

L(+)-酒石酸・L(-)-リンゴ酸カルシウム複塩を含む炭酸カルシウムに
係る規格基準改正のための概要書

令和元年 10 月 4 日
独立行政法人酒類総合研究所

目次

用語の定義

序 ワイン除酸とワインの主要有機酸

I. 添加物の概要

1. 名称及び用途
2. 起源または発見の経緯
3. 諸外国における使用状況
 - (1) OIV
 - (2) E U
 - (3) オーストラリア
 - (4) その他
 - (5) 日本
4. 国際機関等における安全性評価
5. 物理化学的性質
 - (1) 構造式等
 - (2) 製造方法
 - (3) 成分規格案
6. 使用基準案

II. 有効性に関する知見

1. 食品添加物としての有効性及び同種の添加物との効果の比較
2. 食品中での安定性
3. 食品中の栄養成分に及ぼす影響

III. 安全性に係る知見

1. 体内動態試験
2. 毒性試験
3. ヒトにおける知見
4. 一日摂取量の推計等

IV. 海外添加物取り扱い社

V. 引用文献一覧

VI. URL リスト一覧

用語の定義

この概要書で用いる用語の定義は、次による。

用 語	定 義
酒税法	昭和 28 年法律第 6 号
ワイン	酒税法第 3 条第 13 号に掲げる果実酒及び同条第 14 号に掲げる甘味果実酒
常在成分	食品中に一般に存在する成分
除酸	対象となる物品の酸度を減少させる行為
酒石	ワイン醸造中で、アルコール生成や品温の低下などで溶解度が低下し沈殿が生じる。成分的には主として酒石酸塩（カリウム、カルシウム）が知られている。沈殿は結晶状で、その形状から酒石と呼ばれている。
種晶	酒石などの結晶の形成と成長を促すため外部から添加する結晶の核
主要物質の記載方法	L-酒石酸：L-TH ₂ （分子種：L-TH ⁻ ， L-T ²⁻ ） L-リンゴ酸：L-MH ₂ （分子種：L-MH ⁻ ， L-M ²⁻ ） L-酒石酸カルシウム：L-TCa L-酒石酸水素カリウム：L-THK L-酒石酸 L-リンゴ酸カルシウム複塩：T-2Ca-M
ADI	Acceptable Daily Intake：一日摂取許容量
CAS	Chemical Abstracts Service
ECHA	European Chemicals Agency：欧州化学機関
EFSA	European Food Safety Authority：欧州食品安全機関
EU	European Union:欧州連合
FAS	WHO Food Additives Series
FDA	Food and Drug Administration. 米国食品医薬品局
FemTA	L-酒石酸ナトリウムと塩化第二鉄錯体
GMP	Good Manufacturing Practice
GRAS	Generally Recognized As Safe
INS	International Numbering System
JECFA	FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議
LLNA	局所リンパ節アッセイ
NOAEL	無毒性量
OIV	Organisation internationale de la vigne et du vin：国際ブドウ・ワイン機構
Oenological Practices	醸造規則 ワイン製造に関して許されるすべての操作、使用する物品（原料、添加物、工程助剤）の種類、使用制限等を定めたもの
SI	Stimulation index:刺激指数
TRS	World Health Organization Technical Report Series
UDS	不定期 DNA 合成
V79	チャイニーズハムスター肺線維芽細胞
W1-38	ヒト胚性肺細胞株

序 ワイン除酸とワインの主要有機酸

この概要書により規格基準改正を要請する炭酸カルシウムは、L(+)-酒石酸・L(-)-リンゴ酸カルシウム複塩（以下 T-2Ca-M と表記する）を少量含むものであり、ワイン中の有機酸とカルシウムの塩を結晶化させ、沈殿させることでワインの除酸を行う際に種晶として利用し、当該塩の結晶、沈降を促進する目的で使用されている。

1. ワイン除酸とワイン中の有機酸

ブドウ果汁やワイン中の主要な有機酸は L-酒石酸と L-リンゴ酸で（表 1）、これらの酸とカリウムまたはカルシウムとの塩を形成する。これらの塩の結晶はワイン中での溶解度が低いために沈降し、これをろ過等により除くことで、ワイン中の酸が減少させる。この現象は自然にも起こり、ワイン中に酒石が析出するが、人為的にワインにカリウムやカルシウムを供給することで強制的に酒石を析出させる行為を除酸（化学的）と呼ぶ。この経過は、①塩の生成 ②結晶核の形成 ③結晶の成長 ④結晶の沈降 のフェーズに沿って進行する [1]。②において結晶核は、塩濃度が溶液中（ワイン中）で過飽和になった状態で自然に形成されるが、外部から類似の結晶（種晶）を添加することで、過飽和状態を待つことなく結晶を成長させることができる。自然結晶または結晶と同じ種晶を同質核、異なる種晶を異質核と呼ぶこともある [1]。

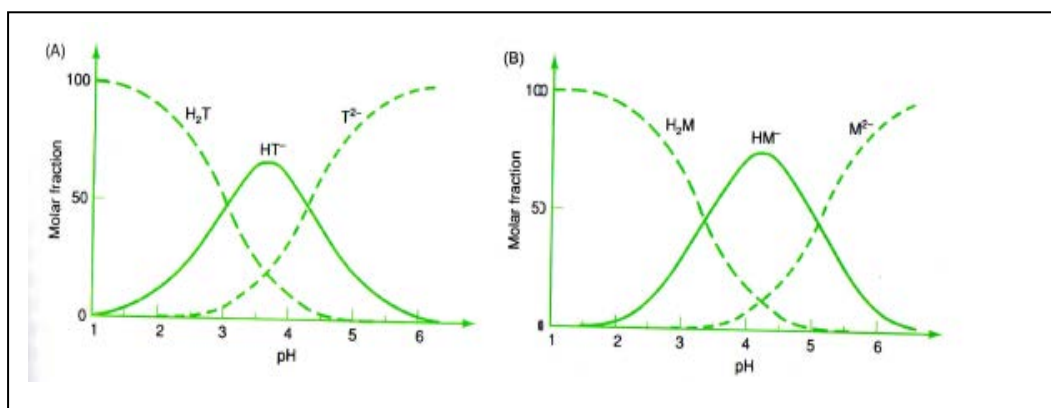
2. ワインの化学的除酸の特徴

ワインの主要な有機酸は酒石酸及びリンゴ酸で、除酸はこれらの酸を減少させることである。通常のワインの pH は 2.8～3.8 程度であるが、この領域では酒石酸は遊離酒石酸（L-TH₂）と酒石酸水素イオン（L-TH⁻）で占められ、ワイン中のカリウムと酒石酸水素カリウム（L-THK）を形成（溶解度は低い）し、結晶沈殿を除くことで除酸が可能である。しかしリンゴ酸はこの領域では大部分が遊離リンゴ酸（L-MH₂）で一部がリンゴ酸水素イオン（L-MH⁻）となるが、リンゴ酸塩はワイン中で溶解度が高いため結晶沈殿は期待できない [2]（図 1）。酒石酸、リンゴ酸には、L 体、D 体、DL 体（ラセミ体）、メソ体（酒石酸のみ）の光学異性体が存在し、自然界では L 体の状態で存在することが知られている [130]。同時に除酸を行う場合のワインは一般的なワインの pH 域より低く、上記の傾向は更に強まる。

表 1. ブドウ果汁、ワイン中の主な有機酸 [3]

有機酸	果汁 [g/L]	ワイン（新酒） [g/L]
リンゴ酸	4 - 10	1 - 6
酒石酸	2 - 6	1 - 4
乳酸	0 - 1	1 - 3
コハク酸	0.5 以下	0.5 - 1.2
クエン酸	0.3 以下	0.3 以下

図 1. 酒石酸、リンゴ酸の分子種の分布 [2]



したがって、一般的なワインの除酸では主に酒石酸を除去することになる。一方で寒冷地や寒冷年のブドウやワインでは、酒石酸に比べリンゴ酸含有量が多いことが一般的であり、この場合の除酸には、酒石酸と同時にリンゴ酸も減少させる方法がとられる。この代表的な方法には複塩法 (Double salts) がある。これは、ワインの一部を炭酸カルシウム処理し (一部を処理するため通常の使用量より高濃度となる)、ワインの pH を 4.5~5.0 程度まで上昇させることで、 $L-T^{2-}$ や $L-M^{2-}$ が増加する。この状態で $L(+)$ —酒石酸・ $L(-)$ —リンゴ酸カルシウム複塩が形成される [4] [5]。この複塩は旋光性を示さないラセミ体でワイン中での溶解度は極めて低い。複塩としては固体 (長針状) でのみ安定に存在し、水などに溶解すれば構成成分に分解する [5]。このようなことから、複塩 $T-2Ca-M$ の沈殿を促進するために種晶として同じ複塩 $T-2Ca-M$ が使用される。炭酸カルシウムを使用した場合の除酸を表 2 に記載する。

表 2. 炭酸カルシウムによる除酸

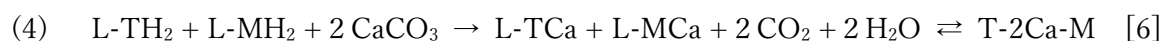
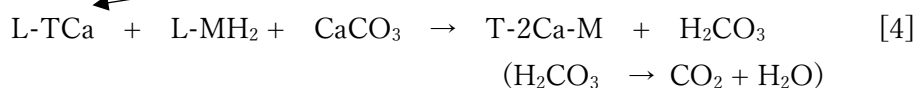
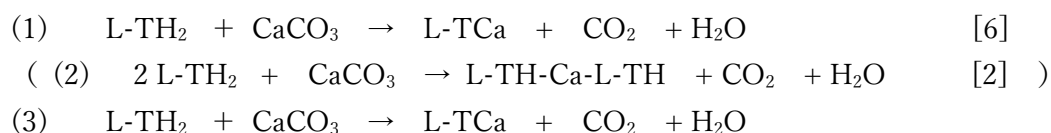


表 2 の(1)及び(2)は通常の除酸で、(1)は酒石酸を単塩として沈殿させるものであり、pH によっては(2)の沈殿 (酒石酸水素カルシウム複塩) も生じうる。一方で、リンゴ酸を減少させる方法であり、一般的に複塩法とよばれるのは(3)(4)である。炭酸カルシウムで処理する場合、(3)のように複塩 $T-2Ca-M$ の結晶形成より $L-TCa$ の生成が先行する。また、pH を上昇させた状態で、過剰な炭酸カルシウムが存在することで、これが酒石酸及びリンゴ酸と $T-2Ca-M$ を形成するとされ [4] [7]、これらを記述したものが(4)である。pH の状態によっては $T-2Ca-M$ は構成単塩に分かれるが、 $L-MCa$ はワイン中での溶解度が高いため反応を右にシフトさせなければならない。これには、 $T-2Ca-M$ を迅速に結晶沈殿

させる（種晶利用）か、pH を上昇（炭酸カルシウム）させる必要がある。なお、この場合の L-TCa は複塩の種晶として働くことも知られている [7]。また、酒石酸複塩で酒石酸カリウムカルシウム複塩（TK-Ca-TK）も知られているが、この塩はワイン中での溶解度が高い [4]。

I. 添加物の概要

1. 名称及び用途

名称：（和名） L(+)-酒石酸・L(-)-リンゴ酸カルシウム複塩を含む炭酸カルシウム
（英名） Calcium carbonate, which may contain small quantities of the double calcium salt of L(+)-tartronic and L(-)-malic acids [8]

用途： 製造用剤

（ブドウ果汁及びワインの除酸目的で使用する。炭酸カルシウム中の L(+)-酒石酸・L(-)-リンゴ酸カルシウム複塩は種晶として使用される。）

登録番号(炭酸カルシウム)：CAS：471-34-1 [9] [10] [11]

INS：170(i) [10]

E-No：170 [11]

2. 起源または発見の経緯

当該要請における、炭酸カルシウムに少量含まれる L(+)-酒石酸・L(-)-リンゴ酸カルシウム複塩（T-2Ca-M）についての最初の記載は、1891 年に Ordonneau がワインの沈殿物から検出したと報告している [12]。これはリンゴ酸を含むワインに不溶性の塩であることから、寒冷地における有用な除酸方法として Münz が研究を始め、ドイツを中心にこの複塩法(“Double salt” 法)が改良され発展してきた [7]。複塩の結晶化を促進するため種晶の利用も研究され、1968 年にはドイツ特許にこの“Double salt” 法が記載されている [13]。ここには当該要請物品である、炭酸カルシウムとこれに約 1%の T-2Ca-M（種晶）を加えた混合物 [2] [13]で pH を約 4.5 とし除酸するとある。例として、総酸 1.8g/100ml のリースリングの果汁 10 hL を除酸するには、この果汁 1hL を攪拌機付き容器に移し、これに炭酸カルシウム混合物を所要量（6.0 kg）加え、数分後に上記果汁 5.5hL を徐々に添加する。15 分間攪拌を続け沈殿物を除去する。最後にこの除酸処理した果汁 6.5hL と未処理の果汁 3.5hL を混和する [13]。

この除酸方法は炭酸カルシウムに種晶の複塩（T-2Ca-M）をあらかじめドーピングした混合物の商標名から “Acidex 法” と呼ばれ、ワインの除酸処理に一般的な方法として追試、紹介され始めた [2] [6] [14]。いずれも Acidex（炭酸カルシウムに 1 % の T-2Ca-M をドーピングしたもの）を供試し、除酸対象果汁（ワイン）の一部を処理し、沈殿物をろ過で除去した後、未処理部分に混和する方法である。

＊）我が国の炭酸カルシウムの使用基準との関係

我が国の炭酸カルシウム使用基準は平成 29 年 6 月 23 日に削除され、適切な製造工程管理を行

い、食品中で目的とする効果を得る上で必要とされる量を超えないものとするよう通知されている。上記のドイツの例では、炭酸カルシウム混合物を全てが炭酸カルシウムと考えると、最初の添加では 2.4% となり、これが数分後には、0.37%、最終的には沈殿物除去しないとしても最大 0.24% が残存すると考えられる。

3. 諸外国における使用状況

ワインに関する国際機関である国際ブドウ・ワイン機構（OIV、Organisation internationale de la vigne et du vin、我が国は未加盟。）や EU はじめ多くの国では、ワイン（ブドウ生産物）についてはその製造に関し、全ての操作や使用薬剤等をポジティブリストとしてまとめている。これは Oenological Practices（仏 Pratique œnologique：以下醸造規則）と呼ばれ、一般的には添加物及び加工助剤（Processing aid）両者を含んだリストとして定めている。

当該要請物品における複塩（T-2Ca-M）の使用を醸造規則に明記している例は、OIV、EU、USA の規則にみられるが、いずれも除酸の目的で使用する炭酸カルシウムに付随するものと記載されている。独立した添加物としての扱いは調査した範囲ではみられない。これは、実際に果汁（ワイン）に添加する T-2Ca-M が量的に少ない（一般的な例で、総酸 2.0g/L を除酸する時には炭酸カルシウムを約 1.3g/L を使用するが、これに含まれる T-2Ca-M は 0.013g/L [5]）ためであることと、更には添加されたほぼ全てが結晶沈殿し、製品ワイン中からは除去されるためだと考えられる。

＊）表 2 の(4)より、2 分子の炭酸カルシウム（分子量 100.1）は 1 分子の酒石酸（分子量 150）と 1 分子のリンゴ酸（分子量 134）を除くことになるが、ワインの「総酸」は全量が酒石酸に換算した値が使用されることが多い。このため酸度（酒石酸 2 分子(分子量 300)）0.2g/L は炭酸カルシウム（2 分子：分子量 200.2）0.13g/L に相当する。

（1）CODEX

CODEX の GSFA（General Standard for Food Additives）では、複塩 T-2Ca-M に関する記載は見当たらない。関連する物質では Table 1 に、L-酒石酸(334)、L-酒石酸ナトリウム(335 ii)、L-酒石酸カリウム・ナトリウム(337)が登録され、シードルや強化ワイン（通常のブドウワインの記載はない）には上限 4,000mg/kg（2018 年）までとしている [15]。同じく Table 1 には炭酸カルシウム(170 i)も記載され、飲料ではコーヒー、紅茶などに GMP での使用を記載している。また、リンゴ酸関係では、DL-リンゴ酸(296)、DL-リンゴ酸ナトリウム(350 ii)が Table 1 に収載され、L-リンゴ酸カルシウム(352 ii)、D-リンゴ酸カルシウム(352 ii)、DL-リンゴ酸水素ナトリウム(350 i)が Table 3 にだけ収載されている。なお、Table 1 に収載されている DL-リンゴ酸(296)、DL-リンゴ酸ナトリウム(350 ii)は飲料ではコーヒー、紅茶などで使用上限 GMP と記載されている [15]。

＊）CODEX GSFA の Table と EU231/2012（添加物規格）では INS の枝番が異なった記載となっている。また EU1333/2008（添加物リスト）の記載では枝番記載や光学異性体の区別はなく記載されている。ここでは、各リストの記載方法に従って記述している。

(2) OIV

日本は未加盟ではあるが、OIV¹の定めるワインに関する各種の定義やルール、特に製造方法に関する醸造規則は世界的な標準として扱われ始めた [16]。この醸造規則の中で化学的除酸に関して、炭酸カルシウムや炭酸水素カリウム、酒石酸カリウムなどが定められている。その中の炭酸カルシウムは、「場合によっては、少量の複塩 T-2Ca-M を含む」と記載されている [17]。また、OIV の醸造規則に定める物品について、使用目的や規格を定める別の規則 (International Oenological CODEX) でも、炭酸カルシウムの項 (COEI-CALCAR) では、「炭酸カルシウムは、除酸の目的で使用する。カルシウムイオンを供給し遊離酒石酸と塩を形成させる。また同時に複塩法 (Double salt method) と呼ばれる除酸にも使用できる。これには、少量の複塩 T-2Ca-M 及び (あるいは) 酒石酸カルシウムを含むこともある」と記載されている [18]。

なお、OIV では炭酸カルシウムや酒石酸カルシウムは加工助剤 (Processing aid) に分類されている [19]。

*) 我が国では、酒石酸カルシウム L—TCa (E354) は食品添加物として認可されていない

(3) EU

EU 域内で使用が認められている食品添加物は、欧州議会・閣僚理事会規則 1333/2008 [20] と欧州委員会規則 [21] で定められており、この中の Annex II 及び III で認可された食品添加物名と使用条件が記載されている。なお、これらの規則 (Annex II、III) は加工助剤 (Processing aid) には対応していない (欧州議会・閣僚理事会規則 1333/2008 article 2)。

複塩 T-2Ca-M の記載はないが、類似の炭酸カルシウム (E 170)、L—酒石酸カルシウム (E 354)、DL—リンゴ酸カルシウム (E 352) は添加物として記載され、いずれも Annex II (Union list of food additives approved for use in foods and conditions of use)、Part C (Definition of Groups of additives) では Group I に分類され使用上限は “quantum satis” とされている。

一方、EU 域内で適用される醸造規則は、別の欧州委員会規則 606/2009 [8] の Annex I A に記載され、この表中の paragraph 13 に除酸の項目がある。この記載では、酒石酸カリウム、酒石酸水素カリウム、炭酸カルシウム、酒石酸カルシウム、酒石酸、酒石酸と炭酸カルシウムを混和し細かく粉碎した混合物、の 6 品目が除酸のために 1 種または複数種使用できると記載されている。この中の炭酸カルシウムでは、「場合によっては極めて少量の複塩 T-2Ca-M を含む」との記載があるが、T-2Ca-M の単独での記載は見当たらない。

なお、上記の酒石酸と炭酸カルシウムの混合物は酒石酸カルシウムを作り、種晶としての働きもあるが、同 Annex I A の paragraph 30 には酒石酸塩の結晶促進として、酒石酸水素カリウムと酒石酸カルシウムがあげられている。

¹ 1924 年に発足し、2001 年 4 月 3 日に国際協定により設立された政府間組織。フランスやイタリアをはじめとする 47 か国のワイン生産国が加盟しており、主な役割の 1 つとして、ブドウの栽培規則からワインの醸造法、ラベルの表示までワインに関する国際基準を加盟国間で審議し決定している

(4) アメリカ

アメリカで食品、食品加工に使用できる物質については、CFR（連邦規則集）Title 21の中に纏められている [22]。具体的な物質名は複数の Part から構成され、Part172(直接食品添加物)、Part173（二次的 direct 食品添加物）、Part175～178（間接食品添加物）、Part180（条件付き食品添加物）、Part182（GRAS 物質）、Part184（直接食品利用 GRAS 物質）、Part186（間接食品利用 GRAS 物質）となっている。ここには、複塩 T-2Ca-M の記載はない。なお、炭酸カルシウムは GRAS として記載されているが、類縁物質である酒石酸カルシウムやリンゴ酸カルシウムの記載はない [22]。

一方、ワインなど TTB (Alcohol and Tobacco Tax and Trade Bureau) によって管轄される分野は CFR Title 27 に纏められている。ワインはこの中の Part 24 (wine) [23]に製造方法等の詳細が規定されている。製造に使用できる主な物質はこの中の Subpart L に纏められている。ここでは、炭酸カルシウムが過剰な酸を除くために使用できると記載され(CFR Title 27, Part24.246)、炭酸カルシウム単独あるいは T-2Ca-M も共に使用できるとの記載がある。減酸上限は 5g/L の範囲での処理の条件がある。

*) CFR 24 246 Materials Authorized for Treatment of Wine and Juice

Calcium carbonate (with or without calcium salts of tartaric and malic acids):	
To reduce the excess natural acids in high acid wine, and in juice prior to or during fermentation.	The natural or fixed acids shall not be reduced below 5 g/L. 21 CFR 184.1069 and 184.1099, and 184.1191 (GRAS)

(5) 日本 等

我が国においては、複塩 T-2Ca-M は食品添加物として指定されていない。OIV などで定める炭酸カルシウム、類縁物質である酒石酸カルシウム、リンゴ酸カルシウムのうち、食品衛生法施行規則別表第 1 に記載があるのは炭酸カルシウム (239) だけである [24]。また、炭酸カルシウムは酒税法においても、酒類に混和することができる物品に指定されている [25] [26]。ワイン除酸には我が国だけでなくカナダ、オーストラリアなどのワイン生産国でも炭酸カルシウムは一般的に用いられている。また、複塩法は一般的なワイン製造のテキスト [4]でも紹介されているので、これらの国でも冷涼な年や地域では炭酸カルシウムを用いた除酸（複塩法、種晶使用の有無は不明）が行われていると思われる。

4. 国際機関等における安全性評価

(1) 日本国内の評価

当該複塩は、古くから炭酸カルシウムによるワイン除酸の際の副産物として生成されて

いたものと思われる。この T-2Ca-M 自体について行われた我が国での安全性評価はみられないが、この複塩は溶液に溶解すれば構成塩に分解するため [5]、L-酒石酸、L-リンゴ酸、カルシウムの安全性評価 [27]が参考になる。なお、炭酸カルシウム、L-酒石酸、DL-リンゴ酸は食品添加物に指定されている（L-リンゴ酸は未指定）。

イ. カルシウム

カルシウムの安全性評価については、2013 年に酢酸カルシウム及び酸化カルシウムの添加物評価書 [28]が出され、2016 年には炭酸カルシウムの添加物評価書 [29]が出されている。2013 年の評価書では「酢酸カルシウム及び酸化カルシウムが添加物として適切に使用される場合、安全性に懸念がないと考えられ、1 日摂取許容量を特定する必要はない」と記されている。また 2016 年の評価書では「炭酸カルシウムについて、通常の食事以外からのカルシウムの摂取量に関する上限値を 2,000mg/人/日（カルシウムとして）と設定する」と記載されている。2016 年の評価書では評価にあたっては、2013 年の評価書を参照すると記されている。

2016 年の評価書には要約の中で「本委員会としては、炭酸カルシウム及びその他のカルシウム塩について遺伝毒性、急性毒性、発がん性及び生殖発生毒性の試験成績を検討した結果、生体にとって特段問題となる毒性の懸念を示す知見は認められないと判断した」と記載されている。また、ヒトにおける各種の知見から、「LOAEL を 3,000mg/人/日とし、通常の食事以外からのカルシウム摂取量の上限値として、UF1.5 を用い、ULS として 2,000mg/人/日とすることが適当と判断した」とも記載している。

なお、評価書「炭酸カルシウム」（2016）以降の栄養成分としての評価について、厚生労働省で「日本人の食事摂取基準（2020 年版）策定検討会報告書案が取りまとめられている [30]。

ロ. L-リンゴ酸

L-リンゴ酸や DL-リンゴ酸、及びこれらのカルシウム塩に関する国内の安全性評価は見当たらない。食品添加物として DL-リンゴ酸だけは認可され、規格は定められているが使用基準は定められていない。なお、L-リンゴ酸は、リンゴやブドウなどの果実に豊富に含有される有機酸として知られている。

ハ. L-酒石酸

L-酒石酸や酒石酸カルシウムについての国内での安全性評価は見当たらない。食品添加物としては、L-酒石酸、DL-酒石酸は認可され、共に規格は定められているが使用基準は定められていない。またこれらのカルシウム塩は食品添加物としては認可されていない。

(2) JECFA における安全性評価

複塩 T-2Ca-M について JECFA の評価は見当たらない。参考になるのは、関連物質の炭酸カルシウム、L-酒石酸カルシウム、DL-リンゴ酸カルシウムの評価結果が参考になる。

イ. 炭酸カルシウム

炭酸カルシウムについては、ADI は制限なしと記載されている。1965 年に開催された JECFA 第 9 回会議のレポートでは、酸化防止剤、抗菌剤、強化剤などと共に酸、塩基についても添加物が評価され、この中で炭酸カルシウムについては GMP (Annex 3) とすることが記載されている [31]。

ロ. L-酒石酸カルシウム

L(+)-酒石酸カルシウムについては、ADI は割り当てられていない [32]。1983 年に開催された JECFA 第 27 回会議のレポートでは、L-酒石酸及びこのアンモニウム、カルシウム、マグネシウム塩が論議されている。第 21 回会議 (TRS 617 1978) で評価された L(+)-酒石酸及びカリウム、ナトリウム、カリウムナトリウム塩に加えて、これらの塩も評価するように CODEX 委員会から要請があったが、規格が準備されず ADI の割り付けはできていない。また毒性に関する報告も準備されなかった。2017 年の第 84 回 JECFA 会議ではメタ酒石酸の評価が行われた (TRS No. 1007) [135]。この中で酒石酸カリウムの評価も検討され、第 17 回専門家委員会及び第 21 回専門家委員会の評価を追認し、L-酒石酸およびこのカリウム塩、ナトリウム塩、カリウム-ナトリウム塩の ADI 0~30 mg (L-酒石酸として) /kg 体重は妥当性があるとし、同時にメタ酒石酸にも適用すると報告している。

ハ. DL-リンゴ酸カルシウム

DL-リンゴ酸カルシウムの ADI は明確にされていない [33]。1980 年の JECFA 第 23 回会議で無機塩及び有機酸の塩類が論議された。これらの塩はイオン化されるので、これまでに評価されたこれらに対応する酸と塩基に基づいて ADI の設定を検討し、これらの塩に含まれるアニオンの ADI に基づいて決定すると記載されている [34]。また、このレポート以前に出された関係する TRS として、TRS445(1970)、TRS339 (NMRS40) (1966) が記載されている。

TRS339 では、カルシウムについては、炭酸カルシウムが GMP での使用とすることが記載され、リンゴ酸については添加物として適量の使用である限り上限設定は必要ないと合意されている。しかし、食品への使用で留意すべき点として、乳酸とリンゴ酸は D-と L-の異性体があり、乳幼児では異性化酵素が欠乏している例がある。このため乳酸については結果的に D-乳酸が残り、乳幼児には有害に働く場合があり、幼児期の食品には D-乳酸は使用されるべきではない。成人についても D-型の乳酸とリンゴ酸は制限すべきで、Annex 3 に DL-リンゴ酸についての制限量として、0-100 mg/kg-bw/day を示している。更に、DL-リンゴ酸は有害なマレイン酸を含有している可能性もあり JECFA ではリンゴ酸に含まれるマレイン酸の含量について、0.05%を超えないことを推奨している [31]。また、TRS445 では、カルシウムの評価で硫酸カルシウムが取り上げられ評価され、GMP としての使用を除いては加工助剤として ADI の制限を設けない (Annex 7) と記載されている [35]。1980 年以降の報告では、TRS733 (1986) において、DL-リンゴ酸及び DL-リンゴ酸カルシウムを含む DL-リンゴ酸塩に対しては乳幼児に使用すべきではないが、ADI を定めないとしている [36]。また、JECFA 2000 において、香味料として使用される場合 L-リンゴ酸は現状の摂取量では安全上の懸念はないとしている [37]。さらに JACFA2018 において、L-リンゴ酸の規格の改訂と仕様の統一がなされているが安全上の懸念や変更はない [136]。

(3) EFSA の評価

EFSA の Scientific Outputs の中では複塩 T-2Ca-M についての評価は見つけれなかったが、参考となる類縁物質がいくつか評価されている [38]。

栄養剤としてカルシウムを与えるための「クエン酸リンゴ酸カルシウム」についての評価では、分子量 2011.79 のものを毎日成人に 400~4,200mg が摂取された場合の例と、分子量 842.75 のものを 435mg 摂取された例が評価されている。パネルの意見では特別な栄養剤 (particular Nutritional Uses (PARNUTS)) やサプリメントを含む一般的な用途 (general population (including food supplements)) では、最大レベルでの摂取でも安全性に懸念はないとしている。「クエン酸リンゴ酸カルシウム」は、カルシウム、リンゴ酸、クエン酸及びこれらの塩の複合物でクエン酸カルシウムとリンゴ酸カルシウムが結合した形 (metastable) だと考えられている。これは、結晶、非結晶、これらの構成イオンの固溶体から構成される。分子式と分子量は以下のものが記されている [39]。

$\text{Ca}_6(\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7)_2(\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_5)_3$	1014
$\text{Ca}_6(\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7)_2(\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_5)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1,105.6
$\text{Ca}_{12}(\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7)_6(\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_5)_3$	2,011.76
$\text{Ca}_5(\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7)_2(\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_5)_2$	842.75

また、リンゴ酸については、カルシウム、マグネシウム等の無機物補給のためにこれらのリンゴ酸塩の使用を評価している。これらのリンゴ酸塩は体内で解離するので既に使用が許可されている他の塩類と同様と評価している。リンゴ酸については DL-リンゴ酸の ADI (JECFA1986 と記されているが、JECFA の H/P では確認できない [36]) から判断して DL-リンゴ酸のカルシウム、マグネシウムなどの塩類の使用は安全性の懸念はないと評価しているが、一方で小児や子供向けには L-リンゴ酸だけにすべきと付記されている [40]。

リンゴ酸 2 カルシウム (di-calcium malate) のカルシウム源としての評価では、この物質のカルシウム源としては従来の許可されたものと差異はないとするものの、解離程度が充分明らかにならず、カルシウムの供給量が正確に算出できないとしている。この中に JECFA のリンゴ酸評価の内容も以下のように記されている。リンゴ酸の ADI については 100mg/kg-bw/day を提案し、さらなるデータを求めていたが、幼児に対する懸念から D-リンゴ酸、DL-リンゴ酸は子供向けの食品には添加すべきでないとし、この ADI は取り消されている (JECFA1967, 1970)。また、L-リンゴ酸には香料料としての使用では安全性の懸念はないとしている (JECFA 2000)。更に JECFA はリンゴ酸のカルシウム塩、カリウム塩及びナトリウム塩も評価し、(JECFA, 1980; JECFA, 1986) リンゴ酸塩がイオン化可能であると結論付け、対応するアニオン (DL-リンゴ酸) のデータに基づいて ADI を確立することは適切であると考え、DL-リンゴ酸の「not specified」の ADI は、DL-リンゴ酸及びそのカルシウム塩、カリウム塩及びナトリウム塩の ADI にも適用できるとした [41]。

また、炭酸カルシウムの再評価についての記載もあり、食品添加物として使用される炭酸カルシウムは「ADI not specified」で同意されている。付加して現在の炭酸カルシウム規格の鉛含

量 10mg/kg 以下は 3mg/kg 以下にすべきことや、石灰岩に含有されるアルミニウムについても懸念する意見が記載されている [42]。さらに、2018 年に乳幼児に対する炭酸カルシウムの評価が再検討されている [43]。

5. 物理化学的性質

指定添加物「炭酸カルシウム」に準ずる。添加物に含まれる複塩 T-2Ca-M の物理化学的性質は以下のとおり。

(1) 構造式等

示性式： $\text{Ca}_2(\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6)(\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_5)$ [4]

分子量： 360.30 [44]

*) その他の示性式として炭酸カルシウムからの炭酸 (H_2CO_3) や水等の関係で以下の記載もある。
上記は最も考えやすい示性式を示す。

$\text{Ca}_2(\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6)(\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_4)$ [6] あるいは $\text{Ca}_2(\text{C}_4\text{H}_3\text{O}_7)(\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_5)$ [4]

また、結晶で得られるものは結晶水 8 分子を含むとの記載もある。

$\text{Ca}_2(\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6)(\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_5) \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ [5]

(2) 性状

透明から白色の結晶からなる粉末で、顕微鏡による観察では酒石酸カルシウム結晶よりも細長い針状の結晶であることがわかる [6] [129]。

(3) 製造方法

少量の L(+)-酒石酸・L(-)-リンゴ酸カルシウムを含む炭酸カルシウムの製造方法については、ブドウ果汁あるいはワインに多量の炭酸カルシウムを反応させて得る方法が考えられる。

(4) 成分規格案

第 9 版食品添加物公定書により規定されており [44]、その中で含量については下記のように記されている。含量：本品を乾燥したものは、炭酸カルシウム (CaCO_3) 98.0~102.0% を含むと記載がある。

本概要書で申請する L(+)-酒石酸・L(-)-リンゴ酸カルシウム複塩を含む炭酸カルシウムは炭酸カルシウムに 1 % の L(+)-酒石酸・L(-)-リンゴ酸カルシウム複塩を含むため、現行の炭酸カルシウムの成分規格に矛盾しない。本概要書では規格案そのものには改訂の必要はないが、ワインに除酸目的で炭酸カルシウムを使用するため、2.0% 以下の L(+)-酒石酸・L(-)-リンゴ酸カルシウム複塩を含んで使用できるという追記を申請する。

6. 使用基準案

(1) 概要

- ・ 主要用途：製造用剤 結晶析出の種晶として使用
- ・ 対象食品：果実酒、甘味果実酒（食品衛生法において、甘味果実酒は果実酒に該当）
- ・ 使用量の最大限度：定めない（別途酒税法関係の枠組みの中で使用上限を規制）
- ・ 使用制限：ブドウを原料とした果実酒、甘味果実酒に含有される過剰な有機酸を除去する目的で使用される除酸剤である炭酸カルシウムとともに結晶析出を早める目的での使用。

(2) 使用基準案

L(+)-酒石酸・L(-)-リンゴ酸カルシウム複塩を含む炭酸カルシウムは、果実酒（ぶどうを主原料として発酵させたものに限る）以外の食品に使用してはならない。

(3) 使用基準案の設定根拠

本概要書では、ブドウ果汁やワインの除酸に炭酸カルシウムを使用する際、有機酸塩の結晶形成を早めるための種晶として用いることを想定している。

OIV や EU、アメリカでの記載は、いずれも炭酸カルシウムによる除酸（複塩法）の際に、L(+)-酒石酸・L(-)-リンゴ酸カルシウム複塩 (T-2Ca-M) が種晶として少量（ドーピング）使用されることもあるとし、使用量についての特段の制限はもうけていない。我が国においては炭酸カルシウムの現行の規格基準内（炭酸カルシウム 98～99%、L(+)-酒石酸・L(-)-リンゴ酸カルシウム複塩 1～2%）での使用を認めるものとする。詳しくは 1 日の摂取量の項目で後述するが、本基準案での使用におけるカルシウム摂取量は我が国の成人女性の推奨値のおよそ 1.37 %、成人男性の推奨値の 1.09 % であり、酒石酸塩類の ADI の 0.012% 程度の摂取量になるため、安全性にも問題がないと考えられる。

II. 有効性に関する知見

1. 食品添加物としての有効性及び他の同種の添加物との効果の比較

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

ブドウは栽培条件により成分含量が変動する。特に寒冷条件（寒冷地域、寒冷年）では有機酸でもリンゴ酸は急激に高くなる（図 2） [2]。他方、酒石酸はリンゴ酸ほど大きな変動は示さない。

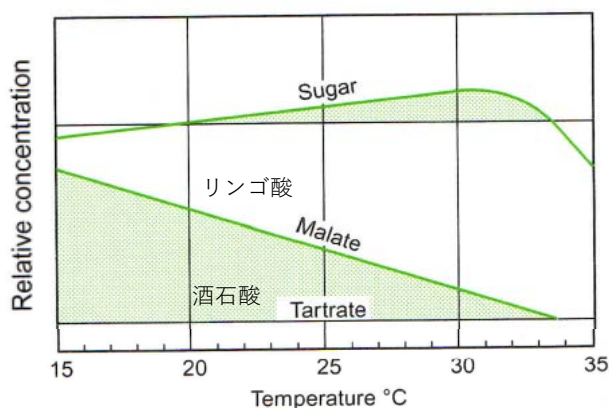


図 2. ブドウ生育温度と各成分濃度 [2]

ワイン中でのリンゴ酸は酒石酸ほどイオン化せず（図1）、カリウムやカルシウムと塩を形成しても溶解度は比較的高い [2]。一方酒石酸は、ワインの pH 域ではイオン化し易く、形成される塩も比較的溶解度が低い。ワインの化学的除酸は、自然に発生する酒石沈殿の原理を利用したもので、人為的にワインの常在成分を外部から加え、塩を形成させ、結晶沈殿するオリをろ過等で取り除き、結果的に有機酸含量を減少させる行為である。そのため、ほとんどの化学的除酸では酒石酸を減少させることになる。

しかし、減酸が必要とされるような寒冷年や寒冷地で収穫されたブドウから醸造される場合はリンゴ酸含量が多くなる。リンゴ酸を減少させる方法としては、乳酸菌を利用したマロラクティック発酵や糖と共にリンゴ酸も分解する酵母の利用などの微生物的方法と電気透析などの物理化学的方法が一般的で、効果的な化学的方法は一般的にはなかった。そこで、リンゴ酸の塩に関しワインの沈殿（オリ）中から分離された複塩 T-2Ca-M が知られていたことから、この現象を人為的に利用した複塩法が研究、開発されている。

この概要書で指定要請する「L(+)-酒石酸 L(-)-リンゴ酸カルシウム複塩」は、上記の除酸（複塩法）を実行する際に種晶として使用するものである。同様の種晶として利用されるのは L(+)-酒石酸カルシウムであるが、我が国では食品添加物として認められていない。

イ．複塩法（Acidex 法）

この方法の特徴は、炭酸カルシウムを添加しブドウ果汁（ワイン）の pH を 4.5 以上にすることであるが、ブドウ果汁（ワイン）全体を処理すれば香味を大きく損なうことになる。そのため対象食品の一部（総酸、目標除酸量、酒石酸含量などで異なるが、15～40%）を除酸処理し、ろ過後に混和することになる。

ロ．複塩法の実施例

1970 年に Acidex 法の改良法として Malitex 法が報告されているが、その中での従来法と炭酸カルシウムに複塩 T-2Ca-M を混合した混合薬剤 Acidex を使用したデータを表 4 に示す [45]。

表 4．1969 年産果汁（ドイツ）の除酸

	対照（無処理）		炭酸カルシウム法			Acidex 法		
	果汁	ワイン 12 月	果汁	ワイン 12 月	ワイン 4 月	果汁	ワイン 12 月	ワイン 4 月
総酸	16.1	12.4	12.3	9.5	6.4	8.9	6.6	4.2
pH	3.20	3.20	3.45	3.60	3.85	3.65	3.90	3.90
酒石酸	5.0	2.2	4.1	1.2	0.8	2.7	0.8	0.7
リンゴ酸	14.3	11.2	14.1	8.3	2.8	12.2	5.8	1.0
乳酸	-	0.35	-	2.1	5.4	-	2.5	5.4
カルシウム	175	165	950	215	190	820	320	270

総酸：g/L(酒石酸として)、酒石酸・リンゴ酸：g/L（共に酒石酸換算）、カルシウム：mg/L

表4は1969年産の果汁を使用してドイツで行われた除酸の例で、果汁で除酸しそれを醗酵させている。処理後の果汁段階の酒石酸、リンゴ酸を比較すれば、炭酸カルシウム法ではそれぞれ0.9 g/L、0.3 g/Lと合計で1.2g/L減少している。一方 Acidex 法では2.3g/L、2.2g/Lと合計で4.5g/Lが減少している。このことから Acidex 法ではリンゴ酸も減少していることが確認できる。また Acidex 法では果汁の一部だけを処理しているため、添加したカルシウムは単塩法より多く塩として捕捉されている。更にワインでリンゴ酸が減少しているのは、乳酸が増加していることから微生物的な分解が起こっていると思われる。果汁中に残ったカルシウムは、ワイン中で徐々に酒石酸と塩を作り沈殿していく結果を示している。

また、アメリカでは同じく Acidex（混合添加物）を果汁やワインに使用したデータが報告されている。一般的に果汁での処理は、ワインになってから残存カルシウムが酒石酸塩を作る時間的な余裕ができるため推奨されている。表5は1974年産のブドウ果汁を Acidex で処理した例である [6]。

表5. カリフォルニア 1974 年収穫果汁の除酸 [6]

品種	測定	総酸		酒石酸	リンゴ酸	カルシウム	pH
		実績	目標				
W. R.	収穫果汁	1.04	0.80	0.96	0.34	73	3.09
	処理後果汁	0.81		0.79	0.30	160	3.31
	醗酵後	-		-	-	110	3.18
	貯蔵後	0.72		0.21	0.24	90	3.02
C. S.	収穫果汁	1.26	0.70	-	0.72	101	3.16
	処理後果汁	0.75		0.63	0.54	289	3.55
	醗酵後	-		-	-	150	3.71
	貯蔵後	0.73		0.10	0.40	126	3.74

W. R. : White Riesling (Monterey County) C. S. : Cabernet sauvignon (Mendocino County)

総酸 : g/100mL(酒石酸として)、酒石酸・リンゴ酸 : g/100mL、カルシウム : mg/L

ワイン貯蔵後 : 5 か月貯蔵後

カリフォルニアのデータ（表5）もドイツのデータ（表4）と同様の結果が得られているが、総酸、酒石酸、リンゴ酸、カルシウムの挙動はこちらの方が理論値に近いものとなっている。

同時に同じ年に収穫した果汁から醸造したワインに Acidex を使用した例を表6に示す [14]。

表 6. カリフォルニア 1974 年醸造ワインの除酸 [14]

品種	測定	総酸		酒石酸	リンゴ酸	カルシウム	pH
		実績	目標				
W. R.	果汁	0.96					3.20
	ワイン(処理前)	0.93	0.70	0.38	0.24	67	3.16
	ワイン(処理後)	0.67		0.25	0.20	-	3.45
	貯蔵後	0.64		0.22	0.20	63	3.23
G. B.	果汁	1.05					3.09
	ワイン(処理前)	1.02	0.60	0.49	0.23	96	3.28
	ワイン(処理後)	0.64		0.17	0.20	121	3.61
	貯蔵後	0.66		0.18	0.20	105	3.44

W. R. : White Riesling (Sisquoc) G.B. : Gamay beaujolais(Suey Ranch)

総酸 : g/100mL (酒石酸として)、酒石酸・リンゴ酸 : g/100mL、カルシウム : mg/L

ワイン貯蔵後 : 4 か月貯蔵後

表 5、表 6、の総酸減少への寄与は酒石酸減少が大きい、これらは対象食品の一部を処理した時の pH が関係している。また、炭酸カルシウムを添加した時、まず酒石酸カルシウムを形成し、この時に炭酸カルシウムとリンゴ酸が存在するとこれらで複塩 (T-2Ca-M) を作り始める。この結晶化は同質種晶 (T-2Ca-M) で促進される。このため酒石酸カルシウム形成が優先されるが、この時の pH と食品中のカリウム、カルシウム等のカチオンの状態で酒石酸カルシウムの量は変動する [4] [5] [7]。表 5、表 6 で総酸減少に占めるリンゴ酸の寄与を算出したデータを表 7 に示す [6] [14]。

表 7. 果汁、ワインの除酸処理におけるリンゴ酸減量の寄与率

除酸食品		処理時 pH	総酸の減量	リンゴ酸の減量	リンゴ酸減の寄与
果汁処理	W.R.	5.03	0.23	0.04	22.0 %
	C.S.	5.33	0.51	0.18	39.0 %
ワイン処理	W.R.	4.09	0.26	0.04	16.9%
	G.B.	4.44	0.38	0.03	8.70 %

除酸食品 : 表 5、表 6 参照、 総酸 : g/100mL、 リンゴ酸 : mg/L

処理時 pH : 一部分を炭酸カルシウム混合剤 (Acidex) で処理した時の pH

表 7 では、Acidex 処理時の pH と総酸減少に占めるリンゴ酸の寄与率を示しているが、処理時の pH が高い方ほど寄与率が高い傾向にある。

ハ. 種晶の効果

本概要書で指定要請する複塩 (T-2Ca-M) の種晶の効果は Munyon と Nagel が 1977 年に報告している [46]。この報告では 4 品種のブドウを用いて同一の条件下のマストに炭酸カルシウムを加えた除酸方法と複塩 (Acidex) 法を使用した方法で比較している。これを表 8 に示す。表では白ワイ

ンの品種である Chardonnay、Chenin blanc、White Riesling の 3 品種と赤ワインの品種では Zinfandel の 1 品種を使用して 2 種類の除酸方法を比較した。その結果、複塩法は炭酸カルシウム処理のワインと比べて酒石酸の濃度が高く、リンゴ酸の濃度が低い。タンニンについては 2 つの方法で差はなかった。論文中では注目すべき点として複塩法の方が、迅速に清澄化できるという記述があった。これは酒石酸の安定性が高いためであると考えられる。

また、これらのワインに対して官能評価を行った。官能評価は 24 人の味覚者を 4 グループに分けて試験性質を知らされずに好みの順にワインをランク付けするようにした。この時 1 が最も好ましくその後数字が大きくなるほど好みではないという方法を取った。すべての味覚者の結果を平均した結果が表の Avg.rank として表記されている。表 8 の Avg.rank を見ると Chardonnay、Chenin blanc、White Riesling の白ワイン 3 品種では複塩法と炭酸カルシウムによる脱酸による官能評価の有意な差はないと考えられる。しかし、Zinfandel 種においては複塩法を用いた場合の官能評価の結果は炭酸カルシウムを用いた場合に比べて有意に好みだという数値結果が出ている。論文中ではこの結果は酒石酸とリンゴ酸双方を取り除くことによってフレーバーとブーケの歪みを最小限に抑えて総酸度と pH をコントロールすることで得られたのではないかと考えられるとしている。

表 8

		マスト			ワイン								
		pH	総酸度 (%)	可溶性固体 (%)	pH	総酸度 (%)	陰イオン (%)	酒石酸 (%)	リンゴ 酸(%)	カルシウ ム(ppm)	カリウ ム (ppm)	タンニン (%)	Avg.rank
Chardonnay	未処理	3.18	1.07	23.5	3.18	0.98	1.19	0.27	0.46	48	630	0.015	3.67
	複塩法	—	—	—	3.34	0.8	1.03	0.15	0.42	60	870	0.014	2.71
	炭酸カルシウム	—	—	—	3.41	0.81	1.01	0.13	0.46	144	620	0.014	2.5
Chenin blanc	未処理	2.92	1.19	19.4	2.93	1.02	1.24	0.36	0.56	50	480	0.021	3.63
	複塩法	—	—	—	3.26	0.86	1.1	0.25	0.53	125	830	0.022	3.08
	炭酸カルシウム	—	—	—	3.33	0.82	1.05	0.13	0.55	138	480	0.022	2.67
White Riesling	未処理	2.97	1.17	20.7	2.83	1.1	1.22	0.52	0.34	60	400	0.028	3.54
	複塩法	—	—	—	3.1	0.82	0.96	0.28	0.3	92	575	0.03	2.83
	炭酸カルシウム	—	—	—	3.25	0.78	0.9	0.14	0.33	89	400	0.029	3.29
Zinfandel	未処理	3.2	1.15	18.5	3.18	0.95	1.25	0.31	0.45	78	970	0.042	3.29
	複塩法	—	—	—	3.37	0.82	1.12	0.2	0.41	107	1300	0.044	2.5
	炭酸カルシウム	—	—	—	3.51	0.72	1.02	0.08	0.44	147	960	0.043	3.58

その他、種晶の効果については、よく知られており、酒石発生防止を目的にワインの有機酸塩を析出させるためにも（多くは同質種晶）利用されている [2]。酒石酸水素カリウムや酒石酸カルシウムはこの目的のために用いられる [8] [2]。例えば、下図 3 は炭酸カルシウムで除酸した後に残存するカルシウムを酒石酸カルシウムとして取り除くために種晶（酒石酸カルシウム）を用いている例である [2]。

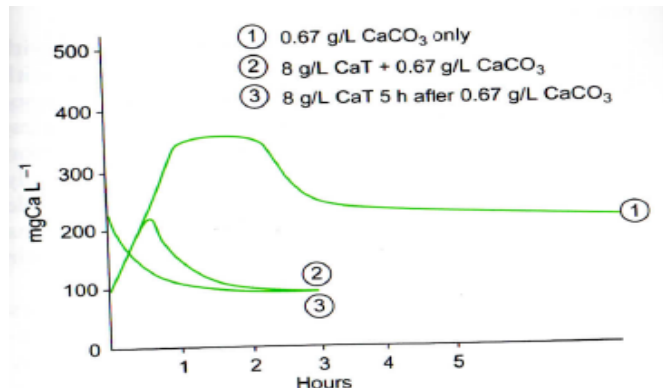


図3. 炭酸カルシウム処理と種晶の影響[3]

酒石酸カルシウム（ここでは CaT）を炭酸カルシウムと合わせて添加した場合の、カルシウムの消長（酒石酸カルシウム）を示している。明らかに酒石酸カルシウムの種晶効果がみられる。

また、特にリンゴ酸カルシウムでは、種晶の効果が高いことも報告されている [7]。アルコール 10%溶液に酒石酸 0.04mol/L 及びリンゴ酸 0.04mol/L を溶解した疑似液を使用し、炭酸カルシウム 0.08mol/L で処理し、カルシウム塩の消長を調査する中でリンゴ酸カルシウムの結晶 5g/L を種晶として使用したデータがある（図4） [7]。

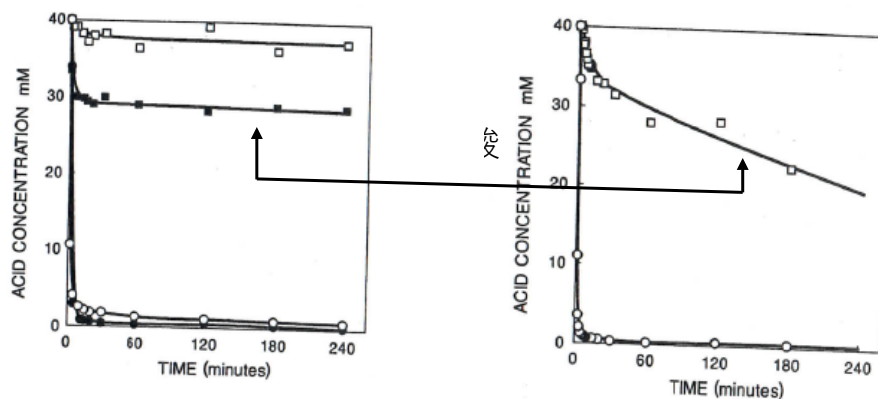


図4. リンゴ酸の消長とリンゴ酸カルシウム

図4では右図が種晶としてリンゴ酸カルシウムを加えたもので、左図と比べると明らかにリンゴ酸の減少（リンゴ酸カルシウムの沈殿）が早いことが分かる。

なお、上図（図4）の3次元回帰曲線は下表のようになる。

表9. 種晶とリンゴ酸の消長

Exp.	Rate constant $L^2/M^2/min$	F-ratio For slope	Correlation coefficient
Ca CO ₃	8 ± 4	4.852	0.841
CaCO ₃ +MCA	10.3 ± 0.9	118.958	0.964

MCA：リンゴ酸カルシウム（種晶）

2. 食品中での安定性

本改正要請する炭酸カルシウムに含まれる複塩 (T-2Ca-M) は、有機酸塩の種晶として使用されることを前提としているので、結晶沈殿し、ろ過等で食品中から除去されることが考えられる。また、仮に食品中に残存移行したとしても、食品 (ワイン) 中ではそれぞれの構成物質 (L-酒石酸、L-リンゴ酸、カルシウムイオン) に解離すると考えられる [5]。これらの構成物質は原料ブドウから由来し通常ワインに多量に含有されている。同時に使用される炭酸カルシウムは我が国では食品添加物として認められ、一般食品では適切な製造工管理のもと、必要量の使用が許可されている。

例えば、アメリカの例を考慮し総酸として 0.3g/100mL 除酸する時、必要な炭酸カルシウムは 0.2g/100mL で、これにドーピングされた複塩(T-2Ca-M)は 0.002g/100mL となる。一般的にワインに含有される L-酒石酸や L-リンゴ酸は 0.1g/100mL~0.2 g /100mL であるので、仮に全量が食品に移行したとしても天然に存在する量の 1/100 から 1/200 程度になると推定できる。

3. 食品中の栄養成分に及ぼす影響

本添加物を使用し行う除酸操作が、食品の成分に及ぼす影響として以下のことが想定できる。

(1) ブドウ果汁やワイン中の L-酒石酸や L-リンゴ酸を減少させる。

(2) 使用された添加物に由来するカルシウム含量を増加させる。

(1) については、もともと食品中に過剰に存在し、食品の香味バランスを崩すこととなっている有機酸を、通常のレベルまで減少させる行為であり、これを目的とした操作である。また (2) については、直接的には、主成分の炭酸カルシウムによるものである。ワイン中に多量に存在するカルシウムは L-酒石酸と酒石 (L-酒石酸カルシウム) を形成して沈殿し、除去される。アメリカの使用例でも 4-5 か月貯蔵後では処理前の含有量と同じ程度のレベルにまで低下している。これらのことから本添加物による健康に与える影響はないものと想定できる。

III. 安全性に係る知見

食品安全委員会による 2016 年の炭酸カルシウムの評価書以降、国際機関における炭酸カルシウムの新たな評価書は確認できなかった。安全性に関する新たな知見はいくつかの項目で確認された。確認された項目に関して以下に記載をする。また、あわせて添加物に含まれる複塩 T-2Ca-M の安全性について記載する。

1. 体内動態試験

I. 炭酸カルシウム

炭酸カルシウムは胃内において二酸化炭素を放出して容易にカルシウムイオンになると考えられる。これより胃液と反応してカルシウムイオンとなる「その他カルシウム塩」の知見を用いて 2016 年 9 月の食品安全委員会の【炭酸カルシウムの評価書】で評価がなされている [29]。要申請者はこの評価書での炭酸カルシウムの評価を妥当であるとして、2016 年以降の炭酸カルシウムの体内動態に関する知見を下記にまとめた。

2016 年の Tobita らの報告によると (GLP) [47]、 ^{13}C -炭酸カルシウム (8.3, 16.7, 33.3, and 100 mol/5 mL/kg) をカニクイザル (体重約 5 kg、各群 3 匹) に約 20 時間絶食させたのちに強制経口投与し、投与後 (5, 10, 15, 20, 30, 40, 60 分後) の呼気を収集して呼吸内の ^{13}CO を測定した。呼気内の ^{13}C は用量依存的に増加、 $\Delta^{13}\text{C}$ (測定時間の ^{13}C —投与直後の ^{13}C) は 10~15 分でピークに達し、60 分後には 33.3 mol/5 mL/kg の投与量までは $\Delta^{13}\text{C}$ が 50%以下に減少する。これは胃内の pH と相関関係を示した。また、ビーグル犬 (体重約 15 kg、各群 3 匹)、SD ラット (体重 200~250 g、各群 5 匹) でも同様の実験を行い胃内の pH と相関関係があることが示された。

2016 年の炭酸カルシウムの評価以降、炭酸カルシウムを除くカルシウム塩類に関する知見を PubMed において検索したところ 24 件が確認された[133]。しかし、試験からカルシウム塩に関する情報を把握することが困難であったため、2016 年の評価結果に影響を与えるものではないと考えられることから記載を省略した。

・炭酸カルシウム体内動態試験まとめ

Tobita らの報告は上記の Tobita らの報告はこれまでの 2016 年 9 月の食品安全委員会の【炭酸カルシウムの評価書】で評価 [29]で体内動態の②吸収の項目で溶解度は pH の大きな影響を受けることが記載されている。そのため、動物種としては新たな知見であるが安全性の評価に直接かわるような新たな知見ではない。

II. L(+)-酒石酸・L(-)-リンゴ酸カルシウム

L(+)-酒石酸・L(-)-リンゴ酸カルシウムに関する体内動態知見は確認出来なかった。

食品中での安定性でも述べたようにワイン中ではそれぞれの構成物質 (L-酒石酸、L-リンゴ酸、カルシウムイオン) に解離すると考えられる [5]。そこで本概要書では L-酒石酸、L-リンゴ酸、カルシウムイオンまたその塩類での体内動態を調べることで L(+)-酒石酸・L(-)-リンゴ酸カルシウムの安全性を考察するが、カルシウムイオンに関しては炭酸カルシウムでも評価を行っているため、酒石酸とリンゴ酸の体内動態試験を下記にまとめた

(1) L(+)-酒石酸塩類 (酒石酸イオンを含む)

① 吸収

a. 酒石酸

FAS 5 [48]では、酒石酸 (光学異性不明) は代謝的に不活性であり、ヒトでの経口投与では摂取された酒石酸塩の約 20%は尿中で排泄され、残りは腸管でバクテリアにより分解されるまで吸収されないという報告がある。さらに、FAS 12 で引用されている Underhill ら (1931) と Finkle ら (1933) [49]では、L-酒石酸はヒトに対し不活性で、摂取された酒石酸の 20 %は尿中で排泄され、残りは腸管で細菌に分解されるまで吸収されないと報告されている。

b. L-酒石酸水素ナトリウム

Down らの 1977 年の報告では [50]、ラット（10 匹）に L- ^{14}C 酒石酸水素ナトリウム（2.73g / kg /日）を 7 日間強制経口投与した。その結果、最終投与後 ^{14}C は血液中に観察されたため、血液中に吸収されていることが示された。血液中の ^{14}C 濃度は最終投与後 1 時間で最高濃度（176 $\mu\text{g/mL}$ ）となり、時間とともに減少していく。投与後 48 時間後には完全に消失した。

② 分布

a. L-酒石酸水素ナトリウム

Down らの 1977 年の報告では [50]、ラット（10 匹）に L- ^{14}C 酒石酸水素ナトリウム（2.73g / kg /日）を 7 日間強制経口投与した。その結果、最終投与後 ^{14}C は血液、胃腸管、腎臓（皮質）、肝臓及び骨基質に局在していた。血中や骨中の識別物質の最大濃度は最終投与 1 時間後に現れた。排泄の半減期は、血中、骨中でそれぞれ 5.9 日、9 日となった。同時に識別物質の濃度ピークは、血中、骨中でそれぞれ 3 時間後、12 時間後に観察され、この半減時間はこれらの器官それぞれで、6.5 日、2.5 日であった。体重当たりの腎重量は対照区と比べて増加しているが、これ以外の臓器への影響はなかった。この放射性物質を利用したラット実験では、24 時間の間は胃腸管、肝臓、腎臓、骨に関連し、48 時間後と 8 日後には腎臓中の顆粒沈着物質と骨にだけ放射能との関係がみられた。

③ 代謝

a. 酒石酸（L-、D-）

Chadwick らの 1978 年の報告では [51]、 ^{14}C 酒石酸（L-、D-）について *faecal incubation system* により代謝試験を行った。この実験は 22~61 歳の健康な 5 人の被験者の糞便を使用して行った。各試験では、単一の被験者からの新鮮な便を、その重量の 1~5 倍の塩化ナトリウム溶液（15 mmol / L）に混合した。これを 50 ml ずつ 3 つに分注し、30 mL の塩化ナトリウム溶液（154 mmol / L）、30 mL の L-酒石酸ナトリウム（250 mmol / L）、30 ml の D-酒石酸ナトリウム（250 mmol / L）を加えて混合した。この混合物を 37°C で 24 時間培養し 0 時間及び 3, 6, 7 及び 24 時間で、残留酒石酸塩の測定のために 5 mL のサンプルを取り出し測定した。その結果、時間に対して対数的に、50% の損失が L-酒石酸で約 4 時間、D-酒石酸で約 20 時間後に見られた。

b. L-酒石酸水素ナトリウム

Tobacco Documents Library の 1996 年の報告では [52]、ラット（匹数不明）に 400 mg の ^{14}C L-酒石酸水素ナトリウムを経口投与もしくは静脈内注射のいずれかを用いて投与した。経口投与したラットは、48 時間以内にそれぞれ尿中に 1%、糞便中に 13.6%、呼気中に 15.6%を排泄した。静脈内経路により処置されたラットは、48 時間以内に尿中に 81.8%、糞便中に 0.9%、呼気中に 7.5%の用量を排泄した。このことは、経口用量及び静脈内用量の両方が組織中で二酸化炭素に代謝されることを示している。

④ 排泄

a. L-酒石酸

FAS 12 で引用されている Underhill ら (1931) の報告 [49]では、ラット、モルモット、イヌ、ウサギに L-酒石酸を経口摂取させた後の尿中排泄についての調査において、ラットに与えられた 400 mg/kg bw のうち平均 68%(61~85%)は回収できた。モルモットでは、100~800 mg/kg bw 与えたうち 13~27%が尿中から回収できた。イヌの場合 600 mg/kg bw 与えれば 83~100%は尿中に排泄されるが、より多くの 600~1,500 mg/kg bw では 50~60%に減少し腎臓にわずかながら異変がみられた。ウサギの場合 50 mg/kg bw では 90~99%が回収でき、100, 200, 300 mg/kg bw ではそれぞれ尿中の回収率は 21~23%, 15~26%, 2~3% と減少していく。

Gry と Larsen の 1978 年の報告によると [53]、ラット、ウサギ、イヌ及びブタでは摂取されたほとんどの酒石酸塩は尿中に未変化体 (50-100%) で排泄された。

Charles らの 1957 年の報告では [54]、ヒトに L-酒石酸 (2 g) を経口もしくは筋肉中に注射したとき、12%程度が尿中で回収できた。これは摂取経路が異なっても差はないことを示している。

b. 酒石酸 (光学異性不明)

ヒト尿中への酒石酸の濃度範囲を求めるための研究が行われた。一日間酒石酸を含有しない食事後に酒石酸 (2.0 g/L の酒石酸を含有するブドウジュースを 28 mL) を 23 名のボランティア (性別は記載なし) に与えた後の 24 時間蓄尿で試験された。結果は、尿中酒石酸濃度は 7.4~282 μ g/mgクレアチニンの範囲であった。著者は、ヒトの尿中酒石酸レベルは食事由来が大きく濃度に影響し、腸内細菌叢によるものは僅かであり、尿中の酒石酸を定期的に測定する臨床的意義はないと考察した [55]。

21 名の健常男性 (平均年齢=30.7 歳) を対象としたランダム化比較、クロスオーバー試験が実施された。試験物質として夕食時にワインを 100, 200 あるいは 300 mL 単回消費し、7 日間のウォッシュアウト期間を設けて、その間参加者はワインあるいはブドウ含有製品を避けた。ワイン摂取と尿中酒石酸の間に高度で、有意な相関性があることが明らかで、尿中酒石酸はワイン消費の鋭敏で特異的なバイオマーカーであると著者は述べている [56]。

尿中酒石酸塩はカルシウム結石形成の潜在的な重要な阻害因子とされていることから、尿試料中の L-酒石酸のイオンクロマトグラフィーによる検出について研究されている。対照として普通食の健常人(n=19)、菜食主義 (n=26)及び特発性カルシウム結石形成者(n=33) の男女の 24 時間尿を試料として測定され、酒石酸排泄は食事成分に依存することが確認され、酒石酸は主に食事由来であり、その由来はほぼ完全に外因性であることが確認された [57]。

c. L-酒石酸カリウム

2007 年の Sabboh の報告では [58]、L-酒石酸カリウムを 5% 含む餌を 6 週齢雄の Wister ラットに経口投与すると、腸内の pH がコントロールのカリウム塩を含まない餌を与えたラットよりもわずかに酸化していた。さらに投与後 24 h 以内に排出される尿の量が多くなっていた。尿の成分を調べると L-酒石酸カリウムを加えたラットの尿ではコントロールに比べて、リン酸、クエン酸が有意に上昇しており、カルシウム、マグネシウムが減少していた。さらに与えた酒石酸カリウム 15g のうち 2.2 g が酒石酸として排出されることが示されている。

d. L-酒石酸水素ナトリウム

FAS 12 と Tobacco Documents Library の 1996 年の報告では [49] [52]、ラット（匹数不明）に 400 mg の^[14C] L-酒石酸水素ナトリウムを経口投与もしくは静脈内注射のいずれかを用いて投与した。経口投与したラットは、48 時間以内にそれぞれ尿中に 1%、糞便中に 13.6%、呼気中に 15.6% を排泄した。静脈内経路により処置されたラットは、48 時間以内に尿中に 81.8%、糞便中に 0.9%、呼気中に 7.5% の用量を排泄した。標識物質は 8 時間以内にほとんどが排泄され、尿からの排泄の半減期はオスで 4.6 時間、メスで 4.8 時間となっている。

e. L-酒石酸ナトリウム

Chadwick らの 1978 年の報告では [51]、1.5 mmol/kg の L-酒石酸ナトリウムをヒトに投与し、尿の pH を上昇した。L-酒石酸ナトリウムが投与されることによって L-酒石酸ナトリウムが重炭酸塩に変換され、軽度の全身性アルカローシスが引き起こされる。これを受けて腎臓が水素イオンを尿から排出し血漿 HCO_3^- の再吸収を行い、結果、尿中の水素イオンが減少する。この水素イオンの排出を受けて尿量は増加するが、尿蛋白はなく、クレアチニークリアランスは酒石酸投与前後でほぼ変わらない。このため、総腎排泄は、投与された総投与量の 7~4% であった。

⑤ L(+)-酒石酸塩類体内試験まとめ

酒石酸イオンはヒトにおいて排泄は食事成分に由来し、その由来はほぼ完全に外因性であることが 1991 年の Petrarulo らの報告で確認されている [57]。酒石酸には L-体と D-体が存在し、混合物である DL-体も使用されている。ラットの吸収実験では酒石酸水素ナトリウムの L-体では投与後 1 時間で血中最高濃度をしめして 48 時間後にはシグナルが消失し、48 時間後には腎臓中の顆粒沈着と骨だけに分布が確認された [50]。さらに代謝実験では 4 時間で L(+)-酒石酸の 50% が代謝されることが示されている [51]。以上のことから L(+)-酒石酸塩類は経口摂取されると速やかに代謝、排出が行われ、わずかに腎臓への分布が多いが特段、ADI の設定が行える知見はないと考えられる。

(2) リンゴ酸塩類（リンゴ酸イオンを含む）

リンゴ酸は植物中など自然界には L-体として存在する。SCF はリンゴ酸の L-体と DL-体の区別は食品中での安全な使用を考慮し、懸念がある場合行われるとしている [59]。獣医

薬品委員会 (CVMP) は、D-リンゴ酸または DL ラセミ体が、天然に存在する L 体とは異なっていると考えるべき理由がないと結論付けている [60]。そこで本概要書では L-体のみだけでなく DL-体のリンゴ酸についての記述も行った。

① 吸収

a. L-リンゴ酸

Daniel の 1969 年の報告によると [61]、雄の Wister ラット（体重が 200 g 程度）に 2.5mg / kg の $U-^{14}C$ -L-リンゴ酸を経口投与した。リンゴ酸の放射性ラベルがされている炭素は投与後 1 時間以内に 45% が二酸化炭素として放出されていたため、速やかに吸収されていると考えられる。

b. DL-リンゴ酸

Daniel の 1969 年の報告によると [61]、雄の Wister ラット（体重が 200 g 程度）に 2.5mg / kg の $4-^{14}C$ -DL-リンゴ酸を経口投与した。リンゴ酸の放射性ラベルがされている炭素は投与後 1 時間以内に 38.8 % が二酸化炭素として放出されていたため、速やかに吸収されていると考えられる。

c. クエン酸リンゴ酸カルシウム

Weaver らの 2002 年の報告によると [62]、雄の Sprague-Dawley ラット（体重が 230 - 244 g の 15 匹）に ^{45}Ca クエン酸リンゴ酸カルシウムを経口投与した。その結果放射性ラベルしたカルシウムの $28.06 \pm 1.58\%$ 吸収された。

d. リンゴ酸フマル酸カルシウム

Weaver らの 2002 年の報告によると [62]、雄の Sprague-Dawley ラット（体重が 230 - 244 g の 15 匹）に ^{45}Ca リンゴ酸フマル酸カルシウムを経口投与した。その結果放射性ラベルしたカルシウムの $29.13 \pm 1.65\%$ 吸収された。

② 分布

a. L-リンゴ酸ナトリウム

上田らの 1995 年の報告によると [63]、Sarcoma 180 担癌 ddy 系マウス（雄）に 0.084mmol / kg の ^{14}C -L-リンゴ酸ナトリウムを経口投与した。その 30 分後にシスプラチン（抗悪性腫瘍剤）を腹腔内投与し、0.5、1、2、6 時間後（リンゴ酸ナトリウムを投与してから 1、1.5、2.5、6.5 時間後）に血液、血漿、肝臓、腎臓、及び腫瘍中の放射性活性を液体シンチレーションカウンターにて測定した。その結果、血中、臓器及び腫瘍内の濃度は経口投与後 1 時間で最高値に達した。また、リンゴ酸ナトリウムは腎臓及び肝臓に多く分布し、血液、血漿及び腫瘍の 2 倍の濃度であった。

③ 代謝

a. L-リンゴ酸

Daniel の 1969 年の報告によると [61]、雄の Wister ラット (体重が 200 g 程度) に 2.5mg / kg の U-¹⁴C-L-リンゴ酸を経口投与もしくは腹腔内投与を行った。その結果経口投与した場合、24 時間以内に平均して呼気に二酸化炭素として 88.0%が排出され、腹腔内投与の場合は呼気に 86.6%が排出されていた。このことは、経口及び腹腔内投与の両方で L-リンゴ酸が組織中で二酸化炭素に代謝されることを示している。

b. DL-リンゴ酸

Daniel の 1969 年の報告によると [61]、雄の Wister ラット (体重が 200 g 程度) に 2.5mg / kg の 4-¹⁴C-DL-リンゴ酸を経口投与もしくは腹腔内投与を行った。その結果経口投与した場合、24 時間以内に平均して呼気に二酸化炭素として 91.6%が排出され、腹腔内投与の場合は呼気に 83.4%が排出されていた。このことは、経口及び腹腔内投与の両方で L-リンゴ酸が組織中で二酸化炭素に代謝されることを示している。

④ 排泄

a. L-リンゴ酸

Daniel の 1969 年の報告によると [61]、雄の Wister ラット (体重が 200 g 程度の個体 6 匹) に 2.5mg / kg の U-¹⁴C-L-リンゴ酸を経口投与した。その結果、24 時間以内に平均して呼気に二酸化炭素として 88.0%、尿に 3.2%、糞便に 1.4%、合計で 92.6%排泄されていた。

b. DL-リンゴ酸

Daniel の 1969 年の報告によると [61]、雄の Wister ラット (体重が 200 g 程度) に 2.5mg / kg の 4-¹⁴C-DL-リンゴ酸を経口投与した。その結果、24 時間以内に平均して呼気に二酸化炭素として 91.6%、尿に 3.1%、糞便に 0.6%、合計で 95.3%排泄されていた。

⑤ リンゴ酸塩類の体内動態試験まとめ

リンゴ酸塩類は L-体、D-体、DL-体にかかわらず、摂取から 1 時間で 40%程度が吸収され、24 時間以内に 90%以上が排出される [61]。SCF はリンゴ酸の L-体と DL-体の区別は安全性に懸念がある場合行われるとしているが [59]、体内動態試験においてはほぼどうようであり、グループでの審査が可能であると考えられる。

分布実験から L-リンゴ酸ナトリウムは摂取から 1 時間で腎臓及び肝臓に血液中よりも高い濃度で分布することが示されたが [63]、排出実験でリンゴ酸が 24 時間以内に 90%以上が排出されることから体内動態試験において ADI の設定が可能な知見は見いだせなかった。

(3) L(+)-酒石酸・L(-)-リンゴ酸カルシウム体内動態まとめ

L(+)-酒石酸・L(-)-リンゴ酸カルシウムは食品中での安定性でも述べたようにワイン中ではそれぞれの構成物質 (L-酒石酸、L-リンゴ酸、カルシウムイオン) に解離すると考えら

れる [5]。体内動態試験からは前述したように L-酒石酸塩類とリンゴ酸塩類から ADI を設定できるような知見はなく、毒性試験の結果を踏まえてから総括する。

2. 毒性試験

I. 炭酸カルシウム

炭酸カルシウムの毒性に関しては 2016 年 9 月の食品安全委員会の評価書に以降に発表された知見を記載し、2016 年の評価書の毒性試験まとめと合わせて評価する。

① 急性毒性

炭酸カルシウム及びその他のカルシウム塩の急性毒性について 2016 年の評価書にまとめたものが記載されている。また、2016 年以降の新たな知見を以下の表にまとめた。

被験物質	投与経路	動物種	LD ₅₀	観察された症状	参照
コックルシェル (ANC) 由来の炭酸カルシウムのアラゴナイト多形体の生体内ナノクリスタル	皮下	Sprague-Dawley ラット	— (GLP)	3 日目に投与部に浮腫、6 日目に食欲不振、呼吸困難、発熱、実験終了時には深刻な壊疽性病変が確認された。	[64]

② 反復毒性試験

炭酸カルシウム及びその他のカルシウム塩の反復毒性試験について 2016 年の評価書にまとめたものが記載されている。また、2016 年以降の新たな知見を以下の表にまとめた。

i. 亜急性毒性

a. コックルシェル (ANC) 由来の炭酸カルシウムのアラゴナイト多形体の生体内ナノクリスタル

2017 年の Jaji の報告によると (GLP) [64]、6 週歳の SD ラット (各群雌 3 匹、雄 3 匹) にコックルシェル (ANC) 由来の炭酸カルシウムのアラゴナイト多形体の生体内ナノクリスタル (0, 59, 590, 5900 mg/m²) を 28 日間、皮下投与を行った。その結果、投与期間終了時に死亡したラットはどの用量でも確認されなかった。しかし、590、5900 mg/m² の投与群では実験終了後雌雄どちらも顕著な体重減少が見られた。さらに 5900 mg/m² の高容量を投与した場合は顕著な脾腫と腺腫、肝腫大が確認された。590 mg/m² の容量を投与した場合、肝臓の軽度の変性、脾臓は白脾髄の枯渇、腎臓に軽度の壊死が確認された。

本試験から筆者らはコックルシェル (ANC) 由来の炭酸カルシウムのアラゴナイト多形体の生体内ナノクリスタルの NOAEL は最低用量の 59 mg/m² と考えられる。

ii. 慢性毒性

a. 炭酸カルシウム

2016 年の Mohamed の報告によると (GLP) [65]、雌のアルビノラット (各群 12 匹) に炭酸カルシウム：フッ化ナトリウム (0:0, 50:0, 0:20, 50:20 mg/kg) を一週間に 3 回 60 日間胃管投与した。炭酸カルシウムとフッ化ナトリウム双方を投与する場合は炭酸カルシウムを投与した 2 時間後にフッ化ナトリウムを投与した。その結果、フッ化ナトリウムのみを加えた群では投与 30 日で大腿骨の骨髓腔内に密な線維組織が確認され、軟骨が薄くなり、肝臓の萎縮及び変性した肝細胞を伴う血液洞様血管拡張症、腎臓の萎縮及び変性した腎尿細管を伴う重度に拡張した間質血管を示した。さらに 60 日経過すると多数の骨芽細胞で骨梁が薄く、大腿骨の裂孔及び骨髓腔の拡大と喪失、軟骨細胞、小柱骨髓の間伐の損失、肝臓は空胞変性がみられ、腎組織は尿細管キャストを伴う尿細管周囲鬱血性毛細血管が確認され毒性が見られることが示された。炭酸カルシウムのみを加えた群はコントロールと同様の組織形態をしており、毒性はない。さらにフッ化ナトリウムと共に炭酸カルシウムを投与した群ではフッ化ナトリウムによる病変が確認されなかったことから炭酸カルシウムがフッ化ナトリウム毒性に対する保護剤として作用し得る可能性があると考えられている。

本試験は炭酸カルシウムに関しては 1 用量試験であるため指定等要請者は NOEL を得ることはできないと考えた。

iii. 反復毒性試験まとめ

2016 年の「炭酸カルシウム」によると [29]、以下のようにまとめられている。

引用開始

『

食品安全委員会は、添加物評価書「酢酸カルシウム及び酸化カルシウム」(2013)において、炭酸カルシウム及びその他のカルシウム塩を用いた種々の反復投与試験の結果では、被験物質の投与に起因した変化として、腎臓におけるカルシウム沈着や、種々の臓器における鉄などのミネラルの減少が認められたが、その詳細を確認できる限りにおいては、いずれも毒性学的に有意な所見とは考えられなかったとして、カルシウム塩の NOAEL を、Bogden ら (1992) の報告による「(3) ① f. ラット 1 年間経口投与試験」の成績における最高用量である 2,500 mg/kg 体重/日 (カルシウムとして) と判断している。

本委員会は、参照した反復投与試験は、カルシウムの摂取が生体内のカルシウム又はその他のミネラルに与える影響を観察することを目的とした栄養学的な試験であり、標準的な毒性試験で行われるような投与群・対照群の設定、血液・血清生化学的検査や病理組織学的検査等を行わない計画で実施されている試験であると考え、したがって、参照した反復投与試験で観察された変化のみでは毒性学的な意義を判断できず、これらの試験から NOAEL を求めることは

できなかった。

しかしながら、必要量を大きく上回る量の炭酸カルシウムを投与した際に、体重増加の抑制、摂餌量の減少、飼料効率の低下及び各種ミネラルの体内レベルへの影響が複数の知見で認められており、NOAEL の判断や量的な評価は行えないものの、必要量を大きく上回る量の炭酸カルシウムは生体に対して体重、摂餌及びミネラルの恒常性等に影響を与えるものと考えられた。』

引用終わり

本概要書で新たな知見を記載したがこれまでの安全性評価を変更するような有効な知見ではなかったため、2016 年の評価を適用する。

③ 発がん性

炭酸カルシウムの発がん性について 2016 年の評価書にまとめたものが記載されている。その後現在まで新しく発表された知見をまとめた。

a.炭酸カルシウム（GLP）

2019 年の Sechukova らの報告によると [66]、雄の Wister ラット（1.5–2 か月齢、体重 200–250 g）をコントロール群（3 匹）、実験群（15 匹）に分けた。これまで研究で 0.4% ホルムアルデヒドと 0.4 % 過酸化水素の混合物 1mL を 2 週間毎の 1 日目と 3 日目の 2 回 6 ヶ月間投与すると胃がんが誘発されることが示されていた。この胃がん誘発物質に 0.05%の炭酸カルシウムを加えた懸濁液を実験群のラットに 2 週間毎の 1 日目と 3 日目の 2 回経口胃管栄養法によって 6 月間投与した。5 匹の実験群と 1 匹の対照群を 16 週で解剖し、残りの 9 匹の実験群と 2 匹の対照群を 24 週で解剖して胃がんの誘発を確認した。その結果、実験群の死亡率は 6.7%であった。治療開始から 4 ヶ月で、実験群の 5 匹のラットのうち 4 匹が胃腫瘍を有し、6 ヶ月後に 9 匹の実験ラット全てが胃の悪性腫瘍を示した。誘発された腫瘍は粘膜内癌によって表されたが、それらは個々の腫瘍細胞及びそれらのクラスターの筋層及び漿膜ならびに網及び血管への広範な浸潤を特徴があり、浸潤性腫瘍細胞がビメンチン、Snail 及び TGF- β 2 陽性であったことを考慮すると、それらの浸潤は上皮間葉転換（EMT）メカニズムの活性化の結果であると考えられる。炎症または発癌の条件下で、炭酸カルシウムは EMT 機構の活性化に影響を及ぼし得ると仮定された。

本実験において炭酸カルシウムは既存の発がん性物質の増強効果が見られる。

④ 生殖毒性

炭酸カルシウムの生殖毒性について、2016 年の評価書にまとめたものが記載されている。その後現在まで新しく知見は確認できなかった。

⑤ 発生毒性

炭酸カルシウムの生殖毒性について、2016 年の評価書にまとめたものが記されている。その後現在まで新しく知見は確認できなかった。

⑥ 一般薬理試験

炭酸カルシウムの一般薬理試験に関する知見は確認できなかった。

⑦ 遺伝毒性

炭酸カルシウムの遺伝毒性について、2016 年の評価書 [29]に記載されている。その後現在まで新しく発表された知見をまとめた。

i. ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験 (GLP)

2018 年 Jawaji らの報告によると [67]、炭酸カルシウムをベースにした炭酸カルシウムミクロスフェア (CaCO₃-TC) についてチャイニーズハムスター卵巣細胞 (CHO) を用いた染色体異常試験 (24 時間連続処理) (最高濃度 300 μM) が実施され、代謝活性化系非存在下で陰性であった。

遺伝毒性まとめ

2016 年の炭酸カルシウムの評価書では『「炭酸カルシウム」には生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないものと考えた。』と書かれている。本概要書で新たに報告した知見でも陰性の結果が示されており、これまでの評価と同一である。

⑧ アレルゲン性試験

炭酸カルシウムのアレルゲン性試験に関する知見は確認できなかった。

炭酸カルシウムの毒性試験のまとめ

2016 年の炭酸カルシウムの評価書以降に新たに発表された知見を記載したが安全性評価に関してこれまでの基準を変更するような知見を得ることはできなかった。そのため、これまでの炭酸カルシウムの評価を使用する [29]。

引用開始

『 本委員会は、添加物「炭酸カルシウム」は、胃内において炭酸イオンとカルシウムイオンに解離すると考えられることから、炭酸カルシウムに加え、その他のカルシウム塩に関する知見も併せ、総合的に添加物「炭酸カルシウム」の安全性に関する評価を行うこととした。

さらに、評価に当たっては添加物評価書「酢酸カルシウム及び酸化カルシウム」を参照することとした。

炭酸カルシウム及びその他のカルシウム塩の体内動態に係る知見を検討した結果、本委員会は、炭酸カルシウムの食品健康影響評価を行うに当たり、カルシウムの高いホメオスタシスに着目する必要があると考えた。本委員会としては、炭酸カルシウム及びその他のカルシウム塩について遺伝毒性、急性毒性、発がん性及び生殖発生毒性の試験成績を検討した結果、生体にとって特段問題となる毒性の懸念を示す知見は認められないと判断した。

また、反復投与毒性について試験成績を検討した結果、参照した反復投与試験で観察された変化のみでは毒性学的な意義を判断できず、これらの試験から NOAEL を求めることはできな

かった。しかし、必要量を大きく上回る量の炭酸カルシウムを投与した際に、体重増加の抑制、摂餌量の減少、飼料効率の低下及び各種ミネラルの体内レベルへの影響が複数の知見で認められており、NOAEL の判断や量的な評価は行えないものの、必要量を大きく上回る量の炭酸カルシウムは生体に対して体重、摂餌及びミネラルの恒常性等に影響を与えるものと考えられた。

次に、ヒトにおける知見からは、カルシウムの過剰摂取とミルクアルカリ症候群、腎結石、前立腺癌及び循環器疾患との関係についての情報が多く認められた。カルシウム摂取と前立腺癌又は循環器疾患の関係については、一致性、関連の大きさ、生物学的メカニズム、時間関係などから考えて、因果関係ありと判断する十分な根拠がないと判断した。一方、カルシウム摂取とミルクアルカリ症候群については因果関係があるものと判断し、またカルシウム摂取と腎結石についても、Burtis ら（1994）及び Jackson ら（2006）の2つの介入研究から、因果関係があるものと判断した。ただし、Burtis ら（1994）は被験者が腎結石の患者であり、Jackson ら（2006）は被験者がカルシウムの吸収を高めるビタミン D を併用していることから、NOAEL 又は LOAEL を設定するのは難しいと判断した。したがって、本委員会としては、ミルクアルカリ症候群の症例報告について検討することが適当と考えた。その結果、表 33 において、比較的カルシウムの摂取量が少ないとされている症例報告のうち、Nabhan ら（2004）や Caruso ら（2007）の症例ではビタミン D を併用している期間があること、Kaklamanos & Perros（2007）の症例では患者が胃粘膜びらんによる消化不良の病歴があること、Irtiza-Ali ら（2008）の症例 2 では腎疾患の病歴があること、AlMusawi ら（2012）の症例では胃食道逆流症、甲状腺機能低下等の病歴があること、Kashouty ら（2011）の症例では胃酸逆流といった病歴があることから、これらを LOAEL の根拠とすることは不適切と判断した。一方、Gordon ら（2005）の症例は妊婦の報告ではあるが病歴はなく、食事以外に約 3,000 mg/人/日のカルシウムを1か月間摂取した結果ミルクアルカリ症候群と診断されたものであり、これを妊婦における LOAEL の根拠とすることが適当と判断した。

また、本委員会は、上西ら（2003）及び Bailey ら（2008）の知見のとおり、妊娠中にはカルシウム吸収が高まっているため、ミルクアルカリ症候群発症のリスクが高まるとされており、また、この Gordon ら（2005）の報告は食事由来のカルシウムの摂取量が異なる豪州での症例であるものの、同症例を一般の集団における LOAEL の根拠とすることも可能と判断し、LOAEL を 3,000 mg/人/日とした。

以上のことから、本委員会としては、通常の食事以外からのカルシウムの摂取量の上限值として、UF 1.5 を用い、ULS として 2,000 mg/人/日とすることが適当と判断した。

また、我が国において添加物「炭酸カルシウム」の規格基準が改正された場合の推定摂取量は、添加物由来として最大 711.37 mg/人/日（カルシウムとして）となる。また、平成 26 年国民健康・栄養調査報告によれば、カルシウムの一日常摂取量の平均値は、497 mg/人/日である。なお、添加物「ケイ酸カルシウム」については、賦形剤等として使用される場合の最大量を推計した過大な見積もりであり、実際の使用実態は不明である。』

引用終わり

II. L(+)-酒石酸・L(-)-リンゴ酸カルシウム

酒石酸リンゴ酸カルシウム複塩を被験物質とした毒性試験に関する報告は確認できなかった。酒石酸カルシウムや酒石酸塩類、リンゴ酸カルシウムやリンゴ酸塩類に関する報告は以下のとおりである。

(1) 酒石酸塩類（酒石酸イオンを含む）

①急性毒性

酒石酸カルシウムを被験物質とした急性毒性に関する報告はラット（各群8週齢の雌3匹）を使用した1件のみであった。その他、酒石酸塩類を試験物質にした試験成績として以下のような報告がある（表10）。

表10 急性毒性試験成績概要

被験物質	投与経路	動物種	LD ₅₀	観察された症状	参照
L－酒石酸	経口	Sprague-Dawley ラット（雌）	>2000 mg / kg (GLP)	重度の粘膜腸 炎 胃粘液症	[68]
L－酒石酸	経口	ラット（雄）	>5,000 mg/kg	5日間で1/10が 死亡した。	[69]
D L－酒石酸	強制経口	イヌ	5 g/kg	投与後死亡が 確認された。	[70]
酒石酸ナトリウム （光学異性不明）	経口	マウス	4370 mg / kg (LD ₁₀)	24 時間で死亡 が確認された。	[71]
酒石酸ナトリウム （光学異性不明）	経口	New Zealand ウ サギ（雄）	5,290 mg/kg	投与後 48 時間 で半数の死亡 が確認された。	[71]
L－酒石酸カルシ ウム	経口	Sprague-Dawley ラット（雌）	>2000 mg/kg (GLP)	異常なし	[72]
酒石酸カリウムナ トリウム （光学異性不明）	経口	ウサギ	159 mg/kg	投与後 3 匹中 2 匹が死亡した。	[73]

②反復投与毒性

酒石酸カリウムを被験物質とした反復投与毒性に関する報告は確認できなかった。酒石酸塩類を試験物質にした試験成績として以下のような報告がある。

I. 亜急性毒性試験

a. L－酒石酸

Krop と Gold の 1945 年の報告では [74]、4 匹のイヌに 990 mg / kg の L - 酒石酸を 90 - 114 日にわたって混水投与した。その結果、4 匹のうち 1 匹は 90 日に窒素血症を発症し 90 日間で死に至った。残りの 3 匹は腎尿細管の変性が観察されたがその他は正常であった。体重の変化は、30%増から 32%減までであった。指定等要請者は、本試験は一用量の試験であるため、NOAEL を得ることはできないと判断した。

b. 酒石酸ナトリウム（光学異性不明）

Packman らの 1963 年の報告では [75]、15 匹の New Zealand ウサギの雄に 7.7%の酒石酸ナトリウムを含む食餌を 22 週間にわたり与えた。その結果、特に体重の変化もみられず、死亡率、または食物消費にも影響はなかった。また、組織病理学的変化はなかった。

FAS 5 で引用されている Locke ら (1942) の報告 [48]では、ウサギに平均 3,680mg を 19 日間連続して与えれば 6 匹のうち 3 匹は 6 ~ 19 日目に死亡した。

指定等要請者は、本試験は一用量の試験であるため、NOAEL を得ることはできないと判断した。

c. FemTA （GLP）

[酒石酸ナトリウム（D -、L -、メソ酒石酸含む）、水酸化ナトリウム、及び三塩化鉄による錯化/反応生成物]

Lynch ら 2013 年の報告では [76]、Wistar ラット（各群 11 週齢で体重が 223 から 351g の雄雌各 10 匹）に FemTA（0（無処理対照）、500、1000、2000 mg/kg 体重/日）を 90 日間経口投与し、投与 90 日後に安楽死させて臓器への影響を調べた。その結果、2000 mg/kg を与えた群では肝臓と腎臓の肥大が確認された。また、1000 mg/kg を与えた群では雌の甲状腺の減少、雄の精巣と脳、心臓、脾臓の重量の増加が確認された。これによって筆者らは本試験における NOAEL を 500 mg/kg とした。

II. 慢性毒性試験

a. L - 酒石酸（GLP）

Fitzhugh と Nelson の 1947 年の報告では [77]、Osborne-Mendel ラット（各群雌雄各 24 匹）での L - 酒石酸（0、0.1、0.5、0.8、1.2 % : 0、100、500、800 及び 1200mg / kg 体重 / 日）を 2 年間混餌投与した。その結果、体重についてどの投与群においても対照と比較して有意に増加、減少する群は存在しなかった。また、病理組織的検査においても肉眼的及び顕微鏡的所見は、対照動物と処置動物との間に差異を示さず、投与に起因した腫瘍の発生は認められなかった。この結果から指定等要請者

は本試験における NOAEL を雌雄共に本試験の最高量の 1.2% (1200 mg / kg 体重 / 日) と考えた。

b. L-酒石酸水素ナトリウム (GLP)

Hunter らの 1977 年の報告では [78]、CFY ラット (各群雌雄各 35 匹) での L-酒石酸水素ナトリウム (0、2.56、4.22、6.02、7.68%) を 2 年間混餌投与した。その結果、病理組織的検査においても肉眼的及び顕微鏡の所見は、対照動物と処置動物との間に差異を示さず、投与に起因した腫瘍の発生は認められなかった。この結果から指定等要請者は本試験における NOAEL を雌雄共に本試験の最高量の 7.68% (雌 3.10 g/kg 体重/日、雄：4.1 g/kg 体重/日) と考えた。

III. 反復投与毒性試験のまとめ

以上の結果から L-酒石酸塩類の反復投与毒性試験を総括する。L-酒石酸塩類のラットにおける 2 年間の慢性毒性試験で雌雄共に本試験の最高量の 7.68% (雌 3.10 g/kg 体重/日、雄：4.1 g/kg 体重/日) で病変や死亡が観察されなかったことから、指定等要請者は酒石酸塩の NOAEL を 1977 年の Hunter らのラットを用いた L-酒石酸水素ナトリウムの 2 年試験の成績における 3.10 g/kg 体重/日と判断した。

③発がん性試験

a. L-酒石酸 (GLP)

Fitzhugh と Nelson の 1947 年の報告では [77]、Osborne-Mendel ラット (各群雌雄各 24 匹) での L-酒石酸 (0、0.1、0.5、0.8、1.2% : 0、100、500、800 及び 1200 mg / kg 体重 / 日) を 2 年間混餌投与した。その結果、体重についてどの投与群においても対照と比較して有意に増加、減少する群は存在しなかった。また、病理組織的検査においても肉眼及び顕微鏡で観察したところ、対照動物と処置動物との間に差異を示さず、投与に起因した腫瘍の発生は認められなかった。すなわち、本試験において発がん性は認められなかった。

b. L-酒石酸水素ナトリウム (GLP)

Hunter らの 1977 年の報告では [78]、CFY ラット (各群雌雄各 35 匹) での L-酒石酸水素ナトリウム (0、2.56、4.22、6.02、7.68%) を 2 年間混餌投与した。その結果、病理組織的検査においても肉眼及び顕微鏡で観察したところ、対照動物と処置動物との間に差異を示さず、投与に起因した腫瘍の発生は認められなかった。すなわち、本試験において発がん性は認められなかった。

c. 発がん性まとめ

以上の結果から酒石酸塩の発がん性を総括する。ラットを用いた 2 年試験で最高量の混餌投与を行っても発がん性は確認されなかったことから、指定等要請者は L-酒

石炭酸塩類の NOAEL を 1977 年の Hunter らのラットを用いた L-酒石酸水素ナトリウムの 2 年試験の成績における最高量 3.10 g/kg 体重/日と判断した。

④生殖毒性試験

酒石酸カルシウムを被験物質とした生殖毒性試験に関する報告は確認できなかった。酒石酸塩を試験物質にした試験成績として以下のような報告がある。

a. FemTA

[酒石酸ナトリウム (D-、L-、メソ酒石酸含む)、水酸化ナトリウム、及び三塩化鉄による錯化/反応生成物]

ラットを用いた生殖毒性と発生毒性試験 (GLP)

Lynch ら 2013 年の報告では [76]、Wistar ラット (各群 11 週齢で体重が 307 から 351g の雄 40 匹と雌 40 匹) に FemTA (0 (無処理対照)、500、1000、2000 mg/kg 体重/日) を経口投与し、投与 14 日後に同一群の雌雄 1 組ずつに分離した。分離後も同様に投与した。妊娠 20 日に帝王切開する試験が実施されている。その結果、母動物の生存、着床所見、泌尿生殖器と父動物の泌尿生殖器に投与の影響は認められなかった。また、胎児の生存、性比、体重及び外表・内臓・骨格異常の頻度にも 0~2000 mg/kg 体重/日投与の影響は認められなかった。この結果から本試験における生殖毒性の NOAEL を 2000 mg/kg 体重/日と考えた。

b. 生殖毒性試験まとめ

上記のラットの試験から FemTA を投与した場合、最高量を投与しても生殖毒性は確認されなかった。しかし、FemTA は酒石酸ナトリウム (D-、L-、メソ酒石酸含む)、水酸化ナトリウム、及び三塩化鉄による錯化/反応生成物であり、投与量がそのまま酒石酸塩の量ではないため指定等要請者は本試験から酒石酸塩の NOAEL を得ることはできないと考えた。

⑤ 出生前発生毒性試験

酒石酸カルシウムを被験物質とした出生前発生毒性に関する報告は確認できなかった。酒石酸塩類を試験物質にした試験成績として以下のような報告がある。

a. 酒石酸 (光学異性不明)

マウスを用いた発生毒性試験

European Chemicals Agency (ECHA) の毒性試験データでは [79]、妊娠 CD-1 マウス (各群雌 20~23 匹) に酒石酸 (0、2.74、12.7、59.1、274 mg / kg 体重/日) を妊娠 6 日から 15 日まで強制経口投与し、妊娠 17 日に帝王切開する試験が実施された。その結果、拒絶反応または母体または胎児の生存に明らかな影響は認め

られなかった。この結果から本試験における発生毒性に係る NOAEL を 274 mg/kg 体重/日と考えている。

b. L-酒石酸

ラットを用いた発生毒性試験

1973 年の ECHA の毒性試験データでは [80]、妊娠 Wistar ラット（各群雌 19～24 匹）に L-酒石酸（0（無処理対照）、1.81、8.41、39.1、181 mg/kg 体重/日）とアスピリン 250 mg/kg 体重/日（過剰処理対照）を妊娠 6 日から 15 日まで強制経口投与し、妊娠 20 日に帝王切開する試験が実施された。その結果、母動物の生存、着床所見及び泌尿生殖器に 0～181 mg/kg 体重/日投与の影響は認められなかった。過剰処理対照群では胎児の再吸収が約半数の母体で見られたが、生存や泌尿生殖器に影響は見られなかった。また、胎児の生存、性比、体重及び外表・内臓・骨格異常の頻度にも 0～181 mg/kg 体重/日投与の影響は認められなかった。過剰処理対照群では脳脊髄小脳、髄膜脳脊髄症等の異常を有意に確認することができた。この結果から ECHA は本試験における酒石酸の発生毒性に係る NOAEL を最高量である 181 mg/kg 体重/日と考えた。

c. 酒石酸コハク酸塩（光学異性不明）

[酒石酸モノコハク酸ナトリウム 35%、酒石酸ジコハク酸ナトリウム 9%、ナトリウム 10%、酒石酸 4.5%、リンゴ酸 0.3%、フマル酸 0.4%、水 39%を含む]
ラットを用いた発生毒性試験

1989 年の Petersen らの報告では [81]、妊娠 Sprague-Dawley CD ラット（各群雌 25 匹）に酒石酸コハク酸塩（0、250、500、1000 mg/kg 体重/日）を妊娠 6 日から 15 日まで強制経口投与し、妊娠 20 日に帝王切開する試験が実施された。その結果、母動物の生存、着床所見及び泌尿生殖器に 0～181 mg/kg 体重/日投与の影響は認められなかった。この結果から本試験における発生毒性に係る NOAEL を 1000 mg/kg 体重/日と考えた。しかし、この試験で使用した酒石酸コハク酸塩は酒石酸モノコハク酸ナトリウム 35%、酒石酸ジコハク酸ナトリウム 9%、ナトリウム 10%、酒石酸 4.5%、リンゴ酸 0.3%、フマル酸 0.4%、水 39%を含むため酒石酸塩としての NOAEL を算出できないと指定等要請者は判断した。

d. 出生前発生毒性まとめ

以上の結果から酒石酸塩の出生前発生毒性を総括する。妊娠したげっ歯類に酒石酸もしくは酒石酸塩を投与すると今回確認された試験全てで最高量でも毒性が確認できなかった。そのため、指定等要請者は酒石酸塩の NOAEL を 1973 年の ECHA のマウスを用いた酒石酸の試験の成績における最高量 274 mg/kg 体重/日と判断した。

⑥ 一般薬理試験

L-酒石酸カルシウム及び L-酒石酸塩類に関する一般薬理試験に関する知見は確認できなかった。

⑦ 遺伝毒性

酒石酸塩類を試験物質にした遺伝毒性に関する試験成績として以下のような報告がある。

a. L-酒石酸

i. 微生物を用いる復帰突然変異試験

Tobacco Documents Library の 1996 年の報告では [52]、L-酒石酸について細菌株(*Salmonella Typhimurium* TA1535、TA1537、TA1538、TA98 及び TA100)を用いた復帰突然変異試験（最高用量 1000µg/ plate）が実施されており、代謝活性化系の有無にかかわらず陰性であった。

Ishidate ら 1984 年の報告では [82]、L-酒石酸について細菌株(*Salmonella Typhimurium* TA92、TA1535、TA100、TA1537、TA94 及び TA98)を用いた復帰突然変異試験（最高用量 10 mg/ plate）が実施されており、代謝活性化系の有無にかかわらず陰性であった。

ii. ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験

上述の Ishidate ら（1984）の報告では、L-酒石酸についてのチャイニーズハムスター線維芽細胞（CHL）を用いた染色体異常試験（24 時間及び 48 時間連続処理）（最高濃度 1 mg / mL）が実施されており、代謝活性化系非存在下で陰性であった。

iii. ほ乳類細胞を用いる不定期 DNA 合成（UDS）試験

Tobacco Documents Library の 1996 年の報告では [52]、L-酒石酸についてラット初代培養肝細胞を用いた UDS 試験が実施されている。L-酒石酸濃度 25-1000µg/ mL 中の 5 つの濃度で処理を行い UDS について分析した結果、有意な増加は示されなかった。

b. L-酒石酸ナトリウム

i. げっ歯類を用いる小核試験

Hayashi らの 1988 年の報告 [83]では、雄マウスに対し L-酒石酸ナトリウム処理（900, 2700, 1800, 3600 mg/kg を単回腹腔内投与又は 1000 mg/kg を 24 時間間隔で 4 回の複数回投与）を行なった。各処理 6 匹のマウスを使い、Mitomycin C 処理を行ったマウスの骨髓塗抹標本をポジティブコントロールとした。その結果、単回及び複数回の投与双方の結果において陰性であった。

c. L-酒石酸アンモニウム

i. 微生物を用いる復帰突然変異試験

Yoshida と Okamoto の 1982 年の報告では [84]、L-酒石酸アンモニウムについて細菌株(*Salmonella Typhimurium* TA98 及び TA100)を用いた復帰突然変異試験（最高用量 2.5 mg/ plate）が実施され、TA100 株では代謝活性化系の有無にかかわらず陰性であったが、TA98 株では陽性であった。また、グルコースで処理し、550℃の密封管中で 1 分間加熱すると TA98 及び TA100 で変異原性の増加がみられた。

d. L-酒石酸カリウム

i. 微生物を用いる復帰突然変異試験

Tobacco Documents Library の 1996 年の報告では [52]、L-酒石酸カリウムについて細菌株(*S. cerevisiae* 及び *Salmonella Typhimurium* TA1535、TA1537、TA1538)を用いた復帰突然変異試験（最高濃度 5%）が実施されており、代謝活性化系の有無にかかわらず陰性であった。

e. 酒石酸水素カリウム（光学異性不明）

i. ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験

ECHA の毒性試験データでは [85]、酒石酸水素カリウムについてチャイニーズハムスター肺線維芽細胞（V79）を用いた染色体異常試験（24 時間及び 48 時間連続処理）（最高濃度 2 mg / mL）が実施され、代謝活性化系非存在下で陰性であった。

f. L-酒石酸カリウムナトリウム

i. 微生物を用いる復帰突然変異試験

Prival らの 1991 年の報告では [86]、L-酒石酸カリウムナトリウムについて細菌株(*Salmonella Typhimurium* TA 1535, TA 1537, TA 98, TA 100, TA 1538 及び *E. coli* WP2 uvr A)を用いた復帰突然変異試験（最高用量 10 mg/ plate）が実施され、代謝活性化系の有無にかかわらず陰性であった。

g. 遺伝毒性まとめ

以上の結果から酒石酸カリウムの遺伝毒性について総括する。L-酒石酸アンモニウムの微生物を用いる復帰突然変異試験で陽性反応が確認されたが、L-酒石酸のほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験、ほ乳類細胞を用いる不定期 DNA 合成(UDS)試験では陰性を示していることから L-酒石酸またはその塩類における遺伝毒性は陰性と考えられる。そのため、指定等要請者は L-酒石酸塩類は生体にとって特段問題となるような遺伝毒性はないものと判断した。

⑧ アレルゲン性試験

酒石酸カルシウムを被験物質にしたアレルゲン性試験に関する報告はマウスのリンパ節アッセイによる試験 1 件でしか確認できなかった。その他酒石酸塩を試験物質にした試験成績として以下のような報告がある。

a. 酒石酸カルシウム（光学異性不明）

i. マウス局所リンパ節アッセイによる抗原試験

2011 年の ECHA の毒性試験データより [87]、10 週齢の未妊娠の雌 CBA マウス（各群 4 匹）の各耳の背側表面全体に酒石酸カルシウム（0%、0.5%、1%、2.5%、5%及び 10%）を処理しマウス LLNA が実施された。すべての濃度の SI 値が 1.6 未満であり、感作性陰性であった。

b. L-酒石酸

i. マウス局所リンパ節アッセイによる抗原試験

2010 年の ECHA の毒性試験データでは [88]、8~9 週齢の未妊娠の雌 CBA マウス（各群 5 匹）の各耳の背側表面全体に L-酒石酸（0%、6.25%、12.5%及び 25%）を処理しマウス局所リンパ節アッセイ（LLNA）が実施された。12.5%処理の場合の SI（Stimulation index）値が 1.8 となっているがそれよりも高濃度である 25%処理が 1.5 で、陰性だと考えられる値である 1.6 よりも小さい。この結果から、L-酒石酸は感作性陰性であった。

c. L-酒石酸アンモニウム

i. マウス局所リンパ節アッセイによる抗原試験

2016 年の ECHA の毒性試験データでは [89]、8~9 週齢の未妊娠の雌 CBA マウス（各群 5 匹）の各耳の背側表面全体に L-酒石酸アンモニウム（0%、6.25%、12.5%及び 25%）を処理しマウス LLNA が実施された。全ての濃度の SI 値が 1.6 未満であり、感作性陰性であった。

d. アレルゲン性試験まとめ

以上の結果から酒石酸塩におけるアレルゲン性試験を総括する。今回確認されたすべての試験で感作性陰性であったため、指定等要請者は生体において特段問題となるようなアレルゲン性はないと判断した。

（2） リンゴ酸塩類

①急性毒性

リンゴ酸カルシウムを被験物質とした急性毒性に関する報告はラット（雌 3 匹）を使用した 1 件のみであった。その他リンゴ酸塩を試験物質にした試験成績として以下のような報告がある（表 11）。

表 11 急性毒性

被験物質	投与経路	動物種	LD ₅₀	観察された症状	参照
リンゴ酸カルシウム (光学異性不明)	経口	Wister ラット	5000 mg/kg (GLP)	異常なし	[41]
DL-リンゴ酸	経口	マウス	1600 ～ 3200 mg/kg	衰弱、腹部狭縮、 チアノーゼ、呼吸減弱がみられた。	[90]
リンゴ酸 (光学異性不明)	経口	CD-1 マウス	2660 mg/kg	運動失調、衰弱、 痙攣がみられた。	[90] [91]
リンゴ酸 (光学異性不明)	経口	Dutch-Belted ウサギ	3000 mg/kg	運動失調、衰弱、 痙攣がみられた。	[90] [91]
リンゴ酸 (光学異性不明)	経口	Wister ラット	3500 mg/kg	運動失調、衰弱、 痙攣がみられた。	[90] [91]
リンゴ酸ナトリウム (光学異性不明)	経口	イス	1000 mg/kg		[91]
リンゴ酸マグネシウム (光学異性不明)	経口	Wister ラット	5000 mg/kg (GLP)	異常なし	[92]
リンゴ酸ジエチル ヘキシル (光学異性不明)	経口	ラット	5g/kg		[91]
リンゴ酸ジブチル (光学異性不明)	経口	ラット	3730 mg/kg		[91]

②反復投与毒性

リンゴ酸カルシウム単体を被験物質とした反復投与毒性に関する報告は確認できなかったがリンゴ酸ナトリウムとリンゴ酸カルシウムの混合物に関する報告は 1 件あった。その他リンゴ酸塩類を試験物質にした試験成績として以下のような報告がある。

I. 亜急性毒性試験

- a. リンゴ酸ナトリウムとリンゴ酸カルシウムの混合物（16%リンゴ酸ナトリウム：84%リンゴ酸カルシウム）（光学異性体不明）（GLP）

Carro ら 2006 年の報告から [93]、6 週齢の平均体重が $15.3 \pm 0.22 \text{ kg}$ の Merino 羊（各群雄各 8 匹）にリンゴ酸ナトリウムとリンゴ酸カルシウムの混合物（16%リンゴ酸ナトリウム：84%リンゴ酸カルシウム）（0, 4, 8 g / kg）（0, 3300, 6600 mg/kg）を 35 日間混餌投与した。混合物の最終摂取量は（0、9.4 mM、18.8 mM）となる。飼料の摂取量や尿の排出量に変化はなく。20 日と 35 日で血液検査を行った結果、血液成分に影響はなかった。また、35 日に各群の第 1 胃液試料を採取して食物消化率を測定した。消化率に関してもリンゴ酸塩の混合物による影響は確認されなかった。これらの結果から指定等要請者は本試験における NOAEL は最高量の 8 g / kg と考えた。

b. DL-リンゴ酸

Foley らの 2009 年の報告では（GLP）[94]、Belgian Blue ウシ（雄）28 日間、1 日 2 回 DL-リンゴ酸を 22,000mg / kg の混餌投与を行った。その結果、1 日の平均体重増加、1 日の飼料摂取量及び飼料対利得比の性能パラメータは、非補給飼料を与えた対照群との差はなかった。

c. リンゴ酸（光学異性不明）

・子豚（GLP）

Tsilyiannis らの 2001 年の報告によると [95]、離乳後下痢症候群の子豚（平均 25 日齢雌雄各 6 匹）にリンゴ酸を（0、12000mg / kg）添加した飼料を 28 日間与えた。その結果、リンゴ酸を添加した飼料を与えた子豚の方が飼料の摂取量、28 日後の体重ともに基礎飼料のみの対照群よりも増加した。さらに各群での下痢の重症度さらには死亡率もリンゴ酸添加した場合の方が対照群よりも有意に低い。本試験では一用量試験であるため NOAEL を得ることはできないが、離乳後の子豚においてリンゴ酸 12000mg / kg は安全であり、尚且つ下痢症状を抑えるのに有用である。

・乳牛

Kung らの 1982 年の報告では [96]、乳牛にリンゴ酸（10,700 mg / kg）を、100 日間混合飼料を与えた場合で未処理の対照と比較したところ、乳汁収量または組成に有意な影響はみられなかった。また、Wang らの 2009 年の 6,800 mg / kg の混合飼料乾物 88%）を 63 日間与えた場合 [97]、Foley らの 2009 年の 23,000 mg / kg のリンゴ酸を 42 日間混餌投与した場合 [98]でも未処理の対照と比較して、乳汁収量または組成に有意な影響はみられなかった。

・子牛（Pie Rouge de Campine）

EFSA の 2014 年の報告で引用されている De Vuyst らの 1974 の報告によると [99]、体重が約 44 kg の子牛（Pie Rouge de Campine）にリンゴ酸 20 g/kg 飼料を 95 日間与えた場合で未処理の対照と比較したところ、体重増加及び飼料対利得比に有意な影響はみられなかった。指定等要請者は、本試験は一用量の試験であるため、NOAEL を得ることはできないと判断した。

II. 慢性毒性

a. リンゴ酸（光学異性不明）

Fiume の 2001 年の報告 [100] から Charles River ラット（各群雌雄各 30 匹）にリンゴ酸（0,500,5000,50000 ppm; 0%、0.05%、0.5%、5.0%）を 104 週間混餌投与した。その結果、投与群と対照群に生存率の差はなかった。体重については 5.0% 投与群で 0～52 週目までは雌雄ともに有意に減少した。最終体重は雄では差はみられなかったが、雌では有意差はないものの減少した。また、病理組織的検査においても肉眼及び顕微鏡で観察したところ、投与群と対照群に差はみられず、投与に起因した腫瘍の発生は認められなかった。この結果から指定等要請者は本試験における NOAEL を雌雄共に本試験の最高量の 5.0%（50000 ppm）と考えた。

Fiume の 2001 年の報告 [100] によると Bagle イヌ（各群雌雄 4 匹）にリンゴ酸（0、500,5000,50000 mg/kg 体重/日）を 104 週間混餌投与した。その結果、病理組織的検査において肉眼及び顕微鏡で観察したところ、投与群と対照群に差はみられず、投与に起因した腫瘍の発生は認められなかった。この結果から指定等要請者は本試験における NOAEL を雌雄共に本試験の最高量の 50000 mg/と 考えた。

III. 反復毒性試験まとめ

以上の結果からリンゴ酸塩類の反復投与毒性試験を総括する。リンゴ酸塩類のラットにおける 104 週間の慢性毒性試験で雌雄共に本試験の最高量の 5.0% で病変や死亡が観察されなかったことから、指定等要請者はリンゴ酸塩類の NOAEL を 2001 年の Fiume のラットを用いたリンゴ酸の試験の成績における 50000 ppm と判断した。本試験ではラットの体重と飼料の摂取量が明記されていなかったため日本チャールス・リバー株式会社が 2009 年に報告した Charles River ラットの体重推移の累計から Charles River ラットの平均体重を算出した。長期飼育の体重推移を見ると 70 週齢から 96 週齢まで雌雄の差はあるが雌雄それぞれで体重の変化はほぼない。さらに 104 週試験であることからそれぞれ 96 週目の平均体重である雄：865.9g、雌：474.4g を採用した [101]。摂餌量は 40 週齢から徐々に減少傾向があるため雌雄それぞれで 10 週齢から 96 週齢までの平均摂餌量から 96 週齢までの生涯摂餌量を下記の式のように算出した。

$$\text{雄} : (23.2 + 21.5 + 18.9 + 19.2 + 12.6 + 9.6 + 8.1) \div 7 = 16.15 \text{ g}$$

$$\text{雌} : (17.8 + 14.4 + 19.2 + 22.8 + 14.6 + 7.8 + 9.1) \div 7 = 15.1 \text{ g}$$

これによって NOAEL を下記の数式から雄：932.6 mg/kg 体重／日、雌：1,591.4 mg/kg 体重／日と設定した。

$$\text{雄} : 50 \text{ mg/g} \times 16.15 \text{ g} \div 865.9 \text{ g} = 932.6 \text{ mg/kg 体重／日}$$

$$\text{雌} : 50 \text{ mg/g} \times 15.1 \text{ g} \div 474.4 \text{ g} = 1591.4 \text{ mg/kg 体重／日}$$

③発がん性試験

a. リンゴ酸（光学異性不明）

Fiume の 2001 年の報告によると [100]、Charles River ラット（各群雌雄各 30 匹）にリンゴ酸（500,5000,50000 ppm; 0.05%、0.5%、5.0%）を 104 週間混餌投与した。その結果、病理組織的検査において、肉眼及び顕微鏡で観察したところ投与に起因した腫瘍の発生は認められなかった。すなわち、本試験において発がん性は認められなかった。Bagle イヌ（各群雌雄 4 匹）にリンゴ酸（500,5000,50,000 ppm）を 104 週間与週間混餌投与した。その結果、病理組織的検査において、肉眼及び顕微鏡で観察したところ、投与に起因した腫瘍の発生は認められなかった。すなわち、本試験において発がん性は認められなかった。

b. 発がん性まとめ

以上の結果からリンゴ酸塩類の発がん性を総括する。ラットを用いた 104 週試験で最高量の混餌投与を行っても発がん性は確認されなかったことから、指定等要請者はリンゴ酸塩類の NOAEL を 2001 年の Fiume のラットを用いたリンゴ酸の試験の成績における 50000 ppm と判断した。上記の反復毒性試験まとめと同様の計算に基づき、NOAEL を雄：932.693 mg/kg 体重／日、雌：1591.4159 mg/kg 体重／日と設定した。

④生殖毒性試験

a. リンゴ酸（光学異性不明）

Fiume の 2001 年の報告 [100]から、ラット（各群 5 週齢の雄 10 匹と雌 20 匹）にリンゴ酸（0,1000,10000 ppm）を経口投与し、9 週間後に交配させた。その結果、母動物の生存、着床所見、泌尿生殖器と父動物の泌尿生殖器に投与の影響は認められなかった。そのため指定等要請者は本研究における NOAEL は 10000ppm と考えた。

b. 生殖毒性試験まとめ

上記のラットの試験からリンゴ酸を投与した場合、最高量 10000ppm を投与しても生殖毒性は確認されなかった。このことから指定等要請者は本試験からリンゴ酸塩類の生殖毒性試験における NOAEL を 10000ppm と考えることができるが、ラットの種類と週齢が明記されていないので反復毒性試験のように mg/kg 体重／日に換算することはできない。

⑤出生前発生毒性試験

a. リンゴ酸

Fiume の 2001 年の報告 [100]から、妊娠 CD-1 マウス(各群雌 19~22 匹)にリンゴ酸 (2.66、12.4、57.3、 266 mg / kg 体重/日) を妊娠 6 日から 15 日まで強制経口投与し、妊娠 17 日に帝王切開する試験が実施された。その結果、拒絶反応または母体または胎児の生存に明らかな影響は認められなかった。この結果から本試験における発生毒性に係る NOAEL を指定等要請者は 266 mg/kg 体重/日と考えた。

Fiume の 2001 年の報告 [100]から、妊娠 Wister ラット (各群雌 25~29 匹) にリンゴ酸 (3.5、16.2、75.4、 350 mg / kg 体重/日) を 10 日間連続して強制経口投与し、妊娠 20 日に帝王切開する試験が実施された。その結果、拒絶反応または母体または胎児の生存に明らかな影響は認められなかった。この結果から本試験における発生毒性に係る NOAEL を指定等要請者は 350 mg/kg 体重/日と考えている。

Fiume の 2001 年の報告 [100]から、妊娠 Dutchbeltded ウサギ (各群雌 15~23 匹) にリンゴ酸 (3、14、65、300 mg / kg 体重/日) を妊娠 6 日から 18 日まで強制経口投与し、妊娠 29 日に帝王切開する試験が実施された。その結果、拒絶反応または母体または胎児の生存に明らかな影響は認められなかった。この結果から本試験における発生毒性に係る NOAEL を指定等要請者は 300mg/kg 体重/日と考えている。

b. 出生前発生毒性まとめ

以上の結果からリンゴ酸塩類の出生前発生毒性を総括する。妊娠したげっ歯類とウサギにリンゴ酸を投与すると今回確認された試験すべてで最高量でも毒性が確認できなかった。そのため、指定等要請者はリンゴ酸塩類の NOAEL を 2001 年の Fiume のラットを用いたリンゴ酸の試験の成績における最高量 350 mg/kg 体重/日と判断した。

⑥一般薬理試験

リンゴ酸塩に関する一般薬理試験に関する知見は確認できなかった。

⑦ 遺伝毒性

a. リンゴ酸 (DL-体)

i. 微生物を使用した復帰突然変異試験

Ishidate らの 1984 年の報告では [82]、リンゴ酸について細菌株(*Salmonella Typhimurium* TA92、TA1000、TA1535、TA1537、TA94、TA98)を用いた復帰突然変異試験 (最高濃度 10 mg/ plate) が実施されており、代謝活性化系の有無にかかわらず陰性であった。

ii. ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験

Ishidate らの 1984 年の報告では [82]、リンゴ酸についてチャイニーズハムスター肺線維芽細胞を用いた染色体異常試験 (48 時間連続処理) (最高濃度 1.0 mg / mL) が実施され、代謝活性化系非存在下で陰性であった。

b. リンゴ酸ナトリウム (DL-体)

i. 微生物を使用した復帰突然変異試験

Ishidate らの 1984 年の報告では [82]、リンゴ酸ナトリウムについて細菌株(*Salmonella Typhimurium* TA92、TA1000、TA1535、TA1537、TA94、TA98)を用いた復帰突然変異試験(最高濃度 2.0 mg/ plate)が実施されており、代謝活性化系の有無にかかわらず陰性であった。

c. リンゴ酸ジイソステアリル

i. 微生物を使用した復帰突然変異試験

Becker の 2012 年の報告によると [91]、リンゴ酸ジイソステアリルについて細菌株 (*Salmonella Typhimurium* TA98、TA100、TA1535 、TA1537)を用いた復帰突然変異試験(最高濃度 5 mg/ plate)が実施されており、代謝活性化系の有無にかかわらず陰性であった。

d. リンゴ酸ジアルキル (C12, 13)

i. 微生物を使用した復帰突然変異試験

Becker の 2012 年の報告によると [91]、リンゴ酸ジアルキル (C12, 13)について細菌株 (*Salmonella Typhimurium* TA98、TA100、TA1535 、TA1537、TA1538)を用いた復帰突然変異試験(最高濃度 10 mg/ plate)が実施されており、代謝活性化系の有無にかかわらず陰性であった。

ii. げっ歯類を用いる小核試験

Becker の 2012 年の報告によると [91]、C57BL マウス(雌雄各 5 匹)に対しリンゴ酸ジアルキル (C12, 13) 処理(最高容量 12500 mg/kg 経口投与)の骨髓小核試験が実施されており、陰性であった。

e. 遺伝毒性まとめ

以上の結果からリンゴ酸塩類の遺伝毒性について総括する。リンゴ酸塩類は微生物を用いる復帰突然変異試験、ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験、げっ歯類を用いる小核試験すべてで陰性であった。そのため指定等要請者は、リンゴ酸塩類は生体にとって特段問題となるような遺伝毒性はないものと判断した。

⑧ アレルゲン性試験

リンゴ酸カルシウムを被験物質としたアレルゲン試験に関する報告は確認できなかった。リンゴ酸塩類を試験物質にした試験成績として以下のような報告がある。

a. リンゴ酸（光学異性体不明）

Fiume の 2001 年の報告 [100]から、リンゴ酸（光学異性体不明）を 500 mg/24h でウサギの皮膚に添加すると中程度の感受性を示し、モルモットでは強い感受性を示した。

Smith の 1996 年の報告 [102]によると、1M リンゴ酸をビヒクル（15%エタノール、5%エトキシジグリコール及び5%ブチレングリコール）に溶解し 10 人の被験者に 2mg/cm² で塗布して細胞再生に関する皮膚刺激を、塩化ダンシル法を使用して調べた。15 分間の平均刺激の値は pH3 の時で 39.4、pH5 の時は 37.1、pH7 の時は 23.1 であった。その結果リンゴ酸は刺激物ではないと予測された

b. リンゴ酸ジアルキル（C12, 13）

Becker の 2012 年の報告によると [91]、Hartley モルモット（雌 10 匹）にリンゴ酸ジアルキル（C12, 13）（100%）を 6 時間貼付するパッチテストを 7 日間で 3 回おこなうビューラー試験を行った。その結果、感作は認められなかった。New Zealand White ウサギ（6 匹）にリンゴ酸ジアルキル（C12, 13）（500mg を 0.5mL のゴマ油に溶解）を剃毛した部位の皮膚 20 cm² に塗布し、4 時間放置した。その後、1、24、48、72 時間後に観察を行ったが紅斑または浮腫は認められなかった。さらに長期の実験で New Zealand White ウサギ（雌雄各 5 匹）にリンゴ酸ジアルキル（C12, 13）（10mL / kg ）を剃毛した背部の皮膚に 28 日間貼付するパッチテストを行った。その結果、紅斑または浮腫は認められなかった。

ヒトにおいても、ヒト（38 人）にリンゴ酸ジアルキル（C12, 13）（100%： 5ml）を 1 cm² の皮膚でパッチテストを行った結果、紅斑または浮腫は認められなかった。

c. リンゴ酸ジエチルヘキシル

Fiume の 2001 年の報告 [100]によると、New Zealand White ウサギ（6 匹）にリンゴ酸ジエチルヘキシル（100%： 0.5 ml）を無傷な皮膚と擦過傷皮膚に塗布し、24 時間後と 72 時間後に試験部位を観察した。その結果、一次刺激指数（PII）は 1.18 であった。さらに 24 時間吸入下における一次皮膚刺激試験を行ったところ PII は 3.53 であった。これらのことからリンゴ酸ジエチルヘキシルは一次刺激物質ではないと判断された。

さらに、モルモット（12 匹）にリンゴ酸ジエチルヘキシル（100%）でビューラー試験を行った。その結果、6 回目の投与後に軽度の紅斑がみられたが感作は認められなかった。

d. アレルゲン性試験まとめ

以上の結果からリンゴ酸塩類におけるアレルギー性試験を総括する。今回確認されたすべての試験で感作性陰性であったため、生体において特段問題となるようなアレルギー性はないと判断できる。

(3) カルシウム塩類

カルシウム塩類の毒性に関しては酢酸カルシウム及び酸化カルシウムの評価書(2013年) [28] や炭酸カルシウムの評価書(2016) [29]でまとめられている。

その結果、急性毒性は以下の表 12 ([28]引用) のような報告が挙げられている。

表 12

被験物質	投 与 経路	動物種	LD ₅₀
酸化カルシウム	経口	マウス	雄：4226 mg/kg 雌：4052 mg/kg
塩化カルシウム	経口	マウス	雄：2045 mg/kg 雌：1940 mg/kg
炭酸カルシウム	経口	ラット	6450 mg/kg
炭酸カルシウム	経口	ラット (雌)	>2000 mg/kg
酢酸カルシウム	経口	ラット	4280 mg/kg
酸化カルシウム	経口	ラット	雄：5000 mg/kg 雌：5916 mg/kg
水酸化カルシウム	経口	ラット	7340 mg/kg
塩化カルシウム	経口	ラット	雄：3798 mg/kg 雌：4179 mg/kg
グルコン酸カルシウム	経口	ラット	10000 mg/kg

さらに反復毒性に関しては「被験物質の投与に起因した変化として、腎のカルシウム沈着や、種々の臓器において鉄などのミネラルの減少が認められたが、その詳細を確認できる限りにおいては、いずれも毒性学的に有意な所見とは考えられなかった。以上より、本委員会としては、カルシウム塩の NOAEL を、Bogden ら (1992) の報告による「(3) ① e. ラットを用いた炭酸カルシウム 1 年間反復投与毒性試験」の成績における最高用量である 2,500 mg/kg 体重/日 (カルシウムとして) と判断した。」と記載されている。

その他遺伝毒性、発がん性及び生殖発生毒性の懸念はないという記述がある。

2016 年の炭酸カルシウムの評価以降、炭酸カルシウムを除くカルシウム塩類に関する知見を PubMed において検索したところ 11 件が確認された[134]。11 件のうち 9 件は試験からカルシウム塩に関する情報を把握することが困難であったため記載を省略した。2016 年の Marone らの報告でフルクトホウ酸カルシウムについての毒性試験を行った記載[137]、

2019 年の Niederberger らのカルシウム L-メチル葉酸の毒性試験結果が報告されている [138]。これら 2 つの試験結果は生体にとって特段毒性の懸念を示す知見は認められなかったため、2016 年の評価結果に影響を与えるものではないと考えられることから記載を省略した。

(4) 酒石酸リンゴ酸カルシウム毒性試験まとめ

L(+)-酒石酸・L(-)-リンゴ酸カルシウムの毒性知見はなく、L(+)-酒石酸・L(-)-リンゴ酸カルシウムは食品中での安定性でも述べたようにワイン中ではそれぞれの構成物質（L-酒石酸、L-リンゴ酸、カルシウムイオン）に解離すると考えられる [5]。そこで 3 つの構成物質それぞれで毒性知見を調べた。

L-酒石酸塩類は毒性試験の結果から遺伝毒性、アレルゲン性試験のまとめで記述しているように生体にとって特段問題となるような遺伝毒性やアレルゲン性はないと判断される。その他毒性知見に関しても NOAEL を最高量で設定している。反復投与毒性、発がん性では NOAEL を 3.10 g/kg 体重/日、出生前発生毒性では 274 mg/kg 体重/日と判断された。本概要書では NOAEL を設定した 2 つの試験が共に最高量であったこと、投与期間が反復投与毒性、発がん性試験の方が長かったことを考慮して L-酒石酸塩類の NOAEL を 3.10 g/kg 体重/日とした。これを安全定数 100 で除した 31 mg/kg 体重/日を L-酒石酸塩類の ADI と考えた。この値は L-酒石酸塩類に対する JECFA の ADI 30 mg/kg 体重/日に近似しているため指定等要請者は国際機関の ADI である 30 mg/kg 体重/日で今後の安全性に関する考察を行うことにした。リンゴ酸塩類の毒性試験結果から遺伝毒性、アレルゲン性試験のまとめで記述しているように生体にとって特段問題となるような遺伝毒性やアレルゲン性はないと判断される。その他毒性知見に関しても NOAEL を最高量で設定している一方で、国際機関で ADI は設定されていない。本概要書では反復投与毒性、発がん性では NOAEL を 932.6 mg/kg 体重/日、出生前発生毒性では 350 mg/kg 体重/日と判断された。本概要書では酒石酸塩類と同様に NOAEL を設定した 2 つの試験が共に最高量であったこと、投与期間が反復投与毒性、発がん性試験の方が長かったことを考慮してリンゴ酸塩類の NOAEL を 932.6 mg/kg 体重/日とした。これを安全定数 100 で除した 9.3 mg/kg 体重/日を ADI と考えることもできるが、後述するヒトにおける知見でヒトは野菜、果物及びそれらのジュースからリンゴ酸を、1.5～3g/日のオーダーで摂取していると計算されており、リンゴ酸を含む食品は副作用なしに何世紀も人間によって消費されているとあるため不適切であると考えた。さらに L(+)-酒石酸・L(-)-リンゴ酸カルシウム由来のカルシウムの酒石酸塩類 ADI (30 mg/kg 体重/日)でのリンゴ酸の摂取量は 11 mg/kg 体重/日と算出できる。これを食品安全委員会が定める食品健康影響評価に用いる平均体重 [103]である 55.1 kg をかけると 606 mg/人/日と算出される。これはヒトが 1 日に摂取すると考えられているリンゴ酸の 20%程度と考えられるので酒石酸塩類の ADI で使用した場合、ヒトにとって特段問題となる毒性の懸念はないと考えられる。

カルシウムイオンはカルシウム塩類等の試験成績の評価をもとに、遺伝毒性、発がん性及び発生毒性の懸念はなく、毒性試験成績から NOAEL は最高用量である 2,500 mg/kg 体重/日（カルシウムとして）とある。これを安全定数の 100 で除した、25mg/kg 体重/日を ADI と考えら

れる。しかし、カルシウムがヒトの各器官中において広く分布する物質であること、わが国において、多くのカルシウム塩が既に添加物として指定され、長い食経験があること、人に投与した試験において特段の有害影響が認められなかったこと及び栄養素として摂取すべき目標量が定められていることから不適切と判断した。L(+)-酒石酸・L(-)-リンゴ酸カルシウム由来のカルシウムの摂取量は 6.7 mg/kg 体重/日と算出できる。これは反復毒性試験の NOAEL に安全定数の 100 を除した値よりも小さいため、ヒトに対して特段問題となる毒性の懸念はないと考えられる。

以上の結果から L(+)-酒石酸・L(-)-リンゴ酸カルシウムの ADI を酒石酸塩類の ADI である 30 mg/kg 体重/日に設定した。

3. ヒトにおける知見

I. 炭酸カルシウム

炭酸カルシウムはこれまでヒトにおける多くの知見が存在している。わが国でも 2016 年の食品安全委員会の「炭酸カルシウム」の評価書でミルクアルカリ症候群など多くの事例がまとめられている。本概要書では 2016 年以降のヒトにおける知見を記載する。

a. 炭酸カルシウム

2016 年の Alyousif の報告によると [104]、健康な女性 (27 名、平均年齢 43.0 ± 10.6 歳) に炭酸カルシウム (500 mg/day) もしくはリン酸カルシウム (500 mg/day) のサプリメントを 8 週間投与し便の頻度、ブリストル便形態尺度 (BSFS)、及びサプリメント摂取コンプライアンスについての毎日アンケートを実施した。その結果、各期間の平均 $\pm$ SE 便頻度は、平均 1.3 ± 0.1 便/日で、炭酸カルシウム摂取時の 34%、リン酸カルシウム摂取時の 37% が遅い通過または便秘 (BSFS が 1 または 2) であると報告した。500 mg / day のカルシウムを提供する炭酸カルシウムもリン酸カルシウムも便の頻度や形態に影響を与えず、便秘にも影響を与えないことが示唆された。

2017 年の Afshan らの報告によると [105]、32 歳のヒスパニック系男性に腹膜透析による末期腎疾患が認められ、外科的副甲状腺摘出術が成功した (無傷の副甲状腺ホルモンレベル: 2,328pg / mL ; 術後: 287-69pg / mL [正常: 8.5-72.5])。彼の術後経過は、外来患者としての重症かつ再発性の低カルシウム血症を合併していたため、炭酸カルシウム (3750mg、食事間 3×/日) を経口摂取したが低カルシウム血症が改善されず、その後炭酸カルシウム (5,000 mg / 日)、酢酸カルシウムサプリメントは一時的に最大 4,002-8,004 mg / 日まで増加したが低カルシウム血症が改善されることはなかった。この症状は患者が 1 日 1 回、重度の胃食道逆流症と運動障害のためにパントプラゾール 40mg (aPPI) も服用していることが要因となっていた。PPI が胃塩酸からの炭酸カルシウム (CaCO_3) の吸収を妨げていたために起こったと考えられる。

2017 年の Sakai らの報告によると [106]、ベトナムのハノイから約 60 km 離れた農場に住む 54 人の閉経後のベトナム人女性を年齢、骨量、BMI 及びカルシウム摂取量が一致した 3 人の被験者 3 つのグループに分け、各グループに 18 人の被験者が振り分けられた。3 つのグループはプラセボ群にはカルシウムの補給を行わない、卵殻カルシウム群には卵殻から 300mg /日のカルシウムを投与し、炭酸カルシウム群には炭酸カルシウムから 300mg /日のカルシウムを 12 ヶ月投与させる群に分けられた。被験者は開始時と 6 ヶ月、12 ヶ月の 3 回骨量を測定した。その結果、卵殻群の骨量は 12 カ月時にプラセボ群及び炭酸カルシウム群のそれよりも有意に高かった ($p < 0.05$)。炭酸カルシウム群の骨量はプラセボ群のそれよりも高い傾向があったが、有意差はなかった ($p > 0.05$)。

2017 年の Stoney と Bagcni の報告によると [107]、重度の高カルシウム血症 (5.07 mmol/L) の症例で入院した 81 歳の男性は消化不良症状を呈し、それに対して 2 年間に 1 日 10~12 個の炭酸カルシウム錠剤を摂取していた。これは、1 日のカルシウムの摂取量のガイドラインの 6.6~7.9 倍に相当する。患者は炭酸カルシウム錠剤乱用に続発するミルク - アルカリ症候群として診断された。

2017 年の Wald らの報告によると [108]、18 歳以上で慢性血液透析 (4 セッション/週) を 90 日以上受けている、血清リン酸値が $1.30\text{--}2.50 \text{ mmol/L}$ の患者 (投与群 53 人、対照群 51 人) に対して、投与群にはリン酸結合剤として炭酸カルシウム (カルシウム = 3 g/日)、対照群にはプラセボの投与を 26 週間行った。その結果、26 週目の平均 (SD) 血清リン酸は、投与群で $4.53 (1.12) \text{ mg/dl}$ ($1.46 [0.36] \text{ mmol/L}$)、対照群で $6.05 (1.40) \text{ mg/dl}$ ($1.95 [0.45] \text{ mmol/L}$) であった。投与群のリン酸濃度は、遊離群と比較して $1.24 (95\% \text{ 信頼区間, } 0.75 \text{ から } 1.74) \text{ mg/dl}$ ($0.40 [95\% \text{ 信頼区間, } 0.24 \text{ から } 0.56] \text{ mmol/L}$) 減少した。高カルシウム血症、低カルシウム血症、副甲状腺摘出術、または主要な血管イベントのリスクに関して、2 つのグループ間に統計的に有意な差はなかった。

2017 年の El-Nabarawi らの報告によると [109]、閉経後の女性 70 人 (年齢: 60-78 歳、体重: 43-119 kg、身長: $1.49\text{--}1.79 \text{ m}$ 、BMI: 17-48) にアトルバスタチン 40 mg/日 、炭酸カルシウム 500 mg/日 及びビタミン D 800 を 18 ヶ月間全患者に投与した。研究の開始時及び終了時に DEXA によって大腿骨頸部、腰椎及び遠位橈骨の T スコアを測定した。その結果、大腿骨頸部領域においてのみ投与後に T スコアが有意に上昇した ($P = 0.009$)。

2018 年の Weinstein らの報告によると [110]、マサチューセッツ大学医学部の機関による審査委員会によって承認されたドナースクリーニングを完了し、アフエレーシス血小板提供同意を得た志願者 61 人に献血中の血漿 [Ca^{2+}] のモニタリング及び低カルシウム血症に対する経口カルシウム補給の効果を調べるコホート研究を行った。すべてのコホートで献血開始時、30 分後と 60 分後に [Ca^{2+}] を測定した。コホート A (男性 14 名: 女性 11 名、平均体重 $85.6 \pm 18.4 \text{ kg}$ 、平均血液量 $5361 \pm 870 \text{ mL}$ 、平均年齢 53.9 ± 13.8 歳) は献血中に [Ca^{2+}] のモニタリングを受けたが予防的なカルシウム補給は行われない。コホート B (男性 8 名: 女性 2 名、平均体重 $86.8 \pm$

19.8 kg、平均血液量 $5386 \pm 908 \text{ mL}$ 、平均年齢 51.4 ± 10.4 歳)は献血中に $[\text{Ca}^{2+}]$ のモニタリングとモニタリング前、提供中 20 分間隔で炭酸カルシウム (1000 mg Ca/用量) を経口摂取した。コホート C (男性 22 名：女性 4 名、平均体重 83.3 ± 16.1 kg、平均血液量 $5192 \pm 765 \text{ mL}$ 、平均年齢 62.7 ± 8.9 歳) 献血中に $[\text{Ca}^{2+}]$ のモニタリングとモニタリング前、提供中 20 分間隔で 2-3-クエン酸カルシウムと 1-3 リン酸カルシウム及びビタミン D₃ からなる液体サプリメント (1000 mg Ca + 1000 IU ビタミン D₃ / 30ml 用量) を経口摂取した。その結果、低カルシウム血症の症状が報告されたのはコホート A で 48%、コホート B で 60%、コホート C で 19.2% となり液体クエン酸カルシウム／リン酸カルシウム／ビタミン D₃ が献血中の低カルシウム血症性毒性に対して効果的な予防を示すと結論づけた。

2018 年の Li らの報告によると [111]、炭酸カルシウムナノ材料 (nano- CaCO_3) に曝露した労働者の職場曝露レベルと健康への影響を調べた。個人曝露及び面積サンプリング、ならびにリアルタイムモニタリング及び粉塵モニタリングを行って、質量曝露、粒径分布、及び粒子数曝露を特徴付けた。56 人の作業員 (28 人の曝露作業員と 28 人の未曝露対照) に身体検査、肺活量測定、及びデジタルラジオグラフィーを行った。結果、nano- CaCO_3 濃度は曝露職場で $5.264 \pm 6.987 \text{ mg} / \text{m}^3$ (未曝露： $0.037\text{--}22.192 \text{ mg} / \text{m}^3$) であり、呼吸域で $3.577 \pm 2.065 \text{ mg} / \text{m}^3$ (未曝露： $2.042\text{--}8.161 \text{ mg} / \text{m}^3$) であった。Nano- CaCO_3 曝露群におけるヘモグロビン、クレアチンホスホキナーゼ (CK)、乳酸デヒドロゲナーゼ、及び高密度リポタンパク質コレステロール (HDL-C) のレベルは有意に増加したが、白血球数 (WBC)、補体 3 成分 (C3)、総タンパク質 (TP)、尿酸、及びクレアチニンは全て有意に減少した。肺機能低下の有病率は有意に高く ($p = 0.037$)、そして肺活量 (VC)、強制肺活量 (FVC)、1 秒間の強制呼気量 (FEV1)、FEV1 / FVC、最大呼気流量及び強制呼気流量 25% (FEF 25%)、FEF 25-75% は重量濃度の nano- CaCO_3 と負の相関があった ($p < 0.05$)。ロジスティック分析により、nano- CaCO_3 曝露レベルは肺機能低下と関連していることが示された ($p = 0.005$)。一方、用量効果の関係は、nano- CaCO_3 の累積重量濃度と肺機能低下の有病率との間に見出された ($p = 0.048$)。結論として、長期間の高レベルの nano- CaCO_3 曝露は労働者に肺機能低下を誘発する可能性がある。

2019 年の Barry らの報告によると [112]、これまでカルシウムポリープ予防研究 (CPPS; 1988-1996) では 930 人の被験者に対して 464 人にカルシウム (炭酸カルシウム：1,200mg / 日) を、466 人にプラセボを投与した結果、カルシウムを投与した群が腺腫で約 15%、進行腺腫で 27% の相対リスク減少を示し、結腸直腸癌及びその主要な前駆病変である結腸直腸腺腫の両方に対して、結腸直腸腫瘍に対する保護効果を発揮することを示唆している。しかし、2004 年から 2013 年に行ったビタミン D / カルシウムポリープ予防研究 (VCPPS) では 2259 人の被験者に対して 415 人がプラセボ投与、419 人が CPPS と同様にカルシウム (炭酸カルシウム：1,200mg / 日) を投与したがカルシウム摂取による明らかな効果を示さなかった。2 つの試験の結果の違いを調べた結果、参加者の特性が要因となっていると考えられた。CPPS と比較して、VCPPS の被験者は肥満傾向にあった (肥満度指数 (BMI) $\geq 30 \text{ kg} / \text{m}^2$; 37.5% 対 24.4% ; BMI $< 25 \text{ kg} / \text{m}^2$; 18.5% 対 31%)。VCPPS の研究でも BMI が正常値の場合、腺腫へのリスクが 44% 減少した。同様に、CPPS では、BMI が正常値の場合には腺腫リスクが 56% 減少するという結果にな

った。結論として、1,200 mg /日のカルシウム摂取は、正常な BMI を持つ人の間で結腸直腸腺腫のリスクを減らすかもしれないが、肥満傾向の人では効果が表れない。

2016 年以降の炭酸カルシウムのヒトにおける知見は以上になるが、2016 年の炭酸カルシウムの評価書における評価内容を変更するような知見は確認できなかった。

II. 酒石酸リンゴ酸カルシウム

酒石酸リンゴ酸カルシウムのヒトにおける知見は確認できなかった。酒石酸カルシウムや酒石酸塩類、リンゴ酸カルシウムやリンゴ酸塩類に関する報告は以下のとおりである。

(ア) 酒石酸塩類【酒石酸カリウム概要書引用】

a. 酒石酸

ECHA の毒性試験データでは [113]、酒石酸製造工場の L-酒石酸に曝露されている 44 名と非曝露者 30 名に対して、鼻腔・口腔内の疾病、皮膚疾病、眼の疾病、胃腸の疾病、歯の疾病についてアンケート調査を行った。曝露群では鼻閉塞、かゆみとくしゃみ、低酸素症、発声障害、皮膚刺激などの症状が確認された。これらの検査の結果、曝露群の 45.45%のヒトが鼻腔・口腔内の疾病、77.3%が皮膚疾病を訴えており、これらは非曝露群に対して有意な ($p < 0.001$) 疾病である。(非曝露群では鼻腔・口腔内の疾病 6.7%、皮膚疾病 20%) また、皮膚疾病は大部分が手であり、これは酒石酸と接触したことに起因する。

また、ECHA の毒性試験データでは [114]、2 名の成人に 50~60 g の酒石酸（光学異性不明）を経口投与すると 2 名とも死亡が確認された。1 名には急性腎炎の症状が確認された。

さらに Robertson と Lönnell の 1968 年の報告では [115]、51 歳の男性が 30 g の酒石酸（光学異性不明）摂取したことによる事故死例が 1 例報告されている。摂取後、両脇腹の強い腹痛と下痢を 24 時間以内に訴えて死亡した。死亡後 48 時間経過したところで体内を調べたところ、腎臓の皮質に不規則な出血性の領域が確認され、腎梗塞が生じたことが示唆された。腎盂、膀胱には炎症の徴候はなかった。また、腎動脈または静脈には血栓や壁の病変はみられなかった。腎動脈の大動脈瘤の狭窄は認められなかった。その他の臓器では顕著な病変を肉眼で確認することはできなかった。そこで組織学的検査を腎臓、肝臓、脾臓、心筋及び膵臓で行ったところ、腎臓に重大な障害が起こっていることがわかった。腎障害は主に皮質部分に局在していた。リンパ球及び好中球顆粒球によって誘発された粒状物質の沈殿が梗塞を引き起こし、梗塞の境界に多くの間葉動脈の壁における壁内浮腫及び壊死を起こしていた。非壊死領域のほとんどの糸球体は正常であったが、少数のボーマン囊の上皮が腫脹していた。また、皮質及び髄質の非壊死部位にもわずかな炎症細胞が存在していた。

b. L-酒石酸ナトリウム

Chadwick らの 1978 年の報告では [51]、1.5 mmol / kg の L-酒石酸ナトリウムをヒトに経口投与した場合、尿の pH が上昇し、尿中水素イオンの減少から L-酒石酸ナトリウム用量の平均 84% が代謝されることが示された。このとき、クレアチニンクリアランスまたは蛋白尿に基づく腎障害または毒性の痕跡は見出されなかった。

c. 酒石酸ナトリウム（光学異性不明）

FAS 5 [48]では、酒石酸ナトリウムを毎日 10~20g を下剤として医療患者に処方されている例で、この中で行われた臨床試験では、酒石酸ナトリウム 10g（平均 11.8g）を 26 人の患者に処方したところ、66%の被験者に緩下反応がみられ、副作用として 1.6%の被験者に吐き気や嘔吐が、また 2.1%の被験者では腹痛がみられた。

1943 年の Gold と Zahm の実験で緩下剤の比較試験が行われている [116]。有機酸塩 5 種類を被験物質として 256 人の患者（数ヶ月から数年間定期的な外来の患者）に 1 から 2 週間分をそれぞれ散剤（経口投与、各 10 g）で提供した。その結果、脱落例が多く最終的には 140 人の男女（23 -76 歳、平均 56.6 歳）を対象として解析をしている。酒石酸ナトリウム投与では、服用被験者の 65.6%（26/43 例）に緩下剤様の反応が見られ、その投与量は一日用量で平均 11.8 g であった。

d. 酒石酸カリウムナトリウム（光学異性不明）

ECHA の毒性試験データでは [117]、7 名の成人に酒石酸カリウムナトリウムを経口投与した後、酒石酸塩による腎臓疾患による影響を調べるために尿検査を行った。患者には 5 g の単回投与、または 3 日間隔で 3~5 g の反復投与が行われた。別のグループには、8 日間毎日 3~5 g、または 8 日間 1 日おきに 3~5 g 服用の後、16 日間服用しない期間を設け、朝と夕に 3 g の投与量でさらに 9 日間投与を行った。その結果、酒石酸の投与による副作用は報告されず、酒石酸カリウムナトリウムに起因して腎疾患が引き起こされる、もしくは悪化するということの証明はできなかった。

（イ） リンゴ酸塩類

a. リンゴ酸カルシウム（光学異性体不明）

EFSA の 2018 年の報告 [41]では 15 名のヒトに 4 種類のカルシウムサプリメント（リンゴ酸カルシウム、アミノ酸カルシウムキレート（18%）、アミノ酸カルシウムキレート（26%）、炭酸カルシウム）を二重盲検クロスオーバー試験において 4 つの異なるサプリメントのうち 1 つから 900mg のカルシウムを投与した。サプリメントを投与して、0、0.5、2、4、6、9、12 時間後に血液サンプルを各人からそれぞれ採取した。これらの値からカルシウムの生物学的利用と忍容性を調べた。その結果、リンゴ酸カルシウムを摂取した場合、4 時間後には血清カ

ルシウム濃度の上昇がみられたがその他のカルシウムサプリメントを摂取したときと有意な差はなく、報告中ではリンゴ酸カルシウムが4つの違いについての差は現状の結果では認められないとある。リンゴ酸カルシウムの摂取後のカルシウム血清レベルの増加は、化合物が生理学的条件下で解離し、カルシウム及びリンゴ酸のその後の吸収を可能にすることを示唆する。

b. リンゴ酸（光学異性体不明）

FAO/WHO の 1966 年のレポートで引用されている Hartman と Hillig の 1934 年の報告によると [118]、リンゴ酸を含む食品は副作用なしに何世紀も人間によって消費されている。ヒトが野菜、果物及びそれらのジュースから摂取するリンゴ酸は、1.5～3g /日のオーダーであると計算されている。

Fiume の 2001 年の報告 [100]では、アトピー性皮膚炎の患者 34 例を試験し、リンゴ酸（及びクエン酸）を含む食品に対する感受性を調べた。最初に患者は、10% リンゴ酸（及びクエン酸）水溶液を塗布したパッチを 48 時間貼付するパッチ試験を行った。その後 2 週間、リンゴ酸（及びクエン酸）酸を使用した加工食品を避け、3 週間目にはリンゴ酸（及びクエン酸）を多く含む食事を与えた。その結果、18 人の患者がリンゴ酸とクエン酸の両方に反応し、6 人の患者がリンゴ酸だけに反応した。反応には即時反応（季節性アレルギー性鼻炎及び蕁麻疹）及び遅延反応（接触性皮膚炎）の両方が存在した。これらの反応はパッチテストと食事と同様であった。このことからリンゴ酸におけるパッチ試験がヒトにおいて有効であることが示された。

Van Scott と Yu の 1974 年の報告による [119]と魚鱗癬皮膚病の皮膚症状を起こしている 14 人のヒト（男性 11 人、女性 3 人）に 5% リンゴ酸を含有するプレーンペトロラタムの親水性軟膏を 2 週間、1 日 2 回適用した。その結果、重度の角質化を起こしている部位を除いてすべての患者で症状の改善がもたらされた。

Gómez-Moreno G らの 2013 年の報告によると [120]、抗高血圧薬の使用による口腔内の乾燥症状の改善に 1 % のリンゴ酸を含むスプレーを処理することで緩和されるかを調べた。無作為化二重盲検臨床試験によって 45 人の高血圧の薬物誘発性口腔乾燥症の患者で実施された。25 人は 1 % のリンゴ酸を 20 人はプラセボ投与を 2 週間行った。その結果、口腔乾燥質問票（DMQ）で評価を行うとリンゴ酸スプレーを行った患者の方が有意に口腔内の乾燥が防がれていた。

Russell らの 1995 年の報告によると [121]、原発性十二指腸炎症候群の患者の協力を経て、リンゴ酸 200mg（マグネシウム 50mg）の有効性と安全性試験を実施した。試験の第 1 段階では、24 人の患者に 4 週間にわたって 3 錠の錠剤を与えた。第 2 段階では、16 人の患者が 3 錠の錠剤で開始し、3-5 日ごとに用量を増加させた。

平均用量は1日当たり8.8錠(50kgの人においては、6錠の摂取は24mgのリンゴ酸/kg体重に相当する)であった。第1段階では1人の試験患者が下痢を訴え、その他1人が吐き気を、1人が消化不良を訴えた。(プラセボ群でも、2人の患者が下痢を、1人が消化不良を訴えた)。第2段階では5人の試験患者が吐き気、消化不良、パニック発作、めまいを訴えた。

4. 一日摂取量の推計等

炭酸カルシウムは2017年の6月の規格基準の一部改正によって、その使用にあたっては『適切な製造工程管理を行い、食品中で目的とする効果を得るうえで必要な量を超えないものとする。』と記載されている[122]。本改正案ではこの文言に関しては改正を行うことはないので2016年の炭酸カルシウム規格基準改正要請書の1日の摂取量を引用する[123]。これによれば推定摂取量はカルシウムとして111.37 mg/人/日となっている。

L-酒石酸は天然にも存在しており、添加物と天然成分両方の観点から1日の摂取量を換算する必要がある。1995年の辻らの報告によると[131]、天然にも存在する化学的合成食品添加物49種について日本人1人当たりの摂取量を春夏期に購入した加工食品及び生鮮食品中の残留量を測定して求めた。その結果、日本人の1日の酒石酸の摂取量は52.5 mg/日と換算されている。同様にリンゴ酸の1日の摂取量は757.7 mg/日と換算されている。この報告による摂取量は天然成分も含むため、ほとんどがL-体の酒石酸やリンゴ酸だと考えられるが日本人の食品添加物ではDL-酒石酸、DL-リンゴ酸やその塩類が認可されているので純粋なL-体のみの摂取量ではない。

カルシウムの摂取量については、平成29年の国民健康・栄養調査報告によれば、20歳以上の男性で510 mg/人/日、20歳以上の女性で508 mg/人/日、20歳以上の男女で509 mg/人/日、国民全体では514 mg/人/日であるとされている[124]。

「日本人の食事摂取基準(2020年版)」[30]によるとカルシウムの推奨量は男性と女性、年齢別に表13のように設定されている。カルシウムの過剰摂取によって起こる障害として高カルシウム血症、高カルシウム尿症、軟組織の石灰化、泌尿器系結石、前立腺がん、鉄や亜鉛の吸収障害、便秘などが挙げられる。障害発現量を3,000 mgとし、耐容上限量は成人・高齢者で2,500 mgとした。日本人の通常の食品からの摂取でこの値を超えることはまれであるが、サプリメントなどを使用する場合に注意すべき値である。

なお、本概要書での摂取量の推計に用いるために使用する原子量は厚生労働省「第9版食品添加物公定書に記載している値を使用する[44]。

a. ワインに添加した酒石酸リンゴ酸カルシウム複塩の挙動

有効性に関する知見の項目で前述したように、酒石酸リンゴ酸カルシウム複塩（T-2Ca-M）は有機酸塩の種晶として使用されることを前提としているので、結晶沈殿しろ過等で食品中から除去されと考えられる。仮に食品中に残存移行したとしても、食品（ワイン）中ではそれぞれの構成物質（L-酒石酸、L-リンゴ酸、カルシウムイオン）に解離すると考えられる [5]。

表 13 要因加算法によって求めたカルシウムの推定平均必要量と推奨量

年齢 (歳)	参照 体重 (kg)	(A) 体 内蓄積 量 (mg/日)	(B) 尿中 排泄量 (mg/日)	(C) 経皮的 損失量 (mg/日)	(A) + (B) + (C) (mg/日)	見かけの 吸収率 (%)	推定 平均 必要量 (mg/日)	推奨量 (mg/日)
男 性								
1～2	11.5	99	37	6	143	40	357	428
3～5	16.5	114	49	8	171	35	489	587
6～7	22.2	99	61	10	171	35	487	585
8～9	28.0	103	73	12	188	35	538	645
10～11	35.6	134	87	15	236	40	590	708
12～14	49.0	242	111	19	372	45	826	991
15～17	59.7	151	129	21	301	45	670	804
18～29	63.2	38	135	22	195	30	648	778
30～49	68.5	0	143	24	167	30	557	668
50～69	65.3	0	138	23	161	27	596	716
70 以上	60.0	0	129	21	150	25	601	722
女 性								
1～2	11.0	96	36	6	138	40	346	415
3～5	16.1	99	48	8	155	35	444	532
6～7	21.9	86	61	10	157	35	448	538
8～9	27.4	135	72	12	219	35	625	750
10～11	36.3	171	89	15	275	45	610	732
12～14	47.5	178	109	18	305	45	677	812
15～17	51.9	89	116	19	224	40	561	673
18～29	50.0	33	113	19	165	30	550	660
30～49	53.1	0	118	20	138	25	552	662
50～69	53.0	0	118	20	138	25	552	662
70 以上	49.5	0	112	19	131	25	524	629

尿中排泄量：参照体重 (kg)^{0.75} × 6 mg/日

経皮的損失量：尿中排泄量の約 1/6

b. わが国における除酸剤の使用量に複塩法での除酸剤を置き換えた場合

現在、我が国ではワインの除酸において炭酸カルシウムが主に使われている [125]。規格基準改正に伴い、L-酒石酸・L-リンゴ酸カルシウム複塩含有炭酸カルシウムは炭酸カルシウムに代替されるものであり、除酸目的の炭酸カルシウム使用量に変更はない。表 14 は山梨県ワイン酒造組合が作成した山梨県ワイン製造マニュアル（2016 年版）より引用している。ここで使用されている量は北米で最大の発行部数を誇る Wine Business Monthly の Web 上の使用量とほぼ同量であり、海外で標準的に行われている除酸に使用される量と大きく異なる [132]。これによると炭酸カルシウムの使用量は酸度と pH によって異なるが 67～234 g/hl である。これを Acidex に置き換えると酒石酸リンゴ酸カルシウム複塩（T-2Ca-M）は 1/100～2/100 の 0.67～4.68 g/hL が使用されと考えられる。また、複塩

法による酒石酸リンゴ酸カルシウム複塩を含む炭酸カルシウムの最高容量は 234g/hL、すなわち 2,340mg/L とする。

表 14

果汁の総酸	pH	除酸	炭酸カルシウム所要量
g/L		g/L	g/hL
10 以下	3.3 以上	0	—
10－12	3.2－3.3	1－1.5	67－100
12－14	3.1－3.2	1.5－2.5	100－167
14 以上	3.1 以下	2.5－3.5	167－234

* 酸度は酒石酸換算で計算している。

c. 対象商品（ワイン）での含有量

食品中の食品添加物の分析法の項目で前述したように本品は、除酸操作時に種晶として少量使用され、結晶沈殿し、ろ過等により除去される。極めて少量が使用食品中に残存した場合は、構成塩（L－酒石酸カルシウム、L－リンゴ酸カルシウム）またはその関連イオン（カルシウム及び酒石酸、リンゴ酸とこれらに関連する分子種）として解離する [5]。これらの構成成分は全てブドウ果汁やワインの主要な常在成分で添加された成分と峻別して分析することは困難であると考えられる。

また、さまざまなブドウ品種の果汁を複塩法で除酸してから作成したワインと除酸を行わずにワインを作成した場合のワインの酒石酸、リンゴ酸、カルシウムの濃度を測定したものを表 15 に記す [46]。記載のある 4 品種すべてにおいて未処理の物よりも酒石酸とリンゴ酸の濃度が下がっている。このことは除酸剤として使用した複塩によって酒石酸とリンゴ酸は取り除かれ、添加物由来の酒石酸とリンゴ酸によって含有量が増えることはないことが示している。カルシウムに関しては 4 品種すべてにおいて含有量が複塩法を行ったワインの方が高くなっている。しかし、これは現在わが国で行われている炭酸カルシウムを使用した除酸法でも起こる現象である。同様の果汁に炭酸カルシウム法による除酸を行ったワインの結果も表 15 に合わせて記す [46]。表 15 を見ると White Riesling のみが複塩法で処理したワインのカルシウム含有量が炭酸カルシウム法で処理したワインよりも多くなっている。しかし、その差は微量で複塩法の方が炭酸カルシウム法よりも 3 ppm 多くなる。さらに複塩法処理でのカルシウム含有量は 92ppm で Chardonnay に炭酸カルシウム法で処理を行った時のカルシウム含有量は 144ppm であることから特段に高いカルシウム含有量でないことが示された。

表 15

品種	除酸法	酒石酸 (%)	リンゴ酸 (%)	カルシウム (ppm)
Chardonnay	無処理	0.27	0.46	48
	複塩法	0.15	0.42	60

	炭酸カルシウム法	0.13	0.46	144
Chenin blanc	無処理	0.36	0.56	50
	複塩法	0.25	0.53	125
	炭酸カルシウム法	0.13	0.55	138
White Riesling	無処理	0.52	0.34	60
	複塩法	0.28	0.3	92
	炭酸カルシウム法	0.14	0.33	89
Zinfandel	無処理	0.31	0.45	78
	複塩法	0.2	0.41	107
	炭酸カルシウム法	0.08	0.4	147

d. 対象商品由来の摂取量

ワインの平均的な 1 人一日飲酒量は（独法）国立健康・栄養研究所による平成 22 年度食品摂取頻度・摂取量調査報告 [126]において、20 歳以上 赤ワイン 1.47 g; 白ワイン 0.73 g; ロゼワイン 0.03 g; 合計 2.23 g(1 年間で、814 g (750 mL 入り 1 瓶強)に相当する。)と報告されている。単純にこの量に複塩法で使用される酒石酸リンゴ酸カルシウム複塩を含む炭酸カルシウムの最高容量をかけた場合下記の式となる。

炭酸カルシウム

$$(2.23 / 1000) \text{ L} \times 2,340 \text{ mg/L} = 5.2182 \text{ mg / 日}$$

これを食品安全委員会が定める食品健康影響評価に用いる平均体重である 55.1 kg で割ることで下記の mg /kg 体重/日を推計した [103]。

炭酸カルシウム

$$5.2182 \text{ mg / 日} \div 55.1 \text{ kg} = 0.095 \text{ mg / kg 体重/日}$$

カルシウム換算では 0.038 mg /kg 体重/日 = 2.11mg/人/日これは成人女性の推奨値のおよそ 0.35%、成人男性の推奨値の 0.28%である。

さらに複塩法によって含まれる酒石酸リンゴ酸カルシウム複塩は炭酸カルシウムの 1 ～ 2 % であり計算すると下記の量の摂取が考えられる。

酒石酸リンゴ酸カルシウム複塩

$$0.095 \text{ mg / kg 体重/日} \div 100 \times 2 = 0.0019 \text{ mg / kg 体重/日}$$

この中で ADI の設定されている酒石酸の量は 0.00078 mg /kg 体重/日となり、JECFA の ADI 30 mg/kg 体重/日の 100 分の 1 以下の摂取量の 0.0026% となる。リンゴ酸の量は 0.0007 mg /kg 体重/日で 1 日の摂取量は 0.039mg となり、ADI の 0.0013～0.0026% と考えられる。

また、酒税課税実績からわが国のワイン摂取量を推計した。ワインはブドウ又はブドウ果汁を発酵させたアルコール飲料であるが、国内においては酒税法上、果実酒（果実を原料として発酵させたもの（アルコール分 20 度未満）、若しくは、果実、糖類を原料として発酵させたもの（アルコール分 15 度未満））と、甘味果実酒（果実酒に糖類、ブランデー、香味成分などを混和したもの、ポートワイン、シェリー、ベルモット、サングリアなど）の 2 種類に大別される（以下、果実酒と甘味果実酒を合わせて果実酒類と総称する。）。果実酒にはブドウのほかリンゴ、ナシなどの果実を原料とするものもあるが、ブドウを原料としたものが主である。甘味果実酒は、製法が異なる多品種のものが含まれるが、果実酒に比べ消費量は果実酒の 2～3%程度である。果実酒の国内消費量は近年増加、また、国内生産量も少しずつ増加してきたものの、消費量の約 7 割は外国からの輸入品である [127]。国税庁は、酒税法に基づき酒類の課税実績及び販売（消費）数量を調査・公表している。直近の平成 27 年分販売数量の資料に報告されている成人 1 人当たりの果実酒及び甘味果実酒の販売数量の全国総計から算定された成人 1 人、年間販売（消費）量は以下の通りである [128]。若干過大にはなるが、この数量をもってワインの年間飲酒量と見なすこととする。

果実酒 3.6 L; 甘味果実酒 0.1 L 果実酒類合計 3.7 L (成人人口 103,845 千人)

したがって、果実酒類由来の複塩法による炭酸カルシウムの平均 1 人一日摂取量は、推計した使用基準案最大値より、下記の通りに推計した。

果実酒類 1 人一日飲酒量 10.1 mL ($3700 \div 365 = 10.1$)

複塩法による炭酸カルシウム摂取量 23.63 mg /人/日 ($10.1 \times 2340 \times 10^{-3}$)

食品安全委員会が定める食品健康影響評価に用いる平均体重である 55.1 kg で割ることで mg /kg 体重/日を推計すると下記の値となる。

複塩法による炭酸カルシウム摂取量 0.43 mg /kg 体重/日 ($23.63 \text{ mg /人/日} \div 55.1 \text{ kg}$)

カルシウム換算では $0.149 \text{ mg /kg 体重/日} = 8.21 \text{ mg /人/日}$ で、これは成人女性の推奨値のおよそ 1.37 %、成人男性の推奨値の 1.09 % である。

さらに複塩法によって含まれる酒石酸リンゴ酸カルシウム複塩は炭酸カルシウムの 1 ～ 2 % であり最大量の 2 % として計算すると下記の量の摂取が考えられる。

酒石酸リンゴ酸カルシウム複塩

$0.43 \text{ mg /kg 体重/日} \div 100 \times 2 = 0.0086 \text{ mg /kg 体重/日}$

この中で ADI の設定されている酒石酸の量は $0.0035 \text{ mg /kg 体重/日}$ となり、JECFA の ADI 30 mg /kg 体重/日 の 0.012 % となる。また、リンゴ酸の量は $0.0032 \text{ mg /kg 体重/日}$ で ADI に換算すると 0.18 mg となる。これは 1 日のヒトの摂取量の 0.006 ～ 0.01 % となる。

国民健康・栄養調査に基づくワイン飲酒量は、酒税課税実績に基づく果実酒類（の消費量推定値よりも多い。そこで過小評価は避けるべく、酒税課税実績に基づく果実酒類の消費量推定値に基づく複塩法による炭酸カルシウムの摂取量を平均的な摂取量と見なすことにする。

複塩法によって処理されたワインでのカルシウム、酒石酸塩、リンゴ酸の含有量はどれも安全性を懸念する値ではなく、ワインを対象とした L(+)-酒石酸・L(-)-リンゴ酸カルシウム複塩を含む炭酸カルシウムの食品添加物使用は安全性上特段の問題はないと考えられる。

IV. 海外添加物取り扱い社

- ・ BROUWLAND Brouwland bvba BE 0412.461.618 Korpelsesteenweg 86 3581 Beverlo Belgium [129]

V. 参考文献

[1]	Salgues M., Heitz F., Bidan P, “Réflexions sur la cristallisation du tartre dans les vins.,” Bull. de l’OIV., 613, P.229-238, 1982.
[2]	Ronald S. Jackspon, Wine Science Principal and Application, Academic Press, 2014.
[3]	日本醸造協会, 新版・醸造成分一覧表, 1977.
[4]	P. Ribéreau-Gayon, D. Dubourdieu, B. Donèche, A. Lonvoud, “Traité d’œnologie,” Tom 2, DUNOD, 2016.
[5]	Würdig G, “Méthodes nouvelles de deacidification des vins,” Bull de l’OIV., 549, P.874-884, 1976.
[6]	Jedediah T. S., Ralph E. K, “Deacidification of musts from the western United State by the calcium double salt precipitation process,” Am. J. Enol. Vitic. 29, (3), P.153-160, 1978.
[7]	Cole J., Boulton R, “A study of calcium salt precipitation in solution of malic and tartaric acid,” Vitis, 28, 177-190, 1989.
[8]	Commission Regulation (EC), “No 606/2009 of 10 July 2009 , laying down certain detailed rules for implementing Council Regulations(EC) No 479/2008 as regards the categories of grapevine products, oenological practices and the applicable restrictions. Annex,” [オンライン]. Available: http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?qid=1517829531968&uri=CELEX:32009R0606 http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?qid=1520350684131&uri=CELEX:02009R0606-20171104 .
[9]	“炭酸カルシウム 471-34-1-Chemical book,” [オンライン]. Available: https://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty_JP_CB2154602.htm .
[10]	“CALCIUM CARBONATE Evaluations of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA),” [オンライン]. Available: http://apps.who.int/food-additives-contaminants-jecfa-database/chemical.aspx?chemID=457 .
[11]	社団法人 日本輸入食品安全推進協会, 新訂 食品添加物インデックス-和名・英名・E No.検索便覧, 中央法規出版, 2009.
[12]	Ordonneau C, “De l’acidité des raisins verts et de la precipitation de l’acide malique.,” Bull. Soc. Chim,” France, Sér. 3, 6, 261-264Ref. to Vitis 28, 191-197 (1989), 1891.
[13]	Münz Th., Würdig G., Kielhöfer E, “Deacidification of grape must, wine and fruit juices,” Ger. 1, 282, 580(C1. C12g) Ref. to 葡萄酒技術研究会 EA-68 (1969), Double Salt., 1968.
[14]	Jedediah T. S., Ralph E. K, “Deacidification of high acid california wines by calcium double-salt precipitation,” Am. J. Enol. Vitic. 30, (3), P.227-231, 1979.
[15]	CODEX, “GENERAL STANDARD FOR FOOD ADDITIVES CODEX STAN 192-1995 Adopted in 1995. Revision 1997, 1999, 2001, 2003, 2004, 2005, 2006, 2007, 2008, 2009, 2010, 2011, 2012, 2013, 2014, 2015, 2016, 2017, 2018,” 2018. [オンライン]. Available: http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/s

	h-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCODEX%2B2019-1995%252FCXS_192e.pdf .
[16]	Official Journal of the European Union, “REGULATION (EU) No 1308/2013 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL,” 17 12 2013. [オンライン]. Available: https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?qid=1535696899857&uri=CELEX:32013R1308 .
[17]	OIV, “Resolution : Chemical de-acidification(6/79 wine), De-acidification(6/79 wine), Chemicalde-acidification(6/79 must), De-acidification(Oeno 442-2012 must),” [オンライン]. Available: http://www.oiv.int/en/search/6--47--79/page/1 .
[18]	O.I.V., “INTERNATIONAL CENOLOGICAL CODEX Calcium carbonate COEI-1-CALCAR,” 2007. [オンライン]. Available: http://www.oiv.int/public/medias/4056/e-coei-1-calcar.pdf .
[19]	OIV, “List of OIV admitted compounds and their status as additives or processing aids and the use levels or residual limits,” [オンライン]. Available: http://www.oiv.int/public/medias/5523/list-of-oiv-admitted-compounds.pdf .
[20]	Regulation (EC), “No. 1333/2008 of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on food Additives.,” [オンライン]. Available: http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32008R1333&rid=1 http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?qid=1517806056389&uri=CELEX:02008R1333-20170818 .
[21]	Commission Regulation(E U), “No. 1129/2011,” 11 Novenber 2011. [オンライン]. Available: http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32011R1129&rid=1 .
[22]	Office of the Federal Register, “Electronic Code of Federal Regulations (CFR TITLE 21— Food and Drugs),” 23 11 2018. [オンライン]. Available: https://www.ecfr.gov/cgi-bin/text-idx?SID=3ee286332416f26a91d9e6d786a604ab&mc=true&tpl=/ecfrbrowse/Title21/21tab_02.tpl .
[23]	Office of the Federal Register), “Electronic Code of Federal Regulations (CFR Title 27: Alcohol, Tobacco Products and Firearms Part 24—Wine),” 23 11 2018. [オンライン]. Available: https://www.ecfr.gov/cgi-bin/text-idx?c=ecfr;sid=33fc0c0194b58b6fe95208945b5c637a;rgn=div5;view=text;node=27%3A1.0.1.1.19;idno=27;cc=ecfr#se27.1.24_1250 .
[24]	公益財団法人 日本食品化学研究振興財団, “指定添加物リスト (規則別表第 1) 令和元年 6 月 6 日改正,” [オンライン]. Available: https://www.ffcr.or.jp/webupload/28b06426abc629ef7f4c8a453f3dbd5759187542.pdf .
[25]	財務省, “酒税法施行規則,” 1 4 2018. [オンライン]. Available: https://elaws.e-gov.go.jp/search/elawsSearch/elaws_search/lsg0500/detail?lawId=337M50000040026_20180401_430M60000040019&openerCode=1 .
[26]	国税庁, “酒類保存のために酒類に混和することができる物品の指定告示の制定について,” 23

	4 1997. [オンライン]. Available: https://www.nta.go.jp/law/tsutatsu/kobetsu/kansetsu/970423/01.htm .
[27]	食品安全委員会, “食品安全総合情報システム 評価書一覧 添加物,” [オンライン]. Available: http://www.fsc.go.jp/fsciis/evaluationDocument/list?itemCategory=000 .
[28]	食品安全委員会, “添加物評価書、酢酸カルシウム及び酸化カルシウム,” 2013. [オンライン]. Available: http://www.fsc.go.jp/fsciis/evaluationDocument/show/kya20110426022 .
[29]	食品安全委員会, “添加物評価書、炭酸カルシウム,” 2016. [オンライン]. Available: http://www.fsc.go.jp/fsciis/evaluationDocument/show/kya20160304520 .
[30]	厚生労働省, “日本人の食事摂取基準 (2020 年版),” [オンライン]. Available: https://www.mhlw.go.jp/content/10901000/000491509.pdf .
[31]	WHO, “NMRS 40 / TSR 339 Specifications for the identity and purity of food additives and their toxicological evaluation: some antimicrobials, antioxidants, emulsifiers, stabilizers, flour-treatment agents, acids, and bases,” 13-20 12 1965. [オンライン]. Available: http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/39853/WHO_TRS_339.pdf;jsessionid=93766753734ACC85EA3C0A220AF8D8B6?sequence=1 .
[32]	WHO, “JECFA Evaluation of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives-CALCIUM L(+)-TARTRATE,” 1983. [オンライン]. Available: http://apps.who.int/food-additives-contaminants-jecfa-database/chemical.aspx?chemID=1400 .
[33]	FAO and WHO, “calcium dl-malate,” 2006. [オンライン]. Available: http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/jecfa_additives/docs/monograph3/additive-089.pdf .
[34]	WHO, “TRS 648 Evaluation of certain food additives,” 1980. [オンライン]. Available: http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/41403/WHO_TRS_648.pdf;jsessionid=C6C3F8A8EF93DB73BDAAF2766C1FA35E?sequence=1 .
[35]	WHO, “TSR 445/NMRS46 Specifications for the identity and purity of food additives and their toxicological evaluation,” 1969. [オンライン]. Available: http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/40773/WHO_TRS_445.pdf?sequence=1 .
[36]	WHO, “WHO TRS733,” 1986.
[37]	JECFA, “Evaluations-(-)-MALIC ACID,” JECFA, 01 11 2012. [オンライン]. Available: http://www.inchem.org/documents/jecfa/jeceval/jec_1312.htm .
[38]	EFSA, “EFSA Scientific Outputs at a glance,” 2018. [オンライン]. Available: http://www.efsa.europa.eu/en/publications .
[39]	EFSA, “Calcium citrate malate as source for calcium for use in foods for Particular Nutritional Uses and in foods for the general population (including food supplements),” 2007. [オンライン]. Available: https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2007.612 .
[40]	EFSA, “Calcium, Magnesium and Zinc Malate added for nutritional purposes to food supplements as sources for Calcium, Magnesium and Zinc and to Calcium Malate added for nutritional purposes to foods for particular nutritional uses and foods,” 2006. [オンライン].

	Available: https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2006.391a .
[41]	EFSA, “Evaluation of di-calcium malate, used as a novel food ingredient and as a source of calcium in foods for the general population, food supplements, total diet replacement for weight control and food for special medical purposes,” 2018. [オンライン]. Available: https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2018.5291 .
[42]	EFSA, “Scientific Opinion on re-evaluation of calcium carbonate (E 170) as a food additive,” 2011. [オンライン]. Available: https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2011.2318 .
[43]	EFSA, “Call for technical and toxicological data on calcium carbonate (E 170) for uses as food additive in foods for all population groups including infants below 16 weeks of age,” 10 10 2018. [オンライン]. Available: http://www.efsa.europa.eu/en/consultations/call/181010-1 .
[44]	厚生労働省, “第9版食品添加物公定書,” [オンライン]. Available: http://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/shokuhin/syokuten/kouteisho9e.html .
[45]	Rebele H, “Verfahren zur beliebig weitgehenden Entsäuerung von Traubenmosten,” Weinbl. 64, 283-287, 718-725. Ref. to 葡萄酒技術研究会 EA. 71, 5166, 415.1, (1970), 1970.
[46]	J. R. Munyon and C. W. Nagel, “Comparison of Methods of Deacidification of Musts and Wines,” Am J Enol Vitic. January 28: 79-87, 1977.
[47]	Tobita K, Inada M, Sato A, Sudoh K, Sato H, “Estimation of gastric pH in cynomolgus monkeys, rats, and dogs using [(13)C]-calcium carbonate breath test,” Dig Liver Dis., 2016.
[48]	“FAS 5/NMRS 53A-JECFA 17/512,” [オンライン]. Available: http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v05je93.htm .
[49]	“FAS 12-JECFA 21/19,” [オンライン]. Available: http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v12je03.htm .
[50]	Down WH, Sacharin RM, Chasseaud LF, Kirkpatrick D, Franklin ER., “Renal and bone uptake of tartaric acid in rats: comparison of L(+) and DL-Forms,” Toxicology., 1977.
[51]	Chadwick VS, et al., “The metabolism of tartrate in man and the rat,” 1978. [オンライン]. Available: http://www.clinsci.org/content/54/3/273 .
[52]	Tobacco Documents Library, “SAFETY ASSESSMENT FOR TARTARIC ACID, CAS NUMBER 82-69-4,” 1996. [オンライン]. Available: https://www.industrydocumentslibrary.ucsf.edu/tobacco/docs/ftcv0071 .
[53]	L. J. Gry J, “Metabolism of L(+)-and D(-)-tartaric acids in different animal species. Archives of Toxicology,” Supplement 1: 351-353., 1978.
[54]	Charles W. Bauer Robert Whiton Pearson, “A Comparative Study of the Metabolism in the Human Body of Some Isomers of Tartaric Acid,” J Am Pharm Assoc Am Pharm Assoc. Oct;46(10):575-8., 1957.
[55]	B. C. B. J. Lord RS, “Significance of urinary tartaric acid,” Clinical Chemistry 51(3): 672-673, 2005.
[56]	V.-Q. A. S.-G. J. E. R. L.-R. R. Regueiro J, “Urinary tartaric acid as a potential biomarker for

	the dietary assessment of moderate wine consumption: a randomised controlled trial.,” British Journal of Nutrition 111, 2014.
[57]	M. M. B. O. L. F. Petrarulo M, “Ion-Chromatographic Determination of L-Tartrate in Urine Samples.,” Clin Chem 37(1): 90-93, 1991.
[58]	Sabboh H, Coxam V, Horcajada MN, Rémésy C, Demigné C., “Effects of plant food potassium salts (citrate, galacturonate or tartrate) on acid-base status and digestive fermentations in rats.,” Br J Nutr;98(1):72-7, 2007.
[59]	European Commission (EC),, “Food-science and techniques. First series of food additives of various technological functions. Reports of the Scientific Committee for Food (SCF), 25 th series.,” 1991. [オンライン]. Available: http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/reports/scf_reports_25.pdf .
[60]	CVMP, “EMA – malic acid,” 1997. [オンライン]. Available: https://www.ema.europa.eu/en/documents/mrl-report/malic-acid-summary-report-committee-veterinary-medicinal-products_en.pdf .
[61]	Daniel JW, “The metabolism of L- and DL-malic acids by rats.,” Food Cosmet Toxicol. (2):103-6., 1969.
[62]	M. B. C. N. S. F. H. P. Weaver CM1, “Absorption of calcium fumarate salts is equivalent to other calcium salts when measured in the rat model.,” J Agric Food Chem, 2002.
[63]	上田 春美、杉山 清、小野 恵美子、竹田 秀一, “リンゴ酸ナトリウムのシスプラチン毒性軽減効果-Pt 及びリンゴ酸ナトリウムの体内動態—,” 和漢医薬学会誌, 1995.
[64]	Jaji AZ, Zakaria ZAB, Mahmud R, Loqman MY, Hezmee MNM, Abba Y, Isa T, Mahmood SK, “Safety assessments of subcutaneous doses of aragonite calcium carbonate nanocrystals in rats.,” J Nanopart Res., 2017.
[65]	Mohamed NE, “The Role of Calcium in Ameliorating the Oxidative Stress of Fluoride in Rats.,” Biol Trace Elem Res. , 2016.
[66]	Senchukova M, Tomchuk O, Shurygina E, Letuta S, Alidzhanov E, Nikiyan H, Razdobreev D, “Calcium Carbonate Nanoparticles Can Activate the Epithelial-Mesenchymal Transition in an Experimental Gastric Cancer Model.,” Biomedicines., 2019.
[67]	Javvaji K, Begum G, Deshpande SS, Rana RK, Misra S., “Potential of the Bioinspired CaCO ₃ Microspheres Loaded with Tetracycline in Inducing Differential Cytotoxic Effects toward Noncancerous and Cancer Cells: A Cytogenetic Toxicity Assessment Using CHO Cells in Vitro.,” Chem Res Toxicol., 2018.
[68]	ECHA, “(+)-tartaric acid-Acute Toxicity: oral,” [オンライン]. Available: https://echa.europa.eu/registration-dossier/-/registered-dossier/15126/7/3/2 .
[69]	ECHA, “Dipotassium tartrate-Acute Toxicity: oral,” [オンライン]. Available: https://echa.europa.eu/registration-dossier/-/registered-dossier/25733/7/3/2 .
[70]	SOURKES TL, KOPPANYI T., “Correlation between the acute toxicity and the rate of elimination of tartaric acid and certain of its esters.,” J Am Pharm Assoc Am Pharm Assoc. 39(5):275-6., 1950.

[71]	Locke, A., Locke, R. B., Schlesinger, H. and Carr, H., "The Comparative Toxicity and Cathartic Efficiency of Disodium Tartrate and Fumarate, and Magnesium Fumarate, for the Mouse and Rabbit," J. Amer. Pharm. Ass. Sci. Ed., 31, 12, 1942.
[72]	ECHA, "Calcium tartrate-Acute Toxicity: oral," [オンライン]. Available: https://echa.europa.eu/registration-dossier/-/registered-dossier/19371/7/3/2 .
[73]	Underhill.P.F, Lenard.C.S,Gross.G.E, Jaleski.C.T, "Studies on the metabolism of tartrates II The behavior of tartrate in the organism of the Rabbit, Dog, Rat and guinea pig," 1931.
[74]	Stephen Krop, Harry Gold, "On the Toxicity of Hydroxyacetic Acid After Prolonged Administration: Comparison With Its Sodium Salt and Citric and Tartaric Acids," Journal of the American Pharmaceutical Association, Scientific Edition, 34, 86-89., 1945.
[75]	PACKMAN EW, ABBOTT DD, HARRISSON JW., "Comparative subacute toxicity for rabbits of citric, fumaric, and tartaric acids.," Toxicol Appl Pharmacol. Mar;5:163-7., 1962.
[76]	Lynch B, Emmen H, van Otterdijk F, Lau A., "Subchronic and reproductive/developmental (screening level) toxicity of complexation products of iron trichloride and sodium tartrate (FemTA).," J Food Sci. 78(9):T1476-85. doi: 10.1111/1750-3841.12172. , 2013.
[77]	AA., Fitzhugh OG and Nelson, "The comparative chronic toxicities of fumaric, tartaric, oxalic, and maleic acids.," J Am Pharm Assoc Am Pharm Assoc 1947; 36 (7): 217-219., 1947.
[78]	Hunter B, Batham P, Heywood R, Street AE, Prentice DE, "Monosodium L(+)-tartrate toxicity in two year dietary feeding to rats," Toxicology, 8: 263-274, 1977.
[79]	ECHA, "(+)-tartaric acid-Developmental toxicity / teratogenicity," [オンライン]. Available: https://echa.europa.eu/registration-dossier/-/registered-dossier/15126/7/9/3 .
[80]	ECHA, "Potassium sodium tartrate-Developmental toxicity / teratogenicity," [オンライン]. Available: https://echa.europa.eu/registration-dossier/-/registered-dossier/14183/7/9/3 .
[81]	D.W.Petersen G.P.Daston. J.L.Schardeinc, "Evaluation of the developmental toxicity of succinate tartrates in rats," 1989.
[82]	Ishidate M Jr, Sofuni T, Yoshikawa K, Hayashi M, Nohmi T, Sawada M, Matsuoka A., "Primary mutagenicity screening of food additives currently used in Japan.," Food Chem Toxicol.;22(8):623-36., 1984.
[83]	Hayashi M, Kishi M, Sofuni T, Ishidate M Jr., "Micronucleus tests in mice on 39 food additives and eight miscellaneous chemicals.," Food Chem Toxicol. 26(6):487-500., 1988.
[84]	Daisuke Yoshida and Hitoshi Okamoto, "Mutagenicity of the Pyrolysis Products of AmmoniumSalts," Agric. Biol. Chem., 46 (4), 1067-1068, 1982.
[85]	ECHA, "Potassium sodium tartrate-Genetic toxicity: in vitro," [オンライン]. Available: https://echa.europa.eu/registration-dossier/-/registered-dossier/14183/7/7/2 .
[86]	Prival MJ, Simmon VF, Mortelmans KE., "Bacterial mutagenicity testing of 49 food ingredients gives very few positive results.," Mutat Res.;260(4):321-9, 1991.
[87]	ECHA, "Calcium tartrate-Skin sensitisation," [オンライン]. Available: https://echa.europa.eu/registration-dossier/-/registered-dossier/19371/7/5/2 .
[88]	ECHA, "(+)-tartaric acid-Skin sensitisation," [オンライン]. Available:

	https://echa.europa.eu/registration-dossier/-/registered-dossier/15126/7/5/2 .
[89]	ECHA, “Diammonium tartrate-Skin sensitisation,” [オンライン]. Available: https://echa.europa.eu/registration-dossier/-/registered-dossier/22836/7/5/1 .
[90]	National Library of Medicine HSDB Database, “Hazardous Substances Databank Number: 1202,” 19 10 2015. [オンライン]. Available: https://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search/a?dbs+hsdb:@term+@DOCNO+1202 .
[91]	Becker LC, Bergfeld WF, Belsito DV, Hill RA, Klaassen CD, Liebler DC, Marks JG Jr, Shank RC, Slaga TJ, Snyder PW, Andersen FA, “Safety Assessment of Dialkyl Malates as Used in Cosmetics,,” Int J Toxicol. Jul-Aug;34(1 Suppl):5S-17S., 2012.
[92]	EFSA, “Evaluation of di-magnesium malate, used as a novel food ingredient and as a source of magnesium in foods for the general population, food supplements, total diet replacement for weight control and food for special medical purposes,” 15 5 2018. [オンライン]. Available: https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2018.5292 .
[93]	Carro MD, Ranilla MJ, Giráldez FJ, Mantecón AR., “Effects of malate on diet digestibility, microbial protein synthesis, plasma metabolites, and performance of growing lambs fed a high-concentrate diet,,” American Society of Animal Science., 2006.
[94]	Foley PA, Kenny DA, Callan JJ, Boland TM, O'Mara FP., “Effect of DL-malic acid supplementation on feed intake, methane emission, and rumen fermentation in beef cattle,,” J Anim Sci. , 2009.
[95]	Tsiloyiannis VK, Kyriakis SC, Vlemmas J, Sarris K., “The effect of organic acids on the control of porcine post-weaning diarrhoea,,” Research in Veterinary Science, 70, 287–293., 2001.
[96]	Kung J Jr, Huber JT, Krummrey JD, Allison L and Cook RM, “Influence of adding malic acid to dairy cattle rations on milk production, rumen volatile acids, digestibility and nitrogen utilisation,,” Journal of Dairy Science, 65, 1170–1174, 1982.
[97]	Wang C, Liu Q, Yang W, Dong Q, Yang X, He D, Dong K and Huang Y., “Effects of malic acid on feed intake, milk yield, milk components and metabolites in early lactation Holstein dairy cows,,” Livestock Science, 124, 182–188., 2009.
[98]	Foley PA, Kenny DA, Lovett DK, Callan JJ, Boland TM and O'Mara FP., “Effect of DL-malic acid supplementation on feed intake, methane emissions, and performance of lactating dairy cows at pasture,” Journal of Dairy Science, 92, 3258–3264, 2009.
[99]	EFSA, “Scientific Opinion on the safety and efficacy of malic acid and a mixture of sodium and calcium malate when used as technological additives for all animal species,” 2014.
[100]	Fiume MZ, Bergfeld WF, Belsito DV, Klaassen CD, Schroeter AL, Shank RC, Slaga TJ, Snyder PW, and Andersen FA, “Final Report on the Safety Assessment of Malic Acid and Sodium Malate,” Int J Toxicol:47-55, 2001.
[101]	日本チャールス・リバー株式会社, “CrI:CD(SD)【SD ラット長期モニタリングデータ】,” 日本チャールス・リバー株式会社, 2009.
[102]	Smith WP, “Comparative effectiveness of α -hydroxy acids on skin properties,,” International Journal of Cosmetic Science. ;18:75-83., 1996.

[103]	食品安全委員会, “食品健康影響評価に用いる平均体重の変更について,” 31 3 2014. [オンライン]. Available: https://www.fsc.go.jp/iinkai/heikintaijyu_260331.pdf .
[104]	Alyousif Z, Ford AL, Dahl WJ, “Calcium Supplementation Does Not Contribute to Constipation in Healthy Women.,” Can J Diet Pract Res., 2016.
[105]	Afshan S, Farah Musa AR, Echols V, Lerant AA, Fülöp T., “Persisting Hypocalcemia After Surgical Parathyroidectomy: The Differential Effectiveness of Calcium Citrate Versus Calcium Carbonate With Acid Suppression.,” Am J Med Sci, 2017.
[106]	Sakai S, Hien VTT, Tuyen LD, Duc HA, Masuda Y, Yamamoto S., “Effects of Eggshell Calcium Supplementation on Bone Mass in Postmenopausal Vietnamese Women.,” J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)., 2017.
[107]	Stoney B and Bagchi G, “Antacid abuse: a rare cause of severe hypercalcaemia.,” BMJ Case Rep. , 2017.
[108]	Wald R, Rabbat CG, Girard L, Garg AX, Tennankore K, Tyrwhitt J, Smyth A, Rathe-Skafel A, Gao P, Mazzetti A, Bosch J, Yan AT, Parfrey P, Manns BJ. Walsh M, “Two phosphAte taRgets in End-stage renal disease Trial (TARGET): A Randomized Controlled Trial.,” Clin J Am Soc Nephrol, 2017.
[109]	El-Nabarawi N, El-Wakd M, Salem M, “Atorvastatin, a double weapon in osteoporosis treatment: an experimental and clinical study.,” Drug Des Devel Ther., 2017.
[110]	Weinstein R, Haynes S, Zhao Y, Hickson E, Linden J, St Pierre P, Ducharme P, Sulmasy P, Graves M, Bailey JA, Welch L, Simard A, Vauthrin M, Greene M, “A liquid calcium+vitamin D3 supplement is effective prophylaxis against hypocalcemic toxicity during apheresis platelet donation.,” J Clin Apher., 2018.
[111]	Liang L, Yang J, Zeng L, Xie Z, Zhong Y, Ruan X, Dong M, Yang Z, Lai G, Huang W, Yang A, Chen J, Wu B, Xu H, Meng D, Hu S, Xia L, Yang X, Li L, Ichihara S, Ichihara G, Huang H, Huang Z, “Pulmonary hypofunction due to calcium carbonate nanomaterial exposure in occupational workers: a cross-sectional study.,” Nanotoxicology, 2018.
[112]	Barry EL, Lund JL, Westreich D, Mott LA, Ahnen DJ, Beck GJ, Bostick RM, Bresalier RS, Burke CA, Church TR, Rees JR, Robertson DJ, Baron JA, “Body mass index, calcium supplementation and risk of colorectal adenomas.,” Int J Cancer., 2019.
[113]	E C H A, “Dipotassium tartrate:Health surveillance data,” [オンライン]. Available: https://echa.europa.eu/registration-dossier/-/registered-dossier/25733/7/11/2 .
[114]	ECHA, “Dipotassium tartrate-Direct observations: clinical cases, poisoning incidents and other,” [オンライン]. Available: https://echa.europa.eu/registration-dossier/-/registered-dossier/25733/7/11/4 .
[115]	Robertson B, Lönnell L., “Human tartrate nephropathy. Report of a fatal case.,” Act. path. microb. Scand.,74, 305-310, 1968.
[116]	G. R. Z. W, “ A method for the evaluation of laxative agents in constipated human subjects, with a study of the comparative laxative potency of fumarates, Sodium Tartrate and Magnesium Acid Citrate.,” Amer Pharm Ass Sci Ed ; 32: 173-178., 1943.

[117]	ECHA, “Dipotassium tartrate-Exposure related observations in humans: other data,” [オンライン]. Available: https://echa.europa.eu/registration-dossier/-/registered-dossier/25733/7/11/6 .
[118]	WHO, “073. Malic, dl- acid (FAO Nutrition Meetings Report Series 40abc,” FAO, 18 10 1966. [オンライン]. Available: http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/40abcj45.htm .
[119]	Van Scott EJ, Yu RJ., “Control of keratinization with alpha-hydroxy acids and related compounds. I. Topical treatment of ichthyotic disorders.,” Arch Dermatol. Oct;110(4):586-90., 1974.
[120]	Gómez-Moreno G, Guardia J, Aguilar-Salvatierra A, Cabrera-Ayala M, Maté-Sánchez de-Val JE, Calvo-Guirado JL., “Effectiveness of malic acid 1% in patients with xerostomia induced by antihypertensive drugs.,” Med Oral Patol Oral Cir Bucal. Jan 1;18(1):e49-55., 2013.
[121]	Russell IJ, Michalek JE, Flechas JD, Abraham GE., “Treatment of fibromyalgia syndrome with Super Malic: a randomized, double blind, placebo controlled, crossover pilot study.,” J Rheumatol.May;22(5):953-8., 1955.
[122]	厚生労働省, “食品、添加物等の規格基準の一部改正する件について,” 23 6 2017. [オンライン]. Available: https://www.ffcr.or.jp/tsuuchi/upload/%E3%80%90%E5%86%99%E3%80%91%E5%B9%B3%E6%88%9029%E5%B9%B4%E7%94%9F%E9%A3%9F%E7%99%BA0623%E7%AC%A3%E7%BC%91%E5%8F%B7%E7%BC%88%E3%82%B9%E3%83%86%E3%82%A2%E3%83%AA%E3%83%B3%E9%85%B8%E3%83%9E%E3%82%B0%E3%83%8D%E3%82%B7%E3% .
[123]	白石カルシウム株式会社, “炭酸カルシウム規格基準改正要請書,” 3 2016. [オンライン]. Available: https://www.fsc.go.jp/fsciis/attachedFile/download?retrievalId=kai20160330so1&fileId=210 .
[124]	厚生労働省, “平成 29 年国民健康・栄養調査結果報告,” 12 2018. [オンライン]. Available: https://www.mhlw.go.jp/content/000451755.pdf .
[125]	山梨県ワイン製造マニュアル編集委員会, 山梨県ワイン製造マニュアル, 山梨県ワイン酒造組合, 2016.
[126]	独立行政法人 国立健康・栄養研究所, “食品摂取頻度・摂取量調査の特別集計業務報告書追加資料,” 独立行政法人 国立健康・栄養研究所, 平成 22 年.
[127]	国税庁, “国税庁平成 27 年度分酒税課税実績等の状況表 第 1、2、4 表,” [オンライン]. Available: https://www.nta.go.jp/taxes/sake/tokei/kazeikankei2015/01.htm .
[128]	国税庁, “国税庁平成 27 年度分酒類販売（消費）数量等の状況表,” [オンライン]. Available: https://www.nta.go.jp/taxes/sake/tokei/kazeikankei2015/01.htm .
[129]	BROUWLAND , “acidex Vinfoferm 100 g,” Brouwland bvba BE 0412.461.618 Korpelsesteenweg 86 3581 Beverlo Belgium, [オンライン]. Available: https://www.brouwland.com/en/our-products/winemaking/acids-enzymes-deacidifiers/deacidifiers/d/acidex-vinfoferm-100-gr .
[130]	編集委員会, “岩波理化学辞典 第 3 版,” 1971.

[131]	辻 澄子、四方田千佳子、紫田 正、一色賢司、神蔵美枝子、西島基弘、林 弘道、深澤喜延、黒田弘之、後藤宗彦、坂部美雄、佐々木清司、大内格之、三島靖子、大城善昇、森口 裕、内山壽紀、城 照雄、伊藤誉志男.天然にも存在する化学的合成食品添加物の日本人の1日の摂取量.食品衛生学雑誌 Vol36.1995.
[132]	Wine Communications Group, “winebusiness.com- winemaking calculators- deacidification,” 2019, [オンライン]. Available: https://www.winebusiness.com/tools/?go=winemaking.calc&cid=24
[133]	PUBMED カルシウム塩類体内動態検索結果. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/
[134]	PUBMED カルシウム塩類毒性試験検索結果. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/
[135]	84-th Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, “Evaluation of certain food additives., TRS 1007,” 2017. [オンライン]. Available: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/259483/1/9789241210164-eng.pdf#page=55 .
[136]	COMPENDIUM OF FOOD ADDITIVE SPECIFICATIONS. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. 86 th Meeting 2018 http://www.fao.org/3/ca2330en/CA2330EN.pdf#page=110
[137]	Palma Ann Marone , James T Heimbach , Boris Nemzer , John M Hunter . Subchronic and Genetic Safety Evaluation of a Calcium Fructoborate in Rats. 2016. Food Chem Toxicol.
[138]	K.E. Niederbergera. Dahmsb, T.H. Broschardc, R. Boehnid, R. Moserd. Safety evaluation of calcium L-methylfolate. 2019. Toxicology Reports .