

毒性試験に関する補足説明書

1. はじめに

本文に記載した内容で、石油由来のPET樹脂とアイエス法ケミカルリサイクルPET樹脂の間で安全性に差異はなかったと判断できると考えている。

しかしながら、安全性に対しての更なる担保として、再生PET樹脂に関して次の毒性試験を実施したのでその内容を報告する。

2. 毒性試験の考え方

安全性の評価は、ポリオレフィン等衛生協議会(PO協)の「ポジティブリスト作成基準」(2002年2月版)「添付資料-2」、及び「化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律(化審法)」に基づく「新規化学物質に係る試験の方法について」の一部改正「スクリーニング毒性試験法の制定、化審法スクリーニング試験(平成13年11月)」を参考に実施した。

一般毒性に関しては、PET樹脂中から食品擬似溶媒(水、4%酢酸、20%エタノール、n-ヘプタン)を介して溶出するBHETが、 $0.01\text{mg}/\text{dm}^2$ 以下であったことから、ポジティブリスト作成基準に従い、OECDガイドラインでの急性毒性試験を実施した。なお、亜急性(90日間)毒性試験は、PET樹脂からのBHET溶出量から判断し実施しなかった。

なお、上記溶出試験は日本食品分析センターで実施しており「添付資料-3」を参照願う。

変異原性試験は、「新規化学物質に係る試験及び指定化学物質に係る有害性の調査の項目等を定める省令」では、比較的簡便な短期間の試験により被験物質の遺伝毒性を検出し、それに基づくがん原性及び次世代への遺伝的影響について予測することを目的とし、遺伝子突然変異誘発性を指標とする試験として「1. 細菌を用いる復帰突然変異試験」、及び染色体異常誘発性を指標とする試験として「2. ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験」を行い、両者いずれかで陽性の結果が得られた場合には、「3. げっ歯類を用いる小核試験」を行うとしており、弊社は上記省令を参考に実施した。

なお、試験はGLP施設を有する(財)化学物質評価研究機構に依頼し、GLP対応で実施した。

3. 被験物質の調整

急性毒性試験については、試験に供する抽出物の被験物質の確保が物理的に困難であり、米国ではFDAが粉体による試験を行ってきたことから、リサイクルPET樹脂から成形したボトルを約 $200\mu\text{m}$ に微粉碎し試料とし被験動物に投与した。用量については、最高用量としてOECDガイドラインの $2,000\text{mg}/\text{Kg}$ を採用した。

一方、変異原性試験に供する被験物質は、PET樹脂中から食品擬似溶媒を介して溶出するモノマー、オリゴマーが極めて微量であることから、PET樹脂をクロロホルムで強制抽出して、「細菌を用いる復帰突然変異試験」、「ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験」を実施した。用量については化審法の最高用量として、「細菌を用いる復帰突然変異試験」では $5\mu\text{g}/\text{プレート}$ 、「ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験」では $5\text{mg}/\text{ml}$ を採用した。

4. 試験結果

4.1 アイエス法ケミカルリサイクルPET樹脂の

ラットにおける急性経口投与毒性試験

(1) 被験物質

ケミカルリサイクルPET樹脂の微粉碎物(平均粒子207 μm)

(2) 試験方法

OECDガイドライン420に従い9周齢の雌Crj:CD(SD)IGSラットに胃ゾンデ単回強制経口投与。

(3) 評価結果

ケミカルリサイクルPET樹脂のラットに対する急性経口投与毒性は、GHS分類のカテゴリ-5に分類されLD₅₀値は2,000mg/Kg以上と推定された。(OECDガイドラインでは2,000mg/Kgが上限) 「添付資料-4参照」

陳述書

陳述書

発行人 株式会社アイエス

試験項目 急性経口投与毒性試験

試験方法 OECDガイドライン420に従い9周齢の雌Crj:CD(SD)IGSラットに胃ゾンデ単回強制経口投与

試験結果 LD₅₀値は2,000mg/Kg以上と推定された。

試験者 株式会社アイエス 試験責任者 藤野 文

参考資料-8a参照

要約

要約

OECD Guidelines for Testing of Chemicals (第420号)に従って、アイエス法ケミカルリサイクルPET樹脂の微粉碎物(平均粒子207 μm)のラットに対する急性経口投与毒性試験を実施した。試験結果は、LD₅₀値は2,000 mg/Kg以上と推定された。

試験項目 急性経口投与毒性試験

試験方法 OECDガイドライン420に従い9周齢の雌Crj:CD(SD)IGSラットに胃ゾンデ単回強制経口投与

試験結果 LD₅₀値は2,000mg/Kg以上と推定された。

試験者 株式会社アイエス 試験責任者 藤野 文

参考資料-8b参照

4.2 アイエス法ケミカルリサイクルPET樹脂のクロロホルム

溶出物のほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験

(1) 被験物質

リサイクルPET樹脂をボトル成形した後のクロロホルム強制抽出物を被験物質とした。

(環状2量体以上で99.6%、その内で環状3量体が72.5%、残りがBHET、TPAの組成物)

(2) 試験方法

- ・ 使用細胞は、チャイニーズハムスター肺線芽細胞(CHL/IU細胞)
- ・ S9 mixはPhenobarbital及び5,6-benzoflavoneを投与したラットの肝臓より調整。
- ・ 用量は、S9mix非存在下、及び存在下ともに5,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ を最高用量として公比2で3水準。

(3) 判定基準

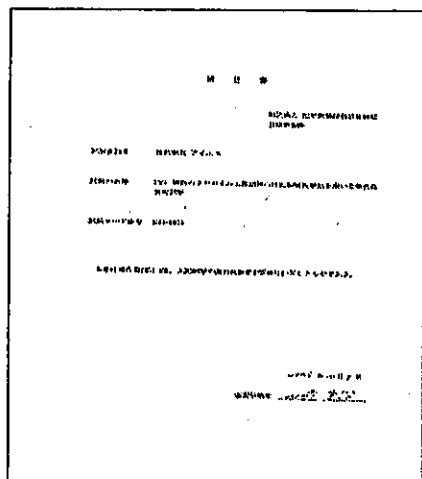
構造異常又は数的異常を持つ細胞の出現頻度が10%以上増加し、その出現様式に用量依存性が見られた場合、あるいは5%以上増加する結果が染色体異常試験と確認試験とで再現性が見られた場合を陽性、それ以外を陰性とする。

(4) 評価結果

S9mix非存在下、及び存在下ともに1,250、2,500、5,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の短時間処理、24時間連続処理においても染色体の構造異常を持つ細胞あるいは数的異常は増加しなかった。

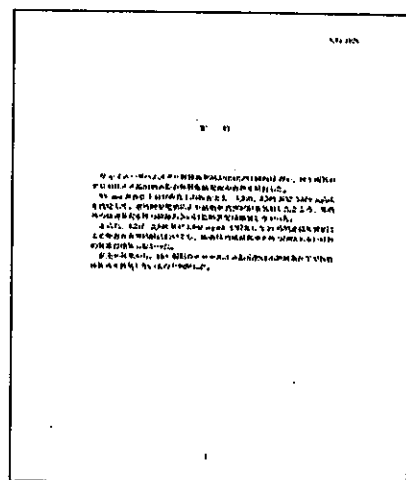
以上の結果からリサイクルPET樹脂のクロロホルム溶出物は染色体異常を誘発しない。「添付資料-5参照」

陳述書



参考資料-9a参照

要約



参考資料-9b参照

4.3 アイエス法ケミカルリサイクルPET樹脂のクロロホルム

溶出物の細菌を用いる復帰突然変異試験

(1) 被験物質

リサイクルPET樹脂をボトル成形した後のクロロホルム強制抽出物を被験物質とした。

(環状2量体以上で99.6%、その内で環状3量体が72.5%、残りがBHET、TPAの組成物)

(2) 試験方法

・菌株はネズミチフス菌 TA98、TA100、TA1535、TA1537、大腸菌 WP2uvrA

・用量は、5mg/Plateを最高容量とする。

(3) 判定基準

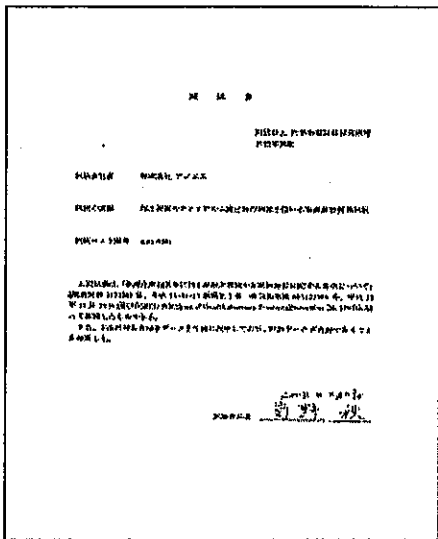
復帰変異コロニー数が用量に依存して陰性対照の2倍以上に増加し、しかも再現性が認められる場合を陽性とし、それ以外の場合を陰性とする。

(4) 評価結果

全ての試験菌株において復帰変異コロニー数が陰性対照値の2倍未満であったことから、変異原性は陰性と判定され、突然変異誘発能はないものと判断された。

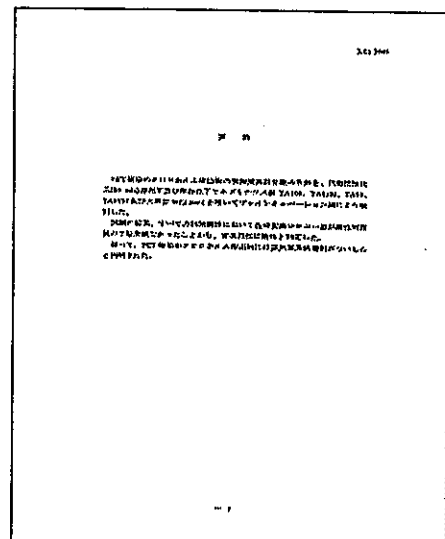
(添付資料-6参照)

陳述書



参考資料-10a

要約



参考資料-10b