

(案)

## 対象外物質※評価書

# クエン酸

【事務局より】

黄色：評価書完成時に削除する。(調査会時の補足のため記載)

令和 3 年（2021 年）12 月

食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会

※ 食品衛生法（昭和 22 年法律第 233 号）第 13 条第 3 項の規定に基づき、人の健康を損なうおそれのないことが明らかであるものとして厚生労働大臣が定める物質

## 目 次

|    |                                             | 頁  |
|----|---------------------------------------------|----|
| 1  | ○審議の経緯 .....                                | 3  |
| 2  | ○食品安全委員会委員名簿 .....                          | 3  |
| 3  | ○食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿 .....             | 4  |
| 4  | 要 約 .....                                   | 5  |
| 5  | I. 評価対象飼料添加物の概要 .....                       | 6  |
| 6  | 1. 用途 .....                                 | 6  |
| 7  | 2. 有効成分の一般名 .....                           | 6  |
| 8  | 3. 化学名 .....                                | 6  |
| 9  | 4. 分子式 .....                                | 6  |
| 10 | 5. 分子量 .....                                | 6  |
| 11 | 6. 構造式 .....                                | 6  |
| 12 | 7. 使用目的及び使用状況 .....                         | 6  |
| 13 | II. 安全性に係る知見の概要 .....                       | 7  |
| 14 | 1. 吸収・分布・代謝・排泄 .....                        | 7  |
| 15 | (1) 体内動態試験（ラット、排泄） .....                    | 7  |
| 16 | (2) 体内動態試験（ラット、吸収・分布・排泄） .....              | 7  |
| 17 | 2. 遺伝毒性試験 .....                             | 8  |
| 18 | 3. 急性毒性試験 .....                             | 11 |
| 19 | 4. 亜急性毒性試験 .....                            | 11 |
| 20 | (1) 5日間亜急性毒性試験（ラット、クエン酸、強制経口投与） .....       | 11 |
| 21 | (2) 150日間亜急性毒性試験（ウサギ、クエン酸ナトリウム、混餌投与） .....  | 11 |
| 22 | (3) 120日間亜急性毒性試験（イヌ、クエン酸、混餌投与） .....        | 12 |
| 23 | 5. 慢性毒性及び発がん性試験 .....                       | 12 |
| 24 | (1) 2年間慢性毒性試験（ラット、クエン酸、混餌投与） .....          | 12 |
| 25 | (2) 2年間発がん性試験（ラット、クエン酸、混餌投与） .....          | 12 |
| 26 | (3) 45週間発がん性試験（ラット、クエン酸、強制経口投与）＜参考資料＞ ..... | 12 |
| 27 | (4) 8週間発がん性試験（ラット、クエン酸ナトリウム、混餌投与） .....     | 13 |
| 28 | 6. 生殖発生毒性試験（参考資料） .....                     | 13 |
| 29 | (1) 2世代繁殖試験（ラット、クエン酸、混餌投与）＜参考資料＞ .....      | 13 |
| 30 | (2) 生殖毒性試験（マウス、クエン酸、混餌投与）＜参考資料＞ .....       | 14 |
| 31 | (3) 生殖毒性試験（ラット、クエン酸、混餌投与）＜参考資料＞ .....       | 14 |
| 32 | (4) 発生毒性試験（ウサギ、クエン酸、投与経路不明）＜参考資料＞ .....     | 14 |
| 33 | (5) 生殖毒性試験（ラット、クエン酸及びクエン酸ナトリウム、混餌投与）＜       |    |
| 34 | 参考資料＞ .....                                 | 14 |
| 35 | (6) 発生毒性試験（ラット、クエン酸、投与経路不明）＜参考資料＞ .....     | 14 |
| 36 | (7) 発生毒性試験（ハムスター、クエン酸、投与経路不明）＜参考資料＞ .....   | 15 |

|    |                                       |    |
|----|---------------------------------------|----|
| 37 | (8) 生殖毒性試験（ラット、クエン酸、混餌投与）＜参考資料＞ ..... | 15 |
| 38 | 7. ヒトにおける知見 .....                     | 15 |
| 39 | III. 国際機関等の評価 .....                   | 16 |
| 40 | 1. JECFA における評価 .....                 | 16 |
| 41 | 2. EU における評価 .....                    | 16 |
| 42 | 3. OECD における評価 .....                  | 17 |
| 43 | 4. 米国における評価 .....                     | 18 |
| 44 | 5. オーストラリアにおける評価 .....                | 18 |
| 45 | IV. 食品健康影響評価 .....                    | 18 |
| 46 | ＜参照＞ .....                            | 20 |

## 〈審議の経緯〉

2005 年 11 月 29 日 対象外物質告示

2010 年 2 月 15 日 厚生労働大臣より食品衛生法第 11 条第 3 項の規定に基づき、人の健康を損なうおそれのないことが明らかである物質を定めることに係る食品健康影響評価について要請（厚生労働省発食安第 0215 第 60 号）

2010 年 2 月 18 日 第 320 回食品安全委員会（要請事項説明）

2021 年 12 月 8 日 第 168 回肥料・飼料等専門調査会

2021 年 月 日 第 回食品安全委員会（報告）

2021 年 月 日から 月 日まで 国民からの意見・情報の募集

2021 年 月 日 肥料・飼料等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〉

（2011 年 1 月 6 日まで）

小泉 直子（委員長）  
見上 彪（委員長代理

\*)

長尾 拓  
野村 一正  
畑江 敬子  
廣瀬 雅雄  
村田 容常

\*：2009 年 7 月 9 日から

（2012 年 6 月 30 日まで）

小泉 直子（委員長）  
熊谷 進（委員長代理

\*)

長尾 拓  
野村 一正  
畑江 敬子  
廣瀬 雅雄  
村田 容常

\*：2011 年 1 月 13 日から

（2015 年 6 月 30 日まで）

熊谷 進（委員長\*）  
佐藤 洋（委員長代理）

山添 康（委員長代理）  
三森 国敏（委員長代理）  
石井 克枝  
上安平 淑子  
村田 容常

\*：2012 年 7 月 2 日から

（2017 年 1 月 6 日まで）

佐藤 洋（委員長）  
山添 康（委員長代理）

熊谷 進  
吉田 緑  
石井 克枝

堀口 逸子  
村田 容常

（2018 年 6 月 30 日まで）

佐藤 洋（委員長）  
山添 康（委員長代理）

山本 茂貴  
吉田 緑  
石井 克枝

堀口 逸子  
村田 容常

（2021 年 6 月 30 日まで）

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

\*：2018 年 7 月 2 日から

（2021 年 7 月 1 日から）

山本 茂貴（委員長）  
浅野 哲（委員長代理 第一順位）  
川西 徹（委員長代理 第二順位）  
脇 昌子（委員長代理 第三順位）  
香西 みどり  
松永 和紀  
吉田 充

〈食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿〉

(2021 年 10 月 1 日から)

森田 健 (座長\*)

川本 恵子 (座長代理\*)

吉田 敏則 (座長代理\*)

赤沼 三恵      小林 健一

新井 鐘蔵      佐々木 一昭

荒川 宜親      代田 真理子

井上 薫      高橋 研

今田 千秋      中山 裕之

植田 富貴子

\* : 2021 年 10 月 25 日から

〈第 168 回肥料・飼料等専門調査会専門参考人名簿〉

今井 俊夫 (国立研究開発法人国立がん研究センター研究所動物実験施設長)

山中 典子 (国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究部門 疾病対策部 病性鑑定室)

## 要 約

食品衛生法（昭和 22 年法律第 233 号）第 13 条第 3 項の規定に基づき、人の健康を損なうおそれのないことが明らかであるものとして厚生労働大臣が定める物質（対象外物質）とされているクエン酸（CAS No.77-92-9）について、各種評価書等を用いて食品健康影響評価を実施した。

[事務局より]

以降は、調査会後事務局にて作成します。

## 1. 評価対象飼料添加物の概要

### 1. 用途

動物用医薬品

飼料添加物

### 2. 有効成分の一般名

和名：クエン酸

英名：Citric acid

### 3. 化学名

IUPAC：2-hydroxypropane-1,2,3-tricarboxylic acid

CAS：No.77-92-9

(参照 1:Merck)

### 4. 分子式

$C_6H_8O_7$

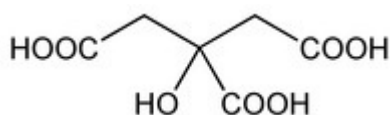
(参照 1)

### 5. 分子量

192.12

(参照 1)

### 6. 構造式



(参照 1)

### 7. 使用目的及び使用状況

クエン酸は遊離状態あるいは塩類として植物中に広く存在し、柑橘類の酸味の主成分である。(参照 2：添加物解説書)

日本では、動物用医薬品として承認されており、牛を対象に代謝性用薬の成分として、クエン酸カルシウム、クエン酸ナトリウムといったクエン酸塩の形で使用されている。(参照 3：動物医薬品検査所 DB) ヒト用医薬品としては、痛風並びに高尿酸血症における酸性尿や、アシドーシスの改善を目的として経口投与剤が使用されている。(参照 4：医薬品 DB) クエン酸は、日本国内において飼料添加物として指定されていないが、クエン酸の化合物として、クエン酸鉄、コハク酸クエン酸鉄ナトリウムが飼料添加物に指定されている。さらに食品添加物としては、指定添加物として使用が認められるとともに、使用基準は定められておらず、酸味剤として種々の食品に広く使用されている。(参照 2、5、10：食品衛生法) なお、海外においても、飼料添加物又は食品添加物として使用されている。(参照 6－8：EFSA2006、EFSA2015、FDA)

クエン酸は、食品に残留する農薬等に関するポジティブリスト制度の導入に伴い、食品衛生法（昭和 22 年法律第 233 号）第 13 条第 3 項の規定に基づき、人の健康を損なうおそれのないことが明らかであるものとして厚生労働大臣が定める物質（対象外物質）として、暫定的に定められている（参照 9：食品衛生法第 13 条）。今回、クエン酸について、食品安全基本法（平成 15 年法律第 48 号）第 24 条第 2 項の規定に基づき、厚生労働大臣から食品安全委員会に食品健康影響評価の要請がなされた。

## II. 安全性に係る知見の概要

本評価書では、OECD の評価書等を用いて、クエン酸の安全性に係る知見を整理した。

検査値等略称は別紙に示した。

### 1. 吸収・分布・代謝・排泄

クエン酸は  $\alpha$ -ヒドロキシ酸の 1 種で、クエン酸回路に関与し、生体の糖代謝の中間物質としてヒトの体内で合成されており、エネルギー代謝において中心的な役割を果たしている。（参照 2、10：H20 報告書 P.43）

#### （1）体内動態試験（ラット、排泄）

ラット（雌雄、系統及び匹数不明）に標識クエン酸化合物（標識体不明）を経口投与（日本人 1 日当たりの平均摂取量 37.78 mg/kg）した場合、24 時間以内に 0.1～2.8 %が糞中に、4.1～11.8 %が尿中に排泄され、残りのほとんどが呼吸中に CO<sub>2</sub> として排泄された。

クエン酸及びそのナトリウム塩、カルシウム塩、カリウム塩について、それらの動態を比較検討したが、塩の違いによる顕著な差はみられなかった。（参照 2 P.D-453）

#### （2）体内動態試験（ラット、吸収・分布・排泄）

ラット（SD、雄 4 匹/群）に、<sup>14</sup>C 標識クエン酸 1.39 mg (25  $\mu$ Ci/kg 体重) を強制経口投与する体内動態試験が実施されている。（参照 11：茂木ら 1986）

##### ① 吸収

本試験での血中放射性濃度は、投与 15 分後に最高値となり、血中濃度半減期については、投与 24 時間後までは約 5 時間、24 時間以降は約 3.5 日であった。

##### ② 分布

同試験において、投与 15 分後の放射性濃度は胃が最も高く、次いで小腸であり、その他の器官については血中濃度以下であった。また、全身オートラジオグラフィの結果、放射性濃度について、投与 15 分後に胃、小腸、食道等の消化管で著しい高値、肝臓及び腎臓で比較的高値、脳、脊髄、心臓、肺及び脾臓では低値であり、投与 24 時間後には肝臓、腎臓及び小腸にわずかに検出された。



### ③ 排泄

同試験において、尿、糞及び呼気中への排泄率は、投与 8 時間後ではそれぞれ 4.0 %、0 %及び 83.6 % であり、投与 120 時間後では約 90 %が呼気中に排泄され、同時間後の尿、糞及び呼気中への総排泄率は 96.4 %であった。(参照 11)

## 2. 遺伝毒性試験

クエン酸の遺伝毒性試験の結果を表 1 に示した。

表 1 クエン酸の遺伝毒性試験結果

赤沼先生、森田先生ご修文

| 検査項目                |                   | 試験対象                                                               | 用量                                      | 結果            | 参照                                |
|---------------------|-------------------|--------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------|---------------|-----------------------------------|
| in vitro            | 復帰突然変異試験 (Ames試験) | Salmonella typhimurium TA97、TA98、TA100、TA104                       | <del>用量不明</del> 500、1000 µg/plate (±S9) | 陰性            | 参照<br>12:OECD P.61<br>13:ECHA     |
|                     |                   | S. typhimurium TA92、TA94、 <del>TA97</del> TA98、TA100、TA1535、TA1537 | ～ 5 mg/plate (±S9)                      | 陰性            | 参照<br>12:OECD P.61,98、<br>13:ECHA |
|                     | 前進突然変異試験          | Escherichia coli                                                   | 詳細不明                                    | 陰性            | 参照<br>12:OECD P.62                |
|                     | 遺伝子突然変異試験         | 酵母名不明 Saccharomyces cerevisiae (動物体腔内生存)                           | >3.5 mg/kg(±S9)                         | 陰性            | 参照<br>12:OECD P.62                |
|                     |                   | Saccharomyces cerevisiae                                           | 用量不明(±S9)                               | 陰性            | 参照<br>12:OECD P.62                |
|                     | 染色体異常試験           | チャイニーズハムスター線維芽細胞 (CHL)                                             | ～ 1mg/mL (-S9)、24、48 時間処理               | 陰性            | 参照<br>12:OECD P.62<br>13:ECHA     |
|                     |                   | ヒト末梢血リンパ球                                                          | 50、100、200 µg/mL (-S9)、24、48 時間処理       | 陽性            | 参照<br>13:ECHA                     |
|                     | 小核試験              | ヒト末梢血リンパ球                                                          | 50、100、200 µg/mL (-S9)、48 時間処理          | 陽性            | 参照<br>13:ECHA                     |
| DNA 損傷試験 (コメットアッセイ) | ヒト末梢血リンパ球         | 50、100、200 µg/mL (-S9)、1 時間処理                                      | 陽性                                      | 参照<br>13:ECHA |                                   |

<sup>1</sup> 各試験の原典は 1974～1988 年頃に報告されており、2001 OECD Screening Information Data Set (SIDS)の資料 (参照 12) を基に表を作成した。

|         |         |                    |                                                                                                           |    |                                      |
|---------|---------|--------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|--------------------------------------|
| in vivo | 優性致死試験  | 雄ラット               | 最大3 mg/kg 体重/日、(5日間経口投与)                                                                                  | 陰性 | 参照<br>12:OECD<br>P.63、97             |
|         |         | SDラット(雄、10匹/群)     | 5日間強制経口投与(1.2, 12.0, 120 mg/kg 体重/日)、最終投与終了1, 4, 7週後交配<br>単回強制経口投与(500, 3500 mg/kg 体重)<br>投与終了1, 4, 8週後交配 | 陰性 | 参照<br>12:OECD<br>P.63、97、<br>13:ECHA |
|         | 染色体異常試験 | ラット骨髓細胞            | 3 g/kg 体重/日、(5日間混餌投与)                                                                                     | 陰性 | 参照<br>12:OECD<br>P.63                |
|         |         | SDラット(雄、5匹/群)、骨髓細胞 | 5日間強制経口投与(1.2, 12.0, 120 mg/kg 体重/日)、単回強制経口投与(500, 3500 mg/kg 体重)<br>いずれも最終投与6、24、48時間後に骨髓細胞採取            | 陰性 | 参照<br>12:OECD<br>P.63、<br>13:ECHA    |

クエン酸を用いた *in vitro* の遺伝毒性試験の結果は、復帰突然変異試験、遺伝子突然変異試験、チャイニーズハムスター線維芽細胞（CHL）を対象とした染色体異常試験において陰性であったが、小核試験、DNA 損傷試験（コメットアッセイ）及びヒト末梢血リンパ球を対象とした染色体異常試験の結果が陽性であった。しかしながら、*in vivo* における優性致死試験及び染色体異常試験のいずれの試験の結果も陰性であったことから、食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、クエン酸は生体にとって特段問題となる動物用医薬品及び飼料添加物として使用された場合、遺伝毒性はないと判断した。

#### 【復帰突然変異試験】

赤沼専門委員：ECHA のサイトに記載されていましたが、ECHA のサイトを引用元とするかどうかご検討ください。

（事務局）：クエン酸の遺伝毒性試験結果に、ECHA のデータを追加いたしました。

#### 【前進突然変異試験】（検査項目の追記）

森田専門委員：OECD SIDS の Ref (40) のタイトルは「RK bacterial test for independently measuring chemical toxicity and mutagenicity: Short-term forward selection assay」とあり、その abstract でも確認しました。

#### 【染色体異常試験（ヒト末梢血リンパ球）】

赤沼専門委員：観察はこの3用量ですが、試験は3000まで実施されており、3000はtoxicです。3000は入れませんか？

森田専門委員：これを含むヒトリンパ球での試験は3000 ug/mLでも試験していますが、細胞毒性のため、遺伝毒性は全く評価できていません。そのため、いずれも200 ug/mLとしています。

【小核試験】

森田専門委員：原著確認し、用量は 48 時間でした。なお、本原著には、同様に実施したヒトリンパ球での SCE 陽性知見もありましたが、SCE 自体の重要度が低いこと、ECHA でも記載されていない（？）ことから、ここであえて記載する必要はないと判断しました。なお、本論文では、クエン酸の染色体異常/小核誘発性をヒドロキシラジカル（OH<sup>-</sup>）によるものと考察しています。そうであれば、S9 存在下での *in vitro* CA/MN 試験では反応の低減が推察され、まして *in vivo* では陰性となるのも当然といえます。

【優性致死試験】

赤沼専門委員：

①優性致死試験は雄動物（通常はマウスで実施）に投与し、未処置雌と交配して胎児への影響を調べる試験ですが、対象を雄ラットとするかラットとするかはこれまでの記載に合わせてください。

②「administered」のみなので、経口かどうかわかりません。おそらく経口だと思いますが。

森田専門委員：経口投与との記載は見つけれませんでした。なお、文献(69)に年代情報はありませんでした。昔の DL 試験のほとんどが腹腔内投与でした。

【染色体異常試験】

赤沼専門委員：「ingested」のみなので、混餌投与かどうかわかりません。

森田専門委員：SIDS には異なる場所で「fed」と「ingestion」が使われています。5 日間の投与に混餌投与を選択するとは思えません。強制経口投与の可能性もあり、「経口」が妥当かもしれません。

（事務局）赤沼専門委員、森田専門委員から優勢致死試験、染色体異常試験についての上記のとおりコメントをいただいた後、ECHA の同知見に係る追加情報に基づいてさらに表のとおり修正をいただきました。

【優性致死試験】

赤沼専門委員：

① 他の評価書では動物数を記載していませんでしたが、記載しますか？

②交配時期を記載しました。必要なければ削除してください。

【染色体異常試験】

赤沼専門委員：

他の評価書で細胞採取時間（標本作製時間）を記載してなので、入れました。

「最終投与 2 時間後骨髓細胞採取」

森田専門委員：

「いずれも最終投与 6、24、48 時間後に骨髓細胞採取」と修正。

【結論について：森田専門委員より】

①上記表中の試験で、大腸菌試験、酵母試験、*in vivo* の優性致死および染色体異常試験はいずれも SIDS において「Reliability: (4) not assignable」と評価されています。にもかかわらず、SIDS では、そのテキスト中においても、これらを取り上げています。これらデータの利用は仕方がないことでしょう。

②食品健康影響評価では「動物用医薬品及び飼料添加物として使用された場合、」は必要でしょうか？これまでの評価書の書きぶりはいかがでしょう。

### 3. 急性毒性試験

クエン酸の急性毒性試験結果を表 2 に示した。

表 2 クエン酸の急性毒性試験結果 (参照 12<sup>2</sup>: OECD P.7)

| 動物種 | 性別 | 投与経路 | LD <sub>50</sub><br>(mg/kg 体重/日) | 参照                    |
|-----|----|------|----------------------------------|-----------------------|
| マウス | 雌雄 | 経口   | 5,400                            | 参照 12:OECD<br>P.49,96 |
| ラット | 不明 | 経口   | 3,000                            | 参照 12:OECD<br>P.49    |
|     | 不明 | 経口   | 5,000                            | 参照 12:OECD<br>P.50    |
|     | 不明 | 経口   | ≥ 6,730                          | 参照 12:OECD<br>P.7     |
|     | 不明 | 経口   | 12,000                           | 参照 12:OECD<br>P.49    |
| ウサギ | 不明 | 経口   | 7,000 <sup>a</sup>               | 参照 12:OECD<br>P.49    |

<sup>a</sup>: 最小致死量

#### 【井上専門委員より】

ウサギの試験の値 (7,000) は、LD<sub>50</sub> ではなくおそらく最小致死量のように  
ご確認ください。

(事務局) 最小致死量 (probably lowest lethal dose) でしたので脚注を追記しました。

### 4. 亜急性毒性試験<sup>3</sup>

#### (1) 5 日間亜急性毒性試験 (ラット、クエン酸、強制経口投与混餌投与)

ラット (雌雄各 10 匹/群) にクエン酸を 5 日間強制経口投与 (2,000~16,000 mg/kg 体重/日) する試験を実施し、当該試験の報告書は NOEL をは4,000 mg/kg 体重/日と判断している<sup>4</sup>。(参照 12: OECD P.57,99)

#### (2) 150 日間亜急性毒性試験 (ウサギ、クエン酸ナトリウム、混餌投与)

ウサギ (15 匹/群) に 7.7%クエン酸ナトリウム (5%クエン酸に相当) を 150 日間混餌投与(1,500 mg/kg 体重/日)する試験が実施され、生体への悪影響はみられなかった。当該試験の報告書では NOAEL をは1,500 mg/kg 体重/日と判断している。(参照 12: OECD P.57.)

<sup>2</sup> 各試験の原典は 1923~1992 年頃に報告されており、2001 OECD Screening Information Data Set (SIDS)の資料 (参照 12) を基に表を作成した。急性毒性試験データのうち、経口投与による試験を記載した。

<sup>3</sup> 毒性試験データのうち、原則 NOAEL 又は NOEL を推察し得る毒性情報が確認された試験を記載した。なお、参照資料から用量相関性等の詳細情報が不明であり、本専門調査会では NOAEL を設定しなかった。

<sup>4</sup> NOAEL 判断の根拠 (8000 mg/kg 体重/日以上でみられた毒性影響) については詳細不明。

### (3) 120 日間亜急性毒性試験（イヌ、クエン酸、混餌投与）

イヌ（3 匹/群）にクエン酸を 120 日間混餌投与（1.38g/kg 体重/日）する試験が実施され、生体への悪影響はみられなかった。当該試験の報告書では NOAEL を 1,400 mg/kg 体重/日と判断している。（参照 12 : OECD P.57）

#### 【井上専門委員より】

##### ① 記載する毒性試験データについて

「イヌの 120 日試験」は 1 用量ですが、その用量（1400 mg/kg/day）で無毒性量がとれています。様々な動物種で無毒性量が高いことを示すために、イヌの試験も追記してはいかがでしょうか？他の先生方のご意見を伺えたらと思います。

##### ② 最高用量が NOAEL ではないので、「NOAEL 判断の根拠（8000 mg/kg/day 以上でみられた毒性影響）は不明だが」といった文言を追記する必要はないでしょうか。

##### ③ 脚注 3 に本調査会では NOAEL を設定しないことを記載しているので大丈夫かと思いますが、誤解されないように「OECD は（あるいは当該試験の報告書は）、NOAEL を～～と判断している」と記載したほうがよいかもしれません。

（事務局）ご指摘のとおり追記（一部は脚注）・修正しました。

## 5. 慢性毒性及び発がん性試験<sup>5</sup>

慢性毒性及び発がん性試験の結果から、クエン酸に発がん性を有する懸念はなく、発がんプロモータ作用もないと考えられた。

### (1) 2 年間 24 ヶ月間慢性毒性試験（ラット、クエン酸、混餌投与）

ラット（系統不明、雄雌 20 匹/群）にクエン酸を 2 年間混餌投与（1,200 及び 2,000mg/kg 体重/日）する試験が実施された。高用量投与群では体重増加量成長率がわずかに低下したが、主要器官・臓器に異常はみられなかった。NOAEL は 1,200 mg/kg 体重/日と判断している。（参照 12 : OECD P.60）井上先生ご修文

### (2) 2 年間発がん性試験（ラット、クエン酸、混餌投与）

ラット（雄 20 匹/群）に最大 5%（2,000mg/kg 体重/日に相当）のクエン酸を 2 年間混餌投与（2,000mg/kg 体重/日に相当）する試験が実施され、発がん性はみられなかった。（参照 12 : OECD P.64）井上先生

### (3) 45 週間発がん性試験（ラット、クエン酸、強制経口投与）＜参考資料<sup>6</sup>

発がん物質（詳細不明）を投与したラット（雄 80 匹/群）に、クエン酸を 1 日 3 回 45 週間強制経口投与（470 mg/kg 体重/回）する試験が実施され、クエン酸投与群に肝腫瘍が 3 症例みられたが明らかな発がん促進作用性はみられなかった。（参照 12 : OECD P.65）今井先生

<sup>5</sup> 毒性試験データのうち、原則比較的長期間実施された試験を記載した。

<sup>6</sup> 試験の詳細が不明であることから、すべて参考資料とした。

(4) 8週間発がん性試験（ラット、クエン酸ナトリウム、混餌投与）

ラット（予め [0.05 %BBNBNN](#)<sup>7</sup>を4週間飲水投与後）に1.7%のクエン酸ナトリウム（740mg/kg 体重/日に相当）を、[138](#)-週間混餌投与する二段階発がん試験が実施され、膀胱の移行上皮細胞におけるの増殖速度の指標であるDNA合成の増加（細胞増殖の指標）及び発がん促進作用はみられなかった。（参照 12,143 : OECD [P.65, ono1992](#)）[井上先生、今井先生、吉田先生](#)

【井上専門委員】

慢性毒性及び発がん性試験の冒頭にて、プロモーター作用について言及するのであれば、  
(3) (4) の試験は記載しておいたほうがよいと思いましたが、24 カ月試験で発がん性の判断ができるように思いますので、二段階発がんモデルの (3) (4) は参考でもよいと思いました。

【(3) 45 週間発がん性試験について】

井上専門委員より

① イニシエーターを同時に投与したことがわかる記載は確認できたのでしょうか？元文献は入手できそうにないので、念のため確認をお願いします。

② Three liver tumors developed とあるので、全く腫瘍が誘発されなかったことではないようです。担腫瘍動物が3例だったのか、80匹中3つの腫瘍だったのか詳細はわかりません（いただいた他の資料で詳細確認できるか教えてください）。また、肝臓？を標的とした二段階発がんモデルによる試験のようなので、(3) 二段階発がん試験（肝臓）とし、本文の記載方法は(4)と同様に二段階発がん試験の記載ぶりにしてはいかがでしょうか。ただし、対照群の設定が無かったようなので、二段階発がん試験であっても試験条件が不十分のようです。

高橋専門委員より：

他に参考文献ありでしょうか？

吉田専門委員より：

5 (4) 履歴で消した記載は不要かと思います。もし残すなら「増殖活性の指標である」。

（事務局より）

原典の確認ができず、詳細を確認できない点があることから参考文献と案を修正いたしました。

6. 生殖発生毒性試験（参考資料<sup>8</sup>）

(1) 2 世代繁殖生殖毒性試験[小林先生ご修文](#)（ラット、クエン酸、混餌投与）＜参考資料＞

ラット（雌雄、系統及び匹数不明）に90週間以上、クエン酸を1.2%の飼料中濃度で混餌投与する試験が実施された。繁殖能性、血液性状への影響及び、病理学的変化はみられず、カルシウム濃度への影響もみられなかったが、歯の摩耗損傷率がやや高いと報告されている。（参照 12 : OECD [P.10,69,100](#)）[机上⑦](#)

<sup>7</sup> N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine

<sup>8</sup> 毒性試験データのうち、原則 NOAEL 又は NOEL を推察し得る毒性情報が確認されている試験を記載した。試験の詳細が不明であることから、すべて参考資料とした。



(2) 生殖毒性試験（マウス、クエン酸、混餌投与）＜参考資料＞

マウス（雌、系統及び匹数不明）に交配前、交配中、その後も継続して 5%の飼料中濃度でクエン酸を混餌投与（7,500mg/kg 体重/日相当）する試験が実施され、産児数及び児動物の離乳までの生存に影響はみられなかった。NOELは7,500 mg/kg 体重/日と判断している。（参照 12：OECD P.10,68）机上④

(3) 生殖毒性試験（ラット、クエン酸、混餌投与）＜参考資料＞

ラット（雌、系統及び匹数不明）に交配前、交配中、その後も継続して 5%クエン酸を混餌投与（2,500mg/kg 体重/日相当）する試験が実施され、繁殖能性への影響はみられなかった。NOELは2,500 mg/kg 体重/日と判断している。（参照 12：OECD P.10,69,101）机上⑧

(4) 発生毒性試験（ウサギ、クエン酸、投与経路不明混餌投与）＜参考資料＞

ウサギ（雌、系統及び匹数不明）に妊娠 6 日から 18 日まで、クエン酸を混餌投与（最大 425 mg/kg 体重/日）する試験が実施され、投与に起因する異常は見られず、催奇形性はみられなかった。催奇性及びその他の異常はみられなかった。小林先生 NOELは425mg/kg 体重/日と判断している。（参照 12：OECD P.10,68）机上⑤

【小林専門委員より】これまでの評価書で繁殖能OR繁殖性を統一していただけますか。

【高橋専門委員より】dental attrition の訳語：摩耗

【(4) 発生毒性試験（ウサギ）】

代田専門委員より：参照資料で「混餌」を確認できませんでした。p.68 では unspecified となっています。混入率が記載されていないので、経口投与の可能性も考えられます。

高橋専門委員より：混餌投与を投与経路不明に修正。

(5) 生殖毒性試験（ラット、クエン酸及びクエン酸ナトリウム、混餌投与）＜参考資料＞追記

ラット（性別、系統及び匹数不明）に交配前 29 週から交配後数ヶ月間まで、1.2%クエン酸（600 mg/kg 体重/日に相当）及び 0.1%クエン酸ナトリウムを混餌投与する試験が実施され、繁殖能性に影響はみられなかった。（参照 12：OECD P.10, 66）机上①

(6) 発生毒性試験（ラット、クエン酸、投与経路不明）＜参考資料＞追記

ラット（雌、系統及び匹数不明）に妊娠 6 日から 15 日まで、クエン酸を投与（最大 295 mg/kg 体重/日）する試験が実施され、催奇形性及びその他の異常はみられなかった（参照 12：OECD P.10, 67）机上②

248 (7) 発生毒性試験（ハムスター、クエン酸、投与経路不明）＜参考資料＞追記

249 ハムスター（雌、系統及び匹数不明）妊娠 6 日から 10 日まで、クエン酸を投  
250 与（最大 272 mg/kg 体重/日）する試験が実施され、催奇性及びその他の異常は  
251 みられなかった。（参照 12：OECD P.10, 68）机上⑥

252  
253 (8) 生殖毒性試験（ラット、クエン酸、混餌投与）＜参考資料＞追記

254 マウス及びラット（雌雄、系統及び匹数不明）にクエン酸を 5%飼料混餌投与  
255 する試験が実施され、マウスの摂餌量の低下はみられなかったものの、体重増加  
256 量の減少、生存期間の短縮、成熟したマウスにわずかに影響がみられた。両動物  
257 種において、産児数、離乳までの生存に影響はみられなかった。（参照 12：  
258 OECD P.10, 70）机上⑩

259  
【代田専門委員より】

- ① 「NOAEL 又は NOEL が確認されている試験を記載した」とのことですが、参照資料での NOAEL 又は NOEL の有無はオリジナルの試験資料での記載の有無を反映していることではないでしょうか？ご確認ください。選抜基準を原則として NOAEL 又は NOEL を推測し得る毒性情報の有無にしていかがでしょうか？
- ② 参考資料では、NOAEL や NOEL の記載は不要ではないでしょうか？試験の目的に沿った情報（繁殖性や催奇形性、母毒性など）の記載と影響のみられた用量が記載されていれば参考になると思われます。
- ③ 追加記載ですが、少なくともラットの経口投与による発生毒性に関する 2 試験は参考資料として追記してください。

【高橋専門委員より】

ラット妊娠 6-15 日（投与経路不明, up tp 295 mg/kg bw/day, OECD P.67）試験とハムスター妊娠 6-10 日（投与経路不明, up tp 272 mg/kg bw/day, OECD P.68）試験の記載が必要。OECD の生殖発生毒性試験のサマリー（P.20, 3.5）掲載の試験は参考資料として掲載すべきと考えます。

一方、上記試験のうち P.70 のマウス・ラット雌雄の試験は投与期間が不明であり対照群データの提示がないので掲載すべきでないと考えます。

260  
261  
262 7. ヒトにおける知見

263 ヒト（女性）がクエン酸 25 g（417 mg/ kg 体重に相当）を単回摂取したところ、嘔吐及び非常に重篤な致死的な山中先生ご修文中毒症状が 1 状態となった例との報告があるされている。生物学的利用率を評価する目的でヒト（試験ボランティア）14 人にクエン酸マグネシウムカルシウム、クエン酸カリウムまたはクエン酸マグネシウムを投与（クエン酸 4,700 mg に相当）する試験では、胃腸への明らかな影響はみられなかった。赤沼先生（参照 12：OECD P.11,17,73）

269 腎結石の患者が治療薬としてクエン酸カリウム及びクエン酸ナトリウム（最大  
270 15 g/日）を繰り返し服用したところ、クエン酸カリウムの固形剤を服用している患者 75 人中 7 人、クエン酸カリウムの水薬を服用している患者 81 人中 22 人  
271 に、軽度の胃腸障害（下痢、消化不良、吐き気、灼熱感）がみられたが、  
272 著しい副作用はみられなかった。赤沼先生  
273



健常なヒト（男性、10名）にクエン酸ナトリウム 6 g を 10%水溶液として 4 日間投与した結果、血中の酸と塩基のバランスに影響がみられ、尿は更にアルカリ性になり、ナトリウム排泄の増加、マグネシウム及びカリウム排泄の減少がみられた。

一般に、クエン酸は強力なキレート剤であり、食品からの摂取により、金属の吸収および排泄に干渉するを妨げる可能性があるとされている。さらに、天然果汁等の飲料を介した高橋先生クエン酸の頻繁な摂取は、歯のエナメル質の消失喪失及び酸蝕症侵食局所的な刺激に影響をおこすするとされており、天然果汁を含む飲料水を介してクエン酸を摂取した労働者の歯に明らかな影響を与えたことが報告されている。（参照 12 : OECD P.19）赤沼先生

【山中専門参考人】

“Ingestion of a single dose of 25 g of citric acid by a woman (corresponding to approx. 417 mg/kg) caused vomiting and **nearly dying** in one reported case. only one case of near fatal human intoxication was found.”

で、nearly となっておりひどく重篤であったということを表現しています。日本語で「致死的な症状があった」と書くこと死亡したことになると思うので、「非常に重篤な症状があった」などの表現に変えた方がよいと思います。

【赤沼専門委員】

嘔吐及び瀕死状態となったとの報告がある致死的な中毒症状が 1 例報告されている。

【歯への影響について】

高橋専門委員：“原文：Beverages including natural fruit juices”

Contain ではなく include なので、成分として含まれると誤解されない表現を勧めます。

赤沼専門委員：メッキ工場でクエン酸も使われるようで、酸を扱う労働者におこる歯の酸蝕症のことだと思います。

### III. 国際機関等の評価

#### 1. JECFA における評価

JECFA は、1973 年の第 17 回会合において、食品添加物としてのクエン酸及びクエン酸塩を評価し、クエン酸カルシウム、クエン酸カリウム、クエン酸ナトリウム及びクエン酸アンモニウム塩のグループ ADI を検討したが、クエン酸は天然の食品の構成成分であるため、食品添加物として摂取することについて、天然食品の摂取量との比較や各種毒性試験データは必要ないとし、ADI は制限しない (Not limited) と結論づけた。また、2014 年の再評価においても食品添加物としてクエン酸の ADI を検討し、ADI は制限しないと評価している。（参照 154 : JECFA2014）

#### 2. EU における評価

井上先生、高橋先生ご修文

SCF は、1990 年、クエン酸、クエン酸マグネシウム及びクエン酸カリウムについて食品添加物として評価を行い、ADI を特定しない (Not specified) とした。

EFSA は、2006 年、クエン酸、クエン酸マグネシウム及びクエン酸カリウムそれ

302 それぞれの安全性評価を基礎として、クエン酸マグネシウムカリウムの安全性評価を  
303 行った。の安全性を評価し、クエン酸はクエン酸回路の中間代謝物であり、クエン  
304 酸塩は多くの食品中に存在し、体内では代謝物として通常存在することから、  
305 安全上の懸念はないと結論している。SCFは、ADIを特定しない (Not specified) とし  
306 た。（参照 6:EFSA2006）

307 EFSA は、2015 年、飼料中の pH 調整剤として使用される場合のクエン酸につ  
308 いて安全性を評価し、全動物種に対する15,000 mg/kg 飼料混餌及び 5,000 mg/L  
309 の混水投与は、対象動物種及び消費者に対して安全であると判断している。（参照  
310 7: EFSA2015）

311 EFSA の FAF 委員会は、2020 年、食品添加物としてのクエン酸エステルの再評  
312 価を行い、クエン酸エステルの消化管内加水分解産物はいずれもは食品に通常含  
313 まれる成分であり、入手可能な毒性試験データからヒトへの有害な影響は確認さ  
314 れないことから、ADI の数値設定は不要とした。（参照 165: EFSA2020）  
315

【EFSA2006 について】

高橋専門委員：年代順の記載が良いと思います。

井上専門委員：

EFSA 2006 は、ここに記載いただいた各々に関する意見書ではなく、CAS. 137590-34-2  
の Magnesium Potassium Citrate (Mg, K が両方ついている) のようです。Potassium  
magnesium citrate | C12H10K4MgO14 - PubChem (nih.gov)

ご確認いただけますか？Magnesium Potassium Citrate を評価する中で、クエン酸や Mg,  
K が 1991 年の評価で ADI not specified と評価した（当時は EFSA の前身であった？SCF  
が JECFA による ADI not specified とした判断に同意した）との記載があった、というこ  
とかと理解しています。

（事務局）ご指摘を受けて、修正いたしました。

【EFSA2006 について（全動物種に対する）】

高橋専門委員；p.11 の記載は 30000 mg/kg に関するものであり、Conclusion にはこのよ  
うな表現はありません。削除してはどうでしょうか

【EFSA2020 について（クエン酸エステル）】

高橋専門委員：クエン酸の脂肪酸エステルは食品に通常含まれるものかどうか参照 15 か  
らは読み取れませんでした。

316  
317 3. OECD における評価

318 OECD は、2001 年の第 11 回 SIAM において、多数の毒性試験成績及びヒトの  
319 知見に基づいてクエン酸を評価した結果、非常に重篤致死的な山中先生ご修文中毒  
320 症状が 1 例状態となった報告があるされているものの、急性毒性に関して有害性  
321 は低く、遺伝毒性、発がん性及び生殖発生毒性を有しないと報告した。ラットに  
322 対する反復投与毒性試験における NOAEL は 1,200 mg/kg 体重/日、生殖毒性の  
323 NOAEL は 2,500 mg/kg 体重/日と特定した。

324 クエン酸のヒトへの感作性は低いとみられるが、眼や呼吸器、皮膚に対する刺  
325 激性は強く、クエン酸の主要な有害作用として取り扱い上注意が必要であると報  
326 告している。（参照 12: OECD,P.24）

#### 4. 米国における評価

FDA は、クエン酸は飼料添加物及び食品添加物として安全であるとしている。  
(参照 8 : FDA)

#### 5. オーストラリアにおける評価

NICNAS は、クエン酸をオーストラリア 有害化学物質規制 IMAP プログラムによる分類において段階 II の物質として評価を行い、クエン酸の呼吸器、皮膚、眼に対する刺激性を踏まえ労働安全に関する規制を設けることを勧告したものの、経口摂取による急性毒性及び反復投与毒性試験の結果は健康に有害な影響を及ぼす懸念はないとし、遺伝毒性、発がん性及び生殖発生毒性はないと報告した。  
参照 176 : AU)

### IV. 食品健康影響評価

クエン酸について食品健康影響評価を実施した。

クエン酸の体内動態については、吸収あるいは生体糖代謝の中間物質として体内で合成された後、速やかにクエン酸回路において代謝され、尿、糞及び呼気中に排泄されると考えられている。

したがって、動物に投与されたクエン酸は、動物体内で蓄積しないと考えられ、食品を通じて動物用医薬品及び飼料添加物由来のクエン酸をヒトが過剰に摂取することはないものと考えた。

遺伝毒性試験において、クエン酸を用いた *in vitro* の小核試験、コメットアッセイ及び一部の染色体異常試験の結果が陽性であったが、*in vivo* における優性致死試験及び染色体異常試験のいずれの試験の結果も陰性であったことから、クエン酸は生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないと考えられた。クエン酸の *in vitro* 及び *in vivo* の全ての試験において陰性の結果が得られており、クエン酸に遺伝毒性はないと考えられる。

慢性毒性及び発がん性試験では発がん性はみられなかった。

クエン酸は、食品中や天然に存在し、食品添加物としても長年使用されており、これらクエン酸を含む食品の食習慣における弊害は認められていない。また、我が国におけるヒト用医薬品及び食品添加物等、さまざまな分野での使用実績においても、これまでに安全性に関する特段の問題は認められていない。

国際機関における評価において、クエン酸の経口摂取により安全性に懸念を生じさせる特段の毒性影響は認められなかった。

以上のことから、クエン酸は、動物用医薬品及び飼料添加物としての ADI を設定する必要はなく、動物用医薬品及び飼料添加物として通常使用される限りにおいて、食品に残留しその食品を摂取することにより人の健康を損なうおそれのないことが明らかであると考えた。

367                   〈別紙：検査値等略称〉

| 略称等                  | 名称                                                                                |
|----------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|
| ADI                  | Acceptable Daily Intake：許容一日摂取量                                                   |
| <a href="#">ECHA</a> | <a href="#">The European Chemicals Agency</a> ：欧州化学物質庁                            |
| EFSA                 | European Food Safety Authority：欧州食品安全機関                                           |
| FAF                  | The Panel on Food Additives and Flavourings：食品添加物及び香料に関するパネル（EFSA）                |
| FDA                  | Food and Drug Administration：米国食品医薬品庁                                             |
| IMAP                 | Inventory Multi-tiered Assessment and Prioritisation: 既存化学物質多段階評価・優先順位付け          |
| JECFA                | Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives：FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議             |
| LD <sub>50</sub>     | 50% lethal dose：半数致死量                                                             |
| LOAEL                | Lowest-Observed-Adverse-Effect Level：最小毒性量                                        |
| NICNAS               | National Industrial Chemicals Notification and Assessment Scheme：国家工業化学品届出・審査スキーム |
| NOAEL                | No-Observed-Adverse-Effect Level：無毒性量                                             |
| NOEL                 | No-Observed-Effect Level：無作用量                                                     |
| OECD                 | Organisation for Economic Co-operation and Development：経済協力開発機構                   |
| SCF                  | Scientific Committee for Food: 食品に関する科学委員会（EFSA）                                  |
| SIAM                 | SIDS Initial Assessment Meeting：SIDS 初期評価会議（OECD）                                 |
| SIDS                 | Screening Information Data Set                                                    |

368

369

## 〈参照〉

1. Merck Index Web 版  
<https://www.rsc.org/Merck-Index/searchresults?searchterm=Citric%20acid>
2. 第 8 版食品添加物公定書解説書. 谷村顕雄、棚元憲一監修 2007 年 廣川書店
3. 農林水産省動物医薬品検査所ホームページ 動物医薬品等データベース  
<https://www.vm.nval.go.jp/>
4. 独立行政法人 医薬品医療機器総合機構ホームページ : <http://www.pmda.go.jp/>
5. 食品衛生法施行規則 (昭和 23 年厚生省令第 23 号)
6. EFSA Journal 2006; 392,1-6. Opinion of the Scientific Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Materials in Contact with Food On a request from the Commission related to Magnesium Potassium Citrate as a source of magnesium and potassium in food for particular nutritional uses, food supplements and foods intended for the general population.
7. EFSA Journal 2015;13(2):4010 Scientific Opinion on the safety and efficacy of citric acid when used as a technological additive (acidity regulator) for all animal species.
8. FDA. CFR - Code of Federal Regulations Title 21. 21CFR582.6033.PART 582 -- SUBSTANCES GENERALLY RECOGNIZED AS SAFE. 582.6033 Citric acid.
9. 食品衛生法第 13 条第 3 項の規定により人の健康を損なうおそれのないことが明らかであるものとして厚生労働大臣が定める物質を定める件 (平成 17 年厚生労働省告示第 498 号)
10. 平成 20 年度 農薬等のポジティブリスト制度における対象外物質の食品健康影響評価に関する情報収集調査 報告書 平成 21 年 3 月.
11. 2015 年 (原著 : [茂木正行, 中尾美津男, 後藤由紀子, 伊東富晴, 松木容彦 : ラットにおける [14C]Triethyl Citrate の吸収、分布、代謝及び排泄. 医薬品研究, 1986 ; 17(4) : 714-25])
12. OECD SIDS. SIDS Initial Assessment Report for 11th SIAM (Orlando, Fla., January 2001). Citric acid.
- 12,13. [European Chemicals Agency \(ECHA\): Citric acid, Genetic toxicity](https://echa.europa.eu/cs/registration-dossier/-/registered-dossier/15451/7/7/2)  
<https://echa.europa.eu/cs/registration-dossier/-/registered-dossier/15451/7/7/2>
- 13,14. [ono.1992.CAS-83-0955.pdf\\_safe](#)
- 14,15. JECFA. Evaluations of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) CITRIC ACID 2014.
- 15,16. EFSA Journal 2020.6032 Re-evaluation of acetic acid, lactic acid, citric acid, tartaric acid, mono- and diacetyltartaric acid, mixed acetic and tartaric acid esters of mono- and diglycerides of fatty acids (E 472a-f) as food additives
- 16,17. AUS.2013.Citric acid\_Human health tier II assessment