

マイクロプラスチックの
存在下、非存在下における
魚類への生物蓄積と生物間濃縮に関する
研究

愛媛大学大学院農学研究科
鑑迫典久

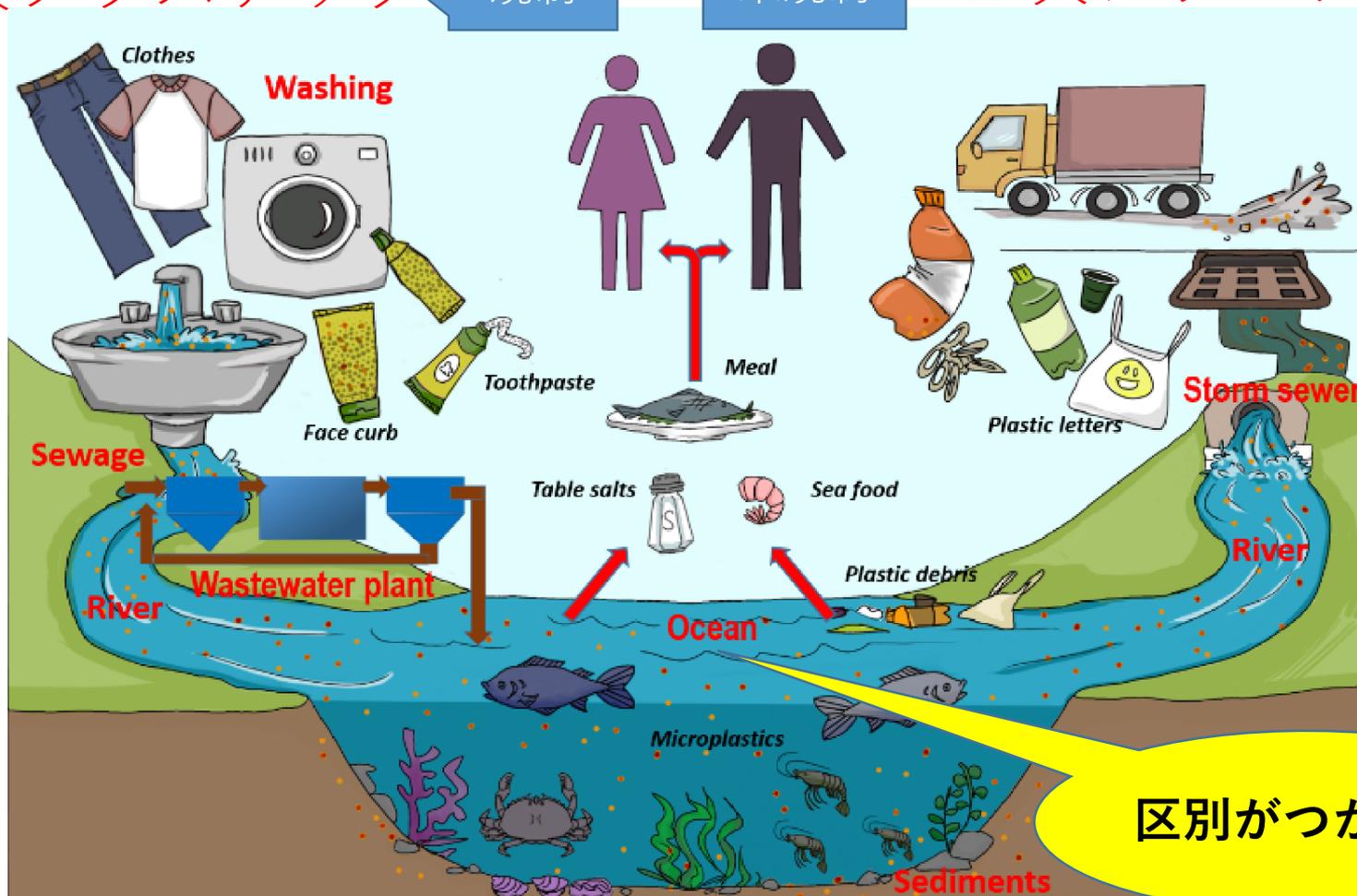
水環境のマイクロプラスチック汚染

1次プラスチック

規制

未規制

2次プラスチック



区別がつかない

- Wei-Min Wu, Jun Yang, Craig S. Criddle,
- Frontiers of Environmental Science & Engineering (2017)

“マイクロプラスチック”問題のはじまり

BREVIA

Lost at Sea: Where Is All the Plastic?

Richard C. Thompson, Ylva Olsen, Richard P. Mitchell, Anthony Davis, Steven J. Rowland, Anthony W. G. John, Daniel McGonigle, Andrea E. Russell

June 2004

Science 304(5672):838

マイクロプラスチック:
microscopic plastic fragments and fibers
の20 μm 以上のものと記載
動態、毒性などについて記載

Lost at Sea: Where Is All the Plastic?

Richard C. Thompson,^{1*} Ylva Olsen,¹ Richard P. Mitchell,¹ Anthony Davis,¹ Steven J. Rowland,¹ Anthony W. G. John,² Daniel McGonigle,³ Andrea E. Russell²

Millions of metric tons of plastic are produced annually. Countless large items of plastic debris are accumulating in marine habitats worldwide and may persist for centuries (1–4). Here we show that microscopic plastic fragments and fibers (Fig. 1A) are also widespread in the oceans and have accumulated in the pelagic zone and sedimentary habitats. The fragments appear to have resulted from degradation of larger items. Plastics of this size are ingested by marine organisms, but the environmental consequences of this contamination are still unknown.

Over the past 40 years, large items of plastic debris have frequently been reported in habitats from the poles to the equator (1–4). Smaller fragments, probably also plastic, have been reported (5) but have received far less attention. Most plastics are resistant to biodegradation, but will break down gradually through mechanical action (6). Many “biodegradable” plastics are composites with materials such as starch that biodegrade, leaving behind numerous, nondegradable, plastic fragments (6). Some cleaning agents also contain abrasive plastic fragments (2). Hence, there is considerable potential for large-scale accumulation of microscopic plastic debris.

To quantify the abundance of microplastics, we collected sediment from beaches and from estuarine and subtidal sediments around Plymouth, UK (Fig. 1B). Less dense particles were separated by flotation. Those that differed in appearance to natural particulate material (Fig. 1A) were removed and identified with Fourier Transform Infrared (FT-IR) spectroscopy (7). Some were of natural origin and others could not be identified, but about one third were synthetic polymers (Fig. 1C). These polymers were present in most samples (23 out of 30), but were significantly more abundant in subtidal sediment (Fig. 1D). Nine polymers were conclusively identified: acrylic, alkyl, poly (ethylene-propylene), polyamide (nylon), polyester, polyethylene, polymethylacrylate, polypropylene, and polyvinyl-alcohol. These have a wide range of uses, including clothing, packag-

ing, and rope, suggesting that the fragments resulted from the breakdown of larger items.

To assess the extent of contamination, a further 17 beaches were examined (Fig. 1B). Similar fibers were found, demonstrating that microscopic plastics are common in sedimentary habitats. To assess long-term trends in abundance, we examined plankton samples collected regularly since the 1960s along routes between Aberdeen and the Shetlands (315 km) and from Sula Skerry to Is-

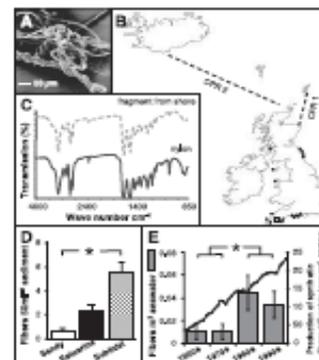


Fig. 1. (A) One of numerous fragments found among marine sediments and identified as plastic by FT-IR spectroscopy. (B) Sampling locations in the northwest Atlantic. Six sites near Plymouth (1–6) were used to compare the abundance of microplastic among habitats. Similar fragments (4) were found on other shores. Routes sampled by Continuous Plankton Recorder (CPR 1 and 2) were used to assess changes in microscopic abundance since 1960. (C) FT-IR spectra of a microscopic fragment matched that of nylon. (D) Microplastics were more abundant in subtidal habitats than on sandy beaches (*, $F_{2,22} = 13.26$, $P < 0.05$), but abundance was consistent among sites within habitat types. (E) Microscopic plastic in CPR samples revealed a significant increase in abundance when samples from the 1980s and 1990s were compared to those from the 1960s and 1970s (*, $F_{1,14} = 14.42$, $P < 0.05$). Approximate global production of synthetic fibers is shown for comparison. Microplastics were also less abundant along oceanic route CPR 1 than along CPR 2 ($F_{1,24} = 5.18$, $P < 0.05$).

land (350 km) (7) (Fig. 1B). We found plastic archived among the plankton in samples back to the 1960s, but with a significant increase in abundance over time (Fig. 1E). We found similar types of polymer in the water column as in sediments, suggesting that polymer density was not a major factor influencing distribution.

It was only possible to quantify fragments that differed in appearance from sediment grains or plankton. Some fragments were granular, but most were fibrous, $\sim 20 \mu\text{m}$ in diameter, and brightly colored. We believe that these probably represent only a small proportion of the microscopic plastic in the environment, and methods are now needed to quantify the full spectrum of material present. The consequences of this contamination are yet to be established. Large plastic items can cause suffocation and entanglement and disrupt digestion in birds, fish, and mammals (3). To determine the potential for microscopic plastics to be ingested, we kept amphipods (detritivores), lugworms (deposit feeders), and barnacles (filter feeders) in aquaria with small quantities of microscopic plastics. All three species ingested plastics within a few days (7) (Fig. 5I).

Our findings demonstrate the broad spatial extent and accumulation of this type of contamination. Given the rapid increase in plastic production (Fig. 1E), the longevity of plastic, and the deposable nature of plastic items (2, 3), this contamination is likely to increase. There is the potential for plastics to adsorb, release, and transport chemicals (3, 4). However, it remains to be shown whether toxic substances can pass from plastics to the food chain. More work is needed to establish whether there are any environmental consequences of this debris.

References and Notes

1. R. G. Ryan, C. L. Moloney, *Nature* 261, 23 (1982).
2. M. R. Gregory, J. G. Ryan, in *Marine Debris*, J. M. Cole, D. B. Rogers, Eds. (Springer, Berlin, 1990), pp. 40–70.
3. J. G. B. Derrick, *Mar. Pollut. Bull.* 44, 842 (2002).
4. L. J. Carpenter, S. J. Anderson, G. R. Harvey, H. R. Mills, E. R. Bradford, *Science* 278, 749 (1997).
5. J. B. Collins, T. D. Krupp, B. R. Burns, *Science* 195, 491 (1974).
6. R. F. Klemm, *Polym. Degrad. Stab.* 27, 103 (1990).
7. Materials and methods are available as supporting material online on Science Online.

8. We thank C. Hoare, B. Titchard, G. Marsale, and F. Silverwood for help with sample collection and analysis. Supported by the Lawrence Livermore, UK.

Supporting Online Material
www.sciencemag.org/cgi/content/full/304/5672/838/DC1

Materials and Methods
Fig. S1
References and Notes

10 December 2003; accepted 10 February 2004

¹University of Plymouth, PL4 8AA, UK. ²Dr Alister Hardy Foundation for Ocean Science, Plymouth, PL1 2PB, UK. ³University of Southampton, SO17 1BJ, UK.
*To whom correspondence should be addressed. E-mail: rcthompson@plymouth.ac.uk

マイクロプラスチックの分類

- **Plastic Microbeads**

- <1mm、球形、**1次MP**（最初からMP）
- facial cleanser, shower gel, toothpaste

- **Microplastic**

- <5mm、形の定義なし、**2次MP**（環境中でMP）

- **Microfibers**

- <2000 μm 、衣服由来、ポリエステル等

- **Nanoplastic**

- **Microcapsule**

- **天然由来の樹脂(レジン)**

(Cheung & Fok, 2016; Tsang et al, 2018を参考に加筆)

大きさの下限値の定義がない
原料・含有物の制限がない
形状・構造の規格がない
標準のMPがない

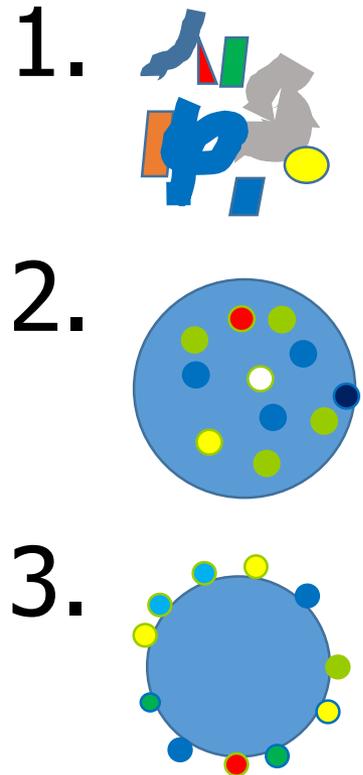


研究に統一性がない
Communication Gap
の原因
私は1次MPを相手にする

マイクロプラスチックの生態影響

想定される有害性

1. 腸管詰まり、鰓詰まり、腸粘膜擦過などの**物理的な悪影響**
2. 抗菌剤、難燃剤、未反応物などプラスチック中の**内在化学物質が溶出して影響する**
3. 環境中の**疎水性化学物質**を吸着し、マイクロプラ生物に食べられたら生物体内で剥離して、**化学物質の輸送媒体**（ベクター）となる



考察

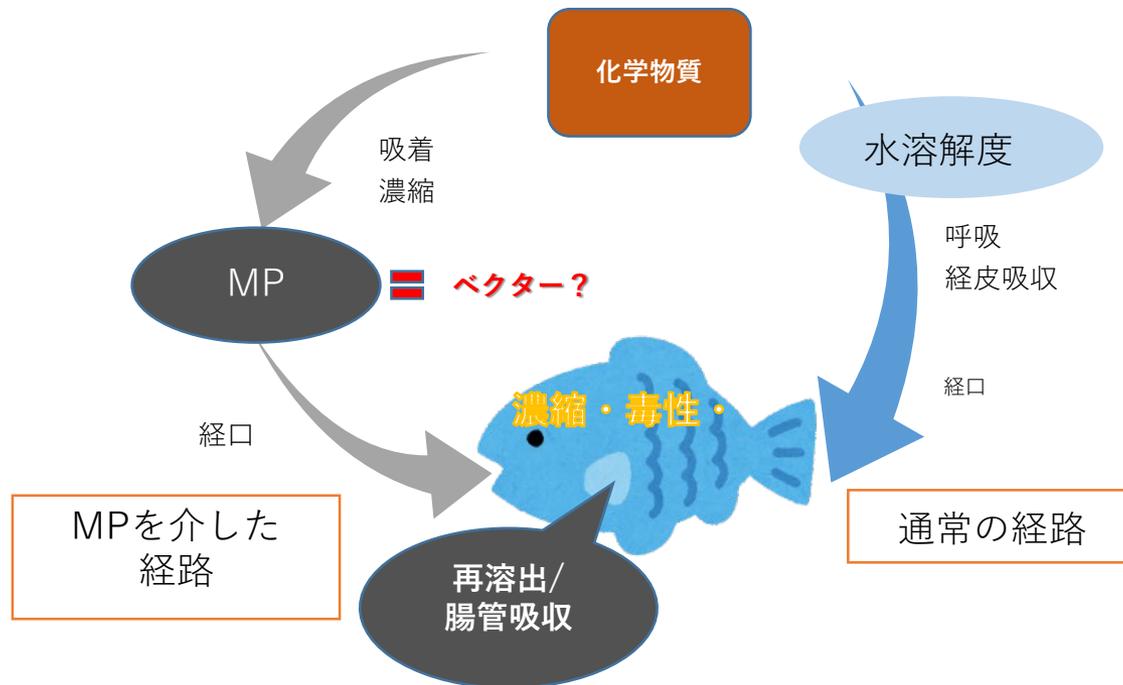
- 1 はありうる。しかし物理的影響を示すためにはかなりの量のマイクロプラを摂取する必要があるのでは。ナノプラは要考慮。
- 2 は、海洋中で2次マイクロプラができるまでの時間（数年）にすでに溶出されている。また、ハザードは従来の評価法が使える。

ベクター効果

3 のベクター効果により予想される有害影響

- MPに高濃度で物質が吸着しているため、化学物質が効率よく体内に取り込まれ、脂肪への蓄積が促進される。
- 上記に従い、MPにより生体間濃縮も促進される。
- 化学物質の体内濃度が高くなれば、生態毒性影響が発現する。

生物への移行経路 (イメージ)

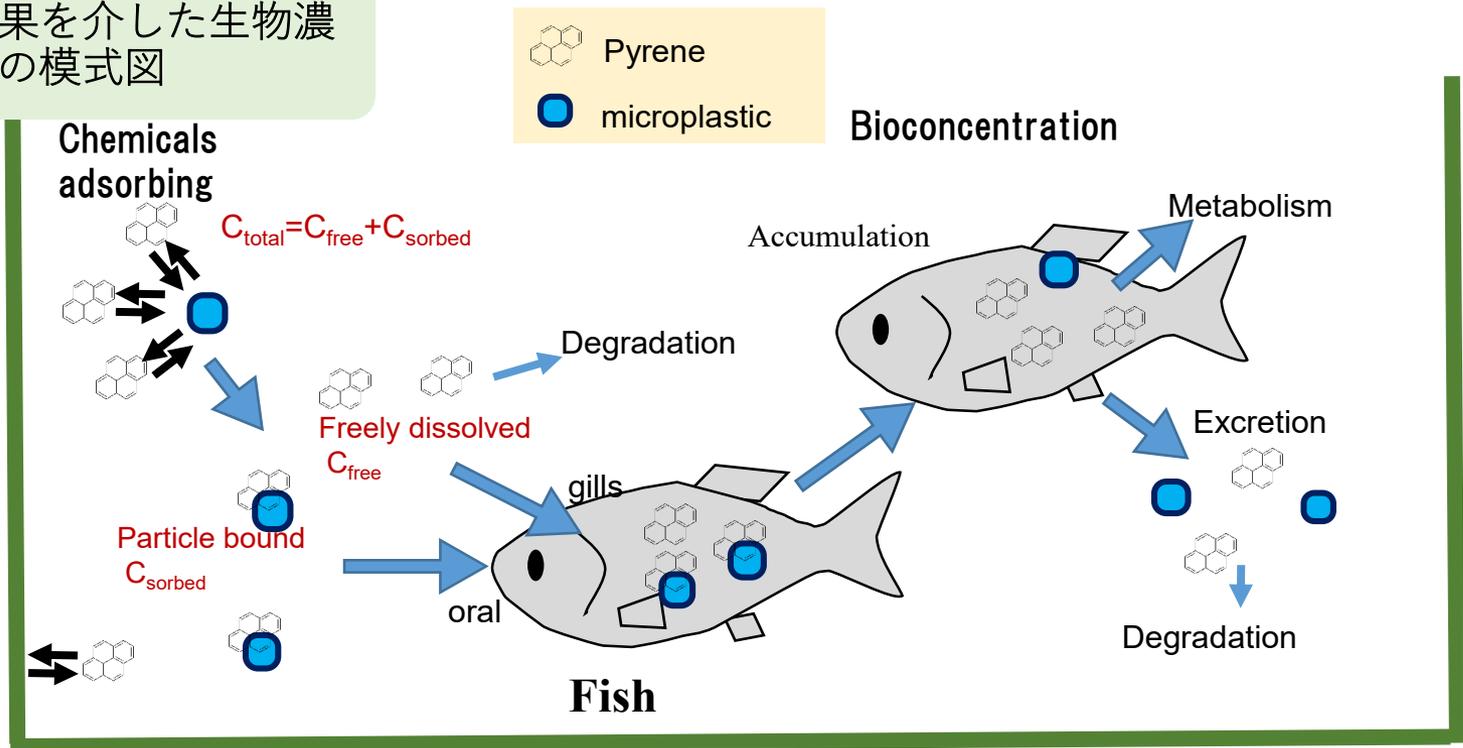


MPがベクター効果を示す条件

ベクター効果を示すまでに4つのステップがある。

- ①化学物質がMPに高濃度で展着する
- ②MPが生物体内に経口摂取される
- ③体内のMPから展着していた化学物質が剥がれる
- ④剥離した化学物質が腸管吸収等を経て、体内の脂質成分に移行（蓄積）または標的臓器に移行して**毒性**を示す。

ベクター効果を介した生物濃縮の模式図



実験デザイン

作業仮説

ピレン水溶液中にミジンコ（メダカ）が**A)食べられないサイズのMP**を共存させたら、水中でフリーのピレンがMPに吸着し、再遊離しなければ、水中ピレン濃度が下がり、生態毒性が下がる。

同様の条件下で、ミジンコ（メダカ）が**B)食べられるサイズのMP**を共存させたときに、生態毒性が上がるか、ベクター効果があり、下がるかわらなければベクター効果は無し、と考えられる。

生物試験の方法

OECDテストガイドライン202

（ミジンコ急性毒性試験）に準拠

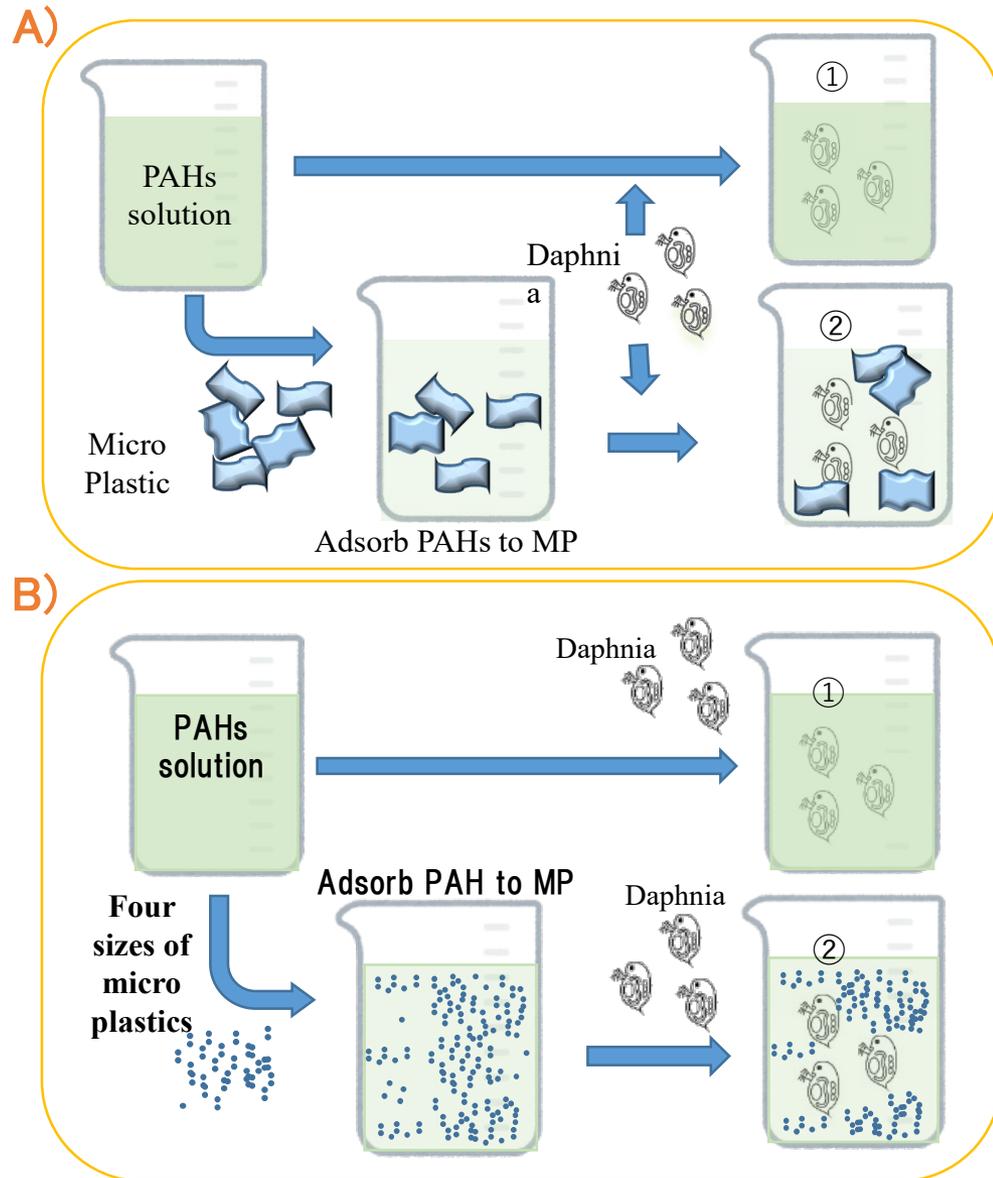


図 ピレン溶液中のプラスチック存在下・非存在下で毒性値の変化を調べる

使用したマイクロプラスチック

◆真球プラスチックビーズ

◆PS水分散ビーズ

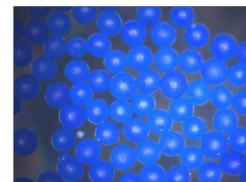
- 10μm
- 3 μm
- 1 μm
- 0.5μm
- 0.2μm



◆PE (蛍光) 真球プラスチックビーズ



Fluorescent Red
Polyethylene
Microspheres
1.050g/cc
- 500μm
- 100μm



Fluorescent Blue
Polyethylene
Microspheres
1.13g/cc
- 30 μm

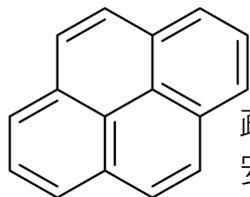


White Polyethylene
Microspheres
1.00/cc
- 100 μm
- 30 μm
- 15 μm
- 3 μm

◆ふるい分けした破碎ポリプロピレン (写真)、 ポリエチレン、ポリスチレン



展着した化学物質



◆ピレン (CAS : 129-00-0)
水溶解度 : 0.135 mg/l

疎水性でMPに吸着しやすく比較的安定。生態毒性がある。

◆ベンゾ[a]ピレン

◆PFOA
◆PFOS

◆13種mixPAHs

Elution	Analyte	CAS Number	Certified Gravimetric Conc. μg/mL
1	Acenaphthylene	208-96-8	494.5
2	Fluorene	86-73-7	495.4
3	Phenanthrene	85-01-8	495.9
4	Anthracene	120-12-7	499.5
5	Pyrene	129-00-0	500.1
6	Benzo(a)anthracene	56-55-3	499.5
7	Chrysene	218-01-9	498.0
8	Benzo(b)fluoranthene	205-99-2	499.5
9	Benzo(k)fluoranthene	207-08-9	499.5
10	Benzo(a)pyrene	50-32-8	494.4
11	Dibenz(a,h)anthracene	53-70-3	499.5
12	Benzo(g,h,i)perylene	191-24-2	495.5
13	Indeno(1,2,3-cd)pyrene	193-39-5	499.0

実験結果

吸着量とMPの総表面積の関係

水中ピレンがMPに吸着し、濃度が下がるとEC50値が上がった。
その変化分がMPに吸着した量と考えられる。

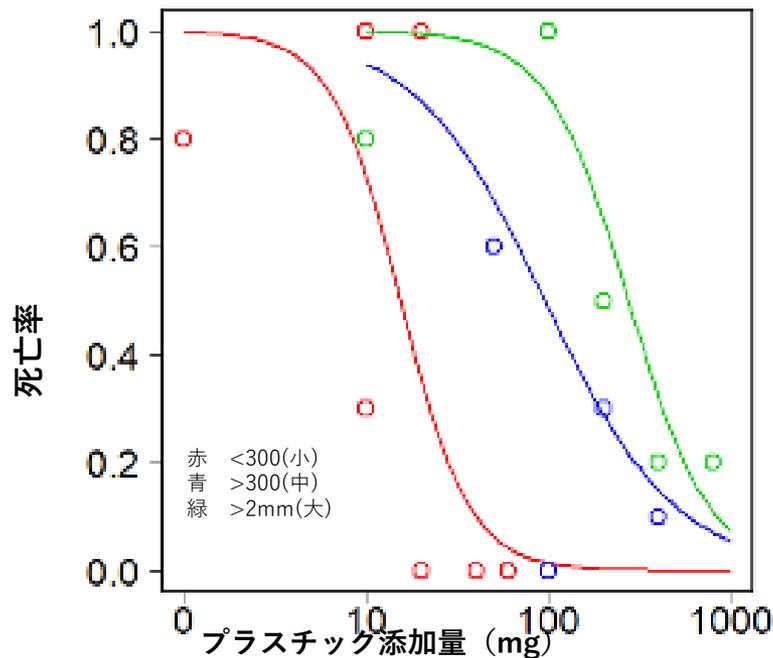
ピレン濃度を一定にしてMP量を変化させた場合 (図A)。

⇒MPの添加量が多くなるに従い、毒性値が低くなる。

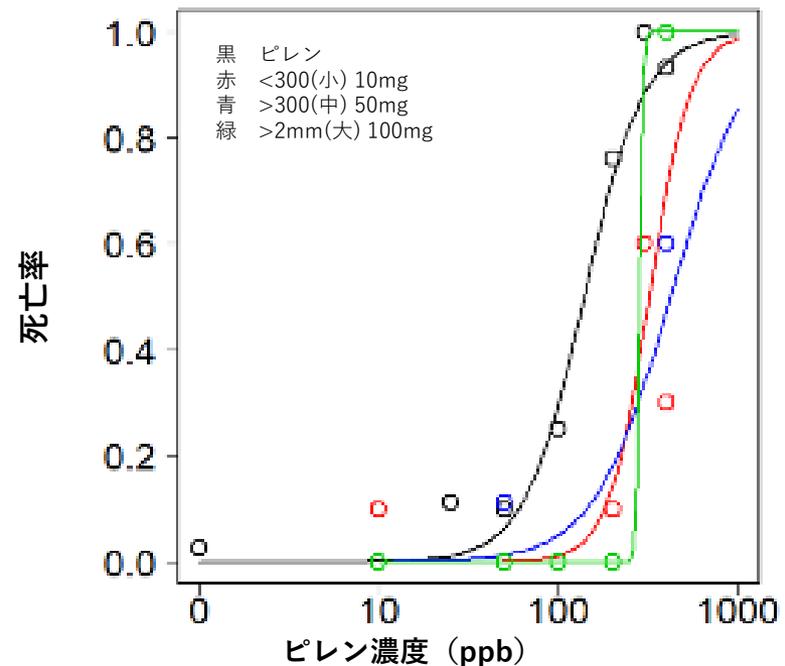
MP添加量を一定にしてピレン濃度を変化させた場合 (図B)。

⇒MPのサイズと添加量によって毒性の変化に違いが生じた。

⇒何を指標にしたら毒性の低下と関係しているか。



図A. ポリプロピレンのピレン吸着特性



図B. サイズ別吸着量

実験結果

吸着量とMPの総表面積の関係

図A,Bの結果から1粒当たりのピレン吸着量とPPの重量、体積、個数、表面積を比較したところ、表面積との相関が高かった（下図、 $R^2=0.83$ ）。

故にPPの大きさに関わらず、単位面積あたりにおおよそ等量のピレンが吸着している。ちなみに以下グラフより、吸着量は約 $7.4\text{ng}/\text{mm}^2$ と推定。

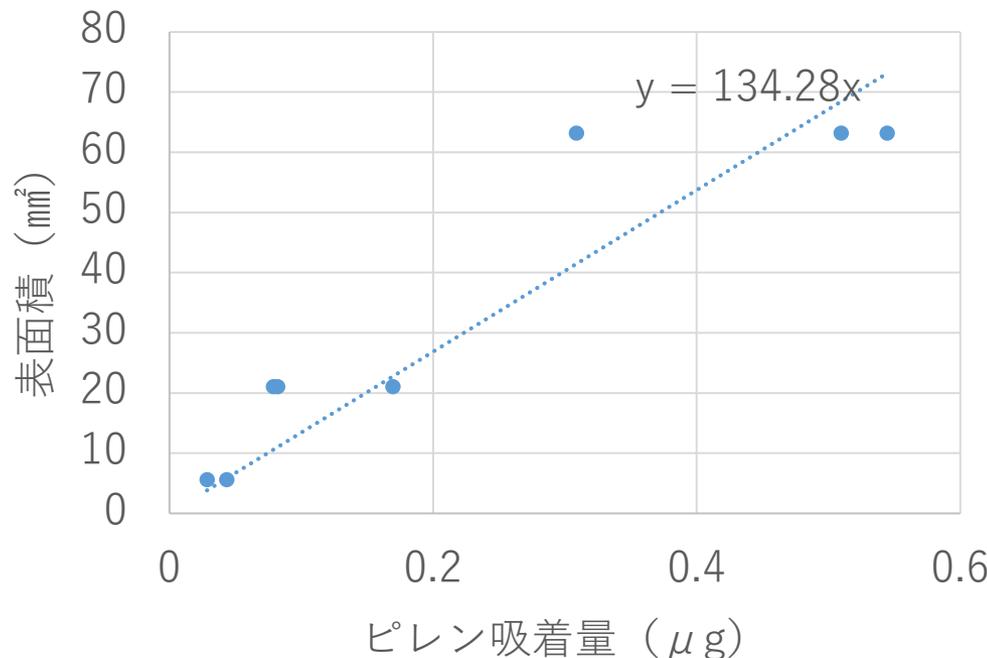


図 吸着量とMPの総表面積の関係

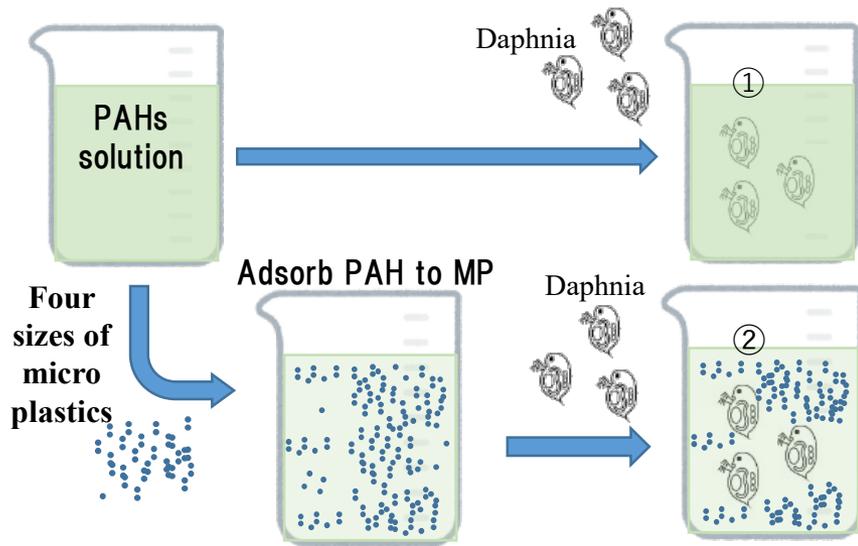
総ピレン量はフリーのピレンとMPに吸着しているものしか存在していないと仮定する。

$$C_{\text{total}} = C_{\text{free}} + C_{\text{sorbed}}$$

図A : PP 1 mg 当たりピレン吸着量 = (ピレン初期量 - ピレン EC_{50} 値) × 液量 / 1000 ÷ (EC $_{50}$ のPP量 (mg))

図B : PP 1 mg 当たりピレン吸着量 = ((PP 添加ピレン EC_{50}) - (ピレン EC_{50} 値)) × 液量 / 1000 ÷ PP量 (mg)

実験結果 PBと化学物質同時添加の急性毒性試験



上図 ピレン溶液中のプラスチック存在下・非存在下で毒性値の変化を調べる。食べられるサイズと食べられないサイズ。

材料と方法

4種類のポリエチレン製マイクロビーズ（PEB）、直径1-4 μ m、10-22 μ m、27-32 μ m、90-106 μ mを使用

表面積がほぼ等しくなるように添加量を設定してピレンと混合超音波で攪拌して生物を投入。

ミジンコ急性毒性試験（OECD TG202）およびメダカ急性毒性試験（OECD TG202）準拠の試験を行った。ただしピレンは遅効性のため、96時間まで延長して観察した。

直径1-4 μ mはミジンコは摂食できる。10-22 μ m、27-32 μ mは摂食できる場合もある。90-106 μ mは摂食できない。メダカ仔魚はいずれも摂食できる。

実験結果 PBと化学物質同時添加の急性毒性試験

表、PEBとピレン同時添加のメダカ急性毒性試験結果

PEBの直径	PEB添加量(mg/ml)	個数 (個)	表面積 (mm ²)	体積 (mm ³)	EC50値 (ppb)	TU50値
PEなし	0	0	0	0	242	0.41
PE 1-4μm	0.1	386188401	5714	3.2	211	0.47
PE 10-22μm	0.5	7365959	5921	15.8	268	0.37
PE 27-32μm	1.0	2234887	6316	31.6	355	0.28
PE 90-106μm	3.3	213708	6445	105.3	406	0.25

ピレン添加量 ; 50~400 μg/L(nominal)

4~5濃度区設定, 6尾/区

26°C

メダカはすべてのサイズのPEBを食せるが、MPの添加量が増えるとピレンの毒性が下がった。食せないサイズのMPを与えたときと同じ傾向を示しており、ベクター効果（相乗的に作用する）は示されていない。

実験結果 PBと化学物質同時添加の急性毒性試験



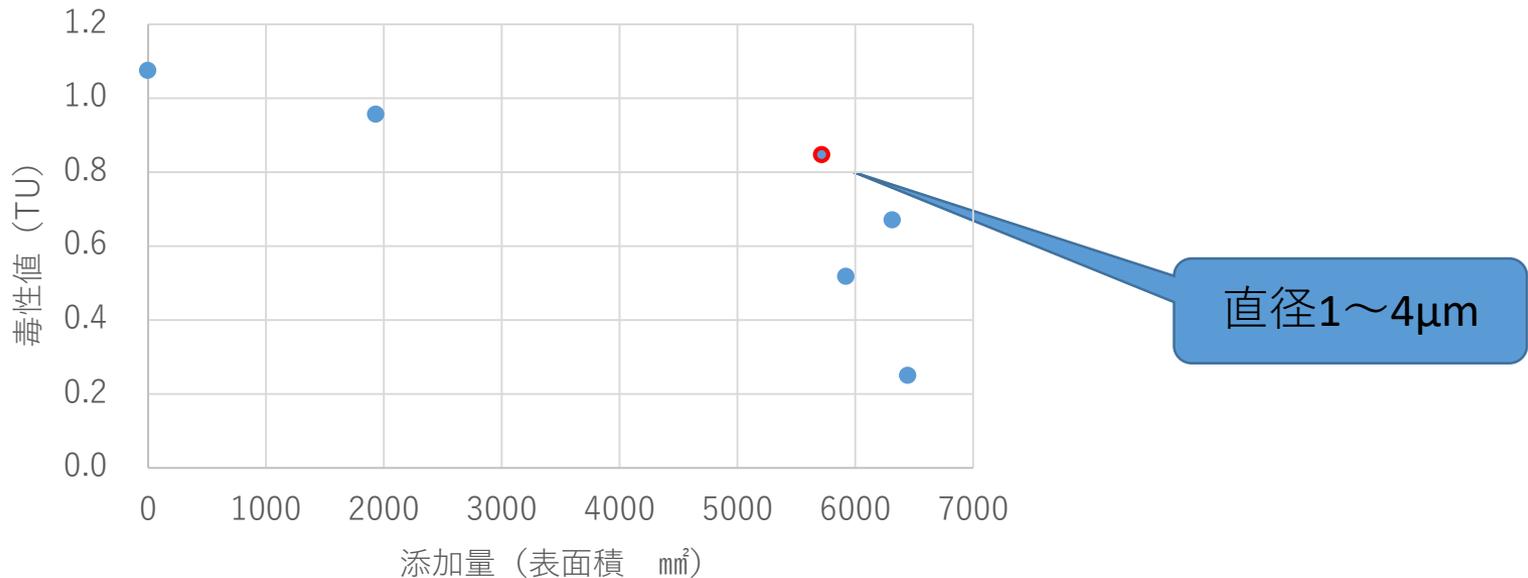
表、PEBとピレン同時添加のミジンコ急性毒性試験結果

PEBの直径	PEB添加量 (mg/ml)	個数 (個)	表面積 (mm ²)	体積 (mm ³)	EC50値 (ppb)	TU50値
PEなし	0	0	0	0	93	1.1
PE 1-4μm	0.1	386188401	5714	3.2	118	0.8
PE 10-22μm	0.5	7365959	5921	15.8	193	0.5
PE 27-32μm	1.0	2234887	6316	31.6	149	0.7
PE 90-106μm	1.0	64112	1933	31.6	105	1.0
PE 90-106μm	3.3	213708	6445	105.3	>400	<0.25

ピレン添加量 ; 50~400 μg/L(nominal) 4~5
濃度区設定、duplication, 20頭/区
22°C

PE 90-106μmは他と同じ表面積を添加したら遊
泳阻害しなかったため添加量を1/3に下げた。

実験結果 PBと化学物質同時添加の急性毒性試験



図：PEBとピレン同時添加のミジンコ急性毒性試験結果（表面積）

メダカと同様に添加量が増えると毒性値（TU）が下がった。体積、個数と毒性は相関が明らかでない。

PEBの表面にピレンが吸着し、ピレンの水中濃度が下がったため毒性が低くなったと考えられる。ミジンコが食せるサイズのPEB（赤点、1～4 μm ）も特に毒性が強くなっていない。

まとめ

- 水中ではプラスチックに疎水性水溶性化学物質が移行する。
- 生物が摂取できないサイズのMPの場合、MPが水中の化学物質を吸着するためにデトックス様の効果が現れる。
- メダカ、ミジンコ共に、サイズに関係なく、MP存在下で毒性が減少した。よって生態影響を指標とした場合はMPによる毒性削減効果はあるが、相乗（ベクター）効果はなかった。

いずれにせよ、かなりの高濃度MPを添加しないと影響は検出できない！（直径30 μ mで1g/L添加している）

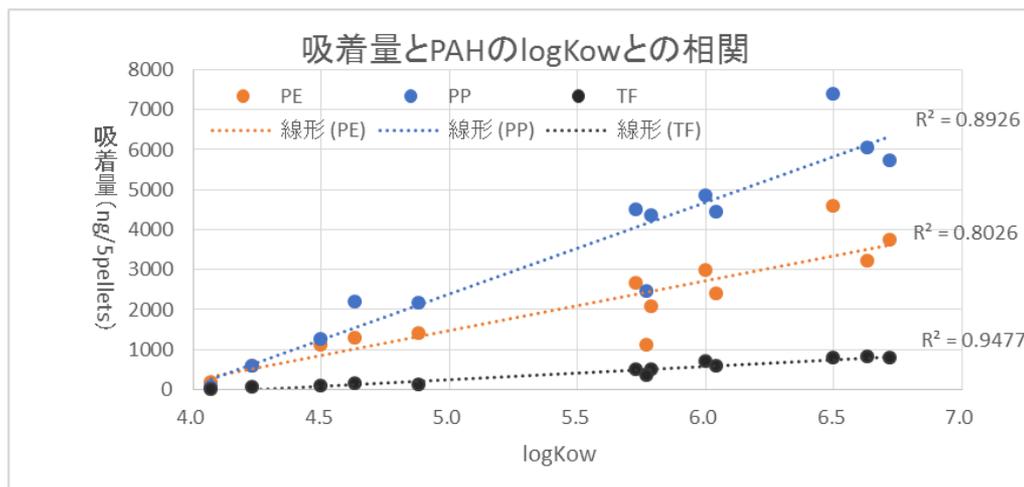
環境中濃度ではベクター効果もデトックス効果も検出できないと思われる。

その他の結果

- MPBへのPAHsの吸着程度はそのlogKowに相関した。
- 吸着量はMP素材によって異なる

ポリプロピレン (PP) ≒ ポリエチレン (PE) ≧ ポリスチレン (PS) >> テフロン

- 水生生物 (メダカ、ミジンコ) はMPを摂取したが、腸管外からは見つからなかった (直径10~0.19 μm) 。
- メダカ成魚は最大で直径0.79mmビーズを0~2個/尾/日しか食べない。
- ミジンコは0.03mm程度のMPBまで食べられるが、0.1mmは食べられない (蛍光ビーズで確認)
- 体外への排泄時間はおおよそ24時間程度 (メダカ)。 ほぼ排泄される。



蛍光ポリエチレンビーズ (30 μm) を曝露したミジンコ。ただし腸管に入っているのは1粒のみ

MPの物理的影響

今後の課題

MPの物理的影響はある

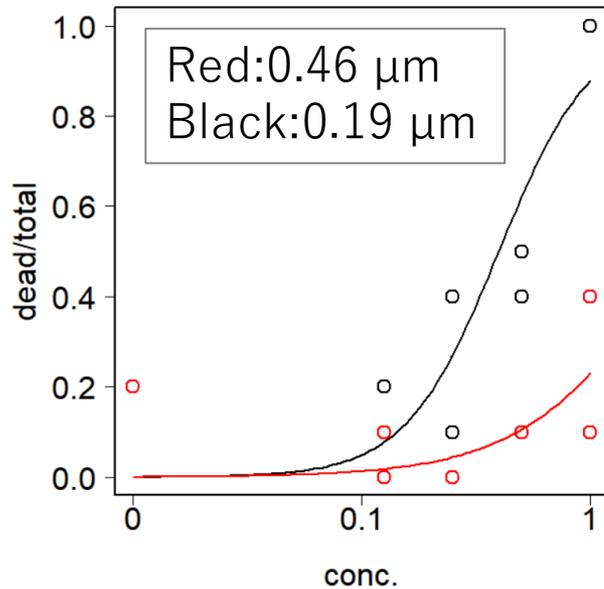
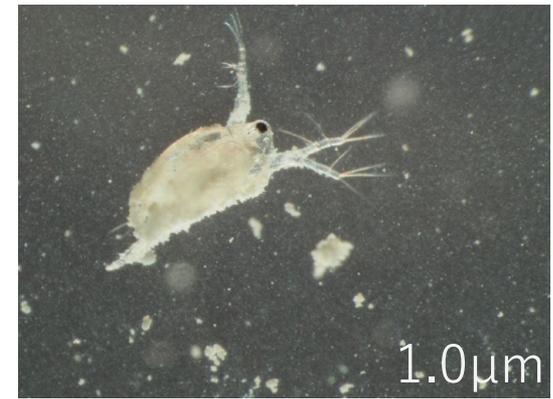


Fig. Dose-response curve of PSB



直径1μm以下のMPBに曝露されたミジンコ

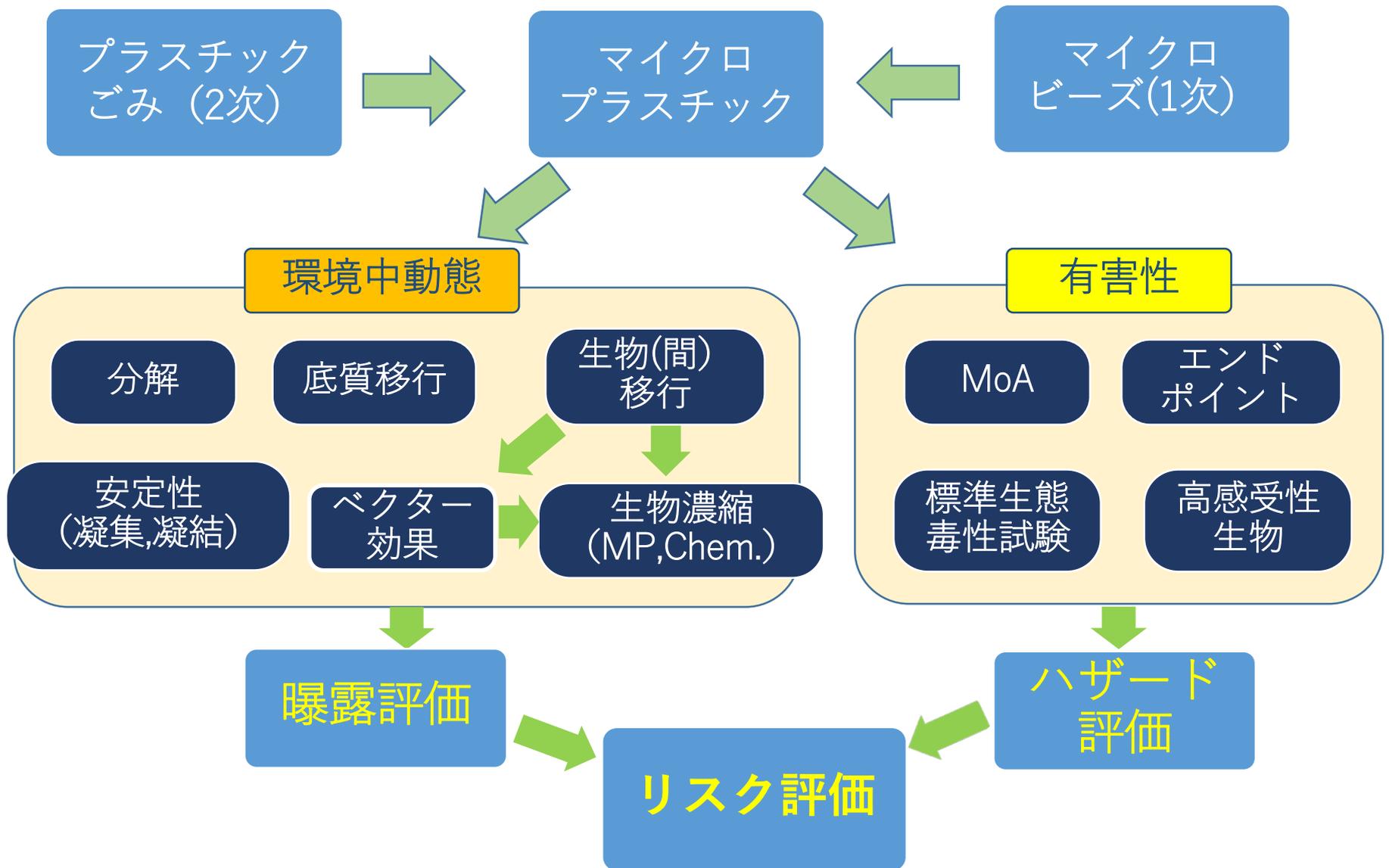
腸管内詰まりだけでなく、体表や鰓にも付着していた。

0.46 μm : EC₅₀ 2.45mg/ml → 5.06×10^{10} bead/ml → 33638mm²

0.19 μm : EC₅₀ 0.87mg/ml → 2.55×10^{11} bead/ml → 28919mm²

※ 1 μm : EC₅₀ 1 mg/ml → 2.01×10^9 bead/ml → 6315mm²

リスク評価に必要な項目



リスク評価のシミュレーション

我々の結果 + 最新の文献からわかったこと

- プラスチックに化学物質がどの程度吸着しているか

文献1中の最大値で、**3940ng/g**のノニルフェノール（NP）が検出されている

また、文献2より、環境中から検出されたNPの最大値**0.15 ng/L**

なんとプラスチックには水の 2.6×10^7 倍の濃度のNPが存在している！！

$$3940 \text{ ng/g} \div 0.15 \text{ ng/L} = 26270000 = 2.6 \times 10^7$$

文献1 Hirai, Takada et al., 2011

文献2 Kannan et al., 1998

リスク評価のシミュレーション

- リスク評価の面から考察するとどうなるか

まず、摂取量を求める

メダカは餌を体重（200mg）の10%（1日当たり）食べる（毎日20mg）

そのうち半分がマイクロプラだとすると、10mg/日のマイクロプラを摂取できるとする
（20粒相当）

よって、1日当たりマイクロプラからのNP摂取量（過大に見積もって）は

$$3940 \text{ ng/g} \times 10\text{mg/day} \div 100 = 40\text{ng/day}$$

リスク評価のシミュレーション

- リスク評価の面から考察するとどうなるか
毒性評価の結果からNP摂取量を求める

前述したMEOGRT (OECD No.240) で、NPの最小影響濃度 (LOEC) は1.27 μ g/L (文献3)

これはNPの影響量として知られている最も小さい値

メダカー尾は1日当たり0.5Lの水を飲むとすると、水からのNP摂取量は

$$1.27 \mu\text{g/L} \times 0.5\text{L/day} = 0.635 \mu\text{g/day} = 635\text{ng/day}$$

リスク評価のシミュレーション

- リスク評価の面から考察するとどうなるか

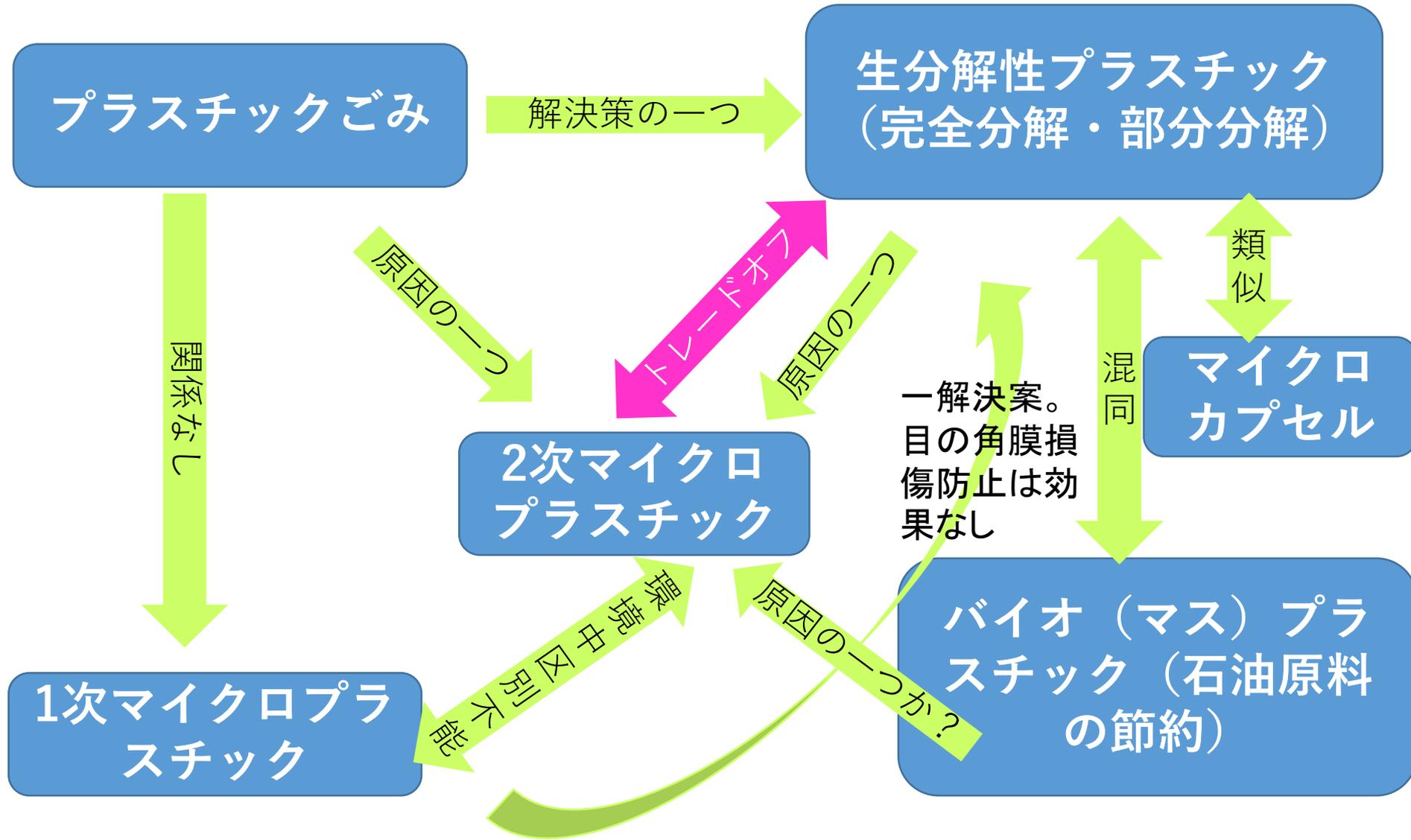
プラスチックから摂取できるNP量40ng/day

毒性試験で水から摂取している量635ng/day

以上より、マイクロプラスチックはグラム当たりで比較すると水1gよりも多くのNPを吸着しているが、実際の摂取量は水からのほうが多いと思われる。

よって、マイクロプラスチックのベクター効果は、現象としては存在しているかもしれないが、通常の水からの摂取量のほうが明らかに多く、ベクター効果の影響は小さいと思われる。

海プラスチック問題と マイクロプラスチック、マイクロカプセル、生分解性プラスチックの関係



最後に

現時点で、生体内蓄積の面からも、生態毒性の面からも、MPのベクター効果の存在は示されなかった。
今後も、さらに追加のデータを取得し明らかにしていく。

3年間LRIの皆様にお世話になりました。
どうもありがとうございました。

研究協力者の皆様

新野 竜大	株式会社LSIメディエンス
高橋 真	愛媛大学大学院農学研究科・教授
堀江 好文	神戸大学・助教

岡崎友紀代、笠原晴海、世羅弥江子

- ・マイクロプラスチックの魚類へのベクター効果に関する研究（1）、2019 第28回環境化学討論会
- ・マイクロプラスチックの生態影響、2019、環境ホルモン学会第22回研究発表会
- ・DAPHNIA ACUTE TOXICITY OF MICROPLASTICS AND THE MICROCAPSULES, SETAC Europe 29th Annual Meeting, May 2019
- ・Verification of vector effect by comparing the PAH intake from only water and water with microplastics in Daphnia acute test , SETAC Europe 29th Annual Meeting May 2019
- ・DAPHNIA ACUTE TOXICITY OF MICROPLASTICS DEPENDING ON THE SIZES, SETAC North America 40th Annual Meeting November 2019
- ・6)Yukiyo Okazaki, Norihisa Tatarazako, Shin Takahashi, Harumi Kasahara , Yaeko Sera, Tatsuhiro Niino, Study on the Contribution of Microplastics to Bioaccumulation and Biological Magnification Towards Fish, SETAC North America 40th Annual Meeting, November 2019
- ・マイクロプラスチックの素材の違いとPAHsの吸着特性、第25回日本環境毒性学会研究発表会、2019
- ・マイクロプラスチックのメダカへの摂食特性と体内滞留時間、第25回日本環境毒性学会研究発表会、2019