

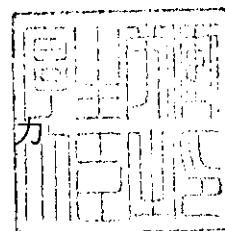
2-エチル-3, (5 or 6) -ジメチルピラジンの
新規指定の可否について

厚生労働省発食安第0329001号

平成16年3月29日

薬事・食品衛生審議会
会長 井村 伸正 殿

厚生労働大臣 坂 口



諮問書

食品衛生法（昭和22年法律第233号）第10条及び第11条第1項の規定に基づき、下記の事項について、貴会の意見を求めます。

記

1. グルコン酸亜鉛の使用基準改正について
2. グルコン酸銅の使用基準改正について
3. 2-エチル-3, (5or6)-ジメチルピラジンの食品添加物としての指定の可否について
4. 2, 3, 5, 6-テトラメチルピラジンの食品添加物としての指定の可否について

2-エチル-3, (5or6)-ジメチルピラジン を添加物として 定めることに係る食品健康影響評価に関する審議結果（案）

1. はじめに

2-エチル-3, (5or6)-ジメチルピラジンは、アーモンド様の加熱香気を有し、食品中に天然に存在、または加熱により生成する¹⁾。欧米では、焼き菓子、アイスクリーム、キャンディー、清涼飲料、肉製品等、様々な加工食品に香りを再現するため添加されている。

2. 背景等

厚生労働省は、平成14年7月の薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会での了承事項に従い、①JECFA で国際的に安全性評価が終了し、一定の範囲内で安全性が確認されており、かつ、②米国及びEU諸国等で使用が広く認められていて国際的に必要性が高いと考えられる食品添加物については、企業等からの指定要請を待つことなく、国が主体的に指定に向けた検討を開始する方針を示している。今般この条件に該当する香料の成分として、2-エチル-3, (5or6)-ジメチルピラジンについて評価資料がまとまったことから、食品安全基本法に基づき、食品健康影響評価が食品安全委員会に依頼されたものである（平成15年11月21日、関係書類を接受）。

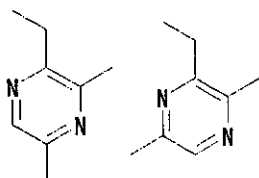
なお、香料については厚生労働省が示していた「食品添加物の指定及び使用基準改正に関する指針」には基づかず、「国際的に汎用されている香料の安全性評価の方法について」に基づき資料の整理が行われている。

3. 名称等

名称：2-エチル-3, (5or6)-ジメチルピラジン

英名：2-Ethyl-3, (5or6)-dimethylpyrazine

構造式：



化学式：C₈H₁₂N₂

分子量：136.22

CAS 番号：13925-07-0, 55031-15-7

4. 安全性

(1) 遺伝毒性

細菌 (*Salmonella typh.* TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538) を用いた復帰突然変異試験において 0~50,000 µg/plate で陰性であった²⁾。ラット肝細胞を用いた不定期 DNA 合成試験において、100 µg/ml で陰性であった²⁾。

(2) 反復投与

雌雄ラットへの混餌投与 90 日間反復投与試験 (18 mg/kg 体重/日) において、対照群との差

は認められていない³⁾。無毒性量 (NOAEL) は 18 mg/kg 体重/日と考えられている。

(3) 発がん性

International Agency for Research on Cancer (IARC)、European Chemicals Bureau (ECB)、U. S. Environmental Protection Agency (EPA)、National Toxicology Program (NTP)では、発がん性の評価はされていない。

(4) その他

内分泌かく乱性を疑わせる報告は見当たらない。

5. 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 法に基づく、米国及び欧州における一人一日当りの推定摂取量は、それぞれ 9 µg 及び 44 µg⁴⁾。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、既に認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がある⁵⁾ことから、我が国での本物質の推定摂取量は、おおよそ 9 µg から 44 µg の範囲にあると想定される。なお、米国では、食品中にもともと存在する成分としての本物質の摂取量は、意図的に添加された本物質の 98 倍との報告もある⁶⁾。

6. 安全マージンの算出

90 日間反復投与試験成績の NOAEL 18 mg/kg 体重/日と、想定される推定摂取量 (9~44 µg/ヒト/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 (0.00018~0.00088 mg/kg 体重/日)と比較し、安全マージン 20,454~100,000 が得られる。

7. 構造クラスに基づく評価

本物質は、ピラジン誘導体に分類される食品成分である。メチル基置換ピラジン類の主な代謝産物は、メチル基が酸化された水溶性のピラジンカルボン酸類、あるいは、ピラジン環も水酸化されたヒドロキシピラジンカルボン酸類である⁷⁾。ピラジン-2-カルボン酸はヒト及びイヌなどの動物において、また 5-ヒドロキシピラジン-2-カルボン酸は動物において、抗結核剤のピラジナミドの主要代謝産物として報告されており、尿中へ排泄される^{8), 9)}。

本物質及びその推定代謝産物は生体成分ではないが、効率の良い代謝経路が存在し、経口毒性は低いことが示唆されることよりクラス II に分類される¹⁰⁾。

8. JECFA における評価

JECFA では、2001 年にピラジン誘導体のグループとして評価され、クラス II に分類されている。想定される推定摂取量 (9~44 µg/ヒト/日)は、クラス II の摂取許容量 (540 µg/ヒト/日)を大幅に下回るため、香料としての安全性の問題はないとされている⁴⁾。

9. 「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」に基づく評価

本物質は、クラス II に分類され、生体内において特段問題となる遺伝毒性はないと考えられ、

また、90日間反復投与試験に基づく安全マージン(20,454~100,000)が90日間反復投与試験の適切な安全マージンとされる1,000を大幅に上回り、かつ想定される推定摂取量(9~44 µg/ヒト/日)が構造クラスIIの摂取許容量(540 µg/ヒト/日)を超えていない。

10. 評価結果

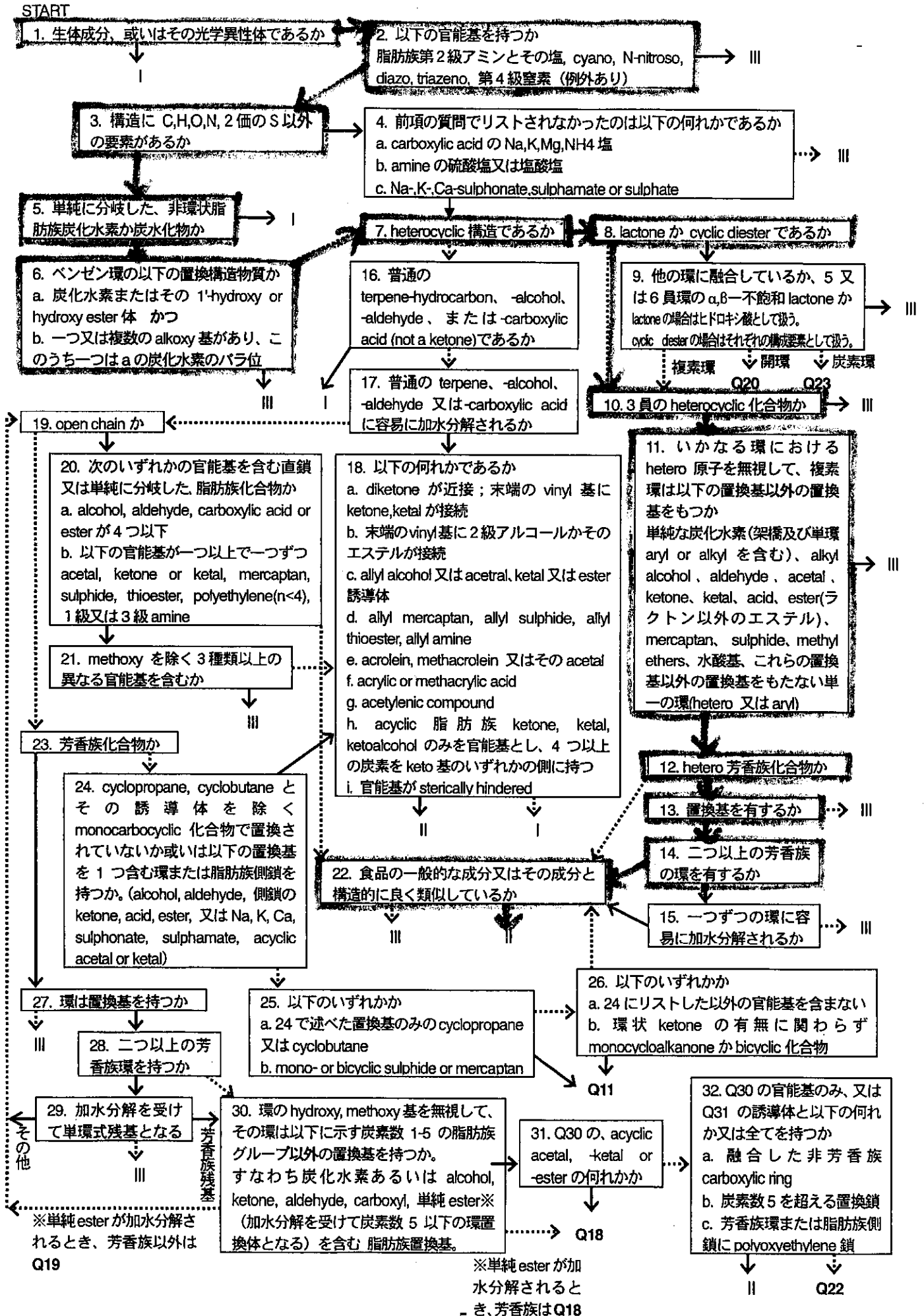
2-エチル-3, (5or6)-ジメチルピラジンを食品の着香の目的で使用する場合、安全性に懸念がないと考えられると評価した。

【引用文献】

- 1) TNO (1996) Volatile compounds in food. Ed. By L.M.Nijssen et.al. 7th.ed. Index of compounds. TNO Nutrition and Food Research Institute. Zeist.
- 2) Heck JD, Vollmuth TA, Cifone MA, Jagannath DR, Myhr B, Curren RD. An evaluation of food flavoring ingredients in a genetic toxicity screening battery. *The Toxicologist*. (1989) 9: 257.
- 3) Oser BL. 90-Day feeding study with 2-ethyl-3,5(6)-dimethyl pyrazine in rats. Unpublished report. (1969).
- 4) 第57回 JECFA WHO Food Additives Series 48.(draft : unpublished)
- 5) 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
- 6) Adams TB, Doull J, Feron VJ, Goodman JI, Marnett LJ, Munro IC, Newberne PM, Portoghese PS, Smith RL, Waddell WJ, Wagner BM. The FEMA GRAS assessment of pyrazine derivatives used as flavor ingredients. *Fd. Chem. Toxicol.* (2002) 40: 429-451.
- 7) Hawksworth G, Scheline RR. Metabolism in the rat of some pyrazine derivatives having flavour importance in foods. *Xenobiotica*. (1975) 5: 389-399.
- 8) Weiner IM, Tinker JP. Pharmacology of pyrazinamide: Metabolic and renal function studies related to the mechanism of drug-induced urate retention. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* (1972) 176: 411-434.
- 9) Whitehouse LW, Lodge BA, By AW, Thomas BH. Metabolic disposition of pyrazinamide in the rat: Identification of a novel in vivo metabolite common to both rat and human. *Biopharm. Drug Dispos.* (1987) 8: 307-318.
- 10) アルキルピラジン類の構造クラス

香料構造クラス分類 (2-エチル-3, (5or6)-ジメチルピラジン)

YES : → , NO :→



香料の安全性評価における構造クラスの分類について

個々の香料は、構造及び推定代謝経路等から構造クラス I、II、III に分類される。

クラス I：単純な化学構造を有し、効率の良い代謝経路があり、経口毒性が低いことが示唆される物質。

クラス II：クラス I とクラス III の中間的な構造を有する。クラス I の物質のように経口毒性が低いとはいえない構造を有するが、クラス III の物質と違って毒性を示唆する特徴的構造は有しないもの。クラス II の物質は反応性のある官能基を含むことがある。

クラス III：容易に安全であると推定できないような化学構造を持つか、または重大な毒性を示唆する可能性のある化学構造を有する物質。

(参考) JECFA における構造クラス毎の暴露許容値

既存のデータベースをもとに設定された構造クラス毎の暴露許容値。

構造クラス	5 パーセントタイル NOEL ($\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日)	許容暴露閾値 ($\mu\text{g}/\text{日}$)
I	2993	1800
II	906	540
III	147	88

5 パーセントタイル NOEL (注) に 60 (一人の体重を 60 kg と仮定) を乗じ、安全係数 100 で除して許容暴露閾値を得た。

(注) 5 パーセントタイル NOEL とは、各構造クラスに分類される物質を、NOEL の低い順に累積していった際、各構造クラスの物質 5% が含まれる NOEL の値。

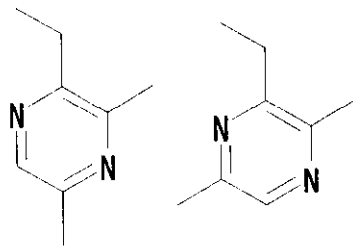
2-エチル-3, (5or6)-ジメチルピラジンの食品添加物の指定に関する部会報告書 (案)

1. 品目名：2-エチル-3, (5or6)-ジメチルピラジン
(2-ethyl-3, (5or6)-dimethylpyrazine)

別名：Mixture of 2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazine, and 2-Ethyl-3,6-dimethylpyrazine
[CAS 番号：55031-15-7]

2-エチル-3, (5or6)-ジメチルピラジンは、2-エチル-3,5-ジメチルピラジン
又は2-エチル-3,6-ジメチルピラジンの混合物である。

2. 構造式、分子式及び分子量



分子式及び分子量 $C_8H_{12}N_2$ 136.20

3. 用途

香料

4. 概要及び諸外国での使用状況

2-エチル-3, (5or6)-ジメチルピラジンは、アーモンド様の加熱香気を有する成分であり、食品中に天然に存在、または加熱により生成する。欧米では、焼き菓子、アイスクリーム、キャンディー、清涼飲料、肉製品など様々な加工食品において香りを再現するために添加されている。

5. 食品安全委員会における評価結果 (案)

2-エチル-3, (5or6)-ジメチルピラジンを食品の着香の目的で使用する場合、安全性に懸念がないと考えられると評価した。

6. 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法に基づく、米国及び欧州における一人一日当たりの推定摂取量は、それぞれ $9 \mu g$ 及び $44 \mu g$ 。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、既に認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 $9 \mu g$ から $44 \mu g$ の範囲にあると想定される。なお、米国では、食品中にもともと存在する成分としての本物質の摂取量は、意図的に添加された本物質の98倍との報告もある。

7. 使用基準案

食品安全委員会において、国際的に汎用されている香料の安全性評価方法に基づき、香料として使用される場合に限定して食品健康影響評価が行われたことから、使用基準は「着香の目的以外に使用してはならない。」とすることが適当である。

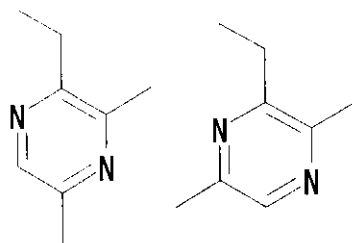
8. 成分規格案

一般試験法の16. 香料試験法に、9.香料化合物のガスクロマトグラフ法を追加し、別紙のとおり設定することが適当である。(設定根拠は別添のとおり。)

(別紙)

2-エチル-3,(5or6)-ジメチルピラジン

2-Ethyl-3, (5or6)-dimethylpyrazine



$C_8H_{12}N_2$

分子量 136.20

Mixture of 2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazine and 2-Ethyl-3,6-dimethylpyrazine
[55031-15-7]

含 量 本品は、2-エチル-3,5-ジメチルピラジン及び2-エチル-3,6-ジメチルピラジン ($C_8H_{12}N_2$) 合わせて 95.0%以上を含む。

性 状 本品は、無色～淡黄色の、透明な液体で、特有なにおいがある。

確認試験 本品を赤外吸収スペクトル測定法中の液膜法により測定し、本品のスペクトルを参照スペクトルと比較するとき、同一波数のところに同様の強度の吸収を認める。

純度試験 (1) 屈折率 $n_D^{20}=1.496\sim1.506$

(2) 比重 0.950～0.980

定 量 法

香料試験法のガスクロマトグラフ法の第1法 操作条件(1)により定量する。

B 一般試験法

16. 香料試験法 に以下の試験法を追加する。

9. 香料化合物のガスクロマトグラフ法

装置

一般試験法7のガスクロマトグラフ法に準拠する。

操作法

一般試験法7のガスクロマトグラフ法に準拠し、別に規定するもののほか、次の方法による。なお、香料化合物が固体の場合、別に規定する溶媒に溶解した後、同様に操作する。

第1法 面積百分率法

この方法は、保存により不揮発成分等を生成せず、すべての成分がクロマトグラム上で分離することが明らかな香料化合物に用いる。試料注入後、0～40分間に現れるすべての成分のピーク面積の総和を100とし、それに対する香料成分のピーク面積百分率を求め、含量とする。ただし、香料化合物が固体で溶媒に溶解する場合は、別に、溶媒により同様に試験を行い、溶媒由来のピークを確認後、溶媒由来のピークを除いたピーク面積の総和を100とする。

操作条件(1)

沸点が 150℃以上の香料化合物に適用する。

検出器 水素炎イオン化検出器

カラム 内径 0.25～0.53mm、長さ 30m～60m のケイ酸ガラス製の細管に、ジメチルポリシロキサン（非極性カラム）またはポリエチレングリコール（極性カラム）を 0.25～1 μm の厚さで被覆したもの。

カラム温度： 50℃から毎分 5℃で昇温し、230℃に到達後 4 分間保持する。

注入口温度 225～275℃

検出器温度 250～300℃

注入方式 内径 0.25～0.35mm カラムの場合はスプリット 60:1～250:1。ただし、いずれの成分もカラムの許容範囲を超えないように設定する。内径 0.35～0.53mm カラムの場合はスプリットレス。

キャリアーガス： ヘリウムまたは窒素を用いる。被検香料化合物のピークの保持時間が 5～20 分の間になるように流量を調整する。

操作条件(2)

沸点が 150℃未満の香料化合物に適用する。

検出器 水素炎イオン化検出器

カラム 内径 0.25~0.53mm、長さ 30m~60m のケイ酸ガラス製の細管に、ジメチルポリシロキサン（非極性カラム）またはポリエチレングリコール（極性カラム）を 0.25~1 μm の厚さで被覆したもの。

カラム温度： 50℃で 5 分間保持した後、毎分 5℃で、230℃まで昇温する。

注入口温度 125~175℃

検出器温度 250~300℃

注入方式 内径 0.25~0.35mm カラムの場合はスプリット 60:1~250:1。ただし、いずれの成分もカラムの許容範囲を超えないように設定する。内径 0.35~0.53mm カラムの場合はスプリットレス。

キャリアガス：ヘリウムまたは窒素を用いる。被検香料化合物のピークの保持時間が 5~10 分の間になるように流量を調整する。

第二法 内標準法

この方法は、保存により不揮発成分等が生成し、クロマトグラム上に分離しない成分を含有する香料化合物に用いる。一点検量による内標準法であり、被検香料化合物になるべく近い保持時間を持ち、いずれのピークとも完全に分離する安定な物質を内標準物質とする。別に規定するもののほか、以下の方法による。被検香料化合物と内標準物質を、ピーク面積比がほぼ等しくなるように、それぞれ約 T_1 g 及び約 S_1 g を精密に量り、混合して試料溶液とする。別に、標準被検香料化合物と内標準物質を、同様にピーク面積比がほぼ等しくなるように、それぞれの約 T_2 g 及び約 S_2 g を精密に量り、混合して標準溶液とする。いずれの採取量も、試料溶液、標準溶液により得られるピーク面積値が、それぞれの検量線の直線性が得られる範囲内となるようにに設定する。試料溶液と標準溶液の適量を正確に量り、ガスクロマトグラフ法により試験を行い、内標準物質のピーク面積に対する、被検香料化合物のピーク面積の比 Q_T 及び Q_S を求め、標準被検香料化合物の含量を $A\%$ とするとき、次式により被検香料化合物の含量を求める。

$$\text{被検香料化合物の含量} = \frac{T_2 \times A}{T_1} \times \frac{S_1}{S_2} \times \frac{Q_T}{Q_S} \quad (\%)$$

通例、標準溶液の規定量を繰り返し注入し、得られたそれぞれのクロマトグラムから、内標準物質のピーク面積又はピーク高さに対する標準被検香料化合物のピーク面積又はピーク高さの比を求め、その相対標準偏差（変動係数）を求めて再現性を確かめる。

操作条件は、第一法と同様に、沸点が 150℃以上の香料化合物では、操作条件(1)に、沸点が 150℃未満の香料化合物では、操作条件(2)に従って試験を行う。

(別添)

2-エチル-3, (5or6)-ジメチルピラジン規格設定の根拠

含量

JECFA、FCC での規格はいずれも 2-エチル-3,5-ジメチルピラジン及び 2-エチル-3,6-ジメチルピラジン合わせて 95.0%以上としている。また、米国での流通品の規格も同様のことから、本規格案も「2-エチル-3,5-ジメチルピラジン及び 2-エチル-3,6-ジメチルピラジン合わせて 95.0%以上」とした。

性状

JECFA、FCC いずれも「無色～淡黄色液体」としていること、また米国での市場流通品も同様であることから、本規格案も「無色～淡黄色液体」とした。

確認試験

JECFA、FCC いずれも確認試験を IR としていることから、本規格も IR による確認法とした。

純度試験

(1) 屈折率

JECFA は 1.496～1.506(20℃)、FCC では 1.500～1.503(20℃)を規格として設定している。本規格案では FCC 規格範囲を満たし且つ国際的流通品に対応できるよう、JECFA 規格「1.496～1.506(20℃)」とした。

(2) 比重

JECFA 規格では 0.950～0.980 と記され、測定温度は未記載である。(特に規定が無い場合は 25℃) 一方、FCC は JECFA と同じ規格値 0.950～0.980 であるが測定温度は 20℃と明記してある。更に製造販売元である「シグマ-アルドリッチ日本㈱」の規格書でも 0.950～0.980/20℃となっている。これらのことから、本規格は FCC 規格で明記されている「0.950～0.980 (20℃)」とした。

定量法

第七版公定書香料試験法の含量測定法ではピラジン類の含量を測定することはできない。

JECFA、FCCの規格ではいずれもGC試験法により含量測定を行っており、また香料業界及び香料を利用する食品加工メーカーにおいても、GC装置が広く普及し、実務的には測定機器を含めた測定環境に問題が無いことなどから本規格案をGC法とした。

香料試験法としてのGC法は、①香料成分が常温で揮発する成分であり、化学的性質が特異であること、②JECFA、FCCにおいても香料のGC法として別に試験法が設定されていることから、一般試験法の7のガスクロマトグラフ法を基にして、新たに香料試験法の中に、香料化合物のガスクロマトグラフ法を設定することとした。

即ち、香料試験法としてのガスクロマトグラフ法は、保存により不揮発成分等を生成せず、すべての成分がクロマトグラム上で分離することが明らかでない香料化合物に用いる面積百分率法（第1法）と、保存により不揮発成分等が生成し、クロマトグラム上に分離しない成分を含有する香料化合物に用いる内標準法（第2法）からなる。また、それぞれの方法には香料化合物の沸点150℃を境にして、150℃以上の香料化合物に適用する操作条件（1）と、150℃以下の香料化合物に適用する操作条件（2）を規定することにより、GC測定可能な全ての香料化合物に対応できるようにした。

2-エチル-3,(5or6)-ジメチルピラジンは、香料試験法のクロマトグラフ法の第1法 操作条件（1）により定量する。

沸点

規格項目「沸点」は設定しない。

本品のように結晶又は粉末状の香料化合物は、加熱分解臭をつけないように減圧精密蒸留をして得るか、又は適当な溶媒を使った再結晶法等により一般に製造される。このような結晶又は粉末状の香料化合物の不純物は一般に、融点及びGCにて検査を行い、沸点で不純物を検査することは行わないので、定量法をGC法とすることをもって、規格には「沸点」は設定しないこととした。

(参考)

これまでの経緯

平成15年11月21日	厚生労働大臣から食品安全委員会会長あてに食品添加物指定に係る食品健康影響評価について依頼
平成15年11月27日	第21回食品安全委員会（依頼事項説明）
平成16年3月3日	第5回食品安全委員会添加物専門調査会
平成16年4月1日	第39回食品安全委員会（報告）
～平成16年4月28日	食品安全委員会において国民からの意見聴取開始
平成16年4月8日	薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会添加物部会

●薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会添加物部会

[委員]

小沢 理恵子	日本生活協同組合連合会くらしと商品研究室長
工藤 一郎	昭和大学薬学部教授
鈴木 久乃	日本栄養士会会長
棚元 憲一	国立医薬品食品衛生研究所食品添加物部長
○長尾 美奈子	共立薬科大学客員教授
中澤 裕之	星薬科大学薬品分析化学教室教授
成田 弘子	日本大学短期大学部非常勤講師
西島 基弘	実践女子大学生生活科学部食品衛生学研究室教授
米谷 民雄	国立医薬品食品衛生研究所食品部長
山川 隆	東京大学大学院農学生命科学研究科助教授
山添 康	東北大学大学院薬学研究科教授
吉池 信男	独立行政法人国立健康・栄養研究所 健康・栄養調査研究部長
四方田千佳子	国立医薬品食品衛生研究所食品添加物部第一室長

(○：部会長)