

# マイクロプラスチックの継続摂取が食塩嗜好性および体内動態に及ぼす影響

清水 宗茂

東海大学海洋学部水産学科

## 概要

近年、マイクロプラスチック(MP)の継続摂取は酸化ストレスを増加させ、炎症や脂質代謝異常等を誘発することが明らかとなっている。我々は、ラットに粒径の異なるMP添加食を摂取させたところ、粒径が小さな50 $\mu\text{m}$ のMPを摂取した場合、粒径200 $\mu\text{m}$ と比べてより多くのMPが消化管中に残存することを明らかにしてきた。これより、微小なMPを継続摂取した場合、酸化ストレスが誘発しやすい条件となるため、食塩嗜好性が高まる可能性が考えられるが、本仮説に対する報告は認められていない。またMPを摂取する際に、食塩をあわせて摂取することが、MPの体内動態(糞中へのMPの排泄)にどのような影響を及ぼすのかについての知見も認められていない。そこで本研究では、MPを摂取することにより、食塩嗜好性が高まるのかを明らかにすること、さらに、食塩を摂取することが、MPの体内動態に影響を及ぼすのかを明らかにすることを目的とした。

### 1. 食塩嗜好性実験

精製水と低濃度食塩水(75 mM NaCl 溶液)を2瓶選択するL群および精製水と高濃度食塩水(300 mM NaCl 溶液)を2瓶選択するH群を設け、それぞれ9日間にわたり自由摂取させた。なおいずれの群も、食餌はAIN-93M食に平均粒径50 $\mu\text{m}$ のポリエチレン粒子を添加したMP添加食を摂取させた。その結果、L群では期間を通じて飲水量が同程度であったのに対して、H群では全ての時点で精製水が食塩水の2倍以上の飲水量を示した。

### 2. 糞中へのMP排泄実験

精製水または高濃度食塩水(300 mM NaCl 溶液)を飲水として与えるとともに、MP添加食を9日間継続摂取させた。摂取したMP数および糞中MP数をもとに、糞中へのMP排泄率を経日的に分析した。その結果、MP添加食摂取0-72時間および0-120時間において、高濃度食塩水摂取が精製水摂取に比べてMP排泄率の増加が認められた。本実験では、個体数が少ないこと、消化管中に残存するMPの分析には至っていないことから、更なる検討が必要と思われた。

## 1. 研究目的

現代社会において、軽量・頑丈・安価なプラスチック製品は工業製品や化学製品等のあらゆる分野で活用されており、ヒトが日常生活を営むうえで不可欠な存在となっている。プラスチックは、モノマーを原料として付加重合または縮合重合した高分子化合物であり、構造の違いからポリエチレン(PE)、ポリスチレン(PS)、ポリプロピレン(PP)など多種多様である<sup>1)</sup>。プラスチックゴミの発生量は増加の一途にあり、2019年では、世界全体で3億5300万t、そのうち海への流出は170万t、水環境全

体では610万tに登ると報告されている<sup>2)</sup>。さらに、世界全体で河川には1億900万t、海洋中には3000万tのプラスチックが堆積しているとの報告<sup>2)</sup>もあり、深刻な問題である。

海洋に流入したプラスチックゴミは、物理的作用や光分解などの作用により、徐々に小さな破片に分解されてゆくが、プラスチックの構造安定性から、環境中に数百年あるいは数千年にわたり存在することが示唆されている<sup>3)</sup>。2008年にはアメリカ海洋大気庁の国際ワークショップにおいて、大きさが5mm以下のプラスチックをマイクロプラス

チック(MP)とすることが決議され、広く関心が寄せられるようになった<sup>4)</sup>。

MPのうち、洗顔料・歯磨き粉中にスクラブ剤として利用されるプラスチックは一次MPと呼ばれ、主に家庭の排水溝などから下水処理を経て、海へと流出している<sup>5-6)</sup>。一方で、二次MPは、ポリビニール袋、ペットボトルやタバコのフィルターなどが、紫外線や波動などの影響で細片化されるプロセスを経て形成されるプラスチック粒子であり、海洋中で大量に産生されるだけでなく、海洋生物への影響も危惧されている<sup>7-13)</sup>。田中らは、東京湾で採取されたカタクチイワシの消化管に存在するMPを分析した結果、約8割の個体から様々な種類のMPが存在したことを報告している<sup>14)</sup>。

最近では、ヒトの場合1人あたり、1年間で約10万個以上のMPを摂取していること、日本人を含むヒトの便中にMPが存在すること<sup>15)</sup>、肉眼では識別できない微小なMPの場合、消化管より吸収されたMPがさまざまな組織に蓄積していること<sup>16-17)</sup>が明らかとなっている。

MPの経口摂取源として、食品中に存在するMPへの関心が高まっている。海外の報告では、MPの存在は水産資源に留まらず、ミネラルウォーターや缶詰など、あらゆる食品に存在することが明らかとなっている<sup>18-30)</sup>。我々は、駿河湾に生息する食用魚の消化管や海水から製造される国産食塩に大きさが50~500 $\mu\text{m}$ 程度のMPが存在すること<sup>31)</sup>を確認しており、日本人も日常的に食事を通じてMPを摂取していると考えられる。

*In vivo*の研究では、MPの継続摂取は酸化ストレスを増加させ、炎症や脂質代謝異常等を誘発することが明らかとなっている<sup>9-11)</sup>。我々はこれまで、ラットに粒径の異なるMP添加食を摂取させたところ、粒径が小さな50 $\mu\text{m}$ のMPを摂取した場合、粒径200 $\mu\text{m}$ と比べて、より多くのMPが消化管中に残存してしまうことを明らかにしている。これより、微小なMPを継続摂取した場合、酸化ストレスが誘発しやすい条件となるため、食塩嗜好性が高まる可能性が考えられるが、本仮説に対する報告等は認められていない。また、MPを摂取する際に、食塩をあわせて摂取することが、MPの体内動態(糞中へのMPの排泄)にどのような影響を及ぼすのかについての知見も認められていない。

そこで本研究では、MPを摂取することにより、食塩嗜好性が高まるのかを明らかにすること、さらに、食塩を摂取することが、MPの体内動態に影響を及ぼすのかを明らかにすることを目的とした。

## 2. 研究方法

### 2.1 実験動物

実験動物は、「東海大学動物実験規定」に基づき、承認を受けたのち、実施した(承認番号241074)。Sprague-Dawley(SD)系、雄性ラット、8週齢を購入後、個別ケージにて飼育した。室温 $23 \pm 3^\circ\text{C}$ 、湿度 $50 \pm 10\%$ 、8:00~20:00を明期とする12時間の明暗サイクルに設定された、動物実験飼育室にて実施した。

### 2.2 実験食

食餌は、AIN-93Mの基本食またはAIN-93M1kgに対して、平均粒径50 $\mu\text{m}$ のポリエチレン(PE)粒子(Cospheric社製:BLPMS-1.00,  $1.623 \times 10^7$ 個/g)を、0.0108g添加したMP添加食を用いた。

### 2.3 食塩嗜好性実験

個別ケージに移したラット18匹を用いて、8日間にわたりAIN-93Mの基本食にて飼育した。その間、1ケージにつき、精製水を入れた給水瓶を2瓶用意し、ケージの左右にセットした。毎日の総飲水量に対して、2瓶の飲水量が同程度で推移したラットのみを本実験に用いることとした。

選抜された12匹について、体重をもとに2群に群分けした。すなわち、精製水と低濃度食塩水(75mM NaCl溶液)を自由摂取する群(L群)および精製水と高濃度食塩水(300mM NaCl溶液)を自由摂取する群(H群)を設けた( $n=6$ )。群分け後の食餌は、MP添加食に変更し、9日間にわたり自由摂取とした。

さらに、L群では、75mM NaCl溶液および精製水の2瓶、H群では、300mM NaCl溶液および精製水の2瓶をケージごとに場所を固定し、自由摂取させた。摂餌量およびそれぞれの飲水量は毎日、体重は2日に1回測定した。

### 2.4 糞中MP分析法の確立

馴化期間内にAIN-93M食にて飼育したSD系ラットの糞を、インナーシート上に回収し、 $-80^\circ\text{C}$ にて冷凍保存した。後日、 $-25^\circ\text{C}$ の冷凍庫に移し、室温下で自然解凍後、糞40mgを精秤し、ポリエチレン(PE)製MP

(Cospheric 社製:BLPMS-1.00, 粒径 45~53  $\mu\text{m}$ ) 粒子を 35~50 個, 正確に添加した。蒸留水 135 ml に水酸化カリウム(富士フィルム和光純薬(株)社製) 15 g を溶解することで作製した 10% KOH 溶液に, 上述で MP を添加した糞を全量添加した。ホットスターラー(アズワン(株)社製 RSH-1DN)を用いて 60°C, 24 時間の攪拌を行い, 吸引ろ過により, PTFE メンブレン (Omnipore™ 5  $\mu\text{m}$   $\times$   $\phi$ 47 mm) 上にすべての MP 粒子を回収した。その後, クリーンベンチ内にて一晩, 室温下でメンブレンを乾燥後, LCD デジタルマイクロSCOPE DIM-03(アルファミラージュ(株)社製)にて MP 粒子数を計測した。なお, MP 回収率は次式により算出した。

$$\text{MP 回収率(\%)} = A / \text{MP 添加数(個)} \times 100$$

A:MP 計測数(個)

## 2.5 糞中への MP 排泄実験

個別ケージに移したラット 6 匹は, 9 日間にわたり AIN-93M 食にて飼育した。その後, 体重をもとに 2 群に群分けし, 代謝ケージに移動した。群構成は, 精製水群(W 群)および食塩水群(S 群)とした( $n = 3$ )。

群分け後の食餌は, MP 添加食に変更し, 9 日間にわたり給餌した。なお, 給餌量はラット 1 匹につき 1 日あたり 19 g の制限食とした。W 群には, 300 mM NaCl 溶液, S 群は精製水をそれぞれ自由摂取させた。摂餌量, 飲水量, 糞重量は毎日, 体重を 2 日に 1 回測定を行った。

MP 添加食摂取 4 日目以降にて採糞, MP 添加食摂取 6 日目以降にて採尿を行い, 尿量を測定した。最終日にイソフルラン麻酔科にて解剖に供し, 腹大静脈より採血後, 心臓, 肝臓, 腎臓, 消化管, 内臓脂肪を採取し, それぞれの重量測定をした。

後日, 凍結保管していた糞を解凍後, 10%水酸化ナトリウム溶液中にて 60°C, 24 時間の攪拌を行い, 吸引濾過によりメンブレン上に全ての MP 粒子を回収し, クリーンベンチ内にて一晩, 室温下で乾燥した。その後, LSD デジタ

ルマイクロSCOPE DIM03(アルファミラージュ社製)にて, MP粒子数を計測した。摂餌量をもとに摂取した MP 数, 糞中 MP 分析より糞中に排泄された MP 数をもとに, MP 排泄率を経日的に求めた。

また, 回収した糞および尿を用いて, それぞれの検体中に含まれるナトリウムおよびカリウム濃度を高周波誘導結合プラズマ発光分光分析装置にて測定した。

## 2.6 データ解析

データは, 平均値 $\pm$ 標準誤差(SE)で示した。平均値の差の検定は, 対応のない t 検定により行い, 有意水準は 0.05 とした。

## 3. 研究結果

### 3.1 食塩嗜好性実験

群分け後からの体重変化を示した(Fig. 1)。両群ともに経日的に増加し, 群間差は認められなかった(9 日目の体重: L 群 370.3 $\pm$ 4.5 g, H 群 363.9 $\pm$ 3.1 g)。

摂餌量については, いずれの群においても 19.0 g/rat/day であり, MP 摂取により摂餌量の低下などは認められなかった。

L 群における飲水量変化を Fig. 2 に示した。群分け直後の day 1 において, 食塩水が精製水と比べて高値を示したが, 以降は経日的なばらつきが認められたものの, 2 種の溶液において飲水量に差は認められなかった。また, 食塩水と精製水の飲水量をあわせた総飲水量を見た場合, 34.1~51.1 ml/rat/day であり, 摂餌量と同様, 一定の範囲内での推移であった。

H 群における飲水量変化を Fig. 3 に示した。群分け直後の day 1 から day 8 を通じて, 精製水が食塩水と比べて有意に高値を示した。また, 食塩水と精製水の飲水量をあわせた総飲水量を見た場合, 33.4~43.5 ml/rat/day であり, 摂餌量と同様, 一定の範囲内に収まっていた。

各群における累積の飲水量を Fig. 4 および 5 に示した。L 群では, 精製水と食塩水が同程度であったのに対して, H 群では, 全ての時点で精製水が食塩水の 2 倍以上となっていた。

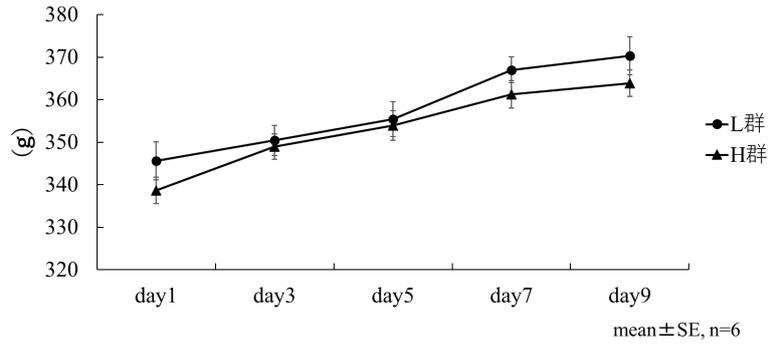


Fig. 1 体重変化

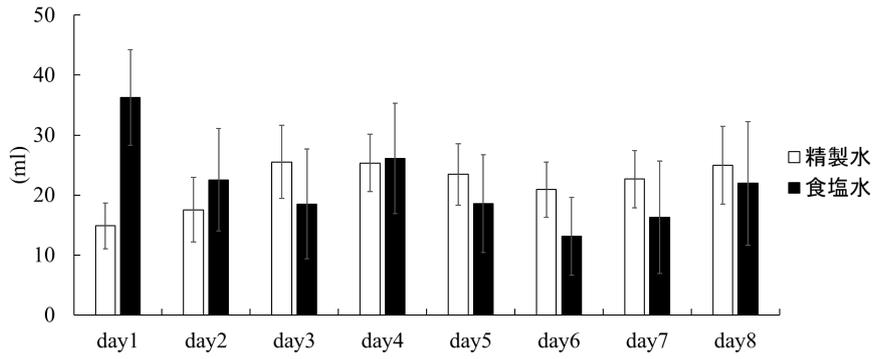


Fig. 2 飲水量変化 (L 群)

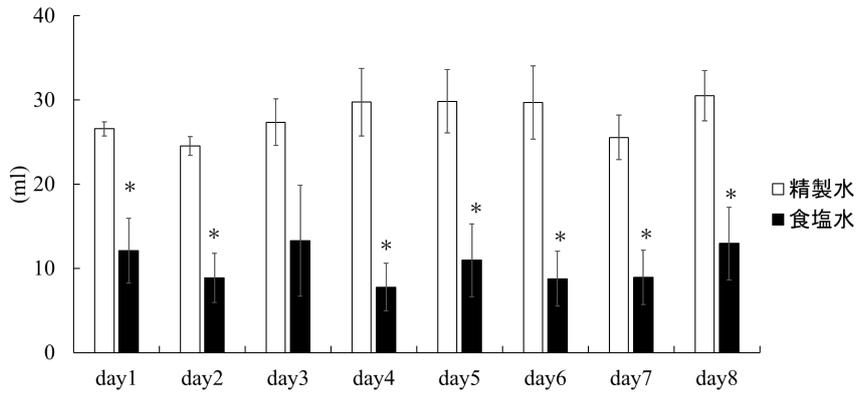


Fig. 3 飲水量変化 (H 群)

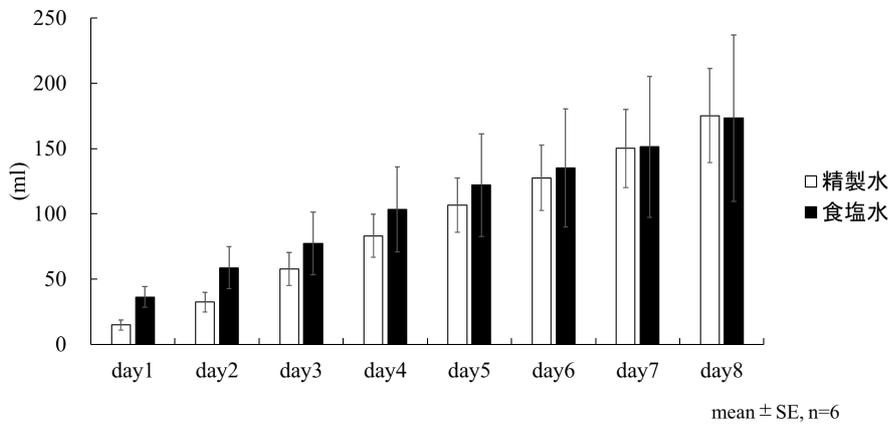


Fig. 4 累積飲水量変化 (L 群)

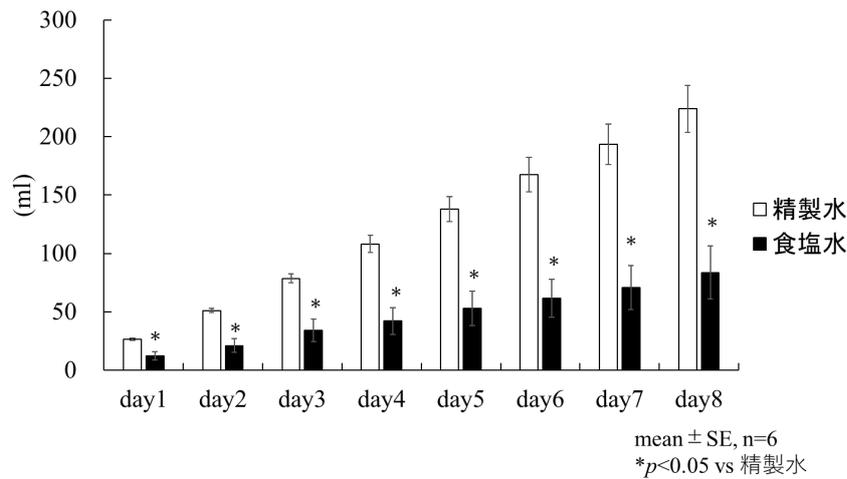


Fig. 5 累積飲水量変化 (H群)

### 3. 2 糞中へのMP排泄実験

群分け後からの体重変化を示した(Fig. 6)。両群ともに経目的に増加しており、群間差は認められなかった。

摂餌量については、いずれの群においても19.0 g /rat /day 程度であり、MP 摂取により摂餌量の低下などは認められなかった。

飲水量変化を Fig. 7 に示した。Day 6 において、W 群が S 群と比べて高値を示したが、それ以外においてはいずれの群においても31.0 ml /rat /day で推移し、群間差は認められなかった。

糞重量の経日変化を Fig. 8 に示した。個体ごとでのばらつきが認められたものの、両群において 1.3 ~ 2.2 g /rat /day で推移し、群間差は認められなかった。

解剖時の組織重量では、両群において同程度であり、群間差は認められなかった。すなわち、心臓(W 群: 0.28±0.01 g/100 g b.w., S 群:0.29±0.01 g/100 g b.w.)、肝臓(W

群:3.14±0.05 g/100 g b.w., S 群:2.98±0.07 g/100 g b.w.)、腎臓(W 群:0.65±0.01 g/100 g b.w., S 群:0.68±0.02 g/100 g b.w.)、消化管(W 群:4.46±0.29 g/100 g b.w., S 群:4.17±0.05 g/100 g b.w.)であった。

糞中へのMP排泄率の経時変化を Fig. 9 に示した。0~24 hr においては、W 群 11.9±4.4%、S 群 8.5±5.6%と低いMP排泄率であったが、経時的に増加を示した。その結果、0~120 hr では W 群 39.5±1.0%、S 群 47.3±2.0%であり、0~72 hr および0~120 hr において S 群が W 群に比べて、MP排泄率が有意に高値を示した。

各ミネラルにおける摂取量、糞および尿中への排泄量を Table 1 に示した。3日間の平均値として示しているが、ナトリウム摂取量および尿中ナトリウム量において、S 群は W 群に比べて有意に高値を示した。一方、カリウムの場合、いずれの項目においても群間差は認められなかった。

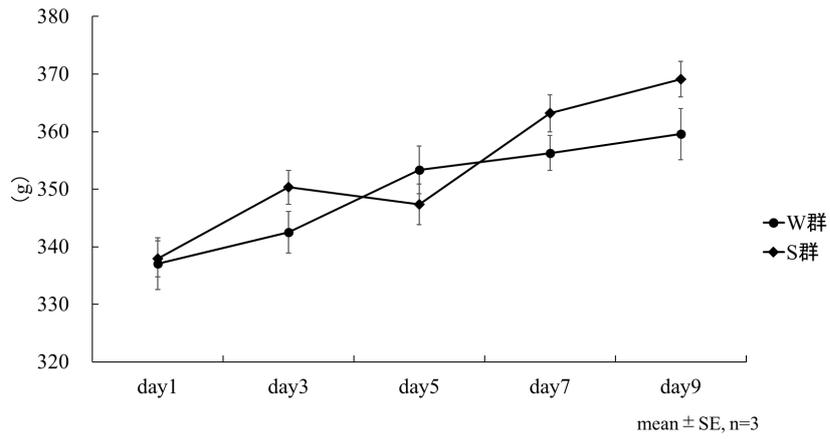


Fig. 6 体重変化

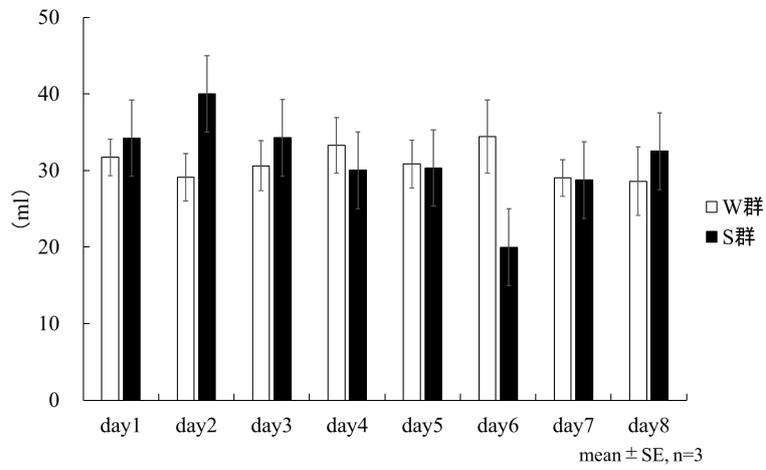


Fig. 7 飲水量変化

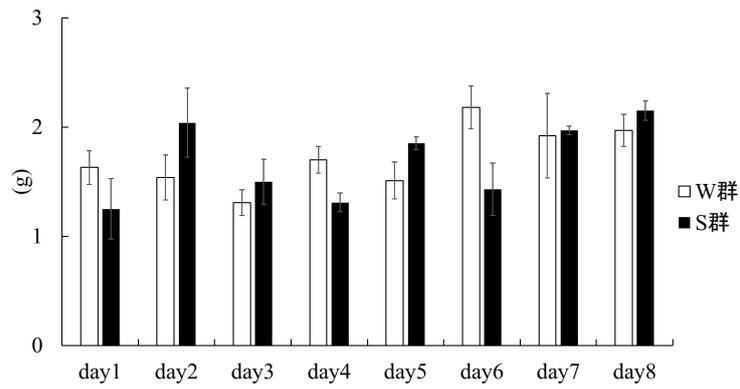


Fig. 8 糞重量変化

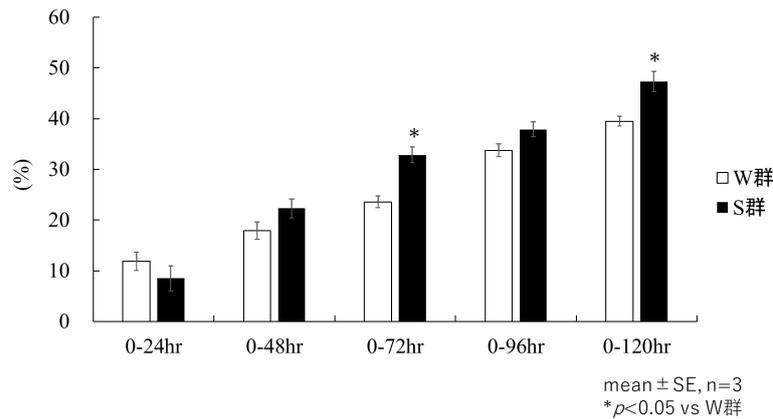


Fig. 9 糞中へのMP排泄率

Table 1. 各ミネラルにおける摂取量、糞および尿中への排泄量

|    | 総含量(mg/day/rat) | Na             | K           |
|----|-----------------|----------------|-------------|
| W群 | 摂取量             | 49.2 ± 0.0     | 216.6 ± 0.0 |
|    | 糞               | 0.05 ± 0.01    | 0.03 ± 0.00 |
|    | 尿               | 10.8 ± 1.7     | 36.8 ± 3.9  |
| S群 | 摂取量             | 224.1 ± 16.0 * | 216.6 ± 0.0 |
|    | 糞               | 0.12 ± 0.02    | 0.07 ± 0.02 |
|    | 尿               | 136.8 ± 8.1 *  | 46.7 ± 1.0  |

\*p<0.05 vs W群

Mean ± SE, n = 2~3

#### 4. 考察

食塩嗜好性実験から、低濃度食塩水(75 mM NaCl 溶液)と精製水の2瓶選択実験では、同程度の摂取量を示した。奥村らの報告<sup>32)</sup>では、通常食を摂取させた場合、75 mM NaCl 溶液の選択性は、精製水と同程度であるとされている。そのため、MPを給餌した条件下においても、同様の傾向が認められることが明らかとなった。しかしながら、飲水量は2瓶の総量が既報に比べて高値を示す結果となった。これは、2瓶選択実験をするために、専用の給水瓶ホルダを設置したものの、ケージの振動による一定の自然落下が認められた。養生テープによる固定を試みたものの、通常のケージに給水瓶を設置する環境とは異なっており、その差が認められた結果と考えられた。

一方、高濃度食塩水(300 mM NaCl 溶液)と精製水の2瓶選択実験では、MPを摂取したラットにおいて、高濃

度食塩水と比べて精製水を有意に飲水することが明らかとなった。Johnsonらの研究<sup>33)</sup>においても、342 mM NaCl 溶液の選択性は精製水より有意に低いことを報告していることから、MPを摂取条件下においても、通常食の場合と同じ現象が認められた。劉は、粒径が200 μmのMPを1週間にわたり摂取させたところ、脂質代謝マーカーや酸化ストレスマーカーの上昇は認めなかったとしている<sup>34)</sup>。本研究の粒径は50 μmのためMPの大きさは異なるものの、1日3000個程度のMPを1週間程度継続摂取する条件においては、少なくとも血中の脂質マーカー等には影響しない可能性が示唆された。そのため、高濃度食塩水の嗜好性は高まらなかったと思われる。

糞中へのMP排泄実験より、個体数は1群3匹と極めて少ないものの、精製水の摂取に比べて高濃度食塩水(300 mM NaCl 溶液)の摂取は、糞中へのMP排泄が促

進される可能性が示唆された。本実験にあたり、糞中 MP の分析法を検討し、10%水酸化カリウム溶液にて前処理を行うことで 80%以上の高い回収率が得られたことから、分析の妥当性は確保できているものと思われた。劉らは、MP の排泄促進に有効な成分として、食物繊維の一種であるキトサンを報告している<sup>34)</sup>。高濃度食塩水の摂取が MP の排泄促進に対して、どのような作用を及ぼしているのかは不明であるが、ミネラル成分と MP 排泄との関連性が明らかにされれば大変有意義と思われる。今回は、個体数が少なく、探索的な位置づけであったため、今後は再現性の確認を含めた検証が不可欠と考えられる。

Na および K について、摂取量、糞および尿中への排泄量を分析した結果、高濃度食塩水の摂取により、尿中への Na 排泄量が有意に増加することを認めた。奥村らは、食塩摂取に伴う Na の摂取量と糞中及び尿中の含有量について、摂取量(食塩非摂取群:  $19.3 \pm 0.9$  mg/day, 食塩摂取群:  $140.3 \pm 12.6$  mg/day), 糞(食塩非摂取群:  $2.47 \pm 0.30$  mg/day, 食塩摂取群:  $3.53 \pm 0.67$  mg/day), 尿(食塩非摂取群:  $26.9 \pm 2.0$  mg/day, 食塩摂取群:  $213.6 \pm 21.0$  mg/day)であることを報告している<sup>32)</sup>。本研究とは、条件が異なるため単純な比較はできないものの、少なくとも高濃度の食塩水摂取により、Na の排泄量は増加を確認することができた。MP 摂取が直接ミネラル代謝に影響を及ぼす研究報告は認められていないものの、MP 摂取により腸内細菌叢の変化が生じる報告<sup>35-36)</sup>が認められており、更なる研究が必要と考えられた。

## 5. 今後の課題

奥村らは、通常食下では、中濃度食塩水(150 mM NaCl 溶液)は、精製水と比べて有意に嗜好性が高まることを報告している。本研究は実施できなかったことから、今後の課題と考えている。

さらに、高濃度食塩水(300 mM NaCl 溶液)の摂取により、糞中 MP 排泄促進作用が認められるのかについて、匹数を増やした上での検証が必須であると考えている。その際、消化管中に残存する MP 数の測定も実施することで、摂取した MP の行方について全容が明らかになるよう、MP 分析法の妥当性も含めた検証を進めてゆく必要がある。

## 6. 文献

- 1) 山下麗, 田中厚資, 高田秀重, 海洋プラスチック汚染: 海洋生態系におけるプラスチックの動態と生物への影響, *日本生態学会誌*, 2016, 66(1), 51-68.
- 2) OECD, Global Plastics Outlook: Plastic waste in 2019, *OECD Environment Statistics* (database), 2024.
- 3) Rochman C M, Browne M A., Halpern B S, *et al.*, Classify plastic waste as hazardous. *Nature*, 2013, 494(7436), 169-171.
- 4) Courtney A, Joel B, and Holly B, International Research Workshop on the Occurrence, Effects, and Fate of Microplastic Marine Debris, 2009, *NOAA Technical Memorandum NOS-OR&R-30*.
- 5) Cole M, Lindeque P, Halsband C, *et al.*, Microplastics as contaminants in the marine environment: A review, *Marine Pollution Bulletin*, 2011, 62(12), 2588-2597.
- 6) Betts K, Why small plastic particles may pose a big problem in the oceans, *Environmental Science & Technology*, 2008, 42(24), 8995.
- 7) Patel M M, Goyal B R, Bhadada S V, *et al.*, Getting into the brain: approaches to enhance brain drug delivery, *CNS drugs*, 2009, 23(1), 35-58.
- 8) Ryan P G, Moore C J, Franeker J A, *et al.*, Monitoring the abundance of plastic debris in the marine environment, *Philosophical transactions of the Royal Society of London, Series B, Biological Sciences*, 2009, 364(1526), 1999-2012.
- 9) Corcoran P L., Biesinger M C, and Grifi M, Plastics and beaches: a degrading relationship, *Marine Pollution Bulletin*, 2009, 58(1), 80-84.
- 10) Barnes D K A, Galgani F, Thompson R C, *et al.*, Accumulation and fragmentation of plastic debris in global environments, *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B, Biological sciences*, 2009, 364(1526), 1985-1998.
- 11) Browne M A, Crump P, Niven S J, *et al.*, Accumulation of Microplastic on Shorelines Worldwide: Sources and Sinks, *Environmental Science & Technology*, 2011, 45(21), 9175-9179.

- 12) Andrady A L, Microplastics in the marine environment, *Marine Pollution Bulletin*, 2011, 62(8), 1596–1605.
- 13) Cox K D, Covernton G A, Dacies H L, *et al.*, Human Consumption of Microplastics, *Environmental Science & Technology*, 2019, 53 (12), 7068–7074.
- 14) Tanaka K, Takada H, Microplastic fragments and microbeads in digestive tracts of planktivorous fish from urban coastal waters, *Scientific Reports*, 2016, 6, 34351.
- 15) Schwabl P, Köppel S, Königshofer P, *et al.*, Detection of Various Microplastics in Human Stool: A Prospective Case Series, *Annals of Internal Medicine*, 2019, 171(7), 453–457.
- 16) Deng Y, Zhang Y, Lemos B, *et al.*, Tissue accumulation of microplastics in mice and biomarker responses suggest widespread health risks of exposure, *Scientific Reports*, 2017, 7, 46687.
- 17) Zheng HB, Wang J, Wei XY, *et al.*, Proinflammatory properties and lipid disturbance of polystyrene microplastics in the livers of mice with acute colitis, *Science of The Total Environment*, 2021, 750, 143085.
- 18) Kosuth M, Mason S A, Wattenberg E V, Anthropogenic Contamination of Tap Water, Beer, and Sea Salt, *PLOS ONE*, 2018, 13(4), e0194970.
- 19) Phuong N N, Poirier L, Pham Q T, *et al.*, Factors influencing the microplastic contamination of bivalves from the French Atlantic coast: Location, season and/or mode of life, *Marine Pollution Bulletin*, 2018, 129(2), 664–674.
- 20) Pivokonsky M, Cermakova L, Novotna K, *et al.*, Occurrence of microplastics in raw and treated drinking water, *Science of The Total Environment*, 2018, 643, 1644–1651.
- 21) Cho Y, Shim W J, Jang M, *et al.*, Abundance and characteristics of microplastics in market bivalves from South Korea, *Environmental Pollution*, 2019, 245, 1107–1116.
- 22) Cauwenberghe L V, Janssen C R, Microplastics in bivalves cultured for human consumption, *Environmental Pollution*, 2014, 193, 65–70.
- 23) Li YN, Peng L, Fu JX, *et al.*, A microscopic survey on microplastics in beverages: the case of beer, mineral water and tea, *Analyst*, 2022, 147(6), 1099–1105.
- 24) Walkinshaw C, Lindeque P K, Thompson R, *et al.*, Microplastics and seafood: lower trophic organisms at highest risk of contamination, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2020, 190(1), 110066.
- 25) Iniguez M E, Conesa J A, Fullana A, Microplastics in Spanish table salt, *Scientific Reports*, 2017, 7, 8620.
- 26) Smith M, Love D C, Rochman C M, *et al.*, Microplastics in seafood and the implications for human health, *Current Environmental Health Reports*, 2018, 5(3) 375–386.
- 27) Mercogliano R, Avio C G, Regoli F, *et al.*, Occurrence of microplastics in commercial seafood under the perspective of the human food chain, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2020, 13, 68(19), 5296–5301.
- 28) Kwon J H, Kim J W, Pham T D, *et al.*, Microplastics in food: A review on analytical methods and challenges, *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2020, 15, 17(18), 6710.
- 29) Li J, Yang D, Li L, *et al.*, Microplastics in commercial bivalves from China, *Environmental Pollution*, 2015, 207, 190–195.
- 30) Isobe A, Kubo K, Tamura Y, *et al.*, Selective transport of microplastics and mesoplastics by drifting in coastal waters, *Marine Pollution Bulletin*, 2014, 89(1–2), 324–330.
- 31) 津山真広, 劉笛, 藤田恵美子ら, 顕微 FT-IR を用いた市販食塩に含まれるマイクロプラスチックの分析, *日本食品科学工学会誌*, 2023, 70(11), 531–537.
- 32) 奥村ミサヲ, 飲水中食塩濃度がラットのミネラルバランスに及ぼす影響, *東海学園女子短期大学期要 31号*, 1996, 29–35.
- 33) Johnson R F, Beltz T G, Thunhorst R L, and Johnson A K, Investigations on the physiological controls of water and saline intake in C57BL/6 mice, *American Journal of Physiology*, 2003, 285(2), 394–403.

- 34) Liu D, Shimizu M, Ingesting chitosan can promote excretion of microplastics. *Scientific Reports*, 2025, 15, 14041.
- 35) Xie L L, Chen T L, Liu J Y, Hou Y Y, Tan Q L, Zhang X Y, Li Z Q, Farooq T H, Yan W D, Li Y, Intestinal flora variation reflects the short-term damage of microplastic to the intestinal tract in mice, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2022, 246, 114194
- 36) Sun H Q, Chen N, Yang X N, Xia Y K, Wu D, Effects induced by polyethylene microplastics oral exposure on colon mucin release, inflammation, gut microflora composition and metabolism in mice, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2021, 220, 112340.

# Effects of Continuous Ingestion of Microplastics on Salt Preference and Disposition

Muneshige Shimizu

Tokai University

## Summary

In recent years, it has become clear that continuous ingestion of microplastics (MP) increases oxidative stress and induces inflammation and abnormal lipid metabolism. We have fed rats a diet containing MP with different particle diameters and found that more MP remained in the digestive tract after ingestion of MP with a particle diameter of 50  $\mu\text{m}$  compared to that with a particle diameter of 200  $\mu\text{m}$ . This suggests that continuous ingestion of small MPs may increase salt preference due to conditions conducive to the induction of oxidative stress, but no reports on this hypothesis have been accepted. However, there are no reports on this hypothesis. Therefore, the purpose of this study was to determine whether the ingestion of MP increases salt preference, and furthermore, to determine whether the ingestion of salt affects the pharmacokinetics of MP.

### 1. Salt preference experiment

The animals were fed two bottles of purified water and two bottles of low-concentration saline solution (75 mM NaCl solution) in group L and two bottles of purified water and two bottles of high-concentration saline solution (300 mM NaCl solution) in group H, respectively, for 9 days. In both groups, the diet consisted of AIN-93M diet with polyethylene particles with a mean diameter of 50  $\mu\text{m}$  added. As a result, the amount of water consumed by the L group was similar throughout the period, whereas the H group consumed more than twice as much purified water as saline water at all time points.

### 2. MP excretion in feces

The animals were fed purified water or highly concentrated saline solution (300 mM NaCl solution) as drinking water and MP-added food for 9 days. The MP excretion rate in feces was analyzed based on the number of MP ingested and the number of MP in feces. The results showed that the MP excretion rate increased more in the high-concentration saline diet than in the purified water diet from 0-72 hours and 0-120 hours after ingestion of the MP-added diet. Further studies are needed because of the small number of animals in this experiment and the fact that we have not yet analyzed the MP remaining in the digestive tract.