

「食品への混入が懸念されている環境中のマイクロプラスチックの表面性状に着目した安全性研究」

研究代表者 辻野博文 大阪大学総合学術博物館 准教授

研究要旨

海洋など様々な環境中で確認されている5 mmよりも小さなマイクロプラスチック微粒子（MP）の、ヒト健康被害が懸念され、そのリスク評価が喫緊のグローバル課題となっている。MP のリスク評価に必要なハザードや動態情報は、表面性状などの物理的性状の違いにより多様性に富んでおり、MPのリスクを理解するためには、存在様式を踏まえた解析が必要である。しかし、MPの定量的な動態解析手法は未だ標準化できていないうえ、存在様式を把握するための標準品すら無い。本研究は、環境中に放出された MP を対象に、(1) 種々条件における MP 標準品を獲得し、存在様式データベースの構築を試みる。さらに (2) ハザード解析に加え、動態解析手法の確立することで、MP の安全性に関する科学的な情報集積を行うものである。本年度は、主に (1) 種々条件における MP 標準品の獲得、存在様式データベースの構築、に関する研究を実施したので、以下に詳細を報告する。

A. 研究目的

5 mm よりも小さいサイズのプラスチック微粒子であるマイクロプラスチック (microplastics : MP) に関する研究が急速に進展しており、魚や貝などのヒトが口にする様々な海洋生物に加え、飲料水 (Koelmans et. al., 2019) や食塩 (Yang et. al., 2015) からも MP が検出されている。また、ヒトの糞便からも MP が検出されており (Liebmann et. al., 2018)、ヒトが MP を食物と一緒に摂取していることは、紛れもない事実である。

そのような背景を受けて、MP の安全性が懸念されており、2019 年には WHO から「飲用水中の MP」に関する情報が公表されている。MP の潜在的なハザードは MP の物理的性状・吸着化学物質・バイオフィームの一部としての微生物病原体の3つの形態に分けられているが、後半二つに関する懸念は低いとされている一方で、物理的ハザードに関連する毒性については情報が不十分であることが述べられている。すなわち、世界中で関心を集めている MP の有害性の有無について、特に物理的性状に着目して、MP のハザード（固有の生物活性・毒性）に加えて動態（生成過程とその後の体内・細胞内挙動や曝露量、曝露時間）を明らかとし、未解明であるヒト健康リス

ク（ハザードと動態の積算）を慎重に見極める必要がある。

しかしながら、MP の物理的性状は非常に複雑である。これは、環境中で確認される MP には、研磨剤や洗顔剤等に含まれる人工の1次マイクロプラスチック (primary microplastics : P-MP) に加え、環境中に排出された P-MP を含むプラスチックが様々な外的要因（物理的な摩擦力や紫外線等）によって劣化・細断されることで、MP の表面が複雑に酸化された未知の2次マイクロプラスチック (secondary microplastics : S-MP) も存在することが主たる要因となっている。

そこで本研究では、S-MP（劣化MP）は曝される環境や時間に依存して、微少化や鋭利化などの形状変化に加え、酸素原子の添加や構造の開裂などの表面性状変化を示すため、(1) 種々条件における劣化MPの獲得し、存在様式データベースの構築を試みる。さらに (2) ハザード解析に加え、動態解析手法の確立することで、MP の安全性に関する科学的な情報集積を行うものである。

なお、本年度は実施計画に従い、ポリエチレンを対象とした表面性状の異なる MP サンプル標準品の獲得を行った。

B. 研究方法

MP サンプルとして、中心粒径が約 200 μm のポリエチレン粉末サンプル（フローセン 住友精化）を選択し、flat excimer ex-mini（浜松ホトニクス）により波長 172nm の紫外光を照射することで、ポリエチレン MP サンプルの表面劣化を試みた。また、照射時間を様々に変化させ（0.5~2hr）、異なる劣化状態のポリエチレン MP サンプルを得た。

劣化前後のポリエチレン MP サンプルの表面性状は減衰全反射赤外（ATR-IR）スペクトル測定によって行った。すべてのスペクトルは、4000~500 cm^{-1} の波数範囲について、解像度 4 cm^{-1} で 32 回のスキャンにより測定した。得られたスペクトルパターンを比較することで表面性状に関する情報を得た。加えて、中心粒径が約 24 μm のポリエチレン粉末サンプル（住友精化）についても同様の処理を行い、劣化状態のポリエチレン MP サンプルとその表面性状に関する情報を得た。

次に実環境中の MP サンプルの回収を行った。兵庫県西宮市にある御前浜と甲子園浜で、砂浜の砂を採取した。ごみなどが打ちあげられ溜まっているため、MP サンプルを多く含むと考えられる、満潮線付近の砂を回収した。回収の際には、大きなごみや木の枝などを取り除くため、ふるいにかけた。回収した砂から MP を分離するため、分離作業を実施した。水を入れたバケツに回収した砂を入れ、よく攪拌して一晩以上静置した。ポリエチレンは密度が 0.919 g/cm^3 であり、密度が 1.00 g/cm^3 の水に浮かぶため、水面に浮いているサンプルにポリエチレンが含まれると考えられる。そのため、上清を回収し、水面に浮いたサンプルを回収した。サンプルを十分に乾燥させ、その中から MP を回収し、環境中 MP サンプルとした。

得られた環境中 MP サンプルをそれぞれ上記で示したポリエチレン MP サンプルと同様に、ATR-IR スペクトルを測定し、プラスチック素材を同定するとともに劣化状態に関する情報を収集した。加えて、上記にて作成したポリエチレン MP サンプルとの比較も実施した。

C. 研究結果（次項 D にまとめて記載する）

D. 考察

1. MP 標準品の獲得

本年度は実施計画に従い、ポリエチレンを対象とした表面性状の異なる MP サンプル標準品の獲得を行った。

劣化処理によって得られたさまざまなポリエチレン MP サンプルの ATR-IR スペクトル（図表 図 1）を比較すると、劣化処理に伴い、ポリエチレンの骨格である C-H に由来する吸収（2915 cm^{-1} ：非対称振動、2848 cm^{-1} ：対称振動など）と比較して、劣化による O 原子の付加によって生成したと考えられる C=O 由来の伸縮振動（1715 cm^{-1} ）と O-H 由来の変角振動（1177 cm^{-1} ）が増加しており、劣化の進行が確認された。また、C-H 由来ピーク（1465 cm^{-1} ）のピーク高さに対する C=O 由来ピーク（1715 cm^{-1} ）のピーク高さの比が劣化処理時間に比例して経時的に増加しており、表面劣化状態の異なる様々なポリエチレン MP サンプル（標準品）の獲得に成功したことが示された。

次に実環境から獲得した環境中 MP サンプルの表面性状確認を行った。いくつかのサンプルの ATR-IR スペクトルを測定し、ポリエチレンに特徴的なピークを示すものを選択したところ、すべてのサンプルにおいて 1713-1715 cm^{-1} 付近の吸収帯が確認され、C=O の導入、すなわち劣化していることが確認された（図表 図 2）。また、C=O 由来ピーク/C-H 由来ピークの比はそれぞれのサンプルで全く異なっており、劣化の程度は環境中 MP サンプルによって異なっていることが確認できた。

2. 環境中 MP サンプルの獲得とポリエチレン MP サンプルとの比較

環境中 MP サンプル（図表 図 2）と実験的に作成したポリエチレン MP サンプル（図表 図 1）を比較すると、C-H に由来する 2916 cm^{-1} と 2848 cm^{-1} の吸収帯のピーク位置に差は見られないため、骨格構造に差はないと考えられる。また、一部のサンプルには添加剤として汎用されるカオ

リンに由来するピーク（1030 cm⁻¹付近）が確認されるものの、C=O のピーク位置が 1713-1715 cm⁻¹ 付近ではほぼ一致しており、劣化による O 原子付加環境は実験的サンプルと実環境サンプルで同一であると考えられる。特に添加剤が含まれていない環境中 MP サンプル（図表 図 2b）は 0.5hr 処理したポリエチレン MP サンプル（図表 図 1b）と非常にスペクトルが類似しており、環境中に存在しうるサンプル群を実験的に獲得することに成功した。

E. 結論

本年度は、主にポリエチレンに対して (1) MP 標準品サンプル獲得・データベース構築、を実施し、真空紫外光照射装置を用いたプラスチックの表面劣化プロトコルの構築を行なった。本手法を用いて、様々な表面性状を有するポリエチレン MP サンプルを獲得した。さらに、サイズの異なるポリエチレン MP においても、同様の手法で表面性状を変化させることも可能であった。加えて、海洋環境由来の環境中 MP を多数獲得し、その表面性状評価を行ない、研究室レベルで作製したポリエチレン MP サンプルが、環境中 MP と同様の表面性状を有していることを確認した。以上の結果から、ポリエチレンについては、目的に即した MP 標準品の獲得に成功した。

次年度は異なるプラスチックサンプル（ポリスチレン）に対して (1) MP 標準品サンプル獲得・データベース構築を実施することで、MP 標準品群を充実させるとともに、本年度作成したポリエチレン MP サンプルに対して、(2)ハザード解析・動態解析を実施する予定である。なお、様々なポリエチレン MP サンプルの細胞障害性試験をパイロット的に実施した結果、非劣化サンプルでは障害性が見られなかったのに対して、劣化サンプルでは障害性が確認されており、表面性状によるハザードの違いに関する情報の獲得は可能であると予想している。

以上のように、本研究はすでに次年度の研究計

画内容もパイロット的に実施しており、計画に一切の遅滞なく進行している。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

該当なし

2. 学会発表

【シンポジウム等】

1. 生野雄大, 辻野博文, 芳賀優弥, 東阪和馬, 堤 康央: 実環境中のマイクロプラスチックの生体影響評価の基盤構築., 第 18 回次世代を担う若手のためのフィジカル・ファーマフォーラム., オンライン, 2021 年 9 月.
2. 生野雄大, 辻野博文, 芳賀優弥, 浅原時泰, 東阪和馬, 堤 康央: 実環境中を模したマイクロプラスチックの細胞毒性評価., 日本薬学会第 142 年会., 名古屋 (愛知), 2022 年 3 月.
3. 真鍋颯太, 芳賀優弥, 辻野博文, 浅原時泰, 生野雄大, 東阪和馬, 堤 康央: マイクロプラスチックの細胞毒性及び遺伝毒性評価., 日本薬学会第 142 年会., 名古屋 (愛知), 2022 年 3 月.

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

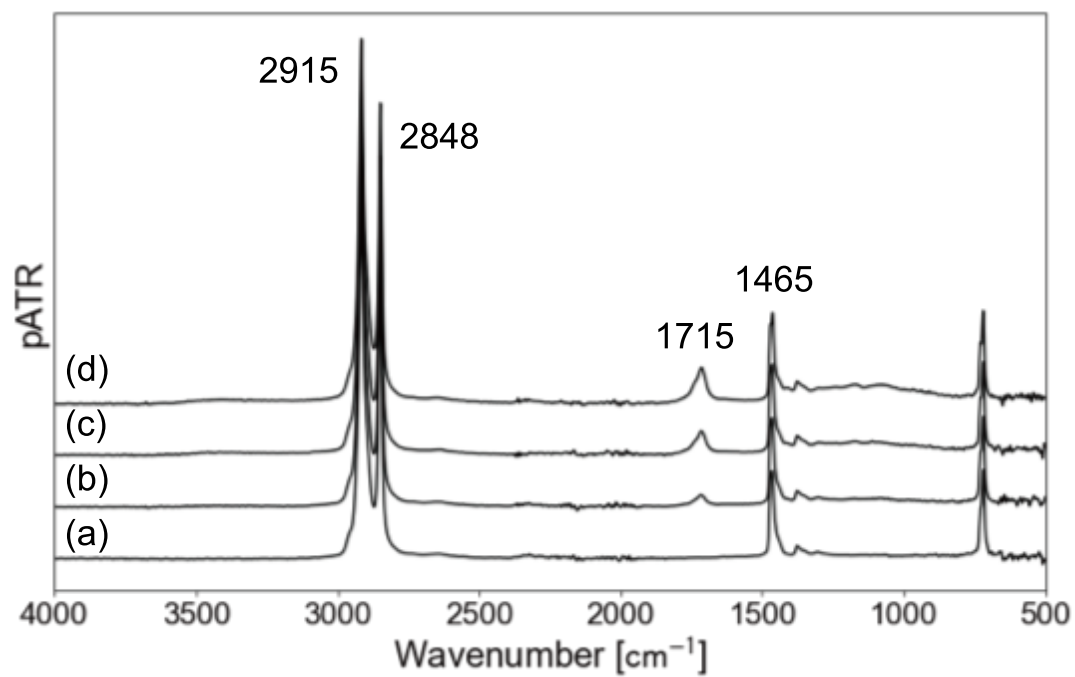


図1 各ポリエチレン MP サンプルの ATR-IR スペクトル (a) 未処理 (b) 0.5hr 処理 (c) 1hr 処理 (d) 2hr 処理

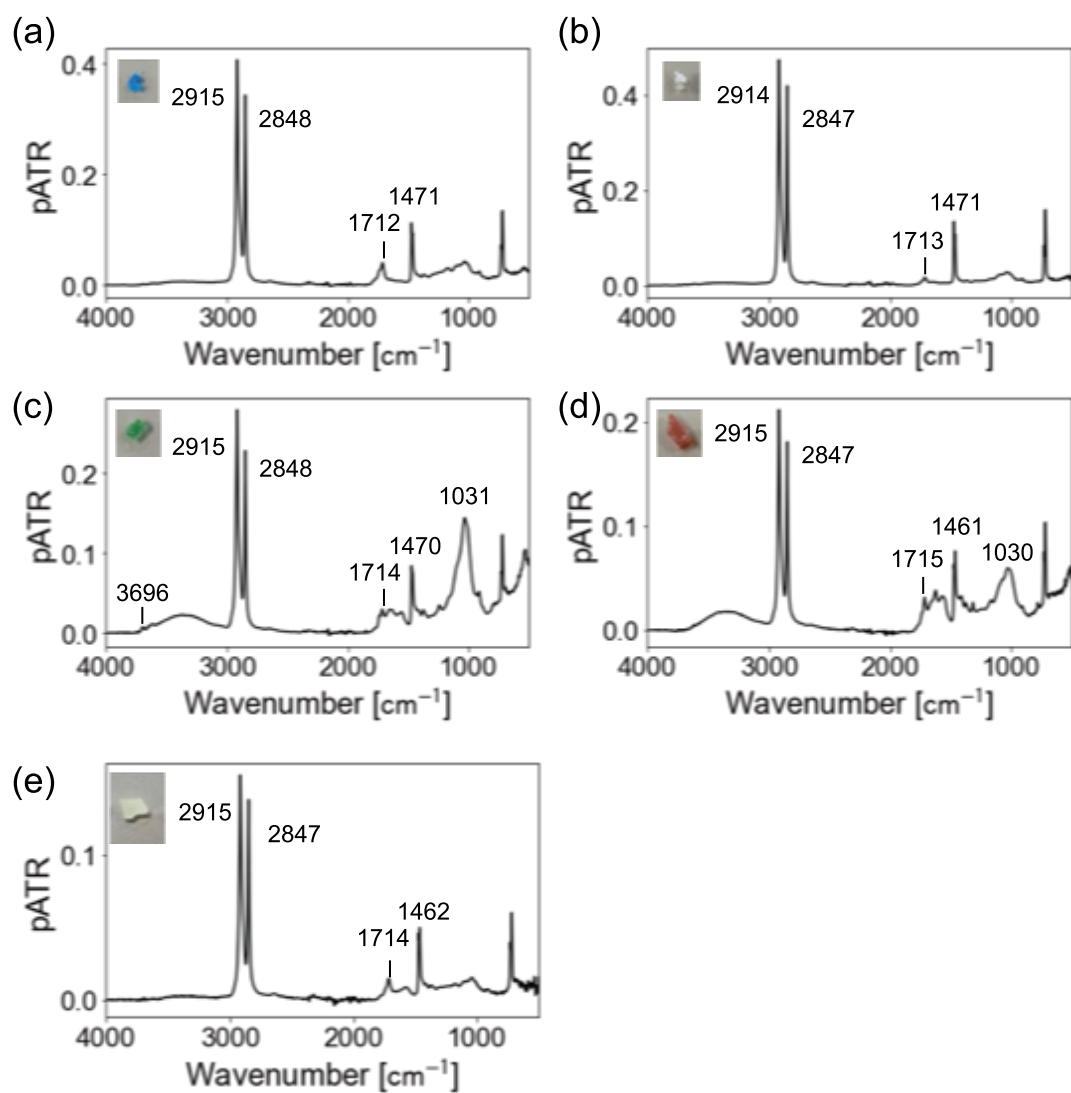


図2 実環境（海洋）から採取した環境中 MP サンプルの外観と ATR-IR スペクトル