として、二酸化硫黄及び亜硫酸塩類<sup>12</sup>について、1976 年に米国生物実験科学連合 (FASEB) による評価が行われた結果、現在の使用量や使用方法で、公衆への有害影響を示す合理的根拠はないとしている。(参照29)

## ③ 欧州における評価

亜硫酸水素アンモニウム水の安全性評価は確認できなかった。

なお、亜硫酸水素アンモニウム水に関連する物質として、二酸化硫黄及び亜硫酸塩類<sup>13</sup>について、1994 年に欧州食品科学委員会 (SCF) による評価が行われ、二酸化硫黄及び亜硫酸塩類のグループとしての ADI を、二酸化硫黄として 0-0.7 mg/kg 体重/日とした。(参照30)

また、欧州食品安全機関 (EFSA) 専門家パネルは、2016 年に二酸化硫黄及び亜硫酸塩類<sup>6</sup>の再評価を実施し、現行の二酸化硫黄及び亜硫酸塩類としてのグループ ADI (二酸化硫黄として 0-0.7 mg/kg 体重/日) を適当なものとして維持するが、データベースが改善されるまでの暫定的なものとみなすことが望ましいと結論づけ、この暫定グループ ADI を再評価することを勧告した。(参照31)

## ④ オーストラリア及びニュージーランドにおける評価

オーストラリア・ニュージーランド食品基準機関 (FSANZ) は、2017 年にワイン製造に関する新規の加工助剤として亜硫酸水素アンモニウムの評価を行った。その結果、現行の JECFA の二酸化硫黄及び亜硫酸塩類としてのグループ ADI を適切<sup>14</sup>と判断している。また、ワイン製造における加工助剤としての亜硫酸水素アンモニウム由来の亜硫酸のばく露量の変化は無視できると予測されるため、ばく露評価は行わなかった。これらを踏まえ、ワイン製造にお

<sup>12</sup> 亜硫酸水素カリウム、ピロ亜硫酸カリウム、亜硫酸水素ナトリウム、ピロ亜硫酸ナトリウム及び亜硫酸ナトリウム

<sup>13</sup> 亜硫酸ナトリウム、亜硫酸水素ナトリウム、ピロ亜硫酸ナトリウム、ピロ亜硫酸カリウム、亜硫酸カルシウム及び亜硫酸水素カルシウム

<sup>14</sup> FSANZ (2017) は、現行の JECFA の二酸化硫黄及び亜硫酸塩類としてのグループ ADI については、低すぎる可能性があるとしている。

ける加工助剤としての亜硫酸水素アンモニウムの使用については、公衆衛生及び安全性に係る懸念は認められなかったと結論づけた。(参照 3)

### 1 1. 評価要請の経緯及び添加物指定の概要

今般、添加物「亜硫酸水素アンモニウム水」について、厚生労働省に添加物としての指定及び規格基準の設定の要請がなされ、関係書類が取りまとめられたことから、食品安全基本法（平成 15 年 5 月 23 日法律第 48 号）第 24 条第 1 項第 1 号の規定に基づき、食品安全委員会に対して、食品健康影響評価の要請がなされたものである。

厚生労働省は、食品安全委員会の食品健康影響評価結果の通知を受けた後に、添加物「亜硫酸水素アンモニウム水」について、表 1 のように使用基準を設定し、それぞれ添加物としての指定及び規格基準の設定の可否等について検討している。(参照 1)

表 1 添加物「亜硫酸水素アンモニウム水」の使用基準案

添加物名	使用基準案
亜硫酸水素アンモニウム水	<p>亜硫酸水素アンモニウム水は、ぶどう酒の製造に用いる果汁及びぶどう酒（発酵が終了したものを除く。）以外に使用してはならない。</p> <p>亜硫酸水素アンモニウム水の使用量は、亜硫酸水素アンモニウム塩としてぶどう酒の製造に用いる果汁及びぶどう酒（発酵が終了したものを除く。）にあってはその 1 L につき 0.2 g 以下でなければならない。</p> <p>また、亜硫酸水素アンモニウム水は、二酸化硫黄として、ぶどう酒（ぶどう酒の製造に用いる酒精分 1 容量%以上を含有するぶどう搾汁及びこれを濃縮したものを除く。）1 kg につき 0.35 g 以上残存しないように使用しなければならない。</p> <p>（亜硫酸水素アンモニウム水を使用したぶどう酒の製造に用いる果汁を、ぶどう酒（発酵が終了したものを除く。）の製造に用いる場合、亜硫酸水素アンモニウム水をぶどう酒（発酵が終了したものを除く。）に使用するものとみなす。）</p>

## II. 安全性に係る知見の概要

指定等要請者によると、水中で亜硫酸水素アンモニウムから解離した亜硫酸水素イオン及びアンモニウムイオンのうち、亜硫酸水素イオンは、二酸化硫黄と平衡状態にあり、pH2～5 の範囲では亜硫酸水素イオンが 2/3 以上を占めるが、より強酸性条件下では二酸化硫黄の比率が高くなる。また、添加物として摂取された二酸化硫黄は生体内の水と反応し、亜硫酸水素イオン、亜硫酸イオンを生成する。これらの化学種は消化管に移行し、pH が酸性の胃内では主に亜硫酸水素イオン及び二酸化硫黄として吸収される。さらに、腸にまで移行したものは中性の pH 環境により、主に亜硫酸イオンと亜硫酸水素イオンとして吸収されると説明している。(参照 2、31)

これらのことから、アンモニウムイオン並びに二酸化硫黄及び亜硫酸塩のそれぞれの安全性に係る知見を基に、添加物「亜硫酸水素アンモニウム水」の安全性に関する検討を総合的に行うこととした。

アンモニウムイオンについては、添加物評価書「アンモニウムイソバレレート(第2版)」(2014)及び「硫酸アルミニウムアンモニウム、硫酸アルミニウムカリウム」(2017)において、安全性に係る知見として、添加物「アンモニウムイソバレレート」又は「硫酸アルミニウムアンモニウム」を摂取することで体内に取り込まれるアンモニアの量は、ヒトにおいて食事から産生されるアンモニアの量の変動の範囲内と考えられ、また、ヒト体内で産生されたアンモニアと同様に代謝されると考えられるとされていることから、安全上の懸念はないと考えた。その後、新たな知見は認められていないことから、本評価書では、アンモニアの体内動態及び毒性の検討は行わないこととした。(参照 2、20、32)

### 1. 体内動態

亜硫酸水素アンモニウムを被験物質とした体内動態試験成績は提出されていないため、上述のとおり、二酸化硫黄及び亜硫酸塩を被験物質とした試験成績を用いて、総合的に検討を行うこととした。

#### (1) 吸収

##### ① 吸収 (マウス、ラット、サル) (Gibson and Strong (1973) ; JECFA (1987) で引用)

アルビノラット (系統・性別不明、各群 3 匹)、アルビノマウス (系統・性別不明、各群 6～8 匹) 及びアカゲザル (雄 1 匹、雌 5 匹) に、 $[^{35}\text{S}]$ 亜硫酸ナトリウム含有亜硫酸水素ナトリウム溶液を、50 mg/kg (二酸化硫黄として) の用量で経口投与する試験が実施されている。その結果、マウス及びラットにおいて投与した  $^{35}\text{S}$  の約 70%が 24 時間以内に尿中に排泄されていることから、Gibson and Strong (1973) は、亜硫酸は消化管から素早く吸収されるとして

いる。なお、サルでは、投与した  $^{35}\text{S}$  の約 90%が 24 時間以内に尿中に排泄されている。(参照33)

② 吸収、排泄 (ラット) (Bhaghat and Lockett (1960) ; JECFA (1987) で引用)

Wistar ラット (雌、12 匹) に、体重 5%相当量の 3.46%ピロ亜硫酸ナトリウム溶液を強制経口投与したところ、4 時間で投与した硫黄の  $55.1 \pm 6.24\%$ が硫酸として尿中に排泄された。(参照34)

本専門調査会としては、ラットにピロ亜硫酸ナトリウムを投与した場合、少なくとも 4 時間以内に 55.1%以上が吸収されると考えた。

(2) 分布

① 分布、代謝 (ウサギ) (Gunnison and Farruggella (1979) ; JECFA (1987) で引用)

ニュージーランド白ウサギ (雄、8 羽) に、亜硫酸塩 (詳細不明) 溶液を 0.9 mmol/kg 体重/時間の用量で耳静脈に 0.6~6.0 時間持続投与することで耳動脈血漿中の亜硫酸濃度を 400~650  $\mu\text{mol/L}$  に維持し、肺及び大動脈における *S*-スルホン酸量を調べる試験が実施されている。

Gunnison and Farruggella (1979) は、*S*-スルホン酸濃度の指数回帰式での漸近値は、肺において約 900 及び大動脈において約 9,000 nmol/g 乾燥重量 (*S*-スルホン酸として) となるとし、これらの組織における投与 2 及び 4 日後における理論上の *S*-スルホン酸残存率から、各 *S*-スルホン酸濃度は指数関数的に減少し、半減期は 2~3 日になると考察している。また、以前の実験において、肝臓、腎臓、心臓、脳、骨格、筋肉、胃、卵巣、精巣、十二指腸、脾臓及び眼において、検出可能な量の *S*-スルホン酸は認められなかったとしている。(参照35)

② 分布、排泄 (イヌ) (Yokoyama ら (1971))

雑種イヌ (性別不明、9 匹) の外科的処置をした上気道に、20 又は 50ppm の  $^{35}\text{S}$  二酸化硫黄を 30~60 分間吸入ばく露させて血液サンプルを採取し、透析性及び非透析性の血清放射能が測定された。その結果、透析性の  $^{35}\text{S}$  の割合は、血清中  $^{35}\text{S}$  濃度の全範囲にわたって基本的に一定で平均  $64.4 \pm 2.3\%$ であった。また、2 匹の血液サンプルの非透析性画分を電気泳動し、 $^{35}\text{S}$  の分布を調べたところ、測定された  $^{35}\text{S}$  のうち 41%及び 38%が  $\alpha$ -グロブリン画分、18%及び 20%がアルブミン画分に分布していた。

### ③ 参考資料

以下の資料については、吸入投与の特徴を示した知見であることから、参考資料とした。

#### a. 分布（ウサギ）（Gunnison ら（1981）；JECFA（1987）で引用）

ニュージーランド白ウサギ（雄、各群 6～11 羽）に、3ppm の二酸化硫黄を含む空気を 0、3 及び 24 時間又は 10ppm の二酸化硫黄を含む空気を 0、1、3、10、24、48 及び 72 時間吸入ばく露させ、気管壁、肺及び大動脈の *S*-スルホン酸量を調べる試験が実施されている。

その結果、3ppm 群における気管壁の *S*-スルホン酸濃度は、ばく露 3 及び 24 時間後にそれぞれ 45 及び 61 nmol/g 乾燥重量を示し、両者の間に有意差はなかった（平均 53 nmol/g 乾燥重量）。10ppm 群における気管壁の *S*-スルホン酸濃度は、ばく露 3 時間後に平均 107 nmol/g 乾燥重量となり、3～24 時間後までほぼ一定値を示したが、48 及び 72 時間後にはそれぞれ平均 152 及び 163 nmol/g 乾燥重量に増加した。10ppm 群におけるばく露 3 時間後の血漿 *S*-スルホン酸濃度は、平均 9 nmol/mL<sup>15</sup>であり、24 時間後の血漿 *S*-スルホン酸濃度は、約 30 nmol/mL であった。また、大動脈では外因性の *S*-スルホン酸が認められず、後肺葉の遠隔領域では痕跡程度のみが検出された。

Gunnison（1981）らは、これらの結果は二酸化硫黄が肺で代謝されることを示唆しており、肺と心臓は例外の可能性があるが、吸入部位から遠隔組織に二酸化硫黄が輸送される根拠はないとしている。（参照36）

#### b. 分布、代謝（ラット）（Gause and Barker（1978）；JECFA（1987）で引用）

SD ラット（雄、各群 8 匹）に、表 2 に示されている濃度の<sup>35</sup>S二酸化硫黄を 7 日間吸入ばく露させ、ばく露終了から 0、96、144 及び 192 時間の回復期間後にそれぞれ 2 匹ずつと殺し、鼻粘液の試料を電気泳動にかけて PAS 染色によって、糖タンパク質の変性を調べる試験が実施されている。

表 2 用量設定

[ <sup>35</sup> S]二酸化硫黄濃度（ppm）	0（対照群）	5	20
--------------------------------	--------	---	----

その結果、5ppm 及び 20ppm 群では泳動速度の遅い酸性画分に対照群では見られないバンドが認められた。

また、SD ラット（雄、4 匹）に 5ppm の<sup>35</sup>S二酸化硫黄を 30 分、1 時間、2 時間及び 4 時間吸入ばく露させ、<sup>35</sup>S の分布を調べる試験が実施されてい

<sup>15</sup> 原著に基づき 70 mg 血漿タンパク質を血漿 1 mL 相当とした。

る。

その結果、ばく露 30 分以内に、吸入された  $^{35}\text{S}$  の約 90%が鼻粘液に、また約 10%が血漿又は血清中に認められた。ばく露 1~4 時間後の鼻粘液中と血清中の  $^{35}\text{S}$  濃度の比率は、約 3:1 であった。

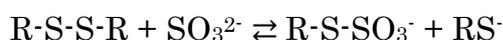
Gause and Barker (1978) は、二酸化硫黄によりタンパク分子間が架橋された大きな複合体を形成することは、二酸化硫黄の吸入により見られた鼻粘液の流速低下につながることを支持しようとしている。また、粘液の生理機能には、糖タンパク質の分子間架橋が必要と考えられるが、その形成は、限定的かつ制御されたものだとしている。(参照37)

### (3) 代謝

#### ① 代謝酵素

哺乳類における亜硫酸の主な代謝経路は、硫酸への酵素的酸化である。この反応を触媒する亜硫酸オキシダーゼは、哺乳類の肝臓に高濃度で、また、その他の多くの組織にも低濃度で存在しており、ミトコンドリアの膜間スペースに局在するとされている。

亜硫酸を全身投与すると、次の反応で示されるように、ジスルフィド結合の切断により血漿  $S$ -スルホン酸化合物 ( $\text{R}\cdot\text{S}\cdot\text{SO}_3^-$ ) が形成されると考えられている。



亜硫酸オキシダーゼ活性を *in vitro* で比較した結果、ラットではウサギと比較して約 3 倍、サルと比較して約 5 倍の活性であったこと、また、ラット肝臓ではヒトと比較して約 10~20 倍の活性が示されたとされている。また、サルと比較してラットでは亜硫酸オキシダーゼ活性が高いが、ラットでは一貫して血清中に低濃度の  $S$ -スルホン酸が検出された一方で、サルでは外因性の  $S$ -スルホン酸が検出されなかったとされている。(参照38、43)

#### ② 代謝 (ヒト) (Gunnison and Palmes (1974) ; JECFA (1987) で引用)

健康成人男性を対象として、正常な肺機能の非喫煙者 (12 名) を表 3 の濃度の二酸化硫黄を含む大気に 120 時間、ヘビースモーカー<sup>16</sup> (7 名) を同濃度で 96 時間ばく露する試験が行われている。また、正常な肺機能の非喫煙者 (3 名) を 3.0 及び 6.0ppm の濃度で 48 時間、ヘビースモーカー (2 名) を 42ppm の濃度でばく露する試験が行われている。

<sup>16</sup> 文献において、1 日当たり 20~60 本のタバコを吸う人とされている。

表 3 用量設定

二酸化硫黄濃度 (ppm)	0 (対照群)	0.3	1.0	3.0
---------------	---------	-----	-----	-----

その結果、非喫煙者と喫煙者に関係なく、血漿中 *S*-スルホン酸濃度は、ばく露室内の二酸化硫黄濃度に有意な相関があり、喫煙者と非喫煙者のデータを合わせて得た回帰直線の傾きから、大気中の二酸化硫黄濃度が 1ppm 増加するごとに血漿中 *S*-スルホン酸量が  $1.1 \pm 0.16$  nmol/mL 増加すると推測された。(参照39)

③ 代謝 (ヒト) (Constantin ら (1994) ; EFSA (2016) にて引用)

ヒト多形核白血球に亜硫酸ナトリウムを添加したところ、有意に酸素の取り込みが増加した。また、活性化していないヒト多形核白血球に亜硫酸ナトリウムを添加した試料において、三酸化硫黄ラジカルが認められたが、ホルボールミリステートアセテート (PMA) で活性化したヒト多形核白血球に亜硫酸ナトリウムを添加した試料においては、三酸化硫黄ラジカルに加えて 5,5-ジメチル-1-ピロリン-1-オキシド (DMPO) ヒドロキシル付加物が認められた。

Constantin ら (1994) は、ヒト多形核白血球には亜硫酸から硫酸への酸化経路が存在し、亜硫酸オキシダーゼが触媒する主要な経路のほか、非酵素的に三酸化硫黄ラジカルの中間体形成を伴って酸化される経路があることが示唆されたとしている。(参照40)

④ 代謝 (ヒト) (Constantin ら (1996) ; EFSA (2016) にて引用)

若い健常者 (平均 25 歳、性別及び人数不明)、高齢の健常者 (平均 64 歳、性別及び人数不明)、100 歳以上の健常者 (性別不明、3 名) 及びダウン症候群患者 (年齢及び性別不明、3 名) から採取した多形核白血球において、亜硫酸塩を用いて、亜硫酸の酸化速度を調べる試験が行われている。その結果、若い健常者及び高齢の健常者においては、亜硫酸オキシダーゼ活性は三酸化硫黄ラジカルの生成速度及び硫酸への酸化速度と相関していた。一方、100 歳以上の健常者及びダウン症候群患者においては、硫酸への酸化速度が遅く、三酸化硫黄ラジカルの生成が増大していた。

Constantin (1996) らは、硫酸の形成は、亜硫酸オキシダーゼ依存性経路と、中間体として三酸化硫黄ラジカルを形成するラジカル活性化経路が存在するとしている。(参照41)

⑤ 代謝 (ウサギ、サル) (Gunnison and Palmes (1976))

ニュージーランド白ウサギ (雄、2 匹) に、 $[^{35}\text{S}]$ 亜硫酸ナトリウムを約 0.6 mmol/kg (亜硫酸塩として) の用量で耳静脈内投与し、血漿中亜硫酸濃度を残

差法により分析したところ、その時間的推移は2コンパートメントオープンシステムモデルに合致することが示唆された。また、アカゲザル（雌、1匹）においても、同様の結果が得られた。

ニュージーランド白ウサギ（雄、3匹）に、 $[^{35}\text{S}]$ 亜硫酸ナトリウムを約0.15、0.30及び0.6 mmol/kg（亜硫酸塩として）の用量で耳静脈内投与し、2コンパートメントオープンシステムモデルに基づき、血漿中亜硫酸濃度の経時的推移を分析したところ、消失速度定数及びクリアランスは投与量に逆相関し、クリアランス及び投与量の直線及び指数関数との相関はほぼ同程度であった。

Gunnison and Palmes (1976) は、硫酸により亜硫酸オキシダーゼが阻害されることが知られているので、この逆相関関係は、生成物による亜硫酸オキシダーゼの阻害が原因かもしれないとしている。

ニュージーランド白ウサギ（雄、3匹）に、 $[^{35}\text{S}]$ 亜硫酸ナトリウムを約0.6 mmol/kg（亜硫酸塩として）の用量で耳静脈内投与し、投与後の血漿中亜硫酸濃度を測定し、投与における0次反応は定常状態における状態を示すことを前提として、亜硫酸のクリアランスを推計する試験が実施されている。

また、ニュージーランド白ウサギ（雄、1匹）に、 $[^{35}\text{S}]$ 亜硫酸ナトリウムを0.61 mmol/kg（亜硫酸塩として）の用量で耳静脈内投与し、その12分後から23分後にかけて $[^{35}\text{S}]$ 亜硫酸ナトリウムを37.1  $\mu\text{mol}/\text{min}$ の速度で耳静脈内に持続注入し、定常状態における血漿中亜硫酸濃度から、クリアランスを測定する試験が実施されている。

それらの試験から得られた値を比較した結果、亜硫酸クリアランスの推計値と測定値との間に大きな差は認められなかった。

これらの試験成績と、アカゲザル1匹を用いた予備的な実験の結果から、Gunnison and Palmes (1976) は、亜硫酸の分布と消失のパターンはアカゲザルとウサギで類似しているが、排泄の速度が異なることが示唆されているとし、亜硫酸としての排泄は総クリアランスのごく一部であり、亜硫酸の主な代謝は硫酸への酸化であることから、亜硫酸のクリアランスは組織の亜硫酸オキシダーゼに直接依存すると考察している。

ニュージーランド白ウサギ（雄、1匹）に、 $[^{35}\text{S}]$ 硫酸ナトリウムを0.6 mmol/kg（硫酸塩として）の用量で耳静脈内投与し、血漿中硫酸濃度を残差法により分析したところ、その時間的推移は4コンパートメントモデルに合致した。

また、同一のウサギに、 $[^{35}\text{S}]$ 亜硫酸ナトリウムを0.6 mmol/kg（亜硫酸塩として）の用量で耳静脈内投与し、同様に分析したところ、硫酸ナトリウム投与時と比較して、亜硫酸ナトリウム投与時には、消失速度定数が低下した。

ニュージーランド白ウサギ（雄、3匹）に、 $[^{35}\text{S}]$ 硫酸ナトリウムを0.3、0.6及び1.2 mmol/kg（硫酸塩として）の用量で耳静脈内投与し、4コンパートメントモデルに基づき、血漿中硫酸濃度の経時的推移を分析したところ、速度定

数に用量依存性は見られなかった。

Gunnison and Palmes (1976) は、亜硫酸から形成された硫酸は、消化管から血漿中へ吸収されるのと同様に、セントラルコンパートメント<sup>17</sup>に移行するとしている。また、血漿中の硫酸生成は、投与された亜硫酸の定常状態後の亜硫酸の消失より相当遅れていることから、亜硫酸投与により生成した硫酸は、即時に血漿には到達しないとしている。(参照42)

⑥ 代謝 (ラット、サル) (Gunnison and Palmes (1978) ; JECFA (1987) で引用)

SD ラット (雄、11 匹) に、亜硫酸塩 (詳細不明) を平均 2.8 mmol/kg 体重/日の用量で 10 日間経口投与し、投与前後で血漿中の *S*-スルホン酸濃度を測定する試験が実施されている。その結果、投与前の *S*-スルホン酸濃度は平均 8 nmol/mL であったが、投与後は平均 13 nmol/mL となった。

上述の SD ラット (雄、11 匹) に、亜硫酸塩 (詳細不明) を 3.2 及び 9.9 mmol/kg 体重/日の用量でそれぞれ 5 日間腹腔内投与し、血漿中の *S*-スルホン酸濃度を測定する試験が実施されている。その結果、3.2 mmol/kg 体重/日を投与する実験では、投与前は平均 10 nmol/mL であったが、投与後は平均 24 nmol/mL を示した。また、9.9 mmol/kg 体重/日を投与する実験では、投与前は平均 4 nmol/mL であったが、投与後は平均 34 nmol/mL となった。

別の SD ラット (雄、3 匹) に、<sup>[35S]</sup>亜硫酸塩 (詳細不明) 水溶液を 9.9 mmol/kg 体重/日の用量で 5 日間腹腔内投与し、そのうちの 2 匹の血漿タンパク *S*-スルホン酸クリアランスを調べたところ、半減期は 3.9 及び 3.5 日であった。

また、アカゲザル (雌、5 匹) に、亜硫酸塩 (詳細不明) を平均 1.64~2.74 mmol/kg 体重/日の用量で 11 日間経口投与し、投与前と投与開始 3、6、9 及び 11 日後の血漿中の亜硫酸及び *S*-スルホン酸濃度を測定する試験が実施されている。その結果、投与前はそれぞれ 3 nmol/L (検出限界値) 未満及び 0 nmol/L であったが、投与開始 11 日後にはそれぞれ 3 nmol/L (検出限界値) 未満~32 nmol/L 及び 30~86 nmol/L を示した。

上述のアカゲザル (雌、5 匹) の *S*-スルホン酸クリアランスを調べたところ、半減期はそれぞれ 6、8、13、36 及び 83 日であった。また、別のアカゲザル (雌、1 匹) に<sup>[35S]</sup>亜硫酸イオン含有餌を、平均 1.31 mmol/kg 体重/日で 5 日間、続いて平均 1.93 mmol/kg 体重/日で 6 日間の合計 11 日間摂取させ、*S*-スルホン酸クリアランスを調べたところ、半減期は 6~13 日であった。

Gunnison and Palmes (1978) は、アカゲザルの *S*-スルホン酸クリアランスの半減期のうち、36 及び 83 日については、他の 3 匹の値 (6~13 日) と大きく異なることから、実験上のアーチファクトであるとしており、他の 3 匹の

<sup>17</sup> 原著において、「血漿及び血漿と瞬時に平衡に達する組織」と定義されている。

値（6～13日）は、 $[^{35}\text{S}]$ 亜硫酸イオンを用いた試験の結果と傾向が一致するとしている。（参照43）

⑦ 代謝（ラット）（Wever（1985）；JECFA（1987）で引用）

SDラット（雄、2匹）に、亜硫酸ナトリウム溶液（亜硫酸ナトリウムとして100 mg/kg 体重、二酸化硫黄として50 mg/kg 体重）を十二指腸内投与し、挿入したカニューレから門脈血又は大静脈血を採取して、血漿中の遊離型の亜硫酸及びSスルホン酸の濃度を測定する試験が実施されている。

その結果、門脈血漿中の亜硫酸濃度は、投与後数分以内に増加し、10分後に10～15 nmol/mLの頂値を示して、その後減少した。また、門脈血漿中のSスルホン酸濃度は、10分後に亜硫酸濃度の20～25%となり、120分後までほぼ一定の濃度を保っていた。一方、大静脈血漿中では、亜硫酸は検出されず、Sスルホン酸濃度は、門脈血漿中より低いものの投与10分後まで増加して、60分後までほぼ同じ濃度を保ち、その後減少した。

また、SDラット（雌雄、各群3匹）に、亜硫酸ナトリウム溶液（亜硫酸ナトリウムとして100 mg/kg 体重、二酸化硫黄として50 mg/kg 体重）を十二指腸内投与し、10、20及び30分後に門脈血及び大静脈血を同じ動物から採取し、血漿中の亜硫酸及びSスルホン酸濃度を測定する試験が実施されている。

その結果、門脈血漿中の亜硫酸濃度は時間依存的に増加したが、大静脈血漿中ではそのような増加は認められなかった。また、Sスルホン酸濃度は、大静脈血漿中より門脈血漿中で有意に高かった。

Wever（1985）は、門脈血漿中で検出された亜硫酸は、肝臓における酸化経路により代謝されること及びSスルホン酸が肝臓において一部代謝されると推測している。また、ラットに食餌から摂取される最大量以上の亜硫酸を十二指腸内投与した場合、門脈血漿中に亜硫酸が検出されるが、速やかにSスルホン酸となるか酸化されると結論づけている。（参照44）

⑧ 代謝（ラット）（Sunら（1989）；JECFA（1999）で引用）

SDラット（雄、匹数不明）から摘出した肝臓及び肝細胞を用いて、亜硫酸の代謝を調べる試験が実施されている。

その結果、 $10^6$ 細胞/mLの単離肝細胞に1 mmol/Lの亜硫酸イオンを添加した場合、亜硫酸イオンは35～40  $\mu\text{mol/L}/\text{分}/10^6$ 細胞の反応速度で、直線的に硫酸イオンに変換された。この反応の初期速度は、200  $\mu\text{mol/L}$ ～2 mmol/L 亜硫酸のイオンを添加した場合においても同様であった。また、摘出肝臓を1 mmol/Lの亜硫酸イオンで灌流したところ、3分間の灌流で約98%の亜硫酸イオンが肝臓に取り込まれ、緩衝液の再灌流により、残留した亜硫酸イオンは60分後まで経時的に減少した。変換された硫酸イオンの濃度は灌流5分後に830

μmol/L、30分後に930 μmol/Lとなったが、このことは灌流後30分以内にほぼ全ての亜硫酸イオンが硫酸イオンに変換されたことを示している。(参照45)

#### (4) 排泄

##### ① 排泄 (マウス、ラット、サル) (Gibson and Strong (1973) ; JECFA (1987) で引用) (再掲)

アルビノラット (系統・性別不明、各群3匹)、アルビノマウス (系統・性別不明、各群6~8匹) 及びアカゲザル (雄1匹、雌5匹) に、<sup>35</sup>S]亜硫酸ナトリウム含有亜硫酸水素ナトリウム溶液を、二酸化硫黄として50 mg/kgの用量で経口投与する試験が実施されている。その結果、尿、糞便及び屠体中の<sup>35</sup>Sの回収率は、表4のとおりであった。

表4 尿、糞便及び屠体中の<sup>35</sup>S回収率

	投与後日数 (日)	尿中 (%)	糞便中 (%)	屠体中 (%)
ラット	1	74~79	4~17	9~21
	2	75~84	13~18	4~7
	7	未実施	未実施	2
	14			1
マウス	1	78.7	15.6	3.1
	2	80.8	14.8	1.8
	7	未実施	未実施	0.83
	14			0.36
サル <sup>注</sup>	1	94.9	1.8	未実施
	2	98.1	4.0	
	3	99.2	4.4	
	4	99.8	4.6	
	5	100.5	4.7	

注) 原著では、サルの結果のみ累積ではなく1日ごとの回収率が示されているが、表4では累積の回収率で示している。

また、アルビノラット (系統・性別・匹数不明) に0、50又は200 mg/kgの二酸化硫黄を5日間、アルビノラット (系統不明、雌雄、各群6匹) に0、50又は200 mg/kgの二酸化硫黄を30日間及びアルビノラット (系統・性別不明、2匹) に400 mg/kgの二酸化硫黄を単回、亜硫酸水素ナトリウム溶液として経口投与し、尿中の亜硫酸を測定する試験が実施されている。その結果、いずれの試験においても、未変化体の亜硫酸の排泄は認められなかった。

これらの結果から、Gibson and Strong (1973) は投与された亜硫酸を酸化する機能は飽和しなかったとしている。(参照 33)

## ② 排泄 (ヒト) (Savic ら (1987))

二酸化硫黄を使用している工場において、二酸化硫黄に職業上ばく露している勤務者 (ばく露群、性別不明) 56 名 (冬期) 及び 38 名 (夏期) 並びにばく露していない勤務者 (対照群、性別不明) 39 名を対象にして、尿中の総硫酸濃度及び有機硫酸濃度を調べる試験が実施され、表 5 の結果が得られた。

表 5 尿中総及び有機硫酸濃度

	空気中の二酸化硫黄濃度 (mg/m <sup>3</sup> )	尿中総硫酸濃度		尿中有機硫酸濃度	
		被験者数 (名)	測定結果 (μmol/L)	被験者数 (名)	測定結果 (μmol/L)
対照群	—	39	16.7±5.3	39	1.8±1.5
ばく露群 (冬期)	45.7±12.4	56	21.2±7.9	47	4.1±3.8
ばく露群 (夏期)	0.2±0	38	19.3±7.5	36	3.7±1.8

平均±標準偏差

空気中の二酸化硫黄濃度は、冬期には 17.1~149.4 mg/m<sup>3</sup>、夏期には 0~0.75 mg/m<sup>3</sup> であった。また、ばく露群の尿中総硫酸濃度及び尿中有機硫酸濃度は、いずれも対照群と比較し有意に高かった。

Savic ら (1987) は、空気中の二酸化硫黄が高いと尿中硫酸濃度が高くなるとしている。(参照46)

## (5) 体内動態のまとめ

本専門調査会としては、添加物として摂取された二酸化硫黄及び亜硫酸塩は、主に二酸化硫黄、亜硫酸イオン又は亜硫酸水素イオンとして吸収され、吸収された亜硫酸は、肝臓の亜硫酸オキシダーゼなどによって酸化されるか、三酸化硫黄ラジカルの形成を通じて硫酸の形成に至る経路により代謝される。ラットでは、ウサギ又はサルと比較して亜硫酸オキシダーゼ活性が高く、ヒトと比較して約 10~20 倍の亜硫酸オキシダーゼ活性が肝臓で示されている。また、亜硫酸の摂取後に検出された S-スルホン酸の半減期は短く、蓄積性は低いと考えた。さらに、経口投与された亜硫酸は、その大半が硫酸として速やかに尿中や糞便中に排泄され

ると考えた。

## 2. 毒性

亜硫酸水素アンモニウムを被験物質とした試験成績は提出されていないが、II. 安全性に係る知見の概要のとおり、二酸化硫黄及び亜硫酸塩を被験物質とした試験成績を用いて、総合的に検討を行うこととした。

### (1) 遺伝毒性

#### ① 二酸化硫黄及び亜硫酸塩

二酸化硫黄及び亜硫酸塩を被験物質とした遺伝毒性に関する試験成績は表 6～表 15 のとおりである。

表 6 DNA 鎖切断試験の成績 (*in vitro*) 及びコメットアッセイの成績 (*in vivo*)

指標	試験種類	試験対象	被験物質	用量等	試験結果	参照文献
DNA 損傷	DNA 鎖切断試験 ( <i>in vitro</i> )	シリアンハムスタ一胎児細胞	亜硫酸水素ナトリウム	0、20、50 mM、15 分間処理	陰性	Doniger ら (1982) (参照 47)
	コメットアッセイ ( <i>in vivo</i> )	マウス (CF1、各群雌 5 匹、雄 5 匹) (網状赤血球、肝臓・骨髄細胞)	ピロ亜硫酸ナトリウム	0、0.5、1、2 g/kg 体重、1 回強制経口投与 24 時間後	陽性 <sup>注)</sup> (1~2 g/kg 体重、: 網状赤血球、肝臓・骨髄細胞)	Carvalho ら (2011) ; EFSA (2016) にて引用 (参照 48、31)

注) 単回投与後短時間 (3~6 時間) のデータがないことから最終投与後 24 時間に DNA 損傷が持続していることを確認できないと考えられる。

表 7 復帰突然変異試験の成績

指標	試験種類	試験対象	被験物質	用量等	試験結果	参照文献
遺伝子突然変異	復帰突然変異試験 ( <i>in vitro</i> )	細菌 ( <i>Escherichia coli</i> K12 (λ フェージ N14-4 による c 遺伝子変異株)	亜硫酸水素ナトリウム (亜硫酸水素ナトリウム : ピロ亜硫酸ナトリウム = 3 : 1)	3 M/plate (pH5.6) <sup>注 1)</sup> 60、90、180 分処理	陽性 (90 分後以降)	Hayatsu and Miura (1970) (参照 49)

指標	試験種類	試験対象	被験物質	用量等	試験結果	参照文献	
遺伝子突然変異	復帰突然変異試験 (in vitro)	細菌 ( <i>E. coli</i> K12、15)	亜硫酸水素ナトリウム	1 M/plate (pH5.2) 注 <sup>1)</sup>	陽性 (代謝活性化系非存在下 : 15 株) 注 <sup>2)</sup>	Mukai ら (1970) (参照 50)	
					陰性 (代謝活性化系非存在下 : K12 株)		
			細菌 ( <i>Salmonella typhimurium</i> TA1535、TA1537、TA1538)	亜硫酸ナトリウム	0.028%/plate (pH7.4) 注 <sup>1)</sup>	陰性 (代謝活性化系) の有無にかかわらず)	Litton Bionetics, Inc. (1975) (参照 51)
			細菌 ( <i>S. typhimurium</i> TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538、 <i>E. coli</i> WP2 uvrA)	亜硫酸水素ナトリウム	最高用量 10 mg/plate (pH7.0)	陰性 (代謝活性化系の有無にかかわらず)	SRI International (1978a) (参照 52)
			細菌 ( <i>S. typhimurium</i> TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538、 <i>E. coli</i> WP2 uvrA)	ピロ亜硫酸ナトリウム	最高用量 10 mg/plate (pH7.0)	陰性 (代謝活性化系の有無にかかわらず)	SRI International (1978b) (参照 53)
			細菌 ( <i>E. coli</i> WP2、WP2s uvrA、WP5 <i>lexA</i> 、WP6 <i>polA</i> 、WP10 <i>recA</i> )	亜硫酸水素ナトリウム	0.1 M/plate 注 <sup>1)</sup>	陰性 (代謝活性化系非存在下)	Mallon and Rossman (1981) ; EFSA (2016) にて引用 (参照 31、54)
			細菌 ( <i>S. typhimurium</i> TA92、TA94、TA98、TA100、TA1535、TA1537)	無水亜硫酸ナトリウム	最高用量 5 mg/plate	陰性 (代謝活性化系の有無にかかわらず)	Ishidate ら (1984) ; EFSA (2016 で引用) (参照 31、55)
			細菌 ( <i>S. typhimurium</i> TA92、TA94、TA98、TA100、TA1535、TA1537)	ピロ亜硫酸カリウム	最高用量 3 mg/plate	陰性 (代謝活性化系の有無にかかわらず)	Ishidate ら (1984) ; EFSA (2016 で引用) (参照 31、55)

指標	試験種類	試験対象	被験物質	用量等	試験結果	参考文献
遺伝子突然変異	復帰突然変異試験 ( <i>in vitro</i> )	細菌 ( <i>S. typhimurium</i> TA92、TA94、TA98、TA100、TA1535、TA1537)	無水亜硫酸水素ナトリウム	最高用量 50 mg/plate	陰性 (代謝活性化系の有無にかかわらず)	Ishidate ら (1984) (参照 55)
		細菌 ( <i>S. typhimurium hisG46</i> 、TA92、TA1950、TA2410、TS24 及び GW19)	亜硫酸水素ナトリウム (亜硫酸水素ナトリウムとピロ亜硫酸ナトリウムの混合物)	1 M/plate (pH5.2) 注 <sup>1)</sup>	陰性 (代謝活性化系非存在下 : GW19) 陽性 (代謝活性化系非存在下注 : <i>hisG46</i> 、TA92、TA1950、TA2410、TS24) 注 <sup>3)</sup>	DeGiovanni-Donnelly (1985) ; EFSA (2016) にて引用 (参照 31、56)
		細菌 ( <i>S. typhimurium hisG46</i> 変異株、 <i>hisD6610</i> 変異株、 <i>hisD3052</i> 変異株、 <i>hisC3076</i> 変異株)	ピロ亜硫酸ナトリウム	最高用量 33.3 mg/plate ( <i>hisD3052</i> 変異株、 <i>hisC3076</i> 変異株) (pH5.0~8.0)	陰性 (代謝活性化系非存在下)	Pagano and Zeiger (1987) ; EFSA (2016) にて引用 (参照 31、57)
				0.02、0.04、0.06、0.08、0.10、0.20、0.30 M/plate ( <i>hisG46</i> 変異株、 <i>hisD6610</i> 変異株) (pH4.0~5.0)	陽性 (代謝活性化系非存在下 : <i>hisG46</i> : 0.1 M/plate、 <i>hisD6610</i> : 0.3 M/plate で最大の変異原性) 注 <sup>4)</sup>	

指標	試験種類	試験対象	被験物質	用量等	試験結果	参考文献
遺伝子突然変異	復帰突然変異試験 ( <i>in vitro</i> )	細菌 ( <i>S. typhimurium</i> TA98、TA100、TA1535、TA1537)	亜硫酸ナトリウム	最高用量 5 mg/plate	陰性 (代謝活性化系の有無にかかわらず)	BASF (1989a) (非公表); EFSA(2016)にて引用(参照 31)
		細菌 ( <i>S. typhimurium</i> TA98、TA100、TA1535、TA1537)	ピロ亜硫酸カリウム	最高用量 5 mg/plate	陰性 (代謝活性化系の有無にかかわらず)	BASF (1989c) (非公表); EFSA(2016)にて引用(参照 31)
		細菌 ( <i>S. typhimurium</i> TA98、TA100、TA1535、TA1537)	ピロ亜硫酸ナトリウム	最高用量 5 mg/plate	陰性 (代謝活性化系の有無にかかわらず)	BASF (1989b) (非公表); EFSA(2016)にて引用(参照 31)
		細菌 ( <i>S. typhimurium</i> TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538、 <i>E. coli</i> WP2)	ピロ亜硫酸ナトリウム	最高用量 10 mg/plate (pH7.0)	陰性 (代謝活性化系の有無にかかわらず)	Privalら (1991) (参照 58)
		細菌 ( <i>S. typhimurium</i> TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538、 <i>E. coli</i> WP2)	亜硫酸水素ナトリウム	最高用量 10 mg/plate (pH7.0)	陰性 (代謝活性化系の有無にかかわらず)	Privalら (1991) (参照 58)

注 1) 実施された試験は単用量である。

注 2) 使用した菌株が経済協力開発機構 (OECD) テストガイドライン 471 の推奨菌株ではない。

注 3) EFSA (2016) (参照 31) は、推奨菌株ではないことや試験の詳細が不明であること等の点で OECD テストガイドライン 471 に準じていない研究であると指摘している。

注 4) EFSA (2016) (参照 31) は、使用された菌株が一般的ではないことや陽性対照群が設定されていないこと等を指摘して、研究の信頼性は限定的であると指摘している。

表 8 遺伝子突然変異試験の成績

指標	試験種類	試験対象	被験物質	用量等	試験結果	参照文献
遺伝子突然変異	遺伝子突然変異試験 ( <i>in vitro</i> )	細菌 ( <i>E. coli</i> : NR3835、KA797、NR3956 ( <i>ung<sup>-</sup></i> )、NR5040 ( <i>dcm<sup>-</sup></i> )、NR3883 ( <i>recA</i> ))	亜硫酸水素ナトリウム	1 M/plate (pH5.2~6.0) 注1) 30分	陰性	Kunz and Glickman (1983) (参照59)
		酵母 ( <i>Saccharomyces cerevisiae</i> D4)	亜硫酸ナトリウム	最高用量 5.0%	陰性 (代謝活性化系の有無にかかわらず)	Litton Bionetics, Inc. (1975) (参照51)
		チャイニーズハムスター細胞 (V79 株)	亜硫酸水素ナトリウム	最高用量 20 mM、15分処理、5 mM、48時間処理注1)	陰性	Mallon and Rossman (1981) ; EFSA (2016) にて引用 (参照 31、54)
		シリアンハムスター胚細胞 (SHE 細胞)	亜硫酸水素ナトリウム	20 mM、15分処理、5 mM、24時間処理注1)	陰性	Tsutsui and Barrett (1990) ; EFSA (2016) にて引用 (参照 31、60)
		チャイニーズハムスター卵巣細胞 (CHO 細胞) (AS52 株)	亜硫酸水素ナトリウム (亜硫酸ナトリウム : 亜硫酸水素ナトリウム = 3 : 1)	5、10 mM、4時間処理 (pH7.0)	陽性 (代謝活性系非存在下、用量依存的な増加) 注2)	Meng and Zhang (1999) ; EFSA (2016) にて引用 (参照 31、61)
		マウスリンフォーマ細胞 (L5178Y 株)	ピロ亜硫酸ナトリウム	最高用量 1,902 µg/mL	陰性 (代謝活性化系の有無にかかわらず)	EFSA (2016) (Covance (2010) を引用) (参照 31)

注 1) 実施された試験は単用量である。

注 2) Meng and Zhang (1999) は、欠変異が増加しているのは、亜硫酸水素塩の高用量での細胞毒性により生じた DNA 損傷が関与しているものと推定しており、EFSA (2016) (参照 31) もこれに同意している。

表 9 染色体異常試験の成績 (in vitro)

指標	試験種類	試験対象	被験物質	用量等	試験結果	参照文献
染色体異常試験	(in vitro)	チャイニーズハムスター培養細胞 (Don 細胞)	ピロ亜硫酸カリウム	最高用量 1 mM、26 時間処理	陰性	Abe and Sasaki (1977) (参照62)
		チャイニーズハムスター肺繊維芽細胞由来培養細胞 (CHL 細胞)	ピロ亜硫酸カリウム	最高用量 60 µg/mL、24 及び 48 時間処理	陰性 (代謝活性化系非存在下)	Ishidate ら (1984) ; EFSA (2016 にて引用) (参照 55、31)
		チャイニーズハムスター肺繊維芽細胞由来培養細胞 (CHL 細胞)	無水亜硫酸ナトリウム	最高用量 500 µg/mL、24 及び 48 時間処理	陰性 (代謝活性化系非存在下)	
		チャイニーズハムスター肺繊維芽細胞由来培養細胞 (CHL 細胞)	無水亜硫酸水素ナトリウム	最高用量 125 µg/mL、24 及び 48 時間処理	陰性 (代謝活性化系非存在下)	Ishidate ら (1984) (参照 55)
		シリアンハムスター胎児細胞	亜硫酸水素ナトリウム	最高用量 40 mM、6 及び 24 時間処理 <sup>注1)</sup>	陰性	Popescu and DiPaolo (1988) ; EFSA (2016) にて引用 (参照63、31)
		シリアンハムスター胚細胞 (SHE 細胞)	亜硫酸水素ナトリウム	最高用量 5 mM、24 及び 48 時間処理	陰性	Tsutsui and Barrett (1990) ; EFSA(2016) にて引用 (参照 31、60)
		ヒト末梢血リンパ球 (健常者 2 名、性別不明)	亜硫酸水素ナトリウム	0.4 mM <sup>注2)</sup> 、48 時間処理	陽性	Bechman and Nordenson (1986) (参照64)
		ヒト末梢血リンパ球 (健常者 4 名、男女 (比率不明))	亜硫酸水素ナトリウム (亜硫酸ナトリウム : 亜硫酸水素ナトリウム = 3 : 1) <sup>注3)</sup> (pH7.0)	0、0.05、0.10、0.50、1.00 mM、48 時間処理	陽性 (0.50 ~ 1.00 mM)	Meng and Zhang (1992) (参照65)

注 1) EFSA (2016) (参照 31) は、生理学的限界 10 mM を超える用量で実施された試験であると指摘している。

注 2) 実施された試験は単用量である。

注 3) Meng ら (2004) (参照66) は、吸入された二酸化硫黄が水和され気道で亜硫酸を生成した後、亜硫酸水素塩と亜硫酸塩 (1 : 3 M/M) を形成するとしている。

表 10 染色体異常試験の成績 (*in vivo*)

指標	試験種類	試験対象	被験物質	用量等	試験結果	参考文献
染色体異常	染色体異常試験 ( <i>in vivo</i> )	ラット (系統不明、匹数不明) (骨髄細胞)	亜硫酸水素ナトリウム	0、1.5、15、150 mg/kg 体重、単回及び 5 日間連続経口投与	陰性	Litton Bionetic, Inc. (1972) (参照 67)
		ラット (系統不明、匹数不明) (骨髄細胞)	ピロ亜硫酸ナトリウム	0、30、700、1200 mg/kg 体重、経口投与、投与後 6、24、48 時間後に標本作製	陰性	Stanford Research Institute (1972) (参照68)
		マウス (NMRI、各群雄 3 匹、雌 3 匹) (骨髄細胞)	ピロ亜硫酸ナトリウム	0、660 mg/kg 体重 <sup>注)</sup> 、2 回強制経口投与 (投与間隔 5.5 時間)	陰性	Renner and Wever (1983) (参照69)
		チャイニーズハムスター (各群雄 3 匹、雌 3 匹) (骨髄細胞)			陰性	
		マウス (Swiss、投与群 4 匹、対照群 6 匹) (骨髄細胞)	ピロ亜硫酸ナトリウム	0、400 mg/kg 体重、1 回経口投与、24 時間後	陰性	Pal and Bhunya (1992) ; EFSA (2016) にて引用 (参照70、31)

注) 原著において、二酸化硫黄換算と記載されている。

表 11 姉妹染色分体交換試験 (SCE 試験) の成績 (*in vitro*)

指標	試験種類	試験対象	被験物質	用量等	試験結果	参考文献
染色体異常	姉妹染色分体交換試験 (SCE 試験) ( <i>in vitro</i> )	チャイニーズハムスター細胞 (Don 細胞)	ピロ亜硫酸カリウム	最高用量 1 mM、26 時間処理	陰性	Abe and Sasaki (1977) (参照 62)
		チャイニーズハムスター卵巣細胞	亜硫酸水素ナトリウム	0、0.03、0.09、0.27、0.81、2.4、7.3 mM、2 及び 24 時間処理	陽性 (0.09 ~7.3 mM、用量及び時間依存的な増加)	MacRae and Stich (1979) ; EFSA (2016) にて引用 (参照71、31)

指標	試験種類	試験対象	被験物質	用量等	試験結果	参照文献
染色体交換試験 (SCE試験) ( <i>in vitro</i> )	姉妹染色分体	ヒト培養末梢血リンパ球 (2名、性別不明)	亜硫酸水素ナトリウム	0.4 mM <sup>注1)</sup> 48 時間処理	有意な増加	Bechman and Nordenson (1986) (参照)
	シリアンハムスター胎児細胞	シリアンハムスター胎児細胞	亜硫酸水素ナトリウム	0、10、20、40 mM、 15 分処理	陽性 (10～40 mM) <sup>注2)</sup>	Popescu and DiPaolo (1988) ; EFSA (2016) にて引用 (参照 63、31)
	シリアンハムスター胚細胞 (SHE細胞)	シリアンハムスター胚細胞 (SHE細胞)	亜硫酸水素ナトリウム	最高用量 20 mM、 15 分処理	陰性	Tsutsui and Barrett (1990) ; EFSA (2016) にて引用 (参照 31、60)
				0、0.5、2.0、5.0 mM、 24 時間処理	陽性 (0.5～5.0 mM、用量依存的な増加)	
	ヒト培養末梢血リンパ球 (4名、男女比不明)	ヒト培養末梢血リンパ球 (4名、男女比不明)	亜硫酸水素ナトリウム (亜硫酸ナトリウム : 亜硫酸水素ナトリウム = 3 : 1) (pH7.0) <sup>注3)</sup>	最高用量 1 mM、 48 時間処理	陽性 (用量依存的な増加)	Meng and Zhang (1992) (参照 65)
ヒト末梢血リンパ球 (男2名・女2名)	ヒト末梢血リンパ球 (男2名・女2名)	二酸化硫黄	0、0.1、0.5、1.0ppm 72 時間処理	陽性 <sup>注4)</sup> (0.5及び1.0ppm)	Uren ら (2014) ; EFSA (2016) にて引用 (参照72、31)	

注1) 実施された試験は単用量である。

注2) EFSA (2016) (参照 31) は、生理学的限界 10 mM を超える用量で実施された試験であると指摘している。

注3) Meng ら (2004) (参照 66) は、吸入された二酸化硫黄が水和され気道で亜硫酸を生成した後、亜硫酸水素塩と亜硫酸塩 (1 : 3 M/M) を形成するとしている。

注4) 陽性対照群に代謝活性化が必要な薬剤であるシクロホスファミドを使用しているのにも関わらず、実験系が非代謝活性化系のため陽性対照としては不適切であると考えられる。また、陰性対照群の背景データが提示されておらず、試験結果が通常ヒトリンパ球培養で見られる範囲のものか不明である。

表 12 姉妹染色分体交換試験（SCE 試験）の成績（*in vivo*）

指標	試験種類	試験対象	被験物質	用量等	試験結果	参考文献
染色体異常	姉妹染色分体交換試験（SCE 試験）（ <i>in vivo</i> ）	マウス（NMRI、各群雄 2 匹、雌 2 匹）（骨髄細胞）	ピロ亜硫酸ナトリウム（水溶液）	0、660 mg/kg 体重 <sup>注)</sup> 、1 回強制経口投与 2 時間後	陰性	Renner and Wever (1983) (参照 69)
	チャイニーズハムスター（各群雄 2 匹、雌 2 匹）（骨髄細胞）	陰性				

注) 原著において、二酸化硫黄換算と記載されている。

表 13 小核試験の成績（*in vitro*）

指標	試験種類	試験対象	被験物質	用量等	試験結果	参考文献
染色体異常	小核試験（ <i>in vitro</i> ）	ヒト培養末梢血リンパ球（男 2 名・女 2 名）	二酸化硫黄	0、0.1、0.5、1.0ppm 72 時間処理	陽性（0.5～1.0ppm） <sup>注1)</sup>	Uren ら（2014）；EFSA（2016）にて引用（参照 72、31）
		ヒト培養末梢血二核リンパ球（健常者 4 名、男 2 名・女 2 名）	ピロ亜硫酸カリウム	25、50、100、200 µg/mL 24 及び 48 時間処理	陽性（24 及び 48 時間処理：25～200 µg/mL） <sup>注2)</sup>	Yavus-Kocaman ら（2008）；EFSA（2016）にて引用（参照 73、31）

注 1) 陽性対照群に代謝活性化が必要な薬剤であるシクロホスファミドを使用しているのにも関わらず、実験系が非代謝活性化系のため陽性対照としては不適切であると考えられる。また、陰性対照群の背景データが提示されておらず、試験結果が通常ヒトリンパ球培養で見られる範囲のものか不明である。

注 2) EFSA（2016）（参照 31）は、被験物質、サイトカラシン B、フィトヘマグルチニンの同時処理という通常用いない方法で試験が行われていると指摘している。

表 14 小核試験の成績 (*in vivo*)

指標	試験種類	試験対象	被験物質	用量等	試験結果	参照文献
染色体異常	小核試験 ( <i>in vivo</i> )	マウス (NMRI、各群雄 3 匹、雌 3 匹) (骨髄細胞)	ピロ亜硫酸ナトリウム (水溶液)	0、660 mg/kg 体重 <sup>注1)</sup> 、2 回強制経口投与	陰性	Renner and Wever (1983) (参照 69)
		チャイニーズハムスター (各群雄 3 匹、雌 3 匹) (骨髄細胞)		6 時間後 (最終投与 5.5 時間後)	陰性	
	マウス (CF1、各群雌 5 匹、雄 5 匹) 網状赤血球、骨髄細胞)	ピロ亜硫酸ナトリウム	0、0.5、1、2 g/kg 体重、1 回強制経口投与 24 時間後	陽性 <sup>注2)</sup> (2 g/kg 体重、網状赤血球、骨髄細胞)	Carvalho ら (2011) ; EFSA (2016) にて引用 (参照 48、31)	

注 1) 原著において、二酸化硫黄換算と記載されている。

注 2) EFSA (2016) (参照 31) は、2 g/kg 体重のみでの陽性結果であり、用量依存性がみられておらず、ギムザ染色法を用いたことから多染性赤血球 (PCE) と正染性赤血球 (NEC) の判別が困難で、骨髄での陰性対照群の PCE/NEC の値 (1.67±0.67) が高い値 (通常は 1 近辺) を示していること、対照群の背景データが提示されていないこと等を指摘し、この試験は評価に適していないとしている。

表 15 優性致死試験の成績 (*in vivo*)

指標	試験種類	試験対象	被験物質	用量等	試験結果	参照文献
染色体異常	優性致死試験 ( <i>in vivo</i> )	SD ラット (匹数不明)	亜硫酸水素ナトリウム	0、1.5、15、150 mg/kg 体重、単回及び 5 日間連続経口投与	陰性	Litton Bionetics, Inc. (1972) (参照 67)
		ラット (系統不明、匹数不明)	ピロ亜硫酸ナトリウム	0、30、700、1,200 mg/kg 体重、単回経口投与	陰性	Stanford Research Institute (1972) (参照 68)
				0、30、700、1,200 mg/kg 体重、反復経口投与	陰性	
SD ラット (雄、各投与群 20 匹、対照群 40 匹)	ピロ亜硫酸ナトリウム	0、125、416.7、1,250 mg/kg 体重/日、10 週間混餌投与	陰性	Stanford Research Institute (1979) (参照 74)		

② 参考資料

表 16 の試験については、光照射への防御のない実験条件での試験であることから、参考資料として記載する。

表 16 染色体異常試験の成績 (*in vitro*) 及び姉妹染色分体交換試験 (SCE 試験) の成績 (*in vitro*)

指標	試験種類	試験対象	被験物質	用量等	試験結果	参考文献
染色体異常	染色体異常試験 ( <i>in vitro</i> )	ヒト末梢血リンパ球 (4名 (男2名・女2名))	ピロ亜硫酸ナトリウム	0、75、150、300 µg/mL 24 及び 48 時間処理	陽性	Rencuzogullari ら (2001) ; EFSA(2016)にて引用 (参照75、31)
		ヒト末梢血リンパ球 (4名 (男女、各群2名))	ピロ亜硫酸カリウム	0、25、50、100、200 µg/mL 24 及び 48 時間処理	陽性 (24 時間処理 : 25~200 µg/mL、48 時間処理 : 50~200 µg/mL)	Yavuz-Kocaman ら (2008) ; EFSA (2016) にて引用 (参照 73、31)
	姉妹染色分体交換試験 ( <i>in vitro</i> )	ヒト末梢血リンパ球 (男2名・女2名)	ピロ亜硫酸ナトリウム	0、75、150、300 µg/mL、 24 及び 48 時間処理	陽性 (24 及び 48 時間処理 : 75~300 µg/mL)	Rencuzogullari ら (2001) ; EFSA(2016)にて引用 (参照 75、31)
		ヒト末梢血リンパ球 (男2名・女2名)	ピロ亜硫酸カリウム	0、25、50、100、200 µg/mL 24 及び 48 時間処理	陽性 (24 及び 48 時間処理 : 25~200 µg/mL)	Yavuz-Kocaman ら (2008) ; EFSA (2016) にて引用 (参照 73、31)

表 17 の *in vivo* 試験については、経口投与以外の投与経路によるものであることから、参考資料として記載する。

表 17 コメットアッセイの成績 (*in vivo*)、染色体異常試験の成績 (*in vivo*)、優性致死試験の成績 (*in vivo*)

指標	試験種類	試験対象	被験物質	用量等	試験結果	参考文献
DNA損傷	コメットアッセイ ( <i>in vivo</i> )	マウス (昆明、各群雌 6 匹、雄 6 匹) (脳・肺・心臓・肝臓・胃・脾臓・胸腺・腎臓の細胞、骨髄細胞)	亜硫酸ナトリウム・亜硫酸水素ナトリウム混合物 (3 : 1)	0、125、250、500 mg/kg 体重、腹腔内投与、1 回/日、7 日間 24 時間後	陽性 (125 ~500 mg/kg 体重)	Meng ら (2004) ; EFSA (2016) にて引用 (参照 66、31)
		マウス (昆明、各群雌 6 匹、雄 6 匹) (末梢血リンパ球、脳・肺・肝臓・脾臓・腎臓・小腸・精巣の細胞)	二酸化硫黄	0、14、28、56、112 mg/m <sup>3</sup> 、吸入ばく露、6 時間/日、7 日間 最終ばく露直後	陽性 (小腸以外 : 14~112 mg/m <sup>3</sup> ) 陽性 (小腸 : 28~112 mg/m <sup>3</sup> )	Meng ら (2005) ; EFSA(2016)にて引用 (参照76、31)
染色体異常	染色体異常試験 ( <i>in vivo</i> )	マウス (Swiss、投与群各 4 匹、対照群 10 匹) (骨髄細胞)	ピロ亜硫酸ナトリウム	0、200、300、400 mg/kg 体重、1 回腹腔内投与、24 時間後	陽性 (300 mg/kg 体重)	Pal and Bhunya (1992) ; EFSA (2016) にて引用 (参照 70、31)
		マウス (Swiss、投与群各 4 匹、対照群 10 匹) (骨髄細胞)		0、400 mg/kg 体重、1 回腹腔内投与、6、24、48 時間後	陽性 (投与 24 及び 48 時間後)	
		マウス (Swiss、投与群 4 匹、対照群 10 匹) (骨髄細胞)		0、80 mg/kg 体重、5 回腹腔内投与 (24 時間間隔)、120 時間後	陽性	
		マウス (Swiss、投与群 4 匹、対照群 6 匹) (骨髄細胞)		0、400 mg/kg 体重、1 回皮下投与、24 時間後	陽性	
		マウス (昆明、各群雌 4 匹、雄 4 匹) (骨髄細胞)	二酸化硫黄	0、7、14、28、56 mg/m <sup>3</sup> 、4 時間/日、7 日間吸入 24 時間後	陽性 (14~56 mg/m <sup>3</sup> )	

指標	試験種類	試験対象	被験物質	用量等	試験結果	参考文献
染色体異常	染色体異常試験 ( <i>in vivo</i> )	ラット (アルビノ、4匹 (雄2匹、雌2匹)) (骨髄細胞)	ピロ亜硫酸カリウム	0、150、300、600 mg/kg 体重、単回腹腔内投与 12 及び 24 時間後	陽性 (300 及び 600 mg/kg 体重)	Yavus-Kocaman ら (2008) (参照 73)
	姉妹染色分体交換試験 (SCE 試験) ( <i>in vivo</i> )	マウス (NMRI、各群雄2匹、雌2匹) (骨髄細胞)	ピロ亜硫酸ナトリウム	0、50 mg/kg 体重 <sup>注)</sup> 、12 回皮下投与 (20 分間隔) 最終終了後	陰性	Renner and Wever (1983) (参照 69)
		チャイニーズハムスター (各群雄2匹、雌2匹) (骨髄細胞)			陰性	
	小核試験 ( <i>in vivo</i> )	マウス (Swiss、投与群各4匹、対照群3匹) (骨髄細胞)	ピロ亜硫酸ナトリウム	0、200、300、400 mg/kg 体重、2 回腹腔内投与 (24 時間間隔) 最終投与 6 時間後	陽性 (300 mg/kg 体重)	Pal and Bhynya (1992) (参照 70)
	マウス (昆明、各群雌5匹、雄5匹) (骨髄細胞)	二酸化硫黄	0、14、28、56、84 mg/m <sup>3</sup> 、4 時間/日、7 日間吸入ばく露 24 時間後	陽性 (14~84 mg/m <sup>3</sup> )	Meng ら (2002) ; EFSA (2016) にて引用 (参照 78、31)	
	マウス (NMRI、雄、各群5匹) (骨髄細胞)	亜硫酸ナトリウム	0、250、500、1,000 mg/kg 体重、1 回皮下投与 24 時間後 (全群)、 48 時間後 (0、1000 mg/kg 群)	陰性	BASF (2008) (非公表) ; EFSA (2016) にて引用 (参照 31)	
	マウス (NMRI、投与各群雌6匹、雄6匹、対照群雌5匹、雄5匹) (骨髄細胞)	二酸化硫黄	0、1、3、10、30ppm (0、約 2.7、8、27、80 mg/m <sup>3</sup> )、 4 時間/日、7 日間吸入ばく露 24 時間後	陰性	Ziemann ら (2010) ; EFSA (2016) にて引用 (参照 79、31)	

指標	試験種類	試験対象	被験物質	用量等	試験結果	参考文献
染色体異常	優性致死試験 ( <i>in vivo</i> )	マウス ((101×C3H) F <sub>1</sub> 、雄)	亜硫酸ナトリウム	0、400 mg/kg 体重/日、20 回腹腔内投与 (26 日間中)	陰性	Generoso ら (1978) (参照 80)
				0、300 mg/kg 体重/日、38 回腹腔内投与 (54 日間中)	陰性	
	マウス ((101×C3H) F <sub>1</sub> 、雌)	0、550 mg/kg 体重/日、単回腹腔内投与		陰性		

### ③ 遺伝毒性のまとめ

亜硫酸水素ナトリウムに関しては、細菌を用いた復帰突然変異試験並びに培養細胞を用いた *in vitro* 突然変異試験、染色体異常試験及び SCE 試験では陽性の結果が得られている。亜硫酸水素塩の Ames 試験陽性は、2 次的に起こる酸化ストレスによる影響が考えられるが、亜硫酸水素塩が DNA のシトシンへの結合を介して脱アミノ化を誘導し、ウラシルへ変換する作用を有することが報告されていることから、復帰突然変異試験の陽性はこの機構によるものも否定ができない。しかしながら、この反応は pH 中性条件下では不安定であり、復帰突然変異試験でも陰性になるとの報告がある。(参照 52、54、55、81)

*in vitro* 突然変異試験、染色体異常試験の陽性に関しては、EFSA の見解では、亜硫酸水素ナトリウムによる培地等の酸性化によるものとされているが、亜硫酸水素塩は中性条件下で放出する・SO<sub>3</sub>ラジカル作用により DNA 鎖を切断することも報告されており、この影響も否定できない。(参照 31、81)

また、ピロ亜硫酸ナトリウムに関しては、細菌を用いた復帰突然変異試験で陽性の結果が得られている。経口投与で行われた *in vivo* コメット及び小核試験で陽性の結果が得られている。ピロ亜硫酸ナトリウムは加水分解を受け亜硫酸水素ナトリウムを生じることから、これらの陽性結果は上述のメカニズムによるものと考えられる。EFSA (2016) は、復帰突然変異試験に関して、使用された菌株が一般的ではないことや陽性対照群が設定されていないこと等を指摘するとともに、*in vivo* コメット及び小核試験に関して、非常に高い最高用量のみで陽性となっていることや試験法が適切でないことなどを指摘している。(参照 31)

一方、適切な条件下で試験された *in vivo* 経口投与の小核試験及び染色体異常試験では陰性の結果が得られている。(参照 67、68、69)

これらの結果を踏まえると、*in vitro* 試験で検出された遺伝毒性が生体内で

発現する可能性は低く、生体内では問題にならないと考えられた。

さらに、添加物「亜硫酸水素アンモニウム水」は、発酵前あるいは発酵中の果汁やマスト<sup>2</sup>に添加され、本品目から生じた二酸化硫黄は、水と反応して亜硫酸を生じ、有害微生物の増殖防止及び酸化防止の効果を発揮しつつ大気中に揮散又は酸化により徐々に消失することが想定される。(参照 2、82、83)

したがって、本専門調査会としては、亜硫酸水素ナトリウム及びピロ亜硫酸ナトリウムは *in vitro* 試験では遺伝毒性を示す結果が一部存在するものの、適切な条件下で試験された *in vivo* 経口投与の小核試験及び染色体異常試験では陰性の結果が得られていることから、生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないと判断した。

## (2) 急性毒性

二酸化硫黄及び亜硫酸塩類を被験物質とした急性毒性に関する試験成績は表 18 のとおりである。

表 18 二酸化硫黄及び亜硫酸塩類を被験物質とした急性毒性試験の成績

動物種 (性別)	被験物質	LD <sub>50</sub> (mg/kg 体重)		参照文献
			二酸化硫黄としての値 <sup>注)</sup>	
ラット (雌雄)	亜硫酸ナトリウム	3,160	1,610	EFSA (2016) (参照 31)
ウサギ (不明)	亜硫酸ナトリウム	—	600~700	Rost and Franz (1913) ; EFSA (2016) 及び JECFA (1987) にて引用 (参照 24、31)
ラット (雌雄)	亜硫酸水素ナトリウム	雄 : 1,160 雌 : 1,540	雄 : 714 雌 : 948	BASF (1982b、c) (非公表) ; EFSA (2016) にて引用 (参照 31)
ラット (不明)	ピロ亜硫酸ナトリウム	3,200	2,160	BASF (1973a) (非公表) ; EFSA (2016) にて引用 (参照 31)
ラット (不明)	ピロ亜硫酸カリウム	2,300	1,330	BASF (1973b) (非公表) ; EFSA (2016) にて引用 (参照 31)

注) 本専門調査会において、ラットについては第 9 版食品添加物公定書付録 原子量表をもとに二酸化硫黄としての値に換算した。

## (3) 反復投与毒性

### ① ブタ 48 週間経口投与試験 (Til ら (1972) ; JECFA (1987) 及び EFSA (2016) にて引用)

ランドレース種ブタ (雌雄、各群 20 頭) に、ピロ亜硫酸ナトリウムを表 19 のとおりの用量設定で、15 週間又は 48 週間混餌投与する試験が実施されている。別途、摂餌量を同じにした同種ブタ (雌雄、各群 15 頭) に、0 (対照群) 及び 2.0% (亜硫酸の消失を考慮した用量として 1.72%) のピロ亜硫酸ナトリ

ウムを 18 週間混餌投与する試験が実施されている。これらの試験は、ピロ亜硫酸ナトリウム添加において生じる、飼料中での分解によるチアミン欠乏の抑制を目的に、全群に対して基礎飼料にチアミンを添加している。

表 19 用量設定

用量設定 (%)	0 (対照群)	0.125	0.25	0.5	1.0	2.0
亜硫酸の消失を考慮した用量 (%) <sup>注1)</sup>	0	0.06	0.16	0.35	0.83	1.72
亜硫酸の消失を考慮した用量 (%) を mg/kg 体重/日に換算 (二酸化硫黄として) (mg/kg 体重/日) <sup>注2)</sup>	0	12	32	71	170	350

注 1) Tilら (1972) により、飼料貯蔵後のピロ亜硫酸残留率から換算された。(参照84)

注 2) 本専門調査会において、ブタ平均体重 100 kg、平均摂餌量 3 kg/日として、第 9 版食品添加物公定書付録 原子量表をもとに二酸化硫黄としての値に換算した。

各投与群で認められた毒性所見は表 20 のとおりである。

表 20 毒性所見

投与群	毒性所見
	雌雄
2.0% (1.72%)	<ul style="list-style-type: none"> <li>・体重増加の有意な抑制 (ただし、別途実施の 18 週間混餌投与試験では成長率に影響なし)</li> <li>・肝臓の脂肪貪食クッパー細胞増加</li> </ul>
1.0% (0.83%) 以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・胃 (幽門部、噴門部) で粘膜ヒダの発生及び部分的に乳頭状又は敷石状変化、盲腸粘膜の黒色化。</li> <li>・組織学的には、胃 (幽門部、噴門部) の粘液腺及び表層上皮の過形成、食道の上皮内小膿瘍及び好中球浸潤を伴う上皮過形成、盲腸の粘膜固有層に黒緑色素顆粒貪食マクロファージ出現</li> </ul>

そのほか、以下の所見が認められた。

- ・尿及び肝臓中のチアミン量が量依存的に減少したが、チアミン無添加の基礎飼料を与えた群 (別実験) と比べてチアミン量が低かったのは 2.0%投与群のみであった。
- ・盲腸のマクロファージ浸潤は 0.5%群の 1 例にも認められた。
- ・1.0%以上の投与群において、心臓、腎臓及び脾臓の相対重量のみが増加した。
- ・2.0%投与群において、肝臓の相対重量のみが増加した。

なお、試験終了時の血液検査及び便潜血検査において、投与群と対照群の間に投与物質に起因する又は明らかな差はなかった。

Tilら(1972)は、亜硫酸のNOELを0.35%投与群<sup>18</sup>としている。(参照84)

EFSA(2016)は、JECFA(1987)<sup>19</sup>を引用し、NOAELを0.35%投与群<sup>18</sup>における72 mg/kg 体重/日(二酸化硫黄として)<sup>20</sup>としている。(参照31)

本専門調査会としては、1.0%以上の投与群で軽度の胃及び食道の所見が認められたことから、ピロ亜硫酸ナトリウムのNOAELを0.5%投与群から算出した71 mg/kg 体重/日(二酸化硫黄として)と判断した。

② ラット2年間反復投与毒性・生殖毒性・発がん性併合試験(Tilら(1972); JECFA(1987)及びEFSA(2016)にて引用)

Wistarラット(雌雄、各群20匹)に、ピロ亜硫酸ナトリウムを表21のとおり用量設定で、3世代にわたり2年間(104週間)混餌投与する試験が実施されている。この試験は、ピロ亜硫酸ナトリウム添加において生じる、飼料中での分解によるチアミン欠乏の抑制を目的に、全群に対して基礎飼料にチアミンを添加している。

表 21 用量設定

用量設定 (%)	0 (対照群)	0.125	0.25	0.5	1.0	2.0
mg/kg 体重/日に換算(二酸化硫黄として)(mg/kg 体重/日) <sup>注)</sup>	0	37	75	150	300	600

注) Tilら(1972)による換算値(参照85)

各投与群で認められた毒性所見は表22のとおりである。

<sup>18</sup> 飼料貯蔵後のピロ亜硫酸残留率から換算された、亜硫酸の消失を考慮した用量

<sup>19</sup> JECFA(1987)は、本試験におけるピロ亜硫酸ナトリウムのNOELを0.25%投与群としている(参照24)。

<sup>20</sup> JECFA(1987)により、ピロ亜硫酸ナトリウムから生じる二酸化硫黄を67.39%、ブタ平均体重100 kg、平均摂餌量3 kg/日として換算されたとしている。(参照31)

表 22 毒性所見

投与群	毒性所見	
	雄	雌
2.0%	<ul style="list-style-type: none"> <li>・便潜血（100%）（全世代）</li> <li>・腺胃部粘膜の限局性肥厚（隆起）及び少量の赤茶色物質（全世代）</li> <li>・前胃及び腺胃の過形成又は炎症性変化（全世代）</li> </ul>	
		<ul style="list-style-type: none"> <li>・ヘモグロビン、ヘマトクリット値及び赤血球数の僅かな減少（F<sub>0</sub>世代）</li> </ul>
1.0%	<ul style="list-style-type: none"> <li>・便潜血（13～60%）（全世代）</li> <li>・腺胃部粘膜の限局性肥厚（隆起）及び少量の赤茶色物質（全世代）</li> <li>・前胃及び腺胃の過形成又は炎症性変化（全世代）</li> </ul>	
0.5%	<ul style="list-style-type: none"> <li>・前胃の上皮過形成（F<sub>2</sub>世代）</li> </ul>	

そのほか、以下の所見が認められた。

- ・0.125%以上の投与群及び0.25%以上の投与群における、それぞれ尿及び肝臓中のチアミン量の用量依存的な減少。
- ・0.125%投与群（雄）における、アラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）<sup>21</sup>活性の有意な低下。
- ・0.25%投与群（雌）及び0.5%投与群（雄）においても、投与32週目に限って、10%の割合で便潜血が認められた。

なお、摂餌量に投与の影響は認められなかった。

Tilら（1972）は、本試験におけるピロ亜硫酸ナトリウムのNOAELを0.25%投与群とし、亜硫酸の消失を考慮して72 mg/kg 体重/日（二酸化硫黄として）としている。（参照85）

EFSA（2016）は、Tilら（1972）の設定したNOAELを支持している。（参照24）

JECFAは、本試験におけるNOELを0.25%投与群としている。（参照31）

本専門調査会としては、0.5%以上の投与群において胃の病理所見及び便潜血の所見が認められたことから、本試験における反復投与毒性に係るピロ亜硫酸ナトリウムのNOAELを0.25%投与群から算出した72 mg/kg 体重/日（二酸化硫黄として）と判断した。

#### （4）発がん性

- ① マウス2年間発がん性試験（Tanakaら（1979）；JECFA（1983及び1987）並びにEFSA（2016）にて引用）

ICRマウス（雌雄、各群50匹）に、ピロ亜硫酸カリウムを表23のとおり

<sup>21</sup> 原著においては、“glutamic-pyruvic-transaminase”と記載されている。

投与群を設定して、2年間飲水投与する試験が実施されている。

表 23 用量設定

用量設定 (%)	0 (対照群)	1	2
mg/kg 体重/日に換算 <sup>注1)</sup> (mg/kg 体重/日)	0	1500	3000
mg/kg 体重/日に換算 (二酸化硫黄として) (mg/kg 体重/日) <sup>注2)</sup>	0	432	864

注1) JECFAによる換算値 (参照86)

注2) 本専門調査会において、第9版食品添加物公定書付録 原子量表をもとに二酸化硫黄としての値に換算した。

その結果、以下の所見が認められた。

- ・腫瘍ごとの発生率及び全腫瘍の発生率は、投与群と対照群の間に有意差はなかった。

なお、投与後180日の生存率に投与の影響は認められなかった。

Tanakaら(1979)は、ピロ亜硫酸カリウムがマウスにおいて発がん性を示さないことが推察されるとしている。(参照87)

JECFA(1983及び1987)は、腫瘍発生率について、投与群と対照群に差は見られなかったとしている。(参照24、86)

本専門調査会としては、本試験における条件下でピロ亜硫酸カリウムのマウスにおける発がん性は認められないと判断した。

② ラット2年間反復投与毒性・生殖毒性・発がん性併合試験 (Tilら(1972); JECFA(1987)及びEFSA(2016)にて引用)(再掲)

Wistarラット(雌雄、各群20頭)に、ピロ亜硫酸ナトリウムを表24のとおり用量設定で、3世代にわたり2年間(104週間)混餌投与する試験が実施されている。この試験は、ピロ亜硫酸ナトリウム添加において生じる、飼料中での分解によるチアミン欠乏の抑制を目的に、全群に対して基礎飼料にチアミンを添加している。

表 24 用量設定

用量設定 (%)	0 (対照群)	0.125	0.25	0.5	1.0	2.0
mg/kg 体重/日に換算 (二酸化硫黄として) (mg/kg 体重/日) <sup>注)</sup>	0	37	75	150	300	600

注) Tilら(1972)による換算値 (参照85)

その結果、以下の所見が認められた。

- ・雄において、肺のリンパ網内系腫瘍<sup>22</sup>の発生数が用量依存的に減少した。
- ・対照群において、甲状腺腫瘍及び下垂体腫瘍の発生率が低かった。

なお、そのほかの臓器、組織における腫瘍の数、分布、種類において被験物質投与に関連する影響は認められなかった。

Til ら (1972) は、甲状腺腫瘍及び下垂体腫瘍の発生については、使用した動物種において通常見られる数と同等であるとし、本試験において、亜硫酸塩類に起因する発がん性の影響は見られなかったとしている。(参照 85)

JECFA は、本試験において、どの部位においても腫瘍発生率は増加しなかったとしている。(参照 24)

EFSA (2016) は、ピロ亜硫酸ナトリウムの発がん性の影響は示されなかったとしている。(参照 31)

本専門調査会としては、本試験における条件下でピロ亜硫酸ナトリウムのラットにおける発がん性は認められないと判断した。

## (5) 生殖発生毒性

### ① ラット発生毒性試験 (Itami ら (1989) ; JECFA (1999) 及び EFSA (2016) にて引用)

妊娠 Wistar ラットに、亜硫酸ナトリウム 7 水和物を表 25 のとおり投与群を設定して妊娠 8～20 日まで混餌投与し、妊娠 20 日の胎児発育 (胎児試験、各群 10～12 匹) 及び出生後 4 週齢までの新生児発育 (新生児試験、各群 4 匹) を調べる試験が実施されている。

表 25 用量設定 (試験 1)

用量設定 (%)						
胎児試験	0 (対照群)	0.32	0.63	1.25	2.5	5
新生児試験	0 (対照群)	0.32	設定なし	設定なし	設定なし	5
mg/kg 体重/日に換算 (mg/kg 体重/日) <sup>注1)</sup>	0	300	1100	記載なし	2100	3300
二酸化硫黄として換算 (mg/kg 体重/日) <sup>注2)</sup>	0	80	280	記載なし	530	840

注 1) : Itami ら (1989) による換算値。(参照 88)

注 2) : JECFA (1999) による換算値。(参照 26)

<sup>22</sup> 原著において、Lung の項に“Malignant lymphoreticular tumour”と記載されている。

各投与群で認められた毒性所見は表 26 のとおりである。

表 26 毒性所見

投与群	毒性所見	
	母動物	児動物
5.0%	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 体重増加の抑制（投与期間：妊娠 8～20 日）</li> <li>・ 摂餌量減少（投与期間：妊娠 8～20 日）</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 胎児体重の低下</li> </ul>
0.32%以上	所見なし	

そのほかに、以下の所見が認められた。

- ・ 0.32%及び 0.63%投与群において、母動物の摂餌量が有意に低下したが、用量依存的ではなかった。
- ・ 1.25%群を除く投与群において、腰肋及び骨化遅延等の骨格変異並びに腎盂又は側脳室の拡張の内臓病変が認められたが、発生率に有意差は認められなかった。

なお、着床数、生存胎児数、子宮内胚胎児死亡率及び性比について、対照群と投与群の間に有意な差は認められなかった。また、いずれの投与群においても胎児の外表奇形、骨格奇形及び内臓奇形は認められなかった。

新生児試験では、投与群における分娩後 3 週までの母動物体重や、新生児の出生率、生後 4 週までの新生児生存率及び生後 3 週の新児体重には、対照群と比較して有意差は認められなかった。

Itami ら (1986) は、本試験における亜硫酸ナトリウム 7 水和物の母動物に対する NOEL を 2.5%とし、2.5%投与群の雌を除き、全ての投与群で胎児の体重が有意に低かったが、胎児の生存性や性比に対する影響はなかったとしている。また、0.32%投与群において胎児体重が有意に減少したことから、胎児に対する NOEL は本試験における最低用量以下であるとしている。さらに、本試験条件下において催奇形性を示さないと結論づけている。(参照 88)

JECFA (1999) は、母動物では最高用量の 5.0%群にのみ毒性影響がみられているが、胎児では全ての投与群に発育遅延がみられたとして、本試験の LOEL を 80 mg/kg 体重/日（二酸化硫黄として）としている。(参照 26)

EFSA (2016) は、Itami ら (1986) の報告を引用して換算し、母動物に対する毒性の NOAEL は 2.5%（二酸化硫黄として 560 mg/kg 体重/日）であり、胎児に対する毒性の NOAEL は 0.32%（二酸化硫黄として 81 mg/kg 体重/日）未満としている。また、新生児に対する有害影響はみられなかったこと、1 群

当たりの母動物数が胎児を検査する試験群（胎児試験）では10～12匹のみ、新生児を検査する試験群（新生児試験）では4匹のみであること並びに新生児試験の被験物質投与群が2用量しか設定されていないことを指摘している。

（参照 31）

本専門調査会としては、本試験において5.0%投与群の母動物で投与期間中に体重増加抑制や摂餌量減少がみられたこと及び0.32%以上の投与群において胎児体重の低値が認められたことから、亜硫酸ナトリウム7水和物の母動物の一般毒性に係るNOAELを2.5%投与群から算出した530 mg/kg 体重/日（二酸化硫黄として）と判断し、発生毒性に係るLOAELを0.32%投与群から算出した80 mg/kg 体重/日（二酸化硫黄として）と判断した。催奇形性は認められないと考えた。

## ② ラット発生毒性試験（Emaら（1985）；JECFA（1999）及びEFSA（2016）にて引用）

妊娠Wistarラットに、ピロ亜硫酸カリウムを表27のとおり投与群を設定して、妊娠7～14日まで混餌投与し、妊娠20日の胎児発育（胎児試験、各群12～13匹）及び出生後15週齢までの新生児発育（新生児試験、各群6～7匹）を調べる試験が実施されている。

表 27 用量設定

用量設定 (%)				
胎児試験	0 (対照群)	0.1	1	10
新生児試験	0 (対照群)	0.1	設定なし	10
ピロ亜硫酸カリウム摂取量 (g)	記載なし	0.13±0.02	1.32±0.22	2.86±0.76
mg/kg 体重/日に換算 (mg/kg 体重/日) <sup>注1)</sup>	0	65	660	1,430
二酸化硫黄として換算 (mg/kg 体重/日) <sup>注1)</sup>	0	37.5	380.5	825.0
mg/kg 体重/日に換算 (mg/kg 体重/日) <sup>注2)</sup>	0	130	1,300	2,900
二酸化硫黄として換算 (mg/kg 体重/日) <sup>注2)</sup>	0	75	760	1,700
mg/kg 体重/日に換算 (mg/kg 体重/日) <sup>注3)</sup>	0	130	1,320	2,860
二酸化硫黄として換算 (mg/kg 体重/日) <sup>注3)</sup>	0	75	761	1,650

平均値±標準偏差

注1) 本専門調査会による換算値。ラット体重0.25 kgとしてmg/kg 体重/日に換算した。第9版食品添加物公定書付録 原子量表をもとに二酸化硫黄としての値に換算した。

注2) JECFA（1999）による換算値（参照 26）

注3) EFSA（2016）による換算値（参照 31）

各投与群で認められた毒性所見は表 28 のとおりである。

表 28 毒性所見

投与群	毒性所見	
	母動物	児動物
10%	<ul style="list-style-type: none"> <li>・摂餌量減少(投与期間:妊娠 7~14 日)</li> <li>・一過性の体重減少を伴う体重増加の著しい抑制(投与期間:妊娠 7~14 日)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・胎児体重の低下</li> </ul>

そのほかに、以下の所見が認められた。

- ・1%投与群において胎盤重量が有意に低下したが、用量依存的ではなかった。
- ・全ての投与群において、子宮内胎児死亡率が僅かに増加したが、対照群と比較して有意差はなかった。
- ・新生児の 4~12 週齢での体重が、対照群と比較して有意に低かった。
- ・10%投与群において、生存新生児数、出生率(新生児数/着床数)及び生後 4 日における新生児生存率は低く、死産児数が多かったが、対照群と比較して有意差はなかった。
- ・全ての投与群において、4 週齢以降の児動物の生存率がほぼ一定で対照群より低かったが、対照群と比較して有意差はなかった。

なお、着床数、生存胎児数、死亡胎児数、性比並びに胎児の外表所見、骨格所見及び内臓所見について、対照群と投与群の間に有意差はなく、被験物質投与に関連する毒性所見は認められなかった。

Emma ら(1985)は、10%投与群における出生率の減少等の所見は、妊娠期間中の母動物の栄養失調による影響としており、本試験条件下でピロ亜硫酸カリウムはラットに催奇形性を示さないと結論づけている。(参照 89)

JECFA(1999)は、10%投与群において、母動物及び胎児の体重減少が認められたとし、本試験における NOEL を 760 mg/kg 体重/日(二酸化硫黄として)とし、催奇形性は認められないとしている。(参照 26)

EFSA(2016)は、1,320 mg/kg 体重/日(二酸化硫黄として 759 mg/kg 体重/日)を NOAEL としている。また、1 群当りの母動物数が胎児を検査する試験群(胎児試験)では 12~13 匹のみ、新生児を検査する試験群(新生児試験)では 6~7 匹のみであることを指摘している。(参照 31)

本専門調査会としては、本試験における母動物に対する一般毒性並びに発生毒性に係る NOAEL を、1%投与群から算出した 380.5 mg/kg 体重/日(二酸化硫黄として)と判断した。催奇形性は認められないと考えた。

③ ラット 2 年間反復投与毒性・生殖毒性・発がん性併合試験 (Til ら (1972) ; JECFA (1987) 及び EFSA (2016) にて引用) (再掲)

Wistar ラット (雌雄、各群 20 匹) に、ピロ亜硫酸ナトリウムを表 21 のとおりの用量設定で、2 年間 (104 週間) 混餌投与する試験が実施されている。この試験は、ピロ亜硫酸ナトリウム添加において生じる、飼料中での分解によるチアミン欠乏の抑制を目的に、全群に対して基礎飼料にチアミンを添加している。F<sub>0</sub> 世代の全てのラットについて投与 21 週に同一用量群の雌雄を交配させ、その内の半数の F<sub>0</sub> ラットについては投与 34 週にも同一用量群の雌雄を再度交配させた。F<sub>0</sub> 世代の投与 21 週での交配で生まれた同腹児から離乳時に各群で雌雄各 10 匹 (F<sub>1a</sub>) を選抜し、各用量群の飼料を 104 週間混餌投与した。F<sub>1a</sub> 世代のラットは投与 12 週及び投与 30 週に交配させ、それぞれの交配から同腹児 (F<sub>2a</sub> 及び F<sub>2b</sub>) を得た。F<sub>2a</sub> 同腹児からは各群で雄 10 匹 (F<sub>2a</sub>) 及び雌 15 匹 (F<sub>2a</sub>) を選抜し、各用量群の飼料を 30 週間混餌投与した。F<sub>2a</sub> 世代のラットは投与 14 週及び投与 22 週に交配させ、F<sub>3</sub> 世代を得る試験が実施されている。

表 29 用量設定

用量設定 (%)	0 (対照群)	0.125	0.25	0.5	1.0	2.0
mg/kg 体重/日に換算 (二酸化硫黄として) (mg/kg 体重/日) <sup>注1)</sup>	0	37 <sup>注2)</sup>	75	150	300	600

注 1) Til ら (1972) による換算値 (参照 85)

注 2) EFSA (2016) に記載の換算値 (参照 31)

投与群で認められた毒性所見は表 30 のとおりである。

表 30 毒性所見

投与群	毒性所見		
	F <sub>0</sub> 世代	F <sub>1</sub> 世代	F <sub>2</sub> 世代
2.0%	児動物に対する影響： ・ 哺育児体重の低値傾向	親動物に対する影響： ・ 親動物 (雌雄) の体重増加抑制 児動物に対する影響： ・ 哺育児体重の低値傾向	親動物に対する影響： ・ 親動物 (雌雄) の体重増加抑制 児動物に対する影響： ・ 哺育児体重の低値傾向

そのほか、以下の所見が認められた。

- ・ 1.0%以下の投与群においては、哺育 8 日及び 21 日の哺育児の体重が散発的

に有意に低下したが、用量依存的ではなかった。

- ・ 0.5、1.0 及び 2.0%投与群において、F<sub>2a</sub> 世代の 1 回目の交配から得られた新生児数が有意に減少したが、用量相関性はなく、2 回目の交配から得られた新生児数に減少は認められなかった。
- ・ 2.0%投与群において、F<sub>2a</sub> 世代の雌で腎臓相対重量のみの有意な増加が認められた。

なお、F<sub>0</sub> 世代では親動物の体重変化に投与の影響は認められなかった。また、雌の妊娠率、同腹児数、出生時体重及び哺育児死亡率に対照群と投与群の間で差は認められなかった。

このほかに、以下の所見が認められた。

- ・ 各世代の 1.0%以上の投与群において便潜血が認められ、発生頻度は 1.0%投与群で 13～60%、2.0%投与群で 100%であった。同所見は 0.25%投与群(雌)及び 0.5%投与群(雄)でも 10%に投与 32 週目に限って認められた。
- ・ 病理学的検査では、各世代の 1.0%以上の投与群において、腺胃の粘液層に肥厚した突起部及び少量の赤茶色の羊毛状の物質が見られ、前胃及び腺胃の過形成又は炎症性変化が認められた。0.5%群の F<sub>2</sub> 世代(雌雄)の前胃にも同様の変化が軽度に認められた。

Til ら (1972) は、本試験では 2.0%投与群でみられた児動物の軽度の成長遅滞のほかには、生殖毒性試験でピロ亜硫酸ナトリウムの影響を明らかにできなかったとしている。(参照 85)

EFSA (2016) は著者の結論に同意し、ピロ亜硫酸ナトリウムの NOAEL を 1.0%投与群から算出した 262 mg/kg 体重/日としている。(参照 31)

本専門調査会としては、2.0%投与群において親動物及び児動物の体重増加抑制が見られたことから、本試験におけるピロ亜硫酸ナトリウムの親動物に対する一般毒性及び児動物に対する毒性に係る NOAEL を 1.0%投与群から算出した 262 mg/kg 体重/日(二酸化硫黄として)と判断した。また、最高用量においても生殖毒性は認められないと考えた。

## (6) ヒトにおける知見

本品目の対象品目がぶどう酒であることから、成人を含む経口投与試験等についてまとめた。

### ① アレルゲン性

アレルギー性疾患患者等を対象とした亜硫酸塩に関する経口負荷投与試験の結果、症状等が報告されている試験結果は表 31 のとおりである。

表 31 経口負荷投与試験の結果

対象者（基礎疾患等）	被験物質	摂取量等	症状等	参照文献
50歳男性(亜硫酸を含むサラダの摂取後に全身性のアレルギー反応)	亜硫酸水素 ナトリウム	10 mg (単回)	紅斑、痒み、悪心、熱感、咳、喉の圧迫感	Prenner and Stevens (1976) (参照90)
21～64歳男性2人、女性3人(喘息)	ピロ亜硫酸 ナトリウム	25 mg (単回)	一秒量(FEV <sub>1</sub> )の低下(12%以上)	Freedman (1977) (参照91)
67歳女性(喘息)	ピロ亜硫酸 ナトリウム	不明	気管支痙攣	Bakerら(1981) (参照92)
23歳女性(喘息)	ピロ亜硫酸 ナトリウム	500 mg (単回)	最大呼吸流量の低下(440 L/minから100 L/min)	
27～65歳女性4人(喘息)	ピロ亜硫酸 カリウム	1、5、10、25及び50 mg (30分間隔投与)	喘息様症状、FEV <sub>1</sub> の低下(34～49%)	Stevenson and Simon (1981) (参照93)
24歳男性(季節性アレルギー性鼻炎)	ピロ亜硫酸 塩	10 mg、25 mg、50 mg、(計3回)	消化管異常、立ちくらみ、血圧低下	Schwartz(1983) (参照94)
34歳女性(妊娠中にめまい、吐き気等の食物アレルギー)			吐き気、立ちくらみ、脱力感、めまい、血圧低下	
25～59歳男性12人(特発性アナフィラキシー)	ピロ亜硫酸 ナトリウム	1、5、10、25、50、100及び200 mg(15分間隔投与)	非特異的な刺激症状と自覚症状	Sonin and Patterson (1985) (参照95)
22～55歳女性3人(喘息)	ピロ亜硫酸 カリウム	1、5、10、25、及び50 mg (20分間隔投与)	FEV <sub>1</sub> の低下(38%～65%)、喉及び胸部の圧迫感、呼吸困難、喘鳴、空咳、頭痛、発赤、鼻漏、流涙、鼻結膜炎	Yangら(1986) (参照96)
38歳女性(喘息)	ピロ亜硫酸 ナトリウム	不明	気道狭窄	Acostaら(1989) (参照97)

対象者（基礎疾患等）	被験物質	摂取量等	症状等	参考文献
27～40 歳男性 2 人、 女性 4 人（慢性喘息）	ピロ亜硫酸 カリウム	1、5、10、25、 50、100 及び 200 mg (20 分間 隔投与)	FEV <sub>1</sub> の低下（20%以 上）	Sprenger ら （1989）（参照98）
34 歳女性（アレルギー 性鼻炎、鼻ポリープ 症、再発性副鼻腔炎）	ピロ亜硫酸 ナトリウム	1、5、10、25、 50、100 及び 200 mg	鼻うっ血、鼻漏、顔 唇及び眼周囲組織の 腫脹、蕁麻疹	Sokol and Hydick （1990）（参照99）
22 歳女性（季節性鼻結 膜）	ピロ亜硫酸 カリウム	25 mg（単回）	蕁麻疹、鼻の痒み、鼻 漏、発声困難	Belchi-Hernandez ら（1993）（参照 100）
36 歳女性（喘息、鼻炎）	ピロ亜硫酸 ナトリウム	25 mg（単回）	FEV <sub>1</sub> の低下（24%）	Wuthrich（1993a） （参照101）
37 歳男性（再発性の急 性蕁麻疹、血管性浮 腫、呼吸困難）	ピロ亜硫酸 ナトリウム	50 mg（単回）	蕁麻疹	
47 歳男性（再発性の急 性蕁麻疹、血管性浮 腫、呼吸困難）	ピロ亜硫酸 ナトリウム	50 mg（単回）	蕁麻疹	Wuthrich（1993b） （参照102）
23 歳男性（喘息）	ピロ亜硫酸 ナトリウム	1、10、25、50、 75、100 及び 150 mg (10 分間 隔投与)	FEV <sub>1</sub> の低下（20%）	Gastaminza ら （1995）（参照 103）
25 歳男性（ワイン等の 摂取後に紅斑性皮疹 等の症状）	ピロ亜硫酸 ナトリウム	10 mg（単回）	顔面に痒みを伴う紅 斑性皮疹及び腫脹	Gall ら（1996）（参 照104）
53 歳女性（点眼薬によ る眼周囲の紅斑性浮 腫）	亜硫酸水素 ナトリウム	200 mg（単回）	眼周囲の紅斑性浮腫	Park and Nahm （1996）（参照 105）
24～31 歳女性 4 人（喘 息）	ピロ亜硫酸 ナトリウム	45 mg（単回） <sup>注）</sup>	FEV <sub>1</sub> の低下（15%以 上）	Vally and Thompson（2001） （参照106）
56 歳男性（6 か月間、 体幹、上肢及び頭の搔 痒感）	ピロ亜硫酸 ナトリウム	10 mg（単回）	体幹、上肢及び頭の搔 痒感	Asero（2005）（参 照107）

注）原著において、ワイン 150 mL 中に 300ppm の亜硫酸が含まれることから、比重 1 として換算した。

## ② 症例報告等

### a. 症例報告 (Tsevat ら (1987))

亜硫酸 92ppm を含む白ワインを数口飲んだ慢性のステロイド依存性喘息患者 (男性、33 歳) がアナフィラキシー反応を起こし死亡した症例の報告が行われている。

この患者は、乾燥杏子の摂取による急性の喘息発作の既往歴があり、過去にレストランでサラダを食した直後にめまいや悪心、呼吸困難を起こしたことがあった。(参照108)

### b. 観察研究 (Tollefson ら (1988))

米国食品安全・応用栄養センターの有害反応監視システムに報告された亜硫酸による有害反応の分析の結果、食品関連有害反応を起こす品目は、頻度の高い順にサラダバー提供品 280 件、サラダバー以外での新鮮果実及び野菜 143 件、ワイン 111 件、海産物 98 件等であった。また、頻繁に報告されている症状は喘息又はアレルギー反応に関連した症状 (呼吸困難 314 件、喘鳴 50 件、嚥下困難 64 件、蕁麻疹 64 件、痒み 61 件、局所腫脹 58 件) 及び消化管不調 (下痢 112 件、嘔吐及び吐き気 112 件、腹部痛及び痙攣 88 件) であった。報告された患者の多く (74%) は女性であり、年齢を報告している消費者のうち、66%が 20~59 歳で、27%が 60 歳以上であった。さらに、報告された重篤な反応事例の 23.2%に呼吸困難が報告され、発現率はわずかであったが、亜硫酸ばく露後の死亡事例の報告もあった。(参照109)

### c. レビュー (Nair ら (2003))

FDA が 1986 年 10 月までに亜硫酸処理した食品摂取に原因があるとされた 767 例の有害反応について分析したところ、ほとんどの反応はステロイド依存性喘息患者に発生しており、多くは呼吸困難若しくは呼吸不全又はアナフィラキシーが起きていた。また、亜硫酸摂取と関連するとされた死亡 22 例を分析したところ、重篤な喘息患者の死亡 9 例 (年齢・性別不明) 及び喘息患者の死亡 5 例 (年齢・性別不明) は亜硫酸摂取による可能性があるとした。(参照110)

### d. 横断研究 (Linneberg ら (2008))

コペンハーゲンで実施されたアルコールにより誘発される上気道、下気道及び皮膚の過敏症症状に関する自己申告による調査 (18~69 歳の無作為サンプル (n=6,000)) において、分析対象とした 4,091 人 (男性 1,871 人、女性 2,220 人) のうち、アルコール摂取後の症状として、上気道 7.6%、下気

道 3.2%及び皮膚 7.2%における症状発生の申告があり、上気道及び皮膚の症状は、男性よりも女性に有意に多く見られ、上気道の症状では、40～60 歳の間がピークであった。また、いずれの症状もアレルギー性鼻炎及び喘息と有意に関連があった。

Linneberg ら (2008) は、亜硫酸の添加は、ワインにより誘発される喘息反応に関係しているとされているが、実験条件下で亜硫酸の負荷試験に反応するワインに過敏な喘息患者は少数であり、反応が起こるには補因子又は他の成分が必要になることを示唆しているとしている。(参照111)

### ③ ヒトにおける知見のまとめ

アレルギー性疾患患者等を対象とした亜硫酸塩に関する経口負荷投与試験等において、ヒトにおけるアレルギー反応の報告がされているが、本品目を対象とした報告はない。

また、亜硫酸塩に関するアレルギー反応としては、主に喘息又はアレルギー反応に関連した症状や消化管不調が報告されている。

## (7) 毒性のまとめ

遺伝毒性については、生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないと判断した。

反復投与毒性については、ブタ 48 週間経口投与試験 (Til ら (1972)) において、軽度の胃及び食道の所見が認められたことから、本試験におけるピロ亜硫酸ナトリウムの NOAEL を 71 mg/kg 体重/日 (二酸化硫黄として) と判断した。また、ラット 2 年間反復投与毒性・生殖毒性・発がん性併合試験 (Til ら (1972)) において、胃の病理所見及び便潜血の所見が認められたことから、本試験におけるピロ亜硫酸ナトリウムの NOAEL を 72 mg/kg 体重/日 (二酸化硫黄として) と判断した。

生殖毒性については、ラット 2 年間反復投与毒性・生殖毒性・発がん性併合試験 (Til ら (1972)) において、親動物及び児動物の体重増加抑制が見られたことから、本試験におけるピロ亜硫酸ナトリウムの親動物に対する一般毒性及び児動物に対する毒性に係る NOAEL を 262 mg/kg 体重/日 (二酸化硫黄として) と判断し、最高用量においても生殖毒性は認められないと考えた。

発生毒性については、ラット発生毒性試験 (Itami ら (1989) ; Ema ら (1985)) の結果から、母動物に対する一般毒性に係る NOAEL を 380.5 mg/kg 体重/日 (二酸化硫黄として) と判断し、発生毒性に係る LOAEL を 80 mg/kg 体重/日 (二酸化硫黄として) と判断した。催奇形性は認められないと考えた。

発がん性については、マウス 2 年間発がん性試験 (Tanaka ら (1979)) 及びラット 2 年間反復投与毒性・生殖毒性・発がん性併合試験 (Til ら (1972)) において、発がん性は認められないと判断した。

ヒトにおける知見については、アレルギー性疾患患者等を対象とした亜硫酸塩に関する経口負荷投与試験等において、アレルギー反応の報告がされているが、本品目を対象とした報告はなく、亜硫酸塩に関するアレルギー反応としては、主に喘息又はアレルギー反応に関連した症状や消化管不調が報告されていた。

以上のことから、本専門調査会としては、亜硫酸水素アンモニウム水由来の二酸化硫黄及び亜硫酸塩の最小の NOAEL は、71 mg/kg 体重/日（二酸化硫黄として）と判断した。

### Ⅲ. 一日摂取量の推計等

I. 評価対象品目の概要より、亜硫酸水素アンモニウムは、液中で二酸化硫黄及びアンモニウムイオンを生じることから、添加物「亜硫酸水素アンモニウム水」の一日摂取量の推計等を検討するに当たっては、二酸化硫黄及びアンモニウムイオンについて検討を行った。

#### 1. 現在の生産量等に基づく摂取量

##### (1) 二酸化硫黄に係る推計

###### ① 生産量統計調査に基づく摂取量

指定等要請者は、食品の安全確保推進研究事業（平成 28 年度厚生労働科学研究費補助金事業）「食品添加物の安全性確保のための研究」における「生産量統計調査を基にした食品添加物摂取量の推計に関わる研究」（第 11 回最終報告）（平成 29 年 3 月）を引用し、添加物として指定されている二酸化硫黄及び亜硫酸塩類<sup>7</sup>の調査結果から、添加物由来の二酸化硫黄としての摂取量の総和は、12.3 mg/人/日と推定している。（参照 2、112）

###### ② マーケットバスケット調査に基づく摂取量

指定等要請者は、平成 28 年度マーケットバスケット方式による摂取量実態調査結果を引用し、亜硫酸塩類<sup>23</sup>の推定一日摂取量は、二酸化硫黄として 0.164 mg/人/日で、対 JECFA ADI (0-0.7 mg/kg 体重/日) 比では 0.40%であったと説明している。（参照 2、113）

指定等要請者は、生産量統計調査に基づく推計（①）とマーケットバスケット調査（②）に基づく推計を比較し、推定摂取量に約 70 倍の差があるのは、亜硫酸塩の特性から食品の加工工程での酸化や二酸化硫黄として揮散して消失することが原因とされ、マーケットバスケット方式による摂取量調査の方が、国民が摂取する実態に近いと考えられると説明している（参照 2、83）

本専門調査会としては、添加された亜硫酸の一部は二酸化硫黄として揮散して消失することから、生産量統計調査に基づく摂取量よりもマーケットバスケット調査に基づく摂取量の方が実態に近いとの指定等要請者の説明を妥当と考え、マーケットバスケット調査に基づく摂取量（0.164 mg/人/日）を現在の二酸化硫黄の摂取量とした。（参照 2）

##### (2) アンモニウムイオンに係る推計

指定等要請者は、添加物評価書「アンモニウムイソバレレート」(第 2 版) (2014)

<sup>23</sup> 亜硫酸ナトリウム、次亜硫酸ナトリウム、二酸化硫黄、ピロ亜硫酸カリウム及びピロ亜硫酸ナトリウム（二酸化硫黄として総量を測定）

を引用し、ヒトが食品を摂取することにより、消化管内において、1日当たり十二指腸で10 mg、結腸で約3 gのアンモニアが産生され、産生されたアンモニアのほとんどが吸収された後、門脈循環に入るとされていると説明している。また、健常なヒトではアンモニウムイオンは肝臓で速やかに尿素に変換され、尿中に排泄されると説明している。(参照 2、19、114)

## 2. 使用基準策定後の摂取量

### (1) 対象食品の摂取量

添加物「亜硫酸水素アンモニウム水」の使用は、表 1 の使用基準案により、「ぶどう酒の製造に用いる果汁及びぶどう酒（発酵が終了したものを除く。）」に限られることから、添加物「亜硫酸水素アンモニウム水」の対象食品の摂取量は、ぶどう酒の摂取量に基づき検討を行った。

「国税庁平成 30 年度分酒類販売（消費）数量等の状況表（都道府県別）」によれば、2018 年度果実酒及び甘味果実酒の販売（消費）数量は、それぞれ 352,046 kL/年及び 9,955 kL/年であり、合計は 362,001 kL/年であるとされる。(参照115)

指定等要請者は、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ものの、ブドウを原料としたものが主であるとし、過大な見積もりにはなるが、果実酒及び甘味果実酒の販売（消費）数量を我が国におけるぶどう酒の年間飲酒量とみなしている。(参照 2)

指定等要請者の推計を踏まえると、我が国におけるぶどう酒の年間飲酒量（362,001 kL/年）を成人人口（104,013 千人）で除した値を成人 1 人当たりのぶどう酒の年間飲酒量と仮定し、1 日当たりに換算すると、成人 1 人当たりのぶどう酒推定一日摂取量は、9.54 mL/人/日と推計した。(参照 115)

さらに、ぶどう酒が特定の集団に嗜好されて摂取され、摂取量に差が生じる可能性を考慮し、平成 30 年国民健康・栄養調査において、飲酒習慣のある者（週に 3 日以上、飲酒日 1 日当たり清酒換算で 1 合以上飲酒すると回答した者）の割合（19.8%）を成人人口に乗じて計算した場合、当該対象者全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一日摂取量は、48.2 mL/人/日と推計した。(参照116)

このため、本専門調査会としては、ぶどう酒が特定の集団に嗜好されて摂取される可能性を考慮し、飲酒習慣のある者から算出した 48.2 mL/人/日を 1 人当たりのぶどう酒推定一日摂取量とする。

### (2) ぶどう酒からの摂取量

指定等要請者は、発酵前あるいは発酵中の果汁やマスト<sup>2</sup>に添加された亜硫酸水素アンモニウム水は、二酸化硫黄及びアンモニウムイオンを生じ、二酸化硫黄は水中で二酸化硫黄として存在するほか、水と反応して pH の影響を受けて亜硫

酸水素イオン及び亜硫酸イオンが生じると説明している。また、発酵前に添加した亜硫酸が製成時に減少することやアンモニウムイオンが酵母の窒素源として資化されることを踏まえ、発酵の進行と共に二酸化硫黄及びアンモニウムイオン濃度は大きく減少することから、摂取量は実際には一層低くなると説明している。(参照 2、3、82)

本専門調査会としては、指定等要請者の説明を踏まえ、摂取量については、それぞれ二酸化硫黄及びアンモニウムイオンとして検討することとした。また、添加物「亜硫酸水素アンモニウム水」の使用が、表 1 の使用基準案により、「ぶどう酒の製造に用いる果汁及びぶどう酒(発酵が終了したものを除く。)」に限られ、ぶどう酒の製造時に二酸化硫黄及びアンモニウムイオン濃度が減少すると考えられることから、実際の摂取量は、後述の推定一日摂取量よりも低い値であると考えた。

### ① 二酸化硫黄に係る推計

指定等要請者は、添加物「亜硫酸水素アンモニウム水」が使用基準案で示した最大量(0.2 g/L)が全てのぶどう酒の製造に使用され、全てがぶどう酒製品に残存したと仮定した場合、二酸化硫黄として 129 mg/L<sup>24</sup>が生じると説明している。(参照 2)

本専門調査会としては、(1) で算出した 1 人当たりのぶどう酒推定一日摂取量(48.2 mL/人/日)を踏まえ、ぶどう酒からの二酸化硫黄の推定一日摂取量は、0.113 mg/kg 体重/日と推計した。これに、1.(1) ②マーケットバスケット調査に基づく現在の二酸化硫黄の摂取量を合計し、使用基準策定後の二酸化硫黄の推定一日摂取量は、0.116 mg/kg 体重/日と推計した。

### ② アンモニウムイオンに係る推計

①と同様に、指定等要請者は、添加物「亜硫酸水素アンモニウム水」が使用基準案で示した最大量が全てのぶどう酒の製造に使用され、全てが製品ぶどう酒に残存したと仮定した場合、アンモニウムイオンとして 36.4 mg/L<sup>25</sup>が生じると説明している。(参照 2)

本専門調査会としては、(1) で算出した 1 人当たりのぶどう酒推定一日摂取量(48.2 mL/人/日)を踏まえ、ぶどう酒からのアンモニウムイオンの推定一日摂取量は、1.75 mg/人/日と推計した。

本専門調査会としては、1.(2)を踏まえ、ぶどう酒から摂取される添加物「亜硫酸水素アンモニウム水」由来のアンモニウムイオン摂取量は、ヒトにお

<sup>24</sup>  $(64.06/99.11) \times 200 \text{ mg/L} = 129.27 \text{ mg/L}$

<sup>25</sup>  $(18.04/99.11) \times 200 \text{ mg/L} = 36.40 \text{ mg/L}$

いて食事から産生される量と比較して無視できると判断した。

### 3. 摂取量推計等のまとめ

本専門調査会としては、飲酒習慣のある者から算出したぶどう酒推定一日摂取量（48.2 mL/人/日）及び添加物「亜硫酸水素アンモニウム水」の使用基準案の最大量（0.2 g/L）に基づき、それが全て残存した場合を仮定し、ぶどう酒からの二酸化硫黄及びアンモニウムイオンの推定一日摂取量を推定した。

ぶどう酒からの二酸化硫黄の摂取量は、0.113 mg/kg 体重/日と推計され、これにマーケットバスケット調査に基づく現在の摂取量を合計し、添加物「亜硫酸水素アンモニウム水」の使用基準が策定された場合の二酸化硫黄の推定一日摂取量は、0.116 mg/kg 体重/日となると判断した。

また、添加物「亜硫酸水素アンモニウム水」の使用基準が策定された場合の、ぶどう酒から摂取されるアンモニウムイオン摂取量は、ヒトにおいて食事から産生される量と比較して無視できると判断した。

なお、実際の摂取量は、使用基準案や亜硫酸水素アンモニウムの性質等を踏まえ、算出した推定一日摂取量よりも低い値となると考えた。

#### IV. 食品健康影響評価

添加物「亜硫酸水素アンモニウム水」の体内動態及び毒性については、経口投与された際に体内で生じると予測されるアンモニウムイオン並びに二酸化硫黄及び亜硫酸塩のそれぞれの安全性に係る知見を基に、添加物「亜硫酸水素アンモニウム水」の安全性に関する検討を総合的に行うこととした。

アンモニウムイオンについては、過去に評価されており、その後、新たな知見は認められていないことから、体内動態及び毒性に関する検討は行わなかったが、添加物「亜硫酸水素アンモニウム水」由来のアンモニウムイオン摂取量は、ヒトにおいて食事から産生される量と比較して無視できることから、添加物として適切に使用される場合、添加物「亜硫酸水素アンモニウム水」に由来するアンモニウムイオンは安全性に懸念がないと判断した。

二酸化硫黄及び亜硫酸塩の体内動態については、主に二酸化硫黄、亜硫酸イオン又は亜硫酸水素イオンとして吸収され、吸収された亜硫酸は、肝臓の亜硫酸オキシダーゼなどによって酸化されるか、三酸化硫黄ラジカルの形成を通じて硫酸の形成に至る経路により代謝される。ラットでは、ウサギ又はサルと比較して亜硫酸オキシダーゼ活性が高く、ヒトと比較して約 10～20 倍の亜硫酸オキシダーゼ活性が肝臓で示されている。また、亜硫酸の摂取後に検出された *S*-スルホン酸の半減期は短く、蓄積性は低いと考えた。さらに、経口投与された亜硫酸は、その大半が硫酸として速やかに尿中や糞便中に排泄されると考えた。

遺伝毒性については、生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないと判断した。

急性毒性、反復投与毒性、生殖発生毒性等の試験成績を検討した結果、ブタ 48 週間経口投与試験 (Til ら (1972)) において、ピロ亜硫酸ナトリウムの 1.0% 以上の投与群で軽度の胃及び食道の所見が認められたことから、NOAEL はこの報告の 0.5% 投与群から算出した 71 mg/kg 体重/日 (二酸化硫黄として) と判断した。

発がん性については、マウス 2 年間発がん性試験 (Tanaka ら (1979)) 及びラット 2 年間反復投与毒性・生殖毒性・発がん性併合試験 (Til ら (1972)) において、発がん性は認められないと判断した。

入手したヒトにおける知見からは、亜硫酸水素アンモニウムに関するヒトにおけるアレルギー性の報告はないものの、添加物「亜硫酸水素アンモニウム水」由来の二酸化硫黄及び亜硫酸塩によるアレルギー性の可能性は否定できないと考えた。ただし、使用方法が「ぶどう酒の製造に用いる果汁及びぶどう酒 (発酵が終了したものを除く。) 以外に使用してはならない」とされており、ぶどう酒の製造にのみ用いられることを考慮すべきと考えた。

以上のことから、本専門調査会としては、亜硫酸水素アンモニウム水由来の二酸化硫黄及び亜硫酸塩の NOAEL は、71 mg/kg 体重/日 (二酸化硫黄として) と判断した。

摂取量推計等については、飲酒習慣のある者から算出したぶどう酒推定一日摂取

量（48.2 mL/人/日）及び添加物「亜硫酸水素アンモニウム水」の使用基準案の最大量（0.2 g/L）に基づき、それが全て残存した場合を仮定し、ぶどう酒からの二酸化硫黄の推定一日摂取量を推定した。

ぶどう酒からの二酸化硫黄の摂取量は、0.113 mg/kg 体重/日と推計され、これにマーケットバスケット調査に基づく現在の摂取量を合計し、添加物「亜硫酸水素アンモニウム水」の使用基準が策定された場合の二酸化硫黄の推定一日摂取量は、0.116 mg/kg 体重/日となると判断した。

ただし、添加物「亜硫酸水素アンモニウム水」の実際の摂取量は、以下の理由から、上述の推定一日摂取量よりも少ないと考えた。

- ① 発酵前あるいは発酵中の果汁やマスト<sup>2</sup>に添加され、本品目から生じた二酸化硫黄は、水と反応して亜硫酸を生じ、有害微生物の増殖防止及び酸化防止の効果を発揮しつつ大気中に揮散又は酸化により徐々に消失するとされていること（参照 2、82、83）
- ② 発酵前に添加した亜硫酸は、果汁等の固形分と結合し、その含有量は減少すると指摘されていること（参照 82）
- ③ 亜硫酸の使用時には、添加前後で分析を行い、使用量が適切であるかを確認することや使用記録を残すこととされており、添加物「亜硫酸水素アンモニウム水」の使用においては使用量等の管理が適切になされることが考えられること（参照117）

したがって、本専門調査会は、毒性試験成績から NOAEL が得られているものの、NOAEL の根拠とした毒性所見は軽度の胃及び食道の所見であり、毒性影響は重篤ではないことを考慮し、亜硫酸水素アンモニウムの性質、使用方法、実際の摂取量、使用基準案等から、添加物「亜硫酸水素アンモニウム水」が添加物として適切に使用される場合、安全性に懸念がないと考えられ、ADI を特定する必要はないと判断した。

<別紙：略称>

略称	名称等
ALT	Alanine aminotransferase：アラニンアミノトランスフェラーゼ
CHL	Chinese Hamster Lung：チャイニーズハムスター肺
CHO	Chinese Hamster Ovary：チャイニーズハムスター卵巣
DMPO	5,5-dimethyl-1-pyrroline-1-oxide：5,5-ジメチル-1-ピロリン-1-オキシド
EFSA	European Food Safety Authority：欧州食品安全機関
EU	European Union：欧州連合
FASEB	Federation of American Societies for Experimental Biology：米国生物実験科学連合
FEV <sub>1</sub>	Forced expiratory volume in one second：一秒量
FSANZ	Food Standards Australia New Zealand：オーストラリア・ニュージーランド食品基準機関
GMP	Good Manufacturing Practice：適正製造規範
GRAS	Generally Recognized as Safe：一般的に安全とみなされる
GSFA	Codex General Standard for Food Additives：食品添加物に関するコーデックス一般規格
JECFA	Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives：FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議
NCE	Normochromatic erythrocyte：正染色性赤血球
OECD	Organization for Economic Co-operation and Development：経済協力開発機構
OIV	Organisation internationale de la vigne et du vin：国際ブドウ・ワイン機構
PCE	Polychromatic erythrocyte：多染色性赤血球
PMA	Phorbol myristate acetate：ホルボールミリステートアセテート
SCE	Sister Chromatid Exchange：姉妹染色分体交換
SCF	Scientific Committee for Food：欧州食品科学委員会
SHE	Syrian Hamster Embryo：シリアンハムスター胚

<参照>

- 1 厚生労働省：「亜硫酸水素アンモニウム水」の食品安全基本法第24条に基づく食品健康影響評価について，第774回食品安全委員会，2020
- 2 独立行政法人酒類総合研究所：亜硫酸水素アンモニウム水の食品添加物新規指定のための概要書，2020
- 3 FSANZ (Food Standards Australia New Zealand): Supporting document 1 Risk and technical assessment Application A1127 Processing Aids in Wine, 2017
- 4 高本進，稲本直樹，中原勝儼，山崎昶：化合物の辞典，朝倉書店，1997
- 5 Laffort: Bisulfite NH4 400, 100 Technical Data Sheet  
<https://laffort.com/en/products/bisulfite-nh4-400/>
- 6 OIV (Organisation Internationale de la Vigne et du Vin): INTERNATIONAL OENOLOGICAL CODEX Ammonium Hydrogen Sulfite, 2007
- 7 FSANZ (Food Standards Australia New Zealand): Australia New Zealand Food Standards Code Standard 4.5.1 Wine Production Requirements (Australia only), F2019C00225, 2019
- 8 EU (European Union ): COMMISSION DELEGATED REGULATION (EU) No 2019/934 of 12 March 2019 supplementing Regulation (EU) No 1308/2013 of the European Parliament and of the Council as regards wine-growing areas where the alcoholic strength may be increased, authorized oenological practices and restrictions applicable to the production and conservation of grapevine products, the minimum percentage of alcohol for by-products and their disposal, and publication of OIV files. Official Journal of the European Union 2019; L149/1
- 9 公益財団法人日本食品化学研究振興財団：指定添加物リスト（規則別表1），2019  
<https://www.ffcr.or.jp/tenka/list/post-11.html>
- 10 CAC (Codex Alimentarius Commission): GENERAL STANDARD FOR FOOD ADDITIVES, CODEX STAN 192-1995, Revision 2018
- 11 TTB (US Alcohol and Tobacco Tax and Trade Bureau): 27CFR (Code of Federal Regulations title 27) Part24, §24.246 Materials authorized for the treatment of wine and juice, e-CFR data is current as of April 23, 2019
- 12 FDA (US Food and Drug Administration): 21CFR (Code of Federal Regulations title 21) Part184, §184.1143 Ammonium sulfate, e-CFR data is current as of September 26, 2019
- 13 EU (European Union): 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. Official Journal of the European Union 2006; L87/1
- 14 EU (European Union): REGULATION (EC) No 1333/2008 of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on food additives. Official Journal of the European Union 2008; L354/16
- 15 EU (European Union): COMMISSION REGULATION (EC) No 1129/2011 of 11 November 2011 amending Annex II to Regulation (EC) No 1333/2008 of the European Parliament and of the Council by establishing a Union list of food additives. Official Journal of the European Union 2011; L295/1
- 16 EU (European Union): REGULATION (EU) No 1308/2013 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 17 December 2013 establishing a common organisation of the markets in agricultural products and

---

repealing Council Regulations (EEC) No 922/72, (EEC) No 234/79, (EC) No 1037/2001 and (EC) No 1234/2007. Official Journal of the European Union 2013; L347/671

- 17 FSANZ (Food Standards Australia New Zealand): Australia New Zealand Food Standards Code Schedule 18 Processing aids, F2019C00730, 2019
- 18 食品安全委員会：食品健康影響評価の結果の通知について 亜硫酸塩類， 2003
- 19 食品安全委員会：食品健康影響評価の結果の通知について アンモニウムイソバレレート， 2014
- 20 食品安全委員会：食品健康影響評価の結果の通知について 硫酸アルミニウムアンモニウム及び硫酸アルミニウムカリウム， 2017
- 21 JECFA (FAO/WHO Joint Expert Committee on Food Additives): Toxicological evaluation of certain food additives with a review of general principles and of specifications. Seventeenth report of the joint FAO-WHO Expert Committee on Food Additives. World Health Organ Tech Rep Ser 539, 1974
- 22 JECFA (FAO/WHO Joint Expert Committee on Food Additives): Toxicological evaluation of some food additives including anticaking agents, antimicrobials, antioxidants, emulsifiers and thickening agents. WHO Food Additives Ser 5, 1974
- 23 JECFA (FAO/WHO Joint Expert Committee on Food Additives): Evaluation of certain food additives and contaminants. Thirtieth Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. World Health Organ Tech Rep Ser 751, 1987
- 24 JECFA (FAO/WHO Joint Expert Committee on Food Additives): Toxicological evaluation of certain food additives and contaminants, Sulfur Dioxide and Sulfites. WHO Food Additives Ser 21, 1987
- 25 JECFA (FAO/WHO Joint Expert Committee on Food Additives): Evaluation of certain food additives. Fifty-first report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. World Health Organ Tech Rep Ser 891, 2000
- 26 JECFA (FAO/WHO Joint Expert Committee on Food Additives): Safety evaluation of certain food additives, Preservatives Sulfur Dioxide and Sulfites. WHO Food Additives Ser 42, 1999
- 27 JECFA (FAO/WHO Joint Expert Committee on Food Additives): Safety evaluation of certain food additives, EVALUATION OF NATIONAL ASSESSMENTS OF INTAKE OF SULFITES. WHO Food Additives Ser 42, 1999
- 28 JECFA (FAO/WHO Joint Expert Committee on Food Additives): Evaluation of certain food additives. Sixty-ninth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. World Health Organ Tech Rep Ser 952, 2009
- 29 LSRO (Life Sciences Research Office), FASEB (Federation of American Societies for Experimental Biology): Evaluation of the health aspects of sulfiting agents as food ingredients. Prepared for FDA, NTIS PB-265508, 1976
- 30 EC (European Commission): food science and techniques, Opinions of the Scientific Committee for Food on: Propylene glycol Alternatively refined carrageenan produced from *Eucheuma cottonii* and *cortonii* and *Eucheuma spinosum* p-Hydroxybenzoic acid alkyl esters and their sodium salts Specifications for food additives Sorbic acid and its calcium and potassium salts Sulphur dioxide and other sulphiting agents Benzoic acid and its salts Hexane used as an extraction solvent Lindane in baby food Cross-linked sodium

- 
- carboxymethylcellulose (modified cellulose gum) Invertase derived from *Saccharomyces cerevisiae* Aflatoxins, Ochratoxin A and Patulin. Reports of the Scientific Committee for Food Thirty-fifth series, 1996
- <sup>31</sup> EFSA (European Food Safety Authority) Panel on Food Additives and Nutrient Sources Added to Food(ANS): Scientific Opinion on the Re-evaluation of Sulfur Dioxide (E 220), Sodiumsulfite (E 221), Sodium Bisulfite (E 222), Sodium Metabisulfite (E 223), Potassium Metabisulfite (E 224), Calcium Sulfite (E 226), Calcium Bisulfite (E 227) and Potassium Bisulfite (E 228) as Food Additives. *EFSA Journal* 2016; 14 (4): 4438-588
- <sup>32</sup> 独立行政法人酒類総合研究所：文献検索結果 アンモニウム (PubMed), 2020
- <sup>33</sup> Gibson W B and Strong F M: Metabolism and elimination of sulphite by rats, mice and monkeys. *Food Cosmet Toxicol* 1973; 11: 185-98
- <sup>34</sup> Bhaghat B and Lockett M F: The absorption and elimination of metabisulphite and thiosulphate by rats. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 1960; 12: 690-94
- <sup>35</sup> Gunnison A F and Farruggella T J: Preferential S-sulfonate formation in lung and aorta. *Chem Biol Interact* 1979; 25: 271-7
- <sup>36</sup> Gunnison A F, Zaccardi J, Dulak L, and Chiang G: Tissue distribution of s-sulfonate metabolites following exposure to sulfur dioxide. *Environmental Research* 1981; 24: 432-43
- <sup>37</sup> Gause E M and Barker M: Interaction of inhaled sulfur dioxide with mucus glycoproteins. *Proc West Pharmacol Soc* 1978; 21: 161-6
- <sup>38</sup> Gunnison A F: Sulphite toxicity: a critical review of in vitro and in vivo data. *Food Cosmet Toxicol* 1981; 19: 667-82
- <sup>39</sup> Gunnison A F and Palmes E D: S-sulfonates in human plasma following inhalation of sulfur dioxide. *Am Ind Hyg Assoc J* 1974; 35: 288-91
- <sup>40</sup> Constantin D, Mehrotra K, Jernström B, Tomasi A, and Moldéus P: Alternative pathways of sulfite oxidation in human polymorphonuclear leukocytes. *Pharmacol Toxicol* 1994; 74: 136-40
- <sup>41</sup> Constantin D, Bini A, Meletti E, Moldeus P, Monti D, and Tomasi A: Age-related differences in the metabolism of sulphite to sulphate and in the identification of sulphur trioxide radical in human polymorphonuclear leukocytes. *Mech Ageing Dev* 1996; 88: 95-109
- <sup>42</sup> Gunnison A F and Palmes E D: A model for the metabolism of sulfite in mammals. *Toxicol Appl Pharmacol* 1976; 38: 111-26
- <sup>43</sup> Gunnison A F and Palmes E D: Species variability in plasma S-sulfonate levels during and following sulfite administration. *Chem Biol Interact* 1978; 21: 315-29
- <sup>44</sup> Wever J: Appearance of sulphite and S-sulphonates in the plasma of rats after intraduodenal sulphite application. *Food Chem Toxicol* 1985; 23: 895-8
- <sup>45</sup> Sun Y P, Cotgreave I, Lindeke B, and Moldéus P: The metabolism of sulfite in liver. Stimulation of sulfate conjugation and effects on paracetamol and allyl alcohol toxicity. *Biochem Pharmacol* 1989; 38: 4299-305
- <sup>46</sup> Savić M, Siriski-Sasić J, and Djulizibarić D: Discomforts and laboratory findings in workers exposed to sulfur dioxide. *Int Arch Occup Environ Health* 1987; 59: 513-8
- <sup>47</sup> Doniger J, O'Neill R, and DiPaolo J A: Neoplastic transformation of Syrian hamster embryo cells by bisulfite is accompanied with a decrease in the number

- 
- of functioning replicons. *Carcinogenesis* 1982; 3: 27-32
- <sup>48</sup> Carvalho I M, Melo Cavalcante A A, Dantas A F, Pereira D L, Costa Rocha F C, Andrade T J et al.: Genotoxicity of sodium metabisulfite in mouse tissues evaluated by the comet assay and the micronucleus test. *Mutat Res* 2011; 720: 58-61
- <sup>49</sup> Hayatsu H and Miura A: The mutagenic action of sodium bisulfite. *Biochem Biophys Res Commun* 1970; 39: 156-60
- <sup>50</sup> Mukai F, Hawryluk I, and Shapiro R: The mutagenic specificity of sodium bisulfite. *Biochem Biophys Res Commun* 1970; 39: 983-8
- <sup>51</sup> Litton Bionetics: Mutagenic evaluation of compound FDA 73-43 sodium sulfite. Submitted to FDA, NTIS PB-245488, 1975
- <sup>52</sup> SRI (Stanford Research Institute) International: Microbial mutagenesis testing of substances compound report, F76-003, Sodium bisulfite. Prepared for FDA, NTIS PB-89-193676, 1978
- <sup>53</sup> SRI (Stanford Research Institute) International: Microbial mutagenesis testing of substances compound report, F76-004, Sodium meta-bisulfite. Prepared for FDA, NTIS PB-89-193684, 1978
- <sup>54</sup> Mallon R G and Rossman T G: Bisulfite (sulfur dioxide) is a comutagen in *E. coli* and in Chinese hamster cells. *Mutat Res* 1981; 88: 125-33
- <sup>55</sup> Ishidate M, Jr., Sofuni T, Yoshikawa K, Hayashi M, Nohmi T, Sawada M et al.: Primary mutagenicity screening of food additives currently used in Japan. *Food Chem Toxicol* 1984; 22: 623-36
- <sup>56</sup> De Giovanni-Donnelly R: The mutagenicity of sodium bisulfite on base-substitution strains of *Salmonella typhimurium*. *Teratog Carcinog Mutagen* 1985; 5: 195-203
- <sup>57</sup> Pagano D A and Zeiger E: Conditions affecting the mutagenicity of sodium bisulfite in *Salmonella typhimurium*. *Mutat Res* 1987; 179: 159-66
- <sup>58</sup> Prival M J, Simmon V F, and Mortelmans K E: Bacterial mutagenicity testing of 49 food ingredients gives very few positive results. *Mutat Res* 1991; 260: 321-9
- <sup>59</sup> Kunz B A and Glickman B W: Absence of bisulfite mutagenesis in the *lacI* gene of *Escherichia coli*. *Mutat Res* 1983; 119: 267-71
- <sup>60</sup> Tsutsui T and Barrett J C: Sodium bisulfite induces morphological transformation of cultured Syrian hamster embryo cells but lacks the ability to induce detectable gene mutations, chromosome mutations or DNA damage. *Carcinogenesis* 1990; 11: 1869-73
- <sup>61</sup> Meng Z and Zhang B: Polymerase chain reaction-based deletion screening of bisulfite (sulfur dioxide)-enhanced gpt-mutants in CHO-AS52 cells. *Mutat Res* 1999; 425: 81-5
- <sup>62</sup> Abe S and Sasaki M: Chromosome aberrations and sister chromatid exchanges in Chinese hamster cells exposed to various chemicals. *J Natl Cancer Inst* 1977; 58: 1635-41
- <sup>63</sup> Popescu N C and DiPaolo J A: Chromosome alterations in Syrian hamster cells transformed in vitro by sodium bisulfite, a nonclastogenic carcinogen. *Cancer Res* 1988; 48: 7246-51
- <sup>64</sup> Beckman L and Nordenson I: Interaction between some common genotoxic agents. *Hum Hered* 1986; 36: 397-401
- <sup>65</sup> Meng Z and Zhang L: Cytogenetic damage induced in human lymphocytes by

- 
- sodium bisulfite. *Mutat Res* 1992; 298: 63-9
- <sup>66</sup> Meng Z, Qin G, Zhang B, and Bai J: DNA damaging effects of sulfur dioxide derivatives in cells from various organs of mice. *Mutagenesis* 2004; 19: 465-8
- <sup>67</sup> Litton Bionetics: Mutagenic evaluation of compound FDA 71-20 sodium bisulfite. Submitted to FDA, NTIS PB-245456, 1972
- <sup>68</sup> SRI (Stanford Research Institute) International: Study of the mutagenic effects of Sodium meta-bisulfite (71-22). Prepared for FDA, NTIS PB-221825, 1972
- <sup>69</sup> Renner H W and Wever J: Attempts to induce cytogenetic effects with sulphite in sulphite oxidase-deficient Chinese hamsters and mice. *Food Chem Toxicol* 1983; 21: 123-7
- <sup>70</sup> Pal B B and Bhunya S P: Genotoxic effect of a preservative, sodium metabisulphite as revealed by mammalian in vivo bioassays. *CYTOLOGIA* 1992; 57: 455-61
- <sup>71</sup> MacRae W D and Stich H F: Induction of sister chromatid exchanges in Chinese hamster cells by the reducing agents bisulfite and ascorbic acid. *Toxicology* 1979; 13: 167-74
- <sup>72</sup> Uren N, Yuksel S, and Onal Y: Genotoxic effects of sulfur dioxide in human lymphocytes. *Toxicol Ind Health* 2014; 30: 311-5
- <sup>73</sup> Yavuz-Kocaman A, Rencuzogullari E, Ila H B, and Topaktas M: The genotoxic effect of potassium metabisulfite using chromosome aberration, sister chromatid exchange, micronucleus tests in human lymphocytes and chromosome aberration test in bone marrow cells of rats. *Environ Mol Mutagen* 2008; 49: 276-82
- <sup>74</sup> SRI (Stanford Research Institute) International: Study of the mutagenic effects of Sodium meta-bisulfite (76-73) by the dominant lethal test in rats. Prepared for FDA, NTIS PB-299836, 1979
- <sup>75</sup> Rencüzogullari E, Ila H B, Kayraldiz A, and Topaktaş M: Chromosome aberrations and sister chromatid exchanges in cultured human lymphocytes treated with sodium metabisulfite, a food preservative. *Mutat Res* 2001; 490: 107-12
- <sup>76</sup> Meng Z, Qin G, and Zhang B: DNA damage in mice treated with sulfur dioxide by inhalation. *Environ Mol Mutagen* 2005; 46: 150-5
- <sup>77</sup> Meng Z and Zhang B: Induction effects of sulfur dioxide inhalation on chromosomal aberrations in mouse bone marrow cells. *Mutagenesis* 2002; 17: 215-7
- <sup>78</sup> Meng Z, Zhang B, Ruan A, Sang N, and Zhang J: Micronuclei induced by sulfur dioxide inhalation in mouse bone-marrow cells in vivo. *Inhal Toxicol* 2002; 14: 303-9
- <sup>79</sup> Ziemann C, Hansen T, Pohlmann G, Farrar D, Pohlenz-Michel C, Tillmann T et al.: Genotoxicity testing of sulfur dioxide (SO<sub>2</sub>) in a mouse bone marrow micronucleus test complemented with hematological endpoints. *Mutat Res* 2010; 697: 38-46
- <sup>80</sup> Generoso W M, Huff S W, and Cain K T: Tests on induction of chromosome aberrations in mouse germ cells with sodium bisulfite. *Mutat Res* 1978; 56: 363-5
- <sup>81</sup> Hayatsu H: Discovery of bisulfite-mediated cytosine conversion to uracil, the key reaction for DNA methylation analysis--a personal account. *Proc Jpn Acad*

---

Ser B Phys Biol Sci 2008; 84: 321-30

- <sup>82</sup> 編集委員会（山梨県ワイン酒造組合事務局、技術部会一同）：山梨県ワイン製造マニユアル，2016
- <sup>83</sup> 村頭雄，藤井正美，義平邦利，城照雄，伊藤誉志男：食品中の食品添加物分析法解説書，講談社サイエンティフィック，1992
- <sup>84</sup> Til H P, Feron V J, de Groot A P, and van der Wal P: The toxicity of sulphite. II. Short- and long-term feeding studies in pigs. *Food Cosmet Toxicol* 1972; 10: 463-73
- <sup>85</sup> Til H P, Feron V J, and De Groot A P: The toxicity of sulphite. I. Long-term feeding and multigeneration studies in rats. *Food Cosmet Toxicol* 1972; 10: 291-310
- <sup>86</sup> JECFA (FAO/WHO Joint Expert Committee on Food Additives): Toxicological evaluation of certain food additives and contaminants. Sulfur Dioxide and Sulfitcs. WHO Food Additives Ser 18, 1983.
- <sup>87</sup> Tanaka T, Fujii M, Mori H, and Hirono I: Carcinogenicity test of potassium metabisulfite in mice. *Ecotoxicol Environ Saf* 1979; 3: 451-3
- <sup>88</sup> Tanaka T, Fujii M, Mori H, and Hirono I: Carcinogenicity test of potassium metabisulfite in mice. *Ecotoxicol Environ Saf* 1979; 3: 451-3
- <sup>89</sup> Ema M, Itami T, and Kanoh S: Effect of potassium metabisulfite on pregnant rats and their offspring studies on the fetal toxicity of food additives. II. *Food Hygiene and Safety Science (Shokuhin Eiseigaku Zasshi)* 1985; 26: 454-59
- <sup>90</sup> Prenner B M and Stevens J J: Anaphylaxis after ingestion of sodium bisulfite. *Ann Allergy* 1976; 37: 180-2
- <sup>91</sup> Freedman B J: Asthma induced by sulphur dioxide, benzoate and tartrazine contained in orange drinks. *Clin Allergy* 1977; 7: 407-15
- <sup>92</sup> Baker G J, Collett P, and Allen D H: Bronchospasm induced by metabisulfite-containing foods and drugs. *Med J Aust* 1981; 2: 614-7
- <sup>93</sup> Stevenson D D and Simon R A: Sensitivity to ingested metabisulfites in asthmatic subjects. *J Allergy Clin Immunol* 1981; 68: 26-32
- <sup>94</sup> Schwartz H J: Sensitivity to ingested metabisulfite: variations in clinical presentation. *J Allergy Clin Immunol* 1983; 71: 487-9
- <sup>95</sup> Sonin L and Patterson R: Metabisulfite challenge in patients with idiopathic anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol* 1985; 75: 67-9
- <sup>96</sup> Yang W H, Purchase E C, and Rivington R N: Positive skin tests and Prausnitz-Küstner reactions in metabisulfite-sensitive subjects. *J Allergy Clin Immunol* 1986; 78: 443-9
- <sup>97</sup> Acosta R, Granados J, Mourelle M, Perez-Alvarez V, and Quezada E: Sulfite sensitivity: relationship between sulfite plasma levels and bronchospasm: case report. *Ann Allergy* 1989; 62: 402-5
- <sup>98</sup> Sprenger J D, Altman L C, Marshall S G, Pierson W E, and Koenig J Q: Studies of neutrophil chemotactic factor of anaphylaxis in metabisulfite sensitivity. *Ann Allergy* 1989; 62: 117-21
- <sup>99</sup> Sokol W N and Hydick I B: Nasal congestion, urticaria, and angioedema caused by an IgE-mediated reaction to sodium metabisulfite. *Ann Allergy* 1990; 65: 233-8
- <sup>100</sup> Belchi-Hernandez J, Florido-Lopez J F, Estrada-Rodriguez J L, Martinez-Alzamora F, Lopez-Serrano C, and Ojeda-Casas J A: Sulfite-induced urticaria. *Ann Allergy* 1993; 71: 230-2

- 
- 101 Wüthrich B: Adverse reactions to food additives. *Ann Allergy* 1993; 71: 379-84
- 102 Wüthrich B, Kägi M K, and Hafner J: Disulfite-induced acute intermittent urticaria with vasculitis. *Dermatology* 1993; 187: 290-2
- 103 Gastaminza G, Quirce S, Torres M, Tabar A, Echechipía S, Muñoz D et al.: Pickled onion-induced asthma: a model of sulfite-sensitive asthma? *Clin Exp Allergy* 1995; 25: 698-703
- 104 Gall H, Boehncke W H, and Gietzen K: Intolerance to sodium metabisulfite in beer. *Allergy* 1996; 51: 516-7
- 105 Park H S and Nahm D: Localized periorbital edema as a clinical manifestation of sulfite sensitivity. *J Korean Med Sci* 1996; 11: 356-7
- 106 Vally H and Thompson P J: Role of sulfite additives in wine induced asthma: single dose and cumulative dose studies. *Thorax* 2001; 56: 763-9
- 107 Asero R: Food additive-induced chronic pruritus: further evidence. *Clin Exp Dermatol* 2005; 30: 719-20
- 108 Tsevat J, Gross G N, and Dowling G P: Fatal asthma after ingestion of sulfite-containing wine. *Ann Intern Med* 1987; 107: 263
- 109 Tollefson L: Monitoring adverse reactions to food additives in the U.S. *Food and Drug Administration. Regul Toxicol Pharmacol* 1988; 8: 438-46
- 110 Nair B and Elmore A R: Final report on the safety assessment of sodium sulfite, potassium sulfite, ammonium sulfite, sodium bisulfite, ammonium bisulfite, sodium metabisulfite and potassium metabisulfite. *Int J Toxicol* 2003; 22 Suppl 2: 63-88
- 111 Linneberg A, Berg N D, Gonzalez-Quintela A, Vidal C, and Elberling J: Prevalence of self-reported hypersensitivity symptoms following intake of alcoholic drinks. *Clin Exp Allergy* 2008; 38: 145-51
- 112 佐藤恭子：生産量統計調査を基にした食品添加物摂取量の推定に関わる研究 その1 指定添加物品目（第11回最終報告）、平成28年度厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）、2017
- 113 厚生労働省：平成28年度マーケットバスケット方式による保存料及び着色料の摂取量調査の結果について、薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会添加物部会、2017
- 114 EFSA (European Food Safety Authority) Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Materials in Contact with Food (AFC): Opinion Flavouring Group Evaluation 46 (FGE.46), Ammonia and two ammonium salts from chemical group 30. *The EFSA Journal* 2009; ON-955: 1-34
- 115 国税庁：国税庁平成30年度分酒類販売（消費）数量等の状況表、2020
- 116 厚生労働省編：栄養等摂取状況調査の結果、平成30年国民健康・栄養調査報告、2020
- 117 国税庁：酒類製造における亜硫酸の適正使用について、2013

亜硫酸水素アンモニウム水に係る食品健康影響評価に関する審議結果（案）についての意見・情報の募集結果について

1. 実施期間 令和2年10月21日～令和2年11月19日
2. 提出方法 インターネット、ファックス、郵送
3. 提出状況 2通
4. 意見・情報及び添加物専門調査会の回答

	意見・情報*	添加物専門調査会の回答
1	<p>「入手したヒトにおける知見からは、亜硫酸水素アンモニウムに関するヒトにおけるアレルギー性の報告はないものの、添加物「亜硫酸水素アンモニウム水」由来の二酸化硫黄及び亜硫酸塩によるアレルギー性の可能性は否定できないと考えた。ただし、使用方法が「ぶどう酒の製造に用いる果汁及びぶどう酒（発酵が終了したものを除く。）以外に使用してはならない」とされており、ぶどう酒の製造にのみ用いられることを考慮すべきと考えた。」というところですが、人によってはワインの摂取量が平均の10倍という方もいますが、それでも大丈夫でしょうか？</p>	<p>アレルギー性疾患患者等を対象とした亜硫酸塩に関する経口負荷投与試験等において、ヒトにおけるアレルギー反応の報告がされていますが、本品目を対象とした報告はありません。</p> <p>添加物専門調査会としては、添加物「亜硫酸水素アンモニウム水」の実際の摂取量は、以下の理由から、推定一日摂取量よりも少ないと考えています。</p>
2	<p>1. 「アレルギー性は否定できない」としつつも「安全性に懸念がない」と結論した点について詳しい説明が必要と考えます。</p> <p>評価書案では、要約（p.4～）や食品健康影響評価（p.57～）で「添加物『亜硫酸水素アンモニウム水』由来の二酸化硫黄及び亜硫酸塩によるアレルギー性の可能性は否定できないと考えた。ただし、使用方法が『ぶどう酒の製造に用いる果汁及びぶどう酒（発酵が終了したものを除く。）以外に使用してはならない』とされており、ぶどう酒の製造のみに用いられることを考慮すべきと考えた」と記述されており、最後に結論として「安全性に懸念がないと考えられ、ADIを特定する必要はないと判断した」とされています。使用方法を考慮した結果として上記のような結論に至ったものと読み取れますが、その判断の根拠がよく分かりません。使用方法をどのように考慮したのか等、アレルギー性の評価に関して詳しい説明が必要と考えます。</p>	<p>① 発酵前あるいは発酵中の果汁やマストに添加され、本品目から生じた二酸化硫黄は、水と反応して亜硫酸を生じ、有害微生物の増殖防止及び酸化防止の効果を発揮しつつ大気中に揮散又は酸化により徐々に消失するとされていること</p> <p>② 発酵前に添加した亜硫酸は、果汁等の固形分と結合し、その含有量は減少すると指摘されていること</p> <p>③ 亜硫酸の使用時には、添加前後で分析を行い、使用量が適切で</p>

		<p>あるかを確認することや使用記録を残すこととされており、添加物「亜硫酸水素アンモニウム水」の使用においては使用量等の管理が適切になされることが考えられること</p> <p>したがって、添加物専門調査会としては、毒性試験成績から NOAEL が得られているものの、NOAEL の根拠とした毒性所見は軽度の胃及び食道の所見であり、毒性影響は重篤ではないことを考慮し、亜硫酸水素アンモニウムの性質、使用方法、実際の摂取量、使用基準案等から、添加物「亜硫酸水素アンモニウム水」が添加物として適切に使用される場合、安全性に懸念がないと考えています。</p>
3	<p>2. リスク評価機関として亜硫酸塩全体のリスクを科学的に評価し、リスク管理機関に助言や勧告を行うべきです。</p> <p>評価書案にも記載されている通り、亜硫酸塩が喘息患者など一部の感受性の高い集団にアレルギー反応を生じさせるのは明らかであると思います。</p> <p>FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議 (JECFA) は、二酸化硫黄および亜硫酸塩の評価において、「感受性の高い個々の消費者を保護するための実行可能な唯一の方法は適切な表示をすることである」と繰り返し述べています[1, 2]。これを受けて、コーデックス規格では、亜硫酸塩は他の食物アレルギー同様に過敏症を誘発することが知られているとして表示の対象とされています[3]。</p> <p>日本の食品表示基準では亜硫酸塩はアレルギーとして定められていません。ただし、消費者庁は通知[4]で「亜硫酸塩については、今後十分な調査を行っていくこととしています」(I-5) と述べると同時に、「食物アレルギーの原因物質は、時代の変化とともに変わっていく可能性があると考えられるので、更に実態調査・科学的研究を行い、新たな知見や</p>	<p>添加物専門調査会としては、亜硫酸水素アンモニウムの評価に当たって、入手したヒトにおける知見からは、亜硫酸水素アンモニウムに関するヒトにおけるアレルギー性の報告はないものの、添加物「亜硫酸水素アンモニウム水」由来の二酸化硫黄及び亜硫酸塩によるアレルギー性の可能性は否定できないと考えました。ただし、今回の評価においては、添加物「亜硫酸水素アンモニウム水」の使用方法が「ぶどう酒の製造に用いる果</p>

	<p>報告により適宜、特定原材料等の見直しを行っていきます」(A-2)と、その考えを述べています。</p> <p>したがって、貴委員会の役割として、亜硫酸塩により生じるアレルギー反応やそのリスクについて、入手可能な知見を総合的に整理した上で科学的な評価を実施すべきと考えます。さらにその結論に基づいて、食品表示を所管する消費者庁に助言や勧告を行うべきであると考えます。国際的には、JECFA とコーデックス委員会の関係と同じように、EU では欧州食品安全機関 (EFSA) がアレルギー物質に関する知見を整理し、科学的意見をまとめています[5]。</p> <p>参考文献</p> <p>[1] JECFA, Sulfur dioxide and sulfites. Toxicological evaluation of certain food additives and contaminants. WHO Food Additives Series, 21: 173-219 (1987).</p> <p>[2] JECFA, Sulfur dioxide and sulfites (addendum). Safety evaluation of certain food additives. WHO Food Additives Series, 42: 95-116 (1999).</p> <p>[3] Codex Alimentarius Commission, General standard for the labelling of prepackaged foods. CODEX STAN 1-1985 (adopted 1985; revised 2018).</p> <p>[4] 消費者庁, 食品表示基準 Q&amp;A 別添 アレルゲンを含む食品に関する表示. 消費者庁食品表示企画課長通知(平成 27 年 3 月 30 日消食表第 140 号; 最終改正 令和 2 年 7 月 16 日).</p> <p>[5] EFSA, Scientific opinion on the evaluation of allergenic foods and food ingredients for labelling purposes. EFSA J. 12: 3894- (2014).</p>	<p>汁及びぶどう酒 (発酵が終了したものを除く。) 以外に使用してはならない」とされており、ぶどう酒の製造にのみ用いられることを考慮すべきと考えました。</p> <p>今回の要請内容に基づいて評価を行った結果、亜硫酸水素アンモニウムの性質、使用方法、実際の摂取量、使用基準案等から、添加物「亜硫酸水素アンモニウム水」が添加物として適切に使用される場合、安全性に懸念がないと考えています。</p>
4	<p>3. 関連する物質の範囲について</p> <p>評価書 p.7 に、「亜硫酸水素アンモニウム水に関連する物質として、指定等要請者は、亜硫酸ナトリウム、ピロ亜硫酸ナトリウム及びピロ亜硫酸カリウムが添加物として指定されていると説明している」とあります。次亜硫酸ナトリウムと二酸化硫黄も添加物として指定されていますが、この2品目を関連する物質としなかった理由をご説明ください。</p> <p style="text-align: right;">以上</p>	<p>当該記載は、指定等要請者の説明に基づき、参考として記載したものです。</p>

※ 頂いた御意見・情報をそのまま掲載しています。