

次亜臭素酸水概要書

日本イーライリリー株式会社
平成 27 年 6 月

I.	添加物の概要	4
1.	名称及び用途	4
2.	起源又は発見の経緯	4
(1)	次亜臭素酸水の作用機序と特徴及び有意性.....	5
3.	諸外国における使用状況	7
(1)	米国における使用状況	9
(2)	カナダにおける使用状況.....	10
(3)	オーストラリア・ニュージーランドにおける使用状況	10
(4)	ヨーロッパにおける使用状況	10
4.	国際機関等における安全性評価	10
(1)	FAO/WHO による評価.....	10
(2)	JMPR による評価	13
(3)	米国による評価	14
(5)	オーストラリア・ニュージーランドにおける評価.....	14
(6)	ヨーロッパにおける評価.....	15
(7)	我が国における評価－食品安全委員会における評価	15
5.	物理化学的性質.....	16
(1)	構造式等	16
(2)	製造方法	17
(3)	成分規格	17
(4)	食品添加物の安定性.....	27
(5)	食品中の食品添加物の分析法	28
6.	使用基準案.....	31
7.	その他	32
II.	有効性に関する知見	33
1.	食品添加物としての有効性及び他の同種の添加物との効果の比較	33
(1)	牛肉のと体処理における有効性.....	33
(2)	鶏肉のと体処理における有効性.....	38
(3)	標準的な殺菌剤である次亜塩素酸ナトリウムとの効果の比較	39
(4)	効果試験に関するまとめ.....	41
2.	食品中での安定性.....	41
3.	食品中の栄養成分に及ぼす影響	42
III.	安全性に関する資料.....	43
1.	体内動態試験	43
(1)	DMH に関する体内動態試験	43
(2)	臭化物の吸収、分布及び排泄[48] (JMPR 毒性学的評価, (1988 年)).....	44

2. 毒性に関する資料	45
2-1. DMH に関する毒性	46
(1) 急性毒性試験(ラット及びウサギ)	46
(2) 亜急性及び亜慢性毒性試験	46
(3) 慢性毒性/発がん性併合試験	51
(4) 生殖毒性試験	53
(5) 出生前発生毒性試験	54
(6) 遺伝毒性試験	56
(7) DMH の毒性試験に関する結論	58
2-2. 臭化物の毒性	58
(1) 急性毒性	58
(2) 亜急性毒性試験及び慢性毒性試験	58
(3) 慢性毒性/発がん性併合試験	60
(4) 生殖毒性試験	61
(5) 遺伝毒性試験	62
(6) ヒトにおける安全性試験	62
(7) 臭化物に関する結論	63
2-3. その他食肉中に存在する可能性のある代謝物の毒性学的検討	64
(1) トリハロメタン	64
(2) 臭素酸塩	65
(3) その他の試験	66
3. 一日摂取量の推計等	66
(1) 食品中の残留濃度	66
(2) DBDMH から発生させた次亜臭素酸の国際機関等における暴露評価 – DMH, 臭 化物及びその他副産物の一日摂取量と ADI/TDI との比較	77
(3) DBDMH から発生させた次亜臭素酸の日本人の食品摂取量を用いた暴露評価 – DMH, 臭化物及びその他副産物の一日摂取量と ADI 等との比較	88
<参照>	91

1. 添加物の概要

1. 名称及び用途

名称： 次亜臭素酸水(Hypobromous Acid Water)

定義： 本品は，ジブロモジメチルヒダントイン(1,3 - dibromo - 5,5 - dimethylhydantoin, : DBDMH)を水に溶解することにより得られる，次亜臭素酸を主成分とする水溶液である．

用途： 食肉処理施設におけると体等食肉の微生物汚染の軽減．とりわけ牛のと体における *E.coli* O-157 の汚染軽減並びに鶏におけるサルモネラ並びにカンピロバクターの汚染軽減．

使用方法： 食肉又は食鳥処理施設において，専用の機器(専用の次亜臭素酸発生・添加装置)を用いて DBDMH の一定量を水に溶解して，一定濃度の次亜臭素酸水を発生させ，またモニターすることでと体洗浄水への次亜臭素酸水の添加が行われる．添加量は微生物汚染レベルにより上下するが，有効臭素量として牛と体では最大 900ppm，鶏と体では最大 450ppm が推奨濃度である．本品を添加したと体洗浄水は，牛の枝肉では枝肉表面の洗浄に，鶏のと体ではと体冷却用水としてと体の浸漬に使われ，また，と体洗浄にも用いられる．

2. 起源又は発見の経緯

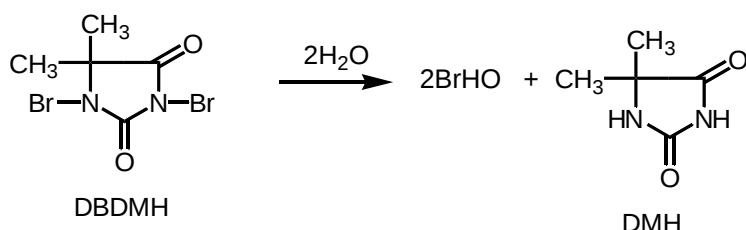
次亜臭素酸水は DBDMH を水に溶解して得られる，次亜臭素酸を主成分とする水溶液である．本品は抗菌活性を有し，食肉処理工程において効果的な殺菌剤である．DBDMH から得られる本品は，米国，その他の国において牛及び鶏等の食肉又は食鳥処理場において用いられ，と殺処理工程における微生物の汚染やその増殖を抑えることができる．実験室内試験や商用施設での試験の結果，本品で処理した牛肉や家禽肉では，大腸菌やサルモネラを含む各種の細菌数が減ることが示されている．本品を食肉に適用することで速やかに微生物汚染を軽減する一方，短時間で非活性の無機の臭化物となるため，肉の品質には影響しない．また，塩素系の殺菌剤と異なり，器具機材の腐食性が非常に少ないことから，米国ではと畜場や食鳥処理施設で広範に使用されている．とりわけ，牛における大腸菌(*E.coli* O-157)の汚染率軽減や鶏におけるカンピロバクター軽減等の目的で，近年その使用が増えてきている．

DBDMH は，臭素をその構成成分として含み，水中において次亜臭素酸を形成し，これが抗微生物活性を示す．DBDMH は諸外国では牛と体向けに BoviBrom®の商品名，鶏と体向けに AviBrom®の商品名で，米国で 2008 年から使用が開始され，その後カナダでも使用されている．

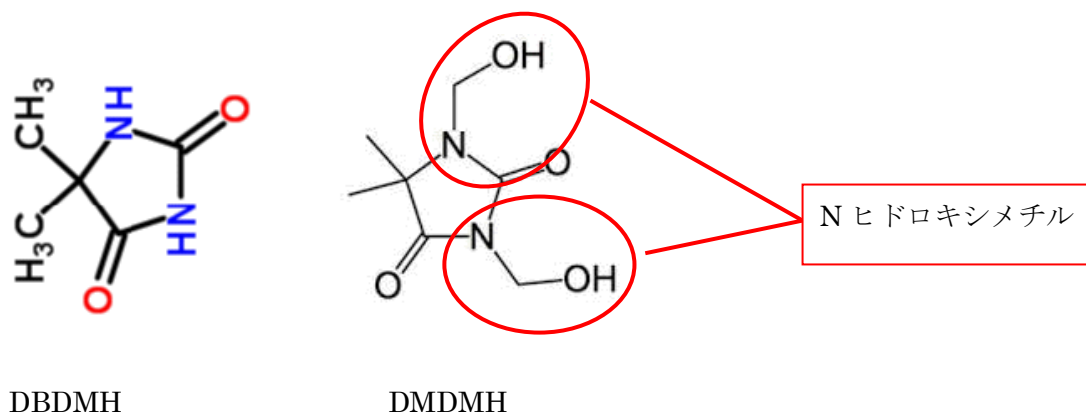
次亜臭素酸水は牛及び鶏の食肉処理施設において使用され、肉の処理過程における志賀トキシン産生 *E.coli* を含む病原性大腸菌やサルモネラ菌汚染を軽減するうえで有効な殺菌剤として位置づけられる。

(1) 次亜臭素酸水の作用機序と特徴及び有意性

DBDMH を水に加えた場合、加水分解して活性抗菌性物質である次亜臭素酸(BrHO)及びその担体としての役割を担う DMH が生成される。DBDMH は急速に加水分解されるため、肉中にそのままの形状で残存はしない。以下に DBDMH の水中での分解過程を図示する(参照 1)。



DBDMH はジメチロールジメチルヒダントイン(dimethylol dimethylhydantoin : DMDMH)とは異なりホルムアルデヒドの放出を起こさない。DMDMH のホルムアルデヒド形成は、そのヒドロキシメチル構造によることが核磁気共鳴スペクトラムから明らかにされており(参照 26)、DBDMH ではこのような構造を取らないことから、こういった反応が起こらないと考えられる。



次亜臭素酸(BrHO)水の殺菌作用は酸化作用によるもので、本品を肉表面に散布すると、すみやかに肉表面の微生物量は低下する。しかし、次亜臭素酸は急速に分解して非活性の臭化物となるため、肉の性状への影響は極めて少ないと考えられる。

一方、担体である DMH は散布水中に残存し、廃用水中に含まれ、最終的には生物分解を受けることとなる。廃水処理設備に通常認められる菌により DMH は分解を受ける(参照 1)。

DBDMH から形成される次亜臭素酸水は、作業並びに環境に対する安全性が高い(参照

31). 本品は水の pH による影響を受け難く(参照 27), 塩素や酸と比べ食肉処理施設の器具や床面の腐食性が少ない(参照 30). さらに, DBDMH 処理水はリサイクルされ, また, 公衆下水道へ排泄することができる. DBDMH から形成される次亜臭素酸水の特徴及び有用性並びに課題等について以下に示す(表 I-2-1, I-2-2).

表 I-2-1. DBDMH から形成される次亜臭素酸水の特徴及び有意性

特徴	有意性
専用の添加装置に錠剤状の DBDMH を 1 日一回投入することで, 装置内で次亜臭素酸水と DMH が発生する. 発生した次亜臭素酸水の一定量がと体洗浄水中に添加されて, 規定濃度の次亜臭素酸水となり, と体洗浄に使用され, その後速やかに不活性の無機の臭化物に変換される. DMH が低毒性であること[参 1], 発生した次亜臭素酸は速やかに不活性の臭化物に分解されること[参 2]から, 塩素や酸と比べ刺激性や腐食性が低い. また, 次亜臭素酸の発生は閉鎖系で行われるため[参 3], 外部への暴露が最小限である.	食肉処理施設の器具や床面の腐食性が少ない(参照 30). 固形錠剤の形で装置に投入されること, 閉鎖系で次亜臭素酸発生と一定量の水への添加が自動的に行われることから, 作業者の暴露が少なく, また, 施設内で発生する次亜臭素酸量は作業者の安全上問題にならないレベルである(参照 31). 以上の点から, 食肉処理場の作業員に対する安全性が高い. 食肉の肉色に与える影響は塩素系, その他の殺菌剤と比べ軽度と考えられる(参照 32). DMH 及び不活性の臭化物に分解された形で環境中に排泄されるため, 環境への安全性が高く, また, DBDMH 処理水はリサイクルしたり, 公衆下水道へ排泄することができる.
水の pH による影響を受け難い(参照 27). 次亜臭素酸は pH7 以上でも次亜臭素酸イオン(OBr^-)に解離しにくく, 仮に解離しても次亜臭素酸イオンの消毒力は次亜臭素酸と同等であるため消毒力の低下がない.	安定した効果が期待できる.
スタート物質である DBDMH は固形で安定性が高い[参 4].	DBDMH は通常保管条件下であれば, 長期保管が可能である.

参 1 : III, 2-1, (1)項参照

参 2 : III, 3, (1)項参照.

参 3 : I, 6 項参照

参 4 : I, 5, (4)項参照

表 I-2-2. DBDMH から形成させる次亜臭素酸水の課題等

使用するためには，専用の装置が必要となり，初期投資が必要である。
担体である DMH が一部散布した肉にも残存する．しかし，その残留量は DMH の安全上 限量と比較しても十分低いレベルにあり，十分な安全域を持って許容可能な残留である．

3. 諸外国における使用状況

諸外国における使用許可は次亜臭素酸についてではなく，その前駆物質である DBDMH について行われている．DBDMH はハロヒダントインと呼ばれる，ハロゲン化合物とヒダントイン化合物からなる一連の化合物であり，DBDMH の他，DMDMH 等が使用許可を受け，次亜臭素酸水の形成に用いられている．

各国の DBDMH の使用許可の詳細については下表のとおりである(表 I-3-1)．

表 I-3-1. 諸外国における食品に対する使用の許可状況

国(年)	規制当局 (通知番号等)	用途及び制限
米国(2012)	食品医薬品局(FDA) 食 品 接 触 物 通 知 (FCN) #1118	果物及び野菜の処理水への抗菌 性添加材 有効臭素 500 ppm 未満(参照 41)
米国 (2003)	食品医薬品局(FDA) 食 品 接 触 物 通 知 (FCN) #334	食鳥処理に用いるチラー水(と 体冷却水)への使用 チラー水：有効臭素 100 ppm 未満(参照35)
米国 (2003)	食品医薬品局(FDA) 食 品 接 触 物 通 知 (FCN) #357	食鳥と体の内外部の洗浄 (IOBW)や再処理(OLR)時の洗 浄水への使用 IOBW 及び OLR 水：有効臭素 100 ppm 未満(参照36)
米国 (2004)	食品医薬品局(FDA) 食 品 接 触 物 通 知 (FCN) #453	食鳥処理施設において，と体消 毒，肉や臓器の消毒に用いる水 への使用 食鳥処理水：有効臭素 100 ppm 未満(参照37)
米国 (2007)	食品医薬品局(FDA) 食 品 接 触 物 通 知 (FCN) #775	食鳥処理で一般に用いられる氷 作成に用いる水への使用 氷作成水：有効臭素 100 ppm 未満(参照38)

国(年)	規制当局 (通知番号等)	用途及び制限
米国 (2008)	食品医薬品局(FDA) 食 品 接 触 物 通 知 (FCN) #792	肉牛の表皮，と体，頭部，パ ーツ肉，内臓等の洗浄に用いる水 への使用 処理水：有効臭素 300 ppm 未 満(参照39)
米国 (2011)	食品医薬品局(FDA) 食 品 接 触 物 通 知 (FCN) #1102	豚，山羊，羊のと体，パーツ肉， 内臓等の洗浄に用いる水への使 用 処理水：有効臭素 500 ppm 未 満(参照40)
米国 (2012)	食品医薬品局(FDA) 食 品 接 触 物 通 知 (FCN) #1118	殻付き卵の洗浄水への抗菌性添 加材 有効臭素 900 ppm 未満(参照 41)
米国 (2013)	食品医薬品局(FDA) 食 品 接 触 物 通 知 (FCN) #1190	食肉及び食鳥製品に用いる処理 水又は氷作成に用いる水への使 用 食肉製品に用いる水又は氷作成 水：有効臭素 900 ppm 未満(参 照42) 食鳥製品に用いる水または氷： 有効臭素450ppm未満(参照42)
米国(2003年，その後2003 年11月，2004年，2008年， 2012年に適応拡大)	米国農務省(USDA) 食品安全検査所(FSIS)	家禽のチラー水やと体の体表と 内腔の洗浄，再処理，熱湯処理， 氷製造，と体洗浄水等への使用 (参照 43)
米国(2008年に最初の認可， その後2011年10月，2012年 9月に適用拡大)	米国農務省(USDA) 食品安全検査所(FSIS)	FSIS指令7120.1 食肉等の処理 過程に使用する安全かつ適正な 成分 肉牛，豚，綿山羊の肉，頭部， と体，部分肉，内臓への使用 に最初の認可(参照 43)
カナダ (2011年，その後 2013年に適応拡大)	ヘルスカナダ	牛と体，頭部，外皮，部分肉及 び臓器 有効臭素 300 ppm, 20秒以下で の使用(参照44, 45).
カナダ (2013年)	ヘルスカナダ	食鳥処理施設のチラー水，と体

国(年)	規制当局 (通知番号等)	用途及び制限
		の体表面と内腔の洗浄, 氷製造, その他の処理施設での一般使用. 有効臭素 100 ppm 以下での使用(参照 46).
オーストラリア/ニュージーランド (2012年)	オーストラリア ニュージーランド食品規格	全ての食品処理における抗菌性洗浄剤. 許容最大残存量としてDMHは 2.0 mg/kg, 臭化物は2.0 mg/kg, (参照47)

(1) 米国における使用状況

米国では, DBDMH の属するハロヒダントインはその抗微生物活性により様々な応用が考えられ, DBDMH については米国 FDA による審査により, 食品と接触する化合物通知 (Food Contact Notification: FCN) (参照 34~42)により, 加工助剤(Processing aid)として, 食品と接触しても安全に使用できる化合物一覧に収載されている.

哺乳動物や, 鳥類等のと体消毒への応用について FCN では以下のとおり通知されている.

FCN 334 : 食鳥処理施設におけるチラー水(参照 35)

FCN 357 : 食鳥と体の内外部の洗浄や再処理時の洗浄に用いる水(参照 36)

FCN 453 : 食鳥処理施設においてと体消毒目的や, 肉や臓器の消毒に用いる水(参照 37)

FCN775 : 食鳥処理で一般に用いられる氷製造に用いる水への使用(参照 38)

FCN792 : 肉牛の表皮, と体, 頭部, パーツ肉, 内臓等の洗浄水(参照 39)

FCN1102 : 豚, 緬山羊のと体やパーツ肉, 内臓等の洗浄水(参照 40)

FCN1118 : 殻付き卵の洗浄水(参照 41)

FCN1190 : 食肉及び食鳥製品に適用する水又は氷製造水(参照 42)

これらの FCN に基づき, 食肉処理等の目的で現在認められている使用は以下のとおりである.

肉牛, 豚, 緬山羊の肉, 頭部, と体, 部分肉, 内臓等の洗浄に用いる水への使用.	最大濃度 900ppm 未満 (有効臭素濃度)
殻付き卵の洗浄水への使用.	最大濃度 900ppm 未満 (有効臭素濃度)
食鳥処理施設においてと体消毒, 肉や臓器の消毒, 氷作成用の水への使用.	最大濃度 450ppm 未満 (有効臭素濃度)

なお, FDA による FCN の他に米国農務省(USDA)による使用許可が出されているが, これは, 食肉処理施設の作業者の安全性等を担保するための使用許可である.

(2) カナダにおける使用状況

DBDMH はカナダにおいても、米国と同様に加工助剤としての位置づけで、ヘルスカナダ、健康製品・食品局から、牛及び食鳥処理施設での食肉処理過程における本品の使用を可とする旨の通知を受けている。

これらの通知により現在、使用が可能な食品は以下のとおりである。

牛肉：牛と体，頭部，外皮，部分肉及び臓器への使用。	300ppm(有効臭素濃度)以下，20 秒以下
食鳥肉：食鳥処理施設のチラー水，と体の体表面と内腔の洗浄，氷製造，その他の処理施設での一般使用。	100 ppm(有効臭素濃度)以下

(3) オーストラリア・ニュージーランドにおける使用状況

DBDMH は食品安全規約(Food Standard Code)に基づき、オーストラリア・ニュージーランド食品規格(FSANZ)により、加工助剤として、すべての食品への使用が認められている。このうち主な使用目的は、牛及び家禽に関する、と体，部分肉や内臓，外皮や頭部の洗浄消毒や，処理施設で使用する氷製造等への使用である。

全ての食品	許容最大残存量： DMH は 2.0 mg/kg，臭化物は 2.0 mg/kg
-------	---

(4) ヨーロッパにおける使用状況

EU において DBDMH は食品への添加による使用は認められていない。

4. 国際機関等における安全性評価

諸外国における安全性評価は、次亜臭素酸水のスタート物質である DBDMH をもとに、次亜臭素酸の発生過程において生じ、食品中に残存する DMH 及び臭化物，その他発生する可能性のある副産物について行われている。国際機関である国際連合食糧農業機関(FAO)及び世界保健機構(WHO)合同専門家会議が包括的な評価を行っているほか，FAO/WHO 合同残留農薬専門家会議(JMPR)は臭化物に関する安全性評価を行い，また，米国の環境保護庁(EPA)及びオーストラリア・ニュージーランドのオーストラリア・ニュージーランド食品規格(FSANZ，2002 年に設立，それ以前はオーストラリア・ニュージーランド食品監督庁：ANZFA)による評価も行われている。

(1) FAO/WHO による評価

DBDMH は 2008 年 5 月に FAO/WHO 合同専門家会議(食品生産と食品加工に用いる塩

素含有消毒剤の使用に関する FAO/WHO 合同専門家会議)において評価されている(参照 1)。

当該報告では、DBDMH の含まれるハロヒダントインと呼ばれる、ハロゲン化合物とヒダントイン化合物からなる一連の化合物について、公表文献等を用いた包括的な評価が行なわれている。

このうち、DBDMH の食品加工過程における使用については、DBDMH からの分解物である DMH や臭化物、それに、微量に発生する可能性のあるトリハロメタン(ブロモジクロロメタン(BDCM)、ジブロモクロロメタン(DBCM)及びブロモホルム)、臭素酸等の副産物についてリスクを評価している。これらのリスク評価は、各化合物に関する毒性試験結果等から得られた TDI(耐容一日摂取量)、又は ADI(一日摂取許容量)、又は NOEL(NOEL)と暴露推定量の比較により行われ、両者間に十分な安全マージンがあることから、いずれの物質も何ら有意な健康リスクはないとの結論をしている。

なお、本会合は食品添加物、食品汚染物質、食品衛生に関する CODEX 委員会の要請により開催されたが、JECFA の専門家とは専門領域が異なったことから、別途専門家が招集されて検討が行われた。

DBDMH の評価：DBDMH は水中で分解し、そのまま残らないために、本物質としての評価はされず、その分解物について評価が実施されている。検討の結果、生成される可能性のある分解物として DMH、無機の臭化物、トリハロメタンである BDCM, DBCM, ブロモホルム、それに臭素酸が想定されると要約している。

DMH の評価：入手可能な資料では DMH の ADI 又は TDI は特定されていなかった。しかし、変異原性や発がん性はみられず、得られた各種毒性試験の NOAEL 中最も低い値 100mg/kg 体重と食品からの推定摂取量とのマージンが約 8000 倍あることから、消費者の健康を害する恐れはないと結論している。

トリハロメタンの評価(参照 1, FAO/WHO 報告(2008 年), p.70, 2.8.2.3 Trihalomethanes)：牛肉及び鶏肉中の推定残留量[注1]の評価では、DBCM 又は BDCM は、検出限界以下(5µg/kg 未満)であったものの、ブロモホルムが微量に検出(5µg/kg 程度)された。しかし、その推定残留濃度と毒性学的評価における NOAEL との間に相当のマージンが存在することから、これらのトリハロメタンの残留がヒトの健康上の懸念になる可能性は極めて低いと結論している。

DBDMH から発生させた次亜臭素酸水でと体洗浄を行った場合に発生する可能性のあるその他の代謝物の毒性については、FAO/WHO の専門家会議報告(2008 年)に記載されているため、それを参照する(参照 1)。

注1 牛肉及び鶏肉の残留量は、これら食肉の洗浄液中の残留濃度測定結果をもとに、食肉への水分吸収最大量(%)を考慮して食肉中濃度として推定したものである。

1) ブロモジクロロメタン(BDCM)

近年の飲水添加によるラット及びマウスの試験による NOEL が 25 及び 36mg/kg 体重/日と報告されており(参照 20, NTP(2006)), この数値と BDCM の最大暴露推定量 0.001µg/kg 体重/日との間には相当のマージンが存在することから, BDCM の残留がヒトの健康上の懸念になる可能性は極めて低いと想定される.

2) ジブロモクロロメタン(DBCM)

DBCM の TDI はマウスの 13 週間強制経口投与試験の NOAEL 30mg/kg 体重/日に安全係数 1,000 で除して 30µg/kg 体重/日と算出されている(参照 18, NTP (1985), 12, IPCS (2000), p.357, 6.1.1.4 Trihalomethanes). しかし, この値は週 5 日の投与であったことから, 摂取量が補正され, TDI として 21.4µg/kg 体重/日が確立している(参照 25, WHO (2005b), p.46, 7.3 DBCM).

TDI 21.4µg/kg 体重/日と DBCM の最大暴露推定量 0.001µg/kg 体重/日との間には相当のマージンが存在することから, DBCM の残留がヒトの健康上の懸念になる可能性は極めて低いと想定される.

3) ブロモホルム

本品の NOAEL はラットにおける 13 週間投与試験での肝臓病変を指標とした NOAEL 25mg/kg 体重/日が採用され, これに安全係数 1,000 で除して求めた TDI 25µg/kg 体重/日が特定されているが(参照 21, NTP (1989), 17, IPCS (2000), p.357, 6.1.1.4 Trihalomethanes), その後, この値は週 5 日の投与であったことから, 摂取量が補正され, TDI として 17.9µg/kg 体重/日が確立している (参照 25 WHO (2005b), p.46, 7.4. Bromoform).

TDI 17.9µg/kg 体重/日と最大暴露推定量 0.013µg/kg 体重/日との間には相当のマージンが存在することから, ブロモホルムの残留がヒトの健康上の懸念になる可能性は極めて低いと想定される.

臭素酸の評価: 臭素酸塩は臭化物存在下で水のオゾン化過程で生ずる可能性がある(参照 24, WHO (2005a)). そのため DBDMH 使用中に臭素酸塩の発生する可能性はあるが, 臭素酸塩は非常に強い酸化剤であり(参照 2, Seidel (2004)), 加熱により臭化物に還元する(参照 3, FDA (2003)). そのため最終食品中に残る可能性は非常に少ないと考えられる(参照 1, FAO/WHO (2008), p.70, 2.8.2.4 Bromate).

In vivo における臭素酸塩の発がん性については詳細な検討がなされている(参照 5, Bull & Cotruvo (2006)).

発がん性作用機序に関する情報が不十分であるが、細胞毒性、修復過形成、脂質過酸化やフリーラジカル産生等の酸化ストレス、DNA 反応性等があり、そのため腫瘍発生部位によりその作用機序が異なる(参照 17, IPCS(2000), 33, WHO(2005a)). また、DNA のグアニン塩基のチオール依存性酸化損傷は、可能性の高い作用機序かもしれない(参照 18, Cotruvo ら(2013)). IARC の評価では、臭素酸カリウムはグループ 2B : ヒトに対する発がん性が疑われる、と区分しており(参照 9, IARC(1986), 11, 同(1999b)), 実験小動物では明らかな発がん性が示されているものの、ヒトでの知見は不十分としている(参照 16, IARC1999b). 同様に、米国 EPA も臭素酸をグループ 2B と区分していることから、WHO では、線形多段階モデルを用いた発がん性評価を行うとともに、非線形モデルを用いて TDI 1 μ g/kg 体重(ラットの腎臓細胞腫形成の NOAEL1.3mg/kg/日に安全係数 1,000 を除して算出)を算出している(参照 24, WHO (2005a)). 臭素酸カリウムの飲水投与を行ったラットの 2 年間試験において雄ラットの腎臓腫瘍増加から求めた、生涯腫瘍発生リスクが 1/100,000 を超える摂取量の 95%上限信頼限界値は 0.1 μ g/kg 体重/日である(参照 15, Kurokawa ら(1986a), 24, WHO (2005a)). 飲水中の上限値特定のために選択された別の試験成績については、臭素酸カリウムを飲水添加で雄ラットに与えた場合の各種腫瘍(中皮腫、腎臓尿細管腫、甲状腺濾胞種)の発生率の推定では、発がんの上限リスクは 0.19/(mg/kg 体重/日)であり、生涯の腫瘍発生リスク上限値は 1/10,000 の発生率では 20 μ g/L, 1/100,000 の発生率では 2 μ g/L, 1/1,000,000 の発生率では 0.2 μ g/L であった(参照 7, DeAngelo ら(1998), 23, EPA (2001)).

臭素酸は非常に強い酸化剤であり加熱により臭化物に還元するため、最終食品中に残る可能性は低く、また、DBDMH から発生させた次亜臭素酸水中の分析では検出限界(10 μ g/kg)以上の残留はみられなかった。そのため、その推定残留濃度と毒性学的評価における NOAEL との間に相当のマージンが存在することから、その残留がヒトの健康上の懸念になる可能性は極めて低いと結論している。

(2) JMPR による評価

臭化物については、JMPR が実験小動物における一般的な毒性試験結果並びにヒトにおける知見をもとに評価を行っている。その結果、ヒトで臭化カリウムを用いた試験での最小薬理作用量をもとに、ADIとして0~1mg/kg体重/日を1967年に勧告し(参照 70), 1988年に再確認している(参照 48)。その後、このADIを変更すべきとするような知見は得られていない。

(3) 米国による評価

DBDMH の属するハロヒダントインには 114 の化合物が含まれる。これら化合物について米国では EPA が包括的な評価を行っているが、2004 年の評価(参照 71)では、DBDMH に関して、各種の毒性データをもとに、最終分解物である DMH について急性及び慢性暴露の許容量を設定している。設定に際し、1996 年発効の食品品質保護法(Food Quality Protection Act:FQPA)に基づき、特に感受性の高い幼児や小児等の保護のため、求められた参照用量(RfD[注2])をそのまま用いず、化合物毎に FQPA 安全係数を用いた国民補正用量(Population Adjusted Dose, PAD)を算出し、ADI/TDI の代わりに用いている。

評価の結果、生殖活動期にある女性(13~50 歳)に対する急性 PAD として、ウサギの発生毒性試験の LOAEL を安全係数 100 で除した 1mg/kg 体重を、生殖活動期の女性を除く国民に対する慢性 PAD は、ラットの慢性毒性・発がん性試験の LOAEL を安全係数 100 で除した 3mg/kg 体重を、生殖活動期の女性に対する慢性 PAD は、急性 PAD と同様 1mg/kg 体重をそれぞれ設定している(参照 71, p. 39)。

また、2007 年には EPA がこれまでの評価を総括し、ハロヒダントインの使用継続に関する最終判断のため、経口摂取その他によるヒトの食品暴露評価、使用時の取扱者の安全性評価、環境安全評価を行っている(参照 33)。

ハロヒダントインは最終的に臭化物とヒダントインである DMH 又はエチルメチルヒダントイン(EMH)に分解されるため、本評価における安全性(毒性)及び環境影響評価は、ヒトや環境への暴露が想定される DMH 及び EMH について行われている。評価の結果、ハロヒダントインである DMH と EMH の毒性については同等であり、2004 年の評価と同様、生殖活動期にある女性に対する急性 PAD として、1mg/kg 体重を、生殖活動期の女性を除く国民に対する慢性 PAD は 3mg/kg 体重を、生殖活動期の女性に対する慢性 PAD は、急性 PAD と同様 1mg/kg 体重をそれぞれ設定している(参照 33, EPA (2007), p.17 b. Chronic PAD)。

(5) オーストラリア・ニュージーランドにおける評価

DMH については、ANZFA が 2000 年に ADI として 0~0.025mg/kg 体重/日と評価した(参照 67, ANZFA (2000), Attachment 3, p1 下から 2 行目)。これはラットの 13 週間慢性毒性試験の NOAEL 50mg/kg に対し、不確実性の安全係数として 2000 が適用された値である(参照 66, p1. Sub-chronic studies)。設定時の情報では不確実性が高く安全係数が大きく取られ、そのため比較的低い値として設定されている(参照 67)。しかしその後、米国 EPA が 2004 年に行った適切な毒性情報(参照 71, EPA (2004))をもとに FSANZ が再評価を行い(2012 年)、ADI として一般国民に対し 0~3mg/kg 体重/日、生殖活動期に

注2 EPAでは用語としてADIやTDIを用いず、急性暴露では急性RfDを、慢性暴露では慢性RfDを用いている。

ある女性に対し 0～1mg/kg 体重/日を設定している(参照 66, FSANZ (2012), p.1 executive summary パラグラフ 3). 一方, 臭化物については JMPR の評価した ADI として 0～1mg/kg 体重/日が妥当であるとし, この値を ADI として設定している(2012 年)(参照 66, p.9 hazard assessment).

(6) ヨーロッパにおける評価

欧州食品安全機関(EFSA)は, DMH 及び無機の臭化物のいずれについても評価は行っていない. しかし, 無機の臭化物については農薬の毒性に関する参照値一覧に, JMPR により設定された無機の臭化物の ADI 0～1mg/kg 体重/日が収載されている(参照 69).

(7) 我が国における評価－食品安全委員会における評価

我が国では食品安全委員会が, 清涼飲料水に関する評価の一環として, トリハロメタンである DBCM, BDCM 及びブロモホルム, 並びに臭素酸についてリスク評価を行っている.

DBCM の評価(参照 73) : マウス及びラットを用いた各種の単回及び反復投与毒性試験, 発がん性試験, 生殖・発生毒性試験, *in vitro* 及び *in vivo* 遺伝毒性試験の結果, 遺伝毒性はみられず TDI の算出が可能と判断された. 発がん性については, マウスにおけるベンチマークドーズ 34.5mg/kg 体重/日を不確実係数 1000 で除して TDI として 34.5µg/kg 体重/日が, 非発がん性については, ラットの NOAEL 21.4mg/kg 体重/日を不確実係数 1000 で除して TDI として 21.45µg/kg 体重/日がそれぞれ求められ, 結果として DBCM の TDI は 21.45µg/kg 体重/日と結論されている.

BDCM の評価(参照 74) : マウス及びラットを用いた各種の単回及び反復投与毒性試験, 発がん性試験, 生殖・発生毒性試験, *in vitro* 及び *in vivo* 遺伝毒性試験の結果, 遺伝毒性はみられず TDI の算出が可能と判断された. 発がん性については, マウスの強制経口投与で NOAEL 25mg/kg 体重/日が得られたが, 飲水投与や混餌投与では発がん性がみられていないため参考値とされた. 非発がん性については, ラットの混餌投与での LOAEL 6.1mg/kg 体重/日を不確実係数 1000 で除して TDI として 6.1µg/kg 体重/日が求められ, 結果として BDCM の TDI は 6.1µg/kg 体重/日と結論されている.

ブロモホルムの評価(参照 75) : マウス及びラットを用いた各種の単回及び反復投与毒性試験, 発がん性試験, 生殖・発生毒性試験, *in vitro* 及び *in vivo* 遺伝毒性試験の結果, 遺伝毒性は *in vivo* での弱い陽性反応が一つ報告されているものの, マウス及びラットの小核試験や染色体異常試験は陰性であったため, 遺伝毒性はなく TDI の算出が可能と判断された. 発がん性については, ラットにおけるベンチマークドーズ 124mg/kg 体重/日を不確実係数 1000 で除して TDI として 124µg/kg 体重/日が, 非発がん性については, ラットの NOAEL 17.9mg/kg 体重/日を不確実係数 1000 で除して TDI として 17.9µg/kg 体重/日がそれぞれ求められ, 結果としてブロモホルムの TDI は 17.9µg/kg 体重/日と結論

されている。

臭素酸の評価(参照 76):マウス及びラット等を用いた各種の単回及び反復投与毒性試験，発がん性試験，生殖・発生毒性試験，遺伝毒性試験の結果，*in vitro* 及び *in vivo* の遺伝毒性試験のいずれも陽性となっている。発がん性については，ラットの試験で明確な発がん性の根拠が得られており，国際がん研究機関(IARC)や EPA の区分も考慮して，遺伝毒性が関与する発がん物質とされた。そこで，数理モデルによる発がんリスクの定量的評価の結果，発がんユニットリスク(1mg/kg 体重/日の用量を生涯にわたり経口暴露した時のがんが生じるリスク)は $2.8 \times 10^{-2}/(\text{mg/kg}$ 体重/日)となった。一方，非発がん性については，ラットの NOAEL 1.1mg/kg 体重/日を不確実係数 100 で除して TDI として $11\mu\text{g/kg}$ 体重/日が求められた。結果として非発がん性の TDI は $11\mu\text{g/kg}$ 体重/日，発がん性ユニットリスクは $2.8 \times 10^{-2}/(\text{mg/kg}$ 体重/日)と結論されている。

5. 物理化学的性質

(1) 構造式等

[151, 152] (日本イーライリリー社(2015 年)(未公表))

次亜臭素酸水の構造式等の物理化学的性質は以下のとおりである。

名称： 次亜臭素酸水(Hypobromous Acid Water)

CAS 番号：13517-11-8

分子式： **BrHO** (次亜臭素酸)

分子量： 96.91g/mol (次亜臭素酸)

定義： 本品は，1,3-ジブロモ-5,5-ジメチルヒダントイン (1,3-dibromo-5,5-dimethylhydantoin : DBDMH)を加水分解することにより得られる，次亜臭素酸を主成分とする水溶液である。

(参照 152)

なお，次亜臭素酸水のスタート物質である DBDMH の物理化学的性質は以下のとおりである。

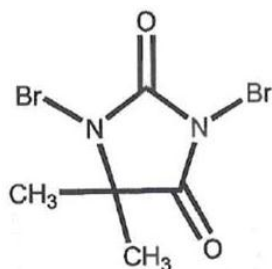
名称： ジブロモジメチルヒダントイン (Dibromo – dimethylhydantoin (DBDMH))

CAS 名： 1,3 – dibromo – 5,5 – dimethylhydantoin

IUPAC 名： 1,3 – dibromo – 5,5 – dimethylimidazolidine-2,4-dione

CAS 番号：77-48-5

構造式



分子式： $\text{C}_5\text{H}_6\text{Br}_2\text{N}_2\text{O}_2$

分子量： 285.9g/mol

化学構造

DBDMH はハロヒダントインであり、ジメチルヒダントイン環の 1 及び 3 位の 2 カ所の窒素原子に臭素原子 2 分子が結合した形である。(参照 151)

(2) 製造方法

[151] (日本イーライリリー社(2015 年)(未公表))

本品は、専用の機器(次亜臭素酸発生・添加装置)を用いて DBDMH の一定量を水に溶解して製造する。本品の有効臭素濃度は、発生・添加装置によりモニターされる。

本品のスタート物質である DBDMH の製造方法

反応装置中でジメチルヒダントイン(5,5-Dimethylhydantoin), 水酸化ナトリウム, 臭素に水を加え, 70℃以下で温度を調整しながら攪拌する。沈殿固形物をろ過し, 100℃以下で加熱乾燥させる。ヒダントイン環の 1, 3 位が完全に臭素の修飾を受けるよう, 余剰の臭素を添加する。これにより, 一臭化物の生成を最小化する。過剰の臭素は水酸化ナトリウムと反応して臭化ナトリウムを形成する。

DBDMH の製造工程では, 上記のとおり製造工程で溶媒の使用がないことから, 溶媒残留の可能性は無く, また, 重金属の残留についても製造用原体について純度の高い原材料を使用しているため, その可能性は極めて少ない。実際に重金属の残留レベルを確認した試験において, 検出限界(0.023~0.78ppm)を超える残留は認められていない。(参照 151)

(3) 成分規格

[151] (日本イーライリリー社(2015 年)(未公表))

1) 次亜臭素酸水(Hypobromous Acid Water)

定義 本品は, 1,3-ジブロモ-5,5-ジメチルヒダントインを加水分解することにより得

られる，次亜臭素酸を主成分とする水溶液である。本品には，次亜臭素酸水Ⅰ，次亜臭素酸水Ⅱ，次亜臭素酸水Ⅲがある。

含量 次亜臭素酸水Ⅰ 本品は，有効臭素 75～125mg/kg を含む。

次亜臭素酸水Ⅱ 本品は，有効臭素 350～450mg/kg を含む。

次亜臭素酸水Ⅲ 本品は，有効臭素 730～900mg/kg を含む。

性状 本品は，無～淡黄色の液体で，においがいいか又はわずかに特異なにおいがあ
る。

確認試験

- (1) 本品 10mL にヨウ化カリウム 0.15g を加えるとき，液は，次亜臭素酸水Ⅰは黄色，次亜臭素酸水Ⅱはだいたい色，亜臭素酸水Ⅲは褐色を呈する。
- (2) 本品 1mL を水 89mL に加え，この液 10mL に，*N,N*-ジメチル-*p*-フェニレンジアミン (DPD) 試液 0.5mL とリン酸緩衝液 0.5mL を合わせた液を加えるとき，液は淡赤色を呈する。
- (3) 本品 10mL に水酸化ナトリウム溶液(1→2)1 滴を加えた液は，波長 324～330nm に極大吸収部がある。

純度試験

- (1) 液性

pH 次亜臭素酸水Ⅰ：pH 4.0～7.5

次亜臭素酸水Ⅱ：pH 4.0～7.5

次亜臭素酸水Ⅲ：pH 4.0～7.5

定量法 本品約 20g を精密に量り，ヨウ化カリウム 1g 及び酢酸(1→4) 5mL を加え，直ちに密栓して暗所に 15 分間放置し，遊離したヨウ素を 0.01mol/L チオ硫酸ナトリウム溶液で滴定する。終点近くででんぷん試液を加え，溶液が澄明になるまで滴定する(指示薬 デンプン試液)。別に空試験を行い補正する。

0.01 mol/L チオ硫酸ナトリウム溶液 1mL=Br 0.799mg

試薬・試液

- (1) *N,N*-ジメチル-*p*-フェニレンジアミン 成分規格を設定（国衛研で検討）。

- (2) *N,N*-ジメチル-*p*-フェニレンジアミン (DPD) 試薬

N,N-ジエチル-*p*-フェニレンジアミン硫酸塩 1.1g をメノウ乳鉢中で粉碎し，これに硫酸ナトリウム(25%w/v) 8mL，エチレンジアミン四酢酸 2 ナトリウム塩 0.2g を加え，水を加えて 1L とする。

- (3) リン酸緩衝液

無水リン酸水素二ナトリウム 24.0mg 及び無水リン酸二水素カリウム 46.0g 及びエチレンジアミン四酢酸 0.8g を加え，水を加えて 1L とする。(参照 151)

成分規格案の設定根拠及び測定方法の原理等

[151]

規格の設定根拠

本品の成分規格案として含量、性状、確認試験、及び純度試験として pH を設定した。

含量 実際に次亜臭素酸を用いる最大濃度(有効臭素濃度)として牛肉の 900mg/kg, 鶏肉の 450mg/kg が設定されているため、これらを上限とする濃度で、かつ、製剤調製時のバラつきを考慮し 730~900mg/kg (815mg/kg を目標濃度)及び 350~450mg/kg (400mg/kg を目標濃度)を規格として設定した。なお、鶏肉では 100mg/kg を目標濃度とする製剤も使用される為、調製時のバラつきも考慮して 75~125mg/kg を規格として設定した。なお規格の設定に際しては、各 3 ロット、3 回測定の結果を考慮した。

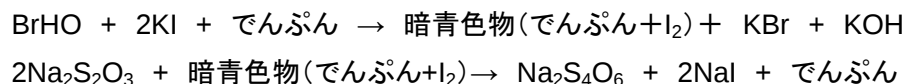
確認試験 確認試験(1)は、次亜臭素酸がヨウ化カリウムと反応して生じる遊離ヨウ素による色調変化をもとに設定した。確認試験(2)は、N,N-ジメチル-p-フェニレンジアミン (DPD) が次亜臭素酸により酸化して生じる N,N-ジエチルセミキノンジイミンによる色調変化をもとに設定した。確認試験(3)は、次亜臭素酸が水酸化ナトリウムと反応して生じる次亜臭素酸ナトリウムによる最大吸収波長をもとに設定した。

純度試験 pH のみを設定した。なお、pH の規格設定については、3 ロットの測定結果の平均値とバラつき、それに同一ロットの測定間のバラつき、並びに調製に用いる水の pH (本品の pH は使用する水の pH に大きく影響を受け、それよりやや酸性の pH を示す) を考慮して設定した。

測定原理

含量測定

次亜臭素酸にヨウ化カリウムを加えることで遊離ヨウ素が生じ、これとでんぷんが反応して暗青色を呈する。次いでこれにチオ硫酸ナトリウムを加えることで、遊離ヨウ素との反応が起こり、テトラチオン酸ナトリウムとヨウ化ナトリウムが生成され、遊離ヨウ素が無くなるため溶液が澄明となる。



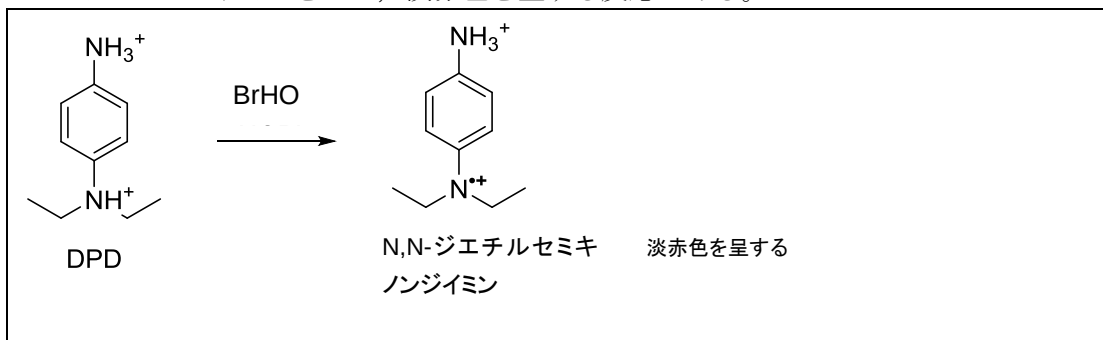
確認試験(1)

次亜臭素酸とヨウ化カリウムが反応してヨウ素が生成され、黄~だいたい色~褐色を呈する反応である。



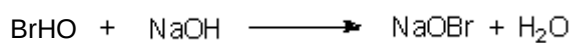
確認試験(2)

N,N-ジメチル-*p*-フェニレンジアミン (DPD) が次亜臭素酸により酸化して *N,N*-ジエチルセミキノンジイミンを生じ、淡赤色を呈する反応である。



確認試験(3)

次亜臭素酸が水酸化ナトリウムと反応して次亜臭素酸ナトリウムを形成する。水中の次亜臭素酸陰イオンの最大吸収波長は概ね 330nm である。



2) DBDMH の規格及び分析方法

本品は DBDMH を水と反応させることで生成される。米国では次亜臭素酸についてではなく、その前駆物質である DBDMH について使用を許可していることから、参考として DBDMH の米国における規格を記載する。

本品のスタート物質である DBDMH の規格及び分析方法は以下のとおりである。

DBDMH 含量及び有効臭素量

試験法の概要：本品約 200mg をとり、氷酢酸 60mL を加え 10 分以上攪拌する。モリブデン酸アンモニウムを 3～5 滴、及びヨウ化カリウム溶液(15%)を加えてよく混ぜる。塩酸溶液(1:1)10mL を急激に加えて溶液を酸性化させた後、0.2N チオ硫酸ナトリウム溶液を加えて滴定する。

滴定には電位差計を用いることができる。

使用機器： 滴定用電位差計, Pt 基準電極, 秤(0.1mg の精度), 滴定用ビーカー

試薬及び試液：氷酢酸, ヨウ化カリウム, 0.2N チオ硫酸ナトリウム溶液(蒸留水 1L にチオ硫酸ナトリウム五水和物($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)25g, クロロホルム 1mL を加え 2 週間放置し平衡化させる), 脱イオン水, モリブデン酸アンモニウム溶液 (3g/100mL, モリブデン酸アンモニウム

(NH₄)₅Mo₇O₂₄·4H₂O)3g に脱イオン水を加えて 100mL とする), 15% ヨウ化カリウム溶液(ヨウ化カリウム(KI)15g に脱イオン水を加えて 100mL とする), 1:1 塩酸.

標準品 : ヨウ化カリウム, 重クロム酸カリウム(K₂Cr₂O₇)

0.2N チオ硫酸ナトリウム溶液の標定: ビーカーに重クロム酸カリウム標準品 0.18g を秤り取り, 脱イオン水約 150mL を加えて攪拌する. モリブデン酸アンモニウム溶液 3~5 滴及び 15% ヨウ化カリウム溶液 25mL を加えよく攪拌する. 塩酸溶液(1.1)10mL を急速に加え, 溶液を酸性化する. 0.2N チオ硫酸溶液を用いて遊離ヨウ素量を滴定する. 重クロム酸カリウムを加えないブランク脱イオン水について同様の操作を行う. チオ硫酸ナトリウム溶液の規定度 N を以下のとおり計算し, 3 回測定した規定度 N の平均を求める:

$$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \text{ 規定度} = \frac{(20.3929) \times W}{V - V_b}$$

W = K₂Cr₂O₇ 重量

V = エンドポイントまで滴定した場合の滴定溶液使用量(mL)

V_b = ブランクに対する滴定溶液使用量(mL)

臭素酸標準品のパフォーマンス確認: 臭素酸標準溶液(1000ppm)15~25mL を秤り取り, 脱イオン水 50~100mL を加える. モリブデン酸アンモニウム溶液 3~5 滴及び 15% ヨウ化カリウム溶液 25mL を加えよく攪拌する. 塩酸溶液(1.1)10mL を急速に加え, 溶液を酸性化する. 0.2N チオ硫酸溶液を用いて遊離ヨウ素量を滴定する. 臭素酸標準溶液を加えないブランク脱イオン水について同様の操作を行う. 臭素酸濃度(ppm)を以下のとおり計算し, 3 回測定した平均を求める:

$$\text{臭素酸濃度(ppm)} = \frac{(V - V_b) \times N \times 21.3173 \times 1000}{W}$$

W = 臭素酸標準溶液重量(g)

V = エンドポイントまで滴定した場合の滴定溶液使用量(mL)

V_b = ブランクに対する滴定溶液使用量(mL)

N = チオ硫酸ナトリウムの規定度

臭素酸の計算値が表示値の±7ppm 以内であることを確認する. 計算値が基準を満たさない場合, ビュレットの修正, 電極の確認, 並びに再度の標定を行う. 分析は測定結果が表示値と一致することを確認した後にいう.

分析： DBDMH 試料を $0.2 \pm 0.05\text{g}$ を正確に秤り，氷酢酸 60mL を加えて試料を溶解する．次いで 15% ヨウ化カリウム溶液 25mL を加え攪拌する．遊離ヨウ素を素早く 0.2N チオ硫酸ナトリウム溶液を用いて滴定する．

$$\text{DBDMH}\% = \frac{(V) \times 7.1483 \times N}{W}$$

$$\text{平均有効臭素}\% = \frac{(V) \times 3.99545 \times N}{W}$$

V = エンドポイントまで滴定した場合の滴定溶液使用量(mL)

N = チオ硫酸ナトリウムの規定度

W = 試料の重量

分析精度の確認： 単一分析施設反復分析精度は DBDMH の単一試料を，単一分析員が 13 回測定して行う．この場合の精度は以下のとおりである．

	平均重量%	標準偏差	CV
DBDMH の 平均重量(%)	98.99	0.146	0.15%

強熱残分

本品 20g を正確に秤り，減圧下(5kPa)， 60°C で 2 時間乾燥させ，重量を測定する．

臭化ナトリウム含量

試験法の概要： DBDMH に含まれる臭化物を測定する．最初に総臭素量を測定し，次いで臭素測定法に従い有効臭素量を測定し，総臭素量から有効臭素量を減じて求める，結果は臭化ナトリウム%として求める．

臭素量測定は，DBDMH にヒ酸ナトリウム溶液を加え，次いで硝酸バリウム溶液を加えた後に 0.1N 硝酸銀溶液を用いて滴定する．

滴定には電位差計を用いることができる．

使用機器： 滴定用電位差計，銀電極，秤(0.1mg の精度)，滴定用ビーカー

試薬及び試液： ヒ酸ナトリウム(NaAsO_2)溶液(水酸化ナトリウム 60g を水 1000mL に溶かし，三酸化二ヒ素(As_2O_3) 60g を加えて溶かす)，ヒ酸ナトリウム，酢酸，硝酸バリウム($\text{Ba}(\text{NO}_3)_2$)溶液(硝酸バリウム 6.5g を秤り，水 100mL を加えて溶かす)， 0.1N 硝酸銀(AgNO_3)溶液(硝酸銀 17g を秤り，水を加えて 1L とする，規定度測定には塩化ナトリウム 0.1g を正確に秤り，以

下の分析法に従って滴定，計算する)

分析： DBDMH 試料を $0.2 \pm 0.05\text{g}$ を正確に秤り，ヒ酸ナトリウム溶液 10mL を攪拌しながらゆっくり加える $5 \sim 10$ 分間攪拌する．溶解しない場合ゆっくり加熱する．ブロモクレゾールグリーンを $3 \sim 5$ 滴加える．溶液が黄緑色に変わるまで酢酸を加え酸性化する(pH 約 5)．次いで硝酸バリウム溶液 10mL を加え， 0.1N 硝酸銀溶液を用いて滴定する．
臭化ナトリウム濃度が負の値となった場合，ヒ酸ナトリウム溶液 20mL を用いて，同様の操作を行う．再度，負の値となった場合には，臭化ナトリウム含量は $<0.4\%$ とする．

$$\text{総臭素重量\%} = \frac{V \times N \times 7.99}{W}$$

$$\text{臭化ナトリウム重量\%} = \frac{(\text{総臭素重量\%}) - \text{有効臭素重量\%}}{79.904} \times 102.904$$

V = エンドポイントまで滴定した場合の滴定溶液使用量(mL)

N = 硝酸銀規定度

W = 試料の重量

3) 次亜臭素酸水の実測値

次亜臭素酸の規格項目として，含量(有効臭素濃度)，性状，確認試験(ヨウ化カリウム試験，*N,N*-ジメチル-*p*-フェニレンジアミン (DPD) 試験及び次亜臭素酸ナトリウムの紫外吸収波長試験)及び pH 測定を 3 ロット，各 3 反復で実施した．結果を以下に示す(表 I-5-1-1～I-5-1-4)．

含量については， $75 \sim 125$ ， $350 \sim 450$ 及び $830 \sim 900\text{mg/kg}$ の濃度(有効臭素濃度)の次亜臭素酸水とともに，3 ロットの平均値で見て，ほぼ指定の濃度かやや低い濃度を得られ，計算値と分析値との差(%)も $-6.13 \sim 3.23\%$ と十分許容の範囲であった．

性状については，次亜臭素酸水のどの濃度においても類似しており，無色で無臭，又はわずかに特異なおいを有していた．確認試験中，ヨウ化カリウム試験では変化した色調が， $75 \sim 125\text{mg/kg}$ の濃度では黄色， $350 \sim 450\text{mg/kg}$ ではだいたい色， $730 \sim 900\text{mg/kg}$ では褐色となった．DPD 試験では， $75 \sim 125\text{mg/kg}$ ， $350 \sim 450$ 及び $730 \sim 900\text{mg/kg}$ の 3 濃度とも淡赤色を呈した．次亜臭素酸ナトリウムの紫外吸収波長試験では，吸収ピークは $324 \sim 330\text{nm}$ の範囲にあった．

pH は $4.6 \sim 6.2$ の範囲にあり，各濃度の 3 ロット間の標準偏差は $0.1 \sim 0.21$ であった．より高濃度の次亜臭素酸水で pH が下がる傾向にあったが，いずれの濃度でも pH $4.0 \sim 7.5$ の範囲にあった．

以上のとおり、これらすべての試験結果は 3 濃度の次亜臭素酸水の規格を満たすものであった。

表 I-5-1-1. 次亜臭素酸水 3 ロットの分析結果－含量（有効臭素）

有効臭素濃度	項目		Lot 番号		
			100706	100720	100802
75～125mg/kg (中心 100mg/kg)	計算値 (mg/kg)		100	103	100
	分析値 (mg/kg)	分析 1	105.9	101.9	99.9
		分析 2	99.9	97.9	97.9
		分析 3	103.9	99.9	99.9
	分析平均 ^{注1)} (mg/kg)		103.2	99.9	99.2
	SD ^{注2)} (mg/kg)		3.06	2.00	1.15
	計算値からの差(%)		3.23	-3.01	-0.77
	3 lot 平均(mg/kg)		100.8		
	3 lot SD(mg/kg)		2.14		
350～450mg/kg (中心 400mg/kg)	計算値 (mg/kg)		400	400	400
	分析値 (mg/kg)	分析 1	375.5	379.5	375.5
		分析 2	383.5	379.5	383.5
		分析 3	379.5	367.5	383.5
	分析平均 ^{注1)} (mg/kg)		379.5	375.5	380.8
	SD ^{注2)} (mg/kg)		4.00	6.93	4.62
	計算値からの差(%)		-5.13	-6.13	-4.79
	3 lot 平均(mg/kg)		378.6(94.7%)		
	3 lot SD(mg/kg)		2.76(0.69%)		
730～900mg/kg (中心 815mg/kg)	計算値 (mg/kg)		807	803	810
	分析値 (mg/kg)	分析 1	783.0	779.0	779.0
		分析 2	783.0	791.0	787.0
		分析 3	787.0	775.0	791.0
	分析平均 ^{注1)} (mg/kg)		784.3	781.7	785.7
	SD ^{注2)} (mg/kg)		2.31	8.33	6.11
	計算値からの差(%)		-2.81	-2.66	-3.00
	3 lot 平均(mg/kg)		783.9(96.2%)		
	3 lot SD(mg/kg)		2.03(0.25%)		

注1) 分析平均は 3 回測定の平均値

注2) SD: 標準偏差

3Lot 平均及び 3Lot SD の()内は指定する濃度(100, 400, 815mg/kg)に対する%

表 I-5-1-2. 次亜臭素酸水 3 ロットの分析結果－性状

有効臭素濃度	項目	Lot 番号		
		100706	100720	100802
75～125mg/kg (中心 100mg/kg)	外観・におい	無色, 無臭	無色, 無臭	無色, 無臭
350～450mg/kg (中心 400mg/kg)	外観・におい	無色, 無臭	無色, 無臭	無色, 無臭
730～900mg/kg (中心 815mg/kg)	外観・におい	無色, わずかに 特異なにおい	無色, わずかに 特異なにおい	無色, わずかに 特異なにおい

表 I-5-1-3. 次亜臭素酸水 3 ロットの分析結果－確認試験

有効臭素濃度	項目	Lot 番号		
		100706	100720	100802
75～125mg/kg (中心 100mg/kg)	ヨウ化カリウム試験	黄色	黄色	黄色
	DPD 試験	淡赤色	淡赤色	淡赤色
	UV 吸収波長(nm)	327	330	325
50～450mg/kg (中心 400mg/kg)	ヨウ化カリウム試験	だいだい色	だいだい色	だいだい色
	DPD 試験	淡赤色	淡赤色	淡赤色
	UV 吸収波長(nm)	324	326	328
730～900mg/kg (中心 815mg/kg)	ヨウ化カリウム試験	褐色	褐色	褐色
	DPD 試験	淡赤色	淡赤色	淡赤色
	UV 吸収波長(nm)	327	327	326

表 I-5-1-4. 次亜臭素酸水 3 ロットの分析結果－pH

有効臭素濃度	項目		Lot 番号		
			100706	100720	100802
75～125mg/kg (中心 100mg/kg)	分析値	分析 1	6.1	6.1	5.9
		分析 2	6.0	6.1	5.8
		分析 3	6.5	6.0	5.8
	平均 ^{注 1)}		6.2	6.1	5.8
	SD ^{注 2)}		0.26	0.06	0.06
	3lot の平均		6.0		
	3lot の SD		0.21		
50～450mg/kg (中心 400mg/kg)	分析値	分析 1	5.1	5.1	5.3
		分析 2	5.2	5.1	5.2
		分析 3	5.3	5.1	5.4
	平均 ^{注 1)}		5.2	5.1	5.3

有効臭素濃度	項目		Lot 番号		
			100706	100720	100802
	SD 注2)		0.10	0.00	0.10
	3lot の平均		5.2		
	3lot の SD		0.10		
730~900mg/kg (中心 815mg/kg)	分析値	分析 1	4.7	4.6	4.9
		分析 2	4.9	4.6	5.0
		分析 3	4.9	4.6	5.0
	平均 注1)		4.8	4.6	5.0
	SD 注2)		0.12	0.00	0.04
	3lot の平均		4.8		
	3lot の SD		0.20		

注1) 分析平均は3回測定の平均値

注2) SD:標準偏差

4) DBDMH の実測値

DBDMH に関する米国における規格として、DBDMH 含量と有効臭素量，含まれる可能性のある不純物である臭化ナトリウム，並びに乾燥減量について測定した結果を以下に示す(表 I-5-2)。

5 ロットの測定の結果，いずれのロットも規格を満たすことが明らかとなった。

表 I-5-2. 米国の規格に関する DBDMH の 5 ロットの分析結果

試験項目	試験ロット番号				
	081111	08114	081115	081127	081129
DBDMH 含量 (重量%)	98.7	98.8	98.9	98.8	98.8
有効臭素量 (重量%)	55.2	55.2	55.3	55.2	55.2
臭化ナトリウム(重量%)	<0.4	<0.4	<0.4	<0.4	<0.4
水分含量(重量%)	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01

重金属含有水準の確認

本品中の重金属濃度について確認するため，5 ロットの試料について誘導結合プラズマ法で測定したところ，いずれも検出限界以下であった(表 I-5-3)．本品の製造方法や製造原料を考慮した場合，これら重金属が偶発性に高濃度に混有する可能性は相当に低いため，これらの項目は設定不要と判断し，規格項目として設定していな

い。

表 I-5-3. DBDMH の 5 ロットに関する重金属測定結果

検査項目	測定値	検出限界(ppm)
ヒ素	検出限界以下	0.66
カドミウム	検出限界以下	0.023
鉛	検出限界以下	0.78
水銀	検出限界以下	0.34

5) 食肉又は食鳥処理場において DBDMH から発生させた次亜臭素酸含有量の測定

食肉洗浄又はチラー水として使用する前の次亜臭素酸含有量の測定は、通常、本品を使用する食肉又は食鳥処理施設において、DBDMH を次亜臭素酸発生装置に投入した後の添加水について、簡易測定機器を用いて測定する。その場合の測定原理、測定方法について以下のとおり示す。

測定原理及び測定法

添加水中の次亜臭素酸(BrHO)濃度は、N,N-Diethyl-p-phenylenediamine (DPD) 比色法により測定する。この方法では、次亜臭素酸は DPD と反応して淡紅色の発色を示すが、この色調は総次亜臭素酸濃度に合わせて増減するため、この色調を吸光光度計で指定の波長にて測定する。

測定の一例を示すと以下のとおりである：

- 1) 被験試料一定量を採取し、推定濃度における吸光光度計の測定範囲になるように水で希釈する。測定セルにこの希釈液を入れ、吸光光度計でブランクの吸光度を測定する。
- 2) 既成の DPD 試薬を希釈液に加える。
- 3) 吸光光度計で吸光度を測定する。結果は臭化物の ppm で示される。
- 4) 測定値に希釈率を乗じて臭化物濃度を算定する。(参照 151)

(4) 食品添加物の安定性

[151] (日本イーライリリー社(2015 年)(未公表))

1) 次亜臭素酸水の安定性

本品については、水中では比較的早期に分解してしまうため、用時調製して用いる必要がある。本品がどの程度持続するかは、温度等の外的要因に大きく影響するが、通常、DBDMH を投入して次亜臭素酸を発生する装置では、連続して次亜臭素酸が発生し、これが継続的にと体洗浄に使用されるため、次亜臭素酸の持続時間については問題となっていない。安定性試験データを表 I-5-4 に示したが、通常本品を使い切る時間内の安定性については問題のないことが示されている。

表 I-5-4. DBDMH から発生した次亜臭素酸の安定性

気温	初期値	18 時間	38 時間
室温下	439ppm	439ppm	432ppm

注) 数値は有効臭素濃度

また，食肉に散布後は，有機物の存在により速やかに臭化物に分解され活性が消失する(参照 85)(III, 3, (1)項参照)。

牛肉における試験では，赤味肉では次亜臭素酸の初期濃度が 967.5ppm であったものが 1 分後には 666ppm, 120 分後には 1.13ppm と急速に減衰し，半減期は 11.34 分であった．一方，脂肪については，次亜臭素酸の初期濃度が 967.5ppm であったものが 1 分後には 837ppm, 50 分後に 200ppm, 180 分後には 5.63ppm と急速に減衰し，半減期は 25.62 分であった．このように，食肉への散布後，次亜臭素酸水は急速に臭化物に分解し，活性のなくなることが示されている．(参照 85)

2) DBDMH の安定性

本品のスタート物質である DBDMH の安定性については，2 ロットの最終品について室温下で 3 年間の試験が行われている(表 I-5-5)．試験の結果から，本品は 3 年以上安定であることが示された．(参照 151)

表 I-5-5. DBDMH の室温下安定性試験（数値は重量%）

時点	Lot 090111	Lot 090129
保存開始時	98.7	98.6
13 ヶ月	98.3	98.3
18 ヶ月	98.8	98.8
30 ヶ月	99.2	99.3
36 ヶ月	99.5	99.5

(5) 食品中の食品添加物の分析法

[151] (日本イーライリリー社(2015 年)(未公表))

使用対象食品である牛肉及び鶏肉中において認められるのは DMH 及び臭化物である．これらの分析法として DMH については HPLC 法，臭化物についてはイオンクロマトグラフ法が確立されている．(参照 151) なお，分析法は以下のとおりである．

DMH の分析方法

分析条件として添加回収率 75～115%を満たす HPLC による分析方法とした．

HPLC の試験条件

測定波長：230nmUV

カラム： Phenomenex[®] Synergi 4m Polar-RP 80A（内径 4.6mm×長さ 150mm）
又は同等のカラム

カラム温度：50℃，流速：1.0mL/分，注乳量：10μL

移動相： 水・アセトニトリル・リン酸（95/5/0.1）

分析時間：20 分

標準品：5,5-ジメチルヒダントイン（DMH）

検量線の作成

DMH 標準品を水(HPLC グレード)に溶かして 1000μg/mL の標準原液を調製する。
標準原液を水で希釈して 40, 60, 100, 120 及び 200mg/kg の標準溶液を調製する。
これらの標準溶液をシステムに注入し、検量線を作成する。

試料分析

試料の調整：試料を、孔径 0.2mm，厚さ 13mm のフィルター（GHP Acrodisc 又は同等品）でろ過し検液とする。検液を 2 反復で測定し、その結果をもとに、試料のピーク面積と標準液で作成した検量線から、試料中濃度を求める。なお、分析を行うに当たり以下の分析能の確認を行う。

分析能の確認

- (1) ブランク試液(LRB)：水を孔径 0.2mm，厚さ 13mm のフィルター（GHP Acrodisc 又は同等品）でろ過したものを 2 反復で分析する。
- (2) ブランク試料スパイク(LFB)：DMH 原液 1mL を水で希釈し 100mL としたものを厚さ 13mm のフィルター（GHP Acrodisc 又は同等品）でろ過したものを 2 反復で分析する。この測定は毎日の試料分析前並びに 10 サンプル分析毎に行い、回収率が 85～115%であることを確認する。
- (3) 試料マトリックススパイク(LFM)：約 10%の試料溶液に対し試料測定値とほぼ等量の DMH をスパイクし、厚さ 13mm のフィルター（GHP Acrodisc 又は同等品）でろ過したものを 2 反復で分析する。回収率が 85～115%の場合適合とする。

試料マトリックススパイク(LFM)の回収率を以下のとおり求める。

$$R = \frac{C_s - C}{C_s} \times 100$$

		S
R	=	回収率
C _s	=	スパイク試料の測定濃度
C	=	試料の測定濃度
S	=	試料に添加した分析物の等量濃度

無機臭化物の分析法

本試験は、EPA 分析法 300.1（イオンクロマトグラフィーを用いた飲水中の無機アニオンの測定）に準拠したものである。このうち臭化物イオンの分析に関わる部分を抜粋した。分析条件として、添加回収率 75～125%を満たすイオンクロマトグラフィーによる分析方法とした。

イオンクロマトグラフィーの試験条件

カラム： Dinex IonPacO AG11-HC（内径 4mm）ガードカラム, DIonex IonPacO ASI1-HC カラム（内径 4mm）又は同等のカラム

サプレッサー： Anion Self-Regenerating Suppressor-Ultra（4mm）
AutoSuppressionO リサイクルモード

サプレッサー電流：100mA

検知器：電気伝導度（サプレッサー使用）

測定範囲：200μS

流速：1.5 mL/分，注乳量：25μL

溶離液：KOH（EG40 使用）

グラジエント

5.00～30.00mmol/L	0～28 分
30.00～5.00mmol/L	28～35 分

標準品：臭化ナトリウム（NaBr）

検量線の作成

臭化ナトリウム標準品を水（試薬級，脱イオン水）に溶かし，臭化物として 4000μg/mL の標準原液を調製する。標準原液を水及びエチレンジアミン（EDA）保存液*（ほぼ等量）で希釈し臭素として 0.4，0.8，1.6，4 及び 40mg/kg の標準溶液を調製する。これらの標準溶液をシステムに注入し，検量線を作成する。

* EDA 保存液の調製（100mg/mL）：EDA(99%)2.8mL を秤りとり，水（試薬級）を加えて 25mL とする。

試料分析

冷蔵試料は室温に 1 時間程度置き，その後試料を 2 反復でシステムに注入し，その結果をもとに，試料のピーク面積と標準液で作成した検量線から，試料中濃度を求める．
なお，分析を行うに当たり以下の分析能の確認を行う．

分析能の確認

- (1) ブランク試液(LRB)：水を 2 反復で分析する．
- (2) ブランク試料スパイク(LFB)：臭化ナトリウム標準溶液 1.6mg/kg を水で調製する．
毎日の試料分析前並びに 10 試料分析毎に測定し，回収率が 75～125%であることを確認する．
- (3) 試料マトリックススパイク(LFM)：約 10%の試料溶液に対し試料最大測定値の 5 倍以内の濃度で臭化ナトリウムをスパイクし，2 反復で分析する．臭化物が検出されない場合には，検量線の最低測定濃度の 5 倍量以内でスパイクする．回収率は 75～125%とする．

試料マトリックススパイク(LFM)の回収率を以下のとおり求める．

$$R = \frac{C_s - C}{S} \times 100$$

R	=	回収率
C _s	=	スパイク試料の濃度
C	=	試料の測定濃度
S	=	試料に添加した分析物の等量濃度

6. 使用基準案

次亜臭素酸水は，食鳥及び家畜のと体消毒に用いられ，食鳥処理施設の水又は氷，牛の外皮，と体，頭部，内臓等の洗浄水として用いる．食鳥処理では水又は氷に最大有効臭素濃度として 450mg/kg，牛と体洗浄には最大有効臭素濃度として 900mg/kg を使用する．

DBDMH は顆粒形状で提供され，水への溶解は専用の閉鎖系の連続稼働亜臭素酸発生装置を用いて使用する．

本装置において DBDMH を水に溶解することで次亜臭素酸水が発生し(高濃度溶液)，これを，さらに二次水流中に一定量添加することで最終添加濃度が達成される．と体洗浄に用いる濃度は微生物の汚染状況により異なるが，牛肉に使用する場合の次亜臭素酸水の最大濃度は有効臭素として 900ppm である，適正濃度の添加を担保するため，有効臭素濃度

を定期的に簡易キット等で確認することが必要である。連続稼働次亜臭素酸発生装置は完全な閉鎖系で DBDMH の錠剤を装置に投入後は、ほぼ人の手を経ずにと体への噴霧が行われる。また、洗浄段階を手動で行う場合には、防護衣、マスク、手袋等の装着により、次亜臭素酸水の暴露は最小限となる。

＜使用基準案＞

次亜臭素酸水は、食肉の表面殺菌の目的以外に使用してはならない。

次亜臭素酸水の使用量は、臭素として、食肉（食鳥肉を除く。）[注3] にあつては浸漬液又は噴霧液 1kg につき臭素として 0.90g 以下、食鳥肉にあつては浸漬液又は噴霧液 1kg につき臭素として 0.45g 以下でなければならない。

7. その他

特になし。

注3 食肉及び食鳥肉には内臓を含む。

II. 有効性に関する知見

1. 食品添加物としての有効性及び他の同種の添加物との効果の比較

本品は、牛の食肉処理場及び鶏の食鳥処理場において、と体殺菌を目的に使用される。牛と体の殺菌では、と殺後の内臓除去、剥皮、と体の背割りの工程中、主に背割り後のと体に使用されるが、その他の段階での使用も行われる。鶏のと体殺菌では、と殺・脱羽後の冷却水及び中抜き後と体の殺菌、汚染と体の再処理等に用いられる。

次亜臭素酸水による牛枝肉又は食鳥処理過程の微生物汚染削減効果については、一般細菌の他、大腸菌(*E.coli*) O-157, サルモネラ及びカンピロバクター等の食品媒介性病原体の削減により検討が行われている。牛では食肉処理施設における常在菌及び病原菌を対象にした試験において、次亜臭素酸水は、いずれの試験条件においても牛枝肉の洗浄による付着菌(一般細菌、並びに大腸菌 O-157, その他の病原性大腸菌及びサルモネラ等の病原菌)削減に有効であることが示され、一方、食鳥処理場(鶏)では、食肉及びチラー水中の大腸菌、サルモネラ、及びカンピロバクターの削減に有効であることが示された。

さらに、*in vitro* 及び *in vivo* (鶏と体)での、標準的な殺菌剤である塩素剤を対照とした試験において、一般細菌、大腸菌及びサルモネラの菌数削減効果について検討が行われ、塩素剤と同等、又は、よりすぐれた効果のあることが示された。

(1) 牛肉のと体処理における有効性

1) 牛の体側肉及び牛心臓を用いた *E. coli* O157:H7 及びサルモネラの削減効果[78] (Kalchayanand ら(2009 年))

商用施設で用いられる食肉洗浄装置又は実験室内での枝肉洗浄モデル装置を用いた試験において、食肉処理施設で採取した温牛と体の体側肉(24 検体)及び牛心臓(48 検体)を用いた試験を行った。商用施設で用いられる食肉洗浄装置では、体側肉及び牛心臓に *E. coli* O157:H7 を含む糞便液を接種後、実験室内の枝肉洗浄モデル装置では *E. coli* O157:H7 及び *Salmonella* を含む糞便液を摂取後、次亜臭素酸水を有効臭素濃度として 75, 175 及び 270 ppm で噴霧した。一般細菌(好気性菌: APC 及び腸内細菌: EBC), *E. coli* O157:H7 及びサルモネラに対する菌削減効果を次亜臭素酸水適用前後の菌数を測定することにより、また、熱湯噴霧との効果を比較により評価した。

その結果、商用の食肉洗浄装置で次亜臭素酸水を使用した場合、好気性菌、腸内細菌及び *E.coli* O157 及び *Salmonella* spp.に対し、熱湯噴霧と同等か、わずかに低い程度の菌数減少効果が認められた。次亜臭素酸水噴霧により、好気性菌数及び腸内細菌数は、2.8~3.6 logCFU/cm²減少し、*E. coli* O157:H7は1.8~2.3 log CFU/cm², *Salmonella* spp.は2.5~2.8 log CFU/cm²減少した。48時間冷蔵後では、両者の菌減少効果に差はみられなかった。試験の結果、次亜臭素酸の噴霧は牛と体及び各種可食組織の除菌に有効であ

ることが示された(図 II-1-1).

枝肉洗浄モデル装置を用いた試験では、好気性菌数 (APC)、腸内細菌数 (EBC) 及び *E.coli* 157:H7、サルモネラの菌数を次亜臭素酸水の適用前後で測定したが、次亜臭素酸水は商用の食肉洗浄装置の結果と同様、菌数減少に有効で、APC, EBC, *E. coli* O157:H7 及びサルモネラ菌数を大幅に減少し、効果的な処理であることが確認された(図 II-1-2). (参照 78)

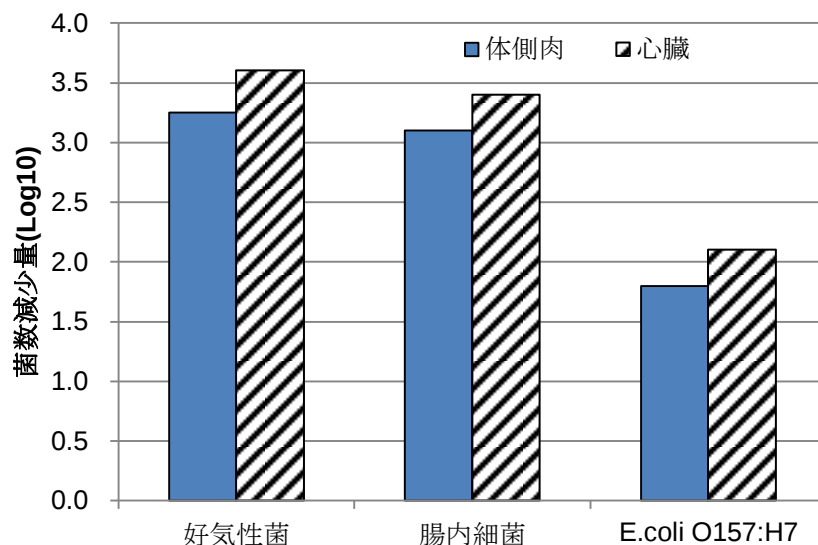


図 II-1-1 商用施設において次亜臭素酸水(有効臭素濃度：270ppm)による枝肉洗浄した場合の、好気性菌数 (APC)、腸内細菌数 (EBC) 及び *E. coli* O157:H7 の減少

注 1) 270ppm 適用時の結果、いずれの菌に対しても有意な減少 $p < 0.05$

注 2) 菌数の減少量のバラツキ(標準偏差)については原文中に記載のないため表示せず.

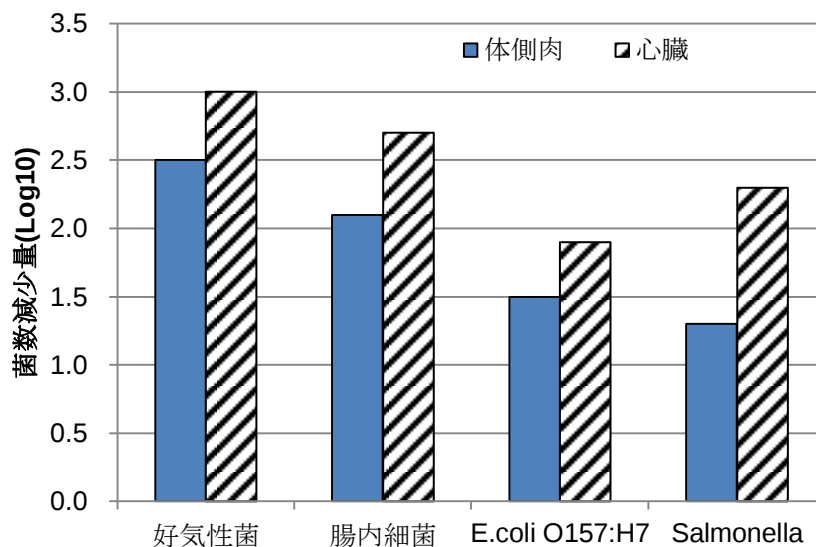


図 II-1-2 枝肉洗浄モデル装置において次亜臭素酸水(有効臭素濃度：270ppm)による枝肉洗浄した場合における好気性菌数 (APC), 腸内細菌数 (EBC), E. coli O157:H7 及びサルモネラの減少

注 1) 270ppm 適用時の結果, いずれの菌に対しても有意な減少 $p < 0.05$

注 2) 菌数の減少量のバラツキ(標準偏差)については原文中に記載のないため表示せず。

2) 次亜臭素酸水を背割り後の洗浄水に用いた場合の好気性菌数 (APC), 総大腸菌群数 (TCC) 及び大腸菌数 (ECC) に及ぼす影響[79] (JBS 社 (2010 年)(未公表))

次亜臭素酸水は, 通常牛食肉処理施設において, 背割り後の洗浄水に添加して用いる。この場合, 牛枝肉を背割りする際に生じる骨片を除去するため, 様々な圧力 (25~100 psi) で大量の水 (568~946 L/分) が使用される。そこで商用食肉処理施設における次亜臭素酸水作用を確認するため, 食肉処理施設において試験を実施し, 背割り時の洗浄に次亜臭素酸水を用いた場合の, APC, TCC 及び ECC に及ぼす作用を確認した。

枝肉 135 検体を用い, 次亜臭素酸水を有効臭素濃度 165~294ppm に添加した洗浄水を用いて背割後洗浄前後に, 左右の肩肉 1000 cm² 部分からスポンジスワブを用いて検体を採取し, 各種菌数を測定した (図 II-1-3)。

その結果, 次亜臭素酸水は, 商用牛食肉処理施設において, 管理可能な水準にまで APC 及び TTC を減少させることができた。ECC は洗浄前後とも不検出であった。(参照 79)

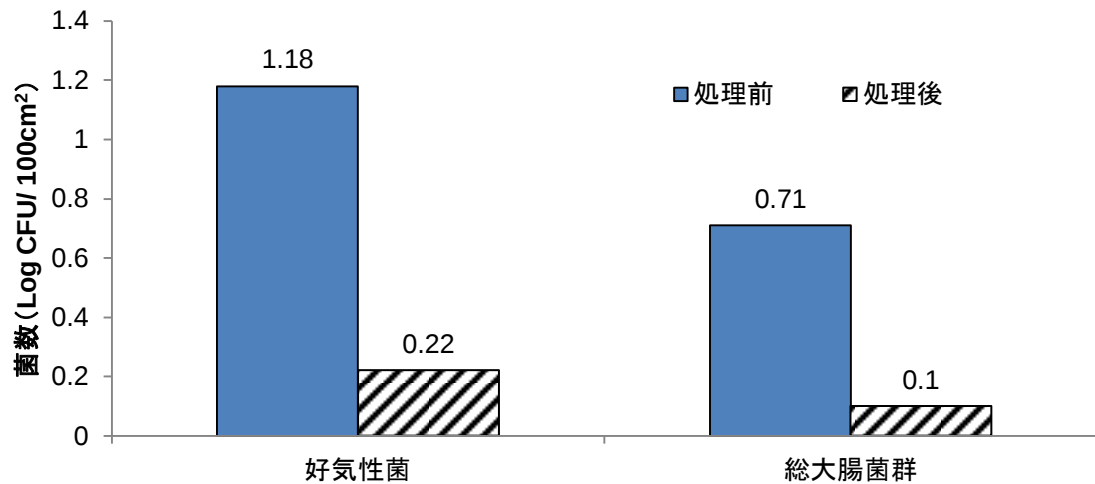


図 II-1-3 商用食肉処理施設の背割後洗浄に次亜臭素酸水(有効臭素濃度：165～294ppm)を使用した場合の APC 及び TCC への影響

注 1) 165～294ppm 適用時の結果，いずれの菌に対しても有意な減少 $p < 0.05$

注 2) 菌数の減少量のバラツキ(標準偏差)については原文中に記載のないため表示せず.

注 3) ECC は不検出のため記載しなかった.

3) 次亜臭素酸水を全と体殺菌に用いた場合の APC 及び EBC に及ぼす影響[80] (Colorado State University, Yang ら (2013 年) (未公表))

次の試験では別の商用食肉処理施設において，牛枝肉 48 検体(16 検体×3 日間)について，次亜臭素酸水を有効臭素濃度 300ppm(目標値)に添加した洗浄水を用いて背割り後洗浄の前後でスワブによる検体を採取し，次亜臭素酸水が APC 及び EBC の菌数に及ぼす影響を評価した(図 II-1-4)．本試験において，次亜臭素酸水は商用食肉処理施設において APC 及び EBC を低水準にまで有意に減少させるのに非常に効果的であった．(参照 80)

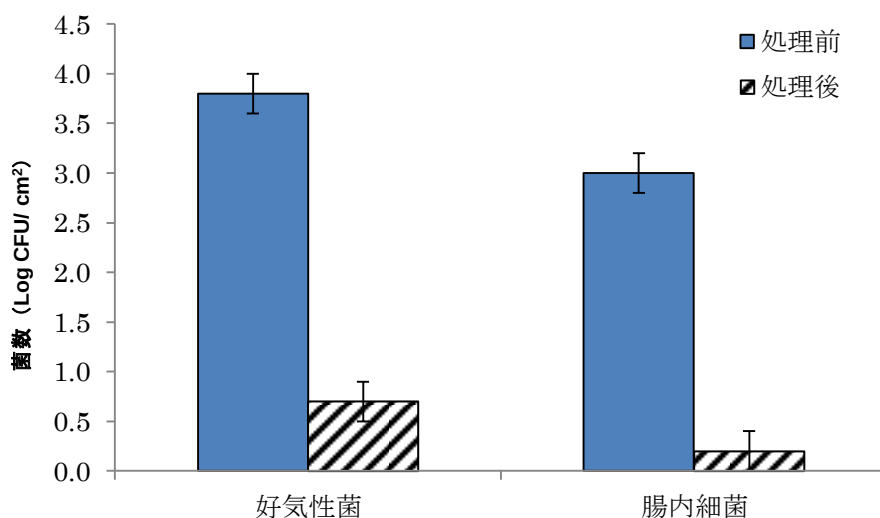


図 II-1-4 商用食肉処理施設の背割り後洗浄に次亜臭素酸水を使用した場合の
APC 及び EBC に対する効果(有効臭素濃度：300ppm)
いずれの菌に対しても有意な減少 $p < 0.05$)

4) *E. coli* O157:H7 及び他の 6 種類の志賀毒素産生大腸菌(*E. coli* STEC), 指標菌及び食肉表面細菌叢に対する次亜臭素酸水の効果[81]

(Colorado State University, Pittman ら (2011 年) (未公表))

2011 年, 米国農務省(USDA)の食品安全検査局(FSIS)により, 食肉加工品について *E. coli* O26, O45, O103, O111, O121 及び O145 が病原微生物として定められたことから, この新基準に対応するため, 次亜臭素酸水を用いた処理がこれら病原体に対して有効かどうかのバリデーションを行った。

実験室内で枝肉洗浄モデルを用い, 温と体から採取した牛肉 444 検体を用い, 1) *E. coli* O157:H7, 2) 非 O-157 志賀毒素産生大腸菌(non-O-157 STEC)である O26, O45, O103, O111, O121 及び O145, 及び 3) 非病原性大腸菌(*E. coli* O157:H7 及び *Salmonella* Typhimurium の指標菌)を牛肉表面に接種し, また, 食肉表面常在細菌叢について次亜臭素酸水を有効臭素濃度 225ppm 添加水の噴霧による菌減少効果を評価した (図 II-1-5)。

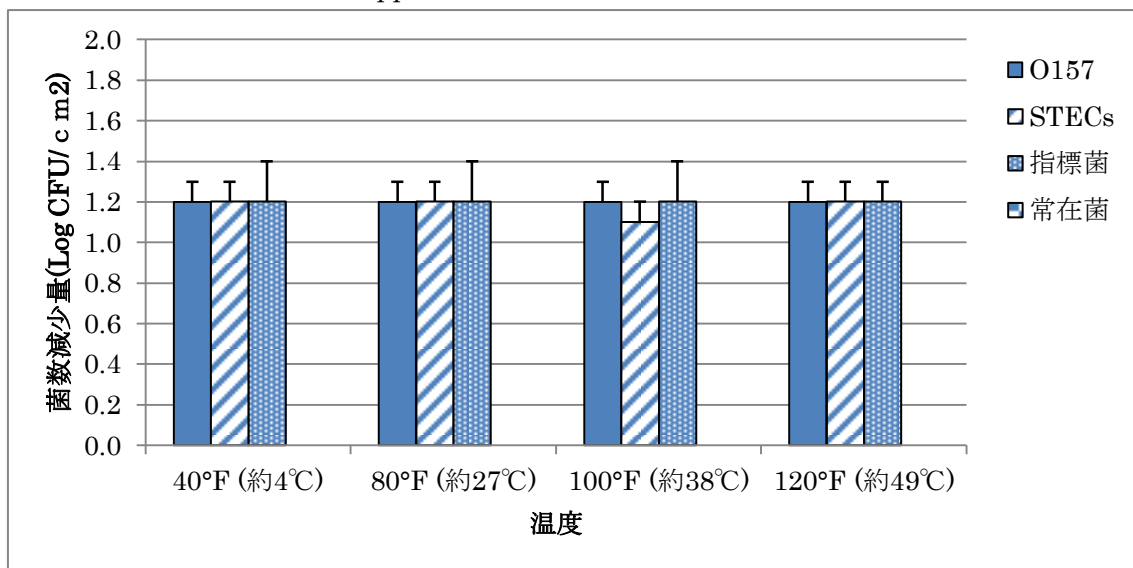


図 II-1-5 牛肉片を用いた, *E. coli* O157:H7, non-O-157 STEC, 指標菌及び常在菌叢に対する次亜臭素酸水の効果(有効臭素濃度：225ppm)

いずれの菌に対しても有意な減少 $p < 0.05$)

* 常在菌については, 培地に何ら増殖せず。

次亜臭素酸水は non-O-157 STEC に対して, *E. coli* O157:H7 及び指標菌に対するのと同程度に有効であり, 次亜臭素酸水が広範囲の菌に有効であることが示された。(参照 81)

(2) 鶏肉のと体処理における有効性

1) 鶏の冷却タンク水及びと体細菌数に及ぼす菌数削減効果[82]

(Solution BioSciences Inc., McNaughton ら(2010 年) (未公表))

実験的施設において商用処理施設のチラータンクを模倣したタンク 4 基にそれぞれ 40L の水及び氷を入れ、概ね 10^7 個/mL の大腸菌(UD01-525 株)及びサルモネラ(UD01-414 株)を接種した。次いで次亜臭素酸水を、有効臭素濃度が 34, 56, 78ppm となるように調整し、その中で、それぞれ 5 羽分のと体を冷却し、5 分ごとにと体を完全に引き上げる操作をしながら 80 分間浸漬した。水温は $1\sim 3^{\circ}\text{C}$ に保った。と体をチラー水から引き揚げた時点で水の試料を採取し、また、と体試料については、引き上げたと体全体を水ですすぎ、すすぎ液試料として採取した。チラー水及びと体すすぎ液について菌培養を行い、大腸菌及びサルモネラの菌数を測定した。菌数は対照群(0ppm)と次亜臭素酸水の各濃度添加群で比較した。さらに、と体の膨脹、皮膚の剥離、皮膚の褐色化又は変色、脂肪の変色等の所見を観察した。試験は 6 反復で実施した。

その結果、対照と比較した場合の菌数減少量(対数)は、と体については、有効臭素濃度 34ppm で大腸菌 3.07, サルモネラ 3.10, 78ppm では大腸菌 4.74, サルモネラ 4.52 といずれも有意な減少が認められ、チラー水についても、34ppm で大腸菌 3.76, サルモネラ 3.85, 78ppm では大腸菌 4.67, サルモネラ 4.52 といずれも有意な減少が認められた(表 II-1-1)。

と体重量や水分吸収量、と体性状に、有意な影響はみられなかった。(参照 82)

表 II-1-1. 鶏処理工程における次亜臭素酸水の菌削減効果—無添加と比較した菌数減少量(対数)

試料及び検査対象	有効臭素濃度(ppm)		
	34 ppm	56 ppm	78 ppm
と体			
<i>E. coli</i>	3.1 ^c	4.2 ^d	4.7 ^a
<i>Salmonella</i>	3.1 ^c	3.9 ^d	4.5 ^a
チラー水			
<i>E. coli</i>	3.8 ^c	4.4 ^d	4.7 ^a
<i>Salmonella</i>	3.9 ^c	4.2 ^d	4.5 ^a
と体及びチラー水の平均			
<i>E. coli</i>	3.5 ^c	4.3 ^d	4.7 ^a
<i>Salmonella</i>	3.6 ^c	4.1 ^b	4.5 ^a

注 1) 数値は無添加対照からの菌数減少量(対数)

注 2) 値は平均値のみ、標準偏差は原文に記載なし

abc 異符号間に有意差及び無添加対照との間に有意差($p<0.05$)

(3) 標準的な殺菌剤である次亜塩素酸ナトリウムとの効果の比較

1) 殺菌剤の殺菌効果の評価—有効塩素との比較(AOAC 法)[83]

(Hill Top Research 社 Young (2009 年) (未公表))

次亜臭素酸水の殺菌効果について、AOAC 試験法 (AOAC International 公式分析法, 第 18 版, 改訂 1, Chapter6, Section 6.3.01) に従い、次亜塩素酸の殺菌効果の比較で *in vitro* で試験した。3 ロットの DBDMH を用いて、有効臭素濃度 50, 100, 200ppm となるよう次亜臭素酸水を、また、対照として次亜塩素酸ナトリウムを用いて有効塩素濃度 50, 100, 200ppm となるよう次亜塩素酸ナトリウム水溶液をそれぞれ調製し、*Salmonella* Typhi ATCC6539 を検定菌として殺菌効果を評価した。指定の液体培地を用い、菌摂取培地を $37\pm2^{\circ}\text{C}$ 、 48 ± 4 時間培養した。

その結果、次亜臭素酸水の 50ppm 溶液は次亜塩素酸 100ppm と同等、次亜臭素酸水の 100ppm 溶液は次亜塩素酸の 100ppm 以上、200ppm 以下、次亜臭素酸水の 200ppm 溶液は次亜塩素酸の 200ppm 以上との結果が得られた。(参照 83)

2) 鶏の冷却タンク水及びと体細菌数に及ぼす菌数削減効果—塩素との比較[82]

(Solution BioSciences Inc., McNaughton ら(2010 年)(未公表))

実験的施設において、鶏と体に *Salmonella* Agona FMK1401 及び *S.Kentucky* FMK1402 を 1:1 に混合した菌液(10^9 個以上/mL)1mL を鶏と体の胸部及び脚部等 20 ヲ所にそれぞれ 50 μL ずつスポットした、スポット後、と体を 25~35 分放置し、菌のと体皮膚への定着を促した。

次いで、商用処理施設のチラータンクを模倣したタンク 4 基にそれぞれ 40L の水及び氷を入れ、次亜臭素酸水 34ppm(有効臭素濃度)、次亜塩素酸ナトリウム 15ppm(有効塩素濃度)、非冷却対照及び冷却対照の 4 試験群を設け、それぞれ 5 羽分のと体を冷却し、5 分ごとにと体を完全に引き上げる操作をしながら 80 分間浸漬した。次亜塩素酸ナトリウム 15ppm は次亜臭素酸水 34ppm とモル濃度として等価であり、陽性対照として適切と判断して決定した。

と体をチラー水から引き揚げた時点で、引き上げたと体全体を水ですすぎ、すすぎ液試料として採取した。チラー水は 45, 60 及び 80 分後に採取した。チラー水及びと体すすぎ液について菌培養を行い、サルモネラの菌数を測定した。菌数は対照群(0ppm)と次亜臭素酸水の各濃度添加群で比較した。さらに、と体の膨脹、皮膚の剥離、皮膚の褐色化又は変色、脂肪の変色等の所見を観察した。試験は 6 反復で実施した。

その結果、次亜塩素酸及び次亜臭素酸水ともに冷却及び非冷却対照と比べ有意な総菌数減少を示したが、次亜塩素酸と比べ次亜臭素酸水はより高い効果を示した(表 I-5-2,

I-5-3).

次亜塩素酸でも一環した菌数減少効果がみられたが、次亜臭素酸水では、それよりも1Log 以上/mL の菌数減少を示した(表 II-1-2, II-1-3). と体重量や水分吸収量, と体性状に, 次亜臭素酸水, 次亜塩素酸ともに有意な影響はみられなかった. (参照 82)

表 II-1-2. 次亜臭素酸水の鶏と体及びチラー水中のサルモネラ菌削減効果
一次亜塩素酸との比較(対数)

試料及び検査対象	対照(冷却)	次亜塩素酸 15 ppm	次亜臭素酸水 34 ppm
と体の菌数減少(Log CFU)	0.8 ^c	5.0 ^b	7.5 ^a
と体+冷却水の菌数減少(Log CFU)	0.5 ^c	4.3 ^b	5.6 ^a

注 1) 数値は非冷却対照からの菌数減少量(対数)

注 2) 値は平均値のみ, 標準偏差は原文に記載なし

abc 異符号間に有意差及び無添加対照との間に有意差(p<0.05)

表 II-1-3. 次亜臭素酸水のチラー水中の経時的なサルモネラ菌数削減効果一次亜塩素酸との比較(対数)

冷却時間	対照(冷却)	次亜塩素酸 15 ppm	次亜臭素酸水 34 ppm
45 分	4.8 ^a	1.4 ^b	0.5 ^c
60 分	4.7 ^a	1.2 ^b	0.2 ^c
80 分	4.8 ^a	1.1 ^b	0.2 ^c

注 1) 数値は非冷却対照からの菌数減少量(対数)

注 2) 値は平均値のみ, 標準偏差は原文に記載なし

abc 異符号間に有意差及び無添加対照との間に有意差(p<0.05)

3) 食鳥処理施設におけるオフライン再処置における次亜臭素酸水の抗菌作用一次亜塩素酸との比較[84] (Albemarle 社, Ricks (2007 年) (未公表))

食鶏処理工程において, 糞便汚染の認められると体については工程から外して洗浄殺菌といった再処置が必要となる. その過程では, 汚染部分の除去とトリミング, それに, 塩素等による殺菌が要求される. 次亜塩素酸による殺菌では 20~50ppm(有効塩素濃度)が必要だが, 次亜臭素酸水ではこれに相当する濃度として 60~100ppm での処置を行い, 両者の菌数削減効果について比較した. 菌数測定用の試料は以下のとおり採取した.

試料の種類	試料の詳細	採取試料数
-------	-------	-------

次亜塩素酸処理と体	汚染と体, 塩素 20~50ppm 添加 水で再処理.	1 日 30 試料. 週 2 日, 2 週間
次亜臭素酸水処理と 体	汚染と体, 臭素 60~100ppm 添加 水で再処理.	1 日 30 試料. 週 2 日, 2 週間
試料総数		塩素使用 120 試料 臭素使用 120 試料

採取したと体は, 試料採取袋中に入れ, リン酸緩衝液で表面をリンスし, 表面に付着した菌を液中に抽出, これを培養して菌数を測定した. 大腸菌の菌数及びにサルモネラの分離例数について調査した.

その結果, 次亜塩素酸処置群と比べ, 次亜臭素酸水処置群で有意に大腸菌数が低下し, また, サルモネラの陽性率も有意に低下した(表 II-1-4). (参照 84)

表 II-1-4. 次亜臭素酸水による再処置による菌数又は菌分例数の減少—次亜塩素酸との比較

処置	大腸菌数(Log10)	サルモネラ陽性率
次亜臭素酸水	1.30 ^b	19.3 ^b
次亜塩素酸	2.05 ^a	42.7 ^a

注) 値は平均値のみ, 標準偏差は原文に記載なし

(4) 効果試験に関するまとめ

次亜臭素酸水は実験室内及び商用牛食肉処理施設において牛肉及び鶏肉の効果的な殺菌剤であり, その効果は標準的な殺菌消毒薬である次亜塩素酸と同等以上であることが示された. 次亜臭素酸水の処理は, *E.coli* O-157-H7, *Salmonella* 等の病原性微生物の効果的な削減に有効であり, 食の安全性を達成するうえで重要な役割を担うものと思われる.

2. 食品中での安定性

[1, 85]

DBDMH は特異な構造で, 水を加えることで, 加水分解反応により, 次亜臭素酸 2 分子と DMH1 分子が形成され, その後, 次亜臭素酸はさらに分解され無機の臭化物 (Br⁻を含む化合物)となる. DMH は副産物として水中に残り, これはそれ以上の反応を示さない. このように, DBDMH から次亜臭素酸を発生させ食肉処理施設でと体洗浄に用いた場合には, 洗浄水中には DBDMH は認められず, DMH と次亜臭素酸となり, さらに, と体適用後, 次亜臭素酸は速やかに臭化物となり, 最終食品である食肉中においては非活性の DMH

及び臭化物として存在するのみである。

3. 食品中の栄養成分に及ぼす影響

[3, 4, 85]

DBDMH から発生させた次亜臭素酸の分解物は最終食品である食肉(牛肉及び鶏肉)中にはごく低濃度で存在するのみであり(最大想定残留レベルで DMH 及び臭化物のいずれも 0.5ppm 以下)、食品中の栄養成分に及ぼす影響は最小限である。また、次亜臭素酸は急速に分解して非活性の臭化物となるため(参照 85)、その影響は極めて限られたものと考えられる。残留量の詳細については III, 3, (1)項に記載した。

食品の栄養成分に及ぼす影響として、唯一懸念されるのが次亜臭素酸の酸化作用によるものであるが、これについては以下のとおり説明されている(参照 3, 4)。

次亜臭素酸の殺菌作用は酸化作用によるものであり、食肉表面に接触することで、その食肉表面の脂質を酸化又はハロゲン化をする可能性がある。酸化の可能性については、チオバルビツール酸(TBA)価の測定により評価できる。TBA 価は多価不飽和脂肪酸のラジカル誘導酸化によるマロンアルデヒド量を測定するものである。一方、脂肪酸プロファイルは、ハロゲン化を含む他の酸化過程の評価にも用いられる。米国における本品の評価(FAP4A4433)では、家禽の皮膚及び筋肉に対する亜塩素酸塩(150~1200ppm)及び塩素(食鳥冷却水及び噴霧液中 25ppm, 又は冷却水中 50ppm)による酸化の影響について、調理の前後で評価しているが、その結果、家禽の皮膚及び筋肉に対する影響は調理による酸化の影響の方が大きいと結論している。また、食鳥の商用処理過程での TBA 価の評価では塩素 50ppm の処理では調理食鳥肉の TBA 価に変化がないことを示している。同様に脂肪酸プロファイルの評価でも亜塩素酸塩や塩素の処置によると考えられる変化はなしとの報告がされている。そこで、酸化還元電位を次亜塩素酸と次亜臭素酸で比較すると、次亜塩素酸が 1.49V, 次亜臭素酸が 1.59V とほぼ同一であることから、次亜臭素酸を家禽処理場の冷却水に使用した場合の新鮮家禽肉中に生じる可能性のある脂質酸化物の量は塩素処理を行った場合とほぼ同様と考えられ、調理時の加熱により生じる酸化物量と比べて大きな影響はないと判断される。

脂肪酸のハロゲン化については脂肪酸プロファイルによる検討が行われているが、脂肪酸プロファイルとともに、脂肪塩化物の検出を試みたものの、検出限界 16ppb での分析では塩化有機物の生成について証拠は得られていない。

塩素(35.5g/mol)と臭素(79.9g/mol)の分子量の違いから次亜臭素酸 100ppm は次亜塩素酸(50ppm)と比べやや低い酸化能を有し、ハロゲン化物の生成についても同程度であると考えられる(参照 3)。

また、次亜臭素酸 300ppm を用いた試験では、TBA は肉の試料からは検出されず、また、脂肪酸プロファイルではリノレイン酸が 4.5%から 1.4%に減少した以外、対照試料とほぼ同等であった。当該減少については特段の説明はなかったものの、単回分析しかしていない

ため偶発性の所見である可能性もある。これまで食肉又は家禽肉に用いる複数の殺菌剤の評価の中で、脂肪酸プロファイルの有意な変化はみられておらず、これらの所見から、次亜臭素酸で認められた所見は偶発性のもので、脂肪酸プロファイルへの影響はないものと判断される(参照 4)。

III. 安全性に関する資料

1. 体内動態試験

DBDMH から発生させた次亜臭素酸水の食肉中における残留物は DMH 及び臭化物であるが、このうち DMH の吸収、分布、代謝、排泄性についてはラットを用いた試験が行われている(参照 86, 87)[注4]。一方、臭素については、JMPR(参照 48)がマウス及びラットにおける吸収、分布、排泄性を評価している。

(1) DMH に関する体内動態試験

1) ラットにおける DMH の吸収、分布、代謝及び排泄[86]

(WIL Research Laboratories, Inc., Resnis & Craine. (1983 年) (HPVIS (2013)から要約入手))

ラット(CD, 雌雄 5 匹/群)を用いた ^{14}C 標識 DMH の強制経口投与(20 及び 100mg/kg)による吸収及び排泄試験が実施された。尿及び糞を 0~8, 8~16, 15~24, 24~32, 32~48 時間後、その後 24 時間ごとに 5 日までに採取し、 ^{14}C 標識 DMH の濃度を測定した。全ての動物の排泄性について 7 日間追跡した後、試験 6 日に安楽死させ、心臓、肝臓、腎臓、脾臓、腹腔脂肪、肢の筋肉、肢の骨、生殖器及び脳組織を採取し、放射能を測定した。

^{14}C 標識 DMH の回収率は 95%以上であった。DMH は急速に吸収され、ほとんど代謝を受けず、主に尿中に排泄された。排泄性に性差はみられなかった。排泄は急速で投与後 24 時間以内に 88%が排泄された。薄層クロマトグラフィーでの検討の結果、尿中では親化合物 DMH が唯一の主要排泄物であった。1 種類の微量代謝物が認められ、尿中放射能の 2.5%を占めた。低用量(20mg/kg)投与動物の組織分析では全例で放射能は 20 ppb 未満であった。高用量(100mg/kg)投与動物の組織分析では、微量の放射能が腎臓及び骨組織で認められた。雄動物の方が雌動物と比べて、腎臓の放射能が高かったが、骨組織中濃度は雌雄とも同程度であった。

結論：本試験条件下において、DMH は速やかに吸収及び排泄され、その主要排泄経路

注4 参照86についてはEPAの高生産量化学物質評価情報システム(The High Production Volume Information System(HPVIS))を用いて文献検索を行い、試験の要約を入手した。なお、以後、本システムからの参照についてHPVISから要約を入手した旨を記載した。

は尿中であつた。代謝物は少なかった。 ^{14}C 標識 DMH の 100 mg/kg を単回経口投与したラットの腎臓及び骨組織は、低濃度ながら測定可能量の ^{14}C を含んでいた。(参照 86)

2) ラットにおける DMH の吸収、分布、代謝及び排泄[87]

(Biological Test Center., Selim (1991 年) (未公表))

ラット(CD, 雌雄 5 匹/群)を用いた 4 試験において ^{14}C 標識 DMH を単回強制経口投与(100 及び 1000mg/kg 体重), 反復経口投与(100mg/kg 体重, 14 日間非標識 DMH の前投与 (1~7 日は 100mg/kg 体重/日, 8~14 日は 80mg/kg 体重/日) と, その後単回の標識体の投与)及び単回静脈内投与(100mg/kg 体重)による吸収、分布、代謝及び排泄試験が実施された。いずれの試験でも尿及び糞を一定間隔で採取し、投与後 7 日に各動物を安楽死させ各組織及び臓器を採材した。採材した組織、尿及び糞便について放射活性を測定した。

尿及び糞便中の回収率は尿で 90~96%, 糞便で 1.37%以下であつた。組織中の ^{14}C 残留量は 0.2%以下であつた。雌雄で吸収性、分布性、排泄性に違いはみられなかった。以上の試験結果から、代謝試験では尿からの分離、同定、定量を行うこととした。

代謝試験には最初に高用量群を用い、尿中の代謝プロファイルを HPLC にて特定し、次いで低用量群の尿を用いて試験を行った。

その結果、尿中から得られた放射活性の 97%以上は親化合物 DMH であつた。また、これは投与した放射活性の 90%以上であつた。 ^{14}C の残留性について、単回経口低用量及び高用量投与、反復経口低用量投与及び単回静脈内低用量投与の間で違いはみられなかった。雌雄間での代謝プロファイルにも違いはみられなかった。(参照 87)

(2) 臭化物の吸収、分布及び排泄[48]

(JMPR 毒性学的評価, (1988 年))

1) マウスにおける試験[59]

(Royal Dental School, Stockholm, and Royal Veterinary College, Stockholm, Sweden, Söremark. & Ullberg (1960))

分娩前 2 日の妊娠マウスに ^{82}Br -臭化アンモニウムを単回静脈内注射し、投与後 5, 20 分, 1, 2, 4, 24 及び 48 時間後に安楽死させ、オートラジオグラフィーにより母体及び胎児の各組織への分布性を試験した。

臭化物の分布性には経時的な変化はなく、また、排泄性は遅く、経時的な減衰はわずかであつた。血中濃度は高濃度が持続し、ほとんどの各組織中濃度よりも高かつた。臭化物は徐々に中枢神経系に蓄積した。甲状腺濃度は比較的高かつたが、血中濃度よりも低かつた。臭化物は胎盤を通過し、胎児の主に骨組織に分布したが、その濃度は母動物の軟骨中濃度よりも低かつた。(参照 59)

2) ラットにおける試験

i) 塩化ナトリウム添加又は未添加での吸収性[53]

(National Institute of Public Health, Netherland, Rauws & van Logten (1975))

Wister ラット雌に臭化ナトリウム 2000ppm 添加飼料を 3 週間給与し、飼料又は飲水への塩化ナトリウム添加又は未添加で、吸収性を検討した。

通常食での血中濃度は投与初期では $0.55 \pm 0.46 \text{mmol/L}$ 、3 週間後では $8.57 \pm 0.57 \text{mmol/L}$ となった。

次いで、通常食+水道水(試験群 1)、無食塩食+水道水(試験群 2)、無食塩食+異なる濃度(試験群 3~5)の食塩含有水 3 試験群の 5 試験群での試験を行った。食塩摂取量は 91, 10, 28, 55, 144mg/日であった。臭化物の半減期は高食塩摂取群の 3.5 日から低食塩摂取群の 25 日と大きく変動した。低食塩摂取群の半減期は約 10 倍長かった。(参照 53)

ii) 胎盤を通じた胎児への移行性[60, p387, Table 3 及び本文左段]

National Institute of Public Health, Netherland, van Leeuwen, den Tonkelaar & van Logten (1983)

ラットを用いた繁殖試験の F1c 世代の子動物を用いて臭化物の胎盤通過性を検討した。腎臓の臭化物濃度は母動物と子動物でほぼ同等であり、発達中の胎児において胎盤通過による濃度の低下のないことが示された。(参照 60)

iii) 塩化ナトリウム添加又は未添加での吸収性[52, 61]

(National Institute of Public Health, Netherland, van Logten ら(1976), Rauws, (1983))

ラットを用いた 90 日毒性試験において臭化物の蓄積性が検討されている。正常食塩濃度及び低食塩濃度の飼料を給与した動物における血漿中臭化物濃度は、それぞれ 3 及び 12 週でプラトーに達した。最高用量群を除き、いずれの飼料給与群とも、プラトーレベルは、臭化物の投与量に相関して増加した。同様の臭化物濃度に到達した低食塩食群の臭化物添加濃度は、通常食塩食群の臭化物濃度の 1/10 であった。(参照 52, 61)

2. 毒性に関する資料

DBDMH を水に溶解することで発生する次亜臭素酸水は、食肉処理において殺菌剤として使用することを目的としている。DBDMH を水に加えると急速に分解し、次亜臭素酸と DMH が産生される。このうち次亜臭素酸が抗菌活性を発揮し、一方、DMH は不活性産物として残留する。さらに次亜臭素酸は殺菌作用を示した後に、無機の臭化物(Br^- を含む)に

変換される。

そこで毒性評価は最終的な食肉中の残留物である DMH 及び臭化物について、それぞれ実施する。

2-1. DMH に関する毒性

(1) 急性毒性試験(ラット及びウサギ)

急性毒性試験として、ラットを用いた経口及び吸入毒性試験、ウサギを用いた経皮毒性試験が行われている。結果を表 III-2-1-1 にまとめる。

これらの試験結果から DMH の経口及び皮膚暴露による急性毒性は低いと判断された。

表 III-2-1-1. DMH の急性毒性試験結果

動物種	投与経路	用量 (mg/kg 体重)	LD ₅₀ (mg/kg 体重)	備考(臨床症状等)	参照
ラット	経口	5,000	>5,000	雌で投与日に軽度～中等度の沈鬱，軽度の流涙．	88(Mayhew(1980), HPVIS (2013) から要約入手)
ウサギ	経皮	20,000	>20,000	体重減少又は不変，皮膚の発赤と浮腫，活動量低下．	89(Auletta(1979) , HPVIS (2013) から要約入手)
ウサギ	経皮	3,000	>3,000	皮膚のわずかな発赤，乳白色の鼻汁，流涙．	90(Mayhew(1980), HPVIS (2013) から要約入手)

(2) 亜急性及び亜慢性毒性試験

1) マウスを用いた 28 日間経口毒性試験[91]

(WIL Research Laboratories, Inc., Naas (1991 年)(HPVIS (2013)から要約入手))

本試験は、13 週間経口毒性試験の用量設定のために実施された。

CD-1 マウス(雌雄各 5 匹/群)を用いた DMH の 28 日間経口(混餌投与, 0, 1,000, 5,000, 10,000 及び 50,000ppm, 体重当り摂取量は平均 230, 1,093, 2,316, 13,479mg /kg 体重/日)試験が実施された。

全ての動物が試験期間中生存した。生存性，一般状態，体重，血液学的検査，肉眼的病理検査及び病理組織学的検査に投与に関連した所見はみられなかった。血液生化学的検査では、50,000ppm 群の雌でアルカリフォスファターゼ活性の有意な増加が認められた。(参照 91)

2) マウスを用いた 28 日間経口毒性試験[92]

(Bushy Run Research Center, Hermansky & Benson (1995 年) (未公表))

本試験は、慢性発がん性試験の用量設定のために実施された。

CD-1 マウス(雌雄各 10 匹/群)を用いた DMH の 28 日間経口(混餌投与, 0, 1,000, 3,500 及び 7,000ppm, 体重当り平均摂取量は雄で平均 189, 628, 1,247mg/kg 体重/日, 雌で平均 218, 755, 1,676mg /kg 体重/日)試験が実施された。死亡, 瀕死, 毒性症状の観察, 体重, 飼料摂取量, 剖検及び臓器重量測定, 病理組織学的検査が行われた。

本試験で評価したすべての項目で投与に関連した所見はみられなかった。本試験における NOEL は 7,000ppm 以上(雄: 1,247mg/kg, 雌 1,676mg/kg)であった。(参照 92)

3) ラットを用いた 28 日間経口毒性試験[93]

(WIL Research Laboratories, Inc., Mayhew (1982 年)(HPVIS (2013)から要約入手))

本試験は、13 週間経口毒性試験の用量設定のために実施された。

Sprague-Dawley ラット(雌雄各 5 匹/群)を用いた DMH の 28 日間経口投与(0, 2,500, 5,000, 9,000 及び 12,500mg /kg 体重/日, 胃管投与)試験が実施された。

12,500mg/kg 体重/日投与群雌 2 例が死亡又は瀕死のため安楽死させられた。両動物とも剖検で胃の明らかな弛緩が認められた。9,000 及び 12,500mg /kg 体重/日投与群の一部個体に投与に関連すると考えられる沈鬱と流涎が認められた。12,500mg/kg 体重/日投与群では、最初の 2 週間に体重と摂餌量に一過性の影響が認められた。

肉眼的病理所見として、9,000 及び 12,500mg /kg 体重/日投与群雌で、子宮内液体貯留が認められた。NOEL は 5,000mg /kg 体重/日であった。(参照 93)

4) ビーグル犬を用いた 28 日間経口毒性試験[94]

(WIL Research Laboratories, Inc., Naas (1991 年)(HPVIS (2013)から要約入手))

本試験は、13 週間経口毒性試験の用量設定のために実施された。

ビーグル犬(雌雄各 2 頭/群)を用いた DMH の 28 日間経口(カプセル)投与(0, 250, 500, 1000 及び 2,000 mg /kg 体重/日)試験が実施された。

用量は予備試験において >40,000ppm の嗜好性上の問題がなかったこと、ビーグル犬の長期試験の最大量であることから設定した。中間及び低用量はこの用量から設定した。死亡の有無, 毒性所見を一日 2 回観察し, 体重及び飼料摂取量は週 1 回測定した。血液及び血液生化学検査は試験開始時及び終了時に行った。

2,000mg/kg 体重/日投与群の雄 1 例で、両眼の眼瞼下垂及び運動失調が認められた。血液学的検査, 血液生化学的検査, 尿検査に投与に関連した所見はみられなかった。剖検では投与に関連した所見はみられなかった。臓器重量については、2,000mg/kg 体重/日投与群の雄で精巣及び精巣上体平均重量の低下が認められたが、病理組織学的な異常はみ

られなかった. NOEL は雄で 1,000mg/kg 体重/日, 雌で 2,000mg/kg 体重/日であった. (参照 94)

5) ビーグル犬を用いた 8 週間の飼料添加経口投与毒性試験[95]

(MPI Research (International Research and Development Corporation), Goldenthal (1994 年) (未公表))

ビーグル犬(雌雄各 2 頭/群)を用いた DMH の 8 週間飼料添加経口投与(0, 1,200, 4,000, 12,000 及び 40,000 ppm, 体重当り平均摂取量は雄で 32, 170, 509, 1,598mg/kg 体重, 雌で 41, 179, 558, 1,650mg/kg 体重)試験が実施された.

試験動物の全例が試験終了まで生存した. 臨床的な毒性症状や体重, 血液検査, 血液生化学検査, 臓器重量, 肉眼病理所見及び病理組織所見に投与に関連すると考えられる異常はみられなかった. 上記の所見から雌雄のビーグル犬ともに 40,000ppm (雄 : 1,598mg/kg 体重, 雌 : 1,650mg/kg 体重) まで忍容されると判断された. (参照 95)

6) マウスを用いた 13 週間経口毒性試験[96]

(WIL Research Laboratories, Inc., Naas (1991 年)(HPVIS (2013)から要約入手))

CD-1 マウス(雌雄各 20 匹/群)を用いた DMH の 13 週間混餌投与(0, 5,000, 20,000 及び 50,000ppm, 体重当り平均摂取量は 962, 3,949 及び 10,552mg /kg 体重/日)試験が実施された.

試験期間中 20,000ppm 群雌 1 例が死亡したが, 一般状態の異常所見や剖検において投与との関連性を示唆する所見はみられなかった.

一般状態, 体重, 摂餌量, 血液学的検査, 血液生化学的検査に投与に関連した変化はみられなかった. 病理組織学的検査では, 20,000ppm 群雌で, 副腎への顕著な脂質沈着(雌マウスの加齢変化)が認められ, その重篤度に用量相関性が認められたため投与に関連した変化と判断された. しかし発生頻度は各群とも同様であった. NOEL は 20,000ppm(平均 3,949mg /kg 体重/日)であった. (参照 96)

7) ラットを用いた 13 週間経口毒性試験[97]

(WIL Research Laboratories, Inc., Mayhew (1982 年)(HPVIS (2013)から要約入手))

Sprague-Dawley ラット(雌雄各 20 匹/群)を用いた DMH の 13 週間経口投与(0, 2,500, 5,000 及び 10,000mg /kg 体重/日, 胃管投与)試験が実施された.

試験期間中 10,000mg/kg 体重/日投与群雄 1 例(菌血症が素因と考えられる慢性腎盂腎炎), 5000mg/kg 体重/日投与群雌 1 例(尿路結石症)が瀕死のため安楽死させられた. また, 対照群雌 1 例及び 10,000mg/kg 体重/日投与群雌 1 例が投与時の外傷により死亡して発見された.

一般状態として, 10,000mg/kg 体重/日投与群雄で肛門生殖器周囲の白色顆粒状物及び

尿やけ、平均体重の減少(試験 7 週以後)、雌で平均摂餌量の増加(試験 5 週以後)が認められた。剖検で 5,000mg /kg 体重/日群雄の間質性腎炎の増加が認められたが、同様の所見は 2,500 及び 10,000mg /kg 体重/日群雄でも認められ、また、5,000mg /kg 体重/日群雌でも尿石症が認められた。さらに、用量相関性の腎重量の増加が雌雄の動物で認められた。

血液生化学的検査では、10,000mg /kg 体重/日群でアルカリフォスファターゼ活性及び尿素窒素濃度の上昇が認められた。5,000 及び 10,000mg/kg 体重/日投与群で尿中の蛋白及び赤血球の検出率のわずかな増加が認められ、腎臓病変と一貫した所見であった。

その他の所見として、5,000 及び 10,000mg/kg 体重/日投与群雄及び 10,000mg/kg 体重/日投与群雌で血小板数の減少が、10,000mg /kg 体重/日群雌雄でアラニンアミノトランスフェラーゼ活性の増加が、同群雄でコレステロールの増加が、同群雌でアルブミンの増加が認められた。NOEL は 2,000mg /kg 体重/日であった。(参照 97)

8) ラットを用いた 13 週間経口毒性試験[98]

(WIL Research Laboratories, Inc., Laveglia (1985 年) (HPVIS (2013)から要約入手))

COBS® CD®ラット(雌雄各 20 匹/群)を用いた DMH の 13 週間経口投与(0, 250, 500, 1,000 及び 2,000mg /kg 体重/日、胃管投与)試験が実施された。

試験期間中死亡はみられなかった。2,000kg 体重/日投与群雄で前肢の脚部～指の脱毛の頻度及び観察日数の増加が、500 及び 1,000kg 体重/日投与群雄でもわずかな増加が認められたが、雌では対照群と同様であった。体重、摂餌量、臨床病理検査、眼科的検査、剖検、臓器重量、病理組織学的検査に投与に関連した変化はみられなかった。NOEL は 2,000mg /kg 体重/日であった。(参照 98)

9) ラットを用いた 13 週間経口毒性試験[99]

(Exxon Biomedical Sciences Inc., Federici (1991 年))

Sprague-Dawley ラット(雌雄各 15 匹/群)を用いた DMH の 13 週間経口投与(0, 100, 300 及び 1,000mg /kg 体重/日、胃管投与)試験が実施された。臨床的な異常、体重、飼料摂取量、血液及び血液生化学的検査、眼科学的検査、剖検及び病理組織学的検査を行った。

2 例を除くすべての動物が試験期間中生存した。高用量群雄の平均体重及び飼料摂取量は対照群と比べ減少した。重量の差は試験 63 日では 8%に達した。本所見の投与との関係は否定できなかったが、一方で、高用量群雌では反対に対照よりも平均体重が重く、このことから高用量雄における所見と投与との関連性は明確にならなかった。高用量群雄の平均肝臓重量(絶対重量及び相対重量)についても対照と比べ低下したが、高用量雌では体重と同様、雄と反対の傾向であった。高用量群における肝臓重量の低下又は増加の傾向と投与との関係を支持する肉眼病理及び病理組織学的な変化はみられなかった。

これらの臓器重量の減少及び増加は、体重の減少（雄）及び増加（雌）がある程度影響しているものと考えられた。

臨床所見，眼科学的検査，肉眼病理及び病理組織学的所見において，投与に関連すると考えられる影響を示唆する所見はみられなかった。DMH の 13 週間強制経口投与による試験では，1,000mg/kg/日までの用量で毒性学的影響はわずか～無であると考えられた。（参照 99）

10) ビーグル犬を用いた 90 日間の経口毒性試験[100]

（WIL Research Laboratories, Inc., Naas (1992 年)(HPVIS (2013)から要約入手)）

ビーグル犬(雌雄各 6 頭/群)を用いた DMH の 13 週間経口投与(0, 250, 500 及び 1000 mg/kg 体重/日，カプセルで投与)試験が実施された。投与終了後，4 週間の回復試験が実施された。

全ての動物が試験期間中生存した。一般状態，増体重，摂餌量，血液学的検査，血液生化学的検査，尿検査，臓器重量について投与に関連した所見はみられなかった。眼科的検査，剖検及び病理組織検査において，投与に関連すると考えられる所見はみられなかった。1,000mg/kg/日までの投与では全身的な毒性学的影響のないことが示された。（参照 100）

11) イヌを用いた 12 カ月経口慢性毒性試験[101]

（International Research and Development Corporation, Goldenthal (1995 年) (未公表)）

ビーグル犬(雌雄各 4 頭/群)を用いた DMH の 1 年間混餌投与(0, 4,000, 12,000 及び 40,000 ppm，体重当たり平均摂取量は，雄で 120, 342 及び 1,506mg/kg 体重/日，雌では 121, 414 及び 1,352 mg/kg 体重/日)試験が実施された。

予備試験において 40,000ppm が十分忍容され，これは DMH として約 1g/kg 体重/日に相当することから上限量として設定された。

死亡，病的状態及びその他の毒性所見を毎日観察し，体重と飼料摂取量は毎週記録した。眼科学的検査は試験開始時及び試験終了時に行った。身体検査は，試験開始時，3, 6, 9 ヶ月及び試験終了時に行った。血液学的検査，血液生化学的検査，尿検査は，試験開始時，6 及び 12 ヶ月時に実施した。試験終了時に剖検，臓器重量及び病理組織学的検査を行った。

投与に関連した所見として，40,000mg/kg 体重/日投与群の雄における体重のわずかな低下(統計学的な有意差なし)，副腎の絶対及び相対重量の増加並びに副腎皮質肥大，40,000 mg/kg 体重/日投与群の雌における，わずかな体重減少であった。その他，摂餌量，血液学的検査，血液生化学的検査，尿検査，眼科的検査，肉眼的な病理検査に投与に関連すると考えられる影響はみられなかった。

40,000 mg/kg 体重/日投与群で認められた所見に基づき、NOEL は 12,000 ppm と判断された。(参照 101)

12) イヌを用いた 12 カ月経口慢性毒性試験[102]

(WIL Research Laboratories, Inc., Chengelis (1995)(HPVIS (2013)から要約入手))

ビーグル犬(雌雄各 4 頭/群)を用いた DMH の 1 年間経口投与(0, 250, 500 及び 1,000 mg/kg 体重/日, カプセル投与)試験が実施された。

試験期間中全ての動物は生存した。一般状態、体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、眼科的検査、肉眼的病理検査、臓器重量、病理組織検査に投与に関連すると考えられる影響はみられなかった。以上のことから、NOEL は 1000 mg/kg/日と判断された。(参照 102)

(3) 慢性毒性/発がん性併合試験

1) マウスを用いた 18 カ月経口毒性試験[103]

(Bushy Run Research Center, Hermansky&Loughran (1994 年) (未公表))

CD-1®マウス(雌雄各 60 匹/群)を用いた DMH の 18 カ月間経口投与(0, 100, 300 及び 1,000mg/kg 体重/日)試験が実施された。

高用量 (1,000mg/kg/日) は慢性発がん性試験の上限用量 (FIFRA 殺虫剤評価指針, 部分改定 F, 1984 年 11 月) として設定した。低用量及び中間用量は高用量から 1/2Log のスケールで設定した。動物は生死及び毒性徴候について毎日観察した。詳細な臨床観察は毎週実施した。体重及び飼料摂取量は最初の 14 週間は毎週、その後は各週に測定した。血液学的検査は高用量と対照は 12 及び 18 カ月時に、その他の群は 18 カ月時に実施した。剖検、臓器重量の測定、病理組織学的検査は試験終了時に実施した。

高用量 (1,000mg/kg 体重/日) 群雄で投与に関連したわずかな体重及び増体重の減少が認められた。その他に高用量群に投与に関連した影響はみられなかった。低及び中用量群では投与に関連した影響は何らみられなかった。加えて、対照群との比較検討において生存性、腫瘍発生率、腫瘍発生までの時間について投与に関連した影響はみられなかった。本試験条件下で本系統のマウスに対し DMH は腫瘍原性無しと判断された。1,000mg/kg 体重/日群雄でわずかな体重減少が認められたため、本試験の NOEL は 300mg/kg 体重/日と判断された。腫瘍原性に関する NOEL は少なくとも 1,000mg/kg 体重/日と判断された。(参照 103)

2) マウスを用いた 18 カ月経口毒性試験[104]

(WIL Research Laboratories, Inc., Naas (1996 年)(HPVIS (2013)から要約入手))

CrI:CD-1®(ICR)BR マウス(雌雄各 80 匹/群)を用いた DMH の 18 カ月間経口投与(0, 100, 320 及び 1,000mg/kg/日)試験が実施された。

生存率に試験群間で差はみられなかった。一般状態及び腫瘍の発生状況に投与に関連すると考えられる影響はみられなかった。(参照 104)

3) ラットを用いた 24 ヶ月経口毒性試験[105]

(Bushy Run Research Center, Hermansky&Benson (1994 年) (未公表))

CD®ラット(雌雄各 60 匹/群)を用いた DMH の 24 ヶ月間経口投与(0, 100, 300 及び 1,000mg/kg 体重/日)試験が実施された。

高用量 (1,000mg/kg/日) は慢性発がん性試験の上限用量 (FIFRA 殺虫剤評価指針, 部分改定 F, 1984 年 11 月) として設定した。低用量及び中間用量は高用量から 1/2Log のスケールで設定した。動物の生死及び毒性徴候について毎日観察した。詳細な臨床観察は毎週実施した。体重及び飼料摂取量は最初の 14 週間は毎週, その後は各週に測定した。眼科学的検査は試験開始時及び終了時に実施した。血液学的検査, 血液生化学的検査及び尿検査は 6, 12, 18, 24 ヶ月時に各群雌雄各 15 匹について実施した。剖検, 臓器重量の測定, 病理組織学的検査は試験終了時に実施した。

全用量群で臨床症状, 飼料摂取量, 臨床病理, 臓器重量, 肉眼病理及び病理組織学的所見に投与に関連した影響はみられなかった。わずかな体重の減少が 1,000mg/kg 体重/日群の雌雄に, 試験終了前 2~3 ヶ月に認められた。同群でわずかな生存率の減少が認められた。死亡前に体重減少を示すことは通常認められる所見であり, そのため体重減少は生存率低下に関連した二次的所見と考えられた。高用量群雄の生存率の低下は有意であったが, 高用量群の平均生存期間は雌雄とも本施設における CD ラットの過去の蓄積データの正常範囲内にあった。このことから, DMH の高用量投与による生存性及び体重に及ぼす影響は明らかではなかった。

高用量 (1,000mg/kg 体重/日) 群で体重及び生存性に及ぼす影響が不明瞭であったことから, NOEL は少なくとも 300mg/kg 体重/日と判断された。また腫瘍原性に関する NOEL は少なくとも 1,000mg/kg 体重/日と判断された。(参照 105)

4) ラットを用いた 24 ヶ月経口慢性毒性/腫瘍原性試験[106]

(WIL Research Laboratories, Inc., Naas (1996 年)(HPVIS (2013)から要約入手))

・ CrI:CD®BR ラット(雌雄各 100 匹/群)を用いた DMH の 24 ヶ月間混餌投与(0, 100, 320 及び 1,000mg/kg 体重/日)試験が実施された。

平均体重に投与に関連した所見はみられなかった。摂餌量の増加が 320 及び 1,000 mg/kg 体重/日投与群で散見された。唯一認められた変化は 320 及び 1,000mg/kg 体重/日投与群における会陰部の黄色着色で用量依存性にかつ時間経過とともに認められた。しかし, 毒性学的に意義のある所見との関連がなかったことから本所見は有害作用ではないと判断された。血液学的検査, 血液生化学的検査, 尿検査, 眼科的検査, 剖検及び病理組織検査に投与に関連した影響はみられなかった。腫瘍発生率に投与に関連した変

化はみられなかった。

会陰部の黄色着色を考慮した場合の NOEL は 100mg/kg 体重/日、これが有害作用でないと判断した場合の NOAEL は 1,000mg/kg 体重/日、腫瘍発生率に関する NOEL は 1,000mg/kg 体重/日と判断された。(参照 106)

(4) 生殖毒性試験

1) ラットを用いた 2 世代繁殖毒性試験[107]

(Bushy Run Research Center, Neeper-Bradley& Kubena. (1994 年) (未公表))

CD®ラット(F0 雌雄各 28 匹/群, F1 : 雌雄各 28 匹/群)を用いた DMH の混餌投与(0, 2,000, 6,000 又は 20,000ppm, 体重当たり平均摂取量(交配前期間)は F0 雄は 136, 408 及び 1,396 mg/kg 体重/日, F0 雌は 176, 516 及び 1,775mg/kg 体重/日, F1 雄は 127, 379 及び 1,322 mg/kg 体重/日, F1 雌は 158, 475 及び 1,602mg/kg 体重/日)による 2 世代繁殖毒性試験が実施された。F0 世代は 10 週間の繁殖前期間及び 21 日の繁殖期間中 DMH を投与し、次いで F1 子動物分娩後授乳期間も投与した。離乳後 F0 動物は剖検に供した。離乳後 F1 世代の子動物から雌雄各 28 匹/群を選抜し次世代の試験に供した。F1 世代に対しても同様の投与を行った。F1 世代の交配により生まれた F2 子動物の離乳を持って試験を終了した。子動物の病理学的検査は雌雄各 10 匹以上/群を選抜し実施した。投与用量の設定は、事前に実施されたラットの毒性試験(90 日間経口毒性試験, 14 日間嗜好性試験, 慢性混餌投与試験の中間報告)をもとに行われた。

親動物については、臨床的な毒性所見、体重及び増体重、飼料摂取量、繁殖パラメータ、剖検及び病理組織検査を、子動物については、体重、増体重、活力及び生存性、外観検査、肉眼病理検査及び病理組織学的検査を行った。

F0 動物: 10 週間の繁殖前期間では、投与に関連した死亡や毒性所見はみられなかった。20,000ppm 群雌雄において継続的な摂餌量の増加が、また、同群雄において、多くの測定時点で体重の増加も認められた。繁殖期間中は繁殖パラメータ、母動物の体重及び増体重に何らの異常もみられなかった。わずかな母動物の飼料摂取量増加が認められた。剖検及び病理組織学的検査では投与に関連した異常はみられなかった。それ以外に投与に関連すると考えられる影響はみられなかった。

F1 動物: 20,000ppm 群雄において摂餌量のわずかな増加が多くの測定時点で認められた。それ以外には、交配及び繁殖性に関する各種パラメータを含め投与に関連すると考えられる影響はみられなかった。

子動物: F1 20,000ppm 群で授乳期後半 2 週間(14~21 日齢)及び離乳後 1 週間の体重の低下、並びに生後の増体重の低下が認められた。F2 20,000ppm 群でも同様の体重の低下が認められたが、F1 動物以下であった。それ以外には、投与に関連すると考えられる影響はみられなかった。

20,000ppm までの投与では親動物毒性及び生殖組織や繁殖性に及ぼす有害作用は認め

られず繁殖性に関する NOEL は 20,000ppm と判断された。

親動物の摂餌量及び子動物の増体重に及ぼす影響が 20,000ppm で認められたため、親動物及び子動物における NOEL は 6,000ppm と判断された。(参照 107)

2) ラットを用いた 2 世代繁殖毒性試験[108]

(WIL Research Laboratories, Inc., Nemec (1992)(HPVIS (2013)から要約入手))

CD®BR ラット(F0 雌雄各 30 匹/群, F1:雌雄各 30 匹/群)を用いた DMH の経口投与(0, 250, 500 及び 1,000mg/kg 体重/日, 胃管投与)による 2 世代繁殖毒性試験が実施された。F0 世代では、交配前 10 週間及びその後剖検を行うまでの期間投薬した。F0 雌は交配、妊娠、分娩、離乳(分娩 21 日)後に剖検した。F1 世代の試験計画は F0 と同様とし、出産 22 日から初回交配までの 10 週間投薬した。F2 世代子動物が離乳した時点で試験を終了した。子動物の病理学的検査は雌雄各 5 匹/群を選択して実施した。

F0 及び F1 親動物：F0 親動物の生存性、一般状態、体重、摂餌量、繁殖性(妊娠率、妊娠期間、分娩率)に関して、投与に関連すると考えられる影響はみられなかった。

1,000mg/kg 体重/日投与群の F0 及び F1 雄において、腎臓相対重量の増加が認められたが、増体重の低下、病理組織学的病変の欠如、並びに同群雌で同様の所見のないことを考慮すると生理的変動範囲の変化と判断された。F1 親動物において、生存性、一般状態、繁殖性(妊娠率、妊娠期間、分娩率)に関して、投与に関連すると考えられる影響はみられなかった。

F1 及び F2 子動物：F1 子動物について、一腹生児数、生存率、性比、一般状態に関して、投与に関連すると考えられる影響はみられなかった。500 及び 1,000mg/kg 体重/日投与群の子動物において生後 4～28 日の体重の低下が認められ、摂餌量の低下も体重の推移とほぼ平行して認められた。F2 子動物について、一腹生児数、性比に関して、投与に関連すると考えられる影響はみられなかった。1,000mg/kg 体重/日投与群の子動物における生存性の低下、500 及び 1,000mg/kg 体重/日投与群の子動物における平均体重の低下が認められた。

親動物の NOAEL は 500mg/kg 体重/日、繁殖性に関する NOAEL は 1000 mg/kg 体重/日、子動物の NOAEL は 250 mg/kg 体重/日と判断された。(参照 108)

(5) 出生前発生毒性試験

1) ラットを用いた発生毒性/催奇形性試験[109]

(Bushy Run Research Center, Driscoll& Neeper-Bradley (1992 年) (未公表))

CD®ラット(初妊、膣栓の確認された雌 25 匹/群)に DMH を妊娠 6～15 日まで経口投与(0, 100, 300 及び 1,000 mg/kg/日)した発生毒性/催奇形性試験が実施された。高用量群は発生毒性試験の上限量を選択した。臨床症状の観察、母動物の体重及び摂餌量の測定を行った。妊娠 21 日目に母体を安楽死させ生存・死亡胎児数、吸収胎子数及び黄体数

を調べた。生存及び死亡胎子の体重測定、性別判定、外観上の奇形や異常を検査した。生存胎児の半数について、内臓及び頭蓋顔部の異常を調べた。残りの半数の生存胎児についてはアリザリンレッドで染色し骨格系の奇形と異常を調べた。

母動物：母動物の死亡はなく、妊娠率、流産、早産、試験からの脱落はみられなかった。妊娠 21 日の剖検では、各群 23～25 匹の生存胎児が得られた。一般状態、体重、増体重、摂餌量、最終体重、子宮重量、肝臓重量に投与に関連した影響はみられなかった。総胎児数、生存/死亡胎児数、性比に投与に関連した影響はみられなかった。

胎児：一腹胎児重量、外部、内臓及び骨格の奇形又は異常に、投与に関連した影響はみられなかった。

母毒性に関する NOEL は 1,000 mg/kg 体重/日、発生毒性に関する NOEL は 1,000 mg/kg 体重/日と判断された。(参照 109)

2) ラットを用いた発生毒性/催奇形性試験[110]

(WIL-12002. WIL Research Laboratories, Inc., Rodwell (1983 年)(HPVIS (2013)から要約入手))

Sprague-Dawley COBS CD ラット(初妊、約 13 週齢、膣栓の確認された雌 25 匹/群)に DMH を妊娠 6～19 日まで経口投与(0, 500, 2,000 又は 4,500 mg/kg 体重/日、胃管投与)した発生毒性/催奇形性試験が実施された。妊娠 20 日目に母体を安楽死させ生存・死亡胎児数、吸収胎子数及び黄体数を調べた。胎子の体重測定、性別判定、外観上の奇形や異常を検査した。胎児の外観、内臓及び骨格系の奇形と異常について調べた。

母動物：全ての母動物は試験期間中生存した。2,000 及び 4,500 mg/kg 体重/日投与群において母動物の増体重の減少に伴い、胎児体重の減少と各種の発生異常(主に骨格各部の骨化の減少又は未骨化骨の増加)が認められた。骨化の遅延は胎児体重減少に伴う二次的变化と判断された。同様に、4,500 mg/kg 体重/日投与群の肋骨の湾曲及び完全な第十四肋骨形成の増加は、催奇形性ではなく母毒性に起因する変化と判断された。

500 及び 2,000 mg/kg 体重/日投与群では、催奇形性によると考えられる明らかな奇形や異常の増加はみられなかった。

母動物の NOEL は 500 mg/kg 体重/日、発生毒性に関する NOAEL は、2,000mg/kg 体重/日と判断された。(参照 110)

3) ウサギを用いた発生毒性/催奇形性試験[111]

(WIL Research Laboratories, Inc., Nemec (1992 年)(HPVIS (2013)から要約入手))

New Zealand White 種ウサギ(初妊、妊娠の確認された雌 20 羽/群)に DMH を妊娠 6～18 日まで経口投与(0, 100, 500 及び 1,000 mg/kg 体重/日)した発生毒性/催奇形性試験が実施された。妊娠 29 日目に母体を安楽死させ生存・死亡胎児数、早期及び後期吸収胎子数、装着少数及び黄体数を調べた。子宮重量、胎子体重測定、性別判定、外観、内臓

及び骨格系の奇形及び異常を調べた。

母動物：投与に関連したと考えられる死亡，一般状態への影響はみられなかった。投与開始 6 日間に 1,000mg/kg 体重/日投与群において体重及び摂餌量の低下が認められ，摂餌量の低下はその後の試験期間中継続した。肉眼病理所見に投与に関連すると考えられる影響はみられなかった。

胎児：子宮内の成長や生存性に影響はみられなかった。1,000 mg/kg 体重/日投与群の 1 腹の 4 例の胎児において前肢の第 1 指の無指症及び短指症が認められ，投与に関連した異常と判断された。500 及び 1,000 mg/kg 体重/日投与群で第 27 脊椎骨異常が数値的に増加し，発生毒性によるものと判断された。

母毒性に関する NOAEL は 500 mg/kg 体重/日，発生毒性に関する NOAEL は 100 mg/kg 体重/日と判断された。（参照 111）

(6) 遺伝毒性試験

DMH の遺伝毒性試験の結果を表 III-2-1-2 及び III-2-1-3 に示した。

In vitro 試験として *Salmonella* Typhimurium 等を用いた Ames 試験，哺乳動物培養細胞を用いた染色体異常試験，マウスリンパ腫細胞を用いた前進突然変異試験，ラット初代培養幹細胞を用いた不定期 DNA 合成試験，マウス繊維芽細胞を用いた形質転換試験，*in vivo* 試験としてラット骨髓細胞を用いた染色体異常試験が行われた。この結果，代謝活性化系の存在下，非存在下ともに遺伝毒性は陰性であり，DMH は遺伝毒性が陰性であると判断された(表 III-2-1-2, III-2-1-3)。

表 III-2-1-2. *In vitro* 試験

試験	対象	用量	結果	参照
復帰突然変異試験	<i>Salmonella</i> Typhimurium TA1535, TA1537, TA1538, TA98, TA100, <i>Saccharomyces</i> D4 代謝活性化系(S-9)+/-	0.1, 1.0, 10.0, 100 及び 500 µg/プレート	陰性	112(Jagannath (1978), HPVIS (2013) から要約入手)
復帰突然変異試験	<i>Salmonella</i> Typhimurium TA98 , TA100 , TA1535 , TA1537 , TA1538	100, 500, 2,500, 5,000 及び 10,000 µg/プレート	陰性	113(Haworth(1982)(未公表))

試験	対象	用量	結果	参照
	代謝活性化系(S-9) + / ー			
染色体異常試験	チャイニーズハムスター肺細胞由来 CHL/IU 代謝活性化系(S-9) + / ー	313, 625, 1,250, 2,500 及び 5,000 ug/ml	陰性	114(Suzuki.(1995) , HPVIS (2013) から要約入手)
染色体異常試験	チャイニーズハムスター卵巣細胞(CHO) 代謝活性化系(S-9) + / ー	8,457, 11,250 及び 15,000 ug/ml(代謝活性化系+) 11,250, 15,000 及び 20,000 ug/ml (代謝活性化系ー)	陰性	115(Thilagar (1982)(未公表))
前進突然変異試験	L5178Y ヘテロ接合 TK+/-マウスリンパ腫細胞, 代謝活性化系(S-9)+/-	82, 117, 168, 240, 343, 490, 700 and 1,000 ug/ml	陰性	116(Farrow (1982) , HPVIS (2013) から要約入手)
前進突然変異試験	L5178Y TK +/-マウスリンパ腫細胞, 代謝活性化系(S-9)+/-	563~10,000 ug/プレート の 10 濃度段階	陰性	117(Kirby (1982)(未公表))
不定期 DNA 合成	ラット初代培養肝細胞 代謝活性化系ー	1.0, 10, 100, 1,000, 10,000 and 20,000 ug/ml	陰性	118(Thilagar (1982)(未公表))
形質転換試験	C3H マウス繊維芽細胞 C3H/10T ½ clone 8, 代謝活性化系(S-9)+	10, 30, 100, 300 and 1,000 ug/mL	陰性	119(Farrow (1983) , HPVIS (2013) から要約入手)
形質転換試験	C3H マウス繊維芽細胞 C3H/10T ½ clone 8, 代謝活性化系(S-9)ー	10, 30, 100, 300 and 1,000 µg/ml	陰性	120(Farrow (1983) , HPVIS (2013) から要約入手)

表 III-2-1-3. *In vivo* 試験

試験	対象	用量	結果	引用
染色体異常	ラット骨髄細胞	200 , 660 及び	陰性	121(Farrow (1982) ,

試験		2,000 mg/kg		HPVIS (2013) から要約 入手)
----	--	-------------	--	--------------------------

(7) DMH の毒性試験に関する結論

上記の毒性試験の結果からみて、最も低い NOEL は、マウスを用いた慢性毒性試験における 100 mg/kg 体重/日である。また、DMH には遺伝毒性、催腫瘍性はみられなかった。

2-2. 臭化物の毒性

臭化物の毒性は、JMPR が評価した内容に基づき記載する(参照 48)。JMPR の評価内容によると、経口投与によって臭化物は消化管から急速に吸収され、細胞外液中に分布する。塩化物との類似性から、臭化物は腎臓での再吸収において塩化物と拮抗する。ラットを用いた試験において、高用量の臭化物は中枢神経系に作用し、内分泌系器官に影響を及ぼす。臭化物は甲状腺、副腎、精巣に直接作用し、フィードバック機構によって脳下垂体にも作用すると考えられる。動物実験の結果から、甲状腺への影響が最も感受性の高い毒性学的エンドポイントである。しかし、ヒトを用いた臭化物の反復摂取では、神経生理学的及び内分泌学的な有害作用はみられなかった。JMPR での評価内容を以下のとおり示す。

(1) 急性毒性

臭化物のマウス及びラットにおける急性毒性試験の結果を表 III-2-2-1 に示した。臭化物は経口投与では低毒性であり、LD₅₀は、マウスで 5,020 mg/kg 及び 7,000 mg/kg、ラットでは 3,500 mg/kg であった。

表 III-2-2-1. 臭化物の急性毒性試験結果

動物種	投与経路	LD ₅₀ (mg/kg 体重)	参照
マウス	経口	5,020mg/kg	65(Voss ら(1961))
マウス	経口	7,000mg/kg	49(Gross ら(1955))
ラット	経口	3,500mg/kg	58(Smith ら(1925))

(2) 亜急性毒性試験及び慢性毒性試験

1) ラットを用いた 4 週間亜急性毒性試験[62]

(National Institute of Public Health, Netherland, Van Logten ら(1973))

ラット(Wistar, 雌 4 匹/群)を用いた臭化物(NaBr)の 4 週間混餌投与(0, 300, 1,200, 4,800 及び 19,200 ppm)試験が実施された。

摂餌量及び増体重において、明らかな影響はみられなかった。高用量群で、後肢の協調運動失調及びグルーミングの消失が認められた。同群において、腎臓の相対重量の増

加が認められ、血漿、脳、腎臓及び肝臓において塩化物の約半分が臭化物に置換された。投与に関連すると考えられる病理組織学的変化はみられなかった。(参照 62)

2) ラットを用いた 4 週間亜急性毒性試験[50]

(National Institute of Public Health, Netherland, Kroes ら(1974))

ラット(Wistar, 雌雄各 5 匹/群)を用いた臭化物(NaBr)の 4 週間混餌投与試験(0, 75, 300, 1,200, 4,800 及び 19,200 ppm)試験が実施された。臭化物は低塩化物飼料に添加して給与した。

19,200ppm 群の全ての動物及び 4,800 ppm 群の動物 5 例(雄 3 例, 雌 2 例)は 22 日目までに死亡した。これらの群で摂餌量及び増体重の低下が認められた。全群の雄において腎臓重量の増加が認められた。(参照 50)

3) ラットを用いた 13 週間亜急性毒性試験[63]

(National Institute of Public Health, Netherland, van Logten ら(1974))

ラット(Wistar, 雌雄各 10 匹/群)を用いた臭化物(NaBr)の 13 週間混餌投与試験(0, 75, 300, 1,200, 4,800 及び 19,200 ppm)試験が実施された。高用量群雌雄において後肢の協調運動失調, グルーミングの消失及び増体重の低下が認められた。血液学的及び血液生化学的検査では高用量群で好中球の増加が認められた以外異常はみられなかった。

19,200ppm 群の雌雄及び 1,200 及び 4,800 ppm 群の雌において、甲状腺の相対重量増加が、高用量群雄で副腎の相対重量の増加が、高用量群雌で胸腺重量低下がそれぞれ認められた。4,800 及び 19,200 ppm 群雄で精巣及び前立腺の重量低下が認められた。

19,200 及び 4,800ppm の 2 高用量群で、甲状腺の活性化, 副腎の空胞化の減少及び卵巣の黄体数の減少及び精子形成低下等の内分泌器官への影響が認められた。(参照 63)

4) ラットを用いた 13 週間亜急性毒性試験[61]

(National Institute of Public Health, Netherland, van Logten ら(1976))

ラット(Wistar, 雌雄各 10 匹/群)を用いた臭化物(NaBr)の 13 週間混餌投与試験(0, 8, 31, 125, 500 及び 2,000 ppm)試験が実施された。臭化物は低塩化物飼料に添加して給与した。

2,000ppm 群の 6 例(雌雄各 3 例)が死亡した。2,000ppm 群でグルーミングの消失, 協調性運動の低下及び増体重の低下が認められた。同群において、総白血球数及び好中球の増加が認められた。2,000ppm 群の雄では、心臓, 脳, 脾臓, 副腎, 甲状腺, 脳下垂体の相対重量の増加, 及び前立腺の重量の低下が認められた。高用量雌では、心臓及び脳の相対重量の増加及び脳下垂体及び子宮の相対重量の低下が認められた。2,000 及び 500ppm の 2 高用量群で、甲状腺の活性化, 腎石灰化の消失(雌), 副腎の空胞化の減少及び脾臓におけるチモゲン顆粒の減少等の病理組織学的変化が認められた。2,000ppm 群

では、これに加え、黄体の減少、子宮成熟の遅延、精子形成障害及び流産の減少等も認められた。

これらの結果から、臭化物(NaBr)は一般的な飼料に添加して給与するのとは比べ、低塩化物飼料に添加して給与した場合に、約 10 倍高い毒性を示すことが結論づけられた。(参照 61)

5) ラットを用いた 4 及び 12 週間亜急性毒性試験[51]

(National Institute of Public Health, Netherland, Loeber ら(1983))

ラット(Wistar, 雄 10 匹/群)を用いた臭化物(NaBr)の 4 及び 12 週間混餌投与試験(0, 20, 75, 300, 1,200 及び 19,200 ppm)試験が実施された。一般的な毒性評価とともに、特に甲状腺機能及び内分泌系パラメータへの臭化物の影響を調べた。

19,200 ppm 群において 4 及び 12 週間投与後に体重減少が認められた。19,200 ppm 群の 4 及び 12 週間後、及び 1,200 ppm 群の 4 週間後の臓器重量測定において、甲状腺の相対重量の増加が認められた。病理組織学的検査では、19,200 ppm 群において 4 及び 12 週間後の甲状腺の活性化及び精子形成低下が認められた。また、1,200 ppm 及び 19,200 ppm 群において、チロキシンの低下が認められた。19,200 ppm 群において甲状腺刺激ホルモン(TSH)及びインスリンが増加したが、同用量で成長ホルモン、テストステロン及びコルチコステロンは低下した。

これらの結果から、臭化物は甲状腺、副腎及び精巣等の特定の内分泌器官に作用し、脳下垂体のフィードバック機構による変化を誘発すると考えられた。(参照 51)

(3) 慢性毒性/発がん性併合試験

JMPR の 1988 年モノグラフには、慢性毒性試験の実施に関する記載はなかった。しかし、ラットを用い、臭化メチルで消毒した飼料を給与した慢性毒性/がん原性試験(参照 122)が報告されている(1989 年)ため当該報告を引用する。

1) ラットを用いた 2 年間慢性毒性及び発がん性試験[122]

(Institute of Environmental Toxicology, Mitsumori ら(1989))

ラット(SPF Fischer 344, 雌雄各 60 匹/群)を用いた臭化物(臭化カリウム)の 2 年間混餌投与(500 ppm)試験が実施された。臭化カリウム投与群は、臭化メチル消毒飼料を給与する試験群の結果と比較するための陽性対照群として試験されているが、ここでは臭化メチル消毒飼料給与群の結果は割愛し、臭化カリウム投与群と無投薬対照群の結果について述べる。また、臭化カリウム投与群は一用量であったため、用量反応性の評価はできなかった。

500 ppm 添加飼料を 2 年間給与した結果、行動への影響及び致死率の著しい変化はみられなかった。雌雄とも、体重及び摂餌量の増加が認められたが、一貫した規則性はみられなかった。試験期間全体を通じた臭化カリウム摂取量は、雄で 16.5 mg/kg/日、雌で 20.0

mg/kg/日であった。尿検査、血液学的検査及び血液生化学的検査において、毒性学的に有意な変化はみられなかった。臓器の絶対重量及び相対重量に有意な変化はみられなかった。雄で前立腺炎の発生率増加が認められたが、F344 雄ラットの偶発的な病変と形態学的に類似しており、無投薬対照群と比較した場合に、より重度な病変はみられなかった。

腫瘍発生率については、臭化カリウム群で単核細胞白血病が増加したことを除き、いかなる種類の腫瘍についても発生率に明らかな差はみられなかった。

単核細胞白血病は無投薬対照群 (4/60, 6.7%) と比べて、臭化カリウム群雌(11/60, 18.3%) で増加したが、本腫瘍は F344 ラットにおいて、よく認められる偶発的所見であり、認められた腫瘍は偶発的に生じたものと病理組織学的にほぼ一致していること、他の試験群において本病変の認められた動物数は 60 例中 4~8 例であり、用量相関性及び統計学的有意差のみられないことから、臭化カリウム群の白血病発生率の増加は、偶発的な発生率のばらつきと一致しており、対照群の低い発生率との比較により有意差が認められたものと考えられた。(参照 122)

(4) 生殖毒性試験

1) ラットを用いた 3 世代生殖毒性試験[60]

(National Institute of Public Health, Netherland, van Leeuwen ら(1983))

ラット(Wistar, 雄 10 匹, 雌 20 匹/群)を用いた臭化物(NaBr)の混餌投与(0, 75, 300, 1,200, 4,800 及び 19,200 ppm)による 3 世代繁殖毒性試験が実施された。

F0 世代において 19,200ppm 群で完全な不妊が、4,800ppm 群で著しい繁殖力の低下及び胎子生存率の低下がそれぞれ認められた。そのため、F1 及び F2 世代では最高用量群の用量を 1,200 ppm まで下げた。その結果、1,200 ppm 群及びそれ以下の投与群の動物において、繁殖成績、胎子の生存率及び体重に関して投与の影響はみられなかった。

血液学的検査及び血液生化学的検査の結果、4,800 及び 19,200 ppm の雌において好中球数の増加及びリンパ球数の減少が認められ、すべての用量の雄及び高用量の 2 群 (19,200 及び 4,800ppm)の雌で血清チロキシン濃度の低下が認められた。体重及び臓器重量において、用量相関性の明らかな影響はみられなかった。4,800 及び 1,200 ppm F₀ 雌において、副腎の相対重量の低下が認められた。

さらに、認められた変化の可逆性を確認する目的で、臭化物の 19,200ppm 7 ヶ月間混餌投与した親動物に、その後対照飼料を 3 ヶ月間給与し、追加の同腹子を出産させることにより回復試験を行った。その結果、臭化物の投与動物及び対照動物において繁殖成績に差はみられず、副腎の影響は可逆的であることが示された。(参照 60)

(5) 遺伝毒性試験

1) In vitro における Ames 試験[48]

(Vooge C.E. (1988))(JMPR (1988)で引用)

Salmonella typhimurium の TA98 及び TA100 株を用いて臭化物の復帰突然変異試験 (Ames 試験) が実施された。その結果、代謝活性化系の有無に関わらず、0.001~10 mg/プレート の用量範囲において変異原性はみられなかった。(参照 48)

2) In vitro における Ames 試験[64]

(Harlan Laboratories Ltd, Bowles(2009))

Salmonella typhimurium の TA1535, TA1537, TA98, TA100 及び *Escherichia coli* WP2uvrA 株を用いて、臭化ナトリウムの復帰突然変異試験 (Ames 試験) が実施された。ラット肝細胞ホモゲネート代謝活性化系 (S9-mix) の存在下及び非存在下にて 3 反復で試験した。試験用量範囲は 50~5,000µg/プレートとした。その結果、対照 (蒸留水) では正常範囲の復帰コロニーが認められ、陽性対照では S9-mix の有無にかかわらず復帰コロニー数の顕著な増加が認められた。臭化ナトリウムでは 5,000µg/プレートまで菌増殖の抑制はみられず、被験物質の沈殿もなかった。試験したすべての菌で、試験用量範囲において、S9-mix の有無にかかわらず、復帰コロニー数の有意な増加はみられなかった。以上の結果から、臭化ナトリウムは本試験条件下では変異原性なしと判断された。(参照 64)

(6) ヒトにおける安全性試験

臭化物摂取の影響を調べるため、複数の試験がヒトのボランティアにおいて実施された。

1) ヒトボランティアにおける安全性試験[54]

(National Institute of Public Health, Netherland, Sangster ら(1982))

被験者 20 名(男女各 10 名[注5])に対し、臭化物(NaBr)を 1 mg/kg/日の用量で 8 週間(女性の 2 回の月経周期)経口投与して安全性試験が実施された。特に内分泌機能に対する影響を調べた。

身体検査、血液学的検査、血液生化学的検査及び尿検査において影響はみられなかった。血清チロキシン、遊離チロキシン、チロキシン結合グロブリン、トリヨードチロニン、コルチゾール、テストステロン、エストラジオール、プロゲステロン、甲状腺刺激ホルモン(TSH)、プロラクチン、黄体形成ホルモン(LH)及び卵胞刺激ホルモン(FSH)において変化はみられなかった。(参照 54)

注5 女性1名が試験開始時に脱落し、別の女性と入れ替わったため、原文では21名と記載。しかし、実際の試験は20名。

2) ヒトボランティアにおける安全性試験[56, 57]

(National Institute of Public Health, Netherland, Sangster ら(1982(オランダ語), 1983(英文)))

被験者 14 名(男女各 7 名)に対し, 臭化物(NaBr)を 0, 4 又は 9 mg/kg/日の用量で, 12 週間(女性の 3 回の月経周期)経口投与して安全性試験が実施された. 特に内分泌系及び神経系に対する影響を調べた.

臨床症状は散発性の悪心のみであった. 高用量群女性で例外的に血清チロキシンのトリヨードチロニンの高値が認められたが, これらは正常値の範囲内であり, すべてのホルモン濃度に明らかな変化はなかった. 脳波(EEG)及び視覚誘発反応を含む神経生理学的パラメータの解析から, 高用量群において様々なスペクトルバンドのパワー及び平均周波数のシフトが示されたが, 正常範囲内の変動であった. (参照 56, 57)

3) ヒトボランティアにおける安全性試験[55]

(National Institute of Public Health, Netherland, Sangster ら(1986))

1 群 15 名の女性ボランティアに対し, 臭化物(NaBr)を 0, 4 又は 9 mg/kg/日の用量で, 3 回の月経周期の間経口投与し, その後 3 回の月経周期にわたって観察を行う安全性試験が実施された.

血清チロキシン, トリヨードチロニン, チロトロピン及びチロキシン結合グロブリンの明らかな変化はみられなかった. 臨床観察からは甲状腺及び中枢神経系への影響はみられなかった. EEG の定量分析では, 最高用量群の女性でごくわずかな影響が認められた. (参照 55)

(7) 臭化物に関する結論

上記の臭化物に関する動物及びヒトの試験結果から無毒性量(NOEL)の特定を試みる.

通常塩分濃度飼料でのラットの短期反復投与毒性試験の結果, 投与の影響はほとんどの場合内分泌組織に認められ, また, ホルモン濃度を測定した特殊試験ではチロキシン, 成長ホルモン, テストステロン, コルチコステロン濃度の低下が認められた. 一方, TSH 及びインスリン濃度は上昇した. 生殖試験では, 最高用量 19,200ppm で完全な不妊が, 4,800ppm では妊娠及び児動物の活力の低下が認められたが, 1,200ppm では生殖性に関する何らの作用もみられなかった. また, この妊娠への影響は可逆的な変化であった. さらに, 臭化物は Ames 試験において変異原性陰性であった.

これら各種試験における NOEL は, 臭化ナトリウムとして 300ppm, 臭化物として

240ppm が確立されたが、この濃度は臭化物として 12 mg/kg 体重/日に相当する[注6]。

一方、ヒトで実施した 3 試験における NOAEL は、最高投与群の臭化物 9 mg/kg/日と判断されている。

JMPR では同一種内における変動を考慮した安全係数 10 を用い、ヒトにおける NOAEL から臭化物の一日許容摂取量(ADI)を 0~1.0 mg/kg 体重/日と算出している。この値は、体重 60 kg のヒトでは 60 mg/人/日となる(参照 48)。

2-3. その他食肉中に存在する可能性のある代謝物の毒性学的検討

(1) トリハロメタン[1, FAO/WHO 報告(2008 年), p.70, 2.8.2.3 Trihalomethanes]

次亜臭素酸水使用により食肉中に存在する可能性のある代謝物の毒性学的検討は、BDCM, DBCM 及びブロモホルムについて行われている。

BDCM

臭化トリハロメタンである BDCM はラット及びマウスにおいて、肝臓、腎臓、大腸など、いくつかの腫瘍原性が知られている(参照 19, NTP(1987))。BDCM 及び他の臭化トリハロメタンは変異原性弱陽性である(参照 22, Pegram ら(1997), 10 IARC(1999a), p.1295)。BDCM は他のトリハロメタンと比べ、低用量で、またより多くの標的組織で腫瘍原性を示すことが報告されている(参照 19, NTP(1987), 12, IPCS(2000), p.119, 4.1.2 Bromodichloromethane)。

F344 ラット及び B6C3F1 マウスを用いた 2 年間投与発がん性試験ではラットに対し 0, 50 及び 100mg/kg 体重を週 5 日強制投与、マウスに対し雄は 0, 25, 50mg/kg 体重、雌は 0, 75, 150mg/kg 体重を週 5 日強制投与した。その結果、腎臓の腫瘍発生、細胞毒性及び増殖性病変が、ラット及びマウスで認められた(参照 19)。近年行われた別の試験では、F344 雄ラット(0, 175, 350, 700mg/L, 体重当り摂取量は 0, 6, 12, 25mg/kg 体重)及び B6C3F1 雌マウス(0, 175, 350, 700mg/L, 体重当り摂取量は 0, 9, 18, 36mg/kg 体重)への飲水投与では発がん性の所見は得られなかった(参照 20, NTP(2006))。これらの試験では生存率や非腫瘍性病変に対する影響もみられていない。体重についてはラットでは影響がみられなかったが、マウスでは嗜好性の問題に起因すると考えられる飲水量添加とそれに起因すると考えられる体重低下が認められた(参照 20)。これらの結果の違いについて、投与溶媒の違い、飲水中での BDCM の安定性等が吸収性と組織中濃度、代謝等に影響した可能性がある(参照 20)。変異原性試験では、Salmonella を用いた試験、CHO 細胞を用いた染色体異常試験では陰性、マウスリンパ腫細胞での変異原性及び CHO 細胞の姉妹染色体交換試験では代謝活性化系存

注6 資料中にはこれ以上の記載がなかったため、試験中の飼料消費量と平均体重から求めたものか、試験施設等における平均的飼料消費量等から求めたものかは不明である。

在下では陽性、*In vivo* 染色体損傷性試験では陰性等、陽性と陰性が混在する結果となっている(参照 20).

DBCM

臭化トリハロメタンである DBCM について、F344 ラット及び B6C3F1 マウスを用いた 2 年間投与発がん性試験ではラットに対し 0, 40 及び 80mg/kg 体重を週 5 日強制投与、マウスに対し 0, 50, 100mg/kg 体重を週 5 日強制投与した。その結果、雌マウスでは 100mg/kg 体重で肝臓腫瘍が誘発されたが、ラットでは肝腫瘍誘発性はみられなかった(参照 18, NTP(1985))。変異原性は弱陽性で、また、グルタチオン抱合活性化作用を有すると判断されている(参照 8, DeMarini ら.(1997), 22, Pegram ら.(1997))。

ブロモホルム

長期毒性については F344 ラット(0, 100, 200mg/kg 体重)及び B6C3F1 マウス(雄(0, 50, 100mg/kg 体重, 雌 0, 100, 200mg/kg 体重)を用い、週 5 日、強制経口投与による 2 年間の慢性毒性試験が行われた。ブロモホルムはラットの 200mg/kg 体重/日投与で、大腸の腫瘍発生率をわずかに増加させた(参照 21, NTP (1989))。

変異原性については多くの試験が行われた結果から、わずかに変異原性があり、グルタチオン抱合活性化作用を有するとされたが(参照 8, DeMarini ら. (1997), 22, Pegram ら(1999b)), WHO(2005)では、遺伝毒性については明らかでない旨の判断をしている(参照 25, WHO (2005b), p.46, 7.4 Bromoform)。

(2) 臭素酸塩

[1, FAO/WHO (2008) p.70, 2.8.2.4. Bromate, p.113, 3.1.4.1. Bromate]

長期毒性については F344 ラット及び B6C3F1 マウスを用いた評価が行われ腎臓が主要な標的臓器でラットの方が感受性の高いことが示されている(参照 7, DeAngelo ら.(1998), 14, Kurokawa ら(1983), 15, Kurokawa ら(1986a), 16, Kurokawa ら(1986b))。

F344 ラットを用いた別の試験において腎臓に対する作用から雄ラットで NOAEL1.1mg/kg/日が特定されている。B6C3F1 マウス雄では 59.6mg/kg/日が特定され、この用量で、生存性、体重、臓器重量、血液生化学検査、非腫瘍性病変に対し何らの影響のないことが確認されている(参照 7, DeAngelo ら(1998))。肝臓は臭素酸の標的臓器でなく、腎臓に比べ DNA 損傷性又は細胞毒性に関する感受性は低い。臭素酸のラットにおける半減期は高用量であっても迅速であり、以上のことから環境中に存在するレベルの臭素酸量については、迅速に代謝され、標的臓器に対する暴露は極めて低い(参照 13, Cotruvo ら(2013))。臭素酸は *in vitro* 及び *in vivo* 試験において明らかに変異原性陽性であり、F344 ラットにおける試験でがん誘発性が明確に示されている(参照 12, IPCS

(2000), p.266, 4.8. Bromate, 24, WHO (2005a)). 雄ラットの各種組織にがんを形成し、腎臓では腺癌及び癌腫、甲状腺では濾胞細胞腺癌及び癌腫、腹膜では中皮腫が報告されている。一方、雌ラットでは腎臓腫瘍のみ報告されている(参照 7, DeAngelo ら(1998), 14, Kurokawa ら(1983), 15, Kurokawa ら(1986a), 16, Kurokawa ら(1986b))

．さらに、腫瘍発現率、重篤度/進行度には明確な用量反応性がある。以上のラットにおける所見から、臭素酸は高用量においてヒトの発がん性を起こす可能性があるが、現状ではその作用機序に関する情報は不十分である。

(3) その他の試験

DBDMH を用いウサギの皮膚刺激性、モルモットの皮膚感作性試験が行われているが、その結果、重度の皮膚刺激性のあること、皮膚感作性のないことが示されている。

1) ウサギを用いた皮膚一次刺激性試験[123]

(Product Safety Labs, Moore (1999 年) (未公表))

ウサギ(New Zealand White, 3 匹)を用いた DBDMH の 4 時間暴露試験が実施された。Draize らの方法に基づき、DBDMH の加湿粉末を 4 時間暴露後の皮膚の反応性を観察した。当該物質の皮膚腐食性が想定されたため、最初の一例をまず試験後、残りの 2 例の試験が行われた。その結果、最初の 1 例では明確な紅斑と浮腫が認められたが、投与後 48 時間～10 日後にかけて反応が減少した。もう一例では、重度の紅斑、紅斑性痂皮、腐蝕性が、もう一例では暴露後 24 時間後まで何らの所見もみられなかった。皮膚一次刺激性指数は 4.3 と算定された。(参照 123)

2) モルモットを用いた皮膚感作性試験[124]

(Product Safety Labs, Moore (1999 年) (未公表))

モルモット(Hartley アルビノ、若成動物、雌雄各 30 匹)を用いた皮膚感作性試験が Buehler 法により実施された。雌雄計 20 例に対し DBDMH の 0.75%蒸留水懸濁液を毎週 1 回 3 回誘導暴露した。その後、DBDMH の 0.5%(w/w)蒸留水溶液を単回誘発暴露し、暴露 24～48 時間後に紅斑を評価した。対照動物(雌雄計 10 例)には誘発暴露のみ行った。試験群及び対照群とも暴露 24～48 時間の紅斑スコアが 0.5 以上を示す個体はみられず、皮膚感作性は陰性と判断された。(参照 124)

3. 一日摂取量の推計等

(1) 食品中の残留濃度

1) 次亜臭素酸水の食肉中残留[85]

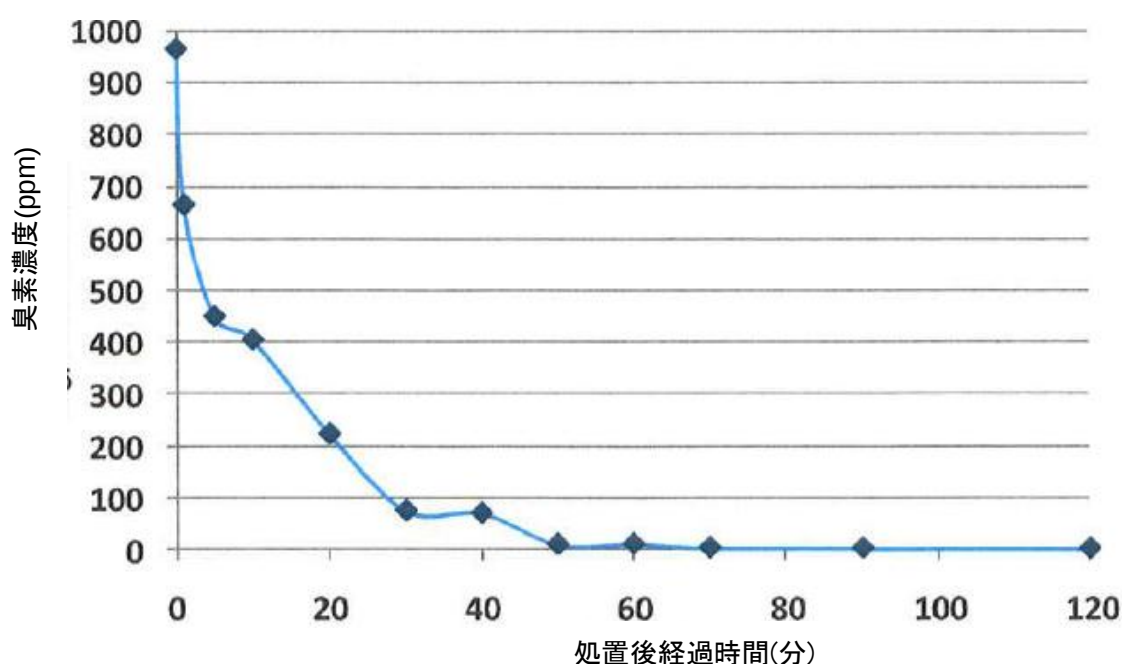
(Enviro Tech Chemical Services, Inc., Mesrobian& Howarth (2010) (未公表))

牛と体の背割り後の枝肉は殺菌剤を含む水又は温湯等で除菌を行うが、この工程で次

亜臭素酸水を用いた場合に、次亜臭素酸がどの程度食肉中に残存するかを検討を行った。

最大の暴露が想定される次亜臭素酸水として有効臭素(Br_2)900ppmの溶液を調整し、 $13 \times 3.5 \times 1.5 \text{ cm}$ の赤身肉片(表面積 140.5 cm^2)を用意し、これを次亜臭素酸水の入った容器に浸漬した。この場合の肉片単位面積当たりの溶液量は 1.07 mL/cm^2 であった。次に脂肪組織についても $9.5 \times 4.5 \times 0.6 \text{ cm}$ の脂肪片を用意(表面積 102.3 cm^2)し、次亜臭素酸水の入った容器に浸漬した。この場合の脂肪片単位面積当たりの溶液量は 0.98 mL/cm^2 であった。浸漬液を経時的に採取して、有効臭素濃度を測定した。

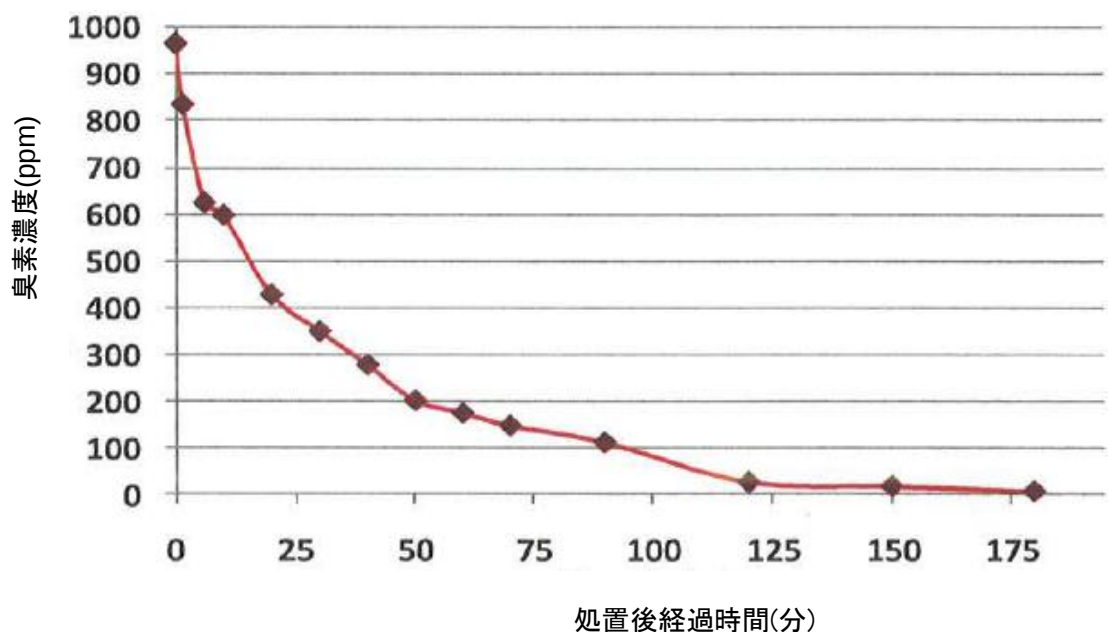
その結果、赤身肉片については、次亜臭素酸の初期濃度(有効臭素濃度)が967.5ppmであったものが1分後には666ppm、120分後には1.13ppmと急速に減衰した(図III-3-1)。



図III-3-1 牛赤身肉に次亜臭素酸水処理を行った場合の浸漬液の有効臭素濃度の推移

減衰動態について初期濃度/各時点の濃度の自然対数を縦軸、時点を横軸にプロットして確認したところ、減衰は直線的でありスロープの傾きは0.068、すなわち減衰は0.068/分として計算され、この場合の半減期は11.34分であった。相関係数 R^2 は0.9355であった。

脂肪片については、次亜臭素酸水の初期濃度が967.5ppmであったものが1分後には837ppm、50分後に200ppm、180分後には5.63ppmと急速に減衰した(図III-3-2)。減衰動態について初期濃度/各時点の濃度の自然対数を縦軸、時点を横軸にプロットして確認したところ、減衰は直線的でありスロープの傾きは0.0283、すなわち減衰は0.023/分として計算され、この場合の半減期は25.62分であった。相関係数 R^2 は0.9882であった。



図III-3-2. 牛脂肪に次亜臭素酸水処理を行った場合の有効臭素濃度の推移

以上のとおり、次亜臭素酸は、赤身肉、すなわち蛋白性の有機窒素物の存在下で急速に減衰し、これは脂肪組織よりも急速であった。初期濃度が900ppmであったものの、筋肉組織及び脂肪組織とも、その濃度は急速に減衰することから、消費者が摂取するまでの間に問題となる残留レベルで残ることはないと判断された。また、今回の試験では最悪の暴露状況を想定した試験であるため、通常のと体散布と比べ約30倍の暴露となった。そのため、実際の使用状況での次亜臭素酸の消費者への影響は相当に低レベルになると考えられた。(参照85)

2) 食肉中の DMH 及び臭化物の残留量[125]

(Albemarle 社, Gutierrez (2013 年) (未公表))

本試験では、DBDMHから発生させた次亜臭素酸水を牛食肉処理施設において、と体散布した場合の食肉カット肉への残留量を、抽出液中濃度から特定した。食肉処理施設において、DBDMHから発生させた次亜臭素酸水は枝肉、すなわち食肉の表面にのみ散布されるため、次亜臭素酸水で洗浄したと体から得たカット肉を異なる3箇所からそれぞれ330g程度採取し、これを併せて約1kgの混合試料を5検体用意した。それぞれの混合試料の各カット肉からそれぞれ150g程度を切りだし3箇所のカット肉を合わせて約450gを分析試料とした。この分析試料の表面積は概ね200cm²であった。

これをビニール製(約4L容)の袋に入れ、脱イオン水200mLを加え、袋を60秒間、前後に揺らしながら、表面に付着した残留物を十分抽出した。この抽出液を採取後、脱イオン水200mLをさらに加え60秒間同様の操作で再抽出した。DMH及び臭化物ともに高い水

溶性を示すため、抽出には水を用いた。抽出液についてDMH及び臭化物の濃度を測定した。DMHはHPLC法により、また、臭化物はイオンクロマトグラフ法により測定した。定量限界は概ね1ppmであった。

試料及び抽出液の詳細並びにDMHと臭化物の抽出液中濃度を表III-3-1に示す。

表III-3-1. カット肉試料及び抽出液の重量とDMH及び臭化物の抽出液中濃度

試料	カット肉No.	カット肉重量(g)	試料重量(g)	使用抽出液(g)	回収抽出液(g)	DMH (PPM)	臭化物 (PPM)
A	1	396.01	159.62	400.76	385.06	<1	6
	2	352.4	128.49				
	3	389.1	142.88				
B	4	362.87	181.68	402.59	366.8	<1	6
	5	373.82	179.67				
	6	292.85	174.59				
C	7	322.59	163.52	404.03	383.48	<1	5
	8	397.52	198.59				
	9	318.63	144.88				
D	10	415.21	215.99	401.86	373.53	<1	8
	1	340.14	198.85				
	4	361.71	169.95				
E	2	344.13	167.43	401.29	380.91	<1	5
	5	342	182.71				
	8	358.7	201.34				

さらに、抽出液中のDMHと臭化物濃度と試料重量及び抽出液重量から試料中のDMH及び臭化物濃度を計算した(表III-3-2)。その結果、いずれの試料についてもDMH濃度は検出限界以下であった。また、臭化物は平均4.4ppm、最高値で5.4ppmであった。DMHについてはその由来はDBDMHであるのに対し、臭化物は他の由来によるものもあるため、測定された臭化物の多くは他の由来によるものと想定された。牛肉中の臭化物濃度については4ppmとの報告もあり(参照153, Greve,1983)、このことから臭化物の由来のほとんどがDBDMH以外によるものと想定された。DBDMHはその分子量から計算するとDMH45%、臭化物55%[注7]であることから、この点を考慮し、DMHの残留量から臭化物量を算定した結果を以下に示す(表III-3-3)。

注7 DBDMHの分子量286と純度99.4%、有効臭素分子量(2Br_2) 319.6から、DBDMHに対する有効臭素量の割合111%(1.11)を求め、有効臭素量÷1.11でDBDMH量を求めた。次いで、DBDMHの分子量と臭素の分子量159.8、DMHの分子量128.1から、DBDMHに対する臭化物の割合($159.8 \div 286 = 55\%$)、及びDMHの割合($128.1 \div 286 = 45\%$)を求めた。最終的に有効臭素濃度÷1.11×55%又は45%により、以下にでてくるDMH及び臭化物の理論値を求めた(参照138)。

結論

DBDMHから発生させた次亜臭素酸水を牛枝肉に散布した場合、肉中に残留することの想定される分解物DMHは検出限界以下(1ppm)であり、臭化物濃度もDMH量から算出した場合には1ppm以下であった。(参照125)

表III-3-2. 試料中のDMH及び臭化物濃度

試料	DMH (mg/kg肉)	臭化物(mg/kg肉)
A	<0.9	5.4
B	<0.7	4.1
C	<0.8	3.8
D	<0.6	5.1
E	<0.7	3.5
平均	<0.7	4.4

表III-3-3. DMH残留量から計算した臭化物残留量

試料	DMH (mg/kg肉)	臭化物(mg/kg 肉)
A	<0.9	<1.1
B	<0.7	<0.9
C	<0.8	<1.0
D	<0.6	<0.7
E	<0.7	<0.9
平均	<0.7	<0.9

3) DBDMH から発生させた次亜臭素酸水の商用使用における食肉中の DMH 及び臭化物の残留水準の特定[126]

(Albemarle 社, Gutierrez (2012 年) (未公表))

牛食肉処理施設においてDBDMHから発生させた次亜臭素酸水を用いた枝肉洗浄を行った牛肉中のDMH及び臭化物の濃度を、次亜臭素酸水未使用処理施設の牛肉のDMH及び臭化物の濃度と比較した。次亜臭素酸水使用食肉処理施設及び未使用食肉処理施設、各1施設から、それぞれ5検体の牛肉カット肉を入手し、表面積約200cm²、重量約450g以上の肉を切りだし、ビニール袋に入れ、脱イオン水200gを加えて60秒間袋を揺らしながら抽出を行い、その抽出液中のDMH及び臭化物濃度を測定した。DMHの測定にはHPLC法、臭化物の測定にはイオンクロマトグラフ法を用いた。

その結果、次亜臭素酸水散布カット肉からのDMH残留量は検出限界(1ppm)以下であり、臭化物については未使用カット肉の水準と変わらなかった(表III-3-4)。このことから、DBDMHから発生させた次亜臭素酸水の枝肉洗浄時の使用により枝肉表面に残留する

DMH及び臭化物は、たとえわずかに残存していたとしても、通常の食肉処理施設のその後の取り扱い過程において除かれ、食肉中に残存する量はごくわずかであると考えられた。(参照126)

表III-3-4. DBDMHから発生させた次亜臭素酸水使用食肉処理施設及び未使用食肉処理施設から得たカット肉のDMH及び臭化物濃度の比較

検体 No.	次亜臭素酸水使用カット肉		次亜臭素酸水未使用カット肉	
	DMH (mg/kg牛肉)	臭化物 (mg/kg牛肉)	DMH (mg/kg牛肉)	臭化物 (mg/kg牛肉)
1	<0.26	0.07	<0.33	0.04
2	<0.25	0.06	<0.33	0.09
3	<0.24	0.05	<0.39	0.07
4	<0.22	0.07	<0.30	0.06
5	<0.24	0.08	<0.24	0.06

4) DBDMH から発生させた次亜臭素酸水を用いてと体洗浄した場合の臭素酸塩の残留性
[127] (Albemarle 社, Kimatta (2011 年) (未公表))

最小で表面積100cm²の牛肉を用い、約450g当たりDBDMHから発生させた次亜臭素酸水200mLを噴霧した。過量の次亜臭素酸水のドリップが肉表面から落ちるまで45秒～2分程度放置後、水道水約400mLで肉表面を水洗し、または水洗せずに、200mLの脱イオン水の入った袋に入れ、内容をよく降り混ぜて、表面に付着した溶液を抽出し、これ进行分析した。

その結果、有効臭素濃度1,000ppmでの牛肉洗浄において、臭素酸塩の残留量は、次亜臭素酸水噴霧後の水洗の有無にかかわらず<10ppbとなり、問題となる残留はみられなかった(表III-3-5)。(参照127)

表III-3-5. DBDMH(1,000ppm)溶液噴霧後の牛肉片における臭素酸塩の残留性

試験群	試料重量	臭素酸塩濃度
対照	405g	< 10ppb
1,000ppm適用後水洗なし	474g	< 10ppb
1,000ppm適用後水洗あり	578g	< 10ppb

5) DBDMH から発生させた次亜臭素酸を 300ppm で噴霧した牛肉からのドリップ液中の分解物の分析[128] (Albemarle 社, Liimatta (2008 年) (未公表))

牛肉処理施設での処理法を模倣し、有効臭素濃度300ppmで次亜臭素酸水を散布した牛

肉からの抽出液中のDMH、臭化物、臭素酸及びトリハロメタンの濃度を測定した。肉片にはDBDMHから発生させた次亜臭素酸水を30秒間まんべんなく噴霧した。噴霧後のドリップ液を収集し、分析に供した。トリハロメタン分析用の試料は、最初に安定化处理を行った。これらの試料に加え、水道水及び臭化物300ppm添加溶液を分析した。

臭化物の分析はイオンクロマトグラフ法、DMHと臭素酸はHPLC法、トリハロメタンはEPAの示すGC-MS法にて実施した。

その結果、DMH濃度は理論値120ppmに近似し、一方、臭化物は理論値150ppmよりもやや低い値であった。認められたトリハロメタンはブロモホルムのみであり、DBDMHから発生させた次亜臭素酸水で27.3ppm、牛肉への噴霧液からのドリップ液中濃度はこれよりも若干低い値であった。臭素酸は検出限界以下であった。ブロモホルムは噴霧前の次亜臭素酸水及び牛肉への噴霧後のドリップ液の両者から検出されたが、牛肉との接触後にもその増加はみられなかった(表III-3-6, III-3-7)。(参照128)

表III-3-6. 次亜臭素酸水(有効臭素として300ppm)を噴霧した牛肉片の噴霧ドリップ液中のDMH及び臭化物の濃度

検体	DMH (ppm)	臭化物 (ppm)	臭素酸 (ppb)
水道水	0.6	5.5	<10
次亜臭素酸水	112	148	<10
抽出液 1	92	103	<10
抽出液 2	111	125	<10
抽出液 3	111	124	<10
抽出液 4 (水道水も噴霧)	1.4	8	

<10 : 検出限界10ppb以下

表III-3-7. 次亜臭素酸水(有効臭素として300ppm)を噴霧した牛肉片の噴霧ドリップ液中の臭素酸及びトリハロメタンの濃度

検体	BDCM (ppb)	ブロモホルム (ppb)	クロロホルム (ppb)	DBCM (ppb)
水道水	<5.0	<5.0	<5.0	<5.0
次亜臭素酸水	<5.0	27.3	<5.0	<5.0
抽出液 1	<5.0	17.5	<5.0	<5.0
抽出液 2	<5.0	36.6	<5.0	<5.0
抽出液 3	<5.0	21.7	<5.0	<5.0
抽出液 4 (水道水も噴霧)	<5.0	<5.0	<5.0	<5.0

<5.0：検出限界5.0ppb以下

6) DBDMH から発生させた次亜臭素酸を 300ppm で噴霧した牛肉からのドリップ液中の分解物の分析[129] (Albemarle 社, Liimatta (2007 年) (未公表))

牛肉処理施設での処理法を模倣し、有効臭素濃度300ppmで次亜臭素酸水を散布した牛肉からのドリップ液中のDMH，臭化物，臭素酸及びトリハロメタンの濃度を測定した。

DBDMHから発生させた次亜臭素酸水を肉片に30秒間まんべんなく噴霧した。噴霧後のドリップ液を収集し、分析に供した。トリハロメタン分析用の試料は、最初に安定化処理を行った。これらの試料に加え、水道水及び臭化物300ppm添加液を分析した。臭化物の分析はイオンクロマトグラフィ法，DMHと臭素酸はHPLC法，トリハロメタンはEPAの示すGC-MS法にて実施した。

その結果，DMH濃度は理論値120ppmよりやや高く，一方，臭化物は理論値150ppmよりもやや低い値であった。認められたトリハロメタンはブロモホルムのみであり，2検体のみから検出限界(5ppb)付近の濃度(DBDMHから発生させた次亜臭素酸水1検体，16.1ppb及びドリップ液1検体，6.4ppb)で認められた。臭素酸は検出限界以下であった。本試験では水道水で臭素酸の保持時間に近似の部位にピークが認められた。この所見から供試した水道水中の化合物が分析を妨害した可能性がある。しかし，添加回収試験では臭素酸の回収は良好であったため，試料中に臭素酸があった場合には検出されるものと判断される(表III-3-8，III-3-9)。(参照129)

表III-3-8. 次亜臭素酸水(有効臭素として300ppm)を噴霧した牛肉片の噴霧ドリップ液中のDMH，臭化物及び臭素酸濃度

検体	DMH (ppm)	臭化物 (ppm)	臭素酸 (ppb)
水道水	ND	ND	<25
次亜臭素酸水	125	103	<25
抽出液 1	98	101	<10
抽出液 2	132	136	<10
抽出液 3	134	138	<10

ND：検出限界以下

<25：定量限界25ppb以下(ピークは認められたものの定量限界以下であった)

<10：検出限界10ppb以下

表III-3-9. 次亜臭素酸水(有効臭素として300ppm)を噴霧した牛肉片の噴霧ドリップ液中のトリハロメタンの濃度

検体	BDCM (ppb)	ブロモホルム (ppb)	クロロホルム (ppb)	DBCM (ppb)
----	---------------	-----------------	-----------------	---------------

水道水	<5.0	<5.0	<5.0	<5.0
次亜臭素酸水	<5.0	16.1	<5.0	<5.0
抽出液 1	<5.0	<5.0	<5.0	<5.0
抽出液 2	<5.0	6.4	<5.0	<5.0
抽出液 3	<5.0	<5.0	<5.0	<5.0

<5.0 : 検出限界5.0ppb以下

7) DBDMH から発生させた次亜臭素酸を 600 及び 1000ppm で噴霧した牛肉からのリンス水中の分解物の分析[130] (Albemarle 社, Liimatta (2010 年) (未公表))

牛肉処理施設での処理法を模倣し、有効臭素濃度600及び1,000ppmで次亜臭素酸水を散布した牛肉中のDMH、臭化物及びトリハロメタン濃度を測定した。次亜臭素酸水散布後、処理場により水洗する場合、しない場合があるため、次亜臭素酸水を肉片450g、100cm²以上あたり200mL以上で噴霧後、短時間の水洗(約600mL、15秒程度)を実施、又は未実施の肉片を用い、これを200mLの脱イオン水を用いて60秒間抽出し、この抽出液を用いてDMH、臭化物及びトリハロメタンの濃度を測定した。臭化物の分析はイオンクロマトグラフ法、DMHはHPLC法、トリハロメタンはEPAの示すGC-MS法にて実施した。

その結果、抽出液中の濃度は600ppmの噴霧、非水洗で、DMHは9.7ppm、臭化物は11.1ppm、600ppmの噴霧、水洗で、DMHは3.3ppm、臭化物は7.0ppm、1,000ppmの噴霧、水洗で、DMHは6.3ppm、臭化物は14.3ppm、1,000ppmの噴霧、非水洗で、DMHは4.3ppm、臭化物は7.7ppmであった。認められたトリハロメタンはブロモホルムのみで、1,000ppm噴霧、水洗の1検体で定量限界付近(5ppb)の濃度で認められたがそれ以外の検体では定量限界(5ppb)以下であった(表III-3-10)。

一方、この測定値を食肉中の濃度として計算するとDMHの濃度は1.4～4.0ppm、臭化物の濃度は2.9～7.6ppm、ブロモホルムは<2～<3ppbであった(表III-3-11)。(参照130)

表III-3-10. 次亜臭素酸水(有効臭素として600及び1,000ppm)を噴霧した牛肉片からの抽出液中のDMH, 臭化物及びトリハロメタンの濃度

検体	DMH (ppm)	臭化物 (ppm)	ブロモホルム (ppb)	平均肉重量 (g)
対照(水道水)	<0.5	2	<5	377
600 ppm 洗浄なし	9.7	11.1	<5	473
600 ppm 洗浄	3.3	7	<5	491
1000 ppm 洗浄なし	6.3	14.3	<5	382
1000 ppm 洗浄	4.3	7.7	5.1	356

表III-3-11. 次亜臭素酸水(有効臭素として600及び1,000ppm)を噴霧した牛肉片中のDMH, 臭化物及びトリハロメタンの濃度

検体	DMH (ppm)	臭化物 (ppm)	ブロモホルム (ppb)
対照(水道水)	<0.3	1.1	<3
600 ppm 洗浄なし	4.0	4.6	<2
600 ppm 洗浄	1.4	2.9	<2
1000 ppm 洗浄なし	3.4	7.6	<3
1000 ppm 洗浄	2.5	4.2	<3
肉中の濃度範囲	1.4-4.0	2.9-7.6	<2 -<3

8) DBDMH から発生させた次亜臭素酸を 900ppm で 1 時間噴霧した牛肉中の分解物の分析
[131] (Albemarle 社, Liimatta (2014 年) (未公表))

牛肉片に有効臭素濃度900ppmで次亜臭素酸を1時間噴霧した牛肉中のDMH, 臭化物及びトリハロメタンの処理肉中の濃度を測定した. 概ね100cm²の肉片(概ね450g)8検体を用い, 4検体には水道水を, 4検体には次亜臭素酸水をそれぞれ150mL/分, 圧力60psiにて1時間散布した. 散布後, 噴霧液がたれ落ちるよう1分以上放置した. 次に, 牛肉片を200mLの脱イオン水を用いて60秒間週出し, この抽出液を用いてDMH, 臭化物及びトリハロメタンの濃度を測定した. 臭化物の分析はイオンクロマトグラフ法, DMHはHPLC法, ブロモホルムはEPAの示すGC-MS法にて実施した.

その結果, 抽出液中のDMHは13ppm, 臭化物は49ppmであった. トリハロメタンはブロモホルムのみが1,000ppm噴霧, 水洗の1検体で定量限界付近(5ppb)の濃度で認められたが, それ以外の検体では定量限界(5ppb)以下であった(表III-3-12),

用いた抽出液量及び肉片重量から肉中の残留濃度を計算した結果, DMHは4.2～7.9ppm, 臭化物は17.0～31.1ppm, ブロモホルムは検出限界以下(<99～<138ppb)であ

った(表III-3-13). (参照131)

表III-3-12. 次亜臭素酸水(有効臭素として900ppm)を1時間噴霧した牛肉抽出液中のDMH, 臭化物及びトリハロメタンの濃度

検体	DMH (ppm)	Br- (ppm)	ブロモホルム (ppb)	平均肉重量 (g)
水道水	<0.3	0.05	<5	N/A
次亜臭素酸水(900 ppm)			<10	N/A
肉抽出液(水を噴霧)	<0.3	0.15	<250	474
肉抽出液(次亜臭素酸水を噴霧)	13	49	<250	449

表III-3-13. 次亜臭素酸水(有効臭素として900ppm)を1時間噴霧した牛肉中のDMH, 臭化物及びトリハロメタンの濃度

検体	DMH (ppm)	臭化物 (ppm)	ブロモホルム (ppb)
肉抽出液(水を噴霧)	<0.12~<0.14	0.0575	<98~<111
肉抽出液(次亜臭素酸水を噴霧)	5.65	21.325	<99~<138

9) DBDMH を食鳥処理冷却タンクに使用した場合の臭素酸塩の残留性[132]

(Albemarle 社, Shelton (2002 年) (未公表))

食鳥処理施設の冷却タンクにおいて, DBDMHから発生させた次亜臭素酸水(有効臭素濃度計算値34ppm)を添加した冷却水を用い, と体冷却終了付近の冷却水試料を採取して当該試料中の臭素酸塩濃度を測定した. 臭化物及び臭素酸はイオンクロマトグラフ法を用いて分析した.

採取した冷却水中の次亜臭素酸濃度は130ppb (有効臭素濃度)であった. 臭素酸塩はいずれの冷却水試料からも検出されなかった. 以上の結果から, 次亜臭素酸水(有効臭素34ppm)を添加した食鳥冷却水中からは臭素酸の検出されないことが示された(表III-3-14). (参照132)

表III-3-14. DBDMH処理食鳥処理冷却水からの臭素酸塩の検出

試料	検体数	臭素酸塩
対照(殺菌剤無添加冷却水)	6	<5.0ppb
次亜臭素酸(DBDMHから発生)	6	<5.0ppb

10) DBDMH から発生させた次亜臭素酸で冷却水処理を行った鶏と体のトリハロメタンの分析

[133] (Analysis and Environmental Testing Inc., Nathan Levy III (2002 年) (未公表))

有効臭素濃度0, 34, 56, 78ppmの処理冷却水を調製し、鶏肉を浸漬・冷却後、冷却水を採取し、トリハロメタン生成について分析した。分析対象としたトリハロメタンは、クロロホルム、ブロモホルム、DBCM及びBDCMとした。分析はEPAの示すGC-MS法にて実施した。

その結果、認められたトリハロメタンはブロモホルムであり、その他一部試料でクロロホルムも検出されたが、それ以外は検出限界以下(5ppb)であった(表III-3-15)。なお、ブロモホルムの値は6測定値の平均で示す。(参照133)

表III-3-15. 次亜臭素酸水(有効臭素として34, 56, 78ppm)の冷却水中におけるトリハロメタンの濃度

検体	BDCM (ppb)	ブロモホルム (ppb)	クロロホルム (ppb)	DBCM (ppb)
水道水	<5.00	<5.00	<5.0~10.3	<5.00
次亜臭素酸水 34ppm	<5.00	16.5*	<5.00	<5.00
次亜臭素酸水 56ppm	<5.00	44.4*	<5.0~6.92	<5.00
次亜臭素酸水 78ppm	<5.00	45.3*	<5.0~9.03	<5.00

* 6測定値の平均を示す。

(2) DBDMH から発生させた次亜臭素酸の国際機関等における暴露評価 — DMH, 臭化物及びその他副産物の一日摂取量と ADI/TDI との比較

1) FAO/WHO による暴露評価(2008 年)[1]

i) DMH の暴露

DMH は DBDMH から次亜臭素酸を発生させる過程で生じる分解物で、安定であるため、食肉中に残る可能性がある。食肉中濃度は牛肉に対し 300mg/kg(有効臭素)の濃度で使用した場合に、0.001mg/g、鶏と体処理の冷却水に 90mg/kg(有効臭素)の濃度で使用した場合の鶏肉中濃度は 0.005mg/g と推定される。そこで、牛肉及び鶏

肉の90パーセント上限摂取量150g/人/日(参照6, CSFII 1994-1996, 1998)[注8], 食肉中の最悪状況[注9]での推定残留濃度 0.005mg/g を用いて計算すると, DMH の摂取量は0.8mg/人(体重 60kg)/日又は0.013mg/kg 体重/日である(参照1, p.70, p.121).

ii) 臭化物の暴露

DBDMH から次亜臭素酸発生過程ですべての臭素が臭化物になったと仮定すると, 牛肉中濃度は0.002mg/g, 鶏肉中濃度は0.006mg/g と推定される(参照1, p.70).

本報告中ではこれら数値を用いた暴露評価はしていないが, その残留量が上記 DMH の推定残留濃度と同水準であるため, ほぼ同程度の暴露が起こると想定される(参照3, FDA(2003), 4, FDA(2008)).

iii) 有機臭化物

DBDMH から発生させた次亜臭素酸水の食肉処理は有機臭化物の産生に影響するかもしれないが, 米国における承認用量において, 有機臭化物が食品中に生ずるといった報告はない(参照1, p.71, 2.8.2.5. Brominated and iodinated compounds, 3, FDA(2003), 4, FDA(2008)).

iv) トリハロメタンの暴露[1]

次亜臭素酸水使用による牛肉処理水中のトリハロメタンとして発生する可能性のあるものは, ジブロモクロロメタン(DBCM), ブロモジクロロメタン(BDCM), それにブロモホルムである. このうち, DBCM 及び BDCM については, 牛肉処理水中濃度が検出限界(5µg/kg)以下であり, 処理水中濃度として 5µg/kg を用いた場合の DBCM 及び BDCM の牛肉中推定濃度は0.00005µg/g 以下である(参照4, FDA(2008)). 一方, ブロモホルムの処理水中平均濃度は 5.5µg/kg であり, これによる牛肉中推定残留濃度は0.00006µg/g である(参照4, FDA(2008)).

鶏肉については, 食鶏処理施設の処理水中 DBCM 及び BDCM 濃度が検出限界(5µg/kg)以下であり, 処理水中濃度として 5µg/kg を用いた場合の DBCM 及び BDCM の鶏肉中推定濃度は0.0004µg/g 未満である. また, ブロモホルムの推定残留濃度は約0.005µg/g である(参照3, FDA(2003)).

注8 本サーベイの資料については1994~1996年部分のみが入手できたが, 該当箇所が不明であった. しかし, 資料196のデータを用いるとほぼ同程度の数字でありこの数字を用いることは妥当と判断される.

注9 FAO/WHO資料からの引用であり詳細は不明. 根拠資料(FDA2003, 2008)から検出限界0.005µg/gの濃度の含有水が牛・鶏肉に8%吸収されたと仮定した(水分最大吸収量は鶏肉8%, 牛肉1%とされているため吸収の多い鶏肉の8%を用いた)場合の牛肉又は鶏肉中残留濃度 $0.005 \times 0.08 = 0.0004 \mu\text{g/g}$ をヒトが米国の90パーセント上限摂取量(150g)で摂取した場合の摂取量と考えられる.

これらの濃度を用いて牛肉又は鶏肉を介した摂取量は以下のとおり推定される(参照 1) :

BDCM : 牛肉及び鶏肉の 90 パーセントイル上限摂取量 150g/人/日(参照 6, CSFII 1994-1996, 1998), 食肉中の最悪状況での推定残留濃度 0.0004 μ g/g を用いて計算すると, BDCM の摂取量は 0.06 μ g/人(体重 60kg)/日又は 0.001 μ g/kg 体重/日である.

DBCM : 牛肉及び鶏肉の 90 パーセントイル上限摂取量 150g/人/日(参照 6, CSFII 1994-1996, 1998), 食肉中の最悪状況での推定残留濃度 0.0004 μ g/g を用いて計算すると, DBCM の摂取量は 0.06 μ g/人(体重 60kg)/日又は 0.001 μ g/kg 体重/日である.

ブロモホルム : 牛肉及び鶏肉の 90 パーセントイル上限摂取量 150g/人/日(参照 6, CSFII 1994-1996, 1998), 食肉中の最悪状況での推定残留濃度 0.005 μ g/g(参照 4, FDA (2008))を用いて計算すると, ブロモホルムの摂取量は 0.8 μ g/人(体重 60kg)/日又は 0.013 μ g/kg 体重/日である.

v) 臭素酸の暴露

臭素酸塩は臭化物存在下における水のオゾン化過程で生ずる可能性がある. そのため DBDMH から発生させた次亜臭素酸水を牛又は鶏と体に使用中に臭素酸塩の発生する可能性はあるが, 臭素酸塩は非常に強い酸化剤であり(参照 2, Seidel (2004)), 加熱により臭化物に還元する(参照 3, FDA (2003)). そのため最終食品中に残る可能性は非常に少なく, ヒトにおける臭素酸の有意な暴露の起こる可能性は非常に低い.

次亜臭素酸水を 1,000ppm で牛肉洗浄に用いた場合の臭素酸塩の残留量を調べた試験において, 残留量はすべて<10ppb となり, 問題となる残留のみられないことが示されている(参照 127).

2) 米国における摂取量推計[134]

次亜臭素酸水を使用した牛肉及び鶏肉中に残留する各種分解物又は副産物のヒトの摂取量については, 1) 次亜臭素酸水を噴霧した牛肉及び次亜臭素酸水に浸漬した鶏肉への水分吸収量, 2) 各分解物又は副産物の産生量, 3) 牛肉及び鶏肉の一日摂取量から求められる.

米国の摂取量推計では, これらの情報を用いて申請者が素案を作成し, FDA がその内容を精査, 問題がない場合は, その内容を持って申請者に FCN として通知している. Albemarle 社が行った米国における本品の加工助剤としての申請では, 2003 年以後 FCN として通知を受けてきたが, そのうち鶏肉(有効臭素 100ppm での使用)への使用については FCN334(2003) (参照 3), 牛肉(有効臭素 300ppm での使用)への使用については FCN792(2008) (参照 4)として評価書が明らかにされている. しかし, 2013 年に牛肉に対し 900ppm 未満, 鶏肉に対し 450ppm 未満の使用が認められた際の FCN については評価内容が入手できなかった.

そこで本項では、FDA の暴露評価手順を踏襲し、Albemarle 社が実施した摂取量推計を、一部修正して掲載することとする。(参照 134)

i) 食肉への水分吸収量

牛肉

牛肉に次亜臭素酸水を使用した場合の牛肉への水分移行量は、通常散布を模倣した試験での牛肉重量変化にて検討されている(参照 135)。牛肉重量は水の散布により約 0.7% 増加し、次亜臭素酸水(有効臭素 300ppm)の散布により 0.4%増加した。そこで、有効臭素量900ppm の次亜臭素酸水を散布した場合の最大吸収量として1%を用いることとした[注10]。

鶏肉

米国 USDA では 2001 年までの規制では冷却槽水の鶏肉への水分移行量をと体重量の 8%以下としてきた。2001 年 1 月、USDA は鶏肉への水分残留上限量を除外する規則を発表したが(参照 136)、この最終規制の背景情報として、鶏肉の浸漬冷却は鶏肉中の細菌数を制御するうえで効率的で、かつ、冷却時間と要求温度を継続的に達成するのを担保する方法であり、そのため、USDA の FSIS では鶏肉中の水分吸収をある程度許容するとの判断を下し、一方で水分残留量は最小限にすべきで、残留量を表示すべきとの要求(9 CFR 381.66(d)(1))を行った。USDA は鶏肉中の通常的水分残留量として 8~12%としており(参照 137)、そのため、有効臭素量 450ppm の次亜臭素酸水を使用した鶏肉での水分吸収の最大量として 12%を用いることとした。

ii) DBDMH から発生させた次亜臭素酸水を食肉に使用した場合の、各種副産物の食肉への移行量の推定

臭化ナトリウム(NaBr)

臭化ナトリウムは最大で 2%(20,000ppm)程度 DBDMH に含まれる可能性のある不純物であり、そのため本物質が食肉中に移行する可能性がある。臭化ナトリウムの移行量について以下のとおり推定する。

臭化ナトリウムは水溶性が非常に高く、水中において完全にイオン化する(Na^+ 及び Br^-)。次亜臭素酸水を牛肉に 900ppm(DBDMH として 810ppm)及び鶏肉に 450ppm(DBDMH として 405ppm)で使用した場合の臭化ナトリウムに起因する Na^+ 及び Br^- の濃度は以下

注10 900ppmの散布による水分吸収がどの程度かデータはないものの、次亜臭素酸を含まない水の方が水分吸収が多いことから、有効臭素300ppmの散布と900ppmの散布では900ppmでの水分吸収が大幅に増える可能性は低いと考え、次亜臭素酸水(300ppm)と水との比較で高い吸収であった水の吸収量0.7%を繰り上げて1%とした。

のとおり計算される：

牛肉：

$\text{Na}^+\text{濃度}(\text{ppm}) = \text{Na}^+\text{分子量}/\text{NaBr 分子量} \times 20,000 (\text{NaBr 最大濃度}) \times 810(\text{DBDMH 濃度})/1,000,000 = 23/102.9 \times 20,000 \times 810/1,000,000 = 3.6 \text{ ppm} (\text{Na}^+\text{濃度})$

$\text{Br}^-\text{濃度}(\text{ppm}) = \text{Br}^-\text{分子量}/\text{NaBr 分子量} \times 20,000 (\text{NaBr 最大濃度}) \times 810(\text{DBDMH 濃度})/1,000,000 = 79.90/102.9 \times 20,000 \times 810/1,000,000 = 12.6 \text{ ppm} (\text{Br}^-\text{濃度})$

鶏肉：

$\text{Na}^+\text{濃度}(\text{ppm}) = \text{Na}^+\text{分子量}/\text{NaBr 分子量} \times 20,000 (\text{NaBr 最大濃度}) \times 405(\text{DBDMH 濃度})/1,000,000 = 23/102.9 \times 20,000 \times 405/1,000,000 = 1.8 \text{ ppm} (\text{Na}^+\text{濃度})$

$\text{Br}^-\text{濃度}(\text{ppm}) = \text{Br}^-\text{分子量} / \text{NaBr 分子量} \times 20,000 (\text{NaBr 最大濃度}) \times 405 (\text{DBDMH 濃度})/1,000,000 = 79.90/102.9 \times 20,000 \times 405/1,000,000 = 6.3 \text{ ppm} (\text{Br}^-\text{濃度})$

DMH 及び臭化物

DBDMH から発生させた次亜臭素酸水の最終残留物は DMH と臭化物である．理論的な DMH 及び臭化物の残留濃度は以下のとおり計算される(表 III-3-16) (参照 138)．

表 III-3-16. DBDMH から発生させた次亜臭素酸水中の DMH 及び臭化物

使用量	DMH	臭化物
次亜臭素酸 900ppm(DBDMH として 810 ppm, 牛肉)	363 ppm	453 ppm
次亜臭素酸 450ppm(DBDMH として 405 ppm, 鶏肉)	181 ppm	226 ppm

トリハロメタン, ブロモホルム

DBDMH から次亜臭素酸水を発生させる過程においてトリハロメタンの発生するリスクを検討する．水道水の塩素消毒の過程で生ずるトリハロメタンに関しては広範に検討されているが，その中で測定可能な範囲で認められるトリハロメタンとして，クロロホルム(CHCl_3)、ブロモジクロロメタン(BDCM ; CHBrCl_2)、ジクロロブロモメタン(DBCM ; CHClBr_2)及びブロモホルム(CHBr_3)があげられる．

発生する可能性のあるトリハロメタン

海水の塩素処理は DBDMH を使用し次亜臭素酸水を発生する過程と最も近似する(参照 139)．海水中には約 65ppm の臭化物が含まれる．これに塩素を加えると次亜臭素酸が通常 1～4ppm の濃度で生成される．ほとんどの場合，塩素濃度を高めた場合に唯一認め

られるトリハロメタンはブロモホルムである(参照 139, 140). さらに DBDMH は臭素のみが含まれ、塩素が含まれないため、塩素を含むトリハロメタン発生の可能性は極めて低いと考えられる。さらに、食肉消毒の目的では有効臭素量として >100ppm で使用される為、飲水中の塩素濃度(1~4ppm)と比べ相当に高濃度である。これらの要素を考慮すると、発生する可能性のある唯一のトリハロメタンはブロモホルムと想定される。実際の試験においても、認められたトリハロメタンはブロモホルムのみであった(III, 3, (1), 4)~6)項参照) (参照 128~130)。

ブロモホルムの発生濃度[140, 134]

数多くの研究報告により、飲料水中のトリハロメタン濃度は、水中の総有機炭素(Total Organic Carbon : TOC)量と相関することが示されている(参照142)。ほとんどの場合、飲料水中の総有機炭素の主要な構成成分は天然由来有機物(Natural Organic Matter : NOM)である。天然由来有機物はほとんどの表層水又は地下水に認められ、その濃度は2~10ppmである(参照143)。天然由来有機物の組成は地域ごと、また、同一地域でも季節により異なる。トリハロメタン発生に關与する要因には、pH、接触時間、温度及び季節、天然由来有機物濃度、塩素量及び臭素濃度等であり、これらの要因が、トリハロメタン発生にかかわる複雑な反応について、その予測を困難なものにしている。トリハロメタン発生モデルについて、いくつかの検討が行われてきたが、その発生反応の複雑性から、最善のモデルは経験値に基づく(実験が必要)定数を用いているが(参照143)、この定数に物理的な意義はない。

DBDMHから次亜臭素酸水を発生させる過程でのトリハロメタン発生について4試験を行ったが、その結果として認められたのはブロモホルムのみであった(参照128~131)。これら試験における次亜臭素酸水の初期濃度とブロモホルムの測定値を下表に示す(表 III-3-17)。数値は次亜臭素酸水を牛肉に噴霧する前に測定したものである。

表III-3-17. 4試験においてDBDMHから次亜臭素酸水を生成した場合のブロモホルム発生濃度

試験	溶液中の有効臭素濃度 (ppm)	ブロモホルム濃度 (ppb)	参照
1	300	27.3	128(Liimatta (2008))
2	300	16.1	129(Liimatta (2007))
3	900	<10	131(Liimatta (2014))
4	1000	13.1	130(Liimatta (2010))

これらの試験の次亜臭素酸水発生に用いた水は同一供給元からの水道水であったが、異なる時期のものである。この表からも明らかとなおり、有効臭素濃度とブロモホルム

生成量には何らの相関もない。次亜臭素酸濃度が天然由来有機物(NOM)濃度を大幅に超過しているため(飲料水中では天然由来有機物はほとんど無い)、同一の水を用いた場合、300～1,000ppmの有効臭素濃度の範囲であれば、有効臭素濃度の変化によるトリハロメタン発生量への影響は最小限であり、認められたブロモホルム発生量は主に使用する水に含まれる天然由来有機物の種類と濃度によると考えられた。トリハロメタン発生モデル化が非常に困難であること、実験結果から、ハロゲン(臭素)濃度とトリハロメタン発生量の用量反応性がみられないことから、ブロモホルム発生最高濃度推定の精度は相対的に低い。そのため、測定最高値をもって、概ねの最高濃度として扱うことが妥当と考える。

牛肉中のブロモホルム

表 III-3-17 に示した試験データから想定されるブロモホルムの最大濃度は 27.3 ppb であり、そのため、牛肉中の最大残留濃度として 27.3 ppb(参照 128)を用いるのが妥当と考えられる。

鶏肉中のブロモホルム

有効水素量として 34 ppm, 56 ppm 及び 78 ppm の次亜臭素酸水の生成に伴うトリハロメタン生成量の検討を行った結果、ブロモホルムの個別の最大濃度は有効臭素 56ppm 発生時の 62.1ppb であり、濃度相関性等はなかった(参照 133)。このデータから、鶏肉中の最大濃度として 62.1ppm を用いるのが妥当と考える。

臭素酸(参照 144)

臭素酸発生リスクの推定の結果、DBDMH から次亜臭素酸水を発生させる過程において臭素酸の発生する可能性は低いと判断される。また、複数の試験で DBDMH から様々な濃度の次亜臭素酸水を発生させる過程での臭素酸発生を検討した結果、検出限界 10 ppb 以上の残留はみられなかった。そのため臭素酸の最高濃度として 10 ppb を用いるのが妥当と考える。

DBDMH から次亜臭素酸水を発生させる過程において、臭素酸の発生するリスクは以下のとおり推定できる。

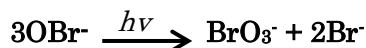
臭素酸の発生に関するプロセス

臭素酸の発生には 3 種類の経路、すなわち、①オゾンが関与する酸化反応、②紫外線による光化学反応、③次亜臭素酸のアルカリ不均化反応が考えられる(参照 145～147)。

オゾンによる酸化反応 1(参照 145): オゾンは飲料水の消毒に広範に使用されることから、この過程は広範に検討されている。本反応は以下のとおり示される：



紫外線による光化学反応 2(参照 146): 本反応は屋外における水泳プール等において日光に直接暴露を受ける場合に問題となる。本反応は以下のとおり示される：



アルカリ不均化反応 3(参照 147): 本反応は高濃度の漂白剤中での臭素酸発生と関連する。不均化反応による臭素酸発生は比較的遅い反応であり、これに比べ臭化物への分解反応の方が相当に速やかに起こるため、動態学的にみて起こりにくい反応である(参照 148)。本反応は DBDMH が関与する次亜臭素酸水生成過程で臭素酸発生の可能性のある唯一の反応である。臭素酸発生に関連する要因として pH、有機物の存在、臭化物を再度酸化する酸化剤の存在、並びに時間があげられる。本反応は以下のとおり示される：



上記の発生経路で示されるように、臭素酸の発生は OBr^- の存在に依存する。次亜臭素酸は弱酸で、 pK_a は約 8.6 である。それゆえ、pH の低下により、溶液中の OBr^- 濃度は低下し、臭素酸の発生は遅延する。pH が十分低い場合には、次亜臭素酸塩は存在せず、そのため、臭素酸発生は起こらない。次亜臭素酸水において、この状況は概ね pH6.5 にて起こる。DBDMH の飽和溶液はわずかに酸性で、pH7.0 の水で調製した時の pH はおよそ 6.5 である。

この臭素酸発生の不均化反応は、他の次亜臭素酸塩生成反応と競合する。有機物の存在により次亜臭素酸が臭化物に分解することは良く知られており、次亜臭素酸水を牛肉又は鶏肉に使用した場合、活性ハロゲン濃度は急速に低下し、臭化物が生成される。この分解過程において、溶液中には臭素酸形成につながる次亜臭素酸塩は残存しない。また、DBDMH から発生させた次亜臭素酸水中には、臭化物を再酸化し臭素酸を発生させるような酸化剤は存在しない。

臭素酸発生過程は非常に遅い反応で、熱力学との関連もある。そのため、臭化物を酸化するのに十分量の過量の酸化剤存在条件下では、臭素酸は発生しうる。どんな場合でも次亜臭素酸塩は臭化物に分解し、それが再酸化を受けている。統計学的にはこれらのサイクルが十分長く続くと、ある時点で熱力学的に安定な臭素酸が形成される。そのため高濃度の漂白剤の存在は、高い pH、臭化物を酸化する過剰の酸化剤、それに有機物がない等、臭素酸発生の理想的な環境と言える。

DBDMH から発生させた次亜臭素酸水における臭素酸の存在について、いくつかの試験を実施したが、これまでの試験では、DBDMH から発生させた直後の次亜臭素酸水中の臭素酸濃度、及び次亜臭素酸水を噴霧した肉の抽出液中臭素酸濃度はいずれも検出限界以下(10ppb)であった(参照 127～129, 132)。

iii) 食肉中に移行する各種分解物及び副産物の濃度

牛肉中濃度の推定

有効臭素 900ppm となるよう DBDMH を用いた場合の水中の最高残留量は以下のとおり計算される：

$$\text{DMH} = 363 \text{ ppm}$$

$$\text{臭化物(DBDMH 及び NaBr(不純物)により生成)} = 453 + 12.6 = 465.6 \text{ ppm}$$
$$\text{Na+移行量} = 3.6 \text{ ppm}$$

$$\text{ブロモホルム} = 27.3 \text{ ppb}$$

$$\text{臭素酸} = 10 \text{ ppb}$$

上記仮定で牛肉への最大水分吸収量を 1%とした場合の牛肉中濃度は以下のとおりである：

DMH	$363 \text{ ppm} \times 0.01 = 3.63 \text{ ppm}$
Br ⁻	$465.6 \text{ ppm} \times 0.01 = 4.66 \text{ ppm}$
Na ⁺	$3.6 \text{ ppm} \times 0.01 = 0.036 \text{ ppm}$
ブロモホルム	$27.3 \text{ ppb} \times 0.01 = 0.273 \text{ ppb}$
臭素酸	$10 \text{ ppb} \times 0.01 = 0.1 \text{ ppb}$

鶏肉中濃度

有効臭素 450ppm となるよう DBDMH を用いた場合の水中の最高残留量は以下のとおり計算される：

$$\text{DMH} = 181 \text{ ppm}$$

$$\text{臭化物(DBDMH 及び NaBr(不純物)により生成)} = 226 + 6.3 = 232.3 \text{ ppm}$$

$$\text{Na+移行量} = 1.8 \text{ ppm}$$

$$\text{ブロモホルム} = 62.1 \text{ ppb}$$

$$\text{臭素酸} = 10 \text{ ppb 注11)}$$

上記仮定で鶏肉への最大水分吸収量を 12%とした場合の鶏肉中濃度は以下のとおりである：

DMH	$181 \text{ ppm} \times 0.12 = 21.72 \text{ ppm}$
-----	---

注11) 鶏肉の臭素酸の検出限界は5ppbであったが、当試験での添加量が34ppmと相対的に低い水準であるため、牛肉で使用した最大添加量900ppmでの結果である検出限界10ppb以下を用いることが最大暴露を推定するうえで妥当と考えた。

Br ⁻	232.3 ppm × 0.12 = 27.88 ppm
Na ⁺	1.8 ppm × 0.12 = 0.22 ppm
ブロモホルム	62.1 ppb × 0.12 = 7.5 ppb
臭素酸	10 ppb × 0.12 = 1.2 ppb

iv) 一日摂取量(推定一日摂取量, EDI : Estimated Daily Intake)の計算

これらの分解物及び副産物がヒトの食品中に移行する最大濃度については, 最大残留濃度と適当な食品摂取係数とを乗じて求められる.

米国における体重 60kg のヒトの牛肉の一日摂取量の上限 90 パーセンタイルは 108g/人/日である(参照 149).

推定一日摂取量(EDI) = 食品中の残留濃度(mg/kg) × 当該食品摂取量(kg)/人/日

上記の式に基づき, 食品中の残留濃度と EDI から計算したそれぞれの分解物及び副産物のヒトの摂取量を表 III-3-18 に示す.

表 III-3-18. DBDMH から発生させた次亜臭素酸水の各種分解物及び副産物の牛肉からのヒトの摂取量の推定

対象物質	牛肉中の濃度	牛肉摂取量	推定1日摂取量(EDI)
DMH	3.63 mg/kg	108g	0.39 mg/人/日
臭化物	4.66 mg/kg	108g	0.50 mg/人/日
ブロモホルム	0.273 µg/kg	108g	0.029 µg/人/日
臭素酸	0.1 µg/kg	108g	0.011 µg/人/日

米国における体重 60kg のヒトの鶏肉の一日摂取量の上限 90 パーセンタイルは 90g/人/日である(参照 149).

牛肉と同様に, 食品中の残留濃度と推定一日摂取量(EDI)から計算したそれぞれの分解物又は副産物の人の摂取量を表 III-3-19 に示す.

表 III-3-19. DBDMH から発生させた次亜臭素酸水の各種分解物及び副産物の鶏肉からのヒトの摂取量の推定

対象物質	鶏肉中の濃度	鶏肉摂取量	推定一日摂取量(EDI)
DMH	21.72 mg/kg	90g	1.95 mg/人/日
臭化物	27.88 mg/kg	90g	2.51 mg/人/日
ブロモホルム	7.5 µg/kg	90g	0.68 µg/人/日
臭素酸	1.2 µg/kg	90g	0.108 µg/人/日

3) オーストラリア・ニュージーランドにおける暴露評価

暴露評価については、FSANZ がオーストラリア及びニュージーランド国民の食品摂取量と残留基準値(又は基準値案)を乗じて行っている (すなわち TMDI を求めている) (表 III-3-20) (参照 66, 72)。

その結果、摂取量は小児の 90 パーセンタイル上限値が最も高く、DMH ではオーストラリア 0.25mg/kg 体重/日、ニュージーランド 0.16mg/kg 体重/日、臭化物ではオーストラリア 0.66mg/kg 体重/日、ニュージーランド 1.46mg/kg 体重/日であった。また、この場合の ADI 占有率(摂取量÷ADI×100)は、DMH ではオーストラリア 8%、ニュージーランド 5%、臭化物ではオーストラリア 65%、ニュージーランド 145%であった。

表 III-3-20. DBDMH から発生させた次亜臭素酸水の副産物である DMH と臭化物の暴露量の推定 (オーストラリア及びニュージーランドの評価)

対象人口グループ		暴露量			
		mg/kg 体重/日		ADI に対する%	
		平均	90 パーセン タイル	平均	90 パーセン タイル
DMH の暴露量					
オーストラリア	2～6 歳	0.18	0.25	6	8
	7～16 歳	0.1	0.15	3	5
	女性 13～49 歳	0.05	0.09	5	9
	17 歳以上	0.05	0.09	2	3
ニュージーランド	5～14 歳	0.1	0.16	3	5
	女性 15～50 歳	0.05	0.08	5	8
	15 歳以上	0.05	0.08	2	3
臭化物の暴露量					
オーストラリア	2～6 歳	0.44	0.66	45	65
	7～16 歳	0.24	0.39	25	40
	17 歳以上	0.13	0.23	15	25
ニュージーランド	5～14 歳	0.88	1.46	90	145
	15 歳以上	0.43	0.74	45	75

DMH の ADI は、13～49 歳(オーストラリア)及び 15～50 歳(ニュージーランド)の女性で 1 mg/kg 体重/日、その他の集団で 3 mg/kg 体重/日に設定。臭化物の ADI は 1mg/kg 体重/日 [FSANZ (2012), p.22, Table7～10]

臭化物の ADI 占有率はニュージーランドの小児において 100%を超えてしまったが、

その理由として、臭化物の暴露ソースに燻蒸剤であるメチルブロマイドによるものも含めた点があげられる。しかし実際には、本化合物がオゾン層破壊等に寄与すること、モントリオールプロトコールに従い両国での使用は 2005 年までに中止されており(参照 68)。現状ではメチルブロマイドがいまだに使用されている一部開発途上国からの輸入作物(果物、穀類、糖蜜、野菜等)による残留暴露のみが想定される。そこで、輸入先国でのメチルブロマイドの使用割合を正確に反映させた再計算を行った結果、小児の 90 パーセントイル摂取量は ADI の 65%となり十分 ADI の 100%に入ることが確認された(参照 66, p.23, 4.2.2 Refinement of DEA calculations for inorganic bromide)。

(3) DBDMH から発生させた次亜臭素酸の日本人の食品摂取量を用いた暴露評価 – DMH, 臭化物及びその他副産物の一日摂取量と ADI 等との比較

DMH 及び臭化物の一日摂取量

日本人の食品摂取量と DMH 及び臭化物の食品中残留量から推定一日摂取量(EDI)を求めた。

食品摂取量は平成 24 年の国民健康栄養調査(厚生労働省)(参照 150)を用いた。また、DMH 及び臭化物の摂取量は、食肉処理施設において臭素として 900ppm の洗浄液を用いて洗浄した牛肉中の残留量(III, 3, (1)項参照)がより実際に近い残留になると考えられるが、一方で、最悪の暴露を考えた場合、より残留濃度の高い米国の評価で用いた数字(III, 3, (2)項参照)を理論的な最大残留濃度と捉えることが妥当であり、最も保守的な暴露評価ができると考えた。そこで、DMH については、牛、豚、その他の畜肉に対し牛の残留濃度 3.63ppm を、鶏肉及びその他の鳥肉、肉類(内臓)及びその他の肉類に対し鶏の残留濃度 21.72ppm を用い、臭化物については、牛、豚、その他の畜肉に対し牛の残留濃度 4.66ppm を、鶏肉及びその他の鳥肉、肉類(内臓)及びその他の肉類に対し鶏の残留濃度 27.88ppm を用いた。

一方、ADI については以下の数値を用いることとした。

まず、DMH の ADI(又は慢性 PAD)は JECFA, JMPR といった国際機関における評価では特定されていない。しかし、海外の政府機関である米国の EPA 及びオーストラリア・ニュージーランドの FSANZ での評価では ADI(又は慢性 PAD)が特定されており、一般市民に対し 0~3mg/kg、生殖活動期にある女性に対し 0~1mg/kg が設定されている。

また、各種の毒性試験において最も低い NOAEL100mg/kg 体重/日を、安全係数 100 で除して求めた場合の ADI は 1mg/kg 体重/日であることから、この数値を暴露評価に用いることとする。臭化物については JMPR の評価により ADI として 1mg/kg 体重/日が提案されていることから、この値を暴露評価に用いることとする。なお、暴露推計に用い

る成人体重として 55.1kg を採用した[注12].

その結果, DMH では 1 日摂取量は 0.759mg/人/日, すなわち 0.014mg/kg 体重/日となり, これは ADI の 1.4% であった. 臭化物では 1 日摂取量は 0.942mg/人/日, すなわち 0.017mg/kg 体重/日となり, TDI の 1.7% であった(表 III-3-20).

以上のことから DBDMH を通常の使用方法により牛及び/又は鶏の処理施設において用いる限り, その使用に基づく分解物 DMH 及び臭化物の残留量は, DMH 及び臭化物の ADI を相当に下回り, ヒトの健康上の懸念にならないと判断される.

その他副産物(トリハロメタン及び臭素酸)の一日摂取量

各種トリハロメタン及び臭素酸の最大残留量の推定については, III, 3, (2)項に示したが, これによると, ブロモホルムの食肉中濃度は牛肉で 0.273µg/kg, 鶏肉で 7.5µg/kg と計算され. DBCM 及び BDCM については処理水中濃度が 5µg/kg(検出限界)以下であることから, 食肉中最大濃度は牛肉で 0.05µg/kg 以下, 鶏肉で 0.6µg/kg 以下と想定された. また, 臭素酸は, 処理水中濃度として 10µg/g(検出限界)を用い, 食肉中濃度は牛肉で 0.1µg/kg, 鶏肉で 1.2µg/kg と計算された.

一方, 食品安全委員会が TDI として, ブロモホルムには 17.9µg/kg 体重, DBCM には 21.45µg/kg 体重, BDCM には 6.1µg/kg 体重を, 臭素酸には 10^{-5} 発がんリスクレベルに相当する摂取量として 0.357µg/kg 体重を勧告している.

そこで, 食肉から分離されたブロモホルム並びに発生する可能性が完全には否定できない臭素酸について, 上記の値を用い, DMH 及び臭化物に準拠した形で暴露評価を行った.

その結果, ブロモホルムでは 1 日摂取量は 0.214µg/人/日 (0.004µg/kg 体重/日) となり, これは TDI の 0.02% であった. 臭素酸では 1 日摂取量は 0.037µg/人/日 (0.001µg/kg 体重/日) となり, TDI の 0.19% であった(表 III-3-22).

表 III-3-20 添加物 (DMH 及び臭化物) の 1 日摂取量並びに ADI との比較

食品名	DMH			臭化物		
	残留量 (mg/kg)	食品摂取 量(g)	添加物摂取 量(mg/人)	残留量 (mg/kg)	食品摂取 量(g)	添加物摂取 量(mg/人)
牛肉	3.63	14.2	0.052	4.66	14.2	0.066
豚肉	3.63	34.2	0.124	4.66	34.2	0.159
その他の畜肉	3.63	0.3	0.001	4.66	0.3	0.001

注12 http://www.fsc.go.jp/iinkai/heikintaijyu_260331.pdf

「食品健康影響評価に用いる平均体重の変更について」 (平成26年3月31日 食品安全委員会決定)

鶏肉	21.72	25.3	0.550	27.88	25.3	0.705
その他の鳥肉	21.72	0.1	0.002	27.88	0.1	0.003
肉類(内臓)	21.72	1.4	0.030	4.66	1.4	0.007
その他の肉類	21.72	0	0.000	4.66	0	0.000
1日摂取量(mg)	0.759			0.942		
体重当たり摂取量 (mg/kg 体重)	0.014			0.017		
ADI(mg/kg 体重/日)	1			1		
1日摂取量/ADI(%)	1.4%			1.7%		

注1) 食品摂取量及び添加物摂取量はいずれも1日量。

注2) 表中の添加物1日摂取量は小数点第3位までの表示(第4位を四捨五入)としたため合計値と一致しない。

表 III-3-21 ブロモホルム及び臭素酸の1日摂取量並びにTDIとの比較

食品名	ブロモホルム			臭素酸		
	残留量 (µg/kg)	食品摂取 量(g)	添加物摂取 量(µg/人)	残留量 (µg/kg)	食品摂取 量(g)	添加物摂取 量(µg/人)
牛肉	0.273	14.2	0.004	0.1	14.2	0.001
豚肉	0.273	34.2	0.009	0.1	34.2	0.003
その他の畜肉	0.273	0.3	0.000	0.1	0.3	0.000
鶏肉	7.5	25.3	0.190	1.2	25.3	0.030
その他の鳥肉	7.5	0.1	0.001	1.2	0.1	0.000
肉類(内臓)	7.5	1.4	0.011	1.2	1.4	0.002
その他の肉類	7.5	0	0.000	1.2	0	0.000
1日摂取量(µg)	0.214			0.037		
体重当たり摂取量 (µg/kg 体重)	0.004			0.001		
TDI(µg/kg 体重/日)	17.9			0.357*		
1日摂取量/TDI(%)	0.02%			0.19%		

* TDIでなく 10^{-5} 発がんリスクレベルに相当する摂取量を採用した。注1) 食品摂取量及び添加物摂取量はいずれも1日量。

注2) 表中の添加物1日摂取量は小数点第3位までの表示(第4位を四捨五入)としたため合計値と一致しない。

<参照>

1. Food and Agriculture Organization / World Health Organization (FAO/WHO), Benefits and Risks of the Use of Chlorine-containing Disinfectants in Food Production and Food Processing, Report of a Joint FAO/WHO Expert Meeting, Ann Arbor, May 2008.
2. Seidel A (ed.): Kirk-Othmer encyclopedia of chemical technology, 5th ed., vol.4. A John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, 2004; p332-362.
3. United States Food and Drug Administration (FDA), Memorandum from Division of Food Contact Substance Notification Review Chemistry Review Group II (FCN334), 27 June 2003.
4. United States Food and Drug Administration (FDA), Memorandum from Division of Food Contact Notifications Chemistry Team 2 (FCN 792), 30 January 2008.
5. Bull RJ, Cottruvo J: Research strategy for developing key information on bromate's mode of action, Toxicology 2006; 221: 135-144.
6. Smiciklas-Wright H, Mitchell DC, Mickel SJ, Cook AJ, Goldman JD: Foods Commonly Eaten in the United States, Quantities Consumed Per Eating Occasion and in a Day, 1994-96.
7. DeAngelo AB, George MH, Kilburn SR, Moore TM, Wolf DC: Carcinogenicity of potassium bromate administered in the drinking water to male B6C3F1 mice and F344/N rats, Toxicol Pathol 1998; 26: 587-594.
8. DeMarini DM, Shelton ML, Warren SH, Ross TM, Shim JY, Richard AM et al.: Glutathione S-transferase-mediated induction of GC to AT transitions by Halomethanes in Salmonella, Environ Mol Mutagen 1997; 30: 440-447.
9. IARC (International Agency for Research on Cancer), Some naturally occurring and synthetic food components, Furocoumarins and ultraviolet radiation, IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum 1986; Vol. 40.
10. IARC (International Agency for Research on Cancer), Re-evaluation of some organic chemicals, hydrazine and hydrogen peroxide, IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum, 1999a; Vol. 71.
11. IARC (International Agency for Research on Cancer), Some chemicals that cause tumours of the kidney or urinary bladder in rodents and some other substances, IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum 1999b; Vol. 73.
12. IPCS (International Programme on Chemical Safety, WHO), Environmental health criteria 216, Disinfectants and disinfectant by-products, 2000.

13. Bull RJ, Cotruvo JA: Nongenotoxic mechanisms involved in bromate-induced cancer in rats, *Journal - American Water Works Association* 2013; E709-720.
14. Kurokawa Y, Hayashi Y, Maekawa A, Takahashi M, Kokubo T, Odashima S: Carcinogenicity of potassium bromate administered orally to F344 rats, *JNCI* 1983; 71: 965-972.
15. Kurokawa Y, Aoki S, Matsushima Y, Takamura N, Imazawa T, Hayashi Y: Dose-response studies on the carcinogenicity of potassium bromate in F344 rats after long-term oral administration, *JNCI* 1986; 77: 977-982.
16. Kurokawa Y, Takayama S, Konishi Y, Hiasa Y, Asahina S, Takahashi M, et al.: Long-term in vivo carcinogenicity tests of potassium bromate, sodium hypochlorite and sodium chlorite conducted in Japan, *Environ Health Perspect* 1986; 69: 221-235.
17. Kurokawa Y, Matsushima Y, Takamura N, Imazawa T, Hayashi Y: Relationship between the duration of treatment and the incidence of renal cell tumors in male F344 rats administered potassium bromate, *Jpn J Cancer Res* 1987; 78: 358-364.
18. NTP (United States Department of Health and Human Services, National Institutes of Health, National Toxicology Program), Toxicology and carcinogenesis studies of chlorodibromomethane in F344/N rats and B6C3F1 mice (gavage studies) (NTP Technical Report Series No. 282, NIH Publication No. 85-2538), August 1985.
19. NTP (United States Department of Health and Human Services, National Institutes of Health, National Toxicology Program), Toxicology and carcinogenesis studies of bromodichloromethane in F344/N rats and B6C3F1 mice (NTP Technical Report Series No. 321, NIH Publication No. 88-2537), October 1987.
20. NTP (United States Department of Health and Human Services, National Institutes of Health, National Toxicology Program), Toxicology and carcinogenesis studies of bromodichloromethane in male F344/N rats and female B6C3F1 mice (drinking water studies) (NTP Technical Report Series No. 532, NIH Publication No. 06-4468) (http://ntp.niehs.nih.gov/files/532_Web.pdf), February 2006.
21. NTP (United States Department of Health and Human Services, National Institutes of Health, National Toxicology Program), Toxicology and carcinogenesis studies of tribromomethane (bromoform) in F344/N rats and B6C3F1 mice (gavage studies) (NTP Technical Report Series No. 350, NIH Publication No. 89-2805), May 1989.
22. Pegram RA, Andersen ME, Warren SH, Ross TM, Claxton LD: Glutathione S-transferase-mediated mutagenicity of trihalomethanes in *Salmonella*

- typhimurium: contrasting results with bromodichloromethane and chloroform, Toxicol Appl Pharmacol 1997; 144: 183-188.
23. United States Environmental Protection Agency (EPA), Toxicological review of bromate in support of summary information on the Integrated Risk Information System (IRIS), EPA/635/R-01/002 (<http://www.epa.gov/iris/toxreviews/1002-tr.pdf>), March 2001.
 24. World Health Organization (WHO), Bromate in drinking-water. Background document for development of WHO Guidelines for drinking-water quality (WHO/SDE/WSH/05.08/78; http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/chemicals/bromate030406.pdf), 2005a.
 25. World Health Organization (WHO), Trihalomethanes in drinking-water. Background document for development of WHO Guidelines for drinking-water quality (WHO/SDE/WSH/05.08/64; http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/chemicals/THM200605.pdf), 2005b.
 26. Maeda H, Yamamoto N, Nagoya T, Kurosawa K, Kobayashi F: Release of formaldehyde from Demethylol Dimethylhydantoin, a possible antiseptic agent, Agricultural and Biological Chemistry 1976; 40(9): 1705-1709.
 27. Liimatta E: Effect of pH on Dissociation of Hypobromous and Hypochlorous Acid, Albemarle corporation, 2014 (未公表) マスキング
 28. Fellers BD, Flock EL, Conley JC: The efficacy of bromine vs chlorine as a cooling-water biocide is gaining considerable interest, with attractive side benefits, Power 1988; 15-20.
 29. Fair GM, Morris JC, Chang SL, Weil I, Burden RP: The behavior of chlorine as a water disinfectant, Journal - American Water Works Association 1948; 1051-1061.
 30. Liimatta E: DBDMH (1,3-dibromo-5,5-dimethylhydantoin) Research Brief 1 — Four Studies of Corrosion/ Degradation of Materials Commonly Used in Meat-processing Facilities, Elanco Animal Health, 2010 (未公表) マスキング
 31. Liimatta E: Occupational Safety, Albemarle corporation, 2014 (未公表) マスキング
 32. Liimatta E: Blood mixed with Biocides, Albemarle corporation, 2014 (未公表) マスキング
 33. United States Environmental Protection Agency (EPA), Registration eligibility decision for Halohydrins (Case 3055), 2007.
 34. United States Food and Drug Administration (FDA), Memorandum from Division of Food Contact Notifications Chemistry Review Group I (PNC144)

(http://www.accessdata.fda.gov/scripts/fdcc/?set=FCN&sort=FCN_No&order=DESC&startrow=1&search=DBDMH), 1 November 2002.

35. United States Food and Drug Administration (FDA), FCN000334, 2003
36. United States Food and Drug Administration (FDA), FCN000357, 2003
37. United States Food and Drug Administration (FDA), FCN000453, 2004
38. United States Food and Drug Administration (FDA), FCN775, 2007
39. United States Food and Drug Administration (FDA), FCN792, 2008
40. United States Food and Drug Administration (FDA), FCN001102, 2011
41. United States Food and Drug Administration (FDA), FCN001118, 2012
42. United States Food and Drug Administration (FDA), FCN001190, 2012
43. United States Department of Agriculture, Food Safety and Inspection Service (USDA, FSIS), FSIS Directive - Safe and suitable ingredients used in the production of Meat, Poultry, and Egg products (<http://www.fsis.usda.gov/OPPDE/rdad/FSISDirectives/7120.1.pdf>), 2013.
44. Health Canada Health Products and Food Branch letter (ADDPS10031202), March 7 2011.
45. Health Canada Health Products and Food Branch letter (ADDPS12032702), June 4 2013.
46. Health Canada Health Products and Food Branch letter (ADDPS12032701), June 6 2013.
47. Food Standards Australia New Zealand (FSANZ), Food Standards (Application A1054 – Dibromo – dimethylhydantoin (DBDMH) as a processing aid) Variation, 2012.
48. Food and Agriculture Organization / World Health Organization (FAO/WHO), 773 Bromide ion (Pesticide residue in food 1988 evaluation Part II Toxicology), 1988.
49. Gross F, Tripod J, Meier R: Zur pharmakologischen charakterisierung des Schlafmittels Doriden (On the pharmacological characterization of Doriden sleep agent), Swiss Medical Weekly Journal 1955; 13: 305-309.
50. Kroes R, Rauws AG, Verhoef CH, Vries T, Berkvens JM: Oriënterend toxiciteits onderzoek van het bromide-ion in chloride-arm dieet bij de rat (Exploratory toxicity study of the bromide ion in a low-chloride diet in rats), National Institute of Public Health, Netherland, 1974.
51. Loeber JG, Franken MA, van Leeuwen FX: Effect of sodium bromide on endocrine parameters in the rat as studied by immunocytochemistry and radioimmunoassay. , Food Chem Toxicol 1983; 21(4): 391-404.

52. Rauws AG: Pharmacokinetics of bromide ion - an overview, *Food Chem Toxicol* 1983; 21(4): 379-382.
53. Rauws AG, Van Logten MJ: The influence of dietary chloride on bromide excretion in the rat, *Toxicology* 1975; 3: 29-32.
54. Sangster B, Krajnc EI, Loeber JG, Rauws AG, Logten MJ.: Study of sodium bromide in human volunteers, with special emphasis on the endocrine system, *Hum Exp Toxicol* 1982; 1: 393-402.
55. Sangster B, Blom JL, Baas C, Loeber JG, Rauws AG: Onderzoek naar de invloed van natriumbromide bij menselijke vrijwilligers; III (Study about the influence of sodium Bromide in human volunteers; III), National Institute for Public Health and the Environment, Netherland, 1986.
56. Sangster B, Blom JL, Sekhuis VM, Koedam JC, Krajnc EI, Loeber JG, et al.: Onderzoek naar de invloed van natriumbromide bij menselijke vrijwilligers; II (Study into the influence of sodium bromide on human volunteers; II), National Institute of Public Health, Netherland, 1982b.
57. Sangster B, Blom JL, Sekhuis VM, Loeber JG, Rauws AG, Koedam JC, et al.: The influence of sodium bromide in man: a study in human volunteers with special emphasis on the endocrine and the central nervous system, *Food Chem Toxicol* 1983; 21(4): 409-419.
58. Smith PK, Hambourger WE: Antipyretic toxic effects of combinations of acetanilide with sodium bromide and with caffeine, *J Pharmacol Exp Ther* 1935; 55: 200-205.
59. Söremark R, Ullberg S: Distribution of bromide in mice. An autoradiographic study with Br⁸², *International Journal of Applied Radiation and Isotopes* 1960; 8: 192-197.
60. van Leeuwen FXR, den Tonkelaar EM, van Logten MJ.: Toxicity of sodium bromide in rats: effects on endocrine system and reproduction., *Food Chem Toxicol* 1983; 21(4), 383-389.
61. van Logten MJ, Rauws AG, Kroes R, den Tonkelaar EM, van Esch GJ: Semichronic toxicity studies of sodium bromide in rats on a normal diet and a low chloride diet, *Medicine Faculty Landbouww Rijksuniv Gent* 1976; 41/2: 1499-1507.
62. van Logten MJ, Wolthuis M, Rauws AG, Kroes R: Short-term toxicity study on sodium bromide in rats, *Toxicology* 1973; 1, 321-327.
63. van Logten MJ, Wolthuis M, Rauws AG, Kroes R, den Tonkelaar EM, Berkvens H, van Esch GJ: Semichronic toxicity study of sodium bromide in rats, *Toxicology* 1974; 2, 257-267.

64. Bowles A: Reverse mutation assay "Ames test" using *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli*, Harlan Laboratories Ltd, 2009.
65. Voss E, Haskell AR, Gartenberg L: Reduction of tetramine toxicity by sedatives and anticonvulsants, *J Pharm Sci* 1961; 50: 858-860.
66. Food Standards Australia New Zealand (FSANZ): Supporting document 1 Risk and technical assessment report, 2012.
67. Australia New Zealand Food Authority (ANZFA), Full Assessment Report and Regulatory Impact Statement Report, Application A393 – Bromo-chloro-dimethylhydantoin (BCDMH) as a processing aid (<http://www.foodstandards.gov.au/foodstandards/applications/applicationa393bromo934.cfm>), 2000.
68. Australian Government Department of Environment, Methyl Bromide (<http://www.environment.gov.au/atmosphere/ozone/ods/methylbromide/index.html>), 2011.
69. European Food Safety Authority (EFSA), Pesticide toxicological reference values (<http://www.efsa.europa.eu/en/mrls/docs/toxicovaluesr.pdf>), 2008.
70. Food and Agriculture Organization / World Health Organization (FAO/WHO), Evaluation of some pesticide residues in food, 1967.
71. United States Environmental Protection Agency (EPA), Halohydantoins toxicology chapter - Revised risk assessment for the reregistration eligibility decision (<http://www.regulations.gov/#!documentDetail;D=EPA-HQ-OPP-2004-0303-0007>), 2004.
72. Food Standards Australia New Zealand (FSANZ), Application A1054 Dibromo-Dimethylhydantoin (DBDMH) as a processing aid Approval report, 2012.
73. 食品安全委員会, 清涼飲料水中のジクロロブロモメタンの規格基準改正に係る食品健康影響評価, 2009.
74. 食品安全委員会, 清涼飲料水中のブロモジクロロメタンの規格基準改正に係る食品健康影響評価, 2009.
75. 食品安全委員会, 清涼飲料水中のブロモホルムの規格基準改正に係る食品健康影響評価, 2009.
76. 食品安全委員会, 清涼飲料水中の臭素酸の規格基準改正に係る食品健康影響評価, 2009.
77. 添付しない（資料 77 については、次亜臭素酸の規格濃度範囲の上限値を暴露評価で用いた最大濃度と一致させるため、規格範囲を変更したことによる実測試験を追加したこと、また、分子式を CAS の記載に合わせたこと等の改定があったため、新たに資料 151 として添付した。）

78. Kalchayanand N, Arthur TM, Bosilevac JM, Brichta-Harhay DM, Guerini MN, Shackelford SD, et al.: Effectiveness of 1,3-Dibromo-5,5 Dimethylhydantoin on Reduction of Escherichia coli O157:H7- and Salmonella-Inoculated Fresh Meat, Journal of Food Protection 2009; 72(1): 151-156.
79. JBS, Bone Dust Cabinet with Bovibrom, 2010 (未公表) マスキング
80. Yang X, Woerner DR, Pittman CI, Perham CC, Geornaras I, Belk KE: Validation of thermal pasteurization used with and without a commercial Bromine solution for use as a whole carcass antimicrobial intervention, Colorado State University, 2013 (未公表) マスキング
81. Pittman CI, Geornaras I, Woerner DR, Nightingale KK, Sofos JN, Goodridge LD et al.: Assessment of BoviBrom against Escherichia coli on Beef carcass tissue, Colorado State University, 2011 (未公表) マスキング
82. McNaughton JL, Roberts MS, Kuhlmeier RW, Ricks GM, Liimatta EW: Efficacy of DBDMH (1,3-Dibromo-5,5-dimethylhydantoin) as a Biocide for Poultry Chill Tank Water and Carcass Bacteria Populations, Solution BioSciences Inc., Albemarle Poultry Sciences LLC, 2010 (未公表) マスキング
83. Young JM: AOAC Chlorine (available) in disinfectants germicidal equivalent concentration method, Hill Top Research Corporation, 2009 (未公表) マスキング
84. Ricks GM: A field efficacy study evaluating the antimicrobial effects of DBDMH (1,3-Dibromo-5,5-dimethylhydantoin) during off-line reprocessing of poultry, Albemarle Poultry Sciences LLC, 2007 (未公表) マスキング
85. Mesrobian C, Howarth J: Persistence of High Concentrations (900 ppm) of Hypobromous Acid Residuals on Treated Beef Tissue Surfaces, Enviro Tech Chemical Services, Inc., 2010 (未公表) マスキング
86. (HPVIS (2013)から要約入手)Resnis P, Craine EM: The absorption and elimination of dimethylhydantoin-14C by rats (Project number WIL-12003), WIL Research Laboratories, Inc., 1983.
87. Selim S: Absorption, Distribution, Metabolism and Excretion (ADME) Studies of 5,5-Dimethylhydantoin in the Rat, Biological Test Center, 1990 (未公表) マスキング
88. (HPVIS (2013)から要約入手)Mayhew DA: Acute oral toxicity in rats (Project number WIL-79298), WIL Research Laboratories, Inc., 1980.
89. (HPVIS (2013)から要約入手)Auletta CS: Acute dermal toxicity study in rabbits (Project number 4737-77), Bio/dynamics Inc., 1979.
90. (HPVIS (2013)から要約入手)Mayhew DA: Acute percutaneous toxicity study in rabbits (Project number WIL-79298), WIL Research Laboratories, Inc., 1980.

91. (HPVIS (2013)から要約入手)Naas DJ: 28-day dietary study in mice with DMH (Study number WIL-12164), WIL Research Laboratories, Inc., 1991.
92. Hermansky SJ, Benson CL: Twenty-Eight day dietary dose range-finding study with 5,5-dimethylhydantoin (DMH) in CD-1 mice , Bushy Run Research Center, 1995 (未公表) マスキング
93. (HPVIS (2013)から要約入手)Mayhew DA: Four week range-finding oral gavage study in rats with dimethylhydantoin (DMH) (Project number WIL-81164), WIL Research Laboratories, Inc., 1982.
94. (HPVIS (2013)から要約入手)Naas DJ: 28-day oral (capsule) study in beagle dogs with DMH (Study number WIL-12234), WIL Research Laboratories, Inc., 1991.
95. Goldenthal EI: Evaluation of Dimethylhydantoin in an Eight-week Dietary Toxicity Study in Dogs, MPI Research (International Research and Development Corporation), 1996 (未公表) マスキング
96. (HPVIS (2013)から要約入手)Naas DJ: 90-day dietary study in mice with DMH (Project number WIL-12186), WIL Research Laboratories, Inc., 1991.
97. (HPVIS (2013)から要約入手)Mayhew DA: 90-day oral gavage study in rats dosed with dimethylhydantoin (DMH) (Project number WIL-81165), WIL Research Laboratories, Inc., 1982.
98. (HPVIS (2013)から要約入手)Laveglia J: 90-day study in rats with 5,5-dimethylhydantoin (Project number WIL-12034), WIL Research Laboratories, Inc., 1985.
99. Federici TM: 90-day subchronic oral toxicity study in rats with dimethylhydantoin, Exxon Biomedical Sciences Inc., 1991 (未公表) マスキング
100. (HPVIS (2013)から要約入手)Naas DJ: 13-week oral (capsule) study in dogs with DMH (Study number WIL-12244), WIL Research Laboratories, Inc., 1992.
101. Goldenthal EI: Evaluation of dimethylhydantoin (DMH) in a one-year chronic dietary toxicity study in dogs (Project number 647-004), International Research and Development Corporation, 1995 (未公表) マスキング
102. (HPVIS (2013)から要約入手)Chengelis CP: One-year oral toxicity study in dogs with DMH (Project number WIL-12274), WIL Research Laboratories, Inc., 1995.
103. Hermansky SJ, Loughran KA: Chronic dietary oncogenicity study with 5,5-dimethylhydantoin (DMH) in CD-1® mice (Project number 91N0112), Bushy Run Research Center, Union Carbide Corporation, 1994 (未公表) マスキング
104. (HPVIS (2013)から要約入手)Naas DJ: 18-Month dietary oncogenicity study in mice with DMH (Project number WIL-12257), WIL Research Laboratories, Inc., 1996.

105. Hermansky SJ, Benson CL: Chronic dietary toxicity/oncogenicity study with 5,5-dimethylhydantoin (DMH) in rats (Project number 91N0113), Bushy Run Research Center, Union Carbide Corporation, 1994 (未公表) マスキング
106. (HPVIS (2013)から要約入手)Naas DJ: Combined 24-month toxicity/oncogenicity study in rats with DMH (Project number WIL-12258), WIL Research Laboratories, Inc., 1996.
107. Neeper-Bradley TL, Kubena MF: Two-generation reproduction study in CD® rats with 5,5-dimethylhydantoin (DMH) administered in the diet (Project number 91N0094), Bushy Run Research Center, Union Carbide Corporation, 1994 (未公表) マスキング
108. (HPVIS (2013)から要約入手)Nemec MD: Two-generation reproduction study of dimethylhydantoin administered orally in rats (Study number WIL-12153), WIL Research Laboratories, Inc., 1992.
109. Driscoll CD, Neeper-Bradley TL: Developmental toxicity evaluation of 5,5-dimethylhydantoin (DMH) administered by gavage to CD® rats (Project number 91N0048), Bushy Run Research Center, Union Carbide Chemicals and Plastics Company Inc., 1992 (未公表) マスキング
110. (HPVIS (2013)から要約入手)Rodwell DE: A teratology study in rats with 5,5-dimethylhydantoin (Study number WIL-12002), WIL Research Laboratories, Inc., 1983.
111. (HPVIS (2013)から要約入手)Nemec MD: A developmental toxicity study of dimethylhydantoin in rabbits (Study number WIL-12174), WIL Research Laboratories, Inc., 1992.
112. (HPVIS (2013)から要約入手)Jagannath DR: Mutagenicity evaluation of dimethyl hydantoin 40-683 635658 in the Ames Salmonella/microsome plate test (Project number 20838), Litton Bionetics, Inc., 1978.
113. Haworth SR: Salmonella/mammalian-microsome preincubation mutagenicity assay (Ames test) (Study number T1803.502), Microbiological Associates A Unit of Whittaker Corporation, 1982 (未公表) マスキング
114. (HPVIS (2013)から要約入手)Suzuki O: Metaphase chromosome aberration assay in cultured mammalian cells (Test number 7715), Genetic Laboratory, JBC, Inc., 1995.
115. Thilagar A: Cytogenicity study - Chinese hamster ovary (CHO) cells in vitro (Dimethylhydantoin) (Study number T1803.338), Microbiological Associates A Unit of Whittaker Corporation, 1982 (未公表) マスキング

116. (HPVIS (2013)から要約入手)Farrow MG: Mouse lymphoma forward mutation assay (Report number 224-102), Hazleton Laboratories America, Inc., 1982.
117. Kirby PE: L5178Y TK+/- mouse lymphoma mutagenesis assay (Study number T1803.701001), Microbiological Associates A Unit of Whittaker Corporation, 1982 (未公表) マスキング
118. Thilagar A: Unscheduled DNA synthesis in primary cultures of rat hepatocytes (by autoradiography) (Study number T1803.380002), Microbiological Associates A Unit of Whittaker Corporation, 1982 (未公表) マスキング
119. (HPVIS (2013)から要約入手)Farrow MG: Cell transformation assay dimethylhydantoin with metabolic activation (Report number 224-104), Hazleton Laboratories America, Inc., 1983.
120. (HPVIS (2013)から要約入手)Farrow MG: Cell transformation assay dimethylhydantoin without metabolic activation (Report number 224-104), Hazleton Laboratories America, Inc., 1983.
121. (HPVIS (2013)から要約入手)Farrow MG: In vivo bone marrow cytogenetic assay in rats 5,5-dimethylhydantoin (DMH) (Project number 224-103), Hazleton Laboratories America, Inc., 1982.
122. Mitsumori K, Maita K, Kosaka T, Miyaoka T, Shirasu Y: Two-year oral chronic toxicity and carcinogenicity study in rats of diets fumigated with methyl bromide, Food Chem Toxicol 1990; 28(2): 109-119.
123. Moore GE: Primary skin irritation study in rabbits, Product Safety Labs, 1999 (未公表) マスキング
124. Moore GE: Dermal sensitization study in guinea pigs (Buehler Method), Product Safety Labs, 1999 (未公表) マスキング
125. Gutierrez M: Final report for evaluating DMH and Bromide residues remaining on short beef plates treated with DBDMH in a commercial beef plant by water rinse extraction, Albemarle Corporation, 2013 (未公表) マスキング
126. Gutierrez M: Final report for evaluating DMH and Bromide residues remaining on beef meat treated with DBDMH, Albemarle Corporation, 2012 (未公表) マスキング
127. Liimatta E: Final report for evaluating Bromate residues remaining on beef exposed to 1000-ppm available Bromine from DBDMH, Albemarle Corporation, 2011 (未公表) マスキング
128. Liimatta E: Final Report for Evaluating Runoff Solution after Beef Parts or Trim are Sprayed with 300 ppm Available Bromine from DBDMH, Albemarle Corporation, 2008 (未公表) マスキング

129. Liimatta E: Final Report for Determining Byproducts after Beef Meat is Sprayed with 300 ppm Available Bromine from DBDMH, Albemarle Corporation, 2007 (未公表) マスキング
130. Liimatta E: Final Report for Evaluating Residues Remaining on Beef Exposed to 600 or 1000 ppm Available Bromine from DBDMH, Albemarle Corporation, 2010 (未公表) マスキング
131. Liimatta E: Final Report For One Hour Spray Exposure to Beef, Albemarle Corporation, 2014 (未公表) マスキング
132. Shelton D: Final report for determination of Bromate in poultry chill tank fluid treated with 1,3-dibromo-5,5-dimethylhydantoin (DBDMH), Albemarle Corporation, 2002 (未公表) マスキング
133. Nathan Levy III H: Analytical protocol for the determination of Trihalomethanes in poultry chill tank fluid treated with 1,3-Dibromo-5,5-dimethylhydantoin (DBDMH), Albemarle Corporation, 2002 (未公表) マスキング
134. Liimatta E: Migration and Estimated Daily Intake from solutions of DBDMH, Albemarle corporation, 2014 (未公表) マスキング
135. Liimatta E: Protocol for Evaluating Solution Uptake after Beef Meat is Sprayed with 300 ppm Available Bromine from DBDMH, Albemarle Corporation, 2007 (未公表) マスキング
136. United States Department of Agriculture, Food Safety and Inspection Service (USDA, FSIS), Retained Water in Raw Meat and Poultry Products: Poultry Chilling Requirements, Federal Register 2001; 66(6): 1750-1772.
137. United States Department of Agriculture, Food Safety and Inspection Service (USDA, FSIS), Water in Meat and Poultry (http://www.fsis.usda.gov/wps/portal/fsis/topics/food-safety-education/get-answers/food-safety-fact-sheets/meat-preparation/water-in-meat-and-poultry/ct_index), 2013.
138. Liimatta E: Calculation of Available Bromine and Concentration of By-products, Albemarle Corporation, 2014 (未公表) マスキング
139. Liimatta E: DBDMH Use in Food Safety and the Potential for THM Formation, Albemarle Corporation, 2014 (未公表) マスキング
140. Padhi RK, Sowmya M, Mohanty AK, Bramha SN, Satpathy KK: Formation and Speciation Characteristics of Brominated Trihalomethanes in Seawater Chlorination, Water Environment Research 2012; 84(11): 2003-2009.
141. Abdel-Wahab A, Khodary A, Bensalah N: Formation of Trihalomethanes during Seawater Chlorination, Journal of Environmental Protection 2010; 1: 456-465.

142. Singer PC, Shi J: Control of Haloacetic acid formation in North Carolina drinking water, Water Resources Research Institute of The University of North Carolina, 2008.
143. Brown D, Bridgemann J, West JR: Predicting chlorine decay and THM formation in Water supply systems, Reviews in Environmental Science and Biotechnology 2011; 10: 79-99.
144. Liimatta E: DBDMH Use in Food Safety and the Potential for Bromate Formation, Albemarle Corporation, 2014 (未公表) マスキング
145. Von Gunten U: Ozonation of drinking water: Part II. Disinfection and by-product formation in presence of bromide, iodide or chlorine, Water Research 2003; 37: 1469-1487.
146. Macalady DL, Carpenter JH, Moore CA: Sunlight-Induced Bromate Formation in Chlorinated Seawater, Science 1977; 25: 1335-1337.
147. Weinberg HS, Delcomyn CA, Unnam V: Bromate in chlorinated drinking waters: occurrence and implications for future regulation, Environment Science & Technology 2003; 37(14): 3104-3110.
148. Beckwith RC, Margerum DW: Kinetics of Hypobromous Acid Disproportionation, Inorganic Chemistry 1997; 36(17): 3754-3760.
149. The National Center for Environmental Assessment, United States Environmental Protection Agency (EPA), Exposure Factors Handbook, Volume II, Chapter 11 (<http://www.epa.gov/ncea/efh/pdfs/efh-chapter11.pdf>), 1997.
150. 厚生労働省, 国民健康・栄養調査報告, 平成 24 年度
151. エランコアニマルヘルス, Albemarle corporation: DBDMH の物理化学的性状, 分析方法, 製造方法及び安定性に関する資料(2015 年 6 月) (未公表)
152. CAS hypobromous acid, SciFinder
153. Grave PA : Bromide-ion residues in food and feedstuffs, Fd Chem. Toxic, 1983; 21(4): 357 – 359.