

2,3-ジエチル-5-メチルピラジンの概要

1. はじめに

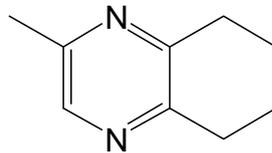
2,3-ジエチル-5-メチルピラジンは、ライ麦パン、ポップコーン等の食品中に存在し、また、コーヒー及び落花生の焙煎並びに豚肉、子めん羊肉等の加熱調理により生成する成分である¹⁾。欧米では、焼菓子、朝食シリアル類、ソフト・キャンデー類、肉製品、冷凍乳製品類、ゼラチン・プリン類などの様々な加工食品において香りを再現し、風味を向上させるために添加されている²⁾。

2. 名称等

名称：2,3-ジエチル-5-メチルピラジン

英名：2,3-Diethyl-5-methylpyrazine

構造式：



化学式：C₉H₁₄N₂

分子量ⁱ：150.22

CAS 番号：18138-04-0

3. 安全性に係る知見の概要

厚生労働省が行った安全性試験の結果ⁱⁱ、National Library of Medicine (NLM: PubMed, TOXLINE)、米国香料工業会のデータベース (RIFM-FEMA database)、製品評価技術基盤機構 (NITE) データベースの検索結果、JECFA モノグラフの内容等に基づき、遺伝毒性試験、反復投与毒性試験等の成績をとりまとめた。なお、動物を用いた試験成績については経口投与のものに限定した。

(1) 反復投与毒性

5 週齢の SD 系ラット（各群雌雄各 10 匹）への強制経口投与による 90 日間

ⁱ分子量の値は引用文献 2) の値とは異なるが、本概要書では食品添加物公定書(第 8 版)付録の原子量表(2005)に基づき算出している。

ⁱⁱ反復投与毒性試験 (引用文献 3))、および 3 種類の遺伝毒性試験 (引用文献 6)、8)、9)) が厚生労働省の委託により行われている。各試験に使用された被験物質については、試験機関において保存されていた被験物質の一部を譲り受けて分析を行い、(独)産業技術総合研究所により公開されているスペクトルと比較したところ両者のパターンが一致したこと等から、2,3-ジエチル-5-メチルピラジンであることが国立医薬品食品衛生研究所の専門家により確認されている^{4) 5) 7) 10)}。なお引用文献 6)、8) で使用された被験物質については純度が 97.8%となっている⁷⁾。JECFA の規格では本物質の純度を 98%以上と規定しているが、有効数字から考えると上記被験物質も JECFA の規格を満たしていると考えられる。

の反復投与毒性試験（0、0.02、0.2、2mg/kg 体重/日ⁱⁱⁱ）では、一般状態、体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、眼科学的検査、器官重量及び病理組織学的検査において、被験物質投与に関連した異常所見は認められなかった^{3) 4) 5)}。

この結果から、本試験条件下における無毒性量（NOAEL）は、2mg/kg 体重/日^{iv}と考えられる。

(2) 発がん性

発がん性試験は行われておらず、国際機関（International Agency for Research on Cancer (IARC)、European Chemicals Bureau (ECB)、U.S. Environmental Protection Agency (EPA)、National Toxicology Program (NTP)）でも、発がん性の評価はされていない。

(3) 遺伝毒性

細菌（サルモネラ菌 TA98、TA100、TA1535、TA1537 及び大腸菌 WP2uvrA）を用いた復帰突然変異試験（最高用量 5,000µg/plate）では、代謝活性化系の有無にかかわらず陰性であった^{5) 6) 7)}。

チャイニーズ・ハムスター培養細胞（CHL/IU 細胞）を用いた染色体異常試験（最高用量は、短時間処理の代謝活性化系非存在下は 948µg/mL、代謝活性化系存在下は 1,170µg/mL）では、代謝活性化系の存在、非存在にかかわらず、用量依存性を伴う染色体構造異常の誘発が認められたが、その遺伝毒性は弱いものであった（代謝活性化系非存在下 D₂₀ 値 1.57mg/mL、TR 値 9.49）^{5) 7) 8)}。

9週齢のICR系マウス（各群雄5匹）を用いた*in vivo*骨髄小核試験（最高用量 1,000mg/kg体重/日×2、強制経口投与）の結果は陰性であった^{5) 9) 10)}。

以上の結果から、チャイニーズ・ハムスター培養細胞を用いた染色体異常試験で弱い構造異常誘発が認められているが、他の試験では遺伝毒性が認められておらず、本物質は香料として用いられるような低用量域では、生体にとって特段問題となるような遺伝毒性はないものと考えられる。

表 遺伝毒性試験概要

試験	対象	処理濃度・投与量	結果	参照
----	----	----------	----	----

ⁱⁱⁱ 投与量は、欧米における使用量調査を基に算定した日本人の推定摂取量に対して、安全マージンを確保するため、1,000、10,000、100,000 倍に相当する 3 用量群で実施したとされている。具体的には、後述の PCTT 法により算出した推定摂取量が最大となる米国の 1995 年の年間使用量 5.4kg より算出した推定摂取量を 1.0 µg/人/日とし、これを日本人の平均体重 50kg で除して安全マージンを乗じた。米国の 1995 年の年間使用量を元に計算すると、一人一日あたりの推定摂取量は正確には後述のとおり 0.71 µg となる。設定当時の詳細は不明であるが、JECFA の報告書にも米国の値は 1.0 µg/人/日との記載があるため、これをそのまま採用したのものと考えられる。

^{iv} いずれの用量においても毒性影響が認められなかったことから、ここでは試験を実施した最高用量を NOAEL とした。

<i>in vitro</i>	復帰突然変異試験(プレインキュベーション法) [2006年、GLP]	<i>Salmonella typhimurium</i> (TA98、TA100、TA1535、TA1537) <i>Escherichia coli</i> (WP2uvrA)	[+/-S9*1] 0、156、313、625、1250、2500、5000*2µg/plate	陰性	6
	染色体異常試験 [2006年、GLP]	チャイニーズ・ハムスター肺線維芽細胞 (CHL/IU 細胞)	[短時間(6時間)処理、-S9*1] 0、622、768、853、948µg/mL	陽性*3	8
			[短時間(6時間)処理、+S9*1] 0、622、768、948、1170µg/mL	疑陽性*4	
			[短時間(6時間)処理、+S9*1、確認試験] 0、768、948、1053、1170µg/mL	陽性*5	
<i>in vivo</i>	小核試験 [2007年、GLP]	9週齢のICR系マウス (各群雄5匹)	0、250、500、1000mg/kg 体重/日、2日間、オリーブ油溶液、強制経口投与	陰性	9

注) 下線：陽性が認められた用量。

*1：+S9；代謝活性化系存在下、-S9；代謝活性化系非存在下、+/-S9；代謝活性化系存在及び非存在下

*2：いずれの群も、5000µg/plateの用量で被験物質の析出ならびに生育阻害が認められた。

*3：用量依存性を伴う染色体構造異常の誘発(出現率は順に1.0、2.5、10.0、10.5%、10%以上を陽性。)が認められたが、倍数性細胞の増加は認められなかった。

*4：1170µg/mLの用量で8.5%の染色体構造異常の誘発(5%以上を疑陽性。)が認められた。

*5：用量依存性を伴う染色体構造異常の誘発(確認試験において出現率は順に0.0、1.0、6.0、11.5%、5%以上を疑陽性、更に10%以上を陽性)が認められたが、倍数性細胞の増加は認められなかった。

(4) その他

内分泌かく乱性及び生殖発生毒性に関する試験は行われていない。

4. 摂取量の推定

本物質の香料としての年間使用量の全量を人口の10%が消費していると仮定するJECFAのPCTT(Per Capita intake Times Ten)法^vによる1995年の米

^v [年間使用量(kg)]/[人口(億人)]/[365(日)]/[報告率]/[人口の1割で消費]×10で求められる。計算結果は引用文献12)に記載の値とは異なっているが、「数値の丸め方により多少変動がある」との注釈があることから、JECFAでは評価当時は安全性を見越して有効数字1桁に切り上げた数値を採用したものと考えられる。本概要書では公的な数値としてJECFA評価に用いられた値を採用する。

国及び欧州における一人一日あたりの推定摂取量は、それぞれ 1 μ g、0.2 μ g となる。正確には認可後の追跡調査による確認が必要と考えられるが、既に許可されている香料物質の我が国と欧米の推定摂取量が同程度との情報¹¹⁾があることから、我が国での本物質の推定摂取量は、おおよそ 0.2~1 μ g/人/日の範囲になると推定される。

なお、本物質は、ライ麦パン、ポップコーン等の食品中に存在し、また、コーヒー及び落花生の焙煎並びに豚肉、子めん羊肉等の加熱調理により生成する成分である¹⁾が、香料としての摂取量と、もともとの食品からの摂取量との比に関する情報は得られていない。

5. 安全マージンの算出

90 日間反復投与毒性試験成績の NOAEL 2mg/kg 体重/日と、想定される推定摂取量 (0.2~1 μ g/人/日) を日本人平均体重 (50kg) で割ることで算出される推定摂取量 (0.000004~0.00002mg/kg 体重/日) と比較し、安全マージン 100,000~500,000 が得られる。

6. 構造クラスに基づく評価

本物質は構造クラス II に分類される^{12) 13)}。ピラジン誘導体に分類される食品成分である本物質は、未変化体のまま排泄されるか、側鎖の酸化に引き続くグルクロン酸抱合により排泄されるか、又は、環の水酸化とそれに引き続く抱合により排泄される¹³⁾と考えられる。

7. JECFA における評価

本物質は、2001 年第 57 回 JECFA 会議で、ピラジン誘導体の一つとして評価され、想定される推定摂取量 (0.2~1 μ g/人/日) が、クラス II の摂取許容値 (540 μ g/人/日) を下回るなど、香料としての使用において安全性の懸念はないとしている¹²⁾。

8. 「国際的に汎用されている香料の我が国における安全性評価法」¹⁴⁾に基づく評価

	米国 (1995年)	欧州 (1995年)
年間使用量(kg)	5	0.9
人口(億人)	2.6	3.2
報告率	0.8	0.6
推定摂取量 (μ g/人/日)	(計算値) 0.658...	(計算値) 0.128...

注) 年間使用量に差があるが、その原因として、香料物質の場合、世界的に製造業者数も少なく、数年に 1 回在庫がなくなるたびに製造するようなものが多く、また、加工食品の流行に依存するため、地域や年による変動があるものと考えられる。なお年間使用量の値についても引用文献²⁾と¹²⁾では齟齬があるが、JECFA に対しては有効数字一桁で報告する必要があるため四捨五入した値で報告されたと考えられる。

本物質は香料としての使用において生体にとって特段問題となる毒性はないと考えられる。また、クラスⅡに分類され、安全マージン（100,000～500,000）は90日間反復投与毒性試験の適切な安全マージンとされる1,000を上回り、かつ想定される推定摂取量（0.2～1μg/人/日）が構造クラスⅡの摂取許容値（540μg/人/日）を下回る。

引用文献

- 1) VCF Volatile Compounds in Food : database / Nijssen, L.M.; Ingen-Visscher, C.A. van; Donders, J.J.H. [eds]. - Version 12.2 - The Netherlands : TNO Quality of Life (website accessed in July 2010)(未公表)
- 2) RIFM (Research Institute for Fragrance Materials, Inc.)-FEMA (Flavor and Extract Manufacturers' Association) database, Material Information on 2,3-Diethyl-5-methylpyrazine (website accessed in July 2010) (未公表)
- 3) 2,3-ジエチル-5-メチルピラジンのラットにおける 90 日間反復投与毒性試験（2005）(財)食品農医薬品安全性評価センター（厚生労働省委託試験）
- 4) SIGMA-ALDRICH Certificate of Analysis (Product Name 2,3-Diethyl-5-methylpyrazine, Product Number W33,360-3, LOT 13011CB)
- 5) 2,3-ジエチル-5-メチルピラジンの確認結果
- 6) 2,3-ジエチル-5-メチルピラジンの細菌を用いる復帰突然試験（2006）(株)化合物安全性研究所（厚生労働省委託試験）
- 7) SIGMA-ALDRICH Certificate of Analysis (PRODUCT NUMBER W333603-SPEC, LOT NUMBER 14128JB, PRODUCT NAME 2,3-DIETHYL-5-METHYLPYRAZINE, 97+%)
- 8) 2,3-ジエチル-5-メチルピラジンのほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験（2006）(財)食品農医薬品安全性評価センター（厚生労働省委託試験）
- 9) 2,3-ジエチル-5-メチルピラジンのマウスを用いる小核試験に関する試験（2007）(財)食品薬品安全センター 秦野研究所（厚生労働省委託試験）
- 10) SIGMA-ALDRICH Certificate of Analysis (PRODUCT NUMBER W333603-SPEC, LOT NUMBER 11810PC, PRODUCT NAME 2,3-DIETHYL-5-METHYLPYRAZINE, 97+%)
- 11) 平成 14 年度厚生労働科学研究報告書「日本における食品香料化合物の使用量実態調査」日本香料工業会
- 12) WHO Food Additives Series 48.Safety Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants, Pyrazine Derivatives (Report of 57th

JECFA meeting)

参考 ; <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v48je12.htm>

- 13) 2,3-ジエチル-5-メチルピラジンの構造クラス (要請者作成資料)
- 14) 香料安全性評価法検討会. 国際的に汎用されている香料の安全性評価の方法について (最終報告・再訂正版) . 平成15年11月4日

No.	項目	内容
(1)	名称	2,3-ジエチル-5-メチルピラジン
	一般的名称	2,3-Diethyl-5-methylpyrazine
	化学名	2,3-Diethyl-5-methylpyrazine
	CAS番号	18138-04-0
(2)	JECFA等の国際的評価機関の結果	FEXPANにより評価され1973年のGRAS 6 に公表された ¹⁾ 。本成分は、2001年第57回JECFA会議で、ピラジン誘導体の一つとして評価され、想定される推定摂取量が、クラスⅡの摂取許容値を下回るなど、香料としての使用において安全性の懸念はないと評価された ²⁾ 。
	JECFA番号	777
(3)	外国の認可状況・使用状況	欧米をはじめ各国で認可され広く使用されている。
	FEMA GRAS番号	3336
	CoE番号	11303
	CFR21掲載	なし
	EUレジスター	FL No. 14.056
	使用量データ	5kg(米国、1995年)、0.9kg(EU、1995年) ²⁾
(4)	我が国での添加物としての必要性	本成分は食品に幅広く存在する成分であり、種々な加工食品において香りを再現し、風味を向上する際に必要不可欠な物質である。本成分は現在日本では未認可であるが、その添加量は微量ながら効果は非常に大きく、様々な加工食品に対してすでに国際的には着香の目的で広く使用されている。したがって国際的整合性の面からみても、これらの物質を日本で使用できるようにすることが不可欠と考えられる。
	天然での存在	ライ麦パン、ポップコーン等の食品中に存在し、また、コーヒー及び落花生の焙煎並びに豚肉、子めん羊肉等の加熱調理により生成する成分である ³⁾ 。
	米国での食品への使用例(平均添加率)	焼菓子 1ppm、朝食シリアル類 1ppm、ソフト・キャンデー類 0.5ppm、肉製品 0.2ppm、冷凍乳製品類 0.2ppm、ゼラチン・プリン類 0.20ppm ⁴⁾
(5)	参考資料	1) Food Technology. (1973) Vol.27, No.1, pp.64-67. 2) WHO Food Additives Series 48.Safety Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants, Pyrazine Derivatives (Report of 57th JECFA meeting) http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v48je12.htm 3) VCF Volatile Compounds in Food : database / Nijssen, L.M.; Ingen-Visscher, C.A. van; Donders, J.J.H. [eds]. - Version 12.2 - The Netherlands : TNO Quality of Life (website accessed in July 2010)(未公表) 4) RIFM (Research Institute for Fragrance Materials, Inc.)-FEMA (Flavor and Extract Manufacturers' Association) database, Material Information on 2,3-Diethyl-5-methylpyrazine (website accessed in July 2010)(未公表)