資料１

# 添加物評価書

（案）

# 亜硫酸水素アンモニウム水

２０２０年９月

食品安全委員会添加物専門調査会

## 目次

**〇審議の経緯**

| | |
|---|---|
| 2020 年 2 月 18 日 | 厚生労働大臣から添加物の指定に係る食品健康影響評価について要請（令和２年２月 18 日厚生労働省発生食 0218 第１号）、関係書類の接受 |
| 2020 年 2 月 25 日 | 第 774 回食品安全委員会（要請事項説明） |
| 2020 年 5 月 25 日 | 第 176 回添加物専門調査会 |
| 2020 年 6 月 22 日 | 第 177 回添加物専門調査会 |
| 2020 年 8 月 21 日 | 第 179 回添加物専門調査会 |
| 2020 年 9 月 24 日 | 第 180 回添加物専門調査会 |

**〇食品安全委員会委員名簿**

（2018年7月1日から）
佐藤　洋　（委員長）
山本　茂貴（委員長代理）
川西　徹
吉田　緑
香西　みどり
堀口　逸子
吉田　充

**〇食品安全委員会添加物専門調査会専門委員名簿**

（2019 年 10 月 1 日から）
梅村　隆志（座長）
頭金　正博（座長代理）
石井　邦雄
石塚　真由美
伊藤　裕才
宇佐見　誠
杉山　圭一
祖父江　友孝
髙須　伸二
髙橋　智
瀧本　秀美
多田　敦子
戸塚　ゆ加里
中江　大
西　信雄
北條　仁
松井　徹
横平　政直

＜専門参考人＞
伊藤　清美（武蔵野大学薬学部薬物動態学研究室 教授）

1

# 要　約

~~酸化防止剤、~~発酵助成剤、保存料、酸化防止剤として使用される添加物「亜硫酸水素アンモニウム水」（CAS 登録番号：10192-30-0（亜硫酸水素アンモニウムとして））について、各種試験成績等を用いて食品健康影響評価を実施した。

| |
|---|
| 事務局より：<br>本項目「要約」は、「Ⅳ．食品健康影響評価」を記載した後、記載いたします。 |

## Ⅰ．評価対象品目の概要

### １．用途

~~酸化防止剤、~~発酵助成剤、保存料、酸化防止剤（参照1、2）【委員会資料、概要書】

多田専門委員：
１．用途
酸化防止剤、発酵助成剤、保存料（参照　１）【委員会資料】
と記載されておりますが、概要書（p６)では、
　用途　：発酵助成剤、保存料、酸化防止剤
となっており、亜硫酸水素アンモニウム水の場合、発酵助成剤としての用途が重要なのではないかと思われます。用途の記載順を、概要書の記載順に揃えていかがでしょうか。

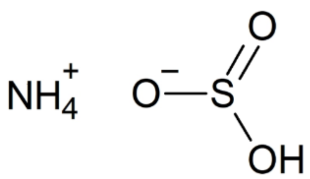
事務局より：
ご指摘を踏まえ、修正しました。

### ２．名称等

和名：亜硫酸水素アンモニウム水
英名：Ammonium Hydrogen Sulfite Water
CAS 登録番号：10192-30-0（亜硫酸水素アンモニウム、主たる有効成分として）（参照 1、2、3）【委員会資料、概要書、1】

### ３．分子式及び構造式

$NH_4HSO_3$



（亜硫酸水素アンモニウム、主たる有効成分として）（参照 1、3）【委員会資料、1】

### ４．分子量

99.11（亜硫酸水素アンモニウム、主たる有効成分として）（参照 2、3）【概要書、1】

### ５．性状等

今般、厚生労働省に「亜硫酸水素アンモニウム水」の添加物としての指定及び規

格基準の設定を要請した者（以下「指定等要請者」という。）による添加物「亜硫酸水素アンモニウム水」の成分規格案では、定義として「亜硫酸水素アンモニウムを主成分とする水溶液である。」、性状として「本品は、淡黄色の液体である。」、含量は、二酸化硫黄として 8.0%以上及びアンモニアとして 2.1%以上を含む、としている。（参照 2、3）【概要書、1】

【176 回添加物調査会と同様の記載】
伊藤裕才専門委員：
濃度が示されていません。概要書には「本品は、二酸化硫黄（$SO_2$=64.06）8.0%以上及びアンモニア（$NH_3$=17.03）2.1%以上を含む。」とあります。 OIV のものと違い希釈されているので、説明すべきと思います。

事務局より：
ご指摘いただいた記載と同様記載である概要書の含量について追記しました。

多田専門委員：
御提案に異論はございません。

【177 回添加物調査会と同様の記載】
多田専門委員：
「含量として「本品は、二酸化硫黄 8.0%以上及びアンモニア 2.1%以上を含む。」としている。」の箇所について、概要書の記載の通りの御提案ですが、より適切な表現とするため、以下への変更を提案します。

「含量は、二酸化硫黄として 8.0%以上及びアンモニアとして 2.1%以上を含む、としている。」

事務局より：
ご指摘を踏まえ、本文を修正しました。

## ６．製造方法

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

## ７．安定性

指定等要請者は、欧州連合（EU[1]）流通品の情報を引用し、「未開封の状態で製造から 2 年間が使用期限とある。」と説明し、また、亜硫酸水素アンモニウムから解離した亜硫酸水素イオン及びアンモニウムイオンのうち、亜硫酸水素イオンは、水中で二酸化硫黄と平衡状態にあり、酸性条件ではその平衡は二酸化硫黄の側に大きく傾いているとしている。（参照 2、3、5）【概要書、1、39】

【176 回添加物調査会と同様の記載】

伊藤裕才専門委員：

液中で「二酸化硫黄とアンモニウムイオンに解離」とありますが、「解離」の表現がひっかかります。本添加物は二酸化硫黄をアンモニア水に吹き込んで製造しますが、「亜硫酸水素アンモニウムを主成分とする水溶液」と定義されているので、「解離」というならば「亜硫酸水素イオンとアンモニウムイオンに解離」というべきかと思います。そのうえで「亜硫酸水素イオンは水中で二酸化硫黄と平衡状態にあり、酸性条件ではその平衡は二酸化硫黄の側に大きく傾いている」・・のように丁寧に説明するのはいかがでしょうか？その後に出てくるときは「液中で二酸化硫黄とアンモニウムイオンを生じる」などの表現でよいかと思います。

事務局より：

ご指摘いただいた内容を追記するとともに、概要書 P26 を踏まえ、平衡状態について記載しました。また、評価書の他の記載も修正しました。

多田専門委員：

御提案に異論はございません。

## ８．起源又は発見の経緯等

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

また、亜硫酸水素アンモニウムはワインの原料となる発酵前あるいは発酵中の果汁やマスト[2]に加えることで、液中で二酸化硫黄及びアンモニウムイオンを生じ、アンモニウムイオンは遊離アミノ態窒素の一種として酵母が直接資化できる栄養源となり、円滑な果汁の発酵を促進する。一方、二酸化硫黄は果汁の酸化を防ぐ役割

[1] 本文中で用いられた略称については、別紙に名称等を示す。

[2] 指定等要請者は、用語の定義として、マストは「ブドウを除梗・破砕してできた、果汁に果皮、種子等の固形物が混合したものでアルコール発酵が終了していないものを指す。アルコール分の有無は問わない。」としている。

を果たす。さらに、果汁中では水と反応し、二酸化硫黄と亜硫酸水素イオンの形をとるが、主に二酸化硫黄が果汁の発酵に好ましくない有害微生物の発生及び増殖を抑制する効果を持つとしている。(参照 2、3、6、7、8)【概要書、1、5、6、11】

多田専門委員：
　また、の後に、以下の文を追記すると理解しやすくなると考えますが、いかがでしょうか。
　　また、亜硫酸水素アンモニウム水はワインの原料となる発酵前あるいは発酵中の果汁やマストに加えることで、液中でアンモニウムイオンと二酸化硫黄に解離し、アンモニウムイオンは～

事務局より：
　ご指摘を踏まえ、安定性の記載等を参照し追記しました。

【176 回添加物調査会と同様の記載】
伊藤裕才専門委員：
　本品をなぜワイン発酵に添加するのかという意義を説明すべきと思います。概要書 p6 に「アンモニウムイオンは FAN の一種として酵母が直接資化できる栄養源となり、円滑な果汁の発酵を促進する。一方、二酸化硫黄は果汁の酸化を防ぐ役割を果たす。さらに、果汁中では水と反応し、一部 $SO_2$、$HSO_3^-$の形をとるが、主に $SO_2$ が果汁の発酵に好ましくない有害微生物の発生及び増殖を抑制する効果を持つ」とあるので、これをもとに「アンモニウムイオンは遊離アミノ態窒素の一種として酵母が直接資化できる栄養源となり、円滑な果汁の発酵を促進する。一方、二酸化硫黄は果汁の酸化を防ぐ役割を果たす。さらに、果汁中では水と反応し、二酸化硫黄と亜硫酸水素イオンの形をとるが、主に二酸化硫黄が果汁の発酵に好ましくない有害微生物の発生及び増殖を抑制する効果を持つ」のように記すと読者はわかりやすいかと思います。

事務局より：
　ご指摘いただいた内容を踏まえ、添加する意義を追記いたしました。

多田専門委員：
　御提案に異論はございません。

## ９．我が国及び諸外国等における使用状況

### （１）我が国における使用状況

我が国において、亜硫酸水素アンモニウム水は添加物として指定されていない。(参照 2、9)【概要書、17】

（参考）

亜硫酸水素アンモニウム水に関連する物質として、指定等要請者は、亜硫酸ナトリウム、ピロ亜硫酸ナトリウム及びピロ亜硫酸カリウムが添加物として指定されていると説明している。（参照 2、9）【概要書、17】

### （２）諸外国等における使用状況

#### ①　コーデックス委員会

亜硫酸水素アンモニウム水は、食品添加物に関するコーデックス一般規格（GSFA）のリストに収載されていない。（参照 2、10）【概要書、7】

（参考）

二酸化硫黄及び亜硫酸塩類[3]は GSFA のリストに収載されている。これらの最大使用基準値について、「ブドウ酒」（食品分類 14.2.3）では 350 mg/kg[4]（二酸化硫黄としての残存量）と規定されている。（参照 2、10）【概要書、7】

#### ②　米国における使用状況

亜硫酸水素アンモニウム水は、一般に安全とみなされる（GRAS）物質のリストに収載されていない。（参照 2、11、12）【概要書、13、15】

一方で、指定等要請者は、「2005 年より自国の醸造規則を満たしたワインの流通を相手国が認めるとする 2 国間協定が EU とアメリカで結ばれているため、EU 域内からの輸入ワインについては亜硫酸水素アンモニウムを EU の醸造規則を遵守して使用したワインもアメリカ国内で流通できることとなっている。」と説明している。（参照 2、13）【概要書、14】

#### ③　EU における使用状況

EU において、亜硫酸水素アンモニウム水は食品添加物として指定されていない[5]。（参照 2、14、15）【概要書、9、10】

一方で、EU 域内で適用される醸造規則において、亜硫酸水素アンモニウムは、アルコール発酵の目的に限ってブドウや発酵中の果汁及びマスト[2]にのみ 0.2 g/L 以下（塩として）の量で使用できるとされている。（参照 2、8、16）【概要書、11、12】

（参考）

---

[3] 亜硫酸ナトリウム、亜硫酸水素ナトリウム、ピロ亜硫酸ナトリウム、ピロ亜硫酸カリウム、亜硫酸カリウム及びチオ硫酸ナトリウム

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

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

二酸化硫黄及び亜硫酸塩類[6]は添加物として指定されている。（参照 2、14、15）【概要書、9、10】

#### ④　オーストラリア及びニュージーランドにおける使用状況

オーストラリア及びニュージーランドでは、亜硫酸水素アンモニウムは、ワイン、発泡ワイン及び強化ワインの醸造における酵母の栄養とする目的で、適正製造規範（GMP）下での使用が認められている。（参照 2、17）【概要書、16】

また、オーストラリアでは、亜硫酸水素アンモニウムは、2017 年に加工助剤として追加された。（参照 2、6）【概要書、6】

## １０．我が国及び国際機関等における評価

### （１）我が国における評価

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

亜硫酸水素アンモニウム水に関連する物質として、二酸化硫黄及び亜硫酸塩類[7]については、平成 15 年 7 月の厚生労働省からの亜硫酸塩類の使用基準改正（干しぶどう又は乾燥じゃがいもの最大残存量について、新たに二酸化硫黄としてそれぞれ 1.5 g/kg 又は 0.50 g/kg と設定）に係る諮問に対して、食品安全委員会は、平成 15 年 9 月に以下のように通知している。（参照18）【35】

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

また、亜硫酸水素アンモニウム水の解離成分であるアンモニウムイオンについては、食品安全委員会は、添加物評価書「アンモニウムイソバレレート（第 2 版）」（2014）において、以下のように評価し~~食品健康影響評価をとりまとめ~~ている。（参照19）【36】

「アンモニアは、ヒトが食品を摂取することにより、消化管内において 1 日当たり十二指腸で 10 mg、結腸で約 3 g 産生されるとされている。産生されたアンモニアはほとんどが吸収された後、門脈循環に入るとされている。健常なヒトではアンモニウムイオンは肝臓で速やかに尿素に変換され、尿中に排泄されるとされている。添加物（香料）「アンモニウムイソバレレート」を摂取することで体内に取り込まれるアンモニアの量は、ヒトにおいて食事から産生されるアンモニ

[6] 亜硫酸ナトリウム、亜硫酸水素ナトリウム、ピロ亜硫酸ナトリウム、ピロ亜硫酸カリウム、亜硫酸カルシウム、亜硫酸水素カルシウム及び亜硫酸水素カリウム
[7] 亜硫酸ナトリウム、次亜硫酸ナトリウム、ピロ亜硫酸ナトリウム及びピロ亜硫酸カリウム

アの量の変動の範囲内と考えられ、また、ヒト体内で産生されたアンモニアと同様に代謝されると考えられることから、ここではアンモニアに係る知見は参照しなかった。（引用終わり）」

さらに、食品安全委員会は、添加物評価書「硫酸アルミニウムアンモニウム、硫酸アルミニウムカリウム」（2017）において、以下のように評価し~~食品健康影響評価をとりまとめ~~ている。（参照20）【38】

「アンモニウムイオンについては、添加物「アンモニウムイソバレレート（第2 版）」の評価書（2014）において、ヒトが食品を摂取することにより、消化管内において、1 日当たり十二指腸で 10 mg、結腸で約 3 g のアンモニアが産生されるとされている。産生されたアンモニアはほとんどが吸収された後、門脈循環に入るとされている。健常なヒトではアンモニウムイオンは肝臓で速やかに尿素に変換され、尿中に排泄されるとされている。

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

## （２）国際機関等における評価

### ① JECFA における評価

亜硫酸水素アンモニウム水の安全性評価は確認できなかった。

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

1973 年の第 17 回会合において、二酸化硫黄及び亜硫酸塩類[8]を評価した結果、二酸化硫黄及び亜硫酸塩類グループとしての ADI を、二酸化硫黄として 0-0.7 mg/kg 体重/日と設定した。（参照21、22）【18、19】

1986 年の第 30 回会合において、二酸化硫黄及び亜硫酸塩類[9]を評価した結果、以前に設定した二酸化硫黄及び亜硫酸塩類グループとしての ADI（二酸化硫黄として 0-0.7 mg/kg 体重/日）が維持された。（参照23、24）【20、21】

1998 年の第 51 回会合において、二酸化硫黄及び亜硫酸塩類[10]を評価した結

[8] ピロ亜硫酸ナトリウム、ピロ亜硫酸カリウム、亜硫酸ナトリウム及び亜硫酸水素ナトリウム

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

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

果、以前に設定した二酸化硫黄及び亜硫酸塩類グループとしての ADI（二酸化硫黄として 0-0.7 mg/kg 体重/日）が維持された。また、それらの摂取量推計が行われた結果、各国ごとの使用基準の最高量を用いる摂取量推計では、ADI を下回ったが、GSFA 草案の最高使用量や食品群の範囲を用いる摂取量推計では、ADI を上回ったとされた。この点については、GSFA 草案に収載された食品群の範囲が各国より多く、特定の食品群の使用量が一般的に各国の最高使用量より高いためとされている。（参照 2、25、26、27）【概要書、22、23、24】

2008 年の第 69 回会合において、二酸化硫黄及び亜硫酸塩類[11]の暴露評価が行われた結果、一般集団では ADI の範囲内であるが、高摂取者では ADI を超過しているとされた。この点については、いくつかの推計が一日のみの摂取量調査結果に基づいており、まれに摂取する食品について過大推計となることが知られていること、国ごとに食品への使用方法が異なることを指摘しつつ、ADI を超過しないよう代替の保存方法に対する研究の推奨や食品への使用量の減少等を考慮すべきとされている。（参照 2、28）【概要書、25】

### ② 米国における評価

亜硫酸水素アンモニウム水の安全性評価は確認できなかった。なお、亜硫酸水素アンモニウム水に関連する物質として、二酸化硫黄及び亜硫酸塩類[12]について、1976 年に米国生物実験科学連合（FASEB）による評価が行われた結果、現在の使用量や使用方法で、公衆への有害影響を示す合理的根拠はないとしている。（参照29）【30】

### ③ 欧州における評価

亜硫酸水素アンモニウム水の安全性評価は確認できなかった。

なお、亜硫酸水素アンモニウム水に関連する物質として、二酸化硫黄及び亜硫酸塩類[13]について、1994 年に欧州食品科学委員会（SCF）による評価が行われ、二酸化硫黄及び亜硫酸塩類のグループとしての ADI を、二酸化硫黄として 0-0.7 mg/kg 体重/日とした。（参照30）【26】

また、欧州食品安全機関（EFSA）専門家パネルは、2016 年に二酸化硫黄及び亜硫酸塩類[6]の再評価を実施し、現行の二酸化硫黄及び亜硫酸塩類としてのグループ ADI（二酸化硫黄として 0-0.7 mg/kg 体重/日）を適当なものとして維持するが、データベースが改善されるまでの暫定的なものとみなすことが望

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

[12] 亜硫酸水素カリウム、ピロ亜硫酸カリウム、亜硫酸水素ナトリウム、ピロ亜硫酸ナトリウム及び亜硫酸ナトリウム

[13] 亜硫酸ナトリウム、亜硫酸水素ナトリウム、ピロ亜硫酸ナトリウム、ピロ亜硫酸カリウム、亜硫酸カルシウム及び亜硫酸水素カルシウム

ましいと結論づけ、この暫定グループ ADI を再評価することを勧告した。（参照31）【27】

④　オーストラリア及びニュージーランドにおける評価

オーストラリア・ニュージーランド食品基準機関（FSANZ）は、2017 年にワイン製造に関する新規の加工助剤として亜硫酸水素アンモニウムの評価を行った。その結果、現行の JECFA の二酸化硫黄及び亜硫酸塩類としてのグループ ADI を適切[14]と判断している。また、ワイン製造における加工助剤としての亜硫酸水素アンモニウム由来の亜硫酸のばく露量の変化は無視できると予測されるため、ばく露評価は行わなかった。これらを踏まえ、ワイン製造における加工助剤としての亜硫酸水素アンモニウムの使用については、公衆衛生及び安全性に係る懸念は認められなかったと結論づけた。（参照 3）【1】

## １１．評価要請の経緯及び添加物指定の概要

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

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

**表 1　添加物「亜硫酸水素アンモニウム水」の使用基準案**

| 添加物名 | 使用基準案 |
|---|---|
| 亜硫酸水素アンモニウム水 | 亜硫酸水素アンモニウム水は、ぶどう酒の製造に用いる果汁及びぶどう酒（発酵が終了したものを除く。）以外に使用してはならない。<br>亜硫酸水素アンモニウム水の使用量は、亜硫酸水素アンモニウム塩としてぶどう酒の製造に用いる果汁及びぶどう酒（発酵が終了したものを除く。）にあってはその 1 L につき 0.2 g 以下でなければならない。<br>また、亜硫酸水素アンモニウム水は、二酸化硫黄として、 |

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

| | |
|---|---|
| | ぶどう酒（ぶどう酒の製造に用いる酒精分１容量%以上を含有するぶどう搾汁及びこれを濃縮したものを除く。）１kg につき 0.35ｇ以上残存しないように使用しなければならない。<br>（亜硫酸水素アンモニウム水を使用したぶどう酒の製造に用いる果汁を、ぶどう酒（発酵が終了したものを除く。）の製造に用いる場合、亜硫酸水素アンモニウム水をぶどう酒（発酵が終了したものを除く。）に使用するものとみなす。） |

1

## Ⅱ．安全性に係る知見の概要

指定等要請者によると、水中で亜硫酸水素アンモニウムから解離した亜硫酸水素イオン及びアンモニウムイオンのうち、亜硫酸水素イオンは、二酸化硫黄と平衡状態にあり、pH2～5 の範囲では亜硫酸水素イオンが 2/3 以上を占めるが、より強酸性条件下では二酸化硫黄の比率が高くなる。また、添加物として摂取された二酸化硫黄は生体内の水と反応し、亜硫酸水素イオン、亜硫酸イオンを生成する。これらの化学種は消化管に移行し、pH が酸性の胃内では主に亜硫酸水素イオン及び二酸化硫黄として吸収される。さらに、腸にまで移行したものは中性の pH 環境により、主に亜硫酸イオンと亜硫酸水素イオンとして吸収されると説明している。（参照）【概要書、27】

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

アンモニウムイオンについては、添加物評価書「アンモニウムイソバレレート（第2版）」(2014) 及び「硫酸アルミニウムアンモニウム、硫酸アルミニウムカリウム」（2017）において、安全性に係る知見として、添加物「アンモニウムイソバレレート」又は「硫酸アルミニウムアンモニウム」を摂取することで体内に取り込まれるアンモニアの量は、ヒトにおいて食事から産生されるアンモニアの量の変動の範囲内と考えられ、また、ヒト体内で産生されたアンモニアと同様に代謝されると考えられるとされていることから、安全上の懸念はないと考えた。その後、新たな知見は認められていないことから、本評価書では、アンモニアの体内動態及び毒性の検討は行わないこととした。（参照 2、20、32）【概要書、38、243】

### １．体内動態

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

#### （１）吸収

> 【179 回添加物調査会と同様の記載】
> 事務局より：
> 177 回添加物専門調査会において投与経路が吸入ばく露の知見については、毒性の検討において、考慮する必要がない場合には、参考資料とすることが提案されました。
> 現時点で、体内動態の検討に用いていない吸入ばく露の試験については、参考資料に整理させていただきました。なお、毒性の検討によって、それらの知見を考慮する必要があるとなりましたら、変更させていただきます。

また、ご担当の先生と相談の上、知見の区分を再整理しました。そして、区分の構成については、177 回添加物専門調査会のご指摘を踏まえ、試験結果の記載が切り分けられない場合には、「吸収、排泄」のようにまとめた区分としました。このようなまとめた区分となった知見は、「吸収」、「分布」、「代謝」、「排泄」の順に、該当する区分が含まれる区分へ分類、例えば、「吸収、排泄」の場合には、「排泄」ではなく、「吸収」に分類しました。

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

アルビノラット（系統・性別不明、各群 3 匹）、アルビノマウス（系統・性別不明、各群 6～8 匹）及びアカゲザル（雄 1 匹、雌 5 匹）に、[$^{35}$S]亜硫酸ナトリウム含有亜硫酸水素ナトリウム溶液を、50 mg/kg（二酸化硫黄として）の用量で経口投与する試験が実施されている。その結果、マウス及びラットにおいて投与した $^{35}$S の約 70%が 24 時間以内に尿中に排泄されていることから、Gibson and Strong（1973）は、亜硫酸は消化管から素早く吸収されるとしている。なお、サルでは、投与した $^{35}$S の約 90%が 24 時間以内に尿中に排泄されている。（参照33）【58】

【177 回添加物調査会と同様の記載】
松井専門委員：
添加物の動態では消化管からの吸収は重要です。いくつか吸収に言及した知見があると思います。少なくとも「排泄（マウス、ラット、サル）（Gibson and Strong（1973））からは概算できると思います。それらをまずここで示して、その後に同じ知見を記載する場合、再掲とすべきです。なお、この論文では、In monkeys, the absorption of sulphite from the intestinal tract appears to be somewhat more efficient than in rats and mice. However, as already discussed, this may be due to the use of different methods for dose administration.と記されており、種間差は示さない方が良いでしょう。

事務局より：
ご示唆いただいた Gibson and Strong（1973）から、吸収に関する知見を抜粋して記載しました。

松井専門委員：
尿排泄は、サルの方がより早いです。ここで言及しておいた方が良いでしょう。（少なくとも、サルでも消化管から素早く吸収される）

事務局より：

| |
|---|
| ご指摘を踏まえ追記しました。 |

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

Wistar ラット(雌、12 匹)に、体重 5%相当量の 3.46%ピロ亜硫酸ナトリウム溶液を強制経口投与したところ、4 時間で投与した硫黄の 55.1±6.24%が硫酸として尿中に排泄された。(参照34)【96】

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

| |
|---|
| 【179 回添加物調査会と同様の記載】<br>事務局より:<br>177 回調査会でのご指摘を踏まえ、少なくとも 4 時間以内に 55%以上が吸収されていることを追記しました。 |

(2)分布

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

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

Gunnison and Farruggella (1979) は、肺及び大動脈における *S*-スルホン酸濃度の指数回帰式での漸近値は、それぞれ約 900 及び約 9,000 nmol/g 乾燥重量(*S*-スルホン酸として)となるとし、これらの組織における投与 2 及び 4 日後における理論上の *S*-スルホン酸残存率から、各 *S*-スルホン酸濃度は指数関数的に減少し、半減期は 2~3 日になると考察している。また、以前の実験において、肝臓、腎臓、心臓、脳、骨格、筋肉、胃、卵巣、精巣、十二指腸、脾臓及び眼において、検出可能な量の *S*-スルホン酸は認められなかったとしている。(参照35)【68】

② 分布、排泄(イヌ)(Yokoyama ら (1971))

雑種イヌ(性別不明、9 匹)の外科的処置をした上気道に、20 又は 50ppm の[$^{35}$S]二酸化硫黄を 30~60 分間吸入ばく露させて血液サンプルを採取し、透析性及び非透析性の血清放射能が測定された。その結果、透析性の[$^{35}$S]の割合は、血清中[$^{35}$S]濃度の全範囲にわたって基本的に一定で平均 64.4±2.3%であり、血清ろ液に残存した[$^{35}$S]の割合は平均 74.4±8.8%であった。また、2 匹の血液サンプルの非透析性画分を電気泳動し、[$^{35}$S]の分布を調べたところ、測定

された[$^{35}$S]のうち41%及び38%がα-グロブリン画分、18%及び20%がアルブミン画分に分布していた。

雑種イヌ（性別不明、3匹）の外科的処置をした上気道に、50ppmの[$^{35}$S]二酸化硫黄を30～60分間吸入ばく露させ、ばく露3時間後まで膀胱からカテーテルで尿を採取する試験が実施されている。その結果、尿中に$^{35}$Sとして排泄されたもののうち、無機[$^{35}$S]硫酸は平均84.8%、総[$^{35}$S]硫酸は平均92.4%であった。（参照36）【97】

| |
|---|
| 【177回添加物調査会と同様の記載】<br>事務局より：<br>「体内に入った総量の1～6%が数時間以内に尿中に排泄された」については、動物種と投与経路は異なりますが、別の排泄の知見③[58]では、一日でほとんど尿中に排泄（評価書表5より、74～94.9%）されていることと、一見矛盾しているようにも考えられますが、この考察はどのように理解すればよろしいでしょうか。<br><br>松井専門委員：<br>お示しのように、「体内に入った総量の1～6%が数時間以内に尿中に排泄された」ことが記されています。しかし、本論文のデータはこの点を示していません。<br>The time course of urinary excretion of 35S and the relative concentrations of urinary-35S and plasma-35S were reported previously .10 となっていましたので、引用文献を調べてみました。<br>尿中35S が血中35Sの10-20倍であるとされていましたが、尿中排泄が1～6%であることは示されていないようです。<br>尿中排泄速度が図にありましたが、単位が間違っているようで、ここから計算はできませんでした。<br><br>事務局より：<br>根拠が不明のため、当該記載は削除させていただくことでいかがでしょうか。 |

| |
|---|
| 【179回添加物調査会と同様の記載】<br>事務局より：<br>177回調査会では本文献の掲載要否について、前半（タンパク結合）については重要だが、後半（排泄）については参考又は不要というご意見がございました。体内動態全体を整理し直しましたので、改めて掲載要否についてご確認ください。<br><br>松井専門委員： |

この知見の重要性は血液中での存在形態にあります。この知見に関しまして、前回の調査会では、「体内に取り込まれる[$^{35}$S]は僅かであるが、同様の代謝が過剰摂取でも同様に認められるのか」という質問がありました。
排泄よりも分布とした方が良いでしょう。また、雑種イヌ（性別不明、3匹）以降は削除でもよいと思います。

事務局より：
当該知見に関して、分布の区分に記載させていただきました。また、排泄に関する記載については、削除することでよろしいでしょうか。

石井専門委員：
雑種イヌを用いた実験は特殊な実験系によるものですし、【177回添加物調査会と同様の記載】中の「事務局より」の記述にあるような混乱を招く可能性もありますので、削除してもよいと思います。

### ③ 参考資料

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

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

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

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

Gunnison（1981）らは、これらの結果は二酸化硫黄が肺で代謝されることを示唆しており、肺と心臓は例外の可能性があるが、吸入部位から遠隔組

[15] 原著に基づき70 mg血漿タンパク質を血漿1 mL相当とした。

織に二酸化硫黄が輸送される根拠はないとしている。（参照37）【69】

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

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

表 2　用量設定

| | | | |
|---|---|---|---|
| [$^{35}$S]二酸化硫黄濃度（ppm） | 0（対照群） | 5 | 20 |

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

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

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

Gause and Barker（1978）は、二酸化硫黄によりタンパク分子間が架橋された大きな複合体を形成することは、二酸化硫黄の吸入により見られた鼻粘液の流速低下につながることを支持しうるとしている。また、粘液の生理機能には、糖タンパク質の分子間架橋が必要と考えられるが、~~この作用~~その形成は、限定的かつ~~限られており、また~~制御されたものだ~~ている~~としている。（参照38）【70】

【179 回添加物調査会と同様の記載】
事務局より：
177 回調査会でのご指摘を踏まえ、糖タンパク質のバンドに関する結果の記載を短くまとめ直しました。

石井専門委員：
「この作用は、限られており、また制御されている」について、この表現は曖昧で、読者に意味が十分通じないと思いますので、修文が必要と考えます。

事務局より：

「Gause and Barker（1978）は、（中略）。また、粘液の生理機能には、糖タンパク質の分子間架橋が必要と考えられるが、この分子間架橋は、制限制御されたものだとしている。」
と修正することでいかがでしょうか。

石井専門委員：
「また、粘液の生理機能には、糖タンパク質の分子間架橋が必要と考えられるが、この分子間架橋は、制限制御されたものだとしている。」を「また、粘液の生理機能には糖タンパク質の分子間架橋が必要と考えられるが、その形成は限定的かつ制御されたものだとしている。」としてはいかがでしょうか。

事務局より：
ご提案の修文案のとおり、本文を修正いたしました。

### （３）代謝

#### ①　代謝酵素

【177 回添加物調査会と同様の記載】
事務局より：
概要書では、代謝酵素の動物種間の差異や代謝酵素発現遺伝子の分布等に関する知見も提出されていますが、亜硫酸水素アンモニウム水の体内動態を検討する上で、それらの代謝酵素に関する知見も記載すべきでしょうか。

松井専門委員：
そのとおりだと思います。代謝経路の図(関与する酵素含)を示してもよいでしょう。
上記に *S*-スルホン酸を測定した多くの報告があります。Gunnison ら（1981）の総説では *S*-スルホン酸も言及されています。*S*-スルホン酸代謝に関する記述を加えた方が良いでしょう。Gunnison and Palmes（67）の緒言は分かりやすいです。
"in spite of the much higher sulfite oxidase activity in the rat than in the rhesus [7], we detected no endogenous S-sulfonate in rhesus plasma while in rat plasma we consistently detected low concentrations（(Gunnison and Palmes（1978)）" などがあり、種間差の記述があると良いでしょう。

【179 回添加物調査会と同様の記載】
事務局より：

177 回調査会での議論を踏まえ、代謝酵素の項を作成しました。また、種差についても言及しました。

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

亜硫酸を全身投与すると、次の反応で示されるように、ジスルフィド結合の切断により血漿 *S*-スルホン酸化合物（$R\text{-}S\text{-}SO_3^-$）が形成されると考えられている。

$$R\text{-}S\text{-}S\text{-}R + SO_3^{2-} \rightleftarrows R\text{-}S\text{-}SO_3^- + RS^-$$

亜硫酸オキシダーゼ活性を *in vitro* で比較した結果、ラットではウサギ及びサルと比較してそれぞれ約 3 及び約 5 倍の活性であったこと、また、ラット肝臓ではヒトと比較して約 10～20 倍の活性が示されたとされている。また、サルと比較してラットでは亜硫酸オキシダーゼ活性が高いが、ラットでは一貫して血清中に低濃度の *S*-スルホン酸が検出された一方で、サルでは外因性の *S*-スルホン酸が検出されなかったとされている。（参照39、44）【64、67】

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

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

【179 回添加物調査会と同様の記載】
事務局より：
177 回調査会でのご指摘を踏まえ、ヘビースモーカーの定義について、脚注に追記しました。

**表 3　用量設定**

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

その結果、非喫煙者と喫煙者に関係なく、血漿中 *S*-スルホン酸濃度は、ばく

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

露室内の二酸化硫黄濃度に有意な相関があり、喫煙者と非喫煙者のデータを合わせて得た回帰直線の傾きから、大気中の二酸化硫黄濃度が 1ppm 増加するごとに血漿中 *S*-スルホン酸量が 1.1±0.16 nmol/mL 増加すると推測された。（参照40）【65】

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

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

Constantin ら（1994）は、ヒト多形核白血球には亜硫酸から硫酸への酸化経路が存在し、亜硫酸オキシダーゼが触媒する主要な経路のほか、非酵素的に三酸化硫黄ラジカルの中間体形成を伴って酸化される経路があることが示唆されたとしている。（参照41）【94】

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

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

Constantin（1996）らは、硫酸の形成は、亜硫酸オキシダーゼ依存性経路と、中間体として三酸化硫黄ラジカルを形成するラジカル活性化経路が存在するとしている。（参照42）【95】

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

ニュージーランド白ウサギ（雄、2 匹）に、[$^{35}$S]亜硫酸ナトリウムを約 0.6 mmol/kg（亜硫酸塩として）の用量で耳静脈内投与し、血漿中亜硫酸濃度を残差法により分析したところ、その時間的推移は 2 コンパートメントオープンシステムモデルに合致することが示唆された。また、アカゲザル（雌、1 匹）においても、同様の結果が得られた。

ニュージーランド白ウサギ(雄、3 匹)に、[$^{35}$S]亜硫酸ナトリウムを約 0.15、

0.30 及び 0.6 mmol /kg（亜硫酸塩として）の用量で耳静脈内投与し、2 コンパートメントオープンシステムモデルに基づき、血漿中亜硫酸濃度の経時的推移を分析したところ、消失速度定数及びクリアランスは投与量に逆相関し、クリアランス及び投与量の直線及び指数関数との相関はほぼ同程度であった。

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

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

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

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

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

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

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

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

Gunnison and Palmes（1976）は、亜硫酸から形成された硫酸は、消化管

から血漿中へ吸収されるのと同様に、セントラルコンパートメント[17]に移行するとしている。また、血漿中の硫酸生成は、投与された亜硫酸の定常状態後の亜硫酸の消失より相当遅れていることから、亜硫酸投与により生成した硫酸は、即時に血漿には到達しないとしている。(参照43)【91】

| |
|---|
| 【179 回添加物調査会と同様の記載】<br>事務局より：<br>硫酸に関する記載を追記しました。また、177 回調査会でのご指摘を踏まえ、投与経路等を追記しました。 |

| |
|---|
| 【177 回添加物調査会と同様の記載】<br>松井専門委員：<br>亜硫酸は最終的に硫酸になります。この論文には、硫酸と亜硫酸を投与した際の硫酸濃度の変化など、硫酸イオン代謝に関する結果も含まれています。重要だと思います。<br><br>事務局より：<br>ご指摘を踏まえ、ご相談させていただきつつ、次回以降に文案をお示しさせていただきます。 |

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

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

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

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

また、アカゲザル（雌、5 匹）に、亜硫酸塩（詳細不明）を平均 1.64～2.74 mmol/kg 体重/日の用量で 11 日間経口投与し、投与前と投与開始 3、6、9 及び

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

11 日後の血漿中の亜硫酸及び *S*-スルホン酸濃度を測定する試験が実施されている。その結果、投与前はそれぞれ 3 nmol/L（検出限界値）未満及び 0 nmol/L であったが、投与開始 11 日後にはそれぞれ 3 nmol/L（検出限界値）未満～32 nmol/L 及び 30～86 nmol/L を示した。

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

Gunnison and Palmes（1978）は、アカゲザルの *S*-スルホン酸クリアランスの半減期のうち、36 及び 83 日については、他の 3 匹の値（6～13 日）と大きく異なることから、実験上のアーチファクトであるとしており、他の 3 匹の値（6～13 日）は、[$^{35}$S]亜硫酸イオンを用いた試験の結果と傾向が一致するとしている。（参照44）【67】

⑦ 代謝（ラット）（Wever（1985）; JECFA（1987）で引用）

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

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

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

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

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

ホン酸となるか酸化されると結論づけている。（参照45）【66】

⑧　代謝（ラット）（Sun ら（1989）; JECFA（1999）で引用）

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

その結果、$10^6$ 細胞/mL の単離肝細胞に 1 mmol/L の亜硫酸イオンを添加した場合、亜硫酸イオンは 35～40 μmol/L/分/$10^6$ 細胞の反応速度で、直線的に硫酸イオンに変換された。この反応の初期速度は、200 μmol/L～2 mmol/L 亜硫酸のイオンを添加した場合においても同様であった。また、摘出肝臓を 1 mmol/L の亜硫酸イオンで灌流したところ、3 分間の灌流で約 98%の亜硫酸イオンが肝臓に取り込まれ、緩衝液の再灌流により、残留した亜硫酸イオンは 60 分後まで経時的に減少した。変換された硫酸イオンの濃度は灌流 5 分後に 830 μmol/L、30 分後に 930 μmol/L となったが、このことは灌流後 30 分以内にほぼ全ての亜硫酸イオンが硫酸イオンに変換されたことを示している。（参照46）【86】

（４）排泄

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

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

表 4　尿、糞便及び屠体中の[$^{35}$S]回収率

| | 投与後日数（日） | 尿中（%） | 糞便中（%） | 屠体中（%） |
|---|---|---|---|---|
| ラット | 1 | 74～79 | 4～17 | 9～21 |
| | 2 | 75～84 | 13～18 | 4～7 |
| | 7 | 未実施 | 未実施 | 2 |
| | 14 | | | 1 |
| マウス | 1 | 78.7 | 15.6 | 3.1 |
| | 2 | 80.8 | 14.8 | 1.8 |
| | 7 | 未実施 | 未実施 | 0.83 |
| | 14 | | | 0.36 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| サル注 | 1 | 94.9 | 1.8 | 未実施 |
| | 2 | 98.1 | 4.0 | |
| | 3 | 99.2 | 4.4 | |
| | 4 | 99.8 | 4.6 | |
| | 5 | 100.5 | 4.7 | |

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

| |
|---|
| 【179 回添加物調査会と同様の記載】<br>事務局より：<br>177 回調査会でのご指摘を踏まえ、表中の「―」を「未実施」に修正しました。 |

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

これらの結果から、Gibson and Strong（1973）は投与された亜硫酸を酸化する機能は飽和しなかったとしている。（参照 33）【58】

**② 排泄（ヒト）（Savic ら（1987））**

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

**表 5　尿中総及び有機硫酸濃度**

| | 空気中の二酸化硫黄濃度（mg/m³） | 尿中総硫酸濃度 | | 尿中有機硫酸濃度 | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | 被験者数（名） | 測定結果（μmol/L） | 被験者数（名） | 測定結果（μmol/L） |
| 対照群 | ― | 39 | 16.7±5.3 | 39 | 1.8±1.5 |
| ばく露群（冬期） | 45.7±12.4 | 56 | 21.2±7.9 | 47 | 4.1±3.8 |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| ばく露群（夏期） | 0.2±0 | 38 | 19.3±7.5 | 36 | 3.7±1.8 |

平均±標準偏差

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

Savic ら（1987）は、空気中の二酸化硫黄が高いと尿中硫酸濃度が高くなるとしている。（参照47）【98】

【179 回添加物調査会と同様の記載】
事務局より：
177 回調査会でのご指摘を踏まえ、時期ごとの空気中二酸化硫黄濃度について、本文に追記しました。

### （５）体内動態のまとめ

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

【179 回添加物調査会と同様の記載】
事務局より：
177 回調査会での議論を踏まえ、代謝における種差について追記等行いました。

【177 回添加物調査会と同様の記載】
事務局より：
二酸化硫黄及び亜硫酸塩については、知見が上記のとおり多岐にわたりますが、亜硫酸水素アンモニウム水の体内動態としては、どのようにまとめるべきでしょうか。
なお、概要書において示された要請者の考えを参考に体内動態のまとめのたたき台を以下のとおり作成しました。

（「体内動態のまとめ」のたたき台）
本専門調査会としては、添加物として摂取された二酸化硫黄及び亜硫酸塩は、主に二酸化硫黄、亜硫酸イオン又は亜硫酸水素イオンとして吸収され、吸収された亜硫酸は、肝臓の亜硫酸オキシダーゼなどによって酸化されるか、三酸化硫黄ラジカルの形成を通じて硫酸の形成に至る経路により代謝される。また、二酸化硫黄の摂取後に検出された *S*-スルホン酸の半減期は短く、蓄積性は低いと考えた。さらに、経口投与や吸入ばく露した二酸化硫黄及び亜硫酸塩は、その大半が硫酸として速やかに尿中や糞便中に排泄されると考えた。

松井専門委員：
代謝の種間差（VS　サル）の記述も、多種の動物を用いた毒性試験の評価において重要になる可能性があると思います。

石井専門委員：
取り敢えず上記のような形で取り纏めておき、専門調査会の先生方のご意見を伺って改訂して行ってはいかがでしょうか。

## ２．毒性

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

### （１）遺伝毒性

#### ①　二酸化硫黄及び亜硫酸塩

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

事務局より：
178 回添加物専門調査会のご指摘どおり、四角囲みを削除等行い、体裁整理の際に、遺伝毒性の表試験成績の表の指標、試験種類に関しては、ページをまたぐ際には、再度表示させていただくように整理いたします。

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

| 指標 | 試験種類 | 試験対象 | 被験物質 | 用量等 | 試験結果 | 参照文献 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| DNA 損傷 | DNA 鎖切断試験（*in vitro*） | シリアンハムスター胎 | 亜硫酸水素ナトリウム | 0、20、50 mM、15 | 陰性 | Doniger ら（1982）（参 |

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 児細胞 | | 分間処理 | | 照48）【151】 |
| | コメットアッセイ（*in vivo*） | マウス（CF1、各群雌5匹、雄5匹）（網状赤血球、肝臓・骨髄細胞） | ピロ亜硫酸ナトリウム | 0、0.5、1、2 g/kg体重、1回強制経口投与<br>24時間後 | 陽性[注)]（1～2 g/kg 体重、：網状赤血球、肝臓・骨髄細胞） | Carvalhoら（2011）；EFSA（2016）にて引用（参照49、31）【162、27】 |

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

## 表 7　復帰突然変異試験の成績

| 指標 | 試験種類 | 試験対象 | 被験物質 | 用量等 | 試験結果 | 参照文献 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 遺伝子突然変異 | 復帰突然変異試験（*in vitro*） | 細菌（*Escherichia coli* K12（λファージN14-4によるc遺伝子変異株） | 亜硫酸水素ナトリウム（亜硫酸水素ナトリウム：ピロ亜硫酸ナトリウム＝3：1） | 3 M/plate（pH5.6）[注1)]<br>60、90、180分処理 | 陽性（90分後以降） | Hayatsu and Miura（1970）（参照50）【139】 |
| | | 細菌（*E. coli*　K12、15） | 亜硫酸水素ナトリウム | 1 M/plate（pH5.2）[注1)] | 陽性（代謝活性化系非存在下：15株）[注2)] | Mukaiら（1970）（参照51）【140】 |
| | | | | | 陰性（代謝活性化系非存在下：K12株） | |
| | | 細菌（*Salmonella typhimurium* TA1535、TA1537、TA1538） | 亜硫酸ナトリウム | 0.028%/plate（pH7.4）[注1)] | 陰性（代謝活性化系）の有無にかかわらず） | Litton Bionetics, Inc.（1975）（参照52）【164】 |
| | | 細菌（*S. typhimurium* | 亜硫酸水 | 最高用量 | 陰性（代謝 | SRI |

| 指標 | 試験種類 | 試験対象 | 被験物質 | 用量等 | 試験結果 | 参照文献 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538、*E. coli* WP2 uvrA) | 素ナトリウム | 10 mg/plate（pH7.0） | 活性化系の有無にかかわらず） | International（1978a）（参照53）【138】 |
| | | 細菌（*S. typhimurium* TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538、*E. coli* WP2 uvrA） | ピロ亜硫酸ナトリウム | 最高用量 10 mg/plate（pH7.0） | 陰性（代謝活性化系の有無にかかわらず） | SRI International（1978b）（参照54）【157】 |
| | | 細菌（*E. coli*　WP2、WP2s *uvrA*、WP5 *lexA*、WP6 *polA*、WP10 *recA*） | 亜硫酸水素ナトリウム | 0.1 M/plate 注1） | 陰性（代謝活性化系非存在下） | Mallon and Rossman（1981）；EFSA（2016）にて引用（参照31、55）【27、142】 |
| | | 細菌（*S. typhimurium* TA92、TA94、TA98、TA100、TA1535、TA1537） | 無水亜硫酸ナトリウム | 最高用量 5 mg/plate | 陰性（代謝活性化系の有無にかかわらず） | Ishidate ら（1984）；EFSA（2016 で引用）（参照 31、56）【27、132】 |
| | | 細菌（*S. typhimurium* TA92、TA94、TA98、TA100、TA1535、TA1537） | ピロ亜硫酸カリウム | 最高用量 3 mg/plate | 陰性（代謝活性化系の有無にかかわらず） | Ishidate ら（1984）；EFSA（2016 で引用）（参照 31、56）【27、132】 |
| | | 細菌（*S. typhimurium* TA92、TA94、TA98、TA100、TA1535、TA1537） | 無水亜硫酸水素ナトリウム | 最高用量 50 mg/plate | 陰性（代謝活性化系の有無にかかわらず | Ishidate ら（1984）（参照56）【132】 |
| | | 細菌（*S. typhimurium* *hisG46*、TA92、 | 亜硫酸水素ナトリ | 1 M/plate（pH5.2） | 陰性（代謝活性化系非 | DeGiovanni-Donnelly |

| 指標 | 試験種類 | 試験対象 | 被験物質 | 用量等 | 試験結果 | 参照文献 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | TA1950、TA2410、TS24 及び GW19） | ウム（亜硫酸水素ナトリウムとピロ亜硫酸ナトリウムの混合物） | 注1） | 存在下：GW19） | （1985）；EFSA（2016）にて引用（参照31、57）【27、136】 |
| | | | | | 陽性（代謝活性化系非存在下注：*his*G46、TA92、TA1950、TA2410、TS24）注3） | |
| | | 細菌（*S. typhimurium* *his*G46 変異株、*his*D6610 変異株、*his*D3052 変異株、*his*C3076 変異株） | ピロ亜硫酸ナトリウム | 最高用量 33.3 mg/plate（*his*D3052 変異株、*his*C3076 変異株）(pH5.0 ～ 8.0) | 陰性（代謝活性化系非存在下） | Pagano and Zeiger（1987）；EFSA（2016）にて引用（参照31、58）【27、137】 |
| | | | | 0.02、0.04、0.06、0.08、0.10、0.20、0.30 M/plate（*his*G46 変異株、*his*D6610 変異株）(pH4.0 ～ 5.0) | 陽性（代謝活性化系非存在下：*his*G46：0.1 M/plate、*his*D6610：0.3 M/plate で最大の変異原性）注4） | |
| | | 細菌（*S. typhimurium* TA98、TA100、TA1535、TA1537） | 亜硫酸ナトリウム | 最高用量 5 mg/plate | 陰性（代謝活性化系の有無にかか | EFSA(2016)（BASF（1989a）を引 |

| 指標 | 試験種類 | 試験対象 | 被験物質 | 用量等 | 試験結果 | 参照文献 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | わらず） | 用）（参照 31）【27】 |
| | | 細菌（*S. typhimurium* TA98、TA100、TA1535、TA1537） | ピロ亜硫酸カリウム | 最高用量 5 mg/plate | 陰性（代謝活性化系の有無にかかわらず） | EFSA(2016)（BASF（1989c）を引用）（参照 31）【27】 |
| | | 細菌（*S. typhimurium* TA98、TA100、TA1535、TA1537） | ピロ亜硫酸ナトリウム | 最高用量 5 mg/plate | 陰性（代謝活性化系の有無にかかわらず） | EFSA(2016)（BASF（1989b）を引用）（参照 31）【27】 |
| | | 細菌（*S. typhimurium* TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538、*E. coli* WP2） | ピロ亜硫酸ナトリウム | 最高用量 10 mg/plate（pH7.0） | 陰性（代謝活性化系の有無にかかわらず） | Prival ら（1991）（参照 59）【156】 |
| | | 細菌（*S. typhimurium* TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538、*E. coli* WP2） | 亜硫酸水素ナトリウム | 最高用量 10 mg/plate（pH7.0） | 陰性（代謝活性化系の有無にかかわらず） | Prival ら（1991）（参照 59）【156】 |

注１）実施された試験は単用量である。

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

注３）EFSA（2016）（参照 31）【27】は、推奨菌株ではないことや試験の詳細が不明であること等の点で OECD テストガイドライン ~~TG~~471 に準じていない研究であると指摘している。

注４）EFSA（2016）（参照 31）【27】は、使用された菌株が一般的ではないことや陽性対照群が設定されていないこと等を指摘して、研究の信頼性は限定的であると指摘している。

**表 8　遺伝子突然変異試験の成績**

| 指標 | 試験種類 | 試験対象 | 被験物質 | 用量等 | 試験結果 | 参照文献 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 遺伝子 | 遺伝子突然変 | 細菌（*E. coli* : NR3835、KA797、 | 亜硫酸水素ナトリウム | 1 M/plate（pH5.2～6.0）注１） | 陰性 | Kunz and Glickman（1983）（参照 |

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 突然変異 | 異試験（*in vitro*） | NR3956（*ung*-）、NR5040（*dcm*-）、NR3883（*recA*）） | | 30 分 | | 60）【141】 |
| | | 酵母（*Saccharomyces cerevisiae* D4） | 亜硫酸ナトリウム | 最高用量 5.0% | 陰性（代謝活性化系の有無にかかわらず） | Litton Bionetics, Inc.（1975）（参照 52）【164】 |
| | | チャイニーズハムスター細胞（V79 株） | 亜硫酸水素ナトリウム | 最高用量 20 mM、15 分処理、5 mM、48 時間処理[注1）] | 陰性 | Mallon and Rossman（1981）；EFSA（2016）にて引用（参照 31、55）【27、142】 |
| | | シリアンハムスター胚細胞（SHE 細胞） | 亜硫酸水素ナトリウム | 20 mM、15 分処理、5 mM、24 時間処理[注1）] | 陰性 | Tsutsui and Barrett（1990）；EFSA（2016）にて引用（参照 31、61）【27、146】 |
| | | チャイニーズハムスター卵巣細胞（CHO 細胞）（AS52 株） | 亜硫酸水素ナトリウム（亜硫酸ナトリウム：亜硫酸水素ナトリウム＝3：1） | 5、10 mM、4 時間処理（pH7.0） | 陽性（代謝活性系非存在下、用量依存的な増加）[注2）] | Meng and Zhang（1999）；EFSA（2016）にて引用（参照 31、62）【27、145】 |
| | | マウスリンフォーマ細胞（L5178Y 株） | ピロ亜硫酸ナトリウム | 最高用量 1,902 μg/mL | 陰性（代謝活性化系の有無にかかわらず） | EFSA（2016）（Covance（2010）を引用）（参照 31）【27】 |

注１）実施された試験は単用量である。

注２）Meng and Zhang（1999）は、欠失変異が増加しているのは、亜硫酸水素塩の高用量での細胞毒性により生じた DNA 損傷が関与しているものと推定しており、EFSA（2016）（参照 31）【27】もこれに同意している。

表 9　染色体異常試験の成績（*in vitro*）

| 指標 | 試験種類 | 試験対象 | 被験物質 | 用量等 | 試験結果 | 参照文献 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 染色体異常 | 染色体異常試験（*in vitro*） | チャイニーズハムスター培養細胞（Don 細胞） | ピロ亜硫酸カリウム | 最高用量 1 mM、26 時間処理 | 陰性 | Abe and Sasaki（1977）（参照 63）【133】 |
| | | チャイニーズハムスター肺繊維芽細胞由来培養細胞（CHL 細胞） | ピロ亜硫酸カリウム | 最高用量 60 μg/mL | 陰性（代謝活性化系非存在下、24 及び 48 時間処理） | Ishidate ら（1984）；EFSA（2016 にて引用）（参照 56、31）【132、27】 |
| | | チャイニーズハムスター肺繊維芽細胞由来培養細胞（CHL 細胞） | 無水亜硫酸ナトリウム | 最高用量 500 μg/mL | 陰性（代謝活性化系非存在下、24 及び 48 時間処理） | |
| | | チャイニーズハムスター肺繊維芽細胞由来培養細胞（CHL 細胞） | 無水亜硫酸水素ナトリウム | 最高用量 125 μg/mL | 陰性（代謝活性化系非存在下、24 及び 48 時間処理） | Ishidate ら（1984）（参照 56）【132】 |
| | | シリアンハムスター胎児細胞 | 亜硫酸水素ナトリウム | 最高用量 40 mM、6 及び 24 時間処理[注1)] | 陰性 | Popescu and DiPaolo（1988）；EFSA（2016）にて引用（参照 64、31）【147、27】 |
| | | シリアンハムスター胚細胞（SHE 細胞） | 亜硫酸水素ナトリウム | 最高用量 5 mM、24 及び 48 時間処理 | 陰性 | Tsutsui and Barrett（1990）；EFSA(2016) にて引用（参照 31、61）【27、146】 |
| | | ヒト末梢血リンパ球（健常者 2 名、性別不明） | 亜硫酸水素ナトリウム | 0.4 mM[注2)]、48 時間処理 | 陽性 | Bechman and Nordenson（1986）（参照 |

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | 65）【148】 |
| | | ヒト末梢血リンパ球（健常者 4 名、男女（比率不明）） | 亜硫酸水素ナトリウム（亜硫酸ナトリウム：亜硫酸水素ナトリウム＝3：1）注3）（pH7.0） | 0、0.05、0.10、0.50、1.00 mM、48 時間処理 | 陽性（0.50～1.00 mM） | Meng and Zhang（1992）（参照 66）【149】 |

注1）EFSA（2016）（参照 31）【27】は、生理学的限界 10 mM を超える用量で実施された試験であると指摘している。

注2）実施された試験は単用量である。

注3）Meng ら（2004）（参照67）【155】は、吸入された二酸化硫黄が水和され気道で亜硫酸を生成した後、亜硫酸水素塩と亜硫酸塩（1：3 M/M）を形成するとしている。

表 10　染色体異常試験の成績（*in vivo*）

| 指標 | 試験種類 | 試験対象 | 被験物質 | 用量等 | 試験結果 | 参照文献 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 染色体異常 | 染色体異常試験（*in vivo*） | ラット（系統不明、匹数不明）（骨髄細胞） | 亜硫酸水素ナトリウム | 0、1.5、15、150 mg/kg 体重、単回及び 5 日間連続経口投与 | 陰性 | Litton Bionetic, Inc.（1972）（参照68）【143】 |
| | | ラット（系統不明、匹数不明）（骨髄細胞） | ピロ亜硫酸ナトリウム | 0、30、700、1200 mg/kg 体重、経口投与、投与後 6、24、48 時間後に標本作製 | 陰性 | Stanford Research Institute（1972）（参照69）【158】 |
| | | マウス（ NMRI、各群雄 3 匹、雌 3 匹）（骨髄細胞） | ピロ亜硫酸ナトリウム | 0、660 mg/kg 体重注）、2 回強制経口投与（投与間隔 5.5 時間）最終投与 30 分後に標本作製 | 陰性 | Renner and Wever（1983）（参照70）【160】 |
| | | チャイニーズハムスター（各群雄 3 匹、雌 3 匹）（骨髄細胞） | | | 陰性 | |
| | | マウス（Swiss、投与群 4 匹、対照群 6 匹）（骨髄細胞） | ピロ亜硫酸ナトリウム | 0、400 mg/kg 体重、1 回経口投与 、24 時間後 | 陰性 | Pal and Bhunya（1992）；EFSA（2016）にて引用（参照71、 |

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | 31）【161、27】 |

注）原著において、二酸化硫黄換算と記載されている。

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

| 指標 | 試験種類 | 試験対象 | 被験物質 | 用量等 | 試験結果 | 参照文献 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 染色体異常 | 姉妹染色分体交換試験（SCE 試験）（*in vitro*） | チャイニーズハムスター細胞（Don 細胞） | ピロ亜硫酸カリウム | 最高用量 1 mM、<br>26 時間処理 | 陰性 | Abe and Sasaki（1977）（参照 63）【133】 |
| | | チャイニーズハムスター卵巣細胞 | 亜硫酸水素ナトリウム | 0、0.03、0.09、0.27、0.81、2.4、7.3 mM、2 及び 24 時間処理 | 陽性（0.09～7.3 mM、用量及び時間依存的な増加） | MacRae and Stich（1979）；EFSA（2016）にて引用（参照72、31）【150、27】 |
| | | ヒト培養末梢血リンパ球（2 名、性別不明） | 亜硫酸水素ナトリウム | 0.4 mM 注1）<br>48 時間処理 | 有意な増加 | Bechman and Nordenson（1986）（参照）【148】 |
| | | シリアンハムスター胎児細胞 | 亜硫酸水素ナトリウム | 0、10、20、40　mM、<br>15 分処理 | 陽性（10～40 mM）注2） | Popescu and DiPaolo（1988）；EFSA（2016）にて引用（参照 64、31）【147、27】 |
| | | シリアンハムスター胚細胞（SHE 細胞） | 亜硫酸水素ナトリウム | 最高用量 20 mM、<br>15 分処理 | 陰性 | Tsutsui and Barrett（1990）；EFSA（2016）にて引用（参照 31、61）【27、146】 |
| | | | | 0、0.5、2.0、5.0 mM、<br>24 時間処理 | 陽性（0.5～5.0 mM、用量依存的な増加） | |
| | | ヒト培養末梢血リンパ | 亜硫酸水素ナトリウム（亜硫酸 | 最高用量<br>1 mM、 | 陽性（用量依存的な増 | Meng and Zhang（1992）（参照 |

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 球（4名、男女比不明） | ナトリウム：亜硫酸水素ナトリウム＝3：1）（pH7.0）注3） | 48時間処理 | 加） | 66）【149】 |
| | | ヒト末梢血リンパ球（男2名・女2名） | 二酸化硫黄 | 0、0.1、0.5、1.0ppm<br>72時間処理 | 陽性注4）（0.5及び1.0ppm） | Urenら（2014）；EFSA（2016）にて引用（参照73、31）【127、27】 |

注1）実施された試験は単用量である。

注2）EFSA（2016）（参照31）【27】は、生理学的限界10 mMを超える用量で実施された試験であると指摘している。

注3）Mengら（2004）（参照67）【155】は、吸入された二酸化硫黄が水和され気道で亜硫酸を生成した後、亜硫酸水素塩と亜硫酸塩（1：3 M/M）を形成するとしている。

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

**表 12　姉妹染色分体交換試験（SCE試験）の成績（*in vivo*）**

| 指標 | 試験種類 | 試験対象 | 被験物質 | 用量等 | 試験結果 | 参照文献 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 染色体異常 | 姉妹染色分体交換試験（SCE試験）（*in vivo*） | マウス（NMRI、各群雄2匹、雌2匹）（骨髄細胞） | ピロ亜硫酸ナトリウム（水溶液） | 0、660 mg/kg体重注)、1回強制経口投与2時間後 | 陰性 | Renner and Wever（1983）（参照70）【160】 |
| | | チャイニーズハムスター（各群雄2匹、雌2匹）（骨髄細胞） | | | 陰性 | |

注）原著において、二酸化硫黄換算と記載されている。

**表 13　小核試験の成績（*in vitro*）**

| 指標 | 試験種類 | 試験対象 | 被験物質 | 用量等 | 試験結果 | 参照文献 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 染色体異常 | 小核試験（*in vitro*） | ヒト培養末梢血リンパ球（男2名・女2名） | 二酸化硫黄 | 0、0.1、0.5、1.0ppm<br>72時間処理 | 陽性（0.5～1.0ppm）注1） | Urenら（2014）；EFSA（2016）にて引用（参照73、31）【127、27】 |
| | | ヒト培養末梢血二 | ピロ亜 | 25、50、 | 陽性（24及び | Yavus-Kocaman |

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 核リンパ球（健常者 4 名、男 2 名・女 2 名） | 硫酸カリウム | 100、200 µg/mL<br>24 及び 48 時間処理 | 48 時間処理：25～200 µg/mL）注2） | ら（2008）；EFSA（2016）にて引用（参照74、31）【134、27】 |

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

注２）EFSA（2016）（参照 31）【27】は、被験物質、サイトカラシン B、フィトヘマグルチニンの同時処理という通常用いない方法で試験が行われていると指摘している。

**表 14　小核試験の成績（*in vivo*）**

| 指標 | 試験種類 | 試験対象 | 被験物質 | 用量等 | 試験結果 | 参照文献 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 染色体異常 | 小核試験（*in vivo*） | マウス（NMRI、各群雄 3 匹、雌 3 匹）（骨髄細胞） | ピロ亜硫酸ナトリウム（水溶液） | 0、660 mg/kg 体重注1）、2 回強制経口投与<br>6 時間後（最終投与 5.5 時間後） | 陰性 | Renner and Wever（1983）（参照 70）【160】 |
| | | チャイニーズハムスター（各群雄 3 匹、雌 3 匹）（骨髄細胞） | | | 陰性 | |
| | | マウス（CF1、各群雌 5 匹、雄 5 匹）網状赤血球、骨髄細胞） | ピロ亜硫酸ナトリウム | 0、0.5、1、2 g/kg 体重、1 回強制経口投与<br>24 時間後 | 陽性注2）（2 g/kg 体重、網状赤血球、骨髄細胞） | Carvalho ら（2011）；EFSA（2016）にて引用（参照 49、31）【162、27】 |

注１）原著において、二酸化硫黄換算と記載されている。

注２）EFSA（2016）（参照 31）【27】は、2 g/kg 体重のみでの陽性結果であり、用量依存性がみられておらず、ギムザ染色法を用いたことから多染性赤血球（PCE）と正染性赤血球（NEC）の判別が困難で、骨髄での陰性対照群の PCE/NEC の値（1.67±0.67）が高い値（通常は 1 近辺）を示していること、対照群の背景データが提示されていないこと等を指摘し、この試験は評価に適していないとしている。

**表 15　優性致死試験の成績（*in vivo*）**

| 指標 | 試験種類 | 試験対象 | 被験物質 | 用量等 | 試験結果 | 参照文献 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 染色体異 | 優性致死試験（*in* | SD ラット（匹数不明） | 亜硫酸水素ナトリウム | 0、1.5、15、150 mg/kg 体重、単回及び 5 日間連続経口投与 | 陰性 | Litton Bionetics, Inc.（1972）（参照 68）【143】 |

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 常 | *vivo*<br>） | ラット（系統不明、匹数不明） | ピロ亜硫酸ナトリウム | 0、30、700、1,200 mg/kg 体重、単回経口投与 | 陰性 | Stanford Research Institute（1972）（参照 69）【158】 |
| | | | | 0、30、700、1,200 mg/kg 体重、反復経口投与 | 陰性 | |
| | | SD ラット（雄、各投与群 20 匹、対照群 40 匹） | ピロ亜硫酸ナトリウム | 0、125、416.7、1,250 mg/kg 体重/日、10 週間混餌投与 | 陰性 | Stanford Research Institute（1979）（参照75）【163】 |

② **参考資料**

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

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

| 指標 | 試験種類 | 試験対象 | 被験物質 | 用量等 | 試験結果 | 参照文献 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 染色体異常 | 染色体異常試験（*in vitro*） | ヒト末梢血リンパ球（4 名（男 2 名・女 2 名）） | ピロ亜硫酸ナトリウム | 0、75、150、300 μg/mL<br>24 及び 48 時間処理 | 陽性 | Rencuzogullari ら（2001）；EFSA(2016)にて引用（参照76、31）【159、27】 |
| | | ヒト末梢血リンパ球（ 4 名（男女、各群 2 名）） | ピロ亜硫酸カリウム | 0、25、50、100、200 μg/mL<br>24 及び 48 時間処理 | 陽性（24 時間処理：25～200 μg/mL、48 時間処理：50～200 μg/mL） | Yavus-Kocaman ら（2008）；EFSA（2016）にて引用（参照 74、31）【134、27】 |
| | 姉妹染色分体交換試験（*in vitro* | ヒト末梢血リンパ球（男 2 名・女 2 名） | ピロ亜硫酸ナトリウム | 0、75、150、300 μg/mL、24 及び 48 時間処理 | 陽性（24 及び 48 時間処理：75～300 μg/mL） | Rencuzogullari ら（2001）；EFSA(2016)にて引用（参照 76、31）【159、27】 |
| | | ヒト末梢血リンパ球 | ピロ亜硫酸カ | 0、25、50、100、 | 陽性（24 及び 48 時間処理： 25～ | Yavuz-Kocaman ら（2008）；EFSA |

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | ） | （男2名・女2名） | リウム | 200 μg/mL<br>24及び48時間処理 | 200　μg/mL） | （2016）にて引用（参照74、31）【134、27】 |

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

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

| 指標 | 試験種類 | 試験対象 | 被験物質 | 用量等 | 試験結果 | 参照文献 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| DNA損傷 | コメットアッセイ（*in vivo*） | マウス（昆明、各群雌6匹、雄6匹）（脳・肺・心臓・肝臓・胃・脾臓・胸腺・腎臓の細胞、骨髄細胞） | 亜硫酸ナトリウム・亜硫酸水素ナトリウム混合物（3：1） | 0、125、250、500 mg/kg 体重、腹腔内投与、1回/日、7日間<br>24時間後 | 陽性（125～500 mg/kg 体重） | Meng ら（2004）；EFSA（2016）にて引用（参照67、31）【155、27】 |
| | | マウス（昆明、各群雌6匹、雄6匹）（末梢血リンパ球、脳・肺・肝臓・脾臓・腎臓・小腸・精巣の細胞） | 二酸化硫黄 | 0、14、28、56、112 mg/m³、吸入ばく露、6時間/日、7日間<br>最終ばく露直後 | 陽性（小腸以外：14～112 mg/m³）<br>陽性（小腸：28～112 mg/m³） | Meng ら（2005）；EFSA(2016)にて引用（参照77、31）【130、27】 |
| 染色体異常 | 染色体異常試験（*in vivo*） | マウス（Swiss、投与群各4匹、対照群10匹）（骨髄細胞） | ピロ亜硫酸ナトリウム | 0、200、300、400 mg/kg 体重、1回腹腔内投与、24時間後 | 陽性（300 mg/kg 体重） | Pal and Bhunya（1992）；EFSA（2016）にて引用（参照71、31）【161、27】 |
| | | マウス（Swiss、投与群各4匹、対照群10匹）（骨髄細胞） | | 0、400 mg/kg 体重、1回腹腔内投与、6、24、48時 | 陽性（投与24及び48時 | |

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | 間後 | 間後） | |
| | | マウス（Swiss、投与群 4 匹、対照群 10 匹）（骨髄細胞） | | 0、80 mg/kg 体重、5 回腹腔内投与（24 時間間隔）、120 時間後 | 陽性 | |
| | | マウス（Swiss、投与群 4 匹、対照群 6 匹）（骨髄細胞） | | 0、400 mg/kg 体重、1 回皮下投与、24 時間後 | 陽性 | |
| | | マウス（昆明、各群雌 4 匹、雄 4 匹）（骨髄細胞） | 二酸化硫黄 | 0、7、14、28、56 mg/$m^3$、4 時間/日、7 日間吸入 24 時間後 | 陽性（14～56 mg/$m^3$） | Meng and Zhang（2002）；EFSA（2016）にて引用（参照 78、31）【128、27】 |
| | | ラット（アルビノ、4 匹（雄 2 匹、雌 2 匹）（骨髄細胞） | ピロ亜硫酸カリウム | 0、150、300、600 mg/kg 体重、単回腹腔内投与 12 及び 24 時間後 | 陽性（300 及び 600 mg/kg 体重） | Yavus-Kocaman ら（2008）（参照 74）【134】 |
| | 姉妹染色分体交換試験（SCE 試験）（*in vivo*） | マウス（NMRI、各群雄 2 匹、雌 2 匹）（骨髄細胞） | ピロ亜硫酸ナトリウム | 0、50 mg/kg 体重[注)]、12 回皮下投与（20 分間隔）最終終了後 | 陰性 | Renner and Wever（1983）（参照 70）【160】 |
| | | チャイニーズハムスター（各群雄 2 匹、雌 2 匹）（骨髄細胞） | | | 陰性 | |
| | 小核試験（*in vivo* | マウス（Swiss、投与群各 4 匹、対照群 3 匹）（骨髄細胞） | ピロ亜硫酸ナトリウム | 0、200、300、400 mg/kg 体重、2 回腹腔内投与（24 時間間隔） | 陽性（300 mg/kg 体重） | Pal and Bhynya（1992）（参照 71）【161】 |

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | ） | | | 最終投与 6 時間後 | | |
| | | マウス（昆明、各群雌 5 匹、雄 5 匹）（骨髄細胞） | 二酸化硫黄 | 0、14、28、56、84 mg/m$^3$、4 時間/日、7 日間吸入ばく露<br>24 時間後 | 陽性（14～84 mg/m$^3$） | Meng ら（2002）；EFSA（2016）にて引用（参照 79、31）【129、27】 |
| | | マウス（NMRI、雄、各群 5 匹）（骨髄細胞） | 亜硫酸ナトリウム | 0、250、500、1,000 mg/kg 体重、1 回皮下投与<br>24 時間後（全群）、48 時間後（0、1000 mg/kg 群） | 陰性 | EFSA（2016）（BASF（2008）を引用）（参照 31）【27】 |
| | | マウス（NMRI、投与各群雌 6 匹、雄 6 匹、対照群雌 5 匹、雄 5 匹）（骨髄細胞） | 二酸化硫黄 | 0、1、3、10、30ppm（0、約 2.7、8、27、80 mg/m$^3$）、4 時間/日、7 日間吸入ばく露<br>24 時間後 | 陰性 | Ziemann ら（2010）；EFSA（2016）にて引用（参照 80、31）【131、27】 |
| | 優性致死試験（*in vivo*） | マウス（(101×C3H）$F_1$、雄） | 亜硫酸ナトリウム | 0、400 mg/kg 体重/日、20 回腹腔内投与（26 日間中） | 陰性 | Generoso ら（1978）（参照 81）【154】 |
| | | | | 0、300 mg/kg 体重/日、38 回腹腔内投与（54 日間中） | 陰性 | |
| | | マウス（(101×C3H）$F_1$、雌） | | 0、550 mg/kg 体重/日、単回腹腔内投与 | 陰性 | |

### ③ 遺伝毒性のまとめ

【179 回添加物調査会と同様の記載】

事務局より：
　上記の試験で陽性であった知見のうち、試験方法等が適切であった知見に関して、下記のとおり考察等を行い、遺伝毒性のまとめを作成しております。ご確認のほどよろしくお願いいたします。

　亜硫酸水素ナトリウムに関しては、細菌を用いた復帰突然変異試験並びに培養細胞を用いた *in vitro* 突然変異試験、染色体異常試験及び SCE 試験では陽性の結果が得られている。亜硫酸水素塩の Ames 試験陽性は、2 次的に起こる酸化的ストレスによる影響が考えられるが、亜硫酸水素塩が DNA のシトシンへの結合を介して脱アミノ化を誘導し、ウラシルへ変換する作用を有することが報告されていることから、復帰突然変異試験の陽性はこの機構によるものも否定ができない。しかしながら、この反応は pH 中性条件下では不安定であり、復帰突然変異試験でも陰性になるとの報告がある。(参照 53、55、56、82)【132、138、142、追 3】

　*in vitro* 突然変異試験、染色体異常試験の陽性に関しては、EFSA の見解では、亜硫酸水素ナトリウムによる培地等の酸性化によるものとされているが、亜硫酸水素塩は中性条件下で放出する・$SO_3^-$ラジカルの作用により DNA 鎖を切断することも報告されており、この影響も否定できない。(参照 31、82)【27、追 3】

　また、ピロ亜硫酸ナトリウムに関しては、細菌を用いた復帰突然変異試験で陽性の結果が得られている。経口投与で行われた *in vivo* コメット及び小核試験で陽性の結果が得られている。ピロ亜硫酸ナトリウムは加水分解を受け亜硫酸水素ナトリウムを生じることから、これらの陽性結果は上述のメカニズムによるものと考えられる。 EFSA（2016）は、復帰突然変異試験に関して、使用された菌株が一般的ではないことや陽性対照群が設定されていないこと等を指摘している。*in vivo* コメット及び小核試験に関して、非常に高い最高用量のみで陽性となっていることや試験法が適切でないことなどを指摘している。（参照 31）【27】

　一方、適切な条件下で試験された *in vivo* 経口投与の小核試験及び ~~*in vivo*~~ 染色体異常試験では陰性の結果が得られている。(参照 68、69、70)【143、158、160】

　これらの結果を踏まえると、~~生体内では問題にならないと考えられ、~~*in vitro* 試験で検出された遺伝毒性が生体内で発現する可能性は低~~い~~く、生体内では問題にならないと考えられた。

　さらに、添加物「亜硫酸水素アンモニウム水」は、発酵前あるいは発酵中の果汁やマスト[2]に添加され、本品から生じた二酸化硫黄は、水と反応して亜硫酸を生じ、有害微生物の増殖防止及び酸化防止の効果を発揮しつつ大気中に揮

散又は酸化により徐々に消失することが想定される。（参照 2、83、84）【2、44、232】

したがって、本専門調査会としては、亜硫酸水素ナトリウム及びピロ亜硫酸ナトリウムは *in vitro* 試験では遺伝毒性を示す結果が一部存在するものの、適切な条件下で試験された *in vivo* 経口投与の小核試験及び染色体異常試験では陰性の結果が得られていることから~~添加物「亜硫酸水素アンモニウム水」が適切に使用される場合には、ワインの製造過程において分解され、摂取後には代謝等されることが想定されるため~~、生体にとって特段問題となるような遺伝毒性~~の懸念~~はないと~~考えた~~判断した。

【179 回添加物調査会と同様の記載】
事務局より：
以下の試験については、下記の理由から評価書に記載しないこととしております。ご確認をお願いいたします。
評価書に記載しない理由：
① 亜硫酸化したジュースと未処理対象を被験物質として用いた試験であり、亜硫酸水素ナトリウムそのものの毒性を試験したものではないこと
②③⑤UV 照射の結果は、亜硫酸水素ナトリウムそのものの変異原性の評価ではないこと
④ 被験物質の濃度が不明であり、他にも参照できる知見が多数あること
⑥～⑨ 宿主経由試験であり、他に参照できる知見が多数あること、また、陰性の知見であること
⑩ 本試験に用いられた胞子レックアッセイ（spore rec-assay）は DNA 損傷を指標とした試験であり、他にも参照することができる試験があること
⑪⑫⑮～⑱㉑㉒ SOX 酵素活性抑制のために、タングステン酸ナトリウムを投与していること
⑬⑭⑲⑳ ブドウジュースとの混合液を使用していること、また、水溶液での試験結果があること
㉓～㉗ 形質転換試験であり、他に参照できる知見が多数あること

| 指標 | 試験種類 | 試験対象 | 被験物質 | 用量等 | 試験結果 | 参照文献 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 遺伝子突然 | 復帰突然変異試験（*in vitro*） | ① 細菌（*S. typhimurium his*G46、TA98、TA100、TA1535、TA1538） | 亜硫酸水素ナトリウム | 最高用量 10.4 mg /plate（pH5.9） | 陰性（代謝活性化系非存在下、TA98 、TA100 、 | Munzner（1980）（参照85）【135】 |

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 変異 | | | | | TA1535、TA1538） | |
| | | | | | 陽性（代謝活性化系非存在下、hisG46：5.2 mg/plate及び10.4 mg/plate） | |
| | | ②細菌（*E. coli* WP2、WP2s *uvrA*、WP5 *lexA*、WP6 *polA*、WP10 *recA*) | 亜硫酸水素ナトリウム＋UV照射（1.2 J/m²：WP2s・WP6株、1.4 J/m²：WP5・WP10株） | 0.1 M/plate、15分処理 | 陰性（代謝活性化系非存在下） | Mallon and Rossman（1981）；EFSA（2016）にて引用（参照31、55）【27、142】 |
| | | ③細菌（*E. coli* WP2） | 亜硫酸水素ナトリウム＋UV照射（1.8 J/m²） | 0.1 M/plate、15分処理 | 陽性（代謝活性化系非存在下 | |
| | | ④細菌（*S. typhimurium* TA98、TA100、TA1535、TA1537） | 亜硫酸水素ナトリウム | 最高用量96 µl/plate | 陰性（代謝活性化系の有無にかかわらず） | EFSA（2016）（Bayer（1988）を引用）（参照31）【27】 |
| | | ⑤チャイニーズハムスター細胞（V79株） | 亜硫酸水素ナトリウム＋UV（1.8J /m²）同時照射 | 10、20 mM、15分処理 | 陽性 | Mallon and Rossman（1981）；EFSA（2016）にて引用（参照 |
| | | | 亜硫酸水素 | 10 mM、15 | 陽性 | |

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | ナトリウム＋UV（1.8 J/m²）照射後 | 分処理 | | 31、55）【27、142】 |
| | 宿主経由試験（*in vivo*） | ⑥細菌（*S. typhimurium his*G46、TA1530）<br>宿主：マウス（系統不明） | ピロ亜硫酸ナトリウム | 0、30、700、1200 mg/kg 体重、単回及び5日間連続経口投与 | 陰性 | Stanford Research Institute（1972）（参照 6969）【158】 |
| | | ⑦酵母（*S. cerevisiae* D3）<br>宿主：マウス（系統不明） | | | 陰性 | |
| | | ⑧細菌（*S. typhimurium* TA1530、*his*G46）<br>宿主：マウス（系統不明） | 亜硫酸水素ナトリウム | 0、1.5、15、150 mg/kg 体重、単回及び5日間連続経口投与 | 陰性 | Litton Bionetics, Inc.（1972）（参照 68）【143】 |
| | | ⑨酵母（*S. cerevisiae* D3）<br>宿主：マウス（系統不明） | | | 陰性 | |
| DNA損傷 | DNA修復試験（Recアッセイ）（*in vitro*） | ⑩細菌（*Bacillus subtilis* M45（rec-）、H17（rec＋）） | 亜硫酸ナトリウム | 5 mg/plate | 陽性（代謝活性化系の有無にかかわらず） | 上野ら（2002）；EFSA（2016）にて引用（参照 86、31）【165、27】 |
| 染色体異常 | 染色体異常試験（*in vivo*） | ⑪SOX 酵素活性抑制マウス（NMRI、各群雄3匹、雌3匹）（骨髄細胞） | ピロ亜硫酸ナトリウム | 0、165 mg/kg 体重注）、2回強制経口投与<br>最終投与 | 陰性 | Renner and Wever（1983）（参照 70）【160】 |

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | 30 分後に標本作製 | | |
| | | ⑫SOX 酵素活性抑制チャイニーズハムスター(各群雄 3 匹、雌 3 匹)(骨髄細胞) | | 0、330 mg/kg 体重注)、2 回強制経口投与<br>最終投与 30 分後に標本作製 | 陰性 | |
| | 姉妹染色分体交換試験(SCE 試験)(*in vivo*) | ⑬マウス(NMRI、各群雄 2 匹、雌 2 匹)(骨髄細胞) | ピロ亜硫酸ナトリウム(ブドウジュース) | 0、660 mg/kg 体重注)、1 回強制経口投与<br>2 時間後 | 陰性 | Renner and Wever (1983)(参照 70)【160】 |
| | | ⑭チャイニーズハムスター(各群雄 2 匹、雌 2 匹)(骨髄細胞) | | | 陰性 | |
| | | ⑮SOX 酵素活性抑制マウス(NMRI、各群雄 2 匹、雌 2 匹)(骨髄細胞) | ピロ亜硫酸ナトリウム | 0、165 mg/kg 体重注)、1 回強制経口投与 | 陰性 | |
| | | ⑯SOX 酵素活性抑制チャイニーズハムスター(各群雄 2 匹、雌 2 匹)(骨髄細胞) | ピロ亜硫酸ナトリウム | 0、330 mg/kg 体重注)、1 回強制経口投与<br>2 時間後 | 陰性 | |
| | | ⑰SOX 酵素活性抑制マウス(NMRI、各群雄 2 匹、雌 2 匹)(骨髄細胞) | ピロ亜硫酸ナトリウム | 0、50 mg/kg 体重注)、8 回皮下投与(20 分間 | 陰性 | |

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | ⑱SOX 酵素活性抑制チャイニーズハムスター(各群雄 2 匹、雌 2 匹) | | 隔)<br>最終終了後 | 陰性 | |
| | 小核試験(*in vivo*) | ⑲マウス(NMRI、各群雄 3 匹、雌 3 匹)(骨髄細胞) | ピロ亜硫酸ナトリウム(ブドウジュース) | 0、660 mg/kg 体重注)、2 回強制経口投与<br>6 時間後(最終投与 5.5 時間後) | 陰性 | Renner and Wever (1983)(参照 70)【160】 |
| | | ⑳チャイニーズハムスター(各群雄 3 匹、雌 3 匹)(骨髄細胞) | | | 陰性 | |
| | | ㉑SOX 酵素活性抑制マウス(NMRI、各群雄 3 匹、雌 3 匹)(骨髄細胞) | ピロ亜硫酸ナトリウム(水溶液) | 0、165 mg/kg 体重注)、2 回強制経口投与<br>6 時間後(最終投与 5.5 時間後) | 陰性 | |
| | | | ピロ亜硫酸ナトリウム(ブドウジュース) | | 陰性 | |
| | | ㉒SOX 酵素活性抑制チャイニーズハムスター(各群雄 3 匹、雌 3 匹)(骨髄細胞) | ピロ亜硫酸ナトリウム(水溶液) | 0、330 mg/kg 体重注)、2 回強制経口投与<br>6 時間後(最終投与 5.5 時間後) | 陰性 | |
| | | | ピロ亜硫酸ナトリウム(ブドウジュース) | | 陰性 | |
| | 形質転換試験(*in vitro*) | ㉓シリアンハムスター胚細胞(SHE 細胞) | 亜硫酸水素ナトリウム | 0、5、10、20 mM<br>15 分処理(pH 中 | 陽性(5～20 mM) | Dipaolo ら(1981)(参照87)【153】 |

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | 性） | | |
| | | ㉔ハムスター胚細胞 | 亜硫酸水素ナトリウム | 0、0.5、2.5、5.0、100ppm、24時間処理 | 陰性 | Borek ら（1985）（参照87）【152】 |
| | | ㉕マウス C3H/10T-1/2 細胞 | | | 陰性 | |
| | | ㉖シリアンハムスター胚細胞（SHE 細胞） | 亜硫酸水素ナトリウム | 0、5、10、20 mM、15 分処理（pH 中性） | 陽性（5～20 mM） | Tsutsui and Barrett（1990）；EFSA(2016)にて引用（参照 31、61）【27、146】 |
| | | ㉗シリアンハムスター胚細胞（SHE 細胞） | 亜硫酸水素ナトリウム | 0、0.2、0.5、1.0、2.0、5 mM、24 時間処理 | 陽性（5 mM） | |

注）原著において、二酸化硫黄換算と記載されている。

## （２）急性毒性

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

**表 18　二酸化硫黄及び亜硫酸塩類を被験物質とした急性毒性試験の成績**

| 動物種（性別） | 被験物質 | LD50（mg/kg 体重） | | 参照文献 |
|---|---|---|---|---|
| | | | 二酸化硫黄としての値[注)] | |
| ラット（雌雄） | 亜硫酸ナトリウム | 3,160 | 1,610 | EFSA（2016）（参照 31）【27】 |
| ウサギ（不明） | 亜硫酸ナトリウム | － | 600～700 | EFSA（2016）及び JECFA（1987）にて引用（Rost and Franz（1913））（参照 24、31）【21、27】 |
| ラット（雌雄） | 亜硫酸水素ナトリウム | 雄：1,160<br>雌：1,540 | 雄：714<br>雌：948 | EFSA（2016）にて引用（BASF（1982b、c））（参照 31）【27】 |
| ラット（不明） | ピロ亜硫酸ナトリウム | 3,200 | 2,160 | EFSA（2016）にて引用（BASF（1973a））（参照 31）【27】 |
| ラット（不明） | ピロ亜硫酸カリウム | 2,300 | 1,330 | EFSA（2016）にて引用（BASF（1973b））（参照 31）【27】 |

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

### （３）反復投与毒性

【179 回添加物調査会と同様の記載】
事務局より：
（３）反復投与毒性から（５）生殖発生毒性までの試験について、毒性所見を表にまとめ、そのほかの所見（有意差がない、用量依存性がない等）を表の直後に箇条書きで記載し、所見が見られなかった等の内容は本文中に記載しました。表、箇条書き及び本文中に過不足がございましたらご指摘ください。

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

ランドレース種ブタ（雌雄、各群 20 頭）に、ピロ亜硫酸ナトリウムを表 19 のとおり~~の投与群を~~用量設定で~~して~~、15 週間又は 48 週間混餌投与する試験が実施されている。別途、摂餌量を同じにした同種ブタ（雌雄、各群 15 頭）に、0（対照群）及び 2.0%（亜硫酸の消失を考慮した用量として 1.72%）のピロ亜硫酸ナトリウムを 18 週間混餌投与する試験が実施されている。これらの試験は、ピロ亜硫酸ナトリウム添加において生じる、飼料中での分解によるチアミン欠乏の抑制を目的に、全群に対して基礎飼料にチアミンを添加している。

**表 19　用量設定**

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

注１）Til ら（1972）により、飼料貯蔵後のピロ亜硫酸残留率から換算された。（参照88）【120】
注２）本専門調査会において、ブタ平均体重 100 kg、平均摂餌量 3 kg/日として、第９版食品添加物公定書付録　原子量表をもとに二酸化硫黄としての値に換算した。

各投与群で認められた毒性所見は表 20 のとおりである。

**表 20　毒性所見**

| 投与群 | 毒性所見 |
|---|---|

| | 雌雄 |
|---|---|
| 2.0%<br>（1.72%） | ・体重増加の有意な抑制（ただし、別途実施の 18 週間混餌投与試験では成長率に影響なし<br>・肝臓の脂肪貪食クッパー細胞増加 |
| 1.0%<br>（0.83%）<br>以上 | ・胃（幽門部、噴門部）で粘膜ヒダの発生及び部分的に乳頭状又は敷石状変化、盲腸粘膜の黒色化。<br>・組織学的には、胃（幽門部、噴門部）の粘液腺及び表層上皮の過形成、食道の上皮内小膿瘍及び好中球浸潤を伴う上皮過形成、盲腸の粘膜固有層に黒緑色素顆粒貪食マクロファージ出現 |

そのほか、以下の所見が認められた。

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

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

Til ら（1972）は、亜硫酸の NOEL を 0.35%投与群[18]としている。（参照 88）【120】

EFSA（2016）は、JECFA（1987）[19]を引用し、NOAEL を 0.35%投与群[18]における 72 mg/kg 体重/日（二酸化硫黄として）[20]としている。（参照 31）【27】

本専門調査会としては、1.0%以上の投与群で病理組織学所見が認められたことから、ピロ亜硫酸ナトリウムの NOAEL を 0.5%投与群における 71 mg/kg 体重/日（二酸化硫黄として）と判断した。

| |
|---|
| 事務局より：<br>179 回添加物調査会におけるご議論を踏まえ、飼料にチアミンを添加している試験も評価対象としました。また、飼料中に被験物質のほかにチアミンを添加した混合物を混餌投与した試験であることに留意する必要があると考えたという内容を追記しました。 |

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

[19] JECFA（1987）は、本試験におけるピロ亜硫酸ナトリウムの NOEL を 0.25%投与群としている（参照 24）【21】。

[20] JECFA（1987）により、ピロ亜硫酸ナトリウムから生じる二酸化硫黄を 67.39%、ブタ平均体重 100 kg、平均摂餌量 3 kg/日として換算されたとしている。（参照 31）【27】

横平専門委員：
　以下の文案はいかがでしょうか。
「ランドレース種ブタ（雌雄、各群 20 頭）に、ピロ亜硫酸ナトリウムを表 19 のとおりの用量設定で、15 週間又は 48 週間混餌投与する試験が実施されている。この試験は、ピロ亜硫酸ナトリウム投与によるチアミン欠乏の抑制を目的に、全群に対して基礎食にチアミンを添加している。」
「十分量のチアミンが添加された基礎食に被験物質を混餌投与した試験」

北條専門委員：
　「十分量のチアミンが添加された基礎飼料に被験物質を混合して投与した試験」としてはいかがでしょうか。

松井専門委員：
　この文章からは、ピロ亜硫酸ナトリウムが二次的なチアミン欠乏を生じると読めますが、Til ら（1972b）が引用している論文では、飼料保存中の分解を示していると思います。「保存中に飼料のチアミンが分解されるため」を明示した方が良いと思います。

宇佐見専門委員：
　「ピロ亜硫酸ナトリウム添加において生じる、飼料中での分解によるチアミン欠乏の抑制を目的に、全群に対して基礎飼料にチアミンを添加している。」としてはいかがでしょうか。
　「十分量」という表現について、実際は十分な量よりも多く添加しているので、「十分以上」または「必要以上」のような表現が妥当ではないかと思います。

事務局より：
　本試験及びラット２年間反復投与毒性・生殖毒性・発がん性併合試験（Til ら（1972)）につきまして、ご提案を踏まえ修正いたしました。

中江専門委員：
　いくつかの試験において，試験条件の説明の際に「この試験は、ピロ亜硫酸ナトリウム添加において生じる、飼料中での分解によるチアミン欠乏の抑制を目的に、全群に対して基礎飼料にチアミンを添加している。」と記載した上に，評価の際にも「十分量以上のチアミンが添加された基礎飼料に被験物質を混合して投与した試験であることに留意する必要がある」としています．前者は問題ないですが，後者は少し気になります．チアミンについては，食品安全委員会や医薬基盤・健康・栄

養研究所なども，特に安全上の懸念があると言っていません．少しだけ文献検索をしてみても，チアミンの毒性については，アレルギー性の皮膚影響くらいしか出てきませんでした．それにもかかわらず，わざわざ「留意する必要がある」と記載するなら，なぜ「留意」せねばならないのか，具体的にどんな「留意」が必要なのか，を併せて記載する必要があるように思います．

事務局より：
以下の修文案はいかがでしょうか。
「～と判断したが、十分量以上のチアミンが添加された基礎飼料に被験物質を混合して投与した試験であり、チアミン欠乏により生じる可能性のある毒性影響については評価できないことに留意する必要があると考えた。」

中江専門委員：
欠乏のことを言っているとは読めず，「欠乏により生じる可能性のある毒性影響」を評価することはそもそも今般評価の目的でなく，評価書に含めるべきことでもありません。そもそも，ここの文章を素直に読むと，チアミンによる毒性のことを懸念しているように読めます。ややこしいなら，「判断した」で止める方が，誤解・曲解の余地がなくなると思います。

北條専門委員：
生殖発生毒性の記載を例にすると、前半の試験方法の記載部分に「この試験は、ピロ亜硫酸ナトリウム添加において生じる、飼料中での分解によるチアミン欠乏の抑制を目的に、全群に対して基礎飼料にチアミンを添加している。」と当該試験の留意点を明記しているので、専門調査会の判断の記載部分は「～と判断した。また、最高用量においても生殖毒性は認められないと考えた。」でよろしいのではないかと思われます。

宇佐見専門委員：
前例がないのであれば、中江先生のご意見に賛同します。
髙須専門委員：
中江先生のご意見に賛同します。
また、北条先生がご指摘通りチアミンを添加していることは明記されていますので、Til らの試験の調査会の判断については、「～と判断した。」で終わるのがよいのではないかと考えます。

横平専門委員：

中江先生および皆様のご意見に賛同します。

事務局より：
ご意見を踏まえて、「～と判断した。」で終わる案に修正しました。

---

【179 回添加物調査会と同様の記載】
横平専門委員：
表現の言い換えの提案です。
・肝臓の脂肪含有クッパー細胞増加＞肝臓の脂肪貪食クッパー細胞増加
・黒緑色素顆粒含有マクロファージ出現＞黒緑色素顆粒貪食マクロファージ出現

事務局より：
ご提案いただいたとおりに表の記載を修正しました。

---

【179 回添加物調査会と同様の記載】
中江専門委員：
反復投与毒性では，「ブタ 48 週間経口投与試験（Til ら（1972））の表 11 に臓器重量に関する記載がありますが，いずれも相対重量のみの増加です．添加物専門調査会では，絶対重量・相対重量が同一方向に有意な差を示す場合にのみ「有意な毒性変化」として表中に記載し，いずれかしか変化しなければ地の文に記載するというルールがあったと思います．特に，この場合は，体重増加抑制がありますので．

事務局より：
ご指摘を踏まえ、表及び本文を修正させていただきました。

---

【179 回添加物調査会と同様の記載】
事務局より：
用量設定（%）から mg/kg 体重/日への換算について、EFSA（2016）の記載を参考に、ブタ平均体重 100 kg、平均摂餌量 3 kg/日として算出した案を記載しました。換算方法の妥当性をご確認ください。
用量設定 0.35%の場合）
0.35/100×3000000(mg/日)/100(kg)×64.0638×2/190.10654
= 70.76…mg/kg 体重/日

横平専門委員：
これでよいと思います。

高須専門委員：
特に異論はありません。

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

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

**表 21 用量設定**

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

注）Til ら（1972）による換算値（参照89）【119】

各投与群で認められた毒性所見は表 22 のとおりである。

**表 22 毒性所見**

<table>
<tr><th rowspan="2">投与群</th><th colspan="2">毒性所見</th></tr>
<tr><th>雄</th><th>雌</th></tr>
<tr><td rowspan="2">2.0%</td><td colspan="2">・便潜血 （100%）（全世代）<br>・腺胃部粘膜の限局性肥厚（隆起）及び少量の赤茶色物質（全世代）<br>・前胃及び腺胃の過形成又は炎症性変化（全世代）</td></tr>
<tr><td></td><td>・ヘモグロビン、ヘマトクリット値及び赤血球数の僅かな減少（$F_0$ 世代）</td></tr>
<tr><td>1.0%</td><td colspan="2">・便潜血（13～60%）（全世代）<br>・腺胃部粘膜の限局性肥厚（隆起）及び少量の赤茶色物質（全世代）<br>・前胃及び腺胃の過形成又は炎症性変化（全世代）</td></tr>
<tr><td>0.5%</td><td colspan="2">・前胃の上皮過形成（$F_2$ 世代）</td></tr>
</table>

そのほか、以下の所見が認められた。
- 0.125%以上の投与群及び 0.25%以上の投与群における、それぞれ尿及び肝臓中のチアミン量の用量依存的な減少。
- 0.125%投与群（雄）における、アラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）

[21]活性の有意な低下。

・0.25%投与群（雌）及び 0.5%投与群（雄）においても、投与 32 週目に限って、10%の割合で便潜血が認められた。

なお、~~体重及び~~摂餌量に投与の影響は認められなかった。

Til ら（1972）は、本試験におけるピロ亜硫酸ナトリウムの NOAEL を 0.25%投与群とし、亜硫酸の消失を考慮して 72 mg/kg 体重/日（二酸化硫黄として）としている。（参照 89）【119】

EFSA（2016）は、Til ら（1972）の設定した NOAEL を支持している。（参照 24）【21】

JECFA は、本試験における NOEL を 0.25%投与群としている。（参照 31）【27】

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

【179 回添加物調査会と同様の記載】

宇佐見専門委員：

（（5）生殖発生毒性の同試験について）この論文はビタミン B1 を過量添加した飼料で実施した試験であるので、本品目の評価に適さないと思います。

事務局より：

（5）生殖発生毒性の項の同試験記載について、参考資料に変更させていただきました。

宇佐見専門委員：

Til らの「ラット 2 年間反復投与毒性・生殖毒性・発がん性併合試験」については、取り扱い（NOAEL を求める評価対象とするのか、参考資料とするのか）の摺合せが必要ではないかと思われます。

髙須専門委員：

私は掲載可能だと考えます。

宇佐見先生のご指摘の通り、この試験はチアミン添加飼料を用いていますが、その目的は被験物質よるチアミン分解と、それに伴うチアミン欠乏を予防するためです。実際に原著では尿中及び肝臓中のチアミン量を測定しており、肝臓中チアミン量はチアミンの添加によって上昇しています。

[21] 原著においては、”glutamic-pyruvic-transaminase”と記載されている。

一方、被験物質投与群の肝臓中チアミン量はおおよそチアミン添加飼料群からチアミン非添加飼料群の間で、チアミン欠乏は認められておりません。

結果として、対照群で明らかな異常は見られず、添加栄養素が水溶性ビタミンであることも考慮すると、反復投与毒性評価に関する試験としては、成立していると考えます。

横平専門委員：

ラット２年間反復投与毒性についてのこの試験の引用も参考資料とするべきと考えます。

亜硫酸を投与すると体内のビタミン B1 欠乏をきたすことから、この不具合を解消するため、この実験ではビタミン B1 を添加されています。そのため、亜硫酸を長期間摂取した場合の真の有害事象をとらえることは難しいと考えられますので、宇佐美先生のご指摘通り、本品目の評価に適さないと思います（NOAEL も設定すべきでないと思います）。

一方で、ビタミン B1 欠乏除く有害事象の有無についてはある程度参考にはなると思いますので、参考資料として残しても良いと考えます（必須ではありません）。

宇佐見専門委員：

高須先生のご意見は理解しますが、そうすると Ema 先生の論文は飼料中チアミンの分解を考慮していないため、評価できないということになると思います。

添加されたチアミンの影響が飼料中のチアミン減少を防ぐことだけに働いていることがはっきりしなければ、評価は難しいと思います。

当該被験物質が体内のチアミンを壊さないことがはっきりしないのであれば、体内のチアミン減少を介した毒性影響を評価できない試験であると思います。

事務局より：

179 回添加物調査会におけるご議論を踏まえ、飼料にチアミンを添加している試験も評価対象としました。また、飼料中に被験物質のほかにチアミンを添加した混合物を混餌投与した試験であることを追記しました。

北條専門委員：

2%投与群では、$F_1$ および $F_2$ 世代の親動物に体重増加抑制がみられているので、「体重」の記載は削除するのが、適切と思われます。

事務局より：

ご指摘を踏まえ、「体重」を削除させていただきました。

【179 回添加物調査会と同様の記載】

中江専門委員：

血清グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ（GPT）については、キチングリカンの時の「ASAT→AST」と同様、これも現在は「ALT」（アラニンアミノトランスフェラーゼ）を用いるのが一般的です。

事務局より：

ご指摘を踏まえ、本文を修正させていただき、脚注に原著における記載を追記しました。

【179 回添加物調査会と同様の記載】

高須専門委員：

本試験はラット生殖毒性（Til ら（1972）：JECFA（1987）及び EFSA（2016）にて引用）（再掲）と同一の試験です。この表記ですと 2 年間の反復投与試験であると思うので誤解を生じるかと思います。

事務局より：

ご指摘を踏まえ、「3 世代にわたり 2 年間（104 週間）混餌投与する試験が～」と修文するとともに、表題を「2 年間反復投与毒性・生殖毒性・発がん性併合試験」と修正しました。

【179 回添加物調査会と同様の記載】

高須専門委員：

便潜血などは世代共通で見られている変化ですが、0.5%における過形成変化は $F_2$ 世代での変化です。表中にすべての世代の結果がまとめて記載されているので、所見の整理が必要であると考えますが、いかがでしょうか。

事務局より：

ご指摘を踏まえ、どの世代で見られた変化であるかを括弧（）内に記載させていただきました。

### （４）発がん性

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

ICR マウス（雌雄、各群 50 匹）に、ピロ亜硫酸カリウムを表 23 のとおり投与群を設定して、２年間飲水投与する試験が実施されている。

**表 23　用量設定**

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

注１）JECFA による換算値（参照90）【122】
注２）本専門調査会において、第９版食品添加物公定書付録　原子量表をもとに二酸化硫黄としての値に換算した。

その結果、以下の所見が認められた。

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

なお、投与後 180 日の生存率に投与の影響は認められなかった。

Tanaka ら（1979）は、ピロ亜硫酸カリウムがマウスにおいて発がん性を示さないことが推察されるとしている。（参照91）【121】

JECFA（1983 及び 1987）は、腫瘍発生率について、投与群と対照群に差は見られなかったとしている。（参照 24、90）【21、122】

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

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

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

**表 24　用量設定**

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

注）Til ら（1972）による換算値（参照 89）【119】

その結果、以下の所見が認められた。

・雄において、肺のリンパ網内系腫瘍[22]の発生数が用量依存的に減少した。

・対照群において、甲状腺腫瘍及び下垂体腫瘍の発生率が低かった。

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

Til ら（1972）は、甲状腺腫瘍及び下垂体腫瘍の発生については、使用した動物種において通常見られる数と同等であるとし、本試験において、亜硫酸塩類に起因する発がん性の影響は見られなかったとしている。（参照 89）【119】

JECFA は、本試験において、どの部位においても腫瘍発生率は増加しなかったとしている。（参照 24）【21】

EFSA（2016）は、ピロ亜硫酸ナトリウムの発がん性の影響は示されなかったとしている。（参照 31）【27】

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

| |
|---|
| 【179 回添加物調査会と同様の記載】<br>高須専門委員：<br>肺リンパ網内系腫瘍は、あまり聞きなれないように思うので、原著の表記を注釈に入れるのはいかがでしょうか。<br><br>事務局より：<br>ご指摘のとおり注釈を入れさせていただきました。また、わかりやすくするために「肺のリンパ網内系腫瘍」と修正させていただきました。 |

| |
|---|
| 宇佐見専門委員（再掲）：<br>Til らの「ラット 2 年間反復投与毒性・生殖毒性・発がん性併合試験」については、取り扱い（NOAEL を求める評価対象とするのか、参考資料とするのか）の摺合せが必要ではないかと思われます。<br><br>事務局より：<br>179 回添加物調査会におけるご議論を踏まえ、飼料にチアミンを添加している試験も評価対象としました。また、飼料中に被験物質のほかにチアミンを添加した混合物を混餌投与した試験であることを追記しました。 |

### （５）生殖発生毒性

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

[22] 原著おいて、Lung の項に"Malignant lymphoreticular tumour"と記載されている。

て引用）

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

**表 25 用量設定（試験１）**

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

注１）：Itami ら（1989）による換算値。（参照92）【126】
注２）：JECFA（1999）による換算値。（参照 26）【23】

各投与群で認められた毒性所見は表 26 のとおりである。

**表 26 毒性所見**

| 投与群 | 毒性所見 | |
|---|---|---|
| | 母動物 | 児動物 |
| 5.0% | ・体重増加の~~有意な~~抑制（投与期間：妊娠 8～20 日）<br>・摂餌量減少（投与期間：妊娠 8～20 日） | ・胎児体重の~~有意な~~低下 |
| 0.32%以上 | 所見なし | |

そのほかに、以下の所見が認められた。

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

なお、着床数、生存胎児数、子宮内胚胎児死亡率及び性比について、対照群

と投与群の間に有意な差は認められなかった。また、いずれの投与群においても胎児の外表奇形、骨格奇形及び内臓奇形は認められなかった。

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

Itami ら（1986）は、本試験における亜硫酸ナトリウム 7 水和物の母動物に対する NOEL を 2.5%とし、2.5%投与群の雌を除き、全ての投与群で胎児の体重が有意に低かったが、胎児の生存性や性比に対する影響はなかったとしている。また、0.32%投与群において胎児体重が有意に減少したことから、胎児に対する NOEL は本試験における最低用量以下であるとしている。さらに、本試験条件下において催奇形性を示さないと結論している。（参照 92）【126】

JECFA（1999）は、母動物では最高用量の 5.0%群にのみ毒性影響がみられているが、胎児では全ての投与群に発育遅延がみられたとして、本試験の LOEL を 80 mg/kg 体重/日（二酸化硫黄として）としている。（参照 26）【23】

EFSA（2016）は、Itami ら（1986）の報告を引用して換算し、母動物に対する毒性の NOAEL は 2.5%（二酸化硫黄として 560 mg/kg 体重/日）であり、胎児に対する毒性の NOAEL は 0.32%（二酸化硫黄として 81 mg/kg 体重/日）未満としている。また、新生児に対する有害影響はみられなかったこと、1 群当たりの母動物数が胎児を検査する試験群（胎児試験）では 10～12 匹のみ、新生児を検査する試験群（新生児試験）では 4 匹のみであること、並びに新生児試験の被験物質投与群が 2 用量しか設定されていないことを指摘している。（参照 31）【27】

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

事務局より：
発生毒性に係る NOAEL を 0.32%投与群における 80 mg/kg 体重/日（二酸化硫黄として）未満としておりますが、「LOAEL を 0.32%投与群における 80 mg/kg 体重/日（二酸化硫黄として）」と記載するべきでしょうか。

北條専門委員：

| |
|---|
| どちらの表記であっても間違いではありませんので、過去の評価書の事例を参照してはいかがでしょうか。<br><br>事務局より：<br>過去事例（過酢酸製剤及び同製剤に含有される物質（2017））において、文献の引用記載部分おいては、「本試験における NOEL を 20 mg/kg 体重/日未満」とした一方で、「本委員会としては、LOAEL を 20 mg/kg 体重/日と考えた。」としている事例があったことから、LOAEL としました。 |

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

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

**表 27 用量設定**

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

平均値±標準偏差

注1）本専門調査会による換算値。ラット体重 0.25 kg として mg/kg 体重/日に換算した。第 9 版食品添加物

公定書付録　原子量表をもとに二酸化硫黄としての値に換算した。
注２）JECFA（1999）による換算値（参照 26）【23】
注３）EFSA（2016）による換算値（参照 31）　【27】

各投与群で認められた毒性所見は表 28 のとおりである。

**表 28　毒性所見**

| 投与群 | 毒性所見 | |
|---|---|---|
| | 母動物 | 児動物 |
| 10% | ・摂餌量減少（投与期間：妊娠 7～14 日）<br>・一過性の体重減少を伴う体重増加の著しい抑制（投与期間：妊娠 7～14 日） | ・胎児体重の~~有意な~~低下 |

そのほかに、以下の所見が認められた。

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

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

Ema ら（1985）は、10%投与群における出生率の減少等の所見は、妊娠期間中の母動物の栄養失調による影響としており、本試験条件下でピロ亜硫酸カリウムはラットに催奇形性を示さないと結論している。（参照93）【125】

JECFA（1999）は、10%投与群において、母動物及び胎児の体重減少が認められたとし、本試験における NOEL を 760 mg/kg 体重/日（二酸化硫黄として）とし、催奇形性は認められないとしている。（参照 26）【23】

EFSA（2016）は、1,320 mg/kg 体重/日（二酸化硫黄として 759 mg/kg 体重/日）を NOAEL としている。また、1 群当りの母動物数が胎児を検査する試験群（胎児試験）では 12～13 匹のみ、新生児を検査する試験群（新生児試験）では 6～7 匹のみであることを指摘している。（参照 31）【27】

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

【179 回添加物調査会と同様の記載】
事務局より：
1）表 27 について、文献【125】の Table 1 にピロ亜硫酸カリウム摂取量（g）が記載されていますが、体重の記載が見当たらなかったため、事務局においては用量設定(%)から mg/kg 体重/日への換算を行わず、JECFA（1999）及び EFSA（2016）による換算値を表に記載しました。用量設定（%）から mg/kg 体重/日への換算は可能でしょうか。換算ができない場合、より有効数字の大きい EFSA（2016）による mg/kg 体重/日（ピロ亜硫酸カリウムとして）の値を記載し、更に事務局にて二酸化硫黄換算した値を記載することでいかがでしょうか。（グレーマーカー部は削除）

2）EFSA（2016）による mg/kg 体重/日（ピロ亜硫酸カリウムとして）の値を、原子量表を用いて二酸化硫黄としての値に換算したところ、ピロ亜硫酸カリウムとして 1,320 mg/kg 体重/日は、二酸化硫黄として 761 mg/kg 体重/日[注)] と換算され、EFSA（2016）の換算（759 mg/kg 体重/日）より大きい値となりました。保守的に小さい方の数字（759 mg/kg 体重/日）を採用するべきでしょうか。
注）1320×64.0638/222.3236 = 760.73…

北條専門委員：
1）JECFA の換算値は、原著の g 表示値を mg 表示値にした後に 10mg 以下の桁を四捨五入した値と思われます。EFSA の換算値は、単に原著の g 表示値を mg 表示値にしただけと思われます。
原著において投与期間中の母動物の体重および摂餌量の詳細が示されていないことから、mg/kg 体重/日への換算は不可能です。
（EFSA（2016）による mg/kg 体重/日（ピロ亜硫酸カリウムとして）の値を記載し、更に事務局にて二酸化硫黄換算した値を記載することに対して）同意します。

宇佐見専門委員：
2）この差は計算に用いた分子量の違いによると思われます。PubChem 掲載の分子量（ピロ亜硫酸カリウム, 222.33）と ChemSpider 掲載の分子量（2酸化硫黄モノアイソトピック, 63.961899）を用いて計算すると 1320 mg のピロ亜硫酸カリウムは 759.499003 mg の二酸化硫黄になります。一般的な原子量表を用いると得られる 761 mg でよいと思います。

宇佐見専門委員：

表中のピロ亜硫酸カリウム摂取量(g)は、投与期間中の総量であると思われます。なぜならば、0.1%で計算すると、摂餌量が 0.13(g)/0.001=130(g)になり、１日の摂餌量として多すぎるからです。

投与期間中の総量と考えると、摂餌量は 130(g)/8(日)=16.25(g/日)となり、摂餌量の減少を考えると妥当な値であると思います。そう考えると原著表中の単位(g)とも整合性があります。

したがって、摂取量を mg/kg/day として求めると、130(mg)/8(日)/0.25(kg 体重)=65(mg/kg 体重/日)程度になると思います。 EFSA のちょうど半分ですね。

事務局より：

mg/kg 体重/日への換算につきまして、JECFA の値は削除しました。

ピロ亜硫酸カリウム摂取量(g)を投与期間中の総量とし、ラット体重を 0.25 kg として計算した結果を表に追加しました。なお、計算方法を表の注釈に記載しました。

EFSA の値も削除してよろしいでしょうか。

宇佐見専門委員：

JECFA と EFSA の判断の記載文に投与量が含まれているので、参照するためには残しておいた方が良いと思います。

事務局より：

JECFA と EFSA の換算値を表に追加しました。

~~③ 参考資料~~

~~以下の知見について、飼料中に被験物質（亜硫酸塩）の他にチアミン（ビタミン B1）を過量添加した混合物を混餌投与した試験であることから、参考資料として記載する。~~

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

Wistar ラット（雌雄、各群 20 匹）に、~~全群でチアミンを添加した他、~~ピロ亜硫酸ナトリウムを表 21 のとおり~~の投与群を~~用量設定で~~して~~、2 年間（104 週間）混餌投与する試験が実施されている。この試験は、ピロ亜硫酸ナトリウム添加において生じる、飼料中での分解によるチアミン欠乏の抑制を目的に、全群に対して基礎飼料にチアミンを添加している。$F_0$ 世代の全~~すべ~~てのラットについて投与 21 週に同一用量群の雌雄を交配させ、その内の半数の $F_0$ ラット

については投与 34 週にも同一用量群の雌雄を再度交配させた。$F_0$ 世代の投与 21 週での交配で生まれた同腹児から離乳時に各群で雌雄各 10 匹（$F_{1a}$）を選抜し、各用量群の飼料を 104 週間混餌投与した。$F_{1a}$ 世代のラットは投与 12 週と投与 30 週に交配させ、それぞれの交配から同腹児（$F_{2a}$ ~~およ~~及び $F_{2b}$）を得た。$F_{2a}$ 同腹児からは各群で雄 10 匹（$F_{2a}$）と雌 15 匹（$F_{2a}$）を選抜し、各用量群の飼料を 30 週間混餌投与した。$F_{2a}$ 世代のラットは投与 14 週と投与 22 週に交配させ、$F_3$ 世代を得る試験が実施されている。

**表 29　用量設定**

| 用量設定（%） | 0（対照群） | 0.125 | 0.25 | 0.5 | 1.0 | 2.0 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| ~~換算用量（%）注1）~~ | | ~~0.0975~~ | ~~0.215~~ | ~~0.44~~ | ~~0.92~~ | ~~1.91~~ |
| mg/kg 体重/日に換算（二酸化硫黄として）（mg/kg 体重/日）注1~~2~~） | 0 | 37 注2~~3~~） | 75 | 150 | 300 | 600 |

~~注 1）本専門調査会において、飼料貯蔵後のピロ亜硫酸残留率から換算した。（参照 106）【119】~~

注1~~2~~）Til ら（1972）による換算値（参照 89）【119】

注2~~3~~）EFSA（2016）に記載の換算値（参照 31）【27】

投与群で認められた毒性所見は表 30 のとおりである。

**表 30　毒性所見**

| 投与群 | 毒性所見 | | |
|---|---|---|---|
| | $F_0$ 世代 | $F_1$ 世代 | $F_2$ 世代 |
| 2.0% | 児動物に対する影響：<br>・哺育児体重の低値傾向 | 親動物に対する影響：<br>・親動物（雌雄）の体重増加抑制<br>児動物に対する影響：<br>・哺育児体重の低値傾向 | 親動物に対する影響：<br>・親動物（雌雄）の体重増加抑制<br>児動物に対する影響：<br>・哺育~~新生~~児体重の低値傾向 |

そのほか、以下の所見が認められた。

・1.0%以下の投与群においては、哺育 8 日及び 21 日の哺育児の体重が散発的に有意に低下したが、用量依存的ではなかった。

・0.5、1.0 及び 2.0%投与群において、$F_{2a}$ 世代の 1 回目の交配から得られた新生児数が有意に減少したが、用量相関性はなく、2 回目の交配から得られた新生児数に減少は認められなかった。

・2.0%投与群において、$F_{2a}$ 世代の雌で腎臓相対重量のみの有意な増加が認

められた。

なお、$F_0$世代では親動物の体重変化に投与の影響は認められなかった。また、雌の妊娠率、同腹児数、出生時体重及び哺育児死亡率に対照群と投与群の間で差は認められなかった。

このほかに、以下の所見が認められた。

・各世代の 1.0%以上の投与群において便潜血が認められ、発生頻度は 1.0%投与群で 13～60%、2.0%投与群で 100%であった。同所見は 0.25%投与群（雌）及び 0.5%投与群（雄）でも 10%に投与 32 週目に限って認められた。

・病理学的検査では、各世代の 1.0%以上の投与群において、腺胃の粘液層に肥厚した突起部及び少量の赤茶色の羊毛状の物質が見られ、前胃及び腺胃の過形成又は炎症性変化が認められた。0.5%群の $F_2$ 世代（雌雄）の前胃にも同様の変化が軽度に認められた。

Til ら（1972）は、本試験では 2.0%投与群でみられた児動物の軽度の成長遅滞のほかには、生殖毒性試験でピロ亜硫酸ナトリウムの影響を明らかにできなかったとしている。（参照 89）【119】

EFSA（2016）は著者の結論に同意し、ピロ亜硫酸ナトリウムの NOAEL を 1.0%投与群における 262 mg/kg 体重/日としている。（参照 31）【27】

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

事務局より：

用量設定（%）から mg/kg 体重/日への換算について、原著に記載のある消失率（%）を用いて単純に計算した場合、1.0%は 276 mg/kg 体重/日となり、EFSA（2016）の換算（262 mg/kg 体重/日）と一致しませんでしたが、どのように計算するべきでしょうか。なお、同様の計算では、0.25%が 64.5 mg/kg 体重/日となり、原著（72 mg/kg 体重/日）とも一致しませんでした。

用量設定 1.0%の場合）300（mg/kg 体重/日）×0.92＝276（mg/kg 体重/日）

用量設定 0.25%の場合）75（mg/kg 体重/日）×0.86＝64.5（mg/kg 体重/日）

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

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 消失率（%）注１） | — | 22 | 14 | 12 | 8 | 4.5 |
| 亜硫酸の消失を考慮して換算（二酸化硫黄として）（mg/kg 体重/日）注３） | | 28.9 | 64.5 | 132 | 276 | 573 |

注１）原著に記載がある。

注２）原著に記載はないが、EFSA（2016）に記載がある。

注３）mg/kg 体重/日に換算した用量（原著に記載）から、消失率（%）を用いて計算した。

宇佐見専門委員：

EFSA の記述は、著者から他の情報を得て計算しているのではないかと思われますが、著者らの最初の消失率を用いてはおらず、どちらかというと２週間と１日後の消失率からの値に近いです。

EFSA の値を用いることで良いと思います。

事務局より：

ご意見を踏まえ、NOAEL には EFSA の換算値を用いました。

宇佐見専門委員（再掲）：

Til らの「ラット２年間反復投与毒性・生殖毒性・発がん性併合試験」については、取り扱い（NOAEL を求める評価対象とするのか、参考資料とするのか）の摺合せが必要ではないかと思われます。

事務局より：

179 回添加物調査会におけるご議論を踏まえ、飼料にチアミンを添加している試験も評価対象としました。また、飼料中に被験物質のほかにチアミンを添加した混合物を混餌投与した試験であることを追記しました。

### （６）ヒトにおける知見

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

【179 回添加物調査会と同様の記載】

事務局より：

要請者が作成した概要書において報告されているアレルゲン性の知見のうち、本品目の対象品目がぶどう酒でることから、成人を対象にした経口負荷投与試験の結果、症状等が報告されている試験結果を表 31 にまとめました。なお、ステロイド依存性喘息患者や非

依存性患者等における亜硫酸過敏症の発症率、酵素欠損症等の知見も報告（概要書 P97～P101）されていますが、当該患者に対する発症率等の検討は行わないことから、評価書案には記載しておりません。
　また、食品中のその他成分に及ぼす作用に関する知見も報告（概要書 P120～P128）されていますが、本品目の使用は、ぶどう酒の発酵中に限られることから、評価書案には記載しておりません。

### ①　アレルゲン性

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

表 31　経口負荷投与試験の結果

| 対象者（基礎疾患等） | 被験物質 | 摂取量等 | 症状等 | 参照文献 |
|---|---|---|---|---|
| 50 歳男性（亜硫酸を含むサラダの摂取後に全身性のアレルギー反応） | 亜硫酸水素ナトリウム | 10 mg（単回） | 紅斑、痒み、悪心、熱感、咳、~~気管支収縮~~喉の圧迫感 | Prenner and Stevens（1976）（参照94）【166】 |
| 21～64 歳男性 2 人、女性 3 人（喘息） | ピロ亜硫酸ナトリウム | 25 mg（単回） | 一秒量（$FEV_1$）の低下（12%以上） | Freedman（1977）（参照95）【172】 |
| 67 歳女性（喘息） | ピロ亜硫酸ナトリウム | 不明 | 気管支痙攣 | Baker ら（1981）（参照96）【173】 |
| 23 歳女性（喘息） | ピロ亜硫酸ナトリウム | 500 mg（単回） | 最大呼吸流量の低下（440 L/min から 100 L/min） | |
| 27～65 歳女性 4 人（喘息） | ピロ亜硫酸カリウム | 1、5、10、25 及び 50 mg（30 分間隔投与） | 喘息様症状、$FEV_1$の低下（34～49%） | Stevenson and ~~と~~ Simon（1981）（参照97）【174】 |
| 24 歳男性（季節性アレルギー性鼻炎） | ピロ亜硫酸塩 | 10 mg、25 mg、50 mg、（計 3 回） | 消化管異常、立ちくらみ、血圧低下 | Schwartz(1983)（参照98）【168】 |
| 34 歳女性（妊娠中にめまい、吐き気等の食物アレルギー） | | | 吐き気、立ちくらみ、脱力感、めまい、血圧低下 | |
| 25～59 歳男性 12 人（特発性アナフィラキシー） | ピロ亜硫酸ナトリウム | 1、5、10、25、50、100 及び 200 mg（15 分 | 非特異的な刺激症状と自覚症状 | Sonin and Patterson（1985）（参照99）【180】 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| | | 間隔投与） | | |
| 22～55 歳女性 3 人（喘息） | ピロ亜硫酸カリウム | 1、5、10、25、及び 50 mg（20 分間隔投与） | $FEV_1$の低下（38%～65%）、喉及び胸部の圧迫感、呼吸困難、喘鳴、空咳、頭痛、発赤、鼻漏、流涙、鼻結膜炎~~喘息、アナフィラキシー~~ | Yang ら（1986）（参照100）【184】 |
| 38 歳女性（喘息） | ピロ亜硫酸ナトリウム | 不明 | 気道狭窄 | Acosta ら（1989）（参照101）【185】 |
| 27～40 歳男性 2 人、女性 4 人（慢性喘息） | ピロ亜硫酸カリウム | 1、5、10、25、50、100 及び 200 mg（20 分間隔投与） | $FEV_1$の低下（20%以上） | Sprenger ら（1989）（参照102）【186】 |
| 34 歳女性（アレルギー性鼻炎、鼻ポリープ症、再発性副鼻腔炎） | ピロ亜硫酸ナトリウム | 1、5、10、25、50、100 及び 200 mg | 鼻うっ血、鼻漏、顔、唇及び眼周囲組織の腫脹、蕁麻疹 | Sokol and Hydick（1990）（参照103）【187】 |
| 22 歳女性（季節性鼻結膜） | ピロ亜硫酸カリウム | 25 mg（単回） | 蕁麻疹、鼻の痒み、鼻漏、発声困難 | Belchi-Hernandez ら（1993）（参照104）【189】 |
| 36 歳女性（喘息、鼻炎） | ピロ亜硫酸ナトリウム | 25 mg（単回） | $FEV_1$の低下（24%） | Wuthrich（1993a）（参照105）【190】 |
| 37 歳男性（再発性の急性蕁麻疹、血管性浮腫、呼吸困難） | ピロ亜硫酸ナトリウム | 50 mg（単回） | 蕁麻疹 | |
| ~~37~~47 歳男性（再発性の急性蕁麻疹、血管性浮腫、呼吸困難） | ピロ亜硫酸ナトリウム | 50 mg（単回） | 蕁麻疹 | Wuthrich（1993b）（参照106）【191】 |
| 23 歳男性（喘息） | ピロ亜硫酸ナトリウム | 1、10、25、50、75、100 及び 150 mg（10 分間隔投与） | $FEV_1$の低下（20%） | Gastaminza ら（1995）（参照107）【182】 |
| 25 歳男性（ワイン等の摂取後に紅斑性皮疹等の症状） | ピロ亜硫酸ナトリウム | 10 mg（単回） | 顔面に痒みを伴う紅斑性皮疹及び腫脹 | Gall ら（1996）（参照108）【192】 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 53 歳女性（点眼薬による眼周囲の紅斑性浮腫） | 亜硫酸水素ナトリウム | 200 mg（単回） | 眼周囲の紅斑性浮腫 | Park and と Nahm（1996）（参照109）【193】 |
| 24～31 歳女性 4 人（喘息） | ピロ亜硫酸ナトリウム | 45 mg（単回）注） | $FEV_1$ の低下（15%以上） | Vally and Thompson（2001）（参照110）【195】 |
| 56 歳男性(6 か月間、体幹、上肢及び頭の掻痒感) | ピロ亜硫酸ナトリウム | 10 mg（単回） | 体幹、上肢及び頭の掻痒感 | Asero（2005）（参照111）【175】 |

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

### ② 症例報告等

#### a．症例報告（Tsevat ら（1987））

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

この患者は、乾燥杏子の摂取による急性の喘息発作の既往歴があり、過去にレストランでサラダを食した直後にめまいや悪心、呼吸困難を起こしたことがあった。（参照112）【208】

#### b．観察研究（Tollefson ら（1988））

米国食品安全・応用栄養センターの有害反応監視システムに報告された亜硫酸による有害反応の分析の結果、食品関連有害反応を起こす品目は、頻度の高い順にサラダバー提供品 280 件、サラダバー以外での新鮮果実及び野菜 143 件、ワイン 111 件、海産食物 98 件等であった。また、頻繁に報告されている症状は喘息又はアレルギー反応に関連した症状（呼吸困難 314 件、喘鳴 50 件、嚥下困難 64 件、蕁麻疹 64 件、痒み 61 件、局所腫脹 58 件）及び消化管不調（下痢 112 件、嘔吐及び吐き気 112 件、腹部痛及び痙攣 88 件）であった。報告された患者の多く（74%）は女性であり、年齢を報告している消費者のうち、66%が 20～59 歳で、27%が 60 歳以上であった。さらに、報告された重篤な反応事例の 23.2%に呼吸困難が報告され、発現率はわずかであったが、亜硫酸ばく露後の死亡事例の報告もあった。（参照113）【209】

#### c．レビュー（Nair ら（2003））

FDA が 1986 年 10 月までに亜硫酸処理した食品摂取に原因があるとされた 767 例の有害反応について分析したところ、ほとんどの反応はステロイド依存性喘息患者に発生しており、多くは呼吸困難若しくは呼吸不全又はアナ

フィラキシーが起きていた。また、亜硫酸摂取と関連するとされた死亡 22 例を分析したところ、重篤な喘息患者の死亡 9 例（年齢・性別不明）及び喘息患者の死亡 5 例（年齢・性別不明）は亜硫酸摂取による可能性があるとした。（参照114）【210】

ｄ．横断研究（Linneberg ら（2008））

コペンハーゲンで実施されたアルコールにより誘発される上気道、下気道及び皮膚の過敏症症状に関する自己申告による調査（18～69 歳の無作為サンプル（n=6,000））において、分析対象とした 4,091 人（男性 1,871 人、女性 2,220 人）のうち、アルコール摂取後の症状として、上気道 7.6%、下気道 3.2%及び皮膚 7.2%における症状発生の申告があり、上気道及び皮膚の症状は、男性よりも女性に有意に多く見られ、上気道の症状では、40～60 歳の間がピークであった。また、いずれの症状もアレルギー性鼻炎及び喘息と有意に関連があった。

Linneberg ら（2008）は、亜硫酸の添加は、ワインにより誘発される喘息反応に関係しているとされているが、実験条件下で亜硫酸の負荷試験に反応するワインに過敏な喘息患者は少数であり、反応が起こるには補因子又は他の成分が必要になることを示唆しているとしている。（参照115）【211】

③　ヒトにおける知見のまとめ

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

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

| 事務局より：<br>179 回添加物調査会のご指摘を踏まえ、表 31 に「基礎疾患等」を追加し、今回報告されている試験の対象者がアレルギー性疾患患者等であることを明示しました。また、「ヒトにおける知見のまとめ」を修正いたしました。ご確認をお願いいたします。 |
| --- |

| 【179 回添加物調査会と同様の記載】<br>事務局より：<br>ヒトにおける知見のまとめとしては、報告された知見をまとめております。ご確認のほどよろしくお願いいたします。 |
| --- |

（７）毒性のまとめ

遺伝毒性については、生体にとって特段問題となるような遺伝毒性はないと判断した。

反復投与毒性については、ブタ 48 週間経口投与試験（Til ら（1972））において、病理組織学所見が認められたことから、本試験における反復投与毒性に係るピロ亜硫酸ナトリウムの NOAEL を 0.5%投与群における 71 mg/kg 体重/日（二酸化硫黄として）と判断した。また、ラット２年間反復投与毒性・生殖毒性・発がん性併合試験（Til ら（1972））において、胃の病理所見及び便潜血の所見が認められたことから、本試験における反復投与毒性に係るピロ亜硫酸ナトリウムの NOAEL を 0.25%投与群における 72 mg/kg 体重/日（二酸化硫黄として）と判断した。

生殖毒性については、ラット２年間反復投与毒性・生殖毒性・発がん性併合試験（Til ら（1972））において、親動物及び児動物の体重増加抑制が見られたことから、本試験におけるピロ亜硫酸ナトリウムの親動物に対する一般毒性及び児動物に対する毒性に係る NOAEL を 1.0%投与群における 262 mg/kg 体重/日（二酸化硫黄として）と判断し、最高用量においても生殖毒性は認められないと考えた。

発生毒性については、ラット発生毒性試験（Itami ら（1989）; Ema ら(1985)）の結果から、母動物に対する一般毒性に係る NOAEL を、1%投与群における 380.5 mg/kg 体重 /日（二酸化硫黄として）と判断し、発生毒性に係る LOAEL を 0.32%投与群における 80 mg/kg 体重/日（二酸化硫黄として）と判断した。催奇形性は認められないと考えた。

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

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

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

| |
|---|
| 事務局より：<br>毒性のまとめの素案を作成しましたので、ご確認ください。 |

杉山専門委員：
遺伝毒性について、本文中の「適切な条件下で試験された経口投与の小核試験及び *in vivo* 染色体異常試験では陰性の結果が得られている。」を加味した文章の方がベターかと考えます。

戸塚専門委員：
杉山専門委員のご意見に賛同します。

事務局より：
ご指摘を踏まえ、「遺伝毒性のまとめ」に当該文章を追記することでいかがでしょうか。

1
事務局より：
得られた NOAEL のうち、本試験の値が最低値になりますが、NOAEL 設定根拠となった胃での所見については、直接的な影響によるものである可能性も考えるとこの影響が重篤な毒性影響ではないと考えてよろしいでしょうか。また、その場合、当該検討結果は、毒性のまとめ、食品健康影響評価のどちらか、あるいは両方に記載すべきでしょうか。

横平専門委員：
胃の所見（胃炎）は直接的な影響によるものと考えます。胃の毒性影響は胃炎（軽度）であり、生死に関わる変化や後遺症となる変化ではなく、重篤な毒性影響ではないと考えます。
一方で、この胃炎は、毒性のまとめには記載すべきと考えます。食品健康影響評価にも基本的には記載した方が良いと思いますが、他の評価項目とのバランスで記載すべきかどうかを考えるべきと思います。

髙須専門委員：
私も胃の変化は直接的な作用の可能性が考えられると思います。
また、それらをまとめ及び健康影響評価に記載するのがよろしいかと考えます。

事務局より：
ご意見を踏まえ、所見についての判断を「毒性のまとめ」及び「食品健康影響評価」に追記いたしました。

中江専門委員：
「毒性のまとめ」では，第 74 ページ第 21-22 行に「なお、本試験において認められた毒性所見は軽度の胃炎であり、重篤な毒性影響ではないと考えた。」と記載しながら，同第 22-24 行で，当該試験について調査会が評価した NOAEL に基づいて「本専門調査会としては、亜硫酸水素アンモニウム水由来の二酸化硫黄及び亜硫酸塩の最小の NOAEL は、71 mg/kg 体重/日（二酸化硫黄として）と判断した。」と結論しています．NOAEL 判定の基になった所見について，わざわざ「軽度」だの「重篤…でない」などと記載すると，第三者的にフラットに読むと，それならなぜそんなたいしたことのない変化を NOAEL 判定の根拠にしたのか，という疑問が生じるおそれがあるかもしれないと思います．　このことについては，むしろ反復投与毒性試験の当該試験の項において「胃炎は直接作用によるものと推定され．軽度であり、重篤な毒性影響でないと考えるが，被験物質の有害影響であることは事実なので，それ基に NOAEL を判定した．」的に記載しておき，「毒性のまとめ」で触れない方がいいと思います．なお，第 82 ページ第 1-2 行の「毒性試験成績から NOAEL が得られているものの、認められた毒性影響は重篤ではないことを考慮し、」については，正にこの場所で述べるべきことであり，このまま記載するのが妥当だと思います．

事務局より：
NOAEL 設定を判断している箇所に「毒性所見は～重篤な毒性影響ではない」を書いて、疑問を生じる可能性がないように、「（P74～P76）毒性のまとめ」では、当該記載はせず、「食品健康影響評価」の ADI に関連する記載にのみ以下の記載（P84 の緑マーカーのとおり追記）を行いました。
「毒性試験成績から NOAEL が得られているものの、本試験において認められた毒性所見は軽度の胃炎であり、重篤な毒性影響ではないことを考慮し、」

## Ⅲ．一日摂取量の推計等

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

### １．現在の生産量等に基づく摂取量

#### （１）二酸化硫黄に係る推計

##### ①　生産量統計調査に基づく摂取量

指定等要請者は、食品の安全確保推進研究事業（平成 28 年度厚生労働科学研究費補助金事業)「食品添加物の安全性確保のための研究」における「生産量統計調査を基にした食品添加物摂取量の推計に関わる研究」(第 11 回最終報告)（平成 29 年 3 月）を引用し、添加物として指定されている二酸化硫黄及び亜硫酸塩類 7 の調査結果から､添加物由来の二酸化硫黄としての摂取量の総和は、12.3 mg/人/日と推定している。(参照 2、116)【概要書、227】

##### ②　マーケットバスケット調査に基づく摂取量

指定等要請者は、平成 28 年度マーケットバスケット方式による摂取量実態調査結果を引用し、亜硫酸塩類[23]の推定一日摂取量は、二酸化硫黄として 0.164 mg/人/日で、対 JECFA　ADI（0-0.7 mg/kg 体重/日）比では 0.40%であったと説明している。(参照 2、117)【概要書、231】

指定等要請者は、生産量統計調査に基づく推計（①）とマーケットバスケット調査（②）に基づく推計を比較し、推定摂取量に約 70 倍の差があるのは、亜硫酸塩の特性から食品の加工工程での酸化や二酸化硫黄として揮散して消失することが原因とされ、マーケットバスケット方式による摂取量調査の方が、国民が摂取する実態に近いと考えられると説明している（参照 2、84)【概要書、232】

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

| |
|---|
| 【177 回添加物調査会と同様の記載】 |

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

事務局より：
指定等要請者の説明や食品中の食品添加物分析法　解説書（1992）【232】を踏まえ、添加された亜硫酸の一部は二酸化硫黄として揮散して消失すると考えられることから、マーケットバスケット方式による摂取量調査に基づく摂取量を記載しておりますがいかがでしょうか。

瀧本専門委員：
ご提案のとおりで問題ないと思います。
西専門委員：
問題ないと思います。

**（２）アンモニウムイオンに係る推計**

指定等要請者は、添加物評価書「アンモニウムイソバレレート」（第２版）（2014）を引用し、ヒトが食品を摂取することにより、消化管内において、1 日当たり十二指腸で 10 mg、結腸で約 3 g のアンモニアが産生され、産生されたアンモニアのほとんどが吸収された後、門脈循環に入るとされていると説明している。

また、健常なヒトではアンモニウムイオンは肝臓で速やかに尿素に変換され、尿中に排泄されると説明している。（参照 2、19、118）【概要書、36、37】

【177 回添加物調査会と同様の記載】
瀧本専門委員：
「アンモニウムイソバレレート」評価書を見ましたら、この記載の根拠は EFSA の報告書でしたので、こちらも引用してはどうでしょうか。

事務局より：
引用文献に EFSA 報告書を追加いたしました。
西専門委員：
追加の意見はありません。

**２．使用基準策定後の摂取量**

**（１）対象食品の摂取量**

【179 回添加物調査会と同様の記載】
事務局より：
177 回添加物調査会におけるご指摘を踏まえ、平成 30 年度の酒類販売（消費）数量等の状況表及び平成 30 年の国民健康・栄養調査に基づいたぶどう酒推定摂取量に修正したこと

に伴い、推定摂取量を計算し直しました。

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

「国税庁平成 30 年度分酒類販売（消費）数量等の状況表（都道府県別）」によれば、2018 年度果実酒及び甘味果実酒の販売（消費）数量は、それぞれ 352,046 kL/年及び 9,955 kL/年であり、合計は 362,001 kL/年であるとされる。（参照119）【追 1】

指定等要請者は、果実酒にはブドウのほかリンゴ、ナシなどの果実を原料とするものもあるものの、ブドウを原料としたものが主であるとし、過大な見積もりにはなるが、果実酒及び甘味果実酒の販売（消費）数量を我が国におけるぶどう酒の年間飲酒量とみなしている。（参照 2）【概要書】

指定等要請者の推計を踏まえると、我が国におけるぶどう酒の年間飲酒量（362,001 kL/年）を成人人口（104,013 千人）で除した値を成人 1 人当たりのぶどう酒の年間飲酒量と仮定し、1 日当たりに換算すると、成人 1 人当たりのぶどう酒推定一日摂取量は、9.54 mL/人/日と推計した。（参照 119）【追 1】

さらに、ぶどう酒が特定の集団に嗜好されて摂取され、摂取量に差が生じる可能性を考慮し、平成 30 年国民健康・栄養調査において、飲酒習慣のある者（週に 3 日以上、飲酒日 1 日当たり清酒換算で 1 合以上飲酒すると回答した者）の割合（19.8%）を成人人口に乗じて計算した場合、当該対象者全てがぶどう酒を摂取したと仮定した 1 人当たりのぶどう酒推定一日摂取量は、48.2 mL/人/日と推計した。（参照120）【追 2】

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

【177 回添加物調査会と同様の記載】
事務局より：
グレーマーカー部は、炭酸カルシウム評価書（案）からの引用記載です。

瀧本専門委員：
了解いたしました。
西専門委員：
問題ないと思います。

### （２）ぶどう酒からの摂取量

指定等要請者は、発酵前あるいは発酵中の果汁やマスト[2]に添加された亜硫酸水素アンモニウム水は、二酸化硫黄及びアンモニウムイオンを生じ、二酸化硫黄は水中で二酸化硫黄として存在するほか、水と反応して pH の影響を受けて亜硫酸水素イオン及び亜硫酸イオンが生じると説明している。また、発酵前に添加した亜硫酸が製成時に減少することやアンモニウムイオンが酵母の窒素源として資化されることを踏まえ、発酵の進行と共に二酸化硫黄及びアンモニウムイオン濃度は大きく減少することから、摂取量は実際には一層低くなると説明している。（参照 2、3、83）【概要書、1、44】

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

#### ① 二酸化硫黄に係る推計

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

本専門調査会としては、（１）で算出した 1 人当たりのぶどう酒推定一日摂取量（48.2~~49.3~~ mL/人/日）を踏まえ、ぶどう酒からの二酸化硫黄の推定一日摂取量は、0.113 ~~0.116~~ mg/kg 体重/日と推計した。~~また~~これに、１.（１）②マーケットバスケット調査に基づく現在の二酸化硫黄の摂取量を~~踏まえ~~合計し、使用基準策定後の二酸化硫黄の推定一日摂取量は、~~0.119~~0.116 mg/ kg 体重/日と推計した。

#### ② アンモニウムイオンに係る推計

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

---

[24] (64.06/99.11)×200 mg/L = 129.27 mg/L

[25] (18.04/99.11)×200 mg/L = 36.40 mg/L

本専門調査会としては、（1）で算出した 1 人当たりのぶどう酒推定一日摂取量（~~49.3~~48.2 mL/人/日）を踏まえ、ぶどう酒からのアンモニウムイオンの推定一日摂取量は、~~1.80~~1.75 mg/人/日と推計した。

本専門調査会としては、1．（2）を踏まえ、ぶどう酒から摂取される添加物「亜硫酸水素アンモニウム水」由来のアンモニウムイオン摂取量は、ヒトにおいて食事から産生される量と比較して無視できると判断した。

## 3．摂取量推計等のまとめ

本専門調査会としては、飲酒習慣のある者から算出したぶどう酒推定一日摂取量（~~49.3~~48.2 mL/人/日）及び添加物「亜硫酸水素アンモニウム水」の使用基準案の最大量（0.2 g/L）に基づき、それが全て残存した場合を仮定し、ぶどう酒からの二酸化硫黄及びアンモニウムイオンの推定一日摂取量を推定した。

ぶどう酒からの二酸化硫黄の摂取量は、~~0.116~~0.113 mg/kg 体重/日と推計され、これにマーケットバスケット調査に基づく現在の摂取量を合計し、添加物「亜硫酸水素アンモニウム水」の使用~~規格~~基準が策定された場合の二酸化硫黄の推定一日摂取量は、~~0.119~~0.116 mg/ kg 体重/日となると判断した。

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

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

【177 回添加物調査会と同様の記載】

事務局より：

摂取量推計等については、基本的に指定等要請者の説明を踏まえた記載としていますがいかがでしょうか。

瀧本専門委員：

了解です。

西専門委員：

問題ないと思います。

## Ⅳ．食品健康影響評価

<table><tr><td>事務局より：<br>　体内動態のまとめ、毒性のまとめの記載に基づき、食品健康影響評価を作成しまし、ブタ 48 週間経口投与試験（Til ら（1972））から得られた最小の NOAEL である 71 mg/kg 体重/日（二酸化硫黄として）を亜硫酸水素アンモニウム水由来の二酸化硫黄及び亜硫酸塩の NOAEL としております。<br>　また、推定一日摂取量は、過大な見積もりであり、実際の摂取量はより少ないと予想されることから、NOAEL と大きな差があると考えられます。さらに、NOAEL を求めた試験において認められた所見は重篤な毒性影響ではないことを考慮し、添加物「亜硫酸水素アンモニウム水」が添加物として適切に使用される場合、安全性に懸念がないと考えられ、ADI を特定する必要はないとしております。ご確認をお願いいたします。</td></tr></table>

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

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

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

遺伝毒性については、生体にとって特段問題となるような遺伝毒性はないと判断した。

急性毒性、反復投与毒性、生殖発生毒性等の試験成績を検討した結果、ブタ 48 週間経口投与試験（Til ら（1972））において、1.0%以上の投与群で病理組織学所見が認められたことから、NOAEL はこの報告の 0.5%投与群から算出した 71 mg/kg 体

重/日（二酸化硫黄として）と判断した。

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

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

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

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

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

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

① 発酵前あるいは発酵中の果汁やマスト[2]に添加され、本品から生じた二酸化硫黄は、水と反応して亜硫酸を生じ、有害微生物の増殖防止及び酸化防止の効果を発揮しつつ大気中に揮散又は酸化により徐々に消失するとされていること（参照 2、83、84）【2、44、232】

② 発酵前に添加した亜硫酸は、果汁等の固形分と結合し、その含有量は減少すると指摘されていること（参照 83）【44】

③ 亜硫酸の使用時には、添加前後で分析を行い、使用量が適切であるかを確認することや使用記録を残すこととされており、添加物「亜硫酸水素アンモニウム水」の使用においては使用量等の管理が適切になされると考えられること（参照121）【220】

したがって、本専門調査会は、毒性試験成績から NOAEL が得られているものの、本試験において認められた毒性所見は軽度の胃炎であり、毒性影響は重篤ではないことを考慮し、亜硫酸水素アンモニウムの性質、使用方法、実際の摂取量、使用基準案等から、添加物「亜硫酸水素アンモニウム水」が添加物として適切に使用

される場合、安全性に懸念がないと考えられ、ADI を特定する必要はないと判断した。

＜別紙：略称＞

| 略称 | 名称等 |
|---|---|
| ALT | Alanine aminotransferase：アラニンアミノトランスフェラーゼ |
| CHL | Chinese Hamster Lung：チャイニーズハムスター肺 |
| CHO | Chinese Hamster Ovary：チャイニーズハムスター卵巣 |
| DMPO | 5,5-dimethyl-1-pyrroline-1-oxide：5,5-ジメチル-1-ピロリン-1-オキシド |
| EFSA | European Food Safety Authority：欧州食品安全機関 |
| EU | European Union：欧州連合 |
| FASEB | Federation of American Societies for Experimental Biology：米国生物実験科学連合 |
| FEV$_1$ | Forced expiratory volume in one second：一秒量 |
| FSANZ | Food Standards Australia New Zealand：オーストラリア・ニュージーランド食品基準機関 |
| GMP | Good Manufacturing Practice：適正製造規範 |
| GRAS | Generally Recognized as Safe：一般的に安全とみなされる |
| GSFA | Codex General Standard for Food Additives：食品添加物に関するコーデックス一般規格 |
| JECFA | Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives：FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議 |
| NCE | Normochromatic erythrocyte：正染性赤血球 |
| OECD | Organization for Economic Co-operation and Development：経済協力開発機構 |
| OIV | Organisation international de la vigne et du vin：国際ブドウ・ワイン機構 |
| PCE | Polychromatic erythrocyte：多染性赤血球 |
| PMA | Phorbol myristate acetate：ホルボールミリステートアセテート |
| SCE | Sister Chromatid Exchange：姉妹染色分体交換 |
| SCF | Scientific Committee for Food：欧州食品科学委員会 |
| SHE | Syrian Hamster Embryo：シリアンハムスター胚 |

＜参照＞

1 【委員会資料】厚生労働省：「亜硫酸水素アンモニウム水」の食品安全基本法第 24 条に基づく食品健康影響評価について，第 774 回食品安全委員会，2020

2 【概要書】独立行政法人酒類総合研究所：亜硫酸水素アンモニウム水の食品添加物新規指定のための概要書，2020

3 【1】FSANZ (Food Standards Australia New Zealand): Supporting document 1 Risk and technical assessment Application A1127 Processing Aids in Wine, 2017

4 【4】高本進，稲本直樹，中原勝儼，山崎昶：化合物の辞典，朝倉書店，1997

5 【39】Laffort: Bisulfite NH4 400, 100 Technical Data Sheet https://laffort.com/en/products/bisulfite-nh4-400/

6 【5】OIV (Organisation Internationale de la Vigne et du Vin): INTERNATIONAL OENOLOGICAL CODEX Ammonium Hydrogen Sulfite, 2007

7 【6】FSANZ (Food Standards Australia New Zealand): Australia New Zealand Food Standards Code Standard 4.5.1 Wine Production Requirements (Australia only), F2019C00225, 2019

8 【11】EU (European Union ): COMMISSION DELEGATED REGULATION (EU) No 2019/934 of 12 March 2019 supplementing Regulation (EU) No 1308/2013 of the European Parliament and of the Council as regards wine-growing areas where the alcoholic strength may be increased, authorized oenological practices and restrictions applicable to the production and conservation of grapevine products, the minimum percentage of alcohol for by-products and their disposal, and publication of OIV files.　Official Journal of the European Union 2019; L149/1

9 【17】公益財団法人日本食品化学研究振興財団：指定添加物リスト（規則別表１），2019 https://www.ffcr.or.jp/tenka/list/post-11.html

10 【7】CAC (Codex Alimentarius Commission): GENERAL STANDARD FOR FOOD ADDITIVES, CODEX STAN 192-1995, Revision 2018

11 【13】TTB (US Alcohol and Tobacco Tax and Trade Bureau): 27CFR (Code of Federal Regulations title 27) Part24, §24.246 Materials authorized for the treatment of wine and juice, e-CFR data is current as of April 23, 2019

12 【15】FDA (US Food and Drug Administration): 21CFR (Code of Federal Regulations title 21) Part184, §184.1143 Ammonium sulfate, e-CFR data is current as of September 26, 2019

13 【14】EU (European Union): COUNCIL DECISION of 20 December 2005 on the conclusion of the agreement between the European Community and the United States of America on trade in wine.　Official Journal of the European Union 2006; L87/1

14 【9】EU (European Union): REGULATION (EC) No 1333/2008 of the European Parliament of the Council of 16 December 2008 on food additives. Official Journal of the European Union 2008; L354/16

15 【10】EU (European Union): COMMISSION REGULATION (EC) No 1129/2011 of 11 November 2011 amending Annex II to Regulation (EC) No 1333/2008 of the European Parliament and of the Council by establishing a

Union list of food additives.　Official Journal of the European Union 2011; L295/1

16 【12】EU (European Union): REGULATION (EU) No 1308/2013 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 17 December 2013 establishing a common organisation of the markets in agricultural products and repealing Council Regulations (EEC) No 922/72, (EEC) No 234/79, (EC) No 1037/2001 and (EC) No 1234/2007. Official Journal of the European Union 2013; L347/671

17 【16】FSANZ (Food Standards Australia New Zealand): Australia New Zealand Food Standards Code Schedule 18 Processing aids, F2019C00730, 2019

18 【35】食品安全委員会：食品健康影響評価の結果の通知について 亜硫酸塩類，2003

19 【36】食品安全委員会：食品健康影響評価の結果の通知について アンモニウムイソバレレート，2014

20 【38】食品安全委員会：食品健康影響評価の結果の通知について 硫酸アルミニウムアンモニウム及び硫酸アルミニウムカリウム，2017

21 【18】JECFA (FAO/WHO Joint Expert Committee on Food Additives): Toxicological evaluation of certain food additives with a review of general principles and of specifications. Seventeenth report of the joint FAO-WHO Expert Committee on Food Additives. World Health Organ Tech Rep Ser 539, 1974

22 【19】JECFA (FAO/WHO Joint Expert Committee on Food Additives): Toxicological evaluation of some food additives including anticaking agents, antimicrobials, antioxidants, emulsifiers and thickening agents. WHO Food Additives Ser 5, 1974

23 【20】JECFA (FAO/WHO Joint Expert Committee on Food Additives): Evaluation of certain food additives and contaminants. Thirtieth Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. World Health Organ Tech Rep Ser 751, 1987

24 【21】JECFA (FAO/WHO Joint Expert Committee on Food Additives): Toxicological evaluation of certain food additives and contaminants, Sulfur Dioxide and Sulfites. WHO Food Additives Ser 21, 1987

25 【22】JECFA (FAO/WHO Joint Expert Committee on Food Additives): Evaluation of certain food additives. Fifty-first report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. World Health Organ Tech Rep Ser 891, 2000

26 【23】JECFA (FAO/WHO Joint Expert Committee on Food Additives): Safety evaluation of certain food additives, Preservatives Sulfur Dioxide and Sulfites. WHO Food Additives Ser 42, 1999

27 【24】JECFA (FAO/WHO Joint Expert Committee on Food Additives): Safety evaluation of certain food additives, EVALUATION OF NATIONAL ASSESSMENTS OF INTAKE OF SULFITES. WHO Food Additives Ser 42, 1999

28 【25】JECFA (FAO/WHO Joint Expert Committee on Food Additives): Evaluation of certain food additives. Sixty-ninth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. World Health Organ Tech Rep Ser 952, 2009

[29] 【30】LSRO (Life Sciences Research Office), FASEB (Federation of American Societies for Experimental Biology): Evaluation of the health aspects of sulfiting agents as food ingredients. Prepared for FDA, NTIS PB-265508, 1976

[30] 【26】EC (European Commission): food science and techniques, Opinions of the Scientific Committee for Food on: Propylene glycol Alternatively refined carrageenan produced from Eucheuma cottonii and cortonii and Eucheuma spinosum p-Hydroxybenzoic acid alkyl esters and their sodium salts Specifications for food additives Sorbic acid and its calcium and potassium salts Sulphur dioxide and other sulphiting agents Benzoic acid and its salts Hexane used as an extraction solvent Lindane in baby food Cross-linked sodium carboxymethylcellulose (modified cellulose gum) lnvertase derived from Saccharomyces cerevisiae Aflatoxins, Ochratoxin A and Patulin. Reports of the Scientific Committee for Food Thirty-fifth series, 1996

[31] 【27】EFSA (European Food Safety Authority) Panel on Food Additives and Nutrient Sources Added to Food(ANS): Scientific Opinion on the Re-evaluation of Sulfur Dioxide (E 220), Sodiumsulfite (E 221), Sodium Bisulfite (E 222), Sodium Metabisulfite (E 223), Potassium Metabisulfite (E 224), Calcium Sulfite (E 226), Calcium Bisulfite (E 227) and Potassium Bisulfite (E 228) as Food Additives. EFSA Journal 2016; 14 (4): 4438-588

[32] 【243】独立行政法人酒類総合研究所：文献検索結果 アンモニウム（PubMed）, 2020

[33] 【58】Gibson W B and Strong F M: Metabolism and elimination of sulphite by rats, mice and monkeys. Food Cosmet Toxicol 1973; 11: 185-98

[34] 【96】 Bhaghat B and Lockett M F: The absorption and elimination of metabisulphite and thiosulphate by rats. Journal of Pharmacy and Pharmacology 1960; 12: 690-94

[35] 【68】Gunnison A F and Farruggella T J: Preferential S-sulfonate formation in lung and aorta. Chem Biol Interact 1979; 25: 271-7

[36] 【97】Yokoyama E, Yoder R E, and Frank N R: Distribution of $^{35}$S in the blood and its excretion in urine dogs exposed to $^{35}SO_2$. Arch Environ Health 1971; 22: 389-95

[37] 【69】Gunnison A F, Zaccardi J, Dulak L, and Chiang G: Tissue distribution of s-sulfonate metabolites following exposure to sulfur dioxide. Environmental Research 1981; 24: 432-43

[38] 【70】Gause E M and Barker M: Interaction of inhaled sulfur dioxide with mucus glycoproteins. Proc West Pharmacol Soc 1978; 21: 161-6

[39] 【64】Gunnison A F: Sulphite toxicity: a critical review of in vitro and in vivo data. Food Cosmet Toxicol 1981; 19: 667-82

[40] 【65】Gunnison A F and Palmes E D: S-sulfonates in human plasma following inhalation of sulfur dioxide. Am Ind Hyg Assoc J 1974; 35: 288-91

[41] 【94】Constantin D, Mehrotra K, Jernström B, Tomasi A, and Moldéus P: Alternative pathways of sulfite oxidation in human polymorphonuclear leukocytes. Pharmacol Toxicol 1994; 74: 136-40

[42] 【95】Constantin D, Bini A, Meletti E, Moldeus P, Monti D, and Tomasi A: Age-related differences in the metabolism of sulphite to sulphate and in the identification of sulphur trioxide radical in human polymorphonuclear leukocytes. Mech Ageing Dev 1996; 88: 95-109

43 【91】Gunnison A F and Palmes E D: A model for the metabolism of sulfite in mammals. Toxicol Appl Pharmacol 1976; 38: 111-26
44 【67】Gunnison A F and Palmes E D: Species variability in plasma S-sulfonate levels during and following sulfite administration. Chem Biol Interact 1978; 21: 315-29
45 【66】Wever J: Appearance of sulphite and S-sulphonates in the plasma of rats after intraduodenal sulphite application. Food Chem Toxicol 1985; 23: 895-8
46 【86】Sun Y P, Cotgreave I, Lindeke B, and Moldéus P: The metabolism of sulfite in liver. Stimulation of sulfate conjugation and effects on paracetamol and allyl alcohol toxicity. Biochem Pharmacol 1989; 38: 4299-305
47 【98】Savić M, Siriski-Sasić J, and Djulizibarić D: Discomforts and laboratory findings in workers exposed to sulfur dioxide. Int Arch Occup Environ Health 1987; 59: 513-8
48 【151】Doniger J, O'Neill R, and DiPaolo J A: Neoplastic transformation of Syrian hamster embryo cells by bisulfite is accompanied with a decrease in the number of functioning replicons. Carcinogenesis 1982; 3: 27-32
49 【162】Carvalho I M, Melo Cavalcante A A, Dantas A F, Pereira D L, Costa Rocha F C, Andrade T J et al.: Genotoxicity of sodium metabisulfite in mouse tissues evaluated by the comet assay and the micronucleus test. Mutat Res 2011; 720: 58-61
50 【139】Hayatsu H and Miura A: The mutagenic action of sodium bisulfite. Biochem Biophys Res Commun 1970; 39: 156-60
51 【140】Mukai F, Hawryluk I, and Shapiro R: The mutagenic specificity of sodium bisulfite. Biochem Biophys Res Commun 1970; 39: 983-8
52 【164】Litton Bionetics: Mutagenic evaluation of compound FDA 73-43 sodium sulfite. Submitted to FDA, NTIS PB-245488, 1975
53 【138】SRI (Stanford Research Institute) International: Microbial mutagenesis testing of substances compound report, F76-003, Sodium bisulfite. Prepared for FDA, NTIS PB-89-193676, 1978
54 【157】SRI (Stanford Research Institute) International: Microbial mutagenesis testing of substances compound report, F76-004, Sodium meta-bisulfite. Prepared for FDA, NTIS PB-89-193684, 1978
55 【142】Mallon R G and Rossman T G: Bisulfite (sulfur dioxide) is a comutagen in E. coli and in Chinese hamster cells. Mutat Res 1981; 88: 125-33
56 【132】Ishidate M, Jr., Sofuni T, Yoshikawa K, Hayashi M, Nohmi T, Sawada M et al.: Primary mutagenicity screening of food additives currently used in Japan. Food Chem Toxicol 1984; 22: 623-36
57 【136】De Giovanni-Donnelly R: The mutagenicity of sodium bisulfite on base-substitution strains of Salmonella typhimurium. Teratog Carcinog Mutagen 1985; 5: 195-203
58 【137】Pagano D A and Zeiger E: Conditions affecting the mutagenicity of sodium bisulfite in Salmonella typhimurium. Mutat Res 1987; 179: 159-66
59 【156】Prival M J, Simmon V F, and Mortelmans K E: Bacterial mutagenicity testing of 49 food ingredients gives very few positive results. Mutat Res 1991; 260: 321-9
60 【141】Kunz B A and Glickman B W: Absence of bisulfite mutagenesis in the

lacI gene of Escherichia coli. Mutat Res 1983; 119: 267-71
61 【146】Tsutsui T and Barrett J C: Sodium bisulfite induces morphological transformation of cultured Syrian hamster embryo cells but lacks the ability to induce detectable gene mutations, chromosome mutations or DNA damage. Carcinogenesis 1990; 11: 1869-73
62 【145】Meng Z and Zhang B: Polymerase chain reaction-based deletion screening of bisulfite (sulfur dioxide)-enhanced gpt-mutants in CHO-AS52 cells. Mutat Res 1999; 425: 81-5
63 【133】Abe S and Sasaki M: Chromosome aberrations and sister chromatid exchanges in Chinese hamster cells exposed to various chemicals. J Natl Cancer Inst 1977; 58: 1635-41
64 【147】Popescu N C and DiPaolo J A: Chromosome alterations in Syrian hamster cells transformed in vitro by sodium bisulfite, a nonclastogenic carcinogen. Cancer Res 1988; 48: 7246-51
65 【148】Beckman L and Nordenson I: Interaction between some common genotoxic agents. Hum Hered 1986; 36: 397-401
66 【149】Meng Z and Zhang L: Cytogenetic damage induced in human lymphocytes by sodium bisulfite. Mutat Res 1992; 298: 63-9
67 【155】Meng Z, Qin G, Zhang B, and Bai J: DNA damaging effects of sulfur dioxide derivatives in cells from various organs of mice. Mutagenesis 2004; 19: 465-8
68 【143】Litton Bionetics: Mutagenic evaluation of compound FDA 71-20 sodium bisulfite. Submitted to FDA, NTIS PB-245456, 1972
69 【158】SRI (Stanford Research Institute) International: Study of the mutagenic effects of Sodium meta-bisulfite (71-22). Prepared for FDA, NTIS PB-221825, 1972
70 【160】Renner H W and Wever J: Attempts to induce cytogenetic effects with sulphite in sulphite oxidase-deficient Chinese hamsters and mice. Food Chem Toxicol 1983; 21: 123-7
71 【161】Pal B B and Bhunya S P: Genotoxic effect of a preservative, sodium metabisulphite as revealed by mammalian in vivo bioassays. CYTOLOGIA 1992; 57: 455-61
72 【150】MacRae W D and Stich H F: Induction of sister chromatid exchanges in Chinese hamster cells by the reducing agents bisulfite and ascorbic acid. Toxicology 1979; 13: 167-74
73 【127】Uren N, Yuksel S, and Onal Y: Genotoxic effects of sulfur dioxide in human lymphocytes. Toxicol Ind Health 2014; 30: 311-5
74 【134】Yavuz-Kocaman A, Rencuzogullari E, Ila H B, and Topaktas M: The genotoxic effect of potassium metabisulfite using chromosome aberration, sister chromatid exchange, micronucleus tests in human lymphocytes and chromosome aberration test in bone marrow cells of rats. Environ Mol Mutagen 2008; 49: 276-82
75 【163】SRI (Stanford Research Institute) International: Study of the mutagenic effects of Sodium meta-bisulfite (76-73) by the dominant lethal test in rats. Prepared for FDA, NTIS PB-299836, 1979
76 【159】Rencüzogullari E, Ila H B, Kayraldiz A, and Topaktaş M: Chromosome aberrations and sister chromatid exchanges in cultured human lymphocytes

treated with sodium metabisulfite, a food preservative. Mutat Res 2001; 490: 107-12
77 【130】Meng Z, Qin G, and Zhang B: DNA damage in mice treated with sulfur dioxide by inhalation. Environ Mol Mutagen 2005; 46: 150-5
78 【128】Meng Z and Zhang B: Induction effects of sulfur dioxide inhalation on chromosomal aberrations in mouse bone marrow cells. Mutagenesis 2002; 17: 215-7
79 【129】Meng Z, Zhang B, Ruan A, Sang N, and Zhang J: Micronuclei induced by sulfur dioxide inhalation in mouse bone-marrow cells in vivo. Inhal Toxicol 2002; 14: 303-9
80 【131】Ziemann C, Hansen T, Pohlmann G, Farrar D, Pohlenz-Michel C, Tillmann T et al.: Genotoxicity testing of sulfur dioxide ($SO_2$) in a mouse bone marrow micronucleus test complemented with hematological endpoints. Mutat Res 2010; 697: 38-46
81 【154】Generoso W M, Huff S W, and Cain K T: Tests on induction of chromosome aberrations in mouse germ cells with sodium bisulfite. Mutat Res 1978; 56: 363-5
82 【追 3】Hayatsu H: Discovery of bisulfite-mediated cytosine conversion to uracil, the key reaction for DNA methylation analysis--a personal account. Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci 2008; 84: 321-30
83 【44】編集委員会（山梨県ワイン酒造組合事務局、技術部会一同）：山梨県ワイン製造マニュアル，2016
84 【232】村顕雄，藤井正美，義平邦利，城照雄，伊藤誉志男：食品中の食品添加物分析法 解説書，講談社サイエンティフィック，1992
85 【135】Münzner R: Untersuchngen zur mutagenen Wirkung von Bisulfit [Investigations of the mutagenic effect of bisulfite]. Lebensm.-Wiss. u.-Technol 1980; 13: 219-20. German
86 【165】上野 清一，青木 和子，石崎 睦雄：菌数測定用簡易培地（コンパクトドライ®）を利用した Spore Rec-assay.　食品衛生学雑誌，2002；43：44-8
87 【153】DiPaolo J A, DeMarinis A J, and Doniger J: Transformation of Syrian hamster embryo cells by sodium bisulfite. Cancer Lett 1981; 12: 203-8
88 【120】Til H P, Feron V J, de Groot A P, and van der Wal P: The toxicity of sulphite. II. Short- and long-term feeding studies in pigs. Food Cosmet Toxicol 1972; 10: 463-73
89 【119】Til H P, Feron V J, and De Groot A P: The toxicity of sulphite. I. Long-term feeding and multigeneration studies in rats. Food Cosmet Toxicol 1972; 10: 291-310
90 【122】JECFA (FAO/WHO Joint Expert Committee on Food Additives): Toxicological evaluation of certain food additives and contaminants. Sulfur Dioxide and Sulfites. WHO Food Additives Ser 18, 1983.
91 【121】Tanaka T, Fujii M, Mori H, and Hirono I: Carcinogenicity test of potassium metabisulfite in mice. Ecotoxicol Environ Saf 1979; 3: 451-3
92 【121】Tanaka T, Fujii M, Mori H, and Hirono I: Carcinogenicity test of potassium metabisulfite in mice. Ecotoxicol Environ Saf 1979; 3: 451-3
93 【125】Ema M, Itami T, and Kanoh S: Effect of potassium metabisulfite on pregnant rats and their offspring studies on the fetal toxicity of food additives.

II. Food Hygiene and Safety Science (Shokuhin Eiseigaku Zasshi) 1985; 26: 454-59
94 【166】Prenner B M and Stevens J J: Anaphylaxis after ingestion of sodium bisulfite. Ann Allergy 1976; 37: 180-2
95 【172】Freedman B J: Asthma induced by sulphur dioxide, benzoate and tartrazine contained in orange drinks. Clin Allergy 1977; 7: 407-15
96 【173】Baker G J, Collett P, and Allen D H: Bronchospasm induced by metabisulphite-containing foods and drugs. Med J Aust 1981; 2: 614-7
97 【174】Stevenson D D and Simon R A: Sensitivity to ingested metabisulfites in asthmatic subjects. J Allergy Clin Immunol 1981; 68: 26-32
98 【168】Schwartz H J: Sensitivity to ingested metabisulfite: variations in clinical presentation. J Allergy Clin Immunol 1983; 71: 487-9
99 【180】Sonin L and Patterson R: Metabisulfite challenge in patients with idiopathic anaphylaxis. J Allergy Clin Immunol 1985; 75: 67-9
100 【184】Yang W H, Purchase E C, and Rivington R N: Positive skin tests and Prausnitz-Küstner reactions in metabisulfite-sensitive subjects. J Allergy Clin Immunol 1986; 78: 443-9
101 【185】Acosta R, Granados J, Mourelle M, Perez-Alvarez V, and Quezada E: Sulfite sensitivity: relationship between sulfite plasma levels and bronchospasm: case report. Ann Allergy 1989; 62: 402-5
102 【186】Sprenger J D, Altman L C, Marshall S G, Pierson W E, and Koenig J Q: Studies of neutrophil chemotactic factor of anaphylaxis in metabisulfite sensitivity. Ann Allergy 1989; 62: 117-21
103 【187】Sokol W N and Hydick I B: Nasal congestion, urticaria, and angioedema caused by an IgE-mediated reaction to sodium metabisulfite. Ann Allergy 1990; 65: 233-8
104 【189】Belchi-Hernandez J, Florido-Lopez J F, Estrada-Rodriguez J L, Martinez-Alzamora F, Lopez-Serrano C, and Ojeda-Casas J A: Sulfite-induced urticaria. Ann Allergy 1993; 71: 230-2
105 【190】Wüthrich B: Adverse reactions to food additives. Ann Allergy 1993; 71: 379-84
106 【191】Wüthrich B, Kägi M K, and Hafner J: Disulfite-induced acute intermittent urticaria with vasculitis. Dermatology 1993; 187: 290-2
107 【182】Gastaminza G, Quirce S, Torres M, Tabar A, Echechipía S, Muñoz D et al.: Pickled onion-induced asthma: a model of sulfite-sensitive asthma? Clin Exp Allergy 1995; 25: 698-703
108 【192】Gall H, Boehncke W H, and Gietzen K: Intolerance to sodium metabisulfite in beer. Allergy 1996; 51: 516-7
109 【193】Park H S and Nahm D: Localized periorbital edema as a clinical manifestation of sulfite sensitivity. J Korean Med Sci 1996; 11: 356-7
110 【195】Vally H and Thompson P J: Role of sulfite additives in wine induced asthma: single dose and cumulative dose studies. Thorax 2001; 56: 763-9
111 【175】Asero R: Food additive-induced chronic pruritus: further evidence. Clin Exp Dermatol 2005; 30: 719-20
112 【208】Tsevat J, Gross G N, and Dowling G P: Fatal asthma after ingestion of sulfite-containing wine. Ann Intern Med 1987; 107: 263

[113] 【209】Tollefson L: Monitoring adverse reactions to food additives in the U.S. Food and Drug Administration. Regul Toxicol Pharmacol 1988; 8: 438-46

[114] 【210】Nair B and Elmore A R: Final report on the safety assessment of sodium sulfite, potassium sulfite, ammonium sulfite, sodium bisulfite, ammonium bisulfite, sodium metabisulfite and potassium metabisulfite. Int J Toxicol 2003; 22 Suppl 2: 63-88

[115] 【211】Linneberg A, Berg N D, Gonzalez-Quintela A, Vidal C, and Elberling J: Prevalence of self-reported hypersensitivity symptoms following intake of alcoholic drinks. Clin Exp Allergy 2008; 38: 145-51

[116] 【227】佐藤恭子：生産量統計調査を基にした食品添加物摂取量の推定に関わる研究 その１ 指定添加物品目（第 11 回最終報告），平成 28 年度厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業），2017

[117] 【231】厚生労働省：平成 28 年度マーケットバスケット方式による保存料及び着色料の摂取量調査の結果について，薬事・食品衛生審議会食品衛分科会添加物部会，2017

[118] 【37】EFSA (European Food Safety Authority)　Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Materials in Contact with Food (AFC): Opinion Flavouring Group Evaluation 46 (FGE.46), Ammonia and two ammonium salts from chemical group 30. The EFSA Journal 2009; ON-955: 1-34

[119] 【追 1】国税庁：国税庁平成 30 年度分酒類販売（消費）数量等の状況表，2020

[120] 【追 2】厚生労働省編：栄養等摂取状況調査の結果，平成 30 年国民健康・栄養調査報告，2020

[121] 【220】国税庁：酒類製造における亜硫酸の適正使用について，2013