

キレート作用を有する物質の有害性評価に関する検討状況

令和3年1月15日

環境省化学物質審査室

平成29年6月23日に開催された3省合同審議会において、ニトリロ三酢酸のナトリウム塩（#152）の有害性評価について議論が行われ、複数のご指摘等をいただいた（別添1及び別添2）。本資料では、ご指摘事項に関する対応等も含めて、キレート作用を有する物質（「ニトリロ三酢酸及びその塩¹（以下、「NTA」と言う。）」と「エチレンジアミン四酢酸（#36）及びその塩²（以下、「EDTA」と言う。）」）の有害性評価の検討状況をとりまとめた。

本資料では、水生生物試験に関する国際的なガイダンス文書である、「OECDガイダンスドキュメント23（以下「OECD GD23」と言う。）」に記載されている、金属錯体形成物質の試験を実施する際の考え方、特に藻類への毒性作用に対する考え方を紹介するとともに、その内容を踏まえ、今回の評価対象物質であるNTAとEDTAの有害性評価における藻類データの取り扱いを整理した。さらに、平成29年の審議会でのご指摘、ご質問に対する回答等を取りまとめた。

1 OECD GD23での金属錯体物質の藻類への毒性作用に対する考え方

金属錯体を形成する物質（キレート作用を有する物質）の有害性評価、特に藻類毒性試験結果の取り扱いに関する検討は、平成29年6月の三省合同審議会後、環境省において引き続き行っている。当該審議会以降の、有害性評価に関わる大きな動きとしては、金属錯体形成物質の水生生物試験に関する国際的なガイダンス文書である、「OECDガイダンスドキュメント23（以下「OECD GD23」と言う。）」が2018年に改訂された（以下「2018年版」と言う。）ことが挙げられる（別添3）。

藻類生長阻害試験における金属錯体形成物質の毒性作用については、改訂されたOECD GD23においても、主として錯体形成による生理的に不可欠なイオンの遊離（生物学的に利用可能な）濃度の低下により起こるもので、藻類生長阻害はこのような二次的影響であり、被験化学物質固有の毒性によるものではないとされている。一方で、二次的影響を除去する考え方は、2000年版では「二次的影響は、必須イオン濃度の不足分を補えば除去することができる」とされていたが、この記述は2018年版には見当たらない。

また、OECD GD23には、多価金属と錯体を形成する化学物質の藻類に対する毒性緩和試験に関する具体的なガイダンスが付録として添付されており、これらの物質のリスク評価に関連した藻類毒性試験の必須条件は、放出シナリオで想定される水質により依存するとされている。2018年版ではこの緩和試験の結果がポリ（カルボン酸）類のアニオン性ポリマーやポリアニオン系モノマーという被験物質固有の毒性と錯体形成による二次的影響の区別に役

1 2, 2', 2''-ニトリロ三酢酸のナトリウム塩（優先評価化学物質番号152）における藻類のキレート作用による影響を検討するため、当該物質が排出される環境中で毒性に影響すると考えられる硬度成分（Ca, Mg）と主要な存在形態と考えられる鉄錯体の有害性情報も収集した。

2 エチレンジアミン四酢酸（優先評価化学物質番号36）の藻類のキレート作用による影響を検討するため、当該物質が排出される環境中で毒性に影響すると考えられる硬度成分（Ca, Mg）と主要な存在形態と考えられる鉄錯体の有害性情報も収集した。

35 立つであろうとされていることから、試験には排出先で錯体を形成する可能性のある物質の
36 存在やキレート後の形態等も考慮するように求められていると考えられる。なお、具体的な
37 緩和試験の事例として、より典型的な受水側の影響を評価するために米国 EPA が提案した硬
38 度を改変した場合での藻類生長阻害試験方法が紹介されている（別添3（2）項）が、この例
39 示は、ポリカルボン酸系アニオン性ポリマー等の毒性が TOC や硬度により影響を受けると
40 した知見を踏まえ、例示されたものと考えられる（別添3 参考1）。

42 2 NTA と EDTA に対す有害性評価における藻類データの取り扱いについて

43 我が国の環境水中に NTA と EDTA が排出された場合、そこに存在する金属により藻類へ
44 の毒性が異なると考えられる。我が国の環境水中に存在し、検討が必要な物質としては、硬
45 度の主成分であり、存在量の多い Ca と Mg、そして、藻類の生長にとって不可欠な金属で最
46 も錯体を形成しやすい鉄が挙げられる。

47 環境省では、OECD GD23 の例示に準じた藻類の緩和試験を、藻類としてムレミカヅキモ
48 (*Pseudokirchneriella subcapitata*、新学名 *Raphidocelis subcapitata*)、シネココッカス
49 (*Synechococcus leopoliensis*) 及びフナガタケイソウ (*Navicula pelliculosa*) を用いて、ニトリ
50 ロ三酢酸三ナトリウムとエチレンジアミン四酢酸二ナトリウムを被験物質として実施した
51 (別紙1)。なお、この試験では硬度の調整を主成分とされている Ca と Mg により行ってお
52 り、硬度としての設定範囲（概ね 20~150mg/L）は、我が国の環境水中の硬度範囲と概ね一
53 致する。緩和試験の結果、NTA、EDTA 共に、硬度等による NOEC 値の差は大きくなかった
54 が、ErC50 値は、ムレミカヅキモとシネココッカスでは、NTA、EDTA とともに、硬度が大き
55 くなるにつれ、大きくなる傾向にあった（OECD 培地の硬度 24mg/L との比では、NTA では
56 1.7~8.2 倍、EDTA では 0.9~2.32 倍）。

57 また、環境省では、鉄へのキレート作用による二次的影響に対する緩和作用をみるため、
58 硬度による緩和試験と並行して、鉄の添加試験を実施している（別紙2）。その結果、ErC50
59 値は大きくなっているものの、濃度によっては鉄添加による生長促進作用の可能性が疑わ
60 れ、鉄の添加試験結果をそのまま栄養塩欠乏による二次的影響の緩和という結論には結びつ
61 けられないこと、加えて、EDTA-Fe(III)については、光分解が認められることから、緩和試
62 験としての信頼性には問題が残ると考えられた。

63 鉄の添加試験での結果は、二次的影響の緩和作用という点では明確にはできなかったが、
64 鉄が多く存在するような環境水中に NTA や EDTA が排出された際に、鉄錯体が形成され藻
65 類への生長が促される可能性が示された。

66 欧州連合の EDTA のリスク評価書³は、藻類増殖に関する影響は EDTA の絶対濃度ではな
67 く、金属イオンに対する EDTA 濃度比が重要とし、金属イオンが過剰に存在する表層水中で
68 は EDTA の直接的な影響は考えにくいとしている。

69 EDTA の金属錯体による藻類への影響について、欧州連合が言及している様に、金属イオ
70 ンに対する EDTA 濃度比が重要とするならば、我が国の環境水中での金属濃度の実態を踏ま
71 えて有害性を検討する必要があるが、我が国の環境水中でのすべての金属種の存在量や形態
72 を明らかにするのは難しい。さらに、それらの錯体形成物質が藻類にどのように利用され、

3 EU(2004): European Union Risk Assessment Report EDETIC ACID (EDTA) CAS No: 60-00-4 EINECS No: 200-449-4 RISK ASSESSMENT Final Report, 2004 Germany

73 影響あるいは生長促進に関与しているか等、キレート作用を有する物質と藻類の金属利用メ
74 カニズムとの関連性は未だ明らかになっていない部分が多い。

75 ちなみに、2017年度に我が国の公共用水域で測定された溶解鉄濃度は、測定地点（1869
76 地点）の48%が定量下限値（0.005~1mg/L）未満で、検出されている970地点のうち、藻類
77 試験標準培地での鉄濃度（OECD培地 0.017mg/L、AAP培地 0.033mg/L）以下の地点は、
78 OECD培地に含まれる濃度では73地点（約8%）、AAP培地では195地点（20%）となっ
79 ているが、検出下限値の幅が大きく、溶解鉄の存在実態は明らかとは言えない。

80
81 キレート作用を有する物質の藻類への毒性作用については、「The toxic effects of metal
82 complexing test chemicals in algal growth inhibition tests are mainly caused by reduction of the free
83 (bioavailable) concentration of physiologically essential ions. Inhibition of algal growth by such
84 complexation is a secondary effect, which cannot be attributed to the inherent toxicity of the test
85 chemical（仮訳：主として生理的に不可欠なイオンの遊離（生物学的に利用可能な）濃度の
86 低下により起こる二次的影響であり、被験化学物質固有の毒性によるものではない）」とし
87 た OECD GD23 の記述に沿った解釈が求められるが、環境省が実施した硬度成分（Ca、Mg）
88 および必須金属の1つである鉄を添加した緩和試験結果からは、EDTA および NTA の影響が
89 化学物質固有の本質的な毒性作用によるものか、それとも上記の二次的影響であるかを明確
90 にすることはできなかった。また、藻類の必須金属取り込みへの EDTA または NTA の関与
91 とその有害性メカニズムも未だ明らかではない。

92 このことから、現時点の EDTA と NTA の有害性評価では、藻類の試験結果は直接リスク
93 評価には用いず、甲殻類の繁殖毒性試験結果を PNEC 値に採用することとする。なお、藻類
94 生長阻害試験自体の信頼性は高く、その試験で得られた値は本評価結果（PNEC 値）のキー
95 スタディである甲殻類繁殖毒性値よりも低い値であることから、当該試験条件と同様の環境
96 下にこれらの物質が流入した場合には、化学物質固有の本質的な毒性作用によるものか、二
97 次的影響であるかの区別はつかないものの、より低い濃度で、藻類が影響を受ける可能性が
98 ある。

99 今後、キレート作用を有する物質の藻類への影響に関する不確実性を低減させる科学的知
100 見が得られた際には、評価の見直しを行うこととする。

101

102 3 キレート作用を有する物質の有害性評価に関する委員指摘事項に対する対応（案）

103 1項でのとりまとめを踏まえて、平成29年審議会での委員指摘事項への対応(案)を作成し
104 た。

105 (1) キレート作用を有する物質の藻類への生長阻害を捉える上での課題

106 ① 錯体形成による栄養欠乏による二次的影響について:キレート作用を有する物質の藻類への
107 有害性を評価する場合、藻類増殖に必須と考えられる鉄やその他の元素の利用に関する考
108 察は必要であるが、現行のリスク評価(一次)評価Ⅱでの評価方法では、影響を適切に捉える
109 ことができないのではないかと。

110

111 【対応（案）】

112 ご指摘の通り、今回、環境省が実施した硬度の藻類緩和試験では、我が国の環境水中の
113 硬度範囲（概ね 20～150mg/L）で無影響濃度（NOEC）には大きな相違は認められず、半
114 数影響濃度（ErC50）については、硬度が高くなると若干毒性が緩和される傾向にあった
115 もの、その値は OECD 培地での硬度（24mg/L）での値の 10 倍以内となっていた。また、
116 鉄の添加試験結果では生長促進効果が見られるなど、OECD GD23 に記載されている二次
117 的影響の明確な科学的根拠を得ることができなかった。今回の試験は、硬度成分である Ca
118 と Mg、そして鉄の添加による藻類の反応はある程度みることができたものの、我が国で
119 の受水域に存在する主要な金属の影響を説明し得たものではないことから、不確実性は残
120 る。そのため、EDTA と NTA の有害性評価では、藻類の試験結果は用いず、甲殻類の繁
121 殖毒性試験結果を PNEC 値に採用することとした。しかしながら、環境省が実施した藻類
122 生長阻害試験での Ca、Mg による硬度条件は、我が国の環境水中の硬度の範囲となってい
123 ることに加え、この試験自体の信頼性は高く、得られた値は甲殻類繁殖毒性値よりも低い
124 値であることから、当該試験条件と同様の環境下にこれらの物質が流入した場合には、化
125 学物質固有の本質的な毒性作用によるものか、二次的影響であるかの区別はつかないもの
126 の、より低い濃度で藻類が影響を受ける可能性がある。

- 127
- 128 ② キレート作用の毒性としての取り扱いについて: ガイドンスの緩和試験ではキレート作用を確
129 かめるために設計されているが、キレート作用を毒性とみるか否かをきちんと整理すべきであり、
130 両者が分離できないのであれば、割り切りも必要ではないか。

131

132 【対応（案）】

133 OECD GD23 では、「金属錯体を形成する被験物質の毒性は、大部分が生理的に必要不
134 可欠なフリーイオン濃度の減少によるもので、このような作用による藻類の生長阻害は二
135 次的な作用であり、被験物質固有の毒性とは言えない」とされている。

136 割り切りという観点では、出来得る限り実環境を考慮した試験法に基づくデータ利用
137 を考えるべきであり、現段階ではそれが、硬度改変培地を用いた OECD GD23 に基づく試
138 験法と Fe(III)錯体を用いた試験法であると考え。しかし、Fe(III)錯体を用いた試験法に
139 ついては、実環境の鉄濃度の動態が不明であることから、被験物質と等量の Fe(III)を加え
140 た試験法が、実環境を反映しているかは現時点で判断できない。また、環境水中に存在す
141 る他の主要金属による錯体形成の藻類影響は調べ切れておらず、不確実性が残っている。
142 そのため、EDTA と NTA の有害性評価では、藻類の試験結果は用いず、甲殻類の繁殖毒
143 性試験結果を PNEC 値に採用することとした。しかしながら、環境省が実施した藻類生長
144 阻害試験での Ca と Mg による硬度条件は、我が国の環境水中の硬度の範囲となっている
145 ことに加え、この試験自体の信頼性は高く、得られた値は甲殻類繁殖毒性値よりも低い値
146 であることから、当該試験条件と同様の環境下にこれらの物質が流入した場合には、化学
147 物質固有の本質的な毒性作用によるものか、二次的影響であるかの区別はつかないもの、
148 より低い濃度で藻類が影響を受ける可能性がある。

150 ③ キレート作用と共存金属濃度の関連性を考慮した、有害性評価値の導出の必要性について：
151 EC(2005)のリスク評価では、藻類の生長阻害試験での毒性値が、培地に含まれる金属とキレ
152 ート作用を有する物質の錯体形成に基づく栄養塩欠乏によってもたらされたものと結論づけら
153 れており、このような評価方法や結果を活用できないか。

154
155 【対応（案）】

156 環境省が実施した試験では、Fe の当量添加による藻類への影響は、生長阻害を緩和し
157 たものなのか、それとも藻類の生長を促した結果なのかを分離できず、また、EDTA-Fe(III)
158 については、急速な光分解が認められること等から、欧州連合でのリスク評価書が指摘し
159 ているような錯体形成に基づく栄養塩欠乏によってもたらされたものなのか、科学的に証
160 明することはできなかった。同評価書では、藻類増殖に関する影響は EDTA の絶対濃度で
161 はなく、金属カチオンに対する EDTA 濃度比が重要としていることから、キレート作用を
162 有する物質の藻類への影響を捉えるには、受水域での金属の存在量や形態が重要と考えら
163 れるが、我が国の環境水中での実態は明確でなく、不確実性が残る。そのため、EDTA と
164 NTA の有害性評価では、藻類の試験結果は用いず、甲殻類の繁殖毒性試験結果を PNEC 値
165 に採用することとした。しかしながら、環境省が実施した藻類生長阻害試験自体の信頼性
166 は高く、得られた値は甲殻類繁殖毒性値よりも低い値であることから、当該試験条件と同
167 様の環境下にこれらの物質が流入した場合には、化学物質固有の本質的な毒性作用による
168 ものか、二次的影響であるかの区別はつかないものの、より低い濃度で藻類が影響を受け
169 る可能性がある。

170

171 (2) キレート作用を有する物質の有害性評価、リスク評価に関する課題

172 (指摘事項1) キレート作用を有する物質の有害性評価やリスク評価では、特有の有害性やリ
173 スク特性を適切に捉えているかが重要であり、評価書では、この点に関する記述が必要。

174 【対応（案）】

175 キレート作用を有する物質に対する考え方に記載した通り、OECD GD23 付録 4 は、
176 それぞれの国の受水域での水環境の特性を踏まえて、試験設計を行うことを推奨してい
177 る。環境省では、その点を踏まえ、硬度の主成分である Ca、Mg を添加した藻類緩和試
178 験と鉄の添加試験を実施しており、我が国の環境水中での Ca、Mg による硬度範囲で
179 の無影響濃度 (NOEC) は大きく異ならないが、ErC50 値は、ムレミカヅキモとシネコ
180 コッカスでは、NTA、EDTA とともに、硬度が大きくなるにつれ、大きくなる傾向にあっ
181 たことが明らかとなった。また、鉄添加試験においては、藻類生長が促進されており、
182 鉄欠乏による二次的影響が緩和されているのか、あるいは鉄を増やすことによる成長促
183 進作用であるのか判断できなかったことから、この点での二次的影響を科学的に証明す
184 るには至らなかった。欧州連合の EDTA リスク評価書では、藻類増殖に関する影響は
185 EDTA の絶対濃度ではなく、金属カチオンに対する EDTA 濃度比が重要としているが、
186 鉄を含む金属とキレート物質の受水域での存在量等がすべて明らかとなっているわけ
187 ではないこと等から、現時点では我が国の水環境を踏まえた有害性評価を行うことは難

188 しく、その点に不確実性がある。

189 したがって、現段階での EDTA と NTA の有害性評価では、藻類の試験結果は用い
190 ず、甲殻類の繁殖毒性試験結果を PNEC 値に採用することとした。しかしながら、Ca
191 と Mg による硬度条件については、環境省が実施した藻類生長阻害試験が我が国の水環
192 境中の硬度の範囲となっていることに加え、この試験自体の信頼性は高く、得られた値
193 は甲殻類繁殖毒性値よりも低い値であることから当該試験条件と同様の環境下にこれ
194 らの物質が流入した場合には、化学物質固有の本質的な毒性作用によるものか、二次的
195 影響であるかの区別はつかないものの、より低い濃度で藻類が影響を受ける可能性があ
196 る。

197

198 (指摘事項2) 適切な暴露評価を考えた場合、環境基準に基づく環境評価の考え方を援用して
199 はどうか、具体的には X%非超過確率値を代表値として PNEC と対比し、この X につ
200 いて共通理解を整理してはどうか。すなわち、現状では、モデル推算によって、非常に
201 小さな空間的非超過確率値に相当するばく露濃度を推算して広域的なひろがりがない
202 かどうかの判定をおこなっている。だからこそ、ここにモデル推算の強み—すなわちモ
203 ニタリングを補完できる—、という筋道ができていたが、モデルによるモニタリング補
204 完機能とともに、モデルの再現レベルの確認を適切にしつつ、モデルを中心にして、リ
205 スク評価の加速化に資するような、ガイダンスドキュメントの整備を進めてはどうか。

206 【回答 (案)】 暴露評価、またガイダンスに関連する事項のため別での議論といたしたい。

207

208 (いずれも東海委員)

209
210 別紙 1 環境省が実施した藻類生長阻害に対する硬度による緩和試験の結果概要につい
211 て

212 NTA と EDTA が環境水中に排出された場合、その毒性に影響を及ぼすと考えられる物質と
213 しては、最も錯体を形成しやすい鉄や OECD GD23 で緩和試験の対象となっている硬度が挙
214 げられる。環境省では、OECD GD23 ANNEX4 に記載されている事例に準じた試験⁴を行っ
215 た。

216 OECD GD23 に例示された試験は、硬度として約 150mg/L を用いている。この点につい
217 て、提案者である米国 EPA に問い合わせをしたところ、米国の河川水を念頭においたもの
218 の回答を得ている。そのため、NTA や EDTA が我が国での環境水に排出された場合を想定
219 し、日本の環境水の硬度による試験デザインとし、付録 4 に示された a～c の試験を実施し
220 た。以下に試験内容と結果概要を示した。なお、付録 4 の d（標準培地に比べて高い硬度の
221 改変培地に Ca 塩（NTA-Ca または EDTA-Ca）として被験物質を添加する試験）について
222 は、別途行っていた予備試験の結果、培地の硬度が高くなると藻類の生長阻害が確認されて
223 いたことから、付録 4 の d の試験を実施した場合、Ca 塩添加による硬度の上昇による影響
224 と、被験物質による影響の区別がつかないと判断したことから実施しなかった。

225 試験は、藻類としてムレミカヅキモ（*Pseudokirchneriella subcapitata*、新学名 *Raphidocelis*
226 *subcapitata*）、シネココッカス（*Synechococcus leopoliensis*）及びフナガタケイソウ（*Navicula*
227 *pelliculosa*）の 3 種を用いた。付録 4 の a 及び b に該当する試験では、OECD TG201 の推奨培
228 地（OECD 培地）に Mg 及び Ca を添加して硬度を 4 段階（24（OECD 培地での硬度）、50、
229 100、150mg/L）に改変して実施した。また、付録 4 c に該当する試験は、フナガタケイソウ
230 以外の 2 種の藻類を用いて、OECD GD23 付録 4 の 2 項に示されている調製方法により、被
231 験物質を Ca 塩とした状態での暴露試験を実施した。なお、ここで用いた硬度範囲（概ね 20
232 ～150mg/L）は、平成 27 年度～29 年度に調べられた我が国の水道原水（表流水）の 3854 地
233 点中 3511 地点（91%）での硬度範囲に該当する⁵。

234 被験物質としては、ニトリロ三酢酸三ナトリウム一水和物（CAS 5064-31-3）とエチレンジ
235 アミン四酢酸二ナトリウム水和物（CAS 6381-92-6）を用いた。なお、毒性値はニトリロ三酢
236 酸あるいはエチレンジアミン四酢酸当たりの値（それぞれ、mgNTA/L、mgEDTA/L）に換算
237 して示している。

238 その緩和試験の結果は表 1 の通りである。

4 OECD GD23 ANNEX4 では、a. 標準試験培地（15～24 mg/L の硬度（CaCO₃ として））を用いた藻類生長阻害試験、
b. 硬度（CaCO₃ として）約 150 mg/L の改良試験培地を用いた藻類生長阻害試験、c. 標準培地を用いて、被験物質
と当量の Ca²⁺を添加したて Ca 塩による藻類生長阻害試験、d. 上記 b（改良試験培地）を用いて、被験物質と当量の
Ca²⁺を添加したて Ca 塩による藻類生長阻害試験（別添 3）（2）より概要を記載）

5 公益社団法人日本水道協会（2019）：平成 29 年度水道統計 水質編 第 100-2 号。
公益社団法人日本水道協会（2018）：平成 28 年度水道統計 水質編 第 99-2 号。
公益社団法人日本水道協会（2017）：平成 27 年度水道統計 水質編 第 98-2 号。

239

表 1 (1) 硬度等による藻類生長阻害に関する緩和試験結果 (NTA)

生物種		ムレミカヅキモ	シネココッカス	フナガタケイソウ	備考
硬度	エンドポイント	毒性値(mgNTA/L)	毒性値(mgNTA/L)	毒性値(mgNTA/L)	
硬度調整なし (硬度 24mg/L)	NOEC	0.11	0.29	<0.29	付録 4 の a に該当
	ErC50	8.5 (6.37-10.6)	5.86 (4.64-7.09)	>72.2	
50 mg/L	NOEC	<0.34	0.27	0.23	付録 4 の b に該当
	ErC50	22.5 (16.4-28.5)	15.1 (11.3-18.8)	>73.8	
100 mg/L	NOEC	<0.34	0.23	<0.28	
	ErC50	31.9 (23.6-40.2)	52.1 (40.4-63.7)	>75.8	
150 mg/L	NOEC	0.34	0.23	<0.3	
	ErC50	46.7 (28.8-64.6)	57.2 (46.1-68.3)	>74	
EDTA-Ca	NOEC	<0.39	0.29	実施していない	付録 4 の c に該当
	ErC50	14.1 (8.09-20.2)	13.3 (8.18-18.4)		

240

241

表 1 (2) 硬度等による藻類生長阻害に関する緩和試験結果 (EDTA)

生物種		ムレミカヅキモ	シネココッカス	フナガタケイソウ	備考
硬度	エンドポイント	毒性値(mgEDTA/L)	毒性値(mgEDTA/L)	毒性値(mgEDTA/L)	
硬度調整なし (硬度 24mg/L)	NOEC	<0.31	3.32	<0.27	付録 4 の a に該当
	ErC50	5.2(3.11-9.81)	16.11(12.4-20.81)	26.9 (18.1-35.7)	
50 mg/L	NOEC	0.35	3.33	0.24	付録 4 の b に該当
	ErC50	8.57(4.89-16.85)	22.29(19.68-25.15)	21.2 (9.82-32.7)	
100 mg/L	NOEC	<0.34	2.76	<0.34	
	ErC50	8.42(5.65-13.27)	20.73(17.55-24.38)	8.52 (5.49-11.5)	
150 mg/L	NOEC	<0.34	2.79	<0.32	
	ErC50	12.07(8.98-16.75)	24.15(19.12-30.28)	2.33 (1.59-3.07)	
EDTA-Ca	NOEC	<0.39	2.87	実施していない	付録 4 の c に該当
	ErC50	8.78(4.57-20.07)	14.57(11.68-18.09)		

242

243

244

245

246

247

NTA の試験での NOEC 値は、ムレミカヅキモでは 0.11~<0.39mgNTA/L、シネココッカスでは 0.23~0.29mgNTA/L、フナガタケイソウ 0.23~<0.3 mgNTA/L の範囲で硬度等による相違は大きくなかった。また、EDTA の試験でも同様に傾向にあり、NOEC 値はムレミカヅキモが<0.31~<0.39mgEDTA/L、シネココッカスでは 2.76~3.33mgEDTA/L、フナガタケイソウ 0.24~<0.34 mgEDTA/L の範囲で硬度による差は小さかった。

248

249

250

251

なお、ErC50 値については、ムレミカヅキモとシネココッカスでは、NTA、EDTA ともに、硬度が大きくなるにつれ、毒性値が大きくなる傾向にあるが、硬度 24mg/L との比で見ると、NTA ではムレミカヅキモが 1.7~5.5 倍、シネココッカスが 1.9~8.2 倍、EDTA ではムレミカヅキモが 1.6~2.32 倍、シネココッカスが 0.9~1.5 倍であった。

252

253

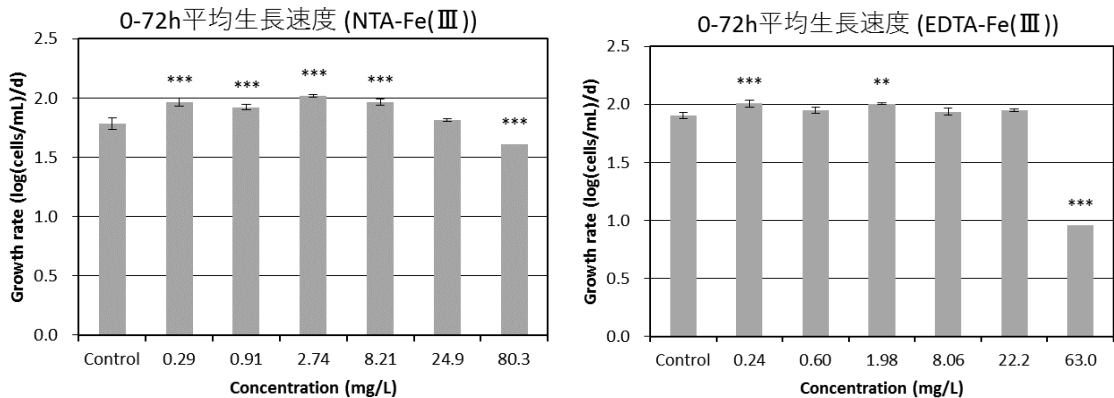
以上から、当該試験条件下における NTA および EDTA の最小の NOEC 値は、それぞれ 0.11mgNTA/L、0.24mgEDTA/L と考えられる。

254

255 別紙2 環境省が実施した鉄添加による藻類生長阻害試験について

256

257 環境省では、我が国の環境水中で、これらの物質と最も錯体を形成する金属として考えら
258 れる鉄についても、硬度による緩和試験と並行して、試験濃度と当量の鉄を混入した試験を
259 実施している。図1はムレミカツキモでの鉄緩和試験の結果を示したもので、対照区に比べ
260 て有意な生長阻害が認められた濃度区はNTA、EDTAともに最大濃度区のみで、それ以外の
261 濃度区では対照区に比べて生長速度が有意に大きな値か同等となっており、生長が促進され
262 ている可能性が示された。



263 図1 NTA-Fe(III)、EDTA-Fe(III)を用いた緩和試験の0-72h平均生長速度(ムレミカツキモ)
264 ***p<0.001、**p<0.01
265
266

267 つまり、キレート作用を有する物質と当量の鉄を添加した場合、毒性は小さくなっている
268 が、この結果には鉄添加による生長促進作用も含まれている可能性が示されたことから、鉄
269 の添加試験結果をそのまま必須微量元素や栄養塩欠乏による二次的影響の緩和という結論に
270 は結びつけられない。加えて、EDTA-Fe(III)については、光分解が認められることから、緩
271 和試験としての信頼性には問題が残る。

272 また、藻類試験の培地にはキレート物質のEDTAが含まれており、藻類の金属、特に鉄の
273 摂取には不可欠とされている等、キレート作用を有する物質の藻類の金属利用メカニズムへ
274 の関与は未だ不明な部分が多い。仮に、キレート物質が細胞内に入り、そこに存在する必須
275 金属と錯体を形成し、必須金属の生理作用を低下させる作用を「毒性」とし、「二次的作
276 用」は、水環境中でキレート物質と必須金属が錯体を形成し、結果として藻類が利用できな
277 い形態となることを指すのであれば、キレート物質そのものや金属と錯体を形成した物質が
278 細胞内に入るか否かの確認が必要となり、これを証明する試験を実施することは現時点では
279 難しい。つまり、付録4の硬度に変わる鉄を含む他の金属による緩和試験を実施することも
280 難しいこととなる。

281

282

283

284 別添 1) 平成 29 年 6 月 23 日に開催された 3 省合同審議会での主な指摘事項

恒見委員：資料 2-1 の 4. では、キーデータの選定についてカルシウムイオンについて書かれているが、キレート作用の影響は鉄やその他の必須元素にも関係すると考えられるため、必須元素の必要量、それに対して実際の試験濃度がいくらであったのか、その辺の比較も合わせて有害性評価書の中でご提示いただきたい。

吉岡委員：OECD や欧州が本質的な毒性といっているのは、EU のリスク評価書の毒性と一致しているのか。ガイダンスの緩和試験はキレート作用を確かめるために設計されているが、キレート作用を毒性とみるか否かをきちんと整理すべき。

小林委員：EU-RAR の試験結果はすべて信頼できないものとして棄却しているが、ここからなにか考察できないのか。EU での結果とハーモナイズさせる必要はないのか。

小山委員：EU-RAR に掲載されている試験結果の培地のうち、BBM 培地は必須金属だけでなく窒素やリンも濃度が高くなっており、結果を同等に評価できないため棄却している。

鈴木委員：OECD 培地には EDTA が鉄を溶かすために使われているとすると、キレートすると吸収できなくなるという仮定は正しいのか。

青木委員：キレート作用を有する化学物質のキレート作用と個別毒性を分離することはできるのか。できないならば割り切って考えざるを得ない。

286

287 別添2) 東海委員から提出された意見書

288

平成29年6月23日三省合同審議会

289

290 ニトリロ三酢酸のナトリウム塩 (#152) の有害性評価書 (資料2-2) についての意見

291

292

大阪大学 東海明宏

293

294 PNEC 値の導出においては、ニトリロ三酢酸のキレート作用による毒性作用への影響

295 は不明との理解のもとで、キレート作用を考慮せず、2栄養段階に対する慢性毒性値

296 (0.3mgNTA/L) に種間外挿「5」、室内から野外への外挿係数「10」で除して次のよ

297

うに求めている。 $0.3[\text{mg NTA/L}] \div 5 \div 10 = 0.006[\text{mg NTA/L}]$ 。

298

299 4 PNEC 導出を論じた2つのレポートを踏まえた意見。

300 (ア) OECD(2000)のガイダンスドキュメントの「錯体形成による栄養欠乏による二次的影響

301 の存在の指摘」を踏まえると、この導出方法は、不確実性を増大させる求め方に相当

302 しており、評価Ⅱの趣旨にはなじまないのではないのでしょうか。

303 (イ) EC(2005)のリスク評価書(Trisodium Nitritotriacetate)では、藻類に対する毒性試験

304 の結果、5日間ばく露で NOEC を求めており、培地に含まれる金属と NTA との錯体

305 形成に基づく栄養塩欠乏によってもたらされたものと結論づけられていることから、本

306 有害性評価でも、共存する金属濃度の知見を併記したうえで、キレート作用を踏まえ

307 た有害性評価値の導出が必要であると考えます。

308

309 5 NTA は、キレート作用を有する物質として、最初リスク評価となるため、まず

310 キレート作用を有する物質の有害性評価、リスク評価の枠組み(手順)についての

311 共通理解の確認をすることが先決であると考えます。その枠組みに含まれる内容と

312

しては、

313 (ア) ガイダンスドキュメント「Ⅲ.4.2.2 有害性データの精査の観点」における有害性等の性

314 状データの評価に考慮されている、reliability, relevance, adequacy のうち、

315 reliability, adequacy は従来の定義で押さえることができても、特に、relevance の再

316 確認・再定義が必要と思います。特に、キレート作用は、relevance(データと試験は、

317 特有の有害性やリスク特性を適切に捉えているか)に直接かかわるものであることから、

318 評価書では、この点に関する記述が必要と思われます。

319 (イ) リスク評価に関して、(これは、NTA に限る事ではありませんが)ばく露評価の

320 relevancyとして、環境基準に基づく環境評価の考え方を援用することはどうでしょうか。

321 すなわち、X%非超過確率値を代表値として PNEC と対比するもので、この X につい

322 て共通理解を整理することです。現状では、モデル推算によって、非常に小さな空間

323 的非超過確率値に相当するばく露濃度を推算して広域的なひろがりがないかどうかの

324 判定をおこなっています。だからこそ、ここにモデル推算の強み—すなわちモニタリン

325 グを補完できる—、という筋道がでてきますが、モデルによるモニタリング補完機能と

326 もに、適切にモデルの再現レベルの確認をしつつ、モデルを中心にして、リスク評価
327 の加速化に資するような、ガイダンスドキュメントの整備を進めてはどうかと考えます。
328
329
330
331

332 別添3) OECD ガイダンス文書 23 における錯体形成物質の記述

333 (1) 2000 年 9 月 版

334 OECD(2000): Guidance Document on Aquatic Toxicity Testing of Difficult Substances and
335 Mixtures. OECD Environmental Health and Safety Publications Series on Testing and Assessment
336 No.23.

3.1 Complexing substances

Complexation may significantly affect the bio-availability and toxicity of a test substance. It may also reduce the availability in the test medium of salts (such as calcium and magnesium) and trace elements which are essential for supporting healthy test organisms. The following are examples of substances which may be involved in complexation:

- EDTA;
- Polyanionic polymers with carboxylic and phosphoric acids;
- Phosphonates; and
- Metals.

The extent to which a substance is complexed will depend upon the availability of co-complexing agents and other properties of the medium such as pH. Speciation models may be used to calculate the concentrations of dissolved and complexed test substance from the total nominal concentration added.

Data from tests in which complexation has been judged to have had a significant bearing on the result are likely to be of questionable value for classifying substances and for extrapolating to a predicted no effect concentration for risk assessment. The extent to which effects are a direct consequence of chemical toxicity or a secondary effect, resulting from for example complexation induced nutrient limitation, should be determined where possible. Compensatory adjustment to water quality parameters or the testing of an appropriate salt of the test substance help to achieve a valid test result but protocols incorporating modifications to standard procedures should be validated and approved for use by the appropriate regulatory authority.

The effects of metal complexing substances in algal growth inhibition tests are mainly caused by chelation of essential cations, which leads to growth limiting reductions in the concentration of uncomplexed physiologically active ions. Inhibition of algal growth by metal complexing agents is therefore a secondary effect, which cannot be attributed to substance specific inherent toxic properties. The secondary effects can be eliminated by compensating for the deficit in the concentration of the essential ion(s). Guidance on toxicity mitigation testing with algae for chemicals which form complexes with and/or chelate polyvalent metals is given in Annex 4.

Analysis methods for quantifying exposure concentrations, which are capable of distinguishing between the complexed and non-complexed fractions of a test substance, may not always be available or economic. Where this is the case approval should be sought from the regulatory authority for expressing the test result in terms of nominal concentrations.

Annex 4

Toxicity mitigation testing with algae for chemicals which form complexes with and/or chelate polyvalent metals

The requirements for algal toxicity testing in relation to risk assessment for substances which complex metals depend upon the water quality which is envisaged in the release scenario. The following testing scheme has been suggested by the US EPA:

1. test chemical as it is in standard algal growth medium with a hardness in the range 15 to 24 mg/l as CaCO₃;
2. test chemical as it is in modified algal growth medium with a hardness of approximately 150 mg/l as CaCO₃;
3. test the chemical as the Ca salt in standard algal medium by adding an equivalent amount of Ca²⁺ to the stock solution; and
4. test the chemical as the Ca salt in modified algal medium as for (2) above.

Testing a substance as the Ca salt requires the addition of an equivalent of Ca²⁺ to the stock solution. A suitable procedure for preparing a calcium salt of a substance might be to add 1 g active ingredient of the substance to a 1 litre volumetric flask which is partly filled with water and being stirred continuously. An equivalent of Ca²⁺ is then added and stirred for at least one hour. The flask is then topped up to 1 litre with water and used to prepare test media. Precipitate and/or flocculant which forms in the stock solution should be maintained, to the extent possible, as a homogeneous dispersion during preparation of the test media and should not be removed by filtration or centrifugation.

337

338

339 (2) 2018 年版 (2019 年 2 月 8 日見直し)

340 OECD(2019): GUIDANCE DOCUMENT ON AQUEOUS-PHASE AQUATIC TOXICITY

341 TESTING OF DIFFICULT TEST CHEMICALS SERIES ON TESTING AND ASSESSMENT No. 23

342 (Second Edition)

7.5. COMPLEXATION OF (OR BY) TEST CHEMICALS

112. Media specified for culturing and testing of organisms may contain concentrations of some essential elements, such as copper, zinc, and nickel that are only just sufficient to meet nutritional requirements. As nutritional requirements depend on the acclimatisation history of the organisms, ecologically relevant culture conditions need to be used. In addition, water hardness can influence the toxicity of metals (Sprague 1995) and ionic organic chemicals (Marchand et al, 2013). As such, hardness should be measured at least at the beginning and end of a given test, renewal interval, or more frequently if changes in hardness are expected. Thus, the composition of culture and test solution may require special consideration to ensure that test results correctly reflect the toxicity of metals, metal compounds, and ionic organic chemicals. Chemical complexation reactions in the test solution can affect toxicity by, a) various components (DOC and chelators, such as EDTA) reducing the bio-availability of the dissolved test chemical;8 or b) the test chemical (e.g. EDTA)

reducing the availability in the test solution of salts (such as calcium and magnesium) and trace elements which are essential for supporting healthy test organisms (especially algae). As indicated in test guidelines (e.g. OECD TG 211 [OECD, 2012c] and OECD TG 201 [OECD, 2011]), the use of culture media that does not contain known chelating agents (i.e. EDTA) is recommended when testing materials that contain metals.

113. Data from tests in which complexation has been judged to have had a significant bearing on the result are likely to be of questionable value for classifying test chemicals and for extrapolating to a predicted no effect concentration for risk assessment unless additional tests are conducted to attempt to determine the nature and extent of the effect. The extent to which complexation affects toxicity therefore should be determined where possible.

7.5.1. Complexing of test chemicals

114. The extent to which a test chemical is complexed will depend upon various factors in the test solution (e.g. DOC, alkalinity, hardness, pH, other inorganic ions), whether present naturally or deliberately added/manipulated. The toxicity of metal cations (e.g. copper) are perhaps best known in this regard. However, pH can greatly affect the toxicity of weak acids and bases (e.g. ammonia, pentachlorophenol) by the reactions of these chemicals with hydrogen and hydroxyl ions, DOC can affect the bioavailability of hydrophobic and cationic organic test chemicals, and hardness can affect the toxicity of anionic organic test chemicals.

115. Thus, for some regulatory applications it may be necessary to assess the extent to which the toxicity of the test chemical varies with such complexing agents based on controlled experiments which manipulate these factors. For DOC effects on cationic test chemical toxicity, such experiments are discussed in Annex 3.

116. Even if toxicity can be related to a particular chemical species of the test chemical (e.g. uncomplexed or "free" chemical), analytical methods capable of distinguishing this species may not always be available or feasible. As such, addressing the effects of complexation will depend on empirical or mechanistic modelling efforts that interpret the observed dependence of toxicity on complexing factors. For example, for weak acids or bases, the basis for such models will be the pH-dependence and the relative toxicities of the ionised and un-ionised forms, although other factors might also enter into such models. For DOC complexation of organic test chemicals, various models for such complexation can be applied.

117. Complexation of metals to organic and inorganic ligands in test solution and natural environments (including consideration of pH, hardness, DOC, and inorganic test chemicals) can be estimated using metal speciation models such as MINTeq (Brown and Allison, 1987), Visual MINTeq (Gustaffson, 2017), WHAM (Tipping, 1994) and CHESS (Santore and Driscoll, 1995). Alternatively, the Biotic Ligand Model (BLM), allows for the calculation of the concentration of metal ion responsible for the toxic effect at the level of the organism; this model also addresses how competing cations affect the binding (complexation) of the toxic metal to physiological receptors (Niyogi and Wood, 2004). The models used for the characterisation of metal complexation in the test solution should always be clearly reported, allowing for their extrapolation back to natural environmental conditions, and assessments should be based on measured concentrations relative to

the models (e.g. dissolved metal concentrations).

====

8 For more information on bioavailability concepts for metals and inorganics see OECD GD 259 (OECD, 2016).

7.5.2. Complexation by test chemicals (algal tests)

118. The toxic effects of metal complexing test chemicals in algal growth inhibition tests are mainly caused by reduction of the free (bioavailable) concentration of physiologically essential ions. Inhibition of algal growth by such complexation is a secondary effect, which cannot be attributed to the inherent toxicity of the test chemical.

119. Guidance on toxicity mitigation testing with algae for chemicals which form complexes with polyvalent metals is given in Annex 4.

120. Reduction of the free concentration of physiologically essential ions by complexation by test chemicals can be determined by quantifying free concentrations of essential ions over the course of the exposure in treatments and controls. Analysis methods for quantifying exposure concentrations, which are capable of distinguishing between the complexed and non-complexed fractions of a test chemical (or complexed or non-complexed fractions of limiting nutrients), may not always be available or economic. Where this is the case, approval should be sought from the regulatory authority for expressing the test result in terms of whole measured test chemical or nominal concentrations.

ANNEX 4: TOXICITY MITIGATION TESTING WITH ALGAE FOR TEST CHEMICALS WHICH FORM COMPLEXES WITH AND/OR CHELATE POLYVALENT METALS

1. The purpose of this annex is to supplement Section 7.5.2 and provide additional guidance for algae tests with test chemicals that may form complexes with and/or chelate polyvalent metals. The outcome of this mitigation testing should assist in distinguishing between inherent test chemical toxicity and secondary effects resulting from complexation. Examples of such chemicals are anionic polymers in the poly(carboxylic acids) class and polyanionic monomers (Nabholz et al. 1993; Boethling et al., 1997). Overchelation of the nutrients needed for algal growth by these types of test chemicals in the standard algal growth test medium manifests in reduced growth, which is simply due to lack of availability of nutrients and not toxicity. Most surface waters have hardness well above the hardness of standard algal growth test medium. The requirements for algal toxicity testing in relation to risk assessment for test chemicals which complex metals depend upon the water quality which is envisaged in the release scenario. The following testing scheme has been suggested by the US EPA to assess effects in more typical receiving waters:

- a. Test the chemical as it is in standard algal growth test medium with a hardness in the range 15 to 24 mg/L as CaCO₃;
- b. test the chemical as it is in modified algal growth test medium with a hardness of

approximately 150 mg/L as CaCO₃;

- c. test the chemical as the Ca salt in standard algal test medium by adding an equivalent amount of Ca²⁺ to the stock solution (assuming the chemical is a Na or K salt); and
- d. test the chemical as the Ca salt in modified algal test medium as for (b) above.

If a significant difference in toxicity is noted between the two algal media hardness levels, additional testing could be performed at a hardness equivalent to that in the expected receiving waters.

2. Testing a chemical as the Ca salt requires the addition of an equivalent of Ca²⁺ to the stock solution. A suitable procedure for preparing a calcium salt of a test chemical might be to add 1 g active ingredient of the test chemical to a 1 litre volumetric flask which is partly filled with water and being stirred continuously. An equivalent of Ca²⁺ is then added and stirred for at least one hour. The flask is then topped up to 1 litre with water and used to prepare test solution. Precipitate and/or flocculant which forms in the stock solution should be maintained, to the extent possible, as a homogeneous dispersion during preparation of the test solution and should not be removed by filtration or centrifugation.

References:

Boethling, R.S. and Nabholz, J.V. (1997), Environmental assessment of polymers under the U.S. Toxic Substances Control Act, Chapter 10, pp. 187-234 in Hamilton, J.D. and Sutcliffe, R. (eds.), Ecological Assessment of Polymers: Strategies for Product Stewardship and Regulatory Programs. Van Nostrand Reinhold, New York.

Nabholz, J.V., Miller, P., Zeeman, M. (1993), Environmental risk assessment of new chemicals under the Toxic Substances Control Act (TSCA), Section 5, in: Environmental toxicology and risk assessment, ASTM STP 1179, 1993, pp. 40-55, W.G. Landis, J.S. Hughes and M. A. Lewis (Eds). American Society for Testing and Materials, Philadelphia.

参考 1) OECD ガイダンスドキュメント 2 3 Annex 4 で米国 EPA の試験スキームが例示された理由等根拠等

OECD ガイダンスドキュメント 2 3 Annex 4 に示された藻類毒性緩和試験結果は、ポリカルボン酸系アニオン性ポリマーやポリアニオン性モノマーなどにおいて、物質固有の化学的な毒性と錯体形成に起因する二次的影響を区別するのに役立つであろうとされている。

上記において化学物質の例としてあげられたポリカルボン酸系アニオン性ポリマーやポリアニオン性モノマーについて引用した文献には、米国の有害物質規制法 (Toxic Substance Control Act: TSCA) 等では、ポリカルボン酸系アニオン性ポリマーやポリアニオン性モノマー等の毒性が TOC や硬度により影響を受けるとした知見 (Nabholz et al. 1993; Boethling et al., 1997) が記載されている。これを踏まえ、米国 EPA の試験スキームが米国の自然環境での現実的な条件に対応した試験を行うように修正された。これを受け、米国 EPA の試験スキームが OECD ガイダンスドキュメント 2 3 Annex 4 に例示されたと考えられる。つまり、ここでは、金属錯体を形成する又はキレートする物質の環境水中でのリスク特性を適切に捉えるため、排出先で毒性に影響する物質を想定し、それら物質による緩和試験を行うことが推奨されていると言える。

ここでは、当該知見から、関連する事項を抜粋して示した。

<Nabholz et al. 1993 要約より>

The Toxic Substances Control Act (TSCA) allows for the regulation of new industrial chemicals if a chemical may present an unreasonable risk toward the environment, or if a chemical has significant exposure toward the environment. *Risk assessment under TSCA Section 5 consists of the integration of the hazard assessment for a chemical with the chemical's exposure assessment.*

The environmental-hazard assessment consists of identifying all of the effects of a chemical toward organisms in the environment, and toward the populations, communities, and ecosystems to which those organisms belong. Toxicity data for a chemical consists of effective concentrations (EC), which indicate the type of effect and the seriousness of that effect on a given organism at a known concentration of chemical. Effective concentrations can be based on test data or predicted using structure activity relationships (SAR). A collection of all of the ECs for a chemical is called a hazard profile or a toxicity profile.

Environmental factors which reduce the inherent toxicity of a chemical (that is, mitigation factors), as well as, enhancement factors that increase toxicity are taken into account when the hazard profile is developed.

The environmental-exposure assessment consists of predicting the environmental concentrations of a

6 Nabholz, J.V., Miller, P., Zeeman, M. (1993), Environmental risk assessment of new chemicals under the Toxic Substances Control Act (TSCA), Section 5, in: Environmental toxicology and risk assessment, ASTM STP 1179, 1993, pp. 40-55, W.G. Landis, J.S. Hughes and M. A. Lewis (Eds). American Society for Testing and Materials, Philadelphia.

7 Boethling, R.S. and Nabholz, J.V. (1997), Environmental assessment of polymers under the U.S. Toxic Substances Control Act, Chapter 10, pp. 187-234 in Hamilton, J.D. and

ENV/JM/MONO(2000)6/REV1 | 75 Unclassified Sutcliffe, R. (eds.), Ecological Assessment of Polymers: Strategies for Product Stewardship and Regulatory Programs. Van Nostrand Reinhold, New York.

chemical from releases due to its production, processing, uses, and disposal. There are two types of exposure assessment most frequently used under TSCA: the Percentile Stream Flow Method and the Probability Dilution Model (PDM) Method.

Environmental-risk assessment is done by using the quotient method. This method simply compares an EC or a concern concentration (CC) to the actual or predicted environmental concentrations (PEC). If the PEC is greater than the EC or CC, then you have a potential risk.

Case studies for several types of chemicals will be presented: neutral organic chemicals; organic chemicals with excess toxicity; anionic surfactants; nonionic surfactants; cationic surfactants; amphoteric surfactants; anionic polymers; nonionic polymers; polycationic polymers; amphoteric polymers; acid dyes; neutral dyes; cationic dyes; amphoteric dyes; polyanionic monomers; and compounds which hydrolyze (for example, acid chlorides and alkyloxysilanes); and metals.

<Boethling et al., 1997 より >

TESTING (原著 p.12)

Environmental toxicity

. . .

OPPT's aquatic toxicity test guidelines as well as those of other groups such as the OECD, EU, Standard Methods, and the American Society for Testing and Materials (ASTM) were designed to generally apply to class 1 substances. *These guidelines typically employ "clean dilution water" test systems with low levels of dissolved organic carbon (DOC) and total suspended solids (TSS) in fish and invertebrate tests and growth media with low water hardness in algal toxicity tests*

Toxicity testing for polymers has therefore been modified to address the effects of DOC and hardness and the realistic conditions encountered in the natural environment. This is discussed more thoroughly in ENVIRONMENTAL CONCERNS FOR POLYMERS

出典)

Nabholz, J.V., Miller, P., Zeeman, M. (1993) : Environmental risk assessment of new chemicals under the Toxic Substances Control Act (TSCA), Section 5, in: Environmental toxicology and risk assessment, ASTM STP 1179, 1993, pp. 40-55, W.G. Landis, J.S. Hughes and M. A. Lewis (Eds). American Society for Testing and Materials, Philadelphia.

Boethling, R.S. and Nabholz, J.V. (1997) : Environmental assessment of polymers under the U.S. Toxic Substances Control Act, Chapter 10, pp. 187-234 in Hamilton, J.D. and ENV/JM/MONO(2000)6/REV1 | 75 Unclassified Sutcliffe, R. (eds.), Ecological Assessment of Polymers: Strategies for Product Stewardship and Regulatory Programs. Van Nostrand Reinhold, New York.