マイクロコズムによる Ni の生態系リスク評価

千葉工業大学・生命環境 ○村上和仁 林 秀明
 福島大学・共生理工 稲森悠平
 相模女子大学・栄養科学 杉浦 桂

1. はじめに

ニッケル (Ni) は合金やメッキに使用され、鉱山廃水やニッケルメッキからの溶出により、水道水に混入することがある。Ni の毒性は化学形態とその物性で異なり、経口毒性は比較的 low、銅、コバルト、亜鉛などの必須金属と同程度であるが、吸入ではニッケルカルボニルの毒性が大きく、ヒトにとっての致死量は 30ppm・30 分と推定されている。Ni 及びその化合物については、Ni の量に関して、0.01mg/L 以下 (暫定) の水質管理目標値が設定されている。Ni をはじめとする金属類の生態リスクについては十分な知見が得られていないのが現状であり、複雑な生物間相互作用を有する生態系システムに対する生態リスクを評価する上では、生産者・消費者・分解者からなるモデル微生物生態系であるマイクロコズムが有用なツールとなり得る。

本研究では、金属類の生態リスク影響評価に供するための基礎的知見の集積を目的として、Ni 添加の影響について、種構成の異なるタイプのマイクロコズムを用いて検討をおこなった。

2. 方法

2.1 供試マイクロコズム

マイクロコズムは、ヒトへの毒性評価をマウスで評価するように、生態系への毒性を評価できるモデルシステムである。本研究では、現場の環境下の群集をそのまま維持した Naturally derived 型 (手賀沼湖水)、自然群集をある条件下で培養しある特定の生物群集に維持発展させた Stress selected 型 (手賀沼湖水)、および完全種構成既知で各種の個体数が単独に計測可能で各種の性質が単独に解析可能な Gnotobiotic 型 (栗原 type) のマイクロコズムを用いた。

2.2 金属負荷:

公共用水域における水質基準が検討されている Ni を対象とした。添加量 (負荷量) は、0 (対照系)、0.1、0.2、0.5、1.0、5.0mg/l とし、マイクロコズム培養開始後 16 日目の安定期に添加した。

2.3 培養方法及び測定項目:

マイクロコズムの培養は、25°C、2,800lux (L/D=12/12hr)、静置条件とした。Naturally derived 型マイクロコズムは採水した環境水を均一に攪拌した後、大きな夾雑物を除去して、また、Stress selected 型と Gnotobiotic 型マイクロコズムは、ポリペプトン濃度を 100mg/l となるよう調整した TP 培地 (Taub' s solution + polypeptone) 200ml を 300ml 容三角フラスコに入れ、種を 10ml 接種して培養を開始した。DO センサーによりマイクロコズム内の DO 変化を経時的に連続測定し、P (生産量)、R (呼吸量) および P/R 比の推移を求めた。同時に、培養開始後、0、2、4、7、14、16、18、20、23、30 日目にマイクロコズム構成微生物の個体数を計測した。

2.4 影響評価方法

Ni がマイクロコズム生態系に及ぼす影響については、機能パラメータとしての P/R 比 (DO) の経時変化、および構造パラメータとしての生物相の経時変化より評価することとした。すなわち、①P/R 比からの評価: 添加後 14 日間の P/R 比の挙動パターンを対照系 (非添加系) と比較して評価、②添加後の挙動パターンからの評価: 添加後 14 日間の各構成微生物の挙動パターンを対照系 (非添加系) と比較して評価、③安定期の個体数 (N₃₀) からの評価: 培養開始後 30 日目 (添加後 14 日目) における各構成微生物の個体数を対照系 (非添加系) と比較して評価、および④添加後の現存量 (B₁₆₋₃₀) からの評価: 添加後 14 日間の各構成微生物の現存量 (面積個体数密度) を対照系 (非添加系) と比較して評価、から解析評価をおこなった。

キーワード: マイクロコズム ニッケル 生態リスク評価 機能パラメータ 構造パラメータ

〒275-8588 千葉県習志野市津田沼 2-17-1 千葉工業大学生命環境科学科 TEL 047-478-0455 FAX 047-478-0474

3. 結果および考察

3.1 Naturally derived 型マイクロコズムにおける影響評価

富栄養化湖沼であり、プランクトン量が豊富である手賀沼の湖水を充填した Naturally derived 型マイクロコズムに Ni を添加して生態リスク影響を評価したところ、機能パラメータである P/R 比はほぼ 1 に収束して推移したが、対照系（非添加系）の生物相が安定せず、系ごとに構造パラメータである出現生物（＝生物相）が異なり、再現性が維持されなかった。培養期間中は、*Chlorella* sp.、*Nitzschia* sp.、*Monoraphidium contortum*、*Aulacoseira granulata* が経常的に出現されたが、Ni 添加と連動した特徴的な挙動は観察されなかった。

3.2 Stress selected 型マイクロコズムにおける影響評価

富栄養化湖沼であり、プランクトン量が豊富である手賀沼の湖水を種として TP 培地で培養した Stress selected 型マイクロコズムに Ni を添加して生態リスク影響を評価したところ、対照系（非添加系）であっても 40 系中 7 系しか安定系が構築されず、再現性・安定性のいずれも不十分であった。P/R 比は Ni 添加にかかわらず大きな変化はみられず P/R = 1 付近で安定して推移した。しかし、生物相では、1.0mg/l 添加系で明らかな個体数の減少が生じ、特に *Nitzschia* sp. と *Monoraphidium contortum* に影響が生じており、緑藻類よりも珪藻類に対して影響が生じている可能性が示された。

3.3 Gnotobiotic 型マイクロコズムにおける影響評価

3種の微細藻類（生産者）、4種の微小動物（消費者）、4種の細菌類（分解者）から構成される Gnotobiotic 型マイクロコズムに Ni を添加して、機能パラメータとしての P/R 比の推移から生態リスク影響を評価したところ、Ni 添加 0.1mg/l では影響はみられなかったが、1.0mg/l では R が増大して P/R 比は < 1 となった。また、構造パラメータとしての生物個体数に着目すると、対照系に比べて個体数が増加している生物群（微細藻類）と減少している生物群（微小動物）に区分されることがわかった。以上より、Ni のマイクロコズム無影響濃度（m-NOEC）は、0.1～1.0mg/l と見積もられた。

3.3 生態リスク評価におけるマイクロコズムシステムの有効性

従来の単種生物試験と比較して複数種共存系であるマイクロコズム試験の利点は、生態系回復過程の評価が可能になるという点である。例えば、界面活性剤 LAS のように生態系内で分解され系が再生する過程を評価することができる。また、同一の評価対象物質での無影響濃度の精度（バラツキ）を比較すると、単種生物試験 > マイクロコズム試験となり、得られるリスクは同程度である場合、バラツキの小さいマイクロコズムでの高精度な生態リスク評価が重要となる。これらについては今後、文献調査等により、更なる情報収集を行い、精査する必要がある。また、本マイクロコズムを複数種共存系システムのスタンダードとして位置づけ、評価試験の規格を標準化することで、従来、湖沼や河川等の自然環境水を用いて実施されてきた評価試験に伴っていた未知の共存微量物質や生物種の差異による影響といった問題が排除される利点がある。

4. まとめ

- 1) 標準試験法としてのマイクロコズムは、完全種構成既知で、高い安定性と再現性を示す Gnotobiotic 型が適していることが示された。
- 2) Ni のマイクロコズム無影響濃度（m-NOEC）は、0.1～1.0 mg/l と見積もられた。
- 3) マイクロコズムの P/R 比に着目した機能パラメータからの生態リスク評価は有効な手段となることが示された。

追記：本研究は、環境省平成 21～23 年度環境研究総合推進費課題「(S2-09) マイクロコズムを用いた生態系リスク影響評価システム手法の開発」の一環として実施された。

参考文献：1) 村上和仁：マイクロコズムシステムによる P/R 比からみた金属類の生態リスク評価、環境情報科学論文集、24 巻、pp.399-404 (2010) 2) K.Kakazu, K.Murakami, K.Sugiura, R.Inamori, Y.Inamori : Development of Ecosystem Risk Impact Assessment System Methods using Microcosm Systems, *National Advanced Forum on Chinese Water Environmental Pollution Control and Ecological Restoration Techniques 2010* 3) Y.Kurihara : Biological analysis of the structure of microcosm with special reference to the relations among biotic and abiotic factors, *Science Report of Tohoku University*, Vol.26, No.4, pp.269-296 (1960).