

課題番号:1MF-2204

研究課題名:マイクロ・ナノプラスチックが海洋生物に与える影響:生態学的適切さに
基づく評価

研究課題代表者:金 禧珍 (長崎大学)

体系的番号:JPMEERF20221M04

重点課題:主⑥グローバルな問題の解決に貢献する研究・技術開発(「海洋プラスチックごみ問題への対応」)

副⑩大気・水・土壌等の環境管理・改善のための対策技術の高度化及び評価・解明に関する研究

行政ニーズ:(1-2)マイクロプラスチックの物理化学的特性の違いを考慮した生物影響の研究

研究実施期間:2022 年度(令和 4 年度) ~ 2024 年度(令和 6 年度)

【研究体制】

サブテーマ1

八木 光晴 (長崎大学)

経塚 雄策 (長崎大学)

サブテーマ2

中谷 久之 (長崎大学)

サブテーマ3

金 禧珍 (長崎大学)

八木 光晴 (長崎大学)

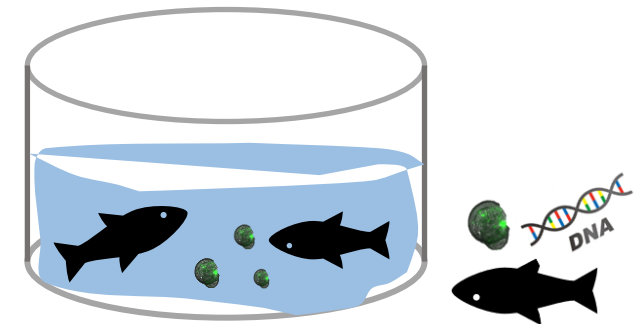
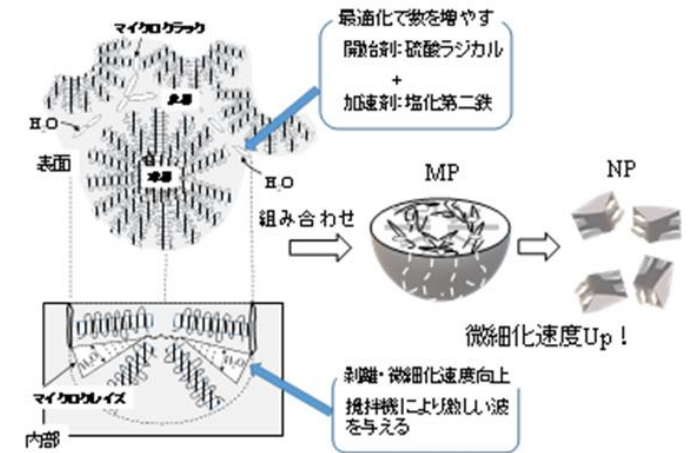
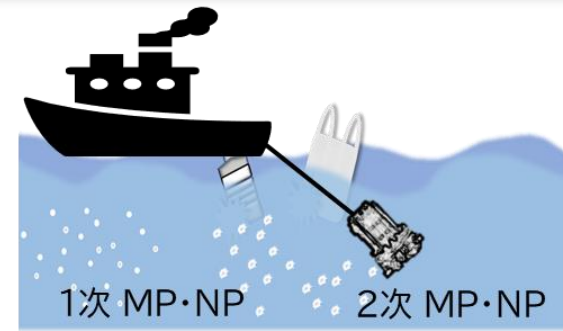
1. 研究背景、研究開発目的および研究目標

【研究背景】

海に漂っているマイクロ・ナノプラスチック(MP・NP)は、商品として製作された「1次MP・NP」とプラスチック製品が分解される時に生成される「2次MP・NP」、2つの種類に大別される。この2種類のプラスチックが海洋生物に与える有害性が懸念されている一方で、2次MP・NPは自然界に圧倒的に多いにも拘わらずその手配が難しいことから、現在行われているほとんどの環境アセスメントは1次MP・NPのみに着目している。そこで、本研究では、2次MP・NPの影響を調査することを試みた。

【研究開発目的】

海に分布するMP・NPの現状把握のため必要とする時間や経費、労働力の軽減が期待できる効率的捕集技術および分析方法を開発して、短時間で海洋MP・NPの状況を明らかにする。海上で得られた密度情報や素質情報から海洋MP・NPとその物理化学的特性の類似したモデル試料(人工2次MP・NP)の作製する方法を開発し、生物試験が実施可能な適量の試料を提供する。全ての結果物を取り入れて、海洋生物特に、動物プランクトンを対象に安定したMP・NPの粒子毒性評価法を開発する。また、食物連鎖を経て生じるMP・NPの影響評価法を開発し、海洋生態系全体に及ぼす2次MP・NPの有害性を評価する。



海洋生態系とマイクロ・ナノプラスチック(MP・NP)の影響評価

1. 研究背景、研究開発目的および研究目標

【研究目標(全体目標)】

本研究の目標は、海洋に存在するマイクロ・ナノプラスチック(MP・NP)の物理化学的特性を正確に把握し、現在の海、そして近未来に起こりうる濃度と質が海洋生物に与える影響を検討することにより、**優先的に流出抑制対策すべきプラスチックの形状・材質等を特定し、合理的な施策立案に貢献することである。**この目標を達成するために、日本近海に分布するマイクロ・ナノプラスチック(MP・NP)の物理化学的特性を正確に把握し、現在と近未来の予測される海況を完全再現(サブテーマ1、2)、これらの条件下でMP・NPが海洋生物に与える影響を調べる(サブテーマ3)。

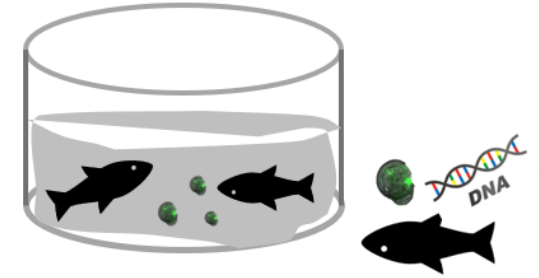
サブテーマ3

海洋生物に与えるMP・NPの影響

1次と2次MP・NPが動物プランクトンと魚類の生残と成長に与える影響及びその物理的・分子生物学的メカニズム解明



✓ 生物試験用MP・NPを提供



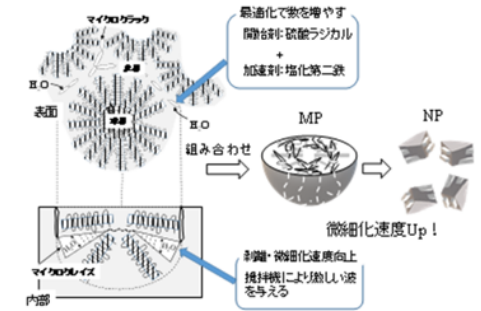
サブテーマ2

MP・NPの作製・分析&含有添加剤挙動

1次と2次MP・NPの割合、粒径と濃度、含有添加剤挙動の解析及び同様のMP・NPの作製



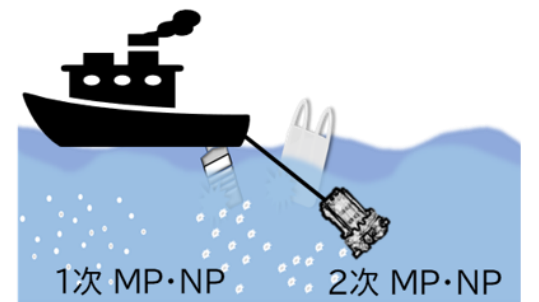
✓ モデル作製用データ
✓ 分析用試料を提供



サブテーマ1

海洋MP・NPの捕集高度化と密度

前処置の簡素化、MP・NP捕集技術高度化、生物取り込み状況把握



海洋生態へのMP・NPの影響評価

2. 研究目標の進捗状況

(1) 進捗状況に対する自己評価 (サブテーマ1)

サブテーマ1: 海洋マイクロ・ナノプラスチックの捕集技術の高度化と密度評価

【サブテーマ1の研究目標】

従来の方法では不可能であった300 nm～350 μmのサイズのナノ・マイクロプラスチック(MP・NP)の捕集を可能とする実海域サンプリング基盤の形成、および本技術を用いた表層・中層・堆積物中のプラスチック密度を評価する。表層では、海洋ゴミが多いとされる九州西岸海域を対象に網羅的に密度を求める。中層では、水深500 mまでの鉛直分布を調べることで、未解明な高密度水深帯を明らかにする。さらに、底層では海底堆積物と沈降プラスチック量を調べ、ミッシングプラスチック問題に切り込む。また、生物体内の取り込み状況の調査を実施する。得られたMP・NPの密度情報をサブテーマ2、およびサブテーマ3に提供する。

【令和4年度研究計画】

従来の方法で捕集されていたプラスチックのサイズと比較して、最小1/1000サイズのMP・NPを捕集する基盤を形成する。大型練習船を利用して九州西岸沖で採水を行い、海水1立方メートル当たりの異なるサイズのMP・NPの個数計測を行い、その結果をサブテーマ2および3に提供する。収集されたMP・NPは、サブテーマ2の解析資料として提供する。また、仔稚魚の採集および同定を実施する。

【令和5年度研究計画】

初年度に確立した捕集技術を用い、中層に存在しているMP・NPの密度を定量する。得られたMP・NPと密度の情報をサブテーマ2および3に提供する。堆積物に含まれるMP・NPを捕集する基盤を形成する。収集されたMP・NPは、サブテーマ2の解析資料として提供する。また、令和4年度に採取した仔稚魚の体内へのMP取り込み状況を調査する。

【令和6年度研究計画】

初年度に確立した捕集技術を用い、堆積物中のMP・NPの密度を定量する。収集されたMP・NPは、サブテーマ2の解析資料として提供する。3年間の成果をまとめ、海洋MP・NPの密度動態を明らかにする。また、令和4年度に採取した仔稚魚の体内へのNP取り込み状況を調査する。

【自己評価】海洋プラスチックごみが多いとされる東シナ海の海域で、ニューストーンネットをする抜けるサイズのMPの定量に成功した。また、NPのサイズのプラスチックも確認できた。従って、[年度計画通り進展している](#)と自己評価する。

2. 研究目標の進捗状況

(2) 自己評価に対する具体的な理由・根拠と目標達成の見通し (サブテーマ1)

【具体的な理由・根拠】

九州西岸沖のニューストーンネットをすり抜けるサイズのマイクロプラスチックの密度の評価、およびサブテーマ2への解析試料への提供を行った。また、仔稚魚の採集と同定を実施した。蛍光観察では非常に多くの発光物質が検出され、LDIRと比べてかなり過大評価されていることが明らかとなった。一方、LDIR解析の結果からポリアミド、ポリエチレン、ポリプロピレンなどが水中に含まれており、その密度は122個/Lであることが明らかとなった(図1)。さらに、ニューストーンネットを使用して、五島灘の海域で一回のサンプリングで9地点で仔稚魚を1351尾採集し、ブラスト法により種同定を行った(図2)。以上より、当初計画を概ね達成しているが、NPサイズのプラスチックはその判定が困難であるので、次年度以降、MPの鉛直分布と併せて検討を行う。

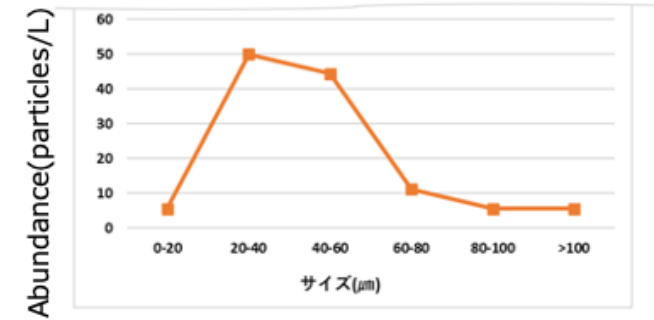


図1 サイズ毎のMPの密度

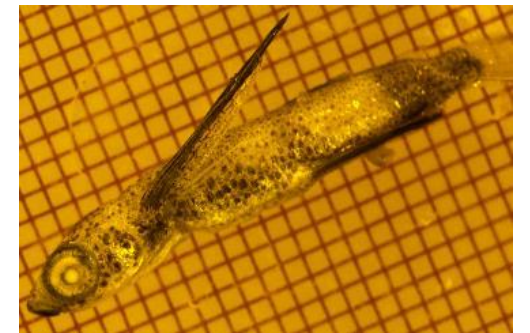


図2 仔稚魚の1例

【目標達成の見通し】

令和4年度に主にMPのサイズ分布についてLDIRという新たな手法により明らかにした。今後は、MPの季節的変動や鉛直方向の解析に加え、NPのサイズをも対象に研究を進めるための予備試験も結果を得ていることから、目標を計画通り達成できると思われる。さらに、堆積物、および仔稚魚の体内のMPについても一部、既に実施していることからこれらについても達成を見込んでいる。

2. 研究目標の進捗状況

(1) 進捗状況に対する自己評価 (サブテーマ2)

サブテーマ2: マイクロ・ナノプラスチック作製・分析と含有添加剤挙動の解析

【サブテーマ2の研究目標】 PP、PS及びPEに関して、水中での劣化による微細化速度を算出して、より粒度分布がシャープなMP・NPサンプルを作製する。NPサンプルを数百mg/月で得る技術を新たに開発する。またPP、PS及びPE微細化時にUVA吸収剤や難燃剤含有させ、これら添加剤がプラスチック劣化時にどのような変化を起こすのかについて、化学構造の面からも解析する。画像解析から瞬時に海洋NPの種類を判別する手法も開発する。

【令和4年度研究計画】 水中で硫酸ラジカル単独体もしくは加速剤(鉄2価化合物)併用を使い、PP、PS及びPEを300 nm～300 µm粒径まで劣化微細化した劣化MP・NPを4水準(300 nm～10 µm、10µm～20 µm、20µm～50 µm、50 µm～300 µm)作製し、サブテーマ3に提供する。画像解析から海洋NP種別(PP/PS/PE)を判断する手法も開発する。

【令和5年度研究計画】 NP種別判別法を用いて、海洋NP中の各プラスチックの混合比を回収海域別に算出する。同じ混合比、サイズ及び形状・酸化度を持つ劣化MP・NPを作製し、提供する。また、UVA吸収剤及び難燃剤含有劣化MP・NPを作製し、微細化進行に伴うUVA及び難燃剤の変質を調べる。

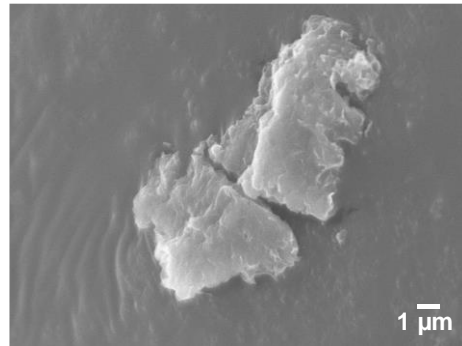
【令和6年度研究計画】 海洋MP・NP中のUVAまたは難燃剤の含有率及び変質率を測定する。同じ含有率及び変質率の劣化MP・NPを作製し、提供する。回収報告例があるゲル状物の回収を試み、分析・解析を行なう。これにより海洋MP・NPの最終的な環境運命を明らかにする。

【自己評価】 人工海水と硫酸ラジカルを組み合わせることで、各種MP・NPサンプルを2週間程度で作製することに成功した。また画像解析も元素分析を組み合わせることで、プラスチック種や劣化度を判別する方法の開発に成功した。以上の成功により、研究は予想以上の速度で進捗した。従って、計画以上の大きな進展があると自己評価する。

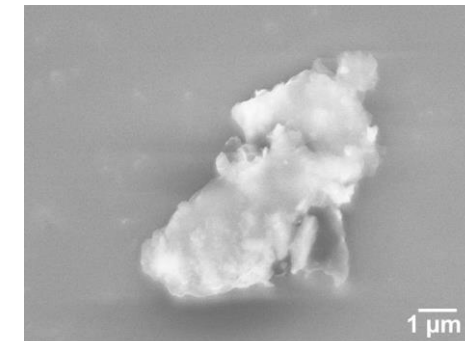
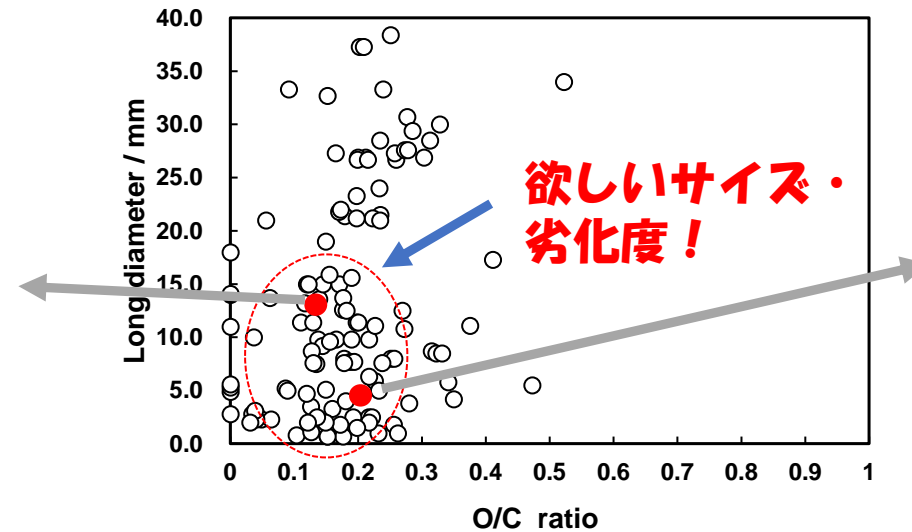
2. 研究目標の進捗状況

(2) 自己評価に対する具体的な理由・根拠と目標達成の見通し (サブテーマ2)

【具体的な理由・根拠】各種MP・NPサンプルを2週間程度で作製させる人工海水と硫酸ラジカルの組み合わせの発見が、ブレイクスルーとなった。この発見により、PP, PE及びPSに関しては、計画達成に必要なサイズ及び劣化度を持つ試料を短期間で作製できるようになった。以上が目標を達成可能と判断した具体的な根拠である。



望む通り作製!



望む通り作製!

【目標達成の見通し】研究計画に関しては、前倒しで実施を行っている。目標も微細化進行に伴う難燃剤の変質以外はすでに研究を行っており、それら成果は、学会発表及び投稿論文の形で公表を行っている。達成済みのものをを含め、すべての目標に関しては、達成の見通しが立っている。

2. 研究目標の進捗状況

(1) 進捗状況に対する自己評価 (サブテーマ3)

サブテーマ3: マイクロ・ナノプラスチックが海洋生物に与える影響とそのメカニズム解明

【サブテーマ3の研究目標】海に分布するMP・NPが生物に与える有害性の有無を明らかにするために、商品化されている1次MP・NPとサブテーマ2で作製した2次MP・NPを用いて、「MP・NPの異なる粒径と濃度、添加剤の種類が海洋生物に与える影響評価」する。得られた結果を基に、海洋MP・NPが海の生態系に与える影響を総合的に評価し、海洋環境モデリングと環境政策構築に基礎となるデータを提供することを最終目標とする。

【令和4年度研究計画】1次MP・NPが海産動物プランクトンの個体群増殖と生残に与える影響を調べる。その後、残留の有無や、期間、蓄積場所などを観察、環境ストレスや生殖に関連する遺伝子の発現量と共に酵素活性などを調べて、これらの物理的・分子生物学的メカニズムを明らかにする。

【令和5年度研究計画】サブテーマ2で作製した人工2次MP・NPを用いて、異なる粒径や濃度、添加剤などが海産動物プランクトンに与える影響を調べる。その後、同様の1次と2次MP・NP条件下で仔魚飼育試験を行い、粒径や濃度、添加剤などの影響を確かめる。

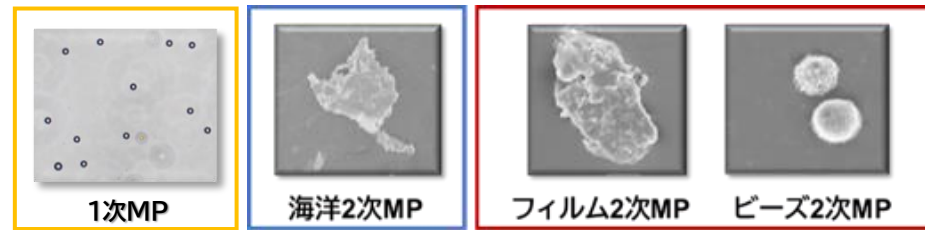
【令和6年度研究計画】海洋生態系の食物連鎖を考慮し、MP・NPを蓄積した動物プランクトンから仔魚へと繋がる1次と2次MP・NPの影響と仔魚に直接与えた時の1次と2次MP・NPの影響を比較する。それぞれの条件下での仔魚の成長・生残、およびMP・NPの蓄積場所、環境ストレスに関連する遺伝子の発現量と酵素活性など、物理的・分子生物学的実験を行い、その影響を評価する。

【自己評価】今年度目標とした1次MP・NPのみならず、2次MP・NP及び海洋MP・NPが海産動物プランクトンに与える影響を調べることができた。また、対象生物も終生プランクトンであるシオミズツボウムシのみならず、一時プランクトンであるマガキ幼生に対しても成果が得られたため、計画以上の進展があると自己評価する。

2. 研究目標の進捗状況

(2) 自己評価に対する具体的な理由・根拠と目標達成の見通し (サブテーマ3)

【具体的な理由・根拠】 令和4年度では、(1) **1次MP・NP**と(2)海で採集した**海洋2次MP**(3) **サブテーマ2で作製した2種類の人工2次MP**が海産動物プランクトンの生活史に与える影響を調べた。それぞれの対象生物を粒径と濃度の異なるMP・NPに暴露した結果、**特定の暴露条件**が対象生物の生残、生殖能、寿命、行動などの観察パラメーターに悪影響を与える影響が観察された。

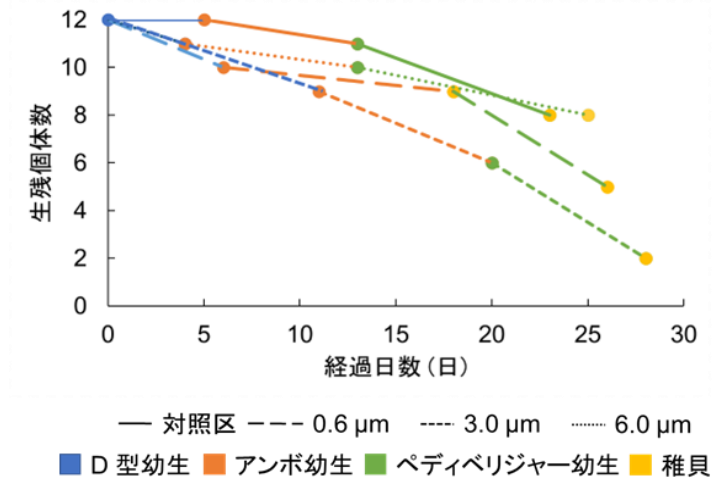


	粒径 (μm)	寿命	産卵数	産仔数
一次MP (20、200 粒子/ml)	0.3、3.0	—	↗	↗
一次MP (2000 粒子/ml)	0.3、3.0	↗	↗	↗
二次MP (20 粒子/ml)	3.0	↘	↘	↘
二次MP (2000 粒子/ml)	3.0	—	↗	

ワムシの生殖能に与える負の影響確認



	海洋MP	人工MP	
		ビーズMP	フィルムMP
単性生殖	減	減	増
両性生殖	減	減	増



マガキ幼生の生残と付着行動に対する1次MP・NPの負の影響

【目標達成の見通し】 令和4年度に多様な角度から生物試験を推進しており、現在はMP・NPの影響を評価するための生物試験法が確立されている。そのため、令和5年度実施予定のプラスチック添加剤である**難燃剤や紫外線吸収剤/安定剤が海洋生物に与える影響**についても計画通り実施できると考えられる。さらに、MP・NPが仔魚に与える影響調査についても、その準備が進んでいる。これらにより、令和5年度も計画通り実施できると考えられる。

3. 研究成果のアウトカム（環境政策等への貢献）

【行政等が活用することが見込まれる成果】

県や市の管理領域にある海岸近くや湾内の海水中のMP・NPの種別、個数や添加剤の分析手法の開発に大いに貢献でき、市民生活におけるMP・NPに対する不安の解消や安全性の確保といった行政ニーズへの貢献ができる。

【行政等が既に活用した成果】

2022年12月9日開催（東京TKP神ビジネスセンター、オンデマンド開催）環境省第3回ばく露等評価分科会において、本研究成果である海水を用いた促進MP・NP作製法の結果を提示し、令和4年度ばく露等評価分科会の検討結果に関する報告書作成に貢献した（報告書p21、図表 8-5中谷委員による発表の概要の引用データとして促進MP・NP作製法の結果が採用されている）。

4. 研究成果の発表状況

【誌上発表(査読あり): 5件、その内2投稿中】

- 1) H. Nakatani, Y. Ohshima, T. Uchiyama and S. Motokucho: Sci. Rep. 12, 18501 (2022) (IF: 4.997) Degradation and fragmentation behavior of polypropylene and polystyrene in water.
- 2) M. Yagi, Y. Ono, T. Kawaguchi: Environmental Pollution, 315, 120457 (2022) (IF: 8.9) Microplastic pollution in aquatic environments may facilitate misfeeding by fish.
- 3) H. Nakatani, Y. Ohshima, T. Uchiyama, S. Motokucho, A. T. N. Dao, H.-J. Kim, M. Yagi and Y. Kyojuka: Sci. Rep. 13, 4247 (2023) (IF: 4.997) Rapid oxidative fragmentation of polypropylene with pH control in seawater for preparation of realistic reference microplastics.
- 4) T. Seong, D. Onizuka, G. Satuito, H.-J. Kim: Marine Pollution Bulletin (submitted)(IF:7.001) Effects of nano- and micro-sized polystyrene beads on larval survival and growth in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*.
- 5) T. Seong, M. Makino, M. Yagi, H. Nakatani, Y. Kyojuka, G. Satuito, H.-J. Kim: Marine Pollution Bulletin (submitted) (IF:7.001) Particle toxicity of different sized microplastics in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*.

【国民との科学・技術対話: 9件】

- 1) 熊本県立天草高等学校における特別講義「海ゴミ問題から住みたい街を考える」(2022年8月)
- 2) 時津町立鳴北中学校における特別講義「海ゴミ問題から住みたい街を考える」(2022年8月)
- 3) 長崎短期大学における市民講座「海の豊かさを守るために～世界の、長崎のマイクロプラスチック問題～」にて講演(2022年10月1日)
- 4) 公益社団法人日本技術士会九州本部長崎県支部におけるシンポジウム「海洋環境問題と海洋ゴミについて」(2022年11月8日)
- 5) 長崎県立東高等学校における特別講義「マイクロプラスチックの分析について」(2022年11月9日)
- 6) 中小企業基盤整備機構、国立大学法人長崎大学、長崎市D-FLAG ライブ「海の危機！？マイクロプラスチックの実態と解決法」(2022年12月5日)
- 7) 長崎大学 長崎から始めるプラネタリーヘルスの挑戦～SDGsの一步先へ～「海洋生態系の脅威となるプラスチックごみ」(2022年12月14日)
- 8) 米山ロータリー 長崎中央クラブ「マイクロプラスチックと海のマイクロ生態系」(2023年1月30日)
- 9) 長崎県立奈留高校における特別講義「海の豊かさを守るために～世界の、長崎のマイクロプラスチック問題～」(2023年7月4日)

4. 研究成果の発表状況

【口頭・ポスター発表(学会等):15 件】

- 1) 川口俊哉, 小野友梨夏, 八木光晴: 令和4年度日本水産学会秋季大会, ポスター発表(2022)五島灘における堆積物中のマイクロプラスチックの密度
- 2) 中谷久之, 大島由結奈, 内山大志, 本九町卓: 第71回高分子学会年次大会, オンライン(2022)海洋マイクロ・ナノプラスチックとそのモデル試料の比較
- 3) 内山大志, 大島由結奈, 本九町卓, 中谷久之: 第33回研究発表会 マテリアルライフ学会、特別講演会(2022)マイクロプラスチック生成時における紫外線吸収剤の挙動
- 4) 中谷久之, 大島由結奈, 内山大志, 本九町卓: 第71回高分子討論会(2022)海洋マイクロプラスチックモデルの作製
- 5) 中谷久之: 第9回高分子学会グリーンケミストリー研究会シンポジウム、招待講演(2022)長崎県近海におけるマイクロプラスチックの種類別分布状況
- 6) H. Nakatani, Onsite Venue: VANJ CONFERENCE 2022, Keynote Speaker, The University of Tokyo - Hongo Campus, Tokyo, Japan, 2022. Fragmentation Mechanisms of Microplastics and Their Distribution Behavior in the Sea Near Nagasaki
- 7) H. Nakatani: 11 International Symposium on Feedstock Recycling of Polymeric Materials 2022, Keynote Speaker, Nongnooch Garden, Pattaya, Chonburi, Thailand, 2022. Fragmentation Mechanisms of Microplastics and Their Distribution Behavior in the Sea near Nagasaki.
- 8) S. Yamamoto, C.G. Satuito, H.-J. Kim: PICES-AFIMA Joint Seminar, Sydney Hall, Paradise Hotel, Busan, KOREA, Poster, 2022, Comparison of the effects of marine and artificial secondary micro/nanoplastics on the marine rotifer *Brachionus plicatilis* species complex
- 9) M. Yagi, Y. Ono, T. Seong, H.-J. Kim, H. Nakatani, Y. Kyojuka: 6th International Ecosummit Building a Sustainable and Desirable Future Adapting to a changing Land and Sea-scape, Gold Coast, Australia, Poster, 2023. Microplastic pollution of commercial fishes from coastal and offshore waters in southwestern Japan.
- 10) 八木光晴, 川口俊哉, 小野友梨夏, 成泰敬, 金禧珍, 中谷久之, 経塚雄策: 令和5年度日本水産学会春季大会, ポスター発表(2023)海底堆積物中のマイクロプラスチック汚染:九州西岸編
- 11) 八木光晴, 大山香音, 小野友梨夏, 藤本真悟, 明正大純: 第70回日本生態学会大会, ポスター発表(2023)プラある処に魚(いお)あり?: 海洋マイクロプラスチックと仔稚魚密度の関係
- 12) 中谷久之, 大島由結奈, 内山大志, 本九町卓: 第57回日本水環境学会年会 (2023)海洋マイクロプラスチックの回収とそのモデルの作製
- 13) T. Seong, S. Yamamoto, H. Nakatani, M. Yagi, Y. Kyojuka, H.-J. Kim: 令和5年度日本水産学会春季大会, SDG program session, 東京海洋大学, Tokyo, Japan, 2023. Effects of marine microplastics on zooplankton reproductivity and its molecular mechanisms
- 14) 福井翔哉, 中谷久之, 八木光晴, 成泰敬, 経塚雄策, 金禧珍: 令和5年度日本水産学会大会春季大会(2023)一次および二次マイクロプラスチックがシオミズツボウムシに与える影響
- 15) 内山大志, 大島由結奈, 本九町卓, Anh Thi Ngoc DAO, 中谷久之: マテリアルライフ学会第27回春季研究発表会、オンライン(2023)各種マイクロプラスチックにおける紫外線吸収剤の残留挙動

【知的財産権:0 件】

5. 研究の効率性

○ 計画の進捗状況

本研究は、全てのサブテーマが長崎大学内で実施されていることで、高い連携性が実施期間中持続される。そのため、計画以上の大きな進展があり、既に令和4年度予定分だけでなく、5年度及び6年度予定分の一部も達成終了している。同様の理由により、研究資金の使用状況共有などが容易であり、資金の管理および効率的利用が可能であった。

○ 課題年度別計画 および 2022 年度達成状況

サブテーマ		2022 年度	2023 年度	2024 年度
① 長大 水産	海洋MP・NPの回収方法及び分布把握	表層に分布する最小サイズMP・NP捕集技術	中層MP・NP捕集&定量	堆積物MP・NP捕集&定量
	海洋生物(主に仔稚魚)へのMP・NP取り込み状況	サンプル回収	MP取り込み状況把握	NP取り込み状況把握
② 長大 工学	2次MP・NPの効率的作製方法の確立	粒径の分布がシャープなMP・NP資料作製	UVA及び難燃剤添加	
	海洋MP・NPの化学的特徴把握	分析&データ提供		
③ 長大 水産	1次と2次MP・NPが動物プランクトンに与える影響	1次と2次MP・NPの生物試験・分子生物学的実験	UVAと難燃剤添加2次マイクロプラスチックテスト	
	1次と2次MP・NPが海洋生態系に与える影響			食物連鎖を通じた1次と2次MP・NP影響

左表の黄色は、2022年度実施された研究内容を表している。サブテーマ1では、2024年度実施計画の所まで、サブテーマ2でも同様、2024年度計画の所まで、サブテーマ3は、2023年度計画内容まで実施されている。