

〈特集〉

環境試料中マイクロプラスチックの調査分析方法の整理と課題

亀田 豊¹⁾

¹⁾千葉工業大学 都市環境工学科

(〒275-0015 習志野市津田沼2-17-1 E-mail: yutaka.kameda@it-chiba.ac.jp)

概要

環境試料中のマイクロプラスチック分析は前処理と機器分析で構成される。今日、最も使用される方法は、過酸化水素やフェントン反応による酸化後、比重分離によりマイクロプラスチックを懸濁態成分から分離し、さらに検鏡によりマイクロプラスチックと思われる粒子をピックアップし、粒子ごとに機器分析により材質を同定する方法である。しかし、対象マイクロプラスチックの拡大や調査目的の多様化に伴い、新しい前処理方法や機器分析方法が開発されつつある。したがって、今後は分析精度の管理された各分析法による調査が重要となっている。

キーワード：マイクロプラスチック、調査方法、前処理方法、機器分析、精度管理

原稿受付 2019.12.26

EICA: 24(4) 30-34

1. はじめに

海洋中のプラスチックごみについて研究報告が最初に出されたのは1970年代¹⁾であったが、社会的関心は現在ほど大きくならなかった。しかし、2016年のエレンマッカーサー財団の報告書による海洋プラスチックごみの2050年の推定量結果²⁾をはじめとする多くの報告書やマスコミの報道等から、マイクロプラスチック（以後MPsと称す。）は、現在、海洋、河川や湖沼、底質、下水汚泥、下水、水道水、食品に至る様々な環境試料で測定されている³⁻⁶⁾。

一方で、近年になり、QA/QC (Quality Assurance/Quality Control) といった分析精度上の問題、MPsの粒径範囲の広がりと考えすべき新しい物性の登場、環境中挙動研究の観点から、従来のMPs分析方法を再検討、改善する必要が出始めている。本稿では従来の分析方法を整理するとともに、今後MPs分析に重要な分析精度管理や新しい分析方法について言及していきたい。

2. MPs調査・分析方法の現状

2.1 MPsの定義と現在の研究との関連

一般的にMPsは5mmのふるいを通すプラスチック片の総称であり、形状やプラスチックの種類については詳細な定義は存在しないようである。ただし、MPsの測定すべき重要な物性として、現在では「形状」、「色」、「粒子径」、「プラスチックの種類」、「濃度」及び「表面電荷」が議論されている。例え

ば、形状でいえば、Baldwinら⁷⁾は河川水中のMPsを繊維 (fibers/lines)、フィルム (films)、発泡 (foams)、破片 (fragments)、ペレット/ビーズ (pellets/beads) に分類しており、形状に関しては概ねこの分類方法が最も詳細と思われるが、世界的に統一的な分類方法や各分類の定量的な一般的な定義（短径と直径の関係等）は存在せず、分析者の主観による。300 μ m程度以上のMPsの調査では、粒子の色についても形状と同様に詳細に調査される傾向があるが、色の分類についても研究者の主観で測定されている。ピックアップが可能な300 μ m程度以上のMPsの研究では、環境試料に関係なく、濃度とともに形状と色の情報が詳細に調査されてきている。しかし、既往の研究では、これらの情報から直接的にあるいは定量的に発生源を明らかにした事例は限られており、類推の範囲にとどまっているのが現状である⁸⁾。しかし、ヒトや野生生物への生態リスク推定において、形状は生体内のbioavailabilityに影響を与えうる可能性があり、毒性試験の実施において重要な情報となりうる。

粒子径は現在のMPs研究でも特に重要な物性となっている。既往の研究ではピックアップが可能な300 μ m~5mmのMPsが研究対象であったが、ここ数年では顕微フーリエ変換赤外分光光度計 (Micro-FTIR)⁹⁾ やラマン分光光度計のアプリケーション¹⁰⁾ 開発により、0.1 μ m程度までの微小粒径のMPsの調査も可能となりつつある。これらの研究から、既往の研究からの推定通り、微小MPsほど環境中濃度が高い傾向が証明されつつある。また、微小MPs粒子は300 μ m以上の大粒径のMPsと生態内の挙動が異なり、その毒性

も異なる可能性が報告されつつある⁶⁾。また、太陽光や波力、加水分解等の風化作用による環境中内のMPsの細粒化速度やその限界粒径といった新たな環境中挙動解明もEUを中心に、MPsの研究ロードマップとして加わっている¹¹⁾。日用品中に含まれる一次MPsの中には、数 μm レベルのものもあり、現時点ではこれらの環境中挙動や生態毒性、物性に関する研究は少なく、風化による細粒化とともに今後重要な研究に位置づけられる。

MPsのプラスチック種類の組成及び濃度に関して、現在は世界的に生産量の多いプラスチック種類を中心に、粒子数濃度で議論されている。プラスチックごみとして資源循環で考慮する場合は重量濃度が重要となる。しかし、この場合は加熱分解による定量方法が現時点で有効と考えられているものの、野生生物やヒトへの生態影響を考慮した場合にその影響が無視できないMPsの粒径分布や表面積及び形状情報が欠落する可能性が危惧されている。一方、Micro-FITR等で測定可能な数十 μm 以上のMPsでは、既往の報告から生産量の多いプラスチック種類で概ね同定が可能である。しかし、今後、ラマン分光光度計による微小MPsの研究が進んだ場合、生産量は少ないものの使用段階で微小なもの、あるいは細粒化が容易な新たなプラスチック種の分析の必要性も考えられる。

MPs粒子表面の電化は、MPsの使用段階における表面の化学的修飾等で大きく変化し、表面に吸着する化学汚染物質種や吸着特性に影響を与えることが考えられている¹²⁾。しかし、現時点においてMPsの表面電荷に関する研究事例は前述の汚染状況調査や環境中挙動の把握研究に比較すると少ない。

このように、MPs研究は環境中の粒径の大きい粒子の存在状況及び地理的分布が中心であったフェーズから、現在は微小粒径も含む存在特性及び風化による細粒化等の詳細な環境中挙動へと研究が広がつつある。

3. 現在のMPs調査・分析方法の整理

MPs研究の動向は、MPsの分析方法の開発とともに大きく変化しているといっても過言ではない。しかし、様々な新しい分析方法が利用される一方で、その精度管理(QA/QC)は不十分であるため、研究者間のデータの比較ができない状況となっており、特に水中のMPsに関しては、地球規模の汚染状況の把握、毒性試験における使用するMPsの選定、あるいはMPsの生態リスク評価が困難となっている。そこで、世界的に大きな学会の一つであるSociety of Environmental Toxicology and Chemistry (SEATC)では、2019年11月の国際学会にて、分析方法、調査

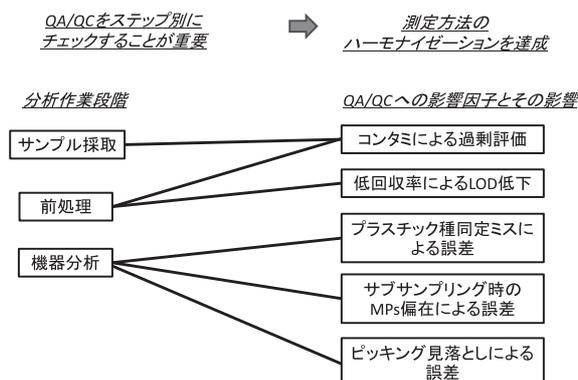


Fig. 1 Quality Assurance and Quality Control at each analytical step for microplastics in environment samples

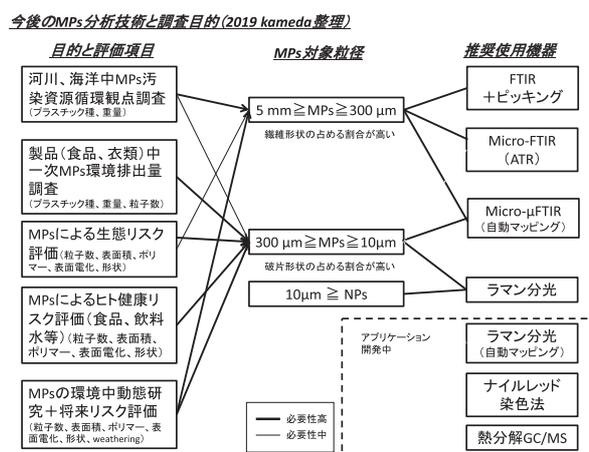


Fig. 2 A diagram of relationships between objectives, sizes of microplastics and recommended instruments for microplastics investigations

方法は限定せず、各分析方法間の分析精度管理の強化を提唱することで同意されている。

ここでは、現在行われている調査方法、前処理方法及び機器分析方法について、筆者が独自に整理した、調査・分析作業段階でのQA/QC整理図(Fig. 1)及びMPsに関する調査目的、対象粒径及び使用分析機器相関図(Fig. 2)を基にしながら、その特徴やその問題を整理する。

3.1 MPs調査法

MPs調査は海洋域における調査が当初メインであったため、海洋に適した調査方法、前処理方法がアメリカ海洋大気庁(NOAA)により提唱されている¹³⁾。海洋水中のMPs調査の場合では、一般的にマantaネット等のプランクトンネットを船で数百 m^3 曳くことで海水中のMPsを採取する。一方で、河川や事業所排水については、研究者により様々な調査方法が提案されており、公定法と呼ばれるものは存在していない。事実、最も基礎的で重要な使用するネットのメッシュサイズでさえ、研究者によって大きく異なる。一般的には300 μm 前後のネットを使用するが、微小

粒径の MPs を調査対象にする場合は、メッシュサイズも相応にする必要がある。この場合、著しく短時間でネットが閉塞するため、ポンプ等で一度試料水をくみ上げ、ネットでろ過する方法も採用されている。ただし、採水の深さによって MPs 濃度やプラスチック組成が異なることも報告されており、注意が必要となる。また、データの検出下限値を確保するために必要な採水量にも注意する必要がある。つまり、例えば Kataoka ら¹⁴⁾によれば、国内河川水の場合、300 μm 程度よりも大きい MPs の調査には、その濃度範囲は平均 1.6 個/ m^3 、標準偏差 2.3 個/ m^3 であるため、下限値を 1 個/ m^3 程度を求めたい場合は、最低でも 10 m^3 程度は必要となる。一方、微小 MPs の場合は数百~1000 個/ m^3 程度であるため、1 m^3 もあれば十分となる¹⁵⁾。一方、調査時における分析精度管理も重要である。**Fig. 1** に示したように、調査採水時はコンタミネーションが生じやすい。例えば、作業時の衣服からの合成繊維やポンプを使用した際のポンプあるいはホースからのプラスチック片の混入が特に生じやすい。また、場合によっては大気中からのコンタミネーションも生じるため、閉鎖系の調査器具の使用が望ましい。したがって、調査実施前に調査方法におけるコンタミネーションチェックをしておくことが重要となる。このコンタミネーションは水道水をはじめとする清澄な試料水では特に過剰評価の原因になり、既往の水道水中の MPs 報告の中には、コンタミネーションによると思われる著しく高濃度な報告も見受けられる。加えて、コットンやキュプラのような MPs に該当しない繊維が混入する場合もあり、ピッキングによる MPs 分析を行う場合は、分析作業の大きな妨げになりうるため、プラスチック以外の混入も軽視しないほうが良い。ちなみに、筆者はノンプラスチックのポンプを利用した閉鎖系のオンサイト濃縮装置を利用している。

3.2 MPs 前処理法

前処理方法は後段の機器分析で使用する機器に応じて、必要な処理を施す必要がある。現在の MPs 分析では FTIR を使用する方法が一般的なため、ここではそのための前処理方法について整理する。**Fig. 2** に示したようなラマン分光光度計、ナイルレッド等による染色による方法及び熱分解ガスクロマトグラフ質量分析計（熱分解 GC/MS）に関しては、実環境中の MPs 分析に適した前処理方法は未だ開発途上の段階である。

多くの研究者が行っている FTIR を用いた分析のための前処理方法は、前述の NOAA のプロシーチャーを基本にしている。プランクトンネットやふるいで 5 mm 以下に懸濁物質を分級後、過酸化水素により易分解性の有機物を 60°C 程度の加熱攪拌下で酸化分解する。場合によっては鉄系触媒を加え、フェントン反応

により激しく反応させる。この反応の目的はプラスチック以外の有機物の脱色や分解、MPs 表面の有機物の剥離である。その後、分解された残渣物にプラスチックよりも比重の大きいヨウ化ナトリウム (NaI) 水溶液を加え静置することで、上澄みに比重分離された MPs をメンブレン上に回収する。その後、メンブレン上の残渣を機器分析によりプラスチックか否かを同定する。この方法は従来最も一般的に使用されてきた方法であるが、不適切な部分が報告され始めた。まず、近年の微小 MPs の分析には、ポリアミド等一部のプラスチックは過酸化水素に著しく耐性がないため、処理により粒径が小さくなることが明らかになりつつある。筆者の研究でも数十 μm 程度、粒径分布が小さくなることが明らかとなっている。また、過酸化水素では除去できないセルロースやタンパク質の影響が微小粒径の MPs 同定精度を悪化させることも報告されている。加えて、一般的に酸化処理や比重分離作業では処理液のガラス器具間の移し替えや分液ロートによる分離作業が行われる。この時に、**Fig. 1** に示すような MPs の回収率の低下やコンタミネーションが生じやすい。そこで、過酸化水素処理に加え、数種の酵素や界面活性剤を利用する BEPP 法 (Basic Enzyme Purification Procedure) が提案されている。また、なるべくガラス器具の移し替えを減らす方法も報告されている。いずれの前処理を施すにしても、添加回収試験による回収率のチェックやコンタミネーションの評価を事前に行うことが重要となる。

3.3 MPs 機器分析法

Fig. 2 に示すように、現在環境中の MPs 調査で成果が報告されている機器は、FTIR、Micro-FTIR 及びラマン分光光度計である。最も報告例が多い分析方法は、**Fig. 2** の「FTIR+ピッキング」に相当し、前処理後のメンブレン上の懸濁粒子から実体顕微鏡観察下で MPs と思われる粒子すべてをピッキングし、更に粒子ごとに FTIR によりプラスチックか否かを同定し、粒径や色、形状を測定する方法である。この方法は機器設備費が少なく済む利点がある反面、分析精度管理が最も難しい。その最たる問題点は MPs と思われる粒子を測定者の主観でピンセットでピッキングする点にある。つまり、主観による選別は測定者間の誤差を生じる。さらに同一の測定者でも集中力の低下等の疲労により選別の誤差を生じてしまう。さらに、透明な MPs やつまむことが困難な MPs は選別されない危険性も含んでいる。事実、この誤差は微小粒径の MPs になればなるほど大きくなることを Isobe らが報告している¹⁶⁾。さらに、メンブレン上の懸濁態は不均一に存在していることが多いため、サブサンプリング時の誤差にも注意する必要がある。加えて、IR ス

ペクトルによるプラスチック同定についても、環境中のMPsは機器のライブラリー中のバージンプラスチックのIRスペクトルとは環境中の劣化等による影響から異なることが多いため、測定者のスペクトル判別技術の熟練も必要となる。このような観点から、本手法で測定する場合には、分析精度を詳細に管理する必要がある。

一方、数年前から使用され始めたケミカルイメージを利用したマッピング機能付きのMicro-FTIRは、ピッキングの必要はなく、メンブレン上のIRスペクトルを面的に自動でスキャンし、IRスペクトルのイメージマッピングを行うことができる。この結果、FTIRの性能上の限界である20 μm 程度のMPsまで漏らすことなく検出でき、さらに粒子数や各粒子の短経長径等の形状情報も自動で解析される。したがって、前述の方法の多くの問題を解決できるほか、MPsの連続的な粒径分布やマトリックス成分の多い下水試料や生物試料の分析も可能となる。機器設備面で高額である欠点はあるが、現時点で数十 μm 程度までの微小MPsの定量評価は、この手法が最も有効と思われる。

10 μm 程度以下のMPs分析には、現時点ではラマン分光光度計の利用が中心になっている。しかし、ラマン分光光度計はその高価さ、蛍光物質等のマトリックス成分の除去、詳細な測定条件の調整等による定量的評価の煩雑さの問題が提起されており、現在では、Micro-FTIRのイメージマッピングと同様な、ラマン分光測定自動化が開発されつつある。

4. 調査・分析方法の課題と今後の動向

環境中のMPs問題は海洋プラスチックごみ問題とともに世界的に喫緊に取り組むべき環境問題として各国の実質的行動が求められている。一方で、筆者が国際学会でも感じるように、MPs研究が進んでいるEU、これから本格的に調査研究を開始する北米や日本、さらには、社会的関心が強いものの、研究調査基盤をこれから整える国々の間では、MPsの社会問題としての捉え方が大きく異なっている。さらに、日本国内でもMPs問題の捉え方は、各省庁や産業界によって大きく異なる傾向が見られつつある。この状況下では、調査・分析方法も多種多様化されることは当然の流れと考えられる。しかし、MPsの環境中挙動やヒトや野生生物への生態リスク、ライフサイクルアセスメント、加えて経済影響を世界的、アジア圏内、あるいは国内で議論する場合には、多種多様な調査・分析方法で得られる科学的知見の蓄積とそのデータ特性を理解することが重要と考える。現在、環境中MPsの測定

方法についてISOでも議論されているが、分析精度管理を含めたMPs調査・分析及び研究の基盤の創生の必要性は年々高まると考えられる。他方で、MPs研究はより微細化に進み始め、2019年のSETAC国際学会ではMPsの範疇を超え、モノマーやダイマーといった溶存態のプラスチック成分の汚染状況把握や生態影響について波及する動きがEUや北米で見られている。このように海洋のプラスチックごみを皮切りにしたプラスチック問題は未だ拡大と複雑化を続けており、静観できない状況になっている。したがって、わが国から国際社会に向けて、分析精度管理を含めた調査・分析方法を積極的に発信することは、世界におけるMPs対策への発言力の獲得に有効と思われる。さらに、わが国が主導でアジア圏を中心とした太平洋域海域の積極的なMPs国際共同調査を行うことも、実際のアクションとして世界に大きくアピールできる材料になるものと思われる。そのためにも、国内における調査方法・分析方法の積極的な議論が必要である。

参考文献

- 1) E. J. Carpenter and K. L. Smith: *Plastics on the Sargasso Sea Surface*. *Science*, 175, pp. 1240~41 (1972)
- 2) Ellen Macarthur Foundation Report: *Rethinking the Future of Plastics*, <https://www.ellenmacarthurfoundation.org/our-work/activities/new-plastics-economy/2016-report> (2016)
- 3) Z. Akdogan and B. Guven: *Microplastics in the Environment: A Critical Reviews of Current Understanding and Identification of Future Research Needs*, *Environ. Pollut.*, Vol. 254, pp. 113011 (2019)
- 4) Z. Zhanga, and Y. Chen: *Effects of Microplastics on Wastewater and Sewage Sludge Treatment and Their Removal: A review*, *Chemical Engineering Journal*, Volume 382, No. 15, 122955 (2020)
- 5) World Health Organization: *Microplastics in Drinking-water*, https://www.who.int/water_sanitation_health/publications/microplastics-in-drinking-water/en/ (2019)
- 6) D. Peixoto, C. Pinheiro, J. Amorim, L. Oliva-Teles, L. Guilhermino and M. Natividade Vieira: *Microplastic Pollution in Commercial Salt for Human Consumption: A review*, *Estuar. Coast. Shelf. S.* Vol. 219, No. 5, pp. 161-168 (2019)
- 7) A. K. Baldwin, S. R. Corsi and S. A. Mason: *Plastic Debris in 29 Great lakes Tributaries: Relations to Watershed Attributes and Hydrology*, *Environ. Sci. Technol.*, Vol. 50, pp. 10377-10385 (2016)
- 8) P. K. Cheung and L. Fok: *Evidence of Microbeads from Personal Care Product Contaminating the Sea*, *Mar. Pollut. Bull.*, Vol. 109, No. 1, pp. 582-585 (2016)
- 9) F. Corami, B. Rosso, B. Bravo, A. Gambaro, and C. Barbante: *A Novel Method for Purification, Quantitative Analysis and Characterization of Microplastic Fibers using Micro-FTIR*, *Chemosphere*, Vol. 238, 124564 (2020)
- 10) L. Cabernard, L. Roscher, C. Lorenz, G. Gerdtts and S. Primpke: *Comparison of Raman and Fourier Transform Infrared*

- Spectroscopy for the Quantification of Microplastics in the Aquatic Environment, *Environ. Sci. Technol.*, Vol. 52, pp. 13279–13288 (2018)
- 11) JPI OCEANS: WEATHER-MIC - Microplastics in the Marine Environment, www.vliz.be/imisdocs/publications/340702.pdf (2019)
- 12) X. Guo and J. Wang: Sorption of Antibiotics onto Aged Microplastics in Freshwater and Seawater, *Mar. Pollut. Bull.*, Vol. 149, 110511 (2019)
- 13) National Oceanic and Atmospheric Administration): Laboratory Methods for the Analysis of Microplastics in the Marine Environment, https://marinedebris.noaa.gov/sites/default/files/publications-files/noaa_microplastics_methods_manual.pdf (2015)
- 14) T. Kataoka, Y. Nihei, K. Kudou and H. Hinata: Assessment of the Sources and Inflow Processes of Microplastics in the River Environments of Japan, *Environ. Pollut.*, Vol. 244, pp. 958–965 (2019)
- 15) 亀田豊: 微細マイクロプラスチックの自動分析技術とその展開, *ケミカルエンジニアリング*, Vol. 64, No. 9, pp. 28–32 (2019)
- 16) A. Isobe, N. T. Buenaventura, S. Chastain, S. Chavanich, A. Cózar, M. DeLorenzo, P. Hagmann, H. Hinata, N. Kozlovskii, A. L. Lusher, E. Martí, Y. Michida, J. Mu, M. Ohno, G. Potter, P. S. Ross, N. Sagawa, W. J. Shim, Y. K. Song, H. Takada, T. Tokai, T. Torii, K. Uchida, K. Vassillenko, V. Viyakarn and W. Zhang: An interlaboratory comparison exercise for the determination of microplastics in standard sample bottles, *Mar. Pollut. Bull.*, Vol. 146, pp. 831–837 (2019)