

マイクロコズム試験による銀イオンの生態系影響解析

千葉工業大学 生命環境科学科 学員 ○清水達也

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イオンであるが、日本では規制されておらず、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、銀イオン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を用いて 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）から解析を行い、基礎的知見を得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種の優占細菌類 *Bacillus cereus*、*Pseudomonas putida*、*Acinetobacter* sp.、*coryneform bacteria*、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（N-system）は高い安定性と再現性を有することを特徴とするモデル微生物生態系である。

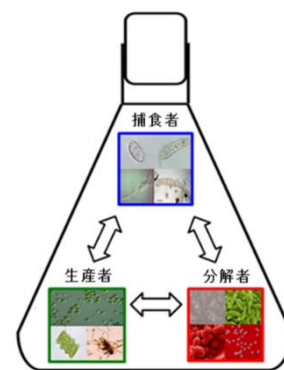


図1 マイクロコズム（イメージ）

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 100mg/l 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℃、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（機能パラメータ）を DO メーターにより継続的に連続測定し、P（生産量）、R（呼吸量）および P/R 比について枝分かれ型分散分析により検定を行った。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 添加金属

銀イオン (Ag^+ 、日本イオン株式会社製銀イオン濃縮液) を添加して負荷を与えた。 Ag^+ 添加量は、0.001、0.005、0.01、0.05、0.10、1.0、10mg/l と段階的に設定し、マイクロコズム培養開始後 16 日目の安定期に添加した。なお、先行研究において銀ナノ粒子 (AgNP 、日本イオン株式会社製ナノシルバー分散液) を添加し負荷を与えた場合の検討がなされており、本研究の比較対象とした。

2.4 評価手法

マイクロコズム試験では、試験に供する各マイクロコズムのフラスコ間差を、定数ではなく確率的に変動する量、すなわち確率変数と想定された枝分かれ型分散分析を用いて、P、R の統計解析を行うこととしている。機能・構造パラメータの経時変化において、影響を及ぼさなかった濃度のうち最も高い濃度を最大無影響濃度（m-NOEC）とした。

キーワード：マイクロコズム 銀イオン 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および図3)より、添加濃度 0.10mg/l 以上において *Aeolosoma hemprichi* が、10mg/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 0.10mg/l 以上において影響ありと評価された。

3.2 枝分かれ型分散分析(機能パラメータ)による評価

P、R、P/R 比(機能パラメータ)について枝分かれ型分散分析にて検定したところ、0.01mg/l において影響なし、0.05mg/l 以上において影響ありと評価された。

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、 Ag^+ 添加濃度の増加に伴い濃灰色に変化した。添加した銀イオン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見える。このことから、 Ag^+ 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た。

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、銀イオンの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。

3.4 銀ナノ粒子との比較

先行研究より銀ナノ粒子の m-NOEC は 0.02mg/l と評価されている。これと比較して銀イオンは 0.01mg/l 以上 0.05mg/l 未満であり、両者は同程度であると考えられた。個体数の変遷において、銀イオン、銀ナノ粒子ともに 0.10mg/l 添加系で *Aeolosoma hemprichi* の死滅がみられた。P/R 比において、添加濃度が高くなるにつれていずれも活性の低下がみられた。

4. まとめ

- 1) 構造パラメータにおいては、添加濃度 0.10mg/l 以上において *Aeolosoma hemprichi* の死滅がみられたため、添加濃度 0.10mg/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、呼吸、消費、P/R 比の枝分かれ型分散分析を行ったところ、0.01mg/l 以下で影響なし、0.05mg/l 以上で影響ありと評価された。
- 3) 構造・機能パラメータより、銀イオンの最大無影響濃度(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) 銀イオンの生態系への影響は、銀ナノ粒子と同程度であると評価された。

参考文献

- 1) 村上和仁ら：AgNP 負荷を与えた微生物混合培養系における構成・構造・機能からの影響解析 水処理生物学会第 55 回(郡山)大会(2018)
- 2) 畑本一気ら：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 第 45 回土木学会関東支部技術研究発表会(2018)

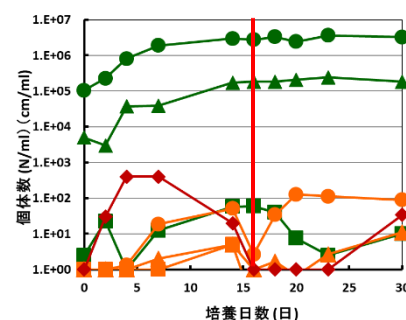


図2 0.10mg/l 添加系における個体数の遷移

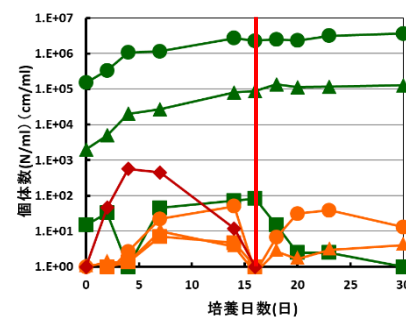


図3 10mg/l 添加系における個体数の遷移

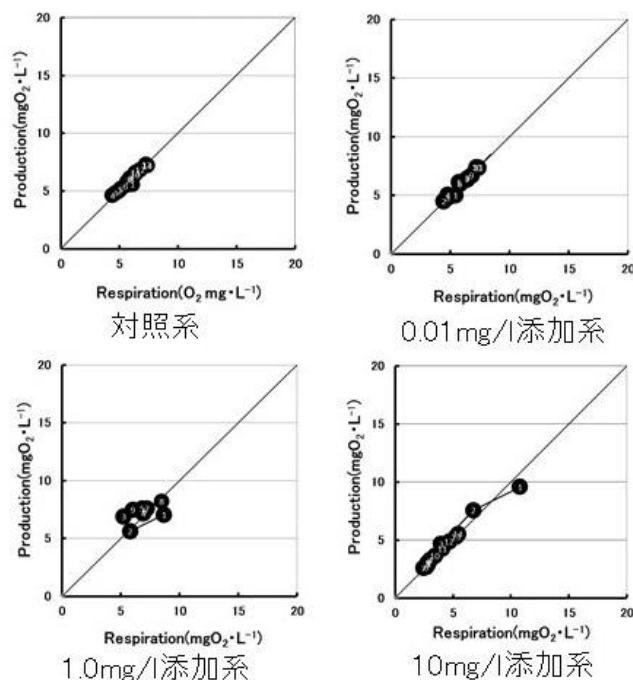


図4 銀イオン添加系における P/R(生産/呼吸)比