

trans-2-メチル-2-ブテナールの概要

1. はじめに

trans-2-メチル-2-ブテナールは、ラズベリー等のきいちご類、パッションフルーツ、マウンテン・パパイヤ、たまねぎ、マルメロ等の食品中に存在し、牛肉等の加熱調理により生成する成分である¹⁾。欧米では、2-メチル-2-ブテナールが焼菓子、清涼飲料、冷凍乳製品類、ゼラチン・プリン類、ソフト・キャンデー類、チューインガム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⁾。

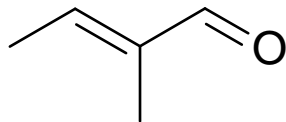
2. 名称等

名称：*trans*-2-メチル-2-ブテナール

英名：*trans*-2-Methyl-2-butenal

英文別名：(2*E*)-Methylbut-2-enal、Tiglaldehyde

構造式：



化学式： C_5H_8O

分子量ⁱⁱ：84.12

CAS番号：497-03-0

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ⁱⁱⁱ、National Library of Medicine (NLM: PubMed, TOXLINE)、米国香料工業会のデータベース (RIFM-FEMA

i JECFA では、CAS 番号 1115-11-3 を持つ平面体の 2-メチル-2-ブテナールが安全性評価を受けている。(EU では *trans*-体の 497-03-0 がレジスターに登録されている。なお引用文献 2) では CAS 番号として 497-03-0 が用いられているが、米国香料工業会に確認したところ、実際に FEMA の委託で専門家が評価を行ったのは JECFA と同じ平面体であり、今後データベース上の CAS 番号の訂正を行うとの事であった。) 現在、国際汎用香料の食品健康影響評価については、評価を受ける物質について一定の試験データを必須としている¹³⁾が、当時この品目の試験にあたり被験物質とするために探した範囲では *trans*-体の流通しか確認できなかったことため、必要な試験は *trans*-体で行い、評価依頼も *trans*-体について行うこととしたものである。

ii 分子量の値について本概要書では、食品添加物公定書(第 8 版)に基づき算出している。

iii 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)、7)、8)) が厚生労働省の委託により行われている。なお、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、*trans*-2-メチル-2-ブテナール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⁾。なお本被験物質は、添加物として指定する際に予定されている規格に合致しているものである。

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) 遺伝毒性

細菌 (サルモネラ菌TA98、TA100、TA1535、TA1537及び大腸菌WP2*uvrA*) を用いた復帰突然変異試験では、TA100株において、代謝活性化系の有無にかかわらず陽性の結果が報告されている^{4) 5) 6) 14)}。

マウスのリンパ腫由来の細胞株を用いたリンフォーマTK試験では、代謝活性化系非存在下では陰性の結果が得られている。また代謝活性化系存在下では陽性との結果が得られているが、新たにもっと国際的に調和した指標を用いて再度評価を行った結果では「陽性とは結論付けられない」と記載されている¹⁴⁾。

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841 µg/mL) では代謝活性化系の有無にかかわらず構造異常が観察され陽性と判定されたが、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0.170 mg/mL、TR値81.9 [構造異常]) ^{iv 4) 5) 7)}。

雄の9週齢のBDF₁系マウス (各群雄、投与数6匹、評価数5匹) への強制経口投与による*in vivo*骨髄小核試験 (最高用量1,000 mg/kg体重/日×2) では陰性であった^{4) 5) 8)}。

以上の結果から、本物質は細菌を用いた復帰突然変異試験、及びほ乳類の培養細胞を用いた染色体異常試験の結果は陽性であったが、十分高用量まで試験されたマウス*in vivo*の小核試験では陰性であることを考慮して総合的に判断すると、本物質は少なくとも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
<i>in vitro</i>	復帰突然変異 (プレインキュベーション) 試験 [2006年、GLP]	<i>Salmonella typhimurium</i> (TA100)	[-S9* ¹]0、156、313、625、1250、2500、5000* ² µg/plate	陽性* ³	6
			[+S9* ¹] 0、156、313、625、1250、2500、5000* ² µg/plate		
		<i>S. typhimurium</i> (TA1535)	[+/-S9* ¹]0、156、313、625、1250、2500、5000 µg/plate	陰性* ⁴	

iv 参考までに、陽性対象のMMCのD₂₀値は0.000032mg/mL、TR値は1000000であり、CPのD₂₀値は0.0093mg/mL、TR値は4200である。出展：祖父尼俊雄 (監修) 染色体異常試験データ集 改定1998年版、(株)エル・アイ・シー

		<i>S. typhimurium</i> (TA98)	[+/-S9*1] 0、156、313、625、1250、2500、5000 µg/plate	陰性	
		<i>S. typhimurium</i> (TA1537)	[-S9*1] 0、156、313、625、1250、2500*2、5000*2 µg/plate	陰性	
			[+S9*1] 0、156、313、625、1250、2500、5000*2 µg/plate	陰性	
		<i>Escherichia coli</i> (WP2uvrA)	[-S9*1] 0、156、313、625、1250、2500、5000 µg/plate	陰性*5	
			(確認試験)[-S9*1] 0、156、313、625、1250、2500、5000 µg/plate		
			[+S9*1] 0、156、313、625、1250、2500、5000 µg/plate	陰性	
復帰突然変異試験 [2006年]		<i>S. typhimurium</i> (TA100)	[-S9*1] 0、333、1000、3333、6667、10000 µg/plate	陽性	14
			[+S9*1]*6 0、333、1000、3333、6667、10000 µg/plate	陽性	
			[+S9*1]*7 0、333、1000、3333、6667、10000 µg/plate	陰性	
		<i>S. typhimurium</i> (TA98)	[+/-S9*1] 0、333、1000、3333、6667、10000 µg/plate	陰性	
マウスリンフォーマTK試験 [2006年]	マウスリンパ腫由来の細胞株 (<i>L5178Y tk^{-/-}</i>)	[-S9*1] 0、10、25、50、75、150、250 µg/mL	陽性*8	14	
		[+S9*1] 0、10、25、50、75 µg/mL	陰性		
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、105、210、421 µg/mL*9	陽性*10	7	
		[短時間(6時間)処理、+S9*1] 0、105、210、421、841 µg/mL	陽性*10		
<i>in vivo</i>	小核試験 [2007年、GLP]	9週齢のBDF ₁ 系マウス (各群雄、投与数6匹、評価数5匹)	0、250、500、1000mg/kg 体重/日、2日間、コーン油溶液、強制経口投与	陰性	8

*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 : 生育阻害の認められた用量

*3 : 本試験では統計学的処理は行われておらず、変異コロニー数の平均値が陰性対照値

の2倍以上に増加し、かつその増加に用量依存性あるいは再現性が見られる場合に陽性と判定されている。

- *4：用量設定試験においては代謝活性化系非存在下での変異コロニー数の平均値が陰性対照値の2.00倍を示したが、本試験では1.85倍であり、また明確な用量依存性は認められなかった。
- *5：5000 µg/mL群に変異コロニー数の平均値の陰性対照値の2倍超の増加がみられたが、用量設定試験と確認試験では確認されておらず再現性がないため陰性と判断された。
- *6：ハムスター由来S9mix使用
- *7：ラット由来S9mix使用
- *8：Reevaluation of results: "Inconclusive"
- *9：841 µg/mL群でも相対増殖率は50 %を下回らなかったが、分裂像数が大きく減少しており、観察可能な分裂像はごく僅かであったため評価対象としなかった。
- *10：異常細胞の出現率が10 %以上で、かつ用量依存的に染色体構造異常の増加が認められた場合に陽性と判定されている。

(2) 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日間反復投与毒性試験（0、0.0124、0.124、1.24 mg/kg体重/日^v）では、いずれの投与群でも、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、剖検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毒性影響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、1.24 mg/kg 体重/日^{vi}と考えられる。

(3) 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。

(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。

^v 投与量は、欧米における使用量調査を基に、安全マージンを確保するため、算定した推定摂取量に対して1,000、10,000、100,000倍に相当する3用量群で実施した。具体的には、年間使用量が最大となる1995年の欧州の値5 kgを基に、後述のPCTT法により算出されたが、試験当時はより正確な値の算出のために1995年当時のEUの対象人口としてEUの人口統計から求めた3.7億人が用いられ、推定摂取量は0.62 µg/人/日とされた。

^{vi} 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。

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) 法による1995年の米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0.2 µg、0.7 µg²⁾となるが、1982年に米国で6 kgとの報告もあるため²⁾これを元に算出すると、1.2 µgとなる^{vii}。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¹⁰⁾があることから、我が国での本物質の推定摂取量は、過去の最大報告値から見積もっても1.2 µg/人/日程度であると推定される。

なお、米国における食品中にもともと存在する成分としての本物質の年間摂取量は、3870.9 kg/総人口¹¹⁾と算出されており、香料としての意図的添加に基づく年間摂取量との比は、過去の最大報告値²⁾と比較した場合、約645倍となる^{viii}。

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 1.24 mg/kg体重/日と、想定される推定摂取量(0.2~0.7 µg/人/日)を日本人平均体重(50 kg)で割ることで算出される推定摂取量(0.000004~0.000014 mg/kg体重/日)と比較し、安全マージン89,000~310,000が得られる。過去の最大報告値である1982年の使用量を元に考察した場合、安全マージンは51,000倍程度となる。

vii [年間使用量(kg)]/[人口(億人)]/[365(日)]/[報告率]/[人口の1割で消費]×10で求めた。

	米国		欧州
	1982年	1995年	
年間使用量(kg) ²⁾	6	1.3	5
人口(億人)	2.3	2.6	3.2
報告率	0.6	0.8	0.6
推定摂取量(µg/人/日)	(計算値) 1.191...	(計算値) 0.171...	(計算値) 0.713...

注) 米国での1982年の報告率としては0.6を適用したが、これは、0.8という値が1995年の米国の使用量調査の結果を踏まえて設定されたもので、それ以前の調査結果を用いた評価においては欧米ともに一律0.6が適用されていることに基づいている。欧米で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。なお米国の年間使用量の値について引用文献2)と9)では齟齬があるが、米国香料工業会によれば、同じ数値がJECFA提出時には有効数字二桁で四捨五入された一方で、データベース登録時には値が切り捨てられたものと考えられるとのことであった(おおもとのデータはポンドで報告されており¹⁵⁾、値は3ポンド(1.36kg)である)。本概要では、引用文献2)の値を用いている。

viii JECFAモノグラフ⁹⁾では、年間摂取量として1995年の1.4(kg/総人口)を採用しており、この値を2765と算出している。引用文献11)は1982年の使用量を元に算出しているが、使用量の値は5.9kg/総人口と報告されているため、この値は656と算出されている。(使用量のおおもとのデータはポンドで報告されており¹⁶⁾、値は13ポンド(5.9kg)である。)

6. 構造クラスに基づく評価

本物質は構造クラス I に分類される⁹⁾¹²⁾。脂肪族分岐飽和・不飽和アルコール、アルデヒド、脂肪酸及び関連エステルに分類される食品成分である本物質は、本グループに属する他の短鎖化合物と同様に、生体内でβ酸化を受け、TCA回路を経由して最終的に二酸化炭素に分解されると考えられている⁹⁾。

7. JECFAにおける評価

2003年第61回JECFA会議で、2-メチル-2-ブテナールが脂肪族分岐飽和・不飽和アルコール、アルデヒド、脂肪酸及び関連エステルの一つとして評価され、推定摂取量(0.2~0.7 µg/人/日)が、構造クラス I の摂取許容値(1,800 µg/人/日)を下回る事などから、香料としての使用において安全性の懸念はないとされた⁹⁾。

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」¹³⁾に基づく評価

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、構造クラス I に分類され、摂取量を最大に見積もった場合の安全マージン(51,000)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、かつ想定される最大推定摂取量(1.2 µg/人/日)が構造クラス I の摂取許容値(1,800 µg/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 Jan. 2011)(未公表)
- 2) RIFM (Research Institute for Fragrance Materials, Inc.)-FEMA (Flavor and Extract Manufacturers' Association) database, Material Information on 2-Methyl-2-butenal (website accessed in Jan. 2011)(未公表)
- 3) 2-メチル-2-ブテナールのラットにおける90日間反復経口投与毒性試験(2006)(財)化学物質評価研究機構化学物質安全センター(厚生労働省委託試験)
- 4) SIGMA-ALDRICH Certificate of Analysis (PRODUCT NUMBER W340707-SPEC, LOT NUMBER 02102HD, PRODUCT NAME TRANS-2-METHYL-2-BUTENAL, 96+%)
- 5) *trans*-2-メチル-2-ブテナールの確認結果
- 6) 2-メチル-2-ブテナールの細菌を用いる復帰突然変異試験(2006)(財)食品農薬安全性評価センター(厚生労働省委託試験)

- 7) 2-メチル-2-ブテナール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)
- 8) 2-メチル-2-ブテナールのマウスを用いる小核試験(2007)(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) 第61回JECFA WHO Food Additives Series 52, Aliphatic branched-
chain saturated and unsaturated alcohols, aldehydes, acids, and related
esters (2004)
参考 : <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v52je15.htm>
- 10) 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
- 11) Stofberg J. and Grundschober F. (1987) Consumption ratio and food
predominance of flavoring materials. *Perfumer & Flavorist*, **12**(4),
27-56.
- 12) *trans*-2-メチル-2-ブテナールの構造クラス (要請者作成資料)
- 13) 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
- 14) Seifried HE, Seifried RM, Clarke JJ, Junghans TB, San RH. (2006)
A compilation of two decades of mutagenicity test results with the Ames
Salmonella typhimurium and L5178Y mouse lymphoma cell mutation
assays. *Chem. Res. Toxicol.*, **19** (5), 627-44.
- 15) Lucas CD, Putnam JM, and Hallagan JB. FLAVOR AND EXTRACT
MANUFACTURERS' ASSOCIATION OF THE UNITED STATES 1995
POUNDAGE AND TECHNICAL EFFECTS UPDATE SURVEY.
FEMA ; 1999, pp.3-9, 12-14, and 312.
- 16) Committee on Food Additives Survey Data, Food and Nutrition Board,
Institute of Medicine, National Academy of Sciences(ed.) *1987 Poundage
and Technical Effects Update of Substances Added to Food*, Washington,
D.C., 1989; pp.5-9 and 364.

No.	項目	内容
(1)	名称	<i>trans</i> -2-メチル-2-ブテナール
	一般的名称	<i>trans</i> -2-Methyl-2-butenal
	化学名	(2 <i>E</i>)-Methylbut-2-enal
	CAS番号	497-03-0
(2)	JECFA等の国際的評価機関の結果	2-methyl-2-butenal(CAS 1115-11-3)の評価結果を引用する。FEXPANにより評価され1973年のGRAS 7に公表された ¹⁾ 。2-methyl-2-butenalは、2003年第61回JECFA会議で、脂肪族分岐飽和・不飽和アルコール、アルデヒド、脂肪酸及び関連エステルの一つとして評価され、推定摂取量(0.2~0.7 μg/人/日)が、構造クラス I の摂取許容値(1,800 μg/人/日)を下回ることなどから、香料としての使用において安全性の懸念はないとされた ²⁾ 。
	JECFA番号	1201(2-methyl-2-butenal(CAS 1115-11-3))
(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	3407(2-methyl-2-butenal(CAS 497-03-0 ³⁾))
	CoE番号	2281(2-methylcrotonaldehyde(CAS 1115-11-3))
	CFR21掲載	なし
	EULレジスター	FL No. 05.095 (2-methylcrotonaldehyde(CAS 497-03-0))
	使用量データ	6kg(米国、1982年:1995年は1.3kg)、5kg(EU、1995年) ³⁾
(4)	我が国での添加物としての必要性	本物質は食品中に存在する成分であり、様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。本物質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	ラズベリー等のきいちご類、パッションフルーツ、マウンテン・パパイヤ、たまねぎ、マルメロ等の食品中に存在し、牛肉等の加熱調理により生成する成分である ⁴⁾ 。
	米国での食品への使用例(平均添加率)	焼菓子 5ppm、清涼飲料 5ppm、冷凍乳製品類 5ppm、ゼラチン・プリン類 5ppm、ソフト・キャンデー類 5ppm、チューインガム 5ppm ³⁾
(5)	参考資料	1) Food Technology(1973) Vol.27. No.11, pp56-57. 2) WHO food additives series ; 52 http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v52je15.htm 3) RIFM (Research Institute for Fragrance Materials, Inc.)-FEMA (Flavor and Extract Manufacturers' Association) database, Material Information on 2-Methyl-2-butenal (website accessed in Jan. 2011)(未公表) 4) 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 Jan. 2011)(未公表)