

Japan  
Food  
Research  
Laboratories

# 試験報告書

第 101020357-001 号

依頼者 日本人参販売農業協同組合連合会

検体 ホソバヤマジソ抽出エキス(99B-NE430-200)

試験項目 ウサギを用いた皮膚一次刺激性試験

平成 13 年 03 月 09 日 当センターに提出された  
上記検体について試験した結果は次のとおりです。

平成 13 年 03 月 27 日

財団法人

## 日本食品分析センター

東京本部 〒151-0062 東京都渋谷区元代々木町52番1号  
大阪支所 〒564-0051 大阪府茨田市豊津町3番1号  
名古屋支所 〒460-0011 名古屋市中区大須4丁目5番13号  
九州支所 〒812-0034 福岡市博多区木呉服町1番12号  
多摩研究所 〒206-0025 東京都多摩市永山6丁目11番10号

## ウサギを用いた皮膚一次刺激性試験

### 要 約

ホソバヤマジソ抽出エキス(99B-NE430-200)を検体として、OECD Guidelines for the Testing of Chemicals 404(1992)に準拠し、ウサギを用いた皮膚一次刺激性試験を行った。

検体の200倍希釈液をウサギ3匹の無傷及び有傷皮膚に4時間閉鎖貼付した結果、除去後1時間に全例で非常に軽度な紅斑が見られたが、72時間までにすべて消失した。

Federal Register(1972)に準拠して求めた一次刺激性インデックス(P. I. I.)は0.4となり、ウサギを用いた皮膚一次刺激性試験において、検体の200倍希釈液は「無刺激性」の範疇に入るものと評価された。

### 依 頼 者

日本人蔘販売農業協同組合連合会

### 検 体

ホソバヤマジソ抽出エキス(99B-NE430-200)

### 試験実施期間

平成13年3月12日～平成13年3月27日

### 試験実施場所

財団法人 日本食品分析センター 多摩研究所  
東京都多摩市永山6丁目11番10号

### 試験責任者

財団法人 日本食品分析センター 多摩研究所  
安全性試験部 安全性試験課

### 試験実施者

## 1 試験目的

検体の200倍希釈液について、OECD Guidelines for the Testing of Chemicals 404(1992)に準拠し、ウサギにおける皮膚一次刺激性を調べる。

## 2 検 体

ホソバヤマジソ抽出エキス(99B-NE430-200)

性状：乳淡茶褐色の液体

## 3 試験液の調製

検体を精製水に溶解し、200倍希釈液を調製した。

## 4 試験動物

日本白色種雄ウサギを北山ラベス株式会社から購入し、1週間以上の予備飼育を行って一般状態に異常のないことを確認した後、3匹を試験に使用した。試験動物はFRP製ケージに個別に収容し、室温 $22 \pm 2$ ℃、照明時間12時間/日に設定した飼育室において飼育した。飼料はウサギ・モルモット用固型飼料[LRC4、オリエンタル酵母工業株式会社]を制限給与し、飲料水は水道水を自由摂取させた。

## 5 試験方法

各々の試験動物の体幹背部被毛を試験の約24時間前に剪毛した。

試験動物1匹につき、約6 cm<sup>2</sup>の面積で4箇所を設定し、そのうち2箇所には18ゲージの注射針を用いて、真皮までは達しないように角化層に井げた状のすり傷を付け(有傷皮膚)、他の2箇所を無処置(無傷皮膚)とした。

約2 cm×3 cmに裁断したガーゼパッチに試験液0.5 mLを均一に塗布し、無傷及び有傷皮膚の各1箇所ずつに貼付した後、絆創膏(日局)で固定した。また、パッチが皮膚と接触するように、更にブレンダーームサージカルテープ[スリーエムヘルスケア株式会社]で保持した。残りの無傷及び有傷皮膚は対照とした。

曝露時間は4時間とし、その後曝露面を70 %エタノールで清拭し、試験液を除去した。除去後1, 24, 48及び72時間に観察を行い、表-1に従って刺激反応の採点を実施した。刺激反応が除去後72時間で認められた場合は、14日を限度として反応が消失するまで観察を続けた。

また、Federal Register(1972)に準拠して、除去後1, 24及び48時間の採点値を合計して6で除し、更に各試験動物の平均を算出して一次刺激性インデックス(P. I. I.)とし、表-2に示したISO 10993-10の基準に基づき、試験液の刺激性の評価を行った。

なお、試験開始時及び試験終了時に試験動物の体重を測定した。

## 6 試験結果(表-3及び4)

除去後1時間に、すべての適用部位で非常に軽度な紅斑(点数1)が見られたが、24時間にすべて消失した。その後2例(試験動物①及び②)では刺激反応が見られなかったが、残る1例では、48時間に無傷皮膚で一過性に非常に軽度な紅斑が見られた。

以上のことから、P. I. I. は0.4となった。

## 7 評 価

検体について、OECD Guidelines for the Testing of Chemicals 404(1992)に準拠し、ウサギを用いた皮膚一次刺激性試験を行った。

検体の200倍希釈液をウサギ3匹の無傷及び有傷皮膚に4時間閉鎖貼付した。その結果、除去後1時間に全例で非常に軽度な紅斑が見られたが、72時間までにすべて消失した。

Federal Register(1972)に準拠して求めた一次刺激性インデックス(P. I. I.)は0.4となり、ウサギを用いた皮膚一次刺激性試験において、検体の200倍希釈液は「無刺激性」の範疇に入るものと評価された。

## 8 参考文献

- ・ Federal Register(§ 191, December, 1972).
- ・ ISO 10993-10 Biological evaluation of medical devices-Part 10: Tests for irritation and sensitization 5.2 Skin irritation test(1995).

表-1 皮膚反応の評価

紅斑及び痂皮の形成

紅斑なし	0
非常に軽度な紅斑(かろうじて識別できる)	1
はっきりした紅斑	2
中等度ないし高度紅斑	3
高度紅斑からわずかな痂皮の形成(深部損傷まで)	4*

[最高点4]

\* 出血, 潰瘍及び壊死は深部損傷として点数4に分類した。

浮腫の形成

浮腫なし	0
非常に軽度な浮腫(かろうじて識別できる)	1
軽度浮腫(はっきりした膨隆による明確な縁が識別できる)	2
中等度浮腫(約1 mmの膨隆)	3
高度浮腫(1 mm以上の膨隆と曝露範囲を超えた広がり)	4

[最高点4]

表-2 ウサギにおける一次刺激反応のカテゴリー

反応のカテゴリー	P. I. I.
無刺激性	0~0.4
弱い刺激性	0.5~1.9
中等度の刺激性	2~4.9
強い刺激性	5~8

表-3 試験動物の体重(kg)

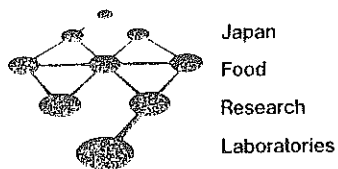
試験動物	試験開始時	試験終了時
①	3.33	3.30
②	3.36	3.27
③	2.96	2.80

表-4 皮膚反応の採点結果

観察時間 (時間)	試験動物①		試験動物②		試験動物③	
	無傷	有傷	無傷	有傷	無傷	有傷
1	1/0	1/0	1/0	1/0	1/0	1/0
24	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
48	0/0	0/0	0/0	0/0	1/0	0/0
72	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0

結果は紅斑・痂皮/浮腫の順に示した。

以 上



# 試験報告書

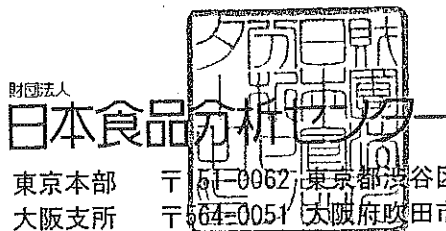
第 102090427-001 号  
2002年（平成 14年）09月19日

依頼者 日本人蔘販売農業協同組合連合会

検体 本報告書中

試験項目 チモールの定量

2002年（平成14年）09月04日当センターに提出された  
上記検体について試験した結果は次のとおりです。



財団法人  
日本食品分析センター

東京本部	〒511-0062	東京都渋谷区元代々木町52番1号
大阪支所	〒564-0051	大阪府吹田市豊津町3番1号
名古屋支所	〒460-0011	名古屋市中区大須4丁目5番13号
九州支所	〒812-0034	福岡市博多区下呉服町1番12号
多摩研究所	〒206-0025	東京都多摩市永山6丁目11番10号
千歳研究所	〒066-0052	北海道千歳市文京2丁目3番

## チモールの定量

### 1 依頼者

日本人蔘販売農業協同組合連合会

### 2 検 体

- 1) 紫蘇源
- 2) キュウリ

### 3 試験概要

#### 1) 試料の調製

紫蘇源[検体1)]50 mLを水で100倍に希釈して5 Lの希釈液を作り、試料1)とした。試料1)にキュウリ[検体2)]4本を1分間浸漬後、24時間室温放置した。このキュウリのうち2本を試料2)とし、残りのキュウリ2本は5 Lの水道水に5分間浸漬して試料3)とした。

#### 2) チモールの定量

ガスクロマトグラフ-質量分析法により、試料中のチモールの定量を行った。

### 4 試験結果

試料中のチモール濃度を表-1に示した。

表-1・チモール濃度

試 料	濃度 (ppm)
1)	620
2)	0.3
3)	0.2

以 上

# 試験検査成績書

JA 日蔘連 日本人蔘販売農業協同組合連合会 殿

厚生労働大臣指定検査機関 (食品衛生法 水道法 薬事法)  
社団法人東京都食品衛生協会  
東京食品技術研究所

平成14年07月12日検査依頼により提出された試験品について行った試験検査の成績は  
下記のとおりです。

## 記

### 試験品の名称及び数量

紫蘇源 (ホソバヤマジソ抽出液) 1件  
101 No.0C-140524

### 試験検査の内容

銅

### 試験検査の結果

	検出限界	検査方法
銅 . . . . .	検出しない (0.1ppm)	原子吸光光度法

以上

# 試験検査成績書

JA日蔘連 日本人蔘販売農業協同組合連合会 殿

厚生労働大臣指定検査機関 (食品衛生法 水道法 薬事法)  
社団法人東京都食品衛生協会  
東京食品技術研究所

平成14年07月12日検査依頼により提出された試験品について行った試験検査の成績は  
下記のとおりです。

## 記

### 試験品の名称及び数量

紫蘇源 (ホソバヤマジソ抽出液) 1件  
lot No.0C-140524

### 試験検査の内容

重金属

### 試験検査の結果

	検出限界	検査方法
重金属 . . . . .	検出しない (Pbとして20ppm)	硫化ナトリウム法

以上

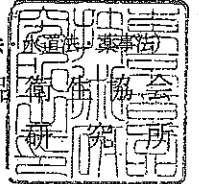
# 試験検査成績書

JA 日蔘連 日本人蔘販売農業協同組合連合会 殿

厚生労働大臣指定検査機関 (食品衛生法、水道法、薬事法)

社団法人東京都食品衛生協会

東京食品技術研究所



平成14年07月12日検査依頼により提出された試験品について行った試験検査の成績は下記のとおりです。

## 記

### 試験品の名称及び数量

紫蘇源 (ホソバヤマジソ抽出液) 1件  
lot No.1C-140709

### 試験検査の内容

銅

### 試験検査の結果

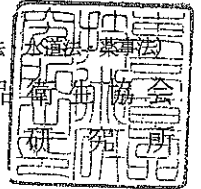
	検出限界	検査方法
銅 . . . . .	検出しない (0.1ppm)	原子吸光光度法

以上

# 試験検査成績書

JA 日蔘連 日本人蔘販売農業協同組合連合会 殿

厚生労働大臣指定検査機関 (食品衛生法  
水道法・薬事法)  
社団法人東京都食品衛生協会  
東京食品技術研究所



平成14年07月12日検査依頼により提出された試験品について行った試験検査の成績は下記のとおりです。

## 記

### 試験品の名称及び数量

紫蘇源 (ホソバヤマジソ抽出液) 1件  
lot No.1C-140709

### 試験検査の内容

重金属

### 試験検査の結果

	検出限界	検査方法
重金属	検出しない (Pbとして20ppm)	硫化ナトリウム法

以上

# 最終報告書

細葉山紫蘇抽出液 (Mosla Chinensis Maxim Extract) 商品名：紫蘇源のコイに対する急性毒性試験

試験番号：8797 ( 397-005 )

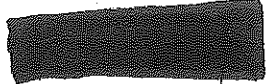
2005年1月19日

試験委託者

白田 禎喜



食品農医薬品安全性評価センター

本試験報告書は  
原本より複写したものである。  
2005年1月19日  
試験責任者 

# 陳 述 書

表 題：細葉山紫蘇抽出液 (Mosla Chinensis Maxim Extract) 商品名：紫蘇源のコイに対する  
急性毒性試験

試験番号：8797 ( 397-005 )

本試験は、「農薬の毒性に関する試験の適正実施について」(平成11年10月1日11農産第6283号農林水産省農産園芸局長通知) に準拠し実施した。

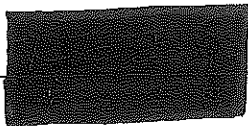
2005年 / 月 / 日

所属： 財団法人

食品農医薬品安全性評価センター

試験責任者

氏名：

\_\_\_\_\_  \_\_\_\_\_

## 信 頼 性 保 証 書

表 題： 細葉山紫蘇抽出液 (Mosla Chinensis Maxim Extract) 商品名：紫蘇源のコイに対する  
急性毒性試験

試験番号： 8797 ( 397-005 )

本試験は、「農薬の毒性に関する試験の適正実施について」(平成11年10月1日11農産第6283号農林水産省農産園芸局長通知)に従って実施され、本最終報告書に記載された成績は、試験の生データを正確に反映していることを保証する。

なお、本試験の信頼性保証部門による調査記録を次頁に示す。

2005年1月19日

所属： 財団法人  
食品農医薬品安全性評価センター  
信頼性保証部門責任者

氏名：

\_\_\_\_\_

## 調 査 記 録

調査項目	調査実施日	試験責任者および 運営管理者への報告日	調査 担当者
試験計画書	2004年11月19日	2004年11月19日	竹内
試験水の調製および暴露操 作開始	2004年11月29日	2004年11月29日	竹内
再調査	2004年12月2日	2004年12月2日	竹内
試験計画書の変更書 (I)	2004年12月6日	2004年12月6日	磯部
試験水の調製および暴露操 作開始 (追加試験)	2004年12月6日	2004年12月6日	磯部
生データおよび最終報告書 草案	2004年12月22日	2004年12月22日	竹内
生データおよび最終報告書	2005年1月19日	2005年1月19日	竹内

## 目 次

1. 要旨 .....	3
2. 表題 .....	4
3. 試験目的 .....	4
4. 準拠したガイドラインおよび遵守した GLP .....	4
5. 試験番号 .....	4
6. 試験施設 .....	4
7. 試験委託者 .....	4
8. 試験責任者 .....	4
9. 試験責任者の署名および日付 .....	5
10. 被験物質管理責任者 .....	5
11. 試験従事者 .....	5
12. 試験日程 .....	5
13. 被験物質 .....	6
14. 試験生物 .....	7
15. 試験方法 .....	7
16. 結果の算出 .....	9
17. 結果および考察 .....	10
18. 結論 .....	11
19. 試験関係資料の保管 .....	11
20. 予見することができなかつた試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態および 試験計画書に従わなかつたこと .....	11
Figure and Tables	
Figure 1 Concentration-Response Curve .....	12
Table 1 Mortality of Carp .....	12
Table 2 LC <sub>50</sub> Values for Carp .....	13
Table 3 Highest Concentration in 0% Mortality and Lowest Concentration in 100% Mortality Values .....	13
Table 4 Toxic Symptoms Observed in Carp .....	14
Table 5 pH of Test Solutions .....	15
Table 6 Dissolved Oxygen Concentration (D.O.) in Test Solutions .....	15
Table 7 Temperature of Test Solutions .....	16

## 1. 要旨

### 1.1. 試験目的

細葉山紫蘇抽出液 (Mosla Chinensis Maxim Extract) 商品名: 紫蘇源のコイに対する急性毒性試験を行い, 96時間の50%致死濃度 (LC<sub>50</sub>) および最大無影響濃度 (NOEC) を求めた. なお, 本試験は「農薬の登録申請に係る試験成績について」魚類急性毒性試験 (2-7-1) (平成12年11月24日12農産第8147号農林水産省農産園芸局長通知および平成13年10月10日13生産第3986号農林水産省生産局生産資材課長通知) に準拠して実施した.

### 1.2. 被験物質

細葉山紫蘇抽出液 (Mosla Chinensis Maxim Extract) 商品名: 紫蘇源

ロット番号 00C-160517

有効成分 Thymol 6.2%

### 1.3. 試験方法

- 1) 試験生物 : コイ (*Cyprinus carpio*)  
【本試験】 Lot No. Y041112  
体長 5.2 cm (4.5~5.8 cm), 体重 3.3 g (2.0~4.5 g), n=10  
【追加試験】 Lot No. Y041119  
体長 5.0 cm (4.4~5.5 cm), 体重 2.9 g (1.9~3.9 g), n=10
- 2) 暴露方式 : 止水式
- 3) 試験濃度 : 【本試験】 10, 16, 25, 40, 63 および 100 mg/L  
【追加試験】 158 mg/L
- 4) 暴露期間 : 96 時間
- 5) 試験水量 : 50 L
- 6) 動物数 : 10 尾/試験区
- 7) 収容密度 : 魚 1 g あたり試験水 1.5 および 1.7 L 【本試験および追加試験】
- 8) 照明 : 室内光, 16 時間明 (午前 4 時~午後 8 時)
- 9) エアレーション : 弱い通気を行った
- 10) 水質 : 水温 21.7~22.8°C, pH 7.5~8.6, 溶存酸素濃度 6.5~8.5 mg/L  
全硬度 45 mg/L (CaCO<sub>3</sub>として)

### 1.4. 結果

細葉山紫蘇抽出液 (Mosla Chinensis Maxim Extract) 商品名: 紫蘇源のコイに対する 50% 致死濃度 (LC<sub>50</sub>) は, 24, 48, 72 および 96 時間でいずれも 100 mg/L (95%信頼限界: 82.1~121 mg/L) であった. また, 96 時間の最大無影響濃度 (NOEC) は 16 mg/L であった.

2. 表題

細葉山紫蘇抽出液 (Mosla Chinensis Maxim Extract) 商品名：紫蘇源のコイに対する急性毒性試験

3. 試験目的

細葉山紫蘇抽出液 (Mosla Chinensis Maxim Extract) 商品名：紫蘇源のコイに対する急性毒性試験を行い、96時間の50%致死濃度 (LC<sub>50</sub>) および最大無影響濃度 (NOEC) を求めた。

4. 準拠したガイドラインおよび遵守した GLP

● ガイドライン：

「農薬の登録申請に係る試験成績について」魚類急性毒性試験 (2-7-1)

(平成12年11月24日12農産第8147号農林水産省農産園芸局長通知および平成13年10月10日13生産第3986号農林水産省生産局生産資材課長通知)

● GLP：

「農薬の毒性に関する試験の適正実施について」

(平成11年10月1日11農産第6283号農林水産省農産園芸局長通知)

5. 試験番号

8797 ( 397-005 )

6. 試験施設

郵便番号 437-1213

静岡県磐田郡福田町塩新田字荒浜 582-2

財団法人食品農医薬品安全性評価センター (略称 安評センター)

電話番号 0538-58-1266 Fax 番号 0538-58-1393

7. 試験委託者

郵便番号 179-0074

東京都練馬区春日町 2-16-4

白田 禎 喜

電話番号 03-3251-4611 Fax 番号 03-3251-4470

8. 試験責任者

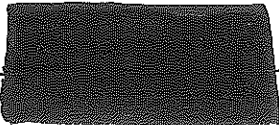
大石 法 男 (水生グループ)

9. 試験責任者の署名および日付

2005年1月19日

所属： 財団法人  
食品農医薬品安全性評価センター  
試験責任者

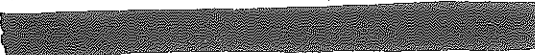
氏名：



10. 被験物質管理責任者

 (第二試験部)

11. 試験従事者

 (水生グループ)

12. 試験日程

試験開始日：2004年11月10日

実験開始日：2004年11月29日

実験完了日：2004年12月6日

試験終了日：2005年1月19日

13. 被験物質

13.1. 被験物質名

細葉山紫蘇抽出液 (Mosla Chinensis Maxim Extract) 商品名：紫蘇源

13.2. ロット番号

00C-160517

13.3. 有効成分濃度

Thymol 6.2%

13.4. 製造年月日

2004年5月12日

13.5. 有効期限

2009年5月11日 (製造後5年)

13.6. 保管条件

室温, 遮光, 密閉

13.7. 保管場所

安評センター試験研究棟被験物質保管庫 (A-3)

13.8. 物質の状態

白色～黄褐色の透明性の液体

13.9. 溶解性

水に容易に混和する

13.10. 安定性

有効期限内指定条件下で安定

13.11. 取り扱い上の注意

特になし

13.12. 残余被験物質の処理

残余被験物質は被験物質管理責任者を介して, 全て試験委託者に返却した.

## 14. 試験生物

試験には、2004年8月11日に矢作川淡水魚種苗センターから購入したコイ (*Cyprinus carpio*) を用いた。2004年8月に基準物質 (PCP-Na, Lot No. ELF1626) を用いて急性毒性試験を行い、供試魚の感受性を確認した。その結果、基準物質による96時間50%致死濃度 (LC<sub>50</sub>) は0.105 mg/Lであり、当施設における背景データの範囲内 (0.080~0.132 mg/L) の値であった。

なお、本試験に使用したコイ (馴化魚 Lot No. Y041112) の体長は5.2 cm (4.5~5.8 cm, n=10)、体重は3.3 g (2.0~4.5 g, n=10)、収容密度は魚1 gあたり試験水1.5 Lであった。また、追加試験の供試魚 (馴化魚 Lot No. Y041119) の体長は5.0 cm (4.4~5.5 cm, n=10)、体重は2.9 g (1.9~3.9 g, n=10)、収容密度は魚1 gあたり試験水1.7 Lであった。

### 14.1. 試験生物種選択理由

水産動植物影響試験に広く利用されており、入手および飼育の容易さを考慮して本種を使用した。

### 14.2. 検疫および馴化

購入魚をエルバージュ10%顆粒 (上野製薬株式会社) の10 mg/L液で約24時間薬浴させ、寄生性病原生物を駆除した。魚を検疫水槽に移し、3日以上観察し検疫を行った。なお、供試魚の検疫期間は、本試験および追加試験でそれぞれ21および3日であった。検疫終了後、健康状態が良好で肉眼的に体長の揃った個体を110匹ずつ選別し、馴化水槽に移して馴化を行った。馴化期間中は1日1回 (日曜日を除く)、錦鯉育成用飼料 (咲ひかり, 株式会社キョーリン) を給餌するとともに、飼育水のpH、溶存酸素濃度および水温を測定し、試験条件と同様の飼育環境であることを確認した。また、試験前24時間は餌止めを行った。

本試験および追加試験に使用したコイ (馴化魚 Lot No. Y041112 および Y041119) の馴化期間はいずれも17日間であり、暴露開始前7日間の死亡率は0%であった。

## 15. 試験方法

### 15.1. 試験条件

下記の条件下で試験を行った。

- 1) 暴露方式 : 止水式
- 2) 暴露期間 : 96時間
- 3) 動物数 : 1試験区あたり10尾
- 4) 試験水量 : 50L
- 5) 収容密度 : 魚1gあたり試験水1L以上

- 6) 水 温 : 22±2°C  
 7) pH : 暴露期間中, pHの調整は行わなかった.  
 8) 照 明 : 室内光で16時間明(午前4時~午後8時)  
 9) 給 餌 : 無給餌

#### 15.2. 希釈水

脱塩素水(福田町水道水を活性炭処理し, 残留塩素等を除去した後, 十分に通気したもの)を使用した. また, 6ヵ月毎に1回, 一般的な水質項目について, 株式会社エコプロ・リサーチにて水質検査を行い, その検査結果(報告書番号: 第043285-1号, 2004年9月21日)を当センターで保管した. 希釈水の全硬度は45 mg/L (CaCO<sub>3</sub>), pHは7.1 (15°C)であった.

#### 15.3. 試験容器および機器

- 試験容器 : ガラス製水槽 (W 600 × D 300 × H 360 mm)  
 水温計 : 佐藤計量器製作所 デジタル温度計 SK-1250MC II  
 pH計 : 新電元 ISFET pH METER KS723  
 溶存酸素計 : メトラポータブル溶存酸素計 MO128

#### 15.4. 試験濃度の設定

本試験の濃度設定のため, 10~100 mg/Lの濃度範囲で3濃度を設定し, 1試験区あたり供試魚5尾を用いて予備試験を行った. その結果は下表の通りであり, 0%死亡最高濃度は30 mg/L, 50%致死濃度(LC<sub>50</sub>)は30~100 mg/L, 100%死亡最低濃度は100 mg/Lであった. また, 一般状態の観察結果より, 最大無影響濃度(NOEC)は10 mg/Lであると判断した.

予備試験結果

設定濃度 (mg/L)	動物数 (尾)	累積死亡数(死亡率)			
		24時間	48時間	72時間	96時間
0	5	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
10	5	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
30	5	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
100	5	5(100)	5(100)	5(100)	5(100)

以上の結果より, 本試験では, 最低濃度を10 mg/L, 最高濃度を100 mg/Lとし, 公比約1.58で6濃度(10, 16, 25, 40, 63および100 mg/L)を設定した. なお, 本試験の結果, 設定最高濃度の100 mg/Lの死亡率が50%であったため, 同じ公比でさらに高濃度(158 mg/L)を設定し, 追加試験を実施した.

#### 15.5. 試験水の調製

ガラス製水槽 (W 600 × D 300 × H 360 mm) を必要数用意し、それぞれに希釈水 50 L を入れ、希釈水の溶存酸素濃度が飽和濃度の 60%以上になるよう十分に通気した。

本試験では、被験物質を 0.50, 0.80, 1.25, 2.00, 3.15 および 5.00 g (それぞれ 10, 16, 25, 40, 63 および 100 mg/L 区) 秤量し、各濃度区の希釈水 (水槽) に直接添加した後、テフロン棒で強く攪拌して試験水を調製した。また、暴露開始時および終了時に試験水の状態 (外観等) を記録した。なお、対照区は希釈水のみとした。

また、追加試験では、同様に被験物質を 7.90 g (158 mg/L 区) 秤量し、直接溶解法により試験水を調製した。

#### 15.6. 試験操作

各試験水の pH, 溶存酸素濃度, 水温を測定した後、試験水槽中に供試魚を 1 濃度区あたり 10 尾投入した。暴露開始後 1, 3, 6, 24, 48, 72 および 96 時間に死亡個体数を記録するとともに、観察された毒性徴候あるいは異常を記録した。なお、生死の判定は、鰓蓋の運動が停止し、尾柄部に刺激を与えても反応が認められない場合を死亡とした。暴露期間中、試験水の pH, 溶存酸素濃度および水温を 1 日 1 回、全試験区について測定した。

また、暴露開始時に、供試魚と同水槽で馴化した魚 10 尾を用いて、標準体長および体重を測定して各標準体長が 5.0 cm 前後であることを確認した。

### 16. 結果の算出

#### 16.1. 50%致死濃度 (LC<sub>50</sub>) の算出

暴露開始後 24, 48, 72 および 96 時間の各試験区の死亡率 (%) を算出し、Probit 法 (統計ソフト: EcoTox-Statics) により、50%致死濃度 (LC<sub>50</sub>) および 95%信頼限界を算出した。

#### 16.2. 0%死亡最高濃度, 100%死亡最低濃度および最大無影響濃度 (NOEC)

死亡率が 0%である最高濃度, 死亡率が 100%である最低濃度および対照区と比較して影響が認められない最高濃度 [最大無影響濃度 (NOEC)] を記録した。

## 17. 結果および考察

### 17.1. 試験水の状態

暴露開始後 96 時間の 40 mg/L 区で軽度な試験水の白濁が認められたが、その他の濃度区の試験水は無色透明であり、被験物質成分の析出、沈殿等も認められなかった。

### 17.2. 50%致死濃度 (LC<sub>50</sub>) [Figure 1, Table 1, 2]

細葉山紫蘇抽出液 (Mosla Chinensis Maxim Extract) 商品名：紫蘇源 (以下「紫蘇源」という) に 96 時間暴露したコイの死亡率は、10, 16, 25, 40, 63, 100 および 158 mg/L 区でそれぞれ、0, 0, 0, 0, 0, 50 および 100%であった。なお、暴露期間中、対照区の死亡率は 0%であった。

紫蘇源のコイに対する 50%致死濃度 (LC<sub>50</sub>) は、24, 48, 72 および 96 時間でいずれも 100 mg/L (95%信頼限界：82.1~121 mg/L) であった。

### 17.3. 0%死亡最高濃度, 100%死亡最低濃度 [Table 3]

紫蘇源に 96 時間暴露したコイの 0%死亡最高濃度は 63 mg/L, 100%死亡最低濃度は 158 mg/L であった。

### 17.4. 毒性症状および最大無影響濃度 (NOEC) [Table 4]

毒性症状としては、25, 40, 63 および 100 mg/L 区で表層遊泳および自発運動減少が、40 mg/L 以上の濃度区で体色黒化が、40 および 63 mg/L 区で眼球突出が、40, 63 および 100 mg/L 区で遊泳姿勢不安定が、100 および 158 mg/L 区で横転状態が観察された。なお、対照区では一般状態に異常は認められなかった。

死亡率および一般状態の観察結果より、96 時間の最大無影響濃度 (NOEC) は 16 mg/L であった。

### 17.5. 試験水の pH, 溶存酸素濃度および水温 [Table 5, 6, 7]

暴露期間中の試験水の pH は 7.5~8.6, 溶存酸素濃度は 6.5~8.5 mg/L, 水温は 21.7~22.8°C であった。なお、暴露期間中の溶存酸素濃度 (6.5~8.5 mg/L) の飽和濃度 (8.8 mg/L, 22°C, 760 mmHg) に対する割合は 74~97%であった。

### 17.6. 試験の妥当性

暴露期間中、対照区の死亡率は 0%であり、試験水の溶存酸素濃度は飽和濃度の 60% 以上であったため、これらの数値は試験成立条件を満足しており、本試験の妥当性が確認された。

18. 結論

紫蘇源のコイに対する50%致死濃度(LC<sub>50</sub>)は、24, 48, 72および96時間でいずれも100 mg/L(95%信頼限界:82.1~121 mg/L)であった。また、96時間の最大無影響濃度(NOEC)は16 mg/Lであった。

19. 試験関係資料の保管

本試験の下記資料は、安評センターにて当該農薬の登録後15年間保管する。その後の保管については試験委託者と安評センターで協議の上別途定める。

- 試験計画書(正本)
- 被験物質に関する資料(使用記録, 調製記録, その他)
- 試験データ
- 最終報告書(正本)

20. 予見することができなかった試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態および試験計画書に従わなかったこと

該当する事項はなかった。

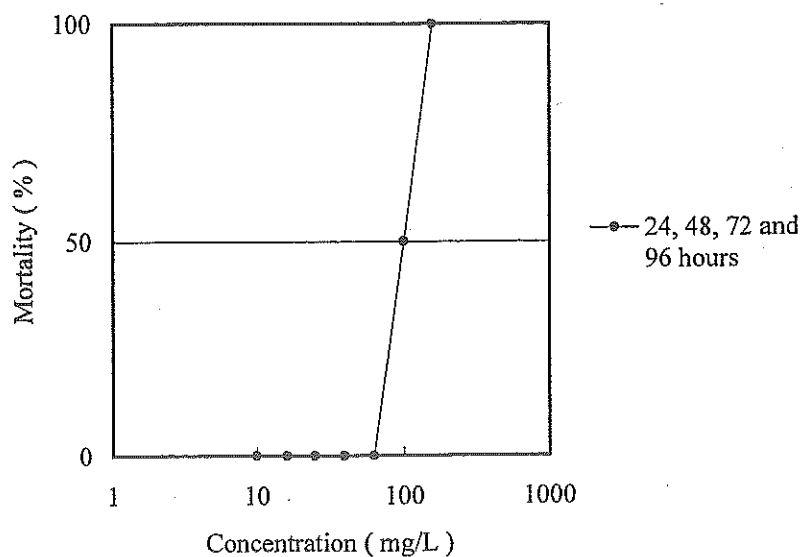


Figure 1. Concentration-Response Curve

Table 1. Mortality of Carp

Nominal Concentration (mg/L)	Number of Carp	Cumulative Number of Dead Carp (Percent of Mortality)							
		1 hour	3 hours	6 hours	24 hours	48 hours	72 hours	96 hours	
0	10	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)
10	10	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)
16	10	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)
25	10	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)
40	10	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)
63	10	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)	0 ( 0)
100	10	0 ( 0)	1 ( 10)	4 ( 40)	5 ( 50)	5 ( 50)	5 ( 50)	5 ( 50)	5 ( 50)
158*	10	7 ( 70)	10 ( 100)	10 ( 100)	10 ( 100)	10 ( 100)	10 ( 100)	10 ( 100)	10 ( 100)

\* Additional test group

Table 2. LC<sub>50</sub> Values for Carp

Exposure Period (hours)	LC <sub>50</sub> (mg/L)	95% Confidence Limits (mg/L)	Statistical Method
24	100	82.1 - 121	Probit
48	100	82.1 - 121	Probit
72	100	82.1 - 121	Probit
96	100	82.1 - 121	Probit

Table 3. Highest Concentration in 0% Mortality and Lowest Concentration in 100% Mortality Values

Exposure Period (hours)	Highest Concentration in 0% Mortality (mg/L)	Lowest Concentration in 100% Mortality (mg/L)
24	63	158
48	63	158
72	63	158
96	63	158

Table 4. Toxic Symptoms Observed in Carp

Nominal Concentration (mg/L)	Symptoms <sup>1)</sup>						
	1 hour	3 hours	6 hours	24 hours	48 hours	72 hours	96 hours
0	a	a	a	a	a	a	a
10	a	a	a	a	a	a	a
16	a	a	a	a	a	a	a
25	a	a, c, e	a, c, e	a, c, e	a	a	a
40	c, d, e	b, c, d, e	b, c, d, e	b, c, d, e	b, c, d, e h	b, c, d, e	a
63	b, c, d, e	b, c, d, e	b, c, d, e	b, c, d, e	b, c, d, e h	b, c, d, e h	b, c, d, e
100	b, c, d, e	b, d, e, f, g	b, f, g	b, c, d, e, f, g	b, c, d, e, f	b, c, d, e, f	b, c, d, e, f
158 <sup>2)</sup>	b, f, g	g	-	-	-	-	-

## 1) Symptoms ( General appearance of toxic signs )

- a : Normal
- b : Pigmentation
- c : Coming up to the surface of the water
- d : Loss of equilibrium
- e : Depression of spontaneous motor activity
- f : Lying on one side
- g : Dead
- h : Exophthalmos
- : No survival fish

## 2) Additional test group

No observed effect concentration (NOEC) = 16 mg/L

Table 5. pH of Test Solutions

Nominal Concentration (mg/L)	pH				
	0 hour	24 hours	48 hours	72 hours	96 hours
0	8.0	7.5	7.9	7.8	7.8
10	8.0	7.5	7.8	7.6	7.8
16	8.0	7.6	7.8	7.8	7.8
25	8.1	7.7	8.0	7.8	7.8
40	8.2	7.8	8.0	7.8	7.8
63	8.2	7.7	8.0	7.8	7.8
100	8.2	7.7	7.9	7.8	7.8
158*	8.6	-	-	-	-

\* Additional test group

- Not examined because all carp have died at this time point.

Table 6. Dissolved Oxygen Concentration (D.O.) in Test Solutions

Nominal Concentration (mg/L)	Dissolved Oxygen Concentration (mg/L)				
	0 hour	24 hours	48 hours	72 hours	96 hours
0	8.4	7.2	7.8	7.5	7.2
10	8.5	6.9	7.2	6.8	7.3
16	8.4	6.9	7.8	7.5	7.4
25	8.4	7.2	8.0	7.4	7.0
40	8.5	7.3	7.8	7.4	7.2
63	8.5	6.5	7.1	7.4	6.8
100	8.5	6.8	7.5	7.5	7.2
158*	8.0	-	-	-	-

\* Additional test group

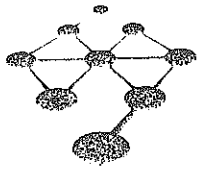
- Not examined because all carp have died at this time point.

Table 7. Temperature of Test Solutions

Nominal Concentration (mg/L)	Temperature (°C)				
	0 hour	24 hours	48 hours	72 hours	96 hours
0	22.8	22.7	22.3	22.5	22.3
10	22.6	22.4	21.9	22.2	22.0
16	22.5	22.2	21.8	22.0	21.8
25	22.6	22.2	22.0	21.8	21.7
40	22.5	22.3	22.4	22.1	22.2
63	22.3	22.2	22.2	22.1	22.2
100	22.3	22.2	22.2	22.1	22.2
158*	22.7	-	-	-	-

\* Additional test group

- Not examined because all carp have died at this time point.



Japan  
Food  
Research  
Laboratories

## 試験報告書

第 101013004-001 号

依頼者 日本人参販売農業協同組合連合会

検体 ホソバヤマジソ抽出エキス 99B-NE430-200

試験項目 ヒメダカによる急性毒性試験

平成 13 年 01 月 31 日 当センターに提出された  
上記検体について試験した結果は次のとおりです。

平成 13 年 02 月 26 日

財団法人

日本食品分析センター

東京本部 〒151-0062 東京都渋谷区元代々木町52番1号  
大阪支所 〒564-0051 大阪府吹田市豊津町3番1号  
名古屋支所 〒460-0011 名古屋市中区大須4丁目5番13号  
九州支所 〒812-0034 福岡府博多区下呉服町1番12号  
多摩研究所 〒206-0025 東京都多摩市永山6丁目11番10号

## ヒメダカによる急性毒性試験

### 要 約

検体について、JIS K 0102:1998「工場排水試験方法」の魚類による急性毒性試験の項に準拠し、ヒメダカによる96時間急性毒性試験を実施した。

試験は、試験区(公比1.5)及び対照区について1区当たり10尾のヒメダカを用い、水温 $24\pm 1$ ℃、止水式で行った。

その結果、検体の96時間 $LC_{50}$ 値(Median lethal concentration: 半数致死濃度)は86 mg/lであった。

### 依 頼 者

日本人蔘販売農業協同組合連合会

### 検 体

ホソバヤマジソ抽出エキス 99B-NE430-200

### 試験実施期間

平成13年2月5日～平成13年2月26日

### 試験実施場所

財団法人 日本食品分析センター 多摩研究所  
東京都多摩市永山6丁目11番10号

### 試験責任者

財団法人 日本食品分析センター 多摩研究所  
環境科学部 環境生物安全課  
[Redacted]

### 試験実施者

[Redacted]

## 1 試験目的

検体の魚類に対する急性毒性を調べる。

## 2 検 体

ホソバヤマジソ抽出エキス 99B-NE430-200

性状：乳淡茶褐色の液体

## 3 試験方法

### 1) 試験魚

① 試験魚名：ヒメダカ (*Oryzias latipes*)

② 体長及び体重：平均体長 1.9 cm, 平均体重 0.12 g (測定数10尾)

③ 入手先：自家生産

④ 順化：

試験魚は試験開始前7日間、試験条件と同じ水質、温度及び照明に順化させた。

なお、順化期間中の試験魚の死亡率は5 %以下であった。

### 2) 試験水の調製

検体を希釈水に添加して公比1.5の濃度間隔の試験水を調製し、試験区とした。

対照区は希釈水のみとした。

### 3) 試験条件

① 試験方式：止水式

② 試験魚数：1試験水当たり10尾

③ 試験水量：4 l

④ 試験水温：24±1 °C

⑤ 照 明：16時間照明/日

⑥ 試験水槽：丸形スチロール製水槽 (内径 23 cm, 高さ 12 cm)

⑦ 希釈水：活性炭処理により残留塩素を除去した水道水

pH : 7.9

硬度 : 76 mg/l (CaCO<sub>3</sub>として)

アルカリ度 : 39 mg/l (CaCO<sub>3</sub>として)

4) 測定

各試験区のアメダカの挙動を観察し、24、48、72及び96時間後の死亡数を記録した。  
また、試験開始時及び終了時の各区の試験水のpHをガラス電極法で、溶存酸素濃度(以下「DO」と略す。)を隔膜電極法で測定した。

5) LC<sub>50</sub>値の算出方法

Binominal及びProbit法

6) 測定機器

① pH計：HM-11P [東亜ディーケーケー株式会社]

② DO計：DO-14P [東亜ディーケーケー株式会社]

4 試験結果

1) LC<sub>50</sub>値

検体の24、48及び96時間LC<sub>50</sub>値を表-1に示した。  
なお、括弧内の数値は算出された95%信頼限界を示した。

表-1 検体の24、48及び96時間LC<sub>50</sub>

(単位：mg/l)

24時間LC <sub>50</sub>	48時間LC <sub>50</sub>	96時間LC <sub>50</sub>
120*1	110*1	86*2 (74~100)

\*1 Binominal法

\*2 Probit法

2) 濃度と死亡率

検体の96時間における100%死亡率最低濃度は150 mg/l, 0%死亡率最高濃度は46 mg/lであった。各濃度の試験区における時間ごとの死亡率と、開始時及び終了時のpH並びにD0を表-2に示した。また、図-1に濃度と死亡率のグラフを示した。

表-2 死亡率とpH及びD0

試験濃度 (mg/l)	死亡率(%)				開始時		終了時	
	24時間	48時間	72時間	96時間	pH	D0(mg/l)	pH	D0(mg/l)
150	100	—	—	—	7.7	8.3	7.5	7.5
100	0	20	40	80	7.7	8.3	7.3	6.8
68	0	0	10	10	7.7	8.3	7.4	7.5
46	0	0	0	0	7.7	8.3	7.5	7.1
対照区	0	0	0	0	7.7	8.3	7.4	7.0

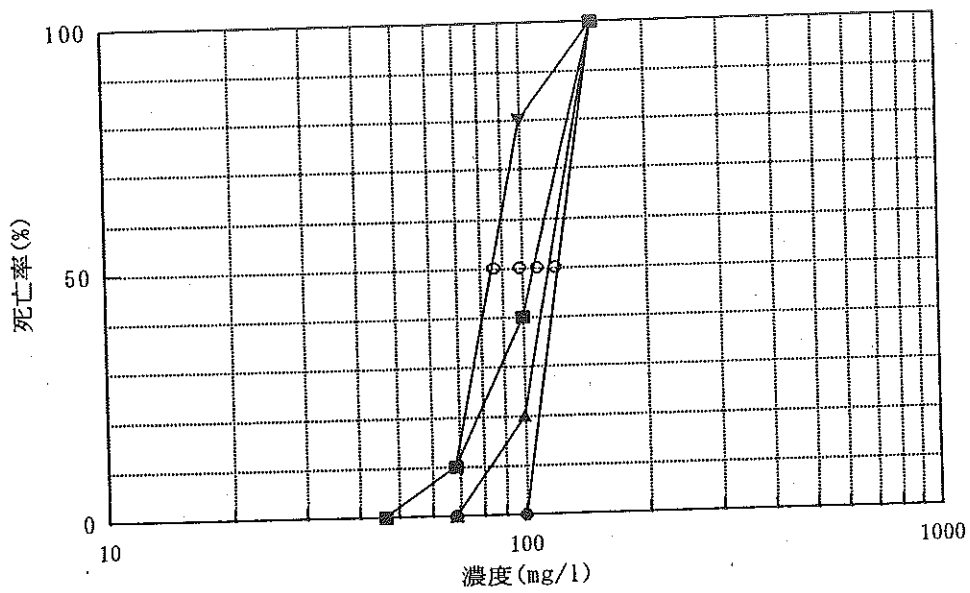


図-1 濃度-死亡率曲線

● 24時間 ★ 48時間 ■ 72時間 ▼ 96時間 ○ LC50値

以上