

平成 30 年 5 月 18 日現在

機関番号：10101

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2017

課題番号：16K14801

研究課題名(和文) 沿岸海域におけるマイクロプラスチック汚染が底生生物に与える影響の実験的検証

研究課題名(英文) Experimental examination of the impact of microplastic pollution on benthic organisms in coastal area

研究代表者

仲岡 雅裕 (NAKAOKA, Masahiro)

北海道大学・北方生物圏フィールド科学センター・教授

研究者番号：90260520

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、海洋中に増加しているマイクロプラスチックが底生無脊椎動物に与える影響を評価することを目的とした。まず、調査地である北海道厚岸湾の堆積物中のマイクロプラスチック量は他地域と比較すると低い値であったが、漁業活動由来のファイバー状のものが多く判明した。次に、ムラサキガイを対象とした室内実験により、水温上昇によりマイクロプラスチックの負の効果が増幅されることが判明した。さらに、野外に存在するPOPs(残留性有機汚染物質)をマイクロプラスチックに吸着させて、ムラサキガイを対象に暴露実験を行ったところ、マイクロプラスチックを通じたPOPsの蓄積が生ずることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：This study aimed to examine the effects of microplastic pollution on benthic invertebrate. Firstly, we measured microplastic density in the sediment of Akkeshi Bay, Hokkaido, and found that it is relatively lower compared to other reported sites, but that it is dominated by plastic fibers possibly derived from local fishery activities. Secondly, we examined the interactive effects of temperature rise and microplastic pollution on the mussel *Mytilus trossulus* and found that the negative effects of microplastics on feeding rate of mussel was amplified with higher temperature. Finally, we obtained the evidence that the mussel intakes POPs (persistent Organic Pollutants) through microplastic feeding. The obtained results highlighted that the significant impacts of microplastics on marine benthic invertebrates, which should further be investigated in future studies.

研究分野：海洋生態学

キーワード：マイクロプラスチック 底生生物 化学汚染 野外定量調査 室内実験 残留性有機汚染物質

### 1. 研究開始当初の背景

世界の沿岸諸国から海に流出するプラスチックゴミは年々増加している。海洋のプラスチックゴミが大型海洋動物に与える影響については広く理解されるようになってきた。しかし、それと同様に深刻な問題であるマイクロプラスチック汚染については認識が広がっていない。マイクロプラスチックとは、プラスチックゴミが細断化や断片化によって5mm以下のサイズになったものを総称する。甲殻類や貝類などの小型底生無脊椎動物(マクロベントス)がマイクロプラスチックを摂食することにより負の影響を受ける可能性があることが報告されている。マイクロプラスチックは物理的にマクロベントスの摂食を阻害する他、石油や農薬成分等のPOPs(残留性有機汚染物質)を吸着させるため、化学的にも底生動物に負の影響を与えうる。しかし、現時点では室内実験で非常に高密度のマイクロプラスチックおよびPOPsに暴露したときの結果の報告にとどまっております。(1)沿岸海域でのマイクロプラスチックの定量的な実態、(2)その野外状況下でのマクロベントスへの影響については理解が進んでいない。

### 2. 研究の目的

本申請では、マイクロプラスチックがマクロベントスに与える負の影響について、野外調査と室内操作実験により検証することを目的とする。具体的には次の3つの研究課題を設定した。

- (1) プラスチック漂着ゴミの量が異なる複数の海岸で、統一した方法で堆積物中のマイクロプラスチックの量および形状を定量し、比較する。
- (2) 高温や貧酸素化など沿岸海域で生ずる環境変動とマイクロプラスチック負荷の相互作用を検証し、マイクロプラスチック汚染の効果に影響を与える多重要因を理解する。
- (3) 現場のマイクロプラスチックおよびPOPs量を反映した飼育実験により、マクロベントスへの影響を評価する。

### 3. 研究の方法

#### (1) マイクロプラスチック量の野外調査

日本および世界各地の海岸域におけるマイクロプラスチック量について、顕微鏡を用いた観察および既存研究のレビューによりデータ解析を行った。既存の野外調査法としては、海岸線に沿って堆積物(泥、砂)を定量的に採集し、篩にかけて0.5~5mmの区分を抽出した後、密度勾配遠心分離法によりマイクロプラスチックを抽出し、顕微鏡観察により、形状(ファイバー状、フィルム状、発砲プラスチック、粒子状、破片状、球状、その他)毎に計数する方法が報告されていたため、その手法にのっとり北海道厚岸湾で採集を行い、量および形状を定量し、既存データとの比較を行った。

#### (2) マイクロプラスチック汚染と水温上昇の相互作用の検証

北海道東部の厚岸湾に生息するマクロベントスのうち、予備実験でマイクロプラスチックを摂食することが確認されたムラサキイガイ(*Mytilus trossulus*)を対象に、マイクロプラスチック密度(0, 2, 20, 200 [ng/l])および水温(17, 20, 23[°C])を段階的に操作した実験区を設置し、12週間の飼育実験を行った(図1)。実験終了後に、ムラサキイガイの摂食活動の指標である濾過率と偽糞排出量、活性の指標である呼吸率、および成長の指標であるBCI(肥満率:貝殻に対する軟体部の相対的重量比)を測定し、多元配置分散分析にて検証した。

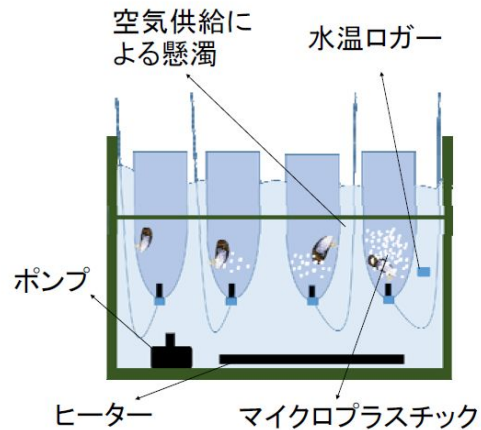


図1: 飼育実験の設定

#### (3) マイクロプラスチックおよびPOPs汚染の複合影響の検証

まず、POPsを吸着させたマイクロプラスチックの作製を行った。東京湾湾奥部から採取したプラスチックレジネレットをヘキサンに浸漬し抽出液を得た。ペレット抽出液をゲル浸透クロマトグラフィーに通してオリゴマーを除去し、溶媒をアセトンに置換した。60μmメッシュのナイロン製プランクトンネットに市販のプラスチックビーズを入れ、卓上シーラーで密閉した。東京湾湾奥部から採取した海水にプラスチックビーズと精製したペレット抽出液とアセトン溶媒のBDE209の標準物質を入れて、25°Cで2週間攪拌しPOPsを吸着させた。この時、アセトンの割合は海水に対して6.5%となるように調整した。曝露実験に使用する餌、海水、ムラサキイガイ中のPOPs濃度を測定し曝露実験最終日のPOPs蓄積量(バックグラウンド)を概算した。その100倍高いPOPs量をプラスチックから曝露できるように、かつ海岸漂着マイクロプラスチックのPOPs最大濃度を下回るようにプラスチックビーズのPOPs濃度を設定した。

次に、ムラサキイガイへのマイクロプラスチック曝露実験を北海道大学厚岸臨海実験

所で実施した。実験に用いたムラサキイガイは厚岸湾より得た。1個体につき1つの1Lガラスビーカーを用意し、水温0の砂ろ過海水を1L入れ4日間順化を行った。マイクロビーズ密度の異なる3つの実験区:Contorl、Low(0.05mg/L)、High(5mg/L)を設け、曝露区全20個体に15日間POPsを吸着させたプラスチックビーズを曝露した。毎日珪藻を給餌し、3日に1回換水とプラスチック曝露を行った。曝露開始から6日目と15日目にムラサキイガイを5個体ずつ採取し、えら・外套膜、生殖腺、内臓塊、筋肉に分け冷凍保存した。

保存したムラサキイガイ各組織は凍結乾燥してすりつぶした後に、高速溶媒抽出(ASE)にて抽出し、PCBs、PBDEsの同位体ラベル内部標準物質を加え、2段階のシリカゲルカラムクロマトグラフィーとゲル浸透クロマトグラフィーで精製を行った。その後、GC-IT-MS及びGC-ECDにてPOPsの同定、定量を行った。

#### 4. 研究成果

##### (1) マイクロプラスチック量の野外比較解析

厚岸海域のマイクロプラスチック量は、堆積物の乾燥重量1kg中の個数で平均3.7であり、同様の方法で調べた7海域の値(2.3~60.0)の中では低い方であった(図2)。また、堆積物乾燥重量に占める割合では、0.02%以下であり、既存の報告例(0.005~7.4%)の中でも低かった。マイクロプラスチックの形状はファイバー状、フィルム状、発砲プラスチック、粒子状、破片状、球状など多様であったが、厚岸ではファイバー状のものが最も多かった(図2)。これは、漁業活動が盛んな海域で共通しており、現地で利用している漁網などから由来していることが推察された。

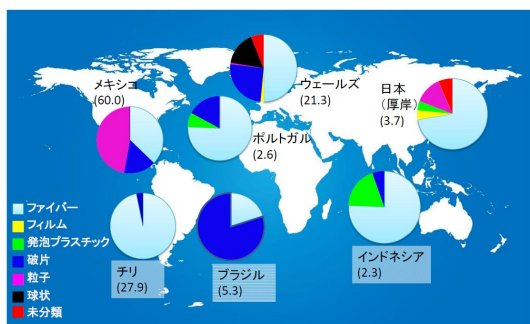


図2：共通の手法で調べられた世界各地の海岸におけるマイクロプラスチックの量(括弧内の数値)と形状の割合(円グラフ)。量は堆積物の乾燥重量1kg中の個数で示す

##### (2) マイクロプラスチック汚染と水温上昇の相互作用の検証

ムラサキイガイの濾過率、偽糞排出量、呼吸率、BCIには、いずれも水温とマイクロプラスチック濃度の有意な相互作用が検出された。すなわち、マイクロプラスチックの影

響は水温により異なっていた。

濾過率、偽糞排出量については、水温が高い実験区ほどマイクロプラスチック濃度の負の効果が増幅された(図3A)。このことより今後世界中の海で進行が予測される地球温暖化とマイクロプラスチック濃度の増加は、相乗的にマクロベントスに負の影響を与えることが示唆される。

一方、呼吸率については、水温が低い実験区ほどマイクロプラスチック濃度の負の効果が増幅された(図3B)。これには高温では水温が呼吸に与える影響が大きいため、マイクロプラスチック濃度の影響が相殺されている可能性が指摘される。

BCIについては中間の水温でマイクロプラスチックの正の効果が検出された。この結果がどのようなメカニズムでもたらされたかについては不明である。

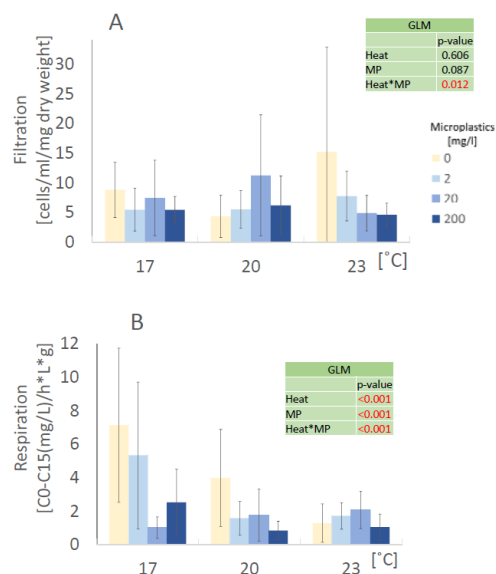


図3：水温とマイクロプラスチック濃度を操作した飼育実験によるムラサキイガイの濾過率(A)と呼吸率(B)の変異

##### (3) マイクロプラスチックおよびPOPs汚染の複合影響の検証

プラスチックビーズのPOPsの吸着率は疎水性に関わらず0-10%程であった。ペレット由来の夾雑物がゲル浸透クロマトグラフィーで完全に除去していない可能性があり、その夾雑物の影響により十分に吸着が行われなかったと考えられる。今後ペレット抽出液の精製法の検討が必要である。

17の海水に3日間POPsを吸着させたプラスチックを入れた時のプラスチックから海水へのPOPs溶出率は、疎水性に関わらず20-50%程であることが分かった。これはプラスチックビーズの粒径が125-150µmと小さいため、POPsがビーズの表面に吸着していても中には浸み込まず海水に溶け出ていることが考えられる。実環境で見られるようなPOPs吸着方法の検討が必要である。

ムラサキイガイについて次に day0 と day15 の Control、High の生殖腺中の BDE47 をみると、day15 の High で BDE47 が増加する傾向が見られた(図 4)。

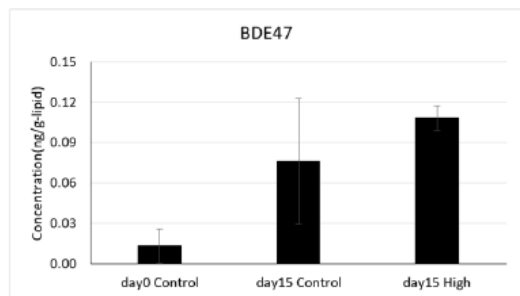


図 4 . ムラサキイガイの生殖腺中の BDE47 の濃度の変異。左は実験開始前、中央は実験終了後の対照区、右は実験終了後の暴露区での平均と標準偏差(バー)を示す。

#### (4) 得られた成果の位置づけと今後の展望

本研究により沿岸域におけるマイクロプラスチック量および形状は多様であり、沿岸海域の人間活動の影響を受けることが明らかになった。また、マイクロプラスチックとそれに含まれる POPs は海洋ベントスにさまざまな影響を与えることが明らかになったが、その結果は対象生物や海域により大きく異なっており、より多様な環境、より多くの種に対する知見を集積することが必要であることも判明した。また本研究により、マイクロプラスチックや POPs の定量法などの技術的課題、海洋ベントスの成長段階に伴う影響の変化や、食物網を通じた POPs の生物濃縮効果との相互作用の検証などの生態学的課題も明らかになった。このような課題を解決し、本分野のより広域な理解を目指すために、今後、多分野の研究者の連携による組織的な研究の推進が必要であろう。

#### 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)

仲岡雅裕 (2017) 国際研究教育プログラムを通じたマイクロプラスチック汚染の影響評価 . Endocrine Disrupter Newsletter 20 (3): 6 (査読無)

##### [学会発表](計 3 件)

櫻井澗・水川薫子・高田秀重・太田百音・仲岡雅裕、二枚貝へのマイクロプラスチックの曝露と留性有機汚染物質(POPs)の生物濃縮への影響、第 27 回環境化学討論会、2018

仲岡雅裕・須貝洋海・太田百音、マイクロプラスチック汚染が海洋ベントスに与

える影響、環境ホルモン学会第 31 回講演会、2017

太田百音・Vanessa Herhoffer・Mark Lenz・仲岡雅裕、Temperature-dependency in the effect of microplastic pollution on marine benthic animals、第 64 回日本生態学会大会、2017

##### [図書](計 0 件)

##### [産業財産権]

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

##### [その他]

ホームページ等

北海道大学北方生物圏フィールド科学センター厚岸臨海実験所ホームページ

<http://www.fsc.hokudai.ac.jp/akkeshi/>

東京農工大学環境資源科学科水環境保全学研究室 / 有機地球化学研究室

<http://web.tuat.ac.jp/~gaia/Index.html>

#### 6 . 研究組織

##### (1) 研究代表者

仲岡 雅裕 (NAKAOKA, Masahiro)

北海道大学・北方生物圏フィールド科学センター・教授

研究者番号：9 0 2 6 0 5 2 0

##### (2) 研究分担者

水川 薫子 (MIZUKAWA, Kaoruko)

東京農工大学・(連合)農学研究科(研究院)・助教

研究者番号：5 0 6 3 6 8 6 8

##### (3) 連携研究者

頼末 武史 (YORISUE, Takefumi)

北海道大学・北方生物圏フィールド科学センター・特任助教

研究者番号：5 0 7 6 6 7 2 2