事後評価ヒアリング

課題場号：5RF-1801
体系的番号： JPMEERF20185R01
研究実施期間：平成30年度～令和2年度

化学物質の複合曝露による野外生態リスク評価方法の開発：
水質及び底生動物調査と環境水を用いた生物応答試験の活用

（国研）産業技術総合研究所 安全科学研究部門
岩崎雄一（研究代表者），眞野浩行

1. はじめに：実環境における複合曝露影響

- 我が国の生態リスク規制は，化学物質個別の管理
  - 水生生物の保全に係る水質環境基準 → 排水規制

多様な廃水が流れ込む都市河川

- **複合曝露の現実的な評価・管理方策の早急な構築が必要**
  - 物質個別の管理は，全体のリスクを過小評価する可能性
  - 複合曝露による影響の総和と各物質の寄与を把握することが合理的な管理には必要

1. はじめに：複合曝露の影響を評価する方法

採水

Component-based approach

個別物質の濃度を分析し，
毒性値から複合影響を推定

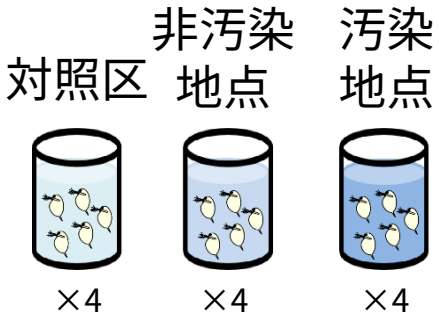
物質1　物質3
物質2　物質n

$$\text{ハザード比の和} = \sum \frac{\text{環境中濃度}}{\text{水質環境基準}}$$

Whole mixture approach

Effect-Based
Monitoringとも呼ばれる

水試料を用いた
生物応答試験（毒性試験）を実施し，
複合影響を直接評価



環境水を用いた生物応答試験

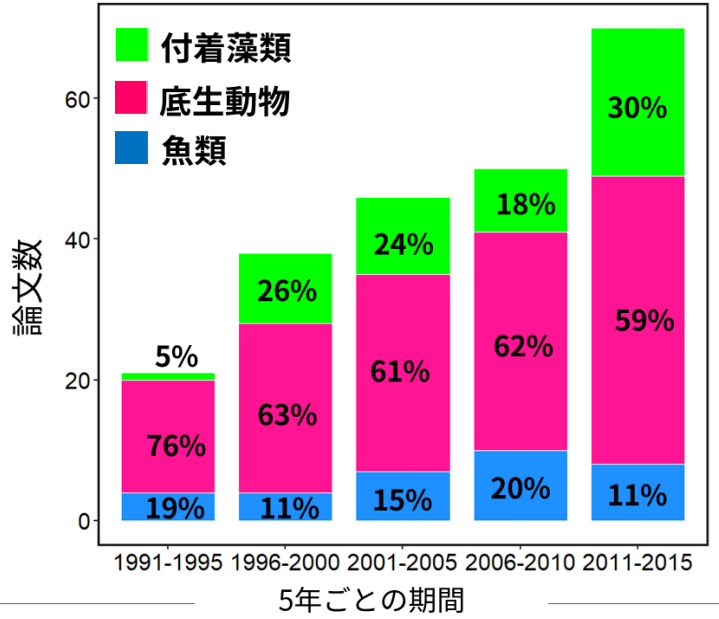
ハザード比の和や生物応答試験結果と野外影響レベルの関係が不明瞭

1. はじめに：底生動物調査による野外影響評価

- 水生生物調査は，実環境における個体群や群集に及ぼす影響を直接観察可能
  - 河川調査では，藻類，底生動物，魚類が代表的
- 金属の生態影響調査では，底生動物が最も頻繁に利用（Namba et al. 2020）

本課題の成果

  - 金属に対して様々な感受性を持つ種で構成（Iwasaki et al. 2018）
  - カゲロウ目，特にヒラタカゲロウやマダラカゲロウ科の感受性が高い（Iwasaki et al. 2018）
  - 付着藻類や魚類に比べ，底生動物指標（種数や個体数）の金属応答性高い（Namba et al. 2020）



Namba et al. 2020
https://doi.org/10.1002/etc.4810

2. 研究開発目的

金属以外の負荷がほとんどない鉱山地域の複数流域を対象に

水質＆底生動物の野外調査

ハザード比（HQ）の和

$$\text{HQ の和} = \sum \frac{\text{環境中の金属濃度}}{\text{予測無影響濃度}}$$

環境水を用いた生物応答試験

サブテーマ2（眞野）

生物応答試験等の毒性評価研究に実績

サブテーマ1（岩崎）

底生動物調査

野外影響レベル

ハザード比の和

HQの和及び生物応答試験での影響割合と底生動物調査での野外影響割合の関係を定量化

野外影響レベル

生物応答試験の影響レベル

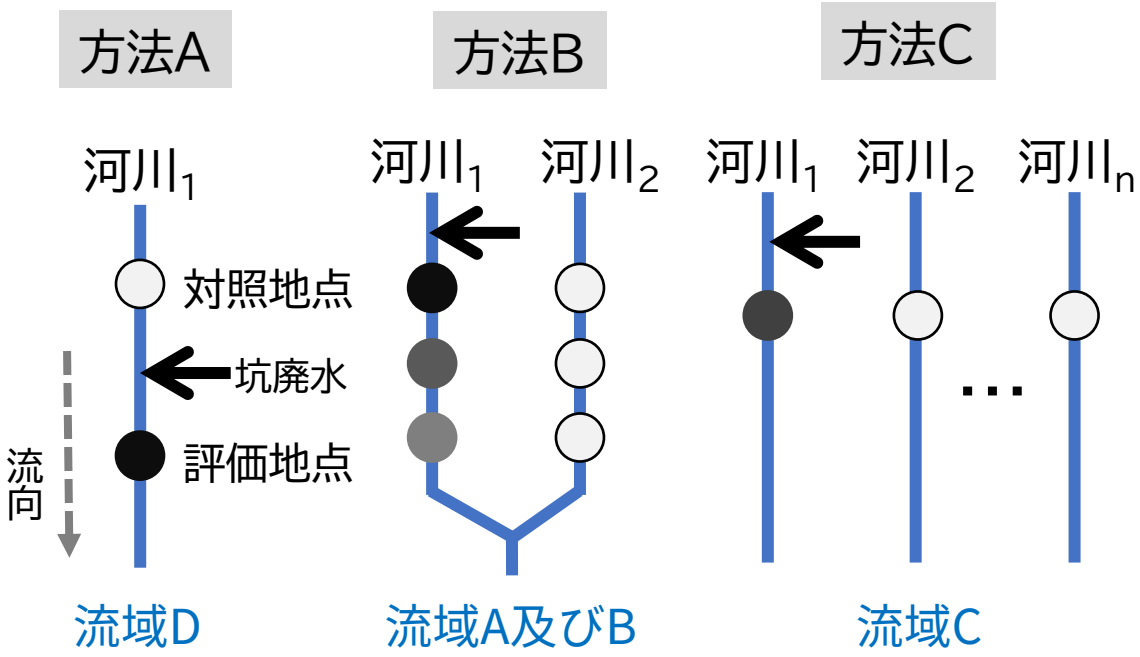
ハザード比の和，生物応答試験及び底生動物調査を活用した複合曝露の野外生態リスク評価方法の提案

3. 研究目標

- **全体目標**
  - 休廃止鉱山周辺の河川を対象に，底生動物調査と水質調査（金属濃度に基づくハザード比の和）及び環境水を用いた生物応答試験による影響評価結果の関係を明らかにし，その関係をもとに，実環境において化学物質の複合曝露による生態リスクを適切に見積もるための野外影響評価方法を提案する。
- **サブテーマ1：水質及び底生動物調査による生態影響評価**
  - 休廃止鉱山周辺の河川を対象に合計25～30地点程度の調査地点を設定し，水質及び底生動物調査を実施する。金属濃度に基づくハザード比の和と底生動物調査から得られる野外影響レベルの関係を示すとともに，その関係に基づいて野外影響を推定する上でのハザード比の和の活用方法や有用性を評価する
- **サブテーマ2 ：河川水の生物応答試験による生態影響評価**
  - 合計25～30地点程度の調査地点で採取した河川水について，ミジンコ類を用いた生物応答試験を実施する。試験結果から得られるミジンコ類への河川水の影響レベルと底生動物調査から得られる野外影響レベルの関係を示すとともに，その関係に基づいて野外影響を推定する上での生物応答試験の活用方法や有用性を評価する。

4. 研究開発内容：調査対象流域＆調査地点の設定

- 休廃止鉱山が上流に位置する4流域を対象
- 各流域で合計4～9地点を設定し，合計26地点



各流域内で金属以外の物理化学的要因
が同様の地点を調査地点として設定

4. 研究開発内容：調査内容

- 水質
  - 現地測定（水温，pH，電気伝導度，溶存酸素）
  - 溶存金属濃度（Cu, Zn, Cd, Pb：ICP-MSで分析）
  - 主要イオン濃度（Ca, Mg等：イオンクロマトグラフィー）
  - 溶存有機炭素（DOC：TOC計で分析）
- 底生動物
  - 各地点の早瀬より5個の礫を選定し，
    サーバーネットを用いて採集・固定（実験室内で選別＆同定）
- 生物応答試験
  - 各調査地点より10L程度採水
- 物理環境
  - 川幅，瀬幅，早瀬の最大流速，最大水深
  - 各礫直上の水深，6割水深における平均流速

4. 研究開発内容：ハザード比の和

- **解析対象とする金属：**Cu, Zn, Cd, Pb
  - Ag, Al, Mn, Cr, Fe, Ni, Asも各調査地点で測定したが，
    定量下限未満または生態影響が懸念されるレベルではなかった
- **金属の毒性に影響する水質項目も同時測定**
  - 硬度（CaおよびMg濃度）
  - pH，溶存有機炭素（DOC）
- **ハザード比の計算**
  - 米国の水生生物保全のための水質クライテリア（硬度補正）を利用
  - 硬度は，各地点のCa及びMgの実測値から計算

$$\text{ハザード比の和} = \sum \frac{\text{測定金属濃度}}{\text{水質クライテリア}}$$

4. 研究開発内容：生物応答試験に基づく影響レベル

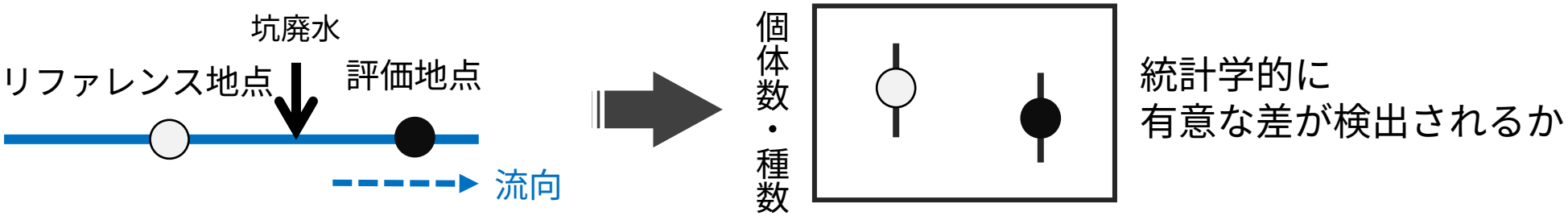
- 河川水を用いた生物応答試験
  - オオミジンコの遊泳阻害試験（48時間：OECD TG No. 202を参考）
  - オオミジンコの繁殖試験（21日間：OECD TG No. 211 を参考）
  - ニセネコゼミジンコの繁殖試験（最大8日間：生物応答を用いた排水試験法（検討案）を参考）

→ 坑廃水が流入する河川の評価地点について，
生物応答試験の結果に基づき，3段階の影響レベルに分類

影響レベル	判断基準
0	影響不検出
1	有意な繁殖低下（遊泳阻害はなし）
2	遊泳阻害及び繁殖低下

4. 研究開発内容：野外影響レベル

- 異なる底生動物が出現する流域間での野外影響を統一的に比較する必要性
- 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を含むカゲロウ目で観察される影響に基づき，4段階の影響レベルに分類
  - 各評価地点に対応するリファレンス地点との比較により，影響（減少）を評価



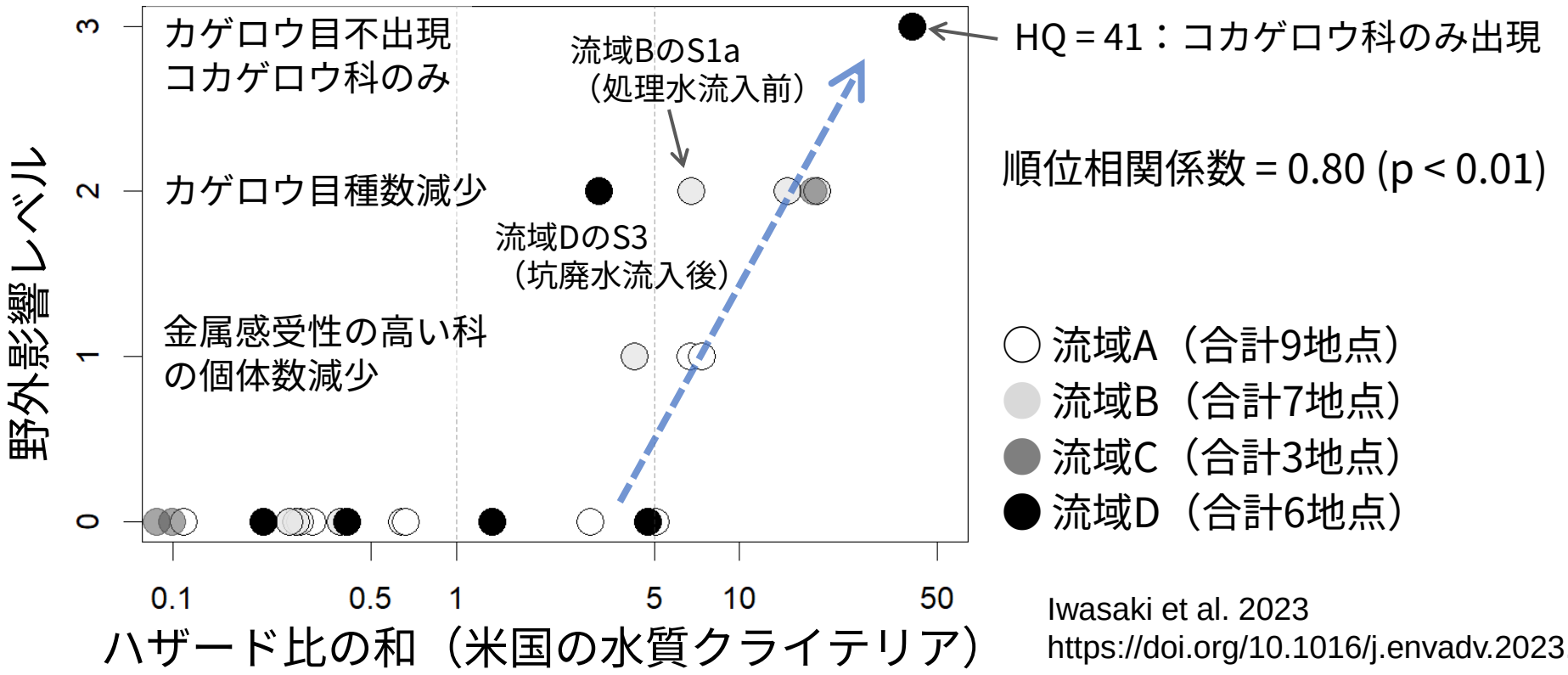
野外影響レベル	定性的評価	判断基準
0	影響なし	影響を不検出（リファレンス（比較参照）地点を含む）
1	小	ヒラタカゲロウ科またはマダラカゲロウ科の個体数の減少
2	中	カゲロウ目種数の減少
3	大	コカゲロウ科のみ出現またはカゲロウ目不出現

5.1 成果の概要：HQの和 vs 野外影響レベル

米国の水質クライテリアに基づく（US EPA 2002）

- ハザード比の和が1以上5未満では，野外影響レベル0の地点がほとんどであった
- ハザード比の和が5～10以上で，野外影響レベル1または2以上の影響が検出された

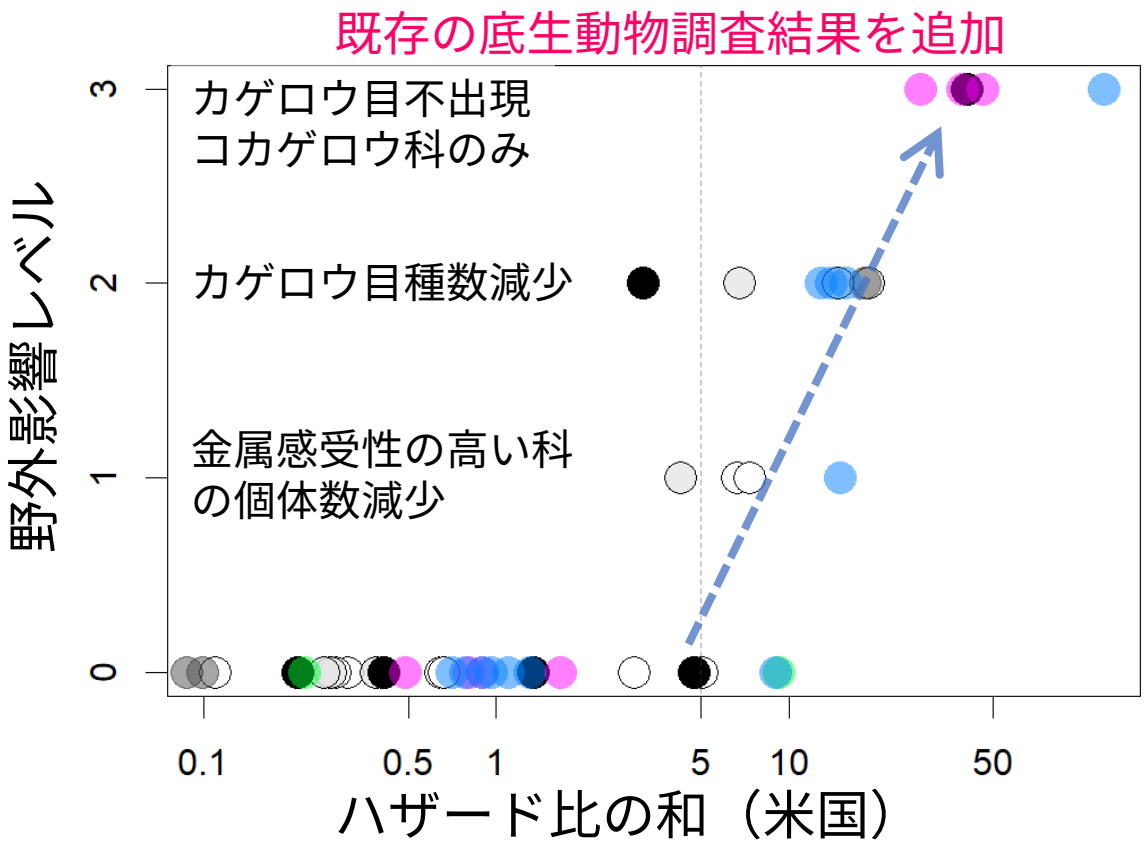
ハザード比の和と底生動物調査結果に基づく野外影響レベルとの関係を明らかにできた

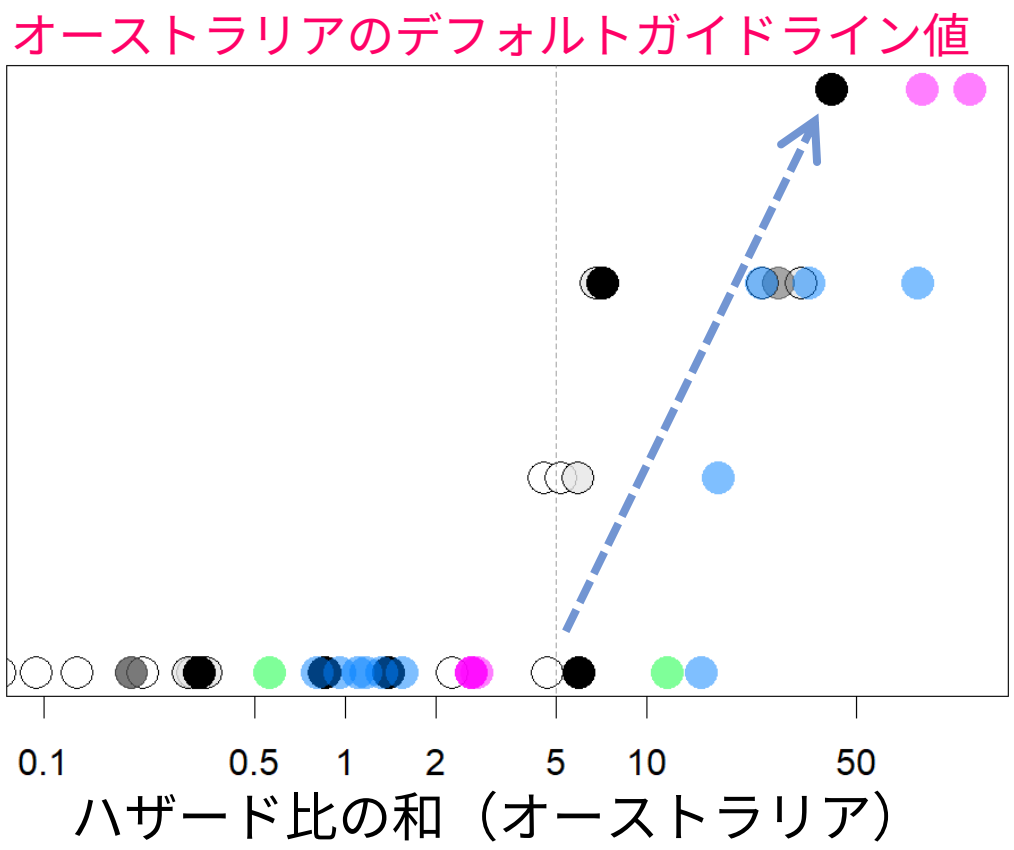


Iwasaki et al. 2023
https://doi.org/10.1016/j.envadv.2023.100348

5.1 成果の概要：HQの和 vs 野外影響レベル

- 既存の底生動物調査結果（Iwasaki et al. 2011）を加えても，同様の関係を検出（左図）
- オーストラリアのデフォルトガイドライン値（Cu 1.4; Zn 8; Cd 0.2; Pb 3.4 µg/L）を用いたハザード比の和でも，同様の関係を観察された（右図）



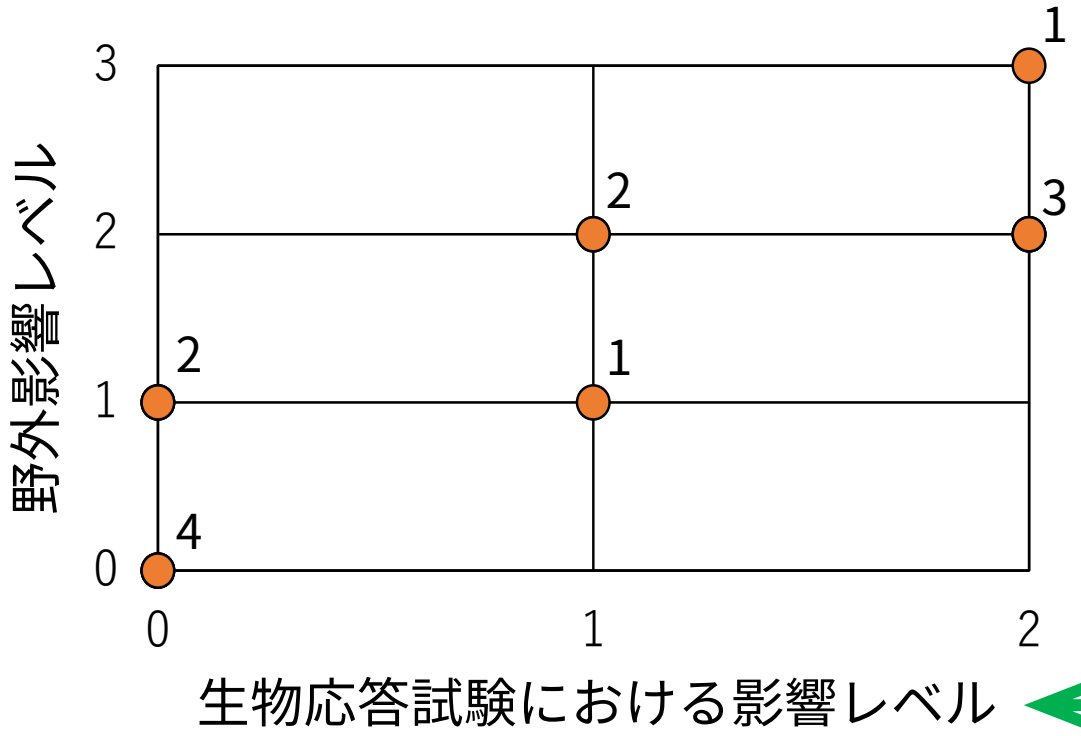


5.1 成果の概要：生物応答試験 vs 野外影響レベル

- 生物応答試験で影響不検出（影響レベル0）の地点では，野外影響レベルが1以下
- 遊泳阻害及び繁殖影響が観察された影響レベル3の地点では，野外影響レベルが2以上

生物応答試験による影響レベルと野外影響レベルとの関係を明らかにできた

– オオミジンコの遊泳阻害試験により，野外影響レベルが2以上かどうかを判別できる可能性



順位相関係数 = 0.88 ($p < 0.01$)

●横の数字はサンプル数（地点数）を示す

影響レベル	判断基準
0	影響不検出
1	繁殖低下
2	遊泳阻害及び繁殖低下

Iwasaki et al. 2023
https://doi.org/10.1016/j.envadv.2023.100348

5.1 成果の概要：結果まとめ

- 鉱山周辺の4河川計26地点での調査結果に基づき，HQの和及び生物応答試験での影響と底生動物調査に基づく野外影響レベルの関係を明らかにした
  - 主要な対象とした金属以外の化学物質に，得られた関係が成り立つかは要検証
- 水質調査に基づくハザード比（HQ）の和
  - 米国の水質クライテリアに基づくHQの和が1以上5未満では，野外影響レベル0の場合がほとんどであり，5～10以上で野外影響レベル1または2以上の影響を検出
  - 異なる水質ベンチマークを用いる場合は，本調査データを利用して，HQの和と野外影響レベルの関係を評価することが可能
- 生物応答試験
  - ミジンコへの影響の有無に基づいた影響レベルが0の地点では野外影響レベルが1以下で，影響レベルが2の地点では野外影響レベルが2以上であった
  - 生物応答試験による評価は，都市河川などのHQの和が適切に推定できない場合に，水質に起因する野外影響レベルを推測する上で，非常に有用

5.1 成果の概要：複合曝露の野外生態リスク評価方法

- 水質調査（HQの和）及び生物応答試験から野外影響レベルを推測可能であることを示した
  - より的確な評価には底生動物調査が有用
- 各手法には利点と欠点があり，目的等や河川の特性に応じて，組み合わせて実施することが重要
  - 水質調査や生物応答試験は，生物調査の結果を解釈したり，影響要因を考察する上で重要
- 都市河川など，HQの和の正確な推定が困難な場所における評価をどう行うかは，今後の課題

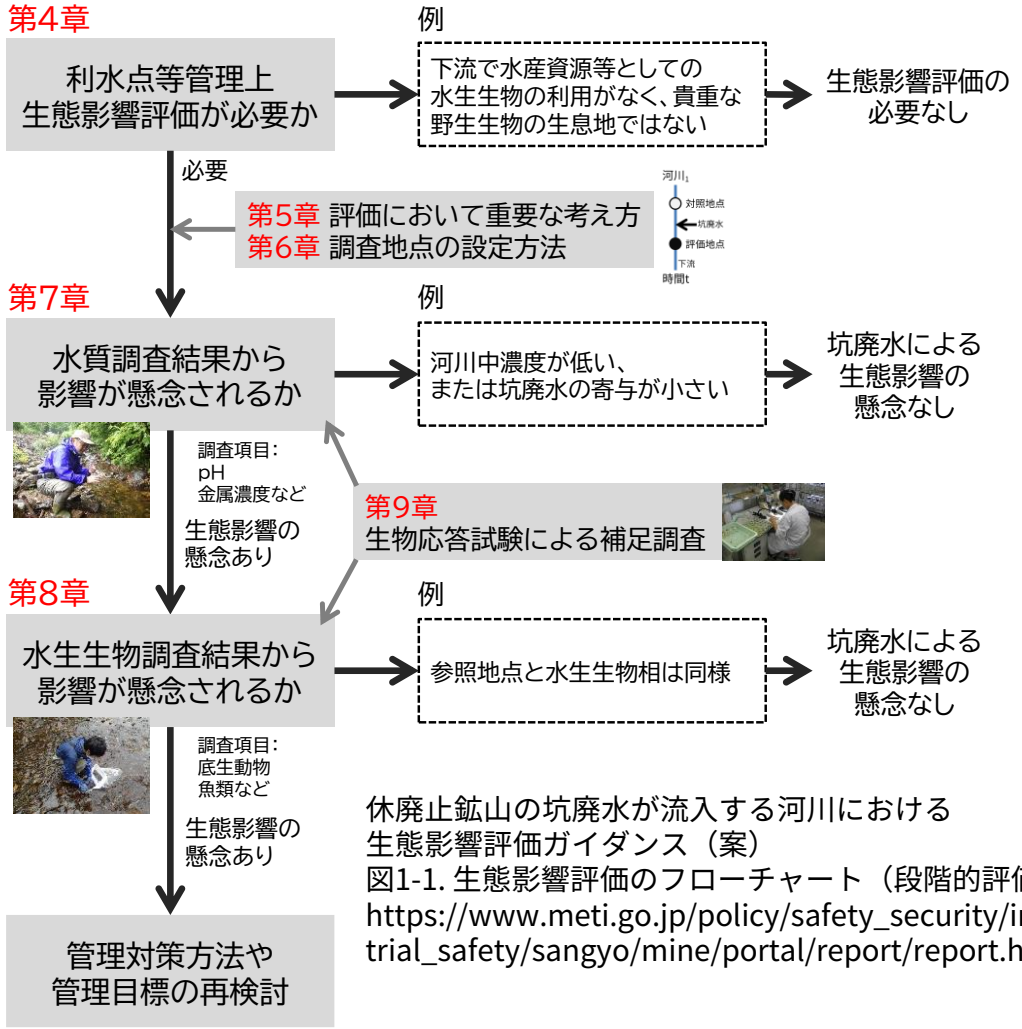
岩崎（2016）を改変

	水質調査	生物応答試験	生物調査
生物種	無し	主に1種	多種
コスト	低	中程度～高	中程度～高
操作性 機序理解	中～高	中～高	低
現実性	低	低～中	高
時空間 スケール	小	小～中	大

5-2. 環境政策等への貢献：ガイダンス（案）での引用

- 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（案）
  - 2021年4月に案が公開
  - 本研究の成果が引用されている

- 生態影響評価
  - 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
  - 生物応答試験は補足的な役割として位置づけられている



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（案）
図1-1. 生態影響評価のフローチャート（段階的評価）
https://www.meti.go.jp/policy/safety_security/industrial_safety/sangyo/mine/portal/report/report.html

5-2. 環境政策等への貢献：政策決定者向けサマリー

1. 予測無影響濃度や水質環境基準の超過で観測される野外影響

- 室内での毒性試験結果に基づく予測無影響濃度や水質環境基準は，一般的に安全側に設定されている。環境中濃度がその値を多少（例えば5倍程度）超過したとしても，大きな影響が観測されるとは限らない

2. 環境水を用いた生物応答試験と野外影響の関係

- 本研究結果は，金属の生態影響が懸念される河川において，生物応答試験結果から野外影響レベルをある程度推測可能
- ハザード比の和が的確に推定できない都市河川等における化学物質の複合曝露の評価や管理における生物応答試験の有用性を示唆

3. 低硬度の環境水へのミジンコ慢性毒性試験の適用

- さまざまな水質の環境水に対する生物応答試験の適用性を検討する必要がある。本研究の成果は低硬度の環境水に対してオオミジンコおよびニセネコゼミジンコの繁殖試験を適用可能であることを示した

6. 研究成果の発表状況

- 査読付き論文（5件）
  1. Yuichi Iwasaki, Hiroyuki Mano, Naohide Shinohara (2023) Linking levels of trace-metal concentrations and ambient toxicity to cladocerans to levels of effects on macroinvertebrate communities. Environmental Advances. 11:100348. (IF = NA)
  2. Hiroyuki Mano, Yuichi Iwasaki, Naohide Shinohara (2022) Effect-based water quality assessment of rivers receiving discharges from legacy mines by using acute and chronic bioassays with two cladoceran species. Water Supply. 22(4): 3603–3616 (IF = 1.7)
  3. Hiroki Namba*, Yuichi Iwasaki*, et al. (2021) Comparing impacts of metal contamination on macroinvertebrate and fish assemblages in a northern Japanese river. PeerJ. 9:e10808. (IF = 3.1)
  4. Hiroki Namba*, Yuichi Iwasaki*, Jani Heino, Hiroyuki Mastuda (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(10): 1964–1972.（IF = 4.1：国際共同研究）
  5. Iwasaki et al. (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(2): 83（IF = 3.0）
- その他の誌上発表（1件）
  1. Yuichi Iwasaki, Hiroyuki Matsuda (2021) Chapter 4. How to Assess Ecological Risks of Trace Metals in Environment. In: Matsuda H. (eds) Ecological Risk Management. Ecological Research Monographs. pp51-65. Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-33-6934-4_4
- 口頭発表（学会等）（13件）
  - うち国際学会発表3件