

ソルビン酸カルシウム 指定のための検討報告書

財団法人 日本食品化学研究振興財団

報告書作成：財団法人 日本食品化学研究振興財団
新食品添加物安全性検討委員会

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 財団法人 日本健康・栄養食品協会理事長
- 蟹澤 成好 横浜市立大学名誉教授
- 代田 真理子 (財)食品薬品安全センター秦野研究所毒性学研究室主任研究員
- 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 (独)放射線医学総合研究所放射線防護研究センター研究員
- 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嘱託

* 委員長

目 次 (案)

1.	ソ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	4
(1)	名称	4
(2)	化学式・分子量・構造式	4
(3)	性状	4
(4)	性質	4
(5)	製造方法	4
(6)	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	4
①	成分規格(案)	4
②	他の規格との対比表	6
③	成分規格(案)設定の根拠	6
(7)	ソルビン酸カルシウムの安定性	7
(8)	食品中の分析	8
4.	有効性及び必要性	9
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	9
(1)	基礎的知見	9
(2)	食品への利用	9
2)	食品中での安定性	10
3)	食品中の栄養成分に及ぼす影響	11
5.	体内動態(吸収・分布・代謝・排泄)	12

6.	安全性	15
1)	単回投与毒性試験	15
2)	反復投与毒性試験	15
3)	変異原性	20
4)	発がん性	29
5)	生殖発生毒性試験	33
6)	一般薬理試験	34
7)	ヒトについての知見	35
7.	国際委員会などにおける安全性評価	36
1)	FAO/WHO 合同食品添加物専門委員会(JECFA)における評価	36
2)	米国 FDA における評価	36
3)	欧州連合における評価	36
8.	検討委員会における安全性評価と ADI の試算	37
9.	使用基準(案)	38

(別紙)

○ 一日摂取量の推定について

1. ソルビン酸カルシウムの指定の必要性（案）

ソルビン酸カルシウム（Calcium sorbate）は、食品の保存料として、広く欧米諸国などにおいて使用されている食品添加物である。

FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議（JECFA）では、1965 年第 9 回会合、1973 年第 17 回会合においてソルビン酸及びその塩類（カリウム塩、カルシウム塩）の安全性評価を行い、ADI を 25mg/kg・bw としている(1) (2) (28) (36)。

一方、米国においては、ソ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、GMP 管理の下で加工食品への使用が認められている(7)。

また、欧州連合では保存料として使用できる添加物としてリストに掲載されており（E 203）(5)、1996 年第 35 回食品科学委員会においてその安全性が評価され、ADI を 25mg/kg・bw としている(6)。

一方、わが国においては、既にソルビン酸及びソルビン酸カリウムは食品添加物に指定されており、保存料として広く加工食品に使用されてきているがソルビン酸カルシウムは未指定の添加物である。そのために食品の製造加工への使用が禁止されており、また、これを使用した食品等の海外からの輸入は禁止されている。

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。

ソ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、かつ海外においても広く使用されている食品添加物であることから、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、上記の方針に従いソルビン酸カルシウムを指定対象品目のリストに挙げている。

以上の理由からソルビン酸カルシウムについて国際的整合性を図る目的で、食品添加物としての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

ソルビン酸は、保存効果がある α 位に2重結合をもつ不飽和脂肪酸のひとつとして1945年C.M. Goodingにより米国において発見された。自然界にもナナカマドの未成熟果汁中に含まれていることが知られている。ソルビン酸の抗菌力は強力ではないが、カビ、酵母、好気性菌に対し広い抗菌性を有し、無味・無臭であることからその塩類を含めて保存料として各国で広く使用されるようになった。わが国において、ソルビン酸は昭和30年、同カリウム塩は昭和35年に食品添加物として指定された(80)。

2) 外国における使用状況

(1) JECFA における評価

ソルビン酸カルシウムは保存料、ソルビン酸、同カリウム塩と共に、FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議 (JECFA) 第9回会合 (1965年) (3) 及び第17回会合 (1973年) (2) において評価され、グループ化合物として一日摂取許容量 (ADI) 25mg/kg 体重が設定された。成分規格も定められている (4)。

(2) 米国における使用

米国においてソルビン酸とその塩類は GRAS 物質として安全性評価がなされている (26)。ソルビン酸カルシウムは、下記の適正製造規範 (GMP) のもと一般の食品に必要量使用することが出来る (連邦規則集 21CFR § 182. 3225) (7)。

適正製造規範 (GMP) (81)

- ① 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。
- ② 食品自体の物理的、技術的効果を目的とせず、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。
- ③ 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 規格が設定されている (8)。

ソルビン酸カルシウムの使用量の報告は確認できないが、NAS/NRC による GRAS 物質等の全米使用量調査 (1987年) において、ソルビン酸と同カリウム塩それぞれについて、1,670,000 ポンド (約 757.5t)、1,660,000 ポンド (約 753t) と報告されている (33)。

(3) 欧州連合

欧州連合においてソルビン酸塩類は食品の保存料として食品科学委員会において評価され、上述の JECFA 評価同様、グルーブ化合物として一日摂取許容量 (ADI) 25mg/kg 体重が設定された(6)。成分規格も定められている(37)。ソルビン酸カルシウム (E203) は、ソルビン酸 (E200) 及び同カリウム塩 (E202) と共に、使用対象食品、使用最高濃度が設定されている(5)。

英国における食品添加物の摂取量調査において (英国政府農林水産食糧省、1984-1986 年調査)、ソルビン酸関連物質の摂取量は合計量として 29.4mg/人/日、と報告されている(87)。また、欧州連合各国が最近実施した食品添加物の摂取量調査において、ソルビン酸関連物質の合計摂取量は、成人並びに全人口については、使用対象食品を含む食品群喫食量に許容最高濃度を組み合わせて算出した理論最高摂取量は、ADI (25 mg/kg 体重) を上回ることはないので詳細な調査は必要がないとされている(40)。

確認試験 (1) 本品の水溶液 (1→100) にアセトン 1 ml を加え、これに塩酸 (1→4) を滴加して弱酸性とした後、臭素試液 2 滴を加えて振り混ぜるとき、液の色は直ちに消える。

(2) 本品は、カルシウム塩の反応を呈する。

純度試験 (1) フッ化物 F として $10 \mu\text{g/g}$ 以下

本品 0.50g を量り、ビーカーに入れ、塩酸 (1→10) 10ml を加えて溶かす。この液を加熱し、1 分間沸騰させた後、ポリエチレン製ビーカーに移して直ちに氷冷する。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 5ml を正確に量り、メスフラスコに入れ、水を加えて 1,000ml 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。

(2) 鉛 Pb として $2.0 \mu\text{g/g}$ 以下

乾燥減量 1.0%以下 (105°C, 3 時間)

定量法 乾燥した本品約 0.25g を精密に量って 200ml の共栓フラスコに入れる。氷酢酸 35ml 及び無水酢酸 4ml を加え、加温して溶かす。室温まで冷却後、0.1mol/L 過塩素酸液で滴定する。終点の確認は、通例、電位差計を用いる。指示薬 (クリスタルバイオレット・酢酸試液 2 滴) を用いる場合の終点は、液の色が濃い青色を経て緑色が 30 秒以上持続するときを終点とする

0.1mol/L 過塩素酸液 1 ml = 13.12mg $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{CaO}_4$

② 他の規格との対比表

	本規格案	JECFA (4)	EU (37)	FCC (8)
性状	白色微細な結晶 性粉末	同左	同左	同左
含量	98.0～102.0%	98～102%	98%以上	98.0～101.0%
確認試験				
(1) 不飽和の確認	採用	採用	採用せず	採用
(2) Ca の確認	採用	採用	採用	採用
ソルビン酸の確認	採用せず	融点	融点	採用せず
純度試験				
(1) フッ化物	10 μ g/g 以下	10mg/kg 以下	10mg/kg 以下	規格無し
(2) 鉛	2.0 μ g/g 以下	2.0mg/kg 以下	5mg/kg 以下	2.0mg/kg 以下
ヒ素	規格無し	規格無し	3mg/kg 以下	規格無し
水銀	規格無し	規格無し	1mg/kg 以下	規格無し
重金属	規格無し	規格無し	10mg/kg 以下	規格無し
遊離酸	規格無し	規格無し	規格無し	限度以下
アルデヒド	規格無し	ホルムアルデヒド として0.1%以下	ホルムアルデヒドと して0.1%以下	規格無し
遊離アルカリ	規格無し	規格無し	規格無し	限度以下
乾燥減量	1.0%以下 (105°C, 3時間)	3%以下 (室温, 硫酸 上, 減圧4時間)	2.0%以下 (室温, 硫 酸上, 減圧4時間)	1.0%以下 (105°C, 3時間)

③ 成分規格 (案) の設定根拠

ほぼ、JECFA の規格に準じて設定した。

含量は、FCC では、上限値が 101.0%となっているが、JECFA に従い 102.0%とした。

確認試験で、JECFA では、ソルビン酸を分離してその融解温度を測定しているが、添加物公定書の「ソルビン酸」「ソルビン酸カリウム」の規格に倣い、採用しなかった。

FCC では、遊離酸及び遊離アルカリの規格があるが、JECFA で採用していないことから、本規格でも採用しなかった。

JECFA では、アルデヒドの規格があるが、FCC にはないこと、使用する試薬（本法ではフクシンを使用した）について不明確な点があることから採用しなかった。

乾燥減量の規格が、JECFA では硫酸上で室温、減圧で 4 時間乾燥して 3%以下、FCC では、105°C に加熱して 3 時間乾燥し、1.0%以下となっているが、濃硫酸の使用を避け、FCC の条件と規格値を採用した。

EU 規格では、水銀、ヒ素の規格も設けているが、採用しなかった。

アルデヒドの規格を導入する場合は、下記による。

アルデヒド ホルムアルデヒドとして0.1%以下

本品3.0gを量り、水約90mlを加え、塩酸(1→10)を加えてpH4に調整し、更に水を加えて正確に100mlとする。これをろ過し、その5mlをとり、フクシン試液2.5mlを加え、10～15分間放置するとき、液の色は、比較液の色より濃くない。比較液は、ホルムアルデヒド標準液1.5mlに水3.5mlを加え、更にフクシン試液2.5mlを加え、10～15分間放置し調製する。

フクシン [K 8804, 1972] 本品は、ローズアニリンとパラローズアニリンの混合物で、金属光沢のある緑色の結晶性粉末又は結晶塊である。

確認試験 (1) 本品に塩酸を加えるとき溶けて液の色は黄色となり、これに水を加えるとき赤色に変わる。

(2) 本品の水溶液の亜硫酸を加えるとき脱色し、タンニン酸試液を加えるとき、赤色の沈殿を生じる。

鋭敏度 本品0.10gを100mlのメスフラスコに入れ、熱湯60mlを加えて溶かす。氷冷しながら無水亜硫酸ナトリウム溶液(1.0gに水10mlを加えたもの)と塩酸2mlを加え、更に水を加えて100mlとする。

この液5mlにホルムアルデヒド標準液1ml及び硫酸1mlを加え密栓して軽く振り混ぜ1時間放置するとき、液の色は微青～微青紫色を呈する。

フクシン試液 フクシン0.20gを量り、熱湯約120mlを加えて溶かす。冷後、亜硫酸水素ナトリウム2.0gと塩酸2mlを加え、水を加えて200mlとする。

ホルムアルデヒド標準液 ホルマリン(37%相当)0.54gを正確に量り、水を加えて正確に1,000mlとする。この液5mlを正確に量り、水を加えて正確に100mlとする。本液1mlは、ホルムアルデヒド(HCHO)10μgを含む。用時調製する。

注：JECFAで使用しているものは、Schiff's Reagent TS であるが、JECFAにはこのTSについての記載はなく、該当しそうなものとしてSchiff's TSとSchiff's TS, modifiedがある。Schiff's TSの調製には、rosaline chlorohydrateを用いるが、このような物は存在せず、rosaniline hydrochlorideの誤記ではないかと思われる。

同様な試液として、Schiff's TS, modifiedがあり、こちらはrosaniline hydrochlorideを使用している。どちらの試液も、アルデヒドを検出する同様な機構で反応する。したがって、上記の方法では、Schiff's TS, modifiedの方法により調整した試薬をフクシン試液とした。ただし、rosaniline hydrochlorideの規格が不明であるため、JISに以前あったフクシンを用いた。

(7) ソルビン酸カルシウムの安定性

ソルビン酸には昇華性があるので空気中に放置すると減量する。また、分子中に不飽和結合が2つあるため水溶液や湿度が高い環境では酸化を受けやすく過酸化物、ケトン、アルデヒド

類などの分解物、重合物が次第に生成し着色も見られる。しかし、工業化学製品の一般的な容器であるファイバードラムなどで密封して保管した場合は安定に保管することが出来る(12)(28)(53)。酸化は一般に低 pH、光、温度でも促進され、また、ソルビン酸濃度が低いほど早いことが知られている (53)。

ソルビン酸カルシウムには昇華性はないが (75)、ソルビン酸と同様に分子中に不飽和結合があり、また水溶性はソルビン酸より高いので (但し、ソルビン酸カリウムほどではない、第 3 項、3) 参照) 条件により酸化、分解、重合反応をうけると考えられる。但し、外気を遮断した容器中では比較的安定に保管することができる (76)。

(8) 食品中の分析 (77)

食品中のソルビン酸カルシウムは、水蒸気蒸留法により抽出精製した後、液体クロマトグラフィによりソルビン酸として定量する。

この方法により、食品中のソルビン酸、ソルビン酸カリウムもソルビン酸として同時に定量される。

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

直鎖モノカルボン酸、特に α 位（カルボキシル基の隣）の炭素原子が不飽和結合している脂肪酸は一般に抗菌活性を有するが、なかでもソルビン酸（ $C-C=C-C-COOH$ ）はカビ、酵母、細菌と、広範な抗菌スペクトルを有し、安全性が高いことから、カルシウム塩などの塩類を含めて各国において広範な食品に保存料として使用が認められている(53) (56) (57) (62)。

ソルビン酸は酸型保存料であって、遊離酸が微生物に吸着し菌体内に取り込まれた後、脂肪酸の β 酸化過程第一段階のデヒドロゲナーゼ活性を阻害することにより静菌作用を有すると考えられている(57)。ソルビン酸は、おなじ酸型保存料である安息香酸やプロピオン酸にくらべると有効な酸性領域が大きいのでより広範な食品に使える特徴がある(56) (57)。但し、ソルビン酸自身も微生物により酸化分解を受けるので、静菌効果を発揮させるには一定濃度以上加える必要がある。また、ソルビン酸は雑菌の生育を抑制するが、殺菌作用はないので殺菌目的で使用することは出来ない（安息香酸、プロピオン酸類も同様）(56)。

ソルビン酸類を食品の保存料として有効に使用するために様々な工夫がなされている。すなわち、ソルビン酸は上述のように静菌作用があるが、それ自身は水溶性が低く（30°Cで0.25%）(62)、（20°Cで0.15%）(56)、また加熱すると若干の臭いを伴って蒸散（昇華）する。また、水練製品や加工肉製品にソルビン酸を直接加えた場合、加熱加工時にソルビン酸が製品中のタンパク質を変性させ品質を劣化させる問題がある。そのため、酢酸やプロピレングリコールを使用する食品ではそれらに溶解させて使用する、タンパク食品ではソルビン酸を硬化油やソルビタン脂肪酸エステル等でコーティングした製剤での使用が推奨されている。水溶性が高いソルビン酸カリウム（20°Cで58%）は加工時の取り扱いが容易で臭いの問題はないが、酸性度が高いのでそのままでは静菌作用は少ない。そのため、有機酸（例えばフマル酸）を油脂等でコーティングした製剤を併用し、加熱時徐々に酸を遊離させてソルビン酸カリウムをソルビン酸に変え、品質の劣化を伴わずに静菌作用を持たせることが行われている(54) (56)。

(2) 食品への利用

ソルビン酸カルシウムの抗菌力はソルビン酸に劣るが、難水溶性かつ脂溶性がなく、またソルビン酸に比べて昇華性が小さい特徴(75)から、チーズ（ハード型及びセミハード型）及びマーガリンの保存剤としての有効性が確かめられている(55) (72) (73) (74) (75)。

代表的なハード型チーズであるエダムチーズの、包装フィルムにソルビン酸若しくはソルビン酸カルシウムを含ませ、フィルム作成後のソルビン酸の残存性並びに、チーズ保存中のカビ・酵母発生抑制効果を調べた研究例(55)の要点を以下に記す。

ソルビン酸カルシウム若しくはソルビン酸を含むカルボキシメチルセルロース（結合剤）の薄膜を貼り付けたポリエチレンフィルムを作成した（ソルビン酸として約0.1%）。チーズの包

装フィルムはなんらかの事情（例えば除菌）で製造後高温にさらされることがあることから、実験的に、70℃で2週間フィルムを保管し、保管後フィルム中のソルビン酸残量を測定した。次に、保管後のフィルムを用いて植菌したチーズを包装し一定条件で保存後（華氏 75 度（24.8℃）、相対湿度 85-90%、2週間）カビ菌及び酵母菌の繁殖状況を調べた。

その結果、被膜フィルムの保管試験（70℃ 2週間）では、ソルビン酸は94%消失（蒸散）したのに対して、ソルビン酸カルシウムの消失は 10%に止まった（表4-1）。その後のチーズ保存試験では、ソルビン酸カルシウム処理チーズでは2週間経過してもカビの発生が認められなかったのに対して、ソルビン酸処理、無処理チーズでは、それぞれ8日後、6日後にカビが発生した。また、2週後のチーズ検体のカビ、酵母数の測定結果はこの結果を確認するものであった。

表4-1 ソルビン酸カルシウム若しくはソルビン酸被膜ポリエチレン包材の評価(55)

物質	包材保管試験（ソルビン酸濃度）			チーズ保存試験（2週間）	
	始発 (mg/100g)	2週間後 (mg/100g)	消失%	カビ発生日数	酵母・カビ数
ソルビン酸	80	4.7	94	8	30
ソルビン酸カルシウム	114	102	10	14+	不検出
無添加対照	-	-	-	6	700

増粘剤を含むソルビン酸カルシウム懸濁液にチーズを漬けて保存効果がある被膜を形成させた例(73)、かよう被膜チーズはチーズの熟成過程を妨げず、またチーズの風味を損なわないことを示した報告(72)がある。

今後、コーティングした有機酸と併用することにより、前述のコーティングソルビン酸製剤のように魚肉、畜肉製品など他の食品向けの保存料としての利用も考えられる。

2) 食品中での安定性

ソルビン酸カルシウムにはソルビン酸のような昇華性はなく、ソルビン酸カリウムほど水溶性は高くなく、油脂にも溶けないことから、密封包装食品（例えば包装フィルムで包んだチーズ）中では比較的安定である(55)(75)。一方、ソルビン酸カルシウムはソルビン酸同様、分子中に不飽和結合があるので、密封していない食品や開封後の包装食品中では、日時の経過に従い酸化、分解等を受ける可能性がある（第3項（7）参照）。ソルビン酸ナトリウムを高温で加熱すると変異原性分解物（4,5-オキシヘキセノエート）が生成するが、ソルビン酸、同カリウム塩では認められない。また、食品中では長期間保存後かような分解物の生成は認められてい

ない(17)。

ソルビン酸は反応性の高い共役二重結合を有し、アミン(15)(16)(24)(25)、亜硝酸塩(51)(52)、亜硫酸塩及びチオール化合物(20)との反応、アスコルビン酸と鉄塩の共存下での酸化反応(19)が知られている。また、反応生成物のなかに変異原性を示すものがあることも知られている(例えば、それぞれ0.5モルのソルビン酸と亜硝酸ナトリウムを90℃で1時間加熱時に生成するエチルニトロリン酸($\text{CH}_3\text{C}(\text{=NOH})\text{NO}_2$)(16)(19)(51)(52))。しかし、基質濃度、温度、酸性度などの反応条件は、食品の調理、加工、保存の条件と異なる場合が多く、実際の食品中若しくは食品加工等を想定した条件下では変異原性物質は生成しないと報告されている(15)(16)(18)(24)(34)。

ソルビン酸はまた、食品に共存する微生物により徐々に分解される。分解は動物の場合と同様に β 酸化の過程を通常経る(53)。中間代謝物として、ペニシリウム属カビ菌による1,3-ペンタジエン($\text{CH}_3\text{CH}=\text{CHCH}=\text{CH}_2$)の生成、同物質のチーズ、大麦製品での検出、ムコール属カビ菌における*t*, *t*-2,4-ヘキサジエノール(*t*, *t*- $\text{CH}_3\text{CH}=\text{CHCH}=\text{CHCH}_2\text{OH}$)及び*t*-4-ヘキセノール(*t*- $\text{CH}_3\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$)の生成、乳酸菌(腐敗ワイン中で繁殖する)による種々揮発性誘導体物質(例えば、2-エトキシヘキサ-3,5-ジエン[$\text{CH}_3\text{CH}(\text{OC}_2\text{H}_5)\text{CH}=\text{CHCH}=\text{CH}_2$])の生成が報告されている(21)。

3) 食品中の栄養成分に及ぼす影響

ソルビン酸は酸性物質としてたんぱく質の加熱変性を促進せしめることから、ソルビン酸カルシウムも酸性食品中では同様のことがあると考えられる。油脂、ビタミン類、ミネラル類への影響は特段ないと思われる。

5. 体内動態 (吸収、分布、代謝、排泄)

1) まとめ

ソルビン酸 (*trans, trans*-2,4-hexadienoic acid、*t, t*-CH₃-CH=CH-CH=CH-COOH) は未熟のナナカマド中に初めて見出され(32)、その他ローマンベリーあるいはストロベリー等、多くの果物中に存在することが判明した(23)。単に短鎖脂肪酸というだけではなく、共役ジエンであるという点で一般の脂肪酸と異なる。しかし共役ジエン自身はバター脂質中に 0.1-1.0%の割合で含まれている(28)。

平成 15 年度の日本人の 1 日摂取量は 13.6mg/人/日で、その 90%が魚介・肉類及び果実・野菜・海藻類からの摂取による(31)。一方、米国でのソルビン酸の 1 日摂取量は 25mg/成人、23-26mg/kg 体重/6-24 ヶ月幼児であった(22)。ソルビン酸カルシウムはソルビン酸より水溶性が高いが、静菌作用はソルビン酸の方が高いため目的に応じて使用される。ソルビン酸カルシウムは弱酸と強塩基の塩であることから胃の中ではソルビン酸となる。従ってソルビン酸、ソルビン酸カリウムあるいはソルビン酸ナトリウム塩と同様な扱いが可能である。

生体中、十分な栄養条件下ではソルビン酸は脂肪酸のβ-酸化機構により炭酸ガスと水にまで酸化され、大部分がエネルギー源として使用される。マウス及びヒトでは少量のムコン酸として排泄される。一方、空腹(飢餓)時といった十分な炭水化物が存在しない場合は、肝臓中アセト酢酸あるいは D-3-ヒドロキシ酪酸といったケトン体に酸化され尿中に排泄されるか、肝臓以外の臓器(筋肉、脳、腎臓)に運ばれ、再びアセチル CoA に変換されクエン酸回路で代謝される。ソルビン酸は 5%の食餌中濃度まで必須脂肪酸の抗代謝物として働くことはない(18)。

ソルビン酸は化学構造上不安定であり、食品中において化学変化、微生物による分解を受け種々の物質を生成し、これが毒性研究の対象となっている。ソルビン酸と亜硝酸ナトリウムとが反応して変異原性物質を生成する条件は通常の使用条件とは異なる。

2) 個別データ

ソルビン酸は化学構造上、不飽和脂肪酸でありβ-酸化機構により代謝分解される。哺乳類においてソルビン酸は十分な炭水化物の存在下では、炭素数が同数の飽和脂肪酸であるカプロン酸(CH₃CH₂CH₂CH₂CH₂COOH)、炭素数が偶数の飽和脂肪酸、酪酸(CH₃CH₂CH₂COOH)あるいは不飽和脂肪酸(クロトン酸、CH₃CH=CHCOOH)と同様に代謝される(12)。この場合、α、β-不飽和脂肪酸は相当する飽和脂肪酸の酸化の中間体である(11)。その結果、脂肪酸のβ-酸化機構により動物組織によりエネルギー源として使用され、最終的には水と炭酸ガスとなる(11)(18)。空腹(飢餓)時における大量のソルビン酸の投与では、一般の脂肪代謝と同様、ケトン体を生ずる(11)。例えば飢餓ラットにソルビン酸、酪酸、クロトン酸及びカプロン酸を投与し、尿中のケトン体について調べた。その結果、ソルビン酸の中間代謝物は酪酸、クロトン酸及びカプロン酸と同じであり、ケトン体を経て、分解される(11)。これらの脂肪酸類によるケトン尿を外因性ケトン尿と呼ぶ(9)。この際、グルコースをソルビン酸ナトリウムと一緒に飢餓ラットに

投与するとケトン尿が減少するが、この減少はカプロン酸あるいは酪酸の Na 塩の場合と類似していた(11)。ケトン尿は十分な炭水化物が食餌中にあるときには起こらない(11)。その理由として、TCA サイクルにおいては、オキザロ酢酸とアセチル CoA は縮合してクエン酸が生成する。しかし、飢餓（空腹）状態といった代謝可能な炭水化物が存在しない場合、オキザロ酢酸はグルコースの生成に使用され、アセチル CoA と縮合するオキザロ酢酸は不足し、クエン酸回路の回転率は低下、その結果クエン酸回路だけではアセチル CoA を処理できなくなる。この場合、処理し切れなかった体脂肪由来及びソルビン酸由来の 2 分子のアセチル CoA が縮合し、アセト酢酸、D-3-ヒドロキシ酪酸及びアセトン（以上ケトン体）を生成する。また、肝臓ではアセト酢酸を代謝して、アセトアセチル-CoA とする 3-ケト酸-CoA トランスフェラーゼが存在しないため、他の臓器（筋肉、脳、腎臓）に運ばれ、クエン酸回路で再びアセチル-CoA に代謝される。ケトン体は肝臓で作られ、特に心筋及び副腎皮質はグルコースよりもケトン体をエネルギー源として使用する。

(1) ヒト以外の動物

① ラット

1-¹⁴C-ソルビン酸の代謝研究から、ソルビン酸は腸からほぼ定量的に吸収される(14)。4-10 時間で呼気中 ¹⁴CO₂ (85%)、尿中の ¹⁴C-尿素 (1.4%) 及び ¹⁴C-炭酸 (0.2%)、糞中 (0.4%)、内部器官 (3%)、骨格筋 (3%)、その他残りの屠体 (6.6%) に存在した(14) (18) (28)。大部分の活性は皮下脂肪及びこれらの器官の脂質中に見出された(28)。脂質部分に見出された放射活性から、ソルビン酸の分解から生成したアセチル CoA の一部は脂肪酸の新合成に使用された(14)。ソルビン酸及びムコン酸は尿中に排泄されず(13) (14)、グリコーゲンの合成はみられなかった(14)。投与量と代謝速度とは反比例関係が成立し、60-1200mg/kg 体重の投与量における呼気中の ¹⁴CO₂ の排出半減期は 40-110 分であった(14) (18)。ソルビン酸及びカプロン酸の酸化量及び酸化速度はほぼ同じで、両者の代謝は類似していた(14)。

ラット肝臓のミクロソームを用いた *in vitro* の実験では、炭素 2 単位の酸化を経てアセト酢酸となる。また、同組織ホモジネートあるいはミトコンドリアはソルビン酸を他の脂肪酸と同じ速度で酸化する。即ち、ヘキサン酸（カプロン酸、 $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$ ）、2- Δ -ヘキサン酸（ $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCOOH}$ ）及びソルビン酸の各 1 モルはいずれも 1.5 モルのアセト酢酸を生ずることから、これらの脂肪酸はいずれも同一の β -酸化機構を経て 2 モルのアセチル CoA を生成したのち、2 分子の縮合により生成すると考えられている(9)。

② マウス

1-¹⁴C-ソルビン酸ナトリウムを用いた実験で、40 及び 3000mg/kg 体重の投与量において、81 ± 10%が CO₂ に酸化され、4%がマウスに残った。約 0.7%がソルビン酸として、0.2-0.6%が *t*, *t*-ムコン酸（ $\text{HO}_2\text{CCH}=\text{CHCH}=\text{CHCO}_2\text{H}$ ）として 24 時間尿中に排泄された(13) (27) (28)。エーテル可溶性部分として 1%が糞中に排泄されたが、その化学形については不明。96 時間後の ¹⁴CO₂ の測定終了時にも CO₂ の排出は続いた(13)。半減期が幾分長い（2-8 時間）ことを除いて本質的には

ラットと同じ経路を経て分解される(18)。

(2) ヒト

食品添加物としてのソルビン酸及びソルビン酸カリウムはヒトにおいてその投与量の0.05-0.5%が *t, t*-ムコン酸として尿中に排泄される(30)。8人のボランティア(4人の成人及び二組の親子)に米国で普通に使用されている二種類のソルビン酸保存食を与え、尿中ムコン酸排泄量を連続的に測定したところ、ムコン酸濃度は大幅に増大した(30)。

6. 安全性

1) 単回投与毒性試験

ソルビン酸カルシウムの急性毒性に関する試験成績を確認することは出来なかった。ソルビン酸カルシウムはソルビン酸カリウムおよびナトリウム同様胃液と反応して容易にソルビン酸を生成することから、その吸収および代謝はソルビン酸と同様であろうと考えられる（5体内動態の項参照）。また、JECFA ではソルビン酸カルシウムの ADI をソルビン酸やソルビン酸カリウムおよびナトリウム塩を含めグループとして評価しており、ソルビン酸やソルビン酸カリウムおよびソルビン酸ナトリウムをラットに経口投与した試験成績が報告されていることから、これらの試験成績からソルビン酸カルシウムの安全性を推察することとした。

ラットでの経口投与による LD50 値はソルビン酸で 7.36~12.50g/kg 体重、ソルビン酸カリウムで 4.20~6.17g/kg 体重、ソルビン酸ナトリウムで 3.60~7.20g/kg 体重と報告されている (26) (28) (41) (45)。

サンプル	投与経路	系統・性別	LD50 値 g/kg 体重	文献番号
ソルビン酸	経口	Wistar ラット 雄	12.50 (10.00~15.63)	45
	経口	Wistar ラット 雌	9.60 (7.70~11.90)	45
	経口	ラット 不明	10.50	28
	経口	ラット 不明	7.40	28
	経口	ラット 不明	7.36	28
	経口	マウス 不明	>8.0	41
ソルビン酸カリウム 固形異性体 混合異性体	経口	ラット 不明	4.20	28
	経口	ラット 不明	4.92	28
	経口	ラット 不明	6.17	28
ソルビン酸ナトリウム	経口	ラット 雄	4.30 (ソルビン酸として)	26
	経口	ラット 雌	3.60 (ソルビン酸として)	26
	経口	ラット 不明	7.16	28
	経口	ラット 不明	4.00	28
	経口	ラット 不明	5.94	28
	経口	ラット 不明	7.20	28

2) 反復投与毒性試験

(1) まとめ

ソルビン酸カルシウムに関しては反復投与毒性試験成績を確認することは出来なかった。ソルビン酸カルシウムはソルビン酸カリウムおよびナトリウム同様胃液と反応して容易にソル

ビン酸を生成することから、その吸収および代謝はソルビン酸と同様であろうと考えられる(5体内動態の項参照)。また、JECFA ではソルビン酸カルシウムの ADI をソルビン酸やソルビン酸のカリウムおよびナトリウム塩を含めグループとして評価していることから、ガイドラインに基づいた試験は実施されていないが、ソルビン酸あるいはソルビン酸カリウムをラット、マウスあるいはイヌに投与した試験成績からソルビン酸カルシウムの安全性を推察することとした。

短期投与毒性試験としては、ラットにソルビン酸を 0.5、1.0、2.0、4.0 および 8.0%の濃度で 90 日間投与した試験が実施されており、8.0%群で相対肝重量の有意な増加を認めたが、組織学的検査では被験物質投与に起因した病変は認められず、4.0%群では肝臓に何ら異常は認められなかったと報告されている(26)(28)(82)。また、ラットにソルビン酸を 10.0%の濃度で 120 日間投与した試験でも相対肝重量の増加を認めているが(10)(26)(28)、一方、ラットにソルビン酸カリウムを 1.0、2.0、5.0 および 10.0%の濃度で 3 ヶ月間投与した試験では、10.0%群でも相対肝重量は対照群と同様の値を示したと報告されている。しかし、腎重量が 5.0 および 10.0%群で用量に相関して増加したとも報告されている(26)(28)。マウスでは、ソルビン酸を 1.25、2.5、5.0、10.0 および 20.0%の濃度で 14 週間投与した試験において、体重が雄で 5.0%以上の群、雌では 20.0%群で減少し、血液生化学的検査では 20%群で散発的に異常値が認められ、臓器重量では肝重量が雄の 20%群で減少したが、雄のその他の投与群および雌の全ての投与群で増加したと報告されている(60)。イヌでは、ソルビン酸を 4.0%(26)(28)(82)あるいはソルビン酸カリウムを 2.0%の濃度(26)(28)で 3 ヶ月間混餌投与した試験が実施されており、いずれの試験においても被験物質投与による明らかな影響は認められなかったと報告されている。

長期投与毒性試験としては、ラットにソルビン酸を 5.0%の濃度で 1 年間混餌投与した試験が 3 件報告されており、大野らの試験では体重や臓器重量は対照群と同様で、組織学的検査においても被験物質投与による影響は認められなかったと報告されている(41)(46)。今井らの試験でも体重や臓器重量は対照群と同様であったが、組織学的検査では被験物質投与群の肝臓で肝細胞の空胞変性あるいは腎臓でうっ血や蛋白円柱が僅かに増加したと報告されている(78)。一方、北堀らの試験では肝重量が雄で有意に増加し、雌では増加傾向を示していたが、組織学的検査では被験物質投与による影響は認められなかったと報告されている。但し、組織学的検査において腎臓で好塩基性細胞からなる尿細管や蛋白円柱が対照群に比べその程度ならびに頻度ともに増加したと報告されている(79)。さらに、長期間投与した試験として、雌雄のラットにソルビン酸を 0.1、0.5 および 5.0% (50、250 および 2500mg/kg 体重/日) の濃度で二世代に亘り 1000 日間混餌投与した試験が実施されており、成長、一般状態、生存期間や死因、あるいは繁殖性に被験物質投与による影響は認められず、また、同研究所でソルビン酸を 5.0%の濃度で雌雄のラットに一生に亘り混餌投与した試験においても生存期間や臓器重量、また肝臓、腎臓、心臓あるいは精巢の組織学的検査で被験物質投与による影響は認められなかったと報告されている(26)(28)。なお、JECFA はこれらの試験における無毒性量を 5.0%群 (2,500mg/kg 体重/日) と評価している(28)。また、雌雄のラットにソルビン酸を 1.5 および 10.0%の濃度

で 104 週間混餌投与した試験が実施されており、10%群で体重の増加抑制や相対肝重量の有意な増加がみられたが、組織学的検査ではソルビン酸投与に起因した病変は観察されなかったとしており、筆者らは本試験における NOEL を 1.5%群と評価しているが、10%群で観察された変化の程度から、本試験の実際の NOEL は 5%近辺と考えられると考察している(41)(43)。さらに、雌雄のラットにソルビン酸カリウムを 2.5%および 5.0%の濃度で 104 週間混餌投与した試験が実施されており、雄の 5%群で体重の増加が抑制され、雌雄の投与群で摂餌量が減少傾向を示したが、血液および血液生化学的検査や臓器重量では被験物質投与による明らかな影響は認められず、組織学的検査においても腫瘍の誘発は認められなかったと報告されているが、非腫瘍性病変に関する記載は確認できなかった(83)。また、雌雄のマウスにソルビン酸を 1.0、5.0 および 10.0%の濃度で 80 週間混餌投与した試験では 5.0 あるいは 10.0%群で体重の減少や肝重量の増加が認められたが、組織学的検査では被験物質投与に起因した病変は観察されなかったとしており、筆者らは本試験における NOEL を 1%群と評価しているが、10%までの投与による影響を考慮すると、本試験の実際の NOEL はもっと高い可能性があると考えしている(41)(48)。

(2) 個別データ

① 短期投与毒性試験

1 群雌雄各 5 匹のラットにソルビン酸を 0、0.5、1.0、2.0、4.0 および 8.0%の濃度で 90 日間投与した試験が実施されており、体重と摂餌量では群間に差はみられなかった。臓器重量では軽度ではあるが統計学的に有意な相対肝重量の増加が 8%群で認められたが、組織学的検査では被験物質投与に起因した変化は認められなかった。4%群の肝臓では何ら異常は認められず、また腎臓においても被験物質投与による影響は認められなかった(26)(28)(82)。

1 群雌雄各 5 匹の SD 系ラットにソルビン酸 10%添加飼料あるいは基礎飼料(対照群)を 120 日間、また、各群内で交配し、出生した第一世代(F_1)の雌雄各 7~10 匹にも母動物と同様の飼料を 120 日間投与した試験が実施されており、体重は F_1 動物の雄で減少したが、40 日以降の体重増加率では対照群と同様の推移を示した。臓器重量では親動物および F_1 動物ともソルビン酸投与群で相対肝重量の有意な増加あるいは増加傾向が認められた(10)(26)(28)。

1 群雌雄各 5 匹のラットにソルビン酸カリウムを 0(対照群)、1.0、2.0、5.0 あるいは 10.0%の濃度で 3 ヶ月間混餌投与した試験が実施されており、雌では投与開始直後より 5.0 および 10.0%群で用量に相関して体重が減少した。試験終了時には 10.0%群で僅かに減少したが、摂餌量も減少しており、食餌効率では対照群と差は認められなかった。臓器重量では相対肝重量は対照群を含む全ての群で同様の値を示したが、腎重量は 5.0 および 10.0%群で用量に相関して増加しており、筆者らは多量のカリウムを摂取した結果であろうと推察している。肉眼的検査では 10.0%群においても異常は観察されなかった(26)(28)。

1 群雌雄各 10 匹の B6C3F1 マウスにソルビン酸を 1.25、2.5、5、10 および 20%の濃度で、また、雌雄各 20 匹には基礎飼料(対照群)を 14 週間投与した試験が実施されており、20%群で雌 1 匹が死亡した他は全例生存し、生存動物では急性中毒や神経症状は認められていない。体

重は雄で 5%以上の群で用量に相関して減少したが、2.5%以下の群では用量に相関して僅かに増加した。雌では 20%群で減少、10%以下の群では増加した。しかし、摂餌量では群間に明らかな差は認められなかった。血液生化学的検査ではアルカリフォスファターゼが雄の 20%群で増加し、また、チモール混濁試験、総コレステロール、A/G 比および尿素窒素は雌雄ともにほぼ全群で増加したと報告されている。臓器重量では肝臓が雄の 20%群で僅かに減少したが、雄のその他の投与群および雌の全投与群では増加し、精巣はソルビン酸投与群で減少した。肉眼的検査ではいずれの臓器においてもソルビン酸投与の影響は認められていないとされているが、組織学的検査成績は入手していない(60)。

1 群雄 2 匹および雌 1 匹のイヌにソルビン酸を 0 (対照群) あるいは 4%の濃度で 90 日間投与した試験が実施されており、一般状態や体重、剖検時に実施したヘモグロビン量および肝臓や腎臓を含む臓器・組織の組織学的検査において被験物質投与による毒性影響は認められなかったと報告されている(26) (28) (82)。

1 群 8 匹のイヌ (性別不明) にソルビン酸カリウムを 1 および 2%の濃度で 3 ヶ月間混餌投与した試験が実施されており、被験物質投与群の体重は対照群 (4 匹) と同様で、剖検時の肉眼的検査においても被験物質投与に起因した明らかな影響は認められなかったと報告されている(26) (28)。

② 長期投与毒性試験

ソルビン酸と安息香酸との相乗毒性試験の単独投与群としてソルビン酸 5%添加飼料あるいは対照群として基礎飼料を 1 群雌雄各 20 匹の SD 系ラットに 52 週間投与した試験が実施されており、試験期間中に雄のソルビン酸投与群で 1 例および対照群で 2 例が肺炎等により死亡したが、その他の動物では一般状態に特記すべき変化は認められず、体重、尿検査、血液学的検査、血液生化学的検査、臓器重量、肉眼的および組織学的検査ともに、ソルビン酸投与による明らかな影響は認められなかった。また、ソルビン酸と安息香酸との併用投与による相乗毒性は認められなかった(41) (46)。

ソルビン酸と亜硝酸ナトリウムとの相乗毒性試験の単独投与群としてソルビン酸 5%添加飼料あるいは対照群として基礎飼料を 1 群雌雄各 30 匹の Wistar ラットに 1 年間投与した試験が実施されており、試験期間中に雄のソルビン酸投与群で肺炎により 1 例死亡したが、その他の動物では一般状態に特記すべき変化は認められず、体重、摂餌量、尿検査、血液学的検査および臓器重量においても変化は認められなかった。血液生化学的検査では雌雄ともソルビン酸投与群において総コレステロール値が軽度ではあるが増加し、組織学的検査では肝臓で肝細胞の空胞変性および腎臓でうっ血や蛋白円柱が僅かに増加した他はソルビン酸投与に起因する病変は観察されていない。また、ソルビン酸と亜硝酸ナトリウムとの併用投与による有意な相乗毒性は認められなかった(78)。

ソルビン酸とパラオキシ安息香酸エチルの相乗毒性試験の単独投与群としてソルビン酸 5%添加飼料あるいは対照群として基礎飼料を 1 群雌雄各 21 匹の SD 系ラットに 52 週間投与した試験が実施されており、試験終了時の動物数がソルビン酸投与群および対照群で雄では 18 お

および19匹、雌では18および20匹と記載されているが、動物数が減少した詳細についての記載は認められず、明らかでない。体重は雄で対照群に比べソルビン酸投与群で減少したが、雌では僅かに増加しており、摂餌量においても同様の傾向が認められた。尿検査ではソルビン酸投与による影響は認められなかった。血液学的検査では雄で赤血球数およびヘモグロビン量がソルビン酸投与群で統計学的に有意な増加、白血球分画では桿状核球が有意な減少を示したが、雌ではソルビン酸投与による影響は認められていない。血液生化学的検査では雄でA/G比、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、ナトリウム、塩素およびカリウムが統計学的に有意に増加、アルカリフォスファターゼは有意に減少しており、雌では総たんぱく、A/G比、コレステロールおよびカリウムが有意に増加、グルコースが有意な減少を示した。臓器重量では雄で肝重量がソルビン酸投与群で統計学的に有意に増加したが、雌では僅かに増加したのみであった。また、組織学的検査では雌雄ともソルビン酸投与群において腎臓で好塩基性細胞からなる尿細管や蛋白円柱がその程度ならびに頻度ともに増加して観察されたが、その他の臓器では被験物質投与による影響は認められていない。また、本実験条件下ではソルビン酸とパラオキシ安息香酸エチルとの併用投与による相乗毒性は認められなかった(79)。

雌雄各50匹のラットにソルビン酸を0(対照群)、0.1、0.5および5.0%(0、50、250および2500mg/kg 体重/日)で二世代に亘って1000日間混餌投与した試験が実施されており、対照群とソルビン酸投与群間で成長、一般状態、生存期間や死因、あるいは繁殖性に差は認められなかった。第2世代の30匹のラットにソルビン酸を5%の濃度で252日間混餌投与したが、投与に起因した組織学的変化は認められなかった。また、同研究所において雌雄各50匹のラットにソルビン酸を5%の濃度で生涯混餌投与した試験が実施されており、ソルビン酸投与群と対照群の平均寿命は雄で811日および709日であり、雌では789日および804日であった。臓器重量では群間に差は認められず、組織学的検査では肝臓、腎臓、心臓および精巣に異常は観察されなかった。なお、本試験において、対照群と5%群でそれぞれ2個の腫瘍が認められた(26)(28)。

1群雌雄各48匹のWistar系ラットにソルビン酸を0(対照群)、1.5%(雄:630mg/kg、雌:850mg/kg)および10.0%(雄:4330mg/kg、雌:5690mg/kg)の濃度で104週間混餌投与した試験が実施されており、本試験においては摂取カロリーを同等にするためにコーン油とスターチの混合物(1:1)を対照群には10%、1.5%群には8.5%の割合で添加した飼料が使用された。一般状態では特記すべき異常を認めていないが、体重では10.0%群において雄で39週、雌で26週以降、軽度ではあるが統計学的に有意な減少を示した。しかし、摂餌量では明らかな変化は認められなかった。尿検査、血液学的検査および血液生化学的検査においてもソルビン酸投与に起因する明らかな影響は認められていない。臓器重量では10%群の雄で肝臓、雌で肝臓、腎臓、小腸および卵巣の相対重量の増加が認められた。組織学的検査では10%群の雌で肝臓に限局性壊死が統計学的に有意に増加してみられたが、雄では認められず、筆者らは感染が考えられるとしてソルビン酸との関係を否定している。また、10%群の雄で甲状腺の絶対および相対重量が有意に増加していたが、これら甲状腺の組織学的検査において2例の副甲状腺が著しく

肥大していたことから甲状腺重量が増加したとして、ソルビン酸との関係を否定している。その他の臓器でもソルビン酸投与に起因した病変の誘発は認められず、筆者らは本試験における NOEL を 1.5%群と評価しているが、10%群で観察された変化の程度から、本試験の実際の NOEL は 5%近辺であろうと考察している(41)(43)。

1 群雌雄各 50 匹の SD 系ラットにソルビン酸カリウムを 0 (対照群)、2.5%および 5.0%の濃度で 104 週間混餌投与した試験が実施されており、雄の 5%群で体重が増加抑制を示し、雌雄の投与群で摂餌量が減少傾向を示した。血液および血液生化学的検査や臓器重量では被験物質投与による明らかな影響は認められず、組織学的検査においても腫瘍の誘発は認められなかったと記載されているが、非腫瘍性病変に関する記載は確認できなかった(83)。

1 群雄 48 匹および雌 50 匹の ASH/CSI 系マウスにソルビン酸を 0 (対照群)、1%、5%および 10%の濃度で 80 週間混餌投与した試験が実施されており、本試験においては摂取カロリーを同等にするためにコーン油とスターチの混合物 (1:1) を対照群、1%および 5%群にそれぞれ 10%、9%および 5%の割合で添加した飼料が使用された。一般状態や生存動物数では被験物質投与による影響は認められていないが、体重は 10%群の雄で有意に減少した。13、26 および 52 週に実施した血液学的検査ではソルビン酸投与による明らかな影響は認められなかった。試験終了時に一晩絶食して測定した体重では雄で 5 および 10%群、雌では 10%群で有意に減少、臓器重量では絶対肝重量の増加が 5%および 10%群の雌で、相対肝重量の増加が 5%および 10%群の雌雄で、また、脳および腎臓の相対重量の増加が 5%ならびに 10%群の雄および 10%群の雌で認められているが、組織学的検査ではソルビン酸投与に起因した病変は観察されていない。さらに、雌雄の腎臓および雄の肝臓においては加齢に伴う病変がソルビン酸投与により減少しており、筆者らは本試験における NOEL を 1%群と評価しているが、10%までの濃度での投与による影響を考慮すると、本試験の実際の NOEL はもっと高い可能性があると考えしている(41)(48)。

3) 変異原性

(1) まとめ

ソルビン酸カルシウムについては変異原性試験成績の報告が見出されていない。そのため、類縁化合物であるソルビン酸、ソルビン酸ナトリウムおよびソルビン酸カリウムの変異原性試験成績を参照した。これらの化合物は微生物を用いる変異原性試験では陰性であり、培養細胞を用いる変異原性試験では陽性結果を示すものもあるが、概ね高用量での成績であり、げっ歯類を用いる変異原性試験では腹腔内投与で一部陽性結果があるものの、経口投与ではいずれも陰性結果が得られている。これらの変異原性試験成績から、ソルビン酸カルシウムについて変異原性の面から安全性について懸念すべき点は見出されていないと判断される。

ソルビン酸は亜硝酸ナトリウム存在下やその他の条件下で変異原活性を示すことが知られており、マウスを用いた小核試験等での陽性結果が注目される。しかし、概要に記載されているように、それらの結果は他の試験成績と矛盾するものであり、その結果の信頼性が疑問視される。ソルビン酸と亜硝酸ナトリウムとの反応液の変異原活性はアスコルビン酸やシステイン

の添加、さらには種々の野菜ジュースによって失われることが知られている。また、上記の変異原活性が得られる条件は 60~90°Cでの高い等分子濃度というもので、通常の商品保存とは著しく異なっており、ソルビン酸を含む保存用塩水についての変異原試験結果は陰性であるとの見解も示されている (18)。さらに、ラットを用いたソルビン酸と亜硝酸ナトリウムの1年間混餌投与毒性試験では相乗毒性および発がん性の相乗効果を示唆する所見は認められていない (52)。総合的にみると、ソルビン酸と亜硝酸ナトリウム等の存在下での変異原性活性は極めて限られた条件下でのものであり、変異原性の面から安全性について懸念すべきものではないと判断される。

(2) 概要

ソルビン酸カルシウム(Calcium sorbate)については変異原性試験成績の報告を見出すことはできなかった。そのため、類縁化合物であるソルビン酸(Sorbic acid)、ソルビン酸ナトリウム(Sodium sorbate)およびソルビン酸カリウム(Potassium sorbate)についての変異原性試験成績を記載した。ソルビン酸と亜硝酸ナトリウム(Sodium nitrite)等との反応生成物に変異原性が見出されていることから、それらの試験成績も合わせて記載した。

①ソルビン酸

Salmonella typhimurium TA98 および TA100 または TA1535 を用いた復帰変異試験において S9 mix 非存在下で陰性の結果が得られている (17) (68)。*Bacillus subtilis* を用いた DNA 損傷試験(Rec-assay)において S9 mix 非存在下で陰性の結果が得られている (68)。ヒト培養細胞(A 549)を用いた不定期 DNA 合成(UDS)試験では S9 mix の有無にかかわらず陰性の結果が得られている (17)。チャイニーズ・ハムスター培養細胞株(V79)による染色体異常試験、姉妹染色分体交換(SCE)試験および遺伝子突然変異試験において、突然変異の有意な増加はみられなかったが、染色体異常と SCE は 1050 mg/ml (9.3 mM)のみで有意な増加がみられている (65)。マウス骨髄小核試験およびマウス骨髄 SCE 試験ではいずれも陰性の結果が得られている (17)。

②ソルビン酸ナトリウム

Salmonella typhimurium TA98 および TA100 を用いた復帰変異試験で、S9 mix 有無にかかわらず陰性の結果が得られている (70)。チャイニーズ・ハムスター培養細胞株(CHO)による遺伝子突然変異試験および姉妹染色分体交換(SCE)試験ではいずれも陰性の結果が得られている (70)。チャイニーズ・ハムスター培養細胞株(V79)による染色体異常試験、姉妹染色分体交換(SCE)試験および遺伝子突然変異試験では、染色体異常は 400 mg/ml (3.0 mM) 以上より、SCE と突然変異は 200 mg/ml (1.5 mM) 以上より有意な増加がみられている (65)。チャイニーズ・ハムスター骨髄を用いた染色体異常試験では、経口投与で陰性の結果が得られているが、腹腔内投与の 200 mg/kg で異常頻度の増加がみられている (70)。チャイニーズ・ハムスターおよびマウス骨髄を用いた小核試験では、新鮮なサンプルではいずれも陰性の結果が得られているが、保存サンプルでは小核出現頻度の増加がみられている (70)。

③ソルビン酸カリウム

Salmonella typhimurium TA1535、TA1537、TA1538 または TA98、TA100 を用いた復帰変異試験で、S9 mix 有無にかかわらず陰性の結果が得られている (67) (70)。*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 (67)。ヒト肺がん由来培養細胞株(A 549)を用いた DNA 鎖切断試験で、S9 mix の有無にかかわらず陰性の結果が得られている (17)。チャイニーズ・ハムスター培養細胞株 (Don) を用いた染色体異常試験および姉妹染色分体交換 (SCE) 試験では、染色体異常は 20 mM より明らかに増加し、SCE は 10 mM より統計的に有意な増加はみられている (63)。チャイニーズ・ハムスター培養細胞株 (V79) を用いた染色体異常試験、姉妹染色分体交換 (SCE) 試験および遺伝子突然変異試験では、突然変異は陰性であったが、染色体異常は 20,000 mg/ml (133 mM) でのみ有意に増加し、SCE は 10,000 mg/ml (67 mM) 以上で統計的に有意な増加がみられている (65)。チャイニーズ・ハムスター培養細胞株 (CHO) を用いた遺伝子突然変異試験および姉妹染色分体交換 (SCE) 試験では、10,000 および 20,000 mg/ml 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 (70)。チャイニーズ・ハムスター骨髄を用いた染色体異常試験では、100 および 200 mg/kg の 2 用量で試験が行われ、陰性の結果が得られている (文献 70)。ラット肝 DNA 鎖切断試験では、400, 800, 1,200 mg/kg の用量で試験が行われ、陰性の結果が得られている (17)。

④ソルビン酸と亜硝酸ナトリウム等との反応生成物

ソルビン酸と亜硝酸ナトリウムの反応液が *Bacillus subtilis* を用いた DNA 損傷試験 (Rec-assay) で陽性反応を示し、その反応液から ethylnitrolic acid (ENA) と 1,4-dinitro-2-methylpyrrole (DNMP) が分離され、どちらも Rec-assay で陽性の結果を示すが、前者は *Salmonella typhimurium* TA100 のみで陽性、DNMP は TA100 および TA98 で共に陽性で、TA100 で特に強い活性を示している (50) (52) (58) (71)。一方、ソルビン酸と亜硝酸ナトリウムの混合液にアスコルビン酸やシステインを添加すると、DNMP や ENA が生成されなくなり (84)、DNMP をアスコルビン酸あるいはシステインで処理すると、その変異原活性が完全に失われ、1-nitro-2-methyl-4-aminopyrrole (NMAP) が生成され、NMAP は TA100 および TA98 で代謝活性化の有無にかかわらず陰性の結果が得られている (35)。ソルビン酸と亜硝酸ナトリウムの反応液の変異原活性は種々の野菜ジュースによって抑制され、それが DNMP の減少によることも判明している (85)。さらに、DNMP をヒト糞便および腸内細菌と共に嫌気条件下で培養すると、NMAP に代謝されることが報告されている (22)。

チャイニーズ・ハムスター培養細胞株 (V79) による遺伝子突然変異試験において、亜硝酸ナトリウム単独処理では陽性の結果が得られているが、ソルビン酸カリウム単独処理および両者の同時処理においてはいずれも陰性の結果が得られている (34)。

マウス骨髄染色体異常試験において、ソルビン酸単独 (15 mg/kg) の 30 日間連続経口投与では染色体構造異常は有意に増加しないが、亜硝酸ナトリウム単独 (2 mg/kg) で有意に増

加し、ソルビン酸と亜硝酸ナトリウム同時(7.5+1 mg/kg)ではさらに増加している (64)。一方、亜硝酸ナトリウム単独の 200 mg/kg までの経口単回投与による小核試験では陰性の結果が得られており (86)、30 日間連続経口投与といえども、一般に連続投与による染色体異常 (小核) の蓄積効果は認めがたいことから、亜硝酸ナトリウム単独(2 mg/kg)およびソルビン酸と亜硝酸ナトリウム同時(7.5+1 mg/kg)投与で得られた染色体異常誘発性の結果 (64) については、その妥当性に疑問が残る。

マウス骨髄姉妹染色分体交換(SCE)試験は腹腔内投与で行われ、ソルビン酸は 75 mg/kg～150 mg/kg で、亜硝酸ナトリウムは 25～150 mg/kg で、ソルビン酸と亜硝酸ナトリウムの同時投与は 12.5～75 mg/kg で、統計的に有意な SCE の増加がみられている (69)。一方、ソルビン酸単独 5,000 mg/kg までの経口投与によるマウス骨髄 SCE 試験では、陰性の結果が得られていることから (17)、ヒトへのリスク評価の上では腹腔内投与で得られている陽性反応の意義はほとんどないものと考えられる。

マウス骨髄小核試験において、ソルビン酸および亜硝酸ナトリウムの単独投与では 2.5、20、150 mg/kg で、ソルビン酸と亜硝酸ナトリウムの同時投与では 1.25、10、75 mg/kg で、いずれも腹腔内投与で試験が行われ、ソルビン酸の単独投与の低用量を除いて、いずれも統計的に有意な小核出現頻度の増加がみられている (69)。一方、ソルビン酸単独 5,000 mg/kg までの経口投与によるマウス骨髄小核試験では、陰性の結果が得られており (17)、ソルビン酸ナトリウムおよび亜硝酸ナトリウムそれぞれ単独 200 mg/kg までの経口および腹腔内投与でいずれも陰性の結果が得られており (70) (86)、同時投与で得られた小核誘発性の結果 (69) の妥当性に疑問が残ると共に、ヒトへのリスク評価の上では腹腔内投与で得られている陽性反応の意義はほとんどないものと考えられる。

ソルビン酸ナトリウムを 105°C で 6 時間処理すると 4,5-oxohexenoate が生成され、この物質は *Salmonella typhimurium* TA100 および TA1535 を用いた復帰変異試験の S9 mix 非存在下で陽性の結果を示すが、ソルビン酸カリウムを同様に処理しても 4,5-oxohexenoate は生成されない。また、ソルビン酸ナトリウムおよびソルビン酸カリウムの水溶液を長時間保存しても 4,5-oxohexenoate は見出されず、ソルビン酸を含む食品にも 4,5-oxohexenoate は見出されていない (17)。

ソルビン酸と 5 種のアミン類をエタノール中で 50°C あるいは 80°C で 15 日間反応させて得られた生成物 5 種についての *Salmonella typhimurium* TA98、TA100、TA102、TA1535 および TA1537 を用いた復帰変異試験では、S9 mix の有無にかかわらずいずれも陰性の結果が得られている (15)。プラスミッドおよび HeLa 細胞を用いた DNA 損傷試験では、いずれも陰性の結果が得られており、*E. coli* を用いた SOS Spot test による DNA 損傷試験も S9 mix の有無にかかわらず陰性の結果が得られている (15)。

ソルビン酸カリウムをアスコルビン酸および 5 種の鉄塩と室温または 40°C/50°C で 30 日間反応させ、5 日間毎に反応液についての *Bacillus subtilis* を用いた DNA 損傷試験 (Rec-assay) では、3 種類の鉄塩において明らかな DNA 損傷性がみられ、*Salmonella*

typhimurium TA98 および TA100 を用いた復帰変異試験では、TA100 の S9 mix 非存在下で弱いながら陽性結果が得られているが、最も強いものでも陰性対照値の 2.6 倍程度である (19)。

(3) 個別データ

①ソルビン酸

Salmonella typhimurium TA98 および TA100 を用いた復帰変異試験では、プレート法を用いて、ラット肝由来の S9 mix 非存在下で 0.1、1、10 mg/plate の 3 用量で試験が行われ、陰性の結果が得られている (68)。*Salmonella typhimurium* TA100 および TA1535 を用いた復帰変異試験では、プレインキュベーション法を用いて、ラット肝由来の S9 mix 非存在下で 5,000 mg/plate の用量まで試験が行われ、陰性の結果が得られている (17)。

Bacillus subtilis H17 (*rec*⁺) および M45 (*rec*⁻) を用いた DNA 損傷試験 (Rec-assay) では、S9 mix 非存在下 0.05、0.5、5.0 mg/disk の 3 用量で試験が行われており、陰性の結果が得られている (68)。

In vitro 不定期 DNA 合成 (UDS) 試験では、ヒト肺がん由来細胞株 (A 549) を用いて 1~2,000 mg/ml の用量範囲で、ラット肝由来の S9 mix 存在下および非存在下の 3 時間処理で 2 回試験が行われ、いずれも陰性の結果が得られている (17)。

チャイニーズ・ハムスター培養細胞株 (V79) による染色体異常試験、姉妹染色分体交換 (SCE) 試験および遺伝子突然変異試験が行われている。染色体異常試験では 350、700、1,050 mg/ml の 3 用量の 3 時間処理後 24 時間の標本作製で試験が行われ、1,050 mg/ml (9.3 mM) でのみ有意な異常の増加がみられている (65)。また、SCE 試験でも 1,050 mg/ml (9.3 mM) でのみ統計的に有意な SCE の増加がみられているが、陰性対照値の 1.25 倍程度の増加である (65)。さらに、6-TG 抵抗性を指標とした突然変異試験では、いずれの用量においても変異コロニー数の有意な増加はみられず、陰性の結果が得られている (65)。

マウス骨髄小核試験では、雌雄 5 匹のマウスを用い 500、1,500、5,000 mg/kg の用量で単回経口投与後 24、48、72 時間の標本作製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 (17)。

マウス骨髄姉妹染色分体交換 (SCE) 試験では、雌雄 5 匹のマウスを用い、500、1,500、5,000 mg/kg の用量で単回経口投与後 24 時間の標本作製で試験が行われており、陰性の結果が得られている (17)。

②ソルビン酸ナトリウム

ソルビン酸ナトリウムおよび 4 週間室温で保管したソルビン酸ナトリウムについての *Salmonella typhimurium* TA98 および TA100 を用いた復帰変異試験では、プレート法を用いてラット肝由来の S9 mix 存在下および非存在下で 10~2,000 µg/plate の用量範囲で試験が行われ、陰性の結果が得られている (70)。

ソルビン酸ナトリウムおよび 4 週間室温で保管したソルビン酸ナトリウムについてチャイニーズ・ハムスター培養細胞株 (CHO) による遺伝子突然変異試験および姉妹染色分体交換

(SCE)試験が 500, 750 および 1,000 mg/ml の 3 用量で行われており、いずれにおいても陰性の結果が得られている (70)。

ソルビン酸ナトリウムについてチャイニーズ・ハムスター培養細胞株(V79)による染色体異常試験、姉妹染色分体交換(SCE)試験および遺伝子突然変異試験が行われている。染色体異常試験では 200、400、600、800 mg/ml の 4 用量の 3 時間処理後 24 時間の標本作製で試験が行われ、400 mg/ml (3.0 mM) 以上より有意な異常の増加がみられている (65)。また、SCE 試験では 200 mg/ml (1.5 mM) 以上より統計的に有意な SCE の増加がみられているが、最大値が 600 mg/ml (4.5 mM) で得られており、陰性対照値の 2.1 倍の増加である (65)。さらに、6-TG 抵抗性を指標とした突然変異試験では、200 mg/ml (1.5 mM) 以上より用量依存的に変異コロニー数の増加がみられており、最大値が 600 mg/ml (4.5 mM) で得られており、陰性対照値の 40 倍程度の増加となっている (65)。

ソルビン酸ナトリウムおよび 4 週間室温で保管したソルビン酸ナトリウムについてのチャイニーズ・ハムスター骨髄を用いる染色体異常試験では、100 および 200 mg/kg の 2 用量の経口および腹腔内投与で 20、24、30 時間のサンプリングで試験が行われ、経口投与ではいずれも陰性の結果が得られているが、腹腔内投与では 200 mg/kg の新鮮および保存サンプルで染色体異常頻度の増加がみられ、保存サンプルの方が幾分高い出現頻度(1.3%)を示している (70)。ソルビン酸ナトリウムおよび 4 週間室温で保管したソルビン酸ナトリウムについてのチャイニーズ・ハムスターおよびマウス骨髄を用いる小核試験では、200 mg/kg の 1 用量の経口および腹腔内投与で 20、24、30 時間のサンプリングで試験が行われ、新鮮なサンプルではいずれも陰性の結果が得られているが、保存サンプルでは経口投与の場合にはマウスの 24 時間サンプリングでのみ小核出現頻度の増加がみられ、腹腔内投与ではマウスおよびチャイニーズ・ハムスターの 24 時間サンプリングで小核出現頻度の増加がみられている (70)。

③ソルビン酸カリウム

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-245434 (1974) よりその報告書 (67) 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(Rhesus monkey)の肝臓、肺および精巣由来の S9 mix 存在下および非存在下で、2.5 % (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、肺および精巣由来の S9 mix 存在下および非存在下で、1.25 % (w/v) と 2.5 % 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 (67)。*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、肺および精巣由来の S9 mix 存在下および非存在下で、2.5 % と 5.0 % 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 (67)。

ソルビン酸カリウムおよび4週間室温で保管したソルビン酸カリウムについての *Salmonella typhimurium* TA98 および TA100 を用いた復帰変異試験では、プレート法を用いてラット肝由来の S9 mix 存在下および非存在下で 10~2,000 µg/plate の用量範囲で試験が行われ、陰性の結果が得られている (70)。

ヒト肺がん由来培養細胞株(A 549)による DNA 鎖切断試験では、アルカリ溶出法を用いて 1~1,000 mg/ml の用量範囲で、ラット肝由来の S9 mix 存在下および非存在下 3 時間処理で試験が行われ、いずれも陰性の結果が得られている (17)。

チャイニーズ・ハムスター培養細胞株(Don)による染色体異常試験および姉妹染色分体交換(SCE)試験では、培養開始3時間後に 5 mM~40 mM の用量の被験物質および BUdR (1 mg/ml) を添加し、26 時間後に標本作製 (23 時間処理) して試験行われ、染色体異常については細胞当りの染色体切断数に変換して表示しており、切断数は 20 mM より用量依存的に増加し、最高用量では陰性対照値の 10 倍を超え、陽性の結果が得られている (63)。また、SCE 試験では、10 mM~20 mM の範囲で統計的に有意な SCE の増加はみられているが、最大で陰性対照値の 1.6 倍程度の増加である (63)。

チャイニーズ・ハムスター培養細胞株(V79)による染色体異常試験、姉妹染色分体交換(SCE)試験および遺伝子突然変異試験が行われており、染色体異常試験では 5,000、10,000、20,000 mg/ml の3用量の3時間処理後24時間で標本が作製され、20,000 mg/ml (133 mM) でのみ有意な異常の増加がみられている (65)。また、SCE 試験では 10,000 mg/ml (67 mM) 以上で統計的に有意な SCE の増加がみられているが、最大で陰性対照値の 1.25 倍程度の増加である (65)。さらに、6-TG 抵抗性を指標とした突然変異試験では、いずれの用量においても変異コロニー数の有意な増加はみられず、陰性の結果が得られている (65)。

ソルビン酸カリウムおよび4週間室温で保管したソルビン酸カリウムについてのチャイニーズ・ハムスター培養細胞株(CHO)による遺伝子突然変異試験および姉妹染色分体交換(SCE)試験が 10,000 および 20,000 mg/ml の2用量で行われており、SCE ではいずれも陰性であったが、突然変異では新鮮なサンプルで陰性の結果が得られたが、保存したサンプルでは細胞毒性のため結果が得られていない (70)。

チャイニーズ・ハムスター骨髄を用いた染色体異常試験が、100 および 200 mg/kg の2用量の経口および腹腔内投与で 20、24、30 時間のサンプリングで行われ、いずれも陰性の結果が得られている (70)。

ラット肝 DNA 鎖切断試験では、アルカリ溶出法で用量当り雄8匹を用い、400、800、1,200 mg/kg の用量で投与後2時間に標本作製をして試験が行われ、陰性の結果が得られている (17)。

④ソルビン酸と亜硝酸ナトリウムの反応生成物

ソルビン酸と亜硝酸ナトリウムの高温反応液が *Bacillus subtilis* H17 (*rec*⁺) および M45 (*rec*⁻) を用いた DNA 損傷試験(Rec-assay)で単独処理ではみられないような陽性反応を示し (58)、薄層クロマトグラフィで得られた7つのフラクションは *Escherichia coli* Sd-B (TC)

による復帰変異試験で陽性反応を示し、フラクション1、2および5が強い活性を示し(50)、反応生成物の1つが ethylnitrolic acid であることが判明した (52)。

Bacillus subtilis H17 (*rec⁺*) および M45 (*rec⁻*) を用いた DNA 損傷試験(Rec-assay)が、コードインキュベーション法で S9 mix 非存在下で試験が行われている。ソルビン酸(20 mM)と亜硝酸ナトリウム(160 mM)を 60°C で 1 時間 pH 3.5~4.2 に維持すると陽性の結果が得られ、pH 1.5 および pH 6.0 以上では陰性の結果が得られている (71)。ソルビン酸を 20 mM に固定し亜硝酸ナトリウムを 0.4~320 mM の濃度範囲にして pH 3.5 で同様に反応させると、亜硝酸ナトリウム 20 mM より陽性の反応がみられ、160 mM で最大の活性がみられている。ソルビン酸(20 mM)と亜硝酸ナトリウム(160 mM)を 60°C、pH 3.5 で反応させると、5 分後から陽性の反応がみられ、1 時間で最大となり、以後活性は低下していく。一方、4°C で同様の反応をさせると 3 時間から活性がみられ、2 日でピークに達し、96 時間後でも同じレベルの活性がみられている。尚、ソルビン酸および亜硝酸ナトリウムをそれぞれ単独で上記のような種々の条件で処理しても、何らの活性も得られていない。活性のある反応液を ethyl acetate で抽出すると活性が全て抽出液に移動し、クロマトグラフィで 5 つの生成物が分離され、そのうち ethylnitrolic acid (ENA) と 1,4-dinitro-2-methylpyrrole (DNMP) は Rec-assay で陽性の結果を示し、前者は *Salmonella typhimurium* TA100 のみで陽性、DNMP は TA100 および TA98 で共に陽性で、TA100 で特に強い活性を示している (71)。

一方、DNMP や ENA が生成される条件下でソルビン酸と亜硝酸ナトリウムの混合液にアスコルビン酸を添加すると、DNMP や ENA が生成されなくなり、システインの添加も有効であることが報告されている (84)。また、DNMP をアスコルビン酸あるいはシステインと pH 6.8 で処理すると、その変異原活性が完全に失われ、化学的分析で 1-nitro-2-methyl-4-aminopyrrole (NMAP) が生成されていること、NMAP が TA100 および TA98 で代謝活性化の有無にかかわらず陰性であることも報告されている (35)。ソルビン酸と亜硝酸ナトリウムの混合液の変異原活性は種々の野菜ジュース、特にかぼちゃジュースなどによって著しく抑制されており、それらのジュースに含まれるアスコルビン酸、システイン等の成分による DNMP の減少によることが判明している (85)。さらに、DNMP をヒト糞便および腸内細菌と共に嫌気条件下で培養すると、変異原性のない NMAP に代謝されることが報告されている (22)。

チャイニーズ・ハムスター培養細胞株(V79)による 6-TG 抵抗性を指標とした遺伝子突然変異試験において、亜硝酸ナトリウム単独では 0.01~0.2%、ソルビン酸カリウム単独では 0.01~0.5%、両者の同時では 0.01+0.1%、0.01+0.01%、0.1+0.1%の用量で 30 分処理をして試験が行われている (34)。亜硝酸ナトリウム処理では用量に依存して変異コロニー数の増加みられ、陰性対照値の 2 倍を超えているが、ソルビン酸カリウムでは陰性対照値と同様の値を示し、両者の同時処理においても顕著な細胞毒性がみられるものの、変異コロニー数の明らかな増加はみられず、陰性の結果が得られている (34)。

マウス骨髄染色体異常試験が、ソルビン酸 15 mg/kg と亜硝酸ナトリウム 2 mg/kg をそれ

それぞれ単独で、およびソルビン酸 7.5 mg/kg と亜硝酸ナトリウム 1 mg/kg を同時に、30 日間連続経口投与し、最終投与 24 時間後に染色体標本を作製して試験が行われている。ソルビン酸単独処理での染色体構造異常は統計的に有意に増加していないが、亜硝酸ナトリウム単独処理群で有意に増加し、ソルビン酸と亜硝酸ナトリウム同時処理ではさらに増加している (64)。

マウス骨髄姉妹染色分体交換 (SCE) 試験および小核試験が行われている。ソルビン酸と亜硝酸ナトリウムをそれぞれ単独で 25~150 mg/kg で腹腔内投与した場合には、ソルビン酸は 75 mg/kg より、亜硝酸ナトリウムは全ての投与群で統計的に有意な SCE の増加がみられている。ソルビン酸と亜硝酸ナトリウムをそれぞれ上記の半量である 12.5~75 mg/kg を同時腹腔内投与した場合には全ての投与群で統計的に有意な SCE の増加がみられている (69)。小核試験は投与後 24 および 48 時間のサンプリングで行われ、ソルビン酸および亜硝酸ナトリウムの単独投与の場合にはそれぞれ 2.5、20、150 mg/kg の 3 用量で、ソルビン酸と亜硝酸ナトリウムの同時投与の場合には 1.25、10、75 mg/kg の 3 用量で試験が行われている。24 時間サンプリングではソルビン酸の単独投与の 2.5 と 20 mg/kg を除いて、48 時間サンプリングではソルビン酸単独投与の 2.5 mg/kg を除いて、いずれも統計的に有意な小核出現頻度の増加がみられている (69)。

⑤4,5-Oxohexenoate

ソルビン酸ナトリウムを 105°C で 6 時間処理すると 4,5-oxohexenoate が生成され、この物質についての *Salmonella typhimurium* TA100 および TA1535 を用いた復帰変異試験では、プレインキュベーション法を用いて、ラット肝由来の S9 mix 非存在下で 500~5,000 µg/plate の用量範囲で試験が行われ、陽性の結果が得られている。ラット肝由来の S9 mix (10%) 存在下で同程度の変異原活性が得られているが、ラット肝由来の S9 mix (30%) あるいはハムスター肝由来の S9 mix 存在下では 4,5-oxohexenoate の変異原活性は著しく (50% 以上) 低下している。ソルビン酸カリウムを同様に処理しても 4,5-oxohexenoate は生成されない。また、ソルビン酸ナトリウムおよびソルビン酸カリウムの水溶液を長時間保存しても 4,5-oxohexenoate は見出されず、ソルビン酸を含む食品にも 4,5-oxohexenoate は見出されていない (17)。

⑥ソルビン酸と 5 種のアミン類の反応生成物

ソルビン酸と 5 種のアミン類をエタノール中で 50°C あるいは 80°C で 15 日間反応させて得られた生成物 5 種についての *Salmonella typhimurium* TA98、TA100、TA102、TA1535 および TA1537 を用いた復帰変異試験では、プレート法とプレインキュベーション法 (20 分間) を用いて、ラット肝由来の S9 mix 存在下および非存在下で、0.01~5,000 µg/plate の用量範囲で試験が行われている。1 種類の生成物では、プレート法の TA98 の S9 mix 非存在下の低用量において陰性対照の 2 倍を少し超える変異コロニー数が得られたが、高用量ではいずれも 2 倍以下であり、プレインキュベーション法ではそのような結果が得られていないことから、意義のあるものではないと判断されている。別の 1 種の生成物でも S9 mix 存在下

で同様の結果が得られているが、これも最低用量のみであり、生物学的に意義のある反応ではないと判断されている。その他はいずれも2倍以下であることから、最終的にいずれも陰性であると報告している(15)。プラスミッドおよびHeLa細胞を用いたDNA損傷試験(3D test)も1~10,000 µg/mlの用量範囲で行われ、いずれも陰性の結果が得られており、同様の濃度範囲で行われた細胞毒性試験(ニュートラルレッド法)では、いずれにおいても50%以上の細胞毒性は得られておらず、強い細胞毒性は示されていない。また、*E. coli* PQ37を用いたSOS Spot testによるDNA損傷試験がS9 mix存在下および非存在下で行われているが、いずれも陰性の結果が得られている(15)。

⑦ソルビン酸カリウム、アスコルビン酸および鉄塩の反応生成物

ソルビン酸カリウムをアスコルビン酸および5種の鉄塩(ferric citrate、Fe-EDTA、ferrous gluconate、ferric pyrophosphate、ferrous sulfate)と室温または40°Cあるいは50°Cで30日間反応させ、5日間毎に反応液について、*Bacillus subtilis* H17 (*rec*⁺)およびM45 (*rec*⁻)胞子を用いたDNA損傷試験(Rec-assay)が行われている(19)。このうち3種類の鉄塩を用いた場合に明らかなDNA損傷性がみられ、反応日数と共にDNA損傷性が強まる傾向がみられている。尚、それぞれ単独あるいは2つの組合せでの反応液ではDNA損傷はみられていない。そのため、アスコルビン酸と鉄塩の反応から生成される過酸化水素によってソルビン酸カリウムが酸化されることによるものと推測している。同様の反応液についての*Salmonella typhimurium* TA98およびTA100を用いた復帰変異試験では、プレインキュベーション法を用いて、ラット肝由来のS9 mix存在下および非存在下で、25、50、100 µl/plateの用量で試験が行われている。TA100のS9 mix非存在下で弱いながら陽性結果が得られている。反応日数の増加に伴い変異原活性が高まる傾向がみられるが、最も強いものでも陰性対照値の2.6倍程度である。いずれの鉄塩を用いた場合でも、用量依存的に変異コロニー数の増加傾向がみられている。但し、5種の鉄塩における変異原性の強さはRec-assayでのDNA損傷性の強さとは一致していないことから、反応液の中にある変異原性を示すものと、DNA損傷性を示すものとは異なっている可能性が考えられる。尚、それぞれ単独あるいは2つの組合せでの反応液では変異原性はみられていない(19)。

4) 発がん性

(1) まとめ

① 発がん性試験について

ソルビン酸カルシウムを用いた発がん性試験の報告は認められなかった。認められた発がん試験の大部分はソルビン酸を用いた試験の報告であり、その他に少数のソルビン酸カリウムを用いた試験報告が認められた。このような状況下で、ソルビン酸カルシウムの発がん性の評価を行うには、本報告書の5. 体内動態の項に記載したように、ソルビン酸カルシウムが弱酸と強塩基の塩であることから胃内では他の塩と同様にソルビン酸に分解されることから、ソルビン酸またはその塩類と同等に扱うことが可能である。したがって、本報告ではソルビン酸もし

くはソルビン酸カリウムの発がん性試験、ならびに長期毒性試験のうち腫瘍発生につき組織学的に検索が行われている試験の成績をもってソルビン酸カルシウムの発がん性についての評価に代えることとした。

ソルビン酸の発がん性に関して記載した最初の報告はLangら(1967年)による2世代(1000日)にわたる5%までの添加飼料による飼育試験の成績、及び1群雌雄各50匹のラットを用いて、0および5%のソルビン酸添加飼料で生涯(平均寿命:実験群雄811日、雌789日、対照群雄709日、雌804日)にわたる飼育試験を行っているが(1960年, 1967年)、0%群および5%群にそれぞれ2個の腫瘍(部位の記載なし)が認められるに留まったという(26)(28)(18)。その後、Dickensら(1968年)が、使用動物数が少なく発がん性評価の観点からは問題があるが、ソルビン酸カリウム0.1%添加飼料を6匹のラットに、また0.3%添加飲料水を同じく6匹のラットに60週間投与し病理組織学的に詳しく検索した結果では、死亡例を含め腫瘍の発生を全く認めなかったと記載している(44)。

また、Shtenberg & Ignat'ev(1970年)は、他の添加物との複合実験(後述)の中で単独投与試験群として、雌雄各25匹のマウスにソルビン酸40mg/kg/dayを17ヵ月間経口投与する実験を行っているが、対照群、実験群のいずれにも腫瘍の発生を認めていない(42)。その後、Gauntら(1975年)によるラット雌雄各48匹にソルビン酸0, 1.5または10%添加飼料の2年間投与試験(43)、Hendyら(1976年)によるマウスの1群雄48匹、雌50匹にソルビン酸を0, 1, 5または10%の濃度に添加した飼料による80週間飼育試験(48)、Masonら(1976年)が行った1群雌雄各48匹のラットにソルビン酸ならびに1000ppmのパラソルビン酸を含有するソルビン酸を1.2%に添加した飼料で2年間飼育した試験が行われている(47)が、これら試験のすべてにおいて発がん性を示唆する腫瘍発生ならびに発生頻度の増加は認められていない。

国内文献としては、昭和53年度厚生省がん研究助成金による指定研究「変異原性物質の動物発がんテストに関する研究」(小田嶋班)において、その後引き続き指定研究:環境化学物質の動物発がん試験に関する研究(主任研究者 林裕造)において、前者ではソルビン酸カリウムをSDラットに2.5ならびに5.0%添加飼料により104週間飼育した試験の報告(59)があり、その詳細が今井清、林裕造ら(1980年)により報告されている(83)。この研究では対照群を含めて全群の下垂体、乳腺、副腎、脾臓、肝臓等に腫瘍の発生が認められたが、各群間に統計学的に有意差はなく、ソルビン酸カリウムはラットに対しがん原性を示さないと結論している。後者では、朝比奈がソルビン酸をB6C3F1マウス雌雄各50匹に5%&2.5%添加固型飼料により投与する試験を実施している。文献の範囲では64週経過時の成績として検体群では腫瘍発生を認めていないと報告している(60)(61)。

以上、得られた多くの発がん試験の知見では、ソルビン酸ならびにその塩類は、少なくとも飼料に10%まで添加するという限界の高濃度の投与試験を2年間行う範囲では発がん性を示さないことが明らかにされた。食品添加物としてのヒトの摂取量の低さを考慮するならば、ソルビン酸はヒトに対して発がん性を示さないと判断される。

② 他の食品添加物等との複合投与試験について

ソルビン酸とその塩類の発がん性については、すべての試験結果が陰性であることは上述した。しかし、Shtenberg & Ignat'ev (1970年)は、食品添加物の複合使用の機運が高まるなかで、ソルビン酸と抗生物質のナイシンの広範な複合使用が提唱されているところから、複合使用時の安全性の検討が必要との見地から複合投与試験を行った結果を報告している。彼らは、雑種白マウスを用いた複合投与試験として2, 3ならびに17ヶ月間投与群を設けているが、発がん性の検索が行える17ヶ月試験では雌雄各25匹を1群としてソルビン酸単独ならびにナイシンとの複合投与実験を、1日あたりナイシン 2mg/kg とソルビン酸 40mg/kg をペーストにして基礎飼料の投与前に与える方式で実験している。その結果、対照群ならびにソルビン酸単独あるいはナイシンとソルビン酸の複合投与群のいずれにおいても腫瘍発生は全く認められなかったと報告している(42)。一方、Kada (1974年)(58)、Hayatsuら(1975年)(50)は、ソルビン酸が広範に使用される一方、亜硝酸塩も食肉の着色料として多用され、両者がしばしば共存するという事実と、両者の加熱試験反応によりDNA損傷物質が産生されることを報告し、更にNamiki & Kada(1975年)(52)は共に食品添加物として使用されているソルビン酸と亜硝酸ナトリウムの加熱反応により ethylnitrolic acid が主要成分として形成されることを見出した。ただし、彼らは、この結果は特別な *in vitro* における実験条件下で得られたもので、ソルビン酸と亜硝酸ナトリウムが食品中に共存した場合に実際に形成されることを意味するものではないと述べている。Khoudokormoffら(1978年)は、微量の亜硝酸が存在する際にソルビン酸(K-ソルビン酸として0.1%)は常に変異原性を示し、しかもpHの低下で増大するが、pHを6以上にすればもはや変異原性は認められなくなると報告している(66)。一方、今井俊介ら(1983年)は、亜硝酸ナトリウムが第2級アミンの存在下でN-ニトロソ化合物を形成しなくてもリンパ腫の発生が見られるとの報告を受けて、亜硝酸ナトリウムとソルビン酸の相乗毒性試験を行っている。彼らは、Wistarラット1群雌雄各30匹を用いて、第1群0% (対照群)、第2群ソルビン酸5%、第3群亜硝酸ナトリウム0.1%、第4群亜硝酸ナトリウム0.1%+ソルビン酸5%複合投与群の4群を設けて、1年間の毒性試験を行っている。発がん性試験としては投与期間が不足しているが、この試験の範囲では下垂体腺腫が対照群雌に3例、雄2例、ソルビン酸群雌に2例、亜硝酸ナトリウム群雌に1例が、精巣のLeydig細胞腫が対照群およびソルビン酸群雄に各1例と肝臓癌が亜硝酸ナトリウム群と複合投与群の雌に各1例を認めたにとどまり、相乗毒性&発がん性の相乗効果を示唆する所見は認めていない(78)。更に、北堀ら(1980年)も、相乗毒性を検討する目的でSDラットを用いて“パラオキシ安息香酸エチル”とソルビン酸の複合投与試験として、第1群安息香酸2.5%とソルビン酸2.5%、第2群安息香酸5.0%、第3群ソルビン酸5.0%添加飼料群、ならびに第4群基礎食対照群を設け、1年間の投与試験を行っている。1年間の投与試験では、対照群雄1例に下垂体腫瘍を認めたのみで他に腫瘍発生を認めていない(79)。

ソルビン酸は、体内動態の項に記載のように、日常的に広く魚介類、肉類、果実、野菜等から摂取され十分な栄養条件下では炭酸ガスと水にまで酸化され、大部分はエネルギー源として使用されるという。一方で変異原性は陰性であり、飼料に10%という高い濃度での長期実験を

含めてその結果はすべて陰性であること、また、変異原性物質の産生が見られるというソルビン酸と亜硝酸塩との複合使用も、その産生には60-90°Cという加熱と高い等分子濃度という特殊条件が必要で、日常的使用条件下では変異原性は陰性であること、他の繁用される食品添加物との複合投与試験も各種の実験が行われているが、試験の範囲ではすべて陰性であり、単独試験、複合試験のすべてを総合して、ソルビン酸の使用はヒトに対し発がん性を示す恐れは無いと判断される。

(2) 個別データ

ソルビン酸の発がん性を最初に記載したLangらの報告(1967年)の概要を記載したFDA報告(1975年)およびWHO Food Additives Series 5(1974年)によると、ソルビン酸を0.1、0.5または5.0% (50、250、&2500mg/kg 体重) 添加飼料で1000日間維持した100匹のラットには全く病的変化を認めず、また、0.1あるいは0.5%飼料で維持した第2世代ラットでも対照群と比較して成長や繁殖に違いがなく、また、1群雌雄各50匹のラットを0または5%のソルビン酸添加飼料により生涯飼育(ソルビン酸投与群の平均寿命は雄811日、メス789日、対照群雄709日、雌804日)する試験ならびに第2世代ラット30匹への投与試験(5%ソルビン酸の投与を252日間)の2世代試験を行い、試験期間中の死亡例を含め全例を剖検して検索した結果、第1世代群では、臓器重量、死因とも両群間に差異を認めず、対照群、投与群に各2個の腫瘍(部位の記載なし)を認めたのみであったという。また、第2世代群では、肝、腎、心および精巣を検索した限りでは、全く異常所見を認めなかったと記載している(26)(28)。Dickensら(1968年)は、発がん性検索の予備試験的試験ではあるが、ソルビン酸カリウムの経口投与試験として、6匹のラットには0.1%添加飼料を、他の6匹には0.3%溶解液を飲料水として100週まで投与した試験で肝腫瘍は認められなかったという過去の試験(1966年)を受けて、再度1群6匹のラットに60週間、ソルビン酸カリウムを同濃度を含む食餌ならびに飲料水を投与する試験を行い、組織学的検索を行っているが、両試験のすべてのラットに腫瘍の発生を認めなかったと報告している(44)。Shtenberg & Ignat'ev(1970年)は後述の複合投与試験の一環として、ソルビン酸単独投与試験を実施している。1群雌雄各25匹のマウスに、40mg/kg/dayのソルビン酸を基礎飼料の投与前にペーストにして与える方法で17ヶ月間投与する試験を行っている。その結果、対照群ならびに実験群両群において腫瘍の発生は全く認められていない(42)。また、Gauntら(1975年)は、Wistar系SPFラットの1群雌雄各48匹に対して、ソルビン酸を0(対照群)、1.5、または10%含有飼料を、各群動物が類似のカロリー量を摂取するように配慮して、対照群ならびに1.5%ソルビン酸食には50%(重量%)コーン油と50%コーンスターチの混合物を、対照群飼料には10%、1.5%ソルビン酸飼料には8.5%の割合で補うようにして2年間の投与試験を行っている。その結果、対照群と実験群の両者にほぼ同数の多くの腫瘍の発生を認めたが、ソルビン酸の影響によるとみなすべき腫瘍の発生は認められていない。たとえば1.5%群で認められた腫瘍が10%群では全く認められないとか、対照群にのみ認められた腭のランゲルハンス島細胞腫瘍などがその例として述べられており、ソルビン

酸 10%の飼料添加レベルの範囲では発がん性は認められないと結論している(43)。同様に、Hendy ら (1976 年)は、ASH/CS1 系マウス 1 群雄 48 匹、雌 50 匹にたいし、ソルビン酸を 0, 1, 5 あるいは 10%添加した飼料で 80 週間飼育する長期試験を行っているが、雌雄、添加濃度に関わりなく、全群で肺腺腫及びリンパ芽腫の発生がほぼ同率に認められたほかには著変はなく、ソルビン酸の発がん性を示唆する所見は認めていない(48)。同様に、Mason ら (1976 年)も、Wistar 系 SPF ラット 1 群雌雄各 48 匹に 1.2%ソルビン酸添加飼料もしくは 1000ppm のパラソルビンを含む 1.2%ソルビン酸添加飼料を 2 年間投与する長期試験を行っている。その結果、それぞれの群に多様な腫瘍の発生を認め、ことに下垂体腫瘍の発生が全群でやや頻度高く認められはしたが、両実験群において発がん性を示唆するような発生頻度の上昇は認められず、1000ppm のパラソルビン酸を含有する場合にも発がん性は認められないことを報告している(47)。また、今井 清ら (1980 年)は、ソルビン酸カリウムの発がん性試験の結果を報告している。8 週齢の SD ラットを用い、1 群雌雄各 50 匹に 0% (対照群)、2.5%または 5.0%のソルビン酸カリウムを添加した飼料を与え 104 週間飼育後、基礎飼料にて 106 週まで飼育し生存全例を剖検し病理組織学的に検索している。中途死亡例数には群間の死亡率に有意差は認めていない。組織学的に確認されたすべての腫瘍について発生頻度を検討しているが、雌では下垂体腺腫、乳がん、乳腺線維腫、乳腺腺腫が多く、雄では下垂体腺腫のほかに膵の膵島細胞腺腫 (Insuloma) が比較的高頻度に発生している。しかし、その他の発生腫瘍を含めて、各群間に統計学的有意差は認められず、ソルビン酸カリウムはラットに対しがん原性を示さないと判断している(83)。

5) 生殖発生毒性試験

(1) まとめ

ソルビン酸カルシウムについての繁殖性や催奇形性試験成績を確認することは出来なかった。ソルビン酸カルシウムはソルビン酸カリウムおよびナトリウム同様、胃液と反応して容易にソルビン酸を生成することから、その吸収および代謝はソルビン酸と同様であろうと考えられる(5 体内動態の項参照)。また、JECFA ではソルビン酸カルシウムの ADI をソルビン酸やソルビン酸のカリウムおよびナトリウム塩を含めグループとして評価していることから、ラットあるいはマウスによる試験が実施されているソルビン酸やソルビン酸カリウムの試験成績からソルビン酸カルシウムの繁殖性や催奇形性を推察することとした。

繁殖性に関してはガイドラインに基づいた試験は実施されていないが、ラットにソルビン酸を 10.0%の濃度で 3 世代に亘り投与した試験(10)(18)(28)やマウスにソルビン酸 40mg/kg とナイシン 2mg/kg を 5 世代に亘り投与した試験(18)(28)(42)が実施されており、繁殖性に異常は認められなかったと報告されている。また、催奇形性に関しては、ラットならびにマウスの妊娠 6~15 日にソルビン酸カリウムを 340mg/kg 体重あるいは 460mg/kg 体重までの用量でそれぞれ強制経口投与した試験において催奇形性は認められなかったと報告されている(41)(49)。

(2) 個別データ

① 繁殖性に関しては、雌雄各 5 匹のラットにソルビン酸を 0 (対照群) あるいは 10.0% の濃度で 60 日間混餌投与した後に各群内において雌雄を 1 対 1 で交配し、妊娠ならびに授乳期間も引続き同様の飼料を投与しており、第一世代 (F_1) が離乳した後は対照群のラット 14 匹には基礎飼料あるいは被験物質投与群のラット 19 匹には 10% 含有飼料を 70 日間投与した後、各群内において交配し、第二世代 (F_2) を出産させた試験が実施されており、繁殖性に関するパラメータは対照群との間に差は認められなかったが、10% 群の雄の新生児では体重が低値を示していた (10) (18) (28)。また、雌雄のマウスにソルビン酸 40mg/kg とナイシン 2mg/kg を 8 ヶ月間投与した後にマウスを交配させ、第一世代 (F_1) から第四世代 (F_4) まで出産させた試験が実施されており、いずれの世代においても繁殖性に異常が認められたとは記載されておらず、新生児について離乳後 3.5 ヶ月間の体重増加率を比較した結果、 F_1 から F_3 世代では同様の値を示し、 F_4 世代においては被験物質投与群が対照群に比べ高値を示していた (18) (28) (42)。

② 催奇形性に関しては、1 群 19~22 匹の Wistar 系ラットに妊娠 6~15 日の間ソルビン酸カリウムを 0 (対照群)、3.4、15.8、73.3 および 340.0mg/kg 体重の用量で蒸留水に懸濁して強制経口投与し、妊娠 20 日に帝王切開して検索した結果、ソルビン酸を投与した母動物の体重や生存率、着床数や吸収胚数、生存胎児数や胎児体重には対照群と明らかな差は見られなかった。また、外表ならびに内臓検査および骨格検査においてもソルビン酸投与による影響は認められず、催奇形性は認められなかった (41) (49)。また、1 群 20 匹の CD-1 マウスに妊娠 6~15 日の間ソルビン酸カリウムを 0 (対照群)、4.6、21.4、99.1 および 460.0mg/kg 体重の用量で蒸留水に懸濁して強制経口投与し、妊娠 17 日に帝王切開して検索した結果、ソルビン酸を投与した母動物の体重や生存率、着床数や吸収胚数、生存胎児数や胎児体重には対照群と明らかな差は見られなかった。また、外表ならびに内臓検査および骨格検査においてもソルビン酸投与による影響は認められず、催奇形性は認められなかった (41) (49)。

6) 一般薬理試験

ラットにおいて、ソルビン酸を 1.5% 含有する飼料を 2 年間にわたって摂取させても、死亡率はもとより、血液学的所見、腎機能、組織病理学的所見に何ら変化が認められなかったとする報告が出されている (43)。一方、ソルビン酸カルシウムの一般薬理試験に関する報告を見出すことは出来なかった。しかし、ヒトにおける感覚に関する効果としては、ソルビン酸摂取による口腔内の灼熱感 (Burning mouth syndrome) の発現が報告されている (18)。また、口腔内の灼熱感に関しては、ソルビン酸あるいはソルビン酸カリウムが抗原性を示した患者において 3 年間にわたって口腔内でも特に舌背、軟口蓋、口唇に間歇的に灼熱感が発現したという報告もある (38)。同様に、ソルビン酸にパッチテスト陽性を示す患者において、持続的または間歇的口腔粘膜灼熱感を訴えるものがあつたとする報告も存在する (39)。また、ソルビン酸には腸管の刺激 (Irritable bowel syndrome) にかんする症例報告もあるが、確認が必要であるとされている (18)。

7) ヒトについての知見

ソルビン酸およびソルビン酸カリウムが特定のヒト集団に過敏性反応、特に接触性蕁麻疹 (Contact urticaria) を起こすとの報告がある(6)(18)。特に乳酸に過敏なヒトはソルビン酸に対しても過敏性反応をしめすとの知見もある(18)。慢性蕁麻疹の 90 症例を対象とした臨床研究によると、それら中の 4%がソルビン酸もしくは他の食品添加物に反応をしめしている(18)。その他にソルビン酸摂取による口腔内の灼熱感 (Burning mouth syndrome) あるいは腸管の刺激 (Irritable bowel syndrome) についての報告もあるが、確認が必要とされている(18)(38)。

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 1961 年以來ソルビン酸とその塩類について評価を実施し、1973 年の 17 回会議において、ソルビン酸およびそのカルシウム塩、カリウム塩、ナトリウム塩について、ラットの長期毒性試験での無影響量 2500mg/kg に安全係数 100 を適用して 0-25mg/kg/day (ソルビン酸換算) のグループ ADI を設定している(6)(28)。なお、JECFA は 1985 年にソルビン酸ナトリウムのみについての評価を実施し(91)、1973 年における評価を確認している(6)。

2) 米国 FDA における評価

ソルビン酸およびそのカリウム塩、カルシウム塩ならびにナトリウム塩は GRAS 物質に登録されている(7)。

3) 欧州連合における評価

欧州連合食品科学委員会は 1994 年にソルビン酸、ソルビン酸カルシウムおよびソルビン酸カリウムについて次の内容の意見書を公表している。

- ① ソルビン酸は他の短鎖脂肪酸と同様に生体内で容易に代謝される。
- ② ソルビン酸の酸化による代謝についてはヒトとラットの間で本質的な相違はない。
- ③ 10%までの混餌投与による長期実験において、ソルビン酸はマウスおよびラットに対し発がん性を示さないと判断される。
- ④ ソルビン酸は in vivo および in vitro の試験系において遺伝毒性を示さない。
- ⑤ ソルビン酸カリウムはラットおよびマウスに対し催奇性を示さない。

以上の知見を踏まえて食品科学委員会はソルビン酸がラットの長期投与試験において 5%の混餌で (2500mg/kg に相当) 毒性を示さなかったことから、安全係数を 100 として 0-25mg/kg/day の ADI を設定している。なお、食品科学委員会はソルビン酸カリウムが特定の高感受性の集団に過敏性反応、特に蕁麻疹を惹起すると判断している(6)。

8. 検討委員会における安全性評価と ADI の試算

評価に用いた情報はソルビン酸およびソルビン酸カリウムについてのデータで、ソルビン酸カルシウムに関する知見は極めて限られていたが、下記の理由から、これらのデータによってソルビン酸カルシウムについての評価が可能と判断した。

- 1) ソルビン酸は他の短鎖脂肪酸と同様に生体内で容易に β -酸化を受け、炭酸ガスと水に分解される。
- 2) ソルビン酸カルシウムは弱酸と強塩基の塩であることから胃の中ではソルビン酸となるため、体内動態についてはソルビン酸、ソルビン酸カリウム、ソルビン酸ナトリウムと同様に扱えると判断される。

ソルビン酸、ソルビン酸カリウムおよびソルビン酸ナトリウムの経口投与による毒性は低く、1回投与によるラットのLD₅₀は3.6g/kgを超え、2年間に亘るソルビン酸またはソルビン酸カリウムの混餌試験においても5%までの濃度でラットおよびマウスに対して毒性を示さない。

ラットあるいはマウスを用いた発がん性試験において、ソルビン酸およびソルビン酸カリウムは有意な腫瘍発生を示さず、変異原性試験においても総合的に陰性の判断が得られている。ソルビン酸あるいはソルビン酸カリウムについて実施された生殖発生毒性試験においても陰性の結果が得られている。なお、ソルビン酸カリウムが特定の集団に過敏性反応、特に蕁麻疹を惹起するとの報告がある。

以上の情報に基づき、検討委員会は JECFA の評価に準じて 5%混餌による長期投与試験でラットに有害影響がみられなかったとの知見（無毒性量 2500mg/kg）を根拠データとし、安全係数 100 を適用して ADI を 25mg/kg/day とするのが適切と判断した。

9. 使用基準 (案)

ソルビン酸カルシウムは、甘酒（3倍以上に希釈して飲用するものに限る。以下この目において同じ。）、あん類、うに、果実酒、菓子の製造に用いる果実ペースト（果実をすり潰し、又は裏ごししてペースト状としたものをいう。以下この目において同じ。）及び果汁（濃縮果汁を含む。以下この目において同じ。）、かす漬、こうじ漬、塩漬、しょう油漬、酢漬及びみそ漬の漬物、キャンデットチェリー（除核したさくらんぼを砂糖漬にしたもの又はこれに砂糖の結晶を付けたもの若しくはこれをシロップ漬にしたものをいう。以下この目において同じ。）、魚介乾製品、魚肉練り製品（魚肉すり身を除く。以下この目において同じ。）、鯨肉製品、食肉製品、うに、チーズ、マーガリン、フラワーペースト類（小麦粉、でん粉、ナッツ類若しくはその加工品、ココア、チョコレート、コーヒー、果肉、果汁、いも類、豆類又は野菜類を主要原料とし、これに砂糖、油脂、粉乳、卵、小麦粉等を加え、加熱殺菌してペースト状とし、パン又は菓子に充てん又は塗布して食用に供するものをいう。）、煮豆、あん類、つくだ煮、スープ（ただしポタージュスープを除く。以下この目において同じ。）、たれ、つゆ、キャンデットチェリー（除核したさくらんぼを砂糖漬にしたもの又はこれに砂糖の結晶を付けたもの若しくはこれをシロップ漬にしたものをいう。以下この目において同じ。）、ジャム、シロップ、ニョッキ、ケチャップ、甘酒（3倍以上に希釈して飲用するものに限る。以下この目において同じ。）、果実酒、雑酒、みそ、干しすもも、はっ酵乳（乳酸菌飲料の原料に供するものに限る。以下この目において同じ。）、乳酸菌飲料（殺菌したものを除く。以下この目において同じ。）、たくあん漬（生大根又は干し大根を塩漬にした後、これを調味料、香辛料、色素などを加えたぬか又はふすまで漬けたものをいう。ただし、一丁漬たくあん及び早漬たくあんを除く。）並びにかす漬、こうじ漬、塩漬、しょう油漬、酢漬及びみそ漬の漬物以外の食品に使用してはならない。

ソルビン酸カルシウムの使用量は、ソルビン酸として、チーズにあつてはその1kgにつき3.0g（プロピオン酸、プロピオン酸カルシウム又はプロピオン酸ナトリウムを併用する場合は、ソルビン酸としての使用量及びプロピオン酸としての使用量の合計量が3.0g）以下、魚肉練り製品、鯨肉製品、食肉製品及びうににあつてはその1kgにつき2.0g以下、いかくん製品及びたこくん製品にあつてはその1kgにつき1.5g以下、魚介乾製品（いかくん製品及びたこくん製品を除く。）、マーガリン、フラワーペースト類、煮豆、あん類、つくだ煮、キャンデットチェリー、ジャム、シロップ、ニョッキ、みそ、たくあん漬並びにかす漬、こうじ漬、塩漬、しょう油漬及びみそ漬の漬物にあつてはその1kgにつき1.0g（マーガリンにあつては、安息香酸又は安息香酸ナトリウムを併用する場合は、安息香酸としての使用量及びソルビン酸としての使用量の合計量が1.0g）以下、ケチャップ、スープ、たれ、つゆ、干しすもも及び酢漬の漬物にあつてはその1kgにつき0.50g以下、甘酒及びはっ酵乳にあつてはその1kgにつき0.30g以下、果実酒及び雑酒にあつてはその1kgにつき0.20g以下、乳酸菌飲料にあつてはその1kgにつき0.050g（乳酸菌飲料の原料に供するものにあつては、0.30g）以下でなければならない。

(別 紙)

○ 一日摂取量の推定について

ソルビン酸、ソルビン酸カリウムの1人一日推定摂取量

現在指定添加物であるソルビン酸、ソルビン酸カリウムの摂取量の調査資料としてマーケットバスケット方式による食品添加物の摂取量調査報告、並びに生産流通調査方式による食品添加物の摂取量調査報告がある（下記）。これらを総合して、ソルビン酸、ソルビン酸カリウムのソルビン酸としての現在の1人一日摂取量は約 25 mg/人と推定する（体重 50kg として、0.5mg/kg 体重；ADI 25mg/kg 体重の2.0%）。

1. マーケットバスケット方式による食品添加物の摂取量調査報告

ソルビン酸及びソルビン酸カリウム、ソルビン酸として

(1) 1997年調査 (89)

19.6 mg/人

(2) 2000年年齢層別調査 (90)

1 - 6 才 (15.9kg-bw)	13.1 mg/人 (ADI 比 3.3%)
7 - 14 才 (37.1kg-bw)	15.8 mg/人 (ADI 比 1.7%)
15 - 19 才 (56.3kg-bw)	22.1 mg/人 (ADI 比 1.6%)
20 - 64 才 (58.7kg-bw)	17.9 mg/人 (ADI 比 1.2%)
65 才以上 (53.2kg-bw)	11.9 mg/人 (ADI 比 0.9%)

2. 生産流通調査方式による食品添加物の摂取量調査報告 (88)

食品添加物として出荷され、人に摂取された量（査定量）

平成 16 年度厚生労働科学研究報告（調査年 2001 年）

ソルビン酸	19.0 mg/人
ソルビン酸カリウム	16.1 mg/人
ソルビン酸換算総量	31.1 mg/人 (ADI 比 1.65%)

ソルビン酸カルシウムの1人一日摂取量推定の考え方

ソルビン酸化合物の毒性評価はソルビン酸グループとして行うのが適当とされており、ソルビン酸カルシウムの1人一日摂取量推定は、他のソルビン酸化合物を含めたソルビン酸合計量で行うのが適当である。

ソルビン酸カルシウムの有用性は前述のように、ソルビン酸、ソルビン酸カリウムと同様、

広範な微生物の増殖を抑制する酸型保存料としての利用である。これら物質の物理化学的性質（水溶性、酸性度、脂溶性、昇華性、）の違いから食品への実際の使用方法はソルビン酸化合物の種類により異なるが、効果の本質には差はないと考えられることから、本品の使用基準案における食品の種類はソルビン酸、ソルビン酸カリウムと同様であり、また食品（群）中の最高濃度は、ソルビン酸としての合計量で規定されている。ソルビン酸カルシウムの食品への利用は、現在のソルビン酸、ソルビン酸カリウムの一部が代替されて使用されるのが主体で、ソルビン酸カルシウムの使用が認められた場合においても、ソルビン酸自身の使用量（摂取量）には大きな変化はないと考えられる。

新たな利用が開発される可能性も考慮し、ソルビン酸カルシウムが指定された後ソルビン酸としての摂取量として、現在のソルビン酸推定摂取量（上記）1人一日当たり 25 mg/kg 体重の20%増、30 mg/kg 体重（50kg 体重として、ADI（25mg/kg 体重）の2.5%）と推定する。

参 考 文 献

No.	著 者 等	タイトル	出典・研究施設等
1	JECFA	Summary of Evaluations Performed by the JECFA , Calcium Sorbate	IPCS INCHEM http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecval/jec_292.htm
2	Seventeenth Report of the JECFA	Toxicological Evaluation of Certain Food Additives with a Review of General Principles and of Specifications	WHO Technical Report Series No.539, FAO Nutrition Meetings Report Series No.53 , 1974
3	JECFA	Toxicological Evaluation of Some Antimicrobials, Antioxidants, Emulsifiers, Stabilizers, Flour-Treatment Agents, Acid and Bases (Calcium Sorbate)	FAO Nutrition Meetings Report Series No.40A,B,C , WHO/Food Add./67.29 (1967) http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/40abcj15.htm
4	JECFA	Calcium Sorbate	Online Edition: "Combined Compendium of Food Additive Specifications" http://www.fao.org/ag/agn/jecfa-additives/specs/Monograph1/Additive-097.pdf
5	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)	Consolidated Text, Consleg: 1995L0002-29/01/2004 pp.1-8, 20-24
6	Commission of the EC	Report of the Scientific Committee for Food	Report of the SCF Thirty-fifth Series, 1996
7	Food and Drug Administrations, HHS	Part 182-Substances Generally Recognized as Safe, Subpart D-Chemical Preservatives	21CFR Ch.1 , pp.467, 476-478, (4-1-07 Edition)
8	Institute of Medicine of the National Academies	Calcium Sorbate	Food Chemical Codex Fifth Edition, pp.82, 2004
9	Witter,R.F., Newcomb,E.H., Stotz,E.	The Oxidation of Hexanoic Acid and Derivatives by Liver Tissue in Vitro	J Biol Chem, Vol.185, pp.537-548, 1950
10	Demaree,G.E., Sjogren,D.W., McCashland,B.W., Cosgrove,E.P	Preliminary Studies on the Effect of Feeding Sorbic Acid Upon the Growth, Reproduction, and Cellular Metabolism of Albino Rats	J Amer Pharm Ass Sci, Vol.44, No.10, pp.619-621, 1955
11	Deuel,H.J.Jr., Calbert,C.E., Anisfeld,L., McKeehan,H., Blunden,H.D.	Sorbic Acid as a Fungistatic Agent for Foods. II . Metabolism of α, β -Unsaturated Fatty Acids with Emphasis on Sorbic Acid	Food Res Vol.19, No.1, pp.13-19, 1954
12	Melnic,D., Luckmann,F.H., Gooding,C.M.	Sorbic Acid as a Fungistatic Agent for Foods. V . Resistance of Sorbic Acid in Cheese to Oxidative Deterioration	Food Res Vol.19, No.1, pp.33-43, 1954
13	Westöö,G.	On the Metabolism of Sorbic Acid in the Mouse	Acta Chem Scand Vol.18, No.6, pp.1373-1378, 1964
14	Fingerhut,M., Schmidt,B., Lang,K.	Über den Stoffwechsel der 1- ¹⁴ C-Sorbinsäure	Biochemische Zeitschrift Vol.336, pp.118-125, 1962
15	Ferrand,C., Marc,F., Fritsch,P., Cassand,P., de Saint Blanquat,G	Mutagenicity and Genotoxicity of Sorbic Acid-amine Reaction Products	Toxicology in Vitro Vol.14, pp.423-428, 2000
16	Ferrand,C., Marc,F., Fritsch,P., Cassand,P., de Saint Blanquat,G	Genotoxicity Study of Reaction Products of Sorbic Acid	J Agric Food Chem Vol.48, pp.3605-3610, 2000
17	Jung,R., Cojocel,C., Muller,W., Bottger,D., Luck,E.	Evaluation of the Genotoxic Potential of Sorbic Acid and Potassium Sorbate	Food and Chemical Toxicology Vol.30, pp.1-7, 1992
18	Walker,R.	Toxicology of Sorbic Acid and Sorbates	Food Addit Contam Vol.7, No.5, pp.671-676, 1990
19	Kitano,K., Fukukawa,T., Ohtsuji,Y., Masuda,T., Yamaguchi,H.	Mutagenicity and DNA-damaging Activity Caused by Decomposed Products of Potassium Sorbate Reacting with Ascorbic Acid in the Presence of Fe Salt	Food and Chemical Toxicology Vol.40, pp.1589-1954, 2002
20	Khandelwal,G.D., Wedzicha,B.L.	Nucleophilic Reactions of Sorbic Acid	Food Addit Contam Vol.7, No.5, pp.685-694, 1990
21	Kinderlerer,J.L., Hatton,P.V.	Fungal Metabolites of Sorbic Acid	Food Addit Contam Vol.7, No.5, pp.657-669, 1990

No.	著者等	タイトル	出典・研究施設等
22	Shu,Y.Z., Kingston,D.G., Van Tassell,R.L., Wilkins,T.D.	Metabolism of 1,4-Dinitro-2-Methylpyrrole, a Mutagen Formed by a Sorbic Acid-Nitrite Reaction, by Intestinal Bacteria	Environ Mol Mutagen Vol.17, pp.181-187, 1991
23	Schnell,S., Wondrak,C., Wahl,G., Schink,B.	Anaerobic Degradation of Sorbic Acid by Sulfate-Reducing and Fermenting Bacteria : Pentanone-2 and Isopentanone-2 as Byproducts	Biodegradation Vol.2, pp.33-41, 1991
24	Ferrand,C., Marc,F., Fritsch,P., Cassand,P., de Saint Blanquat,G	Chemical and Toxicological Studies of Products Resulting from Sorbic Acid and Methylamine Interaction in Food Conditions	Amino Acid Vol.18, pp.251-263, 2000
25	Perez-Prior,M., Manso,J.A., Garcia-Santos,M.del P., Calle,E., Casado,J.	Alkylating Potential of Potassium Sorbate	J Agric Food Chem Vol.53, pp.10244-10247, 2005
26	LSRO/FASEB	Evaluation of the Health Aspects of Sorbic Acid and Its Salts as Food Ingredients	National Technical Information Service(NTIS) PB262663, 1975
27	JECFA	Toxicological Evaluation of Some Antimicrobials, Antioxidants, Emulsifiers, Stabilizers, Flour-Treatment Agents, Acid and Bases (Sorbic Acid)	FAO Nutrition Meetings Report Series No.40A,B,C , WHO/Food Add./67.29 (1967) http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/40abcj14.htm
28	JECFA	Toxicological Evaluation of Some Food Additives Including Anticaking Agents, Antimicrobials, Antioxidants, Emulsifiers and Thickening Agents	WHO Food Additives Series No.5 IPCS INCHEM http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v05je18.htm
29	JECFA	Safety Evaluation of Certain Food Additives	WHO Food Additives Series 42 IPCS INCHEM http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v042je16.htm
30	Weaver,V.M., Buckley,T., Groopman,J.D.	Lack of Specificity of trans,trans-Muconic Acid as a Benzene Biomarker after Ingestion of Sorbic Acid-preserved Foods	Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention Vol.9, pp.749-755, July 2000
31	厚生労働省	平成15年度マーケットバスケット方式による安息香酸、ソルビン酸、プロピオン酸、パラオキシ安息香酸エステル、亜硫酸、アナトー色素、タール色素の摂取量調査	
32	農林公庫 田村真八郎	食品保存料 ソルビン酸について	技術の窓 No.1140 H15.7.10 http://www.afc.go.jp/business/technology/food/pdf/1140.pdf
33	National Research Council, Washington, DC Prepared for : FDA	1987 Poundage and Technical Effects Update of Substances Added to Food	NTIS PB91-127266, Dec 89
34	Budayova,E.	Effects of Sodium Nitrite and Potassium Sorbate on in Vitro Cultured Mammalian Cells	Neoplasma Vol.32, No.3, pp.341-350, 1985
35	Osawa,T., Ishibashi,H., Namiki,M., Kada,T.	Desmutagenic Actions of Ascorbic Acid and Cysteine on a New Pyrrole Mutagen Formed by the Reaction Between Food Additives ; Sorbic Acid and Sodium Nitrite	Biochem Biophys Res Commun Vol.95, No.2, pp.835-841, 1980
36	Ninth Report of the JECFA	Specifications for the Identity and Purity of Food Additives and Their Toxicological Evaluation : Some Antimicrobials, Antioxidants, Emulsifiers, Stabilizers, Flour-Treatment Agents, Acids, and Bases (抜粋)	WHO Technical Report Series No.339, pp.16-17, 19-20, 1966
37	Commission Directive 96/77/EC of Dec. 1996	Laying Down Specific Purity Criteria on Food Additives Other than Colours and Sweeteners (抜粋)	OJ L 339, 30.12.1996 pp.1-5
38	Haustein,U.F.	Burning Mouth Syndrome Due to Nicotinic Acid Ester and Sorbic Acid	Contact Dermatitis, Vol.19, pp.225-226, 1988
39	Lamey,P.J., Lamb,A.B., Forsyth,A.	Atypical Burning Mouth Syndrome	Contact Dermatitis, Vol.17, pp.242-243, 1987
40	EU Commission	Report from the Commission on Dietary Food Additive Intake in the European Union	http://europa.eu.int/comm/food/food/chemicalsafety/additives/flav15_en.pdf
41	Liebert,M.A.	Final Report on the Safety Assessment of Sorbic Acid and Potassium Sorbate	Journal of the American College of Toxicology, Vol.7, No.6, pp.837-880, 1988

No.	著者等	タイトル	出典・研究施設等
42	Shtenberg,A.J., Ignat'ev, A.D.	Toxicological Evaluation of Some Combinations of Food Preservatives	Food and Cosmetics Toxicology, Vol.8, pp.369-380, 1970
43	Gaunt,I.F., Butterworth,K.R., Hardy,J., Gangolli,S.D.	Long-term Toxicity of Sorbic Acid in the Rat	Food and Cosmetics Toxicology, Vol.13, pp.31-45, 1975
44	Dickens,F., Jones,H.E.H., Waynforth,H.B.	Further Tests on the Carcinogenicity of Sorbic Acid in the Rat	British Journal of Cancer, Vol.22, pp.762-768, 1968
45	内田雄幸, 内藤克司, 安原加壽雄, 大場栄, 佐藤千百合, 下温湯シヅ, 小林和雄, 戸部満寿夫	テヒドロ酢酸, ソルビン酸およびそれらの併用時の急性経口毒性に関する研究	衛生試験所報告, 第103号, pp.166-171, 1985
46	大野良隆, 関川進, 山本博昭, 中森一男, 螺良義彦	ソルビン酸と安息香酸のラットにおける相乗毒性試験	奈医誌(J Nara Med Ass), Vol.29, pp.695-708, 1978
47	Mason,P.L., Gaunt,I.F., Hardy,J., Kiss,I.S., Butterworth,K.R., Gangolli,S.D.	Long-term Toxicity of Parasorbic Acid in Rats	Food and Cosmetics Toxicology, Vol.14, pp.387-394, 1976
48	Hendy,R.J., Hardy,J., Gaunt,I.F., Kiss,I.S., Butterworth,K.R.	Long-term Toxicity Studies of Sorbic Acid in Mice	Food and Cosmetics Toxicology, Vol.14, pp.381-386, 1976
49	Food and Drug Research Laboratories, Inc. Prepared for : FDA	Teratologic Evaluation of FDA 73-4, Potassium Sorbate ; Sorbistat in Mice and Rats	Contract No. FDA 223-74-2176, NTIS PB-245520, Jan 1975
50	Hayatsu,H., Chung,K.C., Kada,T., Nakazima,T.	Generation of Mutagenic Compound(s) by a Reaction Between Sorbic Acid and Nitrite	Mutation Research, Vol.30, pp.417-419, 1975
51	Kito,Y., Namiki,M., Tsuji,K.	A New N-nitropyrrole, 1, 4-dinitro-2-methylpyrrole, Formed by the Reaction of Sorbic Acid with Sodium Nitrite	Tetrahedron, Vol.34, pp.505-508, 1978
52	Namiki,M., Kada,T.	Formation of Ethylnitrolic Acid by the Reaction of Sorbic Acid with Sodium Nitrite	Agricultural and Biological Chemistry, Vol.39, pp.1335-1336, 1975
53	Sofos,J.N.	Sorbate Food Preservatives (抜粋)	CRC Press, Inc. pp.16-17, 28-33, 134-135, 150-153, 1989
54	出願人:小川博衛	ソルビン酸製剤	特許広報 昭57-25190
55	Harris,N.E., Rosenfield,D.	Protection of Cheese with Calcium Sorbate-Treated Wrappers	Food Technology, Vol.19, pp.656-658, 1965
56	西宮隆 (株タイシヨーテクノス)	保存料	食品添加物基礎教育セミナーテキスト, pp.145-152, 平成15年6月
57	Lindsay,R.C.	Food Additives [Sorbic acid]	Food Chemistry Second Edition, pp.646-648, 1985
58	Kada,T.	DNA-Damaging Products from Reaction Between Sodium Nitrite and Sorbic Acid	Annual Report of National Institute of Genetics (Japan), No.24, pp.43-44, 1973
59	小田嶋成和	変異原性物質の動物発癌テストに関する研究	昭和53年度厚生省がん研究助成金による研究報告書(下), pp.905, 1978
60	林裕造	環境化学物質の動物発がん試験に関する研究	昭和56年度厚生省がん研究助成金による研究報告書(下), pp.999-1003, 1981
61	林裕造	環境化学物質の動物発がん試験に関する研究	昭和57年度厚生省がん研究助成金による研究報告書, pp.461-463
62		Sorbic Acid	The Merck Index Thirteenth Edition, pp.1553-1554, 2001
63	Abe,S., Sasaki,M.	Chromosome Aberrations and Sister Chromatid Exchanges in Chinese Hamster Cells Exposed to Various Chemicals	Journal of the National Cancer Institute, Vol.58, No.6, pp.1635-1641, 1977
64	Banerjee,T.S., Giri,A.K.	Effects of Sorbic Acid and Sorbic Acid-Nitrite in Vivo on Bone Marrow Chromosomes of Mice	Toxicology Letters, Vol.31, pp.101-106, 1986
65	Hasegawa,M., Nishi,Y., Ohkawa,Y., Inui,N.	Effects of Sorbic Acid and Its Salts on Chromosome Aberrations, Sister Chromatid Exchanges and Gene Mutations in Cultured Chinese Hamster Cells	Food and Chemical Toxicology, Vol.22, No.7, pp.501-507, 1984
66	Khoudokormoff,B., Gist-Brocades,N.V.	Potential Carcinogenicity of Some Food Preservatives in the Presence of Traces of Nitrite	Mutation Research, Vol.53, pp.208-209, 1978
67	Litton Bionetics, Inc. Prepared for FDA	Mutagenic Evaluation of Compound FDA 73-4, Potassium Sorbate	Contract No. FDA223-74-2104, NTIS PB-245 434, 25 Nov. 1974

No.	著者等	タイトル	出典・研究施設等
68	Morita,K., Ishigaki,M., Abe,T.	Mutagenicity of Materials Related with Cosmetics	Journal of the Society of Cosmetic Chemists Japan, Vol.15, No.3, pp.243-253, 1981
69	Mukharjee,A., Giri,A.K., Talukder,G., Sharma,A.	Sister Chromatid Exchanges and Micronuclei Formations Induced by Sorbic Acid and Sorbic Acid-Nitrite in Vivo in Mice	Toxicology Letters, Vol.42, pp.47-53, 1988
70	Munzner,R., Guigas,C., Renner,H.W.	Re-Examination of Potassium Sorbate and Sodium Sorbate for Possible Genotoxic Potential	Food and Chemical Toxicology, Vol.28, No.6, pp.397-401, 1990
71	Namiki,M., Udaoka,S., Osawa,T., Tsuji,K., Kada,T.	Formation of Mutagens by Sorbic Acid-Nitrite Reaction : Effects of Reaction Conditions on Biological Activities	Mutation Research, Vol.73, pp.21-28, 1980
72	Lueck,E., Remmer,K.H., Bartenchlager,M.	Calcium Sorbate for Protecting Cheese Against Mold	Chem Abstract, Vol.87, pp.474, #182774g, 1977
73	Farbserke Hoechst, A.G	Preservative for Cheese	Chem Abstract, Vol.67, pp.203, #2272x, 1967
74	Lueck,E.,	Use of a Calcium Sorbate Suspension in the Immersion Preservation of Food Surfaces	Chem Abstract, Vol.85, pp.532, #19418u, 1976
75	Lueck,E.,	Fungistatische Verpackungsmaterialien auf Basis Sorbinsäure und Calciumsorbit	Deutsche Lebensmittel-Rundschau, Vol.58, pp.353-357, 1962
76	東京都都民生活局	ソルビン酸カルシウム	食品添加物の安全性に関する文献調査(その10), pp.128-131, 昭和63年3月
77	日本食品衛生協会	ソルビン酸及びソルビン酸カリウム	食品衛生検査指針 食品添加物編, pp.17-18, 2003
78	今井俊介, 関川進, 奥山隆三, 中森一男, 山本博昭, 森本純司, 螺良義彦	亜硝酸ナトリウムとソルビン酸のラットにおける相乗毒性試験	奈医誌(J Nara Med Ass), Vol.34, pp.278-287, 1983
79	北堀吉映, 大嶋正人, 巽義美, 宮代明, 大森高明, 日浅義雄	SD-JCL Rats における Ethyl P-Hydroxibenzoate と Sorbic Acid の相乗毒性効果	奈医誌(J Nara Med Ass), Vol.31, pp.295-306, 1980
80		ソルビン酸, ソルビン酸カリウム	第7版 食品添加物公定書解説書 D852-D860, 1999 廣川書店
81	FDA (21 CFR § 182.1)	§ 182.1 Substances that are Generally Recognized as Safe	21CFRCh.1 (4-1-03 Edition)
82	Deuel,H.J.Jr., Alfin-Slater,R., Well,C.S., Smyth,H.F.Jr.	Sorbic Acid as a Fungistatic Agent for Foods. I. Harmlessness of Sorbic Acid as a Dietary Component	Food Res Vol.19, pp.1-12, 1954
83	今井清, 加藤満利子, 林裕造, 安藤光男, 池田久, 橋本恵子	Potassium Sorbate のラットにおける癌原性に関する研究	秦野研究所年報, 第3巻, pp.33-35, 1980
84	Namiki,M., Osawa,T., Ishibashi,H., Namiki,K., Tsuji,K.	Chemical Aspects of Mutagen Formation by Sorbic Acid-Sodium Nitrite Reaction	J Agric Food Chem, Vol.29, No.2, pp.407-411, 1981
85	Osawa,T., Ishibashi,H., Namiki,M., Kada,T., Tsuji,K.	Desmutagenic Action of Food Components on Mutagens Formed by the Sorbic Acid/Nitrite Reaction	Agricultural and Biological Chemistry, Vol.50(8), pp.1971-1977, 1986
86	Hayashi,M., Kishi,M., Sofuni,T., Ishidate,M.Jr.	Micronucleus Tests in Mice on 39 Food Additives and Eight Miscellaneous Chemicals	Food Chemical Toxicology, Vol.26, pp.487-500, 1988
87	Ministry of Agriculture, Fisheries and Food	Dietary Intake of Food Additives in the UK:Initial Surveillance	Food Surveillance Paper No.37, HMSO
88	日本食品添加物協会「生産量統計を基にした食品添加物の摂取量の推定」研究グループ	生産量統計を基にした食品添加物の摂取量の推定 その1指定添加物品目(第7回最終報告) 第4章 保存料	平成16年度厚生労働科学研究費補助金(食品の安全性高度化推進事業) pp.1024-1027 平成17年3月31日
89	食品添加物研究会編	マーケットバスケット調査対象食品添加物の摂取量-保存料-	あなたが食べている食品添加物、食品添加物一日摂取量の実態と傾向, 本編版, pp.20-23, 日本食品添加物協会, 平成13年
90	Ishiwata,H., Yamada,T., Yoshiike,N., Nishizima,M., Kawamoto,A., Uyama,Y.	Daily Intake of Food Additives in Japan in Five Age Groups Estimated by the Market Basket Method	Eur Food Res Technol, Vol.215, pp.367-374, 2002

No.	著者等	タイトル	出典・研究施設等
91	Twenty-ninth Report of the JECFA (1985)	Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants (抜粋)	WHO Technical Report Series No.733, 1986