

(お断り： 以下の抄録は、この分野の技術についての調査研究のため OCERO 担当者が自己の研鑽・備忘録として作成したものです。この分野の技術について調査研究を行っている技術者・研究者のかたがたのご参考までに、公開しています。それぞれの方の責任で、それぞれの勉強のために参考にしてください。もし、不審な抄訳部分を含めて何かお気づきの点を見つけた場合には、ご一報・ご教示いただくと大変助かります。

なお、学会論文への引用などの公式な参照に際しては、必ず原著にあたり、直接原著から引用・参照を行ってください。この抄録の利用者・参照者に、抄録記述に伴ういかなる損害や不都合や誤解が生じたとしても、それは利用者・参照者の責任であり、抄録者は一切の責任も義務も負いません。)

○抄録

1. はじめに

(省略)

2. 序章

汚染底泥によっておこされる被害影響の可能性を評価するための生物試験を扱う。急性毒性・慢性毒性・生物濃縮の試験現状を概観する。毒性懸念の評価情報は、管理実務にとって有益。この報告書は浚渫土砂を海洋に投棄できるかどうかの評価に限った議論を扱う。

生物試験では、泥から脱離した分画のうち生物が取り込み可能な部分・生物が反応する部分を測定できる。また、いくつかの有害成分の重合した効果を測定できる。

3. 意思決定の枠組み

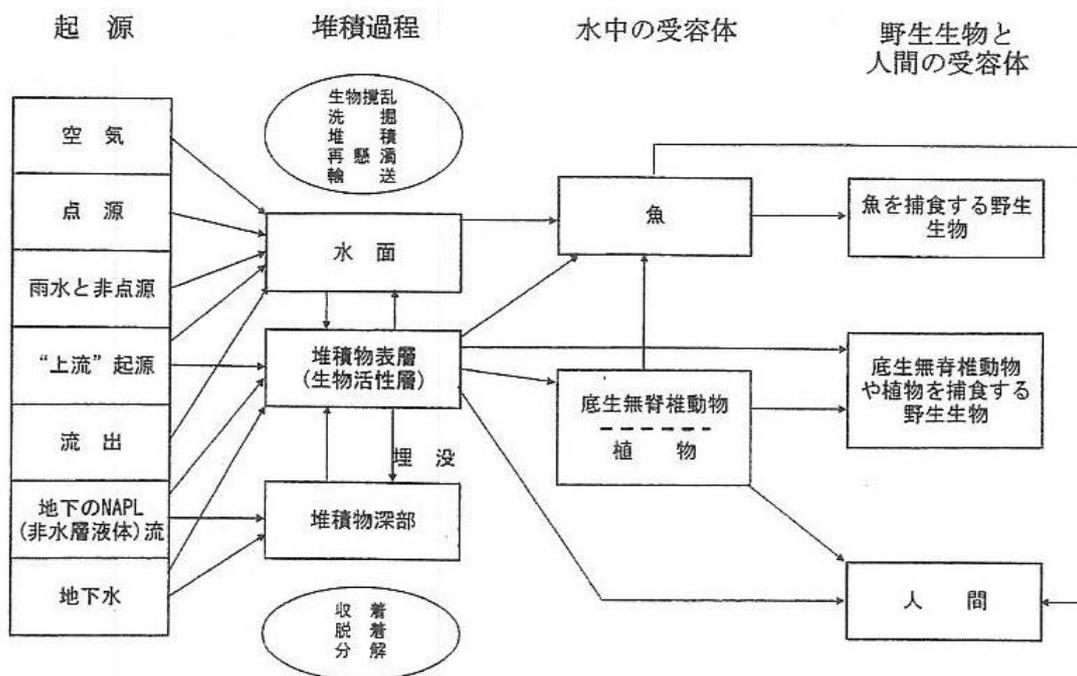
ここでは、まず初めに簡便な仕分けから始める対象泥絞り込み法（実務的な三段階スクリーニング法）を採用する。第 1 段階の評価では、アセスで想定される課題なども含む最終目標・対象生物・対象毒性・影響や暴露の道筋・とりうる対応策などを文献・先行事例などから想定する。第 2 段階では、「明らかに毒性がある」・「明らかに毒性が認められない」、といった手早い判断を行う。第 3 段階では、明らかな判定ができないグレーな対象土砂部分についての生物試験を実施する。

第 2 段階では、物理性状（粒径：石・砂・粘土シルト）や採泥深さ等、化学成分（含有量と生物影響との関係性から割り出した基準値）、投棄海域での生息生物相（影響を受け取る側の感受性）などから判断する。法令などの公定基準があれば活用する。生物試験によるより詳しい評価が必要との判定時には、第 1 段階の整理が役立つことになる。

第 3 段階では、生物試験が行われる。試験にはアセス課題に対応して 3 種あり、①水柱での生物毒性、②海底での生物毒性、③生体組織中での生物濃縮効果、に関するものになる。浚渫土砂のアセス課題を特定の毒性仮説に翻訳し、それを清澄な土砂による効果と

比較検証するという作業になる。比較対象の清澄な土砂は、毒性以外の特性(粒径や土質)が類似のものがよい。生物試験のケース数は、課題の複雑さや要請信頼度によって変わる。特定課題に対し試験生物種を複数用いることを推奨されることもある。検討課題を左右する要因・条件の数のほか、エンドポイントの作り方、標準試験法の有無、試験生物の入手量などによって試験数も変わる。

結果からは、環境中に投入したら悪影響が生じるか否かの判定が導かれる。「試験をしたが影響はよくわからない」といった結論にしないための準備も、予め検討し関係者間で合意しておくべき。個々の生物試験は不確かさを含むものであり、試験方法(土砂-生物系>土砂-水-生物系>抽出水-生物系の順に不確かさが減る)やエンドポイントの設定(死亡率>成長率>再生産率>異常行動>個体群統計>・・・の順に不確かさが減る)にも影響される。土砂投入の影響判定後には、現場モニタリングが行われる。生物試験に含まれている不確かさを踏まえ、現場での確認のためにも必要である。その際、影響仮説の理解が適切なモニタリング設計に有益である。



図一 第1段階の暴露の道筋解析のための概念モデル例 (中村(2006) より)

4、生物試験のタイプ分け

影響生物への主な暴露経路は、①沈積浚渫土砂粒子との接触、②浚渫土砂経由で汚染された海水との接触、③食物連鎖内の高次段階移動や生物濃縮を通じた接触、である。生物試験も、この経路に応じた影響評価に対応する必要がある。生物試験では、対象底泥の

直接接触毒性の評価、もしくは暴露（土砂汚染物の影響を受けた海水や表層泥を經由した生物摂取性・bioavailability）の評価、もしくはその両者を評価する。室内試験では前者の試験が多い。特定現場での影響観測では、底生生物種構成・個別個体への影響の有無などを観察する。生物濃縮試験は直接毒性というよりは暴露経路（土砂汚染物の影響を受けた餌の摂餌や食物連鎖による毒物移動と生物蓄積という経路）解析によく用いられている。

4. 1 現場測定

浚渫対象域の生物群集構造の現場観察は、対象有害浚渫土砂の状況把握に有益である。生物影響の空間的広がりなどの有益な情報となる。ただし、現場では土砂毒性以外の要素（船舶航行による攪乱など）でも群集構造の変化や乱れがあるので、いきなり毒性と結び付ける議論は避けるべき。現場生物もしくは培養生物をかごに入れて現場土砂上に置き生息変化を調べるというタイプの現場試験法もある。現場の生態系に近い状況で、現場での土砂条件の中、現場での環境変動を受ける、という優位性がある。一方、影響の論理解析上は複雑となる。

4. 2 実験室測定

対象浚渫土砂を実験室に持ち込み、室内実験を行うという方法が最もよく用いられている。その時でも、想定プロジェクトの想定暴露経路・対象生物・環境影響上の課題などにより試験のやり方を決めてゆくことになる。

4.2.1 固相型試験 (Solid-Phase Toxicity Tests)

試験生物を堆積土砂に一定の期間晒しその生物の応答を計測するという試験である。生物応答は例えば生残率・成長速度・再生産率などによって計測される。底泥中に生息しあるいは底泥を摂取する生物種は、底泥粒子や間隙水と密に接触しているので、底泥に付随した汚染物に高度に触れている。そこで、埋在性端脚類、多毛類、二枚貝、ウニなどが用いられてきた (*Leptocherus plumulosus*, *Corophium* spp., *Neanthes arenaceodentata*, *Ampelisca abdita* など)。

これら候補生物の間では土壌中の行動や食性が異なるため、複数の生物種を試験に用いる必要性が広く認識されている。その生物種が毒性に対し敏感であることにも注意を払う必要がある。生物の感受性に関して情報が限られている現状では、異なる複数種を併用する生物試験は、予防的アプローチ（安全側の手法）であるとされている。

4.2.2 水柱型試験 (Water-column Toxicity Tests)

浚渫や埋め立て投入時には土砂は水中に懸濁する。水中懸濁時の浮遊生物との接触・暴露の影響検討には、水柱型試験が用いられる。試験生物には、浮遊藻類、カイアシ類や他の節足動物、貝類等の浮遊幼生、魚類が使われている。米国環境保護庁/工兵隊のマニュアルがあるが、水柱型試験では、一般に土砂と海水との混合比や堆積物抽出液の希釈率を数段階変えてのシリーズで実施されるのが普通である。

4.2.3 生物蓄積型試験(Bioaccumulation Tests)

毒物が食物連鎖系に入り込み、工事区域を越えて広く影響が及ぶといった懸念への検

討評価は、生物蓄積性の検討から始まる。この場合、生物蓄積とは毒物の土砂から生物組織への移行を意味する。接触毒性よりも暴露（生物取り込み）を調べる試験となる。例えば、亜鉛などの必須栄養は、正常な生物機能の維持のためにある程度の濃度まで蓄積されるので、試験結果の評価や応用には特に注意が必要である。ゴカイなどの多毛類や二枚貝類が用いられている。

生物蓄積型試験ではコストや時間がかかるので、生物蓄積の大きさを評価する別の方法が開発されてきた。その一つが熱力学的生物蓄積性ポテンシャル（**Thermodynamic Bioaccumulation Potential: TBP**）法という方法である。非極性物質の平衡分配の原理から、生物の脂質に分配蓄積される化学物質量を推定するものである。「堆積物炭素量当たりの化学物質量」に対する「生物体内脂質当たりの化学物質量」の比を、**BSAF（Biota sediment accumulation factor）**と呼び、米国工兵隊がデータベースを作成公表している。

4. 3 暴露期間とエンドポイント

供試生物のライフサイクルに比べて短期の接触期間における生物影響をしらべる試験は、急性毒性試験とよばれる。底生生物への浚渫土砂影響では、数時間から数日という暴露期間になる。供試生物のライフサイクルのかなりの期間の接触による生物影響試験は、慢性毒性試験とよばれる。浚渫土砂の場合、既往の例では3-4週間程度までである。短期試験か長期試験かの選択は、評価の目的によって異なる。現場で予想される接触条件に見合った試験条件にしなければならない。

生物蓄積性試験では、暴露時間が長いほど組織内濃度は上昇しやがて飽和値に漸近するのが一般的である。こうしたこともあり、生物蓄積性試験は、通常少なくとも28日間の暴露期間で実施されることが多い。

浚渫土砂に対するエンドポイントとしては、生残率（または反対指標として死亡率）が最も一般的である。異常行動・個体の成長速度・再生産・生理学的もしくは生物科学的反応を試験のエンドポイントとすることもある。設定エンドポイントの生物学的・生態学的意味（重要性）を予めよく理解したうえで、生物試験結果の評価を行うべきである。生残率・成長速度・再生産といった個体群の減少に大きく影響する試験結果は、人口消長との関係性が不明な分子レベルの応答などに関する試験結果よりも、浚渫土砂の扱い評価にとってより重みをもって扱うべきと認識されている。

暴露に対して生物組織の異常を見つける組織病理学的エンドポイントも使われ始めたが、供試生物・対象組織の選定や試験者の熟練が課題である。

毒物が細胞内遺伝物質に作用すると分子レベルの反応が起こる。**genotoxicology**学は、こうした反応やその影響を扱い、突然変異誘起性・催奇形性・発がん性といった遺伝子物質の変異も研究対象に含み得る。この分野の研究が進んだあかつきには、浚渫土砂評価への応用が進むだろう。

5. 規制業務に用いるための生物試験法の進歩発展

実施経費にふさわしい判定ができ、評価過程に入り込む不確実性（あやふやさ）を踏まえた妥当な判定ができることを目指して、生物試験方法が発展してきた。（試験研究段階を終えて、法令手続きなどにおける）判定手段として生物試験が使えるのは何時なのか？ 様々な条件での応用も含め、知識や経験の蓄積によりパフォーマンスや信頼度が向上し、予測の手法は成熟過程にある。

5. 1 生物試験の開発者

官民の種々の機関が開発を進めている。規制的な業務を担う政府系の機関（米国 EPA、工兵隊、カナダ環境省、オランダ RIKZ など）や大学・民間などである。誰が始めた方法であろうとも、特定目的のためにその試験法が役立てればよい。

表一1 海生生物を用いた浚渫土砂に対する生物試験法の事例（中村(2006) より）

項目	分類群	評価項目	暴露時間	標準操作手順
共通事項	魚類、 大型無脊椎動物	行動	多様	APHA(1999) ¹¹⁾ ; ASTM, E1604-94 (ASTM 2002b) ¹²⁾ ; USEPA/USACE, 823-B-98-004 (USEPA/USACE 1998) ⁶⁾
全底質	共通	多様	多様	ASTM, E1525-02 (ASTM2002a) ¹³⁾ ; EC, EPS 1/RM/40E (EC 2001b) ¹⁴⁾
	大型無脊椎動物	生物濃縮	28日	ASTM E1688-00a (ASTM 2000c) ¹⁵⁾
	端脚類	生存、成長	10日、28日	ASTM E1367-99 (ASTM 1999) ¹⁸⁾ ; EC, EPS 1/RM/26 (EC 1992e) ¹⁷⁾ ; EC, EPS 1/RM/35 (EC 1998d) ¹⁸⁾ ; EPA/600/R-94/025 (USEPA 1994) ¹⁹⁾ ; EPA/600/R-01/020 (USEPA 2001) ²⁰⁾ ; RIKZ (1999) ²¹⁾ ; RIKZ (2000a) ²²⁾ ; Roddie & Thain (2001) ²³⁾
	棘皮動物	生存	14日	EC, 1/RM/27 (EC 1992f) ²⁴⁾ ; RIKZ (2000c) ²⁵⁾
	バクテリア	生物発光	20分	RIKZ (2000b) ²⁶⁾
	多毛類	生存、成長、 生物濃縮	10, 20, 28日	ASTM, E1611-00 (ASTM 2000b) ²⁷⁾ ; EC (1998c) ²⁸⁾ ; Thain & Bifield (2002) ²⁹⁾ ; EC, EPS 1/RM/41E (EC 2001a) ³⁰⁾
	二枚貝	発生初期の発育	2日	ASTM, E 724-98 (ASTM 1998a) ³¹⁾
水柱	アミ	生存、成長、再生産	全ライフサイクル	ASTM, E 1191-03a (ASTM 2003a) ³²⁾ ; ASTM, E1463-92 (ASTM 1998e) ³³⁾ ; Chapman et al. (1995) ³⁴⁾
	コンブ	発芽、成長	48時間	Chapman et al. (1995) ³⁴⁾
	軟体動物	発育	48時間	Chapman et al. (1995) ³⁴⁾
	棘皮動物	生存、発育、受精	72時間、20分	Chapman et al. (1995) ³⁴⁾
	二枚貝	生存、発育	48時間	Chapman et al. (1995) ³⁴⁾
	魚類	生存、行動	96時間	EPA 821-R-02-012 (USEPA 2002a) ³⁵⁾
		ライフサイクル、生存、成長	7-120日	ASTM, E1241-98 (ASTM 1998b) ³⁶⁾ ; Chapman et al. (1995) ³⁴⁾
	無脊椎動物	生存、行動	48時間	EPA 821-R-02-012 (USEPA 2002a) ³⁵⁾
	藻類	成長	96時間	APHA (1999) ¹¹⁾ ; ASTM, E1218-97a (ASTM 1997b) ³⁷⁾ ; ISO10253:1995 (ISO 1995)
	海藻類	再生産	2日	ASTM, E1498-92 (ASTM 1998f) ³⁸⁾
	環形動物 多毛類	生存、再生産	96時間、10、 14、21、28日	ASTM, E1562-00 (ASTM 2000a) ³⁹⁾
	魚類	運動性、採餌、行動	多様	ASTM, E1711-95e1 (ASTM 2003d) ⁴⁰⁾
	現地	二枚貝	生存、成長	多様
懸濁水	バクテリア	生物発光	20分	APHA (1999) ¹¹⁾ ; EC, EPS 1/RM/21 (EC 1992a) ⁴²⁾ ; RIKZ (1999) ²¹⁾ ; ISO11348-1:1998 (ISO 1998d); ISO 11348-2:1998 (ISO 1998c); ISO 11348-3:1998 (ISO 1998f)
間隙水	渦鞭毛虫類	生物発光	7日、4時間	ASTM, E1924-97 (ASTM 1997d) ⁴³⁾
	輪虫綱	生存	2日	APHA (1999) ¹¹⁾ ; ASTM, E1440-91 (ASTM 1998d) ⁴⁴⁾
	藻類	発芽、成長	4日	Hooten and Carr (1998) ⁴⁵⁾
	棘皮動物	受精、発生初期の発育	2日	ASTM, E1563-98 (ASTM 1998g) ⁴⁶⁾
溶出水	二枚貝	発生初期の発育	2日	Thain (1991) ⁴⁷⁾ ; ASTM E724-98 (ASTM 1998a) ³¹⁾
	カイアシ類	生存、発育	4日	ISO 14669:1999 (ISO 1999b)
	棘皮動物	生存、発育	2日	USEPA (1990) ⁴⁸⁾
抽出水	裸細胞肝癌細胞系	ダクシシ類作用機構	1日	RIKZ (2000d) ⁴⁹⁾

5. 2 試験開発のガイドの枠組み

実用化に向けた生物試験法の進捗・成熟を、いくつかの段階として区分して評価する考え方が提案されている。1) 生物試験提案者によるスコーピング(範囲設定)と初期開発、2) 複数実験室の関与による手法開発応用分野の拡大、3) 標準試験法の開発、4) 利用者群による試験法評価、の段階区分である。各段階の主要な検討項目や要因はおおむね次のようなものである。試験とエンドポイントの合理性、供試生物の選定、試験の条件設定や統計的設計、生物試験の感度、浚渫土砂への応用、実験室間の再現性比較、試験結果の解釈、複数ユーザーへの普及と専門的評価、正当性の検証と妥当性の確認、標準試験法の開発と教材、ユーザーグループによる評価。

6. 品質確保/品質管理

データの品質がよければ、自信を持って、試験中に生じた観察結果は対象土砂の毒性の差異に起因して生じたと言える。そのためには以下の6つの質問に答えられなければならない。

- ・ 供試土砂は定められた標準手法どおりに採取され、扱われ、貯蔵されたか?
- ・ 生物試験は定められた標準手法の試験操作どおりに実施されたか?
- ・ その試験は性能基準に適合したか?
- ・ 試験期間中、水質管理基準からの何らかの逸脱があったか?
- ・ データの書き写しの正確さや解析の精度を確認したか?
- ・ ゆがみ要因や混乱要因による何らかの影響可能性がありそうか?

取り扱うデータが十分で・適正で・一定の品質のものであることを担保するため、品質確保/管理(QA/QC)プログラムを検討する。

6. 1 データ品質目標の設定

どのようなデータをどのように集めたらよいか決めるため、データ質目標を考える。そのために、米国 EPA は次の7ステップを用いている。

- ・ 課題を整理し定義する。
- ・ 決めなければいけないこと(意思決定の事項)を特定する。
- ・ その意思決定をするに必要なインプット事項を特定する。
- ・ 調査対象の時空間範囲・境界を決める。
- ・ 意思決定のルール(どのようなインプットならどのように意思を決めるのか)を整理する。
- ・ 意思決定の誤差に対する許容限界を特定する。
- ・ データ収集の設計を最適化する。

生物試験法について考えれば、5番目の決定のルールとは、特定の数値を超えたら(下回ったら)、特定の判定をするという決まりを予め設定することになる。たとえば、「海産端脚類を用いた10日間暴露の毒性試験では、対照清澄土砂に比べて、パーセント表示で20ポイント以上の統計的な有意差がなければ、その浚渫土砂は毒性があるとはみなさない」といったルール設定である。6番目の誤差の限界は、たとえば、「統計的な有意水準を、 α レベ

ルで 0.05 と同等にすること」といった設定である。こうした検討の結果、試験に供する試料は何個集めるのか、どの地点で採取するのか、どのように取り扱い・処理するのか、試験データはどのように分析するのか、などを予め決めておくことになる。

6. 2 試料の品位の保障

供試土砂や水は、現場の検討対象土砂や水を代表していなければならない。採取地点やその後の処理・保管法などに気をつけ、採取機材からや実験室内での異物混入による変質を避けることになる。土砂の冷凍保管は、生物試験では避けたほうがよいとされる。生物試験は、一般に、試料採取後直ちに行うのがよいが、1-2 ヶ月の保管を許容する例もある。

6. 3 標準操作法の利用

標準操作法(プロトコール)(SOP)は処理の詳細手順を記述したもので、既知手法と整合のとれた手法での収集・分析を保障することになる。生物試験法では、供試生物の状態評価、実験実施中の維持すべき実験室環境条件、毒性以外の影響因子の測定法なども記述される。淡水と海水の生物試験法の主要なものをそれぞれ表にまとめた(海域対象の試験法：表-1)。

6. 4 供試生物種の分類学的な特定

種が変われば毒性応答も代わるので、プロトコールに示された種が選定されているかどうか気をつけなければいけない。供試生物種を外部専門家に検定してもらう必要がある場合もある。

6. 5 供試生物の状態

供試生物が供試条件に対して過去の応答性能と整合の取れた様子で応答しているかどうか、試験期間中観察をする。この観察には、ポジティブコントロールとネガティブコントロールとで行われる。ポジティブコントロールとは、個体が弱っているなどして普通ではない(過敏な・鈍感な)応答や振る舞いをするもの(グループ)を排除したり特定したりする目的で行われる。供試生物群の一部(subset)を、既知濃度の毒物中に暴露させ、既往の報告による同じ濃度での応答(生残率など)と対比し、今回の生物群が以前の報告の生物群に比べて異常な生残もしくは死滅を示していないか統計比較する。ネガティブコントロールとは、標準手法で示されているような健全な環境条件レベルで試験が実施されているかどうかを確認する目的で行われる。供試生物が普通の活性を示す(毒性の相対的に低い)対照土砂を、試験対象の浚渫土砂と並行して生物試験に供し、対照土砂では既往報告どおりの高い生残率(成長率・再生産)を示すかどうか確認することで生物の応答性能をチェックする。既往報告との差がプロトコールで示された基準以上のものなら、(毒性以外の実施条件の変動に起因する影響が大きいと判断されることから)再試験を行うことになる。

6. 6 試験の実施条件

供試生物は、試験期間中の環境変動にも応答する。環境変動による影響を避けるため、標準手法には実験室の環境条件についても規定がある。直上水の水温・pH・塩分・硬度・酸素濃度などはもっとも典型的な環境監視項目であり、供試生物の応答や振る舞いの差が、

これらの環境項目の差ではなく土砂の毒性の差そのものによって生じたことを確認するために計測される。

6. 7 変動要因

供試生物は、含有汚染物質とは関係なく、土砂特性（例えば粒度分布や硫化物）の自然の変化範囲内でも変動に対して応答する。毒性試験結果が、変動要因やその複合による差異ではなく、注目汚染物質そのものに由来する差異結果になっているように注意すべきである。供試生物種に対しての変動要因の許容限界を把握し定めておくことは、試験法開発にとって極めて重要な作業になる。供試土砂は、生物試験に供される前に、予め変動要因の可能性についてチェックしておく必要がある。変動要因影響の軽減策はいくつか提案されている。

6. 8 健全なデータ管理手法

生物試験においては、データの品質が維持され精度が一定以上に保たれていなければいけない。精度が一定の要件に適合しているかどうかの確認(validation)のため、データと検討作業は逐次記録に残さなければいけない。

7. 生物試験結果の翻訳

浚渫土砂を扱うプロジェクトごとにその目的や目標が異なり、目的が違えば試験結果の活用法も異なってくる。そのため、ここでは試験結果の評価や応用については(固定的・機械的な手法運用よりも)より柔軟な対応をとることを推奨している。3.章で整理した暴露の道筋に応じ、複数の道筋と証拠のつながり (Lines of Evidence : LOE) が考えられ、それに対応できる順応的な計測手法や解析評価であることが望ましい。

7. 1 証拠のつながり (LOE) (暴露の連鎖)としての評価

具体的な LOE は、対象事業における注目汚染物質・注目土壌・暴露の概念モデル・懸念される影響課題などによって左右される。伝播する影響の道筋は、相互関連するが独立した個別情報のつながりとして整理される。一般に LOE という概念は、底泥化学成分・毒性試験データ・現場底生生物相観察結果など広く包括する。

どのような LOE を設定し・その中でどんな生物試験を行うのかは、プロジェクト毎に異なり、汚染対象物と対象影響生物との組み合わせによっても左右される。例えば、生物蓄積型の暴露が起きないような投入現場では、食物連鎖経路 LOE の検討評価は不要になる。

浚渫土砂アセスでは、さまざまな暴露評価法・影響評価法が選択されるだろう。どのような方法をどのように組合せて用いるのかは、現場の特性(水理条件など)、影響懸念課題、エンドポイントの設定などに左右される。暴露や影響の評価手段には、アセスの目的や必要性に応じて、室内実験／解析、現場計測、モデルによる解析の組合せも含まれるだろう。

7. 2 生物試験データの解析

生物試験データを LOE 評価 (影響評価) に翻訳する第一歩は、試験データを統計処理することである。生物試験結果の意味付けには(活用では)、清澄な対照土砂との統計比較が

最も広く使われる。対照土砂は、浚渫土砂の土質を判定する一種の標準土砂、もしくは投棄場所で受容できるレベルの清澄土砂の代表として用いられる。変動要因の影響を減らすため、対照土砂による試験は、SOP 確認試験（SOP：標準操作法 Standard Operating Procedures 6.3 の記述参照のこと。）に加えて、浚渫土砂に対する試験と並べて同時に実施されることが多い。浚渫土砂と対照土砂との統計的比較には、生物試験の再現数(同じ条件でのケース数・サンプル数n)の多さ、および、両土砂の土質分類上・生物選好性上の類似性の強さ(バイアスの小ささ)に左右される。

統計的な有意差が検知されたあかつきには、何を起因としてこの差が生じたのかの検討が始まる。過去の類似の生物試験で、どの程度の差が検知されたかの情報は解析評価にとって参考になる。異なる実験室間で同じ生物試験を実施した時の実験室相互間での差を閾値にして、検知された対照土砂との差がそれ以上に大きければ、土砂含有の汚染物質の差に起因していると判定する方法がある。特定地域のデータとの比較で最少有意差を計算する方法などもある。土砂による生残率や成長速度の差を、群集生態学的な人口動態モデルに取り込んで、対象生物種の人口影響の程度として理解しようという試行もある。(人口動態モデルでは、ある生物種もしくはグループの個体数の時間変化を、その生物種の増殖速度・死滅速度・餌の捕食速度に依存する成長速度・高次生物による被捕食(食われる)速度・流れによる流亡や加入などのダイナミズムを計算して算定する。通常死滅速度に代えて、毒物による死滅速度を与えると、対象生物種の個体数は減り、これを餌とする高次生物の個体数も影響を受けるが、餌や生息場を取り合う競争種は個体数を増やす可能性がある。こうして、生息種の個体数バランスが変化する様子を、毒性による死滅速度の変化の大きさとの関連で調べるという手法である。抄訳者注記)

7. 3 因果情報としての評価

生物試験結果が、土壌の汚染物に起因するとの傍証があれば、結果の解釈に役立つし、無影響に近い試験ケースから無害土砂といった結論付けをするにも自信が持てるようになる。それらしい起因物質が想定できれば、汚染源推定や汚染防止策策定に役立つ。「原因-結果 (因果関係)」の理解には、以下の関連解析などが役立つ。

1. 汚染物質の分布勾配に沿ってサンプリングした土壌の生物試験をすると、生物応答結果と土壌汚染物との関係解析に役立つ。汚染負荷点に向かって生物毒性応答も強まり、毒物濃度も高濃度になっていけば、生物試験結果を左右する汚染負荷源と汚染状況との強い関係性が把握できる。

2. 特定汚染物質をスパイク (定量注入) した土砂の生物試験からは、その汚染物質に起因する応答結果の推論に役立つ。以前無害であった土砂に特定汚染物質をスパイクしたところ汚染が懸念される土砂と類似の生物応答が見られ、特定汚染物質の土壌含有濃度がスパイク後の土砂での濃度よりも大きいようなら、生物影響がその汚染物質に起因する影響と推定できるかもしれない。ただし、実際の毒性は種々の汚染物質の組み合わせさった毒性として発現するし、スパイクした単物質の生物利用性 (bioavailability) は自然界での

利用性とは違う可能性がある。

3. 生物試験は、一般には、特定汚染物質（または物質群）と関連付けずに（対象土砂総体としての）毒性評価に用いられる。（例えば、含有汚染物成分が何であろうとも、生物が対象土砂と接触すると、〇〇という程度の死滅影響が起きる。ということが生物試験でわかる。抄訳者注記）一方で、特定物質への応答性が強いバイオマーカの活用による生物試験法も開発されてきている。（特定化学物質にのみ鋭敏に反応する特異な生物反応を、バイオマーカと呼ぶ。抄訳者注記）普通の方法とバイオマーカによる方法との組み合わせにより、どの毒性成分の寄与が大きいかなどの検討に役立つかもしれない。

4. 底質データを基に、底生生物に対する毒性の確からしさ予測が、数値的な底質ガイドライン指標（SQG）として開発されてきた。生物試験結果と底質分析結果との食い違いが生じた際の、判断のよりどころの一つとして使われることがある。

5. 観察された毒性に対し、どの化学成分が寄与しているのか分画し特定するために、毒性特定評価法（TIE）という生物試験法がある。毒性の特徴、特定化、確認の3段階からなる。対象土壌に対し生物試験をし、次に土壌を処理して土壌から特定の毒物を除去して再試験をし、毒性が変化したかどうか比較する、という方法である。今のところ、間隙水含有アンモニアの寄与評価に用いられたことがある。

7. 4 LOE を統合した WOE（重み付け評価）

土壌のリスク評価には、LOE は少なくとも3つのレベルの統合が必要となる。

第一のレベルでは、現場生態系の中の「LOE 構成3要素（底泥直接接触・溶出分との接触・食物連鎖）」の全ての暴露・接触影響を比較・統合し、ある地点での底泥影響 LOE の特性（土砂起因の毒性が現れ、それは溶出による水中接触による暴露経路がメインとなる、などといったリスク特性・伝播の道筋）を把握する。第二のレベルでは、室内実験結果と現地観測結果との比較から、現地の底生生物へのリスク評価に役立つ生物体内残留濃度限界値などとして情報を統合整理する。第三のレベルでは、現場リスクの特性・範囲・規模の評価のための「証拠の重み（WOE）」が組み立てられる。どのレベルでも、時空間のスケールについて注意してゆかなければならず、たとえば分布 10m² の汚染土砂は 10,000m² の汚染土砂に比べて暴露・影響リスクはずっと小さくなる。こうしたリスクアセスにより、リスクの存在とそれへの実務上の対応について検討されるようになる。第三のレベルの統合作業は、「いろいろな暴露影響経路による効果情報を比較重合し、環境システムもしくは環境ストレス要因に関する構造的知見を導くプロセス」ともいえよう。

8. 不確実性と今後の課題

浚渫土砂に関するどんな分析評価でも、複雑な特性の全容を正確に示すことはできない。どんな解析手法を応用するときでも、不確実性（あいまいさ）がついて回ることを忘れてはいけない。生物試験を浚渫土砂管理に応用するとき生じる不確実性の起因を以下に示してみる。

供試土砂の代表性

底生生物生息域や環境影響想定範囲に比べて、分析や試験供試土砂(供試海水)の量はきわめて小さい。サンプリングやその後の処理での変動や人為影響を少なくするための、サンプリング法のガイドラインが出されている。自然界から取り出された瞬間に、土砂の毒性が変化し始める。こうした変化作用による誤差や不確実性を減らすための手法が定められている。

種間外挿

対象現場周辺での影響想定生物種すべてに対し、直接に生物試験を実施することは不可能である。想定汚染物質に対し敏感な生物種から代表種を選んで、生物試験を実施するのが通例であり、敏感種でも毒性がほとんどないのだからより鈍感種では影響がないだろうと推論することになる。しかし、暴露想定される全生物種についての敏感さがわかっているわけでもないので、不確実性が入り込む余地が生じる。こうした不確実性は、(単種でなく)対象地域でよく生息し・対象汚染物質に敏感である複数の生物種での生物試験実施で減らせる。

時間スケール

ほとんどの生物試験は、数日から数週間の接触による生物応答を試験している。現場ではもっと長い接触による影響効果もありえる。現場での長期的な毒性変化への配慮については実験室内の試験だけでは限界がある。

空間スケール

生物試験に供される実験容器の大きさは、現場の空間に比べて狭い。容器内密閉空間では、汚染物質の暴露接触は現地に比べて濃いものになる。容器内では供試生物の移動は制限され、水の流れもなくなる。直接的接触に近い状況となり、リスクとしての評価の際には現場での暴露状況との差異を踏まえる必要がある。加えて、実験室内の実験容器の大きさでは、大型生物や遊泳移動生物への影響試験はできない。

生物生態系のスケール

試験容器での結果を現場生態系の変化・影響に結びつけることはかなり複雑で難しい。現場影響は生息種の構成変化・群集構造の変化などとして顕在化するが、実験室の試験では特定種の生残や成長の影響が測定される。同様に、低次生物への生物蓄積の試験結果から高次生物群への影響の記述をするときにも、たとえば数値モデルの助けを借りるなど、あやふやさを持った評価解析手法を援用導入せざるを得ない。種々努力工夫があっても、不確実性は残ることになる。

試験のふらつき

対象汚染物質以外の試験条件で生物応答が生じることがあり、ある種の生物は底質粒度分布差に敏感に反応してしまうことはよく知られている。これ以外にも、与えた餌の量の多寡や装置内の浮遊物粒子の存在によって、汚染物質の影響が隠されたり結果が逆転し解釈が混乱したりする。この不確実性は、供試生物の試験期間中の生理特性や生態の理解

を深めることによって減らせる。

統計的誤差

生物試験は、仮説検証を対照土砂との統計比較により行う試験法である。なので、タイプ1型とタイプ2型の誤差を内包することになる。タイプ1型誤差とは、真実の場合でも帰無仮説を否定してしまう確率である。有意水準(α)の決め方で ($\alpha=0.05$ なら誤検出の確率が5%) この誤差幅を選べる。タイプ2型誤差とは、検出漏れの起こりやすさを意味する。つまり、本来は誤りであるのに帰無仮説を受け入れてしまう確率 (β) である。十分な数の同一条件実験数 (サンプル数 n) を準備しておけば、タイプ2型には対応できる。

不確実性や誤差要因は以上のようにあるものの、それによって生物試験の有用性は損なわれるものではない。注意深い試験実施が必要である。

8. 1 今後の課題

浚渫土砂の生物試験の誤差を減らしコストを減らすための技術開発が行われている。多段階のスクリーニング方法(ふるいわけ法)などは、より多くの生物試験を要請されるような事態に対応するに適している。

定量的な暴露予測

浚渫土砂の投入場所やその周辺で環境影響の懸念にいたったときには、対象生物が浚渫土砂起因の汚染物質に暴露される確からしさを予測しなければならなくなる。土砂との接触による埋在性生物への毒性や被害は実験で見つかるが、表在性ベントスなどの暴露影響はこれとはかなり違ってくるかも知れない。現場との差異については、現場条件 (水理条件: 現場がものを拡散させる傾向の海域かそれともものを沈積させる傾向の海域か、土砂投入時の沈積範囲、投入地点の生物と土砂や生物と上載水との相互作用、など) を知る必要がある。対象となる生息生物や生態系の構造によっては、汚染物質の生物蓄積性知見も必要になる。生態系モデルがよく使われるようになってきており、暴露経路として生物蓄積性の予測が必要になるときに用いられる数値モデルも開発されている。

浚渫土砂中の病原体

水域中の微生物病原体は、飲用水汚染や貝毒をもたらしたり、海水浴場の閉鎖を起こしたりすることがある。下水放流口や農業廃水口に隣接した浚渫場所からの採取土砂や病原体が長期に生息しやすい環境条件によっては、浚渫土砂起因病原体が注目されるようになる。広く使われている微生物試験法では、浚渫土砂の取り扱いに対し必ずしも十分な情報を与えてくれない。たとえば、ある種の病原体は大腸菌指標とは無関係に生息している。種々の手法が研究されているが、改良され実用化されたあかつきには浚渫土砂取り扱い方法に反映できるようになるだろう。

バイオマーカの活用

短時間で結果が出るより安価なスクリーニング手法が開発されれば、詳しい生物試験

を行わなければいけない対象土砂が絞り込め、普及が図られる。化学物質への暴露や阻害影響のシグナルとして計測される生活系での生理応答・生化学反応を、バイオマーカーと呼ぶ。なかでも、人の健康状態の判定のために、細胞ベースの評価法が広く使われている。これを環境評価に援用しようという研究が進んでいる。毒性暴露時の生物影響はまず遺伝子活性の変化として現れるので、これを調べれば、毒性の可能性判定の絞り込みに使える。絞り込みのための遺伝子応答試験は数日で済み、慢性毒性試験が数週間はかかることから、時間とコストの節約につながると期待されている。

9. 監視における生物試験の役割

現場の環境監視は、3つのカテゴリーに分けられる。

・監視モニタリング、・投入地点モニタリング、・施工改善にフィードバックさせる（順法確認）モニタリング。以下それぞれ見て行く。

監視モニタリング

この目的は、水域や底泥の一般的な健全の程度を評価するためのもので、多くは水域管理に関与する公的組織などによって実施される。英国や米国沿岸では生物試験を組み込んだ監視プログラムもある。特定のプロジェクトや作業・素材を対象とするものではない。

投入地点モニタリング

場所を特定したモニタリングは、浚渫や土砂投入を実施する前に、環境アセスのためもしくは作業の許可判断のためにおこなわれることが多い。当該水域の環境上の脆弱さ解析や施工作业中の影響監視に有用である。アセスの予測の確認にフィードバックされ、いわゆる影響仮説の検証に使われることもある。アセスの認可権者自身もしくはその指示による施行者が行うことが多い。

作業フィードバック（順法確認）モニタリング

作業が効率よく実施されているか、許可条件に適合して行われているか、の確認のため実施されるモニタリングである。作業日ごとに結果がチェックされ、改善点や影響緩和策の検討に供せられる。許認可権者により、許認可のための作業条件が課せられていることがある。作業監視・順法確認モニタリングでは、作業員（オペレータ）による作業条件の順守監視が行われる。リアルタイムの測定・表示の技術が求められ、物理的・化学的手法が多く採用されている。

9. 1 浚渫土砂投入の影響判定のためのモニタリングプログラムの設計

必要なモニタリングの規模やタイプは、浚渫土砂投入の生起影響・潜在影響・懸念影響の特性による。投入浚渫土砂の振る舞いや、投入時からその後にかけての投入場所の環境応答について、予測や仮説を確認するためにモニタリングが設計される。つまり、モニタリングの設計は、「影響仮説」の検証をするために設計される。モニタリングのスケール範囲は影響懸念の広がりにも関係し、モニタリング項目は注目事象への影響原因に

も関係する。

モニタリングの包括性の検討や設計についてはこのレポートでは扱わない。しかし、包括性や総合性の観点からは、生物系のモニタリングは重要である。現場での生物応答を知り、アセスの結論が妥当であったか確認し、アセス手法にフィードバックさせるという目的をもつ。

底泥の物理性状の観測は、生物データの解析上必要であろう。検出される生物変化は多くは微妙なものだから、微妙な変化をも安定的に検知できる鋭敏なモニタリング技術と適切な対照値との比較とが重要になる。また、毒性に起因する影響と土砂投入自体の物理的影響との区別も重要になる。生物影響の現場観測からは、どの特定汚染物が影響しているのかや、自然のストレスとの重合作用によって影響が強まっているのか、については殆ど解析できないとの報告もある。底生動物の土砂毒性への感受性には顕著な季節変動があることもわかってきており、モニタリング季節の設定も重要になる。底泥系は様々な攪乱を受け、その主要なものは自然変動で起こるので、原因—結果の道筋の設定は特に難しい。アセス予測の妥当性確認を目的にするモニタリングでは、モニタリングプログラムの注意深い設計と丁寧な実施が大切である。多くの土砂投入報告書では、モニタリングされた変化は、投入浚渫土砂の物理的影響に起因するものが記述され、浚渫土砂の化学的毒性影響による影響記述はほとんどない。

10. 結論

生物試験は、浚渫土砂含有の汚染物質の、生物への被曝影響の懸念や生物取り込みに関する重要な情報を与えてくれる。一方、この試験法は複雑さとあやふやさが避けられない。生物試験の有効な活用は、影響の道筋（個別シナリオ）毎の試験結果を（現場想定シナリオとして）統合的に解析する能力にかかっている。経験の少ない国では、この試験法の経験を積んだ国の手法を学び地元に応用する工夫をするのが早道である。

以下の4分野の研究が重要になる。第1に、浚渫土砂をめぐる関心課題（例えば、内分泌攪乱物質）にそれぞれ対応するような生物試験法の応用分野の拡大。第2に、現場水域での生態リスクに結び付けられるような具体的な試験法と解析法の深化。特に、生物試験の結果と現場暴露条件や生物取り込み(bioavailability)とを結び付けてよりはっきりしたリスク評価を導き出せる手法の開発。第3に、現場での生物障害の起こりやすさ予測のための生物手法の確認。現場モニタリングによる予測精度の確認などを含む。第4に、事前アセス時に集められた種々の断片情報を統合する手法の開発。暴露リスクはふつう一つの影響効果のみによって決まるものではない。複数の影響連鎖の構造的な理解は、道筋の重みづけや優劣比較などによって整理される。

生物的影響予測は、浚渫事業や浚渫土砂投入事業の影響概念モデルを組み立てることから始まり、種々の影響予測試験情報はこのモデルを下敷きに論理的に整理されることになる。