資料１

（案）
添加物評価書

硫酸銅

令和４年（２０２２年）２月

食品安全委員会ぶどう酒の製造に用いる
添加物に関するワーキンググループ

目次

頁
〇審議の経緯 2
〇食品安全委員会委員名簿 2
〇食品安全委員会ぶどう酒の製造に用いる添加物に関するワーキンググループ専門委員名簿 2
要　約 4
Ⅰ．評価対象品目の概要 5
　１．用途 5
　２．名称等 5
　３．化学式 5
　４．分子量 5
　５．性状 5
　６．製造方法 5
　７．安定性 6
　８．起源又は発見の経緯 6
　９．ぶどう酒の製造における本品目の特徴 6
　１０．我が国及び諸外国等における使用状況 7
　１１．評価要請の経緯及び添加物指定の概要 9
Ⅱ．一日摂取量の推計等 11
　１．現在の摂取量 11
　２．使用基準改正後の摂取量 28
Ⅲ．安全性に係る知見の概要 31
　１．体内動態 31
　２．毒性 62
　３．ヒトにおける知見 91
Ⅳ．我が国及び国際機関等における評価 95
　１．我が国における評価 95
　２．国際機関等における評価 96
Ⅴ．食品健康影響評価 101
　１．　銅イオン 102
　２．　硫酸イオン 103
＜別紙：略称＞ 104
＜参照＞ 105

○審議の経緯

2021 年 9 月 28 日	厚生労働大臣から添加物の規格基準改正に係る食品健康影響評価について要請（令和 3 年 9 月 28 日厚生労働省発生食 0928 第 1 号）、関係書類の接受
2021 年 10 月 5 日	第 834 回食品安全委員会（要請事項説明）
2021 年 12 月 9 日	第 6 回ぶどう酒の製造に用いる添加物に関するワーキンググループ
2022 年 1 月 31 日	第 7 回ぶどう酒の製造に用いる添加物に関するワーキンググループ
2022 年 2 月 24 日	第 8 回ぶどう酒の製造に用いる添加物に関するワーキンググループ

○食品安全委員会委員名簿

（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

○食品安全委員会ぶどう酒の製造に用いる添加物に関するワーキンググループ専門委員名簿

（2021 年 10 月 1 日から）

梅村　隆志（座長）
石塚　真由美（座長代理）
伊藤　清美
杉山　圭一
髙須　伸二
多田　敦子
戸塚　ゆ加里
松井　徹

＜第 6 回～、第 7 回、第 8 回ぶどう酒の製造に用いる添加物に関するワーキンググループ専門参考人名簿＞

奥田　徹（山梨大学大学院総合研究部附属　ワイン科学研究センター長）
瀧本　秀美（国立研究開発法人 医薬基盤・健康・栄養研究所 国立健康・栄養研究所　栄養疫学・食育研究部長）

北條　仁（一般財団法人残留農薬研究所　毒性部生殖・発生毒性研究室長）

1
2

1

要　約

事務局より：

「要約」は、「Ⅴ．食品健康影響評価」を記載した後、記載いたします。

2

Ⅰ．評価対象品目の概要

１．用途

製造用剤（参照1、2、3、4）【委員会資料、概要書、7、8】

２．名称等

和名：硫酸銅

英名：Cupric Sulfate（参照 1、5）【委員会資料、1】

【第６回WGにて確認済み】
多田専門委員：
~~P5,~~ ２．名称等の和名が、硫酸銅（Ⅱ）となっておりますが、添加物の名称に合わせ硫酸銅とする方が良いのではないでしょうか。実際の化学式については、3．化学式に示されています。

事務局より：
ご意見を踏まえ、修正いたしました。

３．化学式

$CuSO_4・5H_2O$（硫酸銅（II）五水和物）[1]（参照 1、5）【委員会資料、1】

【第６回WGにて確認済み】
多田専門委員：
~~P5,~~ ３．化学式及び４．分子量において、（五水和物）となっておりますが硫酸銅の場合は（Ⅰ）と（Ⅱ）がありますので、（Ⅱ）であることが明確になるように、（硫酸銅（Ⅱ）五水和物）とするほうが良いと思います。

事務局より：
ご意見を踏まえ、３．化学式及び４．分子量の記載を修正いたしました。

４．分子量

249.69（硫酸銅（II）五水和物）（参照 5）【1】

５．性状

今般、厚生労働省に「硫酸銅」[2]の規格基準の改正を要請した者（以下「規格基準改正要請者」という。）は、その成分規格について、「本要請において、成分規格の変更はない。」としている（参照 2）【概要書】。現在の成分規格では、性状として「本品は、青色の結晶若しくは粒又は濃青色の結晶性の粉末である」とされている。（参照 1）【委員会資料】

６．製造方法

[1] CAS 登録番号：7758-99-8（硫酸銅（II）五水和物）
[2] 本評価書では、指定添加物としての硫酸銅を表す際には「硫酸銅」と表記し、また指定添加物としての硫酸亜鉛等も同様に表記した。

規格基準改正要請者は、「硫酸銅」の製造方法について、「銅くずを強熱し、過量の硫黄を加えて二硫化銅を作る。反応終了後、再び加熱すると硫化銅は硫酸銅に酸化されるので、熱時希硫酸に溶かし、濃縮して結晶化させる」又は、「銅くずに硫酸を加え、加熱すると二酸化硫黄を発生して硫酸銅が生成する。この際、硫酸に少量の硝酸を加えると反応は促進される。銅くず 30 部を蒸留水 250 部、硫酸 50 部及び 25%硝酸 80 部よりなる混液中に加え、加熱して銅を完全に溶解させる。更に加熱して蒸発乾固し、硝酸を除き、残留物を 1.5 倍量の蒸留水に加熱して溶かし、このろ液を濃縮して硫酸銅の結晶を析出させる」としている。（参照 2、6）【概要書、31】

7．安定性

規格基準改正要請者は、「硫酸銅（II）五水和物は、結晶水を 5 分子含有しているが、25℃に放置すると 2 分子、110℃では 4 分子、250℃では 5 分子の結晶水が失われる。通常、製品としては固体状態で安定である[3]」と説明している。（参照 2、6、7）【概要書、31、78】

8．起源又は発見の経緯

規格基準改正要請者は、国際ブドウ・ワイン機構（OIV[4]）が 1989 年に、現行の国際的ワイン醸造規範に収載されている硫酸銅（II）五水和物の規定を採択し、その使用目的として硫化水素による好ましくない香味の除去を挙げていると説明している。（参照 2、4）【概要書、8】

9．ぶどう酒の製造における本品目の特徴

規格基準改正要請者は、硫酸銅の水への溶解度は 20.7 g/100 mL（無水物として）（20℃）と大きいので、「硫酸銅」を表 1 の使用基準案上限の 10 mg/L 添加した場合、硫酸銅は、式 1 のとおりぶどう酒中で銅イオンと硫酸イオンに解離し、式 2 のとおり銅イオンが不快な臭いの原因となる硫化水素[5]（参照8、9）【87、88】と反応することによって硫化銅を生成すると説明している（参照 2、6、10、11）【概要書、31、90、91】。また、硫化銅（CuS）の水への溶解度は 0.000033 g/100 mL（18℃）と極めて低く、水やエタノールに不溶とされており、生成した硫化銅（CuS）は沈殿し、おり引きやろ過により取り除かれると説明している（参照 2、8、11、12、13）【概要書、87、91、93、94】。なお、硫酸銅は一般的に発酵終了後のぶどう酒に添加されることが多く、10 mg/L の硫酸銅を添加した実験では、

[3] 原著では、「意図されたとおりに使用され、取り扱われ、保管された場合には分解しない」と記載されている。
[4] 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。
[5] 硫化水素は、ぶどう酒の香りの複雑さに貢献する一方で、腐った卵臭といった不快な香りの原因となる。硫化水素は、酵母が代謝の過程で生成することが知られており、ブドウ果粒中に、酵母の栄養素としての窒素が欠乏すると、酵母はより多くの硫化水素を生成することが報告されている。

添加された銅については、発酵開始時に添加した場合は添加量の 9 割程度が、また発酵終了後に添加した場合には 4 割程度が除去されるとされている。（参照14）【92】

式 1　$CuSO_4 \rightarrow Cu^{2+} + SO_4^{2-}$

式 2　$Cu^{2+} + H_2S \rightarrow CuS + 2H^+$

【第６回WGにて確認済み】
奥田専門参考人：
ワインの部分を中心に読んでみましたが、特に大きな問題になる部分は無いと思いました。
還元臭はワイン業界では大きな問題になっており、散見されます。海外では普通に用いられる硫酸銅が使えるようになることは、ワインメーカーにとっては朗報です。
健康上問題が無ければ、この提案で良いような気がいたします。

【第６回WGにて確認済み】
多田専門委員：
p6, L29、p6, L31 の 2 か所の硫化銅について
硫化銅も（Ⅰ）と（Ⅱ）があり、式２を見れば硫化銅（Ⅱ）の CuS であることが分かりますが、それぞれ（Ⅱ）についての情報であることが明確になるよう、いずれも、硫化銅（CuS）としてはいかがでしょうか。

事務局より：
ご意見を踏まえ、修正いたしました。

１０．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、「硫酸銅」は、1957 年に食品添加物として指定されたが、1971 年に削除され、改めて 1983 年にグルコン酸銅とともに銅塩類として一括して指定されている。（参照 6）【31】

人工栄養児の銅欠乏症の発現予防の観点から、母乳代替食品へのみ使用が認められており、標準調乳濃度に調製したとき銅として 0.6 mg/L 以下の範囲での添加が認められている。（参照 6、15、16）【31、32、33】

（２）諸外国等における使用状況

①　コーデックス委員会

硫酸銅は、食品添加物に関するコーデックス一般規格（GSFA）のリストに収載されていない。なお、GSFA における食品添加物の定義に加工助剤や栄養強化剤は含まれておらず、加工助剤については、「加工助剤として使用される物質に関するガイドライン」において、適正製造規範（GMP）の条件に従い使用するものとするとされている。（参照17、18、19）【18、19、20】

② 米国における使用状況

硫酸銅は、一般に安全とみなされる（GRAS）物質とされており、加工助剤や栄養補助剤としてGMPの条件に従い食品に使用することが認められている。（参照20）【24】

また、ワイン醸造規則において、ワインから硫化水素等を除去する目的で硫酸銅を用いる場合は、硫酸銅の添加量は、銅として6.0 mg/Lを超えないこと、最終製品において銅の残留濃度が0.5 mg/Lを超えないことが規定されている。（参照21）【9】

ただし、2018年に、米国産ワインに関する規則において、最終製品における銅の残留濃度を0.5 mg/Lから1 mg/Lに引き上げることが予備的結論として承認されている。（参照22）【25】

③ 欧州連合における使用状況

欧州連合（EU）において、硫酸銅は食品添加物として指定されていない[6]。（参照23、24）【21、22】

一方、EU域内で適用される醸造規則において、硫酸銅（II）五水和物の使用上限は、処理された製品の銅濃度が1 mg/L（未発酵の新鮮なぶどうのマスト[7]や、わずかに発酵したぶどうのマストから作られたリキュールワイン[8]では2 mg/L）を超えて残存しないことを条件として、1 g/hL（10 mg/L）以下とされている。（参照25）【4】

【第６回WGにて確認済み】 多田専門委員： p8, L19の1 g/hLの部分は単位が異なるため、1 g/hL（10 mg/L）としてはいかがでしょうか。 事務局より： ご意見を踏まえ、追記いたしました。
【第７回WGにて確認済み】 事務局より： 第６回 WG のご意見を踏まえ、④中「1 g/hL」~~P8L28 と同様に、P9L9~~ にも「（10 mg/L）」を併~~追~~記しました。

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

オーストラリアとニュージーランドで共通する加工助剤に関する規則において、硫酸銅は、脱色剤、清澄剤、ろ過剤、吸着剤として、GMP下で、あら

[6] EU域内で使用が認められている食品添加物及びその使用基準が規定された欧州議会・閣僚理事会規則1333/2008には、硫酸銅の記載はない。なお、同規則は加工助剤には適用されない。

[7] 規格基準改正要請者は、用語の定義として、マストは「一般的に、ぶどうを除梗・破砕してできた果汁でアルコール発酵が終了していないものを指す。」としている。

[8] 規格基準改正要請者は、用語の定義として、リキュールワインは「ぶどうのマスト、ワイン若しくはそれらの混合物に、ぶどう由来の蒸留物等を加えた酒類で、我が国においては一般的にぶどう酒に該当する。」としている。

ゆる食品に使用することが認められている。（参照26、27）【27、28】

オーストラリアでは、硫酸銅は、ワイン、発泡ワイン及び強化ワインに対して加工助剤として GMP 下での使用が認められている。（参照28）【10】

また、EU とワインの取引に関する協定[9]において、硫酸銅は、処理された製品の銅濃度が 1 mg/L を超えないことを条件として、最大 1 g/hL（10 mg/L）まで使用でき、その範囲で硫酸銅を使用して製造したワインを相手国内で流通できるとされている。（参照29、30）【29、30】

１１．評価要請の経緯及び添加物指定の概要

今般、「硫酸銅」について、厚生労働省に規格基準改正の要請がなされ、関係書類が取りまとめられたことから、食品安全基本法（平成 15 年法律第 48 号）第 24 条第 1 項第 1 号の規定に基づき、食品安全委員会に対して、食品健康影響評価の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、「硫酸銅」の使用基準について、表 1 のとおり改正することを検討するとしている。（参照 1）【委員会資料】

表 1　「硫酸銅」の使用基準改正案

改正案	現行
硫酸銅は、ぶどう酒及び母乳代替食品以外の食品に使用してはならない。 硫酸銅の使用量は、硫酸銅（II）五水和物として、ぶどう酒にあってはその 1 L につき 10 mg 以下でなければならない。また、硫酸銅は、銅として、ぶどう酒にあってはその 1 L につき 2 mg を超えて残存しないように使用しなければならない。	硫酸銅は、母乳代替食品以外の食品に使用してはならない。
硫酸銅は、母乳代替食品にあっては、乳及び乳製品の成分規格等に関する省令別表の二 乳等の成分規格並びに製造、調理及び保存の方法の基準の部（五）乳等の成分又は製造若しくは保存の方法に関するその他の規格又は基準の款（6）の規定による厚生労働大臣の承認を受けて使用する場合を除き、母乳代替食品を標準調	硫酸銅は、乳及び乳製品の成分規格等に関する省令別表の二乳等の成分規格並びに製造、調理及び保存の方法の基準の部（五）乳等の成分又は製造若しくは保存の方法に関するその他の規格又は基準の款(6)の規定による厚生労働大臣の承認を受けて使用する場合を除き、母乳代替食品を標準調乳濃度に調乳したとき、その 1

[9] 2009 年に「ワインの取引に関する欧州共同体とオーストラリア間の協定（Agreement between the European Community and Australia on trade in wine）」を締結しており、この協定は 2020 年時点でも有効である。

乳濃度に調乳したとき、その 1 L につき、銅として、0.60 mg を超える量を含有しないように使用しなければならない。	L につき、銅として、0.60 mg を超える量を含有しないように使用しなければならない。

1

Ⅱ．一日摂取量の推計等

Ⅰ．９のとおり、ぶどう酒に硫酸銅を使用した場合、硫酸銅はぶどう酒中で銅イオンと硫酸イオンに解離するため、硫酸銅に加え、銅イオン及び硫酸イオンの摂取量についても推計を行った。

１．現在の摂取量

（１）硫酸銅

規格基準改正要請者は、現行の使用基準の下、「硫酸銅」は、人工栄養児の銅強化を目的として使用されているが、現状、「硫酸銅」を摂取する可能性があるのは乳児のみであるから、今般の使用基準改正により新たに使用対象食品となるぶどう酒を摂取する可能性がある 20 歳以上の成人については、その摂取はないと説明している。（参照 2、6、15、16）【概要書、31、32、33】

本ワーキンググループは、20 歳以上の成人においては、現在は「硫酸銅」の摂取はないと考えた。

（２）銅イオン

①　食事由来の~~銅の~~摂取量

「令和元年国民健康・栄養調査報告」によると、銅の一日摂取量は、20 歳以上の男女で 1.14 mg/人/日である。（参照31）【162】

②　添加物由来の~~銅の~~摂取量

規格基準改正要請者は、添加物由来の銅について、「硫酸銅」は母乳代替食品に、「銅クロロフィリンナトリウム」及び「銅クロロフィル」は一部の食品に、「グルコン酸銅」は母乳代替食品、特定保健用食品及び栄養機能食品に使用することが認められていると説明し（参照 2、6、15、16）【概要書、31、32、33】、これらのうち、「銅クロロフィリンナトリウム」及び「銅クロロフィル」由来の銅については、「令和元年国民健康・栄養調査報告」において示された食事由来の銅の摂取量に含まれていると説明している（参照 2）【概要書】。また、「グルコン酸銅」由来の銅については、食品、添加物等の規格基準（昭和 34 年厚生省告示第 370 号）において、「グルコン酸銅は、特定保健用食品及び栄養機能食品に使用するとき、当該食品の一日当たりの摂取目安量に含まれる銅の量が 5 mg を超えないようにしなければならない」と定められている。（参照32）【163】

以上より、規格基準改正要請者は、添加物由来の銅の摂取量を最大 5 mg/人/日と仮定し、これに、食事由来の銅の摂取量である 1.14 mg/人/日を合計し、現在の銅の摂取量を 6.14 mg/人/日と推計している。

本ワーキンググループは、母乳代替食品に使用された「グルコン酸銅」由来の銅の摂取については、今般の使用基準改正により新たに使用対象食品となるぶどう酒を摂取する可能性がある 20 歳以上の人は摂取することはないと考える。そうすると、規格基準改正要請者の説明は妥当と考えられ、現在の銅の摂取量を 6.14 mg/人/日と推計した。

【第６回WGにて確認済み】
多田専門委員：
P11,L35-37 について
下記の下線部分のように変更してはいかがでしょうか。
以上より、規格基準改正要請者は、添加物由来の銅の摂取量を最大 5 mg/人/日と仮定し、現在の銅の摂取量~~は、~~として食品由来及び添加物由来の銅の摂取量 1.14 mg/人/日を合計し、6.14 mg/人/日と推計し~~た~~ている。

事務局より：
ご意見を踏まえ、修正いたしました。

（３）硫酸イオン

事務局より：
第７回 WG での議論を踏まえ、現在の硫酸イオンの摂取量は、米国医学研究所（IOM）（2005）【167】を参考に、①食事中のたんぱく質（含硫アミノ酸）、②飲料水に含まれる硫酸塩及び③食事中の無機硫酸塩由来のものについて推計しました。

	硫黄含有化合物				
	有機物		無機物		
	たんぱく質（含硫アミノ酸）	その他（チアミン、タウリン等）	硫酸塩		その他（亜硫酸塩等）
			添加物	その他	
食事中	①	(P)	③	③において別途算出方法をお尋ねしています	(P)
飲料水中	—	—	②		—

チアミン等の含硫有機物や亜硫酸塩等の硫酸塩以外の含硫無機物については無視できる程度と考え、推計しないことでよろしいか、改めて確認させてください。

現在の硫酸イオンの摂取量は、米国医学研究所（IOM）[10]（2005）を参考に、食事中のたんぱく質（含硫アミノ酸）、飲料水に含まれる硫酸塩及び食事中の無機硫酸塩に由来するものを推計した。

① 食事（たんぱく質（含硫アミノ酸））由来の摂取量

~~米国医学研究所~~ IOM[11]（2005）は、~~たんぱく質のほか、無機物及び飲料水由来のものも含め、硫酸塩の合計一日摂取量を 3.25～5.55 g/人/日[12]（平均 4.40 g/人/日）と推計している。そして、~~たんぱく質由来の含硫アミノ酸であるメチオニン及びシステインの一日摂取量である各~~それぞれ~~ 2 g（計 4 g）が酸化される結果、合計 960 mg[13]の硫黄又は 2.8 g[14]の無機硫酸が生じるとしている。（参照33）【167】

~~そこで~~本ワーキンググループは、表 2 のとおり、食品群毎のたんぱく質の一日摂取量【追 6 令和元年国民健康・栄養調査報告 第 9 表の 2】に、たんぱく質中のメチオニン及びシスチン[15]の平均含量【追 7、追 8 日本食品標準成分表 2020 年版（八訂）アミノ酸成分表編】を乗じて~~、~~両アミノ酸の一日摂取量を求め（参照 31、34）【追 6、追 7、追 8】、次に、両アミノ酸中の硫黄の割合（硫黄の原子量/各アミノ酸の分子量）を乗じてそれらを合計し、これを硫酸イオンに換算した結果、~~表 2 のとおり、~~たんぱく質（含硫アミノ酸）由来の一日摂取量~~は~~を、20 歳以上で 2.2 g/人/日（硫酸イオン相当量）と推計~~され~~した。（参照 34）【追 7】

【第７回WGにて確認済み】
事務局より：
第６回 WG において、瀧本専門参考人より、「令和元年国民健康・栄養調査報告」及び「日本食品標準成分表 2020 年版（八訂）アミノ酸成分表編」を用いて、たんぱく質由来の摂取量の推計がある程度可能とのご意見をいただきました。
また、米国医学研究所（2005）【167】は、たんぱく質由来の硫酸の算出方法は明示しておりませんが、その結果からすると、たんぱく質中のメチオニン及びシステインの摂取量（それぞれ 2 g/日）に、各アミノ酸中の硫黄の割合（硫黄の原子量/各アミノ酸の分子量）を乗じたものを合計（960 mg）し、これを硫酸イオンに換算（960 mg×硫酸イオンの式量／硫黄の原子量＝2.8 g）して算出していると考えられました。
以上を基に、食事（たんぱく質（含硫アミノ酸））由来の硫酸イオン（相当量）の摂取量を以下のとおり推計しました。
まず食品群毎のたんぱく質の一日摂取量（下表 A。「令和元年国民健康・栄養調査報告」参

[10] 現在は米国医学アカデミー（National Academy of Medicine）に改称。

[12] ~~食事中のたんぱく質（含硫アミノ酸）アミノ酸由来 2.8 g/人/日、飲料水由来 0.26～1.3 g/人/日、食品中の無機硫酸塩由来 0.2～1.5 g/人/日を合計したもの。~~

[13] メチオニン及びシステインが全て酸化され、これらの硫黄の割合（硫黄の原子量/各アミノ酸の分子量）を乗じて得られる硫黄の合計生成量に相当している。

[14] 硫黄の合計生成量を換算して得られる硫酸イオン生成量に相当している。

[15] シスチンの成分値は、システインとシスチン（2 分子のシステインが結合したもの）の合計で、システイン量を 1/2 シスチン量として表したもの。

照）に、「日本食品標準成分表 2020 年版（八訂）アミノ酸成分表編」から得られるたんぱく質中のメチオニン及びシステインの平均含量（下表 B 及び C）をそれぞれ乗じて、たんぱく質由来のメチオニン及びシスチンの一日摂取量を推計しました。次に、両含硫アミノ酸中の硫黄の割合（硫黄の原子量/アミノ酸の分子量）を乗じて硫黄の一日摂取量を求め両者を合計し、これを硫酸イオンに換算しました。

1）食事（たんぱく質）由来の硫酸イオンの摂取量の推計方法が適当かご確認ください。

松井専門委員：

お示しの「表 2　食事（たんぱく質（含硫アミノ酸））由来の硫酸イオンの摂取量」の計算は問題ないと思います。

しかし、「含硫アミノ酸由来の硫酸イオン摂取量」の表現は気になります。含硫アミノ酸には硫酸イオンは含まれておらず、異化されると硫酸イオンが発生します。正確には硫酸イオン相当量ですので、表現をご検討ください。

事務局より：

（3）①の「含硫アミノ酸由来の硫酸イオン摂取量」の記載（P13L4、P13L18、L19）を修正いたしましたので、ご確認ください。

瀧本専門参考人：

表 2 の計算方法自体は問題ないと思います。出典がもう少しわかりやすくなるよう、「令和元年国民健康・栄養調査報告　第 9 表の 2」としてはどうでしょうか。

事務局より：

ご意見を踏まえ、〈参照〉31 及び P13L12 に追記いたしました。

2）食事（たんぱく質）由来の硫黄が全て硫酸イオンとなると仮定しましたが、この仮定は妥当であるかご確認ください。

松井専門委員：

「たんぱく質由来の硫黄が全て硫酸イオンとなると仮定した計算」の妥当性ですが、成人の場合は定常状態と考えてよく、問題ないでしょう。なお、参考論文 Lakshmanan ら（1976）【追 9】をお送りします。対照期のメチオニン摂取量は分かりませんが、メチオニンやシスチンの尿中排泄は μmol オーダーですので、硫酸イオンと比べるとわずかだと思います。ご検討ください。

多田専門委員：

食事中のたんぱく質のメチオニンやシスチンの硫黄の量から硫酸イオンに換算して、硫酸イオンとしての推計に計上すべきかどうかについては、たんぱく質由来の硫黄が実際にどの程度硫酸イオンとして曝露し得るのかというところかとも思われます。

事務局より：

米国医学研究所（2005）【167】は、食事中の無機物由来の硫酸の摂取量及び水などの飲料水中の硫酸の摂取量についても算出しています。無機質や水由来の摂取量について本評価での推計の要否をご確認ください。仮に推計する場合には、推計方法・推計に用いるデータについてご教示ください。

松井専門委員：

アミノ酸以外にチアミンなどビタミンにもイオウは含まれていますが、これらからのイオウばく露は無視できると思います。タウリンにもイオウは含まれており、日本人と同様にタウリン含量が高い水産物の摂取が多い韓国での調査（DOI: 10.1007/978-981-13-8023-5_21）ではタウリン摂取は 300 mg/d 程度だと思いますので、含硫アミノ酸摂取量よりかなり少ないと思

います。なお、日本人のタウリン摂取量調査や食品中タウリン含量データベースを知りません。
　水道水からの硫酸イオンばく露は容易に推計できると思いますので、加えてもよいでしょうが、これも無視できると思います。参考までに、日本人の飲水量【追 10】、四国の水道水中硫酸イオン【追 11】については論文がありますので、添付しました。水摂取を 2 L/d、硫酸イオン濃度を 50 mg/L とすると、100 mg/d となります。これらについてはもっと適切なデータがあると思います。記述するなら、ご専門の先生にお聞きした方が良いでしょう。

瀧本専門参考人：
　成分表でも水道水由来の無機質の分析値はありましたが、硫黄は含まれていませんでした。松井先生のご提案に賛成です。

【第７回ＷＧにて確認済み】
松井専門委員：
　「ようである」の表現は評価書としては好ましくないと思います。ここでは原文に沿って、本文で「たんぱく質由来の含硫アミノ酸であるメチオニン及びシステインの一日摂取量であるそれぞれ 2 g が酸化される結果、合計 960 mg のイオウ又は 2.8 g の無機硫酸が生じるとしている。」とし、数値の脚注として「メチオニン及びシステインがすべて酸化され、これらの硫黄の割合（硫黄の原子量/各アミノ酸の分子量）を乗じて得られる硫黄の合計生成量と、それを換算し得られる硫酸イオン生成量に相当している。」と記述したらいかがですか？ご担当の先生方にご相談ください。

事務局より：
　ご意見を踏まえ、本文の修正及び脚注 13、14 の追加をいたしましたので、ご確認ください。

松井専門委員：
　脚注 15 について、「システインを、1/2 シスチン量として表したもの。」とした方が良いでしょう。ご担当の先生方にご相談ください。

多田専門委員：
　「システインとシスチン（2 分子のシステインが結合したもの）の合計で」を削除した場合、これらの合計であることが分かりにくくなるため、当初の記載のほうがよろしいかと思います。

松井専門委員：
　「シスチンの成分値は、システインとシスチン（2 分子のシステインが結合したもの）の合計で、システイン量を 1/2 シスチン量として表したもの。」でいかがでしょうか。

多田専門委員：
　松井先生の修文案で結構です。

事務局より：
　ご意見を踏まえ、修正いたしましたので、ご確認ください。あわせて表 2 の注１）も修正いたしました。

1

表–2　食事（たんぱく質（含硫アミノ酸））由来の硫酸イオンの摂取量–

食品群	［A］たんぱく質の一日摂取量（20 歳以上）（g）【追 6】	たんぱく質中の含硫アミノ酸の平均含量（mg/g たんぱく質）【追 7、追 8】		たんぱく質由来の含硫アミノ酸の一日摂取量（mg）		含硫アミノ酸由来の硫黄の一日摂取量（mg）注2			たんぱく質（含硫アミノ酸）由来の硫酸イオン（相当量）の一日摂取量（mg）注3
		［B］メチオニン	［C］シスチン注1	［A×B］メチオニン	［A×C］シスチン	［A×B×（アミノ酸中の硫黄の割合）…①］メチオニン由来	［A×C×（アミノ酸中の硫黄の割合）…②］シスチン由来	［①+②］メチオニン及び+シスチン由来の合計	
穀類	14.7	21.7	25.2	318.9	369.7	68.5	98.7	167.2	500.9
いも類	0.6	17.7	21.2	10.6	12.7	2.3	3.4	5.7	17.0
豆類	5.8	15.45.8	15.817.0	89.233.6	91.798.6	19.27.2	24.526.3	43.633.5	130.8100.5
砂糖類	0.0	5.815.4	17.015.8	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
種実類	0.5	22.5	21.0	11.2	10.5	2.4	2.8	5.2	15.6
野菜類	3.0	17.1	15.9	51.2	47.6	11.0	12.7	23.7	71.0
果実類	0.6	14.6	20.8	8.8	12.5	1.9	3.3	5.2	15.6
キノコ類	0.4	14.6	16.3	5.8	6.5	1.3	1.7	3.0	9.0
藻類	0.3	28.8	16.9	8.6	5.1	1.9	1.4	3.2	9.6
魚介類	13.1	34.1	13.6	447.3	178.7	96.1	47.7	143.8	430.9
肉類	17.3	29.1	13.1	503.4	226.6	108.2	60.5	168.6	505.3
卵類	5.3	36.9	25.7	195.6	136.2	42.0	36.4	78.4	234.8
乳類	4.4	26.9	10.9	118.3	47.8	25.4	12.8	38.2	114.4
油脂類	0.0	26.0	14.6	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
菓子類	1.5	18.2	22.2	27.3	33.3	5.9	8.9	14.7	44.1

嗜好飲料類	1.0	12.7	24.2	12.7	24.2	2.7	6.4	9.2	27.5
調味料・香辛料類	3.7	14.4	12.1	53.2	44.9	11.4	12.0	23.4	70.2
合計	72.2	356.3	306.4	1806.5	1254.9	388.2	334.9	723.1	2196.7~~2166.4~~ (2.2 g)

注１）シスチンの成分値は、システインとシスチン（2 分子のシステインが結合したもの）の合計で、システイン量を 1/2 シスチン量として表したもの。

注２）アミノ酸中の硫黄の量は、32.065（硫黄の原子量）、149.21（メチオニンの分子量）、120.15（1/2 シスチンの分子量）を用いて算出。

注３）メチオニン及びシスチン由来の硫黄の合計~~（①＋②）~~×96.063（硫酸イオンの式量）/32.065（硫黄の原子量）により算出。

【第７回ＷＧにて確認済み】
多田専門委員：
表の注３の記載で、換算値とありますが、何の換算値かが分かりにくいため、下記の様な記載をご検討ください。
注 3)（①＋②）×96.063（硫酸イオンの式量）/32.065（硫黄の原子量）により算出。

事務局より：
ご意見を踏まえ、修正いたしました。

② 飲料水水道水に含まれる硫酸塩由来の摂取量

【第７回ＷＧにて確認済み】
事務局より：
多田専門委員から、以下のとおり水道水由来の硫酸イオンの摂取量を推計してはどうかとのご意見をいただきました。
ついては、
１）水道水由来の摂取量について本評価での推計の要否をご確認ください。
２）水道水由来の摂取量の推計が必要とされた場合、多田専門員ご意見を踏まえ、水道統計に基づく推計を行うこととし、水道水由来の硫酸イオンについては、清涼飲料水評価書「銅」（2008）（参照 107）【追 1】及び評価書「鉛」（2021）（参照 35）【追 16】に倣い、水道水質データベースの令和元（2019）年度水道統計水質分布表（給水栓水）最高値（参照 38）【追 15】から求めた 95 パーセンタイル以上となる値（50 mg/L）を用いて推計しました。なお、水道水の一日摂水量は、清涼飲料水評価書「銅」に倣い、2 L と仮定しました。
この推計でよろしいかご確認ください。
なお、２．（３）摂取量推計等のまとめも水道水由来の摂取量の推計を行った場合の値に修正した案を記載しました。

多田専門委員：
EFSA Journal（2019）（参照 39）【54】の p23 の 3.4 Exposure estimate 以降の記載、特に p26 3.4.2 Exposure via other sources では、WHO の Sulfate in Drinking-water を引用するなどしており、food 由来以外に水由来を重視しているようです。
WHO の Sulfate in Drinking-water（参照 40）【追 14】では、p2-3 の Exposure に Exposure についての記述があります。また、p5-6 の Conclusions も参考になると思われ、味に影響を及ぼす境界濃度はナトリウム塩として約 250 mg/L であるとの記載が見受けられます。
日本における水道水質データは、水道水質データベース（http://www.jwwa.or.jp/mizu/）で確認できます。原水その他の項目に分かれており、それぞれ各都道府県の管理目標のシートに硫酸イオンの項目が有り、値が記載されているシートが確認できます。

事務局より：
水道水質データベースのデータを用いて水由来の硫酸イオンの摂取量を推計する場合の具体的な推計方法についてお教えいただけますでしょうか。

多田専門委員：
国内での水道水データに基づく推計方法として、食品安全委員会での清涼飲料水における「銅」の評価書（参考 107）【追 1】を参考にすることが出来ると思います。
「銅」の評価書では、水道統計を引用しており、水道統計の水質編を引用するのが適切と考えられるため、そちらを引用してください。最新版としては、水道統計「令和元年度」（第 102 号）が今年度（令和 3 年度）に発行されていると水道協会の HP（http://www.jwwa.or.jp/syuppan/hakkou.html）に記載が有ります。【水道統計水質編（平成 31 年 4 月 1 日～令和 2 年 3 月 31 日）第 102-2 号、公益社団法人　日本水道協会】
従いまして、「銅」の評価書と同様にして、汚染物質等の専門調査会で水道水由来の汚染物質について推計する際の方法で推計するという事でいかがでしょうか。
別の方法としては、味に影響を及ぼす以上には通常入っていないであろうと推測し、WHO（参照 40）【追 14】の p5-6 の Conclusions に記載の有った、味に影響を及ぼす境界濃度がナトリウム塩として約 250 mg/L を参考にして、これを上限と考える推計方法もあろうかと思います。

事務局より：
お教えいただいた「水道水質データベース」について、「水道統計「令和元年度」（第 102

号)」書籍の内容の一部が、水道水質データベースの HP に掲載されているようです。
推計方法としてご教示いただいた、清涼飲料水評価書「銅」(2008)（参照 107)【追 1】においては、水道水からのばく露として、以下の 2 点が記載されております。
1）原水と浄水における最高値の水質分布表を示し、水質基準値と比較し、水質基準値より下回っている割合がどのくらいか提示。
2）参考として、銅の水質基準値を用いて、水を 1 日当たり 2L 摂水するとして、一日当たりの摂取量を推計。
また、ご参考までですが、直近の評価書「鉛」(2021)（参照35)【追16】においては、飲料水からの摂取量（ばく露量）として、以下の 2 点が記載されております。
1）給水栓水における最高値の水質分布表（＊）を示し、水質基準値と比較し、水質基準値より下回っている割合がどのくらいか提示。((参照 38)【追 15】 P17、194（PDF の通しページ数))
＊参照に「水道水質データベース」とされておりましたので HP を確認したところ、最新版（令和元年度）の水質分布表を確認することができました。
2）他の個別知見において、鉛の飲料水からの推定一日摂取量を推計。
その上で、銅や鉛などを評価した化学物質・汚染物質専門調査会と同様の方法で評価するとした場合、1）の水質分布表を示すことは可能ですが、硫酸イオンは、水質基準値が設定されておりませんので、1）の「水質基準値より下回っている割合がどのくらいか」という点については評価が難しいと考えております。

多田専門委員：
・銅の評価書では、基準値の 2%以下となった割合が、5034/5224×100=96.36%、
・鉛の評価書では、基準値以下となった割合が、7710/8047×100=95.81%
であり、これらに相当する濃度レベルを用いて推計しています。
従いまして、これまでの水道由来の評価を参照するとすれば、銅や鉛と同様に 95%タイル以上となる量を推計に用いるというのはいかがかと思います。
例えば、令和元年度調査で、お送りいただいた水質分布表（参照 38)【追 15】を見ますと硫酸イオン 50 mg/L 以下であれば、572/592×100=96.62%を網羅することとなります。この濃度を用いて推計するのがよいかと思います。

1

事務局より：
タイトルを修正しました（IOM（2005）【167】参照）。

事務局より：
第 7 回 WG の議論を踏まえると、飲料水は、水道水及びミネラルウォーター類から成ると考えられます。
清涼飲料水・水道水評価書「六価クロム」(2018)【追 16】では水道水及びミネラルウォーター類からの摂取量の、清涼飲料水評価書「銅」(2008)【追 1】では水道水からの摂取量の推計を行っているので、これら評価書の推計方法を参照して推計しました。
「六価クロム」(2018）と「銅」(2008）の推計方法のうち、いずれが適当かご確認ください。

事務局より：
なお、「六価クロム」(2018）では、高摂取量の見積もりも推計しております

が、伊藤ら（1992）：市販ミネラルウォーター類の成分組成【追 18：瀧本専門参考人提供】において最高値の値が他の値に比べ著しく大きいこと、「銅」（2008）において水道水中の銅の濃度として最高値ではなく 95 パーセンタイル値以上となる濃度を用いていることを踏まえ、本評価書案には高摂取量の見積もり記載しておりませんが、仮に高摂取量の見積もりを行った場合は次のとおりです。

［清涼飲料水・水道水評価書「六価クロム」（2018）の推計方法を参考に、高摂取量の見積もりを行った場合］

ミネラルウォーター類中の硫酸イオン濃度については、国内に流通している国産及び外国産ミネラルウォーター類中の硫酸イオン濃度の最高値である 291 mg/L を用い（参照 36）【追 18】、また、その摂水量については、摂水量調査におけるボトル水の夏期摂水量の 95 パーセンタイル値である 0.8 L（参照 37）【六価クロムの参照 16】を用いた。

水道水については、令和元年度の水道統計における硫酸イオンの給水栓水での検出状況（表 3）から、硫酸イオン濃度の検出濃度のうち、最高値である 200 mg/L を硫酸イオン濃度として用いた。また、水道水の摂水量については、摂水量調査における水道水の夏期摂水量の 95 パーセンタイル値である 2.17 L（参照 37）【六価クロムの参照 16】）を用いた。

以上から、硫酸イオンを多く摂取していると仮定した場合のミネラルウォーター類及び水道水からの硫酸イオンの一日摂取量は下表のとおりであり、667 mg/人/日である。

表　硫酸イオンの一日摂取量（高摂取量の見積もり）

	硫酸イオン濃度（最高値）（ppm）	一日摂取量（95 パーセンタイル値）（L）	硫酸イオンの摂取量（mg/人/日）
ミネラルウォーター類	291	0.8	233
水道水	200	2.17	434
合計			667

［清涼飲料水・水道水評価書「六価クロム」（2018）の推計方法を参考に、平均的な見積もりを行った場合］

事務局より：

1）　用いた硫酸イオン濃度は、伊藤ら（1992）：市販ミネラルウォーター類

の成分組成【追 18：瀧本専門参考人提供】を参照しています。ただし、同文献で調査対象としているのは北海道で製造許可を受けたミネラルウォーター類が全体の約半分を占めており、地域の偏りがあると思われます。また、このほかに、上脇ら（1992）【追 19】も確認できました。

要請者による網羅的な検索では、祝部ら（2006）が追加で確認されました。そして、生産地の偏りを抑えて収集している点、また、試料数が多い点や硫酸イオンの分析方法を考慮し、上脇ら（1992）【追 19】が最も適当であると要請者は説明しています【机上配付資料１】。

	試料数	ミネラルウォーター類中の硫酸イオン濃度
伊藤ら（1992）【追 18】	21 点（国内産 15 点（うち、北海道産 10 点）、海外産 6 点）	1.3～291 mg/L（中央値：4.6 mg/L）
上脇ら（1992）【追 19】	44 点（国内産 30 点、海外産 14 点）	0～289.2 ppm（中央値：8.55 ppm）
祝部ら（2006）【机上配付資料１】	4 点（国内産 4 点）	5.7～15 mg/L（中央値：9.95 mg/L）

ミネラルウォーター類中の硫酸イオン濃度は、いずれの文献を参照するのが適当でしょうか。

瀧本専門参考人：

祝部らの結果よりも網羅的なのは上脇らだと思います。

2） 水道水中の硫酸イオン濃度の平均値は算出できなかったため、平均的な水道水中の硫酸イオン濃度を 95 パーセンタイル値（50 mg/L）の 1/2 と仮定して推計しました。

この仮定が妥当であるかご確認ください。

ミネラルウォーター類（水のみを原料とする清涼飲料水）中の硫酸イオン濃度について、国内に流通している国産及び外国産ミネラルウォーター類中の硫酸イオン濃度の中央値である 4.6 mg/L を用い（参照36）【追 18】、また、その摂水量については、摂水量調査におけるボトル水の夏期摂水量の中央値である 0 L 及び算術平均値である 0.142 L（参照37）【六価クロムの参照 16】を用いた結果、ミネラルウォーター類からの摂取は 0 ないし

0.65 mg/人/日と推計した。

水道水については、令和元年度の水道統計における硫酸イオンの給水栓水での検出状況（表–3）から、正確な平均値を算出できなかったが、各測定地点における最高値別でみると、全国592測定地点中、572地点（約96%）で50 mg/L以下であり（参照38）【追15】、平均的な水道水中の硫酸イオン濃度を50 mg/Lの1/2と仮定し、25 mg/Lとした。また、その摂水量については、摂水量調査における水道水の夏期摂水量の中央値である0.870 L及び算術平均値である0.966 L（参照37）【六価クロムの参照16】）を用いた結果、水道水からの摂取は21.8ないし24.2 mg/人/日と推計した。

以上から、ミネラルウォーター類及び水道水からの硫酸イオンの一日摂取量の平均的な見積りは表4のとおりであり、摂水量に中央値を用いた場合は21.8 mg/人/日、摂水量に算術平均値を用いた場合は24.8 mg/人/日であるった。

表–3　給水栓水での硫酸イオンの検査結果

水源種別	測定地点数	検出濃度分布（mg/L）										
		～5.0 ~~（mg/L）~~	～10.0 ~~（mg/L）~~	～20.0 ~~（mg/L）~~	～30.0 ~~（mg/L）~~	～40.0 ~~（mg/L）~~	～50.0 ~~（mg/L）~~	～60.0 ~~（mg/L）~~	～70.0 ~~（mg/L）~~	～80.0 ~~（mg/L）~~	～90.0 ~~（mg/L）~~	90.1 ~~（mg/L）~~～
全体	592	108	149	148	83	54	30	6	2	4	2	6 注）
表流水	165	25	30	52	29	11	15	0	0	1	0	2
ダム湖沼	38	2	15	11	6	2	1	0	1	0	0	0
地下水	252	49	83	62	24	24	5	2	0	1	1	1
その他	137	32	21	23	24	17	9	4	1	2	1	3

注）最高値は200 mg/L

表–4　硫酸イオンの一日摂取量（平均的な見積もり）

	硫酸イオン濃度（mg/L）	一日摂取量（L） 上段：中央値 下段：平均値	硫酸イオンの摂取量（mg/人/日） 上段：中央値 下段：平均値
ミネラルウォーター類	4.6	0	0
		0.142	0.65
水道水	25 注）	0.87	21.8
		0.966	24.2
合計			21.8

	24.8

注）（公益社団法人）日本水道協会（2021）（参照 38）【追 15】を基に 50 mg/L の 1/2 に設定

［清涼飲料水評価書「銅」（2008）の推計方法を参照した場合］

~~EFSA（2014）では、WHO（2004）を引用し、飲料水に自然由来の硫酸塩が多く含まれている地域では、飲料水が食事由来のその主な摂取源となる可能性があるとしている。（参照39、40）【54、追 14】~~令和元年度の水道統計における硫酸イオンの給水栓水での検出状況（表 3）から、各測定地点における最高値別でみると、全国 592 測定地点中、572 地点（約 96%）で 50 mg/L 以下であった（参照 38）【追 15】。硫酸イオンの濃度が 50 mg/L の水道水を一日当たり 2 L 摂水すると仮定した場合（参照41）【追 21】、水道水由来の一日摂取量は、100 mg/人/日と推計された。

なお、EFSA（2014）では、WHO（2004）を引用し、飲料水に自然由来の硫酸塩が多く含まれている地域では、飲料水が食事由来のその主な摂取源となる可能性があるとしている。（参照42、43）【54、追 14】

以上より、本ワーキンググループは、・・・

事務局より：
現在の硫酸イオンの摂取量における本ワーキンググループの判断は後ほど記載いたします。

③ 食事中の無機硫酸塩~~添加物~~由来の~~硫酸イオンの~~摂取量

事務局より：
タイトルを修正しました（IOM（2005）【167】参照）。

事務局より：
食事中の無機硫酸塩として、無機硫酸塩である添加物由来の硫酸イオンの摂取量を推計しました。

1） 食事中の無機硫酸塩は、「無機硫酸塩である添加物」以外にもあると考えられます。添加物以外の（又は添加物を含めた）食事中の無機硫酸塩の摂取量の推計方法をご教示ください。

2） 仮に、食事中の無機硫酸塩として、無機硫酸塩である添加物由来の硫酸

イオンの摂取量しか推計できない場合、推計した無機硫酸塩である添加物由来の摂取量をもって「食事中の無機硫酸塩」由来の摂取量とすれば、過小推計になると考えました。

そこで、IOM（2005）【167】において報告されている摂取量の最大値（1.5 g/人/日）を現在の食事中の無機硫酸塩由来の硫酸イオンの摂取量とする案を記載しています。

ただし、IOM（2005）では、Florin ら（1991）【机上配付資料３】を引用して食品中の無機硫酸塩の摂取量を推定しておりますが、Florin ら（1991）は、食事中の無機硫酸塩の摂取量調査を目的としたものではなく、被験者（回腸造瘻術を行ったものを含む）にスーパーマーケットで購入した通常の食品から構成される硫酸塩含有量の異なる食事を摂取させ、食事、糞便及び尿中の硫酸塩濃度を測定し、大腸に到達する硫酸塩の量及び食事と内因性の硫酸塩の相対的寄与を明らかにすることを目的とした試験です。

IOM（2005）の最大値を食事中の無機硫酸塩由来の摂取量とする方針でよろしいでしょうか。

ただし、２．（３）摂取量推計等のまとめや、Ⅴ．食品健康影響評価の２．では、ぶどう酒からの摂取量（２．（２）③）の現在の摂取量に対する割合を示しています。そのため、IOM（2005）の最大値（1.5 g/人/日）を食事中の無機硫酸塩由来の摂取量とした場合は、無機硫酸塩である添加物由来の摂取量を食事中の無機硫酸塩由来の摂取量とした場合に比べて、ぶどう酒からの摂取量の現在の摂取量に対する割合は小さい値となります。

瀧本専門参考人：

Nimni ら（2007）【追 22】のレビューがありましたが、Florin ら（1991）よりも優れた内容があるとも言い切れないかと思います。

現状、IOM が根拠に用いたものの最大値を当てはめるのが妥当かと思いました。

規格基準改正要請者は、添加物由来の硫酸について、「硫酸銅」に加え、我が国では「硫酸亜鉛」、「硫酸アルミニウムアンモニウム」等の硫酸塩を含む添加物の使用が認められていると説明し（参照 2、44、45）【概要書、72、165】、ただし、（１）のとおり、現状において「硫酸銅」を摂取する可能性があるのは乳児のみであり、20 歳以上の成人については、「硫酸銅」由来の硫酸イオンの摂取はないとしている。~~と~~（参照 2、6、15、16）【概要書、31、32、33】

~~、これらの添加物由来の摂取量を令和元年度厚生労働科学研究による食品添加物生産量統計調査に基づき、約 60.2～72.3 mg/人/日[16]と推計している。~~

本ワーキンググループは、規格基準改正要請者の説明を踏まえ、食事中の無機硫酸塩の添加物由来の硫酸イオンの摂取量は、令和元年度厚生労働科学研究による食品添加物生産量統計調査に基づき、約 60.2～72.3 mg/人/日[17]と推計した。（参照46）【166】

一方、~~米国医学研究所~~ IOM（2005）は、食事中の無機硫酸塩由来の硫酸塩の合計一日摂取量を 0.2～1.5 g/人/日（平均 0.85 g/人/日）と推計している。（参照 33）【167】

本ワーキンググループは、無機硫酸塩である添加物由来の摂取量をもって「食事中の無機硫酸塩」由来の摂取量とすると過小推計になると考え、~~米国医学研究所~~ IOM（2005）において報告された摂取量の最大値である 1.5 g/人/

---

17 令和元年度厚生労働科学研究の食品添加物生産量統計に基づいて、以下のとおり算出。

A:「硫酸カルシウム」由来の硫酸イオンの一人一日摂取量
＝「硫酸カルシウム」の一人一日摂取量（mg/人/日）×硫酸イオンの式量/「硫酸カルシウム」の分子量
＝65.58×96.063/172.17≒36.59 mg/人/日

B:「硫酸アルミニウムアンモニウム」由来の硫酸イオンの一人一日摂取量
＝「硫酸アルミニウムアンモニウム」の一人一日摂取量（mg/人/日）×硫酸イオンの式量×硫酸イオン数/「硫酸アルミニウムアンモニウム」の分子量
＝1.4×（96.063×2/453.33～96.063×2/237.15）≒0.59～1.13 mg/人/日

C:「硫酸アルミニウムカリウム」由来の硫酸イオンの一人一日摂取量
＝「硫酸アルミニウムカリウム」の一人一日摂取量（mg/人/日）×硫酸イオンの式量×硫酸イオン数/「硫酸アルミニウムカリウム」の分子量
＝17.8×（96.063×2/474.39～96.063×２/258.21）≒7.21～13.24 mg/人/日

D:「亜鉛塩類(硫酸亜鉛)」由来の硫酸イオンの一人一日摂取量
＝「亜鉛塩類(硫酸亜鉛)」の一人一日摂取量（mg/人/日）×硫酸イオンの式量/「亜鉛塩類(硫酸亜鉛)」の分子量
＝13.7×96.063/287.55≒4.58 mg/人/日

E:「硫酸カリウム」由来の硫酸イオンの一人一日摂取量
＝「硫酸カリウム」の一人一日摂取量（mg/人/日）×硫酸イオンの式量/「硫酸カリウム」の分子量
＝0.0014×96.063/174.26≒0.00 mg/人/日

F:「硫酸第一鉄」由来の硫酸イオンの一人一日摂取量
＝「硫酸第一鉄」の一人一日摂取量（mg/人/日）×硫酸イオンの式量/「硫酸第一鉄」の分子量
＝2.31×（96.063/278.01～96.063/151.91）≒0.80～1.46 mg/人/日

G:「硫酸ナトリウム」由来の硫酸イオンの一人一日摂取量
＝「硫酸ナトリウム」の一人一日摂取量（mg/人/日）×硫酸イオンの式量/「硫酸ナトリウム」の分子量
＝2.28×（96.063/ 322.19～96.063/142.04）≒0.68～1.54 mg/人/日

H:「硫酸マグネシウム」由来の硫酸イオンの一人一日摂取量
＝「硫酸マグネシウム」の一人一日摂取量（mg/人/日）×硫酸イオンの式量/「硫酸マグネシウム」の分子量
＝25×（96.063/246.47～96.063/174.41）≒9.74～13.77 mg/人/日

~~I:「チアミンラウリル硫酸塩」由来の硫酸イオンの一人一日摂取量~~
~~＝「チアミンラウリル硫酸塩」の一人一日摂取量（mg/人/日）×硫酸イオンの式量/「チアミンラウリル硫酸塩」の分子量~~
~~＝0.148×（96.063/815.16）≒0.02 mg/人/日~~

以上より、A+B+C+D+E+F+G+H~~+I~~=36.59+(0.59～1.13)+（7.21～13.24）+4.58+0.00+（0.80～1.46）+（0.68～1.54）+（9.74～13.77）~~+0.02~~=60.19~~21~~～72.32~~4~~≒60.2～72.3 mg/人/日

日を現在の食事中の無機硫酸塩由来の硫酸イオンの摂取量とした。

~~また、吸収された亜硫酸塩は硫酸へと代謝されるとされていることから【添加物評価書「亜硫酸水素アンモニウム水」（2020）】、添加物である亜硫酸塩[18]由来の硫酸イオンの摂取量についても推計した。添加物評価書「亜硫酸水素アンモニウム水」（2020）において、亜硫酸塩の推定一日摂取量は、二酸化硫黄として、0.116 mg/kg 体重/日（6.39 mg/人/日）とされており、この二酸化硫黄が全て硫酸イオンになると仮定して、亜硫酸塩由来の摂取量を9.58 mg/人/日[19]（硫酸イオン相当量）と推計した。（参照47）【追 12】~~

~~本ワーキンググループは、以上を合計し、現在の添加物由来の硫酸イオンの摂取量を 69.8～81.9 mg/人/日と推計した。~~

本ワーキンググループは、現在の硫酸イオンの摂取量を、~~として~~成人の食事中のたんぱく質（含硫アミノ酸）由来の摂取量（2.2 g/人/日）、~~水道~~飲料水由来の摂取量（● mg/人/日）及び食事中の無機硫酸塩~~添加物~~由来の摂取量（1.5~~69.8～81.9 m~~g/人/日）を合計し、● g/人/日と判断~~推計~~した。

【第７回WGにて確認済み】
多田専門委員：
第７回WG【机上配付資料１】に、硫黄を含む食品添加物を列記しました。硫酸イオンを生じる可能性があり、生産量統計で摂取量が 0 でない添加物としまして、チアミンラウリル硫酸塩も計上していただく方が良いと思われます。

事務局より：
多田専門委員のご意見を踏まえ、③添加物由来の硫酸イオンの摂取量に「チアミンラウリル硫酸塩」の摂取量を推計を追記しました。

【第７回WGと同様の記載】
奥田専門参考人：
30 ページ 2 行目のワイン由来の硫酸イオンですが、硫酸銅以外に、亜硫酸が酸化して硫酸になる経路も考えられます。硫酸まで酸化している亜硫酸がどの程度あるのかはよくわかりませんが、量としては、極微量になると思います。本件は、無視しても良い量であると思いますが、お知らせいたします。

事務局より：
亜硫酸由来の硫酸について、亜硫酸塩類の添加物由来の硫酸イオンの摂取量として、（２．（２）ではなく、）１．（３）に追記しました。添加物評価書「亜硫酸水素アンモニウム水」（2020）において、亜硫酸塩類の推定一日摂取量は、二酸化硫黄として、0.116 mg/kg 体重/日(6.39 mg/人/日)とされており、これが全て硫酸イオンになると仮定し、硫酸イオンに換算して推計しました。
１）添加物である亜硫酸塩類由来の摂取量について本評価での推計の要否をご確認くださ

い。
２）本評価での推計が必要な場合、亜硫酸塩類由来の二酸化硫黄が全て硫酸イオンとなると仮定しましたが、この仮定は妥当であるかご確認ください。

多田専門委員：
亜硫酸塩や亜硫酸水素アンモニウム水の二酸化硫黄としての量を、全て硫酸イオンになると仮定して硫酸イオンの推計を行うことにつきましては、少し検討をする方が良いのではないかと思います。これらはそれぞれ亜硫酸塩類、亜硫酸水素アンモニウム水として、二酸化硫黄換算での評価がされていることから、これらが実際にどの程度硫酸イオンとしての人への曝露要因となるのかを考慮して硫酸イオンの推計に加えることができると良いと思われます。

【第７回ＷＧと同様の記載】
多田専門委員：
第７回 WG（机上配付資料１）にも示しましたが、食品添加物にも硫黄を含む品目は、Ｌ－メチオニン、ＤＬ－メチオニン、Ｌ－システチン、Ｌ－システイン塩酸塩、タウリンなど種々あり、食事中のメチオニンやシステチンの硫黄から硫酸イオン換算するならば、これら食品添加物由来の硫黄からも硫酸イオン換算する必要があるのかどうかという点が疑問として生じます。

事務局より：
食事（たんぱく質（含硫アミノ酸））由来の摂取量を推計しておりますが、硫黄を含む添加物（Ｌ－メチオニン、ＤＬ－メチオニン、Ｌ－システチン、Ｌ－システイン塩酸塩、タウリンなど）由来の摂取量の推計の要否をご確認ください。

松井専門委員：
タウリンはかなりの量が食品（添加物以外）に含まれていることが想定されますが、食品からの日本人の摂取量は不明だと思います。添加物としてのタウリン摂取量の推計では、あまり意味はないと思います。

多田専門委員：
分子量情報と、生産量統計とから予め試算しておいていただくことなどはできませんでしょうか。

事務局より：
硫黄を含む添加物（硫酸、亜硫酸塩を含む添加物は除く）由来の硫酸イオンの摂取量について、試算したところ、7.46～7.65 mg/人/日でした。（第７回 WG 机上配付資料１参照）

【第７回ＷＧにて確認済み】
多田専門委員：
P26L14-15 について、下記のとおり修正ください。
食事由来の摂取量 2.2 mg/人/日
↓
食事由来の摂取量 2.2 g/人/日

事務局より：
ご意見を踏まえ、修正いたしました。

瀧本専門委員：
P26L14 について、「成人の」を追記しました。
P26L15 について、表 2 では 2166 mg/人/日のようです。

事務局より：

表 2 における食事由来の摂取量（2166.4 mg/人/日）については、「令和元年国民健康・栄養調査報告」のたんぱく質の一日摂取量（g）において、有効である桁は小数第一位（「mg」表記とした場合、下 3 桁目から有効）となっておりますので、食事由来の摂取量（mg）も同様に整数部分の下 3 桁目から有効であると考え、2200 mg すなわち 2.2 g としました。

【第 6 回WG と同様の記載】 事務局より： 「硫酸銅」以外の添加物由来の硫酸の摂取量について、生産量統計調査に基づき 60.2～72.3 mg/人/日と推計しております。一方、米国の情報ではありますが、規格基準改正要請者は、米国医学研究所（2005）の知見（硫酸塩の摂取量が 4.40 g/人/日）も挙げております。２．（３）摂取量推計等のまとめでは、ぶどう酒からの摂取量の現在の摂取量に対する割合を示しており、現在の摂取量としては、控えめな値を記載しました。
【第 7 回WG と同様の記載】 瀧本専門参考人： いいと思います。

２．使用基準改正後の摂取量

（１）ぶどう酒の摂取量

表 1 の使用基準案によれば、使用基準改正後に新たに「硫酸銅」の使用対象食品となるのはぶどう酒のみであることから、その摂取量について検討した。

「国税庁令和元年度分酒類販売（消費）数量等の状況表（都道府県別）」によれば、2019 年度果実酒及び甘味果実酒の販売（消費）数量は、それぞれ 352,549 kL/年及び 9,723 kL/年であり、合計は 362,272 kL/年である。（参照48）【168】

果実酒にはブドウのほかリンゴ、ナシなどの果実を原料とするものもあるが、規格基準改正要請者は、果実酒及び甘味果実酒が全てぶどうを主原料として作られているものと仮定し、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）【概要書】

また、規格基準改正要請者は、我が国におけるぶどう酒の年間飲酒量（362,272 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、成人 1 人当たりのぶどう酒の一日摂取量は、9.54 mL/人/日と推計している。（参照49）【169】

さらに、規格基準改正要請者は、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、~~「~~令和元年国民健康・栄養調査報告~~」~~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（20.5%）を成人人口に乗じて計算した場合、1 人当たりのぶどう酒の一日摂取量は、46.5 mL/人/日と推計している。（参照 31）【164】

本ワーキンググループは、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、46.5 mL/人/日を ~~1 人当たりの~~ぶどう酒の一日摂取量とした。

（２）ぶどう酒からの摂取量

①　硫酸銅

規格基準改正要請者は、ぶどう酒中で銅イオンと硫酸イオンに解離すると考えるとしているが、本ワーキンググループは、表 1 の使用基準案における銅としての最大残存量（2 mg/L）の硫酸銅がぶどう酒中に残存した場合を仮定し、使用基準改正後のぶどう酒からの硫酸銅の摂取量は、0.234 mg/人/日[20]（無水物として）と推計した。なお、実際の摂取量は、上述の推計量よりも少ないと考えた。

【第６回WGにて確認済み】
事務局より：
使用基準改正後のぶどう酒からの硫酸銅の摂取量については、次の１）及び２）の推計を考えましたが、いずれが適当でしょうか。なお、現在の評価書案は 1）の場合で推計しています。
１）表 1 の使用基準案に規定された硫酸銅（II）五水和物としての最大使用量（10 mg/L）の硫酸銅がぶどう酒中に全部残存したと仮定して推計
２）表 1 の使用基準案に規定された銅としての最大残存量（2 mg/L）の硫酸銅がぶどう酒中に全部残存したと仮定して推計

【第７回WGにて確認済み】
瀧本専門参考人：
２）の場合でよいと思います。

事務局より：
第６回 WG での議論を踏まえ、２）の場合で推計し直しましたので、ご確認ください。また、（３）摂取量推計等のまとめもあわせて修正いたしました。

②　銅イオン

本ワーキンググループは、表 1 の使用基準案における銅としての最大残存量（2 mg/L）の硫酸銅がぶどう酒中に残存した場合を仮定し、使用基準改正後のぶどう酒からの銅イオンの摂取量は、0.093 mg/人/日[21]と推計した。

【第６回WGにて確認済み】
事務局より：
使用基準改正後のぶどう酒からの銅の摂取量については、次の１）及び２）の推計を考えましたが、いずれが適当でしょうか。なお、現在の評価書案は２）の場合で推計しております。
１）表 1 の使用基準案に規定された硫酸銅（II）五水和物としての最大使用量（10 mg/L）の硫酸銅がぶどう酒中に全部残存したと仮定して推計
２）表 1 の使用基準案における銅としての最大残存量（2 mg/L）の硫酸銅がぶどう酒中に全部残存したと仮定して推計

【第７回WGにて確認済み】

[20] 使用基準改正後のぶどう酒からの硫酸銅の摂取量（無水物として）
＝最大銅残存量×ぶどう酒推定一日摂取量×硫酸銅（II）無水物の分子量/銅の原子量
＝2 mg/L×46.5 mL/人/日÷1000×159.609÷63.546≒0.234

[21] 使用基準改正後のぶどう酒からの銅イオンの摂取量
＝最大銅残存量×ぶどう酒推定一日摂取量
＝2 mg/L×46.5 mL/人/日÷1000≒0.093 mg/人/日

瀧本専門参考人：
2）の場合でよいと思います。

③ 硫酸イオン

本ワーキンググループは、表 1 の使用基準案における硫酸銅（II）五水和物としての最大使用量（10 mg/L）の硫酸銅を添加し、その全量がぶどう酒中に残存した場合を仮定し、使用基準改正後のぶどう酒からの硫酸イオンの摂取量は、0.179 mg/人/日[22]と推計した。

（3）摂取量推計等のまとめ

本ワーキンググループは、使用基準改正後の硫酸銅の摂取量は、（2）①のとおりぶどう酒からの摂取量である 0.234 mg/人/日（無水物として）と推計した。

また、銅イオンの摂取量については、1．（2）の現在の摂取量（6.14 mg/人/日）及び2．（2）②のぶどう酒からの摂取量（0.093 mg/人/日）を合計し、6.23 mg/人/日と推計した。なお、ぶどう酒からの摂取量は、現在の摂取量の1.5%である。

さらに、硫酸イオンの摂取量については、1．（3）の現在の摂取量（●~~2.3~~ g/人/日）及び2．（2）③のぶどう酒からの摂取量（0.179 mg/人/日）を合計し、●~~2.3~~ g/人/日と推計した。なお、ぶどう酒からの摂取量は、現在の摂取量（●~~2.3~~ g/人/日）の●~~0.008~~%である。

事務局より：
硫酸イオンの現在の摂取量の値は、後ほど記載します。

[22] 使用基準改正後のぶどう酒からの硫酸イオンの摂取量
＝最大使用量の「硫酸銅」×ぶどう酒推定一日摂取量×硫酸の分子量/硫酸銅（II）五水和物の分子量
＝10 mg/L×46.5 mL/人/日÷1000×96.063÷249.69≒0.179 mg/人/日

Ⅲ．安全性に係る知見の概要

【第７回ＷＧにて確認済み】
事務局より：
（１）硫酸銅は、ぶどう酒に添加後、銅イオン及び硫酸イオン解離すること、また、添加物評価書「グルコン酸銅」（2004）において、銅としての評価も行っていることから、銅イオン及び硫酸イオンに係る知見も併せて総合的に評価する方針でよろしいでしょうか。
（２）銅イオン（銅塩類）については、添加物評価書「グルコン酸銅」（2004）以降の知見について提出されています。また、硫酸銅については、年代に関わらず硫酸銅を被験物質とした知見が提出されています。

硫酸銅は、Ⅰ．９．のとおり、ぶどう酒に添加後、銅イオン及び硫酸イオンに解離すると考えられることから、銅イオン及び硫酸イオンに関する知見も併せ、総合的に「硫酸銅」の体内動態及び毒性に関する評価を行うこととした。

銅イオンについては、添加物評価書「グルコン酸銅」（2004）における知見のほか、それ以外に安全性に係る新たな知見として提出された資料についても検討を行った。

硫酸イオンについては、添加物評価書「硫酸カリウム」（2013）で体内動態に係る知見が検討されており、その結果、安全性に懸念がないとされている（参照50）【71】。また、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）では、添加物評価書「硫酸カリウム」（2013）の後、新たな知見は認められていないため、安全性に懸念のある知見はないとされている（参照44）【72】。さらに、その後、新たな知見は認められていないため、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。

１．体内動態

（１）硫酸銅

硫酸銅を被験物質とした知見は、以下のとおりである。なお、添加物評価書「グルコン酸銅」（2004）には硫酸銅を被験物質とした体内動態の知見の記載はされていない。

①　吸収、分布、代謝、排泄（ラット）（Johnson 及び Lee（1988）；OECD（2014）にて引用）

Long Evans ラット（雄、6 匹/群）に、硫酸銅（II）五水和物で調製した銅含有飼料（飼料中の銅含有濃度[23]（参照51）【追 2】：3.5 mg/kg、5.4 mg/kg、10.5 mg/kg 及び 26.4 mg/kg）を２週間与えた後、0.9%生理食塩水-5 mM グリシンに溶解した ^{67}Cu（化学形態不明）を筋肉注射し、注射後 6 日目から 4 日間糞便及び尿を採取し、糞便及び尿中への排泄量を同位体希釈法を用いて測定し、

[23] ラットの銅要求量は 5.0 mg/kg 体重

放射比活性から銅の収支バランス及び真の吸収率[24]を求める試験（試験 1[25]）が実施されている。また、Long Evans ラット（雄、週齢不明、6 匹/群）に、硫酸銅（II）五水和物で調製した銅含有飼料（飼料中の銅含有濃度 [23]（参照 51）【追 2】：0.40 mg/kg[26]、1.7 mg/kg、3.5 mg/kg、5.4 mg/kg、10.6 mg/kg 及び 21.1 mg/kg）を 2 週間与えた後、^{67}Cu を筋肉注射し、試験 1 と同様の方法で銅の収支バランス及び真の吸収率を求めるとともに糞便及び尿採取期後に、肝臓、腎臓及び血漿中の銅濃度を求める試験（試験 2A[27]）及び Long Evans ラット（雄、週齢不明、12 匹/群）に硫酸銅（II）五水和物で調製した銅含有飼料（飼料中の銅含有濃度 [23]（参照 51）【追 2】：0.40 mg/kg[26]、1.7 mg/kg、3.5 mg/kg、5.4 mg/kg、10.6 mg/kg 及び 21.1 mg/kg）を与え、1 週間後に一晩絶食させ、各食餌群の半数のラットに ^{67}Cu を筋肉注射し、各食餌群の残りのラットは、^{67}Cu で標識した各銅含有飼料 3 g（試験飼料中の銅含有量：1.2 µg、5.1 µg、10.5 µg、16.2 µg、31.8 µg、63.3 µg）を 2 時間かけて摂取させ、ホールボディカウンターで 14 日間 ^{67}Cu の保持量を測定し、^{67}Cu の吸収率[28]を求める試験（試験 2B[29]）が実施されている。

試験 1 並びに試験 2A 及び試験 2B の結果、銅の糞便中、尿中及び糞便中内因性排泄量、収支バランス、真の吸収率、生物学的半減期[30]は表 5 のとおりであり、投与量が増えるほど銅の糞便中内因性排泄量が大幅に増加し、銅の投与量が 3.5 mg/kg から 10.6 mg/kg において銅の収支バランスに差は認められず、銅の真の吸収率は最大で 48%あり、生物学的半減期は銅の投与量が多くなるほど短くなった。また、試験 2A の結果、肝臓、腎臓及び血漿中の銅濃度は、表 6 のとおりであった。Johnson 及び Lee（1988）は、銅の投与量が増えるほど銅の真の吸収率が低下し、糞便中内因性排泄量が増加するため、投与した銅の大部分は糞便中に排泄されるとしている。また、銅の恒常性維持には、銅の吸収よりも排泄のほうが重要であるとしている。なお、同位体希釈法及びホールボディカウンターを用いた銅の吸収量には有意な差はなかったが、ホールボディカウンターを用いた場合、同位体希釈法よりも値が大きくなる傾向があったとしている。（参照52）【96】

---

[24] 銅の真の吸収率＝｛I－F＋(F·Sf/Sm)｝/I
I=銅の摂取量、F=銅の糞便排泄量、Sf=糞便の放射比活性、Sm=組織の放射比活性、F·Sf/Sm は銅の糞便中内因性排泄量（一旦吸収した銅の腸管への排泄量）を示す。

[25] 原著では、Experiment 2 と記載されている。

[26] 0.40 mg/kg は硫酸銅（II）五水和物を添加していないと考えられる。

[27] 原著では、Experiment 3A と記載されている。

[28] ^{67}Cu の吸収は、^{67}Cu の放射性減衰を補正した後、横軸に時間、縦軸に保持率（注射又は経口 ^{67}Cu）の対数をプロットし、各々の線形部分の切片から算出した。

[29] 原著では、Experiment 3B と記載されている。

[30] ^{67}Cu の生物学的半減期は、投与後 3 日目から 14 日目までの経口投与及び注射したラットの全身保持プロットの傾きから算出した。

1 表–5 銅の糞便中、尿中及び糞便中内因性排泄量、収支バランス並びに真の吸収
2 率

		試験 1				試験 2					
銅の投与量	（mg/kg）	3.5	5.4	10.5	26.4	0.4	1.7	3.5	5.4	10.6	21.1
	（μg/日）	56±20	86±10	156±11	473±15	7±1	33±2	63±4	92±4	180±14	403±22
銅の糞便中排泄量（μg/日）		34±4	75±7	138±2	431±13	5±1	24±4	43±4	78±7	163±17	358±33
銅の尿中排泄量（μg/日）		3±1.1	3±0.7	4±1.1	5±0.9	1±0.2	2±0.8	3±0.3	3±0.6	4±1.1	5±1.7
銅の収支バランス（μg/日）		19±5	11±4	14±12	29±25	2±0.2	8±3	18±4	11±7	13±9	41±15
銅の糞便中内因性の排泄量（μg/日）		5±3	14±5	22±5	38±14	1±0.2	4±1	6±2	15±5	24±8	46±4
銅の真の吸収率（同位体希釈法）（%）		48±8	29±6	25±7	17±4	46±4	40±10	41±6	30±5	23±7	22±4
銅の吸収率（ホールボディカウンター）（%）		—	—	—	—	37±10	63±17	54±8	54±15	48±12	25±5
^{67}Cu の生物学的半減期（ホールボディカウンター法）（日）		—	—	—	—	2.36	2.32	2.23	2.13	2.07	1.96

3

4 表–6 肝臓、腎臓及び血漿中の銅濃度

銅の投与量	（mg/kg）	0.4	1.7	3.5	5.4	10.6	21.1
	（μg/日）	7±1	33±2	63±4	92±4	180±14	403±22
血漿中の銅		5±2[a]	33±20[a]	82±10[b]	85±8[b]	98±26[b]	87±11[b]

銅の投与量	(mg/kg)	0.4	1.7	3.5	5.4	10.6	21.1
	(μg/日)	7±1	33±2	63±4	92±4	180±14	403±22
(μg/dL)							
肝臓中の銅(μg/ g 乾重)		2.4±1.4[a]	9.5±2.3[b]	13.8±1.7[c]	13.3±1.4[c]	13.7±2.6[c]	16.0±2.1[c]
腎臓中の銅(μg/ g 乾重)		4.9±0.7[a]	7.5±0.7[ab]	9.5±1.3[bc]	11.8±1.3[c]	12.7±1.9[c]	17.6±4.2[d]

a、b、c、d:上付き文字が異なる行内の値は有意に異なる(P<0.05)。

OECD(2014)は、銅の吸収率を報告している様々な動物実験の結果を踏まえ、ラットは銅の吸収効率を高め、胆汁排泄を減らすことで低銅食に適応することが示され、食餌中の銅濃度が高くなると、銅の吸収率が低下し、糞便中及び内因性の銅の排泄が増加するとしている。(参照53)【97】

【第7回WGにて確認済み】

松井専門委員:

P31,L26-27 について、データは硫酸銅(II)五水和物添加量ではなく、飼料中銅含量であり、硫酸銅を添加して、上記の含量にしていると思います。ご確認ください。

P31,L28 について、元の Cu の形態不明ですが、生理的食塩水とグリシンに溶解したものとなっていると思います。確認してください。

P32,L3-5 について、データは硫酸銅(II)五水和物としてではなく、飼料中銅含量だと思います。TABLE I. Composition of Diet では copper-free; some diets were supplemented with $CuSO_4$ as described in the text となっており、少なくとも 0.40 mg/kg は硫酸銅を添加していないと考えられます。

P32,L22-24 について、吸収が抑制されれば、糞便中排泄が増加します。「銅の真の吸収率が低下しまた、糞便中内因性排泄量が増加するので、投与した銅の大部分は糞便中に排泄されるとしている。」としたらいかがですか?

なお、著者は吸収より排泄が恒常性維持には重要であると記述しています。Excretion of Cu appears to be more important than Cu absorption in maintaining homeostasis

この試験では、銅の投与量が要求量以上(3.5 から 10.6 mg/kg 過剰の場合です。)に増えても銅の出納(balance)が変わらなかったとしており、これは重要だと思います。恒常性機能が働いていることを示していると思います。

臓器中 Cu 含量と各臓器の ^{67}Cu 半減期、分布・代謝なども示されていると思います。分布、代謝で示すべきです。

ホールボディカウンターでは真の吸収が高めに出ることも記述されています。Van den Berg 及び Beynen【99】ではホールボディカウンターを用いて真の吸収を測定しており、真の吸収はこの知見と比べ高いと思います。両論文の真の Cu 吸収率値の相違を説明するために、ホールボディカウンターでは真の吸収が高めに出ることを記述する方が良いでしょう。

脚注にラットの銅要求量を示したらいかがですか？（以降もです）

ラットの銅要求量は 5.0 mg/kg（NRC1995）です。これを示すと理解しやすいのでは？なお、Van den Berg 及び Beynen【99】では欠乏 vs 充足であることが示されています。

伊藤専門委員：

松井専門委員のコメントにいずれも同意いたします。

動物を代謝ケージに移したのは投与 6 日後ですが、その後、組織中の放射能測定までの日数（4 日）についても記載が必要ではないでしょうか？

松井専門委員：

同意します。

この 4 日間に糞尿採取していると思います。（Animals were killed after 4 days of balance collections.）ご確認ください。この点も入れた方が良いでしょう

評価書案の表のデータはどちらも筋肉内投与（Isotope Dilution）のデータでしょう。表 4 では、Isotope Dilution と Whole-Body Counting のデータの違いが示されています。

伊藤専門委員：

脚注 24 の「I=銅の摂取」→「I=銅の摂取量」

松井専門委員：

同意します。

上記の修正をするならば、「F=銅の糞便排泄」→「F=銅の糞便排泄量」でしょう。

事務局より：

ご意見を踏まえ、修正いたしました。

1

【第 7 回WGにて確認済み】

松井専門委員：

P31L29 について、「臓器の各放射比活性」が示されていますが、その結果の記述はないと思います。結果を示さないなら、削除した方が良いでしょう。

事務局より：
ご意見を踏まえ、「臓器の各放射比活性」を削除いたしました。

松井専門委員：
試験 2A の結果として臓器中銅量が記述されていますが、方法が示されていません。「真の吸収率を求めるとともに糞便及び尿採取期後に、肝臓、腎臓及び血漿中の銅量を求める試験」としたらいかがですか？

事務局より：
ご意見を踏まえ、試験方法を追記いたしました。

松井専門委員：
P32L12 について、以下のように修正ください。
「各銅含有飼料 3 g の試験飼料」→「各銅含有飼料 3 」g（「の試験飼料」は削除）

事務局より：
ご意見を踏まえ、「の試験飼料」を削除いたしました。

松井専門委員：
体内動態のまとめでは「生物学的半減期は銅の投与量が多くなるほど短くなった。」との記述がありますが、これ以外の知見は充足群と欠乏群のみの比較です。
ここでは「生物学的半減期は表 4 のとおり」とだけ記述されています。この知見のどこかで、「生物学的半減期は銅の投与量が多くなるほど短くなった。」を示した方が良いでしょう。

事務局より：
ご意見を踏まえ、P32L20-21 に追記いたしました。

事務局より：
②のご意見を踏まえ、トレーサーの投与量を削除いたしました。

【第 7 回WGにて確認済み（（1）分布・代謝の項に対するコメントを移動）】
松井専門委員：
少なくとも、吸収、排泄（ラット）（Johnson 及び Lee（1988）などには分布・代謝の記述があると思います。

事務局より：
ご意見を踏まえ、修正いたしました。

② **吸収、分布、排泄（ラット）**（Van den Berg **及び** Beynen（1992）; OECD（2014）**にて引用**）

Wistar ラット（雄、食餌内容に応じて 9 匹ずつ 2 群に分割）に、銅含有飼料（飼料中の銅含有濃度 [23]（参照 51）【追 2】：1.0 mg/kg[31]（銅欠乏飼料群）又は 5.0 mg/kg[32]（銅充足飼料群））を 28 日間与え、11 日目から 13 日目の間及び 24 日目から 26 日目の間に、糞便中及び尿中の銅を測定するとともに、24 日目に ^{64}Cu 酢酸を腹腔内投与した後、ホールボディカウンターで ^{64}Cu の全身

[31] 原著では、計算値と記載されている。6 回の測定の平均値は 0.8 mg/kg。
[32] 硫酸銅（II）五水和物で調製。原著では、計算値と記載されている。6 回の測定の平均値は 5.3 mg/kg。

保持量を測定し、ガンマカウンターで 24 日目から 26 日目の糞便中及び尿中の ^{64}Cu を測定する試験が実施されている。また、試験最終日に血液と臓器を採集し、銅量を測定した。

その結果、銅の見かけの吸収率[33]は表 7 のとおりであり、銅の摂取量が少ないと、銅の吸収の見かけの効率が高かった。また、^{64}Cu の尿中及び糞便中排泄率並びに血漿及び各臓器中の銅濃度はそれぞれ表 8 及び表 9 のとおりであり、血漿及び各臓器中の銅濃度は、銅充足飼料群と比較して、銅欠乏飼料群は~~有意に~~低かった。さらに、^{64}Cu の全身保持量は、銅の摂取量が少ないほど高く、銅欠乏飼料群及び銅充足飼料群の ^{64}Cu の生物学的半減期は、それぞれ 19.0 日及び 6.0 日であった。（参照54）【98】。

表–7　銅の摂取量、糞便中の銅量銅の見かけの吸収率[注]

飼料中の銅含有濃度（mg/kg）	1.0[31]	5.0[32]
銅の摂取量（μg/日）	12	74
糞便中の銅量（μg/日）	4	43
銅の見かけの吸収率（%）	70	42

注）給餌開始後 11～13 日と 24～26 日の値。各食餌群のラット 9 匹の平均値。

表–8　^{64}Cu の尿中及び糞便中排泄率[注]

飼料中の銅含有濃度（mg/kg）	1.0	5.0
^{64}Cu の尿中排泄率（%）	2	7
^{64}Cu の糞便中排泄率（%）	6	21

注）給餌開始後 24～26 日の値。各食餌群のラット 9 匹の平均値。

表–9　血漿及び各臓器中の銅濃度[注]

飼料中の銅含有濃度（mg/kg）	1.0	5.0
血漿（μg/mL）	＜0.1	1.09
肝臓（μg/ g 乾重）	6.49	10.33
心臓（μg/ g 乾重）	11.76	20.44
腎臓（μg/ g 乾重）	8.84	17.01
脾臓（μg/ g 乾重）	1.50	5.29
筋肉（μg/ g 乾重）	1.48	4.52
骨（μg/ g 乾重）	2.05	2.74

[33] 銅の見かけの吸収率（相対値）は以下の式を用いて算出した。
銅の見かけの吸収率（相対値）＝100×（銅の摂取量－糞便中の銅量）/銅の摂取量

飼料中の銅含有濃度（mg/kg）	1.0	5.0
皮膚（μg/ g 乾重）	0.90	3.65

注）各食餌群のラット 9 匹の平均値。

【第 7 回WGにて確認済み】
松井専門委員：
P36,L4 について、各群の動物数を確認してください。アスコルビン酸投与群は無視しても良いのでは？Expt 4.なら各群 9 匹だと思います。

P36,L5 について、1 mg/kg 飼料には硫酸銅は含まれていません。（Table 1. Expts 3 and 4. Composition of the purified diets used）

脚注 33 はおかしいです。見かけの吸収に尿は関係ありません。（見かけの吸収は balance と差がないことを示したいのですかは？）

この Expt 4 では ^{64}Cu 酢酸腹腔内投与により、糞便中内因性排泄を測定していると思います。また、全身の ^{67}Cu 代謝、^{67}Cu 尿中排泄、臓器中 Cu が示されています。この試験は欠乏 vs 充足ですが、これらを記述する方が良いかどうかをご検討ください。

伊藤専門委員：
松井専門委員のコメントにいずれも同意いたします。

事務局より：
ご意見を踏まえ、修正いたしました。

【第 7 回WGにて確認済み】
松井専門委員：
修正案です。ご確認お願いします。
28 日間与え、11 日目から 13 日目の間及び 24 日目から 26 日目の間に、糞便中及び尿中の銅を測定するとともに、24 日目に ^{64}Cu 酢酸を腹腔内投与し、24 日目から 26 日目の間に、ガンマカウンタで糞便中及び尿中の ^{64}Cu を測定するとともにホールボディカウンタで ^{64}Cu の全身保持量を測定した。また、試験最終日に血液と臓器を採集し、銅量を測定した。

伊藤専門委員：
松井先生のご修正案につきまして、事務局で統一されている方法の書き方（・・・試験が実施されている）に準ずるとしますと、たとえば以下のようになりますでしょうか。
「24 日目に ^{64}Cu 酢酸を腹腔内投与した後、ホールボディカウンターで ^{64}Cu の全身保持量を測定し、ガンマカウンターで 24 日目から 26 日目の糞便中及び尿中の ^{64}Cu を測定する試験が実施されている。」

松井専門委員：
伊藤先生の方法の記述に対するご提案が適切だと思います。同意します。

事務局より：
ご意見を踏まえ、修正案を反映いたしました。また、^{64}Cu の全身保持量の結果を追記しました。

伊藤専門委員：
^{64}Cu 酢酸の投与量（25 μg Cu/kg 体重）の記載は不要でしょうか？

松井専門委員：
放射性トレーサー投与量について、論文では放射能量を示すのが普通な気がします。（放射能比活性（Ci/g など）も材料では示されることが普通ですが）
この論文では伊藤先生のご指摘にあるように「25 μg Cu/kg 体重」のみが示されていますが、これは ^{64}Cu の半減期が数時間で、正確な放射能量が解からないためな気がします。
放射性トレーサー投与量の表記は他の知見を含め、統一した方が良いでしょう。伊藤先生の③へのコメントにもありますが、すべての知見で、トレーサー投与量を示さないことでいかがでしょうか？

伊藤専門委員：
トレーサーの投与量は記載しないことに同意いたします。

事務局より：
ご意見を踏まえ、本評価書ではトレーサーの投与量は示さないこととして統一いたします。

松井専門委員：
表 7 について、表 8 に沿って、脚注に給餌開始後 11-13 日と 24-26 日の値をまとめて算出したことを示した方が良いと思います。

事務局より：
ご意見を踏まえ、表 7 の注釈に追記いたしました。

伊藤専門委員：
表 9 の注釈に「飼料中の銅含有量による有意差あり（P＜0.001）」とありますが、全ての臓器について有意差があることを明記するか、表の各数値にマークを付けるなどした方がわかりやすいのではないでしょうか。

松井専門委員：
表 9 の注釈の「飼料中の銅含有量による有意差あり（P＜0.001）」
この知見の有意差は 2 way-ANOVA の結果であり、1.0 群と 5.0 群の差の検定結果ではありません。（アスコルビン酸投与 アスコルビン酸+銅投与のデータを含めた統計です。）表 7 や表 8 の元表でも同様に 2 way-ANOVA の結果が記載されていますが、表 7 や表 8 では有意差は示されてません。
表 9 の注釈の「飼料中の銅含有量による有意差あり（P＜0.001）」は削除でいかがでしょうか？
有意差を示したい場合は、アスコルビン酸のデータもすべて示す必要があり、かなり煩雑になります。

伊藤専門委員：
表 9 の注釈の有意差については削除することに同意いたします。

事務局より：
ご意見を踏まえ、表 9 の注釈の「飼料中の銅含有量による有意差あり（P＜0.001）」を削除いたしました。

③ 吸収、排泄（ラット）（Van den Berg ら（1994）；OECD（2014）にて引用）

Wistar ラット[34]（雄、3 週齢、18 匹ずつ 2 群に分割）に、試験飼料（飼料

[34] 銅の真の吸収量の測定終了時の平均体重（平均値±標準誤差）について、投与後 14 日目は 178±3 g、投与後 35 日目は 270±4 g、投与後 56 日目は 308±6 g であった。

中の銅含有濃度[23]（参照51）【追2】：1.0 mg/kg[35]（銅欠乏飼料群）又は5.0 mg/kg[36]（銅充足飼料群））を与え、硝酸溶液に溶解し酢酸ナトリウム緩衝液（0.05 mol/L、pH 5.4）で希釈した ^{64}Cu 液で標識した各飼料を経口投与、または ^{64}Cu 液を腹腔内投与し、投与直後から96時間後まで一定間隔でホールボディカウンターにより全身の放射活性を計測し、銅の真の吸収率を求める試験（試験1）を実施している。投与スケジュールについて、0日目、21日目及び42日目に各群6匹のラットのうち、3匹のラットには ^{64}Cu 標識して混餌投与し、残り3匹には ^{64}Cu を腹腔内投与し、また、7日目、28日目及び49日目に、前回混餌投与したラットには腹腔内投与、前回腹腔内投与したラットには混餌投与した。糞便は、0日目から14日目、21日目から35日目及び42日目から56日目の間に採取した。また、各糞便採取期終了時に血液と肝臓を採取した。

次に、非近交系 Wistar ラット[37]（雄、7週齢）に、試験開始前の10日間、銅として 5.0 mg/kg を含む飼料を与え、試験前期間の終わり（試験 0 日目）に、無作為に選んだラット 6 匹は胆管カニュレーションを行い、残りのラットは試験1と同じ食餌内容に応じて24匹ずつ2群に分割し、各食餌群24匹のうちラット6匹に胆管カニュレーションを試験7、14、28、56日目に行い、銅の胆汁中排泄量濃度を求める試験（試験2）を実施している。試験開始7日前から試験0日目、0日目から7日目、7日目から14日目、21日目から28日目、48日目から55日目の間に糞便を採取した。胆汁流量の概日変化の影響を防ぐため、9時から13時に胆汁を採取し、胆汁分泌量は、胆汁液の密度を1.0 g/mL と仮定して重量法を用いて測定した。

試験1の結果、銅の見かけの吸収率[38]及び真の吸収率[39]及び糞便中内因性排泄量[40]並びに血漿中及び肝臓中の銅濃度は表10及び表11のとおりであった。銅の投与量が少ないと、銅の吸収の見かけの効率が高かった。銅欠乏飼料群では、試験 14 日以内に銅の真の吸収が増加したが、その後はその増加量が徐々に少なくなった。銅欠乏飼料群では、銅の糞便中排泄量が大幅に減少した。また、^{64}Cu の腹腔内投与による生物学的半減期は、銅欠乏飼料群では有意に増加した。なお、吸収率は、Johnson 及び Lee（1988）の同位体希釈法により求めた値より高かった。

---

[35] 原著では、計算値と記載されている。4回の測定の平均値は1.1 mg/kg。

[36] 硫酸銅（II）五水和物を添加し調製。原著では、計算値と記載されている。4回の測定の平均値は5.2 g/kg。

[37] 平均体重（平均値±標準誤差）について、0日目は148±5 g、投与後7日目は261±3 g、投与後14日目は284±4 g、投与後28日目は345±6 g、投与後56日目は407±9 g であった。

[38] 見かけの銅の吸収率=（(銅の摂取量－糞便中の銅量）/銅の摂取量）×100

[39] 真の銅吸収率を求めるために、^{64}Cu 腹腔内投与及び ^{64}Cu 混餌投与後、各々について横軸に時間、縦軸に%放射能保持率の対数をプロットしたグラフを作成した。各々の曲線の直線部分を外挿して得られた0時間切片を求め、^{64}Cu 混餌投与後の切片を ^{64}Cu 腹腔内投与後の切片で除し、100を掛けて算出したものを真の銅吸収率とした。

[40] 銅の糞便中内因性排泄量＝銅の真の吸収量－銅の見かけの吸収量

また、試験 2 の結果、銅の胆汁中排泄量濃度は表 12 のとおりであり、銅充足飼料群に比較して、銅欠乏飼料群は銅の胆汁中排泄量濃度が少なくとも試験 7 日目から有意に減少した。胆汁流量は各食餌群間で有意差が認められなかった（平均 0.30 mL/100 g 体重）。

Van den Berg ら（1994）は、銅欠乏飼料群では、銅の吸収効率が高まり、胆汁中の銅の排泄が減少したことは、Johnson 及び Lee（1988）の報告と一致しており、これは銅欠乏飼料群において ^{64}Cu の生物学的半減期が増加したことを支持するものであるとしている。また、銅充足飼料群の胆汁中排泄濃度は約 0.2 µg/100 g 体重/時間、銅の糞便中内因性排泄濃度は約 0.3 µg/100 g 体重/時間であり、これは、銅の胆汁中排泄が糞便中内因性排泄の大部分を占めるという知見を支持するものであるとしている。銅欠乏飼料群では、試験 7 日目から銅の胆汁中排泄濃度及び糞便中内因性排泄量が有意に低下した。銅欠乏飼料群では銅の状態が低下していたため、銅の胆汁中排泄の減少は、銅の状態を新たな定常状態にするために必要な二次的な代償メカニズムであると考えられるとしている。（参照55）【99】。

表–10　銅の見かけの吸収率及び真の吸収率（試験 1） 注 1

	銅の投与量（mg/kg）	銅の見かけの吸収率（%）	銅の真の吸収率（%）	銅の糞便中内因性排泄量（µg/日）
期間 1（試験 0～14 日目）	1	46±4*	–72±_6*	3±_1*
	5	32±2	55±_5	16±_3
期間 2（試験 21～35 日目）	1	48±3*	66±_3	3±_1*
	5	31±2	–56±13	22±10
期間 3（試験 42～56 日目）	1	53±3*	58±_7	3±_1*
	5	22±3	–52±10	24±_7

注 1）数値は各食餌群につき、ラット 3～6 匹の平均値±標準誤差。

注 2）「*」付きの値は、5.0 mg/kg 投与群との有意差あり（P＜0.05）。

表–11　血漿中及び肝臓中の銅濃度（試験 1） 注 1

	銅の投与量（mg/kg）	血漿中の銅濃度（µg/mL）	肝臓中の銅濃度（µg/g 乾重）
期間 1（試験 14 日目）	1	0.07±0.04*	8.3±0.7*
	5	0.93±0.04	13.8±0.4
期間 2（試験 35 日目）	1	0.24±0.10*	9.9±0.5*
	5	0.96±0.04	12.2±0.1

	銅の投与量 （mg/kg）	血漿中の銅濃度 （μg/mL）	肝臓中の銅濃度 （μg/g 乾重）
期間 3 （試験 56 日目）	1	0.61±0.11*	10.8±0.5*
	5	0.96±0.04	12.7±0.4

注１）数値は各食餌群につき、ラット 6 匹の平均値±標準誤差。

注２）「*」付きの値は、5.0 mg/kg 投与群との有意差あり（P＜0.05）。

表–12　銅の胆汁中排泄量濃度（試験 2） 注 1

	飼料中の銅含有濃度 （mg/kg）	銅の胆汁中排泄量濃度 （μg/100 g 体重/時間）
0 日目	5	0.29±0.12
期間 1（試験 7 日目）	1	0.02±0.01*
	5	0.11±0.06
期間 2（試験 14 日目）	1	0.06±0.04*
	5	0.24±0.07
期間 3（試験 28 日目）	1	0.03±0.02*
	5	0.16±0.06
期間 4（試験 56 日目）	1	0.03±0.02*
	5	0.19±0.07

注１）数値は各食餌群につき、ラット 5～6 匹の平均値±標準誤差。

注２）「*」付きの値は、5.0 mg/kg 投与群との有意差あり（P＜0.05）。

【第７回ＷＧにて確認済み】
松井専門委員：
P39,L3 について、以下を確認してください（吸収を調べたのは 2 飼料群各 6 匹ずつですが、実際の各データは表 10 脚注のように 3-6 匹だと思います。）
銅充足飼料（diets with an adequate amount of copper (5 mg Cu/kg)）または銅欠乏飼料（a diet that was deficient in copper (1 mg Cu/kg)）です。

P40,L3 について、これだと 56 日間 ^{64}Cu を投与したことになると思います。

P40,L2-3 について、^{64}Cu 標識は金属 ^{64}Cu を硝酸で溶解し、酢酸ナトリウム緩衝液（0.05 mol/L, pH 5.4）で希釈したもの

P40,L1 について、ちなみに前の試験同様、1 mg/kg 群飼料には硫酸銅は含まれていません（Table 1 Composition of the Purified Diets Used）。

P40,L11-12 について、糞便の放射活性測定は内因性糞中排泄を算出するためでしょう。ホールボディーカウンターで全身の ^{64}Cu を、腹腔内投与と混餌投与直後から測定し、このデータから真の Cu 吸収を測定していると思います。ご確認ください。

肝臓中銅含量、内因性糞中排泄、胆汁排泄も記述されています。腹腔内投与による半減期も示されています（数値は一部他の処理の個体も含まれますので、使いにくいですが、定性的な

記述は可能でしょう。）この試験は欠乏 vs 充足ですが、記述する方が良いかどうかをご検討ください。

表 10 について、グループはおかしいと思います。期間でしょうか？

伊藤専門委員：
松井専門委員のコメントにいずれも同意いたします。

事務局より：
ご意見を踏まえ、修正いたしました。

1

【第 7 回WGにて確認済み】
松井専門委員：
③のタイトルに「、排泄」を追加してください。

事務局より：
ご意見を踏まえ、修正いたしました。

松井専門委員：
修正案です。ご確認お願いします。
Wistar ラット（雄、3 週齢、18 匹ずつ 2 群に分割）に、試験飼料（飼料中の銅含有量 18（参照 49）【追 2】: 1.0 mg/kg（銅欠乏飼料）又は 5.0 mg/kg（銅充足飼料））を与え、硝酸溶液に溶解し酢酸ナトリウム緩衝液（0.05 mol/L、pH 5.4）で希釈した ^{64}Cu 液で標識した各飼料を経口投与、または ^{64}Cu 液を腹腔内投与し、投与直後から 96 時間後まで一定間隔でホールボディカウンターにより全身中の放射活性を計測し、銅の真の吸収率を求める試験（試験 1）を実施している。

伊藤専門委員：
松井先生のご修正案につきまして、^{64}Cu の投与量（5 μg）の記載は不要でしょうか？
トレーサーの投与量は不要かもしれないと思いましたが、文献①では（μCi の単位ですが）記載されていますので、統一されても良いかと思いました。

松井専門委員：
②のようにトレーサー投与量を示さないことでいかがでしょうか？

伊藤専門委員：
トレーサーの投与量は記載しないことに同意いたします。

事務局より：
修正案を反映いたしましたので、ご確認ください。
また、②でのご意見を踏まえ、本評価書ではトレーサーの投与量は示さないこととして統一いたします。

松井専門委員：
方法に記述がありません。この結果を削除するかまたは方法に血漿と肝臓のサンプリングを示してください。

事務局より：
試験２の結果を修正いたしましたので、ご確認ください。

松井専門委員：
表 10～表 12 の脚注では「注２）5.0 mg/kg 投与群との有意差あり（P＜0.05）。」となってい

ますが、表 15 を参考に、注 2）「*」付きの値は 5.0 mg/kg 投与群との有意差あり（P＜0.05）。として表中の「注２」を「*」に変更した方が良いでしょう。

事務局より：
ご意見を踏まえ、修正いたしました。

④ 吸収、排泄（ヒト）（van Ravesteyn（1944））

健常成人 3 名（A：女性；23 歳、B：男性；30 歳、C：女性；26 歳）に通常の食事を 6 日間摂取させ（第 1 期）、その後 150 mg/人/日の硫酸銅（詳細不明[41]、銅として 114.56 mg/人/3 日[42]）を 3 日間経口投与し、投与開始から 6 日間[43]、糞便中の銅濃度を測定する（第 2 期）試験（試験 1）を実施している。なお、第 1 期においても、同様に糞便中の銅濃度を測定している。また、健常成人 2 名（A 及び B）については、銅の胆汁中排泄を測定する試験（試験 2）を実施している。

試験 1 の結果、銅の見かけの吸収率[44]は、被験者 A は 29%、被験者 B は 27.5%、被験者 C は 24%であった。また、試験 2 の結果、被験者 A 及び被験者 B ともに胆汁中排泄は大きく増加した。van Ravesteyn（1944）は、おそらく少なくとも経口投与した銅の約 25%が消化管から吸収され、投与開始から 6～9 日目に、投与した硫酸銅の 65～75%が糞便中に回収されるとしている。銅が消化管から吸収されることは、投与後数日で胆汁中排泄が投与前の 2 倍以上になっていることからも分かるとしている。（参照56）【100】

【第 7 回WGにて確認済み】
松井専門委員：
P44,L5 について、銅として 114.56 mg だと思います。確認してください。
胆汁中銅濃度も検討していると思います。健常人のデータは記述した方が良いでしょう。
脚注に銅食事摂取基準を入れたらいかがですか？理解が進むと思います。（以下同です）

伊藤専門委員：
松井専門委員のコメントにいずれも同意いたします。
脚注 44 に「銅の吸収率（体内に保持された銅の割合）」とありますように、吸収率として記されている数値（被験者 A 29%、被験者 B 27.5%、被験者 C 24%）は、吸収率というより「体内保持率」などの方が正確ではないでしょうか。

松井専門委員：
これについて私も悩みました。
Thus 114.56-82.04 = 32.52 mg of copper or 29 % of the copper sulphate given, were retained

[41] 硫酸銅の投与量（150 mg/人/日）及び銅に換算したときの 3 日間の投与量（114.56 mg/人/3 日）を踏まえると、試験に用いた硫酸銅は、硫酸銅（II）五水和物であると考えられる。
[42] 「日本人の食事摂取基準（2020 年版）」では、銅の耐用上限量は 18 歳以上の男女一律で 7 mg/人/日とされている。
[43] 被験者 C では、第 2 期終了時に経口投与した硫酸銅が全て糞便と一緒に消失していることを確認するため、第 2 期を 9 日間に設定した。
[44] 体内に保持された銅の割合＝（銅の投与量－糞便中の銅量）/銅の投与量×100 として算出しており、実際は銅の見かけの吸収率を示している。

in the body.（被験者 A の記述）となっていますので本文では、「体内保持」です。しかし、実際には吸収です。「本文に忠実に表記」を原則とすると、伊藤先生のご提案とおりです。修正するなら、脚注を体内に「保持された銅の割合＝（(銅の投与量－糞便中の銅量）/銅の投与量）×100
としており、実際は銅の見かけの吸収率を示している。」としたらいかがですか？

事務局より：
ご意見を踏まえ、修正いたしました。

【第７回WGにて確認済み】
松井専門委員：
「in total」ですので、「114.56 mg/人/3 日」ではないでしょうか？
そうならば、用いたのは硫酸銅（Ⅱ）五水和物であることが分かります。この点を脚注に示しても良いでしょう。

事務局より：
ご意見を踏まえ、修正いたしました。また、脚注 41 に、試験に用いた硫酸銅が硫酸銅（II）五水和物であると考えられる旨を追記しました。

⑤ 吸収、排泄（ヒト）（Turnlund ら（1989）; OECD（2014）及び EFSA（2015）にて引用）

健常成人（男性 12 名、年齢：22～35 歳、実験 1 日目の平均体重：71±3 kg、実験 91 日目の平均体重：73±3 kg）に硫酸銅（詳細不明）で調製した銅含有食（食事中の銅含有量[42]：1.68 mg/人/日）を 24 日間（期間 1）、次に銅含有食（食事中の銅含有量：0.785 mg/人/日）を 42 日間（期間 2）、さらに銅含有食（食事中の銅含有量：7.53 mg/人/日）を 24 日間（期間 3）摂取させ、また、銅の吸収量を測定するために塩酸溶液に溶解した ^{65}Cu（酸化銅（II））を期間 1 の 13 日目、期間 2 の 7、8 日目と 31、32 日目、期間 3 の 13 日目に摂取させ、同位体希釈法を用いて、摂取量中及び糞便中の銅量並びに ^{65}Cu を測定した。銅の内因性の糞便中への損失量は、期間 1 と期間 3 は最後の 18 日間、期間 2 は最後の 36 日間について求めた。

その結果、銅の見かけの吸収率[45]及び銅の内因性の糞便中への損失量[46]は、表 13 のとおりであった。Turnlund ら（1989）は、銅の吸収率は食事中の銅摂取量に依存し、銅摂取量が多くなるほど、吸収率が低下したとしている。また、銅摂取量が多くなるほど、銅の内因性損失量が増加するとしている。さらに、食事中の銅含有量が比較的少ない場合、吸収がおそらく最も重要なコントロールポイントであることを示唆しており、摂取量が少なく、内因性損失が減少すると、吸収される割合が著しく増加し、また、食事中の銅含有量が高い場合は、吸収率が低下しても過剰な銅の吸収を完全に防ぐことはで

[45] ^{65}Cu の吸収量＝摂取された ^{65}Cu の量－^{65}Cu 摂取後の糞便中の ^{65}Cu の量
[46] 吸収されなかった食事性銅（全食事性銅に吸収されなかった ^{65}Cu の割合を乗じたもの）を糞便中の銅量から差し引いて算出した。

きず、この過剰な銅は内因性損失が増加することによって除去されると報告している。（参照57）【101】

表–13　銅の見かけの吸収率及び内因性の糞便中への損失量

	期間 1	期間 2		期間 3
		初期	後期	
銅の投与量（mg/人/日）	1.68	0.785		7.53
銅の見かけの吸収率[注]（%）	36.3±1.3	56.2±1.1	55.0±1.5	12.4±0.9
銅の内因性の糞便中への損失量（mg）	0.61	0.36	0.33	0.97

注）数値は平均値±標準誤差。

OECD（2014）は、Turnlund ら（1989）は、重要な研究であり、信頼できる銅の見かけの吸収率を報告したとしている。また、この研究結果から、吸収が銅の調節の初期段階であることが示唆されたとしている。（参照 53）【97】

欧州食品科学委員会（SCF）（1993）は、0.79 mg/日を 42 日間摂取した男性でも銅の状態が低下しなかった Turnlund ら（1989）の研究に基づき、平均必要量（0.8 mg/日）を設定しており、EFSA（2015）は、これに言及している。（参照58）【52】

【第７回WGにて確認済み】
松井専門委員：
P45,L7-9 について、食事中銅含量です。
P45,L10 について、酸化銅の吸収は非常に低いです。塩酸溶液にしていると思います。確認してください。
平均は不要でしょう。以下同じです。

伊藤専門委員：
松井専門委員のコメントにいずれも同意いたします。

事務局より：
ご意見を踏まえ、修正いたしました。

⑥　吸収、排泄（ヒト）（Turnlund ら（1998）；OECD（2014）及び EFSA（2015）にて引用）

健常成人（男性 12 名、平均年齢：26±4 歳、平均体重：試験開始時 74.3±8.2 kg、試験終了時：74.1±7.9 kg、1 名脱落）に、硫酸銅（詳細不明）で調

製した銅含有食（食事中の銅含有量[42]：0.66 mg/人/日）を 24 日間（期間 1）、次に銅含有食（食事中の銅含有量：0.38 mg/人/日）を 42 日間（期間 2）、さらに、銅含有食（食事中の銅含有量：2.49 mg/人/日）を 24 日間（期間 3）摂取させ、また、試験期間中に、5 名には塩酸溶液で溶解した ^{65}Cu（酸化銅（II））を含む飲料水を計 4 回摂取させ、別の 6 名には塩酸溶液で溶解した ^{65}Cu（酸化銅（II））を計 3 回静脈内投与し、その後 12 日間の糞便中の ^{65}Cu を同位体希釈法を用いて測定する試験を実施している。

その結果、各期間での銅の見かけの吸収率及び真の吸収率[47]並びに ^{65}Cu の糞便中の排泄率[48]は、表 14 のとおりであり、Turnlund ら（1998）は、銅の摂取量が多いほど糞便中の ^{65}Cu の内因性排泄率が高くなるとしている。また、試験結果は、銅の内因性糞便中排泄が、体内の銅の貯蔵量を調節する主要なポイントであることを示唆しているが、この調節は、食事による銅の最低摂取量である 0.38 mg/人/日では、銅の状態を維持するのに十分ではなかったとしている。（参照 57、59、60）【101、108、追 3】

表–14　銅の見かけの吸収率及び真の吸収率並びに ^{65}Cu の糞便中の排泄率

	期間 1	期間 2	期間 3
銅の摂取量（mg/人/日）	0.66	0.38	2.49
銅の見かけの吸収率（n=4）（%）	54[a]	67[b]	44[a]
^{65}Cu の糞便中の排泄率（n=6）（%）	26[a]	12[b]	34[a]
銅の真の吸収率（n=4）（%）	73	77	66

a、b：上付き文字が異なる行内の値は有意に異なる（P＜0.05）[49]。

【第 6 回WGと同様の記載】
事務局より：
Turnlund ら（1998）は、添加物評価書「グルコン酸銅」（2004）以前の知見ですが、同評価書に記載されておりません。一方、OECD（2014）及び EFSA（2015）で引用されています。評価書「硫酸銅」には記載すべきでしょうか。

松井専門委員：
記載すべきです。Turnlund ら（1989）と同様の Cu が 3 水準の設定ですが、こちらでは銅の真の吸収が示されており、内因性排泄の重要性がより明瞭になっています。Turnlund ら（2005）では真の吸収が 2 水準の設定で示されています。

[47] 真の平均吸収率は、経口摂取した ^{65}Cu の平均吸収率を静脈内投与した ^{65}Cu の平均排泄率で補正して推定した。
[48] 静脈内投与後 12 日間に排泄された ^{65}Cu の投与量に対する割合。
[49] 原著では、「有意に異なる（P＞0.05）」とされているが、誤植であると思われる。

伊藤専門委員：
私も評価書に記載することに同意いたします。

【第７回WGにて確認済み】
松井専門委員：
^{65}Cu は塩酸で溶解して用いられていますので、酸化銅とは言えません。
この試験では、食事中銅含量を硫酸銅で調製していますので、体内動態（１）硫酸銅に入れるのが適切でしょう。この論文で引用されていた食事調整法の論文を提供します。

The results suggest that endogenous copper excretion is a major point of regulation of the body's copper stores
this regulation was not sufficient to maintain copper status at the lowest intake of dietary copper, 0.38 mg/d.
この 2 点は記述した方が良いでしょう。

平均は不要でしょう。

伊藤専門委員：
「経口投与させ」→「経口投与し」あるいは「摂取させ」
表 14 の注釈「P＞0.05」は元論文の通りですが、「有意に異なる」（significantly different）ですので「P<0.05」の誤りではないでしょうか。

松井専門委員：
同意します。誤植ですね。「誤植であると思われる」を脚注で示した方が良いでしょう。

事務局より：
ご意見を踏まえ、修正いたしました。

【第７回WGにて確認済み】
松井専門委員：
P47L3-5 について、^{65}Cu と ^{63}Cu は安定同位体です。
Turnlund ら（1989）を参照して書いてください。

事務局より：
Turnlund ら（1989）の記載に倣い、修正いたしましたので、ご確認ください。

⑦　吸収、排泄（ヒト）（Harvey ら（2003）：OECD（2014）及び EFSA（2015）にて引用）

健康成人（男性 12 名、平均年齢：32±11 歳、平均体重：78.4±9.3 kg）に、硫酸銅（詳細不明）で調製した銅含有食（食事中の銅含有量[42]：0.7 mg/人/日、1.6 mg/人/日及び 6.0 mg/人/日）を 8 週間~~摂取~~及び、42 日目には ^{65}Cu（塩化銅（II））を単回経口摂取させ、~~その後約 14 日間、糞便を採取し、非標識銅及び ^{65}Cu の糞便中への排泄量を測定し、~~銅の吸収率及び非標識銅の内因性損失量を算出する試験を実施している。糞便は ^{65}Cu（塩化銅（II））摂取後、約 14 日間採取し、非標識銅及び ^{65}Cu の糞便中への排泄量を測定した。

その結果、銅の見かけの吸収率[50]及び真の吸収率[51]並びに非標識銅の内因性損失量[52]は表 15 のとおりであり、銅の吸収率については、投与量による有意な差は認められなかったが、非標識銅の内因性損失量は、高用量銅含有食の場合、低用量銅含有食及び中用量銅含有食の場合と比較して、有意に増加した。（参照61）【102】

表–15　銅の見かけの吸収率及び真の吸収率並びに非標識銅の内因性損失量

銅の投与量（mg/人/日）	0.7（低用量）~~0.7~~	1.6（中用量）~~1.6~~	6.0（高用量）~~6.0~~
銅の見かけの吸収率（%）	41±12	42±15	45±13
銅の真の吸収率（%）	48±13	45±14	48±11
非標識銅の内因性損失量[注]（mg/日）	0.45±0.25*	0.81±0.16*	2.46±1.11

注）「*」付きの値は、高用量銅含有食の値と有意に異なる（P＜0.05）。

OECD（2014）は、Harvey ら（2003）の試験について、銅の摂取量が吸収率（見かけと真の吸収率）に有意な影響を及ぼさなかったことや、各用量における見かけの吸収率と真の吸収率の値が類似していたことは、Turnlund ら（1989、1998、2005）の知見や動物実験データ（Van den Berg ら（1994））と矛盾[53]すると指摘している。（参照 53）【97】

EFSA（2015）は、Harvey ら（2003）の試験を含む成人を対象とした研究結果を踏まえ、混合食からの銅の吸収率は約 50%と考えている。また、Harvey ら（2003）の試験については、尿中、汗中、経皮での損失が測定されていないことを指摘している。（参照 58）【52】

【第７回WGにて確認済み】
松井専門委員：
平均は記述不要でしょう。

P49,L13 について、OECD（2014）で Turnlund ら（1998）も言及されています。なお、Turnlund ら（1998，2005）でも真の吸収は有意な変化ではないと思います。ご確認ください。

伊藤専門委員：
松井専門委員のコメントにいずれも同意いたします。
表 15 の「銅の投与量」の単位（mg/kg/日）→（mg/人/日）
表 15 の注釈「著しく異なる」→「有意に異なる」

松井専門委員：

[50] 銅の見かけの吸収率=（^{65}Cu の投与量－糞便中 ^{65}Cu 量）/^{65}Cu の投与量
[51] 銅の真の吸収率＝（^{65}Cu の投与量－糞便中 ^{65}Cu 量+^{65}Cu の内因性損失量）/^{65}Cu の投与量
[52] 非標識銅の内因性損失量＝非標識銅の糞便中の量－非標識銅の食事中用量+（非標識銅の食事中用量×吸収された ^{65}Cu 量）/^{65}Cu の投与量
[53] Turnlund（1989、1998、2005）では、真の吸収について有意な変化は認められていない。

同意します。

事務局より：
ご意見を踏まえ、修正いたしました。

⑧ 吸収、排泄（ヒト）（Turnlund ら（2005）：OECD（2014）及び EFSA（2015）にて引用）

健常成人（男性 9 名、年齢範囲：26～49 歳、平均体重：74±13 kg（期間 1）、76±13 kg（期間 2））に、銅として 1.6 mg/人/日[42]を含む食事を 18 日間摂取させる試験（期間 1）を実施し、その後、通常の食事及び銅として 7 mg/人/日を含む銅サプリメント（硫酸銅（詳細不明）で調製）を 129 日間摂取させ、さらにその後、銅として計 7.8 mg/人/日の摂取となるよう、銅として 1.6 mg/人/日含有の食事及び銅として 6.2 mg/人/日を含む銅サプリメント（硫酸銅（詳細不明）で調製）を 18 日間摂取させる試験（期間 2）を実施している。各期間の 7 日目に被験者 3 人に Turnlund ら（1998）と同様に塩酸溶液に溶解した ^{63}Cu（酸化銅（II））を含むエネルギー飲料を摂取させ、他の 6 人には塩酸溶液で溶解した ^{63}Cu を静脈内投与し、各期間を通じて尿と糞便を採取し、^{63}Cu の尿中及び糞便中への排泄量を測定し、銅の吸収量を算出した。

その結果、銅の尿中及び糞便中への排泄量、^{63}Cu の尿中及び糞便中への累計排泄率並びに銅の見かけの吸収率[54]及び真の吸収率[55]は表 16 のとおりであった。銅の尿中及び糞便中への排泄量並びに ^{63}Cu の糞便中への累計排泄率については、期間 1 と比較して期間 2 が有意に高く、一方 ^{63}Cu の尿中への累計排泄率については、期間 1 と比較して期間 2 が有意に低かった。（参照62、59）【103、108】

表–16 銅の尿中及び糞便中への排泄量、^{63}Cu の尿中及び糞便中への累計排泄率並びに銅の見かけの吸収率及び真の吸収率

	期間 1	期間 2
銅の投与量（mg/人/日）	1.6	7.8
銅の尿中への排泄量[注1]（μg/日）	20[a]	26[b]
銅の糞便中への排泄量[注1]（mg/日）	1.6[a]	7.1[b]
^{63}Cu の尿中への累計排泄率[注2]（%）	2.1[a]	1.3[b]
^{63}Cu の糞便中への累計排泄率[注2]（%）	27[a]	46[b]
銅の見かけの吸収率[注3]（%）	29[a]	16[b]
銅の真の吸収率（%）	40	29

[54] 銅の見かけの吸収率＝（銅の摂取量－銅の摂取後 12 日間に糞便中排泄された ^{63}Cu の量）×100

[55] 銅の真の吸収率は、見かけの銅吸収率を ^{63}Cu を静脈内投与した被験者の同期間に糞便中排出された ^{63}Cu の割合で補正することによって求めた。

a、b：上付き文字が異なる行内の値は有意に異なる（P＜0.05）。
注１）各期間の７日目以降の 12 日間における一日当たりの銅の平均排泄量（n=9）。
注２）静脈内投与から 12 日間での ^{63}Cu の平均累計排泄率（n=6）。
注３）内因性排泄の補正前（n=3）。

OECD（2014）は、Turnlund ら（2005）が、尿などの排泄経路は、ヒトにおける銅のマイナーな排泄経路であると指摘していると報告しており、胆道からの排泄とそれに続く糞便への排泄が、ヒトと動物における銅の主な排泄経路であるとしている。（参照 53）【97】

EFSA（2015）は、Turnlund ら（2005）の研究が汗や経皮による損失を考慮していないことを指摘している。また、Turnlund ら（2005）等の研究結果を踏まえ、尿中の銅は、食事による銅の摂取量にほとんど影響されず、11 μg/日から 60 μg/日の範囲であるとしている。（参照 58）【52】

【第７回WGにて確認済み】
松井専門委員：
P50,L11-12 について、トレーサーは Turnlund ら（1998）の方法で調製したとなっています。Turnlund ら（1998）を参照してください。

伊藤専門委員：
松井専門委員のコメントに同意いたします。
脚注 54 と 55 の「糞便中及び尿中へ排泄された」→「糞便中へ排泄された」ではないでしょうか？

松井専門委員：
同意します。
Apparent copper absorption was calculated by subtracting the amount of oral tracer recovered in the stools in a 12-d period after the feeding from the amount fed. This includes the tracer that was absorbed and then excreted during those 12 d.
見かけの吸収は尿に排泄されたものも含む（蓄積を意味していない）

事務局より：
ご意見を踏まえ、修正いたしました。

【第７回WGにて確認済み】
松井専門委員：
前にコメントしましたが、酸化銅はほとんど吸収されません。「^{63}Cu（酸化銅（II））」ではありません。トレーサーは Turnlund ら（1998）の方法で調製したとなっています。Turnlund ら（1998）では ^{65}Cu を使っており、ここでは ^{63}Cu ですが、Turnlund ら（1998）を参考にして記述してください。

事務局より：
ご意見を踏まえ、Turnlund ら（1998）と同様の方法で調整したことが分かるように、P50L14 の記載を P50L11-12 と L13 に移動しました。

（２）銅塩類

添加物評価書「グルコン酸銅」（2004）において、グルコン酸銅の体内動態

について以下の知見が記載されている。（参照63）【69】

分布（ラット）（北條ら（2000））

グルコン酸銅の生理食塩水溶液（0.05 及び 0.10 mmol/kg 体重（約 23 及び 45 mg/kg 体重））のマウスへの腹腔内投与後 4 時間で、肝臓及び腎臓中の銅濃度が高まったとの報告がある。（参照64）【グルコン酸銅 9】

添加物評価書「グルコン酸銅」（2004）の後の新たな銅塩類の体内動態に係る知見は以下のとおりである。

① 吸収、分布、排泄（ラット）（Coudray ら（2006））

9、22、44 及び 88 週齢の Wistar ラット（雄、10 匹/群）に試験飼料（銅源には炭酸銅を用い、銅として 7 mg/kg[23]（参照 51）【追 2】）を 30 日間与え、4 週目のはじめに塩酸溶液に溶解した ^{65}Cu（elemental Cu）を含む複数の安定同位体溶液を強制経口投与し、4 日間糞便及び尿を採取し、剖検時に肝臓･脛骨を採取し、誘導結合プラズマ質量分析法で ^{65}Cu を測定する試験を実施している。

その結果、腸管における ^{65}Cu の吸収率[56]、肝臓中及び骨中の銅含有濃度並びに ^{65}Cu の糞便中及び尿中への排泄量は表 17 のとおりであり、ラットの週齢による有意差はなかった。（参照65、51）【106、追 2】

表–17 腸管における ^{65}Cu の吸収率、肝臓中及び骨中の銅含有量並びに ^{65}Cu の糞便中及び尿中への排泄量[注]

	9 週齢（測定時 13 週齢）	22 週齢（測定時 26 週齢）	44 週齢（測定時 48 週齢）	88 週齢（測定時 92 週齢）
^{65}Cu の投与量	71.5±2.0[b]	70.3±0.6[a]	70.0±0.7[a]	70.1±1.1[a]
腸管における ^{65}Cu の吸収率（%）	18.9±8.2	19.6±8.6	15.6±3.7	14.7±5.0
肝臓中の銅含有濃度（mg/kg 湿重）	3.77±0.39	3.34±0.47	3.58±0.42	3.31±0.53
骨中の銅含有濃度（mg/kg 乾重）	2.46±0.41	2.37±0.41	2.55±0.67	2.32±0.49
^{65}Cu の糞便中への排泄量（μg）	58.0±6.2	56.6±6.3	59.1±3.0	59.8±3.3
^{65}Cu の尿中への	1.08±0.29	0.85±0.43	0.85±0.48	0.93±0.29

[56] 腸管における ^{65}Cu の平均吸収率=（^{65}Cu の投与量－（^{65}Cu の糞便中排泄量＋^{65}Cu の尿中排泄量））/^{65}Cu の投与量

	9 週齢 （測定時 13 週齢）	22 週齢 （測定時 26 週齢）	44 週齢 （測定時 48 週齢）	88 週齢 （測定時 92 週齢）
排泄量（μg）				

注）値は、ラット 10 匹の平均値±標準偏差。

a、b：上付き文字が異なる行内の値は有意に異なる（P＜0.05）

【第 7 回WGにて確認済み】
松井専門委員：
P52,L12-13 について、供試された AIN-93 mineral mix に含まれているのは炭酸銅です。資料が必要ならばお送りします。
^{65}Cu は安定同位元素です。
^{65}Cu は塩酸に溶解して用いられています。

事務局より：
ご意見を踏まえ、修正いたしました。

【第 7 回WGにて確認済み】
松井専門委員：
P52L12-13 について、「試験飼料（銅源には炭酸銅を用いた）」とした方が良いでしょう。

事務局より：
ご意見を踏まえ、修正いたしましたので、ご確認ください。

② **吸収、代謝、排泄（ヒト）（Harvey ら（2005）；OECD（2014）及び EFSA（2015）にて引用）**

健常成人（男性 6 名、年齢範囲：34～57 歳）に ^{65}Cu（塩化銅（II））を静脈内投与し、糞便を 14 日間採取した。さらに、4 週間後、^{65}Cu（塩化銅（II））を経口投与し、血液を 7 日間、糞便を 14 日間採取する試験を実施している。

その結果、銅の見かけの吸収率は 33±3%であった。また、静脈内投与した場合の銅の排泄量で補正し算出した銅の真の吸収率は 48±5%、経口摂取した場合の銅の排泄量で補正し算出した銅の真の吸収率は 49±4%であり、有意差はなかった。また、静脈内投与の場合、^{65}Cu の排泄率は 32%、経口投与の場合、吸収された ^{65}Cu の排泄率の推定値[57]は 35%であり、有意差はなかった。さらに、Harvey ら（2005）は、肝初回通過により吸収された銅の約 74%が除去され、その後、80%がセルロプラスミンに結合して血液中に放出され、20%が腸管に再排泄されることを報告している。（参照66）【107】

EFSA（2015）は、Harvey ら（2005）の試験を含む成人を対象とした研究結果を踏まえ、混合食からの銅の吸収率は約 50%と考えている。（参照 58）【52】

（３）銅

[57] 経口投与量のうち吸収されてから糞便へ排泄された割合。

① **銅のホメオスタシス（総説）**（Wijmenga 及び Klomp ら（2004））

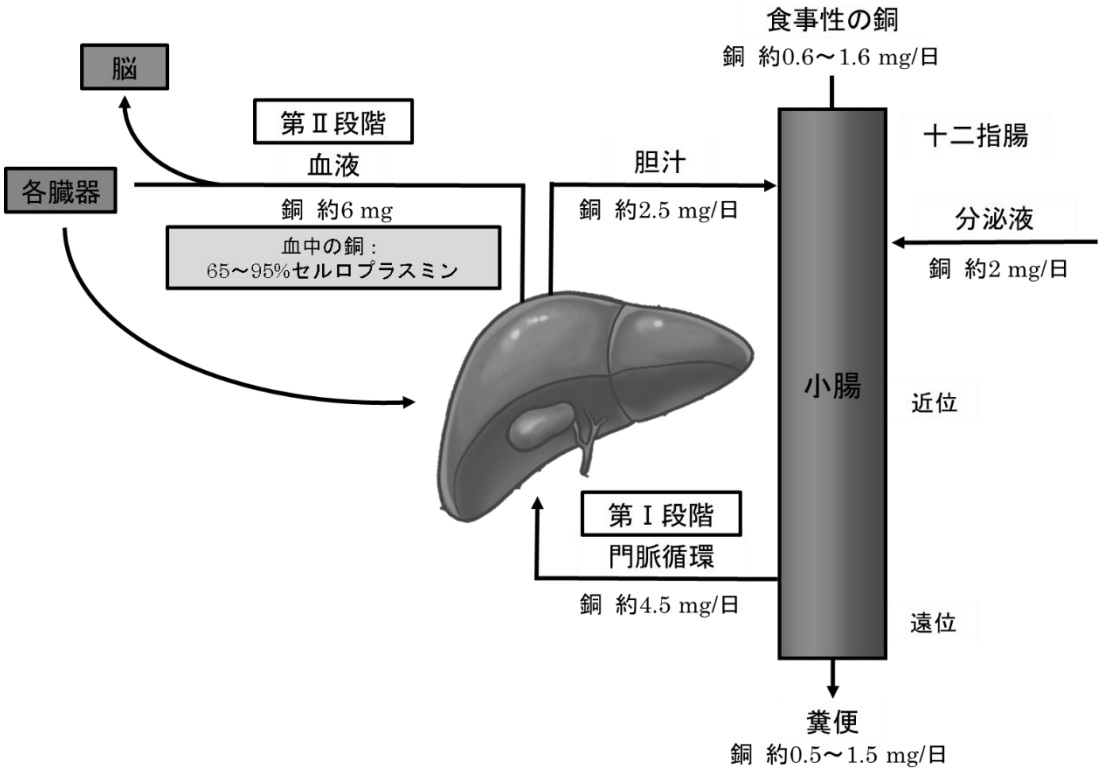
銅の経口摂取の許容範囲は、成人で 1.3～13 mg/人/日とされている。食事から摂取された銅は、その約 15%が各組織に運ばれ、残りの約 85%が排泄される。通常の生理状態では、銅の排泄の約 98%が胆汁を経由し、尿からはわずか 2%しか排泄されないことから、肝臓は胆汁の排泄を調節することで全身の銅の恒常性を保っている臓器であると考えられる。食事から摂取された銅は、上部腸管の粘膜から吸収され、全身に運ばれる。銅は血流に入り、タンパク質やアミノ酸と結合する。循環血中に存在する銅の大部分は肝臓に取り込まれる。（参照67）【追 4】

② **銅のホメオスタシス（総説）**（van den Berghe 及び Klomp（2009））

体内の銅のホメオスタシスを維持するために、銅の取り込み、分布、排泄は厳密に制御されている。食事から摂取された銅は、主に胃及び十二指腸で吸収される。~~腸での食事中銅の吸収量は、約 0.6～1.6 mg/日である。~~銅は約 4.5 mg/日が消化管内に排泄されるが、そのほとんどが膵液（約 2 mg/日）及び胆汁（約 2.5 mg/日）に含まれており、唾液及び胃液にもわずかに含まれる。銅の取り込みと分布の第Ⅰ段階では、吸収された銅は門脈循環に運ばれ、ほぼ全ての銅が血清タンパク質に結合する。銅の大部分は肝臓に取り込まれ、アポセルロプラスミンに取り込まれる。銅の分布の第Ⅱ段階では、ホロセルロプラスミンが血液中に排泄される。肝細胞内の過剰な銅は、肝臓で銅 ATP アーゼ（ATP7B）を介して胆汁中に分泌される。銅の糞便中への排泄量は、約 0.5～1.5~~2.5~~ mg/日[58]程度であ~~り、分泌された銅のほとんどが再吸収され~~る。（参照68、69）【追 5、追 20】

[58] 原著では、銅の糞便中への排泄量は約 0.5～2.5 mg/日と記載されているが、引用元である Linder ら（1996）（参照 69）【追 20】~~原著では、糞便中の銅は 0.5～12.5 mg/日と記載されているが、誤植と考えられる。~~

図–1　銅のホメオスタシス



（参照 68（一部改変）[59]）【追 5】

【第 7 回WGにて確認済み】
松井専門委員：
P54L13 について、胃と十二指腸でしょうか。確認してください。

事務局より：
P54L13 の記載は、Wijmenga 及び Klomp ら（2004）【追 5】の Figure 1 の説明文から引用しており、そこでは、食事性の銅は、主に十二指腸と小腸で吸収されるとされております。一方、Introduction では、銅の吸収は主に胃と十二指腸で起こると記載されております。
銅の吸収場所に胃を加え、「食事から摂取された銅は、主に胃、十二指腸及び小腸で吸収される。」としてよろしいか記載ご確認ください。体内動態のまとめ及び食品健康影響評価において、松井専門委員より、銅の吸収場所について、「十二指腸及び小腸」→「胃、十二指腸及び小腸」と修正意見をいただいておりますが、（3）②の記載方法が決まり次第、体内動態のまとめ及び食品健康影響評価の記載をあわせて修正するようにいたします。

松井専門委員：
「十二指腸及び小腸」→「胃及び十二指腸」と修正ください。
図説では十二指腸及び小腸となっていますが、この表現はおかしいです。十二指腸も小腸です。本文では、「Absorption of copper occurs mainly in the stomach and duodenum Intestinal copper uptake seems to be restricted to the stomach and the proximal part of the intestine」が繰り返されております。
（4）体内動態のまとめ、V．食品健康影響評価も同様です。

[59] –原著では、食事性の銅は 0.5～2.5 mg/日、銅の糞便中への排泄量は 0.5～2.5 mg/日と記載されているが、引用元である Linder ら（1996）（参照 69）【追 20】では、それぞれ 0.6～1.5 mg/日、0.5～1.5 mg/日~~原著では、食事性の銅は「0.5～2.5 mg/日」、糞便中の銅は「0.5～2.5 mg/日」~~と記載されているが、誤植と考えられる。

事務局より：
ご意見を踏まえ、P54L13「十二指腸及び小腸」を「胃及び十二指腸」に修正いたしました。また、（4）体内動態のまとめ及びV．食品健康影響評価も同様に修正しました。

松井専門委員：
net ですので、「腸での食事中銅の吸収量は、」が良いでしょう。

事務局より：
ご意見を踏まえ、修正いたしました。

松井専門委員：
「分泌された銅のほとんどが再吸収される」と齟齬をきたすため、「胆汁中に分泌される。銅の糞便中への排泄量は、0.5～..」と修正ください。

事務局より：
ご意見を踏まえ、修正いたしましたので、ご確認ください。

1

事務局より：
図1右側の「分泌」を「分泌液」に、「銅 2.0 mg」を「銅 2.0 mg/日」に修正しました。
また、原著（参照 68）【追 5】の引用文献（Linder ら（1996）【追 20】）を確認したところ、原著 Figure 1 の食事中及び糞便中の銅の数値が誤植と考えられたので、注釈にその旨を記載し、本文中及び図中の数値を修正しました。

松井専門委員：
van den Berghe 及び Klomp（2009）の評価書案の記述では、「肝細胞内の過剰な銅は、…胆汁中に分泌される。…分泌された銅のほとんどが再吸収される。」となっており、胆汁由来の銅のほとんどが再吸収されると読めてしまいます。
一方、彼らは過剰の場合は胆汁由来の銅は再吸収されず、Figure 1 に示すように胆汁由来の銅によって 2.5 mg/day 程度（すなわち 2.5 は過剰時）が体内から出て行くとしています。なお、Linder（1996）も Most of the copper in bile appears to be nonreabsorbable を 2 回引用しています。

1） van den Berghe 及び Klomp（2009）は胆汁と分泌液（secretory fluid）を区別していますので「分泌された銅のほとんどが再吸収される。」には胆汁由来は含まれないと考えられます。
そこで、「胆汁中の銅のほとんどが再吸収されず、銅の糞便中への排泄量は、0.5～2.5 mg/日 程度となる。」または、「胆汁中に分泌された過剰な銅のほとんどが再吸収されず、銅の糞便中への排泄量は 2.5 mg/日程度となる。」としたらどうでしょうか？「膵液等に由来する銅はほとんどが再吸収される」を入れるかはご検討お願いします。

２）　van den Berghe 及び Klomp（2009）の銅摂取/糞中排泄が～0.5-2.5 mg/d は誤植ではなく、意図的な改変だと思います。

前に示したように Linder（1996）は胆汁中の銅（2.5 mg/d？）の多くは再吸収されないとしていますので、銅の糞便中への排泄量を 0.5～1.5 mg/日とすると矛盾が生じます。van den Berghe 及び Klomp（2009）は過剰の場合も含め 0.5～2.5 mg/日としていると考えられます。van den Berghe＆Klomp（2009）の図中データに～（「まで」ではありませんね。～（全角ティルダ）は漸近的に近いの意味だと思います。）を付けていますが、論文中では胆汁中排泄、唾液など排泄量は約となっています。図中の～を「約」として記入した方が良いでしょう。

また、本文中の「腸での食事中銅の吸収量は約 0.6～1.6 mg/日である。」は削除した方が良いでしょう。

伊藤専門委員：

松井先生のご修正案にいずれも賛成です。

van den Berghe 及び Klomp（2009）の Daily net copper absorption in the gut is approximately 0.6-1.6 mg/day. は、Linder（1996）の Fig. 1 中の Dietary copper 0.6-1.6 mg（1 日摂取量）を読み間違えた（？）ものではないでしょうか？ van den Berghe 及び Klomp（2009）の Fig. 1 では Dietary copper は 0.5-2.5 mg/day となっていますが、この根拠も不明です。これと排泄量を同一にすることで、つじつまを合わせているようです。

評価書案ではそれらを Linder（1996）の Fig. 1 に合わせて変更されており、「一部改変」とされていますので、松井先生ご指摘の「約」を入れていただければ問題ないかと思います。

注釈 59 の「原著」は van den Berghe 及び Klomp（2009）のことかと思いますが、これは総説ですし、その引用論文である Linder（1996）（これも総説ですが）と紛らわしいのではないでしょうか？

松井専門委員：

当初は伊藤先生のご指摘の通り、van den Berghe 及び Klomp（2009）は 0.6-1.6 mg（1 日摂取量）を吸収と読み間違えており、つじつまを合わせるため、摂取を 0.5-2.5 mg/day としたと考えていました。（少なくとも誤植ではありません。）そうなると、前にコメントしましたように、Linder（1996）の胆汁中の Cu 排泄は 2.5？mg/day、糞中排泄は 0.5-1.5 mg/day、胆汁中の Cu は多くが再吸収されない（Most of the copper in bile appears to be nonreabsorbable. ）で矛盾が生じて

いると思います。

伊藤専門委員：
ご指摘のように、Linder（1996）の中でも矛盾が生じています。
本文に「all but 0.5-1.0 mg of the total (～6.0 mg) must be reabsorbed every day」とありますが、胆汁排泄された Cu も再吸収されないと、この計算にはならないです。
胆汁排泄された Cu がほとんど再吸収されないことが繰り返し書かれていますが、実際、膵液等により分泌された Cu と胆汁排泄された Cu が区別できるわけではないと思いますので、「ほとんど再吸収されない」も記載しない（もちろん現在の「分泌された銅のほとんどが再吸収される」も削除）というのは、いかがでしょうか？

松井専門委員：
伊藤先生のご意見は、「事務局のご提案通りに図の銅摂取と排泄を Linder（1996）のデータに差し替えて、数値には約を付ける」、これに沿って、本文を修正ですね。同意します。
なお、van den Berghe 及び Klomp（2009）のデータは誤植ではありませんので、適切に脚注を修正する必要があります。

伊藤専門委員：
きちんと記載せず申し訳ございません。ご記載の通りです。
内容的には Linder（1996）のみを引用することでも良いように思いますが、評価書案の図が van den Berghe 及び Klomp（2009）をもとにしていますので、やはり両方の引用が必要です。
脚注の記載に配慮が必要と思います。

事務局より：
ご意見を踏まえ、下記のとおり追加で修正しました。
- 本文の「腸での食事中銅の吸収量は、約 0.6～1.6 mg/日である」及び「分泌された銅のほとんどが再吸収される」を削除。
- 図 1 の銅量に「約」を追記。
- 注釈 58 及び 59 は誤植であることは削除し、van den Berghe 及び Klomp（2009）とこれの引用元（Linder ら（1996））の区別がつくように修正。

また、van den Berghe 及び Klomp（2009）の Figure 1 に基づき、図 1 右側の

「約銅 2.0 mg/日」を「約銅 2 mg/日」に修正しました。

1
2 ③ **分布（総説）**（Bost ら（2016））
3 Bost らの総説（2016）によると、銅はヒトの体全体に約 110 mg 存在し、
4 筋肉に約 28 mg、骨に約 46 mg、肝臓に約 10 mg、血漿に約 1 μg/mL の濃度
5 で分布するとまとめている。（参照70）【74】
6

【第６回WGと同様の記載】
伊藤専門委員：
Bost ら（2016）と厚生労働省日本人の食事摂取基準 2020 年版策定検討会報告書（2019）はいずれも食事由来の銅に関する全般的な内容で、「銅塩類」でも「分布」のみでもないと思いますが、この配置と内容で問題ないでしょうか？

松井専門委員：
添加物評価書「グルコン酸銅」（2004）において、グルコン酸銅の体内動態について以下の知見が記載されている。」となっています。
以下
分布（ラット）（北條ら（2000））
添加物評価書「グルコン酸銅」（2004）の後の新たな銅塩類の体内動態に係る知見は以下のとおりである。
Coudray ら（2006）～厚生労働省日本人の食事摂取基準 2020 年版策定検討会報告書（2019）ですので、Bost ら（2016）と厚生労働省日本人の食事摂取基準 2020 年版策定検討会報告書（2019）をここに入れるならば、「新たな銅塩類の体内動態」→「新たな銅の体内動態」とするくらいしか思いつきません。
このようにするなら、前にコメントしましたいくつかの総説を入れた方が良い気がします。

事務局より：
ご意見を踏まえ、修正いたしました。
食事由来の銅に関する全般的な内容を含む知見（Bost ら（2016）、厚生労働省日本人の食事摂取基準 2020 年版策定検討会報告書（2019））について、「炭酸カルシウム（第 2 版）」に倣い、「銅」として項立てし、（３）「銅」において記載することとしております。
また、松井専門委員からご提供いただいた Wijmenga 及び Klomp ら（2004）、van den Berghe 及び Klomp（2009）の知見について、（３）「銅」に追記しましたので、ご確認ください。
厚生労働省日本人の食事摂取基準 2020 年版策定検討会報告書（2019）について、van den Berghe 及び Klomp（2009）の知見と重複しております。評価書には記載しないこととしてよろしいでしょうか。

【第７回WGと同様の記載】
松井専門委員：
厚生労働省日本人の食事摂取基準 2020 年版策定検討会報告書（2019）の記載はここでは不要だと思います。

伊藤専門委員：
厚生労働省日本人の食事摂取基準 2020 年版策定検討会報告書（2019）については記載しないことに同意いたします。

事務局より：
ご意見を踏まえ、厚生労働省日本人の食事摂取基準 2020 年版策定検討会報告書（2019）は

削除いたしました。

~~① 分布、代謝（ヒト）（厚生労働省日本人の食事摂取基準 2020 年版策定検討会報告書（2019））~~

~~厚生労働省日本人の食事摂取基準 2020 年版策定検討会報告書（2019）では、吸収された銅は、門脈を経て肝臓へ取り込まれ、セルロプラスミンとして血中へ放出されることを報告している。（参照71）【73】~~

（４）体内動態のまとめ

ラットに硫酸銅又は銅塩類を経口投与した試験では、銅の見かけの吸収率は 42～70%、真の吸収率は 17～48%であり、ほとんどの試験において銅の摂取量が多くなるほど吸収率は低下し、内因性糞便中損失量は増加した。ヒトにおける試験では、見かけの吸収率は 12～67%、真の吸収率は 29～77%であった。Johnson 及び Lee（1988）、Turnlund ら（1998）及び Harvey ら（2003）の結果から、糞便中の内因性排泄が銅の恒常性維持に最も重要であることが示唆されている。胃及び十二指腸で吸収された銅は、門脈を経て肝臓へ取り込まれ、セルロプラスミンとして血中へ放出される。銅の主な排泄経路としては、尿中への排泄は少なく、多くが胆汁を介して糞便中に排泄されることが示唆されている。銅の生物学的半減期は、銅の投与量が多くなるほど短くなった。銅の分布については、Johnson 及び Lee（1988）及び Van den Berg 及び Beynen（1992）では、銅の投与量が多くなるほど血漿及び臓器中の銅量は増加した。また、ヒトの体全体に約 110 mg 存在し、筋肉に約 28 mg、骨に約 46 mg、肝臓に約 10 mg、血漿に約 1 μg/mL の濃度で分布するとされている。

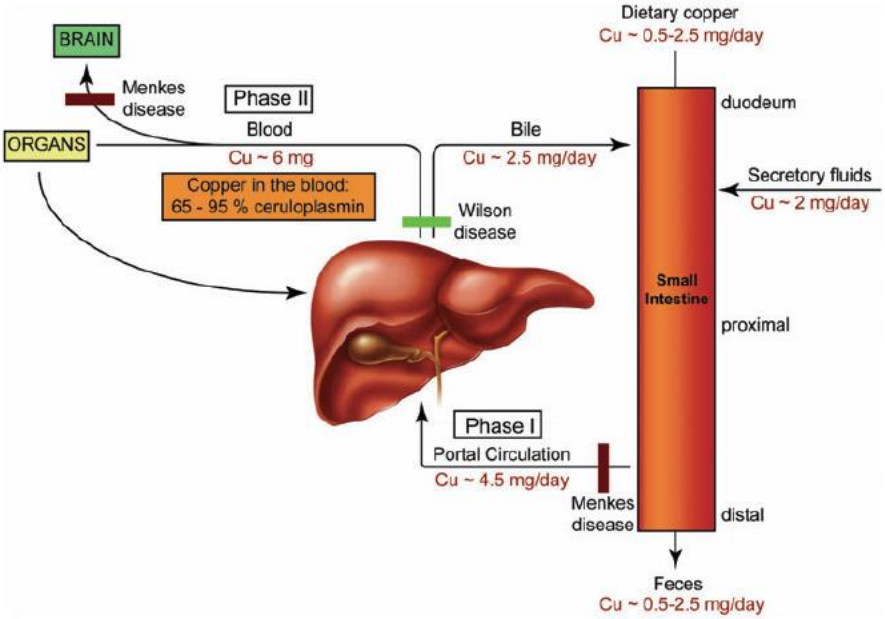
【第７回WGにて確認済み】
松井専門委員：
ラットにおけるホールボディカウンター法による真の吸収率の数値ははずした方が良いでしょう。
吸収、排泄（ラット）（Johnson 及び Lee（1988）、吸収、排泄（ヒト）（Harvey ら（2003）、③吸収、排泄（ヒト）（Turnlund ら（1998）から内因性糞中排泄が恒常性維持に最も重要であることを示した方が良いと思います。
なお、ヒトでは銅摂取増加に伴う有意な真の吸収低下を示す論文はないでしょう。

吸収、排泄（ラット）（Johnson 及び Lee（1988））に記述されている代謝や分布を示した方が良いでしょう。

銅の吸収や排泄に関する分子メカニズムもかなり解かってきています。不要ですか？また、銅の体内代謝を示す図があります。これを記載してもよいでしょう。
Nutr Rev. 2009 Nov;67(11):658-72. doi: 10.1111/j.1753-4887.2009.00250.x.
New developments in the regulation of intestinal copper absorption
Peter V E van den Berghe 1, Leo W J Klomp
Molecular regulation of copper excretion in the liver.
Wijmenga C, Klomp LW.
Proc Nutr Soc. 2004 Feb;63(1):31-9. doi: 10.1079/pns2003316.
資料を送ることも可能です。

伊藤専門委員：
「糞便中及び胆汁中に排泄される」→「糞便中に排泄される」でよいのではないでしょうか？

松井専門委員：
胆汁中を削除するか、または「胆汁を介して糞便中に排泄される」が良いと思います。



前にコメントした総説です。
Nutr Rev. 2009 Nov;67(11):658-72. doi: 10.1111/j.1753-4887.2009.00250.x.

事務局より：
ご意見を踏まえ、修正いたしました。

【第７回WGにて確認済み】
松井専門委員：
修正しました。
P60L14 の銅の吸収場所について、（３）②の修正と同様に「胃及び十二指腸」に修正ください。

事務局より：
ご意見を踏まえ、修正いたしました。

1

２．毒性

（１）遺伝毒性

①　硫酸銅

~~硫酸銅を被験物質とした遺伝毒性試験については、~~飼料添加物評価書「2－デアミノ－2－ヒドロキシメチオニン銅」（2019）において、硫酸銅を被験物質とした遺伝毒性試験に係る表 18-1 及び表 18-2 の知見が検討されている（参照72）【70】。~~その後の新たな知見については表 19 のとおりである。（参照73）【70】~~

戸塚専門委員：

Berek & Kiss（1974）【143】は遺伝毒性試験というよりは、硫酸銅暴露により変異株を isolate することを目的としたもののようです。文献では硫酸銅暴露で変異株ができるメカニズムについては特に記載がなく、DNA に対する直接の作用なのか、間接的な作用なのかが不明です。よって、Ames 試験と同等の扱いをして良いのかどうか疑問です。

一方、仮に、Berek & Kiss（1974）を Ames 試験と同等として扱ったとしても、藤田ら（1988）【128】および Moriya ら（1983）【127】の試験では Ames 試験の酸化型変異検出用の TA102 を含む標準的な菌株を用いて試験されており、1000 ug, 5000ug/ plate の用量で陰性となっており、この用量を 1plate あたり 700 uL として、$CuSO_4$=245 として換算すると、それぞれ $CuSO_4$ 濃度は 6 mM と 30 mM となり、Berek & Kiss（1974）で使用している用量（2.0 mM）よりも高い濃度で陰性となっていることがわかりますので、$CuSO_4$ は直接的な遺伝毒性は示さないとして良いと思います。

杉山専門委員：

Berek& Kiss（1974）に関しては、戸塚先生のご指摘のとおり純粋な硫酸銅の遺伝毒性試験としての取り扱いには難があると思います。

戸塚先生の $CuSO_4$ は直接的な遺伝毒性は示さないとのご見解に異論はございません。

事務局より：

Berek& Kiss（1974）については、参考資料とするか、あるいは削除した方がよろしいでしょうか。

仮に、参考資料とする場合、表 18 からは本試験の記載を削除し、表 18 の後に、次のように別表をもって掲載することでよろしいでしょうか。

参考資料

以下の知見は、硫酸銅のばく露により変異株を分離することを目的としたものであることから、参考資料とした。なお、本試験では、硫酸銅のばく露により変異株ができるメカニズムについては特に言及されておらず、DNA に対する直接の作用なのか、間接的な作用なのかが不明である。

表　硫酸銅に関する遺伝毒性の試験成績

試験種類		試験対象	被験物質	用量等	結果	参照
遺伝子突然変異	突然変異試験（*in vitro*）	細菌（*Bacillus subtilis* 168）	硫酸銅	最高用量 2.0 mM	陽性	Berek & Kiss（1974）（参照 74）【143】

杉山専門委員：

参考資料として掲載することで、特段問題ないかとは考えます。その場合は、Berek & Kiss（1974）の知見は表 18 からは削除されるものと理解しています。

なお、別表としての表記ですが、「硫酸銅に関する遺伝毒性の試験成績」ではなく、「硫酸銅の遺伝毒性に関する参考試験結果」とすることも一考に値するかと考えます。

戸塚専門委員：

杉山先生のご意見に賛成です。

陽性とされている結果ですので、削除ではなく、参考資料に落として別表「硫酸銅の遺伝毒性に関する参考試験結果」として掲載するのが良いと思います。

事務局より：

ご意見を踏まえ、Berek & Kiss（1974）は参考資料扱いといたします。

また、下記の２点についてご確認ください。

１）　参考資料の表のタイトルの修正意見をいただきました。表のタイトルも修正したほうがよろしいでしょか。

２）　参考資料の本文については修正等ございませんでしょうか。

戸塚専門委員：

表 19 は参考資料扱いではないので、Berek & Kiss（1974）の知見を表 19 の後に入れたほうが良いと思います。

そうであれば、表 19 のタイトルを変えなくてもいいのではないでしょうか？

杉山専門委員：

戸塚先生の Berek & Kiss（1974）の知見を表 19 の後に入れるとのご意見に賛同致します。

また、表のタイトルを「硫酸銅の遺伝毒性に関する参考試験結果」が望ましいと考えます。

事務局より：

ご意見を踏まえ、次のとおり修正しましたので、ご確認お願いします。

① 硫酸銅 について

- 飼料添加物評価書「2－デアミノ－2－ヒドロキシメチオニン銅」（2019）の知見と、その後の新たな知見に大別して記載。
- 飼料添加物評価書「2－デアミノ－2－ヒドロキシメチオニン銅」（2019）の知見は、遺伝毒性試験の扱いとする知見（表 18-1）と参考資料扱いとする Berek & Kiss（1974）の知見（表 18-2）に分けて記載。

  表 18-2 のタイトルの先頭に「参考資料」を記載して、参考資料扱いであることを明示。
- Berek & Kiss（1974）の知見を参考資料扱いとした理由や見解を記載していますので、ご確認ください。

② 銅塩類 について

①と同様に、添加物評価書「グルコン酸銅」（2004）の知見と、その後の新たな知見に大別して記載しました。

表–18-1 硫酸銅に関する遺伝毒性の試験成績

試験種類		試験対象	被験物質	用量等	結果	参照
遺伝子突然変異	復帰突然変異試験（*in vitro*）	細菌（*Salmonella typhimurium* TA102）	硫酸銅五水和物	最高用量 3,000 nM/plate	陰性（代謝活性化の有無にかかわらず）	Marzin & Phi（1985）（参照75）【126】
		細菌（*S. typhimurium* TA97、TA102）	硫酸銅	最高用量 1,000 µg /plate	陰性（代謝活性化の有無にかかわらず）	藤田ら（1988）（参照76）【128】
		細菌（*S. typhimurium* TA98、TA100）	硫酸銅	最高用量 5,000 µg /plate	陰性（代謝活性化の有無にかかわらず）	Moriya ら（1983）（参照77）【127】

	~~突然変異試験（*in vitro*）~~	~~細菌（*Bacillus subtilis* 168）~~	~~硫酸銅~~	~~最高用量 2.0 mM~~	~~陽性~~	~~Berck & Kiss（1974）（参照78）【143】~~
	DNA 損傷試験（SOS クロモ試験）（*in vitro*）	細菌（*Escherichia coli* PQ37）	硫酸銅五水和物	最高用量 1,000 nM/ml	陰性（代謝活性化非存在下）	Olivier & Marzin（1987）（参照79）【137】
	不定期 DNA 合成（UDS）試験（*in vitro*）	ラット初代肝細胞	硫酸銅五水和物	7.9、15.7、41.4、78.5 μM/L	陽性（10 mM ヒドロキシ尿素の有無にかかわらず）（7.9～78.5 μM/L）	Denizeau & Marion（1989）（参照80）【138】
染色体異常	染色体異常試験（*in vivo*）	マウス（Swiss、雄、6 匹/群）骨髄細胞	硫酸銅五水和物	0、1.1、1.65、2、3.3、6.6 mg/kg 体重 単回腹腔内投与、6、12 及び 24 時間後	陽性（1.1～6.6 mg/kg 体重、6～24 時間後）	Agarwal ら（1990）（参照81）【139】
	小核試験（*in vivo*）	マウス（CBA、雄、5～6 匹/群）骨髄細胞	硫酸銅五水和物	6.6、13.2、19.8 mg/kg 体重 単回腹腔内投与、24 又は 48 時間後	陰性	Tinwell & Ashby（1990）（参照82）【134】
		マウス（Swiss、性別不明、3 匹/群）骨髄細胞	硫酸銅五水和物	0、5、10、20 mg/kg 体重 2 回腹腔内投与、最終投与 6 時間後	陽性（5～20 mg/kg 体重）[注1]	Bhunya & Pati（1987）（参照83）【132】

		ラット（SD、12匹、妊娠雌）着床前胚、母動物骨髄細胞[注2]	硫酸銅	8 mg/kg 体重単回腹腔内投与、30 時間後採材	陰性	Ornaghi & Giavini（1989）（参照84）【136】

注１）陽性対照群が設けられておらず、WHO（1998）（参照85）【2-デアミノ-2-ヒドロキシメチオニン銅 42】では解釈困難とされている。

注２）着床前胚を採取した母動物のうち 7 匹から骨髄細胞を採取した。

表 18-2 の知見は、硫酸銅のばく露により変異株を分離することを目的としたものであることから、参考資料とした。なお、本試験では、硫酸銅のばく露により変異株ができるメカニズムについては特に言及されておらず、DNA に対する直接の作用なのか、間接的な作用なのかが不明である。

参考資料　表 18-2　硫酸銅に関する遺伝毒性の試験成績

試験種類		試験対象	被験物質	用量等	結果	参照
遺伝子突然	突然変異試験（*in vitro*）	細菌（*Bacillus subtilis* 168）	硫酸銅	最高用量 2.0 mM	陽性	Berek & Kiss（1974）（参照86）【143】

飼料添加物評価書「2－デアミノ－2－ヒドロキシメチオニン銅」（2019）~~その~~の後の新たな知見については表 19 のとおりである。

表–19　硫酸銅に関する遺伝毒性の試験成績（新たな知見規提出）

試験種類		試験対象	被験物質	用量等	結果	参照
DNA 損傷・染色体異常	コメットアッセイ及び小核試験（*in vitro*）	ラット初代脾臓細胞（Wistar、雄）	硫酸銅	銅として 40 μM 12 時間処理	陽性	Mandil ら（2020）（参照87）【125】

②　銅塩類

添加物評価書「グルコン酸銅」（2004）において、表 20 の知見が検討されている（参照 63）【69】。~~その後の新たな知見については表 21 のとおりである。~~

表–20　銅塩類に関する遺伝毒性の試験成績

試験種類		試験対象	被験物質	用量	結果	参照
遺伝子突然変異	復帰突然変異試験（*in vitro*）	細菌（*S. typhimurium* TA97、TA102）	グルコン酸銅	最高用量 1,000 μg /plate	陰性（代謝活性化の有無にかかわらず）	藤田ら（1988）（参照 76） 【128】

添加物評価書「グルコン酸銅」（2004）その後の新たな知見については表 21 のとおりである。

表–21　銅塩類に関する遺伝毒性の試験成績（新たな知見規提出）

試験種類		試験対象	被験物質	用量	結果	参照
DNA 損傷	コメットアッセイ（*in vitro*）	チャイニーズハムスター卵巣細胞（CHO-K1 株）	銅盤抽出培養液	1.56、2.25、3.07、5.67、7.42 mg/L 24 時間処理	陽性（5.67、7.42 mg/L）	Grillo ら（2010）（参照 88） 【151】

③　遺伝毒性のまとめ

飼料添加物評価書「2－デアミノ－2－ヒドロキシメチオニン銅」（2019）において、硫酸銅を含む銅化合物の遺伝毒性について以下のとおり評価されている。

「Cu-(HMTBa)$_2$[60]を含む銅化合物については、染色体異常誘発性を有するものの、遺伝子突然変異誘発性はないと考えられた。この機序については、銅は酸化還元活性遷移元素であり、潜在的に Fenton/Haber-Weiss 反応[61]を触媒し、活性酸素種が生成することが知られていることから、銅の染色体異常誘発性は活性酸素種が生成したことによる間接的な影響と考えられた。

また、ヒトに対する銅の遺伝毒性については、過負荷の条件における場合を除いて予見されておらず、通常のヒトの経口摂取の範囲においては、一般的に遺伝毒性があるとは考えられていない。

HMTBa[62]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評価している。

したがって、食品安全委員会肥料・飼料等調査会は、Cu-(HMTBa)$_2$ が飼料添加物として適切に使用される場合において、食品を通じて、生体にとって特段問題となる遺伝毒性は生じないと考えた。」

[60] 2－デアミノ－2－ヒドロキシメチオニン銅
[61] 過酸化水素及び超酸化物からヒドロキシラジカルを発生させる反応。鉄が触媒となり反応を進行させる。
[62] 2－デアミノ－2－ヒドロキシメチオニン（2-ヒドロキシ-4-メチルチオ酪酸）

上記の評価以降に発表された Mandil ら（2020）によるコメットアッセイ及び小核試験の結果は陽性とされているが、当該試験は銅の活性酸素ストレスを抗酸化物質添加によって軽減させる効果を評価するものであることに加え、細胞の 50%致死濃度の銅を用いて実施された試験であり、陽性とされた変化は前述の活性酸素種の間接的な影響によるものと考えられた。また、銅盤抽出培養液を用いた Grillo ら（2010）によるコメットアッセイについても細胞毒性が見られる用量での結果であり、同様に考えた。

以上より、本ワーキンググループは、硫酸銅には生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないものと判断した。

【第６回ＷＧと同様の記載】

事務局より：

飼料添加物評価書「2－デアミノ－2－ヒドロキシメチオニン銅」（2019）において評価されている知見のほかに、Mandil ら（2020）によるコメットアッセイ及び小核試験（参照 87）【125】が提出されており、陽性の結果です。細胞の 50%致死濃度での試験であることから、活性酸素種による間接的な影響と考え、まとめの文章を作成しました。また、銅盤抽出培養液を用いた Grillo ら（2010）によるコメットアッセイ（参照 88）【151】についても陽性の結果ですが、細胞毒性の認められる濃度での陽性結果であることから、同様に考えました。これらの試験の解釈についてご確認ください。

戸塚専門委員：

遺伝毒性のまとめに関する部分はご記載いただきました通りで特に問題はないと思います。

杉山専門委員：

特段追加のコメントはございません。（戸塚先生のご意見に異論はございません。）現状、事務局案で問題ないかと考えます。

Mandil ら（2020）の報告では、小核試験とコメットアッセイ時において硫酸銅処理により強い細胞毒性が生じており、これら試験の陽性結果については遺伝毒性とは直接関係ない非特異的な作用も関与する可能性が排除できないと考えます。なお、表 19 に関しては、念の為タイトルにも新規データであることを明記することを提案致します。

事務局より：

表19及び表21の表タイトルに「（新たな知見~~規提出~~）」と追記いたしました。

（２）急性毒性

添加物評価書「グルコン酸銅」（2004）において硫酸銅を被験物質とした急性毒性試験の知見は記載されていない。硫酸銅を被験物質とした知見については、表 22 のとおりである。

表–22　硫酸銅に関する急性毒性の試験成績

被験物質	動物種 （性別）	LD_{50}（mg/kg 体重） （銅換算値 mg/kg 体重）	参照文献
硫酸銅（II）五水和物	ラット （系統不明）	960 （244[注]）	Smyth ら（1969） （参照89）【109】
硫酸銅 （詳細不明）	ラット （系統不明）	300	Spector（1956） （参照90）【110】

注）換算値＝ 63.546（銅原子量）/249.69（硫酸銅（II）五水和物分子量）

（３）反復投与毒性

①　硫酸銅

添加物評価書「グルコン酸銅」（2004）において、硫酸銅を被験物質とした以下のａ．～ｅ．の知見が検討されている（参照 63）【69】。それ以外に、ｆ．の知見が提出されている。

【第６回ＷＧと同様の記載】

事務局より：

添加物評価書「グルコン酸銅」（2004）に記載されている知見について、基本的には内容を変更せず、体裁のみ最近の例に整えました。ただし、原著を確認して必要と考える追記等を赤字のとおりしました。添加物評価書「グルコン酸銅」（2004）には、個別の毒性試験に対する食品安全委員会としての判断（NOAEL 等）記載はありませんが、本ワーキンググループとしての判断について追記する必要はありますでしょうか。

高須専門委員：

これまでのぶどう酒添加物に係る評価書では試験ごとに NOAEL の判断を実施していたと思いますので、必要かと思いますが、一方で(a)～(e)の試験は肝臓の検査しかしていない、試験の詳細が把握できない、実施された年代が古いなど NOAEL の判断が困難な試験であると考えます。

事務局より：

ａ．～ｅ．の試験について、NOAEL の判断が困難である旨を追記しましたの

で、ご確認ください。

石塚専門委員：
　d．ラット 40～44 週間反復経口投与試験（Harrisson ら（1954））について、年代が古いことは理由にしない方が良いと思います。

髙須専門委員：
　d．の Harrisson ら（1954）について、年代が古いのは確かですが、それ自体を NOAEL が判断できない根拠とするよりも、試験の内容や記述が不十分であるという書き方の方がよろしいかと思います。
　原著を確認したところ、著者らは硫酸銅投与群で以下のような変化があったと記載しています。
・体重増加抑制（雄高用量群）
・胃重量の増加（雌高用量群）
・血中非タンパク性窒素の増加（雄投与群）
・肝臓の黄疸色素（ビリルビン）沈着（雌雄投与群）

　しかし、これら変化の統計学的な有意差は不明です。また、病理所見については各用量における発生頻度が不明です。
　NOAEL の判断については、最低限の検査はしていると思いますので、「毒性試験としての検査項目が不十分である」とするのは難しいと思います。
　一方、上述のように結果の詳細が不明であることから、NOAEL の判断は難しいと考えます。

事務局より：
　d．の Harrisson ら（1954）において NOAEL が得られない理由について、年代が古い旨は削除し、結果の詳細が不明である旨のみとし、有意差や発生頻度が不明である旨を追記しました。

ａ．**ラット 14 週間反復経口投与試験**（Kulwich ら（1953）；仲本ら~~厚労省安全性評価データ~~（1983）**にて引用**）

Wistar 離乳ラット（性別不明、各群 3～5 匹）に、^{64}Cu で標識された硫酸銅（銅として 200-ppm）を表 23 のとおり投与群を設定して、14 週間混餌投与（摂餌量 20 g/日）したのち、動物の成長と各組織の放射活性を測定する試験が実施されている。

表–23　用量設定

用量設定（銅として）（ppm）	0（対照群）	200

その結果、ラットの成長に影響はなく、投与群で肝臓、腎臓及び大腿骨の銅濃度の軽度な上昇が見られた。（参照 16、~~60、~~91）【33、~~69、~~112】

本ワーキンググループは、本試験は臓器中の銅、モリブデン及び亜鉛の濃度の変化を観察した試験であり毒性試験としての検査項目が不十分であること並びに単一の投与群で実施されていることから、NOAEL を得ることはできないと判断した。

b．ラット 3 か月間反復経口投与試験（Aburto ら（2001））

F344 ラット（雄、各群 5 匹）に硫酸銅を表 24 のとおり投与群を設定して、3 か月間混餌投与し、肝臓中の銅濃度及び病理組織変化を調べる試験が実施されている。

表–24　用量設定

用量設定（銅として）（ppm）[注1]	18（対照群）[注2]	750	1,000	1,250	1,500	2,000

注 1）被験物質投与群は基礎飼料の銅含有量を加味して調製

注 2）基礎飼料のみ。18ppm の銅を含有

その結果、試験終了時には対照群に比較して 1,000ppm 以上の投与群で肝臓中の銅濃度が有意に増加した。また 1,250ppm 以上の投与群で、体重が有意に低く、体重抑制には用量相関が認められた。また、肝臓の病理組織検査で壊死等の所見が著明に認められ、ローダミン染色によって銅顆粒の増加が確認された。（参照 16、92）【33、グルコン酸銅 15】

本ワーキンググループは、本試験は銅摂取による肝臓への影響を観察した試験であり、肝臓以外への影響が不明であることから、NOAEL を得ることはできないと判断した。

c．ラット 18 週間及び 12 週間反復経口投与試験（Fuentealba ら（2000））

成熟及び幼若 F344 ラット（雌雄、各群 4～11 匹）に硫酸銅を表 25 のとおり投与群を設定して、それぞれ 18 週間及び 12 週間混餌投与する試験が実施されている。

表–25　用量設定

用量設定（銅として）（ppm）	＜10（対照群）[注]	1,500

注）基礎飼料のみ。銅の含有は＜10ppm

その結果、成熟ラット、幼若ラットともに被験物質投与群で肝障害が観察された。幼若ラット肝臓の銅の蓄積は成熟ラットに比して多く、肝障害の程度も著しかった。（参照 16、93）【33、グルコン酸銅 16】

本ワーキンググループは、本試験は銅摂取による肝臓への影響を観察した試験であり、肝臓以外への影響が不明であること及び単一の投与群で実施されていることから、NOAEL を得ることはできないと判断した。

d．ラット 40～44 週間反復経口投与試験（Harrisson ら（1954）；仲本ら厚労省安全性評価データ（1983）にて引用）

SD ラット（雌雄、各群 25 匹）に硫酸銅を表 26 のとおり投与群を設定して、40～44 週間混餌投与する試験が実施されている。

表–26　用量設定

用量設定（銅として）（ppm）	0（対照群）注	530	1,600

注）基礎飼料のみ

その結果、1,600ppm 投与群において投与 12 週から摂餌量及び体重増加量の減少が見られ、同群の 25%が投与 35 週までに死亡した。また、1,600ppm 投与群の肝臓に銅の蓄積が認められた。（参照 16、~~60、~~94）【33、~~69、~~グルコン酸銅 14】

本ワーキンググループは、本試験は~~実施された年代が古く~~各変化の統計学的有意差や病理所見の発生頻度の記載がなく結果の詳細が不明であることから、NOAEL を得ることはできないと判断した。

e．ウサギ反復経口投与試験（Tachibana（1952）；仲本ら厚労省安全性評価~~データ~~（1983）にて引用）

ウサギ（詳細不明）に硫酸銅 1 %溶液（10 mL）を表 27 のとおりの内容で、毎日又は 1 日おきに反復経口投与する試験が実施されている。

表–27　投与内容

被験物質投与量	銅投与量注	投与期間
1 %溶液 10 mL	約 12.5 mg/kg 体重	最長 479 日

注）数値は添加物評価書「グルコン酸銅」（2004）より引用

病理組織学的検査の結果、肝障害が認められた。（参照 16、~~60、~~95）【33、

~~69、~~116】

本ワーキンググループは、本試験は銅摂取による肝臓への影響を観察した試験であり、肝臓以外への影響が不明であること及び単一の投与群で実施されていることから、NOAEL を得ることはできないと判断した。

【第６回WGにて確認済み】
高須専門委員：
記載方法に関してですが、「主な評価」「病理組織学検査」は、表「投与内容」に記載内容としては適当でないと思います。文章として「病理組織学的検査の結果、、、」などとするのはいかがでしょうか。

事務局より：
ご意見を踏まえ、表中の「主な評価」「病理組織学検査」を削除し、表の直後の文章にまとめました。

ｆ．ラット及びマウス 92 日間及び 15 日間反復経口投与試験（Hébert ら（1993）；ECHA（2013）及び OECD（2014）にて引用）

【第６回WGと同様の記載】
事務局より：
概要書（P40～）に記載の 15 日間及び 92 日間反復投与毒性試験（ラット及びマウス）（Hébert ら（1993））（参照 96）【67】については、添加物評価書「グルコン酸銅」（2004）以前の試験ですが当該評価書には記載されていません。

【第６回WGと同様の記載】
事務局より：
15 日間及び 92 日間反復投与毒性試験（ラット及びマウス）（Hébert ら（1993））（参照 96）【67】については、複数の試験が含まれていますが、（ａ）～（ｅ）の各試験ではなく、（ｆ）にまとめて NOAEL 等の考察を記載する案を作成しました。記載箇所及び内容を含めご確認ください。

高須専門委員：
15 日間の試験(a)は、あくまでも 92 日間の試験(b, c)の予備試験として実施されていますので、(b, c)の試験について NOAEL を判断するのが適当と考えます。また、(a)の試験の内容は(b, c)にまとめて記載するのがいいのではないかと思います。

事務局より：
15 日間試験については、ラット及びマウスそれぞれの 92 日間試験の項目内に移動させ、内容は、表を用いずに文章及び箇条書きのみで簡潔にまとめました。

髙須専門委員：
(a)の試験については簡潔な内容でよろしいかと考えます。

【第 7 回WGと同様の記載】
事務局より：
第 6 回WGでの議論を踏まえ、構成の修正、加筆修正等行いました。
・（a）15 日間試験（混餌投与）：参考資料に移動。検査項目が限定的である旨を追記。
・（b）及び（c）92 日間試験：予備試験（15 日間試験）の内容を削除。（c）マウスの試験では検査項目が限定的である旨を追記。
・（d）15 日間試験（飲水投与）：参考資料に移動

石塚専門委員：
修正に異論ありません。

髙須専門委員：
追加の意見はありません。

（b）ラット 92 日間~~及び 15 日間~~反復経口投与試験

F344/N ラット（雌雄、各群 20 匹）に硫酸銅(II)五水和物を表 28 のとおり投与群を設定して、92 日間混餌投与する試験が実施されている。そのうち雌雄各群 10 匹は中間期の臨床検査に供した。

表–28　用量設定

用量設定（ppm）		0（対照群）	500	1,000	2,000	4,000	8,000
硫酸銅(II)五水和物換算摂取量（mg/kg 体重/日）注 1	雄	0	32	64	129	259	551
	雌	0	34	68	135	267	528
銅換算摂取量（mg/kg 体重/日）注 2	雄	0	8.1	16.3	32.8	65.9	140.2
	雌	0	8.7	17.3	34.4	68.0	134.4

注 1）原著より引用。~~硫酸銅(II)五水和物としての量。原著より引用。~~

注２）~~銅としての量。~~OECD（2014）より引用。

各投与群で認められた毒性所見は表 29、病理組織所見は表 30 のとおりである。

表–29　毒性所見

投与群	雄	雌
8,000ppm	・赤血球数、網状赤血球数の増加 ・血清総タンパク、アルブミンの減少、尿素窒素の増加 ・尿中 AST の増加	・体重増加抑制 ・ヘモグロビン、ヘマトクリット値、平均赤血球ヘモグロビン量の減少
4,000ppm 以上	・体重増加抑制 ・ヘモグロビン、ヘマトクリット値の減少 ・血清 5-NT の増加 ・尿中 NAG の増加	・平均赤血球容積の減少 ・血清 ALT、SDH の増加 ・血清総タンパク、アルブミンの減少 ・尿中 NAG の増加
2,000ppm 以上	・平均赤血球容積及び平均赤血球ヘモグロビン量の減少 ・血清 ALT、SDH の増加	・血清尿素窒素の増加 ・尿中 AST の増加

表–30　病理組織所見

		用量（ppm）				
		0	1,000	2,000	4,000	8,000
雄	・肝臓の炎症巣増加	0/10 注１	0/10	1/10	10/10	10/10
	・腎皮質尿細管（細胞内、管腔）の好酸性小滴増加注２	0/10	0/10	3/10	10/10	10/10
	・尿細管上皮細胞巨大核	0/10	0/10	0/10	0/10	10/10
	・前胃腺胃境界縁の扁平上皮過形成の増加	0/10	0/10	10/10	10/10	10/10
雌	・肝臓の炎症巣増加	0/10	0/10	0/10	6/10	10/10
	・腎皮質尿細管（細胞内、管腔）の好酸性小滴増加注２	0/10	1/10	9/10	10/10	10/10
	・尿細管上皮細胞巨大核	0/10	0/10	0/10	0/10	10/10
	・前胃腺胃境界縁の扁平上皮過形成の増加	0/10	0/10	7/10	10/10	10/10

注１）発現例数／検査例数

注２）小滴はタンパク質に対して陽性に染色されたが、鉄、PAS 及び抗酸性（リポフスチン）染色では陰性であった。雄ラットの対照群と高用量群の腎臓切片は α2u-グロブリンに対して陽性に染色されたが、投与群ラットと対照群ラットとの間で染色性に明確な差異は認められなかった。

また、以下の所見が認められた。

・摂餌量は、8,000ppm 群の雌雄ラットで対照群と比べてわずかに減少したが、その他の投与群は対照と同程度であった。

・各用量群当たり 4 匹のラットの脾臓切片に Perl の鉄染色を施して鉄（ヘモジデリン）の存在について評価した。その結果、雌雄ラットの 8,000ppm 群では、赤脾髄のマクロファージの細胞質に鉄顆粒は少ししか観察されなかった。2,000 及び 4,000ppm 群の脾臓では鉄反応陽性顆粒物質の減少は対照群と比較してごく僅わずか認められた。

前胃の病変について、Hébert ら（1993 年）は、硫酸銅が多くの動物種で胃の刺激物であることが示されていることから、被験物質による胃粘膜の慢性的な刺激の結果であるとしている。

なお、誤投与により死亡した 1,000ppm 群の雌ラット 1 匹を除いて、全てのラットは試験終了まで生存した。試験期間中、硫酸銅(II)五水和物の投与に起因する臨床症状は観察されなかった。

~~予備試験として、F344/N ラット（雌雄、各群 5 匹）に硫酸銅(II)五水和物を 0、1,000、2,000、4,000、8,000 及び 16,000ppm の用量で、15 日間混餌投与する試験が実施されている。その結果、以下の所見が認められた。~~

~~・2,000ppm 以上の投与群（雌雄）で前胃・腺胃境界縁の扁平上皮過形成及び角化亢進~~

~~・4,000ppm 以上の投与群（雌雄）で腎皮質尿細管の細胞質及び内腔における好酸性タンパク質小滴の数及びサイズの増加~~

~~・16,000ppm 投与群（雌雄）で摂餌量の減少~~

~~・8,000ppm 以上の投与群（雌雄）で体重増加量の減少~~

~~・8,000ppm 以上の投与群（雌雄）で骨髄の造血細胞の減少~~

~~・8,000ppm 以上の投与群（雄）で肝臓の慢性活動性炎症~~

~~・16,000ppm 投与群（雌雄）で脾臓の赤血球系造血の減少~~

~~・16,000ppm 投与群（雌）で肝臓の慢性活動性炎症~~

Hébert ら（1993 年）は、92 日間反復投与試験及び 15 日間反復投与（混餌及び飲水）の結果を総合して被験物質の前胃に対する刺激性、肝臓、腎臓、造血系に及ぼす影響を考慮し、ラットにおける NOEL を 1,000ppm と考察している。（参照 96）【67】

OECD（2014）は、92 日間反復投与試験における前胃、肝臓及び腎臓の毒性に関する NOAEL をともに 1,000ppm（銅として雄 16.3 mg/kg 体重/日、雌 17.3 mg/kg 体重/日）としている。（参照 53）【97】

ECHA（2013）は、92 日間反復投与試験における NOAEL を 1,000ppm（銅として雄 16 mg/kg 体重/日、雌 17 mg/kg 体重/日）としている。（参照 100）【113】

（ｃ）マウス 92 日間~~及び 15 日間~~反復経口投与試験

B6C3F$_1$ マウス（雌雄、各群 10 匹）に硫酸銅(II)五水和物を表 31 のとおり投与群を設定して、92 日間混餌投与する試験が実施されている。なお、本試験では血液生化学検査、尿検査等は行われていない。

表–31　用量設定

用量設定（ppm）		0（対照群）	1,000	2,000	4,000	8,000	16,000
硫酸銅(II)五水和物換算摂取量（mg/kg 体重/日）注1	雄	0	173	382	736	1,563	3,201
	雌	0	205	494	1,048	2,106	4,157
銅換算摂取量（mg/kg 体重/日）注2	雄	0	44.0	97.2	187.3	397.8	814.7
	雌	0	52.2	125.7	266.7	536.0	1058.0

注1）原著 Table より引用。~~硫酸銅(II)五水和物としての換算量~~

注2）OECD（2014）より引用。~~銅換算：63.546（銅）/249.69（硫酸銅(II)五水和物）×各硫酸銅(II)五水和物摂取量~~

各投与群で認められた病理組織所見は表 32 のとおりである。

表–32　病理組織所見

		用量（ppm）					
		0	1,000	2,000	4,000	8,000	16,000
雄	・前胃腺胃境界縁の扁平上皮過形成の増加	0/10	0/10	0/10	2/10	6/10	10/10
雌	・前胃腺胃境界縁の扁平上皮過形成の増加	0/10	0/10	0/10	5/10	8/10	10/10

発現例数／検査例数

また、以下の所見が認められた。

・被験物質投与群では、用量に関連して体重増加量が早期より低下し、高い用量群で明らかに認められた。摂餌量は全ての投与群で対照群と同程度であった。

なお、全てのマウスは試験終了まで生存し、試験期間中、硫酸銅(II)五水

和物の投与に起因する可能性がある臨床症状は観察されなかった。ラットの脾臓において鉄が減少したために、マウスの脾臓の切片について鉄を染色した結果、投与群と対照群で脾臓の鉄陽性顆粒の量に差は認められなかった。

~~予備試験として、B6C3F$_1$マウス（雌雄、各群5匹）に硫酸銅(II)五水和物を0、1,000、2,000、4,000、8,000及び16,000ppmの用量で、15日間混餌投与する試験が実施されている。その結果、以下の所見が認められた。~~

~~・2,000ppm以上の投与群（雌雄）で前胃・腺胃境界縁の過形成及び角化亢進~~

~~・8,000ppm以上の投与群（雌雄）で摂餌量が減少~~

~~・16,000ppm投与群（雄）で体重増加量が減少~~

Hébertら（1993）は、92日間反復投与試験及び15日間反復投与（混餌及び飲水）の結果を総合して、被験物質により前胃腺胃境界縁の過形成と角化亢進が引き起こされたとし、マウスにおけるNOELを2,000ppmと判断している。（参照96）【67】

OECD（2014）及びECHA（2013）は、92日間反復投与試験におけるNOAELを2,000ppm（銅として雄97.2 mg/kg 体重/日、雌125.7 mg/kg 体重/日）としている。（参照53、100）【97、113】

~~**（d）ラット及びマウス15日間反復経口投与試験（飲水投与）＜削除し、（e）のとおり記載予定＞**~~

~~F344/Nラット（雌雄、各群5匹）及びB6C3F$_1$マウス（雌雄、各群5匹）に硫酸銅(II)五水和物を表32のとおり投与群を設定して、15日間飲水投与する試験が実施されている。~~

~~**表32　用量設定**~~

~~用量設定（ppm）~~			~~0（対照群）~~	~~300~~	~~1,000~~	~~3,000~~	~~10,000~~ ~~注3~~
~~ラット~~	~~硫酸銅摂取量（mg/kg/日）~~ ~~注1~~	~~雄~~	~~0~~	~~41~~	~~113~~	~~175~~	~~140~~
		~~雌~~	~~0~~	~~39~~	~~102~~	~~121~~	~~120~~
	~~銅摂取量（mg/kg/日）~~ ~~注2~~	~~雄~~	~~0~~	~~10~~	~~29~~	~~45~~	~~—~~
		~~雌~~	~~0~~	~~10~~	~~26~~	~~31~~	~~—~~
~~マウス~~	~~硫酸銅摂取量（mg/kg/日）~~ ~~注1~~	~~雄~~	~~0~~	~~41~~	~~95~~	~~226~~	~~524~~
		~~雌~~	~~0~~	~~58~~	~~140~~	~~245~~	~~683~~
	~~銅摂取量~~	~~雄~~	~~0~~	~~10~~	~~24~~	~~58~~	~~—~~

	（mg/kg/日）[注2]	雌	0	15	36	62	－

注１）硫酸銅(II)五水和物としての量。原著より引用。
注２）銅としての量。OECD（2014）より引用。
注３）最終体重が測定されていないため、数値はあるが適切ではないと考えられる。OECD では not available としている。

各投与群で認められた毒性所見は表 33 のとおりである。（参照 84）【67】

表 33　毒性所見

投与群	毒性所見	
	ラット	マウス
10,000ppm	・死亡又は瀕死切迫殺（雌雄全例） ・臨床症状	・死亡又は瀕死切迫殺（雌雄全例） ・臨床症状 ・多数組織中の実質細胞の減少
3,000ppm	・死亡又は瀕死切迫殺（雌１匹） ・臨床症状 ・摂水量の減少（雌雄） ・体重増加量の減少（雌雄）	・死亡又は瀕死切迫殺（雄１匹、雌３匹） ・臨床症状 ・摂水量の減少（雌雄） ・体重増加量の減少（雌雄） ・多数組織中の実質細胞の減少
1,000ppm	・腎臓近位尿細管上皮細胞のタンパク質滴のサイズと数の増加（雄）	所見なし
300ppm	・腎臓近位尿細管上皮細胞におけるタンパク質液滴のサイズと数の増加（雄）	所見なし

【第６回WGと同様の記載】
事務局より：
15 日間飲水投与試験については、被験物質を混合した飲水の嗜好性低下によると考えられる死亡が多数認められ、評価が困難と考えました。参考資料とし、＜参考資料とした場合の記載案＞のとおり簡潔に記載することでいかがでしょうか。

髙須専門委員：
参考文献でよろしいと思います。

事務局より：
ご意見を踏まえ、＜参考資料とした場合の記載案＞のとおり簡潔に記載します。

石塚専門委員： 　各群 5 匹であるというのも参考資料に落とした理由にならないでしょうか。 事務局より： 　参考資料とした理由に追記しました。
【第 7 回WGと同様の記載】 事務局より： 　第 6 回WGでの議論を踏まえ、（d）飲水試験を参考資料とした理由を修正しました。 石塚専門委員： 　修正に異論ありません。 髙須専門委員： 　追加の意見はありません。

~~＜参考資料とした場合の記載案＞~~

（○）参考資料

以下の知見については、（b）及び（c）の 92 日間反復投与試験の予備試験として実施された試験であること又は~~各群 5 匹で実施された試験であること及び~~被験物質の混合により飲水の嗜好性が低下したことにより、飲水量減少、体重増加量減少、死亡等が認められており、試験結果を適切に評価することが困難であることから、参考資料として記載した。

~~＜（b）及び（c）の項目内に移動予定＞~~**（a）ラット及びマウス 15 日間反復経口投与試験（混餌投与）**

F344/N ラット（雌雄、各群 5 匹）及び B6C3F$_1$ マウス（雌雄、各群 5 匹）に硫酸銅(II)五水和物を表 33 のとおり投与群を設定して、15 日間混餌投与する試験が実施されている。なお、本試験は、前述（b）及び（c）の 92 日間反復投与試験の用量設定のための予備試験として実施されているため、血液生化学検査及び尿検査等は行われていない。

表–33　用量設定

用量設定（ppm）	0（対照群）	1,000	2,000	4,000	8,000	16,000

ラット	硫酸銅（II）五水和物換算摂取量（mg/kg 体重/日）[注1]	雄	0	92	180	363	777	1,275
		雌	0	89	174	367[注3]	769	1,121
	銅換算摂取量（mg/kg 体重/日）[注2]	雄	0	23.4	45.8	92.4	197.7	3,24.5
		雌	0	22.7	44.3	93.4	195.7	2,85.3
マウス	硫酸銅（II）五水和物換算摂取量（mg/kg 体重/日）[注1]	雄	0	168	362	773	1,154	2,817
		雌	0	210	408	849	1,563	3,068
	銅換算摂取量（mg/kg 体重/日）[注2]	雄	0	42.8	92.1	196.7	293.7	716.9
		雌	0	53.4	103.8	216.1	397.8	780.8

注１）~~硫酸銅(II)五水和物としての量。~~原著より引用。

注２）~~銅としての量。~~OECD（2014）より引用。

注３）原著では 637 mg/kg 体重/日と記載されているが、367 mg/kg 体重/日の誤りだと思われる。

各投与群で認められた毒性所見は表 34 のとおりである。

表–34　毒性所見

投与群	ラット	マウス
16,000ppm	・肝臓の慢性活動性炎症（炎症性単核細胞浸潤）（雌） ・脾臓の赤血球系造血の減少（雌雄）	
8,000ppm 以上	・体重増加量の減少（雌雄） ・肝臓の慢性活動性炎症（炎症性単核細胞浸潤）（雄） ・骨髄の造血細胞の減少（雌雄）	
4,000ppm 以上	・腎皮質尿細管の細胞質及び内腔における好酸性タンパク質小滴[注]の数及びサイズの増加（雌雄）	
2,000ppm 以上	・前胃・腺胃境界縁の扁平上皮過形成及び角化亢進（雌雄）	・前胃・腺胃境界縁の過形成及び角化亢進（軽度）

注）小滴は、タンパク染色に強陽性、PAS 陰性。

また、以下の所見が認められた。

・16,000ppm 投与群のラット（雌雄）及び 8,000ppm 以上の投与群のマウス（雌雄）において、摂餌量が減少した。

・16,000ppm 投与群のマウス（雄）において、体重増加量が減少した。

摂餌量の減少について、Hébert ら（1993）は、銅特有の毒性ではなく、

混合飼料の嗜好性の低下に起因すると考察している。

なお、いずれの用量群においても死亡や瀕死例は認められなかった。

当該試験は後述（b）及び（c）の 92 日間反復投与試験の用量設定として実施されており、原著では NOAEL については判断されていない。（参照 96）【67】

OECD（2014）は、本試験における NOAEL をマウス、ラットとも 1,000ppm（銅としてラット：雄 23.4 mg/kg 体重/日、雌 22.7 mg/kg 体重/日、マウス：雄 42.8 mg/kg 体重/日、雌 53.5 mg/kg 体重/日）としている。（参照 53）【97】

ECHA（2013）は、本試験における NOAEL をマウス、ラットともに 1,000ppm（銅としてラット：23 mg/kg 体重/日、マウス：雄 43 mg/kg 体重/日、雌 53 mg/kg 体重/日）としている。（参照 100）【113】

【第 7 回WG と同様の記載】
事務局より：
原著【67】P467 の Chronic-active inflammation（【67】P465 の Fig.2 参照）を表 34 中では「慢性活動性炎症（炎症性単核細胞浸潤）」と記載しており、第 6 回 WG でご議論いただいたところですが、「慢性活動性炎症」を削除し、「炎症性単核細胞浸潤」とすることでよろしいか、確認させてください。

髙須専門委員：
「炎症性単核細胞浸潤」の表現でよろしいかと存じます。

石塚専門委員：
「慢性活動性炎症」ということばも正式文書等で使用されてはいますが、前回の議論を踏まえて、この修正でよいと思います。

（d）ラット及びマウス 15 日間反復経口投与試験（飲水投与）

F344/N ラット（雌雄、各群 5 匹）及び B6C3F$_1$ マウス（雌雄、各群 5 匹）に硫酸銅(II)五水和物を 0、300、1,000、3,000 及び 10,000ppm の用量で、15 日間飲水投与する試験が実施されている。

3,000–ppm 以上の投与群（ラット、マウス）では、飲水量の減少と死亡又は瀕死、多数組織中の実質細胞の減少が認められ、動物は、立毛、衰弱、異常姿勢、活動低下、呼吸困難、振戦、及び虚脱などの臨床症状を示した。Hébert ら（1993）は、これらは被験物質を含んだ飲水に対する嗜好性の低下に起因するとしている。また、300ppm 以上の投与群（雄ラット）で腎臓近位尿細管上皮細胞のタンパク質滴のサイズと数の増加が認められた。

Hébert ら（1993）は、本試験における NOAEL を設定していない。（参照 96）【67】

OECD（2014）は、本試験における NOAEL を判断していない。（参照 53）【97】

ECHA（2013）は、本試験におけるラットの LOAEL を 300ppm（銅として 10 mg/kg 体重/日）、マウスの NOAEL を 1,000ppm（銅として雄 24 mg/kg 体重/日、雌 36 mg/kg 体重/日）としている。（参照 100）【113】

（ｆ）まとめ

Hébert ら（1993）は、上記（ａ）～（~~ｅ~~ｄ）のラット及びマウスにおける混餌投与及び飲水投与試験の結果を踏まえ、マウスでは混餌投与時の前胃の病変に基づいた NOEL を 2,000ppm とし、これは被験物質の刺激性に起因するとしている。また、ラットでは同様に混餌投与時の前胃に対する刺激性、並びに肝臓、腎臓及び造血系に及ぼす影響が認められたことから、NOAEL を 1,000ppm としている。（参照 96）【67】

ECHA（2013）及び OECD（2014）では、それぞれの混餌投与試験の NOAEL をマウス 2,000ppm、ラット 1,000ppm としている。上記の評価における銅の投与量としての換算値は、90 日試験（92 日投与）においてマウスで雄 97 mg/kg 体重/日、雌 126 mg/kg 体重/日、ラットで雄 16 mg/kg 体重/日、雌 17 mg/kg 体重/日とされている。（参照 53、100）【97、113】

本ワーキンググループは、上記の試験結果を総合的に判断し、ラットにおいては前胃、肝臓、腎臓及び造血系の所見が認められたことから NOAEL を 1,000ppm 投与群から算出した雄で 16 mg/kg 体重/日、雌 17 mg/kg 体重/日（銅として）と判断した。また、マウスにおいては前胃の所見が認められたことから、NOAEL を 2,000ppm 投与群から算出した雄で 97 mg/kg 体重/日、雌で 126 mg/kg 体重/日（銅として）と判断した。

② 銅塩類

銅塩類を被験物質とした反復投与毒性試験に係る知見については、添加物評価書「グルコン酸銅」（2004）以降の新たな知見は提出されていない。

~~ａ．参考資料~~

~~以下の知見については、肝炎のモデル動物を用いた試験であることから、参考資料として記載した。~~

~~銅代謝異常モデルラット反復投与試験（Nomiyama ら（1999））~~

~~先天性の銅代謝異常を有する LEC（Long-Evans-Cinnamon）ラットの~~

雄を用いた反復投与試験は、表 34 のとおりであった。（参照 52、97）【69、グルコン酸銅 21】

表 34　試験内容

投与動物	銅投与量	投与期間	結果
10 週齢	混餌投与 0.074ppm　（通常） 1ppm　（銅過剰） <0.001ppm　（銅欠乏）	6 週間 （10～16 週齢まで）	通常食餌群と銅過剰食餌群には黄疸症状、銅欠乏食餌群には黄疸症状なし
5 週齢	混餌投与 0.126 mg/日[注]	11 週間以上	16 週齢以降に黄疸
80 日齢	3.0 mg/kg 体重/日	3 日間	2/4 例死亡

注）食餌摂取 15 g/日、ラット体重 500 g で 0.252 mg/kg 体重相当

【第６回ＷＧと同様の記載】
髙須専門委員：
　肝炎のモデル動物を用いた試験であることから、参考文献として取り扱うのが妥当であると考えます。

事務局より：
　参考資料として記載し、参考資料とした理由について追記しました。

石塚専門委員：
　後述のｂ．ベドリントンテリア犬における報告（Owen 及び McCall（1983）、Haywood 及び Hall（1992））と同じ扱いにする方が良いと思います。

事務局より：
　後述のｂ．ベドリントンテリア犬における報告と併せ、参考資料とするか、あるいは削除するかについてご検討ください。

＜２つの試験を参考資料とする場合の記載案＞
　以下の知見については、肝炎のモデル動物又は銅代謝異常の遺伝子を有する犬種を用いた試験であることから、参考資料として記載した。

【第７回ＷＧと同様の記載】
事務局より：

第６回ＷＧでの議論を踏まえ、２つの試験を削除しました。

~~ｂ．ベドリントンテリア犬における報告（Owen 及び McCall（1983）、Haywood 及び Hall（1992））＜削除又は参考資料＞~~

~~約 3/4 が銅代謝異常の遺伝子を有するベドリントンテリア犬では、肝臓への銅の蓄積量が肝臓の乾燥重量当たり 400 μg/g（通常の成犬の値：200 μg/g）を超えると肝臓の組織学的な変化がみられ、375 μg/g よりすくなければ、ベドリントンテリア犬特有の症状は出ないと報告されている。（参照 52、98、99）【69、グルコン酸銅 23、グルコン酸銅 24】~~

【第６回ＷＧと同様の記載】
高須専門委員：
この犬種に特有な疾患に関する報告であるため、安全性評価に用いる試験として適当でないと考えます。グルコン酸銅評価書からの転記かと思いますが、この試験は削除するのがよろしいかと考えます。

石塚専門委員：
前述の銅代謝異常モデルラット反復投与試験（Nomiyama ら（1999））と同じ扱いにする方が良いと思います。

（４）発がん性試験

硫酸銅及び銅を被験物質とした発がん性に関する知見は提出されていない。

（５）生殖発生毒性試験

添加物評価書「グルコン酸銅」（2004）において硫酸銅を被験物質とした生殖発生毒性試験の知見は記載されていない。硫酸銅を被験物質とした知見については、以下のとおりである。

①　硫酸銅

ａ.–ラット 2 世代生殖毒性試験（Mylchreest（2005）（非公表）GLP：OECD（2014）及び ECHA の報告（2013）にて引用）

SD ラット（雌雄の親動物、P1 世代：各群 30 匹、F1 世代：各群 30 匹）に、硫酸銅（II）五水和物を、表 35 のとおり投与群を設定して、P1 世代では、交配開始前に少なくとも 70 日間とその後、P1 雄は試験開始後 109～113 日まで、P1 雌は分娩後 21 日まで混餌投与し、F1 世代では、21 日齢の離乳時から交配開始前に少なくとも 70 日間とその後、F1 雄は試験開始後 119 日まで、F1 雌は分娩後 21 日まで混餌投与する試験が実施されている。

P1 及び F1 親動物は上記の投与期間終了時に、F1 及び F2 児動物（離乳児）は離乳日に、それぞれ剖検した。そのほか、各投与群の P1 及び F1 親動物並びに P1 及び F1 離乳児について、肝臓、脳又は血漿に含まれる銅、鉄、マンガン及び亜鉛の濃度を測定した。

表–35　用量設定

用量設定（ppm）（硫酸銅（II）五水和物）として[注]	0（対照群）	100	500	1,000	1,500

各投与期間における被験物質摂取量を表 36 に示す。

表–36　投与期間ごとの被験物質摂取量

	世代、性別及び時期		投与用量（硫酸銅（II）五水和物）として（ppm）			
			100	500	1,000	1,500
摂取量（mg/kg 体重/日）（銅として）	P1 雄	交配開始前 70 日間	1.53	7.7	15.2	23.6
	P1 雌	交配開始前 70 日間	1.92	9.6	19.1	29.5
		妊娠期間	1.67	8.6	17.0	26.2
		哺育開始後 14 日間	3.39	17.7	33.8	55.7
	F1 雄	交配開始前 70 日間	2.25	11.5	23.5	36.1
	F1 雌	交配開始前 70 日間	2.65	13.3	26.7	43.8
		妊娠期間	1.69	8.5	17.1	26.5
		哺育開始後 14 日間	3.27	17.6	35.2	55.4

その結果、親動物に認められた毒性所見は表 37 のとおりである。F1 親動物に毒性所見は認められなかった。

表–37　毒性所見（親動物）

投与群	雄	雌
1,500-ppm	所見なし	P1：脾臓の重量減少（絶対重量及び相対重量）

そのほか、以下の所見が認められた。

・P1 及び F1 親動物の雌雄では、被験物質投与群において体重又は体重増加量の有意な増加あるいは減少が観察されたが、その程度は小さく散発的で、用量相関性が見られないことから、被験物質投与と関係ないとし

ている。
・1,500ppm 投与群の P1 雌及び F1 雌の肝臓に含まれる銅の濃度が増加した。脳に含まれる銅の濃度は、1,500ppm 投与群の F1 雌で増加した。
・1,500ppm 投与群の P1 雌では、肝臓に含まれる鉄の濃度が減少した。

なお、親動物の一般状態、臓器（生殖器、内分泌器官、肝臓、腎臓、脳）重量及び病理検査に被験物質投与の影響は認められなかった。

生殖能力に関しては、以下の所見が認められた。
・1,500ppm 投与群の F1 雌では膣開口時の平均日齢（33.6 日）が対照群の平均日齢（32.1 日）と比べて高値で膣開口が遅延したが、背景対照データ（31.3～33.9 日）の範囲内であり、被験物質投与の影響ではないとしている。

なお、P1 及び F1 親動物において、精子検査、発情周期、交尾率、受胎率、妊娠期間、平均着床痕数、平均出産児数、及び F1 雄の包皮分離に被験物質投与の影響は認められなかった。

児動物に認められた毒性所見は表 38 のとおりである。

表 38　毒性所見（児動物）

投与群	F1 離乳児（雌雄）	F2 離乳児（雌雄）
1,500-ppm–	・脾臓の重量減少（絶対重量[注]）	・脾臓の重量減少（絶対重量及び相対重量）

注）相対重量に統計的有意差はないが対照群と比較して 10%程度減少

そのほか、以下の所見が認められた。
・1,000 及び 1,500ppm 投与群では、雌雄の F1 及び F2 離乳児の肝臓に含まれる銅の濃度が増加した。脳に含まれる銅の濃度は、1,500ppm 投与群の雄の F1 及び F2 離乳児で増加した。1,500ppm 投与群の雌雄の F2 離乳児では、血漿に含まれる鉄の濃度が減少した。（参照 53、100）【97、113】

なお、F1 及び F2 児動物については、出生時の同腹児数、出生時の生存児数、性比、哺育 4 日の生存率、哺育率、体重、並びに離乳児の臓器（肝臓、脳、胸腺）重量及び病理検査（肝臓、脳）に被験物質投与の影響は認められなかった。

以上の結果から、ECHA（2013）では、生殖毒性に係る NOEL を最高用量の 1,500ppm としている。また、1,500ppm 投与群の P1 雌親動物並びに雌雄の F1 及び F2 離乳児で脾臓の重量が減少したことに基づき、親動物及び児動物の一般毒性に係る NOEL を 1,000ppm としている。（参照 100）【113】

OECD（2014）では、本試験で認められた脾臓の重量の低下は生殖影響とは考え難く、本試験の結果は他の毒性試験の結果とあわせて判断すべきであるとしている。（参照 53）【97】

本ワーキンググループとしては、親動物の生殖能力に対する影響が認められないことから、本試験における生殖毒性に係る NOAEL を最高用量の 1,500ppm（23.6 mg/kg 体重/日）と判断した。また、1,500ppm 投与群の P1 雌親動物並びに雌雄の F1 及び F2 離乳児において脾臓の重量減少が認められたことから、親動物の一般毒性及び児動物に対する毒性に係る NOAEL を 1,000ppm（15.2 mg/kg 体重/日）と判断した。

【第 6 回WG と同様の記載】

事務局より：

（1）生殖に関する毒性は認められていないことから、生殖毒性に係る NOAEL は最高用量とすることでよろしいでしょうか。

北條専門参考人：

生殖毒性に係る NOAEL を最高用量の 1,500ppm とする判断は妥当と思われます。

（2）親動物、児動物ともに脾重量の減少が認められていることから、親動物の一般毒性及び児動物に対する毒性に係る NOAEL を 1,000ppm 投与群とすることでよろしいでしょうか。

北條専門参考人：

1,500-ppm 投与群の P1 雌親動物と雌雄の F1 及び F2 離乳児において脾臓の重量減少が認められたので、親動物の一般毒性及び児動物に対する毒性に係る NOAEL を 1,000-ppm とする判断は妥当と思われます。

（3）（1）及び（2）の NOAEL について、mg/kg 体重/日として表す際には、表 36 のうち、それぞれどの値を用いるのが適当でしょうか。

北條専門参考人：

試験期間中の摂取量（銅として）のうち、最小値を用いるのが適切と思われますので、生殖毒性に係る NOAEL では 1,500ppm 群における摂取量（銅として）の最小値である（23.6 mg/kg 体重/日）を用い、親動物の一般毒性及び児動物に対する毒性に係る NOAEL では 1,000ppm 群における摂取量（銅として）の最小値である（15.2 mg/kg 体重/日）を用いるのが適切と思われます。

【第６回WGと同様の記載】
北條専門参考人：
「生殖発生毒性」と「毒性のまとめ」について、加筆・修正しました。
ECHA の評価書で記載されている「Final body weight」、「Food consumption」、「(硫酸銅（II）五水和物）としての投与用量(ppm)」を参考に計算すると、表 31 の摂取量の値の約 4 倍であったので、「The mean copper concentration added to test diet diets was in the range of 25 to 382ppm (100 to 1500ppm copper sulphate pentahydrate).」の記載から、表 31 の摂取量の値は“銅として”の値と推測されます。

事務局より：
いただいた修正案を踏まえ、記載整備を行いましたので、ご確認ください。

② 銅

銅の生殖発生毒性に関する試験成績は提出されていない。

~~（６）アレルゲン性試験~~

【第７回WGと同様の記載】
事務局より：
第６回WGでの議論を踏まえ、アレルゲン性試験を削除しました。

~~添加物評価書「グルコン酸銅」（2004）以降の新たな知見については、以下のとおりである。~~

~~① 硫酸銅~~

~~硫酸銅を被験物質としたアレルゲン性に関する知見は提出されていない。~~

② 銅

ａ．妊娠中の銅摂取とアレルギー疾患リスクの関連性調査（ヒト新生児）（West ら（2012））

アレルギー性鼻炎、喘息、湿疹、食物又は他のアレルギーの家族歴を持つ 300 人の妊婦（平均年齢; 33.5 ± 1.3 歳）について、被験者の妊娠中の抗酸化物質（β カロテン、ビタミン C、ビタミン E、銅及び亜鉛）摂取量と出産後 1 歳の時点での乳児のアレルギーとの関連を調査した研究が実施されている。

その結果、母親の銅の摂取（平均 2.3 mg/日）と、湿疹（P trend = 0.03）、喘鳴（Ptrend = 0.05）、全てのアレルギー性疾患（Ptrend = 0.03）など、乳児のアレルギー転帰の数との間に逆相関の関係が認められた。潜在的な交絡因子を調整した後でも、これらは逆相関した（湿疹の P trend = 0.05、喘鳴の P trend = 0.01、アレルギー性疾患の P trend = 0.03）。銅摂取量の 25%タイル値と 75%タイル値で比較した多変量解析の調整後オッズ比は、喘鳴で 0.31（95%CI 0.13-0.72）、食物アレルギーで 0.38（95%CI 0.11-0.95）であり、銅摂取とこれらのリスクの関係も逆相関した。（参照101）【153】

ｂ．喘息モデルマウス 4 日間口腔咽頭吸入試験（Balb/c マウス）（Ilves ら（2019））

BALB/c マウス（雌、7～9 週齢、各群 8 匹）にオボアルブミンで感作した喘息モデルに、酸化銅（II）をそのままもしくはカルボキシル化、メチルアミン化及び PEG 化したものについて、それぞれ表 39 のとおり投与群を設定して 4 日間口腔咽頭気道投与して気管支肺胞洗浄液、血液、肺を採取し、気道の炎症性反応を評価する試験が実施されている。

表 39 用量設定

用量設定[注]（μg/匹）	0（対照群）	2.5	10	40

注）それぞれの群で 2 種類の媒体、PBS のみ及びオボアルブミン PBS を使用して被験物質を添加。対照群は PBS 群及びオボアルブミン PBS 群。

その結果、酸化銅（CuO）若しくはカルボキシル化又はメチルアミン化によって修飾された CuO は、その気道ばく露によって、アレルギー性気道炎症モデルの典型的徴候に劇的な影響を及ぼすことはなかったが、既存のアレルギー性状態に別の特徴的な炎症－肺中好中球増加症を用量依存的に追加することによって状態を悪化させていた。一方、PEG 化した CuO は、健康でアレルギーマウスの肺の変化を引き起こす可能性が大幅に低い結果であった。Ilves ら（2019）は、この違いは表面の PEG 化が元素材 CuO に

~~よって引き起こされる効果を抑制することを示すとしている。（参照102）【154】。~~

（６）毒性のまとめ

【第６回WGと同様の記載】
事務局より：
現在の記載案に基づき、「毒性のまとめ」を作成しました。

事務局より：
反復投与毒性試験において、添加物評価書「グルコン酸銅」（2004）において記載されている知見についても改めて WG の判断を追記したことに伴い、「毒性のまとめ」の文章を修正しました。

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。

反復投与毒性試験については、ラット及びマウス 92 日間及び 15 日間反復経口投与試験（Hébert ら（1993））において、ラットでは前胃、肝臓、腎臓及び造血系の所見が認められたことから NOAEL を 1,000ppm 投与群から算出した雄で 16 mg/kg 体重/日、雌で 17 mg/kg 体重/日（銅として）、マウスでは前胃の所見が認められたことから、NOAEL を 2,000ppm 投与群から算出した雄で 97 mg/kg 体重/日、雌で 126 mg/kg 体重/日（銅として）と判断した。

生殖発生毒性については、ラット 2 世代生殖毒性試験（Mylchreest（2005））において、親動物の生殖毒性に係る NOAEL を本試験の最高用量である 1,500ppm 投与群から算出した 23.6 mg/kg 体重/日（銅として）と判断した。また、脾臓の重量減少が見られたことから、親動物の一般毒性及び児動物に対する毒性に係る NOAEL を 1,000ppm 投与群から算出した 15.2 mg/kg 体重/日（銅として）と判断した。

発がん性試験は提出されていない。

以上より、本ワーキンググループは、最小の NOAEL は、ラット 2 世代生殖毒性試験（Mylchreest（2005））の 1,000ppm 投与群から算出した 15.2 mg/kg 体重/日（銅として）と判断した。

３．ヒトにおける知見

【第６回WGにて確認済み】
事務局より：
以下のヒトにおける知見について、NOAEL を得ることができるかご確認をお願いします。

【第７回ＷＧと同様の記載】
事務局より：
　第６回ＷＧでの議論を踏まえ、各知見の試験デザインの情報等を追記しました。

　添加物評価書「グルコン酸銅」（2004）において硫酸銅を被験物質とした体内動態の知見は記載されていない。硫酸銅を被験物質とした知見については、以下のとおりである。

（１）硫酸銅

①　介入研究（Turnlund ら（1990）; SCF（2003）、EFSA（2006 及び 2015）、IOM（2001）及び OECD（2014）にて引用）

　健常成人（男性 12 名、22～35 歳）に、最初の 24 日間は十分量銅含有食（銅として 1.68 mg/人/日）、次の 42 日間は低量銅含有食（銅として 0.79 mg/人/日）、最後の 24 日間は高量銅含有食（7.53 mg/人/日）を摂取させ、~~の硫酸銅を含有する食事を摂取させ~~血漿及び尿中の銅濃度を調べる試験が行われている。食事中の銅濃度は、基本食（銅含有量～0.4 mg）に硫酸銅を添加することで調整した。尿は毎日、血液は試験開始時、試験終了時及び低量銅含有食摂取期間の中間点で採取した。

　その結果、血漿中の銅濃度、セルロプラスミン濃度、赤血球中のスーパーオキシドジスムターゼ（SOD）活性及び尿への銅排泄量に各期間で明らかな違いはなく~~について~~、銅の摂取量に影響を受けなかった。（参照103）【48】

②　介入研究（Harvey ら（2003）; OECD（2014）にて引用）（再掲）

　健常成人（男性 12 名、年齢 32±11 歳、体重 78.4±9.3 kg）に、銅として 0.7 mg~~/~~、1.6 又は 6.0 mg/人/日を含有する食事を 8 週間ずつ摂取させる試験が行われている。1.6 又は 6.0 mg/人/日の食事中の銅濃度は、基本食（銅含有量 0.69 mg）に硫酸銅を添加することで調整した。各試験期間の間は 4 週間のインターバルを設けた。血液は、試験 1 日目及び各試験期間の 42 日目に採取した。

　その結果、赤血球中の SOD 活性、血清中の銅濃度及びセルロプラスミン濃度~~、血清及び~~並びに血漿中セルロプラスミン活性は正常範囲内であり、各試験期間で有意差はみられなかった。ADP 刺激血小板凝集、血漿リポタンパク質（総 HDL 及び LDL コレステロール）、トリアシルグリセロール、アポリポタンパク質 A1 及び B、グルタチオンペルオキシダーゼ活性などの心血管疾患に関連する危険因子並びにヘモグロビン、平均赤血球ヘモグロビン濃度及びヘマトクリットなどの血液学的因子についても銅の摂取量に影響を受けな

かった。（参照 61）【102】

③ **介入研究**（O’Connor ら（2003）；SCF（2003）**及び** EFSA（2006）**にて引用**）

健常成人（男女各 11 名、年齢：男性 33.5±2.6 歳、女性 29.0±12.2 歳、体重：男性 81.2±2.8 kg、女性 60.5±2.8 kg）に、通常の食事からの摂取（平均は男性 1.43±0.1 mg/人/日、女性 1.03±0.1 mg/人/日）のほか、銅として 3 mg/人/日の硫酸銅を 6 週間、次に銅として 3 mg/人/日の銅グリシンキレートを 6 週間、最後に銅として 6 mg/人/日の銅グリシンキレートを 6 週間摂取させる二重盲検クロスオーバー試験が行われている。本試験では、銅による DNA の損傷や肝機能に及ぼす影響を、採取した単核白血球のアルカリコメットアッセイ及び血漿の生化学検査によって評価した。

その結果、血漿 ALT 及びγ-グルタミルトランスフェラーゼ（γ-GT）により評価した肝機能並びにアルカリコメットアッセイにより評価した単核白血球の DNA 損傷について、銅の摂取による有意な変化は見られなかった。（参照104）【159】

~~④ 症例報告（Chuttani ら（1965）；JECFA（1982）、SCF（2003）、EFSA（2006）及び ECHA（2013）にて引用）~~

【第６回WGにて確認済み】 事務局より： 硫酸銅 1～113.4 g 程度（正確な摂取量は不明）を経口摂取した 48 名の中毒症例において、吐き気及び嘔吐が全症例に見られ、7 名が死亡したという報告がありますが、高用量の中毒症例であるため、評価書には記載しないことでよろしいでしょうか。（参照 104）【159】（概要書 P73）
【第７回WGと同様の記載】 事務局より： 第６回WGでの議論を踏まえ、Chuttani ら（1965）については削除しました。

（２）銅塩類

添加物評価書「グルコン酸銅」（2004）において、以下の知見が検討されている。規格基準改正要請者は、2004 年以降、銅塩類の UL を見直す新たな知見は見出されなかったとしている。（参照 2）【概要書】

【第６回WGにて確認済み】

事務局より：
添加物評価書「グルコン酸銅」（2004）に記載されている知見について、基本的には内容を変更せずに、原著を確認し、赤字か所のとおり追記等しています。

介入研究（Pratt ら（1985）；SCF（2003）、EFSA（2006 及び 2015）、IOM（2001）及び日本人の食事摂取基準（2020）にて引用）

ヒト（投与群：7 名（男性 3 名、女性 4 名）、平均年齢 42 歳、プラセボ群：7 名）への 12 週間グルコン酸銅 10 mg/人/日（5 mg 銅/カプセル、1 日 2 回）投与では、血清、尿又は毛髪中の銅濃度に変化はみられず、また、血清亜鉛、マグネシウム、トリグリセリド、SGOT（AST）、γ-グルタミルトランスフェラーゼ（GGT）、LDH 及びアルカリホスファターゼ等の変化もみられず、吐き気、下痢等は対照群と同様であり、投与による影響は認められていない。（参照105）【46】

（３）ヒトにおける知見のまとめ

硫酸銅及び銅塩類を被験物質としたヒトにおける知見では、銅として 10 mg/人/日までを摂取させる介入研究が行われており、いずれの試験においても、銅の摂取による影響は認められていない。Pratt ら（1985）においては、ヒトが銅として 10 mg/人/日を 12 週間摂取しても、銅の摂取による影響は認められなかった。

Ⅳ．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

（１）硫酸銅

食品安全委員会において、「硫酸銅」の評価はなされていない。

（２）銅（銅塩類）

厚生労働省は、「第六次改定日本人の栄養所要量（1999 年）」において、18～69 歳の許容上限摂取量を 9 mg/ヒト/日と設定し（参照106）【グルコン酸銅32】、食品安全委員会は、添加物評価書「グルコン酸銅」（2004）において、

「これまでの我が国の UL は 9 mg/ヒト/日と設定されているが、この値は、ヒト 12 週間投与試験の NOAEL 10 mg/ヒト/日よりも小さい値であり、今回入手した情報からは、これを変更する必要はないと考えられることから、グルコン酸銅の UL は銅として 9 mg/ヒト/日と評価した。」としている。（参照 63）【69】

また、食品安全委員会は、清涼飲料水評価書「銅」（2008）において、

「グルコン酸銅の UL を銅として 9 mg/ヒト/日とした評価結果を適用し、清涼飲料水における銅の許容上限摂取量は 9 mg/ヒト（成人）/日と設定するのが妥当と判断する。」としている。（参照107）【追 1】

さらに、硫酸銅を含む銅塩類については、食品安全委員会は、飼料添加物評価書「２－デアミノ－２－ヒドロキシメチオニン銅」（2019）において、以下のように評価している。

「ヒトに対する銅の遺伝毒性については、過負荷の条件における場合を除いて予見されておらず、通常のヒトの経口摂取の範囲においては、一般的に遺伝毒性があるとは考えられていない。」、「飼料添加物として適切に使用される限りにおいては、食品を通じてヒトの健康に影響を与える可能性は無視できる程度と考えた。」（参照 73）【70】

厚生労働省は、「日本人の食事摂取基準（2020 年版）」策定検討会報告書において、以下のように評価している。

「血漿・血清銅濃度は、銅の摂取量 0.57～6.9 mg/日の範囲で一定である。（参照 70）【74】血漿・血清銅濃度の上昇を直ちに健康障害の発現とみなすことはできないが、6.9 mg/日は参考にすべき数値である。一方、10 mg/日の銅サプリメントを 12 週間継続摂取しても異常を認めなかったとする報告がある。（参照 105）【46】以上より、健康障害非発現量を 10 mg/日とみなし、血漿・血清銅濃度の上昇を起こさないために、不確実性因子を 1.5 として、耐容上限量

を男女一律に 7 mg/日とした。なお、小児、乳児、妊婦及び授乳婦に関しては、十分な報告がないため、耐容上限量は設置しなかった」。（参照108）【73】

厚生労働省は、2019 年に、薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会添加物部会において、「既存添加物の安全性評価に関する調査研究」報告書を用い、既存添加物の銅については、海外の評価書、各種毒性試験等を参照して評価が行われ、食品添加物として使用する限りにおいて安全性上の懸念はないと報告している。（参照109、110）【75、76】

【第７回WGにて確認済み】
事務局より：
（４）厚生労働省には銅の内容が記載されておりましたので、（２）銅（銅塩類）の項に移動しました。

（３）硫酸塩類

硫酸塩類については、食品安全委員会は、添加物評価書「硫酸カリウム」（2013）において、以下のように評価している。（参照 50）【71】

「硫酸アンモニウムを被験物質としたラットの 13 週間反復経口投与試験の結果、雄の 3.0%投与群で見られた下痢を投与に起因する毒性と考え、硫酸アンモニウムの反復投与毒性に係る NOAEL を 1.5%（硫酸イオンとして 650 mg/kg 体重/日）と考えたが、添加物「硫酸カリウム」からの硫酸イオンの推定一日摂取量が 41.0 mg と少ないことを考慮し、添加物として適切に使用される場合、添加物『硫酸カリウム』に由来する硫酸イオンは安全性に懸念がないと判断した。」

また、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及び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 44）【72】

「硫酸イオン及びカリウムイオンについては、添加物「硫酸カリウム」の評価書（2013）及び添加物「硫酸亜鉛」の評価書（2015）で体内動態及び毒性に係る知見が検討されており、その結果、安全性に懸念を生じさせるような知見は認められていない。また、その後、新たな知見が認められていないため、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。

以上から、本委員会としては、硫酸イオン、アンモニウムイオン及びカリウムイオンについては、安全性に懸念のある知見はないと考えた。」

２．国際機関等における評価

（１）JECFA における評価

①　硫酸銅

FAO/WHO 食品添加物専門家会議（JECFA）において、硫酸銅の評価がな

1 され、次のように取りまとめられている。
2 1970 年の第 14 回会合において、毒性試験の結果から NOEL が決定できな
3 いため、硫酸銅の ADI は設定しないとしている。（参照111）【34】
4 1973 年の第 17 回会合において、再評価の結果、動物試験の結果から
5 NOEL が決定できず、硫酸銅の ADI は設定しないとしている。（参照112、
6 113）【35、36】
7
8 ② 銅（銅塩類）
9 JECFA において、銅の評価がなされ、次のように取りまとめられている。
10 1966 年の第 10 回会合において、銅の代謝に影響を与えることが知られてい
11 るモリブデンや亜鉛などの成分の食事摂取レベルが正常範囲内にある場合に、
12 銅の一日最大許容負荷量を 0.5 mg/kg 体重/日と暫定的に提案している。また、
13 JECFA は、銅として 0.033～0.05 mg/kg 体重/日が摂取され、この範囲では
14 健常人への銅の蓄積性はないとしている。さらに、多量の銅摂取は急性毒性
15 症状を起こすものの、銅のヒトでの累積毒性や発がん性はないとしている。
16 （参照114）【37】
17 1970 年の第 14 回会合において、毒性試験の結果から NOEL が決定できな
18 いため、銅の ADI は設定しないとしている。（参照 111）【34】また、多く
19 の人が 20 mg/人/日を超える銅を摂取している可能性が高いが、明らかな有害
20 影響は認められなかったことから、暫定一日最大許容負荷量 0.5 mg/kg 体重/
21 日を変更する理由はないと結論付けている。（参照115）【38】
22 1973 年の第 17 回会合において、JECFA は、再評価を行った結果、NOEL
23 を得られる動物試験はないとしながらも、多くの人が 2～3 mg/人/日を超える
24 銅を摂取している可能性が高いが、明らかな有害影響は見られていないこと
25 から、一日最大許容負荷量について、暫定一日最大許容負荷量 0.5 mg/kg 体
26 重/日を変更する理由はないと結論付けている。（参照 112、113）【35、36】
27 1982 年の第 26 回会合において、第 10 回会合において暫定的に提案された
28 銅の一日最大許容負荷量について、銅の食事摂取量の情報、毒性試験の結果、
29 実験動物やヒトにおいて観察された毒性（イヌの 1 年間混餌投与試験にお
30 て無作用量が約 5 mg/kg 体重/日と提示された）に基づき再評価している。そ
31 の結果、全ての供給源からの銅の最大耐容一日摂取量（MTDI）として、以
32 前決定した 0.5 mg/kg 体重/日を暫定的に支持することとしている。また、銅
33 はヒトにとって必須な元素であり、摂食必要量が 0.05 mg/人/日とされている
34 ことと併せ考慮し、暫定的な一日必要量/耐容一日摂取量として 0.05～0.5
35 mg/kg 体重/日と設定している。（参照116）【39】毒性評価において、銅塩
36 （グルコン酸銅、ヨウ化銅）は、マウス及びラットで胎児毒性がなく、また、
37 銅が動物及びヒトに対して発がん性を示す証拠はないとしている。（参照117）

【40】

③ 硫酸塩類

1985 年の第 29 回会合において、JECFA は、硫酸イオンを含む陰イオンの塩類の評価を行っている。硫酸塩は、食品中に含まれる天然成分で、動物における硫黄代謝の最終産物であること、また、硫酸塩を食品添加物として使用したとき、通常の食事におけるばく露においては、いかなる毒性を示唆する情報がないことから、硫酸塩の ADI を特定しないとしている。（参照118）【41】

（２）米国における評価

① 硫酸銅

1979 年、米国の GRAS 物質に関する科学者委員会（SCOGS）[63]は、食品中の銅に関して、「硫酸銅に関する入手可能な情報には、現在のレベル又は将来合理的に予想されるレベルで使用される場合は、公衆への危険を疑う合理的な理由を実証又は示唆する証拠はない。」と結論付けた。報告書では、銅塩による動物への毒性が栄養補助食品として使用される量よりも多い量でのみ観察されたこと、硫酸銅が微生物試験において変異原性を示さなかったこと、経口又は非経口投与によらず非発がん性であったこと、妊娠中のハムスターへ多量に硫酸銅を静脈注射した場合に胚毒性と催奇形性を示したことが記載されている。（参照119）【55】

② 銅（銅塩類）

1979 年、SCOGS は、グルコン酸銅及びヨウ化銅の評価を行った結果、食品中の銅に関して、「グルコン酸銅に関する入手可能な情報には、現在のレベル又は将来合理的に予想されるレベルで使用される場合は、公衆への危険を疑う合理的な理由を実証又は示唆する証拠はない。」と結論付けている。（参照 119）【55】

2001 年、~~米国医学研究所~~ IOM [10] ~~（IOM）~~の食品栄養委員会（FNB）は、銅などの一日参照摂取量（Dietary reference intake）に関する報告において、7 人の大人に対してグルコン酸銅カプセル（銅として 10 mg/人/日）を 12 週間投与した二重盲検投与試験（参照 105）【46】において、肝機能検査で正常であったことを基に設定した NOAEL（10 mg/人/日）が一般的なヒトにも適用できると考え、UF を 1.0 とし、19 歳以上の大人の銅の UL を 10 mg/人/日

[63] 1972 年から 1982 年までの間に、米国食品医薬品局（FDA）は、米国実験生物学会連合（FASEB）の Life Sciences Research Office（LSRO）に依頼して選任した SCOGS に、400 以上の GRAS 物質をカバーする 151 の詳細な報告書を作成させ、データベースで公開している。

としている。（参照120）【56】

2014 年、米国栄養評議会（CRN）は、ビタミンとミネラル（銅など）の安全性に関する報告において、銅の 10～12 mg/人/日の摂取で副作用が発現しないこと、また、日常の銅の摂取量が 2 mg/日未満であることを考慮し、銅の追加の UL を 9 mg/人/日と特定している。（参照121）【57】

（３）欧州における評価

① 硫酸銅

SCF 及び欧州食品安全機関（EFSA）による硫酸銅の食品添加物又は加工助剤としての評価は確認できなかった。

② 銅（銅塩類）

2003 年、SCF は、銅の UL に関する意見書をとりまとめた。7 人の大人に対してグルコン酸銅サプリメント（銅として 10 mg/人/日）を 12 週間投与する試験において肝機能での異常がなかった報告（参照 105）【46】を基に、銅の NOAEL を 10 mg/人/日とした（参照122）【47】。また、SCF は、日常の銅の摂取について、24 日間で硫酸銅（詳細不明）を銅として 0.8 mg/日から 7.5 mg/日まで増加させた際、血漿中の銅濃度、SOD 活性、セルロプラスミン濃度、尿への銅排泄量について明らかな違いがなかった報告（参照 103）【48】などを基に、一般的なヒトでの潜在的な差を許容するために適切な UF を 2 とし、18 歳以上の大人（妊婦及び授乳婦を除く）の銅の UL を 5 mg/人/日と決定した。（参照 122）【47】

2008 年に、EFSA は、農薬としての銅（I）及び銅（II）化合物[64]のリスク評価のピアレビューにおいて、イヌ 1 年間投与試験から得られた NOAEL である 15 mg/kg 体重/日等を根拠として、銅の摂取量の上限値を 0.15 mg/kg 体重/日とした。（参照123）【50】

2018 年、EFSA は再評価結果を公表し、銅の摂取量の上限値（0.15 mg/kg 体重/日）[65]の変更は提案されなかったとしている。（参照 123）【50】

なお、2006 年、SCF と EFSA の栄養関連の科学パネル（NDA パネル）は、ビタミンとミネラル（銅など）の UL に関する意見書をまとめたが、この意見書の中で銅の UL 及びその設定根拠は、SCF がまとめた 2003 年の意見書を引用している。（参照124）【51】

また、2015 年、EFSA の NDA パネルは、銅の一日参照摂取量に関する意

[64] 水酸化銅、塩基性塩化銅、三塩基性硫酸銅、酸化銅、ボルドー混合液

[65] 原著では、「ADI」と記載されているが、注釈として、「専門家の間では、生命維持に不可欠な微量栄養素である銅に対して「ADI」という用語は十分に適切ではないと考えられており、栄養素の分野で用いられている「上限値」という用語の方が適切であると考えられている」と記載されている。

見書をまとめたが、この意見書の中で一日参照摂取量を検討するに当たり、銅の UL として、SCF が 2003 年にまとめた意見書（参照 122）【47】で設定された UL（5 mg/日）及びその中で論じられた設定根拠を引用している。（参照125）【52】

③ 硫酸塩類

1991 年、SCF は、硫酸イオンについて評価した結果、徹底的な体系的な毒物学的研究は実施されていないものの、人間、動物、植物の構成成分であり、食品に含まれていることから、グループ ADI を特定しないとしている。また、体の電解質バランスをコントロールする恒常性メカニズムが乱されない限り、食品からの摂取によって安全性上の懸念は生じないとしている 。（参照126）【53】

2019 年、EFSA は、食品添加物としての硫酸並びにそのナトリウム、カリウム、カルシウム及びアンモニウム塩を再評価しており、定量的な ADI の設定は必要ないとしている。（参照 39）【54】

（4）オーストラリア及びニュージーランドにおける評価

① 硫酸銅

オーストラリア・ニュージーランド食品基準機関（FSANZ）による硫酸銅の安全性評価は確認できなかった。

② 銅（銅塩類）

2007 年、FSANZ は、「ワインの加工助剤としてクエン酸銅（ベントナイトベース以外）」の評価を行っている。ワインは、オーストラリア又はニュージーランドの消費者の銅の摂取に大きく寄与する食品とされていない。また、銅はワインを含む様々な食品に自然に見られ、健康に不可欠な要素であり、硫黄含有物質を除去するためのワインへの初期投入レベル（銅として約 1 mg/L ワイン、そのほとんどは後に除去される）において、適度な量のワインを消費したとしても、ばく露量は成人の UL である 10 mg/日には及ばない。したがって、GMP 下でのクエン酸銅の加工助剤としてのワインへの使用に関し、公衆の健康や安全性の懸念はないと結論付けている。（参照127）【65】

③ 硫酸塩類

FSANZ による硫酸塩類の安全性評価は確認できなかった。

1　Ⅴ．食品健康影響評価

【第６回WGと同様の記載】

事務局より：

「硫酸銅」については、以下の方向で食品健康影響評価を行うことでよろしいでしょうか。

１　食品健康影響評価の対象について

硫酸銅は、ぶどう酒中で銅イオンと硫酸イオンに解離すると考えられることから、（硫酸銅そのものではなく、）銅イオン（下記２）及び硫酸イオン（下記３）について評価することでいかがでしょうか。

２　銅イオンについて

（１）栄養成分関連添加物としてではなく、製造用剤である添加物として評価を行うことでよろしいでしょうか。

添加物「硫酸銅」は、指定添加物として、母乳代替食品を対象に銅の強化の目的で用いられてきています。

しかしながら、今般の評価依頼に係る用途はぶどう酒の製造用剤という限定されたものであり、栄養目的ではないため、製造用剤である添加物として評価を行ってはどうかと考えました。

（２）評価書案の記載としては、①銅に係る従前の評価とその後の知見について、及び②現在のばく露量と「硫酸銅」からのばく露量を述べてはいかがでしょうか。

銅について、食品安全委員会では、「グルコン酸銅」（2004）の評価を行っており、その際、評価結果を導く基となったヒトにおける知見（ヒトに１日 10 mg のグルコン酸銅を 12 週間投与した（Pratt ら（1985））結果、影響は認められていない。）については、その後、新たに提出された資料も検討した結果、この判断を変更すべき知見は認められないと考えられます。

また、添加物「硫酸銅」に係る新たな規格基準改正により増加する添加物由来の銅の一日摂取量（0.093 mg/人/日）は、現在の銅の一日摂取量（6.14 mg/人/日）に比べて約1.5%と非常に少ないと言えると考えられます。

そこで、①銅に係る従前の評価とその後の知見について、及び②現在のばく露量と「硫酸銅」からのばく露量を述べ、食品健康影響評価としてはどうかと考えております。

なお、「Ｌ－酒石酸カリウム、メタ酒石酸、Ｌ－酒石酸カルシウム（第２版）」（ご意見募集手続き中）のⅤ．食品健康影響評価の３．カルシウムイオンの部分が評価書案の記載の参考になると考えています。

３　硫酸イオンについて

硫酸イオンについては、過去に評価を行っており（「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））、これ以降の新たな知見は提出されていないため、新たな体内動態及び毒性に関する検討は行わず（Ⅲ．参照）、また、添加物「硫酸銅」由来の摂取量はわずかであると考えられる（Ⅱ．２．（２）参照）ことを踏まえて評価を行うことでよろしいでしょうか。

【第７回WGと同様の記載】

事務局より：

第６回 WG のご議論を踏まえ、食品健康影響評価を記載しましたので、ご確認ください。

2

事務局より：
第７回 WG の「フェロシアン化カリウム」の審議を踏まえ、食品健康影響評価の冒頭部分を修正しましたので、ご確認ください。

~~「硫酸銅」について、ぶどう酒の製造用剤としての使用に関して食品健康影響評価を実施した。~~今般の食品健康影響評価の依頼は、ぶどう酒のみを対象に製造用剤としての用途を追加するための規格基準の改正に係るものである。

なお、「硫酸銅」は、従来、母乳代替食品を対象に銅の強化の目的として使用されている。母乳代替食品とぶどう酒ではこれらを摂取する集団が全く異なること、ぶどう酒の製造に用いる場合には、最終製品中からほとんど取り除かれることを踏まえ、栄養成分関連添加物としての ULadd 等の設定は行わ~~なかったず、~~「硫酸銅」について、ぶどう酒の製造用剤としての使用に関して食品健康影響評価を実施した。

硫酸銅は、ぶどう酒中で、銅イオン及び硫酸イオンに解離すると考えられることから、それぞれについて食品健康影響評価を行うこととした。

１．銅イオン

銅イオンの現在の摂取量は、食事由来の摂取量（1.14 mg/人/日）並びに「グルコン酸銅」が特定保健用食品及び栄養機能食品に使用される時の銅としての上限量（5 mg/人/日）の合計である 6.14 mg/人/日と推計した。また、「硫酸銅」由来の銅イオンの摂取量は、使用基準案における最大残存量（銅として 2 mg/L）の銅がぶどう酒に残存したと仮定し 0.093 mg/人/日と推計した。

銅イオンについては、添加物評価書「グルコン酸銅」における知見のほか、それ以外に安全性に係る新たな知見として提出された資料についても検討を行った。

ラットに硫酸銅又は銅塩類を経口投与したほとんどの試験では、銅の摂取量が多いほど吸収率は低下し、内因性糞便中損失量は増加した。ヒトにおける試験では、見かけの吸収率は 12～67%、真の吸収率は 29～77%であった。胃及び十二指腸で吸収された銅は、門脈を経て肝臓へ取り込まれ、セルロプラスミンとして血中へ放出され、また、筋肉や骨などに分布する。胆汁を介した糞便中への排泄が銅の主要排泄経路であること及び恒常性維持に最も重要であることが示唆されており、ラットにおいて、銅の生物学的半減期は、銅の投与量が多くなるほど短くなった。

生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないものと判断した。

急性毒性、反復投与毒性及び生殖発生毒性試験等の試験成績を検討した結果、ラット 2 世代生殖毒性試験において、親動物及び児動物における脾臓の重量減少が認められたことから、最小の NOAEL は、この報告の 1,000ppm 投与群から算出した 15.2 mg/kg 体重/日（銅として）と判断した。

硫酸銅及び銅塩類を被験物質としたヒトにおける知見では、銅として10 mg/人/日までを摂取させる介入研究が行われており、いずれの試験においても、銅の摂取による影響は認められていない。

「グルコン酸銅」（2004）の評価において、ヒトに1日 10 mg のグルコン酸銅を 12 週間投与した（Pratt ら（1985））結果、影響は認められていないとされている。その後、この判断を変更すべき新たな知見は認められないこと及び製造用剤として用いられる添加物「硫酸銅」に由来する銅イオンの摂取量（0.093 mg/人/日）が現在の摂取量（6.14 mg/人/日）の約 1.5%と非常に少ないことを総合的に評価した結果、本ワーキンググループは、添加物として適切に使用される場合、添加物「硫酸銅」に由来する銅イオンは安全性に懸念がないと判断した。

２．硫酸イオン

硫酸イオンについては、過去に評価が行われている。その後新たな知見が認められていないことから、新たな体内動態及び毒性に関する検討は行わなかったが、ぶどう酒に添加した「硫酸銅」由来の硫酸イオンの摂取量（0.179 mg/人/日）が、現在の摂取量（●~~2.3~~ g/人/日）の●~~0.008~~%であることを総合的に評価した結果、本ワーキンググループは、添加物として適切に使用される場合、「硫酸銅」に由来する硫酸イオンは、安全性に懸念がないと判断した。

本ワーキンググループは、上記１．及び２．を踏まえ、「硫酸銅」が添加物として適切に使用される場合、安全性に懸念はないと判断した。

【第７回WGと同様の記載】
松井専門委員：
修正しました。
P102L24 の銅の吸収場所について、Ⅲ．１．（３）②の修正と同様に「胃及び十二指腸」に修正ください。

事務局より：
ご意見を踏まえ、修正いたしました。

1　＜別紙：略称＞

略称	名称等
5-NT	5'-nucleotidase：5-ヌクレオチダーゼ
ALT	Alanine aminotransferase：アラニンアミノトランスフェラーゼ
CAS	Chemical Abstracts Service：ケミカル・アブストラクト・サービス
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：米国実験生物学会連合
FSANZ	Food Standards Australia New Zealand：オーストラリア・ニュージーランド食品基準機関
GGT、γ-GT	γ-グルタミルトランスフェラーゼ ［=γ-グルタミルトランスペプチダーゼ（γ-GTP)］
GMP	Good Manufacturing Practice：適正製造規範
GRAS	Generally Recognized As Safe：一般に安全とみなされている
GSFA	General Standard for Food Additives：食品添加物の一般規格
IOM	Institute of Medicine：米国医学研究所
JECFA	Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives：FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議
LOAEL	Lowest Observed Adverse Effect Level：最小毒性量
MTDI	Maximum Tolerable Daily Intake：最大耐容一日摂取量
OECD	Organisation 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
SCF	Scientific Committee on Food：欧州食品科学委員会
SCOGS	Select Committee on GRAS Substances：米国の GRAS 物質に関する科学者委員会
SDH	Sorbitol dehydrogenase：ソルビトールデヒドロゲナーゼ
SOD	superoxide dismutase：スーパーオキシドジスムターゼ
UF	Uncertainty Factor：不確実係数
UL	Tolerable Upper Intake Level：耐容上限量

2

1 ＜参照＞

[1] 【委員会資料】厚生労働省：「硫酸銅」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834回食品安全委員会，2021

[2] 【概要書】独立行政法人酒類総合研究所：硫酸銅に係る使用基準改正のための概要書，2021

[3] 【7】横塚 弘毅：ワインの味とにおい（1）．調理科学，1989；22（1）：29-36

[4] 【8】OIV (Organisation Internationale de la Vigne et du Vin): DISTINCTION BETWEEN ADDITIVES AND PROCESSING AIDS (OENO 567A-2016) and 3. WINE - 3.5.8. Treatment with Copper Sulphate (2/89). International Code of Oenological Practices, 2020; XX - XXI, II.3.5-11

[5] 【1】厚生労働省，消費者庁：第９版 食品添加物公定書 硫酸銅，2018
http://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryou/shokuhin/syokuten/kouteisho9e.html [アクセス日: 2019.11.27]

[6] 【31】川西 徹，穐山 浩，河村 葉子，佐藤 恭子：第９版 食品添加物公定書解説書（下），廣川書店，2019；D-2416-21

[7] 【78】ERBSLÖH Geisenheim GmbH: Kupfat Safety Data Sheet. 2020

[8] 【87】Jackson RS: Wine Science Principles and Applications (Third Edition). Elsevier Inc., 1994

[9] 【88】日本醸造協会：醸造物の成分 第Ⅶ章 含硫化合物．1999

[10] 【90】Zoecklein BW, Fugelsang KC, Gump BH, and Nury FS: WINE ANALYSIS AND PRODUCTION, 1999

[11] 【91】Kreitman GY, Danilewicz JC, Jeffery DW, and Elias RJ: Reaction Mechanisms of Metals with Hydrogen Sulfide and Thiols in Model Wine. Part 1: Copper-Catalyzed Oxidation. J Agric Food Chem, 2016; 64(20): 4095-104
https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.jafc.6b00641 [アクセス日: 2020.9.30]

[12] 【93】PubChem: Copper(II) sulfide
https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/14831 [アクセス日: 2020.11.2]

[13] 【94】ディヴィッド・バード：イギリス王立化学会の化学者が教えるワイン学入門，2019

[14] 【92】Reschke S, Tran T, Bekker M, Wilkes E, and Johnson D: Using copper more effectively in winemaking. WINE & VITICULTURE JOURNAL, 2015; 30(5): 35-7, 39

[15] 【32】日本食品化学研究振興財団：各添加物の使用基準及び保存基準．2020
https://www.ffcr.or.jp/webupload/224e2befb3885a643688c10d746f0815496de528.pdf [アクセス日: 2020.10.28]

[16] 【33】仲本 典正，平山 佳伸，松田 勉，山本 芳子：亜鉛塩類等11品目の指定，規格基準の設定等について．食品衛生研究，1983；33(9)：831-51

[17] 【18】CAC (Codex Alimentarius Commission): GENERAL STANDARD FOR FOOD ADDITIVES, CODEX STAN 192-1995, 2019; 1-6

[18] 【19】CAC (Codex Alimentarius Commission): GUIDELINES ON SUBSTANCES USED AS PROCESSING AIDS, CAC/GL 75-2010, 2010
https://ipa.cfsa.net.cn/download/CXG_075e.pdf [アクセス日: 2020.10.27]

[19] 【20】FAO/WHO: 加工助剤として使用される物質に関するガイドライン CAC/GL 75-2010, 2010

https://www.mhlw.go.jp/topics/idenshi/codex/06/dl/cac_gl75.pdf [アクセス日：2021.5.24]

[20] 【24】FDA (US Food and Drug Administration): 21CFR (Code of Federal Regulations Title 21) Part184, §184.1261 Copper sulfate, 2019; 3, 488-9, 521

[21] 【9】FDA (US Food and Drug Administration): 27 CFR (Alcohol, Tobacco Products and Firearms) Chapter I, Subchapter A, Part 24, Subpart L, §24.246 Materials authorized for the treatment of wine and juice, e-CFR data is current as of October 23, 2020
https://www.ecfr.gov/cgi-bin/retrieveECFR?gp=&SID=84ac269a39c11a397e6211853812233e&mc=true&n=sp27.1.24.l&r=SUBPART&ty=HTML#se27.1.24_1246 [アクセス日：2020.10.27]

[22] 【25】TTB (US Alcohol and Tobacco Tax and Trade Bureau): Wine and Juice Treating Materials and Processes for Domestic Wine Production. 2020
https://www.ttb.gov/wine/treating-materials [アクセス日: 2020.7.30]

[23] 【21】EU (European Union): REGULATION (EC) No 1333/2008 of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on food additives（原義）. Official Journal of the European Union 2008; L 354
http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32008R1333&rid=1 [アクセス日：2020.10.30]

[24] 【22】EU (European Union): REGULATION (EC) No 1333/2008 of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on food additives（改訂版）. Official Journal of the European Union 2008; L 354

[25] 【4】EU (European Union): COMMISSION DELEGATED REGULATION (EU) 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, authorised 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; L 149
http://data.europa.eu/eli/reg_del/2019/934/2019-06-27 [アクセス日: 2021.5.24]

[26] 【27】FSANZ (Food Standards Australia New Zealand): Australia New Zealand Food Standards Code Standard 1.3.3 Processing aids, F2016C00166, 2016
https://www.legislation.gov.au/Details/F2016C00166 [アクセス日: 2020.10.20]

[27] 【28】FSANZ (Food Standards Australia New Zealand): Australia New Zealand Food Standards Code Schedule 18 Processing aids, F2020C00889, 2020
https://www.legislation.gov.au/Details/F2020C00889 [アクセス日: 2020.10.20]

[28] 【10】FSANZ (Food Standards Australia New Zealand): Australia New Zealand Food Standards Code Standard 4.5.1 Wine Production Requirements (Australia only), F2020C00202, 2020
https://www.legislation.gov.au/Details/F2020C00202 [アクセス日: 2020.10.20]

[29] 【29】EU (European Union): AGREEMENT between the European Community and Australia on trade in wine - ANNEX 1. 2009
https://eur-lex.europa.eu/legal-

content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:22009A0130(01)&qid=1603254060146&from=EN [アクセス日: 2020.10.21]

[30] 【30】EU (European Union): AGREEMENT between the European Community and Australia on trade in wine - Protocol - Joint Declarations. 2009 https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A22009A0130%2801%29&qid=1603254060146 [アクセス日: 2020.10.21]

[31] 【162、164、追 6】厚生労働省：令和元年国民健康・栄養調査報告 第1部 栄養素等摂取状況調査の結果 第1表の1及び第9表の2、第3部 生活習慣調査の結果 第93表. 2020

[32] 【163】食品衛生研究会：食品衛生小六法 令和2年版、新日本法規出版. 2019

[33] 【167】IOM (Institute of Medicine): Dietary Reference Intakes for Water, Potassium, Sodium, Chloride, and Sulfate. 2005

[34] 【追 7、追 8】文部科学省 科学技術・学術審議会資源調査分科会：日本食品標準成分表 2020 年版（八訂）アミノ酸成分表編. 2020 https://www.mext.go.jp/a_menu/syokuhinseibun/mext_01110.html [アクセス日: 2021.12.9]

[35] 【追 16】食品安全委員会：評価書 鉛[府食第３８８号]. 2021

[36] 【追 18】伊藤八十男, 内野栄治, 上田祥久, 高野敬志, 都築 俊文：市販ミネラルウォーター類の成分組成

[37] 【六価クロムの参照 16】松井 佳彦, 浅見 真理, 伊藤 禎彦, 広瀬 明彦, 平田 睦子, 西村 哲治,他: 水道における水質リスク評価及び管理に関する総合研究. 飲料水の水質リスク管理に関する総合的研究－寄与率分科会－. 平成 24 年度総括・分担研究報告書. 厚生労働科学研究費補助金健康安全・危機管理対策総合研究事業. 2013

[38] 【追 15】（公益社団法人）日本水道協会：水道水質データベース. 令和元年度 水道統計 水質分布表（給水栓水）最高値

[41] 【追 21】国立保健医療科学院：WHO 飲料水水質ガイドライン 第 4 版（日本語版）. 平成 24 年 12 月 ; 170-1, 325-7

[42] 【54】EFSA(European Food Safety Authority): Re-evaluation of sulphuric acid and its sodium, potassium, calcium and ammonium salts (E513, 514(i), 514(ii), 515(i), 515(ii), 516 and 517) as food additive. EFSA Journal, 2019; 17(10)

[43] 【追 14】WHO(World Health Organization): Sulfate in Drinking-water. Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality. WHO/SDE/WSH/03.04/114, 2004

[44] 【72】食品安全委員会：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 [府食第８１０号]. 2017

[45] 【165】食品安全委員会：添加物評価書 硫酸亜鉛 [府食第７３０号]. 2015

[46] 【166】佐藤 恭子, 西島 基弘, 上田 要一：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. 2020

[48] 【168】国税庁：第 145 回 国税庁統計年報 令和元年度版 - ８－４(2) 販売（消費）数量の累年比較. 2019 https://www.nta.go.jp/publication/statistics/kokuzeicho/r01/R01.pdf [アクセス日:

2021.9.8]

[49] 【169】国税庁：平成 30 年度分 酒税課税関係等状況表 - 第 6 表 酒類販売（消費）数量等の状況表（都道府県別）. 2018 https://www.nta.go.jp/taxes/sake/tokei/kazeikankei2018/01.htm [アクセス日：2020.10.30]

[50] 【71】食品安全委員会：添加物評価書 硫酸カリウム [府食第３９号]. 2013

[51] 【追 2】Subcommittee on Laboratory Animal Nutrition Committee on Animal Nutrition Board on Agriculture National Research Council: Nutrient requirements of Laboratory Animals Fourth Revised Edition. 1995: 12-5

[52] 【96】Johnson PE and Lee DY: Copper Absorption and Excretion Measured by Two Methods in Rats Fed Varying Concentrations of Dietary Copper. J Trace Elem Exp Med, 1988; 1: 129-41

[53] 【97】OECD (Organisation for Co-operation and Development): SIDS Initial Assessment Profile-Copper and copper compounds. 2014

[54] 【98】Van den Berg GJ and Beynen AC: Influence of ascorbic acid supplementation on copper metabolism in rats. Br J Nutr, 1992; 68(3): 701-15

[55] 【99】Van den Berg GJ, Yu S, Lemmens AG, and Beynen AC: Ascorbic acid feeding of rats reduces copper absorption, causing impaired copper status and depressed biliary copper excretion. Biol Trace Elem Res, 1994; 41(1-2): 47-58

[56] 【100】van Ravesteyn AH: Metabolism of copper in man. Acta Med Scand, 1944; 118(1-3): 163-96

[57] 【101】Turnlund JR, Keyes WR, Anderson HL, and Acord LL: Copper absorption and retention in young men at three levels of dietary copper by use of the stable isotope 65Cu. Am J Clin Nutr, 1989; 49(5): 870-8

[58] 【52】EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (EFSA NDA Panel): Scientific Opinion on Dietary Reference Values for copper. EFSA Journal, 2015; 13(10): 4253

[59] 【108】Turnlund JR, Keyes WR, Peiffer GL, and Scott KC: Copper absorption, excretion, and retention by young men consuming low dietary copper determined by using the stable isotope ^{65}Cu. Am J Clin Nutr, 1998; 67(6): 1219-25

[60] 【追 3】Turnlund JR, Scott KC, Peiffer GL, Jang AM, Keyes WR , Keen CL, et al: Copper status of young men consuming a low-copper diet, Am J Clin Nutr, 1997; 65: 72-8

[61] 【102】Harvey LJ, Majsak-Newman G, Dainty JR, Lewis DJ, Langford NJ, Crews HM, et al.: Adaptive responses in men fed low-and high-copper diets. Br J Nutr, 2003; 90(1): 161-8

[62] 【103】Turnlund JR, Keyes WR, Kim SK, and Domek JM: Long-term high copper intake: effects on copper absorption, retention, and homeostasis in men. Am J Clin Nutr, 2005; 81(4): 822-8

[63] 【69】食品安全委員会：添加物グルコン酸銅の使用基準改正に係る食品健康影響評価に関する審議結果 [府食第５８８号]. 2004

[64] 【グルコン酸銅 9】北條康司，橋本育子，宮本陽子，川添禎浩，水谷民雄．栄養強化剤 Copper (II) Gluconate の投与によりマウス肝臓に誘導された in Vivo での毒性及び Glutathione, Ascorbic Acid, 銅の濃度変化．薬学雑誌(2000) 120: 311-314.

[65] 【106】Coudray C, Feillet-Coudray C, Rambeau M, Tressol JC, Gueux E, Mazur

A, et al.: The effect of aging on intestinal absorption and status of calcium, magnesium, zinc, and copper in rats: A stable isotope study. J Trace Elem Med Biol, 2006; 20(2): 73-81

[66] 【107】Harvey LJ, Dainty JR, Hollands WJ, Bull VJ, Beattie JH, Venelinov TI, et al.: Use of mathematical modeling to study copper metabolism in humans. Am J Clin Nutr, 2005; 81(4): 807-13

[67] 【追 4】Wijmenga C and Klomp LWJ: Molecular regulation of copper excretion in the liver, Proceedings of the Nutrition Society, 2004; 63: 31-9

[68] 【追 5】van den Berghe PVE and Klomp LWJ: New developments in the regulation of intestinal copper absorption: Nutrition Reviews,2009;67（11）:658-72

[69] 【追 20】Linder MC and Hazegh-Azam MH: Copper biochemistry and molecular biology. The American Journal of Clinical Nutrition,1996;63(5): 7975-8115

[70] 【74】Bost M, Houdart S, Oberli M, Kalonji E, Huneau JF, and Margaritis I: Dietary copper and human health: Current evidence and unresolved issues. J Trace Elem Med Biol, 2016; 35: 107-15

[72] 【70】食品安全委員会：飼料添加物評価書 2-デアミノ-2-ヒドロキシメチオニン銅[府食第１５６号]. 2019 https://www.mhlw.go.jp/content/10904750/000586553.pdf [アクセス日：2021.5.24]

[74] 【143】Berek I and Kiss I: Study of auxotroph mutants induced by copper sulphate in Bacillus subtilis. Acta Microbiol Acad Sci Hung, 1974; 21(3-4): 297-304

[75] 【126】Marzin DR and Phi HV: Study of the mutagenicity of metal derivatives with Salmonella typhimurium TA 102. Mutat Res, 1985; 155(1-2): 49-51

[76] 【128】藤田 博，中野 雅行，佐々木 美枝子：Salmonella typhimurium TA97, TA I02 を用いた食品添加物の変異原性試験（第3報）．東京衛研年報，1988；39：343-50

[77] 【127】Moriya M, Ohta T, Watanabe K, Miyazawa T, Kato K, and Shirasu Y: Further mutagenicity studies on pesticides in bacterial reversion assay systems. Mutation Research/Genetic Toxicology, 1983; 116(3-4): 185-216

[79] 【137】Olivier P and Marzin D: Study of the genotoxic potential of 48 inorganic derivatives with the SOS chromotest. Mutation Research, 1987; 189(3): 263-9

[80] 【138】Denizeau F and Marion M: Genotoxic effects of heavy metals in rat hepatocytes. Cell Biol Toxicol, 1989; 5 (1): 15-25

[81] 【139】Agarwal K, Sharma A, and Talukder G: Clastogenic effects of copper sulphate on the bone marrow chromosomes of mice in vivo. Mutation Research, 1990; 243(1): 1-6

[82] 【134】Tinwell H and Ashby J: Inactivity of copper sulphate in a mouse bone-marrow micronucleus assay. Mutation Research, 1990; 245(3): 223-6

[83] 【132】Bhunya SP and Pati PC: Genotoxicity of an inorganic pesticide, copper sulfate in mouse in vivo test system. Cytologia, 1987; 52(4): 801-8

[84] 【136】Ornaghi F and Giavini E: Induction of micronuclei in pre-implantation rat embryos in vivo. Mutation Research, 1989; 225(1-2): 71-4

[85] 【2-デアミノ-2-ヒドロキシメチオニン銅 42】International Programme on Chemical Safety (IPCS) INCHEM. WHO(ed.): Copper. Environmental Health Criteria (EHC) 200; World Health Organization. 1998.

[86] 【143】Berek I and Kiss I: Study of auxotroph mutants induced by copper sulphate in Bacillus subtilis. Acta Microbiol Acad Sci Hung, 1974; 21(3-4): 297-304

[87] 【125】Mandil R, Prakash A, Rahal A, Singh SP, Sharma D, Kumar R, et al.: In vitro and in vivo effects of flubendiamide and copper on cyto-genotoxicity, oxidative stress and spleen histology of rats and its modulation by resveratrol, catechin, curcumin and α-tocopherol. BMC Pharmacol Toxicol, 2020; 21: 29

[88] 【151】Grillo CA, Reigosa MA, and Fernandez Lorenzo de Mele MA: Does over-exposure to copper ions released from metallic copper induce cytotoxic and genotoxic effects on mammalian cells? Contraception, 2010; 81(4): 343-9

[89] 【109】Smyth HF Jr, Carpenter CP, Weil CS, Pozzani UC, Striegel JA, and Nycum JS: Range-finding toxicity data: List VII. Am Ind Hyg Assoc J, 1969; 30(5): 470-6

[90] 【110】Spector WS: Handbook of Toxicology, Vol. 1, Acute Toxicities of Solids, Liquids and Gases to Laboratory Animals. Philadelphia & London, W. B. Saunders Company, 1956; 76-7

[91] 【112】Kulwich R, Hansard SL, Comar CL, and Davis GK: Copper, molybendum and zinc interrelationships in rats and swine. Proc Soc Exp Biol Med, 1953; 84(2): 487-91

[92] 【グルコン酸銅 15】Aburto EM, Cribb AE, Fuentealba IC, Ikede BO, Kibenge FS, Markham F. Morphological and biochemical assessment of the liver response to excess dietary copper in Fischer 344 rats. Can. J Vet. Res. (2001) 65: 97-103.

[93] 【グルコン酸銅 16】Fuentealba IC, Mullins JE, Aburto EM, Lau JC, Cherian GM. Effect of age and sex on liver damage due to excess dietary copper in Fischer 344 rats. J Toxicol. Clin. Toxicol. (2000) 38: 709-717.

[94] 【グルコン酸銅 14】Harrisson JWE, Levin SE, Trahin B. The safety and fate of potassium sodium copper chlorophyllin and other copper compounds. J. Am. Pharm. Assoc. (1954) XLIII: 722-737.

[95] 【116】Tachibana K: Pathological transition and functional Vicissitude of liver during formation of cirrhosis by copper. Nagoya J Med Sci, 1952; 15(2): 108-12

[96] 【67】Hébert CD, Elwell MR, Travlos GS, Fitz CJ, and Bucher JR: Subchronic Toxicity of Cupric Sulfate Administered in Drinking Water and Feed to Rats and Mice. Fundam Appl Toxicol, 1993; 21(4): 461-75

[100] 【113】ECHA (European Chemicals Agency): Proposal for harmonised classification and labelling - Substance Name: Copper sulphate pentahydrate. 2013

[103] 【48】Turnlund JR, Keen CL, and Smith RG: Copper status and urinary and

salivary copper in young men at three levels of dietary copper 1-3. The American Journal of Clinical Nutrition, 1990; 51(4): 658-64

[104] 【159】Chuttani HK, Gupta PS, Gulati S, and Gupta DN: Acute copper sulfate poisoning. Am J Med, 1965; 39(5): 849-54

[105] 【46】Pratt WB, Omdahl JL, and Sorenson JR: Lack of effects of copper gluconate supplementation. The American Journal of Clinical Nutrition, 1985; 42(4): 681-2

[106] 【グルコン酸銅 32】健康・栄養情報研究会（編）：第六次改定日本人の栄養所要量，第一出版，東京(1999) 10-17 他.

[107] 【追 1】食品安全委員会：清涼飲料水評価書 銅 [府食第４２３号]．2008

[108] 【73】厚生労働省「日本人の食事摂取基準」策定検討会：日本人の食事摂取基準（2020 年版）．2019
https://www.mhlw.go.jp/content/10904750/000586553.pdf [アクセス日: 2021.5.24]

[109] 【75】国立医薬品食品衛生研究所：平成 30 年度 既存添加物の安全性評価に関する調査研究［厚生労働省添加物部会資料３－２］．2019

[110] 【76】厚生労働省：既存添加物の安全性評価について［厚生労働省添加物部会資料３－１］．2019

[111] 【34】WHO (World Health Organization): Evaluation of food additives Fourteenth Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. World Health Organ Tech Rep Ser 462 / FAO Nutrition Meetings Report Series No. 48, 1971

[112] 【35】JECFA (Joint FAO/WHO 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
http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v05je07.htm [アクセス日: 2020.10.16]

[113] 【36】JECFA (Joint FAO/WHO 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
https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/41072/WHO_TRS_539.pdf?sequence=1&isAllowed=y [アクセス日: 2020.10.16]

[114] 【37】JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives): Specifications for the identity and purity of food additives and their toxicological evaluation: Some emulsifiers and stabilizers and certain other substances. Tenth Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. World Health Organ Tech Rep Ser 539, 1967
https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/40668/WHO_TRS_373.pdf?sequence=1&isAllowed=y [アクセス日: 2020.10.16]

[115] 【38】FAO/WHO: Toxicological evaluation of some extraction solvents and certain other substances. FAO Nutrition Meetings Report Series No. 48A WHO/FOOD ADD/70.39, 1970

[116] 【39】JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives):

Evaluation of certain food additives and contaminants. Twenty-sixth Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. World Health Organ Tech Rep Ser 683, 1982
https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/41546/WHO_TRS_683.pdf?sequence=1&isAllowed=y [アクセス日: 2020.10.16]

[117] 【40】JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives): WHO Copper. WHO Food Additives Ser 17, 1982
http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v17je31.htm [アクセス日: 2021.3.12]

[118] 【41】JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives): Evaluation of certain food additives and contaminants. Twenty-ninth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. World Health Organ Tech Rep Ser 733, 1986
https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/37285/WHO_TRS_733.pdf?sequence=1&isAllowed=y [アクセス日: 2020.10.22]

[119] 【55】SCOGS (Select Committee on Gras Substances): EVALUATION OF THE HEALTH ASPECTS OF COPPER GLUCONATE, COPPER SULFATE, AND CUPROUS IODIDE AS FOOD INGREDIENTS. 1979

[120] 【56】IOM (Institute of Medicine): Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc [Copper 抜粋]. The National Academies Press, 2001

[121] 【57】Hathcock JN: Vitamin and Mineral Safety 3rd Edition. CRN (Council for Responsible Nutrition), 2014

[122] 【47】SCF (Scientific Committee on Food): Opinion of the Scientific Committee on Food on the Tolerable Upper Intake Level of Copper. SCF/CS/NUT/UPPLEV/57 Final, 2003

[123] 【50】EFSA (European Food Safety Authority): Peer review of the pesticide risk assessment of the active substance copper compounds copper(I), copper(II) variants namely copper hydroxide, copper oxychloride, tribasic copper sulfate, copper(I) oxide, Bordeaux mixture. EFSA Journal, 2018; 16(1): 5152
https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2018.5152 [アクセス日: 2021.5.24]

[124] 【51】SCF/EFSA: Tolerable upper intake levels for vitamins and minerals. EFSA, 2006

[125] 【52】EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (EFSA NDA Panel): Scientific Opinion on Dietary Reference Values for copper. EFSA Journal, 2015; 13(10): 4253

[126] 【53】SCF (Scientific Committee on Food): Report of the Scientific Committee for Food (Twenty-fifth series), COMMISSION OF THE EUROPEAN COMMUNITIES, 1991

[127] 【65】FSANZ (Food Standards Australia New Zealand): FINAL ASSESSMENT REPORT APPLICATION A562 COPPER CITRATE AS A PROCESSING AID FOR WINE, 2007
https://www.foodstandards.gov.au/code/applications/documents/FAR_Final_A562_Copper_Citrate_as_a_PA_in_Wine.pdf [アクセス日: 2021.5.24]