

マイクロコズム微生物相および生態系機能に及ぼす銀ナノ粒子の影響解析

○清水達也、村上和仁（千葉工業大学）、類家 翔（NPO 法人バイオエコ技術研究所）

金属は水圏生態系において深刻な毒性を示すことが知られているが、その生態リスクについて十分な知見が得られていない。特に近年、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については、排水・河川水を通じて水圏生態系に及ぼす影響について情報がほとんど得られていない。本研究では、銀ナノ粒子がマイクロコズム微生物相および生態系機能に及ぼす影響について解析することを目的とした。また、銀ナノ粒子の比較対象に銀イオンを用いた。

マイクロコズムの微生物相の変化（構造パラメータ）および DO の変化（機能パラメータ）から影響解析を行い、マイクロコズム最大無影響濃度（m-NOEC）を算出して、自然生態系を保護することが可能な濃度を評価した。

構造パラメータについて、銀ナノ粒子添加系で 0.05mg/L 以上において *Cyclidium glaucoma* の死滅、0.1mg/L 以上において *Aeolosoma hemprich* の死滅がみられた。銀イオン添加系で 10mg/L 以上において *Cyclidium glaucoma* の死滅、0.1mg/L 以上において *Aeolosoma hemprich* の死滅がみられた。銀ナノ粒子添加系では、銀イオン添加系と比較して、より低濃度で *Cyclidium glaucoma* の死滅がみられ、銀ナノ粒子は生態系の下位捕食者に強く影響を及ぼすと考えられた。銀ナノ粒子、銀イオンのいずれも添加濃度 0.1mg/L で上位捕食者である *Aeolosoma hemprich* の死滅がみられたが、銀ナノ粒子添加系では 23 日目まで生存が確認され、それ以降に死滅がみられたことから *Aeolosoma hemprich* が *Cyclidium glaucoma* を捕食することにより生物濃縮が起きている可能性が示唆された。

機能パラメータについて、生産、消費および P/R 比の枝分かれ型分散分析による検定の結果、銀ナノ粒子添加系で 0.03mg/L 以上で影響あり、銀イオン添加系で 0.02mg/L 以上で影響ありと評価された。銀ナノ粒子 10mg/L 添加系および銀イオン 1, 10mg/L 添加系において、添加直後から DO の振幅の減少がみられた。これは銀添加によるマイクロコズム生態系の活性低下によるものであり、P/R 比 = 1 で安定したことから生産者（植物プランクトン）・消費者（動物プランクトン）のいずれも活性が低下したためと考えられた。

銀ナノ粒子添加系のマイクロコズム最大無影響濃度（m-NOEC）は 0.02mg/L、銀イオン添加系の m-NOEC は 0.01mg/L と評価された。m-NOEC を安全係数 200 で除すると、それぞれ 0.10 μ g/L、0.05 μ g/L となり、これらの濃度まで実際の生態系を保護可能と評価された。なお、環境省より淡水中の銀の公共用水域濃度は最大 0.12 μ g/L 程度、平均 0.004 μ g/L 程度とされており、マイクロコズム試験の結果との整合性については解析・検討が必要である。

マイクロコズム微生物相および生態系機能に及ぼす銀ナノ粒子の影響解析

○清水達也、村上和仁（千葉工業大学）、類家 翔（NPO法人バイオエコ技術研究所）



背景・目的

金属は水圏生態系において深刻な毒性を示すことが知られているが、その生態リスクについて十分な知見が得られていない。特に近年、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については、排水・河川水を通じて水圏生態系に及ぼす影響について情報がほとんど得られていない。本研究では、**銀ナノ粒子**がマイクロコズム微生物相および生態系機能に及ぼす影響について**マイクロコズム試験**を用いて解析することを目的とした。また、銀ナノ粒子の比較対象に銀イオンを用いた。

実験・評価方法

・TP培地 (Taub+Peptone) 200mL
 ・マイクロコズムの種 10mL
 ・温度25°C
 ・照度2400Lux (明暗周期12hr)
 ・30日間静置培養

構造パラメータ：個体数の変遷
 機能パラメータ：DOの測定
 P/R比の算出
 枝分かれ型分散分析

構造・機能パラメータから、マイクロコズム無影響濃度 (m-NOEC)、水圏生態系を保護可能な予測無毒性濃度 (NOAEC) を評価

マイクロコズム

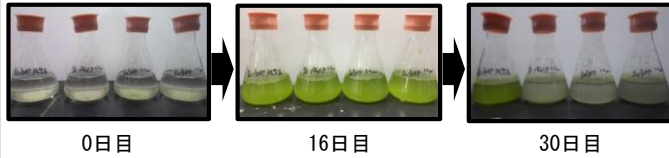
- ・制御された環境下で個体群または群集を容器内で培養した系
- ・生産者、捕食者、分解者から構成され安定した生態系を構築
- ・生物間相互作用を考慮できる
- ・実験操作が可能であり再現性が高く、影響評価の手法として適している

供試金属

- 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
 - ・平均粒子径：10nm
- 銀イオン (Ag⁺)**
- ・日本イオン株式会社製銀イオン濃縮液

外観の変化

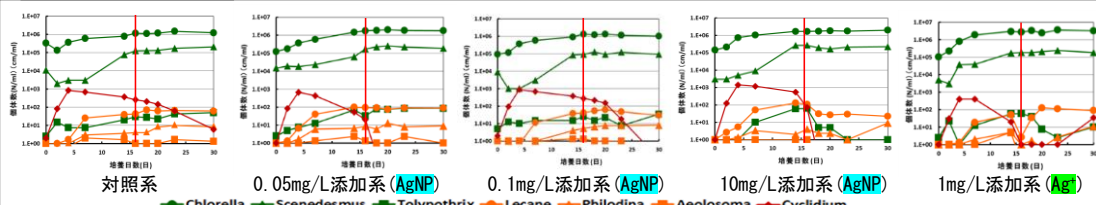
左から対照系、銀ナノ粒子0.5、1、10mg/L添加系



対照系 . . . 緑色 → 緑色
 添加系 . . . 緑色 → 灰色

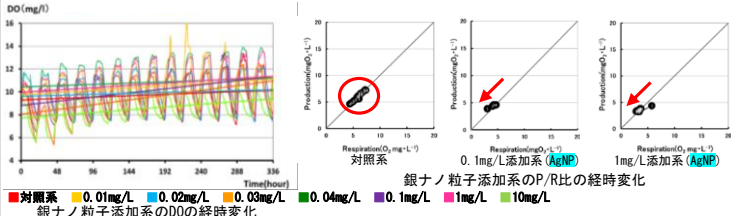
- ・AgがCl⁻と反応し、AgCl (白色沈殿) ができ、添加直後のマイクロコズムの外観は白濁した。
- ・AgClが光分解し、微粒子銀 (黒色) となることで、外観は濃灰色へ変化したものと考えられる。
- ・銀イオン添加系において、同様の傾向がみられた

構造パラメータ



- ・銀ナノ粒子添加系で0.05mg/L以上において *Cyclidium glaucoma* ● の死滅、0.1mg/L以上において *Aeolosoma hemprichii* ■ の死滅がみられた。
- ・銀イオン添加系で10mg/L以上において *Cyclidium glaucoma* ● の死滅、0.1mg/L以上において *Aeolosoma hemprichii* ■ の死滅がみられた。
- ・銀ナノ粒子添加系では、銀イオン添加系と比較して、より低濃度で *Cyclidium glaucoma* の死滅がみられ、銀ナノ粒子は生態系の下位捕食者に強く影響を及ぼすと考えられた。
- ・銀ナノ粒子添加系では23日目まで *Aeolosoma hemprichii* の生存が確認され、それ以降に死滅したことから *Cyclidium glaucoma* を捕食することにより生物濃縮が起きている可能性が示唆された。

機能パラメータ



- ・DOの振幅減少はプランクトンの活性が減少したと考えられる
- ・P/R比が1付近で安定したことは、植物・動物プランクトンの活性が共に減少し、消費・生産に影響を与えたと考えられる
- ・DOの振幅減少、P/R比の安定はAg⁺添加系において同様の傾向がみられた
- ・生産・消費・P/R比の枝分かれ型分散分析による検定の結果、AgNP添加系で0.03mg/L以上で影響あり、Ag⁺添加系で0.02mg/L以上で影響ありと評価した。

まとめ

銀ナノ粒子・銀イオンのマイクロコズム試験による結果

	機能パラメータ (DO) LOEC	構造パラメータ (個体数) LOEC	m-NOEC	m-NOEC 200
AgNP	0.03mg/l	0.05mg/l	0.02mg/l	0.10 μg/l
Ag ⁺	0.02mg/l	0.10mg/l	0.01mg/l	0.05 μg/l

m-NOEC : AgNP添加系 0.02mg/L, Ag⁺添加系 0.01mg/L
 NOAEC : AgNP添加系 0.10 μg/L, Ag⁺添加系 0.05 μg/L
 となり、これらの濃度まで実際の生態系を保護可能と評価した。
 なお、環境省より淡水中の銀の公共用水域濃度は最大0.12 μg/L程度、平均0.004 μg/L程度とされており、マイクロコズム試験の結果との整合性については解析・検討が必要である。