

# 「海洋生分解性プラスチックの社会実装に向けた技術開発事業 (中間評価)」 (2020年度～2024年度 5年間)

## 6. プロジェクトの詳細説明 (公開)

- 研究開発項目① 海洋生分解性に係る評価手法の確立/  
研究項目① 実験室内における生分解度加速試験法の開発  
研究項目② 生分解メカニズムの解明 材料構造(分子構造、結晶構造)  
研究項目③ 生分解メカニズムの解明 微生物、酵素による分解  
研究項目④ 実海域におけるデータ収集、簡易生分解(崩壊度)試験法の開発  
研究項目⑤ 生分解過程(マイクロプラスチック化等)の生態毒性評価法の開発  
研究項目⑥ 海洋生分解性プラスチック材料の導入による海洋プラスチック低減効果の推定

### 【発表者／研究開発責任者】

国立研究開発法人 産業技術総合研究所 標準化オフィサー 国岡 正雄

### 【実施者】

国立研究開発法人産業技術総合研究所(再委託先:5公設試)

独立行政法人製品評価技術基盤機構(再委託先:4大学)

国立大学法人東京大学(再委託先:海洋研究開発機構)

国立大学法人愛媛大学

静岡県環境衛生科学研究所

株式会社島津テクノリサーチ

複製を禁ず

1/85

## 研究開発項目①の発表内容

### 1. 研究開発テーマの概要

- (1) 研究開発の背景・目的
- (2) 研究開発計画の全体概要
- (3) 実施体制
- (4) 研究開発目標と根拠
- (5) 研究開発スケジュール
- (6) 研究開発費

### 2. 研究開発成果

- (1) 目標の達成度及び見通し
- (2) 成果の詳細
- (3) 成果の意義
- (4) 成果の普及
- (5) 知的財産・標準化等の取組

### 3. 成果の実用化に向けた標準化取組及び見通し

- (1) 実用化に向けた標準化戦略
- (2) 実用化に向けた具体的取組
- (3) 実用化の見通し
- (4) 波及効果

2/85

# 1. 研究開発テーマの概要 (1) 研究開発の背景・目的

## 【背景】

- 海洋プラスチック問題の対策として生分解性プラスチックの活用が注目されている。しかし、従来の生分解性プラスチックは陸域での生分解を想定して生分解性が確認されており、海洋での生分解が確認されているものは少ない。
- 海洋での生分解性の適切な評価法の開発と標準化が遅れている。ISO等で検討が進むが、実験室での試験法には、使用する海水や砂泥により結果がばらつく、試験期間が長時間必要である等の課題がある。また、実海域試験法も日本国沿岸では適用範囲等に課題が残る。
- さらに、マイクロプラスチック化等の問題を含む生分解過程の生態影響評価技術や、生分解性プラスチックの活用による海洋プラスチック削減量の推定技術に関しても、不十分である。

## 【目的】

- 以下の取り組みにより、我が国内で簡便に実施可能な、信頼性の高い海洋生分解性評価法を開発する。
  - ✓ 実験室において短時間で生分解度を評価可能な手法、また、異なる場所や季節で比較できる実海域試験法を開発。
  - ✓ 生物・化学の両面から生分解メカニズムを解明、得られた結果に基づいて開発試験法の妥当性を検証。
  - ✓ 生分解過程の生態影響評価技術、および海洋プラスチック削減量の推定技術により、海洋生分解性評価を高度化、高信頼性化。



海洋プラスチックごみ

- 海洋生物への影響
- マイクロプラスチック化による懸念される影響
  - ・ 水中汚染物質の吸着
  - ・ 樹脂添加剤の溶出

生分解性プラスチックの活用による問題解決のため、海洋生分解の評価法の確立が喫緊の課題

**現在の海洋生分解試験法の問題点**

- 実験室内の試験では、実験条件によるバラつきが大きい、また評価に必要な期間が最長2年と長い
  - ・ 実海域試験では、治具や地形の制限がある
- マイクロプラスチック等を含む生態毒性評価が不十分

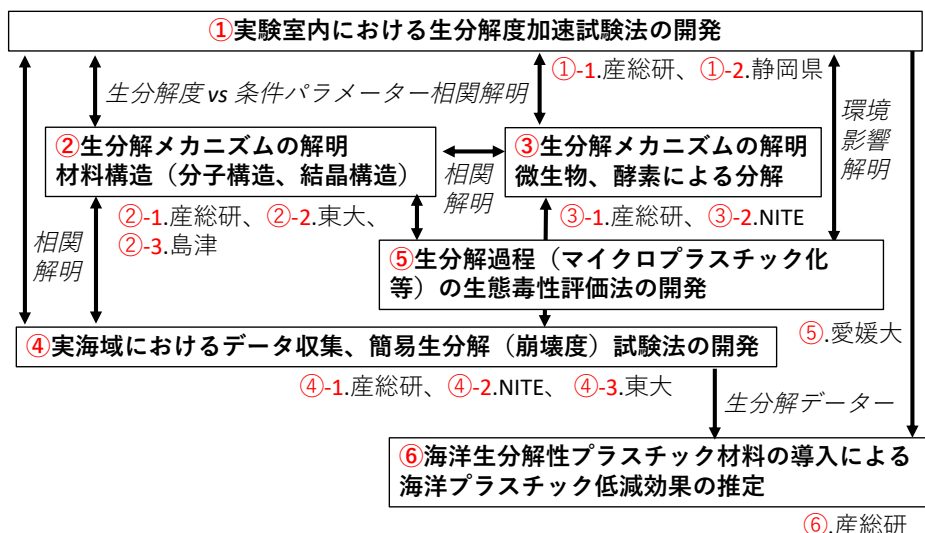
**海洋生分解メカニズム解明の不足が、ボトルネック**

海洋生分解メカニズムに裏付けされ、ISO国際標準化を視野に入れた生分解性評価手法を開発

# 1. 研究開発テーマの概要 (2) 研究開発の全体概要

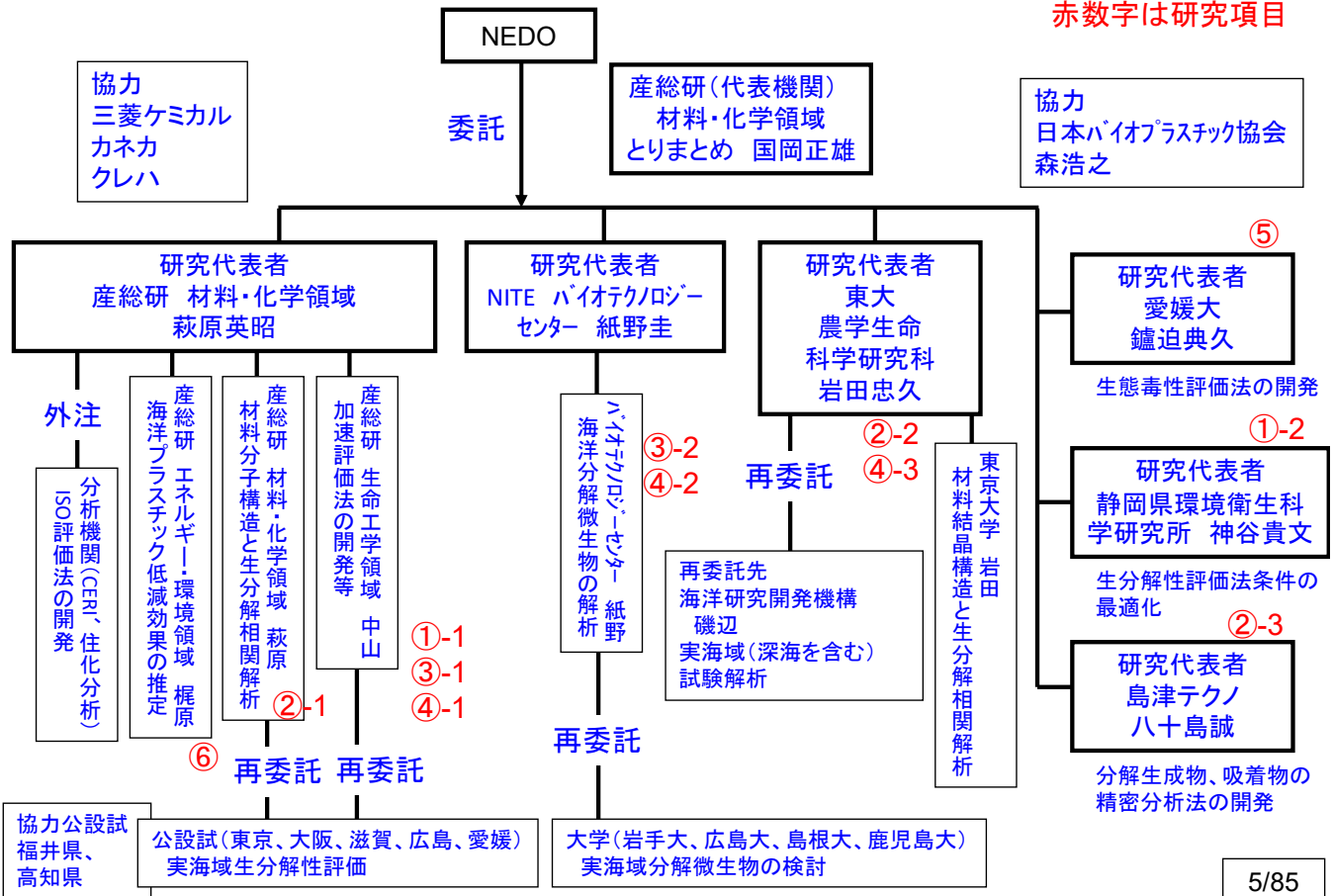
## 海洋生分解メカニズムに裏付けされ、ISO国際標準化を視野に入れた生分解性評価手法の開発を行う。

- 実験室内で、短い試験期間（約半年）で、高精度の海洋生分解の度合い、速度を評価する方法を開発する。
- 材料の分子構造や結晶構造、及び海水環境（海水、砂泥、温度）と、生物活性（微生物、酵素の種類、量等）の関係を解析して生分解メカニズムを明らかにし、このメカニズムに則った評価法を構築する。
- 低コストで、異なる場所や季節で比較できる実海域試験を開発する。実験室内の評価結果と実海域試験結果の相関を解析する。
- 海洋生分解性プラスチックの生態毒性評価、海洋プラスチック廃棄物の低減の推定を検討する。



# 1. 研究開発テーマの概要 (3) 実施体制

赤数字は研究項目



# 1. 研究開発テーマの概要 (4) 研究開発目標と根拠

## ①2022年度(フェーズA終了時点)の中間目標と根拠

### 【中間目標(2022年度)】

海洋生分解性に関する暫定的な評価手法を策定する。

### 【根拠】

現在、ISO規格に定められている実験室内海洋生分解の評価法は、データがばらついたり、長期間の試験が必要で、海洋生分解性製品の信頼性の確保につながらないうえに、新材料の開発期間が長くなってしまふ。また、ISO実海域フィールド試験は、大きな治具による、海岸、深さ50mでの設置等、日本近海では実施困難である。そこで、実験室内で短期間で海洋生分解の度合いが測定でき、実海域試験の結果と相関のある試験評価法が必要である。

## ②2024年度(フェーズB終了時点)の最終目標と根拠

### 【最終目標(2024年度)】

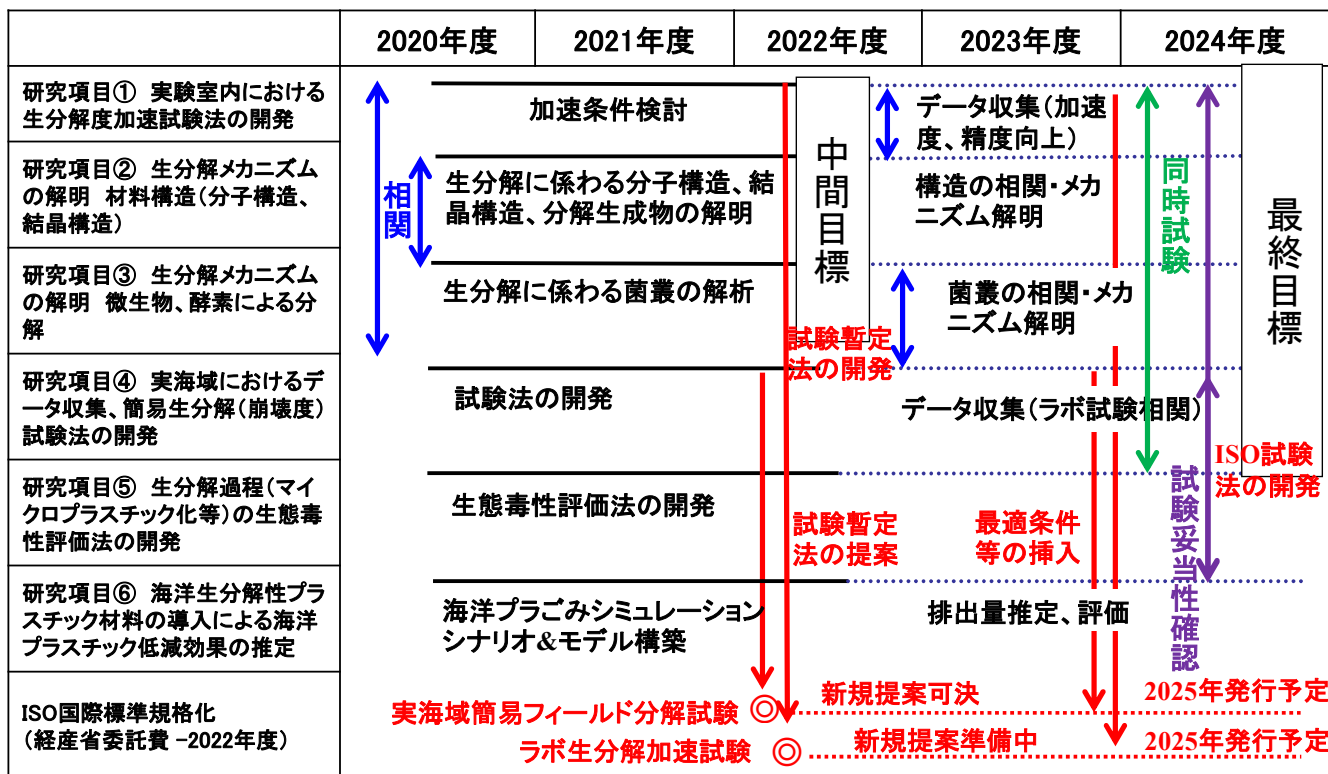
製品化を行うユーザーが共通して活用できる海洋生分解メカニズムに裏付けされた評価手法を確立し、国際標準化提案1件以上に繋げる。

### 【根拠】

海洋生分解性製品を市場に積極的に投入するには、ISO規格に裏打ちされた生分解データによる認証制度(日本バイオプラスチック協会が運営予定)による普及策が有効である。そのためのISO規格の制定が必要である。

1. 研究開発テーマの概要 (5) 研究開発スケジュール

◆研究開発のスケジュール



7/85

1. 研究開発テーマの概要 (6) 研究開発費

◆開発費用

(単位:百万円)

研究項目	2020年度	2021年度	2022年度	2023年度(予定)	2024年度(予定)	合計
①実験室内における生分解度加速試験法の開発	28	45	23	18	19	133
②生分解メカニズムの解明 材料構造(分子構造、結晶構造)	49	63.5	64	55	65	305.5
③生分解メカニズムの解明 微生物、酵素による分解	29	28	30	30	26	143
④実海域におけるデータ収集、簡易生分解(崩壊度)試験法の開発	68.5	54.5	52	29	27	231
⑤生分解過程(マイクロプラスチック化等)の生態毒性評価法の開発	5.5	7	7	7	7	33.5
⑥海洋生分解性プラスチック材料の導入による海洋プラスチック低減効果の推定	25	17	33	40	40	155
合計	205	215	209	179	184	992

8/85

## 2. 研究開発成果 (1) 目標の達成度及び見通し

### ◆研究開発項目、研究項目毎の目標と達成状況

研究開発項目：海洋生分解性に係る評価手法の確立/

【中間目標】

①海洋生分解性に関する暫定的な評価手法を策定する。

	成果	達成度	今後の課題	解決方針
①	暫定的な評価手法(加速試験、実海域フィールド試験)をISO予備提案、新規提案可決させた。	◎	NEDO成果の追加的、挿入。	審議段階での追加提案。

研究項目① 実験室内における生分解度加速試験法の開発  
 研究項目② 生分解メカニズムの解明 材料構造(分子構造、結晶構造)  
 研究項目③ 生分解メカニズムの解明 微生物、酵素による分解  
 研究項目④ 実海域におけるデータ収集、簡易生分解(崩壊度)試験法の開発  
 研究項目⑤ 生分解過程(マイクロプラスチック化等)の生態毒性評価法の開発  
 研究項目⑥ 海洋生分解性プラスチック材料の導入による海洋プラスチック低減効果の推定

各研究項目の個別  
中間目標は、補足  
資料参照

達成度：◎大きく上って達成、○達成、△達成見込み、×未達

研究項目	成果	項目毎の達成度	今後の課題	解決方針
①	ラボ好気的水生分解加速試験法を開発した。このラボ試験法をISO予備提案した。	○	加速効果の数値による評価。新規提案可決の働きかけ。	データの蓄積 ロビー活動
②	生分解前後の表面の結晶分布、共重合体の組成分布等の分析法を構築。結晶化度が生分解への大きな影響を解明。	△ (年度末)	マイクロからマクロまでの分析方法の開発。精度向上。	詳細メカニズム解明。 データ蓄積。
③	菌叢(微生物種)構造の多様性の数値化。生分解への影響の明確化。実海域での菌叢データの解析。	△ (年度末)	菌叢総合的解析の負荷の増加	解析方法のパターン化による効率化
④	実海域海水浸漬簡易試験法を開発し、ISO新規提案、可決した。実海域(浅い海、深海)のサンプルの設置、回収、解析。	◎、△ (年度末)	ISO投票時コメントへの対応。データの蓄積	実験の継続
⑤	化審法の試験方法を改良して生分解性プラスチックに適用でき、途中分解物の迅速・定量的な生態毒性試験の検討。	○	途中分解物の調製に時間がかかる	短時間の調製法を開発する。
⑥	廃プラスチックの河川・海域への流入のモデル化を行った。海域モデル(東京湾)の有機懸濁物質等のデータベースを更新した。	△ (年度末)	海洋生分解性プラスチックへの適用	解析、モデル更新の継続

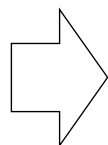
9/85

## 2. 研究開発成果 (2) 成果の詳細

### 研究項目①「実験室内における生分解度加速試験法の開発」

#### 既存手法ISO18830/19679の技術的課題

- ・ 試験結果のばらつきが大きい。
- ・ 予備培養の手法が明確でない。
- ・ 試験結果に影響する因子が明確ではない。

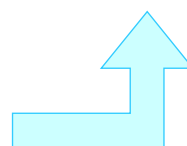


#### 新規手法の提案 (産総研)

- ・ 加速のための最適試験条件
- ・ 活性海水の調製
- ・ 評価軸見直しによる試験期間短縮の検討

#### 既存手法の改良 (静岡県)

- ・ 再現性の良い手法
- ・ 誰でもできる簡便な手法
- ・ 加速試験ための要素研究



データの反映



①-1: 実験室内における生分解度加速試験法の開発(新規評価法の開発)

新規加速試験法の概要

赤字: 新規な項目

0 方式	海水+粉末試料、 BOD/CO2方式
1 試験温度	15℃~30℃ 試験温度高い方が速い
2 試料濃度	15mg~60mg/200mL 試料量少ない方が速い
3 攪拌	あり(50~500rpm) 攪拌速度の影響小さいが 攪拌は必要。
4 無機 栄養源	N: 0.18~9.3mM P: 0.016~0.73mM N量は少ない方がばらつきは小さい
5 活性海水 (菌数&菌叢強化)	a) ペプトン/酵母抽出物添加 b) セディメント前処理 c) 海水混合 d) フィルターろ取による濃縮
6 試験期間	一定の生分解率を越えた時点での 残存ポリマー成分分析

試験条件の最適化

活性海水の調製法

(=標準海水)

- ・試験に供する試験海水中の一般菌数の下限
- ・菌叢構造の多様性の指数化

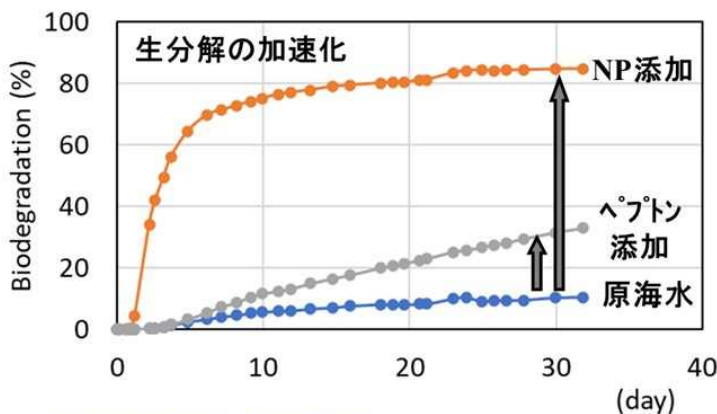
試験系内の微生物構造の推移

- ・菌数の推移
- ・菌叢構造の変化

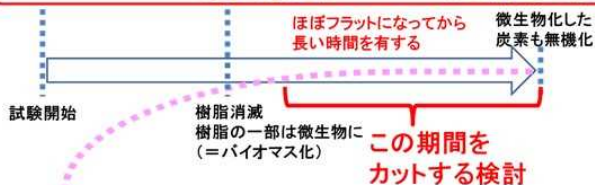
海水・セディメントの保存性

- ・海水の生分解活性
- ・保存中の菌数の変動解析

ISO予備提案終了、NP投票へ



樹脂の生分解とバイオマス化



加速と期間短縮で  
試験期間の大幅短縮



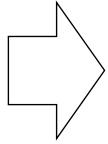
- ・新材料の開発のスピードアップ
- ・社会実装の加速

## 2. 研究開発成果 (2) 成果の詳細

### 研究項目④「実海域におけるデータ収集、簡易生分解(崩壊度)試験法の開発」

#### 既存手法ISO22766の技術的課題

- ・ 専用の試験器具を海底に設置しなければならない。
- ・ ダイバーによる作業が必須。
- ・ 海洋での浮遊状態を再現していない。



#### 新規手法の提案 (産総研)

低コストで、簡便(現実的な手法)。  
異なる場所や季節で比較できる実海域試験法。  
ラボ試験結果との相関性の解析。

#### 実海域微生物及び関連データの収集(NITE)

付着微生物叢データの取得。  
海洋微生物生分解の実態把握。

菌叢、菌量解析による実海域試験法開発の支援

#### 深海底での生分解の確認(東大)

各種種類、形状の樹脂の評価。  
分光学的手法による生分解の評価。  
海洋環境因子の影響の解明。

表層以外の海域のカバー

13/85

## 2. 研究開発成果 (2) 成果の詳細

研究項目④実海域におけるデータ収集、簡易生分解(崩壊度)試験法の開発

### ④-1: 実海域におけるデータ収集、簡易生分解(崩壊度)試験法の開発

#### 海中に浮遊した状態の再現

自由に動ける空間を確保して試料をセット

平均値, 2w

材料	1m	1.5m	4m	4.5m
PHBH	~65	~45	~35	~30
PBSA	~5	~5	~5	~5
PCL	~70	~60	~40	~35
ろ紙	~40	~35	~30	~25

・水深は浅い方が重量減少は速い  
・着底させると宙吊りよりも重量減少は速い

浸漬深さの影響

ISO予備提案から NP16636としての 本格審議へ

#### 挟み込みの試料セット方式の影響

試料フィルム挟み込みの影響  
そのまま浸漬する(対照)よりも、挟み込みの方が重量減少は速い。  
ろ紙の対照データが小さいのは漏壊のため？

試料流出を防ぐ工夫

#### 膜厚の影響と評価軸の検討

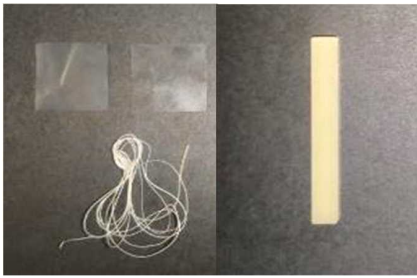
膜厚 (μm)	重量減少率 2w, (%)	膜厚減少量 (μm)	膜厚の減少速度 (μm/day)
<b>PHBH</b>			
27	64.0	17.2	1.2
93	22.0	20.5	1.5
197	9.1	18.0	1.3
<b>PCL</b>			
40	73.7	29.2	2.1
99	40.8	40.3	2.9
196	30.3	59.5	4.2

14/85



2. 研究開発成果 (2) 成果の詳細

研究項目④-3 実海域におけるデータ収集、簡易生分解(崩壊度)試験法の開発 (深海実験の結果を基軸とした評価法の開発)



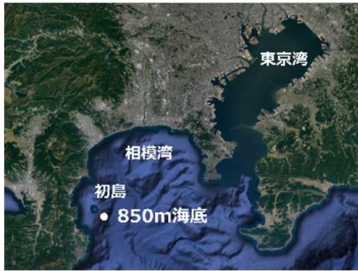
生分解性プラスチック



左上サンプルホルダー(9室) 海水、底泥が通る穴(2x8)



サメによる食害防止



静岡県初島沖850mに設置



有人深海探査船

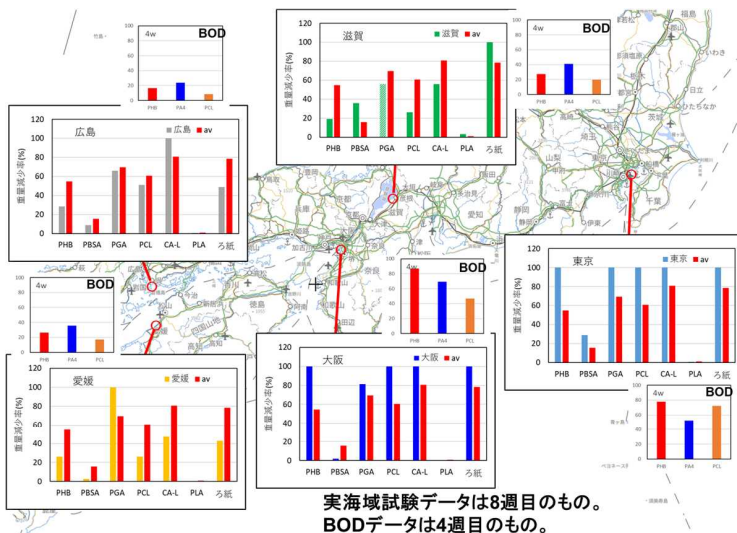


設置4か月後のサンプル

深海での生分解と実験室内及び簡易実海域生分解による結果の相関を解析  
実験室内及び簡易実海域生分解結果から深海での生分解を予測

2. 研究開発成果 (3) 成果の意義

実海域、深海におけるデータ収集、簡易生分解(崩壊度)試験法の開発



全国各地での実海域試験での崩壊速度は異なるが、試験地点の海水の生分解活性と一定の相関がある。

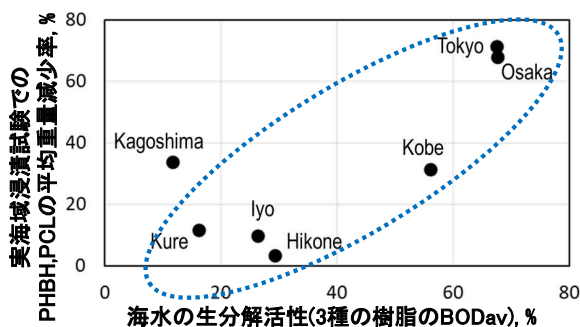
ただし、その相関にも限界があり、実海域試験では、海水温等の環境因子の影響を受ける。

環境因子の定量的解析を進めることにより、各地点での分解予測が可能となる。

意義

- ・ 実環境での分解の実証
- ・ 対象海域での生分解に要する、あるいは劣化するまでの期間の予測

- ・ 水産用資材への応用の際の重要な情報



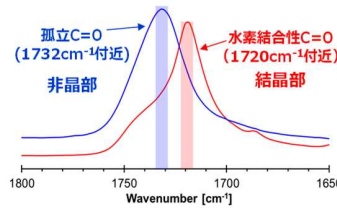
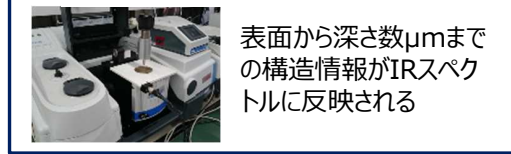


## 2. 研究開発成果 (2) 成果の詳細

### 分子構造相関解析

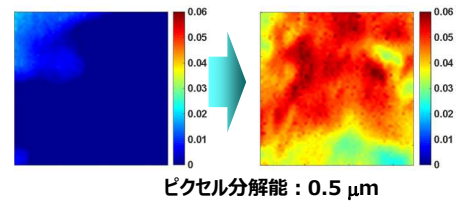
- 海洋生分解性プラスチック表面の構造変化の追跡に成功
- 生分解性プラスチックの組成分布解析に着手

#### ATR-IR法による表面構造評価



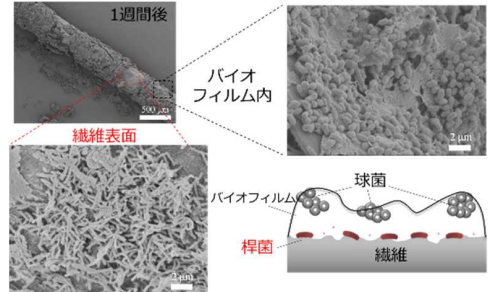
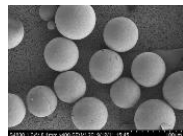
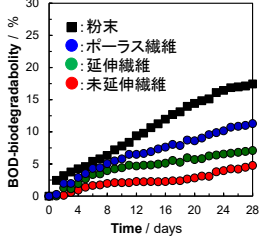
#### 二次元相関マップ (1732, 1720 cm<sup>-1</sup>)

青: 非晶・結晶共存 赤: 結晶が支配的



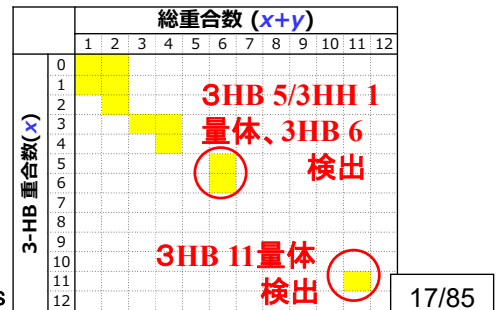
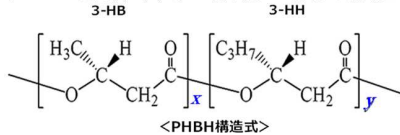
### 形状および結晶構造からの分解機構の解明

- 海洋分解性試験に供試できる微粒子・繊維・射出成形体などの作製に成功
- 表面積・内部構造により海洋生分解速度が異なることを実証



### 生分解度評価手法としての質量分析技術の有用性の検証および海洋生分解プラスチックの安全性評価

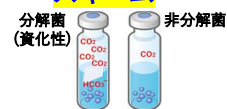
- 飛行時間型LCMSにてPHBHのモノマー2種から成る総重合数20までの分解中間生成物の検出有無を確認



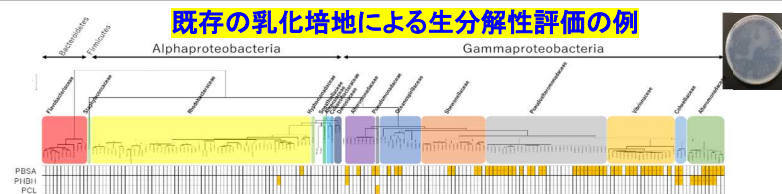
## 2. 研究開発成果 (2) 成果の詳細

### 【研究項目③】

#### 単離株や混合菌株の生分解評価スキーム



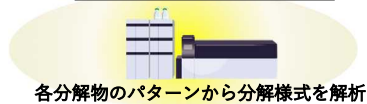
前処理なしでそのまま分析可能



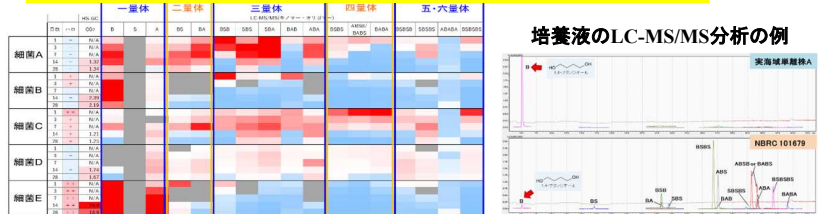
#### ① GC/BIDによる生分解性素材生分解活性定量法



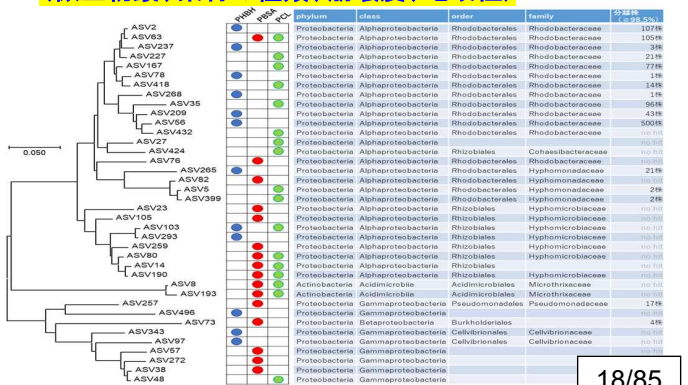
#### ② LC/MS/MSによる生分解性素材生分解物の網羅解析法



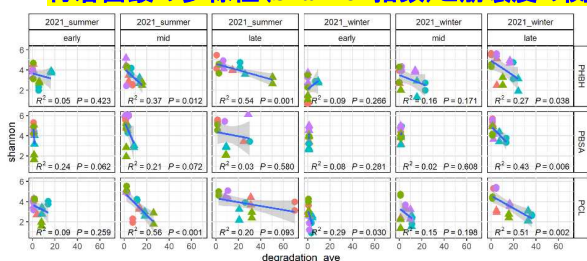
#### GC/BID法、LC/MS法と、既存乳化培地法の相関性確認の例



#### 総合的解析による生分解性菌株候補の特定例 (微生物叢、素材の種類、崩壊度、地域性)



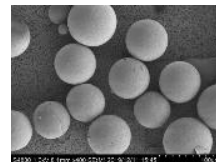
#### 付着菌叢の多様性(Shannon指数)と崩壊度の関係



①生分解の途中分解物(水溶性および難水溶性)の作成方法の検討

生分解プラの分解産物の生態毒性試験は重要であるが、その分解産物調製には時間がかかり、再現性や汎用性などの点で問題が生じることが分かった。分解程度を推定するために粒度分布を測定する装置を入手した。

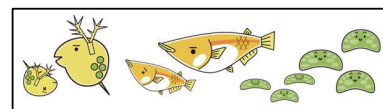
今後、当プロジェクトの研究項目①(分解加速試験)や②(生分解メカニズム解明)などの進捗情報を参考にして、分解時間短縮や分解産物を推定した分解物調製など、様々な角度から被験サンプルを試してみる。



②評価に適した生物試験法の検討

生分解性プラの生態毒性に特殊性(他の化学物質にはない毒性作用)があるか確認したが、そのような報告はない。よって、現行の急性3種を用いた試験は適用可能と考えている。ミジンコおよびメダカ試験を実施したが問題なかった。

ISOの5430では海生生物を導入しているが、データ互換性を考慮し、化学物質の安全性評価試験は淡水生物での試験を考える。淡水での試験法を作ったのちに必要ならば海水生物の試験も考慮する。



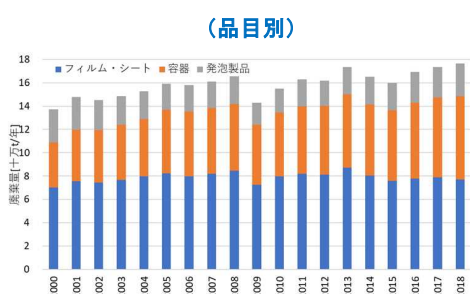
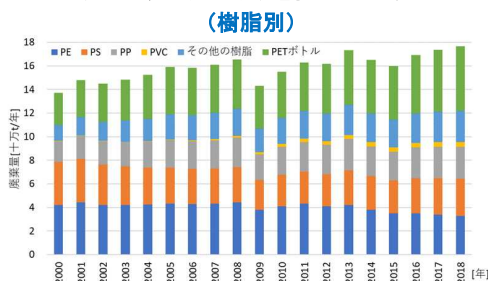
①、②を踏まえて2023年2月までに生態毒性試験法の原案を作成する

(イ) 海洋生分解性プラスチックの適用可能性調査を行い、河川海域モデルでの解析対象製品として、①被覆肥料カプセル、②ゴミ袋・レジ袋を抽出した。

(ロ) 海洋生分解性プラスチックの導入シナリオにおいて重要な、民生利用容器包装プラスチックに対してマテリアルフロ解析を行い、樹脂別・用途別廃棄量を推定した(下図左)。

(二) 既存の河川モデル(AIST-SHANEL)および海域モデル(AIST-RAMTB)を海洋生分解性プラスチックに適用できるように改良し、生分解や沈降の有無による解析を実施した(下図中、右)。

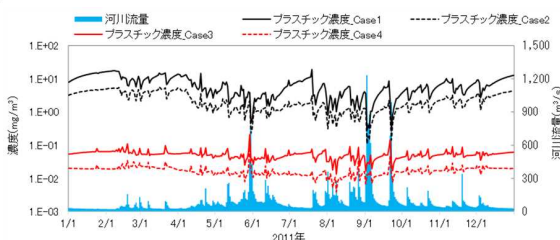
(ホ) 生分解度試験及び崩壊度試験のデータを解析することで、実環境での生分解速度を外挿するために用いるパラメータ(水温、プラ形状)を抽出した。



民生利用容器包装プラスチックの廃棄量推定結果

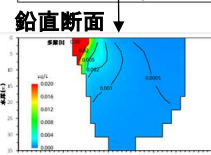
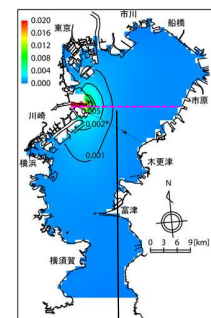
河川・海域モデル解析における生分解・沈降の計算条件

Case	沈降	生分解
1	なし	なし
2	なし	あり(半減期:5 day)
3	あり	なし
4	あり	あり(半減期:5 day)



河川モデルによる河川水中プラスチック濃度変化(多摩川)

Case3 沈降あり・生分解なし



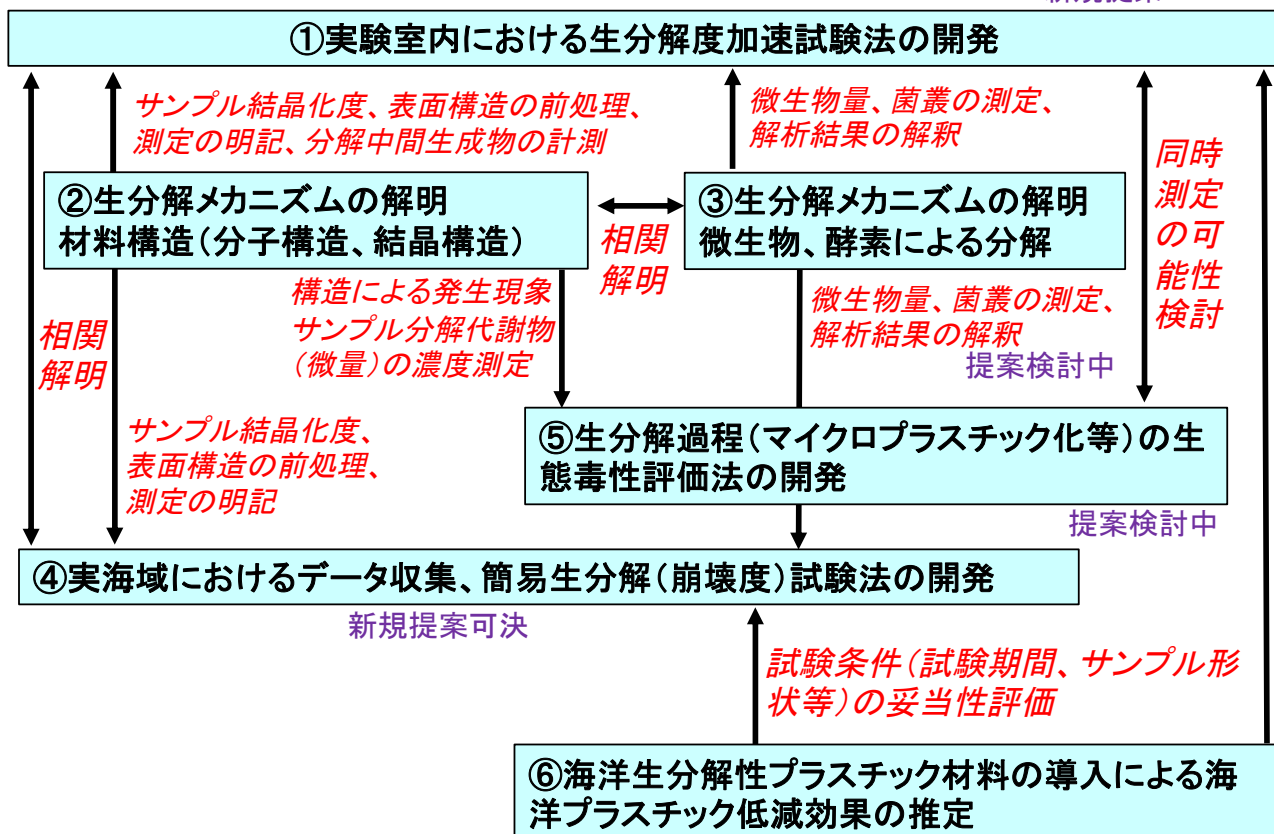
海域モデルによる海水中プラスチック濃度分布(東京湾、Case3のみ)



## 2. 研究開発成果 (3) 成果の意義

### ・提案済み評価法への各研究項目の成果の反映(フェーズB)

新規提案



21/85

## 2. 研究開発成果 (4) 成果の普及

### ◆成果の普及

	2020年度	2021年度	2022年度	計
論文	0	11	0	11
研究発表・講演	2	48	6	56
受賞実績	0	4	0	4
新聞・雑誌等への掲載	0	0	5	5
展示会への出展	0	1	0	1

※2022年度6月30日現在

サステナブルマテリアル展での成果発表 2021年12月8-10日、幕張メッセ



本年12月に  
出展予定

22/85

### 3. 研究開発成果 (4) 成果の普及

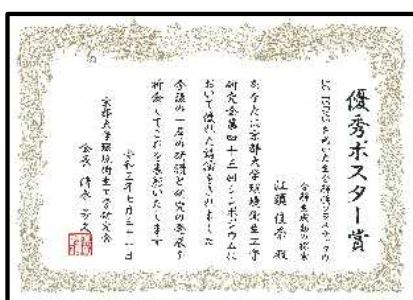
#### ◆ 成果の普及

受賞:

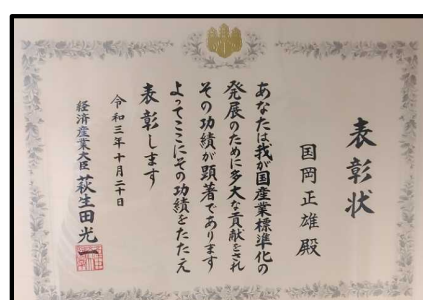
- ① 岩田忠久(東京大学): 令和3年度科学技術分野の文部科学大臣表彰(研究部門)  
業績名: 生分解性バイオマスプラスチックの高性能化に関する研究、2021年04月06日
- ② 岩田忠久(東京大学): マテリアルライフ学会総説賞  
受賞業績「生分解性プラスチックの現状と展望」、2021年07月01日
- ③ 島津テクノロジー: 優秀ポスター賞  
第43回 京都大学環境衛生工学研究会シンポジウム(2021年7月30日～31日)  
「LC-TOFMSを用いた生分解性プラスチックの分解生成物の探索
- ④ 国岡正雄(産業技術総合研究所): 令和3年度産業標準化表彰 経済産業大臣表彰



①



③



④

23/85

### 3. 研究開発成果 (4) 成果の普及

#### ◆ 成果の普及

2022年度6月6日 東京新聞 一面 掲載  
「相模湾深海 プラごみ堆積  
生分解性プラスチックの深海設置について」

2022年4月3日  
NHK「サイエンス ZERO」  
「未来を変える新素材！ 分解する“夢のプラスチック”」

2022年6月7、8日 35地方紙  
相模湾深海 プラごみ堆積  
生分解性プラスチックの深海設置について

2022年6月8日  
日本テレビ「スッキリ」  
相模湾深海 プラごみ堆積  
生分解性プラスチックの紹介

2022年6月6日  
東京新聞一面トップ記事

24/85



◆知的財産・標準化等の取組

<知的財産・標準化戦略>

- 標準化する評価法は、知財化は行わない。(現状、特許出願無し)
- 周辺技術(更なる高精度、迅速簡易等)が見いだされた場合は、知財化を検討
- 日本バイオプラスチック協会が運営する予定の認証制度に活用される標準規格開発
- ISO/TC61「プラスチック」/SC14「環境側面」/WG2「生分解度」への規格提案

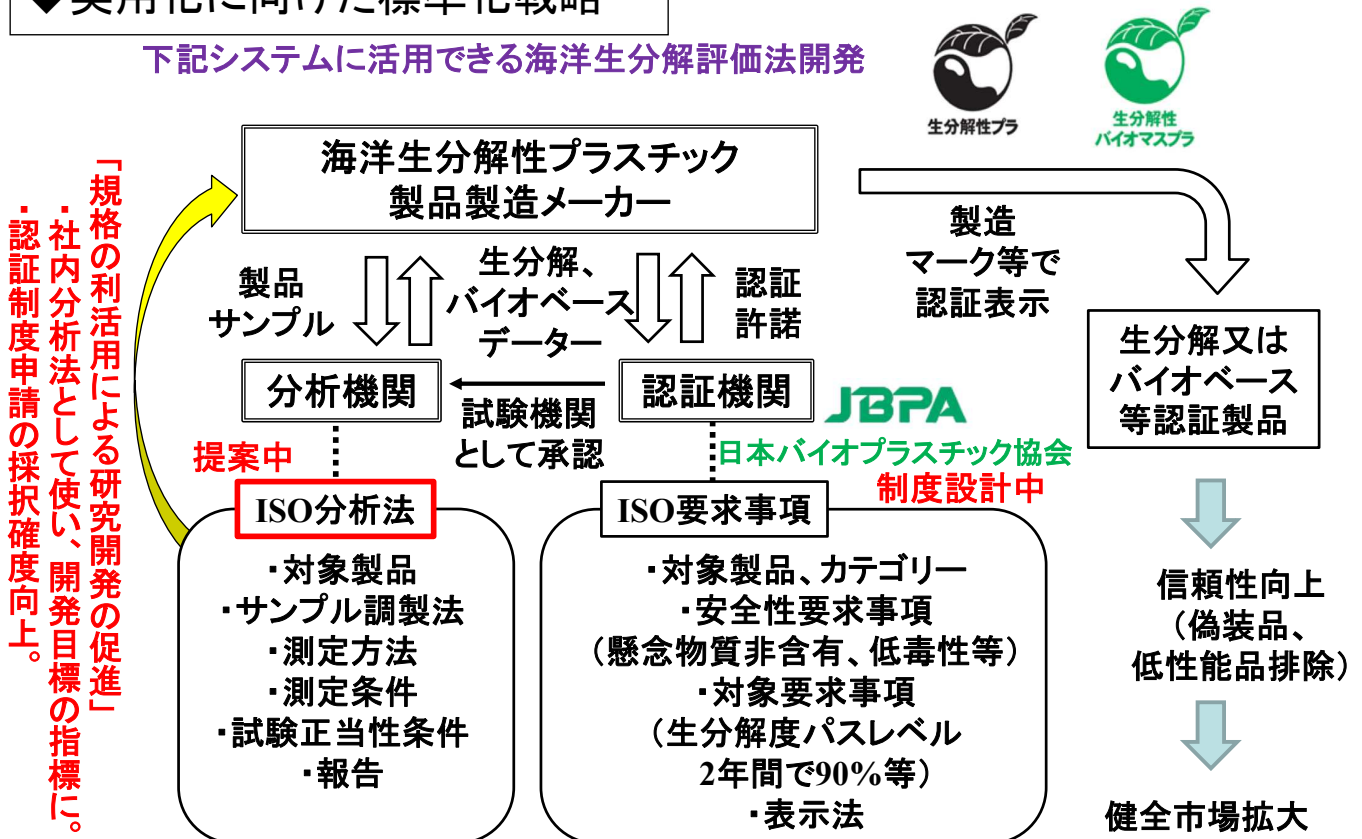
<標準化の取組>

- 国内コンセンサスの形成は、日本バイオプラスチック協会の技術委員会での審議、日本プラスチック工業連盟(ISO/TC61の国内審議団体)のSC14国内委員会での追認
- 日本バイオプラスチック協会が受託している経産省 省エネルギーに関する国際標準の獲得・普及促進事業委託費(2020-2022年度)「海洋生分解性プラスチックに係る技術評価手法の国際標準化」により、本NEDOプロジェクトの成果(簡易実海域フィールド試験、実験室内海洋生分解加速試験法)の規格開発、国際コンセンサス形成(メール会議等)を行っており、検討WG(年5回)、本委員会(年2回)で規格内容の詳細を検討

3 成果の実用化に向けた標準化取組及び見通し (1)実用化に向けた標準化戦略

◆実用化に向けた標準化戦略

下記システムに活用できる海洋生分解評価法開発



### 3 成果の実用化に向けた標準化取組及び見通し (2)実用化へ向けた取組

#### 海洋生分解性プラスチックに関わるISO規格を審議する体制

##### 国際

ISO/TC61(プラスチック)/  
SC14(環境側面)/WG2(生分解度)

SC14議長 Dr. Ing Achim Ilzhöfer  
(ポリウレタン原料やポリカーボネートを中心に  
取り扱う、素材化学分野の独化学品メーカー  
(Covestro)の方)  
事務局: DIN(独)、28 P-メンバー、7 O-メンバー

WG2コンビーナ 国岡正雄

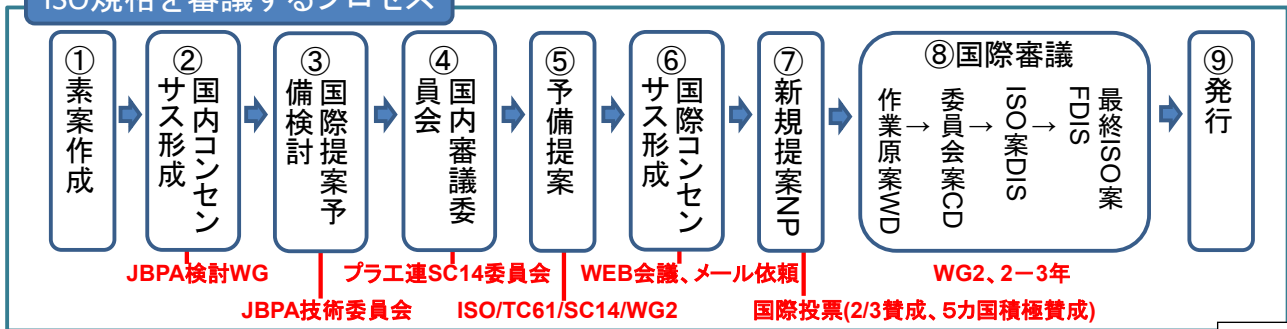
##### 国内

ISO/TC61  
SC14国内審議団体: 日本プラスチック工業連盟

SC14委員会委員長 国岡正雄  
WG2の審議は、「日本バイオプラスチック協会  
(JBPA) 技術委員会」が実施。

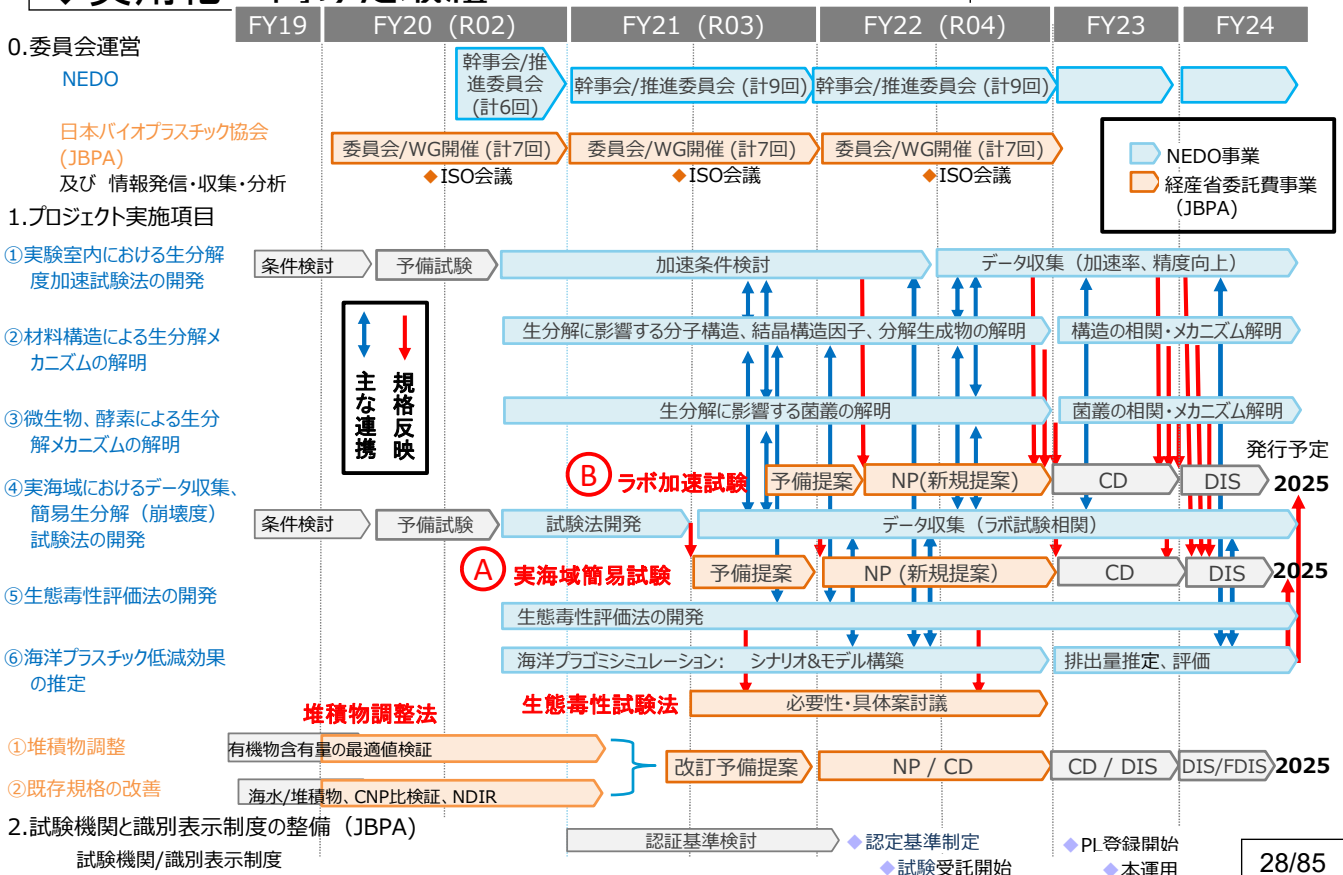
JBPAが、国際標準化のための経産省委託費「省  
エネルギー等国際標準開発 海洋生分解性プラス  
チックに係る技術評価手法の国際標準化」を受託

#### ISO規格を審議するプロセス



### 3 成果の実用化に向けた標準化取組及び見通し (2)実用化へ向けた取組

#### ◆実用化へ向けた取組

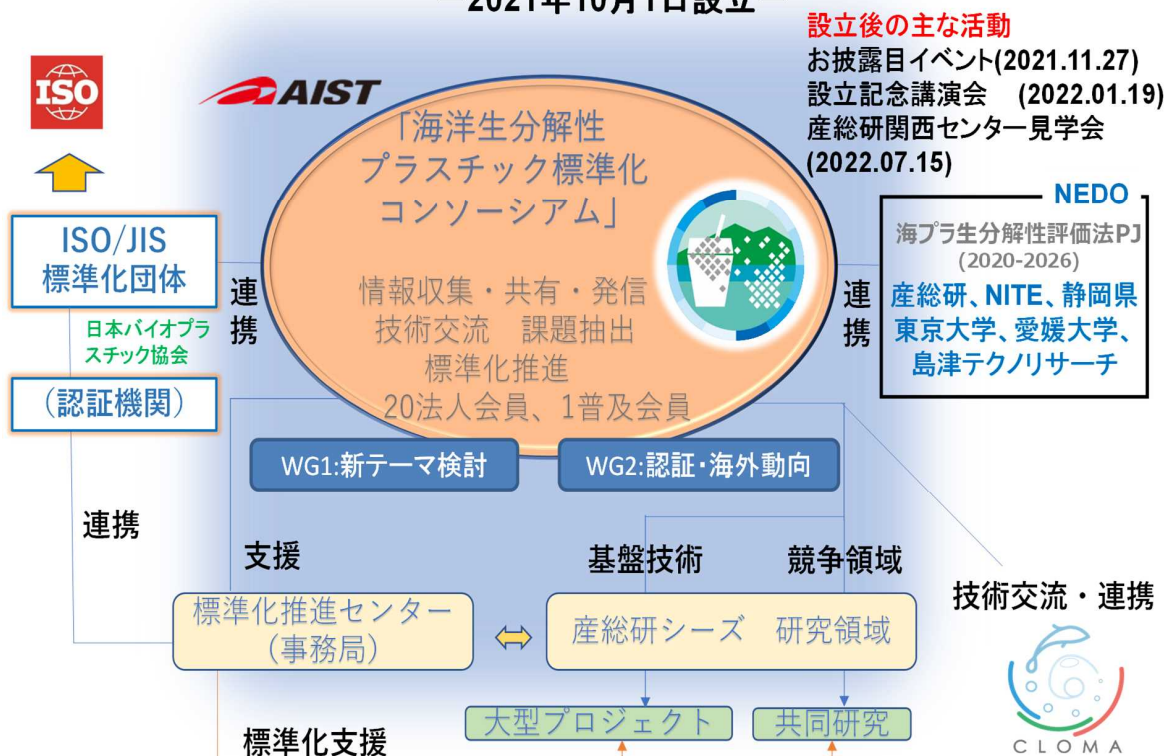


◆実用化の見通し

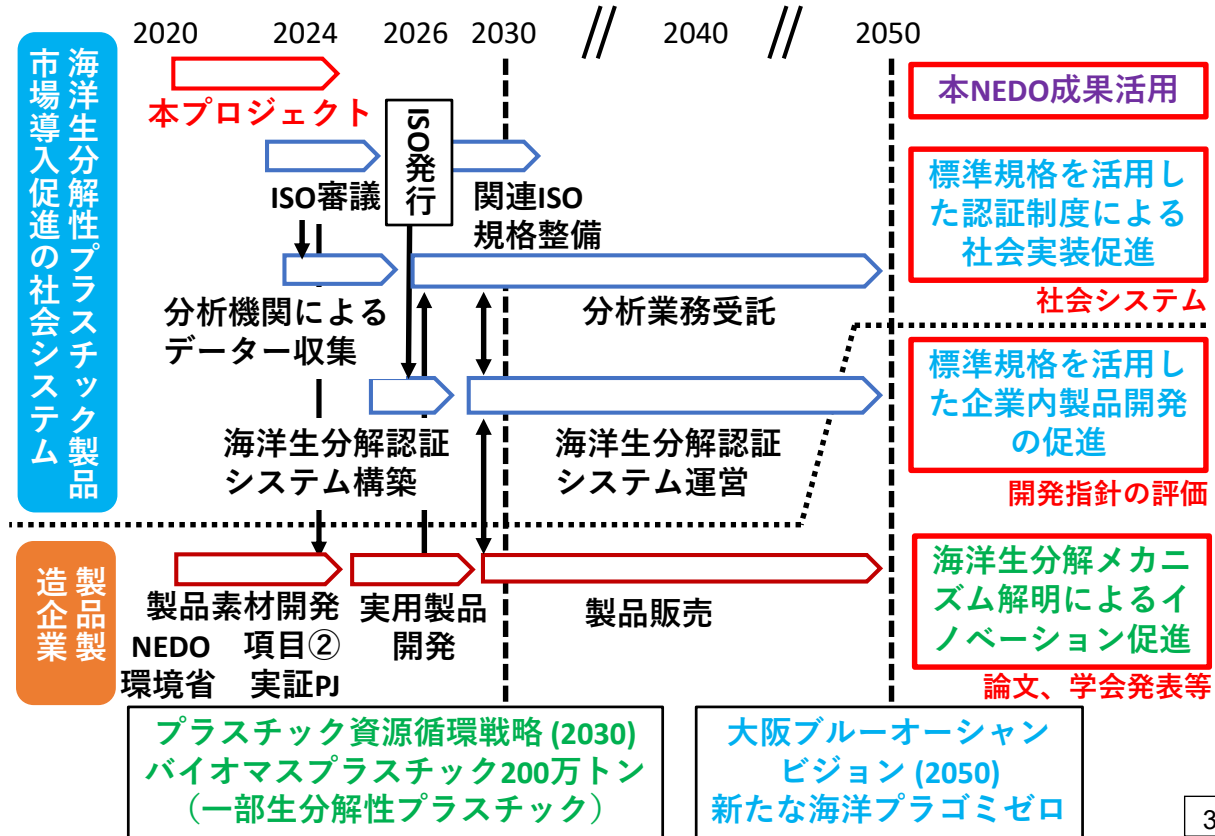
ISO化のためのプロセス	簡易実海域フィールド生分解試験	実験室内加速生分解試験
①素案作成	NEDO成果を元に、年5回のJBPA検討WGで内容検討	同左
②国内コンセンサス形成	2021年6月10日 JBPA技術委員会での予備提案承認	2021年11月30日 同左
③国際提案予備検討	6月28、30日 イタリア、ドイツのISO参加者に事前説明 11月24日 ベルギー、フランス、韓国、ケニアへの事前説明	11月24日 同左
④国内審議委員会	8月5日 プラ工連SC14委員会で予備提案承認	12月22日 同左
⑤予備提案	9月9日 ISO/TC61/SC14/WG2で予備提案	2022年1月27日 同左
⑥国際コンセンサス形成	2022年3月12日 メールにて、7カ国+1(日本)の積極賛成確認	8月10日 メールにて、積極賛成依頼
⑦新規提案	3月7日 新規提案投票開始(5/30締切) 新規提案可決(NP 16636、賛成17、反対0、棄権11、積極賛成13)	8月8日 新規提案投票開始(11/1締切)
⑧国際審議	86コメント(誤字等39、技術的36、一般11)対応検討中	
⑨発行		

◆実用化の見通し

産総研海洋生分解性プラスチック標準化コンソーシアム  
—2021年10月1日設立—



◆波及効果



補足資料



研究項目① 実験室内における生分解度加速試験法の開発  
(担当:産業技術総合研究所(産総研)、静岡県衛生科学研究所)

33/85

1. 研究開発テーマの概要 (1) 研究開発の背景・目的

研究項目①「実験室内における生分解度加速試験法の開発」

海洋プラ問題  
マイクロプラスチック問題



リサイクル、廃棄プラ処理技術  
プラ使用量の削減(他の材料への転換)  
海洋生分解性プラスチックの活用

海洋生分解性プラスチックの社会実装を早急に実現  
安全、安心という信頼性の担保が必要

生分解の評価手法  
認証制度の整備

現状  
試験期間が長い  
試験精度が悪い



改善した手法の開発、提案

新規生分解加速試験法の開発と  
その国際標準化(ISO)

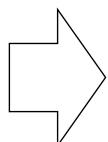
34/85

# 1. 研究開発テーマの概要(2) 研究開発の全体概要

## 研究項目①「実験室内における生分解度加速試験法の開発」

### 既存手法ISO18830/19679の技術的課題

- ・ 試験結果のばらつきが大きい。
- ・ 予備培養の手法が明確でない。
- ・ 試験結果に影響する因子が明確ではない。

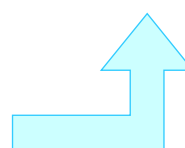


#### 新規手法の提案（産総研）

- ・ 加速のための最適試験条件
- ・ 活性海水の調製
- ・ 評価軸見直しによる試験期間短縮の検討

#### 既存手法の改良（静岡県）

- ・ 再現性の良い手法
- ・ 誰でもできる簡便な手法
- ・ 加速試験ための要素研究



データの反映

35/85

# 1. 研究開発テーマの概要（4）研究開発目標と根拠

研究項目	2022年度中間目標	2024年度最終目標	根拠
①-1 新規手法の開発	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 新規ラボ加速試験法を開発</li> <li>・ 樹脂5種類以上を対象としたデータ蓄積</li> <li>・ 最適なN数の決定</li> <li>・ 開発した試験法のISO予備提案</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ ISO発行に向けた国際審議。</li> <li>・ 樹脂5種以上でのデータ蓄積。</li> <li>・ 期間短縮のための基礎データ取得。（試験途上の系内の残存樹脂及び樹脂由来分解生成物の定量分析）</li> <li>・ 期間短縮手法の提案。（試験期間を3か月程度に短縮。）</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 特に生分解速度がおそいサンプルの生分解の結果がばらつく。（生分解が行かない結果が得られる。）</li> <li>・ 生分解測定期間が2年間かかる場合がある。</li> </ul>
①-2 既存試験法の見直し	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 生分解度と海底砂泥・海水TOC、栄養塩類濃度及び菌叢の関係の明確化（樹脂2種類以上）</li> <li>・ 試験に適した予備培養法を提案（既存手法の試験系の制御は容易ではなく、主たる原因として海底砂泥・海水の影響が考えられる。）</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 内海とは状態の異なる外海の実験用海水の予備培養方法の提案</li> <li>・ 予備培養～本培養の試験全体にわたって、試験精度が安定する手法を提案</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 上記、状況を予備培養や海水調製法で解決できないか検討する必要あり。</li> <li>・ 新規手法と既存法の相関や、整合性を担保しなければならない。</li> </ul>
①-1 嫌気生分解手法の開発	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 4箇所以上の底泥試料対象</li> <li>・ 4種類の樹脂の嫌気生分解能を検証</li> <li>・ 優占菌の存在量比を明らかにし、その系統分類学上の特徴付けを行う</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 6箇所以上の底泥試料対象</li> <li>・ 4種類の樹脂の嫌気生分解能を検証</li> <li>・ 沿岸域海底の嫌気生分解能のマップ</li> <li>・ ラボ嫌気的海水生分解試験法の確立</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 既存法は、反応容器内が嫌気条件になってしまうと生分解度を求めることができない。</li> <li>・ 実海域では、嫌気条件の海洋条件もあり、そこでの生分解の状況がわかっていない。</li> </ul>

36/85

## 2. 研究開発成果 (1) 目標の達成度及び見通し

### ◆研究項目毎の目標と達成状況

研究項目(①-1): 実験室内における生分解度加速試験法の開発(新規評価法の開発)

【中間目標】

- ① ラボ好気的海水生分解加速試験法の開発
- ② 上記手法によるデータ蓄積(生合成系樹脂、化学合成樹脂、天然物ベース樹脂を含む5種以上の樹脂)
- ③ データのばらつきの評価とN数の決定(N=5以上の試験による)
- ④ 海洋生分解性ラボ試験法をISO予備提案を検討
- ⑤ 嫌気生分解能の検証(4箇所以上の底泥試料、4種類の樹脂)
- ⑥ 生分解が認められた系について優占菌の存在量比を明らかにし、それらの系統分類学上の特徴付けを行う。

	成果	達成度	今後の課題	解決方針
①	ラボ好気的海水生分解加速試験法を開発した。	○	加速効果の数値による評価。	データの蓄積
②	5種以上の樹脂にて、上記手法によりデータを蓄積した。	○	試料の結晶化度等の状態を明確にした上でのデータの蓄積。	データの蓄積
③	N=5以上の試験によるデータのばらつきを調べ、適切なN数を決定する実験を遂行中である。	△ (年度末)	試験試料の均一化において統一すべき項目の検討。年度内達成見込み。	研究項目②との連携
④	海洋生分解性ラボ試験法をISO予備提案した。	○	新規提案可決の働きかけ。投票結果の対応	ロビー活動。投票結果後の対応となる。
⑤	日本各地6箇所の底泥試料を用い、4種以上の樹脂を対象とした沿岸域海底での嫌気生分解を実施した。	○	分解率向上に向けた培地組成検討。東日本海域からの採泥。	データの蓄積
⑥	嫌気生分解に関する優占菌の存在量比を示し、それらの系統分類学上の特徴付けを行った。	○	嫌気条件における生分解菌の特定。	データの蓄積

37/85

## 2. 研究開発成果 (1) 目標の達成度及び見通し

### ◆研究項目毎の目標と達成状況

研究項目(①-2): 実験室内における生分解度加速試験法の開発(生分解性評価法条件の最適化)

【中間目標】

- ① 2種類以上の生分解性プラスチックを用いた生分解度評価試験を、海底砂泥の有機炭素含有率、栄養塩類濃度等の条件を変え、実施する。
- ② 試験における各試料の二酸化炭素発生量や生分解度と海底砂泥・海水の有機炭素含有率、栄養塩類の濃度及び菌叢の関係を明らかにし、試験に適した内海の海底砂泥・海水の初期状態を把握する。また、その状態にするための予備培養の方法を1つ以上提案する。

	成果	達成度	今後の課題	解決方針
①	PHBHおよびPBSAを用いた生分解度評価試験を、有機炭素や栄養条件の異なる三保、浜名湖の海水・海底砂泥を用いて実施した。	△ (年度末)	保存サンプルについて、特に菌数・菌叢の測定、解析を加速する。	担当の増員、分析手法の効率化により対処
②	安定した生分解度が得られる三保は、砂泥内の粒径の均一性や通水性が確保され、有機炭素や栄養塩が豊富で、菌叢が多様であった。現在、このような最適な状態で生分解度評価試験を実施するための予備培養方法について検証中である。	△ (年度末)	最適条件の再現性の検証	最適予備培養条件による試験を実施し、バラつきや生分解度が改善されることを検証

達成度：◎大きく上回って達成、○達成、△達成見込み、×未達

38/85

## 2. 研究開発成果 (2) 成果の詳細

### ①-1: 実験室内における生分解度加速試験法の開発(新規評価法の開発)

#### 新規加速試験法の概要

赤字: 新規な項目

0 方式	海水+粉末試料、 BOD/CO <sub>2</sub> 方式
1 試験温度	15℃~30℃ 試験温度高い方が速い
2 試料濃度	15mg~60mg/200mL 試料量少ない方が速い
3 攪拌	あり(50~500rpm) 攪拌速度の影響小さいが 攪拌は必要。
4 無機 栄養源	N: 0.18~9.3mM P: 0.016~0.73mM N量は少ない方がばらつきは小さい
5 活性海水 (菌数&菌叢強化)	a) ペプトン/酵母抽出物添加 b) セディメント前処理 c) 海水混合 d) フィルターろ取による濃縮
6 試験期間	一定の生分解率を越えた時点での 残存ポリマー成分分析

#### 試験条件の最適化

#### 活性海水の調製法

(=標準海水)

- ・試験に供する試験海水中の一般菌数の下限
- ・菌叢構造の多様性の指数化

#### 試験系内の微生物構造の推移

- ・菌数の推移
- ・菌叢構造の変化

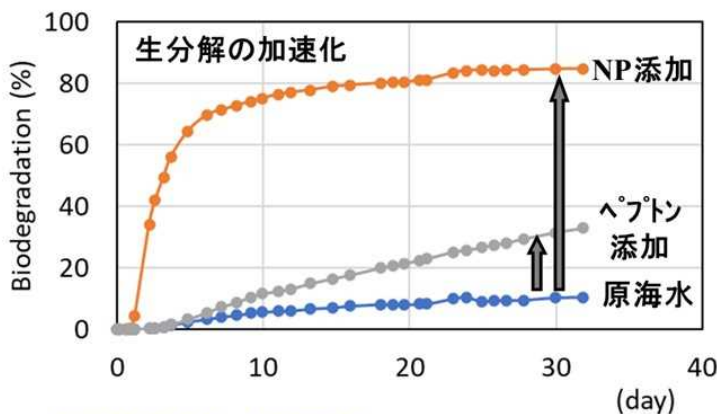
#### 海水・セディメントの保存性

- ・海水の生分解活性
- ・保存中の菌数の変動解析

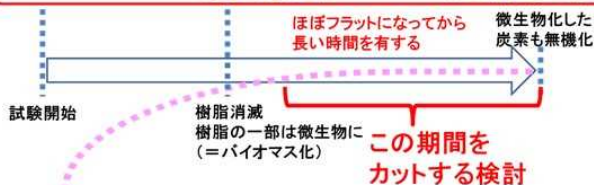
ISO予備提案終了、NP投票へ

39/85

## 2. 研究開発成果 (3) 成果の意義



#### 樹脂の生分解とバイオマス化



加速と期間短縮で  
試験期間の大幅短縮

- ・新材料の開発の  
スピードアップ
- ・社会実装の加速

40/85

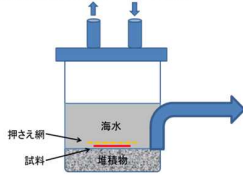


## 2. 研究開発成果 (2) 成果の詳細

### ①-2: 実験室内における生分解加速試験法の開発(生分解性評価法条件の最適化)

ISO19679

海水及び堆積物を使用し、実験室内で生分解性プラスチックの生分解度を評価  
 ガスを捕集し、CO<sub>2</sub>を測定 ガス 1ml/min.



**ISO19679の問題点**  
 ・試験結果のばらつきが大きい。  
 ・予備培養の手法が明確でない。  
 ・試験結果に影響する因子が明確でない。

生分解度に影響する因子  
 ・菌叢  
 ・有機炭素量  
 ・栄養塩類濃度  
 ・pH 等

試験中に種々のデータを取得し、生分解度に影響する因子を明確化

精度の高い試験法を提案

試験結果が安定する三保の海水・砂泥の状態  
 ・砂泥の粒径の均一性や通水性が良好  
 ・有機炭素含有量や栄養塩が豊富  
 ・菌叢が多様・分解に必要な分解菌が存在  
 を再現するための現地採取・予備培養方法を評価試験により検証中

#### 試験に用いた海水・砂泥の特徴

区分	三保	浜名湖
砂泥粒径	大	小
有機炭素(砂泥)	多	少
栄養塩(海水)	三保でNO <sub>3</sub> 多い	
菌数(総菌・生菌)	場所による違いなし 海底砂泥で夏・秋に多い	
菌叢(2021冬)	三保で多様	

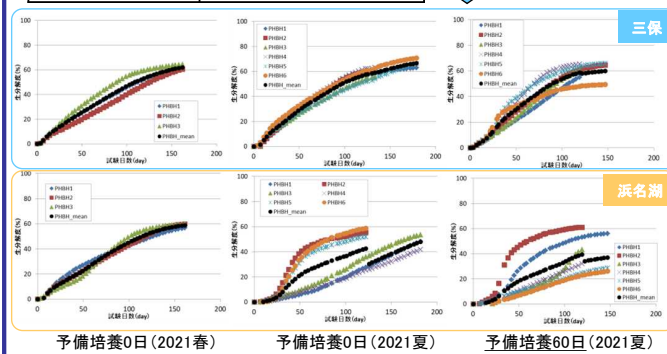


三保は粒径が大きく揃い、栄養分も多く菌叢も多様で条件が良い。

#### 精度の高い生分解度評価試験の検討

区分	60日間の予備培養	区分	PHBH生分解度
有機炭素(砂泥)	顕著な変化なし	生分解度	参照物質(ろ紙)より高い
菌数(総菌・生菌)	顕著な変化なし	地域	三保 季節を問わず安定 浜名湖 夏が大きくばらつく
ろ紙・樹脂の生分解度	バラつき低減効果なし		

PBSAIは生分解度が低く、バラつく傾向



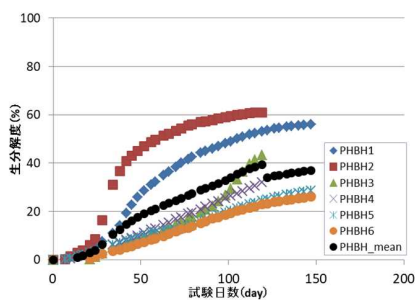
分解初期はPHBH, PBSAともに生分解度と砂泥中の菌数に比例関係が確認された。

事業原簿 III-46, 47

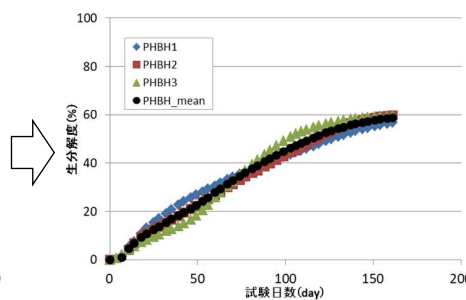
41/85

## 2. 研究開発成果 (3) 成果の意義

### ①-2: 実験室内における生分解加速試験法の開発(生分解性評価法条件の最適化)



・生分解度のバラつきに影響を与える因子を明確化  
 ・精度の高い試験法を提案



安定的な試験結果

↓  
 ・試験評価の信頼性向上  
 ・海洋生分解性プラスチック製品の普及促進  
 ・海プラ問題の改善に貢献

42/85

**研究項目② 生分解メカニズムの解明 材料構造(分子構造、結晶構造)**  
(担当:産総研、東京大学、島津テクノリサーチ)

43/85

1. 研究開発テーマの概要 (1) 研究開発の背景・目的

**研究項目② 物質評価としての材料構造解析による生分解メカニズムの解明**

生分解性プラスチックの海洋生分解メカニズムを解明するとともに、その分解速度を制御する因子を解明することは、ISO試験に用いる試験体を定めるためには必要不可欠である。さらに、分解生成物の同定と毒性評価、および、分解途上材も考慮した安全性評価手法の確立も、ISO試験法の提案のためにも遂行すべき急務な課題である。

**生分解メカニズムおよび生分解速度制御因子の解明**

- 主鎖構造や末端構造などの分子鎖構造
- 結晶化度や結晶配向度などの高次構造
- フィルム、繊維、射出成形体、微粒子など、部材形状

**生分解評価手法の確立**

- 高分解能質量分析、熱分解ガスクロマトグラフィー/質量分析法、顕微赤外分光、陽電子消滅寿命測定法、広角・小角回折装置、透過型電子顕微鏡、原子間力顕微鏡等を活用
- 原子・分子レベルのミクロ構造から材料レベルのマクロ構造の状態を解析

**分解生成物の同定と安全性評価**

- 水可溶性分解中間生成物(低分子化合物)の同定と生態毒性評価
- バージン材のみならず分解途上材も含めた安全性評価

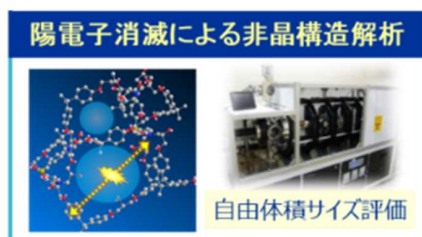
44/85

# 1. 研究開発テーマの概要(2) 研究開発の全体概要

## 研究項目② 物質評価としての材料構造解析による生分解メカニズムの解明

### 研究項目②-1 分子構造相関解析

本項目では、高分解能質量分析、熱分解ガスクロマトグラフィー/質量分析法、顕微赤外分光、陽電子消滅寿命測定法等を活用し、実環境下での海洋生分解性プラスチック材料の分解過程、劣化過程を評価する中で、ポリマー分子の原子・分子レベルのミクロ構造から材料レベルのマクロ構造の状態を解析する。



### 研究項目②-2 形状および結晶構造からの分解機構の解明

本項目では、分子鎖構造、結晶構造、高次構造が異なる様々な部材(微粒子、フィルム、繊維、射出成形体)を作製し、海水を用いたBOD試験および岸壁・深海における実海域分解実験を行い、海洋生分解速度制御因子の解明を目的とする。



### 研究項目②-3 生分解度評価手法としての質量分析技術の有用性の検証および海洋生分解プラスチックの安全性評価

本項目では、海洋生分解性プラスチックの生分解度評価手法高度化のため、質量分析手法を用いた新たな評価指標(プラスチックの分解中間生成物)の有用性を検証する。海洋生分解性プラスチックの安全性を確認するべく、化学物質の収着・脱着特性に基づく素材評価手法を開発する。



45/85

# 1. 研究開発テーマの概要 (4) 研究開発目標と根拠

研究項目	2022年度中間目標	2024年度最終目標	根拠
②-1 分子構造相関解析	<ul style="list-style-type: none"> <li>比較的に単純な構造を有する3種類のモデル材料(a, b, c)を対象として、質量分析や熱分解試験等、陽電子消滅法等を用いて、海洋生分解性プラスチックサンプルの分子構造や物性変化の詳細を解析するための化学的分析手法を確立する。</li> <li>海洋生分解性試験を行った実用生分解性プラスチック材料2種以上について、開発した分析手法を適用し、試験前後の構造変化をマルチスケールで解明し、海洋生分解メカニズムを化学的視点から解明する。</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>海洋生分解性試験前後のプラスチックの構造解析により解明した生分解メカニズムに基づいて、従来のCO<sub>2</sub>発生量を利用した評価指標とは異なる、評価プラスチック材料の分子構造情報等を活用した新しい海洋生分解性試験における評価指標を1つ以上構築する。</li> <li>さらに、本指標を活用し、開発された海洋生分解試験法の妥当性を検証し、試験法の高信頼性化に貢献する。</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>生分解度と分子構造、表面構造の関係がわかっていない。</li> <li>どのような構造の生分解評価が必要なのかかわからないので、サンプル前処理法や開発指針が明確でない。</li> </ul>
②-2 形状および結晶構造からの分解機構の解明	<ul style="list-style-type: none"> <li>5種類以上の生分解性ポリエステルおよび3種類以上の多糖類エステル誘導体から異なる結晶化度を持つ射出成形体、フィルム、繊維を作製する。</li> <li>BOD生分解試験を行い、岸壁分解度、深海分解度と比較し、国際標準化に必要な構造学的因子を少なくともそれぞれ1つ以上解明する。</li> <li>海洋分解試験における材料形状に関する提案を行う。</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>生分解度、岸壁分解度、深海分解度を比較し、国際標準化に必要な構造学的因子(結晶化度、結晶配向度、分子鎖構造など)と形状因子(フィルム、粉体、成形体による表面積など)を少なくともそれぞれ3つ以上解明する。</li> <li>3つの分解試験の結果から相関性を見出し、国際標準化に適した試験片と換算式を提示する。</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>生分解度と構造学的因子の関係が明確でない。</li> <li>構造学的因子に係わる製品の開発指針が明確でない。</li> </ul>
②-3 生分解度評価手法としての質量分析技術の有用性の検証および海洋生分解プラスチックの安全性評価	<ul style="list-style-type: none"> <li>1素材以上の海洋生分解性プラスチックについて生分解試験を行い、質量分析法によって2種類以上の分解中間生成物の経時的変化を把握する。従来の生分解度測定法に替わる、分解中間生成物を指標とした生分解度測定手法(暫定版)を整理する。</li> <li>1素材以上の海洋生分解性プラスチック(バージン材および分解途上材)について、5物質以上の化学物質の収着・脱着特性を把握する。収着・脱着特性から、海洋生物体内へ移行し得る化学物質量を5物質以上について推定し、安全性評価手法(暫定版)を整理する。</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>中間目標で整理した暫定的な手法について、新たに1素材以上の海洋生分解性プラスチックを用いて同様の評価を行い、手法の堅牢性を確認する。</li> <li>生分解度測定手法と安全性評価手法を反映した試験法の提案へつなげる。</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>分解過程でどのような中間生成物が生成するのかわかっていない。</li> <li>中間生成物の精密測定法がない。</li> <li>生分解途上にあるプラスチック材料について化学物質の収着・脱着特性が明確でない。</li> </ul>

46/85

1. 研究開発テーマの概要 (5) 研究開発スケジュール

◆研究開発のスケジュール

	2020年度	2021年度	2022年度	2023年度	2024年度
物質評価としての材料構造解析による生分解メカニズムの解明	分子構造解析技術の開発		中間目標	構造と海洋生分解性の相関解析	最終目標
	マルチスケール構造解析技術の開発				
形状および結晶構造からの分解機構の解明	BOD試験・岸壁および深海分解試験		中間目標	結晶化度などの生分解速度制御因子の解明	
	分解中間生成物の経時変化把握				
生分解度評価手法としての質量分析技術の有用性の検証および海洋生分解性プラスチックの安全性評価	パージン材、分解途上材の収着・脱着特性把握		中間目標	複数の素材を用いた堅牢性の確認	
	複数の素材を用いた堅牢性の確認				

47/85

2. 研究開発成果 (1) 目標の達成度及び見通し

◆研究項目毎の目標と達成状況

研究項目:

【中間目標】

- ②-1 ・3種のモデル材料を対象として海洋生分解性プラの化学的分析手法を確立  
・実用生分解性プラ材料2種について、構造変化のマルチスケール解明、及び海洋生分解メカニズム解明
- ②-2 ・結晶化度や高次構造などが異なる様々なサンプルの作製と海水を用いたBOD生分解試験条件の確立  
・結晶化度や高次構造などが異なる様々なサンプルの作製と岸壁および深海分解試験の遂行
- ②-3 ・分解中間生成物2種以上の経時変化を把握し、分解中間生成物を指標とした分解度評価手法を整理  
・パージン材と分解途上材について化学物質の収着・脱着特性を把握(安全性評価)

	成果	達成度	今後の課題	解決方針
②-1	<ul style="list-style-type: none"> <li>3種類のモデル材料を対象として表面の結晶分布、共重合体の組成分布等を解析可能な分析技術を構築</li> <li>海洋生分解性試験を行ったPHBHおよびPBSAについて、各種の分析手法を適用し、試験前後の化学構造変化から分解の化学的なメカニズムを解明</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>△ (年度末)</li> <li>△ (年度末)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>原子・分子レベルから材料レベルに至るまでの生分解状態を評価可能な手法の開発</li> <li>生分解メカニズムに裏付けされた諸情報の蓄積と提供</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>複数の分析手法を組み合わせたマルチスケール構造解析の適用</li> <li>分解メカニズムの推定</li> </ul>
②-2	<ul style="list-style-type: none"> <li>BOD生分解試験のばらつきの原因を特定することに成功し、粉末・未延伸繊維・延伸繊維などでの生分解速度の違いを明確化</li> <li>結晶化度が海洋分解性に大きな影響を及ぼすことを解明</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>△ (年度末)</li> <li>△ (年度末)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>新たな手法によりばらつきがどれくらい低減するか検証</li> <li>岸壁および深海での実験データを増やす</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>実験条件の精査</li> <li>データの蓄積</li> </ul>
②-3	<ul style="list-style-type: none"> <li>生分解試験から得られた分解中間生成物を実測し、複数のオリゴマーを検出(存在量はモノマー&lt;&lt;オリゴマーである可能性を示唆)</li> <li>多環芳香族炭化水素(PAHs)を用いた収着実験を実施し、環数の少ないPAHsほどパージン材のPHBHへの分配が小さいことを確認</li> <li>疑似消化液による脱着試験をデザイン</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>△ (年度末)</li> <li>△ (年度末)</li> <li>△ (年度末)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>再現性の確認</li> <li>分解度評価の指標となる分解中間生成物の選定</li> <li>生分解性プラを介した化学物質の生体内移行量推定</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>繰り返し試験の実施</li> <li>測定可能な分解中間生成物の拡充</li> <li>脱着試験の実施</li> </ul>

48/85

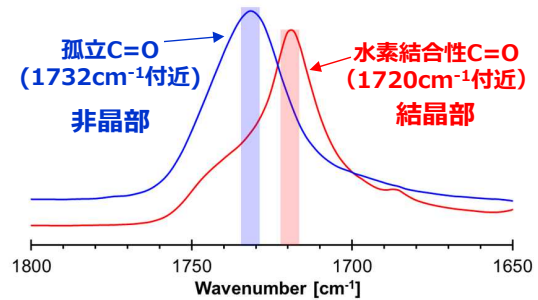


## 2. 研究開発成果 (2) 成果の詳細

### 研究項目②-1 分子構造相関解析

- ・海洋生分解性プラスチック表面の構造変化の追跡に成功
- ・生分解性プラスチックの組成分布解析に着手

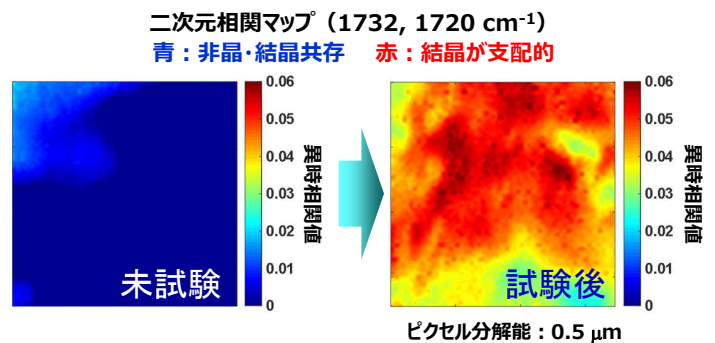
#### ATR-IR法による表面構造評価



### 顕微ATR-IR測定におけるカルボニル基の吸収ピークから、生分解が進行するサンプル表面の構造解析を実施

- ・カルボニル基の水素結合の状態を、ピーク強度の比率から評価
- ・ポリエステル結晶中では水素結合が形成 ⇒ 水素結合の度合いを結晶性の指標に設定

生分解サンプルでは、表面で非晶部が先に生分解して結晶部が残る様子を可視化



精密な生分解評価法や、表面生分解性を制御した材料設計等に活用可能

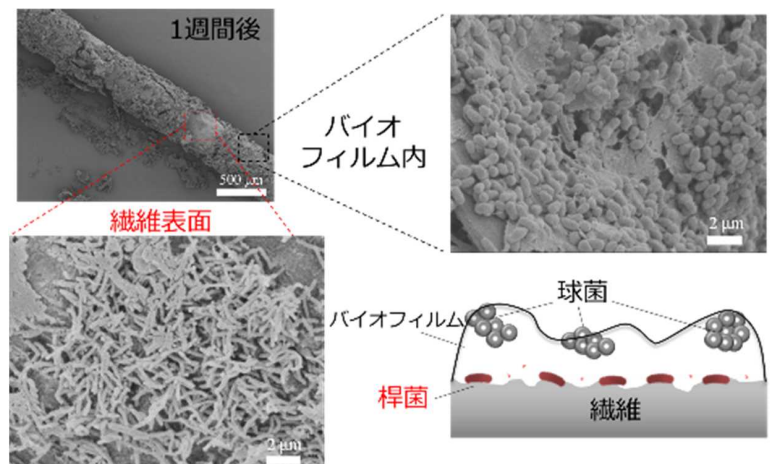
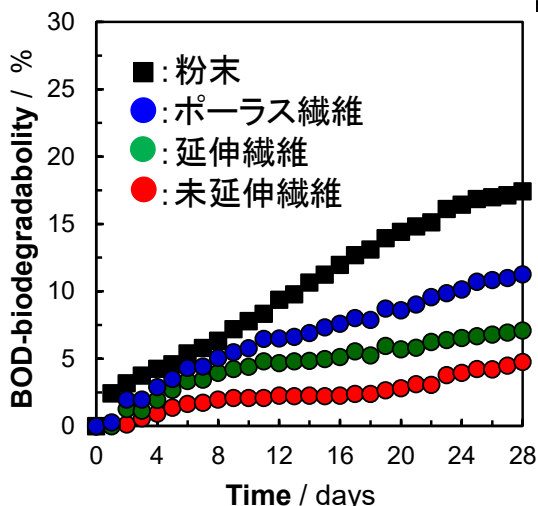
49/85

## 2. 研究開発成果 (2) 成果の詳細

### 研究項目②-2 形状および結晶構造からの分解機構の解明

- ・海洋分解性試験に供試できる微粒子・繊維・射出成形体などの作製に成功
- ・表面積・内部構造により海洋生分解速度が異なることを実証
- ・材料表面には桿菌が、その上に球菌が集積し、バイオフィルムを形成する様子を観察

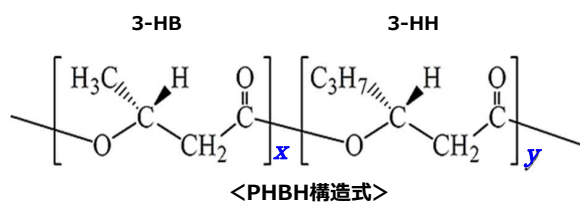
#### BOD海水生分解度 (東京湾お台場)



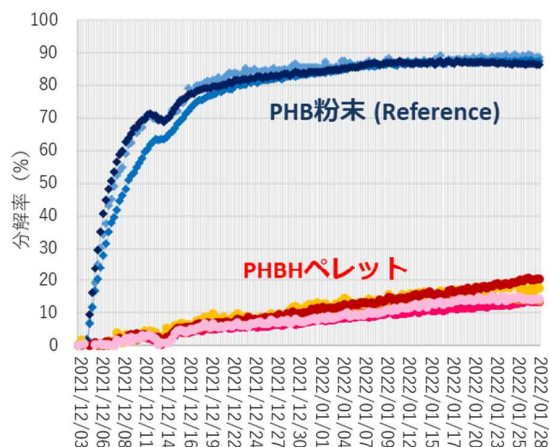
50/85

## 2. 研究開発成果 (2) 成果の詳細

### 研究項目②-3 生分解度評価手法としての質量分析技術の有用性の検証 および海洋生分解プラスチックの安全性評価



PHBHのモノマー2種から成る総重合数20までの分解中間生成物について、飛行時間型LCMSにて検出有無を確認



		総重合数 (x+y)												
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
3-HB 重合数 (x)	0		■											
	1	■												
	2		■											
	3			■										
	4				■									
	5					■								
	6						■							
	7							■						
	8								■					
	9									■				
	10										■			
	11											■		
	12												■	

- ▶ 分解の進行を確認(生分解試験系の確立)      ▶ 複数のオリゴマーを検出      ■ : 検出

51/85

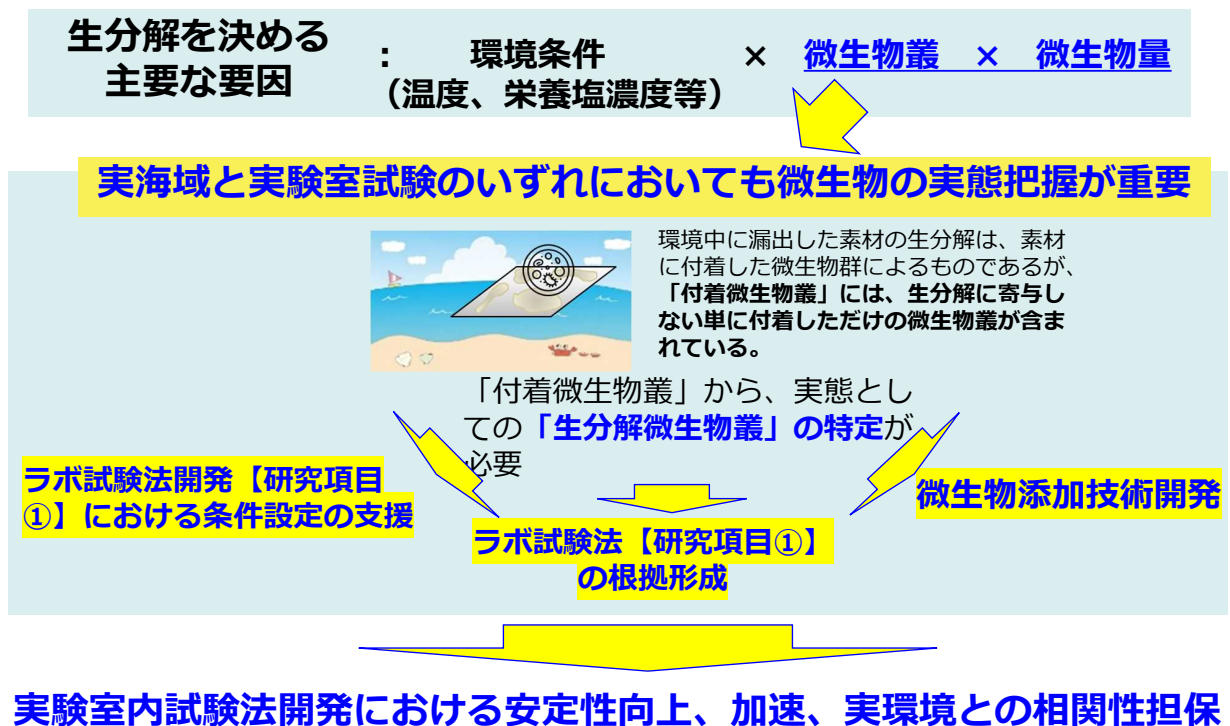
## 2. 研究開発成果 (3) 成果の意義

- ・生分解が進行するサンプル表面の精密構造解析に成功
- ・水素結合状態に着目した材料表面のマッピング化に成功
- ・表面積や内部構造により海洋分解性速度が異なることを実証
- ⇒ サンプル表面状態を規定した測定試料の提案(試料の画一化)
- ⇒ 初期生分解性評価法として活用でき、生分解度測定の迅速化に貢献
  
- ・材料表面に付着した微生物によるバイオフィルムを形成機構の観察に成功
- ⇒ 生分解速度が制御された材料設計に応用可能
  
- ・分解中間生成物の経時的変化の追跡に成功
- ・生分解性プラスチック表面に吸着する化学物質の吸着・脱着特性の把握
- ⇒ 材料の安全性に対する指標を提案可能

52/85

研究項目③ 生分解メカニズムの解明 微生物、酵素による分解  
(担当:産総研、製品技術評価基盤機構(NITE))

1. 研究開発テーマの概要 (1) 研究開発の背景・目的



# 1. 研究開発テーマの概要(2) 研究開発の全体概要



# 1. 研究開発テーマの概要 (4) 研究開発目標と根拠

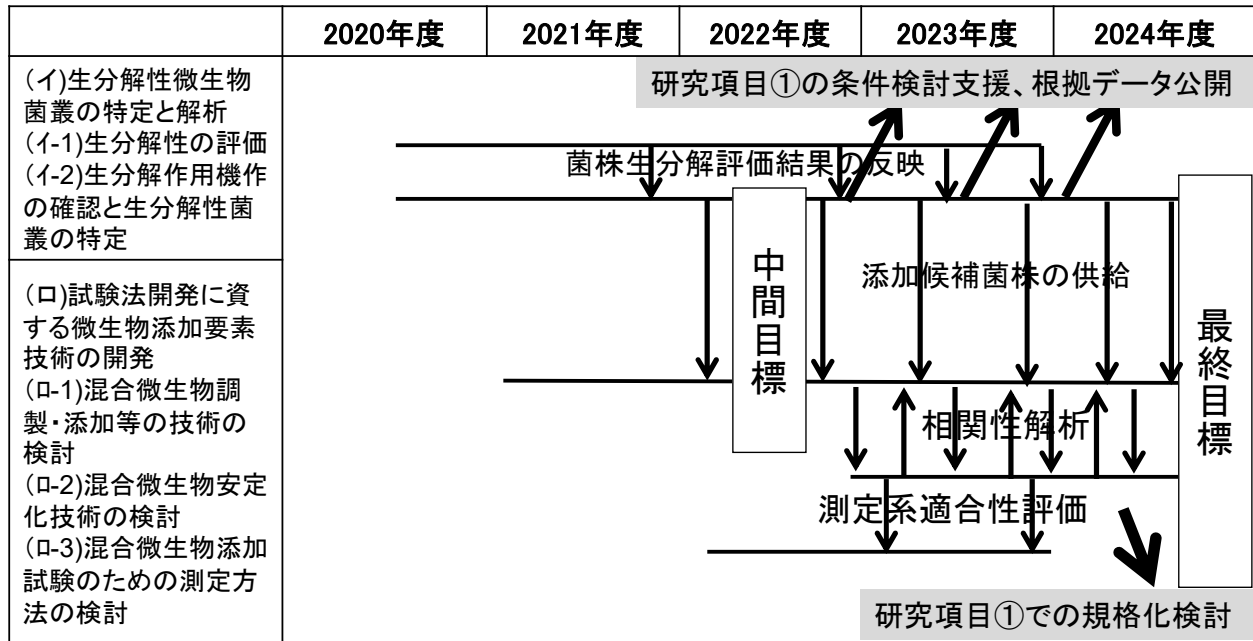
研究項目	2022年度中間目標	2024年度最終目標	根拠
③-1 ラボ試験環境における微生物(叢)解析	海水中の菌叢構造の多様性を数値化し、菌叢や菌数が海水生分解性に及ぼす影響を明らかにする。	複合材料2種以上のラボ試験を行い、菌叢解析とMPを含めた中間生成物分析を行う。可塑剤や安定剤、色材などを含む5種以上の樹脂について、溶出物質を安全性評価の観点から分析する。系内の生分解菌分析では、生合成系、化学合成系、天然物系の系統の異なる異種間樹脂2種以上の複合材料を対象に分解菌解析を行う	実海域の試験やその場所の海水を採取した実験室内試験において、生分解度の早い海域(都市圏に近い地域)と遅い海域(水産業が盛んな地域)があることがわかってきたがその理由や微生物量や菌叢の相関が明確になっていない。
③-2 生分解性微生物菌叢特定のための解析及び試験法開発に資する微生物添加要素技術の開発	実海域取得素材付着菌株の生分解性評価・解析を実施、また菌叢、菌量、崩壊度、環境等データとの総合的解析を実施し、2課題以上について素材生分解性微生物叢・菌種を特定。	通算3課題以上の総合的解析により素材生分解性微生物叢・菌種を特定し、実環境根拠データ公開のための整備を実施。また菌量測定法の指針をとりまとめ、可能であれば規格化を検討。	実験室試験の根拠、微生物添加試験開発のために実海域生分解性菌叢の特定は必須な基盤情報であり、複数因子に関わる膨大なデータの総合的解析として設定は適切である。
	微生物添加による生分解や微生物叢再現性、安定性等解析、添加微生物種、量比、総菌量の関係の探索を進め、試験法改良あるいは新規提案の素案を作成。	実海域データの根拠ある微生物添加による試験法改良あるいは新規提案1件以上を研究項目①に提示し、関連菌株の公開を開始。	新たな試験法に求められる加速や、安定性、再現性の点で、微生物添加で制御すべき主要因子を明確にし、実態ある提案とするために設定は適切である。
	研究項目①における実験室試験法開発の課題解析、提案試験法課題克服確認のための微生物叢・微生物株の収集により規格化の目的達成に貢献【機関連携】。	研究項目①における実験室試験法開発の課題解析、提案試験法課題克服確認のための微生物叢・微生物株の収集により規格化の目的達成に貢献【機関連携】。	研究項目①で進められる実験室試験法開発の条件設定支援や試験法提案の有用性実証のために重要な機関連携である。



# 1. 研究開発テーマの概要 (5) 研究開発スケジュール

## ◆研究開発のスケジュール

### ③微生物、酵素による生分解メカニズムの解明



57/85

# 2. 研究開発成果 (1) 目標の達成度及び見通し

## ◆研究項目毎の目標と達成状況

### 研究項目③

#### 【中間目標】

- 菌叢構造の多様性の数値化、生分解への影響の明確化
- 実海域取得素材付着菌株の生分解性評価・解析を実施、また菌叢、菌量、崩壊度、環境等データとの総合的解析を実施し、**2課題以上について素材生分解性微生物叢・菌種を特定**
- 微生物添加による生分解や微生物叢再現性、安定性等解析、添加微生物種、量比、総菌量の関係の探索を進め、**試験法改良あるいは新規提案の素案作成**

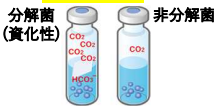
	成果	達成度	今後の課題	解決方針
1	菌叢構造の多様性の数値化、生分解への影響を明確化した。	△ (年度末)		
2	素材付着菌叢から素材生分解性菌株を特定するため生分解性評価・解析方法を2種新たに開発し、既存の乳化培地法と合わせて関係性を検証、生分解性評価のプロセスを構築、実海域から分離した菌株の評価を進めている。(中間目標に対する達成見込み時期は令和4年度末までを想定)	△ (年度末)	・分析の効率化 ・分析に用いるヘリウム流通の外的要因で、分析に遅れ発生	・菌叢解析から分析対象菌株の優先種を適切に選抜することで効率化
2	実海域で取得された菌叢データを、素材の種類と地域性、季節性の3課題でそれぞれ解析を進め、 <b>生分解性菌株候補の特定を進めている。</b> (中間目標に対する達成見込み時期令和4年度末までを想定)	△ (年度末)	・菌叢総合的解析の負荷の増加	・解析方法のパターン化による効率化
3	分離株混合物を用いて、実態としての生分解性、加速性の検証で試験法としての課題の探索、検証を進めている。(中間目標に対する達成見込み時期令和4年度末までを想定)	△ (年度末)	現時点ではなし	

58/85

## 2. 研究開発成果 (2) 成果の詳細

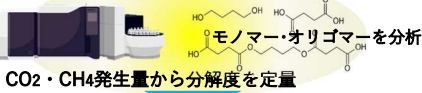
### 【研究項目③】

#### 単離株や混合菌株の生分解評価スキーム

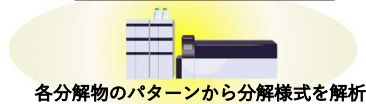


前処理なしでそのまま分析可能

#### ① GC/BIDによる生分解性素材生分解活性定量法

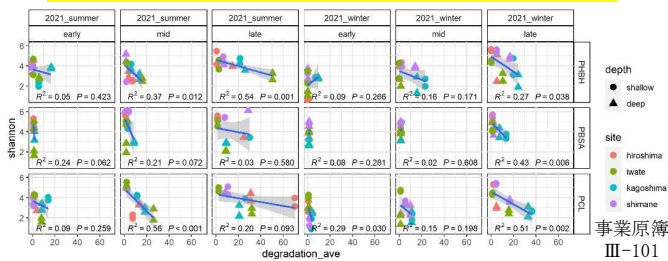


#### ② LC/MS/MSによる生分解性素材生分解物の網羅解析法



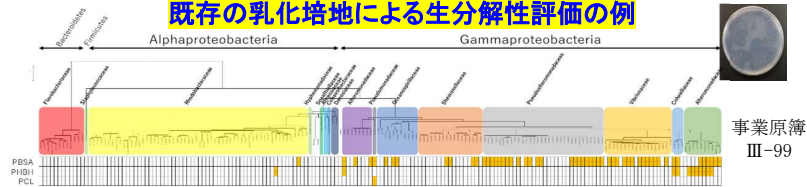
各分解物のパターンから分解様式を解析

#### 付着菌叢の多様性(Shannon指数)と崩壊度の関係

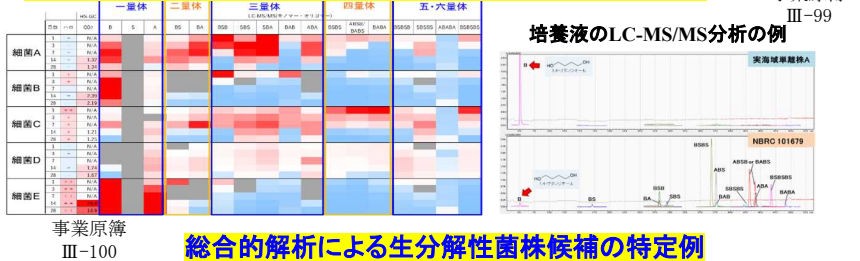


事業原簿 III-101

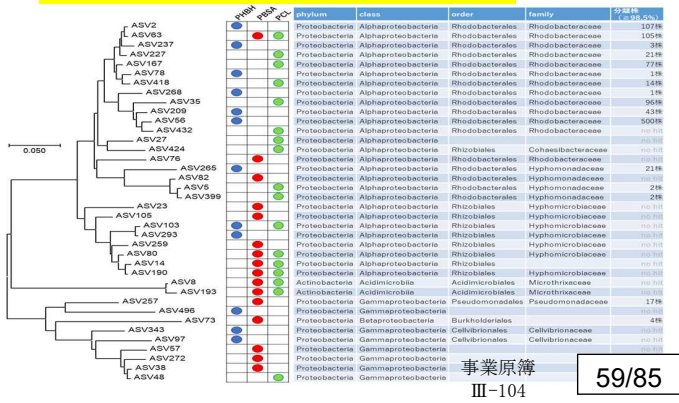
#### 既存の乳化培地による生分解性評価の例



#### GC/BID法、LC/MS法と、既存乳化培地法の相関性確認の例



#### 総合的解析による生分解性菌株候補の特定例 (微生物叢、素材の種類、崩壊度、地域性)



## 2. 研究開発成果 (3) 成果の意義

### 【研究項目③】

前提：実海域で採取された素材付着菌叢のメタ16S解析データが、「生分解性菌叢」の特定、実験室試験法や添加微生物選定の拠り所となる

素材の種類、地域性、季節、地理的特性等に対応した微生物叢や崩壊度の総合的解析、解釈を進めている。実海域の主たる生分解性菌株候補が見いだされており、該当菌株の評価、解析を通して生分解性菌叢の特定を目指す。また実験室試験の菌叢データとの相関性を解析し、主たる生分解菌株候補に関係性を確認した。

前提：菌量測定法には原理の異なる複数の方法があり、一長一短であるため、試験法に応じた検証が必要であることがわかった

菌量測定法選定のためのラウンドロビン試験を複数機関連携で実施中であり、年度内にとりまとめ指針を明確にする予定。

既存の試験法規格に関係するが、いずれにも未規定であるため、可能であれば規格化も検討。

前提：「素材付着菌叢」から「素材生分解性菌叢」を特定するためには、実海域で採取された素材付着菌叢メタ16S解析データに裏打ちされた候補菌株の実態としての生分解性評価・解析が必要であるが、単菌株でのプラスチック分解活性の検出感度は概して高くない

#### 単離菌株の評価、解析法の整備が必要

新たにGC/BID法、LC/MS法を開発し、既存手法である乳化培地法との相関性を解析、乳化培地法では検出できないプラスチック分解菌株も検出できることを確認し、短期化に単離菌株であってもプラスチック分解をスクリーニングできるスキームを確立した。これを用いて実海域単離菌株のスクリーニングを進め、「生分解菌叢」の特定を目指す

前提：研究項目①の実験室試験法の条件設定や根拠形成のためには菌叢・菌量の解釈が必要

機関連携で実験室試験法の菌叢解析を実施、連携下で解釈を行い、適宜試験法開発へのフィードバックを行っている。これにより、規格化における各国理解の促進を目指す。

60/85

研究項目④ 実海域におけるデータ収集、簡易生分解(崩壊度)試験法の開発  
(担当:産総研、NITE、東京大学)

61/85

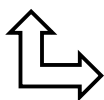
## 1. 研究開発テーマの概要 (1) 研究開発の背景・目的

研究項目④「実海域におけるデータ収集、簡易生分解(崩壊度)試験法の開発」

### 実環境浸漬試験の目的

#### 実際の海で確実に生分解されることを実証する

- ・ 海洋で漂っている状態のプラの生分解を評価するための試験法
- ・ 海底に沈み堆積したプラが生分解することの実証



#### ラボ試験の目的

試験樹脂が生分解性を有しているか否かの判定

実環境を反映する必要はない  
加速させて迅速に判定することが重要

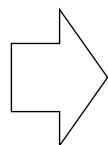
62/85

# 1. 研究開発テーマの概要(2) 研究開発の全体概要

## 研究項目④「実海域におけるデータ収集、簡易生分解(崩壊度)試験法の開発」

### 既存手法ISO22766の技術的課題

- ・ 専用の試験器具を海底に設置しなければならない。
- ・ ダイバーによる作業が必須。
- ・ 海洋での浮遊状態を再現していない。



#### 新規手法の提案 (産総研)

低コストで、簡便(現実的な手法)。  
異なる場所や季節で比較できる実海域試験法。  
ラボ試験結果との相関性の解析。

#### 実海域微生物及び関連データの収集(NITE)

付着微生物叢データの取得。  
海洋微生物生分解の実態把握。

菌叢、菌量解析による実海域試験法開発の支援

#### 深海底での生分解の確認(東大)

各種種類、形状の樹脂の評価。  
分光学的手法による生分解の評価。  
海洋環境因子の影響の解明。

表層以外の  
海域のカバー

63/85

# 1. 研究開発テーマの概要 (4) 研究開発目標と根拠

研究項目	2022年度中間目標	2024年度最終目標	根拠
④-1 新規手法の開発	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 実海域海水浸漬簡易試験法を開発</li> <li>・ 樹脂3種以上にて浅深度で試験実施、改良</li> <li>・ 複数地点、2つ以上の形状</li> <li>・ 試料表面の微生物データの蓄積</li> <li>・ ラボ試験法との相関性の検討</li> <li>・ 開発した試験法のISO予備提案</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ ISO発行に向けた国際審議。</li> <li>・ 3種以上での浸漬データ蓄積(年、季節)</li> <li>・ 定点での多様な基礎データ収集(深さ等)。</li> <li>・ 複合材等5つ以上の試料を対象に長期(3-6か月)の浸漬データ収集。</li> <li>・ ラボ試験からの実海域生分解性を予測するための知見の収集。</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 治具が大型で、海面付近の実験の場合、遠浅の海にしか設置できない。</li> <li>・ 台風が多く、荒れた海が多い日本では、頑丈に設置しなければならず、高コスト。</li> <li>・ 海底面に設置するのにダイバーが必要で高コスト。</li> <li>・ 設置許可を得るのが難しい。</li> </ul>
④-2 実海域微生物及び関連データの収集	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 実海域サイトを再委託先と連携して安定的に運用し、素材付着微生物叢データ・菌株を着実に取得し、季節変動、地理的要因、海域性、素材の種類等の2課題以上に対応するデータ及び主たる菌株の取得を終了する。</li> <li>・ 研究項目④-1で進められる実海域試験法開発の課題解析、提案試験法における課題克服の確認についても、微生物叢データ・菌株の収集を他の機関との連携により行い、それら目的達成に貢献する。</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 実海域と実験室試験の相関性の観点で実海域素材付着菌株及び微生物叢データの整備と適切な保管を行い、研究項目③-2の実施を介して、研究項目①における試験法条件等の実海域における根拠形成や、微生物添加要素技術の試験法への組み込みを達成する。</li> <li>・ 研究項目④-1で進められる実海域試験法開発における課題解析、試験法提案における課題克服の確認について、微生物叢データ取得や菌株分離を行うことで、実海域生分解試験法のISO規格化の目的達成に貢献する。</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 必要とされる菌叢や崩壊度データを着実に取得し、菌株を分離することは、実海域と実験室試験の相関性確認や添加菌株の根拠として本事業の鍵を握る重要な実施内容であり、実海域サイトを安定的・効率的に運用し、データ、微生物を分離する目標設定は適切。</li> <li>・ 研究項目④-1の実海域生分解試験法における、微生物の観点での適切性の確認はISO提案時の各国理解を得るために重要であり、目標設定は適切である。</li> </ul>
④-3 深海底での生分解の確認	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 4箇所以上の底泥試料対象</li> <li>・ 4種類の樹脂の嫌気生分解能を検証</li> <li>・ 優占菌の存在量比を明らかにし、その系統分類学上の特徴付けを行う</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 国際標準化に使用可能な岸壁分解度と深海分解度の換算式、BOD分解度と上記2つの環境分解度の換算式を提示。</li> <li>・ 付着微生物の同定、DNA解析を行い、国際標準化に用いる微生物カクテルの作製を支援。</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 深海での生分解の状況がわかっていない。</li> <li>・ 深海の生分解結果と実験室内の生分解結果の相関と明らかになっていない。</li> <li>・ 深海での生分解に係わる微生物がわかっていない。</li> </ul>

64/85



## 2. 研究開発成果 (1) 目標の達成度及び見通し

### ◆研究項目毎の目標と達成状況

研究項目(4):実海域におけるデータ収集、簡易生分解(崩壊度)試験法の開発

研究項目(4-1):簡易試験法の開発と生分解データの収集、研究項目(4-2):実験室試験の課題確認、仮説検証、及び標準化根拠形成のための実海域微生物及び関連データの収集、研究項目(4-3):深海実験の結果を基軸とした評価法の開発

#### 【中間目標】

- ① 実海域海水浸漬簡易試験法の提案
- ② 上記手法で浅深度で試験を実施し、問題点の洗い出し、改良を行う
- ③ 試料表面の微生物データの蓄積(→項目③-1、③-2との連携)
- ④ 3種以上の樹脂を用いてラボ試験法と実環境試験との相関性を明確にする。
- ⑤ ISO提案を検討する。
- ⑥ 実海域の浅い海域におけるサンプルの設置と回収、その分解状況の解析、サンプル表面の微生物の解析
- ⑦ 深海へのサンプルの設置と回収、その分解状況の解析、サンプル表面の微生物の解析

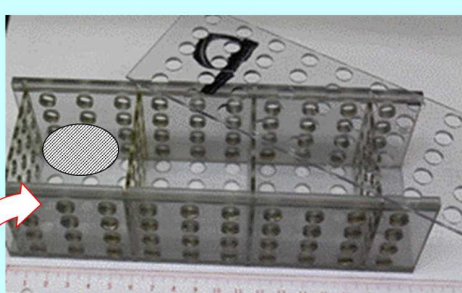
	成果	達成度	今後の課題	解決方針
①	実海域海水浸漬簡易試験法を開発し、ISO新規提案、可決した。	○	なし	なし
②	上記手法で浅深度で試験を実施し、問題点の洗い出し、改良を行った。	○	データの蓄積	実験の継続
③	項目③-1、③-2と連携し、標試料表面の微生物データの蓄積を行った。	○	データの蓄積	実験の継続
④	3種以上の樹脂を用いてラボ試験法と実環境試験との相関性を明確にした。	○	実環境は季節その他の条件で変動するので継続的なデータ収集が必要。	データの蓄積
⑤	実海域海水浸漬簡易試験法をISO予備提案した後、NP原案を提出、投票によりアクセプトされ、本格審議が始まることが決まった。	◎	ISO WGでは様々な技術的意見が提出されており、その対応が必要。	丁寧な対応と必要なデータの補完。
⑥	サンプルの設置・回収、分解状況の解析、微生物の解析を行った。	△ (年度末)	データの蓄積	実験の継続
⑦	サンプルの設置・回収、分解状況の解析、微生物の解析を行った。	△ (年度末)	データの蓄積	実験の継続

65/85


## 2. 研究開発成果 (2) 成果の詳細

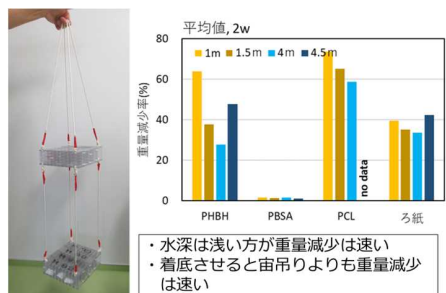
### ④-1:実海域におけるデータ収集、簡易生分解(崩壊度)試験法の開発

#### 海中に浮遊した状態の再現



自由に動ける空間を確保して試料をセット



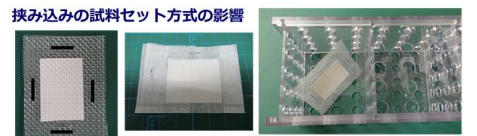
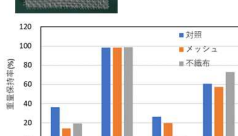


浸漬深さの影響

- 水深は浅い方が重量減少は速い
- 着底させると宙吊りよりも重量減少は速い

ISO予備提案から NP16636としての 本格審議へ

#### 挟み込みの試料セット方式の影響

試料フィルム挟み込みの影響  
そのまま浸漬する(対照)よりも、挟み込み方が重量減少は速い。  
ろ紙の対照データが小さいのは漏壊のため？

試料流出を防ぐ工夫

#### 膜厚の影響と評価軸の検討

膜厚 (μm)	重量減少率 2w, (%)	膜厚減少量 (μm)	膜厚の減少速度 (μm/day)
<b>PHBH</b>			
27	64.0	17.2	1.2
93	22.0	20.5	1.5
197	9.1	18.0	1.3
<b>PCL</b>			
40	73.7	29.2	2.1
99	40.8	40.3	2.9
196	30.3	59.5	4.2

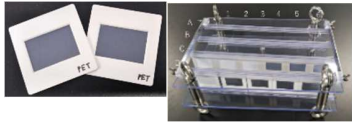
66/85

## 2. 研究開発成果 (2) 成果の詳細

### 【研究項目④-2】

#### 実海域でのバイオフィルム試料及び崩壊度、環境データの取得 (4地域、2深度、6種の素材)

- 上市済み海洋生分解性候補樹脂フィルム
- PHBH (poly(3-hydroxy-butylate-co-3-hydroxyhexanoate))
- PBSA (polybutylene succinate adipate)
- PCL (polycaprolactone)
- PGA (polyglycolide)
- ネガティブコントロール
- PET (polyethylene terephthalate)
- PLA (polylactide)

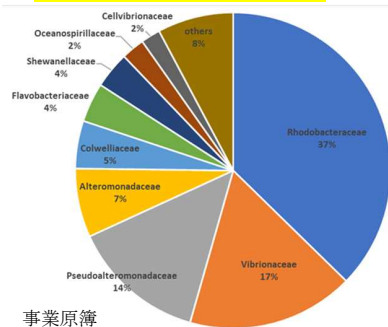


#### 4地域の実海域における各種素材の崩壊度の傾向



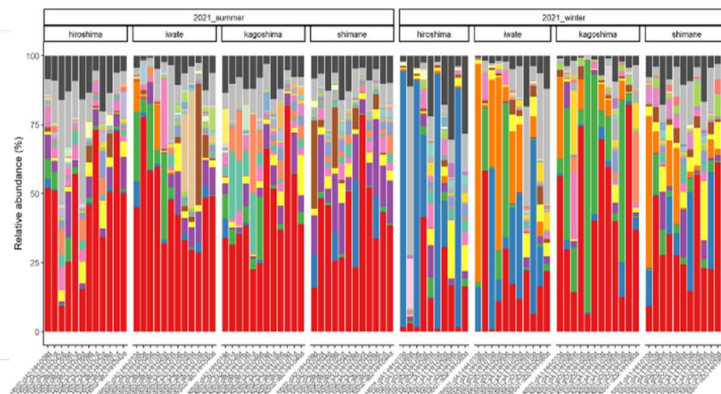
事業原簿 III-129

#### 実海域素材バイオフィルムからの分離株の分類群の傾向



事業原簿 III-130

#### 実海域における素材付着菌叢のメタ16S分析の傾向

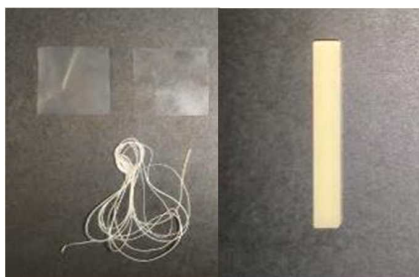


事業原簿 III-131

67/85

## 2. 研究開発成果 (2) 成果の詳細

### 研究項目④-3 実海域におけるデータ収集、簡易生分解(崩壊度)試験法の開発 (深海実験の結果を基軸とした評価法の開発)



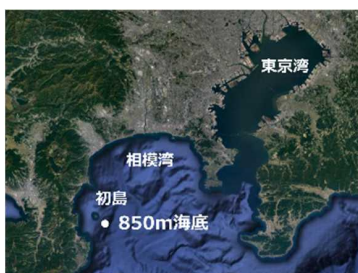
生分解性プラスチック



左上サンプルホルダー (9室)  
海水、底泥が通る穴 (2x8)



サメによる食害防止



静岡県初島沖850mに設置



有人深海探査船



設置4か月後のサンプル

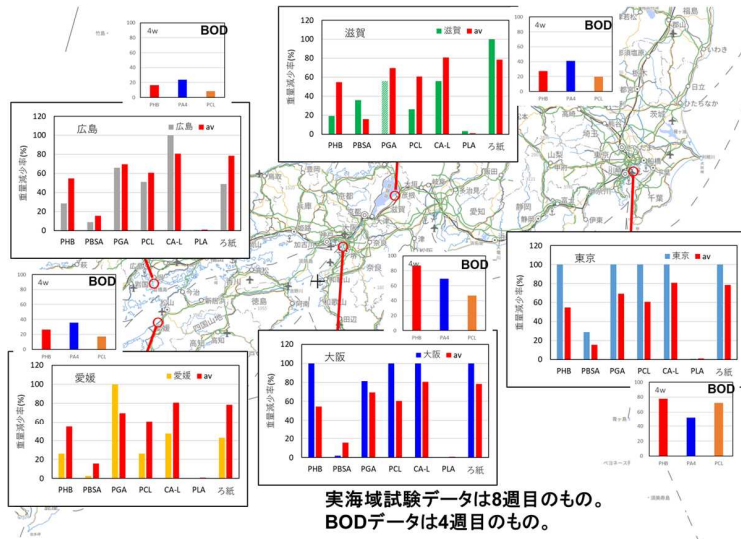
深海での生分解と実験室内及び簡易実海域生分解による結果の相関を解析  
実験室内及び簡易実海域生分解結果から深海での生分解を予測

68/85



## 2. 研究開発成果 (3) 成果の意義

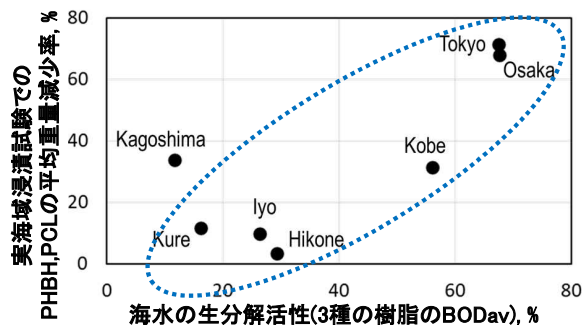
### 実海域、深海におけるデータ収集、簡易生分解(崩壊度)試験法の開発



全国各地での実海域試験での崩壊速度は異なるが、試験地点の海水の生分解活性と一定の相関がある。

ただし、その相関にも限界があり、実海域試験では、海水温等の環境因子の影響を受ける。

環境因子の定量的解析を進めることにより、各地点での分解予測が可能となる。



#### 意義

- ・ 実環境での分解の実証
- ・ 対象海域での生分解に要する、あるいは劣化するまでの期間の予測

- ・ 水産用資材への応用の際の重要な情報

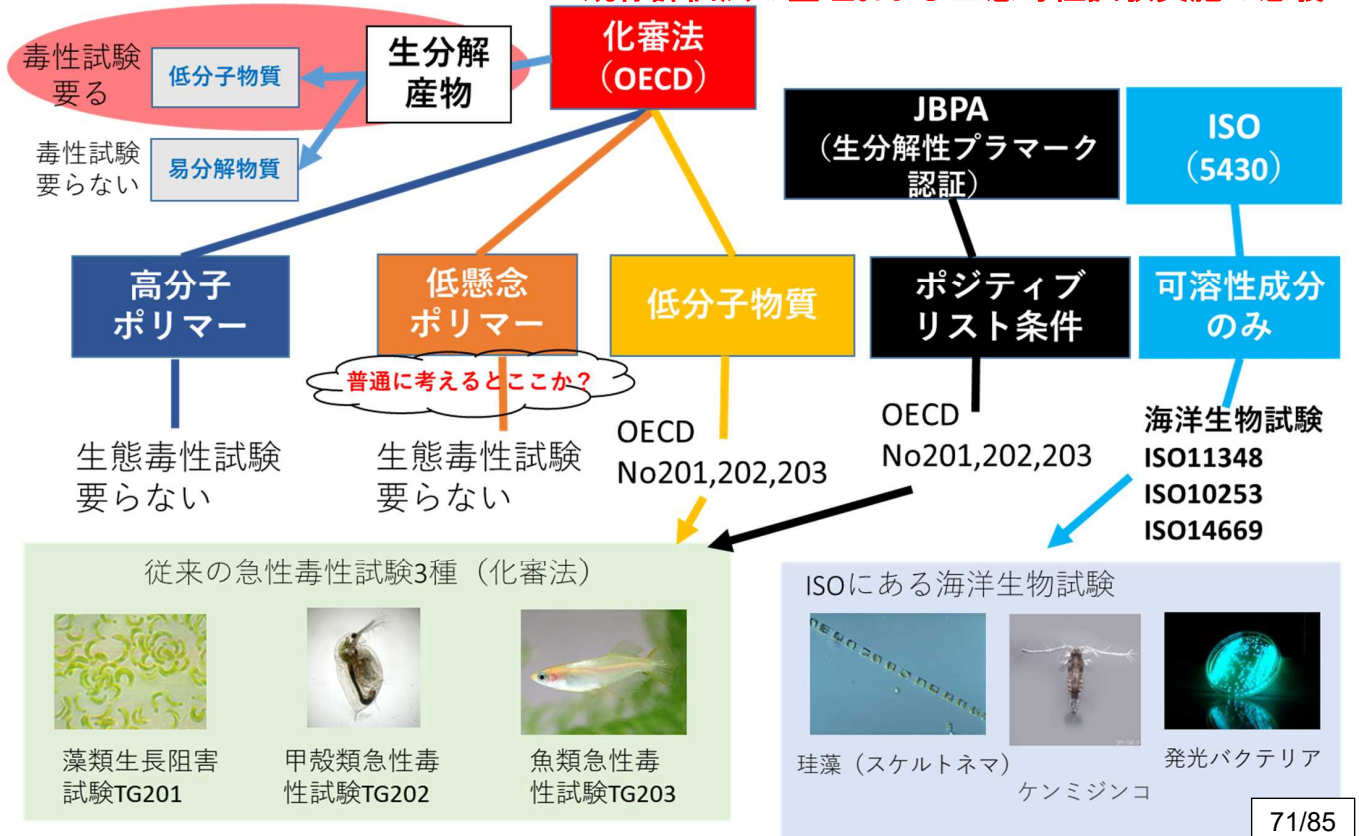
69/85

研究項目⑤ 生分解過程(マイクロプラスチック化等)の生態毒性評価法の開発  
(担当:愛媛大学)

70/85

新たな高分子材料である生分解性プラスチックに適用可能な生態毒性評価法の開発

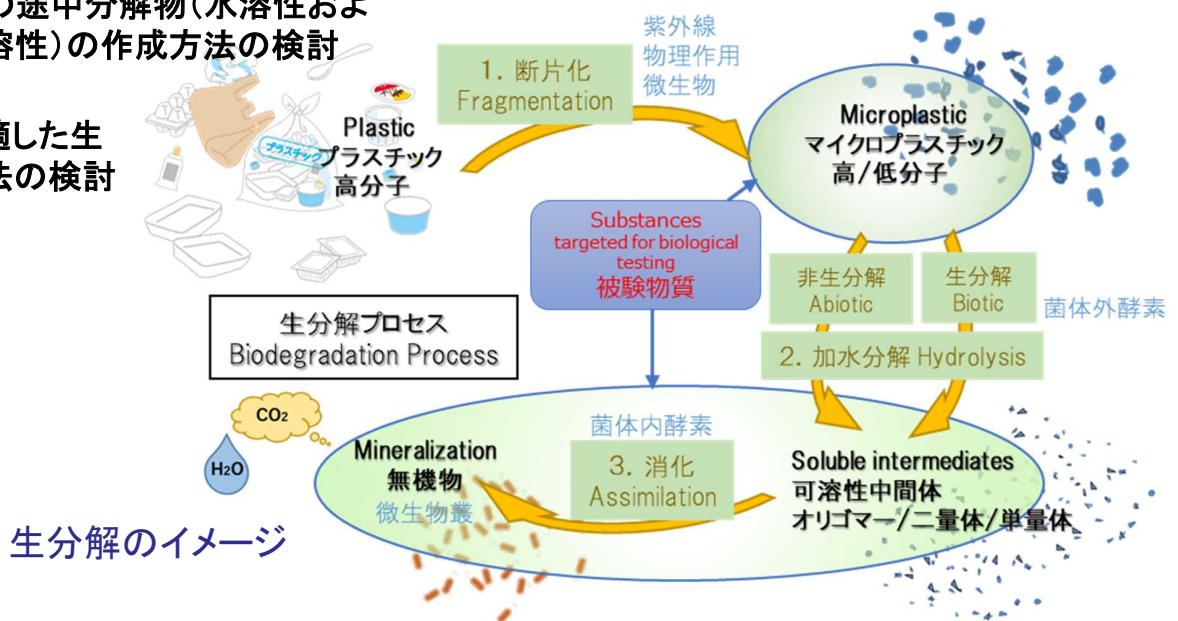
\* 既存評価法の整理および生態毒性試験実施の意義



1. 研究開発テーマの概要(2) 研究開発の全体概要

生分解の途中分解物(水溶性および難水溶性)の作成方法の検討

評価に適した生物試験法の検討



生分解性プラスチックは分子量が大きくて生物が体内に摂取できないため生態毒性は無いと考えられる。しかし分解途中で派生する物質は低分子で生態毒性を有する可能性がある。最終産物の無機物(水、二酸化炭素等)の毒性は考慮しない。よって毒性影響評価のためには、プラスチックを生分解させて途中分解物を得る必要がある。

課題; 途中分解物の迅速・定量的調整法。被験物質濃度の定量方法。

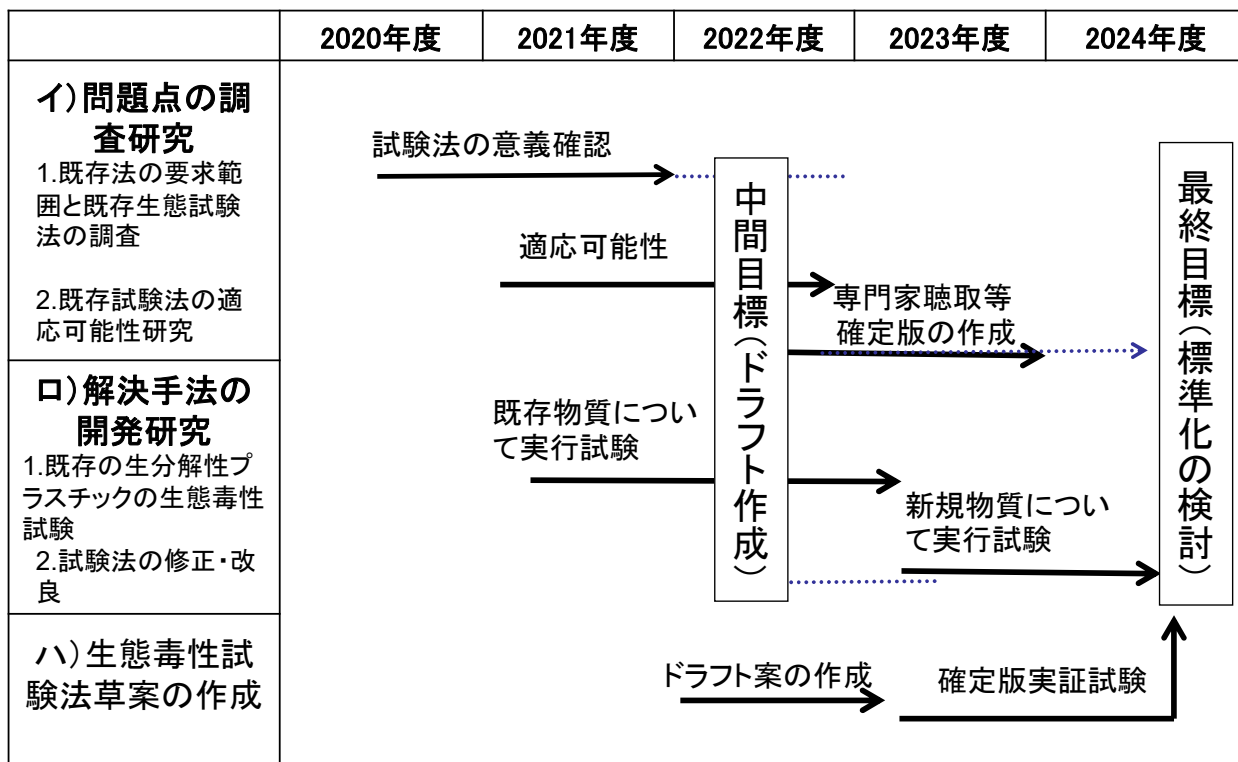


# 1. 研究開発テーマの概要 (4) 研究開発目標と根拠

研究項目	2022年度中間目標	2024年度最終目標	根拠
⑤ 生態毒性評価法の開発	<p><b>試験法の課題抽出、毒性試験の試行、および試験法草案の作成</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>生態毒性試験実施の意義を明確にし、試験実施上の課題を明らかにする</li> <li>注)ISO 5430では、50%生分解時の水溶性分解物のみを試験対象としている。</li> <li>分解まで半年かかる。分解物の定量、再現性に難あり。</li> <li>既存の試験法を生分解性プラスチックの評価に適用し有効性を確認する</li> <li>注)ISO 5430では、海産の魚類、甲殻類、プランクトン、バクテリア。</li> <li>試験法の原案を作成する</li> </ul>	<p><b>生分解性プラスチックに適用できる生態毒性評価手法の草案作成</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>サンプル前処理法などの課題について、調査し解決策を得る</li> <li>標準化提案に向けて必要な情報を実験的に取得する</li> <li>必要なバックグラウンドデータの取得</li> <li>国内・国外リングテストの実施</li> <li>その他、協力国、賛成国の確保等</li> <li>標準化手法の草案を作成する</li> <li>汎用性、妥当性、互換性、経済性などに留意し、必要事項を整理する</li> </ul>	<p>既存のISO生態毒性試験法は、試験期間が長くかかり、試験物質の濃度が非常に低い。</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>試験期間の短縮、生分解試験との同時測定が望まれる。</li> <li>既存生態毒性試験の実施結果がほとんど無い。</li> <li>使用する生物が日本で系統的に保存・管理されていないため、確実な実施が困難な状況。</li> <li>生態毒性試験の必要性も検討する必要あり。</li> </ul>

# 1. 研究開発テーマの概要 (5) 研究開発スケジュール 研究項目⑤生態毒性評価法の開発

## ◆研究開発のスケジュール



◆研究項目毎の目標と達成状況

研究項目：⑤生態毒性評価法の開発

【中間目標】試験法の課題抽出および原案の作成

イ)問題点の調査研究

1.既存法の要求範囲と既存生態試験法の調査、2.既存試験法の適応可能性研究

ロ)解決手法の開発研究

1.既存の生分解性プラスチックの生態毒性試験、2.試験法の修正・改良

ハ)生態毒性試験法草案の作成

	成果	達成度	今後の課題	解決方針
イ	生分解プラスチックの途中分解物について生態影響試験を実施する必要があると考えられる。 化審法で使われている試験方法を一部改良して生分解性プラスチックに適用し、影響評価に用いることができた。 ドイツ提案の海洋生分解性プラスチックの生態影響に関するISO(ISO5430)の成立に協力した。	○	実施可能で再現性の良い途中分解物の作成方法について、さらに検討を続ける	他の研究開発項目の成果、意見等を交換し、それらを参考に開発する。
ロ	途中分解物の調整法、および測定法について、迅速・定量的にできる方法を検討した。継続して検討を行う。 現行の毒性試験に使われている。ミジンコ、メダカについて生分解性プラスチックの毒性試験を行った。	○	途中分解物の調製に時間がかかり、生物影響の再現性も高くない。分解物の定量法を確立する。	他の研究開発項目の成果、意見等を交換し、それらを参考に開発する。
ハ	試験法の原案を作成し、その妥当性を確認する	△ 達成見込み時期 (2023年2月)	未解決部分は保留または複数の提案を記載して実行可能なドラフト版を作成する。 実証試験を粉う。 被験サンプルを入手する	ドラフト版について生態毒性試験の専門家の意見を聴取し、偏りのないものを作成する。

75/85

①生分解の途中分解物(水溶性および難水溶性)の作成方法の検討

生分解プラの分解産物の生態毒性試験は重要であるが、その分解産物調製には時間がかかり、再現性や汎用性などの点で問題が生じることが分かった。分解程度を推定するために粒度分布を測定する装置を入手した。

今後、当プロジェクトの研究項目①(分解加速試験)や②(生分解メカニズム解明)などの進捗情報を参考にして、分解時間短縮や分解産物を推定した分解物調製など、様々な角度から被験サンプルを試してみる。

②評価に適した生物試験法の検討

生分解性プラの生態毒性に特殊性(他の化学物質にはない毒性作用)があるか確認したが、そのような報告はない。よって、現行の急性3種を用いた試験は適用可能と考えている。ミジンコおよびメダカ試験を実施したが問題なかった。

ISOの5430では海生生物を導入しているが、データ互換性を考慮し、化学物質の安全性評価試験は淡水生物での試験を考える。淡水での試験法を作ったのちに必要ならば海水生物の試験も考慮する。

①、②を踏まえて2023年2月までに生態毒性試験法の原案を作成する

76/85

我が国の現行の化学物質管理(化審法)の中に、生分解性プラスチックのような良分解と難分解の中間の性質を有するような性質の新規化学物質に関する記載がない。よって現時点で生態毒性試験の必要性は不明であるものの、化学物質の取り扱いに対して安全側の立場から、生態毒性試験法を標準化し、毒性データを得ておくことは、国民にとってだけでなく、製造業者にとっても有益であると考えられる。

我々のプロジェクト開始と相前後して、ドイツ・中国共同提案で以下のISOが提案されているが、それは必ずしも我が国の状況に適した手法では無いと考えられるため、本事業でISO5430よりも優位な手法の開発を目指す必要がある。

ISO/DIS 5430 海洋環境中で意図的に使用される製品中の生分解性プラスチック材料の可溶性分解中間体の海洋生態毒性試験法(2020年ドイツ・中国共同提案)

	ISO5430	我々の提案
被験対象	可溶性物質についてのみ試験対象とする 製品の試験	分解産物についても生態毒性試験を考慮する 材料の試験
試験生物と試験方法	海生生物(魚類、甲殻類、藻類、バクテリア)国外種 既存の試験法(OECDTGとほぼ同じ) ISO11348、ISO10253、ISO14669など	化審法、ポジティブリストで使用されている生物種を中心に考える 標準試験法を改良(OECDTG)

77/85

研究項目⑥ 海洋生分解性プラスチック材料の導入による海洋プラスチック  
低減効果の推定  
(担当:産総研)

78/85

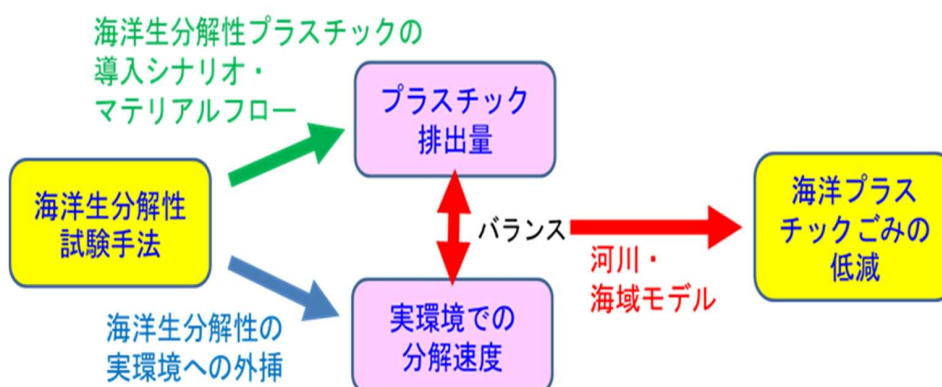
【背景】

プラスチックの海洋生分解性試験手法が確立した場合も、それだけでは海洋プラスチックごみの低減がもたらされるわけではない。海洋生分解性プラスチックの導入・普及の程度や、生分解性試験をクリアしたプラスチックの実環境での分解を評価することが必要である。また、試験方法の設計や、材料開発の方向性によっては海洋プラスチックごみの分解と海洋マイクロプラスチックの生成はトレードオフとなる可能性もあるため、両者を合わせて考慮していく必要がある。

【目的】

海洋生分解プラスチックと被代替プラスチックのフローと排出量を推定し、モデル解析によって海洋プラスチック低減の評価を行う。具体的には、代替と被代替の対象プラスチックの廃棄量と環境中への流入量を定量化する。海洋生分解性プラスチックへ適用可能な河川・海域モデル構築、海洋生分解性試験の実環境への外挿手法の構築を行い、プラスチック製品に海洋生分解性を付加することによる海洋プラスチック低減効果(海洋プラスチックごみ及びマイクロプラスチック)を定量化する。

1. 研究開発テーマの概要(2) 研究開発の全体概要



本研究では、海洋生分解性プラスチックへの代替動向を整理し、海洋生分解性プラスチックの導入シナリオを作成するとともに、海洋生分解性プラスチックの製造から廃棄までのマテリアルフロー解析手法を構築する。そして、海洋生分解性プラスチックと被代替プラスチックの国内フローと環境中への排出量を推定する。

海洋生分解性プラスチックへ適用可能な河川・海域モデル構築、海洋生分解性試験の実環境への外挿手法の構築を行い、プラスチック製品に海洋生分解性を付加することによる海洋プラスチック低減効果(海洋プラスチックごみ及びマイクロプラスチック)を定量化する研究を行う。河川・海域のモデル構築では、プラスチックの移流拡散、沈降・再浮上、生分解等の動態メカニズムを反映させる。

とくに実環境での分解の評価については、海洋生分解性試験手法の構築にかかるサブテーマと連携して行う。



# 1. 研究開発テーマの概要 (4) 研究開発目標と根拠

研究項目	2022年度中間目標	2024年度最終目標	根拠
(イ) 海洋生分解性プラの導入シナリオ作成	海洋生分解プラの導入シナリオの作成		海洋生分解性プラの低減効果をモデル解析シナリオを作成するためには、各種製品に対し、海洋生分解性プラの現実的な導入可能性を検討する必要がある。
(ロ) マテリアルフロー解析手法構築	海洋生分解プラスチックのマテリアルフロー解析手法を構築する。具体的には、3つ以上の処分方法パラメータを有するプラスチックの環境中への流入フロー推定手法を作成する。		廃棄処理段階において、ごみ収集、ポイ捨て、投棄等の処分方法パラメータを想定。
(ハ) 海洋生分解プラと被代替プラのフローと排出量推定		海洋生分解プラスチックと被代替プラスチックのフローと排出量を推定する。具体的には、代替と被代替の対象プラスチックの廃棄量と環境中への流入量を定量化する。	海洋生分解プラ代替による低減効果を明らかにするために、代替vs非代替の変化を定量化。
(ニ) 海洋生分解性プラへ適用可能な河川・海域モデルと分解性試験結果の実環境への外挿手法を構築	海洋生分解プラへ適用可能な河川・海域モデルと分解性試験結果の実環境への外挿手法を構築する。具体的には、構築した改良モデルによる解析結果を河川モデル、海域モデルにおいて、それぞれ1つ以上提示する。		分解性試験結果の実環境への外挿による分解速度等をパラメータ化し、河川・海域モデルの解析を実施。
(ホ) 分解性試験結果の実環境への外挿手法の構築	実海域での生分解速度を推定することができ、河川・海域モデルに適用可能な推定式の雛形を構築する。		生分解試験による生分解速度関連データを、河川・海域モデルが持つパラメータと対応させる必要がある。
(ヘ) モデル解析によるプラ低減の評価		モデル解析によって海洋プラスチック低減の評価を行う。具体的には、2つ以上のシナリオについて海洋プラスチックのモデル解析を行い、低減の評価を実施する。本プロジェクトで開発される試験方法で生分解性と判定されるプラスチックの導入が、海洋プラスチックの低減に及ぼす効果についての情報を提供することで、当該試験方法の有用性を示し、国際標準化を支援する。	上記(ハ)の結果に基づき、海洋生分解プラ代替、非代替のシナリオシミュレーションを実施し、低減の効果を提示。

81/85

# 1. 研究開発テーマの概要 (5) 研究開発スケジュール

## ◆ 研究開発のスケジュール

	2020年度	2021年度	2022年度	2023年度	2024年度
(イ) 海洋生分解性プラの導入シナリオ作成		代替可能性調査	導入シナリオ作成		
(ロ) マテリアルフロー解析手法構築	プラ出荷量データ作成	環境流入起源特定	環境流入フロー推定手法作成		
(ハ) 海洋生分解プラと被代替プラのフローと排出量推定				廃棄量定量化	フロー・排出量定量化
(ニ) 海洋生分解性プラへ適用可能な河川・海域モデルの構築	モデル改良方針検討	改良モデルによる解析結果例提示			
(ホ) 分解性試験結果の実環境への外挿手法の構築	文献調査	パラメータ抽出	雛形構築		
(ヘ) モデル解析によるプラ低減の評価				モデル妥当性評価	プラ低減の評価

82/85

## 2. 研究開発成果 (1) 目標の達成度及び見通し

### ◆研究項目毎の目標と達成状況

研究項目:⑥

【中間目標】

(イ)海洋生分解性プラの導入シナリオ作成

海洋生分解プラの導入シナリオの作成

(ロ)マテリアルフロー解析手法構築

海洋生分解プラスチックのマテリアルフロー解析手法を構築する。具体的には、3つ以上の処分方法パラメータを有するプラスチックの環境中への流入フロー推定手法を作成する。

(二)海洋生分解性プラへ適用可能な河川・海洋モデルの構築

海洋生分解プラへ適用可能な河川・海域モデルと分解性試験結果の実環境への外挿手法を構築する。具体的には、構築した改良モデルによる解析結果を河川モデル、海域モデルにおいて、それぞれ1つ以上提示する。

(ホ)分解性試験結果の実環境への外挿手法の構築

実海域での生分解速度を推定することができ、河川・海域モデルに適用可能な推定式の雛形を構築する。

	成果	達成度	今後の課題	解決方針
(イ)海洋生分解性プラの導入シナリオ作成	用途別の海洋生分解性プラスチックへの代替可能性を技術・品質の観点からまとめた。	△ (年度末)	海洋生分解プラの導入される可能性が高い製品を抽出し、製品形状、使用方法、代替前後のプラ種類などの導入シナリオを設定する。	
(ロ)マテリアルフロー解析手法構築	容器包装用途プラスチックの樹脂別・用途別廃棄量データを作成した。 <b>廃プラスチックの投棄・ポイ捨て後の河川・海域へ流入する部分のモデル化を行った。</b>	△ (年度末)	河川沿いのごみ収集、ポイ捨て、不法投棄の各場所へのプラスチックの廃棄後、降雨での水位上昇による河川への廃プラスチック流入モデルを構築する。	
(二)海洋生分解性プラへ適用可能な河川・海洋モデルの構築	開発中の海洋生分解性プラスチック運命予測モデルの検討のため、生分解や沈降の有無による解析を実施した。 <b>海域モデルの東京湾の有機懸濁物質や栄養塩のデータベースを更新した。</b>	△ (年度末)	海洋生分解性プラスチックへ適用可能な河川・海域モデルを構築し、仮定の海洋生分解性プラスチックの導入シナリオによるモデル解析結果を提示する。	解析、モデル更新の継続
(ホ)分解性試験結果の実環境への外挿手法の構築	生分解度試験及び崩壊度試験のデータを解析することで、実環境での生分解速度を外挿するために用いるパラメータ(水温、プラ形状)を抽出した。	△ (年度末)	河川・海域モデルに適用可能な、プラスチック製品の形状と水温を考慮した、実海域での生分解速度の推定式を構築する。	

達成度：◎大きく上回って達成、○達成、△達成見込み、×未達

83/85

## 2. 研究開発成果 (2) 成果の詳細

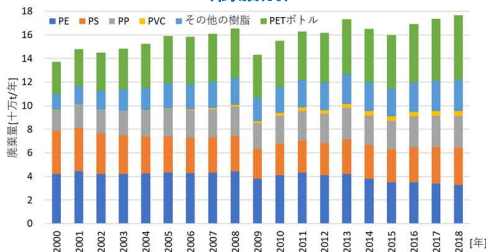
(イ) 海洋生分解性プラスチックの適用可能性調査を行い、河川海域モデルでの解析対象製品として、①被覆肥料カプセル、②ゴミ袋・レジ袋を抽出した。

(ロ) 海洋生分解性プラスチックの導入シナリオにおいて重要な、民生利用容器包装プラスチックに対してマテリアルフロー解析を行い、樹脂別・用途別廃棄量を推定した(下図左)。

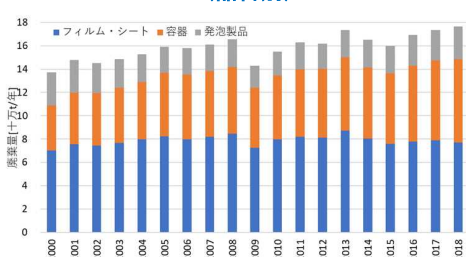
(二) 既存の河川モデル(AIST-SHANEL)および海域モデル(AIST-RAMTB)を海洋生分解性プラスチックに適用できるように改良し、生分解や沈降の有無による解析を実施した(下図中、右)。

(ホ) 生分解度試験及び崩壊度試験のデータを解析することで、実環境での生分解速度を外挿するために用いるパラメータ(水温、プラ形状)を抽出した。

(樹脂別)



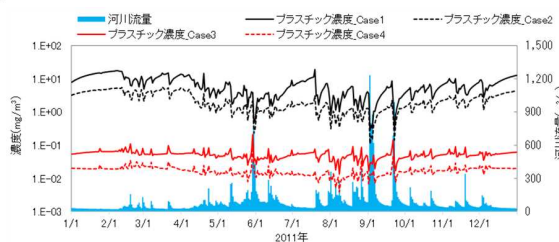
(品目別)



民生利用容器包装プラスチックの廃棄量推定結果

河川・海域モデル解析における  
生分解・沈降の計算条件

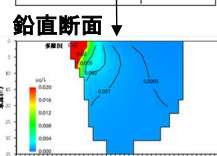
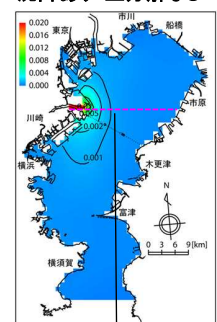
Case	沈降	生分解
1	なし	なし
2	なし	あり(半減期:5 day)
3	あり	なし
4	あり	あり(半減期:5 day)



河川モデルによる河川水中プラスチック濃度変化(多摩川)

Case3

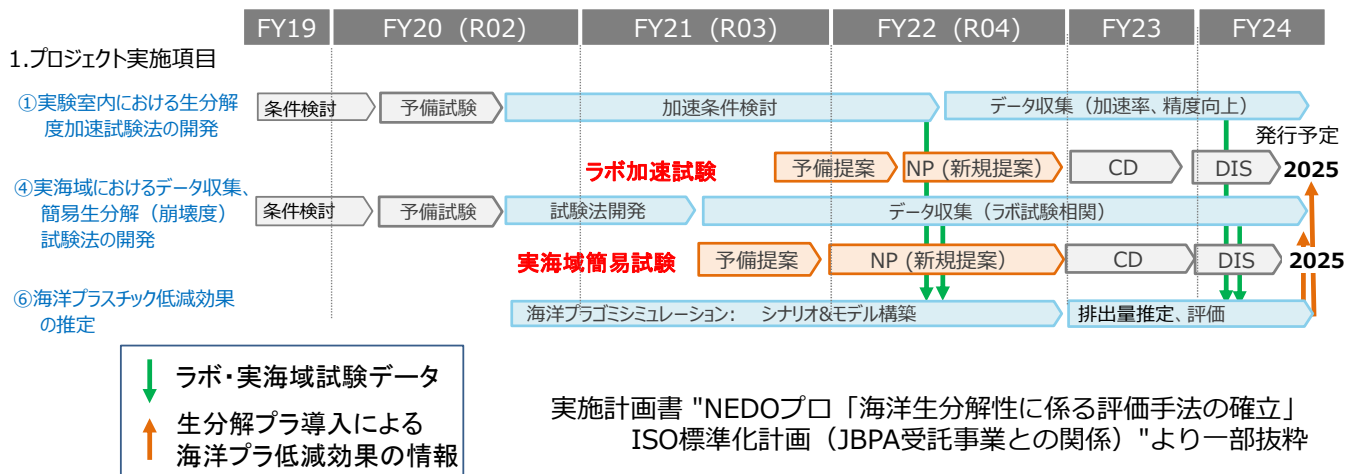
沈降あり・生分解なし



海域モデルによる海水中プラスチック濃度分布(東京湾、Case3のみ)

84/85

### 国際標準化スケジュールと研究項目⑥との関係



- 本プロジェクトで開発される試験方法で生分解性と判定されるプラスチックの導入が、海洋プラスチックの低減に及ぼす効果についての情報を提供する。
- それにより、当該試験方法の有用性を示し、国際標準化をサポートする。
- 試験条件 (試験期間、サンプル形状) の妥当性情報を提供する。
- 海洋生分解性材料の海洋プラスチック低減効果を明確化することにより、市場導入を促進する。