

アスコルビン酸カルシウム 指定のための検討報告書

本報告書は、食品添加物の安全性など食品化学に関する調査、研究に対する助成等の活動を行っている財団法人日本食品化学研究振興財団が、厚生労働省の委託により作成したものであります。

この報告書の作成は、当財団内に食品添加物の安全性研究等に経験を有する専門家からなる、新食品添加物安全性検討委員会を組織し、FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議(JECFA)で評価した際のデータなど、既存の学術文献を収集して議論を重ね、とりまとめたものであります。

#### 新食品添加物安全性検討委員会委員

- \* 林 裕造 元国立医薬品食品衛生研究所安全性生物試験研究センター長
- 蟹澤 成好 横浜市立大学名誉教授
- 鈴木 隆 元国立医薬品食品衛生研究所食品部第2室長
- 祖父尼 俊雄 元国立医薬品食品衛生研究所変異遺伝部長
- 古澤 康秀 明治薬科大学教授
- 山田 隆 元国立医薬品食品衛生研究所食品添加物部長
- 吉田 緑 財団法人佐々木研究所病理部主任研究員
- 渡邊 淳 愛知学院大学薬学部長
- 石井 健二 前日本食品添加物協会常務理事安全性委員会担当
- 安原 加壽雄 (財)日本食品化学研究振興財団囑託

\* リーダー

## 目 次 (案)

1.	アスコルビン酸カルシウムの指定の必要性	1
2.	起源又は発見の経緯及び外国における使用状況	2
1)	起源又は発見の経緯	2
2)	外国における使用状況	2
3.	物理化学的性質及び成分規格(案)	4
1)	物理化学的性質等	4
2)	成分規格案・他の規格との対比表及び成分規格案の設定根拠	5
3)	アスコルビン酸カルシウムの安定性	7
4)	食品中の分析	7
4.	有効性及び必要性	10
1)	食品添加物としての有効性及び他の同種の添加物との効果の比較	10
2)	食品中での安定性	11
3)	食品中の栄養成分に及ぼす影響	12
5.	体内動態(吸収・分布・代謝・排泄)	13
1)	まとめ	13
2)	個別データ	14
6.	安全性	16
1)	単回投与毒性試験	16
2)	反復投与毒性試験	17
3)	変異原性	19
4)	発がん性	21
5)	生殖発生毒性試験	22
6)	一般薬理試験	23
7)	ヒトについての知見	23
7.	国際委員会などにおける安全性評価	25
1)	FAO/WHO 合同食品添加物専門委員会(JECFA)における評価	25

2)	米国 FDA における評価	25
3)	欧州連合(EU)における評価	25
8.	検討委員会における安全性評価と ADI の試算	26
9.	使用基準(案)	27

## 1. アスコルビン酸カルシウムの指定の必要性

アスコルビン酸カルシウムは、食品の酸化防止剤、ビタミンCの栄養補助として、広く欧米諸国などにおいて使用されている。FAO / WHO 合同食品添加物専門家会議 (JECFA) では、1974 年第 17 回会合においてアスコルビン酸及びそのカリウム塩、ナトリウム塩の安全性評価を行い、ADI を 15mg/kg(bw)としていた(7)。その後、1981 年第 25 回会合には、これらのアスコルビン酸塩類にカルシウム塩も含めて評価を行い、ADI を not specified(特定せず)としている(1)。

一方、米国においては、アスコルビン酸カルシウムは、GRAS 物質(一般に安全と認められる物質)であり、加工食品への使用が認められている(5)。

また、欧州連合では、一般食品に必要な量の使用が認められている(E 302)(4)。

更に E C 委員会では、乳幼児食品の果実・野菜飲料に 0.3g/kg、脂肪を含むビスケット等の小麦粉製品に 0.2g/kg までの使用が認められている(4)。

一方、わが国においては、既にアスコルビン酸及びアスコルビン酸ナトリウム、また 3 種類のアスコルビン酸エステルが食品添加物として指定されており、広く食品への使用が認められているが、アスコルビン酸カルシウムは未指定添加物である。

従ってアスコルビン酸カルシウムは食品の製造加工への使用が禁止されており、また、これを使用した加工食品等の海外からの輸入は禁止されている。

このような状況から厚生労働省は、平成 14 年 7 月、薬事・食品衛生審議会において国際的に安全性が確認され、かつ広く使用されている食品添加物については、企業からの指定要請を待つことなく、国が主体となって安全性評価等を行い、指定の方向で検討していく方針を示している。

アスコルビン酸カルシウムは、前述のように国際的に安全性が確認され、海外においても広く使用されている食品添加物である。

平成 14 年 12 月 19 日に開催された薬事・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は、上記の方針に従い、アスコルビン酸カルシウムは指定対象の検討品目として、グループ 2 の品目として位置づけられ、現在指定のための検討が進められている。以上の理由からアスコルビン酸カルシウムについても同様に国際的整合性を図る意味で、食品添加物として指定の可否を検討する必要がある。

## 2. 起源又は発見の経緯及び外国における使用状況

### 1) 起源又は発見の経緯

アスコルビン酸（L体）は1928年ハンガリーのセントジオルジーによってウシの副腎皮質から強い還元物質として抽出され、後に抗壊血病因子のビタミンCと同一物質であることが同じ研究者により明らかにされた（39）。ビタミンCとして人の必須栄養素のひとつであるが、食品や飲料の酸化を防ぐ等の機能も有する。アスコルビン酸カルシウムは同ナトリウム塩と共に中性物質で水溶性が高いこと、また、カルシウム塩によるこれら作用への影響は考えられないことから、欧米を中心に古くから使用が認められている（9）（30）。

### 2) 外国における使用状況

#### (1) JECFA における評価

FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議（JECFA）第17回会合（1974年）においてアスコルビン酸及びそのカリウム塩、ナトリウム塩は酸化防止剤として安全性評価がなされ、グループADI 15 mg/kg b.w.（天然に存在するアスコルビン酸への上乗せの量）が設定された（7）。アスコルビン酸類縁物質はその後、第25回会合（1981年）においてアスコルビン酸カルシウムを含めて再評価され、「ADI 特定しない（not specified）」に改められた（1）（2）。

#### (2) 国際食品規格における使用

アスコルビン酸カルシウムはFAO/WHO 合同国際食品規格の、特殊用途食品（foods for special dietary uses）の範疇の規格食品（下記など）において、必須栄養素ビタミンCを供給する物質のひとつとして認知されている（30）。

乳児用調整乳（Infant formula, Codex Stan 72-1981）

フォローアップ調整乳（Follow-up formula, Codex Stand 156-1987）

缶詰ベビー食品（Canned baby foods, Codex Stan 73-1981）

乳幼児向けの加工穀類食品（Processed cereal-based foods for infants and children, Codex Stan 74-1981, 1985, 1987, 1989, 1991 改訂）

離乳期の乳児及び幼児用調整補助食品（指針）（Formulated supplementary foods for older infants and young children, CAC/GL 08-1991）

体重抑制用規定食（Formula foods for use in weight control diets, Codex Stan 181-1991）

#### (3) 米国における使用

アスコルビン酸カルシウムは米国において一般に安全な物質（GRAS 物質）であって、食品全般に、下記の適正製造規範（GMP）のもと必要量使用することができる（5）（31）。

食品への添加量は、物理的、栄養的若しくは技術的に食品に効果を与えるのに適正な使用量以下とする。

食品自体の物理的、技術的效果を目的とせず、製造、加工、包装に使用した結果、食品

の成分になった物質の量は最小限に抑える。

使用物質は適切な食品グレードであって、食品成分として調製・処理されること。食品医薬品庁長官は要請がある場合、成分規格と用途に関して、特定の等級若しくはロットが食品の使用目的に合致する純度があるか、また、また意図した目的使用した場合一般に安全であると有資格専門家が認めるか、について見解を示す。

成分規格は Food Chemicals Codex 規格(6)に従う。

アスコルビン酸関連物質の SCOGS/GRAS 評価報告 (1979) においてアスコルビン酸カルシウムは使用が認められている GRAS 物質のひとつとして言及されているが具体的な使用実態は報告されていない(9)。一方、全米の食品添加物及び GRAS 物質の生産・出荷量の質問調査にかかる、NAS/NRC 調査報告 (1989) では 1982 年の数字として、9,640 ポンド(4.38 トン)が報告されている(32)。

#### (4) 欧州連合

欧州連合においてアスコルビン酸カルシウム(E 302)は、アスコルビン酸及びそのナトリウム塩とともに一般食品に酸化防止剤として必要量使用することができる(4)。また、乳幼児向けの食品についても、調整乳(infant formula 及び follow-on formula)(53)、果実・野菜飲料(0.3mg/kg まで)、小麦粉製品(油脂を含むビスケットなど、0.2mg/kg まで)への使用が認められている(4)。

さらに、フードサプリメント(通常の食事で不足する栄養素を補う目的で、濃縮された栄養素を含み、カプセル、錠剤、液状アンプルなど医薬品的形状の食品)に関する欧州連合指令(2002/46/EC)においてアスコルビン酸カルシウムはビタミンC供給物質の1つとして挙げられている(33)。

#### (5) その他の国

アスコルビン酸カルシウムはオーストラリア・ニュージーランド、タイ、フィリピン、インドネシアにおいて酸化防止剤として(46)(48)(50)(51)、台湾、マレーシアにおいて栄養強化剤として使用が認められている(47)(49)。

### 3. 物理化学的性質及び成分規格

#### 1) 物理化学的性質等 (35)(36)(37)(38)(39)

##### (1) 名称

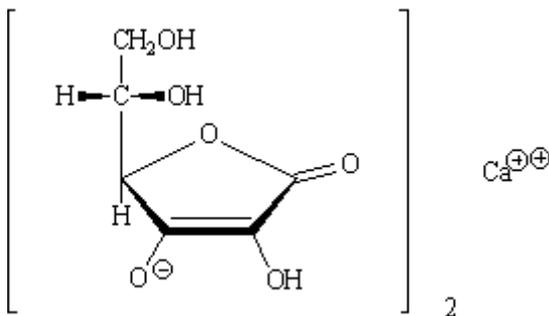
無水物：アスコルビン酸カルシウム (Calcium ascorbate) CAS 番号 5743-27-1

水和物 (流通品)：アスコルビン酸カルシウム 2 水和物

(Calcium-L-(+)-ascorbate dihydrate) CAS No 5743-28-2、

##### (2) 構造式, 分子式

無水物の構造式は下図の通りである。



分子式、分子量は以下の通りである。

無水物：C<sub>12</sub>H<sub>14</sub>CaO<sub>12</sub> 分子量 390.32

水和物：C<sub>12</sub>H<sub>14</sub>CaO<sub>12</sub> · 2H<sub>2</sub>O 分子量 426.35

##### (3) 性状

白色～淡黄色の結晶又は結晶性の粉末で、においはないか又はわずかに特異なおいがあり、味はわずかに苦い。

##### (4) 性質

水に容易に溶ける (溶解度 56g/100mL、20℃)。10% 水溶液の pH は 6.8～7.4。

メチルアルコール、エチルアルコールに溶けにくい、エーテルには殆ど溶けない。

化学的反応性はアスコルビン酸と同様に還元作用が強く、共存物質の酸化を防止し自身がデヒドロアスコルビン酸に可逆的に酸化される。

##### (5) 製造方法

アセトン若しくはアルコール希釈溶液中、アスコルビン酸と炭酸カルシウムから沈殿物として製造する。アスコルビン酸はブドウ糖を還元して得られるソルビトールから発酵法と合成法の組み合わせにより製造される。

2) 成分規格案・他の規格との対比表及び成分規格案の設定根拠  
(1) 成分規格(案)

L-アスコルビン酸カルシウム

Calcium L-Ascorbate

ビタミンCカルシウム

$C_{12}H_{14}CaO_{12} \cdot 2H_2O$

分子量 426.35

Calcium salt of 2,3-didehydro-L-threo-hexono-1,4-lactone dihydrate (5743-27-1)

**含 量** 本品は、L-アスコルビン酸カルシウム ( $C_{12}H_{14}CaO_{12} \cdot 2H_2O$ )  
98.0%以上を含む。

**性 状** 本品は、白～帯黄白色の結晶性の粉末で、においはない。

**確認試験** (1)「L-アスコルビン酸」の確認試験(1)及び(2)を準用する。

(2) 本品は、カルシウム塩の反応を呈する。

**純度試験** (1) 比旋光度  $[\alpha]_D^{25} = +95.0 \sim +97.0^\circ$  (1 g, 新たに煮沸し冷却した水, 20ml)

(2) 液性 pH6.0～7.5 (2.0g, 水20ml)

(3) シュウ酸 本品1.0gに水を加えて溶かして10 mlとし、氷酢酸2滴と酢酸カルシウム溶液(1→10)5 mlを加え、5分後に観察するとき、液は澄明である。

(4) 鉛 Pbとして2 µg/g以下(5.0g, 第1法)

(5) ヒ素  $As_2O_3$ として4.0µg/g以下(0.50g, 第1法, 装置B)

(6) フッ化物 Fとして10.0µg/g以下

本品 1.00g を量り、ポリエチレン製ビーカーに入れ、水 10ml を加えて溶かす。クエン酸ナトリウム溶液(1→4)15ml, エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム溶液(1→40)10ml を加えて混合する。塩酸(1→10)又は水酸化ナトリウム溶液(2→5)で pH5.4～5.6 に調整し、100ml のメスフラスコに移し、水を加えて 100ml とする。この液 50ml をポリエチレン製ビーカーにとり、検液とする。電位を比較電極及びフッ素イオン電極を接続した電位差計で測定するとき、検液の電位は、比較液の電位以上である。

比較液は、次により調製する。

あらかじめ 110 °C で 2 時間乾燥したフッ化ナトリウム 2.210g を量り、ポリエチレン製ビーカーに入れ、水 200ml を加えてかき混ぜながら溶かす。この液をメスフラスコに入れ、水を加えて 1,000ml とし、ポリエチレン製容器に移し

て比較原液とする。比較原液 1 ml を正確に量り，メスフラスコに入れ，水を加えて 100ml とする。この液 1 ml を正確に量り，ポリエチレン製ビーカーに入れ，クエン酸ナトリウム溶液（1 → 4）15ml 及びエチレンジアミン四酢酸二ナトリウム溶液（1 → 40）10ml を加えて混合する。塩酸（1 → 10）又は水酸化ナトリウム溶液（2 → 5）で pH5.4～5.6 に調整する。この液を 100ml のメスフラスコに移し，水を加えて 100ml とする。この液 50ml をポリエチレン製ビーカーにとり比較液とする。

**定量法** 本品約 0.2g を精密に量り，メタリン酸溶液（1 → 50）50ml を加えて溶かし，0.05mol/Lヨウ素溶液で滴定する（指示薬 デンプン試液）。

0.05mol/Lヨウ素溶液 1 ml = 10.66mg  $C_{12}H_{14}CaO_{12} \cdot 2H_2O$

### （2）他の規格との対比表（表3 - 1）

	本規格案	JECFA (3) (45)	FCC (6)
含量	98.0%以上	98%以上	98.0%以上
性状	白～帯黄白色の結晶性粉末	同左	同左
確認試験			採用
アスコルビン酸の確認	1. 酸化後ピロールで発色 2. 2,6-ジクロロフェノール-インドフェノールの還元脱色	なし	2,6-ジクロロフェノール-インドフェノールの還元脱色
カルシウムの確認	採用	採用	採用
純度試験			
旋光度	+95.0～+97.0°	+95～+97°	+95～+97°
pH	pH6.0～7.5	同左	pH6.8～7.4
フッ化物	10.0 μg/g 以下	10 mg/kg 以下	規格無し
シュウ酸	規格あり	なし	規格あり
重金属	規格無し	規格無し(45)	規格無し
鉛	2 μg/kg 以下	2mg/kg 以下	2mg/kg 以下
ヒ素	As <sub>2</sub> O <sub>3</sub> として 4.0 μg/g 以下	Asとして 3 mg/kg 以下	規格無し

### （3）成分規格案の設定根拠

本規格は，ほぼ JECFA 及び米国の規格によって作成した。

アスコルビン酸に関する確認試験は，JECFA 規格では採用していないが，我が国の「アス

コルビン酸」の規格試験法を準用することとした。

JECFA では、ほとんどのカルシウム塩について、フッ素の限度規格を設けており、アスコルビン酸カルシウムについても 10 mg/kg 以下としているが、我が国では、フッ化物の規格値は、JECFA に倣ったが、測定法は、JECFA では硝酸トリウムを使用する発色法を用いているのに対し、硝酸トリウムを用いず、簡便な電極法を用いることとした。

また、本規格では JECFA(45)、米国と同様に重金属規格は定めず、鉛 2 µg/kg 以下の規格を採用した。

### 3) アスコルビン酸カルシウムの安定性

アスコルビン酸カルシウムの純品結晶は、乾燥状態では比較的安定に保管することができる（室温で 2 年間以上）。但し、湿気があるところで保管したり、水溶液では酸化分解が進み、最終的に不溶性のシュウ酸カルシウムを生じる（酸化分解はアスコルビン酸よりやや早い）。熱、光、酸化剤、重金属（銅、鉄、亜鉛）アルカリは酸化分解の促進因子として働く。

また、アスコルビン酸カルシウムは他のアスコルビン酸類でも認められるように、長期間保存で吸湿すると変色（褐変）する（但し、アスコルビン酸ナトリウムより変色しにくい）。この変化も、温度、光、重金属の存在などにより促進される（36）（38）。

### 4) 食品中の分析

食品中のアスコルビン酸カルシウムは、還元型アスコルビン酸として、また、その酸化型であるデヒドロアスコルビン酸を還元して、総アスコルビン酸として定量する。

必要があれば、分子量比を乗じてアスコルビン酸カルシウムの量として求める。

方法は、「第 2 版 食品中の食品添加物分析法 2000」による（44）。

#### (1) 試料液の調製

##### 液状および半流動状食品

試料約 10 g を精密に量り、50ml の褐色メスフラスコに入れ、試料と同量の 4%メタリン酸溶液を加えたのち、2%メタリン酸溶液を加えて 50ml に定容する。次に、メンブランフィルター（0.45 µm）でろ過し、ろ液を還元型アスコルビン酸測定用試料液とする。また、ろ液 2ml をとり、0.1%ホモシステイン溶液 1ml および 10%リン酸水素二ナトリウム溶液 1ml を加えて混合後、40 °C で 20 分間加温し、総アスコルビン酸測定用試料液とする。

##### 粉体および固体食品

試料約 10 g を精密に量り、100ml の褐色抽出管に入れ、試料と同量の 4%メタリン酸溶液を加えたのち、2%メタリン酸溶液 30ml を加え、5 分間振とうする。さらに、超音波を用いて 10 分間抽出を行ったのち、2%メタリン酸溶液を加えて 50ml に定容する。次に、メンブランフィルター（0.45 µm）でろ過し、ろ液を還元型アスコルビン酸測定用試料液とする。また、ろ液 2ml をとり、0.1%ホモシステイン溶液 1ml および 10%リン酸水素二ナトリウム溶液 1ml を加えて混合後、40 °C で 20 分間加温し、総アスコルビン酸測定用試料液とする。

## (2) 検量線用標準液の調製

アスコルビン酸 0.050g を正確に量り、100ml の褐色メスフラスコに入れ、2%メタリン酸溶液を加えて溶かして正確に 100ml とし、標準原液とする(この液 1ml は、アスコルビン酸 500  $\mu\text{g}$  を含む)。標準原液 5ml を正確に量り、50ml の褐色メスフラスコに入れ、2%メタリン酸溶液を加えて正確に 50ml とし、標準液とする(この液 1ml は、アスコルビン酸 50  $\mu\text{g}$  を含む)。標準液 1, 5, 10ml および 20ml をそれぞれ正確に量り、50ml の褐色メスフラスコに入れ、2%メタリン酸溶液を加えて正確に 50ml とし、検量線用標準液とする(これらの液 1ml は、アスコルビン酸 1, 5, 10  $\mu\text{g}$  および 20  $\mu\text{g}$  を含む)。

## (3) 測定法

### 測定条件

紫外線吸収検出器付液体クロマトグラフを用い、次の条件によって測定する。

カラム充てん剤：アミノプロピル基を化学結合したシリカゲル

カラム管：ステンレススチール製、内径 4.6~6.0mm、長さ 150~250mm

移動相：アセトニトリル・0.01mol/L リン酸二水素ナトリウム・0.03%ホモシステイン溶液・メタノール混液(600:100:30:30)

流量：1.0ml/分

カラム温度：室温

検出器の波長：270nm

### 検量線

検量線用標準液それぞれ 5  $\mu\text{l}$  ずつを正確に量り、液体クロマトグラフに注入し、ピーク高さまたはピーク面積から検量線を作成する。

### 定量

試料液 5  $\mu\text{l}$  を正確に量り、液体クロマトグラフに注入し、得られたピーク高さまたはピーク面積と検量線から試料液中のアスコルビン酸濃度 ( $\mu\text{g/ml}$ ) を求め、次式によって検体中の還元型または総アスコルビン酸含量 (g/kg) を計算する。また、両者の差から酸化型アスコルビン酸含量 (g/kg) を求める。

$$\text{還元型アスコルビン酸含量 (g/kg)} = \frac{C_1}{20 \times W}$$

$$\text{総アスコルビン酸含量 (g/kg)} = \frac{C_2}{10 \times W}$$

酸化型アスコルビン酸含量 (g/kg)  
= 総アスコルビン酸含量 (g/kg) - 還元型アスコルビン酸含量 (g/kg)

$C_1$  : 試料液中の還元型アスコルビン酸濃度 (  $\mu\text{g/ml}$  )

$C_2$  : 試料液中の総アスコルビン酸濃度 (  $\mu\text{g/ml}$  )

W : 試料の採取量 (g)

アスコルビン酸カルシウム含量 (g/kg) = アスコルビン酸含量 (g/kg)  $\times$  1.108

#### 試薬・試液

1. アセトニトリル : [ 残留農薬試験用 ]
2. メタノール : [ 残留農薬試験用 ]
3. DL-ホモシステイン : [ 特級 ]
4. リン酸二水素ナトリウム二水和物 : [ 特級 ]
5. リン酸水素二ナトリウム (12 水和物) : [ 特級 ]
6. メタリン酸 : [ 特級 ]
7. 4%メタリン酸溶液 : メタリン酸 40.0g に水を加えて溶かして 1000ml とする。冷所に保存する。
8. 2%メタリン酸溶液 : メタリン酸 20.0g に水を加えて溶かして 1000ml とする。冷所に保存する。
9. 0.1%ホモシステイン溶液 : DL-ホモシステイン 10.0mg を水に溶かして 10ml とする。
10. 0.03%ホモシステイン溶液 : DL-ホモシステイン 30.0mg を水に溶かして 100ml とする。
11. 10%リン酸水素二ナトリウム溶液 : リン酸水素二ナトリウム (12 水和物) 1.0g に水を加えて溶かして 10ml とする。

## 4. 有効性及び必要性

### 1) 食品添加物としての有効性及び他の同種の添加物との効果の比較

#### (1) 基礎的知見

アスコルビン酸類は、抗壞血病作用があるビタミン C として、また、種々の食品、飲料の栄養強化、酸化防止・発色等による保存安定性の向上、品質改良に有用である(36)(37)(38)。このうち、酸化防止作用は一般に、食品中若しくは添加したトコフェロール類やフェノール性酸化防止剤のシネルギスト(相乗効果剤)として働くと考えられている(36)(37)。アスコルビン酸カルシウムは水溶性が大きいこと、アスコルビン酸のビタミン C 作用、抗酸化作用においてカルシウムが影響を与えることを示唆する知見はないことから、アスコルビン酸およびナトリウム塩と同等の効果があると考えられる。このことから本品は、食品・医薬品の成分として国際的に使用が認められている。すなわち、国際食品規格の特殊栄養食品においてビタミン C 群化合物のひとつに挙げられ(9)、EU では調製乳など乳幼児向け食品(4)及びフードサプリメント(33)のビタミン C 供給物質のひとつにあげられている。また、食品の酸化防止剤等としての利用に関しても、JECFA における評価が終了しているほか(1)、米国、EU において食品全般に必要量使用することが認められている(4)(5)。わが国では、一般用医薬品として、ビタミン主薬製剤の承認基準の中で、アスコルビン酸カルシウムはビタミン C 供給物質の1つとして使用が認められている(昭和63年2月1日、薬発第90号、別表1(各主薬製剤の効能又は効果の範囲)VII欄)(40)。

アスコルビン酸カルシウムは中性塩であり、ナトリウム塩と共にアスコルビン酸と比べて酸味がなく、酸性度が中性付近である多くの食品の添加物としてアスコルビン酸より適している。また、後述のようにアスコルビン酸類の利用の1つに、食肉製品の亜硝酸塩使用による発色の促進剤としての使用があるが(亜硝酸塩から一酸化窒素を生成せしめ、食肉中の褐色のミオグロビン化合物を紅色にする。)アスコルビン酸を使用すると、二酸化窒素が生成し十分な発色効果が得られないことがあり、塩類の使用の方が適している。また、食肉や魚のたんぱく質由来の2級アミンは野菜中硝酸イオン等由来や発色剤由来の亜硝酸と反応して、発がん物質ニトロソアミンを生成する可能性があるが、アスコルビン酸類はこの生成を防止する効果があり、かような目的での使用があるが、本品も同様の効果があると考えられる。さらに、本品は栄養強化の素材として、酸味がなく、ナトリウムを含まない、カルシウム摂取もできる特徴もある(36)(37)。

一方、アスコルビン酸カルシウムはアスコルビン酸及び同ナトリウム塩と同様に油溶性は小さく、アスコルビン酸脂肪酸エステル類のような油脂、バターなど油脂類食品への単品使用に適さない。また、本品には苦味が若干あるので、食品に高濃度で使用することは出来ないが、このことは過剰な使用を抑えられる利点がある。

#### (2) 食品への利用

アスコルビン酸類の酸化防止効果等を生かした一般食品への主な利用は表4-1のように

まとめられている。アスコルビン酸カルシウムはナトリウム塩と基本的に同様と考えられる。飲料関係は酸度や安定性の点でアスコルビン酸の方が適する(36)(37)(38)(41)。

(表4-1) アスコルビン酸類の一般食品への利用 (41)

対象食品	使用目的(効果)	使用量	備考
食肉製品	発色促進、退色防止 亜硝酸分解促進 ニトロアミン生成防止等	0.02 - 0.1 %	通常はNa塩が使われる
魚肉練り製品	退色防止等	0.02 - 0.1%	通常はNa塩が使われる
たらこ等	発色促進、退色防止 亜硝酸分解促進 ニトロアミン生成防止等	19g/漬込液 1L	製造管理マニュアルがある。Na塩が使われる
他の魚肉加工品	退色防止等	0.02 - 0.1%	
果実加工品	加工時の酵素的褐変防止	0.01 - 0.5%	リンゴ、桃、ナシ等
野菜加工品	加工時の酵素的褐変防止	0.01 - 0.5%	ゴボウ、芥、レモン等
飲料類	褐変防止等		少量を酸化防止に使用の場合

### (3) 健康補助食品

前述のように、アスコルビン酸カルシウムはわが国において、一般用医薬品である「ビタミン主薬製剤」のビタミンC類物質にリストされている。「ビタミンEC主薬製剤」及び「ビタミンC主薬製剤」で本品配合の製品が数種、製造販売承認されている。本品はナトリウム塩ではなくカルシウム塩である。このような状況から、本品はナトリウム摂取制限者向けの、またカルシウムも同時に摂取できる健康ビタミンC配合の栄養補助食品としても利用できると考えられる(42)(43)。

### 2) 食品中での安定性

前述のように本品は乾燥状態では比較的安定であり、粉末状か水分が少ない錠菓、キャンデー等の固形食品(5%未満程度)中では(特に脱気若しくは気密包装したもの)変化が少ない。水分を含む一般食品の場合でも、アスコルビン酸(還元型アスコルビン酸)は、共存する他の物質に水素を与え(酸化防止効果)自らは半酸化型であるモノデヒドロ-L-アスコルビン酸フリーラジカルを経てデヒドロ-L-アスコルビン酸(酸化型アスコルビン酸)に酸化される一方、食品中の還元物質により可逆的にアスコルビン酸に戻ることができるので、一定の期間内であれば効果を持続することができる。しかし、熱、光(紫外線)、強力な酸化剤、酸化重金属などの外的条件や食品がアルカリ性である場合、また、水溶液ではデヒドロ-L-アスコル

ビン酸のラクトン環が加水分解開裂して、ジケト-L-グロン酸が生成、これがさらに酸化されて分子開裂しシュウ酸になる（ほかにL-Threonic acid が生成される。）。アスコルビン酸カルシウムを使用の場合は、不溶性のシュウ酸カルシウムが生成することになる。

従って、アスコルビン酸カルシウムを食品に使用する場合、食品は冷暗所で保管、容器包装の材質や気密性に留意し、開封後は速やかに摂取しきることが望まれる。

### 3) 食品中の栄養成分に及ぼす影響

アスコルビン酸カルシウムはアスコルビン酸類のひとつとして、共存物質の酸化を防止するが、たんぱく質、脂肪、デンプン、糖類、食物繊維、ビタミン B<sub>12</sub>以外のビタミン類、ミネラルと直接反応することはない。脂質やトコフェロールなどの酸化を防止し、食肉、魚肉製品、果実や野菜加工品の変色を防止するなどして食品の嗜好性を増し、食品の栄養成分を有効に摂取させる。また、アスコルビン酸カルシウムはビタミン B<sub>12</sub>分子中のコバルトを還元して分解を促進させ、ビタミン B<sub>12</sub>の利用を損なうとされる報告がある(9)。

## 5. 体内動態（吸収、分布、代謝、排泄）

### 1) まとめ

アスコルビン酸カルシウム (VC-Ca) の吸収率はアスコルビン酸 (VC) と同一である (22)。従って、アスコルビン酸の部分についてアスコルビン酸カルシウム とアスコルビン酸は生体内で同じ挙動を示すとみなされる。

アスコルビン酸の食事からの摂取量は通常 30-180mg/日で、この摂取量では 80-90%が吸収される。しかし高用量では吸収は徐々に低下する。

摂取されたアスコルビン酸は消化管から速やかに吸収され、特異な能動輸送機構により各組織に運ばれ貯留される。アスコルビン酸（還元型）は体内でデヒドロアスコルビン酸（DHA、酸化型）に酸化されるが、状況に応じて容易にアスコルビン酸に戻る。

健康な成人にアスコルビン酸 300 mg を経口投与したときの血中濃度は 3 時間後にピークに達し、以後漸次減少する。尿中排泄量は 4 時間後に最高値に達し、9 時間後に最初の値に戻る。生体内に入った通常の摂取量下においてアスコルビン酸の半減期は、ヒト 16 日、サル 8 日、モルモット 4 日、ラット 3.6 日である。

アスコルビン酸のヒト腎臓の閾値は凡そ 14 µg/ml であるが、この値は個人ごとに異なる。組織がアスコルビン酸で飽和したとき、そして血中濃度が閾値を超えた時、腎臓でのアスコルビン酸の再吸収は飽和し、未変化のアスコルビン酸はアスコルビン酸、デヒドロアスコルビン酸あるいは 2,3-ジケトグルン酸 (2,3-DKG) として尿中に排泄される (15) (27) (28)。デヒドロアスコルビン酸は生体内で加水分解を受けて不可逆的に 2,3-ジケトグルン酸となり、更に脱炭酸され、L-リキソン酸、L-キシロン酸とに分解される。これらの反応は肝臓などで酵素的に起こるが、動物種による差が著しく、ヒトでの分解は比較的遅い。この他、アスコルビン酸の代謝産物としてシュウ酸及び L-スレオン酸が尿中に排泄されることが知られているが、これはアスコルビン酸(または 2,3-ジケトグルン酸)が非酵素的にシュウ酸と L-スレオン酸となるとの考え方もある。

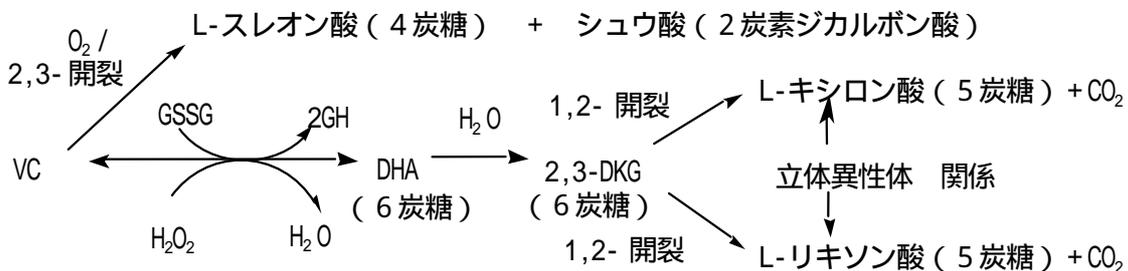


図 L-アスコルビン酸の代謝経路

VC, L-アスコルビン酸; DHA, L-デヒドロアスコルビン酸; 2,3-DKG, 2,3-ジケトグルン酸; GSH, グルタチオン; GSSG, グルタチオンジスルフィド (酸化型グルタチオン)

アスコルビン酸がシュウ酸の尿中排泄を増加をさせて、腎結石のリスクを高めるか否かは確かではないが、疫学調査によれば、健康な人への 1.5g/日までの投与量では腎結石の危険性はない。

## 2) 個別データ

### (1) 吸収

アスコルビン酸とアスコルビン酸カルシウムとの間で吸収の機構に差があるか否かについての報告はみられないが、健康な成人にとって、吸収率に関してはアスコルビン酸とアスコルビン酸カルシウムとの間に差はない(9)(22)。従って、以下の記述はアスコルビン酸に基づいている。

アスコルビン酸は通常の食事からの摂取量 30-180mg/日ではナトリウム依存性の能動輸送機構により 80-90%が吸収される(27)(28)。

血清中濃度は約 90-150mg/日の投与量でプラトーに達するまで増加する(27)。血清中において約 25%のアスコルビン酸がタンパク質と結合している。食事摂取量としてのアスコルビン酸 60 mg/日を摂取した健康な成人での血清中の濃度は 14.9-58.8  $\mu\text{M}$  と報告されている(26)。白血球は全血、血清、血漿より高濃度のアスコルビン酸を含む(28)。

体全体の貯蓄量は約 1.5g であり、30-45 mg/日が代謝回転している(27)。

血清と尿中のアスコルビン酸は、直前の食事の影響を受けるため、体内アスコルビン酸の保持量の指標とはならない(28)。

アスコルビン酸の腸管の刺激作用(下痢、腹痛)を緩和する名目で Ca 塩が使用される。しかし、この点を合理的に説明した報告例はない(22)。なおアスコルビン酸カルシウムとして Ca の吸収を改善するという点に関しては幾つかの報告がある(19)(20)(21)(23)(24)。

### (2) 分布

アスコルビン酸はすべての体組織に広く分布する。白血球、血小板、腺組織、眼の水晶体、副腎、脳下垂体、及び肝臓に高濃度に、腎臓及び筋肉組織に低濃度に存在する。そしてアスコルビン酸とデヒドロアスコルビン酸は組織ごとに異なる平衡恒数で存在する(28)。

アスコルビン酸は胎盤を通過する。臍帯血濃度は母体血の濃度の 2-4 倍である。アスコルビン酸は母乳中にも存在する。通常食を摂取している母親の乳は 40-70  $\mu\text{g}/\text{ml}$  のアスコルビン酸を含む(27)。

### (3) 代謝

#### ヒト以外の動物での代謝

アスコルビン酸-1- $^{14}\text{C}$  (VC-1- $^{14}\text{C}$ ) 及びデヒドロアスコルビン酸-1- $^{14}\text{C}$  (DHA-1- $^{14}\text{C}$ ) をラットに腹腔内投与(1.5-5.9mg)したところ、24 時間以内に、各々 19 及び 29%が  $\text{CO}_2$  に変わり、わずか 2 及び 9%がシュウ酸塩として排泄された。アスコルビン酸の半減期は 3.6 日であった。体内のアスコルビン酸のプール量は 24-43mg/kg、アスコルビン酸の合成速度は 5-8mg/日であった(12)。ラットに注入した 2,3-ジケトグルン酸はアスコルビン酸に戻らず(12)、キシロン酸及びリキソン酸となる(28)。あるいはアスコルビン酸(または 2,3-ジケトグルン酸)が酸

化されてシュウ酸及びスレオン酸となる(28)(29)。アスコルビン酸の代謝物である<sup>14</sup>C-シュウ酸を投与した結果、シュウ酸の他の化合物への変化はみられなかった。従って、シュウ酸が代謝最終産物ということになる。なおシュウ酸の半減期は2.5日であった(12)。

#### ヒトでの代謝

60mgの経口投与で糞中には約3%が排泄された。80-100mg/日以上以上の投与では吸収された大部分が尿中に未変化体として排泄された。このことは組織がこの程度の摂取で飽和することを示している(28)。なお、ヒトに投与したアスコルビン酸の約80%がデヒドロアスコルビン酸として尿中に排泄されたとの報告もある(25)。

健康な男性非喫煙被験者へアスコルビン酸-1-<sup>14</sup>Cを経口投与したのち、30-180mg/日のアスコルビン酸を投与し、血中及び尿中のアスコルビン酸の薬物動力学研究を行ったところによればアスコルビン酸の生物学的半減期は投与量に反比例した(14)。

三人の患者での静注投与において、投与後10日間でアスコルビン酸-1-<sup>14</sup>Cの活性の42%が尿中に、1%が糞中に排泄された。ヒト男性のアスコルビン酸の生物学的半減期は16日であった。体内のプール量は20mg/kg体重で代謝回転率は約1mg/kg/日であった。全<sup>14</sup>Cの測定の結果、代謝物は主として、アスコルビン酸(投与量の約20%、以下同様)、2,3-ジケトグルロン酸(約20%)、デヒドロアスコルビン酸(2%以下)及びシュウ酸(約44%)であった。呼気中にCO<sub>2</sub>としては排泄されなかった(13)。その他アスコルビン酸-2-サルフェートが尿中に排泄される(28)。

ヒトの細胞中では上記の物質以外にアスコルビン酸-2-O-β-D-グルクロニド及び-2-O-β-D-グルコシドが見出されている(26)。細胞内ではアスコルビン酸のデヒドロアスコルビン酸への酸化は可逆的である。グルタチオンあるいはジスルフィドから電子供与を受けて行われる。アスコルビン酸とは異なり、デヒドロアスコルビン酸は比較的速く加水分解を受け、不可逆的に2,3-ジケトグルロン酸を生ずる。デヒドロアスコルビン酸あるいは2,3-ジケトグルロン酸はO<sub>2</sub>あるいはH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>により酸化されてスレオン酸、シュウ酸及び幾つかの物質に酸化される(26)。

## 6. 安全性

ニワトリを用いた催奇形試験の1試験を除き、アスコルビン酸カルシウムを用いた毒性試験のデータを確認することはできず、報告されているこれらの全試験は、現状のガイドラインに基づき実施されたものではなかった。しかし、摂取されたアスコルビン酸カルシウムおよびナトリウムは消化管内でアスコルビン酸を形成することから、その吸収および代謝はアスコルビン酸と同様であろうと考えられている(9)。また、アスコルビン酸パルミテートは消化過程でアスコルビン酸を産生すると報告されており(9)。またアスコルビン酸パルミテートなどエステル型ビタミンCの消化管からの吸収や耐容性はアスコルビン酸およびその塩類と類似した性質であると予想されている(28)。

これらの結果より、アスコルビン酸、アスコルビン酸ナトリウムおよびアスコルビン酸パルミテートなどのアスコルビン酸類の単回および反復投与毒性試験のデータを基にアスコルビン酸カルシウムの毒性を推察することは可能であると判断し、以下にこれらの毒性試験データを記載する。

### 1) 単回投与毒性試験

アスコルビン酸カルシウムの単回投与毒性試験のデータを確認することはできなかったが、アスコルビン酸の経口投与による単回投与試験はラット、マウス、モルモット、ウサギおよびイヌで報告されている。ラットに5,000mg/kgのアスコルビン酸を単回経口投与した試験で死亡は観察されなかった(10)ことから、LD<sub>50</sub>値は5,000mg/kg以上と考えられる。マウスを用いた単回経口投与は2試験報告されており、マウスに5,000mg/kg投与した試験では短期間の下痢が観察されたが死亡は認められず(10)。別の試験では24時間以内のLD<sub>50</sub>値は8,000mg/kgと報告されている(9)。モルモットに5,000mg/kg、ウサギに2,000mg/kg、イヌに500mg/kgをそれぞれ単回経口投与したが、いずれの試験においても死亡はなく、それぞれのLD<sub>50</sub>値は、モルモット5,000mg/kg以上、ウサギ2,000mg/kg以上、イヌ500mg/kg以上と考えられた(10)。

アスコルビン酸の皮下投与による単回投与試験はラット、マウス、モルモット、ウサギおよびイヌで報告されている。ラットに2,500mg/kg、マウスに5,000mg/kg、モルモットに1,000mg/kg、ウサギに1,000mg/kg、イヌに200mg/kgのアスコルビン酸を投与したがいずれも死亡動物は認められず(10)。マウスを用いた別の試験でLD<sub>50</sub>値が5,000mg/kgと報告されている(9)ことから、それぞれのLD<sub>50</sub>値は、ラット2,500mg/kg以上、マウス5,000mg/kg、モルモットおよびウサギ1,000mg/kg以上、イヌ200mg/kg以上と考えられた(10)。

アスコルビン酸の静脈内投与による単回投与試験はラット、マウス、モルモット、ウサギおよびイヌで報告されている。ラットに1,000mg/kg、マウスに1,000mg/kg、モルモットに500mg/kg、ウサギに1,000mg/kg、イヌに200mg/kgのアスコルビン酸を投与したがいずれも死亡動物は認められず(10)。マウスを用いた別の試験でLD<sub>50</sub>値が1,100mg/kgと報告されている(9)ことから、それぞれのLD<sub>50</sub>値は、ラット1,000mg/kg以上、マウス1,100mg/kg、モルモット500mg/kg

およびウサギ 1,000mg/kg 以上、イヌ 200mg/kg 以上と考えられた (10)。

アスコルビン酸の腹腔内投与による単回投与試験はマウスおよびウサギで報告されている。マウスに 2,000mg/kg、ウサギに 1,000mg/kg のアスコルビン酸を投与したがいずれも死亡動物は認められず (10)。マウスを用いた別の試験で LD<sub>50</sub> 値が 2,000mg/kg と報告されている (9) ことから、それぞれの LD<sub>50</sub> 値は、マウスで 2,000mg/kg、ウサギ 1,000mg/kg 以上と考えられた (10)。これらの文献より得られた各投与経路の単回投与試験における LD<sub>50</sub> 値を以下の表に示す。

(表 6-1) 単回投与試験における LD<sub>50</sub> 値

投与経路	動物種	LD <sub>50</sub>
強制経口	ラット	5,000mg/kg<
	マウス	5,000mg/kg<
	モルモット	5,000mg/kg<
	ウサギ	2,000mg/kg<
	イヌ	500mg/kg<
皮下	ラット	2,500mg/kg<
	マウス	5000mg/kg
	モルモット	1,000mg/kg<
	ウサギ	1,000mg/kg<
	イヌ	200mg/kg<
静脈内	ラット	1,000mg/kg<
	マウス	1,100mg/kg
	モルモット	500mg/kg<
	ウサギ	1,000mg/kg<
	イヌ	200mg/kg<
腹腔内	マウス	2,000mg/kg
	ウサギ	1,000mg/kg<

## 2) 反復投与毒性試験

アスコルビン酸カルシウムの反復投与毒性試験のデータを確認することはできなかったが、アスコルビン酸、アスコルビン酸ナトリウムについては投与期間が約 3 ヶ月までの短期間の毒性試験がラット、マウス、モルモットおよびイヌで、長期投与試験がラットを用いて実施されている。

ラットを用いた短期間の混餌あるいは強制経口投与試験が 4 試験報告されているが、いずれも被験物質を大量投与した試験条件であった。ラット(性別不明)に 6,500mg/kg のアスコルビン酸を 10 週間経口投与した試験 (9) およびラット(性別不明)にアスコルビン酸を 10,000mg/kg 体重/日の濃度で 6 週間混餌投与した試験 (9) いずれにおいても、投与による明らかな影響は

認められなかった。また、10匹の5週齢のF344雄ラットに6.84%のアスコルビン酸ナトリウムを10週間混餌して投与したところ、体重の増加抑制、尿量の増加、尿pHの上昇、膀胱の重量の増加、膀胱内の沈殿物の増加および膀胱粘膜上皮の過形成が認められた(54)。しかし、アスコルビン酸ナトリウムに塩酸アンモニウムを1.85、2.78および3.70%を添加して同様に混餌投与した群では尿pHが対照群より低下し、膀胱内の沈殿物は対照群と有意差がなく、2.78%以上の添加群では膀胱に病理組織学的な異常は認められず1.85%添加群では2匹で膀胱の過形成が認められたものの有意な差は示さなかったことから(54)、アスコルビン酸ナトリウム投与により尿および膀胱に観察された変化は、アスコルビン酸そのものが原因でなく、ナトリウムによる尿pHの上昇がもたらした影響であると考えられる。1群6匹の若いラット(性別不明)にアスコルビン酸塩を0、1、5および10%の濃度(1,000、5,000および10,000mg/kg体重/日相当)で混餌投与した試験が実施されているが(2)(9)、投与期間が不明であることから、毒性影響を評価することは困難であると考えた。

マウス(性別不明)に500~1,000mg/kg体重のアスコルビン酸を6日間経口、皮下および静脈内に投与した試験では、投与期間中および投与期間終了後14日間動物は正常であり、食欲、体重増加、症状は対照群と同様であり、病理組織学的検査(腎臓、膵臓、肝臓、心臓および肺について実施)においても異常は認められなかった(2)(10)。

モルモット(性別不明)に400~2,500mg/kg体重のアスコルビン酸を7日間経口、皮下および静脈内に投与した試験では、投与期間中および投与期間終了後14日間動物は正常であり、食欲、体重増加、症状は対照群と同様で、病理組織学的検査(腎臓、膵臓、肝臓、心臓および肺について実施)においても異常は認められなかった(10)。モルモット(性別不明)に500mg/動物のアスコルビン酸を4週間混餌投与し、アスコルビン酸欠乏餌を与えた対照群と比較したところ、生存日数は対照群で36.8日、投与群で24.8日であった(9)。カゼインを強化されていない小麦粉の特殊飼料で飼育したモルモット(性別不明)に625mg/kg体重のアスコルビン酸を投与すると体重増加率の減少が認められたが、カゼイン添加飼料ではこの変化は観察されなかったことから(28)、この体重増加率の減少は通常飼料では生じないと考えられる。

イヌ(性別不明)に1,000mg/kg体重のアスコルビン酸ナトリウムを20日以上静脈内に投与した試験では、肝臓、腎臓の病理組織学的検査を含め投与による影響は認められなかった(9)。

以上の結果より、アスコルビン酸、アスコルビン酸ナトリウムの短期間反復投与による影響は、6.84%アスコルビン酸ナトリウム10週間混餌によるラットの体重増加抑制を除き、いずれの動物種にも認められなかった。

長期投与試験としてラットを用いた3試験が実施されている。1群26匹の雌雄のラットに0、1,000、1,500および2,000mg/kg体重/日となるようアスコルビン酸を約2年間混餌投与した試験が報告されており(2)(9)、体重、死亡率、症状、血液化学的検査、尿検査、腎臓・肝臓機能検査、病理肉眼的検査および病理組織学的検査成績において投与による影響は認められなかった。またアスコルビン酸パルミテートをラット(性別不明)に0.25%の濃度(125mg/kg体重/日、53mg/kg体重/日のアスコルビン酸に相当)で2年間混餌投与した試験では、投与による影響は

認められなかった(9)。またアスコルビン酸パルミテートを2および5%の濃度(1,000 および 2,500mg/kg 体重/日、424 および 1,060mg/kg 体重アスコルビン酸に相当)で混餌し、離乳ラット(性別不明)に9ヶ月間投与した試験では、5%群で成長率の抑制が見られ、8例中2匹に膀胱内のシュウ酸結石が認められたが、試験に用いた残りの動物に結石は認められなかったと記載されている(9)。

### 3) 変異原性

#### (1) まとめ

アスコルビン酸カルシウム(Calcium ascorbate)の変異原性については極めて限られた変異原性試験が実施されているにすぎない。そのため、類縁化合物のアスコルビン酸ナトリウム(Sodium ascorbate)およびアスコルビン酸(Ascorbic acid)についての変異原性試験成績を合わせて記載し、それらを含めて総合的にアスコルビン酸カルシウムの変異原性について評価を行った。

アスコルビン酸カルシウムおよびアスコルビン酸ナトリウムは *Salmonella typhimurium* TA1535, TA1537, TA1538, TA98 および TA100 を用いた復帰変異試験並びに *Saccharomyces cerevisiae* D4 を用いた遺伝子変換試験で、S9 mix の有無にかかわらず陰性の結果が得られている(16)(18)。

アスコルビン酸は *Salmonella typhimurium* TA1535, TA1537 および TA1538 を用いた復帰変異試験並びに *Saccharomyces cerevisiae* D4 を用いた遺伝子変換試験で、S9 mix の有無にかかわらず陰性の結果が得られている(17)。

アスコルビン酸カルシウムについては細菌と酵母による試験で陰性の結果が得られているにすぎない。しかし、アスコルビン酸およびアスコルビン酸ナトリウムについての同様の試験においていずれも陰性の結果が報告されている。また、アスコルビン酸ナトリウムの立体異性体であるエリソルビン酸ナトリウムについてのFDAの食品成分の評価文書(9)では、細菌と酵母を用いた同様の試験において陰性の結果が報告されており、さらにラットを用いた優性致死試験並びにマウスを用いた相互転座試験においていずれも陰性の結果が得られていることが記載されている。オリジナル文献で詳細を確認できなかったものの、これら全ての報告を基にすると、アスコルビン酸カルシウムが *in vitro* および *in vivo* 試験のいずれにおいても陰性の結果を示す可能性が極めて高いと考えられる。得られた情報は限られているものの、アスコルビン酸カルシウムについて変異原性の面から安全性を懸念すべき点は見出されていないと判断される。

#### (2) 個別データ

##### アスコルビン酸カルシウム(Calcium ascorbate)

Litton Bionetics Inc. からのFDAへの報告は非公開のものであるが、National Technical Information Service (NTIS) PB-279261 (1976) よりその報告書(18)を入手し、*Salmonella typhimurium* TA1535, TA1537, TA1538, TA98 および TA100 を用いた復帰

変異試験、並びに *Saccharomyces cerevisiae* D4 を用いた遺伝子変換試験の成績を得ることができた。

*S. typhimurium* による試験はプレート法(plate test)を用いて、マウス、ラットおよびサル(Rhesus monkey)の肝臓由来の S9 mix 存在下および非存在下で、0.055 % (w/v)、0.11 %、0.22 %、の3用量で試験が行われており、いずれも陰性の結果が得られている。また、懸濁法(suspension test)による試験も行われており、マウス、ラットおよびサルの肝臓と肺由来の S9 mix 存在下および非存在下の同じ3用量で、いずれも陰性の結果が得られている。

*S. cerevisiae* による試験は懸濁法を用いて、マウス、ラットおよびサルの肝臓と肺由来の S9 mix 存在下および非存在下で、1.25 %、2.5 %、5.0 %の3用量で試験が行われており、いずれも陰性の結果が得られている。

#### **アスコルビン酸ナトリウム(Sodium ascorbate)**

Litton Bionetics Inc. からの FDA への報告は非公開のものであるが、National Technical Information Service (NTIS) PB-266896 (1976) よりその報告書(16) を入手し、*Salmonella typhimurium* TA1535, TA1537, TA1538, TA98 および TA100 を用いた復帰変異試験、並びに *Saccharomyces cerevisiae* D4 を用いた遺伝子変換試験の成績を得ることができた。

*S. typhimurium* による試験はプレート法を用いて、マウス、ラットおよびサルの肝臓由来の S9 mix 存在下および非存在下で、0.075 % (w/v)、0.15 %、0.30 %、の3用量で試験が行われており、いずれも陰性の結果が得られている。また、懸濁法ではマウス、ラットおよびサルの肝臓と肺由来の S9 mix 存在下および非存在下の同じ3用量で行われており、いずれも陰性の結果が得られている。

*S. cerevisiae* による試験は懸濁法を用いて、マウス、ラットおよびサルの肝臓と肺由来の S9 mix 存在下および非存在下で、1.25 %、2.5 %、5.0 %の3用量で試験が行われており、いずれも陰性の結果が得られている。

#### **アスコルビン酸(Ascorbic acid)**

Litton Bionetics Inc. からの FDA への報告は非公開のものであるが、National Technical Information Service (NTIS) PB-245491 (1975) よりその報告書(17) を入手し、*Salmonella typhimurium* TA1535, TA1537 および TA1538 を用いた復帰変異試験、並びに *Saccharomyces cerevisiae* D4 を用いた遺伝子変換試験の成績を得ることができた。

*S. typhimurium* による試験はプレート法を用いて、マウス、ラットおよびサルの肝臓、肺、精巣由来の S9 mix 存在下および非存在下で、0.00025 % (w/v)の1用量で試験が行われており、いずれも陰性の結果が得られている。また、懸濁法ではマウス、ラットおよびサルの肝臓、肺、精巣由来の S9 mix 存在下および非存在下で0.00013 %と0.00025 %の2用量で行われており、いずれも陰性の結果が得られている。

*S. cerevisiae* による試験は懸濁法を用いて、マウス、ラットおよびサルの肝臓、肺、

精巢由来の S9 mix 存在下および非存在下で 0.0013 % と 0.0025 % の 2 用量で試験が行われており、いずれも陰性の結果が得られている。

#### 4) 発がん性

学術文献、安全性報告書等を検索した限りでは、アスコルビン酸カルシウムの発がん性を扱った報告は見出せなかった。一方、3) 変異原性の項に記載のようにアスコルビン酸カルシウムには変異原性は認められず、また他のアスコルビン酸塩類にも変異原性は認められていないことから、アスコルビン酸カルシウムならびにその他の塩類には発がん性は認められないものと判断される。

ただ、若干の議論が必要と思われる参考知見として、すでに反復投与毒性試験の項で触れているように、アスコルビン酸ナトリウム(SA)の経口投与による膀胱上皮の過形成の発現を見ること、ならびに膀胱腫瘍発生促進作用の問題がある。前者については、雄ラットに最高用量(6%)の SA を経口投与した場合に有意の単純な膀胱上皮の過形成(6/12)が生じるというもので(54)、腫瘍形成に結びつく変化ではないことが記載されている。一方、強力な膀胱発がん物質を投与後、SA を投与するという二段階発癌実験により膀胱腫瘍の発生増大(promotion)が認められることを Fukushima らが報告している(56)、この際、SA の濃度が飼料の 5 % では促進されるが、1%では促進されないこと、また、5%SA 単独投与では膀胱上皮に全く病変が認められないことを記載している。Fukushima らのその後の研究により、このような促進作用が尿の pH の上昇ならびにナトリウムイオンが作用の鍵になることを指摘している(55)。

もう一つの問題は、カルシウム塩ではどうかという点である。Cohen らは、5 ニトロ化合物(N-[4-(5-nitro-2-furyl)-2-thiazolyl]formamide (FANFT)を initiator として、サッカリンナトリウムやアスコルビン酸ナトリウムなどのほかに、サッカリンカルシウムの発がん促進作用を検討している(57)。その結果、カルシウム塩には膀胱腫瘍の発生促進作用は認められないと報告し、発癌促進作用は尿の pH 6.5 以上ならびに尿のナトリウム濃度の増加という条件によりもたらされると述べている。これらの実験結果より考察すると、アスコルビン酸カルシウムには発癌促進作用はないものと推測される。

いろいろな条件があるにしろ、最も重要な点は、食品添加物としての使用におけるアスコルビン酸カルシウムあるいはアスコルビン酸の発がん促進作用を考えると、膀胱上皮に影響が見られるアスコルビン酸ナトリウムの投与量は、飼料に 2.73%以上の添加を行った場合であり、しかも有意の知見は 6.0%添加飼料を投与した場合であって、しかも尿の pH の上昇と尿中ナトリウム濃度の上昇が必要条件であることを考えると、JECFA により ADI not specified と判断されたような極少量の食品添加物としての使用によっては到底生じ得ない現象と判断され、ヒトで問題となるような実験結果とは考えられない。

## 5) 生殖発生毒性試験

アスコルビン酸カルシウムの繁殖性に関する試験のデータを確認することはできなかったが、催奇形性についてはニワトリを用いた試験が報告されている。

アスコルビン酸、アスコルビン酸ナトリウムについては催奇形あるいは繁殖性についてラット、マウス、モルモットおよびハムスターを用いた試験が実施されている。

アスコルビン酸を Wistar 系ラットに 0、5.5、25.5、118.5 および 550mg/kg 体重の用量で、CD-1 マウスに 0、5.2、24.1、112.0 および 520mg/kg の用量で、いずれも妊娠 6 日目から 10 日間経口投与した (9)(11)。その結果、母動物および胎児に投与による影響は認められず、胎児の内臓検査および骨格検査においても異常の発生頻度に対照群との間に差は認められなかった (11)。アスコルビン酸を 250、500 および 1,000mg/kg 体重の用量で、ラットに妊娠 6 日目から 15 日目および出産から出産後 21 日まで、同用量をマウスに妊娠 6 日目から 15 日目まで経口投与した試験では、ラット・マウスともに胎児毒性および催奇形性は認められず、児の発育分化、母動物の行動、妊娠、出産および哺育能力にも影響は認められなかった (9)。

400mg/kg 体重までのアスコルビン酸をモルモット、ラットおよびハムスターに、1,000mg/kg 体重までのアスコルビン酸をラットおよびマウスにそれぞれ妊娠中投与した試験が実施されているが、いずれの試験においても繁殖性および発育に関する項目に異常は認められなかった (28)。

繁殖性に関しては、1 群雄 4 匹雌 9 匹の F344 ラットに 0、0.91、2.73、4.56 および 6.84% の濃度のアスコルビン酸ナトリウムを 4 あるいは 5 週齢から混餌投与し 10 週齢で交配して出産後、雄児ラットに 16 週齢までそれぞれの用量を投与する試験が行われた (54)。この試験における一腹あたりの児数は対照群と同様であり、親動物の体重に投与の影響は認められなかった。児動物では 2.73% 群を除く全ての投与群で有意な体重増加抑制が観察されたが、用量相関性は明らかでなかった。4.56、6.8% 群の妊娠 14 日目の雌親動物および児動物で飲水量が増加した。尿検査では全ての投与群の児動物で尿 pH が増加し、2.73% 群以上で尿沈殿物が増加した。6.84% 群では、膀胱重量が増加、膀胱の単純過形成の頻度および BrdU による細胞増殖活性も増加し、2.73% 群以上で走査型電子顕微鏡検査による膀胱の増殖性病変の増加が観察された。しかし、反復投与試験の項で記述したように、雄 F344 ラットを用いて 6.84% のアスコルビン酸ナトリウムに塩酸アンモニウムを添加する混餌投与試験が行われており、その結果として塩酸アンモニウムを投与した群では膀胱の過形成は減少あるいは観察されなかったことから (54)、アスコルビン酸ナトリウム投与により尿および膀胱に観察された変化は、アスコルビン酸そのものが原因でなく、ナトリウムによる尿 pH の上昇がもたらした影響であると考えられる。

繁殖性に関してはモルモットを用いた試験も数試験報告されている。アスコルビン酸を 0.5% の濃度で混餌投与した雌雄ペアのモルモットでは腹数および一腹あたりの児数、繁殖能に関して対照群との差は認められなかった (9)。雌モルモットに 4、10 および 100mg/kg のアスコルビン酸を 14 日齢から 3 産目まで混餌投与した試験では 100mg/kg 群の児において生存率の低下が観察されたが (9)、1.5、4.0、100mg/kg 体重のアスコルビン酸を 3 世代にわたり混餌投与し

た試験では 100mg/kg 群での腹数が最も多く、且つ胎児吸収が最も少なかった(9)。この両実験における相反する実験結果の原因は不明である。

アスコルビン酸カルシウム、アスコルビン酸、アスコルビン酸ナトリウムを用いてニワトリのヒナあるいは鶏卵を用いた催奇形試験が数試験実施されている(9)。ニワトリは催奇形あるいは繁殖性試験に使用しない動物種であるが、ニワトリに対して催奇形性を示すデータは認められなかった。

## 6) 一般薬理試験

アスコルビン酸カルシウムは体内に取り込まれた後はアスコルビン酸そのものの挙動と同じであると考えられている。そのアスコルビン酸の薬理作用に関しては、その欠乏症が壊血病、出血傾向の増大などを惹起させることが知られているが、その生理学的メカニズムは必ずしも十分明らかにされていないとされている(第十四改正日本薬局方解説書)(52)。

アスコルビン酸投与に関しては、血小板増加作用・赤血球溶血作用・アドレナリン作動神経系への作用(9)利尿作用(2)などに関する現象論的研究報告が知られている。

血小板増加作用：健常者および疾病状態でアスコルビン酸を大量摂取させると血小板増加を引き起こすことが示されており、急性血栓性静脈炎に対するジクマロールの作用を妨げることも報告されている。また、アスコルビン酸大量摂取で、「プロトロンビン時間」が低下するとされている(9)。

赤血球溶血作用：アスコルビン酸大量投与によって赤血球の溶血がマウスとヒト(成人)において生ずる事が報告されている(9)。

アドレナリン作動神経系への作用：18名の健常の青年において、4gのアスコルビン酸投与後、光による刺激に対する脳波(EEG)の変化が認められると報告されている。ただし、その変化が有害な影響であるか否かは明らかにされていない(9)。

利尿作用：小児と成人において、5mg/kg体重投与によって利尿作用が認められると示されている。しかし、もっと大量の投与でそのような作用が認められないという報告も見られている(2)。

## 7) ヒトについての知見

女性1名と男性3名に1日当たり1,000mgのアスコルビン酸を3ヶ月間摂取させたが有害影響はみられなかった(2)。30名の小児(活動期リウマチ10例、鎮静期リウマチ10例、健常対照者10例)にアスコルビン酸5mg/kgを連日3日間摂取させた所、尿量の増加がみられた(2)。1936年に実施された調査研究であるが、6gまでの用量のアスコルビン酸を幼児29名、小児93名、成人20名に1,400日以上にわたって摂取させた所、成人5名および幼児4名に嘔気、嘔吐、下痢、皮膚の発赤、頭痛がみられたと報告されている(2)。

1970年代に感冒などの疾患に対するアスコルビン酸の治療効果についてのヒト対象試験が実施されている。Hoferは1日当たり3-30gのアスコルビン酸を1,000名の患者(主に総合失

調症)に摂取させたが、腎結石、脱水などの有害影響はなかったと記載している(9)。

Anderson らは 1,000 名の志願者について、1g から 4g のビタミン C あるいはプラシーボの摂取による影響を二重盲検法で調査し、治験期間中、ビタミン C 群の 15 例とプラシーボ群 13 例が嘔気、痙攣、皮膚発疹で脱落したと報告している(2)。

Lewis らは 1 日当り 6g までのアスコルビン酸を分割摂取する治験を二重盲検法で実施し、プラシーボ群、アスコルビン酸群共に有害影響はみられなかったと述べている(2)。

Miller らは、44 組の一卵性双生児(Identical twin)について、ビタミン C 500、750、1,000mg の連日摂取による影響を調べる二重盲検試験を実施し、血圧、体重、頸部リンパ節の大きさ、血漿総タンパク量、血漿アルブミン量、血球数等の検査でビタミン C 投与による有意な影響はなかったと報告している(2)。

シュウ酸カルシウムの尿路結石についての懸念から、大量のアスコルビン酸投与によるシュウ酸の尿路排泄への影響が調べられている。Hellmann らは  $^{14}\text{C}$ -L-アスコルビン酸(23 37  $\mu\text{Ci}$ ) を静脈内に単回投与し、全放射能の 44% がシュウ酸塩として尿中に排泄され、少量が  $\text{CO}_2$  として呼気中に検出されたと述べている(9)。

Lamden らはアスコルビン酸の投与がシュウ酸の尿中排泄にどのように影響するかを調べるために 9g までのアスコルビン酸を成人男性に摂取させ、シュウ酸の尿中排泄量を測定した所、4g 以下の投与ではシュウ酸の排泄量に影響はなく、4 - 9g の投与では全シュウ酸排泄量の増加がみられたと述べている(9)。

Takiguchi らは 1 日当り 1 - 2g のアスコルビン酸を成人男性に 90 - 180 日間投与したが、シュウ酸塩の尿中排泄には変化がなかったと報告している(9)。その他、3 - 6g のアスコルビン酸を成人男性に摂取させたが尿中の pH に変化はなく、ナトリウムの尿中排泄量にも影響はなかったとの報告もある(9)。

## 7. 国際委員会などにおける安全性評価

### 1) FAO/WHO 合同食品添加物専門委員会 (JECFA) における評価

JECFA は 1973 年の第 17 回会議において、ヒトおよび動物での大量投与の試験結果に基づいて、アスコルビン酸，同カリウム塩ならびに同ナトリウム塩に対し、ADI として 0 - 15mg/kg/day の値を設定している (7) (8)。なお、この値は食事からの摂取の他に摂取が許容される量である。引き続き JECFA は 1981 年の第 25 回会議において、アスコルビン酸，同カリウム塩および同ナトリウム塩について審議し、これらの物質が食品添加物あるいはビタミン C の栄養補助剤として使用されるという条件で、ADI を “0 - 15mg/kg/day” から “特定しない，not specified” に変更した。なお、上記の使用条件でアスコルビン酸カルシウムを摂取した場合、それによるカルシウムの摂取量は食事由来のカルシウムにくらべて著しく低いことからアスコルビン酸カルシウムの ADI も “特定しない，not specified” としている。

### 2) 米国 FDA における評価

米国 FDA はアスコルビン酸，アスコルビン酸ナトリウム，アスコルビン酸カルシウム，エリソルビン酸，エリソルビン酸ナトリウムについて既存文献を調査し、これらの物質が現状の使用条件で食品成分として用いられる限り、ヒトに対して有害影響を与える根拠はないとの観点から、これらの物質を GRAS 物質 (Generally Recognized As Safe) に指定している (5) (9)。

### 3) 欧州連合 (EU) における評価

EU の食品科学委員会は食品に用いられる各種の抗酸化剤の安全性および使用基準等について検討しているが、1987 年の報告書では L-アスコルビン酸，L-アスコルビン酸ナトリウム，L-アスコルビン酸カルシウムについて次のような見解を公表している (34)。

短期および長期投与毒性試験ならびに生殖 / 催奇形性試験では 1 - 2g/kg/day の高用量においても実験動物に対して有害影響はなく、遺伝毒性試験においても遺伝子突然変異を誘発する事実はみられていない。ヒト対象試験では 100mg/kg/day を長期間摂取しても有害影響は伴わないと判断されている。

アスコルビン酸の食品からの摂取量は 1 日当たり、通常、30 - 100mg と算定されている。したがって、アスコルビン酸，アスコルビン酸ナトリウム，アスコルビン酸カルシウムを食品添加物と使用する場合、それによるアスコルビン酸，ナトリウムあるいはカルシウムの摂取量はそれぞれについての食品からの摂取量にくらべるとはるかに低い。

以上の観点から、委員会は L-アスコルビン酸，L-アスコルビン酸ナトリウム，L-アスコルビン酸カルシウムについては、これらの物質が認められた方法にしたがって添加物として使用されるという条件で、特定の数値の ADI を設定する必要はないと述べている。

## 8. 検討委員会における安全性評価と ADI の試算

アスコルビン酸カルシウムについて実施された毒性試験データは確認できなかった。一方、アスコルビン酸カルシウムは水に易溶性で、溶液中でアスコルビン酸とカルシウムイオンに解離し、且つ、ヒトにおける消化管からの吸収率についてアスコルビン酸とアスコルビン酸カルシウムの間に相違がみられないことから(22)、アスコルビン酸カルシウムはアスコルビン酸部分について、アスコルビン酸と同じ生体内の挙動を示すと判断される。以上の観点から、検討委員会はアスコルビン酸およびアスコルビン酸ナトリウムに関する入手可能な国内外の情報に基づいて、アスコルビン酸カルシウムを食品添加物として使用する際の安全性について協議した。なお、エステル型アスコルビン酸の消化管からの吸収もアスコルビン酸と類似していることから(28)、アスコルビン酸パルミテートについての知見も参考にした。

単回投与によるアスコルビン酸の毒性は著しく低く(表6-1) 経口投与による LD<sub>50</sub> は、ラット、マウス、モルモットにおいていずれも 5,000mg/kg 以上と報告されている。アスコルビン酸あるいはアスコルビン酸ナトリウムを対象とした反復経口投与による試験もラット、マウス、モルモットおよびイヌについて実施されているが、高濃度(6.84%)のアスコルビン酸ナトリウム添加飼料を与えたラットにおける尿路系の変化すなわち、尿 pH の上昇、尿量の増加、膀胱内沈澱物および膀胱粘膜上皮の過形成以外には特記すべき影響はみられていない。なお、高濃度のアスコルビン酸ナトリウムの投与によるラットの尿路系への影響については、作用メカニズムについての研究が実施され、膀胱粘膜上皮の変化はアスコルビン酸そのものが原因ではなく、大量のナトリウム投与による尿の pH の上昇に伴う結石形成に由来することが確認されている。

アスコルビン酸、アスコルビン酸ナトリウム、アスコルビン酸カルシウムについては微生物による復帰変異試験等が実施され、いずれも陰性の結果が報告されている。発がん性については、現状のガイドラインに準じた試験は実施されていないが、1日当り 2,000mg/kg までの用量のアスコルビン酸を2年間混餌投与したラットの慢性毒性試験(2)(9)およびラットを用いたアスコルビン酸パルミテートの2年間混餌投与試験(2%)、(5%)においても、投与に起因する腫瘍の発生の記載はない(9)。生殖発生毒性試験においてもアスコルビン酸投与に伴う有意な影響はみられていない。

これらの知見から、アスコルビン酸カルシウムは低毒性の物質で、食品添加物としての通常の使用条件でヒトに有害影響を及ぼす可能性は著しく低く、更に食事由来のカルシウムの摂取量に対し有意な影響を与えないと考えられる。

以上の観点から、検討委員会はアスコルビン酸カルシウムの ADI については、JECFA での評価に準じて、数値としての ADI を設定せずに、ADI を特定しない(ADI not specified)とするのが適切と判断した。

## 9.使用基準（案）

アスコルビン酸カルシウムは JECFA によるアスコルビン酸類のグループ評価で「ADI 特定しない」とされ、欧米諸国においては酸化防止剤、栄養強化などの目的で適正に使用される限り、特段の使用基準は設ける必要はないとされている。また、米国においては一般に安全な物質（GRAS 物質）であって、食品の保存料として食品全般に GMP のもとに必要量使用することができる。

本物質は必須栄養素であって安全性が高いこと、また、わが国においては類縁の添加物であるアスコルビン酸、同ナトリウム塩及び同エステル類に特段の使用基準は設定されていないことから、アスコルビン酸カルシウムについても添加物として適正に使用される限り、使用基準は設定しないこととする。

## 参考文献

No.	著者等	タイトル	出典・研究施設等
1	Twenty-fifth Report of the JECFA	Evaluation of Certain Food Additives(抜粋)	WHO Technical Report Series 669, pp.32, Geneva 1981
2	JECFA	Calcium Ascorbate	IPCS INCHEM <a href="http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v16je06.htm">http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v16je06.htm</a> (WHO Food Additives Series:16,1981)
3	25th JECFA (1981)	Calcium Ascorbate	FNP19 (1981) INS No.32 <a href="http://apps3.org/jecfa/additive_specs/docs/0/additive-0073.htm">http://apps3.org/jecfa/additive_specs/docs/0/additive-0073.htm</a>
4	Office for Official Publications of the EC	European Parliament and Council Directive No 95/2/EC of 20 February 1995 on Food Additives other than Colours and Sweeteners(抜粋)	Consleg: 1995L0002-17/07/2003 pp.1-18, 45-50
5	FDA (21 CFR § 182.3189)	§ 182.3189 Calcium Ascorbate	CFR Title 21 Database Search (Revised April 1, 2004)
6	Institute of Medicine of the National Academies	Calcium Ascorbate	Food Chemical Codex Fifth Edition, pp.61-62, 2004
7	Seventeenth Report of the JECFA	Toxicological Evaluation of Certain Food Additives with a Review of General Principles and Specifications	WHO Technical Report Series 539, Geneva 1974
8	JECFA	Toxicological Evaluation of Some Food Additives Including Anticaking Agents, Antimicrobials, Antioxidants, Emulsifiers and Thickening Agents	WHO Food Additives Series, 1974, No.5
9	Prepared for FDA, Life Sciences Research Office Federation of American Societies for Experimental Biology	Evaluation of the Health Aspects of Ascorbic Acid, Sodium Ascorbate, Calcium Ascorbate, Erythorbic Acid, Sodium Erythorbate, and Ascorbyl Palmitate as Food Ingredients	SCOGS-59 Contract No. FDA 223-75-2004, 1979
10	Demole,V.,	C . On The Physiological Action of Ascorbic Acid and Some Related Compounds.	Biochem.J., 28, pp.770-773, 1934
11	Prepared for FDA, Food and Drug Reserch Laboratories, Inc.	Teratologic Evaluation of FDA 71-65, Ascorbic Acid in Mice and Rats	National Technical Information Service (NTIS) PB-245 518, Jan 1975 (Contract FDA71-268)
12	Curtin,C.O., King,C.G.	The Metabolism of Ascorbic Acid-1-C <sup>14</sup> and Oxalic Acid-C <sup>14</sup> in the Rat	J. Biol. Chem., 216, pp.539-548, 1955
13	Hellman,L., Burns,J.J.	Metabolism of L-Ascorbic Acid-1-C <sup>14</sup> in Man	J. Biol. Chem., 230, pp.923-930, 1958
14	Kallner,A., Hartmann,D., Horbug,D.	Steady-state Turnover and Body Pool of Ascorbic Acid in Man	Amer. J. Clin. Nut., 32, pp.530-539, 1979
15	Abt,A.F., Farmer,C.J.	Vitamin C Pharmacology and Therapeutics	J. Amer. Med. Ass., 111, pp.1555-1565, 1938
16	Litton Bionetics, Inc.	Mutagenic Evaluation of Compound FDA 75-64. Sodium Ascorbate USP, FCC	National Technical Information Service (NTIS) PB-266 896, 29 Oct 1976 (Contract 223-76-2104)
17	Litton Bionetics, Inc.	Mutagenic Evaluation of Compound FDA 71-65, Ascorbic Acid	National Technical Information Service (NTIS) PB-245491,10 Jan 1975 (Contract 223-74-2104)
18	Litton Bionetics, Inc.	Mutagenicity Evaluation of FDA 75-63, Calcium Ascorbate F.C.C	National Technical Information Service (NTIS) PB-279261, Oct 1976 (Contract223-76-2104)
19	Cai,J., Zhang,Q., Wastney,M.E., Weaver,C.M.	Calcium Bioavailability and Kinetics of Calcium Ascorbate and Calcium Acetate in Rats	Experimental Biology and Medicine 229, pp. 40-45, 2004
20	Morton,D.J., Barrett-Connor,E.L., Schneider,D.L.	Vitamin C Supplement Use and Bone Mineral Density in Postmenopausal Women	J. Bone Miner. Res., 16, pp.135-140, 2001
21	Tsugawa,N., Yamabe,T., Takeuchi,A., Kamao,M., Nakagawa,K., Nishizima,K., Okano,T.	Intestinal Absorption of Calcium from Calcium Ascorbate in Rats	J. Bone Miner. Metab 17, pp.30-36, 1999
22	Higdon,J.	The Bioavailability of Different Forms of Vitamin C	<a href="http://lpi.oregonstate.edu/ss01/bioavailability.html">http://lpi.oregonstate.edu/ss01/bioavailability.html</a>
23	HealthWWWWeb	Calcium	<a href="http://www.healthwwwweb.com/diet/calcium.html">http://www.healthwwwweb.com/diet/calcium.html</a>

No.	著者等	タイトル	出典・研究施設等
24	Space Age Natural Health and Beauty Care Center	Calcium & Osteoporosis	<a href="http://www.space-age.com/osteoporosis.html">http://www.space-age.com/osteoporosis.html</a>
25		The Safety of High Doses -Opinions are Caught Like an Infection, and Put Into Practice Without Examination- Chapter 4	<a href="http://www.tomlevymd.com/vcfour.htm">http://www.tomlevymd.com/vcfour.htm</a>
26	Salnikow,K., Kasprzak,K.S.	Ascorbate Depletion : A Critical Step in Nickel Carcinogenesis?	Environmental Health Perspectives, Vol.113, No.5, pp.577-584, May 2005 <a href="http://ehp.niehs.nih.gov/members/2005/7605/7605.html">http://ehp.niehs.nih.gov/members/2005/7605/7605.html</a>
27	IPCSINTOX Databank	Ascorbic Acid	<a href="http://www.intox.org/databank/documents/pharm/ascorbic/ascorbic.htm">http://www.intox.org/databank/documents/pharm/ascorbic/ascorbic.htm</a>
28	European Food Safety Authority (EFSA)	Opinion of the Scientific Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies on a Request from the Commission Related to the Tolerable Upper Intake Level of Vitamin C (L-Ascorbic Acid, its Calcium, Potassium and Sodium Salts and L-Ascorbyl-6-Palmitate)	The EFSA Journal 59, 1-21, 2004
29		Ascorbate 2, 3-dioxygenase AAoxygenase	DBGET integrated database retrieval system, genomenet. <a href="http://www.genome.ad.jp/dbget-bin/www_bget?enzyme+1.13.11.13">http://www.genome.ad.jp/dbget-bin/www_bget?enzyme+1.13.11.13</a>
30		Advisory Lists of Mineral Salts and Vitamin Compounds for use in Food for Infants and Children CAC/GL 10-1979 (Amended 1983, 1991)	<a href="http://www.ipsaph.org/servlet/BinaryDownloaderServlet?filename=kopool_data/codex_0/en_cxg_010e.pdf">http://www.ipsaph.org/servlet/BinaryDownloaderServlet?filename=kopool_data/codex_0/en_cxg_010e.pdf</a>
31	FDA (21 CFR § 182.1)	§ 182.1 Substances that are Generally Recognized as Safe	21CFRCh.1 (4-1-03 Edition)
32	FDA	1987 Poundage and Technical Effects Update of Substances Added to Food	National Technical Information Service(NTIS) PB-91-127266 Dec 89
33	European Communities	Directive 2002/46/EC of the European Parliament and of the Council of 10 June 2002 on the Approximation of the Laws of the Member States Relating to Food Supplements	OJL 183/51, 17.7.2002
34	Commission of the EC	Report of the Scientific Committee for Food	Report of the SCF Twenty-second Series 1989
35		837. Ascorbic Acid	The Merck Index Thirteenth Edition, pp.141
36	矢部恵理子	食品工業におけるビタミンCの利用	フードケミカル別冊 pp.1-14, 1987
37	川崎式	ビタミンCの食品加工における応用	ニューフードインダストリー, Vol.1(4), pp.53-60, 1959
38	BASF 武田ビタミン(株)	Calcium Ascorbate	BASF Technical Information pp.167-168, May 2005
39		L-アスコルビン酸	第7版 食品添加物公定書解説書, 1999, 廣川書店
40	厚生省薬務局長	ビタミン主薬製剤製造(輸入)承認基準について	薬発第90号 昭和63年2月1日(各都道府県知事宛て文書)
41		酸化防止剤	食品添加物基礎教育セミナーテキスト, 平成17年6月, 日本食品添加物協会
42	(財)日本医薬情報センター 編集	ビタミンC主薬製剤・ビタミンEC主薬製剤	一般薬 日本医薬品集 第12版, pp.401-405, 410-415, 平成12年, (株)じほう
43		アスコルビン酸カルシウムを配合した日本国内各社の[ビタミン主薬製剤]	武田薬品工業(株), エーザイ, ゼファーマ, エスエス製薬(株) 各社ホームページより
44	厚生省生活衛生局食品化学課	L-アスコルビン酸及びL-アスコルビン酸ナトリウム	第2版 食品中の食品添加物分析法, pp.262-265, 2000
45	JECFA 61st Meeting Rome, Italy, 10-19 June 2003	Compendium of Food Additive Specifications Addendum 11	FAO Food and Nutrition Paper 52 Add.11
46	Ministry of Public Health	Food Additives (Thai)	Notification of the Ministry of Public Health No.84 (D.E. 2527)

No.	著者等	タイトル	出典・研究施設等
47	The Commissioner of Law Revision, Malaysia	Laws of Malaysia	P.U.(A) 437of 1985 Food Regulations 1985, Incorporating All Amendments Up to 31 Oct. 2002
48	Department of Health of the Republic of Indonesia, WHO Jakarta, 1991	Food Safety Program Directorate of Food Control Directorate General of Drug and Food Control	Unofficial Translation of The Food Regulations Part Two, 1991
49	Department of Health Executive Yuan, Taiwan, R.O.C.	Nutritional Additives	<a href="http://www.doh.gov.tw/english/food/901119/901119-3.htm">http://www.doh.gov.tw/english/food/901119/901119-3.htm</a>
50	Republic of the Philippines Department of Health Office of the Secretary	Regulatory Guidelines Concerning Food Additives	Administrative Order No.88-A 1984
51	FSANZ (Food Standards Australia New Zealand)	Australia New Zealand Food Standards Code	<a href="http://www.foodstandards.gov.au/foodstandardscode/">http://www.foodstandards.gov.au/foodstandardscode/</a>
52	日本薬局方解説書編集委員会	アスコルビン酸 -Ascorbic Acid-	第十四改正 日本薬局方解説書 C-49-54, 2001
53	The Commission of the European Communities	Commission Directive of 14 May 1991 on Infant Formulae and Follow-on Formulae	91/321/EEC
54	Cohen,S.M., Garland,E.M., CanoM., St.John,M.K., Khachab,M., Wehner,J., Arnold,L.L.	Effects of Sodium Ascorbate, Sodium Saccharin and Ammonium Chloride on the Male Rat Urinary Bladder	Carcinogenesis Vol.16, No.11, pp.2743-2750, 1995
55	Fukushima,S., Shibata,M., Shirai,T., Tamano,S., Ito,N.	Roles of Urinary Sodium Ion Concentration and pH in Promotion by Ascorbic Acid of Urinary Bladder Carcinogenesis in Rats	Cancer Research Vol.46, pp.1623-1626, April 1986
56	Fukushima,S., Imaida,K., Sakata,T., Okamura,T., Shibata,M., Ito,N.	Promoting Effects of Sodium L-Ascorbate on Two-Stage Urinary Bladder Carcinogenesis in Rats	Cancer Research Vol.43, pp.4454-4457, Sep. 1983
57	Cohen,S.M., Ellewein,L.B., Okamura, T., Masui,T., Johansson,S.L., Smith,R.A., Wehner,J.M., Khachab,M., ChappeC.I., Schoenig,G.P., Emerson,J.L.	Comparative Bladder Tumor Promoting Activity of Sodium Saccharin, Sodium Ascorbate, Related Acid, and Calcium Salts in Rats	Cancer Research Vol.51, pp.1766-1777, April 1991