

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

M2 鉱山における事例

以下の調査例は、「平成 30 年度 産業保安等技術基準策定研究開発等（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）」報告書より抜粋し、改変したものである。報告書は以下から落手可能である。

https://www.meti.go.jp/policy/safety_security/industrial_safety/sangyo/mine/portal/report/H30GRreport.pdf

1. 本調査の目的と調査地点の設定

M2 鉱山の処理水が流入する河川及び近接する参照河川を対象とし、処理水流入河川に設定した評価地点群と標高等の環境条件が同様の参照地点群において（ガイダンス本文の図 6-1 方法 C 参照）、水質及び生物相を比較することを目的として、2018 年 9 月 25 日から 28 日にかけて野外調査を実施した（図 S1）。

調査地点は処理水流入河川に 5 地点、参照河川に 4 地点設定した（図 S1）。具体的には、処理水流入前後の S1 および S2 地点の比較参照地点として R0 地点、S3、S4、S5 地点の比較参照地点として R1、R2、R3 地点をそれぞれ設定した。また、最下流の S6 地点では、金属濃度の参考測定場所として設定した。

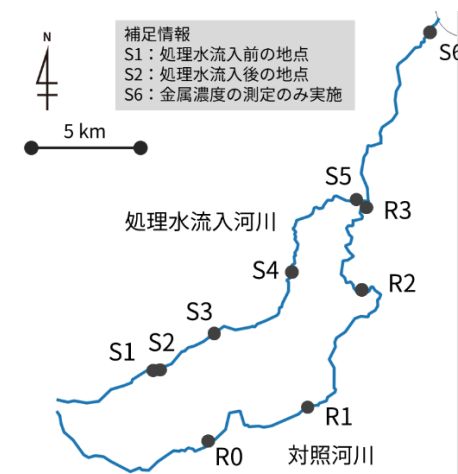


図 S1. 調査対象河川と調査地点

2. 野外調査内容

S1～S5 及び R0～R3 地点において、水質、物理環境、魚類、底生動物の調査を実施した。また、生物応答試験用の採水は、S1、S5 地点及びそれらに対応する参照地点（R0 及び R3）で行った。各調査項目の詳細は以下のとおりである。

2.1. 水質

【現地測定項目】

マルチ水質測定器（WTW, Multi 3630IDS）を用いて、水温、pH、溶存酸素、電気伝導度を現地で測定した。

【金属濃度】

金属濃度（Cu、Zn、Cd、Pb）は、採取した河川水を孔径 0.45 μm の PTFE メンブレンフィルターを用いて現地で濾過し、採水当日に硝酸を用いて酸固定した試料を冷蔵保存した。金属濃度（溶存態）は、ICP-MS（Thermo Scientific, ELEMENT XR）を用いて実験室で分析した。各金属（Cu、Zn、Cd、Pb）の定量下限は、それぞれ、0.005、0.1、0.005、0.005 μg/L であった。

【溶存有機炭素：DOC, Dissolved Organic Carbon】

金属濃度分析用試料と同様に、現地で濾過後、冷蔵保存した。実験室で、TOC 計（島津製作所, TOC-L CPH）で分析した。定量下限は、0.1 mg/L であった。

【硬度】

金属濃度分析用試料と同様に、現地で濾過後、冷蔵保存した。実験室で、イオンクロマトグラフ（Thermo Fisher Scientific, Dionex ICS-1100/2100）で Ca 及び Mg 濃度を分析した。硬度は、分析結果をもとに、以下の式で計算した。

$$\text{硬度 (mg/L-CaCO}_3\text{)} = 2.497 \times [\text{Ca}^{2+}] + 4.118 \times [\text{Mg}^{2+}]$$

2.2. 物理環境

各調査地点において標高、川幅を測定し、底生動物を採集した早瀬において、瀬幅、最大水深、最大流速（流速計：KENEK, VR-301）を測定した。最大水深及び最大流速は、対象とした早瀬の水深及び流速環境の指標として、各早瀬において、複数回測定し、その最大値を記録した。また、底生動物を採集したコドラードごとに水深および流速を計測した（底生動物の調査方法については後述）。

2.3. 魚類調査

各地点内で、平瀬、早瀬、淵、淀み、分流等が含まれるように留意し、基本的に 20～50m 程度離して、調査区を 5 カ所設定した。その調査区内で、5m×10m の捕獲調査を投網（3～

5 投) 及びエレクトロフィッシャー (電気ショッカー: 10 分) を用いて、魚類採捕を実施した (採捕は関係各所の同意、許可をとり実施)。採捕した個体は、種毎に分け、尾叉長と体重を計測した。尾叉長と体重から、肥満度を計算した。

2.4. 底生動物調査

日本国内で用いられている標準的な調査方法であるコドラート法 (国土交通省河川水辺の国勢調査マニュアル参照) で採集を行った。すなわち、各地点の早瀬より、25×25 cm 面積に生息する底生動物をサーバーネットを用いて採集した。採集した底生動物サンプルは、エタノール 99%を用いて現地で固定した。各サンプルについて、実験室でソーティングを行い種または属レベルまで同定し、種数 (分類群数) や個体数を計測した。本調査では、処理水流入河川最下流 (S5 地点) での影響を把握することを主目的として、当該地点及び対応する参照地点である S5 及び R3 地点においてコドラート法による採集を 3 回実施し、その他の地点は 1 回採集した (合計 13 サンプル)。

2.5. 生物応答試験

S1、S5 地点及びそれらに対応する参照地点 (R0 及び R3) で採取した河川水を用いて、以下の急性毒性試験及び慢性毒性試験を行った。

【急性毒性 (遊泳阻害試験)】

当該急性毒性試験は、OECD のテストガイドライン No. 202¹⁾を参考に行った。すなわち、各地点の水試料 50mL の入ったビーカーに 24 時間以内に産まれたオオミジンコの仔虫 5 個体を入れ、4 反復で試験を行った (水試料ごとに計 20 個体の仔虫を曝露)。対照区として、飼育水を使用した試験も合わせて実施した。48 時間後に、各ビーカーの遊泳阻害個体数を記録し、水試料ごとに遊泳阻害率を記録した。

【慢性毒性 (繁殖試験)】

慢性毒性試験は、各地点の水試料 15mL の入ったビーカーに 24 時間以内に産まれたニセネコゼミジンコを 1 個体ずつ入れ、10 反復で試験を行った (水試料ごとに計 10 個体を曝露)。対照区として、飼育水を使用した試験も合わせて実施した。最大 8 日間、毎日試験個体の生存と繁殖数を記録し、試験個体ごとに産仔 3 腹分の累積産仔数を算出した。

3. 調査結果

3.1. 水質

測定した金属濃度等の水質は、表 S1 のとおりである。当該河川でこれまでに実施されている結果と同様であり^{2,3)}、参照河川と比較して処理水流入河川の上流ほど金属濃度は高い傾向にあった。S1～S3 の評価地点では、1 つ以上の金属が米国の水質クライテリア値より

も高い濃度を示したが、下流の S5 や S6 地点では、いずれの金属も米国の水質クライテリア値未満であった。

表 S1. 調査地点の水質測定結果

地点	Cu μg/L	Zn μg/L	Cd μg/L	Pb μg/L	水温 °C	pH	電気伝導度 μS/cm	溶存酸素 mg/L	DOC mg/L	硬度 mg/L
R0	0.06	0.6	<0.005	<0.005	10.3	7.7	50.1	10.7	0.6	12.7
R1	0.06	2.3	<0.005	<0.005	10.3	7.7	54.5	10.8	0.7	14.0
R2	0.09	4.8	<0.005	<0.005	10.7	7.6	56.7	10.5	0.7	14.5
R3	0.13	1.6	<0.005	<0.005	12.5	7.4	59.0	10.3	0.8	14.6
S1	1.47	42.1	0.26	0.65	9.7	7.0	76.9	10.7	0.4	20.8
S2	1.57	42.2	0.30	0.62	10.0	7.0	77.6	10.6	0.4	20.7
S3	0.90	26.7	0.22	0.07	11.2	7.2	78.1	10.4	0.5	21.0
S4	0.61	11.3	0.08	0.04	11.5	7.3	71.8	10.5	0.5	18.2
S5	0.39	7.2	0.01	<0.005	12.0	7.4	78.3	10.5	1.1	18.5
S6	0.24	2.9	<0.005	<0.005						
米国WQC	2.26	30.2	0.08	0.42						

米国 WQC は米国の水質クライテリア（硬度は 20 mg/L と仮定⁴⁾）、DOC は溶存有機炭素濃度を示す。

3.2. 物理環境

計測した物理環境の結果は、表 S2 のとおりである。R3 及び S5 地点については、コドラートによる採集を 3 回行ったため、水深と流速については平均値と標準偏差を示した。参照地点と比較すると、処理水流入河川に設定した評価地点の川幅は小さい傾向にあるが、最下流地点（R3 及び S5 地点）では同程度であり、瀬幅や水深、流速に大きな違いはなかった。

表 S2. 物理環境測定結果

地点	標高	川幅	瀬幅	最大水深 (早瀬)	最大流速 (早瀬)	水深 (コドラート)	流速 (コドラート)
	m	m	m	cm	cm/s	cm	cm/s
R0	285	8.8	4.0	30	120	12	99
R1	170	19.2	8.6	20	130	8	68
R2	75	19.0	9.2	25	140	8	118
R3	35	18.5	6.8	20	170	10±2	77±29
S1	330	5.0	5.0	20	140	13	88
S2	330	5.5	5.5	20	150	13	99
S3	230	7.6	8.9	25	150	14	93
S4	130	9.6	9.6	20	170	8	73
S5	30	19.4	9.4	25	170	12±3	80±29

3.3. 魚類調査

現地調査の結果、表 S3 に示す 5 科 6 種、合計 1687 個体を採捕した。ヤツメウナギ科についてはスモルトの成体が確認されたためカワヤツメとした。また、ウグイ属については、0+の小型個体で種の同定には至らなかった。

全地点を通して優占種はヤマメで、S5、R3、R2 の下流域でフクドジョウが優占した他は全てヤマメが優占した（図 S2）。カワヤツメやフクドジョウは下流で個体数が多い傾向にあった。地点内及び地点間でのばらつきは大きいものの、ほとんどの場合で、評価地点の平均値は参照地点から計算した 95%予測区間に含まれており、処理水流入河川と参照河川で優占的な魚種の個体数及び肥満度に大きな違いは観察されなかった（図 S2 及び図 S3：ただし、イワナ及びカワヤツメ属は採捕個体数が少ないため留意が必要）。

表 S3. 魚類出現種一覧

科	種	学名	生活史タイプ
ヤツメウナギ科	カワヤツメ	<i>Lethenteron japonicum</i>	遡河回遊
コイ科	ウグイ属の一種	<i>Tribolodon sp</i>	—
ドジョウ科	フクドジョウ	<i>Nemacheilus toni</i>	純淡水魚
サケ科	ヤマメ(サクラマス)	<i>Oncorhynchus masou masou</i>	遡河回遊
	イワナ(アメマス)	<i>Salvelinus leucomaenis</i>	遡河回遊
カジカ科	カンキョウカジカ	<i>Cottus amblystomopsis</i>	遡河回遊
5 科	6 種		

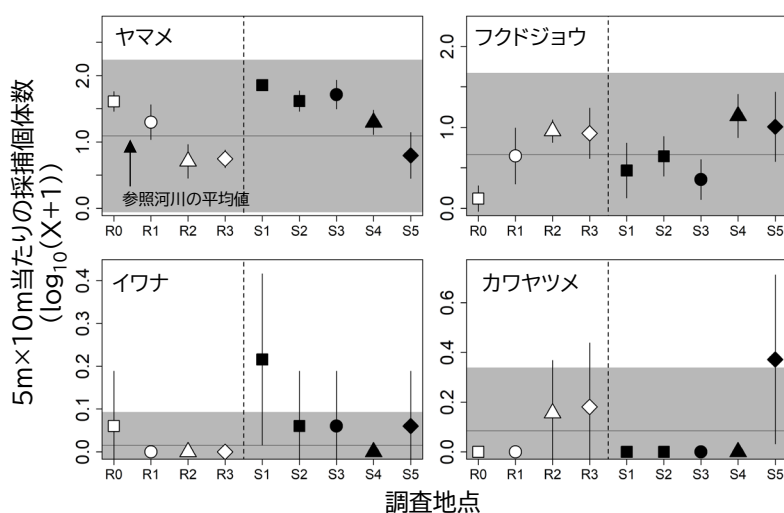


図 S2. 各調査地点における優占的な魚種の採捕個体数

標高等の環境条件が対応する評価地点と参照地点は、同じシンボルで示した。エラーバーは各地点の平均値の 90%信頼区間、グレーで示した範囲は参照地点の平均値から計算した 90%予測区間を示す。

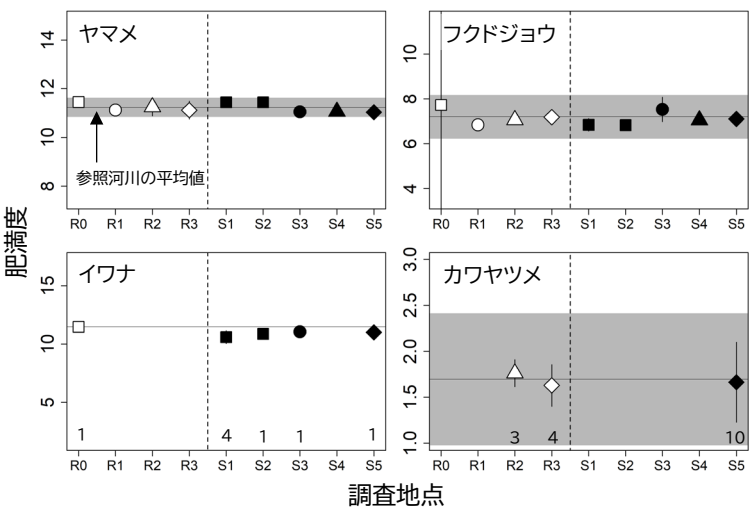


図 S3. 各調査地点における優占的な魚種の肥満度

標高等の環境条件が対応する評価地点と参照地点は、同じシンボルで示した。エラーバーは各地点の平均値の 90%信頼区間、グレーで示した範囲は参照地点の平均値から計算した 90%予測区間を示す。図中の数字は各地点における採捕数を示す（参考情報）。

3.4. 底生動物調査

コドラートあたりの総種数（総分類群数）及び総個体数に加えて、優占的な3つの目（カゲロウ目、トビケラ目、ハエ目）の種数及び個体数を図 S4 および図 S5 に示した。魚類調査結果同様に、両河川間で大きな違いは観測されなかった。

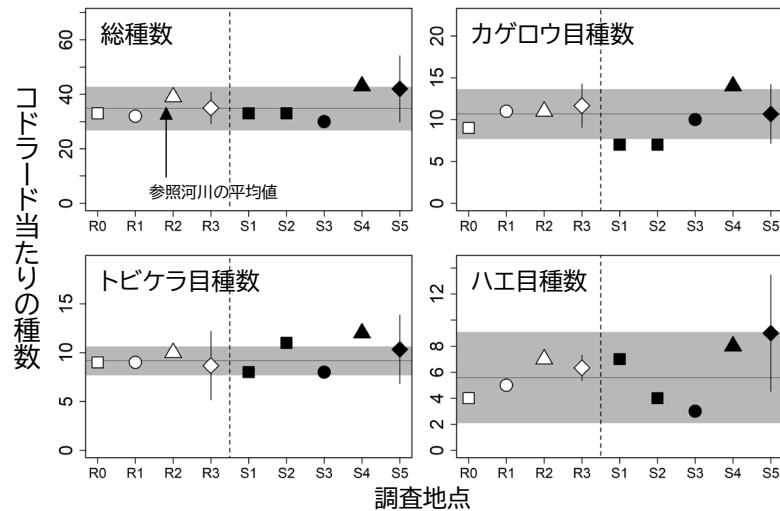


図 S4. 各調査地点における底生動物の種数

標高等の環境条件が対応する評価地点と参照地点は、同じシンボルで示した。エラーバーは各地点の平均値の 90%信頼区間、グレーで示した範囲は参照地点の平均値から計算した 90%予測区間を示す。

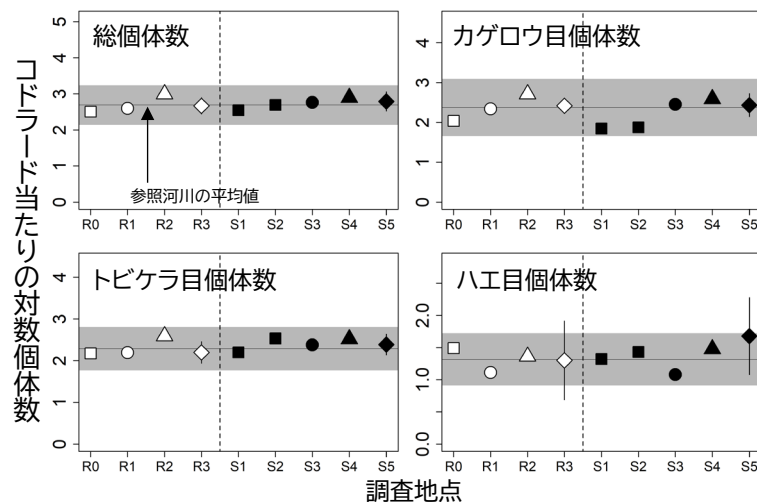


図 S5. 各調査地点における底生動物の個体数

標高等の環境条件が対応する評価地点と参照地点は、同じシンボルで示した。エラーバーは各地点の平均値の 90%信頼区間、グレーで示した範囲は参照地点の平均値から計算した 90%予測区間を示す。

3.5. 生物応答試験

オオミジンコを用いた急性毒性試験の結果を表 S4 に示す。S1、S5、R0 地点で採取した河川水で遊泳阻害は観察されなかった。R3 地点では、遊泳阻害個体が 1 個体観察されたものの、遊泳阻害率は 5% と非常に低い値であった。これらの結果から、すべての調査地点で採取した河川水の短期的な曝露はオオミジンコへの急性毒性を引き起こさなかったことが示された。

表 S4. 急性毒性試験の結果

	対照区	R0	R3	S1	S5
遊泳阻害個体数	0	0	1	0	0
正常個体数	20	20	19	20	20
遊泳阻害率(%)	0	0	5	0	0

ニセネコゼミジンコを用いた慢性毒性試験の結果を図 S6 に示す。処理水流入河川地点 S1 及び S5 で採取した水試料に曝露したミジンコの累積産仔数について、それぞれに対応する参照地点 (R0 及び R3) で採取した水試料に曝露したミジンコの累積産仔数と比較したところ、統計的に有意な差はみられなかった。これらの結果から、参照河川地点 (R0 及び R3) と比較して、流入河川地点 S1 及び S5 の河川水の長期間の曝露はミジンコへの慢性毒性を引き起こさなかったことが示された。

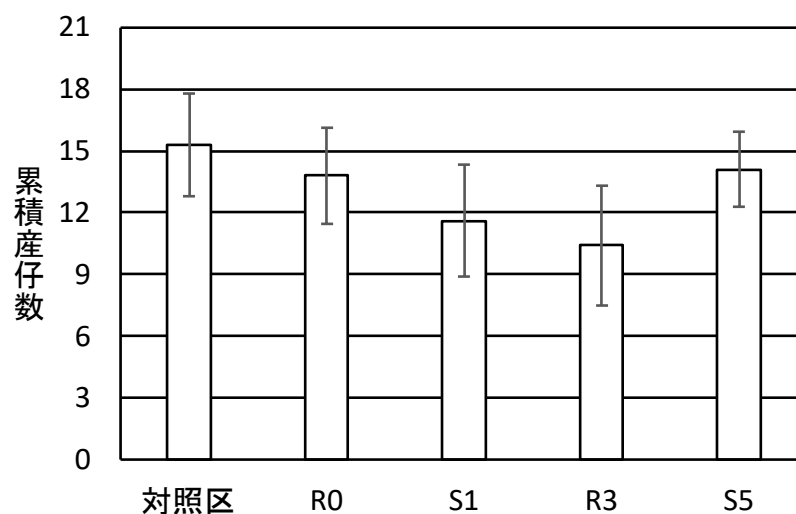


図 S6. 各水試料に曝露したニセネコゼミジンコ試験個体の累積産仔数

引用文献

- 1) Organization for Economic Co-operation and Development (OECD) (2004) *Daphnia* sp. acute immobilisation test. No. 202, OECD, Paris, France.
- 2) 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. <https://doi.org/10.1007/s10661-019-8047-2>
- 3) 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. <https://doi.org/10.7717/peerj.10808>
- 4) U.S. Environmental Protection Agency, 2002. National Recommended Water Quality Criteria: EPA822-R-02-047, Washington, DC.