

令和2年度報告書

課 題 名	海洋プラスチックを摂食した魚介類の生態的情報等の調査
機 関 名 担当者名	水産研究・教育機構 水産技術研究所 環境保全部 化学物質グループ 大久保信幸、河野久美子、伊藤真奈、羽野健志 生産技術部 技術開発第一グループ 米田道夫

1. 目的

プラスチックごみが細かく碎けて海洋に散在するマイクロプラスチック（5mm以下のプラスチック片、以下MPと略）は、海水中の有害化学物質を吸着し、高濃度に濃縮した形で海洋生物に取り込まれることが懸念されていることから、海洋生態系への新たな脅威となっている。本研究では、日本沿岸域で検出が報告されている材質、サイズのMPを用い、海洋の重要な生物資源である海産魚による取り込み量や魚体内における滞留時間、およびMPに吸着した化学物質の生物体内での挙動等について実験を通じて明らかにすることで、MPが海産魚類に与える影響（化学物質の移行、成長阻害など）を調査し、生態リスク評価に資することを目的とする。

2. 年度計画

本事業では、MPが海産魚類に与える影響の評価に必要なデータを収集するため、（1）MPの体内滞留時間の測定等、（2）MPに吸着した有害化学物質の魚介類消化管内における溶出量の推定等に関する試験を以下の計画で実施する。対象魚種は、毒性試験のモデル海産魚であるマミチョグ、または水産重要種であり、摂餌生態の異なるマダイ、カタクチイワシを用いる。また、使用するMPは、日本沿岸域で検出の報告例があり、かつ魚類の消化管内に取り込まれることが報告されているサイズ（300 μm 前後）、および材質（ポリエチレン）のビーズを主に用いる。海水中溶存化学物質として、化石燃料の燃焼や流出油などに由来する多環芳香族炭化水素類（PAHs）を対象とする。

3. 細部課題の構成

（1）MPの体内滞留時間の測定等に関する試験

MPのサイズや海産魚類の食性の違いによる影響を解明するため、今年度は主に幼若なステージの海産魚を用いてMP曝露試験を実施し、MP摂取量、体内滞留時間を明らかにする。また長期MP投与による海産魚の仔魚または稚魚の栄養状態の悪化、成長阻害等の影響を評価するための試験法を開発する。

（2）MPに吸着した有害化学物質の魚介類消化管内における溶出量の推定等に関する試験

マダイにおけるMP摂取量、MPへの有害化学物質の吸着量、溶出速度等の実験データ及び文献調査等で得られた情報に基づき、海産魚類消化管内での溶出量を数値計算にて推

定する。なお、用いる MP は H30、31 年度当該事業と同様とし、MP の消化管での滞留時間は細部課題（1）の結果を参考にする。

4. 2年度細部課題計画

（1）MP の体内滞留時間の測定等に関する試験

①これまでより幼若なステージのマミチョグまたはカタクチイワシを用い、MP サイズや試験条件等、体内滞留時間の測定のための最適な試験条件を絞り込んだ後、MP の取り込み・排泄試験を実施し、MP の摂取量、消化管内滞留時間の測定を試みる。この結果を H30、31年度に測定した MP 摂取量、消化管内滞留時間等と比較する。

②飢餓耐性が低く、影響を受けやすいと考えられる仔魚期～稚魚期のマミチョグを用い、MP を継続的に曝露する方法を確立し、曝露による成長遅延等の影響を評価する手法を開発する。

③平成30、31年度と異なるサイズ、または材質の MP を用い、マミチョグまたはマダイの曝露試験を実施し、MP の摂取量、消化管内滞留時間を明らかにする。これらの結果を30年度に実施した0.3 mm 前後の PE ビーズでの結果と比較し、MP の性状の差異と摂取量、消化管内滞留時間との関係を考察する。

（2）MP に吸着した有害化学物質の魚介類消化管内における溶出量の推定等に関する試験

当該事業を通して得られたマダイにおける MP 摂取量、消化管内滞留時間、MP への化学物質の吸着量、溶出速度等のデータ、および文献調査等で得られた情報等に基づき、消化管内での溶出量を数値計算により推定する。なお、数値計算に必要な溶出速度等のデータは生体外溶出試験により得たものを用いる。

また、化学物質を吸着させた MP を用いた曝露試験の実施に向け、実験に使用する魚種、MP のサイズ、MP に吸着する化学物質の種類（MP へ吸着濃縮され易く、かつ消化管内で溶出する物質を PAHs の中から選定）および濃度、曝露期間等の各種実験条件について、これまでの当該事業の成果や関連情報を元に予備的検討を開始する。

5. 結果の要約

（1）MP の体内滞留時間の測定等に関する試験

1) 海産魚仔魚を用いた MP 曝露試験

マミチョグ仔魚のふ化後日数と MP 取り込み数を検討したところ、ふ化後 2 日目の仔魚では MP の取り込みはほとんど認められなかった。ビーズの取り込み量は、曝露時間 2 時間と 4 時間で有意差は認められず、7 日目の仔魚での 4 時間曝露では 0.3 mm ビーズで 1.2 ± 0.5 個／個体（平均値±SE）、0.2 mm ビーズで 7.1 ± 2.4 個／個体、14 日目の仔魚ではそれぞれ 3.2 ± 1.3 個、 18.3 ± 6.7 個であった。7 日目、および 14 日目目の仔魚での 0.3mm ビーズ 4 時間曝露における取り込み数を、H30 年度に稚魚を用いた曝

露試験結果と比較したところ、個体ごとの取り込み数は稚魚よりも有意に低かったが ($p<0.01$)、体重 1 g 当りに換算すると有意差は認められなかった。

体内滞留時間測定のため、ふ化後 11 日目の仔魚を 500 mL ビーカーに収容して 0.2 mm ビーズの曝露時間と MP 取り込み数を検討した結果、仔魚の MP 取り込みは曝露 2－4 時間後に掛けて有意に上昇し ($p<0.01$)、6 時間目以降減少した。この結果は、マミチョグ稚魚における 0.3 mm ビーズの排泄時間に比べて遅いことが示唆された。

ふ化後 5 週齢のカタクチイワシ仔魚を用いた曝露試験では、仔魚の平均 MP 取り込み数は 0.2 個/個体と少なく、また取り込み率も 13% と低かった。仔魚の取り込みを、成魚を用いた曝露試験結果と比較したところ、個体ごとの取り込み数、および体重 1 g 当たり取り込み数共に、仔魚では成魚よりも有意に低かった ($p<0.01$)。

2) マミチョグ仔魚を用いた MP 継続曝露試験の検討

ふ化後 7 日目のマミチョグ仔魚を用い、仔魚への取り込みが確認された 0.2 mm ビーズを 2.5 mg/L で 2 週間、500 mL ビーカー内で生物餌料と共に半止水式で曝露した。その結果、MP 曝露後の仔魚の成長について対照区との間に有意差は認められなかった。なお、試験終了後の仔魚の全長、体重については、流水式水槽で育成しているマミチョグ仔魚との間に有意差は認められず、ビーカーによる試験方法に問題は無いと考えられた。

3) マミチョグ稚魚を用いた大型 PE ビーズ曝露試験

マミチョグ稚魚を用いて 0.3 mm、0.5 mm、0.8 mm のサイズの異なる 3 種類の PE ビーズを用いて取り込みを比較したところ、平均取り込み数に有意差は認められなかった。次に 0.8 mm PE ビーズの取り込み・排泄試験を行ったところ、取り込んだ MP の 90% 以上が 6 時間以内に排泄された。これは、H30 年度に実施した 0.3 mm PE ビーズの排泄時間とほぼ同じであり、H31 年度に実施したカキ養殖用パイプを粉砕した MP より早かった。以上の結果、0.3－0.8 mm の MP では、サイズの差は排泄時間に大きな影響を与えないが、形状により若干変化することが示唆された。

(2) MP に吸着した有害化学物質の魚介類消化管内における溶出量の推定等に関する試験

当該研究にて得られた成果および既報の情報を元に、実海域における MP を介した PAHs のマダイ体内への取り込み量を推定した結果、消化管内における MP からの溶出に由来する Phe および Pyr の魚体中濃度は、海水由来の魚体中濃度に比べて数十から百分の 1 程度であると推定された。MP に由来する Chr の魚体中濃度は海水由来の魚体中濃度に比べて 2.6 倍高いと推定されたものの、その濃度は FDA による懸念レベルと比較するとはるかに低いことから、食品としてのリスクは低いものと推察された。

PAHs 吸着 MP を用いた生体内溶出試験法を検討した結果、消化管内での MP からの PAHs の溶出の他、PAHs を含まない海域への PAHs の持ち込み効果を含めると、一部の個体において MP を介し PAHs が体内に移行する現象が確認された。

また、試験海水中の PAHs 濃度の維持および給餌の方法等、生体内溶出試験法の確立に向けた課題を抽出しその改善点を整理した。これにより、今後 MP を介した汚染物質の魚体内への取り込み量および経路等の詳細な評価が可能となると考えられる。

6. 成果の発表、活用等

・論文発表 1 件

Ohkubo N, Ito M, Hano T, Kono K, Mochida K. Estimation of the uptake and gut retention of microplastics in juvenile marine fish: mummichogs (*Fundulus heteroclitus*) and red seabreams (*Pagrus major*). Marine Pollution Bulletin. 160, 111630, 2020.

・学会発表 2 件（予定）

令和 2 年度日本水産学会春季大会「マイクロプラスチックの形状やサイズが海産魚の摂取量および体内滞留時間に与える影響の検討」、「マイクロプラスチックに吸着した有害物質の魚類消化管内での溶出評価」

7. 事業推進上の問題点等

特になし。

令和 2 年度報告書

課 題 名	海洋プラスチックを摂食した魚介類の生態的情報等の調査
細部課題名	(1) マイクロプラスチックの体内滞留時間の測定等に関する試験
機 関 名 担当者名	水産研究・教育機構 水産技術研究所 大久保信幸・河野久美子（環境保全部）・米田道夫（生産技術部）

1. 目的

本研究では、日本沿岸域で検出が報告されている材質およびサイズのマイクロプラスチック（MP）を用い、海洋の重要な生物資源である海産魚による取り込み量や魚体内（消化管内）における滞留時間について飼育実験を通じて明らかにする。これにより MP が海産魚類に与える影響（化学物質の移行、および成長阻害）を調査するための基礎とする。

2. 実施計画（令和 2 年度）

2. 1 海産魚仔魚～稚魚を用いた MP 曝露試験（6～7、10～11 月、廿日市庁舎または伯方島庁舎）

これまでより幼若なステージのマミチヨグまたはカタクチイワシを用い、MP サイズや試験条件等、体内滞留時間の測定のための最適な試験条件を絞り込んだ後、MP の取り込み・排泄試験を実施し、MP の摂取量、消化管内滞留時間の測定を試みる。この結果を H30、31 年度に測定した MP 摂取量、消化管内滞留時間等と比較する（6～7、10～11 月、伯方島庁舎または廿日市庁舎）。

2. 2 マミチヨグ仔魚を用いた MP 継続曝露試験の検討（6～8 月、廿日市庁舎）

MP の海産魚への物理的影響について、エサとの誤認による MP の摂取により、栄養状態や成長の悪化が生じるかを室内試験により検証する。具体的には、飢餓耐性が低く、影響を受けやすいと考えられる仔魚期のマミチヨグを用い、MP を継続的に曝露する方法を確立し、MP による成長遅延等の影響を評価する手法を開発する。

2. 3 異なる材質、サイズの MP を用いた曝露試験（5～7 月、廿日市庁舎）

平成 30、31 年度と異なるサイズの MP を用い、マミチヨグまたはマダイ稚魚への曝露試験を実施し、MP の摂取量、消化管内滞留時間を明らかにする。これらの結果を 30 年度に実施した 0.3mm 前後の PE ビーズでの結果と比較し、MP の性状の差異と摂取量、消化管内滞留時間との関係を考察する。

3. 材料と方法

3. 1 供試生物

マミチヨグ仔魚、および稚魚（図 1A、B）は廿日市庁舎で継代飼育しているものを用いた。カタクチイワシ仔魚、および成魚（図 1C、D）は伯方島庁舎で種苗生産した個体を用いた。

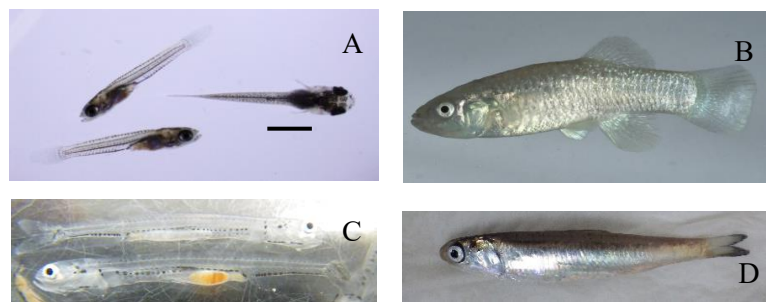


図 1. 曝露試験に用いた供試魚

A：マミチヨグ仔魚（写真中のバーは 2mm）、B：マミチヨグ稚魚、C：カタクチイワシ仔魚（全長約 30mm）、D：カタクチイワシ成魚

3. 2 MP

曝露試験用ポリエチレン（PE）製ビーズは、Cospheric 社製蛍光黄色ポリエチレン粒子（180–212 μm 、250–300 μm 、425–500 μm 、710–850 μm 、比重 1.00）を用いた。

3. 3 曝露試験

3. 3. 1. 海産魚仔魚を用いた MP 曝露試験方法の検討

1) マミチヨグ仔魚を用いた試験

20℃に調温した活性炭ろ過海水を用い、試験は止水式、または半止水式で行った。溶存酸素濃度の低下を防ぐため各水槽に微弱な通気を行った。

①取り込み試験；ふ化後日数と MP 取り込み量の検討

ふ化後 2、7、14 日目の仔魚を用い、10 L 角型ガラス水槽に海水を 2 L 入れ、180–212 μm （以下、0.2 mm）および 250–300 μm （以下、0.3 mm）の 2 種類の PE ビーズを使って取り込み試験を実施した。仔魚 40 尾を別々の水槽に収容し、2 種類のビーズをそれぞれ設定濃度 210 個/L（0.2、0.3 mm でそれぞれ 0.64、3 mg/L に相当。以下、同様に標記）で 2、4 時間それぞれ曝露した。曝露開始時にアルテミア幼生を 1 尾/mL になるよう給餌した（MP/アルテミア重量比：約 0.09、0.42）。曝露後にフェノキシエタノールで麻酔して魚を取り上げ、仔魚の半数について全長を実体顕微鏡下で測定した後、70%エタノールで一晩固定し、3 または 4 個体ずつプールして乾燥重量を測定した。残りの仔魚を 24 穴プレートに収容し、10%KOH 下で 24 時間以上、42℃でアルカリ分解後、分解液中の MP を実体顕微鏡下で計数した。

②曝露時間と MP 取り込み量の検討

500 mL ガラスビーカーにろ過海水を 400 mL ずつ入れ、ふ化後 11 日目のマミチヨグ仔魚を 12 尾ずつ収容し 20℃のウォーターバス中に設置した（計 10 個）。0.2mm PE ビーズ 2.5 mg/L（820 個/L）で曝露試験を実施し、2、4、6、21、25 時間ごとに各 2 個ずつビーカーの全ての仔魚を麻酔して魚を取り上げ、上記①と同様に処理した。なお、25 時間曝露区では曝

露水を実験開始 21 時間目に全量交換した。アルテミア幼生を曝露開始時および曝露水交換の際に 2 尾/mL になるよう給餌した (MP/アルテミア重量比 : 0.17)。

③排泄試験法の検討

500 mL ガラスビーカーにろ過海水を 400 mL ずつ入れ、ふ化後 14 日目のマミチョグ仔魚を 12 尾ずつ収容し 20°C のウォーターバス中に設置した (計 10 個)。0.2 mm の PE ビーズ 2.5 mg/L (820 個/L) で 4 時間曝露した後、曝露水を MP を含まない海水に交換した。排泄開始 0 (換水直後)、2、4、6、20 時間後に各 2 個ずつビーカーの全ての仔魚を取り上げた。各排泄時間後に麻酔して魚を取り上げ、上記①と同様に処理した。なお、曝露開始時にアルテミア幼生を 2 尾/mL になるよう給餌した。

2) カタクチイワシ仔魚を用いた試験法の検討

カタクチイワシ仔魚を 2 t 水槽に収容し、20°C に調温した海水を注水してふ化後 5 週間飼育した。注水を止めて水量を 0.9 t まで減らし、生残個体約 500 尾に対して 0.3 mm PE ビーズを設定濃度 0.15 mg/L とアルテミア幼生 1 尾/mL となるよう合わせて投与した (MP/アルテミア重量比 : 0.02)。また、溶存酸素濃度の低下を防ぐため微弱な通気を行った。曝露開始 0.5、1、1.5 時間後に各 30~50 尾をボールにて海水ごとサンプリングした。その後、注水を再開すると共に仔魚の MP の再取り込みを抑制するため、遮光幕で水槽を覆った。注水再開後、1.5、3、4.5 時間後に各 30~50 尾をボールにて海水ごとサンプリングした後、供試魚を 1) ①と同様に処理した。

3. 3. 2. マミチョグ仔魚を用いた継続曝露試験

500 mL ガラスビーカーに 50 μ m フィルターでろ過した海水を 400 mL 入れ、ふ化後 7 日目のマミチョグ仔魚を 11 尾ずつ収容し、20°C のウォーターバス中に設置した。また、各ビーカーに微弱な通気を行った。MP 曝露区と対照区を各 4 区ずつ設け、MP 曝露区には 0.2 mm PE ビーズを設定濃度 2.5 mg/L (約 330 個/400mL) 半止水式で 14 日間曝露した。曝露水は実験開始 2、4、7、9、11、13 日後に全量交換し、給餌は試験開始時および水替え時にアルテミア幼生を 16 尾/mL になるよう投与した (MP/アルテミア重量比 : 0.02)。また、開始 4 日目、9 日目に一部の仔魚をサンプリングした。試験終了後、3. 3. 1. 1) ①と同様に処理した。

3. 3. 3. マミチョグ稚魚を用いた大型 PE ビーズ曝露試験

マミチョグ稚魚を用いた試験は平成 30 年度当該事業¹⁾で開発した手法に準じ、角型ガラス水槽 (10L または 20L) に活性炭ろ過海水を 10 L または 20 L 入れ、水温を 20.2 - 21.0°C に保ち、取り込み試験は止水式で、排泄試験は半止水式で行い、溶存酸素濃度の低下を防ぐため各水槽に微弱な通気を行った (図 2)。試験時の給餌はアルテミア幼生を 1 尾/mL になるよう投与した。

①サイズの異なる MP の取り込み試験

マミチョグ稚魚（体重 2.17 ± 0.12 g、全長 52.9 ± 1.2 mm、平均値 $\pm$ SE）15 尾を 10 L 水槽に 5 尾ずつ収容し、0.3 mm、425–500 μ m（以下 0.5 mm）、710–850 μ m（以下 0.8 mm）PE ビーズを設定濃度 21 個/L（0.3 mg/L、1.3 mg/L、5.35 mg/L）で 4 時間、それぞれ曝露した。試験終了時に供試魚を麻酔した後、消化管を摘出し、10%KOH 下で 24 時間以上、42℃でアルカリ分解した。分解後の溶液をガラス繊維ろ紙でろ過し、MP を実体顕微鏡下で計数した。

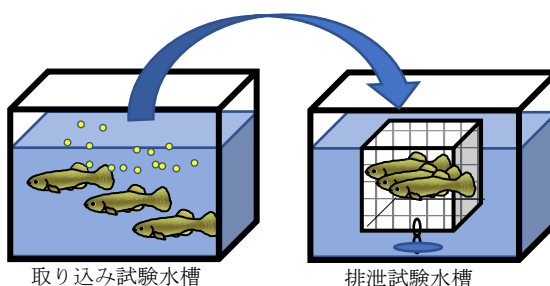


図 2. マミチョグ稚魚を用いた取り込み・排泄試験の模式図

②取り込み・排泄試験

マミチョグ稚魚（体重 3.37 ± 0.11 g、全長 61.6 ± 0.6 mm）9 尾を 20L 水槽に収容し、0.8 mm PE ビーズを設定濃度 5.35 mg/L（MP／アルテミア重量比：0.76）で 4 時間、それぞれ曝露した。その後、魚を取り上げてトリカルネット製のかご（10cm x 10cm x 10cm）に 3 尾ずつまとめて収容し、別途用意した排泄試験用 10 L 水槽 3 基の水面下にそれぞれ移設した（図 2）。移送後 2、4、6、20、25 時間後に排泄水槽内に排泄された MP をネットおよびサイフォンで回収し、ガラス繊維ろ紙でろ過後、計数した。MP 回収時に減った海水は追加した。MP 曝露試験開始時、および排泄試験開始 20 時間目の MP 回収後にアルテミア幼生を投与した。試験終了時に供試魚を上記①と同様に処理した。

排泄試験におけるかご当たりの MP の総排出量から、各サンプリング時間における消化管内の MP 数を逆算し、魚体重 1 g あたりの消化管内 MP 数を体内濃度として排泄時間を算出した。

3. 3. 4. カタクチイワシ成魚を用いた曝露試験（H31 年度の確認試験）

平成 31 年度にカタクチイワシを用いて実施した試験の確認試験として、カタクチイワシ成魚を用いて以下を実施した。なお、取り込み試験、排泄試験にはポリカーボネート製円型水槽（内側青色、1 t）を用い、20℃に調温した海水を注水した。取り込み試験は止水式で、排泄試験は流水式で行った。また、溶存酸素濃度の低下を防ぐため各水槽に微弱な通気を行った。試験時の給餌はアルテミア幼生を 1 尾/mL になるよう投与した。

①色による取り込み試験

成魚における MP 取り込みに色による差があるか確認するため、以下の試験を行った。1 t 水槽に 70 尾（体重 7.09 ± 0.34 g、全長 90.6 ± 2.3 mm）を収容し、流水で 5 日間馴致後、注水を止めて 2 時間、0.3 mm PE ビーズ（蛍光黄色、蛍光緑色、および白色粒子）をそれぞれ設

定濃度 0.15 mg/L（計 0.45 mg/L）で複合曝露した。曝露終了後、供試魚を上記 3. 3. 3. ①と同様に処理した。

②取り込み量と排泄速度の試験

MP の取り込み量の違いにより、排泄速度に差があるか検証するため、上記①の色による取り込み試験で曝露した魚について、一部を別途用意した 1 t 排泄水槽に移し、移設後 20、44 時間目に魚を取り上げ、上記①と同様に魚を処理し、排泄期間中の消化管内 MP の総数を平成 31 年度に 0.15 mg/L で曝露した成魚を用いた排泄試験の結果と比較した。

3. 3. 5. 統計解析

統計解析はクラスカル=ウォリス検定を行い、その後、Steel 法による多重比較検定を実施した。また、データの等分散が仮定できる場合は一元配置分散分析を行い、その後、Bonferroni 法による多重比較検定を実施した。

4. 結果および考察

4. 1. 海産魚仔魚を用いた MP 曝露試験方法の検討

1) マミチョグ仔魚を用いた試験

①取り込み試験；ふ化後日数と MP 取り込み量の検討

マミチョグ仔魚のふ化後日数と MP サイズ、および取り込み数を検討したところ、ふ化後 2 日目の仔魚では MP の取り込みはほとんど認められなかった（表 1）。ビーズの取り込み量は、曝露時間 2 時間と 4 時間で有意差は認められず、7 日目の仔魚での 4 時間曝露では 0.3 mm ビーズで 1.2 ± 0.5 個／個体（平均値±SE）、0.2 mm ビーズで 7.1 ± 2.4 個／個体、14 日目の仔魚ではそれぞれ 3.2 ± 1.3 個、 18.3 ± 6.7 個であった。各個体の MP 取り込み数にばらつきが大きく、0.2 mm と 0.3 mm ビーズの取り込みに有意差は認められなかった。以上の結果から、仔魚を用いた曝露試験ではふ化後 7 日目以降の仔魚で、かつ平均取り込み数が大きかった 0.2 mm ビーズを用いることとした。

表 1. マミチョグ仔魚 MP 取り込み試験における平均体重、および消化管内の MP 数

ふ化後日数	平均体重 (乾燥重量、 mg)	消化管内の MP 数			
		0.3 mm		0.2 mm	
		2h	4h	2h	4h
2 日	0.32 ± 0.01	0	0.06	0	0
7 日	0.48 ± 0.02	0.5 ± 0.3	1.2 ± 0.5	4.1 ± 2.1	7.1 ± 2.4
14 日	0.88 ± 0.07	5.1 ± 2.0	3.2 ± 1.3	8.2 ± 4.6	18.3 ± 6.7

表記は平均値±SE

一定の取り込みのあったふ化後 7、および 14 日の仔魚での 0.3 mm ビーズ 4 時間曝露における取り込み数を、平成 30 年度に稚魚を用いた曝露試験結果と比較した（表 2）。

個体ごとの取り込み数は、仔魚では稚魚よりも有意に低かったが ($p<0.01$)、体重 (湿重量) 1 g 当たりに換算すると有意差は認められなかった (図 3)。

表 2. 0.3 mm ビーズ 3 mg/L 曝露試験におけるマミチヨグ仔稚魚での消化管内 MP 数の比較

実施年度	H30	R2	
成長ステージ (ふ化後日数)	稚魚	仔魚 (7 日)	仔魚 (14 日)
平均体重 (湿重、mg)	2,155	3	6
曝露尾数	4	40	
水槽サイズ (水量)	10 L (10 L)	10 L (2 L)	
MP 取り込み率 (%)	100	33	61
MP 取り込み数 (個/尾)	352±240	1.2±0.5**	3.2±1.3**

仔魚の湿重量は乾燥重量から水分含量 85%として計算、取り込み率：MP 取り込み個体数／供試個体数×100、取り込み数は平均値±SE、**：稚魚の MP 数と有意差あり ($p<0.01$)

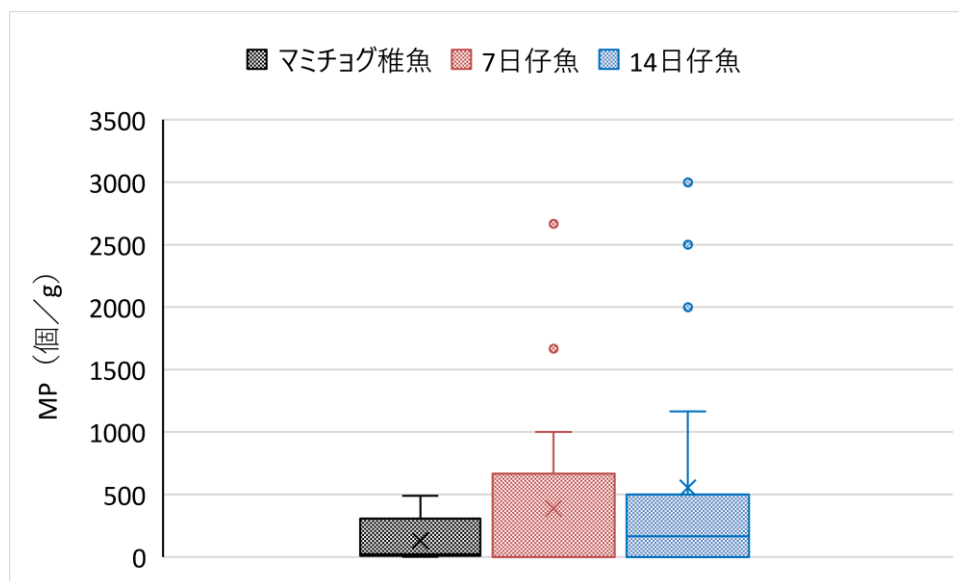


図 3. マミチヨグ稚魚、仔魚での消化管内 MP 数 (個/体重 1g) の箱ひげ図
×：平均値、横線：中央値、●：外れ値

②曝露時間と MP 取り込み量の検討

仔魚の MP 取り込みは曝露 2–4 時間後にかけて有意に上昇し ($p<0.01$)、その後は緩やかに減少し、21 時間後以降に大きく減少した (表 3)。この結果から、仔魚を用いた短期曝露試験は 4 時間とすることとした。

表 3. マミチヨグ仔魚 MP 取り込み試験における消化管内の MP 数

曝露時間	2 h	4 h	6 h	21 h	25 h
------	-----	-----	-----	------	------

平均値±SE	0.7±0.2	10.1±3.7	11.1±3.5	7.9±0.2	2.7±0.6
中央値（範囲）	1 (0-3)	3 (0-75)	3.5 (0-65)	3 (0-27)	1.5 (0-9)

なお、平成 30 年度に稚魚を用いた 0.3 mm ビーズ 0.3 mg/L 曝露試験結果と比較すると、仔魚での取り込み数の減少は稚魚よりも緩やかになった。今回の 0-21 時間目（曝露水交換の前まで）の魚体中の数および海水中 MP 濃度を用いてコンパートメントモデルにより排泄速度定数 (k_2) を試算したところ 0.13/h (3.1/d)、50%排出時間=5.3 (h) となった。これは、平成 30 年度マミチョグ稚魚での 0-6 時間目のデータを用いて同様の手法で試算した k_2 より小さくなった。

③排泄試験法の検討

仔魚の消化管内の MP 数は排泄試験開始時から少なく、また取り込み率も低かったことから、その後の排泄を評価することは困難であった（表 4）。これは、排泄試験開始時の水換え等によるストレスで MP を排泄あるいは吐き出してしまった等の要因が推察された。そのため、体内滞留時間の算出は上記試験②での試算で代用した。

表 4 マミチョグ仔魚 MP 排泄試験における消化管内の MP 数

排泄時間	0 h	2 h	4 h	6 h	20 h
平均値 (取り込み率%)	0.4 (25)	0 (4.2)	0.1 (13)	0	0.1 (8.3)

2) カタクチイワシ仔魚を用いた試験法の検討

カタクチイワシ仔魚は実験開始 1 時間目には摂餌行動をほぼ終了していた。しかし、仔魚の消化管内の MP 数は取り込み試験開始 1.5 時間目でも 0.2 個/個体と少なく、また取り込み率も 13% と低かったことから、その後の排泄を評価することは困難であった（表 5）。

表 5 カタクチイワシ仔魚 MP 取り込み・排泄試験における消化管内の MP 数

	取り込み			排泄		
時間	0.5h	1h	1.5h	1.5h	3h	4.5h
平均値 (取り込み率%)	0	0	0.2 (13)	00.6 (6)	0.05 (5)	0.07 (11)

一定の取り込みのあった取り込み試験開始 1.5 時間目仔魚の取り込み数を、成魚を用いた曝露試験結果と比較した（表 6）。個体ごとの取り込み数、および体重 1 g 当たり取り込み数（図 4）共に、仔魚では成魚よりも有意に低かった ($p<0.01$)。

表 6. 0.3 mm ビーズ 0.15mg/L 曝露試験におけるカタクチイワシ仔魚、成魚での消化管内 MP 数の比較

成長ステージ（ふ化後日数）	成魚（6 ヶ月）	仔魚（30 日）
平均体重（湿重、mg）	5560	47
曝露尾数	200	500
水槽サイズ（水量）	1t（0.9t）	2t（0.9t）
MP 取り込み率（%）	96	17
MP 取り込み数（個/尾）	25.3±5.2	0.2±0.1**

取り込み表記は平均値±SE、**：成魚の MP 数と有意差あり（ $p<0.01$ ）

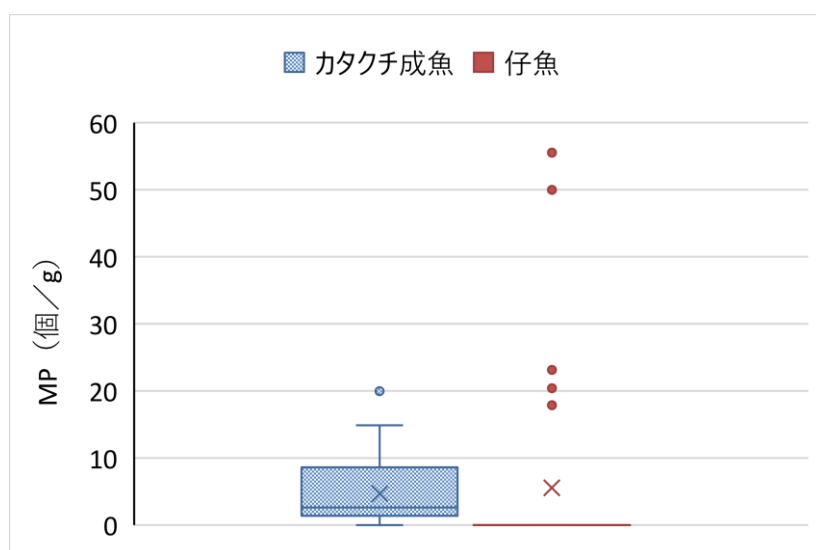


図 4. カタクチイワシ成魚、仔魚での消化管内 MP 数（個/体重 1g）の箱ひげ図

×：平均値、横線：中央値、●●：外れ値

以上の結果、マミチヨグおよびカタクチイワシ仔魚の MP 取り込み率は稚魚または成魚に比べて少なく、また、取り込み数は 1 個体当たりでは有意に少なかった。また、マミチヨグでは、体重 1g 当たりに換算すると稚魚と差が無かったが、カタクチイワシでは、成魚に比べて有意に少なかった。なお、MP の排泄は稚魚より遅いものの、1 日程度で排泄されていることから、仔魚への影響は稚魚と比較しても大きな差は無いことが示唆された。

4. 2. マミチヨグ仔魚を用いた継続曝露試験

仔魚への取り込みが確認された 0.2 mm PE ビーズを用い、2 週間高濃度で曝露した結果、曝露試験中の死亡は無かった。また、仔魚の全長および乾燥重量は、対照区との間に有意差は認められなかった（表 7）。

なお、試験終了後の仔魚の全長、体重については、流水式の水槽中で育成しているマミチヨグ仔魚（乾燥重量 2.33 ± 0.12 mg）と比較しても有意差は認められず、ビーカーによる試験方法に問題は無いと考えられた。

表 7. MP 継続曝露試験における平均水中 MP 濃度、試験終了時のマミチヨグの平均全長、

乾燥重量、および MP 取り込み数

試験区	曝露濃度 (個 /400 mL)	全長 (mm)	乾燥重量 (mg)	MP 取り込み数 (個/尾)
Cont.1	-	11.4±0.3	1.75	-
Cont.2	-	11.4±0.2	2.07	-
Cont.3	-	11.3±0.2	2.10	-
Cont.4	-	12.5±0.3	2.67	-
MP1	363.5±102.5	11.4±0.3	2.02	22.5±11.2
MP2	312.8±48.6	11.6±0.3	2.43	24.3±11.2
MP3	352.3±36.5	11.4±0.1	2.07	12.7±3.8
MP4	345.5±58.1	11.3±0.3	2.22	8.2±4.8

表記は平均値±SE、-:n.d.

対照区と曝露区の仔魚の成長に差が認められないという結果は、昨年度0.3 mm PE ビーズおよび 90 μm PS ビーズ複合曝露試験と同様であり、本事業で使用したサイズの MP ビーズ曝露が成長に及ぼす影響は小さいと推察された。なお、他の海産魚の仔魚ではインドメダカでの 10 μm PS ビーズ曝露で成長への影響が報告されていることから（表 8）、より小型の MP では影響がある可能性もある。

表 8. 海産魚仔魚を用いた MP 曝露試験

魚種	MP の種類、 サイズ	曝露濃度	曝露期間 (ステージ)	成長へ の影響	その他の影響
ヨーロッパスズキ ²⁾	PE ビーズ (10-45 μm)	1.2, 12 mg/g (餌曝露)	23 日 (20dph-)	無し	死亡率上昇 (12 mg 曝 露)
シースヘッド ドミノ ³⁾	PE ビーズ(150- 180 μm)、 破碎ビーズ (6-350 μm)	50, 250 mg/L (餌無し)	4 日 (3 週齢)	—	ROS の上昇、 遊泳力低下
インドメダカ ⁴⁾	PS ビーズ(10 μm)	2-200 μg/L	21 日 (受精卵—)	体重に 差	ふ化率低下、 ふ化遅延
マミチヨグ (本研究)	PE ビーズ(180- 212 μm)	2.5 mg/L	14 日 (7dph-)	無し	—

4. 3. マミチヨグ稚魚を用いた大型 PE ビーズの曝露試験

サイズの異なる PE ビーズを用いてマミチヨグ稚魚での取り込みを比較したところ、サイズが大きいほど平均取り込み数は少なかったが（表 9）、有意差は認められなかった。

表 9. 異なるサイズの MP 取り込み試験における消化管内の MP 数

MP サイズ (mm)	0.3 mm	0.5 mm	0.8 mm
平均値±SE	41.4±17.8	34.0±27.8	14.6±6.0
中央値 (範囲)	24 (3-102)	10 (0-145)	10 (5-37)

次に、MP サイズが排泄時間に与える影響について明らかにするため、0.8 mm PE ビーズの取り込み・排泄試験を行った。各水槽間の MP の排泄数に差は認められたものの、供試魚が取り込んだ MP の 90%以上が 6 時間以内に排泄された (図 5)。

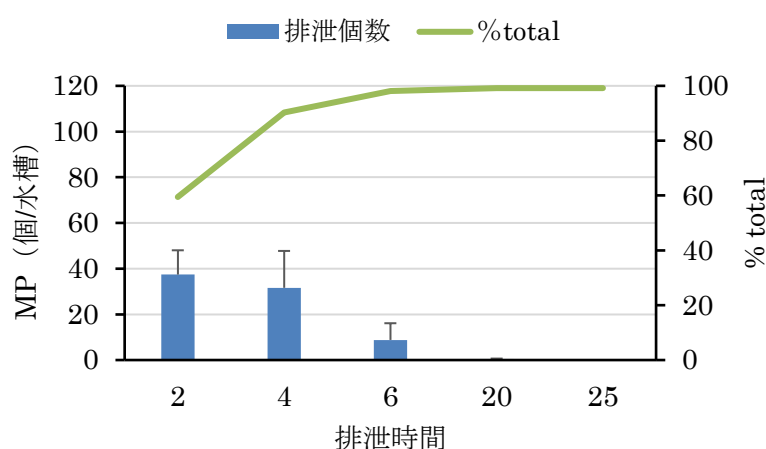


図 5. 0.8 mm ビーズ取り込み・排泄試験における経過時間ごとの MP 排泄数 (棒グラフ) と全排泄数に対する割合 (%、折れ線)

また、6 時間目までのデータを用いて排出時間を算出したところ、50%排出時間=1.5 (h)、95%排出時間=6.7 (h)であった。これは、平成 30 年度実施した0.3 mm PE ビーズの排泄時間 (50%排出時間=1.8 (h)、95%排出時間=7.9 (h)) とほぼ同じであった。この結果から、0.3–0.8 mm の範囲の MP では、サイズの差は排泄時間に大きな影響を与えないことが示唆された。一方、平成 31 年度に実施した PE パイプを粉砕した MP の 50%排出時間=3.0 (h)、95%排出時間=12.8 (h) と比べより早く排泄された。以上の結果から、取り込まれた MP の排泄時間は、その形状により若干変動するものの、95%が排出される時間はいずれの形状でも 24 時間以内と短いことが示された。

4. 4. カタクチイワシ成魚を用いた曝露試験 (H31 年度の確認試験)

①色による取り込み試験

消化管内の MP の平均取り込み数は黄色>緑色>白色となったが、色による取り込み数に有意差は認められなかった (表 10、分散分析、 $p>0.05$)。この結果、本種が色を強く選別しているとは言えないと考えられた。

表 10. 異なる色の MP 取り込み試験におけるカタクチイワシ成魚消化管内の MP 数

消化管内 MP 数	MP ビーズの色			
	蛍光黄	蛍光緑	白	合計
平均±SE	94.3±32.4	65.1±20.3	59.5±22.6	218.9±73.9
中央値（範囲）	79.5（0-348）	52.5（0-205）	32（0-214）	179.5（4-767）

ちなみに、東京湾で採集されたカタクチイワシの消化管内から検出された MP の色の組成⁵⁾は、白が 40%と優先し、以下透明（31%）、緑（12%）、黄色（12%）と報告されているが、この結果は、調査海域に漂流する MP の色の組成を反映しているのではないかと推察された。

②取り込み量と排泄速度の試験

設定濃度 0.45mg/L（蛍光黄色、蛍光緑色、および白色ビーズを各 0.15 mg/L、計 0.45 mg/L）で曝露したカタクチイワシの消化管内 MP 数を、0.15 mg/L で曝露した平成 31 年度の結果と比較した（表 11）。排泄 20 時間目には両濃度区で 90%以上の MP が排泄される等、平成 31 年度と同様の傾向が見られ、曝露濃度間で有意差は認められなかった。このことから、MP 取り込み量の差が排泄時間に及ぼす影響は小さいことが推察された。

表 11. 異なる MP 曝露濃度での排泄試験におけるカタクチイワシ成魚消化管内の MP 数

曝露濃度 (mg/L)	排泄時間（h）		
	0	20	44
0.15	169.4±62.3	11.2±4.2	3.8±1.9
0.45	218.9±73.9	19.8±8.9	0.2±0.1

5. 参考文献

- 1) 大久保信幸、伊藤真奈（2019）マイクロプラスチックの海産魚類における摂取量および体内滞留時間の解明。「平成 30 年度プラスチックを摂食した魚介類の生態的情報等の調査報告書」、水産庁、4-12.
- 2) Mazurais, D., Ernande, B., Quazuguel, P., Severe, A., Huelvan, C., Madec, L., Mouchel, O., Soudant, P., Robbens, J., Huvet, A., Zambonino-Infante, J. Evaluation of the impact of polyethylene microbeads ingestion in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. Mar. Environ. Res. 112, 78-85, 2015.
- 3) Choi, J., Jung, Y.-J., Hong, N.-H., Hong, S. H., Park, J.-W. Toxicological effects of irregularly shaped and spherical microplastics in a marine teleost, the sheepshead minnow (*Cyprinodon variegatus*). Mar. Pollut. Bull. 129, 231-240, 2018.
- 4) Li, Y., Wang, J., Yang, G., Lu, L., Zheng, Y., Zhang, Q., Zhang, X., Tian, H., Wang, W., Ru, S. Low level of polystyrene microplastics decreases early developmental toxicity of phenanthrene on marine medaka (*Oryzias melastigma*). J. Hazard. Mater. 385, 121586, 2020.
- 5) Tanaka, K., Takada, H. Microplastic fragments and microbeads in digestive tracts

of planktivorous fish from urban coastal waters. Sci. Rep. <https://doi.org/10.1038/srep34351>. 2016.

6) Isobe A., Uchiyama-Matsumoto K., Uchida K., Tokai T. Microplastics in the Southern Ocean. Mar. Pollut. Bull. 114, 623–626, 2017.

6. 事業推進上の問題点等

特になし。

本研究では水中 MP 濃度（例えば 0.3 mm ビーズ 0.15 mg/L は約 10,000 個/m³）を実海域で報告されている最高濃度（3.7 個/m³）⁶⁾と比べて極めて高い濃度に設定している。これは、水槽内で試験魚への MP の取り込み、排泄という一連の現象を確実に捕捉することを主な目的として行ったためである。

7. 今後の課題

これまでの曝露試験で用いたサイズの MP では、海産魚の取り込みによる物理的影響は小さいことが示唆された。一方、より小型（100 μm 以下）の MP の水域での検出例についても報告され始めていること、MP は海底にも広く分布している現状を鑑み、今後はそれらの水生生物（底生生物を含む）への影響を調査しておく必要もあると考える。

8. 要約

1) 海産魚仔魚を用いた MP 曝露試験

マミチョグ仔魚のふ化後日数と MP 取り込み数を検討したところ、ふ化後 2 日目の仔魚では MP の取り込みはほとんど認められなかった。ビーズの取り込み量は、曝露時間 2 時間と 4 時間で有意差は認められず、7 日目の仔魚での 4 時間曝露では 0.3 mm ビーズで 1.2±0.5 個/個体（平均値±SE）、0.2 mm ビーズで 7.1±2.4 個/個体、14 日目の仔魚ではそれぞれ 3.2±1.3 個、18.3±6.7 個であった。7 日目、および 14 日目目の仔魚での 0.3mm ビーズ 4 時間曝露における取り込み数を、H30 年度に稚魚を用いた曝露試験結果と比較したところ、個体ごとの取り込み数は稚魚よりも有意に低かったが（ $p<0.01$ ）、体重 1 g 当たりには換算すると有意差は認められなかった。

体内滞留時間測定のため、ふ化後 11 日目の仔魚を 500 mL ビーカーに収容して 0.2 mm ビーズの曝露時間と MP 取り込み数を検討した結果、仔魚の MP 取り込みは曝露 2–4 時間後にかけて有意に上昇し（ $p<0.01$ ）、6 時間目以降減少した。この結果は、マミチョグ稚魚における 0.3 mm ビーズの排泄時間に比べて遅いことが示唆された。

ふ化後 5 週齢のカタクチイワシ仔魚を用いた曝露試験では、仔魚の平均 MP 取り込み数は 0.2 個/個体と少なく、また取り込み率も 13%と低かった。仔魚の取り込みを、成魚を用いた曝露試験結果と比較したところ、個体ごとの取り込み数、および体重 1 g 当たり取り込み数共に、仔魚では成魚よりも有意に低かった（ $p<0.01$ ）。

2) マミチョグ仔魚を用いた MP 継続曝露試験の検討

ふ化後 7 日目のマミチョグ仔魚を用い、仔魚への取り込みが確認された 0.2 mm ビーズを 2.5 mg/L で 2 週間、500 mL ビーカー内で生物餌料と共に半止水式で曝露した。その結果、MP 曝露後の仔魚の成長について対照区との間に有意差は認められなかった。なお、試験終了後の仔魚の全長、体重については、流水式水槽で育成しているマミチョグ仔魚との間に有意差は認められず、ビーカーによる試験方法に問題は無いと考えられた。

3) マミチョグ稚魚を用いた大型 PE ビーズ曝露試験

マミチョグ稚魚を用いて 0.3 mm、0.5 mm、0.8 mm のサイズの異なる 3 種類の PE ビーズを用いて取り込みを比較したところ、平均取り込み数に有意差は認められなかった。次に 0.8 mm PE ビーズの取り込み・排泄試験を行ったところ、取り込んだ MP の 90%以上が 6 時間以内に排泄された。これは、H30 年度に実施した 0.3 mm PE ビーズの排泄時間とほぼ同じであり、H31 年度に実施したカキ養殖用パイプを粉碎した MP より早かった。以上の結果、0.3ー0.8 mm の MP では、サイズの差は排泄時間に大きな影響を与えないが、形状により若干変化することが示唆された。

令和2年度結果検討会資料

課 題 名	海洋プラスチックを摂食した魚介類の生態的情報等の調査
細部課題名	(2) MP に吸着した有害化学物質の魚介類消化管内における溶出量の推定等に関する試験
機 関 名 担当者名	水産研究・教育機構 水産技術研究所廿日市拠点 伊藤真奈・羽野健志・河野久美子（環境保全部）

1. 目的

海洋環境中に漂うマイクロプラスチック (MP) は、海域に存在する有害化学物質を吸着し、高濃度に濃縮した形で海産生物に取り込まれることが懸念されている。さらに、MP に吸着し生物に取り込まれた有害化学物質は、消化・排泄といった生物の生理過程で MP から遊離・溶出し、生物体内に取り込まれることも危惧される。そこで本研究では、MP に吸着した有害化学物質が、生理的環境下でどの程度溶出するかを明らかにし、MP による海産生物への影響を評価する一助とする。

2. 実施計画（令和2年度）

本細部課題で対象とする化学物質は多環芳香族炭化水素類 (PAHs)、MPの素材はPEとする。

①当該事業を通して得られたMP摂取量、MPに吸着した有害化学物質の海水への溶出率、および消化管における溶出速度等の実験データ及び文献調査等で得られた情報に基づき、海産魚類（マダイ）消化管内での溶出量を数値計算にて推定する。

②有害化学物質・PAHsのMPへの吸着、および消化管内における溶出を介したPAHsの魚体内への取り込み量を評価するため、PAHs吸着MPを用いた生体内溶出試験法を検討する。

3. 方法

3. 1 供試生物

マダイ稚魚（全長 (TL) 約 3 cm、体重 (BW) 約 0.5 g）を（株）アーマリン近大から購入し、水産技術研究所廿日市庁舎で配合飼料（日清丸紅飼料おとひめ: EP0）を1日2回給餌し、約 20℃で一定期間馴致した。

3. 2 マダイ消化管内における MP からの PAHs 溶出量の推定

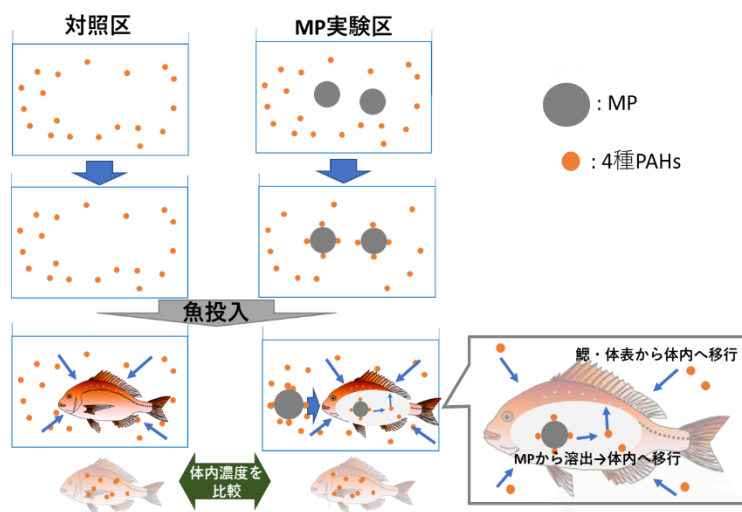
過去および本年度の当該研究にて得られた成果および既報の情報を元に、実海域におけるMPを介した PAHs の魚体内への取り込み量の推定を試みた。対象物質は環境中濃度および生物への蓄積性が比較的高く、推定に用いるパラメータ情報が入手可能なフェナントレン (Phe)、ピレン (Pyr)、およびクリセン (Chr)の3種類のPAHsとした。実海域中の MP 濃度¹⁾、実海域から採取した MP に含まれるPAHs 濃度²⁾、および当該事業にて算出された MPに吸

着した PAHs の海水への溶出率から海水中の PAHs 濃度を算出した。その後、マダイにおける海水中 PAHs の濃縮係数^{3,4)}を用い、海水由来の PAHs の取り込みによる魚体中濃度を推定した。また、消化管内における MP からの PAHs 溶出に起因する魚体中濃度は、マダイにおける MP 摂取率 (課題1, H30年度成果) から摂取する MP 量を推定後、生体外溶出試験法にて得られた溶出速度定数(k_2)を用いて消化時間3時間でのマダイ消化管内における MP からの PAHs の溶出量を算出した。その後、消化管内にて溶出した全ての PAHs が体内に吸収されると仮定し、MP 由来の PAHs の魚体中濃度を推定した。

3. 3 PAHs 吸着 MP を用いた生体内溶出試験法の検討

MP を介した PAHs の魚体内への取り込み量を評価するため、曝露方法が異なる 2 つの生体内溶出試験法を検討した(図1)。対象物質は、3. 2の 3 種類の PAHs に加え、生物への蓄積性が懸念される1,2-ベンゾアントラセン (B(a)A) を含む 4 種類のPAHs とした。

【試験 1】



【試験 2】

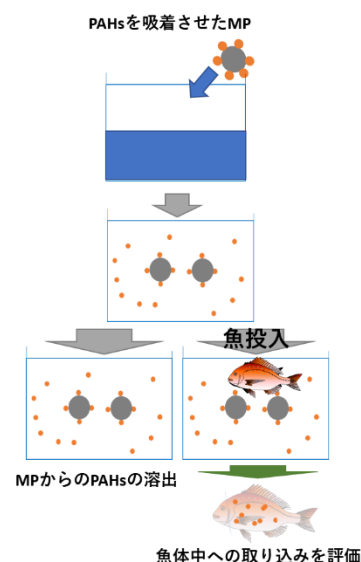


図 1. 生体内溶出試験法の概要図

3. 3. 1 試験 1

海水中 PAHs 濃度と MP に吸着された PAHs 濃度が平衡である海域において、海水および MP を介して PAHs が魚体に取り込まれる状況を想定し、PAHs を添加した海水中で MP に PAHs を吸着させた後、マダイを投入し、マダイへの PAHs の取り込み量を評価する試験を実施した (図1【試験1】)。

処理区は、① PAHs のみの区、② PAHs+MP 区、③ PAHs+マダイ区および④PAHs+MP +マダイ区の 4 群を設けた。マダイを投入した③および④の処理区はそれぞれ2 反復行っ

た。各処理区ともガラス水槽に 4 種 PAHs (2 $\mu\text{g/L}$) を溶解した海水 (5 L) を調整し、② PAHs + MP 区および④ PAHs + MP + マダイ区には 100mg/L の MP (素材：ポリエチレン、サイズ: 250 – 300 μm) を添加後、48 時間攪拌しながら MP へ PAHs を吸着させた。48 時間の吸着中に海水中の PAHs 濃度が大きく減衰

表 1. 試験 1 のサンプリングスケジュール.
(マダイ収容時を 0 時間とする)

	-48 hr	0 hr 2回目 PAHs 添加前	0 hr 2回目 PAHs 添加後	6 hr	24 hr
海水	○	○	○	○	○
魚			○	○	○
MP					○

(平均75%)したことから、0 時間目に再度等量の PAHs をいずれの処理区にも添加し、マダイ投入時のPAHs濃度を確保した。その後、③PAHs + マダイ区および④ PAHs + MP + マダイ区にマダイ (TL $49 \pm 3.1 \text{ mm}$ 、BW $1.7 \pm 0.32 \text{ g}$) を各水槽 12 匹ずつ投入した。なお、MP を効率よく摂取させることを目的として、0時間目 (マダイ投入時)、および 6 時間後に魚体重の 0.1 % のアルテミアを餌として添加した。6 および 24 時間後にマダイ (6匹/水槽) をそれぞれ取り上げ、消化管、肝臓、および筋肉組織を摘出した(表1)。なお試験期間中の死亡はなかった。各組織サンプルは、10%KOH-EtOH中にて 42℃ で 96 時間アルカリ分解後、ヘキサンを用いて抽出し、ガスクロマトグラフ質量分析装置 (GC-MS) にて各組織中のPAHs濃度を分析した。消化管内に含まれる MP 数は、消化管組織のアルカリ分解液の一部を用いて計数した。また、試験海水中の PAHs 濃度は、適宜試験水を採取し、ヘキサン抽出後、GC-MS にて分析した(表1)。MP に吸着した PAHs 濃度は、H 30 年度同研究課題 (細部課題 2) と同様の分析法にて抽出・測定した。

3. 3. 2 試験 2

港湾や石油流出事故等で PAHs を吸着・濃縮した MP が清浄な海域に漂流後、海水および MP を介して PAHs が魚体に取り込まれる状況などを想定し、予め PAHs を吸着させた MP を (PAHs を含まない) 海水へ添加した後にマダイを投入し、試験1と同様に組織中における PAHs 濃度を調べ MP を介した魚体内への PAHs の取り込みの有無を評価した (図1【試験2】)。

処理区は MP のみを添加した MP 区、および MP を添加した後にマダイを投入した区 (MP + マダイ区) の2群を設け、それぞれ2反復行った。PAHs 吸着 MP は、MP (素材：ポリエチレン、サイズ: 250 – 300 μm) を 4 種 PAHs (各 2 $\mu\text{g/L}$) が溶解した海水に48 時間浸漬・攪拌し作成した。

ガラス水槽中の海水 (5 L) に PAHs 吸着 MPを100 mg/Lの濃度で添加し、1 時間攪拌後、MP + マダイ区にマダイ (TL $51 \pm 4.4 \text{ mm}$ 、BW $2.0 \pm 0.48 \text{ g}$) を各水槽16匹投入した。マダイの投入 6 および 24 時間後にマダイ (n=8) を解剖し、消化管、肝臓、および筋肉組織を摘出し、3. 3. 1 と同様の方法にて、各組織中のPAHs濃度および消化管内に取り込まれたMP数を測定した。試験海水中の PAHs 濃度は、MP 添加前、マダイ投入時およびマダイ投入6、24時間後に測定した。MP に吸着した PAHs 濃度は、H 30 年度同研究課題 (細部課題 2) と同様の分析法にて抽出・測定した。

4. 結果および考察

4. 1 マダイ消化管内におけるMPからのPAHs溶出量の推定

実海域における MP を介した PAHs の魚体内への取り込み量の推定した結果、消化管における MP からの溶出に由来する Phe および Pyr の魚体中濃度は、海水由来の魚体中濃度に比べてそれぞれ1/95倍および1/24倍と推定された(表2)。一方、Chrの消化管内での MP からの溶出に由来する魚体中濃度は海水由来の魚体中濃度に比べて 2.8 倍高いと推定された。

今回の推定は、消化管内を介した PAHs の体内への吸収効率を100 %（消化管内にて溶出した全ての PAHs が体内に吸収される）と仮定して行っている。今回は吸収効率の数値が得られていないが、100 % を下回することは明らかで、吸収効率を考慮すれば実際の MP 由来の魚体中 PAHs 濃度は今回の推定値よりも低くなると推察される。一方、Chr の MP 由来の魚体中濃度は、海水由来の魚体中濃度に比べ高いと推定されたものの、その濃度はアメリカ食品医薬品局（FDA）が定める発がんが懸念されるレベル値（35 mg/kg）と比較しても約450万分の1と低いことから、食品としてのリスクは低いレベルであると推察された⁹⁾。なお、今回の試算に用いた魚体中濃度の推定値は、試算に用いるパラメータによってその値が大きく変化することから、慎重に扱う必要がある。

表 2. 推定に用いたパラメータおよび推定された魚体中濃度

		Phe	Pyr	Chr	
	海水中MP濃度 (mg/L)	1.0			Isobe et al., 2019
	マダイによるMP摂取率 (%)	0.010			当該事業課題 1_H30年度成果
	消化時間 (hr)	3			当該事業課題 1_H31年度成果を参考
	MP中濃度 (ng/g MP)	15000	5000	2500	Ma et al., 2018
海水由来	海水への溶出率 (%)	42	26	38	当該事業課題2_R2年度成果
	海水中濃度 (ng/L)	6.3	1.3	0.95	
	BCF	1300	510	3.1	Phe; Hano et.al., 2021; Pyr, Chr; 市橋ら, 2002
	魚体中濃度 (ng/g)	8.2	0.66	0.0029	
MP由来	MP中残濃度 (ng/g MP)	8700	3700	1600	
	溶出速度定数 (/d)	0.83	0.62	0.41	当該事業課題2_H31年度成果
	MP中溶出濃度 (ng/g MP)	860	280	80	
	魚体中濃度 (ng/g)	0.086	0.028	0.008	
	海水由来魚体中濃度／MP由来魚体中濃度	95	24	0.36	

4. 2 PAHs吸着MPを用いた生体内溶出試験法の検討

4. 2. 1 試験 1

試験期間中の海水に含まれる PAHs 濃度を測定した結果 (図 2)、いずれの処理区においても 48 時間の MP への PAHs の吸着期間中に、水槽内の海水中 PAHs 濃度は大きく減衰した(減衰率 Phe 93 %, Pyr 78 %, B(a)A 67 %, Chr 63 %)。その後、0 時間目に再度 2 ppb 分の PAHs を添加したところ、マダイ投入時の各 PAHs 濃度は、実測値ベースで設定の 2 ppb に近い濃度 (Phe 2.2 $\mu\text{g/L}$ 、Pyr 2.6 $\mu\text{g/L}$ 、B(a)A 2.5 $\mu\text{g/L}$ 、Chr 2.7 $\mu\text{g/L}$) であった。マダイ投入後、試験海水中的濃度は減衰し、その減衰率はマダイ投入区で特に大きく、マダイ投入 6 および 24 時間後では 4 種 PAHs の平均でマダイ投入時のそれぞれ 92 % および 98 % が減衰した。また、マダイを投入していない処理区においても 6 時間後で平均 48 %、24 時間後で平均 71 % の PAHs が減衰した。

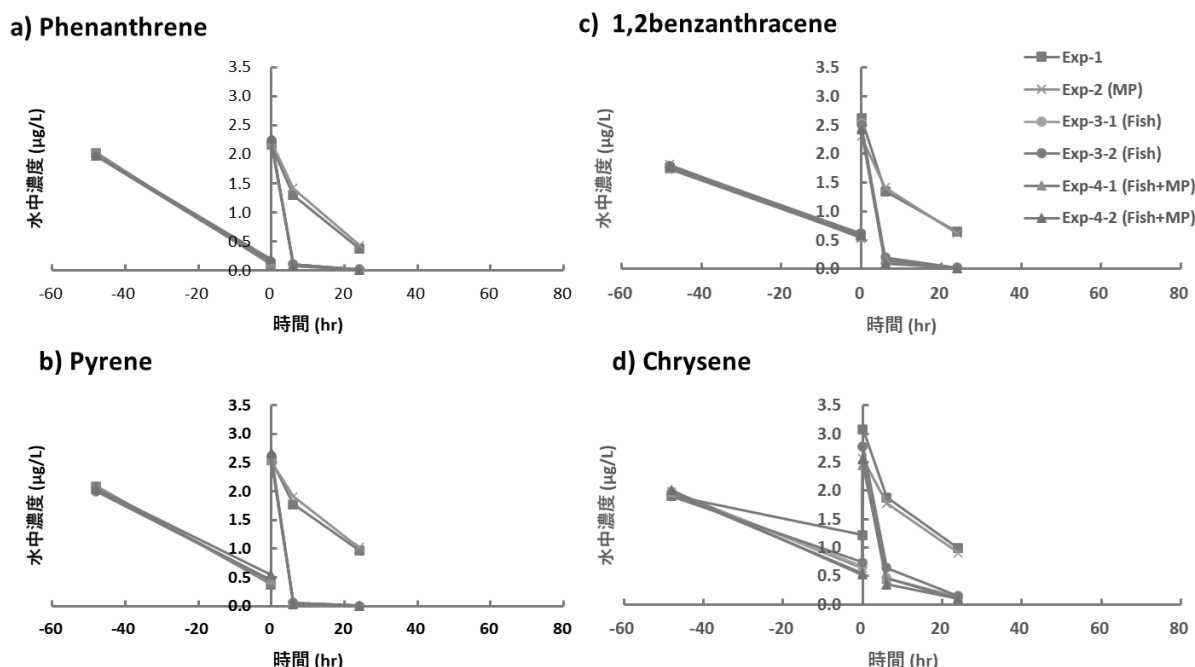


図 2. 各処理区(水槽)における試験海水中的の各 PAHs 濃度

マダイ消化管内に摂取されていた MP の数は個体差が大きく、マダイ投入 6 時間後では平均 223 個 / 個体 (2-742 個 / 個体)、24 時間後では平均 172 個 / 個体 (0-1142 個 / 個体)であった。各組織中の PAHs 濃度を測定した結果、消化管内に含まれていた MP 数の増加に伴う消化管組織中の B(a)A および Chr 濃度の増加が認められた ($p < 0.05$)。一方、肝臓および筋肉組織中の PAHs 濃度は、マダイ投入 24 時間後の肝臓中 Pyr を除きいずれの PAH においても消化管に摂取されていた MP 数との間に相関は認められなかった ($p > 0.05$)。各サンプリング時間および処理区(水槽)ごとの肝臓および筋肉中の PAHs 濃度をみると、マダイ投入 6 時間後の肝臓中 B(a)A 濃度は、曝露前に比べ MP の有無に関わらず、いずれの処理区および水槽においても有意に増加した ($p < 0.05$) (図 3)。また、肝臓中の Pyr 濃度、筋

肉中の Pyr および B(a)A 濃度が、曝露前に比較して高くなる個体が複数確認された。しかしながら、いずれの組織中 PAHs 濃度においても、MP を介した PAHs の増加は認められなかった。

今回実施した試験は、海水中の PAHs を天然海域よりも 100 倍程度高い濃度で設定し、また PAHs の収支計算を容易にするため閉鎖系の完全止水式で行った。しかし、試験期間中の DO（溶存酸素）保持のための曝気、水槽への吸着、PAHs の（MPを介さない）鰓経由でのマダイへの取り込み等による試験期間中の水中 PAHs の減衰が当初の予想をはるかに上回り、その減衰率は 6 時間で最大 97 % となった。これにより、PAHs が GC/MS での検出が困難なほど低濃度となり、試験期間中の海水中 PAHs 濃度を維持できないことが実験遂行の上で大きな障害となった。本試験は、海水中 PAHs 濃度と MP に吸着された PAHs 濃度が平衡である状況下において、MP を介した PAHs の魚体内への取り込みの有無を検証することを目的としていることから、今後、試験海水中の PAHs 濃度を維持する対策を講じることが重要である。

また、MP を効率よく摂食させるために同時に投与したアルテミアへの海水から PAHs の吸着・濃縮量が多く、摂餌効果による PAHs の取り込みが MP 摂食経由による取り込みに比べ相対的に高くなってしまった可能性も示唆された。

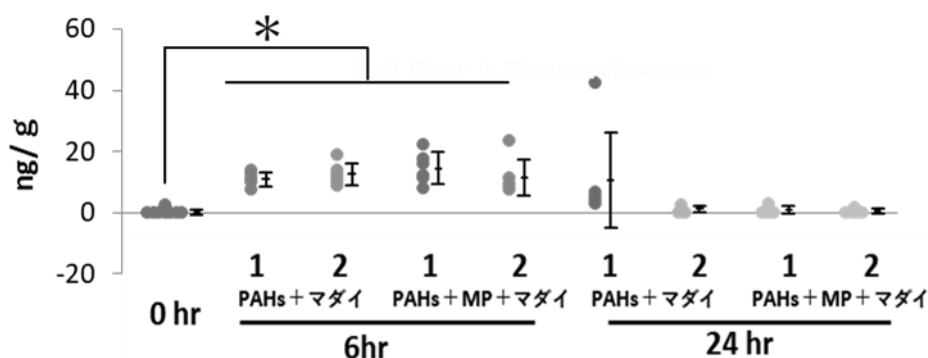


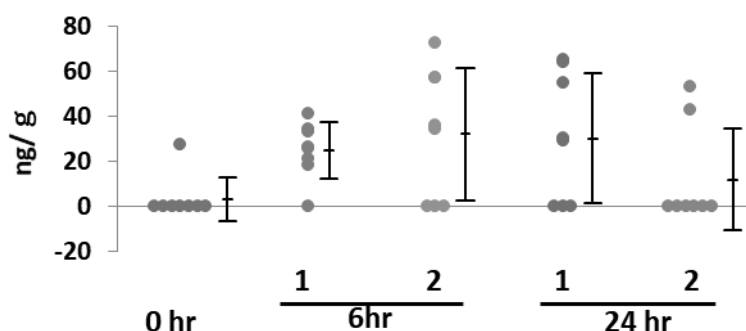
図 3. 各処理区(水槽)における個体ごとの肝臓中 1,2-benzanthracene 濃度

4. 2. 2 試験 2

試験期間中の海水に含まれる PAHs 濃度を測定した結果、MP の添加後、時間の経過と共に海水中 PAHs 濃度は増加し、試験終了の MP から海水中への PAHs の溶出率はそれぞれ Phe 42 %、Pyr 26 %、B(a)A 23 %、Chr 38 %であった。

マダイ消化管内に摂取されていた MP の数は個体差が大きく、マダイ投入 6 時間後では平均 142 個/個体 (5-913個/個体)、24 時間後では平均 74 個/個体 (4-497個/個体)であった。各組織中の PAHs 濃度を分析した結果、消化管内に含まれていた MP 数と消化管組織中の Pyr、B(a)A および Chr 濃度との間には正の相関が認められた ($p < 0.05$)。また、処理区間に有意な差は認められないものの、複数の個体において曝露前の組織中 PAHs 濃度と比較して、肝臓中の Pyr (図4) および Chr 濃度、筋肉中の B(a)A および Chr 濃度の増加が認められた。これら魚体中の PAHs 濃度の増加が認められたことから、PAHs を吸着した MP が PAHs

を含まない海域へ PAHs を持ち込む効果を含めると、MP を介した魚体中への PAHs の取り込みが確認された。ただし、MP から海水へ溶出した PAHs に起因するものか、消化管内での MP からの溶出に起因するものかは定かではないため、今後寄与率等を検討する必要がある。



5. 参考文献

6. 事業推進上の問題点等

7. 要約

高いと推定されたものの、その濃度は FDA による懸念レベルと比較するとはるかに低いことから、食品としてのリスクは低いものと推察された。

PAHs 吸着 MP を用いた生体内溶出試験法を検討した結果、消化管内での MP からの PAHs の溶出の他、PAHs を含まない海域への PAHs の持ち込み効果を含めると、一部の個体において MP を介し PAHs が体内に移行する現象が確認された。

また、試験海水中の PAHs 濃度の維持および給餌の方法等、生体内溶出試験法の確立に向けた課題を抽出しその改善点を整理した。これにより、今後 MP を介した汚染物質の魚体内への取り込み量および経路等の詳細な評価が可能となると考えられる。