

休廃止鉱山の坑廃水が流入する河川における
生態影響評価ガイダンス

Guidance for Ecological Impact Assessments
in Rivers Receiving Mine Discharges

国立研究開発法人 産業技術総合研究所

エネルギー・環境領域 安全科学研究部門

地質調査総合センター 地圏資源環境研究部門

経済産業省 産業保安グループ

令和4年3月

まえがき

休廃止鉱山において坑口や集積場などから排出される坑廃水は、一般的に酸性で金属濃度も高い。そのため、鉱害防止を目的として中和処理などによる対策が講じられている。鉱山によってはこの坑廃水処理は、100年以上も必要になるといった学術成果も示されており、処理にかかる人的及び経済的コストの低減化を含め、長期的な視点に立った坑廃水の管理方法が必要となってきた。

このような課題への対応策として、中央鉱山保安協議会では金属鉱業等鉱害対策特別措置法に基づき「特定施設に係る鉱害防止事業の実施に関する基本方針（平成25年）」の中で、休廃止鉱山における水質管理目標の弾力的運用として「坑廃水処理の終了に向けた地元理解を得るため、下流の利水点等の環境基準等を満足できる鉱山では、下流影響度に関するデータの把握・蓄積を行い、データ解析等の検討を実施する」としている。このような背景を受け、坑廃水（原水または処理水）が排水基準を超過していても、下流の利水点等で環境基準等を満足できる義務者不存在鉱山では、放流口での排水基準管理ではなく、下流の利水点等での水質や生態系への安全性を確保した上で坑廃水を管理あるいは監視するという、利水点等管理を検討することの重要性が近年各所で指摘されている。

そこで、休廃止鉱山におけるグリーン・レメディエーション（元山回帰）の調査研究事業において設定されたグリーンレメディエーション（GR）委員会では、利水点等管理のあり方を検討するとともに、利水点等管理を進める上で必要となる鉱山下流の水生生物への生態影響評価方法について、生態影響評価に係る調査・分析ワーキンググループを設置し、検討を進めてきた。休廃止鉱山の多くが位置する河川上流部では、溪流魚を対象とした遊漁を含む生態系サービス（生態系から得られる恵み）が享受されていることも少なくない。そのため、義務者不存在鉱山では、坑廃水処理において排水基準に適合をすることを求められる法的な根拠はないが、将来の坑廃水管理について地元の理解も得ながら検討するためには、下流域の利用状況に応じて生態影響評価を実施することが有用であろう。

このような生態影響評価を実施する上で参考となるガイダンスは、日本にはこれまで存在しておらず、鉱山下流における生態影響評価を実施する上で本ガイダンスが有効に活用されることを期待したい。また、本ガイダンスの刊行にあたって御指導を賜った関係各位に対して感謝申し上げます。

令和3年3月

休廃止鉱山におけるグリーン・レメディエーション（元山回帰）調査研究委員会
生態影響評価に係る調査・分析ワーキンググループ 主査 松田 裕之
及び 当該委員会・ワーキンググループ事務局

令和2年度生態影響評価に係る調査・分析ワーキンググループは、以下の委員で構成された（五十音順、敬称略）。

- 加茂 将史（産業技術総合研究所 安全科学研究部門 リスク評価戦略グループ）
- 野呂田 晋（北海道立総合研究機構 産業技術環境研究本部 エネルギー・環境・地質研究所 地域地質部 地質環境グループ）
- 松田 裕之（横浜国立大学 環境情報研究院 自然環境と情報部門）
- 森田健太郎（北海道大学 北方生物圏フィールド科学センター 森林圏ステーション）

目次

第1章.	要約.....	4
第2章.	背景.....	6
第3章.	本ガイダンスにおける生態影響評価の目的.....	8
第4章.	生態影響評価の適用が推奨されるケース	9
第5章.	生態影響評価を検討する上での留意点及び重要な考え方.....	11
5.1.	調査・評価内容を検討する上での留意点.....	11
5.2.	3つの評価方法の特性と段階的評価の考え方.....	11
5.3.	参照地点と比較するという考え方（水生生物調査）	14
第6章.	調査地点の設定	15
6.1.	調査地点（評価地点と参照地点）	15
6.2.	調査地点設定の具体例	17
第7章.	生態影響評価方法：水質調査	19
7.1.	位置づけ.....	19
7.2.	測定項目	19
7.3.	調査頻度・時期	21
7.4.	調査・分析方法	21
7.5.	結果の評価方法	22
第8章.	生態影響評価方法：水生生物調査	26
8.1.	位置づけ.....	26
8.2.	水生生物調査における対象生物グループ	26
8.3.	調査方法・項目	27
8.4.	調査頻度・時期	29
8.5.	結果の評価方法	29
第9章.	生態影響評価方法：環境水を用いた生物応答試験.....	32
9.1.	位置づけ.....	32
9.2.	試験方法.....	33
9.3.	調査頻度・時期	34
9.4.	結果の評価方法	34
第10章.	総合評価の考え方.....	35

第1章. 要約

休廃止鉱山の坑廃水管理には少なくない人的・経済的コストがかかる。そのため、長期的な坑廃水管理として、鉱山の性状や地域の状況に応じて、放流口での排水基準管理ではなく、下流の利水点等における水質の安全性を確保した上での坑廃水の管理（利水点等管理）が経済産業省を中心に検討されている。この利水点等管理を検討する上で、下流の利用状況等により、鉱山下流において坑廃水が水生生物に及ぼす影響の評価（生態影響評価）と把握が必要となる場合がある。本ガイダンスは、鉱山管理者等を対象に、このような生態影響評価をどのように実施すべきかを記述した。生態影響評価とは、坑廃水が流入する河川における地点または一定の範囲で、管理上許容できない水生生物への生態影響が予測・観測されるかを、金属類（例えば、亜鉛）等を対象とした水質調査や魚類や底生動物等を対象とした水生生物調査によって評価するものである（図1-1）。本ガイダンスでは、まず、利水点等管理の定義を含めた本ガイダンスの背景（第2章）、本ガイダンスを編纂した目的（第3章）を述べたうえで、生態影響評価の適用が推奨されるケース（第4章）や、重要な考え方及び留意点（第5章）を整理した。次に、調査対象河川に設定した地点において（地点設定：第6章）、①水質（主に金属濃度）による水生生物への生態影響が懸念されるかどうか（第7章）、②坑廃水の影響を受けていない参照河川と比較して水生生物相への影響が観察されるか（第8章）といった生態影響評価の結果から得られる情報について整理した。また、水質調査や水生生物調査を補足調査としての生物応答試験の活用方法を示した（第9章）。最後にこれらの方法を用いて生態影響評価を行った場合の総合評価の考え方について整理した（第10章）。

また、各章の冒頭で内容のポイントを箇条書きで記述した。本ガイダンスの全体像や各章の概要を限られた時間で把握する場合などに、ご利用頂きたい。さらに、付録として、本ガイダンスに関連する疑問点を「よくある質問（FAQ）と回答（付録1）」、実際の生態影響評価の事例として「休廃止鉱山の坑廃水が流入する河川における生態影響調査の事例（付録2）」を追加した。特に前者は、水生生物の保全を目的とした水質環境基準を超過することの意味など、本ガイダンスを読み進める上で想定される疑問を整理している。

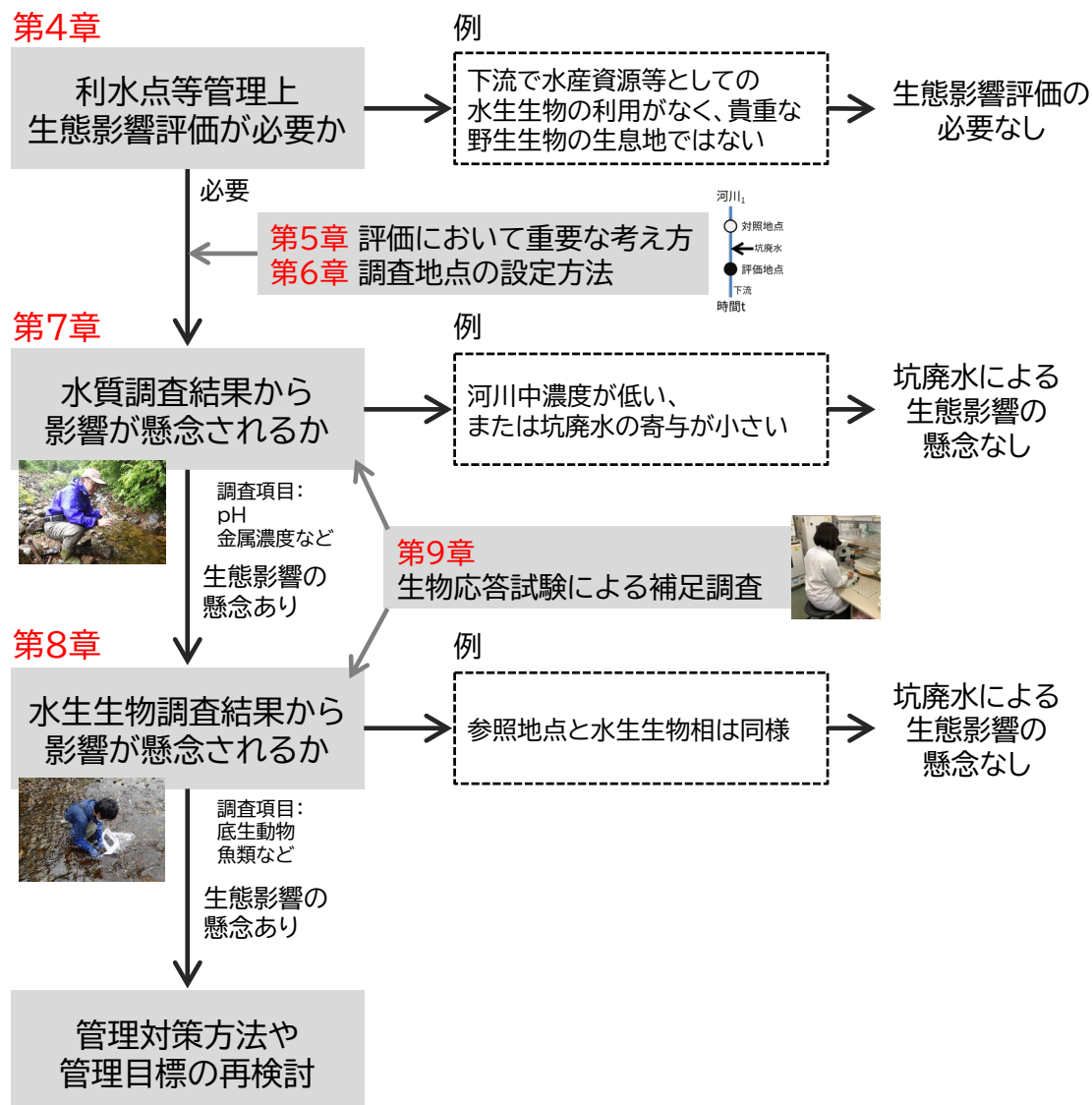


図 1-1. 生態影響評価のフローチャート（段階的評価）

ただし、水生生物調査を実施する際は、水質調査も同時に実施することが推奨される（詳細は第 8 章参照）。「水質調査による評価で生態影響の懸念ありと判断された場合でも、水生生物調査で生態影響の懸念なしと判断される場合」の詳細については、7-1 節や付録 1（よくある質問）を参照されたい。

第2章. 背景

【第2章の要点】

- ・ 休廃止鉱山の坑廃水管理には少なくない人的・経済的コストが必要となる。
- ・ 長期的な坑廃水管理のあり方として、鉱山の性状や地域の状況に応じて、放流口での排水基準管理ではなく、下流の利水点等における水質の安全性を確保した上での坑廃水の管理（利水点等管理）が経済産業省を中心に検討されている。
- ・ 地元の理解を得ながら利水点等管理を検討する上で、下流の利用状況等により、鉱山下流において坑廃水が水生生物に及ぼす影響の評価（生態影響評価）と把握が必要となる場合がある。
- ・ 本ガイダンスにより、鉱山管理者等を対象に、このような生態影響評価をどのように実施すべきかの情報を得ることができる。

休廃止鉱山において、鉱物を採掘するため掘採した地下（坑道）から湧出する水（坑水）と選鉱場・製錬場等から排出された捨石又は鉱さいの集積場等から流出する水（廃水；坑水と合わせて坑廃水と呼ばれる）は、酸性で複数の金属を比較的高い濃度で含有していることが多い。そのため、坑廃水による鉱害を防止するために、これまで関係者の尽力で、坑口の閉塞や集積場の覆土植栽などの鉱害防止工事や坑廃水の中和処理などによる対策が実施され、鉱害の未然防止あるいは鉱害復旧、そして再発防止に務めてきた。坑廃水の流出が雨水等を起源とする水循環の中にあることを考慮すると、坑廃水はほぼ永久に排出されるといっても過言ではない。最新の休廃止鉱山関連の学術研究によれば¹⁾、今後100年以上坑廃水処理が必要になる鉱山も存在すると予測されることや、義務者不存在・存在の休廃止鉱山に対して、国から支給される「休廃止鉱山鉱害防止等工事費補助金」の年間総額は、現在約20億円に上っていることを踏まえると、長期的な視点に立った坑廃水対策や管理を検討・着手することが重要である。

長期的な視点での管理方法の1つとして、鉱山や地域の状況に応じて、放流口での排水基準管理ではなく、利水点等での環境基準等の監視・管理が経済産業省を中心に検討されている。金属鉱業等鉱害対策特別措置法に基づく「特定施設に係る鉱害防止事業の実施に関する基本方針（経済産業省告示第67号：平成25年3月28日）」の留意事項においても、「坑水又は廃水の処理の終了に向け、下流の利水点等の環境基準等を満たす鉱山では、下流影響度に関するデータの把握・蓄積を行い、データ解析等の検討を実施すること」と記載されている。これらの背景を受け、下流の利水点等で環境基準等を満足できる義務者不存在鉱山では、放流口での排水基準に基づく管理ではなく、下流の利水点等における水質の安全性を確保した上で坑廃水を管理・監視する、利水点等管理を検討することの重要性が近年各所で指摘されている^{2,3)}。ここで、「利水点」とは河川水を人間が利用する場所を指し、この利水点を広義に捉えると、水生生物等の生息地（すなわち、点ではなく範囲）も含まれるため²⁾、このような生息地を含めて「利水点等」と呼ぶ。

この利水点等管理を検討・実施する上では、坑廃水が流入する河川において、それを利用する人及び下流に生息する水生生物等に悪影響を及ぼさないようにすることが重要となる。詳細はここでは割愛するが、人が直接利用する河川水には、飲用水等の一般家庭あるいはゴルフ場の散水やプールや公衆浴場などの施設で用いる上水、工場で用いる中水、発電のための用水、水田や畑の灌漑等や畜産業に用いる農業用水、養殖場等における養殖生物の飼育等に用いる水産用水、工業用水などが考えられる²⁾。義務者不存在鉱山では、坑廃水処理において排水基準に適合をすることを求められる法的な根拠はないが、これらの用水で求められる基準を下流の利水点で満足することが必要になる（例えば、農業（水稲）用水基準で亜鉛の場合、0.5 mg/L）。利水点等管理のガイダンスについては、経済産業省が実施する「休廃止鉱山におけるグリーン・レメディエーション（元山回帰）の調査研究事業」のグリーン・レメディエーション（元山回帰）調査研究委員会において、別途、議論・準備が進められている。

我が国では現在、水生生物の保全に係る水質環境基準が、金属類では亜鉛について設定されている。また、坑廃水には亜鉛以外にも、銅、カドミウム、鉛等の金属類が含まれている。これらの負荷源は坑廃水以外にも存在するが、その生態影響は国内でも懸念されており⁴⁾、諸外国では水生生物保全のための水質環境基準等が設定されている。一方、河川には、特に有用な魚介類を中心とした内水面漁業や遊漁がさかんな場所もあり、第5種共同漁業権等に基づき放流した淡水魚等の水産資源も存在する。例えば、北海道ではワカサギやサクラマスの子魚などサケ目魚類の放流が盛んである。また、絶滅危惧種の生息地などへの影響も懸念されるかもしれない（環境省レッドリスト：<https://www.env.go.jp/nature/kisho/hozen/redlist/index.html>、2021年3月閲覧）。そのため、鉱山下流の水生生物への影響を評価・把握することが（ここでは、生態影響評価と呼ぶ）、地元の理解を得ながら利水点等管理を検討する上で必要となる場合がある。しかしながら、金属類を対象とした河川での生態影響評価方法やそれに類似する影響評価方法を記述したガイダンスはこれまでに日本に存在しない。そのため、本ガイダンスでは、利水点等管理の検討を進める上で、鉱山下流における生態影響評価が必要となった場合に、坑廃水（処理水）の主要な放流先である河川における水生生物等への影響をどのように評価すべきかを記述した。鉱山管理者等が鉱山下流での生態影響評価を実施する上で、本ガイダンスがその一助となることを期待する。

第3章. 本ガイダンスにおける生態影響評価の目的

【第3章の要点】

- 本ガイダンスにおける生態影響評価は、坑廃水が流入する河川における地点または一定の範囲で、管理上許容できない水生生物への生態影響が予測・観測されるかを調査・評価するものである。
- 生態影響評価の結果、調査対象河川または地点において、①水質（主に金属濃度）による水生生物への生態影響が懸念されるかどうか、②水生生物相への影響が観察されるかといった情報が得ることができる。
- 生態影響評価の結果は、利水点等管理を検討する際に、利害関係者との合意形成や管理者の意思決定における資料となることを想定している。
- 本ガイダンスは、生態影響評価の考え方や調査の方法論を記述したものであり、利害関係者間の合意形成等を含めた利水点等管理全体の枠組みを記述したものではない。

本ガイダンスで対象とする生態影響評価の目的は、休廃止鉱山の坑廃水が流入する河川における地点または一定の範囲で、管理上許容できない水生生物への生態影響が予測・観測されるかを評価することである。なお、例えば、パッシブトリートメント（自然力活用型坑廃水処理^{5,6)}）の導入と同時に利水点等管理を検討する場合には、坑廃水（原水）だけでなく坑廃水処理水が対象となることも考えられるが、本書では特に区別せずに坑廃水とする。ここで、本ガイダンスで調査対象とする水生生物とは、河川環境の調査やモニタリングで頻繁に用いられる^{7,8)}、付着藻類、底生動物、魚類とする（詳細は第8章）。生態影響評価の結果、調査対象河川や対象地点において、①水質（主に金属濃度）による水生生物への生態影響が懸念されるかどうか、②実際に水生生物相への管理上許容できない影響が観察されるかどうか（加えて、その影響の大きさや範囲）、といった情報を収集することができる。

得られる生態影響評価の結果は、利水点等管理を検討する際や、その他坑廃水処理等の管理方策を変更する際に、利害関係者との合意形成や管理者の意思決定における資料となることを想定している。生態影響評価の適用が推奨されるケースについては、第4章に詳述している。利水点等管理の文脈においては、管理目標（守るべき対象）に下流域の生態系や水生生物が含まれ、生態影響評価の実施が必要となった場合に、本ガイダンスを参考にするという関係にある。加えて、本ガイダンスは、生態影響評価の考え方や調査概要を記述するものであり、利害関係者間の合意形成等を含めた利水点等管理全体の枠組みを記述するものではない。前述の通り、利水点等管理のガイダンスについては、別途、議論・準備が進められている。

第4章. 生態影響評価の適用が推奨されるケース

【第4章の要点】

- 生態影響評価の適用が推奨されるケースは、①放流口及び利水点等での基準超過状況から適用が推奨されるケースと②対象流域の生態系の状況によって適用が検討されるべきケースがある。
- ただし、これらのケースに当てはまる場合でも、生態系の利用状況や利害関係者との対話によって、生態影響評価の実施が必要でないと判断できる場合も考えられる。
- 生態影響に対する坑廃水寄与を考える上で、坑廃水が下流河川の金属濃度（や負荷量）にどの程度寄与しているかや、自然起源等による金属負荷がどの程度あるかについても留意する必要がある。

生態影響評価の適用が推奨されるケースは、大きく分けて2つに分類され、以下の4つのケースが想定される。

1. 放流口及び利水点等での基準超過状況から適用が推奨されるケース

2021年3月現在、水生生物の保全を目的とした水質環境基準及び排水基準が設定されている金属が亜鉛のみである点を念頭に置くと、本ケースは以下の2つに整理できる。

ケース 1a：放流口超過、利水点等達成

亜鉛が放流口で排水基準を超過している（またはその可能性がある）が、下流の利水点または環境基準点等では当該項目が水質環境基準を達成している場合。

ケース 1b：放流口超過、利水点等超過

亜鉛が放流口で排水基準を超過しており（またはその可能性があり）、下流の利水点等でも当該項目が水質環境基準を超過している場合。後述するように、水質環境基準の性質を鑑みると、水質環境基準を多少超過していても、生物相は大きな影響を受けていない可能性がある⁹⁾。そのため、生態影響評価を実施してその影響を明らかにし、専門家及び利害関係者と議論することで、実態に即した坑廃水管理も可能になる。

2. 対象流域の生態系の状況によって適用が検討されるべきケース

ケース 2a：水産資源や生態系サービスへの影響

坑廃水が流入する河川下流において、漁業または遊漁に利用される魚類等の生息や孵化場等の施設があり、水産資源への影響が危惧される場合。または観光資源の喪失など、その他の生態系サービス（生態系から得られる恵み）を損なう懸念がある場合。

ケース 2b：生物多様性への影響

下流の特徴的な野生生物相への影響が特に危惧される場合。

これらの4つのケースに該当する場合においても、以下の点に留意されたい。まず、「放流口及び利水点等での基準超過状況から適用が推奨されるケース（ケース 1a 及び 1b）」に当てはまる場合でも、下流の生態系の状況（例えば、ケース 2a 及び 2b のような状況が

該当しない場合) や利害関係者との対話によって、生態影響評価の実施が必要でないと判断される場合も考えられる。

「対象流域の生態系の状況によって適用が検討されるべきケース(ケース 2a 及び 2b)」の場合、保全対象は水生生物を含む生態系であるが、第 7 章で詳述するように、この保全目標の達成自体を水生生物の保全を目的とした水質環境基準等との比較によって判断することもできる。水質環境基準は個別の物質を対象に、日本では水生生物個体群の保護を目的として維持することが望ましい水準として設定されており、この数値を超える水域であっても、直ちに水生生物にある程度以上の影響を及ぼすといった性格をもつものではない¹⁰⁾。したがって、個別の物質による生態影響という意味では、水質環境基準未満では大きな影響は懸念されないし、亜鉛の水質環境基準を多少超えても水生生物個体群がすぐに存続できなり、生物種数が大きく減少するというわけでもない⁹⁾。しかしながら、複数の金属類が同時に存在する場合(それらの金属による複合影響が懸念される場合)や水質環境基準が設定されていない金属の濃度が高い場合(第 7 章参照)は、下流域において生態影響が懸念される場合がある。そのような場合には、水質調査などを用いた生態影響評価の実施が必要となる。

また、自然起源を含めたバックグラウンドの河川中金属負荷量(濃度と流量の積)と坑廃水中金属負荷量を比較し、下流の金属濃度に対する坑廃水の寄与に基づいて生態影響評価の必要性を判断できる場合もあると考えられる。例えば、放流先の河川の流量が多く、放流先の河川における水質及び水生生物への影響は十分に小さいと考えられる場合である。カナダの金属採鉱の環境影響モニタリングに関する技術ガイダンスには、「最終放流口から 250m の場所で、放流水の割合が河川流量の 1% を超える場合は、魚類調査を実施することが求められる」といった記述があり¹¹⁾、下流への寄与が十分に小さいことが明らか場合は、生態影響評価は必ずしも必要ないとされている。また、自然起源を含めたバックグラウンドの負荷量が大きく、放流水が流入しても河川中の金属濃度はほとんど変化しないケースも少なからず見受けられる¹²⁾。そのような場合に、坑廃水流入後の下流で観測される影響をどのような目的で調べるか、すなわち環境基準値以下に下げるという前提を置くわけではないということを含めて、関係者等との議論が必要である。

第5章. 生態影響評価を検討する上での留意点及び重要な考え方

【第5章の要点】

- 生態影響評価を実施する前に、利害関係者や専門家等が懸念する生態影響を整理・議論した上で、調査や評価内容を検討することが望ましい。
- 生態影響評価における水質調査、水生生物調査、生物応答試験のそれぞれの位置づけや段階的な評価を理解し、評価目的に応じて実施を検討する必要がある。
- 坑廃水が流入する河川における生態影響の有無を判断する上で、坑廃水の影響を受けていない金属濃度の低い参照地点や河川との比較が基本となる。
- 水生生物の生息状況は、本来「自然のばらつき」が存在する。生態影響評価にはその点を考慮することが重要である。

5.1. 調査・評価内容を検討する上での留意点

本章では、生態影響評価の適用を検討する上での留意点及び重要な考え方について、3点を整理する。まず、1点目としては、先にも述べた通り、利水点等管理のあり方（管理目標など）を検討した上で、必要に応じて生態影響評価の実施が検討されるべきである。すなわち、生態影響評価を実施する前に、利害関係者や専門家等が懸念する生態影響が整理・議論された上で、当該生物調査や評価の内容を検討することが望ましい。例えば、鉈山下流の河川でサケ科魚類の遊漁が行われている場合、これらの魚類の個体数などを直接調査対象とすることが考えられる。

なお、休廃止鉈山下流で高い濃度が観測されるカドミウム等の金属については、食品中の基準が魚介類には設定されていない。亜鉛や銅、鉄、マンガン等には、食事摂取基準（国民の健康の保持・増進を図る上で摂取することが望ましいエネルギー及び栄養素の量の基準）が設定されている。しかし、遊漁等によって採捕される魚類を摂食することが考えられる場合は、安全・安心の確保や風評被害の防止の観点から、可食部等の金属濃度を測定し、食品からの日本人の年間の金属曝露量と比較することによって、食品として安全性を検討することを求められる場合もある。例えば、カドミウムであれば、“成人の平均体重を 53.3kg とすると摂取量は 2.8μg/kg 体重/週”であり、日本人の摂取量の約 4 割は米由来である（厚生労働省：食品に含まれるカドミウムについて <https://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/iyaku/syoku-anzen/cadmium/index.html>、2021 年 3 月閲覧）。このような値と比較し、総曝露量に対する寄与を推定することによって、食品として安全性を議論できる。

5.2. 3つの評価方法の特性と段階的評価の考え方

2点目として、生態影響評価方法として用いる水質調査及び水生生物調査、さらには補足的な評価方法として用いる生物応答試験にはそれぞれに利点と欠点がある（表 5-1）。そのため、それらの特性や化学物質の生態リスク評価で一般的に用いられる段階的な評価（図 5-1）の考え方をもとに、生態影響評価の実施方法を検討する必要がある。なお、

本節ではこれら 3 つの評価方法の概略のみを示し、方法などの詳細は第 7～9 章に記述する。

表 5-1. 3 つの生態影響評価方法の概要と特徴

方法	生態影響評価方法の概要	利点	欠点
水質調査	評価地点の金属濃度を測定し、水質環境基準等と比較する	他の方法に比べて簡便である	水質環境基準等を超過した場合に、実際の河川で生物相への影響があるかどうかは必ずしも明らかでない
水生生物調査	評価地点と参照地点において魚類等の水生生物相を比較する	実際の河川で観測される生物相への影響を直接観察できる	適切な参照地点を設定する必要があり、坑廃水以外の影響要因がある場合、結果の解釈に注意が必要である
生物応答試験	評価地点の河川水についてミジンコ類への毒性を評価する	河川水に含まれる物質の総合的な毒性を直接評価でき、金属類の影響かどうかを評価できる。	生物応答試験で観測される毒性影響と実際の河川における生物相への影響の関係が明らかではない

利点及び欠点の詳細は本章本文や各方法についての詳述した章（第 7～9 章）を参照されたい。



図 5-1. 水質調査及び水生生物調査による段階的な生態影響評価

生物応答試験は、当該試験で観察される影響と野外での影響レベルとの関係についてさらなる調査が必要なため、本ガイダンスでは水質調査及び水生生物調査の補足的な評価として位置づけた（詳しくは、第 9 章参照）。

水質調査による評価は、坑廃水が流入する河川において金属濃度を測定し、水質環境基準等と比較する方法である（表 5-1）。この水質調査による評価は、金属類などの濃度測定のみで評価が可能であるため、他の手法に比べて比較的簡便である。また、水質環境基準等は一般的に安全側に設定されているため、それらとの比較結果は、安全側の評価となる（予想される影響を過大に評価する）特性を持つ。したがって、生態影響評価における第 1 段階目の評価として位置づけることができる（図 5-1）。他方で、水質環境基準等の超過が観察された場合に、対象河川で管理上許容できない生態影響が観測されるとは限らない点にも注意が必要であり、その検証には水生生物調査が必要となる。

水生生物調査による評価は、対象河川において魚類等の水生生物調査を実施し、金属濃度の低い参照河川（定義は、6.1 節参照）と比較することで影響を評価する方法である（表

5-1)。水生生物調査は、実際の河川で観測される生物相への影響を直接観察できることが大きな利点である。したがって、水質調査による評価によって生態影響が懸念される場合に、対象河川で実際に生物相への影響が観測されるかを調査する第2段階目の評価として位置づけることができる（図 5-1）。休廃止鉱山が位置する河川の上流部のように他の人為的な汚染や改変がほとんどない条件においては、水生生物調査で観測される影響の原因としては、坑廃水を起源とする金属濃度等の影響と判定できると考えられる。一方で、対象河川と参照河川間で、坑廃水を起源とする金属濃度等以外の要因を完全に一致させることはほぼ不可能であり、水生生物調査のみでは原因特定は必ずしも容易ではない点に留意されたい。その意味で、第8章で述べる通り、同時に水質調査を実施し、金属濃度等を把握しておくことが坑廃水の影響かどうかを考察する上で重要となる。

生物応答試験による評価は、河川などの環境水の生態毒性をミジンコ等の試験生物を用いて直接評価する方法である（表 5-1）。坑廃水に含まれ生態影響が懸念される金属を含む全ての物質の濃度を測定し、生態影響を一つ一つ評価することは現実的ではないが、生物応答試験は、環境水に含まれる物質の総合的な毒性を直接評価できる点が特徴である。また、生物応答試験で観測される毒性の要因が金属類かそうではないかの評価も比較的容易に可能である。ただし、各金属の濃度は生物応答試験から不明であり、観測された影響がどの元素によるものかを生物応答試験のみから特定することは容易ではない。また、室内で観察される毒性影響の大きさと野外で観察された影響の大きさとの関係が必ずしも明らかではない点が欠点として挙げられる。

以上の整理から、図 5-2 に示したように、例えば、水質調査の結果、生態影響が懸念される金属類について水質環境基準等の超過が観測されず、複合影響も懸念されない場合には（複合影響については第7章参照）、坑廃水に起因する生態影響が観測される可能性は低いため、水質調査による評価結果に基づいて生態影響評価を完了し、それ以上の調査（水生生物調査や生物応答試験）を実施しないという判断ができる。より詳しくは、第10章の総合評価の考え方で示した表 10-1 や図 1-1 のフローチャートや参照されたい。水質調査や生物応答試験は、現地での採水のみで評価が可能であるため、アクセスが困難な場所などでは、これらの調査及び評価のみから、生態影響の有無を判断することが合理的な場合も考えられる。なお、生物応答試験については、休廃止鉱山を対象とした調査研究から、ミジンコ類を用いた慢性試験で影響が認められなければ、野外で底生動物の種数や個体数に大きな影響はない事例が複数蓄積されてきている（産業技術総合研究所 未発表データ）。しかし、日本全国レベルで生物応答試験において観察される影響の程度と野外での影響の程度を結びつけるにはさらなる検証が必要であり、現時点では、水質調査の評価結果の検証や水生生物調査の予備的検討、および生態影響の原因となる要因を特定するための知見を提供する補足的な調査手法と位置付ける。

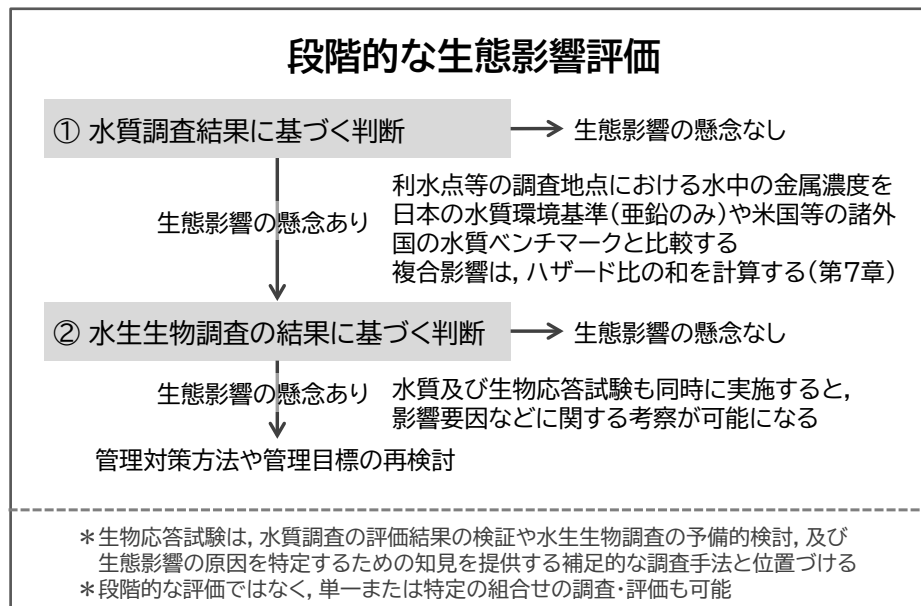


図 5-2. 坑廃水が流入する河川における段階的な生態影響評価と判断例

5.3. 参照地点と比較するという考え方（水生生物調査）

水生生物の生息状況やその多様性は、地理的条件（例えば、緯度、地形）や物理化学的条件によって異なることにも留意が必要である。そのため、坑廃水が流入する河川における生態影響評価は、対象となる鉱山の坑廃水の影響を受けておらず金属濃度が低い参照地点との比較が基本となる（調査・評価内容を検討する上での留意点や重要な考え方の3点目：参照地点のさらなる詳細は第6章参照）。また、例えば豪雨による増水や異常気象等が対象地域で起きた場合に、地理的に近い参照地点でも同様にその影響を受けると考えられるため、参照地点と比較することで、坑廃水以外の影響もできるだけ取り除いて評価することも可能になる。したがって、水生生物調査を実施する場合は、参照地点を設定することが望ましい。しかし、アクセスの問題などの理由で、対象河川の近くに適切な参照地点の設定が困難な場合も考えられる。その場合は、国土交通省が全国の河川で実施している河川水辺の国勢調査（<http://www.nilim.go.jp/lab/fbg/ksnkankyo/>）などの既存の生物調査データを比較対象とすることもよいだろう。

また、水生生物の生息状況（例えば、個体数や種類数）は、同一地点内でもばらつくことに留意が必要である。例えば、ある河川地点において、25 cm×25 cm の方形区（625cm²）を複数箇所設定して、生息する底生動物の個体数や種類数を調べると、それらの方形区で確認できる個体数や種類数はまったく同じにはならない。水生生物調査の結果に基づいて生態影響の有無を評価する上では、坑廃水の影響を受ける地点と参照地点間で観測される違いが、この自然のばらつきによるものではないかを考慮することが重要である。

第6章. 調査地点の設定

【第6章の要点】

- 生態影響評価における調査地点の設定は、坑廃水が流入する河川において、生態影響評価を実施すべき地点（評価地点）を設定し、近傍の河川において、坑廃水による影響要因以外の物理化学的環境が同様で、他の人為的な影響を（ほとんど）受けていない比較対象地点（参照地点）を設定する。
- 調査地点の設定は、生態影響評価の目的や対象流域の特性等によって可変である。
- 具体的な調査地点の設定について、4つの代表的な例を挙げて説明した。

6.1. 調査地点（評価地点と参照地点）

生態影響評価を実施するために、まず、坑廃水が流入する河川において、生態影響評価を実施すべき地点（評価地点と呼ぶ）を1地点以上選出する必要がある。想定される調査地点設定の4つの例を図6-1に示した。地点設定の詳細は、利水点等管理や生態影響評価の目的や周辺環境条件に依存すると考えられるが、坑廃水が河川に流入した直下の地点が1つの選択肢として考えられる（図6-1の方法A）。坑廃水流入直下地点は、坑廃水の影響を最も直接的に受ける地点であり、この評価地点で生態影響が観測されなかった場合は、鉦山下流の対象河川において坑廃水による影響は観察されないことが予想される。他に、図6-1の方法Bのように、坑廃水流入河川に複数の評価地点を設定し、任意の範囲で評価することも考えられる（付録2の調査例も参照）。利水点等（例えば、実際に遊漁等による利用される範囲）での生態影響を考慮するために、坑廃水流入直下地点だけでなく、より下流での評価が望まれる場合も考えられる。

次に、坑廃水流入河川に設定した評価地点の比較対象として、参照地点の設定が必要になる。参照地点は、理想的には、設定する評価地点が仮に坑廃水の影響を受けていなかった場合の状態を代替できる地点と解釈できる。水質調査や生物応答試験において参照地点の設定は必ずしも必要ではないが、調査対象河川のバックグラウンド（自然状態）を把握する上ではこれらの調査においても有用である。一方で、水生生物調査では、地域の特性上、参照地点の設定が困難な場合などを除き、参照地点との比較は可能な限り行うことが望ましい。例えば、豪雨などの増水後に評価地点の水生生物相が変化した場合に、それが坑廃水の影響か増水の影響かを考察する上で、近傍の参照地点との比較は不可欠である。

参照地点は、評価対象の要因（ここでは坑廃水の影響）を除くすべての条件が評価地点と同じ地点であることが理想である。例えば、坑廃水が流入する直下の地点に対して、流入前の直上の地点が、このような参照地点に相当する（図6-1の方法A）。しかしながら、例えば、図6-1の方法Bのように坑廃水流入河川のさらに下流の地点を評価地点と設定する場合などは、坑廃水の影響を除くすべての条件が評価地点と同じ完全な参照地点を設定することはできない。そのため、近傍の河川（例えば、評価地点と同一の流域）において、坑廃水による影響要因（例えば、金属類の濃度）以外の物理化学的環境が同様で、他の人為的な

影響を受けていない（あるいは、他の人為的な影響が最小限の）地点を、参照地点として設定する。ここで他の人為的な影響とは、例えば、鉱山以外の排出源による水質汚染やコンクリート護岸等による物理環境の改変を指す。

水生生物調査のための参照地点を設定する場合において、他にも考慮すべき要因は考えられるが（pH 等の一般的な水質項目や生息場の構造等）、留意すべき主要な物理化学環境要因としては以下の項目が挙げられる。

- 河川規模（流域面積、河川次数、流路幅）
 - 河川において上流・中流・下流といった位置関係によって、生息場の構造や水温、餌資源などの違いがあり、異なる水生生物相が成立するため。なお、河川次数とは、対象とする河川や地点の位置を表す指標である（詳細は例えば、井上・中村（2019）の 1.1.4 節参照）。
- 標高（あるいは水温）
 - 水温は水生生物の生息にとって重要な要因であり、湧水等の影響を除けば、一般的に標高により水温が変化するため。
- 流域の土地利用や地質
 - 土地利用や地質によって水質等が変化し、それに応じて異なる水生生物相が成立するため。土地利用は国土交通省の国土数値情報（<https://nlftp.mlit.go.jp/index.html>）、地質は産業技術総合研究所の地質図 Navi（<https://gbank.gsj.jp/geonavi/>）で確認できる。

また、河川の水生生物相は坑廃水以外の人為的な影響も受けている。特に、人為的な負荷が少ない河川上流域においても、ダムや堰堤等が存在する場所は少なくない。特に魚類は、このような人工構造物の存在によって移動が妨げられ、隔離された個体群が絶滅に繋がる場合がある^{13, 14)}。小さな堰堤等は地形図に掲載されていないこともあるため、調査地点（評価地点及び参照地点）を設定する際に、このような人工構造物の有無を現地で確認し、留意する必要がある。例えば、川と海を回遊する魚類を調査対象とする場合、評価地点及び参照地点下流から海までの間に、移動を阻害する構造物がないかを確認しておく必要がある。調査対象とする個別の河川ごとに、魚類の移動を阻害する人工構造物の有無や配置は異なることが予想されるため、そのような構造物をあった場合に、どのように調査地点の設定すべきかについてここで一義的に記載することは難しい。状況によって、専門家等に相談することを検討されたい。

地形的に安全にアクセスすることが難しいなどの理由で、適切な参照地点がどうしても設定できない場合も考えられる。1つの選択としては、上述した条件のいくつかを明らかに満たさなくても、「この河川（地点）と同じような水生生物相であればよい」と利害関係者間で合意できる場所があれば、そのような場所を参照地点として設定することも考えられる。この場合、設定した参照地点が、「評価地点が仮に坑廃水の影響を受けていなかった場合の状態」を必ずしも反映しないことに留意して評価を進める必要がある。ま

た、水生生物調査の場合は、河川水辺の国勢調査 (<http://www.nilim.go.jp/lab/fbg/ksnkankyo/>、2021 年 3 月閲覧) 等の既存の利用可能な生物調査結果で、参照地点での調査を代替することもできる。例えば、同一または近隣の都道府県内で実施された類似した河川環境における生物調査結果を収集し、生態影響評価の対象とする生物指標がとりうる範囲を整理することで、評価地点の結果との比較ができる。

6.2. 調査地点設定の具体例

本節では、4 つの具体例を挙げてそれぞれの地点設定における留意点等を詳述する。なお、例えば、図 6-1 の方法 A と方法 B を合わせた調査地点の設定も考えられ、調査地点の設定方法はこれらの具体例限りではない。

A) 評価地点と参照地点の比較 (図 6.1 の方法 A)

前述の通り、坑廃水が流入する下流の評価地点に対して、流入前の地点に参照地点を設定する方法である。評価地点と参照地点を隣接して設定でき、坑廃水以外の環境要因の違いを最小限に抑えられるため、坑廃水流入の影響を最も効果的に評価できる地点設定である。また、生態影響が評価地点で観測されなければ、より下流でも影響は観測されないことが予想されるため、安全側の評価を行う上でも有用である。一方で、鉱山周辺の河川では自然起源等の理由で坑廃水流入前でも金属類の濃度が高いことがある。そのような場合、水生生物はすでに坑廃水流入前の地点で一定の生態影響を受けている可能性もあり、水生生物調査の参照地点として適切かは利害関係者も含めた議論が必要である。

坑廃水が流入する地点から評価地点の距離は対象とする生物の移動範囲や河川規模にもよって可変だが、少なくとも河川水と坑廃水が十分に混合していることを電気伝導度の横断測定などで確認して設定することが望ましい (例えば 50~100m 程度以上)。

B) 複数の評価地点と参照地点の比較 (図 6.1 の方法 B)

坑廃水が流入する河川に評価地点を流程 (上流から下流といった河川の縦断方向の位置) に沿って複数地点設定し、近傍河川 (例えば同じ流域にある河川) にそれらに対応する参照地点を設定する方法である (付録 2 の調査例も参照)。評価地点を複数箇所とすることで、坑廃水流入河川の特定の地点だけでなく、生態影響が観測される (あるいは観測されない) 範囲を評価することができる。また、同一の流程 (例えば、同様の流域面積) に参照地点を設定することで、同一流程に位置する評価地点と参照地点の比較に加えて、坑廃水流入河川と参照河川間の比較も可能になる。地点設定の際に留意すべき主要な環境要因は、前述のとおりである。

C) 評価地点と参照地点の経時的な比較 (図 6.1 の方法 C)

方法 A の地点設定で、経時的な調査を実施して比較することで、自然環境下における生物相の経時 (または自然) 変化を参照地点で捉えつつ、評価地点において坑廃水の変化 (例えば、坑廃水の流量の変化や処理方法の変更による金属負荷の変化) による生物相の変化を

評価する方法である。いわゆる、BACI（Before-After-Control-Impact）デザインと呼ばれる調査デザインである。

D) 評価地点と複数の参照地点の比較（図 6.1 の方法 D）

坑廃水が流入する河川下流に評価地点を設定し、環境条件が類似した適切な参照地点が同一流域や近傍の河川に見つからない場合に、類似の環境条件の参照地点を別流域や距離的に少し離れた河川に設定する方法である。単一の参照地点でも比較は可能であるが、複数の参照地点を設定することで参照地点群における生物指標値のばらつきやとりうる範囲（90%予測区間：第 8 章参照）を表現することができる。

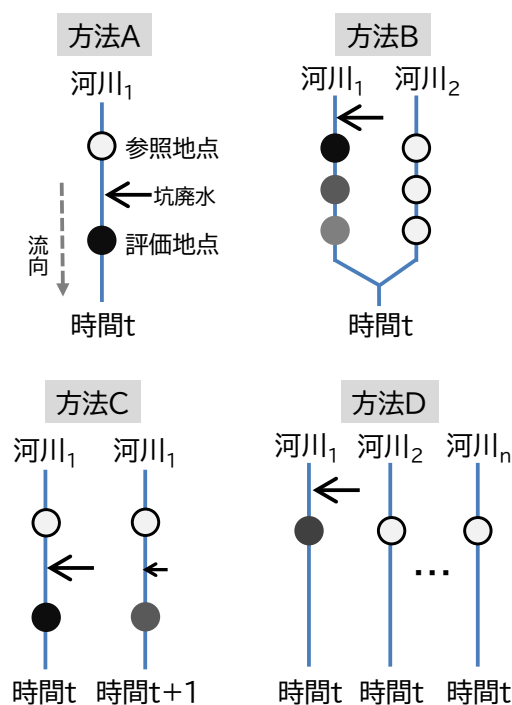


図 6-1. 調査地点（評価地点及び参照地点）の設定方法

【方法 A】評価地点と参照地点の比較、【方法 B】複数の評価地点と参照地点の比較（近傍河川が同一流域内である場合の例を示し、評価地点の●の色の濃さは金属濃度の高さに対応する）、【方法 C】評価地点と参照地点の経時的な比較（例えば、時間が年を表す場合、この図では、翌年（時間 t+1）に坑廃水の負荷（矢印の大きさ）が小さくなり、評価地点の金属濃度が低くなったことを示している（●の色の濃さに対応））、【方法 D】評価地点と複数の参照地点の比較、を意味する（詳細な説明は本文参照）。

第7章. 生態影響評価方法：水質調査

【第7章の要点】

- 水質調査により、坑廃水が流入する河川における金属濃度やその負荷量を明らかにし、実測濃度と水質環境基準等の比較による簡易的な生態リスク評価や坑廃水中金属濃度の河川への寄与度の推定が実施できる。
- 水質調査に際しては、調査項目や調査方法、調査頻度・時期を適切に設定し、得られた結果を解釈する必要がある。
- 水量や負荷量も含めた河川の酸性化や重金属汚染の実態を把握する調査方法については、『坑廃水の調査の解説書 水系調査編 JOGMEC（2017）』に詳しい。

7.1. 位置づけ

生態影響評価において水質調査の大きな目的は、①坑廃水が流入する河川において金属濃度を把握し、その濃度を水質環境基準等と比較することで、簡易的なリスク評価を実施することである。水生生物の保全に係る水質環境基準や他国で設定されている類似する環境基準（例えば、水生生物の保全を目的とした米国の水質クライテリア：<https://www.epa.gov/wqc/national-recommended-water-quality-criteria-aquatic-life-criteria-table>、2021年3月閲覧）は、その目的（水生生物の個体群や群集レベルでの保護）と比べて一般的に安全側に設定されている^{12, 15, 16}。したがって、これらの基準の超過が認められない場合は、「生態影響は懸念されない」と判断できる。ただし、坑廃水には複数の金属が比較的高い濃度で含まれていることが多く、それぞれの金属濃度が基準値未満でも、それらの複合影響によって生態影響が観測される可能性もあることに留意する必要がある（7.5節参照）。

加えて、補足的ではあるが重要な役割として、②河川中の金属濃度に対する坑廃水の寄与を推定すること、が挙げられる。鉾山周辺の河川では、自然起源等の理由で坑廃水が流入する前の河川地点でも金属濃度が高いことが散見される。したがって、坑廃水の流量及び金属濃度、さらには坑廃水が流入していないとみなし得る河川の上流側の調査地点の流量及び金属濃度を測定することで、河川に対する坑廃水の金属負荷の寄与を明らかにすることができる。このような寄与に関する定量的な知見は、河川で実際に観測される生態影響に対する坑廃水の寄与を考察する上で、さらには坑廃水対策や管理のあり方をそのもの見直す上でも重要な基盤情報となる。このような水質や流量調査による河川の酸性化や金属汚染の実態把握については、独立行政法人石油天然ガス・金属鉱物資源機構が作成している坑廃水の調査の解説書（水系調査編）を参照されたい¹⁷。

7.2. 測定項目

水質調査による簡易的な生態リスク評価を実施する上では、pH、硬度（カルシウム及びマグネシウム濃度）、生態影響が懸念される金属濃度の測定が最低限必要である。水質調査測定項目の候補は以下の通りであるが、必ずしもすべての測定が必要ではなく、評価目的や

対象河川の特性に応じて決定すべきである。また、金属負荷量を推定する場合は、河川流量の測定が必要になる。

- **現地測定項目**

一般的なポータブルの水質計で測定可能な、水温、pH、電気伝導度（EC）、溶存酸素量（DO）、酸化還元電位（ORP）などが挙げられるが、河川の水質に対する坑廃水の影響を把握する上では、少なくとも水温、pH、EC の測定を推奨する。水温や DO は水生生物の生息環境の基本的な指標として重要であり、pH は河川の酸性度や金属類の生物利用可能性（後述）を評価する上でも重要である。酸化還元電位は、酸性河川において鉄などの金属の存在形態を推測する上で有益になる。

- **金属類**

国内の休廃止鉱山での過去の調査事例^{12, 16)}や諸外国の水質環境基準等の設定状況から鑑みて、生態影響が懸念される主要な金属種として亜鉛、カドミウム、鉛、銅が挙げられるが⁴⁾、対象鉱山によって測定すべき金属種は異なる。まずは、対象鉱山の坑廃水管理においてこれまで測定されてきた金属類を中心として、測定項目を選定することを推奨する。また、坑廃水の金属負荷量（金属濃度と坑廃水の流量の積）を、坑廃水を放流する河川の流量で除することによって計算される河川中の推定金属濃度を諸外国の水質環境基準等（表 7-1）と比較することによって、生態影響が懸念される金属を選定することも可能である。水生生物の保全を目的とした水質環境基準等は、現行の排水基準や人の健康保護を目的とした環境基準等に比べてオーダーが大きく異なる場合があることに留意すべきである（例えば、亜鉛の水質環境基準 0.03 mg/L に対して、金属鉱業に適用されている暫定排水基準は 5 mg/L（2021 年 3 月現在）、水道水質基準は 1mg/L）。

- **その他の項目**

河川上流域など鉱山以外の人為的な負荷が小さい場所において金属類の影響を考察する上で、金属類以外のその他の項目として重要なのは、現地で測定できる pH に加えて、当該河川の硬度（カルシウム及びマグネシウム濃度）である。

水中における亜鉛等の金属類の毒性は、pH や水中に存在する陽イオン（例えば、カルシウムやマグネシウム濃度から計算される硬度）、アルカリ度、溶存有機物質の量にも依存することが知られている^{18, 19)}。国際的に使用が進んでいる生物リガンドモデルに代表されるように（さらに詳しくは永井（2011）¹⁸⁾や加茂・林（2011）¹⁹⁾を参照のこと）、水中の亜鉛等の金属が生物リガンド（例えば、魚類のエラ）に吸着（結合）することを起点として毒性影響が引き起こされると考えられており、カルシウムやマグネシウム濃度を代表とする陽イオンは結合先である生物リガンドを占有することによって、溶存有機物質は亜鉛等の毒性影響が懸念される金属類の結合先となることによって、毒性影響を緩和することができる。特に硬度は、米国の水質クライテリア等を導出するために必要となる。また、一般的に pH が低いほど遊離イオンが多くなり水中に含まれる総量が同じでも毒性が高くなり、金属によってこれら水質パラメータの重要性は異なる²⁰⁾。また、河川上流域など鉱山以外の人

為的な負荷が小さい河川では、溶存有機炭素量（Dissolved Organic Carbon：DOC）または全有機炭素量（Total Organic Carbon：TOC）は一般的に低く（例えば DOC 1 mg/L 未満）、後述する金属の生物利用可能性は高い状態にあると予想される。しかし、腐植物質が多く茶褐色に着色した河川水では、河川中に含まれる総量は同じであっても、金属の生物利用可能性は低下し、毒性は緩和される。このような有機物による毒性の緩和影響を考慮しないで、水質環境基準等による評価を行った場合、その評価は安全側になるが、より正確な評価には生物利用可能性を考慮する必要がある（詳しくは永井（2011）¹⁸⁾や加茂・林（2011）¹⁹⁾を参照）。

その他にも有機汚濁や栄養塩負荷が想定される河川では、それらの指標として、生物化学的酸素要求量（BOD）や総窒素（TN）、総リン（TP）なども測定することで、坑廃水以外の影響を考察することができる。また、水域の濁りの指標として用いられる懸濁物質（SS）は、坑廃水に起因する濁りによる影響が下流に対して懸念されている鉱山などで測定する必要がある。日本水産資源保護協会が策定する水産用水基準（第 8 版）では、アユの忌避行動の観察に基づき、懸濁物質の基準を 25 mg/L 以下としている。

7.3. 調査頻度・時期

金属濃度等の水質の年間の平均値や変動幅を把握するために、少なくとも年複数回（例えば、季節ごとに年 4 回程度）調査することを推奨する。水質環境基準は年間平均値として設定されており、水質環境基準との比較では年間平均値で十分である。しかし、金属濃度の場合、年間平均値だけでなく年間の最大値によっても実際の生態影響が変化する可能性がある。そのため、平均値だけでなく、濃度の年間変動幅や最大値も把握しておくことが望ましい。坑廃水の水量や金属濃度の年間変動、さらには放流河川の流量のおおよその年間変動を考慮すれば、河川中金属濃度の変動をよりの確に把握できる調査時期を事前に設定できる。例えば、坑廃水の金属負荷が高くなる時期と放流河川の流量が少なくなる時期が一致していれば、その時期が河川中の金属濃度が年間で最も高くなる時期と予想できる。また、一度、年間の平均値や変動が把握できれば、定期的なモニタリングの頻度や時期などを決定する際にも参考になる。

環境省の水環境情報総合サイト (<https://water-pub.env.go.jp/water-pub/mizu-site/>、2021 年 3 月閲覧) や都道府県の関連 HP を参照し、近傍の河川地点で自治体等による水質調査が実施されている場合は、その測定データを利用して、データを補完したり、予備的に評価したりすることも可能である。

7.4. 調査・分析方法

pH 等の現地測定項目は、ポータブルの水質計を用いて現地で測定する。室内分析項目については、基本的には河川の流心などから採水を行う。これらは、坑廃水の調査の解説書（水系調査編）に詳しい¹⁷⁾。マグネシウムやカルシウムの濃度は、現地で採取した水試料をメ

ンブレンフィルター（穴径 0.45 μm ）等で濾過した試料、亜鉛等の金属類については未濾過試料または濾過試料を用いて、JIS K 0102 工場排水試験方法などに準拠し、分析する。

水生生物の保全に係る亜鉛の水質環境基準は、全濃度（溶存態濃度と懸濁態濃度の和）で設定されている我が国の現状から鑑みて、多くの場合、その他の生態影響が懸念される金属も全濃度（すなわち未濾過試料）で測定することが想定される。なお、マンガンと鉄については、溶解性で排水基準が定義されており、濾過試料が分析に用いられる¹⁷⁾。金属にもよるが、河川上流域など鉱山以外の人為的な負荷が小さく、有機物や懸濁物質も少ない河川では、全濃度と溶存態濃度の差は大きくないと考えられる。ただし、全濃度による測定は、平水時でも微細な懸濁物質の非意図的な混入などによって測定値がばらつくことや、降雨などの後に懸濁した河川で採水する場合は混入する懸濁物質などの影響で測定が平水時に比べて大きく変化する。そのため、環境水中の金属の生物利用可能性を考えると、一般的には全濃度よりも溶存態濃度の方が良い金属毒性の指標であること^{18, 19)}や諸外国の類似の環境基準は溶存態濃度に対して設定されていることを鑑みて、対象河川における全濃度と溶存態濃度の関係を把握した上で、測定結果の評価方法（7.5 節）によっては、溶存態での濃度測定を検討することが望ましい。

河川の流量測定や負荷量の計算等については、前出の坑廃水の調査の解説書（水系調査編¹⁷⁾）を参照されたい。

7.5. 結果の評価方法

• pH の測定結果に基づく評価

pH、すなわち河川の酸性度の影響については、環境省の生活環境の保全に関する環境基準（河川）に基づき、6.5 以上で 8.5 以下であれば、生態影響は懸念されないと判断できる。

• 金属濃度の測定結果に基づく評価

日本において、水生生物の保全を目的とした水質環境基準が設定されているものは亜鉛（全亜鉛）のみであり、河川（淡水域）の基準値は、イワナ・サケマス域などの水域区分によらず 30 $\mu\text{g/L}$ （0.03 mg/L ）である。この測定値の年間平均値がこの基準値を超過するかで評価でき、この値より低かった場合は亜鉛による生態影響の懸念はない。一方で、水質環境基準はこの値を超過すれば直ちに水生生物にある程度以上の影響を及ぼすといった性格をもつものではない点に留意すべきである¹⁰⁾。実際にこの濃度を超過していた河川でも、底生動物の種数や個体数に顕著な影響はなかった事例も複数存在する⁹⁾。なお、水質環境基準の検討段階の値として導出される水質目標値は、カドミウムについて報告されており、淡水域の生物特 A 類型（イワナ、サケマス等比較的低温域を好む水生生物の産卵場（繁殖場）又は幼稚仔の生育場として特に保全が必要な水域）は 0.03 $\mu\text{g/L}$ 、生物 A 類型（生物 A イワナ、サケマス等比較的低温域を好む水生生物及びこれらの餌生物が生息する水域）は 0.1 $\mu\text{g/L}$ である²¹⁾。日本では、2021 年 3 月時点で、水生生物の保全を目的とした水質環境基準が亜

鉛以外には設定されていないため、他の諸外国における類似基準（米国、英国、豪州の例を表 7-1 に示した）を参照し、測定濃度と比較し生態影響が懸念されるかを評価することを推奨する。

- **亜鉛等金属類の複合影響の簡易的評価**

複数の金属が比較的高い濃度で存在する場合、それらの複合影響を考慮する必要がある。この複合影響の評価方法の 1 つとして、ハザード比の和を計算する方法がある。これは、各金属について水質環境基準等に対する測定濃度の比（ハザード比）を計算し、それらの和を複合影響の指標として用いる方法である。例えば、評価地点の亜鉛濃度が 30 µg/L、カドミウム濃度が 0.42 µg/L であり（他の金属濃度は十分に低いと仮定）、硬度 20 mg/L の米国の水質クライテリア（それぞれ 30 µg/L、0.21 µg/L；表 7-1）と比較する場合、ハザード比はそれぞれ 1 と 3、ハザード比の和は 4 となり、これらの金属による複合的な生態リスクが懸念されると判断できる。

$$\text{ハザード比の和} = \sum \frac{\text{各金属の測定濃度}}{\text{各金属の水質環境基準}}$$

日本では水生生物の保全を目的とした水質環境基準は亜鉛以外の金属類に設定されていない。そのため、坑廃水中や下流河川中の金属濃度等から、亜鉛以外の金属による生態影響が懸念され、水質調査による評価としてハザードの比の和を計算する場合は、参考として、表 7-1 にある米国の水質クライテリアを用いてハザード比を計算することを検討されたい。硬度 20 mg/L における米国の水質クライテリアで比較すれば、亜鉛は日本の水質環境基準とほぼ同値であり、前節で示したカドミウムの水質目標値（生物 A 類型）とも同じオーダーにある。金属にも依存するが、表 7-1 から明らかなように、水質環境基準に類似する基準は日本、米国、英国、豪州間で一定の違いが認められる。これらの違いは、導出に用いられた毒性データや方法等の違いに起因するものではあるが、水質環境基準に類似するこれらの基準は必ずしも一意に定まらず、一定の不確実性を含むことにも留意されたい。

ハザード比の和は、計算対象とする金属の数が多くなれば、その値は必然的に大きくなるため、絶対的な値の解釈は難しいが、ハザード比が 1 を超えていなければ、生態影響が懸念されることはないと判断できる。一方、ハザード比の和が 1 を超過した場合は、生態影響が無視できない可能性がある。ただし、水質環境基準との比較同様に、1 を多少超過しても直ちに水生生物にある程度以上の影響を及ぼすといった性格をもつものではないため、個々の金属のハザード比が 1 を超えていない場合にはあくまで安全側の評価であることに留意して利害関係者間で協議して判断するのが良い。例えば、亜鉛、カドミウム、鉛、銅を対象に米国の水質クライテリアを用いて計算したハザード比の和で、その値が 1 を多少超過した地点でも底生動物の種類数や個体数、魚類の個体数等が参照地点と同程度であった例などもある^{12,22)}。ハザード比の和の計算やその解釈については、状況によって、専門家等に相

談することを検討されたい。坑廃水が流入する河川における生態影響をより直接的に評価するためには、水生生物調査（第8章）や環境水を用いた生物応答試験（第9章）の実施が必要となる。

表 7-1. 水生生物の保全を目的とした日本、米国、英国、豪州の水質環境基準^a（淡水域）

国	条件など	Zn	Cd	Pb	Cu	Ni	Mn	Fe	Al	As
$\mu\text{g/L}$										
日本		30	—	—	—	—	—	—	—	—
米国 ^b	硬度 = 20 mg/L-CaCO ₃ 記載がない濃度は溶存態	30.2	0.21	0.4	2.3	13	—	1000	87 (全量)	150
	硬度 = 30 mg/L-CaCO ₃ 記載がない濃度は溶存態	42.6	0.29	0.7	3.2	19	—	1000	87 (全量)	150
	硬度 = 40 mg/L-CaCO ₃ 記載がない濃度は溶存態	54.4	0.36	0.9	4.1	24	—	1000	87 (全量)	150
	硬度 = 50 mg/L-CaCO ₃ 記載がない濃度は溶存態	65.7	0.43	1.2	5.0	29	—	1000	87 (全量)	150
英国 ^c	Zn, Cu, Ni, Mnは 生物利用可能量で設定	10.9	—	—	1.0	4	123	1000	—	50
豪州 ^d	95%保護レベルの デフォルトガイドライン値	8.0	0.20	3.4	1.4	11	1900	—	55 (pH > 6.5)	24

^a 日本における名称に沿って水質環境基準としたが、国によってこれらの値の名称や厳密な運用の仕方は異なることに留意されたい。また、豪州のデフォルトガイドライン値には信頼性が低い値（例えばアルミニウム（Al））も含まれていることや、元素によってこれらの値の導出に用いられたデータの量や質が異なり、信頼性に差があることにも留意されたい。

^b 米国の水質クライテリアのうち、銅等の金属は現在、生物リガンドモデルに基づくものに近年更新されているが、ここでは硬度補正のクライテリア²³⁾を示している。なお、カドミウム（Cd）のクライテリアは、2016年の改訂版の算出方法を参照した²⁴⁾。亜鉛（Zn）、カドミウム（Cd）、鉛（Pb）、銅（Cu）、ニッケル（Ni）については、補正係数を用いた全濃度の水質クライテリアも導出可能であるが、簡単のために溶存態濃度を表記した（実際に全濃度で測定した場合も、安全側の評価として溶存態濃度と比較することも可能である）。

^c 英国の水質環境基準は <http://www.environmentlaw.org.uk/rte.asp?id=291>（2021年3月閲覧）を参照し、生物利用可能な濃度の計算には、pH、溶存有機炭素濃度（DOC）、カルシウム（Ca）濃度が必要であり、<http://www.wfduk.org/resources/rivers-lakes-metal-bioavailability-assessment-tool-m-bat>（2021年3月閲覧）から計算用のエクセルファイルが落手可能である。

^d 豪州及びニュージーランドのデフォルトガイドライン値は <https://www.waterquality.gov.au/anz-guidelines/guideline-values>（2021年13月閲覧）を参照。全濃度で測定された値との比較も可能だが、最終的には溶存態濃度との比較をもとにリスクレベルが評価される。

第8章. 生態影響評価方法：水生生物調査

【第8章の要点】

- 水生生物調査の利点は、実際の河川において生態影響を直接観測できることである。
- 河川における水生生物調査において、代表的な対象生物グループは、付着藻類、底生動物（大型無脊椎動物）、魚類であり、それぞれ影響に対する応答の時空間スケール、保全対象との関係性、定量的な調査の難しさ等の特性が異なる。
- 調査対象河川において保全すべき水産資源（例えば、魚類）等が存在する場合は、それを調査対象生物とすること、それ以外の場合で優先して調査対象とすべき生物種やグループを選ぶことができない場合は金属汚染に対する応答性が高い底生動物を指標とすることを推奨する。
- 各生物グループの調査は、調査方法・項目、調査頻度・時期を適切に設定した上で実施し、得られた結果を解釈する必要がある。

8.1. 位置づけ

水質調査（第7章）及び生態応答試験（第9章）は、生態影響が懸念されるかを河川水の採水から考察できる一方で、その結果から対象河川で実際にどのような影響が観測されるかを予測することは難しい。その意味で、水生生物調査は、坑廃水が流入する実際の河川における生態影響を直接観察できることが大きな利点である。しかしながら、野外の生物集団や群集は、坑廃水以外にも様々な生物学的・物理学的・化学的要因の影響を受けており、例えば、観測された影響の原因を水生生物調査のみから厳密に特定することは必ずしも容易ではない。そのため、水生生物調査と合わせて、少なくとも水質調査は同時に実施し、坑廃水の影響を少なくとも水質の側面からも確認しておくことを推奨する。

8.2. 水生生物調査における対象生物グループ

河川の生物調査で一般的に利用される代表的な生物グループは、付着藻類（河床に付着する珪藻などの藻類）、底生動物（河川の礫等に生息する水生昆虫を代表とする大型無脊椎動物）、魚類である。どのグループを対象とするかによって、影響要因に対する応答の時空間スケール、保全対象との関係性、定量的な調査の難しさ等が異なる。付着藻類は早い増殖率と時間的に短い生活サイクルを持ち、固着性のため、より短期的なかつ限られた空間スケールの影響指標となる⁷⁾。一方、魚類は、移動性が高く寿命が長いため、長期の影響及び広い空間スケールの影響指標となる⁷⁾。底生動物は、付着藻類や魚類に比べて中間的な位置づけであり、比較的定着性で1年1～2世代のものが多く、地点レベルの影響指標として有用である^{7,8)}。実際に、鉱山下流などの金属濃度が高い河川や酸性河川における生態影響調査を実施した学術研究論文約200件のうち（1991年～2015年）、その60%以上で底生動物が用いられており、国際的には底生動物がこのような評価に最も用いられているといえる⁸⁾。ま

た、同様に、金属汚染に対する応答性を調べると、他の生物グループに比べて底生動物の種数や個体数指標が金属汚染レベルとの相関が高いことが示されている⁸⁾。

調査生物を金属汚染に対する一般的な応答性から選定することもできるが、調査対象河川における利水点等管理において、水産資源上重要な種や絶滅危惧種（ニホンザリガニ、カワシンジュガイ等）など保全すべき特定または複数の生物種が明確に存在する場合は、そのような生物種を直接調査対象にすることを検討すべきである。例えば、水産資源上重要な魚種（例えば、ヤマメ）の生息状況の調査を目的に、魚類を対象生物とする場合も考えられる。また、例えば、アユを調査対象生物とし、さらに餌として重要な付着藻類を補完的に調査するという選択肢も考えられる。

金属汚染に対する河川生物群集の応答を包括的に理解するためには、複数の異なる生物グループを調査することが望ましいが、利水点等管理の目的から鑑みて調査対象の優先順位を決めるべきである。また、生態影響評価の本来の目的は、利水点等管理において許容できない生態影響が観測されるかであることにも留意されたい。したがって、第4章で整理した利水点等管理の適用ケースのうち、「ケース 2a：水産資源や生態系サービスへの影響」に相当する場合は、当該河川において保全すべき水産資源等を評価対象とすること、それ以外の場合で優先して調査対象とすべき生物種やグループを選ぶことができない場合は、国際的にも金属の生態影響評価に広く用いられており、一般的に計測される個体数や種数で金属汚染に対する応答性が高い底生動物を指標とすることを推奨する。

8.3. 調査方法・項目

国土交通省が実施する河川水辺の国勢調査 (<http://www.nilim.go.jp/lab/fbg/ksnkankyo/>：ウェブサイトから調査結果も入手可能) なども含め、対象河川において過去の生物調査結果があれば、それらと比較できる方法を採用することを推奨する。水生生物調査では、生物量や種類数などの定量的なデータを取得し、評価地点と参照地点を比較することで、生態影響を評価することを目的とするが、評価の目的や評価技術（例：環境 DNA²⁵⁾）の進歩や普及等に応じて後述する調査方法以外の方法を用いても良い。

• 付着藻類

河川水辺の国勢調査基本調査マニュアル【ダム湖版】（上記のウェブサイトより入手可能）の参考資料に記述されている付着藻類の調査方法に従い、瀬などから採取する礫からコドロード法による定量採集を行う。採取礫に設定した 5 cm 四方の方形区から付着藻類をブラシではぎ落とし、試料を採集する。これを各地点複数回繰り返すことで、後述する指標値の地点内でのばらつきを評価でき（3～5 回以上を推奨²⁶⁾）、評価地点と参照地点の差異を評価する。なお、地点内に繰り返しについては、（財）ダム水源地環境整備センター（現：（財）水源地環境センター）が監修・編集した『水辺の環境調査²⁶⁾』において、付着藻類のサンプリングとして、「通常、5 個以上の付着基盤（礫）よりおのおの 5 cm×5 cm のコドロード面

積を採取する」ことによって、調査地点を代表する結果が得られると記述されていることも参照されたい。

採取した試料を室内で分析し、計測する指標としては、クロロフィル a 量（現存量の指標）、種や属レベルの細胞数、種類数などが挙げられる。金属濃度が高い地点では、*Achnanthes* 属等の特定の分類群が優占し²⁷⁾、総細胞数も参照地点に比べて必ずしも減少しないことが報告されている²⁸⁾。なお、その他の調査方法や項目については、井上・中村（2019）²⁹⁾やダム水源地環境整備センター（1994）²⁶⁾などを参照されたい。

• 底生動物

河川水辺の国勢調査基本調査マニュアル【河川版】の底生動物調査編に記述されている底生動物の定量採集方法に従い、早瀬などの流速がある瀬から、サーバーネットを用いて 25cm 四方の方形区に生息する底生動物を採集する。付着藻類同様に、これを各地点複数回（少なくとも 3 回、可能な限り 5 回）繰り返すことで、後述する底生動物指標値の地点内でのばらつきを評価でき、評価地点と参照地点の差異を評価する。

計測する底生動物指標としては、総種数、総個体数、優占的なグループ（カゲロウ目、カワゲラ目、トビケラ目など）の種数及び個体数、金属感受性の高いヒラタカゲロウ科やマダラカゲロウ科^{30, 31)}の個体数を基本とする。同じカゲロウ目でもコカゲロウ科の個体数は金属濃度が高い地点で増加することもしばしば観測されており、必ずしも個体数が減少する種ばかりではない³⁰⁾。

• 魚類

河川に生息する魚類を採集方法としては、電気漁具（エレクトロフィッシャー）や投網などを用いる方法がある。それぞれの方法に一長一短があり、調査地の状況や対象魚種に応じて採取方法を決定することを推奨する^{26, 29)}。例えば、川幅や水深が限られる河川上流域の溪流では、エレクトロフィッシャーを用いて一定面積からの採捕を行うこともできる。また、一定の努力量のもとで評価地点と参照地点間の比較が可能できればよいと、調査地点間（区間）で採捕効率が大きく変わらないようであれば、必ずしも除去法などによって個体数を正確に推定する必要はない。なお、魚類の採捕には、都道府県が発行する特別採捕許可証が必要となることに留意されたい。

現地で採捕個体を同定し、個体の体長と体重を計測し、各魚種ごとの個体数（生息密度または Catch Per Unit Effort (CPUE)）及び肥満度（体重(g)/尾叉 (cm) ×1000）を指標とする。個体数については、地点内で区間（あるいは一定面積）を設定し、地点内のばらつきを測定することが望ましいが、肥満度は複数個体採捕できれば地点内のばらつきが測定でき、それにより評価地点と参照地点の差異を評価できる。

8.4. 調査頻度・時期

どの生物グループを対象にする場合でも、複数回（少なくとも2～3回程度）調査し、調査間の結果の整合性を確認することが望ましい。例えば、合計3回であれば、調査初年度に2回以上異なる季節に調査を実施し、その結果に応じて2年目以降に1回実施するという方針も考えられる。対象河川における過去の比較可能な調査結果がある場合は、それも合わせて利用するとよい。

調査時期は、対象生物種やグループ、坑廃水の排出特性、河川流量の変動パターン等に依存する。特段理由がない場合、台風などの豪雨や、長期的な降雨、雪解けによる増水の影響を受けない、比較的流量が安定する時期に実施するのが安全に調査を実施する上でも重要である。特に固着性の付着藻類の場合、突発的な出水の影響を受けやすく、評価地点と参照地点間で出水の程度が異なれば、坑廃水と出水の影響を区別できなくなる。

例えば、雪解けによる増水があり冬にアクセスが困難な河川では、雪解け後の春～初夏、晩夏から秋が調査時期として考えられる。一方、雪解けによる増水がない河川では、台風や梅雨の時期を避けて、対象生物グループや種の生活サイクル、採集のしやすさ等を考慮して調査時期を設定するのがよい。魚類では、冬季にしか採捕できない種類は少ないため、魚類相を把握することが目的であれば、水温が高くなり活動が活発になる春から秋にかけて年に2回程度でも、また、定期的なモニタリングで経年的な変化を把握するのであれば年1回でも一般的には十分と考えられる²⁹⁾。底生動物の多くは、1年の生活サイクルを持ち、春後半から夏にかけて羽化するため²⁹⁾、羽化前で河川内に幼虫として残る晩冬～翌春や、孵化後の個体が多く生息する秋～冬が調査時期の候補となる。前者は、孵化から約1年間程度、河川内で坑廃水の影響を受けた条件での種数や個体数への影響、後者は孵化後の小さな個体が坑廃水から受ける比較的短期間の影響を観測できると解釈できる。魚類と同様に、定期的なモニタリングで経年変化を把握するのであれば、晩冬から春にかけた時期で年1回でも一般的には十分と考えられる。なお、定期的なモニタリングを目的とする調査の頻度はあくまで参考であり、坑廃水の管理や河川の水質等に変化がなければ、毎年調査する必要はない。

8.5. 結果の評価方法

各調査回における評価地点と参照地点で得られた生物指標に統計学的に有意な差が検出されるかを統計解析を用いて評価する。なお、複数回での調査をまとめて統計学的に評価することもできる。しかし、季節が異なると調査回間で生物指標（個体数など）が大きく異なることが予想されるため、そのような評価を実施する場合は、調査回ごとの違いも考慮できる適切な統計解析方法を用いるべきである（例えば、調査回を説明変数に加えた一般化線形モデル（Generalized linear model）など）。

まずは、どのような調査デザイン（調査地点の設定）でも、参照地点で観測される生物指標のばらつきに評価地点の生物指標値が含まれるかを評価するのがよい。すなわち、例

例えば、図 6-1 の方法 A では、参照地点における生物指標の平均値のばらつきを 90%信頼区間で表し、その範囲に評価地点の生物指標の平均値や観測値が含まれるかを確認する方法である（図 8-1 の概念図や付録 2 の調査例も参照）。地点内での繰り返しを n 回の場合の平均値の 90%信頼区間の上限と下限は、

$$\bar{x} \pm t_{0.05}(n-1) \times \sqrt{\frac{s^2}{n}} \dots\dots\dots \text{式 8-1}$$

で求められる。 $\bar{x}$ が参照地点の平均値、 $t_{0.05}(n-1)$ が自由度 $n-1$ の t 分布における上側確率が 0.05%となる値（この場合、2.132）、 σ が参照地点の繰り返しから計算される不偏分散である。方法 B 及び D では、各参照地点の生物指標の平均値を用いて、参照地点群における生物指標のばらつきを 90%予測区間で表し、その範囲に評価地点の生物指標の平均値が含まれるかを確認する。例えば、一般的な統計ソフトを用いて、参照地点群における平均値に切片のみの線形回帰モデルを当てはめることで、この予測区間の導出は可能である。

後述のように、 t 検定等により統計学的に差を解析することもできるが、統計学的に有意な差は必ずしも管理上重要な差とは限らない。そのため、このように「参照地点で観測されるばらつきに評価地点が含まれるか」という観点から個別の調査結果を視覚化し評価することを推奨する。一方で、上述した 90%信頼区間や 90%予測区間の精度は、サンプルサイズ（それぞれ、地点内での繰り返し数と参照地点数）に依存する。例えば、式 8-1 において、 $t_{0.05}(n-1)$ の値は、サンプルサイズが小さいほど大きくなる（繰り返し数が 3、4、5、10 の場合は、それぞれ 2.9204、2.353、2.132、1.833）。したがって、観測されたばらつき（式 8-1 における不偏分散）がサンプルサイズに依らず仮に同じであった場合、導出される 90%信頼区間の幅は、サンプルサイズが小さいほど大きくなる。そのため、信頼区間や予測区間を用いた評価でも、検定で求められる統計学的に有意な差同様に、その解釈には留意が必要である。

統計学的に評価地点と参照地点の差を解析することも可能である。例えば、評価地点と参照地点間を比較する場合（図 6-1 の方法 A または B の場合）、データの正規性や等分散性に応じて、スチューデントの t 検定（正規性と等分散性を仮定できる）、ウェルチの t 検定（正規性が仮定できるが、等分散性が仮定できない）、あるいは正規性も仮定できない場合などではノンパラメトリック検定方法であるマンホイットニーの U 検定などを使って評価地点と参照地点間の平均値の差を検定すればよい。また、方法 B や D の場合（坑廃水流入河川と参照河川に複数地点を設定する場合）は、多重比較法を用いて³²⁾、評価地点と参照地点の個別の組合せごとに、比較することが可能である。

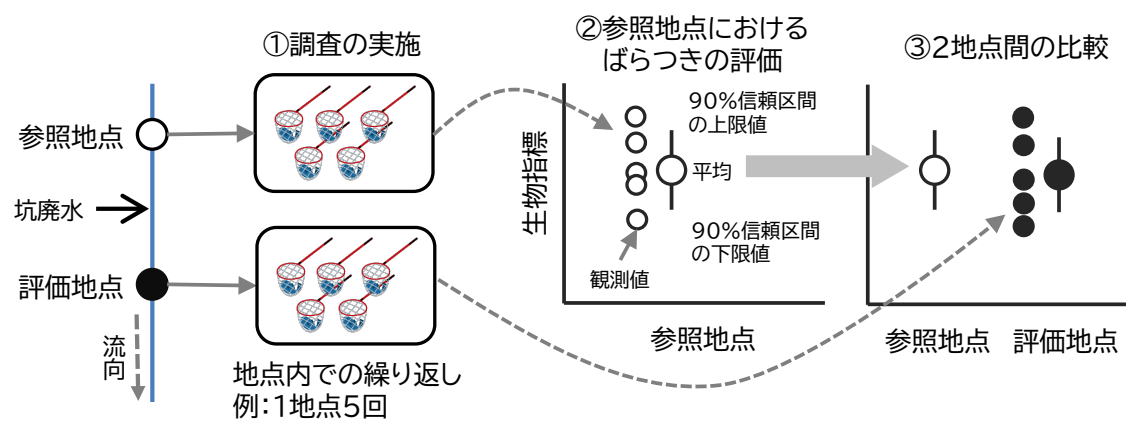


図 8-1. 水生生物調査結果の評価方法（概念図）

水生生物調査を実施し（①）、地点内の繰り返しから参照地点における生物指標観測値のばらつきを 90%信頼区間で表現し（②）、その範囲に評価地点の生物指標の平均値や観測値が含まれるかを調査する（③）。

第9章. 生態影響評価方法：環境水を用いた生物応答試験

【第9章の要点】

- 環境水を用いた生物応答試験は、対象となる河川水等に含まれる複数の化学物質の総体としての毒性を直接把握することができる点が、限られた項目を測定する水質調査とは異なる利点である。
- 試験生物に対する環境水の生態影響を調査することで、水質調査の評価結果の検証や水生生物調査の予備的検討、および生態影響の原因となる要因を特定するための知見を提供する補足的な調査手法と位置付けられる。
- ミジンコ類を用いた生物応答試験は、試験方法、調査頻度・時期を適切に設定した上で、得られた結果を解釈する必要がある。

9.1. 位置づけ

生物応答試験による評価は、水質調査と水生生物調査の中間的な位置にあり（図 5-1）、河川などの環境水の曝露に対するミジンコ等の試験生物の応答（生死、繁殖、成長等）に基づいて、環境水や事業場排水に含まれる化学物質の生態毒性を直接評価する方法である。水質調査により、坑廃水中の生態影響が懸念される金属を含むすべての化学物質を測定することは現実的ではないが、生物応答試験により環境水に含まれる化学物質の総合的な毒性（複合影響）を直接評価することが可能である。

その一方で、室内試験で観察される毒性影響の大きさと野外で観察された影響の大きさとの関係性は必ずしも明らかではなく、室内試験の結果から野外での生態影響を推定することは現状では難しい。休廃止鉱山下流での調査結果から、ミジンコ類を用いた慢性試験で影響が認められなければ、野外で底生動物の種数や個体数に大きな影響はない事例が複数蓄積されてきているが（未発表データ）、日本全国レベルで適用するにはさらなる検証が必要である。また、試験生物に曝露する環境水を処理することで、生物影響の原因となりうる化学物質の特徴や物質そのものを特定することが可能である。そのため、現状の生物応答試験は、試験生物に対する環境水の生態影響を調査することで、水質調査の評価結果の検証や水生生物調査の予備的検討、および生態影響の原因となる要因を特定するための知見を提供する補足的な調査手法と位置付けられる。

環境水や事業場排水を対象とした生物応答試験では、藻類、ミジンコ類、魚類が試験生物として利用される。本ガイダンスにおける調査研究では、金属に対する感受性が高く、短期・長期曝露の試験を小規模な施設で実施可能なミジンコ類を用いた以下の 2 つの生物応答試験を推奨する。

- 急性毒性試験（短期的な曝露影響）：オオミジンコ遊泳阻害試験（48 時間）
- 慢性毒性試験（長期的な曝露影響）：ニセネコゼミジンコ繁殖試験（最大 8 日間）

オオミジンコ遊泳阻害試験の詳細については、厚生労働省、経済産業省、環境省により公開されている化学物質の生態毒性試験方法³³⁾や米国環境保護庁（U.S. Environmental

Protection agency) が公表している試験方法³⁴⁾を、ニセネコゼミジンコ生物応答試験については、環境省が公開する「生物応答を用いた排水試験法（検討案）³⁵⁾」を参照されたい。これらの試験方法では、対象とする水試料を希釈し、複数の濃度区を設定することで、水試料の生態影響の有無だけでなく、異なる水試料の生態影響の大きさ等を推定・比較することもできる。しかし、環境水の生態影響の有無を調査することを目的とする場合には、無希釈の環境水に曝露した生物応答試験の実施で十分と考える（図 9-1）。

また、生物応答試験により生態影響が確認された環境水については、毒性同定評価により、環境水中の金属イオンが影響要因かどうかを調査することができる。毒性同定評価の方法については、米国環境庁（US.EPA）が公表した試験方法^{36,37)}および日本での実施事例³⁸⁻⁴⁰⁾を参照されたい。

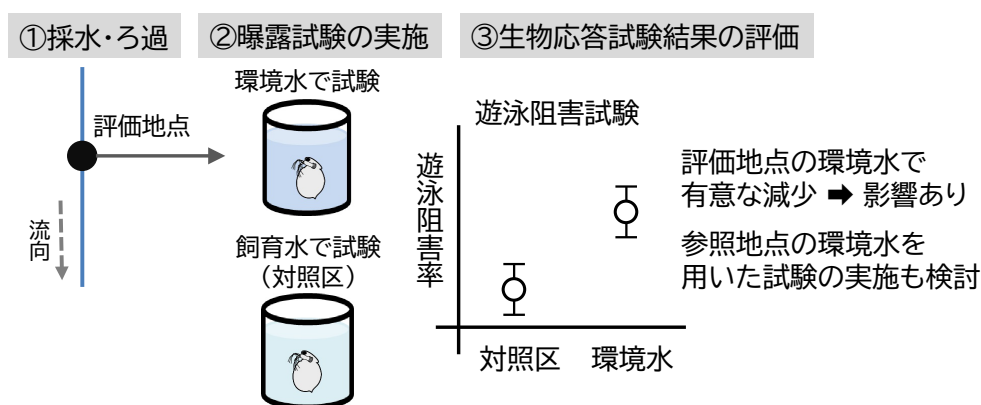


図 9-1. 生物応答試験（遊泳阻害試験）による評価方法（概念図）

評価地点において採水を実施し（①）、採水した環境水及び飼育水（対照区）で生物応答試験を実施し（②）、対照区と環境水における応答を比較することで影響の有無を評価する（③）。なお、環境水において影響が観察された場合、坑廃水が流入していない参照地点においても環境水を採取し、参照地点における影響も調査・把握することで、坑廃水の影響をより直接的に評価できる。

9.2. 試験方法

環境水の採取と取扱い（配送、ろ過、保存等）については生物応答を用いた排水試験法（検討案）³⁵⁾等を参照されたい。また、生物応答試験方法についても、ここでは概要を述べるにとどめ、詳細は「生物応答を用いた排水試験法（検討案）³⁵⁾」等を参照されたい。オオミジンコ遊泳阻害試験では、試験個体として、24 時間以内に生まれた仔虫を無希釈の環境水に曝露する。曝露開始 48 時間後に遊泳行動の異常を引き起こした供試個体の頻度を観察し、影響評価のための生物応答として、試供個体数に対する遊泳異常個体数の割合から遊泳阻害率を算出する。ニセネコゼミジンコ繁殖試験では、24 時間以内に生まれた仔虫を無希釈の環境水に曝露し、最大 8 日間、毎日、供試個体の生存と産仔数を記録する。観察結果をも

とに、影響評価のための生物応答として、供試個体ごとに産仔3腹分の累積産仔数を算出する。両試験ともに、環境水の結果を比較するための対照区として、飼育水を用いた試験を併せて実施する。

また、試験生物に対する生態影響が見られた環境水中の金属が生態影響の駆動要因かどうかを調査する毒性同定評価として、EDTA（エチレンジアミン四酢酸）の添加⁴⁰⁾や陽イオン交換樹脂への通水等の陽イオン金属を除去する処理³⁸⁾を行った環境水の生物応答試験を実施する。

9.3. 調査頻度・時期

調査時期および頻度については、先だって実施される水質調査で得られた知見をもとに、坑廃水の金属負荷や河川中濃度の季節変化を考慮した上で、採取時期を決定し環境水の生物応答試験を実施することが望ましい。また、水質調査と併せて年複数回実施することで、坑廃水量および金属濃度の変動と試験生物に対する生態影響の有無の関係性を把握することができる。

9.4. 結果の評価方法

対照区（飼育水）と評価地点から採取した環境水に曝露した試験個体の応答を統計学的に比較する。統計学的な有意差が見られる場合、試験生物に対する生態影響があると判断され、有意差が見られない場合、試験生物に対する生態影響があるとはいえないと判断される。なお、環境水と対照区（飼育水）と比較して評価をする場合、環境水を採取した調査対象河川地域のバックグラウンドを考慮していない。そのため、対照区（飼育水）と環境水の試験結果の間に統計学的な有意差が見られる場合、併せて参照地点で採取した環境水の生物応答試験も実施し、検出された生態影響に対するバックグラウンドの影響を検討することが望ましい（図9-1；付録2の調査例も参照）。

また、試験生物への生態影響が見られた環境水について毒性同定評価を実施した際に、無処理の環境水に比べて、EDTAを添加した環境水またはイオン交換樹脂に通水した環境水に曝露した供試個体の遊泳阻害率または累積産仔数が改善されている場合、環境水中の金属イオンが生態影響の駆動要因である可能性が示唆される。なお、これらの方法は環境水中金属イオンが生態影響の駆動要因であるかどうか明らかにできるが、どの金属かまでは特定することはできない点に留意されたい。

第10章. 総合評価の考え方

【第 10 章の要点】

- 水質調査及び水生生物調査の結果から、調査対象河川における生態影響をどのように総合的に評価するかの評価方法の例を示した。

水質調査（金属濃度測定と河川への坑廃水の負荷量推定）及び水生生物調査から得られる評価結果の組合せは、表 10-1 のように整理できる。例えば、評価地点（河川）における濃度と環境基準等の比較から、基準の超過がなく、計算したハザード比の和も 1 未満の場合（表 10-1 の例 1）、河川への坑廃水の負荷の大きさに依らず（表では、十分に小さい～大きいと記載）、坑廃水による生態影響は懸念されないと判断できる。一方で、基準の超過があり（あるいは超過がなくても）、計算したハザード比の和が 1 以上の場合で、河川への坑廃水の負荷も無視できなく（表では、一定の寄与～大きいと記載）、実施した水生生物調査から影響ありと判断されるときは（表 10-1 の例 4）、坑廃水による調査対象生物等への生態影響の懸念ありと判断できる。評価に用いる方法の詳細によっては、この表の通りにはならない場合もあることに留意するべきだが、図 1-1 のフローチャートと合わせて、最終的な評価や判断を行う際に参考にされたい。この表では、生物応答試験は含めていないが、水生生物調査で実際に影響が観察された場合に、それが坑廃水に含まれる金属によるものかを調査したり、環境水の複合毒性を予備的に評価したりする上では有用である。

また、表 10-1 の例 4 の判断の例からわかるように、利害関係者間で対象河川において許容できない生態影響とは何かを事前に決め、それをどのように評価するかを決めて調査を実施することが肝要である。これは、水生生物調査を実施し、実際に何らかの影響が観察された場合に、特に重要な課題となる。許容できない生態影響を定義することは難しい場合は、まずは利害関係者間で一定の数値目標を設定・合意し、得られた調査結果に応じて再度議論し、現実的に達成可能で合意可能な数値目標に変更することも考えられる。どうしても許容できない生態影響が観察・予想される場合は、坑廃水の管理対策方法の再検討が必要になる。

表 10-1 水質調査及び水生生物調査結果に基づく総合評価（例）

例	水質調査（金属濃度）		水生生物 調査	判断の例
	評価地点（河川）の濃度と 環境基準等の比較 ^a	評価地点（河川）における 坑廃水の負荷 ^b		
1	基準超過なし HQの和<1	十分に小さい～大きい	－	坑廃水による生態影響の懸念なし
2	基準超過あり（またはなし） HQの和≥1	十分に小さい	－	坑廃水による生態影響の懸念なし （坑廃水の寄与が十分に小さい場合）
3	基準超過あり（またはなし） HQの和≥1	一定の寄与～大きい	影響なし	坑廃水による調査対象生物への生態影響の懸念なし ただし、定期的なモニタリングを要検討
4	基準超過あり（またはなし） HQの和≥1	一定の寄与～大きい	影響あり	坑廃水による調査対象生物等への生態影響の懸念あり 水生生物調査で観測された生態影響は管理上重要な影響か？

^aHQ の和（ハザード比の和）は、金属について水質環境基準等に対する測定濃度の比（ハザード比）を計算し、それらの和から求められる金属の複合影響の指標である（7.5 節参照）。

^b評価地点（河川）における坑廃水の（金属）負荷が十分に小さい場合とは、坑廃水の水量と比較して評価地点における流量が多いため、または、坑廃水流入前の河川中の金属濃度や負荷が高い（評価地点における坑廃水以外のバックグラウンドの金属負荷の寄与が高い）ために、坑廃水の金属負荷が無視できると考えられる場合を意味する。

引用文献

- 1) Koide, R., Tokoro C., Murakami S., Adachi T., Takahashi A., 2012. A model for prediction of neutralizer usage and sludge generation in the treatment of acid mine drainage from abandoned mines: Case studies in Japan. *Mine Water and the Environment* 31, 287–296.
- 2) 松田裕之, 岩崎雄一, 2019. 休廃止鉱山における環境影響調査のあり方. *環境資源工学* 66, 66–69.
- 3) 保高徹生, 岩崎雄一, 2019. 休廃止鉱山におけるグリーンレメディエーション. *環境資源工学* 66, 62–65.
- 4) 加茂将史, 対馬孝治, 内藤航, 2009. 化学物質の生態リスクー順応的管理による新たな管理手法の提案 *環境科学会誌* 22, 219–225.
- 5) 小林幹男, 2017. 海外先行事例にみる自然力活用型坑廃水処理 (Passive treatment) の技術的側面. *Journal of MMIJ* 133, 193–206.
- 6) 遠藤祐司, 荻野激, 野呂田晋, 2014. 坑廃水のパッシブトリートメントの概要とその適用. *北海道地質研究所報告* 86, 25–35.
- 7) Barbour, M. T., Gerritsen J., Snyder B. D., Stribling J. B., 1999. Rapid bioassessment protocols for use in streams and wadeable rivers: periphyton, benthic macroinvertebrates and fish (second edition). Office of Water, U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC, USA.
- 8) Namba, H., Iwasaki Y., Heino J., Matsuda H., 2020. What to survey? A systematic review of the choice of biological groups in assessing ecological impacts of metals in running waters. *Environmental Toxicology and Chemistry* 39, 1964–1972.
- 9) 岩崎雄一, 2016. 生物群集の応答から金属の“安全”濃度を推定する：野外調査でできること. *日本生態学会誌* 66, 81–90.
- 10) 環境省, 2003. 水生生物の保全に係る水質環境基準の設定について (答申). 水生生物保全環境基準専門委員会.
- 11) Environment Canada, 2012. Metal Mining Technical Guidance for Environmental Effects Monitoring. Environment Canada, Gatineau QC, Canada.
- 12) Iwasaki, Y., Fujisawa M., Ogino T., Mano H., Shinohara N., Masunaga S., Kamo M., 2020. Does a sum of toxic units exceeding 1 imply adverse impacts on macroinvertebrate assemblages? A field study in a northern Japanese river receiving treated mine discharge. *Environmental Monitoring and Assessment* 192, 83.
- 13) Morita, K., Yamamoto S., 2002. Effects of habitat fragmentation by damming on the persistence of stream-dwelling charr populations. *Conservation Biology* 16, 1318–1323.
- 14) 森田健太郎, 山本祥一郎 2004. ダム構築による河川分断化がもたらすもの～川は森と海をつなぐ道～, サケ・マスの生態と進化 (前川光司 編). 文一総合出版, 東京, pp 281–312.
- 15) Chapman, P. M., 2018. Environmental quality benchmarks—the good, the bad, and the ugly. *Environmental Science and Pollution Research* 25, 3043–3046.

- 16) Iwasaki, Y., Kagaya T., Miyamoto K., Matsuda H., Sakakibara M., 2011. Effect of zinc on diversity of riverine benthic macroinvertebrates: estimation of safe concentrations from field data. *Environmental Toxicology and Chemistry* 30, 2237–2243.
- 17) JOGMEC, 2017. 坑廃水の調査の解説書 水系調査編.
https://www.meti.go.jp/policy/safety_security/industrial_safety/sangyo/mine/portal/kaisetsu/kaisetu-2.pdf
(2021 年 3 月閲覧)
- 18) 永井孝志, 2011. 環境水中重金属のスペシエーションと生物利用性 *環境毒性学会誌* 14, 13–23.
- 19) 加茂将史, 林岳彦, 2011. 金属の生態毒性予測モデル: Biotic Ligand Model の発展史と展望 *環境毒性学会誌* 14, 25–38.
- 20) OECD. 2017. Guidance on the Incorporation of Bioavailability Concepts for Assessing the Chemical Ecological Risk and/or Environmental Threshold Values of Metals and Inorganic Metal Compounds, OECD Series on Testing and Assessment, No. 259. OECD Publishing, Paris, France.
- 21) 環境省, 2002. 検討会報告に示された水質目標値. 水生生物保全環境基準専門委員会.
<https://www.env.go.jp/council/09water/y094-01/mat09.pdf> (2021 年 3 月閲覧)
- 22) Namba, H., Iwasaki Y., Morita K., Ogino T., Mano H., Shinohara N., Yasutaka T., Matsuda H., Kamo M., 2021. Comparing impacts of metal contamination on macroinvertebrate and fish assemblages in a northern Japanese river. *PeerJ* 9, e10808.
- 23) U.S. Environmental Protection Agency, 2002. National Recommended Water Quality Criteria: EPA822-R-02-047.
- 24) U. S. Environmental Protection Agency, 2016. Aquatic life ambient water quality criteria cadmium - 2016, EPA 820-R-16-002.
- 25) 一般社団法人環境 DNA 学会, 2020. 環境 DNA 調査・実験マニュアル ver. 2.2, <https://ednasociety.org/#manual> (2021 年 3 月閲覧) .
- 26) ダム水源地環境整備センター. 1994. 水辺の環境調査. 技報堂出版, 東京.
- 27) 高村典子, 1995. 河川の重金属汚染を教える付着藻類. *水環境学会誌* 18, 948–953.
- 28) Takamura, N., Hatakeyama S., Sugaya Y., 1990. Seasonal changes in species composition and production of periphyton in an urban river running through an abandoned copper mining region. *Japanese journal of Limnology* 51, 225–235.
- 29) 井上幹生, 中村太士. 2019. 河川生態系の調査・分析方法. 講談社, 東京.
- 30) 岩崎雄一, 2011. 河川底生動物群集の保護を目的とした亜鉛の安全濃度の探索－重金属が及ぼす影響の整理とともに（特集 重金属の生態影響に関して）. *環境毒性学会誌* 14, 47–56.
- 31) Iwasaki, Y., Schmidt T. S., Clements W. H., 2018. Quantifying differences in responses of aquatic insects to trace metal exposure in field studies and short-term stream mesocosm experiments. *Environmental Science & Technology* 52, 4378–4384.
- 32) 永田靖, 吉田道弘. 1997. 統計的多重比較法の基礎. サイエンティスト社, 東京.

- 33) 厚生労働省・経済産業省・環境省, 2011. 新規化学物質等に係る試験の方法について, <http://www.env.go.jp/chemi/kagaku/hourei/02-tsuuchi-shiken.pdf> (2021 年 3 月閲覧)
- 34) U.S. Environmental Protection Agency, 2002. Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater and Marine Organisms (5th edition), EPA-821-R-02-012. Office of Water, U.S. Environmental Protection Agency. https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-08/documents/acute-freshwater-and-marine-wet-manual_2002.pdf (2021 年 3 月閲覧)
- 35) 環境省, 2013. 生物応答を用いた排水試験法(検討案). 排水(環境水)管理のバイオアッセイ技術検討分科会. <http://www.env.go.jp/water/files/sankou5.pdf> (2021 年 3 月閲覧)
- 36) U.S. Environmental Protection Agency, 1992. Toxicity Identification Evaluation: Characterization of Chronically Toxic Effluents Phase I, EPA/600/6-91/005F. Office of Water, U.S. Environmental Protection Agency. <https://nepis.epa.gov/Exe/ZyPURL.cgi?Dockey=300011TY.TXT> (2021 年 3 月閲覧)
- 37) U.S. Environmental Protection Agency, 1991. Methods for Aquatic Toxicity Identification Evaluations: Phase I Toxicity Characterization Procedures (2nd edition), EPA/600/6-91/003. Office of Water, U.S. Environmental Protection Agency. <https://nepis.epa.gov/Exe/ZyPURL.cgi?Dockey=300011NY.TXT> (2021 年 3 月閲覧)
- 38) 藤原尚美, 野中信一, 豊久志朗, 鑑迫典久, 2015. 金属製品製造工場の WET を用いた排水中毒性要因の推定とその改善例. 環境化学 25, 35-42.
- 39) 板津靖之, 高野智弘, 金俊, 福富真実子, 楠井隆史, 2015. 事業所排水の生態毒性学的評価: 毒性原因物質の特徴化と放流先河川への影響. 環境化学 25, 19-26.
- 40) 真野浩行, 武田文彦, 南山瑞彦, 2016. 溶存態金属の濃度が高い下水処理水を対象としたミジンコ 2 種への影響の調査と毒性同定評価試験の適用. 土木学会論文集 G (環境) 72, III_107-III_115.

本ガイダンスに関する問合せ

経済産業省 産業保安グループ 鉱山・火薬類監理官付

〒100-8912 東京都千代田区霞が関1丁目3番1号

TEL：03-3501-1870

(本ガイダンスに関する技術的なサポート)

産業技術総合研究所 地質調査総合センター 地圏資源環境研究部門 保高徹生

エネルギー・環境領域 安全科学研究部門 岩崎雄一

メールアドレス：M-ToiawaseMineAist-ml@aist.go.jp