

マイクロコズム試験による銀ナノ粒子の生態系影響解析

千葉工業大学 生命環境科学科 学員 ○畑本一気
千葉工業大学 生命環境科学科 正員 村上和仁

1. はじめに

近年、抗菌剤・殺菌剤として広く利用されるようになった銀ナノ粒子であるが、使用後に排水・河川水を通じて水圏生態系に及ぼす影響については情報がほとんど得られていない。本研究では、銀ナノ粒子が生態系に如何なる影響を及ぼすかについて、標準モデルエコシステムであるマイクロコズムの P/R 比の推移（機能パラメータ）および生物相の変遷（構造パラメータ）を用いて解析することを目的とした。

2. 方法

2.1 供試マイクロコズム

分解者として4種の細菌類 *Bacillus cereus*、*Pseudomonas putida*、*Acinetobacter* sp.、*Corynebacterium* sp.、生産者として2種の緑藻類 *Chlorella* sp.、*Scenedesmus* sp.、1種の糸状藻類 *Tolypothrix* sp.、捕食者として1種の原生動物繊毛虫類 *Cyclidium glaucoma*、2種の後生動物輪虫類 *Lecane* sp.、*Philodina erythrophthalma*、1種の後生動物貧毛類 *Aeolosoma hemprichi* の組み合わせからなる Gnotobiotic 型マイクロコズム（N-system）を用いた。なお、このマイクロコズムは高い安定性と再現性を有するモデル微生物生態系である。

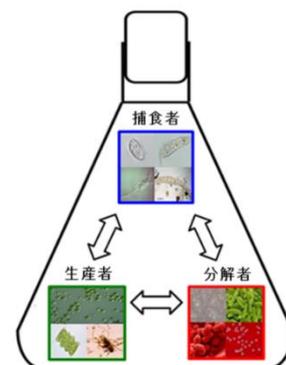


図1 マイクロコズム(イメージ)

2.2 培養方法及び測定項目

マイクロコズムの培養は、ポリペプトン濃度を $100\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ となるよう調整した TP 培地 200ml を 300ml 容三角フラスコに入れ、継代培養しているマイクロコズムを種として 10ml 接種した後、 25°C 、2,400lux（明 12hr/暗 12hr）、静置条件とした。マイクロコズム内の DO 変化を DO メーターにより継時的に連続測定し、P（生産量）、R（呼吸量）および P/R 比の推移（機能パラメータ）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からサンプリングしたプランクトンを、計数板および界線スライドガラスを用いて光学顕微鏡下で計数し、プランクトン個体数変遷（構造パラメータ）を観察した。

2.3 金属添加

銀ナノ粒子(AgNP、日本イオン株式会社製ナノシルバー分散液)を添加して負荷を与えた。AgNP 添加量は、0.01、0.05、0.10、0.25、0.50、1.0、10mg/l と段階的に設定し、マイクロコズムが培養開始後 16 日目の安定期に添加した。

2.4 統計処理手法

機能パラメータにおいては、統計処理を用いて評価を決定した。得られた DO の変動を x 成分（回帰直線の傾き a）と y 成分（振幅の変動係数 cv）に分け、それぞれの数値が正規分布していると仮定した。平均値の $\pm 1\sigma$ 内に収まる確率は 68.26%であるため、a、cv それぞれの対照系値の $\pm 34.13\%$ に収まれば影響なしと評価した。

キーワード：マイクロコズム 銀ナノ粒子 m-NOEC 構造パラメータ 機能パラメータ

〒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:047-478-0455

3. 結果および考察

3.1 プランクトン個体数変遷(構造パラメータ)による評価

各濃度における個体数比(図2)より、添加濃度 0.10mg/l 以上において *Aeolosoma hemprichi* が、0.05mg/l 以上において *Cyclidium glaucoma* が死滅した。このことから構造パラメータによる評価からは添加濃度 0.05mg/l 以上において影響ありと評価した。

3.2 DO、P/R 比(機能パラメータ)による評価

P/R 比は、添加濃度が高くなるにつれ活性が低下したが、全ての添加濃度において安定していた。これは、植物プランクトン、動物プランクトン共に増殖したためと考えられる。

マイクロコズム内の DO 変化と正規分布を図3に示した。また、各添加濃度における傾きおよび変動係数を表1に示した。傾き a において、対照系値の±34.13%は $0.0016 \leq a \leq 0.0034$ であるため、添加濃度 0.05mg/l 以上において影響ありと評価した。変動係数 cv において、対照系値の±34.13%は $0.11 \leq cv \leq 0.22$ であるため、全ての添加濃度において影響ありと評価した。以上より、機能パラメータによる評価からは添加濃度 0.05mg/l 以上において影響ありと評価した。

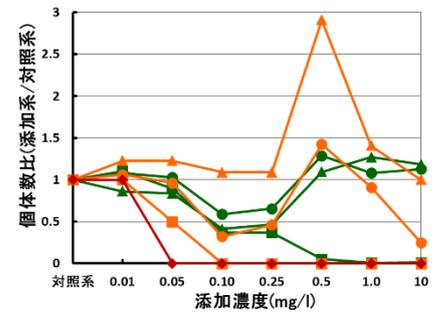


図2 個体数比 N₃₀

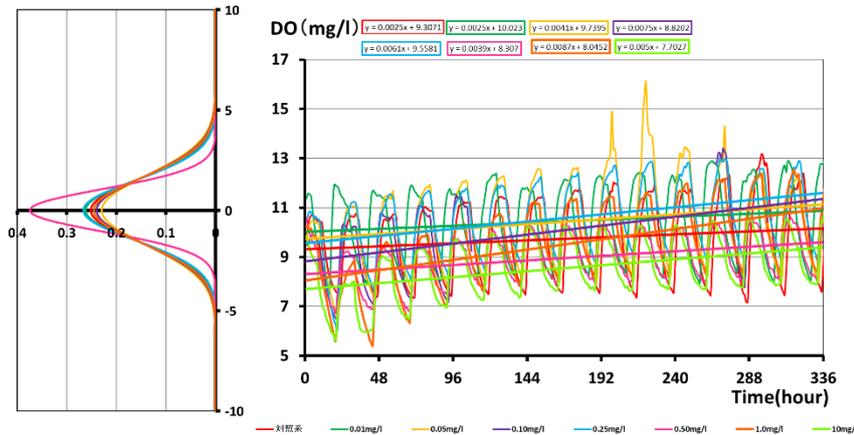


図3 マイクロコズム内の DO 変化と正規分布

表1 各添加濃度における傾きおよび変動係数

	傾きa	変動係数cv
対照系	0.0025	0.16
0.01mg/l	0.0025	0.15
0.05mg/l	0.0041	0.17
0.10mg/l	0.0075	0.17
0.25mg/l	0.0061	0.14
0.50mg/l	0.0039	0.12
1.00mg/l	0.0087	0.17
10.0mg/l	0.0050	0.14

3.3 マイクロコズムの外観

マイクロコズムの外観は非添加系(対照系)の緑色から、AgNP 添加濃度の増加に伴い濃灰色に変化した。添加した銀ナノ粒子はマイクロコズム培地中の Cl⁻ と反応して AgCl となり白色沈殿を生じる。さらに AgCl は光分解により微粒子 Ag となり、微粒子 Ag は光を吸収するため黒くみえる。このことから、AgNP 添加系は添加濃度の増加に伴い濃灰色に変化したと考えられる。

3.4 生態系リスク影響評価

構造・機能パラメータからの評価より、マイクロコズム内の最大無影響濃度 (m-NOEC) は 0.01mg/l 以上 0.05mg/l 未満の範囲にあると評価された。

4.まとめ

- 1) 構造パラメータにおいては、添加濃度 0.05mg/l 以上において死滅がみられたため、添加濃度 0.05mg/l 以上において影響ありと評価された。
- 2) 機能パラメータにおいては、添加濃度が高くなるにつれ系の活性が低下し、生産・呼吸量は安定していた。統計処理の結果、添加濃度 0.05mg/l 以上において影響ありと評価した。
- 3) 構造・機能パラメータより、銀ナノ粒子の最大無影響濃度 (m-NOEC) は 0.01mg/l 以上 0.05mg/l 未満の範囲にあると評価された。
- 4) 今後、より詳しい m-NOEC を決定すること、および、銀イオン添加との比較検討を行う必要がある。