

劣化マイクロプラスチック由来吸着化学物質 の体内動態モデルの構築と影響評価

2020年8月21日

九州大学農学研究院

大嶋雄治

目的

現在、世界中の水環境や水生生物からマイクロプラスチック粒子 (5 mm以下; MP) が検出されその影響が危惧される。

加えてMPに吸着した有害化学物質の蓄積を介在するベクター効果が懸念され、その生態影響の解明が急がれる。

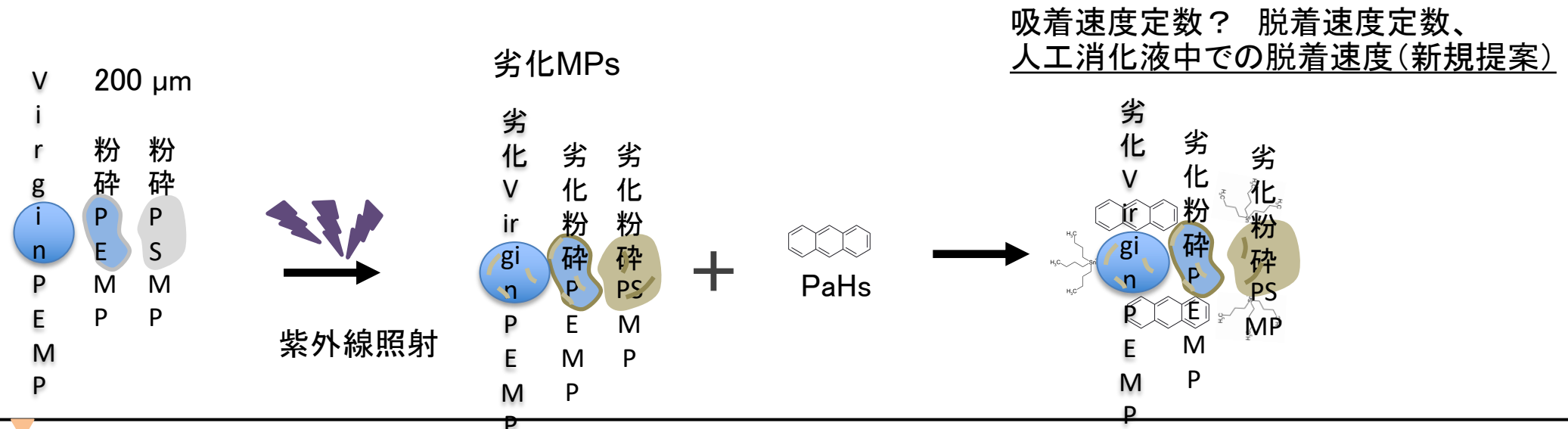
現在行われている研究の殆どはVirgin MPであり、劣化 MPでは化学物質の吸着特性と生物への蓄積と影響は大きく異なる可能性が高い。

本研究では、劣化MP吸着化学物質の体内動態モデルの構築と影響評価を目的とする。

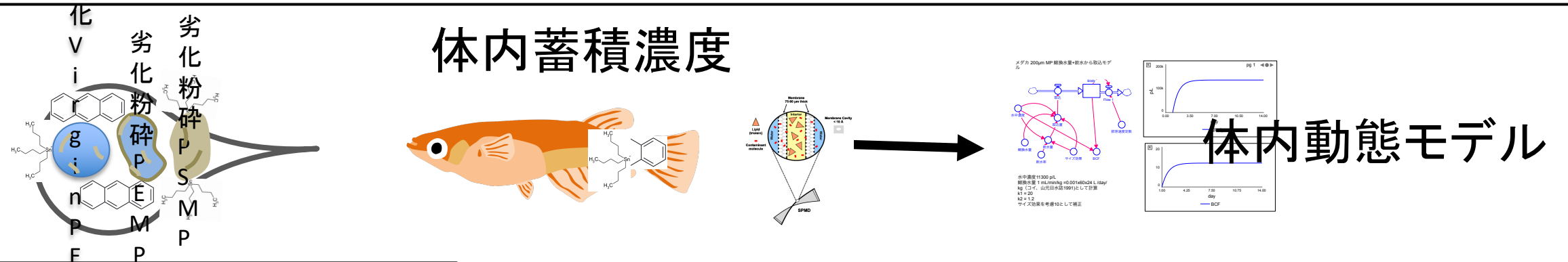
方法

1. 劣化粉砕ポリエチレン (PE)、劣化粉砕ポリスチレン (PS) MP の作成 (紫外線照射)

2. 化学物質 (PaHs および TBT) の劣化 MPs への吸着及び脱着速度試験

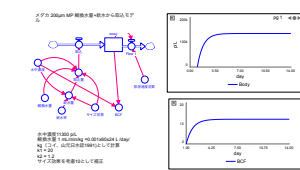


3. 吸着化学物質の劣化 MP を介した体内蓄積濃度をメダカとSPMDで構築・モデル化



4. モデルを用いて影響を評価

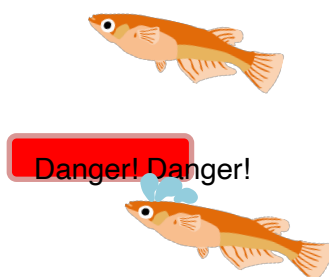
環境中MPsと化学物質の濃度を入力



モデルによる体内濃度予測

影響評価

No problem!



リスク評価

mRNA-seq

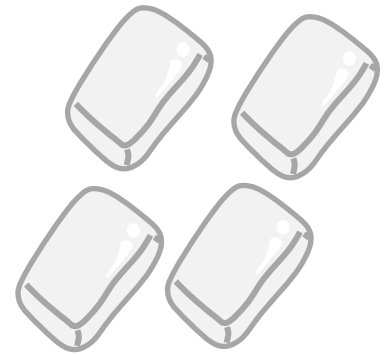
毒性機構解明

5. 網羅的遺伝子発現解析 (mRNA-seq) により毒性機構を解明

<https://www.cerc.usgs.gov/pubs/center/pdfDocs/SPMD.pdf>

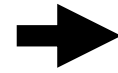
研究結果

約200 μm粒状ポリエチレン(PE)、粉碎PE, PSのマイクロプラスチックを作製し、実環境中の1.5および5年に相当する紫外線を照射して劣化させた粒状及び粉碎PEを作製した結果、PEの劣化度は低かったが、PSは劣化が確認された。

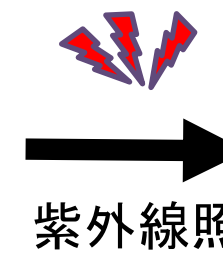
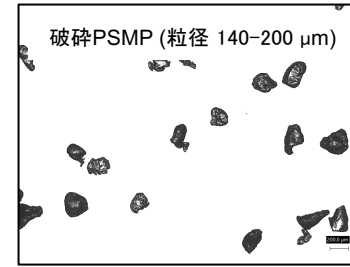
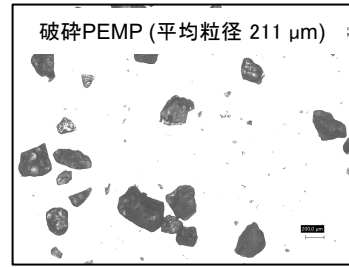


PE、PS ペレット

破碎



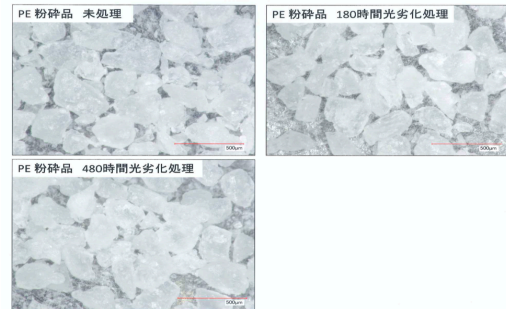
ふるい分け



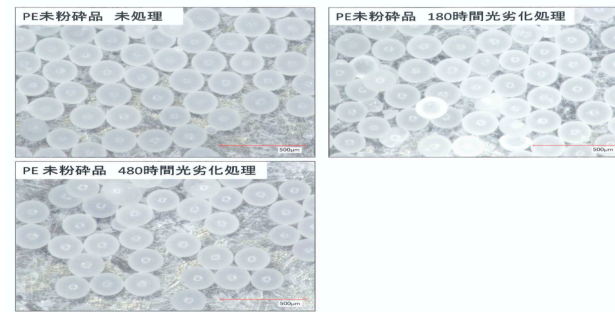
紫外線照射

劣化MPの作製

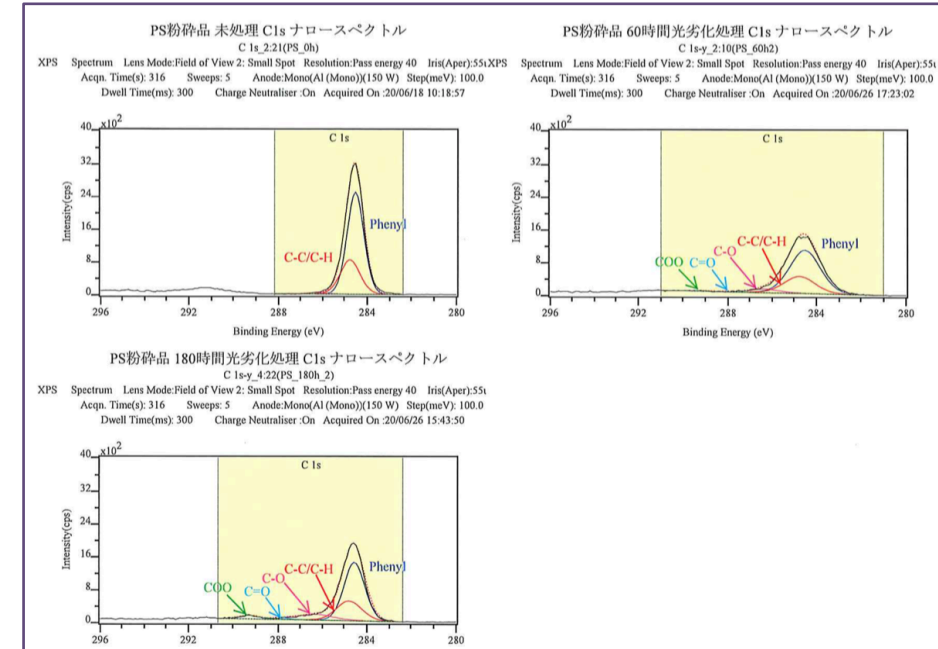
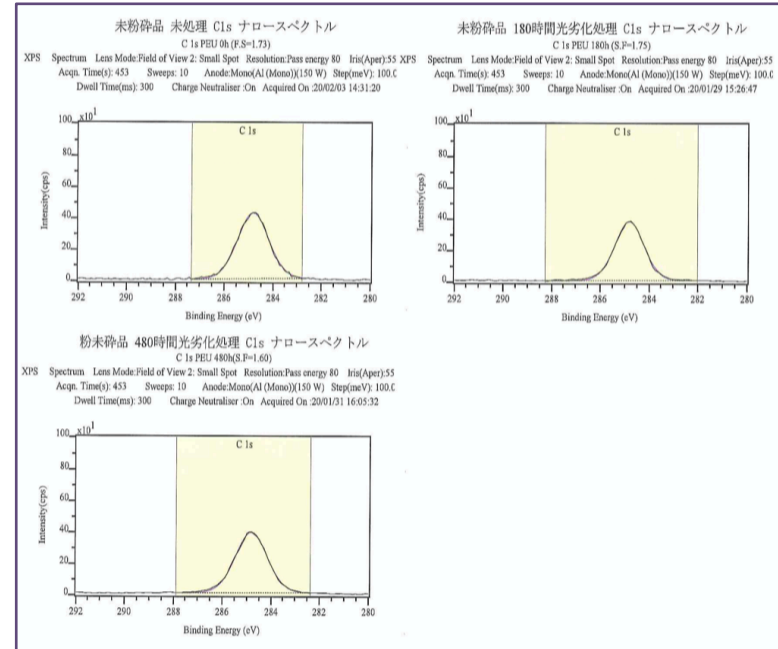
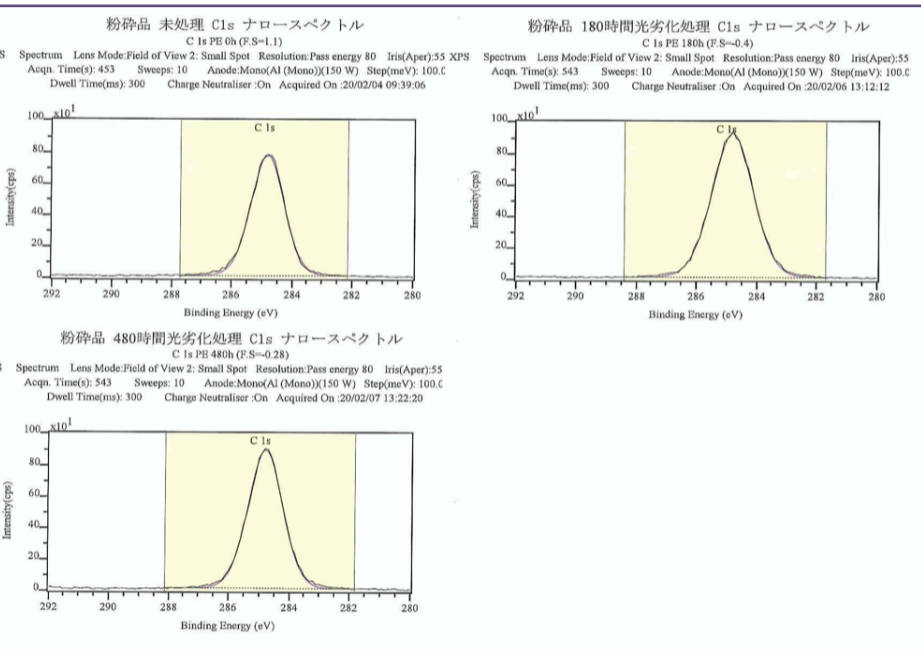
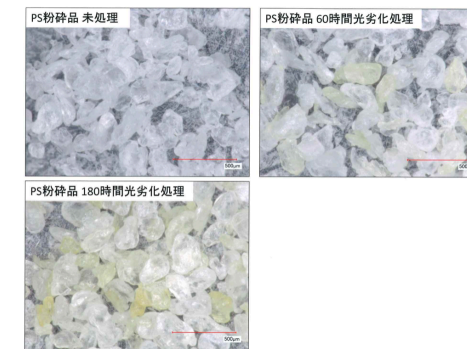
粉碎劣化PE紫外線照射
(1.5年、5年分)



粒状劣化PE紫外線照射
(1.5年、5年分)



粉碎劣化PS紫外線照射
(0.5年、1.5年分)



劣化粒状PEにアントラセンを吸着させ、脱着/吸着速度を測定した結果、劣化粒状PEは劣化による吸着能は若干変化した、水には脱着しなかった。

表 劣化粒状PEMPにおける吸着係数(Kd)および脱着係数(Kdes)

吸着剤	Kd (cm ³ /g)	Kdes (cm ³ /g)
MP未劣化	1111	<2072
MP劣化1	1349	<3011
MP劣化2	1328	<2636

参考試験法

OECD Guidelines for Testing of Chemicals, No .106, January 21, 2000, "Adsorption-Desorption Using a Batch Equilibrium Method"

試験条件

試験濃度 20.0 µg/L

試験温度 25±1°C

試験水 劣化マイクロプラスチック:人工海水

土壌:0.01 mol/L塩化カルシウム溶液(OECD TG 106推奨)

試験容器 劣化マイクロプラスチック:10 mL容共栓付ガラス製遠心管

土壌:37 mL容共栓付ガラス製遠心管

吸着剤/溶液比 1/100(g/mL)

振とう条件 回転振とう(回転数:20回/分)

振とう時間 吸着速度試験:2、4、6、8、24及び48時間

脱着速度試験:2、4、6、8、24、48及び72時間

試験連数 試験試料:2(各試験時間において)

対照区及び吸着剤ブランク:2(振とう時間:48時間)

光条件 遮光条件下(試験容器をアルミホイルで覆った。)

化学物質分析 高速液体クロマトグラフィー(HPLC)による分析

劣化粒状PEとアントラセンをメダカに共暴露して、その体内動態を調べた。その結果劣化度によるメダカ体内濃度の差はなかった。

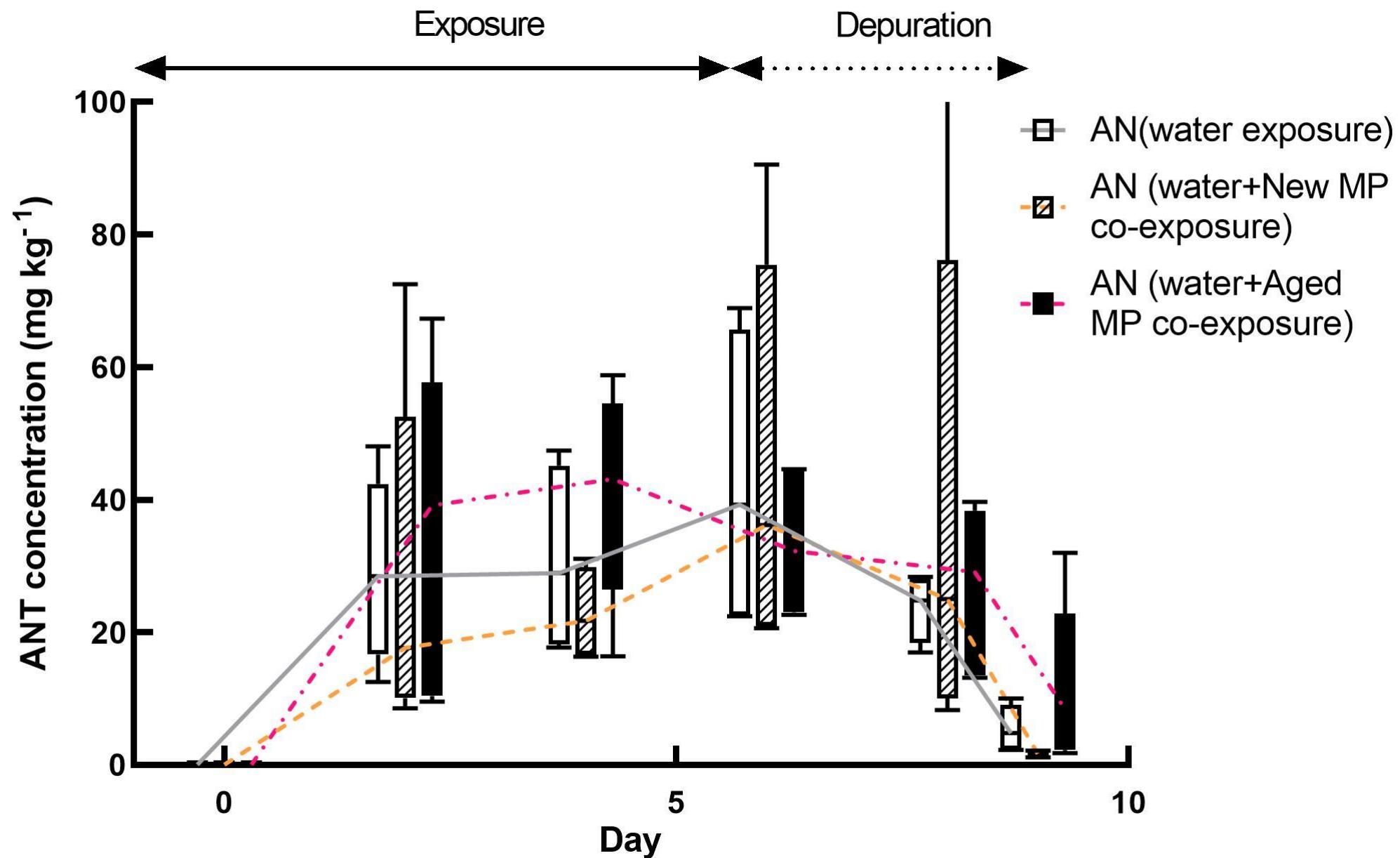
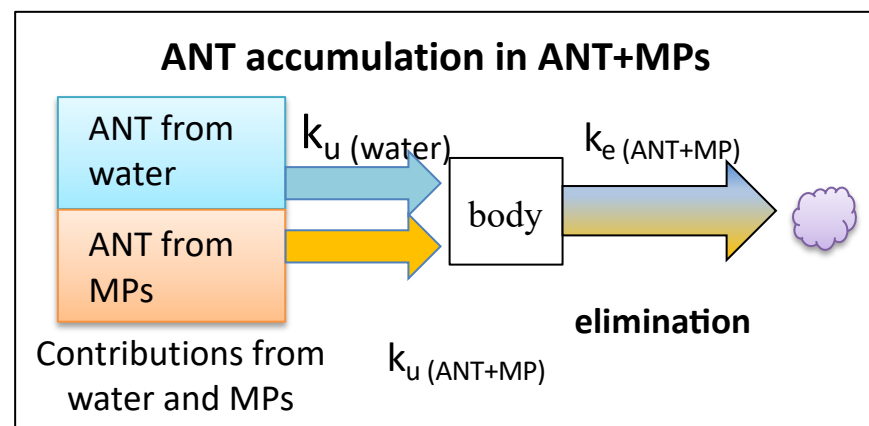
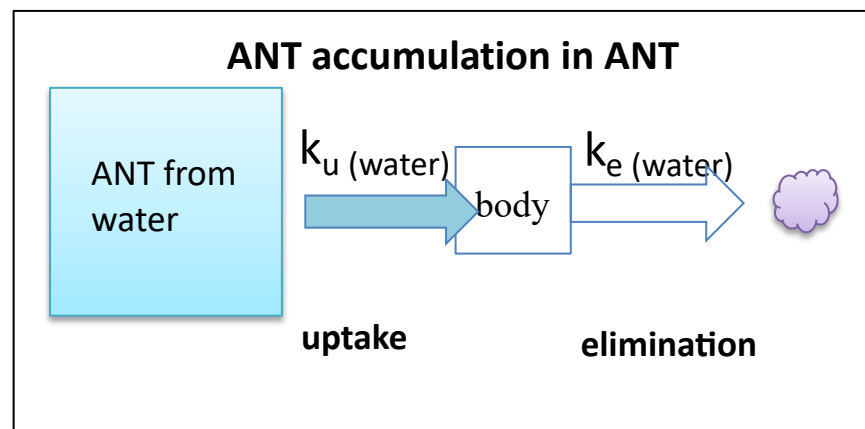


図 アントラセン(0.1 mg/L)、アントラセン(0.1 mg/L) + 未劣化MP(180-212 μ m PE-MP; 41.9 mg/L; 1×10^4 個/L)、アントラセン + 劣化MPに暴露したメダカ体内のアントラセン濃度

劣化粒状PEとアントラセンをメダカに共暴露し吸収および排泄を調べたが、大きな差はなかった。

表 アントラセン(0.1 mg/L)、アントラセン(0.1 mg/L) + 未劣化MP(180–212 μ m PE-MP; 41.9 mg/L; 1 × 10⁴個/L)、アントラセン+劣化MPに暴露したメダカにおけるアントラセンのBCF、排泄速度係数、吸収速度係数

	アントラセン	アントラセン+未劣化MP	アントラセン+劣化MP
BCF	574	807	676
吸収速度係数 (k _u , L/kg/day)	816	1476	926
排泄速度係数(k _e , /day)	1.49	1.83	1.37



Bioconcentration factor (BCF) was calculated using following formula (1).

$$BCF = \frac{C_f}{C_w} \quad (1)$$

Where C_f and C_w are the ANT concentration in the fish (mg kg^{-1}) and water (mg L^{-1}) samples collected on the 14th d.

The uptake rate constant (k_u ; $\text{L kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$) and depuration rate constant (k_e ; day^{-1}) of ANT and MPs can be calculated based on the following formula (2):

$$BCF = \frac{k_u}{k_e} \quad (2)$$

Where the k_e can be estimated graphically, i.e., the natural logarithm transformed concentration of ANT was plotted versus the depuration time, and the slope was defined as k_e . Thus, the uptake rate constant can be calculated as $k_u = BCF * k_e$.

Using one compartment with first-order elimination model, concentration of ANT in body (C_t) was estimated as the following formula:

$$\frac{dC}{dt} = k_u C_0 - k_e C_f \quad (3)$$

Where the C_0 and C_f is the concentration of ANT in water (mg L^{-1}) and in fish (mg kg^{-1}), respectively. The concentration in fish at any time (t) can be predicted based on the following formula:

$$C_t = C_f \left(\frac{k_u}{k_e} \right) (1 - e^{-k_e t}) \quad (4)$$

PE-MPのベクター効果が推定された

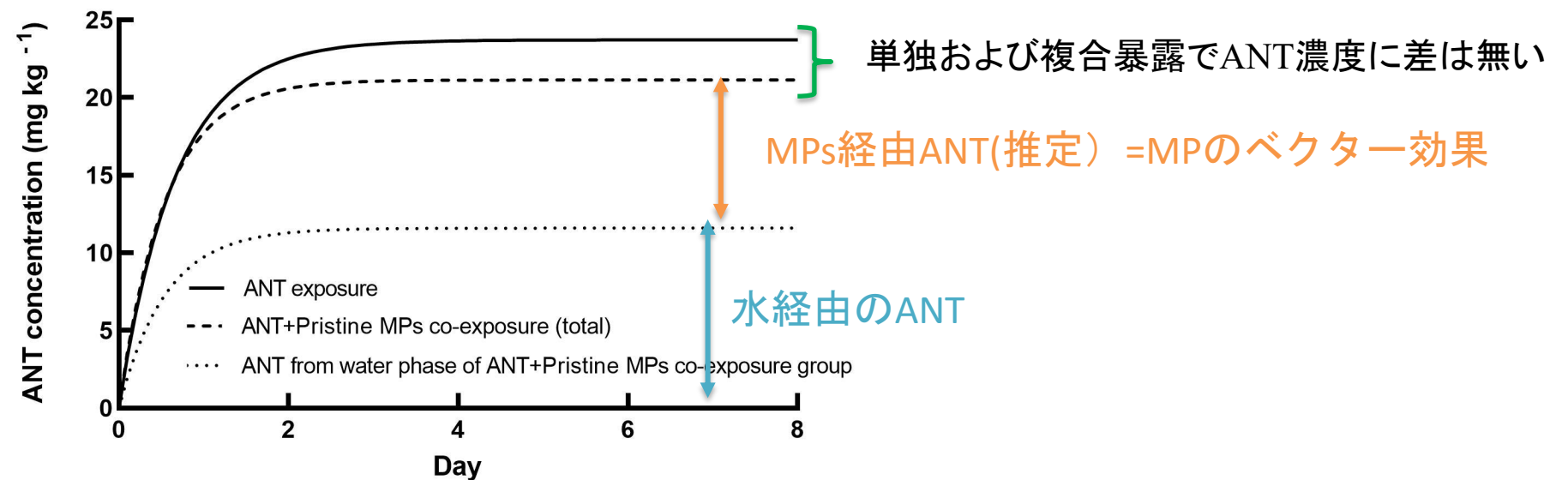


図 メダカにANTと未劣化-PE-MPsを複合暴露した場合における水経由およびMP経由のANT

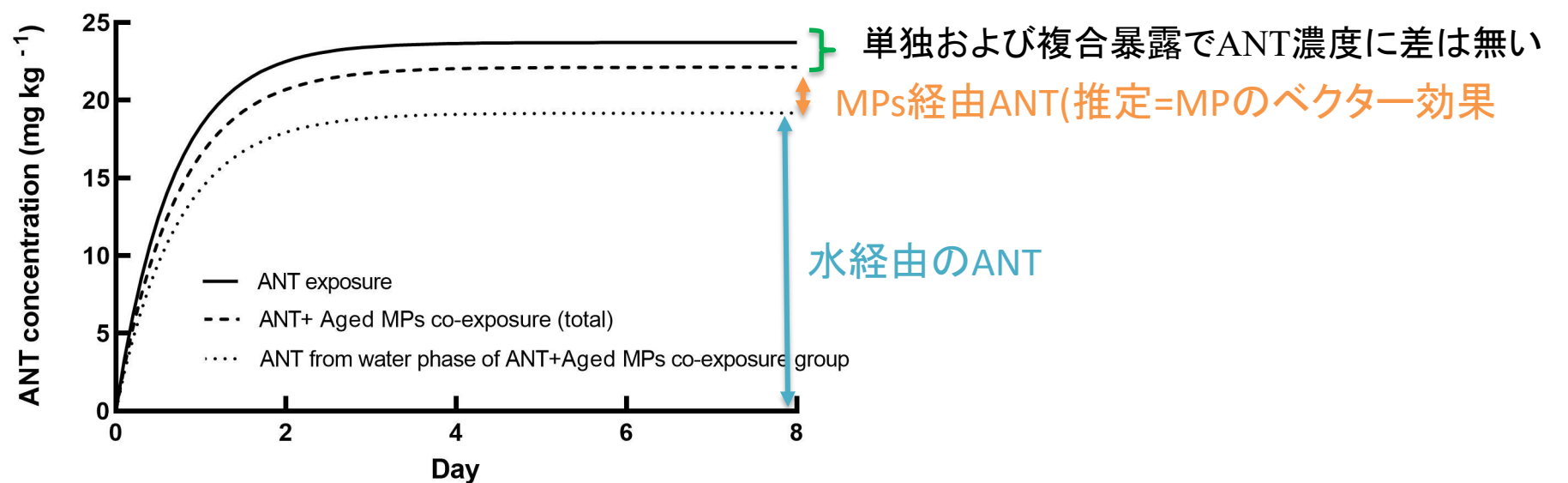


図 メダカにANTと劣化PE-MPsを複合暴露した場合における水経由およびMP経由のANT

第8期(2020.3-2021.2)の計画と進行状況

1. 劣化粉砕PSMPの作製(終了)
2. 劣化粉砕PEMP, 劣化粉砕PSMPに対するANTの吸収・脱着速度を求める。
(予備実験終了、実験開始)
3. ANTを吸着した劣化粉砕PEMPをメダカに14日間暴露、7日間排泄させ、ANT-MP体内動態モデルを構築する。(8月より実験開始)
4. ANTを吸着した劣化粉砕PSMPをメダカに14日間暴露、7日間排泄させ、ANT-MP体内動態モデルを構築する。(10月より実験開始)
5. SPMDを用い劣化粉砕PEMP, 劣化粉砕PSMPに対するANT-SPMDの蓄積性を調べる。
(予備実験終了)

表 SPMDを用いたANTの吸収・排泄試験

		AN区	AN+未劣化MP区	AN+劣化MP区
SPMD	BCF	110000	130000	130000
	ku (L/kg/day)	16000	27000	16000
	ke (/day)	0.15	0.21	0.13

6. 毒性機構を肝臓mRNA-seqによる網羅的遺伝子発現解析により解明する。(暴露実験終了後、実施予定) + (行動影響)
7. 以上をまとめANTにおける劣化MPsベクター効果を解明する。

