

## 下水からの繊維状マイクロプラスチックの簡易検出法の構築

鈴木裕識・山下洋正

## 1. はじめに

プラスチックによる環境汚染について注目が集まっている。2019年5月に有害廃棄物の輸出入を規制するバーゼル条約において、汚れた廃プラスチックを規制対象とする改正条約が採択された。2019年6月にはG20大阪首脳宣言において、海洋へのプラスチックごみ及びマイクロプラスチックの流出の抑制及び大幅な削減のために適切な国内的行動を速やかに取ることが言及された<sup>1)</sup>。

マイクロプラスチック（Microplastics：以下「MPs」という。）とは、5mm以下のプラスチック片のことを指し、マイクロサイズで製造・使用されるものは一次的MPs、使用過程や自然環境中で破碎・微細化されたものは二次的MPsと呼ばれる。MPsには破片状、球状（マイクロビーズ）、繊維状（マイクロファイバー）といった様々な形状があり、大きさも数 $\mu\text{m}$ ～数mmまで幅広い。

「Microplastics」をキーワードに Science Directを用いて論文検索をかけ、環境分野に関連のない論文を除外して独自に調査したところ、2019年11月15日時点で総数1,649件がヒットした。このうち、2015年以降に発表された論文は95.9%であり、近年の関心の高まりが分かる。水環境中のMPsの存在実態については、海洋、湖沼、河川での検出報告が増加している。

一方、下水道における報告事例は多くない。繊維状MPsの洗濯工程における発生量を調査した結果、ポリエステル製の織物5kgの洗濯から600万本の繊維状MPsが発生との報告<sup>2)</sup>など数件の論

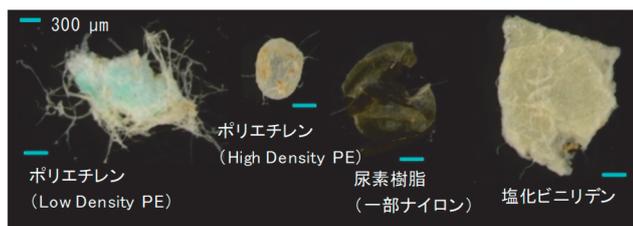


図-1 従来手法の抽出-FTIR法で検出された流入下水中のMPsの例

文が確認できるが、これらの文献は発生量等の推計に留まり、繊維状MPsに特別に着目して下水処理場を調査した例はみられない。この理由の一つとして、繊維状MPsに対する適切な検出法が提示されていない点が挙げられる。MPsは人間活動由来であり、特に都市域では、下水道を經由して水環境へ到達するMPsについて、その重要性や環境負荷全体に占める割合等の把握が必要であるため、効率的な検出法の確立が不可欠である。

本研究グループでは、下水道への流入が懸念される繊維状MPsに対し、下水試料からの検出に有効な手法の開発を進めてきた。本稿では、その成果の一部を紹介する。

## 2. 従来の抽出-FTIR法による下水試料の測定

## 2.1 抽出-FTIR法を用いた実験方法

繊維状MPsに適した検出法の検討に入る前に、従来のMPs調査に用いられてきた手法であるMPsを試料から抽出してフーリエ変換型赤外分光光度計（FTIR）に供する方法（以下「抽出-FTIR法」という。）を用いて流入下水試料を測定し、その手法を評価した。A処理場から流入下水を採取し、7.9 Lを測定試料とした。前処理方法は既報<sup>3)</sup>を参考に、30%過酸化水素（ $\text{H}_2\text{O}_2$ ）を加え、60 $^{\circ}\text{C}$ で加熱して夾雑有機物を分解し、100 $\mu\text{m}$ メッシュでろ過をした。残留物から目視で確認し抽出できる大きさのMPsと考えられる物質を選別し、FTIR（日本分光製）を用いて成分の同定を試みた。

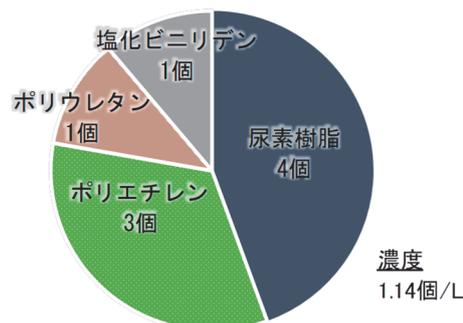


図-2 抽出-FTIR法を用いて流入下水(7.9L)中から検出されたMPsの材質種と濃度

## 2.2 測定結果と繊維状MPs検出の限界

従来法の抽出・FTIR法で検出された流入下中のMPsの例(写真)を図-1に、成分別存在実態を図-2に示す。7.9Lから合計9個が検出され、濃度に換算すると1.14個/Lであった。そのうち、4個の主成分が尿素樹脂であり、最も同定頻度の高い材質であった。また、その1つでは、ナイロン由来とみられるピークも検出され、周囲には繊維が同時に抽出されていた。今回FTIRに供試したMPsでは図-1に示すポリエチレンのMPが最小(長軸径約730 $\mu\text{m}$ )であり、これより小さく、また繊維のように細長い場合は単体での抽出・FTIR法の適用は困難であると考えられた。

## 3. 蛍光染色観察法の検討および手法の構築

### 3.1 MPsのナイルレッド蛍光染色性の確認

従来の抽出・FTIR法を用いた手法での検討により、繊維状MPsの検出には抽出せずに有無を判別できる手法が必要であることが示された。一方で、下水試料には夾雑物が多く存在し、前処理を効率的に進めても、全てを取り除けるわけではないことから、繊維状MPsが他の物質に紛れずに区別できる有効な手段が求められる。そこで、本研究では、プラスチック種ごとに異なる蛍光染色性を示すナイルレッド試薬に着目した。

落射型蛍光顕微鏡で観察した際の各種プラスチックのナイルレッド染色性を図-3に示す。落射蛍光観察時には、ポリエチレンテレフタレート(PET)やナイロン等は赤、ポリスチレン等は黄、ポリプロピレン(PP)や(PS)ポリエチレンは緑色に発光してみえることが分かる。この他、ポリエステルは赤色発光が確認された。以上より、

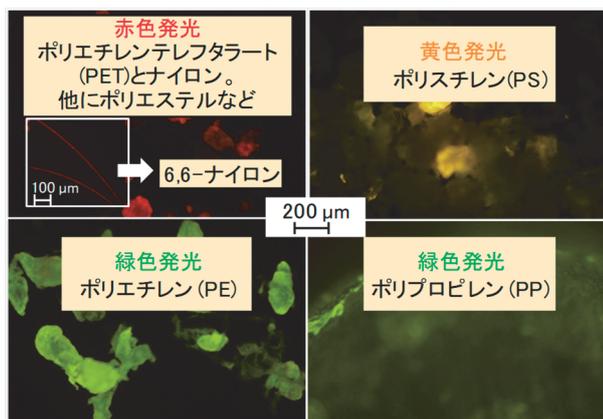


図-3 蛍光顕微鏡で観察されるナイルレッド染色を施した各種プラスチック材質の蛍光色

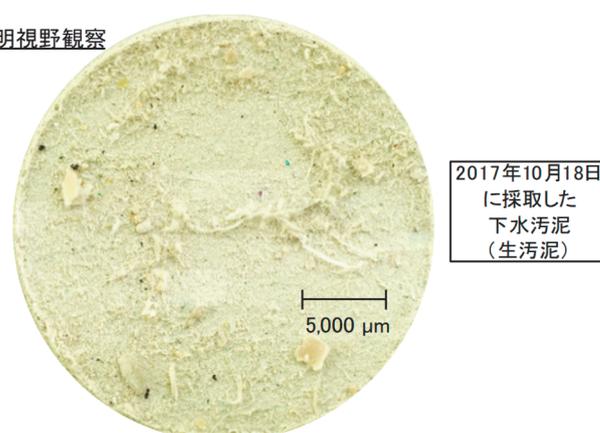
本研究ではナイルレッド試薬を用いた蛍光染色観察法を下水試料に適用して有効性を検証した。

### 3.2 下水試料への適用

既報<sup>4)</sup>を参考に下水試料への適用を検討した。A処理場から採取した最初沈殿池汚泥(生汚泥)試料に対しナイルレッド染色を施した後に、ろ紙上に観察試料を捕集して落射型蛍光顕微鏡で観察した時の様子を図-4に示す。この際、方法の評価のため、標準ナイロン繊維(ナイロン-6,6、長軸径約500 $\mu\text{m}$ 、短軸径約10 $\mu\text{m}$ 、GoodFellow製)を56本添加した試料を分析し、回収率を求めた。

実験の結果、明視野観察では、前処理で除去されずに残留した夾雑物により全体が白色っぽく、識別が容易ではなかった。一方、落射蛍光観察では、赤、黄、緑に発色された粒子や繊維が観察された。標準品として添加したナイロン繊維は赤色に発光しており、試料由来の赤発色繊維も観察された。添加したナイロン繊維と下水汚泥試料中の赤色発光繊維の様子を図-5に示す。添加したナイロン繊維の回収率は89.2%であった。最初沈殿池汚泥由来の赤発光繊維は全部で3,560本/L(274

#### 明視野観察



#### 落射蛍光観察

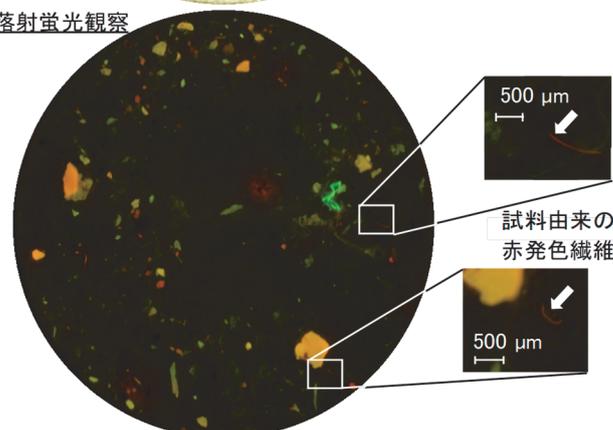
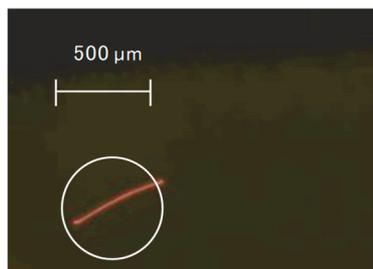


図-4 落射型蛍光顕微鏡による下水汚泥試料の観察画像

標準添加回収試験用に  
下水汚泥試料に添加した  
ナイロン繊維  
(回収率:89.3%(50/56 本))



下水汚泥(生汚泥)から検出された赤色発光繊維(例)  
(検出数 3.560 本/L あるいは274 本/g-dry)

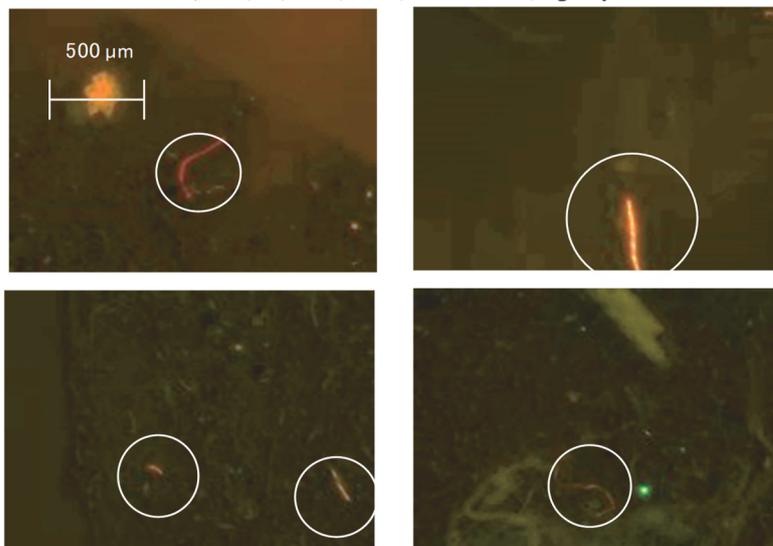


図-5 蛍光染色観察法により検出された添加したナイロン繊維と下水汚泥試料中の赤色発光繊維の様子

本/g-dry) 計測され、下水試料から繊維状MPsであると考えられる繊維が検出された。

#### 4. 蛍光染色観察法を用いた下水処理場調査

##### 4.1 調査および実験の方法

構築した蛍光染色観察法を用いて下水処理過程の存在実態調査を行った。2018年6月14～15日に関東地方の下水処理場において、一部合流式、嫌気・無酸素・好気法+急速ろ過法の処理系列で通日調査を実施した。流入下水、放流水、各処理工程の試料を採取し、既報<sup>3)</sup>の手法を一部改良して前処理した。具体的には、試料に30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>を加え60℃で1時間加熱する操作を繰り返すことで、効率的な夾雑有機物除去を試みた。前処理後の試料はナイルレッド試薬で染色し、蛍光観察環境下で短軸径100μm以下を目安に確認された繊維状物質を計測した。また、本調査の観察では、実体顕微鏡に蛍光ユニット(BioTools社製)を組み合わせ使用し、撮影画像サイズを調整することにより、一試料あたりの計測時間を短縮した。本研究で現在使用している蛍光ユニットを装着した実体顕微鏡の様子を図-6に示す。蛍光顕微鏡は用途が非常に限られるために、繊維状MPsの測定のためだけに導入することは現実的ではない。多目的に使用できる実体顕微鏡に取り外しが可能な蛍光ユニットを装着するというアイデアにより、多くの研究機関が本手法を簡易に導入できるように工夫した。さらに、本手法の検討開始当初は1検

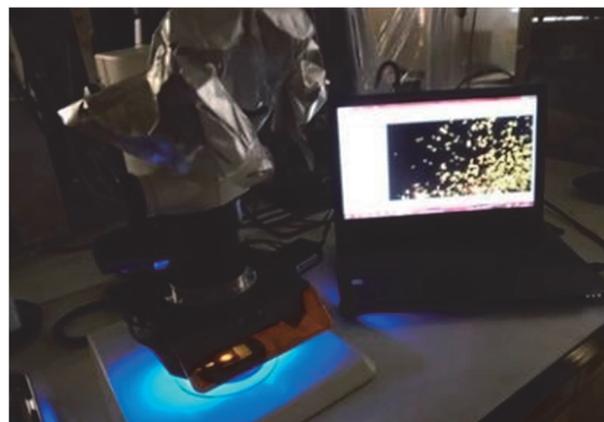


図-6 本研究で現在使用している蛍光ユニットを装着した実体顕微鏡

体あたり数百枚の撮影画像を個別に結合して処理をしていたが、結合操作だけで数日を要していた。加えて、試料中のMPs数の計測は人力で行っており、その他のサイズや形等の二次的情報の整理が煩雑であった。そこで、フリーの画像処理ソフトであるImage JやInkscapeと独自のプログラムを組み合わせ半自動計数機能を開発し、実際に本手法を用いる研究者の作業時間の短縮に結びつく簡易かつ効率的な手法を構築した。

##### 4.2 通日調査の結果

下水処理場調査結果の一覧を表-1に示す。流入下水中の各色発光繊維の日平均数は赤が195本/L、黄が17本/L、緑が5本/Lであり、赤が黄、緑より多く検出された。放流水中の各色発光繊維の日平均数は赤が0.3本/L、黄が0.2本/L、緑がN.D.(不検出)であった。調査した処理系列の日負荷量を赤、黄、緑色発光繊維の合計値で算出したところ、

表-1 本研究で開発した蛍光染色観察法を用いた下水処理場調査結果

A処理場における調査地点および関連情報  (2018年6月14-15日の24時間のコンポジット試料)	試料量 L	下水流量 m <sup>3</sup> /日	蛍光発光繊維				日負荷量 本/日	流入下水 に対する 除去率 %		
			濃度			合計			合計	合計
			赤	黄色	緑					
			本/L							
流入下水	0.9	6,173	195	19	5	219	1.35×10 <sup>9</sup>	-		
最初沈殿池流入水	4.7	6,972	56	1	1	58	4.02×10 <sup>8</sup>	70.35		
最初沈殿池流出水	3.7	6,873	3	1	N.D.	4	2.44×10 <sup>7</sup>	98.20		
生物反応槽	0.03	9,792	1,967	100	N.D.	2,067	2.02×10 <sup>10</sup>	-1394.92		
最終沈殿池流出水	9.0	6,838	10	2	2	14	9.62×10 <sup>7</sup>	92.90		
放流水(急速砂ろ過および塩素消毒後)	11.4	6,173	0.3	0.2	N.D.	0.4	2.70×10 <sup>6</sup>	99.80		
最初沈殿池汚泥	0.1	99	2,238	241	76	2,555	1.04×10 <sup>10</sup>	-		
返送汚泥	0.03	2,919	3,133	367	67	3,567	2.53×10 <sup>8</sup>	-		

N.D.: 不検出

流入水中には13億5,000万本/日の蛍光発光繊維が存在しており、最初沈殿池流入までに（主に沈砂池で）70.35%、最初沈殿池流出までに98.20%が除去されていた。最終沈殿池では9,620万本/日まで減少し、放流時には流入時の99.8%が除去されていた。一方で、生物反応槽では202億本/日となり、最初沈殿池流出水と返送汚泥からの反応槽流入時と反応槽流出時の前後の収支は合わなかった。人工のプラスチック繊維は日常で使用されているサイズのものであっても、元は細くて短い繊維が互いに擦って構成されていることが知られている。一般的に下水処理場の現地調査における物質収支は変動等により一致しにくいことに留意が必要ではあるが、本調査結果から、生物処理中の曝気等で繊維状MPsの擦りが解れ、より微細化することで本数が増加していた可能性が示唆された。

## 5. おわりに

本研究では、近年注目を集めているマイクロプラスチックのうち、特に繊維状マイクロプラスチックについて、下水処理場での調査に適した簡易な検出手法を構築した。本手法は、繊維状マイクロプラスチックの流入実態を把握する一次スクリーニングとして有用であると考え、今後の展望としては、検出前処理手法の改善、他の検出方法とのバリデーション、そして本手法のマニュアル化が挙げられる。下水道事業者の方々の本手法を簡易に活用できる近い未来を目指して、研究活動を進めていく。

## 謝辞

本稿で紹介した研究成果の一部は京都大学の田中周平准教授との共同研究によるものである。本研究において実験を補助いただいた阿部翔太氏と五味恭子氏に謝意を表す。また、本研究を遂行するにあたり下水試料をご提供いただいた下水道事業担当者各位に謝意を表す。

## 参考文献

- 1) 外務省ウェブサイトG20大阪首脳宣言（仮訳抜粋）  
<https://www.mofa.go.jp/mofaj/files/000529032.pdf>  
(2019年12月1日アクセス)
- 2) De Falco, F *et al.*: Evaluation of microplastic release caused by textile washing processes of synthetic fabrics, *Environmental Pollution*, Vol.236, pp.916-925, 2017
- 3) 田中周平、垣田正樹、雪岡聖、鈴木裕識、藤井滋穂、高田秀重：下水処理工程におけるマイクロプラスチックの挙動と琵琶湖への負荷量の推定、*土木学会論文集G（環境）*、第75巻、第7号、pp.III 35~40、2019
- 4) Shim, W. J., Song, Y. K., Hong, S. H., and Jang M.: Identification and quantification of microplastics using Nile Red staining, *Marine Pollution Bulletin*, Vol.113, No.1-2, pp.469-476, 2016

鈴木裕識



土木研究所水環境研究グループ水質チーム 研究員、博士（地球環境学）  
Dr. SUZUKI Yuji

山下洋正



土木研究所水環境研究グループ水質チーム 上席研究員  
YAMASHITA Hiromasa