

宍道湖及びシジミに対するマイクロプラスチックの影響調査 実施報告書

松江工業高等専門学校 山口 剛士

1. はじめに

昨年度の結果より宍道湖のシジミを用いて砂抜きを行った場合、砂抜き後はシジミ 1 個当たり 0.2 ± 0.1 個が存在していることが明らかとなり、砂抜きを行うことでほとんどのマイクロプラスチックが排出できることが明らかとなった。また、砂抜きによりシジミから排出された排泄物中には、シジミ 1 個当たり 1.7 ± 1.2 個のマイクロプラスチックが存在していることが確認できた。さらに、過剰なマイクロプラスチックを取得した後、24 時間の砂抜きを行いアミノ酸への影響を調査した結果、マイクロプラスチックの取得の有無によって大きな差が生じないことが明らかとなった。そこで、本研究では、まず宍道湖の底泥中のマイクロプラスチック数を測定し、宍道湖におけるマイクロプラスチックによる汚染度を調査した。また、過剰なマイクロプラスチックを取得した後、砂抜き時間の違いによってアミノ酸へ影響が出るのか調査することを目的とした。

2. 実験方法

2.1 宍道湖湖底のサンプリング

宍道湖湖底における MPs 採取は、エクマンバージ型採泥器を用いて行い、宍道湖の 7 ヶ所から採取した(図 1)。得られたサンプルは、乾燥させた後 03 mm と 5 mm のふるいで MPs であるサイズにふるい分けを行った。その後、0.3 mm から 5 mm のサンプルに対してヨウ化ナトリウム飽和水溶液を添加した後、2 分間手動で攪拌させ、約 12 時間かけて密度分離¹⁾を行った。その後、上澄みをニトロセルロースフィルターで真空ろ過させることで MPs をフィルター上に固着させた。MPs の測定は、ナイルレッド指示薬²⁾を適下し、MPs のみを染色させ、蛍光顕微鏡を用いて行った。



図 1 本研究でのサンプル採取箇所

2.2 植物プランクトンの培養

植物プランクトンは、*Chlorella vulgaris* (NIES-227) を選定し、NIES collection が指示する培地で 1 週間程度培養を行った。

2.3 ヤマトシジミにおけるマイクロプラスチック取得および砂抜き

提供して頂いたヤマトシジミは、室温で 24 時間静置させ、体内から宍道湖堆積物の除去を行った。次に、培養を行った *C. vulgaris* を含んだ 300 ml の培養液に対して最終濃度が 50 mg/l になるようにマイクロプラスチック (pore size : 0.6 μm) を加え、24 時間の培養を行った。その後、NaCl を添加し、静置させたシジミを 3 個程度加え、室温で 24 時間生育させた。24 時間静置させマイクロプラスチックを取得させたヤマトシジミは、NaCl を含んだ塩水に 0 時間から 12 時間浸しマイクロプラスチックの除去を行った。砂抜きを行ったシジミは、冷凍保存し、アミノ酸分析に供した。

2.4 アミノ酸分析

アミノ酸分析は、岡本らの方法を若干変更し、実験を行った³⁾。アミノ酸分析は、島根県産業技術センターのアミノ酸分析システム (JLC-55/V2)を用いて測定した。

3. 結果及び考察

3.1 宍道湖湖底におけるマイクロプラスチック数の測定

本研究で得られた宍道湖湖底におけるMPs濃度を図2に示す。本研究によって、全てのサンプル採取場所でMPsが存在していることが明らかとなった。河川や道路では、道路付近の街路樹の根元に小さく砕けた多数のMPsが存在し、これらが雨の影響で側溝へ流れる海に流出することが咆哮されており、宍道湖においても斐伊川をはじめとする河川や宍道湖沿いの国道などからMPsが流入している可能性が考えられる。また、佐陀川や大橋川は、宍道湖における流入及び流出において重要な役割をしていることからMPsの移動に関しても多いのではないかと考えられる。一方で、宍道湖のMPs汚染度は重度汚染区の中国の浙江省 (74.8 個/g) やチュニジアの潟湖 (18.8 個/g)、車両や人間の交通量の多い東京の皇居濠の底泥 (7.2 個/g) より低いことから⁴⁾、宍道湖におけるMPsによる汚染度は低いと考えられる。

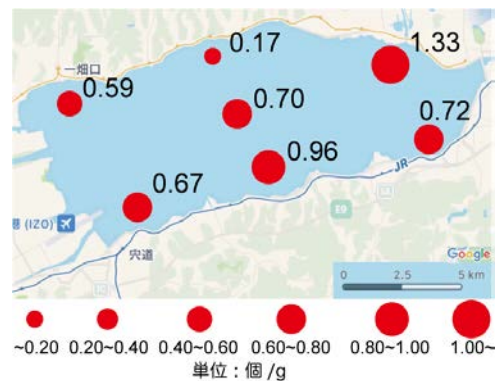


図2 サンプル採取箇所におけるMPs数

3.2 ヤマトシジミにおけるマイクロプラスチック取得量及び除去率

昨年度の結果からヤマトシジミの砂抜きを行うことでマイクロプラスチックが除去できることが確認できた。そこで、ヤマトシジミに対して過剰なマイクロプラスチックを取得させ、0-12時間静置させた後、砂抜き操作を行うことで遊離アミノ酸へどのような影響ができるのか調査した。各砂抜き時間における遊離アミノ酸濃度を図3に示す。本研究では、シジミの代表的な遊離アミノ酸であるアラニン (Ala)、グルタミン酸 (Glu)、グリシン (Gly) について報告する。遊離アミノ酸は砂抜き時間が長いほどMPsの取得に関係なく一定値を示した。一方で、砂抜き時間が2時間の時のみだけMPs取得の有無によって遊離アミノ酸に差が得られた。砂抜き時間が2時間の時、MPsを取得したシジミの遊離アミノ酸はMPsを取得していないシジミの遊離アミノ酸と比較して約半分の濃度であった。シジミは、砂抜きに用いる塩濃度によって浸透圧を調整する際に、グリコーゲンを分解しアミノ酸であるAla、Glu、Glyを生成することが知られている。したがって、MPsを取得していないシジミは砂抜きによって各遊離アミノ酸が上昇していた。一方で、MPsを取得したシジミは砂抜きを行ったことで、各遊離アミノ酸が減少している。このことからMPsを取得した場合は、浸透圧調整ができていないことが考えられる。そこで、浸透圧調整に重要な化学物質であるオスモライトにMPsが関係しているのではないかと考えた。これまでに、ムール貝を用いた実験では、金属や石油

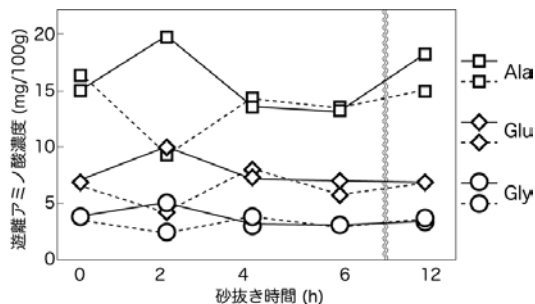


図3 砂抜き時間による遊離アミノ酸濃度の変化. 実線 :MPs を含んでいないシジミ. 波線 :MPs を取得させたシジミ

化学化合物、また医薬品によって浸透圧調整機構に影響を及ぼすことが報告されている⁵⁾。従って、MPsがオスモライトに影響を及ぼしている可能性が考えられるが、本研究では明らかにすることができなかった。

4.まとめ

本研究により、宍道湖湖底にMPsが存在していることが明らかとなったが、他の地域よりも低い濃度であり、宍道湖のMPsによる汚染度が低いことが明らかとなった。また、砂抜きによる遊離アミノ酸の影響調査を行った結果、長時間の砂抜きでは遊離アミノ酸濃度の差が得られなかったが、2時間の砂抜きではMPsの取得の有無によって約2倍の差が生じた。これは、浸透圧のオスモライトが影響している可能性が考えられるが、本研究では明らかにすることができなかった。従って、今後の課題として研究を進めていく必要がある。

5.参考文献

- 1) 中嶋ら, 海洋マイクロプラスチックの採取・前処理・定量方法, *海の研究*, 29(5), 129-151, 2020.
- 2) Shim *et al.*, Identification and quantification of microplastics using Nile Red staining, *Marine Pollution Bulletin*, 113, 469-476, 2016.
- 3) 岡本ら, 生息域を異にする瀬沼川水系産ヤマトシジミ *Corbicula japonica* のエキス成分および潮汁の食味の比較, *日本水産学会誌*, 78 (3), 444-453, 2012.
- 4) 恵良ら, 都市淡水域における底泥中マイクロプラスチックの濃度分布と起源推定, *水環境学会誌*, 43(3), 107-112, 2020.
- 5) Cappello *et al.*, ¹H NMR-based metabolomics investigation on the effects of petrochemical contamination in posterior adductor muscles of caged mussel *Mytilus galloprovincialis*, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 142, 417-422, 2017.