n－ヘキサデカン（CAS No.544763）のラットにおける
単 回 経 口 投 与 毒 性 試 験

# 最 終 報 告 書

株式会社日本バイオリサーチセンター
羽島研究所

NBR－1

# 目　　次

頁

要　約 …… 1

緒　言 …… 2

試験材料および試験方法

1．被験物質および媒体 …… 2

2．投与検体および濃度確認 …… 2

3．使用動物および飼育条件 …… 2

4．投与経路、投与方法、群構成および投与量 …… 4

5．観察および検査項目 …… 4

6．統計学的方法 …… 5

試験成績および考察

1．一般状態および死亡状況 …… 5

2．体重推移 …… 6

3．剖検所見 …… 6

Table (1～3) …… 8

Fig.(1～2) …… 11

# 要　　約

n-ヘキサデカン（CAS No.544763）を雌雄ラットに1回経口投与し、その毒性について検討した。投与量はOECDテストガイドラインにより限界用量とされている2000mg/kgを高用量とし、以下1000および500mg/kgとした。対照として、媒体のコーンオイル投与群を設けた。

1．一般状態および死亡状況：死亡例はなく、異常症状は観察されなかった。

2．体重推移：各投与群とも対照群とほぼ同様の推移を示した。

3．剖検所見：いずれの例とも著変はみられなかった。

以上により、n-ヘキサデカンの$LD_{50}$値は2000mg/kg以上と考えられた。

## 緒　　言

n-ヘキサデカン（CAS No.544763）が人に摂取された場合の健康への影響を推定するため、n-ヘキサデカンを雌雄ラットに１回経口投与し、その毒性について検討した。

## 試験材料および試験方法

### １．被験物質および媒体

被験物質であるn-ヘキサデカン（CAS No.544763）は、凝固点18.3℃、沸点287℃、比重0.7750の無色透明な液体である。当試験には、平成３年７月17日に
から提供されたものを用いた［Lot No.
純度99.80%（ガスクロ法）］。入手後は少量ずつ分割し、遮光・気密条件下で試験施設の被験物質保管室の保管庫に室温で保管した。なお、投与終了後に残余被験物質の一部を販売源に送付して分析した結果、純度は99.9%であり、保管期間中の安定性が確認された。

媒体として、コーンオイルを用いた。コーンオイルは平成３年６月14日に購入し（Lot No.6144、片山化学工業株式会社）、入手後は試験施設の被験物質保管室の保管庫に室温で保管した。

### ２．投与検体および濃度確認

被験物質を秤取し、コーンオイルに溶解して必要濃度の投与検体を用時調製した。なお、被験物質は純度換算しないで、投与量は原体重量で表示した。投与後の残余検体は廃棄した。

投与日に、調製した各投与検体液の一部を冷却下で財団法人日本食品分析センター名古屋支所に送付し、ガスクロマトグラフィーにより被験物質濃度を測定した。その結果、表示濃度の97.6～101%であり、濃度に問題はなかった（Attached table 1）。

### ３．使用動物および飼育条件

（1）動物種、系統

試験には、毒性試験に一般的に用いられている動物種で、その系統維持が明らかであり、

集積データも揃っているSprague-Dawley系雌雄ラット〔Crj:CD(SD)〕を用いた。動物は、平成３年９月４日に日本チャールス・リバー株式会社から４週齢で雌雄各42匹ずつを購入した。入手後２日の体重範囲は、雄が90～101g、雌が85～98gであった。

(2) 検疫および馴化、群分け法ならびに個体識別法

入手した動物は、５日間の検疫期間およびその後３日間の馴化期間を設けた。この間に、３回の体重測定および毎日一般状態の観察を行って検疫・馴化とし、一般状態および体重推移に異常の認められない動物を群分けに用いた。

群分けは、コンピュータを用いて体重を層別に分けた後に、無作為抽出法により各群の平均体重および分散がほぼ等しくなるように投与日に行った。なお、動物の体重の変動幅は平均体重から±20%を越えないことを確認した。群分け後の残余動物は、投与日にエーテルで麻酔致死させた後に廃棄処分した。

動物は、検疫・馴化期間中は動物入手日に油性インクおよび色素による染毛法により、群分け後は色素による染毛法および耳パンチ法を併用して識別した。さらに、検疫・馴化期間中の各ケージには試験番号、入手年月日、性別および馴化動物番号を記入したラベルを、群分け後の各ケージには試験番号、投与量および動物番号を記入し、群ごとに色分けしたラベルを取り付けた。

(3) 環境条件および飼育管理

動物は、室温20～24℃、湿度40～70%、明暗各12時間（蛍光灯による照明：午前６時～午後６時）、換気回数12回／時（フィルターにより除菌した新鮮空気）に設定した飼育室（Ｃ棟６号室）で飼育した。

検疫・馴化期間中および絶食期間中はステンレス製懸垂式ケージ（W:240xD:380xH:200mm）を用いて１ケージあたり５匹までの群飼育とし、群分け後はステンレス製五連ケージ（W:755xD:210xH:170mm）を用いて個別飼育した。ケージの受け皿および給水瓶の交換は１週間に２回以上、ケージおよび給餌器の交換は２週間に１回以上行った。なお、動物飼育室の清掃（床の拭き掃除）および500倍希釈次亜塩素酸ナトリウム水溶液での床のモップ拭きによる消毒は毎日行った。

(4) 飼料および飲料水

飼料は、入手後３カ月以内の固型飼料（CRF-1、オリエンタル酵母工業株式会社）を給餌器に入れ、自由に摂取させた。ただし、投与前日の夕刻（午後３時45分）から投与までの約18時間と、投与後約６時間まで絶食させ、その後に飼料を与えた。使用した飼料中の微量金属および汚染物質の分析結果は、財団法人日本食品分析センターで実施した成績を、オリエンタル酵母工業株式会社から入手した。

飲料水は、水道水を給水瓶を用いて自由に摂取させた。ただし、群分け時から投与後約６時間までは絶水させ、その後に飲料水を与えた。飲料水の水質検査結果は、ほぼ３カ月ごとに財団法人岐阜県公衆衛生検査センターで実施した成績を入手した。

飼料および飲料水の検査の結果、いずれも検査結果は試験施設で定めた基準値の範囲内

であり、問題はないと思われた。

## 4．投与経路、投与方法、群構成および投与量

### (1) 投与経路および投与方法

n-ヘキサデカンは、経口的に人に摂取される可能性が考えられるため、投与経路として経口投与を選択した。

投与に際しては、金属製経口胃ゾンデを取り付けたプラスチック製ディスポーザブル注射筒を用いて、強制経口投与した。投与液量は、投与直前に測定した体重を基準として10 ml/kgで算出した。投与時刻は午前10時13分～10時29分の間で、投与回数は１回とした。

投与開始時の体重範囲は、雄が128～132g、雌が112～118gであった。

### (2) 群構成および投与量

群構成は、以下の如くとした。

| 群 | 試験群 | 投与量 （濃度） | 雄（動物番号） | 雌（動物番号） |
|---|---|---|---|---|
| 第１群 | 対照（ｺｰﾝｵｲﾙ） | 0mg/kg ( 0%) | 5 (001～005) | 5 (051～055) |
| 第２群 | n-ﾍｷｻﾃﾞｶﾝ | 500mg/kg ( 5%) | 5 (101～105) | 5 (151～155) |
| 第３群 | n-ﾍｷｻﾃﾞｶﾝ | 1000mg/kg (10%) | 5 (201～205) | 5 (251～255) |
| 第４群 | n-ﾍｷｻﾃﾞｶﾝ | 2000mg/kg (20%) | 5 (301～305) | 5 (351～355) |

投与量設定の理由：雄ラットを用いた予備試験の結果、OECDテストガイドラインで限界用量とされている2000mg/kgでも死亡例はみられなかった。したがって、当試験では2000 mg/kgを最高用量とし、以下公比２により1000および500mg/kg群を設定した。なお、対照として被験物質と同一液量の媒体（コーンオイル）を投与する群を設けた。

## 5．観察および検査項目

### (1) 観察期間

観察期間は、投与後14日間とした。

### (2) 一般状態

投与日は投与前および投与後６時間（投与後30分まで、投与後2、4および６時間）まで、投与翌日からの観察期間中は１日１回、一般状態および死亡の有無を観察した。

### (3) 体重測定

投与日（投与直前）および投与後1、3、7、10および14日の午前中に測定した。

(4) 剖　検

動物は観察期間終了時にエーテル麻酔下で腹大動脈から放血致死させた後に剖検し、所見を記録した。

## 6．統計学的方法

(1) $LD_{50}$値は、概略の範囲を推定した。

(2) 体重は、各群で平均値および標準偏差を算出した。

有意差検定は対照群と被験物質投与各群の間で多重比較検定を用いて行い、危険率5%未満を有意とし、5%未満（$p<0.05$）と1%未満（$p<0.01$）とに分けて表示した。すなわち、Bartlett法による等分散性の検定を行い、等分散の場合には一元配置法による分散分析を行い、有意ならば対照群との群間比較をDunnett法により行った。一方、等分散と認められなかった場合は順位を利用した一元配置法による分析（Kruskal-Wallisの検定）を行い、有意ならば対照群との群間比較は順位を利用したDunnett法を用いて行った。

# 試験成績および考察

## 1．一般状態および死亡状況

観察期間を通じて、いずれの例とも異常症状はみられなかった。雌雄とも、高用量の2000mg/kg群でも死亡発現はなかった（Table 1）。

## ２．体重推移

体重推移をTable 2、3およびFig.1、2に示した（Appendix:1-1～1-4、2-1～2-4）。
雌雄の各投与群とも対照群とほぼ同様の推移を示し、有意差は認められなかった。

## ３．剖検所見

雌雄各群とも、剖検で著変はみられなかった。

以上の如く、n-ヘキサデカンはガイドラインで限界用量とされている2000mg/kgの投与によっても死亡発現はなく、一般状態の観察でも異常症状はみられなかった。また、体重推移に変動はなく、剖検でも著変はみられなかった。
したがって、n-ヘキサデカンの$LD_{50}$値は2000mg/kg以上と考えられた。

Table 1 Mortality and $LD_{50}$ value of rats treated orally with n-Hexadecane in single dose toxicity study

| Sex | Group | No. | Hours after administration | | | | Days after administration | | | | | | | | | | | | | | Total No. of death | $LD_{50}$ (mg/kg) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | 0.5 | 2 | 4 | 6 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | | |
| male | Control | 5 | 0[a] | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2000< |
| | n-Hexadecane 500 mg/kg | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | n-Hexadecane 1000 mg/kg | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | n-Hexadecane 2000 mg/kg | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| female | Control | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2000< |
| | n-Hexadecane 500 mg/kg | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | n-Hexadecane 1000 mg/kg | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | n-Hexadecane 2000 mg/kg | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |

a) No. of death

Table 2 Body weight of male rats treated orally with n-Hexadecane in single dose toxicity study

| Group | Control | n-Hexadecane | | |
|---|---|---|---|---|
| Dose(mg/kg) | 0 | 500 | 1000 | 2000 |
| Number of males | 5 | 5 | 5 | 5 |
| Days after administration Day 0 | 130.2 ± 1.3 | 130.0 ± 1.2 | 130.0 ± 1.6 | 130.2 ± 1.3 |
| 1 | 143.4 ± 5.2 | 142.8 ± 3.6 | 142.8 ± 4.5 | 145.6 ± 1.5 |
| 3 | 166.2 ± 5.6 | 168.0 ± 3.1 | 168.2 ± 3.8 | 169.6 ± 3.0 |
| 7 | 202.0 ± 5.0 | 205.8 ± 6.8 | 206.8 ± 5.4 | 205.0 ± 4.4 |
| 10 | 223.4 ± 11.2 | 233.2 ± 6.7 | 233.6 ± 2.5 | 232.8 ± 6.1 |
| 14 | 261.6 ± 6.0 | 273.4 ± 8.0 | 272.2 ± 5.3 | 266.6 ± 8.5 |

Each value shows mean(g)±S.D..

Table 3 Body weight of female rats treated orally with n-Hexadecane in single dose toxicity study

| Group | Control | n-Hexadecane | | |
|---|---|---|---|---|
| Dose(mg/kg) | 0 | 500 | 1000 | 2000 |
| Number of females | 5 | 5 | 5 | 5 |
| Days after administration Day 0 | 114.8 ± 1.6 | 114.6 ± 2.1 | 115.0 ± 2.0 | 114.6 ± 1.9 |
| 1 | 131.0 ± 2.1 | 132.6 ± 3.2 | 130.4 ± 1.7 | 130.4 ± 3.4 |
| 3 | 147.8 ± 3.1 | 148.4 ± 4.5 | 147.6 ± 4.2 | 143.0 ± 5.8 |
| 7 | 164.8 ± 8.9 | 163.4 ± 7.4 | 165.8 ± 6.3 | 159.0 ± 9.1 |
| 10 | 177.8 ± 8.7 | 171.4 ± 6.9 | 177.4 ± 7.5 | 170.4 ± 9.8 |
| 14 | 192.0 ± 11.5 | 185.2 ± 6.3 | 191.6 ± 8.6 | 182.0 ± 11.4 |

Each value shows mean(g)±S.D..

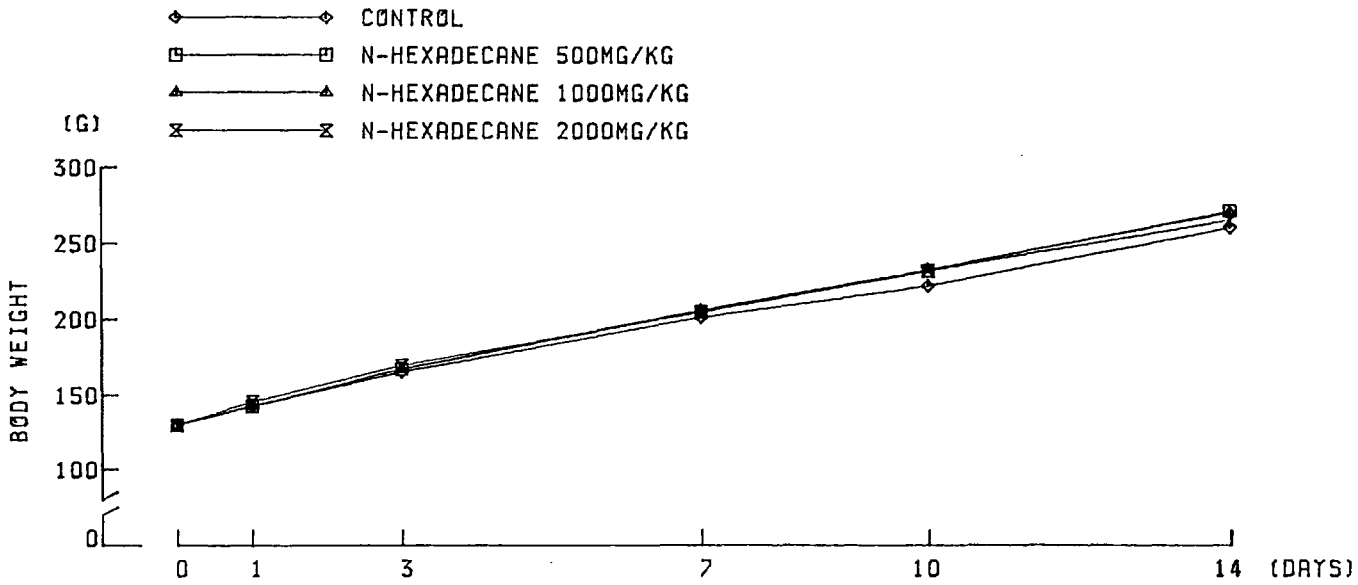


Fig. 1 Body weight of male rats treated orally with n-Hexadecane in single dose toxicity study

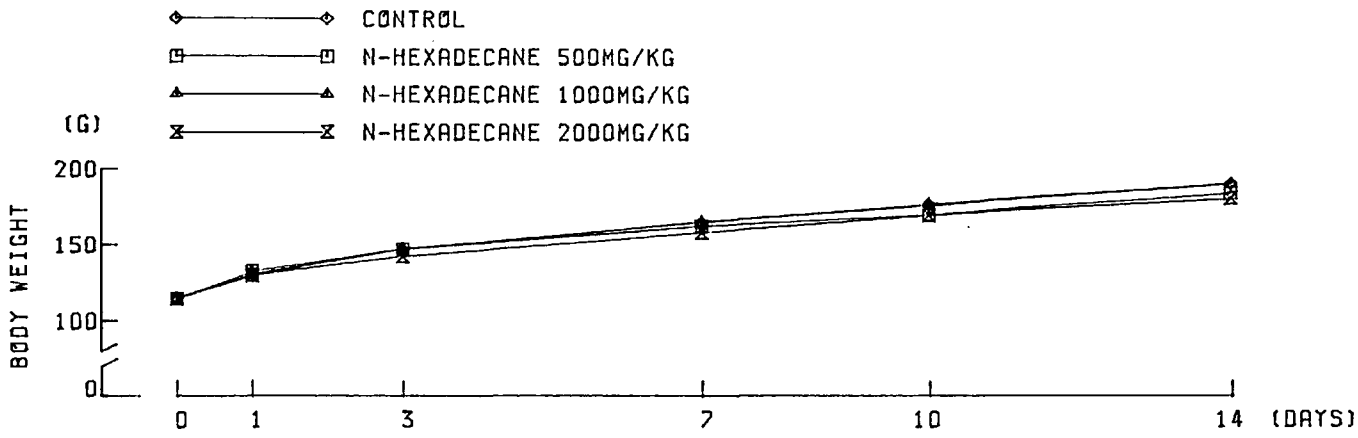


Fig. 2 Body weight of female rats treated orally with n-Hexadecane in single dose toxicity study