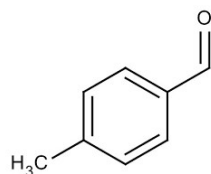


4-メチルベンズアルデヒド

基本情報

英名： 4-Methylbenzaldehyde
CAS No.： 104-87-0
SEQ No.： 2395
FEMA No.： 3068
JECFA No.： 866
別名： Benzaldehyde, 4-methyl-
p-Formyltoluene
p-Methylbenzaldehyde
4-Tolualdehyde
p-Tolualdehyde (8CI)
化学式： C_8H_8O
分子量： 120.16
構造式：



1. 食品添加物名

芳香族アルデヒド類（17類）
4-メチルベンズアルデヒド

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 63.03 kg/年（平成 27 年度実績）¹⁾

推定摂取量 15.989 µg/人/日（平成 27 年度実績）¹⁾

5. 安全性試験成績の概要

1) 急性毒性試験

ラット経口 LD₅₀ 1,600 mg/kg²⁾

マウス経口 LD₅₀ 3,200 mg/kg²⁾

2) 90日間反復投与毒性試験

6週齢の CrI:CD(SD)ラット雌雄各群 10匹を用いて、0、100、300、1,000 mg/kg 体重/日の用量で、強制経口 (溶媒: コーン油) による 4-メチルベンズアルデヒドの 90日間反復投与毒性試験が実施された³⁾。

一般状態観察において、1,000 mg/kg 投与群では雌雄ともに振戦あるいは間代性痙攣が散見され、体重増加抑制及び摂餌量の増加が認められた。尿検査では、1,000 mg/kg 投与群において雌雄ともに尿蛋白の低値、ナトリウム、尿量の高値がみられ、雄では尿 pH の低値が認められた。血液化学的検査では、1,000 mg/kg 投与群において雌雄ともに AST 及び ALP の高値が認められた。臓器重量については、1,000 mg/kg 投与群では雄の相対肝重量、雌の絶対及び相対肝重量の増加が認められた。病理組織学的検査では、1,000 mg/kg 投与群では雌雄ともに顎下腺に顆粒管の分泌顆粒の減少、胃に前胃の過角化 (雄は境界縁の過角化も含む)、腎臓に腎盂粘膜の空胞化、膀胱に尿路上皮の空胞化、坐骨神経に限局性軸索変性、骨格筋に限局性の筋変性、胸骨及び大腿骨に骨梁増加が認められた。1,000 mg/kg 投与群の雄では精巣上体の篩状変化、精子減少、精子肉芽腫が認められた。1,000 mg/kg 投与群の雌の 1例において、病理組織学的検査では、肺の限局性出血、下顎リンパ節と腸間膜リンパ節における血液吸収が認められた。これらの変化は 1例のみに認められた変化であるが、被験物質投与との関連は否定できなかった。

以上の結果から、本試験条件下では雌雄ともに 4-メチルベンズアルデヒドの 1,000 mg/kg 投与群において、一般状態の変化、体重増加抑制、摂餌量増加、尿量増加、尿中ナトリウムの高値、尿蛋白及び尿 pH の低値、AST 及び ALP の高値、肝重量の増加、精巣上体、顎下腺、胃、膀胱、坐骨神経、骨格筋、胸骨ならびに大腿骨における病理組織学的変化が、被験物質投与に関連した変化として認められた。従って、4-メチルベンズアルデヒドの無毒性量は雌雄ともに 300 mg/kg と考えられた³⁾。

離乳した直後の SD 系ラット雌雄各 15匹に 4-メチルベンズアルデヒド (tolualdehyde: ortho, meta 及び para の混合物。それぞれの混合比率は不明) を平均摂取量が雄で 36 mg/kg 体重/日、雌では 43 mg/kg 体重/日となるよう 90日間混餌投与した。体重及び摂餌量では、対照群と被験物質投与群の間に有意差は認められなかった。血液学的検査、血液生化学的検及び尿検査では異常は認められなかった。絶対及び相対臓器重量については対照群と被験物質投与群の間に差はみられず、肉眼

検査及び組織学的検査においても被験物質投与に関連する影響は認められなかった⁴⁾。

CFE ラット雌雄各 15 匹からなる 0、50、250、500 mg/kg 体重/日投与群を設定し、4-メチルベンズアルデヒド(tolualdehyde: meta 及び para の比率はそれぞれ同程度)を 13 週間強制経口投与した。さらに雌雄各 5 匹のラットに 0、250、500 mg/kg 体重/日の用量で 4-メチルベンズアルデヒドを 2 あるいは 6 週間強制経口投与した。体重、摂餌量及び飲水量では、雌の 500 mg/kg 群における体重の有意な低値が 2 週以降に認められた。2、6 及び 13 週時点で他の群の体重に変化はみられなかった。血液学的検査、血液生化学検査及び尿検査については、雄の 500 mg/kg 投与群において 2 週時点で赤血球数及びヘモグロビン値の高値が 6 週時点で赤血球容積の高値が認められた。13 週の剖検では、小腸の絶対及び相対重量の有意な低値が全ての被験物質投与群で、下垂体の相対重量の低値が雌の 500 mg/kg 群で認められた。小腸の平均重量に用量相関性は認められなかった。

追加試験として、雌性 CFE ラット各 30 匹からなる 0、500 mg/kg 体重/日投与群を設定し、4-メチルベンズアルデヒドを 13 週間強制経口投与した。小腸の絶対及び相対重量の検索では、追加試験における対照群と被験物質投与群の間に有意差はなく、また追加試験の対照群と主試験の被験物質投与群の間にも有意差は認められなかった。以上より、主試験の対照群の小腸重量が偶発的に高値であったものと考えられた。また小腸の重量変化に伴う肉眼的及び病理組織学的な変化も認められなかった。

以上の結果から、4-メチルベンズアルデヒドの no-untoward-effect level (無毒性用量に相当すると考えられる) は雄で 500 mg/kg 体重/日、雌で 250 mg/kg 体重/日と考えられた⁵⁾。

3) 遺伝毒性試験

4-メチルベンズアルデヒドの遺伝子突然変異誘発性の有無を調べるため、細菌を用いる復帰突然変異試験を実施した。検定菌として、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存在下で試験が行われた。その結果、代謝活性化の有無に関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関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ことを示す。

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⁶⁾。

4-メチルベンズアルデヒ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条件下、及び代謝活性化条件下、並びに連続処理法の 24 時間培養条件下で検討した。純度 90~100%の 4-メチルベンズアルデヒド 600.6 及び 200.3 mg に DMSO を適量加えて溶解させた後、それぞれ 10 mL に定容して最高用量液を調製した（純度換算無し）。細胞増殖抑制試験から全ての培養条件下で 50%を超える細胞増殖抑制が認められ、50%細胞増殖抑制濃度（IC₅₀）は、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でそれぞれ 0.480、及び 0.500 mg/mL、連続処理法の 24 時間培養条件下で 0.150 mg/mL であった。また、被験物質の析出は全ての培養系列で処理開始時に 0.401 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条件下、及び代謝活性化条件下では最高用量を 0.600 mg/mL とし、以下公比 2 で 0.300、0.150 及び 0.075 mg/mL の計 4 用量を設定した。連続処理法の 24 時間培養条件下では最高用量を 0.200 mg/mL とし、以下公比 2 で 0.100、0.050 及び 0.025 mg/mL の計 4 用量を設定した。

その結果、短時間処理法の非代謝活性化条件下、及び連続処理法の 24 時間培養条件下において、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 D₂₀ 値は短時間処理法の非代謝活性化条件下で 3.680 mg/mL、連続処理法の 24 時間培養条件下で 1.380 mg/mL と算出された。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。各陽性対照群では、構造異常細胞の出現頻度に顕著な増加が認められた。

なお、短時間処理法の非代謝活性化条件下の被験物質群の 1 用量及び連続処理法の 24 時間培養条件下の 1 用量で構造異常細胞の出現頻度に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それぞれ認められ、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 4-メチルベンズアルデヒドの染色体異常誘発性は陽性と判定された（最小 D₂₀ 値：1.380 mg/mL）⁶⁾。

4-メチルベンズアルデヒ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。被験物質は純度 98.5%、

溶媒はオリブ油（溶解）とし、純度換算は行わなかった。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、4-メチルベンズアルデヒ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 日間強制経口投与を行い、最終投与の翌日まで一般状態の観察及び体重測定を実施した。結果、死亡例が 2,000 mg/kg 投与群の雄雌で各々 3 例、1000 mg/kg 投与群の雌で 1 例にみられた。一般状態では 1,000 mg/kg 投与群の雄で立毛が 1 例、雌では自発運動の低下が 2 例みられた。体重推移では、1,000 mg/kg 投与群の雄 1 例に減少がみられた。したがって、本試験では 1,000 mg/kg 投与群の雌で死亡例が 1 例みられたものの、雄では体重の減少が 1 例みられたこと、死亡例以外の一般状態では雄雌ともに各々数例に毒性徴候がみられたが継続した症状では無かったことから、「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、片性の雄を用いて 1,000 mg/kg を最高投与量とし、以下公比 2 で 500 及び 250 mg/kg を設定した。投与回数は、4-メチルベンズアルデヒ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 を設定した。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 4000 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 と正常性赤血球（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、4-メチルベンズアルデヒド投与の 1,000 mg/kg 群に立毛及び自発運動の低下が、500 mg/kg 投与群に立毛が観察され毒性徴候がみられた。体重では、各群の平均値の体重推移に大きな変化はみられなかった。標本観察では、いずれの 4-メチルベンズアルデヒ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 4-メチルベンズアルデヒド投与群の 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 4-メチルベンズアルデヒ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減少が認められた。

以上の結果より ICR 系(CrI:CD1)マウスを用いた本試験条件下において、4-メチルベンズアルデヒドの染色体異常誘発性は陰性であると判定された⁷⁾。

細菌を用いた復帰突然変異試験は陰性、染色体異常試験は陽性であるが、*in vivo* 小核試験は陰性であり、従って 4-メチルベンズアルデヒドには生体にとって遺伝毒性は無いと考えられた。

遺伝毒性試験のまとめ

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

4) JECFA の評価

JECFA では、4-メチルベンズアルデヒドは、オルト-、パラ-、メタ-異性体の混合物トルアルデヒド (CAS No. 1334-78-7) として評価されている。

トルアルデヒドは構造クラス I と判断されており、推定摂取量は、欧州においては 260 µg/人/日、米国においては 1,100 µg/人/日と、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。そのため、現在の使用においては安全上の懸念はないとしている^{8,9)}。

6. 検討結果

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

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 : CU7034500
3. 株式会社化合物安全性研究所 : 4-メチルベンズアルデヒドのラットにおける90日間反復経口投与毒性試験、2018年
4. Oser BL, Carson S, and Oser M. Toxicological tests on flavouring matters. Food Cosmet Toxicol, 1965: 3; 563-569.
5. Brantom PG, Gaunt IF, Grasso P, and Lansdown ABG, Short-term Toxicity of Tolualdehyde in Rats. Food Cosmet Toxicol, 1972: 10; 637-647.
6. 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
7. 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

8. JECFA : WHO Technical Report Series 909, Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants, 2002
9. JECFA : WHO Food Additives Series 48, Safety Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants, Benzyl Derivatives, 2001