

海洋プラスチックごみ学術シンポジウム

令和4年3月11日（金）

13:30-14:50 セッションC：生物・生態系影響

マイクロプラスチックの生態毒性と リスク評価

愛媛大学大学院農学研究科

鑑迫典久、岡崎友紀代

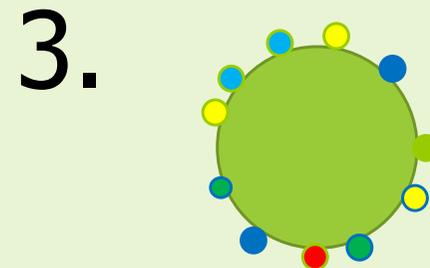
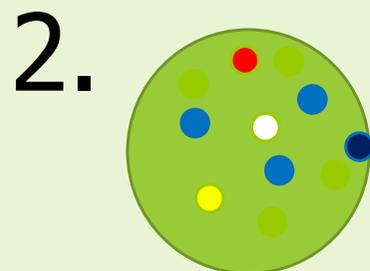
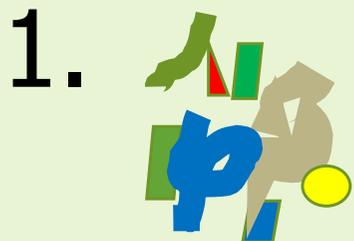
マイクロプラスチック（MP）の生態影響

想定される有害性

1. 腸管/鰓詰まり、腸粘膜擦過、刺切、圧迫など**物理的な悪影響**
2. 抗菌剤、難燃剤、未反応物などMP中の**内在化学物質が生物体内外で溶出**して影響する
3. 環境中の**疎水性化学物質**を吸着し、MPが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

2は、海洋中で2次MPができるまでの時間（数年）にすでに溶出されている。また、ハザードは既存の評価が使える。

3は、実際にベクター効果を示すには、限定的な条件下に限ると考えられる。



マイクロプラスチックの分類

- Plastic Microbeads
 - <1mm、球形、1次MP
 - facial cleanser, shower gel, toothpaste
- Microplastic
 - <5mm、形の定義なし、2次MP
- Microfibers
 - <2000 μm 、衣服、ポリエステル
- 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)

今回は、形状と表面状態を統一した被験試料（球形、新品、置換基の修飾無し）を用いて、水生生物（ミジンコ、メダカ）に対して物理的な影響が存在するかどうかを調べた。

実験1：真球のMPに物理的な生物影響は存在するか？

- 方法：ミジンコ (*Daphnia magna*) 急性遊泳阻害試験 OECD TG202
- 被験物質：水分散ポリスチレンマイクロプラスチックビーズ (Magsphere Inc.)、
直径0.2, 0.5, 1.0, 3.0, 10 μ m
- 上記品は、分散剤や殺菌剤などが含まれているため、遠心/浄水置換を3回以上行い、デシケーターで48時間乾燥させて重量を精密天秤で測定した。
- MPを試験水に投与し超音波洗浄機で30分分散させてからミジンコを曝露した。

実験2：MPの物理的な生物影響を明らかにする方法

- MPの物理的影響として、消化管閉塞による栄養吸収阻害が予測される。急性毒性試験は無給餌で行うため、栄養吸収阻害についてはわからず、通常は慢性毒性試験（TG211）がその検証に使われている。
- ここではミジンコ急性試験で試験終了後（48時間後）に餌（クロレラ）を与え、延長急性毒性試験を実施することで、栄養吸収阻害の有無を検出する。ミジンコは48時間の以上観察を続けると餓死するが、餌があれば死なない。
- TG202を延長して、給餌有り/無しの条件下で、直径 $100 < 300$ 、 1.0 、 $10 \mu\text{m}$ のMPを用いて試験した。

実験3：消化管閉塞とMPの大きさとの関係

- 方法：実験2の結果より、延長急性試験により消化管閉塞影響を検出できることが分かったので、サイズの異なるMPの影響差を明らかにする。
- ミジンコ急性試験で試験終了後に毎日餌（クロレラ）を与え、延長急性毒性試験を実施する。96時間後に遊泳阻害を観察する。
- TG202の延長試験を給餌有り/無しの条件で、直径1.0、10 μm のPSBを用いて試験した。

実験4：プラスチック種による物理的影響の差について

- サイズの異なるポリエチレンビーズ（PEB）を用いて、延長急性毒性試験を行い、PSBと比較した。
- 直径 $1\sim 4\mu\text{m}$, $27\sim 32\mu\text{m}$, $96\sim 106\mu\text{m}$ のPEBを用いた。給餌をして96時間目の遊泳阻害率から EC_{50} を求めた。

実験1 結果

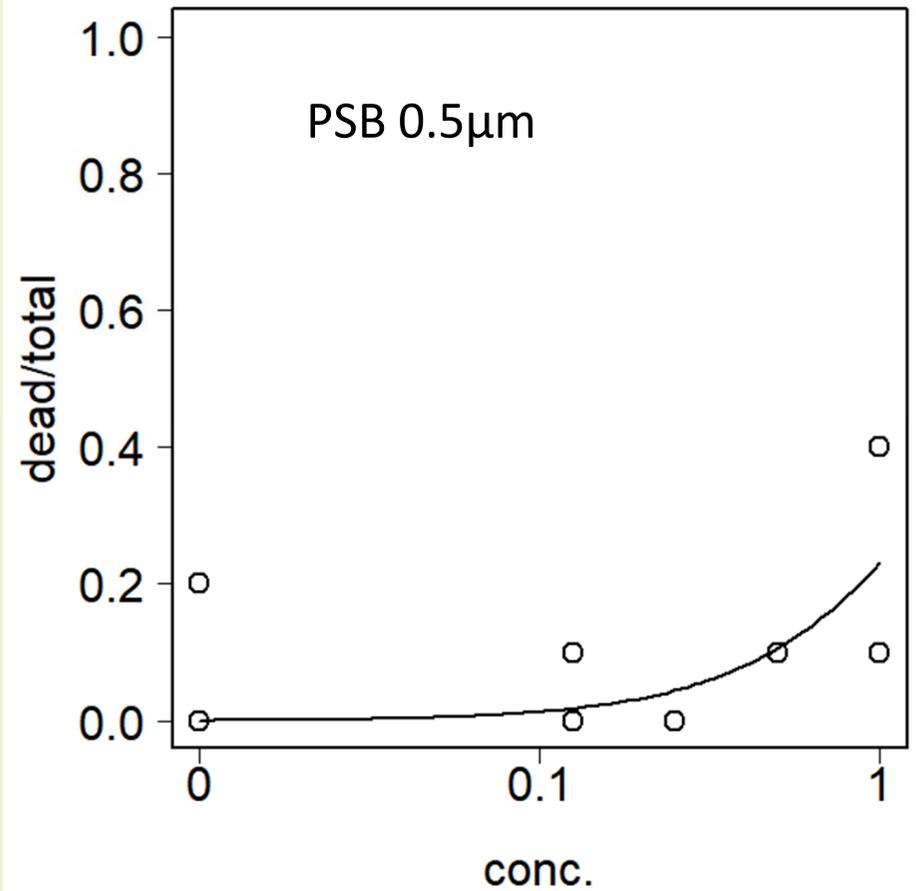
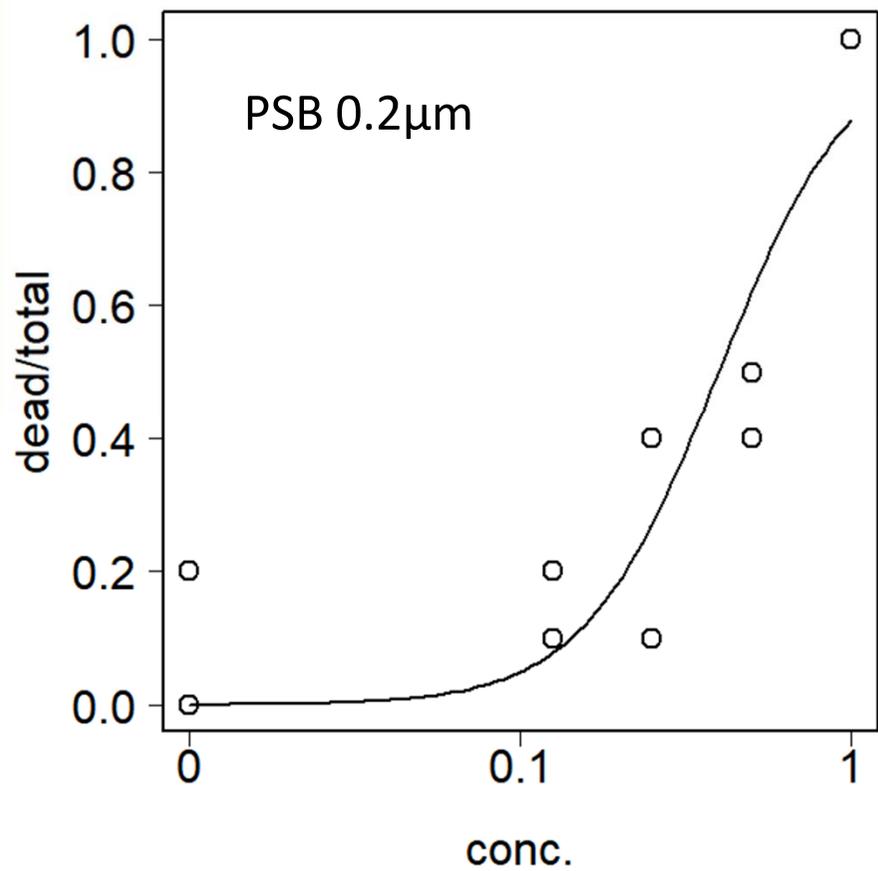


表、PSBのミジンコ急性遊泳阻害試験結果（48h）

PSBの直径 (μm)	PSB添加量 (mg/ml)	個数 (個/ml)	表面積 (mm ² /ml)	体積 (mm ³ /ml)	EC50値 (ppm)	95%CI
0.2	1~0.125	8.30×10^{10}	10400	0.347	396	290~0.50
0.5	1~0.125	3.94×10^{10}	30900	2.58	2450*	-0.96~5.87
1.0	1~0.125	2.01×10^9	6320	1.05	>1000	---
3.0	1~0.25	7.45×10^7	2110	1.05	>1000	---
10	1~0.5	2.01×10^6	632	1.05	>1000	---

*外挿値

直径0.2と0.5μmのPSBはミジンコ遊泳阻害を示した。死亡個体の体表、触覚に多量のMPが付着していた。他は最高曝露濃度で急性影響を示さなかった。



PSBのミジンコ急性遊泳阻害試験結果



直径 $1\mu\text{m}$ 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。

実験2 給餌有無の試験結果



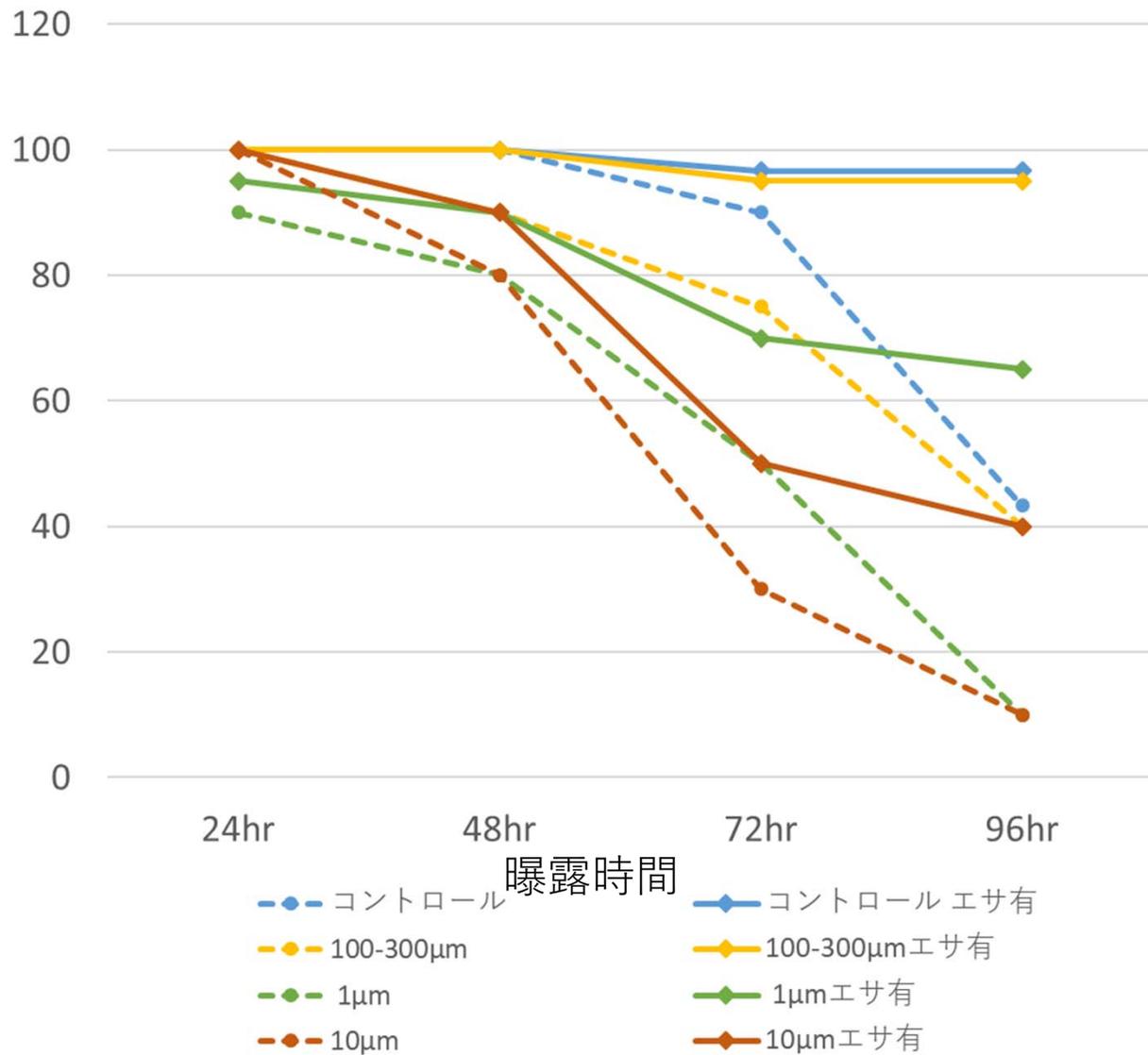
表、使用したPSB

PSBの直径 (μm)	PSB添加量 (mg/ml)	個数 (個/ ml)	表面積 (mm^2 /ml)	体積 (mm^3 /ml)
100 < 300*	0.67	168	21.2	0.70
10	0.33	6.64×10^5	208	0.35
1	0.033	6.64×10^4	208	0.035

*ポリスチレン容器をグラインダーで削り、篩にかけて100 μm メッシュ以上300 μm メッシュ以下の画分を集めた。

給餌によりコントロールおよび100 μm 以上のPSB区で死亡は認められなかった。100 μm 以上のPSBをミジンコは摂食できない。1および10 μm のPSBは給餌してもコントロールより死亡率が増加しており、消化管閉塞による栄養吸収阻害を検出できている可能性がある。

生存率 (%)



給餌有無の試験結果

実験3 PSBによる栄養吸収阻害結果



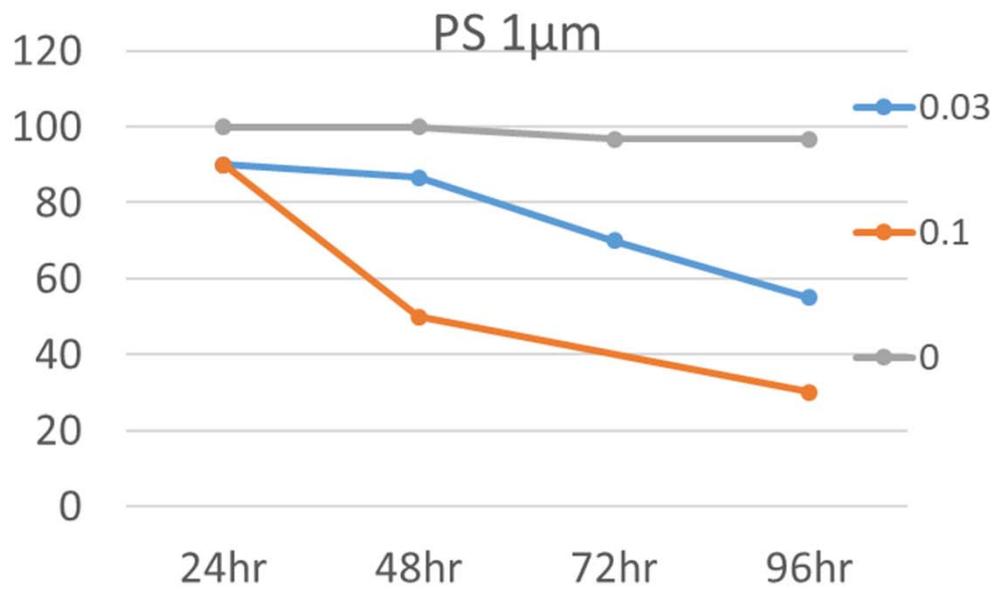
表、PSBの延長急性毒性試験（96h）

PSBの直径 (μm)	PSB添加量 (mg/ml)	個数（個/ ml)	表面積 (mm^2/ml)	体積 (mm^3 /ml)	EC50値 (ppm)	95%CI
10	1~0.33	1.89×10^7	5930	9.88	9390*	-23500 ~42300
1	0.1~0.033	7.99×10^7	250	0.0418	39.7	25.5~53.9

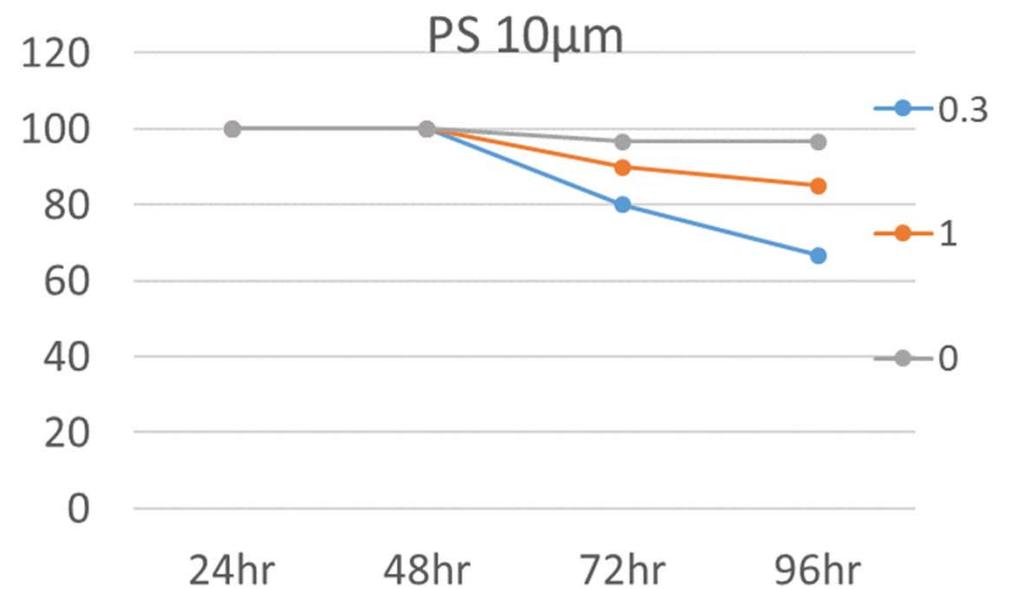
*外挿値

48時間までに死亡はない。

96時間で給餌コントロールは生存していた。1および10 μm PSBでは給餌しても死亡率が上がり、EC₅₀が検出できた。



曝露時間



曝露時間

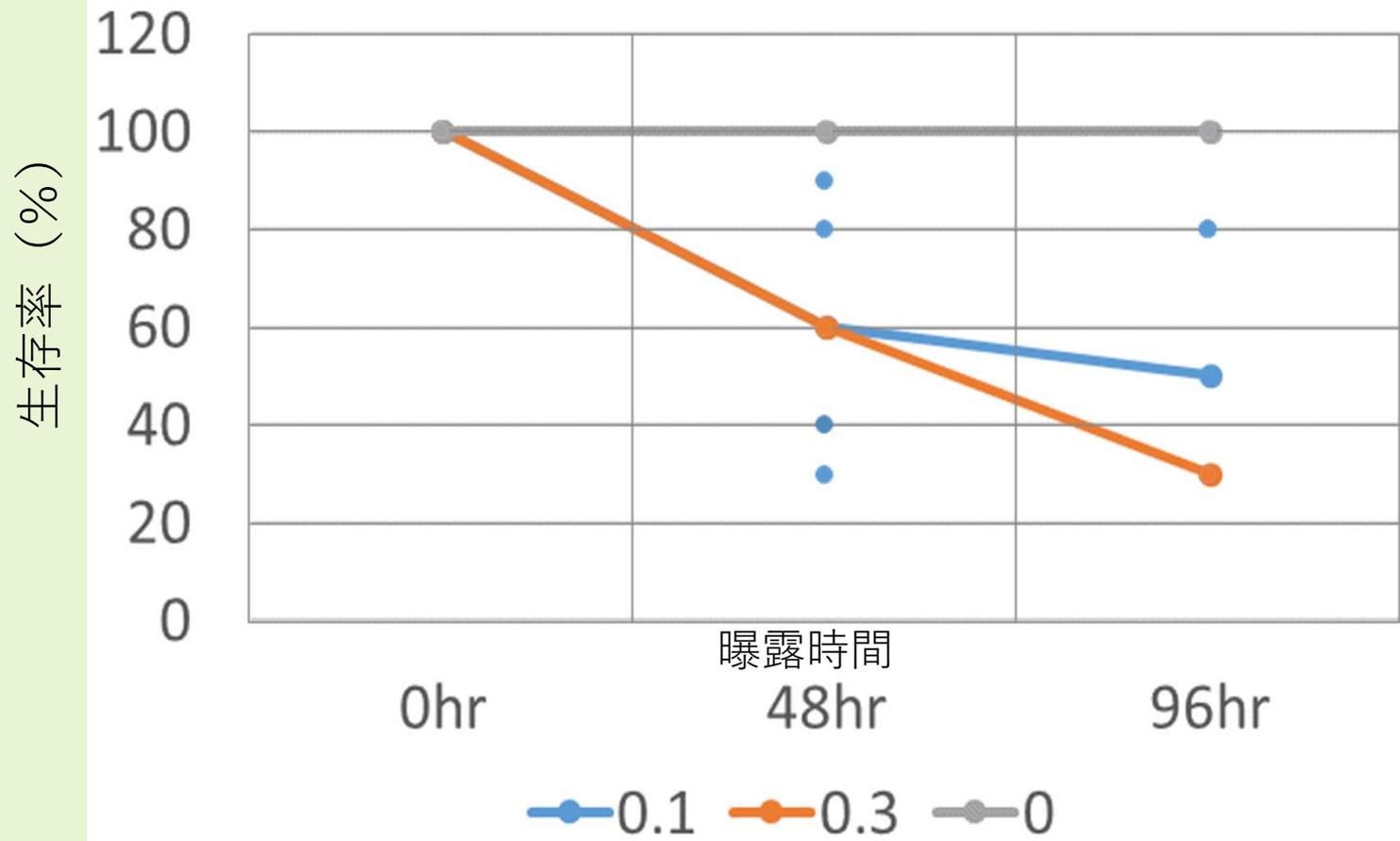
PSBの延長急性毒性試験結果（縦軸は生存率（%））

結果4

表、PEBの延長急性毒性試験（96h）

PEBの直径 (μm)	PSB添加量 (mg/ml)	個数（個/ ml）	表面積 (mm^2 /ml)	体積 (mm^3 /ml)	EC50値 (ppm)	95%CI
1~4	0.1~0.3	2.01×10^8 ~ 3.14×10^6	632 ~158	0.105	100	28.1 ~172
27~32	0.3~1.0	1.02×10^5 ~ 6.13×10^4	234 ~197	1.05	>1000	---
96~106	1.0~3.0	6.82×10^3 ~ 5.07×10^3	197 ~179	3.15	>3000	---

- PEBで消化吸収阻害の影響を調べた。1~4 μm でのみ影響が検出され、そのEC₅₀は100mg/Lであった。
- 実験3で、PSBのEC₅₀もほぼ同程度（直径1 μm で約40mg/L）であり、物理的影響はプラスチック種の違いを反映していないように思われる。



PEB (1~4 μ m) の延長急性毒性試験結果



蛍光ポリエチレンビーズ (30 μ m) 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

まとめ

- 直径 $1\mu\text{m}$ よりも小さいMPは、ブラウン運動で自発的に水中に懸濁し、ミジンコの体表に多量に付着して遊泳阻害を示す。
- 直径が $1\sim 10\mu\text{m}$ のMPは急性毒性を示さないが、大量に摂取すると消化管を閉塞し栄養吸収阻害を示す可能性がある。
- 直径が $10\sim 30\mu\text{m}$ のMPは、ミジンコ体内に摂取されるが、96時間では特に悪影響を示さなかった。
- 直径が $30\mu\text{m}$ 以上のMPではミジンコに取り込まれず、体表に付着もしないため、物理的な影響を検出できなかった。
- MPのサイズと生物への取り込みの関係によって、プランクトン捕食者に共通して、誤食を生じる可能性がある。
- ただし上記の物理的影響は、短時間で多量に取り込まれるかなりの高濃度曝露（取り込み速度 $>$ 排出速度）でないと発生せず、環境中濃度が低いため通常は発生しないと思われる。

謝辞

- LRI2018年度採択課題（18_R05-01）で得られたデータを使用しています。