

平成21年6月1日現在

研究種目：若手研究(B)
 研究期間：2006～2008
 課題番号：18750069
 研究課題名(和文) 生物結合モデルに基づく土壤環境中の重金属の植物に対する有害性予測
 研究課題名(英文) Prediction of ecotoxicity of heavy metals on terrestrial plants based on the biotic ligand model (BLM)
 研究代表者
 庄司 良 (SHOJI RYO)
 東京工業高等専門学校・物質工学科・准教授
 研究者番号：30332000

研究成果の概要：生物結合モデルという有害重金属の水生生物に対する影響を予測するモデルを陸生生物に発展させた TBLM(Terrestrial Biotic Ligand Model)を開発し、日本の土壤への適用可能性を検討した。その結果、高い濃度のカルシウムが共存する環境でも、重金属の有害性を予測できる見通しを得た。加えて、複数の重金属の複合汚染に対しての適用可能性を検討し、複数の重金属に対応できるモデルを開発した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	2,300,000	0	2,300,000
2007年度	700,000	0	700,000
2008年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	180,000	3,780,000

研究分野：化学

科研費の分科・細目：複合化学・分析化学

キーワード：重金属、土壤汚染、水環境汚染、生態毒性、複合暴露、スペシエーション

1. 研究開始当初の背景

重金属の有害性は生物に取り込まれ得る形態となっている重金属の濃度に依存するため、フミン質などの有機物や共存する他の金属イオンとの相互作用によって、土壤中の有害重金属の有害性は変化する¹⁾。従って、土壤中の有害重金属の存在量では陸生生態系に対する有害性を見積もることが困難であり、生物に取り込まれる可能性のある重金属、言い換えるとそれら共存物質またはイオンと結合していない自由イオンの形態をとっている重金属の存在割合を予測する必要

がある。最終的には複数の重金属の複合汚染に対しての適用可能性を検討し、複合毒性モデルを組み合わせることで複数の重金属に対応できるモデルを開発する。

2. 研究の目的

生物結合モデルという有害重金属の水生生物に対する影響を予測するモデルを陸生生物に発展させた TBLM(Terrestrial Biotic Ligand Model)を開発し、日本の土壤への適用可能性を検討する。

3. 研究の方法

自由イオンとして存在する重金属が生物に対して接触し毒性発現する場合、生物体表面のリガンドに結合する経路に着目し、重金属イオン(Me^{2+})とリガンド(L^2)との結合反応をベースとした生物結合モデルを用いて陸生植物に対する毒性発現を説明することを試みた。

火山灰由来土壌や高カルシウム土壌に加えて、依然として重金属汚染レベルが高い一部地域の土壌などを採取後、乾燥・破碎・篩い分けなどの前処理を施し、土壌分析を行った。分析項目としては含有重金属量、有機物量、水分保持容量、土壌pHである。本研究で評価の対象とする銅、ニッケル、亜鉛について一定量濃度をふりながら添加し、酸性度を調整する。OECDテストガイドライン208に従って陸生植物生長阻害試験を各土壌試料に対して実施した。陸生植物としては冬麦を用い、加えて水圏生物による毒性試験も行った。試験後の植物試料並びに土壌試料について残存重金属量を測定すると共に、土壌溶液を抽出して、対象重金属の活量とpHの測定を行った。重金属の分析にはICP-AESを用い、重金属の活量の測定にイオンpHメータを使用した。

更に重金属形態を共存物質の濃度とpHから予測できる強力なソフトMINEQL+とWHAMを利用して有害性を発現する形態をとる重金属の割合を計算し、pHを変化させた場合の重金属の活量変化を計算によって求め、実験値と比較することで、重金属と生物のリガンドとの結合定数を最適化した。

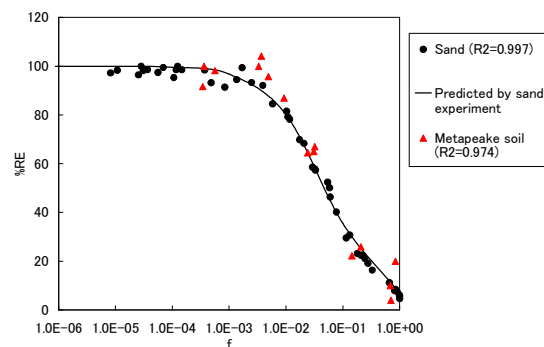
また、2-3種類の重金属を同時に濃度変化させて添加し、陸生植物生長阻害試験並びに重金属の形態別分析、重金属含有量の測定を行い、開発した生物結合モデルを適用することで複合汚染の場における適用可能性を検証した。用量作用曲線の検討に際しては、ロジスティック式を用いて有害性評価結果を回帰して、相関係数と最小2乗誤差を指標として、結合定数などの最適化を行った。結合定数の最適化計算に際しては、pHやカルシウムイオンなどが一定の条件における実験結果ではないことから、重回帰分析を適宜実施して、すべての実測値のうち一部を取り除いて最適化した後、取り除いた実測値を予測するいわゆるLeave-some-out法に基づくCross-Validationを実施することで、予測結果の妥当性を検証した。

4. 研究成果

(1) Terrestrial Biotic Ligand Model

Terrestrial Biotic Ligand Model (TBLM) は水環境中の金属の生物への取り込みを予測する化学モデルである Biotic Ligand Model (BLM) を陸生生物への取り込み予測に発展応用したモデルであるため、その基本となる骨格はBLMと同じである。各種生物には栄養分として必要とする様々な陽イオン、例えばカルシウムイオン(Ca^{2+})やマグネシウムイオン(Mg^{2+})などを取り込むためのチャンネルが存在するが、その取り込み経路を Biotic Ligand (BL) と総称し、その BL と評価対象とする金属イオン(M^+ , M^{2+} , ...) との結合反応の平衡定数を誘導して利用するのが、このモデルの原理である。従来、環境汚染物質の有害性評価の指標としては濃度が用いられていたが、本研究で検討したモデルでは濃度の代わりにどれ位の割合の BL に結合しているかを示す指標である f を用いた。重金属 Fig. 1 に f で整理した用量作用曲線を示した。なお、図中の曲線は銅をスパイクした砂におけるムギの根成長率のデータで回帰して得られた曲線であり、この曲線に対して砂と土壌それぞれのプロットとの相関係数を図のタイトルに示してある。

Fig. 1 Dose-Response relationships for barley root elongation (% of control) and



Cu based on the TBLM. ● Sand ($R^2=0.997$); ▲ Metapeake soil ($R^2=0.974$) (Revised from Shoji et al.)

曲線とプロットはかなり良く一致し、相関係数も高い値を示した。つまりバイオアベイラビリティの予測に成功した。銅の総濃度、自由イオン活量、フラクション(f)で導いた EC_{50} の予測値と実測値の比較を Fig. 2 に示す。

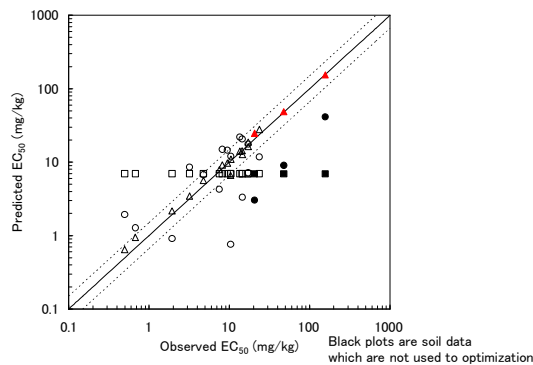


Fig. 2 Comparison of the EC_{50} (mg/kg) predicted by TBLM and observed by fitting log-logistic model to individual soils. The solid line represents the 1:1 ratio and the dotted lines represent a factor 1.5 above and a factor of 1/1.5 below the 1:1 line. □ Total-Cu to sand ($R^2=0.503$); ○ FIAM to sand ($R^2=0.273$); △ TBLM to sand ($R^2=0.951$); ■ Total-Cu to soil ($R^2=0.964$); ● FIAM to sand ($R^2=0.998$); ▲ Total-Cu to sand ($R^2=1.000$) (Revised from Shoji et al)

従来の金属総濃度モデル (Total-Cu) や自由イオン活量モデル (FIAM) と比較して、TBLM では実測値と予測値の相関係数は極めて高く ($R^2 \geq 0.998$)、TBLM で予測したすべてのプロットは factor 1 以内に収まっている。

以上のように、金属のバイオアベイラビリティを自由イオン活量で整理することで考慮した上で、 f でカルシウムイオンや水素イオンと銅イオンとの BL に対する競争的な吸収を表現することで、様々な pH やカルシウムイオン濃度における土壌中の銅の有害性を予測することが TBLM によって可能になったということになる。一例として今回は土壌中の銅のムギに対する有害性予測を紹介したが、銅に限らず例えばニッケルでもこの TBLM はよく機能することも明らかになりつつある。

(2) まとめと今後の展望

以上のように、TBLM を用いることにより様々な pH や様々な陽イオンが共存する金属汚染土壌における生物への有害性予測の可能性が示された。現在、TBLM の概念を拡張し、例えば強い有害性を有する複数の金属の複合曝露系に対する適用可能性を追求する研究が盛んに実施されている。将来的には評価対象とする生物の BL に対する金属との結合反応の平衡定数をデータベース化すること

で実際に生物を用いた有害性試験を実施する必要がなくなる。

今後、BLM の適用可能性を種々追求することで、BLM は化学物質の生態毒性を予測する有力なモデルへと発展する可能性があると考えられる。数年前より、金属と生物の結合反応の平衡定数のデータベースの拡充のため、国際的な研究プロジェクトが複数動いており、数年先には生態毒性試験に用いられる主な生物に対する数十種類の重金属の有害性を土壌溶液の化学分析データで予測できるようになると考えられる。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 7 件)

- ① E. Mensah, M. Bonsu, S. N. Odai, R. Shoji, N. Kyei-Baffour, E. Ofori, Influence of Cadmium and Lead Concentration of Irrigation Water on Dry Matter Yield of Vegetables, Journal of Environmental Science and Technology, 2 (1), 68-72 (2009)、査読有
- ② R. Shoji, R. Yajima, Y. Yano, Arsenic speciation for the phytoremediation by the Chinese brake fern, *Pteris vittata*, Journal of Environmental Sciences, 20, 1463-1468 (2008)、査読有
- ③ S.N. Odai, E. Mensah, D. Sipitey, R. Shoji, E. Awuah, Heavy metals uptake by vegetables cultivated on urban waste dumpsites: Case study of Kumasi, Ghana, Research Journal of Environmental Toxicology, 2 (2), 92-99 (2008)、査読有
- ④ Ayumi Hatano, Ryo Shoji, Toxicity of Copper and Cadmium in Combinations to Duckweed Analyzed by the Biotic Ligand Model, Environmental Toxicology, 23 (3), 372-378 (2008)、査読有
- ⑤ Ryo Shoji, Effect of dissolved organic matter source on phytotoxicity to *Lemna aequinoctialis*, Aquatic Toxicology, 87 (3), 210-214 (2008)、査読有
- ⑥ Mensah E., Allen HE, Shoji R., Odai SN, Kyei-Baffour N., Ofori E., Mezler D., Cadmium (Cd) and Lead (Pb) concentrations effects on yields of some vegetables due to uptake from irrigation water in Ghana, International Journal of Agricultural Research, 3 (4), 243-251 (2008)、査読有

- 有
- ⑦ 庄司良、重金属のバイオアベイラビリティ予測のための生物結合モデル、環境毒性学会誌、9 (2)、149-156 (2007)、査読有

[学会発表] (計15件)

- ① 小林一輝、庄司良、6価クロムの毒性に対するほかの陰イオンの拮抗的影響、第11回化学工学会学生発表会郡山大会、2009年3月7日、日本大学工学部
- ② 田中優也、庄司良、吉沢英里子、Ebenezer Mensah、安全安心野菜とは？カドミウムの蓄積と移動、第14回高専シンポジウム、2009年1月24日、高知市文化プラザかるぼーと
- ③ 中西弘貴、庄司良、井籐賀操、榊原均、Biotic ligand model に基づくヒョウタンゴケに対する重金属のバイオアベイラビリティ、第14回バイオアッセイ研究会・日本環境毒性学会合同研究発表会、2008年8月28日、文部科学省研究交流センター
- ④ Ayumi Hatano, Ryo Shoji、Approach to the connection between toxic unit and biotic ligand model、SETAC Europe 18th Annual Meeting、2008年5月28日、ワルシャワ、ポーランド
- ⑤ 中西弘貴、中村泰美、庄司良、井籐賀操、榊原均、鉛のファイトレメディエーション適用に向けたヒョウタンゴケの鉛蓄積能力及び鉛耐性の評価。第10回化学工学学生発表会、2008年3月1日、桐生市民会館
- ⑥ 庄司良、田中優也、農薬ボルドー液の長期施用による銅の土壌中への蓄積とその植物毒性、第13回高専シンポジウム、2008年1月26日、久留米市石橋文化センター
- ⑦ Eriko Yoshizawa and Ryo Shoji、Verification of terrestrial biotic ligand model to copper and Lanthanum toxicity to barley、SETAC North America 28th Annual Meeting、2007年11月16日、ミルウォーキー、US
- ⑧ 吉沢英里子、庄司良、Terrestrial Biotic Ligand Model による野菜の重金属蓄積量予測、日本土壌肥料学会、2007年8月23日、東京農業大学
- ⑨ Y. Ueda, R. Shoji、S. Urata, S. Mohri, Y. Ono、Bioassay testing approach to predict toxicity and bioavailability of heavy metals in waste incineration

ashes、13th International Symposium on Toxicity Assessment、2007年8月20日、富山県民ホール

- ⑩ A. Hatano, R. Shoji、T Beppu、Estimation of combined metal effect on duckweed growth using the biotic ligand model (BLM)、13th International Symposium on Toxicity Assessment、2007年8月20日、富山県民ホール
- ⑪ Ryo Shoji、Hiroshi Iida、Shino Mohri、Yoshiro ONO、Integration of bioavailability and bioassay to evaluate ecotoxicity of waste and biomass ashes from the gasification test plant、SETAC Europe 17th Annual Meeting、2007年5月22日、ポルト、ポルトガル
- ⑫ E. Yoshizawa, R. Shoji、Verification of terrestrial biotic ligand model to copper accumulated in barley、13th Asian symposium on Ecotechnology、2006年12月2日、富山国際会議場
- ⑬ Urata, S., Shoji, R.、Mohri, S., Ono, Y.、Relationship among toxicological response, total metal concentration and free metal ion activity in the elute of municipal waste incineration ashes、SETAC North America 27th Annual Meeting、2006年11月、SETAC North America 27th Annual Meeting
- ⑭ 庄司良、谷川奈津希、Herbert E. Allen, Dominic D. DiToro、陸生植物を用いた土壌における有害重金属毒性予測モデルの日本への適用、第12回バイオアッセイ研究会・日本環境毒性学会合同研究発表会、2006年9月、北里大学薬学部
- ⑮ 吉沢英里子、飯田裕、庄司良、Mensah Ebenezer、ガーナにおけるキャベツとニンジンでのPb、Cd蓄積に関する研究、日本土壌肥料学会、2006年9月、秋田県立大学

6. 研究組織

(1) 研究代表者

庄司良 (SHOJI RYO)

東京工業高等専門学校・物質工学科・准教授

研究者番号：30332000