

○ 厚生労働省令 第二百十号

食品衛生法（昭和二十二年法律第二百三十三号）第十条の規定に基づき、食品衛生法施行規則の一部を改正する省令を次のように定める。

平成十八年五月十六日

厚生労働大臣 川崎 二郎

食品衛生法施行規則の一部を改正する省令

食品衛生法施行規則（昭和二十三年厚生省令第二十三号）の一部を次のように改正する。

別表第一中第三百五十七号を第三百六十号とし、第三百十三号から第三百五十六号までを三号ずつ繰り下げ、第三百十二号を第三百十四号とし、同号の次に次の一号を加える。

三百十五 5-メチルキノキサリン

別表第一中第三百十一号を第三百十三号とし、第四十九号から第三百十号までを二号ずつ繰り下げ、第四十八号を第四十九号とし、同号の次に次の一号を加える。

五十 2-エチル-3-メチルピラジン

別表第一中第四十七号を第四十八号とし、第十四号から第四十六号までを一号ずつ繰り下げ、第十三号の次に次の一号を加える。

十四 アセトアルデヒド

附 則

この省令は、公布の日から施行する。

○ 厚生労働省告示 第三百六十五号

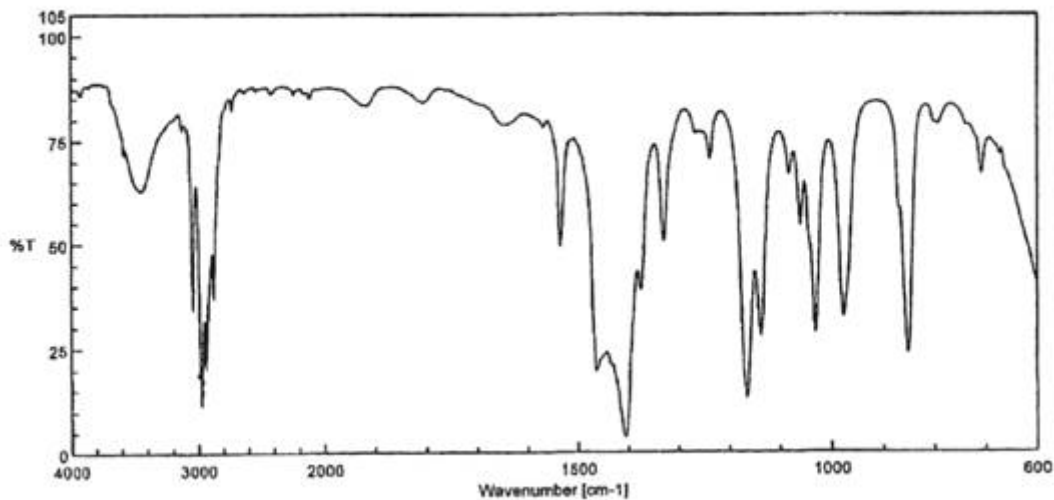
食品衛生法(昭和二十二年法律第二百三十三号)第十一条第一項の規定に基づき、食品、添加物等の規格基準(昭和三十四年厚生省告示第三百七十号)の一部を次のように改正する。

平成十八年五月十六日

厚生労働大臣 川崎 二郎

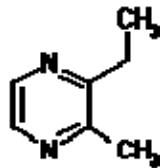
第2 添加物の部C 試薬・試液等の項 11 参照赤外吸収スペクトルのエチルバニリンの目の次に次の一目を加える。

2-エチル-3-メチルピラジン



第2 添加物の部D 成分規格・保存基準各条の項エチルバニリンの目の次に次の一目を加える。

2-エチル-3-メチルピラジン
2-Ethyl-3-methylpyrazine



$C_7H_{10}N_2$ 分子量 122.17

2-Ethyl-3-methylpyrazine[15707-23-0]

含 量 本品は、2-エチル-3-メチルピラジン($C_7H_{10}N_2$)98.0%以上を含む。

性 状 本品は、無～黄色の液体で、特有のにおいがある。

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 $n_D^{20}=1.502\sim 1.505$

(2) 比重 $0.978\sim 0.988(25^\circ\text{C})$

定量法 香料試験法中の香料のガスクロマトグラフィーの面積百分率法の操作条件(1)により定量する。

第2 添加物の部F 使用基準の項エチルバニリンの目の次に次の一目を加える。

2-エチル-3-メチルピラジン

2-エチル-3-メチルピラジンは、着香の目的以外に使用してはならない。



食安発第 0516001 号
平成 18 年 5 月 16 日

各

都道府県知事
保健所設置市長
特別区長

 殿

厚生労働省医薬食品局食品安全部長

食品衛生法施行規則の一部を改正する省令及び食品、
添加物等の規格基準の一部を改正する件について

食品衛生法施行規則の一部を改正する省令(平成 18 年厚生労働省令第 120 号)及び食品、添加物等の規格基準の一部を改正する件(平成 18 年厚生労働省告示第 365 号)が本日公布、施行・適用され、これにより食品衛生法施行規則(昭和 23 年厚生省令第 23 号。以下「省令」という。)及び食品、添加物等の規格基準(昭和 34 年厚生省告示第 370 号。以下「告示」という。)の一部が改正されたので、下記の事項に留意の上、その運用に遺憾のなきよう取り計らわれない。

記

第 1 改正の概要

1 省令関係

食品衛生法(昭和 22 年法律第 233 号。以下「法」という。)第 10 条の規定に基づき、アセトアルデヒド、2-エチル-3-メチルピラジン及び 5-メチルキノキサリンを省令別表第 1 に追加すること。

2 告示関係

法第 11 条第 1 項の規定に基づき、アセトアルデヒド、2-エチル-3-メチルピラジン及び 5-メチルキノキサリンの成分規格及び使用基準を設定すること。

第 2 施行・適用期日

1 省令関係

公布日から施行すること。

2 告示関係

公布日から適用すること。

第3 運用上の注意

1 使用基準関係

アセトアルデヒド、2-エチル-3-メチルピラジン及び5-メチルキノキサリンについては、「着香の目的以外に使用してはならない。」との使用基準を設定することから、有機溶剤として使用する等の着香の目的以外の使用は認められないこと。

2 添加物の表示関係

アセトアルデヒド、2-エチル-3-メチルピラジン及び5-メチルキノキサリン並びにそれを含む食品及び添加物製剤については、法第19条第1項の規定に基づき添加物の表示を行うよう、関係業者に対して指導されたいこと。

なお、今回の省令及び告示の改正に伴い、平成8年5月23日付け衛化第56号厚生省生活衛生局長通知「食品衛生法に基づく添加物の表示等について」の別紙4「各一括名の定義及びその添加物の範囲」の7香料の(3)に「アセトアルデヒド」、「2-エチル-3-メチルピラジン」及び「5-メチルキノキサリン」を加える。

(参考)

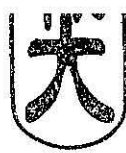
改正後の別紙4「各一括名の定義及びその添加物の範囲」の7香料の(3)は、次のとおり。

(3) 添加物の範囲 以下の添加物を香料としての目的で使用する場合。

アセトアルデヒド	アセト酢酸エチル
アセトフェノン	アニスアルデヒド
アミルアルコール	α -アミルシナナムアルデヒド
アントラニル酸メチル	イオノン
イソアミルアルコール	イソオイゲノール
イソ吉草酸イソアミル	イソ吉草酸エチル
イソチオシアネート類	イソチオシアン酸アリル
イソブタノール	イソプロパノール
インドール及びその誘導体	γ -ウンデカラクトン
エステル類	
2-エチル-3,5-ジメチルピラジン及び2-エチル-3,6-ジメチルピラジンの混合物	
エチルバニリン	2-エチル-3-メチルピラジン
エーテル類	オイゲノール
オクタナール	オクタン酸エチル
ギ酸イソアミル	ギ酸ガラニル
ギ酸シトロネリル	ケイ皮酸
ケイ皮酸エチル	ケイ皮酸メチル
ケトン類	ゲラニオール
酢酸イソアミル	酢酸エチル
酢酸ガラニル	酢酸シクロヘキシル
酢酸シトロネリル	酢酸シナミル
酢酸テルピニル	酢酸フェネチル
酢酸ブチル	酢酸ベンジル

酢酸 1-メンチル
サリチル酸メチル
シトラール
シトロネロール
脂肪酸類
脂肪族高級アルデヒド類
シンナムアルコール
チオエーテル類
デカナール
デカン酸エチル
テルピネオール
2,3,5-トリメチルピラジン
バニリン
ヒドロキシシトロネラール
ピペロナール
フェニル酢酸イソブチル
フェノールエーテル類
フルフラール及びその誘導体
プロピオン酸
プロピオン酸エチル
ヘキサン酸
ヘキサン酸エチル
1-ペリラルアルデヒド
ベンズアルデヒド
芳香族アルデヒド類
マルトール
5-メチルキノキサリン
dl-メントール
酪酸
酪酸エチル
酪酸ブチル
リナロオール

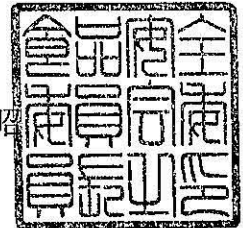
酢酸リナリル
シクロヘキシルプロピオン酸アリル
シトロネラール
1,8-シオネール
脂肪族高級アルコール類
脂肪族高級炭化水素類
シンナムアルデヒド
チオール類
デカノール
2,3,5,6-テトラメチルピラジン
テルペン系炭化水素類
γ-ノナラクトン
パラメチルアセトフェノン
ヒドロキシシトロネラールジメチルアセタール
フェニル酢酸イソアミル
フェニル酢酸エチル
フェノール類
プロパノール
プロピオン酸イソアミル
プロピオン酸ベンジル
ヘキサン酸アリル
ヘプタン酸エチル
ベンジルアルコール
芳香族アルコール類
d-ボルネオール
N-メチルアントラニル酸メチル
メチルβ-ナフチルケトン
l-メントール
酪酸イソアミル
酪酸シクロヘキシル
ラクトン類
別添2に掲げる添加物



府食第804号
平成17年8月18日

厚生労働大臣
尾辻 秀久 殿

食品安全委員会
委員長 寺田 雅昭



食品健康影響評価の結果の通知について

平成17年3月7日付け厚生労働省発食安第0307001号をもって貴省から当委員会に対して意見を求められた2-エチル-3-メチルピラジジンに係る食品健康影響評価の結果は下記のとおりですので、食品安全基本法（平成15年法律第48号）第23条第2項の規定に基づき通知します。

なお、食品健康影響評価の詳細をまとめたものは別添のとおりです。

記

2-エチル-3-メチルピラジジンは、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。

2-エチル-3-メチルピラジンを添加物として定めることに関する食品健康影響評価に関する審議結果

1. はじめに

2-エチル-3-メチルピラジンはナッツ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), 2)}。欧米では、焼き菓子、アイスクリーム、肉製品、ソフトキャンディー、ゼリー・プリン、清涼飲料等、様々な加工食品において香りを再現するため添加されている³⁾。

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。今般香料の成分として、2-エチル-3-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17年3月7日、関係書類を接受）。

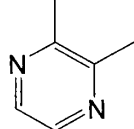
なお、香料については厚生労働省が示していた「食品添加物の指定及び使用基準改正に関する指針」には基づかず、「国際的に汎用されている香料の安全性評価の方法について」に基づき資料の整理が行われている。

3. 名称等

名称：2-エチル-3-メチルピラジン

英名：2-Ethyl-3-methylpyrazine

構造式：



化学式：C₇H₁₀N₂

分子量：122.17

CAS 番号：15707-23-0

4. 安全性

(1) 遺伝毒性

細菌を用いた復帰突然変異試験（TA98, TA100, TA1535, TA1537, WP2uvrA、最高用量 5,000 µg/plate）において、S9mixの有無にかかわらず陰性であった⁴⁾。

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（最高濃度 1.2 mg/mL、+/-S9mixの6時間及び-S9mixの24時間処理）の結果は陰性であった⁵⁾。

9週齢BDF₁雄マウスを用いた強制経口投与による*in vivo*小核試験（最高用量 300 mg/kg 体重/日×2）において、小核の誘発は認められなかった⁶⁾。

(2) 反復投与

雌雄ラット（各群 16 匹）への混餌投与による 90 日間反復投与試験（対照群：0、雄：5.31 mg/kg 体重/日、雌：5.22 mg/kg 体重/日）において、体重、摂餌量、血液検査、血液生化学検査、臓器重量及び病理組織学的検査等について対照群との差は認められなかった^{7), 8)}。無毒性量（NOAEL）は 5.22 mg/kg 体重/日とされている。

(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 法による 1995 年の使用量調査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 84 µg⁸⁾。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がある⁹⁾ことから、我が国での本物質の推定摂取量は、おおよそ 9 から 84 µg の範囲になると想定される。なお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 251 倍であるとの報告がある^{8), 10)}。

6. 安全マージンの算出

90 日間反復投与試験の NOAEL 5.22 mg/kg 体重/日と、想定される推定摂取量（9~84 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体重あたりの推定摂取量（0.18~1.68 µg/kg 体重/日）と比較し、安全マージン 3,107~29,000 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。アルキル基（炭素数 2 以上）置換ピラジン類は、ピラジン環に直結するメチレン基がチトクローム P-450 によると考えられる酸化により、2 級アルコールに代謝される⁸⁾。2 級アルコールはさらに酸化されてケトンとなるが、細胞質のカルボニル還元酵素により還元されて 2 級アルコールに戻る^{8), 11), 12)}。アルキル基の酸化が進行しない構造では、代わってピラジン環が水酸化され、そのまま、もしくはグリシン抱合体（10~15%）として排泄される^{8), 13)}。本物質及びその推定代謝産物は生体成分ではないが、ピラジン誘導体には側鎖の酸化及び環の水酸化の両方の代謝経路が存在し、クラス II に分類される。

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（9～84 µg/ヒト/日）は、クラスⅡの摂取許容値（540 µg/ヒト/日）を下回ることから、香料としての安全性の問題はないとされている⁸⁾。

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、生体内において遺伝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（3,107～29,000）は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を上回り、かつ想定される推定摂取量（9～84 µg/ヒト/日）はクラスⅡの摂取許容値（540 µg/ヒト/日）を超えていない。

10. 評価結果

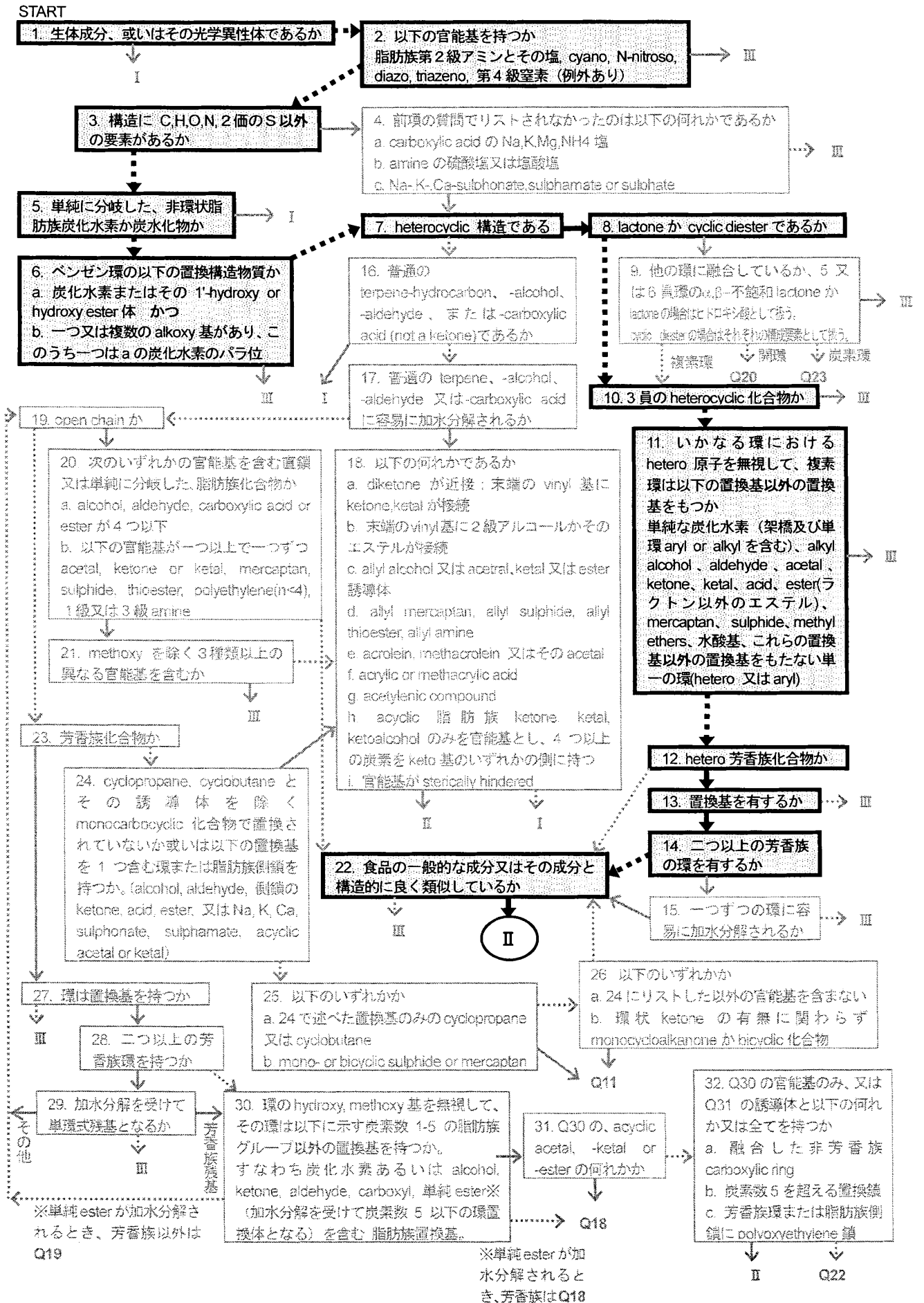
2-エチル-3-メチルピラジンを食品の着香の目的で使用する場合、安全性に懸念がないと考えられると評価した。

【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) Stofberg J. Grundschober, F. Consumption ratio and food predominance of flavoring materials. *Perfumer & Flavorist*. (1987) 12(4): 27.
- 3) Burdock, G A. Fenaroli's Handbook of Flavor Ingredients. Vol II, 3rd Edition (1995): 253.
- 4) 2-エチル-3-メチルピラジンの細菌を用いる復帰突然変異試験 (2004) (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)
- 5) 2-エチル-3-メチルピラジンのチャイニーズ・ハムスター培養細胞を用いる染色体異常試験 (2004) (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)
- 6) 2-エチル-3-メチルピラジンのマウスを用いる小核試験 (2004) (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)
- 7) Posternak J M. Summaries of toxicological data. *Food Cosmet. Toxicol.* (1969) 7: 405-407.
- 8) 第57回 JECFA WHO Food Additives Series 48.
- 9) 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
- 10) 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.
- 11) Parkinson A. Biotransformation of xenobiotics. In Casarret and Doull's Toxicology. The Basic Science of Poisons. 5th ed. 113-118 (1996).
- 12) Farrelly JG, Saavedra JE, Kupper RJ, Stewart ML. The metabolism of N-nitrosobis(2-oxopropyl) amine by microsomes and hepatocytes from Fischer 344 rats. *Carcinogenesis* (1987) 8: 1095-1099
- 13) Hawksworth G, Scheline RR. Metabolism in the rat of some pyrazine derivatives having flavour importance in foods. *Xenobiotica*. (1975) 5: 389-399.

香料構造クラス分類 (2-エチル-3-メチルピラジン)

YES : —→ , NO :→



平成15年度 食品・添加物等規格基準に関する試験検査等

2-エチル-3-メチルピラジンの細菌を用いる復帰突然変異試験

機 関 名： 財団法人食品農医薬品安全性評価センター

試験責任者： 益 森 勝 志 

目 次

1. 要約.....	4
2. 表題.....	5
3. 試験目的.....	5
4. 準拠したガイドラインおよび遵守した GLP.....	5
5. 試験番号.....	5
6. 試験施設.....	5
7. 試験委託者	5
8. 試験責任者	5
9. 試験責任者の署名および日付	6
10. 被験物質管理責任者.....	6
11. 分担責任者および試験従事者	6
12. 試験日程.....	6
13. 被験物質.....	7
14. 試験材料および方法.....	9
15. 試験結果.....	17
16. 考察および結論	18
17. 参考とした資料.....	19
18. 試験関係資料の保存.....	19
19. 予見することができなかった試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態 および試験計画書に従わなかったこと	20

Figures

Figure 1 Dose-finding study with 2-Ethyl-3-methylpyrazine [non-activation method: -S9].....	21
Figure 2 Dose-finding study with 2-Ethyl-3-methylpyrazine [activation method: +S9].....	22
Figure 3 Bacterial reversion assay of 2-Ethyl-3-methylpyrazine in strain TA100.....	23
Figure 4 Bacterial reversion assay of 2-Ethyl-3-methylpyrazine in strain TA1535.....	24
Figure 5 Bacterial reversion assay of 2-Ethyl-3-methylpyrazine in strain WP2 <i>uvrA</i>	25
Figure 6 Bacterial reversion assay of 2-Ethyl-3-methylpyrazine in strain TA98.....	26
Figure 7 Bacterial reversion assay of 2-Ethyl-3-methylpyrazine in strain TA1537.....	27

Tables

Table 1	Summary data of dose-finding study with 2-Ethyl-3-methylpyrazine [non-activation method: -S9].....	28
Table 2	Summary data of dose-finding study with 2-Ethyl-3-methylpyrazine [activation method: +S9].....	29
Table 3	Results of the bacterial reversion assay of 2-Ethyl-3-methylpyrazine [non-activation method: -S9].....	30
Table 4	Results of the bacterial reversion assay of 2-Ethyl-3-methylpyrazine [activation method: +S9].....	31

Appendices

Appendix 1	Individual data of dose-finding study with 2-Ethyl-3-methylpyrazine [non-activation method: -S9].....	32
Appendix 2	Individual data of dose-finding study with 2-Ethyl-3-methylpyrazine [activation method: +S9].....	33
Appendix 3	Individual data of the bacterial reversion assay of 2-Ethyl-3-methylpyrazine [non-activation method: -S9].....	34
Appendix 4	Individual data of the bacterial reversion assay of 2-Ethyl-3-methylpyrazine [activation method: +S9].....	35
Appendix 5	Historical control data (reverse mutation assay).....	36

1. 要約

2-エチル-3-メチルピラジンの変異原性について、遺伝子突然変異誘発性を検討するため、ネズミチフス菌 (*Salmonella typhimurium*) TA100, TA98, TA1535 および TA1537 株ならびに大腸菌 (*Escherichia coli*) WP2uvrA 株を用いた復帰突然変異試験を行った。

その結果、2-エチル-3-メチルピラジン処理ではガイドライン上の限界用量を含む 8.19~5000 µg/プレート のいずれの用量においても、ラット肝ミクロソーム (S9) 添加の有無にかかわらず、陰性対照に比べ復帰突然変異コロニー数の増加は認められなかった。

一方、陽性対照物質は各試験菌株に対し、明確な突然変異誘発作用を示した。用量設定試験ならびに復帰突然変異試験により試験結果の再現性が確認された。

以上の試験結果から、本試験条件下において、2-エチル-3-メチルピラジンは遺伝子突然変異を誘起しないもの (陰性) と判断した。

平成15年度 食品・添加物等規格基準に関する試験検査等

2-エチル-3-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

機 関 名： 財団法人食品農医薬品安全性評価センター

試験責任者：益 森 勝 志 

目 次

1. 要約.....	4
2. 表題.....	5
3. 試験目的.....	5
4. 準拠したガイドラインおよび遵守した GLP	5
5. 試験番号.....	5
6. 試験施設.....	5
7. 試験委託者.....	5
8. 試験責任者.....	5
9. 試験責任者の署名および日付.....	6
10. 被験物質管理責任者.....	6
11. 分担責任者および試験従事者.....	6
12. 試験日程.....	6
13. 被験物質.....	7
14. 試験材料および方法.....	9
15. 試験結果.....	16
16. 考察および結論.....	18
17. 参考とした資料.....	19
18. 試験関係資料の保存.....	19
19. 予見することができなかった試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態 および試験計画書に従わなかったこと.....	19

Figures

Figure 1	Dose-survival curves of 2-Ethyl-3-methylpyrazine [short-term treatment].....	21
Figure 2	Dose-survival curve of 2-Ethyl-3-methylpyrazine [continuous treatment].....	22

Tables

Table 1	Results of growth inhibition test on 2-Ethyl-3-methylpyrazine [short-term treatment].....	23
Table 2	Results of growth inhibition test on 2-Ethyl-3-methylpyrazine [continuous treatment].....	24

Table 3	Chromosome aberration test on CHL cells treated with 2-Ethyl-3-methylpyrazine [short-term treatment: -S9].....	25
Table 4	Chromosome aberration test on CHL cells treated with 2-Ethyl-3-methylpyrazine [short-term treatment: +S9].....	26
Table 5	Chromosome aberration test on CHL cells treated with 2-Ethyl-3-methylpyrazine [continuous treatment: 24h].....	27
Appendices		
Appendix 1	Chromosome aberration test of 2-Ethyl-3-methylpyrazine [short-term treatment: -S9]	28
Appendix 2	Chromosome aberration test of 2-Ethyl-3-methylpyrazine [short-term treatment: +S9].....	29
Appendix 3	Chromosome aberration test of 2-Ethyl-3-methylpyrazine [continuous treatment: 24h]	30
Appendix 4	Historical control data (chromosome aberration test using CHL/IU cells).....	31

1. 要約

2-エチル-3-メチルピラジンの変異原性について、染色体異常誘発性の有無を検討するため、チャイニーズ・ハムスター肺線維芽細胞株 (CHL/TU) を用いた *in vitro* 染色体異常試験を行った。

あらかじめ実施した細胞増殖抑制試験結果を基に、試験用量を設定した。染色体異常試験においては、短時間処理法-S9 処理, 同+S9 処理ならびに連続処理法24時間処理のいずれにおいてもガイドラインで定められている最高用量を含む 306, 611 および 1222 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (10 mM 相当) の 3 用量について顕微鏡観察を実施した。

その結果, 2-エチル-3-メチルピラジン処理群の場合, 短時間処理法 (-S9 および+S9 処理) ならびに連続処理法の各用量群とも明確な染色体異常の誘発は認められなかった。

また, 短時間処理法-S9 処理および連続処理法の陽性対照物質マイトマイシン C (MMC) ならびに短時間処理法+S9 処理の陽性対照物質シクロホスファミド (CP) は, いずれも染色体構造異常を陰性対照と比較し高頻度に誘発した。

したがって, 本試験条件下では 2-エチル-3-メチルピラジンは, ほ乳類培養細胞に対して染色体異常を誘発しないもの (陰性) と判断した。

平成15年度 食品・添加物等規格基準に関する試験検査等

2-エチル-3-メチルピラジンのマウスを用いる小核試験

機 関 名： 財団法人食品農医薬品安全性評価センター

試験責任者：益 森 勝 志



目 次

1. 要約.....	4
2. 表題.....	5
3. 試験目的.....	5
4. 準拠したガイドラインおよび遵守した GLP.....	5
5. 試験番号.....	5
6. 試験施設.....	5
7. 試験委託者	5
8. 試験責任者	5
9. 試験責任者の署名および日付	6
10. 被験物質管理責任者.....	6
11. 分担責任者および試験従事者	6
12. 試験日程.....	7
13. 被験物質.....	8
14. 試験材料および方法.....	10
15. 試験結果.....	16
16. 考察および結論.....	17
17. 参考とした資料.....	18
18. 試験関係資料の保存.....	18
19. 予見することができなかった試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態 および試験計画書に従わなかったこと.....	18

Figure

Figure 1	Dose-effect relationship for 2-Ethyl-3-methylpyrazine obtained in the micronucleus assay [male mice receiving two doses]	20
----------	---	----

Tables

Table 1	Mortality in the dose-finding study with 2-Ethyl-3-methylpyrazine [male mice receiving two doses]	21
Table 2	Micronucleus assay with 2-Ethyl-3-methylpyrazine [male mice receiving two doses].....	22

Appendices

Appendix 1	Body weight in the dose-finding study with 2-Ethyl-3-methylpyrazine [male mice receiving two doses]	23
Appendix 2	Clinical observations in the dose-finding study with 2-Ethyl-3-methylpyrazine [male mice receiving two doses].....	24
Appendix 3	Frequency of MNPCE in mice treated with 2-Ethyl-3-methylpyrazine [male mice receiving two doses].....	25
Appendix 4	Body weight in the micronucleus assay with 2-Ethyl-3-methylpyrazine [male mice receiving two doses].....	26
Appendix 5	Clinical observations in the micronucleus assay with 2-Ethyl-3-methylpyrazine [male mice receiving two doses].....	28
Appendix 6	Historical control data (micronucleus assay on BDF ₁ mice)	29

Reference data

Reference data 1	Analysis of contaminants in ALPHA-dri™	30
Reference data 2	Analysis of contaminants in diet.....	33
Reference data 3	Analysis of contaminants in tap water.....	35

1. 要約

2-エチル-3-メチルピラジンの変異原性について、小核多染性赤血球誘発性の有無を検討するため、BDF₁系雄マウスを用いた *in vivo* 小核試験を実施した。

用量設定試験の結果を基に、毒性兆候が認められた用量付近の 300 mg/kg を含む 150 および 75.0 mg/kg の 3 用量を 1 日 1 回、2 日間連続して 1 群当たり 6 匹の雄マウスに強制経口投与し、1 群当たり 5 匹について小核誘発性を検討した。2-エチル-3-メチルピラジン投与群における小核多染性赤血球 (MNPCE) 出現頻度は陰性対照群と同等の値を示し、統計学的に有意な増加は認められなかった。また、観察全赤血球中の多染性赤血球 (PCE) の割合についても明確な減少傾向は認められなかった。

なお、陽性対照マイトマイシン C 腹腔内投与群 (投与量 0.5 mg/kg) においては、全個体とも MNPCE の出現頻度が上昇しており、陰性対照と比較して統計学的に有意 ($p \leq 0.025$) な増加を示した。

したがって、本試験条件下では 2-エチル-3-メチルピラジンはマウス骨髓細胞に対して小核を誘発しないもの (陰性) と判断した。