

閉鎖性海域 大阪湾を モデルケースにしたMPの生態リスク評価

神戸大学

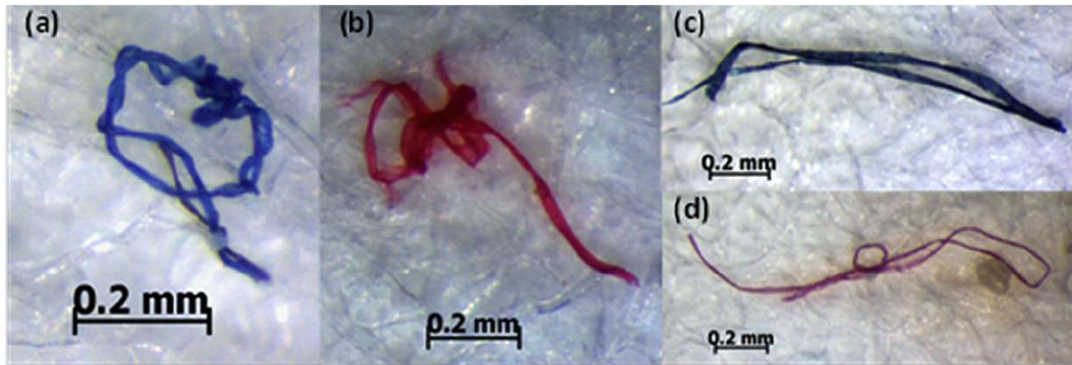
内海域環境教育研究センター
大学院海事科学研究科（兼務）

教授 堀江 好文

背景

マイクロプラスチックの水環境中残留に関する研究

マイクロプラスチック; > 大きさ 5 mm



Courtene-Jones et al., Environmental Pollution 2017

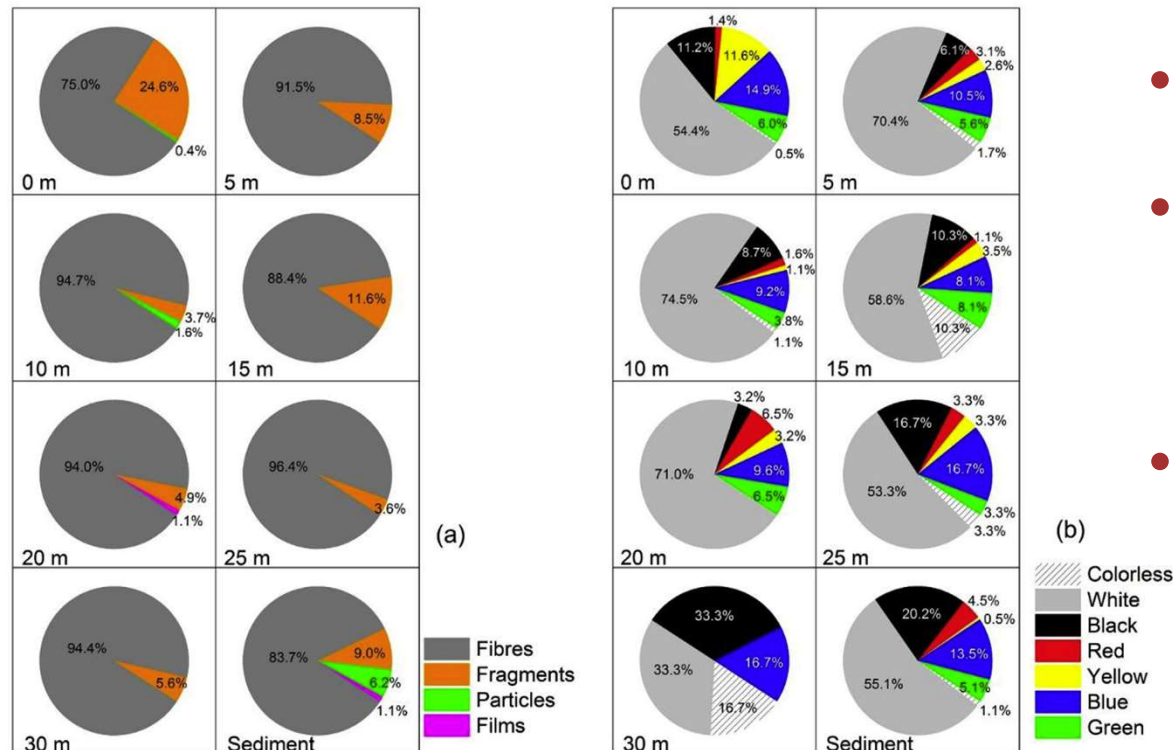


Fig. 3. Microplastic (a) shapes and (b) colors in the water column and sediments of the Bohai Sea. (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the Web version of this article.) Dai et al., Environmental Pollution 2018



- 様々な材質のMPが存在
- 様々な色のMPが存在
- 海や川、下水など様々な水環境下で発見されている
- 天然魚の消化管内からも透明・黒・青・緑・赤・黄色など、様々な色のMPが発見されて

いる

Bessa et al., 2018; Jawad et al., 2021; Kazour et al., 2020

予測環境中濃度/予測無影響濃度、種の感受性分布(SSD) など

例えば、化学物質の生態リスクを評価する場合には

1. 環境中の生物がどのくらいの量の化学物質にばく露されるかを推定する解析 → 化学分析
2. どれくらいの量の化学物質が、どれくらいの悪影響をもたらすかを推定する解析 → 生態毒性試験

生態毒性試験とは

- ① 試験生物の半数が死亡する濃度である半数致死濃度(LC50: 50% Lethal Concentration)
- ② 試験生物の半数に成長, 遊泳, 繁殖などに影響が出る濃度である半数影響濃度(EC50: 50% Effective Concentration)
- ③ 成長などに影響が出る最小の濃度である最小影響濃度(LOEC: Lowest Observed Effect Concentration)
- ④ 試験生物に影響が出ない最大濃度である無影響濃度(NOEC: No Observed Effect Concentration)

環境中濃度



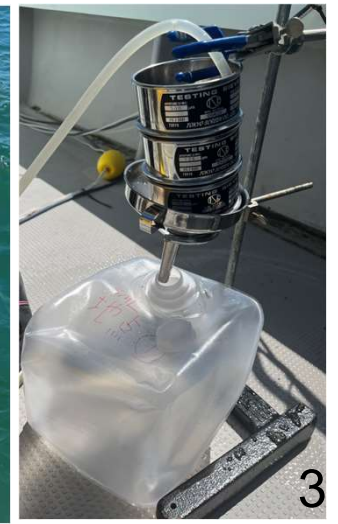
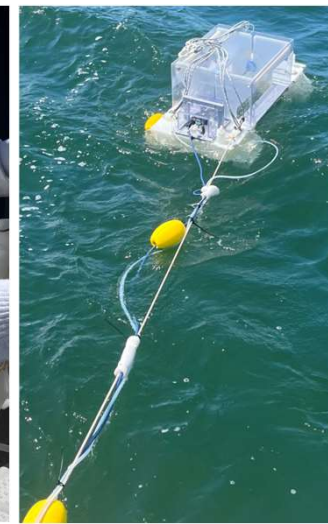
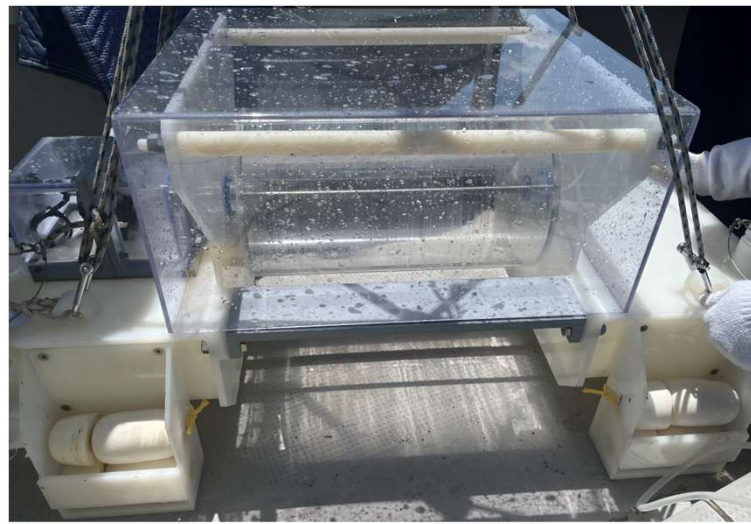
採取日(2023年)

5月24日、7月18日、
10月16日、12月20日

小型実習船舶「白鷗」



回転式ドラム採水器
を用いて海面表層の
海水を採取する



海面表層中から発見されたMPの個数と形状

Sampling site	Total (particles/10 L)	24 th May 2023
Site A	96 particles (Fragment 66、Fiber 29、Film 1)	
Site B	105 particles (Fragment 44、Fiber 57、Film 4)	
Site C	76 particles (Fragment 50、Fiber 22、Film 4)	
Site D	77 particles (Fragment 41、Fiber 34、Film 1、Bead 1)	

Sampling site	Total (particles/10 L)	18 th July 2023
Site A	238 particles (Fragment 150、Fiber 81、Film 7)	
Site B	316 particles (Fragment 193、Fiber 108、Film 14、Bead 1)	
Site C	191 particles (Fragment 101、Fiber 82、Film 5、Bead 3)	
Site D	169 particles (Fragment 108、Fiber 56、Film 、Bead 1)	

Sampling site	Total (particles/10 L)	16 th October 2023
Site A	167 particles (Fragment 137、Fiber 30)	
Site B	167 particles (Fragment 158、Fiber 33、Film 5、Bead 1)	
Site C	147 particles (Fragment 86、Fiber 57、Film 3、Bead 1)	
Site D	614 particles (Fragment 557、Fiber 53、Film 4)	

大阪湾から採取したMPの生態毒性試験

WET試験方式

「試験期間と観察項目はOECD TG 240を参考にする」

ただし、マイクロプラスチックは親魚から卵に移行することはないため、今回は省略

試験期間(週)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
---------	---	---	---	---	---	---	---	---	---	----	----	----	----	----	----	----

実験開始時: 25匹/5Lガラス水槽、4水槽/各群

F0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
----	---	---	---	---	---	---	---	---	---	----	----	----	----	----

繁殖: 3ペア/水槽



• 孵化率

解剖: 7匹/水槽

解剖: 7匹/水槽

- 全長、湿重量
- 二次性徴(乳頭状小突起)
- 生殖腺の組織学的観察

解剖: 5匹/水槽

解剖: 6匹/水槽

- 産卵数
- 受精率

採卵

- 消化管内のMP残留の有無(顕微FT-IR)

ばく露する試料

- 対照区
- 2023年に大阪湾で採取したマイクロプラスチック
- 自然由来の微粒子として、花粉(スギ)と火山灰(2 mg/L濃度)
- ビスフェノールA(3.2 mg/L濃度)

F1	1	2
----	---	---

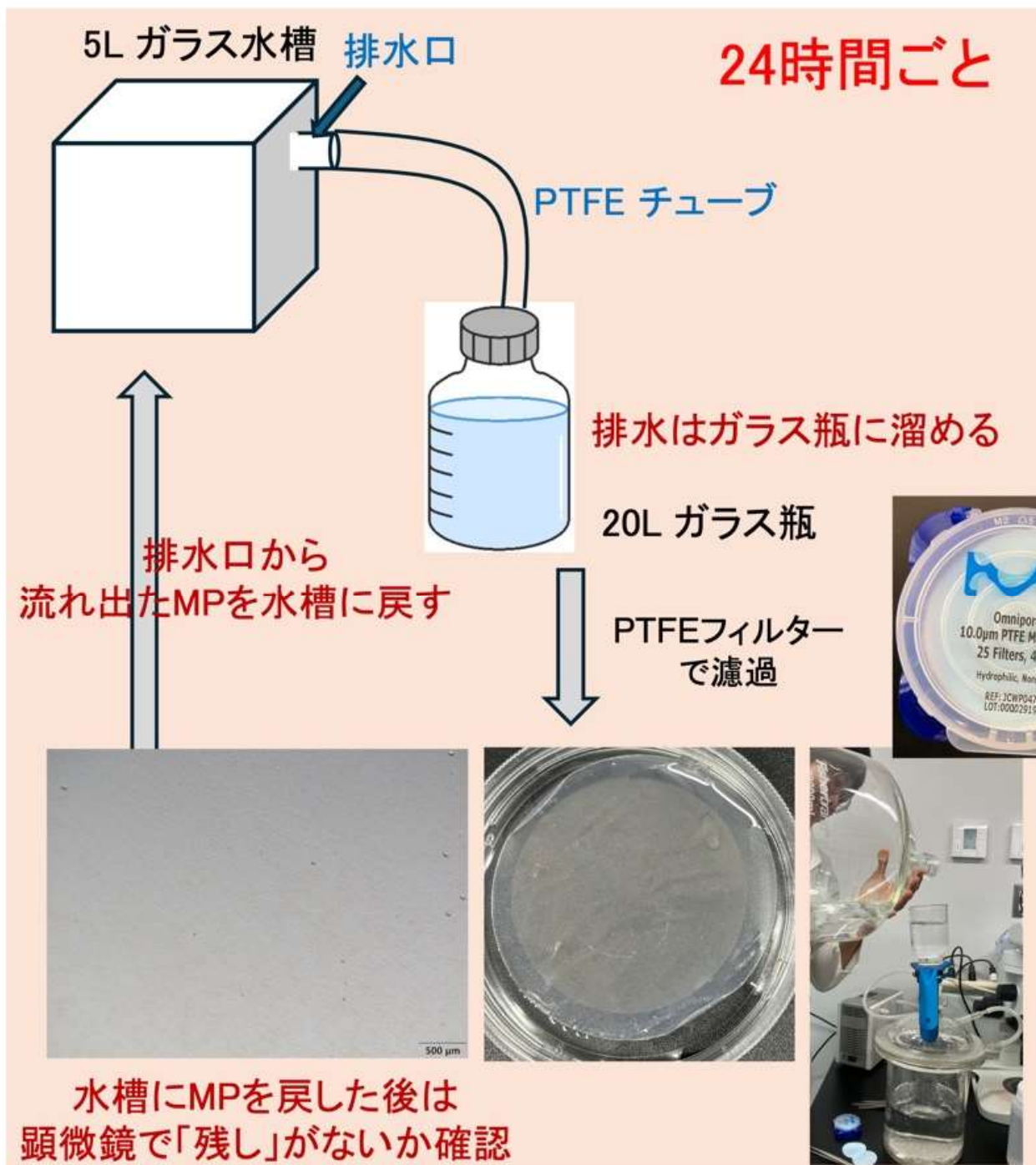


• 孵化率

LC/MSを用いたBPAの実測濃度

測定週	1週目	2週目	3週目	4週目	5週目	6週目	7週目	8週目	9週目	10週目	11週目	12週目	13週目	14週目	平均濃度
BPA実測濃度(mg/L)	2.26	2.32	2.34	2.35	2.33	2.33	2.32	2.23	2.26	2.27	2.25	2.37	2.38	2.41	2.32

ばく露試料は排水せずに循環させる



ばく露試料MPを
排水せずに循環させる

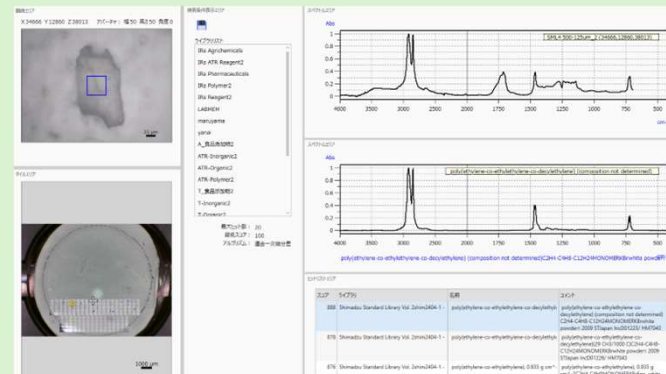


マイクロプラスチックばく露量

2週に1回

水槽中のマイクロプラスチックを確認

ばく露13週、15週目の試料は現在解析中



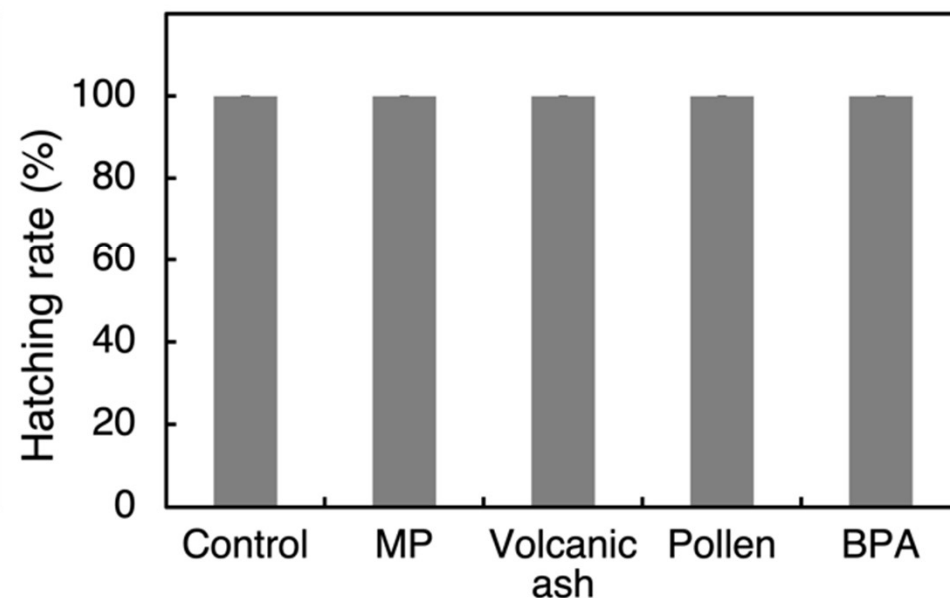
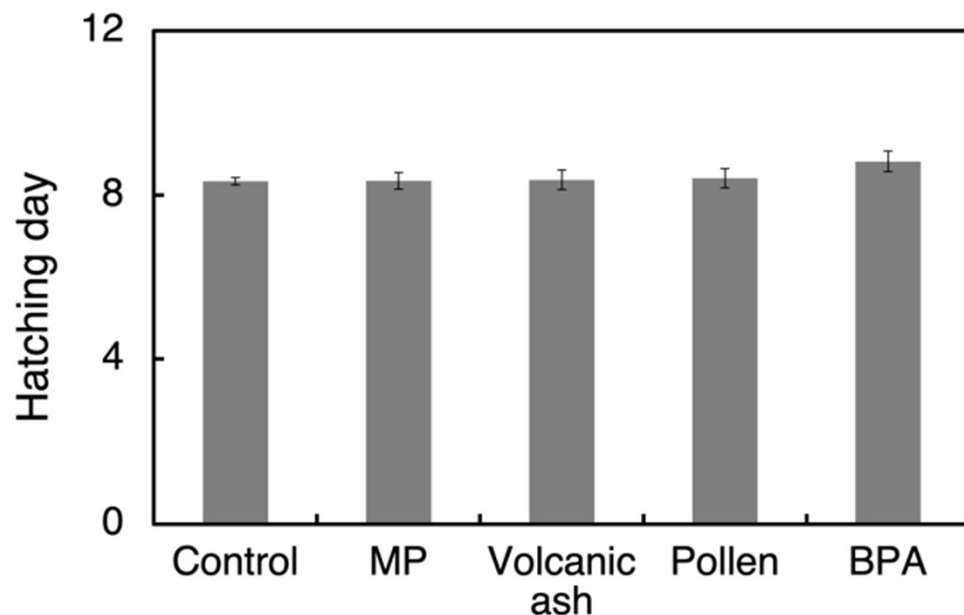
	ばく露1週目 (2023年5月採取)			ばく露5週目 (2023年5月採取)			ばく露9週目 (2023年5月採取)		
	全粒子 (個数)	MP (個数)	MP含有率	全粒子 (個数)	MP (個数)	MP含有率	全粒子 (個数)	MP (個数)	MP含有率
水槽1 (Site Aから採取)	425	96	22. 6%	1, 284	112	8. 7%	2, 196	410	18. 7%
水槽2 (Site Bから採取)	653	105	16. 1%	1, 377	165	12. 0%	2, 730	850	31. 1%
水槽3 (Site Cから採取)	476	76	16. 0%	1, 215	143	11. 8%	1, 857	520	28. 0%
水槽4 (Site Dから採取)	746	77	10. 3%	1, 558	221	14. 2%	4, 067	1, 744	42. 8%
	ばく露3週目 (2023年7月採取)			ばく露7週目 (2023年7月採取)			ばく露11週目 (2023年7月採取)		
	全粒子 (個数)	MP (個数)	MP含有率	全粒子 (個数)	MP (個数)	MP含有率	全粒子 (個数)	MP (個数)	MP含有率
水槽1 (Site Aから採取)	661	243	36. 8%	4, 904	806	16. 4%	1, 415	101	7. 1%
水槽2 (Site Bから採取)	740	315	42. 6%	1, 317	341	25. 8%	5, 436	319	5. 8%
水槽3 (Site Cから採取)	762	191	25. 1%	943	233	24. 7%	480	19	3. 9%
水槽4 (Site Dから採取)	1, 188	169	14. 2%	2, 427	514	21. 1%	1, 943	182	9. 3%

黄色マーカー: 通常、ばく露試料は2枚のPTFEフィルターに別けて、顕微FT-IRで測定・解析しているが、黄色マーカーの試料については、(測定時間が足りず)1枚のフィルターしか測定・解析できていない。

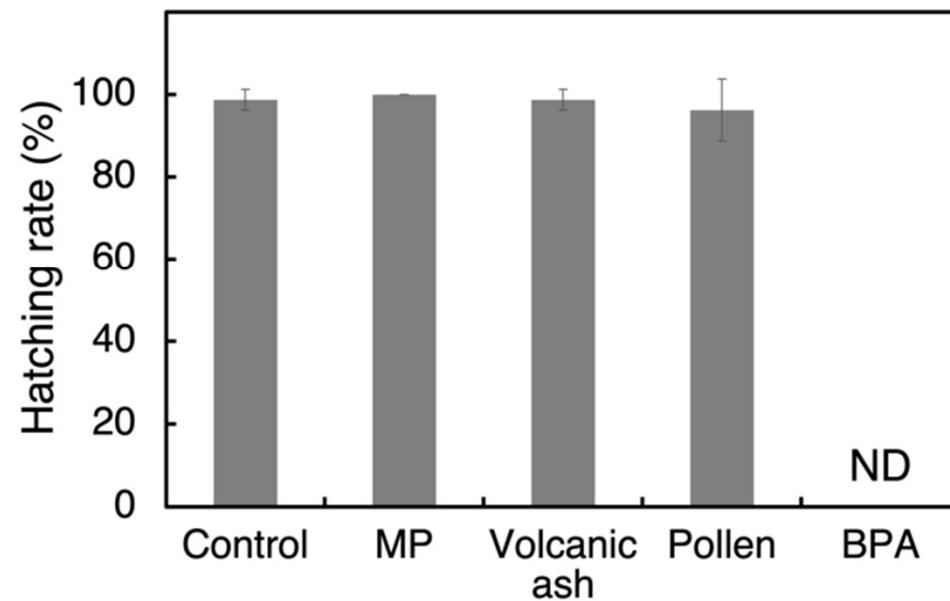
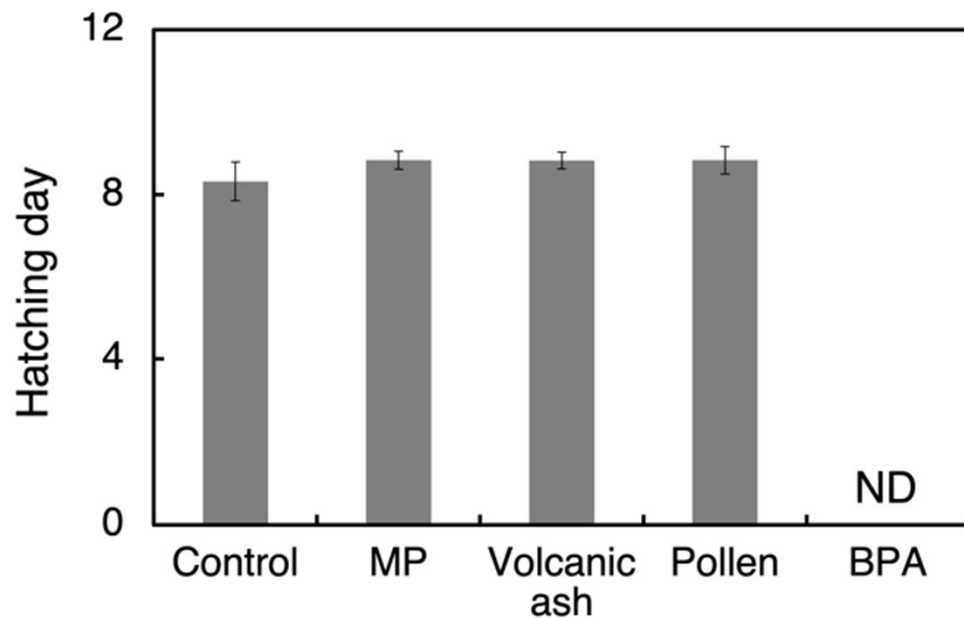
結果：胚発生・孵化への影響

F0

n=4, NDはデータなし

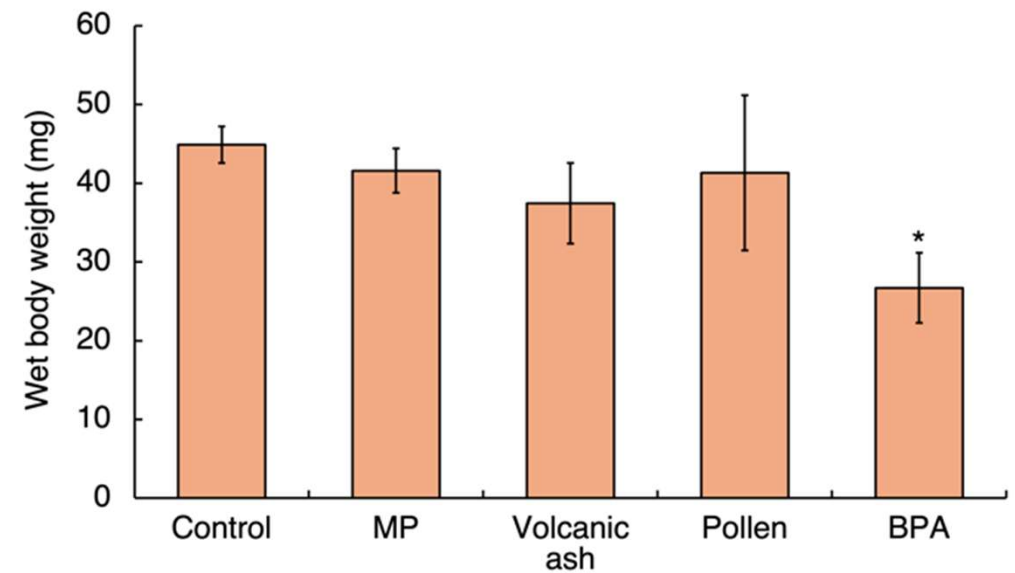
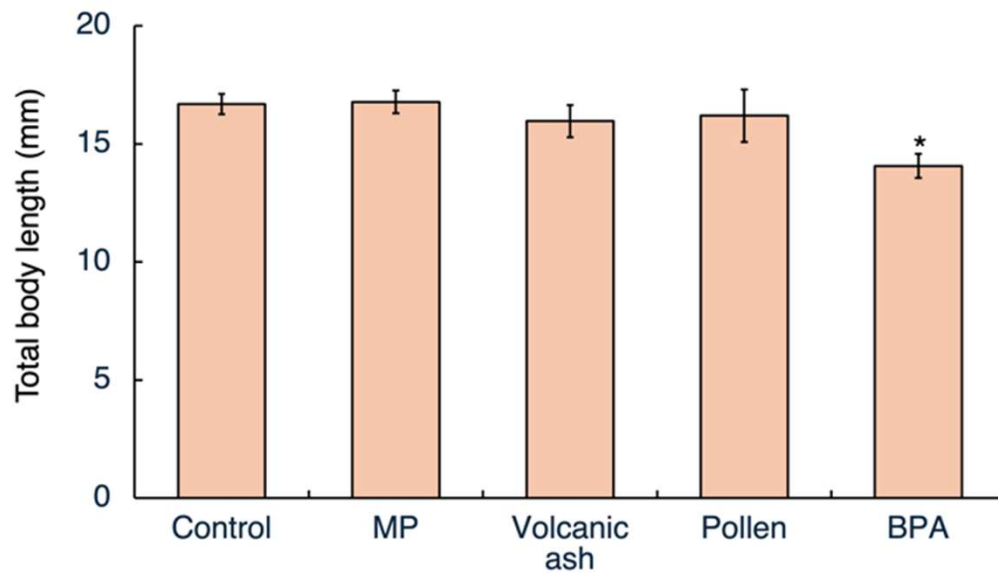


F1

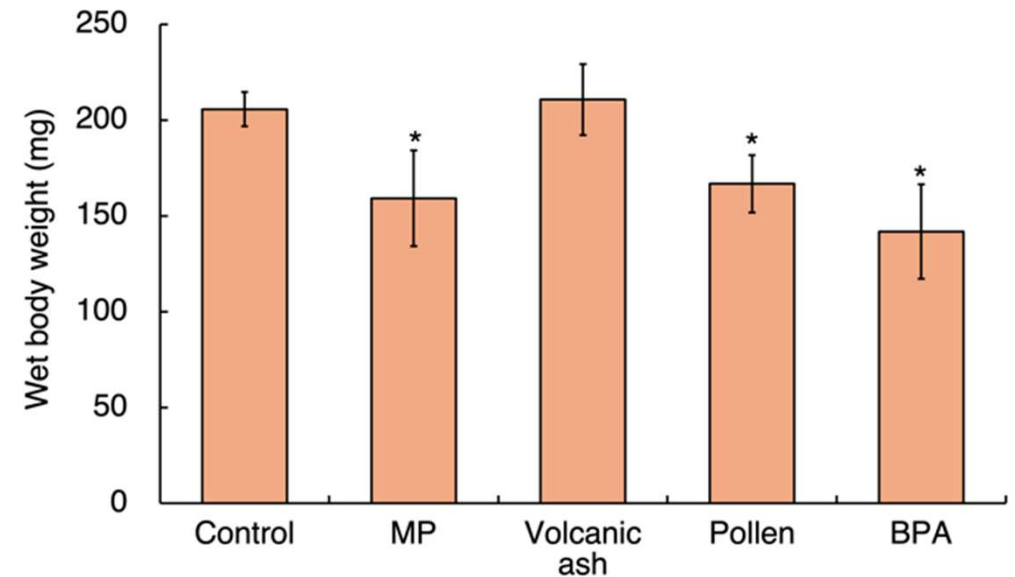
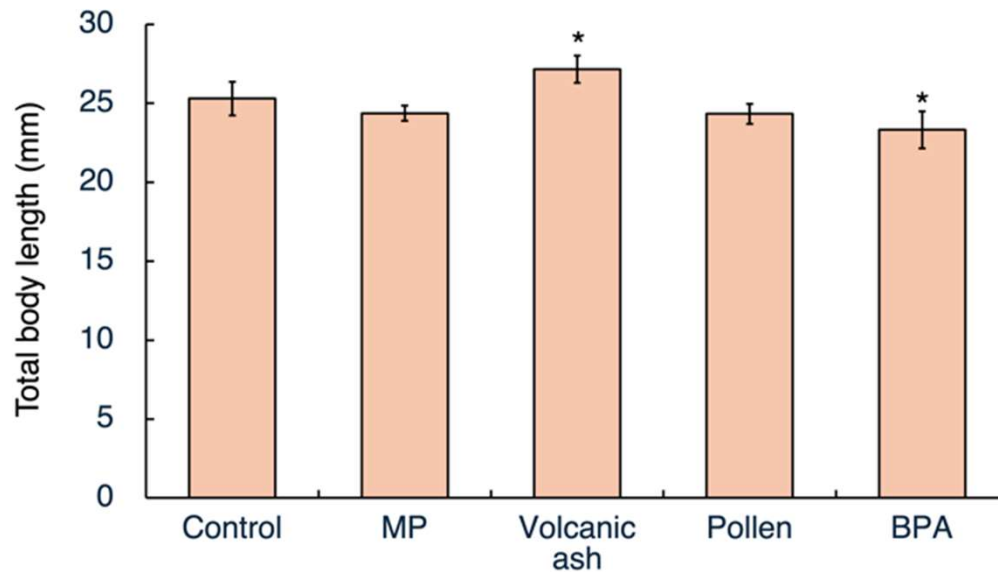


結果：全長・湿重量への影響

受精後6週齢



受精後10週齢



n=4, *は対照区と比べた際の統計学的有意差 ($p < 0.05$)を示す

結果：オスの尻ビレに現れる乳頭状小突起

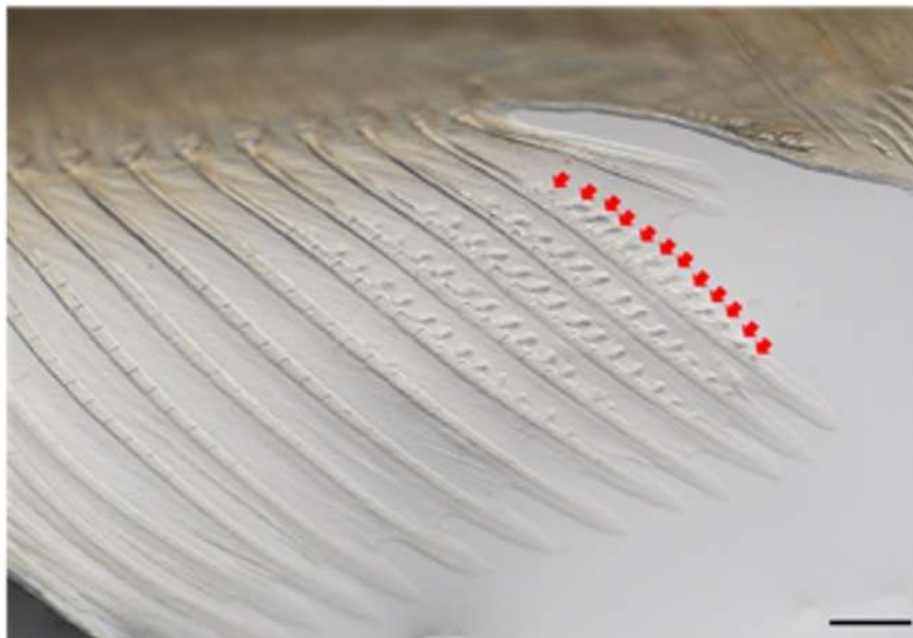
XY 受精後6週齡



XX 受精後6週齡



XY 受精後10週齡

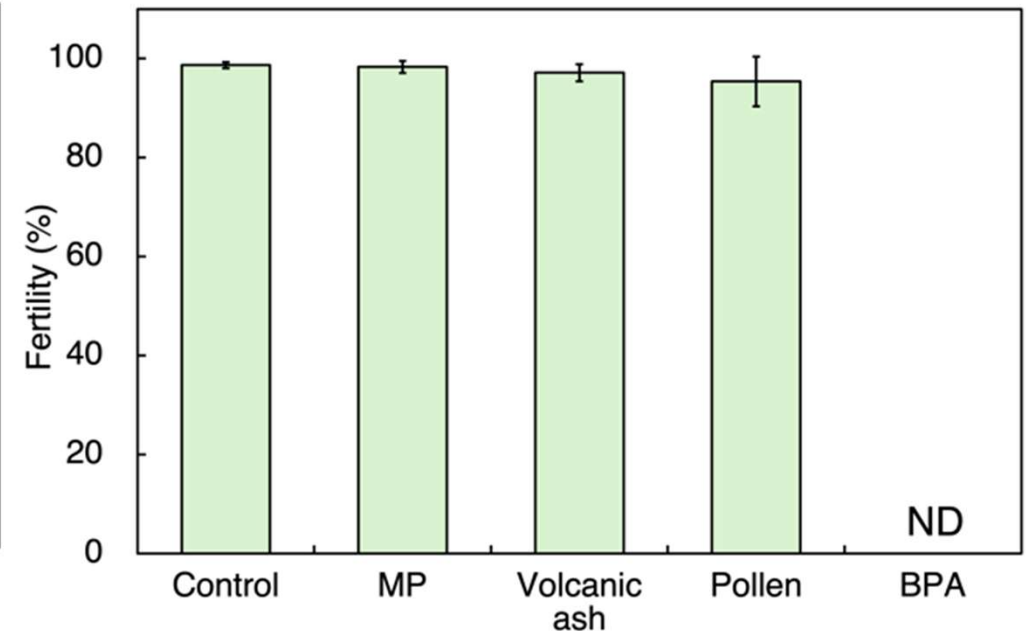
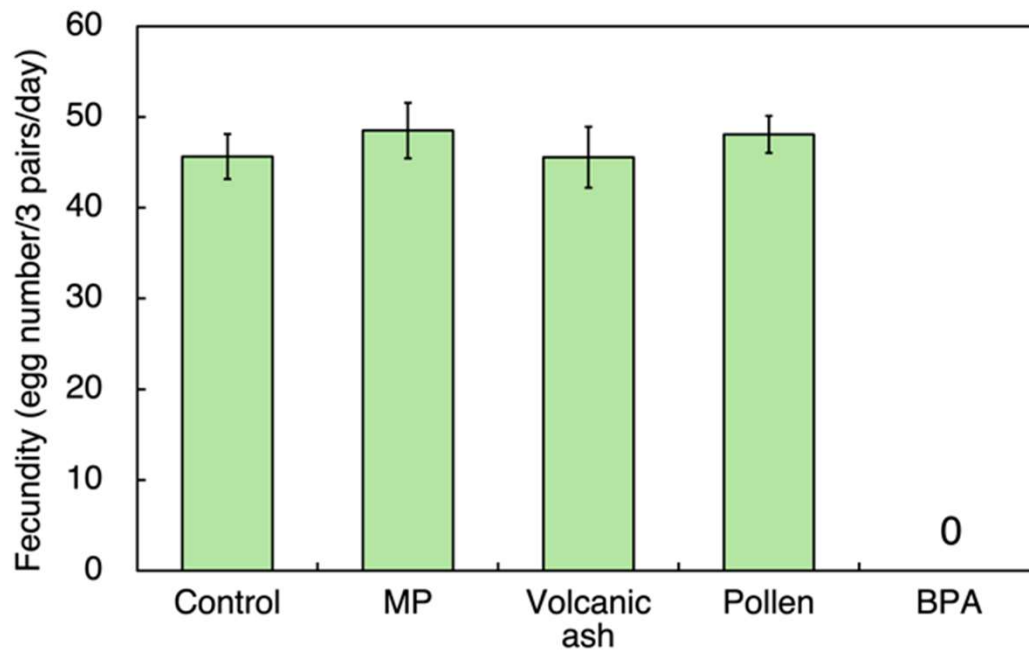
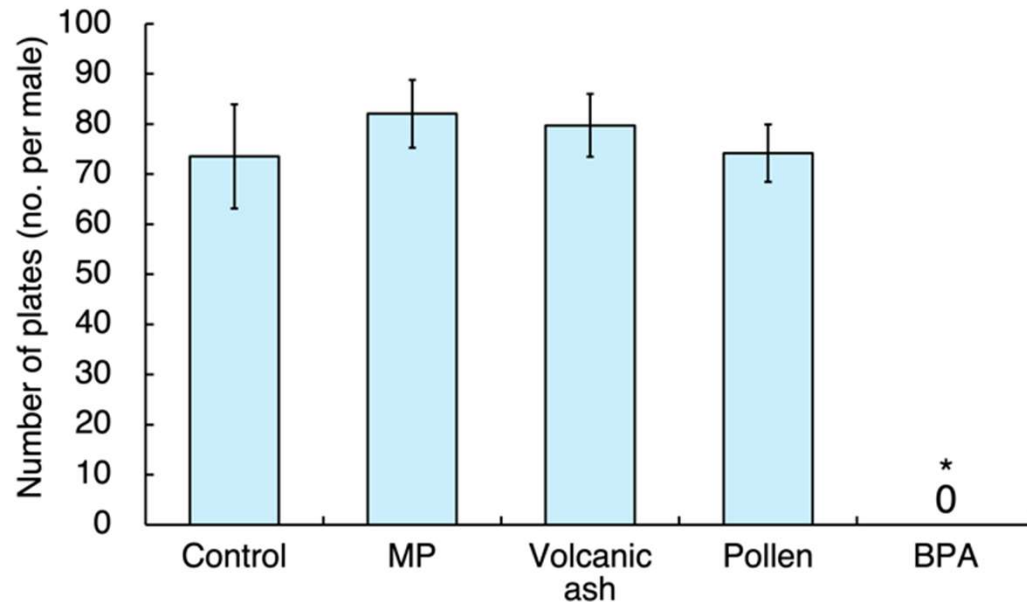


XX 受精後10週齡



結果：乳頭状小突起・繁殖への影響

n=4, *は対照区と比べた際の統計学的有意差 ($p < 0.05$)を示す



結果：生殖腺の性分化への影響

週齢	ばく露群	n	遺伝的性別	生殖腺			性転換率 (%)		遺伝的性別	生殖腺			性転換率 (%)
				卵巣	精巣卵	精巣				卵巣	精巣卵	精巣	
6	Control	28	6	6	0	0	0		22	0	0	22	0
	MP	28	11	11	0	0	0		17	0	0	17	0
	Volcanic ash	28	12	12	0	0	0		16	0	0	16	0
	Pollen	27	9	9	0	0	0		18	0	0	18	0
	BPA	28	19	19	0	0	0		9	9	0	0	100
10	Control	27	11	11	0	0	0		16	0	0	16	0
	MP	27	12	12	0	0	0		15	0	0	15	0
	Volcanic ash	28	14	14	0	0	0		14	0	0	14	0
	Pollen	28	10	10	0	0	0		18	0	0	18	0
	BPA	28	21	21	0	0	0		7	7	0	0	100
14	Control	24	12	12	0	0	0		12	0	0	12	0
	MP	24	12	12	0	0	0		12	0	0	12	0
	Volcanic ash	24	12	12	0	0	0		12	0	0	12	0
	Pollen	24	12	12	0	0	0		12	0	0	12	0
	BPA	—	—	—	—	—	—		—	—	—	—	—

WET試験方式のまとめ

①胚発生

→ 孵化までに要する日数、孵化率に影響なし

②成長

→ 受精後10週齢で湿重量は低下したが、全長に影響なし

③二次性徴

→ 乳頭状小突起の形成に影響なし

④生殖腺の組織学的観察

→ 生殖腺の性分化に影響なし

⑤消化管内のマイクロプラスチック残留

→ 今後解析予定。

⑥繁殖

→ 産卵数、受精率に影響なし

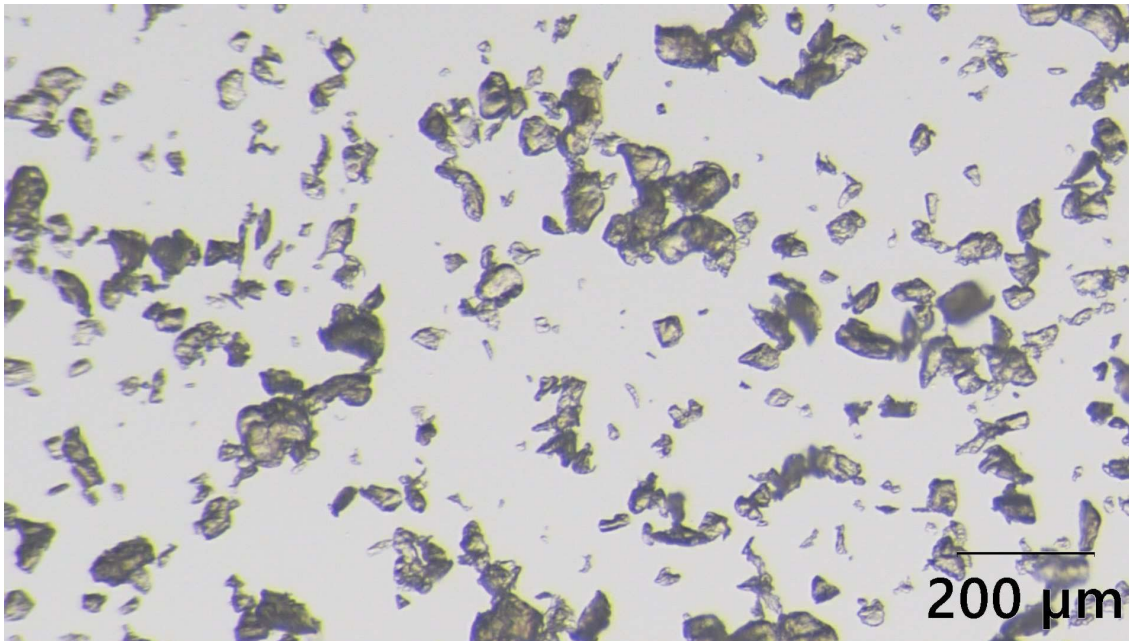
⑦生存

→ 生残率に影響なし

大阪湾から採取したマイクロプラスチックをメダカに長期間ばく露しても影響は認められない

PPを用いた生態毒性試験

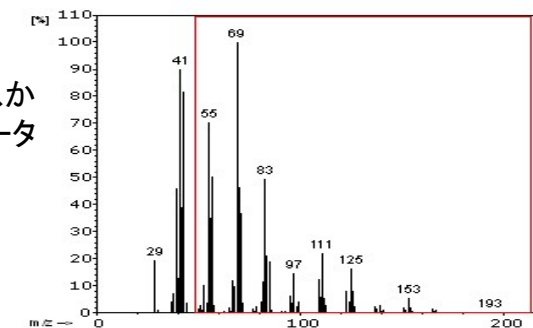
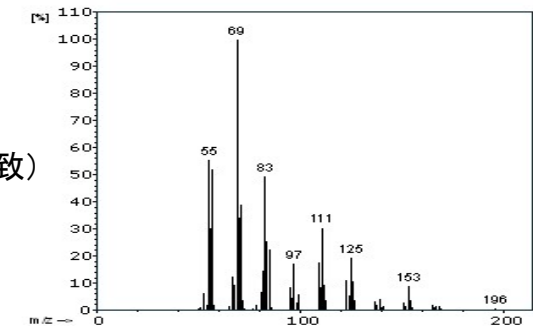
現在行っている研究



PY-GCMS分析

Polypropylene ; PP 事前分析
積算MSフラグメントピーク

実測データ
(データベースと一致)



データベースから
の参照データ

【分析条件】

PY-3030D

Pyrolysis temp.: 600 °C

Interface temp.: 300 °C

GC

Pre column:Ultra ALLOY-50, Main column:Ultra ALLOY+-5

INJ : 300°C, Split ratio : 1/100, Constant pressure : 75kPa

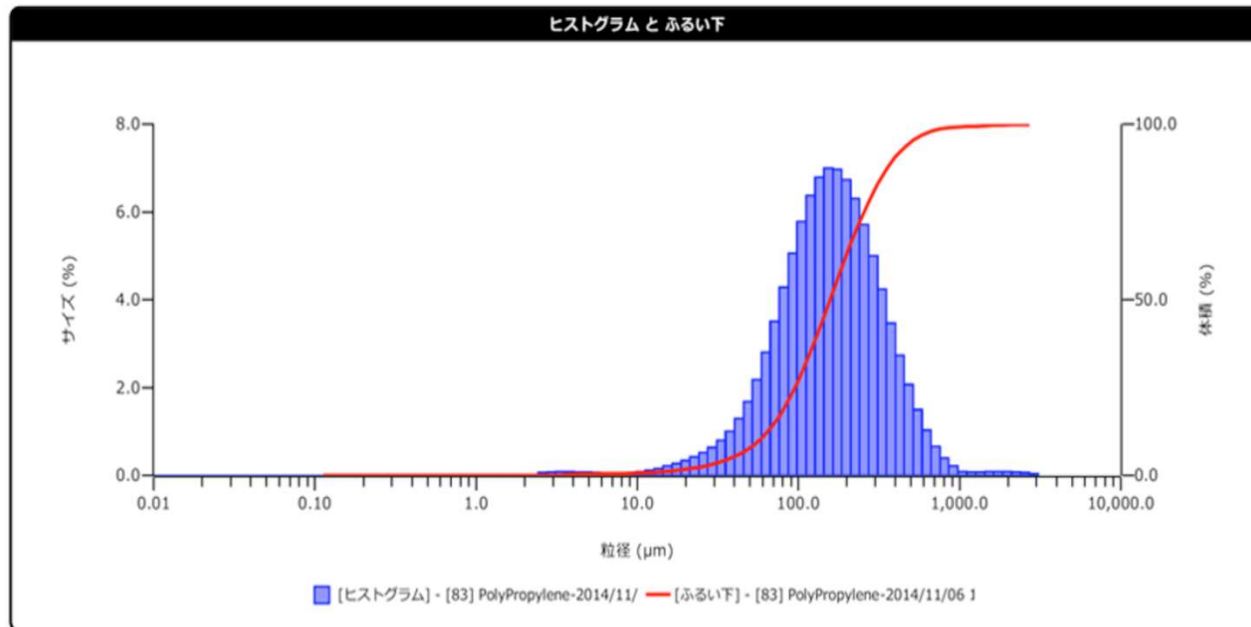
Oven temp. : 50°C-(20°C/min.)-320°C(5min.)

MS(QP-2050)

Interface temp.: 300 °C, Ion source temp. : 230 °C

SCAN mode(m/z : 50-350)

Sample amount : 0.26mg



試験期間と観察項目はOECD TG 240を参考



ばく露量は週に1回測定し、熱分解GC-MSを用いて定性分析についても行う

