

附属書 9

水生環境有害性に関する手引き

附属書9 水生環境有害性に関する手引き

目次

	頁
A9.1 序	441
A9.2 調和された分類スキーム	445
A9.2.1 適用範囲	445
A9.2.2 分類区分および分類基準	445
A9.2.3 根拠	445
A9.2.4 適用	446
A9.2.5 データの利用可能性	447
A9.2.6 データの品質	447
A9.3 水生毒性	449
A9.3.1 序	449
A9.3.2 試験の説明	449
A9.3.3 水生毒性の概念	451
A9.3.4 証拠の重み	453
A9.3.5 試験困難な物質	453
A9.3.6 データの質の解釈	459
A9.4 分解性	460
A9.4.1 序	460
A9.4.2 分解性データの解釈	460
A9.4.3 解釈についての一般的な問題	465
A9.4.4 判定スキーム	467
A9.5 生物蓄積性	469
A9.5.1 序	469
A9.5.2 生物濃縮性データの解釈	469
A9.5.3 BCF および K_{ow} 値に関して特別な注意が必要な化学品クラス	473
A9.5.4 矛盾するデータおよびデータの欠如	475
A9.5.5 判定スキーム	475
A9.6 QSAR の使用	477
A9.6.1 経緯	477
A9.6.2 有害性の過小評価を起こす実験技術上の誤差	477
A9.6.3 QSAR モデル化の課題	478
A9.6.4 水生環境有害性分類への QSAR の使用	479
A9.7 金属および金属化合物の分類	483
A9.7.1 序	483
A9.7.2 分類への水生毒性データおよび溶解度データの適用	484
A9.7.3 環境における変換に関する評価	486
A9.7.4 生物蓄積性	486
A9.7.5 金属および金属化合物に関する分類基準の適用	487
付属資料 I 有機物質の分解性の測定	493
付属資料 II 水生環境中の分解性に影響する因子	499
付属資料 III 有機物質の BCF および K_{ow} 測定のための実験法および推定法の基本原理	503
付属資料 IV 有機物質の生物濃縮性に対する体外および体内要因の影響	509
付属資料 V テストガイドライン (試験指針)	511
付属資料 VI 参考文献	517

附属書9 水生環境への有害性に関する手引き¹

A9.1 序

A9.1.1 水生環境に有害な物質を特定するための判定基準のセットを開発するにあたり、環境に対する有害性を正しく定義するのに必要となる詳細な事項は、何らかの適切な手引きを必要とするであろう複合システムとなることが合意された。したがって、本文書の目的は以下の二つである；

- (a) このシステムがどのように機能するかについての説明と手引きを提供すること
- (b) 分類基準を適用する際に用いられるデータの解釈に対する手引きを提供すること

A9.1.2 有害性分類スキームは、本来有する特性を介した水生環境への危険性を有するような化学物質を特定することを目的として開発された。ここでは水生環境とは、淡水および海洋中の生態系、ならびにそこに生息する生物体と解釈される。ほとんどの物質について、入手できるデータの大部分はこの環境コンパートメントを扱っている。この定義は、適用範囲に水中底質、あるいは水中食物連鎖の頂点にある高位の生物がまだ含まれていないため、選択された判定基準である程度はカバーされているとはいえ、限界がある。

A9.1.3 適用範囲の点で限界はあるものの、このコンパートメントは多くの有害物質を最終的に受け入れる環境である点で無防備なものであり、そこに住む生物は高感受性であると広く理解されている。さらに、環境有害性の特定を追求するどのようなシステムでも、種または個体群中のそれぞれの個体に対するよりは、むしろ生態系に対するより広範な影響という意味での影響を特定することを追求せねばならないことから、このコンパートメントは複雑でもある。以下の各節に詳しく説明されるように、化学物質の有害性について最も適切に説明できる特定の性質の限定されたデータセットが選択されている。すなわち、水生毒性、分解性の欠如、および潜在的な、または実際の生物蓄積性である。これらのデータを水生有害性の判定の手段として選択する根拠については、A9.2節でより詳細に述べられる。

A9.1.4 この段階では、判定基準の適用もまた化学物質に限定される。物質という用語は広範囲な化学品に対して用いられ、その化学品の多くは、柔軟性のない判定基準にもとづいた分類システムに対して困難な課題をもたらすものである。このため、以降の各節は、こうした課題に対して、使用経験と明確な科学的根拠にもとづいてどのように対処できるかについての、いくつかの手引きを与えるものである。調和された判定基準は決まった構造をもつ物質を分類するのに最も容易に適用できる（1.2節の定義を参照のこと）が、この区分の対象となる物質が「複合混合物」とされる場合もしばしばある。ほとんどの例では、こうした物質は炭素鎖の長さ／置換基の数または置換度が一定の範囲内にある一連の同族物質として特性化できる。水生生物に対する本質的有害性、生物蓄積性および分解性を評価するためのデータが得られるように、試験のための特別な方法論が開発されている。こうした特性については別々の章で、より具体的な指針が示されている。本指針の目的にそって、こうした物質は「複合物」または「多成分物質」と呼ばれる。

¹ OECD Environment, Health and safety Publications, Series on Testing and Assessment, No 27, Environment directorate, Organization for economic Co-operation and Development, April 2001.

A9.1.5 これらの各性質（すなわち、水生毒性、分解性、生物蓄積性）は専門家にとっても、解釈上複雑な問題を提起することがある。国際的に合意されたテストガイドラインが存在し、いかなる新規データにも採用されることになっているが、分類に使用できるデータの多くはこうした標準試験に従って作成されていないことがある。たとえ標準試験法が採用されていても、たとえば複合物、加水分解性不安定物質、ポリマー等のように、結果を分類スキームの範囲内で使用しなければならない場合に、解釈上複雑な問題を提起する物質もある。したがって、標準の、ならびに標準でない試験生物種、海水および淡水、様々な試験期間と多様なエンドポイントを採用したデータが入手できる。分解データには生物学的なものもあれば非生物学的なものもあり、環境との関連性も違うことがある。多くの有機化合物では、生物蓄積性はオクタノール/水分配係数で示すことができる。しかし、この生物蓄積性はその他多くの要因に影響されるので、こうした要因についても考慮することが必要となる。

A9.1.6 世界調和システムの明確な目標は、判定基準の共通セットに合意した上で、いったん分類されたら、その分類が世界的に受け入れられるように共通のデータセットも使用されるべきであるということである。これを実現させるためには、まず判定基準を適用するのに使用できるデータのタイプおよび質についての共通の理解、それゆえデータを判定基準に対して評価する場合の共通の解釈がなければならない。この理由により、判定基準の論理的基礎についての共通の理解およびデータ解釈への共通のアプローチが達成できるようなやり方で、判定基準を展開し説明することを追求する、透明性のある手引きの作成が必要であると感じられるようになった。「化学品の全領域」に調和システムを適用する場合、製造業者や供給業者自身による分類、すなわち必ずしも常に行政の監視を受けるとは限らないが、国境を越えて受け入れられなければならない分類に依存することが大きいので、こうした手引きは特に重要である。したがって本手引きは、読者に多くの重要な領域について情報を提供し、その結果として一貫性のあるやり方で分類に導き、真に調和された自律的なシステムを確立することを求めている。

A9.1.7 第一に、本手引きは判定基準に関する詳細な説明、選択された判定基準の論理的根拠、およびこのスキームが実際どのように機能するかについての概観を示す（A9.2 節）。この節では、データの一般的な入手源、信頼性の判定基準を適用する必要性、データセットが不完全な場合、またはデータセットが大きくて分類が多義的になる場合の分類の方法、およびその他一般的に遭遇する分類上の問題について述べる。

A9.1.8 第二に、本手引きは、非標準的なデータの使用を含めて、利用できるデータベースから得られるデータの解釈、および個々の性質に適用される特別な信頼性の判定基準について、詳細な専門的助言を示す。「試験困難物質」、すなわち標準的な試験法が適用されないか、または解釈上の困難を生じる物質におけるデータ解釈の問題について説明がなされ、適切な解決法についての助言が示される。本システムは、可能な限り、入手できる最も良い既存データおよび規制目的のために必要なデータに依存するので、試験よりむしろデータ解釈の方に重点がおかれる。核となる三つの特性、すなわち水生毒性（A9.3 節）、分解性（A9.4 節）、および生物蓄積性（A9.5 節）は個別に取り扱う。

A9.1.9 解釈上の問題の範囲は広大となる可能性があり、その結果、つねに解釈は分類を担当する者の能力と専門知識に依存することになる。しかし、共通に起こる困難な問題をいくつか特定して、信頼できる一貫性のある結果を達成する手助けとなる、受け入れられる専門的判断を選び出す手引きを示すことは可能である。こうした困難な問題は以下に述べる、部分的に重複したいくつかの課題に分類できる。

- (a) 現行の試験手順をいくつかのタイプの物質に適用する際の困難
- (b) こうした「試験困難な」物質とその他の物質から得られたデータを解釈する際の困難
- (c) 広範囲な情報源から得られた多様なデータセットの解釈における困難

A9.1.10 有機物の多くについては、適切な OECD ガイドラインと分類基準を適用すれば、試験とデータ解釈に問題は何も起こらない。しかし、試験される物質のタイプによって性格づけられる、いくつかの典型的な解釈上の問題が存在する。これらは一般に「試験困難物質」と呼ばれている。

- (a) 難溶性の物質：これらの物質は、溶液の調製、濃度の維持および水生毒性試験中の濃度の維持と確認に問題を生じるため試験が困難である。その上、こうした物質について入手されるデータの多くは、水に対する溶解度を超える濃度の「溶液」を用いて作成されてきており、その結果、分類のための真の $L(E)C_{50}$ を決定する際に解釈上の大きな問題となる。水およびオクタノール中の溶解度が低く、分析方法の感度が十分でないことが加わる場合には、分配挙動の解釈もまた問題である。水に対する溶解度は測定が難しく、また単に検出限界より小さいと記録されていることも多く、水生毒性と生物蓄積性のいずれの試験でも解釈上の問題を起こす。生分解性の試験では、溶解度が低いと生物学的利用性が低くなり、予測される生分解速度より低くなることもある。したがって特別な試験方法または採用する手順の選択が極めて重要となり得る。
- (b) 不安定な物質：試験系内で速やかに分解（または反応）する物質もまた、試験上および解釈上の問題を生じる。正しい方法論が使われているか、試験されたのはその物質なのかまたは分解／反応生成物であるか、および得られたデータは親物質の分類に適しているかを判定する必要がある。
- (c) 揮散性物質：開放系で用いた場合に試験上の問題を生じることが明らかな物質は、暴露濃度を適切に維持して評価すべきである。方法によっては生分解性試験中の被験物質の濃度低下が避けられず、結果が誤って解釈されてしまうこともある。
- (d) 複合的または多成分物質：たとえば炭化水素混合物等の物質は、溶解して均一な溶液にできないことが多く、また多成分であるために濃度測定が不可能となる。したがって、水和性の分画（WAFS）の水生毒性試験から得られたデータを使用すること、およびそうしたデータを分類スキームに利用することを検討する必要がある。混合物の各成分の挙動が異なる場合、生分解性、生物蓄積性、分配特性、および水に対する溶解性はいずれも解釈上の問題を生じる。
- (e) ポリマー：これらの物質は広範囲な分子量域を有し、その一部分しか水に溶けないことが多い。水に可溶な分画を測定する特殊な方法が使え、試験データを分類基準と対応させて解釈する際には、これらのデータを使用する必要がある。
- (f) 無機化合物および金属：媒体と相互作用しうる物質は、pH や水の硬度等の要因によって、一定範囲の水生毒性を生じうる。あるレベルでは有益となるような必須元素の試験からも解釈上困難な問題が生じる。金属および無機金属化合物では、有機化合物に適用されるような分解性の概念は限定された意味、または無意味である。同様に、生物蓄積性データも注意して扱う必要がある。
- (g) 界面活性物質：これらの物質はエマルジョンを形成することがあり、注意を払って溶液を調製しても、その生物学的利用性を確認することは困難である。ミセルが形成されると、外見上「溶液」が調製された時にも、生物学的に利用できる分画を過大に推定する結果になる。これは、水溶性、分配係数、生物蓄積性および水生毒性試験のそれぞれで解釈上重大な問題となる。

- (h) 解離性物質：これらは、媒体中の対イオンのレベルによって、イオン化の程度が変化しうる。たとえば酸および塩基は、pHによって著しく異なる分配特性を示す。
- (i) 着色物質：これらは入射光を遮断するので、藻類／水生植物の試験では問題を生じる。
- (j) 不純物：製造バッチ間で、含有率（%）や化学的特性が異なる不純物を含む物質もある。こうした不純物の毒性と水に対する溶解度のいずれかまたは両方が親物質のそれより大きい場合、解釈上の問題が生じ、毒性データに無視できない影響を及ぼす可能性がある。

A9.1.11 これらは、データの妥当性の確立、データの解釈、およびデータを分類スキームに適用する際に遭遇するいくつかの問題の代表例となる。これらの問題、および関連する事項をどう扱うかについての詳しい手引きを、以下の各節で述べる。水生毒性に関するデータの解釈については A9.3 節で扱う。この節は、上述の「試験困難物質」で遭遇する特別な解釈上の問題を扱っており、分類スキームにおいて、いつどのようにデータを使用できるかについての助言も与えている。さらに、用いる試験データの一般的な説明およびそのようなデータの作成に適した試験の方法論も扱っている。

A9.1.12 広範囲に及ぶ分解性データが入手可能であり、これらは急速分解性の判定基準に従って解釈されなければならない。このため、標準的でない試験法で得られたデータをどのように用いるかについての手引きが必要とされる。たとえば半減期が与えられた場合、あるいは一次分解、土壌中での分解速度などのデータの扱い方、ならびにそれらを水中での分解に外挿することの適切さ、および環境中での分解速度についての手引きがある。分類基準と関連して分解性を評価するための推定方法についての簡単な説明も含まれている。その手引きは A9.4 節に示す。

A9.1.13 生物蓄積のポテンシャルを測定できる方法は A9.5 節に記述される。この節では、分配係数の判定基準と生物濃縮係数（BCF）の関係を説明し、既存データの解釈に関する手引き、すなわち実験データが入手できない場合に QSAR を利用して分配係数を推定する方法を示し、そして特に試験困難な物質について上記で特定された問題を扱う。高分子量物質の取扱いで遭遇する問題についても述べる。

A9.1.14 QSAR を使用することについての一般的な問題、すなわち関心のある三つの特性それぞれについて、QSAR がいつどのように利用できるかを述べた節も含まれている。一般的なアプローチとして、実験データが入手できる場合には、QSAR データよりも実験データの方を使用すべきであることは広く受け入れられている。このため、QSAR データの利用は信頼できるデータが得られない場合のみに限られる。しかしすべての物質が QSAR による推定の利用に適しているというわけではなく、本手引きの A9.6 節でこの問題について取りあげる。

A9.1.15 最後に、金属および金属化合物の分類に関連する特殊な問題に一節が割かれている。明らかにこのような化合物については、生分解性およびオクタノール／水分配係数といった多くの特定の判定基準は適用できないが、分解による崩壊がないという原則や、生物蓄積は重要なコンセプトとして残される。したがって別のアプローチを適用する必要がある。金属および金属化合物は媒体との相互作用を受け、その媒体は金属イオンの溶解度や、水相との分配、および水相に存在する金属イオンの種類に影響する。水相で毒性が問題となるのは、一般に溶解している金属イオンである。物質と媒体との相互作用はイオンレベルを、ひいては毒性を増加することもあれば減少することもある。このため、金属イオンがその物質から生成されて水に溶け出すかどうか、もしそうなら、金属イオンは問題を生じるほど速やかに形成されるかどうかを検討することが必要である。このタイプの試験での結果を解釈するためのスキームは A9.7 節に示されている。

A9.1.16 本手引きは、広く多様な状況において判定基準をどのように適用するかに関する有用な助言を与えてはいるが、それでも単なる手引きに過ぎない。分類の際に生じるあらゆる状況を網羅することは望めない。したがって、これはシステムの基本的な原則、たとえばリスクベースよりも有害性ベースを、

また確定された判定基準の一部について説明しているにすぎない、変更の可能性のある文書とみなさなければならない。さらに本手引きは、見かけでは確定している判定基準でも広く多様な非標準的状况に、適用できるようにする解釈を含んだ、スキームを使用する上で蓄積された経験の貯蔵所でもある。

A9.2 調和された分類スキーム

A9.2.1 適用範囲

EUの供給および使用システム、カナダおよび米国の殺虫剤システム、GESAMP 有害性評価手順、IMO 海洋汚染物質に関するスキーム、欧州道路鉄道輸送スキーム (RID/ADR) および米国陸上輸送等、既存の有害性分類システムを考慮して判定基準が策定された。これらのシステムには、化学物質の供給およびそれに続く使用、化学物質の海上輸送、ならびに道路および鉄道による化学物質輸送が含まれている。したがって、調和された判定基準はこれらすべてのシステムに共通のやり方で、危険有害性をもつ化学品を特定することを意図している。すべての異なった分野（輸送、供給および使用）についてのニーズを取り扱うために、2種類の異なったクラス、すなわち3つの区分から構成される急性クラス、および4つの区分から構成される慢性クラスを作成する必要がある。急性分類区分クラスは、包装された物品を考える場合には通常は使用しない2種類の急性有害性区分（急性区分2および3）についての規定を定めている。ばら積みで輸送される物質の場合、想定される量が大量であるために独自に生じてくる規制上の多くの決定がある。そうした状況では、たとえば使用する船舶のタイプについて決定が求められる場合、すべての急性毒性区分および慢性毒性区分を考慮することが重要であると考えられる。以下の各節でこうした有害性区分を定義するのに用いられる判定基準について詳しく説明する。

A9.2.2 分類区分および分類基準

急性および慢性水生毒性の有害性区分とそれに関連する判定基準は、4.1章の4.1.2.2、および図4.1.1に規定されている。

A9.2.3 根拠

A9.2.3.1 分類のための調和システムは、水生生物に対する本質的な有害性は、物質の急性毒性および慢性またはより長期の毒性の両方によって表されることを認めており、その相対的な重要性は、関係する特定の規制制度によって決まる。急性有害性と慢性有害性とは区別することができるので、有害性区分は、特定された有害性のレベルにおいて段階を示している両方の特性について定義される。慢性区分1と特定された有害性が慢性区分2によるものより重大であるのは明らかである。急性有害性と慢性有害性は明らかに異なったタイプの有害性を代表しているため、その相対的な重大さについて比較することはできない。物質の分類のためには両方の有害性クラスを独立に適用して、すべての規制システムの根拠を確立すべきである。

A9.2.3.2 判定基準によって定義された主要な有害性クラスは、慢性有害可能性に大きく関係している。これは環境中での化学物質に関する最優先の関心事を反映している。すなわち生じた影響は通常は致死レベル以下で、たとえば繁殖に対する影響、および長期暴露により生じる影響なのである。特に包装された物品については環境への放出が量的に限られるので、慢性有害性が主要な関心事であると認識されている一方、慢性毒性データは作成に経費がかかり、一般にほとんどの物質で容易には入手されないことも認めなければならない。他方、急性毒性データは容易に入手できることが多く、または高度に標準化されたプロトコールによって作成することができる。したがって、急性有害性も慢性有害性も定義する上で、中心的特性として利用されているのは急性毒性なのである。それでも、慢性毒性データが入手できる場合には、適切な有害性区分を定義するのに、これらを利用することが可能であると認識されている。こうしたデータを用いて特定の判定基準を策定することは、今後本スキームを発展させる上で極めて優先度が高い。

A9.2.3.3 急性毒性値それ自体は、有害性を立証するために単独かつ直接に使用しては、十分に正確な慢性毒性予測とはならないと認識されているが、生物蓄積性（すなわち $\log K_{ow} \geq 4$ 、ただし $BCF < 500$ でない場合）または長期暴露の可能性（すなわち急速分解性がない）のいずれかと組み合わせれば、分類の目的では適切な代用として使用できると考えられている。急性毒性を示し、有意な程度で生物蓄積性のある物質は、通常はかなりの低濃度で慢性毒性を示す。急性/慢性の比率を正確に予測するのが困難なので、この代用データは一般的に慎重な考え方に基づくものである。同様に、速やかに分解しない物質には、長期暴露が生じる可能性が高くなり、この場合もまた、長期毒性が十分に考えられることに

なる。したがって、たとえば以下の判定基準に適合するなら、慢性区分1が指定されるべきである。

- (a) 適切な水生生物種に対する L(E)C₅₀ が 1mg/l 以下、かつ生物蓄積の可能性がある ($\log K_{ow} \geq 4$ ただし BCF < 500 でない)。
- (b) 適切な水生生物種に対する L(E)C₅₀ が 1mg/l 以下、かつ急速分解性がないこと。

A9.2.3.4 適切な生物種の急性毒性、急速分解性の欠如、および生物蓄積性についての正確な定義はそれぞれ A9.3 節、A9.4 節、ならびに A9.5 節で説明する。

A9.2.3.5 難溶性の物質は通常、水に対する溶解度が 1mg/l 未満の物質であるとみなされているが、これらの物質のなかに、溶解する限界濃度で実施された毒性試験で、急性毒性が発現しないものがある。しかし、こうした物質が BCF \geq 500、または BCF データがない場合に $\log K_{ow} \geq 4$ (生物蓄積性の可能性を示唆している) であり、さらにその物質が急速分解性ではない場合、慢性区分4という安全ネットの分類が適用される。このようなタイプの物質では、短期試験における暴露期間では短すぎて、試験生物種の体内で物質が定常状態濃度に到達しないことがある。このため、短期(急性)試験で急性毒性が認められなかったとしても、特に分解性が低いと水生環境中では暴露期間が延長されることになるので、急速分解性がなく生物蓄積性のある物質が慢性作用を生じる可能性を考える必要がある。

A9.2.3.6 急性水生毒性を決定する際に、水系生態系に存在しているすべての生物種を試験することは不可能である。したがって、ある範囲の栄養段階と分類群ごとに、代表する生物種が選ばれる。選択された分類群、すなわち魚類、甲殻類、および水生植物はほとんどの有害性プロフィールで「基本セット」になっており、有害性を十分に有効に表現するための最少のデータセットとなっている。入手された毒性値のうち最低の値が通常、有害性区分の決定に用いられる。環境中には広範囲な生物種が存在していることを考えれば、これら3種類の試験では不十分な代用データにしかなり得ず、したがって慎重を期すという意味で、最低値を有害性区分の決定に採用している。これを実施するにあたり、生物種の感受性の範囲は数桁のオーダーにわたる可能性があること、したがってこれらの生物種より感受性が高い種も低い種も、環境中に存在していることは認識されている。このため、データが少ない場合には、試験した中で最も感受性の高い生物種を用いることで、慎重ではあるが受け入れられる有害性の定義が得られる。毒性の最低値を分類の根拠に用いることが適切でないかもしれない状況もある。これが該当するのは、たとえば大量のデータセットが入手されている場合等、通常よりも正確に感受性分布を決定できる場合である。このような大量のデータセットは相応の注意を払って評価すべきである。

A9.2.4 適用

A9.2.4.1 一般論として、ある物質を分類すべきかどうかを決定するには、以下のデータ項目について適切なデータベース、およびその他のデータ源を検索しなければならない。

- (a) 水に対する溶解性
- (b) オクタノール/水分配係数 ($\log K_{ow}$)
- (c) 魚類における生物濃縮係数 (BCF)
- (d) 急性水生毒性 (L(E)C₅₀)
- (e) 慢性水生毒性 (NOEC)
- (f) 入手された分解性データ (特に易生分解性の証拠)
- (g) 水中での安定性データ

水に対する溶解度および水中での安定性のデータは、判定基準では直接には用いられていないが、これらは他の特性のデータ解釈において貴重な参考データとなるので重要である（A9.1.11 節参照）。

A9.2.4.2 分類のためには、まず始めに入手された水生毒性データのレビューをすべきである。入手されたすべてのデータを考慮して、分類に必要な品質基準に適合するデータを選択することが必要となる。国際的に標準化された方法において要求される品質基準に適合するデータが入手されていない場合には、分類が可能かどうかを決定するために、入手されているすべてのデータを検証する必要がある。データから溶解度の高い物質について急性水生毒性が $L(E)C_{50} > 100\text{mg}/\text{l}$ であることが示されたならば、その物質は有害であるとは分類されない。試験では影響が認められず、このため水生毒性が水に対する溶解度より大きいと記録される、すなわちその試験媒体中での水に対する溶解度の範囲内では急性毒性はないとされるケースも多い。そのような場合に、試験媒体中での水に対する溶解度が $1\text{mg}/\text{l}$ 以上であれば、分類を適用する必要はない。

A9.2.4.3 水生毒性データの最低値が $100\text{mg}/\text{l}$ 以下の場合、第一にその毒性が該当するのはどの有害性区分であるかを決定し、次に慢性クラスまたは急性クラスを適用すべきかどうかについて判定する必要がある。これは単に、分配係数 $\log K_{ow}$ および分解に関して入手されたデータを検討することで達成できる。もし、 $\log K_{ow} \geq 4$ であるか、またはその物質は急速分解性がないと考えられるならば、適切な慢性有害性および対応する急性有害性区分が別々に適用される。ただし、 $\log K_{ow}$ は生物蓄積の可能性について最も容易に入手できる指標ではあるものの、実験的に求められた BCF の方が望ましいことを覚えておくべきである。BCF が入手されているなら、分配係数でなくこちらを用いるべきである。そのような状況では、 $BCF \geq 500$ ということは適切な慢性有害性クラスに分類するのに十分な程度の生物蓄積性であることを示す。もしその物質が急速分解性で、かつ生物蓄積性が低い ($BCF < 500$ 、または BCF がなければ $\log K_{ow} < 4$) ならば、慢性有害性区分に指定すべきではなく、急性有害性区分だけを適用すればよい（A9.2.1 参照）。

A9.2.4.4 難溶性の物質、すなわち一般に試験媒体中での水に対する溶解度が $1\text{mg}/\text{l}$ 未満である物質で、水生毒性が認められていない物質については、慢性区分 4 を適用する必要があるかを判定するためにさらに検討を加えるべきである。たとえば、もしその物質が急速分解性でなく、かつ生物蓄積の可能性がある ($BCF \geq 500$ 、または BCF がなければ $\log K_{ow} \geq 4$) ならば、慢性区分 4 を適用すべきである。

A9.2.5 データの利用可能性

ある物質の分類に使用されるデータは、規制の目的に必要なデータ、および関連文献から導き出すことができるが、適切な出発点として利用できる国際的に認められた数々のデータベースも存在している。こうしたデータベースの品質や包括性には大きな差があり、どのデータベースでも単独では分類を行うのに必要な情報がすべて揃うわけではない。水生毒性を専門としているデータベースもあれば、環境運命に詳しいデータベースもある。化学品供給業者には、入手できるデータの規模と信頼性を判定するために必要な調査や確認をし、適切な有害性区分の指定にそのデータを用いる義務がある。

A9.2.6 データの品質

A9.2.6.1 入手されたデータの正確な使い方については、関連する節で説明するが、一般的な規則として、標準的な国際ガイドラインおよび GLP に準拠して作成されたデータは、他の種類のデータよりも望ましいとされている。しかし同様に、入手された最良のデータに基づいても分類できることを十分に認識することも重要である。したがって、上に述べた品質基準を満たすデータが入手できない時であっても、用いるデータが無効であると考えられない限り、分類をすることが可能である。このプロセスを支援するために、品質の得点付けガイドが策定されており、多くの場で広く用いられている。得点付けガイドは一般に以下の分類を充足している。

(a) 公的データ源から得られたデータで、“EU 水質モニタリング”、“USEPA 水質基準”など、規制所管官庁により有用性を確認済みのもの。これらのデータは、分類の目的には有効であるとみなすことができる。しかし、これらが唯一の利用できるデータであると考えべきではなく、さらに関連報告書の日付に十分注意を払う必要がある。新たに入手できるデータがまだ考慮されていないこともある。

(b) 国際的に承認されたガイドライン（例：OECD テストガイドライン）またはそれと同等の品質の国内ガイドラインから得られたデータ。以降の各節に掲げられたデータ解釈上の問題があることを留意事項として、こうしたデータを分類に用いることができる。

(c) 上に述べたガイドラインに厳密には従っていないが、一般に容認された科学的な原則および手順に従っているデータ、または発表前に校閲されているデータ。こうしたデータについて、実験の詳細がすべて記録されていない場合、有効性の判定には何らかの判断が必要かもしれない。通常、こうしたデータは、分類スキームの中で用いられてもよい。

(d) 標準的なガイドラインから著しく逸脱した、または信頼性がないと思われる試験手順により求めたデータは、分類に用いるべきではない。

(e) QSAR データ。QSAR の使用状況および有効性については、関連の各節で議論する。

(f) ハンドブック、総説、引用等のように、データの品質を直接には評価できない二次的な情報源から求めたデータ。データ品質(a)、(b)および(c)からのデータが入手できない場合に、こうしたデータが使えるかどうかを判断するため精査すべきである。こうしたデータは、その品質が評価できる程度に詳細である必要がある。これらのデータを分類目的に受け入れることが可能かどうかを判断する際には、データ品質に影響しているかも知れない試験中の問題および報告された結果の有意性について、特定された有害性のレベルに関し、十分な考慮を払うべきである（A9.3.6.2.3 を参照）。

A9.2.6.2 分類は不完全な毒性データセットに基づいてなされることもある。たとえば 3 つの栄養段階すべてについてのデータが入手できない場合である。このようなケースでは、分類は「暫定的」であるとみなされ、入手される追加情報に従うことになる。一般に、入手されたすべてのデータが、分類を決定する前に考慮される必要がある。品質の良いデータが入手できない場合には、より品質の劣るデータでも考慮する必要がある。そのような状況では、真の有害性レベルについての判断がなされる必要がある。たとえば、特定の生物種または分類群に関して良品のデータが入手されている場合、同じ種または分類群について得られるかもしれない、他の品質の劣るデータに優先して、そうしたデータを採用すべきである。しかし、栄養段階すべてについての基礎的なデータセットに、必ずしも良品のデータが揃っているとは限らない。良品のデータが入手されていない栄養段階については、品質が劣るデータを検討することが必要となろう。しかし、こうしたデータを考慮するには、有効な結果に達する可能性に影響したと思われる問題についても考える必要がある。たとえば、加水分解性の不安定な化学物質のデータなど、試験の詳細および実験の設計が、その有用性の評価に決定的になるデータもある。そうした問題については、A9.3 節でさらに説明する。

A9.2.6.3 通常、有害性の特定、ひいては分類は、対象の物質を試験して直接得られた情報をもとになされるであろう。しかし、このことが試験に困難を生じ、または結果が常識にそぐわないこともある。たとえば、保存びんの中では安定であっても、水と混合すると速やかに（またはゆっくりと）反応して、もとの化学物質とは異なる性質の分解生成物を生じさせる物質もある。この場合、分解が速やかであるなら、実際に試験されたのは分解生成物であるため、入手されたデータは分解生成物の有害性を特定することもしばしばある。こうしたデータが通常の方法で親物質を分類するのに用いられることもありうる。しかし、分解がより遅い場合、親物質を試験することが可能であり、有害性データが正常なやり方で作成される。遅れて起こる分解は、急性ないし慢性の有害性区分を適用すべきかを定める際に考慮される。しかし、試験された物質が分解して、より有害な生成物を生じることも起こり得る。こうした場合には、親物質の分類では分解生成物の有害性、および通常的环境条件で分解生成物が形成される速度を十分に考慮しなければならない。

A9.3 水生毒性

A9.3.1 序

物質の水生環境に対する有害性を特定する基礎は、その物質の水生毒性である。分類は、魚類、甲殻類、および藻類／水生植物の毒性データを入手することに基づいている。こうした分類群は、有害性を特定するための水中動物相および植物相の代表として、広く受け入れられている。規制所管官庁や化学企業がこれを受け入れているので、こうした特定の分類群に関するデータは見つけられる可能性が高い。分解性および生物蓄積性についての挙動に関するその他の情報は、水生有害性をよりよく描写するのに利用される。この節では、生態毒性に関する適切な試験について説明し、データを評価し試験結果の組み合わせを分類に用いるいくつかの基本概念を示し、分類の困難な物質を扱う手法をまとめ、データ品質の解釈について簡単な考察を加える。

A9.3.2 試験の説明

A9.3.2.1 本調和システムで物質を分類する目的では、淡水生物種と海水生物種の毒性データは同等とみなすことができる。イオン化する有機化合物や有機金属化合物等、ある種の物質では淡水環境と海洋環境では現れる毒性が異なることも指摘しておかなければならない。分類の目的は水生環境の有害性を記述することなので、最も高い毒性が示された結果が選ばなければならない。

A9.3.2.2 健康および環境に対する有害性を判定するための GHS 判定基準は、中立の試験方法であり、様々なアプローチが、科学的に正当であり、対象のエンドポイントについての既存システムについて先に述べた国際的な手順および判定基準に従って正当性が確認され、かつ相互に受け入れられるデータを作成できるなら、そうした手法を許容するべきである。システム案 (OECD 1998) では以下のようにされている。

「急性毒性は通常、魚類 1 種での 96 時間 LC_{50} 値 (OECD テストガイドライン 203 または同等のもの)、甲殻類 1 種での 48 時間 EC_{50} 値 (OECD テストガイドライン 202 または同等のもの) または藻類 1 種での 72 時間または 96 時間 EC_{50} 値 (OECD テストガイドライン 201 または同等のもの) により決定される。こうした生物種はすべての水生生物種の代表であるとみなされるが、ウキクサ *Lemna* 等、その他の種に関するデータも、試験方法が妥当なものであれば、考慮されることもある。」

慢性試験では長時間続く暴露が行われる。その期間は水生生物種の繁殖周期に応じて、数日間から 1 年間、またはそれ以上に至る。慢性試験は、成長、生存、繁殖および発育に関する特定のエンドポイントを評価するように実施してもよい。

「慢性毒性データは、急性データに比べて入手し難く、試験手順の範囲もそれほど標準化されていない。OECD テストガイドライン 210 (魚類の初期生活段階毒性試験)、202 Part 2 または 211 (ミジンコの繁殖試験) および 201 (藻類生長阻害試験) に従って得られたデータは受け入れられる。他の、正当性が確認され、国際的に受け入れられている試験も使用できよう。NOEC または同等の $L(E)Cx$ を用いるべきである。」

A9.3.2.3 分類の例として引用した OECD ガイドラインには、改正されているものや更新が予定されているものもあることを指摘しておかなければならない。こうした改正により試験条件がわずかながら変更されることもある。したがって、分類のための調和された判定基準を策定した専門家グループは、試験期間について、あるいは使用生物種についてさえも、ある程度の柔軟性を持たせるよう試みた。

A9.3.2.4 魚類、甲殻類、および藻類を用いた、受け入れられる試験を実施するためのガイドラインは多くの資料に見出される (OECD, 1999; EPA, 1996; ASTM, 1999; ISO EU)。OECD モノグラフ No.11 工業用化学品および駆除剤の水生毒性試験に関する詳細レビュー文書は、広範囲な試験法の優れた集大成であり、また試験指針の資料である。この文書はまた、適切な試験方法論の情報源でもある。

A9.3.2.5 魚類を用いた試験

A9.3.2.5.1 急性試験

急性試験は一般に、体重 0.1–5g の大きさの幼魚を用いて 96 時間の試験期間で実施される。こうした試験で観察するエンドポイントは死亡率である。このサイズより大きい魚または 96 時間より短い試験期間では、一般的に感度が落ちる。しかし、幼魚で 96 時間の受け入れられるデータが入手できない場合、またはこれら魚のサイズまたは試験期間が異なる試験結果が、より有害性の高い区分における分類に影響する際には、分類のためにこれらの結果を採用することもできよう。分類には、OECD テストガイドライン 203 (魚類 96 時間 LC₅₀) またはこれと同等のガイドラインに従った試験を採用すべきである。

A9.3.2.5.2 慢性試験

魚類を用いた慢性試験または長期試験は、受精卵、胚、幼魚または繁殖行動の認められる成魚で開始できる。OECD テストガイドライン 210 (魚類の初期生活段階毒性試験)、魚類ライフサイクル試験 (US EPA 850.1500) またはこれらと同等の試験法が分類スキームで用いられる。試験期間は試験の目的により大きく異なる (7 日程度から 200 日以上に至るまで)。観察するエンドポイントとしては、孵化率、成長 (体長および体重変化)、産卵数、および生存率がある。技術的には OECD ガイドライン 210 (魚類の初期生活段階毒性試験) は「慢性」試験ではなく、感受性の高いライフステージにおける亜慢性試験である。この試験は慢性毒性の予測指標として広く受け入れられており、本調和システムでは分類の目的のためにこのようなものとして採用されている。魚類初期生活段階毒性データは、魚類ライフサイクル試験や魚類繁殖試験よりはるかに多く入手できる。

A9.3.2.6 甲殻類を用いた試験

A9.3.2.6.1 急性試験

甲殻類を用いた試験は、一般に第一齢幼体 (訳者注: 孵化後 24 時間以内のもの) から開始する。ミジンコ類の場合には、48 時間の試験期間が採用されている。その他の甲殻類、たとえばアミやその他の種類では、96 時間が基準である。観察するエンドポイントは死亡率、または死亡率の代用としての遊泳阻害である。遊泳阻害とは、軽い刺激に対する無応答として定義されている。OECD テストガイドライン 202 Part 1 (ミジンコ急性試験) または US EPA OPPTS 850.1035 (アミ類急性毒性試験) あるいはこれらと同等のガイドラインを分類に用いるべきである。

A9.3.2.6.2 慢性試験

甲殻類を用いた慢性試験もまた、一般に第一齢幼体から開始し、成熟期および繁殖期まで継続される。ミジンコ類の場合、成熟および 3 回の産仔には 21 日間で十分である。アミでは 28 日必要である。観察するエンドポイントとして、最初の産仔までの期間、雌 1 頭あたりの産仔数、成長および生存率がある。OECD テストガイドライン 202 Part 2 (訳者注: 現行ではテストガイドライン 211) (ミジンコの繁殖試験) または US EPA OPPTS 850.1035 (アミ類慢性毒性試験) あるいはこれらと同等のガイドラインを分類スキームに用いるべきである。

A9.3.2.7 藻類/植物を用いた試験

A9.3.2.7.1 藻類を用いた試験

藻類を栄養添加培地中で培養して被験物質に暴露する。OECD テストガイドライン 201 (藻類生長阻害試験) と同等の試験を用いるべきである。標準的な試験方法では、試験期間中 (通常は 3–4 日間) の指数増殖を確認するために、植種原の細胞濃度を採用している。

藻類試験は短期試験であり、その試験からは急性・慢性の両方のエンドポイントが得られるものの、本調和システムで分類に用いられるのは急性 EC₅₀ だけである。この試験で観察するエンドポイントとして望ましいのは藻類生長速度阻害である。この理由は、生長速度阻害は試験のデザインに依存しないのに対し、バイオマス法は試験生物種の生長速度や、試験期間やその他の試験のデザインの内容にも依存するためである。エンドポイントがバイオマスの減少のみ、または特定されないで報告されている場合は、この値は同等のエンドポイントとして解釈される場合がある。

A9.3.2.7.2 大型水生植物を用いた試験

水生毒性試験に最も多く用いられる維管束植物はウキクサ (*Lemna gibba* および *Lemna minor*) である。ウキクサ試験は短期試験であり、急性および亜慢性のエンドポイントが与えられるが、本調和システムでの分類には急性 EC₅₀ のみが使用される。この試験は 14 日間以内であり、藻類に用いるのと同様な栄養添加培地中で実施されるが、栄養強度が増加されることもある。観察するエンドポイントは生じた葉状体の数の変化に基づいている。Lemna に関する OECD テストガイドライン (作成中 (訳者注: テストガイドライン 221)) および US EPA 850.4400 (水生植物毒性試験、Lemna) を用いるべきである。

A9.3.3 水生毒性の概念

この節では、分類の際の急性毒性および慢性毒性の使用について、また暴露方式、藻類毒性試験および QSAR の利用についての特別な考察について取りあげる。水生毒性の概念についてさらに詳しい議論としては、Rand (1996) を参照できる。

A9.3.3.1 急性毒性

A9.3.3.1.1 分類の目的において急性毒性は、短期暴露で生物種に有害性のある物質の本来の性質である。急性毒性は一般に、試験生物種の 50% に対して致死性である濃度 (LC₅₀) として、試験生物種の 50% に測定可能な有害作用を及ぼす濃度として (例えば、ミジンコの遊泳阻害)、または対照 (未処置) 生物の反応と比べて試験 (処置群) 生物の反応 (例: 藻類の生長速度) が 50% 低下する濃度として表現される。

A9.3.3.1.2 急性毒性が 1ppm (1mg/l) 以下であると判定された物質は、一般的に非常に強い毒性であると認められている。こうした物質の取扱、使用、または環境中への放出は高度の有害性をもたらす、またこうした物質は慢性または急性区分 1 に分類されている。十進法による毒性区分の帯域が、急性区分 1 より上の急性毒性区分用として受け入れられている。すなわち、急性毒性が 1-10ppm (1-10mg/l) として測定された物質は急性毒性区分 2 に、10-100ppm (1-100mg/l) として測定された物質は急性毒性区分 3 に、および 100ppm を超える物質は実質的に毒性はないとみなされる。

A9.3.3.2 慢性毒性

A9.3.3.2.1 分類の目的において慢性毒性は、生物種のライフサイクルに関連して決定された暴露期間中に、物質がその生物種に有害作用を及ぼす潜在的または実際の特性をいう。こうした慢性作用には通常、一連の亜致死性エンドポイントが含まれており、一般に無影響濃度 (NOEC) または同等の影響濃度 (EC_x) として表される。観察するエンドポイントとして典型的なものには、生存、成長、または繁殖がある。慢性毒性の暴露期間は、測定するエンドポイントおよび用いる生物種によって広く異なる。

A9.3.3.2.2 慢性毒性データは、分野によっては急性データより一般的でないため、分類スキーム用として、急性毒性、分解性の欠如、または潜在的あるいは実測の生物蓄積性を適切に組み合わせることによって慢性毒性の可能性を特定する。こうしたデータが存在し、かつ長期 NOEC > 1mg/l である場合には、急性データにもとづく分類を適用するかを判定する際に、長期データを考慮してもよい。この関係から、以下の一般的なアプローチを用いるべきである。慢性毒性物質から除外するためには、区分の決定の際に用いたすべての分類群 (生物) について NOEC 値が慢性毒性区分から除外するのに適したものであることを示されねばならない。これは多くの場合、急性毒性で最も感受性が高いとされた生物種に対する長期 NOEC > 1mg/l であることを示せば達成される。したがって、もし分類が魚類急性 LC₅₀ に基づいて適用されていたならば、無脊椎動物を用いた毒性試験から得た長期 NOEC を用いてこの分類を解除することは一般に可能ではない。このような例では、NOEC 値は通常、おなじ魚種または同等以上の高感受性をもつ魚種を用いた長期試験から得られた値であることが必要であろう。同様に、複数の分類群に対する急性毒性をもとに物質を分類しているならば、それぞれの分類群で NOEC > 1mg/l であることを示す必要がある。

物質を慢性区分4に分類する場合には、NOECが対象物質の水に対する溶解度より大きいことを証明すれば十分である。

A9.3.3.2.3 藻類/Lemnaを用いる試験は、物質を分類からはずすことには使用できない。その理由は(1)藻類およびウキクサを用いた試験は長期試験ではない、(2)慢性毒性と急性毒性との比が一般に狭い、および(3)エンドポイントが他の生物におけるエンドポイントよりも一貫性がある、ということである。

ただし、単一の藻類/水生植物試験で認められた急性毒性(L(E)C₅₀)だけによって分類を割り当てているが、他の藻類を用いた試験があり、この分類群での慢性毒性(NOEC)は1mg/lを超えるという証拠が得られている場合には、この証拠を用いて分類からはずすことを考えてもよい。現時点では、標準化された慢性毒性試験法がまだ開発されていないため、このようなアプローチを水生植物に応用することはできない。

A9.3.3.2.4 GHSには、それより以下では物質が慢性毒性であると分類されるような、特定の慢性毒性値を含めることを意図しているが、判定基準がまだ設定されていない。

A9.3.3.3 暴露方式

急性および慢性の両方の試験、および淡水と塩水の両方の媒体に、4種類の暴露条件が採用されている。すなわち、止水、止水-交換(半止水)、再循環、および流水である。どの種類の試験を採用するかは、被験物質の性質、試験期間、試験生物種、および規制所管官庁による要求項目による。

A9.3.3.4 藻類試験用の培地

藻類を用いる試験は、栄養添加培地中で実施されるが、ある種の一般的成分、すなわちEDTAまたはその他のキレート剤の使用について注意を払う必要がある。有機化合物の毒性を試験する場合、微量のEDTA等のキレート剤が培地中の複合微量成分として必要である。これを加えないと、藻類の生長は著しく阻害され、試験の有用性が損なわれる。しかしキレート剤は、金属被験物質の見かけの毒性を低下させることがある。したがって金属化合物の場合には、高濃度のキレート剤を加えた試験結果、または鉄に対して化学量論的に過剰なキレート剤を加えた試験結果を厳密に評価しなければならない。フリーのキレート剤、特にEDTAのような強力なキレート剤は重金属の毒性を著しく低下させるかもしれない。しかしながら、培地に鉄が不足している場合には、藻類の生長は鉄で制限されることになり、したがって、鉄およびEDTAのない、あるいは減少させた試験の結果は注意して扱わなければならない。

A9.3.3.5 QSARの利用

分類を目的とし、なおかつ実験データが無い場合には、非電解性、非親電子性、また非反応性の物質であるならば、魚類、ミジンコ、および藻類に対する急性毒性を予測するのに、QSARに頼ることが可能である(QSARの利用に関するA9.6節参照)。有機リン化合物等の物質の場合には問題が残る。これらは、体内レセプターと相互作用をし、または細胞内タンパク質とスルフヒドリル結合を形成できる官能基等、特殊なメカニズムにより作用する。基本的な麻酔メカニズムで作用する化学物質については、信頼できるQSARが導かれている。こうした化学物質とは、たとえば炭化水素、アルコール、ケトン、およびある種の脂肪族塩素化炭化水素など、低反応性の非電解質であり、これらはその生物学的作用をその分配係数の関数として生じる。有機化学物質ならば何でも、麻酔作用を生じることができる。しかし、化学物質が電解質であったり、または麻酔以外のメカニズムが導かれる特殊な官能基を含んでいるならば、分配係数のみによる毒性の算定をすると、毒性を著しく過小評価することになる。親化合物の急性水生毒性に関するQSARは、毒性のある代謝物または分解物が急性試験の期間よりもずっと後になって生成する場合には、これら代謝物または分解物の作用を予測するには利用できない。

A9.3.4 証拠の重み

A9.3.4.1 分類の基本的な基盤として最高品質のデータを用いるべきである。一次のデータ源に基づいて分類するのが望ましい。試験条件が明瞭かつ完全に表現されていることが不可欠である。

A9.3.4.2 一つの分類群について複数の試験結果が入手されたならば、どれが最も高感度であり高品質であるかの決定をせねばならない。GLP 試験の代わりに非 GLP でもより高感度の所見の得られている試験を採用することについては、ケースバイケースで判断しなければならない。標準的でない、または非 GLP の指針に従って実施された試験から得られた結果が強毒性を示唆している場合には、その結果を分類に使用できるべきであるが、こうした試験が、無視できる毒性を示した場合には、より注意深い検討が必要となろう。試験が困難な物質から得られる結果は、見かけ上、真の毒性より弱い毒性を示すこともあれば、強い毒性を示すこともある。こうしたケースでの分類には専門家の判断が必要であろう。

A9.3.4.3 同一の分類群について複数の受け入れられる試験結果が入手された場合、一般に、最も高感度の結果 (L(E)C₅₀ 値または NOEC 値が最低値の結果) を分類に採用する。しかし、これはケースバイケースで扱わなければならない。同一生物種についてより大きなデータセット (4 個以上の数) が入手されたときは、毒性値の幾何平均値をその生物種を代表する毒性値として用いてもよい。平均値を推定する際、分類群が同一でも異なった種の試験や、または異なったライフステージで行われた試験、あるいは条件または試験期間が異なる試験を組み合わせることは望ましくない。

A9.3.5 試験困難な物質

A9.3.5.1 妥当な水生毒性試験は、ガイドラインで勧告されている試験条件下において被験物質が水媒体中で溶解することを必要とする。さらに、試験期間を通じて、生物学的に利用できる暴露濃度が維持されなければならない。ある種の物質は水系での試験が困難であり、そうした物質の試験を支援するための指針が作成されている (DoE 1996; ECETOC 1996; US EPA 1996)。OECD は現在、「試験困難な物質および混合物の水生毒性試験に関する指針」(OECD, 2000) の最終案を検討中 (訳者注: ガイダンスドキュメント 23 として採択済み) である。この資料は試験困難な物質のタイプ、およびこうした物質を用いた試験から妥当な結論を確保するのに必要な手順に関する情報の、よい情報源である。

A9.3.5.2 それにもかかわらず、今日において最良と考えられている方法論には従っていないが、分類基準に適用するのに適した情報を得ることのできる試験方法論を用いたと思われる多くの試験データが存在している。そうしたデータを解釈するには特別の手引きが必要であるが、最終的にはデータの妥当性判定に専門家の判断を用いなければならない。こうした試験困難な物質とは、溶解度が低い、揮散性である、または光変換、加水分解、酸化、あるいは生物学的分解等のプロセスにより速やかな分解を受ける物質である。藻類を試験する場合、着色物質は細胞成長に必要な光を弱めて、試験のエンドポイントに干渉することもある。同様に、溶解度以上の濁った分散状態で試験された物質は、誤った毒性の測定を起こすことがある。水相に被験物質を加える場合、粒子状物質または金属等の固体では問題が生じることがある。石油の蒸留分画も添加時に問題を生じることがあり、また L(E)C₅₀ 値を決定するための適切な濃度を設定する際に解釈上困難な問題を生じる。「試験困難な物質および混合物の水生毒性試験に関する指針」原案は、試験上困難を生じる可能性の高い多くのタイプの物質について、より一般的な特性を説明している。

- (a) **安定性**: 被験物質の濃度が設定濃度の 80% より低くなると予測される場合は、試験を有効とするためには、被験物質を液交換するような暴露方式が求められる。半止水または流水条件が望ましい。このため藻類の試験については、標準的ガイドラインが一般に止水条件で実施されるので、特有の問題が生じる。甲殻類および魚類では別の暴露方式も可能であるが、国際的に了承されたガイドラインに記載されている止水条件での試験が実施されることが多い。これらの試験において、あるレベルの分解、その他の関連因子も許容しなければならない。こうしたことの取り扱いについてのアプローチを A9.3.5.6 に示す。分解が起こる場合には、試験で記録された毒性に対する分解生成物の毒性の影響も考慮することが重要である。そのデータを分類に使用できるかどうかについては、専門家の判断が必要であろう。

- (b) **分解**：化合物が試験条件下で壊れる、または分解する場合は、既知の、あるいは想定される分解生成物の考察も含めて、分類のための毒性計算に専門家の判断が必要である。親物質およびすべての有毒分解物の濃度測定が望ましい。分解物に比較的毒性がないことが予測されるならば、親物質の濃度を維持するため、試験液を交換する暴露方式が望ましい。
- (c) **飽和**：単一成分の物質に関しては、溶解度以下の濃度範囲で測定された毒性反応のみから分類すべきであり、溶解度を超える物質負荷に基づくべきでない。水への溶解度を超えた濃度において毒性を示すデータが入手されることがしばしばあり、こうしたデータは妥当でないと考えられることが多いが、何らかの解釈も可能である。これらの問題は一般に、溶解度の低い物質の試験にあてはまり、こうしたデータをどう解釈するかについての手引きは A9.3.5.7 に記載する（「試験困難な物質および混合物の水生毒性試験に関する手引き」も参照のこと）。
- (d) **試験媒体の変動**：試験困難な物質が確実に溶解するよう特別な手段が必要であろう。試験媒体を変えると見かけの毒性が増加または減少し、これによって被験物質の分類レベルも変わる可能性があるため、このような手段は、試験媒体を著しく変更しないようなものとするべきである。
- (e) **複合物質**：本分類スキームの対象となる物質の多くは、現実的には混合物であるが、この場合暴露濃度の測定が困難であり、また測定が不可能な場合もある。石油蒸留画分、ポリマー、不純物を多く含む物質等は、毒性濃度の測定が困難であり、検証も不可能なので、特有の問題が生じる。典型的な試験手順はしばしば「水可溶性画分 (WSF)」または「水和画分 (WAF)」の生成に依存しており、データは添加率で報告されている。こうしたデータを分類基準に用いてもよからう。

A9.3.5.3 有機化合物の分類では、試験濃度を安定にし、分析して測定してあることが望ましい。濃度が測定されている方が望ましいが、ある状況において設定濃度だけが妥当なデータとして入手されている場合は、設定濃度に基づいて分類する場合もある。物質が実質的に分解し、または水相から消失する可能性がある場合は、データ解釈には注意が必要であり、もし妥当かつ可能であるならば、試験中の毒物の消失分を考慮して分類すべきである。その他に、金属が特有の問題を提起するが、これについては別に述べる。表 A9.3.1 に、試験困難物質のいくつかの性質、およびその分類との関連性についてまとめた。

A9.3.5.4 ほとんどの試験困難な状況において、実際の試験濃度は、設定上の、または期待される試験濃度より低くなる傾向がある。試験困難な物質の毒性値 (L(E)C₅₀) が 1mg/l より低いと見積もられた場合、急性区分 1（および適合する場合には慢性区分 1）の分類が保証されたと確信してよい。しかし、毒性推定値が 1mg/l を超える場合には、その毒性推定値は毒性を過小に示している傾向がある。そのような状況で、試験困難な物質での試験結果を分類に用いることができるかを決定するには、専門家の判断が必要である。毒性の推定値が 1mg/l より大きく、かつ試験濃度が測定されていない場合で、試験の困難さの性格が実際の試験濃度に大きく影響していると考えられる場合には、相当の注意を払ってその試験を分類に用いるべきである。

A9.3.5.5 以下の各項では、こうした解釈上の問題について詳しい手引きを示している。解釈を行うにあたっては、これはあくまでも手引きであり、厳密かつ固定的な法則を適用できないことを念頭に置くべきである。試験の困難さの性質の多くは、試験にその妥当性を判定するに十分な情報があるか、また分類基準を適用するのに用いられるように毒性レベルを決定できるかどうか、その両方の判定に専門家の判断が必ず必要であることを意味している。

A9.3.5.6 不安定な物質

A9.3.5.6.1 試験手順は、被験物質が試験媒体中で不安定であることの影響を最小限に抑えるよう適用するのが理想であるが、現実には、ある種の試験では、試験期間を通じて濃度を維持することはほとんど不可能なことである。一般にそのような不安定さの原因は、酸化、加水分解、光分解および生分解である。光分解や生分解は比較的コントロールが容易であるが、多くの既存の試験法ではこうしたコントロールがなされていないことがしばしばである。それにもかかわらず、ある種の試験、特に魚類を用いた急性および慢性毒性試験では、不安定による損失を最小限に抑えるよう暴露方式が選べるようになっており、またこのことは試験データの妥当性を決定する際に考慮されるべきである。

A9.3.5.6.2 試験中の暴露レベルの決定に不安定さが一つの要因となっている場合、データの解釈に不可欠な前提条件は、試験期間を通じて適切な複数の時点で測定された暴露濃度があることである。少なくとも試験開始時と終了時に濃度測定の実験値が得られていないならば、正当な解釈ができず、その試験は分類目的には妥当でないと考えるべきである。分析データが入手された場合には、以下のようないくつかの実用規則が解釈上の手引きとして考えられる。

- (a) 試験開始時および終了時の測定値がある場合（ミジンコ急性試験および藻類急性試験では標準の要件）、分類の目的では、 $L(E)C_{50}$ 値を開始時および終了時の各濃度の幾何平均に基づいて計算してよい。試験終了時の濃度が分析上の検出限界より低い場合、濃度は検出限界の半分であると考える。
- (b) 試験媒体交換期間の開始時と終了時の測定値がある場合（半止水条件での試験で入手される）、更新期間ごとの幾何平均を計算し、そのデータから全暴露期間にわたる平均暴露量を算出すべきである。
- (c) 毒性が分解生成物に帰属でき、その生成物の濃度が既知である場合、分類のための $L(E)C_{50}$ は、分解生成物濃度の幾何平均値に基づいて計算してから、親物質に逆算してもよい。
- (d) 同様の原則が慢性毒性試験での測定値にも適用できよう。

A9.3.5.7 難溶性の物質

A9.3.5.7.1 難溶性の物質は、一般に水に対する溶解度が $1\text{mg}/1$ 未満の物質であるとされているが、これらの物質は試験媒体に難溶であることが多く、予測される低い濃度では、しばしば溶解濃度は測定困難であることが示される。多くの物質では試験媒体中の真の溶解度は知られず、純水中で検出限界以下であるとして記録されることが多い。にもかかわらず、そうした物質でも毒性を示すことがあり、毒性が認められなかった場合には、その結果が分類のために妥当であるとみなせるかの判断がなされなければならない。判断は慎重側に寄せるべきで、有害性を過小評価することがあってはならない。

A9.3.5.7.2 理想的には、適切な溶解技術を採用し、水に対する溶解度の範囲内で濃度を正確に測定した試験を採用すべきである。そのような試験データが入手できれば、他のデータより優先して用いるべきである。しかし、以前のデータを考慮する場合などは特に、毒性レベルが水に対する溶解度より上で記録されている物質や、溶解度が分析方法の検出限界より下で記録されている場合等が普通に見られる。したがって、この両者の状況では、測定されたデータから実際の暴露濃度を検証することはできない。分類するのに、そのようなデータしか入手できない場合には、一般的な手引きとして以下のような実用的な規則が考えられる。

- (a) 急性毒性が水に対する溶解度より上の濃度で記録されている場合、分類目的での $L(E)C_{50}$ は水に対する溶解度の測定値以下であると考えてよい。その場合、慢性区分1または急性区分1の各区分を適用すべきであると思われる。この決定をする際、溶けなかった過剰の物質が試験生物体に物理的な影響を及ぼした可能性に十分注意を払うべきである。

そのことが観察された影響の原因であると思われた場合には、その試験は分類のためには妥当でないとみなすべきである。

- (b) 水に対する溶解度より上のレベルでも急性毒性が記録されていない場合、分類のための $L(E)C_{50}$ は水に対する溶解度測定値より大きいとみなしてよい。その場合、慢性区分 4 を指定すべきかどうかについて検討すべきである。その物質は急性毒性を示さないという判定をする際には、最大の溶解濃度を達成するのに用いた手段について十分な配慮がなされるべきである。その手段が適切であるとみなせない場合には、その試験は分類目的には妥当でないと考えるべきである。
- (c) 水に対する溶解度がその分析法の検出限界より低く、かつ急性毒性が記録されている場合には、分類のための $L(E)C_{50}$ は分析の検出限界より小さいとみなしてよい。毒性が記録されていない場合には、分類のための $L(E)C_{50}$ は水に対する溶解度より大きいとみなしてよい。上述の品質判定基準には十分な考慮を払うべきである。
- (d) 慢性毒性データが入手された場合には、同じ一般則を適用すべきである。原則として、水に対する溶解度で、または 1mg/l より上の濃度で、影響が認められないデータのみを考慮する必要がある。この場合にも、濃度測定の考察によってこうしたデータの妥当性を確認できないならば、最高溶解濃度の達成に用いた手段が適切なものであるか検討しなければならない。

A9.3.5.8 濃度低下に関与するその他の要因

その他にも多くの要因が、濃度低下に関与している可能性があり、正しい試験の設計により回避できる要因もあるが、こうした要因が関与したデータを解釈しなければならない場合がしばしばある。

- (a) 沈殿：これはさまざまな理由によって、試験中に生じることがある。見かけ上粒子が見えなくとも、物質が実際には溶解しておらず、試験中に凝集して沈殿する、というのが一般的な説明である。この場合、分類のための $L(E)C_{50}$ は試験終了時の濃度に基づくと考えてよい。同様に、媒体との反応により沈殿が生じることもある。このことについては、上述の不安定さのところで考察した。
- (b) 吸着：これはたとえば $\log K_{ow}$ 値の大きい物質等、吸着性の高い物質で起こる。これが起こるときは濃度低下が通常速やかであり、暴露は試験終了時の濃度で最もよく記述できる。
- (c) 生物蓄積：物質が試験生物体内に蓄積することで濃度低下が起こることがある。水に対する溶解度が低く、それに関連して $\log K_{ow}$ が高い場合には特に重要であろう。分類のための $L(E)C_{50}$ は、試験の開始時濃度および終了時濃度の幾何平均値から計算してもよいであろう。

A9.3.5.9 試験媒体の変動

A9.3.5.9.1 強酸および強塩基は pH を変化させるので、有毒であるように思われるかもしれない。しかし一般に、水系での pH 変化は試験媒体の緩衝システムによって阻止されるのが普通である。塩についてのデータが得られていないならば、その塩は一般に陽イオンまたは陰イオンと同じ様に、すなわち最も厳しい分類がなされたイオンと同じに、分類される。作用濃度がイオン種のうち 1 種類だけに関係しているならば、その塩の分類では、作用濃度に分子量の比 ($MW_{\text{salt}}/MW_{\text{ion}}$) を掛けて補正することで、分子量の差を考慮に加えるべきである。

A9.3.5.9.2 ポリマーは一般に水系では利用性はない。分散性ポリマーその他の高分子量物質は、試験系を攪乱して酸素取り込みを妨害し、機械的または二次的な影響を生じる。これらの物質のデータを検討する際には、このような要因を考慮する必要がある。しかし、ポリマーの多くは複合物質のように挙動し、原体ポリマーから浸出するかなり分子量の低い画分を有する。これについては、以下に考察する。

A9.3.5.10 複合物質

A9.3.5.10.1 複合物質は、しばしば同族の系列である一定範囲の化学構造で特徴づけられるが、水に対する溶解度、その他の物理化学的性質は広範囲にわたる。水に添加すると、溶解した部分と溶解していない部分の間で平衡に達するが、これは物質の負荷量によって決定される。この理由により、このような複合物質は通常 **WSF** または **WAF** として試験され、**L(E)C₅₀** は添加濃度または設定濃度をもとに記録される。溶解部分はそれ自体が各成分の複雑な混合物なので、分析上のサポートデータは入手できないことが多い。この毒性パラメータは時に致死添加濃度に関連した **LL₅₀** で表される。**WSF** または **WAF** から得られるこの添加レベルは、直接分類基準に用いてもよい。

A9.3.5.10.2 ポリマーは特別な種類の複合物質の代表であり、ポリマーの種類および溶解／分散挙動についての考察が必要である。ポリマーは、変化せずそのままの形で溶解することもあれば（真の溶解度は粒子サイズに関係している）、分散することや、または低分子量画分で構成される部分が溶液となることもある。最後のケースでは、ポリマーの試験は、低分子量物質が原体ポリマーから浸出する可能性、およびこの浸出物が毒性かどうかの試験となる。したがって、ポリマー添加量がそれによって生じる浸出物の特性を最も適切に決定し、これによって毒性はこの添加量に関連づけられる点で、複合混合物の場合と同じように考えることができる。

表 A9.3.1 試験困難な物質の分類

特性	困難さの内容	分類のための妥当性
水に対する溶解度が低い	求められる暴露濃度の達成／維持。 暴露濃度の分析。	見かけ上の溶解度より上の濃度で毒性反応が認められている場合には、影響が化学物質の毒性によるものか、または物理的影響によるものかを確認するのに専門家の判断が求められる。影響は認められない場合には、完全に飽和溶解度が達成されていることを示す必要がある。
低濃度で毒性	求められる暴露濃度の達成／維持。暴露濃度の分析。	毒性値が 1mg/1 未満である場合にこれに分類される
揮散性	暴露濃度の維持および分析。	信頼のおける濃度測定値をもとに分類すること。
光分解性	暴露濃度の維持。 分解生成物の毒性。	分類には専門家の判断が必要であり、測定濃度をもとに分類すること。主要な分解生成物の毒性を判定すること。
加水分解性で不安定	暴露濃度の維持。分解生成物の毒性。分解半減期を試験で採用している暴露方式と比較すること。	分類には専門家の判断が必要であり、測定濃度をもとに分類すること。また主要な分解生成物の毒性を取りあげる必要性あり。
酸化性	暴露濃度の達成、維持および測定。化学構造の変化した物質、または分解生成物の毒性。分解半減期を試験で採用している暴露方式と比較すること。	分類には専門家の判断が必要であり、測定濃度をもとに分類すること。また主要な分解生成物の毒性を取りあげる必要性あり。
腐食／変換を受ける (金属／金属化合物について)	暴露濃度の達成、維持および測定。 水相からの分配の半減期と試験で採用している暴露方式の比較。	分類には専門家の判断が必要であり、測定濃度をもとに分類すること。また主要な分解生成物の毒性を取りあげる必要性あり。
生分解性	暴露濃度の維持。分解生成物の毒性。分解の半減期と試験で採用している暴露方式の比較。	分類には専門家の判断が必要であり、測定濃度をもとに分類すること。また主要な分解生成物の毒性を取りあげる必要性あり。
吸着性	暴露濃度の維持。暴露濃度の分析。被験物質の利用可能性の減少による毒性の低下。	分類は利用性のある物質の測定濃度をもとに行うこと。
キレート化	媒体中のキレート化画分およびキレート化していない部分の区別。	分類は生物学的利用性のある物質の生長阻害をもとに行うこと。
着色	光の減衰（藻類では問題）	分類では、毒性作用を、光量の減衰による生長阻害と区別しなければならない。
疎水性	暴露濃度を一定に維持すること。	分類では測定濃度を用いること。
イオン化	暴露濃度の維持。分解生成物の毒性。分解半減期と試験に用いた暴露方式の比較。	分類には専門家の判断が必要であり、測定濃度をもとに分類すること。また主要な分解生成物の毒性を取りあげる必要性あり。
多成分物質	代表的な試験バッチの調製。	複合混合物と同一として考慮すべきである。

A9.3.6 データの質の解釈

A9.3.6.1 標準化

水生生物を用いた毒性試験の結果に影響を及ぼす要因は多い。たとえば、試験水の性質、実験の設計、被験物質の化学的性質、および試験生物種の生物学的性質等がある。したがって、水生毒性試験を実施する際には標準化された試験手順を採用して、こうした非本質的な変動の影響を減らすことが重要である。試験を標準化する、またこれらの標準を国際的に調和させる目的は、試験の変動性を減少させ、試験結果の正確性、再現性および一貫性を改善することである。

A9.3.6.2 データの序列

A9.3.6.2.1 分類は、高品質の一次データに基づくべきである。OECD テストガイドラインまたはそれと同等のもの、および優良試験所実施基準 (GLP) に従ったデータが最も望ましい。標準的な試験生物種を用いて実施された国際的に調和された試験法から得られるデータの方が望ましいが、広く承認されている国際的または国内の試験方法またはそれと同等の方法、たとえば ISO または ASTM で規定された方法で実施された試験の結果もまた使用してもよい。承認されたガイドラインに従っているようでも、GLP への対応に欠けている試験から得られたデータも、適切な GLP データが無い場合には使用してよい。

A9.3.6.2.2 Pedersen ら (1995) はデータ品質を得点付けするシステムを提案しているが、これは例えば US-EPA によって AQUIRE データベースに使用されているような、その他多くの現用システムと互換性がある。データの品質についての考察は Mensink ら (1995) も参照のこと。Pedersen らが報告しているデータ品質得点付けシステムは信頼性ランキングスキームを含んでいるが、これは本調和スキームに従って分類する際に用いるモデルとなり得る。Pedersen の述べている最初の三段階のデータは、優先データに関するものである。

A9.3.6.2.3 本調和スキームのもとでの分類のためのデータは、一次情報源から得られているべきである。しかし、多くの国家や規制所管官庁は、世界的に調和されたスキームにより分類を実施するので、分類では国家所管官庁および専門家パネルのレビューを採用する余地を持たせるべきである。ただしこのレビューは一次データ源にもとづいている必要がある。こうしたレビューには、証拠の重みおよびなされる分類決定のために、十分に詳述された試験条件の要約を含むべきである。たとえば一次データの入手が可能な GESAMP 等の、実績の認められたグループによって作成されたレビューを用いることもできよう。

A9.3.6.2.4 実験に基づいた試験データが無い場合には、水生毒性に関する定量的構造活性相関 (QSAR) を用いてもよい。試験データが有効である場合には、常に QSAR より優先される。

A9.4 分解性

A9.4.1 序

A9.4.1.1 分解性は、化学物質の環境に対する潜在的有害性を決定する、重要な本質的特性の一つである。非分解性物質は環境中に残留し、結果として生物相に対する長期的な有害作用の可能性を有している。反対に、分解性の物質は、下水、污水处理施設、または環境中で除去されるであろう。

化学物質の分類は主に物質の本来の性質に基づいて行われる。しかし分解の程度は、分子本来の抵抗性だけでなく、物質を受け入れる環境コンパートメントの実際の条件、たとえば酸化還元電位、pH、適切な微生物の存在、物質の濃度、および他の基質の存在と濃度に依存する。したがって、水生有害性を分類する観点から分解性について解釈するには、その物質本来の特性と環境中で優先する状態とを比較考慮して、長期的な有害影響の可能性に関する結論を導く、詳細な判定基準が必要である。この節の目的は、有機物質の分解性に関するデータを解釈するための手引きを提示することである。この手引きは、水生環境における分解に関する上述の見地の分析に基づいている。この手引きをもとに、既存の分解性データを物質の分類目的に使用するための、詳細な判定スキームが提案されている。本手引きに含まれる分解性データのタイプは、易生分解性データ、水中、底質中および土壌中での物質変換に関するシミュレーションデータ、BOD₅/COD データ、ならびに水生環境における急速分解性を評価する技術である。さらに、嫌氣的分解性、本質的生分解性、下水処理施設シミュレーション試験データ、加水分解や光分解等の非生物的物质変換データ、揮散等の除去プロセス、また最後には野外研究やモニタリング調査から得られたデータについても考察している。

A9.4.1.2 分解という用語は 4.1 章に、有機分子がより小さい分子に、最終的には二酸化炭素、水および塩類に分解すること、と定義されている。無機化合物および金属については、有機化合物に適用される分解性の概念は、その意味が限られるか、または意味をもたない。むしろ物質は、通常的环境プロセスで変換されて、毒性分子種の生物学的利用性を増加させることもあれば、低下させることもある。したがってこの節では、有機物質および有機金属のみを扱う。水相からの環境中への分配については A9.7 節で述べる。

A9.4.1.3 物質の分解性に関するデータは、標準化された試験によって、またはその他の研究から入手されるし、分子構造から推定できることもある。こうした分解性データを分類の目的で解釈するには、試験データの詳しい評価が必要とされることが多い。手引きについてはこの節に示し、さらに詳しいことは、利用できる方法について（付属資料 A9.I）、および水生環境での分解に影響する要因について（付属資料 A9.II）説明している二つの付属資料に見出すことができる。

A9.4.2 分解性データの解釈

A9.4.2.1 急速分解性

化学物質の水生有害性の分類は通常、それらの物質の環境特性に関する既存データをもとに行われる。分類を促進することを主な目的として試験データが提供されることはまれにしかない。広範囲に及ぶデータが揃っていても、分類基準に必ずしも直接適合するわけではないことがほとんどである。結果的に、既存の試験データを水生有害性の分類と関係付けて解釈することに関する手引きが必要とされる。調和された判定基準にもとづいて、分解データを解釈するための手引きが、下記のように水生環境における「急速分解性」という表現によりあらわされる 3 種類のデータについて作成された（A9.1.8, A9.1.9, A9.1.2.3.1 から A9.1.2.3.3 ならびに 4.1 章 4.1.2.10.3 を参照）。

A9.4.2.2 易生分解性

A9.4.2.2.1 易生分解性については、OECD テストガイドライン No.301 (OECD, 1992)に定義されている。標準的な OECD の易生分解性試験または同様な試験での易生分解性とされるレベルよりも高いレベルで分解する有機化合物はすべて易生分解性であり、したがって急速分解性でもあるとみなされるべきである。しかし文献にある試験データの多くは、その試験が易生分解性試験の要件を満たしていることを証明するために評価されるべきすべての条件を、特定しているとは限らない。したがって、データを分類の目的で使用する前に、その有意性に関して専門家による判断が必要とされる。しかし、被験物質の易生分解性について結論づける前に、少なくとも下記のパラメータについて考慮すべきである。

A9.4.2.2.2 被験物質の濃度

OECD の易生分解性試験では比較的高い被験物質濃度が用いられている (2–100mg/l)。しかし多くの物質は、このように高い試験濃度では植種源に対して毒性となり、より低い非毒性濃度条件では速やかに分解するのに、この試験では分解性が低くなることがある。微生物を用いる毒性試験 (例えば OECD テストガイドライン 209 活性汚泥呼吸阻害試験、ISO 9509 硝化阻害試験、または ISO 11348 発光バクテリア阻害試験) で被験物質の毒性を実証してもよい。ある物質について、阻害が易分解性でないことの理由となっていると思われる場合には、可能なら被験物質について、より低い無毒性濃度を採用した試験の結果を採用すべきである。環境的に現実に近い微生物相と被験物質を現実的な非毒性低濃度で用いた、河川水分解試験ができるなら一般に望ましいとされるが、上に述べたような低濃度試験の結果を、ケースバイケースで、急速分解性の分類基準に関して考慮することもできよう。

A9.4.2.2.3 時間ウィンドウ

調和された判定基準には、易生分解性試験すべてについて、10 日間以内に易生分解性とされるレベルを達成するという一般的要件が含まれている。これは、MITI I 試験(OECD テストガイドライン 301C) 以外の OECD 易生分解性試験 (OECD テストガイドライン 301) に 10 日間の時間ウィンドウが適用されるということと一致していない。クローズドボトル試験 (OECD テストガイドライン 301D) では、10 日後に測定されなかった時には、かわりに 14 日間の時間ウィンドウを採用してもよい。さらに、生分解性試験に関して限られた情報しか入手できないことが多い。したがって、実用的なアプローチとして、10 日間の時間ウィンドウについて情報が得られない場合には、28 日後に達成された分解率 (%) を易生分解性評価に直接採用することもある。ただし、このことは既存の試験データ、および 10 日間のウィンドウが適用されない試験で得られたデータに対してのみ、受け入れられるべきである。

A9.4.2.3 BOD₅/COD

5 日間生化学的酸素要求量 (BOD₅) に関する情報は、他に分解性に関する測定データが得られていない場合にのみ、分類の目的で使用されよう。このように易生分解性試験や、水生環境中での分解性に関するシミュレーション試験から得られるデータの方が優先される。BOD₅ 試験は伝統的な生分解性試験であり、現在では易生分解性試験によって、とって替わられている。したがって、BOD₅ 試験は今日、物質の易生分解性を評価するために実施するべきではない。しかし、他に分解性データが入手できない場合には、古い試験データが用いられることもある。化学構造がわかっている物質については理論的酸素要求量 (ThOD) を計算でき、この数値の方を化学的酸素要求量 (COD) の代わりに用いるべきである。

A9.4.2.4 その他説得力ある科学的証拠

A9.4.2.4.1 水生環境での急速分解性は、4.1 章 4.1.2.10.3(a)および(b)で参照される以外のデータによって証明されることもある。そのデータは、生分解性および/または非生分解性のデータでありうる。一次分解に関するデータは、分解生成物が水生環境に対して有害であると分類されない、すなわちこれらが分類基準を満たさないことを、証明できる場合にのみ使用できる。

A9.4.2.4.2 4.1章 4.1.2.10.3の判定基準(c)を満たすには、その物質が水生環境において28日以内70%より高いレベルで分解する必要がある。ほとんどの水生環境では物質濃度が低いことが多いので合理的なことであるが、一次の反応速度を推定すると、分解速度は28日間の間、比較的一定になる。したがって、分解に関する要件は、平均の分解速度定数 $k > -(\ln 0.3 - \ln 1) / 28 = 0.043 / \text{day}$ で満たされる。これは分解の半減期 $t_{1/2} < \ln 2 / 0.043 = 16$ 日に相当する。

A9.4.2.4.3 さらに、分解プロセスは温度依存的であるため、環境中での分解を推定する際には、このパラメータも考慮すべきである。環境的に現実に即した温度を採用した試験から得られたデータを評価に用いるべきである。いろいろな温度で実施された試験から得られたデータを比較する必要がある場合、伝統的な Q_{10} アプローチを用いてもよい。すなわち、温度が 10°C 低下する毎に分解速度を半分にするのである。

A9.4.2.4.4 データがこの判定基準を満たしているかの評価は、ケースバイケースで、専門家の判断で行うべきである。しかし、水生環境における急速分解性を証明するのに用いられる可能性のある多様なタイプのデータを解釈するための手引きを下記に示す。一般に、水中での生分解シミュレーション試験から得られたデータだけが直接適用できると考えられている。しかし、他の環境コンパートメントから得られたシミュレーション試験データも同様に考慮してもよいが、そのようなデータは一般に、使用する前により多くの科学的な判断が必要となる。

A9.4.2.4.5 水中シミュレーション試験

水中シミュレーション試験は実験室内で実施される試験であるが、環境条件をシミュレートし、自然サンプルを植種原として用いる。水中シミュレーション試験の結果は、河川での現実に近い環境条件をシミュレートしている場合、すなわち以下のような場合には直接、分類のために採用してよい。

- (a) 物質濃度が一般的な水生環境に対して現実的である（数 $\mu\text{g/l}$ の範囲にあることが多い）、
- (b) 関連した水生環境からの植種原を用いている、
- (c) 植種原の濃度が現実的である（1mlあたり生菌数 $10^3 - 10^6$ 個）、
- (d) 温度が現実的である（例えば、 $5^{\circ}\text{C} - 25^{\circ}\text{C}$ ）、および
- (e) 究極の分解まで測定されている（すなわち、無機化度、または生分解経路全体での個々の分解度の測定）。

こうした条件下で28日間に少なくとも70%分解される物質、すなわち半減期が16日間より短い物質は急速分解性であると考えられる。

A9.4.2.4.6 野外調査

実験室でのシミュレーション試験に匹敵するものは、野外調査、あるいはメソコスムでの実験である。そのような研究では、環境中または環境閉鎖系における化学物質の運命または影響が調査されることもある。こうした実験から得られた運命データが、急速分解性の可能性を評価するのに用いられることもある。しかしそれは、究極分解することが実証できる必要があるため、困難なことが多い。このことは、非分解性中間体は生じないことを示す物質収支を作成し、他のプロセス、たとえば底質への吸着や水生環境からの揮散によって、水系システムから失われる部分を考慮すれば証拠付けできるかもしれない。

A9.4.2.4.7 モニタリングデータ

モニタリングデータは、水生環境からの汚染物の除去を示すかもしれない。しかし、こうしたデータを分類の目的で使用することは非常に難しい。使用する前に、以下の観点で検討すべきである。

- (a) この除去は分解の結果なのか、あるいは、希釈、コンパートメント間の分配（吸着、揮散）等、他のプロセスの結果であるのか？
- (b) 非分解性中間体が生成することはないか？

究極分解の結果である除去が、急速分解性の判断基準を満たすことを証明できる場合のみ、こうしたデータを分類の目的で使用するのを考慮すべきである。一般に、モニタリングデータは、水生環境中の難分解性または急速分解性を証明する裏付け証拠としてのみ用いるべきである。

A9.4.2.4.8 本質的生分解性試験

本質的生分解性に関する試験（OECD テストガイドライン 302）で 70%以上の分解をする物質は、究極生分解性の可能性がある。しかし、こうした試験では最適条件を採用しているため、本質的に生分解性のある物質でも、環境中で急速分解性があるとは推論できない。本質的生分解性試験で最適条件を使用すれば、微生物の馴化が誘発され、自然環境に比べて生分解性が向上する。したがって一般に、陽性結果が得られても、環境中での急速分解性の証拠と解釈すべきでない²。

A9.4.2.4.9 下水処理施設シミュレーション試験

下水処理施設（STP）内の条件をシミュレートする試験（例えば OECD テストガイドライン 303）から得られた結果は、水生環境中での分解を評価するには使用できない。その主な理由は、STP における微生物相は環境中の生物相とは著しく異なっていること、基質組成にかなりの違いがあること、および廃水中に存在する速やかに無機化される有機物が共代謝によって被験物質の分解を促進すること、である。

A9.4.2.4.10 土壌および底質中の分解データ

非吸着性の物質（すなわち非親油性物質）は、程度に多少差はあるものの、土壌中と表層水中とで同様の分解度が見られると主張されてきた。親油性物質では、吸着による部分的な不動化のために、水中より土壌中の方が一般に分解度が低いと予想される。このため、土壌中シミュレーション試験で、ある物質が急速分解性であることが認められた場合、水生環境でも急速分解性である可能性がきわめて高い。したがって、土壌中での急速分解性が実験的に測定されることは、以下の場合には、表層水中での急速分解性の十分な証拠となると提案されている。

- (a) 土壌微生物の事前の暴露（事前の馴化）を行わなかった、
- (b) 試験した物質の濃度は環境的に現実に即したものである。
- (c) その物質は 28 日間以内に半減期 16 日未満（分解速度定数 $>0.043 \text{ day}^{-1}$ に相当）で究極分解に至る。

² 慢性区分 4 に関する OECD 判定基準にそった分解性の解釈について、環境有害性分類に関する EU の作業班が検討しているが、それは本質的生分解性試験によるある種のデータを、分類基準を満たしていても、ケースバイケースで分類しないという根拠に使用できるかどうかということである。

関連した本質的生分解性試験には Zahn Wellen 試験 (OECD TG 302 B) と MITI II 試験 (OECD TG 302 C) がある。使用条件は以下のとおりである。

- (a) 事前に暴露した（適応した）微生物を用いてはならない。
- (b) それぞれの試験において、適応時間は限られるべきであり、試験の指標は無機化であり、合格レベルおよびそれに到達する時間はそれぞれ以下のものである。
 - (i) MITI II 合格レベル $>60\%$ (14 日以内)
 - (ii) Zahn Wellen 試験 $>70\%$ (14 日以内)

底質中における好氣的条件下での分解に関するデータについても、同様な論拠が有効であると考えられている。

A9.4.2.4.11 嫌氣的分解性データ

嫌氣的分解に関するデータは、ある物質を急速分解性であるとみなすべきかを決定するには使用できない。一般に水生環境は、その中に水生有害性分類に採用されているような水生生物種が生活している、好氣的コンパートメントであるとみなされているからである。

A9.4.2.4.12 加水分解

加水分解に関するデータ（例：OECD テストガイドライン 111）は、pH4-pH9 の範囲内で測定された半減期 $t_{1/2}$ の最高値が 16 日より短い場合にのみ、分類において考慮できよう。しかし、加水分解は究極分解ではなく、様々な分解中間生成物が形成され、その中には分解が遅いものもあろう。生成された加水分解生成物が、水生環境に有害であるとする分類基準を満たさないと満足に証明できる場合のみ、加水分解試験のデータを考慮できる。

ある物質が急速に加水分解されるならば（例えば $t_{1/2} < 2,3$ 日）、このプロセスは生分解性試験で測定される分解の一部となる。加水分解は生分解における物質変換の初期プロセスでありうる。

A9.4.2.4.13 光化学的分解

光化学的分解に関する情報（例えば OECD, 1997）を分類の目的で使用するのには難しい。水生環境での実際の光化学的分解度は、局所条件（例えば水深、懸濁固体、濁度）に依存し、分解生成物の有害性は通常わからない。光化学的分解をもとに徹底した評価のための十分な情報が得られることは、おそらく極めて稀である。

A9.4.2.4.14 分解の推定

A9.4.2.4.14.1 加水分解の半減期を概算で予測するために、ある種の QSAR が開発されているが、これは実験データが全く入手できない場合にのみ考慮されるべきである。しかし、加水分解は究極分解を考慮していないので（この節の「加水分解」参照）、加水分解の半減期は、細心の注意を払ってのみ、分類に関して使用できる。さらに、これまでに考案された QSAR はその適用性にはやや限界があり、限られた数の化合物群についてしか加水分解ポテンシャルを予測できない。たとえば、HYDROWIN（バージョン 1.67、Syracuse Research Corporation）という QSAR プログラムは、分子構造が（正確に）決定された既存 EU 化学物質の 1/5 未満の物質しか加水分解ポテンシャルを推測できない。（Niemelae 2000）

A9.4.2.4.14.2 一般に、有機物質の生分解度を推定する定量的評価法（QSAR）はまだ、急速分解性を予測するには精度が不十分である。しかし、こうした方法により得られた結果は、ある物質が急速分解性でないことを予測するのに使ってもよい。たとえば、生分解確率プログラム（例：BIOWIN バージョン 3.67、Syracuse Research Corporation）で、線形あるいは非線形の方法で推定された確率が 0.5 未満である場合、その物質は急速分解性ではないとみなされるべきである（OECD, 1994; Pedersen ら、1995 および Langenberg ら、1996）。さらに、たとえば構造が類似している物質の分解データが入手された場合は、専門家の判断に加えてその他の(Q)SAR 法を用いることもできるが、その判断は細心の注意を払って行うべきである。一般に、有用な分解データが入手できない場合に、デフォルトの分類を適用するよりも、物質が急速分解性ではないという QSAR による予測の方が、分類のためにはよりよい考証であるとみなされている。

A9.4.2.4.15 揮散

化学物質が水生環境から揮散によって除去されることもある。揮散の本質的なポテンシャルは、その物質のヘンリー定数（H）により決定される。水生環境からの揮散は、問題となっている特定の水系の環境条件、たとえば水深、（風速および水流量に依存する）ガス交換係数、および水本体の層構造などに高度に依存している。揮散は水相からの物質除去の一例でしかないので、物質の水生有害性の分類に関する分解評価に、ヘンリー定数を使用することはできない。しかし、たとえば環境温度で気体であるような物質については、この観点でさらに検討されてもよい（Pedersen ら、1995 も参照のこと）。

A9.4.2.5 分解データが入手できない場合

分解性に関する有用なデータが入手されていない場合 — 実験による測定データか、推定データかにかかわらず — その物質は急速分解性ではないとみなすべきである。

A9.4.3 解釈についての一般的な問題

A9.4.3.1 複雑な物質

化学物質を水生環境に対して有害であると分類するための、調和された判定基準は単一の物質に焦点を合わせている。ある種の本質的な複合物質は、多成分物質である。これらの典型的なものは自然起源であるが、時には考慮に加える必要がある。鉱物油または植物材料から生成または抽出された物質がその例である。こうした複雑な物質は、規制の場合には通常、単一物質とみなされる。ほとんどの場合、これらは炭素鎖の長さまたは置換度が一定範囲内にある類似物質群として定義されている。そのような場合、分解性が大きく異なることは予想されず、分解度は、その複合物質についての諸試験で確定される。ただ一つ例外は分解に境界線が見出される場合で、なぜならこの場合、個々の物質のあるものは急速に分解し、他のものは急速には分解しないからである。その場合、複合物質に含まれる個々の成分の分解性をより詳しく評価する必要がある。それほど急速分解性をもたない成分がその複合物質の相当部分を占める場合（例えば 20%以上、または有害成分の場合はより低い含量）には、その物質は急速分解性ではないとみなされるべきである。

A9.4.3.2 物質の適用性

A9.4.3.2.1 環境中で有機物質の分解が起こるのは、水系コンパートメント中か、または土壌あるいは底質の水相中においてである。もちろん加水分解には水の存在が必要である。微生物の活動性は、水の存在に依存する。さらに、生分解には微生物が物質と直接接触する必要がある。したがって、微生物を取り巻いている水相中での物質の溶解は、バクテリアや菌類および基質と接触する、最も直接的な方法である。

A9.4.3.2.2 化学物質の分解性を調べるための現行の標準的な方法は、易溶解性の被験物質のために開発されている。しかし、有機物質の多くは水に僅かしか溶解しない。標準的な試験では被験物質濃度として 2–100mg/l が要求されるので、水への溶解度が低い物質については十分な利用性が満たされていないことがある。連続的に混合を続ける、または暴露時間を延長する試験、あるいは水に対する溶解度よりも低い物質濃度が採用されている特殊な設計の試験法ならば、僅かにしか溶解しない化合物にも適用できるかもしれない。

A9.4.3.3 28 日より短い試験期間

A9.4.3.3.1 基準（例えば MITI, 1992）に規定された 28 日間以前に終了した試験で分解が報告されることもある。もちろん、こうしたデータも、易生分解性とされるレベル以上の分解が達成されているならば、直接、適用できる。分解レベルがそれより低い場合には、その結果は注意して解釈しなければならない。

一つの可能性は、試験期間が短すぎたということ、そして 28 日の生分解性試験でなら、おそらく化学構造が分解されていたであろう、ということである。短期間で本質的な分解が起こるならば、そうした状況は $BOD_5/COD \geq 0.5$ という判定基準、または 10 日間の時間ウィンドウ内での分解に関する要件と比較できよう。そのような場合には、以下のいずれかの条件が合えば、物質は易分解性（したがって、急速分解性）であるとみなしてもよい。

(a) 究極生分解性が 5 日間で 50%を超える、または

(b) この期間中の究極分解の速度定数が 0.1 day^{-1} （半減期 7 日間に相当）より大きい。

A9.4.3.3.2 こうした判定基準は、試験が 28 日以前に、かつ易生分解性とされるレベルに達する前に終了されても、速やかな無機化が起こったのだということを確認するために提案されている。易生分解性とされる規定されたレベルに従っていない試験データの解釈は、細心の注意を払ってなさなければならない。易生分解性とされるレベルより低い生分解性となったのは、その物質の部分分解によるものであり、完全な無機化によるものでないのかどうかを検討することが不可欠である。観察された生分解性について、部分分解が可能性のある解釈であるなら、その物質は易生分解性であるとみなすべきではない。

A9.4.3.4 一次生分解

一部の試験においては、例えば被験物質に特異的な、または被験物質を含む物質集団に特異的な化学分析によって分解を追跡するような、親化合物の消失（すなわち、一次分解）のみを測定する。一次生分解性に関するデータは、生じた分解生成物が水生環境に対して有害であるとする分類基準に適合しないことが十分に証明できる場合にのみ、急速分解性の証拠に使用してよい。

A9.4.3.5 スクリーニング試験での矛盾する結果

A9.4.3.5.1 同一の物質に関して多くの分解データが入手されている状況では、結果が矛盾する可能性が生じる。一般に、ある物質について 1 種類の適切な生分解性試験を何回か実施して得られた結果が矛盾していた場合、「証拠の重みアプローチ」による解釈ができる。これはすなわち、ある物質に対して易生分解性試験で陽性（すなわち、易生分解性とされるレベルよりも高い分解性）と陰性の両方の結果が得られたならば、その物質の易生分解性を判定するのに、品質が最も高く、記録証拠が最も適切なデータを使用すべきであることを意味している。しかし、たとえ陰性結果も得られていたとしても、科学的品質が良好で試験条件がよく記録されている、すなわち事前に暴露されていない（非馴化の）植種原を使用することも含めて、ガイドラインの判定基準が充足されているならば、易生分解性試験における陽性結果の方が有意であると考えられることもできる。様々なスクリーニング方法のどれ一つとして、すべてのタイプの物質を試験するのには適してない。ある特定の物質に適していない試験手順を用いて得られた結果は、採用を判定する前に、注意して評価すべきである。

A9.4.3.5.2 このように、スクリーニング試験から得られた矛盾した生分解性データを説明する、以下のような多くの要因がある。

(a) 植種原

(b) 被験物質の毒性

(c) 試験条件

(d) 被験物質の溶解度

(e) 被験物質の揮散

A9.4.3.5.3 被験物質の分解に植種原がどの程度適しているかは、能力のある分解者の存在と量に依存する。植種原がその被験物質に暴露されたことのある環境から採取されている場合、その植種原が馴化しているかもしれない、そのことは、暴露されていない環境から採取した植種原より分解能力が大きいことで証拠立てられる。植種原は可能な限り非暴露環境から採取しなければならないが、物質が普遍的・大

量に使用されていて、広くまたはある程度継続的に放出されている場合には、非暴露環境からの採取は困難であるか、または不可能である。結果が矛盾しているならば、その微生物集団の馴化度の違いが原因となっているかどうかを明らかにするために、植種原の起源を確認すべきである。

A9.4.3.5.4 先に述べたように、多くの物質は、易生分解性試験での比較的高い試験濃度で、植種原に対して毒性または阻害作用を示す。特に修正 MITI (I) 試験 (OECD テストガイドライン 301C) およびマノメータ呼吸測定試験 (OECD テストガイドライン 301F) では高い濃度 (100mg/l) が規定されている。最も低い試験濃度はクローズドボトル試験 (OECD テストガイドライン 301D) で規定されており、ここでは 2–10mg/l が用いられる。毒性作用の影響の可能性については、易生分解性試験に毒性対照を加えること、または試験濃度を微生物に対する毒性試験データと比較することで評価できよう。たとえば呼吸阻害試験 (OECD テストガイドライン 209)、硝化阻害試験 (ISO 9509)、またはその他の微生物毒性試験が使用できなければ、生物発光阻害試験 (ISO 11348) がある。矛盾する結果が見出された場合、その原因が被験物質の毒性であるかもしれない。その物質が環境的に現実性のある濃度で阻害しないならば、スクリーニング試験で測定した分解の最高値を分類の根拠として用いてよい。その場合にシミュレーション試験データが入手されているならば、こうしたデータを考慮することは特に重要である。なぜなら、そうしたデータならば、その物質が阻害を示さない低濃度が採用されているため、環境的に現実性のある条件下での、その物質の生分解半減期をより高い信頼性をもって示すことができるからである。

A9.4.3.5.5 被験物質の溶解度が試験で用いる濃度より低い場合、このパラメータは測定された実際の分解性に対して限定要因であるかもしれない。そのような場合、被験物質の濃度が最も低い試験、すなわち、クローズドボトル試験 (OECD テストガイドライン 301D) であることが多いが、その結果が優先されるべきである。一般に、溶解度が低い物質の生分解性を試験するには、DOC ダイアウエイ試験 (OECD テストガイドライン 301A) および修正 OECD スクリーニング試験 (OECD テストガイドライン 301E) は適切でない (例えば OECD テストガイドライン 301)。

A9.4.3.5.6 揮散性物質は、クローズドボトル試験 (OECD テストガイドライン 301D)、MITI (I) 試験 (OECD テストガイドライン 301C) およびマノメータ呼吸測定試験 (OECD テストガイドライン 301F) など、閉鎖系の試験系でのみ試験すべきである。その他の試験法による結果の評価には注意が必要であり、かつ、そうした結果は、たとえば物質収支推定値により、被験物質の移動が揮散によるものでないことを実証できる場合にのみ考慮すべきである。

A9.4.3.6 シミュレーション試験データにおける変動

ある種の優先度の高い化学物質については、多くのシミュレーション試験データが入手できよう。そうしたデータは、土壌、底質または表層水のような環境媒体中における一連の半減期を与えていることがしばしばある。同一の物質で実施されたシミュレーション試験で求められた半減期が異なっていることが観察された場合には、試験条件の違いが反映されていると考えられるが、そうした条件はいずれも環境的に適切なものである。分類には、証拠の重みアプローチを採用し、かつ採用した試験法がどの程度環境条件に関して現実的でありかつ関連性があるかを考慮して、そのような研究から得られた一連の半減期測定値のうち、大きい数値の方から適切な半減期を選択すべきである。一般に、水生環境中における急速分解性の評価に関しては、河川水のシミュレーション試験データの方が、水中の底質または土壌中でのシミュレーション試験データよりも望ましいとされる。

A9.4.4 判定スキーム

水生環境における急速分解性に関する判定、および水生環境に対して有害な化学物質の分類を促進するための一般的な手引きとして、下記の判定スキームが使用できよう。

以下の項目のうち、少なくとも一つを満たさなければ、物質は急速分解性ではないと考えられる。

- (a) その物質が、28 日間の易生分解性試験において、易生分解性であると証明される。入手された試験データから評価できる場合には、生分解開始から 10 日以内に試験の易生分解性とされるレベル (DOC 除去率 70%または理論的酸素要求量 60%) が達成される。それが可能でなければ、この易生分解性とされるレベルをできれば 14 日間の時間ウィンドウ以内、または試験終了後に評価すべきである。

- (b) 物質が表層水中のシミュレーション試験³で、半減期<16日(28日以内に70%より高い分解に相当する)で究極分解されることが証明される。
- (c) 物質が水生環境中において半減期<16日(28日以内に70%より高い分解に相当する)で初期段階の分解を受け(生分解ないし非生物分解によって)、かつ分解生成物は水生環境に対して有害であるという分類基準を充足しないことが証明できる。

上述のデータが入手できない場合、以下の判定基準のいずれかが立証されれば、急速分解性と認めてよい。

- (d) 底質中または土壌中のシミュレーション試験³で、物質が半減期<16日(28日以内に70%より高い分解に相当する)で究極分解されることが証明できる。
- (e) BOD₅およびCODデータしか入手できない場合、BOD₅/COD比が0.5以上である。さらに半減期が7日間未満であれば、28日間より短い期間で行う易生分解性試験にも同様な基準が適用される。

上述のどのタイプのデータも入手できないならば、その物質は急速分解性ではないとみなすべきである。この決定は、以下の判定基準のいずれかを満たすことで支持される。

- (i) 本質的生分解性試験で、その物質が本質的に分解性でないと認められる。
- (ii) 科学的に有意なQSAR、たとえばBiodegradation Probability Program、によって、その物質がゆっくり生分解されると予測され、急速分解性のスコアが(線形ないし非線形のモデルで)0.5未満である。
- (iii) 間接的証拠、たとえば構造的に類似した物質による知見から、その物質が急速分解性ではないと思われる。
- (iv) 分解性に関するその他のデータが入手できない。

³ シミュレーション試験は、低濃度の化学物質、現実的な温度さらに事前にその化学物質に暴露されていない環境中の微生物群を採用するなど、現実の環境条件を反映してはならない。