

魚類消化管に存在するマイクロプラスチックの検出方法とその結果

徳島県立城南高等学校

応用数理科 3 年

市川	花音	大家	百葉
日野	桧実	山本	真綺

目次

- 1.概要
- 2.実験材料
- 3.動機、目的
- 4.仮説
- 5.実験 1 の方法
- 6.実験 1 の結果
- 7.実験 1 の考察
- 8.実験 2 の方法
- 9.結果 2 の結果
- 10.考察 2 の考察
- 11.実験 3 の方法
- 12.実験 3 の結果
- 13.実験 3 の考察
- 14.今後の展望
- 15.参考文献
- 16.謝辞

1.概要

私たちは、魚類消化管内のマイクロプラスチックの検出方法を確立するとともに、それを用いて魚が誤飲したマイクロプラスチックを調査する試みを行っている。1度目の調査では、鮮魚店からいただいた徳島県産の8種の魚を対象にした。内臓部分を胃のみにし、10%水酸化カリウム水溶液を加え、55°Cに保ち2~3日静置したのち濾過した。さらに濾物に30%過酸化水素水を加え、55°Cに保ち1週間程度静置し、濾過した。濾物を双眼実体顕微鏡で検鏡し、マイクロプラスチックと思われる試料を柄付き針等に取り、FTIR-ATRで分析したところ、イシガキダイのものから1mm程度のポリエチレンとみられる物質が発見された。

2度目の調査では対象は主に底引き網で採取された38匹魚を対象とした。1度目で試料の損傷が激しかった反省を受け、30%過酸化水素水のみで処理した。その結果、タチウオから400 μ m程度のシリコン樹脂、マダイから1cm程のポリエチレン、オナガグレから500 μ m程の有機物とみられる物質が発見された。

さらに実験3では、10~50 μ mとPETと100~500 μ mの塩化ビニルをそれぞれ10個ずつハマチの胃内に入れ、実験2の検出率を調べた結果、大きさは100~500 μ mの方が検出率が高く、さらに有色である塩化ビニルの検出率が高かった。すべてを合わせた検出率は60%であった。

2.実験材料

実験1ー鮮魚店からいただいたもの

- ・スズキ
- ・マダイ
- ・アカハタ
- ・マトウダイ
- ・オニオコゼ
- ・カンパチ
- ・ハモ
- ・イシガキダイ

実験2ー底引き網漁

- ・ミシマオコゼ(4匹)
- ・コチ(10匹)
- ・シビレエイ(2匹)
- ・アンコウ(2匹)
- ・アカグツ(3匹)
- ・カレイ(3匹)
- ・マツカサウオ(4匹)
- ・タチウオ(2匹)
- ・マダイ(5匹)
- ・キンメダイ(1匹)

実験2ー釣り

- ・グレ(1匹)
- ・オナガグレ(1匹)

実験器具

- ・デシケーター
- ・双眼実体顕微鏡
- ・マイクロメッシュ(目合い 77 μ m)
- ・ピンセット
- ・餌付き針

薬品

- ・10%KOH(水酸化カリウム水溶液)
- ・30%H₂O₂(過酸化水素水)

3.動機・目的

私たちは、海水浴場で浜辺に打ち上げられた大量のプラスチックごみを見たことがきっかけで海洋プラスチック問題に関心を持った。現在、海洋プラスチック汚染が問題となっている。特に、海洋プラスチックは紫外線や波にさらされて劣化、破碎、細分化し、マイクロプラスチックとなることで、魚類等の海洋生物に取り込まれやすくなる。

現在、海洋中のマイクロプラスチック汚染の研究は存在するが、魚類におけるマイクロプラスチックの取り込みに関する調査・研究あまり存在せず、存在したものは、表層魚に関するもののみであったため、私たちは、魚類が取り込んだマイクロプラスチックを検出する方法を確立すると共に、徳島県の底魚を中心に魚類胃内容物を調査し、底魚を中心とした魚類がどれくらいマイクロプラスチックを取り込んでいるのか調査することとした。

4.仮説

・魚類消化管内のマイクロプラスチックの検出方法について

魚類消化管内には多くの有機物が存在する。プラスチックは酸や塩基に強いいため、強塩基で処理することで、プラスチック以外の有機物を分解することができると考える。また過酸化水素処理においても、プラスチック以外の有機物を分解することができ、これらの処理後では、プラスチックのみが残るため、双眼実体顕微鏡で検出できると考えられる。

・徳島県産底魚におけるマイクロプラスチックの取り込みについて

海に流出するマイクロプラスチックで一番多いのは比重が1未満で海水中で浮くポリエチレンと言われている。比重が小さいポリエチレンと中心としたマイクロプラスチックを魚類がプランクトンと間違え、誤飲することで取り込まれていると考えた。したがって、底魚から検出されるマイクロプラスチックは、表層魚に比べ少なく、底魚から検出されるマイクロプラスチックの種類は、比重が大きいものである。

5.実験 1 の方法

徳島県で採取された 8 種の魚類の胃のみにした。そして、胃 100g に対して 10%水酸化カリウム溶液 100mL 程度を加え、デジケーター内で 55℃に保ち 2～3 日静置した。それを目合 77 μm のマイクロメッシュで濾過し、純水で洗浄した。この段階で有機物は溶けたが、まだ肉片や骨などが多く溶け残っており、この中からマイクロプラスチックを検出することは不可能であったため（写真 1）、さらに濾物に 30%過酸化水素水 100mL 程度を加え、デジケーター内で 55℃に保ち一週間程度静置し、濾過した。結果、肉片の多くは分解されたが（写真 2）、すべての成分の色が抜け、同じような状態となり、マイクロプラスチックと思われる断片を探すのは非常に困難に思われた（写真 3）。その中から、マイクロプラスチックと見られる破片をピンセットや餌付き針で取り出した。



写真 1 ; 10%水酸化カリウム溶液で処理した後の状態



写真 2 : 30%過酸化水素水で処理した後の状態
すべて脱色されている



写真 3 : 30%過酸化水素水処理後、濾物の双眼実体顕微鏡での検鏡像

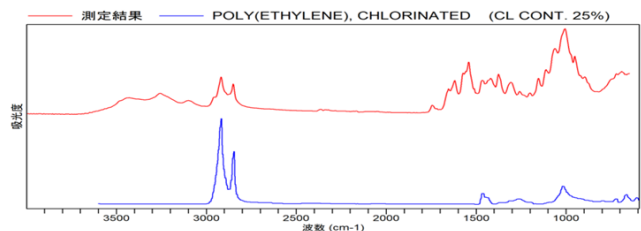
マイクロプラスチックの同定については、始めにナイルレッド染色を試みた。ナイルレッドは生理学分野で脂質などの染色に用いられている蛍光染色試薬であり、分子の疎水性の部分に選択的に結合することからマイクロプラスチックの染色にも使用されている。ナイルレッドは結合する分子の疎水性の度合いによって赤、黄、緑色の異なる蛍光を発する特性があり、プラスチックの素材によって観察される蛍光色が変わる（田中 周平

ら.2022)。しかし、ナイルレッド染色した際、254nm の紫外線を照射したときは蛍光せず、365nm の紫外線を当てたときは、骨などと思われるすべての破片で蛍光した。論文では、470nm 波長の光を充てると特有の発光するとあり、必要な道具が用意できないことから、こちらの手法は断念した。

次に、プラスチックはその種類により赤外線を入射させたとき、反射光の種類が異なるため、FTIR（フーリエ変換赤外線分光法）を用いることでそのプラスチックの種類が分かることを知った。さらにマイクロプラスチックのような、資料が小さいものでも全反射する際に、試料側へわずかに赤外光が潜り込むため割合が異なるため、ATR（全反射測定法）を用いることで、マイクロプラスチックの同定が分析が可能であることを知った。そこで、京都大学 地球環境学堂研究室に、上記処理をしたマイクロプラスチックと思われる断片を持ち込み、FTIR - ATR で分析を行った。

6.実験 1 の結果

多くのマイクロプラスチックと思われる断片を FTIR - ATR の検査にかけたが、試料が白くぼろぼろになっており、分析は難航した。しかし、イシガキダイの胃内容物中からひとつだけ 1mm 四方のシート状の物質が発見された（写真 4）。分析機にかけると、ポリエチレンの可能性があるという結果が出た。下のグラフが分析結果である(図 1)。それぞれの線は吸光度を表しており、その値は物質によって異なる。赤の線は今回の試料、青の線がポリエチレンとなっている。2つのグラフの一致度は 45%程度であった。



Quality	Library	CAS#	Name
0.44758	Poly_D (65)		POLY(ETHYLENE), CHLORINATED (CL CONT. 25%)
0.43359	Intro_D (140)		RUMITEN 250 CQ*LOW DENSITY POLYETHYLENE
0.42874	Poly_D (118)		POLY(ETHYLENE)

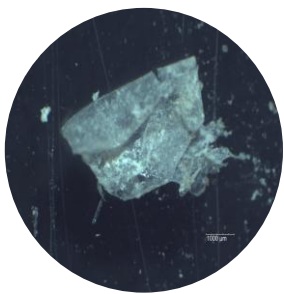


図 1 :FTIR - ATR による測定結果

写真 4 :イシガキダイの消化管内から
発見された物質

7.実験 1 の考察

試料が損傷脱色していまい、目視や顕微鏡での判別が困難となったのは、強塩基処理を行った後に、過酸化水素を加えたことによるものであると考える。また、FTIR - ATR は反射光をもとにした分析方法であるため、試料の状態によって正確な結果が出ないことがある。今回グラフの一致度が低かったのは、魚の胃内容物の性質上、元々紫外線や胃液による損傷がある上、更に強塩基処理をしたことにより、試料が変質したからであると考えられる。また、仮説と反し、比較的生息水深が深いイシガキダイの胃内容物から比重の小さいポリエチレンが検出された。このことについて、私たちは次の 2 つの可能性を考えた。

①イシガキダイがプラスチックを摂取した生物を食べることで食物連鎖を通じたプラスチックの移動が起きている。

実験 1 で用いた魚種には肉食魚も多く、胃内容物中には小魚や甲殻類なども多く見られた。しかし、今回の結果に関してはイシガキダイは主に底魚を捕食する魚であり、サンプルにした個体の胃内容物も殆どが貝殻の破片だったため、食物連鎖を通じたプラスチックの移動の可能性は考えにくい。

②ポリエチレンも実際の環境中では海水より重くなり、海底に棲む生物に誤飲されることがある。

イシガキダイの薬品処理前の胃内容物は軽く純水で洗浄した際に全て水に沈んだが、処理をした後、発見されたポリエチレンの可能性のある物質は水に浮いた。またプラスチックには他の物質を吸着する性質があることから、ポリエチレンが環境中で有機物を吸着した状態で海底に存在していたことが示唆される。

8.実験 2 の方法

実験 1 で試料が脱色損傷した結果を受け、処理方法の改良を試みた。また、実験 1 の結果である底魚が比重の軽いポリエチレンを取り込んでいる可能性を検証するため、底引き網漁をしている人から試料を提供していただき、底魚を中心に調査を行った。

底引き網漁の漁労屑から得た計 36 匹と釣りから得た計 2 匹を用いて内臓を取り出し、胃の内部を 30%過酸化水素水約 200mL の中で洗うことで、胃内容物のみを 30%過酸化水素水内に取り出した。その後、実験 1 と同様に 2~3 日間、55°C のデシケーター内で静置させ、濾過したものを、双眼実体顕微鏡で検鏡し、マイクロプラスチックと思われる断片をピンセットや餌付き針で取り出した。

9.結果 2

マダイから 1.5 cm 程度の欠片（写真 5）、タチウオから 400 μ m 程度のオレンジの粒（写真 6）、オナガグレから 1 cm ほどの半透明の片（写真 7）が見られた。これらを FTIR - ATR

で成分分析すると、タチウオから出てきた粒はシリコン樹脂（図2）、マダイのものはポリ塩化ビニル（図3）と推定され、オナガグレのものは試料が薄く判定できなかった（図4）。

10.実験2の考察

過酸化水素水のみでの処理なら、試料の損傷は一度目より抑えられ、マイクロプラスチックの目視での判別やFTIR - ATRでの成分分析がある程度可能になった。

そして、底魚の胃内容物から新たにプラスチックの可能性が高い物質が3つ検出された。今回発見されたポリ塩化ビニルや樹脂は海水より密度の大きいものであり、考察1で出たような比重の小さいプラスチックの海中での存在実態について新たな事例は得られていない。

表層魚を対象とした先行研究では、魚197匹中74匹(37.6%)の消化管内からマイクロプラスチックが見つかる。一方、私たちの研究では1回目、2回目合わせて46匹中3匹(6.52%)からしかマイクロプラスチックの可能性のあるものが検出されていない。この割合の差から、当初の仮説のように底魚より表層魚の方がプラスチックを摂取しやすいのだろうと推測できるが、本研究において先行研究よりサンプルが少ないことや採集地の違いなどから、現段階では断言できない。

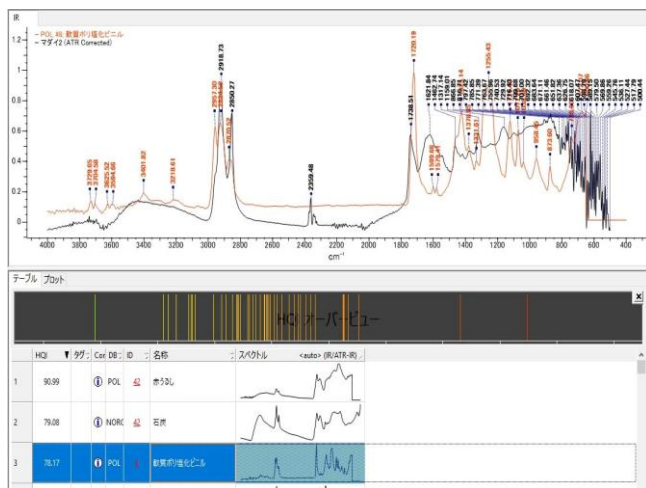


図2：マダイ胃内から発見された断片のFTIR-ATRの結果
（ポリ塩化ビニルの波長と一致）



写真5：マダイ胃内から発見された断片

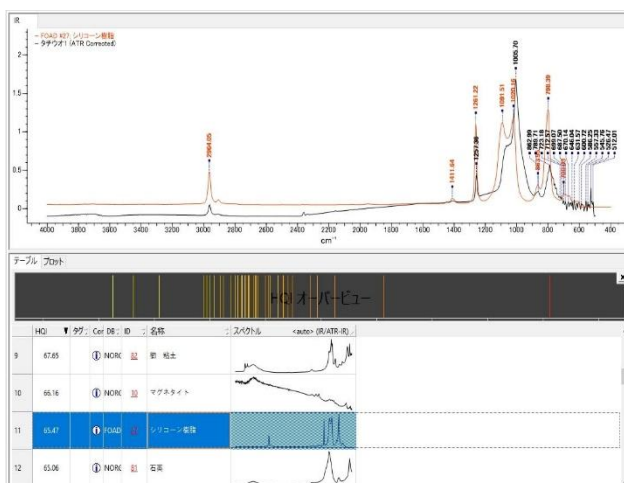


図 3：タチウオ胃内から発見された断片の FTIR-ATR の結果 (シリコン樹脂の可能性大)



写真 6：タチウオ胃内から発見された断片

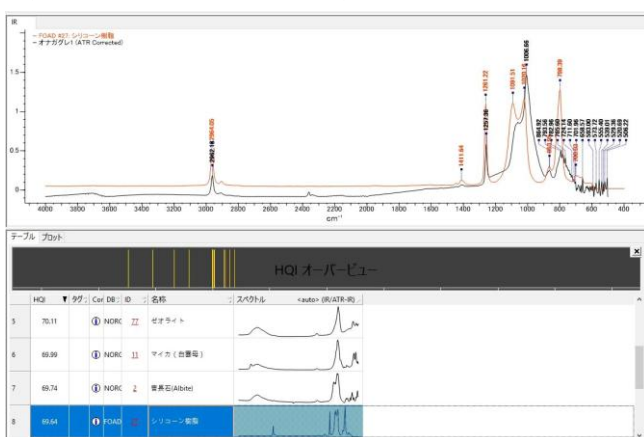


図 4：オナガグレ胃内から発見された断片の FTIR-ATR の結果 (試料が薄く判定不可能)



写真 7：オナガグレ胃内から発見された断片

11.実験 3 の方法

実験 2 でのプラスチック検出の精度を確かめるため、魚の胃内容物中にマイクロプラスチックを混ぜて同様の手順で取り出す実験を行った。

10~50 μm の PET、100~500 μm の PET、10~50 μm の塩化ビニル、100~500 μm の塩化ビニルをそれぞれ 10 個ずつ用意し、マイクロプラスチックの入っていない養殖はまの胃内容物に混ぜ、実験 2 と同様に 30% 過酸化水素水で処理した後、顕微鏡で観察し、混ぜたマイクロプラスチックを取り出した。

12.実験 3 の結果

10~50 μm の PET は 2 個 (検出率 20%)、100~500 μm の PET は 4 個 (検出率 40%)、10~50 μm の塩化ビニルは 7 個 (検出率 70%)、100~500 μm の塩化ビニルは 10 個 (検出率

100%)再発見することが出来た。すべてでは、40 個中 24 個再発見することができた（検出率 60%）。

13.実験3の考察

PET は透明、塩化ビニルはグレーに色が付いているものを使用した。両者を同じサイズで比較すると、10~50 μm では検出率は塩化ビニルが PET に対し 3.5 倍の検出率、100~500 μm では 2.5 倍の検出率であった。有色であるマイクロプラスチックは検出しやすく、透明であるマイクロプラスチックは検出が難しいことを示唆している。実験2でタチウオから検出塩化ビニルは有色（オレンジ色）のものであったため、実際濾物から発見しやすかった。今回、46 匹中 3 匹(6.52%)からマイクロプラスチックと思われる物質が検出されたことから、検出率を踏まえると、約 10%の底魚がマイクロプラスチックを取り込んでいることが示唆されるが、実際のマイクロプラスチックは様々な大きさや色のものがあるため、実験3の検出率より実際の検出率は低くなると考えられるため、より多くのマイクロプラスチックが存在する可能性が示唆される。

14.今後の展望

サンプルを増やし、徳島県近海の魚類におけるマイクロプラスチックの検出割合を求めたい。また、表層魚と底魚の誤飲しているマイクロプラスチックの量、種類の違いや、プラスチックの比重と環境中での存在実態についての検証を行いたい。

15.参考文献

日本内湾及び琵琶湖における摂取方法に見た魚類消化管内のマイクロプラスチックの存在実態、牛島大志 田中周平 鈴木裕織 雪岡聖 王夢澤 鍋谷佳希、水環境学会誌、41(12)、p.107-113 (2018-12)

日本全国の下水处理施設におけるマイクロプラスチックの挙動、田中周平、環境衛生工学研究、37(3)、p.7-8 (2023)

16.謝辞

本研究にあたって、京都大学の田中周平先生、FTIR－ATR の利用に関して徳島協働技術センターの吉田さんに多大なるご助言、ご協力をいただきました。ありがとうございました。