

AR-5-'92

# 国立環境研究所 特別研究年報

平成 3 年 度

環境庁 国立環境研究所

## 平成3年度国立環境研究所特別研究年報 の発刊に当たって

本研究所は近年の環境問題の大きな変化に対応すべく、平成2年度に組織の改革を行いました。その変革の目的の一つが、従来特別研究として実施してきたプロジェクト的研究を「地域環境研究グループ」の下に集約することでした。

環境研究には問題解決を志向した学際性の高いアプローチが必要であるとの主張はかねてより聞かれます。しかしこれは理念として理解しえても、現実には極めて難しいことは過去の歴史の示すとおりであります。その困難さがどこにあるかを論じるのは別に譲るとしても、そもそも本研究所がその克服を重要な使命の一つとして設立されたのは、「設立準備委員会報告」からも明らかであります。そのことを踏まえて、これまでも特別研究はその時々、社会的関心の高いテーマを取り上げ、一定期間に問題解決を目指して集中的に実施してきました。しかし、さらに今回の改組によって新たに総合部門の一つとして作られた地域環境研究グループには、文字どおり総合性・学際性に立ったプロジェクト研究が期待されています。したがって新たな体制下では、プロジェクト目的に応じて必要な専門分野の研究スタッフを所内外から広く募ってチームを構成し、行政ニーズ、社会ニーズに対応した成果を上げるべくより一層の努力をしつつあります。

本報告書はこの新たな組織の下で行われた最初の仕事をまとめたものですがそのような特別研究の位置づけからしますと、その成果報告もまた、学会の研究レポートではなく、成果のどの部分がどのように問題解決に活用しうるかが社会や行政にできるだけ理解されるようなものである必要があります。

本報告書はそのことを意図して作成したものであり、表現や編集にもその方向に向けて担当者が鋭意努力しました。ただ、研究者にとってこの種の作業は必ずしも手慣れたものではないので、まだその目標を十分に満たしていない面も多々あろうかと思われまゝ。しかし、一先ずその努力を多とし、今後一層の改善がなされるよう大方のご批判ご提言を頂けるなら幸いです。

平成4年8月

国立環境研究所  
所長 市川 惇 信

# 目 次

1. 概 況 .....	1
2. 特 別 研 究 .....	3
2.1 先端技術における化学環境の解明に関する研究（最終年度） .....	3
2.2 環境容量から見た水域の機能評価と新管理手法に関する研究（最終年度） .....	11
2.3 大都市圏における環境ストレスと健康に係わる環境保健モニタリング 手法の開発に関する研究（最終年度） .....	21
2.4 広域都市圏における交通公害防止計画策定のための環境総合評価手法に 関する研究（最終年度） .....	33
2.5 粒子状物質を主体とした大気汚染物質の生体影響評価に関する実験的研究 .....	45
2.6 水環境における化学物質の長期暴露による相乗的生態系影響に関する研究 .....	55
2.7 トリクロロエチレン等の地下水汚染の防止に関する研究 .....	67
2.8 有害廃棄物のモニタリングに関する研究 .....	73
2.9 有用微生物を活用した小規模排水処理技術の開発と高度化に関する研究 .....	81
2.10 都市域における冬期を中心とした高濃度大気汚染の予測と制御に関する研究 .....	87
2.11 閉鎖性海域における水界生態系機構の解明および保全に関する研究（初年度） .....	97
2.12 環境保全のためのバイオテクノロジーの活用とその環境影響評価に 関する研究（初年度） .....	105
2.13 湿原の環境変化に伴う生物群集の変遷と生態系の安定化維持機構に 関する研究（初年度） .....	117

# 1. 概 況

平成2年7月における国立公害研究所から国立環境研究所への名称変更と組織改編に伴い、これまで各研究部が主体となって行ってきた“特別研究”は、一括して「地域環境研究グループ」の下に集約された。そのため、本報告も本年から当グループが中心となって作成することとなった。

ただし、研究内容そのものはすべて、それぞれのテーマごとに設定された計画期間をもって継続的に進められてきているものであるから、組織改編後も基本的にはすべて当初スケジュールに従って継続されている。したがって本報告書の内容は前年度までの成果を踏まえつつ、本年度中に新たに得られた知見を中心にまとめたものである。その意味では以下の本文は、個々のプロジェクトチームごとに独立した成果のとりまとめとなっているので、関心のあるテーマを拾ってお読みいただければ結構かと思う。

平成3年度においては以降に紹介する13課題の特別研究を実施した。各テーマごとの本年度の成果を要約すると、交通公害防止研究チームでは、広域都市圏における自動車公害の予測及び総合評価手法を開発し、自動車単体から沿道対策さらには都市交通システムにわたる各種の自動車公害対策の提言とその評価を行った。都市大気保全研究チームでは、冬期を中心とした高濃度大気汚染の生成機構（特に本年はNOの酸化過程）を解明するためにフィールド観測とモデルによる評価を行い、乱流が反応に及ぼす影響に関するいくつかの新しい知見を得た。

水域汚濁に関しては、海域保全研究チームでは閉鎖性海域の水界生態系機構を対象に、フィールド調査と室内実験の実施によって、貧酸素水塊の動態並びに微生物間捕食速度に関する有用なデータを得た。湖沼保全研究チームは最終年度として、環境容量の観点から湖沼環境基準の現状解析を行い、新たな視点からの基準の決め方に関して一つの結論を導いた。これに関連して、流域で特に小規模汚濁発生源からの負荷削減を目的とした水改善手法研究チームでは、水域の汚濁負荷の高い割合を占める生活雑排水等の有機性廃水を、有用微生物を組み込んだ新たな生物高度処理システムによって削減する手法を開発した。有害廃棄物対策研究チームは、廃棄物の焼却や埋立てによる有害化学物質汚染の可能性を検討するとともに、揮発性有機塩素化合物による土壌・地下水汚染浄化対策システムの開発を進めた。湿原保全研究プロジェクト班では湿原の生態系のモニタリング手法の開発を行い、湿原生態系の特性と生物群集の変動特性を把握し、その安定化機構を明らかにする研究に着手した。

環境リスク評価を対象としている分野では5つの特別研究と実験動物開発などのプロジェクトを行った。研究内容は、健康リスク評価と生態系リスク評価とに大別できる。大気影響評価研究チームでは、光化学オキシダントやディーゼル排気起因する大気中の粒子状物質による肺傷害やアレルギー反応の発症との関連について動物実験により明らかにする研究を行い、ディーゼル排気中の粒子状物質はアレルギー反応の発症に関与しうる可能性を明らかにした。化学物質健康リスク評価研究チームでは最終年度として、有機塩素化合物、有機スズ化合物等の環境中での移動、拡散の過程及び化学物質が健康に与える毒性影響評価手法に関する研究を進めた。有機スズ化合物は、東京湾の底質中の濃度はほとんど変化しないがムラサキガイ中の濃度は季節変動を示すことと生物種による濃度差は食物連鎖に関係していることを明らかにした。また、有機スズ化合物の毒性評価に組織培養細胞が有効であることが示された。有機塩素化合物については、都

市域における大気環境中濃度を測定し健康リスク評価を行うと共に、行動能力を調べることで毒性評価に有効であることを示した。都市環境影響評価研究チームでは、都市型騒音や大気汚染が住民の健康に及ぼす影響を評価するための社会医学的研究を進めた。本チームの研究も最終年度を迎え、交通騒音の個人暴露調査や住民の苦情反応調査の結果をまとめ、交通騒音が地域で最も問題の大きい騒音であることを明らかにした。大気中の粒子状物質については、都市幹線沿道近傍で健康に有害性の高い小粒径のものの濃度が高く家屋内外濃度は相関することを明らかにした。高レベル地域の発ガン死亡率が低レベル地域よりも高く、過剰死亡の多くはディーゼル排気に由来する可能性が示唆された。今後もこのような環境保健モニタリングのデータベースを整備していく必要性が示された。化学物質生態影響評価研究チームでは、農薬などの化学物質の生態影響や化学物質に対する水生生物の感受性の種間差を評価する研究を行った。農薬散布時期には近傍の河川中の水生生物相が顕著に変化することが明らかとなり、この変化の一部は実験的にも確認された。また、汚濁河川には農薬等に対し耐性を持つ生物が優占種となっている可能性が示された。新生生物評価研究チームでは、初年度として遺伝子組換え体検出用のマーカーの開発や組換え生物の環境中での挙動に関する研究を行った。

以上の成果は、国や地方環境行政の問題解決に種々の形で貢献してきたが、同時に学術的な業績としても内外からの幅広い評価を得ている。

これら研究は地域環境研究グループのメンバー 46 名を中心に、各基盤研究部からの準構成員でチームを構成し、さらに所外から多分野の客員研究員、共同研究員の数多くのご協力を得て実施されたものである。

環境問題をめぐる社会的情勢が大きく変わりつつある現在、地域環境研究自体も今後どのような体系で、どのような方向に展開すべきかについては、絶えず慎重な検討が必要であると考えられる。そのような新たな展開に対する幅広いご意見を頂くためにも、今後共に本報告書を充実させていくべきと考えている。

## 2. 特 別 研 究

### 2.1 先端技術における化学環境の解明に関する研究 (最終年度)

昭和62年度～平成3年度 (1987～1991年度)

#### 〔研究組織〕 地域環境研究グループ

席研究官	三浦 卓
化学物質健康リスク評価研究チーム	○相馬悠子・米元純三・白石寛明・ 稲葉一穂・梅津豊司
都市環境影響評価研究チーム	高橋慎司
化学環境部	
部 長	森田昌敏
動態化学研究室	相馬光之・瀬山春彦
計測技術研究室	藤井敏博・古田直紀
計測管理研究室	伊藤裕康
化学毒性研究室	白石不二雄・宇野由利子
環境健康部	
生体機能研究室	鈴木 明・持立克身
病態機構研究室	鈴木和夫・青木康展
保健指標研究室	国本 学
客員研究員 9名, 共同研究員 2名	

#### 〔研究概要〕

有機スズ化合物, 揮発性有機塩素化合物, ダイオキシン類, 無機元素を対象物質として, 次に示す(1)から(4)の研究課題で研究が行われてきた。

- (1) 環境中の化学物質の物性評価と分離分析手法に関する研究
- (2) 環境中の化学物質の毒性スクリーニング法の開発, 応用に関する研究
  - 1) *in vitro* 系
  - 2) *in vivo* 系
- (3) 化学物質の環境中における変化と移行過程に関する研究
- (4) 化学物質のリスク評価のための方法論に関する研究

最終年度に当たり, 有機スズ化合物は海の生態系への影響及び細胞影響評価, 揮発性有機塩素化合物はつくば市における健康リスク評価, 残留ダイオキシンは紙製品への残留という形でまとめの研究がなされた。

#### 〔研究成果〕

##### (1) 環境中の化学物質の物性評価と分離分析手法に関する研究

有機スズ化合物の溶解度については系統的な研究例は少ないが, 溶解度は水域の汚染濃度や水域での挙動に関与する大きな要因である。そこで溶解度を正確に測定し, さらに塩濃度, 水素イ

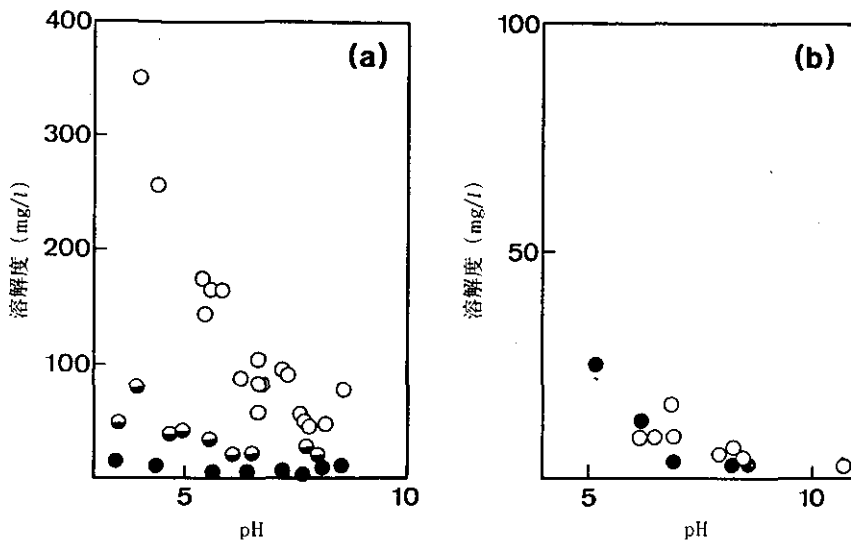


図1 トリブチルスズクロライド(TBTCI)(a)及びトリフェニルスズ(TPTCI)(b)の飽和溶解度  
○：純水，◐：0.1 M NaCl 水溶液，●：0.5 M NaCl 水溶液

オン濃度の影響を検討した。トリブチルスズクロライド(TBTCI)の純水への溶解度は図1(a)に示すように水素イオン濃度に大きく依存し、塩化物イオンの共存がない場合には塩化物イオンが解離して $TBT^+$ イオンが生じていることが示唆される。共存するNaCl濃度が0.1 M, 0.5 Mと増加すると解離が起こり難くなり水素イオン濃度の影響は小さくなる。トリフェニルスズクロライド(TPTCI)の場合には純水, 0.5 M NaClいずれの溶液でも溶解度はほぼ等しく、水素イオン濃度の依存性も小さかった(図1(b))。これはTPTCIでは塩化物イオンの解離が起こり難いためと考えられた。合成海水への溶解度はTBTCI, TPTCIのどちらも5 ppm程度であった。

## (2)環境中の化学物質の毒性スクリーニング法の開発、応用に関する研究

前年度に引き続き有機スズ化合物を対象として、*in vitro*系を用いたスクリーニング法の開発、応用では、1)培養神経細胞を用いた神経毒性の評価、2)ラット胎仔肢芽培養法を用いた胎仔毒性の評価、3)肺胞マクロファージ機能を指標とした毒性評価を行った。

1)では神経細胞としてラット由来の神経細胞PC12hに加えて本年度はヒト神経芽細胞NB-1を用い、非神経細胞としてヒト腎臓上皮細胞NRK52を用いた。ポジティブコントロールとして用いたメチル水銀、トリメチルスズ(TMT)、トリエチルスズ(TET)の神経細胞に対する $LC_{50}$ 値は非神経細胞に対するものより低く、トリブチルスズ(TBT)、トリフェニルスズ(TPT)の $LC_{50}$ 値も神経細胞に対し低い傾向が見られた。また本年度はラット小脳初代培養細胞を用い、神経細胞の成熟段階での毒物に対する感受性の差異を評価する系を開発した。メチル水銀に対し未成熟神経細胞が著しく高い感受性を示した。有機スズ化合物も未成熟神経細胞に対する $LC_{50}$ が低い傾向は見られたが差は小さかった。この系はメチル水銀のような発生段階の脳神経系に対する特異的毒性を検出するのに有効と考えられた。

2)ではTBT及びその代謝産物と考えられる3-ヒドロキシブチルスズ((3-OH)BuDBT)、ジ

表1 ラット胎仔肢芽培養法による有機スズ化合物の胎仔毒性評価

	ID <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	IP <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	P/D
トリメチルスズクロライド	1.71	2.81	1.65
トリエチルスズクロライド	0.51	0.56	1.10
ブチルスズトリクロライド	24.2	20.8	0.86
ジブチルスズジクロライド	0.13	0.17	1.32
3-ヒドロキシジブチルスズクロライド	0.49	0.70	1.43
トリブチルスズクロライド	0.16	0.21	1.33
ビストリブチルスズオキシド	0.13	0.15	1.15
トリフェニルスズクロライド	0.13	0.12	0.89

ブチルスズ(DBT)、モノブチルスズ(MBT)及びTMT, TET, ビストリブチルスズオキシド(TBTO), TPTを対象としてIP<sub>50</sub>(細胞増殖を対照の50%阻害する濃度), ID<sub>50</sub>(軟骨細胞への分化を50%阻害する濃度), 及びそれらの比を求めた。MBTの毒性は他の有機スズ化合物に比べて著しく低かった。MBT以外の有機スズ化合物のID<sub>50</sub>は0.13~1.71 $\mu$ M, P/D比は0.86~1.65であった。P/Dは低いID<sub>50</sub>が低いことから胎仔への毒性の可能性が示唆された。特にDBTはTBTOの代謝産物でもあるが、低いID<sub>50</sub>を示すことから注意すべき物質と考えられる(表1)。

3)では前年度、細胞質酵素(LDH)及びリソゾーム酵素( $\beta$ -glucuronidase)の漏出を指標として検討した肺マクロファージへの毒性がTPT, TBT, DBT, TBTOのいずれの物質でも0.1~20 $\mu$ Mの範囲で見られなかった結果を受けて、本年度は食食能への影響を検討した。ED<sub>50</sub>(食食能を50%低下させる濃度)はDBT 0.24, TBT 1.2, TBTO 2.9, TPT 0.44 $\mu$ Mであった。食食能の低下による殺菌活性の低下が予想された。

トリクロロエチレン等有機塩素化合物の生体影響については、前年度に続いて、培養細胞による細胞遺伝毒性と個体レベルの行動影響について検討された。

トリクロロエチレン(TCE)の100 ppmを培養細胞へのガス暴露システムで1時間V79細胞に暴露したところ、細胞遺伝毒性の指標である姉妹染色体交換(SCE)頻度は、対照(純空気暴露)との有意な差は認められなかった。また、ジクロロメタン(DCM)の100~300 ppmを同様に1時間暴露したところ、SCE頻度に有意な変化は認められなかった。TCE, DCMいずれとも、本実験では細胞遺伝毒性については陰性の成績が得られた。

前年度の方法を一部変えたブリッジテストにより、マウスの協調的運動能力に及ぼす影響についてさらに検討した。TCEを250 mg/kg, i.p. マウスに投与しても、マウスが細い丸棒(直径15 mm)上に留まっていられる時間(滞在時間)に著しい変化は見られなかったが、500 mg/kg, i.p. 以上投与すると、滞在時間は濃度に依存して明らかに短縮した(図2)。また、食餌強化による正強化オペラント行動(レバー押し, FR10)に及ぼす影響を検討したところ、125~250 mg/kg, i.p. のTCEでは反応数(レバー押し頻度)にはっきりした変化は見られず、500 mg/kg, i.p. 以上で反応数は著しく低下した。また、20 mg/kg, i.p. のペントバルビタールにより、反応数は明らかに低下した。以上の成績は、TCEは、500 mg/kg, i.p. 以上でマウスの行動に影響を及ぼすことを示しており、TCEが一般中枢抑制作用を有することを示唆している。



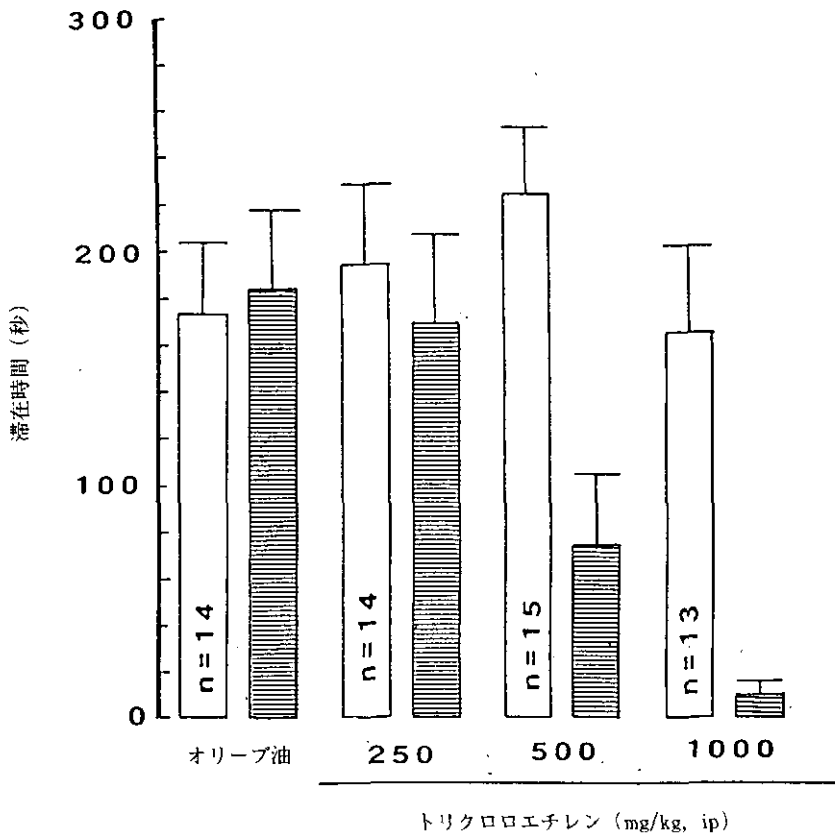


図2 マウスのブリッジテストにおける滞在時間のトリクロロエチレン投与による変化

□ : 10 試行目の成績

▨ : オリーブ油あるいはトリクロロエチレン投与 30 分後の成績

### (3) 化学物質の環境中における変化と移行過程に関する研究

東京湾を中心にムラサキイガイ中の有機スズ化合物の調査を継続した。前年度の調査からムラサキイガイ中のトリブチルスズの濃度は、冬に高く夏に低い、また逆に代謝産物は冬に低く夏に高いという季節変化があることが示されたが、本年度も同様の季節変化が観測された。この季節変化は、ムラサキイガイのブチルスズ化合物に対する代謝活性の変化が主要な要因である。また、ムラサキイガイでは小さな貝ほどトリブチルスズ化合物の体内濃度が高い傾向があったが、この原因は小さな貝ほど濃縮部位であるエラや腎臓の占める割合が大きく、代謝が行われる内臓部分の割合が小さいことで説明することができた。このような理由から、経年的な環境濃度の変化を知るためには同季節、同サイズのムラサキイガイの測定値を比較することが必要となる。トリブチルスズ濃度の経年変化では減少傾向は東京湾では見だせていない。一方、トリフェニルスズ化合物の場合は、同物質を含む船底塗料が1989年に国内では販売されなくなって以来、ムラサキイガイ中の濃度は指数関数的に減少している。東京湾のムラサキイガイ中でのトリフェニルスズの半減期は4か月と見積もられた。しかし、東京湾中央の底質中の濃度はほとんど変化が見られず、かつ、ムラサキイガイ中のフェニルスズ化合物の組成にも変化の見られないことから、この減少は主に船底塗料への使用規制により船舶等からの直接的な溶出が減少したことに起因すると

結論した。

ムラサキイガイのトリフェニルスズの濃縮部位は腎臓であり、ブチルスズ化合物と異なりエラ中の濃度は他の組織と同程度であり、エラ経由よりも経餌の取り込みが重要であることが示唆された(図3)。食物連鎖の観点から潮間帯生物中の有機スズ化合物の挙動を検討した。結果の一例を図4に示す。ブチルスズの体内濃度は、生物種によって大きく異なった。例えば、二枚貝ではイガイ<アコヤガイ<カキの順にトリブチルスズ濃度が増す。また、トリブチルスズ濃度が低い

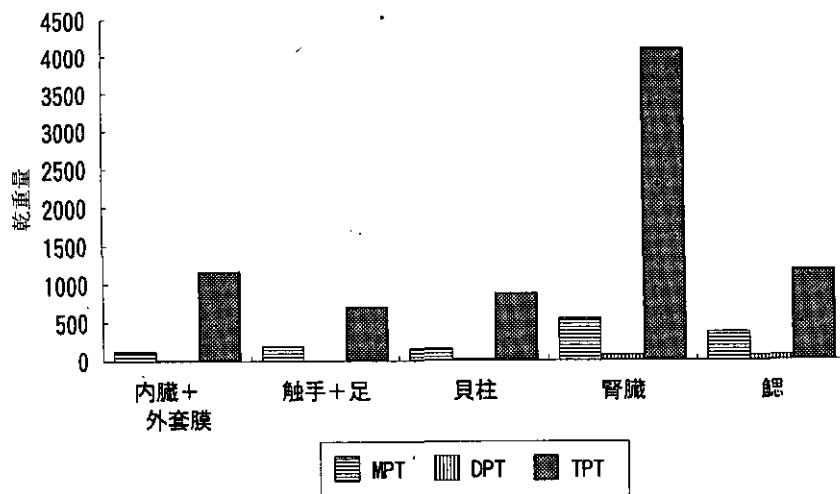


図3 ムラサキイガイの部位別のフェニルスズ濃度  
イガイ採取地：横浜，1991年7月15日  
イガイ殻長：5～6 cm

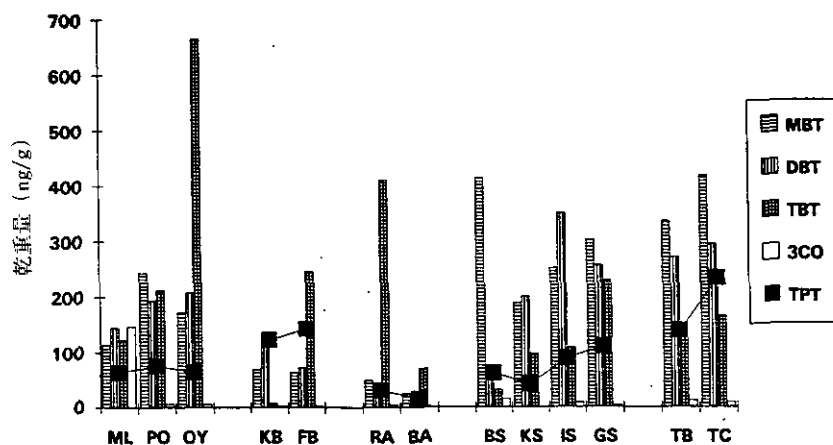


図4 潮間帯生物中の有機スズ濃度(1991年10月，静岡県下田)

TBT：トリブチルスズ，DBT：ジブチルスズ，MBT：ブチルスズ，3-CO：3-オキソブチルスズ，ML：ムラサキイガイ，PO：アコヤガイ，OY：カキ，KB：カメノテ，FB：フジツボ，RA：紅藻，BA：褐藻，BS：カサガイ，KS：クボガイ，IS：イシダタミ，GS：コシダカガンガラ，TB：レイシ，TC：イボニシ

生物ほどトリブチルスズに対する代謝産物の相対濃度が高いことから、この原因は生物種に依る代謝活性の相違によるためであることが推測された。一方、トリフェニルスズの濃度は、海藻<草食動物<肉食動物の順となり、同じ食物網に位置する生物はほぼ同じ濃度を示した。これは、トリフェニルスズの海産生物による代謝は起こりにくく、食物連鎖の上位の生物に濃縮される傾向のあることを示している。

#### (4) 化学物質のリスク評価のための方法論に関する研究

これまでの揮発性有機塩素化合物の調査結果を基にして「つくば地域の大气中揮発性有機塩素化合物濃度とリスク評価」という形でまとめた。

暴露量評価のための一般環境大气濃度(クロロホルム, 1,1,1-トリクロロエタン, 四塩化炭素, トリクロロエチレン, テトラクロロエチレンの5物質)は, 研究所で1988年11月から1989年12月までの368日間, 50分ごとに自動測定された7023点の測定値平均を使用した。室内濃度はつくば地域の高層住宅, 一戸建て住宅延べ12戸で1990年10月と1991年2月に調査した8回/日から1日平均濃度を算出した。室内と室外濃度差を横浜で測定されたもの(1983年, 横浜国立大学)と比較したものが図5である。室内でクロロホルム, テトラクロロエチレン, 1,1,1-トリクロロエタン濃度が高く, それぞれ水道(湯), クリーニングした衣類, 家庭用品(レインガード, ゴム糊溶剤, 修正剤など)が原因と考えられる。大气濃度が高いと考えられたクリーニング店, 道路交差点, スーパー, パチンコ店, 駐車場, 地下街などの大气中濃度の調査では, 空調設備が整っていたり, 風通しの良い広い道路では高い濃度は検出されなかった。これらの結果を合わせて, つくば市大人1日当たりの有機塩素化合物暴露量を推定してみると図6のようになる。トリクロロエタンの暴露量が大きい, 半分は室内での暴露による。クロロホルムは水道水飲水による寄与があり, 室内の高い原因も水道水によると考えられる。

閾値がないという仮定で計算されたユニットリスクを使用してクロロホルム, 四塩化炭素, ト

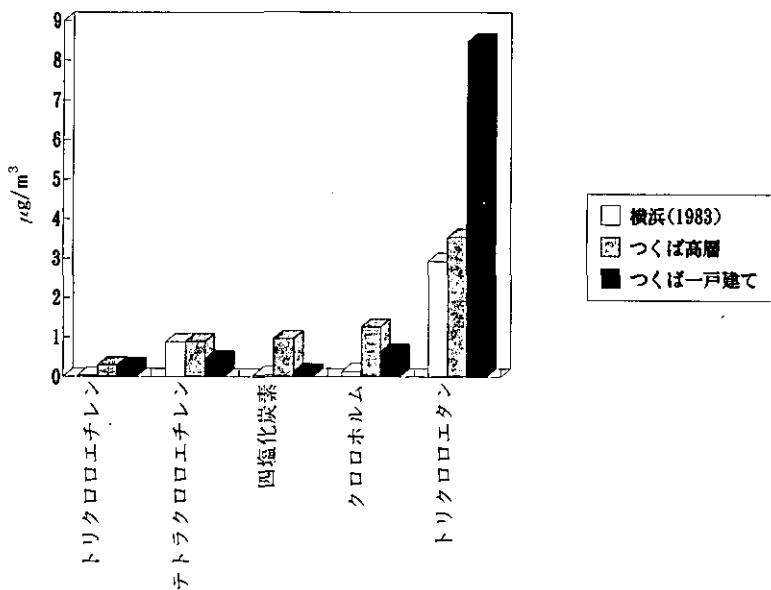


図5 揮発性有機塩素化合物の室内と室外の濃度差(μg/m³)

リクロロエチレン、テトラクロロエチレンについて発ガンリスクの推定をした。一般環境大気濃度を使用して100万人当たりの過剰発ガンとして計算すると、それぞれ19, 14, 1, 9(95%信頼区間上限値)人となる。NOAELを使った非発ガンリスクの推定はNOAELの値が出されている四塩化炭素と1,1,1-トリクロロエタンで図6の暴露量を使って比較するとトリクロロエタンの暴露量は四塩化炭素の10倍以上にもかかわらず、非発ガンリスクに対する安全率としては四塩化炭素の方が低いことが分かった。

残留ダイオキシンに関しては、紙製品中のテトラクロロジベンゾフラン(TCDF)とテトラクロロダイオキシン(TCDD)の分析が行われた。トイレットペーパー(5種)、コピー用紙(2種)、紙おむつ(3種)、ナプキン(3種)を分析した結果では、1,2,7,8-TCDFは0.32~9.7 pg/g, 2,3,7,8-TCDFは0.38~13 pg/g, 2,3,7,8-TCDDはN.D.~0.63 pg/gであった。全TCDFに対する2,3,7,8-TCDD及び全TCDFに対する2,3,7,8-TCDFの濃度は、全TCDFと全TCDDの値の約半分で、フライアッシュ等の燃焼過程で生じた試料と比べると大きな差が見られた。また紙製品中のポリクロロジベンゾフラン(PCDF)、ポリクロロダイオキシン(PCDD)の異性体パターンは燃焼過程で生成するPCDFやPCDDの異性体パターンと異なり、塩素漂白によるものであると推察された。

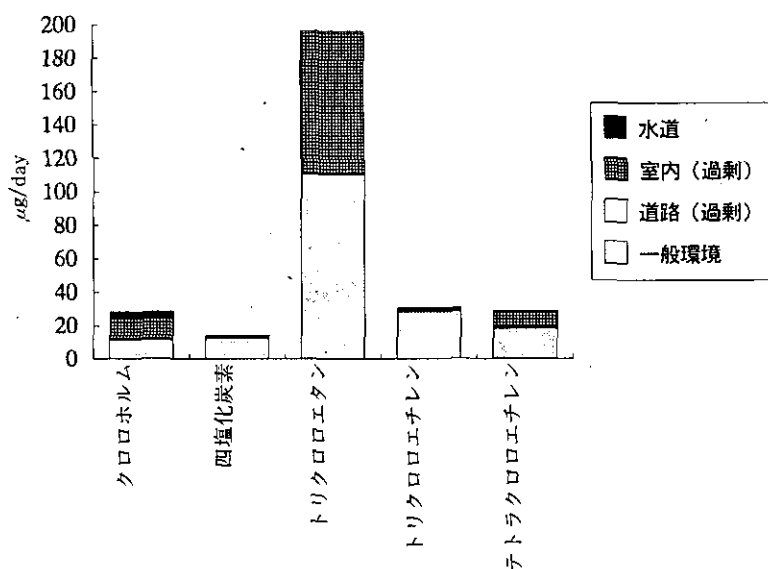


図6 つくば市大人1日の有機塩素化合物暴露量

室内と道路での暴露量はそれぞれ室内17時間/1日、交通量の多い道路に15分/1日いることによる過剰暴露量として表している。

## 2.2 環境容量から見た水域の機能評価と新管理手法 に関する研究（最終年度）

昭和62年度～平成3年度（1987～1991年度）

### 【研究組織】 地域環境研究グループ

統括研究官	内藤正明
湖沼保全研究チーム	○相崎守弘・春日清一・福島武彦
環境統計手法研究官	松本幸雄
水改善手法研究チーム	今井章雄
有害廃棄物対策研究チーム	平田健正
化学物質生態影響評価研究チーム	花里孝幸

### 地球環境研究グループ

酸性雨研究チーム	河合崇欣
----------	------

### 水土壤圏環境部

水環境工学研究室	海老瀬潜一・井上隆信
水環境質研究室	矢木修身
土壤環境研究室	細見正明

### 生物圏環境部

環境微生物研究室	高村典子
----------	------

### 社会環境システム部

資源管理研究室	原沢英夫・天野耕二
---------	-----------

客員研究員 15名，共同研究員 2名

### 【研究概要】

日本には1ヘクタール以上の面積を持つ自然湖沼が483湖沼，人造ダム湖が2,730湖沼あり，114湖沼に環境基準が指定してある。生活環境項目にかかわる環境基準の達成率は指定以来40%前半を推移し，湖沼水質はあまり改善が見られていない。本研究は，このような湖沼環境の改善及び保全を目的にしたものである。本研究では，上記目的を達成するため全体を以下の4課題に分けて研究を行った。

#### (1) 環境容量の概念を導入した水域環境管理の研究

湖沼や湖沼流域は，それぞれの湖沼に固有な一定の環境容量を持っている。そのため，それぞれ湖沼に環境基準が設定されると，それぞれの湖沼に対する許容負荷量が算定される。湖沼流域においては許容負荷量に合わせるため，発生負荷の削減対策を行う必要がある。本課題では，環境容量の概念の整理を行うと共に，環境基準の指定してある各湖沼の許容負荷量を算定し，発生負荷量との比較検討を行うことによって，湖沼環境基準の達成率が低い原因を究明する。

#### (2) 湖沼の物質循環速度と生態系管理に関する研究

アオコの屋外実験池における優占培養実験を行い，アオコの増殖機構の解明，アオコ増殖のコ

ントロールに関する研究を行う。湖内における水質改善メカニズムを解明し、湖沼において大型動物プランクトンの現存量を高い状態で長期間維持する方法を検討する。そのために湖内における食物連鎖網の解明を行う。

### (3)汚濁負荷流出管理に関する研究

流域における地形、土地利用、人口、工業出荷額、農業収穫量、家畜数、負荷発生量などをメッシュデータとしてデータベース化し、それを用いた流域指標の開発、流域環境変化と湖沼水質変化の関係の解析等を行う。

流域における水質保全対策を評価するために、汚濁負荷流出特性を現地調査から明らかにし、過去における現地調査結果との比較を行う。また、流域と湖沼をつなぐ共通の水質指標として炭素、窒素及びリンに着目して流域変化が湖沼水質に及ぼす影響を解析する。

### (4)複合利用湖沼の環境保全システムに関する研究

多面的な水利用が図られている霞ヶ浦を対象に、水利用の歴史的变化、総合開発事業の評価等を行い総合的な環境保全システムのあり方について検討する。

## [研究成果]

### (1)指定湖沼の許容負荷量推定と発生負荷量との比較

湖沼水質の改善には流域からの負荷量の削減が不可欠である。各湖沼ごとに、年間の平均的な水量負荷などを基に、COD環境基準を達成するために許容されるCODと栄養塩の負荷量値を試算し、流域から実際に発生している負荷量と比較した。栄養塩は全リン(TP)を対象としてフォーレンワイダー型のモデルにより許容負荷量を計算した。環境基準の達成状況の解析から、達成状況を4つのカテゴリー(表1)に分類できたが、それぞれのカテゴリーで許容負荷量に対する発生負荷量の比率に特徴が見られた。すなわち、基準の完全達成が続いているカテゴリーⅠの湖沼ではCOD、TPとも比率が1以下で、許容負荷量の中に収まっていた。カテゴリーⅡ、Ⅲの湖沼については、CODは許容範囲に入っているが、TPが範囲を超えている湖沼が多かった。カテゴリーⅣの湖沼ではCODが大きく許容範囲を超えている湖沼も多かったが、ダム湖のほとんどはCODについては許容以下であった。カテゴリーⅢ～Ⅳの「基準達成にほど遠い湖沼」のほとんどは栄養塩の流入負荷が許容範囲をはるかに超えており、内部生産によるCODの増加が大きなものと予測された。

表1 湖沼環境基準の達成状況の分類

	全地点	AA 類型	A 類型	B & C 類型
カテゴリーⅠ <sup>*1</sup>	40	7	31	2
カテゴリーⅡ <sup>*2</sup>	22	5	13	4
カテゴリーⅢ <sup>*3</sup>	85	16	50	19
カテゴリーⅣ <sup>*4</sup>	50	20	22	8
	197	48	116	33

\*1 11年間毎年基準達成

\*2 1～2回だけ基準超過

\*3 3回以上超過したが基準値の2倍以下

\*4 平均が基準の2倍以上で毎年超過

## (2) 屋外実験池におけるアオコの再現実験

富栄養化した湖ではアオコが毎年発生し、大きな社会問題となっている。自然環境保全基礎調査の湖沼調査(環境庁, 1985)で調べられた 487 湖沼の内, アオコが発生していると報告された湖沼は 46 湖沼あり, 全体の約 1 割に達していた。アオコが発生している湖沼の水質は富栄養化状態指標(TSI)で見ると 60 以上の湖沼が多いが, その境目目は TSI 値で 56 くらいのある所にあるようである。TSI:56 という値を水質に換算すると透明度, 1.7 m; クロロフィル a 濃度, 18  $\mu\text{g/l}$ ; 全リン濃度, 0.036  $\text{mg/l}$ ; COD, 2.8  $\text{mg/l}$  程度の水質である。この濃度以下の水質に保てばアオコの発生は抑制される可能性が高い。また, これとは反対に, TSI 値で 60 以上の富栄養化した湖沼でもアオコが発生していない湖沼も多くあり, 栄養塩レベルだけでは整理しきれない状況にある。

本実験では, 屋外実験池を用いて種々の条件を変え, アオコ状態を再現することを目的に実験を行った。屋外で人為的にアオコ増殖を制御できれば, アオコ発生の機構解明に役立つと共に, その制御手法の開発が可能となる。また, 植物プランクトン種の違いが湖沼の環境容量にどのように関与しているのかについても知見が得られる。

使用した屋外実験池は国立環境研究所霞ヶ浦臨湖実験施設にある 6 個の実験池で, それぞれの池は 1 辺 3 m の六角形をしており, 深さが 1.75 m で容量が約 40  $\text{m}^3$  の池である。実験は夏季を中心に 1988 年から 4 年間行った。1990 年に行った実験の実験条件を表 2 に示す。それ以前の実験から, 窒素やリンなどの栄養塩濃度はかなり高めに設定しないと増殖してこなかったことから, これらの濃度は霞ヶ浦高浜入における夏季の濃度の約 2 倍の濃度に設定した。また, 室内における培養実験から鉄の供給が必須であることが明らかになっていたところから, クエン酸鉄を添加した。さらに, 栄養塩以外の要素がアオコ増殖に関与していると考えられたところから, 微量な有機物に焦点を当てていくつか検討したところ, 米ぬかの熱水抽出液の中にアオコの増殖を促進する物質のあることが分かったので, 米ぬか熱水抽出液を添加した。排水はサイフォンを用いて下層より排水した。

1990 年の実験結果を図 1 に示す。フィコシアニンはラン藻類に含まれる色素でアオコが多ければ高い値を示す。アオコが増殖するであろう条件に設定した No. 1, 4, 6 の池でアオコの増殖が観測された。No. 6 の池では完全にアオコ状態になり, 約 1 か月間その状態が続いたが, 他の池では短期間アオコ状態になっただけで他の藻類と入れ替わった。肉眼でアオコ状態と認識されたのは, フィコシアニン濃度で約 1  $\text{mg/l}$ , ミクロキスティスの場合個体数で  $10^5$   $\text{cells/ml}$  以上のときであった。アオコ状態になった池では図 2 に示すように添加しているリン濃度に比べ, 池中のリン濃度が約 2 倍まで増加していた。流入栄養塩濃度と湖水中の栄養塩濃度の比を蓄積率と

表 2 屋外実験池におけるアオコの優占培養実験の実験条件(1990年)

池 No.	滞留時間	P( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )	N( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ )	米ぬか	クエン酸鉄	EDTA
P 1	20 day	0.46 $\text{mg/l}$	4.60 $\text{mg/l}$	730 g/EP	3 $\text{mg/l}$	0.1 $\text{mg/l}$
P 2	20	0.46	4.60	730	—	0.1
P 3	20	0.46	4.60	—	3	0.1
P 4	20	0.46	4.60	730	3	0.1
P 5	20	0.23	2.30	730	3	0.1
P 6	20	0.46	4.60	730	3	0.1

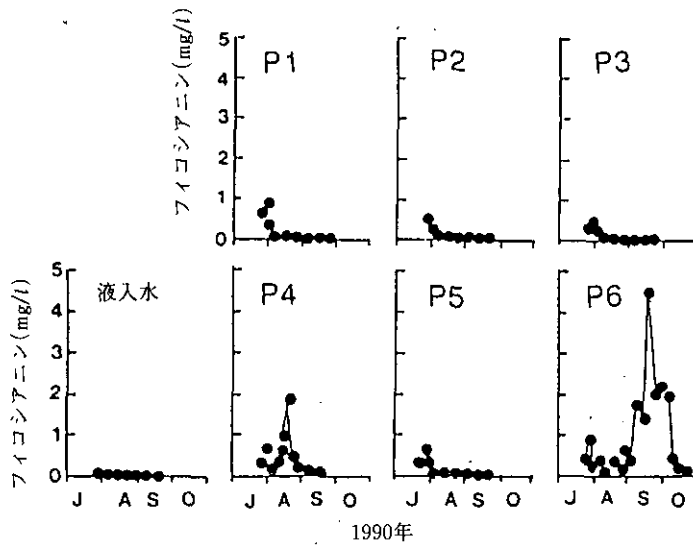


図1 屋外実験池におけるアオコ(フィコシアニン濃度)の経日変化(1990年)

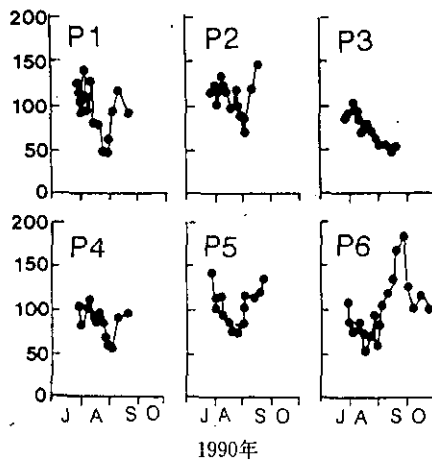


図2 流入リン濃度と実験池における全リン濃度の比(%)の経日変化(1990年)

呼んでいるがフォーレンワイダー型モデルでは、この蓄積率は水の滞留時間によって決まる1以下の値を使っている。実験池におけるこれまでの実験でも、緑藻やケイ藻が優占した場合にはフォーレンワイダー型モデルの値とよく一致した。流入栄養塩濃度以上の濃度に栄養塩を湖水中に蓄積することがアオコの特徴と考えられた。このことは、もしアオコでなく緑藻やケイ藻に植物プランクトンの優占種を変えることができれば、水質は約1/2からそれ以下に改善できる可能性を示している。

### (3) 湖内生態系制御

漁業は湖内生態系構造を決定する最も大きな要因の一つである。霞ヶ浦では近年湖水の塩分濃度低下や外来魚種の著しい増加によると見られる湖内生物相変化が見られ、著しい透明度上昇な



どが見られている。本研究では霞ヶ浦における水質と湖内生態系構造との関係を明らかにし、その管理手法を検討した。

霞ヶ浦の夏季の透明度は1967年頃から著しく低下した。この時期霞ヶ浦では1965年から許可されたトロール漁法が帆曳網に変わり開始され、一時的なワカサギの漁獲量の増加と、それに引き続く漁獲量の減少、及びハゼ・エビ類の増加が起きた。トロール漁法の導入以後の霞ヶ浦のワカサギとハゼ・エビ類の漁獲量は強い逆相関を示し、ワカサギが1量減少するとハゼ・エビが3量増加する関係が解析された。

この両者の漁獲量は捕食関係により支配されていると考えられる。すなわち霞ヶ浦で最も早く産卵ふ化するワカサギはエビ・ハゼ類のふ化してくる5月以降にはエビ・ハゼ類の稚仔を捕食できる大きさに成長しており、ワカサギ資源量の多い年にはハゼ・エビ類は減少する。ワカサギとハゼ・エビ類の漁獲量の相関がきれいな関係を示すのは、霞ヶ浦の漁業による漁獲率が極めて高く、霞ヶ浦における生産量をよく反映しているためであろう。エビの漁獲率を試算すると99%以上となった(春日, 1981)。霞ヶ浦におけるワカサギの最大資源量を推定すると2,000トン強、またハゼ、エビ類は8,000トン内外であろうと推定された。

霞ヶ浦の透明度の変化を湖内生態系構造との関連で調べると、ワカサギ漁獲量の多い年には透明度が高く、ワカサギを多くすることが重要であることが分かった。以下にワカサギの現存量に影響を及ぼす要因を解析した。霞ヶ浦の湖内の魚類群集構造は極めて単純化している。春から夏季に生まれた魚類は秋までにほとんど漁獲され冬季に魚類が残らない。そのため、動物プランクトン食者であるイサザアミが冬季に多量に残る場合が見られた。イサザアミはワカサギのふ化直後の餌であるワムシ等の動物プランクトンを減少させ、ワカサギの生残率を低下させる可能性が高い。ワカサギのふ化直後の生残率がワカサギの資源量を決定していると考えられた。

また、近年、透明度が5mを超えるような異常現象が見られ、このとき大型の動物プランクトンである *Daphnia* spp. の大繁殖が起きていた。このような年のワカサギ漁獲量は少なく、大型動物プランクトンがワカサギ仔魚の餌に適していないと思われた。*Daphnia* の異常増殖は霞ヶ浦の塩分濃度の低下により汽水性のイサザアミが減少し、冬季魚類と共に動物プランクトンの捕食者が霞ヶ浦に著しく少なくなったためである。さらにここ2,3年来魚であるオオクチバスやブルーギルの著しい増加が目立ち生態系構造に影響を与え始めている。

以上述べたように、霞ヶ浦の生態系構造は極めて単純化した構造となっており、恒常性が失われつつある。霞ヶ浦では、ワカサギ・シラウオ型の生態系構造が最も適していると考えられ、そのためには漁獲規制による冬季のワカサギ資源量の保存や、産卵場所確保のために湖岸や流入河川等の構造を複雑化させるなどの積極的な対応が必要と考えられた。

#### (4) 汚濁物質の流出負荷量ポテンシャルモデル

流域内の水利用や土地利用が異なれば流出負荷量も異なる。これは、流出負荷量が水利用後の排水の水量と水質に支配されることや、地形や水文条件の違いによって流出挙動が異なるためである。流出負荷量の変化を評価するためには人為的な汚濁負荷の排出と降水流出に伴う汚濁負荷の流出を併せて評価できる流出負荷量ポテンシャルモデルが必要である。流域の単位面積当たりの年間流出負荷量  $L_A$  を流出負荷量ポテンシャルと定義し、単位面積当たりの年間流出流量  $Q_A$  の関数とした直線回帰モデル ( $L_A = P \cdot Q_A + q$ ) を作成した。霞ヶ浦の流入11河川23地点における毎週1回定時(年間52回)の35個の調査データについて解析してみると、図3のようにCOD濃度(T-COD)、全窒素濃度(T-N)、全リン濃度(T-P)のほかNa, K, Ca, Mg, Cl,  $SO_4$ ,

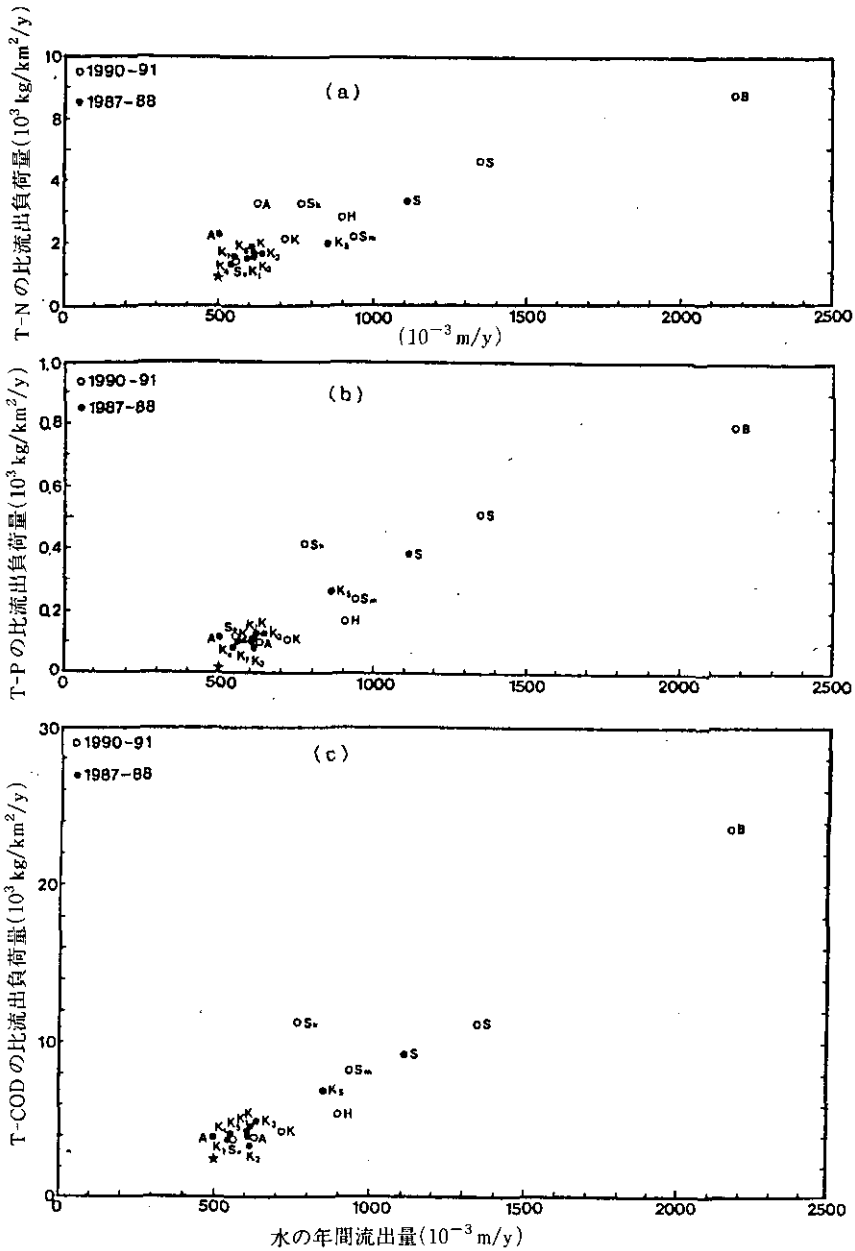


図3 霞ヶ浦流入 11 河川における流域の単位面積当たりの年間流出負荷量(a: T-N, b: T-P, c: T-COD)と単位面積当たりの年間流出量の回帰関係

SiO<sub>2</sub> などの無機イオンや懸濁物乾燥重量(SS)まで、高い相関係数でこのモデルの成立が明らかとなった。モデルによれば、流出負荷量ポテンシャルの低下には流出流量の減少が必要であり、その減少が進めばこの回帰直線に沿った流出負荷量の減少が見込める。これには、各種用水の節水のほか循環使用や再使用による排水量の削減とともに、降水の直接流出のウエイトを下げるために市街地化の拡大を抑制し、地表面から地下への降水の浸透量の増加が肝要と考えられた。

合成洗剤の無リン化や下水道の普及以前の1978～1982年の間の3年分の調査データと、それ以降5年後の1987～1991年の間の2年分の調査データとでは、回帰直線の勾配はかなり異なった値となり、汚濁負荷構造の変化が認められた。汚濁負荷構造の変化の特徴として、市街地河川の山王川ではアンモニア態窒素(NH<sub>4</sub>-N)、有機態窒素(Org-N)、無機態リン(PO<sub>4</sub>-P)濃度の減少と塩素濃度(Cl)の増加の傾向が認められた。農耕地河川の恋瀬川では硝酸態窒素(NO<sub>3</sub>-N)の経年的な増加傾向が観測された。

#### (5) C : N : P 比から見た流入河川水と湖沼水の対応

流入河川水質と湖沼水質の関係を解析するために、C : N : P 比の変化について調べた。同一河川でも調査年度によってC : N : P 比が異なっていた。これは年間降水量が異なり、汚濁負荷構造に経年変化が見られるからである。年間降水量が多いと、平均流量が増大してT-PやT-CODの割合が大きくなる。市街地河川と農耕地河川、それぞれ3河川のC : N : P : T-COD : Cl 比を比較した(表3)。それぞれのグループ内でも多少バラツキは見られるが、両者を比較すると農耕地河川では市街地河川よりT-Pに対するT-COD、T-Nの割合が高くなった。このことは市街地河川においてはリンの流出量が相対的に高いことを示している。基本的には生活雑排水の影響によるものと考えられた。

河川水、湖沼水、底質表層、沈殿物、アオコ及び降水中のC : N : P 比を比較した(表4)。湖水や表層底質のC : N : P 比は河川水のそれとはかなり異なっていた。しかし、湾奥部での表層底質と沈殿物のC : N : P 比は似かよっており、また高崎入に流入する3河川の降雨時における流入物のC : N : P 比も両者の比に非常に近い値であった。このことから、河口域におけるこれらの物質の挙動が流入河川水質と湖沼水質を結び付ける上で重要であることが分かった。

表3 農耕地河川と市街地河川のC : N : P : T-COD : Cl の比

河川名	農耕地河川					河川名	市街地河川				
	TOC	T-N	T-P	T-COD	Cl		TOC	T-N	T-P	T-COD	Cl
桜川	24	12	1	31	82	備前川	31	8.4	1	29	72
恋瀬川	30	19	1	40	77	山王川	29	8.5	1	24	94
天の川	29	32	1	38	113	境川	22	7.7	1	27	50

表4 C : N : P 構成比の変化

	霞ヶ浦(西浦)全体	高崎入湾奥部
流入河川水	36 : 17 : 1	36 : 15 : 1
湖沼水	78 : 26 : 1	56 : 21 : 1
表層底質	45 : 5.3 : 1	25 : 2.9 : 1
沈殿物		29 : 3.5 : 1
アオコ	53 : 14 : 1	
降水	53 : 14 : 1	

## (6) 複合利用湖沼としての霞ヶ浦の水質管理基準と流域の環境容量

### 1) 霞ヶ浦の水質管理基準

環境基準は利水目的により決まり、霞ヶ浦では水道利用を考慮してCOD 3 mg/l, 全窒素(TN) 0.4 mg/l, 全リン(TP) 0.03 mg/lと決められている。しかし、現状の濃度はそれぞれ8.2, 0.98, 0.05 mg/lとその2～3倍もあり、環境基準が水質管理基準となり得ないところに問題がある。当面、霞ヶ浦の水環境をどのようにして管理していけばよいのか、その基準の求め方を水質及び漁獲の観点から検討した。

①霞ヶ浦の水質のバックグラウンド値；人為的汚染源の少ない恋瀬川上流の小桜川の水質はCOD 3.1 mg/l, TN 1.4 mg/l, TP 0.05 mg/l, 大作沢でそれぞれ2.2, 1.3, 0.04 mg/lである。栄養塩濃度から予測される湖内内部生産CODはそれぞれ2.0, 1.7 mg/lとなる。こうした河川の有機物は分解されにくく、自浄作用によるCODの減少はあまり期待できない。これらの値から、人為汚染のない自然由来の負荷だけで、霞ヶ浦の水質はCOD濃度で4 mg/l程度が予測される。霞ヶ浦の水質をこうした非汚濁河川での水質以上にするのは極めて難しいと考えられる。

②アオコのでない水質；アオコは、富栄養湖の象徴であり社会的影響の大きなプランクトンである。アオコが発生する湖沼は富栄養化状態指標(TSI)で60以上の湖沼に多くTSI値で56程度以下になれば発生はほとんど見られないと推定された。この値から推定される水質はCODでA類型、栄養塩でIV類型の環境基準の値とほぼ等しい。

③魚がへい死しない水質；魚のへい死は植物プランクトンの遷移に伴う水変わりと枯死による酸欠が原因と考えられている。ともに夏期のアオコの大発生と関係が深いので、②の条件が達成されればへい死は生じないと予想される。

④魚種の豊かなこと；1960年後半から漁獲魚種の多様性が低下するとともに、その年変動が激しくなった(図4, 魚種としては生活タイプからワカサギ・シラウオ, エビ・ハゼ, コイ・フナ・ウナギ, イサザの4種類)。1966年からワカサギの帆曳き網漁がトロール漁に変わったことが原因であるのか、期を同じくしたCOD濃度の上昇すなわち水質悪化が原因なのか議論に決着はついていない。しかし、魚の資源量、漁獲量を一定に保つ管理が必要であることは言うまでもない。1960年頃のCOD濃度は5～6 mg/lであったが、こうした値が水質として一つの目標といえる。

⑤水質変動が急激でないこと；1988年以来冬季に透明度が極めて高くなる現象が見られたが、

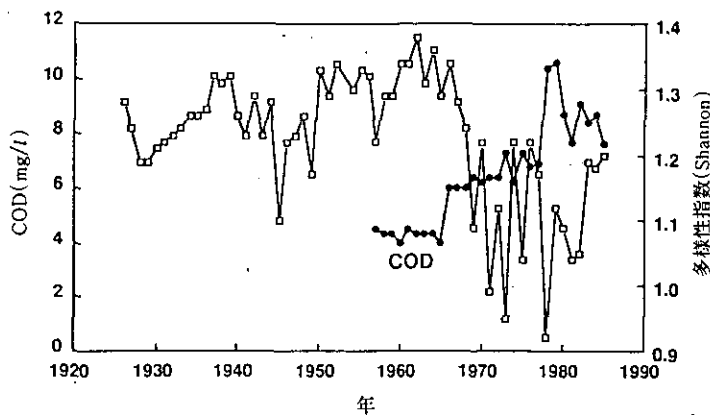


図4 霞ヶ浦のCOD(西浦湖心)と漁獲魚種の多様性指数(北浦を含めた漁獲量)の変化

そのとき、アンモニア態窒素濃度が0.5 mg/lを超えることもあった。後者はこの程度の濃度で水生生物、特に魚の稚魚などに影響を及ぼすことが報告されている。こうした現象は、大型の動物プランクトンが大発生したことによるが、生態系が極めて不安定であることを示しているので、④とあわせて魚の資源管理が重要であることを表している。

## 2) 環境容量概念を用いた管理

霞ヶ浦流域は水田比率が高く(25%)、灌がい用水量が多い。工業、水道用水も含めて全水需要は降雨による水供給の6割を超えている。生活用水を森林域の基底流量(降雨のないときの地下水からの流出水)から得ることを考えると、その自給率は200%程度となり、他流域への水供給、水質を考えなければ、現在の2倍程度の人口は許容できそうである。では、水質面ではどうか。以下に容量概念を用いた管理案を検討した。

①流域の大部分が森林であるような河川でも現状の環境基準を満足させることが難しい。このためできる限り負荷の削減が必要である。下水道の敷設と処理水の系外放流は救世主のように考えられているが、河川水の減少、他水系の汚濁、ばく大な建設費を考えればどの地域に対しても最適なものとはいい難い。分散型の処理システムが望まれるゆえんである。現在、し尿を単独浄化槽、くみ取りで処理し、雑排水については無処理放流しているものをすべて合併浄化槽(除去率; COD 83%, TN 58%, TP 94%)に変えることを想定すると、その排出負荷量はCODで47%, TNで5%, TPで24%程度減少することが予想される。CODについてはかなりの効果が望めるが、栄養塩に対しては農地、畜産系、養殖などの負荷削減が課題である。

②良質の生活用水の確保のためにも森林面積を減少させない管理が重要である。なお、ゴルフ場は計画中のものも含めて56前後ある。河川上流の森林にゴルフ場が建設されると2,000~3,300人の雑排水無処理の住宅団地が造成されたのと同じ程度の効果があるという報告もある。このため、河川流域ごとにゴルフ場面積の上限を定めなければならない。

③29の河川流域に分けて流域特性と水質の変化を解析した。この結果、流域での豚数の増加は河川での硝酸態窒素濃度の上昇をよく説明した(恋瀬川での例を図5に示す)。これは、ふん尿

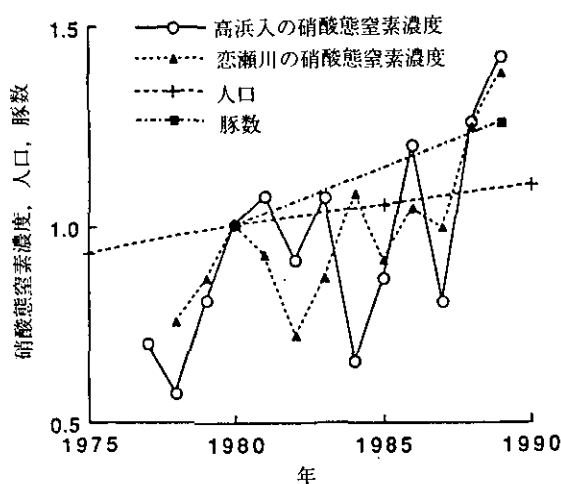


図5 恋瀬川流域での人口、豚数、平和橋と高浜入での硝酸態窒素濃度の経年変化(1980年を1として)

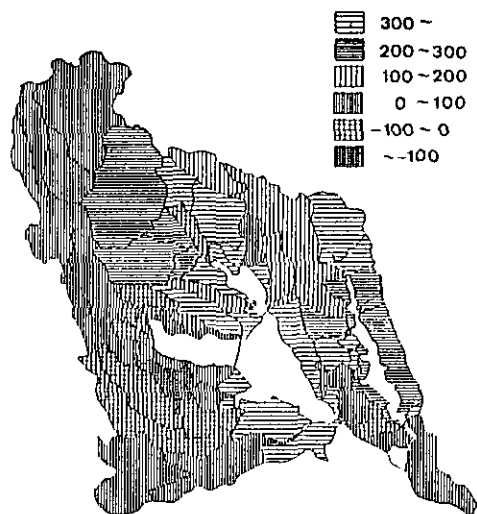


図6 許容可能な豚数(畑地面積から計算)に比べ過剰な豚数(頭数/km<sup>2</sup>)

の農地還元処理が一般的であるため、その一部が流出しているためと考えられる。このため、畑面積に見合って許容できる豚数が決まると考えられる。簡単な試算例を実際のものと比較した結果を図6に示すが、北浦など北部の流域で許容量をオーバーしていることが分かる。

④霞ヶ浦の水利用全体の内、水道用水の比率は3%前後と極めて少ない。この程度の量を得るには、土浦入、あるいは高浜入どちらかで十分である。流域全域で汚濁負荷の削減をいっぺんに行うのは難しいので、どちらか一方にモデル地域を設定し、管理を徹底させることは有効な方法といえよう。

## 2.3 大都市圏における環境ストレスと健康に係わる環境保健 モニタリング手法の開発に関する研究（最終年度）

昭和63年度～平成3年度（1988～1991年度）

### 〔研究組織〕 地域環境研究グループ

統括研究官	内藤正明
上席研究官	三浦 卓
都市環境影響評価研究チーム	○兜 真徳・新田裕史・影山隆之
交通公害防止研究チーム	田村正行
環境統計手法研究官	松本幸雄
実験動物開発研究官	高橋 弘
環境健康部	
部 長	鈴木継美
環境疫学研究室	小野雅司
保健指標研究室	遠山千春・三森文行
社会環境システム部	
環境計画研究室	大井 紘・近藤美則
情報解析研究室	須賀伸介

### 〔研究概要〕

昨今の環境問題は、従来の急速な工業化に伴ういわゆる「産業型」から「都市生活型」になってきている。すなわち、産業側の主要な汚染発生源に対する対策が効を奏し、代わって自動車などの移動発生源による騒音・大気汚染、近隣騒音などが環境保健の主要な問題となってきている。このような環境汚染の低濃度化・多様化の方向の状況に対応して、住民の意識、苦情、健康影響も多様化している。すでに高密度に活発な経済活動が行われている東京圏等、大都市圏では二酸化窒素( $\text{NO}_2$ )、浮遊粒子状物質(SPM)による大気汚染、自動車騒音等に係る環境の改善が遅れており、依然として、居住者の健康影響に関する訴え、苦情が跡を絶たない。今後の大都市圏の再開発の動向等を勘案すると、その居住環境をめぐる状況は一段と厳しくなることが予測される。このような複合的な環境汚染による健康影響の評価方法を確立し、また長期的な監視の方策を見出すことが、今日的な環境保健管理上の課題でもある。

本特別研究では、東京大都市圏人口を対象として、環境汚染への複合的暴露の具体的実態の把握及び精神的ストレスを含む健康影響の評価法を確立し、さらに、これらの手法を用いた長期的監視システムの構築に関する基礎的検討を加えることを目的とする。

上記目的を達成するために、全体計画は以下の4種の研究課題から構成されている。

- (1) 大都市住民の環境汚染への複合的暴露状況と住民意識に関する研究
- (2) 大都市居住に伴う精神・心理的ストレスとその健康影響評価に関する研究
- (3) 大都市居住に伴う大気中汚染物質とその健康影響評価に関する研究
- (4) 大都市住民の環境汚染暴露と健康影響評価に係わる環境保健モニタリング手法の開発に関する研究

以上において、研究課題(1)、(2)及び(3)では、代表的4地域(都心部、商業地域、工業地域及び住宅地域)を対象とした調査を実施し、騒音及び大気汚染物質等の地域及び個人レベルでの複合的暴露実態の把握と、騒音・大気汚染への個人暴露レベルに対する住民の意識構造及び健康影響(苦情、不眠症、ストレス、呼吸器症状等)を検討する。さらに、大気汚染暴露に関しては、地域の汚染レベルのデータから個人暴露量を推定することの妥当性を検討する。研究課題(4)では、課題(1)~(3)の調査地域を含む大都市圏について、行政地域別の健康情報(疾病・死亡等)、環境汚染情報(騒音・大気汚染)、さらにその他社会・経済等の地域特性情報をもとに地域類型化を行い、調査対象とした4地域の代表性を検証する。その結果を踏まえ、類型化された地域別に、年齢、職業などの属性別人口ごとの暴露状況を推定し、地域住民の環境汚染による健康影響を考慮して、従来の科学的判断規準との比較検討を含めた健康影響評価を試みる。最後に、これら一連の調査・データ解析等を通じて、環境汚染の状況及び地域人口集団の健康像の関連性を長期的に監視していくためのモニタリング手法を検討する。

### 【研究成果】

研究課題(1)、(2)及び(3)については、前年度までで調査・研究が終了しているため、本年度は、それらの成果を集大成し、特に大都市圏の中でも道路沿道における騒音と大気汚染(とりわけ肺ガンに関連するディーゼル排ガスに由来するSPM)と影響との関連に焦点を当て、本特別研究の目的である「環境保健モニタリングシステム」の手法について総合的に検討した。ただし、道路騒音の影響として、騒音苦情発生状況の実態を含めた。また、用いられたデータは、以下の3種、

- 1) 既存の環境汚染、健康に関する統計的検討結果(前年度までの課題(4)の結果)
- 2) 地域住民を対象とした暴露調査結果(課題(1)の結果)
- 3) 量-反応関係やリスク推定のための実験結果(課題(2)、(3)の結果)

である。ここで、沿道汚染に焦点を当てたのは、上記システムの手法をモデル的に吟味するに足る情報が整備されてきているからであり、その他の環境汚染の問題は今後の課題として残されている。

#### (1) 暴露レベル別沿道人口の推定

幹線道路(一般都道府県道以上)の沿道における道路騒音及びディーゼル排ガス由来の浮遊粒子状物質(SPM)への暴露レベル別人口の推定には、環境庁の「全国沿道騒音実態調査」に用いられたデータベースと、これを基本として沿道におけるSPM濃度の推計値を加えたデータベースを利用した。

前者からは、道路側端における騒音レベルと対応する「沿道メッシュ」(側端から中心までが100m以内の100mメッシュ)内人口が、また、後者からは、道路側から100mの間(0、5、10、20、40、50、75、100m)の推定SPM濃度(ただし、ディーゼル排ガス由来分のみ、年間平均値、 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )や推定居住人口が計算可能である。以下で述べる「汚染地域割合」とは、路端から100mの間の地域のうち一定濃度以上のSPMに汚染されていると推定される地域の割合である。また、これら「汚染地域割合」に対応する地域の推定人口数を求め、それら自治体(区市町)別に全人口に対する割合(%)を求めたのが「汚染人口割合」である。

まず、沿道の道路騒音への暴露状況を見ると、1都6県内で昼間道路騒音が70dB以上の沿道人口割合及び夜間道路騒音が65dB以上の沿道人口は、それぞれ18.9万人、75.8万人(ただし、



これは該当するすべての100m「沿道メッシュ」に対応する人口数であり、以下の調査結果から見ると実際には道路側端から20~30mの範囲が問題であるのでその2~3割程度と推定された。

次に、SPMへの暴露状況について、まず1都6県内の対象道路に対応した「沿道メッシュ」計19,762個について見ると、「汚染地域割合」は、SPM汚染が $50\mu\text{g}/\text{m}^3$ 以上と $100\mu\text{g}/\text{m}^3$ 以上の場合、それぞれ平均8.13(0~100)%及び2.3(0~67.9)%となり、また、 $50\mu\text{g}/\text{m}^3$ 及び $100\mu\text{g}/\text{m}^3$ 以上の「沿道メッシュ」内の汚染地域における人口数は「沿道メッシュ」当たり平均0.59(0~109)人及び0.17(0~52)人と推定された。ただし、後述するように、1979~83年の一般大気局SPM測定値が得られたのは53の自治体のみであり、その対象「沿道メッシュ」は全体の22.2%(4,586個)であった。これら自治体の1975年現在の総人口(これは1985年人口とすべきであるが、下記SMRを算出するための標準人口であり、便宜上この人口を用いた)は1.114万人であり、SPM汚染沿道地域内の人口数は $50\mu\text{g}/\text{m}^3$ 以上では47.4万人、 $100\mu\text{g}/\text{m}^3$ 以上では14.3万人、「汚染人口割合」はそれぞれ平均4.3%と1.3%と推定される。しかし、上記ディーゼル排ガス由来の推定SPM濃度は実測値から予測される値より高値の傾向があり、これら予測値はかなり安全側にとった値となっているので注意を要する。

## (2) 沿道の環境汚染レベル

### 1) 道路交通騒音

東京大都市圏内の地域特性の異なる4地域、すなわち東京都世田谷区(S区)・川崎市川崎区(K区)・東京都台東区(T区)及び同中央区(C区)内のそれぞれ住居地域、住工混在地域、商業地域、都心オフィス街において、計198名の主婦を対象に1日24時間の騒音暴露調査を実施した。ただし、対象者は幹線道路の沿道と非沿道地域で、ほぼ同数となるよう配慮した。ここで、「沿道」とは幹線道路より2~3軒目までを指すものと定義し、さらに、幹線道路に直面しない家屋と直面する家屋に住む対象者をそれぞれB群・C群に、また「非沿道」家屋に住む対象者をA群とした。

調査は10~11月の平日に、対象者に小型騒音暴露計(リオン社NB-13A)を携帯させ、1日24時間の10分間ごとの等価騒音レベル(以下 $L_{Aeq}(10\text{min})$ )を測定し、以下の行動記録と照合しつつ、生活行動別騒音暴露レベルを求めた。調査では、上記生活行動記録(10分単位)のほか、居住条件(住居形態、家屋構造、窓の構造、寝室の位置)、個人属性(職業の有無、同居家族数、就寝時刻)などに関する質問紙調査も行った。

ただし、以下では、睡眠時間内の枕元で測定されたすべての騒音暴露レベル $L_{Aeq}(10\text{min})$ のエネルギー平均値を、 $L_{Aeq}(slp)$ と表記する。また、上記対象者中29名については、個人の騒音暴露量測定と同時に、家屋内外の騒音レベルも測定した。ただし、測定箇所は、屋外はベランダ等(沿道家屋では幹線道路側の)、屋内は屋外測定箇所に最も近い室内である。

#### a: 1日24時間生活行動別騒音暴露レベル

全対象者の $L_{Aeq}(24)$ の分布は(図1)のとおりであり、その平均値(s.d.)は70.0(5.8)dB(A)であった。これを地域別に見ると、S区73dB(A)、K区73dB(A)、T区68dB(A)、C区70dB(A)であり、S区・K区において有意に高かった(F-test:  $p < 0.001$ )。しかし、幹線道路からの距離、あるいは住環境・属性等による有意差は認められなかった。

ここで、家屋外行動(買物、徒歩、自動車・電車に乗る)が記載された時間帯のデータを除外して、残りの時間帯の騒音暴露レベルを再計算したところ、平均値(s.d.)は68.1(6.0)dB(A)に低

下し、かつ前記のような有意の地域差は認められなかった。すなわち、 $L_{Aeq}(24)$ の前記地域差は、家屋外行動に伴う暴露によるものと考えられ、家屋内で生活している限りでは、 $L_{Aeq}(24)$ に地域差はないことが示された。

一方、主要な生活行動であった、食事、身の回り、炊事、洗濯、雑用、テレビの各時間帯における騒音暴露レベル、 $L_{Aeq}(i)$ と、地域(S区/K区/T区/C区)、幹線道路からの距離(非沿道/沿道・非直近/沿道・直近)、家屋形態(一戸建て/集合住宅)、住居構造(木造/モルタル・パネル/鉄筋コンクリート)、窓の構造(木造/サッシ)、年齢(-39/40-/50-/60-)、職業(有/無)、同居者数(1-2/3-4/5-)との関連を分散共分散分析により検討した結果、住居構造のうち鉄筋コンクリートの場合に木造/モルタル・パネルより「身の回り」の活動時、「洗濯」時の $L_{Aeq}(i)$ が低い傾向(各 60/64/65, 66/70/71 dB)以外では有意なカテゴリー間の差は認められなかった。

b: 夜間睡眠時の騒音暴露レベル

上記全対象者の夜間睡眠中の騒音暴露レベル $L_{Aeq}(slp)$ について検討した結果が(表1)であ

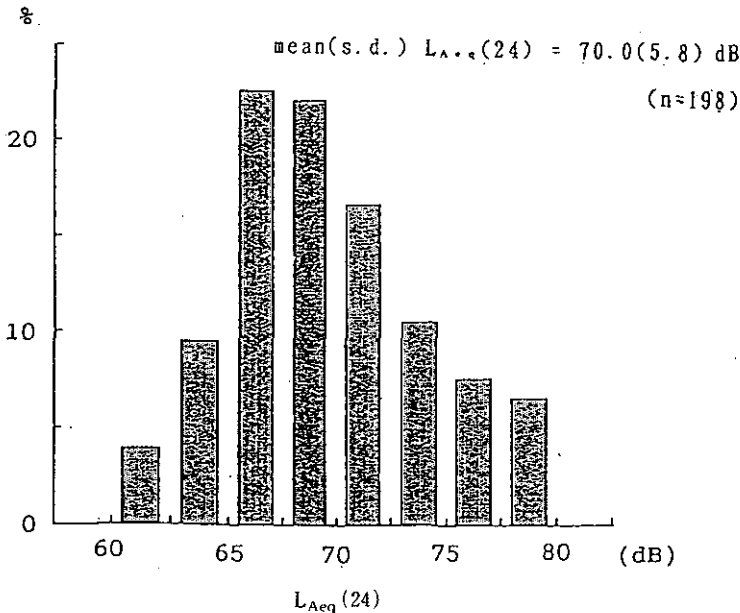


図1 24時間騒音暴露(レベル $L_{Aeq}(24)$ )の分布

表1 地域別・幹線沿道からの距離別 $L_{Aeq}(slp)$

対象地域	$L_{Aeq}(slp)$ , dB(mean(S.D.))				交通量(大型車両のみ)	
	全対象	非沿道	沿道・ 非直近	沿道・ 直近	昼間12時間	夜間8時間
S区(居住系)***	47(8)	44(7)	48(9)	53(4)	46(8.0)#	9(1.5)
K区(住工系)***	54(12)	51(13)	55(13)	56(12)	60(20.0)	22(7.0)
T区(商業系)	49(10)	49(10)	50(9)	49(9)	23(2.5)	3(0.4)
C区(都心部)	47(7)	46(7)	47(7)	48(7)	31(6.6)	6(0.8)

\*\*\*: 非沿道, 沿道・非直近, 沿道・直近の各レベルが一元配置分散分析で有意差を示したもの(ただし,  $P<0.001$ )。

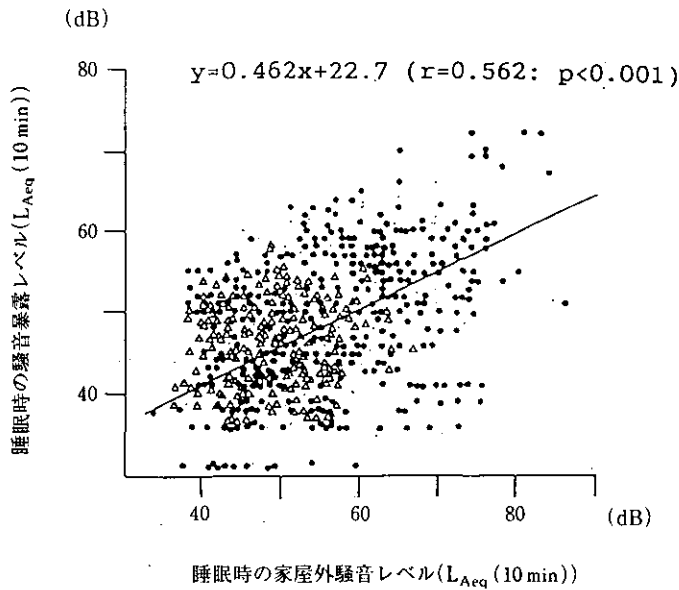


図2 睡眠時の家屋外騒音レベルと騒音暴露レベルの相関

- ：沿道群(新幹道路から2～3軒目以内, n =12)
- △：非沿道群(その他の地域, n =17)

る。また、同レベルと家屋外騒音のレベルとの関係を各  $L_{Aeq}(10 \text{ min})$  の相関関係としてみたのが図2である。同表に明らかなように夜間交通量が2万台を超えるK区及び9千台のS区では沿道家屋の  $L_{Aeq}(slp)$  が有意に上昇しており、道路騒音の影響が明らかである。ここで、K区では沿道のみならず非沿道家屋でも相当高いレベルとなっているが、この原因として、問題となる幹線道路の上に高速道路が走る高架構造となっているために、汚染範囲が広域化していることが考えられた。以上から、夜間の道路沿道騒音による睡眠時暴露レベルへの影響は同時間帯の交通量が1万台以上の道路の場合で、特に沿道から2～3軒目まで、また、2万台を超える場合には、それ以上の範囲でも有意となることが示唆される。

## 2) ディーゼル排ガス

### a: 家屋内外の浮遊粒子状物質(SPM)汚染レベル

非暖房期の沿道SPM汚染に関して、東京都板橋区の大和町交差点を中心とする東西3km、南北4kmの領域(主な排出源は南北に走る中山道、首都高速5号線(高架)と、東西に走る環状七号線)を対象にSPM( $2 \mu\text{m}$ 以下と $2 \sim 10 \mu\text{m}$ に分級)を一週間連日測定した。ただし、測定地点は、A:中山道から30m以内で間に構造物なし(11地点)、B:中山道から30m以内で間に構造物あり(6地点)、C:50~100m(8地点)、D:200~400m(9地点)、E:約1km間隔( $3 \times 4 = 12$ 地点)で設置した(道路の直接影響を受けない地点(12地点)の5群である。気象状況は、期間中記録的な残暑で、降雨が少なく(26日約2mm、28日約4mmのみ)、日平均風速は $1.2 \sim 3.9 \text{ m/s}$ であった。

結果、日間変動成分を除いた平均SPM濃度には沿道からの距離減衰傾向が明らか(道路端から100m以上ではほぼバックグラウンドレベルとなる)であり(図3)、また、道路沿道家屋の家

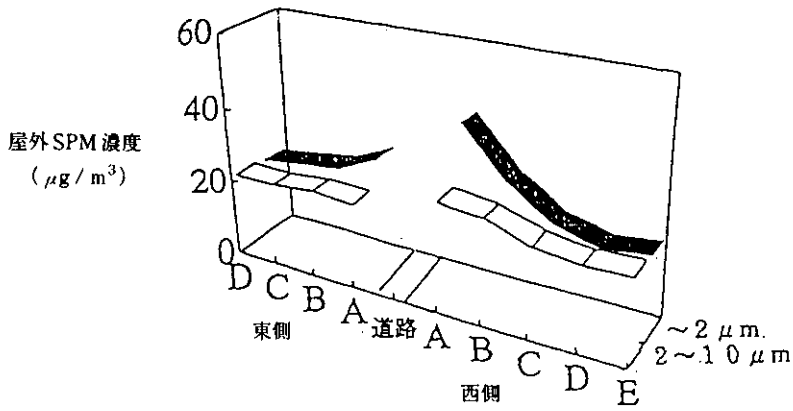


図3 道路沿道におけるSPM汚染状況(板橋区, 1990)

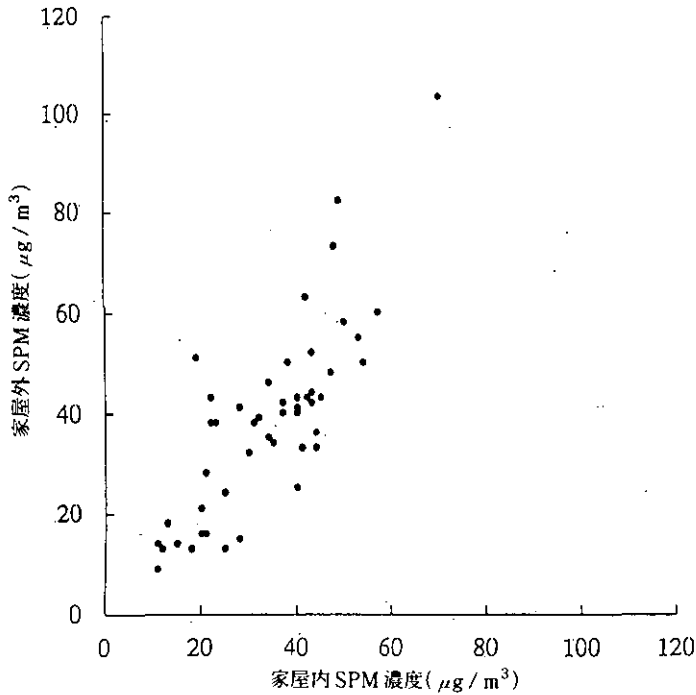


図4 家屋内外のSPM濃度の相関関係

屋内・外のSPM濃度に有意な相関関係を示していた(図4)。また、①SPM( $2\mu\text{m}$ 以下)は風速と濃度が対応し、週末には低濃度となったが、SPM( $2\sim 10\mu\text{m}$ )は風速とは対応しなかった。②SPM( $2\mu\text{m}$ 以下)は道路からの距離による濃度差が顕著だったが、SPM( $2\sim 10\mu\text{m}$ )は距離の効果が比較的少なかった。③SPM( $2\mu\text{m}$ 以下)及びSPM( $2\sim 10\mu\text{m}$ )では、A群において地点効果、交互作用が日効果よりも大きかった。C, D, E群においては日効果、交互作用、地点効果の順で大きかった。④同一群内でも中山道の東側か西側かで変動に差があり、A, B群で西側の変動が大きい傾向にあった。⑤SPMの濃度レベルは1990年2月のレベルより低い傾向にあった。

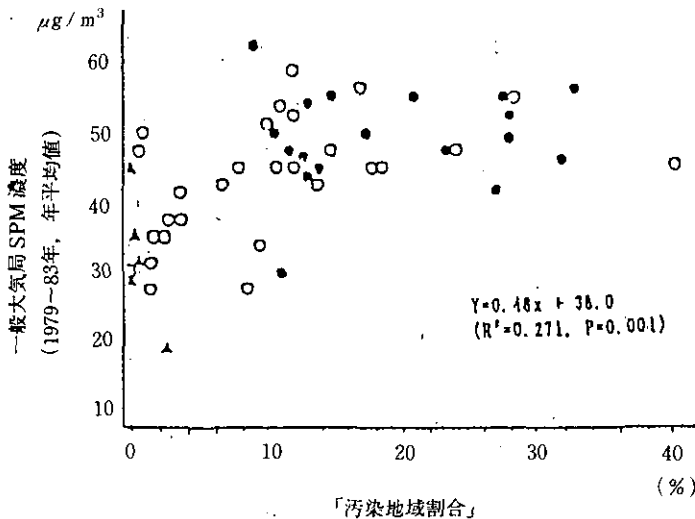


図5 「汚染地域割合」と一般大気測定局SPM濃度の関連

1都6県内の自治体のうち上記SPM測定値のある53自治体のみ、ただし●：区、○：市、▲：町を示す。

以上のような粒径の小さな、したがって呼吸可能(respirable)な沿道SPM汚染の状況から、家屋内で長時間生活する専業主婦、老人、子供などでは、居住地域のSPM汚染状況がある程度個人暴露の状況を示すことが示唆された。

ここで、上述の「汚染地域割合」(ただし、ディーゼル寄与分のSPM濃度が $50\mu\text{g}/\text{m}^3$ 以上の場合)と地域の一般大気局SPM濃度(1979~83年)との関連を調べてみたのが(図5)である。同図に明らかなように、「汚染地域割合」が約10%未満では相関が認められるものの、それ以上では、同割合が増加しても地域バックグラウンドレベルは約 $50\mu\text{g}/\text{m}^3$ のレベルで一定となっていた。また、同様な傾向は「汚染人口割合」との間にも認められた(データ示さず)。すなわち、都心部では非沿道地域のレベルは広域にわたって飽和・拡散している状況があり、同地域内での局所的な沿道汚染状況をよく反映していないことを示唆している。このことは、道路交通は都心部に向かって密となっており、ディーゼル排ガス汚染も高くなる傾向があるが、一般測定局の示すバックグラウンドレベルのSPM値はその状況を示していない可能性があることを示唆している。

### (3) 実験データを基本とした健康影響・リスクの総合評価

#### 1) 道路交通騒音の場合

##### a: 騒音苦情

1都6県の176区市を対象に、騒音の種類別の年間騒音苦情発生率(AIRSNC, 昭和61年度新規発生分)を求め、その多変量モデルについて解析・考察した。上記モデルに投入する変数として、人口密度及び騒音の発生状況にかかわると考えられるその他地域特性情報を既存の人口・社会・経済統計等から収集した。交通騒音の発生状況指標として、上述の「全国沿道騒音実態調査」、データベースから求めた沿道騒音レベル別暴露人口推定値も利用した。

結果、176市区別のAIRSNC(人口10万対)を、特定工場(作業場も含む)、その他の工場、

特定建設、その他の建設、商業(拡声器も含む)、近隣・家庭生活及び道路交通(二輪車も含む)の各騒音別にまた人口関連指標の主成分分析結果に応じて都市圏を中心部、中間部、周辺部に分けて求めたのが(表2)である。特定工場と道路交通騒音によるAIRSNCを例外として、その他はいずれも中心部ほど有意に高率となっている。

ここで、176市区のAIRSNCを目的変数として、以下のような2段階の重回帰分析(ステップワイズ法)を行った。ただし、説明変数はそれらの分布の偏りを考慮し、すべて順位変数に変換して投入した。第1段階では、諸指標のうち、工場騒音については工業関連指標を、商業騒音については商業関連指標を、建設・家庭騒音については建設・住居関連指標を、道路交通騒音については道路関連指標を、それぞれ説明変数としてまず投入し、ステップワイズ法により変数を選択した。

第2段階では、上で選択された説明変数に、人口関連指標を追加して、さらにステップワイズ法を適用し有意に関連する変数を選出して、最適モデルを求めた。

結果、主要な点として、

- ①その他の工場騒音、特定建設騒音、その他の建設騒音では、各騒音発生に関連する変数と、騒音暴露機会に関連すると想定された人口関連変数の両方が、有意に関連していた。
- ②商業騒音、近隣・家庭生活及び特定工場騒音に関しては、それら騒音発生に関連する変数のみが有意の関連を示した。
- ③道路交通騒音に関しても同様、騒音発生に関連する変数のみが関連を示したが、その関連は極めて弱いものであった。

などが特徴的であった。

以上からも明らかなように、道路交通騒音に対するAIRSNCは絶対的にも相対的にも低い傾向にあり、また、重回帰分析における説明率も相当に低い傾向にある。これは、これまでの調査結果から見ると、対策の困難性等を背景として、同一地域からの複数の苦情が一体として扱われる傾向、既存道路に対する新規苦情が住民から訴えられにくくなっていること、最近問題の大きな「夜間のオートバイの音」などでは自治体よりは警察へ苦情が持ち込まれることが多い、などが影響しているものと考えられる。

#### c:睡眠影響

これまで報告されている睡眠実験の結果によれば、脳波や体動等の指標から見ても起床時の主

表2 音の種類別苦情発生率(人口10万人対、176区市)

騒音源	n	騒音苦情発生率				p
		計	都心部	中間部	周辺部	
特定工場	741	2.49	2.8	2.1	2.7	n.s.
その他工場	2,292	6.20	9.1	7.5	2.9	***
特定建設	503	1.42	4.9	0.7	0.3	***
その他建設	1,087	2.75	6.3	2.7	0.8	***
商業	1,921	5.59	9.6	6.0	2.8	***
近隣家庭	800	2.02	4.4	2.0	0.6	***
道路交通	162	0.41	0.6	0.4	0.4	n.s.

\*\*\*:一元配置分散分析で地域差が有意であったものを示す(ただし、 $p < 0.001$ ); n.s. = not significant)。

観的判断から見ても、睡眠影響を生ぜしめない最大騒音レベルは $L_{Aeq}$ で35~45 dB(A)程度と、相当低いレベルにあると考えられる。ここで $L_{Aeq}(slp)$ が50 dB(A)以上(上記調査結果から、就寝直後・起床直前を除いて計算すると約45 dB(A)以上)の場合には何らかの睡眠影響が現れるものと仮定して、道路交通騒音による影響人口の大きさを推定してみた。

結果、1都6県176区市の主要道路の推定沿道騒音レベルと対応する沿道人口を試算したのが(表3)である。同表から、例えば夜間路側端で $L_{50}$ が65 dB(A)以上の道路の沿道人口(道路から100 m以内に中心がある100 mメッシュの人口)は総人口の約2.4%と推定され、その道路から20~30 m以内を道路交通騒音の影響範囲とすると、同範囲の人口はその2~3割、すなわち総人口の0.5~0.7%を占めることが推定された。

#### d: 聴覚影響

環境騒音による聴覚影響を評価する一つの方法として米国環境保護庁(EPA)の聴力保護基準がある。これは $L_{Aeq}(24)$ で70 dB以下の暴露レベルであれば、生涯暴露されても聴覚影響(老人性難聴の増悪)が全く生じないと期待するというものである。上述のごとく、今回の調査結果では平均が70 dBであり、半数がこのレベルを超えていることになる。この測定値には「自分の発生する声」なども含まれているために、厳密な意味では環境騒音のみを示すものではないが、それらの影響が一応均一であるとすれば、同測定値には道路騒音の影響は認められないことを示している。また、地域による差も明らかでない。すなわち、夜間睡眠時の騒音暴露レベルには道路騒音の影響が有意であるとしても、昼間の活動時の比較的高い暴露によって、24時間レベルとしてみると差がなくなることになる。以上から、 $L_{Aeq}(24)$ には家庭内での生活行動に伴って発生する音の影響が大きく、また、そのレベルは聴覚影響が全くなしとはできないレベルを示していることになるが、上記基準との対応でみる限り、道路騒音による明らかな聴覚影響の可能性はほとんどないことが示唆される。

### 2) ディーゼル排ガスの場合

#### a: 肺ガンへの影響

「汚染地域割合」と「汚染人口割合」の2種の沿道SPM汚染指標(1985年現在)は、地域のバックグラウンドレベルを示す一般大気測定局のSPM濃度(年平均値)(1979~83年平均のみならず、1969~73年及び1974~78年平均とも)と良好な相関を示し、かつ、自治体の人口密度(対数)

表3 1都6県内176区市における騒音レベル別道路沿道人口推定値

道路側端の騒音レベル	沿道100mメッシュ人口(千人)
$L_{50}$ , dB(A)	(総人口に対する%)
昼間 $L_{50} \geq 70$	189(0.6%)
$\geq 65$	1228(3.9%)
$\geq 60$	4397(14.1%)
$\geq 55$	7435(23.8%)
夜間 $\geq 65$	758(2.4%)
$\geq 60$	1890(6.1%)
$\geq 55$	4035(12.9%)
$\geq 50$	6402(20.5%)

とより強く相関していた。これは、中心に向かって高くなる大都市圏内の局所的沿道汚染状況を反映している結果と考えられ、その推定精度には問題点は残るが、沿道SPM汚染指標としての妥当性、有用性を示唆していると判断された。

そこで、53の自治体を対象に、上記2種の指標及び一般大気局測定値(1979~83年平均)と1969~73, 74~78, 79~83年の3期の女子の肺ガン標準化死亡比(Standardized Mortality Ratio, SMR, 全年齢, 1975年全国人口標準)との相関関係を調べたが、有意な相関は唯一第3期のSMRについてのみ見られ、また、同相関は一般大気局測定値の場合よりも、2種の指標の場合により大きいことが知られた。

上記2種の指標及び一般大気局測定値の年平均SPM濃度の分布を3等分して、それぞれSPM汚染の低・中・高レベルに対応する自治体のSMRを求めた結果、肺ガンSMRは、いずれの場合にも低レベルより高レベル地域で高い傾向が明らかであった(表4)。以下、上記の肺ガン死亡の地域差を巡って、大気汚染全般あるいはディーゼル排ガスのリスクアセスメントとの関連で検討した。

大気汚染による肺ガンのリスクに関して、これまでの報告を見ると、例えば、Doll & Petoは全ガンの2%(1~5%)が、また、EPAは毒性学的データを基に1~3%というよく一致した値を示している。これらは、大気汚染によるガンが肺ガンのみであり、また、全ガンに占める肺ガンの割合が1985年現在の日本の状況から、多く見積もって約1/5であるとする、上記両推定は、肺ガンの約10%程度が大気汚染によることを意味している。ここで、前者のリスク推定が肺ガン死亡率が日本の約2倍もある米国のデータを基本としていること、上記肺ガンの割合が実際にはより小さいことなどを考慮するならば、さらに大きな値となり、今回観察された肺ガ

表4 「汚染地域割合」、「汚染人口割合」及び一般大気局SPM測定値(1979~83の年平均値)の各3レベル別(＃1)にみた肺ガンSMR

	低レベル	中レベル	高レベル
「汚染地域割合」	0~8.0%	8.0~14.7%	14.7~39.9%
平均SMR(±S.D.)	97.9(33.6)	124.0(21.7)	133.3(32.9)
(n)	(17)	(18)	(18)
SMR	103.0	122.8	133.3
「汚染人口割合」	0~2.50%	2.50~4.05%	4.05~13.0%
平均SMR(±S.D.)	101.9(33.9)	126.9(29.0)	126.5(31.0)
(n)	(17)	(18)	(18)
SMR	105.3	120.4	133.7
一般局SPM濃度 (1979~83) ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )	0~42.5	42.5~48.5	48.5~62.0
平均SMR(±S.D.)	105.1(30.7)	112.3(30.1)	138.1(29.8)
(n)	(17)	(18)	(18)
SMR	105.0	117.9	134.1

ただし、平均SMRは自治体ごとのSMRの平均値を、また、SMRは、対象自治体について総死亡数と総死亡期待数を求めて算出した値を示すが、いずれも良く一致していた。



ン SMR の地域差が、大気汚染、特にディーゼル排ガス汚染によると見なしても矛盾のないレベルの影響を示唆していることになる。

一方、これまでのディーゼル排ガスを直接吸入させた動物実験結果を見ると、肺ガンのユニットリスク ( $1 \mu\text{g}/\text{m}^3$  の SPM に 70 年間暴露されたときのリスク) として最高  $4.1 \times 10^{-3}$  (Harris, 1983), 最低で  $2.5 \times 10^{-5}$  (Albert ら, 1983) などがあるが、動物実験結果をヒトに外挿するには不確実性があり、上記値はいずれも 95 % 信頼区間の上限値に対応する。我が国の最近の推定では  $6.14 \times 10^{-5}$  が妥当ではないかと報告 (和田ら, 1991) されている。

上述のごとく、沿道で  $100 \mu\text{g}/\text{m}^3$  以上のディーゼル排ガス由来の SPM に暴露されている推定女子人口は約 7 万、 $50 \sim 100 \mu\text{g}/\text{m}^3$  では約 17 万人、残り 530 万人は  $50 \mu\text{g}/\text{m}^3$  未満であった。それぞれの暴露濃度を一応 100, 75 及び  $25 \mu\text{g}/\text{m}^3$  として、後者のユニットリスクを仮定して、70 年間暴露されたときの過剰肺ガン死亡数を計算すると合計 9,351 (95 % 信頼区間上限値) となる。これは年間最大 133 の死亡数、年間死亡率  $2.4 \times 10^{-5}$  程度に相当し、女子の肺ガン死亡の約 15 % がディーゼル排ガスによって発生し得ることになる。さらに、実際には、ディーゼル排ガスへの高濃度暴露者は都心に向かって多く分布しており、また、バックグラウンド SPM 濃度も都心部ほど高い傾向にあることなどを考慮すると、先述のようなディーゼル排ガス汚染レベルに対応した SMR の大きな地域差の大半が、こうしたディーゼル排ガス汚染に起因していることを予想させるものである。

#### (4) おわりに

以上、東京大都市圏内の幹線道路沿道について、そこでの昼夜道路騒音やディーゼル排ガス汚染とそれらによる健康への影響・リスクについてモニターする方法を検討した。

結果、騒音関係では、特に夜間の交通量が約 1 万台を超えるような道路沿道では個人の暴露レベルは有意に上昇しており、さらに具体的影響研究の推進や静穏な睡眠環境の保全という意味までの対策が望まれる。一方、これら睡眠影響やその他精神・心理的影響の実態は騒音苦情の発生状況には反映されていないと考えられることから、それらのモニターにはより具体的な社会調査、暴露調査を基本とすべきことも示唆された。

一方、特に沿道のディーゼル排ガス汚染状況と肺ガン死亡率の時間・空間的相関関係について、リスクアセスメントの知見などとの対応関係を見た結果では、肺ガンの急増傾向や同死亡率の地域差の拡大傾向のいずれについても、ディーゼル排ガス汚染の関与が強く示唆された。以上では触れなかったが、ディーゼル車の保有台数が 1970 年代後半から急激に増加していること、また、Garshick らの職業性にディーゼル排ガスに暴露した人達の疫学データから導かれるユニットリスクによっても示唆される場所である。さらに、最近ロサンゼルスで行われた疫学調査の結果でも、非喫煙者の喫煙関連呼吸器系の発ガンリスクが、平均 SPM 濃度が  $50 \mu\text{g}/\text{m}^3$  で 1.73,  $100 \mu\text{g}/\text{m}^3$  で 2.98 と報告されている。したがって、沿道局所あるいは都市内の広域にわたるディーゼル排ガス由来の、SPM 汚染と個人暴露との詳細な対応関係の把握に基づくリスクアセスメントや、分析疫学的研究がさらに必要であると同時に、自動車排ガス対策の面でも十分な検討が必要であることが示唆された。

以上、沿道環境汚染の「環境保健モニタリングシステム」として、「沿道メッシュ」データベースを基本とし、また、調査、実験結果から実際の暴露情報、影響・リスクに関する情報を整備してそれらをシステム化して総合評価にリンクさせる方法が可能であると考えられる。ただし、システム全体としてみた時の精度や情報間の条件不一致に由来する「不確実性」などの問題は適宜

改善される必要があることは言うまでもない。また、沿道汚染に関して示唆されているその他の健康影響や、その他の都市環境にかかわる汚染と健康影響・リスクに関するモニタリングシステムについては別途検討する必要があるが指摘される。これらに点については、平成4年度から開始される新規特別研究「都市型環境騒音・大気汚染による環境ストレスと健康影響に関する環境保健研究」の一部として、さらに検討を続ける予定である。

## 2.4 広域都市圏における交通公害防止計画策定のための 環境総合評価手法に関する研究（最終年度）

平成元年度～3年度（1989～1991年度）

### 〔研究組織〕 地域環境研究グループ

統括研究官	内藤正明
交通公害防止研究チーム	○清水 浩・田村正行・森口祐一
都市大気保全研究チーム	上原 清
環境統計手法研究官	松本幸雄
社会環境システム部	
情報解析研究室	安岡善文
客員研究員	2名

### 〔研究概要〕

大都市圏における自動車交通公害問題は、旧来からの公害事象のうち未解決でかつ最も深刻な課題の一つである。一方、生活環境の向上に対する要求はかつてない程に強まっており、都市域においてもより潤いのある街づくりや交通施設づくりが要請されている。このように、環境や公害に対する要求度と満足度はいずれも向上する方向にある。また、湾岸を中心とした開発などによっても交通公害が一層深刻化することが懸念される。

これまでの自動車公害に関する研究やその対策を振り返ると、エンジン自動車を今後も使い続けることを前提とし、自動車単体あるいは道路ごとの局地的で個別の問題に目が向けられていた。しかし、今後より深刻化が予想される交通公害の解決を前進させるためには、領域的には局地と広域の関連を明らかにし、事象に関しても、大気汚染、騒音等を総合的な見地から把握することが重要である。また、自動車公害の解決の観点からは、多様に存在する対応策とその数多い組み合わせの中から最適のものを選択し、環境と調和のとれた交通計画を策定して行くための手法を開発することが重要である。

本特別研究では、このように深刻な自動車公害問題に対応するために、広域都市圏における交通公害を総合的に評価するための手法を開発するものであり、以下に示す4つの研究課題に従って研究を実施した。

#### (1) 交通公害の個別事象の計測とモデル化に関する研究

本特別研究の最も基礎となる、交通公害の個別事象の計測とモデル化の研究を行う。ここでは、風洞実験、実測調査、数値シミュレーション等の手法を用いて、大気汚染と騒音の各サブモデルを開発した。

#### (2) 広域都市圏における自動車交通の環境影響の総合評価モデルの開発に関する研究

課題(1)により開発されたサブモデルに基づいて、広域都市圏における交通公害の現状把握を行うとともに、各種対策の効果及び大規模開発等に伴う交通条件の変化の環境影響を総合的に評価するためのモデルを開発した。ここでは、大気汚染、騒音等を総合化する指標と、局所的な環

環境状況評価指標を広域的に集約して、都市全体あるいは都市圏全体としての環境状況評価を行うためのモデルを開発した。

### (3) 交通公害対策および交通計画の広域的にみた環境調和性の評価に関する研究

さまざまな交通公害対策や交通計画について、課題(2)で開発した総合的評価手法を用いて、その環境改善効果を算定するとともに、費用便益や利便性効果等の幅広い視点を含めた評価を行う手法を開発した。

### (4) 交通公害に関わる環境総合評価手法開発支援のための情報システム構築に関する研究

課題(1)~(3)における各種のモデル、評価手法の開発に必要なデータベース、解析のための共通のソフトウェアなどを提供する情報システムを開発した。

## [研究成果]

### (1) 沿道大気汚染の予測手法の開発

我が国の大都市では、密集した市街地の中を複雑な構造の道路が縦横に通じている。従来、自動車排気ガスの沿道での拡散予測には、プルームモデルなど、煙突からの汚染物質拡散を予測するモデルに改良を加えた式がよく利用されてきたが、こうしたモデルは平坦地では適合性がよいものの、高密度の市街地や平面以外の道路構造については適合性に問題があることが指摘されてきた。本研究では、沿道での空気の流れ及び汚染物質の移動に関する微分方程式を差分法で解くことにより、従来のモデルでは表現できなかった道路構造物やビルによる局地的な気流の影響を加味した数値計算モデルの開発を進めてきた。前年度までに、さまざまな道路構造、沿道構造を組み合わせた仮想的な市街地について、風洞実験結果と数値計算結果とがよく一致することを確認した。本年度は実際の市街地を2例とりあげて、数値計算結果、風洞実験結果のほか現地調査結果を加えた3者の比較を行い、モデルの適合性の検証を行った。

第1の事例は、直線道路の両側に、11階建の高層住宅が向かい合い、ストリートキャニオンを形成している地区である(図1)。数値計算では、道路に沿って同じ断面構造が続くと仮定した2次元モデルを適用した。風洞実験では、半径250mの範囲を対象とした1/250の模型を作成し(図2)、エタンをトレーサーガスとして濃度分布を測定した。現地調査では、建物の道路に面した側においてNO<sub>x</sub>濃度の鉛直分布を測定し、建物裏側(図1のF地点)の濃度をバックグラウンド値として差し引くことにより、道路からの寄与濃度を求めた。車種別交通量から推定したNO<sub>x</sub>排出強度及び現地で実測された風速を用いて濃度を基準化した後、風洞実験結果及びモデルによる計算結果と比較した。なお、比較のため、ストリートキャニオン中の拡散予測のためにStanford Research Instituteによって開発されたSRIモデルを併せて適用した。図3は、2次元数値計算モデル(NIES-2D)、SRIモデル、風洞実験、現地調査の結果を基準化濃度の鉛直プロファイルとしてまとめたものである。SRIモデルがA地点とB地点の濃度の順位を正しく再現できていないことを除き、4つの結果はプロファイルとしてはよく一致しているが、定量的にはかなりの相違がみられる。風洞実験での濃度分布測定の結果、ストリートキャニオン内の濃度分布が道路に沿った方向にかなり変化することが見いだされており、2次元モデルの結果は過大値である可能性が高いが、実測値はこれをさらに上回っている。この不一致の原因としては、実測値を基準化するときに適用したNO<sub>x</sub>排出係数の妥当性、大気安定度による鉛直方向の拡散条件、短時間の測定の代表性などが考えられる。実測値との定量的な比較を行う上で、排出強度の

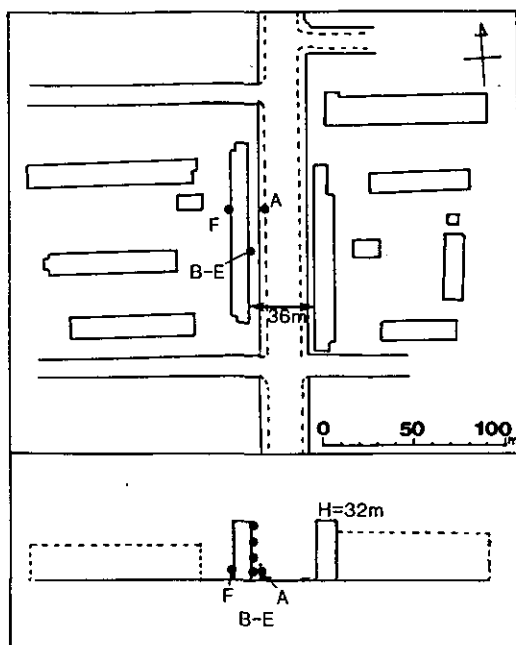


図1 ストリートキャニオン状地区の概要

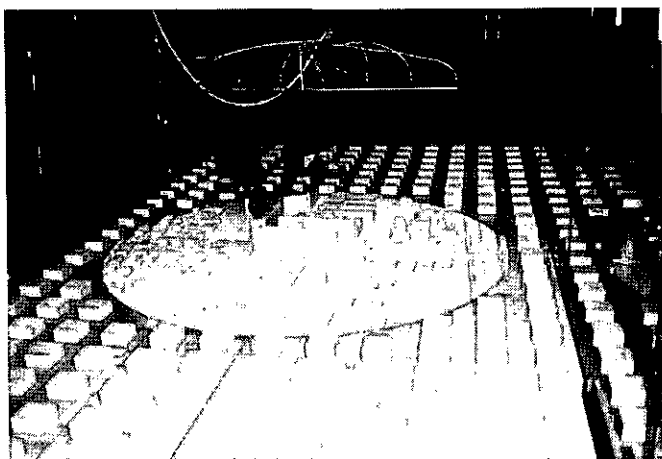


図2 風洞拡散実験に用いた市街地形模型

正確な把握が課題として残された。

第2の事例は、変則的な十字路の西側に19階建の高層ビルのある地区である(図4)。このビルの1階部分に自動車排出ガス測定局(自排局)の採気口があり、常時監視データでは、自排局が風上側にあたる西風時に $\text{NO}_x$ の高濃度出現が観測された。3次元モデルによる数値計算の結果、この風向時には、ビル背後へ回り込む気流が周辺の道路からの汚染物質を交差点西側に吹き寄せる形となることが分かった(図5)。併せて行った風洞実験においても、交差点西側に高濃度域が認められ(図4)、さらに西風が支配的な日にディフュージョンサンプラーを用いた簡易測定法の一つであるPTIO法によって実測された交差点周辺での $\text{NO}_x$ 濃度分布も、両者の結果と定性的

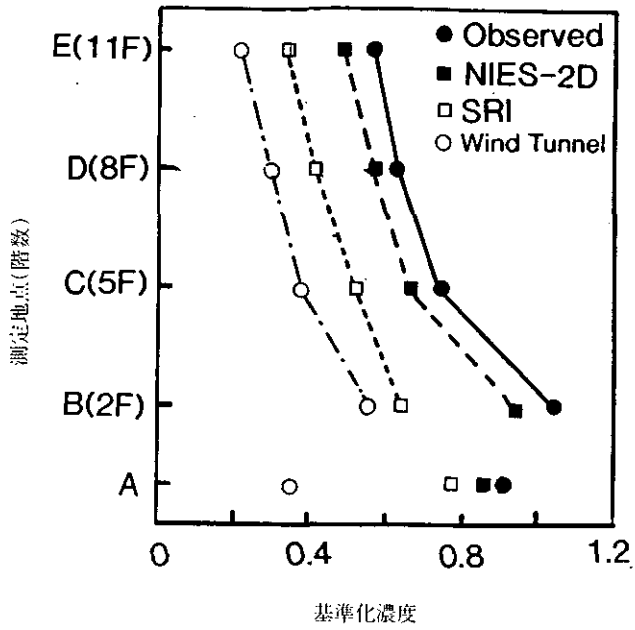


図3 モデル計算，模型実験及び現地調査結果の比較

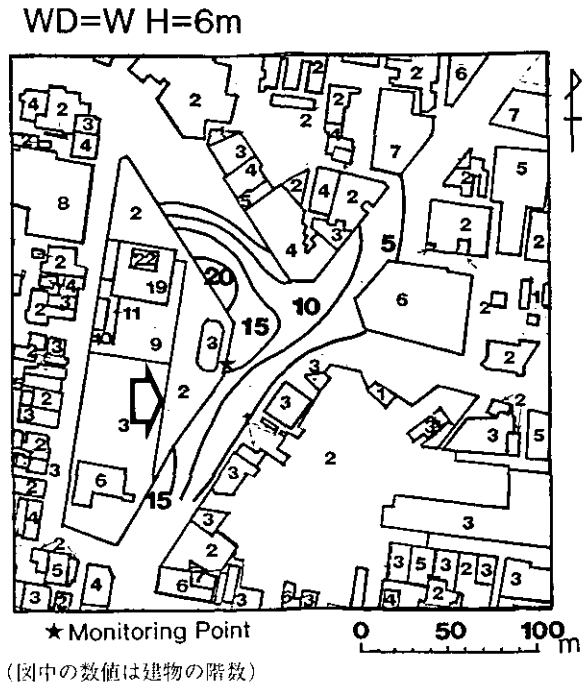


図4 風洞実験による地上6mの無次元化濃度分布

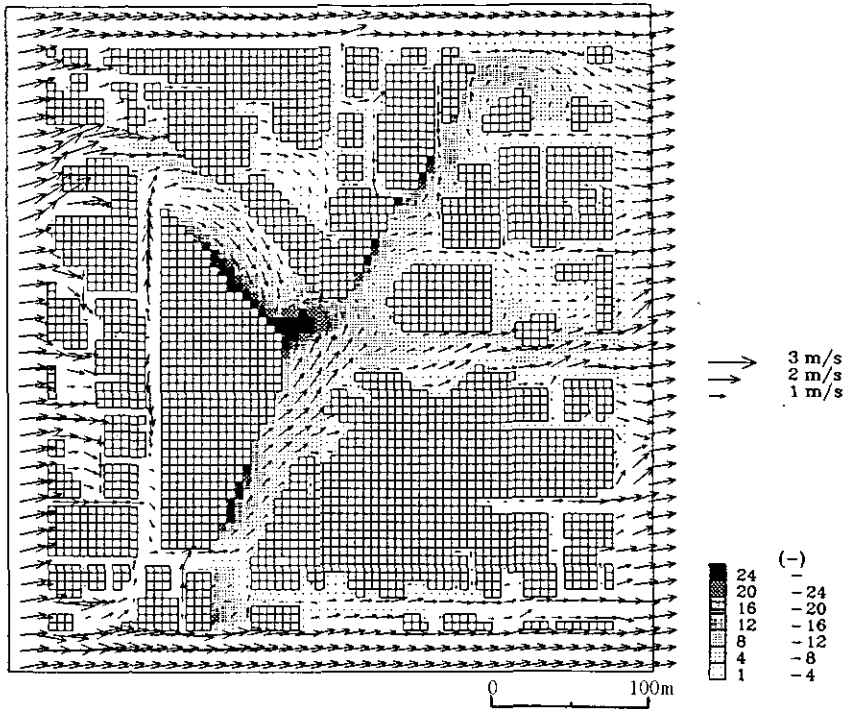


図5 3次元モデルによる気流と濃度分布の計算結果(地上6m)

には一致することが確認された。なお、常時監視データでは西風時に風速の増加に対する濃度低下が顕著には認められなかった。風速が小さい場合には、走行風や大気安定度など他の要因の影響が大きく、風速が増すにつれて局地気流の影響が支配的になると考えればこの傾向は説明がつくが、現在のモデルではこれを十分には再現できておらず、今後改良すべき課題である。

## (2) 自動車交通騒音の予測手法の開発

従来、道路騒音の予測には日本音響学会方式による予測モデルが広く用いられてきた。しかしこの予測式は、田園地帯の国道や高速道路のように道路構造と沿道条件が比較的単純な場合をモデル化したものであり、道路構造や沿道条件が複雑な都市部の道路においては、必ずしも適切なモデルであるとはいえない。このような場合の騒音伝播の予測方法としては、模型実験なども考えられるが、模型は製作に時間と費用がかかり汎用性も大きくない。そこで本研究では、汎用性のある数学的モデルを用いて、複雑な道路構造や沿道条件の場合にも適用が可能な予測方法の開発を試みた。

### 1) 境界要素法に基づく騒音伝播予測モデル

本予測モデルは、近年次第に用途が広がりつつある境界要素法に基づいて、道路と道路周辺建物を境界条件とする積分方程式を解くものである。本モデルは、騒音の波動性を正確に考慮しているため、どのような形状の道路や建物であっても、計算機の性能が許す限り、騒音伝播を正確に予測することが可能である。

境界要素法とは、現象を支配する積分方程式(騒音伝播の場合はヘルムホルツ・キルヒホッフ

積分方程式)を、境界面を小さな要素に分割することによって数値的に解く方法である。境界要素法は、広範に普及している有限要素法と技術的には似通っているが、後者と比べて次のような特徴がある。第1に、領域全体を分割する有限要素法に比べて、領域を囲む境界だけを分割すればよいので、要素数を大幅に減少させることができる。第2に、屋外における音の伝播のように解放領域における場の計算に適している。

ここで報告する騒音伝播予測モデルは、2次元の境界要素法を用いており、音源、道路断面及び沿道建築物の形状がどこでも同じ場合を想定している。道路、地表面、建築物などによって構成される境界面の形状と吸音特性は任意に指定することができるので、防音壁や吸音材料などを用いた場合の騒音防止効果を調べる事が可能である。

## 2) 予測例

ここでは、騒音源は各車線上の高さ50cmに1本ずつ設定し、騒音源の周波数は300Hzとした。図6(a)は二車線の掘割道路の場合、図6(b)はこれに長さ2m厚さ50cmのオーバーハングをつけた場合の騒音分布である。表示領域は縦横40mとした。色の濃淡は音圧レベル5dBごとに変わっており、色が濃いほど音圧レベルが高いことを示している。境界面は、道路、壁面、地表面などから成っており、すべて完全反射性であるとしている。これらの図から、オーバーハ

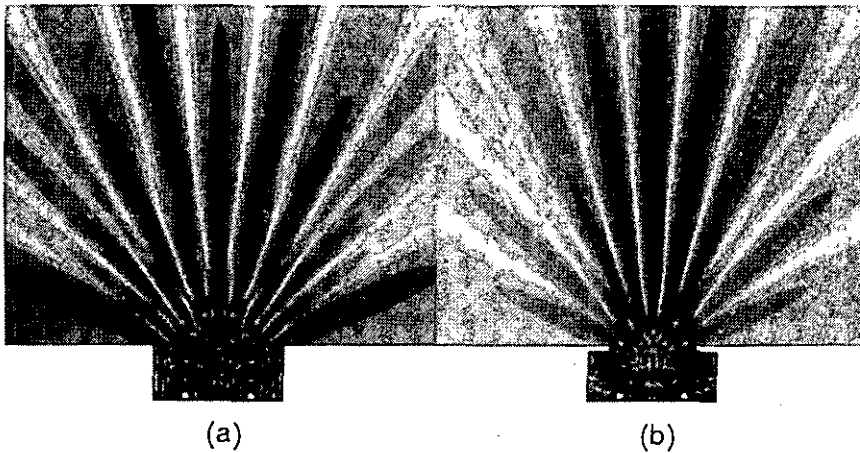


図6 (a)二車線掘割道路、(b)二車線掘割道路に庇をつけた場合の予測結果

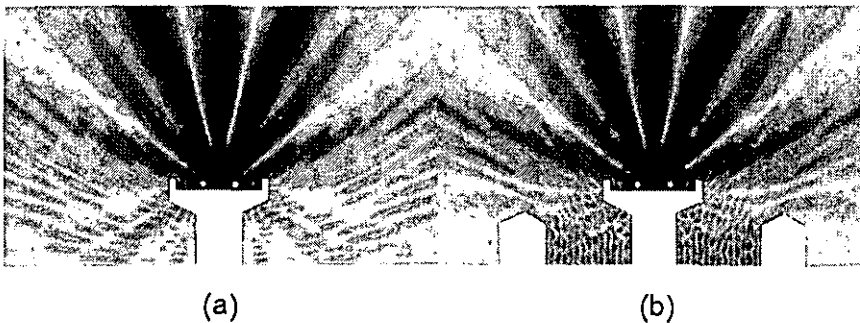


図7 (a)二車線高架道路、(b)二車線高架道路の両側に建物が立ち並んでいる場合の予測結果



ングをつけることによって横方向の騒音伝播が大幅に抑制されていることが分かる。

図7(a)は二車線の高架道路で周辺に建造物が無い場合、図7(b)はその両側に建物が立ち並んでいる場合である。表示領域は縦横40mとした。高架道路の端に立っている防音壁の道路側の面は、吸音性であるとしている。他の境界面は完全反射性である。このようなシミュレーションを行うことにより、バッファビルなどの効果を検討することができると考えられる。

### (3)交通公害対策の新たな提案

従来から施されてきた交通公害対策を分類すると、自動車単体対策、沿道対策、交通流対策、都市計画的対策などがあげられる。これらの対策は大きな効果を上げてきたが、それにも増して自動車の登録台数と走行台キロの伸びが著しく、交通に関する環境は改善の方向には向かっていない。

このため、従来からの対策をより強化したり、改良を加えることなどをさらに推し進めることは重要であるが、抜本的な対策も併せて適用して行くことが求められる。その具体対策として考えられるのは、大都市圏機能の地方への分散、モーダルシフト、低公害車の普及等である。本研究ではこれらのうち、モーダルシフトとして鉄道を利用した新たな輸送方式及び低公害車として電気自動車の可能性を検討した。

#### 1) モーダルシフトの新方式

鉄道貨物輸送はトラック輸送に比べて単位輸送当たり約1/10のエネルギー消費であり、これに基づく大気汚染も無視できるレベルであるため、トラック輸送から鉄道へのモーダルシフトが叫ばれている。しかし、現実には駅での荷役に時間がかかるなどの不便さが災いして転換が進んでいない。この問題を解決するため、ショートカットピギーバック及びランドフェリーと名付けるところのシステムを提案する。

ショートカットピギーは、現在のピギーバックが専ら列車の最後尾のみからトラックの乗降を行なっているのを改めて、各貨車に回転テーブルを取り付け、どの貨車からでも自由にトラックの乗降を可能にする。

この場合、駅の構造は図8に示すようなものが考えられるが、このような構造とすることによって、列車は1分程度の停車時間で必要なトラックのすべての乗降を行わせることが可能である。このようなシステムは、全国的に利用するよりは首都圏のように渋滞の激しい地域で幹線道路のバイパス替わりに鉄道を利用する際に最も大きな効果を発揮する。それが、この方式をショートカット(近道)ピギーと名付けた所以である。

ランドフェリーは、まずレール上に自由に移動でき、かつ、コンテナを乗せて水平に移動させることができる伸縮可能なフォークを持つ装置を導入する。これをここでは自走パレットと呼ぶ。

貨物を扱う駅では図9に示すように線路の両側にコンテナを移動させるためのベルトコンベアを配置し、このコンベアの2本のベルトの間に、多数の自走パレットを置く。駅に列車が到着すると、まず、図で到着レーンと示した側の自走パレットからフォークが伸びて、この駅で下ろすべきコンテナを貨車から下ろし、ベルトコンベアの上に乗せる。これらのコンテナは直ちにベルトコンベア上を移動し、駅に作られる高層の自動倉庫に運ばれる。

一方、この駅から列車で運ぶべきコンテナは、同じく自動倉庫から出発レーンと示した側のベルトコンベアに乗せられて運ばれ、列車のわきで待機する。列車が到着し、この駅で下ろされるコンテナが到着レーン側に下ろされた後、貨車の空いたところに自走パレットを用いて自動的に

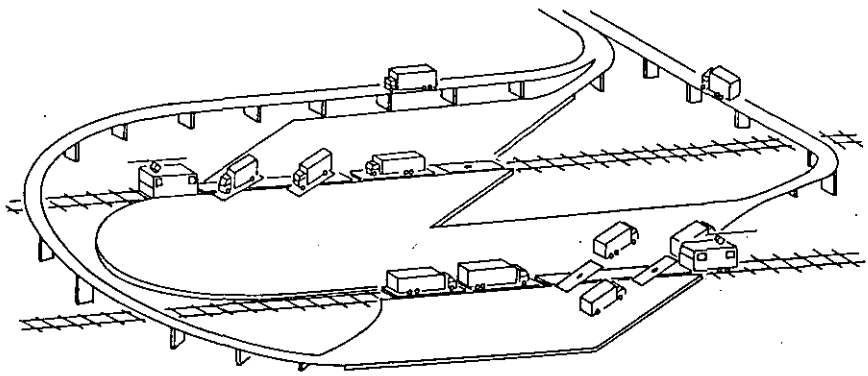


図8 ショートカットピギーの駅の見取図例

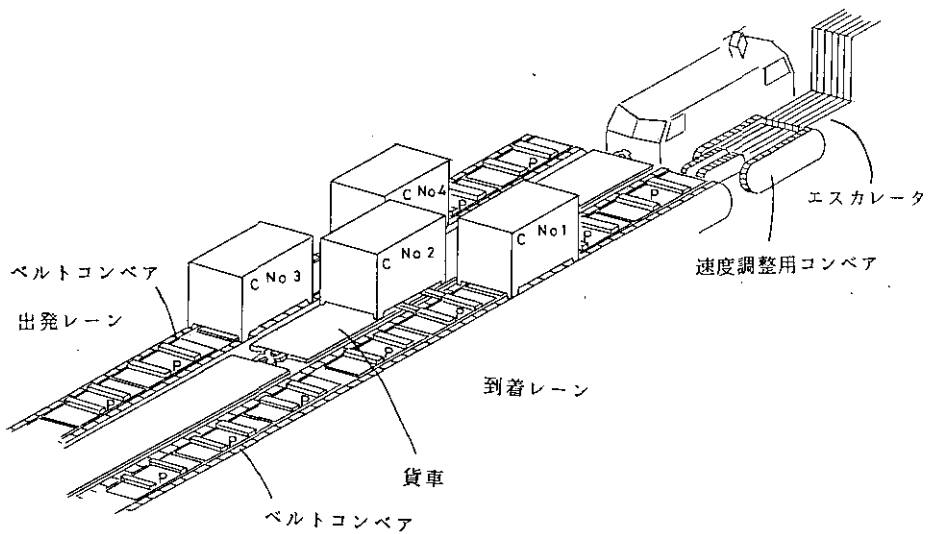


図9 ランドフェリーの駅の見取図例

積み込む。

このように、駅ではコンテナが自動的に積み替えられるわけであるが、それに要する時間は1分程度であり、駅での列車の停止時間は旅客列車並とすることができる。このため、コンテナの輸送は各駅での停車時間を考慮に入れても平均時速 80 km 程度を確保することが可能であり、トラック輸送と比べて十分な競争力を持つことができる。

自動倉庫に納められたコンテナは、この倉庫の1階から自動的にトラックに積み込まれる。また、トラックで荷主のもとから運ばれてきたコンテナも自動的に倉庫に納められ、これを運ぶべき列車が到着するまで待機する。

## 2) 電気自動車

電気自動車は従来、いわゆる動力性能が低い実用的でないと言われてきた。これに対して①コンポーネントとして現状で手に入る最良のものを選ぶ、②駆動方式に多少の工夫を加える、③ゼロから電気自動車として設計することの3点を適用すればその性能は著しく向上することを理

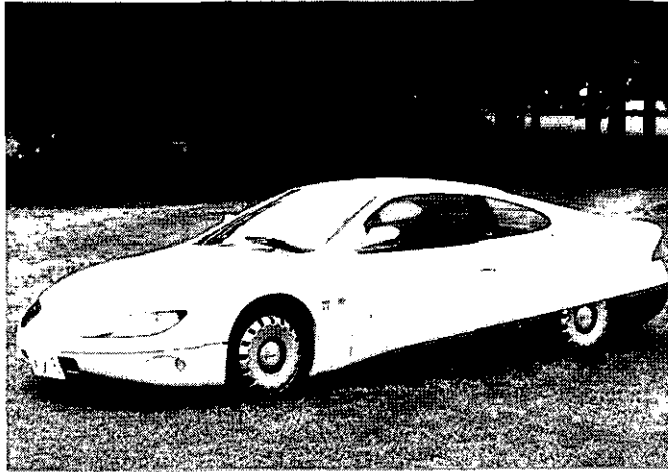


図10 高性能電気自動車の外観

論的に示した。

この考え方は図10に示すIZAという名の車に応用された。その結果、1充電走行距離548km(40km/時定速走行時)、最高速度176km/h、0~400m加速時間18.05秒を記録した。また、60km/hにおける1次エネルギー消費率は原油換算で50km/lが達成された。これは同クラスのガソリン自動車の36%のエネルギー消費となる。

#### (4) 交通公害の広域的評価手法とこれを支援する情報システムの開発

沿道での大気汚染、騒音といった交通公害の個々の現象は局地的なものであるが、その原因となる自動車交通は広域的な人や物の移動の需要により発生する。従来、交通公害対策はおもに自動車単体の対策と、防音壁の設置といった局地的対策の面から進められてきたが、最近大都市圏では、環状道路の整備や都心部への乗り入れ規制などにより、広域的な交通流を制御することが対策として検討されている。こうした対策は、ある地区の汚染を軽減する一方で、別の地区の汚染を増加させる恐れがあり、広域的な地域全体としての評価手法の適用が必要である。

ある広がりを持った地域全体の汚染を表現する方法としては、表1のような指標が考えられる。aとbは計算が容易であり、地域全体の汚染レベルを表現する指標として従来から用いられてきたが、これらは測定点の選び方に大きく依存するため、道路周辺で大気汚染濃度や騒音レベルが大きく変動することを考慮すれば、沿道交通公害の評価に適用することには問題点が多い。空間代表値としての厳密性を高め、また人の健康や生活環境への影響という視点を加味するには、c~gのような指標を選ぶ必要がある。

実際にこうした指標を計算するには、体系的なデータの整備と、これを効率よく処理する情報システムが必要である。道路の位置や人口分布、土地利用分布といった情報を扱う上では地理情報システム(GIS)と呼ばれる手法を適用することが有効である。本研究ではまず、エンジニアリングワークステーション上に首都圏中心部の道路の位置座標、車種別交通量、土地利用、人口などの項目を収録したデータベースを構築し、これらを地図、グラフ化する機能(表示機能)と、道路沿道の土地利用状況を集計する機能(解析機能)を持った支援システムを開発した。東京都環状7号線(以下、環7とする)沿道の区間ごとの土地利用を、解析機能を用いて道路両側50m幅

表1 交通公害の広域的評価のための空間集約指標の例

記号	指標の種類	道路長さ方向1次元をとらえた 離散的表現	沿道空間を面的にとらえた 連続的表現
a	複数の地点の測定値の単純平均		$\Sigma C_i/N$
b	ある基準値を上回る地点の比率		$n[i   C_i > C_0]/N$
c	区間長(面積)加重平均値	$\Sigma(C_i L_i)/\Sigma L_i$	$\int_A C(a) da$
d	沿道人口密度加重平均値	$\Sigma(C_i L_i \rho_i)/\Sigma(L_i \rho_i)$	$\int_A C(a) \rho(a) da$
e	沿道土地利用加重平均値	$\Sigma(C_i L_i \Sigma W_j R_{ij})/\Sigma(L_i \Sigma W_j R_{ij})$	$\int_A C(a) W_{j(a)} da$
f	ある参照値を上回る区間長 (面積)およびその比率	$\Sigma L_i [i   C_i > C_0]$ $\Sigma L_i [i   C_i > C_0]/\Sigma(L_i)$	$\int_A h(C(a), C_0) da$ $\int_A h(C(a), C_0) da / A_0$
g	ある参照値を上回る地域の人口 およびその比率	$\Sigma(L_i \rho_i [i   C_i > C_0])$ $\Sigma(L_i \rho_i [i   C_i > C_0])/\Sigma(L_i \rho_i)$	$\int_A h(C(a), C_0) \rho(a) da$ $\int_A h(C(a), C_0) \rho(a) da / P_0$

N: 全区間数, n: 区間数, A: 対象領域, A<sub>0</sub>, P<sub>0</sub>: その面積, 人口, L<sub>i</sub>: 区間 i(C<sub>i</sub>に対応する区間)の区間長, C<sub>i</sub>, C(a): 区間 i(地点 a)の汚染濃度, 騒音レベルなど汚染の程度を表す変数, または交通量等の代用変数, ρ<sub>i</sub>, ρ(a): 区間 i(地点 a)の人口密度, W<sub>j</sub>, W<sub>j(a)</sub>: (地点 a)の土地利用類型 j についての評価荷重値, R<sub>ij</sub>: 区間 i での土地利用類型 j の比率, C<sub>0</sub>: C についての参照値, [ ]: [ ]内の条件を満たす場合につき集計, h(C(a), C<sub>0</sub>): C(a) > C<sub>0</sub> のとき 1, その他: 0.

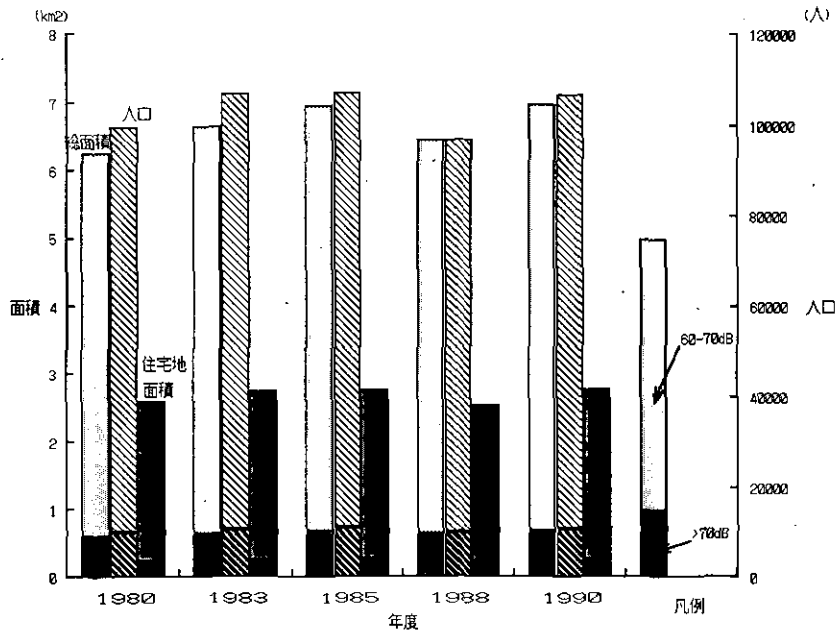


図11 環7沿道において騒音 60 dB, 70 dB を超える地域の総面積, 住宅地面積及び人口の推移

について集計した結果, 環7全線平均での沿道の住宅地率は 37.4% であり, 東京都心 10 km 圏全体の平均値(26.5%)を上回っていた。交通量の多い南西部では住宅地の比率が 50% を超えており, この路線が住宅地の中を貫通していることが定量的に明らかになった。

ここで, システムの機能を組み合わせた指標の算定手順と試算結果を, 環7沿道での騒音暴露人口の推定を例に示す。まず, データベースの車種別交通量, 道路幅員等のデータをもとに, 音

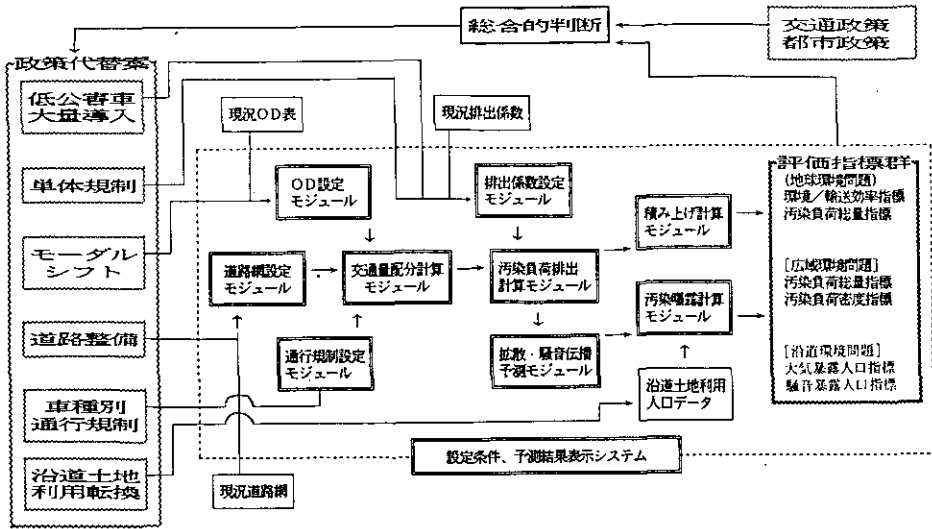


図12 環境総合評価手法開発支援のための情報システムの全体構成

響学会式により騒音レベルを推定し、ある参照値（ここでは 60 dB 及び 70 dB）となる地点の路端からの距離を求め、これに道路の区間長を乗じて騒音レベルが参照値を超える面積を求める。これに、国勢調査によるメッシュ人口密度を該当メッシュの住宅地率と対象区間沿道地区の住宅地率の比で補正して推定した沿道地区の人口密度を乗じることにより、騒音レベルが参照値を超える地域の人口が推定される。図 11 はこの方法で推定した指標値の過去 10 年間の推移をまとめたものである。

一路線を例に行った指標の計算手順の対象を道路網全体に広げ、また、現状把握だけでなく、今後の対策効果の評価や新たな道路整備の影響予測などに適用することが本研究の最終目標である。そのためには、これまで既知の値として実測調査値を入力していたリンク交通量を、対策や計画の内容に沿って予測する機能を加え、指標計算を行う機能と組み合わせたシステムを構築する必要がある。このような機能を含む支援システムの全体構造を図 12 のように設計した。各モジュールのプログラム開発及び首都圏を対象とした道路網等のデータ入力を行い、環状道路整備、モーダルシフト、車種別通行規制などの政策代替案を実際に設定して、これらの施策の都市圏全体での影響評価を進めた。システム設計上は、出発地と目的地の組み合わせごとの自動車交通量 (OD 交通量) の現状値を既知のものとして扱っていたが、データ入手の制約から実際には自動車登録台数等の変数をもとに予測した値を用いており、代替案評価に本システムを適用する上では、この OD 交通量データの精度を高めることが一つの鍵となっている。

## 2.5 粒子状物質を主体とした大気汚染物質の 生体影響評価に関する実験的研究

昭和63年度～平成4年度（1988～1992年度）

### 〔研究組織〕 地域環境研究グループ

統括研究官	内藤正明
上席研究官	三浦 卓
大気影響評価研究チーム	○嗟峨井勝・安藤 満・市瀬孝道
実験動物開発研究官	高橋 弘
都市環境影響評価研究チーム	高橋慎司
環境健康部	
生体機能研究室	小林隆弘・高橋勇二・山根一祐
病態機構研究室	藤巻秀和・河越昭子
環境疫学研究室	田村憲治
化学環境部	
化学毒性研究室	白石不二雄

### 〔研究概要〕

近年の大気汚染の特徴は、従来の硫黄酸化物(SO<sub>x</sub>)や降下ばいじんを主体とした汚染と異なり、主に幹線道路沿道を中心にした窒素酸化物(NO<sub>x</sub>)及び粒子状物質を主体とする複合汚染であり、特に都市部においては粒子状物質と二酸化窒素(NO<sub>2</sub>)の環境基準値達成率が低く、ヒトの健康に及ぼす影響も危惧されている。

これについては、例えば、中央公害対策審議会・環境保健部会の「大気汚染と健康被害との関係の評価等に関する専門委員会報告(昭和61年4月)」においても、「我が国の大気汚染は、鉄道輸送の減少からディーゼル自動車の増加という交通輸送機関の変化などにより、NO<sub>2</sub>と大気中粒子状物質が特に注目される物質であり、現在の汚染のレベルでも総体として、気管支ぜん息等の慢性閉塞性肺疾患の発症から増悪に至る過程に影響を与える可能性を否定できない」とし、今後、「これらの点について疫学的調査と共に実験的研究が必要である」と指摘している。また、環境大気に由来する発がんについては、「現時点ではまだ確定的な報告がなされていないと考えられるが、今後予防的観点に立っての様々な留意が必要であろう」と述べ、予防的観点からの実験的研究も必要であることを示唆している。

このような状況において、呼吸器疾患の有症率等の疫学的指標と大気汚染物質、特に粒子状物質やNO<sub>2</sub>等との因果関係を明らかにし、大気汚染物質の健康への影響を総合的に評価しうる研究が必要となっている。このため、本特別研究においては大気汚染物質と健康障害との因果関係を実験的に明らかにすると同時に、両者間の量-反応関係ならびに複合影響等を解析し、健康に及ぼす影響の総合的評価を行い、ヒトの健康維持にかかわる科学的知見の蓄積に努め、併せて行政課題等に役立てることを目的としている。この目的のために以下の5つの課題についての研究を行う。

## (1) 粒子状物質と NO<sub>2</sub> 等の複合暴露装置の作製と暴露条件の検討

### 1) 動物暴露チャンバーへのディーゼルエンジン排気導入系及び濃度制御系の作製

ディーゼルエンジン排気(以下ディーゼル排気と略す)の動物暴露チャンバーへの導入にあたり、排気導入系(パイプライン等)の形状によって排気粒子の粒径や粒子濃度が著しく異なる。このため、現実の大気環境中の粒子特性を持った粒子を得るに必要な予備的検討を行い、排気導入系及び濃度制御系の建設に必要な基礎データを得る。

### 2) ディーゼルエンジンの運転条件の検討

ディーゼル排気の導入・濃度制御系の建設完了後、粒子状物質中の有機成分あるいは金属成分の比率や粒子成分とガス成分の比率等現実大気環境に最も近い排気条件を得るためのエンジンの運転特性(走行回転数、負荷量)の検討を行う。

## (2) 粒子状物質と NO<sub>2</sub> 等の呼吸器疾患との関連に関する研究

### 1) 気道過敏性及びアレルギー反応に関する研究

硫酸エアロゾルやディーゼル排気がぜん息の典型症状の一つである気道過敏性を誘起するかどうかを生理、生化学的に検討する。また、抗原抗体反応によるアナフィラキシー反応の気道過敏性に及ぼす影響に関しても同様に検討する。さらに、粘液分泌過多、気道狭窄あるいは気道抵抗性変化等を生化学的及び形態学的に検討し、気道過敏性を亢進させる機構を解析するとともに、影響評価手法の開発に努める。

また、各組織中の肥満細胞や血液中の好塩基球からの脱顆粒反応や免疫反応はアレルギー反応の誘導課程に重要な反応であるので、モルモット、ラット及びマウス等に硫酸エアロゾルやディーゼル排気を暴露し、その後の IgE 抗体産生能と肥満細胞への影響を検索し、アレルギー反応に及ぼす粒子状物質の影響を明らかにする。さらに、鼻アレルギー反応に及ぼす影響についても生理学的に検討する。

### 2) 呼吸器系腫瘍発生に関する研究

都市部と農村の肺ガンによる死亡率の相違、及びディーゼル排気暴露による発ガン実験等から、大気汚染と呼吸器腫瘍との関連が示唆されている。一方近年、肺ガン死亡率が増加してきており、そのうち腺ガンによる死亡率が増加していることなどから、大気汚染だけでなく、食生活に伴う生体の内的因子のかかわりも重視されている。

このようなことから、ディーゼル排気の発ガンリスク評価を行うと同時に、日本人の食生活の変化の指標としての高脂肪食摂取を例として、呼吸器腫瘍の発生に及ぼす高脂肪食のリスクをも解析し、両者の影響を比較する。さらに、抗酸化性食品の摂取が、ディーゼル排気あるいはディーゼル排気と高脂肪食摂取とによる呼吸器腫瘍のリスクを軽減しうるかどうかを調べ、高脂肪食の呼吸器系腫瘍発生に関するリスク評価を行う。

## (3) 粒子状物質と NO<sub>2</sub> 等の生体影響評価手法に関する研究

### 1) 末梢リンパ球の DNA 傷害を指標とした影響評価手法の開発

ディーゼル排気粒子中には、*in vitro* で細胞内 DNA に傷害を起こす化合物が多数含まれている。しかしながら、それらがどの程度の暴露量で生体内 DNA に傷害を起こすかは不明である。ディーゼル排気粒子中に含まれる化合物単体あるいは排気粒子そのものをウサギに短期あるいは

長期間投与し、末梢リンパ球の姉妹染色分体交換(SCE)頻度を経時的に分析することにより、ディーゼル排気暴露による *in vivo* での細胞遺伝学的影響を評価する手法の開発を試みる。

## 2) 指標酵素(AHH)誘導による影響評価手法の開発

現在、ディーゼル排気粒子の影響を鋭敏かつ特異的に検出する指標は開発されていない。AHH (arylhydrocarbon hydroxylase)は、ディーゼル排気粒子に含まれている多環芳香族炭化水素等の毒性物質によって誘導される。

本研究では、AHH酵素がディーゼル排気粒子の影響指標酵素として利用可能かどうかを、肺細胞あるいは白血球の培養系(*in vitro*)と実験動物そのもの(*in vivo*)の暴露条件下で検討する。このために、AHH酵素の活性測定とタンパク質、遺伝子の発現量を免疫組織化学的及び *in situ* ハイブリダイゼーション法を用いて検討する。さらに、生体影響指標酵素として利用可能ならば、これを用いて毒性の影響評価システムを確立する。

## 3) フリーラジカル産生能による影響評価手法の開発

フリーラジカルは生体に極めて有害に作用し、ガン化をはじめとする様々な疾病を引き起こすことが知られている。一方、我々はディーゼル排気粒子が様々なフリーラジカルを生成することを見いだしている。

本研究では、ディーゼル排気粒子が産生するフリーラジカルが肺胞マクロファージやその他の培養細胞に対してどのようなメカニズムで細胞毒性やtransformation(細胞レベルでのガン化)能を示すのかを明らかにする。さらにこの細胞毒性の防止やtransformation阻害作用を有する物質を検索し、生体傷害作用を低減させる方法を考える。この研究を通じて、*in vitro*でディーゼル排気の生体傷害作用に及ぼすフリーラジカルの役割を明らかにする。これと同時に*in vitro*での生体影響の評価法として有効なシステムの開発に努める。

## 4) 肺傷害にかかわる感受性の動物種差の解析

大気汚染物質に対する感受性は動物の種によって著しく異なる。一方、ヒトの大気汚染物質に対する感受性も個人間で著しく異なることが知られている。しかし、その生理的な原因はほとんど不明のままである。

本研究では、大気汚染物質に対するヒトの感受性の違いにかかわる生理的因子を解析することを目的として、ウズラ、マウス、ハムスター、ラット、モルモットなどの大気汚染物質に対する感受性の相違を生理学的、病理学的及び生化学的に解析し、ヒトの感受性の違いの原因を明らかにする。

## (4) 粒子状物質の個人暴露量の推定とリスク評価に関する研究

### 1) 都市大気SPM中有害成分に占めるディーゼル排気の寄与率の推定

ディーゼル排気成分の中で、ヒトの健康被害へのリスクが高いと考えられる粒子状物質(SPM)とその中の発ガン性を有する多環芳香族化合物(PAH)等の濃度を、大都市幹線道路周辺で継続的に調査すると共に、交通量、気象条件などによる濃度変動を把握する。

上記の粒子成分に対するディーゼル車の寄与に関しては、炭素成分や有機化合物や金属成分などの分析から、CMB法などによりその寄与率を推定する。



## 2) 幹線道路周辺住民へのディーゼル排気粒子個人暴露量の推定

幹線道路周辺住民のSPM吸入個人暴露量を推定するため、小型サンプラーにより家屋内外の環境濃度を測定すると共に、個人サンプラーによる個人暴露濃度の測定も行う。特に、個人暴露量調査においては、継続的な測定により生活パターンごとの推定法、タバコ煙等とのリスクの比較を行う。

### (5) 大気汚染による生体影響の総合的評価に関する研究

(1)で作製した暴露装置で(2)~(3)の課題の吸入実験を行い、得られた結果と、(4)で得られた地域住民の現実の暴露量及び文献検討結果とを合わせて、粒子状物質の生体影響を総合的に評価する。

## 【研究成果】

### (1) 粒子状物質とNO<sub>2</sub>などの複合暴露装置の作製と暴露条件の検討

本年度は、環境大気中粒子状物質のうちで最もその割合が高く、肺がんやぜん息・気道過敏性などの生体影響が問題となっているディーゼル排気暴露装置(含ディーゼル排気導入ダクト部分)を完成させた。さらに、粒子成分とガス成分の比率等現実大気環境に最も近い暴露条件を得るためのエンジン特性の解析も行い、ディーゼル排気の吸入実験ができるようにした。

### (2) 粒子状物質とNO<sub>2</sub>等の呼吸器疾患との関連に関する研究

#### 1) 気道過敏性及びアレルギー反応に関する研究

気道過敏性とは、刺激物質、冷気など種々の刺激に対して気道が過敏に反応し、気管支が収縮し、呼吸困難になることであり、この気道過敏性はぜん息の典型的症状の一つである。このようなことから、ぜん息に及ぼす大気汚染物質の作用を検討するうえで、大気汚染物質暴露により気道が過敏になるかどうかを検討することは重要である。

一方、ディーゼル排気粒子(DEP)は鼻粘膜を過敏にさせ花粉症の症状を悪化させる可能性があるがこの点に関する検討はこれまで全く行われていない。そこでこのことを明らかにするため、まず花粉症の症状である鼻づまり、鼻水を鼻腔内圧及び鼻水の量を指標として測定するシステムを作成した。このシステムを用い花粉症のときに放出されると考えられるヒスタミンのエアゾルを吸入させた際の鼻腔内圧及び鼻水放出量を測定した。いずれもヒスタミンの濃度に依存して増加することから花粉症の状態がこの系に反映されることが見いだされた。

そこで、この系を用いてDEP排気粒子の鼻腔内投与(1, 10及び20 mg/kg, pH 7.4)により、鼻粘膜に及ぼす影響を検討したところDEPの濃度に依存して鼻腔内圧は増加した(図1)。このことはDEPそれ自体にも鼻づまりを起こさせる作用のあることを示している。

また、アレルギー反応は、ハウスダストやスギ花粉のようなアレルゲンとしての抗原を吸収し、その抗原刺激によりIgE抗体産生系が活性化することにより起こる。この反応が鼻腔で起こればアレルギー性鼻炎となり、気管支等で起これば気管支ぜん息等となる。また、IgE抗体産生はIL-4やINF- $\gamma$ 等のリンフォカインにより制御されていることがヒトやマウスで報告されている。これまでに、フライアッシュを抗原と同時に、あるいは別々の経路で投与すると、抗原特異的なIgE抗体産生の亢進が見られることを報告してきた。しかしながら、フライアッシュ、火山灰、ディーゼル排気粒子(DEP)等の粒子状物質によるIgE抗体産生機構への作用、アジュバント効果についてはまだ不明な点が数多く残されている。

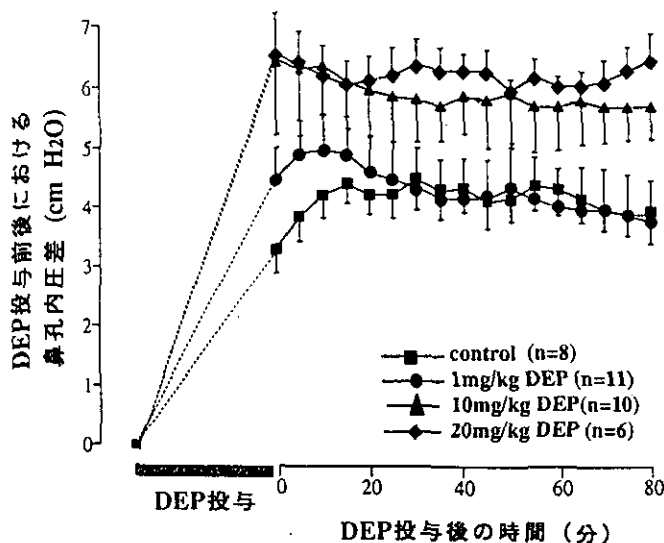


図1 DEPの鼻孔内投与が鼻孔内圧に及ぼす影響

そこで、本年度はこれら物質のアジュバント効果を比較するために、火山灰と抗原OAとの腹腔内同時投与によるIgE抗体産生の誘導とDEPと抗原OAの気管内投与による抗原特異的IgE抗体産生の誘導について検討した。

#### 1) 火山灰と抗原OAとの腹腔内投与によるIgE抗体産生の誘導

種々の濃度の火山灰を10 $\mu$ g OAと共にマウスの腹腔内に投与して血清中のIgE抗体産生能を調べたところ、2mgの火山灰投与群では14日目から28日目までにIgE抗体産生の亢進がみられたが、0.02mgの火山灰投与群では認められなかった。また、ELISAで測定したanti-OA-IgG抗体産生もIgE抗体と同様のこう進が見られた。

#### 2) ディーゼル粒子(DEP)と抗原の気管内投与による抗原特異的IgE抗体産生の誘導

種々の濃度のDEPを抗原(1 $\mu$ gのOA)とともに気管内に1回投与し、0.3mg DEP投与群で14日、21日目に低いIgE抗体産生が見られた。DEP投与21日目にOAエアロゾルを吸入させると28日、35日目にDEP濃度に依存したIgE抗体産生が見られた(図2)。また、35日目のOA-IgG抗体価をELISAで調べたところ、IgE抗体価と同様にDEPの濃度に依存して増加が見られた。

#### (2) 呼吸器系腫瘍発生に関する研究

本年度は、ディーゼル排気による肺腫瘍の発生に及ぼすリスク上昇因子の一つとしてヒトのライフスタイルと考慮して、現在注目を集めている高脂肪摂取の影響を調べた。

実験は普通脂肪食(4%の脂肪含有)と高脂肪食(16%脂肪含有)を与えている6週令マウスに0.1mg DEPを1週間に1回ずつ、合計10回投与し、その後1年間各々の脂肪含有食を与え続け、肺腫瘍の発生率を比較した(表1)。その結果、DEP投与のみでは腫瘍発生率は対照群よりやや低いくらいであるが、高脂肪食+DEP投与群では対照群より有意に高い腫瘍発生率を示

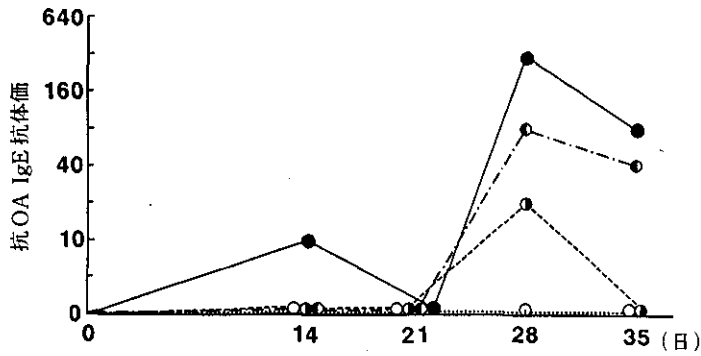


図2 ディーゼル排気粒子(DEP)とオパールブミン(OA)混合物の肺への1回投与によるIgE抗体の産生

- 1 μg OA
- ◐ 1 μg OA + 0.03 mg DEP
- ◑ 1 μg OA + 0.1 mg DEP
- 1 μg OA + 0.3 mg DEP

表1 ディーゼル排気粒子(DEP)投与マウスの肺腫発生に及ぼす高脂肪食の影響

群	食事	DEP (mg/mouse)	腫瘍発生率(%)	腫瘍数/マウス	悪性腫瘍
1	Control	0	5/25(20%)	0.20	0
2	High fat	0	8/24(33%)	0.38	2(8%)
3	Control	0.1	3/25(12%)	0.12	0
4	High fat	0.1	10/21(48%)	0.71	2(10%)
5	Control	4 NQO (14mg/kg)	8/20(40%)	0.85	2(10%)

し、近年の日本人の高脂肪・高カロリー食が環境汚染物質の影響を増強している可能性を示唆した。現在、この研究は再現性を確認するために繰り返し実験を行っている。また、この繰り返し実験には高脂肪食摂取により生じるフリーラジカルの消去剤としてベータカロチンを含んだ飼料の影響についても検討している。

### (3) 粒子状物質と NO<sub>2</sub> 等の生体影響評価手法に関する研究

#### 1) 末梢リンパ球のDNA傷害を指標とした影響評価手法の開発

本年度は、チャイニーズ・ハムスターの胎児肺由来の培養細胞(V79細胞)にディーゼル排気粒子(DEP)を加えて培養し、細胞内のDNAに及ぼす損傷を姉妹染色分体交換(SCE)頻度法で調べた。その結果、DEP投与でSCE頻度はDEP濃度に依存して対照群より有意に増加した。一方、培地1ml当たり40 μg以上のDEPは細胞毒性が強くなり、SCEの測定は不可能であった。

## 2) 指標酵素(AHH)誘導による影響評価手法の開発

担当者が留学中のため本年度は保留された。

## 3) フリーラジカル産生能による影響評価手法の開発

前年度は、DEPによる呼吸器の傷害メカニズムを解析する一環として、DEPが肺の中でフリーラジカルを発生させ、肺傷害起こすかどうかを調べた。0.9 mgのDEPを気管内投与すると、ICR系マウスは肺水腫を起こして100%死亡した。このとき予め、尾静脈からスーパーオキシド( $O_2^-$ )を代謝する酵素のSODを投与しておくことで死亡率は著しく低下することを見いだした。このことから、DEPは肺に入ってから、 $O_2^-$ を産生し、この $O_2^-$ が血管内皮細胞を傷害して、血管から血液水分が肺に漏れでて、肺水腫を起こしていることを示す結果を得た。

本年度は、DEP自身が $O_2^-$ を産生し、この $O_2^-$ が肺の毛細血管の内皮細胞等を損傷し、その結果、血管透過性を高め、肺水腫や炎症あるいは痰の原因の粘膜炎の過剰分泌等の重篤なぜん息性の病態を引き起こすことを明らかにした。さらに、この $O_2^-$ 産生のメカニズムについても検討し、この $O_2^-$ 産生はDEPのエタノール抽出画分に存在し、キノン化合物と亜硫酸などが関与する可能性が示唆された。DEP毒性に重要な位置を占めている $O_2^-$ の産生メカニズムの解明はディーゼル排気低減対策の上からも生体影響の予防対策のうえからも重要と考えられる。このためにもDEPの化学組成分析は重要である。

## 4) 感受性の動物種差に関する研究

大気汚染物質によってぜん息等の呼吸器疾患が起こることは四日市ぜん息の例に加えて、実験的にも明らかにされている。しかし、これらの疾患は汚染地域に住むすべての人に現れるわけではなく、個人差が大きいのが特徴である。これまで多くの研究がなされてきたにもかかわらず、その個人差の生理的因子は不明のままである。

本年度は、大気汚染物質に対する感受性の個人差の原因を探る研究の一環として、5種類の系統の異なるマウスを用いてDEPに対する感受性の違いを死亡率(LD<sub>50</sub>、半分の動物が死亡する

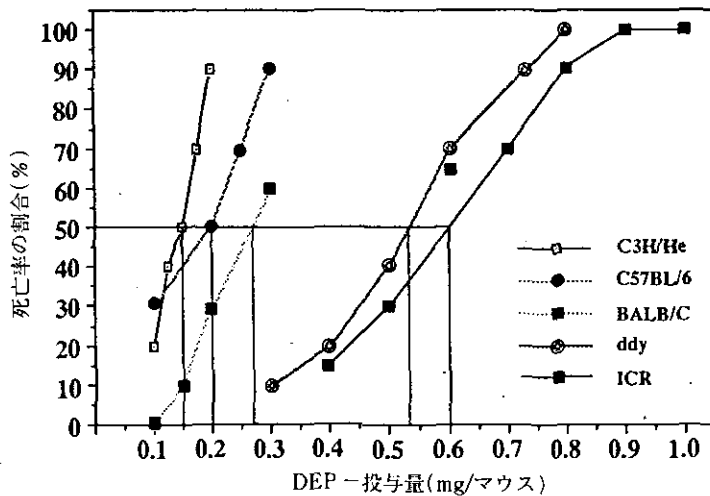


図3 DEP気管内投与による5系統のマウスのLD<sub>50</sub>

量)から調べた。DEPを気管内投与したときのICR, ddy, BALB/c, C3H/He及びC57BL/6マウスのLD<sub>50</sub>は、それぞれ0.6 mg, 0.54 mg, 0.27 mg, 0.2 mg及び0.15 mgであった(図3)。また、この感受性の違いの原因を調べた結果、C3H/HeやC57BL/6のように死亡率が高いマウスほどDEP投与群ほど肺の抗酸化性防御系酵素活性が対照レベルより低下する割合が高く、ICRやddyのように死亡率が低いマウスほどその低下割合が低かった。このことから、抗酸化性防御系酵素が感受性の重要な因子であることが示唆された。また、あらかじめ少量のDEPを気管内投与したマウスでは致死量のDEP投与によっても死亡しない耐性獲得現象を見いだした。この耐性のメカニズムの解明も毒性機序の解明に役立ち得ると考えられる。

#### (4) 粒子状物質の個人曝露量の推定とリスク評価に関する研究

沿道住民の生活環境におけるSPM個人曝露量推定の一環として、本年度は①大阪市内における調査(幹線道路周辺10世帯, 1991年11月)と、②板橋区内における調査(1992年1~3月)を実施した。

①では、SPM濃度について家屋内外の有意な相関、個人曝露濃度と居間の濃度との有意な相関が確認でき、従来の結果を補強することができた。

②の結果は解析中であるが、より正確に比較的長期間のSPM曝露量を推定するために、6週間にわたり7世帯の家屋内外と2測定局でタイマーで昼と夜のサンプルを分けてSPM濃度をモニターした。

SPM個人曝露濃度は、喫煙者を対象から除いたが、喫煙以外の家屋内の粉じん発生(線香、調理など)の影響を受ける。これまで夏期に2地区(1989年8月世田谷と1990年8月板橋)で測定した結果から、これらの要因を除いた夏期の個人曝露濃度は、SPM, NO<sub>2</sub>とも居間と高い相関を示し、屋外濃度ともよい相関を示した(図4)。

1990年2月の調査時に大気常時監視局、幹線道路交差点内でアンダーセンサンプラーにより粒径別に採取した粒子中のB(a)P濃度は、2μm以下の微小粒子中に高かった。また粒子重量に対するB(a)P濃度は、対照として同時期に環境研で採取したサンプルと大きな差はなかった。したがって、大気中の微粒子の発生源が近似していることを示している(図5)。

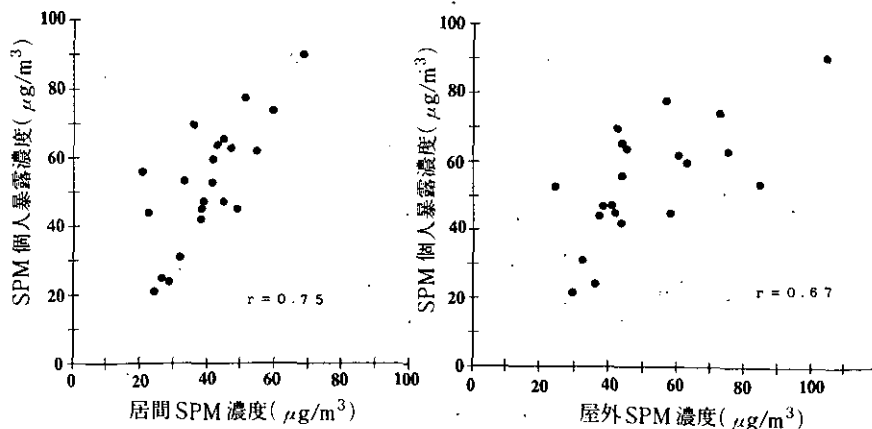


図4 居間及び屋外のSPM濃度とSPM個人曝露濃度  
屋内での粉じん発生のある家を除く。

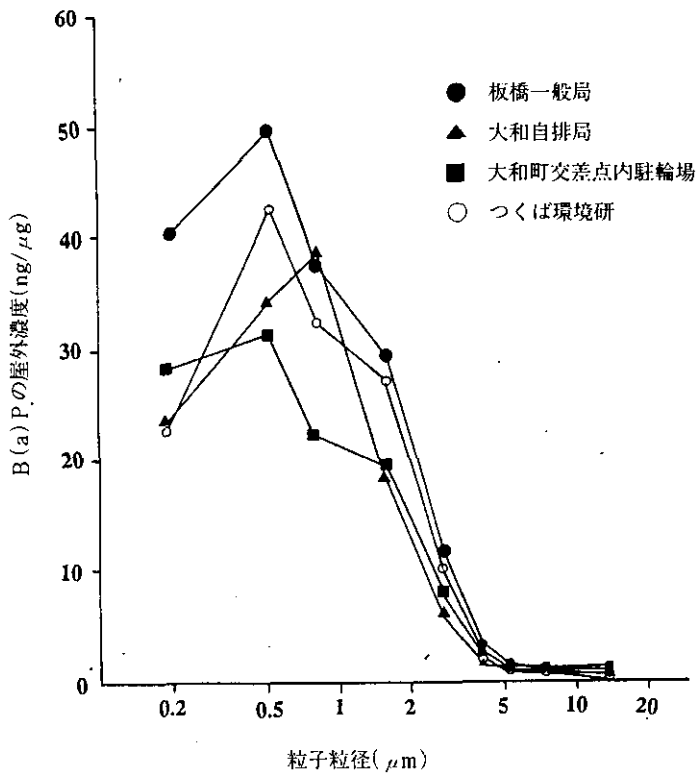


図5 都内の幹線道路沿道及び後背地における浮遊粒子中B(a)Pの粒径別濃度

## 2.6 水環境における化学物質の長期暴露による 相乗的生態系影響に関する研究

平成元年～5年度（1989～1993年度）

### 〔研究組織〕 地域環境研究グループ

首席研究官	三浦 卓
化学物質生態影響評価研究チーム	○ 畠山成久・笠井文絵・花里孝幸
化学物質健康リスク評価研究チーム	白石寛明
大気影響評価研究チーム	安藤 満

### 地球環境研究グループ

野生生物保全研究チーム	高村健二
生物圏環境部	
生態機構研究室	岩熊敏夫・宮下 衛・野原精一・ 上野隆平・多田 満
環境微生物研究室	高村典子
分子生物学研究室	田中 浄・楠 剛

客員研究員 8名, 共同研究員 1名

### 〔研究概要〕

自然生態系は人間の生存や社会生活の快適性を支えるものであるが、環境汚染や開発の影響に常にさらされている。近年、ある面では環境汚染は改善されつつあるものの、社会経済活動の質的量的拡大により複雑多様化している。化学物質による河川や湖沼など水界の汚染も低濃度ながら多種にわたってきているがそれらの環境中での動態や生態影響に関する知見はごく限られた範囲にとどまっている。化学物質の安全性評価作業は経済開発協力機構(OECD)などによる国際的な課題でもあり、現在または将来使用が予想される化学物質の生態系リスクアセスメントのための研究が急務とされている。

本特別研究では、化学物質では水界生態系に最も広範囲に影響を及ぼしていると考えられる農薬類を主な対象として、その実際の生態影響の評価を行う。一方、各種の実験により、生物間の相互関係に基づく化学物質の生態影響評価に関する知見を集積する。それらのためには、当該化学物質の暴露量の推定と各種生物の化学物質感受性の種間差についてのデータが必須である。また生物種間の相互関係をかく乱する化学物質の影響とその波及効果(2次的影響)の解析も、生態系影響評価には不可欠のデータである。野外調査では河川の農薬汚染状況と水生生物相の相互関係を明らかにする。これらのデータや知見を総合して、化学物質の生態影響評価のクライテリアの確立を目指し、化学物質の影響から水界生態系を保全または回復させることを目的とする。

本特別研究は以下の4つのサブテーマを以て行われる。それぞれは相互に関連しているので明確に区分できない面もあるが、各テーマごとに年次計画での研究段階を記す。

#### (1) 生態系レベルにおける化学物質の相乗的影響に関する研究

農薬類の水生生物に対する暴露量を明らかにするため、河川や池沼の農薬類を高頻度で分析し、

それら濃度の季節的変動パターンを明らかにした。これら農薬類の潜在的生態毒性を評価する手法として、緑藻(セテナストルム)やヌカエビを用いた生物試験を行い、除草剤や殺虫剤が水生生物に及ぼす生態毒性の季節変動を明らかにした。さらに、環境中に検出された除草剤、殺虫剤、殺菌剤の毒性試験のデータなどから、調査した河川水中でセテナストルムの増殖阻害やヌカエビの死亡がいかなる薬剤がどの程度関与して引き起こされたものかある程度推定できることが分かった。今後、さらに他の水生生物、実験生態系に対する農薬類の複合影響の評価を行う。河川の生物相に及ぼす農薬類の影響に関しては、水生昆虫に関して多くの知見が得られた。

#### (2) 生物の化学物質に対する種特異的感受性に関する研究

環境中に高濃度、高頻度で検出される除草剤としてシメトリンを選び、各地から単離培養された数多くの藻類株に対して影響試験を行い、藻類の薬剤感受性に広範囲な種間差があることを明らかにした。除草剤に対し、高い耐性を有するクロレラ(緑藻)の耐性機構を活性酸素の消去に関与する酵素系の面から検討を始めた。底生生物では、農薬汚染河川に優占する水生昆虫の殺虫剤に対する耐性の種間差を検討してきた。その中で、トビケラやユスリカの特定期種は殺虫剤に著しい耐性を有しており、それらの薬剤耐性機構の概要が明らかにされた。今後は、生息環境と薬剤耐性獲得との関連について調査・研究していく。ホタル、トンボ、タガメなど環境生物と呼ばれる水生生物に関しても、農薬類の影響試験がなされ、現在使用されている物質のみならず有機塩素系農薬類などに対しては過去にさかのぼっての影響評価もなされている。

#### (3) 生物種間の相互作用に及ぼす化学物質の影響評価に関する研究

動植物プランクトン群集からなる実験生態系(構成種は霞ヶ浦底泥由来)を屋外実験水槽に作製し、生物間の相互作用を介した化学物質の影響評価を行ってきた。動物プランクトンやその捕食者間の相互関係に基づく化学物質の2次的影響に関してはかなり予測できる段階に達した。

一方、1次生産者である藻類、あるいは藻類と動物プランクトン群集の両者が影響を受けた場合の影響評価に関しても、屋外の実験生態系や室内のモデル実験などから検討を行っている。殺虫剤によるミジンコの頭部形態変化に関しては多くの知見が得られ、それが動物プランクトンの行動や捕食者との関係を介し、いかなる生態影響を及ぼすか今後検討がなされる。

#### (4) 生態系レベルでの化学物質のリスクアセスメントに関する研究

実際の河川において、水生生物が化学物質(農薬類を対象)によっていかなる影響を受けているかを実証するための調査を行ってきた。河川の生態系は農薬以外にも様々な要因で影響を受けるので評価が難しい。そのため、対照として低農薬または無農薬水田地帯を流れる河川の生物相を下流の農薬散布地帯のそれと比較し農薬類の総合的影響評価を行ってきた。今後も別の調査地を選定しさらに検討を行っていく。

### 【研究成果】

#### (1) 生態系レベルにおける化学物質の相乗的影響に関する研究

1) 除草剤が藻類生産に及ぼす影響を評価するため、4～8月(1991)まで小貝川定点から採取(週3回)した河川水中でセテナストルム(緑藻の1種)の増殖試験を行い、同時に水中の農薬濃度を測定した。セテナストルムの増殖は5月初旬から下旬にかけて著しく抑制されたが、その原因は水中で検出された除草剤の毒性試験結果などからブタクロールとプレチラクロールの相加的影響



が主因であった(図1)。5月末に水中の除草剤の種類は変動し、5月末前後には数種の除草剤の複合影響が認められたが、6月初旬からはほとんどシメトリン単独の影響でセテナストルムの増殖が阻害され、その濃度低下に伴い6月末までに回復した。個々の除草剤の水中濃度における増殖阻害率をプロビットの回帰式から計算したが、その積算値は河川水中のセテナストルムの増殖阻害値とほぼ類似の変動パターンを示した(図1, SG-IP)。両者の値にギャップがあるのは河川水中での増殖阻害は-100%以下にはならないこと、数種の除草剤間ではむしろ拮抗的な作用(図2)があることなどによった。つくば市近辺の河川水で5月下旬に行った試験でも、セテナストルムの増殖阻害が顕著であった。小貝川定点の人工基物上に形成される藻類群集の増加率が5月中旬に急減したが、藻類の種類数も10種以下に減少した。6月中旬から除草剤濃度が減少したのに、藻類群集の増加率が減少する期間があった(藻類の種類数は回復)が、その原因は梅雨期の日照時間減少や増水による付着藻類の剝離などに起因するものと考えられた。

2) 本研究初年度から河川水中(小貝川など)の殺虫剤を主体とした水生生物に対する潜在的生態毒性を淡水産エビを用いた生物試験により評価してきたが、本年度は河川水中の農薬濃度、各薬剤の毒性試験結果、一部薬剤(MEP, BPMC, IBPなど)の複合影響試験結果を総合し、エビの死亡率の変動に、各薬剤が単独、相加的または相乗的影響によりどの程度関与した結果であるのかを推定した。桜川1989年の場合はヌカエビの死亡原因としてMEP, MPP, diazinon, マラソン, BPMCの相加的影響とMEPとBPMCやIBPの相乗的影響がかなり関与していることが分かった(図3)。

3) 農薬汚染と河川生物相との関係を明らかにするため、上流が低農薬水田地帯で下流が農薬

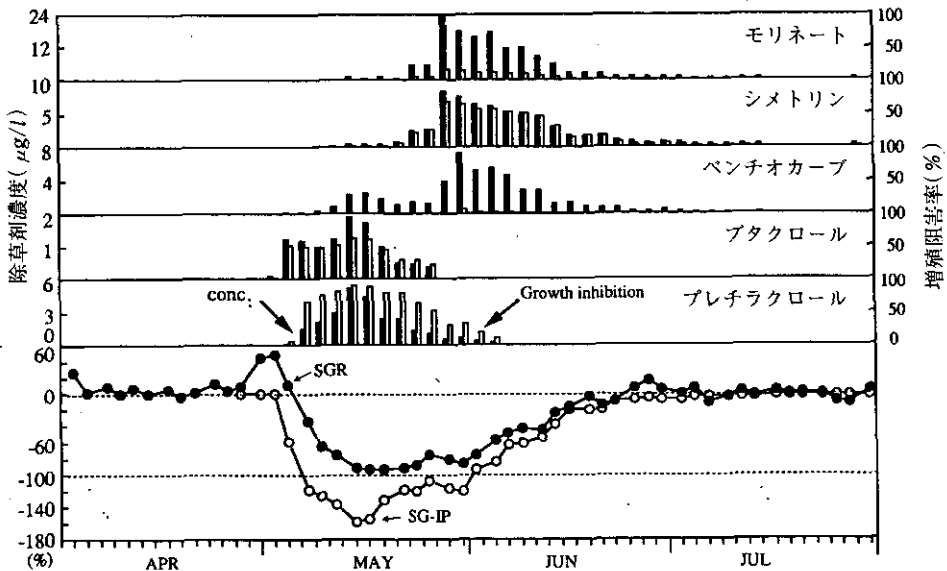


図1 調査河川(小貝川)定点の河川水中における除草剤濃度(棒グラフ：黒)の変動、及び各除草剤の河川水中濃度におけるセテナストルムの増殖阻害率(棒グラフ、白, Probit 回帰式により算定)

SGR; 河川水中でのセテナストルムの増殖阻害率(対照: C 培地)の季節変動,

SG-IP; 各除草剤の増殖阻害率(右棒グラフ)の積算値(相加的影響)。

河川水は1991年4~8月に週3回採取した。

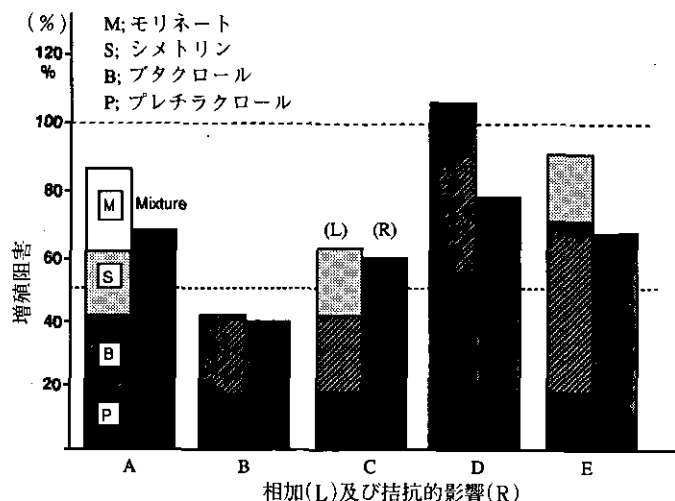


図2 セレナストルムの増殖阻害に対する調査河川で検出された各種除草剤の複合影響(A～Eの右側(R))  
各除草剤の増殖阻害率の積算値(L)よりも複合影響による増殖阻害率は低い値を示し、除草剤間で増殖阻害に対し拮抗的影響が認められた。

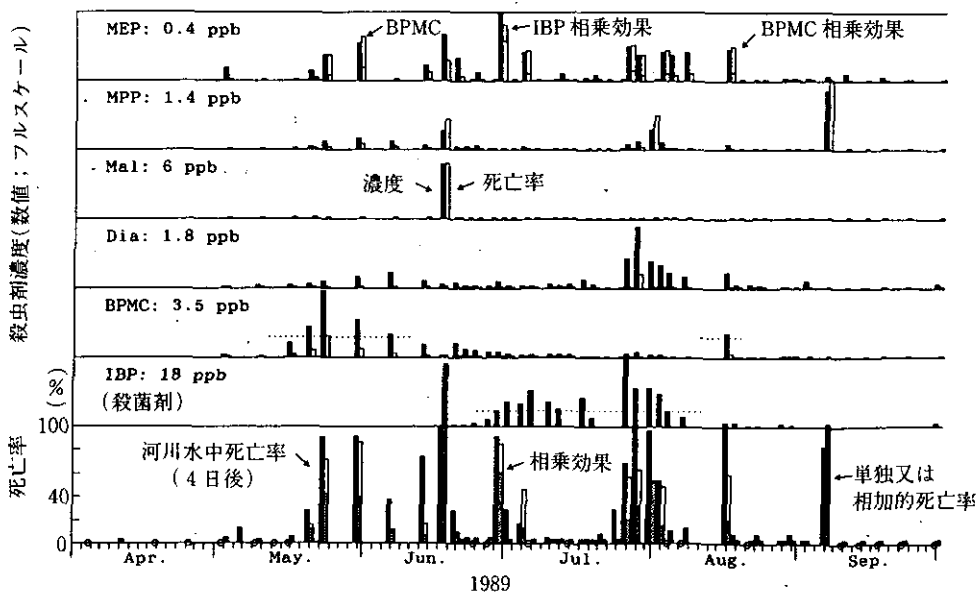


図3 桜川の河川水中でのヌカエビ死亡原因物質  
上段(1～5)：河川水中殺虫剤濃度，それら濃度におけるヌカエビ死亡率(4日後，棒グラフ；右側，probit 回帰式から算定)，及びMEPとBPMC，IBPの相乗効果による死亡率増加分，下段：河川水中でのヌカエビ死亡率(下段：左側)と各殺虫剤の死亡率積算値(下段：右側灰色部)，及び相乗効果による死亡率増加分(右側：棒グラフ上部)。  
MEP(フェニトロチオン)，MPP(フェンチオン)，Mal(マラソン)，Dia(ダイアジノン)；有機燐系殺虫剤，BPMC；カーバメイト系殺虫剤；IBP；殺菌剤。

散布地帯を流下する濁川(熱塩加納村)で生物調査した。前年度の調査では8月に上流の生物相(水生昆虫)は下流に較べ明らかに豊富であった。本年度は上流・中流・下流の河川水に対し、淡水産エビを用いた生物試験を行い農薬汚染の総合毒性を評価したが、エビの死亡率は中流以外は低かった。また、ゴルフ場排水が流入する河川の上流・下流定点において生物相に及ぼす農薬類の影響調査を行った(週1回)。上流側の水生昆虫の種類は概して下流より多い傾向が認められた。ヌカエビを用いた生物試験でも下流側で何度か高い死亡率が認められた。

4) 中沼は関東平野で最も深い沼(13m, 径約50m)とされ、この沼への水の流入は農業用水(小貝川)と雨水である。前年度までこの沼の農薬類の挙動と生物相の関連を明らかにするため様々なサンプルを得たが、本年度は水中における農薬の挙動を調べた。農薬の水平移動は速やかであるが垂直移動は水温躍層により妨げられ中層以下への到達が遅れること(図4)、各薬剤の分解性は水深により異なること、雨から池内への薬剤流入もあり得ることなど池内における農薬の挙動が明らかにされた。

## (2) 生物の化学物質に対する種特異的感受性に関する研究

1) 実験生態系の植物プランクトンに対する除草剤シメトリンの影響解析において、藻類の種間関係にシメトリンが影響を及ぼすことが示唆されたので、実験水槽に出現した植物プランクトンの数種を分離培養し、シメトリンに対する感受性を調べた。表1に示したように4日目の

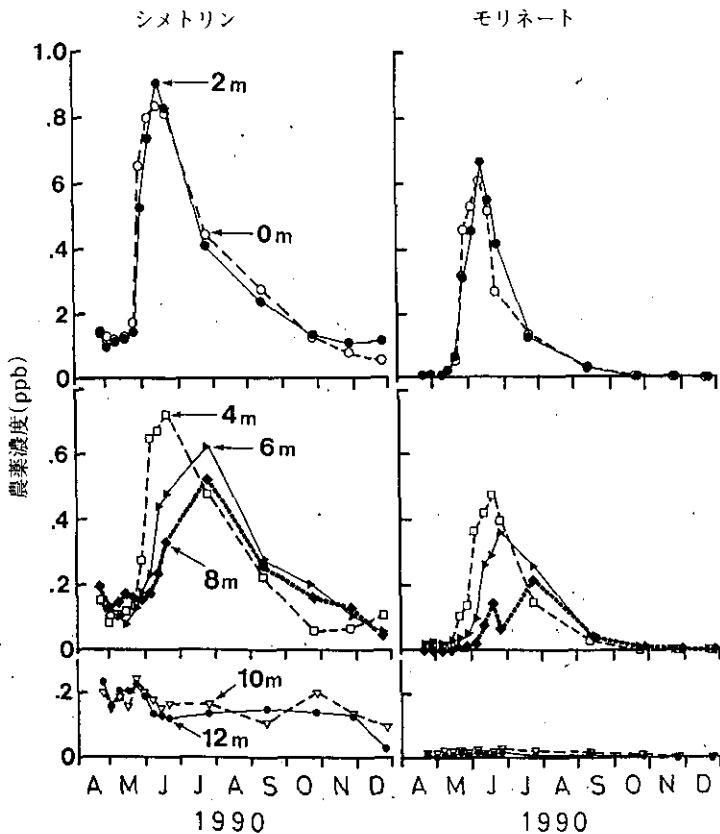


図4 中沼における除草剤シメトリンとモリネート濃度の水深別季節変動(1990年)

表1 小型屋外水槽から分離した植物プランクトンの除草剤シメトリンに対する感受性の比較

種名	EC <sub>50</sub> $\mu\text{g/l}$			
	3日	4日	6日	7日
緑藻				
<i>Coelastrum</i> sp.	14.2	9.6	14.3	17.6
<i>Micractinium</i> sp.	16.1	18.1	22.1	26.6
<i>Monoraphidium</i> sp.	17.0	18.9	23.4	23.1
<i>Pediastrum simplex</i>	15.6	12.4	16.4	17.6
<i>Scenedesmus</i> sp.	10.5	10.9	13.5	12.4
<i>Ankistrodesmus</i> sp.	22.5	27.3	34.7	34.8
<i>Closteriopsis</i> sp.	25.9	29.2	43.8	42.2
<i>Dictyosphaerium</i> sp.	37.4	39.3	57.2	59.7
ケイ藻				
<i>Cyclotella</i> sp.	66.2	51.3	50.4	41.7
クリプト藻				
<i>Cryptomonas</i> sp. 1	—	21.8	—	27.4
<i>Cryptomonas</i> sp. 2	—	15.9	—	17.4

EC<sub>50</sub> 値(増殖半阻害濃度)は、緑藻類が 9.6~39.3  $\mu\text{g/l}$ 、実験初期に優占するケイ藻 *Cyclotella* sp. は 51.3  $\mu\text{g/l}$  であった。前年度報告したクリプト藻が 15.9, 21.8  $\mu\text{g/l}$  であったのと比較すると緑藻類が同程度であるのに対して、*Cyclotella* sp. は比較的高い値を示したといえる。この種間差は実験生態系における植物プランクトン群集に対するシメトリンの影響に反映されていた。緑藻類の EC<sub>50</sub> 値は動物の LC<sub>50</sub> 値(半数致死濃度)が経時的に小さい値となるのとは逆に、7日目の値が示すように概して高い値となった。これは、試験中に藻類がシメトリンに対して耐性を獲得した可能性が考えられたため、20日間の暴露実験で数種の藻類について耐性獲得の有無を検討した結果、耐性の獲得は全く認められなかった。藻類は動物の場合とは異なり、試験期間中に増殖するので、除草剤濃度が低下すると増殖が対照に迫っていく傾向を示した場合には、EC<sub>50</sub> 値が経時的に増加するものと考えられる。逆に、ケイ藻の場合は経時的に EC<sub>50</sub> 値が小さくなり藻類の感受性の種間差を検討する場合暴露期間が重要であることが示された。

2) 緑藻のクロレラ (*Chlorella vulgaris*: CCAP 211/11 b, NIES-227) とセテナストルム (*Selenastrum capricornutum*: ATCC 22662, NIES-35) を用いて3種の除草剤(シメトリン、プレチラクロール、ベンチオカーブ)に対する感受性を調べた(表2, 3-days EC<sub>50</sub>)。クロレラはどの除草剤に対してもセテナストルムと比べて著しく感受性が低かった。またこのクロレラの耐性がどのような生理的機構によるものかを調べたため、アスコルビン酸ペルオキシダーゼ、グルタチオン還元酵素、及びSODの酵素活性を調べ、シメトリンに高感受性のセテナストルム、クラミドモナスと比較した(表3)。これらの酵素はクロレラで最も高い値を示し、それらの機能は活性酸素の消去に関与していることから、シメトリン耐性における藻類の種間差に寄与しているものと考えられた。

3) 実験生態系内で殺虫剤カルバリル(以下、NAC)に対する感受性がミジンコ(枝角類)間で

表2 緑藻 *Chlorella vulgaris* と *Selenastrum capricornutum* の3種の除草剤に対する感受性の比較

種名 (株名)	EC <sub>50</sub> <sup>1)</sup> $\mu\text{g/l}$ (95%信頼限界)		
	シメトリン	プレチラクロール	ベンチオカーブ
<i>Chlorella vulgaris</i> Beij.			
CCAP 211/11b	494(359-681)	3304(1443-7564)	3277(2565-4185)
NIES-227	386(262-569)	734(323-1671)	3788(2594-5530)
<i>Selenastrum capricornutum</i> Printz			
ATCC 22662	9.8(8.9-10.8)	2.5(1.4-4.6)	36.7(28.8-46.7)
NIES-35	6.6(4.8-9.2)	1.3(1.0-1.8)	20.1(15.7-25.8)

1): それぞれの除草剤濃度における増殖量のコントロールに対する割合のプロビットと除草剤濃度の対数値の関係より求めた。連続照明, 3日間培養後の値。

表3 シメトリン感受性の異なる藻類における3種の酵素(活性酸素の消去に関与)の活性比較

	クロレラ	クラミドモナス	セテナストルム
アスコルビン酸ペルオキシダーゼ (unit/mg chl.a)	2.83	0.99	0.09
グルタチオン還元酵素(unit/mg chl.a)	1.67	0.01	0.24
SOD( $\times 10^3$ unit/mg chl.a)	1.97	0.71	0.31
シメトリン感受性(EC <sub>50</sub> $\mu\text{g/l}$ )	700	27	25

もかなり異なることが示唆された。3種のミジンコを用いて、NACに対する感受性差を調べた(図5)。マギレミジンコが最も感受性が高く、 $2 \mu\text{g/l}$ で生存率が著者に低下し、 $3 \mu\text{g/l}$ では生後4日目までにすべてが死亡した。カブトミジンコは $10 \mu\text{g/l}$ までは成長し、10日目の生存率も50%以上であった。しかし、 $15 \mu\text{g/l}$ では急速に死亡率が上昇し、3日目までにすべての個体が抱卵するこくとなく死亡した。スカシタマミジンコの耐性が最も高く、 $15 \mu\text{g/l}$ においても、生存率は低下したが産仔が観察された。しかし、 $20 \mu\text{g/l}$ では2日目までに死滅した。3種のミジンコのNACに対する耐性は屋外実験水槽で得られた結果をよく反映していた。

4) 前年度の調査により、農業汚染河川に優占するコガタシマトビケラは殺虫剤に著しい耐性を有することが分かったが、本年度はさらに別の殺虫剤でもそれを確認し、その薬剤耐性機構を調べた。殺虫剤耐性系統のアセチルコリンエステラーゼ(殺虫剤の標的酵素)は、フェニトロオクソンにより感受性系統のそれと同レベルの阻害を受けた。しかし、耐性系統のトビケラは体内にある種のタンパク質(酵素)を保有し、殺虫剤を結合して加水分解するためアセチルコリンエステラーゼの阻害は抑止され抵抗性を獲得していることが分かった(図6)。一方、有機汚濁河川に優占するユスリカの1種(*Chironomus yoshimatsui*)も殺虫剤に著しい耐性を示したが、トビケラとは異なり、アセチルコリンエステラーゼ自体が殺虫剤に抵抗性を有していた。しかし、このユスリカもやや耐性のあるウルマーシマトビケラも半数致死濃度よりもかなり低い殺虫剤濃度で、下流に流出されることが野外調査や室内実験データから示唆された。

5) 大型水生昆虫タガメは絶滅危急種とされるが、前年に引き続き11種の薬剤についてそれ

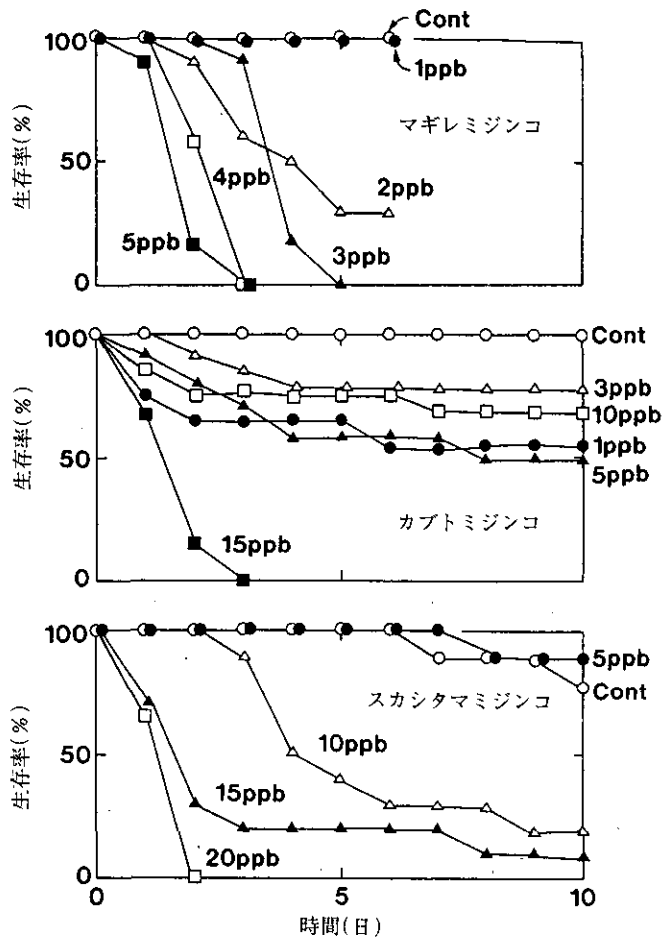


図5 実験生態系に出現した3種のミジンコ(マギレミジンコ、カプトミジンコ、スカシタマミジンコ)の殺虫剤カルバリル(NAC)に対する感受性の種間差

らの急性毒性を調べ、薬剤によっては環境中の濃度レベルでも致死的影響があることを示した(表4)。また、タガメは魚体から栄養分を吸い取るが、殺虫剤で汚染させた魚を餌とすることにより、食物連鎖を介し数日間で致死的影響を受けることも明らかとなった。

### (3) 生物種間の相互作用に及ぼす化学物質の影響評価に関する研究

種組成が霞ヶ浦プランクトンに類似した実験生態系を屋外水槽に作製し殺虫剤(フェンチオン)、または除草剤(シメトリン)をそれぞれ実験生態系に投入し、それらの影響を評価した。

#### 1) 実験生態系内の動植物プランクトンの相互作用に及ぼすフェンチオン(MPP)の影響

実験の後半期には、無処理水槽では大型のカプトミジンコが優占し、低濃度処理区(50  $\mu\text{g/l}$ )では小型のニセゾウミジンコが増加した(図7、左側)。しかし、高濃度処理区(500  $\mu\text{g/l}$ )ではミジンコ類はほとんど姿を消し、ワムシ類が高い現存量を保った。これらの結果は、動物プランクトンの種間またはグループ間でMPPに対する感受性に差があり、その違いが動物プランクトン

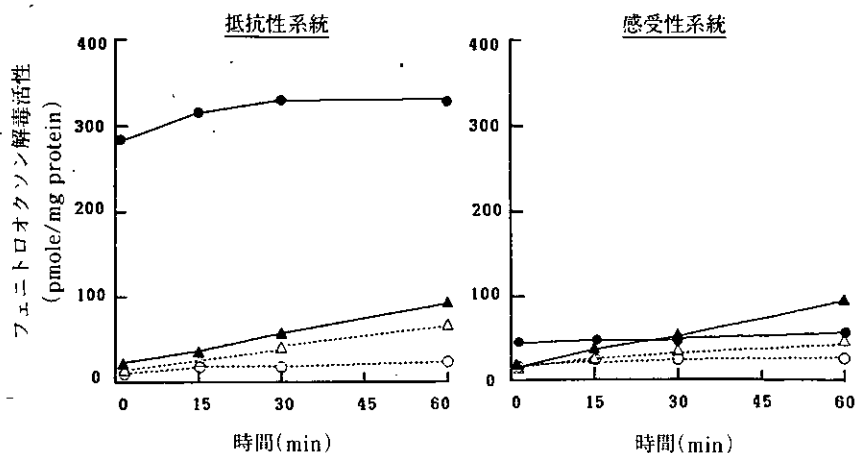


図6 殺虫剤抵抗性(山形県・砂川)及び感受性系統(横浜市瀬上沢)のコガタシマトビケラのフェニトロオクソン分解活性の比較

抵抗性は10万G上澄のタンパク質に殺虫剤を結合し分解する。

- ：結合たんぱく(10万g上清), ▲：加水分解(10万g上清)
- ：結合たんぱく(10万g残査), △：加水分解(10万g残査)

表4 タガメ(1齢幼虫)に対する農薬の急性毒性試験結果(LC<sub>50</sub>, μg/l)

農薬の種類		48 hrs	96 hrs	使用期間
有機塩素系	BHC	5.37(3.32~8.69)*	0.07(0.03~0.21)	1948~71
	DDT	5.73(3.97~8.28)	3.36(2.67~4.23)	1947~71
	CNP	1690(640~4490)	81.2(57.0~116)	1965~
	クロルデン	154(56.6~417)	92.6(47.7~180)	1950~68
有機リン系	フェンチオン	75.2(61.9~91.3)	34.5(25.7~46.2)	1970~
	ダイアジノン	928(248~3470)	141(97.1~207)	1955~
	フェニトロチオン	108(92.7~126)	56.7(43.6~73.8)	1961~
カーバメイト系	BPMC	143(120~171)	125(97.3~161)	1968~
	カルバリル	1440(1090~1920)	930(700~1230)	1959~
	カルボスルファン	1.31(1.20~1.43)	1.19(1.10~1.30)	1984~
除草剤	PCP	>10000	>10000	1959~75
	オキサジアゾン	2290(1880~2770)	1290(920~1810)	1972~
ピレスロイド様	エトフェンプロックス	1.44(0.80~2.60)	1.11(0.68~1.83)	1987~

\* ( )内の数字は、95%信頼限界を示す。

生後2日目のタガメの1齢幼虫(無給餌)を100mlの農薬溶液の入ったビーカーに1個体ずつ入れ、その後の生死を観察。

群集構造に反映したことを示す(図7)。動物プランクトン群集の変化は植物プランクトン量に影響を与え、クロロフィル量は無処理水槽で非常に低く、高濃度処理水槽で高かった。これは無処理水槽では大型のカプトミジンコが植物プランクトンを効率よく摂食した結果である。しかし植物プランクトンの種組成に顕著な影響は現れなかった。無処理水槽では、ケイ藻類は実験開始後急激に増加し、動物プランクトン群集の形成と共に急速に減少した。高濃度処理水槽ではこのケ

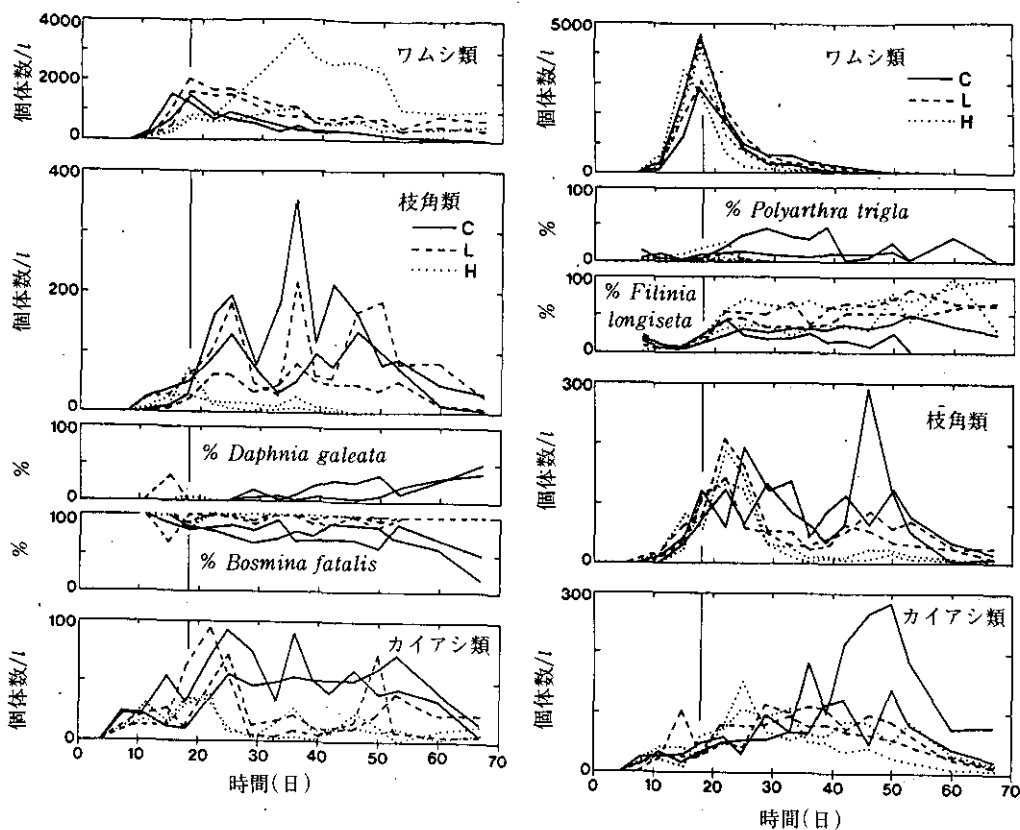


図7 実験生態系(屋外水槽)に形成された動物プランクトン群集に及ぼす殺虫剤MPP(図;左)と除草剤シメトリン(図;右)の影響

左側：ワムシ類、枝角類、カイアシ類の密度変動、及び枝角類群集中のカプトミジンコ(*Daphnia galeata*)とニセゾウミジンコ(*Bosmina fatalis*)の占める割合(%)。C：対照区、L：低濃度区(MPP, 50  $\mu\text{g/l}$ )、H：高濃度区(MPP, 500  $\mu\text{g/l}$ )。

右側：ワムシ類、枝角類、カイアシ類の密度変動、及びワムシ群集中のハネウデワムシ(*Polyarthra trigla*)とミツウデワムシ(*Filinia longiseta*)の占める割合(%)。C：対照区、L：低濃度区(シメトリン100  $\mu\text{g/l}$ )、H：高濃度区(シメトリン1000  $\mu\text{g/l}$ )。

イ藻類の減少が著しく遅れた。これはケイ藻類を摂食していた動物プランクトンの減少によると考えられる。また、ケイ藻類の減少が遅れたことによりクリプト藻が影響を受け、殺虫剤の投与により植物プランクトンの種間関係にも2次的影響が及んだことを示した。

## 2) 実験生態系内の動植物プランクトンの相互作用に及ぼす除草剤シメトリンの影響

シメトリンは低濃度(100  $\mu\text{g/l}$ )、高濃度(1000  $\mu\text{g/l}$ )処理とも植物プランクトンの光合成活性を著しく低下させ、クロロフィル量もシメトリン濃度に応じて低下したが、植物プランクトンの種組成に差は見られなかった。図8に主要な植物プランクトンの分類群別細胞密度(または群体密度)を示した。除草剤投与後低濃度処理水槽においてわずかだが明らかなケイ藻類の増加がみら



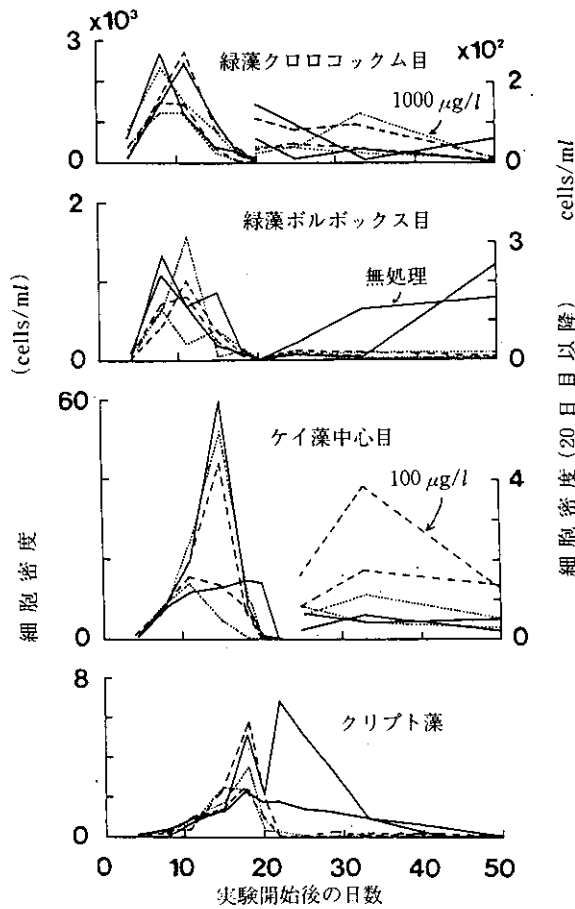


図8 実験生態系(屋外水槽)に形成された植物プランクトン群集に及ぼす除草剤シメトリンの影響  
シメトリンは実験開始後18日目に投入した。

れた。これは無処理水槽ではクリプト藻の増加によってケイ藻類の増殖は抑えられていたが、シメトリン処理によってクリプト藻の増殖が抑制されたためシメトリンに比較的耐性のあるケイ藻類が増加したものと推測される。しかし、高濃度処理水槽ではケイ藻類の増殖さえも抑えられた。つまり除草剤の負荷が藻類の種間関係を変化させたといえる。

動物プランクトンの現存量は無処理水槽で高く、高濃度処理水槽では顕著に低下し、シメトリン投与の影響は動物プランクトンの現存量に明瞭に現れた。動物プランクトン群集は、どの処理でも最終的にはカプトミジンコが優占し、動物プランクトンの種組成に顕著な違いは見られなかった。しかし、現存量の低下した中でワムシ類のミツウデワムシが無処理水槽と比較して優占度を増した。これは貧栄養湖に出現する種であり、餌不足がこの種の相対的な増加の原因であると考えられる(図7、右側)。

#### (4)生態系レベルでの化学物質のリスクアセスメントに関する研究

1) 農薬(殺虫剤・殺菌剤)の空中散布時に流下ネットにより薬剤によって流出された水生昆虫

を捕集し河川の水生昆虫に及ぼす薬剤の影響を評価してきた。本年度は湧水に隣接した湿地・水田地区に空中散布された殺虫剤の生態影響評価を各地点で経時的に採水したサンプルに対する数種の水生生物の生物試験から評価した。MEPが散布されたが、周辺環境(水田, 小川)から採取した水中ではエビのみならずゲンジボタルやタガメなどの生物にも死亡が認められた。周辺の小川(湧水由来)には、ゲンジボタルやタガメなどの生物の生息が記録されており、湧水環境が環境生物の維持に有効であったことを示唆した。なお、調査地区はその後湧水を残し土地改良事業により環境が変化させられた。

2) 前年度秋に1次的に生物相が破壊された河川(上流ダム湖の改修工事で濁流が長期間流れた)ではあるが、4月から月1回の生物相調査を10月まで行った。生物サンプルの分類整理は行っていないが、上流～下流の生物相が夏から秋にかけ回復した傾向が認められた。

## 2.7 トリクロロエチレン等の地下水汚染の防止に関する研究

平成2～4年度（1990～1992年度）

### 〔研究組織〕 地域環境研究グループ

統括研究官 内藤正明  
有害廃棄物対策研究チーム ○中杉修身・安原昭夫・平田健正  
水圏環境部  
水環境質研究室 矢木修身・小沢秀明  
土壌環境研究室 細見正明  
客員研究員 6名、共同研究員 2名

### 〔研究概要〕

トリクロロエチレン等の揮発性有機塩素化合物による地下水汚染が全国的な広がりを持つことが、環境庁の調査によって明らかにされて以来、汚染原因や機構を解明するための調査が実施され、化審法、水質汚濁防止法や廃棄物処理法の改正によって汚染を未然に防止するための制度は一応整えられた。しかし、地下水の流れが遅く、揮発性有機塩素化合物は水に溶けにくいいため、汚染物質の侵入を防ぐだけでは地下水はなかなかきれいにならない。地下水は有用な水資源であって、生活用水を地下水に依存している地域も多く、汚染地下水の浄化が緊急の課題となっている。しかし、一般に地下水の浄化は多額の経費を必要とするため、的確な対策を選定して実施する必要がある。

本特別研究では、現地調査とその結果の解析を中心として、土壌・地下水圏での汚染物質の挙動を解明し、表層土壌ガス成分のモニタリングを用いた汚染物質存在状況の把握手法を開発する。さらに、汚染土壌や地下水の浄化手法について、既存文献や実施事例からのデータの収集・解析や現場実験に基づいて、その評価を行う。そして、これらの成果を総合して、地下水汚染浄化対策を効率よく実施するための手順を明らかにする。

以上の研究目的を達成するために、以下の課題を設定して研究を実施する(図1)。

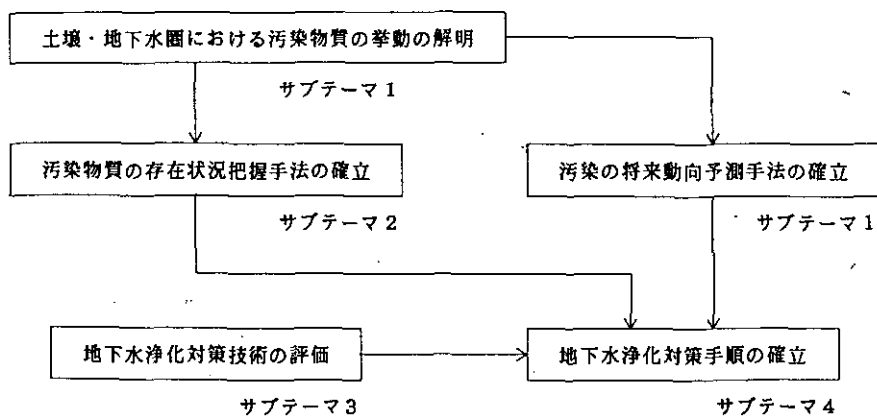


図1 本特別研究の構成

### (1) 土壌・地下水圏における汚染物質の挙動解明

地下水浄化対策を実施するに当たって、まず土壌・地下水圏での汚染物質の挙動を解明し、汚染の将来動向を把握することが必要となる。本研究では、現地調査結果の解析を行い、地下水圏での汚染物質の挙動を解明する。また、地下水中での汚染物質の挙動を表すモデルの開発を行う。

### (2) 汚染物質の存在状況把握手法の確立

浄化対策を効率的に実施するためには、汚染物質の存在状況を的確に把握することが重要となる。本研究では、表層土壌ガス成分を指標としたモニタリング手法を確立するとともに、この手法を含めて土壌・地下水圏における汚染物質の存在状況を把握する手法を確立する。

### (3) 地下水浄化対策技術の評価

すでに多くの地下水浄化が行われている海外から様々な浄化技術が導入されようとしており、また国内でも多くの技術が開発されているが、土壌・地下水の汚染状況や汚染源の社会・経済的な状況によって適切かつ実施可能な対策が異なる。本研究では、既存文献や浄化対策事例から入手したデータを解析し、また現場での実証実験を行って、各種浄化対策の特性を明らかにする。

### (4) 地下水浄化対策手順の確立

以上の研究成果をまとめて、地下水浄化対策を実施する手順を明らかにする。

## 〔研究成果〕

### (1) 土壌・地下水圏における汚染物質の挙動解明

土壌・地下水圏における汚染物質の挙動を解明するには、土壌・地下水圏での存在状態、地下水流れに沿った移動、及び土壌・地下水中での分解について知る必要がある。このために、各地の汚染事例で地下水質や流動に関する調査を実施するとともに、地方自治体が発行する調査に協力して調査データを収集し、それらの解析を行っている。

汚染された土壌・地下水からトリクロロエチレンやテトラクロロエチレンとともにジクロロエチレン類が検出される。これらジクロロエチレン類の起源を調べるため、既存の観測資料を解析した。従来から、cis-1,2-ジクロロエチレンはトリクロロエチレンの微生物分解によって生成するといわれてきたが、1,1-ジクロロエチレンと1,1,1-トリクロロエタンとの間に高い相関のあることを見だし、1,1-ジクロロエチレンが1,1,1-トリクロロエタンから生成する可能性のあることを明らかにした(図2)。

また、浄化対策として汚染土壌の撤去を実施したS市を対象に、その後の地下水質回復状況や土壌ガス調査資料・地下水文資料を収集し、汚染現況の再現や浄化対策後の地下水濃度の将来予測を実施するための数値モデルの作成を開始した。

### (2) 汚染物質の存在状況把握手法の開発

汚染物質の地下での存在状況を効率よく把握する手法として、本特別研究では表層土壌ガスモニタリングによる高濃度地点の絞り込みとその近くでのボーリング調査を提案している。表層土壌ガス調査法として、これまでにフィンガープリント法、ガス採取・ガスクロ分析法、現場ガスクロ分析法、モービルラボ法や検知管法など、多くの手法が開発・提案されているが、それぞれに特徴があり、各調査段階で調査の目的や汚染状況に即した適切な手法を採用する必要がある。

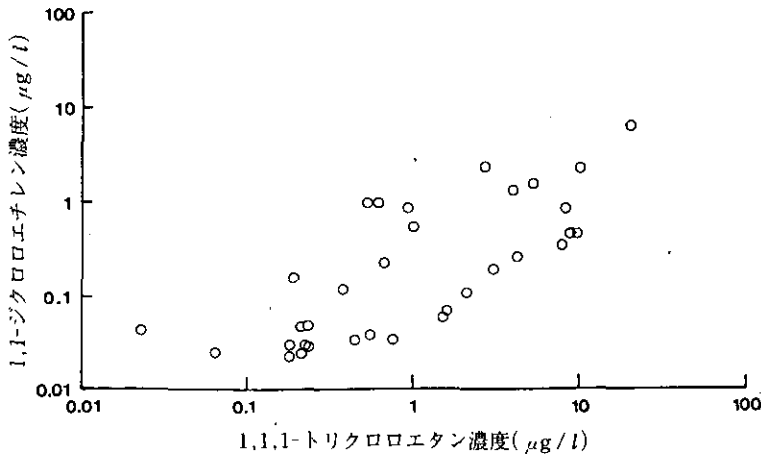


図2 1,1,1-トリクロロエタン濃度と1,1-ジクロロエチレン濃度の関係

そこで、いくつかの汚染現場でこれらの表層土壌ガスモニタリングを行い、それぞれの特徴や適用限界を評価した。

まず、地下水面が地下4 m付近にある浅い土壌や地下水がテトラクロロエチレンで汚染された地域でガス採取・ガスクロ分析法を適用したところ、表層土壌ガス濃度と土壌や地下水中濃度の間に高い相関が認められ(図3)、浅層汚染における地下水汚染プルームの拡がりや汚染源の絞り込みに役立つことが実証された。

また地下水面が地下40 mにある深い土壌や地下水がトリクロロエチレンで汚染された現場で、検知管法を用いて表層土壌ガス調査を行ったところ、高濃度域が2か所見つかった。そこで、これら2か所の土壌ガス最高濃度地点を含め、計14地点で深さ60 mのボーリング調査を実施したところ、汚染物質は一塊になって高濃度に存在していることが判明した。しかも、分析精度の高いフィンガープリント法では、検知管法では分断されていた土壌ガス濃度も連続した形で描かれ、地下における汚染物質の存在状況を反映したパターンが得られた。このことから、高濃度汚染されていると考えられる汚染源事業場内調査でも、検知管法には限界があるものと考えられる。また、表層土壌ガス濃度は、裸地やアスファルト舗装、建屋など、地表面条件に大きく影響され、土壌ガス調査結果の解釈には地表面の被覆状況を考慮する必要があることが明らかになった。

これらの地域も含め、土壌汚染調査結果を収集・解析し、汚染物質の土壌・地下水での存在形態を明らかにした。土壌ボーリング資料を見ると、トリクロロエチレンなどは地下水面の直上や帯水層の底付近で濃度が高くなっていることが多く、土壌の粒径によって帯水層の上にたまったり、帯水層の底にまで落ち込む、室内実験で見られた現象が、実際の地下環境中でも生じていることが検証された。表1はいくつかの汚染現場で測定された土壌・地下水での汚染物質の最高濃度と地質条件を整理した結果である。最高濃度を示す深さはまちまちであるが、これらの資料では帯水層の底に当たるレキ層と粘土層の境界付近に汚染物質が高濃度で存在していることが理解できる。土壌からは100,000 mg/kgを超える高濃度汚染が見いだされることもあるが、こうした極端な高濃度汚染はごく狭い範囲に限られており、すぐ近傍では2~3桁濃度が低下していることから、トリクロロエチレンなどはあまり横方向には拡がることなく地下浸透すると考えられる。

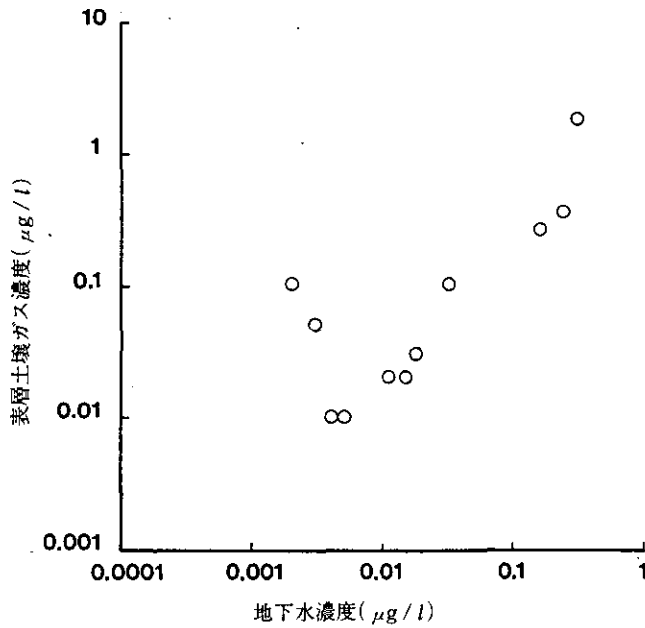


図3 地下水及び表層土壌ガスに含まれるテトラクロロエチレン濃度の関係

表1 地下水汚染事例での土壌・地下水中の汚染物質最高濃度

汚染地区	汚染物質	土 壌 (mg/kg)	深 度 (m)	土 質	地下水 (mg/l)
TK-A	トリクロロエチレン	64	7	粘 土	11
	cis-1,2-ジクロロエチレン	39	7		19.2
TK-B	トリクロロエチレン	0.2	11.5	シルト	1.9
	cis-1,2-ジクロロエチレン	3.43	6.3		5.5
T1	トリクロロエチレン	6,600	2	-	42
	トリクロロエチレン	5.4	37		粘土礫玉石
KT-U	トリクロロエチレン	40	25~27	シルト	360,000
KT-K	トリクロロエチレン	10	0.7	表 土	>10
KM-K	テトラクロロエチレン	360	5.5	シルト	80
KM-T	トリクロロエチレン	138	46	砂質シルト	294
SZ-A	テトラクロロエチレン	8,100	2.1	砂 礫	8.6
SZ-B	テトラクロロエチレン	25,000	0.8	粘 土	22
IT-S	トリクロロエチレン	232	3	砂 礫	1,390
IT-M	トリクロロエチレン	210,000	7~8	砂質シルト	40

### (3) 地下水浄化対策技術の評価

土壌・地下水の浄化には、多額の経費がかかるため、適切な技術を選定し、実施することが必要となる。そこで、これまでに開発され、実用化されているものを中心に、浄化対策の技術評価を行った。本年度は海外で開発されている浄化対策技術評価のレポートを入手するとともに、国内で実施されている浄化対策の実施データを入手し、費用効果、適用条件、実施上の問題点などを中心に評価を行った。

これと並行して、土壌・地下水汚染の主要な浄化技術である地下水の揚水と土壌ガスの抽出について現場実験を行った。汚染地下水の揚水では平均 0.15 kg/hr、土壌ガスの抽出では平均 0.6 kg/hr のトリクロロエチレンが回収され、いずれの方法でもかなりの速度で汚染物質が除去されることが分かった。しかし、浄化効率を高めるには高濃度の汚染物質を抽出する必要があり、浄化システムの停止や稼働を含めた最適運転方法も検討する必要がある。そのため、この汚染現場では、揚水量やガス抽出量を変えたときの物質濃度や除去量の変化を調べ、また周辺観測井の濃度変化を調査して、浄化対策実施時の汚染物質の移動状況を調べた。その一例として、図 4 に抽出ガス量と抽出ガス中のトリクロロエチレン濃度及び除去量の関係を描いた。

さらに、過去に浄化対策として汚染土壌が除去された地域で、その浄化効果を調べるために地下水質の回復状況について継続的な調査を行っている。地下水面上のごく浅い土壌だけが汚染されている場合には、汚染土壌を除去すれば汚染地下水は順調に回復するが、汚染物質が地下水の中にまで侵入している場合には、地下水中の汚染物質まで除去できない。この現場でも、土壌除去後には一時期に急激に地下水濃度が低下したが、その後の低下は遅い。汚染土壌除去後の 1984 年以降も水道水基準を超える汚染が続いており、1989 年までに地下水の汲み上げによって約 17

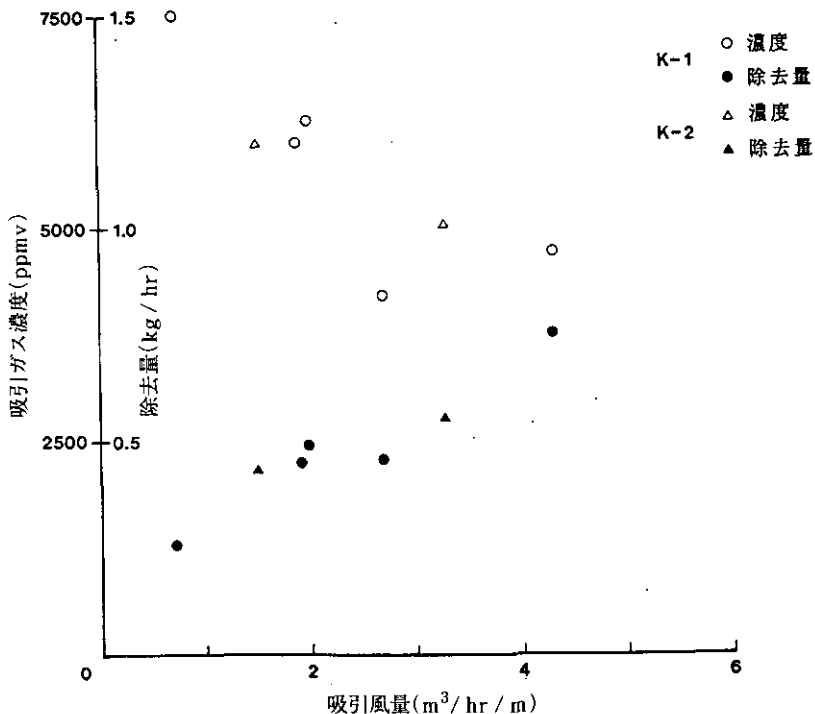


図 4 土壌ガス吸引風量と吸引ガス濃度・除去量の関係

トンのトリクロロエチレンが回収され、最近になってようやく地下水質回復の兆しが見られるようになった。

#### (4) 地下水浄化対策手順の確立

土壌や地下水汚染の浄化には多大な経費が必要になることから、汚染物質の地下での存在状況に応じて適切な浄化技術を選定し、効率的に対策を実施することが重要である。そこで、いくつかの汚染現場において、汚染源の同定から始まる浄化対策に協力し、想定される浄化対策システムの問題点の抽出を行ってきた。その過程で、本特別研究で取り組んでいる表層土壌ガス調査による高濃度汚染地域の絞り込みとボーリング調査による存在状況の把握手法が、土壌・地下水汚染調査法として有効であることが明らかとなった。また、浄化技術については汚染土壌の除去や地下水の汲み上げに加えて、土壌ガスの吸引排除も汚染土壌浄化に効果のあることを明らかにした。これらを併せて、平成4年度には地下水浄化対策マニュアルを整備する予定である。

また、これまでに実施された浄化対策の多くはかなり規模の大きい事業場が汚染源のものである。多額の経費をかければ、時間はかかるものの、地下水の浄化は可能であるが、多くの汚染事例は多額の経費を負担できない小規模な事業場によるものであり、平成4年度にはこのような汚染事例の浄化対策システムの開発も行う予定である。



## 2.8 有害廃棄物のモニタリングに関する研究

平成2～4年度（1990～1992年度）

### 〔研究組織〕 地域環境研究グループ

統括研究官	内藤正明
有害廃棄物対策研究チーム	○中杉修身・安原昭夫・平田健正
社会環境システム部	
部長	後藤典弘
資源管理研究室	天野耕二
水士圏環境部	
土壌環境研究室	細見正明
客員研究員 2名, 共同研究員 2名	

### 〔研究概要〕

有害化学物質による環境汚染が社会的な関心を集めているが、その排出規制が強化され、排ガスや排水の処理が進められるに伴い、難分解性の有害化学物質が廃棄物中に集積されることになり、また、その処理・処分の過程で新たに有害化学物質が生成することが考えられ、有害化学物質の環境汚染源として廃棄物の処理・処分が重要な位置を占めてくると考えられる。米国等では有害廃棄物の不適正な処分による環境汚染が数多く見いだされ、ばく大な費用をかけて修復作業が行われている。また、有害廃棄物の越境移動が国際的な問題となり、その規制に関して条約が採択されるなど、有害廃棄物の処理・処分が国際的にも国内的にも社会的な関心を集めるようになってきた。

我が国においては、これまで廃棄物の処理・処分に伴う大規模な環境汚染は顕在化していないが、焼却灰中のダイオキシン、廃乾電池中の水銀など、一般廃棄物の処理・処分に伴う汚染の可能性が議論されたり、廃油などの有害化学物質を含む可能性を有する産業廃棄物の不法投棄が数多く見られるなど、有害廃棄物に起因する環境汚染が潜在化していることが予想される。一方、都市再開発が盛んになっているが、その対象である工場跡地の土壌が有害化学物質によって汚染され、有害廃棄物として排出されたり、過去の埋立処分地がそれと知らずに開発され、大量の廃棄物が掘り出されるなど、都市再開発が生み出す廃棄物を適切に処理しないと、有害化学物質による環境汚染を拡散させる恐れがある。また、国際条約の中では我が国での規制対象をはるかに上回る廃棄物が有害廃棄物とされており、国内的にも特別な管理が求められる有害廃棄物が増えていくものと予想される。

このように、有害廃棄物の処理・処分に伴う環境汚染のリスクを管理するためのシステムを確立していくことは、今後の環境行政の重要な課題の1つである。有害廃棄物のリスク管理を行っていくためには、まずその発生から処理・処分に至るまでのリスクを正確にモニタリングすることが不可欠であるが、そのための手法はほとんど確立されていない。そこで、本特別研究では、廃棄物の流れに沿って有害廃棄物のリスクを管理するためのモニタリング手法の開発を行う。

本特別研究では、有害廃棄物の処理・処分に伴うリスク評価・管理の考え方を明らかにし、焼却処理にかかわる環境汚染及び埋立処分にかかわる環境汚染の可能性を検討し、これらの結果に

合わせて、そのリスク評価を実施するためのモニタリング手法を開発することを目的として、以下の研究課題を実施する。

#### (1)有害廃棄物のリスク評価に関する研究

有害廃棄物の処理・処分による環境汚染は、その発生が廃棄物の輸送・処理・処分の各過程で考えられること、汚染物質も排出時に廃棄物に含まれているものだけでなく、廃棄物の処理によって非意図的な有害化学物質の発生が考えられることなど、多種多様な形態の汚染が考えられる。それゆえ、有害廃棄物の環境汚染に伴うリスクを管理するには、多様な形態の汚染リスクを総合的に評価する必要がある。本研究では、有害廃棄物の発生動向を把握するとともに、課題(2)及び(3)の結果を合わせて、有害廃棄物のリスク管理の考え方を明らかにし、そのリスクを評価するための指標を確立する。

#### (2)焼却処理による有害化学物質の挙動に関する研究

焼却処理では、廃棄物を高温で処理するため、有害化学物質の一部は分解されるが、一方で非意図的に有害化学物質が生成することが考えられる。有害廃棄物のリスクを評価する上で、焼却処理にかかわる有害化学物質の挙動を把握することが必要となる。そこで、本研究では、熱分解実験や燃焼・焼却実験によって、廃棄物中の有害化学物質の分解と非意図的な有害化学物質の生成を解明する。また、これらの実験と併せて、有害廃棄物処理施設周辺における大気や土壌などの汚染状況を調査・解析することにより、有害廃棄物の焼却処理にかかわる有害化学物質の挙動を解明する。

#### (3)埋立処分に伴う有害化学物質汚染に関する研究

埋立処分地はその跡地を含めて、有害廃棄物による環境汚染源として重要な位置を占めており、その汚染可能性の把握は、有害廃棄物のリスク評価を行う上で不可欠であるが、我が国では有害化学物質による埋立処分地や跡地周辺環境の汚染状況はほとんど把握されていない。そこで、本研究では、有害廃棄物の埋立処分地や不法投棄場所の周辺における大気、浸出水や土壌などの汚染状況を調査することにより、有害廃棄物の処分にかかわる環境汚染の可能性を解明する。

#### (4)有害廃棄物のモニタリング手法に関する研究

有害廃棄物の処理・処分に伴うリスクを管理していくために、有害廃棄物及びその処理・処分に伴う環境汚染を監視していくことが必要となる。廃棄物の有害性を判定するためには、有害廃棄物そのものの監視を行うことが必要であり、また、汚染可能性の動向を把握するためには、廃棄物処理・処分施設周辺の汚染状況を監視する必要がある。しかし、有害廃棄物の処理・処分に関しては多様な汚染物質が考えられ、それらのリスクを総合的に監視する必要がある。そこで、本研究では、廃棄物の有害性とその処理・処分にかかわる環境汚染を総合的にモニタリングする手法を開発する。

各研究課題の相互の関係及び年次計画を図1に示す。

### [研究成果]

#### (1)有害廃棄物のリスク評価に関する研究

有害廃棄物による環境汚染経路の1つである不法投棄と事故について、新聞記事やアンケート

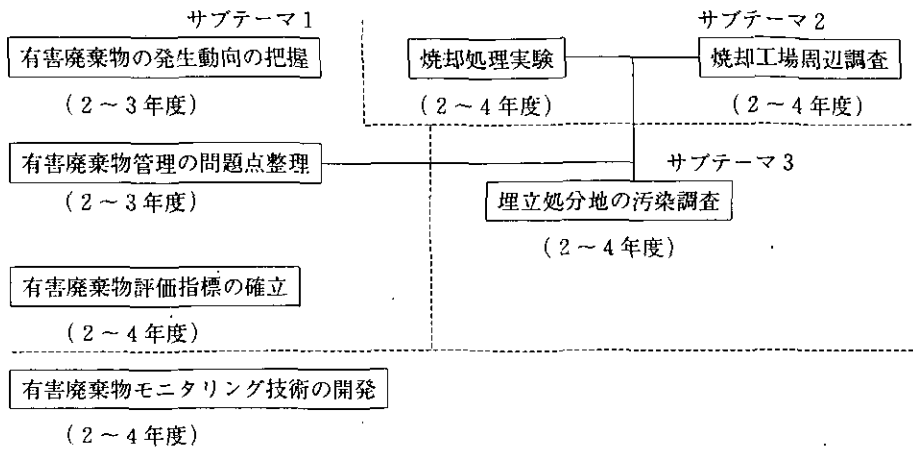


図1 本特別研究の全体構成

調査を行った。有害化学物質を含む可能性がある廃油や汚泥等の不法投棄は年数件報告されており、実際はこれよりも多いと考えられる。また、化学物質事故の調査でも、廃棄物処理にかかわるものが多く見られる。しかし、これらは有害化学物質の汚染源となる可能性を有しているにもかかわらず、汚染調査は必ずしも十分に行われていないようであり、汚染が潜在化している可能性がある。

一方、有害廃棄物によるリスク管理を行っていくためのリスク評価の体系を検討した。有害廃棄物のリスクを管理するには、廃棄物そのもののリスク評価を行って事前に処理・処分方法を決めるとともに、廃棄物処理・処分施設のモニタリングに基づき、そのリスク評価を行っていく必要がある。

## (2) 焼却処理による有害化学物質の挙動に関する研究

前年度に引き続き、実施設と室内実験により、塩素系溶剤やプラスチックの燃焼実験を行い、非意図的な有害化学物質の生成状況を調べた。

実施設を用いたクリーニング業廃棄物(廃テトラクロロエチレン溶剤、廃スラッジ、廃フィルター)の焼却実験では、排ガスから検出された塩素系化合物は規制値以下の塩化水素とテトラクロロエチレン(46 ppb)、クロホルム(83 ppb)、四塩化炭素(10 ppb)などで、ホスゲンやトリクロロエチレンは検出されなかった。テトラクロロエチレンは燃焼条件が不適切であったため、未燃のテトラクロロエチレンが排出されたものと判断される。次に、同じ焼却施設で塩化ビニル製品等の廃プラスチックを約 650℃ で焼却する実験を行った結果、揮発性塩素化合物として、塩化水素、1,1,1-トリクロロエタン(35 ppb)、トリクロロエチレン(14 ppb)、テトラクロロエチレン(23 ppb)が検出された。しかし、燃焼温度を 900℃ 以上にすると、1,1,1-トリクロロエタン(23 ppb)、トリクロロエチレン(8 ppb)、テトラクロロエチレン(検出限界以下)と明らかに塩素化合物の生成が減少した。また、廃プラスチックの燃焼では各種の脂肪族炭化水素、芳香族炭化水素が生成した。周辺環境大気調査を行ったところ、焼却場付近に濃度のピークが見られた。さらに、別の焼却工場でトリクロロエチレンの焼却実験を行い、排ガスと洗浄水をサンプリング・分析したが、揮発性の有機塩素化合物はほとんど検出されなかった。今までに行ってきた実施設での実験結果をまとめると、排ガスとして大気中に排出される塩素系有機物はほとんどないか、

表1 テトラクロロエチレンの熱分解

温度 (°C)	残存テトラクロロエチレン (%)
300	98.3
400	95.7
500	92.6
600	87.2
700	31.5
800	0

表2 テトラクロロエチレン廃溶剤の焼却実験

焼却条件	条件1	条件2
廃溶剤焼却量 (kg/h)	280	247
二次燃焼温度 (°C)	900~927	975~1010
二次燃焼室通過時間 (sec)	2.4	2.5
排ガス温度 (°C)	352~362	372~382
湿り排ガス量 (Nm <sup>3</sup> /h)	17400	17100
酸素濃度 (%)	16.4~17.5	18.7~19.1
一酸化炭素濃度 (%)	0.002	<0.001
塩素化合物濃度		
塩化水素 (kg/Nm <sup>3</sup> )	420	200
ホスゲン (ppm)	ND	ND
クロロホルム (ppm)	ND	0.083
四塩化炭素 (ppm)	ND	0.010
トリクロロエチレン (ppm)	ND	ND
テトラクロロエチレン (ppm)	0.046	ND

きわめて微量であった。

一方、テトラクロロエチレンを一定温度に加熱した石英管を通して熱分解実験を行った結果、700°C 付近から急激に熱分解したが(表1)、少量ながら高塩素化の炭化水素類が生成した。また、テトラクロロエチレンに少量含まれていると思われる水の影響で、ホスゲンや塩化水素の発生が観測されたが、塩素ガスは観測されなかった。一方、テトラクロロエチレンを高温で燃焼させた場合には、塩素系の有機物はほとんど生成しなかった(表2)。

### (3)埋立処分に伴う有害化学物質汚染に関する研究

前年度と同様に、廃棄物埋立処分地からの浸出水中に含まれる化学成分を分析した。サンプルは各種の産業廃棄物が不法投棄された場所からの黒色の浸出水中で、まずろ過してから、ろ液と懸濁物の双方について無機元素をICPで測定した。有機成分については浸出水全体を凍結真空蒸留にかけて揮発性成分だけを分離し、GC、GC/MSで同定定量した。結果を表3と4に示す。無機物濃度は諸外国でのデータよりも低い濃度であった。有機成分は、天然由来と考えられる多くの物質が検出されたが、アルキルベンゼン類、二リン酸テトラエチルなどの人為起源と考えら

表3 産業廃棄物埋立処分地浸出水中の無機元素濃度(μg/l)

元素	ろ液	懸濁物	元素	ろ液	懸濁物
Na	48.3	0.086	Co	<0.02	0.001 <sup>#</sup>
Mg	26.0	0.198	Ni	<0.03	0.002 <sup>#</sup>
Al	<0.1	2.17	Cu	0.061	<0.005
Si	13.3	NM	Zn	<0.02	0.029
P	0.1 <sup>#</sup>	0.3 <sup>#</sup>	Sr	0.656	0.008
Ca	163	1.09	Cd	<0.01	<0.001
Ti	<0.01	0.12	Ba	0.091	0.021
V	0.02 <sup>#</sup>	0.009	Pb	<0.05	0.019
Cr	<0.02	0.003 <sup>#</sup>	K	18.1	0.260
Mn	0.850	0.018	Fe	1.06	6.02

NM: 未測定, #: 検出限界近くで測定精度が低い, <xx: 濃度が検出限界 (xx) 以下.

表4 産業廃棄物埋立処分地浸出水から検出された有機化合物濃度(ng/l)

No	化合物ろ液	濃度
1	C <sub>2</sub> -Alkylbenzene	294
2	C <sub>3</sub> -Alkylbenzene	182
3	C <sub>3</sub> -Alkylbenzene	401
4	C <sub>3</sub> -Alkylbenzene	61
5	C <sub>3</sub> -Alkylbenzene	252
6	C <sub>3</sub> -Alkylbenzene	597
7	2-tert-Butoxyethanol	761
8	3,3,5-Trimethylcyclohexanone	1020
9	3,3,5-Trimethylcyclohexanol	737
10	α, α-Dimethylbenzyl alcohol	1160
11	1,3,3-Trimethylbicyclo [2.2.1] heptan-2-one	2320
12	C <sub>4</sub> -Alkylbenzene	527
13	Tetraethyl diphosphate	56
14	6,6-Dimethylbicyclo [3.1.1] heptan-2-one*	560
15	α, α, 4-Trimethylcyclohexanemethanol	285
16	2,3,3-Trimethylbicyclo [2.2.1] heptan-2-ol*	602
17	2,2,4-Trimethyl-1,3-pentanediol*	485
18	Menthone	121
19	Menthol	569
20	1,3,7-Trioxaspiro [5.5] undecane*	187
21	3,6,6-Trimethylbicyclo [3.1.1] heptan-2-one*	1800
22	4-tert-Butylcyclohexanone	229
23	Tetrahydro-8a-methyl-4H,5H-pyrano [4,3-d] -1,3-dioxin*	457
24	4,7,7-Trimethylbicyclo [4.1.0] heptan-3-one*	1380
25	Octane-4,5-dione	121
26	2,6-Di-tert-butyl-2,5-cyclohexadien-1,4-dione	247
27	2,3-Dihydro-3,4,7-1H-inden-1-one	215
28	N-tert-Butyl-4-methylbenzamide	107
29	1-tert-Butyl-2-methyl-1,3-propanediyl bis(butyrate)*	2660
30	Tris(2-chloroethyl)phosphate	387
31	N-Butylbenzenesulfonamide	331
32	Dibutyl phthalate	8450

\*: 同定が完全ではない.

れるものも検出され、特にフタル酸エステルやリン酸トリス(2-クロロエチル)などのプラスチック添加物が相対的に高濃度で検出された。

#### (4) 有害廃棄物モニタリング手法に関する研究

焼却工場などからの排ガスについては、活性炭に排ガスを通して有機成分を吸着させ、次に塩化メチレンやベンゼンなどで超音波抽出する方法を検討した。実験室でのテストでは、90%以上の回収率で再現よく抽出できた。周辺大気については濃度も低いことから、採取ガス量を多くしていく必要があり、今後の検討課題である。

浸出水については、マスクロマトグラフィーによる測定を想定して、分析精度のチェックを行った。相対標準誤差で20~30%程度の精度で、およそ100 pg レベルのモニタリングが可能であった。最終的には易揮発性物質とその他の揮発性物質の2種類に分けて分析法を系統化し、さらに液クロ等により不揮発性物質を分析する方法が望ましい。

バイオアッセイによる浸出水の毒性モニタリングとして、マイクロトックス及び動物細胞を利用した試験法による有害廃棄物リスク評価の可能性を検討した。不法投棄場所からの浸出水のマイクロトックス試験では、浸出源の浸出水から高い毒性が検出され、流下するに従い毒性が減少することが観察された。また、クロロフェノール類についてマイクロトックス試験により毒性を測定した。その結果を表5に示す。

土壌ガスのモニタリングでは、ポータブルガスクロによる自動分析を試みた。トリクロロエチ

表5 マイクロトックスによるクロロフェノール類のEC<sub>50</sub>濃度(15分後)

化合物	EC <sub>50</sub> 濃度 (mg/l)
Phenol	46
2-Chlorophenol	45
3-Chlorophenol	14
4-Chlorophenol	1.9
2,3-Dichlorophenol	6.9
2,4-Dichlorophenol	3.5
2,5-Dichlorophenol	18
2,6-Dichlorophenol	26
3,4-Dichlorophenol	1.8
2,3,4-Trichlorophenol	0.97
2,3,5-Trichlorophenol	0.42
2,3,6-Trichlorophenol	12
2,4,5-Trichlorophenol	1.3
2,4,6-Trichlorophenol	12
3,4,5-Trichlorophenol	0.73
2,3,4,5-Tetrachlorophenol	0.024
2,3,4,6-Tetrachlorophenol	4.3
Pentachlorophenol	0.54

レンなどによる汚染が明確な地域での調査では、ある程度実用的な方法であることが分かった。しかし、正確な分析にはGC/MSによる測定が望ましい。GC/MSによる土壌ガスのモニタリング例を図2に示した。汚染地域が明らかでない場合を考えると、さらに低濃度をモニタリングする必要があり、平成4年度には前段濃縮装置を併用してモニタリング法の高度化を図る予定である。

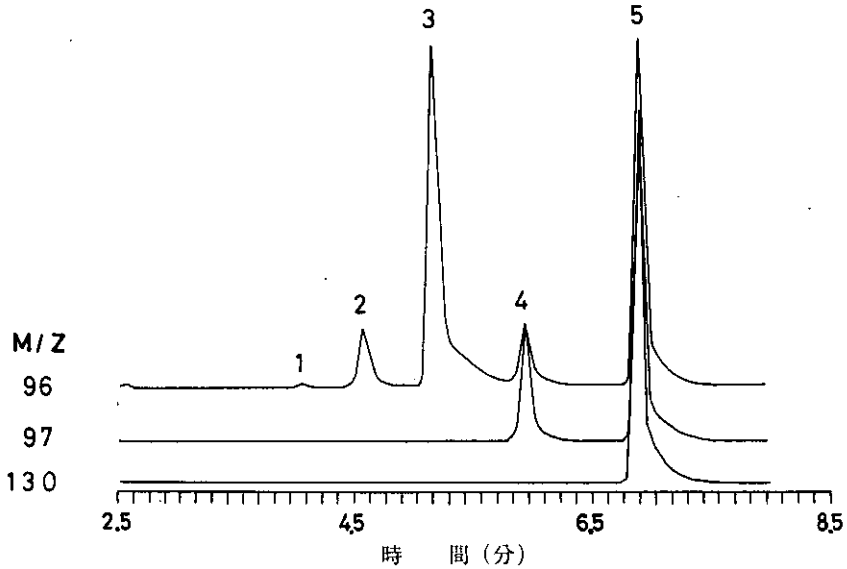


図2 GC/MSによる土壌ガスの分析例

ピーク No. (濃度;  $\mu\text{g}/\text{l-gas}$ ): 1=1,1-Dichloroethylene (trace);  
2 = trans-1,2-dichloroethylene (0.02); 3 = cis-1,2-dichloroethylene (0.20); 4=1,1,1-trichloroethane (0.58); 5=trichloroethylene (2.3)

## 2.9 有用微生物を活用した小規模排水処理技術の開発と高度化に関する研究

平成2～4年度（1990～1992年度）

### 〔研究組織〕 地域環境研究グループ

統括研究官	内藤正明
水改善手法研究チーム	○稲森悠平・松重一夫・今井章雄
湖沼保全研究チーム	相崎守弘
新生物評価研究チーム	近藤矩朗・岩崎一弘
水士圏環境部	
土壌環境研究室	細見正明
社会環境システム部	
資源管理研究室	原沢英夫
客員研究員 7名, 共同研究員 8名	

### 〔研究概要〕

我が国の中小都市河川、湖沼、内湾等の公共用水域においては、水質汚濁、富栄養化が依然として進行している。この大きな原因としてあげられるのが、水質汚濁防止法において有害物質を除いて未規制の日平均排水量  $50\text{ m}^3/\text{日}$  未満の小規模事業場排水及び同じく未規制の個別家庭から排出される生活雑排水である。これらの排水は小規模排水と呼ばれており、公共用水域の汚濁負荷源の70%近くを占めるに至っている。それゆえ、公共用水域の水質改善を図る上で小規模排水対策は必須かつ緊急の課題である。

小規模排水のほとんどは有機物を含むため、処理対策の手法として微生物の浄化力の活用が期待される。本特別研究ではこのような背景のもとで、バイオテクノロジー等を活用し、有用微生物を用いた排水の高度処理技術の開発を行い、水質改善に資することを目的とする。

本特別研究を達成するために、以下の課題について研究を実施する。

#### (1) 小規模排水の特性及び生物処理の適用性に関する研究

食品製造業、水産加工施設、レストラン等の事業場及び個別家庭の浄化槽から排出される多量に有機物を含む排水の性状、負荷変動を調査し、それらの排水の生物学的分解性を調べ生物処理、物理化学処理の適用の可能性について検討し、課題(2)及び(3)を遂行するのに必要な基礎知識を集積する。

#### (2) 小規模排水中の窒素、リン除去システムの開発

小規模排水中に含まれる窒素、リン及び有機物等を分解除去し発生汚泥の減量化に貢献する水改善に有用な細菌、原生動物、微小後生動物などの微生物を組み込んだ小規模排水処理システムの開発を主として行う。同時に遺伝子操作技術等で得られた有用微生物の培養法、定着化法の開発を行う。



### (3) 小規模排水処理プロセスの技術及びシステム評価

課題(2)で得られた有用微生物の組み込まれた小規模排水処理プロセスの有効性及び効果についての地域性、費用負担、水質基準等を考慮に入れた評価を行うと同時に、組換え等有用微生物については、その活用の可能性を含めマイクロコズム試験等による評価を行い、最適な水改善の高度化システムを提言する。

各研究課題の相互関係及び年次計画を図1に示す。

## 【研究成果】

### (1) 小規模排水の特性及び生物処理の適用性に関する研究

小規模未規制排水を排出する業種として酒類製造業、畜産食料品製造業及びみそ・醤油製造業を対象として排水特性を調査した。その結果、全体で見ると何らかの処理施設を設置しているところは約60%(82施設中52施設)であり、ほとんどの施設が沈殿マスのような簡易なものしか設置されていないこと、有機汚濁負荷量は、畜産食料品、みそ・醤油、酒類製造業の順に高いこと、有機汚濁に対して、みそ・醤油排水では有機性窒素、畜産食料品排水では無機性窒素と油分、酒類排水では懸濁物質、窒素、リンの寄与が大きく排水特性に応じて適正な処理方法を活用することが必要なことが明らかにされた(図2)。

### (2) 小規模排水中の窒素、リン除去システムの開発

1) 小規模合併処理浄化槽の高度処理方式として開発している循環嫌気ろ床・接触曝気方式における有機物及び窒素除去能と密接に関連あると考えられる操作因子としてのpHに着目して高度な水質を得る上での循環の効果について検討した。その結果、pHは硝化反応に大きく影響し、

## 研究フローチャート

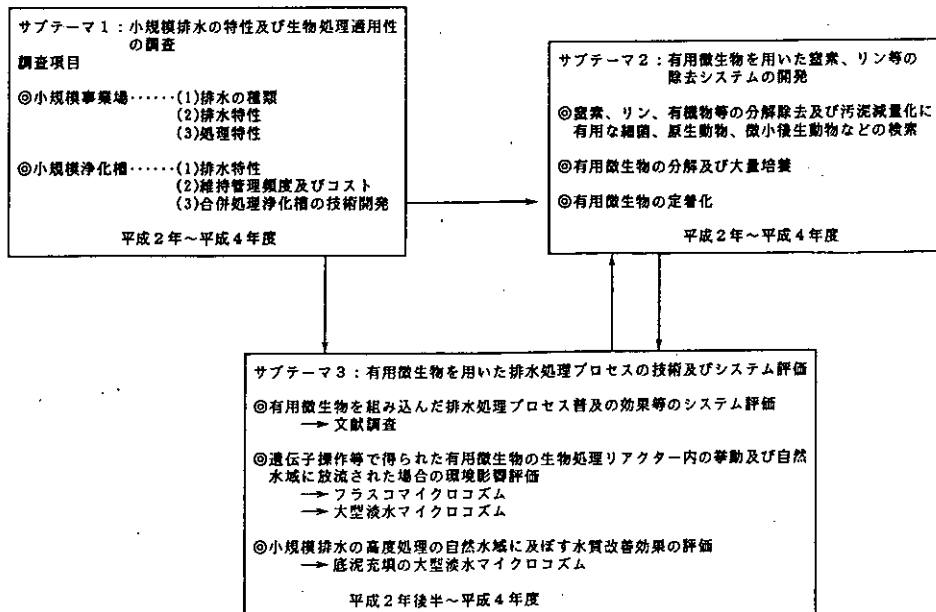
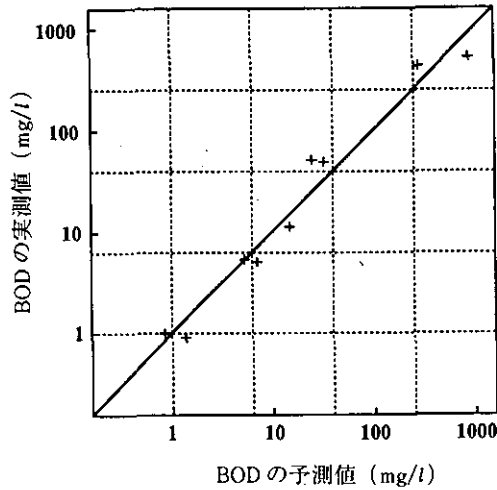


図1 本特別研究の全体構成

循環を行わない方式で認められる pH 4 では硝化能は抑制され、pH 8 付近で硝化能は最大値を示したが、循環を組み込むことにより生物学的硝化脱窒が効果的に起こり硝化で低下した pH 分を脱窒で生成するアルカリ度補給で中和することから、pH は 7 付近で安定し、外部からの pH コントロールを組み込むことなく窒素除去能、有機物除去能を高く保持できるだけでなく流出懸濁物を低く抑制し高い透明度の処理水の得られることが明らかにされた(図 3)。

2) 小規模事業場の難分解性排水を微生物活性炭流動床方式において生分解能と密接に関連すると考えられる操作因子として HRT(水理的滞留時間)に着目して検討を行った。その結果、HRT を長くすることにより分解能が高まり HRT が重要な因子であることが確認された。また、



回帰式  

$$\log \text{BOD} = 0.42 \log \text{SS} + 0.88 \log \text{T-N} + 0.28 \log \text{O-N} + 3.21$$
 (重相関係数 0.98, サンプル数 9)

図 2 飲食産業における BOD と他の項目との関係

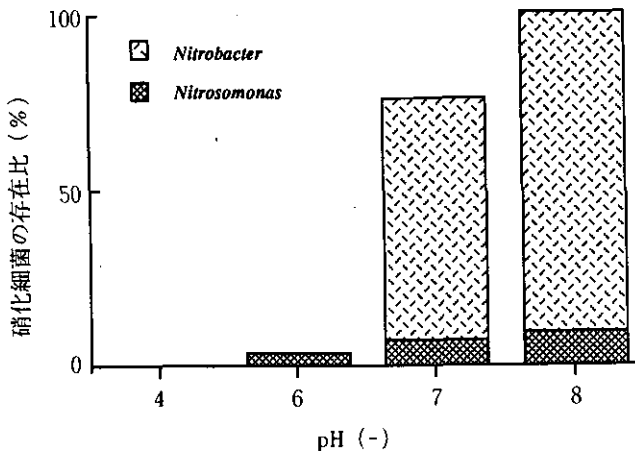


図 3 循環嫌気・好気生物膜法の好気槽における pH8 の硝化細菌数を 100 としたときの各 pH の硝化細菌の存在比

本処理方式は他の処理方式に比べて非常に高い有機物除去能が得られたが、これは活性炭への有機物の吸着と生物膜による生分解の連動が起こっているからであることが明らかにされた(図4)。さらに上記の難分解性排水に含まれると考えられる合成有機化合物を対象としてその分解菌の検索等を行った。その結果、有用微生物としての *Pseudomonas aeruginosa* が高い分解能を有すること、また、包括固定化することにより安定した性能が保持されることが明らかにされた。

3) 有用微生物輪虫類 *Philodina erythrophthalma* を混合微生物培養系に定着させるための環境条件について検討を行った。その結果、洗米排水等に含まれる増殖因子を添加することと同時に初期に接種する輪虫の量を多くすることにより、早く定着化し優占化し混合培養系で 5000 個体/ml 程度まで高められることを明らかにすることができた(図5)。また、このような条件で

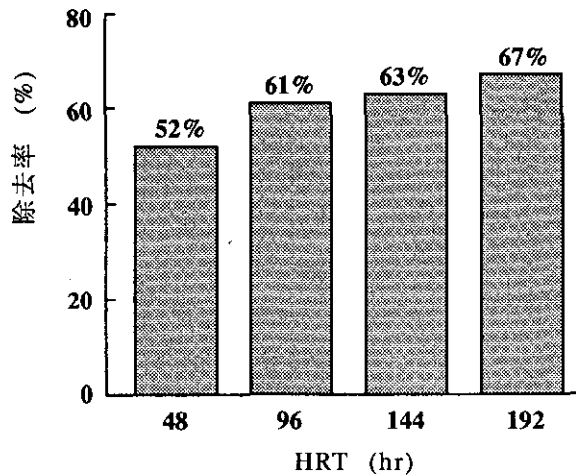


図4 活性炭流動床法における HRT と処理水 DOC との関係

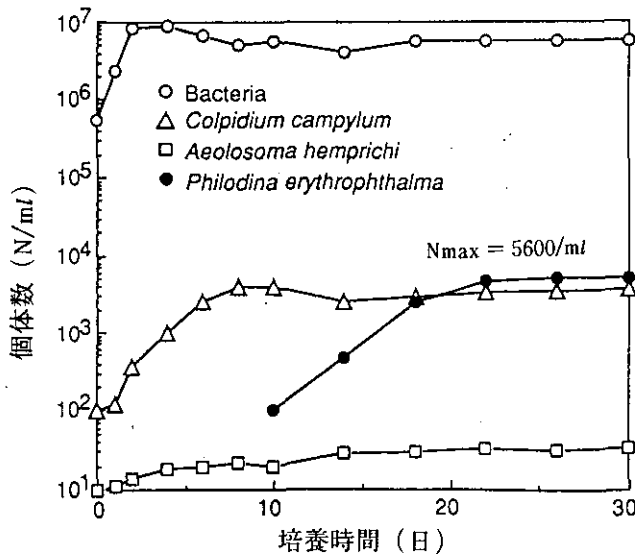


図5 混合微生物培養系における輪虫類 *Philodina erythrophthalma* の洗米排水添加系における定着特性

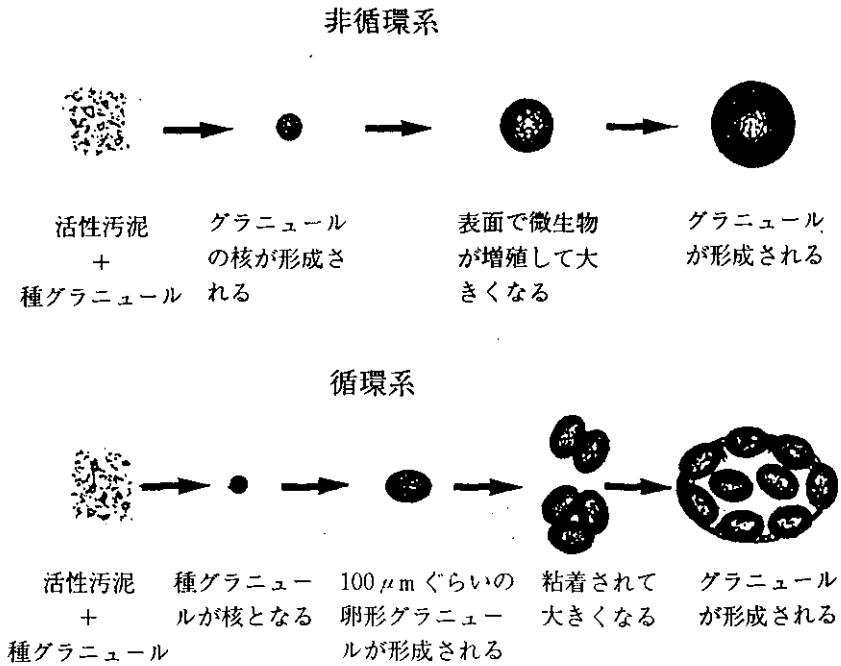


図6 自己造粒生物膜プロセスにおける循環の有無と造粒機構との関係

は透明度の高い水質が得られることが確認できた。

4) 小規模の高濃度排水を排出する食品産業を対象とし、その適正生物処理法について検討を行った。その結果、微生物自身の造粒現象を活用した循環式自己造粒・生物膜プロセスにおいては、適正な負荷条件ではち密なベレットが生成され(図6)、反応槽当たりの微生物量を従来の5000 mg/lから10万 mg/lにまで高められ、高濃度排水をコンパクトな方式で有機物及び窒素までも効果的に除去できることが明らかにされた。

### (3) 小規模排水プロセスの技術及びシステム評価

1) 藻類、原生動物、細菌、後生動物からなる安定微生物生態系マイクロコズムにおける有用組換え微生物の定着性について検討を行った。その結果、有用組換え微生物はその種類によって定着できたりできなかったりすることが明らかにされた。

2) 難分解性物質を含有する小規模排水を微生物活性炭流動床法で処理した場合としない場合におけるマイクロコズムの構成微生物に及ぼす影響を検討した。その結果、生物処理しない場合では低い添加量で死滅したのに対し、生物処理した場合は系の安定性が維持されることが明らかにされた。

## 2.10 都市域における冬期を中心とした高濃度大気汚染の 予測と制御に関する研究

平成2～4年度（1990～1992年度）

### 〔研究組織〕 地域環境研究グループ

統括研究官	内藤正明
都市大気保全研究チーム	○若松伸司・上原 清・鶴野伊津志
交通公害防止研究チーム	森口祐一

### 地球環境研究グループ

オゾン層研究チーム	笹野泰弘
温暖化現象解明研究チーム	酒巻史郎・横内陽子
酸性雨研究チーム	村野健太郎

### 化学環境部

計測技術研究室	向井人史
---------	------

### 大気圏環境部

大気動態研究室	松井一郎
---------	------

客員研究員 12名, 共同研究員 1名

### 〔研究概要〕

都市及びその周辺地域において光化学大気汚染、窒素酸化物大気汚染及びエアロゾル大気汚染は未解決の大きな課題である。NO<sub>2</sub>高濃度大気汚染は特に東京、神奈川、大阪地域においては深刻な状況にある。1985年から1990年にかけての東京首都圏における観測結果によればNO<sub>2</sub>濃度は改善の傾向は見られず、特に12月に高濃度が出現している。また環境基準が達成できなかった地域はこの5年間で広域化している。このような大都市域におけるNO<sub>2</sub>大気汚染の主要な原因は自動車からの排出ガスであると考えられるが、自動車の種類や走行状態等については近年大きな変化が見られ、また地域による差も大きい。

一方、気象、拡散、反応等の諸条件によってNOがNO<sub>2</sub>に変化するメカニズムについても未知の点が多く、発生源、気象、反応等を含めた総合的な理解が必要である。

本特別研究の目的は、冬期を主体に都市スケールの窒素酸化物、炭化水素、硫黄酸化物、光化学オキシダント、粒子状物質等による大気汚染を、物質間の反応も含めた一連の現象として取り扱い、発生源と環境濃度との因果関係を明らかにし、もって、その制御・保全の方法の立案及び、望ましい大気環境の質の検討に資するものである。

具体的には(1)都市域における冬期を中心とした高濃度大気汚染の動態解明に関する研究、(2)数値モデルの開発とその応用に関する研究、(3)発生源対策手法の確立に関する研究を総合的にとり行い、都市及びその周辺地域における冬期の高濃度大気汚染対策のシナリオを明らかにすることを目的としている。

平成3年度においては初年度に実施した冬期のフィールド観測の結果を詳細に解析し大気汚染の立体分布の特徴を解明するとともに、一般環境大気汚染測定局における観測データを解析し、NO<sub>2</sub>濃度の時間変化パターンを明らかにした。またこの特徴をモデル計算により再現し、NO<sub>2</sub>

生成の要因を検討した。

### 〔研究成果〕

平成3年度においては主に冬期の高濃度汚染の生成メカニズムをフィールド観測データの解析並びにモデル研究により明らかにした。

#### (1) 冬期における大気汚染物質の立体分布

1990年12月1日と3日の2日間にわたり南関東中部地域において航空機にSO<sub>2</sub>(UV蛍光法)、NO<sub>x</sub>、O<sub>3</sub>(化学発光法)、CO(IR相関分光法)、の自動測定器、気象測定装置等を搭載し図1の飛行パターンで飛行し、1日、2回の観測を行った。機上では図1に示した2断面の3高度でフィルターサンプリング、及びカラムランプリングを実施するとともに各コース2サンプルずつのガラスボトルサンプリングも実施した。

12月1日に南側のコースにおいて実施した各汚染物質ごとの高度分布を、図2、3に示す。図2は13時50分～14時54分の間の、図3は19時37分～20時41分の間のコース上の全データの平均値である。観測は埼玉県南部(朝霞)と茨城県(守谷)を結ぶ約40kmの直線上で実施した。観測時における浦和での上層風は14時には600mまでは南～南東、1200mまでは東風で、20時には1000mまでは南西～西風となっていた。午後の観測では、CO、NO<sub>x</sub>、SO<sub>2</sub>ともに垂直方向に傾度があり、O<sub>3</sub>は600mの高度でピークを示していた。これは光化学反応によるものと考えられる。一方、夜の観測では300mの高度においてはCO、NO<sub>x</sub>、SO<sub>2</sub>ともに午後の観測時よりも濃度が低下していたが、600m、900mの高濃度においては濃度の減少の割合が小さく垂直方向に均一化していた。O<sub>3</sub>に関しては300mの高度で減少しているのに対し、600、900mではほぼ同レベルの濃度が観測された。この観測結果から冬期においても光化学反応により都市域上空においてO<sub>3</sub>が生成されていることが明らかとなった。このため上空においてNO<sub>2</sub>

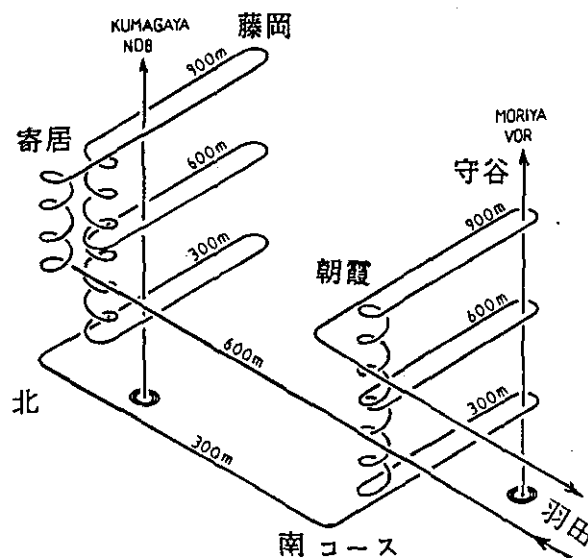


図1 1990年12月1日に実施した航空機観測コースと飛行パターン  
北側コースは寄居-藤岡間、南側コースは朝霞-守谷間で実施した。

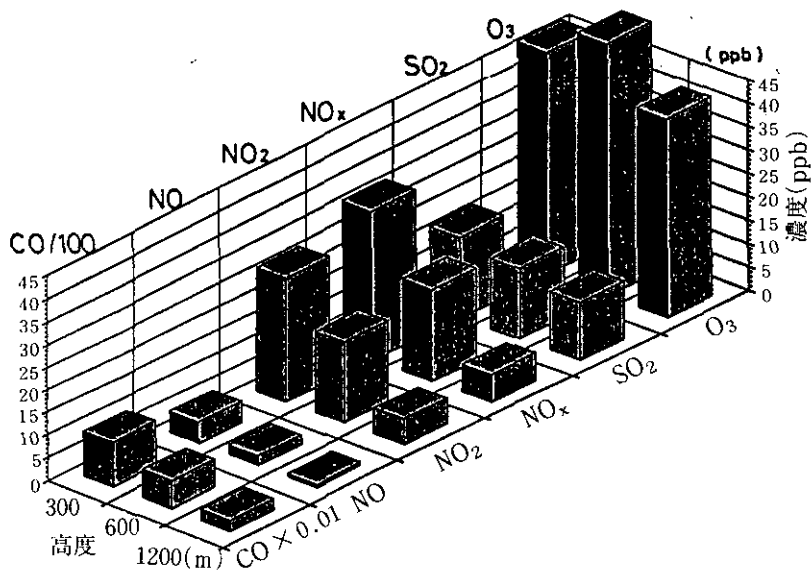


図2 1990年12月1日、13:50-14:54に観測した南側コースにおける大気汚染物質の垂直分布

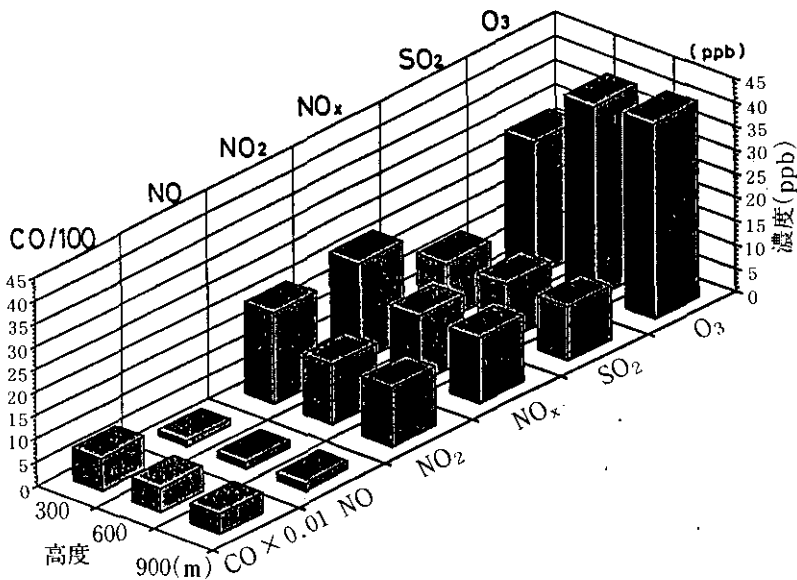


図3 1990年12月1日、19:37-20:41に観測した南側コースにおける大気汚染物質の垂直分布

の比率が相対的に増加していた。このことを定量的に明らかにするために地上観測データ及びモデルを用いた解析を行った。

## (2) 都市域における冬期の高濃度汚染の特徴

高濃度汚染出現日の特徴を明らかにするために1983年から1989年の間に得られた一般環境

大気汚染測定局の時間値データを解析した。この中で10月から翌年3月までの半年間のデータを冬期データとして扱い、東京都内、横浜市、川崎市の一般環境測定局でNO<sub>2</sub>の時間値が60 ppbを超えた測定局が85%以上出現した場合(1時間でも)で、時間平均風速が2 m/s以下の場合を高濃度日として抽出し、同日の東京23区内の測定局の時間平均値を求めた。高濃度の発現はNO<sub>2</sub>の時間変化パターンから

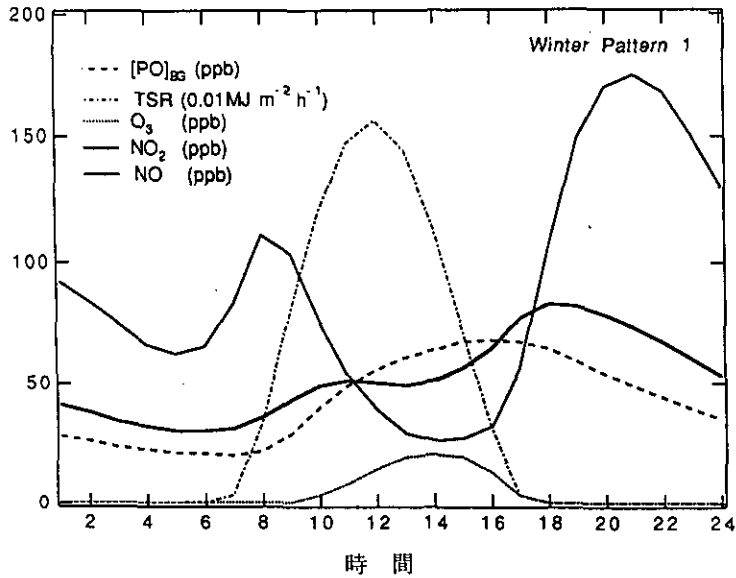


図4 東京都における冬期の平均的な大気汚染物質等の時刻変化パターン(晴天日)

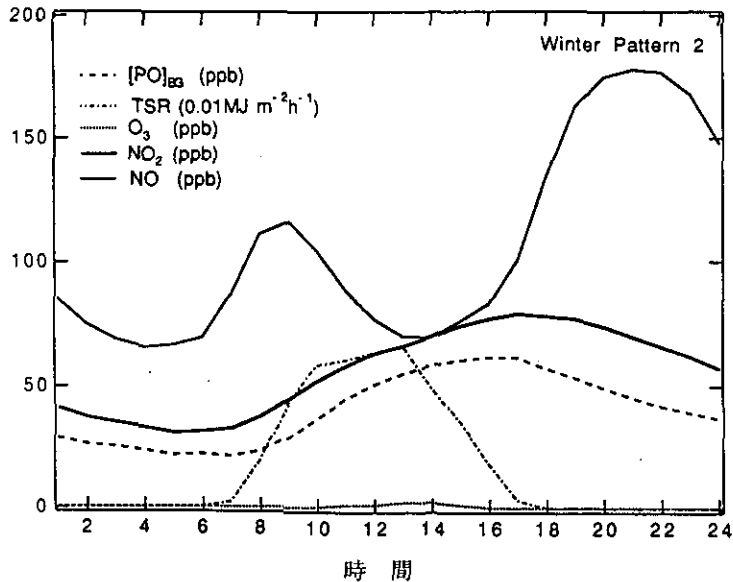


図5 東京都における冬期の平均的な大気汚染物質等の時刻変化パターン(曇天日)



パターン1 晴天でNO<sub>2</sub>は二段階変化を示す(延べ53日の平均値)

パターン2 曇天でNO<sub>2</sub>は一山型の変化を示す(延べ19日の平均値)

に分類される。図4, 5はそれぞれのパターンのNO, NO<sub>2</sub>, O<sub>3</sub>と全天日射量の時間変化を示すが、この違いは概ね日射量の相違によるものである。NO<sub>2</sub>の高濃度出現時の各汚染物質の時間変化の特徴は次のとおりである。

パターン1の場合には、NOは二山型の時間変化を示す。午前7時から8時にかけて110ppbに達し、午後は18時頃から急激に濃度が上昇し20時から22時にかけて175ppbの高濃度のピークをとる。また、日中には濃度が減少し最低濃度は14時に26ppbとなる。一方、NO<sub>2</sub>はNOに約1時間遅れて、午前8時から10時にかけて濃度が36ppbから50ppbに上昇し、15時頃まではその濃度レベルを維持するが、12時から14時にかけて濃度変化に「くぼみ」がみられる。その後、16時から19時にかけて濃度が上昇し19時には82ppbに達し、以後は漸減する。ここで、特徴的なことはNO<sub>2</sub>の午後の濃度の上昇がNOよりも先に始まり、NO<sub>2</sub>のピークが18時から19時に現れ、これに約2時間遅れてNOがピークをとる点である。一方、オキシダント濃度は夏期と異なり高濃度には到らないがNOの濃度変化と逆相関のパターンを取り14時頃に最高濃度20ppbとなる。しかし、その濃度は一般環境のバックグラウンドレベルとされる40ppbに比べるとかなり低い。

パターン2では、NOはパターン1と同様に二山型の時間変化となるが、日中でも最低濃度は13時から14時にかけて70ppbであり、この値は早朝の最低濃度レベルを上回っている。これに対して、NO<sub>2</sub>は一山型の変化を示し、17時頃に最高濃度80ppbをとり、12時から23時までは60ppb以上となる。オキシダントは1~2ppbを示すに過ぎず、これはパターン1に較べて日射量が少ないこと(パターン1の40%程度)と、日中のNOの濃度レベルが高いためと考えられる。

O<sub>3</sub>濃度とNO<sub>2</sub>濃度の和(=[PO])から発生源の一次寄与の割合を差し引いた[PO]<sub>BG</sub>,

$$[PO]_{BG}=[NO_2]+[O_3]-\alpha[NO_x]$$

の時間変化も図4, 5に示されている。ここで、発生源からの直接寄与率 $\alpha$ は0.1を利用した。[PO]<sub>BG</sub>は天然のバックグラウンドO<sub>3</sub>と光化学反応によるO<sub>3</sub>の寄与を含むものであるが、午前10時頃から濃度が上昇しはじめ15時前後にピークを示している。その濃度レベルは、午前8時頃までは30から20ppbで推移し、15時頃に65ppb程度のピークをとり、深夜まで40ppb以上の濃度レベルである。また、パターン1とパターン2の[PO]<sub>BG</sub>の濃度差は最大で5ppb程度である。

### (3)モデルを用いたNO<sub>2</sub>の時刻変化の研究

光化学ボックスモデル(PBM)を用いて冬期における高濃度発現日の汚染物質の平均的な濃度変化を検討する。PBMの基本方程式は、

$$\frac{\partial C_i}{\partial t} = U \frac{\partial C_i}{\partial x} + \frac{\partial Z_i}{\partial t} \frac{\partial C_i}{\partial z} + \frac{Q_i}{Z_i} + R_j(C_1, C_2, \dots, C_n)$$

ここで、

- $C_j$  汚染質  $j$  の濃度 ( $j = 1, \dots, n$ ;  $n$  は反応成分数である) (ppm)
- $U$  領域内の平均風速 (m/s)
- $Z_i$  混合層高度 (m)
- $Q_j$  汚染質  $j$  の発生源強度 (ppm m/s)
- $R_j$  反応による汚染質  $j$  の生成速度 (ppm/s)

と書かれる。PBMはこの式から明らかなように混合層以下を一つのボックスとして扱い、その中で発生変動、移流、上空からの取り込み( $Z_i$ の成長による単純な取り込みであり、混合層上部の乱流拡散による取り込みはモデル化されていない)、光化学反応を含むモデルであり、混合層高度  $Z_i$  以下の平均濃度を計算している。濃度計算に当たっては東京都心部における平均的な発生変動を入力した。

光化学反応モデルは、最新のモデルであるCBM-4を用いた。CBM-4は81本の反応式と33個の反応物質を有しているが、本計算では、 $HO_2$ ラジカルの終末反応式を1本追加したものを利用した。また、光化学反応の計算はGear法を利用した。

$NO_x$ と炭化水素の発生源の強度と時間変動は東京の中心部15kmメッシュの昭和58年度ベースの発生量を用いた。計算の初期濃度は実測値をもとに設定し、炭化水素成分はNMHCの実測値を発生源組成をもとに与えた。 $HNO_3$ のみには初期濃度として1.5ppbを与え、上空から取り込まれる $O_3$ 濃度は冬期の航空機による観測結果をもとに60ppbに設定した。光化学解離定数は実測の日射量と晴天時の理論値との比をもとに求めた。気温、湿度、風速は各パターンについての時間平均値を利用した。なお、冬期の高濃度日には平均風速が1m/s程度と極めて弱風なので移流の効果は無視した。PBMによる計算は午前5時から18時間行った。図6、7には冬期の高濃度出現日のパターン1、2に対応する計算結果を示した。

パターン1については $NO$ 、 $NO_2$ 、 $O_3$ の計算値は全般的に実測値と一致している。ただし、15時以降は $NO$ についての一致性はよくない。これは用いられている混合層が接地逆転層を考慮していないためと考えられる。計算された $NO_2$ 濃度は数ppb程度低めであるが、図4で指摘した12時から14時にかけて濃度変化の『くほみ』がよく再現されている。さらに、 $O_3$ 濃度も極めてよく一致している。一般的に、ボックスモデルによる濃度予測はボックス全体の平均濃度を扱うため、地上付近の $O_3$ は過大推定を、 $NO$ 、 $NO_2$ については過小推定を行うが、冬期の場合はこの傾向がわずかに見られるものの濃度の一致性は極めてよいといえる。

パターン2の場合も、汚染物質の全般的な濃度パターンはよく再現されている。しかし、日中の $NO$ 、 $NO_2$ の一致性はパターン1に較べて悪いが、 $NO_2$ の増加傾向は一致している。日中における $NO$ 、 $NO_2$ の変化は混合層高度の推定値に大きく依存している。

#### (4) $NO_2$ の生成過程の解析

以上の結果から今回利用した光化学ボックスモデルは冬期の高濃度 $NO_2$ 汚染解析のために有用であることが明らかとなったため各種の要因に対する感度解析を行って $NO$ が $NO_2$ に変化するメカニズムの検討を行った。具体的には冬期のパターン1、2について、反応の有無、バックグラウンド $O_3$ の寄与、暗反応のみの寄与の合計4ケースの計算を行った。以下では反応有りの計算結果を基本計算(以下、Control Run)と呼ぶ。図8、9には、それぞれ、冬期のパターン1、2について感度解析の結果を $NO_2$ について示した。

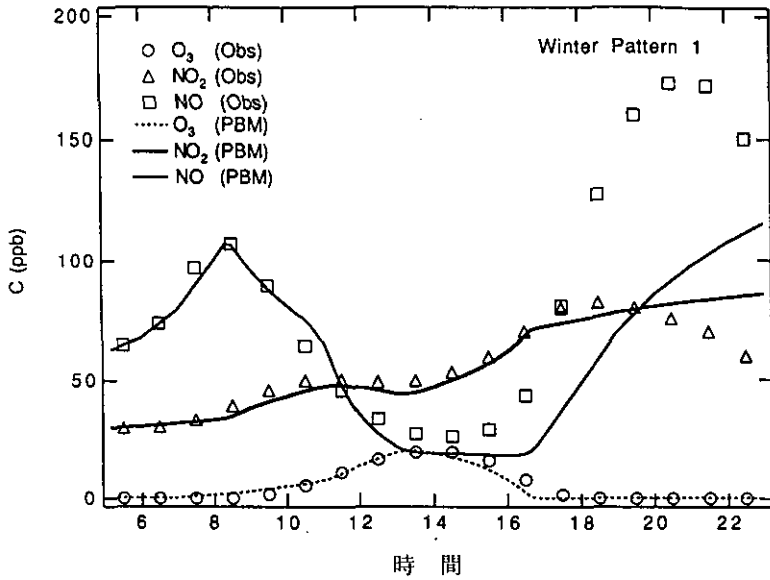


図6 冬期の晴天日における計算結果(PBM)と実測値(Obs)との比較

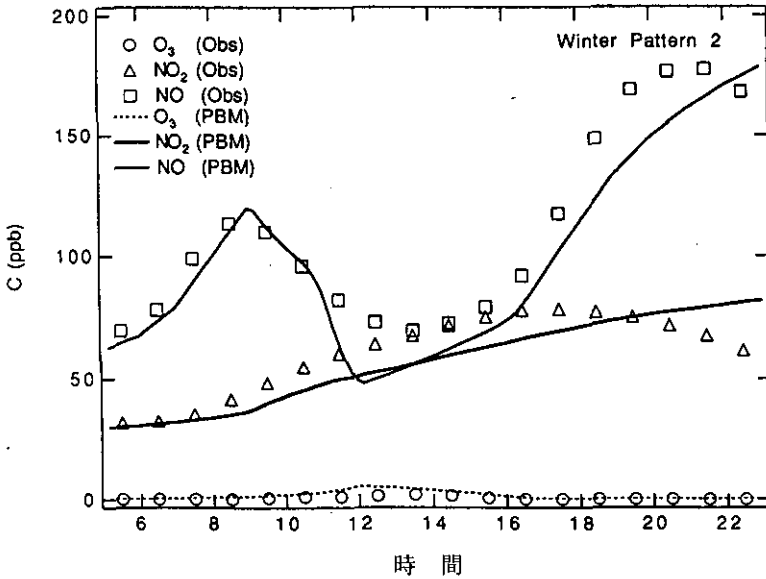


図7 冬期の曇天日における計算結果(PBM)と実測値(Obs)との比較

図8の結果から、反応なしの場合(図中のNo Reaction)では、 $\text{NO}_2$ 濃度は20~35 ppb程度にしかならず、図には示していないがNO濃度は実測値を大きく上回る。さらに、バックグランド $\text{O}_3$ をゼロとした場合(図中のB.G.  $\text{O}_3 = 0$ )と比較することにより、 $\text{NO}_2$ 濃度の時刻変化には、午前中は混合層の発達に伴って上空から取り込まれるバックグランド $\text{O}_3$ によるNOの酸化の寄与が大きく、午後からは光化学反応の相対的な寄与が大きいことが明らかとなった。

反応系が非線型であるため厳密にバックグランド $\text{O}_3$ と光化学反応の寄与を分離することは

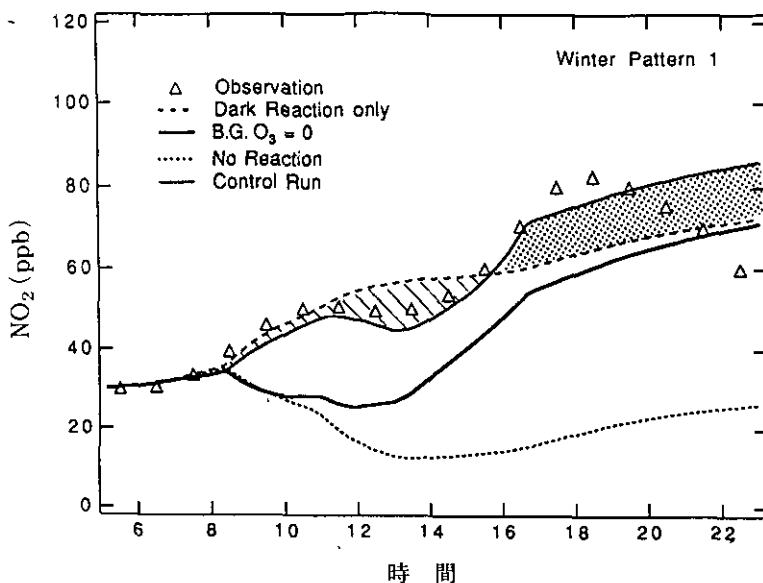


図8 冬期の晴天日におけるO<sub>3</sub>濃度の感度解析結果

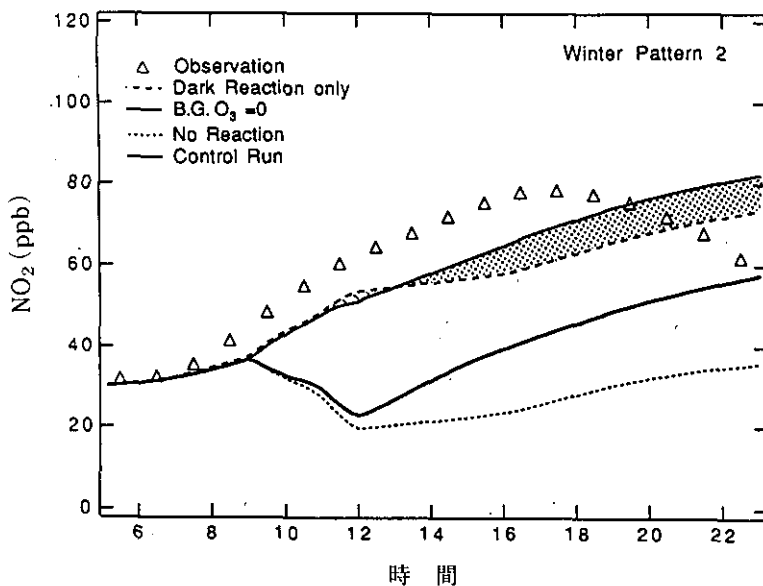


図9 冬期の曇天日におけるO<sub>3</sub>濃度の感度解析結果

きないが、NO<sub>2</sub>濃度に対する発生源排出の直接寄与、バックグラウンドO<sub>3</sub>による反応の寄与、光化学反応の寄与をある程度評価することができる。計算結果からは、11時から12時の平均値として、一次排出、バックグラウンドO<sub>3</sub>、光化学の寄与はそれぞれ、ほぼ41%、46%、13%であり一次排出とバックグラウンドO<sub>3</sub>の効果が大きい。一方、15時から16時の平均値では、同様にそれぞれ21%、33%、46%となり、光化学反応による寄与が増大する。

同様な傾向は図9に示した冬期のパターン2においても確認される。パターン2の場合、日中

は光化学反応による寄与は比較的小さく、バックグラウンド $O_3$ の効果が支配的であることが分かる。また、図8の結果と同様に14時以降は $NO_2$ 濃度に光化学反応の『上乘せ』効果が見られる(図中のドッドの領域)。図8と同様な寄与率の計算からは、15時から16時の平均値では、一次排出、バックグラウンド $O_3$ 、光化学の寄与は、それぞれ36%、40%、24%となる。冬期のパターン2(曇天の場合)でも反応による寄与が合計で64%に達しており一次排出の寄与を上回っている。光化学反応の寄与率が24%に達するということから、 $O_3$ 濃度としては極めて低濃度であるが $NO_2$ 生成の観点からは重要な役割を持つことが分かった。ただし、これらの数値はモデル計算時の初期条件や境界条件、気象条件等によって異なるため、今後は三次元モデルを用いたより定量的な解析が必要である。

平成3年度においてはこれらのフィールド研究、モデル研究と合わせて風洞を用いた研究を実施し、市街地における大気汚染物質拡散機構の把握を行うとともに、NOの酸化に及ぼす乱流混合過程を解明するための高応答トレーサーガス計測システムの開発を行った。

## 2.11 閉鎖性海域における水界生態系機構の解明 および保全に関する研究（初年度）

平成3～6年度（1991～1994年度）

### 【研究組織】 地域環境研究グループ

統括研究官	内藤正明
海域保全研究チーム	○竹下俊二・木幡邦男・中村泰男
湖沼保全研究チーム	相崎守弘
水改善手法研究チーム	稲森悠平
水圏環境部	
部長	渡辺正孝
水環境工学研究室	海老瀬潜一・原田茂樹
土壌環境研究室	高松武次郎
社会環境システム部	
資源管理研究室	原沢英夫
客員研究員	8名

### 【研究概要】

内湾の多くは大都市圏に隣接し、経済価値、環境価値を考慮した湾岸域価値は計り知れないほど大きい。しかし、内湾域では大都市圏が大きな汚濁源ともなり、流入する汚濁負荷が大きい上に汚濁物質が蓄積しやすいため、他の水域に比較して環境基準の達成率は依然として低い状況にある。これには、直接流入する有機物以外に、窒素、リン等の栄養塩の流入による、藻類をはじめとする水生生物の増殖（内部生産）が大きく関与している。富栄養化の進行した閉鎖性海域では、赤潮・青潮等の現象に見られる水界生態系破壊が発生しており、水産への被害はもとより、海域の持つ自浄作用の低下による海岸域における開発、利水、舟運、親水等の多様な機能への悪影響が社会問題化しつつある。

このような状況下では、未解明な部分の多い内部生産の機構を定量的に解明するとともに、流入汚濁負荷（有機物、N、P）削減などの対策の意義を明らかにすることは、内湾生態系を保全し、湾岸を含む貴重な内湾域の価値を損なわないために、緊急かつ重要な課題である。

本特別研究では、現場海域におけるフィールド調査、室内実験、大型計算機による数値シミュレーション等を総合することによって、内湾海域における水界生態系の機構を解明するとともに、閉鎖性海域にかかわる人間活動の影響と保全対策の評価を行うために、以下の研究課題を実施する。

#### （1）閉鎖性海域における内部生産の評価と抑制に関する研究

海域の有機性汚濁の要因である内部生産CODについて、その値やN、P削減効果を正確に評価するために、内湾（東京湾、播磨灘）の調査を行い、COD、クロロフィルa（Chla）、全有機炭素（TOC）等の測定値相互の関連を明確にする。さらに内部生産者の構成員である微小生物群集の実態・動態を把握するため、現場海域の調査と室内実験によって従属栄養性ペン毛虫－バクテ

リア間の捕食食物連鎖を定量的に明らかにする。

## (2) 水界生態系の機構と外的要因の変化との関連に関する研究

内湾の生態系に対し強いインパクトを与える無酸素水塊動態を明らかにするために、現場海域の定期調査を行う。さらに、室内における制御実験を併行することによって有機物(栄養塩)・各種バクテリア・溶存酸素・還元態イオウなどの消長を明らかにし、無酸素水塊形成過程を生物・化学的な側面から解析する。また、無酸素水塊形成に水温・塩分にもとづく成層発達や鉛直混合・鉛直循環流が深くかかわっている。このため、そのモデル化のために内湾密度流実験装置や3次元流動モデルの適用性を確立する。内湾密度流実験を用いて、温度・密度成層時及び非成層時の速度分布に与える潮汐流の影響を可視化することにより、湧昇流との関連性を検討する。

## (3) 閉鎖性海域の評価手法に関する基礎的研究

平成4年度以降より実施

各研究課題の相互関係及び年次計画を図1に示す。

### 【研究成果】

#### (1) 閉鎖性海域における内部生産の評価と抑制に関する研究

東京湾奥千葉県沖に4定点(図2)を設け、表層から底層まで約3mごとに4~5水深で採水した試料につき栄養塩、COD、Chla、TOC等を測定し、有機物量の各種指標相互の関連を調べた。試水をGF/Fフィルターでろ別し、粒子状炭素(POC)と溶存有機炭素(DTOC)に分け、それぞれ元素分析計(柳本MT-3型)と全有機態炭素計(島津TOC-5000)で測定した。これらの和

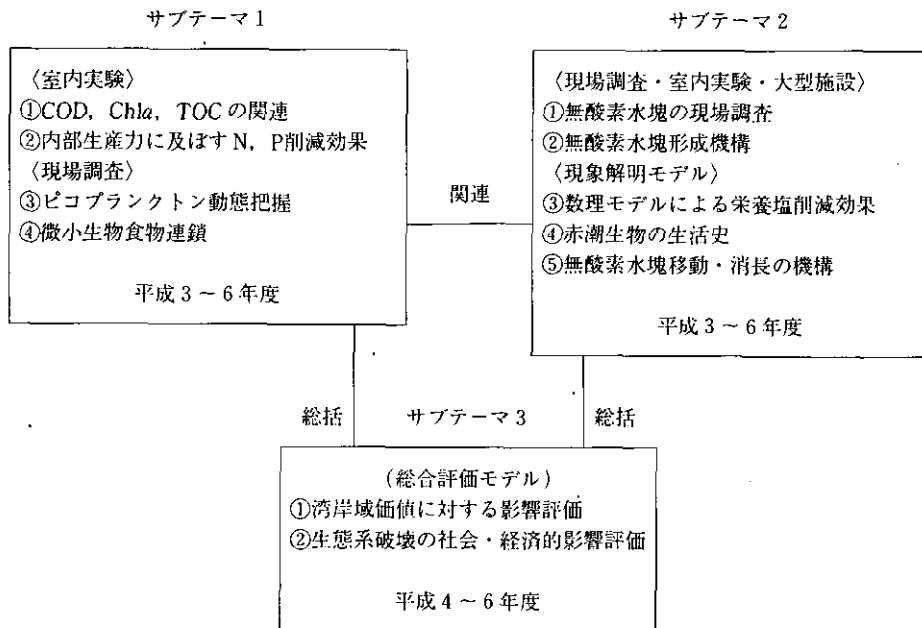


図1 本特別研究の全体構成

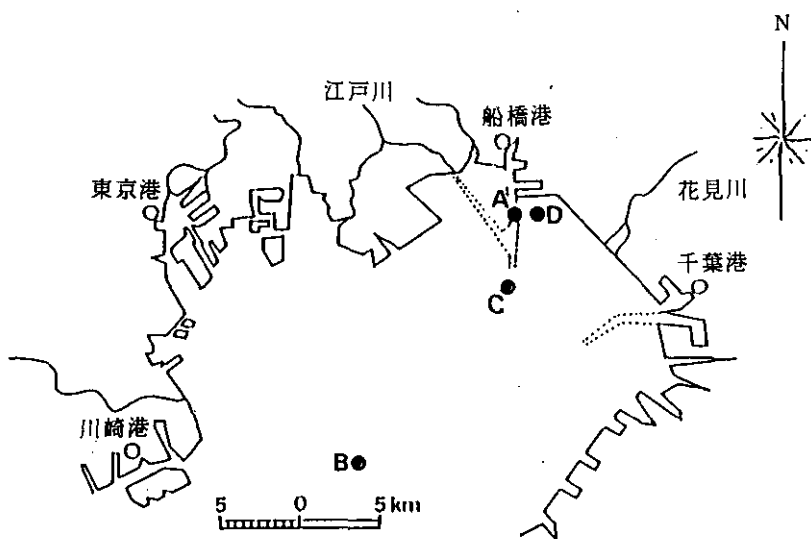


図2 東京湾定期調査地点図

を TOC とし、同一試料につき、別に測定した COD 値と比較した。COD 測定は JIS に準拠した過マンガン酸カリウム酸性法で行った。夏期に採水した約 50 検体で得られた結果から、TOC と COD には概ね良い正の相関が得られたが、特に底層で、溶存酸素の少ない水深の試料では大きな違いが見られた(図 3)。これは、還元状態の試水には硫化水素を初め、金属等による還元剤が多く含まれ、過マンガン酸カリウムを多く消費したためと思われる、このような水域では COD が有機物の指標になり得ないことが示された。

DTOC は底層では 1 年を通じて約 1 ~ 2 ppm 程度であったが表層では夏期に高く、1 ~ 3 ppm 程度であった。

POC と Chla との各月ごとの相関は非常に高かった( $r=0.9$ ) (図 4)。しかし、POC/Chla 比には明瞭な季節変化が見られ、春に高く、秋に低かった。植物プランクトンの種類の違い(例えばケイ藻と渦鞭毛藻)で、植物プランクトン細胞内の POC/Chla 比が大きく異なることが知られている。本領域で見られた比の季節変化の原因として、粒子状炭素の源である植物プランクトンの主要種が季節により異なったことが考えられる。また海水中の粒子状炭素は、植物プランクトンのほかに、細菌、従属栄養性鞭毛虫等の微小生物やそれらの死骸等で構成される。全粒子状炭素に占める植物プランクトンの寄与率が季節によって大きく変動したことが、POC/Chla 比に季節変化が観測されたことのもう一つの原因として考えられる。

内湾域に流入する汚濁負荷のうち、硝酸塩のような無機成分は植物プランクトンに取り込まれて有機物と同化される。同化された有機物はさらに「捕食食物連鎖」(図 5 A)を経て最終的には肉食魚類の体物質へと変化してゆく。こうした捕食食物連鎖の側鎖として、近年、細菌を起点とした“Microbial Food Chain”(図 5 B)が注目を集めている。すなわち、汚濁負荷のうち有機成分は細菌に取り込まれて粒子化される。細菌( $< 1 \mu\text{m}$ )は従属栄養性鞭毛虫(HNF,  $\sim 10 \mu\text{m}$ )に捕食される。そして、HNF が動物プランクトンに捕食されることで、伝統的な捕食食物連鎖に組み込まれてゆく。

Microbial Chain の中で、HNF は細菌と捕食食物連鎖を結び付ける役割を担っている。さらに、HNF は細菌を体内に同化する際、植物プランクトンが利用可能な無機栄養塩を



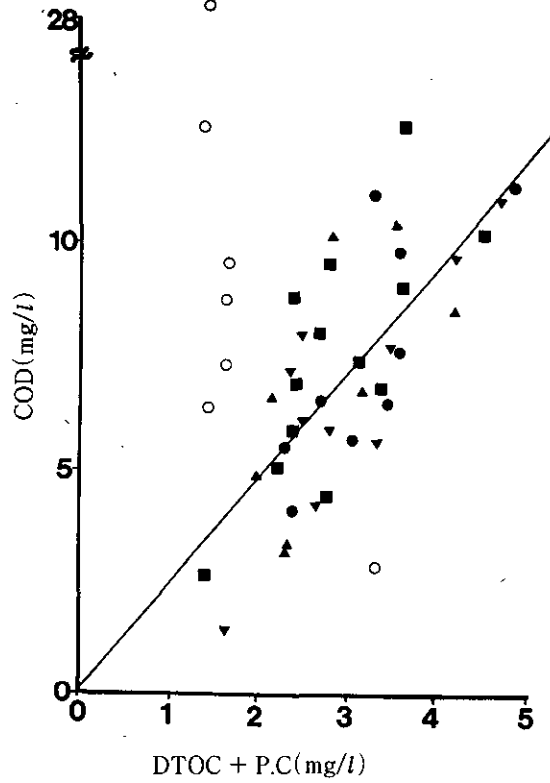


図3 夏期に東京湾の地点A(●), B(■), C(▲), D(▼)で得られた試料の全有機炭素(DTOC + PC)とCOD値の相関  
白抜き記号はDO 3 mg/l以下の試料を表す。

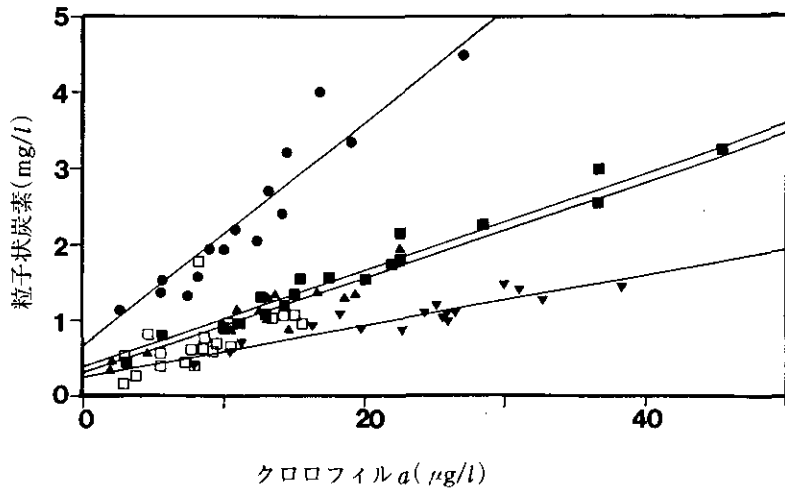


図4 東京湾の地点A, B, C, Dにて得られた試料の粒子状炭素量とクロロフィルa量の相関  
(●)5月, (■)7月, (▲)8月, (▼)9月, (□)10月

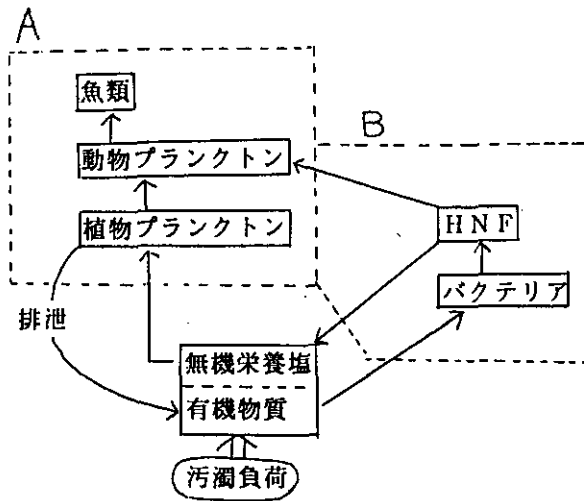


図5 内湾生態系模式図

A: 捕食食物連鎖, B: Microbial Food Chain

水中に放出する。したがって、内湾域の生態系(と、これに伴うN、Pの循環)を理解してゆく上で、HNFの動きを定量的に理解することは、基本的に重要である。HNFに関する生態学的研究は1980年代にスタートした新しい分野であり、現在、海洋生態学の中で最も活発に研究がなされている領域の一つである。

本課題においては、1991年夏、約1か月にわたり、瀬戸内海家島諸島でのHNF動態調査を実施した。すなわち、ルーチン観測(水温、栄養塩、クロロフィル等)と併行して、HNFと細菌の現存量を連日モニターした。さらに、現場実験により、HNFの増殖速度、細菌摂食速度を推定した。

調査開始(7月15日)から26日まで海域は温度成層していたが、27日から数日間南風が連吹したため温度成層は破壊され(図6A)、栄養塩が表層にまで巻き上げられた。栄養塩の表層への供給により植物プランクトンが増加した。そして、(おそらくは植物プランクトンが分泌する有機物を利用することで)細菌の個体数が増加した。さらに、餌である細菌の増加に伴い、HNFの個体数も増加した(図6B)。こうして、Microbial Food Chainの構成者である細菌とHNFが環境の変動(栄養塩の巻き上げ)に対して鋭敏に反応していることが示された。なお、従来行われている細菌とHNFの動態調査の多くはサンプリング間隔が1週間以上であり、短期間のうちに起きる環境変動に対するMicrobial Food Chainの応答を明らかにする上では不十分なものが多いことを指摘しておく。

現場でのモニターと併行して、海水をサイズフラクションして培養することで、HNFの増殖速度と、細菌摂食速度を求めた。また、蛍光ラベルした細菌(FLB)を用いても、細菌摂食速度を推定した。2つの実験で独立して求められた摂食速度は、いずれも10~20 bact/HNF/hのレベルであり、諸外国の沿岸域で報告されている値と同程度であった。HNFの現存量と、細菌摂食速度を併せることで、細菌群集のどれだけの割合が1日のうちにHNFによって摂食されているかを推定した。その結果、約40%の細菌がHNFによって摂食されており、これは現場での細菌生産量とはほぼ同程度であることが判明した。つま

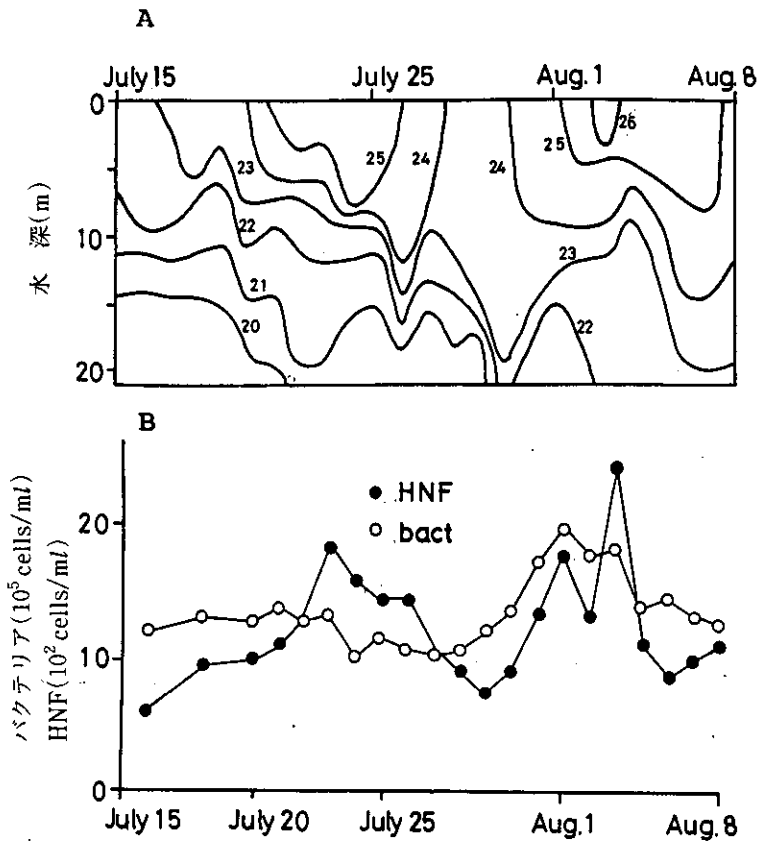


図6 1991年夏家島諸島(定点B)における水温(A)及びバクテリアとHNFの変化(B)

り、海域で新たに生産されるバクテリアは、その大部分がHNFによって「摘み取ら」れ、その結果、バクテリア個体数がほぼ一定(8月初頭にバクテリアが増加したといっても増加前の1.5倍程度; 図6B)に保たれている。

## (2) 水界生態系の機構と外的要因の変化との関連に関する研究

青潮は千葉県船橋沖を中心とした東京湾奥北部で発生することが多く、その発生機構と掘り下げ航路や浚渫窪地との関連が論議されている。本研究ではこの点を考慮し、船橋沖沿岸域の航路部にStn. A、沖の航路入り口部にStn. C、東京湾中央部にStn. B、さらに西浜地先浚渫窪地にStn. Dを設定し(図2)、千葉県水質保全課の協力を得て調査船「きよすみ」を用いて1991年5月から1992年2月までの期間に9回調査を行った。各地点で温度、塩分、溶存酸素(DO)、pHを1mごとに多項目測定器で測定し、表層から底層まで約3mごとに採水した試水につき栄養塩、COD、Chla、TOC、全細菌数、硫酸塩還元細菌数(SRB)等を測定した。また、底泥試料を採取し、全細菌数、SRBを計数した。Stn. D底部における海水交換は極めて悪く、4m以深のDOは強風による鉛直混合の影響のあった7月を除く6~10月の間、3mg/l以下であった(図7)。航路部Stn. Aでも青潮のよく見られる6月と9月に4m以深でDOが3mg/l以下になった。一方、湾中央Stn. Bの12m以浅では年間を通してDOは3mg/l以上存在し、DOが3

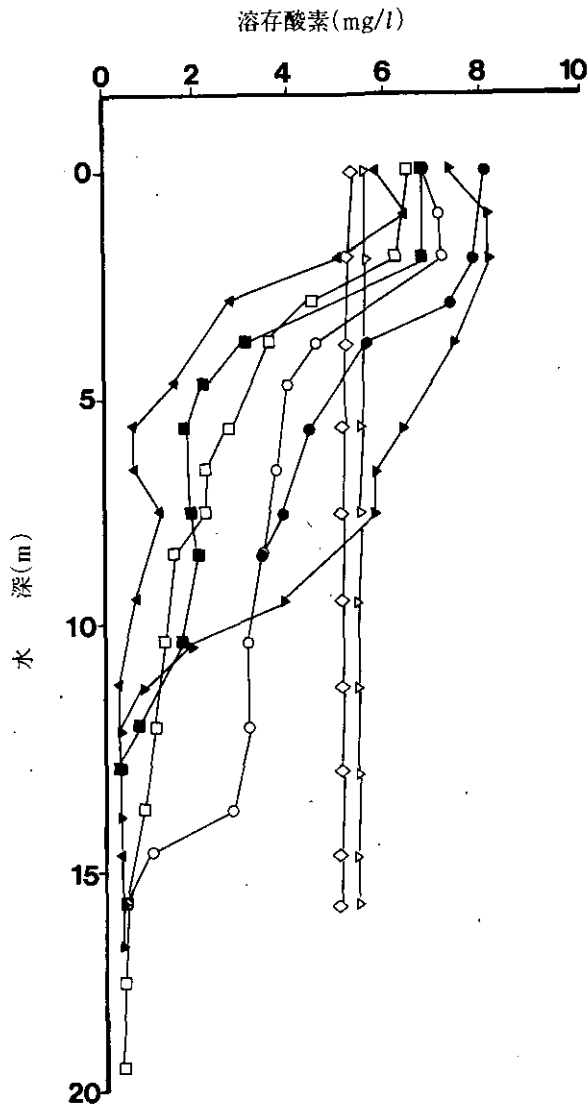


図7 東京湾の地点Dにおける溶存酸素鉛直分布の変動  
 (●)5月, (■)6月, (▶)7月, (◀)8月, (○)9月, (□)10月,  
 (▷)11月, (◇)12月

mg/l以下の水域は5～7月の底層水だけであった。以上のように局所的にはStn. A, Cの底層に貧酸素水域が存在したが、青潮すべての原因とするには量的な問題があり、また青潮となるための湧昇機構説明等が課題として残された。

水中でのSRB数(MPN/ml)はすべての時期及び地点において、検出限界( $2 \times 10^{-1}$ )から $1.2 \times 10^3$ の範囲で計数された。いずれの時期、地点においてもSRBは表層で少なく、無酸素水塊あるいは貧酸素水塊が形成された底層で多く観測された。特に、St. Dの浚渫窪地においては底泥直上1mから採取した海水中のSRB数(MPN/ml)は最大 $10^3$ のオーダーで検出された。以上のようなSRB分布特性は、過去3年間に得られた結果と同様な傾向を示していた。

St. B及びCの底層水でのSRBは、St. A及びDのそれと比べて、5～10倍程度低い菌数で観測された。しかしながら、底層水のDO濃度(mg/l)が2以下であった5月におけるSt. Bの底層水中のSRB数(MPN/ml)は、 $2.4 \times 10^2$ と比較的高い菌数が観測された。このことから、沖合いのSt. Bにおいても、安定な成層が形成され上層からの酸素供給が極めて少なくなれば、その底層水中において高いオーダーでSRBが分布することが予想された。

大規模青潮が発生しやすい9月に、同海域に2.5～3 km間隔に網目状に15定点を採り、無酸素水塊の動態を調べるために温度・塩分・DOの鉛直構造、水平分布を測定した。この調査では、調査時間内の潮流等による変動の影響を少なくするため、できるだけ短時間(2時間程度)に集中して調査できるよう、高速船を使う等の工夫をした。水深10 m以深の広い範囲に、DOが3 mg/l以下の水域が観測された。

底層流体塊の湧昇現象を実験的に明らかにするため、本年度は内湾密度流装置の性能、機能について改良・開発を施した。その主なものは、装置本体の底板の温度を微細に制御することで装置内の温度差によって発生するベナールセル(対流渦)の抑止を可能にした。また、新たに製作した照明装置を用い、トラバース装置に連結されたニードルから出した染料の軌跡を8ミリビデオに収録することで流れの可視化に成功した。

一方、水温(T)、塩分(S)、流速(u, v, w)を独立変数として、潮汐流、密度流、吹送流を表現できる3次元流動モデルを作成した。本モデルを実験系に適用し、鉛直混合のパラメータ化を行うとともに代表的な閉鎖海域である東京湾、大阪湾に適用し、その検証を行っている。

## 2.12 環境保全のためのバイオテクノロジーの活用と その環境影響評価に関する研究 (初年度)

平成3～7年度 (1991～1995年度)

### 〔研究組織〕 地域環境研究グループ

首席研究官	三浦 卓
新生物評価研究チーム	○近藤矩朗・佐治 光・中嶋信美・岩崎一弘
水改善手法研究チーム	稲森悠平・松重一夫・今井章雄
水圏環境部	
水環境質研究室	矢木修身・内山裕夫・富岡典子
土壌環境研究室	向井 哲・服部浩之
生物圏環境部	
環境植物研究室	大政謙次・名取俊樹・清水英幸
分子生物学研究室	久保明弘・宵野光子
客員研究員	38名、共同研究員 6名

### 〔研究概要〕

最近のバイオテクノロジーの発展はめざましく、中でも組換えDNA技術をはじめとする遺伝子関連技術は、様々な分野において活用され、人間生活の向上に大きく寄与するものとして期待されている。これまで、組換えDNA実験やこの技術の利用は、組換え体の生物的及び物理的封じ込めという二重の手段を講じた閉鎖系で進められてきたが、技術の進展に伴い、環境保全、農林水産、鉱工業等の分野において開放系での利用が考えられる段階にきている。

近年の環境問題はますます複雑化し、人間をはじめとする生物に多大なストレスを与えている。生物は種々の環境ストレスの影響を受ける一方、環境変化を緩和する能力を有しており、環境保全のために環境指標生物、環境浄化生物として利用されている。このような環境保全分野においても、組換えDNA技術を利用した環境指標植物や環境浄化微生物等の作成が進められてきており、これを野外で活用することが期待されている。

一方、遺伝子組換え生物の開放系での利用は、物理的封じ込めが不可能なことに加え、自己増殖能力を有する点で化学物質とは異なり、環境条件次第で大繁殖する可能性があるという生物特有の問題がある。さらに生物は、生物を取り巻く物理化学的及び生物学的環境によって、その挙動が大きく左右され、また環境にも影響を与える可能性がある。しかしながら、組換え体の生態系に及ぼす影響に関する研究及び手法の開発はこれまでほとんど行われていない。

本特別研究では、環境保全に有用な遺伝子を探索して遺伝子組換え生物を作成するとともに、それら遺伝子組換え生物のモニタリング手法を開発して遺伝子組換え生物及びその遺伝子の環境中における挙動を調べ、さらにそれらの生態系への影響を検討し、生態系影響評価手法を開発することを目的とする。

以上の目的を達成するために、以下の課題を設定して研究を進める(図1)。

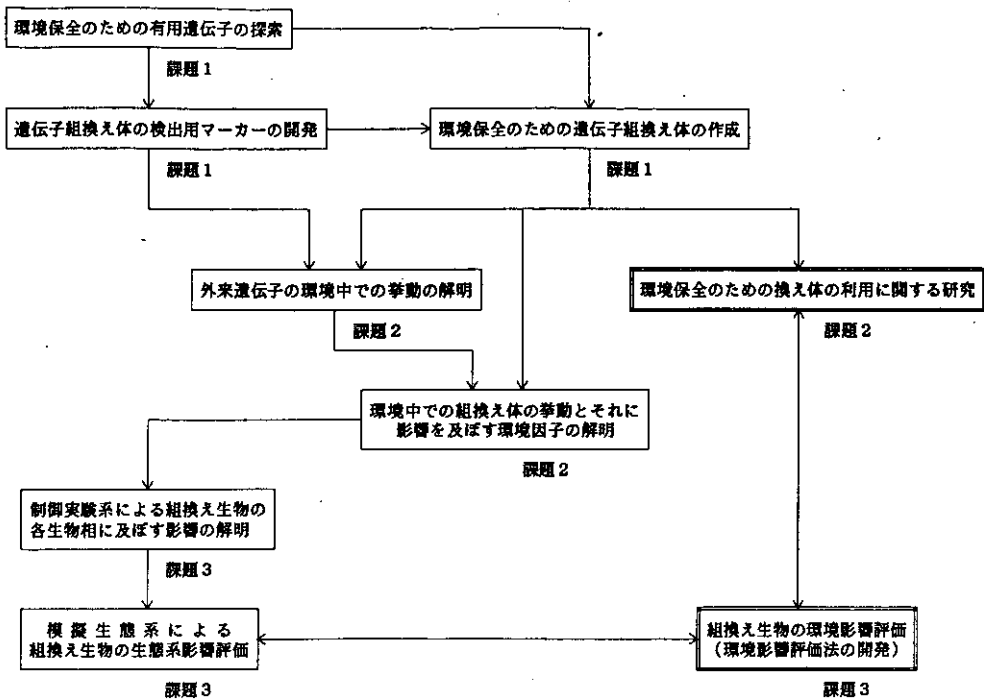


図1 本特別研究の構成

(1) 環境保全のための遺伝子の探索と活用に関する研究

1) 有用遺伝子の探索と有用生物の作成

有害化学物質分解菌等を探索し、関連遺伝子を単離する。また、植物の大気汚染環境浄化、乾燥耐性等に関与している遺伝子を探索・単離する。さらに、組換えDNA技術等のバイオテクノロジーを利用して、これらの生物の環境指標性、環境浄化能の向上を図る。

2) 遺伝子組換え体の検出用マーカー及び検出法の開発

上記1)の研究を通して得られた有用生物にマーカーを付与し、その検出技術の開発を行う。すなわち、マーカーの導入手法の確立、マーカー付き生物の環境中からの検出手法の確立を図ると共に、マーカーの検出感度、精度、安定性、利用可能な宿主の範囲等を明らかにする。

(2) 環境中における遺伝子組換え生物及びその遺伝子の挙動に関する研究

1) 外来遺伝子の環境中での挙動に関する研究

組換え微生物の遺伝子の伝播の評価法を確立し、伝播に及ぼす各種環境因子の影響を明らかにすると共に、そのメカニズムを解明する。また、組換え遺伝子の構造変化、コピー数等に及ぼす影響因子を明らかにし、環境中での遺伝子の残留性について検討する。

また、遺伝子組換え植物についても、マーカーとして導入された遺伝子の成長過程及び繁殖過程における脱落及び他の植物への伝播について研究する。

2) 環境中での組換え微生物の挙動とそれに及ぼす環境因子の解明

フラスコ、カラム等の小規模のマイクロコズムから、自然環境に近い比較的大型のマイクロコ

ズムを作成し、組換え微生物の挙動を解明するためのマイクロゾムの適性規模等の検討を行い、組換え微生物の生残性、増殖性、拡散性、移動性等を検討する。さらに、生残性に及ぼす pH、含水率、土質、温度、光、降雨、各種土着生物等の環境因子の影響を検討する。また、移動性に及ぼす生物的・土壌の因子をモデル解析と基礎的実験により解明する。

### 3) 環境中での組換え植物の利用に関する研究

組換え植物を大気環境指標として用いるための野外試験用フィールド・チャンバーによる試験法を開発すると共に、組換え植物を野外で使用するための一般的な試験法を確立することを目的として、小規模な野外試験のあり方について検討する。

### (3) 遺伝子組換え生物の生態系への影響に関する研究

#### 1) 制御実験系を用いた組換え微生物の各生物相に及ぼす影響の解明

フラスコレベルでのマイクロゾムを用いて、組換え微生物の一般細菌、脱窒・硝化菌、グラム陰性菌、糸状菌等の微生物、原生動物、藻類への影響、及び呼吸活性、各種酵素活性等への影響を調べ、その影響要因を明らかにする。また、微生物、原生動物、藻類を組み合わせた水圏生態系の標準マイクロゾムシステムを確立し、組換え微生物の各生物相に及ぼす影響を解明する。

#### 2) 模擬生態系による組換え微生物の生態系影響評価

ライシメーター、大型水槽等を用いた大型マイクロゾムを開発し、装置の大型化に伴う試験手法の確立を図ると共に、遺伝子組換え微生物の各種微生物、原生動物、藻類、呼吸・酵素活性等への影響評価を行う。また、フラスコレベルでのマイクロゾムの結果と比較検討し、マイクロゾムのスケール効果等を明らかにする。

#### 3) 環境影響評価手法の確立

各サブテーマで得られた成果及び手法を用いて、遺伝子組換え微生物の野外利用における環境影響評価指針の作成に資する、環境影響評価手法を確立する。

## 【研究成果】

### (1) 植物の環境保全有用遺伝子の単離と組換え植物の作成

#### 1) 気孔開閉に関する遺伝子の単離

植物の大気環境浄化能や乾燥耐性には気孔が重要な役割を果たしていると考えられており、その開閉の調節に関与していると思われるタンパク質がいくつか指摘されている。その一つであるイオンチャンネル・ポンプの遺伝子を単離するため、ソラマメの孔辺細胞から cDNA ライブラリーを作製し、そこからそれらの遺伝子と思われるクローンをいくつか単離した。

#### 2) 酵母グルタチオンレダクターゼ(GR)遺伝子の単離

GRは活性酸素解毒系酵素の一つであり、植物の様々な環境ストレス耐性に重要な役割を果たしていると考えられている。GR 遺伝子を導入することによって、環境ストレス耐性の高い植物が得られることが期待される。酵母は真核生物であるが、高等植物とは系統的に隔たっており、そのため、植物に導入された酵母遺伝子の発現産物を免疫化学的手法で容易に解析することができると考えられる。GR 遺伝子を単離するには、GR の mRNA をできるだけ多く含む RNA 標品か



ら cDNA ライブラリーを作製することが重要である。しかしながら、酵母の GR は通常の液体培養条件下ではその発現量が非常に少ないので、エアレーション培養を行い、GR が多く発現している条件を検討した。その結果、分子量約 50 kD の GR が、培養 5 時間後に最も多く存在していることが分かった。今後この条件で酵母を大量培養し、RNA を抽出して cDNA ライブラリーを作製する予定である。

また、今後単離する遺伝子が、GR のものであることを確認できるように、GR のアミノ酸配列を解析した。まず、精製された酵母 GR の N 末端アミノ酸配列をペプチドシーケンサーで解析しようと試みたところ、たんぱく質の N 末端がブロックされているために、解析できないことが分かった。そこで、この酵素を臭化シアンによって分解し、得られたペプチド断片の N 末端領域を解析したところ、部分的なアミノ酸配列が明らかになった(図 2)。

1. Ala - Tyr - Ala - Cys - Gly - Leu - Ala - Thr - Asp - Val  
Ile  
Thr
2. Gly - Ser - Glu - Asn - Val - Gly - Ile - Lys - Leu - Asn - Ile  
Ser

図 2 酵母グルタチオンレダクターゼ(GR)の部分的アミノ酸配列  
酵母 GR の臭化シアンによる分解産物を電気泳動した後、フィルターに移し、2 本の主なバンドの N 末端領域のアミノ酸配列をペプチドシーケンサーによって解析した。複数のアミノ酸が併記してあるのは、1 つに確定できなかった部分である。

### 3) アスコルビン酸ペルオキシダーゼ(AP)遺伝子の操作

植物の活性酸素解毒系酵素の一つである AP についても研究を進めている。これまでにシロイヌナズナの cDNA ライブラリーから AP の cDNA クローンを単離し、その構造を明らかにした。本年度はこの AP の cDNA を植物に導入するための方法について検討した。AP は植物の緑葉中に多量に存在するため、その量を遺伝子操作によって改変するには、強力な発現調節遺伝子を使用する必要がある。そのような調節遺伝子として RuBP カルボキシラーゼ遺伝子のプロモーターが適当であると判断し、それを入手して導入用遺伝子の作製を進めている。

一方、シロイヌナズナの AP 遺伝子を植物に導入することによってできる組換え植物や導入された遺伝子の挙動を調べるために、その遺伝子の発現を正確に検出できる手段が必要である。植物は自分自身の AP を持っているため、それと導入された AP 遺伝子の産物とを区別できなければならない。そこでシロイヌナズナ AP と特異的に結合するような単クローン性抗体の作製を試み、計 12 個の抗体を調製した。これらの抗体とタバコの AP との反応性をイムノプロットングにより調べた結果、半数の抗体はタバコの AP と結合したのに対し、残りの半数は結合しなかった。例えば、クローン ap 2 の抗体はシロイヌナズナ及びタバコの AP(分子量 約 30 kD)と結合するのに対し、ap 7 の抗体はシロイヌナズナの AP とのみ結合した。したがって、この ap 7 のようなクローンを用いることにより、タバコに導入されたシロイヌナズナ AP 遺伝子の発現を特異的に検出することが可能となった。

## (2) 組換え微生物検出用マーカー遺伝子の単離と各種組換え微生物の作成

### 1) 組換え微生物の作成

組換え微生物を自然環境中で利用するためには、そのマーカーとなる遺伝子を組み込む必要がある。塩化第二水銀分解酵素遺伝子(水銀分解遺伝子)は塩化第二水銀を金属水銀に還元する機能を有しているため、マーカー遺伝子ならびに環境浄化への有用遺伝子としても利用が可能と考えられる。そこで水銀分解遺伝子の単離を行い、各種微生物へ導入し、水銀化合物分解能を有する組換え微生物を作成するとともに水銀化合物分解能をマーカーとする組換え微生物の効率の良い検出法の開発を行った。

まず、水銀化合物分解酵素遺伝子群 *mer* オペロンがコードされている大腸菌由来のプラスミド NR1 を単離し、*mer* オペロンを精製した。これを広宿主域ベクター pSUP 104 に組み込んで作製した組換えプラスミド pSR 134 を宿主である *Pseudomonas putida* PpY 101 に電気パルス法を用いて導入した。その結果、100 mg/l の塩化第二水銀を含む平板培地においても増殖できる著しく水銀化合物分解能の高い組換え微生物を作成することができた。

水銀化合物分解能が各種の微生物で発現が可能であればマーカーとしての有効性が高いと考えられるため、各種の微生物への水銀マーカーの導入を試みた。*P. putida* PRS2000, *P. fluorescens* LB303, *P. aeruginosa* PA01, *Escherichia coli* HB101, *Klebsiella oxytoca* R16 に水銀マーカーを電気パルス法及び塩化マグネシウム法によって導入した。すべての宿主への導入が認められ、表 1 に示すような水銀化合物分解能を有する各種の組換え微生物を作成することができた。水銀マーカーは広範囲の宿主で利用可能であることが認められた。

### 2) 組換え微生物の検出法

一般に微生物を検出計数する場合、寒天平板培養法が最も簡便な方法である。そこで水銀マーカーを導入した組換え微生物の検出には、塩化第二水銀を含む寒天平板培養法を用いた。使用する水銀量を最小限にするため、20 mg/l の塩化第二水銀を含む 2 ml の軟寒天培地に試料を加え、予め作成した薬剤を含まない寒天平板培地の上に重層する軟寒天重層法を開発した。

また、環境中の組換え微生物を検出するためには、環境試料から組換え微生物を回収あるいは分散させて適当に希釈する必要がある。水環境中では組換え微生物は水中に分散しているため特に問題がないので、土壌環境中からの組換え微生物の分散、回収法について検討した。その結果、

表 1 各種菌株への組換えプラスミドの導入

菌 株	形質転換効率 (形質転換菌数/ $\mu$ gDNA)	
	電気パルス法	塩化マグネシウム法
<i>Pseudomonas putida</i> PpY101	$1.11 \times 10^5$	$2.53 \times 10^4$
<i>Pseudomonas putida</i> PRS2000	$8.76 \times 10^4$	$8.65 \times 10^3$
<i>Pseudomonas fluorescens</i> LB303	$5.10 \times 10^4$	$1.05 \times 10^4$
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> PA01	$7.50 \times 10^3$	$2.86 \times 10^5$
<i>Escherichia coli</i> HB101	$2.50 \times 10^4$	$7.00 \times 10^2$
<i>Klebsiella oxytoca</i> R16	$3.75 \times 10^3$	ND*

\*ND: 検出限界以下

試験管ミキサーを用いた3分間振とう分散法が最も操作が容易でかつ大量の試料の処理が可能であることが明らかとなった。さらに土壌試料においては寒天平板培地上で糸状菌が生育し組換え微生物の検出を困難にするため、糸状菌の生育を抑える手法について検討を加えた。糸状菌に特異的に働いてその生育を阻害する抗生物質であるシクロヘキシミドを上記の軟寒天培地 2 ml に対して 5 mg 添加する手法を開発した。

### (3) 環境中での組換え微生物の挙動とそれに及ぼす環境因子の解明

#### 1) 水系マイクロコズム

水銀化合物分解組換え微生物を用いて、組換え微生物の挙動に及ぼす環境因子の影響を調べた。500 ml 容三角フラスコに手賀沼水、桜川河川水、筑波山湧水を 200 ml 入れ水系マイクロコズムを作成した。いずれの環境水中においても水銀耐性菌は検出されず、水銀マーカーは組換え体の検出に有効であることを確認し、これに組換え体(*P. putida* PpY101/pSR134)及び非組換え体(*P. putida* PpY101)をそれぞれ接種した。環境水を予めメンブランフィルターで処理してあらゆる生物を除いた濾過水中では、組換え体と非組換え体はいずれも実験開始後 14 日目まではほとんど減少が認められなかったが、無処理水では 5 日目までに急激な減少が認められ、環境水中の他の生物との相互作用によって組換え体が減少していくことが示唆された(図 3)。また減少速度には組換え体と非組換え体とで大きな差は認められなかった。

次に、原生動物等の真核生物の生育を阻害する抗生物質シクロヘキシミドを手賀沼水に添加し、組換え体の生残性を検討した。原生動物の活動を抑えることにより組換え体の減少速度は低下した。環境水中における組換え体の減少の要因として、原生動物の捕食作用が重要と考えられた。

#### 2) 土壌カラム及び土壌系マイクロコズム

土壌カラムにおける BHC 分解菌の移動に及ぼす土壌水分、灌水量、数種の添加有機物質の影響を調べた。淡色黒ボク土を充てんした透水カラム及び不透水カラム(充てん土層の厚さ: 13 cm, その含水比: 最大含水量に近い量)の土壌上端 1 cm に BHC 分解菌を  $10^8$  匹/g・乾土添加した後、透水カラムのみに菌添加直後と 1, 7, 8 日後に灌水(24.5 ml)を行って、両カラムにおける本菌の生残数と移動性を調べた。BHC 分解菌の検出限界は数匹/g・乾土であった。本菌は水

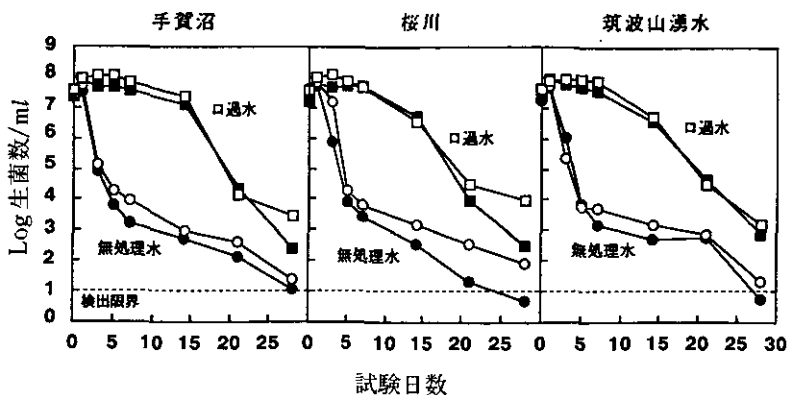


図 3 各種環境水中における組換え微生物の生残性

■, ●: 組換え体 □, ○: 非組換え体

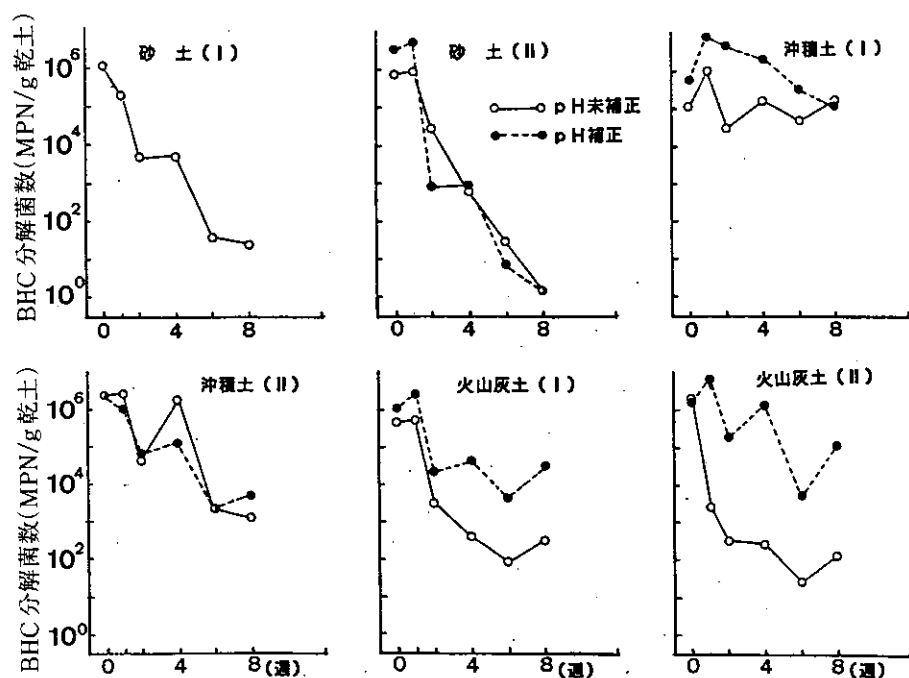


図4 各種土壌中でのBHC分解菌数の消長

で洗脱されやすい状態と洗脱されにくい状態で土壌中に生残しており、灌水は前者の菌を速やかに下方移動すると推測された。

土壌系マイクロコズムにおけるBHC分解菌の生残性、増殖性等の挙動に及ぼすpHの影響を調べた。6種類の土壌(砂土2種、沖積土2種、火山灰土2種)を用い、BHC分解菌の生残性に及ぼす土壌pHの影響、土着の生物の影響を調べた。その結果、BHC分解菌の生残性は、沖積土で最も高く、以下火山灰土、砂土の順であった(図4)。土壌pHを7に補正した場合には、特に火山灰土で生残性が高まり、沖積土とほとんど差がなくなった。また、土壌を滅菌して土着の生物の影響を除いた場合には、ほとんどの土壌でBHC分解菌の生残性は高まり、8週後も添加直後の菌数が維持され、土壌間差も小さかった。ただし、pHの低い土壌では、菌数は低いレベルで維持された。土壌に添加されたBHC分解菌の生残性に土着の生物、土性、土壌pHは大きな影響を及ぼすことが判明した。

#### (4) 制御実験系を用いた組換え微生物の各生物相に及ぼす影響の解明

1) 小型マイクロコズムホールシステムを用いた、マイクロコズムの安定性及び物質循環に対する組換え微生物の影響の検討

水圏生態系モデルとして、高い安定性と再現性を示す生産者、捕食者、分解者からなる標準フラスコマイクロコズムを用いて外来細菌の系の安定性に及ぼす影響を検討した。外来細菌としては *Escherichia coli* HB101, *E. coli* HB101/pBR325 及び微生物農薬 *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki*, *B. thuringiensis* subsp. *aizawai* KH を用いた。その結果、図5に示すようにここで用いた外来細菌はいずれも添加直後に減少し、系内で異常増殖することはなかった。また、添加直後に原生動物 *Cyclidium glaucoma* の増殖が認められた。この結果は二者培養捕食被食試

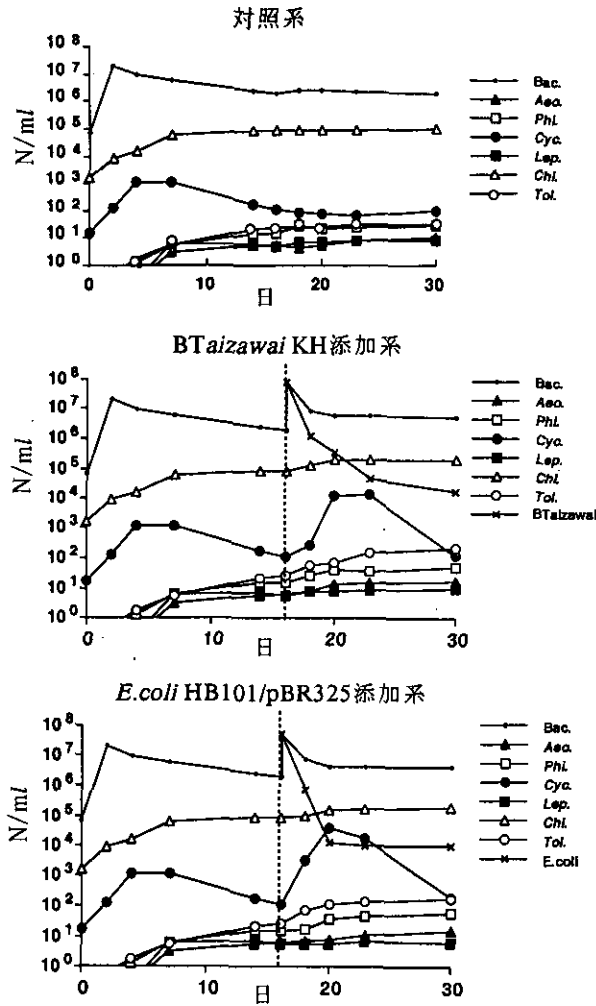


図5 ホールシステムマイクロコズムにおける外来細菌の消長及び構成微生物の挙動

験の結果とも一致しており、外来細菌の消長には微小動物の捕食圧が大きな影響を及ぼしていることが分かった。

## 2) マイクロコズムの構成微生物の組み合わせについての検討

水圏モデル微生物生態系としてフラスコレベルのマイクロコズムを用い、その種構成の違いが生物間及び生態系の安定性にいかなる影響を及ぼすかを明らかにすることを目的として検討を行った。構成微生物としては、分解者の細菌類として *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp., *Acinetobacter* sp., *Coryneform* bacteria, 生産者の藻類としてラン藻類 *Tolypothrix* sp., *Oscillatoria agardhii*, *Anabaena flosaquae*, *Microcystis viridis*, 緑藻類 *Chlorella* sp., *Scenedesmus quadricauda*, *Chlamydomonas monticola*, 捕食者の微小動物として原生動物繊毛虫類 *Cyclidium glaucoma*, *Tetrahymena pyriformis*, *Colpidium campylum*, 後生動物輪虫類 *Lepadella* sp., *Philodina* sp., 後生動物貧毛類 *Aelosoma hemprichi* を対象とし種構成の異なる 21 系のマイクロコズム

ムを作成して検討を行った。その結果、安定生態系を得るためには、特に原生動物と緑藻類の組み合わせが重要であることが分かった。なお図6は藻類、原生動物、後生動物の各種構成の組み合わせ数と系の安定性との関係をグラフ化したものであるが、安定系の形成された6種類のマイクロコズムシステムより、安定系の形成は単に種構成が多様であることに基づくのではなく組み合わせ数が少なくても、いかなる種と組み合わせるかが重要であること、すなわち系の安定性と種の多様性との関連性は低いことが明らかとなった。

また安定系の得られた種構成の異なるマイクロコズムを用いて外来細菌 *Escherichia coli* HB101/pBR325 及び微生物農薬 *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai* KH の挙動追跡及び影響評価を行ったところ、いずれの系においても同様の結果が得られた。これより、従来より用いていたマイクロコズムは環境影響評価を行う上での標準モデルとして活用できることが分かった。

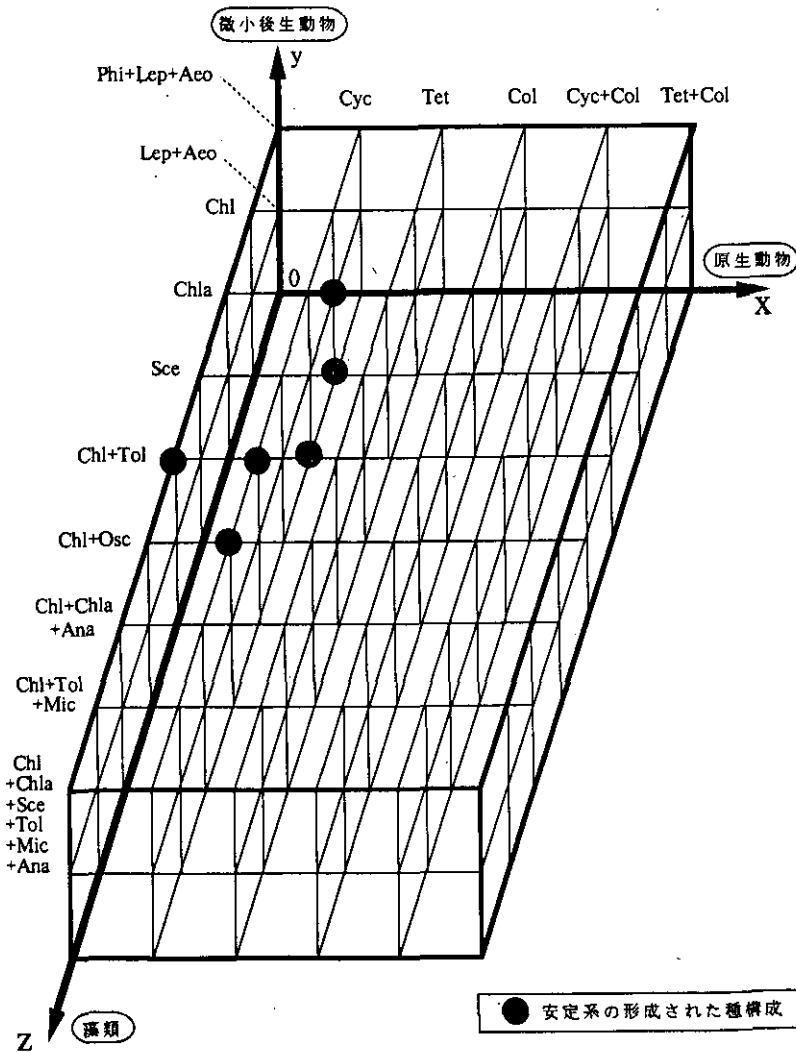


図6 マイクロコズムにおける種の多様性と系の安定性

## (5) ライシメーターにおける組換え微生物の挙動

### 1) ライシメーター試験法の開発

土壤生態系をシミュレートできるライシメーターを作成した。すなわち淡色黒ボク土壤(茨城県旧筑波町内の畑地の 80 cm 以浅の下層土)を粉碎し、4.75 mm のメッシュのふるいに通した供試土壤をステンレス製ライシメーター(75(縦)×75(横)×60(深さ)cm)に充てんした。予めライシメーター底部の排水口部にはステンレス製メッシュを取り付け、その上層には薄く小型の磁性ボール(径約 15 mm)を敷き詰めた。土壤を土層の厚さが十数 cm になるまで充てんし、適量の蒸留水で湿らせた後、押し固め、土壤硬度計で測定される充てん土層全体のち密度がほぼ均一となるようにした。土壤を充てんしたライシメーターは、25℃に制御したガラス温室に設置した。充てんした土壤に週 2 回灌水(計 14.5 l)を 2 か月以上行い、その土壤生態系が安定化するようにした。

次いで、菌体散布法の検討を行った。水銀化合物分解組換え体(*P. putida* PpY101/pSR134)、非組換え体(*P. putida* PpY101)及びBHC分解菌(*P. paucimobilis* SS86)をそれぞれ培養し、噴霧器を用いてライシメーター土壤表面全体に均一となるように散布した。散布量は表層 10 cm 中に約  $10^7$  匹/g・乾土とした。

サンプリング法についても検討し、接種した菌の垂直方向への移動性を調べるために、深さ方向のサンプリングが可能なステンレス製の土壤試料採取器(内径 20 mm, 長さ 60 cm の直管)を作製した。本採取器は採取した土壤の取り出しを容易にするため、縦に 2 分割できる構造になっている。

### 2) 生残性及び移動性

本実験で使用した土壤における水銀化合物分解組換え体及び非組換え体の検出限界は、乾燥土壤 1 g 当たり 10 匹であった。接種後 3 日目には組換え体、非組換え体共に菌数は接種時の 1/10 以下となった。その後は穏やかな減少を示し、56 日後には組換え体は検出限界以下(<10 匹/g)

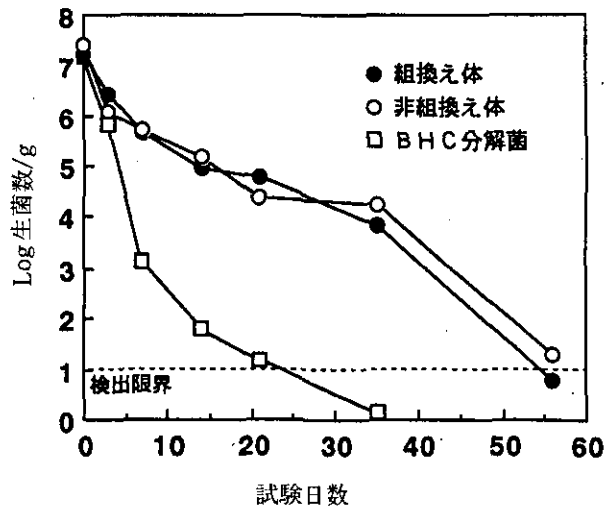


図7 ライシメーター表層土壤における組換え微生物及びBHC分解菌の生残性

となり、非組換え体においてもほぼ検出限界の 10 匹/g となった(図 7)。組換え体と非組換え体の生残性には、違いは認められなかった。また、試験期間を通じて、組換え体及び非組換え体はライシメーター土壌の下層には検出されず、10 cm 以上の垂直方向への移動は認められなかった。一方、BHC 分解菌は、灌水によって土壌中を下方移動することが認められた。表層土壌中の BHC 分解菌は接種後速やかに減少し、35 日目には全く検出されなかった(図 7)。BHC 分解菌の下方移動は比較的速やかに起こり、接種後 3 日目には最下層(40~50 cm 深)の土壌にも検出された。

### 3) 土壌の物理化学的諸性質に及ぼす影響

供試微生物接種後のライシメーターの土壌含水率及び土壌 pH の変化を調べた。土壌 pH はいずれのライシメーターにおいても若干低くなったが、微生物の接種による影響は認められなかった。また、ライシメーター土壌の全炭素、全窒素及び C/N 比に対する影響について検討した結果、微生物を接種したことによる影響は認められなかった。

## (6) 模擬生態系による組換え微生物の影響評価

### 1) 自然水を用いた水圏の大型マイクロコズムにおける組換え微生物の消長、構成微生物への影響、物質循環への影響などの検討

野外試験の前段階の環境影響評価試験に位置すると考えられる模擬環境マイクロコズム試験により検討を行った。外来細菌として *Escherichia coli* S17-1/pCR01 及び *E. coli* HB101/pBR325 を用い、環境水としては多摩川上流及び下流の河川水を用いた。その結果、上流、下流のいずれの環境水中においても外来細菌は減少し長期にわたり生残することはなかった。なおこの外来細菌の消長の原因は上流域と下流域では異なり、その要因としては、①微小動物の捕食圧、②藻類の代謝産物、③微量化学物質の影響などの中で上流域では主として①と②が、下流域では主として①と③が密接に関連しているのではないかと考えられた。



## 2.13 湿原の環境変化に伴う生物群集の変遷と生態系の安定化維持機構に関する研究（初年度）

平成3～7年度（1991～1995年度）

### 【研究組織】 生物圏環境部

生態機構研究室	○岩熊敏夫・野原精一・上野隆平
環境微生物研究室	渡辺 信・広木幹也
分子生物学研究室	田中 浄・榎 剛
水圏環境部	
水環境工学研究室	井上隆信
社会環境システム部	
情報解析研究室	山形与志樹
地域環境研究グループ	
新生生物評価研究グループ	中嶋信美
有害廃棄物対策研究グループ	平田健正
客員研究員	7名

### 【研究概要】

湿原が“弱い生態系”といわれる由縁は、その生物の生活が、人間の干渉や活動によって容易に変動しやすい水体系に支えられていることと、植生の大部分が人間の踏みつけ等で容易に壊されやすい草本類で構成されている点にある。湿原は多様な生態系と固有の植生を発達させている。我が国では、尾瀬に代表される高層湿原や平野部・河川等に発達した低層湿原や沼沢湿原が全国的に見られる。湿原は水を含む巨大なスポンジの上に成り立ち、多様な動植物の生息の場である。しかしながら、このような湿原は、我が国のような狭い国土では、人間の生活域に存在するために、開発等により人間活動の影響を受け、加速度的に消失しており、さらに湿原に特有の多くの生物種が絶滅を危ぐされる状態に至っている。湿原の持つ環境保全機能や、生物の生息場所としての重要性及び生物学的な多様性の保護については近年国際的な関心が高まっている。このような情勢から、湿原生態系の特性を把握するとともに、湿原環境の変化を監視し、それに伴う生物群集の変動を早期に検知する手法を開発し、湿原の保全に資する知見を早急に提供することが必要とされている。

本特別研究では、湿原の生態系の現場調査手法の開発と空中写真等の活用により、過去から現在までの湿原の変遷の実態解明を行いつつ、生態学的・生態遺伝学的手法を用いて湿原生態系の特性と生物群集の変動特性を把握することにより、湿原生態系の安定化維持機構を明らかにすることを目的として、以下の研究課題を設定して研究を実施する(図1)。課題(3)はまとめを兼ねている。

#### (1) 湿原の変遷とそのモニタリングに関する研究

湿原土壌・生物の採取方法、測定項目等、湿原生態系の調査方法を検討した。また航空機等による観測法の検討を行っている。平成4年度以降は地上における植生調査や、湿原全域の空中写

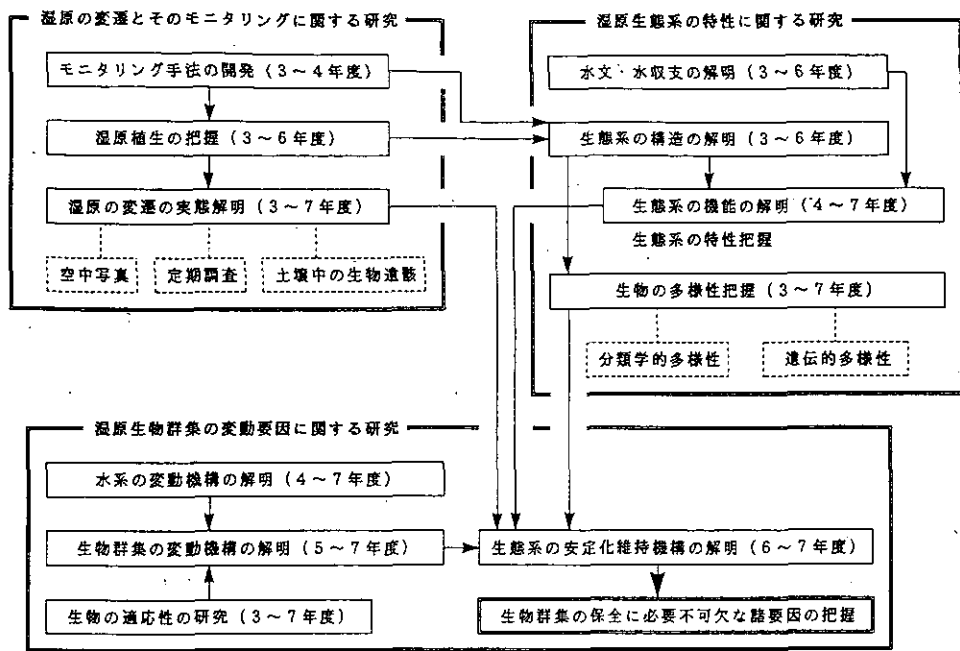


図1 本特別研究の全体構成

真等により湿原植生を把握し一方で空中写真・衛星データ等による植物群落の区分を行い地上における調査と対応させる。さらに湿原の立地・成因別に現況を整理し湿原とその環境の比較的短期間における(数十年)変遷を把握する。また土壌の柱状試料を採取し生物遺骸等から長年月の湿原の変遷を把握する。

### (2) 湿原生態系の特性に関する研究

湿原における気象・地下水位等の物理環境要因の連続測定を行った。宮床湿原では細菌、藻類、無セキツイ動物等の個体数・現存量と食物連鎖関係を調査した。今後、植生も含めた調査を継続し湿原の生物群集構造を明らかにする。さらに生物生産量と分解量を定量し、水収支・水質収支を求め、湿原内の物質循環機構、生態系の機能を明らかにしていく。また湿原に生息する生物種の分類学的多様性と種の集団内の個体間の遺伝的差異や遺伝的多様性を明らかにしていく。

### (3) 湿原生物群集の変動要因に関する研究

開発等による水系及び湿原生態系の変化を様々なレベルで比較する。これらの環境変化に対する生物の適応性を明らかにしていく。各種の湿原生態系の安定性に関する情報を整理し、環境変化に対応する湿原生態系の変遷過程を明らかにする。

### 〔研究成果〕

初年度は、福島県の2つの高層湿原、南会津の伝上山中腹の、標高約850mに位置する面積6haの宮床湿原と猪苗代湖北西に位置する海拔約525m、面積43.6haの赤井谷地湿原で調査を行った。

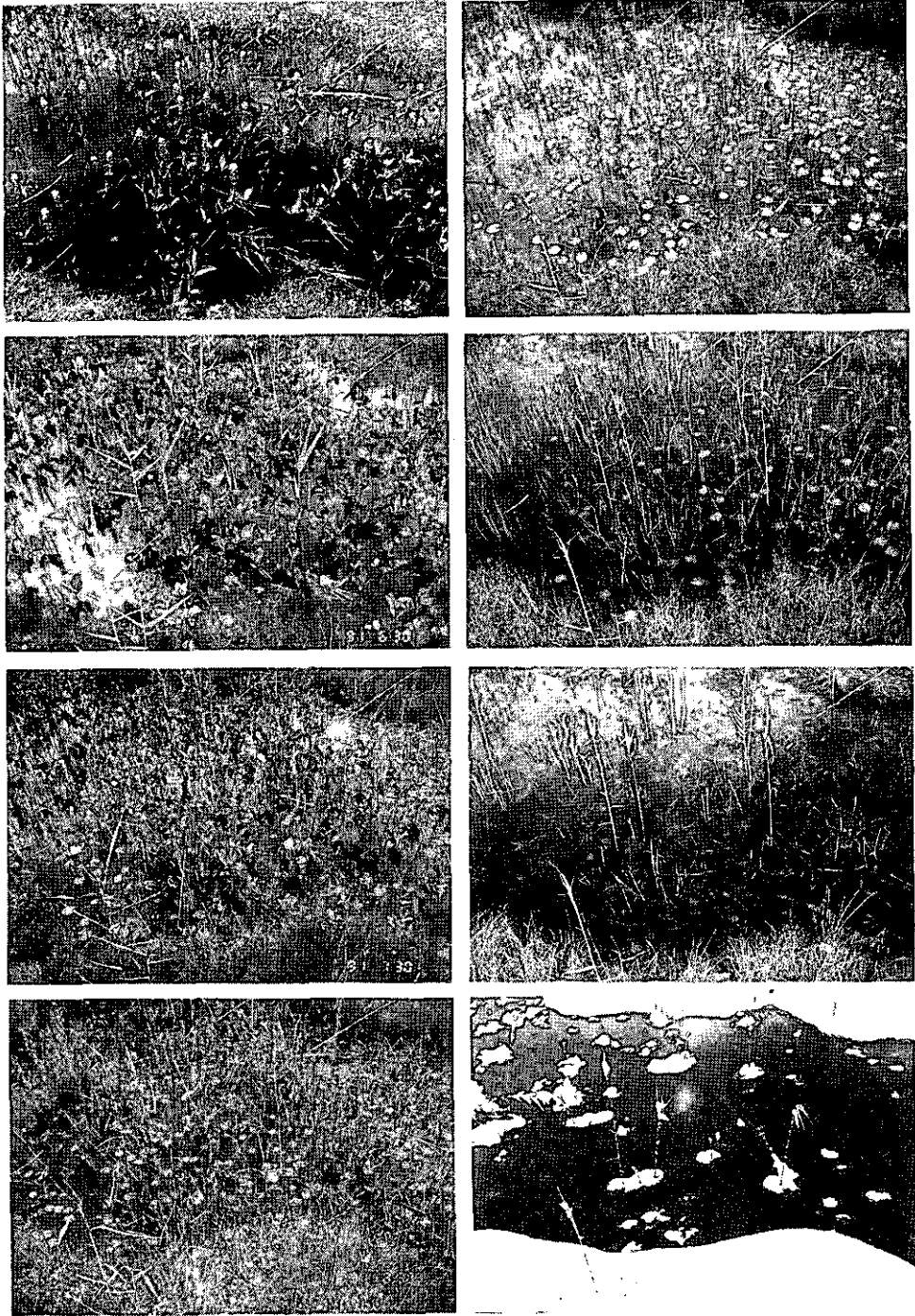


図2 宮床湿原の植物の季節消長  
1月ごとの写真を示す。

### (1) 湿原の変遷とそのモニタリングに関する研究

宮床湿原では約 350 か所の cm オーダーの高低差を光波測量器で測定した。また湿原全景の空中写真を撮影し微地形との対応を検討した。

湿原植物の開花・成長・季節遷移を定量的に把握するために、連続撮影の簡易システムを開発し、植物及び景観の季節変化が記録できるようになった。池の植物はミツガシワ、ヒツジグサ、ヨシの順に成長・枯死していた(図2)。冬季は目盛りポールを写し込むことで積雪深の記録も行っている。

赤井谷地湿原で 1963~1990 年の 28 年間に撮影された 11 枚の空中写真を比較した結果、1971 年以前と比較して 1976 年以後木本類の面積が増加しており、1971~1973 年にかけて行われた湿原周囲の農業用水路設置の影響と考えられた。

### (2) 湿原生態系の特性に関する研究

宮床湿原西北部及び赤井谷地湿原中央部にロボット気象観測装置を設置し気温・湿度・風向・風速・日射量・雨量・地温・積雪量の観測を開始した。冬季に 0.7~1.5 m の雪に被われるため地温は 0℃以下にならず湧水の多い地点では開水面が存在した。また湿原に特有の微地形である凹凸構造の解析を開始し、凹地、凸地、ハイヌツゲ林内のミズゴケ層内の温度と土壤水分を連続的に測定した。凸地より凹地の方が地温は高く、1日でのピークの時刻が遅くなった。水位の高いハイヌツゲ林内は凹地や凸地よりも地温は低く、位相は凸地とほぼ同じで日較差は小さかった(図3)。

宮床湿原では合計 28 本の観測井戸を設置し地下水位及び水質の測定を行った。地下水は、 $\text{NH}_4\text{-N}$  と  $\text{SiO}_2$  濃度が高く  $\text{NO}_3\text{-N}$  はほとんどなく、嫌気状態にある。 $\text{NH}_4\text{-N}$  濃度の高い地点では  $\text{SiO}_2$  濃度も高く、また深くなるほど  $\text{NH}_4\text{-N}$  と  $\text{SiO}_2$  濃度は高かった。各地点とも 9~10 月にかけて濃度が最小となる季節変動パターンを示した。地下水位は、浅い地下水ほど地下水位は高く、水は鉛直下向きに動いていたが、湿原北西部より約 2 m 高度の低い東南端の観測井戸では、浅い部分で鉛直上向き、すなわち湧き出しになることがあった(図4)。ここは他の地点とは異なり、 $\text{NH}_4\text{-N}$  や  $\text{SiO}_2$  の濃度は深くなるほど濃度は減少していた。

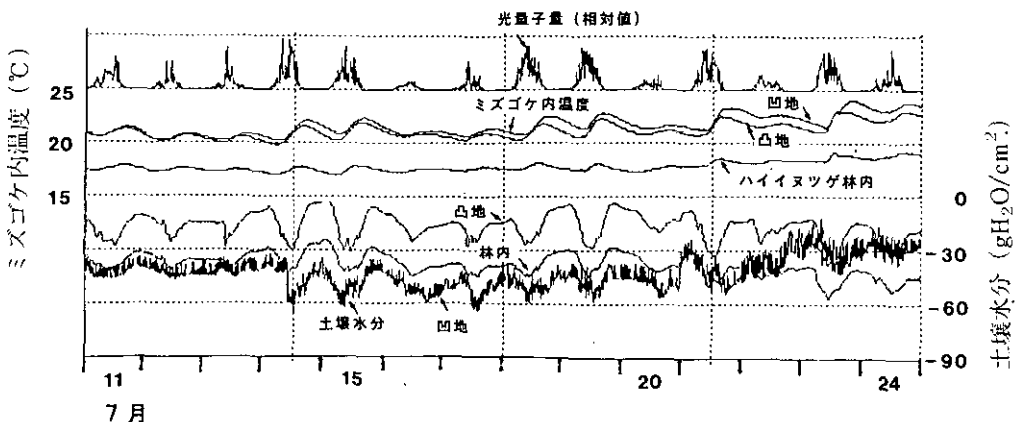


図3 宮床湿原の日射量及び凹地、凸地、ハイヌツゲ林内のミズゴケ層内の温度と土壤水分の日変動

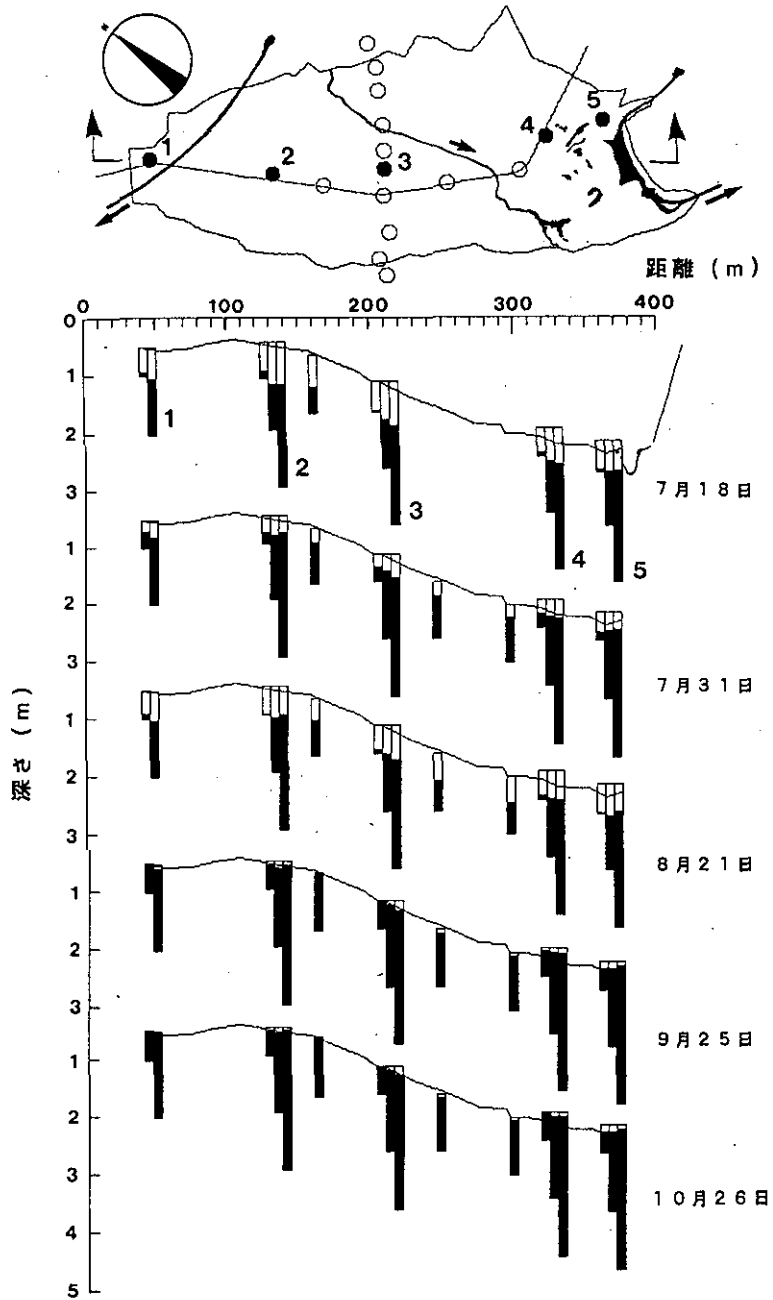


図4 宮床湿原の地形断面と観測井戸の水位  
 5地点(●印)では深さ0.5m, 1.5m, 2.5mの3本の井戸を設置し、  
 それ以外の地点(○印)では深さ1mの井戸を設置した。黒塗り部が  
 水位を示す。

湿原内に流入する湧水を起源とする2本の水路の $\text{SiO}_2$ 濃度は通常の山地地下水や渓流水濃度範囲であった。これらの水路の湧水地点と出口の $\text{SiO}_2$ 濃度を比較すると、1本ではわずかに減少し、もう1本では20 mg/l程度から8~18 mg/lの範囲に低下していた。この水路付近の観測井戸では、 $\text{SiO}_2$ 濃度は30 mg/l以上あり(図5)、この地下水が水路に多量に流出しているとは考えられなかった。したがって地下水の滞留時間はかなり長いと予想された。水路及び池の $\text{NH}_4\text{-N}$ 濃度は0.08 mg/l以下で、地下水よりもはるかに低かった(図6)。

コケ類は、湿原植生の主要な部分を占め、湿原生態系での生産・分解、物質循環を支配する生物群である。宮床湿原、赤井谷地湿原から採集・分類されたコケ類の総数は18種であった。双方の湿原とも、ムラサキミズゴケ、オオミズゴケ、スギバミズゴケ、イボミズゴケがコケ植生を形成している主要な種であった。しかしながら、共通の種はこの4種だけで、宮床湿原で大群落を形成していたチャミズゴケは、赤井谷地湿原では観察されず、宮床湿原だけに生息していたのが9種、赤井谷地湿原だけに生息していたのが5種に及び、湿原に開水面を有し、低層湿原的部分とやや乾燥した部分を有する宮床湿原と、乾燥が進み、マツやササが侵入してきている赤井谷地湿原とでは、コケ組成の詳細な部分では異なる様相を示していることが判明した。

宮床湿原を横断する、湧水を源とする3本の水路のうち、1本は湿原内で池を形成している。5~12月までの水源の水温は8~10℃で安定していたが、湿原内の浅く水量の少ない地点で

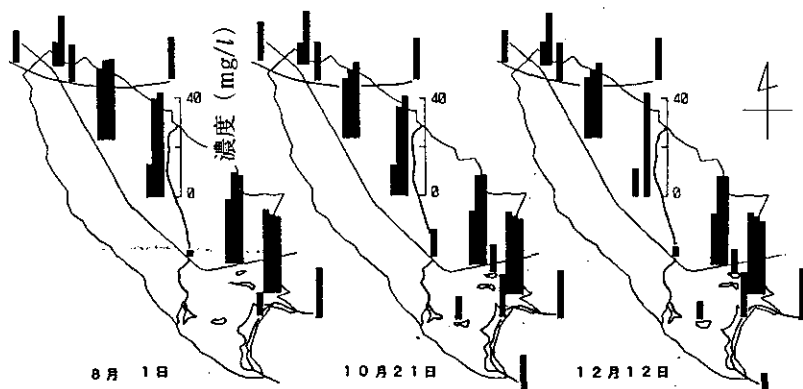


図5 宮床湿原の地下水、湧水、水路及び池の $\text{SiO}_2$ 濃度

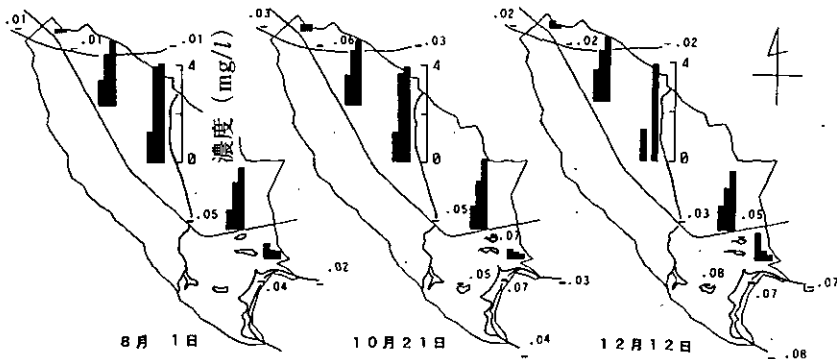


図6 宮床湿原の地下水、湧水、水路及び池の $\text{NH}_4\text{-N}$ 濃度

は夏季に 30℃にまで達した。

宮床湿原からは約 45 種類の藻類が確認された。湧水部では、緑藻 *Spirogyra* や *Mougeotia* の大繁殖が見られ、湿原の池には *Closterium* や *Micrasterias* 等の鼓藻類が優占していた。赤井谷地湿原からは約 20 種類が確認され、鼓藻類が優占していたが種数は少なく、ラン藻やベン毛藻の存在が相対的に目立った。水路や池の底生動物は、どの地点でもユスリカの密度が高く、池の中ではデトリタス・付着底生藻類食性の *Stictochironomus* とそれを捕食する *Procladius* が優占した。両方とも終令幼虫密度が 4000 個体/m<sup>2</sup> 以上に達し、1 年で成熟すると考えられた。水域によりデトリタス・付着藻類食者は *Chironomus* 等他の種が優占したが、*Procladius* の出現範囲は広がった。*Procladius* の消化管内容物には 1, 2 令のユスリカ幼虫が多く、*Stictochironomus* 若令への捕食圧は高いらしい。またほとんどの個体の消化管には大型付着藻類が見られ、*Procladius* の雑食性を示唆していた。このほかミズムシ (*Asellus*) がどの水域にも出現したが、ヨシ群落を横切る小水路で優占した。高密度に出現するこれらの水生生物の物質循環経路を、今後明らかにしていく必要がある。

湿原に生息する主要な植物個体群の遺伝的多様性を DNA の制限酵素による切断パターンを比較検討するために必要とされるプローブの検討を行った。プローブとしては、環境変化との対応の検討が可能な硝酸還元酵素と亜硝酸還元酵素の遺伝子をクローン化することを試みた結果、ホウレンソウよりそれらの遺伝子をクローン化し、構造を調べたところ間違いがないことを確認した。

### (3) 湿原生物群集の変動要因に関する研究

植生の季節変動と環境要因との関係を明らかにするために、1 m 方形区を 20 か所に設置し植生の記録と地温・地下水位・土壌水水質の測定を行った。また実生個体の同定と成長解析のために、湿原植物の種子を採取し重量頻度分布を求めた。平均種子サイズは生育地や時期によって大きな違いはなかったが、分散が異なっていた。

平成3年度 編集小委員会

委員長 相馬 光之

委員長代理 高松 武次郎

委員	柳 橋 泰 生
〃	伊 東 喜 司 男
〃	中 根 英 昭
〃	高 村 健 二
〃	松 本 幸 雄
〃	兜 真 徳
〃	須 賀 伸 介
〃	彼 谷 邦 光
〃	鈴 木 明 記
〃	光 本 茂 子
〃	高 村 典 嗣
〃	植 弘 崇 子
事務局	松 井 文

国立環境研究所特別研究年報

平成3年度

---

平成4年8月31日

編集 国立環境研究所 編集小委員会

発行 環境庁 国立環境研究所

〒305 茨城県つくば市小野川16番2

電話 0298-51-6111 (代表)

---

印刷 株式会社イセブ

茨城県つくば市天久保2-11-20

本年報は再生紙を使用しています。