

「海洋ゴミ由来のプラスチック分解生成物の海洋生物の影響評価」

富山県立大学 楠井隆史

1. はじめに

海洋ゴミは、漂着した海岸の自治体に回収・処理の財政的負担をかけ、また、誤飲や絡まりなどにより海洋生態系に影響を与えるため、速やかな回収とその発生抑止が課題となっている。海洋ゴミの主要な素材であるプラスチックは環境中では物理的破碎されるが、化学的にはおおむね安定であると考えられてきた。しかしポリスチレンの分解産物(スチレンオリゴマー)が海水や海岸の砂が広範に存在すること報告されており、プラスチック関連物質が海洋環境に溶出している可能性が指摘されている¹⁾。本研究では、プラスチック関連物質が海洋生物に与える影響を評価するための基礎的知見を得るために、海産生物種を用いた毒性試験を実施した結果を報告する。

2. 研究方法

供試物質としてはビスフェノール A (BPA、ポリカーボネート原料)、スチレンモノマー (SM)、スチレンダイマー (SD)、スチレントリマー (ST) などを用いた。供試物質は、市販品あるいは合成品 (日本大学、道祖土先生) を用いた。試験溶液の作成に当たっては、メタノールに溶解して貯蔵溶液を作成し、使用時には濃度を調整した。検液作成には組成の単純なリーマン・フレミングの人工海水を用いた。供試生物としては藻類 (*Chaetoceros gracilis*)、カイアシ類 (*Tigriopus japonica*)、ウニ (ムラサキウニ、バフンウニ) などを用いた。各試験の条件を表1~4に示す。

なお、プラスチックから溶出する可能性があるという供試物質の性質を考慮して、試験はすべてガラス製の容器 (三角フラスコ、ビーカー、バイアル瓶) を用いて実施した。容器は、適宜、アセトンなどの有機溶媒で洗浄後、通常の洗浄を行った。特に、チグリオパスやウニの試験に用いる小型の容器の場合は、超音波洗浄器 (洗剤、水道水) をもちいて洗浄した。

表 1 藻類生長阻害試験

Parameters	Conditions
Test periods	72 hr
Test vessel	200mL Erlenmeyer flask (60mL/flask)
Initial cell density	10^4 cells/ml
Illumination	Continuous (min. 4,200 lux)
Temperature	23±1°C
Number of replicates	3
Test equipment	Electric cell counter or hemocytometry
Endpoint	Inhibition of growth rate NOEC <u>Rc50</u>

表 2 チグリオパス急性毒性試験

Parameters	Conditions*
Test periods	24 , 48hr
Age of animals	Less than 24hr
Test vessel	Petri dish
Sample volume	2ml
Number of animals	5 nauplius /dish
Illumination	16hr-light / 8hr-dark
Temperature	25±1°C
Number of replicates	4

表 3. チグリオパス慢性毒性試験

供試生物	孵化後 24 時間未満のノープリウス幼生。
試験方式	半止水式(週に 3 回換水。)
供試個体数	24 個体×5 連
曝露時間	21 日間(1 日 1 回観察。)
試験温度	実験中は定温恒温庫を 25°C に設定し保存。
試験溶液	(1~8 日) 1ml/個体。 (8~21 日) 10ml/連。
給餌	換水時に <i>Tetraselmis tetraethela</i> を一定量与える。
影響判定点	<ul style="list-style-type: none"> ・ ノープリウスがコペポデイドに変態するまでに要した日数。 ・ 雌個体が試験開始から初回の産卵まで要した日数。 ・ 試験期間中に 1 個体の雌が生産した幼生数。 ・ 試験期間中に 1 濃度区のすべての雌が生産した幼生数の合計。 ・ 試験個体の 21 日間の生存率。 ・ 成熟の可否。 ・ 試験終了時における性比。 Etc.

表 4. ウニ受精・胚発達試験

供試生物	ムラサキウニ・バフンウニの精子、卵。 放精、放卵後 24 時間以内のものを用いる。
曝露時間	受精試験 (精子 20 分、卵添加後 20 分)、胚発達試験 (72 時間)
試験温度	15°C
試験溶液	小型シャーレに 3ml 分注。
測定項目	受精試験……受精率 (受精膜の形成) 胚発達試験…プルテウス形成の状態(正常幼生、異常)

3. 実験結果

藻類生長阻害試験は対照区の生長速度(0-72hr)に対する百分率で阻害を評価した。実験範囲内で顕著な影響が認められたのは、0.1mg/L でのpBQ、BEND、10mg/L 程度で、pHD、BPA、BENT であった。スチレン・モノマー、スチレン・ダイマーは試験濃度範囲では有意な影響が認められなかった(図 1)。

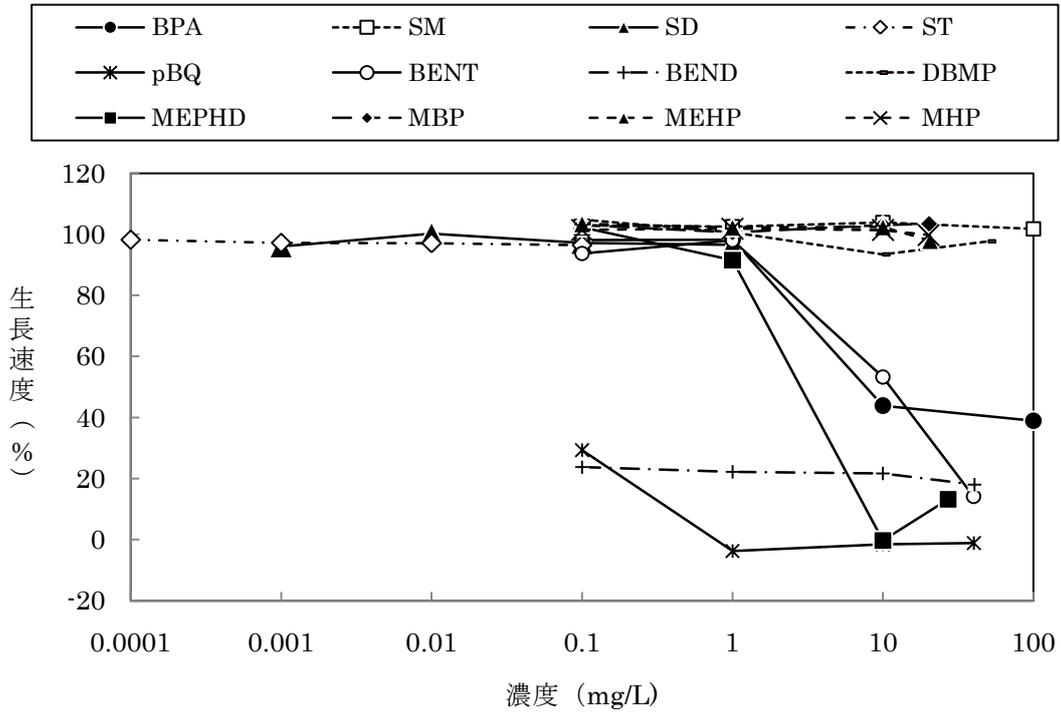


図1 藻類への影響

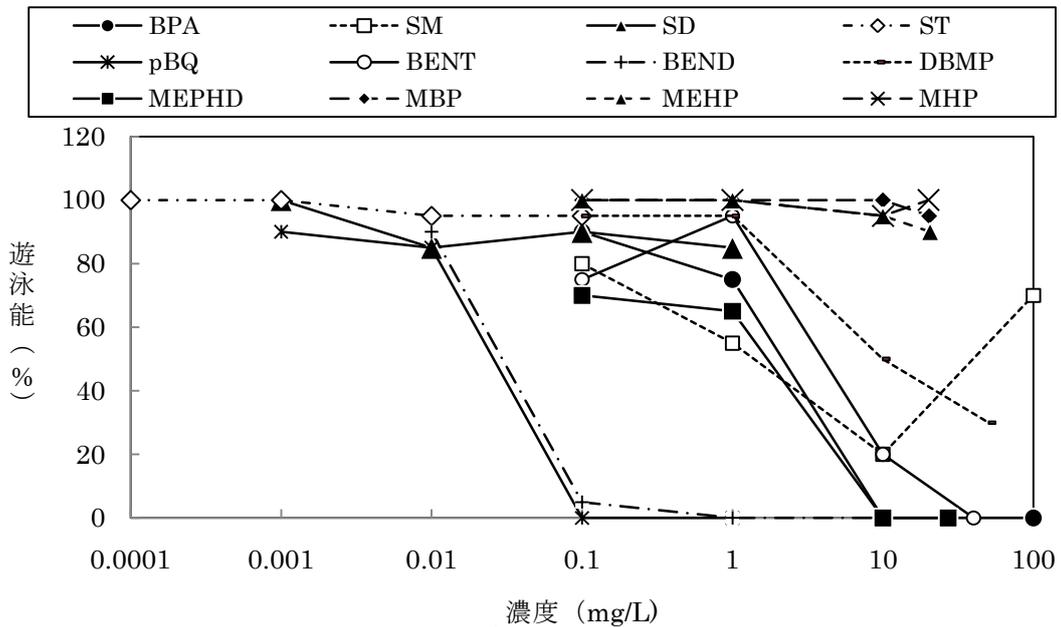


図2 チグリオパスへの影響

略称:BPA:Bisphenol A, SM:Styrene momomer, SD: Styrene dimer、ST:Styrene trimer,
 pBQ:p-Benzoquinone, BENT:1,2,4-Benzenetrio:, BEND:1, 4-Benzenedio:, DBMP:
 2,6-Di-t-butyl-4-methylphenol, MEPHD:4-Methyl-1,2-phenylenediamine, MBP:フタル酸モノブ
 チル, MEHP:フタル酸モノ2-エチルヘキシル,MHP: フタル酸モノヘキシル

図2に生後24時間以内のチグリオパス幼生の遊泳能への影響(48時間後)を示す。BEND,pBQでは0.1mg/L、BPA、SM、BENT、DBPM、MEPHDでは10mg/Lで顕著な遊泳阻害が認められた。

以上の結果を表5にまとめる。供試物質のなかではキノン類で比較的強い毒性が認められるが、環境中での残留性は低いと予想される。

以上の結果をもとに、慢性試験を実施した。

チグリオパスの慢性試験ではBPA、SM(スチレンモノマー)、SD(スチレンダイマー)、ST(スチレントリマー)についてのみ実施した。しかし、原因不明のトラブルにより、産仔数が急減したため、ここでは、BPAとSMの結果のみ、記載する。

BPA曝露時の幼生からコペポダイトへの累積変態数の変化を図3に示す(1濃度区25個体)。5~6日より変態が開始する。濃度の増加に伴い変態の遅延が認められる。図4に雌当りの産仔数の変化をしめす。生後14日から産仔を開始しその後、2-3日間隔で産仔する。試験期間内に雌当たり100個体前後の仔虫を生む。

以上の実験結果をもとに平均変態日数を指標として、無影響濃度(NOEC)を算出し。BPAでは変態の遅れと、一回当たりの産仔数の減少が認められた。また、1mg/Lでは親個体がすべて死亡するため、NOECは0.5 mg/Lであった。styrene monomerは設定濃度範囲(0.006~0.1mg/L)では慢性的影響が認められなかった。

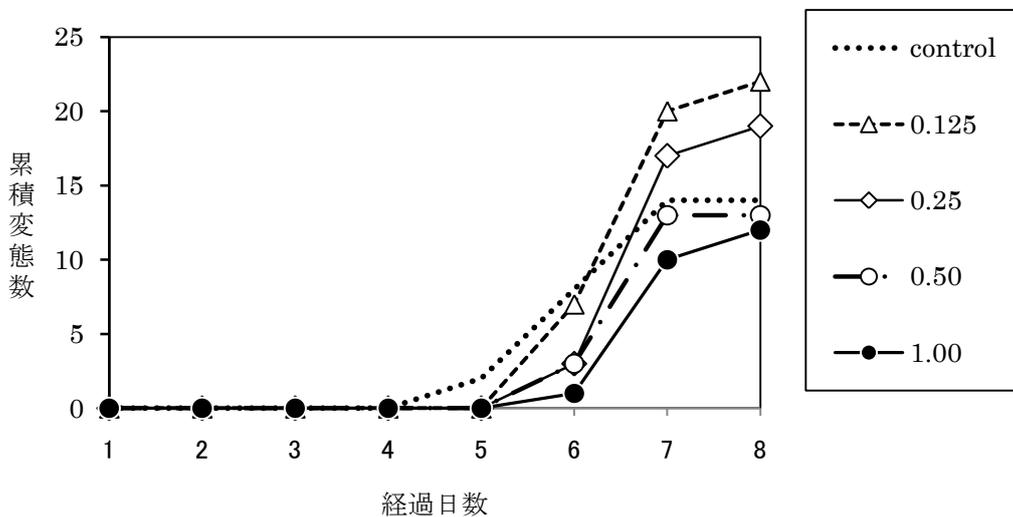


図5 BPA曝露：累積変態数 (1-8日間)

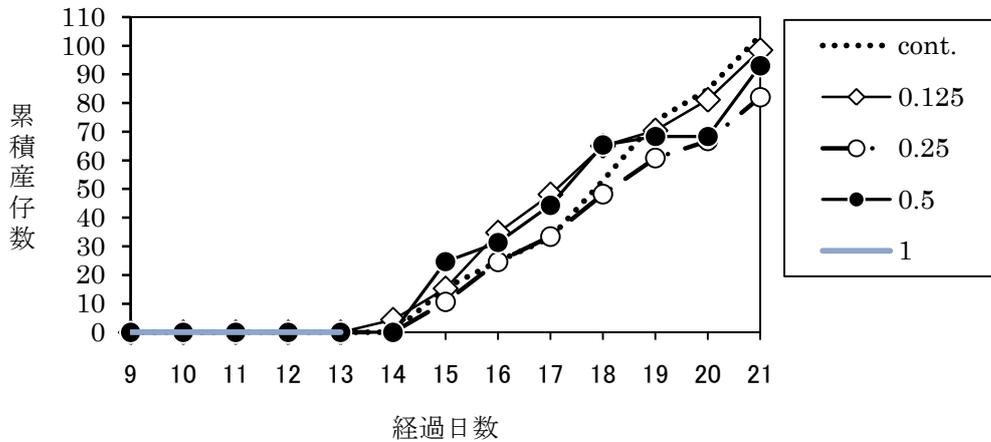


図6 BPA曝露：雌当たり累積産仔数（9-21日間）

ウニの受精・胚発達を指標とした試験について、BPA、SM(スチレンモノマー)、SD(スチレンダイマー)、ST(スチレントリマー)についてのみ実施した。入手したムラサキウニ(夏季)は輸送過程(トラック便、空輸)の刺激で抱卵、放精を起こしており、水槽で短期間飼育したが、良好な結果を得ることができなかった。1-3月に入手可能なバフンウニで実験を実施したが、実施時期が3月となったため、繁殖期の好機となっており全般的に受精率が低かった。また、天然海水(NSW)に比較して人工海水(control)では受精が低下する場合もみとめられるなど全体的に安定した結果を得ることができなかった。BPAの場合(図7)、1mg/lで大幅な受精率の低下が認められたが、胚発達試験では、1.0mg/lでは胚発生が進行せず、0.001~0.1mg/l(公比10)では胚発生の異常が認められた。しかし、同時期に実施した試験では対照区でも胚発達が全く進行しない事例も認められず、今回の結果が再現性のある結果であるか、器具の洗浄、実験条件の検討など、さらに検討を重ねて追試を行う必要がある。

4. まとめ

本研究では海ゴミから発生する可能性のあるプラスチック関連の12物質について海産藻類とカイアシ類、ウニへの影響を検討した。その結果、藻類とカイアシ類に対して急性的影響を示したのは、パラベンゾキノン、ヒドロキノン>BPA, 4-Methyl-1,2-phenylenediamine、ヒトキソトキソルであった。7物質について試験濃度ではほとんど影響を示さなかった。BPAとStyrene monomerについてチグリオパスへの慢性影響を検討したが、BPAはNOEC 0.125~0.5mg/L、SMは影響が認められなかった。また、ウニの受精・胚発達を指標とした試験を試みたが、受精率の低下等により安定した結果が得られなかった。

本研究の結果を、道祖土ら¹⁾が海洋中で検出したBPA(数ppb)、SM、SD、ST(0.5ppb以下)と比較すると、10万倍以上離れている。アセスメント係数を1,000と見込んでも、100倍以上の相違があり安全側にあると推定される。しかし、本研究で試みた慢性影響の評価については、試験手法の改善等の課題が残っており、今後とも研究を継続する予定である。また、本研究で用いた以外の生物種による評価も重要でありさらに検討を進めた。