資 料

鹿児島湾で捕獲された魚類消化管中のマイクロプラスチック調査

Survey of Microplastics in Digestive Tracts of Fish Caught in Kagoshima Bay

野 明1 佳 原 田 卓 也 倫 山下 清 正 江 宥 下 幸2 下堂薗 弘 冶 島 浩

1 はじめに

プラスチックは軽量で耐久性をもち、我々の生活に利便性と恩恵をもたらしている有用な物質であるが、一方で、不適切な処理により地球規模での環境汚染が社会的な問題となっており、国においても様々な対策が講じられてきている^{1),2)}。また、5mm未満の微小なプラスチックはマイクロプラスチック(以下「MP」という。)と呼ばれ、海洋汚染や吸着する化学物質による生態系への影響が懸念されている³⁾。

このような中、東京湾や大阪湾などで捕獲した魚類や 二枚貝からMPが検出されたとの報告4~7があり、さらな るMPの実態把握が望まれている。

そこで当センターにおいても、鹿児島湾でのMPの実態を把握するため、魚類消化管中のMPの回収方法について検討するとともに、決定した手法を用いて鹿児島湾(南北約80km、東西約20km、平均水深117m、最大水深237m)で捕獲された魚類消化管中のMPを調査したので報告する。

2 方法

2. 1 試料

試料に用いた魚類については,2020年9月16日に鹿児 島湾内で捕獲されたものを同日,鹿児島市中央卸売市場 魚類市場で購入した。

購入した魚類の体長,重量を計測し,取り出した消化管(食道から直腸まで)を試料とし,100mL容量のプラスチック容器に入れ,調査時まで冷凍保存した。

試料の魚種,匹数,体長,重量及び捕獲区域を表1に, 魚類の捕獲区域の地図を図1に示す。

表1 試料の魚種, 匹数, 体長等

| 魚種 | 匹数 | 体長 重量 | | 捕獲区域* |
|-------|----|-----------|-----------|-------|
| | | (cm) | (平均値, kg) | |
| マサバ | 50 | 29.0~34.0 | 1.55 | 湾奥部 |
| カンパチ | 60 | 29.5~38.0 | 2.78 | 湾口部 |
| マダイ | 20 | 33.5~39.5 | 3.08 | 湾口部 |
| ヘダイ | 15 | 25.5~36.0 | 2.13 | 湾口部 |
| シロカマス | 25 | 26.5~32.5 | 0.65 | 湾口部 |

^{*} 桜島以北を湾奥部, 桜島以南を湾口部とした。

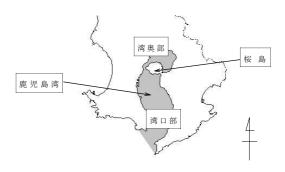


図1 捕獲区域

2. 2 MPの回収方法の検討

2. 2. 1 有機物分解溶液の検討

魚類消化管中からMPを回収するためには、消化管等の有機物を分解し、MP以外の夾雑物を除去する必要がある。そこで、魚類消化管に添加する有機物分解溶液として、既報の文献^{4)~8)}を参考に以下①~③の各溶液を魚類消化管に添加し、それぞれインキュベーター内で10日間40℃で保温し、内容物の観察を行うとともに、分解後の溶液をアスピレーターを用いて吸引ろ過し、残渣の状況について検証を行った。

¹ 姶良·伊佐地域振興局保健福祉環境部

² 退職 (2021年3月)

- ① 10%水酸化カリウム水溶液
- ② 10%水酸化カリウムエタノール溶液
- ③ 30%過酸化水素水

2. 2. 2 ろ過フィルターの検討

MPを回収するため、消化管を分解した試料溶液を吸引ろ過する際に用いるフィルターについて、以下①~③のフィルターを用いた場合のろ過操作について検討を行った。

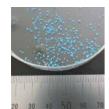
なお,吸引ろ過については吸引フラスコに各フィルターを装着した桐山ロート(SU-60)を接続して実施した。

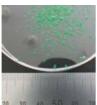
- ① ろ紙 (ADBANTEC, No.5A, 保持粒子径7µm)
- ② ガラスろ紙 (ADBANTEC, GA-100, 保持粒子径1µm)
- ③ ナイロン製プランクトンネット (tantore, 157メッシュ, 目開き100μm)

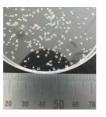
2. 2. 3 添加回収試験及びブランク試験

添加回収試験として,既製のプラスチック製品から図2 のとおり1mm程度の大きさのプラスチック3種類(ポリエチレン,ポリスチレン,ポリエチレンテレフタレート(以下「PET」という。))を作成し,これをマダイの消化管に各10個ずつ加え,回収操作を実施した。

また、操作の過程でプラスチック製品を用いるため、 試料を含めずに同様の回収操作を10回行い、他のプラス チックのコンタミネーションがないか検証した。







ポリエチレン ポリスチレン

PET

図2 添加回収試験に用いたサンプル

2. 3 MPの計測方法及び成分同定方法

魚類消化管を分解した試料溶液を吸引ろ過したのち、フィルターに残ったMPと思われるものを超微細ピンセットで目視選別し、実体顕微鏡を用いて形状確認及び長径測定を行った。その後、赤外分光光度計を用いてMPの成分同定を行った。

なお、実体顕微鏡はOLYMPUS SZX10を用い、赤外分光光度計はフーリエ変換赤外分光光度計(FT-IR、パーキンエルマージャパン、Frontier)を用いた。分析の波数範囲は $650\sim4000$ cm⁻¹とし、機器のソフトウェアのライブラリを用い、ヒット率が0.7以上のものについてIRス

ペクトルを確認し、プラスチックとの類似性が最も高い ものを採用した。なお、ヒット率は1に近いほどライブ ラリとの一致率が高いことを示している。

3 結果及び考察

3. 1 MPの回収方法の検討

3.1.1 有機物分解溶液の検討

有機物分解溶液として、①10%水酸化カリウム水溶液、②10%水酸化カリウムエタノール溶液、③30%過酸化水素水を魚類消化管に添加し、試料溶液の観察を行ったところ、どれも多くの有機物を分解しており、ろ過後の残渣の量に大きな違いは見られなかった。しかしながら、①は検体によっては上部に油のような層を形成するものがあること、②は油層の形成は見られなかったが、エタノールの比重が水やポリエチレンなど一部のプラスチックよりも小さいため、通常、水に浮くMPでも底に沈んでしまうこと、③は添加後に泡が多量に発生するとともに白い固形物が生じたためMPを覆い隠し見落とす可能性があることがそれぞれ課題に挙げられた(図3)。

そこで、本法では①の10%水酸化カリウム水溶液を有機物分解溶液とし、吸引ろ過後に、容器内に油層が残る場合はエタノールを加えて油層を溶解させ、超純水で洗いながら再度ろ過することとした。

なお、分解した試料溶液を放置すると油層が冷えて固まり、ろ過操作に支障をきたしてしまうため、保温後すぐに操作を行うか、時間が空く場合は水浴中で試料溶液を 40° に温め直してから操作を行うこととした。

加えて、マダイなど検体によっては10%水酸化カリウム水溶液を添加しても消化管内容物の骨などが残渣として多く残ってしまい、最終のMPの選別作業に影響を及ぼす可能性が考えられた。したがって、吸引ろ過後の容器に骨などの残渣がある場合は1mol/Lクエン酸水溶液を残渣の2倍量以上加え、超音波処理を行い、残渣を分解させて再度ろ過することとした。

なお,クエン酸水溶液を加えることで,ろ液も酸性に 傾くため,水酸化カリウム水溶液のろ液が中和され,ろ 液廃棄時の中和処理も容易となる利点もあった。







図3 有機物分解溶液添加の様子(左から①, ②, ③)

3. 1. 2 ろ過フィルターの検討

10%水酸化ナトリウム水溶液で魚類消化管を分解した 試料溶液を吸引ろ過する際に使用するフィルターについ て検討したところ、①のろ紙及び②のガラスろ紙はとも に目詰まりを起こし、ろ過に長時間を要した。特に油層 や残渣の多い試料溶液では、ろ液の泡立ちとろ紙の目詰 まりによりろ過が不可能となった。③のナイロン製プラ ンクトンネットについては目詰まりも起こさず容易にろ 過ができたため、ろ過には③の目開き100μmのナイロン 製プランクトンネットを用いることとした。

3.1.3 添加回収試験及びブランク試験

添加回収試験として、1mm程度の大きさに細断した3 種類のプラスチック(ポリエチレン,ポリスチレン, PET) を試料に各10個ずつ加え,前述の方法で回収操作を行っ たところ、3回操作を行った平均の回収率はポリエチレ ン100%, ポリスチレン96.7%と良好な結果が得られた。 しかしながら、PETについては23.3%と低い回収率であ った。これは、PETの比重がおよそ1.4と水より大きい ため容器内の底部に留まったことが要因であったと考え られた。そのため、PETよりも比重の大きなヨウ化ナト リウム水溶液 (5.3mol/L, 比重およそ1.6) を調製し, 先述のクエン酸水溶液のろ過操作後に容器内にヨウ化ナ トリウム溶液を約10mL添加し、その上澄み液を吸引ろ 過し、超純水でよく洗い流した。その結果、3回操作し た平均のPETの回収率は96.7%となり、回収率が大きく 上昇した。このことから、残渣が多くある場合は、最後 にヨウ化ナトリウム水溶液を添加し, 比重での分離も併 せて行うこととした。

また、ろ過操作の前に比重分離を行うことも検討したが、水酸化カリウムで分解した試料溶液にヨウ化ナトリウム溶液を添加すると試料溶液が凝固してしまい、ろ過が不可能であった。さらに、過酸化水素水にヨウ化ナトリウム溶液を直接加えると激しく発泡し、危険であるため避ける必要があった。

なお,ブランク試験として,試料を含めず同様の回収操作を10回行ったところ,MPは未検出であり,容器や操作によるMPのコンタミネーションはなかった。

3. 2 MPの回収及び同定方法

3.1の結果から、当センターにおける魚類消化管中のMPの回収及び同定方法を図4のフローのとおり決定した。また、操作の様子を図5に示す。なお、今回はピンセットで挟むことのできた0.5mm以上のものを対象とした。

魚類の体長、重量を計測し、消化管(試料)を取り出す

試料を100mL容量のプラスチック容器に入れる 10%水酸化カリウム水溶液添加(消化管の2~3倍量)

試料溶液

インキュベーター内で10日間40℃で保温 時折,振り混ぜる

吸引ろ過(ナイロン製プランクトンネット)

超純水でよく洗いながら試料溶液をろ過する

- 1.油層が残っている場合:エタノールを加え,ろ過する
- 2. 骨などが残る場合: 1mol/Lクエン酸水溶液を残渣の2 倍量以上加え,超音波にかけ分解後,ろ過する
- 3. さらに残渣が多く残る場合: 5.3mol/Lョウ化ナトリウム水溶液を添加し、上澄み液をろ過する

フィルターを超純水でよく洗浄した後、乾燥させる

超微細ピンセットを用いて目視選別する

約0.5mm以上でMPと思われるものを回収する

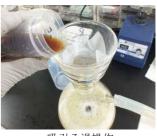
実体顕微鏡にて,形状確認を行い,長径を測定する

FT-IRで成分同定を行う

図4 魚類消化管中のMP回収及び同定方法フロー



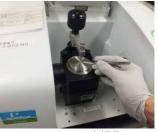
インキュベーター保温



吸引ろ過操作



吸引ろ過後



FT-IRでの同定操作

図5 MP回収及び同定操作の様子

3. 3 鹿児島湾で捕獲された魚類消化管中のMP調査 3. 3. 1 MPの個数

3.2のMPの回収及び同定方法を用いて, 鹿児島湾で捕獲された試料中のMPの調査を行った。検出されたMPの個数, 検出率等を表2に示す。

調査した試料170匹中31匹から計63個のMPが検出され、全体の検出率は18.2%であった。魚種別にみると最も多くMPを検出した魚種はマサバであり、50匹中22匹から計54個のMPが検出された(検出率44.0%)。また、捕獲区域別にみると、湾奥部で捕獲されたものがMPの

検出率が高かったが、これは魚種が1種類のため魚種による影響の可能性もあるため、捕獲区域別等によるMPの差異については今後の調査が必要である。

| 表2 | MPの | 検出 | 個数 |
|----|-----|----|----|
|----|-----|----|----|

| 魚種 | 捕獲 | 調査 | 検出 | 検出 | 検出率 |
|-------|-----|-----|----|----|-------|
| | 区域 | 匹数 | 匹数 | 個数 | (%) |
| マサバ | 湾奥部 | 50 | 22 | 54 | 44. 0 |
| カンパチ | 湾口部 | 60 | 8 | 8 | 13. 3 |
| マダイ | 湾口部 | 20 | 0 | 0 | 0 |
| ヘダイ | 湾口部 | 15 | 0 | 0 | 0 |
| シロカマス | 湾口部 | 25 | 1 | 1 | 4. 0 |
| 合計 | | 170 | 31 | 63 | 18. 2 |

3. 3. 2 MPの成分

検出されたMPの成分名,個数及びライブラリとのヒット率を表3に示し,検出されたMPの一部を図6に示す。

検出されたMPのうちポリエチレンが一番多く検出され、次にポリスチレン、ポリプロピレンの順で検出された。今回、最後に比重分離を行うことで比重の大きなプラスチックについても回収できるように設定したが、比重の大きなPET等のプラスチックは検出されなかった。

表3 MPの成分名、個数及びライブラリとのヒット率

| 成分名 | MP個数 | ヒット率* |
|----------------|------|-----------------|
| ポリエチレン | 33 | 0.91 ± 0.04 |
| ポリスチレン | 14 | 0.88 ± 0.04 |
| ポリプロピレン | 13 | 0.89 ± 0.05 |
| エチレンプロピレンジエンゴム | 2 | 0.85 ± 0.09 |
| エチレンプロピレンゴム | 1 | 0.83 ± 0.00 |

*ヒット率は1に近いほどライブラリとの一致率が高い。



図6 魚類消化管中から検出されたMP

3. 3. 3 MPのサイズ, 形状等

MPのサイズについては、図7に示すとおり0.5~2mm の大きさのものが全体の約50%を占めた。

なお、漁具と思われる5mmより大きな糸状のプラスチックも3個見つかったが今回はMPには含めなかった。

形状としては、微細化したと思われる形状(破砕状)のものが多く全体の65.1%を占めた。他には、繊維(糸)状やフィルム状のものも見つかった。

今回検出されたものは、全て二次的MP(プラスチック製品等が紫外線や波などの作用により5mm未満となったもの)と思われるものであり、マイクロビーズなどの一次的MP(もとから5mm未満で製造されたもの)は検出されなかった。

色については、白、透明、緑、赤、青、茶及び黄色の ものが見つかり、白と透明のもので全体の74.6%を占め た。

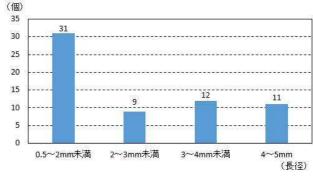


図7 MPのサイズ分布

4 まとめ

- 1) 魚類消化管中のMPの回収方法について検討した結果,操作中に回収物の移し換えが多いとMPの損失に繋がると考え,本法では移し換えを行わない手法として,水酸化カリウム及びクエン酸で消化管等を分解後,残渣が多くある場合はヨウ化ナトリウムによる比重分離を追加することとした。
- 2) 決定した手法を用いて、鹿児島湾で捕獲された魚類 消化管中のMPの有無を調査したところ、5種170匹中31 匹から63個のMPを検出した。うち、マサバから最も 多くのMPを検出し、全体の85.7%を占める54個のMP を検出した。検出されたMPはポリエチレンなどの比重の小さなプラスチックが多く、比重の大きなPETなどのプラスチックは検出されなかった。
- 3) マサバはマダイなどに比べ比較的海域の表層に近い ところに生息しており、今回の調査で最も多く検出さ れたMPはポリエチレンであったこと、また、ポリエ チレンは比重の小さなプラスチックであることから、

他の魚種よりマサバのMPの検出が高かったと推察される。このように魚種や生息域によってMPの成分や検出数が変わってくる可能性が高いため、実態把握には今後も継続した調査が望まれる。

参考文献

- 1)環境省;プラスチック資源循環戦略 https://www.env.go.jp/press/files/jp/111747.pdf (2021/7/8アクセス)
- 環境省;海洋プラスチックごみ対策アクションプラン https://www.env.go.jp/press/files/jp/111753.pdf (2021/7/8アクセス)
- 3) 環境省;海洋プラスチックごみに関する既往研究と 今後の重点課題(生物・生態系影響と実態) https://www. env. go. jp/water/marine_litter/MarinePlasticL itter_Survey%20to%20understand%20the%20actual%20sit uation. pdf (2021/7/8アクセス)
- Kosuke Tanaka, Hideshige Takada; Microplastic fragments and microbeads in digestive tracts of planktivorous fish from urban coastal waters. Scientific Reports, 6, 34351 (2016)
- 5) 牛島大志,田中周平,他;日本内湾および琵琶湖における摂食方法別にみた魚類消化管中のマイクロプラスチックの存在実態,水環境学会誌,**41**(4),107~113(2018)
- 6) 堀美智子,中里亜利咲,他;横浜市内のマイクロプラスチック調査(第3報)-魚類の消化管内のマイクロプラスチック調査-,横浜市環境科学研究所報, 44,49~51(2020)
- 7) 相子伸之,近藤美麻,他;淀川ワンドの底泥と二枚 貝におけるマイクロプラスチックの汚染実態,環境 技術,**49**(6),311~315(2020)
- 8) Amanda L. Dawson, Cherie A. Motti; Solving a Sticky Situation: Microplastic Analysis of Lipid-Rich Tissue, Frontiers in Environmental Science, (2020) https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fenvs.2020.563 565/full (2021/7/8アクセス)