

プラスチックの生分解性評価

～欧州マイクロプラスチック規制に向けて～

発表者：鍋岡 良介 (久留米事業所)

1. 背景及び目的

欧州では、単体もしくは混合物として製品に意図的に 0.01% (w/w) 以上添加するマイクロプラスチック (合成ポリマー微粒子) を制限するため、化学物質の登録、評価、認可及び制限に関する欧州議会及び理事会規則 (REACH 規則) の附属書 XVII が改訂される見込みである。現在の改訂案¹⁾では、表 1 に示す生分解性基準を満たすプラスチックは制限から除外される。生分解性を評価するための試験法は経済協力開発機構テストガイドライン (OECD TG) 及び国際標準化機構 (ISO) 規格であり、5 グループに分かれている。しかしながら、OECD TG 又は ISO 規格でプラスチックの生分解性を評価した公開データは極めて少ない。また、OECD TG 301 シリーズの培養期間は通常 28 日間であり、この培養期間を延長した知見も少ないのが現状である。

表 1 制限から除外されるプラスチックの生分解性試験法と基準¹⁾

グループ	試験法 ^{*1}	生分解性基準
グループ 1 易生分解性試験	<u>OECD TG 301C、F</u> (水系) 等	28 日間で生分解度が $\geq 60\%$
グループ 2 改良易生分解性試験	<u>OECD TG 301C、F</u> (水系)、 <u>306</u> (海水) 等	60 日間で生分解度が $\geq 60\%$
グループ 3 本質的生分解性試験	<u>OECD TG 302C</u> (水系)	14 日間以内に生分解度が $\geq 70\%$
グループ 4 ^{*2} プラスチックの生分解に関する ISO 規格	<u>ISO 14851</u> (水系)、 <u>19679</u> (海水/堆積物系)、 <u>17556</u> (土壌系) 等	水系では 180 日間以内、海水/堆積物系、土壌系では 720 日間以内に対照材料に対する相対生分解度が $\geq 90\%$
グループ 5 ^{*2} シミュレーション試験	OECD TG 309 (淡水、汽水又は海水系)、308 (淡水、汽水又は海水/堆積物系)、307 (土壌系)	淡水、汽水又は海水系は半減期が < 60 日 淡水、汽水又は海水/堆積物系は半減期が < 180 日、土壌系は半減期が < 180 日

*1 下線は CERI が実施可能な試験、**青字**は優良試験所基準 (GLP) 適合可能な試験

*2 グループ 4 及び 5 では水系、海水系及び土壌系の 3 系すべてで生分解性基準に達する必要がある。

OECD TG 301F は化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律だけでなく国外の化学物質管理に関する法規制の生分解性評価等で広く活用される試験法の一つである。

OECD TG 301F は微生物源として主に家庭排水を処理する下水処理場の活性汚泥（下水汚泥）を使用する。採取する下水汚泥によってプラスチックへの生分解活性は異なる可能性があるが、生分解活性を比較した知見は少ない。

そこで本研究では、実験①として既存の生分解性プラスチックを用いて欧州マイクロプラスチック規制の生分解性評価における OECD TG 301F の実用性を検証するとともに培養期間を最大 90 日間まで延長したときの生分解性評価への影響を明らかにすることを目的とした。また、実験②として、複数の下水汚泥の生分解性プラスチックに対する生分解活性を明らかにすることを目的とした。

2. 方法

実験材料として実験①では生分解性プラスチック 8 材料及び実験②では 3 材料並びに微生物の活性確認用に安息香酸ナトリウム及びセルロースを用いた。実験材料はすべて粉末にしたものを用いた。実験①及び②ともに生分解性試験法は OECD TG 301F とし、生分解評価指標は生物化学的酸素要求量 (BOD) とした。実験①及び②ともに微生物源として主に家庭排水を処理する下水処理場の下水汚泥を用い、実験②では国内 3 か所の下水汚泥 (A、B 及び C) を用いた (下水汚泥 A の実験は実験①と同一)。実験材料濃度は 100 mg/L、微生物源濃度は 30 mg/L、培養温度は約 22°C、培養期間は実験①では最大 90 日間、実験②では 28 日間とした。容器連数は実験①では 3 連、実験②では 2 連とした。

3. 結果及び考察

微生物の活性確認用の安息香酸ナトリウムの生分解度は、実験①及び②ともに OECD TG 301F の試験の有効性基準に達した (14 日後に生分解度が 60%以上)。ISO 14851 において微生物の活性確認用に使用されているセルロースの生分解度は、実験①及び②ともに ISO 14851 の試験の有効性基準に達した (28 日後に生分解度が 60%以上)。したがって、本研究に使用した下水汚泥は十分な活性を有していたと判断される。

実験①において、欧州マイクロプラスチック規制のグループ 1 の生分解性基準に達した材料は、実験 2 回目の PA4、PBSA、PHBHHx 及び PCL の 4 材料であった (表 2 参照)。グループ 1 の生分解性基準に達しなかったが、グループ 2 の基準に達した材料は実験 1 回目の PA4、実験 2 回目の PHB 及び PHBV の 3 材料あり (実験 1 回目の PBSA も容器連数 3 連の内 1 連は基準に達した)、培養期間を 60 日間まで延長する効果が認められた。実験 1 回目では 90 日間まで培養期間を延長したが、いずれの実験材料も 60 日後と 90 日後の生分解度はほぼ等しく、本研究では 90 日間培養の効果は認められなかった。

実験②において、3 つの下水汚泥はいずれも PBSA への生分解活性を有していたが、容器連数間でばらつきが認められた (図 1 参照)。PLA はいずれの下水汚泥でも生分解しなかった。PHB、SB 及び CEL はいずれの下水汚泥でも生分解した。本研究では、3 か所の下水汚泥間で生分解活性に大差は認められなかった。

ここで、生分解度がばらついた PBSA 及び PBS、生分解が認められなかった PLA について考察する。

PBSA 及び PBS は実験①の実験 1 回目と 2 回目の実験間で、また、PBSA は実験①の実験 1 回目及び実験②の容器連数間で生分解度の大きなばらつきが認められた。PBSA は土壌、海水/堆積物試験でも生分解度がばらつくことが報告されている^{3,4)}。環境中の PBS の分解菌は相対的に少ない⁵⁾。また、下水汚泥の菌叢は変動する⁶⁾。本研究では分解菌の調査は実施していないが、これらの報告を踏まえると、実験②では下水汚泥中の PBSA 及び PBS の分解菌数が少ないため実験容器中に存在する分解菌数が異なり、結果がばらついたと推察される。また、実験①では採取した下水汚泥中の PBSA 及び PBS 分解菌数が実験間で異なり、ばらつきを生じたと推察される。

PLA は、約 57°C (ガラス転移温度) で加水分解が進行して低分子化し、コンポスト中の微生物により生分解されることが報告されている^{7,8)}。OECD TG 301F(下水汚泥、22°C)に限らず、グループ 1~5 の試験法で生分解性基準に達することは難しい可能性がある。

表 2 実験①における生分解度²⁾

名称	略称	生分解度 (%) ± 標準偏差				
		実験 1 回目			実験 2 回目	
		28 日後	60 日後	90 日後	28 日後	60 日後
ポリアミド 4	PA4	62.1 ^{*3} ± 3.0	81.3 ± 2.0	84.6 ± 0.8	74.5 ± 3.5	88.0 ± 3.6
ポリブチレンサクシネートアジペート	PBSA	16.4 ± 21.4	31.8 ± 44.5	35.7 ± 51.0	74.7 ± 6.0	78.3 ± 3.0
ポリブチレンサクシネート	PBS	1.5 ± 1.2	0.7 ± 1.6	-0.6 ± 1.6	61.1 ^{*3} ± 17.4	76.0 ^{*3} ± 14.7
ポリ乳酸	PLA	1.3 ± 1.7	3.9 ± 2.5	5.3 ± 1.1	-2.3 ± 2.4	-3.6 ± 3.2
ポリ (3-ヒドロキシ酪酸-co-3-ヒドロキシヘキサン酸)	PHBHHx	未実施	未実施	未実施	63.2 ± 1.8	77.3 ± 1.4
ポリ [(R)-3-ヒドロキシ酪酸]	PHB	未実施	未実施	未実施	59.3 ± 5.3	75.7 ± 3.6
ポリ (3-ヒドロキシ酪酸-co-3-ヒドロキシ吉草酸)	PHBV	未実施	未実施	未実施	60.8 ^{*3} ± 7.9	75.5 ± 3.6
ポリカプロラクトン	PCL	未実施	未実施	未実施	74.5 ± 3.5	83.5 ± 5.0
安息香酸ナトリウム	SB	81.1 ± 1.2	87.6 ± 2.8	87.9 ± 4.4	90.5 ± 1.5	94.2 ± 2.0
セルロース	CEL	71.3 ± 1.3	80.6 ± 1.8	81.0 ± 3.8	71.8 ± 1.2	75.0 ± 2.1

*3 平均生分解度は 60% に達しているが、容器連数の一部は 60% に達しなかった。

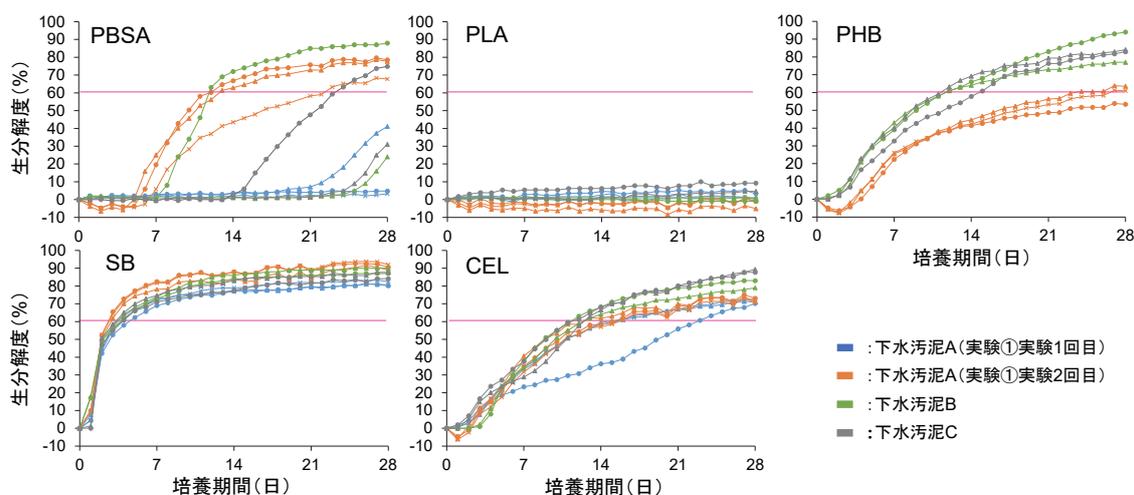


図 1 実験②における生分解度曲線
(下水汚泥 A のグラフは Nabeoka ら (2021)²⁾ を基に作図)

4. 結論

欧州マイクロプラスチック規制のグループ 1 の試験法で生分解性基準に達する既存のプラスチックは複数あり、グループ 1 の試験法 (培養 28 日間) で生分解性基準に達しなくてもグループ 2 の試験法 (培養 60 日間) では基準に達する場合がある。本研究では培養期間を 90 日間まで延長しても生分解性評価への影響は認められなかった。また、本研究で使用した下水汚泥間で生分解活性は大差なかった。培養期間を 60 日間とした OECD TG 301F は実用的な試験法と考えられる。

5. 謝辞

PA4 をご提供いただいた国立研究開発法人産業技術総合研究所の中山敦好先生及び川崎典起先生並びに PHBHHx をご提供いただいた株式会社カネカ様に深く感謝申し上げます。

6. 参考文献

- 1) European Commission. <https://ec.europa.eu/transparency/comitology-register/core/api/integration/ers/330749/083921/6/attachment> (2023 年 4 月 28 日現在)
- 2) Nabeoka, R., et al. (2021). Environ Toxicol Chem. 40, 2443-2449.
- 3) Yamamoto-Tamura K., et al. (2015). AMB Express. 5, 10.
- 4) 植松正吾ら. (2018). バイオプラジャーナル. 70, 15-22.
- 5) Tokiwa, Y., et al. (2009). Int J Mol Sci. 10, 3722-3742.
- 6) 江副拓良ら. (2010). 下水道協会誌. 47, 63-71.
- 7) Lunt, J. (1998). Polym Degrad Stab. 59, 145-152.
- 8) Itävaara, M., et al. (2002). Chemosphere. 46, 879-885.