

ウェスタン・レッド・シーダー蒸留抽出液の論点整理

＜これまでの合同会合での審議における論点＞

- ・薬効試験の結果が定性的にしか示されていない（評価指針では防除価で示すことと定められている。）ので、薬効について更なる検討が必要（第10回会合）。
- ・安全性については未審議。

＜論点の検討に資する試験結果＞

新たにウェスタン・レッド・シーダーのイネいもち病に対する薬効試験（平成21年7月報告）及びバラうどんこ病薬効試験（平成21年12月報告）を評価指針に基づき実施した（別紙1（概要 p.3）、別紙2、別紙3）。

作物名	適用病害虫 または雑草	使用時期	使用回数	使用方法	効果
イネ (あきたこまち)	いもち病	浸種前	1回	種子浸漬(24時間)	播種15日後 ①原液 防除価83 ②5倍希釈 防除価41、51 ③10倍希釈 防除価39 ④100倍希釈 防除価41
ミニバラ (シルクレッド)	うどんこ病	鉢上げ後	3回	茎葉散布	最終散布7日後 ①原液 防除価86.6 ②50倍希釈液 防除価42.6

ウェスタン・レッド・シーダー蒸留抽出液の概要

平成 22 年 5 月17 日

会社名
株式会社 東海グローバルグリーンング

目次

1. 物理化学的性質並びに成分規格及び使用方法等	1
2. 薬効に関する資料	3
3. 安全性に関する資料	
(1) 薬害	4
(2) 人畜に関する安全性	
① 急性経口毒性試験	5
② 変異原性試験	6
③ 90日間反復経口毒性試験	8
④ 曝露評価に関わる試験	
概要	9
1. モルモットを用いた皮膚感作性試験	10
2. ウサギを用いた皮膚一次刺激性試験	11
3. 皮膚貼付試験	14
4. ウサギを用いた眼粘膜刺激性試験	16
5. 成分分析	18
⑤ 評価対象資材に含まれる物質の構造活性	20
(3) 水産動植物に対する安全性	
① 魚類急性毒性試験	22
② ミジンコ急性遊泳阻害試験	24

2. 薬効に関する資料の概要

作物名	栽培条件	適用病害虫または雑草	使用量	使用時期	使用回数	使用方法	効果	試験場所	備考
イネ (あきたこまち)	硬質フィルムハウス(箱育苗)	いもち病	原液～100倍希釈	浸種前	1回	24時間種子浸漬	試験1(播種15日後) ①5倍希釈 防除価51 ②10倍希釈 防除価39 ③100倍希釈 防除価41 試験2(播種15日後) ①原液 防除価83 ②5倍希釈 防除価41	社団法人日本植物防疫協会 牛久研究所 (茨城県)	薬害無と判定
ミニバラ(シルクレッド)	ビニールハウス(底面給水栽培)	うどんこ病	原液～50倍希釈 20ml/株	鉢上げ後	3回	散布(ミニバラの茎葉に散布)	最終散布7日後 ①原液 防除価86.6% ②50倍希釈液 防除価42.6%	岐阜県農業技術センター	本剤の散布により展開直後の葉に薬害が認められた。本試験では、3回の散布を行ったが、散布日により、薬害の発生程度には、差が認められた。50倍希釈溶液については、薬害は認められなかった。

3. 安全性に関する資料の概要

(1)薬害

＜WRC蒸留抽出液の薬害＞

- ・本資材において、薬害はミニバラのうどんこ病に対する防除試験の際 薬効の至適濃度ではなく原液で散布した時にのみ葉に薬害が認めれた。

ただし、本資材は蒸留抽出液であり、プラント蒸気圧釜温度等の設定条件によっては、申請中の資材より高濃度の抽出液を葉面散布すると抽出液を抽出することも可能である。

申請素材の規格より高濃度の抽出液を葉面散布すると葉の黄化や薬斑を生じる恐れがあるため、植物に処理する際は、規格に適合した抽出液を使用するようにする。

(2)人畜に対する安全性

①急性経口毒性試験 —概要—

ラットにおける単回経口投与毒性試験（資料：試験No.JBS-02-ROAC-428）

試験機関： 株式会社 日本生物科学センター 岐阜研究所

報告書作成年： 2002年11月25日

公表の有無： 無し、ただし安全性確認のため取引先には提出済み

検体： ウェスタン・レッド・シーダー蒸留抽出液（オイル濃度1000ppm）、純度100%
（試験依頼時の検体名称及びロット番号：
0.1% Western Red cedar 水蒸気蒸留水（精油）、ロット番号 0208063）

供試動物： ①動物種： ラット(SPF)
②系統： Crj:CD(SD)IGS
③性別： 雌雄
④入荷時週齢及び注文数： 4週齢、雌雄各13匹
⑤投与時週齢及び許容体重範囲： 5週齢、雄80～160g、雌70～140g、一群雌雄各5匹

観察期間： 14日間

投与方法： 被験物質をそのまま経口投与した。投与前に16～18時間絶食した。

観察・検査項目： 中毒症状及び生死を14日間観察した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結 果：

投 与 方 法	投 与 方 法
投 与 量 (mg/kg)	0、5000 ※本被験物質の毒性は低いと推定されたため、医薬品 毒性試験法ガイドラインで技術的に投与できる最大量 とされている2000mg/kgの2.5倍量に設定
LD ₅₀ (mg/kg)	>5000mg/kg
死亡開始時間及び終了時間	死亡例は認められなかった
症状発現時間及び消失時間	症状発現は認められなかった
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	5000mg/kg
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	5000mg/kg

雌雄に関係なく対照群及び被検物質投与群のいずれの個体にも死亡は認められず
また、一般状態、体重推移及び剖検においても特記すべき変化は認められなかった。
以上より、無毒性量は雌雄とも5000mg/kgを上回ると結論される。

(2)人畜に対する安全性

②変異原性試験 ー概要ー

ステリライザー[別名:バスカニオン]の微生物[細菌]を用いる変異原性試験(資料:試験No. A03051)

試験機関: 広栄テクノサービス 株式会社

報告書作成年: 2004年4月19日

公表の有無: 無し、ただし安全性確認のため取引先には提出済み

検体: ウェスタン・レッド・シーダー蒸留抽出液(オイル濃度1000ppm)、純度100%
(試験依頼時の検体名称及びロット番号:
ステリライザー(別名:バスカニオン)、ロット番号 0401231 赤色H15)

試験方法: ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium*(TA98、TA100、TA1535、TA1537株)及びトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2 uvrA株を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系(S-9 Mix)の存在下及び非存在下で、Amesらの方法を用いて変異原性を検定した。
検体は蒸留水に溶解し、用量設定試験は5000 μ g/plateを最高とした7用量、本試験は5000 μ g/plateを最高とした5用量で行った。

用量設定根拠: 用量設定試験[ガイドライン上定められた最高用量である用量5000 μ g/plateを最高とし公比4で希釈した7用量]を実施した結果、代謝活性化の有無によらず、いずれの菌株においても溶媒対照と比較して2倍以上の復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。
従って、本試験は、ガイドライン上定められた最高用量である用量5000 μ g/plateを最高とし公比2で希釈した5用量で行うこととした。

試験結果: 結果を次表に示した。

用量設定試験及び本試験の結果、代謝活性化の有無によらず、いずれの菌株においても溶媒対照(陰性対照)と比較して2倍以上に復帰変異コロニー数を増加させることはなく、用量依存的に増加させることもなかった。
一方、陽性対照はそれぞれの菌株に対して溶媒対照の2倍以上の復帰変異コロニーを出現させ、試験が適切に実施されたことを示した。
従って、本被験物質は陰性と判定した。

試験結果表 (本試験)

被験物質の名称 : ステリライザー

No. A03051

試験実施期間		2004年3月24日より2004年3月26日										
代謝活性化系の有無	被験物質用量 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	復帰変異数 (コロニー数/プレート)										
		塩基対置換型				フレームシフト型						
		TA100		TA1535		WP2 $uvrA$		TA98		TA1537		
S9Mix (-)	溶媒対照	95	97	12	7	33	30	24	29	10	10	
		95	(96)	11	(10)	22	(28)	23	(25)	7	(9)	
	313	88		7		19		19		4		
		112	(100)	6	(7)	24	(22)	31	(25)	9	(7)	
	625	88		4		20		15		7		
		92	(90)	12	(8)	25	(23)	24	(20)	6	(7)	
	1250	98		8		19		25		5		
		73	(86)	15	(12)	29	(24)	21	(23)	3	(4)	
2500	94		14		25		20		3			
	107	(101)	7	(11)	19	(22)	32	(26)	3	(3)		
5000	111		9		26		19		6			
	113	(112)	4	(7)	21	(24)	18	(19)	6	(6)		
S9Mix (+)	溶媒対照	129	124	10	7	35	25	43	24	17	17	
		127	(127)	14	(10)	19	(26)	35	(34)	16	(17)	
	313	141		12		23		38		14		
		130	(136)	15	(14)	21	(22)	43	(41)	15	(15)	
	625	126		13		32		45		7		
		140	(133)	6	(10)	21	(27)	37	(41)	14	(11)	
	1250	127		6		27		40		14		
		126	(127)	10	(8)	25	(26)	43	(42)	6	(10)	
2500	118		4		25		36		7			
	124	(121)	9	(7)	20	(23)	32	(34)	13	(10)		
5000	157		13		28		36		15			
	149	(153)	13	(13)	27	(28)	39	(38)	8	(12)		
陽性対照	S9Mixを必要としないもの	名称	AF-2	NaN ₃	AF-2	AF-2	ICR-191					
		用量 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	0.01	0.5	0.01	0.1	1.0					
	S9Mixを必要とするもの	コロニー数/プレート	535	308	159	509	3822					
			493	(514)	349	(329)	134	(147)	506	(508)	3169	(3469)
		名称	2AA	2AA	2AA	2AA	2AA					
		用量 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	1.0	2.0	10.0	0.5	2.0					
コロニー数/プレート	1201	153	1248	713	327							
	1344	(1273)	168	(161)	1194	(1221)	657	(685)	354	(341)		

(備考) 陽性対照物質

AF-2 : 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド

NaN₃ : ナトリウムアジド

ICR-191 : 6-クロロ-9-[3-(2-クロロエチルアミノ)-プロピルアミノ]-2-メトキシアクリジン 二塩酸塩

2AA : 2-アミノアントラセン

(2)人畜に対する安全性

③90日間反復経口投与毒性試験

本資材の原料であるウェスタンレッドシーダーは、北アメリカ先住インディアンが古くから食用、薬用として服用していた。例えば、樹木の内皮を乾燥させスープの増粘剤に、あるいは枝を浸し、咳、風邪、結核の治療等に用いていた。このように、WRCは古くから先人の知恵として、有効利用されてきたものであり、長期間服用しても問題が無いものと判断し、90日間反復経口投与毒性試験を省略する。

※資料1～4の該当部分の和訳を参考資料として添付する。

資料1. Plant For A Future

7,000種の有用植物についてのデータが納められたイギリスデータベース

資料2. Encyclopedia of Alternative Medicine by Tish Davidson

Gale社「代替医療の百科事典」

資料3. The Gymnosperm Database

1000種近くの裸子植物データを収録したデータベース

資料4. WALLACE W HANSEN

米国企業のホームページ

(2)人畜に対する安全性

④暴露評価に係わる試験

試験名	内 容	結 果	試験機関	実施日
1.皮膚感作性試験	刈毛したモルモットの頸部背側皮膚へ経皮投与	異常なし	日本生物科学センター	2002/12/12
2.皮膚一次刺激性試験	ウサギの背部皮膚へ単回閉塞貼付	健常部位では異常なし 損傷部位での非常に弱い刺激性	日本生物科学センター	2002/11/25
3.皮膚貼付試験	健常成人20人へ皮膚貼付試験	肉眼判定では前例陰性 顕微鏡判定を踏まえると準陰性	日本産業皮膚衛生協会	2003/08/08
4.眼粘膜刺激性試験	ウサギの眼粘膜へ単回投与	異常なし	日本生物科学センター	2002/11/25
5.成分分析試験	カドミウム、鉛、六価クロム、ヒ素、総水銀、ナトリウム、マグネシウム、カルシウム、アンモニウムイオン、フッ素イオン等、 BOD、COD等、 抽出に使用している地下水の分析 他	問題なし	イビデンエンジニアリング(株) 他	2003/7/28 他

※WRC蒸留抽出液は、INCI(=化粧品成分の国際的表示名称)「THUJA PLICATA WOOD WATER」、日本化粧品工業会の化粧品成分表示名称「アメリカネズコ木水」として登録済みであり、既に化粧品として市販されている。

上記各試験の概要および試験報告書を次へ添付する。

(2)人畜に対する安全性

④暴露評価に係わる試験

試験概要 **1.モルモットを用いた皮膚感作性試験** (資料:試験No. JBS-02-GPAG-432)

試験機関: 株式会社 日本生物科学センター

報告書作成年: 2002年12月12日

公表の有無: 無し、ただし安全性確認のため取引先には提出済み

検体: ウェスタン・レッド・シーダー蒸留抽出液(オイル濃度1000ppm)、純度100%
(試験依頼時の検体名称及びロット番号:
0.1% Western Red cedar 水蒸気蒸留水(精油)、ロット番号 0208063)

供試動物: ①動物種: モルモット(SPF)
②系統: Crj:Hartley
③性別: 雄
④入荷時週齢及び注文数: 4週齢、16匹
⑤感作開始時週齢及び許容体重範囲: 5週齢、230~450g、一群雄5匹

投与経路、感作回数及び感作期間: 医薬品毒性試験法ガイドラインのAdjuvant and Patch Test法に従い、投与経路は感作では頸部背側皮膚への経皮(閉塞)投与、惹起は背部皮膚への経皮(開放)投与、感作回数は4回、[一次(3回)及び二次接触感作(1回)]及び感作期間は22日とし、投与容量についても同ガイドラインに準拠し、感作時では0.1ml/site(一次接触)及び0.2ml/site(二次接触)、惹起時では0.01ml/siteとした。
なお、被験物質は原液のまま使用した。
群構成は、被験物質群、無処置群及び陽性対照群を設け、陽性対照物質としては、2,4-ジニトロクロロベンゼン(DNCB)を使用した。

観察及び評価: 感作開始時より実験終了時まで1日1回、一般状態を観察し、惹起24、48及び72時間後の投与部位の皮膚状態を観察した。
惹起後の紅斑、浮腫の程度及び頻度を陽性対照及び無処置群と比較して、Draizeの基準により評価を実施した。

試験結果: 結果を次表に示した。
WRC蒸留抽出液感作群及び無処置群においてWRC蒸留抽出液あるいは0.1%DNCB溶液の塗布部位に、紅斑及び浮腫は認められなかった。
一方、陽性対照群を0.1%DNCB溶液で惹起すると、中等度から強度の紅斑と軽度の浮腫が5例全例に認められた後、そのうち2例では痂皮形成がみられた。
上記の結果より、WRC蒸留抽出液は**皮膚感作性はない**と判断する。

0.1%Western Redcedar水蒸気蒸留水(精油)のモルモットを用いた
皮膚感作性試験(Adjuvant and Patch Test)における感作性結果

一次及び二次接 触感作	惹起	適用 部位数	観察時間 (塗布後)	紅斑の評点 ¹⁾					浮腫の評点 ¹⁾					平均 評価点 ²⁾
				0	1	2	3	4	0	1	2	3	4	
0.1%Western Redcedar 水蒸気蒸留水 (精油)	0.1%Western Redcedar 水蒸気蒸留水 (精油)	5	24	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0
			48	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0
			72	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0
無処理 (注射用水・FCA 乳化液注射の み)	0.1%Western Redcedar 水蒸気蒸留水 (精油)	5	24	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0
			48	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0
			72	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0
	0.1%DNCB溶液	5	24	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0
			48	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0
			72	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0
0.1%DNCB溶液	0.1%DNCB溶液	5	24	0	0	0	5	0	0	0	5	0	0	5.0
			48	0	0	3	0	2	0	3	2	0	0	4.2
			72	0	1	2	0	2	1	4	0	0	0	3.4
	エタノール	5	24	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0
			48	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0
			72	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0

1) 皮膚反応の刺激評点はDraize's法に従った

2) 平均評価点: 反応評価点の総和/当該群の動物総数

(2)人畜に対する安全性

④暴露評価に係わる試験

試験概要 **2.ウサギを用いた皮膚一次刺激性試験** (資料:試験No. JBS-02-BPIR-431)

試験機関: 株式会社 日本生物科学センター

報告書作成年: 2002年11月25日

公表の有無: 無し、ただし安全性確認のため取引先には提出済み

検体: ウェスタン・レッド・シーダー蒸留抽出液(オイル濃度1000ppm)、純度100%
(試験依頼時の検体名称及びロット番号:
0.1% Western Red cedar 水蒸気蒸留水(精油)、ロット番号 0208063)

供試動物: ①動物種: ウサギ(SPF)
②系統: Kbl:JW
③性別: 雌
④入荷時週齢及び注文数: 8週齢、3匹
⑤投与時週齢及び許容体重範囲: 9週齢、1.40~2.10kg

投与方法: 被験物質は原液のまま使用し、3匹の動物の背部皮膚に適用した。
1匹の動物には健常部位及び損傷部位を各1箇所、計2箇所の塗布
部位を設け、Daraizeらの方法に準拠して、0.5ml/siteを投与し、
24時間単回閉塞貼付した。

観察及び評価: 貼付日は貼付前後に、翌日以降の観察期間中は1日1回、一般状態を観察し、
貼付24時間後に、被験物質を拭き取り、1、24、48及び72時間後に
Draize基準に従って、貼付部位を観察した。

試験結果: 結果を次表に示した。
健常部位では除去1、24、48及び72時間後の観察時間において、いずれの
個体にも皮膚反応は認められなかった。
損傷部位においては、角層に処置した「#」型の傷部分のみにごく軽度の紅斑が
除去1時間後に3/3例みられたが、除去48時間後までには全て消去した。
除去1及び48時間後における3匹の総合評点(健常部位及び損傷部位)より
算出した群内のP.IIは0.3であり、安全性区分は弱い刺激物に該当した。
上記の結果より、WRC蒸留抽出液は**健常部位ではみられない様な非常に弱い
皮膚刺激性**を有するものと判断する。

ウサギを用いた0.1%Western Redcedar水蒸気蒸留水(精油)の皮膚一次刺激性試験における刺激値

被験物質	動物数	皮膚の処理	皮膚反応	平均評価点 ¹⁾				P.I.I. ²⁾	安全性区分 ³⁾
				1	24	48	72hr		
0.1%Western Redcedar 水蒸気蒸留水(精油)	3	健全皮膚	Ery	0	0	0	0	0.3	弱い刺激物
			E	0	0	0	0		
		損傷皮膚	Ery	1.0	0.3	0	0		
			E	0	0	0	0		

Ery: 紅斑及び痲皮形成、E: 浮腫形成

1) 皮膚反応の刺激評点はDraize's法に従った

2) Mean P.I.I.(Primary Irritation Index)は被験物質除去1及び48時間後における評点より算出

3) P.I.I. 0; 無刺激物、0 < P.I.I. < 2; 弱い刺激物、2 ≤ P.I.I. < 5; 中等度の刺激物、5 ≤ P.I.I.; 強い刺激物

(2)人畜に対する安全性

④暴露評価に係わる試験

試験概要 **3.皮膚貼付試験** (協会処理欄番号:04-2003-08)

試験機関: 日本産業皮膚衛生協会、河合産業皮膚医学研究所

報告書作成年: 2003/8/20 検定結果交付日

公表の有無: 無し、ただし安全性確認のため取引先には提出済み

検体: ウェスタン・レッド・シーダー蒸留抽出液(オイル濃度1000ppm)、純度100%
(試験依頼時の検体名称及びロット番号:
WRC-002 香気成分が総量で約100ppm位溶けていると
記載されているが、約1000ppmが正しい濃度である)

対象: 予備試験は健常成人5人(女性5人)を対象とした。
本試験では20人(男性7名、女性13人)を対象とし、被験者の年齢は
21歳～59歳で、平均年齢44.2歳であった。

試験方法: 予備試験は、試料(約15 μ l/8mm ϕ)を右上腕内側部皮膚に24時間閉塞貼付し、
試料除去1時間後に本邦基準に従い肉眼判定を行った。
精製水をネガティブコントロールとした。
本試験は、河合法の操作手順に従い、24時間開放法添付試験を行い、
肉眼判定およびレプリカ法による顕微鏡判定を行った。

試験結果: 予備試験:試料除去1時間後に本邦基準に従って肉眼判定したところ、
全く異常が認められなかった。

本試験:試料とコントロールの試験判定表を次表に示した。
**肉眼判定では全例陰性だったが、顕微鏡判定結果を踏まえると準陰性
だった。**

皮膚貼付試験判定表

Control 区

コントロール (Negative Control)					
No.	被験者	顕微鏡判定			肉眼判定
		A-stage	B-stage	C-stage	D-stage
		円形皮丘	陥凹皮溝	皮溝浅化・皮溝消失・不整皮丘皮溝・皺裂皮丘・膜状鱗	紅斑・浮腫・丘疹
1	K. M	-	-	-	-
2	R. O	-	-	-	-
3	K. N	-	-	-	-
4	H. W	-	±	-	-
5	S. K	-	±	-	-
6	S. T	-	±	-	-
7	I. W	±	-	-	-
8	Y. F	-	±	-	-
9	E. T	±	-	-	-
10	K. M	-	±	-	-
11	M. N	+	-	-	-
12	S. T	±	-	-	-
13	K. S	-	±	-	-
14	Y. F	-	-	-	-
15	M. K	-	-	-	-
16	M. Y	-	±	-	-
17	M. Y	-	±	-	-
18	R. N	-	-	-	-
19	T. S	±	-	-	-
20	Y. T	±	±	-	-
コントロール刺激指数		-	0 B	0 C	0 D

WRC試験 区

WRC-002					
No.	被験者	顕微鏡判定			肉眼判定
		A-stage	B-stage	C-stage	D-stage
		円形皮丘	陥凹皮溝	皮溝浅化・皮溝消失・不整皮丘皮溝・皺裂皮丘・膜状鱗	紅斑・浮腫・丘疹
1	K. M	-	-	-	-
2	R. O	-	-	-	-
3	K. N	±	-	-	-
4	H. W	±	±	-	-
5	S. K	-	±	-	-
6	S. T	-	±	-	-
7	I. W	±	±	-	-
8	Y. F	-	±	-	-
9	E. T	-	-	-	-
10	K. M	-	-	-	-
11	M. N	+	±	-	-
12	S. T	±	-	-	-
13	K. S	-	±	-	-
14	Y. F	-	-	-	-
15	M. K	-	-	-	-
16	M. Y	-	±	-	-
17	M. Y	-	±	-	-
18	R. N	-	-	-	-
19	T. S	±	-	-	-
20	Y. T	-	±	-	-
試験結果	試験体刺激数	-	1 B	0 C	0 D
	コントロール刺激指数	-	0 B	0 C	0 D
	刺激指数差	-	1 B	0 C	0 D
判定	陰性・準陰性 準陽性・陽性	準 陰 性			別紙コメント有

(2)人畜に対する安全性

④暴露評価に係わる試験

試験概要 **4.ウサギを用いた眼粘膜刺激性試験** (資料:試験No. JBS-02-BEIR-430)

試験機関: 株式会社 日本生物科学センター

報告書作成年: 2002年11月25日

公表の有無: 無し、ただし安全性確認のため取引先には提出済み

検体: ウェスタン・レッド・シーダー蒸留抽出液(オイル濃度1000ppm)、純度100%
(試験依頼時の検体名称及びロット番号:
0.1% Western Red cedar 水蒸気蒸留水(精油)、ロット番号 0208063)

供試動物: ①動物種: ウサギ(SPF)
②系統: Kbl:JW
③性別: 雌
④入荷時週齢及び注文数: 9週齢、5匹
⑤投与時週齢及び許容体重範囲: 10週齢、1.60~2.50kg

投与方法: 被験物質は原液をそのまま使用し、3匹の動物の両目に投与し、片目は洗眼、片目は非洗眼とした。Draize法に従い、0.1ml/眼を前眼部に単回投与し、非洗眼は投与後、上下の眼瞼を約1秒間穏やかに合わせ、洗眼は投与後、約30秒間閉眼させた後、75mlの注射用水で約30秒間(25ml/10sec)洗眼した。

観察及び評価: 投与前及び投与後の観察期間中は1日1回、一般状態を観察し、投与1、24、48、72時間後に前眼部を観察し、Draize基準に従って評価した。また、実験終了時にはフルオレセインナトリウム(眼科検査用試験紙)による角膜の損傷の有無を確認した。

試験結果: 結果を次表に示した。
洗眼及び非洗眼処置のいずれの動物にも、角膜、虹彩及び結膜に刺激性は認められなかった。
また、実験終了時の全例について行った角膜染色においても、角膜の損傷は認められなかった。

以上の結果より、眼粘膜刺激性は認められず、その刺激値における評価区分はいずれも**無刺激物**に該当した。従って、**眼粘膜刺激性はない**ものと判断する。

ウサギを用いた0.1%Western Redcedar水蒸気蒸留水(精油)の
眼粘膜刺激性試験における刺激値

被験物質	0.1%Western Redcedar水蒸気蒸留水(精油)									
	洗眼					非洗眼				
適用眼数	3					3				
適用処理	洗眼					非洗眼				
観察時間	前 ²⁾	1	24	48	72hr	前 ²⁾	1	24	48	72hr
平均評点 ¹⁾ 角膜	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
虹彩	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
結膜	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
合計評点(平均値)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
評価区分 ³⁾	無刺激物					無刺激物				
角膜染色陽性数 ⁴⁾	0/3					0/3				

1): 刺激評点はDraize's(1944)の基準に従った。またそれぞれの評点は3匹の平均値を示す

2): 投与前

3): Kayら(1962)の基準に従った

4): スリットランプ(ブルーフィルター)使用によるフルオレセインナトリウム染色後の観察

(2)人畜に対する安全性

④暴露評価に係わる試験

試験概要 5.成分分析

<検体>

A、Bが高圧水蒸気蒸留法により抽出したウェスタンレッドシーダー蒸留抽出液(申請資材)である。

A:ウェスタン・レッド・シーダー蒸留抽出液(オイル濃度1000ppm)、純度100%
(試験依頼時の検体名称:STERILIZAR、ステリライザー)

B:ウェスタン・レッド・シーダー蒸留抽出液(オイル濃度2000ppm)、純度100%
(試験依頼時の検体名称及びロット番号:バスカニオン、LotNo.0209171)

C:ウェスタン・レッド・シーダー蒸留抽出液(オイル濃度600ppm)、純度100%
(試験依頼時の検体名称及びロット番号:ステリライザー浴用、LotNo.0507152)
※本資材は規格外の濃度であるが、参考値として、添付する。

D:以前の抽出法によるオイル(原油) 純度100%
上記プラント(高圧水蒸気蒸留)を設置する前に、別の抽出プラント(常圧水蒸気蒸留)にて抽出した
オイル(原油)100% ※申請資材ではないが、参考資料として添付

E:申請資材の抽出に用いている地下水(2001/10/10採取)

<公表の有無> 無し、ただし安全性確認のため取引先には提出済み

試験番号	内容 / 使用検体	試験機関	報告書作成日	資料番号
第S-13-030251号	ナトリウム、マグネシウム等の分析 :検体A	ビテンエンジニアリング (株)	2003/07/28	資料1
第S-13-030249号	カドミウム、鉛等の分析 :検体A	ビテンエンジニアリング (株)	2003/07/28	資料2
	カルシウム、カドミウム等の分析 :検体B、C	(独)産業技術総合 研究所	2005/08/22	資料3
第S-13-030250号	BOD、COD等 :検体A	ビテンエンジニアリング (株)	2003/07/28	資料4
	各ロットにおけるpH :検体A、B	(株)ドリュアス	2003/08/20	資料5
第S-13-050553号	アセトアルデヒド :検体A	ビテンエンジニアリング (株)	2005/11/30	資料6
J9397a	ヒ素、鉛、水銀の分析 :検体D	ANALYTICAL SERVICE LABORATORIES LTD.	1998/10/27	資料7
No.01B11340	pH、カドミウム、鉛等 :検体E	(財)岐阜県公衆衛生 検査センター	2001/10/23	資料8

成分分析結果

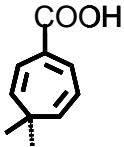
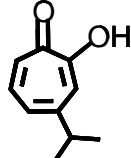
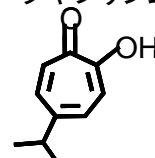
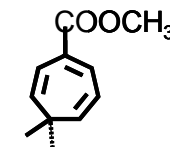
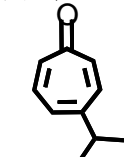
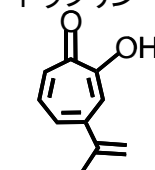
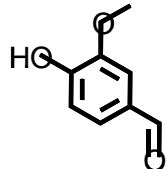
(mg/L)

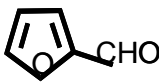
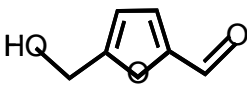
	WRC蒸留抽出液 (オイル濃度 (資料1,2,4,6))	WRC蒸留抽出液 (オイル濃度 (資料3))	WRC蒸留抽出液 (オイル濃度600ppm) (資料3)	以前の抽出法によるオイル(原油) 純度100% (参考) (資料7)	資材の抽出に 用いている地 下水 (資料8)
pH	2.8-3.5(20-28°C)				7.2(20°C)
ナトリウム(Na)	0.25	0.25	0.23		3.8
マグネシウム(Mg)	0.23	0.024	0.005		
カリウム(K)		0.07	0.06		
カルシウム(Ca)	0.84	0.057	0.029		
アンモニウムイオン(NH ₄ ⁺)	0.15				
フッ素イオン(F ⁻)	0.5 未満				
塩化物イオン(Cl ⁻)	0.5 未満	3.2	4.5		
臭化物イオン(Br ⁻)	0.5 未満				
亜硝酸イオン(NO ₂ ⁻)	0.5 未満				
硝酸イオン(NO ₃ ⁻)	0.5 未満	0.2	0.1		
硫酸イオン(SO ₄ ²⁻)	0.55	0.1未満	0.1未満		
ギ酸	59				
酢酸	150				
シュウ酸	5 未満				
リンゴ酸	5 未満				
クエン酸	5 未満				
コハク酸	5 未満				
乳酸	5 未満				
カドミウム(Cd)	0.001未満	0.002	0.002		不検出
鉛(Pb)	0.005	0.01未満	0.01未満	4	不検出
六価クロム(Cr ⁶⁺)	0.02未満				不検出
全クロム(Cr)		0.001未満	0.001未満		
砒素(As)	0.005未満			0.8	不検出
総水銀(T-Hg)	0.0005未満			0.018	不検出
生物化学的酸素要求量(BOD)	21				
化学的酸素要求量(COD)	19				
マルヘキサン抽出物質含有量	1未満				
全シアン(T-CN)	0.01未満				
アセトアルデヒド	5.7				
セレン					不検出
銅(Cu)					不検出
亜鉛					0.11
鉄					0.06
マンガン					不検出

(2)人畜に対する安全性

⑤評価対象資材に含まれる物質の構造活性

7員環成分(トロポロン類、下記成分1~6)というヒノキ科特有の成分を有している。

成分及び構造式	有効活性
<p>1. ツヤ酸</p> 	<p>天然の抗生物質とも言われてる</p> <ul style="list-style-type: none"> ・抗・殺菌性(抗菌性試験 資料1、2、3)(*7) ・殺ダニ活性(*4)
<p>2. ヒノキチオール (別名 β-ツヤプリシン)</p> 	<p>特許や論文により数多くのデータが公示されている</p> <ul style="list-style-type: none"> ・抗・殺菌性(抗植物病原真菌活性、抗微生物活性、抗木材腐朽菌活性)(広い抗菌スペクトルを有す)(*1)(*2)(*3)(*5)(*7) ・植物生長調節作用 (*2)(*3) ・殺シロアリ活性及び殺ダニ活性(*3)(*4) ・ミツバチ・チョーク病防除効果(*5) ・消炎、細胞活性化作用 ・エチレン生成抑制効果 ・食品添加物の保存剤として認可(*5) <p>即効性はないものの、副作用がなく、また耐性菌も生じない</p>
<p>3. γ-ツヤプリシン</p> 	<ul style="list-style-type: none"> ・抗菌性(抗木材腐朽菌活性、抗植物病原真菌活性、抗微生物活性)(*3)(*7) ・植物生長調節作用(*3) ・殺シロアリ活性及び殺屋内塵性ダニ活性(*3)
<p>4. ツヤ酸メチル</p> 	<p>香りの主体成分</p> <ul style="list-style-type: none"> ・殺ダニ活性(*4) ・芳香性
<p>5. ネズゴン</p> 	<ul style="list-style-type: none"> ・殺ダニ活性(*4) ・抗・殺菌性
<p>6. β-ドラブリン</p> 	<p>ヒノキチオールが酸化した成分</p> <ul style="list-style-type: none"> ・抗菌性(抗木材腐朽菌活性、抗植物病原真菌活性、抗微生物活性)(*3) ・植物生長調節作用(*3) ・殺シロアリ活性及び殺ダニ活性(*3)
以下、7員環成分以外の成分	
<p>7. バニリン</p> 	<ul style="list-style-type: none"> ・芳香成分(バニラの香り)、リラックス効果 ・プロポリス成分(*5)

8. フルフラール 	<ul style="list-style-type: none"> ・食品添加物に認可。医薬品としても使用されている ・防虫性(殺虫成分に使用)(*6)
9. 5-ヒドロキシメチルフルフラール 	<ul style="list-style-type: none"> 糖からも生成される成分であり、フルフラール誘導体である ・食品添加物に認可

抗菌性試験

(資料1)ツヤ酸の抗菌性試験

(資料2)ツヤ酸の最小発育阻止濃度

(資料3)ツヤ酸の天然繊維に対する抗菌性試験

参考文献

(*1)ヒノキチオール今昔物語 森林科学研究所 森孝博

(*2)大江正温, ヒバ油、ヒノキチオールの植物生長促進効果と利用性, *農業および園芸*, 77(3), (2002)

(*3)岡部敏弘ら, 青森ヒバ(ヒノキアスナロ)に魅せられて(2), *BIO INDUSTRY*, 22(5), (2005)

(*4)谷田貝光克ら(農林水産省森林総合研究所)、特開平6-329504 (1994)

(*5)岡部敏弘ら, 樹木抽出成分(青森ヒバ)を用いたミツバチ・チョーク病防除について
ミツバチ科学, 12(3), (1991)

(*6)化学物質と環境 平成9年度版, 環境庁環境保健部環境安全課

(*7)棚橋光彦ら, 特開2006-307392

その他記載の活性も文献より抜粋

※資料1~3及び、参考文献1、2、6、7添付

(3)水産動植物に対する安全性

試験概要 魚類急性毒性試験

※本試験は申請資材「ウエスタンレッドシーダー蒸留抽出液」の抽出に用いているプラントを設置する前に、別の抽出プラントにて抽出したオイル(精製油)を用いて行った試験である。

下記にその概要を示す。

	申請資材	本試験使用資材
名称	ウエスタンレッドシーダー蒸留抽出液	ウエスタンレッドシーダー蒸留抽出オイル (精製油10%含有乳化液)
原料	カナダのブリティッシュコロンビア州産のウエスタンレッドシーダーのオガ屑 (樹齢100年以上のオールドグロス、 現地法人TOMISHO Biotech Canada Ltd.より原料入手)	左に同じ
抽出法	高圧水蒸気蒸留法 (0.1~1.6MPaにて抽出、溶媒不使用)	常圧水蒸気蒸留法 (0.3MPaのボイラー使用。蒸留にアルコールを使用)
抽出物	蒸留抽出液(オイル約1000ppm)	オイル(タールが含有した原油) ・原油を精製し(精製油)、界面活性剤30%混合水溶液と混合したもの(精製油:界面活性剤混合溶液=1:9)が精製油10%含有乳化液であり、本試験に使用。 ・使用界面活性剤:N-ヤシ脂肪酸アシル-L-グルタミン酸トリエタノールアミン (※製品安全データシート添付 資料1)
成分	蒸留抽出液(オイル約1000ppm) ツヤ酸 約350ppm (=0.35%) ツヤ酸メチル 約40ppm (=0.04%) ツヤプリシン(β、γ) 約200ppm (=0.2%) ネズコン 約80ppm フルフラール 約600ppm	精製油 → 本試験使用検体 精製油10%含有乳化液 ツヤ酸 約10% ツヤ酸 約1% ツヤ酸メチル 約70% ツヤ酸メチル 約7% ツヤプリシン(β、γ) 約2% ツヤプリシン(β、γ) 約0.2% ・本試験実施時、ネズコン、フルフラール等の成分は未確認だったため非分析だが、申請中の資材(WRC蒸留抽出液)は本試験使用検体に比べ低濃度である。 ・本試験実施時の抽出法に比べ、申請資材の抽出法は有機溶媒を使用しておらず、また、タール成分が抽出されないため、安全性が高い。 ※本試験の結果は96時間後の半数致死濃度(LC ₅₀)=210mg/Lであるが、上記より、申請資材(WRC蒸留抽出液)のLC ₅₀ はより低い値になることが推定され、魚類急性毒性に問題が

試験概要 **魚類急性毒性試験**

試験機関: 財団法人 岐阜県公衆衛生検査センター

報告書作成年: 1999年8月

公表の有無: 無し、ただし安全性確認のため取引先には提出済み

検体: ウェスタン・レッド・シーダー蒸留抽出オイル、純度10%(精製油10%含有乳化液)
※WRCオイル: 界面活性剤=1:5と記載されているが誤った記録であり
正しくは1:9である。

供試魚: ①ヒメダカ(*oryzias latipes*)、一群各10匹
②飼育方法: 馴致期間 6日間、餌の種類 テトラミン、量 約1g/日、給餌頻度 1回/日
③馴致時の死亡率: 馴致総数 150匹、死亡率 0匹(0%)

試験方法: OECDテストガイドライン203に準拠し、試験を実施した。
試験濃度公比を1.8とし、100~1000mg/Lの範囲で5濃度区(一群各10匹)を用いた。試験期間中は22±2°C、16時間明、8時間暗の照明サイクルの状態を保ち、半止水式で24時間毎に全量(2L)を換水し、その都度pH、溶存酸素を測定した。死亡魚は発見次第除いた。
対照として希釈水のみを用いた。
得られた死亡率からProbit法により、半数致死濃度(LC₅₀)を求めた。

試験結果: 結果を次表に示した。

観察時間	24時間	48時間	72時間	96時間
LC ₅₀ : mg/L	260	240	240	210

96時間後の半数致死濃度(LC₅₀)は210mg/Lである。

(3)水産動植物に対する安全性

試験概要 **ミジンコ急性遊泳阻害試験** (資料:試験No. 07セ00066)

試験機関: 財団法人 岐阜県公衆衛生検査センター

報告書作成年: 2007年7月

公表の有無: 無し

検体: ウェスタン・レッド・シーダー蒸留抽出液(オイル濃度1000ppm)、純度100%
(ロット番号:0208231)

供試魚: ①オオミジンコ(*Daphnia magna*)、試験機関にて継代飼育。一群各20匹
②飼育条件:21±1°C、明期16時間、暗期8時間にて飼育。
③餌料:生クロレラ-V12。試験前48時間は無給餌。
48時間以内に生まれた仔虫を試験に使用。

試験方法: 供試生物は半止水式、21±1°Cにて飼育し、OECDテストガイドラインに準拠し試験を実施した。
試験濃度公比を10とし、10~1000mg/Lの範囲で3濃度区について、予備試験を行ったところ、最大濃度区1000mg/Lで対照区と比較して死亡率に有意な差は認められなかったため、本試験区は100~1000mg/Lの公比1.8の5濃度区を設定した。各濃度とも供試生物を5匹ずつ4群に分けて試験した。対照として希釈水のみを用いた。
試験開始日を0日目とし、48時間後の遊泳阻害の影響を観察する。なお、遊泳阻害とは穏やかに試験容器を動かした後、供試生物が15秒間泳げない場合に遊泳阻害とみなした。
Probit法により、48時間50%遊泳阻害濃度(EC₅₀)を算定した。

試験結果: 結果を次表に示した。

観察時間	24時間	48時間
EC ₅₀ :mg/L	≥1000	≥1000

48時間後の50%遊泳阻害濃度(EC₅₀)は1000mg/Lを上回ると推定する。