

水産庁委託事業

令和3年度

農林水産分野における持続可能なプラスチック利用対策事業
(漁業における海洋プラスチック問題対策事業のうち
海洋プラスチックを摂食した魚介類の生態的情報等の調査)

報告書

令和4年3月

水産研究・教育機構 水産技術研究所

環境保全部 化学物質グループ

令和3年度報告書

課 題 名	海洋プラスチックを摂食した魚介類の生態的情報等の調査
機 関 名 担当者名	水産研究・教育機構 水産技術研究所 環境保全部 化学物質グループ 大久保信幸、河野久美子、伊藤真奈、羽野健志

1. 目的

プラスチックごみが細かく砕けて海洋に散在するマイクロプラスチック（5 mm 以下のプラスチック片、以下 MP と略）は、海水中の有害化学物質を吸着し、高濃度に濃縮した形で海洋生物に取り込まれることが懸念されていることから、海洋生態系への新たな脅威となっている。本研究では、日本沿岸域で検出が報告されている材質、サイズの MP を用い、海洋の重要な生物資源である海産魚による取り込み量や魚体内における滞留時間、および MP に吸着した化学物質の生物体内での挙動等について実験を通じて明らかにすることで、MP が海産魚類に与える影響（化学物質の移行、成長阻害など）を調査し、生態リスク評価に資することを目的とする。

2. 年度計画

本事業では、MP が海産魚類に与える影響の評価に必要なデータを収集するため、（1）MP の体内滞留時間の測定等、（2）MP に吸着した有害化学物質の魚介類消化管内における溶出量の推定等に関する試験を以下の計画で実施する。対象魚種は、毒性試験のモデル海産魚であるマミチョグ、または水産重要種であり、摂餌生態の異なるマダイを用いる。また、使用する MP は、日本沿岸域で検出の報告例があり、かつ魚類の消化管内に取り込まれることが報告されているサイズ（300 μm 前後）、および材質（ポリエチレン）のビーズを主に用いる。海水中溶存化学物質として、化石燃料の燃焼や流出油などに由来する多環芳香族炭化水素類（PAHs）を対象とする。

3. 細部課題の構成

（1）MP の体内滞留時間の測定等に関する試験

MP のサイズや形状違いによる影響を解明するため、幼若なステージの海産魚を用いて MP 曝露試験を実施し、MP 摂取量、体内滞留時間を明らかにする。また、長期 MP 投与による海産魚の仔魚または稚魚の栄養状態の悪化、成長阻害等の影響を過年度事業により得られた曝露試験方法で引き続き評価する。

（2）MP に吸着した有害化学物質の魚介類消化管内における溶出量の推定等に関する試験

マミチョグにおける MP 摂取量、MP への有害化学物質の吸着量、溶出速度等の実験データ及び文献調査等で得られた情報に基づき、海産魚類消化管内での溶出量を数値計算に

て推定する。さらに、有害化学物質（PAHs）を吸着させた MP の海産魚類への影響を評価するための曝露試験方法の確立に向け、各種試験条件を検討する。

なお、用いる MP は過去の当該事業と同様とし、MP の消化管での滞留時間は細部課題（1）の結果を参考にする。

3. 年度計画

（1）MP の体内滞留時間の測定等に関する試験

1) マミチョグ仔魚または稚魚を用い、令和2年度と異なるサイズ、または材質の MP の取り込み・排泄試験を実施し、その摂取量、消化管内滞留時間の測定を試みる。具体的には、ポリエチレン（PE）ビーズを破碎した MP を作製して曝露試験に供する。この結果を H30（0.3 mm PE ビーズ）、H31（養殖用 PE パイプ破碎 MP）、R2 年度（0.8 mm PE ビーズ）に測定した MP の消化管内滞留時間等と比較することで、MP の形状による消化管内滞留時間への影響等を検証する。

2) 過年度事業により得られた、ビーカーを使って仔魚に MP を半止水式で曝露する方法を用いて、長期曝露試験を実施し、曝露による成長への影響を測定する。なお、MP は令和2年度と異なるサイズ、濃度、または材質のもの（上記1）で作製した破碎 MP を予定）、供試魚はマミチョグ仔魚を用いる。これらの結果を H31 年度（0.3 mm PE+0.1 mm ポリスチレンビーズ（PS））、R2 年度（0.2 mm PE ビーズ）に実施した MP の長期曝露試験の結果と比較する。

（2）MP に吸着した有害化学物質の魚介類消化管内における溶出量の測定等に関する試験

1) マミチョグ消化管内における MP からの PAHs 溶出量の推定

MP に吸着した有害化学物質の魚類消化管内における溶出の有無の推定に向け、各種パラメータを取得する。対象有害化学物質は石油の毒性成分・多環芳香族炭化水素（PAHs）とし、対象 MP の材質は PE（サイズ 0.3 mm 前後）とする。具体的には、海水中 PAHs の MP への吸着速度を求めるとともに、MP に吸着した PAHs のマミチョグ消化管内における溶出速度を生体外溶出試験法を用いて算出する。さらに、過年度事業で取得済みの知見（マミチョグの MP 摂取量、体内滞留時間、MP への PAHs の吸着量）、および文献調査等に基づき、MP に吸着した PAHs のマミチョグ消化管内における溶出量を既存モデル等を参考に数値計算により推定する。

2) PAHs 吸着 MP を用いた生体内溶出試験法の確立

MP に起因する有害化学物質の魚介類への蓄積性を検証するため、有害化学物質を吸着させた MP と海産魚（マダイ）を用いた曝露試験法の確立に向け、これまでの当該事業の成果や関連情報を元に各種試験条件を検討する。具体的な検討条件として、実験に使用する有害化学物質の種類（MP へ吸着濃縮され易く、かつ消化管内で溶出し、魚類への蓄積性が懸念されている物質を PAHs の中から選定）、濃度および MP への吸着方法、曝露期間、

飼育システム（換水および溶存酸素量の維持方法等）とする。

4. 結果の要約

(1) MP の体内滞留時間の測定等に関する試験

1) マミチヨグ稚魚を用いた粉砕 MP 曝露試験

マミチヨグ稚魚を用い、PE ビーズを粉砕した MP の取り込み・排泄試験を行った結果、供試魚の MP 摂取量は平均 11 ± 4 個（体重 1 g 当たり）となり、過年度の結果と同程度であった。また、取り込んだ MP の 50% 排泄時間は 2.6 (h) であり、250–300 および 710–850 μm PE ビーズの排泄時間より 2 倍程度遅く、カキ養殖用パイプを粉砕した MP と同様であった。以上の結果、250–850 μm の MP ではサイズの差は排泄時間にほとんど影響を与えないが、その形状により排泄時間が 2 倍程度、変動するものの、95% が排出される時間はいずれの形状でも 25 時間以内と短いことが示された。

2) マミチヨグ仔魚を用いた粉砕 MP 継続曝露試験

マミチヨグ仔魚を用い、500 mL ビーカー内で PE ビーズを粉砕した MP を 2.5 mg/L、および 5 mg/L で 2 週間、曝露したところ、対照区との間に有意な成長の差は認められなかった。この結果は過年度事業で実施した 181–212 μm PE ビーズ曝露、250–300 μm PE ビーズおよび 90 μm PS ビーズ複合曝露試験と同様であった。

(2) MP に吸着した有害化学物質の魚類消化管内での溶出量の推定

1) マミチヨグ消化管内における MP からの PAHs 溶出量の推定

マミチヨグの消化管内容物の懸濁液を用い、MP からの PAHs の溶出試験を実施した結果、本試験系において 24 時間で溶出する PAHs 量の約 80-90 %が、反応開始 3 時間以内に溶出することが明らかとなった。また、その溶出速度定数は PAHs の種類（物性）によって異なり、 $\log K_{ow}$ が大きい、すなわち水溶性が低くなるについて小さくなる傾向が認められた。当該事業にて得られた成果および既報の情報を元に、実海域における MP を介した PAHs のマミチヨグ体内への取り込み量を推定した結果、消化管内における MP からの溶出に由来する魚体中濃度は、経鰓（海水）由来の魚体中濃度に比べて、フェナントレン、ピレンで低く、クリセンでは同程度と推定された。また、マダイの推定値と比較したところ、魚種間に大きな差異は認められなかった。

2) PAHs 吸着 MP を用いた生体内溶出試験

PAHs 吸着 MP を用いた生体内溶出試験を実施した結果、PAHs の海水曝露に伴う体内濃度の増加は認められたものの、MP 摂食に伴う有意な体内 PAHs 濃度の増加は検出されなかった。以上のことから、海産魚類が MP を摂食後、消化管内にて MP から溶出する PAHs の取り込み（MP による PAHs のベクター効果）は海水から鰓を経由した PAHs の取り込みに比べて極めて低いと推察された。

5. 成果の発表、活用等

- ・論文発表 1 件

Microplastic uptake and gut retention time in Japanese anchovy (*Engraulis japonicus*) under laboratory conditions.

Marine Pollution Bulletin 誌 (印刷中)

6. 事業推進上の問題点等

特になし。

令和3年度報告書

課 題 名	海洋プラスチックを摂食した魚介類の生態的情報等の調査
細部課題名	(1) マイクロプラスチックの体内滞留時間の測定等に関する試験
機 関 名 担当者名	水産研究・教育機構 水産技術研究所 大久保信幸・河野久美子 (環境保全部)

1. 目的

本研究では、日本沿岸域で検出が報告されている材質およびサイズのマイクロプラスチック (MP) を用い、海洋の重要な生物資源である海産魚による取り込み量や魚体内 (消化管内) における滞留時間について飼育実験を通じて明らかにする。これにより MP が海産魚類に与える影響 (化学物質の移行、および成長阻害) を調査するための基礎とする。

2. 実施計画 (令和3年度)

2. 1 異なる材質、形状の MP を用いた曝露試験

過年度と異なる材質、サイズの MP を用い、マミチヨグ稚魚への曝露試験を実施し、MP の摂取量、消化管内滞留時間を明らかにする。これらの結果を過年度事業で実施した 0.3mm 前後の PE ビーズでの結果等と比較し、MP の性状の差異と摂取量、消化管内滞留時間との関係を考察する。

2. 2 マミチヨグ仔魚を用いた MP 継続曝露試験の検討

MP の海産魚への物理的影響について、エサとの誤認による MP の摂取により、栄養状態や成長の悪化が生じるかを室内試験により検証する。具体的には、飢餓耐性が低く、影響を受けやすいと考えられる仔魚期のマミチヨグを用い、昨年度確立した MP 継続的曝露法により、MP による成長遅延等の影響を評価する。

3. 材料と方法

3. 1 供試生物

マミチヨグ仔魚、および稚魚 (写真 1、2) は甘日市庁舎で継代飼育しているものを用いた。

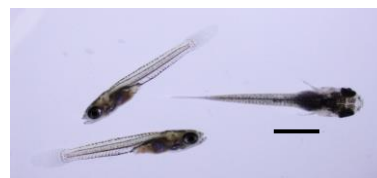


写真1 マミチヨグ仔魚
(写真中のバーは2mm)



写真2 マミチヨグ稚魚

3. 2 MP

プラスチック・カッティングミル（大阪ケミカル社）を用いて 850–1,000 μm ポリエチレン（PE）製ビーズを粉砕し、目開き 500 μm および 100 μm の篩に通し、100 μm の目合上に残った MP（図 1）を回収した。その後、70%エタノールにて洗浄し、曝露試験に用いた。なお、MP の走査型電子顕微鏡写真は福井県立大学海洋生物資源学部 山田和正 助教に撮影していただいた。

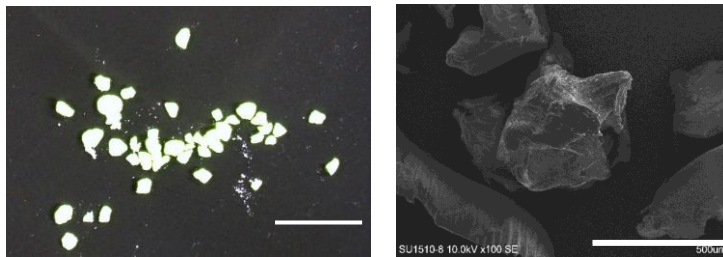


図 1. PE ビーズを粉砕した MP（左：実体顕微鏡写真、バーは 2 mm、右：走査電顕写真、バーは 500 μm ）

3. 3 曝露試験

3. 3. 1 マミチョグ稚魚を用いた粉砕 MP 取り込み・排泄試験

マミチョグ稚魚を用いた試験は 2018 年度当該事業¹⁾ で開発した手法に準じ、角型ガラス水槽（10L または 20L）に活性炭ろ過海水を 10L または 20L 入れ、水温を 20.2 - 21.0°C に保ち、取り込み試験は止水式で、排泄試験は半止水式で行い、溶存酸素濃度の低下を防ぐため各水槽に微弱な通気を行った。マミチョグ稚魚（体重 2.7 ± 0.14 g、全長 59 ± 0.8 mm）9 尾を 20L 水槽に収容し、粉砕 MP を設定濃度 0.3 mg/L で 4 時間、曝露した。その後、魚を取り上げてトリカルネット製のかご（10cm x 10cm x 10cm）に 3 尾ずつまとめて収容し、別途用意した排泄試験用 10L 水槽 3 基の水面下にそれぞれ移設した（図 2）。移送後 2、4、6、20、25 時間後に排泄水槽内に排泄された MP をネットおよびサイフォンで回収し、ガラス繊維ろ紙でろ過後、計数した。MP 回収時に減った海水は追加した。MP 曝露試験開始時（MP/アルテミア重量比：0.04）、および排泄試験開始 20 時間目の MP 回収後にアルテミア幼生を投与した。

試験終了時に供試魚を麻酔にて安楽死させた後、消化管を摘出し、10%KOH 下で 24 時間以上、42℃でアルカリ分解した。KOH 溶液をガラス繊維ろ紙でろ過し、MP を実体顕微鏡下で計数した。排泄試験における水槽当たりの MP の総排出量から、各サンプリング時間における消化管内の MP 数を逆算し、魚体重 1g あたりの消化管内 MP 数を体内濃度として排泄時間を算出した

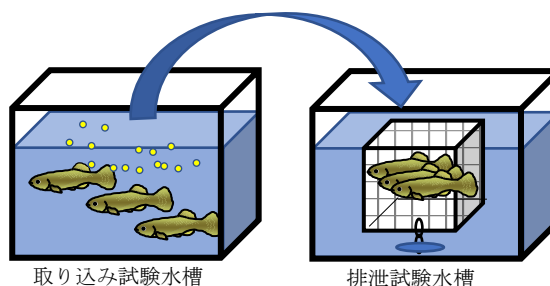


図 2. マミチヨグ稚魚を用いた取り込み・排泄試験の模式図

3. 3. 2 マミチヨグ仔魚を用いた継続曝露試験

1 回目：500mL ガラスビーカーにろ過海水を 400mL 入れ、ふ化後 1 週目のマミチヨグ仔魚（全長 $8.6 \pm 0.1\text{mm}$ 、乾燥重量 $0.9 \pm 0.1\text{mg}$ ）を 12 尾ずつ収容し、20℃のインキュベーター内に設置した。また、各ビーカーに微弱な通気を行った。MP 曝露区と MP を添加しない対照区（Cont）を各 4 反復設け、MP 曝露区には 粉碎 MP を設定濃度 2.5 mg/L 半止水式で 14 日間曝露した。試験海水は実験開始 2、4、7、9、11、13 日後に全量交換すると共に、7 日目はビーカーも交換した。給餌は試験開始時および水替え時にアルテミア幼生を 16 尾/mL になるよう投与した（MP/アルテミア重量比：0.02）。また、開始 4 日目、9 日目に一部の仔魚をサンプリングした。試験終了時に供試魚を麻酔にて安楽死させた後、70%エタノール（v/v）で 24 時間固定し、全長を実体顕微鏡下で計測した。その後、60℃で 3 時間、乾燥し、乾燥重量を測定した。乾燥後の仔魚を 10%KOH 下で 24 時間以上、42℃でアルカリ分解し、消化管内の MP を実体顕微鏡下で計数した。なお、MP を取り込んでいた個体の体重を対照区と比較する際は、MP の重量（取り込み個数 \times 平均 MP 重量：0.01mg/個）を除く補正を行った。

2 回目：1 回目と同様に、ふ化後 1 週目のマミチヨグ仔魚（全長 $8.3 \pm 0.1\text{mm}$ 、乾燥重量 $0.6 \pm 0.1\text{mg}$ ）を 12 尾ずつビーカーに収容し、20℃のインキュベーター中に設置した。対照区、粉碎 MP2.5mg/L、および 5mg/L 曝露区を各 3 反復設け、曝露区には MP を半止水式で 14 日間曝露した。試験海水は実験開始 2、5、7、9、12 日後に全量交換した。他の条件は 1 回目と同様に処理した。

4. 結果および考察

4. 1 粉碎 MP 曝露試験

MP の形状が取り込み量や排泄時間に与える影響について明らかにするため、PE ビーズを粉碎した MP の取り込み・排泄試験を行った。各排泄水槽間の MP の排泄数に差は認められたものの、供試魚は合計 79 ± 20 個（水槽当たり、平均 \pm SE）の MP を摂取していた（図 3）。これは魚体重 1g 当たり平均 11 ± 4 個の摂取量となり、過年度の結果と同程度であった（表 1）。

また、取り込んだ MP の 90%以上が 20 時間以内に排泄された (図 3)。

この結果を過年度事業の結果と比較するため、6 時間目までのデータを用いて排泄時間を算出したところ、50%排泄時間=2.6 (h)、95%排泄時間=11.1 (h)であった。これは、2018 年度に実施した 250–300 μ m PE ビーズ¹⁾ および 2020 年度に実施した 710–850 μ m PE ビーズ³⁾ の排泄時間より遅く (表 1)、2019 年度に実施した PE パイプを粉砕した MP の 50%排泄時間=3.0 (h)、95%排泄時間=12.8 (h)²⁾ と同様であった。以上の結果から、250–850 μ m の MP では、その形状により排泄時間が 2 倍程度、変動するものの、95%が排出される時間はいずれの形状でも 25 時間以内と短いことが示された。なお、他の魚種においても、MP の形状⁴⁾ や材質⁵⁾ で排泄される時間に大きな差は無いことが報告されている。

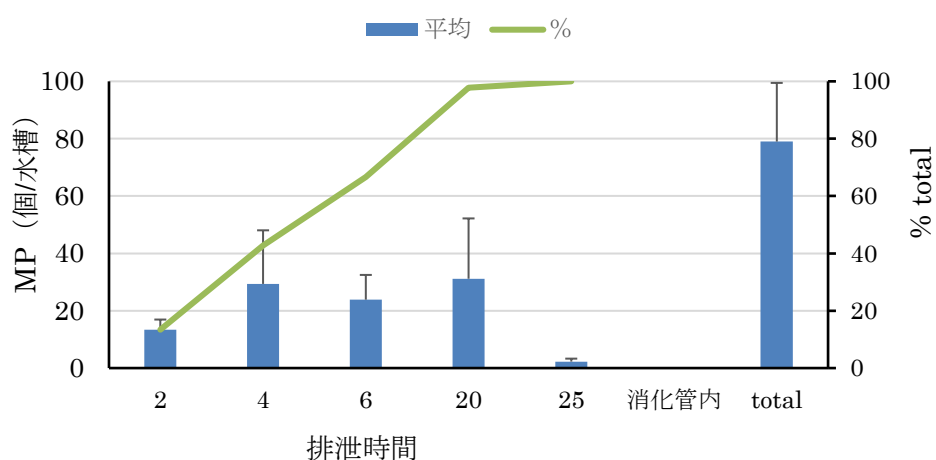


図 3. 粉砕 MP 取り込み・排泄試験における経過時間ごとの MP 排泄数 (棒グラフ、左縦軸) とその割合 (折れ線グラフ、右縦軸)

表 1. マミチヨグ稚魚における各種 MP の消化管内半減期 (t_{50} ; 時間) と摂取量

MPs	形状	ビーズ		断片 (パイプ) (ビーズ)	
	サイズ	0.3mm	0.8mm	0.1-0.5mm	
t_{50} (h)		1.5	1.3	3.0	2.6
摂取量 (個/g BW)		10 ± 1 ^{a,b}	11 ± 5 ^b	8 ± 3 ^a	11 ± 4 ^a

^a: 0.3mg/L (0.3mm、断片状 MP) または ^b: 21 個/L (0.3、0.8mm ビーズ) 曝露時、平均値 ± SE

4. 2 マミチヨグ仔魚を用いた継続曝露試験

粉砕 MP を用い、2 週間高濃度で曝露した結果、1 回目 (表 2)、2 回目 (表 3) 共に仔魚の全長および乾燥重量は、対照区との間に有意な差は認められなかった (1 回目全長 $p=0.68$:、体重 : $p=0.84$ 、2 回目全長 : $p=0.35$ 、体重 : $p=0.19$)。

なお、試験終了後の仔魚の全長、体重については、通常の方法で育成しているマミチヨグ仔魚 (1 回目 : 12 ± 0.7 mm、2.2 ± 0.18 mg、2 回目 : 12 ± 0.4 mm、1.9 ± 0.23 mg) より大きい傾向にあり、ビーカー飼育による成長抑制は認められなかった。

表 2. 粉碎 MP 継続曝露試験における各ビーカーの平均水中 MP 濃度、試験終了時のマミチヨグの平均全長、乾燥重量、および MP 取り込み数

試験区	曝露濃度 (個 /400mL)	全長 (mm)	平均乾燥重量 (mg/尾)	平均 MP 取り込み数 (個/尾)
Cont.1	-	12±0.2	2.8	-
Cont.2	-	12±0.3	3.2	-
Cont.3	-	12±0.3	2.7	-
Cont.4	-	13±0.2	2.7	-
2.5mg 1	78±16	11±0.3	2.4	12
2.5mg 2	73±15	13±0.3	3.0	11
2.5mg 3	65±13	13±0.3	3.1	6.3
2.5mg 4	58±18	13±0.4	2.8	0.3

表記は平均値±SE、-:n.d.

表 3. 粉碎 MP 継続曝露試験 (2 回目) における各ビーカーの平均水中 MP 濃度、試験終了時のマミチヨグの平均全長、乾燥重量、および MP 取り込み数

試験区	曝露濃度 (個 /400mL)	全長 (mm)	平均乾燥重量 (mg/尾)	平均 MP 取り込み数 (個/尾)
Cont.1	-	11±0.3	2.3	-
Cont.2	-	12±0.4	3.4	-
Cont.3	-	12±0.2	3.2	-
2.5mg 1	90±2	11±0.3	1.9	1.7
2.5mg 2	70±10	12±0.2	2.5	6.7
2.5mg 3	145±23	12±0.2	2.5	5.0
5mg 1	176±19	12±0.2	2.8	3.7
5mg 2	213±23	12±0.5	3.1	1.3
5mg 3	247±25	12±0.5	2.5	8.8

表記は平均値±SE、-:n.d.

対照区と曝露区の仔魚の成長に差が認められないという結果は、2020 年度の 181–212 μm PE ビーズ曝露³⁾、2019 年度の 250–300 μm PE ビーズおよび 90 μm ポリスチレン (PS) ビーズ複合曝露試験²⁾と同様であった。なお、他の海産魚の仔魚ではインドメダカにおいて、受精卵から 21 日間の 10 μm PS ビーズ曝露で成長への影響が報告⁸⁾されていることから (表 4)、より幼若なステージ (胚発生期～)、または小型 (10-45 μm) の MP 曝露では影響があ

る可能性もある。

表 4. 海産魚仔魚を用いた MP 曝露試験

魚種	MP の種類、 サイズ	曝露濃度	曝露期間（発生 ステージ）	成長への 影響	その他の影 響
ヨーロッパ スズキ ⁶⁾	PE ビーズ (10-45 μm)	1.2, 12 mg/g (餌曝露)	23 日 (20dph-)	無し	死亡率上昇 (12 mg 曝 露)
シープスヘ ッドミノー ⁷⁾	PE ビーズ(150- 180 μm)、 粉碎ビーズ (6-350 μm)	50, 250 mg/L (餌無し)	4 日 (21dph-)	—	ROS の上 昇、遊泳力 低下
インドメダ カ ⁸⁾	PS ビーズ(10 μm)	2-200 μg/L	21 日 (受精卵-)	体重に差	ふ化率低 下、ふ化遅 延
マミチョグ (本研究)	PE (250-300 μm) + PS ビー ズ (90μm) ²⁾	3.5 mg/L (250 個/L) +1,000 個/L	14 日 (2dph-)	無し	—
	PE ビーズ(180- 212 μm) ³⁾ 、	2.5 mg/L	14 日 (7dph-)	無し	
	粉碎 PE ビーズ (100-500 μm)	2.5 mg/L	14 日 (7dph-)	無し	

dph : ふ化後日数

以上の結果、これまで試験を行ったサイズ、および濃度での MP の 2 週間曝露による仔魚の成長の悪化は認められなかった。

5. 要約

1) 粉碎 MP 取り込み・排泄試験

マミチョグ稚魚を用い、PE ビーズを粉碎した MP の取り込み・排泄試験を行った結果、供試魚の MP 摂取量は平均 11±4 個（体重 1 g 当たり）となり、過年度の結果と同程度であった。また、取り込んだ MP の 50%排泄時間は 2.6 (h)であり、250-300 および 710-850 μm PE ビーズの排泄時間より 2 倍程度遅く、カキ養殖用パイプを粉碎した MP と同様であった。以上の結果、250-850 μm の MP ではサイズの差は排泄時間にほとんど影響を与えないが、その形状により排泄時間が 2 倍程度、変動するものの、95%が排出される時間はいずれの形状でも 25 時間以内と短いことが示された。

2) マミチヨグ仔魚を用いた MP 継続曝露試験の検討

マミチヨグ仔魚を用い、ビーカー内で粉碎 MP を 2.5 mg/L、および 5 mg/L で 2 週間、曝露したところ対照区との間に有意な成長差は認められなかった。この結果は過年度事業で実施した 181–212 μm PE ビーズ曝露、250–300 μm PE ビーズおよび 90 μm PS ビーズ複合曝露試験と同様であった。

6. 参考文献

- 1) 大久保信幸、伊藤真奈 (2019) マイクロプラスチックの海産魚類における摂取量および体内滞留時間の解明。「平成 30 年度プラスチックを摂食した魚介類の生態的情報等の調査報告書」、水産庁、4-12.
- 2) 大久保信幸、伊藤真奈、米田道夫 (2020) マイクロプラスチックの海産魚類における摂取量および体内滞留時間の解明。「平成 31 年度プラスチックを摂食した魚介類の生態的情報等の調査報告書」、水産庁、5-13.
- 3) 大久保信幸、河野久美子、米田道夫 (2021) マイクロプラスチックの体内滞留時間の測定等に関する試験。「令和 2 年度プラスチックを摂食した魚介類の生態的情報等の調査報告書」、水産庁、5-17.
- 4) Grigorakis, S., Mason, S.A., Drouillard, K.G. Determination of the gut retention of plastic microbeads and microfibers in goldfish (*Carassius auratus*). *Chemosphere* 169, 233–238, 2017.
- 5) Jovanović, B., Gökdağ, K., Güven, O., Emre, Y., Whitley, E.M., Kideys, A.E. Virgin microplastics are not causing imminent harm to fish after dietary exposure. *Mar. Pollut. Bull.* 130, 123–131, 2018.
- 6) Mazurais, D., Ernande, B., Quazuguel, P., Severe, A., Huelvan, C., Madec, L., Mouchel, O., Soudant, P., Robbens, J., Huvet, A., Zambonino-Infante, J. Evaluation of the impact of polyethylene microbeads ingestion in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. *Mar. Environ. Res.* 112, 78-85, 2015.
- 7) Choi, J., Jung, Y.-J., Hong, N.-H., Hong, S. H., Park, J.-W. Toxicological effects of irregularly shaped and spherical microplastics in a marine teleost, the sheepshead minnow (*Cyprinodon variegatus*). *Mar. Pollut. Bull.* 129, 231-240, 2018.
- 8) Li, Y., Wang, J., Yang, G., Lu, L., Zheng, Y., Zhang, Q., Zhang, X., Tian, H., Wang, W., Ru, S. Low level of polystyrene microplastics decreases early developmental toxicity of phenanthrene on marine medaka (*Oryzias melastigma*). *J. Hazard. Mater.* 385, 121586, 2020.
- 9) Isobe A., Uchiyama-Matsumoto K., Uchida K., Tokai T. Microplastics in the Southern Ocean. *Mar. Pollut. Bull.*, 114, 623–626, 2017.

7. 成果の発表、活用等

- ・論文発表 1 件

Microplastic uptake and gut retention time in Japanese anchovy (*Engraulis japonicus*) under laboratory conditions. 2022.

Marine Pollution Bulletin 誌 (印刷中)

8. 事業推進上の問題点等

特になし。

9. 今後の課題

本研究では水中 MP 濃度 (例えば破碎 MP 0.3 mg/L は約 30,000 個/m³) を国内の実海域で報告されている最高濃度 (3.7 個/m³)⁹⁾ と比べて極めて高い濃度に設定している。これは、水槽内で試験魚への MP の取り込み、排泄という一連の現象を確実に捕捉することを主な目的として行ったためである。

これまでの結果、海洋調査⁷⁾で検出されている 200 μm 以上のサイズの MP の海産魚仔魚への物理的影響は試験を実施した濃度では検出されていないことから、今後はより小型 (10-45 μm) のサイズの MP、またはより幼若なステージ (胚発生期～) への影響に関する研究に注目する必要があると考えられる。

令和3年度報告書

課 題 名	プラスチックを摂食した魚介類の生態的情報等の調査
細部課題名	(2) マイクロプラスチックに吸着した有害化学物質の魚介類消化管内における溶出量の推定等に関する試験
機 関 名 担当者名	水産研究・教育機構 水産技術研究所 伊藤 真奈・羽野 健志・河野久美子（環境保全部 化学物質グループ）

1. 目的

海洋環境中に漂うマイクロプラスチック（MP）は、海域に存在する有害化学物質を吸着することから、高濃度に濃縮したMPが海産生物に取り込まれ、生物の消化・排泄の過程においてMPから有害化学物質が遊離・溶出し、さらには生物体内に取り込まれることが危惧される。そこで本研究では、MPに吸着した有害化学物質が、海産生物の生理的環境下でどの程度溶出するかを推定し、MPによる海産生物への影響を評価する一助とする。

2. 実施計画（令和3年度）

2. 1 マミチョグ消化管内におけるMPからのPAHs溶出量の推定

MPに吸着した有害化学物質の魚類消化管内における溶出の有無の推定に向け、各種パラメータを取得する。対象有害化学物質は石油の毒性成分・多環芳香族炭化水素（PAHs）とし、対象MPの材質はポリエチレン（PE）（サイズ0.3mm前後）とする。具体的には、海水中PAHsのMPへの吸着速度を求めるとともに、MPに吸着したPAHsのマミチョグ消化管内における溶出速度を生体外溶出試験法を用いて算出する。さらに、過年度事業で取得済みの知見（マミチョグのMP摂取量、体内滞留時間、MPへのPAHsの吸着量）、および文献調査等に基づき、MPに吸着したPAHsのマミチョグ消化管内における溶出量を既存モデル等を参考に数値計算により推定する。

2. 2 PAHs吸着MPを用いた生体内溶出試験法の確立

MPに起因する有害化学物質の魚介類への蓄積性を検証するため、有害化学物質を吸着させたMPと海産魚（マダイ）を用いた曝露試験法の確立に向け、これまでの当該事業の成果や関連情報を元に各種試験条件を検討する。具体的な検討条件として、実験に使用する有害化学物質の種類（MPへ吸着濃縮され易く、かつ消化管内で溶出し、魚類への蓄積性が懸念されている物質をPAHsの中から選定）、濃度およびMPへの吸着方法、曝露期間、飼育システム（換水および溶存酸素量の維持方法等）とする。

3. 方法

3. 1 供試生物

マミチョグは当研究所にて継代飼育されている個体群を用いた。マダイ稚魚（全長（TL）約3cm、体重（BW）約0.5g）は（株）アーマリン近大から購入し、水産研究・教育機構

水産技術研究所 廿日市庁舎で配合飼料（日清丸紅飼料おとひめ:EP0）を 1 日 2 回給餌し、約 20 °C で一定期間馴致した。

3. 2 マミチョグ消化管内における MP からの PAHs 溶出量の推定

まず初めに消化管内における MP からの PAHs 溶出量の推定に用いるため、マミチョグ消化管内における PAHs 溶出速度を算出した。

解剖の 1 および 5 時間前に給餌したマミチョグ（TL120±5.9 mm、BW 34±5.0 g）から摘出した消化管を前腸、中腸、後腸に分け、前腸の内容物（以下、マミチョグ消化管内容物）を搾取し、液体窒素で凍結後、-80 °C にて冷凍保存した。凍結した消化管内容物をそれぞれ 5 倍量（重量比）の 0.25 M Sucrose 液中でポリトロンホモジナイザー（セントラル科学貿易）にて破碎し、遠心後の水溶性画分を内容物懸濁液とした。

PAHs 吸着 MP は、MP（素材：ポリエチレン、サイズ: 250 – 300 μm）を 16 種 PAHs（各 2 μg/L）が溶解した海水中で 48 時間攪拌し作成した。MP に吸着した PAHs 濃度は、H 30 年度同研究課題（細部課題 2）⁵⁾と同様の分析法にて抽出・測定した（図 1）。

溶出試験はねじロガラス試験管内に PAHs を吸着させた MP とその 200 倍量（v/w）の消化管反応液（緩衝液：消化管内容物懸濁液 = 9 : 1）を入

れ、20 °C、暗条件下で振盪した。反応時間は 30 分、1、3、6 および 24 時間とした。反応後、反応液をガラス繊維ろ紙（GF/C；Whatman）にて濾過し、MP を除去した。濾液に内部標準を添加後、ヘキサンを用いて反応液中に溶出した PAHs を抽出し、ガスクロマトグラフ質量分析装置（GC-MS）で分析した。

溶出速度定数（ k_2 ）は、OECD ガイドライン¹⁾の排出速度定数を参考にし、反応式 $dC/dt=k_2 \cdot C$ （C: MP に残存している PAH 濃度、t: 溶出時間）から算出した。MP に残存している PAHs の濃度は、MP の初期 PAHs 濃度および各反応時間に反応液中に溶出した PAHs 量から換算した。

次に、過年度および本年度の当該研究にて得られた成果および既報の情報を元に、実海域における MP の摂食を介した PAHs の魚体内への取り込み量の推定を試みた。対象物質は環

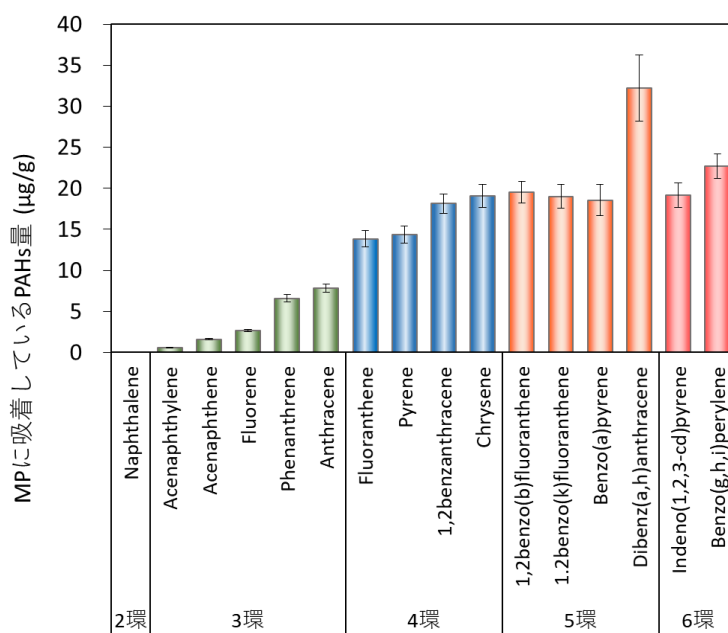


図 1. 試験で使用した MP に吸着していた PAHs 量

境中濃度および生物への蓄積性が比較的高く、推定に用いるパラメータ情報が入手可能なフェナントレン (Phe)、ピレン (Pyr)、およびクリセン (Chr) の 3 種類の PAHs とした。MP 濃度は今後、2060 年までに予想される最大濃度¹⁾、実海域から採取した MP に含まれる PAHs 濃度²⁾、および当該事業にて算出された MP に吸着した PAHs の海水への溶出率から海水中の PAHs 濃度を算出した。その後、マミチョグにおける海水中 PAHs の濃縮係数³⁾を用い、経鰓 (海水) 由来の PAHs の取り込みによる魚体中濃度を推定した。消化管内における MP からの PAHs 溶出に起因する魚体中濃度は、マミチョグにおける MP 摂取率 (課題 1, H30 年度成果)⁶⁾から摂取する MP 量を推定後、生体外溶出試験法にて得られた溶出速度定数 (k_2) を用いて消化時間 3 時間でのマミチョグ消化管内における MP からの PAHs の溶出量を算出し、消化管内にて溶出した全ての PAHs が体内に吸収されると仮定して推定した。さらに、過年度に推定したマダイの消化管内 MP 由来の魚体中濃度、およびマダイにおける海水中 PAHs の濃縮係数³⁾を用いて得られた経鰓由来の魚体中濃度を比較し、魚種間の差異について考察した。

3. 3 PAHs 吸着 MP を用いた生体内溶出試験法の確立

海水中 PAHs 濃度と MP に吸着された PAHs 濃度が平衡である海域において、海水および MP を介して PAHs が魚体に取り込まれる状況を想定し、PAHs を添加した海水中にて MP に PAHs を吸着させた後、マダイを投入し、マダイへの PAHs の取り込み量を評価する試験を実施した (図 2)。

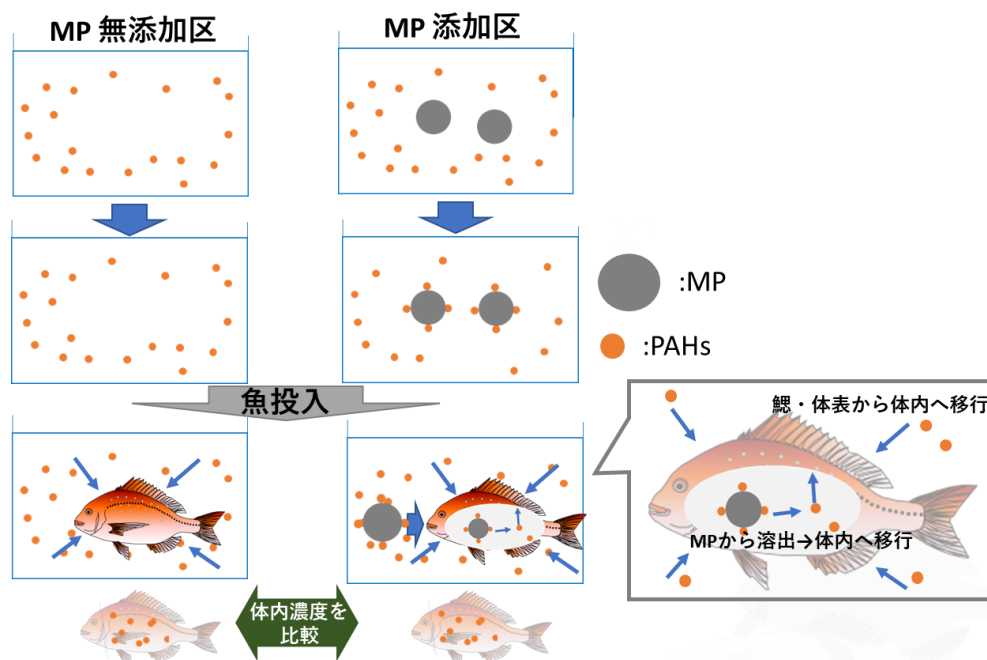


図 2. 生体内溶出試験法の概要図

対象物質は、3. 2で対象とした3種類のPAHs (Phe、PyrおよびChr)に加え、生物への蓄積性が懸念される1,2-ベンズアントラセン (B(a)A)を含む4種類のPAHsとした。処理区は、PAHsを溶解した海水にMP (素材:ポリエチレン、サイズ:250-300 μm)を添加しないMP無添加区、およびMPを添加するMP添加区の2群を設けた。角型ガラス水槽 (60L)に二つのネット (23×23×34cm)を入れ、一方をMP無添加区、もう一方をMP添加区とし、同一水槽内に両処理区を設置することで処理区間の海水PAHs濃度が同一となるよう設計し、これを2反復 (2水槽)行った。PAHsの曝露は、試験海水中の濃度が4種PAHsそれぞれ2 μg/Lとなるよう、アセトンに溶解したPAHs溶液をシリンジポンプにて海水と混合しながら水槽内に注入する流水掛け流し式で実施した。曝露海水の交換率は26回/日に設定した。

MPへのPAHsの吸着に関する予備検討を実施した結果、海水中PAHsのMPへの吸着速度は、Phe、Pyr、B(a)AおよびChrでそれぞれ、0.63、1.9、2.4および3.4 μg/g/hであった。ChrはPheの約5倍であったが、何れのPAHもMPへの吸着は40時間でほぼ定常状態に達することを確認した。そこで、一定期間水槽にPAHsを含む海水をかけ流し海水中のPAHs濃度を安定させた後、MP添加区へMPを添加し (MP濃度;50 mg/L)、40時間攪拌しながらMPへPAHsを吸着させた。その後、各処理区のネットにマダイ (TL 41±2.2 mm、BW 1.0±0.14 g)を16匹ずつ投入し曝露試験を開始した。MPを効率よく摂取させることを目的として、マダイ投入1、3および6時間後に魚体重の0.5%の配合飼料 (日清丸紅飼料おとひめ:C1)を給餌した。0 (試験開始時)、6および24時間後にマダイ (8匹/ネット)をそれぞれ取り上げ、消化管、肝臓および筋肉組織を摘出した。なお試験期間中の死亡はなかった。各組織サンプルは、10%KOH-EtOH中にて42℃で96時間アルカリ分解した後、ヘキサンをを用いてPAHsを抽出し、GC-MSにて各組織中のPAHs濃度を分析した。消化管については、組織のアルカリ分解液の上清をPAHs濃度の分析に用い、残渣を消化管内に含まれるMPの計数に用いた。また、試験海水中のPAHs濃度は、適宜試験水を採取し、ヘキサソ抽出後、GC-MSにて分析した。MPに吸着したPAHs濃度は、H30年度同研究課題 (細部課題2)⁵⁾と同様の分析法にて抽出・測定した。

4. 結果および考察

4. 1 マミチョグ消化管内におけるMPからのPAHs溶出量の推定

マミチョグ消化管内におけるPAHs溶出速度を算出するため、マミチョグ消化管内容物の懸濁液の中にPAHsを吸着させたMPを入れ、一定反応時間ごとの溶出量を測定した。その結果、反応開始後3時間以内に24時間で溶出したPAHs量の80-90%が溶出しており、反応24時間ではMPからの溶出量はほぼ定常状態であることが明らかとなった。

本試験系における溶出過程はマダイ⁴⁾と同様、大きく0-3時間と3-24時間の2相に分けられると推察され、各PAHsの溶出速度定数 (k_2)をそれぞれの時間で算出した。その結果、16種PAHsの平均 k_2 は、0-3時間で0.56/d、3-24時間では0.021/dであった。溶出速度定数が大きい0-3時間の k_2 は、PAHsの種類によって異なり、3環で大きく (k_2 =

表 1. 16 種 PAHs の溶出速度定数 (k_2)

PAH	k_2	
	0-3 hr	3-24 hr
2環 Naphthalene	-	-
3環 Acenaphthylene	0.88 ± 0.38	0.048 ± 0.049
Acenaphthene	0.80 ± 0.28	0.037 ± 0.032
Fluorene	0.97 ± 0.29	0.037 ± 0.029
Phenanthrene	0.85 ± 0.18	0.036 ± 0.014
Anthracene	0.78 ± 0.18	0.031 ± 0.013
4環 Fluoranthene	0.60 ± 0.11	0.033 ± 0.010
Pyrene	0.57 ± 0.10	0.032 ± 0.010
1,2benzanthracene	0.47 ± 0.085	0.017 ± 0.0087
Chrysene	0.36 ± 0.071	0.011 ± 0.0067
5環 1,2benzo(b)fluoran	0.43 ± 0.063	0.0090 ± 0.0058
1,2benzo(k)fluoran	0.33 ± 0.064	0.0065 ± 0.0052
Benzo(a)pyrene	0.35 ± 0.064	0.0063 ± 0.0044
Dibenz(a,h)anthrac	0.22 ± 0.029	0.0053 ± 0.0039
6環 Indeno(1,2,3-cd)pyr	0.31 ± 0.045	0.0065 ± 0.0069
Benzo(g,h,i)peryl	0.39 ± 0.054	0.012 ± 0.0080

0.86/d)、5 および 6 環で小さい ($k_2=0.33$ および 0.35/d) 傾向が認められた (表 1)。また、PAHs の物性 (親油性の指標であるオクタノール/水分配係数 ($\log K_{ow}$)) との関係調べたところ、 $\log K_{ow}$ が大きくなるにつれて k_2 が小さくなる傾向が認められた (図 3, $p < 0.05$)。以上のことから、 $\log K_{ow}$ が大きい、すなわち水溶性が低い化学物質ほど MP に吸着されやすい⁵⁾ (図 1) もの、消化管内での溶出速度は小さくなるものと推察された。また、マダイと同様⁴⁾ マミチヨグの消化管内においても、PAHs の溶出速度定数と $\log K_{ow}$ に負の相関が認められたことから、他の魚種および PAHs 以外の有害化学物質においても $\log K_{ow}$ を一つの指標とすることで MP からの溶出をある程度推定できることが示唆された。

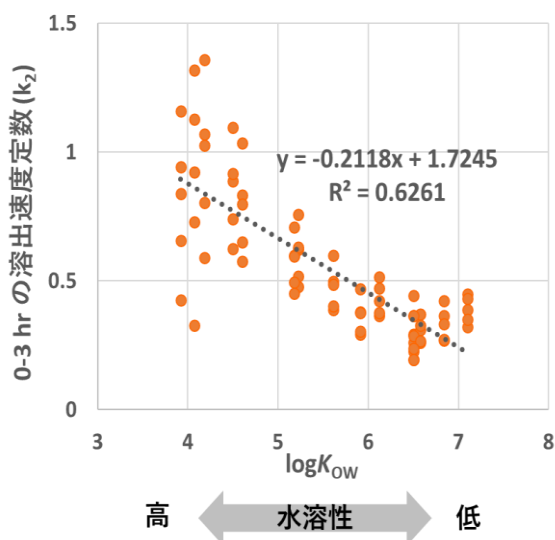


図 3. 各 PAHs の $\log K_{ow}$ と溶出速度定数の関係

次に、算出された溶出速度定数を用いて実海域における MP を介した PAHs のマミチヨグ魚体内への取り込み量の推定した結果、消化管における MP からの溶出に由来する Phe、および Pyr の魚体中濃度は、経鰓 (海水) 由来の魚体中濃度に比べてそれぞれ 1/410 倍、1/25 倍と推定され、いずれの PAH においても経鰓由来の取り込み量の方が消化管内における MP からの溶出に由来する取り込み量よりも大きいことが示唆された (表 2)。一方、消化管における MP からの溶出に由来する Chr の魚体中濃度は経鰓 (海水) 由来の魚体中濃度

と同程度 (1/1.4 倍) であった。マダイの推定値と比較したところ、魚体中の各 PAH の推定値はマミチヨグとマダイの魚種間で大きな差異は認められず、log K_{ow} の増加に伴い、消化管内 MP 由来の魚体中濃度の割合が高くなる傾向も同様であった。

表 2. 推定に用いたパラメータおよび推定された魚体中濃度

	計算式	マダイ			マミチヨグ			
		Phe	Pyr	Chr	Phe	Pyr	Chr	
海水中MP濃度 (mg/L)	a	1						Isobe et al., 2019
魚によるMP摂取率 (%)	b	0.010			0.019			当該事業課題 1_H30,R2年度成果
消化時間 (hr)	c	3			3			当該事業課題 1_H31年度成果を参考
MP中濃度 (ng/g MP)	d	15000	5000	2500	15000	5000	2500	Mai et al., 2018
海水への溶出率 (%)	e	42	26	38	42	26	38	当該事業課題2_R2年度成果
海水中濃度 (ng/L)	a*d*(e/100)/1000=f	6.3	1.3	0.95	6.3	1.3	0.95	
BCF	g	3400	520	3.1	11000	910	19	市橋ら, 2002
魚体中濃度 (ng/g)	f*g/1000	21	0.68	0.0029	69	1.2	0.018	
MP中残濃度 (ng/g MP)	d*(1-(e/100))=h	8700	3700	1600	8700	3700	1600	
溶出速度定数 (/d)	i	0.83	0.62	0.41	0.85	0.57	0.36	当該事業課題2_R2,3年度成果
MPからの溶出濃度 (ng/g MP)	h*(1-exp(-i*c/24))=j	860	280	80	880	250	68	
魚体中濃度 (ng/g)	j*b/100	0.17	0.028	0.0080	0.17	0.048	0.013	
経鰓由来魚体中濃度/MP由来魚体中濃度		240	24	0.36	410	25	1.4	

今回の推定は、消化管内 MP を介した PAHs の体内への吸収効率を 100 % (消化管内にて MP から溶出した全ての PAHs が体内に吸収される) と仮定して行っているが、吸収効率を考慮すれば実際の消化管内 MP 由来の魚体中 PAHs 濃度は今回の推定値よりも低くなると推察される。

最後に、今回の推定値をアメリカ食品医薬品局 (FDA) が定める発がんが懸念されるレベル値 (Phe 490µg/g, Pyr 49µg/g, および Chr 35 µg/g)⁷⁾ と比較した。その結果、MP 由来の魚体中 PAHs 濃度は上記レベル値の約 450 万分の 1 から 100 万分の 1 であり、食品としてのリスクは極めて低いレベルであると推察された。なお、今回の試算に用いた魚体中濃度の推定値は、試算に用いるパラメータによってその値が変化することから、慎重に扱う必要がある。

4. 2 PAHs 吸着 MP を用いた生体内溶出試験

試験期間中の海水に含まれる PAHs 濃度を測定した結果、各時間の PAHs 濃度は、処理区間で大きな差異は認められず、昨年度実施した止水式の試験時⁸⁾ よりも設定濃度に近い濃度で推移した (図 4)。試験開始時 (0 hr) および終了時 (24 hr) の MP に吸着していた各 PAH の平均濃度は、Phe 18±22 µg/g、Pyr 55±41 µg/g、B(a)A 134±105

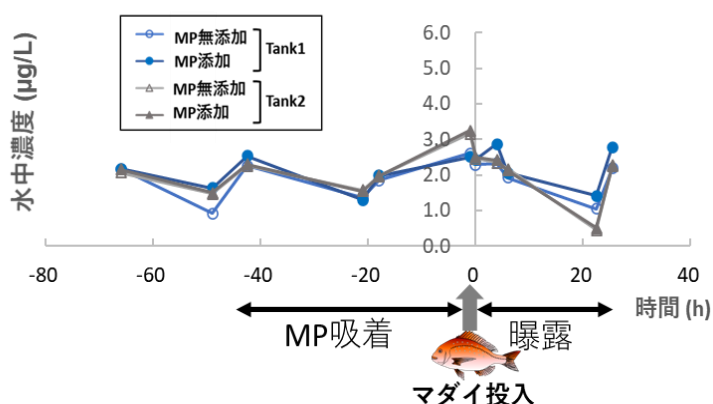


図 4. 各処理区における試験海水中の PAH (フェナントレン) 濃度. (Tank1 および 2 は繰り返しの水槽を示す。)

μg/g および Chr 150±120 μg/g であり、消化管内での MP からの PAHs 溶出が示唆された生体外溶出試験にて用いた MP と同等もしくは数倍高い濃度の PAHs が吸着していた^{4,9)}。マダイ消化管内に摂取されていた MP の数は、個体によってばらつきがあったものの、MP 添加区の 32 個体のうち 31 個体が MP を摂食しており、マダイ投入 6 時間後では平均 18 個 / 個体 (1-83 個 / 個体)、24 時間後では平均 77 個 / 個体 (0-759 個 / 個体)であった(図 5)。以上、曝露海水の PAHs 濃度、MP に吸着した PAHs 濃度およびマダイの MP 摂食ともに本目的を検証するための条件は確保されていた。

筋肉中の PAHs 濃度を測定した結果、海水曝露に伴う PAHs 濃度の増加は確認されたものの、MP 添加区のマダイは平均数十個の MP を摂食していたにも関わらず、MP 添加区および無添加区の PAHs 濃度に有意な差は認められなかった(図 6)。肝臓および消化管組織の PAHs 濃度についても同様の傾向であり、いずれの組織においても消化管内において MP から溶出した PAHs を取り込むことによる有意な PAHs 濃度の増加は確認されなかった。

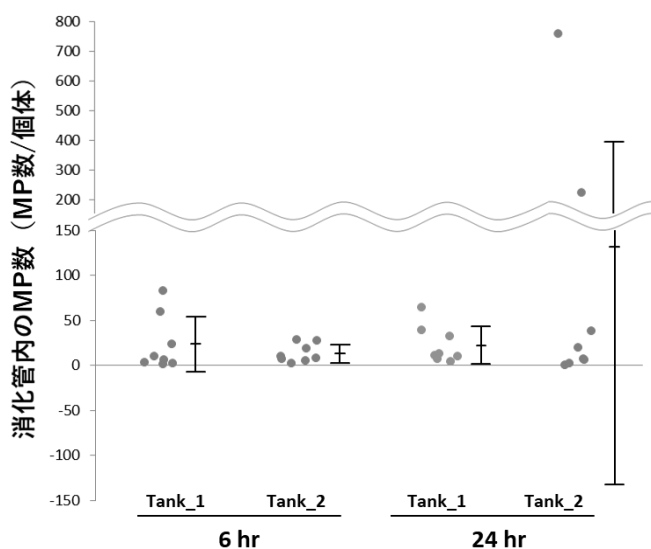


図 5. MP 添加区における試験開始後 6 および 24 時間時のマダイ消化管内に含まれていた MP 数 (Tank 1 および 2 は繰り返しの水槽を示す。)

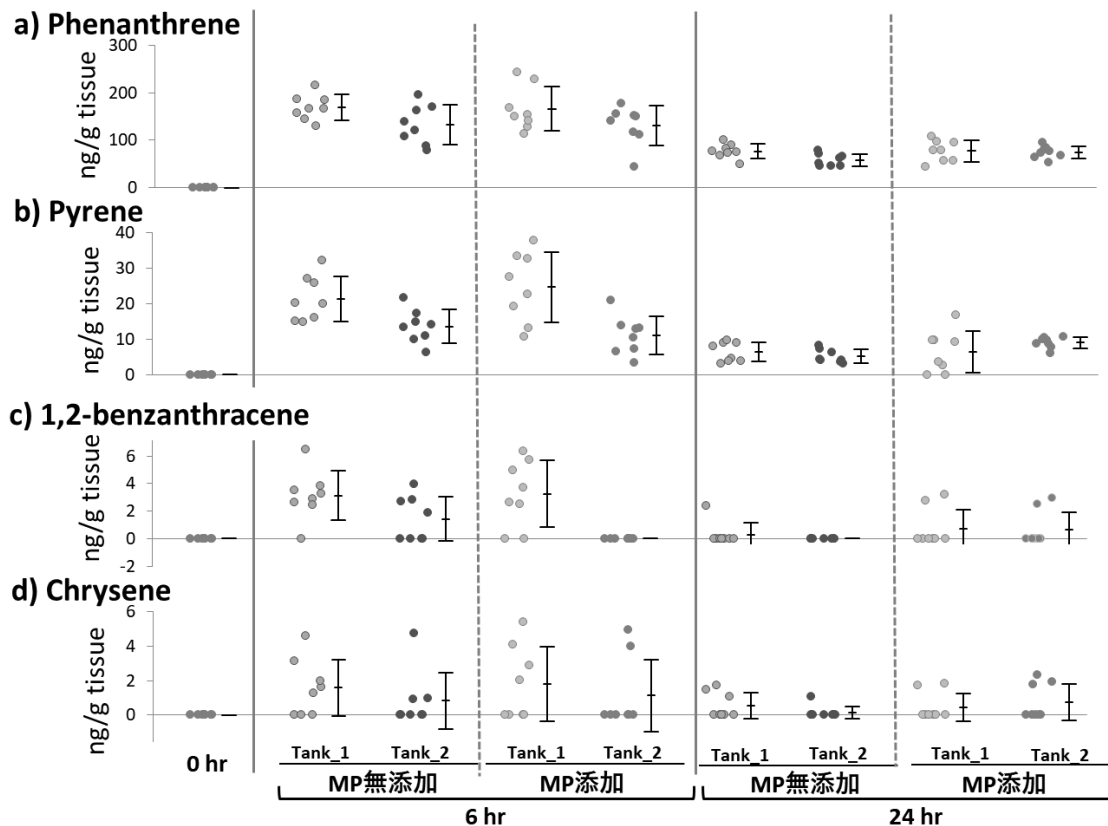


図 6. 試験開始後 6 および 24 時間時の筋肉組織中の各 PAH 濃度

これまで当該事業で実施した生体外溶出試験の結果から、MP を介した魚体への PAHs の取り込みは存在すると推察されるものの^{4,9)}、各種パラメータを用いた魚体内濃度の推定から、消化管内における MP からの溶出に伴う PAHs の魚体内への付加的な取り込みの程度は、海水から鰓を経由した取り込みに比べて極めて低いと推察された。さらに、マダイをかけ流しで PAHs および MP に曝露する生体内溶出試験でも、MP の摂食に伴う体内 PAHs 濃度の有意な増加は認められなかった。今回実施した試験の結果、MP による PAHs のベクター効果は存在しても軽微であり、魚体中の PAHs 濃度の由来は経鰓でほぼ説明できると考えられた。

5. 要約

マミチョグの消化管内容物の懸濁液を用い、MP からの PAHs の溶出試験を実施した結果、本試験系において 24 時間で溶出する PAHs 量の約 80-90 %が、反応開始 3 時間以内に溶出することが明らかとなった。また、その溶出速度定数は PAHs の種類 (物性) によって異なり、 $\log K_{ow}$ が大きい、すなわち水溶性が低くなるにつれて小さくなる傾向が認められた。当該事業にて得られた成果および既報の情報を元に、実海域における MP を介した PAHs のマミチョグ体内への取り込み量を推定した結果、消化管内における MP からの溶出に由来する魚体中濃度は、経鰓 (海水) 由来の魚体中濃度に比べて、Phe および Pyr で低く、Chr では同程度と推定された。また、マダイの推定値と比較したところ、魚種間に大

きな差異は認められなかった。PAHs 吸着 MP を用いた生体内溶出試験を実施した結果、PAHs の海水曝露に伴う体内濃度の増加は認められたものの、MP 摂食に伴う有意な体内 PAHs 濃度の増加は検出されなかった。以上のことから、海産魚類が MP を摂食後、消化管内にて MP から溶出する PAHs の取り込み（MP による PAHs のベクター効果）は海水から鰓を経由した PAHs の取り込みに比べて極めて低いと推察された。

6. 参考文献

- 1) Isobe et al., 2019 Nat. com. 10;417
- 2) Mai et al., 2018 Environ. Pollut. 241:834-840
- 3) 市橋ら, 2002 PAHs 複合添加時あるいは油処理剤添加時の有害性メカニズム解明及び石油有害性の予測. 「流出油及び油処理剤の海産生物に対する有害性評価に関する研究」平成 13 年度環境省地球環境保全等試験研究費 研究成果報告書, 11-20
- 4) 伊藤, 羽野 2020 マイクロプラスチックに吸着した有害化学物質の魚類消化管内での溶出量の推定「平成 31 年度プラスチックを摂食した魚介類の生態的情報等の調査報告書」、水産庁 14-19
- 5) 河野 2019 海水中溶存化学物質の MP への吸着特性の解明. 「平成 30 年度プラスチックを摂食した魚介類の生態的情報等の調査報告書」、水産庁 13-22
- 6) 2020 マイクロプラスチックの海産魚類における摂取量および体内滞留時間の解明「平成 31 年度プラスチックを摂食した魚介類の生態的情報等の調査報告書」、水産庁 5-13
- 7) U.S. FDA. 2010. Protocol for interpretation and use of sensory testing and analytical chemistry results for re-opening oil-impacted areas closed to seafood harvesting. Accessed on 08/15/2010 (<http://www.fda.gov/food/ucm217601.htm>).
- 8) 伊藤ら, 2021 MP に吸着した有害化学物質の魚介類消化管内における溶出量の推定等に関する試験. 「令和 2 年度 海洋プラスチックを摂食した魚介類の生態的情報等の調査報告書」水産庁 18-25
- 9) 伊藤, 羽野 2019 マイクロプラスチックに吸着した有害化学物質の簡易溶出試験の確立「平成 30 年度プラスチックを摂食した魚介類の生態的情報等の調査報告書」、水産庁 23-27

7. 成果の発表、活用等

特になし。

8. 事業推進上の問題点等

特になし。

9. 今後の課題

環境中に浮遊する MP の形状は多種多様であることから、形状の異なる MP への PAHs の吸着速度および魚類消化管内における MP からの PAHs の溶出速度を算出し、MP の形状による有害化学物質の吸着・溶出特性の差異を検証する必要がある。