



Japan
Food
Research
Laboratories

試験報告書

第 299080377-001 号

依頼者 アサヒブリテック株式会社

検体 アクアプロ21Rによる生成水

試験項目 ウサギを用いた眼刺激性試験

平成 11 年 08 月 19 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 11 年 10 月 15 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 〒563-0051 大阪府茨田市豊津町3番1号
名古屋支所 〒460-0044 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

ウサギを用いた眼刺激性試験

依頼者

アサヒプリテック株式会社

検 体

アクアプロ21Rによる生成水

試験実施期間

平成11年9月6日～平成11年10月15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

試験担当責任者

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

要 約

アクアプロ21Rによる生成水を検体として、Federal Register (§ 163, August, 1978)に準拠し、ウサギを用いた眼刺激性試験を行った。

試験動物をⅠ群(非洗浄群6匹)及びⅡ群(洗浄群3匹)に分け、片眼に検体、他眼に対照として原水(水道水)を0.1 mL点眼した。その後Ⅰ群は非洗眼とし、Ⅱ群は30秒後に1分間眼洗浄を行った。その結果、Ⅰ群(非洗浄群)では点眼後1時間に2例の試験眼及び対照眼で眼瞼結膜の発赤が見られたが、24時間に消失した。Ⅱ群(洗浄群)では点眼後24時間に2例の試験眼及び対照眼、48時間に1例の試験眼、72時間に1例の対照眼で眼瞼結膜の発赤が見られたが、4日以降には刺激反応は見られなかった。

観察結果から得られた試験眼及び対照眼の平均合計評点の最高値(点眼後24時間以降)は、Ⅰ群では試験眼及び対照眼ともに0、また、Ⅱ群では試験眼及び対照眼ともに1.3(点眼後24時間)となった。

以上の結果から、検体はウサギを用いた眼刺激性試験において、「無刺激物」の範疇に入るものと認められた。

1 試験目的

検体について、Federal Register (§ 163, August, 1978)に準拠し、ウサギにおける眼刺激性を調べる。

2 検 体

アクアプロ21Rによる生成水

備考：検体は、依頼者により設置されたアクアプロ21Rを用いて試験実施場所において調製した(設置日：平成11年8月20日)。

3 試験液の調製及び有効塩素濃度の測定

検体及び原水は点眼前に採取し、検体についてはよう素滴定法により、有効塩素濃度を測定した。

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、9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 $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 、照明時間12時間/日に設定した飼育室において飼育した。飼料はウサギ用固型飼料[CR-3, 日本クレア株式会社]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

各試験動物の両眼を、試験開始前24時間以内にフルオレセインナトリウムを用いて検査し、異常のないことを確かめた。

体重測定後、試験動物をⅠ群(6匹)とⅡ群(3匹)に分け、各試験動物の片眼結膜嚢内に検体、他眼に原水(水道水)0.1 mLを点眼した。この後、Ⅰ群は非洗浄群とし、Ⅱ群は30秒後に精製水を用いて1分間眼洗浄を行い、洗浄群とした。他眼はⅠ群では無処置、Ⅱ群では試験眼と同様に洗眼処置を行い、それぞれ対照とした。観察は点眼後1, 24, 48, 72時間及び4, 7日に、スリットランプ(×10)[興和株式会社]を用いて角膜、虹彩及び結膜について行い、表-1に示した基準に従って眼刺激性の程度を採点した。刺激反応が点眼後7日で認められた場合は、21日を限度として反応が消失するまで観察を続けた。

なお、Ⅱ群では点眼後1時間においては眼洗浄の影響が残るため、結膜の発赤は採点しなかった。

得られた採点値を用いて各試験動物の合計評点を表-2に示した式から計算し、各観察時間ごとにⅠ, Ⅱ群それぞれについて平均合計評点を求めた。観察期間中の平均合計評点の最高値から、表-3に示した基準に基づき、検体の眼刺激性について評価を行った(ただし、点眼後1時間の採点結果は評価に含めない*)。)

* Federal Register (§ 163, August, 1978)では第1回目の観察時間を点眼後24時間と指定しているため、点眼後1時間の採点結果は評価対象から除外した。

6 試験結果

1) 有効塩素濃度

測定値は46 mg/Lであった。

2) 眼刺激反応(表-4~8)

Ⅰ群： 点眼後1時間に2例の試験眼(試験動物①及び④)及び対照眼(④及び⑤)で眼瞼結膜の発赤(点数1)が見られたが、24時間に消失した。残る3例では、観察期間を通して刺激反応は見られなかった。

観察結果から得られた平均合計評点の最高値(点眼後24時間以降)は、試験眼及び対照眼ともに0となった。

Ⅱ群： 点眼後24時間に2例(⑦及び⑨)の試験眼及び対照眼に眼瞼結膜の発赤(点数1)が見られたが、72時間までに消失した。また、72時間に他の1例(⑧)の対照眼で、一過性に眼瞼結膜の発赤(点数1)が見られた。

観察結果から得られた平均合計評点の最高値(点眼後24時間以降)は、試験眼及び対照眼ともに1.3(点眼後24時間)となった。

7 評 価

検体について、Federal Register (§ 163, August, 1978)に準拠し、ウサギを用いた眼刺激性試験を行った。片眼に検体、他眼に対照として原水(水道水)を点眼した。その結果、Ⅰ群(非洗浄群)では点眼後1時間に2例の試験眼及び対照眼で眼瞼結膜の発赤が見られたが、24時間に消失した。Ⅱ群(洗浄群)では点眼後24時間に2例の試験眼及び対照眼、48時間に1例の試験眼、72時間に1例の対照眼で眼瞼結膜の発赤が見られたが、4日以降には刺激反応は見られなかった。

観察結果から得られた試験眼及び対照眼の平均合計評点の最高値(点眼後24時間以降)は、Ⅰ群では試験眼及び対照眼ともに0、また、Ⅱ群では試験眼及び対照眼ともに1.3(点眼後24時間)となった。

以上の結果から、検体はウサギを用いた眼刺激性試験において「無刺激物」の範疇に入るものと認められた。

表-1 眼障害の評価

(1) 角膜

(A) 混濁の程度(最も濃い領域を判定する)

透明, 混濁なし	0
散在性及びび慢性混濁, 虹彩細部は明瞭に認める	1
半透明で容易に識別可, 虹彩細部はやや不明瞭	2
乳濁, 虹彩紋理認めず, 瞳孔の大きさをやっと認める	3
白濁, 虹彩は認めない	4

(B) 角膜混濁部の面積(S)

$0 < S \leq 1/4$	1
$1/4 < S \leq 1/2$	2
$1/2 < S \leq 3/4$	3
$3/4 < S \leq 4/4$	4

[評点 = $A \times B \times 5$

最高評点 80]

(2) 虹彩

(A) 正 常

正常以上のひだ, うっ血, 腫脹, 角膜周囲充血の1つ 又はいくつかを認めるが, 多少とも対光反射はある	1
対光反射なし, 出血, 著しい組織破壊の1つ又は いくつかを認める	2

[評点 = $A \times 5$

最高評点 10]

(3) 結 膜

(A) 眼瞼結膜及び眼球結膜の発赤

血管は正常	0
明らかに血管充血	1
び慢性, 深紅色で個々の血管は識別しにくい	2
び慢性の牛肉様の赤色	3

(B) 結膜の浮腫

腫脹なし	0
いくぶん腫脹(瞬膜を含む)	1
明らかな腫脹, 眼瞼が少し外反	2
腫脹, 眼瞼半分閉じる	3
腫脹, 眼瞼半分以上閉じる	4

(C) 分泌物

認めない	0
少し認める	1
分泌物で眼瞼とそのすぐ近くの毛を濡らす	2
分泌物で眼瞼と周囲の毛のかなりの部分を濡らす	3

[評点 = $(A + B + C) \times 2$

最高評点 20]

表-2 合計評点の算出方法

部 位	計算式	最高評点
(1) 角 膜	$A \times B \times 5$	80
(2) 虹 彩	$A \times 5$	10
(3) 結 膜	$(A + B + C) \times 2$	20
(1) + (2) + (3) = 合計評点*		110

A, B, Cは、表-1における(A), (B), (C)の採点値を示す。

* 各観察時間ごとに算出する。

表-3 眼刺激性の評価

平均合計評点の最高値	区 分
0 ～ 5.0	無刺激物
5.1 ～ 15.0	軽度刺激物
15.1 ～ 30.0	刺激物
30.1 ～ 60.0	中等度刺激物
60.1 ～ 80.0	中～強度刺激物
80.1 ～ 110.0	強度刺激物

表-4 試験動物の体重(試験開始時)

	試験動物	体重(kg)
I	①	3.46
	②	3.19
	③	2.81
	④	2.95
	⑤	3.40
	⑥	3.36
II	⑦	3.30
	⑧	3.30
	⑨	3.58

表-5 合計評点の経時的推移及び眼刺激性の評価(I群)

試験動物	各観察時間における合計評点					
	1時間	24時間	48時間	72時間	4日	7日
①	2 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
②	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
③	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
④	2 (2)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
⑤	0 (2)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
⑥	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
平均合計評点	0.7 (0.7)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
眼刺激性の評価	無刺激物					

括弧内に対照眼の結果を示した。

点眼後1時間の採点結果は評価に含めなかった。

表-6 合計評点の経時的推移及び眼刺激性の評価(II群)

試験動物	各観察時間における合計評点					
	1時間	24時間	48時間	72時間	4日	7日
⑦	—	2 (2)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
⑧	—	0 (0)	0 (0)	0 (2)	0 (0)	0 (0)
⑨	—	2 (2)	2 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
平均合計評点	—	1.3 (1.3)	0.7 (0)	0 (0.7)	0 (0)	0 (0)
眼刺激性の評価	無刺激物					

括弧内に対照眼の結果を示した。

—：点眼後1時間では眼洗浄の影響が残るため、結膜の発赤は採点せず。したがって合計評点も算出しなかった。

表-7-1 試験動物①の採点結果

観察部位		採点結果					
		1時間	24時間	48時間	72時間	4日	7日
(1)角膜	混濁の程度 (A)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	混濁部面積 (B)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)
(2)虹彩 (A)		0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
(3)結膜	発 赤 (A)	1 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	浮 腫 (B)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	分 泌 物 (C)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
評点(1) = A×B×5		0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
評点(2) = A×5		0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
評点(3) = (A+B+C)×2		2 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
合計評点 [(1)+(2)+(3)]		2 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)

括弧内に対照眼の結果を示した。

- : 判定せず

表-7-2 試験動物②の採点結果

観察部位		採点結果					
		1時間	24時間	48時間	72時間	4日	7日
(1)角膜	混濁の程度 (A)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	混濁部面積 (B)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)
(2)虹彩 (A)		0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
(3)結膜	発 赤 (A)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	浮 腫 (B)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	分 泌 物 (C)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
評点(1) = A×B×5		0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
評点(2) = A×5		0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
評点(3) = (A+B+C)×2		0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
合計評点 [(1)+(2)+(3)]		0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)

括弧内に対照眼の結果を示した。

- : 判定せず

表-7-3 試験動物③の採点結果

観察部位		採点結果					
		1時間	24時間	48時間	72時間	4日	7日
(1)角膜	混濁の程度 (A)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	混濁部面積 (B)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)
(2)虹彩 (A)		0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
(3)結膜	発 赤 (A)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	浮 腫 (B)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	分 泌 物 (C)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
評点(1) = A×B×5		0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
評点(2) = A×5		0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
評点(3) = (A+B+C)×2		0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
合計評点 [(1)+(2)+(3)]		0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)

括弧内に対照眼の結果を示した。

- : 判定せず

表-7-4 試験動物④の採点結果

観察部位		採点結果					
		1時間	24時間	48時間	72時間	4日	7日
(1)角膜	混濁の程度 (A)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	混濁部面積 (B)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)
(2)虹彩 (A)		0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
(3)結膜	発 赤 (A)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	浮 腫 (B)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	分 泌 物 (C)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
評点(1) = A×B×5		0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
評点(2) = A×5		0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
評点(3) = (A+B+C)×2		2 (2)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
合計評点 [(1)+(2)+(3)]		2 (2)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)

括弧内に対照眼の結果を示した。

- : 判定せず

表-7-5 試験動物⑤の採点結果

観察部位		採点結果					
		1時間	24時間	48時間	72時間	4日	7日
(1)角膜	混濁の程度 (A)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	混濁部面積 (B)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)
(2)虹彩 (A)		0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
(3)結膜	発 赤 (A)	0 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	浮 腫 (B)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	分 泌 物 (C)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
評点(1)=A×B×5		0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
評点(2)=A×5		0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
評点(3)=(A+B+C)×2		0 (2)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
合計評点[(1)+(2)+(3)]		0 (2)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)

括弧内に対照眼の結果を示した。

- : 判定せず

表-7-6 試験動物⑥の採点結果

観察部位		採点結果					
		1時間	24時間	48時間	72時間	4日	7日
(1)角膜	混濁の程度 (A)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	混濁部面積 (B)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)
(2)虹彩 (A)		0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
(3)結膜	発 赤 (A)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	浮 腫 (B)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	分 泌 物 (C)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
評点(1)=A×B×5		0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
評点(2)=A×5		0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
評点(3)=(A+B+C)×2		0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
合計評点[(1)+(2)+(3)]		0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)

括弧内に対照眼の結果を示した。

- : 判定せず

表-8-1 試験動物⑦の採点結果

観察部位		採点結果					
		1時間	24時間	48時間	72時間	4日	7日
(1)角膜	混濁の程度 (A)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	混濁部面積 (B)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)
(2)虹彩	(A)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
(3)結膜	発 赤 (A)	—	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	浮 腫 (B)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	分 泌 物 (C)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
評点(1) = A×B×5		0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
評点(2) = A×5		0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
評点(3) = (A+B+C)×2		—	2 (2)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
合計評点 [(1)+(2)+(3)]		—	2 (2)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)

括弧内に対照眼の結果を示した。

—：判定せず

—：点眼後1時間では眼洗浄の影響が残るため、結膜の発赤は採点せず。したがって合計評点も算出しなかった。

表-8-2 試験動物⑧の採点結果

観察部位		採点結果					
		1時間	24時間	48時間	72時間	4日	7日
(1)角膜	混濁の程度 (A)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	混濁部面積 (B)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)
(2)虹彩	(A)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
(3)結膜	発 赤 (A)	—	0 (0)	0 (0)	0 (1)	0 (0)	0 (0)
	浮 腫 (B)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	分 泌 物 (C)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
評点(1) = A×B×5		0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
評点(2) = A×5		0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
評点(3) = (A+B+C)×2		—	0 (0)	0 (0)	0 (2)	0 (0)	0 (0)
合計評点 [(1)+(2)+(3)]		—	0 (0)	0 (0)	0 (2)	0 (0)	0 (0)

括弧内に対照眼の結果を示した。

—：判定せず

—：点眼後1時間では眼洗浄の影響が残るため、結膜の発赤は採点せず。したがって合計評点も算出しなかった。

表-8-3 試験動物⑨の採点結果

観察部位		採点結果					
		1時間	24時間	48時間	72時間	4日	7日
(1)角膜	混濁の程度 (A)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	混濁部面積 (B)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)
(2)虹彩 (A)		0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
(3)結膜	発 赤 (A)	-	1 (1)	1 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	浮 腫 (B)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	分 泌 物 (C)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
評点(1) = A × B × 5		0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
評点(2) = A × 5		0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
評点(3) = (A + B + C) × 2		-	2 (2)	2 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
合計評点 [(1) + (2) + (3)]		-	2 (2)	2 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)

括弧内に対照眼の結果を示した。

- : 判定せず

- : 点眼後1時間では眼洗浄の影響が残るため、結膜の発赤は採点せず。したがって合計評点も算出しなかった。

以 上