

硫酸銅に係る使用基準改正のための概要書

令和 3 年 9 月 22 日

独立行政法人酒類総合研究所

目次

用語の定義	4
I. 添加物の概要	6
1. 名称及び用途	6
2. 起源又は発見の経緯	6
3. 諸外国における使用状況	7
(1) CODEX	7
(2) EU	7
(3) 米国	9
(4) オーストラリア・ニュージーランド	9
(5) OIV	10
(6) 日本	10
4. 国際機関等における安全性評価	10
(1) JECFA	11
(2) SCF 及び EFSA	12
(3) FDA	13
(4) FSANZ	15
(5) UK EVM	16
(6) 食品安全委員会	16
(7) 厚生労働省	18
5. 物理化学的性質	18
(1) 構造式等	18
(2) 製造方法	18
(3) 成分規格	19
(4) 食品添加物の安定性	24
(5) 食品中の食品添加物の分析法	24
6. 使用基準案	24
(1) 使用基準案	24
(2) 使用基準案の設定根拠	25
II. 有効性に関する知見	26
(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	26
(2) 食品中での安定性	27
(3) 食品中の栄養成分に及ぼす影響	28
III. 安全性に係る知見	28
1. 体内動態試験	28
(1) 硫酸銅	28

(2) 銅（銅塩類）	34
(3) 体内動態試験のまとめ	38
2. 毒性試験	39
(1) 亜急性毒性試験及び慢性毒性試験	39
(2) 発がん性試験	48
(3) 1年間反復投与毒性試験／発がん性併合試験	49
(4) 生殖毒性試験	49
(5) 出生前発生毒性試験	51
(6) 遺伝毒性試験	52
(7) アレルゲン性試験	69
(8) 一般薬理試験	69
(9) 毒性試験のまとめ	70
3. ヒトにおける知見	72
(1) 硫酸銅	72
(2) 銅（銅塩類）	74
(3) ヒトにおける知見のまとめ	74
4. 一日摂取量の推計等	75
(1) 現状における硫酸銅等の摂取量推計	75
(2) 使用基準改正後のぶどう酒由来の硫酸銅の摂取量推計	77
(3) 使用基準改正後の硫酸銅等の摂取量推計	78
IV. 海外添加物取扱社	81
V. 引用文献一覧	82

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
ぶどう酒	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のうちぶどうを主原料としたもの
ADI	Acceptable Daily Intake：一日摂取許容量
CAS	Chemical Abstracts Service：ケミカル・アブストラクト・サービス
CFR	Code of Federal Regulations：米国連邦規則集
CODEX	Codex Alimentarius：国際食品規格（及びそれを策定する委員会）
ECHA	European Chemicals Agency：欧州化学品庁
EFSA	European Food Safety Authority：欧州食品安全機関
EU	European Union：欧州連合
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations：国際連合食糧農業機関
FDA	Food and Drug Administration：米国食品医薬品局
FSANZ	Food Standards Australia New Zealand：オーストラリア・ニュージーランド食品基準機関
FSC	Australia New Zealand Food Standards Code：オーストラリア・ニュージーランド食品基準規約
GMP	Good Manufacturing Practice：適正製造規範
GRAS	Generally Recognized As Safe：一般に安全とみなされている
GSFA	General Standard for Food Additives：食品添加物の一般規格
INS	International Numbering System：食品添加物の国際番号システム
IOM	Institute of Medicine：米国医学研究所
JECFA	Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives：FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議
LD ₅₀	Lethal Dose, 50 %：半数致死量
LOAEL	Lowest Observed Adverse Effect Level：最小毒性量
MTDI	Maximum Tolerable Daily Intake：最大耐容一日摂取量
NOAEL	No Observed Adverse Effect Level：無毒性量
NOEL	No Observed Effect Level：無影響量
OECD	Organisation for Economic Co-operation and Development：経済協力開発機構
OIV	Organisation Internationale de la vigne et du vin：国際ブドウ・ワイ

	ン機構
SCF	Scientific Committee on Food：欧州食品科学委員会
SCOGS	Select Committee on GRAS Substances：米国の GRAS 物質に関する科学者委員会
TTB	Alcohol and Tobacco Tax and Trade Bureau：米国酒類タバコ税貿易管理局
UF	Uncertainty Factor：不確実係数
UL	Tolerable Upper Intake Level：耐容上限量
WHO	World Health Organization：世界保健機関

序 硫酸銅の食品添加物使用基準改正の必要性

ぶどう酒の香りは、非常に多くの物質から構成され、これらは原料のぶどうに含まれる成分の他、発酵、貯蔵・熟成など、ぶどう酒の製造工程における様々な要因の影響を受けて生成するものである。これらの香りの多くは、ぶどう酒を特徴付けるものとなるが、一方で本来ぶどう酒が持つ香りから逸脱したオフフレーバーと呼ばれる欠点臭がぶどう酒中に認められることがある。ぶどう酒の代表的なオフフレーバーには、硫化物臭、フェノール臭、酸化臭、コルク臭などがあり、その中でも特に硫化水素は、ぶどう酒の発酵時に酵母が窒素不足に陥ると生成され、ぶどう酒から取り除くことが難しく、ぶどう酒の商品価値を大きく損なうものとして知られている。

この概要書により使用基準改正を要請する硫酸銅は、主としてぶどう酒中の硫化水素と反応し硫化銅として沈殿させ、これをろ過などの固液分離処理により除去することにより、ぶどう酒中から腐った卵臭に代表される不快な臭いの原因物質である硫化水素を除去する効果がある。硫酸銅をぶどう酒製造に使用できるようにすることで、高品質のぶどう酒が安定的に生産可能となり、ぶどう酒業界にとって極めて有益であるとともに、消費者利益にも繋がることが期待される。

I. 添加物の概要

1. 名称及び用途

名称 : (和名) 硫酸銅 [1]
 (英名) Cupric Sulfate [1]
 (英別名) Copper sulfate [2]
 Copper sulphate [3]
 Copper sulphate, pentahydrate [4]
 (IUPAC 和名) 硫酸銅(II)五水和物 [5]
 (IUPAC 英名) Copper (II) sulfate pentahydrate [1]
CAS 登録番号 : 7758-99-8 (五水和物) [1]
INS 番号 : 519 [6]
用途 : 製造用剤 (欠点臭¹ [7]の除去 [8])

2. 起源又は発見の経緯

ワイン製造における硫酸銅の使用については、OIV が 1989 年に、現行の国際的ワイン醸造規範 (International Code of Oenological Practices) に収載されている硫酸銅(II)五水和物の

¹ ぶどう酒の不快なにおいは、オフフレーバー (欠点臭) と表現される。代表的な欠点臭の 1 つとして、硫化水素がある。

規定を採択し、その使用目的として硫化水素による好ましくない香味の除去を挙げている [8]。現在は、OIV に加え、オーストラリア、米国、EU 等において、硫酸銅を加工助剤あるいは食品添加物としてワイン²に使用することが許可されている [4] [8] [9] [10]。

また、硫酸銅は、EU 加盟国において有機栽培に使用できる農薬として許可されており [11]、ボルドー液（硫酸銅と消石灰の混合溶液）としてブドウの殺菌を目的に古くから使用されている。

我が国において、硫酸銅は、水道用薬品（浄水又は浄水処理過程における水に注入される薬品等）として、浄水施設での生物除去の目的で、また、水源（湖沼・貯水池）の水質管理（生物の増殖抑制）の目的で用いられている [12] [13]。

なお、銅については、「食品衛生法第 11 条第 3 項の規定により人の健康を損なうおそれのないことが明らかであるものとして厚生労働大臣が定める物質（平成 17 年厚生労働省告示第 498 号）」として認められており [14]、食品中の残留農薬規制の対象外となっている。

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 OIV や EU をはじめ、多くの国・地域・機関では、ワインの製造における操作や使用可能な物品等をポジティブリストとしてまとめている [4] [8] [9] [10]。これは、醸造規則と呼ばれ、一般的には食品添加物（Additives）及び加工助剤（Processing aids）の両者を含んだリストとして定められている。各国・地域・機関が定めている醸造規則については、国・地域・機関により異なるが、ワインが国際性の高い商品であることから、相互に承認する協定（一方の国・地域でその醸造規則に従い製造されたワインは、他方の国・地域で市場流通させることができる。）が締結されている例もある [15] [16] [17]。

（1）CODEX

CODEX の GSFA には、硫酸銅の記載は確認できない。なお、GSFA における食品添加物の定義に加工助剤や栄養強化剤は含まれておらず [18]、加工助剤については、コーデックス規格 CAC/GL75-2010 に GMP に従い使用するとの記載がある [19] [20]。

（2）EU

EU 域内で使用が認められている食品添加物及びその使用基準は、欧州議会・閣僚理事会規則（EC）No 1333/2008 [21] [22]で定められている。欧州議会・閣僚理事会規則（EC）No 1333/2008 [22]の Annex II 及び III において認可された食品添加物名と使用条件が記載されているが、硫酸銅の記載はない。

ワインに使用できる食品添加物と加工助剤については、欧州委員会委任規則（EU）2019/934 [4]の Annex I Part A に記載され、この中の Table 2 の 10 番目“Correction of

² 他国及び国際機関の規則等に記述のある Wine に関しては、ぶどう酒ではなくワインと訳す。

defects”の項に、加工助剤として使用される物品として硫酸銅(II)五水和物が記載されている。使用基準については、同規則 [4] の Annex I Part A に「処理された製品の銅濃度が 1 mg/L（未発酵の新鮮なぶどうのマスト³や、わずかに発酵したぶどうのマストから作られたリキュールワイン⁴では 2 mg/L）を超えないことを条件として、1 g/hL 以下」と記載されている。

また、同規則 [4] の Article 9 において、「欧州委員会規則（EU）No 231/2012 に記載がないものについては、その純度及び仕様は Annex I Part A の Table 2 のカラム 4 に記載の OIV Codex file に従う」とある。硫酸銅(II)五水和物は、欧州委員会規則（EU）No 231/2012 [23] に記載がない物品であるため、EU 各国は硫酸銅(II)五水和物の純度及び仕様について OIV 規格を遵守する必要があるということになる。

EU 域内での食品添加物に係る規則及び硫酸銅の規定は、以下の表 1 のとおりである。

表 1. EU 域内での食品添加物に係る規則及び硫酸銅の規定

規則名	
規則の内容	硫酸銅の規定
欧州議会・閣僚理事会規則(EC) No 1333/2008 [21] [22]	
● 食品への使用が承認された食品添加物名とその使用基準（Annex II） ● 食品添加物、食品酵素、食品香料、栄養素への使用が承認された、キャリアを含む食品添加物名とその使用条件（Annex III）	● 硫酸銅の記載はない。
欧州委員会規則(EU) No 231/2012 [23]	
● 食品添加物としての規格（Annex）	● 硫酸銅の記載はない。
欧州委員会委任規則(EU) 2019/934 [4]	
● 承認されたワイン醸造規則（Annex I Part A） ● ワイン添加物の規格参照先（Article 9, point 1）	● ワイン醸造に使用される硫酸銅(II)五水和物の上限量は、処理された製品の銅濃度が 1 mg/L（未発酵の新鮮なぶどうのマストや、わずかに発酵したぶどうのマストから作られたリキュールワインでは 2 mg/L）を超えないことを条件として、1 g/hL 以下と定められている。

³ 一般的に、ぶどうを除梗・破碎してできた果汁でアルコール発酵が終了していないものを指す。

⁴ ぶどうのマスト、ワイン若しくはそれらの混合物に、ぶどう由来の蒸留物等を加えた酒類で、我が国においては一般的にぶどう酒に該当する。

	● ワイン醸造に使用される硫酸銅(II)五水和物の規格は欧州委員会規則(EU) No 231/2012 に記載がないため、Article 9 の規定により OIV 規格の COEI-1-CUISUL に従う。
--	--

(3) 米国

硫酸銅は、FDA が発表している 2020 年度版の CFR Title 21（食品及び医薬品）の Part 184（一般の認識で安全であるとの確認が取れている直接食品物質）の Subpart B（GRAS として確認された特定の物質のリスト）の § 184.1261 に掲載されており、硫酸銅(II)五水和物を加工助剤や栄養補助剤として GMP に従って食品に使用することが認められている [24]。

一方、ワインなど TTB によって管理される分野は、CFR Title 27 にまとめられている。ワインの製造方法等は、Part 24（ワイン）においてその詳細が規定されており、製造に使用できる主な物質はこの中の Subpart L にまとめられている。硫酸銅(II)五水和物は、この中の § 24.246 のワインとぶどう果汁の処理に許可された材料のリストの中に記載されている [9]。

ただし、TTB は、米国産ワインにおける良好な商慣行（good commercial practice）で許容できるものとして、硫化水素等の除去のため用いられる上記硫酸銅(II)五水和物の銅の残留濃度を 0.5 mg/L から 1 mg/L に引き上げることを 2018 年 5 月 7 日に予備的結論として承認しており、硫酸銅(II)五水和物の添加量は、銅換算で 6 ppm（6.0 mg/L）を超えないこと、最終製品中の銅濃度が 1 ppm（1 mg/L）を超えないことが規定されている [25]。

(4) オーストラリア・ニュージーランド

オーストラリアとニュージーランドの食品添加物及び加工助剤は、ポジティブリスト制となっており、共通の食品全般統一規格として FSC を整備している。その第 1 章（一般食品基準）の Standard 1.3.1 [26]において食品添加物、Standard 1.3.3 [27]において加工助剤に関する規制を定めている。また、Standard 1.3.3 で規定する加工助剤のリストを Schedule 18 [28]に定めている。

Standard 1.3.3-5 において、「Schedule 18-3 に記載されている物質は、あらゆる食品の加工助剤として使用できる」としており [27]、硫酸銅は、Schedule 18-3 に記載された脱色剤、清澄剤、ろ過剤、吸収剤としての目的で、GMP を超えるレベルで食品に存在しないことを条件に、あらゆる食品に使用することが認められている [28]。また、Standard 1.3.3-7 において、「Schedule 18-5 に記載されている物質は、全ての食品に対し製造工程における微生物栄養剤及び微生物栄養助剤として使用できる」とされており [27]、Schedule 18-5 に記載された硫酸銅の使用上限や残存基準は定められていない [28]。更に、Standard 1.3.3-8 において、「水への加工助剤」として容器入り飲料水及び原料用水に対して「Schedule 18-6 に記載

されている物質は、最大許容レベルを超えない範囲で利用できる」と記載されており [27]、Schedule 18-6 において硫酸銅の最大許容レベルは 2 mg/kg と定められている [28]。

また、オーストラリアにのみ適用される基準である FSC 第 4 章（一次生産・加工基準）の Standard 4.5.1 において、ワイン製造に関する規則が定められている。その中でワイン、スパークリングワイン及び酒精強化ワインの製造に用いることができる加工助剤として、硫酸銅が挙げられており、その使用条件は GMP に従うこととされている [10]。

オーストラリアは、EU と「ワインの取引に関する欧州共同体とオーストラリア間の協定（Agreement between the European Community and Australia on trade in wine）」を 2009 年に締結しており、その第 5 条において、醸造規則、工程及び組成要件について相互承認している。硫酸銅については、双方ともに「処理された製品の銅濃度が 1 mg/L を超えないことを条件として、最大 1 g/hL まで使用」（Annex I Part A, B）とされており、その範囲で硫酸銅を使用して製造したワインを相手国内で流通できることとなっている [29]。この協定は 2020 年 10 月現在も有効である [30]。

（５）OIV

硫酸銅(II)五水和物は、OIV の定める醸造規則において安定化剤として記載されており、加工助剤に分類されている [8]。硫酸銅(II)五水和物のワインへの最大使用量は 1 g/hL であり、処理後のワイン中の銅濃度が 1 mg/L（未発酵の新鮮なぶどうのマストや、わずかに発酵したぶどうのマストから作られたリキュールワインでは 2 mg/L）以下とならなければならないとされている [8]。

（６）日本

我が国において、硫酸銅は 1957 年（昭和 32 年）に食品添加物として指定されたが、1971 年（昭和 46 年）に削除され、改めて 1983 年（昭和 58 年）にグルコン酸銅とともに銅塩類として一括して指定された [31]。

現在の食品添加物の基準では、硫酸銅は二価の銅塩であり、五水和物として規格が定められている [31]。また、人工栄養児の銅欠乏症の発現予防の観点から、母乳代替食品へのみ使用が認められており、標準調乳濃度に調製したとき銅として 0.6 mg/L 以下の範囲での添加が認められている [31] [32] [33]。

4. 国際機関等における安全性評価

Ⅱ（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」に記載されており、添加物「硫酸銅」は、ぶどう酒中において銅イオン及び硫酸イオンに解離することから、国際機関等における安全性評価では、硫酸銅に加え、銅イオンを含む銅塩類及び硫酸イオンを含む硫酸塩類の安全性評価についても記載する。

(1) JECFA

イ 硫酸銅

JECFA は、1970 年の第 14 回会合において、銅及び硫酸銅の評価を行った。会合までに得られた毒性試験結果からは NOEL が決定できず、本会合において、硫酸銅の ADI は設定されなかった [34]。

JECFA は、1973 年の第 17 回会合において、硫酸銅の評価を行った。本会合では、毒性データの不足から硫酸銅の ADI は設定されなかった [35]が、一日最大許容負荷量は、銅として 0.5 mg/kg 体重/日とされた [36]。

ロ 銅（銅塩類）

JECFA は、1966 年の第 10 回会合において、銅の代謝に影響を与えることが知られているモリブデンや亜鉛などの成分の食事摂取レベルが正常範囲内にある場合に、銅の一日最大許容負荷量として 0.5 mg/kg 体重/日を暫定的に提案した [37]。また、JECFA は、銅をヒトの食事の基礎的成分であるとしており、1 日当たり 0.033～0.05 mg/kg 体重が摂取され、このレベルでは普通のヒトへの銅の蓄積性はないとしている。更に、多量の銅摂取は急性毒性症状を起こすものの、銅にはヒトでの累積毒性や発がん性はないとしている [37]。

JECFA は、1970 年の第 14 回会合において、銅及び硫酸銅の評価を行った。会合までに得られた毒性試験結果からは NOEL が決定できず、本会合において銅の ADI は設定されなかった [34]。本会合において JECFA は、一日最大許容負荷量について、ヒトへの銅の長期ばく露の疫学的及び栄養学的データを参照し、併せてこの会合までの直近の調査において、20 mg/日の銅の摂取ではヒトへの明らかな有害影響が認められなかったことから、第 10 回会合で暫定的に設定された銅の一日最大許容負荷量 0.5 mg/kg 体重/日を変更する理由はないと結論付けた [38]。

JECFA は、1973 年の第 17 回会合において、硫酸銅について十分な実験データはないとしながらも、多くの人が一日当たり 2～3 mg を超える銅を摂取している可能性が高いが明らかな悪影響は見られていないことから、一日最大許容負荷量について、1966 年の第 10 回会合で暫定的に提案された銅の一日最大許容負荷量 0.5 mg/kg 体重/日を変更する理由はないと結論付けた [36] [35]。

JECFA は、1982 年の第 26 回会合において、第 10 回で合意した銅の一日最大許容負荷量について、銅の食事摂取量の情報、毒性試験結果、実験動物やヒトにおいて観察された毒性（イヌの 1 年間混餌投与試験（文献非公開）において NOEL が約 5 mg/kg 体重/日と提示された。）に基づいて再評価した。その結果、銅に関する第 10 回会合の評価を暫定的に認め、全ての供給源からの銅の MTDI を、暫定値として 0.5 mg/kg 体重/日とした。また、銅はヒトにとって必須な元素であり、一日当たりの摂食必要量が 0.05 mg/kg 体重とされていることと併せ考慮し、暫定的な一日必要量/MTDI として 0.05～0.5 mg/kg 体

重と設定した [39]。毒性評価において、銅塩（グルコン酸銅、ヨウ化銅）は、マウス及びラットで胎児毒性がなく、また、銅が動物及びヒトに対して発がん性を示す証拠はないとした [40]。

ハ 硫酸塩類

関連物質である硫酸イオンについて、1985 年の第 29 回会合⁵で、硫酸イオンを含む陰イオンの塩類の評価を行った。硫酸塩は、食品中に含まれる天然成分で、動物における硫黄代謝の最終産物であること、また、硫酸塩を食品添加物として使用したとき、通常の食事におけるばく露においては、いかなる毒性を示唆する情報もないことから、硫酸塩の ADI を特定しないとした [41]。

また、個別の硫酸塩に関しては、1973 年の第 17 回会合において、硫酸カルシウムについて ADI として摂取量の上限を明示しないとした [36]。1985 年の第 29 回会合では、硫酸カリウムの ADI を特定しないとした [41]。また、2001 年の第 57 回会合では、硫酸ナトリウムの ADI を特定しないとした [42]。2007 年の第 68 回会合では、硫酸マグネシウムの評価にあたり、「硫酸塩については、第 29 回会合で硫酸カリウムについて、第 57 回会合で硫酸ナトリウムについて、それぞれ ADI を特定しないとした」と言及した上で、硫酸マグネシウムについて ADI を特定しないとした [43]。

（2）SCF 及び EFSA

イ 硫酸銅

SCF 及び EFSA における食品添加物又は加工助剤としての評価は、確認できない [44] [45]。

ロ 銅（銅塩類）

SCF は、2003 年に銅の UL に関する意見書を取りまとめた。7 人の大人に対し、銅として 10 mg/日のグルコン酸銅サプリメントを投与する試験を 12 週間実施したところ、臨床エンドポイントである肝機能での異常がなかった報告 [46]をもとに、銅の NOAEL を 10 mg/日とした [47]。また、SCF は、日常の銅の摂取について、24 日間で硫酸銅（詳細不明）を銅として 0.8 mg/日から 7.5 mg/日まで増加させた際、血漿銅、赤血球スーパーオキシドディスムターゼ（SOD）、セルロプラスミン（ceruloplasmin）、尿への銅排泄について明らかな違いがなかった報告 [48]などをもとに、一般的なヒトでの潜在的な差を許容するために適切な UF を 2 とし、18 歳以上の大人（妊婦及び授乳婦を除く）の銅の UL を 5 mg/日と決定した [47]。

EFSA は、2008 年に、農薬の有効成分として使用された銅(I)及び銅(II)化合物（水酸化

⁵ 1985 年の WHO の報告では、「第 25 回会合」となっている。

銅、塩基性塩化銅、三塩基性硫酸銅、酸化銅、ボルドー混合液) のリスク評価におけるピアレビューを公表した [49]。その中で、イヌを用いた実験結果 (文献の特定不可) から出された NOAEL の値である 15 mg/kg 体重/日等を根拠として、銅の摂取量の上限値を 0.15 mg/kg 体重/日とした。2018 年に公表された再評価では、2008 年に設定された銅の 0.15 mg/kg 体重/日が妥当であると確認された [50]。

なお、SCF と EFSA における栄養関連の科学パネルは連名で、2006 年にビタミンとミネラル (銅など) の UL に関する意見書をまとめたが、この意見書の中で銅の UL 及びその設定根拠は、SCF がまとめた 2003 年の意見書を引用している [51]。

また、EFSA NDA Panel は、2015 年に銅の一日参照摂取量 (Dietary Reference Values) に関する意見書をまとめたが、この意見書の中で一日参照摂取量を検討するに当たり、銅の UL として、SCF が 2003 年にまとめた意見書 [47] で設定された UL (5 mg/日) 及びその中で論じられた設定根拠を引用している [52]。

ハ 硫酸塩類

SCF は、1991 年に硫酸イオンを含めた 3 種類の陰イオンについて ADI を評価した [53]。これらの陰イオンについては、徹底的で体系的な毒物学的研究は実施されていないものの、人間、動物、植物の構成成分であり、食品に含まれていることから、SCF はこれらの陰イオンのグループ ADI を特定しないとした。また、体の電解質バランスをコントロールする恒常性メカニズムが乱されない限り、食品からの摂取によって安全性上の懸念は生じないとしている [53]。

EFSA は、上記の SCF による 1991 年の評価 [53] を踏まえ、2019 年に食品添加物としての硫酸と、そのナトリウム、カリウム、カルシウム及びアンモニウム塩の ADI を再評価している [54]。EFSA は、入手可能な毒性データに基づき、これらの食品添加物で報告されている用途及び使用レベルにおいて安全性の懸念は生じないと評価したことから、定量的な ADI の設定は必要ないとしている [54]。

(3) FDA

FDA は、1972 年から 1982 年までの間に、米国実験生物学会連合 (Federation of American Societies for Experimental Biology: FASEB) の Life Sciences Research Office (LSRO) に依頼して選任した SCOGS に、400 以上の GRAS 物質をカバーする 151 の詳細な報告書を作成させ、データベースで公開している。

イ 硫酸銅

SCOGS は、1979 年に作成した報告書において、得られている知見をもとに硫酸銅の評価を行った [55]。本報告書では、銅塩による動物毒性が栄養補助食品として使用される量よりも多い量でのみ観察されたこと、硫酸銅が微生物試験において変異原性を示さな

かったこと、経口又は非経口投与によらず非発がん性であったこと、妊娠中のハムスターへ多量に硫酸銅を静脈注射した場合に胚毒性と催奇形性を示したことが記載されている。これらの報告を踏まえ、食品中の銅に関する最終的な SCOGS の評価として、「硫酸銅に関する入手可能な情報には、現在用いられているレベル又は将来合理的に予想されるレベルで使用された場合に公衆への危険を疑う合理的な理由を実証又は示唆する証拠はない。」と結論付けた [55]。

ロ 銅（銅塩類）

SCOGS は、1979 年に作成した報告書において、得られている知見をもとにグルコン酸銅及びヨウ化銅の評価を行った [55]。その結果、食品中の銅に関する最終的な SCOGS の評価として、「グルコン酸銅に関する入手可能な情報には、現在用いられているレベル又は将来合理的に予想されるレベルで使用された場合に公衆への危険を疑う合理的な理由を実証又は示唆する証拠はない。」及び「ヨウ化銅に関する入手可能な情報には、現在承認されているレベルや方法で使用された場合に公衆への危険を疑う合理的な理由を実証又は示唆する証拠はない。」と結論付けた [55]。

IOM の食品栄養委員会（FNB）は、2001 年に銅などの一日参照摂取量（Dietary reference intake）に関する報告をまとめた。IOM は、7 人の大人に対する、12 週間のグルコン酸銅カプセル（銅として 10 mg/日）投与の二重盲検投与試験 [46]において、肝機能検査で正常であったことをもとに、NOAEL を 10 mg/日とした。IOM は、この NOAEL が一般的なヒトにも適用できると考え、UF を 1.0 とし、19 歳以上の大人の銅の UL を 10 mg/日とした [56]。

米国栄養評議会（CRN）は、2014 年にビタミンとミネラル（銅など）の安全性に関する報告をまとめた。CRN は、IOM や EC SCF が設定した銅の NOAEL である 10 mg/日について、日常の銅摂取の下で追加の銅を投与する臨床試験から導かれたため、現状のデータから銅の追加摂取の NOAEL を示したものであると判断した。CRN は、銅の 10～12 mg/日の摂取で副作用が発現しないこと、また、日常の銅の摂取量が 2 mg/日未満であることを考慮し、銅の追加の UL を 9 mg/日と特定した [57]。

ハ 硫酸塩類

SCOGS は GRAS 物質とされる硫酸塩類に関し、1973 年に硫酸亜鉛 [58]、1974 年に硫酸アンモニウム [59]、1975 年に硫酸アルミニウム、硫酸アルミニウムナトリウム、硫酸アルミニウムカリウム及び硫酸アルミニウムアンモニウム [60]、1976 年に硫酸マグネシウム [61]、1979 年に硫酸マンガン(II) [62]、1980 年に硫酸鉄(II) [63]について、安全性評価を行っている。各評価書において、各物質は表 2 のように評価された。

表 2. SCOGS による硫酸塩類の安全性評価

GRAS 物質	評価※	引用文献
硫酸亜鉛	1	[58]
硫酸アンモニウム	2	[59]
硫酸アルミニウム	2	[60]
硫酸アルミニウムナトリウム	2	
硫酸アルミニウムカリウム	2	
硫酸アルミニウムアンモニウム	2	
硫酸マグネシウム	3	[61]
硫酸マンガン(II)	2	[62]
硫酸鉄(II)	4	[63]

※

- 1：この物質に関する入手可能な情報には、現在用いられているレベル及び現在実施されている方法で使用された場合に公衆への危険を実証する証拠又は危険を疑うべき合理的な理由を示唆する証拠はない。しかし、追加のデータがなければ、この物質の摂取量の大幅な増加が食事由来の危険を引き起こすかどうかを判断することができない。
- 2：この物質に関する入手可能な情報には、現在用いられている又は将来合理的に予想されるレベルで使用された場合に公衆への危険を実証する証拠又は危険を疑うべき合理的な理由を示唆する証拠はない。
- 3：この物質に関する入手可能な情報には、現在用いられているレベル及び現在実施されている方法で、又は将来合理的に予想されるレベル及び方法で使用された場合に公衆への危険を実証する証拠又は危険を疑うべき合理的な理由を示唆する証拠はない。
- 4：この物質に関する入手可能な情報には、現在用いられているレベル及び現在実施されている方法で、又は必要とみなされて栄養必要量を満たすためにやや高いレベルで使用された場合に公衆への危険を実証する証拠又は危険を疑うべき合理的な理由を示唆する証拠はない。しかし、追加のデータがなければ、この物質の摂取量の大幅な増加が食事由来の危険を引き起こすかどうかを判断することができない。

(4) FSANZ

イ 硫酸銅

FSANZ における安全性評価は、確認できない [64]。

ロ 銅（銅塩類）

FSANZ は、2007 年に「ワインの加工助剤としてクエン酸銅（ベントナイトベース以外）使用」の評価 [65]を行った。その結果、FSANZ は、クエン酸銅の GMP レベルでの加工助剤としてのワインへの使用について、「『食品中の金属及び汚染物質の見直し（提案 P157）』において、ワインは、オーストラリア又はニュージーランドの消費者の銅の摂取に大きく寄与する食品として特定されなかった。銅は、ワインを含む様々な食品に自然に見られ、健康に不可欠な要素である。ワインの適度な消費において、硫黄含有物質を除去

するためのワインへの初期投入レベル（銅として約 1 mg/L ワイン、そのほとんどは後に除去される）においてさえ、ばく露量は成人に対する UL である 10 mg/日には及ばないと考えられる。したがって、クエン酸銅の GMP レベルでの加工助剤としてのワインへの使用に関し、公衆の健康や安全性へのリスクはない。」と結論付けている [65]。

ハ 硫酸塩類

FSANZ における安全性評価は、確認できない [64]。

(5) UK EVM

イ 硫酸銅

英国ビタミン・ミネラルに関する専門家グループ（UK Expert Group on Vitamins and Minerals: UK EVM）における安全性評価は、確認できない [66]。

ロ 銅（銅塩類）

UK EVM は、2003 年に硫酸銅(II)五水和物のラットへの 92 日間混餌投与試験（Hébert らの報告（1993） [67]）から、前胃、腎臓及び肝臓への影響を指標として銅の NOAEL を 16 mg/kg 体重/日と決定した [66]。UF については、種差（10）と個体差（10）を考慮して 100 とし、安全な銅の UL を 0.16 mg/kg 体重/日と設定した。これは、体重 60 kg の大人では、10 mg/日に相当する [66]。

ハ 硫酸塩類

UK EVM における安全性評価は、確認できない [66]。

(6) 食品安全委員会

イ 硫酸銅

食品安全委員会における安全性評価は、確認できない [68]。

ロ 銅（銅塩類）

食品安全委員会は、2004 年に添加物「グルコン酸銅」を評価し [69]、評価結果を次のようにまとめている。

「（引用開始）グルコン酸銅については、銅としての摂取を評価することが適当であり、また、銅はヒトにとって必須元素であることを踏まえ、銅の UL について評価を行った。

成人で銅を摂取した際の副作用の報告が見当たらないことから、銅について LOAEL は確立されていない。

ヒトに 1 日 10 mg のグルコン酸銅を 12 週間投与した結果、影響は認められていない。米国医学学会（IOM）及び EU もこの値を NOAEL と評価している。

JECFA は、銅について ADI を設定していないが、1982 年にイヌの 1 年間反復投与試験における NOEL を約 5 mg/kg/日とし、これに基づき、暫定 MTDI を 0.05～0.5 mg/kg と評価している。

これまでの我が国の UL は 9 mg/ヒト/日と設定されているが、この値は、ヒト 12 週間投与試験の NOAEL 10 mg/ヒト/日より小さい値であり、今回入手した情報からは、これを変更する必要はないと考えられることから、グルコン酸銅の UL は銅として 9 mg/ヒト/日と評価した。

なお、今回評価を行った UL は成人を対象としたものであり、乳幼児～小児が過剰に銅を摂取することがないように、適切な注意喚起が行われるべきである。(引用終わり)」[69]。

また、硫酸銅を含む銅塩類については、食品安全委員会が、2019 年に飼料添加物評価書「2-デアミノ-2-ヒドロキシメチオニン銅」(2019 年)を評価し[70]、評価結果を次のようにまとめている。

「(引用開始) ヒトに対する銅の遺伝毒性については、過負荷の条件における場合を除いて予見されておらず、通常のヒトの経口摂取の範囲においては、一般的に遺伝毒性があるとは考えられていない。(引用終わり)」[70]。

「(引用開始) 飼料添加物として適切に使用される限りにおいては、食品を通じてヒトの健康に影響を与える可能性は無視できる程度と考えた。(引用終わり)」[70]。

ハ 硫酸塩類

硫酸塩類については、食品安全委員会において関連物質である添加物「硫酸カリウム」の評価が行われ[71]、次のようにまとめられている。

「(引用開始) 強酸と強塩基との塩である硫酸カリウムは、添加物としての使用時にはその他の硫酸塩類、カリウム塩類と同様に胃液中で硫酸イオンとカリウムイオンに解離すると推定されることから、本委員会としては、添加物『硫酸カリウム』の評価において、硫酸塩類及びカリウム塩類を被験物質とした試験成績全般を用いて総合的に検討を行うことは可能であると判断した。(引用終わり)」

「(引用開始) 硫酸アンモニウムを被験物質としたラットの 13 週間反復経口投与試験の結果、雄の 3.0 %投与群で見られた下痢を投与に起因する毒性と考え、硫酸アンモニウムの反復投与毒性に係る NOAEL を 1.5 % (硫酸イオンとして 650 mg/kg 体重/日) と考えたが、添加物「硫酸カリウム」からの硫酸イオンの推定一日摂取量が 41.0 mg と少ないことを考慮し、添加物として適切に使用される場合、添加物『硫酸カリウム』に由来する硫酸イオンは安全性に懸念がないと判断した。(引用終わり)」[71]。

また、関連物質である添加物「硫酸アルミニウムアンモニウム及び硫酸アルミニウムカリウム」についても評価が行われ[72]、以下のようにまとめられている。

「(引用開始) 硫酸イオン及びカリウムイオンについては、添加物「硫酸カリウム」の

評価書（2013）及び添加物「硫酸亜鉛」の評価書（2015）で体内動態及び毒性に係る知見が検討されており、その結果、安全性に懸念を生じさせるような知見は認められていない。また、その後、新たな知見が認められていないため、本評価書では体内動態及び毒性の検討は行わないこととした。

以上から、本委員会としては、硫酸イオン、アンモニウムイオン及びカリウムイオンについては、安全性に懸念のある知見はないと考えた。（引用終わり）」[72]。

（7）厚生労働省

「日本人の食事摂取基準（2020 年版）」策定検討会報告書 [73]では、銅について次のように評価している。

「（引用開始）血漿・血清銅濃度は、銅の摂取量 0.57～6.9 mg/日の範囲で一定である [74]。血漿・血清銅濃度の上昇を直ちに健康障害の発現とみなすことはできないが、6.9 mg/日は参考にすべき数値である。一方、10 mg/日の銅サプリメントを 12 週間継続摂取しても異常を認めなかったとする報告がある [46]。以上より、健康障害非発現量を 10 mg/日とみなし、血漿・血清銅濃度の上昇を起こさないために、不確実性因子を 1.5 として、耐容上限量を男女一律に 7 mg/日とした。（引用終わり）」

なお、小児、乳児、妊婦及び授乳婦に関しては、十分な報告がないため、耐容上限量は設置しなかったとしている。

また、厚生労働省は、2019 年（令和元年）7 月 29 日厚生労働省薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会添加物部会において、2018 年度（平成 30 年度）に国立医薬品食品衛生研究所がまとめた「既存添加物の安全性評価に関する調査研究」報告書 [75]を用い、既存添加物の安全性評価についての報告を行った [76]。「既存添加物の安全性評価に関する調査研究」報告書の中で、既存添加物の銅については、海外の評価書、各種毒性試験等を参照して評価が行われ、食品添加物として使用する限りにおいて安全性上の懸念はないとされた [75]。

5. 物理化学的性質

（1）構造式等

分子式： $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ [1]

分子量：249.69 [1]

（2）製造方法

- ① 銅と硫黄からの製法：工業的に用いられている方法で、銅くずを強熱し、過量の硫黄を加えて二硫化銅を作る。反応終了後、再び加熱すると硫化銅は硫酸銅に酸化されるので、熱時希硫酸に溶かし、濃縮して結晶化させる [31]。
- ② 銅と硫酸からの製法：銅くずに硫酸を加え、加熱すると二酸化硫黄を発生して硫酸銅が生成する。この際、硫酸に少量の硝酸を加えると反応は促進される。銅くず 30 部を蒸留

水 250 部、硫酸 50 部及び 25 %硝酸 80 部よりなる混液中に加え、加熱して銅を完全に溶解させる。更に加熱して蒸発乾固し、硝酸を除き、残留物を 1.5 倍量の蒸留水に加熱して溶かし、このろ液を濃縮して硫酸銅の結晶を析出させる [31]。

(3) 成分規格

① 成分規格

本要請において、成分規格の変更はない。

② 食品添加物公定書と国際機関の規格の対照表

表 3 に当該添加物の食品添加物公定書の規格、OIV 規格 [77]及び JECFA 規格 [2]を参考として記載した。なお、欧州委員会規則 (EU) No 231/2012 [23]に硫酸銅の記載はない。

表 3. 食品添加物公定書と国際機関の規格の対照表

	食品添加物公定書規格 [1]	OIV 規格 [77]	JECFA 規格 [2]
名称	硫酸銅 Cupric Sulfate	Copper Sulfate COPPER SULFATE, PENTAHYDRATE Copper (II) Sulfate, Pentahydrate	CUPRIC SULFATE
C A S 番号	7758-99-8 (五水和物)	—	7758-98-7 (無水物) ⁶
化学式	$\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$	$\text{CuSO}_4, 5 \text{H}_2\text{O}$	$\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$
含量	本品は、硫酸銅 ($\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$) 98.5～104.5%を含む。	本品は、硫酸銅 ($\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$) 99%以上含む。	硫酸銅 ($\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$) として、 98.5%以上、104.5%以下
性状	本品は、青色の結晶若しくは粒又は濃 青色の結晶性の粉末である。	本品は青色の結晶で、乾燥した空気中 で最小限の風解性がある。	濃い青色の三斜晶系結晶又は青色の結 晶性顆粒若しくは粉末。乾燥した空気 中でゆっくりと風解する。

⁶ JECFA 規格において、CAS 番号は無水物を示しているが、同文献中で化学式等の記述は五水和物であることを示している。

確認試験	本品は、銅(II)塩の反応及び硫酸塩の反応を呈する。	水酸化アンモニウムを添加した水溶液は、濃い青色の銅テトラミン化合物を生成する。塩酸で酸性化した溶液と塩化バリウム溶液は、白い硫酸バリウム沈殿物を生成する。	銅塩の反応及び硫酸塩の反応を呈する。
酸度	—	—	試料 1 g を 20 mL の水に溶かし、澄明な青い溶液を得る。0.1 mL のメチルオレンジ試液を加える。液体は、茶色がかった緑色に変わる。
pH	—	—	試料溶液をリトマス試験紙に浸すと酸性を示す。
純度試験			
溶状	ほとんど澄明 (1.0 g、水 10mL)	20℃の水に 1 L 当たり 286 g、メタノールに 1 L 当たり 15.6 g 溶解する。 95%(v/v)エタノールには不溶。	水に溶けやすく、エタノールに僅かに溶ける。
遊離酸	本品 1.0 g を量り、水 20 mL を加えて溶かし、メチルオレンジ試液 2 滴を加えた液は、緑色を呈する。	—	—
不溶物	—	—	50 mg/kg 以下
窒素化合物	—	—	10 mg/kg 以下

アルカリ金属 及びアルカリ 土類金属	0.30%以下	—	0.2%以下 (アルカリ及び希土類元素)
鉛	10 µg／g 以下 (Pb として)	5 mg／kg 未満	10 mg／kg 以下
ヒ素	3 µg／g 以下 (As として)	3 mg／kg 未満	—
鉄	—	100 mg／kg 以下	—
ニッケル	—	反応を呈さない。	50 mg／kg 以下
塩化物	—	100 mg／kg 以下	—
水銀	—	1 mg／kg 未満	—
強熱残分	—	—	—

定量法	本品約 0.7 g を精密に量り、以下「グルコン酸銅」の定量法（注）を準用する。 0.1 mol/L チオ硫酸ナトリウム溶液 1 mL = 24.97 mg $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	本品 0.50 g を正確に量り、20 mL の水に溶かす。この溶液に 6 M の酢酸 5 mL とヨウ化カリウム 2 g を加え、デンプン存在下において 0.1 M チオ硫酸ナトリウム溶液で滴定する。 0.1 M チオ硫酸ナトリウム溶液 1 mL = 6.354 mg Cu(II)、又は = 24.97 mg $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.1 mg 単位で試料を 1 g 量り、50 mL の水に溶解する。この溶液に酢酸 4 mL とヨウ化カリウム 3 g、更に指示薬としてデンプンを加え 0.1N チオ硫酸ナトリウムで滴定する。別途補正のためのブランクも滴定する。 0.1N チオ硫酸ナトリウム溶液 1 mL = 24.97 mg $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$
保存基準	—	乾燥した場所で 気密容器で保存	—

注：本品約 1.5 g を精密に量り、共栓フラスコに入れ、水約 100 mL を加えて溶かした後、酢酸 2 mL 及びヨウ化カリウム 5 g を加えて溶かし、直ちに密栓して暗所に 5 分間放置する。この液を 0.1 mol/L チオ硫酸ナトリウム溶液で淡黄色を呈するまで滴定し、チオシアン酸アンモニウム 2 g を加えて溶かし、次にデンプン試液 3 mL を加え、更に 0.1 mol/L チオ硫酸ナトリウム溶液で乳白色を呈するまで滴定する。別に空試験を行い、補正する。

0.1 mol/L チオ硫酸ナトリウム溶液 1 mL = 45.38 mg $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{CuO}_{14}$

(4) 食品添加物の安定性

硫酸銅(II)五水和物は、結晶水を 5 分子含有しているが、25℃に放置すると 2 分子、110℃では 4 分子、250℃では 5 分子の結晶水が失われる。通常、製品としては固体状態で安定である [31] [78]。また、EFSA のレポートによると、安定性のデータについては、微量元素の無機化合物のために必要としないと記載されている [79]。

(5) 食品中の食品添加物の分析法

① 硫酸銅

硫酸銅としての分析方法はない。

食品中の食品添加物としての硫酸銅の分析は、「食品中の食品添加物分析法について」(平成 12 年 3 月 30 日付け衛化第 15 号厚生省生活衛生局食品化学課長通知)の別添「第 2 版 食品中の食品添加物分析法」に「銅としての分析法として」原子吸光法が規定されている [80]。

② 銅

OIV では、ワイン中の銅の分析法として、原子吸光法 (OIV-MA-AS322-06) [81] 及び誘導結合プラズマ質量分析法 (ICP-MS) (OIV-MA-AS323-07) [82] が公表されている。

また、我が国における銅の分析法については、「食品表示基準について」(平成 27 年 3 月 30 日消食表第 139 号、別添栄養成分等の分析方法等)において、原子吸光光度法、キレート抽出・原子吸光光度法及び誘導結合プラズマ発光分析法が規定されている [83]。

これらの分析法のうち、ぶどう酒中の銅含有量を測定する一般的な方法として原子吸光法があり、その定量下限が 0.2 mg/L とされていることから、後述する使用基準案における銅残存量を確認するための十分な精度を有すると考えられる [83]。

③ 硫酸イオン

ワイン中の硫酸イオンの分析法として、OIV では、硫酸バリウム沈殿物を計量し、ワイン中の硫酸イオン濃度を算出する OIV-MA-AS321-05A [84]を公表している。

6. 使用基準案

(1) 使用基準案

現行 [85]	改正後
硫酸銅は、母乳代替食品以外の食品に使用してはならない。	硫酸銅は、 <u>ぶどう酒及び母乳代替食品</u> 以外の食品に使用してはならない。
硫酸銅は、乳及び乳製品の成分規格等に関する省令別表の二 乳等の成分規格並	硫酸銅の使用量は、 <u>硫酸銅(II)五水和物</u> として、ぶどう酒にあってはその 1 L につき

びに製造、調理及び保存の方法の基準の部（五） 乳等の成分又は製造若しくは保存の方法に関するその他の規格又は基準の款(6)の規定による厚生労働大臣の承認を受けて使用する場合を除き、母乳代替食品を標準調乳濃度に調乳したとき、その 1 L につき、銅として、0.60 mg を超える量を含むないように使用しなければならない。	10 mg 以下でなければならない。また、<u>硫酸銅は、銅として、ぶどう酒にあってはその 1 L につき 2 mg を超えて残存しないように使用しなければならない。</u> 硫酸銅は、<u>母乳代替食品にあっては、乳及び乳製品の成分規格等に関する省令別表の二 乳等の成分規格並びに製造、調理及び保存の方法の基準の部（五） 乳等の成分又は製造若しくは保存の方法に関するその他の規格又は基準の款(6) の規定による厚生労働大臣の承認を受けて使用する場合を除き、母乳代替食品を標準調乳濃度に調乳したとき、その 1 L につき、銅として、0.60 mg を超える量を含むないように使用しなければならない。</u>
--	---

（２）使用基準案の設定根拠

EU における硫酸銅の使用基準は、Ⅰ.3.「諸外国における使用状況」に記載のとおり、硫酸銅(II)五水和物として「処理された製品の銅濃度が 1 mg/L（未発酵の新鮮なぶどうのマストや、わずかに発酵したぶどうのマストから作られたリキュールワインでは 2 mg/L）を超えないことを条件として、1 g/hL 以下」とされている。一部のリキュールワインで銅の残存基準が 2 mg/L となっている科学的根拠は不明であるが、OIV では、2011 年に一部のリキュールワインで銅含量が 1 mg/L を超えることを考慮し、銅の残存上限を 2 mg/L としている [86]。

そこで、硫酸銅(II)五水和物を 10 mg/L までぶどう酒に使用し、銅として、2 mg/L の硫酸銅がぶどう酒に残存するとした場合、飲酒習慣がある 20 歳以上の成人における添加物「硫酸銅」由来の銅の摂取量は、約 0.093 mg/人/日と推計される（詳細は、Ⅲ.4.(3)「使用基準改正後の硫酸銅等の摂取量推計」を参照。）。

このぶどう酒を摂取することによる添加物「硫酸銅」由来の銅の摂取量（約 0.093 mg/人/日）は、使用基準改正前における 20 歳以上の成人の銅摂取量（6.14 mg/人/日）に比べて十分に小さい。

また、硫酸銅の使用基準を改正した場合、現在の摂取量の推計（6.14 mg/人/日）を踏まえると、飲酒習慣がある 20 歳以上の成人において約 6.23 mg/人/日の銅を摂取する可能性がある。「日本人の食事摂取基準（2020 年版）」（p329）によると [73]、銅の UL を 7 mg/人/日としており、飲酒習慣がある 20 歳以上の成人の銅摂取量は、その約 89 %である（詳細は、Ⅲ.4.(3)「使用基準改正後の硫酸銅等の摂取量推計」を参照。）。つまり、銅として、

2 mg/L の硫酸銅がぶどう酒に残存したとしても、銅の UL を超えないと考えられる。

EU においては、一部のリキュールワインで銅の残存上限を 2 mg/L としており、その他のワインの残存上限 1 mg/L と差異がある。OIV では、2011 年に一部のリキュールワインで銅含量が 1 mg/L を超えることを考慮し、銅の残存上限を 2 mg/L とした [86] が、その他のワインと差別化していることについての科学的根拠は見つけられなかった。指定等要請者は、前述の考察を踏まえ、我が国においては全てのワインの残存上限を 2 mg/L とすることについて安全上の問題はなく、一部のリキュールワインとそれ以外のワインを差別化することに特段の意味はないと考えた。

以上のことから、指定等要請者は、我が国のぶどう酒における硫酸銅の使用基準案を「硫酸銅(II)五水和物として、ぶどう酒にあってはその 1 L につき 10 mg 以下でなければならない。また、硫酸銅は、銅として、ぶどう酒にあってはその 1 L につき 2 mg を超えて残存しないように使用しなければならない。」と設定することとした。

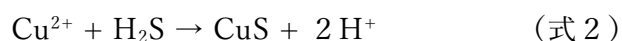
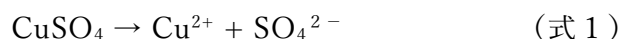
II. 有効性に関する知見

(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

硫化水素は、ぶどう酒の香りの複雑さに貢献する一方で、腐った卵臭といった不快な香りの原因となる [87]。硫化水素は、酵母が代謝の過程で生成することが知られており [87]、ブドウ果粒中に、酵母の栄養素としての窒素が欠乏すると、酵母はより多くの硫化水素を生成することが報告されている [88]。

ぶどう酒中の硫化水素を除去するために硫酸銅を添加することは、諸外国では一般的な製造技術であり [8] [25] [87]、硫化水素の除去として最も効果的な方法であるとされている [89]。

添加物「硫酸銅」は、ぶどう酒中において銅イオンと硫酸イオンに解離し、銅イオンが不快な臭いの原因となる硫化水素と反応することによって、硫化銅を生成する [90] [91] (式 1 及び式 2)。この硫化銅の水溶性は低いため、沈殿し、滓としてぶどう酒中から除去される [87] [91]。なお、製造者によって異なると考えられるが、硫酸銅は一般的に発酵終了後のワインに添加されることが多い [92]。添加された銅については、発酵開始時に添加した場合には添加量の 9 割程度が、また発酵終了後に添加した場合には 4 割程度が除去されるという知見がある [92]。



実際、2016 年の Kreitman らの報告により、モデルぶどう酒において銅イオンによる硫化水素の除去が確認されている [91]。この実験は、硫化水素を含むモデルぶどう酒に、硫酸銅(II)五水和物を添加した場合の硫化水素の減少量を測定したものである。

具体的には、それぞれ 300 μM の硫化水素 (H_2S)、システイン (Cys) 及び一級チオール

(6-sulfanylhexasan-1-ol : 6SH) を含む空気飽和モデルぶどう酒 (酒石酸 5 g/L 及びエタノール 12 % (終濃度) を加えた水、pH 3.6) に硫酸銅(II)五水和物水溶液を銅(II)として 50 μ M 添加した。また、300 μ M の二級チオール (3-sulfanylhexasan-1-ol : 3SH) を含む空気飽和モデルぶどう酒に、硫酸銅(II)五水和物水溶液を銅(II)として 100 μ M 添加した。これらの硫化水素濃度を経時的に測定した結果を図 1 に示した。

硫酸銅(II)五水和物を添加すると、約 1.4 モル当量 (72 μ M) の硫化水素が直ちに反応し、残りの硫化水素も 72 時間以内に完全に消費された。

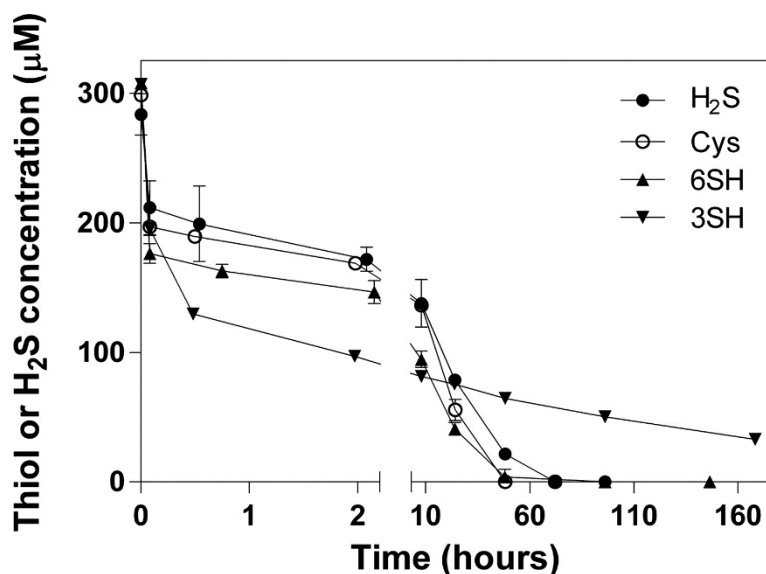


図 1 空気飽和モデルぶどう酒において、硫酸銅(II)五水和物を添加した際の硫化水素濃度の経時変化

(Figure 3、Kreitman ら, 2016 [91])

以上のことから、硫化水素は、モデルぶどう酒中で銅イオンと速やかに反応し、発酵・熟成中のぶどう酒で濃度が下がることが確認された。このことから、指定等要請者は、ぶどう酒製造時に発生する硫化水素を除去するために硫酸銅を添加することは、有効であると考えた。

なお、硫化水素を除去する方法として、硫酸銅を使用する方法以外に通気を行う方法が従来から行われているが、白ワインにおいては、酸化によるワインの色調の変化、赤ワインにおいては、酢酸菌の活性化を引き起こすリスクがある [87]。したがって、指定等要請者は、硫酸銅による硫化水素の除去は、従来法と比較しても効果的な手段であると考えた。

(2) 食品中での安定性

硫酸銅の水への溶解度は 20.7 g/100 mL (20°C) [31]と大きいので、指定等要請者は、添加物「硫酸銅」を使用基準案上限の 10 mg/L 添加した際、硫酸銅は、ぶどう酒中において銅イオンと硫酸イオンに解離すると考える。

銅イオンと硫化水素との生成物である硫化銅は、水への溶解度が 0.000033 g/100 mL (18°C) と極めて低く、水やエタノールに不溶とされている [91] [93]。生成した硫化銅は沈殿し [94]、滓引きやろ過により取り除かれる [91]。

(3) 食品中の栄養成分に及ぼす影響

添加物「硫酸銅」の使用はぶどう酒中の過剰な硫化水素を減少させることを目的としている。

添加物「硫酸銅」由来の銅イオンは、ぶどう酒中の硫化水素と反応し、硫化銅として沈殿し除去されるので、ぶどう酒中の栄養成分に及ぼす影響は無視できると考えられる。

III. 安全性に係る知見

II (2)「食品中での安定性」に記載したとおり、添加物「硫酸銅」は、ぶどう酒中で銅イオン及び硫酸イオンに解離すると考えられる。食品安全委員会では、「添加物 グルコン酸銅の使用基準改正に係る食品健康影響評価に関する審議結果」(2004 年) [69]において銅イオンを、添加物評価書「硫酸アルミニウムアンモニウム及び硫酸アルミニウムカリウム」(2017 年) [72]において硫酸イオンを既に評価している。

本概要書では、これら指定添加物の評価書を前提とした上で、硫酸銅に関する知見に加え、グルコン酸銅の評価以降の銅イオンに関する知見についても併せて検討することにより、総合的に添加物「硫酸銅」の安全性を検討することとした。

なお、硫酸イオンについては、添加物評価書「硫酸アルミニウムアンモニウム及び硫酸アルミニウムカリウム」(2017 年) [72]以降、安全性に懸念のある知見はないというこれまでの評価を変更すべき知見は確認できなかった [95]ことから、本項目において安全性の検討は行わないこととした。

1. 体内動態試験

(1) 硫酸銅

①吸収

- a. 吸収 (ラット) Johnson と Lee (1988 年) [96] : OECD SIDS 銅 (2014) [97]にて引用

Johnson と Lee (1988 年)は、実験 1⁷として、雄性 Long Evans ラット (週齢不明、6 匹/群)に、硫酸銅(II)五水和物を含有した混餌飼料 (銅として 3.5 mg/kg、5.4 mg/kg、10.5 mg/kg 及び 26.4 mg/kg) を 2 週間経口摂取させ、30 µCi の ⁶⁷Cu (化学形不明)の筋肉注射を実施した。注射後 6 日目に糞便を採取し、腎臓と肝臓を摘出した。糞便及び臓器

⁷ 文献 [96]中の Experiment 2 を、概要書では実験 1 と記載した。

の各放射線量、総銅含有量を測定した。アイソトープ希釈法を用い、銅の吸収率⁸を算出した。

また、実験²⁹では、実験1と同様の方法で、雄性 Long Evans ラット（週齢不明、6匹/群）に、硫酸銅(II)五水和物含有の混餌飼料（銅として 0.4 mg/kg、1.7 mg/kg、3.5 mg/kg、5.4 mg/kg、10.6 mg/kg 及び 21.1 mg/kg）を2週間経口摂取させた後、15 µCi の⁶⁷Cu を筋肉注射により投与し、注射後6日目に実験1と同様の方法で銅の吸収率を測定した。

その結果、Johnson と Lee（1988 年）は、銅の吸収率が表4の結果となること、実験1及び実験2ともに、銅の投与量が増えるほど銅の吸収率が低下し、吸収率は最大で 48 %であることを報告している [96]。

表4. Johnson と Lee（1988 年） ラットの銅の吸収率 [96]

	実験 1				実験 2					
銅投与群 (mg/kg)	3.5	5.4	10.5	26.4	0.4	1.7	3.5	5.4	10.6	21.1
銅吸収率 (%)	48±8	29±6	25±7	17±4	46±4	40±10	41±6	30±5	23±7	22±4

- b. 吸収（ラット）van den Berg と Beynen（1992 年）[98]：OECD SIDS 銅（2014 年）[97]にて引用

van den Berg と Beynen（1992 年）は、雄性 Wistar ラット（3 週齢、3 匹/群を 3 コホート）に、硫酸銅(II)五水和物（銅として 1 mg/kg 又は 5 mg/kg）を 28 日間、混餌投与した。11 日目から 13 日目の間及び 24 日目から 26 日目の間に、これらのラットの糞便と尿を定量的に採取し、原子吸光分析法によって糞便及び尿中の銅含有量を求めた。尿からは銅が検出されなかったため、「摂取した銅量」から「糞便中の銅量」を差し引いたものを「見かけの銅吸収量」とし、吸収率は $100 \times \text{「見かけの銅吸収量」} / \text{「摂取した銅量」}$ により算出した。

その結果、van den Berg と Beynen（1992 年）は、銅の吸収率が、銅として 5 mg/kg 群で 42 %、銅として 1 mg/kg 群で 70 %であり、銅濃度が低い 1 mg/kg 群の方が高い吸収率であることを報告している [98]。

- c. 吸収（ラット）van den Berg ら（1994 年）[99]：OECD SIDS 銅（2014 年）[97]にて

⁸ 銅の吸収率 = $\{I - F + (F \cdot Sf / Sm)\} / I$

I=銅の摂取、F=銅の糞便排泄、Sf=糞便の放射比活性、Sm=組織の放射比活性、 $F \cdot Sf / Sm$ は内因性の銅排泄（一旦吸収した銅の腸管への排出）を示す。

⁹ 文献 [96]中の Experiment 3 を、概要書では実験 2 と記載した。

引用

van den Berg ら (1994 年)は、雄性 Wistar ラット (3 週齢 18 匹、食餌内容に応じて 6 匹ずつ 3 群に分割) に硫酸銅(II)五水和物 (銅として 1.1 mg/kg 又は 5.2 mg/kg) を 56 日間、混餌投与した。放射性標識 ^{64}Cu を投与するために 100 μL の酢酸緩衝液に 5 μg の放射性標識 Cu (1.5 MBq ^{64}Cu)を加えて調製し、この溶液 100 μL を実験試料 2 g に混ぜ、混餌飼料を調製した。腹腔内投与ではこの溶液 100 μL を投与した。0 日目、21 日目及び 42 日目に各群 6 匹のラットの内、3 匹のラットに対し ^{64}Cu 標識した混餌を投与し、残り 3 匹には ^{64}Cu を腹腔内投与した。また、7 日目、28 日目及び 49 日目には各群 3 匹ずつ、前回混餌投与した動物には腹腔内投与を、前回腹腔内投与した動物には混餌投与を実施し、実験終了後、全身カウンターにて放射活性を測定した。0 日目から 14 日目、21 日目から 35 日目、及び 42 日目から 56 日目の間に、これらのラットの糞便を定量的に採取した。

その結果、van den Berg ら (1994 年)は、銅の見かけの吸収率は 1.1 mg/kg 群で 46～53 %、5.2 mg/kg 群で 22～32 %、真の吸収率は 1.1 mg/kg 群で 58～72 %、5.2 mg/kg 群で 52～56 %であり¹⁰、銅の吸収率は 5.2 mg/kg 群に対して 1.1 mg/kg 群の方が高かったと報告している [99]。

d. 吸収 (ヒト) van Ravesteyn (1944 年) [100]

van Ravesteyn (1944 年)は、健康なヒト 3 名 (A : 女性 ; 23 歳、B : 男性 ; 30 歳、C : 女性 ; 26 歳) に 1 日当たり 150 mg の硫酸銅 (詳細不明) を 3 日間、経口投与し、摂取開始から 6 日間、カルバメート反応法により糞便中の銅濃度を測定した。コントロールとして摂取開始前、6 日間の銅濃度も測定した。各被験者へ投与した銅の量から、コントロールより増加した糞便中の銅量を差し引き、体内に保持された銅の割合 (%) を銅の吸収率として算出した。その結果、各被験者の吸収率は 29 % (A)、27.5 % (B)、24 % (C) であった。結論として、van Ravesteyn (1944 年) は、銅の吸収率について、少なくとも約 25 %が消化管より吸収されたと報告している [100]。

e. 吸収 (ヒト) Turnlund ら (1989 年) [101] : EFSA NDA Panel 2015 [52]及び OECD SIDS 銅 (2014 年) [97]にて引用

Turnlund ら (1989 年)は、ヒト (男性 12 名、年齢 : 22～35 歳、平均身長 : 177 $\pm$ 2 cm、身長範囲 : 165～190 cm、実験 1 日目の平均体重 : 71 $\pm$ 3 kg、体重範囲 : 57～93 kg、実験 91 日目の平均体重 : 73 $\pm$ 3 kg、体重範囲 : 57～95 kg、1 名脱落) に対して、それぞれ 24 日間の銅適用量期間 (MP1)、次に 42 日間の銅低用量期間 (MP2)、最後に 24 日間

¹⁰ 見かけの銅の吸収量として銅の摂取量から糞便中の銅量を差し引いたものを求め、これを摂取量に対する割合として表したものを見かけの銅の吸収率とした。真の銅吸収率を求めるために、 ^{64}Cu 腹腔内投与及び ^{64}Cu 混餌投与後、各々について横軸に時間、縦軸に対数で表した %放射能リテンションをプロットしたグラフを作成した。各々の線形部分を外挿して得られた時間 0 の縦軸切片を求め、混餌投与後の切片を腹腔内投与後の切片で除し、100 を掛けて算出したものを真の銅吸収率とした。

の銅高用量期間（MP3）で銅を摂取させ、90 日間の試験期間において、被験者に 1 日当たりの銅摂取量が銅として 1.68 mg（MP1）、0.785 mg（MP2）、7.53 mg（MP3）となるよう、硫酸銅（詳細不明）を摂取させた。更に、銅の吸収量を測定するために安定同位体 ^{65}Cu （酸化銅(II)）を MP1 の 13 日目、MP2 の 7、8 日目と 31、32 日目、MP3 の 13 日目に各設定用量に合わせ添加した。摂取した食品中及び糞便中の銅は原子吸光光度法により、また ^{65}Cu は質量分析計を用い測定した。吸収された ^{65}Cu の量は、同位体添加後に摂取された ^{65}Cu の量から糞便中の ^{65}Cu の量を差し引くことによって算出した。銅の内因性損失量（腸管への排出量）は、MP1 と MP3 の最後の 18 日間と MP2 の最後の 36 日間について求めた。

その結果、Turnlund ら（1989 年）は、銅の平均吸収率が、MP1 で 36.3 %、MP2 初期で 56.2 %、MP2 後期で 55.0 %、MP3 で 12.4 %となったことから、銅の吸収率は食事の銅摂取量に依存し、銅摂取量が多くなるほど、吸収率が低下したと報告している [101]。

f. 吸収（ヒト）Harvey ら（2003 年）[102]：EFSA NDA Panel 2015 [52]及び OECD SIDS 銅（2014 年）[97]にて引用

Harvey ら（2003 年）は、健康なヒト（男性 12 名、平均年齢：32±11 歳、年齢範囲：20～59 歳、平均身長：1.79±0.06 m、身長範囲：1.70～1.94 m、平均体重：78.4±9.3 kg、体重範囲：67.8～100.3 kg、平均 BMI：24±2、BMI 範囲：20～28）に、平均銅摂取量が 1 日当たり 0.7 mg となる食事（低用量）又はこの食事に 1 日当たりの銅摂取量が 1.6（中用量）若しくは 6.0 mg（高用量）となるよう銅含有量を硫酸銅（詳細不明）で調製した食事を 8 週間与えた。各用量に応じた 3 回の試験を実施し、各試験期間の間には 4 週間のインターバルを設けた。またいずれの試験期間においても、42 日目に 3.0 mg の ^{65}Cu （塩化銅(II)）を単回経口摂取させた。その後約 14 日間、糞便試料を採取し、 ^{65}Cu の投与量、糞便中への ^{65}Cu の排泄量及び ^{65}Cu の腸管への排出量（内因性損失量）から銅の吸収量を算出した。

その結果、Harvey ら（2003 年）は、いずれの銅含有量においても、見かけの吸収率¹¹が 41～45 %、真の吸収率¹²が 45～48 %となり、食事の銅含有量による吸収率への有意な差は認められないことを報告している [102]。

g. 吸収（ヒト）Turnlund ら（2005 年）[103]：EFSA NDA Panel 2015 [52]及び OECD SIDS（2014 年）[97]にて引用

Turnlund ら（2005 年）は、ヒト（男性 9 名、年齢範囲：26～49 歳、平均身長：175±7 cm、平均体重：74±13 kg（MP-A）、76±13 kg（MP-B））に、18 日間銅として 1.6 mg/日含有の食事を摂取させ（MP-A）、その後 129 日間は自由な食事に加え銅として 7 mg/日

¹¹ 見かけの吸収率 = (^{65}Cu の投与量 - 糞便中 ^{65}Cu 量) / ^{65}Cu の投与量

¹² 真の吸収率 = (^{65}Cu の投与量 - 糞便中 ^{65}Cu 量 + ^{65}Cu の腸管への排出量（内因性損失量）) / ^{65}Cu の投与量

含有の銅サプリメント（硫酸銅（詳細不明）で調製）を摂取させた。更に、18日間銅として計7.8 mg/日の摂取となるよう、銅として1.6 mg/日含有の食事に加え銅として6.2 mg/日含有の銅サプリメント（硫酸銅（詳細不明）で調製）を摂取させた（MP-B）。各MP期間の7日目に3人の被験者に安定同位体⁶³Cu（酸化銅(II)）を経口摂取させ、他の6人に静脈内投与し、各MP期間を通じて尿と糞便を採取した。見かけの銅吸収量は、経口による⁶³Cu摂取量から12日間（安定同位体⁶³Cu投与以後）の糞便中の⁶³Cu量を差し引くことによって算出した。また、静脈内投与後12日間に糞便中に排泄された⁶³Cuの測定から、体内に吸収後に排泄される銅の割合を算出した。真の銅吸収量及び吸収率は、同期間に静脈投与から糞便中に排出された⁶³Cuの割合を用いて、見かけの銅吸収量及び吸収率を補正することによって算出した。

その結果、Turnlund ら（2005 年）は、見かけの吸収率が MP-A、MP-B でそれぞれ 29 %、16 %、真の吸収率がそれぞれ 40 %、29 %であることを報告している [103]。

②分布

硫酸銅を対象とした体内における分布を検討した報告は、確認できなかった [104]。

③代謝

硫酸銅を対象とした体内における代謝を検討した報告は、確認できなかった [105]。

④排泄

- a. 排泄（ラット）Johnson と Lee（1988 年）[96]：OECD SIDS 銅（2014 年）[97]にて引用

Johnson と Lee（1988 年）は、実験 1¹³として、雄性 Long Evans ラット（週齢不明、6 匹/群）に、硫酸銅(II)五水和物を含有した混餌飼料（銅として 3.5 mg/kg、5.4 mg/kg、10.5 mg/kg 及び 26.4 mg/kg）を 2 週間経口摂取させ、30 µCi の⁶⁷Cu（化学形不明）の筋肉注射を実施した。注射後 6 日目に尿と糞便を採取し、分析し、銅の排泄量を測定した。

また、実験 2¹⁴では、実験 1 と同様の方法で、雄性 Long Evans ラット（週齢不明、6 匹/群）に、硫酸銅(II)五水和物含有の混餌飼料（銅として 0.4 mg/kg、1.7 mg/kg、3.5 mg/kg、5.4 mg/kg、10.6 mg/kg 及び 21.1 mg/kg）を 2 週間経口摂取させた後、15 µCi の⁶⁷Cu を筋肉注射により投与した。注射後 6 日目に尿と糞便を採取、分析し、銅の排泄量を測定した。

その結果、Johnson と Lee（1988 年）は、銅の排泄量が表 5 の結果となり、摂取した銅の大部分は糞便に排泄され、尿中にはほとんど排泄されないと報告している [96]。

¹³ 文献 [96]中の Experiment 2 を、概要書では実験 1 と記載した。

¹⁴ 文献 [96]中の Experiment 3 を、概要書では実験 2 と記載した。

表 5. Johnson と Lee (1988 年) ラットの銅排泄量 [96]

	実験 1				実験 2					
銅投与群 (mg/kg)	3.5	5.4	10.5	26.4	0.4	1.7	3.5	5.4	10.6	21.1
糞便中 銅排泄量 ($\mu\text{g}/\text{日}$)	34 ± 4	75 ± 7	138 ± 2	431 ± 13	5 ± 1	24 ± 4	43 ± 4	78 ± 7	163 ± 17	358 ± 33
尿中 銅排泄量 ($\mu\text{g}/\text{日}$)	3 ± 1.1	3 ± 0.7	4 ± 1.1	5 ± 0.9	1 ± 0.2	2 ± 0.8	3 ± 0.3	3 ± 0.6	4 ± 1.1	5 ± 1.7

b. 排泄（ヒト）van Ravesteyn (1944 年) [100]

van Ravesteyn (1944 年)は、健康なヒト 3 名（A：女性；23 歳、B：男性；30 歳、C：女性；26 歳）に 1 日当たり 150 mg の硫酸銅（詳細不明）を 3 日間、経口投与し、摂取開始から 6 日間、カルバメート反応法により糞便中の銅濃度を測定した。

その結果、van Ravesteyn (1944 年)は、銅の摂取量の 65～75 %が 6～9 日目に糞便中に回収されると報告している [100]。

c. 排泄（ヒト）Turnlund ら (1989 年) [101]：EFSA NDA Panel 2015 [52]及び OECD SIDS 銅 (2014 年) [97]にて引用

Turnlund ら (1989 年)は、ヒト（男性 12 名、年齢：22～35 歳、平均身長：177 $\pm$ 2 cm、身長範囲：165～190 cm、実験 1 日目の平均体重：71 $\pm$ 3 kg、体重範囲：57～93 kg、実験 91 日目の平均体重：73 $\pm$ 3 kg、体重範囲：57～95 kg、1 名脱落)に対して、それぞれ 24 日間の銅適用量期間 (MP1)、次に 42 日間の銅低用量期間 (MP2)、最後に 24 日間の銅高用量期間 (MP3)で銅を摂取させ、90 日間の試験期間において、被験者に 1 日当たりの銅摂取量が銅として 1.68 mg (MP1)、0.785 mg (MP2)、7.53 mg (MP3)となるよう、硫酸銅（詳細不明）を摂取させた。更に、銅の排泄量を測定するために安定同位体 ^{65}Cu （酸化銅(II)）を MP1 の 13 日目、MP2 の 7、8 日目と 31、32 日目、MP3 の 13 日目に各設定用量に合わせ添加した。摂取した食品中及び糞便中の銅は原子吸光光度法により、また ^{65}Cu は質量分析計を用い測定した。銅の内因性損失量（腸管への排出量）は、MP1 と MP3 の最後の 18 日間と MP2 の最後の 36 日間について求めた。

その結果、Turnlund ら(1989 年)は、銅の内因性損失量（腸管への排出量）は、適用量 (MP1)で平均 0.61 mg、低用量 (MP2) 前半で 0.36 mg、後半で 0.33 mg、高用量 (MP3)では 0.97 mg となり、銅摂取量が多くなるほど、銅の内因性損失量（腸管への排出量）が増加すると報告している [101]。

d. 排泄（ヒト）Harvey ら (2003 年) [102]：EFSA NDA Panel 2015 [52]及び OECD SIDS

銅（2014 年）[97]にて引用

Harvey ら（2003 年）は、健康なヒト（男性 12 名、平均年齢：32±11 歳、年齢範囲：20～59 歳、平均身長：1.79±0.06 m、身長範囲：1.70～1.94 m、平均体重：78.4±9.3 kg、体重範囲：67.8～100.3 kg、平均 BMI：24±2、BMI 範囲：20～28）に、平均銅摂取量が 1 日当たり 0.7 mg となる食事（低用量）又はこの食事に 1 日当たりの銅摂取量が 1.6（中用量）若しくは 6.0 mg（高用量）となるよう銅含有量を硫酸銅（詳細不明）で調製した食事を 8 週間与えた。各用量に応じた 3 回の試験を実施し、各試験期間の間には 4 週間のインターバルを設けた。またいずれの試験期間においても、42 日目に 3.0 mg の ⁶⁵Cu（塩化銅(II)）を単回経口摂取させた。その後約 14 日間、糞便試料を採取し、⁶⁵Cu 及び非標識銅の投与量と排泄量から、一旦吸収した非標識銅の腸管への排出量（内因性損失量）を算出した¹⁵。

その結果、Harvey ら（2003 年）は、非標識銅について、一度体内に吸収された銅の腸管への排出量（内因性損失量）が高用量銅含有食では 2.46 mg/日であるのに対し、低用量及び中用量ではそれぞれ、0.45 mg/日、0.81 mg/日と有意に減少したと報告している [102]。

- e. 排泄（ヒト）Turnlund ら（2005 年）[103]：EFSA NDA Panel 2015 [52]及び OECD SIDS（2014 年）[97]にて引用

Turnlund ら（2005 年）は、ヒト（男性 9 名、年齢範囲：26～49 歳、平均身長：175±7 cm、平均体重：74±13 kg（MP-A）、76±13 kg（MP-B））に、18 日間銅として 1.6 mg/日含有の食事（MP-A）を摂取させ、その後 129 日間は自由な食事に加え銅として 7 mg/日含有の銅サプリメント（硫酸銅（詳細不明）で調製）を摂取させた。更に、18 日間銅として計 7.8 mg/日の摂取となるよう、銅として 1.6 mg/日含有の食事に加え銅として 6.2 mg/日含有の銅サプリメント（硫酸銅（詳細不明）で調製）を摂取させた（MP-B）。各 MP 期間の 7 日目に 3 人の被験者に安定同位体 ⁶³Cu（酸化銅(II)）を経口摂取させ、他の 6 人に静脈内投与し、各 MP 期間を通じて尿と糞便を採取した。

その結果、Turnlund ら（2005 年）は、各期間 7 日目以降の 12 日間における 1 日当たりの銅の平均排泄量が、MP-A では糞便中 1.6 mg/日及び尿中 0.020 mg/日、MP-B では糞便中 7.1 mg/日及び尿中 0.026 mg/日であり、また静脈内投与から 12 日間での ⁶³Cu の平均累計排泄率は糞便中では MP-A で 27 %、MP-B で 46 %と、MP-B が MP-A と比較して有意に高く（p<0.05）、尿中では MP-A で 2.1 %、MP-B で 1.3 %と MP-B が MP-A と比較して有意に低かったと報告している [103]。

（2）銅（銅塩類）

「添加物 グルコン酸銅の使用基準改正に係る食品健康影響評価に関する審議結果」（2004

¹⁵ 腸管への排出量（内因性損失量）= $R_U - D_U + (D_U \times A_L) / D_L$

（ R_U ：非標識銅の便中の量、 D_U ：非標識銅の食事中用量、 A_L ：吸収された ⁶⁵Cu 量、 D_L ：⁶⁵Cu の投与量）

年) [69]以降の銅(銅塩類)の体内動態試験に係る新たな知見について、体内動態の各項目や摂取経路等で絞り込むとともに、国際機関等において評価されている知見についても併せて検討を行った。

①吸収

a. 吸収(ラット) Coudray ら(2006 年) [106]

Coudray ら(2006 年)は、所定の金属含量食(銅は 7 mg/kg 飼料; 化学形不明)で飼育した、9、22、44 及び 88 週齢の雄性 Wistar ラット(10 匹/群)に対し、 ^{65}Cu (elemental Cu)を含む複数の放射性金属を強制経口投与し、4 日間糞便を採取した。

その結果、Coudray ら(2006 年)は、腸管における ^{65}Cu の平均吸収率は 9 週齢(測定時 13 週齢)では 18.9 %、22 週齢(測定時 26 週齢)では 19.6 %、44 週齢(測定時 48 週齢)では 15.6 %及び 88 週齢(測定時 92 週齢)では 14.7 %であったと報告している [106]。

b. 吸収(ヒト) Harvey ら(2005 年) [107]: EFSA NDA Panel 2015 [52]及び OECD SIDS 銅(2014 年) [97]にて引用

Harvey ら(2005 年)は、ヒト(男性 6 名、平均年齢: 39 歳、年齢範囲: 34~57 歳)に ^{65}Cu (塩化銅(II))を静脈内投与し、糞便サンプルを 14 日間採取した。更に、4 週間後、 ^{65}Cu (塩化銅(II))を経口投与し、血液サンプルは 7 日間、糞便サンプルは 14 日間採取した。

その結果、Harvey ら(2005 年)は、見かけの吸収率が平均 33 %、静脈内投与での排泄量から計算した真の吸収率が平均 48 %、経口摂取の排泄量から得た真の吸収率が平均 49 %と報告している [107]。

(参考)

・ 吸収(ヒト) Turnlund ら(1998 年) [108]

「添加物 グルコン酸銅の使用基準改正に係る食品健康影響評価に関する審議結果」(2004 年) [69]以前の銅(銅塩類)の体内動態試験に係る知見ではあるが、EFSA NDA Panel 2015 [52]及び OECD SIDS 銅(2014 年) [97]で引用されているため、参考に記載する。

Turnlund ら(1998 年)は、健康なヒト(男性 12 名、平均年齢: 26 ± 4 歳、平均身長: 181 ± 6 cm、平均体重: 試験開始時 74.3 ± 8.2 kg、試験終了時: 74.1 ± 7.9 kg、平均 BMI: 22.6 ± 1.5 、BMI 範囲: 20.5~24.7、1 名脱落)に、24 日間通常銅含有食(MP1、銅として 0.66 mg/日)、その後 42 日間の低銅含有食(MP2、銅として 0.38 mg/日)、更に、24 日間の高銅含有食(MP3、銅として 2.49 mg/日)を摂取させる試験において、上記の期間に、5 名には計 4 回 ^{65}Cu (酸化銅(II))を経口摂取(飲料水)させ、別の 6 名には計 3 回静脈内投与し、その後 12 日間の糞便中の放射活性を測定することにより銅の吸収を評

価した。

その結果、Turnlund ら (1998 年)は、各期間 (MP1、MP2、MP3) での見かけの吸収率は、それぞれ 54 %、67 %、44 %で、真の吸収率は、それぞれ 73 %、77 %、66 %であったと報告しており、銅の摂取量が増えるほど、吸収率が低下すると報告している [108]。

②分布

a. 分布 (ラット) Coudray ら (2006 年) [106]

Coudray ら (2006 年)は、所定の金属含量食 (銅として 7 mg/kg 飼料；化学形不明)で飼育した、9、22、44 及び 88 週齢の雄性 Wistar ラット (10 匹/群)に対し、⁶⁵Cu(elemental Cu)を含む複数の放射性金属を強制経口投与し、剖検時に肝臓・脛骨を採取した。

その結果、Coudray ら (2006 年)は、肝臓中の平均銅含量は、9 週齢 (測定時 13 週齢)では 3.77 mg/kg 湿重、22 週齢 (測定時 26 週齢)では 3.34 mg/kg 湿重、44 週齢 (測定時 48 週齢)では 3.58 mg/kg 湿重及び 88 週齢 (測定時 92 週齢)では 3.31 mg/kg 湿重、また、骨中の平均銅含量は 9 週齢 (測定時 13 週齢)では 2.46 mg/kg 乾重、22 週齢 (測定時 26 週齢)では 2.37 mg/kg 乾重、44 週齢 (測定時 48 週齢)では 2.55 mg/kg 乾重及び 88 週齢 (測定時 92 週齢)では 2.32 mg/kg 乾重であり、肝臓や骨中の銅含量はラットの週齢に関わらず変化しないと報告している [106]。

(参考)

- ・ 分布 (ヒト) Bost らの総説 (2016 年) [74]：分布 (ヒト) 厚生労働省日本人の食事摂取基準 2020 年版策定検討会報告書 (2019 年) [73]にて引用

Bost らの総説 (2016 年)によると、銅はヒトの体全体に約 110 mg 存在し、筋肉に約 28 mg、骨に約 46 mg、肝臓に約 10 mg、血漿に約 1 µg/mL の濃度で分布するとまとめている [74]。

③代謝

a. 代謝 (ヒト) Harvey ら (2005 年) [107]

Harvey ら (2005 年)は、ヒト (男性 6 名、平均年齢：39 歳、年齢範囲：34～57 歳)に⁶⁵Cu (塩化銅(II))を静脈内投与し、糞便サンプルを 14 日間採取した。更に、4 週間後、⁶⁵Cu (塩化銅(II))を経口投与し、血液サンプルは 7 日間、糞便サンプルは 14 日間採取した。また、銅代謝を調べるため、SAAMII (SAAM Institute Inc, Seattle, WA)プログラム及びコンパートメントモデルを用いて、血液及び糞便サンプルから得たデータを解析した。

その結果、Harvey ら (2005 年)は、吸収された銅の約 26 %が肝臓に取り込まれること、その後、80 %がセルロプラスミンに結合して血液中に放出され、20 %が腸管に再排出されることを報告している [107]。

(参考)

- ・ 代謝（ヒト）厚生労働省日本人の食事摂取基準 2020 年版策定検討会報告書（2019 年）[73]

厚生労働省日本人の食事摂取基準 2020 年版策定検討会報告書（2019 年）[73]では、吸収された銅は、門脈を経て肝臓へ取り込まれ、セルロプラスミンとして血中へ放出されることを報告している [73]。

④排泄

a. 排泄（ラット）Coudray ら（2006 年）[106]

Coudray ら（2006 年）は、所定の金属含量食（銅は 7 mg/kg 飼料；化学形不明）で飼育した、9、22、44 及び 88 週齢の雄性 Wistar ラット（10 匹/群）に対し、 ^{65}Cu (elemental Cu)を含む複数の放射性金属を強制経口投与し、4 日間糞便及び尿を採取した。

その結果、Coudray ら（2006 年）は、 ^{65}Cu の糞便中への平均排泄量は 9 週齢（測定時 13 週齢）では 58.0 μg 、22 週齢（測定時 26 週齢）では 56.6 μg 、44 週齢（測定時 48 週齢）では 59.1 μg 及び 88 週齢（測定時 92 週齢）では 59.8 μg 、同じく ^{65}Cu の尿中への平均排泄量は 9 週齢（測定時 13 週齢）では 1.08 μg 、22 週齢（測定時 26 週齢）では 0.85 μg 、44 週齢（測定時 48 週齢）では 0.85 μg 及び 88 週齢（測定時 92 週齢）では 0.93 μg であり、ラットの週齢による影響はなかったと報告している [106]。

b. 排泄（ヒト）Harvey ら（2005 年）[107]：EFSA NDA Panel 2015 [52]及び OECD SIDS 銅（2014 年）[97]にて引用

Harvey ら（2005 年）は、ヒト（男性 6 名、平均年齢：39 歳、年齢範囲：34～57 歳）に ^{65}Cu （塩化銅(II)）を静脈内投与し、糞便サンプルを 14 日間採取した。更に、4 週間後、 ^{65}Cu （塩化銅(II)）を経口投与し、糞便サンプルを 14 日間採取した。

その結果、Harvey ら（2005 年）は、静脈内投与による排泄率が 32 %、経口投与においては吸収された銅のうちの推定排泄率が 35 %であったと報告している [107]。

(参考)

- ・ 排泄（ヒト）Turnlund ら（1998 年）[108]

「添加物 グルコン酸銅の使用基準改正に係る食品健康影響評価に関する審議結果」（2004 年）[69]以前の銅（銅塩類）の体内動態試験に係る知見ではあるが、EFSA NDA Panel 2015 [52]及び OECD SIDS 銅（2014 年）[97]で引用されているため、参考に記載する。

Turnlund ら（1998 年）は、健康なヒト（男性 12 名、平均年齢：26 $\pm$ 4 歳、平均身長：181 $\pm$ 6 cm、平均体重：試験開始時 74.3 $\pm$ 8.2 kg、試験終了時：74.1 $\pm$ 7.9 kg、平均 BMI：22.6 $\pm$ 1.5、BMI 範囲：20.5～24.7、1 名脱落）に、24 日間通常銅含有食（MP1、

銅として 0.66 mg/日)、その後 42 日間の低銅含有食 (MP2、銅として 0.38 mg/日)、更に、24 日間の高銅含有食 (MP3、銅として 2.49 mg/日)を摂取させる試験において、上記の期間に 11 名中 6 名に対して計 3 回 ^{65}Cu (酸化銅(II))を静脈内投与し、その後 12 日間の糞便中の放射活性を測定し、銅の排泄を評価した。

その結果、Turnlund ら (1998 年)は、各期間 (MP1、MP2、MP3) での排泄率はそれぞれ 26 %、12 %、34 %であり、銅の摂取量が多いほど糞便中の ^{65}Cu の排泄率が高くなると報告している [108]。

(3) 体内動態試験のまとめ

吸収について、Johnson と Lee (1988 年) [96]は、ラットに硫酸銅(II)五水和物含有の混餌飼料を経口摂取させた時の銅の吸収率は、銅の投与量が増えるほど銅の吸収率は低下するものの、最大で 48 %であると報告している。また、EFSA NDA Panel 2015 [52]では、ヒトにおける Turnlund ら (1989 年、1998 年及び 2005 年) [101] [108] [103]及び Harvey ら (2003 年及び 2005 年) [102] [107]の研究を引用して、混合食からの銅の吸収率は約 50 %であることを報告している。一方、van den Berg と Beynen (1992 年) [98]及び van den Berg ら (1994 年) [99]は、ラットに硫酸銅(II)五水和物含有の混餌飼料を投与した時の銅の吸収率について、それぞれ銅として 1 mg/kg 群で 70 %、1.1 mg/kg 群で 58~72 %、5 mg/kg 群で 42 %、5.2 mg/kg 群で 52~56 %と報告している。銅の吸収率は銅の摂取量と反比例の関係があり [97]、銅の摂取量が少ないほど銅の吸収率は高くなる傾向があることから、指定等要請者は、通常の銅の摂取量の範囲内 (0.3~0.6 mg/kg 体重/日) [97]における銅の吸収率は、1 mg/kg 群¹⁶及び 1.1 mg/kg 群¹⁷の結果よりも低くなると考えた。以上より、指定等要請者は、EFSA NDA Panel 2015 [52]の報告を支持し、摂取量によるばらつきがあるものの、混合食からの銅の吸収率は約 50 %であると考えた。

また、分布について、Coudray ら (2006 年) [106]は、ラットに金属含量食 (銅として 7 mg/kg 飼料；化学形不明)を経口摂取させた時、ラットの週齢に関わらず肝臓や骨中の銅含量は変化しないと報告しているほか、代謝について、Harvey ら (2005 年) [107]は、吸収された銅の約 26 %が肝臓に取り込まれること、その後、80 %がセルロプラスミンに結合して血液中に放出され、20 %が腸管に再排出されることを報告している。指定等要請者は、Coudray ら (2006 年) [106]の報告においてラットの週齢に関わらず肝臓や骨中の銅含量は変化しなかったのは、生体内の恒常性により臓器中の銅濃度が一定程度に維持されているためと考えた。

また、排泄について、Johnson と Lee (1988 年) [96]は、ラットに硫酸銅(II)五水和物含有の混餌飼料を経口摂取させた時、摂取した銅の大部分は糞便に排泄され、尿中にはほとんど排泄されないと報告している。また、OECD SIDS 銅 (2014 年) [97]では、ラットにおけ

¹⁶ 1 mg/kg 群における銅の摂取量：0.05 mg/kg 体重/日 [97]

¹⁷ 1.1 mg/kg 群における銅の摂取量：0.06~0.07 mg/kg 体重/日 [97]

る van den Berg ら（1994 年）[99]の研究やヒトにおける Turnlund ら（1989 年、1998 年及び 2005 年）[101] [103] [108]及び Harvey ら（2003 年及び 2005 年）[102] [107]の研究を引用して、銅は胆汁として分泌されるため、その排泄経路が主に糞便になることを報告している。指定等要請者は、OECD SIDS 銅（2014 年）[97]の報告を支持し、吸収された銅の大部分は糞便中に排泄されると考えた。

以上のことから、指定等要請者は、生体内の銅の恒常性は、摂取量に応じて銅の吸収量及び排泄量が調節されることによって維持されており、銅濃度が正常に保たれていることから、体内動態から見た添加物「硫酸銅」の安全性に懸念はないと考えた。

2. 毒性試験

（1）亜急性毒性試験及び慢性毒性試験

（1）－1 急性毒性試験

①. 硫酸銅

a. 経口投与急性毒性試験（ラット）Smyth ら（1969 年）[109]

Smyth らの報告（1969 年）によると [109]、ラット（系統不明）に硫酸銅(II)五水和物を経口投与した場合の LD₅₀ は、960 mg/kg 体重であった。

b. 経口投与急性毒性試験（ラット）Spector（1956 年）[110]

Spector の報告（1956 年）[110]によると、ラット（系統不明）に硫酸銅（詳細不明）を経口投与した場合の LD₅₀ は、300 mg/kg 体重であった。

②. 銅（銅塩類）

「添加物 グルコン酸銅の使用基準改正に係る食品健康影響評価に関する審議結果」（2004 年）[69]以降の銅（銅塩類）の急性毒性試験についての報告は確認できなかった [111]。

表 6. 硫酸銅を被験物質とした急性毒性に関する試験成績のまとめ

被験物質	動物種	LD ₅₀ 値		参照
		mg/kg	銅換算(mg/kg) [#]	
硫酸銅(II)五水和物	ラット	960	244	文献 [109] : Smyth ら（1969 年） p476 TABLE II
硫酸銅（詳細不明）	ラット	300	—	文献 [110] : Spector（1956 年） p76, 77

[#]硫酸銅：63.546（銅）/249.69（硫酸銅(II)五水和物）×960

（1）－2 反復毒性試験

(1) - 2 - 1 亜急性毒性試験

①. 硫酸銅

- a. 14 週間反復経口投与試験（ラット）Kulwich ら（1953 年）[112]：「添加物 グルコン酸銅の使用基準改正に係る食品健康影響評価に関する審議結果」（2004 年）[69]及び銅塩類の安全性評価データ一覧（1983 年）[33]で引用

Kulwich ら（1953 年）[112]は、Wistar 離乳ラット（性別不明）に硫酸銅（詳細不明）（銅として 200 ppm）及び標識された銅を添加した飼料を 14 週間経口摂取（摂餌量 20 g/日）させ、14 週間後に各組織の放射活性をガイガーカウンター法で測定した。その結果、ラットの成長に影響はなく、また、肝臓、腎臓及び大腿骨の銅濃度にはほとんど増加が見られなかった。

- b. 15 日間及び 92 日間反復投与毒性試験（ラット及びマウス）Hébert ら（1993 年）[67]：OECD SIDS 銅（2014 年）[97]及び ECHA の報告（2013 年）[113]にて引用

Hébert ら（1993 年）の報告 [67]によると、ラット及びマウスに硫酸銅(II)五水和物を 15 日間飲水投与、15 日間混餌投与及び 92 日間混餌投与した試験成績が報告されているので、以下にその概要を示す。

(i) 15 日間反復経口飲水投与試験（ラット及びマウス）

Hébert ら（1993 年）は、6 週齢の F344/N ラット（各群雌雄各 5 匹）及び 6 週齢の B6C3F₁ マウス（各群雌雄各 5 匹）に硫酸銅(II)五水和物を表 7 の用量で 15 日間飲水投与する試験を実施した [67]。

表 7. 用量設定 [67]

用量設定 (ppm)		0 (対照群)、300、1,000、3,000、10,000
ラット	硫酸銅(II)五水和物摂取量 (mg/kg/日)	雄： 0、41、113、175、140 雌： 0、39、102、121、120
	銅換算摂取量 (mg/kg/日) #	雄： 0、10.4、28.8、44.5、35.6 雌： 0、9.9、26.0、30.8、30.5
マウス	硫酸銅(II)五水和物摂取量 (mg/kg/日)	雄： 0、41、95、226、524 雌： 0、58、140、245、683
	銅換算摂取量 (mg/kg/日) #	雄： 0、10.4、24.2、57.5、133.4 雌： 0、14.8、35.6、62.4、173.8

#銅換算：63.546（銅）/249.69（硫酸銅(II)五水和物）×各硫酸銅(II)五水和物摂取量

その結果、飲料水中 3,000 ppm 以上の濃度の硫酸銅(II)五水和物は、雌雄のラットとマウスの飲水量の減少と死亡を引き起こした。最高用量の 10,000 ppm 群の全てのラットと全てのマウス、また 3,000 ppm 群の雌ラット 1 匹、及び雄マウス 1 匹と雌マウス 3

匹が試験終了前に死亡、又は瀕死状態で屠殺された。生存個体における最終的な平均体重増加量は、低用量の 300 及び 1,000 ppm 群を除いて、3,000 ppm 群のマウスとラットでは、対照群と比べて有意に低下した。

3,000 及び 10,000 ppm 群のラットとマウスは、被毛の逆立て、衰弱、異常姿勢、活動低下、呼吸困難、振戦、及び虚脱からなる臨床徴候を示した。これらの動物では、硫酸銅(II)五水和物溶液の嗜好性が低下したことに起因して水分摂取量が著しく減少した。なお、300 及び 1,000 ppm 群では毒性を表す臨床徴候は観察されていない。300 及び 1,000 ppm 群では、ラットの mg/kg 体重当たりでの 1 日平均化合物摂取量は、マウスとほぼ同程度であったが、3,000 ppm 以上の用量群では、ラットによる硫酸銅(II)五水和物の摂取量はマウスよりも有意に低値を示した。

3,000 ppm の硫酸銅(II)五水和物が投与されたラットとマウスにおいて絶対臓器重量及び相対臓器重量比の変化が動物の体重低下に起因して見られた。

ラットの顕微鏡学的病変は、300 及び 1,000 ppm 群の雄の近位尿細管上皮細胞におけるタンパク質液滴のサイズと数の増加に限られており、雌ラット又は雌雄マウスでは、硫酸銅(II)五水和物に起因する腎病変は見られなかった。マウスの唯一の顕微鏡学的病変は、3,000 及び 10,000 ppm 群のほとんどのマウスの多数の組織で見られた実質細胞の減少で、これらの群における飲水量と体重増加の著しい減少に起因していた。

(II) 15 日間反復経口投与試験（ラット及びマウス）

Hébert ら（1993 年）は、6 週齢の F344/N ラット（各群雌雄各 5 匹）及び 6 週齢の B6C3F₁ マウス（各群雌雄各 5 匹）に硫酸銅(II)五水和物を表 8 の用量で 15 日間混餌投与する試験を実施した [67]。

表 8. 用量設定 [67]

用量設定 (ppm)		0（対照群）、1,000、2,000、4,000、8,000、16,000
ラット	硫酸銅(II)五水和物摂取量 (mg/kg/日)	雄： 0、92、180、363、777、1,275 雌： 0、89、174、637、769、1,121
	銅換算摂取量 (mg/kg/日) [#]	雄： 0、23.4、45.8、92.4、197.7、324.5 雌： 0、22.7、44.3、162.1、195.7、285.3
マウス	硫酸銅(II)五水和物摂取量 (mg/kg/日)	雄： 0、168、362、773、1,154、2,817 雌： 0、210、408、849、1,563、3,068
	銅換算摂取量 (mg/kg/日) [#]	雄： 0、42.8、92.1、196.7、293.7、716.9 雌： 0、53.4、103.8、216.1、397.8、780.8

[#] 銅換算：63.546（銅）/249.69（硫酸銅(II)五水和物）×各硫酸銅(II)五水和物摂取量

その結果、15 日間の混餌投与による試験が終了する前に、いずれの用量群においてもラット及びマウスはともに死亡又は瀕死状態とはならなかった。8,000 ppm 又は 16,000 ppm の硫酸銅(II)五水和物が投与された雌雄ラット、及び 16,000 ppm の硫酸銅(II)五水和物が投与された雌マウスの最終平均体重増加量は、対照群よりも有意に低下したが、全てのマウスの体重は対照値の 6 %以内に留まった。同様に、16,000 ppm 投与群の雌雄ラット、並びに 8,000 ppm 及び 16,000 ppm 投与群の雌雄マウスの最終平均摂餌量は、対照群よりも低値を示した。

Hébert ら (1993 年) は、高用量群の摂餌量の減少は、銅特有の毒性ではなく、混合飼料の嗜好性の低下によるためと考察している。また、Hébert ら (1993 年) は、臓器重量では、絶対重量及び相対重量比の変化は散発的で、硫酸銅特有の毒性ではなく、摂餌量の減少に伴う体重増加量の低下に起因したと考察している。

更に、顕微鏡学的に、2,000 ppm 以上の濃度の硫酸銅(II)五水和物が投与されたラットでは、前胃と腺胃を隔てる境界縁において扁平上皮の過形成と角化亢進が見られた。比較的軽度なラットでは、間質に極小の浮腫と炎症が観察されたが、より重度のラットでは、境界縁は乳頭状で、間質が拡大し、扁平上皮は葉状に突出していた。マウスにおいても同様の境界縁の過形成及び角化亢進が見られたが、マウスにおけるこの病変の重症度は軽度であった。肝臓においては、慢性活動性炎症が 8,000 ppm 群の雄ラット 4 匹並びに 16,000 ppm 群の雄ラット 5 匹及び雌ラット 3 匹において極軽度から軽度の単核性炎症細胞浸潤として観察された。この細胞浸潤は、門脈周囲から中間帯に分布しており、肝細胞の単細胞壊死が炎症の病巣内又は病巣に隣接してしばしば見られた。骨髓中の造血細胞の減少が 8,000 ppm 及び 16,000 ppm 群の雌雄ラットで観察され、8,000 ppm では極軽度で、16,000 ppm では軽度から中程度であった。この減少は、骨髓の赤血球系/骨髓性細胞の減少と、通常は骨幹に存在する脂肪細胞の突起の増加によるものであった。赤血球系造血の極軽度から軽度の減少が 16,000 ppm 群の雌雄ラットの脾臓でも見られた。飲水投与試験で見られたものと同様に、腎皮質尿細管の細胞質及び内腔において好酸性タンパク質液滴の数及びサイズの増加が 4,000、8,000 及び 16,000 ppm 群の雌雄ラットで観察された。これらの液滴は、タンパク質に対して強く陽性に染色されたが、PAS 染色では陰性であった。

(ハ) 92 日間反復経口投与試験 (ラット)

Hébert ら (1993 年) は、6 週齢の F344/N ラット (各群雌雄各 10 匹) に硫酸銅(II)五水和物を表 9 の用量で 92 日間混餌投与する試験を実施した。本試験では、試験途中に血液学的検査及び生化学的検査 (5 日目及び 21 日目)、並びに尿検査 (19 日目) を実施するために、別途、各群雌雄各 10 匹の F344/N ラット (6 週齢) が追加された [67]。

表 9. 用量設定（ラット） [67]

用量設定（ppm）	0（対照群）、500、1,000、2,000、4,000、8,000
硫酸銅(II)五水和物摂取量 （mg/kg 体重/日）	雄： 0、32、64、129、259、551 雌： 0、34、68、135、267、528
銅換算摂取量 （mg/kg 体重/日） [#]	雄： 0、8.1、16.3、32.8、65.9、140.2 雌： 0、8.7、17.3、34.4、68.0、134.4

[#]銅換算：63.546（銅）/249.69（硫酸銅(II)五水和物）×各硫酸銅(II)五水和物摂取量

その結果、誤投与により死亡した 1,000 ppm 群の雌ラット 1 匹を除いて、全てのラットは 92 日間の試験終了まで生存した。最終的な平均体重増加量は、4,000 及び 8,000 ppm 群の雄ラットと 8,000 ppm 群の雌ラットで有意に低下した。摂餌量は、8,000 ppm 群の雌雄ラットで対照群と比べてわずかに減少したが、その他の投与群は対照と同程度であった。試験期間中、硫酸銅(II)五水和物の投与に起因する可能性がある臨床症状は観察されていない。各投与群で認められた毒性所見は、表 10 のとおりである。

表 10. 92 日間反復経口投与試験（ラット）における毒性所見 [67]

投与群	毒性所見	
	雄	雌
8,000 ppm	・ヘモグロビン、ヘマトクリット、平均赤血球容積及び平均赤血球ヘモグロビンの有意な減少 ・赤血球、網状赤血球の有意な増加 ・ALT、SDH、5-NT、尿素窒素の有意な増加 ・総タンパク、アルブミンの有意な減少 ・肝臓に炎症巣の増加（10 匹） ・腎尿細管にタンパク液滴の増加（10 匹） ・尿細管上皮細胞に巨大核（10 匹） ・前胃腺胃境界縁の扁平上皮過形成の有意な増加（10 匹）	・ヘモグロビン、ヘマトクリット、平均赤血球容積及び平均赤血球ヘモグロビンの有意な減少 ・ALT、SDH、尿素窒素の有意な増加 ・総タンパク、アルブミンの有意な減少 ・肝臓に炎症巣の増加（10 匹） ・腎尿細管にタンパク液滴の増加（10 匹） ・尿細管上皮細胞に巨大核（10 匹） ・前胃腺胃境界縁の扁平上皮過形成の有意な増加（10 匹）
4,000 ppm	・ヘモグロビン、ヘマトクリット、平均赤血球容積及び平均赤血球ヘモグロビンの有意な減少 ・ALT、SDH、5-NT の有意な増加 ・肝臓に炎症巣の増加（10 匹）	・平均赤血球容積の有意な減少 ・ALT、SDH、尿素窒素の有意な増加 ・総タンパク、アルブミンの有意な減少

	・腎尿細管にタンパク液滴の増加（10 匹） ・前胃腺胃境界縁の扁平上皮過形成の有意な増加（10 匹）	・肝臓に炎症巣の増加（6 匹） ・腎尿細管にタンパク液滴の増加（10 匹） ・前胃腺胃境界縁の扁平上皮過形成の有意な増加（10 匹）
2,000 ppm	・平均赤血球容積及び平均赤血球ヘモグロビンの有意な減少 ・ALT、SDH の有意な増加 ・肝臓に炎症巣の増加（1 匹） ・腎尿細管にタンパク液滴の増加（3 匹） ・前胃腺胃境界縁の扁平上皮過形成の有意な増加（10 匹）¹⁸	・平均赤血球ヘモグロビンの有意な減少 ・尿素窒素の有意な増加 ・腎尿細管にタンパク液滴の増加（9 匹） ・前胃腺胃境界縁の扁平上皮過形成の有意な増加（7 匹）

ALT：アラニンアミノトランスフェラーゼ、SDH：ソルビトールデヒドロゲナーゼ、5-NT：5-ヌクレオチダーゼ

また、肉眼的検査において、92 日間の混餌投与試験では、15 日間の混餌投与試験で見られたものと同様の病変が 2,000 ppm 以上の濃度の硫酸銅(II)五水和物が投与されたラットの前胃で観察された。この病変は、4,000 及び 8,000 ppm 群の全ての動物及び 2,000 ppm 群の雄全てと雌 7 匹で観察され、境界縁の拡大によって特徴付けられた。

病理組織学的検査では、この病変は、境界縁の扁平上皮粘膜の極軽度から中程度の過形成であり、角化亢進も見られた。この病変がより重度の場合には、境界縁の固有層に炎症性細胞及び/又は浮腫がしばしば増加した。この病変の発生率と重症度は投与用量に関連しており、ラットは同様の用量レベルのマウスよりも著しく影響を受けていた。なお、病変は前胃腺胃境界縁でのみ発生し、前胃又は腺胃の他の部位に病変は認められていない。Hébert ら（1993 年）[67]は、硫酸銅が多くの動物種で胃の刺激物であることが示されていることから、この試験で観察された前胃病変は、おそらく硫酸銅による胃粘膜の慢性的な刺激の結果であろうと考察している。

また、雌雄ラットの肝臓において慢性活動性炎症の発生率が用量に関連して増加した。この病変は、4,000 及び 8,000 ppm 群のほとんどのラットと、2,000 ppm 群の雄 1 匹に認められ、単核性炎症細胞からなる病巣を特徴とし、これらの炎症巣は主に肝小葉の門脈周囲領域で認められた。1 つから複数の肝細胞壊死が、炎症巣に隣接して、又は炎症巣内でしばしば観察された。全ての用量群のラット肝臓切片を銅の確認のために rhodanine 染色をした結果、陽性染色は 4,000 及び 8,000 ppm 群に限られていた。8,000

¹⁸ 文献 [67]の本文中では 9 匹、Table 4 では 10 匹と記載されているが、概要書では Table 4 の記載に合わせて 10 匹とした。

ppm 群では、肝臓における染色像は門脈周囲から中間帯に分布し、肝細胞の細胞質に数個から多数（10～20 個）の赤い顆粒で構成されていた。更に、炎症性病巣のいくつかの肝細胞が染色されていた。4,000 ppm では、染色像は門脈周囲のみであり、そして染色された細胞数と細胞当たりの顆粒数が著しく減少した。

2,000 ppm 以上の用量で、ラットの腎近位尿細管上皮の細胞質にタンパク質液滴のサイズと数の増加が明らかにされた。この病変は、雌雄ともに形態学的に類似していたが、雌の方が雄よりも重症度は低かった。これらの液滴はタンパク質に対して強く陽性に染色されたが、鉄、PAS 及び抗酸性（リポフスチン）染色では陰性であった。雄ラットの対照群と高用量群の腎臓切片は $\alpha 2u$ -グロブリンに対して陽性に染色されたが、処置されたラットと対照群ラットとの間で染色性に明確な定量的な差異は認められなかった。全ての用量群の雌雄ラットの腎臓切片を銅の確認のために染色した結果、陽性染色が 4,000 及び 8,000 ppm 群でのみ見られた。染色像は、尿細管上皮の細胞質における赤い顆粒と、細胞質及び尿細管内腔におけるタンパク質液滴のびまん性又は点状の赤い染色物から構成されていた。しかしながら、これらのタンパク質液滴の多くは、特に 4,000 ppm 群では、銅に対して陽性に染色されていない。腎尿細管細胞の陽性染色は皮質に限られ、髓放線、髓質の外層、又は髓質の内層には染色は見られなかった。また、高用量群の雌雄で尿細管上皮細胞に巨大核が認められた。

精子の形態及び腔の細胞診の評価を 0、500、2,000 及び 4,000 ppm 群のラットを用いて実施した結果、硫酸銅(II)五水和物が投与されたいずれの用量でも、精巣、精巣上体又は精巣上体尾部の重量、精子数又は精子の運動性に変化は見られず、同様に、腔細胞診の評価でも硫酸銅(II)五水和物による発情周期の長さの変化や発情周期の各周期における相対時間に変化は見られていない。

各用量群当たり 4 匹のラットの脾臓切片を用いて鉄（ヘモジデリン）の存在について Perl の鉄染色を施し評価した。その結果、雌雄ラットの 8,000 ppm 群では、赤脾髄のマクロファージの細胞質に鉄陽性の顆粒は少ししか観察されなかったが、2,000 及び 4,000 ppm 群の脾臓では鉄陽性物質の減少は 8,000 ppm 群よりは目立っておらず、対照群の脾臓における鉄陽性顆粒の通常量と比べた結果、最小限の減少として認められた。

(二) 92 日間反復経口投与試験（マウス）

Hébert ら（1993 年）は、6 週齢の B6C3F₁ マウス（各群雌雄各 10 匹）に硫酸銅(II)五水和物を表 11 の用量で 92 日間混餌投与する試験を実施した [67]。

表 11. 用量設定（マウス） [67]

用量設定（ppm）	0（対照群）、1,000、2,000、4,000、8,000、16,000
硫酸銅(II)五水和物摂取量 （mg/kg 体重/日）	雄： 0、173、382、736、1,563、3,201 雌： 0、205、494、1,048、2,106、4,157

銅換算摂取量 (mg/kg 体重/日) #	雄： 0、44.0、97.2、187.3、397.8、814.7 雌： 0、52.2、125.7、266.7、536.0、1058.0
--------------------------	--

#銅換算：63.546（銅）/249.69（硫酸銅(II)五水和物）×各硫酸銅(II)五水和物摂取量

その結果、全てのマウスは 92 日間の試験終了まで生存した。被験物質投与群では、用量に関連して体重増加量が早期より低下し、より高い用量群でより著しく低下した。しかし、摂餌量は全ての投与群で対照と同程度であった。試験期間中、硫酸銅(II)五水和物の投与に起因する可能性がある臨床症状は観察されなかった。

各投与群で認められた毒性所見は表 12 のとおりである。

表 12. 92 日間反復経口投与試験（マウス）における毒性所見 [67]

投与群	毒性所見	
	雄	雌
16,000 ppm	・前胃腺胃境界縁の扁平上皮過形成の有意な増加（10 匹）	・前胃腺胃境界縁の扁平上皮過形成の有意な増加（10 匹）
8,000 ppm	・前胃腺胃境界縁の扁平上皮過形成の有意な増加（6 匹）	・前胃腺胃境界縁の扁平上皮過形成の有意な増加（8 匹）
4,000 ppm	・前胃腺胃境界縁の扁平上皮過形成の有意な増加（2 匹）	・前胃腺胃境界縁の扁平上皮過形成の有意な増加（5 匹）

また、肉眼的検査において、92 日間の混餌投与試験では、15 日間の混餌投与試験で見られたものと同様な前胃腺胃境界縁の病変が 4,000 ppm 以上の濃度の硫酸銅(II)五水和物が投与されたマウスに観察された。境界縁の扁平上皮粘膜は限局性に白く変色し、そこで腺胃との接合部を形成していた。

病理組織学的検査では、この病変は、境界縁の扁平上皮粘膜の極軽度から中程度の過形成で、角化亢進も見られた。この病変の発生率と重症度は投与用量に関連していた。この病変がより重度の場合には、境界縁の固有層に炎症性細胞及び/又は浮腫がしばしば増加した。病変は境界縁でのみ発生し、前胃又は腺胃粘膜の他の部位に病変は認められていない。

精子の形態及び腔の細胞診の評価を 0、1,000、4,000 及び 8,000 ppm 群のマウスを用いて実施した結果、硫酸銅(II)五水和物が投与されたいずれの用量でも、精巣、精巣上体又は精巣上体尾部の重量、精子数又は精子の運動性に変化は見られず、同様に、腔細胞診の評価でも硫酸銅(II)五水和物による発情周期の長さの変化や発情周期の各周期における相対時間に変化は見られていない。

ラットの脾臓において鉄が減少したために、各投与群及び対照群の 4 匹のマウスからの脾臓の切片について鉄を染色した結果、脾臓の鉄陽性顆粒の量に投与されたマウスと対照群のマウスとの間に差は見られなかった。

以上のことより Hébert ら（1993 年）は、硫酸銅(II)五水和物の投与によりラット及びマウスの双方に前胃腺胃境界縁の過形成と角化亢進を引き起こし、この病変の NOEL はラットで 1,000 ppm、マウスで 2,000 ppm と判断している [67]。また、ラットでは、硫酸銅(II)五水和物が混餌投与された場合、肝臓、腎臓及び造血器系に損傷を与えることより、これらの臓器に係る NOEL を 1,000 ppm と判断している [67]。

c. 15 日間反復経口投与試験（マウス）小島及び田中（1973 年） [114]

小島及び田中（1973 年）の報告によると、dd 系雄性マウス（各群 5 匹）に蒸留水に溶解した硫酸銅（詳細不明）を 0（対照群）、0.006、0.012、0.025、0.05、0.1、0.2、0.4、0.8、1.6 % の濃度で 15 日間自由に摂取させた。対照群には水道水を摂取させた。

その結果、体重の変化について、硫酸銅（詳細不明）の濃度が 0.2 % 以下の群では顕著な毒性影響は見られなかったが、0.4 % 以上の群では濃度に応じて体重減少が見られた。1.6 % 群では 10 日目から死亡が確認され、最終的に全動物が死亡した [114]。

指定等要請者は、1973 年の小島及び田中の試験結果から、マウスに硫酸銅（詳細不明）を 15 日間反復経口投与した場合の有害な影響が認められない最大投与量を 0.2 % と考えたが、1973 年の小島及び田中の報告において摂餌量の記載がないため、正確な摂取量を換算することができないことから、NOAEL を設定することはできないと考えた。

②. 銅（銅塩類を含む）

「添加物 グルコン酸銅の使用基準改正に係る食品健康影響評価に関する審議結果」（2004 年） [69]以降の銅（銅塩類）の亜急性毒性試験についての報告は、確認できなかった [115]。

（1）－2－2 慢性毒性試験

①. 硫酸銅

a. 反復経口投与試験（ウサギ）Tachibana（1952 年） [116]：「添加物 グルコン酸銅の使用基準改正に係る食品健康影響評価に関する審議結果」（2004 年） [69]で引用

Tachibana（1952 年） [116]は、ウサギ（詳細不明）に硫酸銅（詳細不明）1 % 溶液（10 mL）を毎日又は 1 日おきに経口摂取させ、試験開始 425 日後のウサギの肝臓について肉眼による観察を行った結果、肝硬変が見られたと報告している [116]。

指定等要請者は、1952 年の Tachibana の報告 [116]は単一用量試験であり、また、ウサギに毒性所見が観察されたことから、本試験で NOAEL を設定することはできないと考えた。

②. 銅（銅塩類）

「添加物 グルコン酸銅の使用基準改正に係る食品健康影響評価に関する審議結果」（2004

年) [69]以降の銅(銅塩類)の慢性毒性試験についての報告は、確認できなかった[117]。

(参考)

- ・ 12ヶ月反復経口投与試験(イヌ) Shanaman ら(1972年)(文献非公開)

文献非公開のため、詳細が確認できないが、「添加物 グルコン酸銅の使用基準改正に係る食品健康影響評価に関する審議結果」(2004年) [69]、JECFA の報告(1982年) [40]及び国立医薬品食品衛生研究所の報告(2019年) [75]で引用されているため、参考に記載する。

「添加物 グルコン酸銅の使用基準改正に係る食品健康影響評価に関する審議結果」(2004年) [69]では、Shanaman ら(1972年)の報告を次のように引用している。

「(引用開始) 雌雄各群 6-8 匹のイヌに 0.012、0.06 及び 0.24 % (3、15、60 mg/kg 体重相当) のグルコン酸銅を 6、12 ヶ月間混餌投与したところ、0.06 %投与群で脾臓に、0.24 %投与群で肝臓、腎臓及び脾臓に銅蓄積が認められ、0.24 %、12 ヶ月投与群で 12 匹中 1 匹に肝障害がみられたが、組織学的変化はみられていない。(引用終わり)」。

また、1982 年の JECFA の報告 [40]では、Shanaman ら(1972年)の報告について、0.24 %、12 ヶ月投与群で 12 匹中 1 匹に見られた肝機能変化は軽度であり 12 週間の休薬期間後に回復したこと、最低用量では被験物質に関連した影響は見られなかったこと、いずれの群でも被験物質に関連した死亡は見られず肉眼的又は顕微鏡的観察における病変も観察されなかったことを引用している。また、JECFA は、イヌにおける 1 年間給餌試験において、NOEL は約 5 mg/kg 体重/日であったとコメントしている [40]。

(1) - 2 - 3 反復投与毒性試験のまとめ

硫酸銅の反復投与毒性試験に関しては、Kulwich ら(1953年)のラット [112]、Hébert ら(1993年)のラット及びマウス [67]、小島及び田中(1973年)のマウス [114]、Tachibana (1952年)のウサギ [116]の試験などが報告されている。これらのうち Hébert ら(1993年)の報告では、硫酸銅(II)五水和物が投与されたラット及びマウスでは、前胃腺胃境界縁の扁平上皮に過形成が観察されていることから [67]、指定等要請者は、この所見に係る硫酸銅(II)五水和物の NOAEL をラットで 1,000 ppm (銅として、雄：16.3 mg/kg 体重/日、雌：17.3 mg/kg 体重/日)及びマウスで 2,000 ppm (銅として、雄：97.2 mg/kg 体重/日、雌：125.7 mg/kg 体重/日)と考えた [67]。また、「添加物 グルコン酸銅の使用基準改正に係る食品健康影響評価に関する審議結果」(2004年) [69]以降の銅に係る新たな知見は、見出せなかった。

(2) 発がん性試験

硫酸銅及び銅塩類の発がん性試験についての報告は、確認できなかった [118] [119]。

(3) 1年間反復投与毒性試験／発がん性併合試験

硫酸銅及び銅塩類を被験物質とした1年間反復投与毒性試験／発がん性併合試験についての報告は、確認できなかった[118][119]。

(4) 生殖毒性試験

①. 硫酸銅

- a. 二世世代生殖毒性試験（ラット）Mylchreest（2005年）（文献非公開）：OECD SIDS 銅（2014年）[97]及びECHAの報告（2013年）[113]にて引用

ECHAの報告（2013年）[113]にて引用されている2005年のMylchreestの報告では（文献非公開）、OECDガイドラインNo. 416[120]及びGood Laboratory Practice(GLP)[121]に従い、Sprague-Dawley (SD)系ラットを使用し、親(P1)世代の動物（各群雌雄各30匹、入荷時8週齢、試験開始時性成熟）には交配前に少なくとも70日間硫酸銅(II)五水和物を銅として表13の用量で混餌投与し、雌雄各1対1で交配後、雄は試験開始後109～113日、また、雌は分娩後21日に屠殺・剖検した。児動物のF1世代は生後21日に二分し、一方のF1世代の動物（各群雌雄各30匹）には母動物同様に少なくとも70日間下記の用量で混餌投与し、1対1で交配後、F1世代の雄は試験開始後119日、また、F1世代の母動物は分娩後21日に屠殺・剖検した。他方、F1世代の児動物、また、F2世代の児動物は生後21日目に屠殺・剖検する試験を実施した。

表13. 用量設定[113]

	世代、性別及び時期	投与群（ppm 硫酸銅(II)五水和物として）				
		0（対照群）	100	500	1,000	1,500
摂 取 量 (mg/kg 体重/日 銅とし て)	P1 雄－交配前	0	1.53	7.7	15.2	23.6
	P1 雌－交配前	0	1.92	9.6	19.1	29.5
	P1 雌－妊娠中	0	1.67	8.6	17.0	26.2
	P1 雌－授乳最初の2週間	0	3.39	17.7	33.8	55.7
	F1 雄－交配前	0	2.25	11.5	23.5	36.1
	F1 雌－交配前	0	2.65	13.3	26.7	43.8
	F1 雌－妊娠中	0	1.69	8.5	17.1	26.5
	F1 雌－授乳最初の2週間	0	3.27	17.6	35.2	55.4

その結果、P1及びF1世代の性周期、精子検査、交尾率、受胎率、妊娠期間、平均着床痕数及び平均出産児数、また、F1及びF2新生児の同腹児数、出生児数、性比、4日生存率、哺育率、新生児体重（0、4、7、14、21日）及び包皮分離（F1のみ）には対照群と比較して被験物質投与の影響は見られなかった。

P1及びF1世代親動物の雌雄ともに、被験物質投与群において対照と比べ体重又は体重増

加量の統計的に有意な増加あるいは減少が観察されたが、その程度は小さく散発的で、用量関係が見られないことから、毒性学的意義はないとみなされた。

高用量群（1,500 ppm）の F1 児動物の雌で膈開口の平均日数（33.6 日）が対照群（32.1 日）と比べ遅延したが、背景データ（31.3～33.9 日）の範囲内であることから、硫酸銅(II)五水和物の影響とはみなされなかった。試験期間中 P1 及び F1 世代の親動物の雄で 1 匹、また、雌で 3 匹の偶発的死亡が確認されたが、被験物質に関連した死亡は認められなかった。

ECHA は、2013 年の報告 [113]において、Mylchreest の報告（2005 年）（文献非公開）を引用しており、P1 及び F1 世代親動物の繁殖成績及び F1 及び F2 出生児に異常が認められなかったことから、生殖毒性に対する NOEL は試験された最高濃度の 1,500 ppm であったとしている [113]。

指定等要請者は、ECHA の考察を支持し、硫酸銅(II)五水和物 1,500 ppm を 2 世代にわたり混餌投与しても、P1 及び F1 世代の性周期、精子検査、交尾率、受胎率、妊娠期間、平均着床痕数及び平均出産児数、また、F1 及び F2 新生児の同腹児数、出生児数、性比、生存率、哺育率、新生児体重及び包皮分離（F1 のみ）には、対照群と比較して被験物質投与の影響は見られず、生殖能に対する有害影響は認められないことより、生殖毒性に対する硫酸銅(II)五水和物の NOAEL は 1,500 ppm（銅として 23.6 mg/kg 体重/日）と考えた。

なお、ECHA の報告（2013 年）[113]にて引用されている Mylchreest の報告（2005 年）（文献非公開）では、一般毒性として、表 14 の所見が認められた。

表 14. 一般毒性所見 [113]

投与群	毒性所見	
	雄	雌
1,500 ppm	F1 離乳児：脾重量減少 F2 離乳児：脾重量減少	P1 母動物：脾重量減少 F1 離乳児：脾重量減少 F2 離乳児：脾重量減少

その他、1,500 ppm 群の P1 母動物において、肝臓中銅含量増加及び鉄含量減少、F1 離乳児において、肝臓及び脑中銅含量増加、F2 離乳児において、肝臓中銅含量増加及び血漿中鉄含量減少が認められ、1,000 ppm 群の F1 及び F2 離乳児において、肝臓中銅含量増加が認められたが、ECHA は、表 14 の 1,500 ppm 投与による脾重量の減少のみを毒性所見と判断しており [113]、脾重量の減少以外の所見は毒性とはみなしていない。

ECHA は、親動物に対しては、P1 母動物で 1,500 ppm 投与により脾重量が減少していることから、一般毒性に対する NOEL は 1,000 ppm とし、児動物では、F1 及び F2 出生児に異常は認められなかったが、F1 離乳児及び F2 離乳児において 1,500 ppm 投与により脾重量が減少していることから、児動物における一般毒性に対する NOEL は 1,000 ppm としている [113]。

指定等要請者は、ECHA の考察を支持し、1,500 ppm の P1 の雌と F1 及び F2 離乳児の雌雄で脾重量が減少したことから、P1 及び F1 世代親動物と F1 及び F2 離乳児における一般毒性に対する NOAEL は 1,000 ppm（銅として 15.2 mg/kg 体重/日）と考えた。

②. 銅（銅塩類）

「添加物 グルコン酸銅の使用基準改正に係る食品健康影響評価に関する審議結果」（2004 年）[69]以降の銅（銅塩類）の生殖毒性試験についての報告は、確認できなかった [122]。

③. 生殖毒性試験のまとめ

生殖毒性試験について、ECHA の報告（2013 年）[113]にて引用されている Mylchreest（2005 年）（文献非公開）では、SD 系ラットに硫酸銅(II)五水和物を 0、100、500、1,000 及び 1,500 ppm の用量で混餌投与した二世世代生殖毒性試験（OECD TG416 [120]）[113]を実施し、生殖能に対する有害影響は認められなかったと報告している。

ECHA は、硫酸銅(II)五水和物 1,500 ppm を 2 世代にわたり混餌投与しても、生殖能に対する有害影響は認められず、生殖毒性に対する NOEL は本試験における最高用量の 1,500 ppm と評価した [113]。

なお、ECHA は、1,500 ppm 群の P1 の雌と F1 及び F2 離乳児の雌雄で脾重量が減少したことに基つき、P1 及び F1 世代親動物と F1 及び F2 離乳児における一般毒性に対する NOEL は 1,000 ppm と評価した [113]。

指定等要請者は ECHA の考察を支持し、硫酸銅(II)五水和物 1,500 ppm を 2 世代にわたり混餌投与しても、生殖能に対する有害影響は認められないことより、生殖毒性に対する硫酸銅(II)五水和物の NOAEL は 1,500 ppm（銅として 23.6 mg/kg 体重/日）と考えた。

なお、指定等要請者は ECHA の考察を支持し、1,500 ppm の P1 の雌と F1 及び F2 離乳児の雌雄で脾重量が減少したことから、P1 及び F1 世代親動物と F1 及び F2 離乳児に対する一般毒性に対する NOAEL は 1,000 ppm（銅として 15.2 mg/kg 体重/日）と考えた。

（５）出生前発生毒性試験

①. 硫酸銅

- a. 出生前発生毒性試験（マウス）Lecyk（1980 年）[123]：OECD SIDS 銅（2014 年）[97]及び ECHA の報告（2013 年）[113]にて引用

Lecyk（1980 年）[123]は、成熟した雌雄の C57BL マウス（雌雄各群各 7～22 匹）及び DBA マウス（雌雄各群各 10～20 匹）に硫酸銅（詳細不明）を表 15 のとおり投与群を設定して、交配 1 か月前から混餌投与した後、雌雄を 1 対 1 で交配し、交尾確認後妊娠 19 日目に母動物を帝王切開する試験を実施した。

表 15. 用量設定 [123]

用量設定（g/kg 飼料）	0（対照群）、0.5、1.0、1.5、2.0、3.0、4.0
---------------	--------------------------------

注：試験成績に体重及び摂餌量が示されていないため、硫酸銅（詳細不明）の摂取量は算出できなかった。

その結果、低用量（0.5 及び 1.0 g/kg 飼料）の硫酸銅（詳細不明）は C57BL マウス及び DBA マウスの胚の成長に有害な影響を与えなかったが、高用量（3.0 及び 4.0 g/kg 飼料）の硫酸銅（詳細不明）が投与された母動物においては死亡胎児が増加し、平均体重も減少した。また、これらの群の胎児には奇形が見られた。

この結果を受けて、Lecyk（1980 年）は、低用量（0.5 及び 1.0 g/kg 飼料）の硫酸銅（詳細不明）は胚発生をわずかに刺激するが、高用量（3.0 及び 4.0 g/kg 飼料）の硫酸銅（詳細不明）は胎児の死亡率増加、体重減少及び奇形の出現を引き起こすと報告している [123]。

以上より、指定等要請者は、低用量（0.5 及び 1.0 g/kg 飼料）ではマウスの胚の成長に有害な影響を与えないが、高用量（3.0 及び 4.0 g/kg 飼料）では胎児に有害影響が引き起こされると考えた。しかし、母動物の体重や摂餌量や子宮内での着床数や吸収胚等のパラメータも示されず、また、試験成績が統計学的に解析されていないため、NOAEL は設定できないと考えた。

②. 銅（銅塩類）

「添加物 グルコン酸銅の使用基準改正に係る食品健康影響評価に関する審議結果」（2004 年）[69]以降の銅（銅塩類）の出生前発生毒性試験についての報告は、確認できなかった [124]。

③. 出生前発生毒性の試験まとめ

ガイドラインに基づいた出生前発生毒性試験を見出すことは出来なかったが、Lecyk（1980 年）による報告から、低用量（0.5 及び 1.0 g/kg 飼料）ではマウスの胚の成長に有害な影響を与えなかったが、高用量（3.0 及び 4.0 g/kg 飼料）の硫酸銅（詳細不明）が投与された母動物においては、死亡胎児が増加、胎児の平均体重も減少し、これらの群の胎児に奇形を引き起こすことが示された [123]。指定等要請者は、母動物の体重や摂餌量や子宮内での着床数や吸収胚等のパラメータが示されず、また、試験成績が統計学的に解析されていないため、NOAEL は設定できないと考えた。

（6）遺伝毒性試験

硫酸銅を含む銅塩類については、食品安全委員会が飼料添加物評価書「2-デアミノ-2-ヒドロキシメチオニン銅」（2019 年）[70]において遺伝毒性を評価しており、「染色体異常誘発性を有するものの、遺伝子突然変異誘発性はないと考えられ」、「ヒトに対する銅の遺伝毒性については、過負荷の条件における場合を除いて予見されておらず、通常のヒトの経口摂取の範囲においては、一般的に遺伝毒性があるとは考えられていない。」と結論付けている。

また、当該評価書以降、硫酸銅又は銅（銅塩類）の遺伝毒性に係る新たに知見については、以下の報告がある。

- ・コメットアッセイ及び小核試験（ラットの脾臓から分離した培養細胞）Mandil ら（2020 年）[125]

Mandil ら（2020 年）によると、ラットの脾臓から分離した培養細胞を用いた小核試験及びコメットアッセイでは、最初に細胞毒性試験について、硫酸銅（詳細不明）を銅として 1.0、2.5、5、7.5、10、15、20、40、60 及び 80 μM の用量で行い、 LC_{50} がおよそ 40 μM であることが判明したため、小核試験及びコメットアッセイは 40 μM の単一用量の 12 時間処理で実施したところ、両試験において明らかな増加が見られ、陽性の結果が得られている [125]。

ラットの脾臓から分離した培養細胞を用いた小核試験 [125] 及びコメットアッセイ [125] では、 LC_{50} である 40 μM の単一用量において陽性の結果が得られているものの、その試験結果は高用量かつ二次的な影響によるものである。したがって、本結果は、食品安全委員会が飼料添加物評価書「2-デアミノ-2-ヒドロキシメチオニン銅」（2019 年）[70]において結論付けた硫酸銅を含む銅塩類の遺伝毒性評価を変更するものではないと考えられる。そのため、指定等要請者は、この食品安全委員会が示した硫酸銅を含む銅塩類についての遺伝毒性評価を変更すべき特段の理由はないと考える。

（参考）

硫酸銅及び銅（銅塩類）の遺伝毒性試験の結果等について、以下に参考として記載する。

①. 硫酸銅

i. 微生物を用いる復帰突然変異試験

a. 復帰突然変異試験（*Salmonella typhimurium*）Marzin と Phi（1985 年）[126]：SCF の報告（2003 年）[47]、EFSA の報告（2006 年）[51]、OECD SIDS 銅（2014 年）[97]、ECHA の報告（2013 年）[113]及び飼料添加物評価書「2-デアミノ-2-ヒドロキシメチオニン銅」（2019 年）[70]にて引用

Marzin と Phi（1985 年）によると、細菌（*Salmonella typhimurium* TA102）を用いたプレート法による復帰突然変異試験では、硫酸銅(II)五水和物 10、30、100、300、1,000 及び 3,000 nM/plate の用量での非代謝活性化系で試験が行われ、陰性の結果が得られている [126]。

b. 復帰突然変異試験（細菌）Moriya ら（1983 年）[127]：SCF の報告（2003 年）[47]、EFSA の報告（2006 年）[51]、OECD SIDS 銅（2014 年）[97]、ECHA の報告（2013 年）[113]及び飼料添加物評価書「2-デアミノ-2-ヒドロキシメチオニン銅」（2019 年）

[70]にて引用

Moriya ら (1983 年) によると、細菌 (*Salmonella typhimurium* TA98、TA100) を用いた復帰突然変異試験では、硫酸銅 (詳細不明) 最高用量 5,000 µg/plate まで代謝活性化系及び非代謝活性化系で試験が行われ、陰性の結果が得られている [127]。

c. 復帰突然変異試験 (細菌) 藤田ら (1988 年) [128]

藤田ら (1988 年) によると、細菌 (*Salmonella typhimurium* TA97、TA102) を用いたプレインキュベーション法による復帰突然変異試験では、硫酸銅 (詳細不明) 10、50、100、500 及び 1,000 µg/plate の用量での代謝活性化系及び非代謝活性化系で試験が行われ、陰性の結果が得られている [128]。

d. 復帰突然変異試験 (細菌) Gadupudi と Chung (2011 年) [129]

Gadupudi と Chung (2011 年) によると、細菌 (*Salmonella typhimurium* TA102) を用いた復帰突然変異試験の非代謝活性化系では、硫酸銅 (詳細不明) を銅として 2.5、5、10、20、50 及び 100 µg/plate の 6 用量で試験が行われ、用量に依存して変異体の増加が見られたが、陰性対照値の 2 倍以上までは増加せず、陰性の結果が得られている。一方、代謝活性化系では、5、20、100 µg/plate の 3 用量で試験が行われ、変異体の増加傾向は全く見られず、陰性の結果が得られている [129]。

e. 復帰突然変異試験 (酵母) Singh (1983 年) [130]

Singh (1983 年) によると、酵母 (*Saccharomyces cerevisiae* D7) を用いた復帰突然変異試験では、硫酸銅 (詳細不明) 0.1 M の用量での非代謝活性化系で試験が行われ、陰性の結果が得られている [130]。

ii. ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験

ほ乳類培養細胞を用いた染色体異常試験の報告は、見出せなかった [131]。

iii. げっ歯類を用いる小核試験

a. 小核実験 (マウス) Bhunya と Pati (1987 年) [132] : SCF の報告 (2003 年) [47]、EFSA の報告 (2006 年) [51]、OECD SIDS 銅 (2014 年) [97]、ECHA の報告 (2013 年) [113] 及び飼料添加物評価書「2-デアミノ-2-ヒドロキシメチオニン銅」(2019 年) [70]にて引用

Bhunya と Pati (1987 年) によると、マウスを用いた小核試験では、硫酸銅(II)五水和物を 5、10 及び 20 mg/kg 体重の用量で 24 時間間隔にて 2 回腹腔内投与し、2 回目の投与後 6 時間に骨髓を採取して試験が行われ、用量に依存して小核が誘発されており、陽性の結果が得られている [132]。

b. 小核実験（マウス）Fahrmy（2000 年） [133]

Fahrmy（2000 年）によると、マウスを用いた小核試験では硫酸銅(II)五水和物を 2.06、4.13、8.25 mg/kg 体重の 3 用量を用い、投与後 24 時間に骨髓を採取して試験が行われた。小核の出現頻度は 4.13 と 8.25 mg/kg 体重の 2 用量で統計的に有意な上昇を示し、用量依存性も見られ、陽性の結果が得られている [133]。

c. 小核実験（マウス）Tinwell と Ashby（1990 年） [134]：SCF の報告（2003 年） [47]、EFSA の報告（2006 年） [51]、OECD SIDS 銅（2014 年） [97]、ECHA の報告（2013 年） [113] 及び飼料添加物評価書「2-デアミノ-2-ヒドロキシメチオニン銅」（2019 年） [70] にて引用

Tinwell と Ashby（1990 年）によると、マウスを用いた小核試験では硫酸銅(II)五水和物を 6.6、13.2、19.8 mg/kg 体重の 3 用量を腹腔内単回投与し、投与後 24 時間に骨髓を採取して試験が行われ、陰性の結果が得られている。6.6 mg/kg 体重の用量では投与後 48 時間にも骨髓を採取して試験が行われているが、同様に陰性の結果が得られている。なお、13.2、19.8 mg/kg 体重の 2 用量では幼若赤血球頻度の低下が見られ、骨髓への影響が認められている [134]。

d. 小核試験（マウス）Prá ら（2008 年） [135]

Prá ら（2008 年）によると、マウスを用いた小核試験が硫酸銅(II)無水物 8.25 mg/kg 体重（銅として）の単一用量を 6 日間連続経口投与後翌日に、骨髓を採取して行われ、陽性の結果が得られている [135]。

e. 小核試験（妊娠後 3 日目の雌ラット）Ornaghi と Giavini（1989 年） [136]：飼料添加物評価書「2-デアミノ-2-ヒドロキシメチオニン銅」（2019 年） [70] にて引用

Ornaghi と Giavini（1989 年）によると、ラットを用いた小核試験が妊娠後 3 日目の雌ラットに硫酸銅（詳細不明）8 mg/kg 体重の用量を腹腔内投与し 30 時間後に子宮を取り出し、胚芽細胞を用いて行われ、同時に骨髓による通常の小核試験も実施された。この用量では体重の減少が見られたが、胚芽細胞及び骨髓において小核の出現頻度の上昇が見られず、陰性の結果が得られている [136]。

iv. 上記 i～iii 以外の試験

a. SOS Chromotest（大腸菌）Olivier と Marzin（1987 年） [137]：SCF の報告（2003 年） [47]、EFSA の報告（2006 年） [51]、飼料添加物評価書「2-デアミノ-2-ヒドロキシメチオニン銅」（2019 年） [70] にて引用

Olivier と Marzin（1987 年）によると、大腸菌（*Escherichia coli* PQ37）を用いた SOS Chromotest では、硫酸銅(II)五水和物 1～1,000 nM/mL の用量範囲（用量段階不明）での非代謝活性化系で試験が行われ、陰性の結果が得られている [137]。

b. 不定期 DNA 合成 (UDS) 試験 (ラット肝臓より分離した培養肝細胞) Denizau と Marion (1989 年) [138]: OECD SIDS 銅 (2014 年) [97]、ECHA の報告 (2013 年) [113]及び飼料添加物評価書「2-デアミノ-2-ヒドロキシメチオニン銅」(2019 年) [70]にて引用

Denizau と Marion (1989 年) によると、ラット肝臓より分離した培養肝細胞を用いた不定期 DNA 合成 (UDS) 試験では、硫酸銅(II)五水和物を銅として 7.9、15.7、41.4 及び 78.5 μM の用量で 20 時間処理が行われ、UDS が統計的に有意に増加しており、陽性の結果が得られている [138]。

c. 染色体異常試験 (マウス) Agarwal ら (1990 年) [139]: SCF の報告 (2003 年) [47]、EFSA の報告 (2006 年) [51]、OECD SIDS 銅 (2014 年) [97]、ECHA の報告 (2013 年) [113]及び飼料添加物評価書「2-デアミノ-2-ヒドロキシメチオニン銅」(2019 年) [70]にて引用

Agarwal ら (1990 年) によると、マウスを用いた染色体異常試験では硫酸銅(II)五水和物 1.1、1.65、2、3.3 及び 6.6 mg/kg 体重の用量の腹腔内単回投与で、投与後 6、12、24 時間に骨髓を採取して試験が行われた。投与後の採取時間にかかわらず、いずれの用量においても異常頻度が統計的に有意に増加しており、投与後 6 時間での異常頻度が最も高く、陽性の結果が得られている [139]。

d. 染色体異常試験 (マウス) Bhunya と Pati (1987 年) [132]: OECD SIDS 銅 (2014 年) [97]、ECHA の報告 (2013 年) [113]及び飼料添加物評価書「2-デアミノ-2-ヒドロキシメチオニン銅」(2019 年) [70]にて引用

Bhunya と Pati (1987 年) によると、マウスを用いた染色体異常試験では硫酸銅(II)五水和物 5、10 及び 20 mg/kg 体重の用量の腹腔内単回投与で、投与後 6、24、48 時間に骨髓を採取して試験が行われた。また、20 mg/kg 体重の用量で経口及び皮下单回投与し、投与後 24 時間に骨髓を採取して試験が行われた。更に、20 mg/kg 体重の用量を 5 回に分けて 24 時間間隔で腹腔内投与し、最終投与後 24 時間に骨髓を採取した。いずれの用量/採取時間においても異常頻度が有意に増加しており、陽性の結果が得られている [132]。

e. 精子形態異常試験 (マウス) Bhunya と Pati (1987 年) [132]: OECD SIDS 銅 (2014 年) [97]、ECHA の報告 (2013 年) [113]及び飼料添加物評価書「2-デアミノ-2-ヒドロキシメチオニン銅」(2019 年) [70]にて引用

Bhunya と Pati (1987 年) によると、マウスを用いた精子形態異常試験では、硫酸銅(II)五水和物 5、10 及び 20 mg/kg 体重の用量で 5 回に分けて 24 時間間隔で腹腔内投与し、最終投与後 35 日に精子を採取して試験が行われた。用量に依存して精子形態異常が誘発されており、陽性の結果が得られている [132]。

f. 精原細胞を用いた染色体異常試験（マウス）Fahrmy（2000 年） [133]

Fahrmy（2000 年）によると、マウスの精原細胞を用いた染色体異常試験では硫酸銅(II)五水和物 2.06、4.13、8.25 mg/kg 体重の 3 用量を用い、単回投与及び 3 日間連続投与を行った。最終投与後 24 時間に精原細胞を採取して試験が行われ、単回投与の 2.06 mg/kg 体重を除き、いずれの投与回数においても異常頻度が統計的に有意に上昇しており、用量依存性も見られ、陽性の結果が得られている [133]。

g. 精子形態異常試験（マウス）Fahrmy（2000 年） [133]

Fahrmy（2000 年）によると、マウスを用いた精子形態異常試験では硫酸銅(II)五水和物 2.06、4.13、8.25 mg/kg 体重の 3 用量を用い、3 日間連続投与し、最初の投与後 35 日に試料を採取して試験が行われた。形態異常の精子の出現頻度が統計的に有意に上昇しており、用量依存性も見られ、陽性の結果が得られている [133]。

h. 姉妹染色分体交換（SCE）試験（マウス）Fahrmy（2000 年） [133]

Fahrmy（2000 年）によると、マウスを用いた姉妹染色分体交換（SCE）試験では硫酸銅(II)五水和物 2.06、4.13、8.25 mg/kg 体重の 3 用量を腹腔内単回投与し、投与後 10 時間に骨髓を採取して試験が行われた。SCE の頻度が用量に依存して統計的に有意に増加し、陽性の結果が得られている [133]。

i. 染色体異常試験（ニワトリのひな）Bhunya と Jena（1996 年） [140]

Bhunya と Jena（1996 年）によると、ニワトリのひなを用いた染色体異常試験では、硫酸銅(II)五水和物 5、7.5、10 mg/kg 体重の 3 用量の腹腔内単回投与後 24 時間に骨髓を採取して試験が行われ、7.5 と 10 mg/kg 体重の 2 用量で陽性の結果が得られている。10 mg/kg 体重の 48 時間においても陽性の結果が得られたが、2 mg/kg 体重を 5 連投した場合には陰性の結果が得られている。10 mg/kg 体重の経口投与後 24 時間でも陽性の結果が得られている [140]。

j. 小核試験（ニワトリのひな）Bhunya と Jena（1996 年） [140]

Bhunya と Jena（1996 年）によると、ニワトリのひなを用いた小核試験では、硫酸銅(II)五水和物 5、7.5、10 mg/kg 体重の 3 用量の腹腔内投与を 24 時間間隔で 2 回腹腔内投与し、2 回目の投与後 6 時間に骨髓及び末梢血を採取して試験が行われた。骨髓では、腹腔内投与の 7.5 と 10 mg/kg 体重の 2 用量で陽性の結果が得られている。10 mg/kg 体重の経口投与においても陽性の結果が得られている。末梢血においては同様に腹腔内投与の 7.5 と 10 mg/kg 体重の 2 用量で陽性の結果が得られたが、経口投与の 10 mg/kg 体重では陰性の結果が得られている [140]。

k. Rec-assay (枯草菌) Matsui (1980 年) [141]

Matsui (1980 年) によると、枯草菌 (*Bacillus subtilis* NIG45、NIG17) を用いた Rec-assay では液体培養法で硫酸銅 (詳細不明) 0.05 M の用量の溶液 0.05 mL を用いて非代謝活性化系で試験が行われ、陰性の結果が得られている [141]。

l. 突然変異試験 (大腸菌) Demerec ら (1951 年) [142]

Demerec ら (1951 年) によると、大腸菌 (*Escherichia coli* B/Sd-4/1,3,4,5、B/Sd-4/3,4) を用いたストレプトマイシン抵抗性による突然変異試験では硫酸銅 (詳細不明) 0.00020、0.00040、0.00050、0.00075、0.00100 及び 0.00125 % の用量範囲での非代謝活性化系で試験が行われ、生存率が 5 % より小さい 0.00075 及び 0.0010 % の用量でのみ陽性の結果が得られている [142]。

m. 突然変異試験 (枯草菌) Berek と Kiss (1974 年) [143]

Berek と Kiss (1974 年) によると、枯草菌 (*Bacillus subtilis* 168 Ind⁻ (Sm S)、168 Ind⁻ (Sm R)) を用いたストレプトマイシン抵抗性による突然変異試験では、硫酸銅 (詳細不明) 0.0001、0.0002、0.0004、0.0008 及び 0.0020 M の用量における非代謝活性化系での試験が行われ、0.0004 M の用量で陽性の結果が得られている [143]。

n. 突然変異試験 (細菌) Clark (1953 年) [144]

Clark (1953 年) によると、細菌 (*Micrococcus pyogenes* var, *aureus* FDA209) を用いたペニシリン／ストレプトマイシン抵抗性による突然変異試験では、硫酸銅 (詳細不明) 0.000001 % の用量での非代謝活性化系で試験が行われ、陰性の結果が得られている [144]。

o. 突然変異試験 (大腸菌) Iyer と Szybalski (1958 年) [145]

Iyer と Szybalski (1958 年) によると、大腸菌 (*Escherichia coli* Sd4-73) を用いたストレプトマイシン抵抗性による突然変異試験では、硫酸銅 (詳細不明) 1,000 µg/20 mL Agar の用量での非代謝活性化系で試験が行われ、陰性の結果が得られている [145]。

p. 遺伝子転換試験 (酵母) Singh (1983 年) [130]

Singh (1983 年) によると、酵母 (*Saccharomyces cerevisiae* D7) を用いた遺伝子転換試験では、硫酸銅 (詳細不明) 0.1 M の用量での非代謝活性化系で試験が行われ、陰性の結果が得られている [130]。

q. 遺伝子転換試験 (酵母) Sora ら (1986 年) [146]

Sora ら (1986 年) によると、酵母 (*Saccharomyces cerevisiae* DIS13) を用いた遺伝

子転換試験では、硫酸銅(II)無水物¹⁹0.25、0.50、1.00 mM の3用量での非代謝活性化系で試験が行われ、陰性の結果が得られている [146]。

r. DNA 鎖切断試験（ラット肝臓より分離した肝細胞）Sina ら（1983 年） [147]

Sina ら（1983 年）によると、ラット肝臓より分離した肝細胞を用いた DNA 鎖切断試験では硫酸銅(II)無水物 0.03、0.3、1 mM の3用量を用い3時間処理で試験が行われ、最高用量の 1 mM でのみ陽性の結果が得られた。ただし、著者はこの用量での細胞毒性に関連している偽陽性であると結論している [147]。

s. 伴性劣性致死試験（ショウジョウバエ）Law（1938 年） [148]

Law（1938 年）によると、ショウジョウバエを用いた伴性劣性致死試験では、成熟幼生への硫酸銅（詳細不明）0.1 %溶液の注入及び取出した受精卵の致死量以下での10分間処理で試験が行われた。致死突然変異率の増加が見られており、陽性の結果が得られている [148]。

t. 翅スポットテスト（ショウジョウバエ）及びコメットアッセイ（ショウジョウバエ幼虫）Alaraby ら（2016 年） [149]

Alaraby ら（2016 年）によると、ショウジョウバエを用いた翅スポットテスト及び幼虫によるコメットアッセイが硫酸銅（詳細不明）0.4、2、10 mM の用量で試験が行われた。翅スポットテストでは陰性の結果が得られているが、コメットアッセイでは 2、10 mM の用量で統計的に有意な増加が見られ、陽性の結果が得られている [149]。

u. コメットアッセイ（マウス）Prá ら（2008 年） [135]

Prá ら（2008 年）によると、マウスを用いたコメットアッセイが硫酸銅(II)無水物 8.25 mg/kg 体重（銅として）の単一用量を6日間連続経口投与後翌日に、尾の先端から血液を採取して試験が行われたところ、統計的に有意な増加が見られ、陽性の結果が得られている [135]。

v. コメットアッセイ（マウス）Franke ら（2006 年） [150]

Franke ら（2006 年）によると、マウスを用いたコメットアッセイが硫酸銅（詳細不明）8.50 mg/kg 体重（銅として）の単一用量を単回経口投与後 24 及び 48 時間に尾の先端より血液を採取して行われ、いずれの採取時間においても陽性の結果が得られている [150]。

w. コメットアッセイ及び小核試験（ラットの脾臓から分離した培養細胞）Mandil ら（2020 年） [125]（再掲）

¹⁹ Sora ら（1986 年）では「CuSO₄ 5H₂O (7758-98-7)」と記載されているが、7758-98-7 は無水物をさす [146]。

Mandil ら（2020 年）によると、ラットの脾臓から分離した培養細胞を用いた小核試験及びコメットアッセイでは、最初に細胞毒性試験について、硫酸銅（詳細不明）を銅として 1.0、2.5、5、7.5、10、15、20、40、60 及び 80 μM の用量で行い、 LC_{50} がおよそ 40 μM であることが判明した。そこで、小核試験及びコメットアッセイは 40 μM の単一用量の 12 時間処理で実施したところ、両試験において明らかな増加が見られ、陽性の結果が得られている [125]。

表 16. 硫酸銅の遺伝毒性

試験種類	試験対象	用量等	試験結果	参照
復帰突然変異試験 (<i>in vitro</i>)	細菌 (<i>Salmonella typhimurium</i> TA102)	硫酸銅(II)五水和物 10、30、100、 300、1000 及び 3,000 nM/plate	陰性 (非代謝 活性化系)	Marzin と Phi (1985 年) [126]
復帰突然変異試験 (<i>in vitro</i>)	細菌 (<i>Salmonella typhimurium</i> TA98、TA100)	硫酸銅 (詳細不明) 最高用量 5,000 µg/plate	陰性 (非代謝 活性化系、代 謝活性化系)	Moriya ら (1983 年) [127]
復帰突然変異試験 (<i>in vitro</i>)	細菌 (<i>Salmonella typhimurium</i> TA97、TA102)	硫酸銅 (詳細不明) 10、50、100、500 及び 1,000 µg/plate (プレインキュベ ーション法)	陰性 (非代謝 活性化系、代 謝活性化系)	藤田ら (1988 年) [128]
復帰突然変異試験 (<i>in vitro</i>)	細菌 (<i>Salmonella typhimurium</i> TA102)	硫酸銅 (詳細不明) 2.5、5、10、20、 50 及び 100 µg/plate	陰性 (非代謝 活性化系)	Gadupudi と Chung (2011 年) [129]
		5、20、100 µg/plate	陰性 (代謝活 性化系)	
復帰突然変異試験 (<i>in vitro</i>)	酵母 (<i>Saccharomyces cerevisiae</i> D7)	硫酸銅 (詳細不明) 0.1 M	陰性 (非代謝 活性化系)	Singh (1983 年) [130]
小核試験 (<i>in vivo</i>)	マウス	硫酸銅(II)五水和物 5、10 及び 20 mg/kg 体重 (24 時間間隔で 2 回腹腔内投与) 2 回 目投与後 6 時間に 骨髓採取	陽性	Bhunya と Pati (1987 年) [132]
小核試験 (<i>in vivo</i>)	マウス	硫酸銅(II)五水和物 2.06、4.13、8.25 mg/kg 体重	陽性 (4.13、8.25 mg/kg 体重)	Fahrmy (2000 年) [133]

		(腹腔内単回投与) 投与後 24 時間に骨髓採取		
小核試験 (<i>in vivo</i>)	マウス	硫酸銅(II)五水和物 6.6、13.2、19.8 mg/kg 体重 (腹腔内単回投与) 投与後 24 時間に骨髓を採取、6.6 mg/kg 体重のみ投与後 48 時間に骨髓採取	陰性 (ただし、13.2、19.8 mg/kg 体重の用量では幼若赤血球頻度の低下)	Tinwell と Ashby (1990 年) [134]
小核試験 (<i>in vivo</i>)	マウス	硫酸銅(II)無水物 8.25 mg/kg 体重 (銅として) (6 日間連続経口投与) 投与後翌日骨髓採取	陽性	Prá ら (2008 年) [135]
小核試験 (<i>in vivo</i>)	妊娠後 3 日目の雌ラット	硫酸銅 (詳細不明) 8 mg/kg 体重 (腹腔内投与) 30 時間後に摘出した子宮由来胚芽細胞、及び骨髓採取	陰性	Ornaghi と Giavini (1989 年) [136]
小核試験 (<i>in vitro</i>)	ラットの脾臓から分離した培養細胞	硫酸銅 (詳細不明) 銅として 40 μ M 12 時間処理	陽性	Mandil ら (2020 年) [125]
SOS Chromotest (<i>in vitro</i>)	大腸菌 (<i>Escherichia Coli</i> PQ37)	硫酸銅(II)五水和物 1~1,000 nM/mL (用量段階不明)	陰性 (非代謝活性化系)	Olivier と Marzin (1987 年) [137]
不定期 DNA 合成 (UDS) 試験 (<i>in vitro</i>)	ラット肝臓より分離した培養肝細胞	硫酸銅(II)五水和物 7.9、15.7、41.4 及び 78.5 μ M 20 時間処理	陽性	Denizeau と Marion (1989 年) [138]

染色体異常試験 (<i>in vivo</i>)	マウス	硫酸銅(II)五水和物 1.1、1.65、2、3.3 及び 6.6 mg/kg 体重 (腹腔内単回) 投与後 6、12、24 時間に骨髓採取	陽性	Agarwal ら (1990 年) [139]
染色体異常試験 (<i>in vivo</i>)	マウス	硫酸銅(II)五水和物 5、10 及び 20 mg/kg 体重 (腹腔 内単回投与) 投与 後 6、24、48 時間 に骨髓採取	陽性	Bhunya と Pati (1987 年) [132]
		硫酸銅(II)五水和物 20 mg/kg 体重 (経口及び皮下単回 投与) 投与後 24 時 間に骨髓採取	陽性	
		硫酸銅(II)五水和物 20 mg/kg 体重 (5 回に分け、24 時間間隔で腹腔内 投与) 最終投与後 24 時間に骨髓採取	陽性	
精子形態異常 試験 (<i>in vivo</i>)	マウス	硫酸銅(II)五水和物 5、10 及び 20 mg/kg 体重 (5 回に分け、24 時間間隔で腹腔内 投与) 最終投与後 35 日に精子採取	陽性	Bhunya と Pati (1987 年) [132]
精原細胞を用 いた染色体異 常試験 (<i>in vivo</i>)	マウス	硫酸銅(II)五水和物 2.06、4.13、8.25 mg/kg 体重 (腹腔内単回投与 及び 3 日間連続投 与) 最終投与後 24	陽性 (単回の 2.06 mg/kg 体重を 除く)	Fahrmy (2000 年) [133]

		時間に精原細胞採取		
精子形態異常試験 (<i>in vivo</i>)	マウス	硫酸銅(II)五水和物 2.06、4.13、8.25 mg/kg 体重 (腹腔内 3 日間連続投与) 最初の投与後 35 日に精子採取	陽性	Fahrmy (2000 年) [133]
姉妹染色分体交換 (SCE) 試験 (<i>in vivo</i>)	マウス	硫酸銅(II)五水和物 2.06、4.13、8.25 mg/kg 体重 (腹腔内単回投与) 投与後 10 時間に骨髓採取	陽性	Fahrmy (2000 年) [133]
染色体異常試験 (<i>in vivo</i>)	ニワトリのひな	硫酸銅(II)五水和物 5、7.5、10 mg/kg 体重 (腹腔内単回投与) 投与後 24 時間に骨髓採取、10 mg/kg のみ投与後 48 時間も採取	陽性 (7.5、10 mg/kg 体重)	Bhunya と Jena (1996 年) [140]
		硫酸銅(II)五水和物 2 mg/kg (腹腔内 5 連投)	陰性	
		硫酸銅(II)五水和物 10 mg/kg (経口投与)	陽性	
小核試験 (<i>in vivo</i>)	ニワトリのひな	硫酸銅(II)五水和物 5、7.5、10 mg/kg 体重 (24 時間間隔で、腹腔内 2 回投与) 2 回目の投与後 6 時間に骨髓及び末梢血採取	陽性 (7.5、10 mg/kg 体重)	Bhunya と Jena (1996 年) [140]
		硫酸銅(II)五水和物	陽性 (骨髓)	

		10 mg/kg (経口投与)	陰 性 (末 梢 血)	
Rec-assay (<i>in vitro</i>)	枯 草 菌 (<i>Bacillus subtilis</i> NIG45、NIG17)	硫 酸 銅 (詳 細 不 明) 0.05 M 溶液を 0.05 mL	陰性 (非代謝 活性化系)	Matsui (1980 年) [141]
突然変異試験 (<i>in vitro</i>)	大 腸 菌 (<i>Escherichia coli</i> B/Sd-4/1,3,4,5、 B/Sd-4/3,4)	硫 酸 銅 (詳 細 不 明) 0.00020、 0.00040、 0.00050、 0.00075、0.00100 及び 0.00125 %	陽 性 (0.00075 及 び 0.0010 % の 用量でのみ) (非代謝活性 化系)	Demerec ら (1951 年) [142]
突然変異試験 (<i>in vitro</i>)	枯 草 菌 (<i>Bacillus subtilis</i> 168 Ind ⁻ (Sm S)、168 Ind ⁻ (Sm R))	硫 酸 銅 (詳 細 不 明) 0.0001、0.0002、 0.0004、0.0008 及 び 0.0020 M	陽性 (0.4 mM 以上の用量) (非代謝活性 化系)	Berek と Kiss (1974 年) [143]
突然変異試験 (<i>in vitro</i>)	細菌 (<i>Micrococcus pyogenes</i> var, <i>aureus</i> FDA209)	硫 酸 銅 (詳 細 不 明) 0.000001 %	陰性 (非代謝 活性化系)	Clark (1953 年) [144]
突然変異試験 (<i>in vitro</i>)	大 腸 菌 (<i>Escherichia coli</i> Sd4-73)	硫 酸 銅 (詳 細 不 明) 1,000 µg/disc	陰性 (非代謝 活性化系)	Iyer と Szybalski (1958 年) [145]
遺伝子転換試 験 (<i>in vitro</i>)	酵母 (<i>Saccharomyces cerevisiae</i> D7)	硫 酸 銅 (詳 細 不 明) 0.1 M	陰性 (非代謝 活性化系)	Singh (1983 年) [130]
遺伝子転換試 験 (<i>in vitro</i>)	酵母 (<i>Saccharomyces cerevisiae</i> DIS13)	硫酸銅(II)無水物 ²⁰ 0.25、0.50、1.00 mM	陰性 (非代謝 活性化系)	Sora ら (1986 年) [146]
DNA 鎖切断試 験 (<i>in vitro</i>)	ラット肝臓より分 離した肝細胞	硫酸銅(II)無水物 0.03、0.3、1 mM 3 時間処理	1 mM のみ陽 性 (著者は偽 陽性と結論)	Sina ら (1983 年) [147]
伴性劣性致死 試験	ショウジョウバエ	硫 酸 銅 (詳 細 不 明)	陽性	Law (1938 年) [148]

²⁰ Sora ら (1986 年) では「CuSO₄ 5H₂O (7758-98-7)」と記載されているが、7758-98-7 は無水物をさす [146]。

(<i>in vivo</i>)		成熟幼生への 0.1 % 溶液の注入及び取 出した受精卵の致 死量以下での 10 分 間処理		
翅スポットテ スト (<i>in vivo</i>)	ショウジョウバエ	硫酸銅（詳細不 明） 0.4、2、10 mM	陰性	Alaraby ら （2016 年） [149]
コメットアッ セイ (<i>in vivo</i>)	ショウジョウバエ 幼虫	硫酸銅（詳細不 明） 0.4、2、10 mM	陽性 （2、10 mM）	Alaraby ら （2016 年） [149]
コメットアッ セイ (<i>in vivo</i>)	マウス	硫酸銅(II)無水物 8.25 mg/kg 体重 （銅として） （6日間連続経口投 与）投与後翌日尾 の先端から血液採 取	陽性	Prá ら（2008 年）[135]
コメットアッ セイ (<i>in vivo</i>)	マウス	硫酸銅（詳細不 明） 8.50 mg/kg 体重 （銅として） （単回経口投与） 投与後 24 及び 48 時間に尾の先端よ り血液採取	陽性	Franke ら（2006 年）[150]
コメットアッ セイ (<i>in vitro</i>)	ラットの脾臓から 分離した培養細胞	硫酸銅（詳細不 明）銅として 40 μM 12 時間処理	陽性	Mandil ら（2020 年）[125]

②. 銅（銅塩類）

飼料添加物評価書「2-デアミノ-2-ヒドロキシメチオニン銅」（2019 年）[70]においては、一部の銅化合物の遺伝毒性について検討されているものの、「添加物 グルコン酸銅の使用基準改正に係る食品健康影響評価に関する審議結果」（2004 年）[69]以降の銅単体の遺伝毒性試験に係る新たな知見について言及されていない。そこで、「添加物 グルコン酸銅の使用基準改正に係る食品健康影響評価に関する審議結果」（2004 年）[69]以降の銅（銅塩類）の

遺伝毒性試験に係る知見について、以下のとおり記載する。

コメットアッセイ（チャイニーズ・ハムスター由来の細胞株） Grillo ら（2010 年） [151]
Grillo ら（2010 年）によると、チャイニーズ・ハムスター由来の細胞株（CHO-K1）を用いたコメットアッセイでは、銅盤を 1、2、3、9、12 時間抽出した 37℃の培養液（それぞれ 1.56、2.25、3.07、5.67、7.42 mg/L の用量）を用い 24 時間処理で試験が行われた。高用量の 5.67 と 7.42 mg/L において統計的に有意な増加が見られ、陽性の結果が得られている [151]。

表 17. 銅の遺伝毒性

試験種類	試験対象	用量等	試験結果	参照
コメットアッセイ (<i>in vitro</i>)	チャイニーズ・ハムスター由来の細胞株 (CHO-K1)	1.56、2.25、3.07、5.67、7.42 mg/L 24 時間処理	5.67 、 7.42 mg/L の用量で陽性	Grillo ら（2010 年） [151]

③. 遺伝毒性試験のまとめ

③－１. 硫酸銅

細菌による復帰突然変異試験 [126] [127] [128] [129]では、両被験物質とともに陰性の結果が得られ、大腸菌による SOS Chromotest [137]でも陰性の結果が得られている。細菌あるいは大腸菌によるストレプトマイシン抵抗性の突然変異試験 [142] [143] [144] [145]では、一部陽性の結果が得られているが、全体としては陰性であると判断されている。陽性については、生存率の低い（抗菌作用の強い）用量のみあるいは高用量での結果であることから、その生物学的な意義に疑問がもたれる。酵母による復帰突然変異試験 [130]及び遺伝子転換試験 [130] [146]及び復帰突然変異試験 [130]並びに枯草菌による Rec-assay [141]では、いずれも陰性の結果が得られている。以上の結果より、指定等要請者は、硫酸銅には微生物に対して特段問題となる遺伝毒性はないものと考えた。

ラットの培養肝細胞による不定期 DNA 合成 (UDS) 試験 [138]では、陽性の結果が得られている。一方で、ラット肝臓より分離した肝細胞による DNA 鎖切断試験 [147]では、最高用量の 1 mM でのみ陽性の結果が得られたが、著者はこの用量での細胞毒性に関連している偽陽性であると結論している。これらのことから、陽性の結果を報告した不定期 DNA 合成 (UDS) 試験の論文でも同様の考察が行える可能性がある。また、ラットの脾臓から分離した培養細胞を用いた小核試験 [125]及びコメットアッセイ [125]では、LC₅₀ の 40 µM の単一用量において両試験で陽性の結果が得られている。指定等要請者は、細胞毒性の見られる高用量での陽性結果は二次的な影響によるもので、このような高用量での陽性結果については、その生物学的な意義に疑問があると考えた。

ショウジョウバエによる翅スポットテスト [149]では陰性の結果が得られているが、伴性劣性致死試験 [148]とコメットアッセイ [149]ではいずれも陽性の結果が得られており、指定等

要請者は、高用量の硫酸銅がショウジョウバエに遺伝毒性をもたらす可能性があるものと考えた。

ニワトリのひなによる染色体異常試験 [140] 及び小核試験 [140] ではいずれも陽性の結果が得られており、指定等要請者は、高用量の硫酸銅がニワトリのひなに遺伝毒性をもたらす可能性があるものと考えた。

マウス等による試験で陽性結果を示した論文は 5 報あり、そのうち試験数でみるとマウスによる染色体異常試験が 2 [132] [139]、マウスによる小核試験が 3 [132] [133] [135]、マウスによるコメットアッセイが 2 [135] [150]、マウスによる姉妹染色分体交換（SCE）試験が 1 [133]、マウスによる精子形態異常試験が 2 [132] [133]、マウスの精原細胞による染色体異常試験が 1 [133] で、計 11 試験において陽性の結果が得られている。一方、陰性結果を示した論文は 2 報あり、そのうち試験数はマウスによる小核試験が 1 [134] で、ラットの骨髄による小核試験が 1 [136] で、ラットの胚芽細胞による小核試験が 1 [136] で、計 3 試験である。マウス等を用いた 14 試験のうち 11 試験で陽性の結果が得られていることから、指定等要請者は、高用量の硫酸銅がマウス等で遺伝毒性をもたらす可能性があると考えた。

③－２．銅（銅塩類）

「添加物 グルコン酸銅の使用基準改正に係る食品健康影響評価に関する審議結果」（2004 年） [69] 以降、銅（銅塩類）の遺伝毒性試験については、チャイニーズ・ハムスター由来の細胞株を用いたコメットアッセイ [151] の 1 報が報告されており、高用量で陽性の結果が得られている。指定等要請者は、コメットアッセイにおける細胞毒性の見られる高用量での陽性結果は二次的な影響によるもので、このような高用量でのコメットアッセイの陽性結果については、その生物学的な意義に疑問があると考えた。

③－３．添加物「硫酸銅」を使用基準に従い適切に使用した場合の遺伝毒性

硫酸銅については、上記③－１のとおり、細菌等による試験及びラット肝臓由来の細胞による試験では特段問題となる遺伝毒性はないと考えられるものの、ショウジョウバエによる試験及びマウス等による試験において高用量の硫酸銅を用いた場合は、遺伝毒性をもたらす可能性があると考えられた。

一方、飼料添加物評価書「２－デアミノ－２－ヒドロキシメチオニン銅」（2019 年） [70] では、硫酸銅を含む銅化合物の遺伝毒性についての検討を行うとともに、ヒトに対する銅の遺伝毒性については、過負荷の条件における場合を除いて予見されておらず、通常のヒトの経口摂取の範囲においては、一般的に遺伝毒性があるとは考えられていないとした上で、当該飼料添加物が飼料添加物として適切に使用される場合には特段問題となる遺伝毒性は生じないと結論している。また、その評価書が引用した EFSA による飼料添加物に関する報告（2012 年） [79] では、「銅は酸化還元活性遷移元素であり、潜在的に Fenton/Haber-Weiss 反応を触媒し、その結果として活性酸素種が生成される。それ故、高濃度の部位においては、銅が遺伝毒性をもたらす可能性が考えられる。飼料添加物としての使用に不適切な過負荷の条件の場合を除い

て、ヒト集団における銅の遺伝毒性については予見されていない。」と報告されている。よって指定等要請者は、一部の高用量の硫酸銅を用いた遺伝毒性試験において陽性が確認されたものの、食品安全委員会によって示された硫酸銅を含む銅塩類の遺伝毒性評価及びEFSAによって示された銅の遺伝毒性評価を支持し、添加物「硫酸銅」が使用基準案に従って適切に使用される場合には特段問題となる遺伝毒性は生じないと考えた。

(7) アレルゲン性試験

①. 硫酸銅

硫酸銅を被験物質としたアレルゲン性試験についての報告は、確認できなかった [152]。

②. 銅（銅塩類）

「添加物 グルコン酸銅の使用基準改正に係る食品健康影響評価に関する審議結果」（2004年）[69]以降の銅（銅塩類）のアレルゲン性試験についての報告は、以下のとおり。

②－1. 銅

銅摂取とアレルギー疾患リスクの関連性調査（ヒト新生児）West ら（2012 年）[153]

West ら（2012 年）は、300 組の妊婦（平均年齢：33.5±1.3 歳）と新生児のペアで、母親を銅摂取量（平均 2.3 mg/日）に基づき四分位数に分割し、各区分における新生児の湿疹（皮膚炎）、喘鳴や他のアレルギー疾患の罹患率を統計分析したところ、銅摂取量の増加により罹患リスクが有意に低下したと報告した。また、銅摂取量と食物アレルギーの罹患リスクが逆相関すると報告した [153]。

②－2. 酸化銅

4 日間反復経口投与試験（Balb/c マウス）Ilves ら（2019 年）[154]

Ilves ら（2019 年）は、雌性 Balb/c マウス（6～8 週齢、8 匹/群）へのオボアルブミン感作の喘息モデルにおいて、酸化銅(II)を 2.5、10 及び 40 µg/匹の用量で口腔咽頭気道投与したところ、用量依存的に好中球増多症が増悪することを報告した [154]。

③. アレルゲン性試験のまとめ

硫酸銅のアレルゲン性に関する知見の報告は、見出すことができなかった。

銅については、母親の銅摂取量の増加によりその新生児の湿疹（皮膚炎）、喘鳴や他のアレルギー疾患への罹患リスクが有意に低下したこと [153]から、指定等要請者は銅に特段問題となるアレルゲン性はないものと考えた。酸化銅については、口腔咽頭気道投与により、用量依存的に好中球増多症が増悪することが報告されている [154]。

(8) 一般薬理試験

①. 硫酸銅

硫酸銅を被験物質とした一般薬理試験についての報告は、確認できなかった [155]。

②. 銅（銅塩類）

銅若しくは銅塩類を被験物質とした一般薬理試験についての報告は、確認できなかった [156]。

（９） 毒性試験のまとめ

遺伝毒性の項目で述べたとおり、添加物「硫酸銅」をぶどう酒に対し使用基準案に従って適切に使用する場合、硫酸銅による遺伝毒性が生じる可能性は無視できると指定等要請者は考えた。

また、今回得られた知見のうち、NOAEL の最低値は、ECHA の報告（2013 年） [113] にて引用されている Mylchreest（2005 年）（文献非公開）のラットを用いた二世代生殖毒性試験から得られた一般毒性に対する 15.2 mg/kg 体重/日（銅として）であった [113]。したがって、指定等要請者は、この値を安全係数 100 で割った 0.152 mg/kg 体重/日（銅として）を ADI と考えた。

我が国では、「日本人の食事摂取基準（2020 年版）」において、銅についての UL を 7 mg/人/日と設定している [73] [157]。成人の平均体重を 55.1 kg とすると、7 mg/人/日は 0.127 mg/kg 体重/日と計算され、これは今回得られた ADI の 0.152 mg/kg 体重/日を下回る値である。したがって、今回得られた知見は、銅の UL を変更する必要があるものではなかったと指定等要請者は考えた。

表 18. 硫酸銅毒性試験提出状況まとめ

試験名	試験物質	提出状況	使用文献番号	国際機関評価
①急性毒性	五水和物	○	[109]	—
	無水物	×	—	—
	詳細不明	○	[110]	—
②反復毒性	五水和物	○	[67]	OECD（2014 年） [97]、ECHA （2013 年） [113]
	無水物	×	—	—
	詳細不明	○	[112] [114] [116]	食品安全委員会 （2004 年） [69]
③発がん性	五水和物	×	—	—
	無水物	×	—	—
	詳細不明	×	—	—
④生殖毒性	五水和物	○	[113]	—
	無水物	×	—	—

	詳細不明	×	—	—
⑤発生毒性	五水和物	×	—	—
	無水物	×	—	—
	詳細不明	○	[123]	OECD（2014 年） [97]、ECHA （2013 年） [113]
⑥遺伝毒性	五水和物	○	[126] [132] [133] [134] [137] [138] [139] [140]	SCF（2003 年） [47]、EFSA（2006 年） [51]、OECD （2014 年） [97]、 ECHA（2013 年） [113]、食品安全委 員会（2019 年） [70]
	無水物	○	[135] [146] [147]	—
	詳細不明	○	[125] [127] [128] [129] [130] [136] [141] [142] [143] [144] [145] [148] [149] [150]	SCF（2003 年） [47]、EFSA（2006 年） [51]、OECD （2014 年） [97]、 ECHA（2013 年） [113]、食品安全委 員会（2019 年） [70]
⑦アレルギー性	五水和物	×	—	—
	無水物	×	—	—
	詳細不明	×	—	—
⑧一般薬理	五水和物	×	—	—
	無水物	×	—	—
	詳細不明	×	—	—

表 19. 銅（銅塩類）毒性試験提出状況まとめ

試験名	試験物質	提出状況	使用文献番号	国際機関評価
①急性毒性	—	×	—	—
②反復毒性	—	×	—	—
③発がん性	—	×	—	—
④生殖毒性	—	×	—	—
⑤発生毒性	—	×	—	—

⑥遺伝毒性	銅（単体）	○	[151]	—
⑦アレルギー性	銅（単体）	○	[153]	—
	酸化銅(II)	○	[154]	—
⑧一般薬理	—	×	—	—

3. ヒトにおける知見

(1) 硫酸銅

a. Turnlund ら（1990 年）[48]：SCF の報告（2003 年）[47]、EFSA の報告（2006 年）[51]、EFSA NDA Panel 2015 [52]、IOM の報告（2001 年）[56]及び OECD SIDS 銅（2014 年）[97]にて引用

Turnlund ら（1990 年）[48]は、Western Human Nutrition Research Center において、22 歳から 35 歳の 12 名の健康な男性（体重：57～93 kg、身長：165～190 cm、1 名脱落）について、試験開始から 24 日間は十分な銅含有食（1.68 mg/日）、次の 42 日間は低銅含有食（0.79 mg/日）、最後の 24 日間は高銅含有食（7.53 mg/日）を摂取させた。硫酸銅（詳細不明）を食事に添加することで、各濃度の銅含有食を調製した。尿は 90 日の試験期間中、毎日、血液サンプルは、試験開始時、各銅含有食の期間の終わり及び低銅含有食の中間点で採取した。その結果、血漿中の銅、赤血球中のスーパーオキシドディスムターゼ（SOD）及びセルロプラスミン濃度、並びに尿への銅排泄について明らかな違いがなかったと報告している。

b. Harvey ら（2003 年）[102]：EFSA NDA Panel 2015 [52]にて引用

Harvey ら（2003 年）[102]は、健康なヒト（男性 12 名、平均年齢：32±11 歳、年齢範囲：20～59 歳、平均身長：1.79±0.06 m、身長範囲：1.70～1.94 m、平均体重：78.4±9.3 kg、体重範囲：67.8～100.3 kg、平均 BMI：24±2、BMI 範囲：20～28）に、平均銅摂取量が 1 日当たり 0.69 mg となる食事（低用量）又はこの食事に 1 日当たりの銅摂取量が 1.6 mg（中用量）若しくは 6.0 mg（高用量）となるよう、硫酸銅（詳細不明）を用いて銅含有量を調製した食事を 8 週間与えた。各用量に応じた 3 回の試験を実施し、各試験期間の間には 4 週間のインターバルを設けた。

その結果、赤血球中の銅・亜鉛-スーパーオキシドディスムターゼ（SOD）、血清中の銅、血清総セルロプラスミン及び血漿セルロプラスミン活性は正常範囲内であり、いずれのパラメータも銅摂取の影響を受けなかった。また、ADP 刺激血小板凝集、血漿リポタンパク質（総コレステロール、HDL-、LDL-コレステロール）、トリアシルグリセロール、アポリポタンパク質 A1 及び B、グルタチオンペルオキシダーゼ活性などの心血管疾患に関連する危険因子にも有意な影響を及ぼさないことも判明した。更に、ヘモグロビン、平均赤血球ヘモグロビン濃度及びヘマトクリットなどの血液学的因子も銅摂取の影響を受けなかった。

c. O'Connor ら (2003 年) [158]: SCF の報告 (2003 年) [47] 及び EFSA の報告 (2006 年) [51] にて引用

O'Connor ら [158] は、健康な男女 11 名ずつ計 22 名の被験者 (平均年齢: 男性; 33.5 歳、女性; 29 歳)、(平均身長: 男性; 1.8 m、女性; 1.63 m) (平均体重: 男性; 81.2 kg、女性; 60.5 kg) を対象に二重盲検の繰り返しクロスオーバー試験を行った。被験者の通常の食事からの銅の摂取量は、男性が 1.43 ± 0.1 mg/日、女性が 1.03 ± 0.1 mg/日であった。被験者全員に最初の 6 週間は硫酸銅 (詳細不明) を 3 mg/日 (銅として)、次の 6 週間は銅グリシンキレート を 3 mg/日 (銅として)、更に次の 6 週間は銅グリシンキレート 6 mg/日 (銅として) を摂取させた。各期間の最初と最後に血液を採取した。単核白血球での酸化的 DNA 損傷は、エンドヌクレアーゼ III 消化工程を組み込んだアルカリコメットアッセイを用いて評価した。肝機能の評価は、肝酵素、アラニンアミノトランスフェラーゼ及び L- γ -グルタミルトランスフェラーゼの測定により行った。

試験の結果、銅の摂取による単核白血球の酸化的 DNA 損傷及び肝機能に有意な変化は認められなかった。

d. Chuttani ら (1965 年) [159]: FAO/WHO [38]、JECFA の報告 (1982 年) [40]、SCF の報告 (2003 年) [47]、EFSA の報告 (2006 年) [51]、SCOGS [55]、国立医薬品食品衛生研究所の報告 [75] 及び ECHA の報告 (2013 年) [113] にて引用

Chuttani ら (1965 年) [159] は、インドにおける硫酸銅中毒の症例として、病院に搬送された患者 48 名 (男性: 32 名、女性: 16 名、年齢: 14~60 歳 (平均 23.6 歳)) について調べた結果を報告している。各症例の正確な銅の摂取量は不明であるが、患者らの申告によれば、1 g から 4 oz (113.4 g に相当) の硫酸銅 (詳細不明) の結晶又は粉末を水で飲み込んだとされている。

臨床症状として、金属味、上腹部の灼熱感、吐き気及び度重なる嘔吐が全症例 (48 名) に見られた。その他に、下痢 (14 名、29.1 %)、黄疸 (11 名、23.0 %)、ヘモグロビン尿症・血尿症 (14 名、29.1 %)、無尿 (13 名、27.0 %)、乏尿 (5 名、10.3 %)、低血圧症 (4 名、8.3 %)、昏睡 (4 名、8.3 %)、下血 (1 名、2.1 %) の症状が観察された。48 名のうち 7 名 (14.6 %) が死亡したが、摂取後 24 時間以内に死亡した場合はショック死であり、それ以降の死亡の場合は肝臓合併症、腎臓合併症あるいはその両方のためと見られた。

上記 48 症例に対し、生化学的及び組織病理学的試験が行われた。他病院で死亡した急性硫酸銅中毒患者 (5 名) を含めた 9 死亡例に対しては剖検が行われた。これらの患者における血清中の銅濃度、血清中のイオン性銅濃度、全血中の銅濃度は、正常な被験者よりはるかに高かった。また、全血中の銅濃度と症状の重篤度との間に有意な相関が見られた (軽症: 銅濃度 287 ± 126.8 $\mu\text{g}/100$ mL、重症: 銅濃度 798 ± 396.4 $\mu\text{g}/100$ mL)。胃粘膜及び腸粘膜には、表在性潰瘍及び深部潰瘍が認められた。肝臓では、中心静脈の拡張、様々な程度の細胞壊死及び胆汁血栓が観察された。腎臓では、糸球体うっ血、尿細管細胞

の腫脹又は壊死が見られ、一部の例ではヘモグロビン円柱も観察された。

(2) 銅（銅塩類）

「添加物 グルコン酸銅の使用基準改正に係る食品健康影響評価に関する審議結果」（2004 年）[69]以降、銅（銅塩類）の UL を見直す新たな知見は、見出されなかった[160]。

(3) ヒトにおける知見のまとめ

Turnlund ら（1990 年）[48]や Harvey ら（2003 年）[102]の報告では、健康なヒトに銅含有食（銅として 0.69 mg/日～7.53 mg/日）を摂取させた試験において、血液中の銅、赤血球中のスーパーオキシドディスムターゼ（SOD）及びセルロプラスミンに影響を及ぼさなかったことを報告している。また、O'Connor ら（2003 年）[158]は、健康なヒトに銅として 3 mg/日又は 6 mg/日の硫酸銅（詳細不明）又は銅グリシンキレート（食事由来を含めると、それぞれ銅として約 4 mg/日又は 7 mg/日）を摂取させた試験において、単核白血球の酸化的 DNA 損傷及び肝機能に有意な変化は認められなかったことから、最高 7 mg/日の総銅摂取量による酸化的 DNA 損傷誘発及び肝機能への悪影響は認められなかったと結論している。また、Chuttani ら（1965 年）[159]の報告は、自殺を目的とした硫酸銅中毒の症例であり、添加物「硫酸銅」が使用基準案に従って適切に使用される場合には、特段問題となる毒性は生じないと指定等要請者は考えた。以上より、ヒトにおける知見において硫酸銅に関する報告は得られたものの、指定等要請者は、毒性試験から得られた NOAEL や ADI を引き下げるとは考えなかった。

したがって、上記 2（9）「毒性試験のまとめ」に記載したとおり、指定等要請者は、硫酸銅の NOAEL を 15.2 mg/kg 体重/日（銅として）、この値を安全係数 100 で割った 0.152 mg/kg 体重/日（銅として）を ADI と考えた。また、「日本人の食事摂取基準（2020 年版）」における銅の UL「7 mg/人/日」[73][157]は、成人の平均体重を 55.1 kg とすると 0.127 mg/kg 体重/日と計算され、ADI と考えた 0.152 mg/kg 体重/日を下回る値であった。

以上を踏まえ、指定等要請者は、今回得られたヒトにおける知見は、銅の UL を変更する必要があるものではなかったと考えた。

(参考)

2004 年のグルコン酸銅の評価以前の銅（銅塩類）に係るヒトにおける知見について、以下に参考として記載する。

- a. Pratt ら（1985 年）[46]：SCF の報告（2003 年）[47]、EFSA の報告（2006 年）[51]、EFSA NDA Panel 2015 [52]、IOM の報告（2001 年）[56]、UK EVM [66]、「添加物 グルコン酸銅の使用基準改正に係る食品健康影響評価に関する審議結果」（2004 年）[69]、「日

本人の食事摂取基準（2020 年版）」策定検討会報告書 [73]及び国立医薬品食品衛生研究所の報告 [75]にて引用

Pratt ら（1985 年） [46]は、ヒト 7 名（男性：3 名、女性：4 名、平均年齢：42 歳）に 1 日当たり銅として 10 mg のグルコン酸銅サプリメント（5 mg 含有のカプセルを 1 日当たり 2 錠）を 12 週間経口投与した。7 名のプラセボ投与群も設定し、二重盲検試験とした。血液、血清、尿及び毛髪サンプルは、試験開始時、試験開始から 6 週間後及び試験終了後にサンプリングした。

その結果、12 週間の試験期間中、グルコン酸銅サプリメントを摂取した 7 名の被験者の血清、尿又は毛髪サンプルの銅のほか、亜鉛、マグネシウムのレベルに有意な変化はなかった。また、ヘマトクリット、平均赤血球容積、血清コレステロール、血清トリグリセリド、SGOT、血清アルカリホスファターゼ、血清 GGT 又は血清 LDH にも有意な変化はなかった。血清カリウムは、平均値である 4.3 mEq/L から 4.0 mEq/L ($p<0.05$) に変化した。吐き気、下痢、胸焼けの発生率については、グルコン酸銅サプリメントを摂取した 7 名の被験者とプラセボカプセルを摂取した 7 名の被験者とは同じであった。

- b. O'Donohue ら（1993 年） [161]：SCF の報告（2003 年） [47]、EFSA の報告（2006 年） [51]、IOM の報告（2001 年） [56]、OECD SIDS 銅（2014 年） [97]及び ECHA の報告（2013 年） [113]にて引用

O'Donohue ら [161]は、イギリスでの銅中毒症状の症例を報告している。6 週間続く倦怠感、黄疸及び腹部腫脹の主訴で病院を受診した患者（男性：26 歳）は、亜鉛錠剤を 3 か月間服用した後、30 mg の銅錠剤（最大推奨量は 3 mg）を 2 年間服用し続けた。その後、時折倦怠感を感じるようになったことから、受診前の年には銅錠剤の量が 60 mg/日にまで増加していた。

受診時に患者は痩せており、黄疸の症状のほか、中程度の腹水、脾腫、カイザー・フライシャー輪とヒマワリ状白内障の症状を呈していた。発症から 6 週間後、患者は脳症や黄疸症状の悪化のため緊急肝移植手術を受けた。切除された肝臓の組織病理検査でウィルソン病に似た肝硬変が認められた。

4. 一日摂取量の推計等

（1）現状における硫酸銅等の摂取量推計

イ 硫酸銅

硫酸銅は、その五水和物、硫酸銅(II)五水和物が人工栄養児の銅強化を目的として食品添加物に指定されている [31] [32] [33]。

現状において添加物「硫酸銅」を摂取する可能性があるのは乳児のみであり、今回の使用基準改正要請の対象であるぶどう酒を摂取する可能性がある 20 歳以上の成人については、添加物「硫酸銅」の摂取はない。

ロ 銅

令和元年国民健康・栄養調査報告によれば、食品からの銅の摂取量は国民全体の平均で 1.12 mg/人/日、20 歳以上の成人における平均で 1.14 mg/人/日である [162]。

一方、食品添加物由来の銅については、添加物「硫酸銅」が母乳代替食品に [31] [32] [33]、添加物「銅クロロフィリンナトリウム」及び添加物「銅クロロフィル」が一部の食品に [32]、また、添加物「グルコン酸銅」が母乳代替食品、特定保健用食品及び栄養機能食品に [32] 使用することが認められている。添加物「銅クロロフィリンナトリウム」及び添加物「銅クロロフィル」由来の銅の摂取量については、令和元年国民健康・栄養調査報告において示された食品からの銅の摂取量に含まれていると考えられる。また、特定保健用食品及び栄養機能食品については、一日当たりの銅の摂取目安量が 5 mg 以下とすることが定められている [163]。したがって、特定保健用食品や栄養機能食品を摂取する 20 歳以上の成人では、食品由来と添加物由来の合計で 6.14 mg/人/日の銅を摂取する可能性がある。

なお、我が国では、「日本人の食事摂取基準（2020年版）」において銅のULを7 mg/人/日としている [73] [157]。

ハ 硫酸イオン

硫酸イオン（硫酸塩）は、動物・植物の構成成分であり [53]、食品中に含まれる天然成分である [41]。食品由来の硫酸イオンや硫酸塩類について、令和元年国民健康・栄養調査報告 [164] 等、我が国における食品中の含有量や摂取量に関する調査報告は確認できない。また、添加物評価書「硫酸カリウム」（2013 年）[71]、添加物評価書「硫酸亜鉛」（2015 年）[165] 及び添加物評価書「硫酸アルミニウムアンモニウム、硫酸アルミニウムカリウム」（2017 年）[72] では、硫酸イオンの摂取量に関する記載は見られない。

上記イに記載したとおり、現状において添加物「硫酸銅」を摂取する可能性があるのは乳児のみであり、今回の使用基準改正要請の対象であるぶどう酒を摂取する可能性がある 20 歳以上の成人については、添加物「硫酸銅」由来の硫酸イオンの摂取はない。一方、添加物「硫酸銅」に加え、我が国では「硫酸亜鉛」や「硫酸アルミニウムアンモニウム」等の硫酸塩を含む食品添加物の使用が認められている。令和元年度厚生労働科学研究の食品添加物生産量統計調査 [166] をもとに、添加物「硫酸銅」以外の食品添加物由来の硫酸イオンの摂取量を推計すると、約 60.2～72.3 mg/人/日²¹と推計される。

²¹ 令和元年度厚生労働科学研究の食品添加物生産量統計 [166] をもとに、以下のとおり算出。

A: 添加物「硫酸カルシウム」由来の硫酸イオンの一人一日摂取量

= 添加物「硫酸カルシウム」の一人一日摂取量 (mg/人/日) × 硫酸イオンの式量/添加物「硫酸カルシウム」の分子量 = $65.58 \times 96.063 / 172.17 \div 36.59$ mg/人/日

B: 添加物「硫酸アルミニウムアンモニウム」由来の硫酸イオンの一人一日摂取量

= 添加物「硫酸アルミニウムアンモニウム」の一人一日摂取量 (mg/人/日) × 硫酸イオンの式量 × 硫酸イオン数/添

なお、海外の調査報告では、米国医学研究所（2005年）が、硫酸塩の合計一日摂取量を3.25～5.55 g/日（平均4.40 g/日）と報告している [167]。

（２）使用基準改正後のぶどう酒由来の硫酸銅の摂取量推計

イ 硫酸銅のぶどう酒中の残存量

本概要書の添加物「硫酸銅」の使用基準改正案では、用途に「ぶどう酒」を追加し、添加物「硫酸銅」の使用量を1 Lにつき硫酸銅(II)五水和物として10 mg以下とし、銅として、その1 Lにつき2 mgを超えて残存しないように使用しなければならないとすることを提案している。

添加物「硫酸銅」をぶどう酒へ使用した場合、硫酸銅はⅡ（２）「食品中での安定性」で述べたように、硫化水素と反応し硫化銅として沈殿し [94]、滓引き、ろ過により取り除かれる [91]。銅の減少量に関する知見 [92]をもとに、添加した銅が4～9割程度減少すると仮定した場合、添加物「硫酸銅」を10 mg/L使用した際の銅の残存量は、約0.25～1.52 mg/Lと推計される²²。これは、使用基準案で定められる最大残存量の2 mg/Lより

加物「硫酸アルミニウムアンモニウム」の分子量＝ $1.4 \times (96.063 \times 2 / 453.33 \sim 96.063 \times 2 / 237.15) \div 0.59 \sim 1.13$ mg/人/日

C: 添加物「硫酸アルミニウムカリウム」由来の硫酸イオンの一人一日摂取量

＝添加物「硫酸アルミニウムカリウム」の一人一日摂取量 (mg/人/日) × 硫酸イオンの式量 × 硫酸イオン数 / 添加物「硫酸アルミニウムカリウム」の分子量＝ $17.8 \times (96.063 \times 2 / 474.39 \sim 96.063 \times 2 / 258.21) \div 7.21 \sim 13.24$ mg/人/日

D: 添加物「亜鉛塩類(硫酸亜鉛)」由来の硫酸イオンの一人一日摂取量

＝添加物「亜鉛塩類(硫酸亜鉛)」の一人一日摂取量 (mg/人/日) × 硫酸イオンの式量 / 添加物「亜鉛塩類(硫酸亜鉛)」の分子量＝ $13.7 \times 96.063 / 287.55 \div 4.58$ mg/人/日

E: 添加物「硫酸カリウム」由来の硫酸イオンの一人一日摂取量

＝添加物「硫酸カリウム」の一人一日摂取量 (mg/人/日) × 硫酸イオンの式量 / 添加物「硫酸カリウム」の分子量＝ $0.0014 \times 96.063 / 174.26 \div 0.00$ mg/人/日

F: 添加物「硫酸第一鉄」由来の硫酸イオンの一人一日摂取量

＝添加物「硫酸第一鉄」の一人一日摂取量 (mg/人/日) × 硫酸イオンの式量 / 添加物「硫酸第一鉄」の分子量＝ $2.31 \times (96.063 / 278.01 \sim 96.063 / 151.91) \div 0.80 \sim 1.46$ mg/人/日

G: 添加物「硫酸ナトリウム」由来の硫酸イオンの一人一日摂取量

＝添加物「硫酸ナトリウム」の一人一日摂取量 (mg/人/日) × 硫酸イオンの式量 / 添加物「硫酸ナトリウム」の分子量＝ $2.28 \times (96.063 / 322.19 \sim 96.063 / 142.04) \div 0.68 \sim 1.54$ mg/人/日

H: 添加物「硫酸マグネシウム」由来の硫酸イオンの一人一日摂取量

＝添加物「硫酸マグネシウム」の一人一日摂取量 (mg/人/日) × 硫酸イオンの式量 / 添加物「硫酸マグネシウム」の分子量＝ $25 \times (96.063 / 246.47 \sim 96.063 / 174.41) \div 9.74 \sim 13.77$ mg/人/日

以上より、 $A+B+C+D+E+F+G+H=36.59+(0.59 \sim 1.13)+(7.21 \sim 13.24)+4.58+0.00+(0.80 \sim 1.46)+(0.68 \sim 1.54)+(9.74 \sim 13.77)$

＝ $60.19 \sim 72.32 \div 60.2 \sim 72.3$ mg/人/日

²² 銅の残存量

＝（添加物「硫酸銅」の使用量 × 銅の原子量 / 硫酸銅五水和物の分子量）×（10 %～60 %）

も少ない値である。そのため、指定等要請者は、安全性の観点からぶどう酒中に添加物「硫酸銅」が銅として 2 mg/L 残存した場合を想定した。

ロ 我が国におけるぶどう酒摂取量

国税庁より発行されている令和元年度の酒類販売（消費）数量 [168]によると、我が国において 1 年間で果実酒 352,549 kL、甘味果実酒 9,723 kL、合計 362,272 kL が販売、消費されている。ここでは、果実酒及び甘味果実酒が全てぶどうを主原料として作られているものと仮定し、362,272 kL をぶどう酒の年間消費量として考える。

「令和元年国民健康・栄養調査報告」によると [164]、飲酒習慣のある者（週に 3 度以上、飲酒日一日当たり清酒換算で 1 合以上飲酒すると回答した者）の割合は、成人人口の 20.5 % である。国税庁より発行されている平成30年度分酒税課税関係等状況表の酒類販売（消費）数量によると [169]、成人人口は、104,013 千人と記載されている。ぶどう酒が特定の集団で好んで摂取され、摂取量に差が生じる可能性を考慮し、飲酒習慣のある者が全てのぶどう酒を摂取したと仮定した場合、一人当たりのぶどう酒推定摂取量は、約 46.5 mL/人/日²³と推計される。

ハ ぶどう酒由来の硫酸銅の摂取量推計

上記イに記載したとおり、ぶどう酒の最終製品に添加物「硫酸銅」が使用基準案の最大残存量である銅として、2 mg/L 残存すると仮定した場合、飲酒習慣がある 20 歳以上の成人における添加物「硫酸銅」の摂取量は、硫酸銅(II)無水物として 0.234 mg/人/日と推計される²⁴。

（3）使用基準改正後の硫酸銅等の摂取量推計

イ 硫酸銅

使用基準改正前において、添加物「硫酸銅」を摂取する可能性があるのは乳児のみであり、今回の使用基準改正要請の対象であるぶどう酒を摂取する可能性がある 20 歳以上の成人については、添加物「硫酸銅」の摂取はない。したがって、上記(2)ハに記載したとおり、使用基準改正後の添加物「硫酸銅」の推定一日摂取量は、使用基準案で定められる最大残存量が残存した場合、硫酸銅(II)無水物として 0.234 mg/人/日と推計される。これ

$$\begin{aligned} &= (10 \text{ mg/L} \times 63.546/249.69) \times (10 \% \sim 60 \%) \\ &= 2.54 \text{ mg/L} \times (10 \% \sim 60 \%) \\ &\div 0.25 \sim 1.52 \text{ mg/L} \end{aligned}$$

²³ $362,272 \text{ kL} \div (104,013 \text{ 千人} \times 20.5 \%) \div 365 \text{ 日} \div 46.5 \text{ mL/人/日}$

²⁴ 使用基準が改正された場合のぶどう酒由来の硫酸銅(II)無水物摂取量

$$\begin{aligned} &= \text{ぶどう酒推定一日摂取量} \times \text{最大銅残存量} \times \text{硫酸銅(II)無水物の分子量/銅の原子量} \\ &= 46.5 \text{ mL/人/日} \div 1000 \times 2 \text{ mg/L} \times 159.609 \div 63.546 \div 0.234 \text{ mg/人/日} \end{aligned}$$

は、銅として 0.093 mg/人/日と推計され²⁵、「日本人の食事摂取基準（2020 年版）」において定められている、銅の UL「7 mg/人/日」の約 1.3 %である。

ロ 銅

上記(1)ロに記載したとおり、使用基準改正前において、特定保健用食品や栄養機能食品を摂取する 20 歳以上の成人では、食品由来と添加物由来の合計で 6.14 mg/人/日の銅を摂取する可能性がある。一方、ぶどう酒中の添加物「硫酸銅」由来の銅摂取量は、飲酒習慣のある 20 歳以上の成人で最大 0.093 mg/人/日である。これは、使用基準改正前の銅の合計摂取量 6.14 mg/人/日の約 1.5 %である。また、使用基準改正後における 20 歳以上の成人の銅摂取量は、約 6.23 mg/人/日と推計される。これは、「日本人の食事摂取基準（2020 年版）」において定められている、銅の UL「7 mg/人/日」の約 89 %である。

ハ 硫酸イオン

ぶどう酒の最終製品に添加物「硫酸銅」が使用基準案の最大残存量である銅として、2 mg/L 残存すると仮定した場合、飲酒習慣がある 20 歳以上の成人におけるぶどう酒中の添加物「硫酸銅」由来の硫酸イオン摂取量は、0.141 mg/人/日と推計される²⁶。また、添加物「硫酸銅」を使用基準案の最大量である硫酸銅(II)五水和物として 10 mg/L 添加し、その全量が最終製品に残存すると仮定した場合、ぶどう酒中の添加物「硫酸銅」由来の硫酸イオン摂取量は、0.179 mg/人/日と推計される²⁷。したがって、使用基準改正後のぶどう酒中の添加物「硫酸銅」由来の硫酸イオン摂取量は、最大で 0.179 mg/人/日と推計される。

上記(1)ハに記載したとおり、使用基準改正前において、20 歳以上の成人では、食品添加物由来として、約 60.2～72.3 mg/人/日の硫酸イオンを摂取する可能性がある。一方、ぶどう酒中の添加物「硫酸銅」由来の硫酸イオン摂取量は、飲酒習慣のある 20 歳以上の成人で最大 0.179 mg/人/日である。これは、使用基準改正前の食品添加物由来の硫酸イオンの摂取量の約 0.2～0.3 %である。

²⁵ 使用基準が改正された場合のぶどう酒由来の銅摂取量

= ぶどう酒推定一日摂取量×最大銅残存量

= 46.5 mL/人/日÷1000×2 mg/L = 0.093 mg/人/日

²⁶ 使用基準が改正された場合（残存上限）のぶどう酒由来の硫酸イオン摂取量

= 使用基準が改正された場合（残存上限）のぶどう酒由来の硫酸銅(II)無水物摂取量×硫酸イオンの式量/硫酸銅(II)無水物の分子量

= 0.234 mg/人/日×96.063/159.609 ≒ 0.141 mg/人/日

²⁷ 使用基準が改正された場合（使用上限）のぶどう酒由来の硫酸イオン摂取量

= ぶどう酒推定一日摂取量×最大量の添加物「硫酸銅」×硫酸銅(II)無水物の分子量/硫酸銅(II)五水和物の分子量×硫酸イオンの式量/硫酸銅(II)無水物の分子量

= 46.5 mL/人/日÷1000×10 mg/L×159.609÷249.69×96.063/159.609 ≒ 0.179 mg/人/日

以上のことから、指定等要請者は、添加物「硫酸銅」について、ぶどう酒へ適切に使用される限り安全性に懸念はないと考えた。

IV. 海外添加物取扱社

ア. Laffort, CS 61 611, 33072 BORDEAUX CEDEX 15, France [170] [171]

イ. ERBSLÖH Geisenheim GmbH, Erbslöhstraße 1, 65366 Geisenheim, Germany [172]

ウ. Enartis USA Inc., 7795 Bell Road Windsor, CA 95492, USA [173]

V. 引用文献一覧

[1]	厚生労働省，消費者庁：第9版 食品添加物公定書 硫酸銅，2018 http://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/shokuhin/syokuten/kouteisho9e.html [アクセス日: 2019.11.27]
[2]	JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives): CUPRIC SULFATE http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/jecfa_additives/docs/Monograph1/Additive-139.pdf [アクセス日: 2021.5.24]
[3]	ECHA (European Chemicals Agency): Copper sulfate pentahydrate - Substance Information https://echa.europa.eu/substance-information/-/substanceinfo/100.121.888 [アクセス日: 2021.5.24]
[4]	EU (European Union): COMMISSION DELEGATED REGULATION (EU) 2019/934 of 12 March 2019 supplementing Regulation (EU) No 1308/2013 of the European Parliament and of the Council as regards wine-growing areas where the alcoholic strength may be increased, authorised oenological practices and restrictions applicable to the production and conservation of grapevine products, the minimum percentage of alcohol for by-products and their disposal, and publication of OIV files. Official Journal of the European Union 2019; L 149 http://data.europa.eu/eli/reg_del/2019/934/2019-06-27 [アクセス日: 2021.5.24]
[5]	川西 徹，穂山 浩，河村 葉子，佐藤 恭子：第9版 食品添加物公定書解説書（上），廣川書店，2019；C-1，C-174
[6]	CCFA (Codex Committee on Food Additives): Class Names and the International Numbering System for Food Additives (CXG 36-1989), 2019 http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCXG%2B36-1989%252FCXG_036e.pdf [アクセス日: 2020.10.5]
[7]	横塚 弘毅：ワインの味とにおい（1）．調理科学，1989；22（1）：29-36
[8]	OIV (Organisation Internationale de la Vigne et du Vin): DISTINCTION BETWEEN ADDITIVES AND PROCESSING AIDS (OENO 567A-2016) and 3. WINE - 3.5.8. Treatment with Copper Sulphate (2/89). International Code of Oenological Practices, 2020; XX - XXI, II.3.5-11
[9]	FDA (US Food and Drug Administration): 27 CFR (Alcohol, Tobacco Products and Firearms) Chapter I, Subchapter A, Part 24, Subpart L, § 24.246 Materials authorized for the treatment of wine and juice, e-CFR data is current as of October

	23, 2020 https://www.ecfr.gov/cgi-bin/retrieveECFR?gp=&SID=84ac269a39c11a397e6211853812233e&mc=true&n=sp27.1.24.l&r=SUBPART&ty=HTML#se27.1.24_1246 [アクセス日: 2020.10.27]
[10]	FSANZ (Food Standards Australia New Zealand): Australia New Zealand Food Standards Code Standard 4.5.1 Wine Production Requirements (Australia only), F2020C00202, 2020 https://www.legislation.gov.au/Details/F2020C00202 [アクセス日: 2020.10.20]
[11]	EU (European Union): COMMISSION REGULATION (EC) No 889/2008 of 5 September 2008 laying down detailed rules for the implementation of Council Regulation (EC) No 834/2007 on organic production and labelling of organic products with regard to organic production, labelling and control. Official Journal of the European Union 2008; L 250 http://data.europa.eu/eli/reg/2008/889/2020-01-07 [アクセス日: 2021.5.24]
[12]	厚生労働省：水道維持管理指針 2006（抜粋版），2006
[13]	厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全部水道課：水道用薬品類の評価のための試験方法ガイドライン（平成 12 年 3 月 31 日衛水第 21 号 別添），2020
[14]	厚生労働省：食品衛生法第 11 条第 3 項の規定により人の健康を損なうおそれのないことが明らかであるものとして厚生労働大臣が定める物質（平成 17 年厚生労働省告示第 498 号），2009.6.23 https://www.mhlw.go.jp/file/06-Seisakujouhou-11130500-Shokuhinanzendu/0000103862.pdf [アクセス日: 2021.5.24]
[15]	EU (European Union): AGREEMENT between the European Community and the United States of America on trade in wine. Official Journal of the European Union 2012; L 87
[16]	EU (European Union): AGREEMENT between the European Community and Australia on trade in wine. Official Journal of the European Union 2009; L 28
[17]	EU (European Union): AGREEMENT between the European Community and Canada on trade in wines and spirit drinks. Official Journal of the European Union 2017; L 35
[18]	CAC (Codex Alimentarius Commission): GENERAL STANDARD FOR FOOD ADDITIVES, CODEX STAN 192-1995, 2019; 1-6
[19]	CAC (Codex Alimentarius Commission): GUIDELINES ON SUBSTANCES USED AS PROCESSING AIDS, CAC/GL 75-2010, 2010 https://ipa.cfsa.net.cn/download/CXG_075e.pdf [アクセス日: 2020.10.27]
[20]	FAO/WHO: 加工助剤として使用される物質に関するガイドライン CAC/GL 75-2010, 2010

	https://www.mhlw.go.jp/topics/identshi/codex/06/dl/cac_gl75.pdf [アクセス日: 2021.5.24]
[21]	EU (European Union): REGULATION (EC) No 1333/2008 of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on food additives (原義) . Official Journal of the European Union 2008; L 354 http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32008R1333&rid=1 [アクセス日: 2020.10.30]
[22]	EU (European Union): REGULATION (EC) No 1333/2008 of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on food additives (改訂版) . Official Journal of the European Union 2008; L 354
[23]	EU (European Union): COMMISSION REGULATION (EU) No 231/2012 of 9 March 2012 laying down specifications for food additives listed in Annexes II and III to Regulation (EC) No 1333/2008 of the European Parliament and of the Council. Official Journal of the European Union 2012; L 83 http://data.europa.eu/eli/reg/2012/231/2020-07-02 [アクセス日: 2021.5.24]
[24]	FDA (US Food and Drug Administration): 21CFR (Code of Federal Regulations Title 21) Part184, § 184.1261 Copper sulfate, 2019; 3, 488-9, 521
[25]	TTB (US Alcohol and Tobacco Tax and Trade Bureau): Wine and Juice Treating Materials and Processes for Domestic Wine Production. 2020 https://www.ttb.gov/wine/treating-materials [アクセス日: 2020.7.30]
[26]	FSANZ (Food Standards Australia New Zealand): Australia New Zealand Food Standards Code Standard 1.3.1 Food Additives, F2019C00125, 2019 https://www.legislation.gov.au/Details/F2019C00125 [アクセス日: 2020.10.20]
[27]	FSANZ (Food Standards Australia New Zealand): Australia New Zealand Food Standards Code Standard 1.3.3 Processing aids, F2016C00166, 2016 https://www.legislation.gov.au/Details/F2016C00166 [アクセス日: 2020.10.20]
[28]	FSANZ (Food Standards Australia New Zealand): Australia New Zealand Food Standards Code Schedule 18 Processing aids, F2020C00889, 2020 https://www.legislation.gov.au/Details/F2020C00889 [アクセス日: 2020.10.20]
[29]	EU (European Union): AGREEMENT between the European Community and Australia on trade in wine - ANNEX 1. 2009 https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:22009A0130(01)&qid=1603254060146&from=EN [アクセス日: 2020.10.21]
[30]	EU (European Union): AGREEMENT between the European Community and Australia on trade in wine - Protocol - Joint Declarations. 2009

	https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A22009A0130%2801%29&qid=1603254060146 [アクセス日: 2020.10.21]
[31]	川西 徹, 穂山 浩, 河村 葉子, 佐藤 恭子: 第9版 食品添加物公定書解説書 (下), 廣川書店, 2019; D-2416-21
[32]	日本食品化学研究振興財団: 各添加物の使用基準及び保存基準, 2020 https://www.ffcr.or.jp/webupload/224e2befb3885a643688c10d746f0815496de528.pdf [アクセス日: 2020.10.28]
[33]	仲本 典正, 平山 佳伸, 松田 勉, 山本 芳子: 亜鉛塩類等 11 品目の指定, 規格基準の設定等について. 食品衛生研究, 1983; 33(9): 831-51
[34]	WHO (World Health Organization): Evaluation of food additives Fourteenth Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. World Health Organ Tech Rep Ser 462 / FAO Nutrition Meetings Report Series No. 48, 1971
[35]	JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives): Toxicological evaluation of some food additives including anticaking agents, antimicrobials, antioxidants, emulsifiers and thickening agents. WHO Food Additives Ser 5, 1974 http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v05je07.htm [アクセス日: 2020.10.16]
[36]	JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives): Toxicological evaluation of certain food additives with a review of general principles and of specifications. Seventeenth Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. World Health Organ Tech Rep Ser 539, 1974 https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/41072/WHO_TRS_539.pdf?sequence=1&isAllowed=y [アクセス日: 2020.10.16]
[37]	JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives): Specifications for the identity and purity of food additives and their toxicological evaluation: Some emulsifiers and stabilizers and certain other substances. Tenth Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. World Health Organ Tech Rep Ser 539, 1967 https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/40668/WHO_TRS_373.pdf?sequence=1&isAllowed=y [アクセス日: 2020.10.16]
[38]	FAO/WHO: Toxicological evaluation of some extraction solvents and certain other substances. FAO Nutrition Meetings Report Series No. 48A WHO/FOOD ADD/70.39, 1970
[39]	JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives): Evaluation of certain food additives and contaminants. Twenty-sixth Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. World Health Organ Tech Rep

	Ser 683, 1982 https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/41546/WHO_TRS_683.pdf?sequence=1&isAllowed=y [アクセス日: 2020.10.16]
[40]	JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives): WHO Copper. WHO Food Additives Ser 17, 1982 http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v17je31.htm [アクセス日: 2021.3.12]
[41]	JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives): Evaluation of certain food additives and contaminants. Twenty-ninth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. World Health Organ Tech Rep Ser 733, 1986 https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/37285/WHO_TRS_733.pdf?sequence=1&isAllowed=y [アクセス日: 2020.10.22]
[42]	JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives): EVALUATION OF CERTAIN FOOD ADDITIVES AND CONTAMINANTS. Fifty-seventh report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, World Health Organ Tech Rep Ser 909, 2002
[43]	JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives): EVALUATION OF CERTAIN FOOD ADDITIVES AND CONTAMINANTS. Sixty-eighth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, World Health Organ Tech Rep Ser 947, 2007
[44]	独立行政法人酒類総合研究所: EFSA 安全性評価検索結果 硫酸銅 https://efsa.onlinelibrary.wiley.com [アクセス日: 2021.3.19]
[45]	SCF (Scientific Committee on Food): Scientific Committee on Food - Archive https://ec.europa.eu/food/sci-com/scf_en [アクセス日: 2021.3.19]
[46]	Pratt WB, Omdahl JL, and Sorenson JR: Lack of effects of copper gluconate supplementation. The American Journal of Clinical Nutrition, 1985; 42(4): 681-2
[47]	SCF (Scientific Committee on Food): Opinion of the Scientific Committee on Food on the Tolerable Upper Intake Level of Copper. SCF/CS/NUT/UPPLEV/57 Final, 2003
[48]	Turnlund JR, Keen CL, and Smith RG: Copper status and urinary and salivary copper in young men at three levels of dietary copper 1-3. The American Journal of Clinical Nutrition, 1990; 51(4): 658-64
[49]	EFSA (European Food Safety Authority): Conclusion regarding the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance. Copper (I), copper (II) variants namely copper hydroxide, copper oxychloride, tribasic copper sulfate, copper (I) oxide, Bordeaux mixture. EFSA Scientific Report, 2008

	https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.2903/j.efsa.2008.187r [アクセス日: 2021.5.24]
[50]	EFSA (European Food Safety Authority): Peer review of the pesticide risk assessment of the active substance copper compounds copper(I), copper(II) variants namely copper hydroxide, copper oxychloride, tribasic copper sulfate, copper(I) oxide, Bordeaux mixture. EFSA Journal, 2018; 16(1): 5152 https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2018.5152 [アクセス日: 2021.5.24]
[51]	SCF/EFSA: Tolerable upper intake levels for vitamins and minerals. EFSA, 2006
[52]	EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (EFSA NDA Panel): Scientific Opinion on Dietary Reference Values for copper. EFSA Journal, 2015; 13(10): 4253
[53]	SCF (Scientific Committee on Food): Report of the Scientific Committee for Food (Twenty-fifth series), COMMISSION OF THE EUROPEAN COMMUNITIES, 1991
[54]	EFSA (European Food Safety Authority): Re-evaluation of sulphuric acid and its sodium, potassium, calcium and ammonium salts (E513, 514(i), 514(ii), 515(i), 515(ii), 516 and 517) as food additive. EFSA Journal, 2019; 17(10)
[55]	SCOGS (Select Committee on Gras Substances): EVALUATION OF THE HEALTH ASPECTS OF COPPER GLUCONATE, COPPER SULFATE, AND CUPROUS IODIDE AS FOOD INGREDIENTS. 1979
[56]	IOM (Institute of Medicine): Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc [Copper 抜粋]. The National Academies Press, 2001
[57]	Hathcock JN: Vitamin and Mineral Safety 3rd Edition. CRN (Council for Responsible Nutrition), 2014
[58]	SCOGS (Select Committee on GRAS Substances): Evaluation of the Health Aspects of Certain Zinc Salts as Food Ingredients. FDA (Food and Drug Administration), 1973
[59]	SCOGS (Select Committee on GRAS Substances): Evaluation of the Health Aspects of Certain Ammonium Salts as Food Ingredients. FDA (Food and Drug Administration), 1974
[60]	SCOGS (Select Committee on GRAS Substances): Evaluation of the Health Aspects of Aluminum Compounds as Food Ingredients. FDA (Food and Drug Administration), 1975
[61]	SCOGS (Select Committee on GRAS Substances): Evaluation of the Health Aspects of Magnesium Salts as Food Ingredients. FDA (Food and Drug Administration),

	1976
[62]	SCOGS (Select Committee on GRAS Substances): Evaluation of the Health Aspects of Manganous Salts as Food Ingredients. FDA (Food and Drug Administration), 1979
[63]	SCOGS (Select Committee on GRAS Substances): Evaluation of the Health Aspects of Iron and Iron Salts as Food Ingredients. FDA (Food and Drug Administration), 1980
[64]	FSANZ (Food Standards Australia New Zealand): Technical Report Series https://www.foodstandards.gov.au/publications/Pages/technicalreportserie1338.aspx [アクセス日: 2021.4.30]
[65]	FSANZ (Food Standards Australia New Zealand): FINAL ASSESSMENT REPORT APPLICATION A562 COPPER CITRATE AS A PROCESSING AID FOR WINE, 2007 https://www.foodstandards.gov.au/code/applications/documents/FAR_Final_A562_Copper_Citrate_as_a_PA_in_Wine.pdf [アクセス日: 2021.5.24]
[66]	UK EVM (UK Expert Group on Vitamins and Minerals): Safe Upper Levels for Vitamins and Minerals. 2003
[67]	Hébert CD, Elwell MR, Travlos GS, Fitz CJ, and Bucher JR: Subchronic Toxicity of Cupric Sulfate Administered in Drinking Water and Feed to Rats and Mice. <i>Fundam Appl Toxicol</i> , 1993; 21(4): 461-75
[68]	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 http://www.fsc.go.jp/fsciis/evaluationDocument/list?itemCategory=000 [アクセス日: 2021.3.19]
[69]	食品安全委員会：添加物グルコン酸銅の使用基準改正に係る食品健康影響評価に関する審議結果 [府食第588号]. 2004
[70]	食品安全委員会：飼料添加物評価書 2-デアミノ-2-ヒドロキシメチオニン銅 [府食第156号]. 2019
[71]	食品安全委員会：添加物評価書 硫酸カリウム [府食第39号]. 2013
[72]	食品安全委員会：添加物評価書 硫酸アルミニウムアンモニウム、硫酸アルミニウムカリウム [府食第810号]. 2017
[73]	厚生労働省「日本人の食事摂取基準」策定検討会：日本人の食事摂取基準（2020年版）. 2019 https://www.mhlw.go.jp/content/10904750/000586553.pdf [アクセス日: 2021.5.24]
[74]	Bost M, Houdart S, Oberli M, Kalonji E, Huneau JF, and Margaritis I: Dietary copper and human health: Current evidence and unresolved issues. <i>J Trace Elem Med Biol</i> , 2016; 35: 107-15

[75]	国立医薬品食品衛生研究所：平成 30 年度 既存添加物の安全性評価に関する調査研究 [厚生労働省添加物部会資料 3 - 2] . 2019
[76]	厚生労働省：既存添加物の安全性評価について [厚生労働省添加物部会資料 3 - 1] . 2019
[77]	OIV (Organisation Internationale de la vigne et du Vin): Copper Sulfate (COEI-1-CUISUL), 2000 https://www.oiv.int/public/medias/4069/e-coei-1-cuisul.pdf [ア ク セ ス 日 : 2021.5.24]
[78]	ERBSLÖH Geisenheim GmbH: Kupfat Safety Data Sheet. 2020
[79]	FEEDAP (Substances used in Animal Feed): Scientific Opinion on the safety and efficacy of copper compounds (E4) as feed additives for all animal species: cupric sulphate pentahydrate based on a dossier submitted by Manica S.p.A.. EFSA Journal, 2012; 10(12): 2969 https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2012.2969 [ア ク セ ス 日 : 2021.5.24]
[80]	厚生省生活衛生局食品化学課：第 2 版 食品中の食品添加物分析法，2000
[81]	OIV (Organisation Internationale de la Vigne et du Vin): COMPENDIUM OF INTERNATIONAL METHODS OF ANALYSIS - OIV Copper OIV-MA-AS322-06, 2009 http://www.oiv.int/public/medias/2569/oiv-ma-as322-06.pdf [ア ク セ ス 日 : 2021.5.24]
[82]	OIV (Organisation Internationale de la Vigne et du Vin): COMPENDIUM OF INTERNATIONAL ANALYSIS OF METHODS - OIV Multielemental analysis using ICP-MS OIV-MA-AS323-07, 2010 http://www.oiv.int/public/medias/2586/oiv-ma-as323-07.pdf [ア ク セ ス 日 : 2021.5.24]
[83]	消費者庁：別添 栄養成分等の分析方法等. 2015 https://www.caa.go.jp/policies/policy/food_labeling/food_labeling_act/pdf/food_labeling_cms101_200327_11.pdf [ア ク セ ス 日 : 2021.5.24]
[84]	OIV (Organisation Internationale de la Vigne et du Vin): COMPENDIUM OF INTERNATIONAL METHODS OF ANALYSIS - OIV sulfate OIV-MA-AS321-05A, 2009 https://www.oiv.int/public/medias/6331/oiv-ma-as321-05a.pdf [ア ク セ ス 日 : 2021.5.24]
[85]	厚生労働省，消費者庁：第 9 版 食品添加物公定書書 F 使用基準，2018 http://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryoku/shokuhin/syokuten/kouteisho9e.html [ア ク セ ス 日 : 2019.11.27]

[86]	OIV (Organisation Internationale de la Vigne et du Vin): RESOLUTION OIV-OENO 434-2011 MAXIMUM COPPER CONTENT IN CERTAIN LIQUEUR WINES, 2011 https://www.oiv.int/public/medias/1340/oiv-oeno-434-2011-en.pdf [アクセス日: 2021.8.25]
[87]	Jackson RS: Wine Science Principles and Applications (Third Edition). Elsevier Inc., 1994
[88]	日本醸造協会：醸造物の成分 第Ⅶ章 含硫化合物. 1999
[89]	Mansfield AK: Kicking up a Stink: Treatment for Sulfur Off-Odors - NYSAES First published in Cellar Dweller. Cornell University Cornell Cooperative Extension, 2010 https://cpb-us-e1.wpmucdn.com/blogs.cornell.edu/dist/0/7265/files/2016/11/SulfurOffOdor-1vp1vm4.pdf [アクセス日: 2021.5.24]
[90]	Zoecklein BW, Fugelsang KC, Gump BH, and Nury FS: WINE ANALYSIS AND PRODUCTION, 1999
[91]	Kreitman GY, Danilewicz JC, Jeffery DW, and Elias RJ: Reaction Mechanisms of Metals with Hydrogen Sulfide and Thiols in Model Wine. Part 1: Copper-Catalyzed Oxidation. J Agric Food Chem, 2016; 64(20): 4095-104 https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.jafc.6b00641 [アクセス日: 2020.9.30]
[92]	Reschke S, Tran T, Bekker M, Wilkes E, and Johnson D: Using copper more effectively in winemaking. WINE & VITICULTURE JOURNAL, 2015; 30(5): 35-7, 39
[93]	PubChem: Copper(II) sulfide https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/14831 [アクセス日: 2020.11.2]
[94]	ディヴィッド・バード：イギリス王立化学会の化学者が教えるワイン学入門, 2019
[95]	独立行政法人酒類総合研究所：安全性知見検索結果 硫酸塩 (PubMed) https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/advanced [アクセス日: 2021.3.25]
[96]	Johnson PE and Lee DY: Copper Absorption and Excretion Measured by Two Methods in Rats Fed Varying Concentrations of Dietary Copper. J Trace Elem Exp Med, 1988; 1: 129-41
[97]	OECD (Organisation for Co-operation and Development): SIDS Initial Assessment Profile-Copper and copper compounds. 2014
[98]	van den Berg GJ and Beynen AC: Influence of ascorbic acid supplementation on copper metabolism in rats. Br J Nutr, 1992; 68(3): 701-15
[99]	van den Berg GJ, Yu S, Lemmens AG, and Beynen AC: Ascorbic acid feeding of rats reduces copper absorption, causing impaired copper status and depressed biliary

	copper excretion. Biol Trace Elem Res, 1994; 41(1-2): 47-58
[100]	van Ravesteyn AH: Metabolism of copper in man. Acta Med Scand, 1944; 118(1-3): 163-96
[101]	Turnlund JR, Keyes WR, Anderson HL, and Acord LL: Copper absorption and retention in young men at three levels of dietary copper by use of the stable isotope ⁶⁵ Cu. Am J Clin Nutr, 1989; 49(5): 870-8
[102]	Harvey LJ, Majsak-Newman G, Dainty JR, Lewis DJ, Langford NJ, Crews HM, et al.: Adaptive responses in men fed low-and high-copper diets. Br J Nutr, 2003; 90(1): 161-8
[103]	Turnlund JR, Keyes WR, Kim SK, and Domek JM: Long-term high copper intake: effects on copper absorption, retention, and homeostasis in men. Am J Clin Nutr, 2005; 81(4): 822-8
[104]	独立行政法人酒類総合研究所：体内動態（分布）知見検索結果 硫酸銅（PubMed） https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/advanced [アクセス日: 2021.3.25]
[105]	独立行政法人酒類総合研究所：体内動態（代謝）知見検索結果 硫酸銅（PubMed） https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/advanced [アクセス日: 2021.3.25]
[106]	Coudray C, Feillet-Coudray C, Rambeau M, Tressol JC, Gueux E, Mazur A, et al.: The effect of aging on intestinal absorption and status of calcium, magnesium, zinc, and copper in rats: A stable isotope study. J Trace Elem Med Biol, 2006; 20(2): 73-81
[107]	Harvey LJ, Dainty JR, Hollands WJ, Bull VJ, Beattie JH, Venelinov TI, et al.: Use of mathematical modeling to study copper metabolism in humans. Am J Clin Nutr, 2005; 81(4): 807-13
[108]	Turnlund JR, Keyes WR, Peiffer GL, and Scott KC: Copper absorption, excretion, and retention by young men consuming low dietary copper determined by using the stable isotope ⁶⁵ Cu. Am J Clin Nutr, 1998; 67(6): 1219-25
[109]	Smyth HF Jr, Carpenter CP, Weil CS, Pozzani UC, Striegel JA, and Nycum JS: Range-finding toxicity data: List VII. Am Ind Hyg Assoc J, 1969; 30(5): 470-6
[110]	Spector WS: Handbook of Toxicology, Vol. 1, Acute Toxicities of Solids, Liquids and Gases to Laboratory Animals. Philadelphia & London, W. B. Saunders Company, 1956; 76-7
[111]	独立行政法人酒類総合研究所：急性毒性試験検索結果 銅及び銅化合物（PubMed） https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/advanced [アクセス日: 2021.3.25]
[112]	Kulwich R, Hansard SL, Comar CL, and Davis GK: Copper, molybdenum and zinc interrelationships in rats and swine. Proc Soc Exp Biol Med, 1953; 84(2): 487-91
[113]	ECHA (European Chemicals Agency): Proposal for harmonised classification and labelling - Substance Name: Copper sulphate pentahydrate. 2013

[114]	小島 良平, 田中 英子: 硫酸銅経口投与のマウスに及ぼす影響. 実験動物, 1973 ; 22(3) : 247-50
[115]	独立行政法人酒類総合研究所: 亜急性毒性試験検索結果 銅及び銅化合物 (PubMed) https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/advanced [アクセス日: 2021.3.25]
[116]	Tachibana K: Pathological transition and functional Vicissitude of liver during formation of cirrhosis by copper. Nagoya J Med Sci, 1952; 15(2): 108-12
[117]	独立行政法人酒類総合研究所: 慢性毒性試験検索結果 銅及び銅化合物 (PubMed) https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/advanced [アクセス日: 2021.3.25]
[118]	独立行政法人酒類総合研究所: 発がん性試験検索結果 硫酸銅 (PubMed) https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/advanced [アクセス日: 2021.3.25]
[119]	独立行政法人酒類総合研究所: 発がん性試験検索結果 銅及び銅化合物 (PubMed) https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/advanced [アクセス日: 2021.3.25]
[120]	OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development): OECD GUIDELINE FOR TESTING OF CHEMICALS No. 416 - Two-Generation Reproduction Toxicity Study. 2001
[121]	WHO (World Health Organization): Training Manual - GLP (Good Laboratory Practice)
[122]	独立行政法人酒類総合研究所: 生殖毒性試験検索結果 銅及び銅化合物 (PubMed) https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/advanced [アクセス日: 2021.3.25]
[123]	Lecyk M: Toxicity of CuSO ₄ in mice embryonic development. Zoologica Poloniae, 1980; 28(2): 101-5
[124]	独立行政法人酒類総合研究所: 出生前発生毒性試験検索結果 銅及び銅化合物 (PubMed) https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/advanced [アクセス日: 2021.3.26]
[125]	Mandil R, Prakash A, Rahal A, Singh SP, Sharma D, Kumar R, et al.: In vitro and in vivo effects of flubendiamide and copper on cyto-genotoxicity, oxidative stress and spleen histology of rats and its modulation by resveratrol, catechin, curcumin and α -tocopherol. BMC Pharmacol Toxicol, 2020; 21: 29
[126]	Marzin DR and Phi HV: Study of the mutagenicity of metal derivatives with Salmonella typhimurium TA 102. Mutat Res, 1985; 155(1-2): 49-51
[127]	Moriya M, Ohta T, Watanabe K, Miyazawa T, Kato K, and Shirasu Y: Further mutagenicity studies on pesticides in bacterial reversion assay systems. Mutation Research/Genetic Toxicology, 1983; 116(3-4): 185-216
[128]	藤田 博, 中野 雅行, 佐々木 美枝子: Salmonella typhimurium TA97, TA 102 を用いた食品添加物の変異原性試験 (第 3 報). 東京衛研年報, 1988 ; 39 : 343-50
[129]	Gadupudi GS and Chung KT: Comparative genotoxicity of 3-hydroxyanthranilic

	acid and anthranilic acid in the presence of a metal cofactor Cu (II) in vitro. <i>Mutat Res</i> , 2011; 726(2): 200-8
[130]	Singh I: Induction of reverse mutation and mitotic gene conversion by some metal compounds in <i>Saccharomyces cerevisiae</i> . <i>Mutation Research</i> , 1983; 117(1-2): 149-52
[131]	独立行政法人酒類総合研究所：遺伝毒性（染色体異常試験）試験検索結果 硫酸銅、銅及び銅化合物（PubMed） https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/advanced [アクセス日: 2021.3.29]
[132]	Bhunya SP and Pati PC: Genotoxicity of an inorganic pesticide, copper sulfate in mouse in vivo test system. <i>Cytologia</i> , 1987; 52(4): 801-8
[133]	Fahmy MA: Potential genotoxicity in copper sulfate treated mice. <i>Cytologia</i> , 2000; 65(3): 235-42
[134]	Tinwell H and Ashby J: Inactivity of copper sulphate in a mouse bone-marrow micronucleus assay. <i>Mutation Research</i> , 1990; 245(3): 223-6
[135]	Prá D, Franke SI, Giulian R, Yoneama ML, Dias JF, Erdtmann B, et al.: Genotoxicity and mutagenicity of iron and copper in mice. <i>Biometals</i> , 2008; 21(3): 289-97
[136]	Ornaghi F and Giavini E: Induction of micronuclei in pre-implantation rat embryos in vivo. <i>Mutation Research</i> , 1989; 225(1-2): 71-4
[137]	Olivier P and Marzin D: Study of the genotoxic potential of 48 inorganic derivatives with the SOS chromotest. <i>Mutation Research</i> , 1987; 189(3): 263-9
[138]	Denizeau F and Marion M: Genotoxic effects of heavy metals in rat hepatocytes. <i>Cell Biol Toxicol</i> , 1989; 5 (1): 15-25
[139]	Agarwal K, Sharma A, and Talukder G: Clastogenic effects of copper sulphate on the bone marrow chromosomes of mice in vivo. <i>Mutation Research</i> , 1990; 243(1): 1-6
[140]	Bhunya SP and Jena GB: Clastogenic effect of copper sulphate in chick in vivo test system. <i>Mutation Research</i> , 1996; 367(2): 57-63
[141]	Matsui S: Evaluation of a <i>Bacillus subtilis</i> rec-assay for the detection of mutagens which may occur in water environments. <i>Water Res</i> , 1980; 14(11): 1613-9
[142]	Demerec M, Bertani G, and Flint J: A Survey of Chemicals for Mutagenic Action on <i>E. coli</i> . <i>American Naturalist</i> , 1951; 85(821): 119-36
[143]	Berek I and Kiss I: Study of auxotroph mutants induced by copper sulphate in <i>Bacillus subtilis</i> . <i>Acta Microbiol Acad Sci Hung</i> , 1974; 21(3-4): 297-304
[144]	Clark JB: The mutagenic action of various chemicals on <i>Micrococcus aureus</i> . <i>Proc Okla Acad Sci</i> , 1953; 34: 114-8
[145]	Iyer VN and Szybalski W: Two simple methods for the detection of chemical mutagens. <i>App Microbiol</i> , 1958; 6(1): 23-9

[146]	Sora S, Agostoni Carbone ML, Pacciarini M, and Magni GE: Disomic and diploid meiotic products induced in <i>Saccharomyces cerevisiae</i> by the salts of 27 elements. <i>Mutagenesis</i> , 1986; 1(1): 21-8
[147]	Sina JF, Bean CL, Dysart GR, Taylor VI, and Bradley MO: Evaluation of the alkaline elution/rat hepatocyte assay as a predictor of carcinogenic/mutagenic potential. <i>Mutation Research</i> , 1983; 113(5): 357-91
[148]	Law LW: The effects of chemicals on the lethal mutation rate in <i>Drosophila melanogaster</i> . <i>Proc Natl Acad Sci</i> , 1938; 24(12): 546-50
[149]	Alaraby M, Hernández A, and Marcos R: New insights in the acute toxic/genotoxic effects of CuO nanoparticles in the in vivo <i>Drosophila</i> model. <i>Nanotoxicology</i> , 2016; 10(6): 749-60
[150]	Franke SI, Prá D, Giulian R, Dias JF, Yoneama ML, da Silva J, et al.: Influence of orange juice in the levels and in the genotoxicity of iron and copper. <i>Food Chem Toxicol</i> , 2006; 44(3): 425-35
[151]	Grillo CA, Reigosa MA, and Fernandez Lorenzo de Mele MA: Does over-exposure to copper ions released from metallic copper induce cytotoxic and genotoxic effects on mammalian cells? <i>Contraception</i> , 2010; 81(4): 343-9
[152]	独立行政法人酒類総合研究所：アレルギー性試験検索結果 硫酸銅 (PubMed) https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/advanced [アクセス日: 2021.3.25]
[153]	West CE, Dunstan J, McCarthy S, Metcalfe J, D'Vaz N, Meldrum S, et al.: Associations between Maternal Antioxidant Intakes in Pregnancy and Infant Allergic Outcomes. <i>Nutrients</i> , 2012; 4(11): 1747-58
[154]	Ilves M, Kinaret PAS, Ndika J, Karisola P, Marwah V, Fortino V, et al.: Surface PEGylation suppresses pulmonary effects of CuO in allergen-induced lung inflammation. <i>Particle and Fibre Toxicology</i> , 2019; 16: 28
[155]	独立行政法人酒類総合研究所：一般薬理試験検索結果 硫酸銅 (PubMed) https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/advanced [アクセス日: 2021.3.25]
[156]	独立行政法人酒類総合研究所：一般薬理試験検索結果 銅及び銅化合物 (PubMed) https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/advanced [アクセス日: 2021.3.25]
[157]	厚生労働省：食事による栄養摂取量の一部を改正する件 - 銅の食事摂取基準[告示第十号]. 2020
[158]	O'Connor JM, Bonham MP, Turley E, McKeown A, McKelvey-Martin VJ, Gilmore WS, et al.: Copper Supplementation Has No Effect on Markers of DNA Damage and Liver Function in Healthy Adults (FOODCUE Project). <i>Ann Nutr Metab</i> , 2003; 47(5): 201-6
[159]	Chuttani HK, Gupta PS, Gulati S, and Gupta DN: Acute copper sulfate poisoning. <i>Am J Med</i> , 1965; 39(5): 849-54

[160]	独立行政法人酒類総合研究所：ヒト知見検索結果 硫酸銅、銅及び銅化合物 (PubMed) https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/advanced [アクセス日: 2021.3.24]
[161]	O'Donohue JW, Reid MA, Varghese A, Portmann B, and Williams R: Micronodular cirrhosis and acute liver failure due to chronic copper self-intoxication. Eur J Gastroenterol Hepatol, 1993; 5(7): 561-2
[162]	厚生労働省：令和元年 国民健康・栄養調査報告 第1部 栄養素等摂取状況調査の結果. 2020
[163]	食品衛生研究会：食品衛生小六法 令和2年版, 新日本法規出版, 2019
[164]	厚生労働省：令和元年 国民健康・栄養調査報告 第3部 生活習慣調査の結果. 2020
[165]	食品安全委員会：添加物評価書 硫酸亜鉛 [府食第730号]. 2015
[166]	佐藤 恭子, 西島 基弘, 上田 要一：生産量統計調査を基にした食品添加物摂取量の推定に関わる研究. 2020
[167]	IOM (Institute of Medicine): Dietary Reference Intakes for Water, Potassium, Sodium, Chloride, and Sulfate. 2005
[168]	国税庁：第145回 国税庁統計年報 令和元年度版 - 8-4(2) 販売（消費）数量の累年比較. 2019 https://www.nta.go.jp/publication/statistics/kokuzeicho/r01/R01.pdf [アクセス日: 2021.9.8]
[169]	国税庁：平成30年度分 酒税課税関係等状況表 - 第6表 酒類販売（消費）数量等の状況表（都道府県別）. 2018 https://www.nta.go.jp/taxes/sake/tokei/kazeikankei2018/01.htm [アクセス日: 2020.10.30]
[170]	Laffort: SULFIREDOX. 2019 https://laffort.com/wp-content/uploads/FP/FT_EN_Sulfiredox.pdf [アクセス日: 2021.5.24]
[171]	Laffort: Contact us https://laffort.com/en/contact [アクセス日: 2021.5.19]
[172]	ERBSLÖH Geisenheim GmbH: Kupfat https://erbsloeh.com/fileadmin/user_upload/pdf/Wine/technical_data_sheet/GB/kupfat-technical_data_sheet-english-erbsloeh.pdf [アクセス日: 2021.5.24]
[173]	Enartis USA: Copper Sulfate Crystals, Food Grade https://shop-usa.enartis.com/copper-sulfate-crystals-food-grade-3 [アクセス日: 2020.11.12]