

A9.5 生物蓄積性

A9.5.1 序

A9.5.1.1 生物蓄積は、環境への潜在的有害性を決定する、化学物質本来の重要な特性の一つである。物質の生体内への生物蓄積それ自体は有害ではないが、生物濃縮および生物蓄積は、身体への負荷をもたらす、その結果、毒性影響が導かれたり、あるいは導かれなかったりする。化学物質の人の健康および環境への影響のための調和された統合有害性分類システム (OECD, 1998) では、「生物蓄積の可能性」という用語が与えられている。しかし生物濃縮と生物蓄積とは区別すべきである。ここでは、生物濃縮とは、水系での暴露による生物体内での物質の取り込み、変換および排泄の最終結果と定義されているのに対し、生物蓄積はすべての経路 (すなわち、空気、水、堆積物/土壌、および食物) の暴露を包含している。最後に、生物拡大は、栄養連鎖が高位であるほど生物の体内濃度が高くなるような、食物連鎖による物質の蓄積および移動と定義されている (European Commission, 1996)。ほとんどの有機物質では、水系からの取り込み (生物濃縮) が、支配的な取り込み経路であると信じられている。また、調和された分類基準は、生物濃縮係数 (またはオクタノール/水分配係数) を生物蓄積性の可能性の尺度として用いている。こうした理由により、今回の手引きは、生物濃縮性のみについて考察し、食物またはその他の経路による取り込みについては議論しない。

A9.5.1.2 化学物質の分類は、主にその本来の性質に基づいている。しかし生物濃縮度は、生物学的利用可能性、被験生物の生理学的状態、暴露濃度の定常的維持、暴露期間の長さ、被験生物の体内における代謝、および体内からの排泄等の要因によっても影響される。したがって化学物質を分類する関係で、生物濃縮性について解釈するには、物質本来の特性の評価と共に、生物濃縮係数 (BCF) を測定した実験条件の評価も必要である。指針に基づいて、分類のために生物濃縮データまたは $\log K_{ow}$ を適用するための判定スキームが開発されている。本節では有機化合物および有機金属を中心として論じる。金属の生物蓄積についても、A9.7 節で討論する。

A9.5.1.3 物質の生物濃縮性に関するデータは、標準的な試験から得られることもあれば、その分子構造から推定されることもある。分類を目的としたこれら生物濃縮性データの解釈には、試験データの詳細な評価がしばしば必要となる。この評価を容易にするために、二つの付属資料を加える。これらの付属資料は、採用できる試験方法について (附属書 9 付属資料 III)、および生物濃縮性に影響する要因について (附属書 9 付属資料 IV) 述べる。最後に、生物濃縮性および K_{ow} を測定するための標準的な実験方法のリスト (附属書 9 付属資料 V) および参考文献リスト (附属書 9 付属資料 VI) を添付する。

A9.5.2 生物濃縮性データの解釈

A9.5.2.1 化学物質の環境有害性分類は通常、その物質の環境特性に関する既存のデータに基づいている。分類を速やかに行うことを主な目的とした試験データは、稀にしか作成されない。広範な試験データが入手されることがしばしばあるが、それらは必ずしも分類判断基準に適合しない。したがって、有害性分類との関連で既存の試験データを解釈することについて手引きが必要になる。

A9.5.2.2 有機物質の生物濃縮性は、生物濃縮性実験によって実験的に測定できる。実験では、BCF は定常状態における水中濃度に対する生物体内濃度として測定されるか、または取り込み速度定数 (k_1) および排泄速度定数 (k_2) から推定される (OECD 305, 1996)。一般に、有機物質が生物濃縮する可能性は、主にその物質の親油性に関係している。親油性の尺度は n-オクタノール/水分配係数 (K_{ow}) であり、親油性の非イオン性有機物質において、生物体内で代謝または生物変換がわずかしか進行しない物質では、 K_{ow} は生物濃縮係数と関連づけられている。したがって K_{ow} 値は、 $\log BCF$ と $\log K_{ow}$ の間の経験的な関係に基づいて、有機物質の生物濃縮の推定にしばしば用いられる。ほとんどの有機物質に対しては、 K_{ow} 算出のための推定方法が利用できる。

このため、ある物質の生物濃縮性に関するデータは、(1) 実験的に測定する、(2) 実験的に測定された K_{ow} 値から推定する、または(3) 定量的構造活性相関 (QSAR) を用いて導かれた K_{ow} 値から推定する、ことによって求められる。こうしたデータの解釈に関する手引きについて、各化学物質族の評価に関する手引きと共に以下に示すが、これには特別の注意が必要である。

A9.5.2.3 生物濃縮係数 (BCF)

A9.5.2.3.1 生物濃縮係数は生物体内と、定常状態における周囲の媒体、この場合は水中との化学物質の濃度比（重量ベース）として定義される。したがって BCF は定常状態における濃度測定値として、実験的に導くことができる。しかし BCF は取り込みと排泄の一次反応速度定数の比としても計算でき、この方法でならば平衡状態を必要としない。

A9.5.2.3.2 魚類での生物濃縮を実験的に測定する各種のテストガイドラインが作成され採用されているが、最も一般的に適用されているのは OECD テストガイドライン (OECD 305, 1996) である。

A9.5.2.3.3 実験から導かれた高品質の BCF 値は、分類目的には最も望ましいとされ、その他の代替データ、たとえば K_{ow} 値等より優先される。

A9.5.2.3.4 高品質データとは、適用された試験法に関する有意性判定基準が満たされており、そしてそのことが記述されている、たとえば暴露濃度、酸素および温度に関する変数が一定に維持されていること、および定常状態に到達したことの記載がある、等として定義されている。的確な説明が記載され (例えば優良試験所規準 (GLP) による)、有意性判定基準が満たされていると確認できるなら、その実験は高品質の試験であるとみなされる。さらに、水中および魚組織中の化学物質とその代謝物を定量するために、適切な分析法を用いなくてはならない (詳細は付属資料 III 第 1 節参照)。

A9.5.2.3.5 低品質の、または品質が不明な BCF 値は、誤った、低すぎる値を与えるかもしれない。たとえば、魚および水中の被験物質の濃度測定値を適用しても、測定までの暴露時間が短すぎ、定常状態にまだ達してない場合がある (OECD 306 (1996) 「平衡達成時間の推定について」を参照)。したがって、このようなデータは使用前に注意して評価し、代わりに K_{ow} を採用することも検討すべきである。

A9.5.2.3.6 魚類についての BCF 値がない場合には、他の種の BCF 値に関する高品質データを用いてもよい (例えばムラサキイガイ、カキ、ホタテガイについて測定された BCF 値 (ASTM E 1022-94))。微細藻類の BCF 報告値は注意して使用すべきである。

A9.5.2.3.7 たとえば $\log K_{ow}$ 値が 6 より大きいような、高度に親油性の物質では、実験的に求めた BCF 値は $\log K_{ow}$ が大きいほど低くなる傾向がある。このような非線形性の概念的な説明は、主として、膜の浸透速度の減少、または体内脂質の大きな分子に対する溶解性の低下と関連づけられている。このようにして、生物体内ではこれらの物質の生物学的利用可能性および取り込みの低下が起こるのであろう。別の原因として、平衡に達しなかった、水相中の有機物に吸着したために生物学的利用可能性が低下した、および分析誤差等、実験技術上の要因が考えられる。このため、親油性が高い物質の BCF 値に関する実験データを評価する際は、親油性が低い方の物質より不確実性レベルがはるかに高いので、特に注意が必要である。

A9.5.2.3.8 異なった試験生物種における BCF

A9.5.2.3.8.1 分類に用いられる BCF 値は、全身についての測定に基づいている。すでに述べたように、分類に最適なデータとは、小型魚類を用いる OECD 305 試験法、またはこれと同等の国際的な方法によって導かれた BCF 値である。小型種では大型種よりも体重に対する鰓表面積の比が大きいため、大型種より小型種の方が早く定常状態に到達する。このため、BCF 報告値が定常状態における魚および水中の測定濃度のみをもとに決定されているときには、生物濃縮研究に用いられる生物 (魚類) のサイズは、取り込み段階に要する時間との関係で非常に重要である。

したがって、たとえばサケの成魚等、大型魚類を生物濃縮試験に使っているときには、取り込み期間が十分に長く、定常状態が達成されているかどうか、または動力学的な取り込み速度定数が正確に決定できるような一定の状態にあるかを評価すべきである。

A9.5.2.3.8.2 さらに、分類に既存データを用いる場合には、何か他の魚種または他の水生生物種（例えばアサリ）から、および魚のいろいろな臓器について、BCF 値が求められていることがある。そこで、こうしたデータを相互に、また判定基準と比較するための、何らかの共通の基盤または標準化が必要となるであろう。魚あるいは他の水生生物の体内脂質含量と、BCF 測定値の間には密接な関係があることが認められている。したがって、異なった魚種の間で BCF 値を比較する場合、または特定臓器についての BCF 値を全身の BCF 値に換算する場合、BCF 値を共通の脂質含量に対して表現することが一般的なアプローチである。もし例えば、文献中に全身の BCF 値または特定臓器の BCF が示されているならば、その魚類中または臓器の相対的な脂質含量（試験動物種の代表的な脂質含量に関する文献/テストガイドライン参照のこと）を用いて、脂質含量%に対する BCF 値を算出することが第一段階である。第二段階では、共通のデフォルト脂質含量を想定して、典型的な水生動物種（すなわち小型魚種）の全身の BCF を計算する。デフォルト値 5%は、OECD 305 (1966) で採用されている小型魚種の平均脂質含量を代表していることから、この数値が最も多く用いられている (Pedersen ら、1995)。

A9.5.2.3.8.3 一般に、この共通の脂質含量に対して表記された BCF の最高有効値を用いて、調和された分類基準の BCF 500 というカットオフ値と関連させて、湿体重量あたりの BCF 値を決定する。(4.1 章、図 4.1.1 を参照のこと)

A9.5.2.3.9 放射性標識物質の使用

A9.5.2.3.9.1 放射性標識された被験物質を使用すれば、水および魚サンプルの分析が容易になる。しかし、特有の分析法を組み合わせなければ、総放射能測定値は親化合物だけでなく、考えられる代謝生成物、および有機分子として魚組織中に取り込まれた、考えられる代謝をうけた炭素の存在を反映している可能性がある。したがって、放射性標識された被験物質を用いて決定された BCF 値は、通常、過大評価されている。

A9.5.2.3.9.2 放射性標識物質を用いる場合、分子の安定な部分が標識されることが最も多いが、このことが BCF 測定値に代謝物の BCF が含まれる理由である。物質によっては、代謝物が最も毒性が強く、生物濃縮性が最も高いこともある。したがって、水生有害性（生物濃縮性も含めて）を解釈するには、親物質だけでなく、代謝物の測定も重要になることがある。

A9.5.2.3.9.3 放射性標識物質を用いる実験では、しばしば、魚の胆嚢に高い放射性標識濃度が見出される。これは、肝臓内での生物学的変換、およびその後の胆嚢中への代謝物の排泄によって起こると解釈されている (Comotto ら、1979; Wakabayashi ら、1987; Goodrich ら、1991; Toshima ら、1992)。魚が摂餌しないと、胆嚢内容物は腸内に排出されず、胆嚢内に高濃度の代謝物が蓄積されることがある。したがって、BCF 測定値に給餌方法が大きく影響することがある。文献には、放射性標識化合物を用いており、そして魚に給餌していない多くの試験が見られる。結果的に高濃度の放射性物質が胆嚢内に検出される。こうした試験では、ほとんどの例で生物濃縮が過大に推定されている。したがって、放射性標識化合物が用いた実験を評価する際は、給餌方式についても評価することが不可欠である。

A9.5.2.3.9.4 残留放射能の点から BCF が 1000 以上と記録されているならば、定常状態で魚組織中の合計残留放射能の 10%以上を占めている分解生成物を同定および定量することが、たとえば殺虫剤などについて、OECD テストガイドライン 305 (1996) では強く勧告されている。代謝物の同定も定量も可能でないならば、生物濃縮性の評価は放射性標識 BCF 測定値にもとづいて行うべきである。生物蓄積性の高い物質 (BCF \geq 500) について、親化合物についての BCF、および放射性測定値による BCF だけが入手された場合は、分類に関しては後者を採用すべきである。

A9.5.2.4 オクタノール/水分配係数 (K_{ow})

A9.5.2.4.1 有機物質では、実験から求められた高品質の K_{ow} 値、またはレビューにおいて評価され「推奨値」として指定された数値が、その他の K_{ow} 測定よりも望ましい。高品質の実験データが入手できない場合には、 $\log K_{ow}$ のための有効性評価済みの構造活性相関 (QSAR) を分類プロセスに使用してもよい。こうした有効性評価済み QSAR は、その適用性がよく確かめられている化学物質にのみ限定されているならば、合意済みの判定基準に対して変更することなく使用してよい。たとえば強酸や強塩基のような物質、溶出液と反応する物質や、界面活性作用のある物質では、QSAR により推定された K_{ow} 値、または *n*-オクタノールと水とに対する個別の溶解性をもとにした推定値が、分析による K_{ow} の測定のかわりに与えられるべきである (EEC A.8., 1992; OECD 117, 1989)。解離性物質ではイオン化していない形態 (遊離酸または遊離塩基) について、遊離酸については pK より低い、および遊離塩基については pK より高い pH の適切な緩衝液を用いてのみ、測定を行うべきである。

A9.5.2.4.2 K_{ow} の実験的測定

K_{ow} 値を実験的に測定するには、たとえばフラスコ振騰法や HPLC 等、いくつかの異なった試験法が、標準のガイドラインに記載されている。たとえば OECD テストガイドライン 107 (1995), OECD テストガイドライン 117 (1989), EEC A.8 (1992), EPA-OTS (1982), EPA-FIFRA (1982), ASTM (1993), pH 測定法 (作成中の OECD テストガイドライン) 等がある。フラスコ振騰法は $\log K_{ow}$ が $-2 \sim 4$ の範囲内になる場合に推奨される。フラスコ振騰法は、水および *n*-オクタノールに可溶な、本質的に純粋な物質にのみ適用される。水中溶解速度が遅い、高度に親油性の物質には、低速攪拌法を用いて得られたデータの方が、一般により信頼性が高い。さらに、フラスコ振騰法の実験では、微小滴の生成に伴う実験的な困難があるが、これは、オクタノールおよび被験物質が低速で攪拌された反応容器内で平衡に達する低速攪拌法によって、ある程度まで克服できる。低速攪拌法 (作成中の OECD テストガイドライン) を用いることで、 $\log K_{ow}$ が 8.2 までの化合物の K_{ow} を、正確かつ精密に測定できる (OECD Guideline 案, 1998)。フラスコ振騰法と同様に、低速攪拌法は水および *n*-オクタノールに可溶な本質的に純粋な物質にのみ適用される。HPLC 法は分析カラムを用いる方法であり、 $\log K_{ow}$ 値が 0 から 6 の範囲内となる場合に推奨される。HPLC 法の方がフラスコ振騰法に比べて、被験物質中の不純物の存在による影響を受けにくい。Log K_{ow} を測定する方法には他にジェネレータ・カラム法 (USEPA, 1985) がある。

実験的な K_{ow} の測定は、たとえば極めて水溶性の高い物質や極めて親油性の物質および界面活性剤など、必ずしも可能というわけではないため、QSAR により導いた K_{ow} を採用してもよい。

A9.5.2.4.3 QSAR を用いた $\log K_{ow}$ の決定

K_{ow} の推定値が見出された場合には、それを推定した方法を考慮する必要がある。 K_{ow} の推定のために、数々の QSAR が考案され、また現在でも開発されている。実験的に導いたデータが入手できないならば、市販されている 4 種の PC プログラム (CLOGP, LOGKOW (KOWWIN), AUTOLOGP, SPARC) がリスク評価に多く用いられている。CLOGP, LOGKOW および AUTOLOGP は、置換基の寄与を加算に基づいているのに対し、SPARC はより基本的な化学構造のアルゴリズムを基盤としている。SPARC のみが一般的な方法で、無機化合物または有機金属化合物に採用できる。界面活性物質、錯体形成化合物および混合物の $\log K_{ow}$ 推定には、特別な方法が必要である。QSAR 推定法の有意性評価に関する US EPA/EC 合同プロジェクトでは CLOGP が推奨されている (US EPA/EC 1993)。Pedersen ら(1995) は、CLOGP および LOGKOW プログラムを、その信頼性、市販されていること、および使用上の簡便さの理由から、分類目的に推奨している。分類の目的には以下の推定法が推奨されている (表 A9.5.1)。

表 A9.5.1 K_{ow} 推定に推奨されている QSAR

モデル	log K_{ow} の範囲	使用できる物質
CLOGP	$\log K_{ow} < 0 - \log K_{ow} > 9^a$	このプログラムは、C, H, N, O, ハロゲン, P または S を含む有機化合物の $\log K_{ow}$ を計算する。
LOGKOW (KOWWIN)	$-4 < \log K_{ow} < 8^b$	このプログラムは C, H, N, O, ハロゲン, Si, P, Se, Li, Na, K または Hg を含む有機化合物の $\log K_{ow}$ を計算する。界面活性物質 (例: アルコールエトキシレート)、染料および解離物質にもこのプログラムで予測できるものもある。
AUTOLOGP	$\log K_{ow} > 5$	このプログラムは C, H, N, O, ハロゲン, P および S を含む有機化合物の $\log K_{ow}$ を計算する。AUTOLOGP の適用性を拡張するために改良が行われている。
SPARC	$\log K_{ow} > 5$ の物質では、KOWWIN および CLOGP よりも優れた結果が得られる。	SPARC は観察データから得られた知識に由来する決定論的モデルというよりむしろ化学的な熱力学原理にもとづいたメカニズムモデルである。このため、SPARC は QSAR を用いる他のモデル (すなわち KOWWIN, CLOGP, AUTOLOGP) とは、トレーニング用の化学物質セットについては $\log K_{ow}$ 測定データが必要でないという点で異なっている。無機化合物や有機金属化合物に一般的な方法で適用できるのは、SPARC だけである。

a *Niemelae* は実験的に求められた $\log K_{ow}$ 値と推定値を比較する有意性評価研究を行い、 $\log K_{ow}$ の範囲が 0 以下から 9 以上までの多数の有機化合物の $\log K_{ow}$ について、このプログラムが正確に予測することを確認した ($n=501, r^2=0.967$) (*TemaNord 1995: 581*)

b $\log K_{ow}$ 推定値を実験値に対して分散プロットし、13058 物質について検討したところ (*Syracuse Research Corporation, 1999*)、LOGKOW は $\log K_{ow}$ が -4 から 8 の範囲にある化合物について有効であると評価されている。

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

A9.5.3.1 BCF の決定または測定を困難にする可能性のある特定の物理化学的性質がある。こうした物質には、その生物濃縮性が当該物質の他の物理化学的性質とは一貫しないようなものもある。たとえば立体障害や物理化学的なパラメータの記述を不適切にするもの、またはたとえば界面活性等のように $\log K_{ow}$ の測定と使用の両方を不適切にしてしまうようなものがある。

A9.5.3.2 試験困難な物質

A9.5.3.2.1 化学物質には、水系システムでの試験が困難なものもあり、こうした物質の試験を支援するために手引きが作成されている (DoE, 1996, ECETOC, 1996 および US EPA, 1996)。OECD は現在、試験困難な物質の水中試験用の指針最終案を作成中である (OECD, 2000)。この OECD 資料は、試験困難なタイプの物質の生物濃縮試験にとっても、またこれらの物質の試験から有意な結論が得られるようにするために必要なステップについても、適切な情報源である。試験困難な物質は、溶解性が低いか、揮発性であるか、または光変換や加水分解、酸化または生分解等のプロセスのために急速分解性をもつ。

A9.5.3.2.2 有機化合物を生物濃縮させるためには、その物質が脂質に可溶であり、水中に存在し、そして魚の鰓を通過して移動できることが必要である。したがって、こうした利用可能性を変更させるこれらの性質は、予測値と比べて、物質の実際の生物濃縮を変化させる。たとえば、易生分解性の物質は、水環境中には短時間しか存在しない。同様に、揮発および加水分解は濃度を低下させ、また物質が生物濃縮に利用される時間を短縮させる。物質の実際の暴露濃度を低下させる可能性のあるさらに重要なパラメータは、一般に粒子状物質ないし表面への吸着である。生物体内で速やかに変換され、このために予測されるよりも低い BCF 値を導くことが示された物質もたくさんある。ミセルまたは凝集体を形成する物質は、単純な物理化学的特性から予測されるよりも生物濃縮の程度が低くなるであろう。分散剤を使用することによって形成されたミセル内に含まれている疎水性物質にも、このことがあてはまる。したがって、生物蓄積の試験に分散剤を用いることは望ましくない。

A9.5.3.2.3 一般に、試験困難な物質には、親物質に基づいた BCF および K_{ow} の測定値が、生物濃縮性を決定するために不可欠である。さらに、求められた BCF 値の有意性評価には、被験物質濃度の正しい記録が不可欠である。

A9.5.3.3 溶解性の低い物質および複合物質

溶解性の低い物質には特別な注意が必要である。こうした物質の溶解性は検出限界より低いと記録されていることが多く、生物濃縮性を解釈する際に問題となる。こうした物質では、生物濃縮性は $\log K_{ow}$ の実験による測定または $\log K_{ow}$ の QSAR 推定に基づくべきである。

多成分物質が水に完全には溶解しない場合、混合物の成分を実際的に可能な限り同定し、その成分について入手された情報を用いて、生物濃縮性が決定できる可能性を検討するよう試みるのが重要である。生物蓄積性のある成分がその複合物質のかなりの部分（例えば 20% 以上、有害成分ではより低い含量）を占めるときには、その複合物質は生物蓄積性であるとみなされるべきである。

A9.5.3.4 分子量の大きい物質

ある分子量を超えると、物質が生物濃縮する可能性は減少する。これはおそらく、物質が鰓膜を通過する際の立体障害によるものと思われる。分子量のカットオフ限界として 700 が適用できるのではないかと提案されている（例えば European Commission, 1996）。しかし、このカットオフ値は批判の対象になっており、間接的な水の影響の可能性のある物質を考慮から除外して、別のカットオフ値 1000 が提案されている（CSTEE, 1999）。一般に巨大分子については、その想定される代謝物または環境中での分解生成物の生物濃縮性を考慮すべきである。したがって、巨大分子量分子の生物濃縮性に関するデータは、評価に注意が必要であり、親化合物、および想定される代謝物ならびに環境中での分解生成物の両方について完全に有効であると考えられる場合にのみ、そのデータを用いるべきである。

A9.5.3.5 界面活性剤

A9.5.3.5.1 界面活性剤は、親油性部分（最も多いのはアルキル鎖）と親水性部分（極性の頭部基）から構成されている。頭部基の電荷により、界面活性剤は陰イオン、陽イオン、非イオン、および両性の界面活性剤に細分化される。頭部基は多様であるため、界面活性剤は構造的に多様な群に属する物質であり、化学構造よりむしろ界面活性によって定義される。したがって、界面活性剤の生物蓄積性は、界面活性剤全体としてでなく、異なった小分類（陰イオン性、陽イオン性、非イオン性、または両性）に関して考慮すべきである。界面活性物質はエマルジョンを形成することもあり、その場合には生物学的利用可能性を確かめることは困難である。ミセルが形成されると、外見上溶液となっても、生物学的に利用可能な部分に変化する可能性があり、生物蓄積性の解釈上の問題が生じる。

A9.5.3.5.2 実験的に求めた生物濃縮係数

界面活性剤に対する BCF 測定値から、BCF はアルキル鎖が長いほど増加し、また頭部基のついている部位、ならびに他の構造的特徴に依存することが示されている。

A9.5.3.5.3 オクタノール/水分配係数 (K_{ow})

界面活性剤のオクタノール/水分配係数は、エマルジョンが形成されるため、フラスコ振盪法や低速攪拌法では測定できない。さらに、界面活性剤分子は水相中で殆ど例外なくイオンとしてのみ存在するが、それに対して、オクタノール中に溶解するには対イオンとペアを作らねばならない。したがって、 K_{ow} を実験的に測定しても、イオン性界面活性剤の分配の特性を記述するわけではない (Tolls, 1998)。その一方で、陰イオン性および非イオン性界面活性物質は、親油性が高いほど生物濃縮性も高いことが示されている (Tolls, 1998)。Tolls (1998) は、ある界面活性剤については、LOGKOW を用いて推定した $\log K_{ow}$ 値で生物蓄積性を表すことができるが、他の界面活性剤では、この $\log K_{ow}$ 推定値に Roberts (1989) の方法を用いて「補正」が必要であることを示した。これらの結果は、 $\log K_{ow}$ 推定値と生物濃縮の関係についてのデータ品質は、関係している界面活性剤の種類や特定のタイプに依存することを示している。したがって、 $\log K_{ow}$ にもとづいた生物濃縮性の分類は注意して用いるべきである。

A9.5.4 矛盾するデータおよびデータの欠如

A9.5.4.1 矛盾する BCF データ

同一の物質に対して多数の BCF データが入手された状況では、矛盾する結果が生じる可能性がある。一般に、ある適切な生物濃縮性試験で何回か試験されて、同一物質について、適切な生物濃縮性試験で何回か試験が行われ、矛盾する結果が得られた場合は「証拠の重みアプローチ」によって解釈すべきである。これはすなわち、ある物質について、500 以上と 500 未満の両方の BCF データが、実験による測定で得られている場合には、最高の品質かつ記録資料が揃っているデータを、その物質の生物濃縮性判定に用いるべきであることを意味している。それでも差がある場合、たとえば異なった魚種について高品質の BCF 値が入手されている場合には、一般には分類の根拠として有効な値のうち最も高いものを用いるべきである。

同一生物種の同一ライフステージに関して、より大きなデータセット (4 件以上の数値) が入手された場合には、その種を代表する BCF 値として、BCF 値の相乗平均を使用してもよい。

A9.5.4.2 矛盾する $\log K_{ow}$ データ

同一の物質に対して複数の $\log K_{ow}$ データが入手された状況では、矛盾する結果が生じる可能性がある。ある物質に対して 4 以上と 4 未満の両方の $\log K_{ow}$ 値が得られたならば、その物質の生物濃縮性の決定には最高品質かつ記録が最適であるデータを採用すべきである。それでも違いがあるならば、一般に有効な値のうち最高のものを優先すべきである。このような状況では、QSAR で推定された $\log K_{ow}$ 値を、ガイダンスとして用いることもできよう。

A9.5.4.3 専門家の判断

BCF や $\log K_{ow}$ の実験データも、 $\log K_{ow}$ の予測データも入手できないならば、水系環境中での生物濃縮性は専門家の判断で評価されることもある。これは、その分子の構造を、生物濃縮または $\log K_{ow}$ の実験データまたは K_{ow} 予測値が入手できた別の物質の構造と比較することに基づくであろう。

A9.5.5 判定スキーム

A9.5.5.1 上述の考察と結論をもとに、物質が水生生物中に生物濃縮性があるかどうかの判定を容易にする、一つの判定スキームが考案された。

A9.5.5.2 分類目的のためには、高品質の実験による BCF 値が究極的に望ましいものである。低品質の、または不確かな品質の BCF 値は、たとえば暴露期間が短すぎて定常状態に達しなかったなどの理由で、誤った、あるいは低すぎる値をあたえる可能性があるため、 $\log K_{ow}$ に関するデータが入手されれば、このような BCF データを使用すべきでない。魚類の BCF が入手できないならば、別の種 (例えばイガイ) に関する高品質の BCF データを採用してもよい。

A9.5.5.3 有機物質では、実験から導かれた高品質の K_{ow} 値、あるいは排泄によって評価され「推奨値」として指定された数値が望ましい。高品質の実験データが入手できないならば、 $\log K_{ow}$ として、有意性評価された構造活性相関 (QSAR) を分類のために用いることもできる。こうした有意性評価された QSAR は、その適用性が十分に判定されている化学物質に限るなら、分類基準に関して修正することなく使用できよう。強酸、強塩基、金属錯体、および界面活性物質等の物質では、 K_{ow} の分析測定のかわりに、QSAR による K_{ow} の推定値、または n -オクタノールならびに水に対する個々の溶解度に基づいた推定値を求めるべきである。

A9.5.5.4 データが入手されたが、有意性評価がなされていないならば、専門家の判断を採用すべきである。

A9.5.5.5 したがって、物質に水生生物における生物濃縮性があるかどうかは、以下のスキームに従って判定できる。

有効/高品質な実験から得られた BCF 値 → あり

→ $BCF \geq 500$: その物質には生物濃縮の可能性がある

→ $BCF < 500$: その物質には生物濃縮の可能性はない

有効/高品質な実験から得られた BCF 値 → なし

→ 有効/高品質な実験から得られた $\log K_{ow}$ 値 → あり

→ $\log K_{ow} \geq 4$: その物質には生物濃縮の可能性がある

→ $\log K_{ow} < 4$: その物質には生物濃縮の可能性はない

有効/高品質な実験から得られた BCF 値 → なし

→ 有効/高品質な実験から得られた $\log K_{ow}$ 値 → なし

→ $\log K_{ow}$ 値の推定に有意性の評価された QSAR を使用 → 使用可

→ $\log K_{ow} \geq 4$: その物質には生物濃縮の可能性がある

→ $\log K_{ow} < 4$: その物質には生物濃縮の可能性はない

A9.6 QSARの使用

A9.6.1 経緯

A9.6.1.1 水生毒性分野における定量的構造活性相関 (QSAR) は、チューリッヒの Overton (Lipnick, 1986) およびマールブルグの Meyer (Lipnick, 1989a) の研究にまで遡ることができる。彼らは、物質がオタマジャクシおよび小型魚類に麻酔作用を及ぼす効力が、オリーブオイルと水の間で測定した分配係数と直接比例していることを示した。Overton は 1901 年に著したモノグラフ "Studien über die Narkose (麻酔に関する研究)" で、このような相関性は、生物体内の何らかの分子的な部位において標準モル濃度またはモル容積で生じている毒性を反映していると主張した (Lipnick, 1991a)。さらに、取り込みが水からなのか気体吸入によるののかに関係なく、このことは多様な生物に対して同一濃度または容積に相当すると結論づけた。この相関性は麻酔学分野では Meyer-Overton 理論として知られるようになった。

A9.6.1.2 ポモナ大学の Corwin Hansch および共同研究者らは、n-オクタノール/水を標準的な分配システムとして使用することを提案し、そしてこの分配係数は化学構造から直接推定できる、加算的かつ構成的な性質であることを発見した。さらに、試験結果の統計解析を前提として、QSAR を導くために回帰分析を使用できることを見出した。このアプローチを用いて、これらの研究者らは 1972 年に、 $\log(1/C) = A \log K_{ow} + B$ の形をとった 137 の QSAR モデルを報告した。この場合 K_{ow} は n-オクタノール/水分配係数、C は非電解質かつ非反応性の単純な有機化合物が、動物の全身、臓器、細胞、場合によっては純粋な酵素に及ぼす影響に対する、標準的な生物反応を生じる化学物質のモル濃度である。これらの公式のうち 5 つは 5 種類の単純な一価アルコールの毒性を 5 種類の魚類と関連づけたもので、ほぼ同一の勾配および切片を有し、Könemann によって 1981 年に発見されたものと実質上、一致している。後者は Hansch の先行研究を知らなかったように思われる。Könemann らは、このような単純な非反応性かつ非電解性の物質はすべて、魚類を用いた急性毒性試験では麻酔薬のメカニズムで作用して、最小のまたはベースラインの毒性となることを示した (Lipnick, 1989b)。

A9.6.2 有害性の過小評価を起こす実験技術上の誤差

A9.6.2.1 それ以外の非電解性の物質は、こうした QSAR で予測されるよりも毒性が高いことはあるが、試験の技術的な誤差を除けば、毒性が低くなることはない。こうした試験の技術的な誤差としては、実験中に揮発しがちな炭化水素等の化合物、あるいは急性の試験期間では、水相 (水槽中の試験溶液) 中の濃度と、麻酔作用を起こす体内の疎水性部位との間に定常状態の平衡的な分配を達成するのに適していない、非常に親水性の高い化合物、などから得られたデータがある。このような単純な非反応性かつ非電解性の物質の $\log K_{ow}$ と $\log C$ の QSAR プロットは、試験期間中にこうした平衡に達している限りは線形の関係を示す。この点を超えると、双線形の関係が観察され、最も毒性の高い物質は平衡が達成された $\log K_{ow}$ が最高となる物質である (Lipnick, 1995)。

A9.6.2.2 試験の際のもう一つの問題とは、水溶解性によるカットオフによって起こるものである。影響を生じるのに必要な毒性濃度が、その化合物の水溶解度より高いと、水に飽和していたとしても、何の影響も観察されないであろう。予測される毒性濃度が水溶解度に近い化合物もまた、試験期間が平衡的な分配が達成するのに十分でないときは、影響は見られないであろう。界面活性剤についても、臨界ミセル濃度より高い濃度で毒性が予測されるなら、同様なカットオフが観察される。こうした化合物は、個別に試験した場合にはこれらの条件下で毒性が認められないこともあるが、混合物の毒性に対する寄与はなお存在している。 $\log K_{ow}$ 値が同じ化合物でも、水に対する溶解性の差は、融点に関連する融合エンタルピーの違いを反映する。融点は、結晶格子の安定度を反映するものであり、分子間水素結合、コンホメーションの柔軟性の欠如、および対称性によって左右される。化合物は対称的であるほど、融点は高くなる (Lipnick, 1990)。

A9.6.3 QSAR モデル化の課題

A9.6.3.1 適切な QSAR を選択することは、そのモデルが、未試験の化学物質の毒性または生物活性について、信頼できる予測値を与えるであろうことを示している。一般的に言えば、対象物質に構造が類似している化学物質の厳密に定義されたセットから QSAR が導かれているのでなければ、化学構造の複雑さが増すほど信頼性は低下する。厳密に定義された化学物質群から導かれた QSAR モデルは、新しいリード化合物が見つかっており、活性の最適化（および毒性の低下）をさせるため、僅かな構造の修正を行いたい場合に、医薬品の開発に一般的に採用されている。全体的に、その目標は外挿よりむしろ内挿による推定を行うことである。

A9.6.3.2 たとえば、エタノール、*n*-ブタノール、*n*-ヘキサノール、および *n*-ノナノールについて、ファットヘッドミノールを用いた 96 時間の LC50 試験データが揃っているならば、*n*-プロパノールおよび *n*-ペンタノールについて、このエンドポイントの毒性値を、ある程度の信頼度をもって予測できる。反対にメタノールでは、試験されたどの物質よりも炭素原子数が少なく外挿となるので、予測の信頼性は劣ることになる。実際、このような同族体グループにおける最初のメンバー物質の挙動は、一般的に最も変則的であり、その系列の他のメンバー物質からのデータを用いて予測すべきではない。分岐型アルコールの毒性でさえ、問題とされるエンドポイントによっては、不合理な外挿になる。こうした外挿結果は、親化合物の性質に反して、特定のエンドポイントに対する毒性が代謝物の生成に関与する程度に応じて、さらに信頼性が低くなる。また、毒性が特定の受容体結合メカニズムに介在されている場合、化学構造がわずかに変化しただけで、劇的な作用が観察されることもある。

A9.6.3.3 こうした予測結果の有意性を究極的に支配するのは、ある特定の生物学的なエンドポイントについて QSAR を導き出すのに用いられた化合物群が、共通の分子機構によってどの程度まで作用しているか、である。多くの、そして恐らくほとんどの例で、QSAR はこうした機構モデルを示すことはなく、単に相関的なモデルを示すだけである。真に有意な機構モデルは、共通の分子機構により作用する、一連の化学物質群から導かれるはずであり、問題となっている機構の一段階または複数段階に直接関連している 1 個または複数のパラメータを用いた公式に適合するはずである。このようなパラメータまたは特性はより一般的には分子的ディスクリプターとして知られている。また、こうした共通に使用される分子的ディスクリプターの多くは、直接の物理的な解釈がない場合もあることを留意しておくことも重要である。相関モデルについては、こうした限界を考えると、データの統計的適合性が機構モデルよりも劣るように思われる。機構は完全には把握されていなくてもよいが、このアプローチにおいて信頼性をもてるだけの十分な情報がわかっていることもある。相関モデルの場合、各モデルが定義される厳密さが増すほど、その予測の信頼性も増す。たとえばアクリレート等の求電子物質のカテゴリーを指定すれば、この範囲内では反応性の程度が同様であり、「新規」物質について、 $\log K_{ow}$ パラメータのみにもとづいたモデルを用いて毒性の推定が可能である。

A9.6.3.4 一例として、水酸基と共役している二重結合または三重結合を含む一級および二級アルコール（すなわちアリルまたはプロパギルアルコール）は、対応する飽和化合物に関する QSAR に対して予測されるよりも毒性が高い。このような挙動は、至る所に存在する酵素であるアルコールデヒドロゲナーゼによる代謝活性化によって、対応する α , β -不飽和アルデヒドおよびケトンに代謝され、これがミカエル型のアクセプター機構により求電子物質として作用するという求電子物質前駆体機構によるものとされている (Veith ら, 1989)。アルコールデヒドロゲナーゼ阻害物質が存在すると、これらの化合物は他のアルコール類と同様に挙動し、機構による仮説と一致して、過剰な毒性を示さない。

A9.6.3.5 こうした一連の類似化合物から外れると、状況は一気に、さらに複雑化する。たとえば、単純なベンゼン誘導体を考えてみる。クロロベンゼン類は一連の類似化合物と同様であるとみなしてよい。3 種類のジクロロベンゼン異性体の毒性にはそれほど大きな違いがあるとは思われないため、これら異性体のうち一つに関する試験データをもとにしたクロロベンゼン類に関する QSAR は妥当であるように思われる。ベンゼン環に他の官能基が置換された場合はどうか？ 脂肪族アルコールとは異なり、水酸基をベンゼン環に付加するとフェノールが生成されて、もはや中性ではなく、結果的に生じる負の電荷が共鳴により安定化することにより、イオン化性のある酸性化合物となる。この理由で、フェノールは真の麻酔薬として作用しない。フェノールに電子吸引性の置換基（例えば塩素原子）を付加すると、こうした化合物は酸化的リン酸化の脱共役剤として作用する化合物となる（例えば除草剤のジノセブ）。アルデヒド基を置換すると、こうした化合物は、リジンの ϵ -アミノ基のような、アミノ基と反応してシッフ塩基付加物を生成するので、求電子機構により毒性が増加する。同様にベンジルクロライドは、求電子物質としてスルフヒドリル基と共有結合付加物を生成する。試験していない化合物の予測を試みる

際には、これらの、ならびに他の多くの官能基の化学的反応性と、それらの間の相互作用について注意深く検討すべきであり、これらを化学文献から証拠揃えする努力を払わねばならない (Lipnick, 1991b)。

A9.6.3.6 予測を行うのに **QSAR** を用いる上で、これらの限界があるので、まだ試験していない化合物自体について何らかの機構についての情報が入手されていない限り、試験の代替手段としてよりも、試験優先順位設定の手段として採用するのが最善である。実際、環境放出および環境暴露が分かっているにもかかわらず予測が不可能であるということ自体が、試験を実施する、あるいはこのような判定が必要な化学物質クラスについて新しい **QSAR** を開発する、きっかけとなるであろう。こうしたデータセットからの統計解析、たとえば回帰分析等によって、**QSAR** モデルを導くことができる。最も一般的に採用されている分子的ディスクリプターである $\log K_{ow}$ を、最初の企てとして試みてもよい。

A9.6.3.7 反対に、メカニズムに基づいた **QSAR** モデルの導出には、分子機構、およびどのようなパラメータがこうした作用を適切にモデル化できるか、の理解または作業仮説が必要である。これは、分子機構ではなく、生物学的/生理学的反応と関連づけられた、作用機序に関する仮説とは違うことを留意しておくことが重要である。

A9.6.4 水生環境有害性分類への QSAR の使用

A9.6.4.1 水生環境に関する分類の目的には、以下のような物質本来の特性が関係する。

- (a) n-オクタノール/水分配係数 $\log K_{ow}$
- (b) 生物濃縮係数 BCF
- (c) 分解性 — 非生物学的および生物的分解
- (d) 魚類、ミジンコおよび藻類に対する急性水生毒性
- (e) 魚類およびミジンコに対する長期毒性

A9.6.4.2 試験データが有効であり、**QSAR** は分類のためのデータの欠損を補うのに用いられるという前提で、常に試験データの方が **QSAR** による予測より優先される。利用できる **QSAR** の信頼性および適用範囲は多様であるので、これらエンドポイントそれぞれの予測にさまざまな制限が適用される。それにもかかわらず、試験された化合物が、ある **QSAR** モデルの予測のための有用性にある程度信頼できるような化学物質のクラスまたは構造タイプ (上記参照) に属しているならば、この予測結果を実験データと比較してみる価値がある。これは、測定データ中の実験技術上の誤差 (揮発、平衡に達するのに不十分な試験期間、水溶解度によるカットオフ) を検出するのに、このようなアプローチを用いることは珍しいことではないからである。実験技術上の誤差の多くは物質を実際の毒性より低く分類してしまう原因となる。

A9.6.4.3 2種類以上の **QSAR** が適用できるか、またはそう思われる場合には、予測データを実測データと (上述のように) 比較すると同じように、さまざまなモデルの予測を比較することは有用である。それらのモデル間に相違がなければ、その結果は予測の有意性を高めることになる。もちろんこれは、すべてのモデルが類似した化合物のデータと統計的方法を用いて開発されたことも意味している。他方、予測値が全く違っていたならば、結果についてさらに検証する必要がある。用いたモデルのいずれも有効な予測値を与えなかった可能性も常にある。第一段階として、各予測モデルを導いた化学物質の構造および特性を検証して、こうしたモデルは、予測が必要とされる構造および特性の両方に関して類似している化学物質をもとに作成されているかどうかを判定しなければならない。あるデータセットに、そのモデルの導出に用いられた適切な類似物質が含まれていれば、モデルの予測値に対してその化合物のデータベース中の測定値を検証すべきである。結果がモデル全体に十分適合するのであれば、それが最も信頼できるモデルであると思われる。また、そのような類似物質に関する試験データが含まれているモデルがないならば、問題の化学物質を試験することが推奨される。

A9.6.4.4 米国 EPA は最近ウェブサイト「HPV チャレンジプログラムにおける化学物質カテゴリーの策定」というドラフト文書を提示し、「…米国 HPV リストにあるすべての化学物質のスクリーニング情報データセット (SIDS) を自主的に編纂し…化学物質の物理化学的性質、環境運命、および人と環境に対する影響の初期評価に必要な基礎的スクリーニングデータを[提供する]」ために、化学物質区分を用いることを提案している (US EPA 1999)。このリストは「毒性物質管理法の 1990 年インベントリー更新規則 (IUR) のために報告された約 2,800 種の HPV 化学物質」からなっている。

A9.6.4.5 提案されている一つのアプローチは「…科学的に正当であるならば…密接な関連性のある化学物質を、個々の化学物質として試験するよりも、グループとして、または区分として考えることである。この区分によるアプローチでは、SIDS のエンドポイントごとにあらゆる化学物質を試験する必要はない。」というものである。こうした限定的な試験が適正であると判断されるのは「…最終データセットは、理想的には区分に含まれる物質間の内挿「ここに強調を付言」により、まだ試験していないエンドポイントの評価を可能にするものでなければならぬ」ことが前提となっている。こうした区分を定義し、データを作成するプロセスが提案のなかで説明されている。

A9.6.4.6 検討されている第二の、それほどデータにたよらないアプローチ (US EPA, 2000a) は「…より詳しく特性化されている化学物質 (類似物質) に密接に関連した単一化学物質に SAR 原則を適用する」ことである。提案されている第三のアプローチは、「…生態毒性値を作成する SAR にもとづくコンピュータプログラムである、ECOSAR (US EPA, 2000b) に用いられている[のと類似している]…個々の化学物質[に対する]…類似物質によるアプローチと区分によるアプローチの組み合わせ…」を用いる方法である。この資料ではまた、米国 EPA 新規化学物質プログラム内での SAR 使用の経緯、およびこうした SAR アプローチのためにどのようにデータを収集し解析するかについて詳述している。

A9.6.4.7 北欧閣僚会議は「環境有害性分類」と題する報告書を発行した (Pederson ら, 1995)。これはデータ収集および解釈に関する情報と共に、「水に対する溶解性および急性水生毒性の QSAR 推定」という題の節 (5.2.8) も記載されている。この節では、 $\log K_{ow}$ も含めた物理化学的性質の推定についても論じている。分類目的のためには、先の OECD ガイドライン (OECD, 1995) に引用されているように、「最少の急性水生毒性」予測のための推定方法が推奨されており、これは、「アルコール、ケトン、エーテル、ハロゲン化アルキルおよびハロゲン化アリール等、中性の、非反応性・非イオン化性の有機化合物…、および芳香族炭化水素、ハロゲン化された芳香族および脂肪族炭化水素、ならびにスルフィドやジスルフィドにも用いることが可能である」。この北欧の文書には、これらの方法のいくつかをコンピュータで利用するためのディスクも含まれている。

A9.6.4.8 欧州化学物質生態毒性および毒性センター (ECETOC) は「化学物質の環境運命および影響の評価における QSAR」と題する報告書を発行している。これは QSAR を「…データの有意性の確認、または優先順位の設定、リスク評価および分類のためにデータの欠落を補充する」ために用いることについて述べている (ECETOC, 1998)。環境運命および水生毒性予測のための QSAR の説明がされている。この報告書は「…対象となっている [エンドポイント] のための一貫性のあるデータセットが…十分に定義された化学構造の範囲 (ドメイン) [が必要であり] …それから訓練用セットを開発する」と述べている。この文書はまた、機構に基づいたモデルの長所、QSAR 開発における統計解析の使用、および「かけ離れたデータ」をどう評価するかについて論じている。

A9.6.4.9 n -オクタノール/水分配係数 (K_{ow})

A9.6.4.9.1 化学構造から直接 $\log K_{ow}$ を計算するために、CLOGP (US EPA, 1999)、LOGKOW (US EPA, 2000a)、および SPARC (US EPA, 2000b) 等のコンピュータ化された方法が利用できる。CLOGP および LOGKOW は官能基の関与を加算する方法であるのに対し、SPARC はより基礎的な化学構造アルゴリズムに基づいている。水中で加水分解またはその他の反応を受ける可能性のある化合物について計算値を使用する際には注意が必要である。こうした変化は、このような反応性化学物質に関する水生毒性試験データを解釈する際に考慮されなければならない。無機化合物および有機金属化合物には、SPARC だけが一般的な方法で採用できる。界面活性物質、キレート形成化合物、および混合物の $\log K_{ow}$ または水生毒性を推定するには、特別な方法が必要である。

A9.6.4.9.2 ペンタクロロフェノールおよび類似化合物については、イオン化および非イオン化（中性）の両方の形態について $\log K_{ow}$ 値を計算できる。こうした数値は特定の反応性分子（例えばベンゾトリクロリド）について計算できる可能性もあるが、反応性およびその後の加水分解についても考慮する必要がある。また、こうしたイオン化するフェノールについては、 pK_a が第二のパラメータである。有機金属化合物の $\log K_{ow}$ 値を計算するのに特定のモデルを用いることができるが、こうした化合物のあるものは、実際には水中でイオン対として存在しているものもあるので、注意して使用する必要がある。

A9.6.4.9.3 極めて親油性の高い化合物では、 $\log K_{ow}$ 6 から 6.5 までの測定はフラスコ振騰法で行えるが、低速攪拌法を用いれば $\log K_{ow}$ を約 8 まで拡大できる (Bruijn ら, 1989)。これらの方法で測定できる範囲を越えて外挿する際にも、計算が有用であると考えられる。もちろん、毒性等に関する QSAR モデルが $\log K_{ow}$ 値の低い化学物質にもとづいているならば、予測それ自体も外挿となることに留意しておく必要がある。実際、生物濃縮性については、数値が高いときには $\log K_{ow}$ との関係が非線形になることが知られている。 $\log K_{ow}$ 値の低い化合物では、官能基の関与の考え方も適用できるが、そうした物質、特に $\log K_{ow}$ 値がマイナスの物質では、親油性部位への分配が起ったとしても、僅かであり、Overton が述べているように、これらの物質は浸透圧作用によって毒性を生じるため、有害性分類目的にはそれほど有用ではない (Lipnick, 1986)。

A9.6.4.10 生物濃縮係数 BCF

A9.6.4.10.1 実験的に測定された BCF が入手されたなら、これらの数値を分類に用いるべきである。生物濃縮試験の測定は、純粋サンプルを用いて、水に対する溶解度の範囲内の試験濃度で、また水中濃度と魚組織中濃度の平衡が定常状態を達成するのに十分な試験期間で実施しなければならない。さらに、期間を延長して生物濃縮試験をすると、 $\log K_{ow}$ との相関性は水平となり、最終的には減少する。環境条件下では、親油性の高い化学物質の生物濃縮は食物ならびに水からの取り込みの組み合わせによって起こり、 $\log K_{ow} \approx 6$ で食物からの取り込みに切り替わる。そうでなければ、 $\log K_{ow}$ 値は QSAR モデルと共に、有機化合物の生物濃縮性を予測するパラメータとして用いることができる。こうした QSAR からのずれは、化学物質が魚体内で代謝される程度の差を反映している傾向がある。したがって、フタレート等の化学物質は、この理由によって生物濃縮が予測されるより著しく低くなることもある。さらに、BCF 予測値を、放射性化合物を用いた BCF 値と比較するには注意が必要である。なぜなら、こうして検出された組織中濃度は、親化合物と代謝物の混合、また共有結合した親化合物または代謝物の分も含んでいることあるからである。

A9.6.4.10.2 実験による $\log K_{ow}$ を最も優先して使用すべきである。しかし、旧来のフラスコ振騰法では 5.5 以上の値は信頼できず、多くの場合、計算値の平均値を使用するか、または低速攪拌法で測定し直した方がよい (Bruijn ら, 1989)。測定データの精度に、理にかなった疑いがあるなら、 $\log K_{ow}$ 計算値を使用すべきである。

A9.6.4.11 分解性 — 非生物的分解および生分解

水相中の非生物的分解についての QSAR は、特定の化学物質群およびメカニズムについての厳密に定義された線形自由エネルギー関係 (LFER) である。たとえば、こうした LFER は、芳香環にいろいろに置換基を有する塩化ベンジルの加水分解に利用できる。こうした厳密に定義された LFER モデルは、必要なパラメータが問題の置換基について入手できるなら、非常に信頼性が高くなる。光分解、すなわち UV により生じた反応性分子種との反応は、大気コンパートメントについて推定値から外挿できることもある。こうした非生物のプロセスは通常は有機化合物の完全分解までには至らないが、しばしば重要な開始点であり、また律速でありうる。生分解性を計算するための QSAR は、化合物に固有のもの (OECD, 1995) であるか、または BIODEG 等の官能基関与モデルのいずれかである (Hansch と Leo, 1995; Meylan と Howard, 1995; Hilal ら, 1994; Howard ら, 1992; Boethling ら, 1994; Howard と Meylan 1992; Loonen ら, 1999)。有意性の評価された化合物クラス固有のモデルは適用範囲が極めて限られているのに対し、官能基関与モデルの適用範囲はより広い可能性がある。しかし、モデルとなる下部構造を含む化合物に限定されている。有意性評価研究から、現在利用できる官能基関与モデルによる生物分解性予測は「易生分解性でない」ことの予測に用いられること (Pederson ら, 1996; Langenberg ら, 1996; US EPA, 1993)、したがって、水生有害性分類上「急速分解性でない」ことと関連づけられることが示唆されている。

A9.6.4.12 魚、ミジンコおよび藻類に対する急性水生毒性

非反応性かつ非電解質の有機化合物の急性水生毒性（ベースライン毒性）は、その $\log K_{ow}$ 値から極めて高いレベルの信頼性をもって予測できるが、ただし求電子、前求電子、または特殊な機能をもつ官能基（上記参照）の存在が検出されなかったことが前提である。こうした特殊な毒性物質については、適切な QSAR を予測的な方法で選択しなければならないという問題が残る。これは、関連性のある作用機序を特定するための直接で簡単な判定基準がまだないので、適切なモデルを選択するために、専門家の経験的判断を用いる必要があるからである。したがって、もし適切でない QSAR が採用されると、予測値に何桁もの誤差が生じ、ベースライン毒性の場合には、毒性が高い方よりむしろ低い方に予測されることになろう。

A9.6.4.13 魚およびミジンコに対する長期毒性

魚およびミジンコに対する慢性毒性の計算値を、急性毒性実験データに基づいた分類を否定するのに用いてはならない。魚およびミジンコに対する長期毒性を計算するのに利用できる有意性判定済みのモデルは少ししかない。これらのモデルは、 $\log K_{ow}$ 相関関係のみに基づいており、その適用性は非反応性、非電解質の有機化合物に限られ、また、長期暴露条件下で特殊な作用機序をもつ化学物質には適していない。信頼できる慢性毒性値の推定は、慢性毒性機構を非特異的なものと特異的なもの間で正しく区別することに依存している。さもないと、予測された毒性は何桁も誤る可能性がある。多くの化合物では慢性試験で得られた過剰毒性⁴が急性試験での過剰毒性と相関している場合があるものの、必ずしもそれが該当しない場合もあることに、注意しなければならない。

⁴ 過剰毒性、 $T_e = (\text{ベースライン毒性予測値}) / \text{毒性実測値}$

A9.7 金属および金属化合物の分類

A9.7.1 序

A9.7.1.1 化学物質を分類するための調和システムは有害性に基づくシステムであり、有害性を特定する根拠は物質の水生毒性、ならびに分解性および生物蓄積作用についての情報である(OECD 1998)。本文書は、ある物質が水相中に溶解している際の、その物質に伴う有害性のみを扱っているため、これに由来する暴露は、当該物質の水への溶解度と、水生環境中の生物種における当該物質の生物学的利用能によって制限される。したがって、金属および金属化合物に関する有害性分類スキームも、金属および金属化合物が利用される(すなわち例えば $M\cdot NO_3$ として存在する場合の M^+ のように、溶存金属イオンとして存在する場合に示される有害性に限定され、食物中の金属のように、水相中には溶解していないが、なお生物学的に利用されるであろう金属および金属化合物に対する暴露を考慮に入れるものではない。本節では、毒性を持つ、または有機物であって生物蓄積性もしくは残留性の有害性を持つ可能性のある金属化合物の非金属イオン(例えば CN^-)は考慮しない。このような金属化合物については、その非金属イオンの有害性についても検討しなければならない。

A9.7.1.2 金属またはその化合物を添加した後、溶液中に存在する金属イオンのレベルは、その溶出の程度すなわち水への溶解度と、媒体との相互作用によって水に溶解しうる形態への変化を起こす程度という主に2種類の過程によって決定される。本手引きの目的に照らして「変化」と呼ぶ、この後者の過程が起こる速度とその程度は、様々な化合物および金属自体の間で大きく異なることがあり、適切な有害性クラスを決定するにあたって重要な要素となる。変換に関するデータが入手できた場合、分類決定においてはそれを考慮に入れるべきである。この速度を測定するためのプロトコールは附属書 10 に記載されている。

A9.7.1.3 一般的に言って、物質が溶解する速度が、その本質的な毒性の決定に関係するとは考えられていない。しかし、金属および多くの難溶性の無機金属化合物に関しては、通常の溶解技術によって溶解を達成させることが非常に難しいので、溶解と変化の2つの過程は区別しにくくなる。したがって、化合物が十分に難溶性であって、可溶化させる通常の試みによって溶解するレベルが、入手された $L(E)C_{50}$ を超えない場合に考慮しなければならないのは、変化の速度および程度である。この変化は多くの要因によって影響されるが、その中で無視できないものは媒体の pH 値、水硬度、温度などの性質であろう。これらの性質に加えて、試験を行った微粒子の粒径や比表面積、媒体に対して暴露された時間、そして言うまでもなく媒体内における当該物質の容積または表面積負荷など、他の要素もまたすべて、水中に溶解された金属イオンのレベルを決めるのに役割を果たす。したがって一般に、附属書 10 にある標準プロトコールに従って行われた変化のデータのみが、分類の目的に対して信頼できると考えられる。

A9.7.1.4 このプロトコールは、溶解したイオンのレベルが、添加される物質の負荷に直接関係付けられるように、主要な変動要因を標準化することを目的にしている。分類に適した有害性クラスを決定するのに使用できるのは、得られた $L(E)C_{50}$ に相当する金属イオンのレベルを達成させる、この負荷レベルである。この試験方法については附属書 10 に詳述されている。この試験プロトコールによるデータを使用するにあたって適用される戦略、およびこの戦略を機能させる上で必要となるデータの要件について後に述べる。

A9.7.1.5 易溶性および難溶性の金属および金属化合物の分類を検討するにあたっては、数多くの要素について理解しなければならない。第 4.1 章で定義したように、「分解」という用語は有機分子の分解を意味するものである。無機化合物および金属については、有機化合物について考慮され、用いられている分解性の概念が意味をなさず、あるいは限定的な意味しか持たないことは明らかである。むしろ、物質は通常的环境過程によって、有毒物質種の生物学的利用可能性を増加または減少させるように変化させられる可能性がある。同様に、 $\log K_{ow}$ もまた蓄積性の尺度と考えることはできない。それにもかかわらず、物質または有毒な代謝物/反応生成物が速やかに環境から消失せず、および/または生物蓄積するという考え方は、有機物質に対してと同様に、金属および金属化合物にも当てはまることである。

A9.7.1.6 可溶性の形態への分化は、pH 値、水硬度、およびその他の変動要因によって影響を受け、多少とも毒性を持つ特別な形態の金属イオンを生成することがある。それに加えて、金属イオンは数多くの作用（例えば無機物化や分配）によって水相において利用不可能な形態に変換される可能性もある。時にこれらの過程が慢性毒性の分類評価における分解と同じ位、速やかに起こることもある。しかし、水相から他の環境媒体への金属イオンの分配は、必ずしも生物学的に利用できなくなったことを意味するわけではなく、またこの金属が恒久的に利用できなくなったことを意味するものでもない。

A9.7.1.7 水相からの金属イオンの分配の程度、または金属がより毒性の低い、もしくは無毒性の形態に転換された、あるいは転換されうる程度に関する情報は、十分に広範囲な、環境上ありうる条件全体に対しては、入手できないことがしばしばあるので、したがって分類の助けとするために数多くの仮定を置くことが必要となろう。こうした仮定は、入手されたデータが他のように示している場合には、変更してよい。第一に、金属イオンは、一度水に導入されると、水相から速やかには分配されず、したがってこれらの化合物は判定基準に適合しない、と仮定すべきである。この背景にあるのは、金属の分化は起こりうるが、その分化種は環境上ありうる条件下で利用可能である、という前提である。前述のように、このことは常に成り立つわけではないので、28 日の試験期間において生物学的利用可能性の変化を示唆する証拠が得られた場合は、慎重に検討すべきである。金属および無機金属化合物の生物蓄積は複雑な過程であり、生物蓄積性データは注意して使用すべきである。生物蓄積性の判定基準を適用する際は、入手されたすべてのデータを十分に考慮して、ケースバイケースで判断する必要がある。

A9.7.1.8 慎重なアプローチの例となるもう 1 つの前提条件は、特定の金属化合物について、測定されたあるいは計算された溶解度データが存在しない際、当該物質が L(E)C₅₀ のレベルで毒性を引き起こす十分な溶解度を有し、したがって他の可溶性塩類と同じ様に分類することができる、という仮定である。これもまた明らかに必ずしも当てはまらない場合があるので、適切な溶解度データを得ることが賢明であろう。

A9.7.1.9 本節では、金属および金属化合物を扱う。本手引きの中では、金属および金属化合物は次のように特徴付けられており、したがって有機金属は本節の範囲外にある。

- (a) 元素の状態 M⁰ では水に溶解しないが、利用能のある形態に変化する金属。これはすなわち、元素状態の金属が水または希薄な水性電解質と反応して、溶解性の陽イオン性もしくは陰イオン性の生成物を形成し、その過程で金属が中性ないしゼロ酸化の状態から、より酸化数の高い状態へ酸化もしくは変化されることを意味する。
- (b) 酸化物や硫化物などの単純な金属化合物においては、この金属は既に酸化された状態で存在し、したがってそうした金属が水性媒体に導入されても、さらに金属の酸化が起こることは考えられない。

しかし、酸化状態に変化は起こらなくとも、媒体との相互作用によってより可溶性の形態が得られる可能性はある。難溶性の金属化合物は、その溶解度積を計算でき、かつ溶解によって少量の利用できる形態を生じる化合物と考えることができる。しかし、例えば水酸化アルミニウムのように、変化/溶解試験の過程で析出する金属化合物の溶解度積など、数多くの要因によって最終的な溶解濃度が影響されることを認識すべきである。

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

A9.7.2.1 水生毒性データの解釈

A9.7.2.1.1 承認されたプロトコールに従って実施された水生毒性試験は、通常、分類の目的に対して有意なデータとして受入れられるべきである。分類を目的とした水生毒性データポイントの評価に共通する一般的な問題については、A9.3 章もまた参照すべきである。

A9.7.2.1.2 金属の錯体形成と分化

A9.7.2.1.2.1 溶液中における特定金属の毒性は、主に（しかし、厳密に限定されずに）溶存する自由金属イオンのレベルによって決定されるように思われる。アルカリ度、イオン強度、pH 値を含む非生物的要素は、(i) 水中における金属の化学種に影響する（したがってその利用可能性に影響する）こと、および (ii) 利用される金属の生物組織による取り込みと結合に影響することの二つの方法で、金属の毒性に影響しうる。

A9.7.2.1.2.2 金属の分化が重要な場合には、毒性を引き起こす可能性が強いものも含め、金属の様々な形態の濃度をモデル化することが可能であろう。試験物質の錯化および非錯化フラクションを区別して暴露濃度を定量するための分析法は、常に利用できるわけではない、もしくは経済的でないであろう。

A9.7.2.1.2.3 試験媒体中および自然環境中における、金属の有機および無機配位子への錯体化は、金属の分化モデルから見積もることができる。MINTEQA (Brown と Allison, 1987), WHAM (Tipping, 1994) 並びに CHES (Santore と Driscoll, 1995) などの pH 値、硬度、DOC、および無機物質を含む、金属の分化モデルは、金属イオンの非錯化および錯化フラクションを算定するのに使用できる。またその代わりに、生物学的配位子モデル (BLM) を用いて、生物レベルにおける毒性影響の原因となる金属イオン濃度を算定することもできる。この BLM モデルは現在のところ、ある限られた金属、生物、およびエンドポイントについてのみ、有意性が確認されている (Santore と Di Toro, 1999)。媒体内における金属錯体形成の特性分析に用いられたモデルおよび算定式に関しては、自然環境に戻して検討できるような形で、常に明確に記録、報告を行うべきである (OECD, 2000)。

A9.7.2.2 溶解度データの解釈

A9.7.2.2.1 溶解度に関して入手されたデータについて考察する場合、その正当性、および金属化合物の有害性の特定に向けた適用性を評価すべきである。特に、データが作られた時の pH 値は判っていないなければならない。

A9.7.2.2.2 既存データの評価

既存データは次の 3 種類のうちいずれかの形になる。すなわち、一部の十分に研究された金属に関しては、種々の無機金属化合物について溶解度積または溶解度データが存在するであろう。また、溶解度と pH 値との関係が知られている可能性もある。しかし、多くの金属または金属化合物に関しては、入手できる情報が、例えば、難溶性である、などの記述的なものでしかないことがありうる。不幸にして、このような記述的な表現に対する溶解度の範囲についての（一貫性のある）手引きは非常に少ないように思われる。こうした情報が入手できる唯一の情報である場合、変化/溶解プロトコール（附属書 10）を用いて溶解度データをとる必要があると思われる。

A9.7.2.2.3 金属化合物の溶解度を評価するためのスクリーニングテスト

溶解度データがない場合、変化/溶解プロトコール（附属書 10）に述べるように、金属化合物について、24 時間の高負荷試験に基づいて溶解度を評価する、単純な「スクリーニングテスト」を用いることができる。スクリーニングテストの役割は、可溶性形態との区別が困難なように、溶解または速やかな変化を受け、したがって溶存イオン濃度に基づいて分類されるような金属化合物を特定することにある。変化/溶解プロトコールに詳述されているスクリーニングテストによるデータが入手できる場合は、試験された pH 範囲における溶解度の最大値を用いるべきである。pH 範囲の全域についてデータが入手できない場合は、その最大溶解度が適切な熱力学的分化モデルまたはその他の適切な手法によって得られたものかを確認すべきである (A9.7.2.1.2.3 を参照)。この試験が金属化合物のみを対象にしていることを念頭に置くべきである。

A9.7.2.2.4 金属および金属化合物の溶解度を評価するためのフルテスト

この分析方法の最初の手順は、スクリーニング試験の場合と同様、分析を行うべき pH 値の評価である。通常、フルテストは溶液中における溶解した金属イオンの濃度が最大になる pH 値で実施すべきである。その場合、pH 値はスクリーニング試験と同様の手引きに従って選ばれる。

フルテストによるデータに基づき、3種類の負荷量(1 mg/l の「低負荷」、10 mg/l の「中負荷」、および 100mg/l の「高負荷」)それぞれについて、7日後の溶液中の金属イオン濃度を算定することができる。試験の目的が物質の長期的な有害性の評価である場合、低負荷の試験は適切な pH 値で 28 日間まで延長することができる。

A9.7.2.3 水生毒性データと溶解度データの比較

物質を分類すべきか否かの決定は、水生毒性データと溶解度データを比較することによって行われる。溶解濃度が L(E)C₅₀ を超える場合、それが入手された唯一のデータであれば、毒性および溶解度データが同一の pH 値におけるものであるか否かに関係なく、その物質は分類を行うべきである。全 pH 値域にわたって溶解濃度が L(E)C₅₀ を超えることがないことを示す他の溶解度データが入手できる場合は、当該の物質をその可溶性形態について分類すべきではない。このことは、環境毒性試験または適切な生物学的利用可能性影響度モデルによる追加データの利用も含んでいる。

A9.7.3 環境における変化に関する評価

A9.7.3.1 環境における、ある金属物質から同じ金属の別の化学種への変化は、有機化合物に適用されるような分解に基づくものではなく、毒性のある化学種の利用可能性および生物学的利用可能性を増減させる可能性があるものである。しかし、自然に起こる地球化学的な過程の結果として、金属イオンは水相から分配しうるものである。水相滞留時間や、水-底質界面でのプロセス(沈積および再可動化)についてのデータはかなりあるが、まだ意味のあるデータベースに統合されていない。しかしながら、上記 A9.7.1 で述べた原則および前提を用いることで、この手法を分類に取り入れることは可能であろう。

A9.7.3.2 このような評価の手引きを示すことは非常に困難であり、通常はケースバイケースのアプローチにおいて対処すべきものであろう。しかし、以下の事項は考慮できる。

- (a) 利用可能性を持たない形態への種分化。ただし、逆方向の変化が起こる可能性も考慮しなければならない。
- (b) 対象の金属化合物の溶解性よりも大幅に溶解性が低い金属化合物への変化

ある程度の慎重さが求められる。A9.7.1.5 および A9.7.1.6 を参照。

A9.7.4 生物蓄積性

A9.7.4.1 log K_{ow} は、非極性有機物などあるタイプの有機化合物については、BCF の良好な予測尺度となるが、これはもちろん、無機金属化合物などの無機物質には当てはまらない。

A9.7.4.2 金属の取り込みおよび排泄速度のメカニズムは非常に複雑かつ多様であり、現在のところこれを記述する一般的なモデルはない。かわりに、分類基準に従った金属の生物蓄積性を、専門家の判断に基づいて、ケースバイケースで評価すべきである。

A9.7.4.3 生物濃縮係数 BCF は生物蓄積性の尺度であるが、金属および非有機金属化合物について測定された BCF の値を解釈するには、多くの複雑な要素がある。ある金属および無機金属化合物に関しては、水中濃度と、ある水生生物における BCF との関係が逆相関なので、生物濃縮性データは慎重に使用しなければならない。このこ

とは、特に生物学的に必須の金属に当てはまることである。生物学的に必須の金属は、その金属を必須としている生体内で能動的に制御される。生体の栄養的な要求度が環境濃度より高い場合もあるので、この能動的な制御の結果として BCF の値は高くなり、BCF と水中における当該金属濃度には逆相関の関係になる。環境における濃度が低い場合には、栄養面での必要性を満たすために金属を取り込む自然な結果として BCF の値が高くなることが予想され、この事例においては正常な現象とみなすことができる。加えて、生体内の濃度が生体によって制御されていれば、測定された BCF の値は外部の濃度が上昇するにつれて低下することになる。外部の濃度が非常に高くなって一定の限界値を超えるか、または制御メカニズムを圧倒するようになると、これは当該の生体に危害を及ぼすものとなる。また、金属が、ある生物にとっては必須であっても、他の生物には必須でない場合がある。したがって、金属が必須でない場合、または必須金属の生物蓄積度が栄養レベルを超える場合には、生物蓄積性および環境上の問題について特に配慮すべきである。

A9.7.5 金属および金属化合物に関する分類基準の適用

A9.7.5.1 金属および金属化合物に関する分類戦略の概要

A9.7.5.1.1 金属および金属化合物の分類のためのスキームについては、以下の記述並びに図 A9.7.1 の総括図を参照されたい。このスキームには、データを分類目的で使用するための、いくつかの段階がある。新たなデータを生成することは本分類スキームの趣旨ではない。有意なデータがない場合は、入手できたすべてのデータを活用し、専門家の判断を仰ぐ必要がある。

以下の各節において L(E)C₅₀ に関する言及は、金属または金属化合物のクラスを選択する際に用いるデータポイントへの言及を意味する。

A9.7.5.1.2 金属化合物の L(E)C₅₀ データについて考慮する場合には、分類の根拠として用いられるデータポイントを、分類すべき金属化合物分子の重量で表すようにすることが重要である。これは分子量補正として知られる作業である。したがって、大半のデータは例えば金属 mg/l のように表されるが、この値は次のように、対応する金属化合物の重量に対応して調整を行う必要がある。

$$\text{金属化合物の L(E)C}_{50} = \text{金属の L(E)C}_{50} \times (\text{金属化合物の分子量} / \text{金属の原子量})$$

NOEC データもまた、対応する金属化合物の重量に対応するように補正する必要がある。

A9.7.5.2 金属の分類戦略

A9.7.5.2.1 対象となる金属イオンの L(E)C₅₀ が 100mg/l より大きい場合、当該の金属については分類スキームの中でさらに考慮する必要はない。

A9.7.5.2.2 対象となる金属イオンの L(E)C₅₀ が 100mg/l 以下である場合、そのイオンが当該金属から生成される速度と程度について入手されたデータを考慮しなければならない。そうしたデータは、有意かつ有益なものであって、変化/溶解プロトコール（附属書 10）を用いて生成されるべきである。

A9.7.5.2.3 こうしたデータが入手できない場合、すなわち金属イオンへの変化が起こらないことを示す十分な有効性を持つ明確なデータが存在しない場合は、これらの可溶性形態に関する既知の分類可能な毒性が十分に懸念を生じうるものと考えられるので、安全側の分類(慢性区分 4)を適用すべきである。

A9.7.5.2.4 溶解プロトコールによるデータが入手できる場合は、以下に示す規則に従ってその結果を、分類を助けるために使用すべきである。

A9.7.5.2.4.1 7日間の変化試験

7日間（またはこれより短期間）の試験後における溶存金属イオン濃度が $L(E)C_{50}$ の値を超える場合、金属のためのデフォルトの分類を次の分類で置き換える。

- (a) 低負荷率における溶存金属イオン濃度が $L(E)C_{50}$ 以上であれば、急性区分1に分類する。水相からの速やかな分配および生物蓄積性の欠如の双方について証拠が存在しなければ、慢性区分1にも分類する。
- (b) 中負荷率における溶存金属イオン濃度が $L(E)C_{50}$ 以上であれば、急性区分2に分類する。水相からの速やかな分配および生物蓄積性の欠如の双方について証拠が存在しなければ、慢性区分2にも分類する。
- (c) 高負荷率における溶存金属イオン濃度が $L(E)C_{50}$ 以上であれば、急性区分3に分類する。水相からの速やかな分配および生物蓄積性の欠如の双方に関する証拠が存在しなければ、慢性区分3にも分類する。

A9.7.5.2.4.2 28日間の変化試験

A9.7.5.2.4.1 に述べた手順で慢性区分1への分類を行う結果になれば、この金属は追加情報の如何に関係なく分類されることになるので、それ以上の評価は必要ない。

この他のすべての事例において、変化/溶解試験によって分類を訂正すべきことを示す追加データが生成されるかもしれない。慢性区分2、3または4に分類された物質について、低負荷率における合計28日間の試験後の溶存金属イオン濃度が長期のNOEC以下の値であれば、その分類結果は撤回される。

A9.7.5.3 金属化合物の分類戦略

A9.7.5.3.1 対象となる金属イオンの $L(E)C_{50}$ が 100mg/l を超える場合、当該の金属化合物については分類スキームの中でさらに考慮する必要はない。

A9.7.5.3.2 溶解度 $\geq L(E)C_{50}$ であれば、可溶性イオンに基づいて分類を行う。

A9.7.5.3.2.1 水溶解度（例えば24時間の溶解度スクリーニング試験などで測定された値、または例えば溶解度積などから見積られた値）が溶存金属イオンの $L(E)C_{50}$ 以上であるようなすべての金属化合物は、易溶性の金属化合物とみなされる。溶解度が測定される際の条件は急性毒性試験の条件と大幅に異なることがあるので、溶解度が急性毒性値に近い化合物については注意を払うべきである。こうした場合には、溶解度スクリーニング試験の結果が優先される。

A9.7.5.3.2.2 易溶性金属化合物は、 $L(E)C_{50}$ （必要なら分子量に対する補正をする）に基づいて以下のように分類される。

- (a) 溶存金属イオンの $L(E)C_{50}$ が 1mg/l 以下であれば、急性区分1に分類する。水相からの速やかな分配および生物蓄積性の欠如の双方について証拠が存在しなければ、慢性区分1にも分類する。
- (b) 溶存金属イオンの $L(E)C_{50}$ が 1mg/l より大きく 10mg/l 以下であれば、急性区分2に分類する。水相からの速やかな分配および生物蓄積性の欠如の双方について証拠が存在しなければ、慢性区分2にも分類する。

- (c) 溶存金属イオンの $L(E)C_{50}$ が 10mg/l より大きく 100mg/l 以下であれば、急性区分 3 に分類する。水相からの速やかな分配および生物蓄積性の欠如の双方について証拠が存在しなければ、慢性区分 3 にも分類する。

A9.7.5.3.3 溶解度 $<L(E)C_{50}$ であれば、デフォルトの慢性区分 4 に分類する。

A9.7.5.3.3.1 分類基準において、難溶性金属化合物は、既知の溶解度（例えば 24 時間の溶解度スクリーニング試験などで測定された値、または例えば溶解度積などから見積られた値）が可溶性金属イオンの $L(E)C_{50}$ 未満であるような化合物と定義される。難溶性金属化合物の可溶性形態金属の $L(E)C_{50}$ が 100mg/l 以下であって、かつ当該物質を難溶性物質であるとみなしうる場合は、デフォルトの安全側の分類(慢性区分 4)を適用すべきである。

A9.7.5.3.3.2 7 日間の変化試験

デフォルトの安全側の分類に分類された難溶性金属化合物については、7 日間の変化/溶解試験から入手できる追加情報も使用することができる。こうしたデータは、低、中、高負荷率における変化レベルも含むべきである。

7 日間（またはこれより短期間）の試験後における溶存金属イオン濃度が $L(E)C_{50}$ の値を超える場合、金属のためのデフォルト分類を次の分類で置き換える。

- (a) 低負荷率における溶存金属イオン濃度が $L(E)C_{50}$ 以上であれば、急性区分 1 に分類する。水相からの速やかな分配および生物蓄積性の欠如の双方について証拠が存在しなければ、慢性区分 1 にも分類する。
- (b) 中負荷率における溶存金属イオン濃度が $L(E)C_{50}$ 以上であれば、急性区分 2 に分類する。水相からの速やかな分配および生物蓄積性の欠如の双方について証拠が存在しなければ、慢性区分 2 にも分類する。
- (c) 高負荷率における溶存金属イオン濃度が $L(E)C_{50}$ 以上であれば、急性区分 3 に分類する。水相からの速やかな分配および生物蓄積性の欠如の双方について証拠が存在しなければ、慢性区分 3 にも分類する。

A9.7.5.3.3.3 28 日間の変化試験

A9.7.5.3.3.2 に述べた手順で慢性区分 1 へ分類される結果になったときは、この金属は追加情報の如何に関係なく分類されることになるため、それ以上の評価は必要ない。

この他のすべての事例において、28 日間の変化/溶解試験によって分類を訂正すべきことを示す追加データが生成されるかもしれない。慢性区分 2、3 または 4 に分類された物質について、低負荷率における合計 28 日間の試験後の溶存金属イオン濃度が長期の NOEC 以下の値であれば、その分類結果は撤回される。

A9.7.5.4 粒子径と表面積

A9.7.5.4.1 試験物質の粒子径または表面積における変動が、一定の時間ウィンドウ内に放出される金属イオンのレベルに著しい変化を引き起こす可能性があることから、粒子径、なかんずく表面積は決定的なパラメータである。したがって、負荷レベルのみに基づく相対的な分類が行えるように、変化試験のために粒子径または表面積

は固定される。一般に、生成された分類データは、変化の程度を判定するのに、市販されている最も粒子径の小さな試料を用いている。特別な金属粉について生成されたデータは塊状形態の分類に適さないとみなされる場合がある。例えば、試験粉末が構造的に別の物質（たとえば別の結晶構造）であることが明らかな場合、または試験粉末が特別な工程によって得られたものであって、塊状の金属からは生成できないような場合、この塊状物質の分類は、データが入手できるなら、より代表的な粒子径もしくは表面積を持つ物質の試験データに基づくことができる。この物質の粉末は、粉末に関して生成されたデータに基づいて別個に分類されることになる。しかし、通常環境においては、同一の金属について二つを超える分類案が示されることは予想されない。

A9.7.5.4.2 粒子径がデフォルトの直径 1mm を下回る金属は、ケースバイケースで試験されてもよい。たとえば、別個の生産技術によって生産された金属粉や、金属粉が塊状形態よりも高い溶解度（または反応性）を示し、その結果より厳しい区分への分類になる場合である。

A9.7.5.4.3 次の表に示すように、試験を行う粒子径は評価対象となる物質によって異なる。

種別	粒子径	備考
金属化合物	市販通常製品のうち最小	最大 1 mm
金属 — 粉末	市販通常製品のうち最小	様々な結晶／形態上の性質がある場合には、別個のデータを考慮する必要も考えられる。
金属 — 塊状	1 mm	十分な正当性があれば、デフォルト値を変更することができる。

A9.7.5.4.4 一部の形態の金属に関しては、変化／溶解プロトコール(OECD 2001)を用いて、指定された時間間隔後の金属イオン濃度を、試験される形態の表面積負荷の関数として、相関を得ることが可能であろう。そのような場合、Skeaff ら(2000)が提案している臨界面積の考え方（付録 VI 第 5 部「金属および金属化合物」参照）を用いて、様々な粒子径を持つ金属の溶存金属イオン濃度レベルを見積ることが可能となるであろう。すなわち、この相関性および適切な毒性データとの連結によって、媒体に L(E)C₅₀ を与える物質の臨界面積を特定し、次に有害性の同定に用いられる低、中、高負荷値にこの臨界面積を変化することが可能となる。この手法は分類には通常用いられないが、ラベル表示および川下製品における決定に際して有効な情報を提供するかもしれない。

図 A9.7.1: 金属および金属化合物の分類手順

