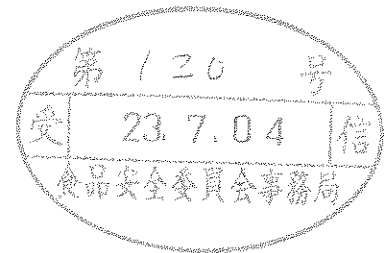


平成 23 年 7 月 4 日

内閣府  
食品安全委員会事務局評価課 殿

厚生労働省医薬食品局  
食品安全部 基準審査課

平成 23 年 4 月 19 日付け厚生労働省発食安 0419 第 2 号にて評価を依頼したカルミンにつきまして、資料がまとまったことから提出いたします。



# カルミン 指定のための検討報告書

2011年7月1日

厚生労働省食品安全部基準審査課

## 目 次

1.	カルミン指定の必要性	1
2.	起源又は発見の経緯及び外国における使用状況	2
1)	起源又は発見の経緯	2
2)	外国における使用状況	2
3.	物理化学的性質及び成分規格案	7
1)	物理化学的性質等	7
(1)	名称、定義	7
(2)	化学式、構造式、分子量	7
(3)	性状	8
(4)	性質	8
(5)	製造方法	8
2)	成分規格案・他の成分規格との対比表及び成分規格案の設定根拠	9
(1)	成分規格案	9
(2)	他の成分規格との対比表	10
(3)	成分規格案の設定根拠	11
3)	安定性	11
4)	食品中の分析	11
4.	有効性及び必要性	12
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	12
(1)	基礎的知見	12
(2)	食品への利用	12
2)	食品中での安定性	12
3)	食品中の栄養成分に及ぼす影響	12
5.	体内動態(吸収・分布・代謝・排泄)	12

6.	安全性	12
1)	単回投与毒性試験	12
2)	反復投与毒性試験	13
3)	変異原性試験	15
4)	発がん性試験	19
5)	生殖発生毒性試験	20
6)	一般薬理試験	24
7)	ヒトについての知見	25
7.	国際委員会などにおける安全性評価	31
1)	FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議(JECFA)における評価	31
2)	米国 FDA における評価	31
3)	欧州連合における評価	32
8.	検討委員会における安全性評価と ADI の試算	32
9.	推定摂取量	33
10.	使用基準案	33

(参考1) カルミン、カルミン関連物質の名称・定義について

引用文献一覧

## 1. カルミン指定の必要性

カルミン (Carmine) はエンジムシ (*Dactylopius coccus* Costa) の雌の乾燥虫体 (コチニール) から得られる赤色色素 (主たる染色素はカルミン酸) のアルミニウムレーキ化合物若しくはアルミニウム・カルシウムレーキ化合物を主成分としたものであり (文献 11)、欧米諸国などにおいて食品の着色料として広く使用されている添加物である (文献 1、2、15)。

FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議 (JECFA) では、第 18 回会合 (1974 年)、第 21 回会合 (1978 年) において評価されたが、ADI の設定には至らなかった (文献 3、4、7)。第 25 回会合 (1981 年) でカルミンのアンモニウム塩及び同じ当量のカルシウム、カリウム、ナトリウム塩について暫定 ADI : 0-2.5mg/kg 体重が設定された (文献 5、8)。次いで第 26 回会合 (1982 年) において引き続き評価を行い、ADI : 0-5.0 mg/kg 体重/日が設定されている (文献 6、9)。

その後、第 55 回会合 (2000 年) には、コチニール抽出物及びカルミンについてアレルギー誘発の可能性について検討を行い、これらは特定の個人に対しアレルギー反応を惹き起こすと結論し、これらが含まれる食品と飲料について注意を喚起する必要があるとし、また、成分規格の改正が行われている (文献 2)。

一方、米国においては、コチニール抽出物及びカルミンは GMP 管理のもとで食品一般への着色料として使用が認められている (文献 12)。

また、欧州連合では、EC 委員会指令によって食品に使用できる添加物 (E120) として認められており (文献 14)、安全性についても上記 JECFA と同様に ADI : 0-5.0 mg/kg 体重/日を設定している (文献 37)。

一方、わが国においては、同種の着色料としてコチニール色素が既存添加物として使用が認められているが (文献 21)、上記のカルミンについては未指定の添加物である。

従って、わが国では、カルミンの食品の製造加工への使用並びにこれらを使用した食品の輸入は禁止されている。

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

カルミン (Carmine) は前述のように国際的に安全性が評価され、かつ海外においても広く使用されている食品添加物であることから、平成 14 年 12 月 19 日に開催された薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会毒性・添加物合同部会において、上記の方針に従い指定対象の品目とされた。

以上のことからカルミン (Carmine) について国際的整合性を図る目的で、食品添加物として指定することについて検討を行う必要がある。

## 2. 起源又は発見の経緯及び外国における使用状況

### 1) 起源又は発見の経緯

カルミンは、サボテンに寄生するエンジムシ (*Dactylopius coccus* Costa) の雌の乾燥虫体であるコチニールから得られる赤色色素 (主たる染色素はカルミン酸) のアルミニウムレーキ化合物若しくはアルミニウム・カルシウムレーキ化合物で、古くは南米のマヤ文明において染料として利用、また 16 世紀にスペイン人が南米からヨーロッパに持ち込んだことに由来すると言われる。その後安価な合成染料、着色料の開発に伴い、カルミンの利用は落ち込んだが、1980 年以降天然系着色料の普及に伴いカルミンの利用も息を吹き返した。

米国では 1960 年代から食品、医薬品、化粧品の着色料として使用されている。わが国において、カルミン自体は未指定の食品添加物であるが、コチニールから水又はエタノールで抽出物して得られるカルミン酸を主成分とする「コチニール色素」は既存添加物の 1 つであって、成分規格が定められている (文献 21)。なお、カルミンはわが国において医薬品、化粧品用色素として使用されている (文献 17)。

### 2) 外国における使用状況

#### (1) JECFA における評価

カルミン関連物質は FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議 (JECFA)、第 18 回会合 (1974 年)、第 21 回会合 (1978 年) において評価されたが、一日摂取許容量 (ADI) 設定には至らなかった (文献 3、4、7)。第 25 回会合 (1981 年) においてカルミンのアンモニウム塩及び同じ当量のカルシウム、カリウム、ナトリウム塩について暫定 ADI : 0 - 2.5mg/kg 体重/日が設定された (文献 5、8)。次いで、第 26 回会合 (1982 年) において引き続き評価を行い、ADI : 0 - 5.0 mg/kg 体重/日並びに成分規格が確定した (文献 6、9)。

その後、第 55 回会合 (2000 年) では、FAO/WHO 合同食品添加物・汚染物質部会 (CCFAC) の要請によりコチニール抽出物及びカルミンの共存蛋白質によるアレルギー誘発性の検討を行った結果、これらは特定の人にアレルギーを惹き起こす可能性があるとして結論し、成分規格を改定するとともに食品中での表示 (含有表示) を求めた。但し、ADI : 0 - 5.0 mg/kg 体重/日は維持された (文献 2)。更に、第 59 回会合 (2002 年) では、重金属規格改訂の JECFA 方針に沿い見直しをなされ、鉛、ヒ素の規格について改訂がなされた (文献 52)。

#### (2) 米国における使用

一方、米国においては、コチニール抽出物 (水-アルコール抽出物) 及びカルミン (コチニールの水抽出物から得られるカルミン酸のアルミニウム若しくはアルミニウム-カルシウムレーキ) は、連邦規則 (21CFR- § 73.100) で検定不要の (成分規格への適合性を国として試験・検査し確認する必要はないとされている) 着色料の 1 つとして、食品一般に一般的な適正製造規範 (GMP) のもとでの使用が認められている (文献 12、59)。また、成分規格も連邦規則連邦規

1 則 (21CFR- § 73. 100) として設定されている(文献 12)。一般的な適正製造規範は、連邦規則  
2 (21CFR- § 182. 1) に以下のように規定されている(文献 40)。

3  
4 適正製造規範(GMP)に係る規定

5 ① 食品への添加量は、物理的、栄養的若しくは技術的に食品に効果を与えるのに適正な使  
6 用量以下とする。

7 ② 食品自体の物理的、技術的效果を目的とせず、製造、加工、包装に使用した結果、食品  
8 の成分になった物質の量は最小限に抑える。

9 ③ 使用物質は適切な食品グレードであって、食品成分として調製・処理されること。食品  
10 医薬品庁長官は要請がある場合、成分規格と用途に関して、特定の等級若しくはロットが  
11 食品の使用目的に合致する純度があるか、また、意図した目的に使用した場合、一般に安  
12 全であると有資格専門家が認めるか、について見解を示す。

13 また、2006年1月30日FDAは、カルミン摂取は人によりアレルギー症状を誘発することか  
14 ら、全ての食品の原材料表示欄にコチニール抽出物又はカルミンを含むことを表示することを  
15 提案していたが(文献16)、2009年1月5日付けで表示義務規定が公布され、2011年1月5日  
16 から施行されることとなった(文献54)。

17 コチニール抽出物及びカルミンの食品への生産出荷量は、NAS/NRCによるGRAS物質等の全  
18 米生産出荷量調査(1987年)において、1976年、1987年それぞれについて、1,600ポンド(725kg)、  
19 1,900ポンド(860kg)と報告されている(文献33)。

20  
21 (3) 欧州連合における使用

22 欧州連合でカルミンは、カルミン酸、コチニール抽出物と共に特定の食品に使用できる着色  
23 料(E120)として認められている[表2-1]及び[表2-2](文献14)。

24 欧州連合において、カルミン関連物質は食品科学委員会において着色料として評価され、上  
25 述のJECFA評価同様一日摂取許容量(ADI)5mg/kg体重が設定された(文献37)。成分規格も  
26 定められている(文献15)。

27 [表2-1](Annex III 抜粋)

食 品	最高濃度
アメリカノ(アルコール飲料の一種)	100 mg/l(単独若しくは他の着色料と複合で)
苦味ソーダ、苦味ワイン(EU規則No 1601/91)	同上
果実風味の朝食用シリアル	200 mg/kg(単独若しくは他の着色料と複合で)
ジャム、ゼリー、マーマレード(EU規則No 79/693及び低カロリー製品を含め他の同様の果実調製品)	100 mg/kg(単独若しくは他の着色料と複合で)

ソーセージ、パテ、テリーヌ	100 mg/kg
少量(最低 4%)の野菜及び/又はシリアル)を含む肉バーガー	100 mg/kg
「チョリソ」ソーセージ、「サルチコン」	200 mg/kg
「パストウルマ」(外皮が食べられるもの)	必要量

1

2 [表 2-2] (Annex V 抜粋)

食 品	最高濃度(単独、若しくは他の着色料と複合で)
非アルコール着香飲料	100 mg/l
果実及び野菜の砂糖漬け、Mostarda di frutta	200 mg/kg
レッドフルーツのプリザーブ <sup>1</sup>	200 mg/kg
菓子	300 mg/kg
デコレーション及びコーティング	500 mg/kg
高級ベーカリー(例 ビスケット、ウエハース)	200 mg/kg
食用氷	150 mg/kg
フレーバー入りプロセスチーズ	100 mg/kg
フレーバー入り乳製品などのデザート	150 mg/kg
ソース、調味料(カレー粉、タンドーリなど)、漬物、薬味、チャツネ、ピッカリーニ	500 mg/kg
マスタード	300 mg/kg
魚類、甲殻類ペースト	100 mg/kg
調理した甲殻類	250 mg/kg
鮭代用品	500 mg/kg
すりみ	500 mg/kg
魚卵	300 mg/kg
燻製魚	100 mg/kg
スナック:乾燥、セイボリーポテト <sup>2</sup> 、シリアル、若しくはでん粉を主成分とするスナック	200 mg/kg
—エクストルーダー <sup>3</sup> 若しくは膨化処理したセイボリースナック製品 <sup>4</sup>	100 mg/kg
—その他のセイボリースナック製品、被覆ナッツ	

<sup>1</sup> 一般にプリザーブとは「保存食」のことで、ピクルス、ジャム、塩漬け、乾燥品など素材の原型を残しているものが該当する。日本では濃度の高い糖液で煮た果物の原形を留めているジャムが知られている。

<sup>2</sup> セイボリーとは「塩味の効いた」を意味しており、セイボリーポテトといった場合、「塩味の効いたポテト」を意味する。例：フライドポテトなど

<sup>3</sup> 増粒、整粒され、練り出されたものを加工処理したものを意味する。

<sup>4</sup> 塩味の効いたスナック製品を意味する。



可食チーズ皮、可食ケーシング	必要量
体重抑制の為の食事代替え用完全調合食	50 mg/kg
医療用の完全調合食若しくは栄養補助食品	50 mg/kg
液状の補助食品、dietary integrators <sup>5</sup>	100 mg/L
固形の補助食品、dietary integrators	300 mg/kg
スープ類	50 mg/kg
植物たん白主体の肉・魚類似品	100 mg/kg
スピリッツ(アルコール容積濃度 15%以下の製品を含む、 但し、Annex II, III で掲げたものを除く)	200 mg/L
芳香ワイン、芳香ワイン主体飲料、芳香ワインカクテル(規則(EEC)No 1601/91 に記 したものの、但し Annex II, III で掲げたものを除く)	200 mg/L
果実ワイン(非発泡、発泡)、シードル(cidre bouche 以外)、ペリー酒、及び上記の 芳香付け製品	200 mg/L

1 英国における食品添加物の摂取量調査において (英国政府農林水産食糧省、1984-1986 年  
2 調査)、カルミン関連物質の摂取量は合計量として 0.1mg/人/日、と報告されている(文献 38)。

3 また、欧州連合各国が最近実施した食品添加物の摂取量調査において、カルミン関連物質の  
4 合計摂取量(使用対象食品を含む食品群喫食量に許容最高濃度を組み合わせて算出した理論最  
5 高摂取量)は、成人、幼児それぞれ、ADI(5mg/kg 体重)の 3-22%(デンマーク、スペイン、イ  
6 タリア、英国、ノルウェー)、80%(英国)とされている(文献 39)。

7

#### 8 (4) オーストラリアにおける使用

9 オーストラリア、ニュージーランド両国は 1995 年に締結された合意に基づいて食品規格基  
10 準制度の統合化を進め、2002 年 7 月より FSANZ (Food Standards Australia New Zealand) の  
11 名称・組織で統一食品規格基準 (The Australia New Zealand Food Standards Code) を公布・  
12 施行している。カルミンとコチニール抽出物は、この規格基準のもと指定されている食品添加  
13 物に含まれ、食品一般に必要量使用することが認められている。

14 FSANZ は 2006 年以来、食品添加物として使用を認めている着色料のうち、タール系合成色  
15 素 (14 品目) 及びカルミン・コチニール抽出物及びアナトー色素、2 種類の天然系色素につい  
16 て食事由来摂取量の調査を実施し (オーストラリア国内)、結果を 2008 年に公表した (文献  
17 32)。同調査では、市場で販売されている加工食品・飲料 (合計 1000 点以上) 中の上記着色料  
18 濃度を測定し、測定値より着色料それぞれの食品群別平均濃度及び最大濃度を算出した。次に  
19 各濃度データについて、別に調査した年齢層別食品群別摂取量データ (1995 年) と組み合わ  
20 せて、国民 1 人一日当たりの平均摂取量及び 90 パーセントイル摂取量を算定すると共に、そ  
21 れぞれの着色料について JECFA が設定した一日摂取許容量 (ADI) と比較検討した。カルミン・

<sup>5</sup> 健康食品 (日本で言うダイエット食品) の原料を指す。

1 コチニール抽出物の摂取量は、食品群別平均濃度で算定した場合、国民全体の平均、90 パー  
 2 センタイトル摂取者での摂取量は、いずれでも約0.25mg/人/日（ADIの約0.1%）であった。2-  
 3 5歳児、6-12歳児についても同様であった。カルミン、コチニール抽出物の摂取に寄与が大  
 4 きい食品は、調味ソース類（savoury sauces）、ヨーグルト、アルコール飲料（Cordial）など  
 5 であった。なお、カルミン、コチニール抽出物以外の着色料に関しても、幼児の摂取量を含め、  
 6 懸念すべき結果は認められなかったと報告されている。

7

8 **（5）カルミン関連物質の国際機関における取扱い範囲、名称**

9 カルミン、カルミン酸及びコチニール抽出物の JECFA、米国、欧州連合の規格における取扱  
 10 の有無を以下に記す。なお、カルミンの英名は、JECFA/欧州連合では Carmines と複数扱い、  
 11 米国の規格は Carmine と単数扱いである。和名として“カルミン類”が考えられるが、カルミ  
 12 ン酸、コチニール抽出物との混同を避けるため、本報告書では米国と同様に“カルミン”と単  
 13 数扱いとした（但し、JECFA/欧州連合の規格品を記述する場合は複数扱い）。JECFA 規格のコ  
 14 チニール抽出物ではメタノールによる抽出も認めており、日本のコチニール色素とは製法上に  
 15 若干の違いもある。そこで、本報告では日本の添加物を指す場合はコチニール色素、JECFA な  
 16 ど欧米製品を指す場合はコチニール抽出物と記した。〔(参考1) カルミン、カルミン関連物  
 17 質の名称、定義について 参照〕

18 添加物名称	カルミン	カルミン酸	コチニール抽出物
19 JECFA			
20 Carmines (ADI 5.0mg/kg)	○	×	×
21 Cochineal Extract	×	×	○
22 (ADI 未だ設定されていない)			
23 米国			
24 FDA (21CFR § 73.100) :			
25 Cochineal Extract; Carmine	○	×	○
26 FCC :			
27 Carmine	○	×	×
28 欧州連合			
29 Cochineal, Carminic acid,	○	○	○
30 Carmines			
31 日本			
32 コチニール色素（既存添加物）	×	○	○
33 カルミン（今回検討対象）	○	×	×
34	○ 含まれる；	×	含まれない

35

### 3. 物理化学的性質及び成分規格案

#### 1) 物理化学的性質等

##### (1) 名称・定義

カルミン (Carmin) はエンジムシ (*Dactylopius coccus* Costa (*Coccus cacti* Linnaeus)) の雌の乾燥虫体 (コチニール) から得られるカルミン酸のアルミニウムレーキ化合物若しくはアルミニウム・カルシウムレーキ化合物を主成分とするものである。JECFA 及び欧州連合の成分規格では、主色素はカルミン酸の水酸化アルミニウムレーキ (アルミニウムとカルミン酸の推定比率 1:2) であって、市販製品は着色本体成分とアンモニウム、カルシウム、カリウム若しくはナトリウムカチオンの単独もしくは複合塩として存在すると記されている (文献 11、15)。一方、米国の成分規格 (FDA 規格及び FCC 規格) では、水酸化アルミニウムを基質とし、カルミン酸を主色素とするアルミニウムレーキ若しくはアルミニウム・カルシウムレーキと定義されている (文献 12、13)。原料虫由来のたん白質が含まれる。ほか、カルミン酸、少量の遊離アルミニウム塩を含むことがある (文献 11、15)。

##### (2) 化学式、構造式、分子量 (文献 11、13、15)

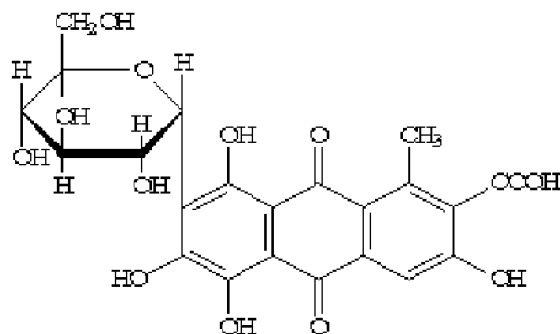
###### ○ カルミン酸 (carminic acid)

3,5,6,8-tetrahydroxy-1-methyl-9,10-dioxo-7-[(2R,3R,4R,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]anthracene-2-carboxylic acid (IUPAC)

化学式:  $C_{22}H_{20}O_{13}$ ; 分子量 (式量) 492.39;

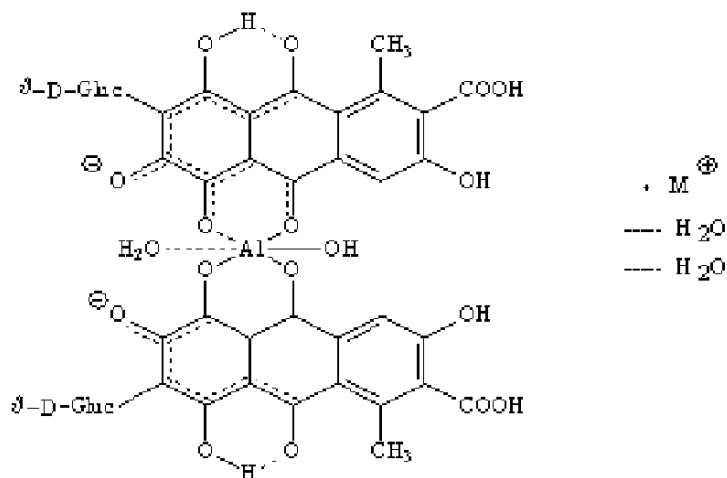
CAS 番号 1260-17-9 (carminic acid) (文献 84)

1390-65-4 (carmine) (文献 83)



1 ○ カルミン (Carmine)

2 カルミン酸のアルミニウムレーキ化合物の推定構造式



3

4 M<sup>+</sup>: 陽イオン 1/2 Ca<sup>2+</sup>, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>

5

6 カルミン酸のアルミニウム・カルシウムレーキ化合物は、上記化学構造式の「Al」が「Ca」  
7 で置き換えられている。

8

9 (3) 性状

10 赤～暗赤色のもろい固体又は粉末である (文献 11、13、15)。

11

12 (4) 性質

13 本品は、においはないか又はわずかに特異なにおいがある。水又はエタノール(99.5%)、希  
14 酸にほとんど溶けないがアンモニア水又は水酸化ナトリウム液などアルカリに溶ける (文献  
15 11、13)。

16

17 (5) 製造方法

18 サボテンに寄生するエンジムシの雌の乾燥体より、温～熱水で、若しくは温時含水アルコール  
19 ルで抽出し、アルコールを留去しコチニール抽出物を得る。コチニール抽出物は必要な場合、  
20 たん白分解酵素等の処理によりエンジムシ由来のたん白質を除去するなど精製処理される。精  
21 製処理品の清澄液に、カリミョウバンと酒石酸、カリミョウバンと塩化スズ、石灰乳などの沈  
22 殿剤等を加え、アルミニウム若しくはアルミニウム・カルシウムレーキ化合物を生成させ、沈  
23 殿物を分離・乾燥し製品とする。(文献 11、15、51、57、58)。

24

2) 成分規格案・他の成分規格との対比表及び成分規格案の設定根拠

(1) 成分規格案

カルミン

Carmine

**定義** エンジムシ (*Dactylopius coccus* Costa (*Coccus cacti* Linnaeus)) の雌乾燥虫体から得られたカルミン酸のアルミニウムレーキ化合物若しくはアルミニウム・カルシウムレーキ化合物を主成分とするものである。

**性状** 本品は、赤～暗赤色のもろい固体又は粉末である。

**含量** 本品を乾燥したものは、カルミン酸 ( $C_{22}H_{20}O_{13}=492.39$ ) として 50%以上を含む。

**確認試験** (1) 本品に水と水酸化ナトリウム試液 1 滴を加えて溶かした液は、紫～赤紫色を呈する。

(2) 本品に 0.1mol/L 塩酸を加えて溶かし、遠心分離して得られる上澄液は、だいたい色を呈し、490～497nm に極大吸収部がある。

**純度試験** (1) 乾燥減量 20.0%以下 (135℃, 3 時間)

(2) 灰分 12.0%以下

(3) たん白質 25.0%以下 本品約 0.2g を精密に量り、窒素定量法中のセミマイクロケルダール法により試験を行う。

0.05mol/L 硫酸 1 ml = 8.754 mg たん白質

(4) アンモニア水不溶物 1%以下

本品を乾燥したもの約 0.25g を精密に量り、アンモニア試液 2.5ml を加えて溶かし、水を加えて 100ml とする。ガラスろ過器 (1G3) でろ過し、ろ過器を 105℃で恒量になるまで乾燥する。

(5) 鉛 Pb として  $2\mu\text{g/g}$  以下

**定量法** 本品約 0.10g を精密に量り、沸騰した塩酸 (2mol/L) 30ml に溶かし、冷後、水を加えて正確に 1,000ml とし検液とする。波長 494nm 付近の極大吸収部における検液の吸光度 A を測定し、次式により含量を求める。

$$\text{カルミン酸 (C}_{22}\text{H}_{20}\text{O}_{13}\text{) の含量} = \frac{0.1 \times A}{1.39 \times W} \times 100 (\%)$$

ただし、W : 試料の採取量 (g)

吸光度 A の値が 0.650～0.750 の範囲に入らないときは、試料の採取量を変えて、再び試験を行う。

(2) 他の成分規格との対比表

	本規格案	日本(文献 21) コチニール色素	JECFA(文献 11) カルミン(Carmines)	FCC(文献 13) カルミン(Carmines)	FDA(文献 12) カルミン (carmine)	EU(15 文献) カルミン(Carmines)
定義	カルミン酸の塩	カルミン酸を主成分	カルミン酸の水酸化アルミニウムキレート (1 : 2)	カルミン酸のアルミニウム・アルミニウム/カルシウムレーキ	カルミン酸のアルミニウム・アルミニウム/カルシウムレーキ	カルミン酸及びその塩
含量	カルミン酸 50%以上	色価の規定	カルミン酸として 50%以上	カルミン酸として 50.0%以上	カルミン酸として 50%以上	カルミン酸として 50%以上
性状	赤～暗赤色のもろい固体又は粉末	赤～暗赤色の粉末, 塊, 液体, ペースト	赤～暗赤色のもろい固体又は粉末	光沢のある赤色のもろい固体又は 暗赤色の粉末	レーキ	赤～暗赤色のもろい固体又は粉末
乾燥減量	20.0%以下	規格無し	20%以下	20%以下	20%以下	規格無し
灰分	12%以下	規格無し	12%以下	12.0%以下	12%以下	規格無し
たん白質	25%以下	2.2%以下*	25%以下	25%以下	規格なし	規格無し
アンモニア水不溶物	1%以下	規格無し	1%以下	規格無し	規格無し	規格無し
重金属	規格無し	40 μg/g 以下	規格無し	規格無し	規格無し	40mg/kg 以下
鉛	2 μg/g 以下	10 μg/g 以下	2mg/kg 以下	2mg/kg 以下	Pb として 10ppm 以下	10mg/kg 以下
カドミウム	規格無し	規格無し	規格無し	規格無し	規格無し	1mg/kg 以下
水銀	規格無し	規格無し	規格無し	規格無し	規格無し	1mg/kg 以下
ヒ素	規格無し	As <sub>2</sub> O <sub>3</sub> として 4 μg/g 以下	規格無し	1mg/kg 以下	As として 1ppm 以下	3mg/kg 以下
サルモネラ	規格無し	規格無し	認めない	認めない	認めない	規格無し

\*カルミン酸濃度 50%換算では 16.2%以下

### (3) 成分規格案の設定根拠

ほぼ、JECFA の規格に倣ったが、定義はカルミン酸のアルミニウムレーキ化合物のほか米国 FDA/FCC 規格はアルミニウム・カルシウムレーキ化合物も含むので国際整合の観点から後者も含むこととした。また、英名は JECFA/EU は Carmines と複数扱いであるが、内容が明確でない

5 ので米国規格同様単数扱いとした〔(参考1) カルミン、カルミン関連物質の名称、定義について 参照〕確認試験法は、食品添加物公定書「コチニール色素」に倣った。

FCC の規格も JECFA の規格にほぼ同じであるが、JECFA 規格にある「アンモニア水不溶物」の規格はなく、ヒ素及びサルモネラに関する規格がある。本規格では、JECFA に倣い「アンモニア水不溶物」に関する規格を設定し、ヒ素に関する規格は設定しなかった。

たん白質は本規格では 25%以下であるが、「コチニール色素」では、2.2%以下となっている。コチニール色素の含量は色価で定められており、10%溶液で 80 以上となっている。この色価をカルミン酸の濃度に換算すると ( $\epsilon=5,800$ , 0.02N 塩酸中), 6.79%以上となる。すなわち、「コチニール色素」はカルミンよりもカルミン酸濃度がかなり低いものである。「コチニール色素」のたん白質規格 (2.2%以下) をカルミン酸 50%の濃度に換算すると、たん白質の規格は 16.2%

10 以下に相当することになるが、今回の規格は JECFA 及び FCC の規格に合わせることにした。

JECFA, FCC 双方にある、「サルモネラを認めない」という規格は設定していない。これはカルミンの製造にはアルカリ水溶液中で加熱する工程があるので、サルモネラの生残は考えにくいことによる。

EU の規格は、かなり異なっているので参考にしなかった。

20

### 3) 安定性

カルミンの色調は熱や光に対して安定である (文献 18)。

なお、カルミンの色調以外の安定性及びその分解物に係る知見については、PubMed 及び J-DreamII で検索を実施したものの、見当たらなかった。

25

### 4) 食品中の分析(文献 22)

カルミンの食品中からの分析法は、食品より水又はアルカリ性にした水で抽出し、Sep-pack C18 で精製し、移動相に塩化セチルトリメチルアンモニウムを加えたイオンペアクロマトグラフィで分離定量する。

30

---

<sup>6</sup> カルミン酸濃度換算値 6.79%について

分子吸光度係数  $\epsilon=5,800$  は、1mol/L のとき吸光度 (Abs) =5,800 である。10%溶液で色価 80 のときの吸光度は 800 なので、この時のモル濃度は  $800/5,800=0.138$  mol/L である。カルミン酸の分子量は 492.39 であることから、計算すると  $0.138 \times 492.39=67.9$ g/L、よって 6.79%となる。

## 4. 有効性及び必要性

### 1) 食品添加物としての有効性及び他の同種の添加物との効果の比較

#### (1) 基礎的知見 (文献 11、18、19)

- 5 コチニール抽出物及びカルミンは国際的に最も広く使用されている天然系着色料の一つである。コチニール色素の色調は使用される食品の酸性度により橙色～赤色～紫色に変化するが、カルミンの色調は赤色で安定している。但し、カルミン酸含量が高くなるに従い明るい赤色から暗赤色を呈する。水溶性は低いが、赤色を呈する。強酸性若しくは強アルカリ性では水溶性が高くなる。

10

#### (2) 食品への利用 (文献 14、18、19)

カルミンはリキュール・イチゴミルクなどのアルコール及び非アルコール飲料、アイスクリーム・アイスクリューム・チョコレート・キャンデーなどの冷菓、菓子類、フルーツカクテル、ジャム・ケチャップなどの農産加工品、チーズ、畜肉・魚肉加工品に幅広く使用できる。

- 15 カルミンは食品のほか、化粧品（口紅、アイシャドー、ヘアカラーなど）、医薬品添加剤、絵の具、染色などの用途にも使える。

#### 2) 食品中での安定性(文献 18、19)

- 20 カルミンは安定性が優れており直接光に当たる包装形態の食品を含めて、酸性食品からアルカリ性食品まで広く使用できる。なお、PubMed 及び J-DreamII で検索を実施したが、該当する文献は見あたらなかった。

#### 3) 食品中の栄養成分に及ぼす影響

- 25 糖質、たんぱく質、脂質、ビタミン、ミネラル類、いずれとも特段の反応性は知られていない。

## 5. 体内動態 (吸収、分布、代謝、排泄)

- 30 コチニール色素、カルミンについては、消化管から吸収されにくいとしている報告 (文献 60、61) があるが、一方、コチニール色素をラットに経口投与した急性毒性試験で、尿に着色が見られたとの報告 (文献 36) もある。

## 6. 安全性

### 1) 単回投与毒性試験

- 35 カルミンの急性毒性に関する試験成績を確認することは出来なかったが、コチニール色素をラットに経口投与した試験成績が報告されていることから、この試験成績はカルミンの安全性を推察する上で有用であると考え参考資料とした。



コチニール色素の急性毒性に関しては2社の製品(組成:天然抽出粉末10%含有あるいは不明)について実施されており、それぞれ各10匹の雄性Wistarラットに5.0、7.5及び11.25ml/kg体重の用量で色素原液を単回経口投与した結果、両製品とも最高用量とした11.25ml/kg群においても死亡例は認められず、本試験条件下におけるコチニール色素のLD50値はそれぞれ

5 11.25ml/kg体重以上と報告されている(文献36)。また、詳細は不明であるがコチニール(カルミン酸)をマウスに経口投与した時のLD50値は8,890mg/kg体重と報告されている(文献55)。

## 2) 反復投与毒性試験

### (1) まとめ

10 カルミンに関しては短期試験としてカルシウムカルミン(カルミン酸含量不明)を雌雄のラットに50、250、500mg/kg体重/日となるように飼料に混合し90日間投与した試験が実施されており被験物質投与による影響は認められなかったと報告されている(文献9)。

長期試験としてはダヴィデ・カンパリ社より供与されたカルミン(カルミン酸含量:約50%)を経胎盤的に暴露した各群の児ラット雌雄各54匹に親ラットと同様50、150及び500mg/kg体重/日となるように混合した飼料、また、親ラットに基礎飼料を投与した児ラット雌雄各90匹

15 には引続き対照群として基礎飼料を最長で109週まで投与した試験が実施されており、生存率、体重、摂餌量ならびに摂水量、血液ならびに血液生化学的検査及び臓器重量において被験物質投与による影響は認められず、組織学的検査においても被験物質投与に起因した意義のある変化は認められなかったとして無毒性量を500mg/kg体重/日と評価している(文献9、35)。

20 JECFAは上記長期試験の無毒性量500mg/kg体重/日及び3世代繁殖試験の無毒性量500mg/kg体重/日〔5)生殖発生毒性試験の項参照〕を総合的に評価し、カルミンの許容1日摂取量(ADI)を0-5mg/kgと設定している(文献5、6、9)。

また、コチニール色素をラットに13週間あるいはマウスに104週間経口投与した試験成績が報告されていることから、これらの試験成績もカルミンの安全性を推察する上で有用であると

25 と考えて参考資料とした。

短期試験としては1.5%コチニール色素(組成不明)と1.5%硫酸アルミニウムカリウム(ミョウバン)の混合物(3.0%AC群)、0.75%コチニール色素と0.75%ミョウバンの混合物(1.5%AC群)及び3.0%コチニール色素(3.0%C群)あるいは3.0%ミョウバン(3.0%A群)を飼料に混合し雌雄のラットに13週間投与した試験が実施されており、一般状態では被験物質投与による影響は認められず、体重では雄の3.0%A群で増加抑制がみられたが、摂餌量は雌雄

30 の各群ともに明らかな差は認められなかったと報告されている。一方、4週及び13週の剖検時に実施した血液及び血液生化学的検査では、4週と13週の両時期において3.0%AC群で雌雄とも平均赤血球容積及び平均赤血球ヘモグロビン量、雄で平均赤血球ヘモグロビン濃度が僅かではあるが統計学的に有意に減少、雌でγ-グルタミルトランスぺプチターゼの有意な増加、

35 13週において雌雄の3.0%A群及び3.0%C群、雌の3.0%AC群でトリグリセリドが有意に減少、臓器重量では13週において雌の3.0%C群で脾臓ならびに副腎重量の減少が認められたが、

組織学的検査では被験物質投与による影響は認められなかったと報告されている(文献 28)。

長期試験としてはコチニール色素(カルミン酸含量:29.8%)を3及び6%の濃度で雌雄のマウスに104週間混餌投与した試験が実施されており、雌雄とも対照群に比べ用量に相関して体重増加量ならびに摂餌量の減少が認められたが、死亡率や血液ならびに血液生化学的検査、  
5 臓器重量及び腫瘍の発生率において被験物質投与による明らかな影響は認められなかったと報告されている(文献 34)。しかし、非腫瘍性病変に関する記載はみられなかった。

## (2)個別データ

### ①短期投与毒性試験

- 10 1群雌雄各20匹のラットにアンモニアで処理したカルミン(カルミン酸含量不明)を0.4%の寒天溶液に混合して0(対照群)、2.5、5.0および10.0 g/kg体重/日で週5日、13週間経口投与した試験が実施されており、2週に1回実施した体重測定において5.0および10.0 g/kg体重/日投与群で体重増加抑制がみられた。試験期間中投与群の尿と糞は着色し、5.0および  
15 10.0 g/kg体重/日投与群では用量相関的に組織への色素沈着が観察されたほか、肉眼的及び組織学的検査において明らかな変化は観察されなかった。また、試験期間中に3回実施された血液学的検査においても被験物質投与による明らかな影響は認められなかった(文献 9)。しかしながら、この引用でいうところの「アンモニアで処理したカルミン」の詳細が不明であり、カルミン酸をアンモニア水中で加熱することで合成される4-アミノカルミン酸(文献 85)が生成していることが否定できないと考える。
- 20 1群雌雄各25匹の離乳ラットに、カルシウムカルミン(カルミン酸含量不明)を0(対照群)、50、250、500mg/kg体重/日の用量となるように混合した飼料を90日間投与した試験が実施されており、体重や試験期間中に3回実施した血球数、血中グルコースならびに尿素窒素測定及び尿検査において被験物質投与による影響は認められず、肉眼的及び組織学的検査においても明らかな変化は認められなかった(文献 9)。
- 25 1群雌雄各15匹のWistar系ラットに1.5%コチニール色素(カルミン酸含量不明)と1.5%硫酸アルミニウムカリウム(ミョウバン)の混合物(3.0%AC群)、0.75%コチニール色素と0.75%ミョウバンの混合物(1.5%AC群)及び3.0%コチニール色素(3.0%C群)あるいは3.0%ミョウバン(3.0%A群)を飼料に混合し13週間投与した試験が実施されており、一般状態では被験物質投与による影響は認められず、体重では雄の3.0%A群で増加抑制がみられたが、  
30 摂餌量では雌雄の各群とも明らかな差は認められなかった。4及び13週の剖検時に実施した血液及び血液生化学的検査では4週と13週の両時期において3.0%AC群で雌雄とも平均赤血球容積(MCV)及び平均赤血球ヘモグロビン量(MCH)、雄で平均赤血球ヘモグロビン濃度(MCHC)が僅かではあるが統計学的に有意に減少、雌で $\gamma$ -グルタミルトランスペプチターゼ( $\gamma$ -GTP)が有意に増加、13週のみにおいて雌雄の3.0%A群及び3.0%C群、雌の3.0%AC群でトリグリセリド(TG)の有意な減少が認められた。臓器重量では13週において雌の3.0%C群で脾臓及び副腎重量の減少が認められた。4及び13週に剖検し実施された組織学的検査では対照群

を含む各群で散発的に変化が観察されたが、一般的に観察される変化であり、被験物質投与による影響は認められなかった(文献 28)。

## ②長期投与毒性試験

1 群雌雄各 66 匹の Wistar 系ラットにダヴィデ・カンパリ社より供与されたカルミン (カルミン酸含量 : 約 50%) を 50、150、500mg/kg 体重/日の用量となるように混合した飼料、あるいは雌雄各 114 匹のラットには対照群として基礎飼料を 60 日間投与した後、同一群内で雌雄を各 1 対 1 で交配し、妊娠期間、さらに新生児ラットへの授乳期間を通して、母動物に継続して各群の飼料を投与した。その後、長期試験として各群の同腹児から雌雄各 1 匹を選び、被験物質投与群は各群雌雄それぞれ 54 匹とし、母動物と同群の添加飼料、また、対照群には雌雄それぞれ 90 匹を選び基礎飼料を雄で 107 週間及び雌で 108 週間投与した試験が実施されており、試験期間中一般状態、体重、摂餌量及び飲水量に被験物質投与による影響は認められず、総死亡数や死亡率においても群間に差は認められなかった。試験期間中の 3、6、12、18 ヶ月及び試験終了時に実施した血液学的検査、試験期間中の 3、6、9、12 及び 18 ヶ月に実施した尿検査及び試験終了時に実施した血液生化学的検査においても被験物質投与による如何なる変化も認められず、剖検時に測定した臓器重量でも被験物質投与による影響は認められなかった。

組織学的検査では雌雄とも対照群を含む各群で非腫瘍性病変が散見されており、雄で肝類洞の拡張及び雌で膣炎、リンパ節の水腫、軽度な胃炎及び尿路結石症が用量に関連して僅かに増加したが、筆者らはこれらの病変は一般的に認められる加齢性変化で、偶発的であり、投与の影響を完全に否定することは出来ないが、生物学的に意義のある変化ではないと考察している。また、被験物質投与に起因した腫瘍の誘発も認められていないことから、本試験における無毒性量を 500mg/kg 体重/日と評価している(文献 9、35)。

雌雄各 50~55 匹の B6C3F1 マウスにコチニール色素 (カルミン酸含量 : 29.8%) を 0 (対照群)、3 及び 6% の濃度 (4.5 及び 9g/kg 体重/日相当 : JECFA で用いられている換算値を用いて推定した摂取量) で 104 週間混餌投与した試験が実施されている。

雌雄とも用量に相関して体重増加量ならびに摂餌量の減少が認められたが、死亡率や試験終了時に雌雄各群 5 匹について実施した血液学的検査や血液生化学的検査では被験物質投与による明らかな影響は認められず、臓器重量においても対照群との間に有意な差は認められなかった。なお、組織学的検査において被験物質投与に起因した腫瘍の誘発は認められなかったと記載されているが、非腫瘍性病変に関する記載はみられなかった(文献 34)。

## 3) 変異原性試験

### (1) まとめ

カルミン (Carmine) については極めて限られた変異原性試験が実施されているにすぎない。カルミンはカルミン酸 (Carminic acid) のアルミニウム等のキレート化合物であることから、カルミン酸についての変異原性試験成績を合わせて記載することとした。また、カルミンはコ

チニール抽出物と同じ原料（コチニール）から得られるものであることから、コチニール抽出物又はコチニール色素に関する変異原性試験成績も参照し、それらを含めて総合的にカルミンの変異原性について評価を行った。

5 カルミンについては *Bacillus subtilis* 17A (Rec+)株及び 14T (Rec-)株を用いた DNA 修復試験 (Rec-assay) が 2 試験行われ、いずれも判定不能の結果が得られている (文献 45、56)。また、*Salmonella typhimurium* TA100 を用いた、主に化合物の吸着に関する文献であるが、TA100 株/+S9/1 用量のみの結果だけが記述されており、用量相関性や-S9 での結果等確認できない。なお、吸着の実験が-S9 の条件で行われているのに、Ames 試験が+S9 での結果のみを述べているのは矛盾していると考え (文献 82)。したがって、結果の信頼性に関しては疑問

10 である。

カルミン酸は *Salmonella typhimurium* TA98、TA100、TA1535、TA1537 又は TA1538、及び *Escherichia coli* WP2 *uvrA* を用いた復帰変異試験で、ラット又はマウス肝由来 S9 mix の有無にかかわらず陰性の結果が得られている (文献 44、46、47、48)。*Escherichia coli* WP2 *uvrA*、WP67 *uvrA polA* 及び WP100 *uvrA recA* を用いた DNA 修復試験 (rec-assay 及び pol-assay) では、

15 ラット肝由来 S9 mix 存在下で陰性の結果が得られている (文献 48)。*Shizosaccharomyces pombe* を用いた突然変異試験で、マウス肝由来 S9 mix の有無にかかわらず陰性の結果が得られ、マウスを用いた宿主経由法でも陰性の結果が得られている (文献 46)。*Saccharomyces cerevisiae* D4 を用いた遺伝子変換試験で、ラット及びマウス肝由来 S9 mix 有無にかかわらず陰性の結果が得られている (文献 46)。チャイニーズ・ハムスター由来培養細胞株 (CHO) を用いた染色体異常試験並びに姉妹染色分体交換 (SCE) 試験で、ラット肝由来 S9 mix の有無にかかわらず陰性の結果が得られている (文献 44)。ラット肝初代培養細胞を用いた不定期 DNA 合成 (UDS) 試験並びにラット単回経口投与による不定期 DNA 合成 (UDS) 試験で、共に陰性の結果が得られている (文献 49、50)。マウス骨髄小核試験では、1250、2500、5000 mg/kg の経口投与で陰性の結果が得られている (文献 44)。

25 コチニール色素は *Salmonella typhimurium* TA92、TA94、TA98、TA100、TA1535 及び TA1537 を用いた復帰変異試験で、ラット肝由来 S9 mix の有無にかかわらず陰性の結果が得られている (文献 42)。チャイニーズ・ハムスター由来培養細胞株 (CHL/IU) を用いた染色体異常試験では、非代謝活性化法の 24 及び 48 時間連続処理の最高用量 12.0 mg/mL で陽性、24 時間処理の 6.0 mg/mL で疑陽性の結果が得られている (文献 41、42)。ラット肝初代培養細胞を用いる不定期 DNA 合成 (UDS) 試験では、1、10、100  $\mu$ g/mL の用量で陰性の結果が得られている (文献 49)。マウス骨髄小核試験では、2000 mg/kg の単回腹腔内投与及び 500 mg/kg の 24 時間間隔の 4 回腹腔内投与で陰性の結果が得られている (文献 43)。

カルミンについては *Bacillus subtilis* を用いた DNA 修復試験 (Rec-assay) において判定不能の結果が得られている。

35 一方、カルミン酸については、*Salmonella typhimurium* 及び *Escherichia coli* を用いた復帰変異試験においていずれも陰性の結果が得られ、酵母を用いた試験においても陰性の結果が

得られている。チャイニーズ・ハムスター由来培養細胞株(CHO)を用いた染色体異常試験並びに姉妹染色分体交換(SCE)試験において陰性の結果が得られ、in vitro 及び in vivo 不定期 DNA 合成(UDS)試験においても陰性の結果が得られている。さらに、マウス骨髄小核試験では 5000 mg/kg の用量まで試験が行われ、陰性の結果が得られている。

- 5 コチニール色素については、*Salmonella typhimurium* を用いた復帰変異試験において陰性の結果が得られている。一方、チャイニーズ・ハムスター由来培養細胞株(CHL/IU)を用いた染色体異常試験で陽性の結果が得られているが、現在のガイドラインの限界用量 (5.0 mg/mL) を超える用量での結果である。ラット肝初代培養細胞を用いた不定期 DNA 合成(UDS)試験では陰性の結果が得られており、マウス骨髄小核試験では限界用量である 2000 mg/kg まで試験が行われ、陰性の結果が得られており、生体内で染色体異常が誘発される可能性はないものと考えられる。

これらの情報を基にすると、カルミンについて変異原性の面から安全性を懸念すべき点は見出されていないと判断される。

## 15 (2) 個別データ

### ①カルミン

*Bacillus subtilis* 17A (Rec+) 株及び 14T (Rec-) 株を用いた DNA 修復試験 (Rec-assay) は、ストリーク法を用いて 1000  $\mu$ g/mL 又は 2000  $\mu$ g/ろ紙の用量で試験が行われ、いずれも両菌株に共に阻止帯がみられず、判定不能の結果が得られている(文献 45、56)。

- 20 なお、Yamaguchi (1988) によりカルミンについての TA100 を用いた復帰突然変異試験において、代謝活性化系存在下で陽性の結果との報告があるが、その内容を確認したところ、TA100 株/+S9/1 用量のみの結果だけが記述されており、用量相関性や-S9 での結果等確認できない点がある。本報告は、主に化合物の DNA への吸着に関する論文であるが、吸着の実験が-S9 の条件で行われている一方、Ames 試験が+S9 での結果のみを述べているのは矛盾する。本報告において、DNA に吸着性のある 9 化合物が+S9 の TA100 で全て陽性の結果とされていることに疑問がもたれたことから、当該 9 物質について調べたところ、そのうちの「Fichsin basic」について、元労働省の委託研究報告書で TA 100、TA98、WP2 uvrA を用い、-S9 で 1,000  $\mu$ g/plate の用量まで試験が行われ、陰性の結果が得られていることが判明した。+S9 のデータはないが、-S9 での吸着性の結果とは一致していない。Fijita ら (1976) では、Bismark brown が Rec-assay で陰性結果を示し、Fuchsin (basic との記載はないが) が TA100 と TA98 の  $\pm$ S9 で陰性の結果を示し、Yamaguchi の論文とは異なっており、情報が不備なことと結果の信頼性に疑問がもたれることから、本文献については添付することと定めることとする。(文献 82)

### ②カルミン酸

- 35 *Salmonella typhimurium* TA98、TA100、TA1535 及び TA1537 を用いた復帰変異試験では、ラット肝由来の S9 mix 存在下 (10%と 30%) 及び非存在下で、カルミン酸を 87.5%含んでいるサ

ンプル(Campari)について 125~2000  $\mu\text{g}/\text{plate}$  の用量範囲で 2 回試験が行われ、いずれも陰性の結果が得られている(文献 44)。カルミン酸を 53.13%含んでいるサンプル(Aldrich)については、TA100 のみを用い、ラット肝由来の S9 mix 存在下 (10%のみ) 及び非存在下で、125~2000  $\mu\text{g}/\text{plate}$  の用量範囲で試験が行われ、いずれも陰性の結果が得られている(文献 44)。

5 *Salmonella typhimurium* TA98、TA100、TA1535 及び TA1537 を用いた復帰変異試験では、マウス肝由来の S9 mix 存在下及び非存在下で、50、250、500  $\mu\text{g}/\text{plate}$  の用量で試験が行われ、いずれも陰性の結果が得られている(文献 46)。

10 *Salmonella typhimurium* TA98、TA100、TA1535、TA1537 及び TA1538 を用いた復帰変異試験では、ラット肝由来の S9 mix 存在下及び非存在下で試験が行われ(用量の記載なし)、いずれも陰性の結果が得られている(文献 47)。

15 *Escherichia coli* WP2 *uvrA*、WP67 *uvrA polA* 及び WP100 *uvrA recA* を用いた DNA 修復試験(rec-assay 及び pol-assay)では、ラット肝由来の S9 mix 存在下で 10% (v/v)の用量で試験が行われ、*Salmonella typhimurium* TA1538 及び *Escherichia coli* WP2 *uvrA* を用いたフラクチュエーション法による復帰変異試験では、ラット肝由来の S9 mix 存在下及び非存在下で 10% (v/v)の用量で試験が行われ、いずれも陰性の結果が得られている(文献 48)。

20 *Shizosaccharomyces pombe* を用いた突然変異試験においては、非代謝活性化法では 100 mM の用量を用い、pH 4.4、5.4、6.4、7.4 の各条件下で 4 及び 16 時間処理で試験が行われ、マウス肝由来の S9 mix 存在下では 20、50、100 mM の 3 用量を用い、1 及び 4 時間処理で試験が行われ、マウスを用いた宿主経由法では 1000 mg/kg の用量を経口投与し、3、6、16 時間後に試験菌を回収して試験が行われ、いずれも陰性の結果が得られている(文献 46)。

*Saccharomyces cerevisiae* D4 を用いた遺伝子変換試験においては、非代謝活性化法では 100 mM の用量を用い、pH 4.4、5.4、6.4、7.4 の各条件下で 4 及び 16 時間処理で試験が行われ、ラット及びマウス肝由来の S9 mix 存在下では 20、50、100 mM の 3 用量を用い、1 及び 4 時間処理で試験が行われ、いずれも陰性の結果が得られている(文献 46)。

25 チャイニーズ・ハムスター由来培養細胞株(CHO)を用いた染色体異常試験では、2 つのサンプル(Campari と Aldrich)を用いて、20、63、200  $\mu\text{g}/\text{mL}$  の用量で、ラット肝由来の S9 mix 存在下では 3 時間処理後 12 時間と 24 時間に、S9 mix 非存在下では 24 時間処理後にそれぞれ標本作製して試験が行われ、1 サンプル(Campari)ではいずれも陰性の結果が得られている(44)。他のサンプル(Aldrich)では S9 mix 存在下の 24 時間後の低用量(20  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )のみで染色体異常をもつ細胞が幾分増加したが、用量依存性もなく、陰性と判断されている(文献 44)。

30 チャイニーズ・ハムスター由来培養細胞株(CHO)を用いた姉妹染色分体交換(SCE)試験では、2 つのサンプル(Campari と Aldrich)を用いて、20、63、200  $\mu\text{g}/\text{mL}$  の用量で、ラット肝由来の S9 mix 存在下及び非存在下で試験が行われ、いずれも陰性の結果が得られている。尚、S9 mix 存在下では 2 サンプル共に SCE が陰性対照より低下する傾向がみられている(文献 44)。

35 ラット肝初代培養細胞を用いた不定期 DNA 合成(UDS)試験では、1、10、100  $\mu\text{M}$  の 3 用量を用い、20 時間処理で試験が行われ、陰性の結果が得られている(文献 49)。

ラット肝初代培養細胞を用いた不定期 DNA 合成(UDS)試験では、1、10、100  $\mu$ M の3用量を用いて4時間処理で試験が行われ、さらにラットに500 mg/kg の用量で単回経口投与し、2及び12時間後に肝臓を摘出して、in vitro 試験と同様に試験が行われ、いずれも陰性の結果が得られている(文献50)。

- 5 マウス骨髄小核試験では、各群雌雄5匹のCD-1マウスを用いて、カルミン酸を87.5%含んでいるサンプル(Campari)について1250、2500、5000 mg/kg の用量(それぞれLD<sub>50</sub>の20%、40%、80%)で、経口投与後24時間及び48時間にそれぞれ標本作製して試験が行われ、いずれも陰性の結果が得られている。尚、24時間及び48時間で共に幼弱赤血球の割合が用量に依存して低下しており、骨髄赤血球に対する細胞毒性の兆候がみられている(文献44)。

### 10 ③コチニール色素

*Salmonella typhimurium* TA92、TA94、TA98、TA100、TA1535 及び TA1537 を用いた復帰変異試験では、ラット肝由来 S9 mix の存在下及び非存在下で、20 mg/plate の用量まで試験が行われ、いずれも陰性の結果が得られている(文献42)。

- 15 チャイニーズ・ハムスター由来培養細胞株(CHL/IU)を用いた染色体異常試験では、非代謝活性化法で3.0、6.0、12.0 mg/mL の用量を用いて24及び48時間の連続処理が行われ、両連続処理の最高用量12.0 mg/mL において構造異常を有する細胞の出現頻度が明らかに増加し、陽性の結果が得られているが、倍数体の誘発はみられていない。尚、24時間処理の6.0 mg/mL では構造異常について疑陽性(8%)の結果が得られている(文献41、42)。

- 20 ラット肝初代培養細胞を用いる不定期 DNA 合成(UDS)試験では、1、10、100  $\mu$ g/mL の3用量を用い、20時間処理で試験が行われ、陰性の結果が得られている(文献49)。

マウス骨髄小核試験では、2000 mg/kg の単回腹腔内投与後24時間後及び500 mg/kg の用量で24時間間隔の4回腹腔内投与後24時間に標本作製して試験が行われ、いずれも陰性の結果が得られている。尚、単回投与及び4回連続投与で共に幼弱赤血球の割合の低下がみられ、骨髄赤血球に対する細胞毒性の兆候がみられている(文献43)。

25

### 4) 発がん性試験

#### (1) まとめ

- 30 カルミンに関してはダヴィデ・カンパリ社より供給されたカルミン(カルミン酸含量:約50%)を経胎盤的に暴露した雌雄の児ラットに親動物と同様50、150及び500mg/kg 体重/日となるように混合した飼料、また、対照群として基礎飼料を最長で109週まで投与した試験が実施されており、対照群を含む各群で散発的に腫瘍が観察されたが、被験物質投与に起因した腫瘍の誘発は認められなかったと報告されている(文献9、35)。

また、コチニール色素をマウスに104週間投与した試験が実施されていることから、これらの試験成績もカルミンの発がん性を推察する上で有用であると考え、参考資料とした。

- 35 コチニール色素(カルミン酸含量:29.8%)に関しては雌雄のB6C3F<sub>1</sub>マウスに0(対照群)、3及び6%の濃度で104週間混餌投与した試験が実施され、被験物質投与に起因した腫瘍の誘

発は観察されなかったと報告されている(文献 34)。

上記のラット及びマウスの試験成績からカルミン酸を主成分とするカルミンが腫瘍を誘発する可能性は極めて低いと考えられる。

## 5 (2) 個別データ

1 群雌雄各 66 匹の Wistar 系ラットにダヴィデ・カンパリ社より供給されカルミン (カルミン酸含量: 約 50%) を 50、150、500mg/kg 体重/日の用量となるように混合した飼料、あるいは雌雄各 114 匹のラットには対照群として基礎飼料を 60 日間投与した後、同一群内で雌雄を各 1 対 1 で交配し、妊娠期間、さらに児ラットへの授乳期間を通して、母動物には継続して各群の飼料を投与した。その後、長期試験実施にあたり、各群の同腹児から雌雄各 1 匹を選び、被験物質投与群は各群雌雄それぞれ 54 匹とし、母動物と同群の添加飼料、また、対照群としては雌雄それぞれ 90 匹を選び基礎飼料を雄で 107 週間及び雌で 108 週間投与した結果、一般状態、体重及び死亡率において群間に差は認められず、組織学的検査では雌で乳腺腺房の過形成や導管拡張が全投与群で観察されたが、用量依存性が認められないことから、被験物質投与との関連はないものと考えられた。また、雌雄とも対照群を含む各群で腫瘍が散見されたが、被験物質投与に起因した腫瘍の誘発は観察されなかった(文献 35)。

1 群雌雄各 50~55 匹の B6C3F<sub>1</sub> マウスにコチニール色素 (カルミン酸含量: 29.8%) を 0 (対照群)、3 及び 6% の濃度 (4.5 及び 9g/kg 体重/日相当: JECFA で用いられている換算値を用いて推定した摂取量) で 104 週間混餌投与した結果、被験物質投与群で用量に相関して体重増加量ならびに摂餌量の減少が見られたが、死亡率では被験物質投与による影響は認められず、被験物質投与に起因した腫瘍の誘発も観察されなかった(文献 34)。

## 5) 生殖発生毒性試験

### (1) まとめ

カルミンの生殖発生毒性については、JECFA における ADI 設定のために実施された、ラットにおける繁殖試験及びラットにおける催奇形性試験の成績が公表されている(文献 26、27)。また、コチニール色素を、Crj:CD1 雌雄マウスに混餌投与した二世世代繁殖試験が行われ、親動物及び出生児の神経行動学的指標ならびに出生児の行動発達に及ぼす影響が検討されている(文献 53)。ADI 設定のための繁殖試験(文献 26)では、Wistar 系ラットに、カルミンを、kg 体重当たり 50、150、500 mg/日摂取するように飼料に混ぜて摂食させ、F3 世代まで観察している。得られた結果から、500 mg/kg 体重/day までのカルミンは、3 世代のラットの交配期間中、妊娠期間中、哺育期間中、離乳期ならびに成熟後に至るまでの全期間にわたり、持続的に摂食させても、投与動物の成長、成熟後の繁殖性、それらの児の出生前及び出生後の発達に悪影響を及ぼさないと結論が得られている。二世世代繁殖試験(文献 53)では、カルミン酸を約 10%含むコチニール色素を、各群雌雄各 10 匹の Crj:CD1 マウスに、5 週齢から 0 (基礎飼料)、0.5、1.0、2.0% の濃度で混餌投与して試験が行われている。9 週齢で同群内の雌雄を交配させ



て出生児を得ているが、親動物の体重増加、摂餌量ならびに生殖能力に投与の影響は認められていない。一方、出生児については、投与に起因すると考えられる外表奇形は認められず、生下時の体重及び生存率にも投与の影響は認められていないが、1%以上の投与群の雌雄において生後 14 日から体重増加抑制が認められている。しかし、4 週齢で離乳した後は、9 週齢に至るまで親動物と同様の飼料を摂取させても体重増加抑制は認められないと報告されている。神経行動学検査ならびに行動発達検査では、複数の観察指標に対照群との間で有意差が認められ、著者は投与による影響と評価している。

5  
10  
15  
20  
25  
30  
35

催奇形性試験(文献 27)では、0、200、500 あるいは 1000 mg/kg 体重のカルミンを、各用量 30 匹の Wistar 系雌ラットに、妊娠 0 日から 19 日まで、毎日、強制経口投与し、妊娠 20 日に帝王切開して胎児の生存、発育、ならび外表、骨格及び軟部組織の形態を観察しているが、1000 mg/kg 体重までのカルミンを妊娠期間中毎日経口投与しても、胚の発生に悪影響を及ぼさないと結論が得られている。

一方、カルミンを 150 mg/kg 体重の用量で、妊娠 8 日のマウスに単回皮下投与した実験では、胚死亡率の増加、発育遅延胎児ならびに外脳あるいは椎骨及び肋骨の奇形を認める胎児の増加が報告されている(文献 23)。これには、溶媒として投与された炭酸リチウムの影響も疑われることから、さらに、異なる濃度の炭酸リチウム溶液に溶解したカルミンを 100 mg/kg 体重の用量で、妊娠 8 日のマウスに単回腹腔内投与して、炭酸リチウム溶液のみあるいは生理食塩液を腹腔内投与した動物と比較する実験が行われ、発育遅延ならびに奇形の増加はカルミン自身の影響によるものである可能性が示唆されている(文献 24)。また、リチウムカルミンをカルミンの用量が 150 mg/kg 体重になるように、妊娠 6、8、10、12 あるいは 14 日のいずれかに単回投与(経路不明)して胎児を観察した結果、胎児毒性は投与時期に関わらず認められるが、奇形は、絨毛尿膜胎盤形成前の妊娠 6 日から 10 日の間の投与に限定して増加していることが報告されている(文献 25)。

以上のように、カルミンを皮下あるいは腹腔内に単回投与した実験では胎児毒性あるいは奇形誘発が示唆されているが、喫食を通じて摂取するカルミンの生殖発生毒性を評価できる報告(文献 26、27)には、胎児毒性も催奇形性を示唆する影響も認められなかった。

## (2) 個別データ

### ①カルミンのラットにおける混餌投与による繁殖試験(文献 26)

30  
35

Wistar 系ラットに、カルミンを、1 日に、kg 体重当たり 50、150、500 mg 摂取するように飼料に混ぜて摂食させて試験が行われた。試験に用いたカルミンのカルミン酸含有率は、20 日間だけ使用した 1 ロット(含有率 46%以上)を除き、いずれも 50%以上であった。投与は F0 世代(対照群、雌雄各 60 匹及びカルミン各投与群雌雄各 36 匹)が 3 週齢の時期に開始し、成育後、交配して次世代を得るという操作を繰り返し、F3 世代が成熟するまで継続した。この間、各世代の雌雄動物の体重、飼料摂取量、飲水量を測定するとともに繁殖性を調べた。また、F2 世代までの各世代において 2 回の交配を行い、2 回目の交配によって得られた妊娠動物を

用いて帝王切開による胎児観察あるいは出生児の生後発達の観察を行い、催奇形性の有無を調べた。各世代の親動物は剖検し、肉眼観察、器官重量測定ならびに病理組織学検査に供した〔2) 反復投与毒性試験の項参照〕。

5       その結果、切歯萌出の僅かな遅延が 150 及び 500 mg/kg 体重投与群の F1 及び F2 世代に認められたが、眼瞼開裂、耳介の開展、毛生及び正向反射の完成時期に遅延は認められなかった。また、F3 世代では切歯萌出時期に差は認められなかった。F3 世代では、アリザリン染色による胎児骨格検査を行ったが、カルミン投与による異常は認められず、すべてのカルミン投与群において、胎児の発育過程で認められる軟骨の骨化が僅かに進んでいた。

10       これらのことから、500 mg/kg 体重/日までのカルミンを、3 世代のラットの交配期間中、妊娠期間中、哺育期間中、離乳期ならびに成熟後に至るまでの全期間にわたり、飼料に混ぜて持続的に摂食させても、投与動物の成長、成熟後の繁殖性、それらの児の出生前及び出生後の発達に悪影響を及ぼさないと結論されている。

#### ②マウスにおける混餌投与によるコチニール色素の一世代繁殖試験（文献 53）

15       カルミン酸を約 10%含むコチニール色素を、雌雄各群 10 匹の Crj:CD1 マウスに、5 週齢から 0（基礎飼料）、0.5、1.0、2.0%の濃度で混餌投与して二世代繁殖試験が行われている。9 週齢で同群内の雌雄を交配させているが、親動物の体重増加、ならびに生殖能力に影響は認められていない。また、投与に起因した外表奇形は観察されず、いずれの投与群においても、リッター重量あるいはリッターサイズに対照群との間で統計学的有意差は認められていない。哺育期間中は、1.0%以上の投与群において、生後 14-21 日の雌雄出生児に、体重増加抑制が認められ、雄及び 2%投与群の雌で対照群との間に統計学的有意差が認められている。これらの動物も、4 週齢で離乳した後は、親動物と同じ飼料を 9 週齢まで与えているが、体重増加抑制は認められなくなっている。全ての投与群において、生後 21 日における雌出生児の生存率が、対照群と比較して有意な低下を示していたが、低下の程度は対照群 100%に対して、2.0%投与群 93.0%

25       と軽微であり、用量依存性にも乏しかった。本試験では親動物及び出生児の神経行動学的検査ならびに出生児の行動発達検査が行われ、行動発達検査では、生後 4 日に検査した正向反射に、反射完成までの所要時間を区分して評点をつけると、所要時間が長い区分に入る動物の割合が、0.5 及び 2.0%投与群において有意に増加し、有意な用量依存の関係が認められると報告されている。神経行動学的検査については、雌親動物において 8 週齢において測定した運動活性のいくつかのパラメーターに低下傾向が認められているが、1.0%における低下が最も顕著であると報告されている。同様の測定が出生児に対しても 3 及び 8 週齢で行われているが、8 週齢では雌雄ともに対照群との間に有意差は認められない一方で、3 週齢では、雌においてのみ運動活性の促進が認められている。また、出生児を対象とした T 型複合水迷路学習試験では、3 日間の試行中 2 日目の試行において、雌に成績の有意な低下が認められているが前後の施行日には有意差は認められていない。また、雄はいずれの試行も対照群との間に有意差は認められていない。著者はこれらの有意差が認められた変化を投与による影響と評価している。

30

35

③ラットにおけるカルミンの経口投与による催奇形性試験(文献 27)

Wistar 系妊娠ラット (30 匹/群) に、0、200、500 あるいは 1000 mg/kg 体重のカルミンを、妊娠 0 日から 19 日まで、毎日、強制経口投与して試験がおこなわれた。投与には、カルミン

5 酸が 50%以上含まれる可溶性カルミン酸を用いた。これには、陽イオンとしてナトリウム、カリウム、アンモニウム及びカルシウムが含まれていることから、上記の 4 用量群に加えて、これら陽イオンを、最高用量の投与検体に含まれるのと同濃度含む塩化物の水溶液を投与する塩投与群を設定した。投与動物は、妊娠 20 日に帝王切開し、胚胎児の生存、発育、ならび外表、骨格及び軟部組織の形態を観察した。

10 その結果、母動物にカルミン投与の影響は認められなかった。最高用量投与群及び塩投与群において、着床後死亡が増加したが、これは、投与開始前に既に数が決まっている黄体数が、これらの投与群において多かったため、着床数がやや増加 (有意差は塩投与群のみ) したことによる変化と考えられる。一腹当たりの生存胎児数は、有意差はないものの、対照群よりむしろ多い傾向を示していた。塩投与群では胎児体重がやや低下したが、カルミン投与群では体重

15 に影響は認められなかった。奇形は観察されず、軟部組織の形態にも異常は認められなかった。アリザリン染色による胎児骨格の観察でもカルミン投与群に異常は観察されず、軟骨の骨化はやや進んでいた。これらの結果から、1000 mg/kg 体重までのカルミンを妊娠期間中毎日経口投与しても、胚の発生に悪影響を及ぼさないと結論されている。

20 ④マウスにおける単回皮下投与によるカルミンの催奇形性に関する研究 (文献 23)

妊娠 8 日の NMRI/Han 系妊娠マウス (8-10 匹/群) に、カルミンを 1%炭酸リチウム溶液に溶解あるいは 2.5%ナトリウムカルミン溶液を調整して、カルミンを 150 mg/kg 体重の用量で皮下投与した。対照群には生理食塩液を 0.5 mL 皮下投与した。妊娠 19 日に帝王切開を行って、胎児の生存、発育ならびに外表、骨格及び内臓の形態を観察した結果、溶媒の種類にかかわらず、カルミンを投与した群では胚死亡率が対照群を上回っていた。形態異常に関しては、リチウムカルミン投与群において、主として、脳ヘルニアならびに肋骨及び椎骨の奇形を有する胎児の割合が増加していたが、化骨遅延は認められていない。一方、ナトリウムカルミン投与群では、奇形を有する胎児数は少ないものの、化骨遅延の認められた胎児の割合が増加していた。著者は、カルミンには胎児毒性の可能性があるものの、胎児奇形の増加についてはリチウムが

30 関与している可能性を指摘している。

⑤マウスにおける単回腹腔内投与によるカルミン及び炭酸リチウムの催奇形性に関する研究 (文献 24)

リチウムカルミンの単回皮下投与で認められた胎児毒性ならびに奇形胎児の増加に対する

35 炭酸リチウム溶液 (溶媒) の関与について検討するために、NMRI/Han 系妊娠マウス (9-11 匹/群) の妊娠 8 日に、カルミン 100 mg/kg 体重を、1%炭酸リチウム溶液又は 4%炭酸リチウム

溶液に溶解して腹腔内投与した。また、リチウムの用量が 40 mg/kg 体重になるように 1%炭酸リチウム溶液を腹腔内投与した。対照群には生理食塩液 0.2 mL を腹腔内投与した。妊娠 19 日に帝王切開を行って、胎児の生存、発育ならびに外表、骨格及び内臓の形態を観察したところ、  
5 比較して有意に増加していた。一方、発育遅延を示す胎児ならびに奇形胎児は、リチウム濃度にかかわらずカルミン投与群で増加した。奇形のタイプについて個別の出現頻度は示されていなかったが、外表奇形は脳に限局して認められ、主として外脳であった。また、肋骨ならびに脊椎に骨格奇形が認められていた。著者は、ナトリウムカルミンを妊娠 8 日に皮下投与しても奇形を有する胎児は増加しないという著者自身の実験成績（文献 23）とは矛盾するものの、  
10 今回の実験において炭酸リチウムの濃度にかかわらず、カルミンを投与した群で奇形を有する胎児が増加したことは、リチウムカルミンの投与で認められた奇形がカルミン自身によるものであることを示唆していると結論している。

#### ⑥マウスにおける単回投与によるカルミンの催奇形性に関する研究（文献 25）

15 NMRI/Han 系妊娠マウス（7-10 匹/群）に、2.5%リチウムカルミン溶液を、カルミンの用量が 150 mg/kg 体重になるように、妊娠 6、8、10、12 あるいは 14 日のいずれかに単回投与（経路不明）した。いずれの動物も妊娠 19 日に帝王切開して、胎児の生存、発育ならびに外表、骨格及び内臓の形態を観察し、対照群（詳細不明）と比較した。その結果、カルミン投与群の胚死亡率ならびに発育抑制胎児は、投与時期にかかわらず対照群と比較して有意に増加して  
20 いたが、脊椎ならびに肋骨などの奇形の増加が認められたのは、絨毛尿膜胎盤形成前の妊娠 6 日から 10 日の間の投与群に限られていた。著者は、絨毛尿膜胎盤形成後の投与によってカルミンの催奇形性が減弱したことは、カルミンがトリパンプルーと同様に、卵黄囊上皮の臓側板へ蓄積して卵黄囊胎盤におけるリソゾーム機能を抑制するとの考え方を支持するものであると考察している。

25

#### 6) 一般薬理試験

一般薬理試験に関する直接的データを見出すことが出来なかった。

ラットにおける 3%単独経口投与試験で、コチニール色素による体重増加、摂餌量、臓器増加などに変化は無く、血清生化学的検査でも 4 週間では著明な変化は認められなかったが、  
30 週間で TG (Triglycerides) の減少がみられている（文献 28）。

ヒトに関しては、有害作用に関する若干の報告が知られている。飲食物に含まれるコチニール抽出物やカルミン、カルミン酸は、時として強いアレルギー性の有害作用を引き起こすことがあるので、警告のために含有の表示が必要であるとの報告がある（文献 2）。同様に、症例報告により、コチニール色素類の職業的暴露、皮膚接触、食品や飲料物経由の摂取によって、  
35 蕁麻疹、鼻炎、下痢、アナフィラキシーが惹起されるとされ、警告の表示が必要であるとされている（文献 10）。

アトピー性皮膚炎，アレルギー性鼻炎，蕁麻疹などの既往症のある患者（複数）による検討から、コチニール色素中の 39～45kDa のたんぱく質がアレルゲンであると報告されている（文献 20、62）。カルミンアレルギーは IgE 介在性であると報告されている（文献 29、30、31）。

## 5 7) ヒトについての知見

コチニール抽出物による有害作用として、皮膚曝露，職業曝露，ならびに食品あるいは飲料からの摂取に伴う蕁麻疹，鼻炎，下痢，アナフィラキシー症状の発現についての報告がある。JECFA は食物アレルギー特別検討会からの報告に基づいて、コチニール抽出物は高感受性の個体に免疫機序による異常反応を誘発すると判断している（文献 2、10）。作用メカニズムとして、  
10 コチニール抽出物中のタンパク質がアレルゲンになっていると予想されるが、アレルギー反応の惹起に関与するたんぱく質は確認されていない。

次に WHO の報告（文献 10）とその引用文献ならびにわが国で刊行された論文を中心にカルミンあるいはコチニール抽出物の関与が考えられるヒトのアレルギー症例についての知見をまとめた。

15

### (1) 職業性曝露の症例

昆虫からのカルミン抽出に従事していた 36 歳の男性 1 名及び化粧品の色素として 15 年間に亘ってカルミンを扱っていた 54 歳の男性 1 名について職業性曝露による喘息の発症が報告されている。これら 2 名の患者はいずれもカルミンを用いた皮膚プリックテストでは陰性であったが、コチニール抽出物による気管支誘発テスト（Bronchial provocation test）では陽性であったと述べられている。両患者の病状はいずれもカルミンを回避することにより改善されたと報告されている（文献 63）。

25 チョリソ（ソーセージの一種）の製造でカルミンを 3 ヶ月間使用していた 30 歳の男性が重篤な喘息発作を起こして入院した。患者は血中の好酸球の増加と血清 IgE 濃度の上昇が認められた。喘息の症状は仕事を再開すると起こり、仕事を中止すると止まると報告されている（Lenz et al. 1983、文献 10 より引用）。

30 食品工場に雇用された 36～54 歳の女性 1 名と男性 2 名がカルミンを扱う仕事を始めてから 2～10 ヶ月の間で呼吸障害をおこした。いずれの患者にもアトピー及び呼吸器疾患の病歴はなかった。女性患者は喘息，鼻炎，咳及び労作性呼吸困難の症状を示した。これらの症状はカルミンを扱うと増悪し、入院により改善した。1 名の男性患者では、喘息の発作がカルミンを扱うと引き起こされ、仕事場から離れると治った。この患者では、カルミン粉末を用いた皮膚スクラッチテストで陽性の結果がみられている。もう 1 名の男性患者はカルミンを用いる仕事に就いて僅か 2 ヶ月で気管支痙攣をくり返し、カルミン粉末を用いた皮膚スクラッチテストで陽性反応がみられたと述べられている（Tenabane et al. 1987、文献 10 より引用）。

35 カルミン製造会社の 33 歳の販売支配人が痙攣性の咳嗽を起こし、2～4 時間後にインフルエンザ様の症状を示した。この症状はカルミンを用いた時にだけ認められた。この症例ではカル

ミン粉末を用いた皮膚スクラッチテストは陰性であった。乳糖にカルミン粉末を 25%の割合で混じて誘発試験を実施したところ、即時反応は起きなかったが、2 時間後に咳と呼吸機能の低下がみられたと報告されている。免疫拡散法でカルミンに対する 2 本の沈降帯がみられている。この報告の著者はこの患者のアレルギー性肺炎の原因にカルミンが強くかかわっていると推定している (文献 64)。

5  
カルミン, アナトー及びクルクミンの製造に従事している作業員について、色素に対するアレルギーの調査が実施された。調査対象者には 9 名の現役作業員 (男性 4 名, 女性 5 名) と 1 名の以前の作業員が含まれていた。調査の対象物質にはコチニール抽出物 (52%のカルミン酸を含む) の他に、調製したカルミン及び市販カルミン酸が含まれていた。アンケート調査への  
10 回答から、工場での現役労働者の 2 名に作業に関連した鼻炎の症状がみられ、1 名に喘息が認められたとされている。かつてカルミン誘発性の喘息と鼻炎にかかっていた以前の労働者については作業員から外されてから無症状となったと述べられている。調査したこれら雇用者のすべてにコチニールとカルミンに特異的な IgG 抗体がみられたが、コチニールとカルミンに特異的な IgE は作業に関係のある喘息症状を示した現役の作業員 1 名にみられたのみであったと  
15 述べられている (文献 65、66)。

化粧品工場でカルミンのバッチ計量の作業に 1 年間従事していた 18 歳の男性が職業性の喘息について検査をうけた。その男性は非喫煙者で、アトピーもなかった。3%のカルミンを混じた乳糖粉末のチャンバーで誘発試験を実施した所、肺機能の変化とヒスタミンに対する気道反応が増強した。なお、この試験では対照として Amaranth で着色した乳糖粉末が用いられて  
20 いる (文献 67、68)。

香辛料の倉庫で 4 年間作業をしていた 37 歳の男性が鼻結膜炎と呼吸促迫の症状で受診した。患者はアトピーの病歴と家族歴を持たない非喫煙者であった。受診前 5-6 ヶ月の間、患者はたまたま工作中カルミンに曝露されると鼻結膜炎と呼吸促迫を起こすようになったという。症状はカルミンを扱うと直ちに起こったが、夜間に悪化し、1 日中持続することもあった。受診  
25 の 15 日前、患者は自宅でカルミン色素 (E120) を含んだストロベリースウィート (苺風味の甘い菓子) を食べたところ、数分以内に鼻結膜炎と呼吸困難を伴った全身性反応を起こした。症状はブデソニドと気管支拡張剤の吸入で改善した。患者は仕事をしていない時には無症状であった。皮膚プリックテストではコチニール昆虫抽出物 (Cochineal insect extract) とカルミンに対して陽性であった。コチニール抽出物を用いた特異的気管誘発試験の結果は陽性、カルミンについての経口誘発試験も陽性であった。この患者の血清について Immunoblotting を  
30 実施した所、コチニール抽出物からの様々なタンパク質に対する特異的な IgE がみられた (文献 29)。

## (2) 皮膚曝露の症例

35 口唇の表面が乾燥して亀裂し、ヒリヒリするとの訴えをもった 32-59 歳の 3 名の女性について、本人が使っている口唇化粧品を用いて皮膚パッチテストを実施し陽性反応がみられた。

そのうちの2名は油溶性カルミン製品に対しても陽性反応を示した (Sarkany et al. 1961、文献10より引用)。

19歳の男性兵士がカルミン赤 (Carmine red) の入った化粧品を躯幹の皮膚に使用した所、アナフィラキシー反応を起こして救急医療施設に運ばれた。患者は錯乱状態で、頻脈、計測できない程の著しい血圧低下を示していた。患者は回復したが追跡調査はできなかった (Park 1981、文献10より引用)。

カルミンによるアレルギー性接触皮膚炎に関する興味深い症例が報告されている。28歳のフィリピン系の女性がカルミンを含んだアイシャドーと口紅による皮膚炎の発症を繰り返した。皮膚炎は化粧品を使ってから6-24時間以内に起こった。患者はこれらの化粧品を10歳代から使っていたが、症状があらわれたのは20歳代の半ば頃からであったという。患者には衣服や装身具による接触皮膚炎の病歴はあったが、喘息、アトピー性皮膚炎はなかった。患者の背部皮膚について北米接触皮膚炎グループ (North American Contact Dermatitis Group) で標準的に使われている65種のアレルゲンが検査された。カルミンは2.5%の濃度で鉱油 (Petrolatum, Pet) に混じて適用された。検査は閉鎖系で実施され、48時間及び120時間目に皮膚反応が判定された。カルミン2.5%Pet, コバルト1%Pet 及び硫酸ニッケル5%Petの適用部位に紅斑と硬結が48時間及び120時間目の検査で認められ、他の被験物質の適用部位には反応は見られなかった。次いで、前腕の肘窩 (Cubital fosso) の皮膚にカルミン2.5%Petを1日2回連日、開放系で適用した。適用12日目に数個の丘疹が生じ、16日目には融合した丘疹に進展した。患者はパッチテストの後3年間、12種類のカルミンの入っていないアイシャドーと口紅を使っているが皮膚炎の発症はなかったと報告されている (文献75)。

### (3) 食品と飲料による経口曝露の症例

チューリッヒ大学病院皮膚科アレルギー研究グループがカルミン (E120) の摂取による即時型アレルギー (アナフィラキシー) の発生を報告した。34歳のアトピー性の女性がオレンジジュースを混じたカンパリを飲んでから15分後に重篤なアナフィラキシー症状を起こした。くしゃみ、鼻炎、結膜炎に始まり、痒疹、蕁麻疹、Quincke's oedema (血管神経性浮腫)、呼吸困難、気管支痙攣、悪感、悪心、嘔吐、下痢が起こり、緊急治療を必要とした。カンパリを用いた皮膚プリックテストで陽性反応を示し、カンパリに用いられたカルミン色素 (E120) 及び市販されているカルミン製品にも陽性であった。患者は以前にもカルミンが含まれている口紅、マスカラ、アイシャドー等の化粧品の使用により眼のかゆみや皮膚のほてりなどの反応を示したことがあり、その際にもこれらの物質に対して皮膚プリックテストで陽性反応を示したと述べられている (文献69、70)。

上記の研究グループはその後2年の間でカンパリを摂取した後、急性蕁麻疹、血管浮腫、アナフィラキシー反応を起こし緊急治療を受けた新しい4名の患者を報告している。4例中の2例はアトピー性疾患の病歴をもっていた。4例のすべてがカンパリもしくは製造者が使用していたカルミンによる皮膚プリックテストで陽性反応を示した (文献71)。

ミシガン大学の研究グループもカルミンの摂取によるアナフィラキシーの症例を報告している。27歳の女性がカルミンが含まれているアイスキャンディーを食べてアナフィラキシー症状を示し、治療を受けた。症状は悪心に始まり、次いで痒疹、蕁麻疹がみられ、3時間後には、頻脈を伴った低血圧が起こった。患者はアレルギー性鼻炎の病歴をもち、空気中の様々なアレルゲンを用いた皮膚プリックテストで陽性反応を示したとの記載がある他、カルミンを含んだ化粧品で痒疹、紅斑を起こしたことがあると報告されている。アイスキャンディー及び製造者が用いているカルミン製品に対する皮膚プリックテストは陽性であった。夫を受容者(Recipient)とした被動性転嫁テスト(Passive Sensitization, Prausnitz-Kustner Test)が実施され、患者血清中にカルミン特異的IgEが存在する可能性が示された(文献72)。

5

10

上記の研究グループは非アトピー性の2例の女性がカルミンを含んだヨーグルトとカンパリの摂取によりアナフィラキシー反応を起こしたとの症例を報告している。

症例1:27歳女性が苺とバナナ風味のヨーグルト(カルミン混入の表示あり)を食べてアナフィラキシー症状を起こした。患者は過去3年の間に、目の周りの血管性浮腫、悪心、下痢及び腹部の仙痛を伴った全身の蕁麻疹を6回繰り返している。いずれの場合においてもカルミン

15

で着色した食品摂取後30分から2時間目に症状が発現し、重篤な場合には、頻脈(心拍数125bpm)と低血圧(86mmHg)がみられ、エピネフリンの皮下注射、輸液、ジフェンヒドラミン及びステロイドによる治療がおこなわれた。症例2:42歳の女性看護師、これまでに食後30分から2時間目に顔面の血管性浮腫と鼻粘膜のうっ血の症状を複数回経験していた。記憶によると最初の症状発現は28歳の頃、人造のカニ肉を食べた後であったという。患者は過去10年間に3回、緊急外来を訪れる必要があるほどの重篤な症状を経験した。第1回目は、カルミンで着色したカンパリの摂取後30分目頃に悪心、嘔吐、下痢、手掌のかゆみ、顔面の血管性浮腫とくしゃみ、心拍数の増加(120bpm)が起きたためであった。他の2回の症状発現についての状況は確認できなかった。この患者はくるみ、ピーナッツ、苺、トマトに対する食品アレルギーも疑われている。その他、カルミンが成分として表示されているアイシャドーを使用した後5分以内に眼瞼腫脹、顔面蕁麻疹と鼻漏を経験したとの記載もある。

20

25

両症例ともカルミンに対する皮膚プリックテストは陽性であった。症例2についてはピーナッツ、くるみ、トマトに対する皮膚プリックテストも実施されたが、いずれのテストも陰性の結果が得られたと報告されている(文献30)。

ミシガン大学の研究グループは、更に、カルミンが混入した食品摂取3-5時間後に蕁麻疹、顔面の血管性浮腫、呼吸困難等の症状を示した3症例についての知見を基にカルミン摂取とアレルギー症状発現の関連性を解析している。症例1:32歳女性、少量の人造カニ肉もしくはルビー赤色のグレープフルーツジュースの摂取後に症状発現;症例2:27歳女性、カルミンで着色したアイスキャンディーの摂取後に症状発現(文献72と同一症例);症例3:30歳女性、カルミンで着色した人造カニ肉を1/2ポンド摂取後に症状発現(文献30と類似症例)。3症例はいずれもカルミンに対する皮膚プリックテストが陽性を示した。症例1と3について、カルミンの経口摂取によるアレルギー誘発試験を実施し、陽性の結果が得られている。3症例の血清

30

35



を用いてコチニール抽出物とカルミンレーキについて SDS-PAGE を実施した所、コチニール抽出物については 80kDa と 46kDa の数本の弱いバンドが検出された。カルミンレーキについてはこれらのバンドはみられなかった。著者らは、SDS-PAGE, Immunoblotting 試験及び Immunoblotting 抑制試験の結果から、市販カルミンには昆虫由来のタンパク質が残存し、これらのタンパク質（多分、カルミン酸と復号体を形成している）が IgE を介するアレルギー症状の発現に関与していると考察している（文献 76）。

5

わが国でもコチニール色素の経口摂取によるアナフィラキシーについての症例が報告されている。23 歳の女性で 1 年前から計 4 回にわたり、膨疹、顔面腫脹の症状をくり返した。その後カンパリオレンジを摂取した所、全身の膨疹、眼瞼と口唇の腫脹と呼吸困難の症状で救急病院に搬送され、治療後に専門施設で精密検査を受けた。その結果、コチニール色素による負荷試験でアナフィラキシー症状の誘発されることがわかった。患者血清を用いた Western-blotting 法ではコチニール色素に含まれる約 40kDa の 4 つのバンドに反応する IgE 抗体が認められたと述べられている。なお、この論文では、参考資料としてコチニール色素による有害事象についての 34 症例とそれらの検査所見が表示されている（文献 73）。

10

15

寿らも食品中のコチニール色素による蕁麻疹の 1 症例を報告している。症例は 33 歳の女性で、赤い食品を摂取した後に顔面を中心とする膨疹、嘔吐、下痢、呼吸困難の症状で来院した。紅白かまぼこの負荷試験で膨疹の出現が認められ、コチニール色素及びカルミン酸の皮膚プリックテストも陽性であった（文献 74）。

20

山川もコチニール色素による即時型アレルギーの 3 症例を報告している（文献 20、62）。第 1 例はアトピー性皮膚炎の病歴をもつ 35 歳の女性でカンパリを含んだ飲料で痒疹、顔面腫脹、全身紅斑等の症状を起こしている。第 2 例はアレルギー性鼻炎の病歴をもつ 44 歳の女性で、カンパリ入りカクテル飲酒後 10 分目頃より気分不快感があり、翌日に顔面腫脹と上肢の紅斑が起こって受診した。第 3 例は蕁麻疹の病歴をもつ 52 歳の女性で、コチニール色素の入ったイチゴ色の缶ジュースを飲んでから 10 分後に手掌の搔痒感、咽頭違和感、全身の搔痒感、顔面の腫脹が出現し、副腎皮質ホルモンで軽快した。これら患者は皮膚プリックテスト及び血清 IgE の測定により不純物としてコチニールに含まれるタンパク質に対する即時型アレルギーと診断され、さらに Western-blotting 法により、コチニールに含まれるタンパク質のうち 39-45kDa のタンパク質がアレルゲンであると推定されている（文献 20、62）。

25

30

カルミンに感作された患者の中で、臨床症状を発現しない例は少なくない。ダニ (House dust mite) に対する感作の有無がカルミンによるアレルギー症状の発現/進展に関与しているのではないか？この問題についてフィンランドの Turku 大学病院皮膚科では、過去 10 年間 (1997 年 1 月から 2007 年 5 月) でこの大学で実施された 6,464 例の皮膚プリックテストの結果に基づいた調査がおこなわれた。食品もしくは食品添加物と関連のある皮膚症状もしくは胃腸症状を発現した 3,164 症例の中で、94 例にカルミンの皮膚プリックテストで陽性反応がみられた。

35

カルミンに対して陽性反応を示した 94 例について、ダニ (House dust mite) に対する反応を調査した所、70 症例は少なく共一種のダニに対して陽性反応を示した。一方、残りの 24 例

(25%) は3種のダニ (Acarus siro, Lepidoglyphus destructor, Tyrophagus putrescentiae) を混合したアレルゲンに対して反応を示さなかった。これらの知見から、カルミンによるアレルギー症状は、ダニに対する感作とは関係なく発現/進展すると結論されている。なお、カルミンに対して感作された患者の約 50%が臨床症状を発現することから、皮膚プリックテストはカルミンによる食品アレルギーの検出に有用である (文献 77)。

#### (4) 評価

FAO/WHO 専門委員会は、これらの情報に基づいて、食品及び飲料に含まれるコチニール抽出物、カルミン、及びカルミン酸は一部の個体にアレルギー反応を誘発することがあると結論づけ、この反応が重篤な経過を示すことがあることから、これらの物質に対してアレルギー反応を起こしやすい人々に対して適切な情報を提供すべきであると述べている。一方、これまでのデータは症例報告であり、一般ヒト集団におけるコチニール抽出物、コチニール色素に対するアレルギー反応の罹患率、有病率を評価するために企画された研究のデータではないことも指摘している (文献 10)。

補：コチニール色素中のアレルゲンタンパク質に関する研究の現状

コチニール色素は安全性が高く、耐熱・耐光性に優れていることから、食品の着色料として国際的に広く使用されている。一方、2000年の第55回FAO/WHO合同食品添加物専門家会議(JECFA)においてコチニール色素によるアレルギー誘発の可能性が示唆された(文献2、10)。アレルゲンについては、症例研究において個別的に検討されているが、これまでの知見を総合して、アレルゲンは色素本来であるカルミン酸ではなく、原料由来のタンパク質であると推定されているが(文献20、26、76)アレルゲンとなるタンパク質の同定には至っていない。これら症例研究と並行して、アレルゲンの探索と同定を目的とする系統的研究が国立医薬品食品衛生研究所代謝研究部を中心に進められている(文献78、79)。

1) コチニール抽出物中に「335個のアミノ酸から構成され、分子質量が38kDaのタンパク質(CC38Kタンパクと命名)の存在が確認された。

2) CC38KタンパクをコードするcDNAが単離された。

3) CC38Kを酵母に発現させ、生成された組換え体CC38Kタンパクが患者血清のIgEと反応する知見が得られた。

4) CC38Kタンパクのアミノ酸配列とフォスフォリパーゼのアミノ酸配列の間に相同性がみられた。なお、昆虫由来のフォスフォリパーゼは昆虫によるアレルギー症状発現に関与していることが知られている。

以上の知見に基づき、CC38Kタンパクがカルミンの主要夾雑アレルゲンタンパク質と判断されている。

## 7. 国際委員会などにおける安全性評価

### 1) FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議 (JECFA) における評価

JECFA は 21 回会合 (1978) においてカルミンを扱っているが、毒性データが不十分であったため ADI を設定していない(文献 4)。1981 年 25 回会合において、JECFA は添加物として使用されているコチニール抽出物が主として食品に用いられているアンモニウムカルミンと飲料に用いられているカルシウムカルミンであることから、アンモニウムカルミンについて実施されたラット多世代試験での無影響量 500mg/kg/day に安全係数 200 を適用して、アンモニウムカルミン、カルシウムカルミン、カリウムカルミン及びナトリウムカルミンに暫定 ADI として 0-2.5mg/kg/day (アンモニウムカルミン換算) を設定している(文献 5)。引き続き JECFA は 1982 年の 26 回会合において、ラット長期毒性試験の結果に特記すべき影響がなく、発がん性もみられないと判断し、アンモニウムカルミン、カルシウムカルミン、カリウムカルミンの ADI を 0-5mg/kg/day に設定している(文献 2、9)。この ADI は 2000 年の 55 回会合においてもそのまま維持されている(文献 2、10)。

15 なお、JECFA は 55 回会合において、コチニール抽出物、カルミンの摂取もしくは職業曝露との関連が疑われるアレルギー症例について調査に基づいて食品又は飲料に含まれるコチニール抽出物及びカルミンが一部の個体に対しアレルギー反応の原因になるとの結論を下し、これらの物質が含まれる食品もしくは飲料についてはその情報を表示などの手段で提供すべきであるとしている(文献 2、10)。

20

### 2) 米国 FDA における評価

米国 FDA は、カルミンは 1967 年、コチニール抽出物は 1968 年、検定不要の (成分規格への適合性を国として試験・検査し確認する必要はないとされている) 食用着色料としての使用を認めた(文献 12、16)。検定不要の着色料は、物質名若しくは慣用名に代えて、着色料である旨の表記 (Artificial Color, Artificial Color Added) も認められ、コチニール抽出物、カルミンについても同様であった。その後 FDA はカルミン、コチニール抽出物を含む食品、化粧品、また、カルミン、コチニール抽出物自身によるアレルギー発症報告 (科学誌掲載分及び FDA への直接報告を含め合計 34 報告、2004 年 2 時点) を調査した結果、カルミン、コチニール抽出物は主要な食品アレルギー物質ではないが、少数のヒトにアレルギー反応を起こすこと、反応は IgE 関与で、アナフィラキシーなどの重篤な反応を起こすことがあると判断し、コチニール抽出物及びカルミンが使用されているすべての食品及び化粧品について、用途名 (着色料) に加え物質名を表示することを義務付ける連邦規則改正案を 2006 年 1 月に公示し意見を募った (文献 16)。FDA は寄せられた情報、意見を評価の上、2009 年 1 月、改正案とどおりの最終規則を公布し、2011 年 1 月から施行されることとなった (文献 54)。上記規制により、カルミン、コチニール抽出物感受性者は食品ラベルを確認し、表示されている場合は当該食品の摂取を控え、アレルギー発症を抑えることが出来る、と FDA は述べている (文献 54)。

35

### 3) 欧州連合における評価

欧州連合では、カルミン関連物質は食品科学委員会において評価が行なわれ、1983年に JECFA 評価と同じく一日摂取許容量 (ADI) : 5mg/kg 体重/日が設定された(文献 37)。この評価に基き、コチニール (Cochineal)、カルミン酸 (Carminic acid) 及びカルミン (Carmines) は欧州議会と EC 委員会指令によって特定の食品に使用しうる色素 (E 120) として認められている(文献 14、15)。

## 8. 安全性評価と ADI の試算

カルミンはエンジムシの乾燥物 (コチニール) から得られるカルミン酸のアルミニウムレーキ化合物若しくはアルミニウム・カルシウムレーキ化合物を主成分とするものである [3. 1) (1)及び3. 1) (6)参照]。アンモニウムカルミン、コチニール色素、カルミン酸について実施された各種毒性試験データに基づいてカルミンの安全性を評価した。

コチニール色素の単回投与試験、カルミン及びコチニール色素の反復投与試験においてラット及びマウスに対する毒性は極めて低いとされている。ちなみに Wistar ラットに 500mg/kg 体重の用量を 109 週連日投与しても特記すべき有害影響がみられていない。

生殖発生毒性試験も Wistar ラットを用いて実施され、飼料添加による 3 世代試験において 500mg/kg 体重の投与でも母体に影響はなく、児の出生前及び出生後の発達にも影響はなかったと報告されている。催奇形性試験においても 1000mg/kg 体重の投与で胚の発達に影響はなかったと述べられている。

変異原性についても、復帰変異試験、哺乳類培養細胞による染色体異常試験及び姉妹染色分体交換試験、小核試験ならびに不定期 DNA 合成試験が実施され、いずれも陰性の結果が得られている。これらの知見からカルミンについては変異原性による安全性の懸念は見出されないと判断される。

発がん性についてもコチニール色素の 6% 添加飼料によるマウスの 104 週間投与試験及びアンモニウムカルミン (50, 150 及び 500mg/kg 体重) によるラットの長期投与試験 (109 週間まで) が実施され、いずれも陰性の結果が得られている。

ヒトについての知見として、コチニール色素によると考えられる蕁麻疹、鼻炎、下痢、アナフィラキシー等のアレルギー反応に関する多くの症例報告があり、原因についてはコチニール抽出物中のたんぱく質がアレルゲンとなっていると考察されているが確定的な結論は得られていない [6. 6) (7)参照]。

以上の知見から、ラットの長期経口投与試験において 500mg/kg 体重の用量で特記すべき有害影響がみられなかったとのデータを基礎に、安全係数 100 を適用して、カルミンについて 5mg/kg/day の ADI を設定するのが適切と考える。なお、コチニール色素によるアレルギー反応の惹起についての報告があることから、JECFA での評価に準じて、カルミンが含まれる食品

もしくは飲料についてはその情報を表示などの方法で提供する必要があると考える。

## 9. 推定摂取量

- 5 カルミンの欧米における摂取量関連報告はコチニール色素、カルミン酸を含めた合計量で報告されており、カルミン単独での報告は不明である。また、医薬品、化粧品等食品以外の用途への使用量に関するデータを入手することはできなかった。そこで、本報告では、カルミンの使用量は国内における現在のコチニール色素使用量と同程度（カルミン酸当たり）であると仮定し、推定することとする。
- 10 コチニール色素の国内使用量は、既存添加物の生産流通調査方式（食品添加物として1年の間に出荷され、人に摂取された量。査定量）による直近の平成19年度調査報告（平成19年度厚生労働科学研究報告、調査年 平成17年）において、71,363kg（製造量 56,777kg, 輸入量 14,586kg の合計量）と報告されている。
- 15 前述のようにコチニール色素のカルミン酸濃度は6.79%以上と規定されている。従って、コチニール色素のカルミン酸換算人摂取量は、4,845kg であり、カルミンに換算すると 9,690kg に相当し、国民1人一日カルミン摂取量は0.207mg/人/日（人口127.8百万人として（平成17年））である。このカルミン推定摂取量の対ADI（体重50kgとして250mg/人/日）比は0.083%と算定される。

## 20 10. 使用基準案

本品については既存添加物であるコチニール色素と同様の使用基準とすることが適切であると思われる。

### 25 使用基準案：

こんぶ類、食肉、鮮魚介類（鯨肉を含む）、茶、のり類、豆類、野菜及びわかめ類に使用してはならない。

30

本評価資料の取扱いについて

- 35 本評価資料及び引用文献については、全て開示して差し支えない旨申し添える。

## (参考 1)

### カルミン、カルミン関連物質の名称・定義について

カルミン、カルミン関連物質の名称・定義は、薬事食品衛生審議会における審議の中で検討・決定すべき事項ですが、本報告では以下の取り扱いで報告書を作成しました。

まず、カルミンの定義の記述内容は、第2章1) 物理化学的性質、(1) 名称・定義の項にも記したように、JECFA/欧州連合の規格と米国規格 (FDA 規格および FCC 規格) とでは若干の違いがある。例えば、前者の規格では、主成分はカルミン酸のアルミニウムキレート化合物としているが、後者では、カルミン酸のアルミニウム若しくはアルミニウム・カルシウムキレート化合物を主成分とするものと定義している。これら生成物の化学構造を科学的に解明した報告は見出し得ず、報告書で記したカルミンの化学構造は JECFA 規格において、「Possible structural formula」と推定に留まっている。複数のキレート化剤が使用されていることと関連している可能性があるが、違いの正確な理由不明である。そこで、本報告書では国際汎用添加物として両者を含むものとして定義した。次に、JECFA/欧州連合の規格では、カルミン酸のアルミニウムキレート化合物のカルミン酸とアルミニウム比のモル比が、1 : 2 と記されているが、米国規格では、アルミニウムキレート、アルミニウム・カルシウムキレート化合物双方ともモル比は規定されていないことから、モル比の規定は設けないこととした。また、JECFA/欧州連合の規格では、カルミン市販製品がアンモニウム、カルシウム、カリウム等複数の陽イオンの塩として存在するとされているが、この規定は米国の規格にはない。キレート化及びその後の精製工程で使用される物質の違いにより塩として存在する場合も考えられるが、塩の実態を科学的に解明した知見は見出し得なかったことから、定義には含めないこととした。但し、純度試験で「灰分 12.0%以下」としているように、製品中にミネラルが一定量含まれることは想定している。一方、不純物としてたん白質が含まれる点は、両規格とも共通しており、製品のアレルギー誘発性とも関連することから、1) 物理化学的性質、(1) 名称・定義の項に説明を加えた。

カルミンは、米国では Carmine と単数扱いであるが、JECFA/欧州連合の規格では Carmines と複数扱いになっている。カルミン製造のキレート化工程及びその後の精製工程で使用される物質の違いにより、アンモニウム、カルシウム、カリウム等複数の陽イオンの塩として存在し得ることを反映するものと思われる。一方上述のようにこれら塩の詳細は明らかでなく、また、複数扱いは、天然添加物であるコチニール色素及びカルミン酸も含まれるのか、との誤解を生む可能性もある。

これらのことから本報告書では、和名、英名とも単数の扱いで統一することにした。但し、純度試験で「灰分 12.0%以下」としているように、製品中に複数のミネラルが含まれることは想定している。

次に、コチニール抽出物（コチニール色素）は、我が国において天然由来の着色料として、古くより「コチニール抽出色素」の名称で知られ（文献 80）、平成 8 年 4 月に公示された既存添加物名簿でコチニール色素として収載されている。同名簿において、「コチニール色素はエンジムシから得られたカルミン酸を主成分とするものをいう。」と定義され、この定義は、平成 11 年 4 月に公示された第 7 版公定書規格においても継承された。また、コチニール色素の基原・製法・本質は既存添加物名簿において「カイガラムシ科エンジムシ（*Coccus cacti* Linne (*Dactylopius coccus* COSTA)）の乾燥体より、温時～熱時水で、又は温時含水エタノールで抽出して得られたものである。主色素はカルミン酸である。橙色～赤紫色を呈する。」と記されている。一方、Cochineal extract の JECFA 規格（文献 81）ではコチニールの抽出溶剤として、水、エチルアルコールのほかメチルアルコールの使用も含めている点で、日本の公定書規格と異なっている。また、米国 FDA 及び欧州連合の成分規格では抽出溶剤は、含水アルコール若しくはアルコールと記され、エチルアルコールに特定されていない。そこで、本報告書では、Cochineal extract は、原則として、日本の既存添加物を指す場合はコチニール色素、欧米品の場合はコチニール抽出物、と区別して記した。

なお、コチニールの用語は、本来はエンジムシ虫体の用語であるが、欧米では着色料として使用されるコチニール抽出物も簡略的にコチニールと呼ばれることがある（例えば欧州連合の成分規格のタイトル）。

**文献 80**：コチニール抽出色素、日本食品添加物団体連合会制定天然添加物規格、食添連合会ニュース、第 12 号、p25 - 26、昭和 49 年 3 月 9 日

**文献 81**：Cochineal extract, Online Edition “Combined Compendium Food Additive Specifications, Monograph 1 (2006), Additive-137,  
<http://www.fao.org/ag/agn/jecfa-additives/details.html?id=803>

## 引用文献一覧 [カルミン]

No.	著者等	タイトル	出典・研究施設等
1	JECFA	Carmines	IPCS INCHEM <a href="http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecval/jec_344.htm">http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecval/jec_344.htm</a> 【11.03.14現在】
2	Fifty-fifth Report of the JECFA, 2000	Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants (抜粋)	WHO Technical Report Series 901, pp.10-12, 83-99, 2001
3	Eighteenth Report of the JECFA	Evaluation of Certain Food Additives (抜粋)	WHO Technical Report Series 557, pp.17, 33-34, 1974
4	Twenty-first Report of the JECFA	Evaluation of Certain Food Additives (抜粋)	WHO Technical Report Series 617, pp.18-19, 1978
5	Twenty-fifth Report of the JECFA	Evaluation of Certain Food Additives (抜粋)	WHO Technical Report Series 669, pp.19, 41, 43-44, 1981
6	Twenty-sixth Report of the JECFA	Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants (抜粋)	WHO Technical Report Series 683, pp.22, 37-44, 1982
7	JECFA	Toxicological Evaluation of Some Food Colours, Enzymes, Flavour Enhancers, Thickening Agents, and Certain Food Additives [371.Cochineal and Carminic Acid]	WHO Food Additives Series 6 (1974) IPCS INCHEM <a href="http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v06je18.htm">http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v06je18.htm</a> 【11.03.14現在】
8	JECFA	503. Carmines [Formerly Cochineal, Carmine and Carminic acid]	WHO Food Additives Series 16 (1981) IPCS INCHEM <a href="http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v16je09.htm">http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v16je09.htm</a> 【11.03.14現在】
9	JECFA	527. Carmines	WHO Food Additives Series 17 (1982) IPCS INCHEM <a href="http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v17je07.htm">http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v17je07.htm</a> 【11.03.14現在】
10	First Draft Prepared by Greig, J.B. (Food Standards Agency, UK)	WHO Food Additives Series 46 : Cochineal Extract, Carmine, and Carminic Acid	WHO Food Additives Series 46 (2001) IPCS INCHEM <a href="http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v46je03.htm">http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v46je03.htm</a> 【11.03.14現在】
11	JECFA	Carmines	Online Edition: "Combined Compendium of Food Additive Specifications" <a href="http://www.fao.org/ag/agn/jecfa-additives/details.html?id=801">http://www.fao.org/ag/agn/jecfa-additives/details.html?id=801</a> 【11.03.14現在】
12	Food and Drug Administration, HHS	§ 73.100 Cochineal extract ; Carmine	21 CFR Ch. § 73.100 (4-1-04 Edition)
13	Institute of Medicine of the National Academies	Carmine	Food Chemical Codex Fifth Edition, pp.98-99, 2004
14	The European Parliament and the Council of the EU	European Parliament and Council Directive 94/36/EC of 30 June 1994 on Colours for Use in Foodstuffs	Official Journal of the European Communities, No L 237/13-29, 10.9.94
15	Commission Directive 95/45/EC of 26 July 1995	Laying Down Specific Purity Criteria Concerning Colours for Use in Foodstuffs (抜粋)	OJ L 226, 22.9.1995 pp.1-3, 9-10
16	FDA 21CFR Parts 73 and 101	Listing of Color Additives Exempt from Certification; Food, Drug, and Cosmetic Labeling: Cochineal Extract and Carmine Declaration	Federal Register, Vol.71, No.19, pp.4839-4851, Jan. 30, 2006
17	日本医薬品添加剤協会 編	カルミン	医薬品添加物辞典2007, pp.66, 2007年7月25日, 株式会社 薬事日報社
18	Marmion, D.M.	Colorants Exempt from Certification: Carmine; Cochineal Extract	Handbook of U.S. Colorants for Foods, Drugs, and Cosmetics Second Edition, pp.99-100, 136-137, 1984
19	西山浩司	各種着色料の規格・技術 [コチニール色素 / Cochineal color]	別冊フードケミカル 10, pp.131-133, 平成20年3月1日, 食品化学新聞社
20	山川有子	コチニール色素による即時型アレルギー患者における、アレルギー検査の分析およびアレルギー蛋白質の解析	(財)日本食品化学研究振興財団, 第10回研究成果報告書(2004年)
21		コチニール色素 カルミン酸色素	第8版 食品添加物公定書解説書, D598-601, 2007 廣川書店
22	小林孔, 三浦正隆	5.食品中の天然着色料コチニール色素, ラック色素の分析	宮城県保健環境センター年報, 第12号, pp.51-54, 1994
23	Schluter, G.	Embryotoxic Action of Carmine in Mice	Z Anat Entwickl-Gesch, Vol.131, pp.228-235, 1970
24	Schluter, G.	Effects of Lithium Carmine and Lithium Carbonate on the Prenatal Development of Mice	Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol, Vol.270, No.1, pp.56-64, 1971
25	Schluter, G.	Time-Response-Relationship of Embryotoxic Effects of Lithium Carmine in Mice	Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol, Vol.270, No.3, pp.316-318, 1971



## 引用文献一覧 [カルミン]

No.	著者等	タイトル	出典・研究施設等
26	Grant,D., Gaunt,I.F.	Three-Generation Reproduction Study on Carmine of Cochineal in the Rat	Food Chemical Toxicology, Vol25, No.12, pp.903-912, 1987
27	Grant,D., Gaunt,I.F., Carpanini,F.M.B.	Teratogenicity and Embryotoxicity Study of Carmine of Cochineal in the Rat	Food Chemical Toxicology, Vol25, No.12, pp.913-917, 1987
28	川崎靖, 梅村隆志, 佐井君江, 長谷川隆一, 門馬純子, 斉藤実, 松島裕子, 中路幸男, 津田充寿, 黒川雄二	コチニール(Cochineal) およびミョウバン(Aluminum Potassium Sulfate) のラットにおける13週間同時反復投与毒性試験	衛生試験所報告, 第112号, pp.48-56, 1994
29	Acero,S., Tabar,A.I., Alvarez,M.J., Garcia,B.E., Olaguibel,J.M., Moneo,I.	Occupational Asthma and Food Allergy due to Carmine	Allergy, Vol.53, pp.897-901, 1998
30	DiCello,M.C., Myc,A., Baker,J.R.Jr., Baldwin,J.L.	Anaphylaxis After Ingestion of Carmine Colored Food: Two Case Reports and a Review of the Literature	Allergy and Asthma Proc, Vol.20, No.6, pp.377-382, 1999
31	Ferrer,A., Marco,F.M., Andreu,C., Sempere,J.M.	Occupational Asthma to Carmine in a Butcher	Int Arch Allergy Immunol, Vol.138, pp.243-250, 2005
32	Food Standards Australia New Zealand (FSANZ)	Survey of Added Colours in Food Available in Australia -Study of Concentrations in Food Including Dietary Exposure Assessment and Risk Characterisation-	FSANZ Colour Survey (2008) <a href="http://www.foodstandards.gov.au/_srcfiles/Colours%20Survey_Final%20Report%2022%20Oct%2008%20.2_.pdf">http://www.foodstandards.gov.au/_srcfiles/Colours%20Survey_Final%20Report%2022%20Oct%2008%20.2_.pdf</a> 【11.03.14現在】
33	FDA	1987 Pounage and Technical Effects Update of Substances Added to Food	National Technical Information Service(NTIS) PB-91-127266 Dec 89
34	Mori,H., Iwata,H., Tanaka,T., Morishita,Y., Mori,Y., Kojima,T., Okumura,A.	Carcinogenicity Study of Cochineal in B6C3F <sub>1</sub> Mice	Fd Chem Toxic, Vol.29, No.9, pp.585-588, 1991
35	Ford,G.P., Gopal,T., Grant,D., Gaunt,I.F., Evans,J.G., Butler,W.H.	Chronic Toxicity/Carcinogenicity Study of Carmine of Cochineal in the Rat	Fd Chem Toxic, Vol.25, No.12, pp.897-902, 1987
36	野田勉, 清水充, 山田明男, 森田茂, 大垣寿美子, 石橋武二	天然食品添加物のラット経口投与による急性毒性試験 I [クチナシ青色素, パプリカ色素, コチニール色素, シーナット色素, クチナシ黄色素]	生活衛生, 28-2, pp.16-19, 1984
37	Commission of the EC	Report of the Scientific Committee for Food(抜粋)	Report of the SCF Fourteenth Series, pp.47-52, 58, 1983
38	Ministry of Agriculture, Fisheries and Food	Dietary Intake of Food Additives in the UK: Initial Surveillance	Food Surveillance Paper No.35, 1993, HMSO
39	EU Commission	Report from the Commission on Dietary Food Additive Intake in the European Union	<a href="http://ec.europa.eu/food/fs/sfp/addit_flavor/flav15_en.pdf">http://ec.europa.eu/food/fs/sfp/addit_flavor/flav15_en.pdf</a> 【11.03.14現在】
40	FDA (21 CFR § 182.1)	§ 182.1 Substances that are Generally Recognized as Safe	21CFR Ch.1 (4-1-03 Edition)
41	祖父尼俊雄, 林真, 松岡厚子	染色体異常試験データ [Cochineal]	染色体異常試験データ集, 改訂1998年版 pp.11-23, 144, (株)エル・アイ・シー, 1999年1月31日
42	Ishidate,M.Jr., Sofuni,T., Yoshikawa,K., Hayashi,M., Nohmi,T., Sawada,M., Matsuoka,A.	Primary Mutagenicity Screening of Food Additives Currently Used in Japan	Food Chem. Toxicol. Vol. 22, No. 8, pp.623-636, 1984
43	石館基, 滝澤行雄, 坂部美雄, 石崎睦雄, 伊藤和敏, 館正知	I. 食品添加物の変異原性試験成績(その8)	トキシコロジーフォーラム Vol.10, No.6, pp.649-654, 1987
44	Loprieno,G., Boncristiani,G., Loprieno,N.	Genotoxicity Studies IN VITRO and IN VIVO on Carminic Acid (Natural Red 4)	Fd Chem Toxic, Vol.30, No.9, pp.759-764, 1992
45	Kada,T., Tutikawa,K., Sadaie,Y.	IN VITRO and Host-mediated "Rec-Assay" Procedures for Screening Chemical Mutagens; and Phloxine, a Mutagenic Red Dye Detected	Mutation Research, Vol.16, pp.165-174, 1972
46	Barale,R., Loprieno,N.	Evaluation of Potential Mutagenic Activity of Carminic Acid	Chemical Toxicology of Food, pp.349-357, 1978
47	Brown,J.P., Brown,R.J.	Mutagenesis by 9,10-Anthraquinone Derivatives and Related Compounds in Salmonella Typhimurium	Mutation Research, Vol.40, pp.203-224, 1976
48	Haveland-Smith,R.B., Combes,R.D.	Screening of Food Dyes for Genotoxicity Activity	Food and Cosmetics Toxicology, Vol.18, pp.215-221, 1980
49	Mori,H., Yoshimi,N., Iwata,H., Tanaka,T., Kawai,K., Sankawa,U.	Additional Survey on Genotoxicity of Natural Anthraquinones in the Hepatocyte Primary Culture/DNA Repair Assay	The Journal of Toxicological Sciences, Vol.13, pp.161-166, 1988
50	Kornbrust,D., Barfknecht,T.	Testing of 24 Food, Drug, Cosmetic, and Fabric Dyes in the In Vitro and the In Vivo/ In Vitro Rat Hepatocyte Primary Culture/ DNA Repair Assays	Environmental Mutagenesis, Vol.7, pp.101-120, 1985
51	化学大辞典編集委員会編	コチニール, コチニール酸, コチニールレーキ	化学大辞典3, pp.650, 1978, 共立出版
52	Fifty-ninth Report of the JECFA	Evaluation of Certain Food Additives (抜粋)	WHO Technical Report Series 913, pp.35-38, 2002

## 引用文献一覧 [カルミン]

No.	著者等	タイトル	出典・研究施設等
53	Tanaka,T.	Reproductive and Neurobehavioral Effects of Cochineal Administered to Mice in the Diet	Toxicology and Industrial Health, Vol.11, No.1, pp.1-12, 1995
54	FDA 21CFR Parts 73 and 101	Listing of Color Additives Exempt from Certification; Food, Drug, and Cosmetic Labeling: Cochineal Extract and Carmine Declaration	Federal Register, Vol.74, No.2, pp.207-217, Jan. 5, 2009
55	吉積智司	2.6 天然着色料の安全性	天然食品添加物の実際知識, pp.58-66, 昭和54年11月22日, 東洋経済新報社
56	藤田博, 水尾昭江, 平賀興吾	色素の微生物系における変異原性について	東京衛研年報第27-2, pp.153-158, 1976
57	食品添加物表示研究会編	食品衛生法に基づく添加物の表示等について (別添一 既存添加物名簿収載品目リスト)	最新・食品添加物表示関係法令通知集, pp.47-50, 105, 2000年12月30日, (株)社会保険出版社
58	Schmidt-Jacobsen,J.F., Frandsen,R.S.	Method for the Preparation of a Carminic Acid Lake	US Patent Application Publication Pub. No.: US 2010/0061949 A1 Pub.Date.: Mar.11, 2010
59	FDA	Sec. 73.1 Diluents in Color Additive Mixture for Food Use Exempt from Certification	CFR Title 21, Vol.1, Part 73, Subpart A, April 1, 2010
60	山本浩一, 大和谷厚	ラット・マウスを用いた悪心・嘔吐の研究法	日薬理誌, Vol.132, pp.83-88, 2008
61	Dimson,S.B.	Carmine as an Index of Transit Time in Children with Simple Constipation	Archives of Disease in Childhood, Vol.45, pp.232-235, 1970
62	Yamakawa,Y.	Cochineal Extract-Induced Immediate Allergy	Journal of Dermatology, Vol.36, pp.72-74, 2009
63	Burge,P.S., O' Brien,I.M., Harris,M.G., Pepys,J.	Occupational Asthema Due to Inhaled Carmine	Clinical Allergy, Vol.9, pp.185-189, 1979
64	Dietemann-Molard,A., Braun,J.J., Sohler,B., Pauli,G.	Extrinsic allergic alveolitis secondary to carmine	Lancet Vol.338, pp.460, 1991
65	Quirce,S., Cuevas,M., Olaguibel,J.M., Tabar,A.I.	Clinical and Immunologic Studies of Carmine-Exposed Workers	J Allergy Clin Immunol Vol.91, pp.219, 1993
66	Quirce,S., Cuevas,M., Olaguibel,J.M., Tabar,A.I.	Occupational Asthma and Immunologic Responses Induced by Inhaled Carmine Among Employees at a Factory Making Natural Dyes	J Allergy Clin Immunol, Vol.93, pp.44-52, 1994
67	Durham,S.R., Graneek,B.J., Hawkins,R., Newman-Taylor,A.J.	The Temporal Relationship Between Increases in Airway Responsiveness to Histamine and Late Asthmatic Responses Induced by Occupational Agents	J Allergy Clin Immunol, Vol.79 pp.398-406, 1987
68	Graneek,B.J., Durham,S.R., Newman-Taylor,A.J.	Late Asthmatic Reactions and Changes in Histamine Responsiveness Provoked by Occupational Agents	Bull Eur Physiopathol Respir, Vol.23(6), pp.577-581, 1987
69	Kagi,M.K., Wuthrich,B., Johansson,S.G.O.	Campari-Orange Anaphylaxis Due to Carmine Allergy	Lancet, Vol.344, pp.60-61, 1994
70	Kagi,M.K., Wuthrich,B.	Anaphylaxis Following Ingestion of Carmine	Ann Allergy Asthma Immunol, Vol.76, pp.296, 1996
71	Wuthrich,B., Kagi,M.K., Stucker,W.	Anaphylactic Reactions to Ingested Carmine (E120)	Allergy, Vol.52, pp.1133-1137, 1997
72	Baldwin,J.L., Chou,A.H., Solomon,W.R.	Popsicle-Induced Anaphylaxis Due to Carmine Dye Allergy	Ann Allergy Asthma Immunol, Vol.79, pp.415-419, 1997
73	竹尾直子, 仙波京子, 片桐一元, 藤原作平, 廣重滋夫, 大西邦義, 鈴木幸雄	コチニール色素によるアナフィラキシーの1例	日本皮膚科学会雑誌, Vol.118(6), pp.1085-1093, 2008
74	寿順久, 小豆澤宏明, 西田陽子, 室田浩之, 片山一朗, 吉川邦彦	食品中のコチニール色素による蕁麻疹の1例	アレルギー, Vol.56(12), pp.1510-1514, 2007
75	Shaw,D.W.	Allergic Contact Dermatitis from Carmine	Dermatitis, Vol.20(5), pp.292-295, 2009
76	Chung,K., Baker,J.R.Jr., Baldwin,J.L., Chou,A.	Identification of Carmine Allergens Among Three Carmine Allergy Patients	Allergy, Vol.56, pp.73-77, 2001
77	Liippo,J., Lammintausta, K.	Allergy to Carmine Red (E120) Is Not Dependent on Concurrent Mite Allergy	Int Arch Allergy Immunol, Vol.150, pp.179-183, 2009
78	Ohgiya,Y., Arakawa,F., Akiyama,H., Yoshioka,Y., Hayashi,Y., Sakai,S., Ito,S., Yamakawa,Y., Ohgiya,S., Ikezawa,Z., Teshima,R.	Molecular cloning, expression, and characterization of a major 38-kd cochineal allergen	The Journal of Allergy and Clinical Immunology, Vol.123(5), pp.1157-1162, 2009
79	梶山浩	コチニール色素中の夾雑主要アレルゲンタンパク質の解析に関する研究	日本食品化学研究振興財団第16回研究成果報告書(2010), 2011年1月20日
80	日本食品添加物団体連合会	日本食品添加物団体連合会制定天然添加物規格(コチニール抽出色素)	食添連合会ニュース 第12号 pp.25 - 26 昭和49年3月9日

## 引用文献一覧 [カルミン]

No.	著者等	タイトル	出典・研究施設等
81	JECFA	Cochineal extract	Online Edition "Combined Compendium Food Additive Specifications, Monograph 1 (2006), Additive-137 <a href="http://www.fao.org/ag/agn/jecfa-additives/details.html?id=803">http://www.fao.org/ag/agn/jecfa-additives/details.html?id=803</a> 【110330現在】
82	Yamaguchi T	Adsorption of carcinogenic and/or mutagenic pigments on DNA-binding sepharose.	Agric Biol Chem 1988; 52(3): 845-7
83	Carmine RN: 1390-65-4		
84	Carminic acid RN: 1260-17-9		
85	川崎洋子, 杉本直樹, 佐藤恭子, 山崎壮, 石綿肇, 米谷民雄	輸入アップルシロップ製品中の耐酸性コチニールの同定	食衛誌 2002; 43(4): 191-5