

平成 30 年 6 月 26 日現在

機関番号：12605

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2017

課題番号：16K12604

研究課題名(和文) マイクロプラスチックを介した魚貝類への化学物質曝露のモデル化と将来予測

研究課題名(英文) Microplastic-mediated exposure of chemicals to fish and shellfish : modeling and prediction

研究代表者

高田 秀重 (Takada, Hideshige)

東京農工大学・(連合)農学研究科(研究院)・教授

研究者番号：70187970

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：東京湾のムラサキガイの内臓塊から、1個体あたり平均5個のマイクロプラスチック(MP)が検出された。破片の割合が高く、繊維状のもの割合は小さかった。ポリエチレン、ポリエチレン-ポリプロピレンコポリマーが主要であった。粒子の大きさは、20-80マイクロンのものが7割程度を占めた。飼育実験の結果、イガイ消化管内のMPの滞留時間は4日から8日以内と推定された。モデル計算の結果、MP中汚染物質濃度が海水との平衡濃度であればMPの取り込み速度への寄与は無視できると推定された。一方、添加剤由来等でMP中濃度が平衡よりはるかに高いレベルで、疎水性が非常に高い場合、MPは有意な寄与を示す可能性が示された。

研究成果の概要(英文)：In mussels from Tokyo Bay, on average, 5 pieces of microplastics were detected in their digestive tract. Fragments were dominant over fibers. Polyethylene and ethylene-propylene co-polymers were dominant. MP with size range from 20 to 80 micrometer was majority. Incubation experiments indicate 4 days to 8 days of residence time of MP in the digestive tract. If concentrations of persistent organic pollutants (POPs) would reach to equilibrium, MP-mediated exposure of POPs would be negligible. On the other hand, concentrations of some chemicals such as additives with high hydrophobicity would be far beyond the equilibrium, MP-mediated exposure of the chemicals could be important.

研究分野：環境化学

キーワード：マイクロプラスチック 二枚貝 PCBs 添加剤 曝露 滞留時間 飼育実験 モデル化

1. 研究開始当初の背景

海洋プラスチックによる海洋汚染は地球規模の問題となっている (UNEP Yearbook 2014)。プラスチックは紫外線等により微細化し、マイクロプラスチック (5mm 以下のプラスチック) となっていく。マイクロプラスチックは海洋の食物連鎖の低次の生物に取り込まれていることが報告されている。特に、海産物として人が食べる魚介類からのマイクロプラスチックの検出が報告され、食の安全という点で懸念されている。我々も東京湾で捕まえた小型魚類 (カタチイワシ) の消化管から 100 μ m~500 μ m の大きさのマイクロプラスチックを検出した (Tanaka and Takada, 2016)。このサイズのプラスチックは仮にヒトが食べたとしてもプラスチック自体は排泄され、プラスチック自体の生体影響は考えにくい。しかし、問題はこれらのマイクロプラスチックに吸着および含有されている有害化学物質がヒトへ曝露されることである。海洋を漂流するマイクロプラスチックに有害な化学物質が含有されることは、我々が世界に先駆け明らかにしてきた (Tueten et al., 2009)。マイクロプラスチックを含む海産物をヒトが食べた時には、それらの有害化学物質にも曝露されることになる。疎水性の大きな PCBs のような化学物質が消化管内で消化液に溶け出せば、体内に吸収されることになる。一方で、ヒトはマイクロプラスチック以外のルートから有害化学物質に曝露されており、マイクロプラスチック経由の化学物質曝露が、もともとの食べもの等の他のルートに比べてどの程度の寄与を持つのかを明らかにすることが必要である。

2. 研究の目的

本研究では、沿岸海域の貝類を対象に、室内飼育実験と現場での測定結果を組み合わせ、マイクロプラスチックを媒介とした POPs 曝露の相対的重要性を評価する。さらに結果をモデル化し、将来予測を行う。

3. 研究の方法

本研究では、沿岸域に広く分布し生態や汚染物質の蓄積についての知見も豊富なムラサキイガイ (*Mytilus galloprovincialis*) を対象とした。研究は実際のフィールドに棲息する二枚貝消化管内のマイクロプラスチック量の測定、二枚貝の飼育実験によるマイクロプラスチックの消化管内の滞留時間の推定、およびモデル計算によるマイクロプラスチックを媒介とした POPs 曝露の重要性評価の3つから構成される。

1) 試料として、東京湾のブイより 2016 年から 2017 年にかけて採取されたムラサキイガイ (7 地点; 各 3 個体) を用いた。検討の結果確

立したイガイの分析法を以下に記す。試料は常温で一晩解凍したのち、解剖し内臓塊 (中腸腺・生殖腺・消化管をまとめた組織) を取り出した。0.2g~4.3g の内臓塊を入れた 50ml バイアルに 10% KOH aq を内臓塊に対して 10 倍量添加し、40 $^{\circ}$ C に保持しながら 48 時間、振とう機にかけて分解した。分解後の液体を 100ml 容量分液漏斗に蒸留水 15ml を用いて洗い入れ、4 時間室温にて静置した。その後下層 10ml (Fr.B) を、異なる分液漏斗に流し入れた。最初の分液漏斗に残っている上層 Fr.A を全て金属フィルター (ステンレススチール、孔径 10 μ m) でろ過し、フィルター上に粒子を捕集した。Fr.B には NaI aq ($d=1.45\text{g/cm}^3$) を 15ml 加え比重 1.3 g/cm^3 とし、4 時間静置後 (Fr.B $\approx 1.30\text{g/cm}^3$)、下層 10ml を金属フィルターで吸引ろ過し粒子を捕集した。Fr.A, Fr.B から得たフィルターをデシケータ乾燥し顕微 FTIR を用い、MP を同定・定量した。以上の実験方法における MP の回収率と実験過程の再現性を大きさ (27~300 μ m)、密度 (1.0~1.5) の異なるポリエチレン (PE) ビーズをイガイに添加し検討した。27 μ m 以上の PE ビーズの回収率は 90% 以上であった。密度については 1.5 以上の粒子は 83% 以上捕集されたが、密度 1.05~1.30 の粒子が過小評価であることがわかった。今後、この密度帯を十分に回収測定する方法の確立が必要である。再現性は 3 連の RSD で 9% 以内であった。

2) イガイ消化管内のマイクロプラスチックの滞留時間の推定は、黄緑の蛍光で標識された 90、10、1 マイクロンのポリスチレンのビーズを使用した。各個体に蛍光ビーズを 15000 個を 3 時間暴露した後、餌を与えながら飼育し糞を 1 日おきに回収し、糞中のマイクロビーズを蛍光顕微鏡下で計測した (Fig.1)。



Fig.1. ビーズ暴露実験

3) ムラサキイガイによる疎水性有機汚染物質の取り込み及び蓄積におけるマイクロプラスチック (MP) の寄与をワンボックスモデルから推定した。モデルは Morrison et al. (1996) の生物蓄積モデルに MP の項を追加し、構築

した。モデルでは物質の取り込みが水（溶存態）、けん濁粒子（エサ）、MP の3つルートで起きるとした。また排せつも水、フン、MP の3つを介して行われるとした。物質は難分解性で代謝分解は無視できるとした。けん濁粒子は有機炭素の50%が消化・吸収され、残りがフンとして排せつされると仮定した。一方、MP は消化されずそのまま排せつされるとした。体内での物質交換の速さは物質ごとに詳細な検討が必要であるが、本研究では初期評価として、消化管やエラにおける物質の交換は十分に速く、水、フン、MP はワンボックス内で平衡に達してから排せつされると仮定した。各分配係数は K_{ow} と比例するとした（表1参照）。使用した記号やパラメータの値は Table 1 にまとめた。パラメータ値は東京湾沿岸を想定した値である。

モデルでは取り込み速度（mg/d）を以下のように記述した。

$$\text{水經由} \quad U_w = C_w G_w E_w$$

$$\text{けん濁粒子經由} \quad U_d = C_w K_{sw} G_w M_s \sigma_s E_d$$

$$\text{MP 經由} \quad U_p = C_w K_{pw} G_w M_p \sigma_p E_p$$

同様に排せつ速度（mg/d）は以下のように記述した。

$$\text{水經由} \quad D_w = C_b / K_{bw} G_w E_w$$

$$\text{フン經由} \quad D_f = G_w M_s \sigma_s (1-\alpha) E_d C_b / (K_{bw} / K_{sw})$$

$$\text{MP 經由} \quad D_p = G_w M_p \sigma_p E_p C_b / (K_{bw} / K_{pw})$$

総取り込み速度は $U = U_w + U_d + U_p$ 、総排せつ速度は $D = D_w + D_f + D_p$ とし、物質取り込みにおける水、けん濁粒子、MP の寄与はそれぞれ U_w/U 、 U_d/U 、 U_p/U として計算した。上式と表のパラメータ値を用い、定常状態（ $U = D$ ）における生物蓄積係数（ $BAF = C_b / C_w$ ）を計算した。

4. 研究成果

1) Fig.2 より二枚貝中のMP(破片・ビーズ)は20~40 μm が一番多く、これは餌である植物プランクトンの大きさに近いと考えられる。また粒径が大きくなるほど総数は少なくなる傾向となった。組成は水より軽いPE, PEPが多く、潮間帯に固着するイガイ類の生息環境を反映した結果となった。繊維状のMP数は破片状のMPに比べて少なく、その組成はPETが大半を占めていた。

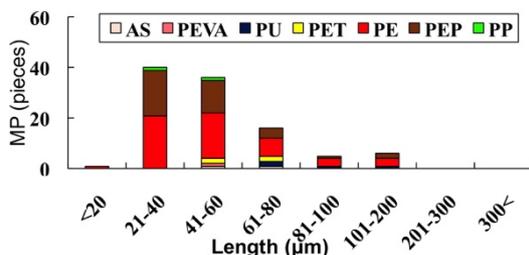


Fig.2. ムラサキイガイ内蔵塊中のマイクロプラスチックのサイズ分布

MP の検出数が最大であった川崎沖の個体について、1個体あたり30ngのマイクロプラスチックが消化管内に存在すると計算された（粒径50マイクロンと仮定）。

2) 飼育実験の結果、1マイクロンのビーズは、ムラサキイガイが取り込むと24時間以内にほとんど排出されることがわかった。しかし、50日まで数個体のフンから何回か検出されたことから、長期間消化管内にとどまる可能性が考えられた。10マイクロンと90マイクロンのビーズは、数日かけてゆっくりとフンとして排出されることがわかり、ほとんどのビーズの排出には、4日~8日以内に排出された（Fig.3）。

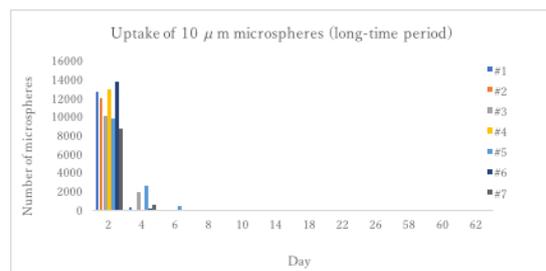


Fig.3 各個体のフン中の10 μm 蛍光ビーズの量の継日変化

3) 物質は海水においてけん濁粒子/海水、MP/海水の分配平衡に達しているというシナリオを想定し、計算を行った。その際の各媒体の総取り込み速度への寄与を Fig.4 に示した。 $\log K_{ow} < 5$ では水經由の取り込みが卓越し、 $\log K_{ow}$ の上昇とともにけん濁粒子經由が優先していくことがわかる。MP の寄与は最大でも1%であり、BAF への影響はほぼなかった（最大1%）。これはMPの海水中存在濃度がけん濁粒子のそれよりもはるかに低いことが原因である。

添加剤としてMPに混入している物質は周辺海水との平衡から予想される濃度より高い濃度でMPに存在することがある。従って次のシナリオでは、MP中濃度を海水との平衡濃度より高く設定し、平衡濃度よりどれだけ高いとMPの寄与が有意となるか推定した。上の式の U_p に非平衡係数 γ (=MP中設定濃度/海水との平衡時のMP中濃度) を乗じ、 γ の値とMPの総取り込み速度への寄与の関係推定した（Fig.5）。高疎水性物質($\log K_{ow} > 6$)では、 $\gamma = 100$ でMPとけん濁粒子の寄与がほぼ同程度になり、 $\gamma = 1000$ で全取り込み速度への寄与が80%以上に達する。一方、低疎水性物質($\log K_{ow} < 4$)では常に水からの取り込みが大きな寄与を占めるため、 $\gamma = 1000$ でもMPの寄

与は<10%である。

本研究で想定したシナリオでは MP 中汚染物質濃度が海水との平衡濃度であれば MP の取り込み速度への寄与は無視でき、生物蓄積への影響はないといえる。一方、添加剤由来等で MP 中濃度が平衡よりはるかに高いレベルにあり、さらに物質の疎水性が非常に高い場合、MP は有意な寄与を示す可能性がある。使用したモデル、パラメータはいずれも初期的なものであり、さらなる研究が必要である。

Table 1. モデルパラメータ

	記号	値
海水中溶存態物質濃度	C_w	任意 [mg/L]
イガイ中物質濃度	C_b	式より計算[mg/L]
オクタノール/水分分配係数	K_{ow}	10^3 から 10^9
けん濁粒子/水分分配係数	K_{sw}	$0.1 K_{ow}$ [kg/L]
生物/水分分配係数	K_{bw}	$0.02 K_{ow}$ [L/L]
MP/水分分配定数	K_{pw}	K_{ow} [kg/L]
ろ過速度	G_w	60 L/d
海水中けん濁粒子濃度	M_s	20 mg/L
海水中 MP 濃度	M_p	0.01 mg/L
けん濁粒子の補足率	σ_s	1
MP の補足率	σ_p	1
溶存態との物質交換効率	E_w	1
けん濁粒子との物質交換効率	E_d	1
MP との物質交換効率	E_p	1
けん濁粒子の消化効率	α	0.025
有機炭素の消化効率	β	0.5

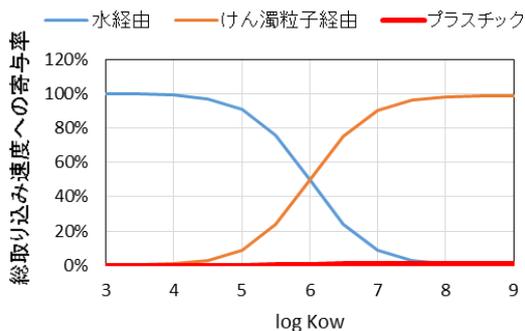


Fig.4. 水、けん濁粒子、MP の取り込み速度への寄与

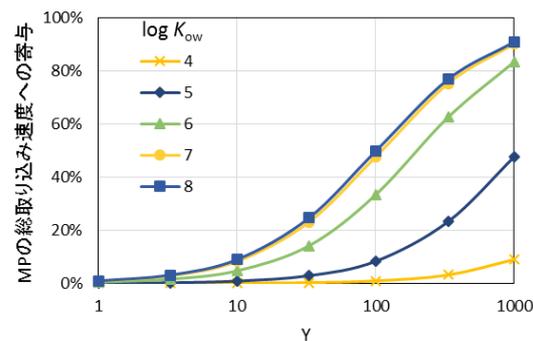


Fig.5. 物質が海水と非平衡状態にある場合の MP の総取り込み速度への寄与

引用文献

Morrison, H. A.; Gobas, F. A. P. C.; Lazar, R.; Haffner, G. D., Development and Verification of a Bioaccumulation Model for Organic Contaminants in Benthic Invertebrates. Environ. Sci. Technol. 1996, 30, (11), 3377-3384.

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

1. K. Tanaka and H. Takada “Microplastic fragments and microbeads in digestive tracts of planktivorous fish from urban coastal waters” Scientific Reports, 6, 1-8, 10.1038/srep34351 (2016) (査読有り)

[学会発表] (計 5 件)

1. S. Endo; Y. Matsuura, “Toward the prediction of sampling rates: Sorption and permeation properties of membrane filters used for aquatic passive samplers, SETAC Europe, Brussels, Belgium (2018)

2. 高田尚彦, 福永航平, 高田秀重 “二枚貝中マイクロプラスチック(MP)分析法の検討とその適用” 第 27 回日本環境化学討論会, 沖縄, 5 月 23 日(2018)

3. H. Takada “Occurrence of wide-range of additives in marine plastics and their exposure to marine organisms” The second International Symposium on Marine Microplastic Pollution and Control, Shanghai, China, Apr. 24, (2018).招待講演

4. H. Takada “Marine plastics and microplastics : Threat to marine ecosystem” WESTPAC2017, Qingdao, China, Apr. 17, (2017).招待講演

5. 田中厚資, 岡崎陽平, 高田秀重, 山下麗 “海洋マイクロプラスチック中の残留性有機汚染物質の分析及び魚類におけるマイクロプラスチック摂食のリスク評価” 第 25 回日本環境化学討論会, 新潟, 6 月 9 日(2016)

6. 研究組織

(1)研究代表者

高田 秀重 (TAKADA, Hideshige)

東京農工大学・大学院農学研究科・教授・

研究者番号：70187970

(2)研究分担者

遠藤 智司 (ENDO, Satoshi)

大阪市立大学・都市研究プラザ・テニュアト

ラック特任准教授

研究者番号：30748934

井上 広滋 (INOUE, Koji)

東京大学・大気海洋研究所・教授
研究者番号：60323630

水川 薫子 (MIZUKAWA, Kaoruko)
東京農工大学・大学院農学研究科・助教
研究者番号：50636868

(4)研究協力者
角村 梓 (KAKUMURA, Azusa)