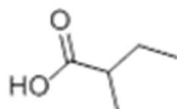


## 2-メチルブチリックアシド

### 基本情報

英名 : 2-Methylbutyric acid  
CAS No. : 116-53-0  
SEQ No. : 1822  
FEMA No : 2695  
JECFA No. : 255  
別名 : Active valeric acid  
Butyric acid, 2-methyl- (6CI,8CI)  
Ethylmethylacetic acid  
2-Methylbutanoic acid  
alpha-Methylbutyric acid  
2-Methylbutyric acid  
Methylethylacetic acid  
化学式 :  $C_5H_{10}O_2$   
分子量 : 102.13  
構造式 :



### 1. 食品添加物名

脂肪酸類 (6 類)

2-メチルブチリックアシド

### 2. 指定年月日

昭和 23 年 7 月 13 日

### 3. 主な用途及び使用基準

#### 1) 主な用途

香料

#### 2) 使用基準

着香の目的以外に使用してはならない。

### 4. 摂取量等に関する情報

使用量 5305.18 kg/年 (平成 27 年度実績) <sup>1)</sup>

推定摂取量 1345.809  $\mu$ g/人/日 (平成 27 年度実績) <sup>1)</sup>

## 5. 安全性試験成績の概要

### 1) 急性毒性試験

ラット経口 LD<sub>50</sub> 1,870 µL/kg<sup>2)</sup> (比重 0.936 から 1,750 mg/kg 相当)

ラット経口 LD<sub>50</sub> 280-2,200 mg/kg<sup>3)</sup>

マウス経口 LD<sub>50</sub> 1,238 mg/kg<sup>3)</sup>

### 2) 90 日間反復投与試験

CrI:CD (SD)ラット (6 週齢、雌雄各 10 匹/群) を用いた 2-メチルブチリックアシドの強制経口投与 (溶媒: コーン油、0、80、250 及び 800 mg/kg 体重/日) による 90 日間反復投与毒性試験が実施された<sup>4)</sup>。

その結果、摂餌量、摂水量、眼科学的検査、尿検査及び肉眼的病理学検査においては、被験物質投与の影響は認められなかった。一般状態では、雌雄の 800 mg/kg 群及び雄の 250 mg/kg 群で投与後に流涎がみられ、投与直後の一過性変化であることから、被験物質の刺激性による変化であると考えられた。体重では、雌の 800 mg/kg 群で、第 6 週以降に体重の低値傾向がみられたことから、被験物質投与の影響であった可能性が考えられた。血液学検査では、PT の有意な延長が雌の 800 mg/kg 群でみられたが、軽微な変動であり、用量との明らかな関連もみられていないこと、APTT 及び血小板数に変化がみられていないことから、毒性学的意義の乏しい変化と判断された。血液生化学検査では、総蛋白の有意な低値が雄の 800 及び 250 mg/kg 群でみられた。また、雌の 800 mg/kg 群では、血液生化学的検査において、BUN 及び Mg の有意な上昇がみられ、腎臓の相対重量の有意な増加もみられた。しかしながら、病理組織学的検査において腎障害を示唆する変化がみられなかったことから、生体への影響としては弱いものであったと判断された。病理組織学的検査において、雌雄の 800 mg/kg 群の胃で境界縁の軽度の過形成が全例 (雄 10/10 例、雌 10/10 例) にみられ、雄の 250 mg/kg 群でも 1/10 例にみられた。2-メチルブチリックアシドは腐食性物質に分類されている。実験動物では、化学物質の経口投与時に、さまざまな刺激に対する反応性の変化として前胃の過形成が認められ、境界縁において好発することが報告されている。さらにラットを用いた急性経口毒性試験において、消化管の運動過剰及び下痢が報告されていることから、本試験でみられた変化は、前胃粘膜への持続的な刺激もしくは直接的な傷害による影響が考えられた。

第 70 日及び第 75 日に雌の 800 mg/kg 群の各 1 例が死亡し、消化管 (胃～盲腸) のガス貯留あるいは胃の拡張が観察された。第 70 日に死亡した個体では、一般状態で深大呼吸がみられていたことから、これらの死亡は、拡張した消化管による呼吸器の圧迫が直接的な原因と考えられた。本試験に先立って実施した 2 週間の用量設定試験においても、雌の 800 mg/kg 群の 1/5 例に、肉眼的病理学検査で食道～盲腸のガス貯留が観察された。ラットでみられる消化管のガス貯留の原因の一つとして、鼻孔の

閉鎖により空気が嚥下されて腸管内に過剰な空気が貯留することが実験的に知られており、第 70 日に死亡した個体において、鼻腔の炎症がみられた。しかしながら、炎症は軽度であり、その他にもガス貯留の原因となる明らかな変化はみられなかった。これらのことから、雌の 800 mg/kg 群でみられた死亡動物の発生には被験物質投与の影響が考えられたものの、死因の詳細は明確とならなかった。

以上、ラットに 2-メチルブチリックアシドを 0、80、250 及び 800 mg/kg 体重/日の用量で 90 日間強制経口投与した結果、雌の 800 mg/kg 群において消化管のガス貯留を原因とした死亡例がみられ、雌雄の 800 mg/kg 群の胃で、境界縁の過形成がみられたこと、血液生化学的検査において雄の 800 及び 250 mg/kg 群で総蛋白の有意な低下がみられたことから、無毒性量 (NOAEL) は、雄は低用量の 80 mg/kg 体重/日、雌は中用量の 250 mg/kg 体重/日と結論した。

### 3) 遺伝毒性試験

ネズミチフス菌 (TA100、TA1535、TA98、TA1537)、及び大腸菌 (WP2 *uvrA*) を用い、プレインキュベーション法により、非代謝活性化及び代謝活性化条件下で復帰突然変異試験が実施された。

本被験物質は、代謝活性化の有無にかかわらずいずれの菌株、いずれの用量段階においても復帰変異コロニー数を用量反応的に増加させず、陰性対照と比較して復帰変異コロニー数の 2 倍以上の増加も示さなかった。被験物質処理の用量あたりの復帰変異コロニー数は、全ての用量において背景データから算出した陰性対照の変動範囲の上限を超えなかった。また、用量設定試験及び本試験において、試験結果に再現性も得られた。一方、陽性対照は、代謝活性化の有無にかかわらず全ての菌株に対して、復帰変異コロニー数を陰性対照の 2 倍以上に増加させた。陰性対照及び陽性対照の平均値は、用量設定試験及び本試験のいずれについても背景データから算出した変動範囲の範囲内であった。また、無菌試験の結果、雑菌の混入がないことが確認された。これらの結果は、試験が適切に実施されたと判断された。

以上の結果より、本試験条件下において本被験物質の遺伝子突然変異誘発性は陰性と判定された<sup>5)</sup>。

2-メチルブチリックアシドの染色体異常誘発性の有無について、チャイニーズ・ハムスター肺由来線維芽細胞株 (CHL/IU 細胞) を用いて、短時間処理法の非代謝活性化、及び代謝活性化の両条件を設けた。また、連続処理法においては、24 時間連続処理を設けた。

細胞増殖抑制試験では、全ての培養系列で 50%を超える細胞増殖抑制は認められなかった。また、全ての培養系列で被験物質の析出が処理開始時に 0.340 mg/mL 以上の用量で認められたが、培養終了時には全ての用量で認められなかった。これらの結果に基づき、短時間処理法の非代謝活性化及び代謝活性化条件下、並びに連続処理法

の 24 時間培養条件下の最高用量を 10 mM (1.021 mg/mL) とし、以下公比 2 で 0.511 及び 0.255 mg/mL の計 3 用量を設定した。その結果、連続処理条件下において、構造異常細胞の出現頻度が用量依存的に増加した。変異原性の強さに関する相対的比較値である  $D_{20}$  値は 2.880 mg/mL と算出された。短時間処理法の非代謝活性化条件下、及び代謝活性化条件下の構造異常細胞の出現頻度及び、各培養条件下の数的異常細胞の出現頻度に陰性対照群と比較して有意な増加は認められなかった。

なお、連続処理条件下の被験物質群の 1 用量で陰性対照群と比較して Fisher の正確確率検定で有意な増加が認められ、かつ Cochran-Armitage の傾向検定で用量依存的な増加が認められた。また、これらの用量はいずれも陰性対照群の背景データの 95%管理限界内又は C 管理図の管理下から外れており、陽性対照群は陰性対照群と比較して有意に増加した。陰性及び陽性対照群における構造異常細胞及び数的異常細胞の出現頻度は、背景データのポアソン分布の 95%管理限界内又は C 管理図の管理下に収まったため実験操作が適切に行われたと判断された。

以上の結果から、当該試験条件下における 2-メチルブチリックアシドの染色体異常誘発性は陽性と判定された (最小  $D_{20}$  値 : 2.880 mg/mL) <sup>5)</sup>。

2-メチルブチリックアシドの生体内での染色体異常誘発性の有無を、マウス (CrI:CD1(ICR)系の雄) を用いる小核試験において検討した。小核試験の用量設定及び性別を設定するために雄雌マウス各 3 匹を割り付け、2-メチルブチリックアシドをオリブ油に混合し 2,000、1,000、500 及び 0 mg/kg (オリブ油) の投与量で、1 日 1 回の 2 日間強制経口投与が実施された。最終投与の翌日まで一般状態観察及び体重測定を実施した結果、雄の 2,000 mg/kg 投与群に立毛及び自発運動の減少が各々 1 例みられた。体重推移については、2-メチルブチリックアシド投与が起因すると思われる体重変動はみられなかった。

したがって本試験では「食品添加物の指定及び使用基準改正に関する指針」及び OECD ガイドラインを参考に、毒性徴候がみられた片性の雄を用いて 2,000 mg/kg を最高投与量とし、以下公比 2 で 1,000 及び 500 mg/kg の用量を設定した。投与回数は、2-メチルブチリックアシド投与群及び陰性対照群とも 24 時間間隔で 2 回投与を実施した。また、陰性対照には媒体のオリブ油を投与し、陽性対照にはマイトマイシン C を用い、1 回投与の 2 mg/kg と設定された。

骨髓細胞塗抹標本 (以下、標本) は、最終投与の投与後 24 時間に採取した骨髓について標本作製が行われた。標本観察では、多染性赤血球 (PCE) を個体あたり 4,000 個観察し、小核を有する多染性赤血球 (MNPCE) を分別し、その出現率を求めた。また、PCE と正染性赤血球 (NCE) を合わせて個体あたり 1,000 個観察し、PCE の割合  $[PCE/(PCE+NCE)]$  を求めた。

本試験の結果、一般状態では、2-メチルブチリックアシド投与の 2,000 mg/kg 群に

立毛及び自発運動の低下がみられ毒性徴候が確認された。体重では、2-メチルブチリクアシド投与に起因すると思われる体重変動は観察されなかった。

標本観察では、いずれの2-メチルブチリクアシド投与群においてもMNPCEの出現率は陰性対照背景データの上限を超えず、出現頻度に関してもKastenbaumとBowmanの判定表に基づく条件付き二項検定において陰性対照群の出現頻度との間に有意差は認められなかった。陽性対照群では、MNPCEの出現率は陰性対照背景データの上限を超え、MNPCEの出現頻度についても陰性対照群との間に有意な差が認められた。また、陰性対照群及び各2-メチルブチリクアシド投与群のMNPCEの出現頻度について、Cochran-Armitageの傾向検定を行い、用量相関関係が無いことを確認した。同時に観察したPCEの割合において、各2-メチルブチリクアシド投与群に有意な差は認められなかった。しかし、陽性対照群のPCEの割合は陰性対照群に対して統計学的に有意な差は認められなかったが、減少傾向が認められた。

以上の結果よりICR系(Crl:CD1)マウスを用いた本試験条件下において、2-メチルブチリクアシドの染色体異常誘発性は陰性であると判定された<sup>6)</sup>。

細菌を用いた復帰突然変異試験、染色体異常試験、並びにin vivo小核試験の結果、2-メチルブチリクアシドには生体にとって遺伝毒性はないと考えられた。

#### 遺伝毒性試験のまとめ

Ames 試験	陰性
染色体異常試験	陽性
in vivo 小核試験	陰性
総合判定	陰性

#### 4) JECFA の評価

JECFAでは、2-メチルブチリクアシドは構造クラスIと判断されており、摂取量はクラスI化合物の許容量である1,800 µg/人/日を下回っている<sup>3,7)</sup>。そのため、香料としての現在の使用においては安全上の懸念はないとしている。

## 6. 検討結果

香料としての現状の使用においては、人の健康影響に対する懸念はないと結論された。

---

### 引用文献

1. 近藤隆彦、香料使用量に関わる調査研究（日本香料工業協会）：平成29年度厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）「食品添加物の安全性確保のための研究」分担研究「香料規格及び食品添加物の摂取量推計に関する研究」
2. RTECS Number : EK7897000

3. JECFA : WHO Food Additive Series 40, 1998
4. 玉野静光：平成27年度指定添加物の安全性に関する試験「2-メチルブチリックアシドに関する90日間反復経口投与毒性試験」、株式会社DIMS医科学研究所、2015
5. 本間正充：平成29年度 指定添加物等の安全性に関する試験報告書、2018年3月30日
6. 本間正充：令和元年度 指定添加物等の安全性に関する試験報告書、2020年3月30日
7. The EFSA Journal (2008) 617, 1-44