



ヨーロッパにおける家庭用洗剤の有効成分に関する
人体及び環境リスク評価

物質名： 蛍光増白剤 FWA-1
(CAS 番号 16090-02-1)

草案

バージョン：2004年10月

全ての権利は当社に帰属する。本出版物及びその一部を HERA Substance Team あるいは関連会社の書面による事前承諾がなければ電子、機械的、写真複写、記録あるいは他の方法によるいかなる型式においても使用、複写、転写、保管あるいは移動を禁じている。

この報告書の内容は、利用可能な科学情報に基づいて、可能な限り慎重に HERA のために専門家によって作成及び校閲された。これは情報のみを提供するものである。リスク評価の発展に貢献したオリジナル基礎データの多くは、各会社に所有権がある。

HERA は責任あるいは責務を負うことは出来ない。またこの出版物に含まれる物質の使用あるいは解釈に対し保証はしない。

0. 本報告書の寄稿者

この報告書は、Ciba Specialty Chemicals Inc.によって作成された。全てのデータは、データの共同所有者である Bayer AG と Ciba Specialty Chemicals Inc.の蓄積したデータに由来する。

他のヨーロッパの供給元からの寄稿はなかった。

追加入力は、HERA Environmental and Human Health タスクフォースの専門家によって行われた。

1. 要旨

FWA-1 (Disodium 4,4'-bis[(4-anilino-6-morpholino-1,3,5-triazin-2-yl) amino]stilbene-2,2'-disulphonate (CAS 番号 16090-02-1)) は、0.05 ~ 0.15% の濃度範囲で家庭用洗剤に主に使用され (90% 以上) ている蛍光増白剤 (FWA) である。繊維や紙にもより低い範囲 (全体の 10% 未満) で使用される。FWA-1 は、無色の木綿用直接染料のように作用する。その特異的な分子構造は、木綿に対する高い親和性に関与する。

1.1 環境リスク評価

FWA-1 の最終運命及び環境リスクは、スイス技術研究所 (ETH) 及び化学工業会の大規模な調査プログラムによって特徴付け及び評価された。

FWA-1 (DAS-1) は、水系において速やかに異性化され、続いて光分解されることを示した。物質収支は、Greifensee 湖 (スイス) の実地試験のモニタリングデータに基づいて行われた。12 ヶ月間にわたって、50% の光分解、25% のフラッシング (流出) 及び 25% の吸着を確認した。光分解は、未同定の代謝物を生成した。しかしながら、この分解物は、水生コンパートメントに対する毒性が FWA-1 より低いことが示された。

PEC (予測環境濃度) として表現された環境ばく露評価は、HERA ばく露シナリオからの計算と同様にスイス及びドイツの 18 箇所の河川から得たモニタリング値に基づいて行った。河川及び湖で測定された最小 / 最大測定濃度は、0.03 ~ 2 µg/L の範囲であった。

水生及び陸生生物における急性影響データは、ミジンコ及び藻類の慢性試験と同様に異なった環境コンパートメントに対する PNECs (予測無影響濃度) を算出するために利用された。

モニタリングデータ、HERA 及び利用可能な影響データから得たリスク特性比 (RCR) は、1 未満であったため、いかなる環境コンパートメントに対しても懸念を示さなかった。

1.2 ヒト健康リスク評価

FWA-1 は、洗濯中に繊維に物質が沈着することによって生地を蛍光増白するように設計された。場合によっては、あるいは特定の地理的地域によっては、衣類は洗剤を用いて手洗いされる。また、FWA-1 を含有する合成洗剤で食器や皿といった食品に接触する家庭用品を洗浄する可能性も想定できる。

これら製品の考えられる使用法に基づいて、我々は、衣類の事前処理あるいは手で洗濯することによって未希釈消費者製品の皮膚への直接接触、衣類の残留堆積物による皮膚への間接接触、消費者製品の取り扱い中に発生した合成洗剤ダストの吸入及び皿の残留物、製品の事故による摂取から生じた経口摂取あるいは食品及び飲料水からの間接経口摂取を考慮した可能性のある消費者の接触シナリオを想定する。

FWA-1 の体内ばく露の総推計を示す上記に要約したばく露シナリオに基づいた推定ばく露量は、 $SED=0.23 \text{ mg/kg}$ 体重/日をであり、これは全ての経皮、経口及び吸入ばく露を含んでいる。

毒性学的データは、FWA-1 が経口及び経皮経路を介した急性毒性がなかったことを示している。FWA-1 は眼あるいは皮膚に対する刺激性を示さず、また、動物及び人に対する皮膚接触過敏症を誘発しなかった。動物及び人を用いた試験は、光毒性あるいは光感作の誘発を示さなかった。FWA-1 は、*in-vitro* あるいは *in-vivo* 遺伝毒性を示さず、また、ラット及びヘアレスマウスを用いた生涯にわたる経口あるいは経皮投与において催腫瘍性を示さなかった。FWA-1 は、生殖毒性及び発生毒性あるいは催奇形性を誘発しないと判断される。動物を用いた FWA-1 の長期反復投与により認められた重要な有害影響は、絶対腎重量の増加であった。全身毒性に対する NOAEL は 524 mg/kg 体重/日と推定された。

一生涯経口暴露における NOAEL と FWA-1 の消費者の推定ばく露量の比較は、 $MOE_{total} = 2278$ のばく露マージンをもたらした。これは、ばく露マージンが大きく、毒性データベース及び外挿における不確実性を全て補うのに十分であることを示唆する。

毒性学的エンドポイントに関する広範囲なデータベース、FWA-1 の想定可能な全ての使用法について算出された低いばく露量及び上述の大きなばく露マージンの結果に基づいて、家庭用洗剤に含まれる FWA-1 の使用は、消費者に対し安全であると判断することができる。

1.3 結論

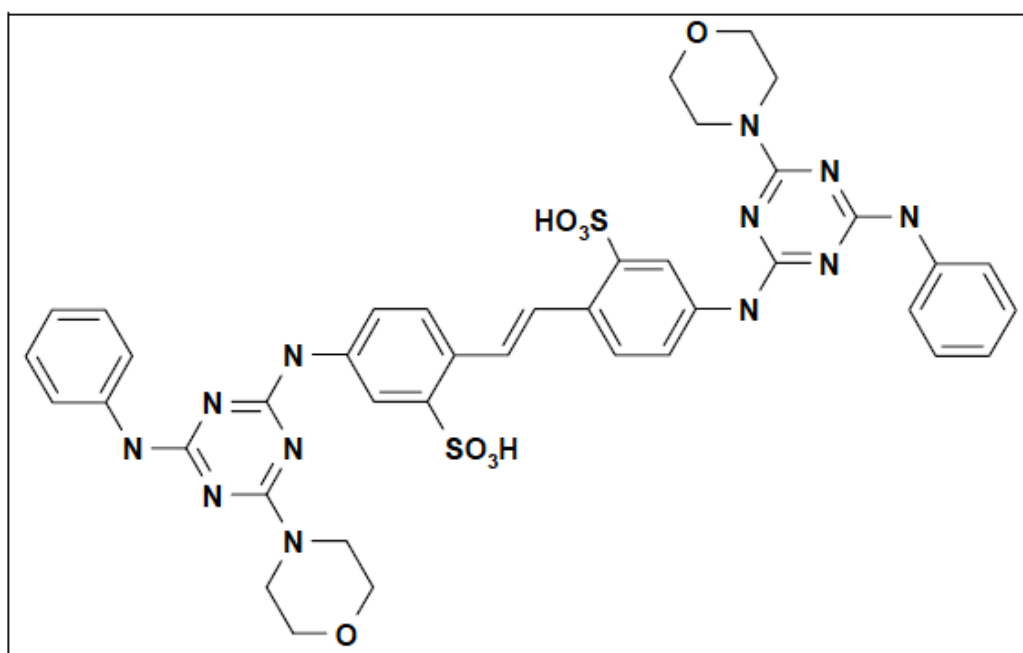
入手データから、FWA-1 は、人あるいは環境に有害な影響を及ぼさないものと判断することができる。

	ページ
2. 目次	
0. 寄稿者	2
1. 要旨	3
2. 目次	5
3. 物質の特徴	6
3.1 化学構造及び組成	6
3.1.1 発生毒性及び生殖毒性試験に使用したアナログの化学構造	7
3.1.1.1 C.I.蛍光増白剤 339	7
3.1.1.2 C.I.蛍光増白剤 220	8
3.2 製造ルート	9
3.3 用途に関する要約	9
4. 環境アセスメント	11
4.1 環境ばく露評価	11
4.1.1 環境除去及び運命（光分解）	11
4.1.2 光分解を含むモニタリング研究	14
4.1.3 環境ばく露評価：EUSES シナリオの説明	18
4.1.4 環境ばく露の計算に使用した物質のデータ	19
4.1.5 PEC の算出	20
4.2 環境リスク評価	21
4.2.1 環境毒性データ一覧	21
4.2.2 PNEC の推定に使用した生態影響試験データの評価	21
4.2.2.1 藻類	21
4.2.2.2 ミジンコ	22
4.2.2.3 魚類	23
4.2.2.4 陸生生物	23
4.2.2.5 エストロゲン様作用	24
4.2.2.6 PNEC の推定	24
4.3 環境リスク特性	25
4.3.1 EUSES シナリオ “HERA”及び”モニタリング”のリスク特性	25
4.3.2 結論	25
5. ヒト健康リスク評価	26
5.1 FWA-1 の消費者ばく露	26
5.1.1 製品の種類	26
5.1.2 消費者との接触シナリオ	26
5.1.3 消費者の推定ばく露量	27
5.2 有害性評価	36
5.2.1 利用可能な動物を用いた毒性データの要約	36
5.2.1.1 急性経口毒性	36
5.2.1.2 急性吸入毒性	37
5.2.1.3 急性経皮毒性	37
5.2.1.4 皮膚刺激性 / 腐食性	38
5.2.1.5 眼刺激性 / 腐食性	39
5.2.1.6 皮膚感作性	40
5.2.1.7 光毒性	41
5.2.1.8 反復投与毒性	42
5.2.1.9 遺伝毒性	43
5.2.1.10 発がん性	46
5.2.1.11 発生毒性 / 催奇形性	49
5.2.1.12 生殖毒性	53
5.2.1.13 トキシコキネティクス	55
5.2.1.14 追加データ	56
5.2.2 利用可能な人における毒性データの要約	57
5.2.2.1 皮膚刺激性	57
5.2.2.2 皮膚感作性	57
5.2.2.3 光刺激性 / 光感作性	58
5.2.3 重要なエンドポイントの識別	59
5.2.4 NOAEL の決定	60
5.3 リスク評価	60
5.3.1 ばく露マージン (MOE) の算出	60
5.3.2 消費者の総ばく露量	61
5.3.3 リスク特性	61
5.4 考察及び結論	62
6. 参考文献	63

3. 物質の特徴

3.1 化学構造及び組成

FAW-1 の化学名は DISODIUM 4,4'-BIS[(4-ANILINO-6-MORPHOLINO-1,3,5-TRIAZIN-2-YL)AMINO]STILBENE-2,2'-DISULPHONATE (CAS 番号 16090-02-1) で以下の構造式を有する：



他の表示がない場合、有効成分の純度は>95%である。3種類の既存の副生成物が異なる濃度で存在する。通常、最も重要なのは、Di-anilino-morpholino-triazine；続いて Anilino-di-morpholino-triazine 及び Di-anilino-hydroxy-triazine である。文献では、FWA-1 はしばしば DASI と称される。

表 1a：物理化学的データの要約

試験	方法	結果	引用文献	信頼性 (Klimisch*)
一般名		FWA-1		
化学名		DISODIUM 4,4'-BIS[(4-ANILINO-6-MORPHOLINO-1,3,5-TRIAZIN-2-YL)AMINO]STILBENE-2,2'-DISULPHONATE	1	
CAS 番号		16090-02-1	1	
EINECS 番号		240-245-2	1	
分子式		C40 - H40-N12-O8-S2.2Na	1	
分子量		925	1	
物理的状态		黄色粉末		
密度	EEC 84/449/A	1540 kg/m ³	2	1b
融点	OECD102	>300	3	1b
沸点		n/a		
蒸気圧	OECD104	<7E-16 Pa (25)	4	1b
オクタノール/ 水分係数 [log10]	OECD107	-1.58 (pH6.6, 25)	5	1b
水溶解度[mg/l]	OECD105	1800 (20、pH7) 3200 (20、pH8)	6	1c
脂肪への溶解度	OECD116	<0.1 mg/100g 脂肪 (37)	7	1b
pH		7-9 (1 g/L; 20)		
pKa (遊離酸)	OECD112	-2.5 >pKa >-3.0	8	1b
水中安定性	OECD111	T _{1/2} = >1 年 (25、pH4-9)	9	1b

* : Klimisch⁴⁵ et al, “信頼性カテゴリーの基準” (1997) に準じた。

3.1.1 発生毒性及び生殖毒性試験に使用したアナログ (類縁体) の化学構造

以下の特性を有する FWA-1、CI 増白剤 339 及び CI 増白剤 220 のアナログを 5.2.1.11 章及び 5.2.1.12 章に記載されたそれぞれ催奇形性試験及び生殖毒性試験の被験物質としてのみ使用した。これらは、ヒト健康リスクあるいは環境リスク評価についてのさらなる評価に使用しなかった。

3.1.1.1 C.I.蛍光増白剤 339

FWA-1 の遊離酸である C.I.蛍光増白剤 339 (C.I.B.339) の化学名は、4,4'-BIS[(4-ANILINO-6-MORPHOLINO-1,3,5-TRIAZIN-2-YL)AMINO]STILBENE-2,2'-DI-SULPHONIC ACID (CAS 番号 32466-46-9) で、以下の構造式を有する：

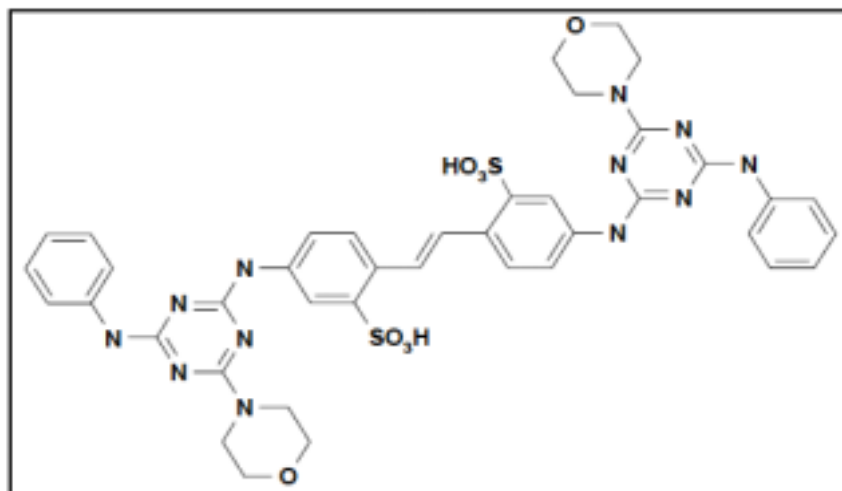


表 1b : CIB339 の物理化学的データの要約

	C.I.蛍光増白剤 339
一般名	FWA-1 の遊離酸
CAS 名称	4,4'-BIS[(4-ANILINO-6-MORPHOLINO-1,3,5-TRIAZIN-2-YL)AMINO] STILBENE-2,2'-DISULPHONIC ACID
CAS 番号	32466-46-9
分子式	C40-H40-N12-O8-S2
物理的状态	固体

3.1.1.2 C.I.蛍光増白剤 220

FWA-1 のアナログである C.I.蛍光増白剤 220 (C.I.B.220) の化学名は、
2,2'-(1,2-ETHENEDIYL)BIS[5[[4-[BIS(2-HYDROXYETHYL)AMINO]-6-[(4-(SULPHOPHENYL)AMINO)-1,3,5-TRIAZIN-2-YL]AMINO] BENZENESULPHONIC ACID,
TETRASODIUM SALT (CAS 番号 16470-24-9) で、以下の構造式を有する：

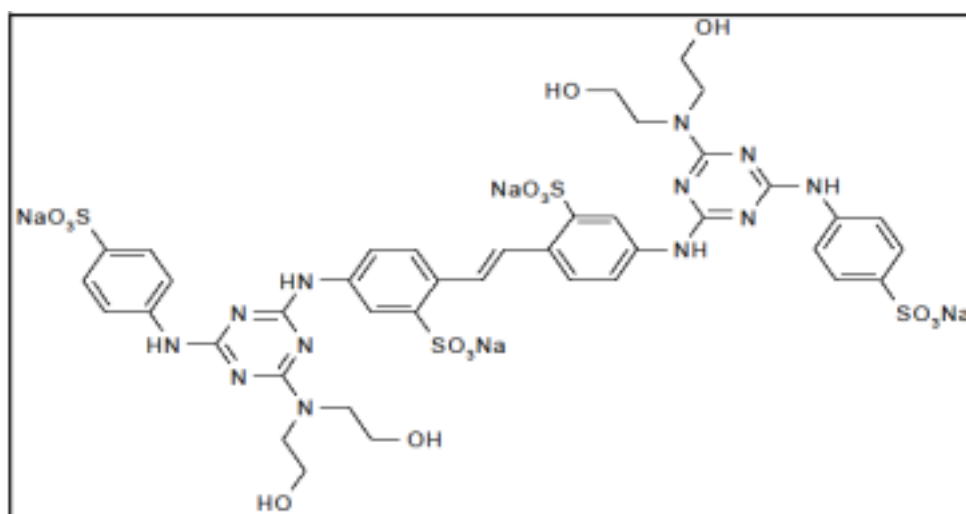


表 1c : CIB220 の物理化学的データの要約

	C.I.蛍光増白剤 220
一般名	FWA-1 のアナログ
CAS 名称	2,2'-(1,2-ETHENEDIYL)BIS[5[[4-[BIS(2-HYDROXYETHYL)AMINO]-6-[(4-(SULPHOPHENYL)AMINO)-1,3,5-TRIAZIN-2-YL]AMINO] BENZENESULPHONIC ACID, TETRASODIUM SALT
CAS 番号	16470-24-9
EINECS 番号	240-521-2
分子式	C40-H40-N12-Na4-O16-S4
分子量	1165.05 g/mol
溶解度 (25)	285 g/L
Pow (計算値)	< -6
加水分解安定性 (推定値)	> 1 年 (pH4-9)

3.2 製造ルート¹⁰

FWA-1 の製造のための最初の化合物は 4,4'-dinitrostilbene-2,2'-disulfonic acid [128-42-7]であり、水酸化ナトリウムの存在下での次亜塩素酸ナトリウム水で 4-nitrotoluene-2-sulfonic acid を酸化することによって得られるあるいは最近ではアンモニア水培地中で大気中の酸素から得られる。塩酸でエッチング処理した鉄くずを用いた Bechamps 還元により、4,4'-diaminostilbene-2,2'-disulfonic acid [81-11-8](DAS)を生成する。

次の段階として、DAS を塩化シアヌルと反応させる。この後、残りの塩素原子をアニリノ及びホルリノ基で置換させる。

商品の有効成分含有量は、通常 60-70%である。さらに<1%の副生成物で構成され、塩化ナトリウム及び水で平衡を保っている。

3.3 用途に関する要約

FWA-1 は、4,4'-BIS-[(TRIAZIN-2-YL)AMINO]STILBENE-2,2'-DISULPHONATE を基本とする蛍光増白剤 (FWA) である。FAW-1 は、家庭用洗剤における古典的なスチルベントタイプの蛍光増白剤の中で最も重要なメンバーである。FWA-1 はセルロース繊維と高い親和性を有するが、また漂白工程において不安定である。

この蛍光増白剤の 90%以上は、0.05 ~ 0.15%の濃度範囲で家庭用洗剤として使用されており、繊維及び紙の中では平衡である。それは Distyrylbiphenylsulfonate (DSBP)タイプの FWAs と一緒に使用される。

環境運命が異なる FWA-1 と DSBP タイプの FWAs を一群として結び付けることは適切で

はない。

FWA-1 は、無色の木綿用直接染料のように作用する。高い共役電子系、強度の平面性の及びスルホン基が木綿との親和性を保証する。染色に関する拡散及び吸着過程の理論は詳述されている^{11,12}。浸透性マトリックスモデルに従って、木綿繊維は風化したスポンジとみなすことができ、互いにつながった細孔の迷路の剛性マトリックスが存在する¹³。細孔は水で満たされ、FWA はこれらに進入し、細孔の壁の表面を拡散して繊維に浸透する。FWA 分子は細孔の水相に進んで時々結合部位と衝突し、結合し、その結果固定化する。しかしながら、FWA 分子は一定の時間後、結合の強さに依存して脱着し、水相に再遊離し、繊維の内部に向かってその動きを再開する。結合部位の性質は、十分に理解されていない。

洗濯物は、そのライフサイクル中に 100 回前後洗濯される。各洗濯過程中に繊維における濃度に依存して動的平衡が生じ、FWAs 及び他の多くの媒介変数を与える。繊維のライフサイクル中に外観の白さが増加すると判断される。測定結果は、最終目標の最高 72% の FWA-1 の濃度が繊維に吸着することを示している (Poiger³³, p.63)。このことは、FWA が廃棄及び / または焼却されるまで繊維に残っていると想定することができる。

FWA-1 は、一般に広く使われている消費者製品に含まれるため、環境コンパートメントの水、堆積物及び土壌に広く分布することが考えられる。

ヨーロッパにおいて、FWA-1 は数社で生産されている。Ciba Specialty Chemicals Inc. は、FWA-1 の HERA 環境リスク評価を提供する準備ができてい唯一の重要な生産者である。生産量は、>1000 t/a であり、FWA-1 は HPV 製品として通知を受けた。ヨーロッパにおける総使用量は、CEFIC によって提供された ; 2001 年のヨーロッパにおける活性成分の使用量は約 2100 トンと概算された ; 使用量は、市場動向に従って年々変化する。

4. 環境アセスメント

4.1 環境ばく露評価

4.1.1 環境除去及び運命（光分解）

4.1.1.1 環境除去：吸着及び生分解

蛍光増白剤（FWAs）は、通例の生分解性試験（OECD 301A-E）が DOC（溶存有機炭素濃度）の明確な分解を示さなかったことから、難分解性であるとみなされる。

FWA-1 は、本質的生分解性³³（OECD 302B）試験を行った結果、3 時間後に 89.6% が消失し、21 日後に DOC の 98.8% の除去率を示した。

FWA-1 はまた、OECD 303A “Coupled unit 試験” を用いた消失試験も実施した。消失¹⁴ は 92% であり、同様の製剤を用いた反復試験¹⁵ は 86% の消失であった。

スイスの Glatt³⁵ 下水処理場における物質収支の測定結果は、85% が汚泥に吸着することを示した。この試験において、FWA-1 は、別名 FWA3 という名称で掲載されている。

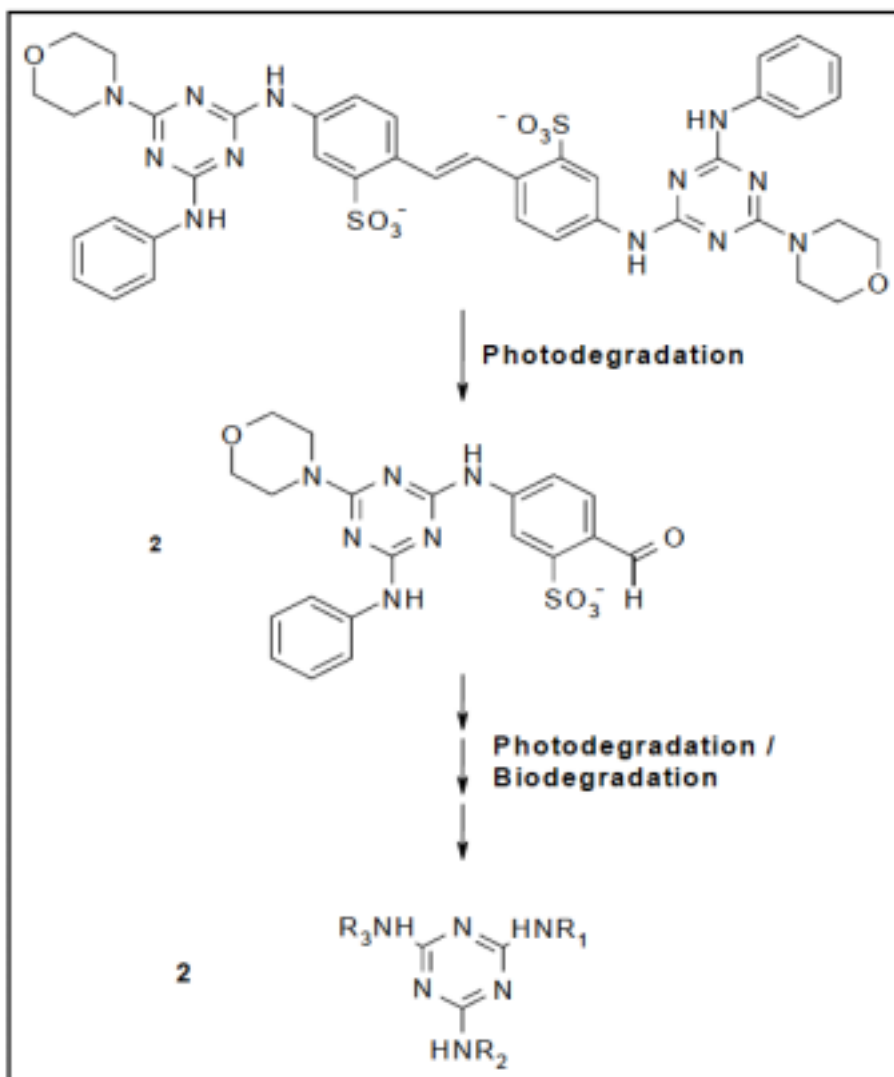
実施された異なる検定の結果から、FWA-1 は、85-90% が汚泥に吸着すると判断された。今後の計算には、モニタリングデータ³⁵ に由来する 85% の消失値を使用した。

4.1.1.2 環境運命：非生分解過程としての光分解

FWA-1 の非生分解性試験も実施した。FWA-1 は、全ての FWA のように日光に感受性がある。日光の存在下の希釈液において、FWA-1 は、スチルベン成分の可逆性異性化³⁵ を起こす。この過程において、2 種類の異性体が発現した。これらは (E)-FWA-1 及び (Z)-FWA-1 と命名され、環境条件下で数分以内に平衡状態になる。合成洗剤製品に使用された FWA-1 は E-異性体で構成されたのに対し、Z-体への異性化は蛍光の完全消失を誘導する。

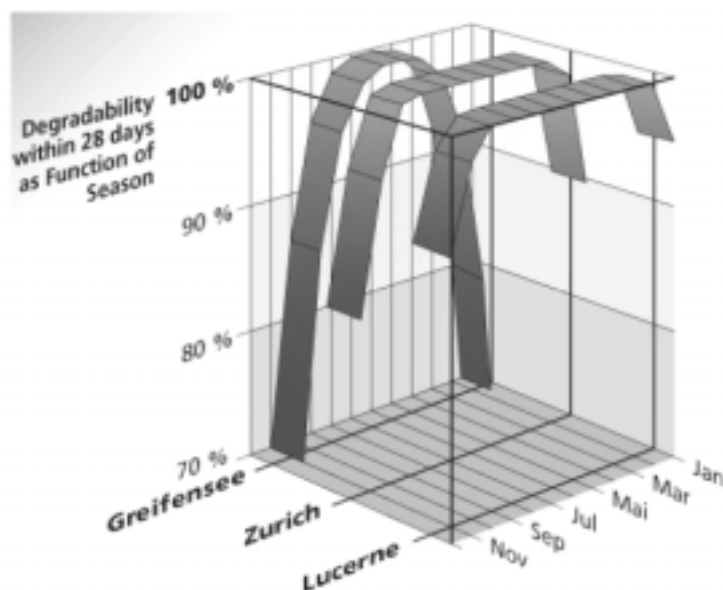
日光条件下での非生物過程をさらに検査した。一般的な非生分解 / 生分解経路を次の図に示した。

図 1： FWA-1 の分解経路



非生物過程は、約 80% の非活性型 Z-異性体及び 20% の活性型 E-異性体への異性化から始まる。第 2 段階（上述）において、E-及び Z-異性体は河川及び湖において光分解³²を受ける。Kramer¹⁶ は、最初の反応がアルデヒドを形成する酸化的開裂であると提案する。Greifensee³² 湖で測定した半減期は、 4.6 ± 0.5 時間であった。さらに光分解反応は、詳細に同定されていない多くの代謝物を生成する。このことは、これらの代謝物は、毒性はないが、ゆるやかに分解されることが知られているメラニン誘導体を最終的に形成することを示唆している。

天然水の透光層における光分解キネティクスモデルも作成した。計算は、Center for Exposure Assessment Modeling (US EPA¹⁸) のソフトウェアである CGSOLAR (バージョン 1.10、1988 年 2 月) に基づいている。

図 2：北緯 50°¹⁷ 地点における天然水中の光分解キネティクスモデル

計算は、冬の北緯 50° 地点においても 28 日以内に 70% 以上が光分解されることを示した。これらの結果は、冬の半減期[t1/2]と一致した。

Greifensee : t1/2 は 21 日

Lucerne 湖 : t1/2 は 7 日

Zurich 湖 : t1/2 は 7 日

光にばく露させたサンプルの生分解性 / 消失

FWA-1 の光分解によって得られた生成物と FWA-1 の生分解性 / 消失を比較する目的でいくつかの試験も行われた。FWA-1 の水溶液を太陽光の人工光源にばく露させ、5 日後の生物化学的酸素要求量 (BOD₅) 及び / あるいは 28 日後の消失 (OECD 302B) を測定した。

表 2： 光分解から得られたサンプルと FWA-1 の比較

サンプル	照明	OECD 302B	BOD ₅
FWA-1	0 時間	90% DOC ³³	0 mgO ₂ /L
Sunlit 1	2.5 時間	---	0 mgO ₂ /L ¹⁹
Sunlit 2	6 時間	---	80 mgO ₂ /L ²⁰
Sunlit 3	6 時間	---	0 mgO ₂ /L ²¹
Sunlit 5	6 時間	28% DOC ²²	---
Sunlit 6	6 時間	47% DOC ²³	---

FWA-1 は、生分解ではなく、汚泥への吸着による高い DOC 消失を示した。最初の段階として光照射は、スチルベン成分の二重結合を開裂させる。光分解により得られた副生成物は、分子サイズがより小さくなるため、活性汚泥との親和性は低くなる。

従って、Zahn-Wellens 検定における DOC - 消失は、ほとんど 90% から 28% ~ 47% まで減少した。1 サンプルを除いて、生分解の指標は有効ではなかった。

4.1.2 光分解を含むモニタリング研究

3 種類のモニタリング試験は、ドイツ及びスイスの河川及びスイスの湖 “ Greifensee ” をカバーしており、利用可能である。

4.1.2.1 ドイツの河川のモニタリングプログラム

ドイツ FWA モニタリングプログラム²⁴は、汚水処理場の廃水が流れ込む河川における濃度を測定するために、1993 年に始動した。サンプリングは、1993 年 8 月から 10 月の間に代表的な 5 箇所の STPs (下水処理場) の上流及び下流で行った。サンプルは、TEGEWA によって調整された界面活性剤 - モニタリング試験の枠組みで地方当局によって毎日採取された。5 箇所の河川 - このうち 2 箇所は東ドイツに位置する - は、地質学的バックグラウンド、流速及び下水処理状況に関して代表的な横断研究のために実施した。合理的な最悪の事例条件を確保するために、人口密集地域の集水地域を含む STPs (下水処理場) を有する小さな河川を選択した。STPs 上流及び下流のサンプリング結果を一覧表にした。

表 3： ドイツの河川における FWA-1 の濃度

河川名	STP 上流	STP 下流	濃度範囲
Isar	115 ng/L (s=27, n=7)	162 ng/L (s=111, n=7)	22 – 230 ng/L
Wupper	121 ng/L (s=72, n=7)	323 ng/L (s=231, n=7)	20 – 337 ng/L
Leine	126 ng/L (s=58, n=7)	ポイント A : 141 ng/L (s=70.1, n=7) ポイント B : 204 ng/L (s=34.7, n=7)	29 – 244 ng/L
Chemnitz	544 ng/L (s=413, n=7)	ポイント A : 618 ng/L (s=414, n=7) ポイント B : 1083 ng/L (s=767, n=7)	140 – 2097 ng/L
Teltow-Kanal	556 ng/L (s=431, n=7)	ポイント A : 503 ng/L (s=292, n=7) ポイント B : 403 ng/L (s=340, n=7)	123 – 726 ng/L

s 標準偏差

n 測定したサンプル数

FWA 含有 STP 廃水は、バックグラウンド濃度の有意な増加を示した。Chemnitz の場所は、その時、機械的廃水処理施設のみを持っていた。モニターした河川における FWA-1 の濃度範囲は、20 ~ 2097 ng/L であった。Chemnitz 河川の 90% 点は、1200 ng/L であり、この値を PEC_{local} に使用する。

4.1.2.2 スイスの河川のモニタリングプログラム

スイスモニタリングプログラムは、スイスの水質データを補充するために、西暦 1993/95-96 年にチューリッヒスイス連邦工科大学(ETH チューリッヒ)の命題の環境において実施された²⁵。サンプルは、既存の国家 NADUF プログラム (スイス河川のモニタリング分析についての国家長期プログラム) のサイトからサンプリングが利用可能である。11 の水文学的に制御された河川ステーションが、スイスの異なる 3 種類の集水地域を含むように選択された。

人の活動の影響が少ないアルプスの河川

人の活動が変化する湖を伴ったスイス高原の大河川

高い人口密集地域を伴った小さな河川

11 箇所のサンプリング地点からそれぞれ 2 週間コンポジット (混合) サンプルを 13 サンプル収集し (1995 年 1 月から 1996 年 1 月まで) 分析した。

表 4 : スイスの河川の FWA-1 の濃度

群	河川名	90%値 [ng/L]	平均 [ng/L]	範囲 [ng/L]	s	n
	Rhine (1A)	34.5	20.1	6 - 40.6	± 11.5	13
	Saane (5)	86.6	70.3	48.7 - 92.2	± 13.3	13
	Rhone (6A)	75.2	57.3	23.3 - 93.8	± 21.0	13
	Aare (4A)	57.2	39.5	19.9 - 66.6	± 14.1	11
	Aare (4B)	93.2	74.8	41.9 - 99.8	± 17.5	12
	Aare (4C)	122.2	105.9	85.7 - 130.7	± 15.1	6
	Rhine (1B)	75.7	60.5	42.5 - 87.4	± 12.9	13
	Rhine (1C)	740.0	548.7	278.1 - 986.2	± 192.6	12
	Rhone (6B)	98.6	74.2	25.7 - 121.1	± 24.5	13
	Thur (2)	167.9	128.8	93.3 - 177	± 28.4	12
	Glatt (3)	616.6	436.4	255.8 - 646.4	± 142.9	13

* : FWA-1 の製造場の下流からサンプリング

s : 標準偏差

n : 分析に用いたサンプル数

集水地域の人口密度が非常に高いスイスの Glatt 川は、ほぼヨーロッパにおける最悪の事例のシナリオを代表する [Stoll²⁵ 1997]。希釈係数は 2.5 と低かった。90 パーセンタイルは 617 ng/L で平均 436 ng/L 及び中央値が 437 ng/L である。

全体の 90 パーセンタイルは 300 ng/L であり、この値を PEC_{regional} に使用する。

FWA-1 の製造場の下に位置する Rhine 川は、740 ng/L の 90 パーセンタイル、549 ng/L の平均及び 525 ng/L の中央値を有する。Glatt 川と同様に FWA-1 の製造場を源とする最も高い濃度であったため、モニターした地域の最悪の事例の状況を現している。

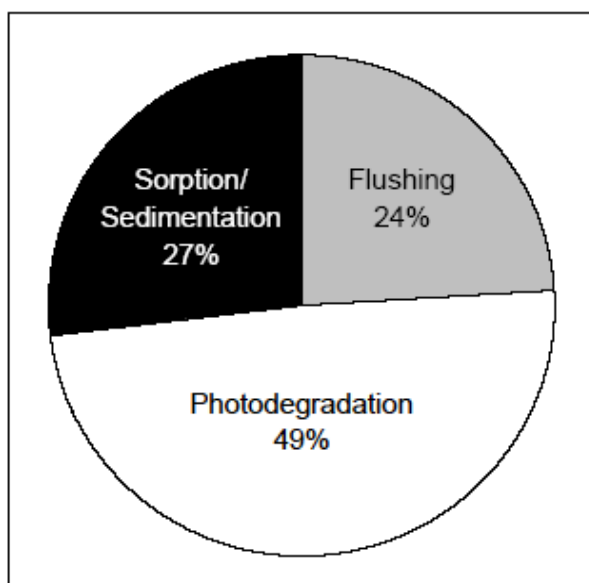
4.1.2.3 Greifensee 湖のモニタリング及び光分解²⁵

Greifensee 湖は、高い人口密集地域と小さな集水地域に位置する小さな富栄養湖である。この湖は、懸濁態有機炭素含有量（POC）、温度、酸素、pH 及び全放射能の長期データについて詳述されている。湖の深水層は、好氣的（冬／春）及び嫌氣的（夏／秋）状態の規則的な変化を示す。従って、Greifensee 湖は、FWA-1 の光分解を試験するのに優れた事例である。

1995 年 4 月から 1996 年 4 月まで、FWA-1 の濃度プロファイルが測定された。これらのデータは、プロットされ、そしてモデルとなった値と比較された。モニタリングと数理的モデル化の間で良好な一致がみられた。

FWA-1 が光分解をうけることは、河川や湖の透光層が重要であることを明らかにした。光分解の動態データは、現在良く知られており、種々の太陽光のばく露条件下における光分解の予測が可能である。Greifensee 湖及び Glatt 川における実地試験²⁵は、

図 3：Greifensee 湖の FWA-1 の質量特性



人口密集地域の最悪の事例の条件下における光分解率と規模を立証する。

Greifensee 湖の夏の FWA-1 の垂直濃度プロファイルは重要な光分解が起こることを証明した。Greifensee 湖におけるプロジェクトは、有用な水文学のデータとして入手可能な“実社会”の条件下における FWA-1 の総排泄量と同様に物質収支の測定も可能にした。物質収支は、FWA-1 の 49% が光分解によって分解されたことを示した（図 3）。収支は、27% の吸着 / 堆積及び 24% の集水地域中への流出に割り当てられる [Stoll, 1996¹⁹]。光分解の高い割合は、光分解の作用機序及び光分解生成物の化学的性質についての

疑問を引き起こす（4.1.1.2 参照）。

4.1.2.4 湖の底質における FWA モニタリング

湖の底質における FWA-1 のモニタリングは、Greifensee 湖の試験の中で行われた²⁵。底質の中心の分析結果は、1970 年代に 1.2 mg FWA-1/kg 底質の最大濃度を示し、1983 年以降は 0.7 mg FWA-1/kg 底質で横ばいになった。深度 10 及び 30m でトラップした底質の 13 サンプルの分析結果は、濃度範囲が 170 ~ 2200 µg/kg 底質、平均 870 µg/kg 及び中央値 825 µg/kg 底質を示した。得られた 90% 値、すなわち 1597 µg FWA-1/kg 底質をリスク評価に使用した。

Greifensee 湖が、ヨーロッパにおける最悪の事例の地域の 1 つを表していることから、この方法は妥当なものであると考えられる [Stoll²⁵, 1997: 表 A8 及び A10, p. 106 及び 107]。

4.1.2.5 土壌中の FWA モニタリング

EAWAG (水資源及び水質汚濁規制に関するスイス連邦協会) が Ciba Specialty Chemicals Inc. のために土壌試験を設計し、1999 年～2003 年まで実施した。戸外の 2 箇所に、それぞれ 1m² の小区画を準備した。各区画は、スイスの法律に従って作成された乾燥汚泥の最大許容量に基づいて、共同下水処理場から異なった量の安定化汚泥を処置した。土壌サンプルは 1、4、7、12、20、29 及び 45 ヶ月後に採取し、FWA-1 の濃度を分析した。FWA-1 は深度 2.5 cm の上層部において痕跡程度に認められた。濃度は経時的に四散した。従って、4、7 及び 12 ヶ月後のサンプルの結果を PEC_{soil} 値の推定に使用した。地方 PEC は、高濃度が認められた領域の 90 パーセンタイルから算出し (PEC local = 0.45 mg/kg)、地域 PEC は、有効な全てのデータの 90 パーセンタイルに基づいて算出した (PEC regional = 0.4 mg/kg)。この段階でドイツ語の報告書草案のみが入手可能である。

4.1.2.6 生物濃縮

FWA-1 は、水溶解度が約 2 g/L で Log Kow が -1.9 であった。両項目は、pH に高感受性であった。このデータ及び分子サイズから、有意な生物濃縮はないことが想定された。

1976 年に、以前 Ciba は ¹⁴C 放射性標識 FWA-1 を用いて *Leuciscus idus* における生物濃縮と分布を測定するための試験を行った²⁶。動態試験において、魚に 50ppb の ¹⁴C 標識 FWA-1 をばく露させた。ばく露後 1、3 及び 7 日の各検査時に 3 匹の魚を採取し、異なる部位の放射能を測定した。止水式試験において、1 匹の魚に 5 ppb の ¹⁴C 標識 FWA-1 をばく露させ、異なる部位の放射能を測定した。魚の各部位と全体 (各部位から計算) において、BCF's は <1 であったため、濃縮はなかった。

4.1.2.7 結論

スイス技術研究所 (ETH) 及び化学工業会によって大規模な調査プログラムが行われ、環境コンパートメントの水、汚泥及び底質中の FWAs の運命が評価された。

科学的に、FWA-1 タイプの FWAs は、速やかに異性化され、続いて US EPA の GCSOLAR を用いた数理的モデル化の非常に好機な条件下で 28 日以内に > 70% が光分解されることを確認した。12 ヶ月間にわたって行われた Greifensee 湖のモニタリング結果は、50% の光分解、吸着及び流出が共に 25% であった。生物濃縮は認められなかった。

ドイツ及びスイスの河川及び湖の 17 箇所から採取したサンプルについて測定された平均濃度は、6 ~ 2133 ng/L の範囲で中央値は、約 107 ng FWA-1/L であった。

4.1.3 環境ばく露評価：EUSES シナリオの説明

EUSES²⁷ (欧州化学物質影響評価システム) は、ヨーロッパ TGD²⁸ (技術指導書) に記載されている数理的モデル化及び評価工程を含むソフトウェアである。基礎となるモデルは、環境へのリスクを特徴付けするための土壌と同様に環境コンパートメントの水、汚泥、底質中の化学物質の分布を推定する。

最初の段階において、EUSES²⁷ 1.0 及び TGD²⁸ (技術指導書) 第 7 章、IC-5 個人/家庭用及び IC-6 公有地 “石鹸、生地の洗浄、皿の洗浄及び表面洗浄物質の環境中への放出に関するアセスメント”、p.641-648 (EUSES に準拠したデフォルト値) によって示唆されたデフォルトは、HERA 指針書²⁹、2002 年 4 月、2.6 HERA “合成洗剤シナリオ”、p.29-31 及び補遺 E に記載されている通り、家庭用洗剤 (合成洗剤のためのシナリオ) のモニタリング試験を通して得られた緻密なパラメーターと比較される。

シナリオ HERA：洗剤のためのシナリオ (HERA、方法についての指針書、2002 年 4 月 22 日、p. 29-31 参照)

- ・ 下水処理場への接続率は 80%
- ・ FWA-1 の 60% は繊維製品に取り込まれ、最終的に繊維と共に捨てられて 40% が流出*
- ・ 地域は陸上における総トン数の 7%
- ・ 地方の総トン数は因子 4 ではなく因子 1.5 に増加
- ・ STP における除去：85%
- ・ 冬季の表流水における光分解の半減期は 7-21 日

*：Poiger³⁵ による計算では、最大 72% が繊維に吸着したことを示した。この値は、STP Glatt からの質量流量で計算された値であり、母集団の実際の繊維の混合比 (木綿及び人工繊維) に基づいている。数理的モデル化は、慎重に 60% を用いて実施した (“用途に関する要約” 参照)。

4.1.4 環境ばく露の計算に使用した物質のデータ

表 5： 環境ばく露の数理的モデル化に使用したデータ

試験	結果	引用文献	信頼性 (Klimisch*)
一般名	FWA-1	1	
CAS 番号	16090-02-1	1	
分子量 [g/mol]	925	1	
融点 []	>300	3	1b
沸点 []	n/a		
蒸気圧 (25) [Pa]	<7E-16 (25)	4	1b
オクタノール/水分配係数 [log10]	-1.58 (pH 6.8, 25)	5	1b
水溶解度 [mg/l]	1800 (pH 7, 20) 3200 (pH8, 20)	6	1c
ヘンリー定数	<1E-10 (25)	na	na
Koc	1040-2240 L * kg ⁻¹	30	1a
魚における生物濃縮係数 (BCF)	< 1	31	3a
欧州大陸における総トン数	2100		
分解性	生分解性はないが、光分解を受ける	32	---
本質的生分解性 (OECD 302B)	90% 消失 83% 吸着	33、34	
空気中に放出される量	0		
水中に放出される量	約 15%	35	
汚泥中に放出される量	約 85%	35	
排水処理場に放出される量	0		

* : Klimisch et al, “信頼性カテゴリーの基準” (1997) に準じた。

4.1.5 予測環境濃度 (PEC) の算出

2種類のシナリオ (HERA / EUSES 及びモニタリング) は、地方及び地域のコンパートメントについて、次の PECs を示す。

地方のコンパートメントにおける FWA-1 の分布	シナリオ HERA	モニタリング
表流水の PEC [mg/l]	0.0011	0.0012 ^a
STP の PEC [mg/l]	0.0076	0.0034 ^b
底質の PEC [mg/kg]	0.038	0.25-1.6 ^{b,c}
土壌 180 日の PEC [mg/kg]	0.044	0.45 ^d
未処理下水の汚泥中の濃度 [mg/kg]	21.0	42 ^b

a : Chemnitz 川のモニタリング結果の 90 パーセンタイルを地方濃度として表示する。

b : Poiger Thomas ; 汚泥処理における洗剤由来の蛍光増白剤の動態及び運命 ; 論文 ETH No. 10832 (1994 年)、(FWA3) p. 52, 53 及び 69。モニターした STP s は、人口の多い集水地域の値を表す。

c : Stoll Jean-Marc ; 天然水中の蛍光増白剤 ; 論文 ETH No. 12355 ; チューリッヒ [1997 年]。

d : EAWAG (Dubendorf、スイス) によって実施された土壌試験の暫定的結果。Wetzikon 地点の 90 パーセンタイルは、地方 PEC に使用し、Wetzikon 及び Reckenholz から得た全てのデータの 90 パーセンタイルは地域 PEC に使用した。

地域のコンパートメントにおける FWA-1 の分布	シナリオ HERA	モニタリング
表流水の PEC [mg/l]	0.0003	0.0003 ^e
底質の PEC [mg/kg]	0.014	---
土壌の PEC [mg/kg]	0.015	0.40 ^d

e : 全ての測定値の 90 パーセンタイルを PEC_{regional} として表示する。

ほとんどの場合、シナリオ HERA (合成洗剤のためのシナリオ) の計算値は、モニタリング結果と良く一致し、得に河川において一致した。それにもかかわらず、モニタリングサンプルは、EUSES (合成洗剤のためのシナリオ) を用いたモデルよりも汚泥、堆積物 (底質) 及び土壌 (2~40 倍) 中の FWA-1 の濃度の方が高かった。

以下の意見が、汚泥、堆積物 (底質) 及び土壌のコンパートメントのモニタリングと数理的モデル化の間の相違を説明すると考えられる。

- ・ OECD106 から得た K_{oc} 値 : 土壌吸着 / 脱離は、EUSES を用いた数理的モデル化に使用した。この検定は、環境条件をはるかに上回る 0.25 ~ 2.5 mg FWA-1/L の濃度範囲で実施した。
- ・ 環境条件下において、我々は 1 µg FWA-1/L 未満の濃度を予測することができる。Ca²⁺ のような二価金属陽イオンは、FWA-1 より高濃度で存在し、陰イオンの FWA-1 と結合したかもしれない。二価 Ca²⁺ と FWA-1 の相対濃度に依存する ; これらの結合は異なるサイズを有し、異なった分配行動を示すかもしれない。
- ・ 結果として、FWA-1 様二硫酸ナトリウム塩誘導体は、EUSES デフォルトあるいは HERA 合成洗剤モデルでは適切に評価することができない。

4.2 環境リスク評価

4.2.1 環境毒性データ一覧

試験の種類	試験法	結果	引用文献	信頼性 (Klimisch*)
<u>水生生物</u>				
藻類の 72 時間 LC50 値 [mg/l]	OECD 201	81	36	1a
ミジンコの 24 時間 LC50 値 [mg/l]	OECD 202/	>1000	37	1a
魚類の 96 時間 LC50 値 [mg/l]	OECD 203	>337	38	1a
別の魚類の 96 時間 LC50 値 [mg/l]		750-1060	39	2
藻類の 72 時間 NOEC [mg/l]	OECD 201	25	36	1a
ミジンコの 21 日間 NOEC [mg/l]	OECD 202/	1	40	3
魚類の 14 日間 NOEC [mg/l]	OECD 204	61.8	41	1a
<u>陸生生物</u>				
ミミズの LC50 値 [mg/kg]	OECD 207	>5000	42/43	1a/1c
ミミズの NOEC [mg/kg]	OECD 207	1.37		1a
<u>WWTP (下水処理場) 微生物</u>				
EC50 [mg/l]	OECD 209	>100	44	1a
EC10 [mg/l]	OECD 209	>100	44	1a

* : Klimisch et al, “信頼性カテゴリーの基準” (1997) に準じた。

4.2.2 予測無影響濃度 (PENC) の推定に使用した生態影響試験データの評価

FWA-1 の水生生物に対する毒性試験は、次の要因が存在するため、結果の解釈が難しくなる。

- ・ 溶解性に対する pH の著しい影響
- ・ 通常の試験条件下における溶解性に対する陽イオンの影響 (綿状沈殿物の発現)
- ・ カルシウムのような新規物質を形成することによる毒性の増加

正確な試験条件の記述の無い水生生物の文献において、高い毒性を示す若干の結果が存在する。これらの結果は、廃棄し、信頼できる結果を伴った試験を選択した。

溶解性、pH 及び陽イオンは、天然水の環境条件下では FWA-1 の濃度が 2 µg/L をほとんど越えないため、はるかに弱い影響を有する。環境条件下において、我々は FWA-1 のほぼ完全な解離を予測することができる。

4.2.2.1. 藻類

緑藻 (*Scenedesmus subspicatus*) を用いて実施した 24、48、72 及び 96 時間ばく露の 1 試験が利用可能である。生長率 (72 時間) に基づいた結果は、ErC₅₀ = 81 mg/L 及び NOEC = 25 mg/L であった。藻類は急性試験において最も感受性が高かったが、ミジンコを用いた慢性試験より感受性が劣ったことを示した。

さらに、藻類の毒性試験は、好氣的光分解前後の FWA-1 を用いて実施された。全ての試験は、40 mg/L に相当する FWA-1 の濃度を基にした。

サンプル	照明	濃度	生長阻害	IC ₅₀
FWA-1 (a)	0 時間	40 mg/L	37 %	> 40 mg/L
FWA-1 (b)	0 時間	40 mg/L	49 %	40 mg/L
Sunlit 1	2.5 時間	40 mg/L	0 %	> 40 mg/L ⁴⁶
Sunlit 2	6 時間	40 mg/L	0 %	> 40 mg/L ⁴⁷
Sunlit 3	6 時間	40 mg/L	0 %	> 40 mg/L ⁴⁸

FWA-1 と比較して、好氣的光分解によって藻類の急性毒性が有意に減少したことは明白である。この結果は、好氣的光分解が FWA-1 の水生動物に対する急性毒性を軽減させたことを示しており、環境リスク評価において、光分解生成物を考慮する必要がないことを証明している。

光分解の化学的性質及び生分解度に対する影響は、4.1.1.2 “環境運命：非生分解過程としての光分解” で取り扱う。

4.2.2.2 ミジンコ

オオミジンコ (*Daphnia magna*) を用いた急性及び慢性試験がそれぞれ 1 試験ずつ利用可能である。24 時間後の急性毒性 (EC₅₀) は、>1000 mg/L であった。沈澱物のため、100 mg/L のツイーン 80 を分散剤として使用した。

生存率及び生殖能をエンドポイントとした長期毒性試験における NOEC は 1 mg/L であった。水溶解度は 1900 mg/L であったが、3.2、10、31.6 及び 1000 mg FWA-1/L の濃度で沈澱が認められた。さらに綿状沈殿が試験期間中に観察され、濃度分析結果は、重要な差異を示した。沈澱は、腸への機械的影響及び体への付着の相互作用により、ミジンコの運動性に影響を与えたかもしれない。結果として、慢性試験の結果は、信頼性がないためリスク評価に使用すべきではないと考えられた。

環境下における FWA-1 濃度は、ほぼ完全に解離し溶解したことを言及しなければならない。沈澱の影響は、環境条件下で存在しない。

4.2.2.3 魚類

急性毒性試験は、種々の魚種において認められた。

魚種	実験期間 (時間)	エンド ポイント	LC50 [mg/L]	参考文献	信頼性*
Brachydanio rerio	96	死亡率	> 100	Bayer AG, 1992	1a
	96	死亡率	> 319 (Z-異性体)	Ciba-Geigy, 1992 ³⁸	1a
	96	死亡率	> 319 (E-異性体)	Ciba-Geigy, 1992 ⁴⁹	1a
	96	死亡率	7.1 (名目 27)	Ciba-Geigy, 1991 ⁵⁰	3c
	96	死亡率	25.7	Ciba-Geigy, 1982 ⁵¹	3a
	96	死亡率	> 100 (光分解混合物)	Novartis, 1998 ⁵²	2c
Leuciscus idus	48	死亡率	> 100	Bayer AG, 1978	3a
Ictalurus lacustris	96	死亡率	1060	Ciba-Geigy, 1971	3a
Salmo gairdnerii	96	死亡率	750	Ciba-Geigy, 1971	3a
Lepomis macrochirus	96	死亡率	32	Sturm et al., 1975	4b

* : 信頼性は、Klimisch et al, “信頼性カテゴリーの基準” (1997) に準じた。

LC₅₀ 値が 7.1mg/L であった試験 (Ciba-Geigy, 1991) は、綿状沈澱を示し、結果として回収率は約 26% のみであった。LC₅₀ が 27mg/L であった試験においても綿状沈澱を示し、実際の濃度は測定できなかった。溶解限界及び沈澱は、おそらく Ca 及び他の塩の不溶性物質を形成し、それにより鰓での酸素交換を阻害した可能性がある。この影響は Sturm ら (1975) 及び Ciba-Geigy (1982) により報告された結果にも影響したか否かは不明である。精製された Z-及び E-異性体を用いた試験結果は、良好な回収率を示し、綿状沈澱も認められなかった。

14 日間にわたる長期半止水式試験は、ゼブラダニオ (*Brachydanio rerio*) を用いて実施された。エンドポイントは、死亡率、中毒症状、体長及び体重であった。名目濃度は、100、316 及び 1000 mg FWA-1/L であった。名目濃度の 100 及び 316 mg/L において、死亡はみられず、体重の差異もみられなかった。316 mg/L 濃度区の 1 匹のみが運動量の低下を示した。1000 mg/kg 濃度区の魚は全て 7 日後に死亡した。

従って、最小作用濃度 (LOEC) は 316 mg/L (名目濃度) であると判断された。NOEC は 62.8 mg/L (名目濃度 100 mg/L) であると判断された。

4.2.2.4 陸生生物

FWA-1 の陸生生物の毒性について、ミミズを用いた試験結果のみ利用可能であった。生存率及び弛緩をエンドポイントとした 14 日間の試験結果は、LC₅₀ が >1000 mg/kg 及び NOEC が 1.67 mg/kg 土壌であった。全ての値は、名目濃度に基づいている。被験物質による明確な用量反応関係は認められなかった。スクリーニング限度試験の再現性では、LC₅₀ = >5000 mg/kg の結果を示した。

4.2.2.5 エストロゲン様作用

エストロゲン活性は、環境中に流出する全ての化学物質における懸案事項の一般的側面を有する。188種の天然及び外来性化学物質 [Blair⁵³ et al, 1999] の構造一覧と FWA-1 とを慎重に比較した結果、類似性を見出すことができなかった。Fang⁵⁴ 及び Shi⁵⁵ によって記載された (Q) SARs (構造活性相関) は、いかなるエストロゲン様作用の懸念も示唆しなかった。さらに、基本物質のジアミノスチルベン・ジスルホン酸 (DAS) を用いて人エストロゲン受容体結合試験⁵⁶ を実施した。これら試験条件下において、DAS は、もしあったとしても無視できる程度のエストロゲン活性であったことを示した。

4.2.2.6 予測無影響濃度 (PNEC) の推定

急性及び慢性試験 (魚、藻類及びミジンコ) から、藻類のみが正当な 25 mg/L の NOEC を提供したのに対し、魚の長期毒性及びミジンコの生殖試験は考慮に入れることはできなかった。従って、EC の TGD²⁸ に準拠して、査定因子 10 の代わりに 100 を適用しなければならない。

	NOEC / EC ₅₀	査定因子	PNEC
水生生物	25.0 mg/L	100	0.25 mg/L
堆積物中の生物	パーティション法	--	7.9 mg/kg
陸生生物	> 5000 mg/kg	1000	> 5 mg/kg
微生物	100 mg/L	10	10 mg/L

4.3 環境リスク特性

4.3.1 EUSES シナリオ “HERA” 及び “モニタリング” のリスク特性

EUSES 1.0 の計算プログラム及びモニタリングは次の結果を示す。

項目		シナリオ HERA	モニタリング
RCR 表流水	地域	0.012	0.0012
	地方	0.0044	0.0052
RCR 土壌	地域	< 0.003	< 0.08
	地方	< 0.009	< 0.09
RCR 堆積物	地域	0.002	0.104
	地方	0.005	0.203
RCR STP	地域	--	--
	地方	0.0008	0.0003

4.3.2 結論

FWA-1 の全てのリスク指数 - HERA ばく露シナリオ及びモニタリング - は、全ての環境コンパートメントにおいて 1 未満である。従って、家庭用洗剤としての FWA-1 の使用は、環境リスクを提示しないものと判断される。

モニタリングデータ - スイス及びドイツの 18 箇所の河川及び湖を意味する - は、水生コンパートメント対して “合成洗剤のための HERA シナリオ” と合理的な一致を示す。汚泥、堆積物及び土壌における数理的モデル化及びモニタリングの PEC 値に関する相違は、Ca²⁺ との結合形成によって説明可能と考えられた。これは、環境条件及び試験条件 (OECD106) 下において異なった分配行動を誘発する可能性があり、これは EUSES 2.0 によって補償されない。

5. ヒト健康リスク評価

5.1 FWA-1の消費者ばく露

5.1.1 製品の種類

以下の表 5.1.1 に詳述したように、FWA-1 の使用は、洗濯用コンパクト粉末、液体、固形及びゲル状洗剤と同様に主に従来型の洗濯用粉末洗剤及び液体洗剤である。これら製品に含まれる FWA-1 の最高濃度は、洗濯用従来型粉末及び液体洗剤で 0.005 ~ 0.15% 及び洗濯用コンパクト粉末、液体、固形及びゲル状洗剤で 0.015 ~ 0.35% の濃度範囲であり、最大濃度は 0.35% と思われる（HERA 策定会社、29.09.03）。

表 5.1.1： HERA 策定会社による西ヨーロッパでの用途（2003 年 9 月 29 日付け）。

用途	製品	有効成分の使用濃度範囲（%）	
		標準濃度範囲	最大濃度
洗濯用従来型洗剤	粉末	0.02-0.15	0.25
	液体	0.005-0.06	0.21
洗濯用コンパクト洗剤	粉末	0.08-0.22	0.22
	液体	0.04-0.1	0.12
	固形	0.075-0.35	0.35
	ゲル状	0.015-0.07	0.10

洗濯用製品における FWA-1 の使用は、洗濯中に繊維に物質が沈着することにより生地を蛍光増白させるように設計されている。場合によっては、あるいは特定の地理的地域によっては、合成洗剤と洗濯用固形石鹼を用いて衣類を手で洗濯し、それが主要な製品使用形態となっている。

5.1.2 消費者との接触シナリオ

製品の使用方法に基づいて、我々は、衣類の事前処理あるいは手で洗濯することによる未希釈消費者製品の皮膚への直接接触、衣類に堆積した残留物からの皮膚への間接接触、消費者製品の取り扱い中に発生した合成洗剤ダストの吸入及び皿に堆積した残留物、製品の事故による摂取から生じた経口摂取あるいは食品及び飲料水からの間接経口摂取を考慮した可能性のある消費者の接触シナリオを想定する。

表 5.1.2 : 消費者のばく露シナリオ

用途	ばく露シナリオ	暴露評価
洗濯用合成洗剤	衣類の事前処理に使用した場合の直接皮膚接触	5.1.3.1
	洗濯用石鹼を使用した場合の直接皮膚接触	5.1.3.2
	洗濯物を手で洗濯した場合の直接皮膚接触	5.1.3.3
	洗濯した衣類からの間接皮膚接触	5.3.1.5
	処理された生地を口に入れるあるいはしゃぶることによる経口ばく露	5.1.3.7
	消費者製品の取り扱い中に発生した合成洗剤ダストの吸入	5.1.3.6
食器洗い (誤用の仮説)	食器を手で洗浄した場合の直接皮膚接触	5.1.3.4
	皿に堆積した残留物からの経口ばく露	5.1.3.8
	食品及び飲料水からの経口ばく露	5.1.3.9

5.1.3 消費者の推定ばく露量

HERA 指針書に記載された消費者ばく露モデルは、‘欧州石鹼・洗剤工業会 (AISE)’ (AISE/HERA, 2002⁵⁷) によって提出された ‘西ヨーロッパにおける消費者製品の使用に関する習慣と使用’ の表に示したデータと合わせて使用した。この表は、グラム/作業で表示した洗濯用製品の使用データ、使用頻度、作業及びそれ以外の用途の持続時間を提示している。最小、最大及び典型的な使用頻度及び使用量を表中に示したが、我々は最大数をばく露評価に使用した。一部の例では、追加条件を必要とするが、その場合はそれらを記述する。

ラットを用いたトキシコキネティクス試験では、非常に低い経皮吸収率あるいは投与した FWA-1 の 0.1% の腸管吸収率を示した (セクション 5.2.1.13 参照) が、反復接触あるいは適用シナリの有効な実験データがなかったため、消費者のばく露評価については、100% の最悪の事例の吸収率を経皮あるいは腸管吸収に想定した。

5.1.3.1 衣類の事前処理に使用した場合の直接皮膚接触（スポット処理）

時々、衣類のシミは、ペースト状の合成洗剤（最高 0.25% の FWA-1 を含む 60% 粉末洗剤：AISE/HERA, 2002）を手でスポット処理される、あるいは液体（0.21% の濃度の FWA - 1）を用いて直接処理される。ばく露される皮膚表面積は、手のみ（ $S_{der} = 840 \text{ cm}^2$; EU TGD 2003、パート 1、補遺）であり、処理時間は 10 分以下である。従って、もし皮膚から吸収されたとしても FWA-1 の全身ばく露量は非常に少ないと想定することができる。以下の項目をばく露評価のために使用した：

bw	体重	60 kg
C	物質の濃度（洗濯用従来型液体洗剤）	2.1 mg/cm ³ (ml)
C'	製品負荷量（mg/cm ² ）	= C x T _{der}
F ₄	皮膚を介して吸収された分画の重量パーセント（最悪の場合）	100% (1.0)
n	1 日当たりの使用回数で示したばく露回数	0.71 (= 5/7)
S _{der}	ばく露皮膚の表面積（手）	840 cm ²
T _{der}	皮膚に接触している製品層の厚さ	0.01 cm

上記のばく露項目を用いて、FWA-1 の全身ばく露量（Exp_{sys}）を次の方法に従って推定する（HERA 指針書、2003）：

$$\begin{aligned}
 & \text{Exp}_{\text{sys}} \text{ (spot treatment)} \\
 & = [C' \times S_{\text{der}} \times n \times F_4] / \text{bw} \\
 & = [(C \times T_{\text{der}}) \times S_{\text{der}} \times n \times F_4] / \text{bw} \\
 & = [(2.1 \text{ mg/cm}^3 \times 0.01 \text{ cm}) \times (840 \text{ cm}^2) \times (0.71/\text{day}) \times 1] / (60 \text{ kg}) \\
 & = 0.21 \text{ mg/kg 体重/日}
 \end{aligned}$$

5.1.3.2 洗濯石鹼を使用した場合の直接皮膚接触

接触時間は非常に短く、また、皮膚の接触面積も非常に小さいため、このようなばく露から FWA-1 の全身性の吸収は起こらないと考えられる。洗濯石鹼に含まれる FWA-1 の濃度は、0.35% 未満のため、我々は FWA-1 の非常に低い皮膚刺激性が製品の総合的な皮膚刺激性の危険因子になることはない判断する。従って、このシナリオに対するリスク評価を考慮する必要はないと考える。

5.1.3.3 洗濯物を手で洗濯した場合の直接皮膚接触

洗濯物を手で洗濯し、その結果手及び前腕の皮膚 (S_{der}) に合成洗剤溶液が直接接触することは一般的に想定できないこともない。一般的に手で洗濯する場合は、0.25% (F_1) の FWA-1 を含む洗濯用合成洗剤 (洗濯用従来型粉末洗剤の最高濃度) を水に 1% 加えられる (C)。水から皮膚への移行率は知られていないが、最大と思われる推定全身ばく露量は、経皮吸収の最大量を最悪の事例として $F_4 = 100\%$ と仮定し、FWA-1 の表面からの吸収量を製品負荷量 C' (すなわちばく露した皮膚表面の面積単位当りの製品量) を使用することによって算出することができる。この製品荷重 C' は、ばく露皮膚面積 S_{der} を $T_{der} = 0.01\text{cm}$ (EU TGD、2003) の厚さの薄い膜に一樣に覆われたとする仮定に基づいて算出した。洗濯物の手による洗濯は、HERA に記載された習慣及び使用の表 (AISE/HERA, 2002) から得た情報に基づいて、1週間に平均 5 回 ($n = 5/7 = 0.71/\text{日}$) と推定される。成人女性の 60kg の既定体重 (BW) を使用した (EU TGD 2003、パート 1、補遺)。

bw	体重	60 kg
C	物質の濃度	10 mg/cm ³
C'	製品負荷量 (mg/cm ²)	= C x T _{der}
F ₁	製品中の物質分画の重量パーセント	0.25% (0.0025)
F ₂	メディウムから皮膚への移行分画の重量パーセント	未使用
F ₃	皮膚の残存分画の重量パーセント	未使用
F ₄	皮膚を介して吸収された分画の重量パーセント (最悪の事例)	100% (1.0)
n	1日当たりの使用回数で示したばく露回数	0.71 (= 5/7)
S _{der}	ばく露皮膚の表面積 (手及び前腕)	1980 cm ²
T _{der}	皮膚に接触している製品層の厚さ	0.01 cm

上述のばく露項目を用いて、FWA-1 の全身ばく露量 (Exp_{sys}) を次の方法に従って推定する (HERA 指針書、2003):

Exp_{sys} (hand washing laundry)

$$= [F_1 \times C' \times S_{der} \times n \times F_2 \times F_3 \times F_4] / bw$$

$$= [F_1 (C \times T_{der}) \times S_{der} \times n \times F_2 \times F_3 \times F_4] / bw$$

$$= [0.0025 \times (10 \text{ mg/cm}^3 \times 0.01 \text{ cm}) \times (1980 \text{ cm}^2) \times (0.71/\text{day}) \times 1] / (60 \text{ kg})$$

$$= 5.86 \times 10^{-3} \text{ mg/kg 体重/日}$$

5.1.3.4 皿を手で洗淨した場合の直接皮膚接触（誤用の仮説）

我々の知る限りにおいて、FWA-1 を粉末あるいは液体の食器洗い洗剤に添加されることはないが、FWA-1 を含む洗濯用合成洗剤をこの用途で使用されることは予見可能である。従って、FWA-1 の人へのばく露は、皿、食器、調理器具を手で洗淨する場合についても予想される。前述のシナリオで提示されたとおり、我々は次の項目を使用する：

bw	体重	60 kg
C	物質の濃度	10 mg/cm ³
C'	製品負荷量 (mg/cm ²)	= C x T _{der}
F ₁	製品中の物質分画の重量パーセント	0.25% (0.0025)
F ₂	メディウムから皮膚への移行分画の重量パーセント	未使用
F ₃	皮膚の残存分画の重量パーセント	未使用
F ₄	皮膚を介して吸収された分画の重量パーセント（最悪の事例）	100% (1.0)
n	1日当たりの使用回数で示したばく露回数	2 (= 14/7)
S _{der}	ばく露皮膚の表面積（手及び前腕）	1980 cm ²
T _{der}	皮膚に接触している製品層の厚さ	0.01 cm

上述のばく露項目を用いて、FWA-1 の全身ばく露量（Exp_{sys}）を次の方法に従って推定する（HERA 指針書、2003）：

$$\begin{aligned}
 & \text{Exp}_{\text{sys}} \text{ (hand dishwashing)} \\
 & = [F_1 \times C' \times S_{\text{der}} \times n \times F_2 \times F_3 \times F_4] / \text{bw} \\
 & = [0.0025 \times (10 \text{ mg/cm}^3 \times 0.01 \text{ cm}) \times (1980 \text{ cm}^2) \times (2/\text{day}) \times 1] / (60 \text{ kg}) \\
 & = 1.65 \times 10^{-2} \text{ mg/kg 体重/日}
 \end{aligned}$$

5.1.3.5 着衣からの間接皮膚接触

FWA-1 は、洗濯後も衣類の繊維に残るように設計されている。すなわち、服を着ることは、FWA-1 を含む生地を介して皮膚に接触すると思われる。着衣からの間接皮膚ばく露に関して、次のばく露項目を使用した（HERA 指針書、2003）：

bw	体重	60 kg
C'	製品負荷量	=(M x F' x FD)/W ₁
F'	生地に沈着した物質分画の重量パーセント	5% (0.05)
F ₁	製品中の物質分画の重量パーセント	0.25% (0.0025)
F ₂	メディウムから皮膚への移行分画の重量パーセント	1% (0.01)
F ₃	皮膚の残存分画の重量パーセント	100% (1)
F ₄	皮膚を介して吸収された分画の重量パーセント(最悪の事例)	100% (1.0)
FD	生地密度(木綿及び合成繊維の混合)	10 mg/cm ²
M	使用した未希釈製品量	150000 mg
n	1日当たり使用回数で示したばく露回数	未使用(1)
S _{der}	ばく露皮膚の表面積(手と頭部を除外)	17600 cm ²
W ₁	生地の総重量(推定)	1 x 10 ⁶ mg (1kg)

衣類に沈着した FWA-1 を介して子供たちあるいは幼児が間接的に経皮ばく露する量は、次のアルゴリズムに従って推定される（HERA 指針書、2003）：

$$\begin{aligned}
 & \text{Exp}_{\text{sys}} (\text{indirect skin contact clothing}) \\
 &= [F_1 \times C' \times S_{\text{der}} \times n \times F_2 \times F_3 \times F_4] / \text{bw} \\
 &= [F_1 \times ((M \times F' \times \text{FD})/W_1) \times S_{\text{der}} \times n \times F_2 \times F_3 \times F_4] / \text{bw} \\
 &= [0.0025 \times (((150000\text{mg}) \times 0.05 \times (10\text{mg}/\text{cm}^2))/(1 \times 10^6\text{mg})) \times (17600 \text{ cm}^2) \times (1/\text{day}) \times \\
 & \quad 0.01 \times 1 \times 1] / (60 \text{ kg}) \\
 &= 5.5 \times 10^{-4} \text{ mg/kg 体重/日}
 \end{aligned}$$

5.1.3.6 消費者製品の取り扱い中に発生した合成洗剤ダストの吸入

洗濯用粉末合成洗剤の注入及び使用時に、合成洗剤 1 カップ当たり 0.27 μg のダストが放出されると推定された (van de Plassche et al., 1999⁵⁸)。最大 0.25% の FWA-1 を含む粉末合成洗剤製品において、予想される FWA-1 のばく露量は、0.00068 $\mu\text{g}/\text{use}$ ($6.8 \times 10^{-7} \text{ mg}/\text{use}$) である。1 日に 3 回使用すると想定し、成人のばく露量は次の通り推定される：

Exp_{sys} (inhalation of detergent dust)

$$= [(6.8 \times 10^{-7} \text{ mg}/\text{use}) \times 3] / (60 \text{ kg})$$

$$= 3.4 \times 10^{-8} \text{ mg}/\text{kg 体重}/\text{日}$$

この量は、FWA-1 の総全身ばく露量の重要な一因にはならないと判断されたため、さらに深いリスク評価は行わなかった。

5.1.3.7 処理された生地を口に入れるあるいはしゃぶることによる経口ばく露（幼児）

子供及び幼児の FWA-1 の毎日の経口ばく露は、生地すなわち洗濯用合成洗剤で洗濯された柔らかいおもちゃ、パジャマ、シーツと枕カバー、あるいは枕を口に入れるあるいはしゃぶる行為に起因すると考えられる。子供及び幼児の間接経口ばく露に関して次のばく露項目を使用した（HERA 指針書、2003）：

bw	体重（幼児）	10 kg
C'	製品負荷量	= (M x F' x FD)/W ₁
F'	生地に沈着した物質分画の重量パーセント	5% (0.05)
F'''	生地からの移行 & 摂取された物質分画の重量パーセント (最悪の事例を想定)	100% (1)
F ₁	製品中の物質分画の重量パーセント	0.25% (0.0025)
F ₉	消化管から吸収された分画の重量パーセント（最悪の事例）	100% (1.0)
FD	生地密度（木綿及び合成繊維の混合）	10 mg/cm ²
F _m	口と接触している生地（仮定）	100 cm ²
M	使用した未希釈製品量	150000 mg
M _i	摂取された製品量（mg）	= F _m x C' x F'''
n	1日当たりの使用回数で示したばく露回数	未使用（1）
W ₁	生地の総重量（推定）	1 x 10 ⁶ mg (1kg)

幼児について、処理された繊維を口に入れるあるいはしゃぶることによる FWA-1 の間接経口ばく露は、次のアルゴリズムに従って推定される（HERA 指針書、2003）：

$$\begin{aligned}
 & \text{Exp}_{\text{sys}} \text{ (mouthing and sucking)} \\
 & = [F_1 \times M_i \times n \times F_9] / bw \\
 & = [F_1 \times (F_m \times C' \times F''') \times n \times F_9] / bw \\
 & = [F_1 \times F_m \times ((M \times F' \times FD)/W_1) \times F''' \times n \times F_9] / bw \\
 & = [0.0025 \times (100\text{cm}^2) \times (((150000\text{mg}) \times 0.05 \times (10\text{mg}/\text{cm}^2))/(1 \times 10^6\text{mg})) \times 1 \times (1/\text{day}) \\
 & \quad \times 1] / (10 \text{ kg}) \\
 & = 1.88 \times 10^{-3} \text{ mg/kg 体重/日}
 \end{aligned}$$

5.1.3.8 皿に堆積した残留物による経口ばく露（誤用の仮説）

我々の知る限りにおいて、FWA-1 は粉末あるいは液体の食器洗い洗剤に添加されることはないが、FWA-1 を含む洗濯用合成洗剤をこの用途に用いられることは予見可能である。この仮定に従って、FWA-1 の毎日のばく露は、洗濯用合成洗剤で洗浄した台所用品及び皿類を用いて食事することに起因し、このことは、このような製品の予見可能な誤用の仮説である。次のばく露項目は、洗った皿の残留物から間接経口ばく露を推定するために使用した（HERA 指針書、2003）：

bw	体重	60 kg
C	洗浄水中の製品分画の重量パーセント	1% (0.01)
C''	品物の表面上の製品負荷量 (mg/cm ²)	= C x D x R
D	すすぎによる希釈係数	1 (すすぎ無し)
F ₁	製品中の物質分画の重量パーセント	0.25% (0.0025)
F ₉	消化管から吸収された分画の重量パーセント (最悪の事例)	100% (1.0)
F''	品物からの移行 & 摂取された物質分画の重量パーセント (最悪の事例を想定)	100%
M	摂取した製品の量 (mg)	= C'' x S x F''
n	1日当たりの使用回数で示したばく露回数	1/day
R	品物の表面面積当たりに残った水量	0.55 mg/cm ²
S	物質にばく露された品物を毎日使用した場合の表面積	5400 cm ²

台所用品及び皿類を用いて食べることから FWA-1 の毎日のばく露は、HERA 指針書からの次のアルゴリズムに従って推定される：

Exp_{sys} (oral dish deposition)

$$= [F_1 \times M \times n \times F_9] / bw$$

$$= [F_1 \times (C'' \times S \times F'') \times n \times F_9] / bw$$

$$= [F_1 \times ((C \times D \times R) \times S \times F'') \times n \times F_9] / bw$$

$$= [0.0025 \times ((0.01 \times 1 \times 0.55 \text{ mg/cm}^2) \times (5400 \text{ cm}^2) \times 1) \times (1/\text{day}) \times 1] / (60 \text{ kg})$$

$$= 1.24 \times 10^{-3} \text{ mg/kg 体重/日}$$

5.1.3.9 食事および飲料水からの経口ばく露

上述の消費者ばく露シナリオに加えて、FWA-1 の経口ばく露は、飲料水あるいはミルクおよび魚や他の水生生物、肉および植物生成物からも起こると考えることができる。セクション 4 に記載した EUSES (欧州化学物質影響評価システム) ソフトウエアを用いて、食品および飲料水からの経口摂取の数理的モデル化は、男性成人 (70kg) の食品及び飲料水からの 1 日総摂取量を 2×10^{-5} mg/kg 体重/日と推定した。

5.1.3.10 偶発的あるいは故意による過剰摂取

偶発的あるいは故意による FWA-1 の直接過剰摂取は、家庭内において発生しないように思われるが、最終消費者製品による 2 次的な発生は考えられる。最終製品の FWA-1 の濃度 (0.005% ~ 0.35%) は、5000mg/kg 以上の急性致死濃度に比較べて低く、FWA-1 の急性ばく露による毒性影響のリスクは非常に低いと仮定することは妥当であると思われる。従って、この評価は、この急性ばく露シナリオを取り上げないと思われる。

5.2 有害性評価

5.2.1 利用可能な動物を用いた毒性データの要約

FWA-1 に関する毒性及び関連試験の完全なデータベースは広範囲に及ぶ。提示した書類に使用されたデータの種類の、公開及び未公開（すなわち専有）非臨床毒性試験の双方の結果を含んだ。これら試験報告書（Klimisch et al., 1997）の適合性を決定するために基準を使用した。FWA-1 の毒性学的評価のレビューのための試験は、GLP 基準あるいは OECD ガイドラインに準拠して実施されることが要求される。GLP 及び / あるいは OECD に準拠していない試験は、GLP 及び / あるいは OECD に準拠した試験が特定の毒性学的エンドポイントあるいは結果を使用することができない場合に限ってレビューした。

5.2.1.1 急性経口毒性

以下の表 5.2.1.1 にラット、マウス及びハムスターを用いて実施された経口毒性試験とその半数致死量（LD₅₀）を要約した。これらの試験は、GLP 下で行われたものではないが、試験設計は 1 群雌雄各 5 匹以上を含んでいるため、OECD の試験法に規定された現行の標準試験法の重要な側面の要件を満たしていると判断される。若干の試験において、自発運動の低下、よろめき歩行、下痢、鎮静、呼吸困難、被毛の乱れ及び筋緊張の亢進を含む毒性徴候が、致死量以下の致死量に近い用量で記録された。これらの影響は、それぞれの試験の観察期間内に完全に回復した。

表 5.2.1.1 FWA-1 の急性強制経口投与毒性試験

動物種	性別	LD ₅₀ (mg/kg 体重)	参考文献
マウス	m/f	> 20000	Hasegawa et al., 1989 ⁵⁹
	m/f	> 15000	Pericin and Thomann, 1974a ⁶⁰
ラット	m	> 15000	Bayer AG, 1974a ⁶¹
	m/f	> 8000	Bathe, 1974a ⁶²
	m/f	> 8000	Bathe, 1974b ⁶³
	m/f	> 15000	Pericin and Thomann, 1974b ⁶⁴
	m/f	> 10000	Sachsse and Bathe, 1975a ⁶⁵
	m/f	= 7562	Sachsse and Bathe, 1975b ⁶⁶
	f	> 5000	Bayer AG, 1976a ⁶⁷
	m/f	= 12020	Thomann and Pericin, 1976a ⁶⁸
	m/f	> 15000	Thomann and Pericin, 1976b ⁶⁹
	m/f	> 5000	Sarasin, 1982 ⁷⁰
チャイニーズ・ハムスター	m/f	> 15000	Pericin and Thomann, 1974c ⁷¹

m = 雄、 f = 雌

結論：

上記に要約した試験は、試験したいずれの動物種においても急性毒性半数致死量（LD₅₀）が 5000 mg/kg 体重未満の値を示さなかった。FWA-1 の LD₅₀ 値はラットにおいて > 5000 ~ > 15000 mg/kg 体重の範囲であり、マウス及びハムスターでは > 15000 mg/kg 体重であると判断された。

5.2.1.2 急性吸入毒性

利用可能な FWA-1 に関する急性吸入毒性データはなかった。

5.2.1.3 急性経皮毒性

FWA-1 の経皮投与後の急性毒性誘発能を評価するために、1群雌雄各5匹のHanIbm: WIST (SPF)系ラットの皮膚に 2000mg/kg 体重の濃度の FWA-1 を塗布により投与した(Ullmann et al., 1990⁷²)。投与溶液は用時調製とし、固体の被験物質を 0.5 g/ml の濃度になるように蒸留水に溶解して調製した。投与開始約 24 時間前に、動物の背部被毛を刈毛し、試験 1 日目に被験物質溶液を最終投与量が 2000 mg/kg 体重に達するように 4ml/kg 体重の容量でシリンジを用いて剃毛部位に塗布し、半閉塞包帯で 24 時間覆った。全身毒性徴候と同時に死亡率及び生存率を 1 日目は 4 回及びその後 2 日～15 日までの間は 1 日 1 回観察した。局所所見の観察は、試験 2 日目から開始した。体重は 1 日目の投与前及び 8 日目ならびに 15 日目に測定した。観察期間終了時に全動物を剖検し、肉眼的に検査した。

試験の生存期間中に死亡及び毒性徴候はみられなかった。記録された局所変化は、雄 1 例にみられた適用皮膚の軽度な痂皮形成及び全動物の適用皮膚にみられた黄色変色であった。全ての局所症状は 8 日以内に回復した。動物番号 10 の雌にみられた試験 1 日から 8 日までの間のわずかな体重損失を除いて、動物の体重増加量は、試験期間を通して投与の影響を受けなかった。剖検時に肉眼的病理所見は見られなかった。

結論：

両性のラットに単回経皮投与した後、14 日間の観察期間にわたって死亡がみられなかったため、FWA-1 の半数致死量は、推定されなかった。従って、LD₅₀ は 2000mg/kg 体重以上であると推定された。この試験は、GLP 下で OECD ガイドライン No. 402 に準拠して実施されたので、FWA-1 の経皮毒性における確かな情報を提供すると判断される。

5.2.1.4 皮膚刺激性 / 腐食性

FWA-1 を用いた急性皮膚刺激性 / 腐食性試験の 3 試験は、信頼できるデータと情報を提供すると判断された。試験は GLPs 下で実施されなかったが、これらの試験は、EPA ガイドライン (Ullmann, 1980a⁷³; Seifert, 1982a⁷⁴) あるいは '食品、医薬品および化粧品の化学物質の安全性評価 AFDO, 1959' (Thomann and Kruger, 1974a⁷⁵) に準拠して実施され、試験設計は、OECD の試験法に規定された現行の標準試験法に指定された動物数及び観察を満たしていた。

試験は、体重 1.7 ~ 3.0kg の範囲のニュージーランド白色種あるいはロシア品種のウサギを雌雄各 3 匹用いて実施した。動物は金属製ケージに個体別に収容し、室温 17 ~ 25 °C、相対湿度 55 ± 5% 及び 10-14 時間の光周期で維持した。動物にはウサギ用標準ペレット状飼料 (Nafag Gossau, スイス) 及び水を自由に摂取させた。

投与前に、各ウサギの背部全体及び腹側部を電気バリカンで刈毛し、投与開始直前に左腹側部の刈毛済み皮膚をわずかに擦過した。被験物質 (60-80% の有効成分を含む) を水で湿らせ / 水に溶解して 0.5g を各動物の両側に塗布し、ガーゼパッチで 24 時間覆った。皮膚反応の採点は、パッチ除去後 0 (除去直後)、24、48 及び 72 時間、さらに 6 日 (Ullmann のみ, 1980a; Seifert, 1982a) に行った。24、48 及び 72 時間後の観察時における健常皮膚部位の結果のみを本書類の皮膚刺激性誘発能の評価に使用し、また、以下の表 5.2.1.4 に要約した皮膚反応の各種類についてそれぞれの平均値を算出するのに使用した。

表 5.2.1.4 : FWA-1 の皮膚刺激性 / 腐食性

動物種	性別	平均評点 (健常皮膚)						判定 (EU 指令 2001/59/EC に準拠)	参考文献
		紅斑			浮腫				
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h		
ウサギ	m/f	1.7	1.7	0.8	0.7	0.5	0.2	刺激性なし	Seifert, 1982a
	m/f	1.7	1.3	0.5	0.2	0.0	0.0	刺激性なし	Ullmann, 1980a
	m/f	0.0	0.0	n.e.	0.0	0.0	n.e.	刺激性なし	Thomann and Kruger, 1974a

m = 雄、f = 雌、h = 時間、n.e. = 評価しなかった。

Ullmann (1980a) 及び Seifert (1982a) の試験において、非常に軽度から限定された範囲の紅斑 (評点 1 及び 2) が 24 時間後の全動物にみられ、同様に 48 及び 72 時間後の観察時には 3/6 から 4/6 例に認められた。24 時間後の雄 1 例に浮腫 (評点 2) が認められたのを除いて (Seifert, 1982a)、24、48 及び 72 時間後に非常に軽度な浮腫 (評点 1) のみが若干の動物に認められた。非常に軽度な紅斑を示した 3 例を除いて (Ullmann, 1980a)、これらの影響は 7 日以内に完全に回復した (全評点が 0)。Thomann and Kruger (1974a) の試験において、紅斑あるいは浮腫は認められなかった (全評点が 0)。これら試験のいずれにおいても FWA-1 は、適用皮膚の染着あるいは腐食性影響を誘発しなかった。

結論：

上述の 3 試験の結果に基づいて、FWA-1 はウサギの健常皮膚に適用した場合に軽微から軽度な刺激性を誘発すると判定されたが、EU 指令 2001/59/EC⁷⁶ に記載されている分類基準に従って、いずれも刺激性なしと判断された。1 試験において 3 例に非常に軽度な紅斑がみられたのを除いて (Ullmann, 1980a)、全ての影響は、7 日以内に完全に回復した。

5.2.1.5 眼刺激性 / 腐食性

FWA-1 を用いた急性眼刺激性 / 腐食性試験の 9 試験は、信頼できるデータと情報を提供すると判断された。試験は GLPs 下で実施されなかったが、これらの試験は、EPA ガイドライン (Ullmann, 1980b⁷⁷ ; Seifert, 1982b⁷⁸) あるいは ' 食品、医薬品および化粧品の化学物質の安全性評価 AFDO, 1959 ' (Thomann and Kruger, 1974b⁷⁹) に準拠して実施され、試験設計は、OECD の試験法に規定された現行の標準試験法に指定された動物数および観察を満たしていた。

全ての試験は、生存期間の試験開始時に可視可能な眼の異常がみられなかった 3 匹以上の白色ウサギを用いて実施された。各動物の片眼の下眼瞼を眼球から優しく引き離してカップ状にし、その中に 100 mg の固体の被験物質 (有効成分を 60-86% 含有) を挿入した。適用後、数秒間眼瞼を優しく開けたまま保持した。他眼は無処置対照群として維持した。24、48 及び 72 時間後に眼を検査し、眼の反応を採点した。24、48 及び 72 時間後に採点した非洗眼の結果のみを本書類の眼刺激性誘発能の評価に使用し、また、以下の表 5.2.1.5 に要約した各種類の反応についてそれぞれの平均値を算出するのに使用した。

表 5.2.1.5 : FWA-1 の眼刺激性 / 腐食性

動物種	動物数 / 性別	平均評点 (24、48 及び 72 時間後の非洗眼)			判定 (EU 指令 2001/59/EC に準拠)	参考文献
		角膜	虹彩	結膜 (発赤 / 結膜浮腫)		
ウサギ	3 m	0.0	0.0	0.3/0.1	刺激性なし	Seifert, 1982b
	3 m/f	0.6	0.0	2.3/2.0	刺激性なし	Ullmann, 1980b
	3 m	0.0	0.0	0.0/0.0	刺激性なし	Sachsse and Ullmann, 1975a ⁸⁰
	1 m/2 f	0.0	0.0	0.0/0.0	刺激性なし	Thomann and Kruger, 1974b
	3 m	0.0	0.0	0.0#	刺激性なし	Sachsse and Ullmann, 1974a ⁸¹
	3 m	0.0	0.0	0.0#	刺激性なし	Sachsse and Ullmann, 1974b ⁸²
	3 m/3 f	0.0	0.0	0.2/0.0	刺激性なし	Paterson, 1968 ⁸³
	3 m/3 f	0.0	0.0	<1.0/0.0	刺激性なし	Paterson, 1967 ⁸⁴

m = 雄、f = 雌、# = 結膜影響について 1 採点のみ実施した。

結膜に軽微から中等度の発赤及び結膜浮腫（評点 1 ~ 3）が一部の試験の一部の動物に認められた。1 試験において認められた軽微な角膜影響を除いて、他の全ての試験で角膜及び虹彩に対する影響はみられなかった。観察された全ての影響は、7 日以内に完全に回復した。上記に要約したいずれの試験においても FWA-1 の腐食性は認められなかった。

結論：

上記に要約した試験結果に基づいて、FWA-1 はウサギの眼に適用した場合に軽微から軽度な刺激性を誘発すると判定されたが、EU 指令 2001/59/EC に記載されている分類基準に従って刺激性なしと判断された。観察された全ての影響は 7 日以内に完全に回復した。

5.2.1.6 皮膚感作性

FWA-1 の皮膚感作性誘発能を評価するために、雌雄各 20 匹（試験群雌雄各 20 匹、対照群雌雄各 20 匹）の Pirbright 白色種モルモットを用いた Optimization test（Thomann and Maurer, 1975⁸⁵）及び雌 20 匹（試験群 20 匹及び対照群 10 匹）の Himalayan spotted 白色モルモットを用いた Maximization test（Ullmann, 1991⁸⁶）が実施された。

Thomann and Maurer（1975）は、生理食塩液（感作第 1 週の間）あるいは感作第 2 週及び 3 週の間は生理食塩液 / Bacto 完全アジュバントとの 1 : 1 混合液に被験物質が 0.1% の濃度になるように希釈した溶液の 0.1 ml を皮内注射（隔日）して皮内感作を行った（19 日間に合計 10 回の皮内注射）。最後の注射から 14 日後に、生理食塩液中に 0.1% の被験物質

懸濁液を 0.1 ml の容量で最後の皮内注射を行った。対照群は溶媒のみを同様に投与した。Ullmann の試験 (1991) において、動物の肩甲骨間の領域に次の 3 対の皮内注射 (0.1 ml/ 部位) による皮内感作を実施した: 1) フロイドの完全アジュバント (FCA) と生理食塩液の 1:1 混合液、2) 生理食塩液で被験物質を希釈した 0.1% 溶液、3) FCA と生理食塩液の 1:1 混合液で被験物質を希釈した 0.1% 溶液。対照群は被験物質を除いて同様に処置した。試験 8 日目、ワセリンアルブミンに 25% の濃度 (被験物質の非刺激性最高濃度) で被験物質を混合し、48 時間閉塞局所貼布によって経皮感作を行った。

惹起は、10 から 14 日間の休薬後、被験物質が刺激性を示さない濃度で 24 時間閉塞貼布により皮膚に適用 (Thomann and Maurer, 1975) もしくはワセリンに 25% の濃度で被験物質を混合して 18 時間閉塞貼布により皮膚に適用 (Ullmann, 1991) して完了させた。パッチ除去後 24 及び 48 時間に皮膚反応、すなわち、紅斑、痂皮及び浮腫を評価した。

Thomann and Maurer (1975) の試験において、惹起適用後の皮膚反応に試験群及び対照群の間で差異はみられなかった。Ullmann の試験 (1991) において、投与動物に毒性徴候あるいは皮膚反応はみられず、また死亡もみられなかった。惹起処置 24 及び 48 時間後の観察時に、対照群及び投与群の各動物において紅斑及び浮腫は認められず全ての皮膚反応評価はゼロ (0) であった。

結論:

上記に要約した試験の結果に基づいて、FWA-1 は、記述した試験条件下で試験した場合、非感作性物質であると判断される。

5.2.1.7 光毒性

FWA-1 を前処置した皮膚に単回紫外線照射 (UV-A (254 nm)、UV-C (300-380 nm) あるいは UV-A + UV-B (太陽センサー)) した場合に急性反応の増大を誘発するかどうかを調査するために、ヘアレスマウス及びミニブタを用いた 2 試験が実施された。

最初の試験において、1 群 12 匹のマウスに、メタノール (溶媒) のみ、メタノール中に FWA-1 の 0.1% 溶液あるいは既知の光毒性物質である 8-メトキシソラレン (8-MOP) の 0.01% メタノール溶液を背部皮膚に単回塗布 (20 µl) して前処置した。30 分後、各被験物質を前処置したマウス 6 匹に UV-A (15 w/m²; 60 分)、UV-C (4 w/m²; 5 分) あるいは UV-A + UV-B (A: 10 w/m²; B: 0.1 w/m²; 40 分) を照射した。

2 番目の試験において、6 匹のミニブタの背部皮膚にメタノール (溶媒) のみ、メタノール中に FWA-1 の 0.1% 溶液あるいは 8-MOP の 0.01% メタノール溶液を単回塗布 (200 µl) した。さらに、ミニブタに白色ワセリンに懸濁させた 0.1% 8-MOP 溶液、白色ワセリンに懸濁させた 1% FWA-1 溶液あるいは白色ワセリンのみを処置した。2 時間後、これらの動物に UV-A (15 w/m²; 60 分)、UV-C (4 w/m²; 5 分) あるいは UV-A + UV-B (A: 10 w/m²;

B : 0.1 w/m² ; 40 分) を照射した。

FWA-1 を前処置した場合の結果は、8-メトキシソラレンあるいはメタノールを前処置した場合の結果と比較した。UV-C あるいは UV-A + B の照射は、メタノールのみを処置した部位に誘発された皮膚反応と同等の軽微な紅斑をマウス及びブタに誘発した。UV-A の照射は皮膚反応を誘発しなかった。

結論 :

上記に要約したヘアレスマウス及びミニブタを用いた試験の結果に基づいて、FWA-1 は、使用した試験条件下において光毒性を誘発しないものと判断された (Forbes and Urbach, 1975a⁸⁷)。

5.2.1.8 反復投与毒性

ラットを用いた 28 日間強制経口投与毒性試験

ラットを用いた亜急性経口毒性試験 (Hoff, 1991⁸⁸) において、FWA-1 を 1 群雌雄各 5 匹のウィスター系 SPF ラットで構成された 4 群に 0、50、200 及び 1000 mg/kg 体重/日の投与量で 28 日間連続強制経口投与した。雌雄各 5 匹の 2 群に 0 及び 1000 mg/kg 体重/日の投与量で同様に 28 日間投与し、続いて 14 日間無処置回復期間を設定した。試験の生存期間中に次の観察 / データを記録した : 摂餌量 (毎週)、体重 (毎週)、一般状態 (毎日) 及び死亡率 (毎日)。眼科学的検査は、28 日間の投与期間終了時及び 28 日間投与 / 14 日間回復期間終了時に全動物について実施した。血液学的検査及び血液生化学的検査用血液サンプル及び尿検査用尿サンプルは、同じ検査時期に全動物から採取した。投与期間終了時あるいは投与 / 回復期間終了時の剖検時に、各動物を安楽死させて肉眼的に検査した。副腎、脳、心臓、腎臓、肝臓、卵巣、下垂体、脾臓、精巣及び甲状腺の重量を測定した。選択した臓器のサンプルを採取し、0 及び 1000 mg/kg 体重/日投与群の副腎、心臓、腎臓、肝臓、脾臓及び胃について病理組織学的検査を実施した。

試験の生存期間中に毒性徴候はみられず、また死亡も発現しなかった。絶対及び相対摂餌量及び体重増加に対する投与による毒性学的影響は誘発されなかった。眼科学的検査において異常は認められなかった。血液学的、血液生化学的及び尿検査の評価は、毒性学的有意性の認められた変化を示さなかった。対照群の動物と比較して、絶対及び相対臓器重量において投与による影響は認められなかった。50 及び 1000 mg/kg 体重/日投与群では、対照群と比較して統計学的に有意な雄の腎臓の対脳重量比の増加が認められ、1000 mg/kg 体重/日群の雌に対照群と比較して統計学的に有意な心臓の対脳重量比の減少が認められた。明確な用量反応相関性及び肉眼的病理所見及び病理組織学的所見が確認されなかったため、これらの影響は毒性学的有意性はないものと判断された。28 日間投与 / 14 日間回復期間終了時に絶対あるいは相対臓器重量に対する影響はみられなかった。肉眼的病理検査及び組織学的病理検査において、投与に関連した影響は明らかにされなかった。両性において、生殖器の絶対及び相対臓器重量に対する影響はみられず、また、肉眼的病理検査あるいは

病理組織学的検査においてもこれら臓器の変化は認められなかった。

結論：

上述のデータに基づいて、ラットを用いて 28 日間連続強制経口投与した場合の FWA-1 の ‘無毒性量’ (NOAEL) は、雌雄とも 1000 mg/kg 体重/日と定義された。

ラットを用いた混餌投与による 2 年間慢性毒性 / 発がん性試験

FWA-1 (Blankophor MBBH) の混餌投与による 2 年間慢性毒性 / 発がん性試験併合試験がウイスターII系ラットを用いて GLP 及び OECD 規範の施行前に実施され (Bomhard and Loser, 1978^{89,90})、その内容を 5.2.1.10 章 ‘発がん性’ に記載した。

ヘアレスマウスを用いた 2 年間経皮投与慢性毒性 / 発がん性試験

FWA-1 の 2 年間経皮投与慢性毒性 / 発がん性試験併合試験が報告された内容は不十分であったがヘアレスマウスを用いて GLP 及び OECD 規範の施行前に Steinhoff and Dycka (1981⁹¹)によって実施され、その内容を 5.2.1.10 章 ‘発がん性’ に記載した。

5.2.1.9 遺伝毒性

FWA-1 の遺伝毒性誘発能について、多数の *in-vitro* 及び *in-vivo* 試験系を用いて評価された。表 5.2.1.10 に要約及び詳述した通り、GLP 基準及び OECD ガイドラインに準拠して実施された 3 試験の結果では、FWA-1 は *in-vitro* 及び *in-vivo* において変異原性あるいは発がん性活性を示すことはなかった。

表 5.2.1.9 : FWA-1 の遺伝毒性試験の結果

試験系 / 検査法	結果	参考文献
ネズミチフス菌 / 点突然変異 (Ames 試験)	ラット S9 の存在下及び非存在下とも陰性	Poth, 1991 ⁹²
チャイニーズハムスター V79 細胞 / <i>in-vitro</i> 染色体異常試験	ラット S9 の存在下及び非存在下とも陰性	Heidemann, 1991 ⁹³
マウス骨髄 / 小核試験	陰性	Volkner, 1991 ⁹⁴

細菌を用いた復帰突然変異試験 (Ames 試験)

FWA-1 の点突然変異(すなわちゲノムの塩基対置換型あるいはフレームシフト型突然変異)誘発性を検討するために、ネズミチフス菌の TA1535、TA1537、TA1538、TA98 及び TA100 菌株を用いてプレート法に従って実施された (Poth 1991)。肝ミクロソーム代謝活性化系を添加する場合及び添加しない場合とも同じ手法を用いて 2 回の独立した実験を行った。対照群を含む各濃度は、3 連で試験した。被験物質は 10 ~ 5000 µg/プレートの濃度で試験した。

自然復帰突然変異体数の減少を根拠とする毒性影響は、代謝活性化系の非存在下における

実験の TA98 菌株の 5000 μg /プレートのみで発現した。使用した全菌株において、S9 mix の存在下及び非存在下とも 5000 μg /プレートの濃度まで正常なバックグラウンド生育が認められた。いずれの試験菌株においても最高適用濃度まで、溶媒対照群と比較して有意な及び再現性のある復帰変異コロニー数の増加、あるいは復帰変異コロニー数の用量依存性の増加は認められなかった。肝ミクロソーム代謝活性化の存在は、これらの所見に影響を与えなかった。陽性対照として使用した適切な標準変異原物質は、復帰変異コロニー数の明白な増加を示した。

結論：

報告された実験条件下において、被験物質は、使用した菌株のゲノムに塩基対置換型あるいはフレームシフト型の点突然変異を誘発しなかった。従って、FWA-1 は、このネズミチフス菌を用いた復帰突然変異試験において変異原性誘発能はないものと判断される。この結論は、肝ミクロソーム代謝活性化系の存在下及び非存在下でネズミチフス菌の TA1535、TA1537、TA1538、TA100 あるいは TA98 菌株を用いて実施された Ames 試験の公表されている 3 試験の結果が陰性であったことによって確認された (Kawachi et al., 1980⁹⁵; Kilbey and Zetterberg, 1975⁹⁶; McGregor and Ainsworth, 1976⁹⁷)。

in vitro 染色体異常試験

FWA-1 の染色体構造異常誘発能を検討するために、ラット肝の S9 mix による代謝活性化系の非存在下及び存在下におけるチャイニーズハムスター由来の V79 細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験が実施された (Heidemann, 1991)。

染色体標本の作製は、被験物質適用開始後 7 時間 (高用量)、18 時間 (低、中間及び高用量) 及び 28 時間 (高用量) に実施した。暴露時間は、4 時間であった。各試験群において 2 個の培養を同時に行った。各培養当たり 100 個の分裂中期像を観察し、染色体構造異常を採点した。次の投与量について評価した：

	S9 mix 非存在下：	S9 mix 存在下：
7 時間：	150 $\mu\text{g}/\text{ml}$	150 $\mu\text{g}/\text{ml}$
18 時間：	10、100、150 $\mu\text{g}/\text{ml}$	10、100、150 $\mu\text{g}/\text{ml}$
28 時間：	150 $\mu\text{g}/\text{ml}$	150 $\mu\text{g}/\text{ml}$

適用した被験物質の濃度範囲は、毒性反応を指標としたコロニー形成率試験を用いた予備試験の結果によって決定した。150 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の最高適用濃度は、細胞のコロニー形成率の減少を示さなかった。しかしながら、細胞毒性試験において、分裂指数の減少が S9 mix 存在下における 7 及び 18 時間後の標本作製時間及び S9 mix 非存在下における 7 及び 28 時間後の標本作製時間において、最高適用濃度に認められた。このことは、FWA-1 がこれら条件下において細胞毒性を有することを示唆している。

S9 mix 存在下における 28 時間標本作製時間の異常細胞数がわずかに増加 (2%) したが、この値は、これら細胞の背景対照値 (0-4%) の範囲内であり、また、対照群の異常細胞数

が極めて低かったことによるものと考えられたため、生物学的有意性はないものと判断された点を除いて、代謝活性化の存在下及び非存在下ともいずれの標本作製時期及び試験濃度においても被験物質適用後に染色体構造異常を有する細胞数の増加はみられなかった。陽性対照として使用した適切な既存の変異原物質は、染色体構造異常を有する細胞数を明確に増加させた。

結論：

報告された実験条件下において、FWA-1 は、V79 チャイニーズハムスター継代細胞に対し、染色体構造異常を誘発しなかった。従って、FWA-1 は、この染色体異常試験において染色体異常誘発能はないものと判断される。

この結論は、*in-vitro* チャイニーズハムスター-V79 細胞 (Abe and Sasaki, 1977⁹⁸; Ishidate and Odashima, 1977⁹⁹; Kawachi et al., 1980)、*in-vivo* ラット骨髄細胞 (Kawachi et al., 1980) 及び *in-vivo* チャイニーズハムスター骨髄細胞 (Muller and Strasser, 1974¹⁰⁰; Muller et al., 1975¹⁰¹) において、FWA-1 が染色体異常を誘発しなかったことを明確に示した種々の *in-vitro* 及び *in-vivo* 試験から得られた結果によって確認された。

マウス骨髄細胞を用いた *in-vivo* 小核試験

この *in-vivo* 試験は、FWA-1 がマウスの骨髄に対し小核を有する多染性赤血球 (PCE) を誘発する可能性を調査するために実施された (Volkner 1991)。

この目的のために、5000 mg/kg 体重 (20 ml/kg 体重) の 1 用量の被験物質を蒸留水 (溶媒) に溶解、溶媒のみ (陰性対照) あるいはシクロホスファミド (陽性対照) の 30 mg/kg 体重の 1 用量のいずれかを 1 群雌雄各 5 匹の NMRI 系マウスで構成された 3 群に経口投与した。予備試験において、5000mg/kg 体重の被験物質を投与した動物にわずかな毒性反応が認められたため、これが投与可能最大用量であると評価された。さらに、被験物質投与後、1000 個の PCE 当たりの正染性赤血球 (NCE) 数が、同時に実施した陰性対照と比較して増加したため、FWA-1 が同用量において、弱い細胞毒性影響を誘発したことが示された。本試験において、単回投与後 24 時間、48 時間及び 72 時間に動物を安楽死させ、小核を検査するために骨髄細胞を採取した。1 動物当たり、1000 個の PCE を観察し、小核の発現について評価した。

相当する陰性対照群と比較して、被験物質の適用後のいずれの標本作製時間においても検出された小核の発生頻度の有意な増加はみられなかった。陽性対照において、小核の発生頻度の明確な増加が認められた。

結論：

報告された実験条件下において、FWA-1 は、マウスの骨髄細胞を用いた小核試験によって確認されたとおり、小核を誘発しなかった。従って、FWA-1 は、この *in vivo* 小核試験において変異原性誘発能はないものと判断される。

この結論は、5000 mg/kg 体重の用量を 2 日間連続経口投与して実施されたチャイニーズハムスターの骨髄細胞の小核形成能を評価した 2 試験の結果が陰性であったことによって確認された (Lauguner, 1974¹⁰²; Muller et al., 1975)。

遺伝毒性における総括：

in vitro 及び *in vivo* 試験から得られた上述の要約結果に基づいて、FWA-1 は変異原性誘発能を有さないものと判断される。

5.2.1.10 発がん性

ラットを用いた混餌経口投与による 2 年間慢性毒性 / 発がん性試験

FWA-1 (Blankophor MBBH) の混餌投与による 2 年間慢性毒性 / 発がん性試験併合試験がウィスターII 系ラットを用いて、GLP 及び OECD 規範の施行前に実施されたが (Bomhard and Loser, 1978^{89,90})、実際のガイドライン試験に総括的に整合性があり、規制の許容範囲内であった。1 群雌雄各 50 匹のラットで構成された 4 群に、雄で 0、4.9、51.4 及び 523.9 mg/kg 体重/日及び雌で 0、7.5、77.5 及び 790.6 mg/kg 体重/日に相当する 0 (対照群)、100、1000 及び 10000 ppm の FWA-1 混入飼料を 24 ヶ月間投与した。被験物質の純度は、遊離酸型で 83.7% として報告された。次の観察 / データが試験の生存期間中に記録された：摂餌量 (毎週)、体重 (試験 27 週までは毎週、それ以降は 2 週間に 1 回)、毒性徴候 (毎日) 及び死亡 (毎日)。血液学的検査及び血液生化学的検査用血液サンプル及び尿検査用尿サンプルは、投与開始後 1、3、6 及び 12 ヶ月の検査では 1 群雌雄各 5 匹及び 24 ヶ月後の剖検時は 1 群雌雄各 10 匹から採取した。投与期間終了時の剖検時に、全ての生存動物を安楽死させ、肉眼的に検査した。副腎、心臓、腎臓、肝臓、肺、卵巣、脾臓、精巣及び甲状腺の臓器重量を測定した。副腎、大動脈、脳、精巣上体、眼、大腿骨、心臓、坐骨神経、腸管、腎臓、肝臓、肺、リンパ節、筋肉、食道、卵巣、すい臓、下垂体、前立腺、精嚢、唾液腺、脾臓、胸骨、胃、精巣、気管、甲状腺、膀胱、子宮及び全肉眼的病変部を採取し、病理組織学的検査に供した。

FWA-1 の投与は、投与動物の死亡、外観あるいは行動に影響を与えなかった。投与動物の摂餌量及び体重増加は、対照群と同等であった。

10000 ppm 投与群では、雄の絶対肝臓及び腎臓重量及び雌の絶対卵巣重量の有意な増加がみられた。この臓器重量の増加に付随する血液学的、生化学的あるいは病理組織学的変化がみられなかったことから、試験責任者によって毒性学的有意性はないものと判断された。血液学的データの評価では、投与動物に対し毒性影響の誘発はみられなかった。全投与群において 1 ヶ月後の雌ラットに有意な用量相関性の血小板数の増加 (0、100、1000 及び 10000 ppm 群でそれぞれ 778、929、957 及び 1062 ($\times 10^3/\mu\text{l}$)) がみられたが、それ以降の試験期間中にこれらの所見は確認されなかったこと、及び全ての値がこのウィスター系ラットのヒストリカルデータ ($500\text{-}1200 \times 10^3/\mu\text{l}$) の範囲内であったことから、毒性影響とは判断されなかった。用量相関性はみられなかったが、統計学的に有意な網状赤血球数の減少 (0、100、1000 及び 10000 ppm でそれぞれ 13、7、5 及び 9 ($\times \%_0$)) が 3 ヶ

月後の雄において認められたが、同じ理由（歴史的背景対照データの範囲：2-38%）で毒性学的有意性はないものと判断された。

血液生化学的検査の評価では、投与に関連した変化は認められなかった。用量相関性はみられなかったが、統計学的に有意な ALAT（GPT）活性のわずかな増加が試験終了時の 24 ヶ月後に全群の雄に認められた。用量相関性はみられなかったが、統計学的に有意な血清蛋白濃度のわずかな増加が、6 ヶ月後の全群の両性及び 24 ヶ月後の全群の雄において認められた。ALAT 及び血清蛋白に対するこれらの影響は、このウイスター系ラットの正常動物のヒストリカルデータと比較して対照群値が相対的に低かったことから、毒性学的有意性はないものと判断された。

尿検査データ（尿素、クレアチニン及び尿蛋白質）の評価では、投与に関連した変化を示さなかった。

肉眼的病理検査及び病理組織学的検査において、投与に関連した変化の証拠は示されなかった。上述の臓器の病理組織学的検査において、対照群を含む全投与群に多数の良性及び悪性腫瘍が認められた。しかしながら、腫瘍発生率の統計解析は、対照群と投与群との間の有意差を示さなかった。さらに、特定の臓器の腫瘍発生率の増加あるいは特定の新生物の種類増加はみられなかったため、生物学的有意性はないものと評価された。

結論：

上述の要約データに基づいて、試験の著者 Bomhard and Loser (1978^{89,90})は、‘無毒性量’（NOAEL）は 10000 ppm であると判断した。オランダの‘公衆衛生・環境国立研究所’（Van de Passche, 1999）による評価に従うと、絶対腎重量の増加は、腎機能が影響を受けた可能性が考えられ、また腎機能検査（例えばクレアチニン・クリアランス）を実施していないため、彼らの意見によればこの影響は完全に無視することはできないことを示した。従って、RIVM は本試験の NOAEL を 1000 ppm と考える。相対腎重量の増加は、28 日間投与（5.2.1.8）の雄ラットにおいても認められ、絶対/相対腎重量の増加が 2 世代生殖毒性試験（5.2.1.12）の P 世代の雌動物及び F1 世代の雌雄の動物に認められた。これら試験の腎臓において病理組織学的相関性はなく、また付随する血液学的あるいは生化学的変化もなかったため、腎重量におけるこの影響は、投与に関連する変化ではあるが、毒性学的有意性はないものと判断された。従って、混餌経口投与による 2 年間慢性毒性/発がん性試験の‘無毒性量’（NOAEL）は、雄の 524 mg/kg 体重/日及び雌の 791 mg/kg 体重/日に相当する 10000 ppm と判断された。

FWA-1 は、雄の 524 mg/kg 体重/日及び雌の 791 mg/kg 体重/日に相当する最高濃度である 10000 ppm の飼料混入濃度まで発がん性を誘発しないものと判断される。

ヘアレスマウスを用いた 2 年間経皮投与慢性毒性/発がん性試験

ヘアレスマウスを用いた FWA-1 の 2 年間経皮投与慢性毒性/発がん性試験併合試験が、GLP 及び OECD 規範の施行前に Steinhoff and Dycka (1981¹⁰³)によって実施されたが、十

分に文章化されており、また一般的に承認されている科学的原則に適合していた。

1 群雌雄各 50 匹の白色ヘアレスマウス (Skh:hairless-I) に FWA-1 の 0.001% (10 mg/l) あるいは 0.01% (100 mg/l) 溶液の 30 μ l あるいはアセトンに溶解させた 8-メトキシソラレン (8-MOP) の 0.01% 溶液 (陽性対照) を週に 3 回の頻度で 700 日間経皮投与した。被験物質である FWA-1 の純度は、遊離酸で 91.7% と報告された。陰性対照として、1 群雌雄各 50 匹の白色ヘアレスマウスで構成された追加 3 群に、アルカンスルホン酸塩 (Emulgator K30) の 0.005% 水溶液、アセトン単独及び無処置を同様に処置した。次の観察 / データが試験の生存期間中に記録された: 体重 (2 週間に 1 回)、毒性徴候 (毎日)、死亡 (毎日) 及び皮膚科学的検査 (月 1 回)。試験の生存期間終了時の剖検において、全生存動物を安楽死させ、肉眼的に検査した。適用皮膚領域、選択した臓器及び全ての腫瘍組織を採取し、病理組織学的検査に供した。

FWA-1 の投与は、投与動物の体重増加、死亡率、外観及び行動に影響を与えなかった。

FWA-1 あるいは陽性対照 8-MOP の投与は、皮膚の腫瘍あるいは他の臓器の腫瘍の発生率、有病率あるいは組織学的影響を示さなかった。

結論:

FWA-1 は、両性のヘアレスマウスに 0.001% あるいは 0.01% の濃度で皮膚に慢性適用後に毒性及び発がん性を誘発しないものと判断された。

ヘアレスマウスを用いた 1 年間光発がん性試験

ヘアレスマウスを用いた 1 年間光発がん性試験において、Steinhoff ら (1978¹⁰⁴) は、FWA-1 と UV 照射とを組み合わせる皮膚にばく露した場合に UV 照射により誘発される光発がん性が増加するかどうかを調査した。試験は、GLP 及び OECD 規範の施行前に実施されたが、十分に文章化されており、また一般的に承認されている科学的原則に適合していた。

この目的のために、1 群雌雄各 50 匹の白色ヘアレスマウス (Skh:hairless-I) で構成された 3 群に FWA-1 の 0.001% あるいは 0.01% 溶液の 30 μ l あるいはアセトンに溶解させた 8-メトキシソラレン (8-MOP) の 0.01% 溶液 (陽性対照) を週に 3 回の頻度で 265 日間経皮投与し、続いて 100 日間の無処置観察期間を設けた。陰性対照として、1 群雌雄各 50 匹の白色ヘアレスマウスで構成された追加 3 群に、アルカンスルホン酸塩 (Emulgator K30) の 0.005% 水溶液、アセトン単独及び無処置を同様に処置した。全動物には紫外線を毎日 4 時間照射した (320 μ W/cm²/日)。次の観察 / データを試験の生存期間中に記録した: 体重 (2 週間に 1 回)、毒性徴候 (毎日)、死亡 (毎日) 及び皮膚科学的検査 (月 1 回)。265 日間投与 / 100 日間無処置期間終了時の剖検において、全生存動物を安楽死させ、肉眼的に検査した。皮膚照射領域、選択した臓器及び全ての腫瘍組織を採取し、病理組織学的検査に供した。

FWA-1 の投与は、投与動物の体重増加、死亡率、外観及び行動に影響を与えなかった。

一過性の紅斑が UV 照射後の全対照群及び投与群において認められ、少数例で壊死に発展した。8-MOP をばく露されたマウスでは、より重度の紅斑及びより高い発生率の皮膚の壊死が認められた。FWA-1 の投与は、紫外線照射により誘発された皮膚腫瘍あるいは他の臓器の腫瘍の発生率、有病率あるいは組織学的影響を示さなかった。しかしながら、8-MOP の投与は、紫外線照射により誘発された皮膚腫瘍の発生率及び有病率を有意に増加させた。

結論：

UV 照射と組み合わせて皮膚にばく露した FWA-1 は、それ自身が UV 照射により誘発されたヘアレスマウスにおける光毒性及び光発がん性を増加させなかったと判断される。

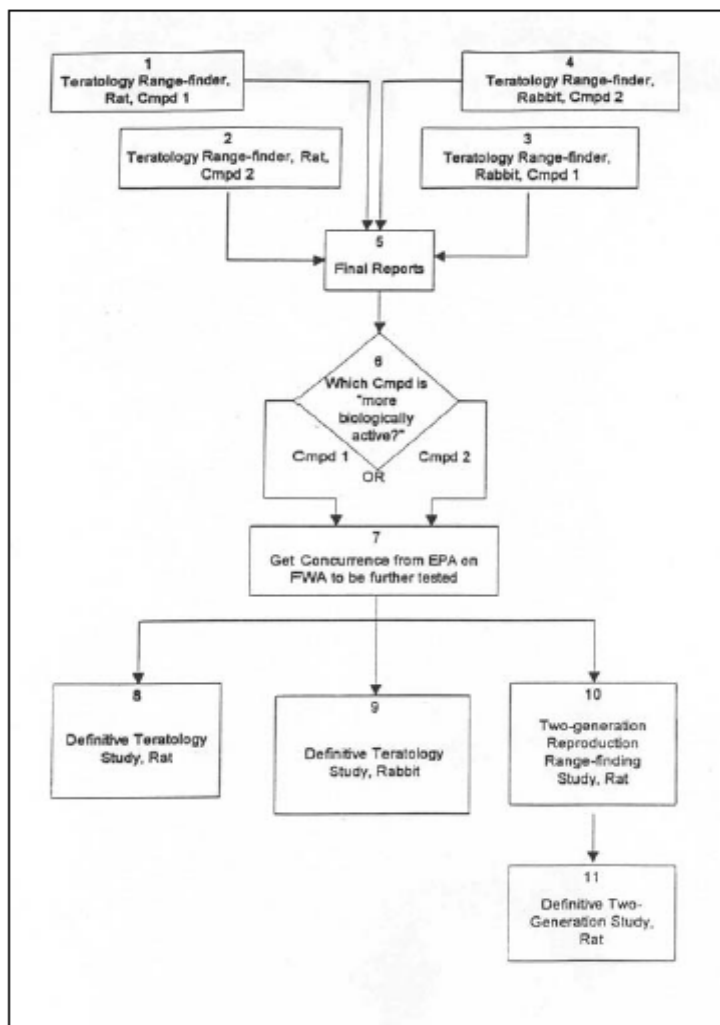
Forbes and Urbach (1975a,b¹⁰⁵)は、同系のマウスを用いて実施した同様の光発ガン性試験（水浴）において FWA-1 は陰性であったことを報告した。

上述の試験は、最悪の事例下において、FWA-1 を含む合成洗剤溶液と UV 照射にばく露された場合に光毒性及び発がん性が結果として誘発されないという概念を支持する。

5.2.1.11 発生毒性 / 催奇形性

次に実施される生殖及び発生毒性試験本試験のために、最も‘生物活性’の強い FWA-1 の代理物質を選択するため及び投与量の決定を助けるデータを得るために、ウサギ及びラットを用いた出生前の発生毒性試験の 2 種類の予備試験を FWA-1 の遊離酸型の C.I.蛍光増白剤 339(C.I.B 339 ; 化学物質の特性については 3.1.1.1 参照)及び C.I.蛍光増白剤 220(C.I.B 220 ; 化学物質の特性については 3.1.1.2 参照)を強制経口投与して実施した。以下に示したデシジョンツリー（図 5.2.1.11）に従って、最も生物活性の高い代理物質を選択し、ラット及びウサギを用いた出世前の発生毒性試験本試験の 2 試験、さらにラットを用いた 2 世代生殖・繁殖試験を実施した。FWA-1 を用いた催奇形性試験あるいは生殖毒性試験は実施されなかった。

図 5.2.1.11 : SOCMA スチルベン増白剤タスクホース毒性試験プログラム



ウサギを用いた発生毒性予備試験 (Breslin, 1998a¹⁰⁶) において、1群7匹の妊娠雌ニュージールランド白色種ウサギで構成される7群に溶媒のみ(1対照群)あるいは30、300あるいは1000 mg/kg 体重/日の投与量のC.I.B. 339あるいはC.I.B. 220を1日1回強制経口投与した。投与は妊娠7日から開始し、妊娠28日の当日まで連続して行った。次の投与に関する観察/データを記録した：一般状態、妊娠体重及び摂餌量。同腹児は妊娠29日に腹式子宮摘出術によって摘出した。妊娠子宮重量を測定した。黄体、着床、早期及び後期吸収及び生存及び死亡胎児の総数を記録した。

1000 mg/kg 体重/日のC.I.B. 220の強制経口投与は、一般状態の異常及び肉眼的病理学検査の異常(肺及び腸の病巣、種々の臓器の変色、胃の浮腫及びびらんを含む)、重度の摂餌量及び体重の減少、死亡、瀕死状態及び流産の発生率の増加によって表された著しい母動物に対する毒性を示した。1000 mg/kg 体重/日のC.I.B. 220を投与した全動物が試験期間中に死亡あるいは同腹児を流産した後に安楽死させた。流産は、母動物への毒性変化に起

因するものであり、被験物質の直接影響ではないと判断された。投与に関連した母動物あるいは発生毒性の有害影響は、C.I.B. 220 の 30 あるいは 300 mg/kg 体重/日投与群、C.I.B. 339 の全投与群で認められなかった。

結論：

母動物及び発生毒性に対する‘無毒性量’(NOAEL)は、C.I.B. 220 では 300 mg/kg 体重/日、C.I.B. 339 では 1000 mg/kg 体重/日であった。

ラットを用いた発生毒性試験予備試験 (Breslin, 1998b¹⁰⁷) において、1 群 10 匹の妊娠雌 Sprague-Dawley 系ラットで構成された 7 群に溶媒のみ (1 対照群) あるいは 30、300 あるいは 1000 mg/kg 体重/日の投与量の C.I.B. 339 あるいは C.I.B. 220 を 1 日 1 回強制経口投与した。投与は妊娠 6 日から開始し、妊娠 19 日の当日まで連続して行った。次の母動物の観察/データを記録した：一般状態、妊娠体重及び摂餌量。同腹児は妊娠 20 日に腹式子宮摘出術によって摘出した。妊娠子宮重量を測定した。黄体、着床、早期及び後期吸収及び生存及び死亡胎児の総数を記録した。

全動物は計画剖検時まで生存し、投与に関連した一般状態変化はいずれの投与群においても認められなかった。肉眼的病理検査の異常は、剖検したいずれの供試動物においても認められなかった。体重及び体重増加、摂餌量、黄体数、着床数、生存胎児数、着床前胚損失、着床後胚損失あるいは吸収率において、投与に関連した有意な影響は、C.I.B. 220 あるいは C.I.B. 339 のいずれの投与群においても認められなかった。同様に、妊娠子宮重量あるいは補正体重において、投与に関連した有意な影響は、C.I.B. 220 あるいは C.I.B. 339 のいずれの投与群においても認められなかった。結論として、C.I.B. 220 あるいは C.I.B. 339 のいずれの投与群においても母動物あるいは発生毒性に対する影響は認められなかった。

結論：

両蛍光増白剤における母動物及び発生毒性に対する‘無毒性量’(NOAEL)は、1000 mg/kg 体重/日であった。

出生前の発生毒性試験の最終試験のための被験物質の選択

C.I.B. 220 の 1000 mg/kg 体重/日を投与したウサギにおいて観察された著しい母動物に対する毒性影響に基づいて、C.I.B. 220 が C.I.B. 339 よりも使用した試験条件下においてより生物活性が高いと判断されたため、C.I.B. 220 をラット及びウサギを用いた出生前の発生毒性試験の最終試験のための被験物質として選択した。この選択の妥当性は、米国環境保護庁 (U.S.EPA) の 1998 年 6 月 4 日付けの公式文章で確認された。

C.I.B. 220 の催奇形性を誘発する可能性を調査する目的を含んだウサギを用いた出生前の発生毒性試験の最終試験 (Turck, 2000¹⁰⁸) において、1 群 25 匹の妊娠雌ニュージーランド白色種ウサギで構成された 4 群に、0 (溶媒のみ)、100、400 あるいは 800 mg/kg 体重/日の投与量で C.I.B. 220 を 10 ml/kg 体重の容量で 1 日 1 回強制経口投与した。

投与は妊娠 7 日に開始し、妊娠 28 日の当日まで連続して行った。次の投与に関する観察 / データを記録した：一般状態、妊娠体重及び摂餌量。同腹児は妊娠 29 日に帝王切開によって摘出した。妊娠子宮重量を測定した。黄体、着床、早期及び後期吸収及び生存及び死亡胎児の総数、同様に胎児の個体別性別及び体重を記録した。全胎児を外部、内臓及び骨格異常（骨及び軟骨）について検査した。

800 mg/kg 体重/日投与群において、合計 8 例が妊娠中に死亡し、他の高用量群の雌は瀕死状態のため安楽死させた。同投与群の雌 7 例が試験中に流産した。体重増加量及び摂餌量は有意に減少した。800 mg/kg 体重/日群の雌の剖検所見において、肝臓の変色、胃の水腫及び / あるいは変色、腸の赤色変化及び / あるいは水腫、腸の血様及び / あるいは粘性内容物が認められた。母動物に対する著しい毒性がみられたため、この群は試験完了前に終了した。

400 mg/kg 体重/日投与群において、それほど重篤ではない母動物に対する毒性影響が認められた。胃挿管に関連する障害のために瀕死状態に陥り、安楽死前に死亡した雌 1 例を例外として、投与に関連した死亡は、同投与群において認められなかった。流産した雌の剖検所見では、投与に関連すると考えられた胃の水腫及び腸の液性及び血様内容物がみられた。400 mg/kg 体重/日投与群の投与に関連した一般状態変化は、軟便および変色便であった。同濃度の投与は、体重、体重増加あるいは摂餌量に対する影響を示さなかった。

100 mg/kg 体重/日投与群において、投与に関連した死亡及び剖検時の肉眼的病理所見（例えば胃腸管の刺激性変化の証拠はなかった）はみられなかった。同濃度の投与は、体重、体重増加あるいは摂餌量に対しても影響を示さなかった。

対照群において、雌 2 例が死亡したが、これら動物の死因は、胃挿管の技術的ミスあるいは機械的障害によるものであった。

100 あるいは 400 mg/kg 体重/日投与群において子宮パラメータに対する影響は、認められなかった。黄体数、着床数、生存及び死亡胎児数及び吸収率は、溶媒対照群と 100 及び 400 mg/kg 体重/日投与群との間で同等であった。胎児体重は、溶媒対照群と比較した場合に、400 mg/kg 体重/日群で有意に減少した。

結論：

400 mg/kg 体重/日投与群に認められた投与に関連した一般状態変化及び剖検所見に基づいて、本試験の母動物に対する毒性影響における‘無毒性量’(NOAEL)は 100 mg/kg 体重/日と判断された。400 mg/kg 体重/日群の胎児体重において統計学的に有意な減少がみられた。これらの変化は同投与群で観察された母動物に対する毒性影響に起因する二次的な変化であると判断され、発生毒性を示唆したものではないと判断された。本試験において、C.I.B. 220 は催奇形性を誘発しなかった。

催奇形性を誘発する可能性を調査する目的を含んだラットを用いた出生前の発生毒性試験の最終試験 (Turck, 1999¹⁰⁹) において、1 群 30 匹の妊娠雌 Sprague-Dawley 系ラットで構成された 4 群に、0 (溶媒のみ)、10、400 あるいは 1000 mg/kg 体重/日の投与量で C.I.B. 220 を 10 ml/kg 体重の容量で 1 日 1 回強制経口投与した。投与は妊娠 6 日に開始し、妊娠 19 日の当日まで連続して行った。次の母動物の観察/データを記録した：一般状態、妊娠体重及び摂餌量。同腹児は妊娠 20 日に帝王切開によって摘出した。妊娠子宮重量を測定した。着床数、早期及び後期吸収率及び生存及び死亡胎児総数、同様に胎児の個体別性別及び体重を記録した。さらに胎児の半数を骨格異常 (骨及び軟骨) 検査に供した。

試験の生存期間中に死亡はみられず、認められた被験物質に関連する一般状態変化は変色便のみであった。母動物の体重、体重増加量あるいは摂餌量の変化は、溶媒対照群と比較した場合に投与群において認められなかった。被験物質に関連した剖検所見はみられなかった。

黄体数、着床数、生存胎児数及び吸収率、妊娠子宮重量を含む子宮パラメータ及び補正体重及び体重増加量は、溶媒対照群と投与群の間で同等であった。着床前及び着床後胚損失率は、全投与群間で同程度であり、被験物質に関連した影響は見られなかった。胎児の外部、内臓及び骨格検査は、投与に関連した影響を示さなかった。全ての所見は同時に実施した溶媒及び/あるいはヒストリカルデータの発生率と同程度であった。

結論：

本試験の結果に基づいて、母動物及び発生毒性に対する '無影響量' (NOEL) は双方とも 1000 mg/kg 体重/日であった。被験物質である C.I. 蛍光増白剤 220 は、1000 mg/kg 体重/日を含む濃度までを経口投与した結果、ラットに対し催奇形性を誘発しなかった。

5.2.1.12 生殖毒性

C.I. 蛍光増白剤 220 (C.I.B. 220) の雌雄動物の生殖腺機能、性周期、交尾行動、受胎、妊娠、出産、哺育、離乳及び出生児の成長及び発育を含む生殖系の完全性及び能力に対する影響を評価するために、ラットを用いた 2 世代生殖・繁殖毒性試験 (Turck, 2001¹¹⁰) を実施した。1 群雌雄各 26 匹の CD[CrI:CD(SD)IGS BR]系ラットで構成された 4 群に、カルボキシメチルセルロースを担体として使用し、0 (担体)、100、300 及び 1000 mg/kg 体重/日の投与量の C.I.B. 220 を 10 ml/kg の容量で 1 日 1 回、2 世代にわたって連続強制経口投与した。試験の全期間は約 9 ヶ月であった。被験物質の特性分析は 88.3% の純度を示した。不純物は同定されなかった。成熟ラットは、P 及び F1 世代の親ラットについて少なくとも 10 週間の成長 (交配前) 期間後交配させた。

両世代の成熟動物について、試験前（P世代のみ）及び交配前、妊娠中及び哺育期間中の一般状態観察、体重及び摂餌量を記録した。P及びF1世代の雌動物の性周期を交配3週間前から開始し、交配期間中も継続して評価した。成熟動物の受胎能を評価した。精子の数、死亡の有無及び形態を全ての成熟雄動物について検査した。成熟動物から選択臓器を採取し、重量を測定後、保存して鏡検した。選抜された対照群及び1000 mg/kg 体重/日群のP及びF1世代の親動物の肉眼的病変部位を病理組織学的に検査した。

出生児に関して記録されたパラメータは、出産時及び哺育期間中の生存率、同腹児サイズ、児動物の出産時及び哺育期間中の個体別体重及び性別を含んだ。哺育期間中の肉眼的異常及び一般状態を記録した。第二世代の親動物として選抜されたF1児動物について性成熟（膈開口及び包皮分離）を測定した。選抜されたF1及びF2の離乳児は剖検に供し、指定臓器の重量を測定後、保存した。

P世代の合計雌3匹及びF1世代の8匹が、試験の生存期間中に死亡あるいは切迫殺された。しかしながら、これらの死亡は投与に関連しないものと判断された。両世代の親動物の体重、摂餌量、あるいは肉眼的病理検査及び病理組織学的検査において、交配前、妊娠期間中あるいは哺育期間中に影響はみられなかった。わずかだが統計学的に有意な絶対及び相対腎重量の増加が1000 mg/kg 体重/日群のP世代の雌及びF1世代の雌雄において示された。これら動物の腎臓における病理組織学的所見（F1世代の雄2例及びF1世代の雌1例にみられた軽微な腎盂拡張及びF1世代の雄1例の腎臓にみられた出血は除く）は認められなかったため、これらの影響は毒性学的有意性のないものとみなされた。両世代の親動物において、被験物質に関連した生殖能への影響は認められなかった。交尾率、受胎率及び受精率、交配期間、妊娠期間、精子検査及び原始卵胞数（F1動物のみ）の項目は同時に実施した対照群と投与群の間で同程度もしくはこの研究所の歴史的背景対照データの範囲内であった。

被験物質に関連した出生児の成長あるいは発育における有害な変化は、F1あるいはF2世代において認められなかった。出産時の同腹児サイズ（合計、生存及び死産）、哺育中の生存率、F1動物の性成熟、一般状態、肉眼的病理検査及び病理組織学的検査及び臓器重量を含む測定した他の項目は、対照群と投与群の間で同程度であると判断された。

結論：

上記に要約した本試験の結果に基づいて、親動物の毒性影響に対する‘無毒性量（NOAEL）は300 mg/kg 体重/日、親動物の生殖能に対するNOAELは1000 mg/kg 体重/日であった。出生児の成長及び発育に関するNOAELも1000 mg/kg 体重/日であった。

5.2.1.13 トキシコキネティクス

FWA-1 の皮膚透過性及び腸管吸着が Philip (1976¹¹¹)によって調査され、Black ら(1977¹¹²)によって公表された。

最初の実験において、1 群 6 匹のラットで構成された 2 群に、1% (w/v) 合成洗剤 (アルキル・ベンゼン・スルホン酸塩及びトリポリリン酸ナトリウム)あるいは水溶液中に 0.007% のトリチウム化した FWA-1 を含む溶液の 0.5 ml を強制経口投与した。全動物を別々に代謝ケージに収容し、尿及び糞便サンプルを 24 時間毎に 4 日間採取した。24、48 及び 96 時間後の計画剖検時に心臓穿刺によって血液サンプルを採取し、放射能を測定するために指定臓器を採取した。

2 番目の実験において、1% (w/v) 合成洗剤水溶液中に 0.007% のトリチウム標識 FWA-1 を含有する溶液の 0.2 ml を 16 匹のウイスター系雄ラットの刈毛した背部皮膚 (8 cm²) に塗布し、適用部位を閉塞パッチで保護した。5 分間接触させた後、8 匹のラットの適用部位を微温湯で洗浄し、全動物 (洗浄及び非洗浄動物) の皮膚の適用部位を非閉塞包帯で覆った。全動物を別々に代謝ケージに収容し、尿及び糞便サンプルを 24 時間毎に 4 日間採取した。

3 番目の実験において、95% エタノール中に 0.43 mg/ml のトリチウム標識 FWA-1 を含有する溶液の 0.5 ml を 2 匹のウイスター系雄ラットの刈毛した背部皮膚 (18 cm²) に適用した。1 分間接触させた後、余分なアルコールを温風でやさしく除去し、閉塞パッチをあてがった。全動物を別々に代謝ケージに収容し、尿及び糞便サンプルを 24 時間毎に 4 日間採取した。

実験 1 の適用ラットにおいて、両投与群の大部分の放射能は、最初の 24 時間に殆どが糞便に排泄された。少量が尿中に存在した。放射能の回収率は、実質的に 48 時間後に完了した (48 時間の総回収率は >92%)。

トリチウム化した FWA-1 を含む洗剤溶液を局所適用したラット (実験 2) から採取した血液、尿及び糞便中からは有意な放射エネルギーは検出されなかった。24 時間後の適用部位の皮膚のシンチレーション計数は、洗浄皮膚で 0.2 から 0.4 µg/cm² 及び非洗浄皮膚で約 0.5 から 1.0 µg/cm² の堆積を示した。洗浄皮膚 (適用放射能の 79%)、パッチ及び皮膚全体における放射能の分析は、測定可能な経皮浸透の証拠を示さなかった (酵素で分離した真皮は、洗浄動物で 3-22 ng/cm²、非洗浄動物で 8-50 ng/cm² に相当する非常に少量の放射能のみを含有した)。

トリチウム化した FWA-1 のエタノール溶液を局所適用したラット (実験 3) において、糞便、大腸及び小腸及びその内容物から少量だが測定可能な放射エネルギーが検出され、胃の内容物においても同様に検出された。極わずかな量の放射能のみが、適用動物の 1 例の肝臓、膀胱、腎臓及び心臓に存在した。塗布した被験物質の約 0.1% が 2 日間の間に皮膚を通して吸収された。

結論：

上記の要約データは、洗剤溶液中の FWA-1 を皮膚に塗布した場合、FWA-1 の測定可

能な皮膚透過がないことを示す。0.43 mg/ml の FWA-1 を含有するエタノール溶液を塗布した場合、約 0.01 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ が 2 日以内に皮膚を透過する。皮膚吸収として 0.1% の値を本報告書の HERA リスク評価のばく露計算に使用した。

強制経口投与した場合、放射能の多くは 24 時間以内に糞便中に排泄される。経口投与した放射能の 0.1% のみが、吸収されて尿中に排泄される。

これらの結果は、Muecke ら (1975¹¹³) によって公表されたラットを用いた吸収、分布及び排泄試験においても確認される。水に混入した ¹⁴C 標識 FWA-1 を 5.9 mg/kg 体重の濃度で両性のラットに経口投与した結果、放射性物質は 7 - 13 時間の範囲の半減期で迅速にそして完全な排出が認められた。糞便が事実上唯一の排泄経路 (投与した放射性物質の 95% 以上が 48 時間以内に排泄された) であったことは、短い半減期とともに、FWA-1 のわずかな量のみが消化管から吸収されたことを示唆している。投与 96 時間後の血液、肝臓、腎臓、脳、筋肉あるいは脂肪に放射能は検出されなかった (定量限界は 0.005-0.01 ppm FWA 相当)。雄及び雌の放射能の総回収率は、経口投与量のそれぞれ 97.5% 及び 95.2% であった。実験動物を用いた FWA-1 の生体内変化 (代謝) において、非常に限定した情報のみが利用可能であった。trans-異性体から cis-異性体への変換が *in-vivo* で起こるかどうかを確認するために、trans-FWA-1 を 2000 mg/kg 体重の濃度で飼料を介してビーグル犬に投与した。尿及び糞便を 1 週間にわたって採取した。尿及び糞便中に検出可能な量の cis-異性体を確認しなかった (尿で 2.5% 以下及び糞便で 0.2% 以下)。この試験は、FWA-1 の trans-異性体を摂餌させたビーグル犬において極わずかな量の cis-異性体を生成もしくは全く生成しなかったことを示唆した (Burg et al., 1977¹¹⁴)。

Muecke ら (1975) は、水に溶解させた FWA-1 を 5.9mg/kg 体重の投与量でラットに強制経口投与した後の糞中に存在した放射性物質は、メタノールで完全に抽出可能であったことを報告した。薄層クロマトグラフィーの結果は、FWA-1 の cis-及び trans-異性体のような行動をした 2 種類の化合物の抽出物の存在を明らかにした。

5.2.1.14 追加データ

発癌インダクション - プロモーション試験

雌ラットにおけるベンジジン誘発乳癌 (腺癌) を FWA-1 が促進する可能性を調査するために、GLP 基準施行前に FWA-1 (Blankophor MBBH) を用いた発癌インダクション - プロモーション試験が Steinhoff D (1975¹¹⁵) によって実施された。1 群 25 匹の Sprague Dawley 系雌ラットで構成された 4 群に、癌を誘発するため 150mg/kg 体重 (1 注射群) あるいは 100 mg/kg 体重 (2 から 4 注射群) の濃度のベンジジンを 4 回皮下注射し、各注射の間に 1 週間の休薬期間を設けた。5 日前に最初のベンジジン注射を開始し、動物は、アルカン硫酸塩 (Emulgator K30 ; 対照群) の 0.005% 水溶液の 1 ml あるいは 0.005% アルカン硫酸塩水溶液中に 0.01%、0.04% あるいは 0.16% の FWA-1 を含有する溶液の各 1 ml を 105 日間皮膚に投与した。被験物質の純度は、遊離酸型で 83.9% と報告された。

生存期間中に、誘発された乳癌の外観、成長及び重量を週に 1 回記録した。105 日後の剖検時に、動物を安楽死させ、投与群当たり 10 個の乳癌を病理組織学的に検査した。

105 日間の投与期間終了後、ほぼ全動物に 1 個以上の乳癌が認められた。しかしながら、上述のとおり、FWA-1 と Emulgator あるいは Emulgator のみ（対照群）の経皮投与は、ベンジジンにより誘発された乳癌の発生率、有病率あるいは組織学的影響を示さなかった。

結論：

従って、FWA-1 は、雌ラットのベンジジンにより誘発された乳癌に対し、発癌プロモーション作用を持たないものと判断された。

5.2.2 利用可能な人における毒性データの要約

FWA-1 を人が経口 / 吸入ばく露した後の急性影響あるいは亜急性 / 慢性毒性に関して利用可能なデータは存在しない。しかしながら、以下に要約したように、人に対する皮膚刺激性、感作性あるいは光刺激性 / 光感作性反応誘発性の可能性に関して多数の試験が行われた。

5.2.2.1 皮膚刺激性

不十分な報告ではあったが、FWA-1 を用いた 4 種類の試験の結果は、人に対する皮膚刺激性の証拠がなかったことを示した。2%FWA-1 パラフィン調製液を 200 人のボランティアにパッチテストした。陽性皮膚反応は認められなかった (Gloxhuber and Bloching, 1979¹¹⁶ に掲載)。別のパッチテストが 0.1%FWA-1 溶液を 50 人のボランティアに塗布して行われた。2 名のみが単回投与後被験物質の刺激性変化を示した (Burg et al., 1977 に掲載)。同様に、男性 10 人の前腕にそのままの濃度の FWA-1 (0.5 g) を塗布し、適用部位を脱脂綿パッド及びテープで 24 時間固定した結果、6 日間の観察期間にわたって刺激性はみられなかった (Burg et al., 1977 に掲載)。9 人の男性ボランティアの背部に 1%の濃度で連続 4 日間にわたって 24 時間塗布した結果、皮膚刺激性の証拠はみられなかった (Burg et al., 1977 に掲載)。

5.2.2.2 皮膚感作性

5.2.1.6 章に記載した動物実験に加えて、FWA-1 の皮膚感作性を誘発する可能性を ‘人における反復投与パッチテスト’ (HRIPTs) を用いて評価した。

Griffith (1973¹¹⁷)は、70 人のボランティアについて実施した反復投与パッチテストのデータを公表した。FWA-1 は、溶媒を含む合成洗剤中に 0.05%の濃度で閉塞パッチ下の皮膚に 24 時間適用し、この一連の感作を 3 週間間に 9 回行った。惹起塗布は、2 週間後に実施した。陽性皮膚反応はみられなかったため、FWA-1 は皮膚感作性を有しないと判断された。

Maibach(1971¹¹⁸)は、120 人のボランティアについて実施した反復投与パッチテストのデータを報告した。FWA-1 は、白色ワセリンに 1%及び 5%の濃度で溶解して 48 時間閉塞パッチ

チ下（週末は 72 時間）で合計 10 回（1 週間に 3 回）感作適用した。これは、休薬期間の後に新しい適用部位に最終惹起を行った。試験した両濃度において、皮膚接触アレルギーの証拠はみられなかった。

さらに、合成洗剤溶液あるいは 0.1%FWA-1 ポリエチレングリコール溶液を 50 人のボランティアについて反復投与パッチテストを行った結果、皮膚感作性の可能性の証拠は示されなかった（Burg et al., 1977 に掲載）。

5.2.2.3 光刺激性 / 光感作性

Forbes and Urbach (1975)によって報告されたボランティアに対する FWA-1 の光毒性試験は、FWA-1 の前処置が、紫外線を単回ばく露した人の皮膚に急性反応の増大を誘発しなかったことを示した。6 人の健康な男性ボランティアの背部に 0.1%8-メトキシソラーレン（8-MOP）白色ワセリン懸濁液、1%FWA-1 白色ワセリン懸濁液あるいは白色ワセリン単独を投与した。200 μ l の各試験溶液を 4 cm^2 の皮膚領域に閉塞包帯下で適用した。2 時間後、適用皮膚領域に UV-A（254 nm, 15 w/m^2 ; 60 分）、UV-C（300-380 nm, 4 w/m^2 ; 5 分）あるいは UV-A + UV-B（太陽シミュレータ、A : 10 w/m^2 ; B : 0.1 w/m^2 ; 40 分）を照射した。FWA-1 の前処置後の結果は、8-MOP あるいは溶媒のみの前処置後の結果と比較した。白色ワセリンのみを前処置した皮膚領域において、UV-C あるいは UV-A + B の照射が 4 名の被験者に軽微な紅斑を誘発した。UV-A のみの照射では皮膚反応はみられなかった。8-MOP を前処置した皮膚領域において、軽微な紅斑が UV-C を照射した全ての被験者に認められた。UV-A あるいは UV-A + B の照射は、照射 24 時間後に中等度から重度の紅斑を誘発し、72 時間後に次第に回復し始めた。FWA-1 を前処置した皮膚領域において、UV-C あるいは UV-A + B の照射が白色ワセリンのみを前処置した皮膚領域に認められた皮膚反応と同等の軽微な紅斑を誘発した。UV-A のばく露は皮膚反応を誘発しなかった。従って、FWA-1 は、使用した実験条件下において人に対し光毒性を誘発しないものと判断された。

FWA-1 を用いたボランティアに対する光感作性試験は、Griffith (1973)によって報告された。反復投与パッチテスト法を用いて、他の 2 種類の蛍光増白剤を含む合成洗剤溶液に 0.08%の濃度の FWA-1 を含む溶液を閉塞パッチ下で皮膚に 24 時間適用し、この一連の感作を 3 週間間に 9 回行った。各週の 2 日目のパッチ除去直後に適用領域を有効な屋外の日光に 30 分間ばく露させた。惹起は、2 週間後に行った。陽性皮膚反応は観察されなかったため、FWA-1 は、使用した試験条件下で皮膚に対し感作性を有しないものと判断された。

5.2.3 重要なエンドポイントの識別

毒性学的エンドポイントの要約：

1. 急性経口毒性 LD₅₀ > 5000 mg/kg 体重
2. 急性経皮毒性 LC₅₀ > 2000 mg/kg 体重
3. 眼刺激性なし
4. 皮膚刺激性なし
5. 動物及び人に対する皮膚感作性なし
6. 動物及び人に対する光毒性なし
7. 動物及び人に対する光感作性なし
8. 遺伝毒性及び変異原性なし
9. ラットを用いた 28 日間強制経口投与毒性試験において、NOAEL が雌雄とも 1000 mg/kg 体重/日（最高試験濃度）であることを確認した。
10. Sprague-Dawley 系ラットを用い、FWA-1 の代わりに用いた化学物質である C.I.B. 220 の出生前発生毒性試験において、ラット母動物及び発生毒性に対する NOAEL が 1000 mg/kg/日（最高試験濃度）であることを確認した。
11. ニュージーランド白色種ウサギを用いた C.I.B. 220 の出生前発生毒性試験において、400 及び 800mg/kg 体重/日の濃度で母動物に対し毒性影響（胃腸管の刺激性変化か？）がみられたことに基づいて、母動物の毒性に対する NOAEL が 100 mg/kg 体重/日であることを確認した。本試験において催奇形性誘発能を示唆する証拠はみられなかった。
12. CD 系ラットを用いた C.I.B. 220 の 2 世代生殖毒性試験において、1000 mg/kg 体重/日群の P 世代雌動物及び F1 世代の雌雄動物において絶対及び相対腎重量のわずかな増加がみられたことに基づいて、親動物の毒性に対する NOAEL が 300 mg/kg 体重/日であることを確認した。親動物の生殖能及び出生児の成長及び発育に対する NOAEL は、1000 mg/kg 体重/日（最高試験濃度）と判断された。
13. ウィスター系ラットを用いた FWA-1 の混餌投与による 2 年間慢性毒性・発がん性試験併合試験において、慢性全身毒性影響及び発がん性に対する NOAEL が 10000 ppm（最高試験濃度）、すなわち雄で 524 mg/kg 体重/日及び雌で 791 mg/kg 体重/日であることを確認した。
14. ヘアレスマウスを用いた 2 年間経皮投与慢性毒性・発がん性試験併合試験は、最高 0.01%濃度の FWA-1 において慢性経皮毒性あるいは発がん性の証拠を示さなかった。
15. ヘアレスマウスは、0.01%FWA-1 溶液及び紫外線照射のばく露による光発がん性を示さなかった

これらのエンドポイントから、我々は、ラットを用いた一生涯混餌投与試験を消費者製品における FWA-1 の使用に最も関連するとして選択する。この選択を立証する鍵になる要因は、この試験が FWA-1 を用いて実施されたこと、及び FWA-1 の用途は消費者によって長

期間繰り返し使用されると思われる主に洗濯用製品であることによる。

5.2.4 NOAEL の決定

ラットの一生涯混餌投与試験が、消費者ばく露における典型的なエンドポイントの代表として選択されたため、リスク評価における総合的な NOAEL は雄の結果から 524 mg/kg 体重/日を使用した。

5.3 リスク評価

5.3.1 ばく露マージン (MOE) の算出

MOE は、‘無毒性量’ (NOAEL) とセクション 5.1.3 において上述の算出された推定全身ばく露量 (SED) の比である。利用可能な動物試験データから、ラットを用いた 2 年間の一生涯混餌投与試験が選択され、雄の結果から NOAEL = 524 mg/kg 体重/日を使用した。

1) 衣類の事前処理に使用した場合の直接皮膚接触

$$\begin{aligned} \text{MOE}_{\text{spot treatment}} &= \text{経口投与全身毒性 NOAEL} / \text{推定全身ばく露量} \\ &= 524 \text{ mg/kg/日} / 0.21 \text{ mg/kg 体重/日} \\ &= 2495 \end{aligned}$$

2) 洗濯物を手で洗濯した場合の直接皮膚接触

$$\begin{aligned} \text{MOE}_{\text{hand washing laundry}} &= \text{経口投与全身毒性 NOAEL} / \text{推定全身ばく露量} \\ &= 524 \text{ mg/kg/日} / 5.86 \times 10^{-3} \text{ mg/kg 体重/日} \\ &= 89420 \end{aligned}$$

3) 皿を手で洗淨した場合の直接皮膚接触 (誤用の仮説)

$$\begin{aligned} \text{MOE}_{\text{hand dish washing}} &= \text{経口投与全身毒性 NOAEL} / \text{推定全身ばく露量} \\ &= 524 \text{ mg/kg/日} / 1.65 \times 10^{-2} \text{ mg/kg/日} \\ &= 31758 \end{aligned}$$

4) 着衣からの間接皮膚接触

$$\begin{aligned} \text{MOE}_{\text{indirect skin contact clothing}} &= \text{経口投与全身毒性 NOAEL} / \text{推定全身ばく露量} \\ &= 524 \text{ mg/kg/日} / 5.5 \times 10^{-4} \text{ mg/kg/日} \\ &= 952727 \end{aligned}$$

5) 消費者製品の取り扱い中に発生した合成洗剤ダストの吸入

$$\begin{aligned} \text{MOE}_{\text{inhalation of detergent dust}} &= \text{経口投与全身毒性 NOAEL} / \text{推定全身ばく露量} \\ &= 524 \text{ mg/kg/日} / 3.4 \times 10^{-8} \text{ mg/kg/日} \\ &= 1.5 \times 10^{10} \end{aligned}$$

6) 処理された生地を口に入れる又はしゃぶることによる経口ばく露

$$\begin{aligned} \text{MOE}_{\text{mouthing and sucking}} &= \text{経口投与全身毒性 NOAEL} / \text{推定全身ばく露量} \\ &= 524 \text{ mg/kg/日} / 1.88 \times 10^{-3} \text{ mg/kg/日} \\ &= 278723 \end{aligned}$$

7) 皿に堆積した残留物からの経口ばく露

$$\begin{aligned} \text{MOE}_{\text{oral dish deposition}} &= \text{経口投与全身毒性 NOAEL} / \text{推定全身ばく露量} \\ &= 524 \text{ mg/kg/日} / 1.24 \times 10^{-3} \text{ mg/kg/日} \\ &= 422581 \end{aligned}$$

8) 食品及び飲料水からの経口ばく露

$$\begin{aligned} \text{MOE}_{\text{food and water}} &= \text{経口投与全身毒性 NOAEL} / \text{推定全身ばく露量} \\ &= 524 \text{ mg/kg/日} / 2.0 \times 10^{-5} \text{ mg/kg/日} \\ &= 2.6 \times 10^7 \end{aligned}$$

5.3.2 消費者の総ばく露量

直接及び間接皮膚接触、合成洗剤ダストの吸入あるいは経口経路からの消費者のばく露量として、次の推定全身ばく露量が求められた：

$$\begin{aligned} \text{SED}_{\text{total}} &= 0.21 + 0.006 + 0.017 + 0.0006 + (3.4 \times 10^{-8}) + 0.001 + (2.0 \times 10^{-5}) \\ &\text{mg/kg 体重/日} \\ &= 0.23 \text{ mg/kg 体重/日} \end{aligned}$$

着衣からの間接皮膚接触あるいは合成洗剤ダストの吸入からの FWA-1 のばく露は、消費者の全身総ばく露量の主たる要因にはならないと判断された。

524 mg/kg 体重/日の総合的な NOAEL との比較により次の MOE が求められた：

$$\begin{aligned} \text{MOE}_{\text{total}} &= \text{経口投与の総合的な NOAEL} / \text{推定全身ばく露量} \\ &= 524 \text{ mg/kg/日} / 0.23 \text{ mg/kg/日} \\ &= 2278 \end{aligned}$$

5.3.3 リスク特性

FWA-1 の人への推定ばく露シナリオは、非常に大きなばく露マージンを示した。この大きな MOEs は、毒性学的（危険）データベースにおけるいかなる不確実性を補うのに十分な値であり、これらは動物試験から人の安全性への外挿に使われる。

従って、FWA-1 は、人へのばく露をもたらす消費者製品の使用にあたって安全であると判断される。

5.4 考察及び結論

消費者製品の使用シナリオからの推定ばく露量及びFWA-1の内部ばく露の総推計を示す環境を介した推定ばく露量は、 $SED_{total} = 0.23 \text{ mg/kg}$ 体重/日であり、これは適切な経皮、経口及び吸入ばく露から計算された。

FWA-1を含む合成洗剤製品が消費者の生涯の大部分を通して使用されることを考慮し、重要なエンドポイントは、ラットを用いた一生涯混餌投与試験から選択された。この試験における該当するNOAELは 524 mg/kg 体重/日であった。

全身毒性のNOAELとFWA-1の消費者の推定総ばく露量の比較は、 $MOE_{total} = 2278$ のばく露マージンをもたらした。これはばく露マージンが大きく、毒性データベース及び外挿における不確実性を全て補うのに十分であることを示唆する。

毒性学的エンドポイントに関する広範囲なデータベース、FWA-1の想定可能な全ての使用方法について算出された低いばく露量及び結果として得られた上述の大きなばく露マージンに基づいて、家庭用洗剤に含まれるFWA-1の使用は、消費者に対し安全であると判断することができる。

6. 参考文献

- ¹ IUCLID for CAS-No. : 16090-02-1.
- ² Fueldner, H. H. ; Report on density of solids; Ciba-Geigy Ltd. Basel; Test No. FC-90/30T from 28.08.1991.
- ³ Petschel, R.; Report on Melting point/ Melting range; Ciba-Geigy Ltd. Basel; Test No. FC-90/30T from 17.12.1991.
- ⁴ Geoffrey A.; Report on vapour pressure curve; Ciba-Geigy Ltd. Basel; Test No. FC-90/30T.
- ⁵ Jaekel K.; Report on Partition Coefficient; Ciba-Geigy Ltd. Basel; Report No. FC-90/30T from 16.01.1992.
- ⁶ Heinemann Gerd W.; Determination of the water solubility of TINOPAL DMS-X Pur Extra (Id. 040705.6); Ciba Specialty Chemicals Basel; Test No. 97-1230 from 6.05.1997.
- ⁷ Vogel A.; Report on fat solubility; Ciba-Geigy Ltd. Basel; Test No. FC-90/30T from 18.06.1992.
- ⁸ Jaekel K.; Report on dissociation constant in water; Ciba-Geigy Ltd. Basel; Test No. FC-90/30T from 19.04.1991.
- ⁹ Ferrat R.; Report on hydrolysis as a function of pH; Ciba-Geigy Ltd. Basel; Test No. FC-90/30T from 12.05.1992.
- ¹⁰ Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry; VCH Verlagsgesellschaft Weinheim; [1991]; pages 157-158.
- ¹¹ R. McGregor in: "Diffusion and Sorption in Fibers and Films", Vol. 1, Academic Press, London, 1974.
- ¹² I. D. Rattee, M. M. Breuer in: "The Physical Chemistry of Dye Adsorption", Academic Press, London, 1974.
- ¹³ N. M. Bikales, I. Segal in "Cellulose and Cellulose Derivatives", Vol. 5(4), Wiley, 1971, 222.
- ¹⁴ Pohl E.; Biological elimination of TINOPAL DMS h. c 114%; Ciba-Geigy AG Basel (Dyes and Chemicals Division); report from 16.05.1975.
- ¹⁵ Reust H.; Biological elimination of TINOPAL DMS pur extra; Ciba-Geigy AG Basel (Dyes and Chemicals Division).
- ¹⁶ Kramer Johannes B.; Degradation of Fluorescent Whitening Agents in Sunlit Natural Waters; Environmental Science & Technology, Volume 30, Number 7, pages 2227 - 2234, [1996].
- ¹⁷ Richner Peter et al; Latest results from monitoring studies and environmental risk assessments (ERAs) of Fluorescent Whitening Agents (FWAs); Seventh annual meeting of SETAC - Europe in Amsterdam; 6 - 10 April 1997.
- ¹⁸ <http://www.epa.gov/ceampubl/swater/gcsolar/index.htm>
- ¹⁹ Schnalke P.; Determination of the BOD5 of Tinopal DMS Photolysat, 2,5 h; Novartis Services AG, Basel; Test No. S 03101 from 25 February 1998.
- ²⁰ Maetzler P., Determination of the BOD5 of Tinopal DMS Photolysat, getrocknet; Novartis Services AG, Basel; Test No. S 03301 of 19 February 1998.
- ²¹ Schnalke P.; Determination of the BOD5 of Tinopal DMS Photolysat, 6 h; Novartis Services AG, Basel; Test No. S 03201 from 25 February 1998.
- ²² Internal Report Ciba, Test S 03213.
- ²³ Internal Report Ciba, Test S 06613.

- ²⁴ Hochberg R., et al.; Monitoring of Fluorescent Whitening Agents in Sewage Plants and Rivers; International Symposium of Environmental Biotechnology [1997].
- ²⁵ Stoll Jean-Marc; Fluorescent Whitening Agents in Natural Waters; Dissertation ETH No. 12355; Zurich [1997].
- ²⁶ Feron, J. P.; Akkumulation und Korperverteilung von FAT 65'023 (TINOPAL DMS) in Goldorfen; Ciba-Geigy Basel, 1976.
- ²⁷ EUSES 1.00; European Union System for the Evaluation of Substances; TSA Group Delft, February 1997 (<http://ecb.jrc.it/existing-chemicals/>).
- ²⁸ Technical Guidance Document on Risk Assessment [2003] (<http://ecb.jrc.it/existing-chemicals/>).
- ²⁹ HERA, Guidance Document Methodology; April 22, 2002 (<http://www.heraproject.com/files/Guidancedocument.pdf>).
- ³⁰ Grothe R.; Soil adsorption of FAT 65'023/N on three soils (screening version); RCC Umweltchemie GmbH Rossdorf; Project Id. RCC 288314 from 9.06.1993.
- ³¹ Feron J. P.; Accumulation and distribution of FAT 65'023 in *Leuciscus idus*; Ciba-Geigy AG Basel, Project FC2.4-903 from 20.04.1976.
- ³² Kramer Johannes B.; Photodegradation of Fluorescent Whitening Agents in Sunlit Natural Waters; Dissertation ETH No. 11934 (1996), pages 69 – 71.
- ³³ Dietschy A.; Report on the modified Zahn-Wellens-Test - OECD 302B - Inherent biodegradability of FAT 65'023/N; Ciba-Geigy Ltd. Basel; Test No. G 093 13 from 10.03.1992.
- ³⁴ Product Safety; Inherent Elimination - Zahn-Wellens of Tinopal DMS Slurry; Ciba-Geigy, Basel; Code 4835, 9.04.1991.
- ³⁵ Poiger Thomas; Behavior and Fate of Detergent-derived Fluorescent Whitening Agents in Sewage Treatment; Dissertation ETH No. 10832 (1994), pages 61-63, (FWA3).
- ³⁶ Ritter A.; Acute Toxicity of FAT 65'023/L to *Scenedesmus Subspicatus* (OECD - algae growth inhibition test. RCC Umweltchenue AG, Itingen; RCC Project 216404 from 30.03.1990.
- ³⁷ Ritter A.; 24-hour acute toxicity of FAT 65'023/L to *Daphnia Magna* (OECD-immobilisation test); RCC Umweltchemie AG Itingen; RCC Project 216393 from 23.12.1988.
- ³⁸ Boettcher J.; Report on the acute toxicity (96h) - OECD 203 - of TINOPAL DMS-E to zebra fish; Ciba-Geigy Ltd. Basel; 20.08.1992.
- ³⁹ Sleight B. H.; Acute toxicity of FA 10, FA 11, FA 12 to rainbow trout and channel catfish; Bionomics Inc. Wareham; January 1971.
- ⁴⁰ Casper; Chronic toxicity of TINOPAL DMS to *Daphnia*; Bayer AG Leverkusen, Test No. 367 A92 from 22 .04.1993.
- ⁴¹ Casper; Extended toxicity of TINOPAL DMS to zebrafish; Bayer AG Leverkusen; Test No. 367 92FL from 22.04.1993.
- ⁴² Vial A.; Report on the acute toxicity FAT 65'023/N to earthworm; Ciba-Geigy Ltd. Basel; Test No. 918024 from 24.05.1991.
- ⁴³ Pfeifle Verena; Acute toxicity of TINOPAL DMS pur extra to the earthworm; Solvias AG Basel; Test No. S 129 25 from 11.11.1999.
- ⁴⁴ Boettcher J.; Report on the Determination of the IC50 (Inhibitory concentration) - OECD 209 - of FAT 65'023/N; Test No. G 09305 from 14.05.2004.
- ⁴⁵ Klimisch H., J.; A Systematic Approach for Evaluating the Quality of Experimental Toxicological and Ecological Data; Regulatory Toxicology and Pharmacology; 25 [1997].

- ⁴⁶ Maetzler P.; Acute toxicity of Tinopal DMS Photolysat 2.5 h for Green Algae; Novartis Services AG; Test No. S 03117 from 19 February 1998.
- ⁴⁷ Maetzler P.; Acute toxicity of Tinopal DMS Photolysat 6 h for Green Algae; Novartis Services AG; Test No. S 03217 from 19 February 1998.
- ⁴⁸ Maetzler P.; Acute toxicity of Tinopal DMS Photolysat getrocknet for Green Algae; Novartis Services AG; Test No. S 03317 from 19 February 1998.
- ⁴⁹ Boettcher J.; Report on the acute toxicity (96h) - OECD 203 - of TINOPAL DMS-Z to zebra fish; Ciba-Geigy Ltd. Basel; 20.08.1992.
- ⁵⁰ Boettcher J., Report on the acute toxicity (96h) - OECD 203 - of FAT65'023/N to Zebrafish; Ciba-Geigy Ltd., Basel; Test No. G 093 04 from 18.10.1991.
- ⁵¹ Reust H.; Acute fish toxicity to zebra fish, Ciba-Geigy AG, Basel; 12.08.1982.
- ⁵² Boettcher J., Acute toxicity of Tinopal DMS Photolysat, HOR 127/4x for Zebra fish, Novartis Services AG, Basel; Test No. S 033 04 from 25.02.1998.
- ⁵³ Blair R. M.; The Estrogen Receptor Relative Binding Affinities of 188 Natural and Xenochemicals: Structural Diversity of Ligands; *Toxicological Sciences*; 54, 138-154 (2000).
- ⁵⁴ Fang H. et al; Structure-Activity Relationships for a large Diverse Set of Natural, Synthetic, and environmental Estrogens; *Chemical Research and Toxicology*, 14, 280-294 b (2001).
- ⁵⁵ Shi L. M. et al; QSAR Models Using a Large Diverse Set of Estrogens; *J. Chem. Inf. Comput. Sci*; 41, No. 1, 186-195 (2001).
- ⁵⁶ Hostettler K. A.; Evaluation of the disodium salt of 4,4'-diamino-2,2'-stilbene disulfonic acid for estrogenic activity; *Journal of Toxicology and Environmental Health*; 48: 141- 149 [1996].
- ⁵⁷ AISE (2002) HERA/Task Forces/Human/0011 Habits and Uses Table. available via internet at www.heraproject.com.
- ⁵⁸ Van de Plassche EJ, Bont PFH and Hesse JM. Exploratory Report Fluorescent Whitening Agents (FWAs). National Institute of Public Health and the Environment, Utrecht, Netherlands, May 1999.
- ⁵⁹ Hasegawa R, Nakaji Y, and Tobe M. Acute toxicity test on 113 environmental chemicals. *Sci Rep Res Inst Tohoku Univ* 1989; 36(1-4): 10-16.
- ⁶⁰ Perecin C and Thomann P. FAT 65'023 - Acute oral LD₅₀ in mice (single administration). Report, Toxicology/Pathology, Pharmaceuticals Division, Ciba-Geigy Ltd., Basel, Switzerland, March 28, 1974a.
- ⁶¹ Bayer AG. Blankophor MBBH-Typ - Akute orale Toxizitat. Bericht ohne Nr., FB-P/Okologie, Bayer AG, Elberfeld, Germany, August 1974.
- ⁶² Bathe R. Acute oral LD₅₀ of FAT 65'023 in the rat. Report Project No. : Siss 4075, Toxicology/Pathology, Ciba-Geigy Ltd., Basel, Switzerland, June 19, 1974a.
- ⁶³ Bathe R. Acute oral LD₅₀ of FAT 65'023/A in the rat. Report Project No. : Siss 4076, Toxicology/Pathology, Ciba-Geigy Ltd., Basel, Switzerland, June 19, 1974b.
- ⁶⁴ Perecin C and Thomann P. FAT 65'023/C - Acute oral LD₅₀ in rats (single administration). Report, Toxicology/Pathology, Pharmaceuticals Division, Ciba-Geigy Ltd., Basel, Switzerland, September 28, 1974b.
- ⁶⁵ Sachsse K and Bathe R. Acute oral LD₅₀ in the rat of FAT 65'023/E. Report Project No. Siss 4860, Toxicology/Pathology, Ciba-Geigy Ltd., Basel, Switzerland, August 4, 1975a.
- ⁶⁶ Sachsse K and Bathe R. Acute oral LD₅₀ in the rat of FAT 65'023/B. Report Project No. Siss 4859, Toxicology/Pathology, Ciba-Geigy Ltd., Basel, Switzerland, August 8, 1975b.
- ⁶⁷ Bayer AG. Blankophor MBBH-Typ - Akute orale Toxizitat. Bericht ohne Nr., FB-P/

- Okologie, Bayer AG, Elberfeld, Germany, February 1976a.
- ⁶⁸ Thomann P and Perecin C. Acute oral LD₅₀ in the rat of FAT 65'023/F. Report, Toxicology/Pathology, Ciba-Geigy Ltd., Basel, Switzerland, March 28, 1976a.
- ⁶⁹ Thomann P and Perecin C. Acute oral LD₅₀ in the rat of FAT 65'023/C. Report, Toxicology/Pathology, Ciba-Geigy Ltd., Basel, Switzerland, March 28, 1976b.
- ⁷⁰ Sarasin G. FAT 65'023/L - Acute oral LD₅₀ in the rat. Report GU project No. 820600, GU2 Toxicology, Ciba-Geigy Ltd., Basel, Switzerland, July 1, 1982.
- ⁷¹ Perecin C and Thomann P. FAT 65'023 - Acute oral LD₅₀ in chinese hamsters (single administration). Report, Toxicology/Pathology, Pharmaceuticals Division, Ciba-Geigy Ltd., Basel, Switzerland, June 21, 1974c.
- ⁷² Ullmann L. Acute dermal toxicity study with FAT 65'023/L in rats. Report RCC Project No. 288483, RCC Research & Consulting Company AG, Itingen, Switzerland, December 21, 1990.
- ⁷³ Ullmann L. Report on skin irritation in the rabbit after single application of FAT 65'023/K. Exp. Toxicology GU 2.1, Ciba-Geigy Ltd., Sisseln, Switzerland, March 6, 1980a.
- ⁷⁴ Seifert G. FAT 65'023/L - Acute skin irritation study in the rabbit. Report GU Project No. 820602, GU2 Toxicology, Ciba-Geigy Ltd., Basel, Switzerland, November 3, 1982a.
- ⁷⁵ Thomann P and Kruger L. FAT 65'023/C - Skin irritation to rabbits upon single application. Report Exp. No. 377/82, Toxicology/Pathology, Pharmaceuticals Division, Ciba-Geigy Ltd., Basel, Switzerland, December 10, 1974a.
- ⁷⁶ EU directive 2001/59/EC.
- ⁷⁷ Ullmann L. Report on eye irritation in the rabbit after single application of FAT 65'023/K. Exp. Toxicology GU 2.1, Ciba-Geigy Ltd., Sisseln, Switzerland, March 6, 1980b.
- ⁷⁸ Seifert G. FAT 65'023/L - Acute eye irritation study in the rabbit. Report. GU Project No. 820601, GU2 Toxicology, Ciba-Geigy Ltd., Basel, Switzerland, November 3, 1982b.
- ⁷⁹ Thomann P and Kruger L. FAT 65'023/C - Irritation to the rabbit eye (single administration). Report Exp. No. 77/74, Toxicology/Pathology, Pharmaceuticals Division, Ciba-Geigy Ltd., Basel, Switzerland, December 10, 1974b.
- ⁸⁰ Sachsse K and Ullmann L. Eye irritation in the rabbit of FAT 65'023/E. Report Project No. Siss 4860, Toxicology/Pathology, Ciba-Geigy Ltd., Basel, Switzerland, November 12, 1975a.
- ⁸¹ Sachsse K and Ullmann L. Eye irritation of FAT 65'023/A in the rabbit eye. Report Project No. Siss 4076 ; Toxicology/Pathology, Ciba-Geigy Ltd., Basel, Switzerland, August 22, 1974a.
- ⁸² Sachsse K and Ullmann L. Irritation of FAT 65'023 in the rabbit eye. Report Project No. Siss 4075; Toxicology/Pathology, Ciba-Geigy Ltd., Basel, Switzerland, August 2, 1974b.
- ⁸³ Paterson RA. TINOPAL DMS - Test for eye irritation in rabbits. Final report, Geigy Ltd., Stamford Lodge, Wilmslow, UK, June 28, 1968.
- ⁸⁴ Paterson RA. TINOPAL DMS, Type 357 - Test for eye irritation in rabbits. Final report, Geigy Ltd., Stamford Lodge, Wilmslow, UK, June 12, 1967.
- ⁸⁵ Thomann P and Maurer T. Skin sensitization (contact allergenic) effect in Guinea pigs of FAT 65'023/E. Report Exp. No.75/34, December 11, 1975.
- ⁸⁶ Ullmann L. Contact hypersensitivity to FAT 65'023/L in albino Guinea pigs, Maximization test. Report RCC project No. 288494, April 2, 1991.
- ⁸⁷ Forbes PD and Urbach F. Photocarcinogenesis: Lack of enhancement by fluorescent whitening agents. in: Anliker R and Muller G, guest eds., Fluorescent whitening agents. EQS Environmental Quality and Safety, Suppl. Vol. IV, 212-222, Georg

- Thieme Verlag, Stuttgart, 1975a.
- ⁸⁸ Hoff N. Subacute 28-day oral toxicity (gavage) study with FAT 65'023/L in the rat. Report RCC Project No. 288505, RCC Research & Consulting Company AG, Itingen, Switzerland, September 26, 1991.
- ⁸⁹ Bommard E and Loser E. Blankophor MBBH (Natrium-Salz) Chronische toxikologische Untersuchungen an Ratten (Fütterungsversuch über 2 Jahre). Report No. 7234, Institute of toxicology, Bayer AG, Wuppertal, Germany, January 19, 1978.
- ⁹⁰ Finn JP. Chronic toxicity study on rats with Blankophor MBBH (two year feeding study). Pathology report No. 691/262/6, Hazelton Laboratories Europe Ltd., Harrogate, UK, February, 1977.
- ⁹¹ Steinhoff D and Dycka J. Chronische epikutane Applikation von Weisstonern bei haarlosen Mäusen. Pharma Report No. 10325, Institute of Toxicology, Bayer AG, Wuppertal, Germany, March 9, 1981.
- ⁹² Poth A. *Salmonella Typhimurium* reverse mutation assay with FAT 65'023/L. Report CCR Project 213311, CCR Cytotest Cell Research GmbH & Co. KG, Rossdorf, Germany, January 21, 1991.
- ⁹³ Heidemann A. Chromosome aberration assay in Chinese hamster V79 cells *in-vitro* with FAT 65'023/L. Report CCR Project 213322, CCR Cytotest Cell Research GmbH & Co. KG, Rossdorf, Germany, July 23, 1991.
- ⁹⁴ Volkner W. Micronucleus assay in bone marrow cells of the mouse with FAT 65'023/L. Report CCR Project 213333, CCR Cytotest Cell Research GmbH & Co. KG, Rossdorf, Germany, January 21, 1991.
- ⁹⁵ Kawachi T, Komatsu T, Kada T, Ishidate M, Sasaki M, Sugiyama T and Tazima Y. Results of recent studies on the relevance of various short-term screening test in Japan. in: Williams GL et. al., eds., The predictive value of short-term screening test in carcinogenicity evaluation, pp. 253-267, Elsevier/North Holland Biomedical Press 1980.
- ⁹⁶ Kilbey BJ and Zetterberg LG. Mutagenicity assays on fluorescent whitening agents using microorganisms. in: Anliker R and Muller G, guest eds., Fluorescent whitening agents. EQS Environmental Quality and Safety, Suppl. Vol. IV, 264-277, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1975.
- ⁹⁷ McGregor DB and Ainsworth L. Lack of mutagenic activity in *Salmonella Typhimurium* of four optical brighteners. Mutation Research 1976; 40: 169-172.
- ⁹⁸ Abe S and Sasaki M. Chromosome aberrations and sister chromatid exchanges in Chinese hamster cells exposed to various chemicals. J Natl Cancer Inst 1977; 58(5): 1635-1641.
- ⁹⁹ Ishidate M Jr and Odashima S. Chromosome tests with 134 compounds on Chinese hamster cells *in-vitro* - a screening for chemical carcinogens. Mutation Research 1977; 48: 337-354.
- ¹⁰⁰ Muller D and Strasser FF. Chromosome studies on somatic cells FAT 65'023 (TINOPALR DMS) Chinese hamster (Test for mutagenic effects on bone marrow cells). Report, Toxicology/Pathology, Pharmaceuticals Division, Ciba-Geigy Ltd., Basel, Switzerland, November 4, 1974.
- ¹⁰¹ Muller D, Fritz H, Langauer M and Strasser FF. VII/10 Nucleus anomaly test and chromosomal analysis of bone marrow cells of the Chinese hamster and dominant lethal test in male mice after treatment with fluorescent whitening agents. in: Anliker R and Muller G, guest eds., Fluorescent whitening agents. EQS Environmental Quality and Safety, Suppl. Vol. IV, 247-263, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1975.
- ¹⁰² Langauer M. Nucleus anomalie test on somatic interphase nuclei FAT 65'023

- (TINOPALR DMS) Chinese hamster (Test for mutagenic effects on bone marrow cells). Report, Toxicology/Pathology, Pharmaceuticals Division, Ciba-Geigy Ltd., Basel, Switzerland, October 30, 1974.
- ¹⁰³ Steinhoff D and Dycka J. Chronische epikutane Applikation von Weisstonern bei haarlosen Mäusen. Pharma Report No. 10325, Institute of Toxicology, Bayer AG, Wuppertal, Germany, March 9, 1981.
- ¹⁰⁴ Steinhoff D, Lorke D, Hoffmann K, Dycka J and Artik N. Chronische UV-Bestrahlung haarloser Mäuse bei gleichzeitiger kutaner Applikation von Weisstonern. Pharma Report No. 7490, Institute of Toxicology, Bayer AG, Wuppertal, Germany, May 3, 1978.
- ¹⁰⁵ Forbes PD and Urbach F. Experimental modification of photocarcinogenesis. III. Simulation of exposure to sunlight and fluorescent whitening agents. Food Cosmet Toxicol 1975b, 13: 343-345.
- ¹⁰⁶ Breslin WJ. A pilot prenatal developmental toxicity study of C.I. fluorescent brightener 220 and C.I. fluorescent brightener 339 administered via oral gavage to New Zealand white rabbits. Report Laboratory Study No. 795-002, MPI Research, Mattawan, USA, August 18, 1998a.
- ¹⁰⁷ Breslin WJ. A pilot prenatal developmental toxicity study of C.I. fluorescent brightener 220 and C.I. fluorescent brightener 339 administered via oral gavage to rats. Report Laboratory Study No. 795-001, MPI Research, Mattawan, USA, August 18, 1998b.
- ¹⁰⁸ Turck PA. Prenatal developmental toxicity study of C.I. fluorescent brightener 220 administered via oral gavage to New Zealand white rabbits. Report Laboratory Study No. 795-004, MPI Research, Mattawan, USA, January 27, 2000.
- ¹⁰⁹ Turck PA. Prenatal developmental toxicity study of C.I. fluorescent brightener 220 administered via oral gavage to rats. Report Laboratory Study No 795-003, MPI Research, Mattawan, USA, December 2, 1999.
- ¹¹⁰ Turck PA. Two generation reproduction and fertility study of C.I. fluorescent brightener 220 administered via oral gavage in rats. Report Laboratory Study No. 795-006, MPI Research, Mattawan, USA, August 24, 2001.
- ¹¹¹ Philip J McL. Study of skin penetration and intestinal absorption of a Dianilino-dimorpholino-type of fluorescent whitening agent. Research Division, Unilever Limited, London, UK; received May 3, 1976.
- ¹¹² Black JG, Moule RC and Philip J. Percutaneous absorption and disposition of TINOPALR EMS. Toxicology 1977; 8: 33-42.
- ¹¹³ Muecke W, Dupuis G and Esser HO. VI/5 Metabolic behaviour of water-soluble fluorescent whitening agents in the rat and bean plant. in: Anliker R and Muller G, guest eds., Fluorescent whitening agents. EQS Environmental Quality and Safety, Suppl. Vol. IV, 174- 179, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1975.
- ¹¹⁴ Burg AW, Rohovsky MW, and Kensler CJ. Current status of human safety and environmental aspects of fluorescent whitening agents used in detergents in the United States. CRC Critical Reviews in Environmental Control, April 1977.
- ¹¹⁵ Steinhoff D. Zur behaupteten "Schrittmacherfunktion" von RBlankophor-Marken bei Malignomen (Untersuchungen mit RBlankophor MBBH am induzierten Mammakarzinom der Ratte). Institute of Toxicology, Bayer AG, Wuppertal, Germany, September 11, 1975.
- ¹¹⁶ Gloxhuber C and Bloching H. Toxicologic properties of fluorescent whitening agents. in: Winek CL and Sydney PS, eds., Toxicology Annual Vol. 3, pp. 171-203; Marcel Dekker Inc., N.Y., Basel, 1979.
- ¹¹⁷ Griffith JF. Fluorescent whitening agents. Test for skin-sensitizing potential. Arch

HERA - Targeted Risk Assessment of FWA-1

Dermatol. 1973; 10: 728-733.

¹¹⁸ Maibach HI. Draize type sensitization study FDA optical Brighteners. One page summaries reports No. 42, 46 and 47; received March 8, 1971.