

最終報告書

2-ヒドロキシベンズアルデヒドのラットを用いる急性毒性試験

(試験番号：04-204)

財団法人 畜産生物科学安全研究所

陳述書

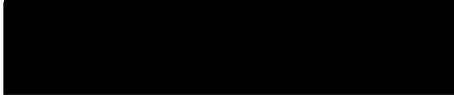
試験の表題

2-ヒドロキシベンズアルデヒドのラットを用いる急性毒性試験
(試験番号：04-204)

本試験は、OECDの毒性試験法ガイドライン“OECD GUIDELINE FOR TESTING OF CHEMICALS, 423, Acute Oral Toxicity-Acute Toxic Class Method(2001)”並びに化審法のGLP「新規化学物質に係る試験を実施する試験施設に関する基準について」（平成15年11月21日付け薬食発第1121003号厚生労働省医薬食品局長，平成15・11・17製局第3号経済産業省製造産業局長，環保企発第031121004号環境省総合環境政策局長 連名通知）に定める基準に準拠して実施した。

試験責任者

財団法人 畜産生物科学安全研究所
安全性研究部 主任研究員



平成18年12月28日

試験の表題 2-ヒドロキシベンズアルデヒドのラットを用いる急性毒性試験
(試験番号：04-204)

試験委託者
名 称 厚生労働省大臣官房会計課
所 在 地 東京都千代田区霞が関 1-2-2

試験実施施設
名 称 財団法人 畜産生物学安全研究所
所 在 地 神奈川県相模原市橋本台 3-7-11
運営管理者 専務理事
試験責任者 安全性研究部 主任研究員
信頼性保証責任者 信頼性保証室 主任研究員

試験期間
試験開始 平成 17 年 1 月 19 日 (試験計画書承認)
動物搬入 平成 17 年 1 月 27 日
実験開始 平成 17 年 2 月 1 日 (ステップ 1 の投与日)
実験終了 平成 17 年 2 月 16 日 (ステップ 2 の解剖日)
試験終了 平成 18 年 12 月 28 日 (最終報告書作成)

試験成績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からの逸脱
本試験に関し、予見することのできなかつ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からの逸脱はなかつた。

資料の保管

次に示す本試験に関する一連の関係資料は、試験終了後 10 年間、財団法人 畜産生物科学安全研究所において保管する。その後の保管については、試験委託者と協議して決定する。

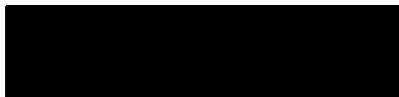
1. 試験計画書
2. 被験物質に関する記録
3. 供試動物に関する記録
4. 試験結果に関する記録（一般状態，体重，剖検などの生データ）
5. 信頼性保証に関する記録
6. 最終報告書

試験責任者，担当者および業務分担

試験責任者

安全性研究部 主任研究員

氏名



平成 18 年 12 月 28 日

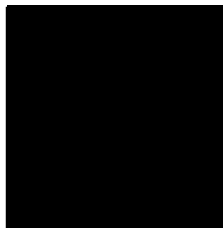
試験担当者

投与液調製

投 与

観 察

剖 検



信頼性保証証明書

試験表題 : 2-ヒドロキシベンズアルデヒドのラットを用いる急性毒性試験

試験番号 : 04-204

<u>審査・査察実施日</u>	<u>試験責任者への報告日</u>	<u>運営管理者への報告日</u>
1. 試験計画書審査 平成17年01月19日	平成17年01月19日	平成17年01月19日
2. 試験実施状況査察		
動物導入 平成17年01月27日	平成17年01月27日	平成17年01月27日
検 疫 平成17年01月28日	平成17年01月28日	平成17年01月28日
群分け・個体識別 平成17年01月31日	平成17年01月31日	平成17年01月31日
被験物質調製・体重測定・投与・症状観察 平成17年02月01日	平成17年02月01日	平成17年02月01日
解 剖 平成17年02月15日	平成17年02月15日	平成17年02月15日
3. 生データ査察 平成17年03月17日	平成17年03月17日	平成17年03月17日
4. 報告書(草案)審査 平成17年03月17日	平成17年03月17日	平成17年03月17日
5. 最終報告書審査 平成18年12月28日	平成18年12月28日	平成18年12月28日

上記の審査・査察により、本試験が「化審法 GLP」に従って実施され、本報告書には、当該試験で使用した方法・手順が忠実に記載され、試験成績には、当該試験の実施過程において得られた生データが正確に反映されていることを確認した。

平成 18 年 12 月 28 日
財団法人 畜産生物科学安全研究所

信頼性保証責任者

目次

要約	1
目的	2
材料および方法	2
結果	5
考察	6
文献	7

添付資料

群別平均表

Table 1	死亡率	8
Table 2	一般状態	9
Table 3	体重	10
Table 4	剖検	11

個体別表等

Appendix 1	被験物質の特性	12
Appendix 2	被験物質の安定性	13
Appendix 3	動物室の温度・相対湿度	14
Appendix 4	飼料中汚染物質の分析結果	15
Appendix 5	飲料水水質検査の結果	17
Appendix 6	一般状態	18
Appendix 7	体重	19
Appendix 8	剖検	20
Appendix 9	急性毒性試験の流れ	21

要 約

2-ヒドロキシベンズアルデヒドはバラ科シモツチソウ類の花，タバコの葉，天然食品の匂いの成分としても含まれ，石鹼，香料にも利用されている化学物質である¹⁾。本物質の経口毒性について，ラットの反復投与毒性および生殖発生毒性についてはすでに検討され，報告²⁾されている。

今回，2-ヒドロキシベンズアルデヒドの急性毒性について，SD系[Crj:CD(SD)IGS]雌ラットを1群3匹として用い，固定用量を死亡状況を確認しながら段階的に単回経口投与する逐次法により検討した。

ステップ1として300mg/kgを投与した結果，死亡は認められなかった。ステップ2として，再度300mg/kgを投与したが，死亡は認められなかった。そこで，ステップ3では用量を上げて2000mg/kgを投与した結果，3匹中3匹の死亡が認められた。

300mg/kgでは，一過性の軟便が認められたが，体重は順調な増加を示した。観察期間終了時の剖検において，内部諸器官の肉眼的変化は認められなかった。

2000mg/kgでは，自発運動の低下，深大呼吸，下痢および下腹部の汚れが認められ，3匹中3匹が投与後24時間以内に死亡した。剖検では，内部諸器官の肉眼的変化は認められなかった。

以上の結果より，2-ヒドロキシベンズアルデヒドのラット経口投与における概ねの致死量は500mg/kgと推定され，化学物質危険度分類(GHS)ではカテゴリー4に分類された。

換気回数 10 回以上/時（オールフレッシュエアー方式），照明 12 時間/日（午前 7 時点灯，午後 7 時消灯）に設定されたバリアーシステム動物室（第 4 室）で，ステンレス製金網ケージ（260W×380D×180Hmm）に，3 匹ずつ収容して飼育した。飼料（固型飼料ラボMRストック，日本農産工業株式会社，Lot.No. 041158-2）と飲料水（孔径 1 μ m のカートリッジフィルターで濾過後紫外線照射した殺菌水道水）は，自由に摂取させた。給水には自動給水装置を用いた。

なお，動物の飼育期間中，動物室の温度は 21.0～22.2℃，湿度は 55～58%の範囲で推移（Appendix 3）し，また飼料および飲料水の汚染物質の分析値（Appendices 4&5）は，当研究所が定めた基準値以下であることが確認された。従って，動物の飼育期間を通じて，試験成績の信頼性に影響を及ぼすと思われる環境要因の変化はなかったものと判断された。

3. 投与用量および投与方法

投与用量は，OECD の試験法ガイドライン 423（急性毒性等級法）の別表（Appendix 9 参照）に従って，5，50，300 あるいは 2000mg/kg の固定量とし，逐次法により各ステップごとに死亡状況を確認しながら，概略の致死量が推定できるまで，ステップ 1 とステップ 2 は 1 日間隔，ステップ 2 とステップ 3 は 2 日間隔で，段階的に投与を行なった。本物質の致死量に関する既存情報として，ラットへの急性経口投与による LD₅₀ 値は 520mg/kg との報告¹⁾があり，致死量は 300mg/kg 以上と推定されたため，ステップ 1 の用量は 300mg/kg とした。

投与方法は，テフロン製胃ゾンデを用い，動物の胃内に単回投与した。なお，動物は各ステップ毎に，投与前日の午後 5 時から投与後 3 時間まで除餌し，飲料水のみを自由に摂取させた。投与は，午前中（ステップ 1 で 9:51～9:52，ステップ 2 で 9:28～9:29，ステップ 3 では 9:26～9:27）に実施した。

4. 投与液の調製

本被験物質は，水に難溶であるが食物油で均一な懸濁液となることから，投与液は局方オリーブ油（宮澤薬品株式会社，ロット番号 LA20）を媒体とし，所定の濃度（300mg/kg 群:3w/v%，2000mg/kg 群:20w/v%）になるような懸濁液に調製した。投与液の調製は投与直前に行い，褐色ガラス瓶に入れた。投与液量は，体重 1kg 当た

り 10mL とし、各個体の投与液量は投与直前の体重より算出した。

5. 観察事項

観察期間は投与後 14 日間とし、一般状態の観察および生死の確認は、観察 1 日（投与日）においては、投与後 1 時間までは継続して、その後は概ね投与後 2, 4 および 6 時間に観察した。観察 2 日は午前、午後の各 1 回、観察 3 日以降は午前中に 1 回行なった。体重は、観察 1（投与直前）、4, 8 および 15 日に測定した。剖検は、死亡動物は発見後速やかに、生存動物は観察 15 日の観察終了後にエーテル麻酔により安楽死させ、内部器官を肉眼的に観察した。

6. 致死量の推定および化学物質危険度分類

OECD の試験法ガイドライン 423（急性毒性等級法）の別表（Appendix 9 参照）に従って、各ステップでの死亡率から概略の致死量を推定し、化学物質危険度分類の万国共通分類法 [Globally Harmonized Classification System for Chemical Substances and Mixtures (GHS)] に従って、毒性の最も強いカテゴリー 1 から最も弱いカテゴリー 5 のいずれかに分類した。

結 果

1. 死亡率 (Table 1)

ステップ 1 として 300mg/kg を投与したが、死亡は認められなかった。確認のため、ステップ 2 として再度 300mg/kg を投与したが、死亡は認められなかった。そこで、ステップ 3 として 2000mg/kg を投与した結果、3 匹中 3 匹の死亡が認められた。以上の結果から、毒性の強さは、化学物質危険度分類 (GHS) における 300～2000mg/kg の範囲を示すカテゴリ 4 に分類され、概ねの致死量は 500mg/kg と推定された。

2. 一般状態 (Table 2, Appendix 6)

300mg/kg において、投与後 2 時間頃に一過性の軟便が 6 匹中 1 匹に認められた。2000mg/kg においては、投与 30 分以内から自発運動の低下が、その後、深大呼吸、下痢および下腹部の汚れが認められ、全例が投与後 24 時間以内に死亡した。

3. 体重推移 (Table 3, Appendix 7)

300mg/kg において、順調な体重増加を示した。

4. 剖検 (Table 4, Appendix 8)

300mg/kg において、観察期間終了時の剖検で内部諸器官の肉眼的変化は認められなかった。

死亡した 2000mg/kg においても、内部諸器官の肉眼的変化は認められなかった。

考 察

2-ヒドロキシベンズアルデヒドを雌ラットに、ステップ 1 として 300mg/kg を単回経口投与したが死亡は認められず、ステップ 2 として再度 300mg/kg を投与したが、死亡は認められなかった。そこで、ステップ 3 として 2000mg/kg を投与したところ、3 匹中 3 匹が死亡した。

300mg/kg では、一過性の軟便の例が認められたのみで、体重は順調な増加を示し、観察期間終了時の剖検において、内部諸器官の肉眼的変化は認められなかった。

2000mg/kg では、自発運動の低下、深大呼吸、下痢および下腹部の汚れが認められ、全例が投与後 24 時間以内に死亡した。剖検では、内部諸器官の肉眼的変化は認められなかった。

以上の結果により、2-ヒドロキシベンズアルデヒドのラット経口投与における概ねの致死量は 500mg/kg と推定され、化学物質危険度分類（GHS）ではカテゴリー 4 に分類された。

文 献

- 1) D. L. J. Opdyke. *Fd Cosmet. Toxicol.*, 17, 903-905, 1979.
- 2) XXXXXXXXXX 毒性試験報告, 4, 153-164, 1996

Table 1 Mortality of female rats treated with benzaldehyde, 2-hydroxy- in the single dose oral toxicity test

Step	Dose (mg/kg)	Number of animals treated	Number of animals that died								Mortality	Category (GHS)	LD ₅₀ (mg/kg)		
			1	2	3	4	5	6	7	8~15(days)					
1	300	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 ^a /3 ^b		
2	300	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/3	4	500
3	2000	3	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	3/3		

a : Number of animals that died; b : Number of animals treated

Table 2 Clinical signs of female rats treated with benzaldehyde, 2-hydroxy- in the single dose oral toxicity test

Step	Dose (mg/kg)	Findings	Grade					
			~0.5	~1	~2	~4	~6(hrs)	4~15(days)
1	300	Number of animals examined	3	3	3	3	3	3
		Signs	0	0	0	0	0	0
2	300	Number of animals examined	3	3	3	3	3	3
		Soft stool	0	0	1	0	0	0
3	2000	Number of animals examined	3	3	3	2	1	0
		Decreased locomotor activity	1	1	2	1	0	
		Deep respiration	0	1	1	0	0	
		Diarrhea	0	1	1	0	0	
		Soiled perineal region	0	2	1	0	0	
			0	0	1	2	1	

Grade, 1 : Slight; 2 : Moderate

Table 3 Body weights of female rats treated with benzaldehyde, 2-hydroxy- in the single dose oral toxicity test

Step	Dose (mg/kg)	Number of animals treated	Body weight (g)			
			1	4	8	15 (days)
1	300	3	225 ± 6 (3)	256 ± 6 (3)	263 ± 10 (3)	266 ± 18 (3)
2	300	3	223 ± 8 (3)	254 ± 15 (3)	263 ± 15 (3)	276 ± 24 (3)
3	2000	3	225 ± 6 (3)	(0)	(0)	(0)

Values represent mean body weight ± S.D. (number of animals examined)

Table 4 Incidence of necropsy findings of female rats treated with benzaldehyde, 2-hydroxy-
in the single dose oral toxicity test

Step	Dose (mg/kg)	Findings	Grade	Fate	
				Terminal kill	Found dead
1	300	Number of animals examined		3	0
		No abnormalities detected		3	
2	300	Number of animals examined		3	0
		No abnormalities detected		3	
3	2000	Number of animals examined		0	3
		No abnormalities detected			3

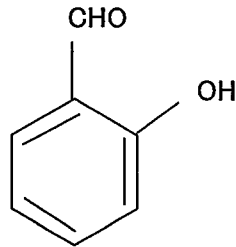
Appendix 1 Test Article Characterization

名 称 : 2-ヒドロキシベンズアルデヒド
Benzaldehyde, 2-hydroxy-
別 称 : サルチルアルデヒド
CAS 番号 : 90-02-8
ロット番号 : FHJ01
純 度 : 99.9% (GC 法)
入 手 元 :

製造の試薬を購入

入 手 日 : 平成 16 年 12 月 17 日
入 手 量 : 50g (25g×2)
物 性 等

分子式 : $C_7H_6O_2$
構造式 :



分子量 : 122.12
融点 : $-7^{\circ}C$
沸点 : $196\sim 197^{\circ}C$
性状 (室温) : 無色～淡黄色透明液体 (油状)
溶解性 : 油溶性 (水に難溶, エタノール, エーテル, 酢酸に易溶)
保管条件 : 冷暗所 ($2\sim 6^{\circ}C$), 密栓

Appendix 2 Test Article Stability

試験期間中の被験物質の安定性を確認するため、試験に用いた2-ヒドロキシベンズアルデヒド（ロット番号 FHJ01）を試験開始前および投与終了後に分析した。分析は東京化成工業株式会社に委託して実施した。

	2-ヒドロキシベンズアルデヒド 分析値 (GC 法)
試験開始前 (試薬購入時)	99.9%
投与終了後 (平成 17 年 2 月 19 日分析)	99.8%

以上の結果より、2-ヒドロキシベンズアルデヒドは試験期間中安定であったことが確認された。

Appendix 3 Temperature and relative humidity in the animal room

動物室（第4室）の温度・湿度測定結果（設定：温度； $22 \pm 3^\circ\text{C}$ 相対湿度； $55 \pm 10\%$ ）

	日付	測定温度 ($^\circ\text{C}$)	測定湿度 (%)	備考
2005年1月	27日	21.7 - 22.0	57 - 57	動物導入
	28日	21.8 - 22.0	56 - 57	
	29日	21.8 - 22.0	57 - 57	
	30日	21.8 - 22.1	56 - 57	
	31日	21.9 - 22.0	56 - 57	
2005年2月	1日	21.8 - 22.0	56 - 57	ステップ1の投与
	2日	21.8 - 22.0	56 - 57	ステップ2の投与
	3日	21.8 - 22.0	56 - 57	
	4日	21.9 - 22.0	57 - 57	ステップ3の投与・解剖
	5日	21.7 - 22.1	55 - 56	ステップ3の解剖
	6日	21.9 - 22.1	56 - 57	
	7日	21.8 - 22.0	57 - 57	
	8日	21.8 - 21.8	57 - 58	
	9日	21.7 - 22.0	57 - 57	
	10日	21.9 - 22.0	57 - 57	
	11日	21.0 - 21.8	56 - 57	
	12日	21.8 - 21.9	56 - 57	
	13日	21.7 - 22.0	56 - 57	
	14日	21.7 - 22.1	56 - 57	
	15日	21.8 - 22.2	55 - 57	ステップ1の解剖
	16日	21.8 - 21.9	56 - 56	ステップ2の解剖

分析試験成績書

依頼者 日本農産工業株式会社 殿

東頭食発 第 260411-0031 号
2004年12月22日2004年11月25日 当センターに依頼された供試品について
試験した結果は下記のとおりです。財団法人 東京農工大学
食と環境センター
日本橋研究所 東京都中央区
4-1

試験品名称	ラボMRストック (041158-2)
表記事項	-----

分析試験結果

(1) ラボMRストック (041158-2)

試験項目	結果	検出限界	試験法	脚注
アフラトキシンB ₁	検出せず	5 ppb	飼料分析基準注解	
アフラトキシンB ₂	検出せず	5 ppb	飼料分析基準注解	
アフラトキシンG ₁	検出せず	5 ppb	飼料分析基準注解	
アフラトキシンG ₂	検出せず	5 ppb	飼料分析基準注解	
ヒ素	0.18 ppm		飼料分析基準注解	
鉛	0.2 ppm		飼料分析基準注解	
カドミウム	0.06 ppm		飼料分析基準注解	
クロム	1.9 ppm		飼料分析基準注解	
総水銀	検出せず	0.01 ppm	飼料分析基準注解	
PCB	検出せず	0.01 ppm	飼料分析基準注解	
総BHC	検出せず	0.05 ppm	飼料分析基準注解	
パラチオン	検出せず	0.05 ppm	飼料分析基準注解	
マラチオン	検出せず	0.05 ppm	飼料分析基準注解	
総DDT	検出せず	0.05 ppm	ECD-ガスクロマトグラフ法	
ヘプタクロル	検出せず	0.01 ppm	ECD-ガスクロマトグラフ法	
ディルドリン	検出せず	0.01 ppm	ECD-ガスクロマトグラフ法	
アルドリン	検出せず	0.01 ppm	ECD-ガスクロマトグラフ法	
N-ニトロソジエチルアミン	検出せず	10 ppb	TEA-ガスクロマトグラフ法	
N-ニトロソジメチルアミン	検出せず	10 ppb	TEA-ガスクロマトグラフ法	

NOSAN

報告書No. 04-12796

2004年11月18日

バイオ部 バイオ第1G 御中

日本農産工業株
研究開発セ
安全QCステー

検査報告書

受付年月日	2004年11月11日
依頼事業所	バイオ部
担当部署	バイオ第1G
担当者氏名	岡優子
検査名	サルモネラ分離検査、細菌検査、 真菌数
検体内容	製品 ラボMRストック(Lot. 041158-2)

以上の検体の検査結果をご報告します。

検体名	一般生菌数 (CFU/g)	大腸菌群	サルモネラ	真菌数 (CFU/g)
ラボMRストック	1.7×10^6	—	—	<20

+ : 陽性 - : 陰性 NT : 検査せず

以上

水質試験検査成績

平成16年 8月 9日

財団法人 畜産生物科学安全研究所 殿

東京テクニクス株式会社
東京都江戸川区
TEL 03-5671-3284

水道法第20条 検査機関
登録番号

登録建築物飲料水水質検査業
東京都56水第327号

検査責任者

採水担当者

検体	飲料水
採水場所	クリーンルーム
採取日時	平成16年 7月22日
試験目的	水道法水質基準値適否 (15項目+消毒副生物11項目)

No	分析項目	単位	分析結果	基準値
1	一般細菌	個/1ml	0	100 以下/1ml
2	大腸菌	-	陰性 (不検出)	検出されないこと
3	硝酸態窒素及び亜硝酸態窒素	mg/l	0.08	10 以下
4	塩化物イオン	mg/l	9.7	200 以下
5	有機物 (全有機炭素 (TOC) の量)	mg/l	0.4	10 以下
6	pH値	-	7.7	5.8~8.6
7	味	-	異常なし	異常でないこと
8	臭気	-	異常なし	異常でないこと
9	色度	度	1 未満	5 以下
10	濁度	度	1 未満	2 以下
11	鉛及びその化合物	mg/l	0.001 未満	0.01 以下
12	亜鉛及びその化合物	mg/l	0.1 未満	1.0 以下
13	鉄及びその化合物	mg/l	0.05	0.3 以下
14	銅及びその化合物	mg/l	0.1 未満	1.0 以下
15	蒸発残留物	mg/l	120	500 以下
16	クロロホルム	mg/l	0.014	0.06 以下
17	ブロモジクロロメタン	mg/l	0.0080	0.03 以下
18	ジブロモクロロメタン	mg/l	0.001 未満	0.1 以下
19	ブロモホルム	mg/l	0.0009未満	0.09 以下
20	総トリハロメタン	mg/l	0.023	0.1 以下
21	シアン化合物及び塩化シアン	mg/l	0.001 未満	0.01 以下
22	臭素酸	mg/l	0.001 未満	0.01 以下
23	クロロ酢酸	mg/l	0.002 未満	0.02 以下
24	ジクロロ酢酸	mg/l	0.004 未満	0.04 以下
25	トリクロロ酢酸	mg/l	0.02 未満	0.2 以下
26	ホルムアルデヒド	mg/l	0.022	0.08 以下
			以下余白	

分析方法：水道水質基準に関する省令（平成15年厚生労働省令第101号）に基づく検査法
判定：上記の試験項目について水道法水質基準に適合しています。

Appendix 7 Individual body weights of female rats treated with benzaldehyde, 2-hydroxy-
in the single dose oral toxicity test

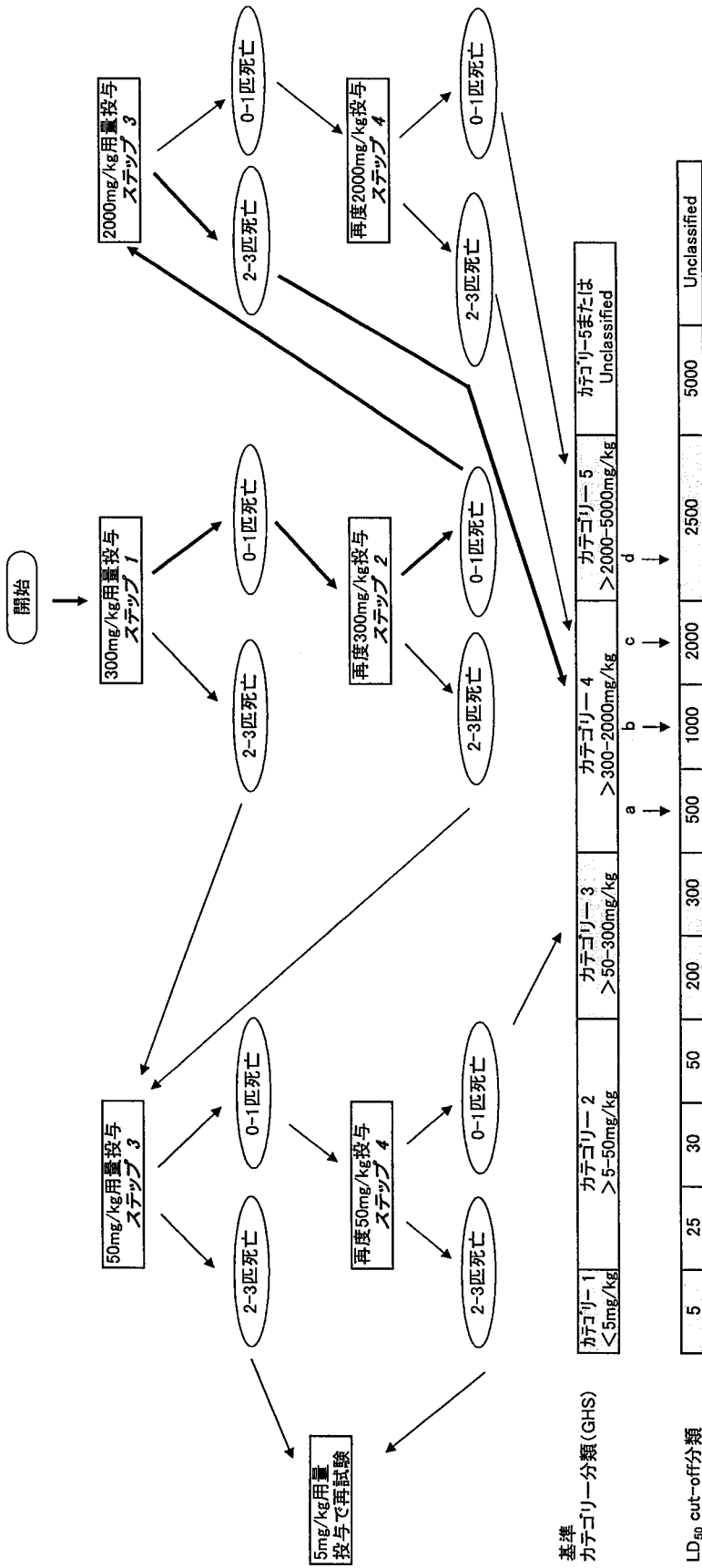
Step	Dose (mg/kg)	Animal number	Body weight(g)			
			1	4	8	15(days)
1	300	501	218	249	256	249
		502	230	259	258	265
		503	227	261	275	285
		Mean	225	256	263	266
2	300	504	216	238	246	249
		505	222	258	269	285
		506	232	267	275	294
		Mean	223	254	263	276
3	2000	507	220	FD1d		
		508	232	FD1d		
		509	224	FD1d		
		Mean	225			

FDNd : Found dead at day N (Day 1 is the day of administration.)

Appendix 8 Individual necropsy findings of female rats treated with benzaldehyde, 2-hydroxy-
in the single dose oral toxicity test

Step	Dose (mg/kg)	Animal number	Fate	Days of death	Findings
1	300	501	TK	15	NAD
		502	TK	15	NAD
		503	TK	15	NAD
2	300	504	TK	15	NAD
		505	TK	15	NAD
		506	TK	15	NAD
3	2000	507	FD	1	NAD
		508	FD	1	NAD
		509	FD	1	NAD

TK : Terminal kill, FD : Found dead
NAD : No abnormalities detected



→ :試験の流れ(太線は本試験における流れ)

a :カテゴリー 4において、2000mg/kg(ステップ 3)で、3匹死亡した場合の判定

b :カテゴリー 4において、2000mg/kg(ステップ 3)で、2匹死亡した場合の判定

c :カテゴリー 4において、2000mg/kg(ステップ 3)で、0-1匹死亡した場合の判定

d :カテゴリー 5において、死亡が1匹の場合の判定

その他：“OECD GUIDELINE FOR TESTING OF CHEMICALS, 423, Acute Oral Toxicity-Acute Toxic Class Method(2001)”を参照して判定

GHS : Globally Harmonized Classification System