

## 1.2 P I X E

## NMCC の PIXE で定量分析可能な試料

-えっ？こんな試料でも分析できるの？-

世良耕一郎<sup>1</sup>、後藤祥子<sup>2</sup>、高橋千衣子<sup>2</sup>、齋藤義弘<sup>2</sup>  
寺崎一典<sup>1</sup>、佐々木敏秋<sup>1</sup>、伊藤じゅん<sup>3</sup>、ニッ川章二<sup>4</sup>

<sup>1</sup> 岩手医科大学サイクロトロンセンター

〒020-0173 岩手県岩手郡滝沢村滝沢留が森 348-58

<sup>2</sup> 日本アイソトープ協会仁科記念サイクロトロンセンター

〒020-0173 岩手県岩手郡滝沢村滝沢留が森 348-58

<sup>3</sup> 日本アイソトープ協会学術部、<sup>4</sup> 同管理本部

〒113-8941 東京都文京区本駒込 2-28-45

### 1 はじめに

NMCC の PIXE におけるキャッチフレーズの一つは、「全ての試料の定量分析を行います」であり、実際に多分野にわたる多種多様な試料の定量分析が行われてきた。利用の中心をなす医学・生物学試料の特徴は、① 硬組織以外は軽元素が主体であり、軽元素マトリクス中の微量重元素分析を得意とする PIXE の適用が有利であること、② 一般的に十分な量が確保できず、数 mg 以下の試料しか採取できないことが多いこと、などが上げられ、その他に③ 試料の採取法・保存法なども分析に影響を与えやすい点などがあげられる。それと対照的なのが地球科学における試料であり、その特徴は、① 重元素主体の試料が多く、特に鉱石のように特定の元素濃度が突出する場合にはその存在のため他元素の分析感度に悪い影響を与えること、② 試料の量としては数 10 mg 以上の確保が容易なこと、③ 無機成分が主体であり、軽元素が少ないため無標準法（後述）が適用できないこと、④ 粉末状の試料が多いこと、⑤ 一般に保存法は大きな問題とならないこと、などである。

それに対し環境科学における試料は多種多様であり、大気環境学においてはナノ粒子を含むエアロゾル、雨水、雪、霧、樹氷、氷河から地衣類などの植物まで、水圏においても海水、河川水、湖沼水、藻類、プランクトン、河川・湖沼の底質、魚類・貝類など、また有害元素による環境汚染問題に関しては、飲料水、農作物・水産物などの食物、生態系への影響調査などの目的での動植物、作業環境の粉塵から、曝露評価のために人体から採取される頭髮やヒゲなどの体毛・爪・血液・尿・汗に至るまで、数十種の多種多様な試料の分析が要求される。図 1. に、平成 21 年度までの分野別分析試料の経緯を示す。図にみられるように現在まで 10 万試料近くの分析が

行われている。図2には、生命科学系(含環境科学)に限定し、細分化した分野に対する分析試料数経緯を示す。近年特に、環境科学や公衆衛生学における需要が急激に伸びていることが分かる。表1にはNMCCで今まで分析が行われた主な試料の分析数を、試料の種別に分けて示す。表1に見られるように最も分析数の多いのが毛髪であり<sup>1-3)</sup>、アジアにおける有害元素による広域的汚染問題を中心に1万試料ほどの分析が行われている。近年は、「食のリスク評価」のための分析需要も高まっている<sup>4)</sup>。

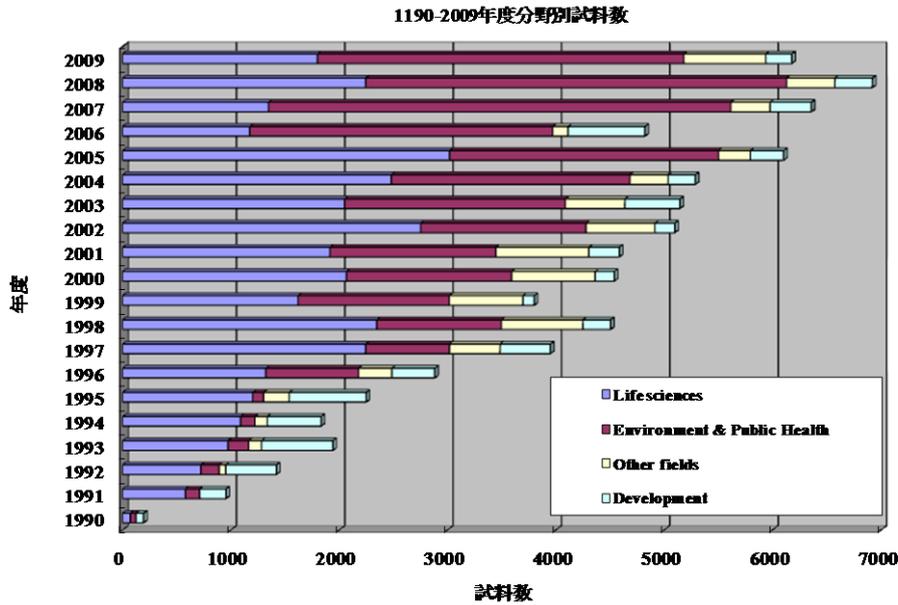


図1. 2009年度までの分野別分析試料数経緯

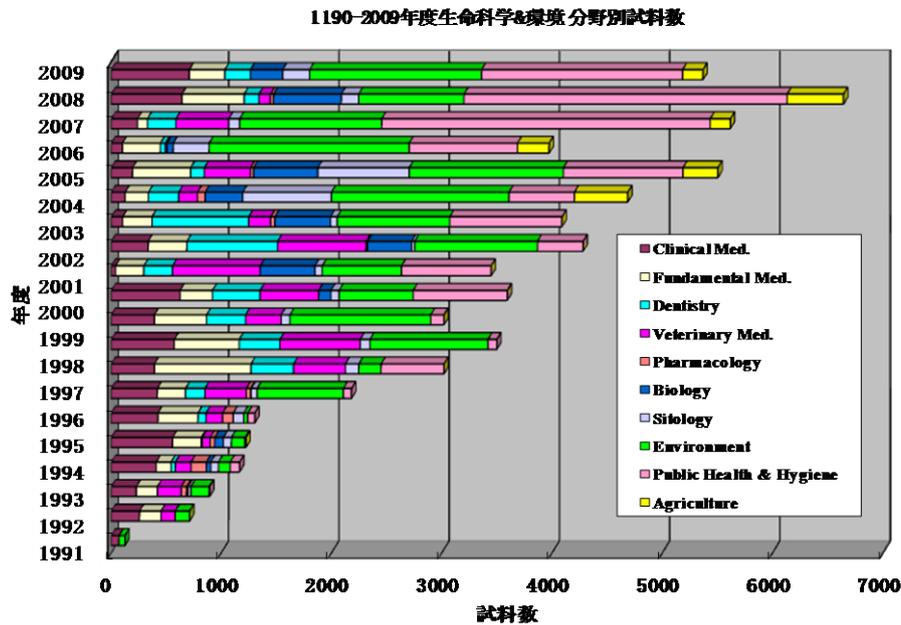


図2. 2009年度までの生命科学・環境科学における分野別分析試料数経緯

このような千差万別の試料に対応するため、我々はユーザーの要望に応じる形で方法論の開発を行ってきた。例をあげれば、毛髪試料は通常の内標準法で正確な分析を行うのは困難で、試料調製に多大な労力と時間を要し、しかも多量の毛髪が必要となる。そのため我々は体毛試料

に対する「無調製・無標準法」の開発を行った<sup>5,6)</sup>。本法により、5 mm の毛髪 1 本で高精度の定量分析が可能となり、しかも試料調製の労力・時間は 1/100 に軽減された。本無標準法は元来微小生物試料の定量分析を目的としたものであり<sup>7)</sup>、最初は血清試料などの臨床検体に対して開発された<sup>8)</sup>。2008 年には、生検で採取された臨床検体、及び小実験動物の小臓器など、1 mg 以下の生体試料の定量分析法が確立されている<sup>9)</sup>。

表 1. NMCC における分析数の多い試料一覧

試料の種別	詳細 (分析試料数)・<コメント>
頭髪・体毛	毛髪(約 10000) <5mm の毛髪 1 本から分析可能>
体液	全血、血清、血球、髄液、唾液、尿、汗、涙... (約 9000)
エアロゾル	均一状・点状・粉末状 (総計約 7500)
生体組織	肝臓(1200)、口腔粘膜・歯肉(1500)、骨(1400)、腎臓(800)、皮膚 (200)、脳・食道・胃・腸... (総計: 5600)
水	温泉水・湧水、井水、河川水、飲料水、農業用水、海水、湖沼水、雨水、雪、霧、樹氷... (総計: 約 4000)
地質・鉱物学試料	鉱石、土壌、岩石、温泉水、流体い包有物、湯の花... (総計 3500)
植物試料	葉、茎、根、花、導管液、海藻... (総計: 約 3000)
獣医学試料	血液、被毛、羽毛、内蔵、ヒヅメ... (総計: 約 2000)
食品学試料	魚貝類、農作物、加工食品、果実、果汁、山菜、きのこ... (総計: 約 1500)
考古学試料	土器、タール、人骨、土壌... (総計: 約 500)
その他多い試料	油、爪、灰、金属、栄養剤、点滴剤、胃ろう・腸ろう剤...

PIXE は本来、「軽元素マトリクス中の重元素分析」に適しており、鉱物学試料、材料工学試料、また土壌や灰などの高 Z 元素マトリクスの試料分析は困難であった。これらは環境科学においても分析需要の高い試料である。我々は、特殊吸収体の開発を行い、重元素主体の試料に対する他元素の分析感度を 2 桁ほど改善することに成功した<sup>10, 11)</sup>。この「特殊吸収体」は、鉄が突出する血液試料など、生命科学系の試料にも応用されている。

上記のように多分野における多種試料の分析を行う場合、分析手段の多様性も求められる。NMCC では、真空に入れることが不可能な試料 (大きな考古学試料・培養細胞など) 分析の目的で大気 PIXE システムを構築し<sup>12)</sup>、その物理的定量法を完成させた<sup>13)</sup> 結果、真空 PIXE と同様の精度での定量分析が可能となった。現在オイル試料に対する無標準法を完成させ<sup>14, 15)</sup>、さらに生きた植物試料に対する無標準定量法もほぼ完成し、近日中に報告を行う予定である。また、環境科学においてしばしば注目元素となるフッ素の分析は通常の PIXE では困難であるが、我々は Pure-Ge 検出器を購入、検出効率を正確に測定したことにより、通常の PIXE で分析可能な元素に加えフッ素分析も可能となった<sup>16, 17)</sup>。これは 110 keV の prompt  $\gamma$ -rays のスペクトル解析を基礎にしており、複数の研究に応用されている<sup>18, 19, 20)</sup>。

世界で最も多数試料の分析を行う NMCC においては、「測定効率」も大きな要素となる。上記「特殊吸収体」の開発により、重元素マトリクス試料の分析時間が大幅に短縮されるなど、分析・解析法による効率化を図ったことも大きな要因だが、測定法において複数の検出器を同時に用いる「同時分析システム」の開発も進められてきた。一般に PIXE で分析を行う試料は軽元素の濃度が高く、さらに軽元素に対する X 線発生断面積も大きいため、吸収体を用いずに測定を行うと重元素の分析は不可能となり、全元素分析のためには吸収体 on/off の 2 回の測定が必要となる。我々は「2 検出器同時測定システム」を 20 年前に完成させ、全元素の短時間分析を可能とした。現在 1 試料あたりの分析時間は、3~10 分程度である。また上記 Ge 検出器によるフッ素

分析と通常の2検出器によるPIXEを同時に行う「3検出器同時分析システム<sup>16)</sup>」も開発された。さらに大気PIXEと真空PIXEを同時に行い、異なる2種の試料分析を同時に行う「真空・大気同時分析システム<sup>21)</sup>」の開発を行い、現在は大気PIXEにおける「2検出器同時分析システム」の構築を行っている。分析システムに関しては、以下に詳細を記す。

本稿は、NMCCユーザーの方々にあらためてNMCCにおけるPIXEの概要、設備、調製・測定・解析・定量法の紹介を行い、利用者の方々がレポートを書くときなどの参考資料にして頂くとともに、現在何ができるのかを明示することにより、皆様のより多角的な利用の推進を図る目的のために寄稿するものである。

## 2 NMCCにおける分析システムと測定法

### 2.1 加速器とビーム輸送系

我々の加速器は医療用小型サイクロトロン、島津 MINITRON-MCY1750 である。この種の小型サイクロトロンは PET 専用に開発され、他の目的に使用されることは稀であった。一般のサイクロトロンと異なる点は、軽元素の RI 製造に目的が限定されているためエネルギーが低いことと、陽子・重陽子に粒子が限定され、かつその加速エネルギーが固定されていることである。一方 PIXE においては、最適な加速エネルギーは陽子 3 MeV 前後とされ<sup>22)</sup>、医療用小型サイクロトロンを用いた場合（通常陽子 12-16 MeV）はその4倍ほどエネルギーが高いため、感度の良い測定が困難である。我々は、 $H_2^{1+}$ イオンを重陽子の加速パラメータを用いて加速することにより、4 MeV の陽子を引き出すことに成功した<sup>23)</sup>。当時、PET の利用は  $^{15}O$  による局所脳血流量などの gas study が主体であったが、近年は  $^{18}F$  や  $^{11}C$  化合物標識の薬剤に主流が移りつつあり、その場合 30 分ほどの照射でサイクロトロンの使用は完了する。他の時間を PIXE に利用することにより、加速器の最大限の有効利用が可能となった。心配された陽子ビーム中への重陽子ビームの混入は、磁場調整によってほぼ解決できた。詳細は参考文献 23 を参照されたい。

### 2.2 真空 PIXE における測定システム

我々は初年度から2台の Si (Li) 検出器を設置し、それらの検出効率を PIXE 自体で正確に測定する方法を開発<sup>24)</sup>、「2検出器同時分析システム」を構築した<sup>25)</sup>。No. 1 検出器は試料の組成に応じ、100~1000  $\mu m$  の Mylar film やピンホールを空けた Mylar に種々の金属フィルムを組み合わせた「特殊吸収体」などの吸収体を装着し、K 以上の重元素の測定を行う。一方、No. 2 検出器は吸収体なしで Na~Ca の軽元素分析を行うが、計数率を調整するため、1~2 mm $\phi$  のグラフアイトコリメータを装着し使用される。この計測システムにより、通常のアロゾル試料などは 3~5 分、毛髪や生体試料なども 5~10 分の短時間での測定が可能となった。

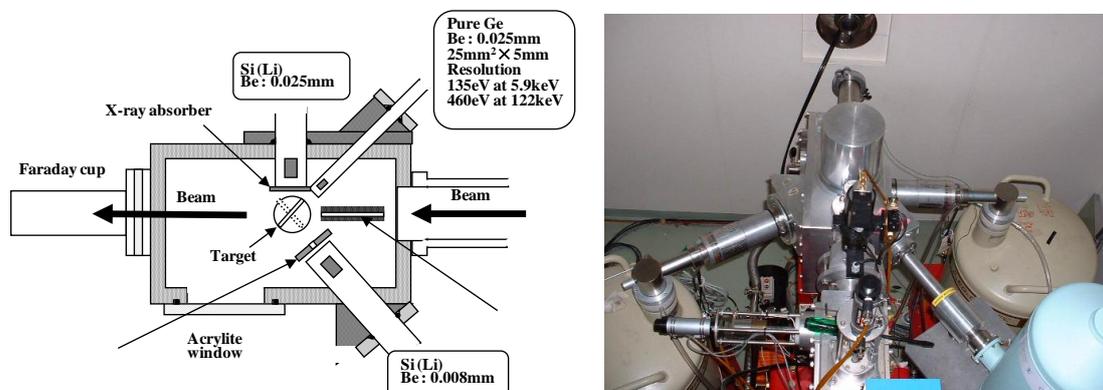


図3. 真空 PIXE システムにおける照射・測定系配置図 (左) と外観写真 (右)

主にフッ素分析の目的で購入された Ge 検出器を用いた測定システムにおいては、先ず Ge 検出器の検出効率の正確な測定が行われ、Si (Li) No.1 検出器とほぼ同様な PIXE による重元素分析と、数 MeV までの prompt  $\gamma$ -rays の測定が可能となった。特に 110 keV のフッ素の  $\gamma$ -ray peak は、内部標準元素や Fe、Ca などの X-ray peaks と同一のスペクトル内で測定が可能であり、X 線発生断面積を $\gamma$ 線発生断面積に置き換えるのみで、他の元素の場合と同様の手順でのフッ素分析が可能となった。図 3 に真空 PIXE 分析システムにおける 3 検出器の配置図及び写真を示す。詳細は本報文集第 10 巻（参考文献 26）を参照されたい。

### 2.3 大気 PIXE における測定システム

大気 PIXE においては、Si(Li) (PGT LS10138HT: 分解能 137 eV at 5.98 keV) が専用に設置され、その検出効率は X 線の空気中での吸収を含む形で実測され、決定された。その結果、真空 PIXE と同様の精度での定量分析が可能となった<sup>13)</sup>。さらに大気 PIXE における毛髪試料に対する無調製無標準法の開発も行われた<sup>27)</sup>。また、慢性的なマシンタイム不足を解消する目的で「真空・大気同時分析システム」の開発も行われ<sup>21)</sup>、測定効率の向上が図られている。さらに大気 PIXE ポートにおいて真空あるいは He 雰囲気中で測定を行う専用散乱槽も完成し、真空・真空、もしくは真空・He 雰囲気同時測定システムの構築も計画されている。図 4 に、大気 PIXE システムの配置図と外観を示す。

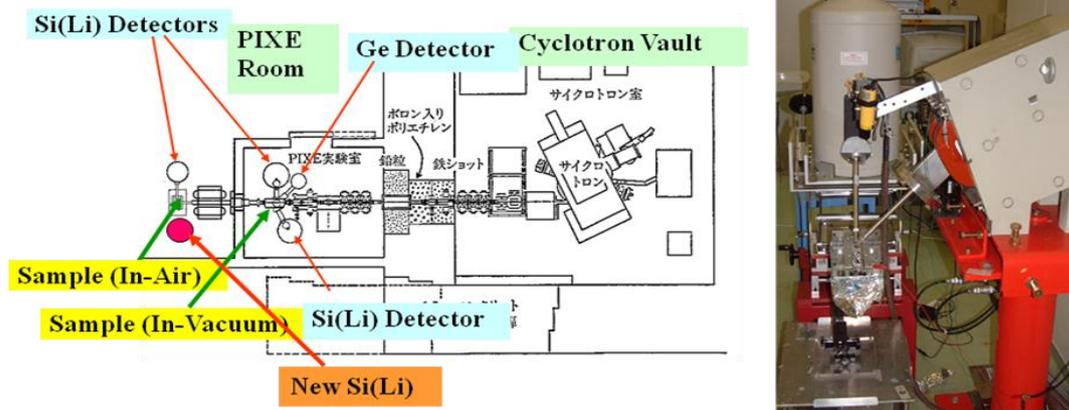


図 4. 大気 PIXE システム配置図 (左) と外観 (右)、新検出器はまだ組み込まれていない。

現在のところ、大気 PIXE 専用の検出器は上記の 1 台のみであり、従って全元素分析のためには吸収体 on/off の 2 回の測定を余儀なくされており、その都度ビーム電流の大幅な調製が必要である。このたび、科研費基盤研究 B において「アジア有害元素汚染地域における食のリスク評価と専用大気 PIXE 分析装置の開発」（代表者：世良）が採択された（平成 22-24 年度）。主テーマは「アジアにおける食のリスク評価」であるが、農作物を生きたまま分析することにより有害元素の植物中動態を調べるための「生きた植物試料に対する定量分析法の開発」を副テーマとしている。そのための大気分析システムの整備のため、新 Si (Li) (PGT-LS10129) を購入し性能テストを終えた（平成 22 年 11 月）。現在（平成 23 年 1 月）専用の据付架台が作製され、大気 PIXE システムへの組み込みが行われている。今後、標準試料を用いた検出効率の測定を行い<sup>24)</sup>、大気 PIXE における 2 検出器同時測定システムの構築へ進む予定である。生きた植物試料に対する無標準法はほぼ完成し（後述）、それに 2 検出器同時測定システムを応用する予定である。

## 2.4 二試料・多検出器同時測定システムの開発

前述のように真空 PIXE における 3 検出器同時分析システムは完成され、Na~U までの分析に加え、フッ素 (F) の同時定量分析が可能となった<sup>16,17)</sup>。さらに、真空・大気二試料同時分析法の開発も行われ<sup>21)</sup>、通常の真空 2 検出器と大気 1 検出器を同時に使用する測定システムが完備されている。現在のところアンプと高圧電源が 3 組しか揃えられておらず、大気 2 検出器と真空 2 検出器同時測定には対応できないが、今後徐々に整備を行う予定である。

## 3 NMCC における解析システム

### 3.1 Data acquisition system

それぞれの検出器で測定された信号は、検出器 No. 1 に対してはハードの多重波高分析器 (MCA) で、その他の検出器に対しては 4 台のソフト MCA でスペクトルデータとして取り込まれ、世良が開発した TRANPC コード<sup>28)</sup>によりバイナリ形式を統一した上で複数の PC に保存される。Excel などでの処理を行う場合には、数種のテキスト形式での保存も可能である。

### 3.2 Spectrum 解析プログラム SAPIX

SAPIX (Spectrum Analysis for PIXE) は 1988 年に Version 1 が世良により開発され<sup>28)</sup>、全国や一部海外の研究機関にも配布されている PIXE 専用の X 線スペクトル解析コードである<sup>29, 30)</sup>。SAPIX にはスペクトル解析に必要な数十の機能が備えられており、NMCC のデータ解析は全てこの解析コードで行われている。4 種のバイナリ形式と、全てのテキスト形式のスペクトルデータの読み込みが可能である。DOS 上で働くが、Windows 上で直接動く形式への変換も試みられている。内容の詳細に関しては何回か報告済みであり、参考文献 28-30 を参照されたい。

### 3.3 定量計算プログラム KEI

SAPIX により解析されたデータを用い、定量計算プログラム KEI により各元素濃度が求められる。KEI は 1992 年世良により開発され<sup>28)</sup>、同年栄研化学(株)可児氏により改良が行われた。これは、SAPIX により得られたピーク面積と、予め計算や実測により求められている 3 つの物理量 (X 線発生断面積・検出器の検出効率・吸収体の X 線透過率) を表から読み込み、各元素の定量値を導くプログラムであり、濃度値を求めるため日常的に使われている。

### 3.4 その他のプログラム

上記 3 種の物理量を求めるためのプログラムがそれぞれ開発されている。X 線発生断面積の基礎となる電離断面積を求めるプログラムとしては、ECPSSR 理論<sup>31)</sup>に基づく ICPER が開発され<sup>28)</sup>、陽子・重陽子・ $\alpha$  粒子・ $^3\text{He}$  粒子衝撃における、全ての元素・入射エネルギーに対する電離断面積が数秒で計算可能となっている。ECPSSR 理論は、PIXE で用いる入射エネルギー領域においては 2~3% の精度で実験値を再現する正しい値を与えることが確認されている<sup>32, 33)</sup>。

検出効率曲線を決定するプログラムとしては EFF が開発された<sup>24)</sup>。これは検出効率の実測値に対し、5 つの量 (Si (Li) 不感層の厚さ・Au 電極の厚さ・Be window の厚さ・表面の氷の膜の厚さ・Si (Li) 空乏層の厚さ) の parameter fitting により検出効率曲線を全エネルギー領域に対して決定し、KEI で用いる物理量 table に書き込むものである。図 5 に、実際に測定値に対して fitting により求められた検出効率曲線を、検出器 2 の場合を例に示す。実測値の求め方に関しては、参考文献 24 を参照されたい。

吸収体の透過曲線に関しては、我々は特殊な吸収体を日常的に用いているためその決定に関しては従来の方法では困難であり、独自の方法が開発された<sup>34)</sup>。これは、吸収体 on/off のスペ

クトル同士を直接除算し、透過曲線を決定する独創的な方法である。その工程をプログラム化したものがABSであり<sup>28)</sup>、この方法とコードを用いれば、いかなる複雑な形状の吸収体（ファニーホール・ピンホール・プラスチック・メタル等とそれらの組み合わせ）でもその透過曲線を同一の手順で簡単・正確に決定することができる。この方法の開発により、上述のように重元素が突出する試料の高感度分析が可能となった。図6には、ABSを用い、Cr フォイル吸収体に対する等価曲線が決定されるまでの手順を示す。その他、無標準法により指標元素濃度を決定するための種々のプログラムが開発されている。

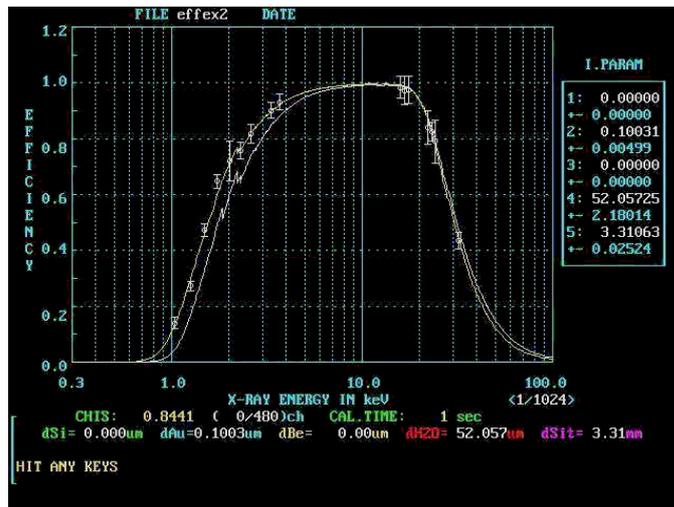


図5.“EFF”を用い、測定値に対しての fitting により求められた検出器 2 に対する検出効率曲線（低エネルギー領域で高い値を示す曲線）、図中には仕様値に基づき得られた曲線（同、低い値を示す曲線）も示されている。

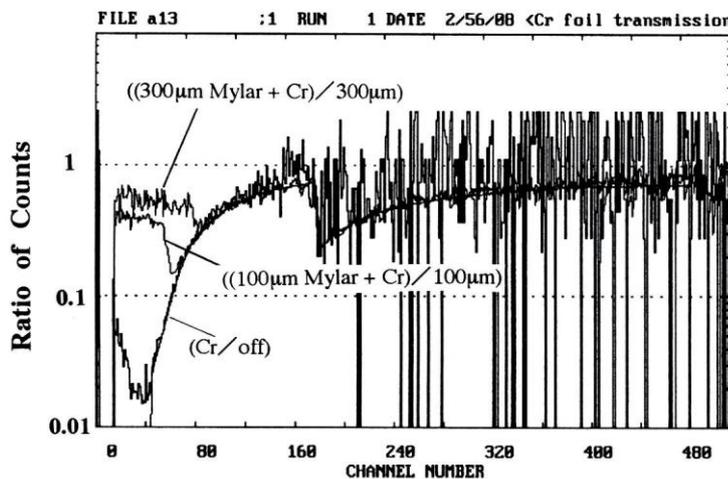


図6.“ABS”を用い、Crの吸収端を利用した吸収体の透過曲線が決定されるまでの手順。エネルギー領域に応じ、“Cr/off”、“100 μm Mylar+Cr/100 μm Mylar”、“300 μm Mylar+Cr/300 μm Mylar”に分けて測定されたデータをつないでいる。

## 4 試料調製法

### 4.1 ピペッティング法

水・血清・尿などの液体試料に対しては、試料自体は無調製で内部標準の添加が可能である。その場合、試料調製は天秤を用いずピペット操作のみで行うことができる。例を上げれば、通常

の水試料に対しては、1 cc の水をピペッティングによりチューブに入れ、1000 ppm の In・Ag・Y などの標準液を 10  $\mu$ L それに加え vortex mixer で均一化すれば、10 ppm の試料に調製できる。それを通常 30  $\mu$ L ほどバックリング膜上に滴下し乾燥させターゲットの出来上がりとなる。血液や尿の場合には、通常 100 ppm の内部標準を添加する。図 7 にピペッティングによる水試料調製の手順を示す。

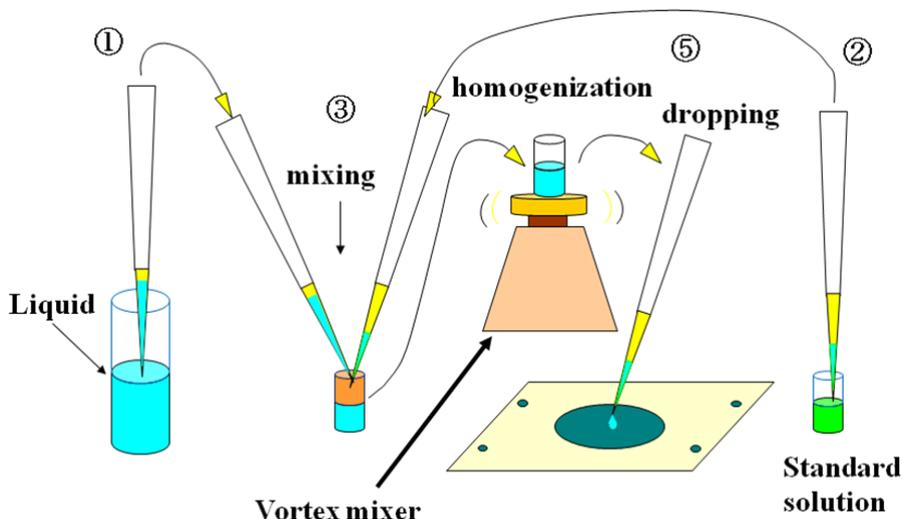


図 7. ピペッティングによる水試料調製の手順。

#### 4.2 硝酸灰化法

NMCC における一般の生物試料に対する定量法の基本は内部標準法である。本法の適用のためには、target 中で試料自体の均一性、及び内部標準元素と試料との均一性が保証されていることが前提条件となる。当初、生体試料などを蒸留水と共にメノウ乳鉢内で手操作により均一化する手段が採られていたが、線維化した生体試料などの場合、均一性に問題が生じる場合も多かった。NMCC においては秋田大学岩田吉弘氏のアドバイスのもと、共著者である二ツ川が硝酸灰化法を確立し<sup>35)</sup>、それが生物試料の試料調製法の基準となっている。図 8 に硝酸灰化法の手順を示す。

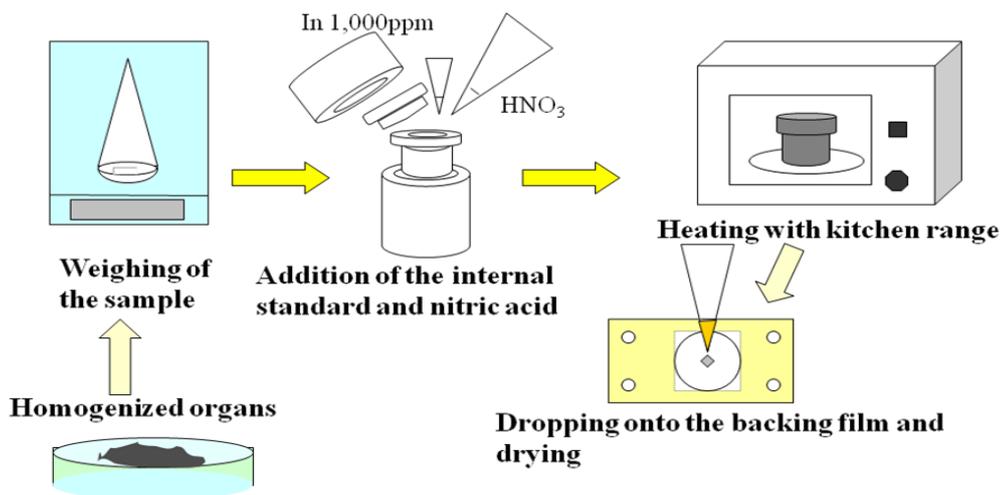


図 8. 硝酸灰化・内部標準法試料調製の手順

同法は、テフロン製専用圧力容器内に試料と濃硝酸を入れ内部標準液（通常希硝酸溶液）を添加、電子レンジを用いて灰化、均一化し（灰化後に標準液を添加する場合もある）、バックキグ膜上に滴下・乾燥させターゲットとするものであり、試料調製に要する時間が短く、多くの場合良い再現性が得られることが確認されている。しかし唯一の欠点は、フッ素・塩素・臭素・ヨウ素などのハロゲンをはじめ揮発性の元素が散逸する点にあり、そのためそれらの元素分析をも目的とする場合には採用できない。硝酸灰化法の手順の詳細は、参考文献 35 を参照されたい。

さらに松田氏（当時岩手医科大学化学教室）は、灰化した後、薄く均一なターゲットを作成する目的で、灰化液を噴霧しバックキグ膜上に固定する方法の開発も行っている<sup>36)</sup>。これらの方法の精度・再現性は、NIST-Bovine Liver をはじめとする数種の標準試料の分析結果を保証値と比較することにより常に確認され、標準試料の分析数は現在まで 1000 回を超えている。

### 4.3 粉末内部標準法

上記硝酸灰化法は有機物主体の試料に有効であるが、土壌・岩石・焼却灰などの無機物で構成される試料には適用困難である。また、後述の「無標準法」は内部標準の添加を必要としないが、この方法も有機物マトリクス試料にのみ適用可能である。そのため世良等はこれら高 Z 元素マトリクスの粉末状試料に対して、粉末状の内部標準を用いる「粉末内部標準法」を確立した<sup>37)</sup>。本法はパラジウムカーボン (Pd-C) 粉末を内部標準として用いるもので、メノウ乳鉢中でおおよそ 10000 ppm となるように試料に添加し均一化するものであり、均一性・再現性は極めて満足すべきものである。Pd-C 粉末を用いることの利点はいくつかあり、それらは① Pd-C が 5% Palladium に調製されているため、少量の試料に対する内部標準の秤量精度が保てる、② Pd の L-X rays が Ar-K 付近に出るため、他元素の分析精度に殆ど影響を与えない、③ Pd-C は漆黒であるため、試料との均一性が目で確認できる、などである。本法は 5  $\mu\text{m}$  以下の微粒子に対しては非常に精度が高いが、唯一の欠点は Pd-C 中に Fe、Zn、Ca などの不純物がある点であり、これらの元素の濃度が低い試料に対しては精度に問題が生じる。その場合 Pd-C を加えたターゲットで上記以外の 1 元素の濃度を求め、次に Pd-C 無添加ターゲットを測定しその 1 元素を内部標準とみなして定量分析を行う二回測定法がとられる。5  $\mu\text{m}$  程度の粒径であっても、Na~Al までの低エネルギー X 線に対しては粒子内の自己吸収が問題となるが、その補正を自己無撞着になるまで繰り返し行う方法も開発された<sup>38)</sup>。粉末内部標準法で調製されるターゲットは、上述の「特殊吸収体」で測定を行う場合が多い<sup>10,11)</sup>。図 9 に粉末内部標準法による試料調製の手順を示す。

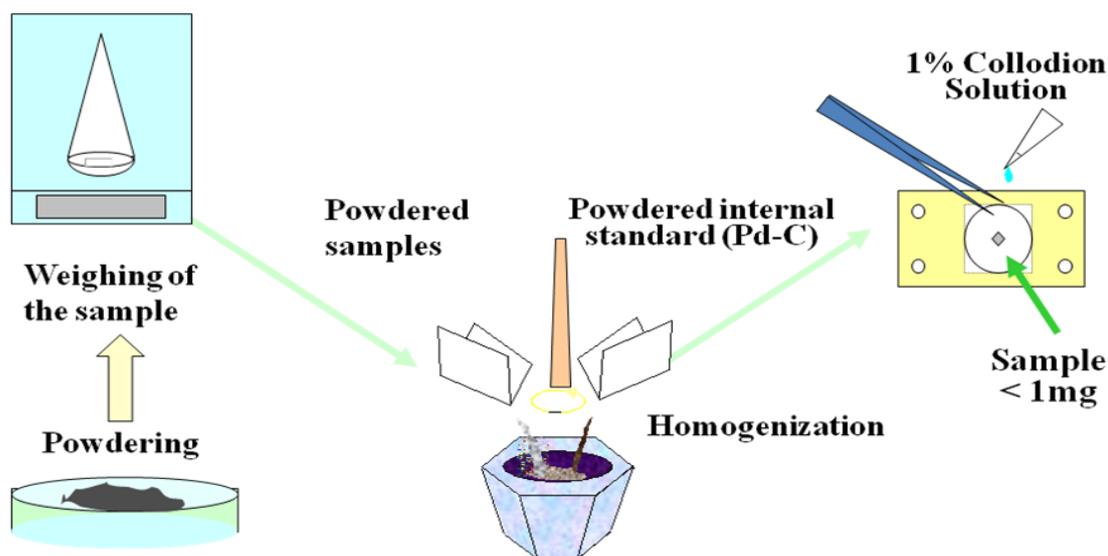


図 9. 粉末内部標準法に基づく試料調製の手順

#### 4.4 生物試料に対する粉末内部標準法

環境科学の分野においては、フッ素などのハロゲンが注目元素となることが多く、また食品栄養学の観点からもヨウ素の濃度が重要な意味を持つ場合がある。4-2で紹介した硝酸灰化法を用いた場合それらはほぼ失われ、また硫黄やセレンなど、灰化条件によっては一部が失われると指摘される元素もある。特に環境研究において重要なフッ素分析を行う目的で、純 Ge 検出器を用いた分析システムを構築したことは前述の通りであるが、その場合試料調製法もハロゲンに対応できるものでなければならない。伊藤等は、生物試料を液体窒素中で凍結粉碎・微粒子状にし、それに対して Pd-C を用いた粉末内部標準法を適用することにより、ハロゲン分析を可能とする調製法を確立させた<sup>39)</sup>。土壌や焼却灰の場合と異なり Pd-C 中の不純物が大いに問題となるが、上述のように Pd-C 中には不純物として存在しない K を本法で定量し、Pd-C を加えないターゲットの他元素濃度を K を内部標準とみなして求める方法により、野菜・山菜などの分析を行うことができた<sup>40)</sup>。図 10 に、生物試料に対する粉末内部標準法のための試料調製手順を示す。

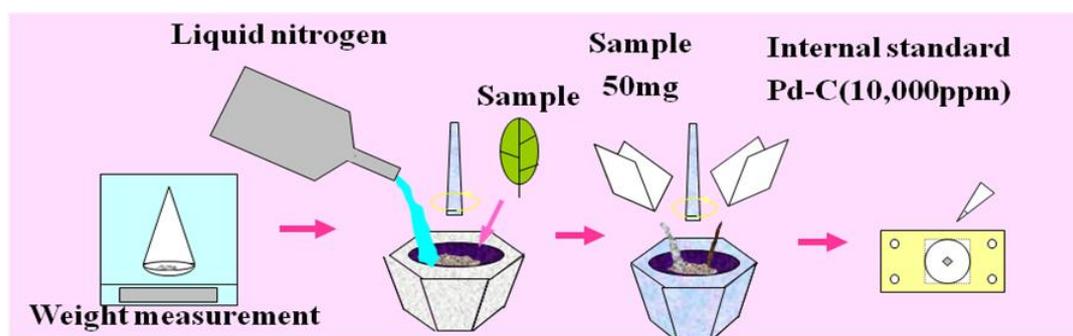


図 10. 生物試料に対する、液体窒素を用いた均一粉末化と粉末内部標準混入の手順。

#### 4.5 無標準法適用試料に対する調製法

無標準法（後述）が適用可能な試料の場合、調製の手順は著しく簡略化される。毛髪やツメ試料はアセトンできれいに拭いて貼るだけ（蒸留水を用いると K、Br など一部の元素が漏出することが確認されている）、尿・血清・全血・髄液・汗などの体液は一滴バックリング膜上に滴下するだけ、生体試料は 1 mg 以下の少量をそのままバックリング膜上に乗せ乾燥させるだけでターゲットが完成する<sup>9)</sup>。内部標準法適用の場合、分析結果は試料調製の熟練度に大きく左右されるが、無標準法の場合は誰が行っても同様の結果が得られ、しかも試料調製の手間・時間が何十分の一に軽減される。

#### 4.6 外部標準法適用試料に対する調製法

ニュークレポアフィルター上に採取されたエアロゾル試料などは、ほぼ均一試料とみなすことができる。何故なら、粒子が孔に詰まるとその部分の空気の流れが遮断され、他の空いている孔に次の粒子が流れる、いわゆる negative feedback が働くためである。河川の不溶成分をフィルター上に吸引するような場合も同様である。それらの試料には、「均一試料に対する外部標準法」が適用される<sup>41)</sup>。インパクトなどで粒径別に採取されるエアロゾル試料の中には、点状に採取される場合も多く、その場合「点状試料に対する外部標準法」が適用できる<sup>42)</sup>。いずれも原理は後述するが、それらに対する試料調製も極めて簡潔でフィルターを切って貼るだけで良い。（点状試料の場合、beam spot 内に複数の点が含まれないように注意する必要がある。）図 11 にフィルター上に採取されたエアロゾル試料の試料調製手順を示す。

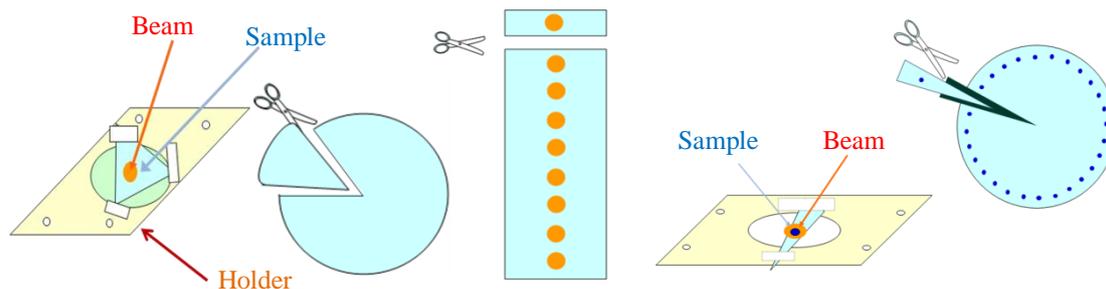


図 11. エアロゾル試料に対する試料調製法、均一試料(左)・点状試料(右)のそれぞれの場合のビームとの関係も示す。

## 5 定量分析法

### 5.1 絶対定量法

PIXE は標準を用いず絶対定量を行うことが可能な数少ない方法の一つである。PIXE において検出器で検出されるある元素  $i$  の特性 X 線収量:  $Y_i$  は以下の式で与えられる。

$$Y_i = N_p \cdot N_T \cdot \sigma_i^X(E_p) \cdot \text{eff}(e_{xi}) \cdot A(e_{xi}) \frac{d\Omega}{4\pi}$$

ここで  $e_{xi}$  は元素  $i$  の特性 X 線エネルギーを、 $E_p$  は陽子ビームのエネルギーをそれぞれ表わし、 $N_p$  は測定時間中に試料を通過した陽子の個数、 $N_T$  はターゲット  $1 \text{ cm}^2$  あたりの当該元素  $i$  の個数、 $\sigma_i^X(E_p)$  は X 線発生断面積でありこれは  $1 \text{ cm}^2$  あたり元素  $i$  が 1 個存在しその任意の場所に入射粒子  $P$  が 1 個入射した場合、その特性 X 線が発生する確率を表わす。さらに続く 3 つは、 $\text{eff}(e_{xi})$  が  $e_{xi}$  のエネルギーの X 線に対する検出効率、 $A(e_{xi})$  は同じく用いた吸収体中の X 線透過率、 $d\Omega/4\pi$  は検出器の有効立体角を示す。(上式においては十分に薄いターゲットが想定され、X 線の試料中自己吸収は考慮されていない。) この式を用いれば、試料中当該元素の個数  $N_T$  を求めることができる。しかしこの式はターゲットが均一の厚さ、またターゲット中での元素  $i$  が完全に均一濃度に調製された場合に適用可能であり、実際の分析でそのような試料調製を行うことは難しい。また、有効立体角やビーム電流測定には、一般に大きな誤差を伴う。

### 5.2 内部標準法

そこで一般的に用いられるのが内部標準法である。これは予め既知濃度の内部標準元素を試料に均一に混ぜ、標準元素  $s$  の濃度  $C_s$  と、標準元素  $s$  ・求める元素  $i$  の X 線に対する X 線発生断面積・検出効率・吸収体中の透過率が既知であれば、元素  $i$  の濃度  $C_i$  は以下の式で求められる。

$$C_i = C_s \cdot \frac{Y_i \cdot \sigma_s^X(E_p) \cdot A(e_{xs}) \cdot \text{eff}(e_{xs})}{Y_s \cdot \sigma_i^X(E_p) \cdot A(e_{xi}) \cdot \text{eff}(e_{xi})}$$

この式から分かるように、立体角・入射粒子数はキャンセルされるため測定は不要であり、他の物理量の誤差も相対誤差となるため絶対定量法と比べ精度の良い分析が可能となる。通常の試料の分析に対しては、この内部標準法が基本となる。

### 5.3 外部標準法

上述のように、フィルターに吸引されたエアロゾルや水溶液中の懸濁物(不溶成分)などは、外部標準法により定量分析が可能となる。図 12-a に均一試料に対する外部標準法の原理を示す。先ず厚さ ( $\text{ng/cm}^2$ ) が既知である標準試料を測定し入射粒子の個数を測定、それに対する標準元素からの特性 X 線収量を求める。次に試料を同じ照射・測定条件で測定することにより、ター

ゲット上に均一に存在する任意の元素濃度を、上式中のピーク収量 (Y) の比、X 線発生断面積 ( $\sigma^X(E_p)$ ) の比、また上式中の  $A(e_x)$  と  $\text{eff}(e_x)$  の比、標準試料厚さより求めることができる。この場合、試料にビームが全て収まるように照射を行えば、ビームの分布は結果に影響を与えない。

一方、点状試料に対してはその原理を図 12-b に示す。ビームの径を大きく取り (通常 6 mm $\phi$ )、その中央部の均一なビーム強度分布に試料が全て包み込まれるような条件で照射を行う。同一条件下で絶対量 (ng) が既知の標準試料の照射行い結果を比較することにより、均一試料と同様な 3 つの物理量を考慮し試料中の当該元素量を ng の絶対量で求めることができる。

特にエアロゾル試料に対して本法が非常に有利であるのは、他の分析法とは異なり試料に全く手を加えないため試料調製に伴う不確定要素を排除でき、全く同一の照射・測定条件下で試料のみを送って分析を続けられるため、試料間の分析精度が極めて高い点にある。その長所は、step sampler などでエアロゾルを連続採取し経時変化を観測する際に顕著に表れ、スムーズな曲線が描かれる。

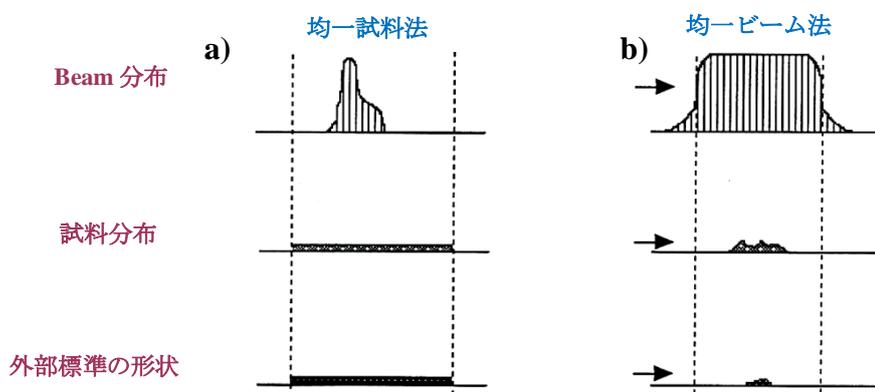


図 12. エアロゾル試料における均一試料(a)、点状試料(b)に対する外部標準法の原理と、ビームとの関係。

#### 5.4 無標準法

NMCC の PIXE のキャッチフレーズの 1 つは「全ての試料の定量分析を行う」ことであり、それが NMCC の最大の特徴となっているが、そのためには無標準法 (Standard-free method) の開発が不可欠であった。無標準法の原理の特徴は、試料から発生する連続 X 線の収量を利用することである。これらの X 線は多くの成分より成るが<sup>43)</sup>、一次近似においてはその全収量はターゲット中の電子数に比例し、それはほぼ (ビームで照射されている部分の) 試料重量に相当する。一方、特定元素の濃度に比例して発生するのが特性 X 線ピークであり、前者に対する後者の比は我々にその元素の濃度に対応する情報をもたらす。図 13 に無標準法のためのスペクトル解析の手順を、血清試料の例に対して示す。まず a) においてバックリング膜から発生する連続 X 線 [2] をクーロン数で規格化し raw spectrum [1] から差し引き、net spectrum [3] を得る。b) では c) において斜線で示した領域の連続 X 線収量を求めるため、領域内の peak fitting を行いピーク成分を差し引き、c) において連続 X 線収量  $Y_{CX}$  を求める。最後に指標元素 (血清の場合は K) のピーク収量  $Y_1$  に対する  $Y_{CX}$  の比を求め、予め決定されている変換係数を用い指標元素濃度を求める。

無標準法は世良等により主に生物試料に対して開発され<sup>7)</sup>、それぞれの種の試料に共通して多量に存在する元素 (毛髪であれば Zn、一般の生体試料の場合 K など) を指標元素として指定する。同種の試料を複数用意し、特定の領域の連続 X 線収量に対する指標元素のピーク収量の比を求め、それと内部標準法により求めた指標元素濃度とを比較することにより、その比から指標元素濃度を求めるための変換係数が決定される。

しかしここで問題となるのは、「連続 X 線の収量をどの領域において採るか」である。領域内

のピークはフィッティングにより差し引かれるが、巨大なピークが存在する領域は避けなければならない。また、連続 X 線収量が重元素濃度により大きな影響を受ける高エネルギー領域も避けた方が良い。一方低エネルギー領域においてはピークが乱立し、連続 X 線成分のみを取り出すことが困難である。このような状況は試料の種別により異なるため、それぞれに応じて最適な領域を決定しなければならない。通常の生体試料に対しては、4~6 keV 近辺の連続 X 線収量が用いられることが多い。詳細については参考文献 7 を参照されたい。

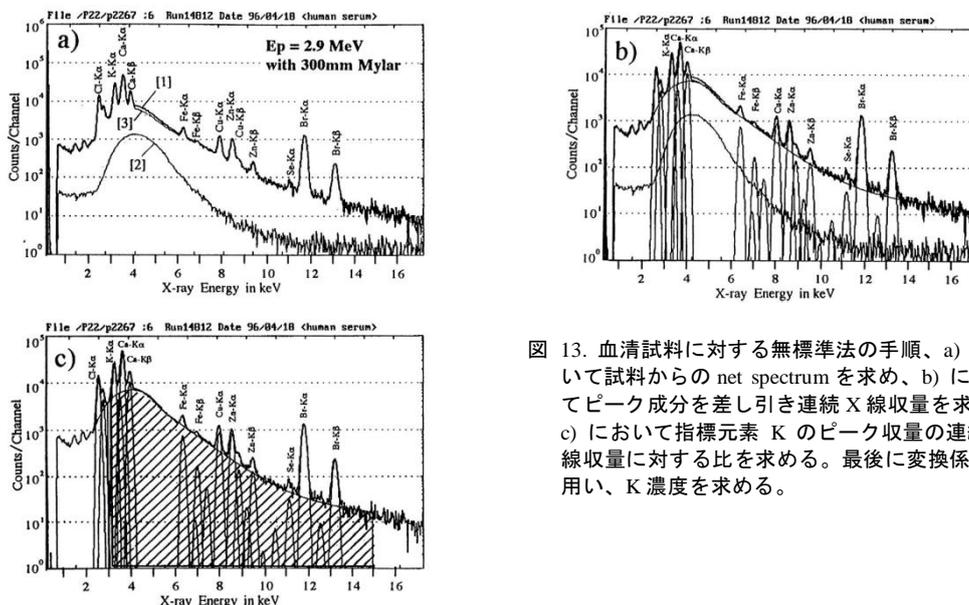


図 13. 血清試料に対する無標準法の手順、a) において試料からの net spectrum を求め、b) においてピーク成分を差し引き連続 X 線収量を求め、c) において指標元素 K のピーク収量の連続 X 線収量に対する比を求める。最後に変換係数を用い、K 濃度を求める。

無標準法は全く手を加えない試料の定量分析を可能とするため、試料調製の熟練度が要求されず、その手間や時間を大幅に節約できる利点があるが、最大の利点は微量試料の定量分析が可能となることである。通常 10  $\mu\text{g}$  以下の試料に対しては、ピペッティング精度の点から内部標準法の適用が難しいが、無標準法であれば 1  $\mu\text{g}$  以下の微小試料で十分な精度での定量分析が可能となり、生検で採取された微小検体や小実験動物の小臓器（リンパ節など）の定量に絶対的な威力を発揮する。血液や尿であれば一滴、毛髪であれば 5 mm の毛髪 1 本での分析が可能である。

無標準法は微量臨床検体試料<sup>8)</sup>、粉末状試料<sup>44)</sup>、毛髪<sup>5, 6, 27)</sup>、尿<sup>45)</sup>、ツメ<sup>46)</sup>、髄液<sup>47)</sup>、汗・涙などの体液<sup>48)</sup>、微小臓器試料<sup>9)</sup>、電気カミソリで採取される粉末状のヒゲ試料<sup>49, 50)</sup>等を対象として次々と開発され、実際に NMCC の PIXE において半数の試料は無標準法において分析されている。さらに家畜のツメ試料<sup>51)</sup>、野鳥や家禽の羽毛試料<sup>52)</sup>に対しても開発され、昨日本報文集においてもそれぞれ報告を行った<sup>53, 54)</sup>。しかし本法は万能ではなく、高 Z 元素マトリクス試料に対しては有効ではない。そのため、鉱物学試料、焼却灰、また（軽元素マトリクスが蒸発してしまう）一般の水試料に対しても適用困難である。しかしこれらの試料はいずれも多量に採取できる場合が多く、粉末内部標準法やピペッティング法により定量が容易である。

無標準法は大気 PIXE においても、最も分析需要の高い毛髪試料<sup>27)</sup>、また真空に入れることが不可能なオイル試料<sup>14)</sup>に対して開発されており、後者は本報文集に詳細を報告している。最近の最大のトピックとして「生きた植物試料に対する無標準法」が大気 PIXE においてほぼ開発された。本来、有害元素の農作物中での動態観察が主目的であったが、陽子線照射に伴う元素動態の時間変化など、apoptosis や bi-stander 効果などにも関与していると思われる興味深い情報が得られることが分かった。今後多くの領域の研究にこの手法が応用され発展するものと期待される。本法は原則的に動物にも適用可能であり、基礎医学への応用も期待される。だが未報告であるため詳細は来年度の本報文集に寄稿する予定である。

## 6 NMCC で分析可能な試料

内部標準法に加え、無標準法・外部標準法・粉末内部標準法の開発、さらに真空中での測定が困難な試料を分析するための大気 PIXE システムにおける定量分析法の開発などにより、NMCC で分析可能な試料の範囲は大きく広がり、(精度は試料に依存するが)「全ての試料」の定量分析が可能となっていると考えて良い。このような方法論開発は全て利用者の要望に沿う形で行われてきたものである。利用者の皆様も、現在測定を行っている試料以外の種類の試料分析も、ぜひ意欲的に検討して頂きたい。そのことにより、現在遂行中の研究に新展開をもたらすことができれば幸いである。

全ての試料の分析が可能のため、多角的な研究を一つの手段を用いて遂行可能な点が、NMCC の PIXE の最大の特徴である。一例をあげれば、ある地方の住民の毛髪から異常な高濃度で有害元素が検出されたとする。その曝露主経路を調べるため、井水・河川水・農業用水など水系の環境汚染、土壌・大気粉塵など生活圏の汚染、そして農作物・魚類・肉類・乳製品など、住民が主食としている食品のリスク評価、あるいは問題解決のために施行する植物による環境浄化(Phytoremediation)<sup>55, 56)</sup> の効果判定のための植物・底質・土壌等の分析というように、1つの問題を解決するためには多角的な approach での研究・多種試料の分析が要求される。それらに全て対応可能なのが NMCC の PIXE である。利用者の皆様には、その特徴を最大限に役立てていただきたい。

また本稿において紹介していない全く分析未経験の試料であっても、その定量分析法は開発可能であるため、利用者の皆様も積極的に我々に要望を出して頂きたい。我々の PIXE が利用者の皆様と共に成長し、多くの方々の研究にとって不可欠な手段としての地位を築き、その進展に貢献できること、これが我々の最大の願いである。

だが我々の PIXE にはできないものがあり、それはマイクロビーム PIXE による細部の元素マッピングである。我々はサイクロトロンを用いているため、 $\mu\text{m}$  オーダーにビームを絞り込むことは不可能である。さらに高 Z 元素に対し感度の高い HEPP (High Energy Proton PIXE) も、ビームエネルギーが可変ではないため不可能である。しかしマイクロビーム PIXE を行う施設は全国に 10 ほど存在し、共同利用も行われている。東北大サイクロトロンセンターなど、high energy beam を用いた PIXE が可能な施設も複数存在する。今後そのような他施設との協力関係を深めながら、PIXE の発展・普及のため貢献していきたい。

## 謝辞

NMCC の全国共同利用を有効に活用し、各分野において優れた成果を上げられている利用者の方々に支えられ、今日の我々があります。利用者の方々に最高の手段を提供するための方法論開発を続けたことにより、我々の PIXE はこの 20 年間常に発展途上にありました。おかげさまで「定量精度」、「試料の多様性」、「利用分野の広さ」という観点では世界の中心的施設にまで発展させることができました。「このような試料をこのように分析してみたい」というご希望を、どんどん出していただきたいと思います。今後も、利用者の皆様のいっそう意欲的・独創的な利用を期待しております。また、共同利用の円滑な運営のために日々献身的な働きをしておられる日本アイソトープ協会の方々、及び岩手医大サイクロトロンセンターのスタッフに謝意を表します。

## 参考文献

1. M. A. Habib, S. Miono, K. Sera and S. Futatsugawa, "PIXE Analysis of Hair in Arsenic Pollution, Bangladesh.", *Int'l Journal of PIXE*, Vol.12-1,2, 19-34 (2002)
2. S. Murao, E. Daisa, K. Sera, V. Maglambayan and S. Futatsugawa, "PIXE measurement of human hairs from a small-scale mining site of the Philippines", *Nucl. Instr. and Meth.*, B189, 168-173 (2002)
3. E. Clemente, K. Sera, S. Futatsugawa and S. Murao, "PIXE Analysis of Hair Samples from Artisanal Mining Communities in the Acupan Region, Benguet, Philippines.", *Nucl. Instr. and Meth.*, B219-220, 161-165 (2004)
4. K. Sera, MD. Shafiqul Islam, T. Nakamura, S. Goto, C. Takahashi and Y. Saitoh, "Studies on Water Contamination in Bangladesh. – Primary Treatment of Water Samples at the Sampling Site.", *Int'l Journal of PIXE*, Vol.20-3,4, 119-126 (2010)
5. K. Sera, S. Futatsugawa and K. Matsuda, "Quantitative analysis of untreated bio-samples", *Nucl. Instr. and Meth.*, B 150, 226-233 (1999)
6. K. Sera, S. Futatsugawa and S. Murao, "Quantitative Analysis of Untreated Hair Samples for Monitoring Human Exposure to Heavy Metals.", *Nucl. Instr. and Meth.*, B 189, 174-179 (2002)
7. K. Sera, S. Futatsugawa, K. Matsuda and Y. Miura, "Standard-free method of quantitative analysis for bio-samples", *Int'l Journal of PIXE*, Vol.6-3, 4, 467-481 (1996)
8. K. Sera, S. Futatsugawa S. Hatakeyama, Y. Saitoh and K. Matsuda  
"Quantitative Analysis of Bio-medical Samples of Very Small Quantities by the Standard-free Method.", *Int'l Journal of PIXE*, Vol. 7-3, 4, 157-169 (1997)
9. K. Sera, J. Itoh, S. Goto, Y. Saitoh, A. Fujimura, Y. Nozaka, Y. Noda, S. Nishizuka and G. Wakabayashi,  
"Quantitative Analysis of Very Small Quantity of Organs Taken from Patients and Experimental Animals; Standard-free Method for Organ Samples.", *Int'l Journal of PIXE*, Vol.18-3, 4, 111-122 (2008)
10. K. Sera and S. Futatsugawa, "Effects of X-ray Absorbers Designed for Some Samples in PIXE Analyses.", *Int'l Journal of PIXE*, Vol. 5-2,3, 181-193 (1995)
11. K. Sera and S. Futatsugawa, "Design of Absorbers for Metal-rich Samples in PIXE Analysis. ( Application of PIXE to Various Research Fields at NMCC )", *Int'l Journal of PIXE*, Vol. 6-1,2, 71-88 (1996)
12. S. Futatsugawa, S. Hatakeyama, Y. Saitoh and K. Sera, "In-Air PIXE System at NMCC.", *Int'l Journal of PIXE*, Vol. 7-3,4, 171-177 (1997)
13. K. Sera, K. Terasaki, J. Itoh, Y. Saitoh and S. Futatsugawa, "Physical Quantitative Analysis in In-Air PIXE.", *Int'l Journal of PIXE*, Vol.17-1,2, 1-10 (2007)
14. K. Sera, S. Goto, C. Takahashi and Y. Saitoh, "Quantitative Analysis of Untreated Oil Samples in In-air PIXE", *Int'l Journal of PIXE*, Vol.20 -3,4, 77-84 (2010)
15. 世良耕一郎、寺崎一典、佐々木敏秋、後藤祥子、高橋千衣子、齋藤義弘、齊藤勝美、"オイル試料に対する無標準定法の開発 -大気 PIXE システムを用いて-", 本報文集 (掲載予定)
16. K. Sera, K. Terasaki, S. Murao, S. Futatsugawa and Y. Saitoh, "A Three-detector Measuring System Using a Pure-Ge Detector.", *Int'l Journal of PIXE*, Vol.13-1,2, 23-35 (2003)
17. K. Sera, K. Terasaki, Y. Saitoh, J. Itoh, S. Futatsugawa, S. Murao, and S. Sakurai, "Method of Quantitative Analysis of Fluorine in Environmental Samples Using a Pure-Ge Detector.", *Int'l Journal of PIXE*, Vol.14-1,2, 9-18 (2004)
18. K. Sera, K. Terasaki, J. Itoh, S. Futatsugawa, Y. Saitoh and A. Fujimura, "Simultaneous Multi-element (Including Fluorine) Analysis of Various Bio-medical Samples.", *Int'l Journal of PIXE*, Vol.15-3,4, 169-180 (2005)
19. J. Itoh, S. Futatsugawa, Y. Saitoh and K.Sera, "Fluorine and Multi-element Analysis of Environmental Samples by means of PIXE System.", *Int'l Journal of PIXE*, Vol.15-3,4, 285-291 (2005)
20. S. Sakurai, R. Asakawa, F. Hirota, T. Sato, K. Sera and J. Itoh, "Quantitative and Qualitative Analysis of Fluorine and Multi Elements of Shark Teeth by PIXE.", *Int'l Journal of PIXE*, Vol.18-3, 4, 123-129 (2008)
21. K. Sera, T. Sasaki, J. Itoh, Y. Saitoh and S. Futatsugawa, "Simultaneous Measurement of Two Different Targets by Means of Vacuum and In-Air PIXE.", *Int'l Journal of PIXE*, Vol.18-1,2, 1-12 (2008)
22. 石井慶造、「粒子線励起 X線放出 (PIXE) とその応用」、日本物理学会誌、Vol. 66, No. 1, 12-19 (2011)

23. K. Sera, T. Yanagisawa, T. Tsunoda, H. Futatsugawa, S. Hatakeyama, S. Syzuki and H. Orihara, "The Takizawa PIXE Facility Combined with a Baby Cyclotron for Positron Nuclear Medicine.", *Int'l Journal of PIXE*, Vol. 2-1, 47-55 (1992)
24. K. Sera, S. Futatsugawa and K. Matsuda, "Determination of Physical Quantities for PIXE by Means of PIXE 2. Efficiency Curve.", *Int'l Journal of PIXE*, Vol. 4-2, 3, 181-191 (1994)
25. K. Sera, T. Yanagisawa, H. Tsunoda, S. Futatsugawa, S. Hatakeyama, Y. Saitoh, S. Suzuki and H. Orihara., "Bio-PIXE at the Takizawa facility (Bio-PIXE with a baby cyclotron)", *Int'l Journal of PIXE*, Vol. 2-3, 325-330 (1992)
26. 世良耕一郎、「PIXE法で定量分析可能な試料 -PIXE 全国共同利 10年の歩み-」、NMCC 共同利用研究成果報文集 第十巻, 303-310 (2003)
27. K. Sera, K. Terasaki, J. Itoh, Y. Saitoh and S. Sakurai, "Standard-Free Method for Hair Samples in In-Air PIXE.", *Int'l Journal of PIXE*, Vol.18-1,2, 21-30 (2008)
28. K. Sera and S. Futatsugawa, "Personal Computer Aided Data Handling and Analysis for PIXE." *Nucl. Instr. and Meth., B* 109/110, 99-104 (1996)
29. K. Sera and S. Futatsugawa, "A Few Approaches to Remove Ambiguous Factors in X-ray Spectrum Analysis.", *Int'l Journal of PIXE*, Vol. 3-4, 283-294 (1993)
30. K. Sera and S. Futatsugawa, "Spectrum Analysis Taking Account of the Tail, Escape Functions and Sub-lines. (SAPIX version 4)", *Int'l Journal of PIXE*, Vol.10-3,4, 101-114 (2000)
31. W. Brandt and G. Lapicki, "Energy-Loss Inner Shell Coulomb Ionization by heavy charged particles.", *Phys. Rev.*, A23, 1717 - 1729 (1981)
32. K. Sera, K. Ishii, H. Orihara and S. Morita, "K-X ray Production Cross Sections of Heavy Lanthanides Over the Energy Range of 3-40 MeV/amu.", *Int'l Journal of PIXE*, Vol. 5-1, 57-67 (1995)
33. K. Sera, K. Ishii and H. Orihara, "L and M X-ray Production Cross Sections of Heavy Rare Earth Elements in the 3-40 MeV/amu Projectile-energy Range.", *Int'l Journal of PIXE*, Vol.8-4, 253-266 (1998)
34. K. Sera, S. Futatsugawa, S. Hatakeyama and Y. Saitou, "Determination of Physical Quantities for PIXE by Means of PIXE 1. Absorption Curve.", *Int'l Journal of PIXE*, Vol. 4-2, 3, 165-179 (1994)
35. S. Futatsugawa, S. Hatakeyama, Y. Saitou and K. Sera, "Present Status of NMCC and Sample Preparation Method of Bio-Samples.", *Int'l Journal of PIXE*, Vol. 3-4, 319-328 (1993)
36. K. Matsuda, K. Sera, S. Takikawa and H. Tsunoda, "Target Preparation by Atomizing of Hydrolyzed Solution of Biological Materials for PIXE Analysis.", *Int'l Journal of PIXE*, Vol. 4-1, 65-73 (1994)
37. K. Sera and S. Futatsugawa, "Quantitative Analysis of Powdered Samples Composed of High-Z Elements.", *Int'l Journal of PIXE*, Vol. 8-2,3, 185-202 (1998)
38. K. Sera, S. Futatsugawa and D. Ishiyama, "Application of a Powdered-Internal-Standard Method Combined with Correction for Self-Absorption of X-rays to Geological, Environmental and Biological Samples.", *Int'l Journal of PIXE*, Vol.9-1,2, 63-81 (1999)
39. J. Itoh, S. , S. Futatsugawa, Y. Saitoh, F. Ojima and K. Sera, "Application of a Powdered-internal-standard Method to Plant and Seaweed Samples." , *Int'l Journal of PIXE*, Vol.15-1,2, 27-39 (2005)
40. J. Itoh, S. , Y. Saitoh, S. Futatsugawa and K. Sera, "Elemental Analysis of Vegetables on the Market - Comparison with wild plants.", *Int'l Journal of PIXE*, Vol.16-3,4 209-220 (2006)
41. K. Sera, S. Futatsugawa and K. Saitoh, "Method of Quantitative Analysis Making Use of Bromine in a Nucleopore Filter.", *Int'l Journal of PIXE*, Vol. 7-1,2, 71-85 (1997)
42. K. Saitoh, K. Sera, H. Imaseki, M. Shinohara and M. Fujiwara, "PIXE Analysis of Spot Samples on New Type of PTFE Ultra-Membraine Filter-Type Mounted in an Automated Beta-Ray Absorption Mass Monitor.", *Int'l Journal of PIXE*, Vol.16-1,2, 95-101 (2006)
43. K. Ishii and S. Morita, "Continuous Backgrounds in PIXE.", *Int'l Journal of PIXE*, Vol. 1-1, 1-30 (1990)
44. K. Sera and S. Futatsugawa, "Quantitative Analysis of Powdered Bio-medical Samples by the Standard-free Method.", *Int'l Journal of PIXE*, Vol. 8-1, 19-32 (1998)
45. K. Sera, Y. Miura and S. Futatsugawa, "Application of a Standard-free Method to Quantitative Analysis of Urine Samples.", *Int'l Journal of PIXE*, Vol.11-3,4, 149-158 (2001)
46. K. Sera, S. Futatsugawa, Y. Miura, S. Murao and E. Clemente, "Quantitative Analysis of Untreated Human Nails for Monitoring Human Exposure to Heavy Metals.", *Int'l Journal of PIXE*, Vol.12-3,4, 125-136 (2002)

47. K. Sera, Y. Miura and S. Futatsugawa, "Application of a Standard-Free Method to Quantitative Analysis of Cerebrospinal Fluid (CSF) Samples.", Proceedings on 10<sup>th</sup> International Conference on Particle-induced X-ray Emission and its Analytical Applications, June 2004, Portoroz, Slovenia, 704.1-704.3 (2004)
48. K. Sera, K. Terasaki, J. Itoh, Y. Saitoh, S. Futatsugawa and Y. Miura, "Standard-free Method for Body Fluid Samples such as Saliva, Sweat, Snivel and Tear.", *Int'l Journal of PIXE*, Vol.15-1,2, 47-57 (2005)
49. K. Sera, J. Itoh, Y. Saitoh and S. Futatsugawa, "Standard-free Method for Beard Samples of Very Small Quantity.", *Int'l Journal of PIXE*, Vol.16 -3,4, 157-168 (2006)
50. K. Sera, T. Sasaki, J. Itoh and Y. Saitoh, "Studies on Daily Changes of Elemental Concentration in Beard Samples by Means of the Standard-free Method.", *Int'l Journal of PIXE*, Vol.16 -3,4, 169-182 (2006)
51. K. Sera, K. Suzuki, K. Taguchi, J. Itoh, S. Goto and Y. Saitoh, "Standard-Free Method for Hoof Samples Taken from Domestic Animals such as Cow, Calf, Pony and Sheep.", *Int'l Journal of PIXE*, Vol.19 -3, 4, 111-122 (2009)
52. K. Sera, K. Suzuki, K. Taguchi, K. Chiba, J. Itoh, S. Goto and Y. Saitoh, "Quantitative Analysis of Feather Samples Taken from Wild Birds such as Swan, Waxwing, Osprey, Heron and Crow.", *Int'l Journal of PIXE*, Vol.19 -3, 4, 123-132 (2009)
53. 世良耕一郎、鈴木一由、田口清、伊藤じゅん、後藤祥子、高橋千衣子、齋藤義弘、「有蹄類家畜ヒツメ試料に対する無標準定量法の開発」、NMCC 共同利用研究成果報文集第 15 巻、97-109 (2008)
54. 世良耕一郎、鈴木一由、田口清、千葉啓子、伊藤じゅん、後藤祥子、高橋千衣子、齋藤義弘、「野鳥から採取された羽毛試料に対する無標準定量法の開発」、NMCC 共同利用研究成果報文集第 15 巻、97-109 (2008)
55. N. T. H. Ha, M. Sakakibara, S. Sano, S. Hori and K. Sera, "The Potential of *Eleocharis* for Phytoremediation : Case study at an Abandoned Mine Site.", *CLEAN Soil, Air, Water*, Vol. 37-3, 203-208, (2009)
56. N. T. H. Ha, M. Sakakibara, S. Sano, S. Hori, D. Takehara and K. Sera, "The Potential of the Aquatic Macrophyte *Eleocharis acicularis* for Phytoremediation of Metal Contaminated Environment.", Proceedings of the Symposium on Geo-Environments and Geo-Techniques, 87-92, (2009)

## What can be performed by means of PIXE at NMCC?

K. Sera<sup>1</sup>, S. Goto<sup>2</sup>, C. Takahashi<sup>2</sup>, Y. Saitoh<sup>2</sup>, K. Terasaki<sup>1</sup>, T. Sasaki<sup>1</sup>,  
J. Itoh<sup>3</sup> and S. Futatsugawa<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Cyclotron Research Center, Iwate Medical University  
Tomegamori, Takizawa, 020-0173, Japan

<sup>2</sup>Nishina Memorial Cyclotron Center, Japan Radioisotope Association  
348-58 Tomegamori, Takizawa, 020-0173, Japan

<sup>3</sup>Japan Radioisotope Association  
2-28-45 Honkomagome, Bunkyo, Tokyo 113-8941, Japan

### Abstract

The Nationwide-common utilization for PIXE at NMCC has been carrying out since April 1993, and more than 100000 samples have been analyzed up to the present. PIXE has been applied to many studies in various research fields. As a result, the samples analyzed have diversified shapes, characters and compositions. In order to cope with these diversified samples, we have been continuously developing the methods of measurement, data analysis, sample preparation and quantitative analysis. Now, one of our catchphrases is “We’ll perform quantitative analysis of any kind of samples”. Especially, the standard-free method for quantitative analysis made it possible to quantitatively analyses infinitesimal samples, powdered samples and untreated bio samples which could not be well analyzed quantitatively in the past. It also allows us to carry out quantitative analysis of untreated samples, and it saves labor and time for procedure in target preparation. Moreover, “The powdered-internal-standard” is working miracle in analyses of high-Z-matrix-powdered samples such as soil, rock, ash, dust and aerosol.

The recent topics are as follows. In in-air PIXE, a physical method of quantitative analysis was established and the samples which has been difficult to be analyzed in vacuum can be quantitatively analyzed in in-air PIXE. Moreover, standard-free methods for various samples have been developed in in-air PIXE, and it becomes possible to quantitatively analyze the samples such as a drop of oil and living plants which have been difficult to be quantitatively analyzed by traditional methods. In in-vacuum PIXE, the standard-free method for organs taken from patients and experimental animals has been established and it becomes possible to quantitatively analyze very small organ samples of less than 1□g. These methods have already been applied to many practical studies.

**Keywords** : PIXE, Quantitative analysis, Standard-free, Internal standard, External standard, Living plant, Organ, Oil, Measuring system, In-air, Spectrum analysis, Small quantity, Clinical samples, Experimental animals, Environmental studies, Human exposure, Toxic elements, Powdered samples, High-Z, Untreated samples, Absorption curve, Efficiency

## ロシア南部－中部ウラル地域、シルル－デボン系 火山性塊状硫化物鉱床の鉱物組合せと鉱石化学組成の特徴

藤岡信成<sup>1</sup>、石山大三<sup>1</sup>、水田敏夫<sup>1</sup>、世良耕一郎<sup>2</sup>、Maslennikov, V. V.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>秋田大学工学資源学部  
010-8502 秋田市手形学園町 1-1

<sup>2</sup>岩手医科大学サイクロトロンセンター  
020-0173 岩手県岩手郡滝沢村字留が森 348-58

<sup>3</sup>ロシア科学アカデミーウラル支部  
456301 ロシア チェリアビンスク ミアス

### 1 はじめに

ロシアの鉱物資源の埋蔵量は多く、主な鉱物資源は、鉄、銅、亜鉛、ニッケル、アルミニウム、金である。ロシアの首都モスクワから東に約 1000km 離れたウラル山脈の南部及び中部 (Fig. 1) は、ロシア中でも重要な鉱物資源の生産地域一つである。この地域は古生代ウラル造山運動に伴い、シルル紀～デボン紀に形成された海底熱水鉱床（火山性塊状硫化物鉱床：volcanogenic massive sulfide deposits）が多数存在する（Herrington et al., 2005）。この地域には現在、100 を超える火山性塊状硫化物鉱床が発見されており、我が国最大の松峰鉱床（埋蔵量 3000 万トン）を超える大規模鉱床もいくつか存在する。

本地域の鉱床タイプには Ural 型、Baimak 型、

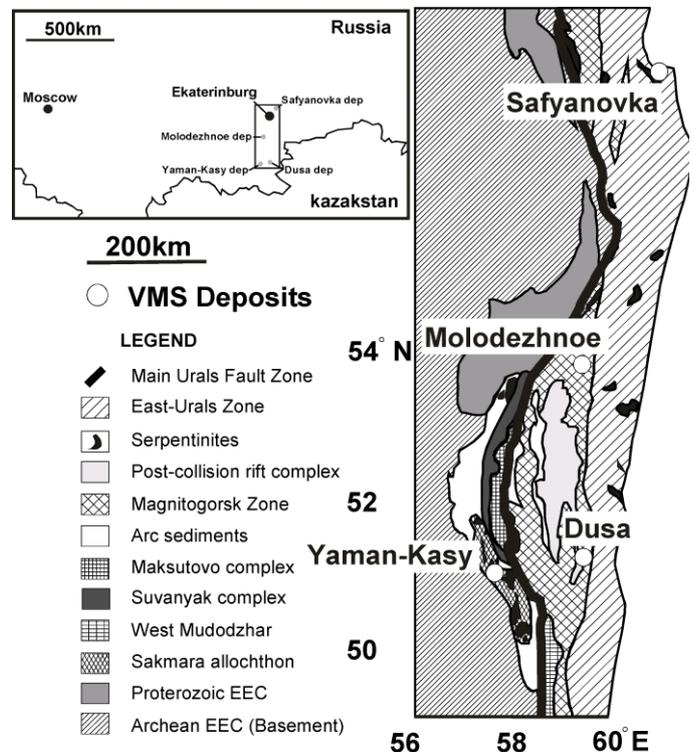


Fig. 1 Simplified geological map of South and Middle Urals (modified from Herrington et al., 2005).

キプロス型、別子型の4つのタイプが確認されている。本研究では秋田県北鹿地域黒鉱鉱床と同様にデイサイト、流紋岩等の珪長質火山岩溶岩を母岩とするとされる (Herrington et al., 2005, Fig. 2) Ural 型、Baimak 型鉱床を研究対象とした。Baimak 型鉱床については黒鉱鉱床と同タイプとする見解 (Herrington et al, 2005) と、微量成分の含有量から異なるタイプとする見解 (Glasby et al, 2008) がある。

Ural 型鉱床は、黄銅鉱、閃亜鉛鉱を主体とした鉱石鉱物組合せを持ち、その化学組成は Cu-Zn で特徴づけられる。一方、Baimak 型鉱床は、黄銅鉱、閃亜鉛鉱、方鉛鉱、重晶石を主体とし、化学組成は Cu-Zn (-Pb) -Ba で特徴づけられる (Table 1 ; Prokin and Buslaev, 1999) 。後者は、日本の北鹿地域黒鉱鉱床と類似した鉱物組合せを持つとされている (Table 1 ; Prokin and Buslaev, 1999) 。

火山性塊状硫化物鉱床はこれまで母岩の性質 (Klau and Large, 1980) 、鉱床中の主要金属成分 (Hutchinson, 1973) 、構造場 (Sawkins, 1976) などの特徴を基に分類されてきた。本研究では Ural 型、Baimak 型鉱床と黒鉱鉱床の類似、相違点を明らかにするために、これら火山性塊状硫化物鉱床の鉱石の特徴、鉱物組合せ、PIXE 法、AAS 法による鉱石の Cu-Zn-Pb の含有量に基づき、特徴を検討した。

Table 1. Type of volcanogenic massive sulfide deposits in Urals (modified from Prokin and Buslaev, 1999; Matsukuma and Horikoshi, 1970).

Type of deposits	Tectonic setting	Host rocks	Major elements	Ore minerals	Accessory minerals
Ural-type	Back-arc and intra-arc basin	Rhyolite-Basalt	Cu-Zn	pyrite chalcopyrite sphalerite marcasite pyrrhotite bornite	tennantite galena magnetite hematite electrum
Baimak-type	Island arcs	Dacite-Andesite	Cu-Zn (-Pb) -Ba	pyrite chalcopyrite sphalerite galena barite	tennantite bornite arsenopyrite argentite germanite jalpalite electrum
Kuroko-type	Back arc	Rhyolite-Basalt	Cu-Zn-Pb-Ag-Ba	pyrite chalcopyrite sphalerite galena barite	tetrahedrite bornite electrum

## 2 地質・鉱床概説

研究対象とした鉱床は、Sakumara 異地性地塊地域シルル紀後期に形成された Yaman-Kasy 鉱床 (Ural 型)、Magnitgorsk 海洋島弧地域デボン紀中期に形成された Dusa 鉱床 (Baimak 型)、Molodezhnoe 鉱床 (Ural 型)、東部ウラル地域デボン紀中期～後期に形成された Safyanovka 鉱床 (Baimak 型) の4鉱床である (Figs. 1 & 2) 。Ural 型、Baimak 型鉱床は黒鉱鉱床と同様にバイモーダルな火山活動に伴うデイサイト、流

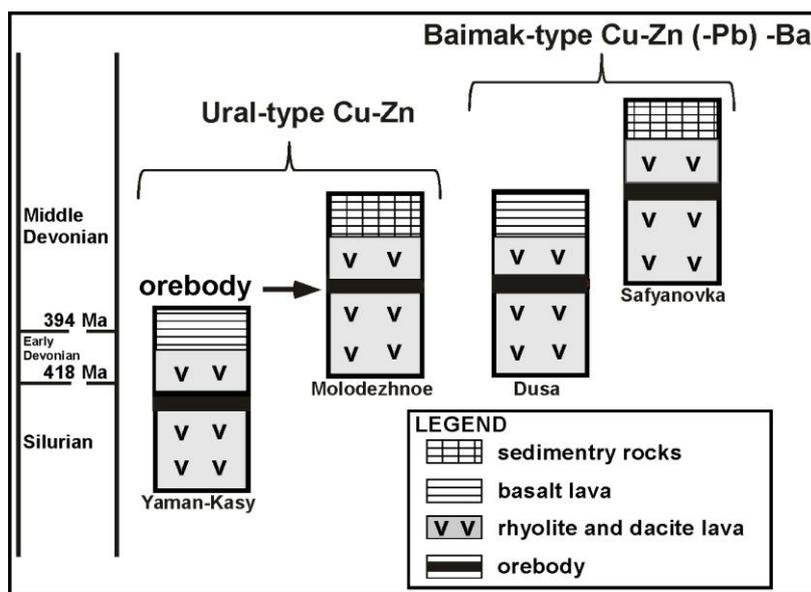


Fig. 2 Simplified stratigraphic columns for the Yaman-Kasy, Molodezhnoe, Dusa and Safyanovka volcanogenic massive sulfide

紋岩等の珪長質火山岩類を母岩とする (Herrington et al, 2005, Fig. 2)。

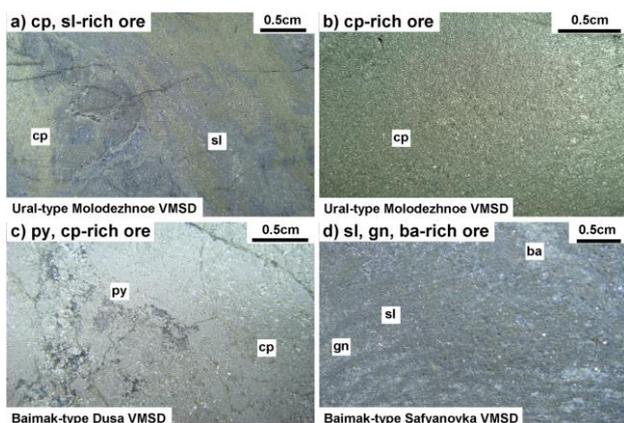


Fig. 3 Representative ores of the Molodezhnoe Dusa and Safyanovka volcanogenic massive sulfide deposits. a) cp-sl-rich ore, ; b) cp-rich ore, ; c) py-cp-rich ore, ; d) sl-gn-ba-rich ore. py : pyrite, cp : chalcopyrite, sl : sphalerite, gn : galena, ba :

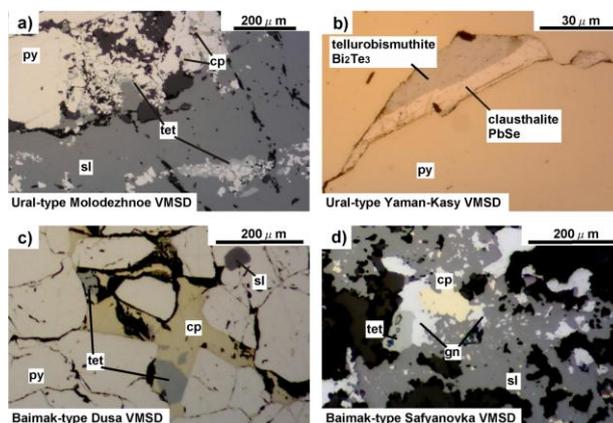


Fig. 4 Photomicrographs of ore minerals of the Yaman-Kasy, Molodezhnoe, Dusa and Safyanovka volcanogenic massive sulfide deposits. a) cp-sl-rich ore, ; b) py-rich ore. Tellurobismuthite and clausenthalite occur in the

### 3 鉱石の特徴

Yaman-Kasy 鉱床 (Ural 型) は、黄銅鉱、閃亜鉛鉱に富む鉱石を主要鉱石とする。本鉱床では他のタイプの火山性塊状硫化物鉱床には認められない磁鉄鉱に富む鉱石も産出する。Molodezhnoe 鉱床 (Ural 型) の主要鉱石は黄銅鉱、閃亜鉛鉱であるが、一部には黄銅鉱、閃亜鉛鉱に富む鉱石に少量の重晶石を含むもの (Fig. 3a) もある。また、黄銅鉱に富む鉱石 (Fig. 3b)、斑銅鉱に富む鉱石も産出する。Dusa 鉱床 (Baimak 型) の主要鉱石は、黄銅鉱を主体とした鉱石 (Fig. 3c) である。Safyanovka 鉱床では主要鉱石として黄銅鉱、閃亜鉛鉱に富む鉱石、黄銅鉱に富む鉱石を産出する。本鉱床では黒鉱型鉱床の狭義の黒鉱鉱石に類似した閃亜鉛鉱、方鉛鉱、重晶石が主体となった鉱石 (Fig. 3d) も少量産出する特徴をもつ。Safyanovka 鉱床では累帯配列が認められ、鉱体下部では黄銅鉱に富む鉱石が、鉱体上部では黄銅鉱、閃亜鉛鉱に富む鉱石が産出する。さらに最上部において黒鉱類似鉱石が少量産出する。このような累帯配列は黒鉱鉱床の珪鉱、黄鉱、黒鉱の累帯配列に類似する。

### 4 鉱石鉱物組合せ

本研究では黄鉄鉱、黄銅鉱、閃亜鉛鉱、方鉛鉱、重晶石の存在量に着目し、Ural 型、Baimak 型、黒鉱型各火山性塊状硫化物鉱床の鉱物組合せを検討した (Table 2)。

#### 4.1 Ural 型 VMSD—鉱物組合せ

Yaman-Kasy 鉱床の鉱石は、黄鉄鉱>黄銅鉱>閃亜鉛鉱>四面銅鉱の鉱物組合せで特徴づけられる。また、黄鉄鉱>磁鉄鉱の鉱物組合せを持つ鉱石も産出する。少量だが、黄鉄鉱の中にテルル蒼鉛鉱、セ

レン鉛鉱 (Fig. 4b) を随伴する。本鉱床では方鉛鉱、重晶石は認められない。Molodezhnoe 鉱床は、黄鉄鉱>黄銅鉱>閃亜鉛鉱>四面銅鉱 (Fig. 4a) の鉱物組合せで特徴づけられる。黄銅鉱に富む鉱石、斑銅鉱に富む鉱石も産出し、銅に富む特徴がある。また黄銅鉱に富む鉱石に極少量のセレン鉛鉱が、また黄鉄鉱>黄銅鉱>閃亜鉛鉱>四面銅鉱の鉱物組合せで特徴づけられる鉱石には極少量の方鉛鉱、重晶石が認められる。

Table 2. Mineral assemblage from the Yaman-Kasy, Molodezhnoe, Dusa, Safyanovka and Koroko volcanogenic massive sulfide deposits (Matsukuma and Horikoshi, 1970).

Type of deposits	Deposits	Type of ores	pyrite	arsenopyrite	chalcopyrite	bornite	covellite	tetrahedrite/ tennantite	sphalerite	galena	claushalite	tellurobismuthite	magnetite	hematite	electrum	quartz	barite	
Ural-type	Yaman-Kasy	py, cp, hm - rich ore	⊙		○				△					△				
		py, cp, mag - rich ore	⊙		△						—	—	⊙					
		py, cp, sl - rich ore	⊙		○				△	⊙								
	Molodezhnoe	py, cp, sl - rich ore	○		⊙				△	⊙	—							△
		py - rich ore	⊙		△										△			
		cp - rich ore	—		⊙							—						
Baimak-type	Dusa	py, cp - rich ore	⊙	—	⊙			—	△									
	Safyanovka	py, cp, sl - rich ore	○		⊙				△	⊙	△							
		py - rich ore	⊙		△													
		cp - rich ore	—		⊙		—											
		sl, gn, ba - rich ore	—		△				○	⊙	○							⊙
Kuroko-type	Kuroko deposits	py - rich ore	○		○											⊙		
	district in	py, cp - rich ore	⊙		⊙			—	△							—	△	
	Hokuroku	sl, gn, ba - rich ore	—			△		○	⊙	○					△		⊙	

Ural 型火山性塊状硫化物鉱床は多量の黄銅鉱、閃亜鉛鉱に富む鉱石で特徴づけられる。そして、黒鉱鉱石に含まれる方鉛鉱、重晶石は欠如したり、存在してもその量は極めて少ない。また存在量は少量であるが、Ural 型鉱床では方鉛鉱に代わりにセレン鉛鉱を伴う。

#### 4.2 Baimak 型 VMSD—鉱石の特徴

Dusa 鉱床の鉱石は黄鉄鉱>黄銅鉱>>閃亜鉛鉱>四面銅鉱の鉱物組合せで特徴づけられる (Fig. 4c)。本鉱床では閃亜鉛鉱と四面銅鉱の含有量は低く、方鉛鉱、重晶石は認められない。Dusa 鉱床の鉱物組合せの特徴は、Ural 型鉱床に類似した鉱物組合せを持つ。一方、Safyanovka 鉱床の主要鉱石は黄鉄鉱>黄銅鉱>閃亜鉛鉱>四面銅鉱の鉱物組合せを持つ。また黄銅鉱に富む鉱石も産出する。黒鉱鉱床に類似する閃亜鉛鉱>方鉛鉱>四面銅鉱>重晶石の鉱物組合せを持つ鉱石 (Fig. 4d) も少量産出する。

各鉱床の鉱物組合せからは、Yaman-Kasy 鉱床、Molodezhnoe 鉱床、Dusa 鉱床を黄鉄鉱>黄銅鉱>閃亜鉛鉱>四面銅鉱の鉱物組合せで特徴づけられる鉱石を主とする鉱床として、同一タイプしてとしてまとめることができる。Safyanovka 鉱床は上記の3鉱床と同様な鉱石を伴うが、黒鉱類似鉱石を随伴することを考慮すると、別のタイプであると考えられる。しかし、黒鉱鉱床と比較すると、Safyanovka 鉱床

に産する黒鉛鉱石は少量であり、黒鉛鉱床とも異なる可能性がある。

## 5 鉛鉱石の化学組成

### 5.1 試料調製法および測定法

主要鉛鉱石構成元素の定量分析は、岩手医科大学サイクロトロンセンターの PIXE (Particle Induced X-Ray Emission)、秋田大学工学資源学部現有の原子吸光装置 (Atomic Absorption Spectrometry, AAS) を用いて行われた。Fe、Cu、含有量は AAS 法を用い、Zn、Pb 含有量は PIXE 法をそれぞれ用い分析を行った (Table 3)。PIXE 法試料作成には鉄鉢で粗砕きした試料をメノウ乳鉢でさらに細かく粉末化した。その粉末試料をコロジオン (5%) 溶液でポリプロピレンフィルムに固定し、分析を行った。

### 5.2 主要鉛鉱石構成元素—分析結果

Yaman-Kasy 鉛鉱床の鉛鉱石は、黄鉄鉛、黄銅鉛に富む鉛鉱石、閃亜鉛鉛に富む鉛鉱石、黄銅鉛、閃亜鉛鉛に富む鉛鉱石を分析した (Fig. 5a)。本鉛鉱床の鉛鉱石は、Cu、Zn に富み、代表的な黒鉛鉛鉱石化学組成領域とは異なり、Pb に乏しい。Molodezhnoe 鉛鉱床の鉛鉱石は、黄銅鉛に富む鉛鉱石、斑銅鉛に富む鉛鉱石、黄銅鉛、閃亜鉛鉛に富む鉛鉱石を分析した (Fig. 5a)。本鉛鉱床の鉛鉱石は、Yaman-Kasy 鉛鉱床同様、Cu、Zn に富み、Pb に乏しい。Dusa 鉛鉱床の鉛鉱石は黄鉄鉛、黄銅鉛に富む鉛鉱石を分析した (Fig. 5b)。本鉛鉱床の鉛鉱石も、Cu に富み、Zn、Pb に乏しい。Safyanovka

鉛鉱床の鉛鉱石は、黄銅鉛に富む鉛鉱石、黄鉄鉛、黄銅鉛に富む鉛鉱石、閃亜鉛鉛、方鉛鉛、重晶石に富む黒鉛類似鉛鉱石を分析した (Fig. 5b)。本鉛鉱床の鉛鉱石は、Cu、Zn に富み、Pb に乏しい鉛鉱石と Zn、Pb に富む鉛鉱石に分けられる。Zn、Pb に富む鉛鉱石は黒鉛鉛鉱石の代表的化学組成領域にプロットされる。

これらのことをまとめると、次のようになる。Ural 型の Yaman-Kasy 鉛鉱床、Molodezhnoe 鉛鉱床 の鉛鉱石は Cu-Zn、または Cu で特徴づけられ、日本の黒鉛鉛鉱床と比較して Pb が低い特徴を持つ。Baimak 型の Dusa 鉛鉱床の鉛鉱石も Cu に富む特徴を持つ。しかし、同タイプとされる Safyanovka 鉛鉱床の主要部は、Ural 型同様に Cu-Zn で特徴づけられるが、鉛鉱床の最上部には Zn-Pb に富む鉛鉱石が存在する。Yaman-Kasy 鉛鉱床、Molodezhnoe 鉛鉱床、Dusa 鉛鉱床は Cu、Cu-Zn で特徴づけられる。Safyanovka 鉛鉱床は Cu-Zn に富む鉛鉱石に加え、Zn-Pb に富む鉛鉱石を産出する点で Yaman-Kasy 等の鉛鉱床とは異なる可能性がある。

Table 3. Chemical compositions of ore samples from the Yaman-Kasy, Molodezhnoe, Dusa and Safyanovka volcanogenic massive sulfide deposits.

Elements (W%)	Fe	Cu	Zn	Pb
Yaman-Kasy VMSD				
A10	32.7	6.1	10.3	0.5
A11	35.4	2.9	14.5	1.1
A22	32.7	8.1	0.1	0.5
Dusa VMSD				
A50	39.1	5.4	0.1	0.8
A53	32.8	11.0	0.7	0.2
A56	41.7	4.4	0.3	0.5
Molodezhnoe VMSD				
A107	19.3	3.3	0.0	0.7
A112	22.8	1.1	32.3	1.3
A113	29.9	35.1	0.1	0.1
A115	25.1	11.9	16.9	1.7
A119	14.8	53.4	1.3	11.5
Safyanovka VMSD				
A167	1.1	1.1	18.2	11.6
A168	34.3	4.3	1.6	0.8
A172	29.2	35.3	0.0	0.0
A176	37.3	8.1	0.7	0.7

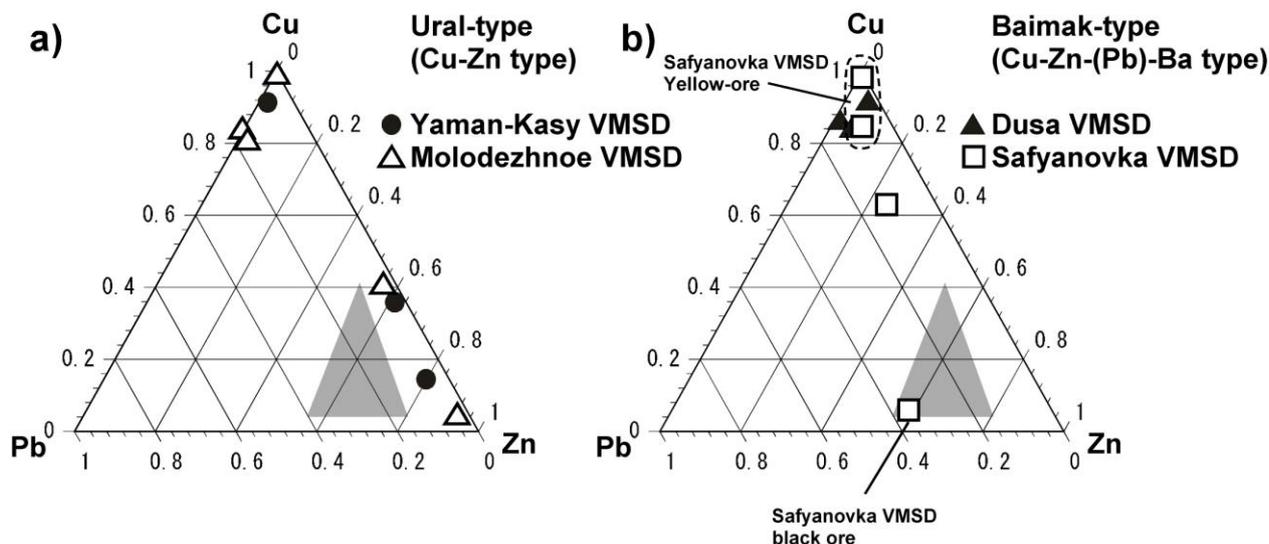


Fig 5. Cu-Zn-Pb ternary diagrams of the volcanogenic massive sulfide deposits, Ural-, Baimak- and Kuroko-type ores. Shadow area: representative chemical composition of Kuroko ores (modified from Kajiwara, 1996).

## 6 まとめ

本研究では Ural 型火山性塊状硫化物鉱床である Yaman-Kasy 鉱床、Molodezhnoe 鉱床、Baimak 型火山性塊状硫化物鉱床である Dusa 鉱床、Safyanovka 鉱床について鉱石の肉眼的特徴、鉱物組合せ、主要鉱石構成元素を検討した。鉱石の肉眼的特徴と鉱物組合せ、主要鉱石元素含有量からは、Yaman-Kasy 鉱床、Molodezhnoe 鉱床、Dusa 鉱床は類似する可能性がある。Safyanovka 鉱床は上記の 3 鉱床と類似した鉱石を産出するが、黒鉱類似鉱石を産出することから、Ural 型火山性塊状硫化物鉱床とは異なる。しかし、Safyanovka 鉱床は黒鉱類似鉱石の産出が少ないことから、黒鉱型火山性塊状硫化物鉱床とも異なる可能性がある。

今回検討した南部及び、中部ウラル鉱床地域には Cu、Cu-Zn で特徴づけられる火山性塊状硫化物鉱床が多く存在し、Cu-Zn-Pb-Ba-Ag で特徴づけられるような黒鉱型火山性塊状硫化物鉱床は少ないと思われる。デイサイト、流紋岩等の珪長質火山岩類を母岩した火山性塊状硫化物鉱床は、Cu-Zn-Pb で特徴づけられることが多いが、調査地域の鉱床群は Cu、Zn に富み Pb の含有量が極めて低いことから、母岩はと鉱床タイプの関係をさらに検討する必要がある。

## 文 献

- 1) Glasby, G. P., Prozherova, I. A., Maslennikov, V. V. and Petukhov, S. I. (2007) Jusa and Barsuchi Log Volcanogenic Massive Sulfide Deposits from the Southern Urals of Russia : Tectonic Setting, Structure and Mode of Formation. Res. Geol., 57, 24-36.

- 2) Herrington, R. j., Zaykov, V. V., Maslennikov, V. V., Brown, D. and Puchkov, V. N. (2005) Mineral Deposits of the Urals and Links to Geodynamic Evolution. *Econ. Geol.*, 100, 1069-1095.
- 3) Hutghinson, R. W. (1973) Volcanic sulfide deposits and their metallogenic significance. *Econ. Geol.*, 68, 1223-1246.
- 4) 梶原良道. (1996) 大洋中央海嶺の熱水噴気孔鉱床－深海熱水生態系に咲く徒花, *地質ニュース*, no. 497, 34-45.
- 5) Klau, W. and Large, D. E. (1980) Submarine exhalative Cu-Pb-Zn deposits, a discussion of their classification and metallogenesis. *Geol. Jahrb., Sect. D*, no. 40, 13-58.
- 6) Matsukuma, T. and Horikoshi, E. (1970) Kuroko Deposits in Japan, a Review, *Volcanism and Ore Genesis*, university of Tokyo press. 153-179.
- 7) Prokin, V.A and Buslaev, F. P (1999) Massive copper-zinc sulfide deposits in the Urals. *Ore Geol. Rev.*, 14, 1-69.
- 8) Sawkins, F. J. (1976) Massive sulfide deposits in relation to geotectonics. *Geol. Assoc. Canada, Spec. Paper* 14, 221-240.

## **Characteristic features of ores and mineral assemblage of Silurian-Devonian volcanogenic massive sulfide deposits in South and Middle Urals, Russia**

Nobunari Fujioka<sup>1</sup>, Daizo Ishiyama<sup>1</sup>, Toshio Mizuta<sup>1</sup>  
Koichiro Sera<sup>2</sup> and V. V. Maslennikov<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Faculty of Engineering and Resource Science, Akita University  
1-1 Gakuen-Machi, Tegata, Akita 010-8502, Japan

<sup>2</sup>Cyclotron Research Center, Iwate Medical University  
348-58 Tomegamori Takizawa, 020-0173, Japan

<sup>3</sup>Institute of Mineralogy, Ural Branch, Russia Academy of Science  
456301 Miass, Chelyabinsk District, Russia

### **Abstract**

The volcanogenic massive sulfide (VMS) deposits in South and Middle Urals are divided into Cyprus, Bessi, Baimak-, and Ural-types volcanogenic massive sulfide deposits. The aim of study is to clarify characteristic features of ores of the VMS deposits (Yaman-Kasy, Molodezhnoe, Dusa and Safyanovka deposits) in South and Middle Urals based on data of minerals assemblage and chemical compositions of ores. The chemical compositions of ores of Ural- and Baimak-type VMS deposits were characterized by high Fe-Cu and low Pb contents except Zn-Pb-rich ores of the Safyanovka deposit. The Yaman-Kasy, Molodezhnoe and Dusa volcanogenic massive sulfide deposits have similar characteristic, however the Safyanovka deposit is thought to be different type from the Yaman-Kasy, Molodezhnoe and Dusa deposits.

## スウェーデン国シェレフテ地域ボリーデン鉱床含金鉱石の 地球化学的特徴

張 建東<sup>1,2</sup>、石山大三<sup>1</sup>、水田敏夫<sup>3</sup>、Allen, R. L.<sup>4</sup>、世良耕一郎<sup>5</sup>

<sup>1</sup>秋田大学大学院工学資源学研究科環境資源学研究センター  
010-8502 秋田市手形学園町1-1

<sup>2</sup>中南大学地球科学環境工学部  
中華人民共和国湖南省長沙

<sup>3</sup>秋田大学国際資源学教育研究センター  
010-8502 秋田市手形学園町1-1

<sup>4</sup>ボリーデン鉱山株式会社  
スウェーデン国

<sup>5</sup>岩手医科大学サイクロトロンセンター  
020-0173 岩手県岩手郡滝沢村滝沢字留が森 348-58

### 要旨

スウェーデン国北部シェレフテ地域東部に位置する含金ボリーデン塊状硫化物鉱床は、18.9～18.5億年の火山弧環境で形成された高含金品位（平均15 ppm）の鉱床として知られている。ボリーデン鉱床からの鉱石の化学的特徴は、鉱物組合せ、原子吸光法、PIXE法、ICP-MS法による化学組成に基づいて検討された。ボリーデン鉱床の鉱石は、二つに区分され、再結晶を被った自形～半自形の硫砒鉄鉱、黄鉄鉱、エレクトラムを伴う鉱石と黄鉄鉱、磁硫鉄鉱、閃亜鉛鉱、黄銅鉱、四面銅鉱、車骨鉱、ライタカ鉱、自然ビスマスからなる硫塩鉱物に富む黄鉄鉱－黄銅鉱－閃亜鉛鉱鉱石である。前者は後者に切られる。鉱石のTiO<sub>2</sub>含有量とAu含有量の間には正の相関が認められる。また、ルチル（TiO<sub>2</sub>）は、ボリーデン鉱床の石英－紅柱石－カオリナイトからなる酸性変質帯に随伴する。鉱物組合せと鉱石化学組成のデータは、金鉱化作用が酸性熱水流体により引き起こされたことを示す。

## **Geochemical characteristics of gold-bearing ores of Boliden deposit, Skellefte district, Sweden**

Zhang, J. D.<sup>1,2</sup>, Ishiyama, D.<sup>1</sup>, Mizuta, T.<sup>3</sup>, Allen, R. L.<sup>4</sup> and Sera, K.<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Center for Geo-Environmental Science, Graduate School of Engineering and Resource Science, Akita University, 1-1 Gakuen-Machi, Tegata, Akita 010-8502, Japan

<sup>2</sup>School of Geoscience and Environmental Engineering, Central South University  
Changsha 410083, China

<sup>3</sup>International Center for Research and Education on Mineral and Energy Resources, Akita University  
1-1 Gakuen-Machi, Tegata, Akita 010-8502, Japan

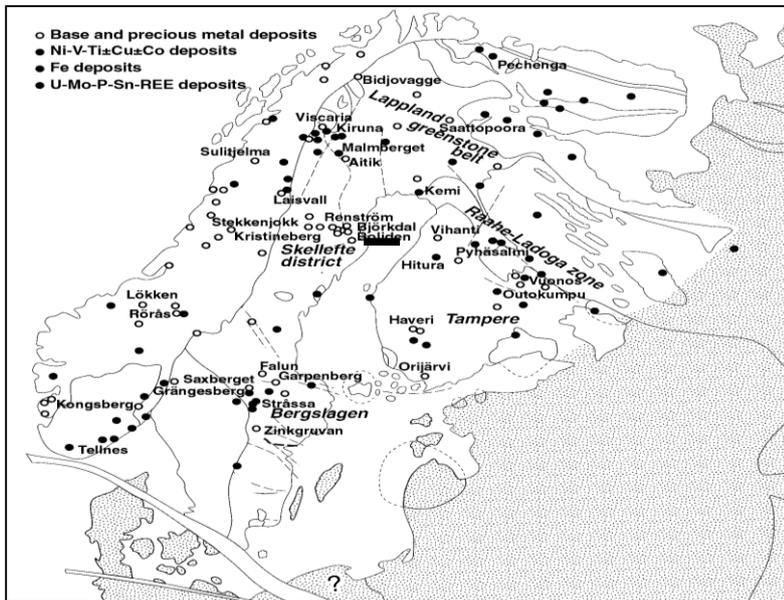
<sup>4</sup>Boliden Mineral Exploration Department, Sweden

<sup>5</sup>Cyclotron Research Center, Iwate Medical University  
348-58 Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0173, Japan

### **Abstract**

The Au-bearing Boliden massive sulfide deposit located in the eastern part of the Skellefte district in northern Sweden was formed in a volcanic arc setting at 1.89-1.85 Ga and well known for its high gold grades (average 15 ppm). Chemical characteristics of ores from Boliden deposit were examined in this study based on the data of mineral assemblage and chemical compositions of ore determined by AAS, PIXE and ICP-MS. The ores of the Boliden deposit are divided into two types, arsenopyrite-rich ore consisting mainly of recrystallized euhedral to subhedral arsenopyrite, pyrite, electrum and rutile and sulfosalt-rich pyrite-chalcopyrite-sphalerite ores consisting of pyrite, pyrrhotite, sphalerite, chalcopyrite, tetrahedrite, bournonite, laitakarite and native bismuth which cut the arsenopyrite ores. TiO<sub>2</sub> and Au contents of the ores show a positive correlation. Rutile is also associated with acidic alteration zone composed of quartz-andalusite-kaolinite of the Boliden deposit. Data of the mineral assemblage and chemical composition of ores suggest that the gold mineralization was caused by acidic hydrothermal activity.

## 1. Introduction



**Fig.1 Location of the Boliden deposit in Skellefte district. Modified from Weihed et al. (2005).**

The Au-bearing Boliden massive sulfide deposit which was formed in a volcanic arc setting at 1.89-1.85 Ga, is well known for its high gold grades (average 15 ppm) and is characterized by complex mineral assemblages of ore minerals. Earlier studies considered the massive sulfide deposits in the Skellefte district as metamorphosed equivalents of Kuroko-type ores (Rickard and Zweifel, 1975; Vivallo, 1987). In contrast, recent structural and geochemical investigations indicate that the Boliden deposit

may be a high-sulfidation-type epithermal sub-seafloor deposit formed by infiltration and replacement (Allen et al., 1996; Weihed et al., 1996). Particle induced X-ray emission (PIXE) can be used to analyze minute samples smaller than a milligram, not only simultaneously detects elements from Na to U in a short time but also detects major-to-trace elements at the concentration level of ppm (Vaggellia et al., 2003; Saitoh et al., 2002). We examined chemical composition of ores from the Boliden deposit by PIXE and ICP-MS to know the chemical characteristics of the ores based on the relationship between Au concentration and other elements in the ores.

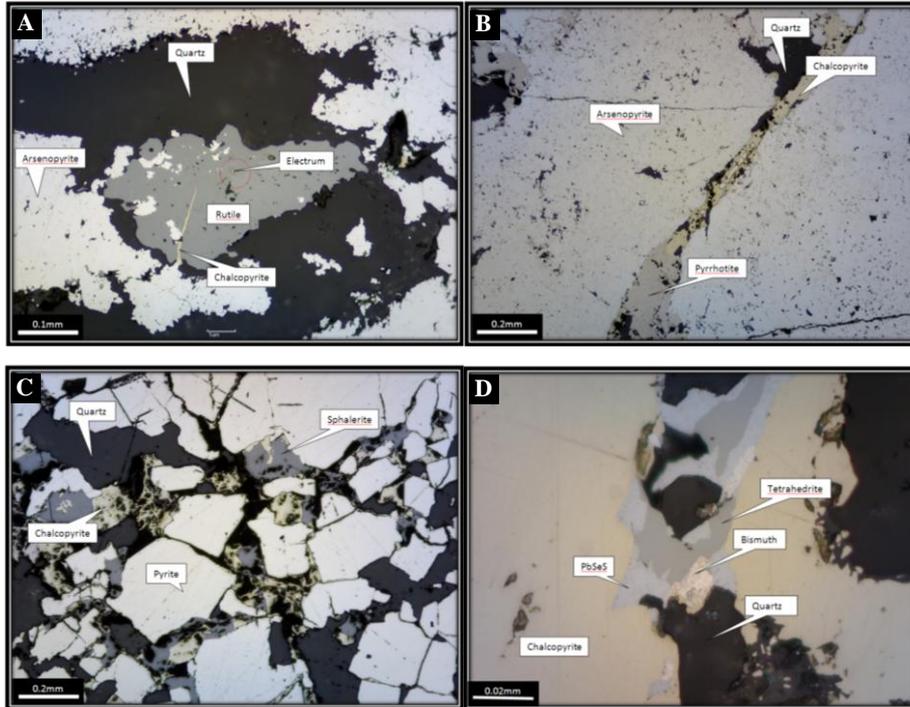
## 2 Outline of geology

The Boliden deposits are located in the eastern part of the Skellefte district in northern Sweden which has been mined for base and precious metals in the early 1920s (Allen et al., 1996) (Fig. 1). The deposit has mined 8.3 million tons of ore including 128 t of Au, 411 t of Ag, 566,000 t of As, 118,000 t of Cu, and 2.1 Mt of S. The massive sulfide orebodies of the Boliden deposit occur as a set of elongate lenses, obliquely cutting the host rocks structurally. The lenses trend east–west with a roughly vertical dip (Wagner and Jonsson, 2001). Alteration of the Boliden deposit can be classified into two types: sericite-kaolinite-andalusite zone and chlorite zone. The sericite-kaolinite-andalusite zone is surrounded by the chlorite zone. The orebody occurs in the sericite-kaolinite-andalusite alteration zone. The samples used in this study are of upper (Borehole 24) and middle (Borehole 64) positions of orebody.

## 3 Mineral assemblages of ores

The two different types of ore can be distinguished in the Boliden deposit: arsenopyrite-rich and

sulfosalt-rich pyrite-chalcopyrite-sphalerite ores. The occurrence mode of the sulfosalt-rich pyrite-chalcopyrite-sphalerite ores cutting arsenopyrite ores suggests that the arsenopyrite-rich ores were formed prior to the formation of the sulfosalt-rich ores (Figs. 2B and 2C). The arsenopyrite ores are generally fine-grained (Figs. 2A and 2B). The ores consist mainly of recrystallized euhedral to subhedral arsenopyrite, pyrite, electrum and rutile (Fig. 2A, Table1). The mineral assemblages of sulfosalt-rich ores consist of pyrite, pyrrhotite, sphalerite, chalcopyrite, tetrahedrite, bournonite, laitakarite and native bismuth (Fig. 2D). The gangue minerals are quartz, biotite, muscovite, andalusite, kaolinite, sericite, and chlorite.



**Fig.2. Photomicrographs in reflected light showing representative textural relationship for arsenopyrite-rich ores and sulfosalt-rich ores, Boliden deposit. A.** Anhedral rutile crystal enclosing electrum in fine-grained and partially recrystallized arsenopyrite ore. **B.** Typical sulfosalt-rich vein consisting of chalcopyrite and pyrrhotite crosscuts fine-grained massive arsenopyrite containing numerous silicate and sulphide inclusions. **C.** Pyrite porphyroblasts coexisting with sphalerite and chalcopyrite in sulfosalte-rich vein. **D.** The intergrowth of tetrahedrite, bismuth and selenium-galena formed the veinlet occur in massive chalcopyrite.

**Table 1. Mineral assemblage of typical ores of Borehole 24 and 64 of the Boliden deposit**

Sample	Type of ore	pyrrhotite	pyrite	Arsenopyrite	chalcopyrite	sphalerite	electrum	rutile	quartz
Boliden 24, 99.71-99.73 m	py-cp-rich	+	+++	+	++	++			++
Boliden 24, 138.00 m	py-asp-rich		+++	+	+	+			++
Boliden 64, 14.07-14.09 m	asp-rich			+++	+	+	+	++	++
Boliden 64, 21.80-21.83 m	py-cp-rich	+	+++	++	++	+			++

+++ abundant, ++ moderate, + a few

## 4 Methods

The rock and ore samples were prepared using PIXE developed by Sera et al., (1999), where the bulk sample was ground into fine powder in an agate mortar. Thin targets were prepared by taking about 0.1 mg of the powder and putting it on a 0.40  $\mu\text{m}$  thick polypropylene film, dropping roughly 1  $\mu\text{l}$  of 10% collodion solution diluted with ethyl alcohol on it to fix the powder, and drying the film through a oven, then keeping the film into the polypropylene bottle. Chemical composition of the samples was determined by PIXE at Nishina Memorial Cyclotron Center (NMCC), Japan Radioisotope Association, using 2.9 MeV protons from a baby cyclotron. Beam currents, the accumulated charge and the typical measuring time were 20-40 nA, 11-19  $\mu\text{C}$ , and 5-10 min, respectively. X-ray spectra were analyzed using the SAPIX program.

Quantitative data were obtained by the combination of data determined by PIXE and Cu and Zn contents of corresponding samples analyzed by AAS. The ore samples examined by PIXE are also analyzed by ICP-MS described by Satoh et al. (1999).

## 5 Results and Discussion

The analytical results by PIXE and ICP-MS are summarized in Table 2. Ores of the Boliden deposit consist mainly of arsenopyrite. Therefore, Cu, Pb and Zn contents of ores in the Boliden deposit are low and range from 446-19600 ppm, 429-1590 ppm, 28-27200 ppm, respectively. On the other hand, arsenic content of the ores is high for the arsenopyrite-rich ores (maximum content of 249000 ppm),  $\text{TiO}_2$ , Ag, Au and Bi contents are also high in the arsenopyrite-rich ores (4940 ppm  $\text{TiO}_2$ , 55.0 ppm Ag, 1730 ppm Sb, 36.4ppm Au and 762 ppm Bi).  $\text{TiO}_2$  and Au measured by PIXE and ICP-MS shows a positive correlation (Fig. 3). The electrum containing Hg were observed in a rutile crystal in the arsenopyrite-rich ores. The mode of occurrence of electrum accords with the data of  $\text{TiO}_2$  and Au contents of the ores. Rutile is also present in altered rocks composed of quartz, andalusite and kaolinite and is thought to be formed by recrystallization of the acidic altered rocks surrounding lenticular orebodies of the Boliden deposit. The positive correlation between  $\text{TiO}_2$  and Au suggests that gold mineralization was caused by acidic hydrothermal activity.

**Table 2. Chemical composition of ores from the Boliden deposit**

Sample	$\text{TiO}_2$	Mn	Co	Cu	Zn	Ga	As	Sr	Mo	Ag	Cd	In	Au	Pb	Bi
Boliden 24, 99.71-99.73 m	39	129	5	7000	27200	33	1860	0.37	2132	4.77	171	14.70	0.31	429	13.2
Boliden 24, 138.00 m	1050	34	184	820	3000	1	6920	1.75	0	8.51	13.5	0.21	7.26	452	13.6
Boliden 64, 14.07-14.09 m	4940	18	480	446	28	2	249000	0.99	645	55	1.55	0.36	36.4	1594	762
Boliden 64, 21.80-21.83 m	718	486	29	19600	1310	21	37900	14.67	0	41.90	12.2	9.96	3.37	453	24.9

$\text{TiO}_2$ , Pb and As contents were determined by the combination PIXE and AAS, concentration of other elements were determined by ICP-MS. unit: ppm

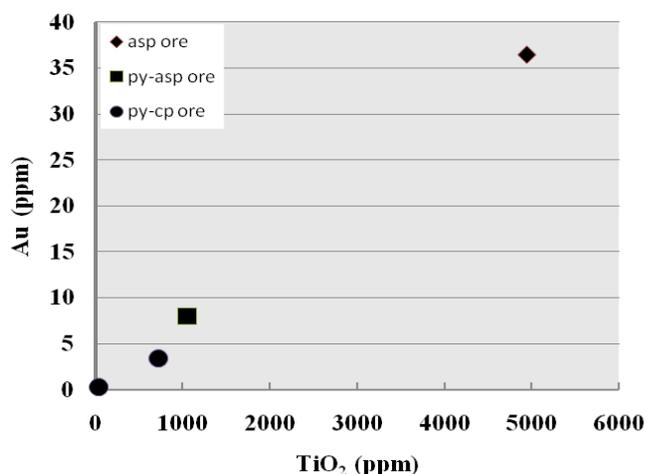


Fig.3 Relationship between Au and TiO<sub>2</sub> contents of different ore types,  
Solid diamond: arsenopyrite ore; Solid square: pyrite-arsenopyrite

## 6 Conclusion

The geochemical characteristics of ores from the Boliden deposit examined on the basis of mineral assemblage and chemical compositions of the ores. The two different ore types can be distinguished in the Boliden deposit: arsenopyrite-rich and sulfosalt-rich ores. The arsenopyrite-rich ores consist mainly of recrystallized euhedral to subhedral arsenopyrite, pyrite, electrum and rutile. The mineral assemblage of sulfosalt ores consist of pyrite, pyrrhotite, sphalerite, chalcopyrite, tetrahedrite, bournonite, laitarite and native bismuth. The positive correlation between TiO<sub>2</sub> and Au contents suggests that gold mineralization was caused by acidic hydrothermal activity.

## References

- [1] Rickard, D.T., Zweifel, H., 1975 Genesis of Precambrian sulfide ores, Skellefte district, Sweden. *Econ. Geol.* vol.70, 255–274.
- [2] Vivallo, W., 1987 Early Proterozoic bimodal volcanism, hydrothermal activity, and massive sulfide deposition in the Boliden-Langdal area, Skellefte District, Sweden. *Econ. Geol.* vol. 82, 40– 456.
- [3] Allen, R.L., Weihed, P., Svenson, S.A ., 1996 Setting of Zn–Cu–Au–Ag massive sulfide deposits in the evolution and facies architecture of a 1.9 Ga marine volcanic arc, Skellefte District, Sweden. *Econ. Geol.* vol.91, 1022–1053.
- [4] Weihed, J., Bergström, U., Billström, K., Weihed, P., 1996 Geology, tectonic setting, and origin of the Paleoproterozoic Boliden Au–Cu–As deposit Skellefte District, northern Sweden. *Econ. Geol.* vol.91, 1073–1097.
- [5] Wagner, T. Jonsson, E, 2001 Mineralogy of sulfosalt-rich vein-type ores, Boliden massive sulfide deposit, Skellefte district, Northern Sweden. *The Canadian Mineralogist*, vol. 39, 855-872.

- [6] Saitoh, K., Sera, K., Gotoh, T., Nakamura, M., 2002 Comparison of elemental quantity by PIXE and ICP-MS and/or ICP-AES for NIST standards. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B, vol. 189, 86–93.
- [7] Sera, K., Futatsugawa, S., Ishiyama, D., 1999 Application of a powdered internal standard method combined with a method of correction for self absorption of X-ray to geological, environmental and biological samples. Int. J. PIXE vol. 9, 63.
- [8] Satoh, H., Ishiyama, D., Mizuta, T., and Ishikawa, Y., 1999 Rare Earth analysis of Rock and Thermal Water Samples by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (ICP-MS). Scientific and Technical Reports of Faculty of Engineering and Resource Science, Akita University, No.20, 1-8.

## タイ国チャットリー一金鉱床Q探鉱地区の金鉱化作用

Ladda Tangwattananukul<sup>1</sup>、石山大三<sup>1</sup>、松葉谷 治<sup>1</sup>、

水田敏夫<sup>2</sup>、Punya Charusiri<sup>3</sup>、世良耕一郎<sup>4</sup>

<sup>1</sup>秋田大学大学院工学資源学研究科環境資源学研究センター  
010-8502 秋田市手形学園町1-1

<sup>2</sup>秋田大学国際資源学教育研究センター  
010-8502 秋田市手形学園町1-1

<sup>3</sup>チュラロンコン大学理学部地質学科  
タイ国バンコック市

<sup>4</sup>岩手医科大学サイクロトンセンター  
020-0173 岩手県岩手郡滝沢村滝沢字留が森 348-58

### 要旨

チャットリー一金鉱床は、低硫化型金鉱床として分類されている。Q探鉱地区の金鉱化作用は、安山岩質火山砕屑岩の中に鉱脈または網状鉱脈として存在する。金鉱化作用は、4つの鉱化段階に区別される。鉱化段階 I：貴金属・卑金属鉱化作用、極細粒の石英と少量の樹枝状黄鉄鉱、黄銅鉱、カリ長石、方解石；鉱化段階 II：不毛粗粒櫛歯状石英；鉱化段階 III：不毛中粒モザイク状石英と少量の黄鉄鉱；鉱化段階 IV：貴金属・卑金属鉱化作用（網状鉱脈）、フランボイヤント組織を示す細粒から粗粒石英と細粒黄鉄鉱、黄銅鉱。鉱化段階 IとIVは、急速成長を示す樹枝状とフランボイヤント組織、高いAu、K<sub>2</sub>O、CaO含有量で特徴づけられる。これらの鉱物組織と鉱物組合せに基づくと、鉱化段階 IとIVは、沸騰による過飽和熱水溶液から形成されたと思われる。

## Gold mineralization of Q prospect at Chatree deposit, central Thailand

Ladda Tangwattananukul<sup>1</sup>, Diazo Ishiyama<sup>1</sup>, Osamu Matsubaya<sup>1</sup>,  
Toshio Mizuta<sup>2</sup>, Punya Charusiri<sup>3</sup> and Kouichiro Sera<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Graduate School of Engineering and Resource Science, Center for Geo-Environmental Science,  
Akita University, 1-1 Gakuen-Machi, Akita 010-8502, Japan

<sup>2</sup>International Center for Research and Education on Mineral and Energy Resource,  
Akita University, 1-1 Gakuen-Machi, Akita 010-8502, Japan

<sup>3</sup>Department of Geology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok Thailand

<sup>4</sup>Cyclotron Research Center, Iwate Medical University  
348-58 Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0173, Japan

### Abstract

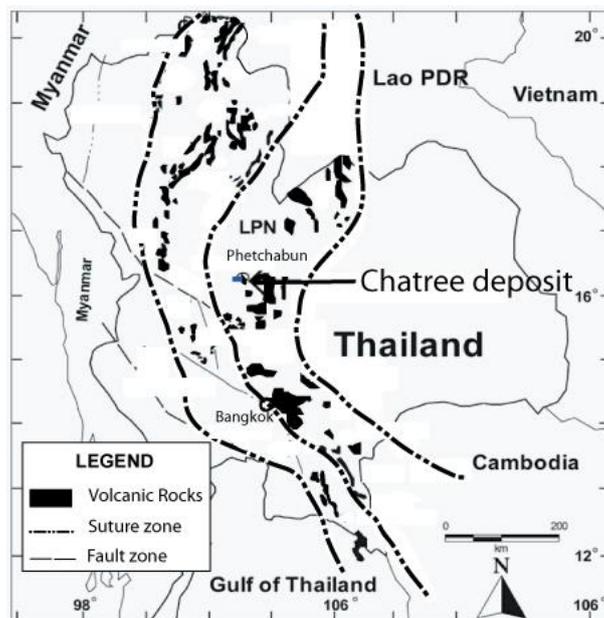
The Chatree gold deposit is classified as a low sulfidation epithermal deposit. Gold mineralization at Q prospect occurs as veins and stockworks in andesitic volcanic-clastic and volcano-sedimentary rocks. Gold mineralization of the deposit is divided into four stages; Stage I: precious and base metal mineralization, microcrystalline quartz with minor dendritic pyrite, chalcopyrite, K-feldspar and calcite; Stage II: barren coarse-grained comb quartz; Stage III: barren medium-grained mosaic quartz with minor pyrite; Stage IV: precious and base metal mineralization (stockwork), fine to coarse-grained quartz showing flamboyant texture, K-feldspar, calcite, fine-grained pyrite and chalcopyrite. Stages I and IV are characterized by dendritic and flamboyant textures suggesting rapid crystal growth, higher gold, K<sub>2</sub>O and CaO contents. Stages I and IV are thought to be formed under highly supersaturated hydrothermal solutions caused by boiling based on the texture and mineral assemblage of ores.

## 1 Introduction

The Chatree deposit is located about 300km north of Bangkok (Fig. 1). The deposit is in the central part of the Loei-Phechabun-Nakhon Nayok Permo-Triassic volcanic belt (LPN). This belt extends from western Lao along the western edge of Khorat plateau to the Cambodian central plain (Bunopas and Vella, 1983, 1992; Charusiri et al., 2002). The Chatree gold deposit consists of several prospect areas. The deposit has an estimated total gold production of about 5 million ounces and 35 million ounces of silver, with an average ore grade 1.07 g/t of gold and 7.5 g/t of silver (personal communication). Gold occurs in quartz-carbonate-sulfide veins and stockworks in a sequence of volcanic rocks (Jame and Cumming, 2007; Salam et al., 2006).

The Hishikari epithermal Au-Ag deposit is located in Japan. It is one of the richest gold veins in the world. Gold reserves are estimated to be 150 metric tons at an average grade of 80 g/t with ore produced at a rate of 350~400 metric ton/day (Ibaraki et al., 1991). The veins in Hishikari deposit are mainly quartz, adularia and smectite showing banded structure. In comparison with Q prospect at the Chatree and the Hishikari deposit, the characteristics of width of veins, ore grade and mineral assemblage of Q prospect are different from those of typical epithermal quartz veins such as the Hishikari deposit.

The aim of this study is to clarify confirm that the gold mineralization of Q prospect is epithermal-type mineralization based on data of textures of quartz and chemical compositions of ores.



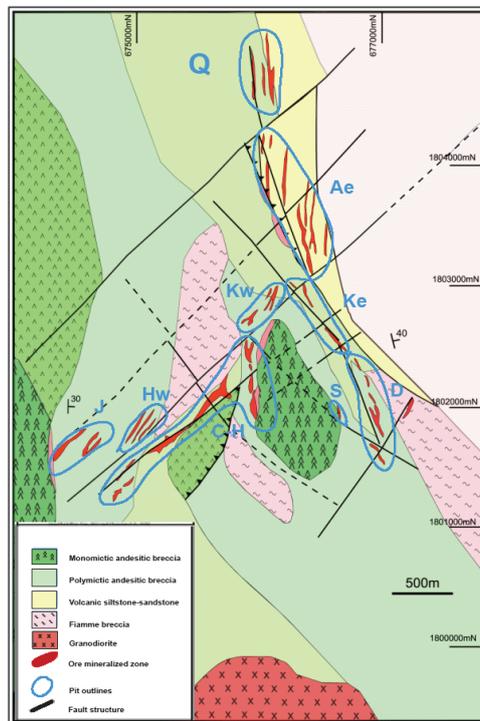
**Fig. 1** Map showing the location of the Chatree deposit in Loei-Phetchabun-NakhonNayok Volcanic belt (LPN) (partly modified from Charusiri et al., 2002; Cumming et al., 2007).

## 2 Outline of geology and ore deposit

Geology of the Chatree deposit is composed of oceanic and continental arc complexes that developed before and during the suturing of the Shan-Thai and Indochina Terranes (Charusiri et al., 2002). The geology of LPN volcanic belt including of the Chatree deposit is composed of conglomerate, sandstone, shale and limestone dominate the district-scale geology of thick Carboniferous to Early Permian

sedimentary sequences. The Chatree deposit occurs in coherent andesitic to rhyolitic lavas, which is overlain by fine-grained volcanoclastics, epiclastic siltstone and mudstone (Fig. 2) (Corbett, 2006; Cumming et al., 2008). Alteration in the regional scale is associated with volcanic centers and major NE-SW fault systems (Corbett, 2006; Crossing, 2006). Alteration of southern part of the Chatree deposit is propylitic alteration (chlorite±epidote-calcite-pyrite), while alteration of northern part of the deposit is argillic and phyllic alteration (sericite-illite-quartz-pyrite) (Cumming, 2006).

The radiometric age of gold mineralization of the Chatree deposit is estimated to be  $250.9 \pm 0.8$  Ma. The age is close to the emplacement of the andesitic volcanics (Early Triassic) (Zaw et al., 2007; Salam et al., 2007 and 2008). Granodiorite intruded in the southern part of the Chatree deposit. An age of granodiorite is estimated to be 244 Ma suggesting the age of post mineralization in the area (Zaw et al., 2007; Salam et al., 2007 and 2008). Dikes are cutting all of rock units.



**Fig. 2 Geologic map of the Chatree deposit (partly modified from Salam et al., 2004).**

### 3 Vein characteristic and Petrography

The area studied in Q prospect is one of the major prospects of the Chatree deposit (Fig. 2). There are many veins at Q prospect. The veins are orientated along NW-SE, NE-SW and N-S direction with moderate to steeply dipping. Veins mineralized also occur between strata consisting of volcanic-sedimentary and andesitic volcanic-clastic rocks. Gold occurs in veins and stockworks with minor amount breccia of the andesite volcanic-clastics and volcanic-sedimentary rocks. Gold-bearing veins are composed of mainly quartz, adularia, chlorite, carbonate and sulfide minerals.

Mineralization stages at Q prospect were examined on the basis of cross-cutting relationships of veins (Fig. 3). The stages are divided into four stages:

		Stages			
Minerals		I	II	III	IV
Ore minerals	Pyrite	■	■	■	■
	Chalcopyrite	■	---	---	■
	Tetrahedrite	■	■	■	■
	Sphalerite	■	■	■	■
	Electrum	■	---	---	■
Gangue minerals	Quartz	■	■	■	■
	K-feldspar	■	■	■	■
	Illite	■	---	---	■
	Chlorite	■	■	■	■
	Calcite	■	■	■	■

abundant  
 moderate  
 a few  
 trace

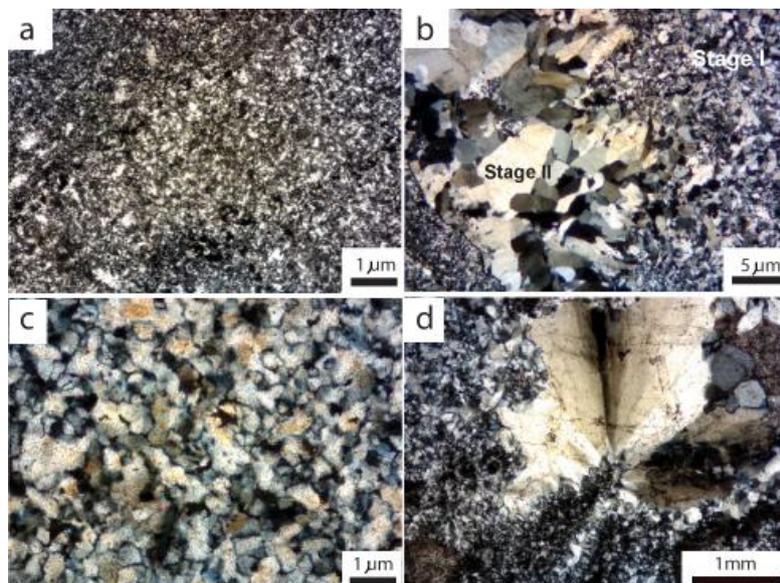
**Fig. 3 Paragenetic sequence ore and gangue minerals of Q prospect at the Chatree deposit.**

Stage I: light-dark grey quartz veins, veinlets and breccias containing precious and base metal mineralization. The constituent minerals are a large amount of microcrystalline quartz with small amounts of pyrite (dendritic pyrite), chalcopyrite, K-feldspar and calcite.

Stage II: a large amount of barren coarse-grained comb quartz with a small amount of coarse-grained pyrite.

Stage III: a large amount of barren medium-grained mosaic quartz with small amounts of pyrite and chlorite.

Stage IV: Ores of stage IV shows network structure composed of mainly quartz and calcite. The stage IV is characterized by a precious and base metal mineralization. The constituent minerals are fine to coarse-grained quartz with small amounts of K-feldspar and calcite. Clasts of stages I (dark grey quartz), II and III are included in network as breccias.



**Fig. 4 Photomicrographs (crossed nicols) showing quartz texture from stages I to IV. a:** Microcrystalline quartz in stage I. **b:** Comb quartz (stage II) cutting fine-grained quartz (stage I). **c:** Mosaic texture of medium-grained quartz. **d:** Flamboyant texture of quartz in stage IV.

Grain size of quartz from stages I to III changes from fine-grained to coarse-grained according to progress of mineralization stages (Fig. 4). Stage I is also composed of a large amount of fine-grained pyrite. Quartz in stages II and III is medium to coarse-grained quartz crystals. Stage IV consists of quartz fine-grained to coarse-grained with large amount of pyrite, chalcopyrite and sphalerite. Electrum is abundant in aggregates of fine-grained quartz and inclusion in pyrite in stages I and IV.

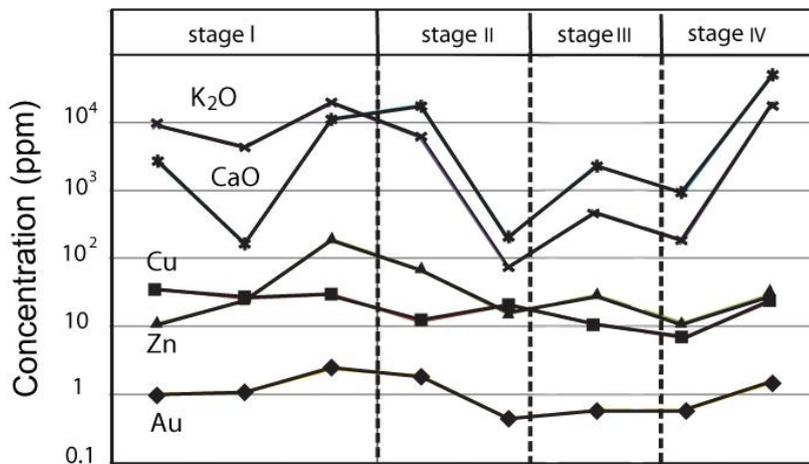
#### 4 Geochemistry

Twenty-six samples were analyzed by PIXE at NMCC and ICP-MS at Akita University to clarify geochemical characteristics of gold mineralization of Q prospect. The chemical contents of K<sub>2</sub>O, CaO, Au, Cu and Zn components are shown in Table 1. The variations of Au, K<sub>2</sub>O and CaO contents accord with the variations of abundance of electrum (Au, Ag), adularia (KAl<sub>3</sub>Si<sub>3</sub>O<sub>8</sub>) and calcite (CaCO<sub>3</sub>) (Fig 5). The fact that the positive correlated among Au, K<sub>2</sub>O and CaO contents suggests that electrum precipitated with adularia and calcite. Fine-grained quartz in stages I and IV also has high Au content. Some samples in Stage I contain electrum and dendritic pyrite. The mineral assemblage and texture suggest precipitation of ore minerals from supersaturated hydrothermal solution. Based on the presence of brecciated structure and flamboyant texture in quartz network veins of stage IV and the possibility that the flamboyant texture was formed by boiling of hydrothermal solution (Dong et al., 1995), precipitation of gold in quartz veins of Q prospect thought to be caused by boiling. These characteristics are similar to those of typical epithermal gold-bearing quartz veins such as the Hishikari deposit. The gold mineralization of Q prospect is thought to be one of style of epithermal gold mineralization.

**Table 1 Chemical compositions of gold-bearing quartz from stages I to IV by PIXE and ICP-MS analyses.**

ppm	Vg-1eu	Vg-1ed	Vg-1Lg	Vg-1llw	Qgs-3ll	Q-III	Hbx-2IV	Hbx-3IV
Au*	1.0	1.9	2.4	1.9	0.6	0.5	0.6	1.5
Cu*	35.6	26.3	29.6	11.9	11.0	20.4	6.9	23.7
Zn*	11.1	23.8	190.9	68.9	29.1	15.4	11.2	30.0
K <sub>2</sub> O**	8930	4360	19100	6020	474	74.0	183	18300
CaO**	2710	168	11500	18000	2302	204	916	48300

\*: ICP-MS \*\*: PIXE



**Fig. 5 Diagram showing variations of K<sub>2</sub>O, CaO, Cu, Zn and Au contents from stages I to IV.**

## 5 Conclusions

Gold-bearing quartz veins in Q prospect of the Chatree deposit are divided into four stages. The gold-bearing quartz veins are composed mainly of quartz, adularia, chlorite, calcite and sulfide minerals. The grain size of quartz changes from fine to coarse-grained crystals according to progress of mineralization stages. Stages I and IV are composed of mainly fine-grained quartz with a large amount of fine-grained pyrite. In the Q prospect, quartz-adularia-calcite may be precipitated with gold in the stage I and IV. K<sub>2</sub>O and CaO contents of gold-bearing veins also show a weak positive correlation with Au, Cu, Zn in stages I and IV. Gold mineralization of Q prospect at the Chatree deposit is one of epithermal-type mineralization and the gold mineralization could be caused by boiling.

## References

- Bunopas, S. and Vella, P. (1992) Geotectonics and Geologic Evolution of Thailand, National Conference on Geologic Resources of Thailand: Potential for Future Development, 17-24 November, Department of Mineral Resources, Bangkok, Thailand: p. 209-228
- Bunopas, S. and Vella, P. (1983) Tectonic and geologic evolution of Thailand. In : Nutalaya, P. (ed.). Proc. Of the Workshop on Stratigraphic correlation of Thailand and Malaysia. 8-10 September. HaadYai, Thailand, Paper 1: p. 307-323.
- Charusiri, P., Daorerk, V., Archibald, D., Hisada, K. and Ampaiwan, T. (2002) Geotectonic evolution of Thailand: A new synthesis. Journal of the Geological Society of Thailand: p. 1-20.
- Corbett, G. J. and Leach, T. M. (1998) Southwest Pacific Rim Gold-Copper Systems: Structure, Alteration, and Mineralization: Economic Geology, Special Publication No. 6. P. 1-36.
- Cumming, G., Jame, R., Salam, A., Zaw, K., Mefee, S., Lunwongsa, W., Nuanla-Ong, S. (200) Geology and mineralisation of the Chatree epithermal gold-silver deposit, Pechabun Province, Central Thailand, PACRIM cCongress 2008 Extended Abstracts Volum, p. 409-416.
- Dong, G., Morrison, G. and Jaireth, S. (1995) Quartz Textures in Epithermal vein, Queensland-Classification Origin and Implication. Economic Geology, volume 90: p. 1841-1856
- Ibaraki, K. and Suzuki, R. (1993) Gold-Silver Quartz-Adularia Veins of the Main, Yamada and Sanjin Deposit, Hishikari Gold Mine; A Comparative Study of Their Geology and Ore Deposits: Resource Geology Special Issue, No. 14, p. 1-11.
- Salam, A., Charusiri, P., James R. D. and Sutthirat, C. (2004) Magmatism and Associated Gold Mineralisation in Thailand: Implication for tectonic setting, In International Symposium on the Geological Evolution of East and Southeast Asia, 8-14 February, 2004, Bangkok, Thailand, p. 77-79.

## 秋田平野主要河川の主化学成分と微量成分の特徴

川原谷 浩<sup>1</sup>、石山大三<sup>1</sup>、世良耕一郎<sup>2</sup>

<sup>1</sup>秋田大学工学資源学部

010-8502 秋田市手形学園町 1 - 1

<sup>2</sup>岩手医科大学サイクロトンセンター

020-0173 岩手県岩手郡滝沢村字留が森 348-58

### 1 はじめに

秋田市は、東北地方北西部秋田平野に位置し、秋田市北東部の丘陵を源流域とする河川が流れるほか、湧水もあり、地下水資源が豊富な地域である。また、秋田県南半分を流域とする一級河川の雄物川も、市内南西部を通り日本海へと流れ出る。河川水は、その地域の集水域に貯留される地下水の一部が流出したものと考えられている。従って、河川水に溶存する成分(0.45 $\mu\text{m}$ のフィルターを通過する成分;以下溶存成分)や懸濁物に吸着している成分(0.45 $\mu\text{m}$ のフィルターを通過しない成分;以下懸濁成分)は、その地域に特徴的な値を示すと推定される。秋田平野を対象とした地下水や河川水の研究は、佐藤・船山<sup>1)</sup>、内田ほか<sup>2)</sup>などがある。佐藤・船山<sup>1)</sup>は、秋田市中心部のpH、水温、電気伝導度、地下水面の調査し、地下水面が浅いこと、浅井戸の水温は、気温の影響を受ける事を示した。内田ほか<sup>2)</sup>では、3次元地下水流動・熱輸送解析と水文調査により秋田平野の浅層地下水温度構造の推定を試みている。また、川原谷ほか<sup>3,4)</sup>は、市内を流れる旭川と太平川の溶存成分と懸濁成分を調査し、いずれの河川水も海塩

の影響を強く受けること、岩石由来の  $\text{Ca}^{2+}$  と  $\text{SO}_4^{2-}$  濃度の相関が強いこと、Fe 懸濁成分の濃度が河川で異なる事を報告している。本研究は、旭川、太平川を含む河川水の水質の特徴と地質との関連を考察するために、秋田市内の主要河川水の溶存成分（主化学成分、微量成分）及び懸濁成分の特徴について詳細に検討を行うことを目的とした。

## 2 河川および地質状況

秋田平野は秋田県中央部日本海沿岸に位置する。本地域の代表的な河川は、俎山を源流域とする上新城川、太平山を源流域とする旭川、太平川、岩見川以上の4河川である（Fig.1）。上新城川は秋田市北部から秋田港へ、旭川と太平川は同市中心部から旧雄物川へ、岩見川は秋田市南部から雄物川へ合流し、それぞれ日本海へと流れ出る。流動距離は上新城川で15 km、旭川で35 km、太平川で42 km、岩見川50 km程度で、水系による標高差は俎山水系で650m、太平山水系で1100m程度である。本地域の地質は、秋田市北東部の太平山（標高1170m）から西部の日本海へ向かい、新しい地質が分布する。太平山から太平野田までは中新世白亜紀の花崗岩が分布する。太平野田から秋田市市街地にかけては新第三系萩形層安山岩類、砂子淵層玄武岩、女川層硬質泥岩、船川層黒色泥岩、天徳寺層シルト岩、笹岡層砂岩の順に新しい地層が分布する。

## 3 試料採取および測定

河川水の採取は2007年7月より概ね3ヶ月ごと（4月、7月、10月、12月）に、前述の4河川と日本海へ流れる雄物川河口ほか、秋田市内で流路距離の比較的短い河川及び代表的な湧水を対象に行った（Fig.1）。

現地での試料採取時には、pH、酸化還元電位、水温の測定を行った。試料は0.45 $\mu\text{m}$ のフィルターでろ過し、アルカリ成分、硫酸、塩素などの主化学成分を測定するための試料の採水と重金属成分をPIXE法で測定するための試料の採水を行った。前者は無添加試料、後者は試料溶液が3%硝酸溶液になるように現地で調整した。PIXE法による懸濁成分（0.45 $\mu\text{m}$ 以上）分析試料は、ろ

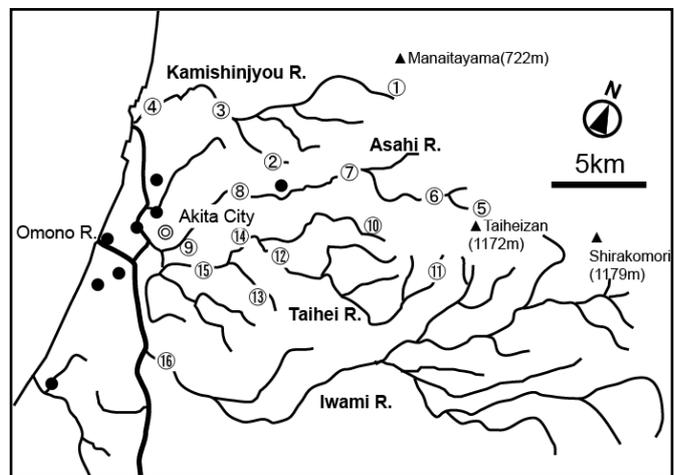


Fig. 1: Map showing sampling points of river water and spring water in the area around Akita City

過で使用したポリカーボネート・フィルターをそのまま自然乾燥させ使用した。

研究室に持ち帰った河川水の溶存成分の測定は、イオンクロマトグラフ法、PIXE法で測定した。主化学成分 Na、K、Mg、Ca、Cl、SO<sub>4</sub>濃度は、イオンクロマトグラフで分析した。PIXE法で分析される 0.45μm以下の分析試料は、試料溶液と等量の In (10ppm) 溶液を加えた混合溶液 10μl をホルダーに貼られたポリプロピレンフィルムに滴下し、80°Cで乾燥し作成した。本研究の試料は溶存成分の濃度が低いため、この作業を3~5回繰り返し濃縮した。溶存成分と懸濁成分の測定は、NMCCのPIXE装置で実施した。

## 4 河川水の化学成分の特徴

### 4.1 溶存成分の特徴

イオンクロマトグラフ法による主要4河川の主化学成分の二成分関係図を Fig. 2 に示す。Fig. 2の横軸は、(a)~(e)が Cl<sup>-</sup>濃度、(f)~(j)が HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>濃度である。また、(a)~(e)中の実線は、海水中に含まれる各溶存イオン濃度と Cl<sup>-</sup>濃度の比を表す。なお、HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>濃度は、実測値ではなく、陽イオン当量の総和から陰イオン当量の総和を差し引いた推定値を用いた。各河川の Cl<sup>-</sup>濃度は、下流域の日本海側に向かうに従い増加する。また、溶存する各イオン (Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup>、Mg<sup>2+</sup>、Ca<sup>2+</sup>、SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>) も濃度差はあるが、増加する傾向を示す (Table 1、Fig. 2 (a)~(e))。Na<sup>+</sup>濃度は、Cl<sup>-</sup>濃度と直線的な関係を示し、海水の Na<sup>+</sup>/Cl<sup>-</sup>比の実線と比較して、若干 Na<sup>+</sup>に富む側へ位置するものの、同様な傾向を示す。このような傾向は、Mg<sup>2+</sup>濃度にも確認される。Mg<sup>2+</sup>濃度の中で異なる傾向を持つものがある。これらのデータは、上新城川源流域の試料で、上流域に新第三紀玄武岩が分布する地域からである。K<sup>+</sup>と Ca<sup>2+</sup>濃度は、海水の K<sup>+</sup>/Cl<sup>-</sup>比や Ca<sup>2+</sup>/Cl<sup>-</sup>比の実線から K<sup>+</sup>と Ca<sup>2+</sup>に著しく富む側に位置する。SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>濃度も同様な傾向を示す。

HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>濃度は、上新城川の源流域では 76-93ppm の範囲を持ち、最も高い。主要河川では、上新城川下流域(飯島)で 23-59ppm、太平川下流域(横森)で 21-49ppm と比較的高い値をとる場合があるのに対して、旭川下流域(山王)で 23-37ppm、岩見川下流域(芝野橋)で 15-33ppm の濃度を示し、流域により多少差異がある。HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>濃度と各イオンの関係は、HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>濃度の増加に伴い、各イオン濃度も増加する (Fig. 2 (f)~(j))。Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup>、Mg<sup>2+</sup>、Ca<sup>2+</sup>について、先述の上新城川源流域の試料のデータは、その他の地域のデータとは異なる傾向を持つ。上新城川源流域の試料を除いた他の地域の Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup>、Ca<sup>2+</sup>濃度は、同様な傾向を示す (Fig. 2 (f)、(g)、(i))。

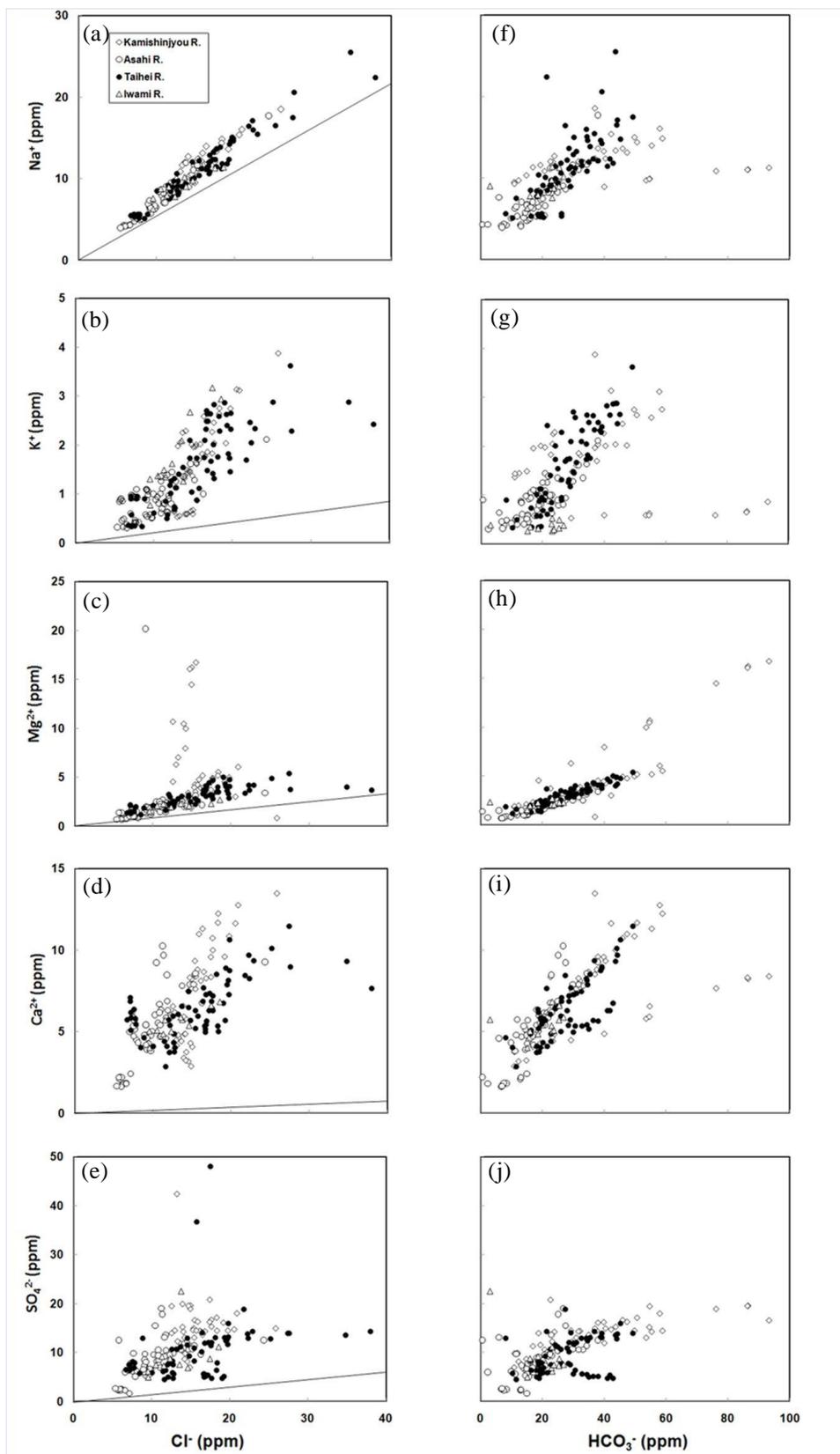


Fig. 2 : Diagram showing relation between major element concentrations. (a)  $\text{Cl}^-$  and  $\text{Na}^+$  (b)  $\text{Cl}^-$  and  $\text{K}^+$  (c)  $\text{Cl}^-$  and  $\text{Mg}^{2+}$  (d)  $\text{Cl}^-$  and  $\text{Ca}^{2+}$  (e)  $\text{Cl}^-$  and  $\text{SO}_4^{2-}$  (f)  $\text{HCO}_3^-$  and  $\text{Na}^+$  (g)  $\text{HCO}_3^-$  and  $\text{K}^+$  (h)  $\text{HCO}_3^-$  and  $\text{Mg}^{2+}$  (i)  $\text{HCO}_3^-$  and  $\text{Ca}^{2+}$  (j)  $\text{HCO}_3^-$  and  $\text{SO}_4^{2-}$

Table 1 : List of the mean concentrations (ppm) of major chemical components of each river.

No.	River	Locality Name	Cl	SO <sub>4</sub>	Na	K	Mg	Ca
ppm								
①		Genryuu	14.0	18.7	9.9	0.6	10.9	6.3
②	Kamishinryou	Ootaki	14.2	11.4	10.8	1.8	2.3	3.9
③		Naka	18.8	16.2	14.0	2.4	4.3	10.5
④		Iijima	23.4	13.5	15.9	2.9	4.0	11.7
⑤		Mitarashi	6.1	3.6	4.3	0.6	1.1	2.0
⑥	Asahi	Asahimata	7.6	7.0	5.3	0.7	1.3	5.3
⑦		Nibetsu	9.5	7.4	6.7	0.8	3.3	5.1
⑧		Soegawa	11.3	9.2	8.3	1.0	2.1	6.0
⑨		Sannoh	14.0	10.2	10.2	1.3	2.3	6.7
⑩		Kanayamataki	12.0	6.0	8.6	0.9	2.4	4.3
⑪		Noda	7.6	7.6	5.4	0.6	1.7	5.7
⑫	Taihei	Hirakata	17.4	12.2	12.6	1.6	3.1	7.1
⑬		Takaragawa	17.6	5.5	11.6	2.6	4.1	5.6
⑭		Yanagida	18.1	13.9	13.0	1.8	3.4	7.4
⑮		Yokomori	22.9	16.6	16.1	2.2	3.8	8.5
⑯	Iwami	Shibano-bashi	13.0	9.2	9.0	1.8	2.2	5.5

Table 2 : List of the mean percentage of nss (not sea salt) of major chemical components of each river.

No.	River	Locality Name	nss-SO <sub>4</sub>	nss-Na	nss-K	nss-Mg	nss-Ca
①		Genryuu	88	22	54	90	95
②	Kamishinryou	Ootaki	81	26	83	55	92
③		Naka	83	28	83	70	96
④		Iijima	83	26	84	66	96
⑤		Mitarashi	67	21	75	55	93
⑥	Asahi	Asahimata	84	20	73	54	97
⑦		Nibetsu	80	21	73	61	96
⑧		Soegawa	83	24	76	61	96
⑨		Sannoh	80	24	76	57	95
⑩		Kanayamataki	71	23	69	63	94
⑪		Noda	85	23	70	66	97
⑫	Taihei	Hirakata	81	23	74	63	95
⑬		Takaragawa	54	16	86	69	93
⑭		Yanagida	79	23	78	61	95
⑮		Yokomori	77	22	78	57	94
⑯	Iwami	Shibano-bashi	78	21	84	58	95

Mg<sup>2+</sup>濃度は、上新城川源流域の試料のデータとその他の地域のデータともに直線的な関係を示し、HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>濃度との相関が非常に強い。SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>濃度は、太平洋支流の新第三紀シルト岩が分布する宝川のデータ(HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>=30-40ppm、SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>=5ppm)を除くと、概ね同様な傾向を示す。主化学成分濃度(Cl<sup>-</sup>、SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>、Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup>、Mg<sup>2+</sup>、Ca<sup>2+</sup>)の季節変化は、上新城川、旭川、太平洋中下流域では7月、10月に、岩見川では10月、12月にそれぞれ高くなる傾向を示す。

非海塩起源の溶存成分が各河川水試料に占める割合は、河川水中のCl<sup>-</sup>濃度の起源が、すべて海塩起源と仮定し、各地点でのCl<sup>-</sup>濃度と海水Cl<sup>-</sup>濃度の比を用い、実測値から海塩起源の濃度を差し引くことで見積もることができる。各河川の上～中流域や支流では、非海塩起源の割合に差があるものの、下流域ではSO<sub>4</sub><sup>2-</sup>が77-83%、Na<sup>+</sup>が22-28%、K<sup>+</sup>が76-84%、Mg<sup>2+</sup>が57-70%、Ca<sup>2+</sup>が94-96%と比較的類似した割合を示す。また、各河川流域全体を通して、Ca<sup>2+</sup>が92-97%と高い値で変化が少ないのも特徴である (Table 2)。

河川水の微量成分としては、PIXE法ではSi、Fe、Mn、Znが確認された。Si濃度は、それぞれ下流域に従い濃度が増加し、上新城川で4から19ppmへ、旭川で2から12ppmへ、太平洋で3から18ppmへの変化を示し、旭川が低い傾向を示す。岩見川の試料のSi濃度は、5から11ppmである。上新城川支流の新第三紀の安山岩が分布する大滝のSi濃度は5～11ppm、先述した太平洋支流宝川のSi濃度は20～43ppmの高い値を示す。0.45μmを通過した河川水のFe濃度は、それぞれ下流域に向かい増加し、上新城川で0.02～1.4ppm、旭川で0.02～0.7ppm、太平洋で0.02～1.9ppmの変化を示し、旭川が若干低い傾

向を示す。また、各河川ともに7月、10月に濃度が増加する傾向を示す。岩見川のFe濃度は、0.1~0.7ppmの変化を示し、7月、10月の濃度増加は認められなかった。Fe濃度は、各河川ともに上流の玄武岩などの火山岩分布域より、中下流のシルト岩などの堆積岩分布域での河川水が高い濃度を示す (Fig. 3)。

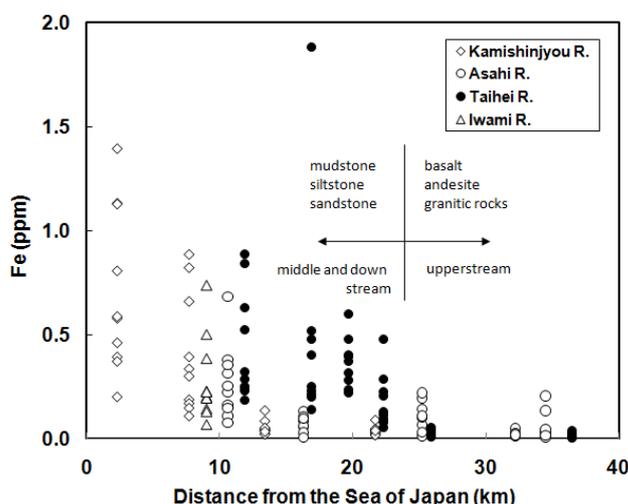


Fig. 3: Relationship between the distance from the Sea of Japan and Fe concentrations of river waters obtained from the area studied.

Mn濃度は、下流域に向かい0.05~0.2ppm増加する。Zn濃度は、旭川上流(仁別)と上新城川源流域で検出限界以上の濃度をもち、約0.1ppmの濃度を示す。これは、旭川と上新城川源流域にある俎山周辺の鉍化帯(珪化帯や石英脈中に金銀硫化鉍物を伴う)の影響の可能性がある。それぞれの河川中下流域においては、Znの溶存成分と懸濁成分は確認できないことから、河川水中に溶存したZnは合流する河川水により希釈され、検出限界以下になったと判断される。

#### 4.2 懸濁物の化学組成の特徴

2008年12月から2009年12月までの3ヶ月ごとに採取した各地点の試料について、PIXE法で測定した懸濁成分濃度の平均値をTable 3に示す。懸濁物の主成分はSi、Fe、Al、Ca、K、S、Tiで、これらの濃度はSi=9.4~942.2 $\mu$ g/l、Fe=1.4~535.5 $\mu$ g/l、Al=4.0~434.4 $\mu$ g/l、Ca=1.5~24.0 $\mu$ g/l、K=1.5~38.7 $\mu$ g/l、S=2.1~16.2 $\mu$ g/l、Ti=0.1~10.8 $\mu$ g/lである。各河川ともに下流域にむかうにしたがい、これらの濃度はそれぞれ増加する。Si、Fe、Al濃度は、他の成分に比較して、10~100倍程度高い。これらに加え、Mn、Zn、

Cr、Cu が 1 $\mu$ g/l 以下の濃度で認められた。各河川の Si 濃度は、上新城川で 33.8~406.4 $\mu$ g/l、旭川で 9.4~345.4 $\mu$ g/l、太平洋で 37.9~565.4 $\mu$ g/l を示し、濃度範囲はあまり変わらない。岩見川では 942.2 $\mu$ g/l を示し、他の主要河川より 2 倍程度濃度が高い。Al 濃度は、上新城川で 16.9~123.3 $\mu$ g/l、旭川で 4.0~145.6 $\mu$ g/l、太平洋で 8.5~354.5 $\mu$ g/l を示し、太平洋下流域が高い。同様に、岩見川も 434.4 $\mu$ g/l と高い。Fe 濃度は、上新城川で 8.0~535.5 $\mu$ g/l、旭川で 1.4~128.0 $\mu$ g/l、太平洋で 4.3~320.0 $\mu$ g/l を示す。特に、上新城川下流と太平洋下流域の泥岩・シルト岩分布域、もしくはその下流域で Fe 濃度は高い。岩見川は 185.8 $\mu$ g/l で旭川より若干高い。これらの季節変化は、Si、Al 濃度については、7 月に特に高く、他の時期の河川水試料と比較して、それぞれ 2 倍程度濃度が高い。Fe 濃度の季節変化は、例えば、太平洋柳田で 4 月の 93 から 7 月の 415 $\mu$ g/l、上新城川飯島で 4 月の 188 から 7 月の 1491 $\mu$ g/l と 4-8 倍程度に増加する。走査電子顕微鏡 (SEM) による観察では、粘土やコロイドと思われる集合体、ケイ藻が認められたため、Si は粘土鉱物とケイ藻の主要元素として、Al はコロイドの主要元素として、Fe は粘土鉱物やコロイドに吸着して、河川下流へと移動すると推定される。

Table 3: List of the mean concentrations ( $\mu$ g/l) of suspended materials of each river.

No.	River	Locality Name	Ti	Fe	Al	$\mu$ g/l			
						Si	S	K	Ca
①		Genryuu	0.4	8.0	16.9	33.8	2.1	3.7	2.3
②	Kamishinryo	Ootaki	1.1	18.8	46.7	119.9	2.8	3.9	4.6
③		Naka	1.9	126.7	73.2	212.8	5.3	7.9	8.8
④		Iijima	3.2	535.5	123.3	406.4	16.2	10.3	24.0
⑤		Mitarashi	0.1	1.4	4.0	9.4	2.8	3.3	1.5
⑥		Asahimata	0.4	6.1	18.5	34.9	3.1	3.9	3.3
⑦	Asahi	Nibetsu	0.7	33.9	25.9	59.7	2.4	3.6	3.0
⑧		Soegawa	1.6	44.3	64.5	164.6	3.6	5.9	6.7
⑨		Sannoh	3.9	128.0	145.6	345.4	5.3	14.9	10.8
⑩		Kanayamataki	5.5	6.6	8.5	37.9	1.8	1.5	2.3
⑪		Noda	0.3	4.3	10.1	16.9	1.7	2.2	2.7
⑫	Taihei	Hirakata	2.6	98.1	83.9	252.6	5.4	7.0	9.4
⑬		Takaragawa	1.3	217.6	50.7	164.8	6.1	4.1	9.2
⑭		Yanagida	10.8	278.6	354.5	906.4	9.4	28.7	21.0
⑮		Yokomori	7.3	320.0	187.3	565.4	13.4	19.6	22.1
⑯	Iwami	Shibano-bashi	5.1	185.8	434.4	942.2	11.8	38.7	21.4

### 4.3 考察

秋田市内を流れる主要 4 河川の化学成分の特徴をまとめると、溶存成分の主化学成分 Cl 濃度は、日本海沿岸に近づくに従い、各河川上流域と比較して 2~3 倍程度増加する。これは日本海からの海塩の影響

が沿岸部ほど増加するためと推定される。また、太平川下流域と上新城川下流域で約 23ppm、旭川と岩見川で 13 から 14ppm の濃度を示し、流域ごとに異なる傾向を示す。Fig. 2 (a)~(e) 中の実線から大きくずれる  $K^+$ 、 $Ca^{2+}$ 、 $SO_4^{2-}$  の起源は、海塩起源の成分よりも地下水と地層中の岩石による水/岩石反応で溶脱した成分が多いためと推定される。 $HCO_3^-$  濃度は、太平川下流域と上新城川下流域で 50 から 60ppm、旭川と岩見川で 33 から 37ppm の濃度を示し、 $Cl^-$  濃度の傾向と同様に、流域ごとに異なる傾向を示す。これらの河川下流域での地下水中の  $HCO_3^-$  の起源は、主に地下浅所での有機物の酸化<sup>5)</sup> によると推定される。溶存成分の微量成分は、Si、Fe、Mn、Zn が確認され、Si、Fe 濃度は、太平川下流域と上新城川下流域が高く、旭川で低い傾向を示した。懸濁物の主成分の中で濃度が高いのは、Si、Fe、Al である。Si 濃度は、河川ごとに大きな差異は認められないものの、Al 濃度は、太平川下流域が高い傾向を示す。Fe 濃度は、上新城川下流と太平川下流域のシルト岩・砂岩分布域で高い。

このような溶存成分や懸濁成分の河川ごとの差異は、集水域内に分布する地層と涵養されている地下水との反応に密接に関連することが予想される。そこで、隣接する河川でありながら、観測結果の異なる旭川と太平川の地層と河川水の特徴について考察する。旭川(⑤~⑨)は、⑤萩形層安山岩、⑥太平山花崗岩類、⑦女川層俎山火山岩類(安山岩)、⑧船川層泥岩が分布し、流域の 8 割程度には火成岩類が分布し、堆積岩分布域は、⑧添川周辺に限られる。⑨は市街地である。太平川は、⑩及び⑪西黒沢層玄武岩、⑫笹岡層砂岩、⑬笹岡層砂岩、⑭天徳寺層シルト岩が分布し、旭川とは逆に、流域の 8 割程度には堆積岩類が分布し、火山岩類分布域は⑩金山滝、⑪野田の上流域に限られる。⑮は市街地である。溶存成分の主化学成分は、それぞれの河川の最下流の太平川横森(⑮)と旭川山王(⑨)を比較すると、 $Ca^{2+}$  を除き総じて 1.6 倍程度、太平川横森が高い。 $Cl^-$  濃度は、すべて海塩起源と推定されるため、隣接する両河川で  $Cl^-$  濃度や降水が地下水として涵養される割合が大きく異なることは考えにくい。従って、旭川では、下流域の泥岩地域においても、深層を移動してきた上流域の水が湧出し、河川水となり流れ下っている可能性が示唆される。

## 5 まとめ

旭川、太平川を含む河川水の水質の特徴と地質との関連を考察するために、秋田市内の主要河川水の溶存成分(主化学成分、微量成分)及び懸濁成分の特徴について検討した結果、以下の結論を得た。

1. 主要河川の溶存成分の主化学成分は、日本海沿岸に近づくに従い、それぞれ増加する。Cl<sup>-</sup>濃度では、各河川上流域と比較して2~3倍程度増加する。
2. 溶存成分の微量成分は、Si、Fe、Mn、Znが確認され、Si、Fe濃度は、太平川下流域と上新城川下流域が高く、旭川で低い傾向を示す。
3. 懸濁物の主成分の中で濃度が高いSi濃度は、河川ごとに大きな差異は認められないものの、Al濃度は、太平川下流域が高い傾向を示す。Fe濃度は、上新城川下流と太平川下流域のシルト岩・砂岩分布域で高い。
4. 旭川では、下流域の泥岩地域においても、深層を移動してきた上流域の水が湧出し、河川水となり流れ下っている可能性がある。

## 文献

- 1) 佐藤正史・船山幸夫(1975): 秋田市の浅層地下水Ⅱ, 秋田地学, 第16巻, p.21-25.
- 2) 内田洋平・丸山あゆみ・池田香菜子・藤井光・安彦宏人(2005): 観測井の少ない地域における浅層地下温度構造の推定—秋田平野の例—, 日本水文科学会誌第, 第35巻, 4号, p.191-203.
- 3) 川原谷浩・石山大三・松葉谷治・世良耕一郎(2007): 秋田平野を流れる旭川の河川水の地球化学的特徴, NMCC共同利用研究成果報文集14, p.170-6.
- 4) 川原谷浩・石山大三・世良耕一郎(2008): 秋田市太平川の溶存成分および懸濁成分の特徴と水質形成機構, NMCC共同利用研究成果報文集15, p.28-35.
- 5) 影山勇雄(2003MS): 河川水の溶存全炭酸の濃度及び炭素同位体比について, 秋田大学卒業論文, 31p.

## **Geochemical characteristics of concentrations of major and minor elements of main four rivers flowing through Akita plain**

Hiroshi Kawaraya<sup>1</sup>, Daizo Ishiyama<sup>1</sup> and Koichiro Sera<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Faculty of Engineering and Resource Science, Akita University

1-1 Gakuen-Machi, Tegata, Akita 010-8502, Japan

<sup>2</sup> Cyclotron Research Center, Iwate Medical University

348-58 Tomegamori Takizawa, 020-0173, Japan

### **Abstract**

The purpose of this study was to clarify the characteristics of chemical compositions of river water of Kamishinjyou, Asahi, Taihei and Iwami Rivers flowing through Akita Plain. Concentrations of major and minor elements and suspended materials with particle size over 0.45  $\mu\text{m}$  in the water were measured using ion chromatography and the PIXE method. Major chemical concentrations increase by about two or three times from the upperstream region to the Sea of Japan coast in each river. These increases are thought to be caused sea salt. As for minor components, Si, Fe, Mn and Zn were detected, and Si and Fe concentrations were high in the downstream regions of Kamishinjyou and Taihei Rivers and low in Asahi River. In the main suspended materials with particle size over 0.45  $\mu\text{m}$ , concentrations of Si were high in all three rivers and the concentrations of Al was high in the downstream region of Taihei River. The concentration was high in areas of siltstone and sandstone in the downstream region of kamishinjyou and Taihei Rivers. In Asahi River, there is a possibility that groundwater sprang up in the upperstream region.

# 岩木山山頂付近の土壌試料に関する PIXE 分析値と XRF 分析値の比較と補正

鶴見 實、種市香織、菅原英里香

弘前大学大学院理工学研究科  
青森県弘前市文京町3

## 1 はじめに

土壌試料は有機物や粘土鉱物、岩石片などさまざまな物質の混合物と考えられており、その組成の成り立ちの解明が待たれている。PIXE 分析法は微量試料の多元素を同時に分析でき、利用者にとって簡便な方法である。この方法を土壌試料に生かすため、調整法などを検討していく。

土壌試料を分析する手法として蛍光 X 線分析法は、比較的信頼のおける方法として知られている。しかし、蛍光 X 線分析法は精確さを求める時に分析の前処理として灼熱処理が必要であり、揮発性成分の定量は出来ない。また落ち葉や植物試料の場合、試料を大量に必要とする。それに対して PIXE 分析法は、少量の試料で主成分の分析が出来ることに加え、灼熱処理を必要としないため揮発性成分の定量が可能になるという利点がある。蛍光 X 線分析法との十分な比較検討が必要とされる。

ここでは岩木山山頂付近の土壌試料に対し、蛍光 X 線分析法 (XRF 分析法) で得られた分析値 (XRF 分析値) と PIXE 分析法を用いて得られた分析値 (PIXE 分析値) の比較を行う。去年までの結果によると、当研究室で採取した岩木山山頂付近の土壌に対する PIXE 分析値の酸化物換算した合計値は  $100 \pm 30\%$  であった。PIXE 分析法は試料や元素の性質、調整技術に比較的依存する方法である。PIXE 分析値を酸化物換算した値が  $100\%$  にならない原因のひとつとして、土壌粉末試料と Pd-C 標準物質との混合が不十分であったためと考え、混合時間を 15 分から 60 分へと延長させた。その結果、混合時間を延長させることによってバラツキが軽減されることが判明した。試料を 60 分混合することによって、土壌粉末試料と Pd-C 標準物質がより均質となり、試料がより微粒子となったことで、このような結果が得られたと考えられる。

PIXE 分析値の酸化物換算した合計値が  $100 \pm 30\%$  であるのに対して、XRF 分析値の酸化物換算した合計値は  $100 \pm 2\%$  であり、両者を比較すると PIXE 分析値の誤差は大きい。PIXE 分析による  $\text{SiO}_2$  値のみを見ても  $100\%$  を超えるものもあることから、PIXE 分析値の酸化物換算合計値を  $100\%$  に補正する必要があると考えられる。これまでは標準試料として NIES 標準岩石を用いて、個々の元素の補正を行っていた。しかし、我々の分析対象は土壌試料であり、岩石ではないことから今回は「NIES 標準試料 Pond Sediment(池底質試料)」を標準試料に採用した。今までの PIXE 分析値を用いた研究から、Na と Mg の PIXE 分析値は XRF 分析値より低い値となっていることが分かっている。これは Na と Mg が自己吸収を

しているためだと思われる。そこで、PIXE 分析値の酸化物換算値を補正する方法について検討すると共に、さらに 100%補正後に Na と Mg の PIXE 分析値が改善されているか、XRF 分析値との比較を行った。

今回は灼熱処理を行った土壌試料も PIXE 分析にかけた。灼熱処理した試料と、灼熱処理しない試料の PIXE 分析値を比較して、揮発性成分の特徴についても述べていく。

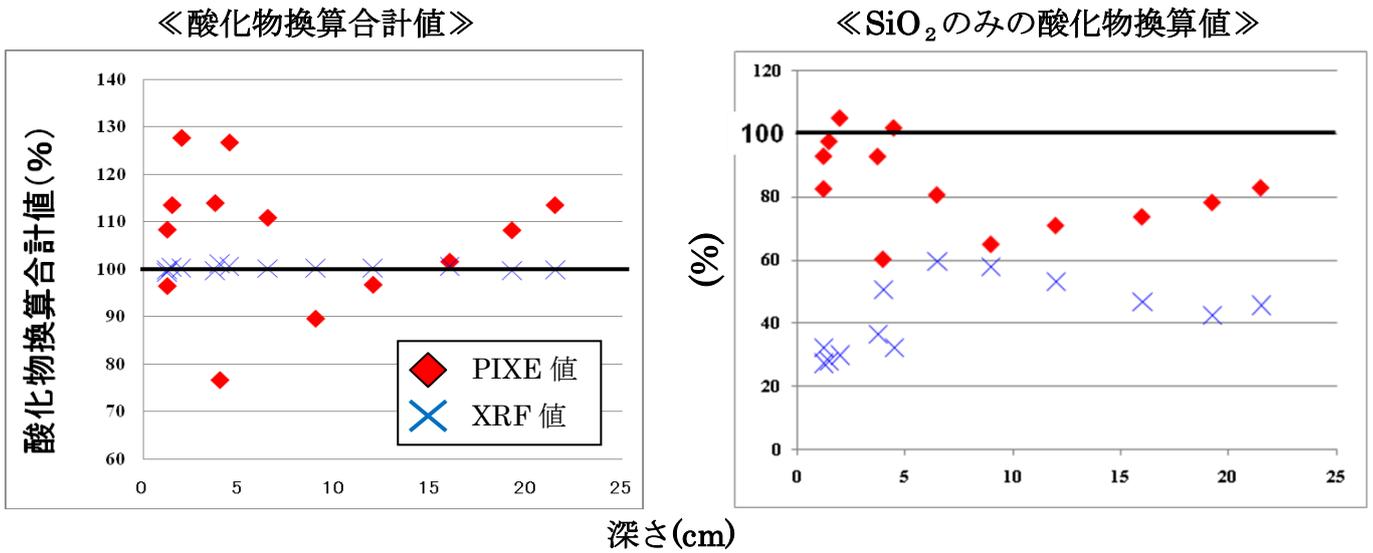


図 1. 岩木山付近土壌試料の PIXE 分析値の酸化物換算値  
(左 酸化物換算合計値、右 SiO<sub>2</sub>のみの酸化物換算値)

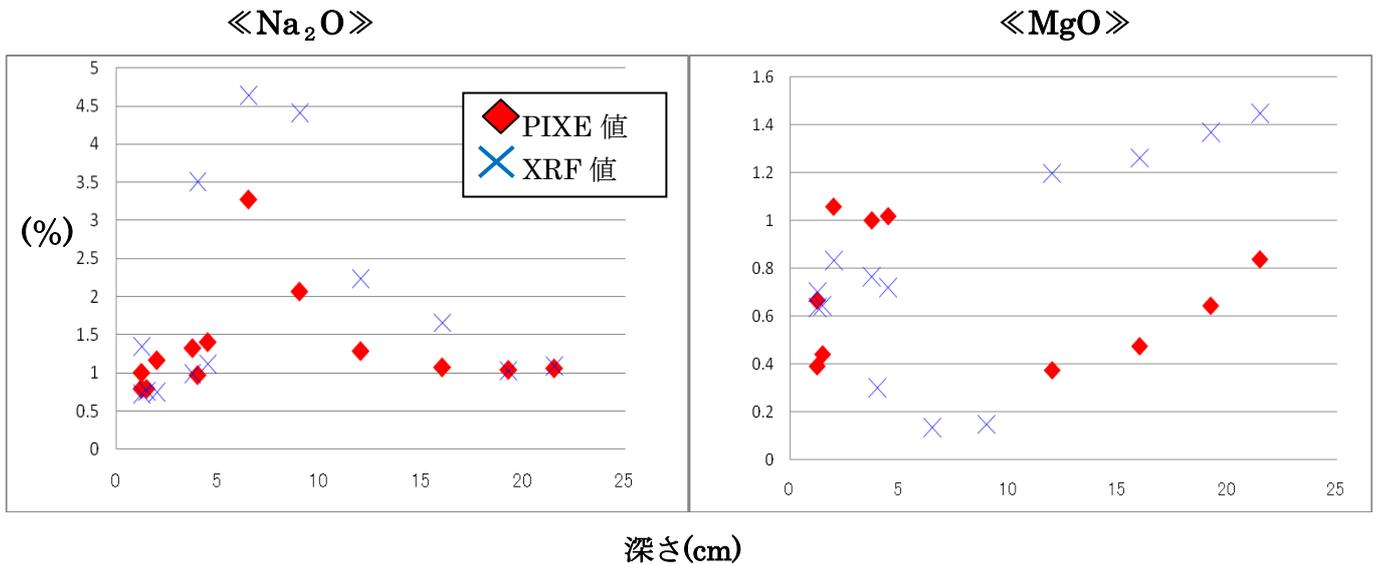


図 2. Na<sub>2</sub>O の PIXE 分析値、XRF 分析値

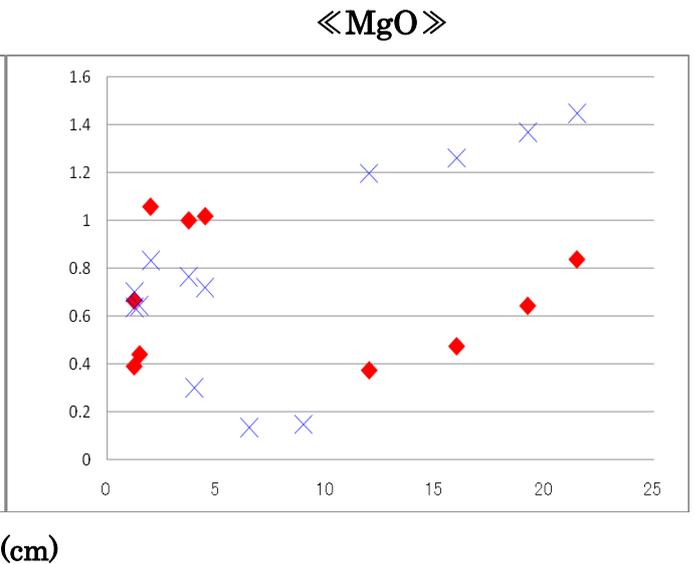


図 3. MgO の PIXE 分析値、XRF 分析値

## 2 試料採取

### 2.1 採取地点

試料の採取は、岩木山山頂付近のくぼ地で行った。くぼ地はお椀のような地形になっており、降雨は地下浸透する以外に排水する場所がないため、大気降下した不溶性汚染物質はくぼ地内に留まると考えられる。

採取地点一帯は、森林限界を超えた高地にあり、植生として草やコケが見られるだけで、大きな樹木はない。

採取地点一帯の地質は、岩木火山の第三系の火山噴出物である。岩木火山は主に安山岩から構成されている。



図4. 採取地点

### 2.2 採取方法

土壌断面に対して垂直方向に約23cmの塊のまま採取し、垂直土壌と呼ぶ。垂直土壌の色は、深さ0-5.5cmは黒色土、5.5-10.5cmは褐色土、10.5-23cmは黒色土であり、深さ7cmまで根がはっていた。この垂直土壌から北西に30cm離れた地点で深さ6cmの塊として表層土壌Aを採取。垂直土壌から北東に40cm離れた地点で深さ5cmの塊として表層土壌Bを採取。垂直土壌から西に1m35cm離れた地点で深さ4cmの塊として表層土壌Cを採取。

その後、実験室にて採取した土壌を切り分けた。垂直土壌は深さ方向に0-2.5cm、2.5-5.5cm、5.5-7.5cm、7.5-10.5cm、10.5-13.5cm、13.5-18.5cm、18.5-20cm、20-23cmの8つに分けた。表層土壌Aは深さ方向に0-3cm、3-6cmの2つに分けた。表層土壌Bは深さ方向に0-2.5cm、2.5-5cmの2つに分け、表層土壌Cは深さ方向0-4cmのまま分析を行った。

## 3 測定方法

### 3.1 前処理

土壌試料は2週間実験室内で自然乾燥した後に、65℃に設定した乾燥機で48時間乾燥させた。乾燥させた土壌試料から、大きな枝や木の根、コケなどを取り除いてから自動乳鉢を用いて粉末化した。細かい根などは、土壌と一緒に粉末化した。なお、Litterなどの有機物の多い試料は粉末化に時間がかかる。そのため前もってポリエチレン製の袋内で、手で揉み、細かくした。

## 3.2 試料調製

### 3.2.1 PIXE 分析法

土壌試料の化学成分の定量には内部標準法を用いた。この方法は、土壌などの粉末試料に適しているとされている。内部標準試料として Pd-C を用いた。Pd-C (5%Pd) 10mg と土壌試料 50mg を 60 分間混合し、混合試料中の Pd 濃度が約 10000ppm となるよう調整した。混合試料をピンセットで極微量つまみとり、シートの中央に置く。コロジオン 10%溶液 (エタノール : ジエチルエーテル = 1 : 1) を 3 $\mu$ l とり、試料の上に滴下し、直径 7mm ほどの円状に広げる。

前処理を終えた試料の PIXE 分析とデータ解析は、(社)日本アイソトープ協会仁科記念サイクロトロンセンターに依頼した。

PIXE 分析法により、得られた成分は、主成分 SiO<sub>2</sub>、Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>、Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>、K<sub>2</sub>O、TiO<sub>2</sub>、MgO、Na<sub>2</sub>O、CaO、MnO、P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>、の 10 元素、微量成分 Cl、S、Nb、Zr、Y、Sr、Rb、Th、Pb、Zn、Cu、Ni、Hg、As、Se、Ga、V、Cr、Co、Br、Mo の 21 元素である。

### 3.2.2 蛍光 X 線分析法 (XRF)

土壌試料の化学成分のうち、主成分である SiO<sub>2</sub>、Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>、Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>、K<sub>2</sub>O、TiO<sub>2</sub>、MgO、Na<sub>2</sub>O、CaO、MnO、P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>、の 10 元素、微量成分 Nb、Zr、Y、Sr、Rb、Th、Pb、Zn、Cu、Ni の 10 元素が蛍光 X 線分析法により得られた。定量にはガラスビード法を用いて、分析試料を灼熱処理し調製した。分析に用いた装置は、Philips 社製 PW2400 型全自動蛍光 X 線分析装置である。

#### ○灼熱減量 (LOI)

試料を灼熱処理することで減量する重量分を灼熱減量 (Loss on Ignition、略称 LOI) とする (式 3-1)。LOI の内容として考えられるのは、水素、炭素、窒素、硫黄などの有機物、塩素やリンなどの一部の無機物、室温では乾燥することのできない結晶水である。土壌試料を量り取る量は、灼熱後に試料が蛍光 X 線分析に必要な量である 1.8g 以上残るようにした。試料中の有機物含有量によって LOI が異なるため、灼熱する量を試料ごとに変えた。特に、Litter などの有機物に富む土壌上部の LOI は 90%を超えるので、量り取る量を 30~40g とした。

$$\text{LOI}(\%) = ((\text{灼熱処理前重量}(\text{g}) - \text{灼熱処理後重量}(\text{g})) / \text{灼熱処理前重量}(\text{g})) \times 100 \quad \cdots (3-1)$$

#### ○ガラスビード法による調節

粉末試料に対してガラスビード法 (融解試料調製法) による調製をおこなった。この方法は、ガラス円板試料に加工調整することで試料の均一性を高め、優れた分析結果が得られる。灼熱処理した土壌試料 1.8g を精秤し、融剤を加えて試料と融剤 1 : 2 の割合になるようにする。融剤には Li<sub>2</sub>B<sub>4</sub>O<sub>7</sub> と LiBO<sub>4</sub> (Merck 製, A20) を 8 : 2 (Li<sub>2</sub>B<sub>4</sub>O<sub>7</sub> 約 2.90g、LiBO<sub>4</sub> 約 0.72g) に混ぜたものを使用した。ただし、Li<sub>2</sub>B<sub>4</sub>O<sub>7</sub>、LiBO<sub>4</sub> には微量の水分が含まれており、熔融時に一定の割合蒸発し、減量する。このため、あらかじめ熔融時間と減少量の関係を測定しておき、熔融後に試料 : 融剤 = 1 : 2 の比率となるように Li<sub>2</sub>B<sub>4</sub>O<sub>7</sub>、LiBO<sub>4</sub> を精秤した。

## 4 補正方法

### 4.1 標準試料について

今回は標準試料として、「NIES 標準試料 Pond Sediment」を用いた。文献値を表1に示す。

Pond Sediment : 東京都文京区本郷 東京大学 三四郎池(池底質試料)、1980年採取  
保証値と参考値は岡本・不破(1981)による

表1. NIES 標準試料 Pond Sediment の保証値

	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> %	Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> %	CaO %	K <sub>2</sub> O %	Na <sub>2</sub> O %
文献値	20.03	9.34	1.13	0.82	0.77
文献値誤差	±0.5	±0.35	±0.06	±0.06	±0.04

	Zn Ppm	Cu ppm	Pb ppm	Cr Ppm	Ni ppm	Co ppm	Cd ppm	As ppm
文献値	343	210	105	75	40	27	0.82	12
文献値誤差	±17	±12	±6	±5	±3	±3	±0.06	±2

表2. NIES 標準試料 Pond Sediment の参考値

	SiO <sub>2</sub> %	TiO <sub>2</sub> %	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> %	Mn ppm	V Ppm	Sr ppm
文献値	44.92	1.07	0.32	770	250	110

	Rb Ppm	Sc ppm	La ppm	Br Ppm	Sb Ppm	Hg ppm
文献値	42	28	17	17	2	1.3

## 4.2 NIES 標準試料 Pond Sediment の PIXE 分析値

PIXE 分析法によって定量された NIES 標準試料 Pond Sediment の分析値結果である。今回の NIES 標準試料 Pond Sediment における乾燥減量係数は 0.889 であり、PIXE 分析値に乾燥減量係数で割った値を、表 3 に示す。

分析の誤差については 30%以下のものを採用する。30%~50%のものは、斜体で表記し採用する。50%以上の元素に関しては水色で示し、値として信用できないため不採用とする。また、Overlapping Peak が検出されている場合、その値を最優先に採用した。主要元素 (Si、Al、Fe、Mn、Ti、Ca、K、Mg、Na、P) については酸化物換算した値を記載する。

分析における試料のカバーと分析値の採用について、Ca~Ni と Na~K に対して Mylar 吸収体を用いてそれぞれ別の検出器で測定され、Cu より重い元素に対して特殊吸収体を用いて検出された値を採用した。

表 3. NIES 標準試料 Pond Sediment(P.S)保証値と PIXE 分析値

	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> %	Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> %	CaO %	K <sub>2</sub> O %	Na <sub>2</sub> O %
2008.12 PIXE 値(30 分混合)	13.67	8.31	0.89	0.62	0.44
2009.7 PIXE 値(60 分混合)	16.58	10.63	0.97	0.63	0.48
2009.9 PIXE 値(60 分混合)	18.35	11.36	0.94	0.75	0.65
NIES 標準試料 P.S 保証値	20.03	9.34	1.13	0.82	0.77

	Zn ppm	Cu ppm	Pb ppm	Cr Ppm	Ni Ppm	Co ppm	As Ppm	Cd ppm
2008.12 PIXE 値(30 分混合)	295	196	133	104				
2009.7 PIXE 値(60 分混合)	382	261	173	101			14.9	
2009.9 PIXE 値(60 分混合)	530	257	171	119			9.5	
NIES 標準試料 P.S 保証値	343	210	105	75	40	27	12.0	0.82

表 4. NIES 標準試料 Pond Sediment(P.S)参考値と PIXE 分析値

	SiO <sub>2</sub> %	TiO <sub>2</sub> %	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> %	MnO %
2008.12 PIXE 値(30 分混合)	29.36	0.77	0.10	0.07
2009.7 PIXE 値(60 分混合)	32.52	0.97	0.09	0.10
2009.9 PIXE 値(60 分混合)	35.43	1.09	0.30	0.10
NIES 標準試料 P.S 参考値	44.92	1.07	0.32	0.10

	V ppm	Sr ppm	Rb ppm	Sc ppm	La ppm	Br Ppm	Hg ppm
2008.12 PIXE 値(30分混合)	79.6	106	45			16	
2009.7 PIXE 値(60分混合)	176	95	62			18	33.5
2009.9 PIXE 値(60分混合)	190	115	45			25	6.7
NIES 標準試料 P.S 参考値	250	110	42	28	17	17	1.3

#### 4.3 NIES 標準試料 Pond Sediment を用いた PIXE 分析値の補正方法の検討

標準試料の文献値とその標準試料の PIXE 分析値を比較し、PIXE 分析値の補正方法を検討した。

以下の補正方法を用いる。この補正法では、元素を2つのグループに分類し、それぞれのグループで補正したあと100%補正を行う。

グループの分類方法として、NIES 標準試料 Pond Sediment の保証値または参考値と PIXE 分析値(2009年7月、9月、11月、12月)の比率を求め、その比率が毎回どれ位ばらつくかで分類した。バラツキの範囲で一致している元素をAグループとし、一致していない元素をBグループとした。ただし、MgはNIES 標準試料 Pond Sediment の保証値、参考値ともになかったため、XRF 分析値との比率を求めた。

表7にはNIES 標準試料 Pond Sediment の保証値、参考値とXRF 分析値との比率を示した。

表5. NIES 標準試料 Pond Sediment の保証値(参考値)/PIXE 分析値または保証値(参考値)の比率

※保証値は Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>、Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>、CaO、K<sub>2</sub>O、Na<sub>2</sub>O の5元素、参考値は SiO<sub>2</sub>、TiO<sub>2</sub>、P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>、MnO の4元素

	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> %	Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> %	CaO %	K <sub>2</sub> O %	Na <sub>2</sub> O %	SiO <sub>2</sub> %	TiO <sub>2</sub> %	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> %	MnO %
2009.7 分析値	1.21	0.88	1.16	1.30	1.60	1.38	1.10	3.56	1.00
2009.9 分析値	1.09	0.82	1.20	1.09	1.18	1.27	0.98	1.07	1.00
2009.11 分析値	0.99	0.89	1.09	1.10	1.58	1.14	1.13	1.39	1.08
2009.12 分析値	1.03	0.83	0.79	1.05	1.52	1.09	0.97	2.13	0.95
保証値(参考値)	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00

表6. XRF 分析値/PIXE 分析値またはXRF 分析値の比率

	MgO %
2009.7 分析値	1.63
2009.9 分析値	1.65
2009.11 分析値	3.64
2009.12 分析値	4.16
XRF 分析値	1.00

表 7. NIES 標準試料 Pond Sediment の保証値(参考値)/XRF 分析値または保証値(参考値)の比率

※保証値は Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>、Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>、CaO、K<sub>2</sub>O、Na<sub>2</sub>O の 5 元素、参考値は SiO<sub>2</sub>、TiO<sub>2</sub>、P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>、MnO の 4 元素

	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> %	Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> %	CaO %	K <sub>2</sub> O %	Na <sub>2</sub> O %	Si <sub>2</sub> O %	Ti <sub>2</sub> O %	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> %	MnO %
XRF 分析値	0.99	0.98	0.97	0.94	0.96	0.95	1.03	0.97	0.96
保証値(参考値)	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00

#### 4.3.1 Fe、Ca、K、Ti、P、Mn、微量元素 (A グループ)

主要元素である Fe、Ca、K、Ti、Mn、P と微量元素を A グループとする。A グループの主要元素は表 5 に示した NIES 標準試料 Pond Sediment の PIXE 分析値と保証値または参考値の比率がバラツキの範囲でよく一致していると考えられる。図 7 より、PIXE 分析値と XRF 分析値の相関も良いと判断した。この 2 つの理由から Fe、Ca、K、Ti、P、Mn は PIXE 分析値をそのまま採用する。P は表 5 のバラツキも大きく、XRF 分析との相関も他と比べて良いとは言えないが、100%補正を行っても改善されなかったため A グループとした。図 6、8 より、微量元素の PIXE 分析値と XRF 分析値は Cu、Zn 以外はあまりバラツキが無いように思えるため、A グループは生データを個々の補正も 100%補正もせず、PIXE 分析値をそのまま採用する。

#### 4.3.2 Si、Al、Na、Mg、(B グループ)

A グループ以外の主要元素である Si、Al、Na、Mg を B グループとする。A グループに比べて、NIES 標準試料 Pond Sediment の PIXE 分析値と保証値または参考値の比率のバラツキが大きく、XRF 分析値との相関も悪いため、100%補正する必要があると判断した。Na と Mg は自己吸収が起こるため補正が必要となる。補正には NIES 標準試料 Pond Sediment の補正係数を用いる。100%補正には LOI を加えて全体が 100%になるように補正係数 (式 4-2) (式 4-3) を生データにかける (式 4-1)。

$$\text{補正值} = \text{生データ} \times \text{標準土壌補正係数}^*1 \times 100\% \text{補正係数}^*2 \dots \dots \dots \text{(式 4-1)}$$

\*1 標準土壌補正係数 = (NIES 標準試料 保証値 or XRF 分析値) / PIXE 分析値 …… (式 4-2)

\*2 100%補正係数 = (100 - LOI) - (A の和)(%) / B<sub>酸化物の和</sub>(%) …… (式 4-3)

#### 4.4 100%補正法 考察

##### 4.4.1 Fe、K、Ti、Ca、P、Mn、微量元素 (A グループ)

A グループは個々の補正も 100%補正もせずに PIXE 分析値の生データで採用した。しかし P は検出誤差も大きく、100%補正を行っても改善されなかった。P の PIXE 分析値を改善するための対策(試料調整や P の補正法)の検討が必要だと思われる。

微量元素である Cu と Zn は PIXE 分析値と XRF 分析値の相関も悪く、誤差も大きい。Cu と Zn の PIXE 分析値は補正した方が良いのか今後検討する。微量元素は検出誤差の大きなデータが多く、採用できる数も少ない。微量元素の検出は試料調整の技術に左右される可能性があるため、試料調整の技術向上も課題となる。

##### 4.4.2 Si、Al、Na、Mg (B グループ)

PIXE 分析値、100%補正をした PIXE 分析値、XRF 分析値の 3 つを試料採取深度とともに図 9 に示した。PIXE 分析値に比べ、100%補正をした PIXE 分析値は深さに伴い滑らかな分布となっている。結果として PIXE 分析値と XRF 分析値の相関も改善された。(図 10)

Na と Mg は自己吸収が起り XRF 分析値よりも PIXE 分析値は低い値だったが、今回の 100%補正を行いほとんどの地点で改善されたと言える。

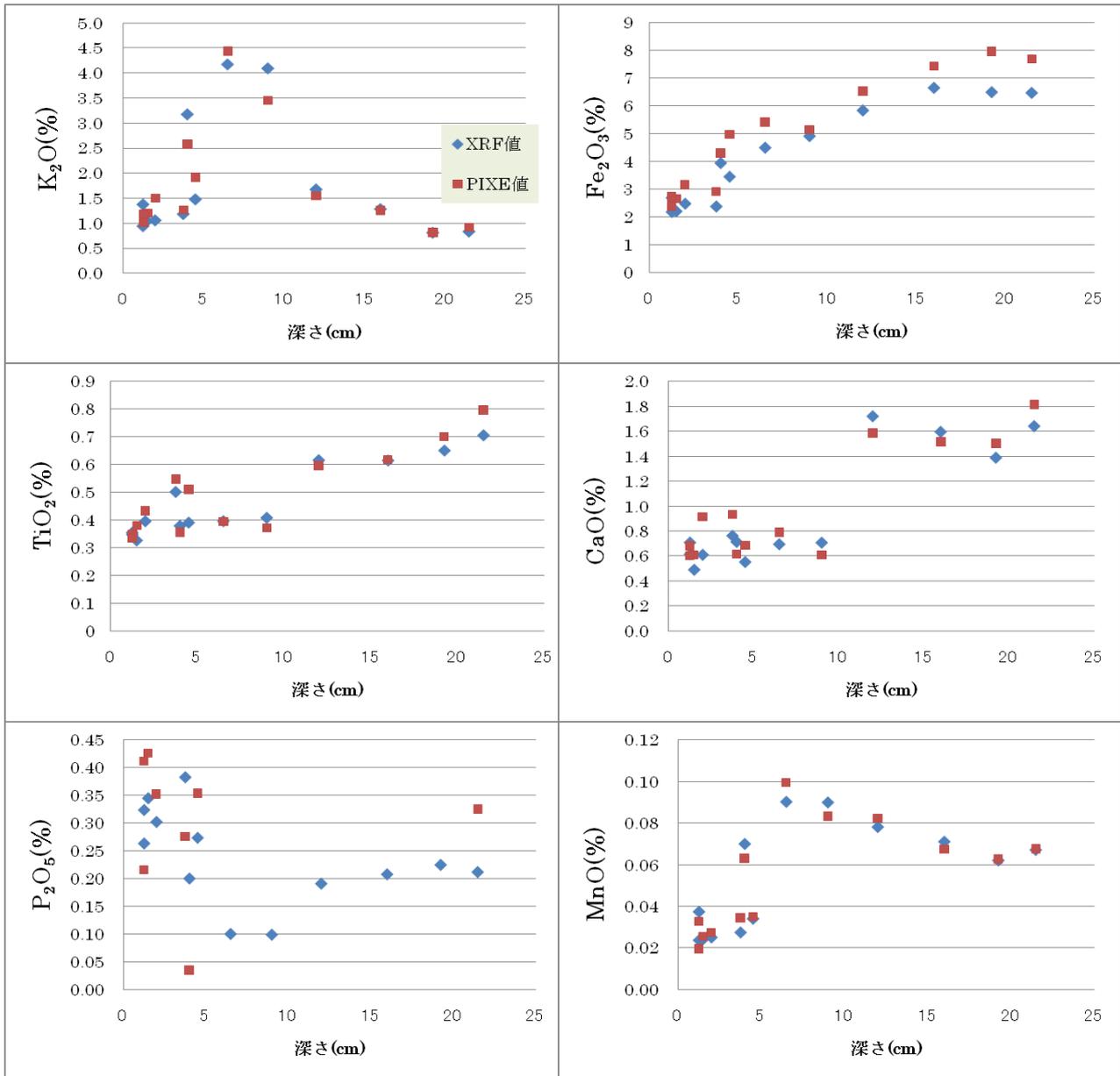


図5. Aグループ(K、Fe、Ti、Ca、P、Mn)のPIXE分析値とXRF分析値

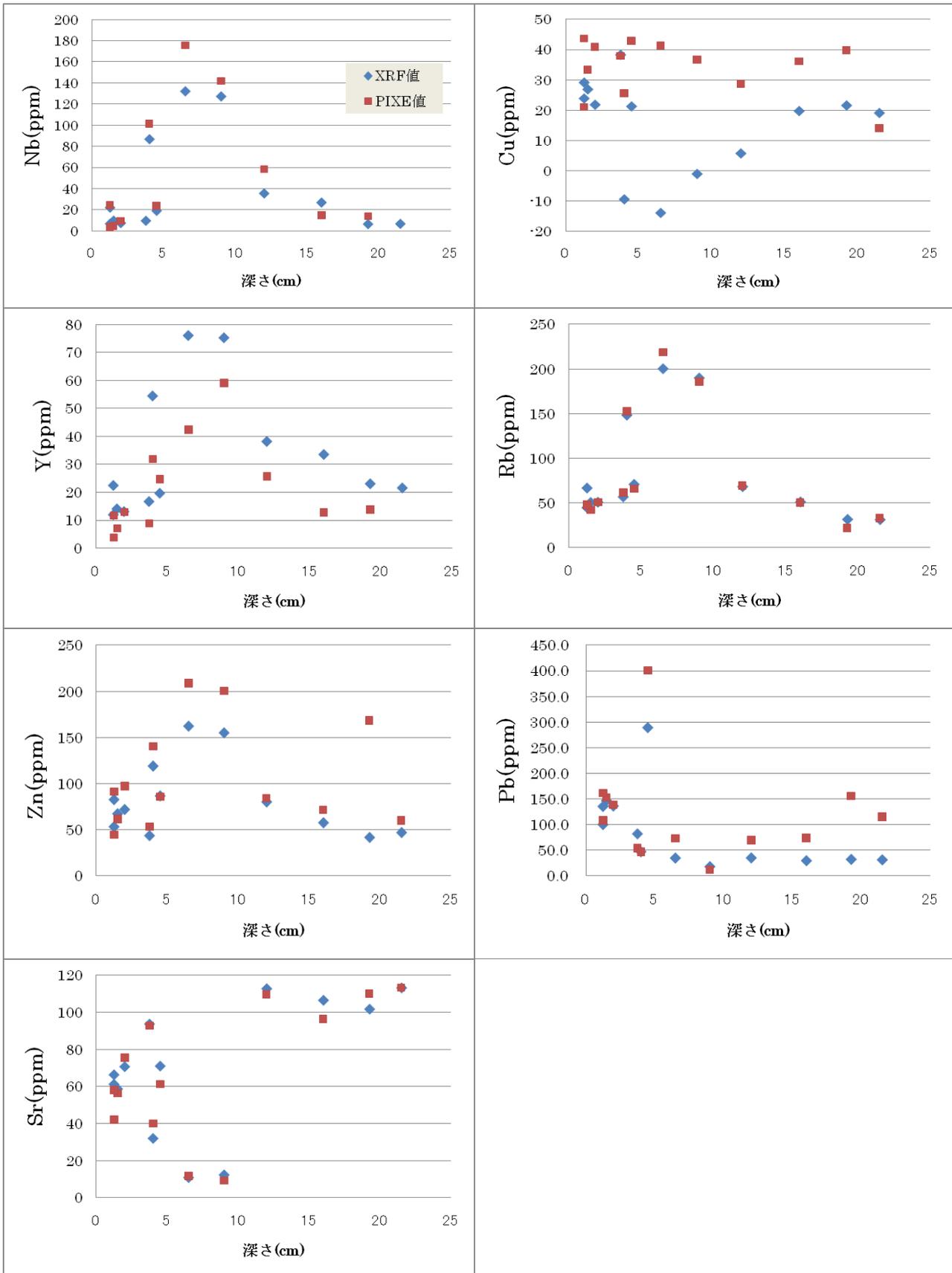


図6. Aグループ(微量元素)のPIXE分析値とXRF分析値

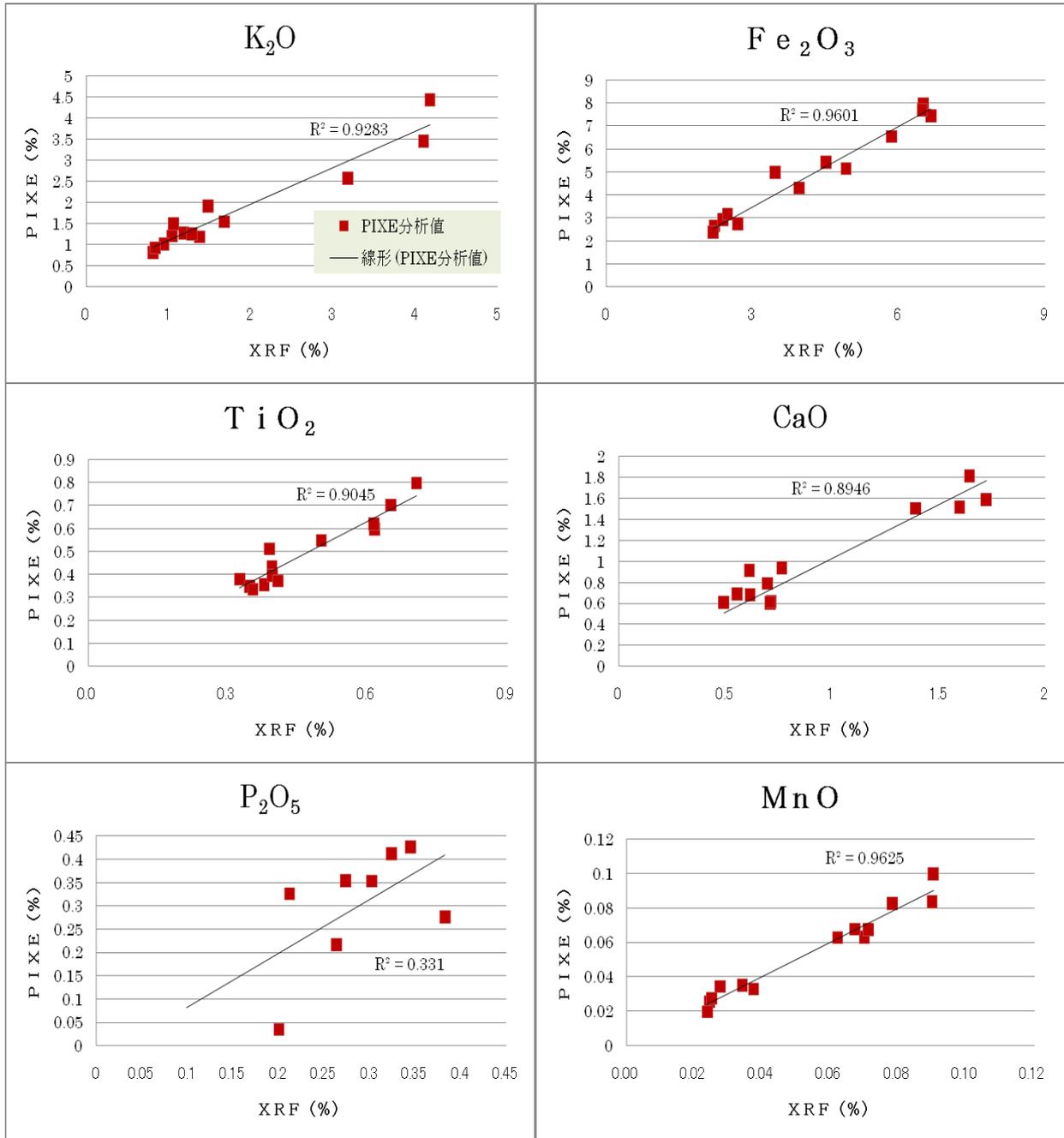


図7. Aグループ(K、Fe、Ti、Ca、P、Mn)のPIXE分析値とXRF分析値の相関

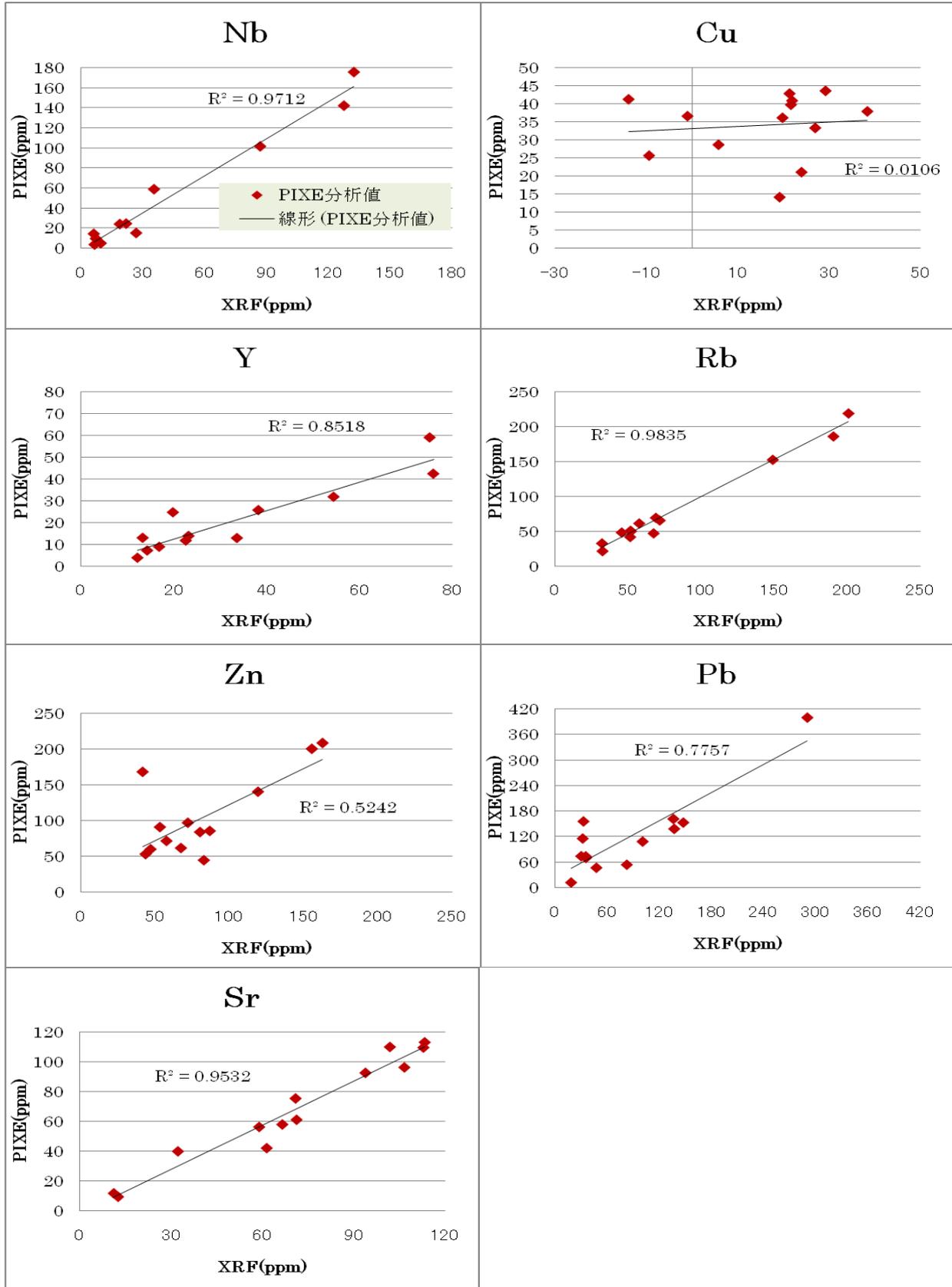


図8. Aグループ(微量元素)のPIXE分析値とXRF分析値の相関

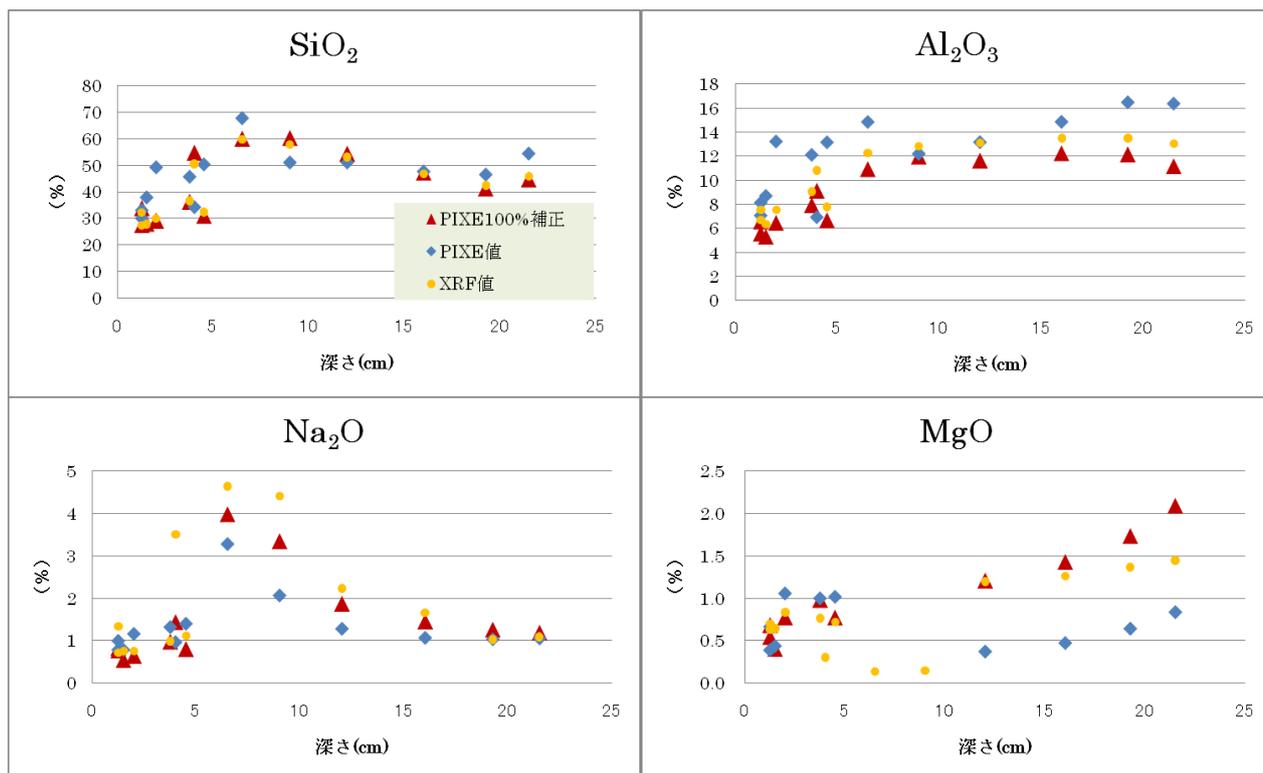


図9. BグループのPIXE分析値、100%補正PIXE分析値、XRF分析値

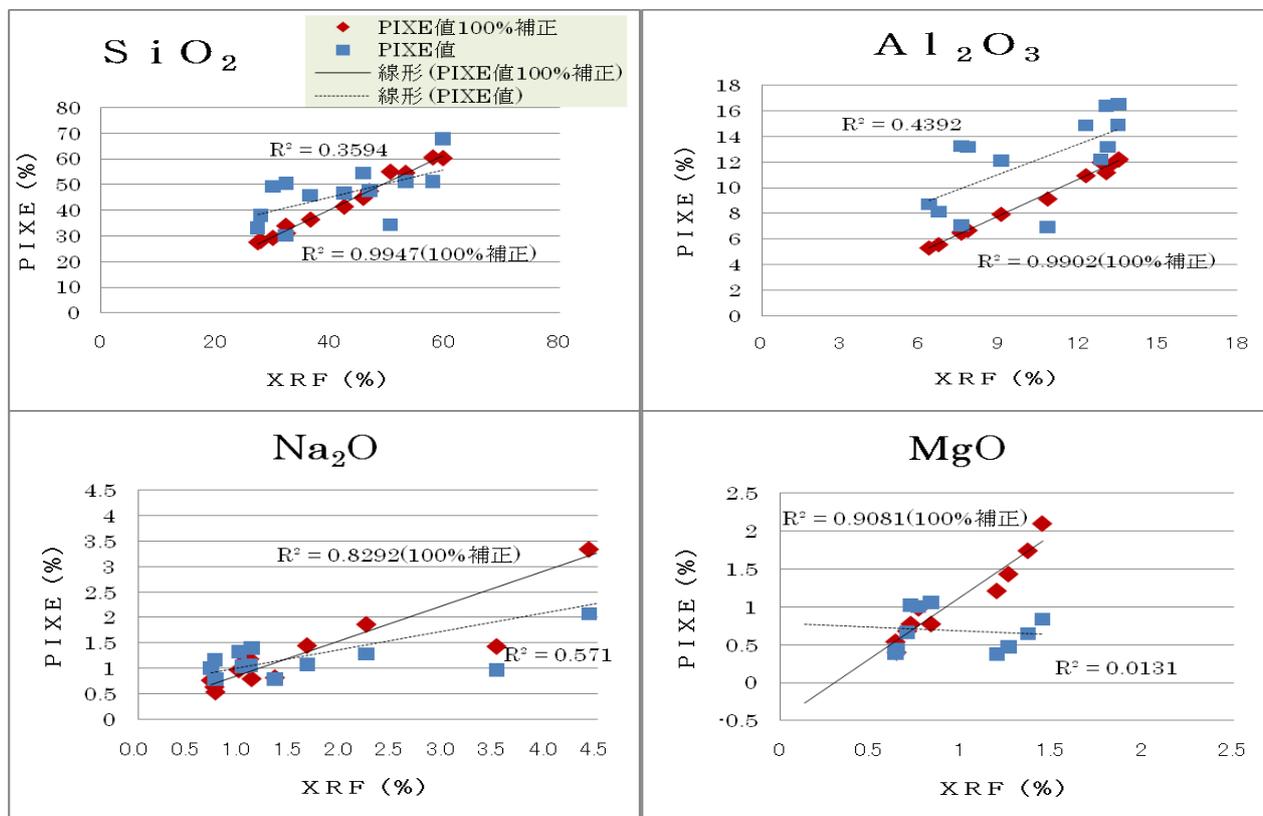


図10. Bグループ(Si、Al、Na、Mg)のPIXE分析値とXRF分析値の相関  
100%補正PIXE分析値とXRF分析値の相関

## 5 S揮発性成分とPIXE分析

### 5.1 灼熱処理によって揮発するSと揮発しないS

XRF分析では前処理として、土壌の灼熱処理をする。この際に揮発性成分であるC、N、S、Cl、Br、Hg、水分など蒸発してしまうため、XRF分析ではこれらの揮発性成分の定量は出来ないとされていた。

今回、灼熱処理した土壌試料のPIXE分析を行った結果、灼熱処理によって蒸発すると思われた揮発性成分S(硫黄)が検出された。このことより、Sには土壌試料を灼熱処理して揮発するSと揮発しないSがあることが分かった。これと同様なことはClにも見られた。

灼熱処理をした試料と灼熱処理をしない試料のPIXE分析値を比較した図11から、ほとんどの場合において灼熱処理をした試料の中に不揮発性SやClが存在していることが分かる。この不揮発性Sは $Fe_2O_3$ (黄鉄鉱)のような鉱物ではないかと考えられる。灼熱試料と、非灼熱試料の両方を分析することで、土壌試料中の揮発性成分SとClの灼熱減量を区別することが可能となった。

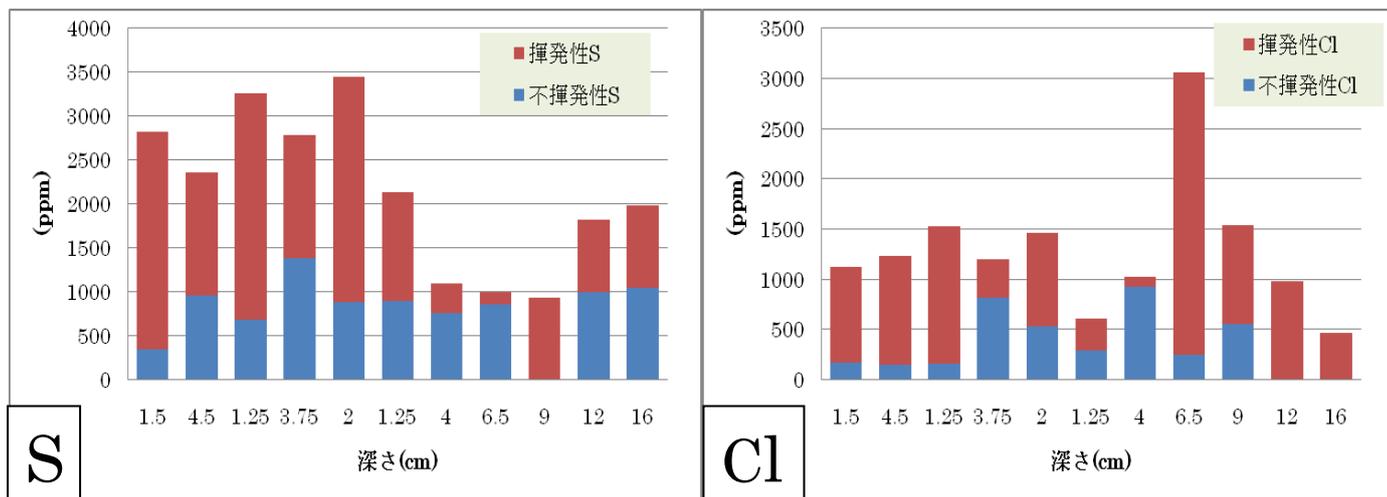


図 11. 非灼熱処理と灼熱処理した PIXE 分析値の S、Cl

## 6 結果

岩木山山頂付近土壌試料に関する PIXE 分析値の酸化物換算した合計値は 100%にならなかった。今回は NIES 標準試料 Pond Sediment を用いて 100%補正を行った。100%補正法は、元素を 2 つのグループに分けて補正を行った。A グループ (Fe、K、Ti、Ca、P、Mn、微量元素) の元素は補正を行わずに生データを採用した。B グループ (Si、Al、Na、Mg) は生データに標準土壌補正係数と 100%補正係数をかけて酸化物の合計値が A グループもあわせて 100%になるようにする。Na と Mg は自己吸収を起こし、PIXE 分析値が XRF 分析値より低い値となっていたが、100%補正をすることで改善された。100%補正した PIXE 分析値と XRF 分析値と比較を行った結果、B グループは良好な値となった。

灼熱処理をした土壌試料を PIXE 分析に用いると、今まで揮発すると考えられてきた S と Cl が定量された。灼熱処理した土壌試料と灼熱処理しない土壌試料の両方を PIXE 分析にかけることで、揮発性 S、Cl と不揮発性 S、Cl を区別できることが分かった。これは灼熱処理を必要としない PIXE 分析だからこそ解明できたことである。

図 5 と 6、9 に、各元素分析値の土壌深さ方向に伴う変化を示した。土壌試料を深さ方向 2.5~5 cm ごとに採取したため、元素含有量の変化には極大値がみられものがある。その極大値を有意なものとして判定するためにも、微量で分析できる PIXE 分析法の特質を生かした細かな深さ方向の採取法が期待される。

### 【引用文献】

岡本研作,不破敬一郎:環境標準試料 NIES No.2「池底質試料」について —池底質試料の調製、分析および保証値—, 季刊環境研究 [34] 125~138(1981).

## **Comparison of data analyzed by PIXE with data by XRF in chemical composition on soil samples collected in Mt.Iwaki**

M. Tsurumi, K. Taneichi and E. Sugawara

Graduate School of Science and Technology, Hirosaki University  
3 Bunkyocho, Hirosaki, Aomori 036-8561, Japan

### **Abstract**

Chemical contents of soil samples were analyzed by Particle Induced X-ray Emission analysis (PIXE) and X-ray fluorescence spectrometry (XRF). A comparison of data by PIXE with by XRF is discussed in composition for soil samples collected on the soil surface at the bottom of the old volcanic crater in Mt. Iwaki, Japan. Between these two methods, serious differences were observed in analytical concentrations for Al, Si, Na and Mg. Because the 100% of total content in oxides may prove analytical accuracy for each samples, PIXE data for these elements were corrected with standard sample, NIES pond sediment.

## 栄養剤の形状が各種ミネラルの吸収に与える影響の検討

三浦吉範<sup>1</sup>、遠藤龍人<sup>2</sup>、池田健一郎<sup>3</sup>、清水敦哉<sup>4</sup>、世良耕一郎<sup>5</sup>、諏訪部 章<sup>1</sup>

<sup>1</sup>岩手医科大学医学部臨床検査医学  
020-8505 盛岡市内丸 19-1

<sup>2</sup>岩手医科大学医学部消化器肝臓内科学  
020-8505 盛岡市内丸 19-1

<sup>3</sup>池田外科・消化器内科医院  
020-0041 盛岡市境田町 5-18

<sup>4</sup>済生会松阪総合病院・内科  
515-0003 三重県松阪市朝日町 1 区 15 番地 6

<sup>5</sup>岩手医科大学サイクロトンセンター  
020-0173 岩手郡滝沢村字留が森 348-58

### 1 はじめに

近年、高齢化社会の到来や救急医療の進歩などにより、様々な疾患の急性期は乗り越えることが可能になった反面寝たきりになり、脳血管障害などの原因で意識障害や仮性球麻痺を発症するケースが多くなってきている。その結果、嚥下障害すなわち経口摂取が困難となり、食物が気管に入ると肺炎になったり窒息したりするおそれがあるため、経腸および静脈栄養法に頼らざるを得ない患者が増加している。なかでも胃瘻（PEG）などを用いた経管栄養法は、静脈栄養法に比べ生理的かつ低コストで腸管を使うことにより免疫機能の低下も防ぐことができるなどのメリットなどがあるため広く普及してきている。

胃瘻では、液体の流動食（栄養剤）が使用されている。現在、さまざまな液体栄養剤が開発され、なかには微量元素などもきちんと摂取できたり、タンパク質やアミノ酸を摂取することにより褥瘡の治癒を早めることができるものや、糖尿病患者の血糖コントロールを改善する機能などをもった栄養剤など多種存在している。

しかし、栄養剤が液体であることに起因する難治性の下痢や、胃-食道逆流による嘔吐、誤嚥性肺炎といった合併症が深刻な問題となっている。とくに、さまざまな臓器の機能低下や免疫能が低下している高齢の患者では、胃-食道逆流によって誤嚥性肺炎を発症した場合、死亡の危険性も考えられる。

こうした問題を解決するために、これまでに栄養剤の形状を液体から固形化したり<sup>1)</sup>、空腸カテーテル（PEJ<sup>2)</sup>など）といった方法が開発されてきた。なかでも、増粘剤で粘度を増した半固形化栄養法が注目されている。合田<sup>3)</sup>によれば、誤嚥性肺炎を繰り返す患者15例に20,000cPの程度の半固形化したバリウムを注入し

たところ、14例（93%）で胃-食道逆流を防ぐことができた。また、胃-食道逆流の防止以外にも半固形化栄養法のメリットとして、①下痢の改善、②胃内pH上昇の改善、③食後高血糖・高インスリン血症の改善、④消化管ホルモン分泌の改善、⑤注入時間短縮によるリハビリテーションやADL訓練時間の増加といった点が指摘されている。

しかしながら、栄養剤の形状ならびに投与に関しては一定の見解はなく、科学的根拠も未だに十分とは言えない。それらが生体内でどのような影響を及ぼすのかについても、まだまだ未解決の部分が多くあり、このような栄養剤の形状機能に関する基礎から臨床までの調査研究等がやっと立ち上ったところである。なおかつ形状に関する呼称も、ゲル化、半固形化、固形化など様々な用語が用いられている。そこで今回、このような栄養剤の形状の違いが含有ミネラルの吸収に影響を及ぼすかどうかを、PEG施行症例を対象に液体の栄養剤又は半固形化栄養剤を投与し検討した。

## 2 方法

### [対象]

対象は、日本栄養材形状機能研究会の研究ワーキンググループが行う「栄養材の形状が臨床症状に与える影響の検討-多施設共同比較試験-」への参加に同意が得られたPEG造設患者で、血液検体の採取が可能であった患者とした。試験方法は、対象症例を封筒法にて①液体栄養剤投与群（液体群）、②2,000mPa・s低粘度半固形栄養剤投与群（低粘度群）③20,000mPa・s高粘度半固形栄養剤投与群（高粘度群）の3群に割り付けを行った。液体栄養剤にはラコールを使用し、半固形化の調整にはイージーゲルを使用した。3群ともにPEG施行日、PEG施行1週間後、PEG施行2週間後にそれぞれ採血したものを検体とした。採血量は全血で5ml、採血後各施設において血清に分離し、金属元素類などを含まないプラスチック製のスクリーキャップ付き容器に入れ PIXE による測定を行なうまでは-80℃で凍結して保存した。

今回の患者対象は、2007年11月から2009年6月までに登録された54名中、全ての測定ポイントで検体が採取可能であった52名（男性13例、女性39例、平均年齢82.0±7.6歳）である。その内訳は、①液体群：17名、②低粘度群：17名、③高粘度群：18名であった。

採取した血清試料中のFe、Cu、Zn、Se、Ca、Mn、MgをNMCCにてPIXE法（内部標準法）で測定し、これらミネラルの経時的推移を反復測定分散分析にて解析検討した。

### [PIXE・試料調製]

PIXE測定する前に、内部標準として銀（AgNO<sub>3</sub>）を血清試料1mlに対し100μgの割合になるように加えてよく混和し、うちそれぞれ10μlを分取してバックリングフィルムに滴下し、室温で乾燥した後PIXEのターゲットとした。

### [PIXE・測定操作]

PIXE測定は、真空中のターゲットに2.9MeVのプロトンビームを照射し、ターゲットから放出される特性X線を半導体検出器で検出しマルチチャンネルアナライザーで分析した。NMCCの装置では、ナトリウムからウランまでの全元素を同時に検出できるように2つの検出器を用いている。これら検出器のうち一つは、カルシウムよりも重い元素類を検出するために3-5mmの薄いマイラー膜のアブソーバーを装着させている。もう一つの検出器には低元素類の測定のために、前部分にグラファイトの小さな窓があってX線のカウントを減衰させるような工夫が施されてある。検出されたスペクトラムデータは、パーソナルコンピュータに移行し、"SAPIX"プログラムを使用して各元素量を計算した<sup>4,5)</sup>。

### 3 結果

#### 3.1 Feの推移

Fig.1は、3群のFeの推移の測定結果である。左のグラフは、PEG施行前、PEG施行1週間後、PEG施行2週間後のFeの実測値の平均値と±1SDの範囲をプロットしたものである。右のグラフは、同様にPEG施行前を100%として相対値でプロットした〔平均値〕。液体群ではPEG施行1週間以後に血中濃度の上昇を認めたのに対して、半固形の2群では逆に低下傾向を示した。反復測定分散分析より、これらからは栄養剤の形状による有意差が認められた ( $p < 0.05$ )。

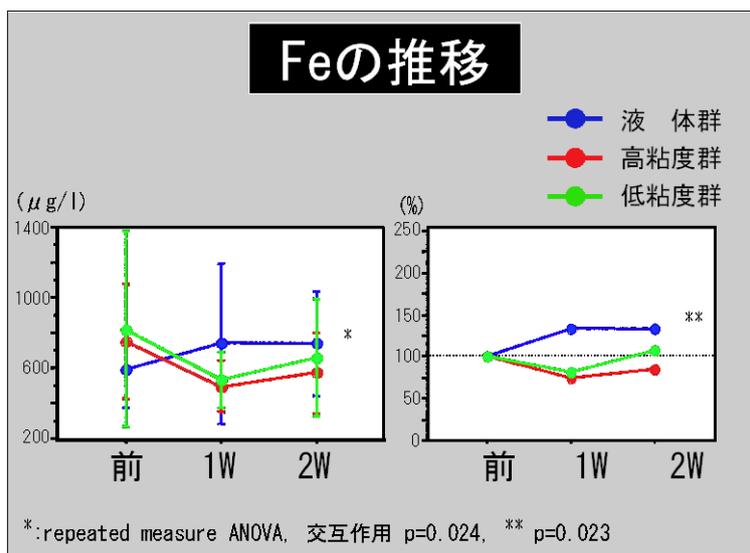


Fig. 1 液体および半固形栄養剤を投与した PEG 施行患者における血清 Fe の推移

#### 3.2 Cuの推移

Fig.2は、3群のCuの推移の測定結果である。Cuは、時間経過と共に血中濃度の有意な低下が認められた。なお、栄養剤の形状による3群の間に差は認められなかった。

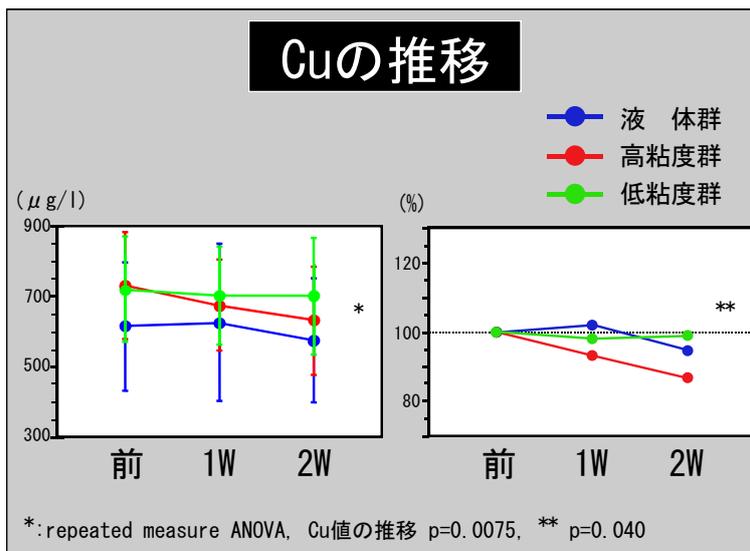


Fig. 2 液体および半固形栄養剤を投与した PEG 施行患者における血清 Cu の推移

### 3.3 Znの推移

Fig.3は、3群のZnの推移の測定結果である。Znは、液体群で増加、低粘度群では変化なし、そして高粘度群は低下傾向が見られたが、有意差は認められなかった。

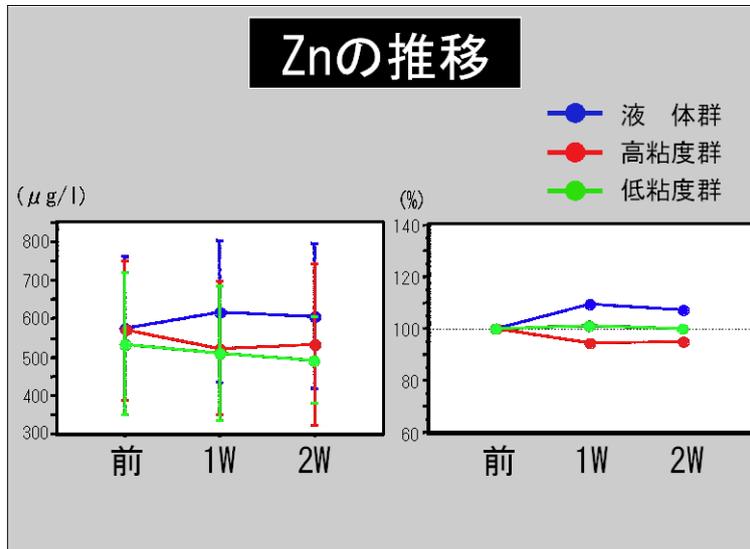


Fig. 3 液体および半固形栄養剤を投与した PEG 施行患者における血清 Zn の推移

### 3.4 Seの推移

Fig.4は、3群のSeの推移の測定結果である。Seは、経過中有意な変動は認められなかった。

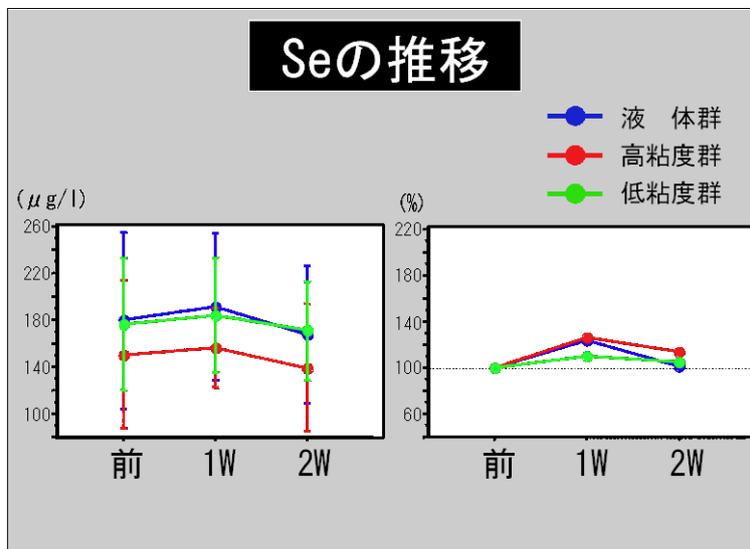


Fig. 4 液体および半固形栄養剤を投与した PEG 施行患者における血清 Se の推移

### 3.5 Caの推移

Fig.5は、3群のCaの推移の測定結果である。Caは、経過中有意な変動は認められなかった。

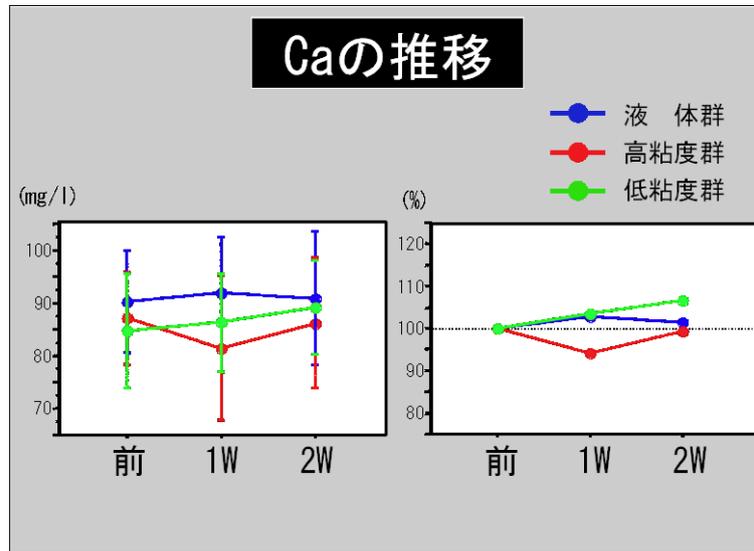


Fig. 5 液体および半固形栄養剤を投与したPEG施行患者における血清Caの推移

### 3.6 その他のミネラルについて

Mnは今回定量できたのは8例と少なく、それ以外は測定感度以下となったので統計解析からは除外した。Mgについては、血清試料の場合PIXEでは隣接するNaのピークが非常に大きくなることから、Mgの測定値が実際よりも低値に出る傾向がみられたので今回の統計解析からは除外した。以上の元素以外では、Na、P、S、Cl、K、Br、Rbなどが検出された。

## 4 まとめ

PEG施行患者における半固形化栄養剤によるミネラルの血中濃度に及ぼす影響を、液体栄養剤との経時的な比較により検討することができた。その結果、今回最も著名な変動が認められたのはFeで、経過観察時間内では液体栄養剤に比べて半固形化栄養剤では低値となり、栄養材の違いによる有意な差が認められた。またCuでは、栄養材の形状にかかわらず血中濃度の有意な低下が認められた。その他の元素については、栄養材の形状および時間経過における有意な変動は認められなかった。

なお本研究は、現在も継続して症例数を蓄積している。今回得られた変化が栄養材の形状の違いによる一時的な変動であるかどうかについては、これら対象症例数の蓄積に加えて今後さらに長期間での比較検討が必要であると考えられる。

## 謝辞

本研究を進めるにあたり御協力下さった、日本アイソトープ協会・仁科記念サイクロトロンセンターのスタッフの方々にお世話になり感謝いたします。

## 文 献

- 1) 蟹江治郎：固形化栄養の実践、蟹江治郎編：胃瘻 PEG 合併症の看護と固形化栄養の実践、日総研出版、120-171、2004
- 2) 嶋尾仁：経皮内視鏡的空腸瘻造設術、日本消化器内視鏡学会雑誌、48(9): 2316-2322、2006
- 3) 合田文則：胃瘻からの半固形短時間摂取法ガイドブック ～胃瘻患者の QOL 向上をめざして～、医歯薬出版、19-26、2006
- 4) K.Sera, T. Yanagisawa, H.Tsunoda, S.Futatsugawa, S.Hatakeyama, S.Suzuki and H.Orihara. : The Takizawa PIXE Facility Combined with a Baby Cyclotron for Positron Nuclear Medicine. Int. J. PIXE Vol.2, No.1, 47-55, 1992
- 5) K.Sera and T.Yanagisawa, et al. : Bio-PIXE at the Takizawa facility. Int. J. PIXE Vol.2, No.3, 325-330, 1992

## **Influence of nutrient materials on the absorption of various minerals**

Yoshinori Miura<sup>1</sup>, Ryujin Endo<sup>2</sup>, Kenichiro Ikeda<sup>3</sup>, Atuya Shimizu<sup>4</sup>,  
Koichiro Sera<sup>5</sup> and Akira Suwabe<sup>1)</sup>

<sup>1</sup> Department of Laboratory Medicine, School of Medicine, Iwate Medical University  
19-1 Uchimaru, Morioka 020-8505, Japan

<sup>2</sup> Department of Internal Medicine, School of Medicine, Iwate Medical University  
19-1 Uchimaru, Morioka 020-8505, Japan

<sup>3</sup> Ikeda Clinic  
5-18 Sakaida, Morioka 020-0041, Japan

<sup>4</sup> Saiseikai Matsusaka General Hospital  
1-15-6 Asahi, Matsusaka 515-8557, Japan

<sup>5</sup> Cyclotron Research Center, Iwate Medical University  
348-58 Tomegamori, Takizawa 020-0173, Japan

### **Abstract**

**[Introduction]** Although percutaneous endoscopic gastrostomy (PEG) feeding is widely used as a convenient method for long-term nutritional support, administration of liquid nutrients is often accompanied by complications such as vomiting or diarrhea. Vomit caused by gastro-esophageal reflux (GER) may cause critical conditions such as aspiration pneumonia. To avoid this complication, semi-solidified enteral nutrition formulations are used in hospital- and home-based care. However, the influence of nutrient materials on the absorption of various minerals has not been fully understood.

**[Samples and Methods]** In this study, we subjected the patients, who were replaced with PEG, in the following three groups. Namely, the liquid nutrient materials administrated group (17 cases), the low viscosity semi-solidification nutrient materials administrated group (17 cases), and the high viscosity semi-solidity nutritional supplement administrated group (18 cases). Blood samples were collected from the patients on the day of PEG and one and two weeks after PEG. We measured the contents of Fe, Cu, Zn, Se, Ca, Mn and Mg in these sera by a PIXE method and analyzed the changes of these minerals by repeated measures ANOVA.

**[Results]** The results demonstrated that serum Fe concentration in the liquid group was increased one week after PEG but those in other two groups were decreased. Significant difference in serum Fe concentration was found in the different kinds of nutrient materials ( $F=2.956$ ,  $p < 0.05$ ). Serum Cu concentration was significantly decreased with time, but the difference between three groups was not recognized ( $F=5.146$ ,  $p < 0.01$ ). The Zn concentration in the liquid group trended to be increased, but that in the high viscosity group was decreased, although they were not statistically significant. We did not observe the significant changes in the other elements in this study.

## PIXEによる福岡市乳幼児健診受診母子の毛髪分析 (第3報)PIXE測定の精度の調査

黒田祥平<sup>3</sup>、今泉 宏<sup>3</sup>、後藤祥子<sup>2</sup>、山田知美<sup>4</sup>、  
高辻俊宏<sup>3</sup>、中村 剛<sup>3</sup>、世良耕一郎<sup>5</sup>、野瀬善明<sup>1</sup>

<sup>1</sup>熊本保険科学大学大学院保健科学研究科  
861-5598 熊本市和泉町 325

<sup>2</sup>日本アイソトープ協会仁科記念サイクロトロンセンター  
020-0173 岩手県岩手郡滝沢村滝沢字留が森 348-58

<sup>3</sup>長崎大学大学院生産科学研究科  
852-8521 長崎県長崎市文教町 1-14

<sup>4</sup>三重大学大学院医学系研究科  
514-8507 三重県津市江戸橋 2 丁目 174

<sup>5</sup>岩手医科大学サイクロトロンセンター  
020-0173 岩手県岩手郡滝沢村滝沢字留が森 348-58

### 1 はじめに

本研究の目的は、乳幼児の健診臨床所見、母親の食習慣・生活習慣及び母子の毛髪ミネラル量と、アトピー性皮膚炎などの環境起因が疑われている疾患との因果関係を統計学的にする解明することにある。今までの環境有害物質による健康影響の調査方法は、集団の平均曝露量と平均有病率（または死亡率）の比較による研究が殆どであった。この方法は Ecological 研究と呼ばれ、因果関係の研究には不適切であることが統計学的観点から指摘されている。因果関係の解明には、個人毎の曝露量と経過観察が必須である。しかしながら、人間の体内に留まる有害物質の正確な種類と量については、主にアンケート調査に基づく推測に頼るしかなかった。PIXE法の開発はそれらの直接的測定を可能にした点で環境リスク評価の精度を著しく高めることが期待される。昨年度の報文集<sup>1)</sup>では、全検体のPIXE測定が終了したので、母子の特徴、1ヶ月と10ヶ月の変化などについて、概観した。今回は、同じ人の異なる毛髪検体から測定されたミネラル量を用いて、個人識別能力の高さを測り、検出率解析を行うことでPIXE分析の精度と再現性を調査した。なお本研究の意義、研究方法、対象、検体採取手順については一昨年度の報文集<sup>2)</sup>に述べたので繰り返さない。

## 2 個人間分散と個人内分散の比

まず始めに、各ミネラルの個人識別能力を測るための指標として、間-内分散比を定義した。この比が大きいかほど個人識別能力、つまりハイリスク群識別能力が高くなる。ここでいう個人内分散とは「2回の測定値の差」の分散であり、個人間分散とは「2回の平均値」の分散である。

具体的な計算方法を示す前に式中出现する記号の定義を表1に記す

表1 後述式中の文字の定義

Case	1回目	2回目	平均
1	$X_{11}$	$X_{12}$	$\bar{X}_1 = (X_{11} + X_{12}) / 2$
.....	.....	.....	.....
i	$X_{i1}$	$X_{i2}$	$\bar{X}_i = (X_{i1} + X_{i2}) / 2$
.....	.....	.....	.....
n	$X_{n1}$	$X_{n2}$	$\bar{X}_n = (X_{n1} + X_{n2}) / 2$

$$X_{i1}, X_{i2} \sim N(\mu_i, \sigma^2)$$

次に用語の定義を述べる。

個人間分散： $\Lambda = \sum_{i=1}^n (\mu_i - \bar{\mu})^2 / n$       ここで       $\bar{\mu} = \sum_{i=1}^n \mu_i / n$

個人間分散の推定値： $T^2 = 2 \sum_{i=1}^n (\bar{X}_i - \bar{\bar{X}})^2 / n - 1$       ここで       $\bar{\bar{X}} = \sum_{i=1}^n \bar{X}_i / n$

個人内分散： $\sigma^2$

個人内分散の推定値： $S^2 = \sum_{i=1}^n (X_{i1} - X_{i2})^2 / 2n$

間-内分散比： $\Lambda / \sigma^2$

間-内分散比の推定値(Fisher の F)： $T^2 / S^2$

定理： $E[F] = 1 + 2(\Lambda / \sigma^2)$

証明は付録参照。この定理は、分散分析で用いられる検定統計量である F 値と間-内分散比  $\Lambda / \sigma^2$  とに線形関係のあることを示している。F 値はどの統計ソフトでも容易に求まるので、本論文では F 値を用いて識別能力の比較を行う。

何人かを無作為にサンプリングして、同一個体の異なる毛髪を2回測定した結果を用いて、ミネラル毎に個人内分散値を求めた。一方、個人間分散は全員の測定結果を用いて求めた。50%以上の被験者から検出された元素についてのF値を以下に示す。

母(39例): Ti... 2.05、 Fe... 2.27、 Cu... 11.53、 Zn... 7.80、 Br... 3.18、 Sr... 4.23

子(230例): Ti... 3.02、 Fe... 2.39、 Cu... 16.07、 Zn... 11.69、 Br... 3.06

比較のために、心疾患予防の主な情報源となっているフラミンガムコホート研究の繰り返し検診で得られた血圧と脂質についてのF値を表2に示す。

表2 フラミンガムコホートデータのF値

	男性	女性
SBP(最大血圧) 同日*	7.53	5.95
DBP(最小血圧) 同日	4.10	4.90
SBP(最大血圧) 2年間*	4.61	3.80
DBP(最小血圧) 2年間	3.41	3.90
コレステロール 2年間	8.53	6.98

\*同日: 同じ日に2度測定した結果

\*2年間: 2年の間隔を開けて測定された結果

CuとZnのF値は母子ともに血圧やコレステロールのF値よりもはるかに大きい。このことは、これらの元素が血圧や脂質よりも個人識別能力の高いことを示している。

### 3 検出率解析

一般に、ミネラル検出確率は存在するミネラル量と同時に測定環境にも依存する。検出限界に近い微量のミネラルについては、測定環境によって検出される確率が変動することが考えられる。そこで、上で述べた同一個体からの2回の測定結果を用いて、検出確率に違いがあったかどうかを検証する。文献<sup>3)</sup>を参考にして、本論文での検出の条件を以下のごとく定めた。

検出(○で示す) : 測定値がえられて、測定値 $>2SE$

未検出(×で示す) : 測定値が得られないか、あるいは得られたが 測定値 $<2SE$

各元素が1回目と2回目の測定時に検出されたかどうかで $2 \times 2$ 表を作り、McNemarによる対称性のカイ2乗検定を行った。帰無仮説は「2回の測定に用いられた毛髪中のミネラル量は等しく、かつ検出確率も等しかった」である。 $p < 0.05$ のとき仮説は棄却される。Caよりも重い元素のみについて示す。これ以外の元素については解析中である。

表3 元素ごとの2×2表と McNemar 検定結果 (子のみ)

Ti

		2回目		
		○	×	計
1回目	○	194	16	210
	×	17	3	20
	計	211	19	230

McNemar 検定統計量 = 0.0303  
p-value = 0.8618

V

		2回目		
		○	×	計
1回目	○	0	5	5
	×	1	224	225
	計	1	229	230

McNemar 検定統計量 = 2.6667  
p-value = 0.1025

Cr

		2回目		
		○	×	計
1回目	○	1	9	10
	×	9	211	220
	計	10	220	230

McNemar 検定統計量 = 0  
p-value = 1

Mn

		2回目		
		○	×	計
1回目	○	4	20	24
	×	16	190	206
	計	20	210	230

McNemar 検定統計量 = 0.4444  
p-value = 0.505

Fe

		2回目		
		○	×	計
1回目	○	229	0	229
	×	1	0	1
	計	230	0	230

McNemar 検定統計量 = 1  
p-value = 0.3173

Co

		2回目		
		○	×	計
1回目	○	0	14	14
	×	10	206	216
	計	10	220	230

McNemar 検定統計量 = 0.6667  
p-value = 0.4142

Ni

		2回目		
		○	×	計
1回目	○	3	19	22
	×	14	194	208
	計	17	213	230

McNemar 検定統計量 = 0.7576  
p-value = 0.3841

Cu

		2回目		
		○	×	計
1回目	○	228	0	228
	×	2	0	2
	計	230	0	230

McNemar 検定統計量 = 2  
p-value = 0.1573

Zn

		2回目		
		○	×	計
1回目	○	229	0	229
	×	1	0	1
	計	230	0	230

McNemar 検定統計量 = 1  
p-value = 0.3173

Ga

		2回目		
		○	×	計
1回目	○	15	21	36
	×	67	127	194
	計	82	148	230

McNemar 検定統計量 = 24.0455  
p-value = 9.409e-07

As

		2回目		
		○	×	計
1回目	○	0	1	1
	×	6	223	229
	計	6	224	230

McNemar 検定統計量 = 3.5714  
p-value = 0.05878

Se

		2回目		
		○	×	計
1回目	○	24	60	84
	×	33	113	146
	計	57	173	230

McNemar 検定統計量 = 7.8387  
p-value = 0.005114

Br

		2回目		
		○	×	計
1回目	○	209	10	219
	×	11	0	11
	計	220	10	230

McNemar 検定統計量 = 0.0476  
p-value = 0.8273

Rb

		2回目		
		○	×	計
1回目	○	2	54	56
	×	1	173	174
	計	3	227	230

McNemar 検定統計量 = 51.0727  
p-value = 8.9e-13

Sr

		2回目		
		○	×	計
1回目	○	54	71	125
	×	37	68	105
	計	91	139	230

McNemar 検定統計量 = 10.7037  
p-value = 0.001069

Nb

		2回目		
		○	×	計
1回目	○	0	1	1
	×	1	228	229
	計	1	229	230

McNemar 検定統計量 = 0  
p-value = 1

		2回目		
		○	×	計
1回目	○	0	6	6
	×	1	223	224
	計	1	229	230

McNemar 検定統計量 = 3.5714  
p-value = 0.05878

		2回目		
		○	×	計
1回目	○	6	22	28
	×	47	155	202
	計	53	177	230

McNemar 検定統計量 = 9.058  
p-value = 0.002616

		2回目		
		○	×	計
1回目	○	8	25	33
	×	23	174	197
	計	31	199	230

McNemar 検定統計量 = 0.0833  
p-value = 0.7728

検定結果は多くの元素で  $p > 0.05$  であることを示している。このことから、2回の測定環境の違いは、多くの元素については、検出確率に深刻な影響を与えるほど大きくは無かったことが示唆される。一方、 $p < 0.05$  となった元素 (Ga、Se、Rb、Sr、Hg) については、不一致の原因を究明中である。

#### 4 対数変換後の分布の平均と S

元素ごとの分布型とそのパラメーター値を求めることはリスク解析法の決定、他の研究との比較、集団における正常値及び異常値の設定などに関して、重要な情報となる。例えば、S の分布はそのままでも左右対称に近いが、対数変換することでさらに正規分布に近づく (図1)。

平均 10.738、標準偏差 0.1004、 $W = 0.995$  ( $p = 0.0014$ )

Shapiro-Wilk の正規性検定によると、 $p = 0.0014$  で帰無仮説は棄却されるので、 $\ln S$  の分布は正規分布に従っているとはいえないと結論される。そこで、赤まるで囲まれた6個のはずれ値を除外した。

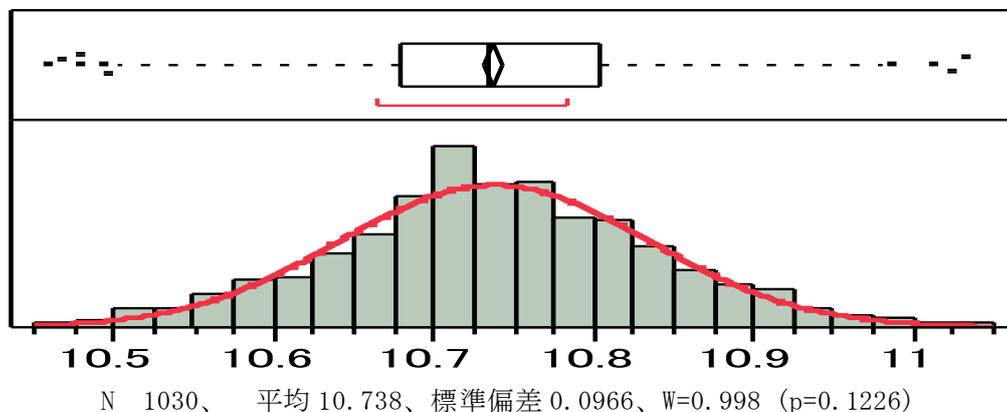


図2 はずれ値除外後の  $\ln S$  の分布

再度検定を行うと、有意では無くなった( $p=0.1226$ )。このことから、図2の標本は図1の標本よりも正規分布に近いといえる。しかしながら、はずれ値除外前と除外後の平均値、並びに標準偏差の差はいずれも無視できるほど小さかった(平均値は0.04%、標準偏差は3%)。同様の解析を他の元素についても実施する予定である。

## 5 結果と考察

今回は検出率の高かった元素のF値のみを求めた。しかし、もともと人体からは検出されづらい元素があり、それらの元素の検出率はきちんと測定が行われていても必然的に低くなることから、F値は検出率にかかわらず求める必要があると考えられる。また、母に比べて子のF値のほうが高くなる傾向があった。これは子が生まれて間もなく、食事が限られており、生活環境も大きく変化しないことで、個人内分散が小さかったことが原因ではないかと思われ、今後この仮説の検証が必要である。

現在、いくつかのサンプルを精度の調査のために再測定しており、それらの結果からより信頼性の高い調査を行えるものと考えている。

## 6 今後の研究計画と展望

本研究は元素量測定に適した精度評価指標をいくつか定義し、利用法を示した。今後、さらに詳細かつ包括的な精度解析を実施する予定である。アトピー性皮膚炎他の因果関係を探求する疫学的研究の成果をもとに、全ての参加された母子に有益な情報をフィードバックすることが目的なので、この作業を速やかに完了し、アトピー性皮膚炎他の因果関係の解明に取り組む必要がある。

ノルウェーでも1967年にThe Medical Birth Registry of Norway(ノルウェー出生登録)を開始し、妊娠に関わるリスクマネジメントの情報源となっている<sup>4)</sup>。そこでは国民IDを全出生ケースに割り当て追跡調査し、例えばマグロやクジラを多く食べる女性の子どものに異常の多いことが分かり、週100gまでという規制が設けられた。そこでの暴露量推定は主にアンケートから得ている。一般に暴露量推定値のランダム誤差が大きいと、リスクを低く見積もる結果になることが知られている。本研究で用いているPIXEによる暴露量推定を行うことで、一層精度の高いリスク推定が行えるはずである。

環境省は健やかな環境の実現を究極の目標とし、直接的には「胎児期・小児期の化学物質ばく露は身体、先天異常、精神神経、免疫系・代謝・内分泌系に影響を与えている」という仮説の解明を目的として2007年に検討会を立ち上げ、2010年から60,000人の追跡調査を開始するとしている<sup>5)</sup>。その目的達成のためには、化学物質へのばく露などの環境影響以外にも、遺伝要因、社会要因、生活習慣要因など、さまざまな交絡因子について、調べる必要がある。

本研究は、その大規模研究とは無関係であるが、九大大学院医学研究院等倫理委員会にて2005年3月30日に承認され既に情報の収集は終了しているので、先駆的研究としての役割を成功裏に果たし、その大規模プロジェクト成功のために有用な情報を提供する必要があると考える。

以下に今後の課題を箇条書きで示す：

- 1) 参加医師にPIXE測定結果の概要を報告
- 2) ミネラル量、食習慣、臨床成績との関連解析
- 3) アトピー及びアレルギーとの関連解析
- 4) 参加母子への結果の報告
- 5) コホート集団として再設定し、フォローアップ
- 6) 環境省による「エコチル」との連携
- 7) ノルウェー出生コホート、USA-NCIとの連携
- 8) 残りのミネラルの解析

## 謝辞

九州大学医学部、福岡市医師会、福岡市役所そして乳幼児健診受診時に毛髪を提供頂いた約 1000 組の母子に感謝いたします。

## 参考文献

- 1) 吉田裕志、絹川直子、後藤祥子、前田知子、高辻俊宏、中村 剛、世良耕一郎、野瀬善明：PIXE による福岡市乳幼児健診受診母子の毛髪分析（第 2 報）母親の出産後 1 か月及び 10 か月の比較。NMCC 共同利用研究成果報文集 15 巻、No.15 (2008)。
- 2) 絹川直子、伊藤じゅん、前田知子、高辻俊宏、中村剛、世良耕一郎、野瀬善明：PIXE による福岡市乳幼児健診受診母子の毛髪分析（第 1 報）母親の出産後 1 か月及び 10 か月の比較。NMCC 共同利用研究成果報文集 14 巻、No.14 (2006-7)。
- 3) M. Blaauw, J. L. Campbell, S. Fasinic, et al., “The 2000 IAEA intercomparison of PIXE spectrum analysis software” Nuclear instruments and Methods in Physical Research, B189, pp. 113-122 (2002).
- 4) The Norwegian Institute of Public Health: Department of the Medical Birth Registry of Norway [http://www.fhi.no/eway/default.aspx?pid=238&trg=MainArea\\_5811&MainArea\\_5811=5906:0:15,4166:1:0:0::0:0](http://www.fhi.no/eway/default.aspx?pid=238&trg=MainArea_5811&MainArea_5811=5906:0:15,4166:1:0:0::0:0)
- 5) 環境省 子どもの健康と環境に関する全国調査 <http://www.env.go.jp/chemi/ceh/intro/index.html>

付録 E[F]=1+2(Λ/σ<sup>2</sup>)の証明

$x_{ij} \sim N(\mu_i, \sigma^2)$ 、 $\bar{x}_i \sim N(\mu_i, \frac{\sigma^2}{2})$ 、 $\bar{\bar{x}} \sim N(\bar{\mu}, \frac{\sigma^2}{2n})$  ここで  $\bar{\bar{x}} = \sum_{i=1}^n \bar{x}_i / n$ 、 $\bar{\mu} = \sum_{i=1}^n \mu_i / n$   
 $i=1, 2, \dots, n$   $j=1, 2$  とする。

以上の条件の下で、個人間分散  $\Lambda = \sum_{i=1}^n (\mu_i - \bar{\mu})^2 / n$  と、個人内分散  $\sigma^2$  から計算される  
 間内分散比  $\Lambda / \sigma^2$  を定義したとき、その推定値である Fisher 分散比 F の期待値 E[F]が  
 $E[F]=1+2(\Lambda/\sigma^2)$  となることを示す。

個人間分散  $\Lambda$  の推定値は  $T^2 = 2 \sum_{i=1}^n (\bar{x}_i - \bar{\bar{x}})^2 / n - 1$

個人内分散  $\sigma^2$  の推定値は  $S^2 = \sum_{i=1}^n (x_{i1} - x_{i2})^2 / 2n$

であるため、Fisher 分散比 F は  $F = T^2 / S^2$  となる。

まず、分子の  $S^2$  の期待値  $E[S^2]$  は  $S^2 = \sum_{i=1}^n (x_{i1} - x_{i2})^2 / 2n = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^2 (x_{ij} - \bar{x}_i)$  であり、この右式が  $x_{ij}$  の従  
 う正規分布の分散、つまり  $\sigma^2$  の定義式であるため、当然のことながら  $\sigma^2$  になる。

次に分子の  $T^2$  の期待値を求めるために  $T^2$  の計算式を以下のように展開する。

$$\begin{aligned} & 2 \sum_{i=1}^n (\bar{x}_i - \bar{\bar{x}})^2 / n - 1 \\ &= \frac{2}{n-1} \sum_{i=1}^n (\bar{x}_i - \mu_i + \mu_i - \bar{\mu} + \bar{\mu} - \bar{\bar{x}})^2 \\ &= \frac{2}{n-1} \sum_{i=1}^n \{(\bar{x}_i - \mu_i) + (\mu_i - \bar{\mu}) + (\bar{\mu} - \bar{\bar{x}})\}^2 \\ &= \frac{2}{n-1} \left[ \sum_{i=1}^n (\bar{x}_i - \mu_i)^2 + \sum_{i=1}^n (\mu_i - \bar{\mu})^2 + \sum_{i=1}^n (\bar{\mu} - \bar{\bar{x}})^2 + \right. \\ & \quad \left. + 2 \left\{ \sum_{i=1}^n (\bar{x}_i - \mu_i)(\mu_i - \bar{\mu}) + \sum_{i=1}^n (\mu_i - \bar{\mu})(\bar{\mu} - \bar{\bar{x}}) + \sum_{i=1}^n (\bar{\mu} - \bar{\bar{x}})(\bar{x}_i - \mu_i) \right\} \right] \end{aligned}$$

ここで、それぞれの項の期待値を求める前に、計算を簡単にするため式を  $\frac{(n-1)}{2n}$  倍する。つまり

$$\begin{aligned} & \frac{1}{n} \left[ \sum_{i=1}^n (\bar{x}_i - \mu_i)^2 + \sum_{i=1}^n (\mu_i - \bar{\mu})^2 + \sum_{i=1}^n (\bar{\mu} - \bar{\bar{x}})^2 + \right. \\ & \quad \left. + 2 \left\{ \sum_{i=1}^n (\bar{x}_i - \mu_i)(\mu_i - \bar{\mu}) + \sum_{i=1}^n (\mu_i - \bar{\mu})(\bar{\mu} - \bar{\bar{x}}) + \sum_{i=1}^n (\bar{\mu} - \bar{\bar{x}})(\bar{x}_i - \mu_i) \right\} \right] \end{aligned}$$

の各項の期待値を求め、後ほど  $\frac{2n}{(n-1)}$  倍するという方法をとる。

1)  $E\{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (\bar{x}_i - \mu_i)^2\}$  これは  $\bar{x}_i$  の母分散を求める式なので、その期待値は  $\frac{\sigma^2}{2}$

2)  $E\{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (\mu_i - \bar{\mu})^2\}$  これは  $\Lambda$  の定義式なので、その期待値は  $\Lambda$

3)  $E\{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (\bar{\mu} - \bar{x})^2\}$  これは  $\bar{x}$  の母分散を求める式なので、その期待値は  $\frac{\sigma^2}{2n}$

4)  $E\{\frac{2}{n} \sum_{i=1}^n (\bar{x}_i - \mu_i)(\mu_i - \bar{\mu})\}$   $E(\bar{x}) = \sum_{j=1}^2 x_j = \bar{\mu}$  より  $E(\bar{x}_i - \mu_i) = (\mu_i - \mu_i) = 0$   
したがって、期待値は 0

5)  $E\{\frac{2}{n} \sum_{i=1}^n (\mu_i - \bar{\mu})(\bar{\mu} - \bar{x})\}$   $E(\bar{x}) = E(\sum_{i=1}^n \bar{x}_i / n) = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n E(\bar{x}_i) = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \mu_i = \bar{\mu}$  より  
 $E(\bar{\mu} - \bar{x}) = (\bar{\mu} - \bar{\mu}) = 0$   
したがって、期待値は 0

6)  $E\{\frac{2}{n} \sum_{i=1}^n (\bar{\mu} - \bar{x})(\bar{x}_i - \mu_i)\}$  左式 =  $2(\bar{\mu} - \bar{x}) \sum_{i=1}^n (\bar{x}_i - \mu_i) / n = 2(\bar{\mu} - \bar{x}) (\frac{\sum_{i=1}^n \bar{x}_i}{n} - \frac{\sum_{i=1}^n \mu_i}{n})$

ここで  $(\frac{\sum_{i=1}^n \bar{x}_i}{n} - \frac{\sum_{i=1}^n \mu_i}{n}) = \bar{x} - \bar{\mu}$  より

左式 =  $2(\bar{\mu} - \bar{x})(\bar{x} - \bar{\mu}) = -2(\bar{x} - \bar{\mu})^2$

したがって、期待値は  $-2E(\bar{x} - \bar{\mu})^2 = -\frac{\sigma^2}{n}$

よって、1 ~ 6 より  $E[T^2] = \frac{2n}{(n-1)} (\frac{\sigma^2}{2} + \Lambda + \frac{\sigma^2}{2n} - \frac{\sigma^2}{n}) = \frac{1}{n} \{(n-1)\sigma^2 + 2n\Lambda\} = \sigma^2 + \frac{2n}{n-1} \Lambda$

以上の結果から  $E[F] = \frac{E[T^2]}{E[S^2]} = 1 + \frac{n}{n-1} \times 2 \frac{\Lambda}{\sigma^2}$

ここで  $n$  が大きくなると近似的に、 $\frac{n}{n-1} = 1$  となるので  $E[F] \approx 1 + \frac{2\Lambda}{\sigma^2}$

## **PIXE analysis of mothers' and infants' hairs collected at medical checkups held in Fukuoka city**

S. Kuroda<sup>3</sup>, H. Imaizumi<sup>3</sup>, S. Goto<sup>2</sup>, T. Yamada<sup>4</sup>,  
T. Takatsuji<sup>3</sup>, T. Nakamura<sup>3</sup>, K. Sera<sup>5</sup> and Y. Nose<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Graduate School of Health Sciences, Kumamoto Health Sciences University  
325 Izumi-machi Kumamoto 861-5598 Japan

<sup>2</sup>Nishina Memorial Cyclotron Center, Japan Radioisotope Association  
348-58 Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0173, Japan

<sup>3</sup>Graduate School of Science and Engineering, Nagasaki University  
1-14 Bunkyo-machi, Nagasaki 852-8521, Japan

<sup>4</sup>Mie University Graduate School of Medicine  
2-174 Edobashi, Tsu, Mie 514-8507, Japan

<sup>2</sup>Cyclotron Research Center, Iwate Medical University  
348-58 Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0173, Japan

### **Abstract**

This is the third report of our project to examine relationships between atopic dermatitis and hair minerals of infants and mothers. The hair minerals are measured using the proton-induced x-ray emission (PIXE) method. The second report published last year described the characteristics the hair minerals of mothers and children and some differences of them between one month and ten months after birth. This study examined the accuracy of the PIXE measurements by statistically analyzing two independent measurements obtained from different hairs of the same person.

The project is expected to proceed as follows:

- 1) The results of the PIXE measurements will be reported to the participation doctors.
- 2) Association analysis of the amount of minerals, dining habit, and clinical performance.
- 3) Statistical analysis for causal relationships between mineral deficiency/excess and atopy/allergy conditions.
- 4) Redefine the participating mother/child population as a new cohort to study the effects of environment, dining and minerals on their health conditions.
- 5) Cooperation with the "Birth cohort project" by the Ministry of Environment.
- 6) Cooperation of the birth cohort study by Norway

# PIXE 分析による *Parmotrema tinctorum* (ウメノキ苔) 中の微量元素含有量 分析とその結果を用いた大気粉塵汚染調査研究の試み

平井深由、藤巻宏和、世良耕一郎\*

東北大学大学院理学研究科地学専攻  
980-8578 宮城県仙台市青葉区青葉 6-3

\*岩手医科大学サイクロトロンセンター  
岩手県岩手郡滝沢村滝沢字留が森 348-58

## 1 はじめに

大気中の汚染物質が生物に与える影響を調査することは、環境中に数十万種以上存在するといわれる化学物質の有害性を理解する上で重要である。通常、化学物質の測定には計測機器などを用いた物理化学的な分析方法を用いられるが、以下のような理由から生物に対する有害性の評価がなされているかという点で疑問視されている。

- ①化学物質の濃度は測れても、生物に対する有害性についての評価はできない。
- ②個々の有害化学物質が低濃度でも、それらが合わさることで生物に悪影響を与えることがある。物理化学的な分析では、この複合汚染が生物に与える影響を評価できない。
- ③一時的・部分的な変化を測定してしまう恐れがある（大雨の後に化学物質の濃度が低く測定されるなど）。また、数十万種にもものぼる微量化学物質の環境での実態を把握することは、費用・労力・時間の面で限界があるため、従来の化学分析とは異なる評価システムが必要とされている。

そこで、新たな評価システムとして期待されているのが、バイオアッセイ (bio assay) と呼ばれる生物を用いて化学物質の安全性や毒性を評価する方法である。バイオアッセイは、日本語では「生物検定法」「生物学的 (毒性) 試験」といい、以下の点で物理化学的な分析方法より有利である。

- ①化学物質に対する生物の反応を見ることで、その物質が有する有害性を直接的に評価できる。
- ②化学物質総体としての複合作用が生物に与える影響を評価できる。
- ③環境汚染に敏感な生物 (指標生物) の生育状況をもとに汚染状態を判断するため、長期的な環境変化を知ることができる。
- ④複数の微量化学物質による複合作用を推測する際には、個々に化学的な評価を行うよりも生物を指標とした方が簡便である。

このような利点から、大気中の汚染物質の毒性を総合的に評価する一つの選択肢として、バイオアッセイが利用され始めている。本研究では、古くから指標生物として使われてきた *Parmotrema tinctorum* (和名:ウメノキ苔) が体内に取り込んだ微量元素の定量分析を行った。その結果を通して、仙台近郊での大気の粉塵汚染の程度を見積もることを試みた。

## 2 *Parmotrema tinctorum* (和名:ウメノキ苔) について

*Parmotrema tinctorum* とは、地衣類という菌類と藻類の共生体の一種である。菌類は藻類に安定した住み家と生活に必要な水分を与えるかわりに、藻類が光合成で作った栄養（炭水化物）を利用して生活している。

*Parmotrema tinctorum* は、偽根という根に似た構造で樹木や岩石などの基物に固着するが、偽根には基物から栄養を吸収する能力はない。そのかわりに、*Parmotrema tinctorum* は、雨水に含まれる水分や CO<sub>2</sub>、その他成長に必要な無機栄養塩類を、体の表面から直接吸収して生育している。その養分の取り込み方が原因で、*Parmotrema tinctorum* は養分と一緒に雨水に含まれる SO<sub>x</sub>、NO<sub>x</sub>、重金属などの大気汚染物質を体内に取り込んでしまう。そのため、汚染の影響を直接的に受けてしまい、大気汚染物質の濃度が高い市街地や工業地域では姿を消しつつある。先行研究では、0.02 ppm の亜硫酸ガスが存在するだけで、枯死してしまうという<sup>1,2)</sup>。

また、以下のような特性が知られていて、*Parmotrema tinctorum* は優れた大気汚染指標生物として、今までも用いられてきた<sup>1, 2)</sup>。

- ①生活に必要な水分・養分を雨水に頼っているため、草や樹木に比べ汚染物質の体内蓄積量が多い。
- ②成長速度が遅く、一度汚染されると回復まで時間がかかる。
- ③多年生植物であるため、年間を通じて汚染の影響を受けるため、長期モニタリングに優れている。

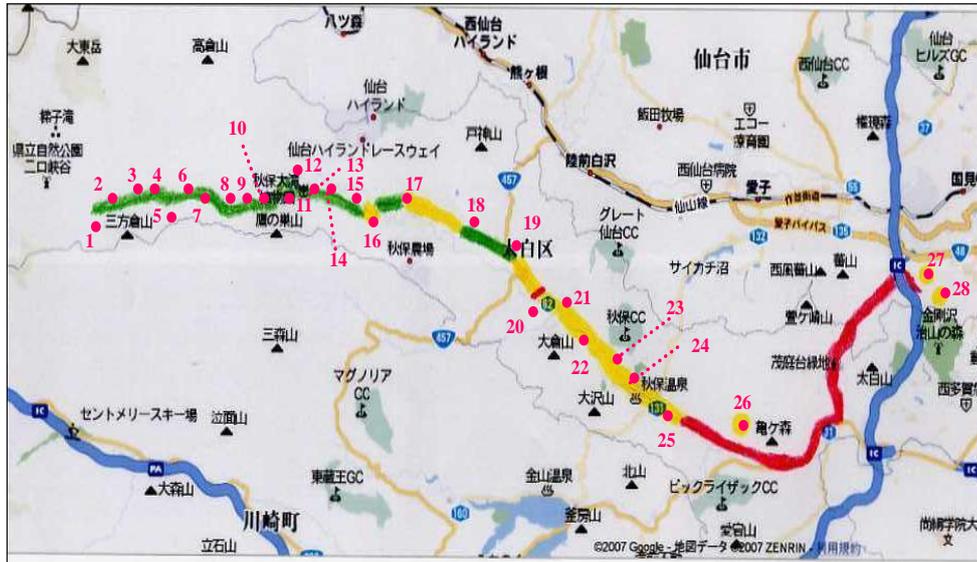
## 3 試料採集と分析の準備

前述のとおり、*Parmotrema tinctorum* は様々な無機物を体内に蓄積する。そのため、粉塵汚染の指標として、粉塵汚染が何に由来するかを示唆する可能性が大きいと考えた。本調査では、仙台市二口溪谷から青葉区西公園にかけての調査を行い、地球化学的な調査を行った。ここではその結果を報告する。

試料の採集調査は、仙台市二口溪谷から青葉区西公園にかけて行った。調査地点は道路沿いに 32 箇所、隣り合う調査地点がほぼ同じ間隔になるようにした（ただし、*Parmotrema tinctorum* が枯死していて等間隔に採取できない地点もあった）（図 1、2）。実験用試料は 1 週間以上降雨の無かったときに、カッターやピンセットを用いて採取した。また、採取する際には、最も新鮮だと考えられる周辺部（フィルム状で樹木から浮き上がっている箇所）から集めるように努めた。そして、採取した *Parmotrema tinctorum* は、個々にビニール袋で密閉して持ち帰った。

各地点で採取した *Parmotrema tinctorum* を 1 週間風乾させた。次にピンセットで木くずを取り除き、エタノールで洗った *Parmotrema tinctorum* の重量を量った。試料をテフロンビーカーに入れ、内部標準としてインジウムの希硝酸溶液を加え、インジウムとして 100 µg になるように調節した。さらに、試料に 12 規定の硝酸を加え、ホットプレート上で 120 °C、48 時間をかけて湿式灰化をさせた。最後に、灰化した試料を希硝酸で溶解し、0.2 ml を PIXE 分析用とし世良およびニッ川の方法に従って分析した<sup>3,4)</sup>。

仙台市西部の二口温泉から秋保温泉、茂庭、青葉山から西公園までの間のウメノキ苔の分布（分布は極端に変化する）



**2km** 緑：多数見られる（90%程度の桜の樹木）、黄色：希に見られる（10%程度の桜の樹木）、赤：道路沿いには見られない

図1 調査地域

仙台市西部の茂庭、青葉山から西公園までの間のウメノキ苔の分布（分布は極端に変化する）



緑：多数見られる（90%程度の桜の樹木）、黄色：希に見られる（10%程度の桜の樹木）、赤：道路沿いには見られない

図2 調査地域

#### 4 同一試料中の各元素濃度の比較実験

あらかじめ予察的な実験を行い、同一の *Parmotrema tinctorum* 中の元素分布がどのようになっているかを調べた。No.8(野尻町西)の試料を用いて同一試料中の各部分について調べた。この試料は直径 20 cm 程度に成長している円形の *Parmotrema tinctorum* で(図3)、外側から周辺部(No.8-Margin)、中間部(No.8-Middle)、中心部(No.8-Center)とし、それぞれに含まれる元素の濃度を比較した。



図3 1個体の *Parmotrema tinctorum* 中で、微量元素がどのように分布しているかを調べた試料。直径が約 20 cm の試料で周辺部、中間部、中心部と区別して採集し、個別に分析を行った。

分析結果を外縁部、中間部、中心部について変化を図4に示した。図4ではアルカリ金属元素から鉛までの各種の元素含有量を示しているが、外縁部、中間部、中心部のすべてで調和的に変化している。また図4では変化が認められな Ni から Pb までの部分を図5に拡大表示した。K、Ca や鉄はウメノキ苔にとって必須主要な元素の可能性もあるが、これらを含めても元素間の相関は非常に良い。またこれらに限らず拡大して示した Ni や Pb は特に必要な元素とは考えられないが、互いに良い相関を示している。このことから、吸収された元素は大きなウメノキ苔でもほぼ均一に分配されており、特別異常な状態を考慮しない限りどの部分でも1個体を代表していると判断される。また図4で他と比べて外縁部がやや Si に富むようにみえるが、中間部、中心部ともにそれほど多くはないので、外縁部についての微小な砂ほこりなどが混染してしまった可能性も否定はできない。

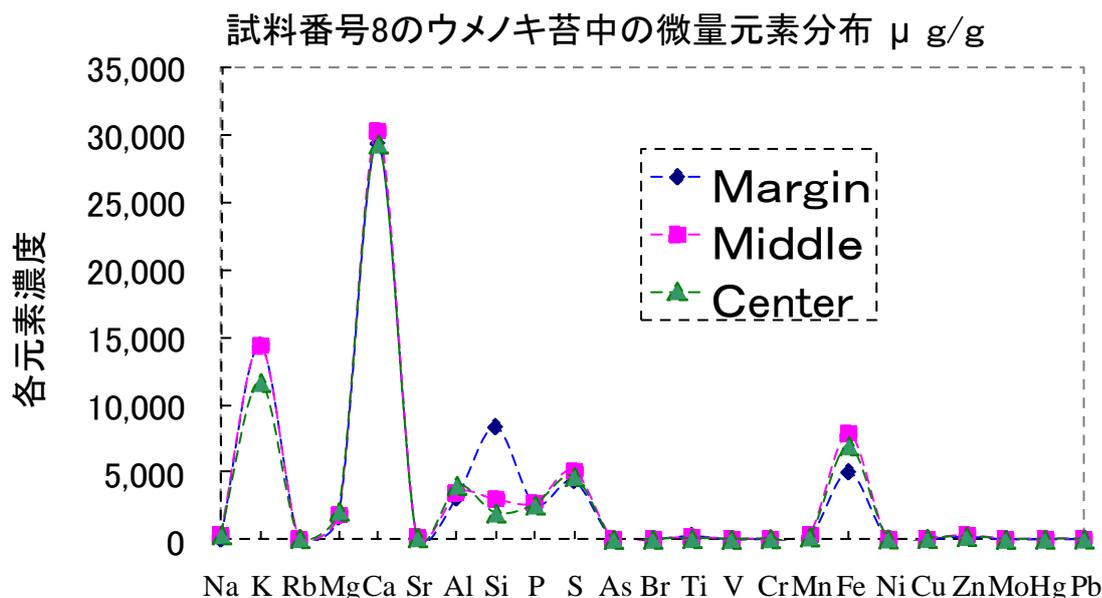


図4 試料番号8のウメノキ苔中の外縁部、中間部、中心部の各元素濃度の変化

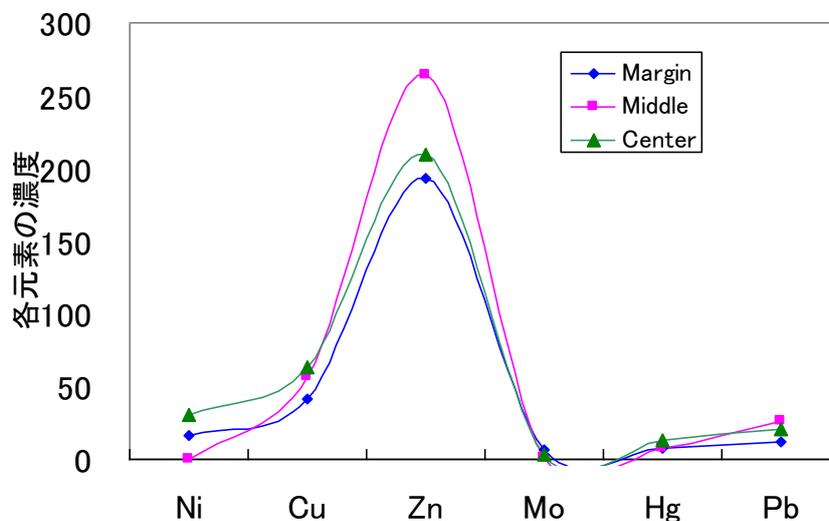
試料番号 8 のウメノキ苔の微量元素濃度変化 (部分拡大図  $\mu\text{g/g}$ )

図 5 試料 8 番のウメノキ苔中の各部の Ni、Cu、Zn、Mo、Hg、Pb の含有量変化

また図 5 からわかるように、200-300ppm 程度しか含まれていない元素でも、非常に良い相関があることがわかる。これらのことから、ウメノキ苔 1 個体のどの部分を実験に用いてもかまわないと判断されるが、ウメノキ苔の体内に吸収された元素は、全体に速やかに配分されると考えられ、ここに示した結果はウメノキ苔が樹木に着床した過去から現在までの積分値であると判断される。そのため、ほぼ同じ大きさのウメノキ苔を採取して実験に用いることにした。実際の分析に用いた試料は直径が 10 cm 以上あり、その中心部分を分析に用いた。年におよそ 1 cm 程度成長する<sup>1, 2)</sup> とすればこれは過去 5 年間程度の状態の積分値を示していると考えられる。

## 5 分析結果と考察

有意義と考えられる結果を以下に示す。粉塵汚染の由来が推定できそうな元素から示していく。初めに、以下の点が指摘される。山間部と都市部とで大きな違いは認められなかった。また、原因が説明できないものの、山間部と都市部の間で様々な微量元素が大きく変動する。特定の元素については似たような変化を示すものがあり、これらは粉塵汚染の由来を示しているものと考えられる。図 6 に硫黄とリンの濃度変化を示した。両者は微量元素とよぶほどほど少なくはないが、山間部と都市部のあいだで調和的に変化し、この二つの元素の粉塵としての由来が同じであったことを示唆している。ウメノキ苔は着生している樹木から栄養分をえてはいないので、硫黄もリンも雨水に溶けた粉塵由来の元素と考えられ、両者の相関が図 6 のように良いということから、これらは化学肥料由来の粉塵であろうと推定される。同様にカリウムとの相関をみると非常に似た相関を示す。図 7 に硫黄とリンの相関関係を示し、相関係数を求めた図を示す。この図からも両元素の相関の良いことが示されている。カリウムもリンもコケ類にとって微量元素だとは言えないが、これらの元素濃度の相関は非常に良い。これらは試料採取地点 25 番で最も濃度が高くなるが、この周辺は他の試料採取場所より田畑が多い場所である。しかし、周囲にある田畑多少に関わらず、山間部のウメノキ苔でも多くの硫黄、リン、カリウムを含むものもあり、田畑の多少と直接的にはどのような関係があるか不明である。次に工業的なものに由来していると考えられる粉塵に原因があると考えられる元素について述べる。多くの元素が互いに良い相関関係を示さないにも関わらず、いくつかの元素は良い相関を示す。その代表がニッケルとクロムである。試料の採取

地点近傍には超塩基性が露出していることはない。そのためこれらの元素は自然の状態で植物中の濃度に良い相関が認められるとは考えにくい。図8にニッケルとクロムの含有量変化を示した。これらの元素は特別に相関が良くなる理由はないにも関わらず、良い相関を示す。都市部に近づくに従って両者の濃度も上昇する。しかし、山間部と都市部の間に両元素が著しく増加する地点があり、偶然とは考えにくい。逆にこのようになる原因も見つからない。ニッケルやクロムは特有な天然の岩石には多く含まれているが、調査地域には露出しておらず、このような良い相関は産業由来の粉塵がウメノキ苔に吸収され、蓄積されているものと考えられる。このほか多くの元素について、その由来を明らかにできないかと試みたが、困難であった。また多くの元素の濃度変化が説明不可能なほど著しく変化する。これはウメノキ苔の成長速度の推定が、予測と大きく異なっているかもしれない。

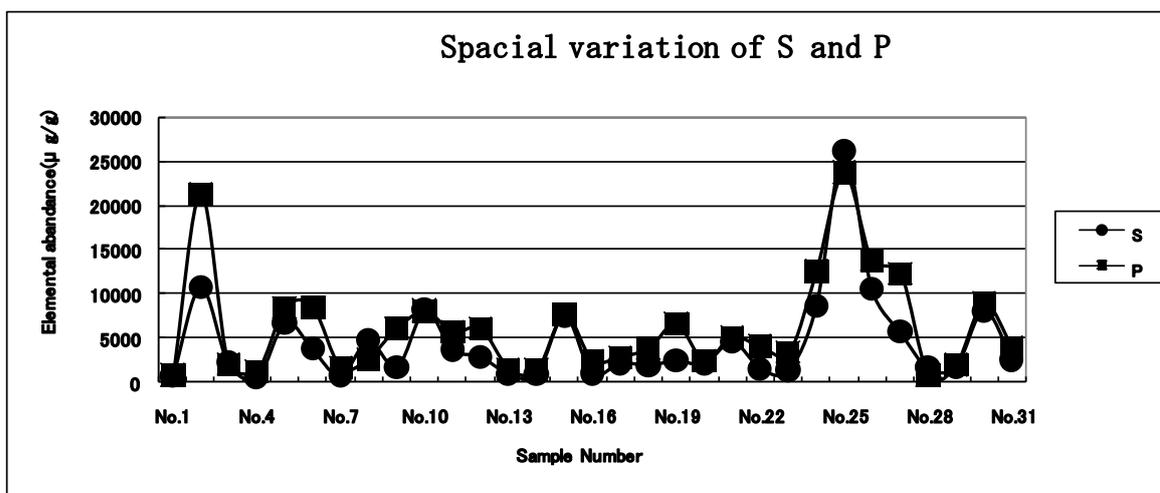


図6 山間部（試料番号1）と都市部（試料番号31）の間の硫黄とリン含有量の変化

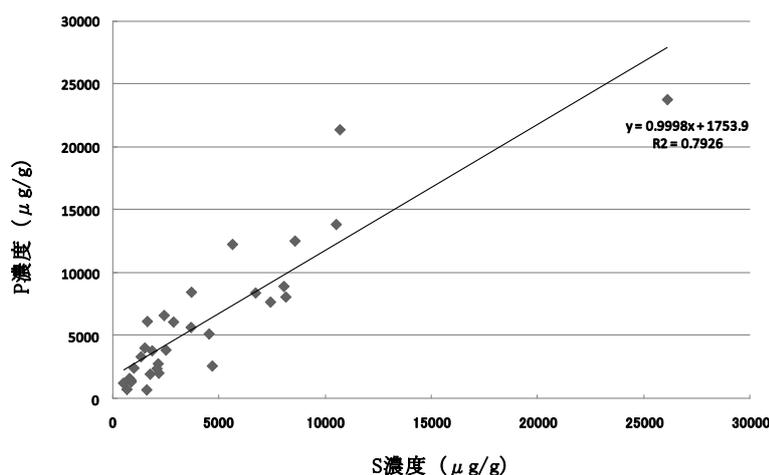


図7 ウメノキ苔中のSとP濃度の相関関係

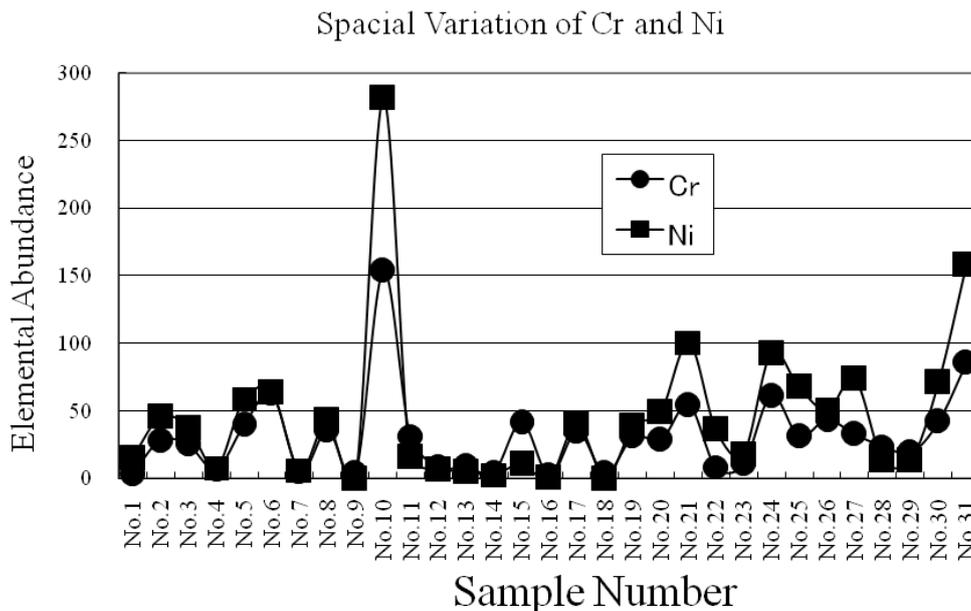


図8 ウメノキ苔中のニッケルとクロムの含有量変化 ( $\mu\text{g/g}$ )

## 6 まとめ

山間部から仙台市内まで多くの地点でウメノキ苔を採取してPIXE分析により微量元素の含有量を測定した。その結果、大きなウメノキ苔でもほぼすべての微量元素が全体に均等に配分されており、どの部分を用いて分析しても指標として使用可能であろうことを示唆している。一方、山間部と都市部の間で、カリウム、リン、硫黄などは相関よく変化しており、3元素が化学肥料に起因する粉塵であると推定できる。また調査地域に超塩基性の岩石が露出していないにも関わらず、全調査地域を通して、ウメノキ苔中のニッケルとクロムの含有量変化は良い相関を示した。これらの元素は産業由来の粉塵に起因するものであろうが、都市部または都市近郊にニッケルとクロムの最高濃度のウメノキ苔があるわけではなく、山間部に近い所に最高濃度を示すウメノキ苔がある。これが何を意味しているか説明はできない。

## 謝辞

本調査を行うにあたり、PIXE分析については岩手医科大学サイクロトロンセンターにお世話になりました。記して謝意を表します。

## 引用文献

1. 中村俊彦・古木達郎・原田浩 (2002) 「野外観察ハンドブック 校庭のコケ」, 全国農村教育協会, 36,92-105,142-143
2. 吉村庸 (1974) 「原色日本地衣植物図鑑」, 保育社, X-X III,82-85
3. Sera, K. and S. Futatsugawa.; A few approaches to remove ambiguous factors in X-ray spectrum analysis, Inst. J. PIXE. 3, 283-294 (1993).
4. Sera, K. and S. Futatsugawa.; Personal computer aided data handling and analysis for PIXE, Nucl. Instrum. Meth. Phys. Res., B. 109-110, 99-104 (1996).

## **An attempt for evaluation of air dusts by PIXE analysis of**

### ***Parmotrema tinctorum***

M. Hirai, H. Fujimaki and K. Sera\*

Department of Earth and Planetary Material Sciences, Graduate School of Tohoku University  
8-6 Aoba, Aoba, Sendai, Miyagi 980-8578, Japan

\*Cyclotron Research Center, Iwate Medical University  
348-58 Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0173, Japan

#### **Abstract**

Dust pollution in the air has been examined along the way from Futakuchi valley through Akiu hot spring to metropolitan Sendai. We used elemental abundances in *Parmotrema tinctorum* as pollution indicators. In order to determine the elemental abundances in the lichen we used PIXE analysis.

Each elemental group shows respective special variations: most considerable fluctuations have been recognized for alkaline elements. As for alkaline earth elements, they also fluctuate much, but not so much as the alkaline elements. Transition metals show special variation to similar extents as the alkaline earth elements. Non-metallic elements and light metal shows respective variation along the sampling route. Although silicon is one of the dominant elements as an elemental pollution, calcium, iron, magnesium and potassium abundances in *Parmotrema tinctorum* are much more than silicon abundance.

Assuming that the elemental abundances can be applicable to estimate dust pollution in the air, natural dust and agricultural dust as well as industrial dust can be classified. Sulfide mineral pollutants do not play an important role in the air pollution of the investigated area. Among three dust group, we found significant positive co-variation between sulfur and phosphorus: this might have derived from agricultural fertilizer. Iron and manganese co-vary within small abundances of manganese, but the reason of this co-variation is not clear. Abundance relations among many elements imply that the major dust might have derived from natural sand, natural soil and natural rock powders. None of them displays some kinds of elemental co-variation. It should be emphasized that a remarkably good co-variation between nickel and chromium has been found: this cannot be produced in natural. Such good co-relation must have derived from industrial dust. After all, we would like to point out that air in even countryside area is polluted enough. There is not so much difference between municipal air pollution and countryside air pollution.

## 亜鉛欠乏マウスすい臓および精巣細胞中の微量元素の定量

矢永誠人<sup>1</sup>、下山弘高<sup>2</sup>、田中宏宗<sup>1</sup>、村松 航<sup>2</sup>、世良耕一郎<sup>3</sup>

<sup>1</sup> 静岡大学理学部放射科学研究施設  
422-8529 静岡市駿河区大谷 836

<sup>2</sup> 静岡大学大学院理学研究科化学専攻  
422-8529 静岡市駿河区大谷 836

<sup>3</sup> 岩手医科大学サイクロترونセンター  
020-0173 岩手郡滝沢村字留が森 348-58

### 1 はじめに

近年、生体微量元素の機能や微量元素欠乏による健康障害については、学問分野のみならず一般社会においても広く関心もたれているようである。そのことは、どこのコンビニエンスストアに行っても、亜鉛や鉄などのミネラルを強化した栄養補助食品が多数販売されていることを見ても明らかである。微量元素欠乏症の中でも亜鉛欠乏は、その頻度が高く最も懸念されている。しかしながら、現在のところ、臨床検査データによる亜鉛欠乏の診断は困難とされ、亜鉛投与により諸症状が改善されれば、欠乏症と診断されているのが実情のようである。また、発症にいたった原因が食生活である場合においても、亜鉛投与を行っただけでは完全には症状を改善させることができないこと理由は解明されていない。

これまで、我々は、亜鉛欠乏餌および対照餌を用いてマウスを飼育することにより亜鉛欠乏マウスを得て、それらマウスの臓器・組織中の微量元素の定量を行い、対照マウスのそれと比較・検討してきた。その結果、成獣マウス（8週齢から一定期間亜鉛欠乏餌を与えたもの）の亜鉛濃度に関しては、骨、すい臓、および精巣においては対照マウスに比べて有意な低下が認められたが、他の臓器・組織については両群の間に有意な差は認められなかった。また、分析した全ての臓器・組織中のコバルト濃度は対照マウスに比べて有意に増加していた。

亜鉛欠乏マウスで亜鉛濃度の低下が認められた臓器の中で、すい臓については、亜鉛欠乏餌を与えて1週間後には、その亜鉛濃度は大きく低下し、その後は一定に保たれるという興味ある結果が得られている。このことは、すい臓中の亜鉛結合タンパク質などの亜鉛結合物質については、大きく2グループに分類できる可能性があることを示している。すなわち、亜鉛が欠乏したときに直ちに亜鉛が遊離するタンパク質などの亜鉛結合物質と亜鉛が欠乏したときでも亜鉛を保持する亜鉛結合物質の2グループに分けることができるのではないかと考えている。そこで本研究では、亜鉛欠乏初期におけるすい臓中の亜鉛結合タンパク質からの亜鉛の遊離や、他の金属元素と置換、もしくはタンパク質そのものの消失など、亜鉛の欠乏から起こるタンパク質構造の変化について検討することとした。また、亜鉛欠乏時にわずかではあるが亜鉛濃度が低下するとともに、亜鉛欠乏症の一つの症状である生殖腺機能の低下に関連する精巣についても、同様に検討することとした。なお、本課題は実験途中であり、PIXE分析の結果を

示すまでに至っていない。

## 2 実験

### 2.1 供試動物

日本クレア(株)より購入した ICR 系マウス(オス、7 週齢)を通常餌(日本クレア実験動物用飼料、CE-2)による 1 週間の予備飼育を行い、その後 2 群に分け、同社より購入した亜鉛欠乏餌および超純水、または対照餌および超純水を与え、それぞれ 1 週間の飼育を行った。なお、予備飼育を含めた飼育期間中は、各ケージの中にステンレス製ネットを二重に敷き、いずれの場合も飼料および水以外の敷き藁あるいは排泄物等を摂取できない条件とした。

### 2.2 分析試料

上記の各マウスからエーテル麻酔下ですい臓を摘出した。摘出したすい臓または精巣の 4 頭分を 1 試料として、Tris-HCl Buffer を用いてホモジナイズし、1 回の遠心操作 (105,000×g、65 min) にて可溶性画分を分離した。

### 2.3 電気泳動法と P I X E 分析

#### 2.3.1 SDS-PAGE

亜鉛欠乏マウスおよび対照マウスのすい臓または精巣細胞から分離した可溶性画分に含まれるタンパク質濃度を定量し、Tris-HCl buffer を用いて適宜希釈することにより、各レーンに滴下するタンパク質濃度をそろえた後、SDS-PAGE によってタンパク質を分離し、CBB 染色または銀染色を行った。

#### 2.3.2 二次元電気泳動と P I X E 分析

2.3.1 と同様に亜鉛欠乏マウスおよび対照マウスのすい臓または精巣細胞の可溶性画分中のタンパク質量を両群間でそろえた後、二次元電気泳動によりタンパク質を分離し、CBB 染色または銀染色を行った。

PIXE 分析を行う試料は、二次元電気泳動後、銀染色を行った。その後、何点かのスポット位置でゲルを切断し、十分に乾燥させた後、サンプルホルダー上のバックリング膜 (ポリプロピレンシート) に添付して PIXE 分析のターゲットとした。ここで、バックリング膜への試料の貼り付けにはアルコールで希釈したコロジオン溶液 (コロジオン : エタノール = 1 : 5) を用いた。亜鉛欠乏群および対照群のそれぞれの同じ位置にあるスポットのゲルを切断した。

## 3 結果および考察

### 3.1 SDS-PAGEによる可溶性タンパク質の分離結果

亜鉛欠乏マウスおよび対照マウスのすい臓細胞および精巣細胞の可溶性タンパク質について SDS-PAGE を行い、亜鉛欠乏によるタンパク質の消失等の可能性について検討を行った。その結果、分離したタンパク質の各バンドの位置や数を比較した場合、CBB 染色および銀染色のどちらの染色法を採用した場合においても、両群間にはっきりとした差を認めることはできなかった。このことは、亜鉛が欠乏したことによって亜鉛タンパク質そのものが消失したり、新たなタンパク質が誘導されたりする可能性が低いことを示している。しかし、SDS-PAGE で分離され、確認された各バンドには、なお多種類のタンパク質が混在して含まれるものであることから、今回の実験のように、単に可溶性タンパク質全量について分離した結果からは、上述の内容を正しい結論として断定することはできないものと考えている。

### 3. 2 二次元電気泳動法による可溶性タンパク質の分離結果

すい臓細胞および精巣細胞のそれぞれについて遠心分離法により分離した可溶性画分中に含まれるタンパク質について二次元電気泳動法により分離を行った。

すい臓については、亜鉛濃度の分析結果ではその濃度が大きく低下していたにもかかわらず、タンパク質スポットの消失のようなタンパク質そのものが消失するという結果は得られなかった。また、新たなスポットが認められることもなかった。このことは、亜鉛欠乏時には、すい臓中の亜鉛タンパク質のうち、元素分析での亜鉛濃度の低下に関連するタンパク質については、亜鉛のみが遊離したアポタンパク質として存在しているか、あるいは、他の金属、例えばコバルトが亜鉛と置き換わった置換体として存在している可能性が高いことを意味しているものと思われる。興味ある事実として、多くの亜鉛タンパク質の亜鉛をコバルトと置き換えた置換体は、活性が低下することなく、むしろ増加するものもある。このことからコバルト置換体の存在の可能性は高いと思われるが、その一方で、体内の亜鉛とコバルトの濃度を考慮すると、コバルトの濃度は亜鉛の約 100 分の 1 であり、亜鉛濃度の低下分がすべてコバルトで置換されて補われているとは考えにくい。これらのことから、現時点では、アポタンパク質と置換体の両者が混在しているものと考えている。

精巣細胞の可溶性画分中のタンパク質を二次元電気泳動により分離したところ、亜鉛欠乏群で消失するスポットがある一方で、対照群には認められないスポットも存在した。これらの事実は、精巣中での精原細胞からの精子の形成・成熟までの一連の働きと関連しているものと思われるが、この点については、今後検討していきたい。

### 3. 3 PIXE分析による可溶性タンパク質中の微量元素の定量

電気泳動法による可溶性タンパク質分離後に切断したゲルについての PIXE 分析を行い、タンパク質中の微量元素濃度の分析を行うことを試みた。ここで、分析結果は、電気泳動ゲルの銀染色の際、タンパク質に結合する銀イオンの量が、そのタンパク質の量に比例すると仮定し、それぞれの元素量を銀の量で規格化することで、タンパク質量との比として算出できるものと考えていた。しかしながら、例えば、SDS-PAGE で試料をフローさせるレーンからかけ離れた位置のゲルにおいても銀が検出されたことから、銀の量をもってタンパク質量とすることは困難であることがわかった。この点も含め、タンパク質と結合した金属量の定量法に関して、さらに検討していきたい。

## **Determination of trace elements in pancreases and testes of Zn-deficient mice**

Makoto Yanaga<sup>1</sup>, Hirotaka Shimoyama<sup>2</sup>, Hirokazu Tanaka<sup>1</sup>,  
Wataru Muramatsu<sup>2</sup> and Kouichiro Sera<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Radioscience Research Laboratory, Faculty of Science, Shizuoka University  
836 Ohya, Suruga-ku, Shizuoka 422-8529, Japan

<sup>2</sup>Graduate School of Science, Shizuoka University  
836 Ohya, Suruga-ku, Shizuoka 422-8529, Japan

<sup>3</sup>Cyclotron Research Center, Iwate Medical University  
348-58 Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0173, Japan

### **Abstract**

Eight-week-old male mice of ICR strain were divided into two groups; one was fed with zinc deficient diet (<1 µg/g Zn), the other with control diet (30 µg/g Zn). After 1 week of treatment periods, their pancreases and testes were removed. Sodium dodecyl sulphate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) and two-dimensional electrophoresis (2-DE) were performed for cytosolic fraction. After electrophoresis, the gel was cut into protein spots and subjected to PIXE analysis.

## 大気 PIXE 法によるエンジンオイル中元素の定量化

齊藤勝美<sup>1</sup>、世良耕一郎<sup>2</sup>、伏見暁洋<sup>3</sup>、藤谷雄二<sup>3</sup>、田邊 潔<sup>3</sup>

<sup>1</sup> エヌエス環境(株)中央技術研究所  
020-0122 岩手県盛岡市みたけ 4-3-33

<sup>2</sup> 岩手医科大学サイクロトロンセンター  
020-0173 岩手県岩手郡滝沢村字留が森 348-58

<sup>3</sup> 国立環境研究所  
305-8506 茨城県つくば市小野川 16-2

### 1 はじめに

自動車排ガス粒子中の元素、特にナノ粒子はエンジンオイルに含まれる元素の影響を受けており、また大気粒子の核になっているとされている。こうしたことから、エンジンオイルの元素組成を把握することは、大気粒子の形成を紐解くキーとなり、沿道大気研究の重要な事項の一つとなっている。

エンジンオイルは高温・低温にしても状態の変化はなく、化学的処理は非常にしにくい。エンジンオイルの元素分析は、1000°C 以上の高温でエンジンオイルを灰化させ、これを酸処理して AAS、ICP-MS などを用いて行われている<sup>1-4)</sup>。しかしながら、この方法では、煩雑な前処理を伴うばかりか、灰化の過程で元素を消失してしまう危険性がある。PIXE 法の場合は、煩雑な前処理をせずに多元素を同時に分析することのできる手法であるが、エンジンオイルは高温・低温でも液状のため、真空 PIXE 法の照射試料を作成することはできない。エンジンオイルの含有元素を直接、しかも高感度で分析できる手法は、大気 PIXE 法しかみあたらない。大気 PIXE 法を用いてエンジンオイルの元素分析は試みられているが、定量化までには至っていない<sup>5)</sup>。

そこで、大気 PIXE 法によるエンジンオイル中元素の定量化を目指して、オイルベースの混合元素標準液にオイルベースの Sc、Y、In を内標準として添加し、内標準法に最適な内標準元素の選定と、定量精度を検討したので報告する。

### 2 方法

大気 PIXE 法によるエンジンオイル中元素の定量化検討には、Conostan 製のオイルベース 12 元素混合標準液 (Na、Mg、Al、Si、Ti、Cr、Fe、Ni、Cu、Ag、Sn、Pb) を用いた。使用した混合標準液は、10ppm、50ppm、100ppm、500ppm の 4 種類である。また、検討した内標準液は、Conostan 製オイルベースの Sc 2000ppm、Y 1000ppm、In 1000ppm である。

エンジンオイル分析に最適な内標準元素の検討は、Sc、Y、In それぞれについて、50ppm の混合元素標準液に内標準元素の濃度が 50ppm、100ppm になるように添加し、内標準法による混合元素標準液の

元素定量値をもとに行った。定量精度の検討は、Sc と Y を内標準元素として 100ppm になるように添加した 10ppm、50ppm、100ppm 及び 500ppm の混合元素標準液の元素定量値をもとに行った。

大気 PIXE 分析の照射試料は、バックリングフィルムを貼り付けたターゲットフレームに内標準元素を添加した混合元素標準液を 50 $\mu$ L 滴下して作成した。大気 PIXE の分析は(社)日本アイソトープ協会仁科記念サイクロトロンセンター (NMCC) で行い、照射時間は 10 分とした。Fig.1 に、大気 PIXE の分析の様子を示した。



Fig. 1 In-air PIXE analysis system in NMCC.

### 3 結果と考察

50ppm の混合元素標準液に Sc、Y、In を添加して行った内標準元素の検討では、In は 100ppm でもピークカウントが少なく定量値に大きな誤差を与えることがわかった。Sc と Y は 50ppm よりも 100ppm の方が安定したピークカウントが得られ、定量値は元素標準液濃度に近かった。

10ppm、50ppm、100ppm 及び 500ppm の混合元素標準液に Sc、Y を 100ppm になるように加えて測定した結果、Sc を内標準とした場合には Ti 以降の元素定量値に元素標準液濃度との隔たりがみられた。Y を内標準とした場合には、Mg、Al、S など軽元素の元素定量値に元素標準液濃度との隔たりがみられた。したがって、軽元素の定量には Sc を内標準に、Ar より高質量元素には Y を内標準に用いることによって、軽元素から高質量元素までの定量精度が得られると考えられる。

Table 1 に、Sc を内標準元素とした軽元素の定量精度と Y を内標準とした Ar より高質量元素の定量精度を示す。Table 1 に示したように、軽元素の定量下限値は 50ppm、Ar より高質量元素の定量下限値は 10ppm とすることができる。

Table 1 Experimental result of the quantitative analysis accuracy.

軽元素 (内標準元素 Sc)	混合標準液濃度に対する測定値の誤差は、50ppmで $\pm 20\sim 30\%$ 、100ppm以上では $\pm 20\%$ 以下であった。したがって、50ppm以上であれば定量値とすることができ、100ppm以上では十分な定量精度が確保される。
Arより高質量元素 (内標準元素 Y)	混合標準液濃度に対する測定値の誤差は、10ppmで $\pm 10\sim 40\%$ 、50ppm以上では $\pm 10\%$ 以下であった。したがって、10ppm以上であれば定量値とすることができ、50ppm以上では十分な定量精度が確保される。

#### 参考文献

- 1) M.M. Barbooti, N.S. Zaki, S.S. Baha-Uddin and E.B. Hassan, "Use of silica gel in the preparation of used lubricating oil samples for the determination of wear metals by flame atomic absorption spectrometry", *ANALYST*, **115**, 1059-1061 (1990).
- 2) J. Zięba-Palus and P. Kościelniak, "An analysis of the similarity of motor oils on the basis of their elemental composition", *Forensic Science International*, **112**, 81-90 (2000).
- 3) D. Bódizs and S. Seif El-Nasr, "Trace element analysis of motor oil by reactor neutron activation analysis", *J. Radioanal. Nucl. Chem., Letters*, **136**, 231-237 (1989).
- 4) Ya-Wen Liu, A.R. Harding and D.E. Leyden, "Determination of wear metals in oil using energy dispersive X-ray spectrometry", *Analytica Chimica Acta*, **180**, 349-355 (1986).
- 5) K. Saitoh et al., "Development of sample preparation method for engine lubricating oil analysis using in-air PIXE", *Int. J. PIXE*, **18**, 47-52 (2008).

## Engine lubricating oil analysis using in-air PIXE

Katsumi Saitoh<sup>1</sup>, Koichiro Sera<sup>2</sup>, Akihiro Fushimi<sup>3</sup>, Yuji Fujitani<sup>3</sup> and Kiyoshi Tanabe<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Center Laboratory of Technology, NS Environmental Science Consultant Corporation,  
4-3-33 Mitake, Morioka 020-0122, Japan

<sup>2</sup>Cyclotron Research Center, Iwate Medical University  
348-58 Tomegamori, Takizawa 020-0173, Japan

<sup>3</sup>National Institute for Environmental Studies,  
16-2 Onogawa, Tsukuba 305-8506, Japan

### Abstract

Elemental particles contained in automobile exhaust particles stem from the elements in the automobile engine lubricating oil, and may become a nucleus of atmospheric particles. Therefore, investigation of elements in automobile engine lubricating oil became our major consideration relating to chemical speciation of particles in the atmosphere. Detection of elements in automobile engine lubricating oil is one of the challenging subjects in environmental research. Consequently, we tried to elemental quantitative analysis by in-air PIXE for an engine lubricating oil. Experimental result, the determination limit by the analysis method is 50 ppm for light elements (internal standard: Sc 100 ppm). For mass number elements larger than Ar (internal standard: Y100 ppm), the determination limit is 10 ppm. Thus, the problem for the quantitative analysis was able to be clarified.

## 大気中浮遊物質に含まれる放射性同位元素と金属元素の関係

松本洋平<sup>1</sup>、本間 信<sup>1</sup>、田浦慎太郎<sup>1</sup>、世良耕一郎<sup>2</sup>、高辻俊宏<sup>3</sup>

<sup>1</sup>長崎大学大学院生産科学研究科  
852-8151 長崎県長崎市文教町1-14

<sup>2</sup>岩手医科大サイクロトロンセンター  
020-0173 岩手県岩手郡滝沢村滝沢宇留が森348-56

<sup>3</sup>長崎大学環境科学部  
852-8151 長崎県長崎市文教町1-14

### 1 はじめに

本研究は、Pb-210、Be-7という放射性同位元素と安定元素との関係を探ることで、大気中浮遊物の挙動を解明することが目的である。また、その浮遊物に有害な元素が付着していないかを調査し、放射性同位元素とどのような関係にあるのかを調べるものである。今までのサンプルをPIXE分析することで、従来のICP-AES法では測定できなかった元素を測定でき、またデータが安定している等の良好な結果が得られた。

今回の報告では、PIXE分析で得られた安定元素と放射性同位元素がどのような関係にあるのかということと、得られた結果から大気中浮遊物質がどのような挙動を示していると考えられるのかを報告する。

### 2 実験方法

今回の測定では、ハイボリュームエアースンプラー柴田科学製AH600-Fを用いて、長崎大学環境科学部棟屋上にて試料を採取した。そのハイボリュームエアースンプラーは、分流装置を搭載しており、粒径別にエアロゾルを採取することが可能であった。しかし、その装置を使用すると、各フィルターに吸着するエアロゾルが極微量となり、Pb-210等の放射性同位元素の測定やICP-AES分析法での元素の検出が困難であった為、その分流装置を取り外し、バックアップフィルター(図1.1)のみを用いて、エアロゾルの採取を行った。試料採取は、2007年12月～2009年5月にかけて行った。また、試料は1週間に渡って採取した。そして、図1.2に示すような採取したサンプルを切り分け、切り分けたサンプルの4分の3をGe半導体検出器に使用し、放射性同位元素を測定した。そして、残りの4分の1をPIXE分析用に使用することにした。



図1.1 吸着前の濾紙



図1.2 吸着後の濾紙

### 3 結果と考察

#### 3.1 放射性同位元素

Ge半導体検出器で測定できたのは、Pb-210とBe-7であった。Pb-210は、地殻に含まれるU-238が崩壊することで、様々な核種を経て発生する。その壊変途中で気体のRn-222を経るので大気中に飛び出し、引き続き崩壊により微粒子となる。つまり、Pb-210は陸上起源と言える。そして、発生したPb-210はエアロゾルに付着し、大気中を浮遊する特徴があり、Pb-210が陸上由来の指標となっている。

中国などの遠方から飛来してくるエアロゾルは粒径が小さいものが多い。一方、粒径が大きいものは、滞空時間が短いため、近隣からのものが多い。遠方の元素との関係を調べるのが目的であるのに、近隣のエアロゾルが多く吸引されると、質量あたりの遠方からの元素量が少なくなってしまう。粒径が小さく遠方から飛来してくるエアロゾルは、粒径が大きく滞空時間の短い近隣から来るものよりも、質量あたりの表面積が大きく、Pb-210の微粒子と接触する時間も長いので、それだけ多量のPb-210が付着しているものと考えられる。つまり、遠方からのエアロゾルの量の指標としては、質量よりもPb-210の量の方が優れているだろうから、遠方の浮遊物の挙動を解明するという点において、より良い結果が得られるのではないかと期待している。また、現在、エアロゾルの質量も測定しており、Pb-210と元素の関係、もしくは、質量と元素の関係のどちらが浮遊物の挙動を解明するのにふさわしいのかを、検討していきたい。

Be-7は、大気中の酸素や窒素が宇宙線と衝突することで発生し、大気中を浮遊するので、Pb-210と同様に大気輸送の解析に有用であると考えられる。

そこで、Pb-210とBe-7の相関図を図2に表した。Pb-210とBe-7は、相関係数  $R = 0.634$  有意水準  $p = 2.24 \times 10^{-6}$  で強い相関があった。この二核種の起源は異なるが、小さいエアロゾルに多く吸着するという点は同じなので、似た挙動を見せる<sup>1)</sup>ものと考えられる。今回の報告では、Be-7と各元素についての関係まで直接検討していないが、Pb-210と強い相関が見られ、またPb-210とBe-7共にエアロゾルに吸着するという特徴があることから、Pb-210と各元素との関係の場合と同様の結果になると推測している。

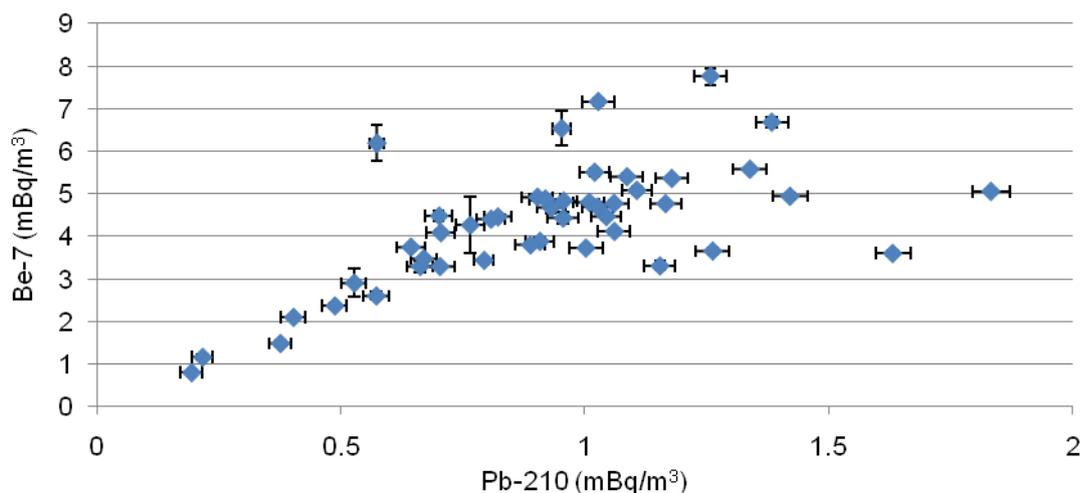


図2. Pb-210とBe-7の相関図

### 3.2 PIXE分析での測定結果と考察

PIXE分析により、様々な元素を測定することができた。エアロゾルには土壌起源と海水起源の2種類が存在するため、海水起源による寄与分を差し引いた（海水からの寄与分を差し引いた元素をnssと表記することにする）。

例えば、Brの海水起源の元素量の差し引きの計算<sup>2)</sup>は以下のように行った

$$[nss-Br]=[Br]-[Na]\times[Brの海水中の平均濃度]/[Naの海水中の平均濃度]$$

今回の報告では、Br、S、Sr、Mgの4元素について海塩成分を差し引き<sup>3)</sup>した。他の元素については、海水での組成比が非常に小さいため、計算を省略した。このようにして、得た結果を元に、全ての元素の結果とPb-210との関係を図3-1~13として示した。

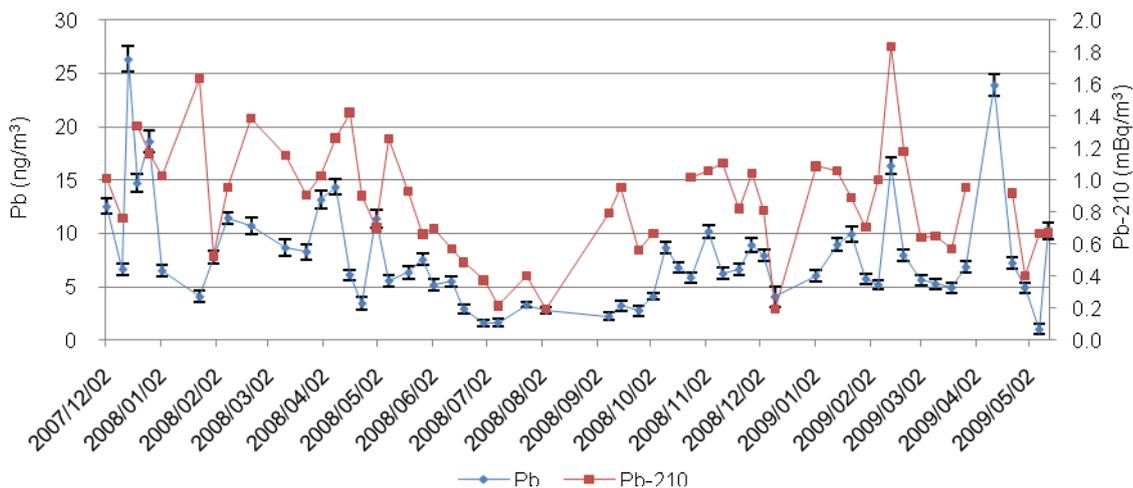


図3-1. PbとPb-210の季節変動

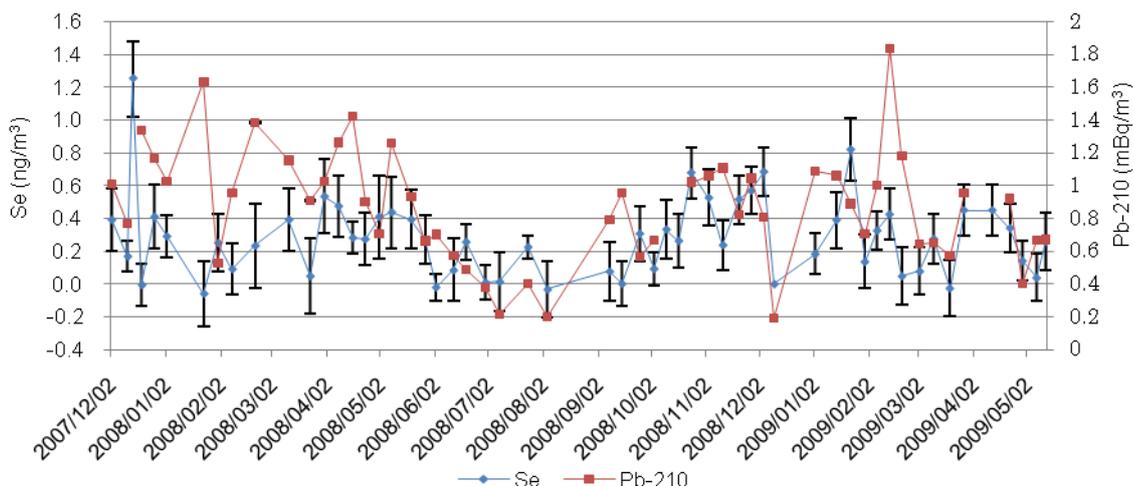


図3-2. SeとPb-210の季節変動

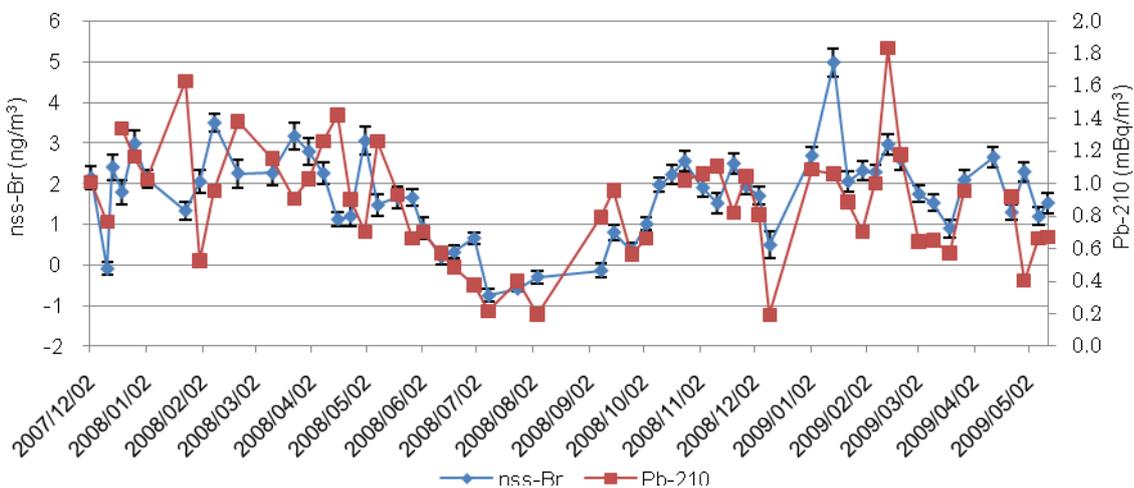


図3-3. nss-BrとPb-210の季節変動

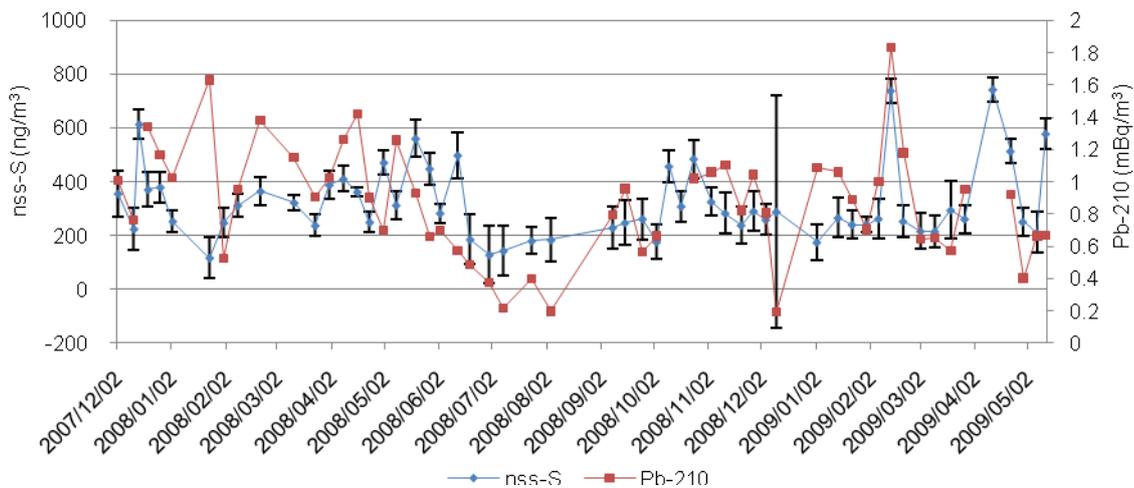


図3-4. nss-SとPb-210の季節変動

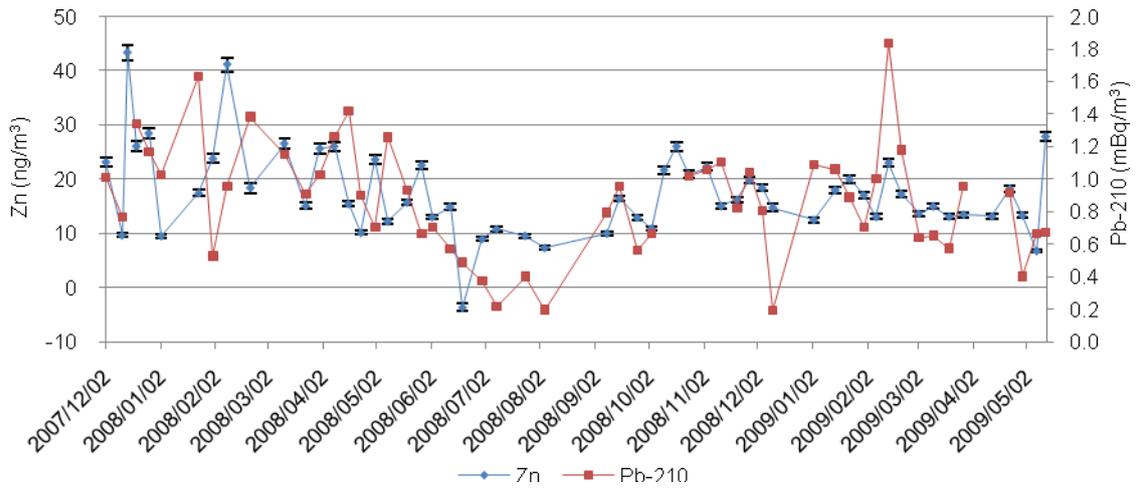


図3-5. ZnとPb-210の季節変動

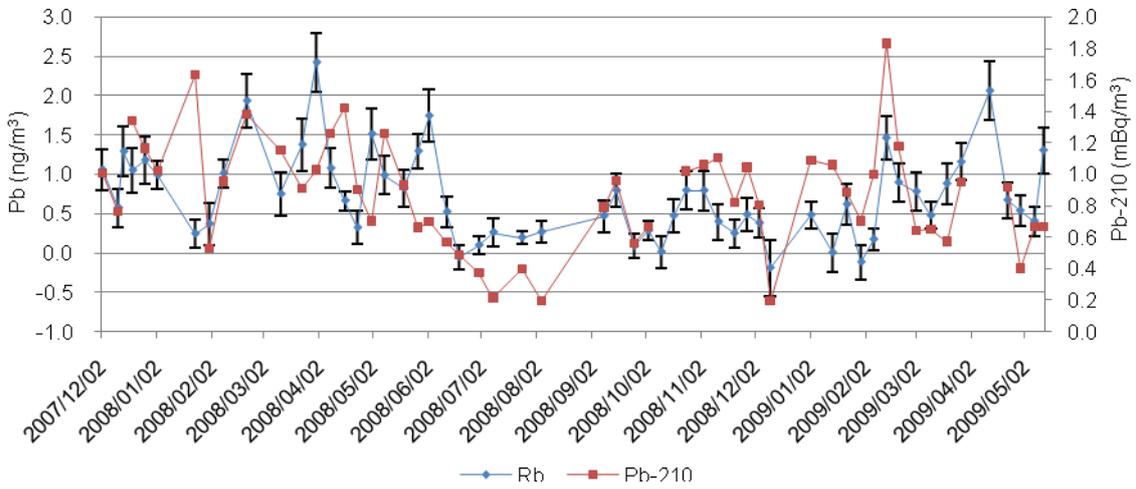


図3-6. RbとPb-210の季節変動

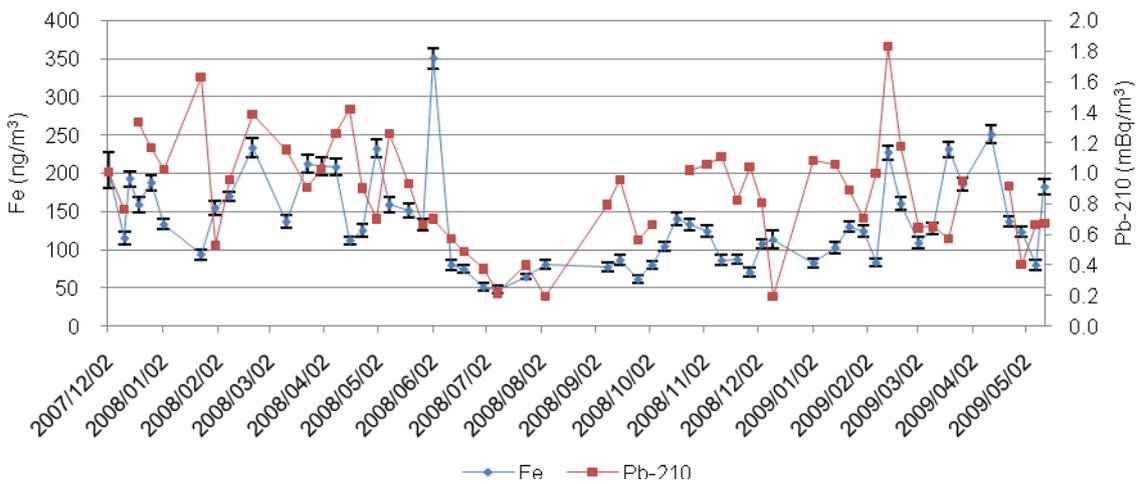


図3-7. FeとPb-210の季節変動

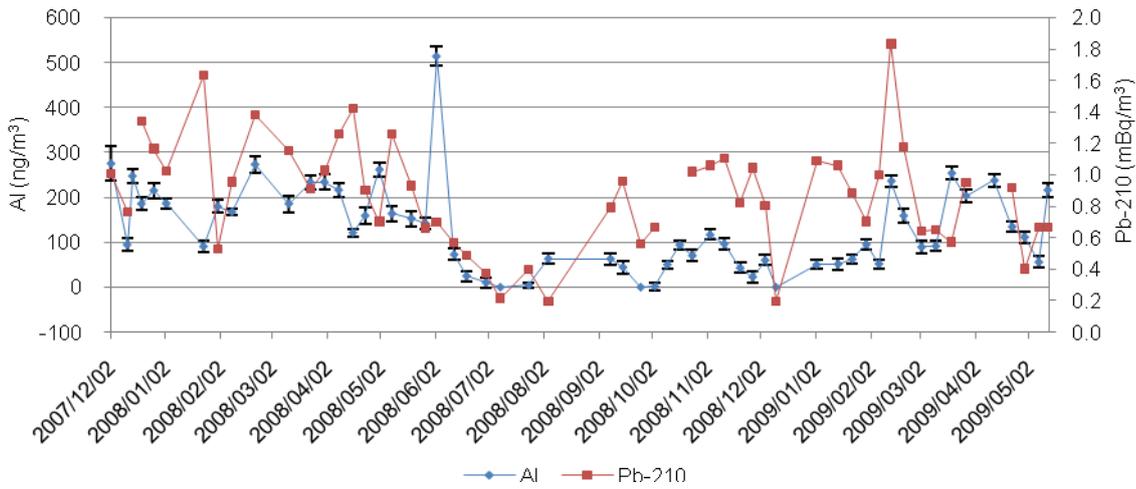


図3-8. AlとPb-210の季節変動

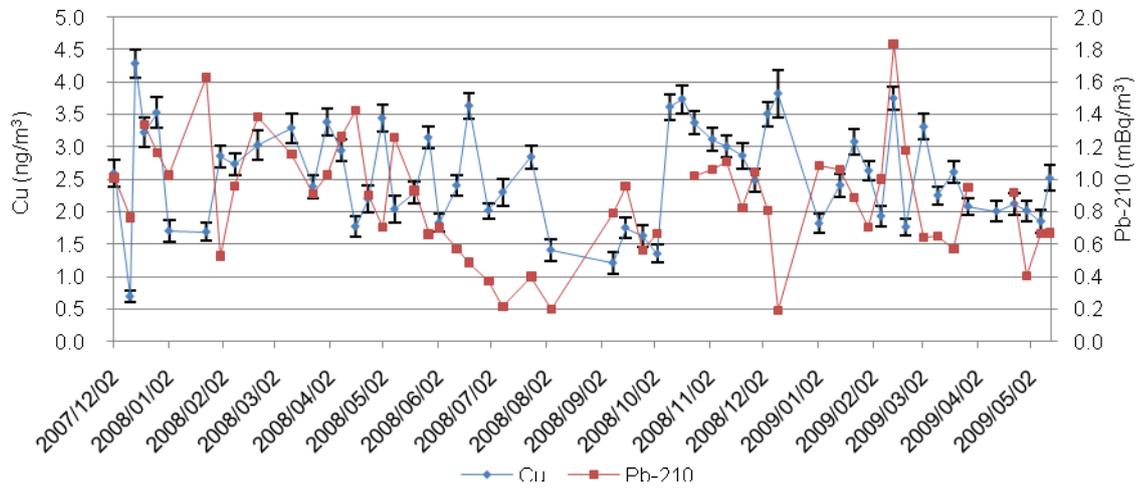


図3-9. CuとPb-210の季節変動

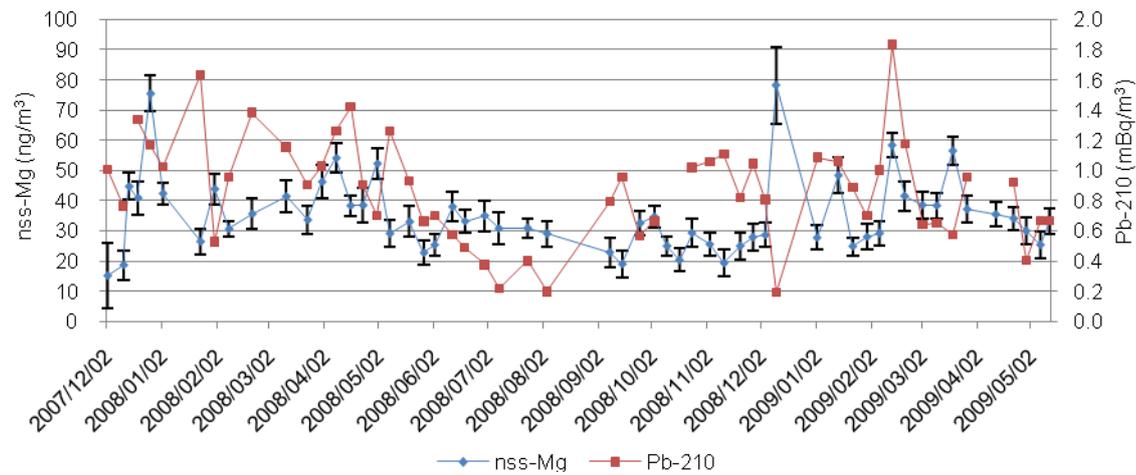


図3-10. nss-MgとPb-210の季節変動

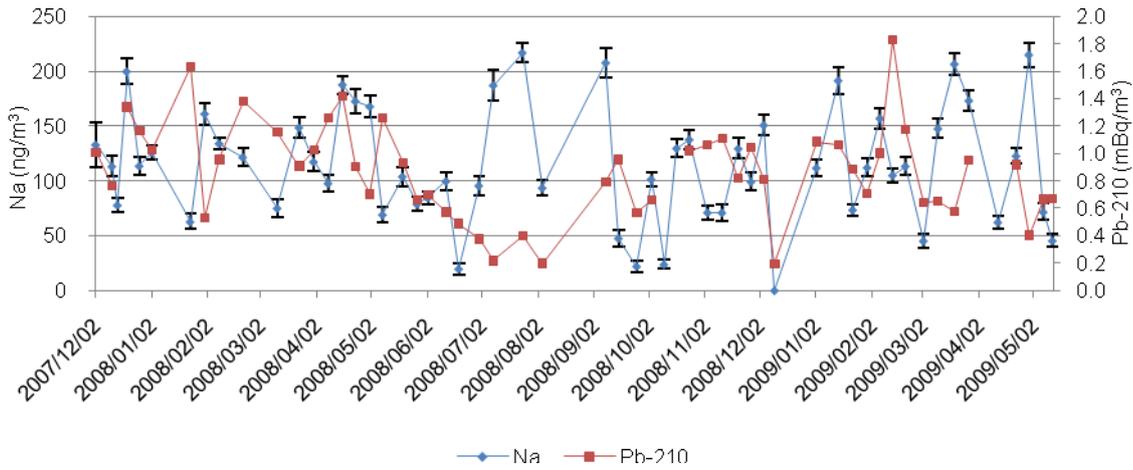


図3-11.NaとPb-210の季節変動

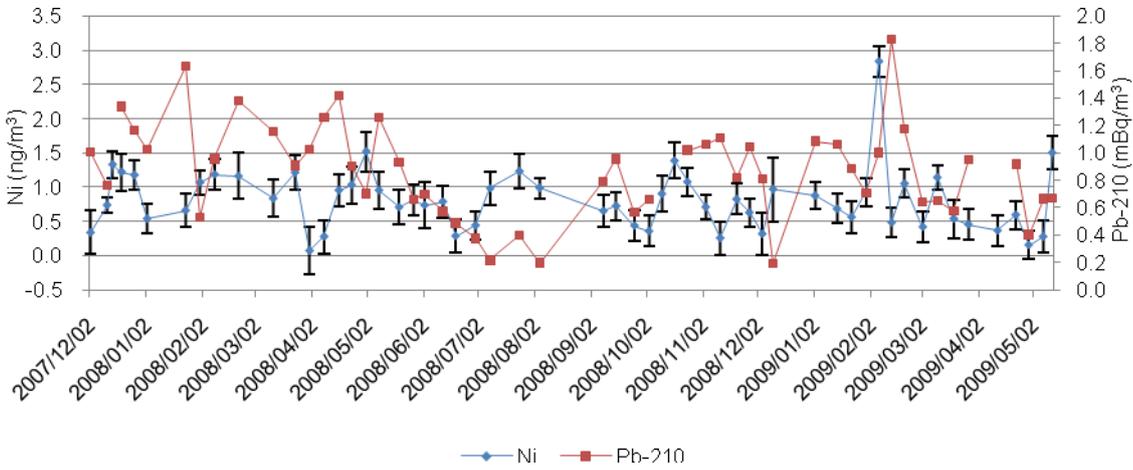


図3-12.NiとPb-210の季節変動

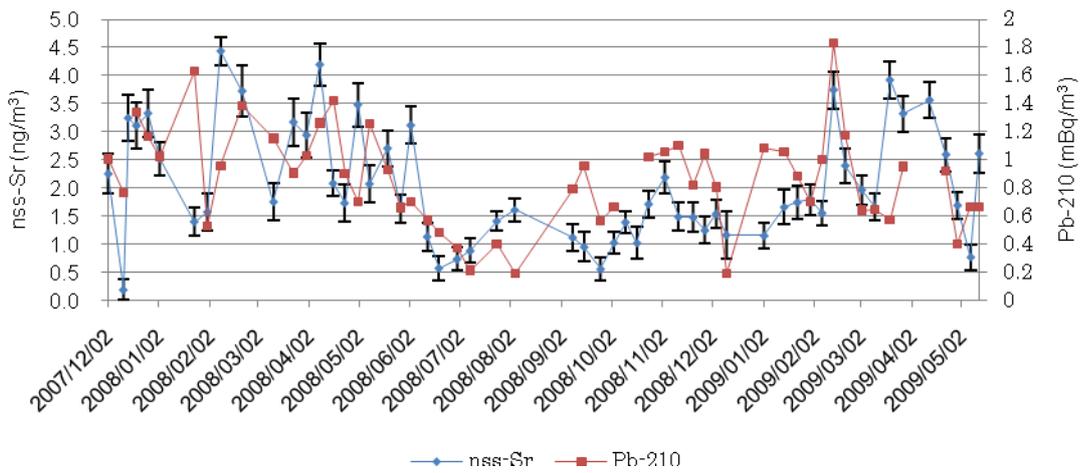


図3-13. nss-SrとPb-210の季節変動

その得られた結果の中で、明確な季節変動を見せた元素がAl、Se、nss-S、Fe、Zn、nss-Sr、Rb、Pb、nss-Brの9元素であった。また、Pb-210も、冬に高く、夏に低いという季節変動が見られ、先ほどの9元素とほぼ同様の季節変動があることが分かった。Pb-210に季節変動が見られる原因としては、梅雨等の連続的な降雨により、大気中からエアロゾルが洗い流されてしまうことが考えられる。また、夏が近づくと、南西からの風向が多くなり、大陸からの風が少なくなることも大きな原因として挙げられる。

さきほどPb-210はエアロゾルの量の指標となると示した。つまり、先ほどの9元素がPb-210と同様の傾向を見せたのは、ただ単にエアロゾルの量が減ったことで、それに付着して飛来してくる元素の量も減り、季節変動が見られたのではないかという考えに至った。そこで、元素の本当の季節変動を見る為に、Pb-210で元素を除したグラフを図4-1~13に示した。Pb-210で除することで微細なエアロゾル量あたりの元素の変動が分かる。

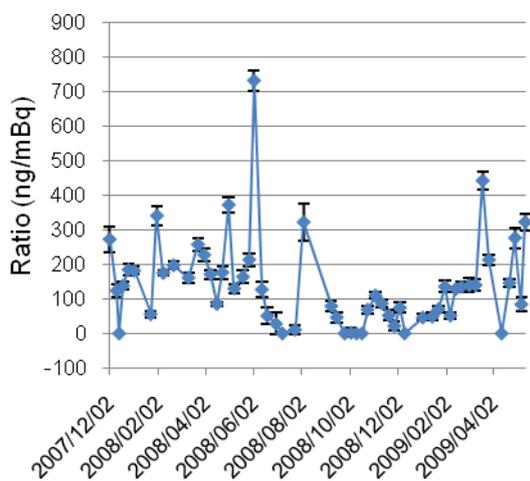


図4-1. AlとPb-210の比

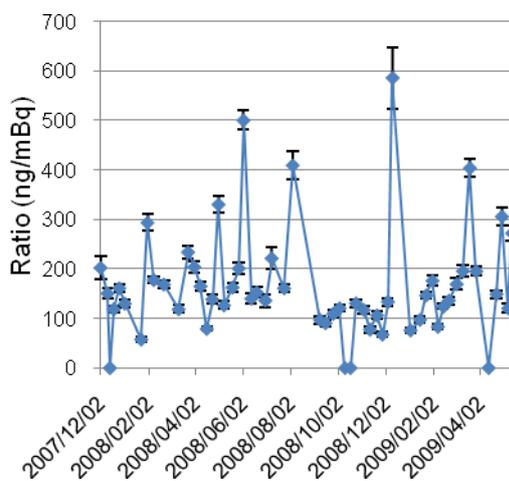


図4-2. FeとPb-210の比

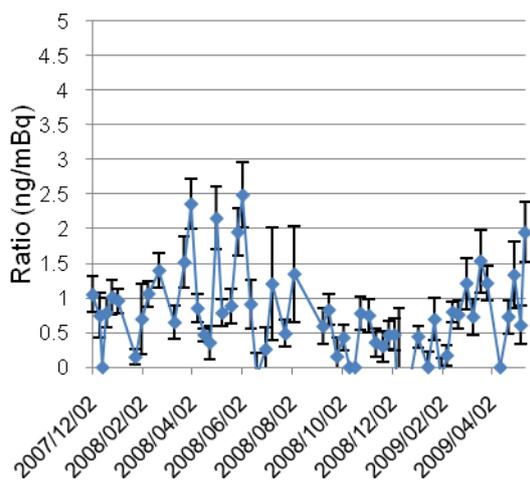


図4-3. RbとPb-210の比

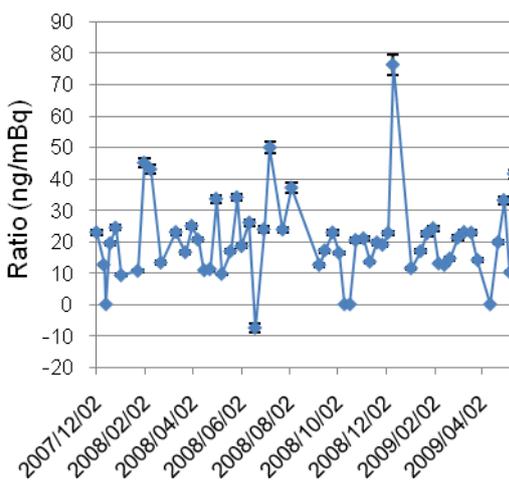


図4-4. ZnとPb-210の比

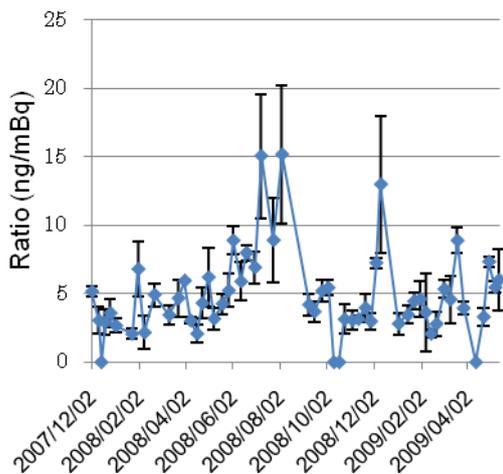


図4-5. NiとPb-210の比

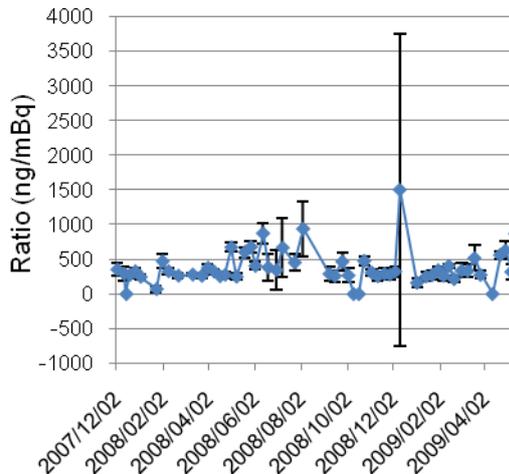


図4-6. nss-SとPb-210の比

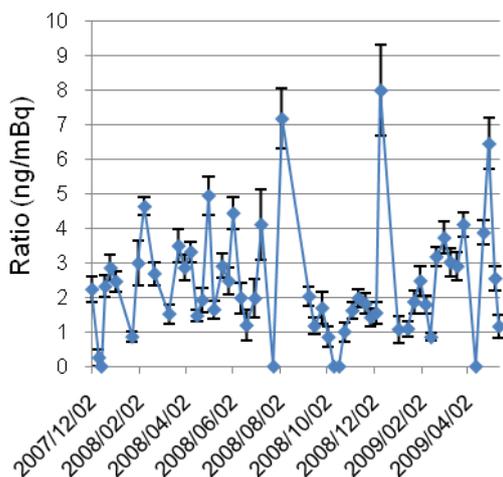


図4-7. nss-SrとPb-210の比

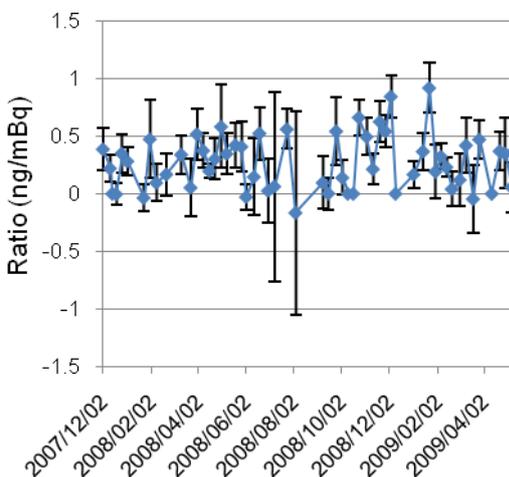


図4-8. SeとPb-210の比

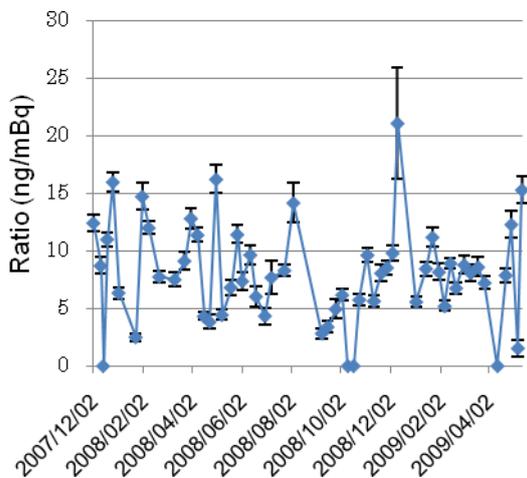


図4-9. PbとPb-210の比

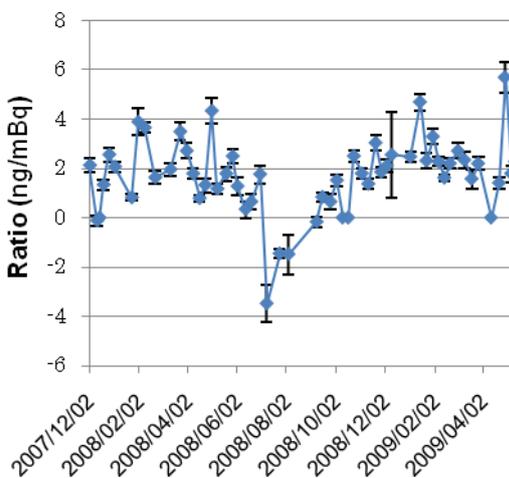


図4-10. BrとPb-210の比

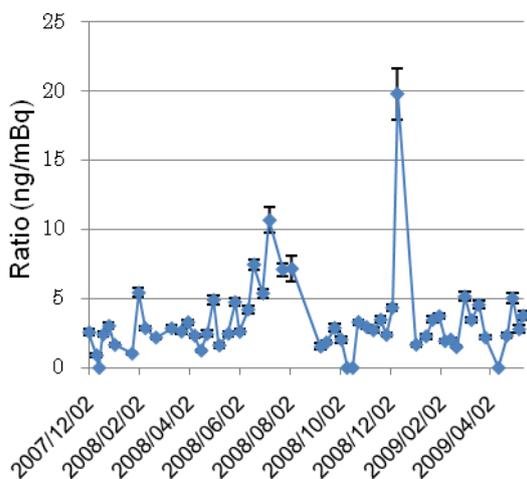


図4-11. CuとPb-210の比

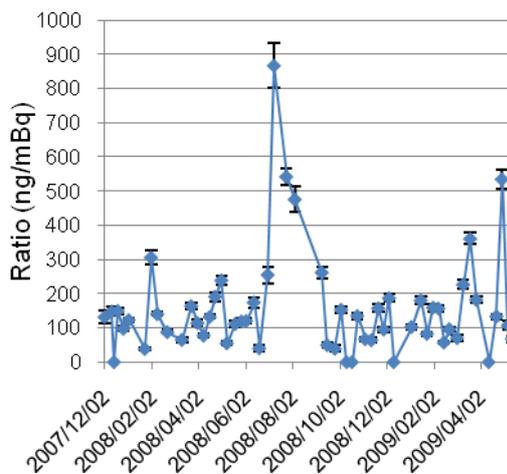


図4-12. NaとPb-210の比

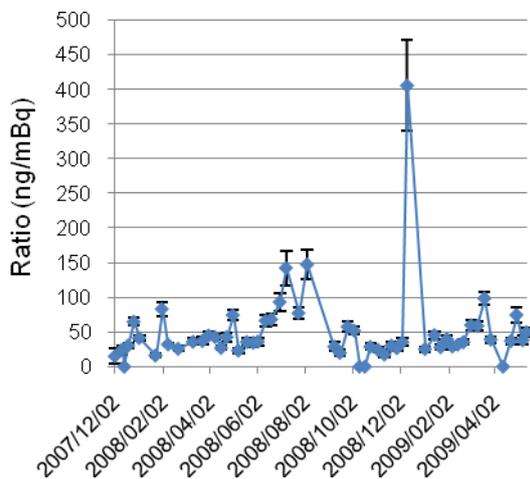


図4-13. nss-MgとPb-210の比

この結果を見ると、先ほどのPb-210と同様の季節変動を見せた9元素をPb-210で除した結果の変動が幾つかのパターンに分類され、変動を明確に把握することができた。

nss-BrをPb-210で除したものは夏に大幅に減少している。これは、夏に長崎では南西の風が吹くことで、大陸からエアロゾルが来なくなったことが原因と考えられる。また、nss-Brの夏における減少傾向は、大陸から飛来するエアロゾルにはBrが多く含まれていることを示唆している。

しかし、nss-Br以外の元素は、Pb-210で除した場合、減少の見られる元素も存在したが、変動の見られない傾向の元素があり、また上昇するといった傾向が見られる元素もあった。これは元素濃度の減少幅と比べ、エアロゾルが大陸から飛来しなくなり、Pb-210が大幅に減少しすぎることが原因と考えられる。だが、元素濃度が主に大陸由来のPb-210のように減少しすぎないということは、長崎周辺からそれらの元素が人為的に排出されているのではないかと、また、近隣土壌からの寄与分もあるのではないかと考えることができる。それに加えて、Pb-210との比をとったと

きに、Pb-210との比が夏に大幅な減少をみせるということは、その元素がほぼ中国方面からだけ飛来してきているということも言えそうである。こういったように、Pb-210で除することは、エアロゾル当たりの季節変動が分かるだけでなく、どの元素が主にどこから来ているのかということまで分かる手法であり、エアロゾルの挙動を解明するのに大変役立つ手法であると言える。

一方、nss-Mg、Cu、Na、Niの4元素には明確な季節変動は見られなかった。また、それらの元素量をPb-210で除してみると、夏において大幅に増加する傾向が見られた。本来ならば、夏には大陸からのエアロゾルは減少し、減少する傾向になるはずである。だが、そうならなかったということは、先ほどの4元素は1年を通して、長崎周辺からの影響を受けているのではないかと考えた。

そこで、長崎は周辺が山に囲まれているので、長崎周辺の山の土壌からの影響ではないかと考え、山の土壌のデータを扱うことにした。長崎市周辺の山である峰火山と岩屋山、戸町岳、金比羅山、矢筈岳の5つの山の土をICP-AES分析法で測定したデータが当研究室にあった<sup>4)</sup>ので活用した。

採取風景は図5である。実験方法は、ステンレス製の空洞のある円筒形の筒を金槌で打ち込み、地表より5cmの土をくり抜くというものである。



図5. 戸町岳での土壌の採取風景

左図は戸町岳で土壌を採取した後の土壌表面を写したものである。

峰火山は21カ所、戸町岳は6カ所、岩屋山と金比羅山と矢筈岳はそれぞれ5カ所の土を採取した。そして、その結果から、Pb/Cuを求めたところ、以下の表の値を示した。

表1. 長崎周辺の山の土壌のPb/Cu

場所	岩屋山	戸町岳	峰火山	金比羅山	矢筈岳	AVERAGE
Pb/Cu	0.831	1.510	1.605	1.132	0.983	1.212

表より、長崎周辺の山のPb/Cuの値は、だいたい1.0～1.5あたりの値を示している。

ここで、図6にエアロゾル中のPb/Cuのグラフを示す。

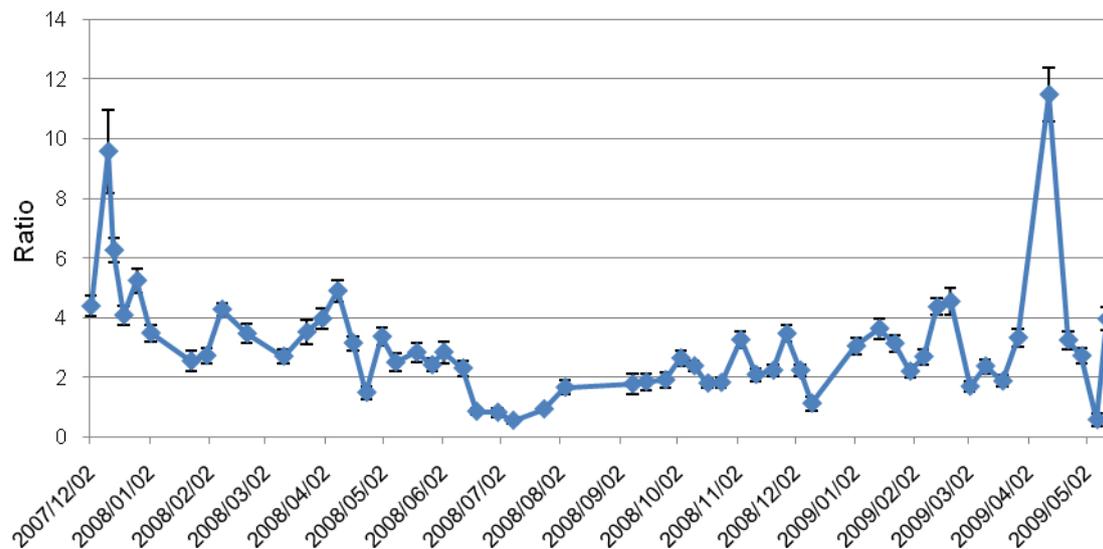


図6.エアロゾル中のPb/Cu

このグラフから、エアロゾル中の夏の間のPb/Cuが約1.0の値を示していることが分かる。この値は、長崎周辺の山の土壌のPb/Cuとほぼ一致する値である。つまり、長崎市における夏の間のエアロゾルは長崎市周辺の山の土壌由来のものであると推測される。

また、他の季節変動がみられなかったNi、MgについてもCuと同じように、土の分析を行うことで、Cuと同様の結果が得られると期待したが、残念なことにそれら3元素についての土の分析データがなかった。今後は、さまざまな地点の土を採取し、分析していきたい。

Naについては、海からの潮風の影響を受けたものと考えている。長崎において、夏は南西の風がよく吹く。また、地形的にも、南西方向以外は周りが山で囲まれていて、南西の方向のみ海に開かれているという特徴的な地形となっている。よって、夏に南西の風が吹いたときに、海からの潮風が長崎大学屋上にまで届いてくることで、Naの夏における急激な上昇に繋がったのではないかと考えられる。

今後としては、エアロゾル中の元素量の変動を追うのに、Pb-210と質量のどちらが優れているかを検討していきたい。また、現在、サンプルの採取場所を変えて測定を行っているので、場所が違うことで、どういった変化が出てくるのかも追究したい。

## 謝辞

この研究を支えてくれた多くの長崎大学環境科学部、長崎大学大学院生産科学研究科の学生や教職員の方々に心より感謝いたします。

## 参考文献

- 1) 田浦慎太郎：大気中浮遊物質に含まれる放射性同位元素と金属元素の関係，長崎大学大学院生産科学研究科修士論文（2009）

- 2) Xiao-Yang Yang : Long-range transport of fluoride in East Asia monitored at Noto Peninsula,Japan ,  
Science of the total Enviroment 407,4681-6 (2009)
- 3) Little Waves : 海水の組成, [http://www.littlewaves.info/marine/kw\\_seaelement.htm](http://www.littlewaves.info/marine/kw_seaelement.htm) (2009)
- 4) 除偉新: 山頂付近の土壤に含まれる放射性同位元素と金属元素の関係, 長崎大学環境科学部  
卒業論文 (2007)

## **Relationship between radioactive isotopes and metals contained in the air suspended**

Y. Matsumoto<sup>1</sup>, M. Honma<sup>1</sup>, S. Taura<sup>1</sup>, K. Sera<sup>2</sup> and T. Takatsuji<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Graduate School of Science and Engineering, Nagasaki University  
1-14 Bunkyo-machi, Nagasaki 852-8521, Japan

<sup>2</sup>Cyclotron Research Center, Iwate Medical University  
348-58 Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0173

<sup>3</sup>Faculty of Environmental Studies, Nagasaki University  
1-14 Bunkyo-machi, Nagasaki 852-8521, Japan

### **Abstract**

Relationships between stable elements and radioactive isotopes were explored for understanding the behavior of aerosol around Nagasaki-City. In the report, we presented relationships between the amounts of radioactive isotopes Pb-210 and Be-7 obtained from gamma spectrometry and the stable elements obtained from PIXE analysis, and considered conceivable behavior.

Thirteen elements were significantly detected from the PIXE analysis. Amount of the 9 elements, nss-Br, Al, Se, nss-S, Fe, Zn, nss-Sr, Rb and Pb were correlated with Pb-210 radioactivity and varied seasonally, where nss indicates non-sea-salt. The other 4 elements, Cu, nss-Mg, Ni and Na showed no seasonal variation. It suggests that large part of the 9 elements may come from the continent with the small grains of aerosol and the 4 elements may come from neighborhood with the relatively large grains.

## タイのピマイにおける大気エアロゾルの化学成分の特徴(その2) —化石燃料燃焼とバイオマス燃焼及び表層土壌の寄与—

鶴田治雄<sup>1</sup>、Jinchula Chotpitayason<sup>2</sup>、Boossarasiri Thana<sup>2</sup>、高村民雄<sup>3</sup>、須藤重人<sup>4</sup>

米村正一郎<sup>4</sup>、世良耕一郎<sup>5</sup>、斉藤義弘<sup>6</sup>、白砂裕一郎<sup>7</sup>、平野耕一郎<sup>7</sup>

早坂忠裕<sup>8</sup>、中島映至<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 東京大学大気海洋研究所  
277-8568 千葉県柏市柏の葉 5-1-5 総合研究棟 306 号

<sup>2</sup> Department of Geology, Faculty of Science, Chulalongkorn University  
Phayathai Road, Bangkok, 10330 Thailand

<sup>3</sup> 千葉大学環境リモートセンシング研究センター  
263-8522 千葉市稲毛区弥生町 1-33

<sup>4</sup> 独立行政法人農業環境技術研究所  
305-8604 茨城県つくば市観音台 3-1-3

<sup>5</sup> 岩手医科大学サイクロトロンセンター  
020-0173 岩手県岩手郡滝沢村滝沢字留が森 348-58

<sup>6</sup> (社)日本アイソトープ協会滝沢研究所  
020-0173 岩手県岩手郡滝沢村滝沢字留が森 348-58

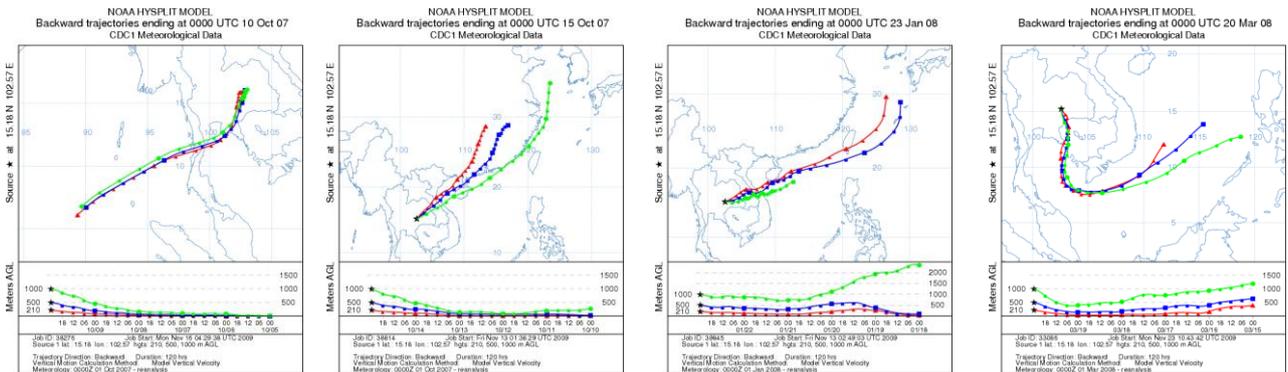
<sup>7</sup> 横浜市環境科学研究所  
235-0012 横浜市磯子区滝頭 1-2-15

<sup>8</sup> 東北大学大気海洋変動観測研究センター  
980-8578 仙台市青葉区荒巻字青葉 6-3

# 1 はじめに

タイのピマイで、2007年7月から2008年6月まで、大気中のエアロゾルを採取し、その化学成分分析結果の概要を前回報告<sup>1)</sup>し、つぎのことがわかった。

(1)地上風系は、後方流跡線解析結果によれば、乾期(2007年10月後半から2008年5月初め)は3期間にわかれ、D1(10-11月)期間とD2(12月-3月前半)期間は東アジア東部、具体的には中国南部からの北北東-北東寄りの風系(D1,2-SC)と、中国南東部沿岸域あるいは東シナ海からの東北東-東寄りの風系(D1,2-ECS)とが卓越し、その後のD3(3月後半から5月初め)期間は南シナ海からの南よりの風系が卓越した。雨期は、W1(2007年7月-10月前半)とW2(2008年5月初めから6月)とも、インド洋/ベンガル湾から吹く南西のモンスーンが卓越した(図1)。



(W1)2007年10月10日 (D2-SC)2007年10月15日 (D2-ECS) 2008年1月23日 (D3) 2008年3月20日  
 図1 ピマイに到達した高度210m、500m、1000mでの大気塊の5日前までの輸送経路

(2)微小粒子(粒径 $2.5\mu\text{m}>d$ ; PM<sub>2.5</sub>)中の元素状炭素と硫酸塩の濃度比を、2003年春期に奄美大島で測定した大気エアロゾル中の濃度比<sup>2)</sup>と比較して、D1では東アジア東部の化石燃料の燃焼による大気汚染物質が、一方D3ではバイオマス燃焼によって発生した大気エアロゾルが、それぞれおもな発生源であり、D2期間はこれらの異なる発生源からの大気エアロゾルが混在していた(図2)。

そこで今回は、これらの結果をもとに、エアロゾル試料をPIXEで分析した結果を主に解析し、ピマイでの大気エアロゾルへの各種発生源からの寄与を考察した。

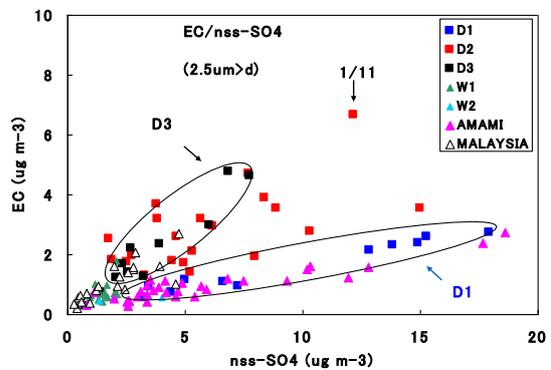


図2 風系別の微小粒子中の硫酸塩(nss-SO<sub>4</sub>)と元素状炭素(EC)との散布図

## 2 測定・解析方法

### 2.1 エアロゾル測定

2007年の7月~2008年6月に、SKYNETの一測定地点である、タイのピマイにある大気研究観測所(15.18N、102.57E: 海拔高度210m)の屋上で、大気中のエアロゾルを直接インパクター法採取装置(MCI Sampler、東京ダイレック社製)により連続的に採取した。採取時間は、原則として毎月の前半と後半に1回ずつで、それぞれ3日間で日中と夜間12時間毎に6試料を、直径47mmの石英繊維製およびポリカーボネート製のフィルタを使用して、エアロゾルを4段階の粒径( $d>10\mu\text{m}$ 、 $10\mu\text{m}>d>2.5\mu\text{m}$ 、 $2.5\mu\text{m}>d>1.0\mu\text{m}$ 、 $1.0\mu\text{m}>d$ )に分けて採取した。これらの各試料につき、元素状炭素(EC)と有機炭素成分

(OC)は、IMPROVE 法による熱・光学的分析装置(MODEL 2001、DRI 社製)により分析し、主な水溶性イオンは、イオンクロマトグラフ(DX-500, Dionex 社製)を用いて分析した。Si などの微量の元素は、多元素を同時に分析できる PIXE 法により、無調製でサンプルホルダーに装着してビーム照射を行い定量した。解析では、昼夜2つのデータの日平均値を主に使用した。これらの化学成分データから求めた、元素状炭素 (EC)、有機炭素 (OC)、硫酸アンモニウム((NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)、硝酸塩(NO<sub>3</sub>)、さらに、海塩粒子、土壌粒子などの化学組成の濃度を解析に用いた。

## 2.2 土壌の化学成分分析

ピマイの大気研究観測所の周辺の表層土壌(深さ 5-10cm)を、東西南北の方向で各3個所採取し、その主な化学成分を、PIXE 法および XRF 法<sup>3)</sup>で分析した。

## 2.3 後方流跡線解析

ピマイの大気研究観測所に到達した大気塊が、どこから輸送されたかを明らかにするため、高度 210m、500m、1000m の3高度で、NOAA の HYSPLIT MODEL<sup>4)</sup>の後方流跡線解析結果を利用して、5日前までの大気塊の輸送経路を求めた。

# 3 結果と考察

## 3.1 化学組成の乾期と雨期の特徴

雨期と乾期中の、粗大粒子(10μm>d>2.5μm)と微小粒子(これ以後、粒径を指定しない限り PM<sub>2.5</sub>を示す)中の主な化学組成を、図3と図4に示した。粗大粒子では、乾期と雨期ともに、土壌粒子が総質量濃度の2/3以上を占め、ECは0.1 μg m<sup>-3</sup>以下と非常に低かったが、OCは常に1.0-1.6 μg m<sup>-3</sup>存在していた。NO<sub>3</sub>は、D1で最高1.1 μg m<sup>-3</sup>であった。一方、乾期中の微小粒子(PM<sub>2.5</sub>)では、(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>はD1>>D2>D3だったが、(EC+OC)はD2=D3>>D1で、両者は大きく異なった。なお、D1、D2、D3期間中の(EC+OC)とPM<sub>2.5</sub>の総質量濃度の平均濃度の比は、それぞれ、0.24、0.39、0.51であった。“はじめに”で述べたように、乾期の微小粒子(PM<sub>2.5</sub>)中のECとSO<sub>4</sub><sup>2-</sup>の関係によれば、これらの発生源は、D1は東アジア東部の化石燃料(およびバイオ燃料)の燃焼、D3はインドシナ半島のバイオマス燃焼と推定され、D2はこれらの二つの発生源から輸送された大気塊が混在した時期である、と推定された。ECとOCとの関係は、図5に示すように、D1とD3とで大きな違いはなく、乾期全体でOCはECのほぼ3倍であった。そこで、乾期中の個々のデータを用いて、PM<sub>2.5</sub>の総質量濃度と(EC+OC)濃度の関係を調べたところ、強い正の直線関係にあり(図6)、その回帰直線の勾配は、D1、D2、D3でそれぞれ、0.23、0.43、0.50であり、前述したこれらの期間の平均濃度の比とほとんど同じ値であった。これらから、東アジア東部から輸送された大気塊とバイオマス燃焼による大気塊中の個々の試料の濃度比は、それぞれ非常に均一化していたことが明らかになった。

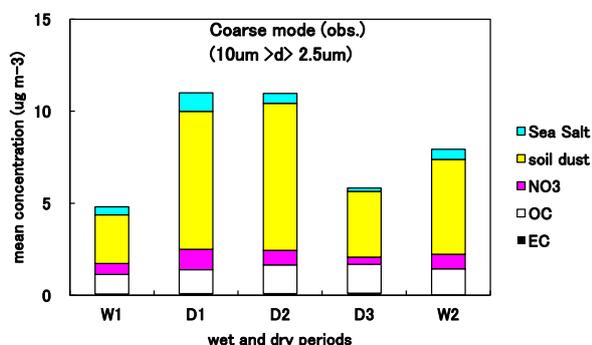


図3 乾期と雨期における粗大粒子中の化学組成の平均濃度

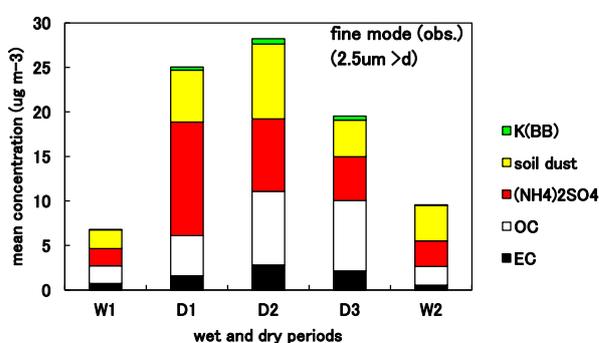


図4 乾期と雨期における微小粒子(PM<sub>2.5</sub>)中の化学組成の平均濃度

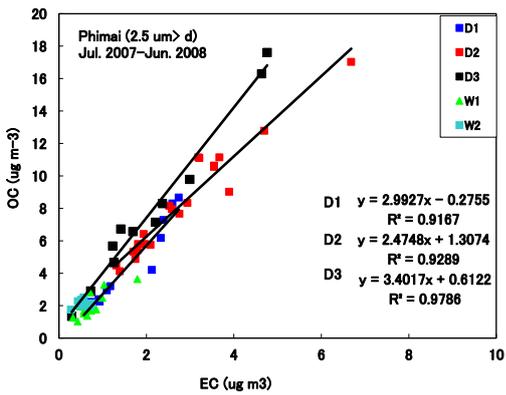


図5 微小粒子(PM<sub>2.5</sub>)中のECとOC濃度の関係

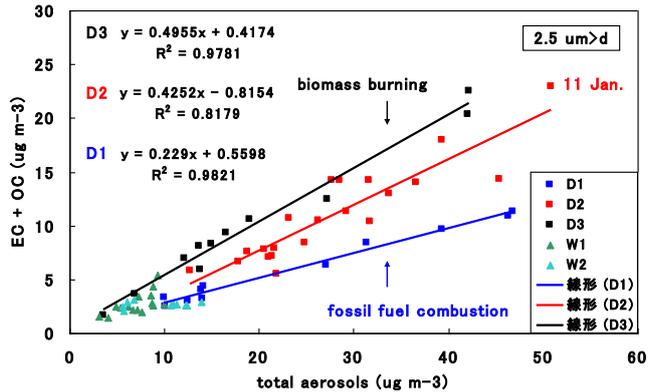


図6 微小粒子中のエアロゾル総質量濃度と(EC+OC)濃度の関係

土壌系粒子は、粗大粒子では  $D2=D1>D3$  であり、バイオマス燃焼の卓越した風速の弱い D3 の時期でも、D2 と D1 の約半分の濃度であった。また、雨期にも常に存在し、特に W2 では D3 よりも高かった。これらの原因については、後で詳しく考察する。

### 3.2 主な元素濃度の乾期と雨期の特徴

PIXE 分析で検出された各元素濃度をもとに、多量元素(Si, Al, Fe, Na, Mg, K, Ca)と微量元素(Ti, Mn, Sr, Zn, Pb, Co, Hg, V, Cr, Ni, Cu, Br)とに分けて計算した、雨期と乾期の 5 期間の平均濃度によれば、ほぼ乾期>雨期であった(図7と図8)。粗大粒子中の多量元素では、Si, Al, Fe および Na, Ca などが高かった。微量元素では、乾期と雨期ともに、Ti が 50%以上でつぎに Mn が高かった。一方、微小粒子 (PM<sub>2.5</sub>) 中の多量元素では、Si のつぎに、Ti と K が高く、粗大粒子と大きく異なっていた。微量元素では(Zn+Pb)濃度が D1 と D2 で総濃度の 50%以上と高く、次に Ti と Mn とが高く、雨期でも Ti と Zn が高かった。

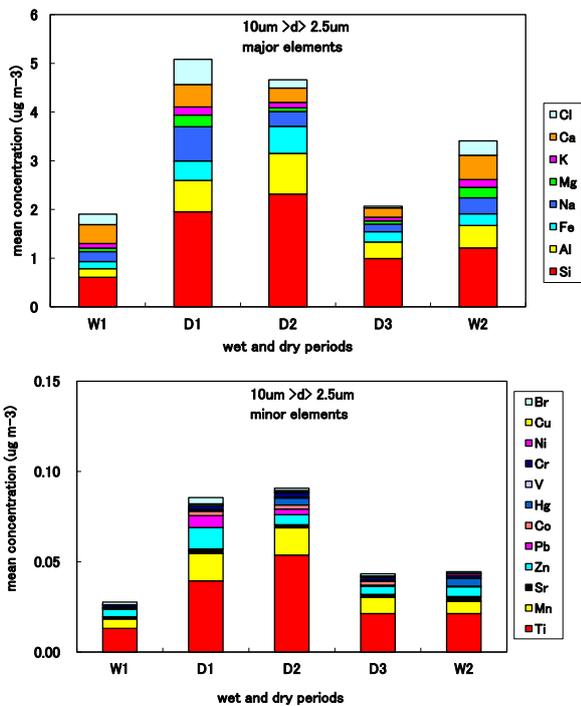


図7 雨期と乾期での粗大粒子中の多量元素(上段)と微量元素(下段)の平均濃度

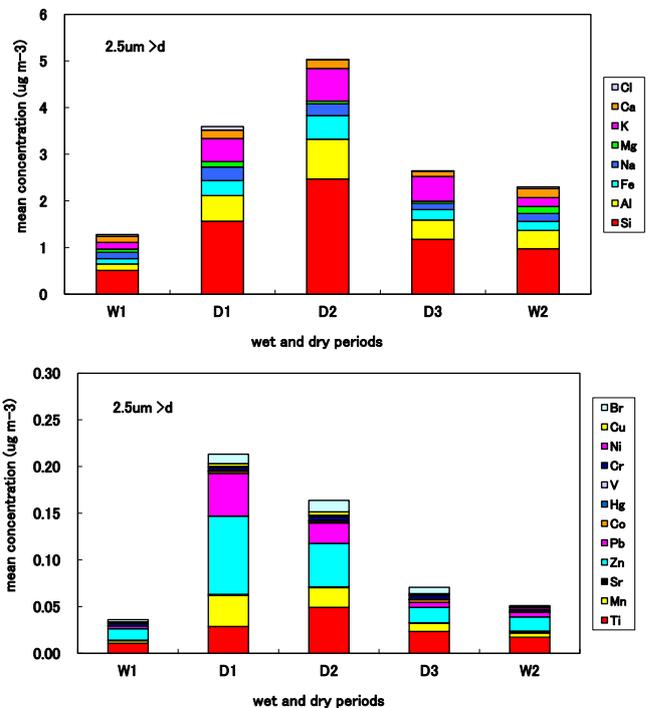


図8 雨期と乾期での微小粒子中の多量元素(上段)と微量元素(下段)の平均濃度

### 3.3 亜鉛(Zn)と鉛(Pb)の発生源推定

前述したように、微小粒子中の微量元素では、乾期のD1とD2にZnとPbの濃度が非常に高かった(図8)。これらの元素の粗大粒子の発生源は主に土壌粒子であるが、微小粒子の発生源は、主に石炭燃焼、自動車、鉄工業、廃棄物燃焼などの人為起源である。

乾期のD1とD2における微小粒子中のPbとZnとは、図9に示すように強い正の相関があり、D3や雨期よりもはるかに高かった。また、D1とD2では、中国南部から輸送された大気塊(D-SC)の

ほうが、中国東部沿岸域や東シナ海を通過してきた大気塊(D-ECS)よりも、回帰直線の勾配が約2倍であった。この違いは、これらの元素の主な発生源が地域によって異なるため、と推測される。なおD-SCとD-ECSとでは、ECとOCとはほとんど差がなく、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ はややD-SC>D-ECSだった。しかし、粗大粒子中の硝酸塩( $\text{NO}_3^-$ )濃度は、D-ECS>D-SCで(図3)、中国東部沿岸域の自動車などからの排出物質の影響をより強く受けていたと推測される。なお、奄美での2003年春期の測定結果<sup>2)</sup>によれば、中国東部の大都市や工業地帯から輸送された北西風系の大気塊中では、ピマイと同様に非常に強い正の相関が見られ、回帰直線の勾配は1.68であり、ピマイでの両元素の関係とほぼ同じであった(図9)。一方、2001年3月から2003年8月まで中国の北京市内で測定されたPM<sub>10</sub>(10 μm > d)中のZnとPbの平均濃度はそれぞれ、0.77, 0.43 μg m<sup>-3</sup>で<sup>5)</sup>、Zn/Pbは1.79であり、これらの両元素が中国東部沿岸域の大都市や工業地帯で大気中に排出されて、長距離輸送されてピマイや奄美に到達したとの推測を裏付ける結果となった。

### 3.4 ジルコニウム(Zr)から考察した土壌粒子の発生源推定

前述したように、土壌粒子は、季節に関係なく常に存在していた。これらの土壌粒子の発生源は、大気採取地点を含むタイやインドシナ半島の土壌粒子の風による再飛散、さらに遠方の中国東部やインドあるいは西アジア方面からの長距離輸送などが考えられる。また、バイオマス燃焼が卓越したD3期間でも、大気エアロゾル中に土壌粒子が常に存在していたので、風による再飛散だけでなく、バイオマス燃焼に伴う地表付近から上層への強いサーマルブルームによっても、乾いた土壌表層の土壌粒子が大気中に運ばれた、と推測された。そこで、どの期間にはどの地域の土壌粒子がおもな発生源かを、さらに詳しく考察した。

ピマイの大気エアロゾルのPIXE分析では、チタン(Ti)属元素の一つであるジルコニウム(Zr)が、D1とW1とを除く、D2、D3、W2の時期で検出され、その濃度は粗大粒子のほうが微小粒子よりも高く検出データ数も多かったため、ここでは粗大粒子中のZrの解析結果を示した。しかし奄美の春期では、大規模な黄砂(2001年4月11-16日)の飛来時にだけ検出された<sup>2)</sup>。また他の調査で、東アジアで採取された大気エアロゾル中のPIXEによる分析結果ではZrは記述されていなかった<sup>6,7)</sup>。一方、Zrの酸化物である天然石のジルコン( $\text{ZrSiO}_4$ )は、インドシナ半島(タイ、カンボジア、ラオス、ベトナム、ミャンマー)やスリランカ、オーストラリア、ニュージーランドに広範囲に存在している<sup>8)</sup>。これらから、東アジアから周辺に輸送される大気エアロゾル中微量元素のPIXE分析では、大規模な黄砂以外には、Zrは検出されないと仮定して、

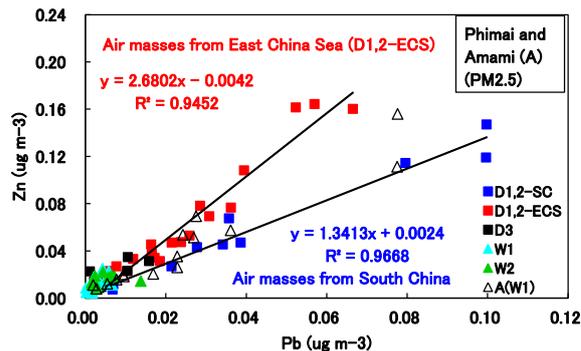


図9 微小粒子中のPbとZnとの関係

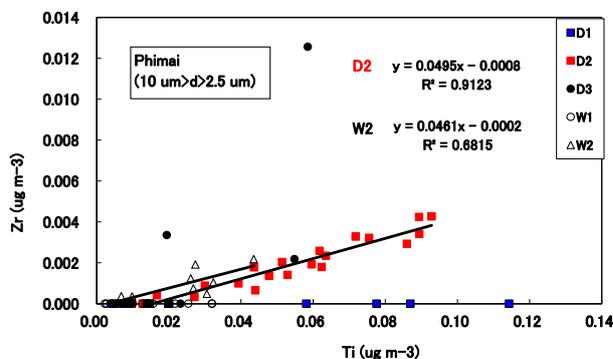


図10 粗大粒子中のTiとZrの関係

表 1 ピマイの土壌と地殻上部 (UCC) の平均化学成分濃度 (ppm)<sup>1)</sup>

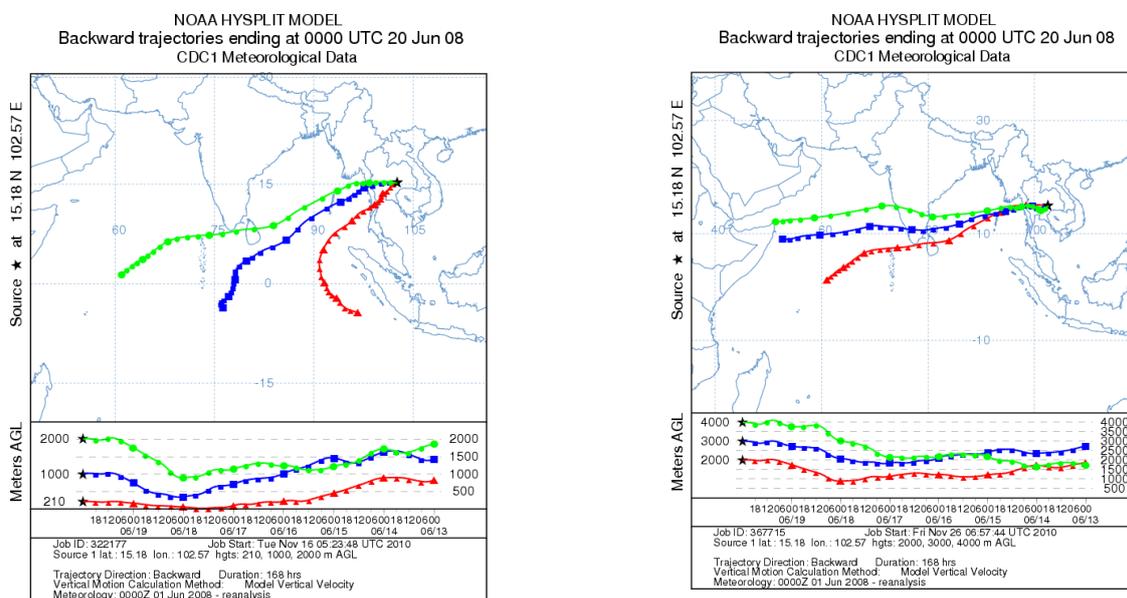
Soil	Si	Al	Fe	Na	Mg	K	Ca	Cl	Ti	Mn	Sr	Co	Zr
Phimai	2.56E+05	9.26E+03	5.98E+03	1.06E+03	*	*	4.21E+02	1.38E+03	1.49E+03	1.84E+02	---	5.10E+01	2.13E+02
UCC**	3.08E+05	8.04E+04	3.50E+04	2.89E+04	1.33E+04	2.80E+04	3.00E+04	---	3.00E+03	6.00E+02	3.50E+02	1.00E+01	1.90E+02

\*他の大きなピークの背後に位置するので検出不可能  
 \*\*文献:9)

表 2 タイのピマイとコンケン、及び中国 4 地域のレスと地殻上部の平均化学組成 (酸化物)<sup>1)</sup>

site	SiO2	Al2O3	Fe2O3	TiO2	Mn2O	CaO	MgO	Na2O	K2O	P2O5	total	ref.
Phimai	91.652	5.466	1.254	0.455	0.039	0.085	0.060	0.176	0.083	0.073	99.343	3)
Khon Kaen	96.533	0.727	0.379	0.232	0.032	0.007	0.021	0.017	0.062	0.001	98.009	10)
Loess (China)	61.95	13.00	4.60	0.62	0.07*	8.65	2.52	2.15	2.83	0.15	96.47	11)
UCC	66.0	15.2	4.5	0.5		4.2	2.2	3.9	3.4		99.9	9)

\*MnO



(1) 高度 210、1000、2000m

(2) 高度 2000、3000、4000m

図 11 HYSPLIT MODEL による 2008 年 6 月 20 日の後方流跡線解析結果 (7 日前まで)

Zr に注目して解析を行った。Ti と Zr の散布図(図 10)によれば、D1 では、Ti 濃度は高濃度でも Zr は検出されなかったが、D2 と W2 では、両者には非常に強い正の相関が見られた。一方、表 1 に示すように、ピマイの表層土壌中では Zr は検出されていたので、D1 期間の大気エアロゾル中に Zr が検出されなかった原因は、次の二つであると推測される。一つは、この期間にピマイに到達した大気は、後方流跡線解析結果<sup>4)</sup>によれば、おもに中国東部沿岸域あるいは東シナ海方面から輸送されたものであり、黄砂に代表される中国内陸部の砂漠や黄土高原からの土壌粒子は輸送されなかったこと、もう一つは、雨明け直後なのでまだインドシナ半島の表層土壌が乾燥せず、土壌粒子の再飛散がなかったため、である。また、D3 期間の Zr は変動が大きかったが、これは、バイオマス燃焼が卓越した時期なので、土壌表層の土壌粒子は、バイオマス燃焼で生じた強いサーマルプルームにより、大気中に運ばれたと推測され、そのときの大気鉛直混合度合いによって、大気中の濃度変動も大きかったと推測された。

一方、D2 期間の Zr は、ピマイに到達した大気中で、インドシナ半島を通過中に表層の土壌粒子が、風速が強くなくても表層土壌が乾いてきたので、再飛散されたためと推測された。また、雨期の W2 では、土壌系粒子濃度の高かった日(たとえば 2008 年 6 月 20 日)の後方流跡線解析結果<sup>4)</sup>によれば、ピマイに到達した大気塊は、高度 1km では南西風や西風により、タイ西部やミャンマーから輸送されてお

り、高度 2km 以上では西アジアやインドからミャンマー上空を通過してきた(図 11)。これらから、インドシナ半島西部(ミャンマーとタイ)の表層土壌と西アジアの土壌粒子とが混在したために、Zr が検出された、と推測される。

### 3.5 カリウム(K)から考察したバイオマス燃焼の寄与

微小粒子中の K は、焼き畑農業や農作物残さなどのバイオマス燃焼(biomass burning)と、バイオ燃料(biofuel)の燃焼で生成される物質の指標として、よく用いられている。一方、Fe や Ti などは、粗大粒子および微小粒子ともに主な発生源は土壌であり、Si や Al とともに、土壌粒子の指標として用いられている。ピマイでの Fe 濃度と Ti 濃度とは、図 12 に示すように、年間を通して粗大粒子および微小粒子ともに強い正の相関があり、回帰直線の傾きは約 0.09-0.1 でほとんど同じであった。一方、Fe と K は粗大粒子と微小粒子ともに、年間を通して強い正の相関があり、Fe 濃度は粗大粒子 > 微小粒子だったが、K 濃度は微小粒子 > 粗大粒子であった。またその回帰直線の傾きは、粗大粒子では Fe と Ti のそれとほとんど同じであったが、微小粒子では粗大粒子の約 10 倍であったので、K は相対的に非常に高くおもに燃焼起源であり、Fe はおもに土壌起源であることを示している。つぎに、ピマイで東アジア東部から輸送されていた D1 期間と、奄美の春期の北西風系(W1)時における Fe と K との関係を見ると、粗大粒子および微小粒子ともに、ピマイと奄美では、ほぼ同じ回帰直線を示した(図 13)。奄美ではこの期間、中国北西部と東部沿岸大都市部を通過してきた大気塊であり、K の主な発生源は化石燃料とバイオ燃料、および黄砂であった。また、ピマイでは、雨期明け直後なのでバイオマス燃焼はまだみられず、発生源は東アジア東部であるので、Fe と K が、奄美とほぼ同じ関係を示したと推定される。

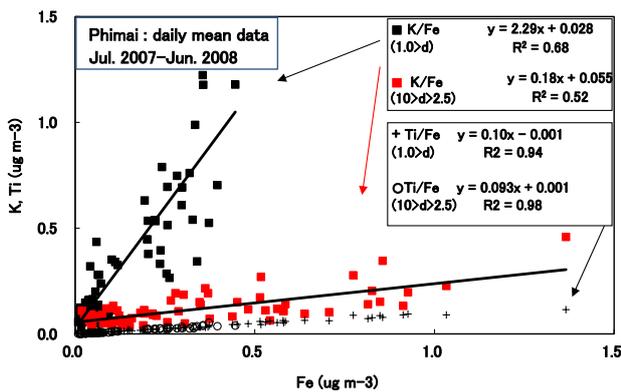


図 12 粗大粒子と微小粒子における Fe と K 及び Ti 濃度との関係(2007 年 7 月～2008 年 6 月)

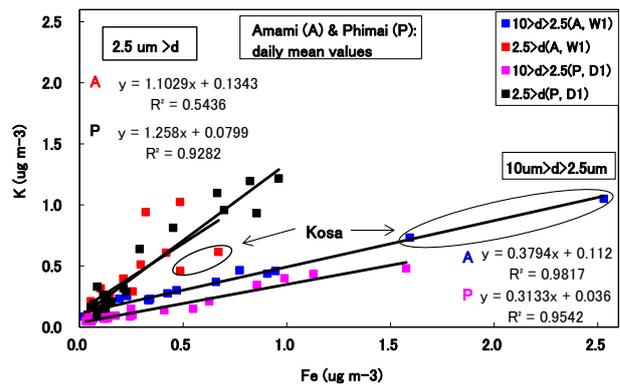


図 13 奄美(2003 年春期北西風系、W1)とピマイ(D1 期)における Fe と K 濃度との関係

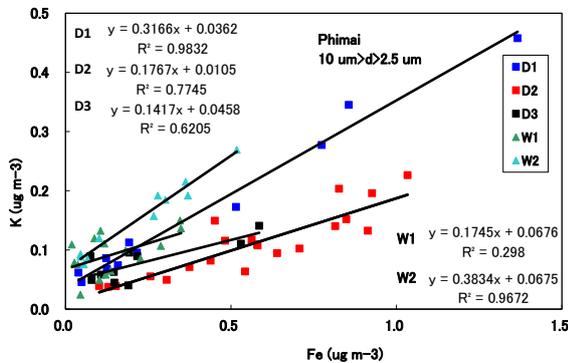


図 14 風系別の粗大粒子中の Fe と K 濃度との関係

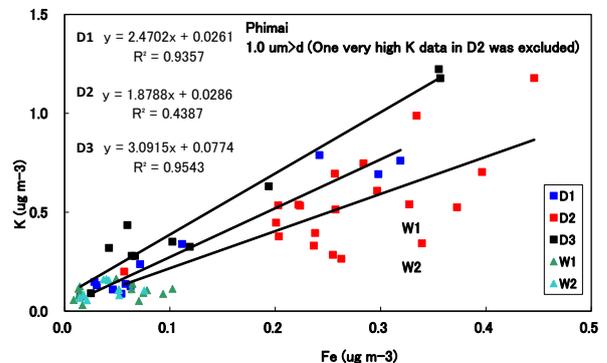


図 15 微小粒子(1.0um>d)中の Fe と K の関係

つぎに、ピマイでの Fe と K との回帰直線の傾きを期間ごとに詳しく調べると、粗大粒子では、 $D1 > D2 > D3$  であり(図 14)、D1 と D2・D3 で K の発生源が異なることが示唆された。D1 は、東アジア東部から輸送されたエアロゾルであるのに対して、K 濃度の低い D2 と D3 時期は、Zr の挙動で考察したように、インドシナ半島の表層土壌からの土壌粒子を含むエアロゾルであった。これは、表 2 に示すように、K 濃度が著しく低いタイ北東部のピマイやコンケン(ピマイと同じコラート高原の中央部に位置し、ピマイの北約 150km)の表層土壌を含むインドシナ半島の表層土壌が大気中に再飛散したとの推測を裏付けている。一方、微小粒子における Fe と K との回帰直線の傾きは  $D3 > D1 > D2$  で(図 15)、バイオマス燃焼の卓越した D3 が最大だったが、D3 と D1 における傾きの差が小さかった原因は、前述したように、D1 はバイオ燃料も発生源となる東アジアからの大気塊が輸送されたためである。なお、D2 では、図 15 に示すように、K 濃度は粗大粒子と同様に非常に低く、土壌粒子の影響を強く受けていた。D3 では、東アジア東部からの大気塊が到達しなかったが、Fe 濃度は D1 と D2 とほぼ同程度であった。これは、バイオマス燃焼によって生じた強いサーマルプルームにより、表層土壌の土壌粒子が大気中に運ばれたという、前述した推測を裏付けている。

#### 4 まとめ

ピマイの大気エアロゾルは、EC と  $SO_4^{2-}$  の関係を奄美での測定結果と比較して、D1 期は東アジア東部、とくに中国南部と東部沿岸域で排出された化石燃料の燃焼によるエアロゾル、D3 期はインドシナ半島で活発なバイオマス燃焼によるエアロゾル、D2 期は両者のエアロゾルが混在した、と推測された。さらに、大気エアロゾル中の Zn と Pb の解析からも、D1 と D2 では、中国南部および中国東部沿岸域からのエアロゾルが、ピマイに輸送されたことが明らかになった。また、Zr の詳細な解析から、土壌系粒子は、D1 では、東アジア東部からの土壌系粒子、D2 ではそれとともにインドシナ半島の表層土壌の再飛散が加わり、D3 ではバイオマス燃焼に伴うサーマルプルームにより、大気中に運ばれたインドシナ半島の表層土壌が主な発生源である、ということを示した。一方、K の詳細の解析からも、D3 ではバイオマス燃焼が主な発生源であることを裏付けた。なお、雨期の土壌粒子は、タイ西部やミャンマーからの土壌粒子が大きく寄与していることが推測された。これらから、ピマイで年間を通して測定された、主な大気エアロゾルの発生源とその寄与が、総合的に明らかになった。

#### 参考文献

- 1) 鶴田治雄, J. Chotpitayasunon, B. Thana, P. Khatri, 高村民雄, 須藤重人, 米村正一郎, 世良耕一郎, 斉藤義弘, 白砂裕一郎, 平野耕一郎, 早坂忠裕, 中島映至, 2009: タイのピマイにおける大気エアロゾルの化学成分の特徴、NMCC 共同利用研究成果報文集、15 (2008), 75-86.
- 2) 鶴田治雄・矢吹正教、2008: 奄美大島の春期における大気エアロゾルの化学組成と光学特性、気象研究ノート、218, 45-66.
- 3) Chotpitayasunon, J.: Unpublished data.
- 4) NOAA: NOAA ARL HYSPLIT MODEL (<http://www.ready.noaa.gov/ready/open/hysplit4.html>)
- 5) Okuda, T., J. Kato, J. Mori, M. Tenmoku, Y. Suda, S. Tanaka, K. He., Y. Ma, F. Yang, X. Yu., F. Duan, 2004: Daily concentrations of trace metals in aerosols in Beijing, China, determined by using inductively coupled plasma mass spectrometry equipped with laser ablation analysis, and source identification of aerosols, *Science of the Total Environment*, 330, 145-148.
- 6) Arimoto, R., X. Y. Zhang, B. J. Huebert, C. H. Kang, D. L. Savoie, J. M. Prospero, S. K. Sage, C. A. Schloesslin, H. M. Khaing, and S. N. Oh, 2004: Chemical composition of atmospheric aerosols from Zhenbeitai, China, and Gosan, South Korea, during ACE-Asia, *J. Geophys. Res.*, 109, D19S04, doi:10.1029/2003JD004323.

- 7) Cohen, D. D., D. Garton, E. Stelcer, O. Hawas, T. Wang, S. Poon, J. Kim, B. C. Choi, S. N. Oh, H. J. Shin, M. Y. Ko, and M. Uematsu, 2004: Multielemental analysis and characterization of fine aerosols at several key ACE-Asia sites, *J. Geophys. Res.*, 109, D19S12, doi:10.1029/2003JD003569.
- 8) Macropedia ed., 2007: *The New Encyclopedia Britannica*, 12, pp923.
- 9) Taylor, S. R. and S. M. McLennan, 1985: *The Continental Crust: its Composition and Evolution*, Blackwell Scientific Publications, pp46.
- 10) Tulaphitak, T., K. Miura, K. Sakurai and K. Kyuma, 1996: Some plateau soils and their materials in the Khon Kaen Area, Northeast Thailand: 1. General Characteristics of soils, *Japanese Journal of Tropical Agriculture*, 40, 73-83.
- 11) Honda, M., S. Yabuki and H. Shimizu, 2004: Geochemical and isotopic studies of aeolian sediments in China, *Sedimentology*, 51, 211-230.

## Chemical characterization of atmospheric aerosols at Phimai, Thailand

### II. Contribution of fossil fuel combustion, biomass burning, and soil dust

H. Tsuruta<sup>1</sup>, J. Chotpitayasunon<sup>2</sup>, B. Thana<sup>2</sup>, T. Takamura<sup>3</sup>, S. Sudo<sup>4</sup>, S. Yonemura<sup>4</sup>, K.Sera<sup>5</sup>, Y.Saitoh<sup>6</sup>, Y. Shirasuna<sup>7</sup>, K. Hirano<sup>7</sup>, T. Hayasaka<sup>8</sup> and T. Nakajima<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Atmosphere and Ocean Research Institute, The University of Tokyo  
5-1-5 Kashiwanoha, Kashiwa, Chiba 277-8568, Japan

<sup>2</sup>Department of Geology, Faculty of Science, Chulalongkorn University  
Phayathai Road, Bangkok, 10330 Thailand

<sup>3</sup>Center for Environmental Remote Sensing, Chiba University  
1-33 Yayoicho, Inage, Chiba Chiba, 263-8522, Japan

<sup>4</sup>National Institute for Agro-Environmental Sciences  
3-1-3 Kannondai, Tsukuba, Ibaraki 305-8604, Japan

<sup>5</sup>Cyclotron Research Center, Iwate Medical University,  
348-58 Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0173, Japan

<sup>6</sup>Takizawa Institute, Japan Radioisotope Association,  
348-58 Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0173, Japan

<sup>7</sup>Yokohama City Institute of Environmental Sciences,  
1-2-15 Takigashira, Yokohama 235-0012, Japan

<sup>8</sup>Center for Atmospheric and Oceanic Studies, Tohoku University  
6-3, Aoba, Aramaki, Aoba-ku, Sendai 980-8579, Japan

#### Abstract

An intensive field program was performed to measure atmospheric aerosols at the Observatory for Atmospheric Research, in Phimai, Thailand during July 2007-June 2008. According to a backward trajectory analysis, the surface wind pattern in the dry season was northeasterly from middle October 2007 to middle March 2008, and then shifted southerly from middle March to early May. For the other period, southwesterly monsoon was prevailed in the wet season. A relationship between elemental carbon (EC) and non sea-salt sulfate ( $\text{nss-SO}_4^{2-}$ ) in fine particles revealed that the polluted air masses rich in  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  emitted from east Asia was transported to Phimai, while in the latter period of dry season, aerosols rich in EC emitted from biomass burning in Indochina were dominant. These source-receptor relationships which

were analyzed in the previous report were supported by the detailed analysis using Pb and Zn in fine particles in the dry season. For soil dust, Zr in coarse particles was a good indicator of soil dust in atmospheric aerosols in the latter dry season, because it could be re-suspended into the atmosphere from surface soils in Indochina after the surface soil became dry. Furthermore, the relationship between K and Fe in fine and coarse particles strongly suggests that the soil dust could be also released into the atmosphere by the strong thermal plume generated by biomass burning in the latter dry season.

## 姫路市における大気中粒子状物質の粒径別にみた成分特徴

齊藤勝美<sup>1,2</sup>、島 正之<sup>2</sup>、余田佳子<sup>2</sup>、中坪良平<sup>3</sup>、平木隆年<sup>3</sup>

<sup>1</sup> エヌエス環境(株)中央技術研究所  
020-0122 岩手県盛岡市みたけ 4-3-33

<sup>2</sup> 兵庫医科大学  
663-8501 兵庫県西宮市武庫川町 1-1

<sup>3</sup> 兵庫県環境研究センター  
654-0037 兵庫県神戸市須磨区行平町 3-1-27

### 1 はじめに

大気環境中の微小粒子状物質 (PM<sub>2.5</sub>) は、呼吸器系、循環器系をはじめとする様々な健康影響を生じることが報告されており、わが国でも 2009 年 9 月に環境基準が設定された。しかし、わが国では微小粒子状物質の健康影響に関する知見が欧米諸国に比して少なく、微小粒子状物質の成分濃度と健康影響との関連を評価した研究はほとんど行われていない。兵庫県姫路市では長期にわたって 1 週間毎の気管支喘息発作数調査が行われており、このデータを活用して粒子状物質やガス状物質との関連性が検討されている<sup>1)</sup>。こうしたことから、大気中粒子状物質をはじめとする大気汚染物質が気管支喘息発作に与える影響について、従来検討されてきた粒子状物質の質量濃度との関係だけでなく、元素成分、イオン成分との関連についても明らかにすることを目的として、姫路市において 1 週間インターバルで粒子状物質を粒径別 (<PM<sub>1.0</sub>、PM<sub>1.0-2.5</sub>、PM<sub>2.5-10</sub>、>PM<sub>10</sub>) 捕集し、元素成分、イオン成分の分析をしている。ここでは、これまでに得られた成分分析データから粒子状物質の粒径別にみた成分特徴を報告する。

### 2 方法

大気中粒子状物質の捕集地点は姫路市飾磨で、試料捕集は 2009 年 11 月に開始した。試料捕集には 3 段 NLAS インパクター (東京ダイレック社、カット粒径 1.0 $\mu$ m、2.5 $\mu$ m、10 $\mu$ m) を用い、流速は 3L/min、捕集フィルターにはポリカーボネイトフィルター (孔径 0.2 $\mu$ m、25mm $\Phi$ ) を使用した。なお、バックアップフィルタは、PTFE フィルター (TFH-47、堀場製作所) である。元素分析は、(社)日本アイソトープ協会仁科記念サイクロトロンセンター (NMCC) の荷電粒子励起 X 線 (PIXE) 装置で行った。イオン成分はイオンクロマトグラフ法により、陰イオンとしては F<sup>-</sup>、Cl<sup>-</sup>、NO<sub>2</sub><sup>-</sup>、Br<sup>-</sup>、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>、PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>、SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>、陽イオンとしては Na<sup>+</sup>、NH<sub>4</sub><sup>+</sup>、K<sup>+</sup>、Mg<sup>2+</sup>、Ca<sup>2+</sup> を分析した。

### 3 結果と考察

2009年11月から2010年3月までに捕集した大気中粒子状物質試料からは、Na、Mg、Al、Si、P、S、Cl、K、Ca、Ti、Cr、Mn、Fe、Co、Ni、Cu、Zn、Se、Br、Rb、Sr、Y、Nb、Mo、Hg および Pb の 26 元素が定量された。主要元素は、Na、Mg、Al、Si、S、Cl、K、Ca、Fe および Zn の 10 元素であった。粒径サイズが小さくなるにしたがって Na、Mg、Al、Si、Cl、K 及び Ca の値は低下しているが、これに対して S と Zn の値は高くなっている。Fe は PM<sub>2.5-10</sub> のサイズの粒子で高い。イオン成分では Cl<sup>-</sup>、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>、SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>、Na<sup>+</sup>、NH<sub>4</sub><sup>+</sup> が主体で、SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> と NH<sub>4</sub><sup>+</sup> は粒径サイズが小さくなるにしたがって高くなっている。Table 1 に大気中粒子状物質の粒径別にみた成分特徴を示した。

Table 1 Composition characteristics of size-resolved airborne particles.

	>PM <sub>10</sub>	PM <sub>10</sub> —PM <sub>2.5</sub>	PM <sub>2.5</sub> —PM <sub>1.0</sub>	<PM <sub>1.0</sub>
主要元素	Na, Mg, Al, Si, S, Cl, K, Ca, Fe, Zn	Na, Mg, Al, Si, S, Cl, K, Ca, Fe, Zn	Na, Mg, Al, Si, S, K, Ca, Fe, Zn	Na, Mg, Al, Si, S, Cl, K, Ca, Fe, Zn
イオン成分	Cl <sup>-</sup> , NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> Na <sup>+</sup> , K <sup>+</sup> , Ca <sup>2+</sup>	Cl <sup>-</sup> , NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> Na <sup>+</sup> , K <sup>+</sup> , Ca <sup>2+</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> , K <sup>+</sup> , Ca <sup>2+</sup>	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> , NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>
PMの発生由来	土壌由来が大半と考えられる	土壌由来に海塩粒子が加わっていると考えられる	燃焼由来に二次生成粒子が加わっていると考えられる	燃焼由来に二次生成粒子が加わっていると考えられる

#### 参考文献

- 1) 島 正之他：姫路市における気管支喘息発作と大気中粒子状物質の関連, アレルギー, Vol. 59, pp. 393 (2010).

## Composition characteristics of size-resolved airborne particles in Himeji city

Katsumi Saitoh<sup>1,2</sup>, Masayuki Shima<sup>2</sup>, Yoshiko Yoda<sup>2</sup>,  
Ryouhei Nakatsubo<sup>3</sup> and Takatoshi Hiraki<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Center Laboratory of Technology, NS Environmental Science Consultant Corporation,  
4-3-33 Mitake, Morioka 020-0122, Japan

<sup>2</sup>Hyogo College of Medicine  
1-1 Mukogawa-cho, Nishinomiya, Hyogo 663-8501, Japan

<sup>3</sup>Hyogo Prefectural Institute of Environmental Sciences,  
3-1-27 Yukihira-cho, Suma-ku, Kobe, Hyogo 654-0037, Japan

### Abstract

In order to shed light on the effect of airborne particles (particulate matter: PM) on human health, we carried out size-resolved sampling of PM in Himeji City, and elemental and ionic composition analyses of the PM sample. Size-resolved PM was collected using a 3-stage NLAS impactor (Tokyo Dylec Co., Ltd.; particle cut size at sampling stages was 10, 2.5 and 1.0  $\mu\text{m}$  for a flow rate of 3 L/min) with a 1 week sampling interval, and the PM sampling was began in November, 2009. As a result, the composition characteristics of size-resolved airborne particles were able to be clarified.

## 加速器施設における冷却水試料の分析

沖 雄一、別所光太郎<sup>1</sup>、長田直之<sup>2</sup>、柴田誠一、世良耕一郎<sup>3</sup>

京都大学原子炉実験所  
590-0494 大阪府泉南郡熊取町朝代西 2-1010

<sup>1</sup>高エネルギー加速器研究機構  
305-0801 茨城県つくば市大穂 1-1

<sup>2</sup>京都大学工学研究科  
615-8530 京都市西京区京都大学桂

<sup>3</sup>岩手医科大学サイクロトロンセンター  
020-0173 岩手県岩手郡滝沢村滝沢字留が森 348-58

### 1. 緒言

加速器施設においては、放射化に伴う空気、水(特にターゲットやマグネット等の冷却水)の管理が必要であるが、最近の加速ビームの高エネルギー、大強度化により、その適切な管理の重要性が増してきている。加速器冷却水の配管は加速器運転に伴い、高線量の放射線に曝される。高エネルギー加速器においては、冷却水の放射化および放射化した冷却水配管からの溶出により、マグネットやターゲットの冷却水中に多種類の放射性核種が認められる。これらの放射性核種の濃度は一般に高エネルギー、大強度となるほど高くなる可能性があり、高エネルギー加速器におけるこれらの放射性核種の水中での挙動、または配管からの溶出挙動の解明は、放射線防護の観点から非常に有益である。

一方、高線量の放射線が照射される配管からは、放射性核種ばかりでなく、マクロ量の金属元素が溶出し、冷却水の水質悪化、イオン交換樹脂などへの沈着をもたらしている。たとえば J-PARC の冷却水システムのストレーナーでは、褐色のクラッド状の析出物が捕集されることがあり、注意深い管理を要する。この物質は、X線分析により酸化銅(CuO または Cu<sub>2</sub>O)であることが確認されており、冷却水配管系の銅が使用されている箇所からの溶出と考えられる。また高エネルギー加速器研究機構の 12GeV 陽子シンクロトロン電磁石冷却水を限外ろ過により粒径分画し、各分画試料中の金属元素の濃度と <sup>7</sup>Be の濃度をそれぞれ定量したところ、図 1 に示すような結果となった。<sup>7</sup>Be と銅の粒径分布には相関があり、<sup>7</sup>Be の多くはコロイド状の銅粒子と挙動を共にしていると推定できる。水中粒子成分の電子顕微鏡観察や化学組成分析からコロイド物質の主成分が電磁石コイルに由来する酸化銅微粒子であり、放射性の <sup>7</sup>Be が非放射性的酸化銅コロイド上に吸着されていることが明らかになった<sup>1)</sup>。このように、配管系からのマクロ量の金属元素の溶出挙動と、溶出した金属の粒子径、化学形などの水中での状態は、冷却水の維持に関わる加速器安全および水中放射性核種の挙動に関わる放射線安全の双方から必要な情報である。

我々は以上のような観点から、放射線場における冷却水配管系からの放射性核種や金属元素の溶出挙動を研究するため、加速器や<sup>60</sup>Co照射施設を用いて金属容器等に水を封入した模擬冷却水配管試料に対し種々の放射線を照射し、金属元素の溶出を測定している。本報では予備的な結果ではあるが、電子ライナックで行った溶出実験の結果について報告する。また、加速器冷却水の多元素分析に PIXE 法を適用することを試み、これも予備的な検討と言えるが、実際の加速器冷却水の分析を行ったので報告する。

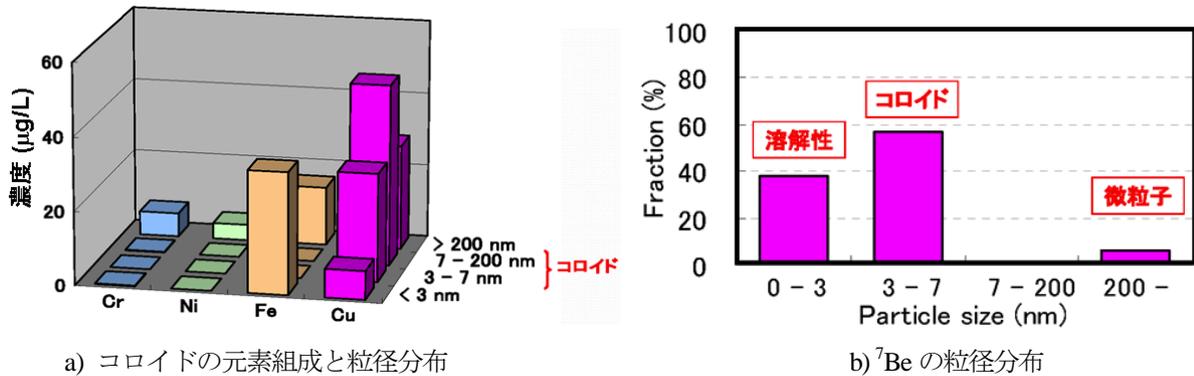


図1 12 GeV 陽子シンクロトロンにおける電磁石冷却水中の金属元素および<sup>7</sup>Beの粒径分布

## 2. 電子ライナックを用いた溶出実験

今回は照射時の加速器室内線量が高いことから電子ライナックを選び、模擬冷却水試料の照射実験を行った。京都大学原子炉実験所内の46 MeV電子ライナックのターゲット室内に図2に示すように模擬冷却水試料を設置し主に制動放射線による放射線照射を行った。模擬冷却水試料は、Cu、Fe、またはAlで作製した模擬配管に純水を満たしたもので、ターゲット後方(0°方向)とターゲット下(90°方向)に設置した。ビーム条件は、電子の加速エネルギーが33 MeV、ビーム電流が約100 μAであり、照射時間は4時間とした。電子ビームはTaのターゲットに照射され、ターゲット内で全停止し、主に前方に制動放射線を、等方的に中性子を放出する。

照射後限外ろ過を行い、0~3、3~7、7~16、16~200 nm、および200 nm以上の5つの粒径範囲に分画した後、ICP発光分析等により金属元素濃度を定量した。図3に結果を示す。

総溶出濃度は、CuがAl、Feよりも10倍程度高く、粒径分布は、CuとAlは3 nm以下と200 nm以上が大部分を占めることがわかった。Feでは0°方向は、粒径が大きいほど高濃度となるが、90°方向は各分画で同程度であった。試料位置の効果としては0°方向の方が90°方向に比べて溶出量が大きく、大きなコロイドを作る傾向があった。放射線照射により金属の水中への溶出とコロイド生成が促進されたと考えられる。

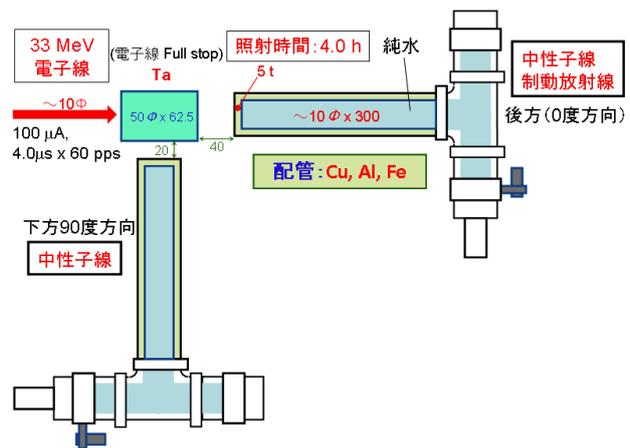


図2 電子ライナックでの模擬冷却水試料の照射実験

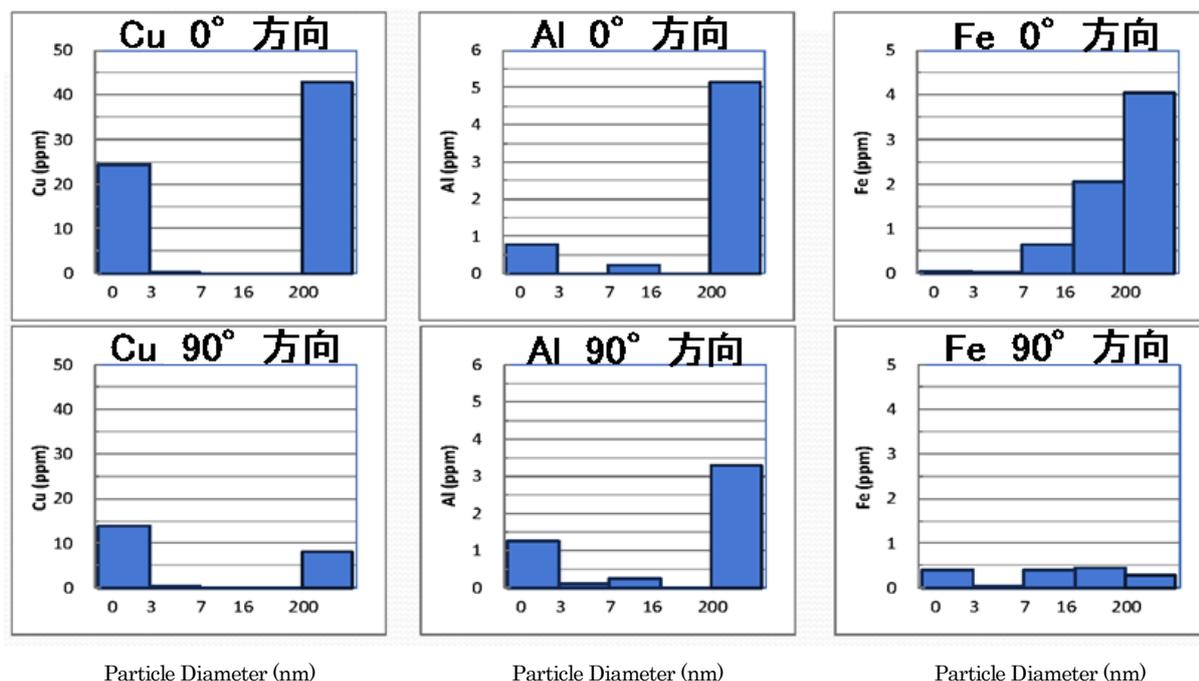


図3 電子ライナックにおける溶出金属元素の粒径分布

### 3. 加速器冷却水の元素分析へのPIXE法の適用(予備的検討)

京都大学原子炉実験所内の種々の加速器冷却水をサンプリングし、限外ろ過を行って粒径別に分画した。幾つかの粒径範囲に分ける場合、ろ過膜上の残渣を直接元素分析できれば、減算による誤差の増加を避けることができる。このためまず、直接照射ホルダーに貼り付けた限外ろ過膜試料のPIXE法による分析を試みた。結果はSiの含量が高すぎ、他の元素の定量は困難であった。限外ろ過膜の支持体としてガラス繊維ろ紙が使用されていることが推定された。支持体からろ過膜のみを剥離することはできないため、ろ過膜を直接分析するのは困難であることがわかった。以下では、PIXE分析試料としてろ液の方を用いた。

以下に46 MeV電子ライナックのターゲット冷却水を限外ろ過し、PIXE分析した例を示す。分析は、日本アイソトープ協会仁科記念サイクロトロンセンターのPIXE分析装置により行った。ろ液試料に内部標準としてIn標準溶液を添加した後、照射ホルダーのバックリングフィルム(Prolene®フィルム)上に滴下し、乾燥したものを照射試料とした。

定量結果を粒径範囲別に図4に示す。冷却水中にはFe, Cu, Znが認められ3 nm以下の粒径範囲(溶解性)で最も濃度が高く、Cuが約400 ppm、Znが約200 ppmに達した。

通常、冷却水中の金属濃度は高くても数10 ppmであり、定量結果は非常に高濃度であった。CuとZnは真鍮の成分であるが、後日調査の結果、冷却水系の線量が高い部分に真鍮製のカップリングが使用されていたことが判明した。これをステンレス鋼のものと交換したところ、CuとZnの濃度は減少した。今回の結果は、放射線場において

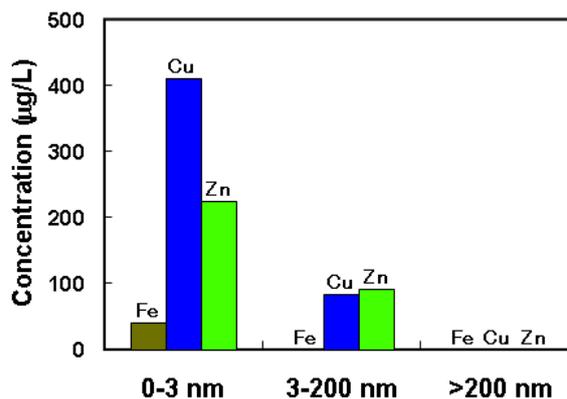


図4 電子ライナックターゲット冷却水における元素濃度の粒径分布

金属部材からの溶出が起きること、および日常的な冷却水中の元素濃度の監視が、加速器の安全管理に直接役立つことを示している。

#### 4. まとめ

大強度/高エネルギー加速器の冷却水中における放射性核種、および溶出した金属元素の挙動は放射線安全・加速器安全の確保に不可欠の情報である。 $^7\text{Be}$  などの放射性核種は、冷却水中に溶出して生成する金属コロイド粒子等に取り込まれると考えられる。

今回、模擬冷却水試料への照射実験を行い、配管系の金属材料である Cu、Al、Fe 等の溶出濃度や水中の粒径などの予備的結果を得ることができた。配管系金属の加速器冷却水への溶出およびコロイドの生成は、放射線場において促進される。また、加速器冷却水の粒径別元素分析に PIXE 法を適用し、日常的な冷却水の元素濃度測定的重要性を示した。

#### 参考文献

- 1) 別所ら, 第 51 回放射線化学討論会, 3O-03 (2008)

## **Analysis of cooling water samples in accelerator facilities**

Y. Oki, K. Bessho<sup>1</sup>, N. Osada<sup>2</sup>, S. Shibata and K. Sera<sup>3</sup>

Research Reactor Institute, Kyoto University  
Kumatori, Sennan-gun, Osaka 590-0494, Japan

<sup>1</sup>High Energy Accelerator Research Organization (KEK)  
Oho, Tsukuba, Ibaraki 305-0801, Japan

<sup>2</sup>Graduate School of Engineering, Kyoto University  
Kyoto daigaku-Katsura, Nishikyo-ku, Kyoto 615-8530, Japan

<sup>3</sup>Cyclotron Research Center, Iwate Medical University  
348-58 Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0173, Japan

### **Abstract**

It is very important that the cooling water system for accelerator components such as magnets and targets is maintained safely in high energy accelerator facilities. Dissolution of metallic elements and radioactive nuclides into the cooling water may be much enhanced in high dose radiation fields in high energy accelerator facilities. In this work, the concentration of the metallic elements in the cooling water collected just after the beam stoppage was determined in order to clarify the dissolution behavior of the metallic elements from the cooling water system in radiation fields. The measurement was carried out in an electron linear accelerator facility. The PIXE method was attempted to be applied to the cooling water measurement.

## PIXE による古墳時代中期「宇田甕」の胎土分析

井上雅孝<sup>1</sup>、早野浩二<sup>2</sup>、世良耕一郎<sup>3</sup>、後藤祥子<sup>4</sup>

<sup>1</sup> 滝沢村教育委員会生涯学習課  
020-0172 岩手県岩手郡滝沢村鶴飼字中鶴飼 47-1

<sup>2</sup> 公益財団法人愛知県埋蔵文化財センター  
498-0017 愛知県弥富市前ヶ須町野方 802-24

<sup>3</sup> 岩手医科大学サイクロトロンセンター  
020-0173 岩手県岩手郡滝沢村滝沢字留が森 348-58

<sup>4</sup> (社) 日本アイソトープ協会滝沢研究所  
020-0173 岩手県岩手郡滝沢村滝沢字留が森 348-1

### 1 はじめに

PIXE 分析は微量な試料で多元素同時分析が可能であるという特徴を持っており、考古学の分野では土器の胎土分析に有効である。胎土分析とは、土器の胎土を構成する元素を定量的に測定し、その科学特性を把握する方法である。土器の胎土（材質）を構成している微量元素の組成は、土器原材料である粘土の採集地周辺の地質的な地域特性を表しており、各地域の土器を分析し、比較対照することにより土器の産地（粘土採集地）を推定することが理論的には可能となりうるからである。

今回、岩手県岩手郡滝沢村大釜館遺跡から古墳時代中期に愛知県を中心として分布する土器「宇田甕」が出土したことから、愛知県出土土器と滝沢村出土土器を比較検討することを目的とし、その結果について経過報告をすることにしたい。

### 2 測定方法

#### 2.1 前処理

土器の素地（胎土）を瑪瑙乳鉢にて粉末化し、その粉末試料を（社）日本アイソトープ協会仁科記念サイクロトロンセンターにて PIXE 分析を行った。

#### 2.2 試料調製

今回の土器試料のように、Fe が突出する試料の場合、そのパイルアップで重元素の高感度・高精度分析が困難となる。そのため、500  $\mu$ m Mylar を用いた測定で Fe 以下の元素を、Fe を選択的に減弱する「特殊吸収体」で Ni 以上の元素の分析を行い、検出器 2 による「吸収体なし」と合わせて、3つのスペクトルを解析した。

### 3 結果

#### 3.1 土器試料

分析試料は、大釜館遺跡出土の宇田甕と在地生産の可能性の高い縄文時代前期前葉と晩期中葉の土器、宇田甕の原産地である愛知県名古屋市志賀公園遺跡と扶桑町高木遺跡出土の宇田甕を対象とした（図1～12）。

表1 土器試料リスト

試料 No	遺跡名	所在地	時代	型式名	$\mu\text{g}/\text{g}$	
					Ca	K
1	大釜館遺跡	岩手県滝沢村	古墳時代中期	宇田式	3770	9806
2	大釜館遺跡	〃	古墳時代中期	宇田式	3217	9089
3	大釜館遺跡	〃	縄文時代前期前葉	仏沢Ⅲ式	2803	8568
4	大釜館遺跡	〃	縄文時代前期前葉	仏沢Ⅲ式	2573	7710
5	大釜館遺跡	〃	縄文時代晩期中葉	大洞 C1~C2	6508	4956
6	大釜館遺跡	〃	縄文時代晩期中葉	大洞 C1~C2	7821	4359
7	志賀公園遺跡	愛知県名古屋市	古墳時代中期	松河戸Ⅱ-2式	2984	10777
8	志賀公園遺跡	〃	古墳時代中期	松河戸Ⅱ-2式	7142	11224
9	志賀公園遺跡	〃	古墳時代中期	宇田Ⅰ-1式	3348	7680
10	志賀公園遺跡	〃	古墳時代中期	宇田Ⅰ-2式	5533	8053
11	志賀公園遺跡	〃	古墳時代中期	宇田Ⅱ-1式	3518	9501
12	高木遺跡	愛知県扶桑町	古墳時代中期	宇田Ⅰ式	1930	6411



図1 大釜館遺跡出土の宇田甕

#### 3.2 分析

土器の胎土分析（元素）では、カリウム（K）、カルシウム（Ca）、鉄（Fe）、ストロンチウム（Sr）、ルビジウム（Rb）などの少量の元素を対象にして地域差を見ていく方法がとられている。

今回はカリウム（K）－カルシウム（Ca）の元素分布（ $\mu\text{g}/\text{g}$ ）を用いることにした。



図2 試料 No1 大釜館遺跡 宇田式



図3 試料 No2 大釜館遺跡 宇田式



図4 試料 No3 大釜館遺跡 仏沢Ⅲ式



図5 試料 No4 大釜館遺跡 仏沢Ⅲ式



図6 試料 No5 大釜館遺跡 大洞 C1~C2 式



図7 試料 No6 大釜館遺跡 大洞 C1~C2 式



図8 試料 No7 志賀公園遺跡 松河戸Ⅱ-2式



図9 試料 No8 志賀公園遺跡 松河戸Ⅱ-2式



図10 試料 No9 志賀公園遺跡 宇田Ⅰ-1式



図11 試料 No10 志賀公園遺跡 宇田Ⅰ-2式



図12 試料 No11 志賀公園遺跡 宇田Ⅱ-1式



図13 試料 No12 高木遺跡 宇田Ⅰ式

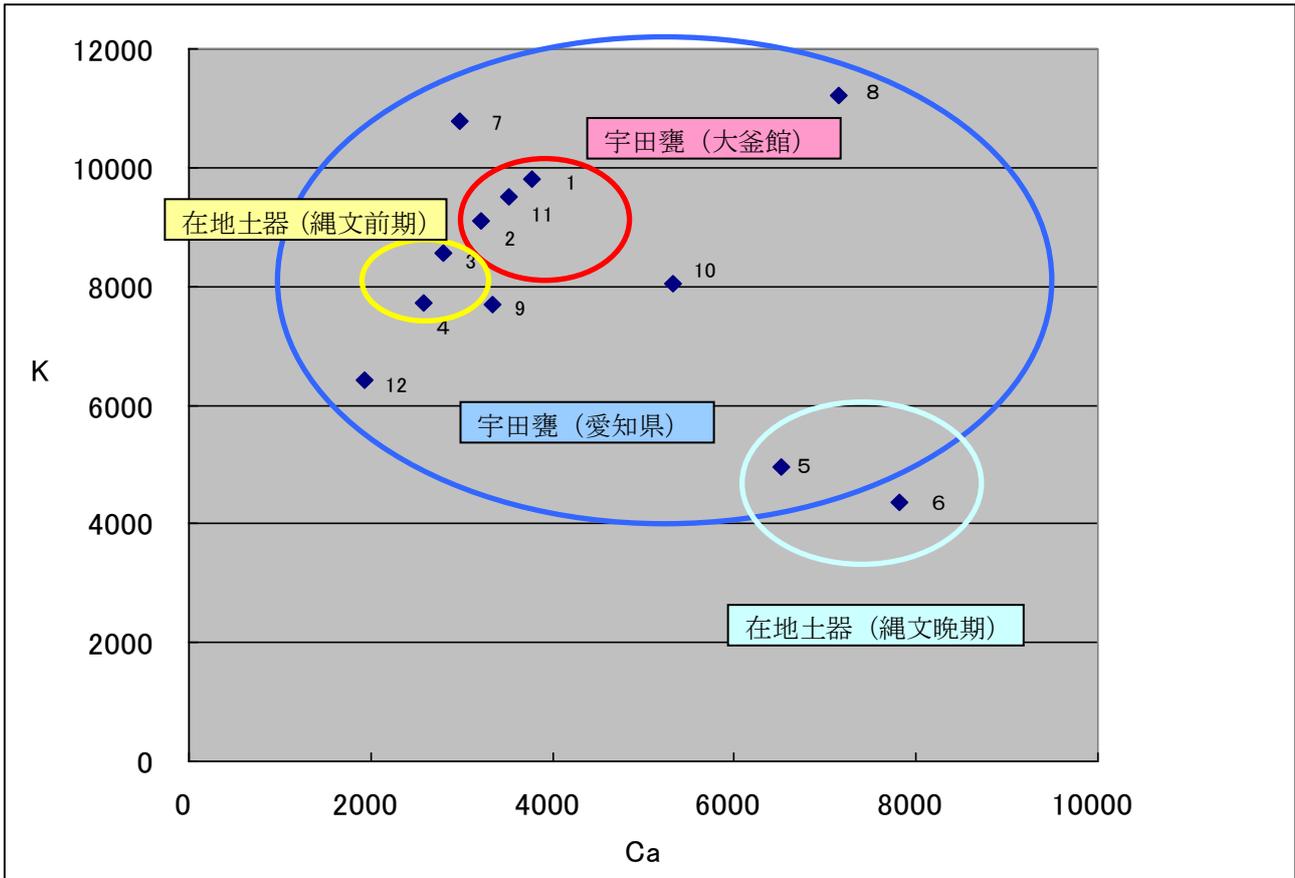


図 14 K-Ca 元素分布図 (μg/g)

#### 4 考 察

測定の結果、大釜館遺跡の宇田甕は、愛知県出土の領域内に含まれ、在地土器（縄文晩期）と離れているため、搬入品の可能性が高い。ただし、在地土器（縄文前期）も搬入品の領域内に含まれているため検討が必要である。

宇田甕試料については6点測定したが、測定数値幅が広く本村出土との比較検証が難しかった。もう少し試料を増やし再検討したい。

## Clay body analysis of "Uda pot" in the mid-Tumulus period by PIXE

M.Inoue<sup>1</sup>, K.Hayano<sup>2</sup>, K.Sera<sup>3</sup> and S.Goto<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Life Takisawa board of education study section  
47-1 Nakaukai, Takizawa, Iwate 020-0172, Japan

<sup>2</sup>Public interest foundation Aichi Prefecture burial cultural asset center Aichi  
802-24 Nogata, Yatomi, Aichi 498-0017, Japan

<sup>3</sup>Cyclotron Research Center, Iwate Medical University  
348-58 Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0173, Japan

<sup>4</sup>Takizawa Institute, Japan Radioisotope Association  
348-1 Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0173, Japan

### Abstract

It aims to presume cultural exchanges of an ancient movement and the trade, etc. by making comparative study analyzing PIXE of the earthenware excavated in the Takisawa-village and another region and clarifying the elementary composition. In this promotion, the earthenware at the tumulus period from [oogamadata] ruins in the Takisawa- village to the Tokai region was excavated, and it was assumed to be a subjectivity to judge the earthenware was from Tokai by comparing the clay body element analyses of the Takisawa- village excavation earthenware and the Tokai region earthenware.

# PIXE法を用いたりんごの産地判別法の開発

## ー産地土壌中の元素の特徴ー

木口 倫<sup>1</sup>、齊藤勝美<sup>2</sup>、世良耕一郎<sup>3</sup>

<sup>1</sup>秋田県立大学生物資源科学部  
010-0195 秋田県秋田市下新城野字街道端西241-438

<sup>2</sup>エヌエス環境株式会社中央技術研究所  
020-0122 岩手県盛岡市みたけ4-3-33

<sup>3</sup>岩手医科大学サイクロトロンセンター  
020-0173 岩手県岩手郡滝沢村滝沢字留が森348-58

## 1 はじめに

我が国では多くの食料を輸入に依存しているため、さまざまな国外産の農畜産物（食品）が市場に出回っている。国外産の農畜産物は国内産に比べ市場価値が低いいため、産地偽装の対象になりやすく、国外産の農畜産物を国内産と表示して高値で市場取引を行うといった悪質なケースがしばしば報道され、大きな社会問題となっている。こうした産地偽装を防ぐために、科学的な手法を用いた産地判別技術の開発が求められている。産地判別技術は、これまで、DNA型<sup>1)</sup>、有機成分<sup>2)</sup>、安定同位体比<sup>3)</sup>、無機元素組成<sup>4-9)</sup>等を用いた種々の方法が検討、開発されている。野菜や果物のような農産物の場合、主として農産物が生育した土壌中の元素組成の差異が農産物に反映されることに着目した方法が検討されており、コーヒー<sup>4)</sup>、茶<sup>5)</sup>、ジャガイモ<sup>6)</sup>、コム<sup>7)</sup>等を対象とした研究例が報告されている。しかし、生果物を対象とした例は少なく<sup>8、9)</sup>、未だに実用に耐えうる技術は確立されていない。

本研究では、PIXE法を用いたりんごの実用的な産地判別法の開発を目指して、りんご品種の「ふじ」を対象に、その種子と果梗（へた）、およびその土壌中の元素組成を比較、検討している。ここでは、秋田県内の2か所のりんご産地から採取した土壌試料中の元素の特徴（種類と濃度レベル）とその比較を行った結果を報告する。

## 2 方法

### 2.1 試料採取

試料採取は、2009年10月～11月に秋田県内のりんご産地の鹿角市および横手市のりんご園地内でそれぞれ行った。検討対象とした品種は「ふじ」とし、「ふじ」の栽培エリアを代表する3樹を選択して、その樹冠下5カ所（木の幹付近およびその四方）の上層（0～20cm）および下層（20～40cm）から土壌コアを採取した。なお、採取箇所の土壌が草地の場合は、草を予め鎌で除去した後、採取を行った。土壌コアの採取には半円形オーガー（φ30mm、採土部100cm）を用いた。採取土壌はそれぞれ個別にポリエチレンチャック付ラ

ミネート袋に入れて実験室に持ち帰り、土壌調製までの間、4℃以下で保存した。

## 2.2 土壌試料調製

採取土壌の風乾操作は、ポリプロピレン製の清浄なバット上にプラスチック製葉さじを用いて均一になるように解した後、開始した。土壌の風乾は、クリーンブース（クラス10000）内で行った。土壌の風乾操作は、1～2日間隔で土壌の粉碎・混合およびバットの秤量を繰り返し、その重量がほぼ一定になるまで行った。風乾操作終了後の土壌は、2mmメッシュのふるいを通させた後、層ごとに5カ所の風乾土壌をそれぞれ等量分取、均一に混合したものを土壌調製試料とした。また、各土壌調製試料の含水率と強熱減量については、それぞれ110℃で2時間乾燥および600℃で1時間加熱し、その前後の重量を測定して算出した。

## 2.3 PIXE分析

土壌調製試料50mgを分取し、既報<sup>10)</sup>にしたがって粉末内部標準法（Pd-C）を用いて調製したものをPIXE分析に供した。検出された元素のうち、測定精度が満足できた元素を分析値として採用し、各元素の定量値を算出した。

# 3 結果と考察

## 3.1 鹿角の土壌試料中の元素の特徴

採取された土壌試料中の元素およびその濃度の定量結果をTable 1に示す。鹿角の上層の土壌試料では、24種類の元素が定量された。上層の土壌試料で1000  $\mu$  g/g-dry以上の濃度で定量された元素（高濃度元素）は、Na、Mg、Al、Si、K、Ca、Ti、Feの8種類であった。これらの濃度のオーダーは、Si、Al、Feが $10^5$ で顕著に高く、その他の元素は $10^3$ であった。1000  $\mu$  g/g-dry未満の濃度で定量された元素（低濃度元素）は、S、Cl、V、Cr、Mn、Cu、Zn、Ga、As、Br、Rb、Sr、Y、Zr、Nb、Pbの16種類であった。低濃度元素の濃度のオーダーは $10^0$ ～ $10^2$ であった。また、定量された元素濃度のばらつき（相対標準偏差：RSD）は、高濃度元素では10～22%、低濃度元素では6.6～42%であった。高濃度元素のK、Ca、Mgについては、施肥や土壌改良資材によって圃場内では人為的に一定量投入される場合が多い。一方、低濃度元素のなかでGa、As、Br、Sr、Zr、Pbなどについては、植物の必須元素でもなく、施肥や土壌改良資材によって人為的に投入される可能性は低い。したがって、低濃度元素の多くは産地の土壌環境の影響を反映しているものと推察され、高濃度元素に比べ、ばらつきが大きい結果になったと考えられる。

下層の土壌試料では、上層の土壌試料と同一の元素で24種類が定量され、高濃度元素は8種類、低濃度元素は16種類であった。これらの濃度のオーダーは、上層の土壌試料と同じく、高濃度元素では $10^3$ ～ $10^5$ で顕著に高かった。低濃度元素の濃度のオーダーは $10^0$ ～ $10^2$ で、ZnとNbを除いて上層の土壌試料と同じ濃度のオーダーであった。また、下層の土壌試料の濃度を上層のものと比較すると、高濃度元素ではCaおよびNa、低濃度元素では、Br、Rb、Cr、Nbを除くほとんどの元素が上層の土壌試料の濃度と比べ減少する傾向を示した。これは、上層に比べ下層の土壌試料の強熱減量値がやや高く（Table 1）、有機物が相対的に多いため、その希釈効果によるものと推察される。

## 3.2 横手の土壌試料中の元素の特徴

横手の上層の土壌試料では、23種類の元素が定量された（Table 1）。高濃度元素は鹿角の土壌試料と同じくNa、Mg、Al、Si、K、Ca、Ti、Feの8種類が定量された。低濃度元素は、S、Cl、Cr、Mn、Cu、Zn、Ga、As、Br、Rb、Sr、Zr、Nb、Mo、Pbの15種類が定量された。高濃度および低濃度元素の濃度のオーダーは、鹿角の土壌試料と同じくそれぞれ $10^3$ ～ $10^5$ および $10^0$ ～ $10^2$ であった。また、元素濃度のばらつきは、高濃度元素では2.4～29%、低濃度元素では6.0～34%であり、差はみられなかった。

下層の土壌試料では、24種類の元素が定量され、高濃度元素は上層の土壌試料と同じく8種類、低濃度元素はBaを加えた16種類であった。高濃度および低濃度元素の濃度のオーダーは、それぞれ $10^3$ ～ $10^5$ および $10^0$ ～ $10^2$ で、上層の土壌試料と同様であった。また、下層の土壌試料の濃度を上層のものと比較すると、高濃度元素のCaとNaのみが鹿角の土壌試料と同様に減少する傾向を示した。一方、S、Mn、Br、Rb、Sr、Zr、Pbの複数の低濃度元素は、鹿角の土壌試料と反対に、上層の土壌試料の濃度と比べ増加する傾向を示した。これは、

上層に比べ下層の土壤試料の強熱減量値がやや低く、有機物が相対的に少ないため、その希釈効果がみられなかったことによるものと推察される。

### 3.3 鹿角および横手の土壤試料中の元素の比較

鹿角および横手の土壤試料から定量された元素を比較した。鹿角および横手の土壤試料の両方から定量された元素は、高濃度元素についてはNa、Mg、Al、Si、K、Ca、Ti、Feの8種類、低濃度元素についてはS、Cl、Cr、Mn、Cu、Zn、Ga、As、Br、Rb、Sr、Zr、Nb、Pbの14種類であった。鹿角又は横手の土壤試料のどちらか一方で定量された元素は、鹿角の土壤試料ではVおよびY、横手の土壤試料ではMoおよびBaであり、これらは各産地の土壤に特有の元素であると考えられる。特に、Baについてはりんごの果梗部に濃縮される特徴的な元素でその濃度も高いと報告されており<sup>9)</sup>、産地のりんごを判別する指標元素のひとつとして利用できると考えられる。

Table 1 Element concentrations of soil samples from Kazuno and Yokote.

Element	Concentration (µg/g-dry)											
	Kazuno						Yokote					
	Upper layer (0-20 cm)			Lower layer (20-40 cm)			Upper layer (0-20 cm)			Lower layer (20-40 cm)		
	Mean	RSD(%)	Range	Mean	RSD(%)	Range	Mean	RSD(%)	Range	Mean	RSD(%)	Range
Na	2660	15	2200 2920	2290	21	1890 2820	2060	2.4	2010 2110	1950	11	1770 2190
Mg	1140	20	942 1380	1660	27	1310 2160	1970	29	1530 2610	2400	34	1530 3160
Al	27600	14	23500 31000	35400	20	30100 43300	25800	25	19100 32000	32600	32	21200 42100
Si	69200	12	62700 78300	73600	20	62900 90100	82500	27	59900 103000	88800	40	55500 125000
S	365	16	297 410	320	37	207 442	257	19	208 307	275	30	180 331
Cl	824	7.6	751 867	801	17	649 896	627	6.7	599 675	592	11	527 653
K	2340	16	1990 2730	2370	1.8	2310 2390	4270	14	3570 4750	5070	19	4240 6140
Ca	7550	10	6880 8370	5330	10	4720 5770	2380	25	1750 2910	2010	11	1760 2170
Ti	1730	17	1450 2040	2140	5.3	2000 2210	2030	23	1480 2370	2580	15	2120 2830
V	34.7	-	ND 44.4	10.8	-	ND 11.6	ND	-	ND ND	ND	-	ND ND
Cr	26.1	10	22.9 28.0	33.2	33	20.6 39.7	28.9	10	26.5 32.3	16.7	49	8.13 24.3
Mn	717	17	579 820	675	8.5	620 735	361	19	283 416	518	14	448 592
Fe	20900	22	16900 25800	24300	11	21500 26700	24400	19	19100 28000	30900	17	25500 36100
Cu	45.0	6.6	42.1 48.0	33.2	33	22.2 44.3	76.5	15	68.4 89.7	22.0	35	16.0 30.8
Zn	108	17	87.5 124	81.5	14	73.2 95.0	331	6.0	307 342	190	14	159 207
Ga	11.5	26	9.44 15.0	10.6	21	7.99 12.1	14.9	25	10.9 18.2	11.7	22	8.74 13.3
As	23.9	41	16.5 34.8	16.0	28	10.9 18.5	10.7	8.0	9.87 11.5	10.2	6.4	9.66 10.9
Br	100	42	75.0 148	155	10	138 169	28.1	7.7	26.5 30.5	48.2	12	41.8 53.4
Rb	28.3	16	22.9 31.0	29.9	15	24.9 34.0	29.0	30	19.8 37.1	36.2	25	27.8 45.7
Sr	66.8	31	43.2 79.7	56.5	30	44.2 75.9	53.8	20	41.5 61.4	57.2	12	49.1 62.7
Y	28.3	10	25.7 31.4	23.3	18	20.4 28.1	ND	-	ND ND	ND	-	ND ND
Zr	120	26	83.5 138	94.1	7.4	86.8 100	77.5	12	69.6 88.1	96.3	15	84.3 112
Nb	9.02	-	ND 9.68	10.0	32	7.15 13.3	7.30	-	ND 10.9	5.23	-	ND 5.54
Mo	ND	-	ND ND	ND	-	ND ND	9.40	34	ND 11.6	7.75	54	4.86 12.5
Ba	ND	-	ND ND	ND	-	ND ND	ND	-	ND ND	114	51	62.1 175
Pb	79.6	23	61.9 98.9	57.9	23	45.5 72.0	34.4	12	31.7 39.3	40.2	17	33.0 46.2
Water content (%)	6.3	15	5.4 7.3	8.2	1.9	8.0 8.3	4.4	2.6	4.3 4.5	4.5	8.0	4.1 4.8
Ignition loss (%)	18	15	15 21	21	1.4	21 21	12	3.7	12 13	10	8.6	9.1 11

RSD (%): Relative standard deviation, “-”: Not calculated.

### 参考文献

- 1) 大坪研一, 中村澄子, 今村太郎: 米のPCR品種判別におけるコシヒカリ用判別プライマーセットの開発, 農芸化学誌, 76, 388-397 (2002).
- 2) Hernandez, B., Castellote, A.I., Permanyer, J.J., Triglyceride analysis of cocoa beans from different geographical origins. Food chemistry, 41, 269-276 (1991).
- 3) Angerosa, F., Breas, O., Contento, S., Guillou, C., Reniero, F., Sada, E., Application of stable isotope ratio analysis to the characterization of the geographical origin of olive oils. J. Agric. Food Chem., 47, 1013-1017 (1999).
- 4) Anderson, K.A., Smith, B.W., Chemical profiling to difference geographic growing origins of coffee. J. Agric. Food Chem., 50, 2068-2075 (2002).
- 5) Marcos, A., Fisher, A., Rea, G., Hill, S.J., Preliminary study using trace element concentrations and a chemometrics approach to determine the geographical origin of tea. J. Anal. At. Spectrom., 13, 521-525 (1998).
- 6) Anderson, K.A., Magnuson, B.A., Tschirgi, M.L., Smith, B., Determination the geographic origin of potatoes with trace metal analysis using statistical and neural network classifiers. J. Agric. Food Chem., 47, 1568-1575 (1999).

- 7) 安井明美, 進藤久美子: 玄米中の無機元素組成による産地判別, 分析化学, 49, 6, 405-410 (2000).
- 8) 井上博道, 梅宮義章, 喜多正幸: ニホンナシ ‘二十世紀’ の果実中元素濃度を用いた産地判別, 日本土壤肥料学会誌, 78, 567-571 (2007).
- 9) 井上博道, 梅宮善章, 喜多正幸, 羽山裕子, 中村ゆり: リンゴ「ふじ」の果梗および種子中元素濃度を用いた日本産と外国産との判別, 日本土壤肥料学会誌, 80, 583-588 (2009).
- 10) Saitoh, K., Sera, K., Gotoh, T., Nakamura, M., Comparison of elemental quantity by PIXE and ICP-MS and/or ICP-AES for NIST standards, Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B, 189, 86-93 (2002).

**Method development for identification of geographical origin of  
Japanese apples by PIXE analysis  
-Characteristic of elements in soils from apple producing regions-**

O.kiguchi<sup>1</sup>, K.Saitoh<sup>2</sup> and K.Sera<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Bioresource Science, Akita Prefectural University  
241-438 Kaidobata-nishi, Shimoshinjo-nakano, Akita 010-0195, Japan

<sup>2</sup>Central Technical Research Institute, NS Environmental Science Consultant Corporation  
4-3-33 Mitake, Morioka, Iwate 020-0122, Japan

<sup>3</sup>Cyclotron Research Center, Iwate Medical University  
348-58 Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0173, Japan

**Abstract**

We studied characteristic of elements in soil samples from apple producing regions to develop method for identification of geographical origin of Japanese apples by PIXE analysis. Soils of Japanese 'Fuji' apples were examined in this study. Sampling sites were selected from Kazuno and Yokote city that were apple producing regions in Akita Pref. in Japan. Soil samples were collected from upper (0-20 cm) and lower (20-40 cm) layers in their sites. Twenty four elements were respectively determined from Kazuno and Yokote samples. The following elements were respectively determined from Kazuno and Yokote samples: "Na, Mg, Al, Si, K, Ca, Ti, V, Fe, Cl, Cr, Mn, Cu, Zn, Ga, As, Br, Rb, Sr, Y, Zr, Nb, Pb"; "Na, Mg, Al, Si, K, Ca, Ti, Fe, Cl, Cr, Mn, Cu, Zn, Ga, As, Br, Rb, Sr, Zr, Nb, Mo, Ba, Pb". Both soil samples in Kazuno and Yokote were rich in "Na, Mg, Al, Si, K, Ca, Ti, Fe". Concentration ranges of those elements were three orders of magnitude higher than those of other elements ( $\geq 1000 \mu\text{g/g-dry}$ ). Soil samples in Kazuno were poor in "S, Cl, V, Cr, Mn, Cu, Zn, Ga, As, Br, Rb, Sr, Y, Zr, Nb, Pb". Regarding soil samples in Yokote, they were poor in "S, Cl, Cr, Mn, Cu, Zn, Ga, As, Br, Rb, Sr, Zr, Nb, Mo, Ba, Pb". Concentration ranges of those elements were three orders of magnitude lower than those of other elements ( $< 1000 \mu\text{g/g-dry}$ ). "V and Y" and "Mo and Ba" were respectively determined from Kazuno and Yokote samples alone.

## 猛禽類羽根・羽毛中金属元素の PIXE 分析

千葉啓子<sup>1</sup>、平塚 明<sup>2</sup>、由井正敏<sup>3</sup>、海田輝之<sup>4</sup>、菅木洋一<sup>5</sup>、世良耕一郎<sup>6</sup>

<sup>1</sup>岩手県立大学盛岡短期大学部生活科学科  
020-0193 岩手県岩手郡滝沢村滝沢字巣子 152-52

<sup>2</sup>岩手県立大学総合政策学部  
020-0193 岩手県岩手郡滝沢村滝沢字巣子 152-52

<sup>3</sup>東北鳥類研究所  
020-0173 岩手県岩手郡滝沢村滝沢字巣子 152-137

<sup>4</sup>岩手大学工学部  
020-8550 岩手県盛岡市上田 3-18-8

<sup>5</sup>いであ株式会社環境創造研究所  
421-0212 静岡県焼津市利右衛門 1334-5

<sup>6</sup>岩手医科大学サイクロトロンセンター  
020-0173 岩手県岩手郡滝沢村滝沢字留が森 348-58

### 1. はじめに

環境中の汚染化学物質の存在によって、生態系では食物連鎖の上位にいる猛禽類、とくに魚食性の猛禽類に、より大きな影響が現れると推測されている<sup>1)</sup>が、その実態は十分に検討されていない。

例えば、魚食性で海岸部をおもな生息地とするタカ科ミサゴは、近年では内陸部へ進出しているのが観察されているが、生息地移動の原因は明確ではない。そこで我々は、岩手県内陸部のダム湖近傍を生息地とするミサゴを対象とし、生体試料や環境試料中の環境汚染化学物質を分析することにより、ミサゴの生態に及ぼす影響を明らかにすることを目的として調査を実施した<sup>2)</sup>。

猛禽類を始め、鳥類の羽根や羽毛は環境汚染、とくに重金属類による汚染の指標としても有用であることが知られている<sup>3)</sup>。今回、ミサゴの羽根・羽毛試料の他に对照として同じ魚食性の海鳥及び肉食・雑食性の猛禽類の羽根・羽毛を採取し、これらの試料について、有害金属元素であるクロム(Cr)、ヒ素(As)、カドミウム(Cd)、水銀(Hg)および鉛(Pb)濃度を PIXE 分析し、ミサゴにおける有害金属汚染の実態を検討したので報告する。

## 2. 対象と方法

### 2.1 調査地域

調査地の四十四田ダム湖は北上川の上流域に位置しており、岩手県内5大ダムの一つである。北上川は岩手県北部の岩手町御堂を水源とし、岩手県、宮城県にまたがり、流域面積では東北最大の河川であるが、昭和47年まで操業していた松尾鉱山からの高濃度の重金属を含んだ酸性水が北上川支流に流入し、流域の自然環境や農業に大きな被害をもたらした。新中和処理施設と四十四田ダムの完成で水質は浄化されたが、ダム湖の底泥堆積物中には中和処理開始以前に流入した重金属類が堆積し、現在に至った経緯がある。四十四田ダムでは1998年に始めてミサゴの生息及び繁殖が確認されて以来、その後の建設省河川局の河川水辺の国勢調査において、春から秋に複数のつがいならびに幼鳥を連れたミサゴが観察されている<sup>2)</sup>。



図1 調査地域（赤の楕円で囲まれた地域）

### 2.2 対象

四十四田ダム近傍の独立行政法人「農業・食品産業技術総合研究機関・東北農業研究センター」敷地内のアカマツ樹上（約20m）に営巣するミサゴつがいを対象とした。このつがいは最近の河川水辺の国勢調査において確認されたつがいのうちの一組と推測される。今回の調査においては2009年3月に越冬した暖地漂行先から帰巣を確認し、観察を開始した。



図2 抱卵中のつがい



図3 湖上で過ごすつがい

## 2.3 試料採取

ミサゴつがいの換羽した羽根および胸部羽毛を巣および営巣木周辺から採取した。対照試料として、四十四田と同じ内陸部の宮守村および沿岸部のむつ市海岸で採取したミサゴの羽根、八戸市海岸で採取した魚食性のウミネコの羽根、四十四田ダム近傍（滝沢村）および早池峰山で採取した肉食性猛禽類フクロウの羽根についても分析に供した。今回の報告には、換羽した風切羽根（滝沢村フクロウを除き、初列風切）を使用し、羽根内弁の褐色部位を測定部位とした。

## 2.4 試料の前処理及び分析

羽根は表面の汚れをアセトンで軽く拭いたのち、風乾した羽根内弁の中央部分を羽軸に垂直に幅 3mm（長さは 20mm 程度）を切り出し、ターゲットフレーム中央の円形にくりぬいた部分に直接貼り付けた。PIXE 分析は世良の開発した無標準法<sup>4)</sup>により、(社)日本アイソトープ協会仁科記念サイクロトロンセンターで行った。

## 3. 結果と考察

### ミサゴ他鳥類羽根中の重金属元素濃度

ミサゴをはじめ、鳥類の風切羽根からは 20 種類以上の元素の存在が認められたが、定量性の低い元素も多かった。表 1 にはミサゴ、同じ魚食性のウミネコ、雑食性のフクロウの風切羽根における、有害重金属類の Cr、As、Cd、Hg 及び Pb 濃度 ( $\mu\text{g/g}$ ) を示した。

表 1 ミサゴ他鳥類羽根中の重金属元素含有量 ( $\mu\text{g/g}$ )

		Cr	As	Cd	Hg	Pb
ミサゴ	対象 (盛岡市)	tr.	—	—	25.2±2.3	3.40±1.32
	宮守村	—	—	—	34.7±2.0	6.82±1.15
	むつ市	tr.	tr.	—	20.0±2.4	27.6±2.22
ウミネコ	八戸市	1.64±0.35	—	—	20.5±1.2	6.06±0.79
フクロウ	滝沢村	—	1.20±0.39	—	4.3±1.0	19.5±2.84
	早池峰山	—	tr.	—	20.3±1.6	5.15±1.01

tr.: 定量下限以下      —: 未検出

Hg と Pb は全ての鳥類で検出された (Hg:4.3–34.7 $\mu\text{g/g}$ 、Pb: 3.4–27.6 $\mu\text{g/g}$ )。Hg は滝沢村のフクロウを除いて 20 $\mu\text{g/g}$  を超えており、Hahn et al.<sup>5)</sup> によりミサゴ初列風切羽根の Hg 濃度は 6–16 $\mu\text{g/g}$  と報告されているのに比較して全体的に高濃度であった。Yashoshima et al.<sup>3)</sup> はクマタカにおいて羽毛部位別の重金属濃度を測定し、同一個体でも部位によって元素濃度に差がみられ、Hg は初列風切羽根で他の部位に比較して高濃度であったと報告している。今回の結果でも羽根の Hg 濃度には食性による差は明確ではなく、初列風切羽で高濃度を示す特徴がみられた。Pb は一般的に海鳥に比べて陸鳥で高濃度であり、とくに鉛銃弾による影響として鉛中毒が指摘されている<sup>6)</sup> が、今回の濃度の違いは食性や羽根の部位による説明は難しく、理由は明らかでない。一方、Cr および As は定量性が低く、多くが痕跡程度か未検

出であった。クマタカでは Cd 濃度が 1980 年代以降増加傾向にあると報告されている<sup>3)</sup>が、今回はいずれの鳥類からも検出されなかった。

猛禽類の多くは絶滅危惧種もしくは準絶滅危惧種であることが多い。猛禽類は捕獲が難しく、分析試料数を増やす事は容易ではないが、有害金属元素の環境汚染がこれら貴重な鳥類の生態にいかに関与しているかを明らかにし、早急に保全対策を講じていくことが重要と考える。

#### 4. まとめ

今回、自然界における食物連鎖上の高次捕食者である魚食性猛禽類ミサゴと、対照鳥類の羽根の PIXE 分析を行い、環境汚染、とくに重金属元素類による汚染の実態を検討した。ミサゴ他、鳥類の羽根において、20 種以上の元素組成が確認されたが、定量性の低い元素も多かった。Hg と Pb は全ての鳥類で検出され、食性による差は明らかでなかった。また、Cr および As は定量性が低く、多くが痕跡程度か未検出であった。さらに Cd はいずれの鳥類からも検出されなかった。

#### 参考文献

- 1) 安田雅俊, 猛禽類における有毒化学物質の蓄積, 私たちの自然, No.513, 20-23 (2006).
- 2) 由井正敏, 平塚明, 千葉啓子, 海田輝之, 世良耕一郎, 荻木洋一, 食政務菌類ミサゴの生態とその食物連鎖に関する基礎的研究, H20 年度 ExTEND2005 基盤的研究フーズビリティースタディー研究成果報告書 (2009).
- 3) M. Yashoshima, K. Sakemi, S. Asai, S. Harada, Y. Ikeda, T. Hattori and S. Yamagishi, Characteristics and temporal variations of trace element levels in feather samples of Hodgson's Hawk-eagle in Japan, J. Yamashina Inst. Ornithol., 41, 153-169 (2010).
- 4) 世良耕一郎, ニッ川章二, 畠山智他“無標準定量法の開発—第二報”NMCC 共同利用研究成果報文集 5, 223-248 (1997).
- 5) Hahn, E., Hahn, K. & Stoepler, M., Bird feathers as bioindicators in areas of the German Environmental Specimen Bank-bioaccumulation of mercury in food chains and exogenous deposition of atmospheric pollution with lead and cadmium, Science of the Total Environment 139/140: 259-270 (1993).
- 6) Miller, M.J.R., Restani, M., Harmata, A.R., Bortolotti, G.R. & Wayland, M.E., A comparison of blood lead levels in bald eagles from two regions on the Great Plains of North America, J. of Wildlife Diseases, 34: 704-714 (1998).

## PIXE analysis of trace element levels in feather samples of birds of prey

Keiko Chiba<sup>1</sup>, Akira Hiratsuka<sup>2</sup>, Masatoshi Yui<sup>3</sup>,  
Teruyuki Umita<sup>4</sup>, Youichi Chisaki<sup>5</sup> and Kouichiro Sera<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Science of Living Department, Morioka Junior College, Iwate Prefectural University  
152-52 Sugo, Takizawa, Iwate 020-0193, Japan

<sup>2</sup> Faculty of Policy Studies, Iwate Prefectural University  
152-52 Sugo, Takizawa, Iwate 020-0193, Japan

<sup>3</sup> Tohoku Ornithological Research Institute  
152-137 Sugo, Takizawa, Iwate 020-0173, Japan

<sup>4</sup> Faculty of Engineering, Iwate University  
4-3-5 Ueda, Morioka, Iwate 020-8551 Japan

<sup>5</sup> IDEA Consultants, Inc.  
1334-5 Riemon, Yaizu, Shizuoka 421-0212, Japan

<sup>6</sup> Cyclotron Research Center, Iwate Medical University  
348-58 Tamegamori, Takizawa, Iwate 020-0173, Japan

### Abstract

The purpose of this research is to observe the effects of harmful trace elements in birds of prey.

The feathers of Osprey *Pandion haliaetus*, Black-tailed Gull *Larus crassirostris* and Ural Owl *Strix uralensis* were analyzed for 5 harmful trace elements (Cr, As, Cd, Hg, Pb) using PIXE at NMCC. The concentration of Hg and Pb were detected from all samples. Range of those elements' concentrations were as follows: (Hg 4.3–34.7µg/g, Pb 3.4–27.6µg/g). It seemed that the difference of Hg concentrations was not caused by the difference of food habits among birds of prey. Cr and As were not detected from most of samples. Cd was not detected from all samples.

## Bangladesh における水系汚染と食のリスク評価

世良耕一郎<sup>1</sup>、MD. Shafiqul Islam<sup>2</sup>、高辻俊宏<sup>2</sup>、中村 剛<sup>2</sup>  
後藤祥子<sup>3</sup>、高橋千衣子<sup>3</sup>、齋藤義弘<sup>3</sup>

<sup>1</sup>岩手医科大学サイクロトロンセンター  
〒020-0173 岩手県岩手郡滝沢村滝沢留が森 348-58

<sup>2</sup>長崎大学環境科学部  
〒852-8521 長崎市文教町1番14号

<sup>3</sup>日本アイソトープ協会仁科記念サイクロトロンセンター  
〒020-0173 岩手県岩手郡滝沢村滝沢留が森 348-58

### 1. はじめに

我々は十数年前から、世界各国における環境問題に取り組んできた。特にアジアにおいては、中国におけるヒ素・フッ素中毒問題で一億人以上<sup>1)</sup>、Bangladesh や India におけるヒ素汚染問題で3000万人<sup>2,3)</sup>、また東・東南アジア諸国における small-scale mining (零細金鉱山) の水銀問題でも数百万人の人民が被害を受けていると言われており<sup>4,5)</sup>、その他にもタイにおける塩害問題や各国における風土病など<sup>6)</sup>、重金属が関与する環境問題が多発している。これらは人的被害の規模では世界最大の環境問題と言え、我々は15年前からこれらの問題を主題とした多くの研究に参加してきた。

これらの問題解決に当たっては、先ず実態調査による現状の正しい把握が必要となる。飲料水や農業用水などの水系汚染、農作物や魚類などの食物汚染、大気浮遊粉塵などの大気汚染、土壌の汚染など環境全体の汚染の把握とともに、実際の人的被害状況の把握が不可欠であり、そのためには住民の体内曝露評価が重要な意味を持つ。我々は、上記それぞれの問題に対し、毛髪、尿、ツメ、血液など人体から採取される試料の分析による曝露評価を行ってきた。中でも、最も体内元素濃度を正しく反映するとされる毛髪試料については、すでに20000近くの試料の分析を行っている。特に Bangladesh におけるヒ素問題に関しては、Pabuna 地方の住民から採取された2000を超える毛髪試料の分析が行われ、住民の毛髪中ヒ素濃度の平均値がおおよそ10 ppm であり健常日本人のその約30倍であること、さらに皮膚癌・keratosis (角化症) など重篤な症状を呈する中毒患者の体内 Se 濃度が低い傾向があり、Se 不足も中毒症発症の一因となっている可能性があるなど、興味深い結果が得られている<sup>2,3)</sup>。

著者のうち二人(Shafiqul Islam、Sera)は2009年10月に Bangladesh でも最もヒ素汚染が深刻な Comilla 地方を試料採取と調査のために訪れた。その時に確認できたことだが、多くの部落では、2-3年前に新たに掘られた安全な井戸が存在していた。汚染された井戸は200m程度の深さに掘られており、浅い地

層にはヒ素の鉱脈が存在する。一方新たな井戸は 800 m 程の深部に掘られておりヒ素フリーであることが確認されている。安全な井戸の存在する部落においては、この 2-3 年間住民はその水のみを飲料として利用している。しかし我々が現地で見えたものは、幼い子供たちを含め多くの住民に *keratosis* や *leucomelanosis* (皮膚の遺伝子変異) などヒ素中毒特有の症状が出続けている現実だった。この現状から推定されることは、飲料水以外の経路からの曝露が継続していることである。以前、乾期には汚染された井水を灌漑用水に使用していたこともあり、環境全体に汚染が広がっている。特に農業用水の汚染による農作物の汚染、また多目的池(通常は洗濯、水浴、家畜の飲料水、淡水魚やエビの養殖に用いられ、乾期には農業用水にも使用される)の汚染による食用魚類の汚染などが、体内曝露の主因となっていることが予想される。

この Bangladesh での調査研究は、平成 21 年度科学研究費挑戦的萌芽研究「大規模環境リスク評価のための統計解析法の実証的研究」(研究代表者:長崎大学環境科学部 中村剛教授)の一環として行われ、筆者は分担者として参加している。本研究は主に毛髪試料の分析結果から、中毒症の発症などのリスク評価を行うための統計解析法の確立を目的としており、毛髪試料分析結果と住民の健康調査が基礎データとなる。筆者等が開発した無標準法<sup>7)</sup>を毛髪試料に応用した「無調製・無標準法<sup>8,9)</sup>」が信頼性の高い統計解析可能なデータを与えることから、当課題の分析には NMCC の PIXE が用いられている。今回の現地調査で被曝の主経路が食品であることがほぼ明らかになり、その源となる水系汚染の基礎データの取得が本質的であることがわかった。世良は今回の訪問前から「食のリスク評価」の必要性を認識し、その源となる水試料分析の準備を行っていたため、Comilla 滞在中、飲料水・農業用水・池の水・河川水・果汁など多種の液体試料の採取を同地方の複数の部落において行った。本稿においてその分析結果の詳細な報告を行う。

しかし液体試料を国際的に運搬するには検疫上の問題が生じる場合があり、多数の液体試料を日本に運ぶことは困難である。そのため、今回は現地のホテルで調製可能な簡易調製方法を開発し、その精度の確認も予め行った。完全に乾燥させターゲットとした試料に対しては、検疫上の問題は発生しない。

## 2. 実験方法

### 2.1 試料採取及び現地における調製

水試料は、Banglish Village (Uttor Jhalam Union, Laksham Upazilla) (試料番号 B11-1~11, B12-1~6 に対応), Sharifpur Village (Sharifpur Union, Monohordi Upazilla) (同 B12-7~12-13) 及び Fotepur village (Kandirper Union, Lanksham Upazilla) (同 B13-1~9) の Comilla 地方の 3 つの村にまたがり行われた。Comilla 地方は、首都 Dhaka から 120 km ほど東南東に離れた場所にあり、井戸水のヒ素汚染が Bangladesh の環境基準 0.05 ppm を超える井戸の割合が最も高く、最も多くのヒ素中毒患者が発生している地方である。採取された水試料中、井水は 13 試料であるが、そのうち 5 試料は汚染されていることが以前から確認されており、現在は洗濯や掃除にのみ使用されている。残る 8 試料は多くがヒ素フリーとされており飲料用に使用されているが、住民への情報が錯綜している場合も多く、安全性が確認されていないものも含まれている。

一方、この地方には各部落に数個ずつの多目的池が存在し、直接飲料水としては使用されていないものの、農業用水や家畜の飲料水としては使われており、汚染されている場合間接的な砒素曝露の一因となっていることが予想される。特にフナなどの淡水魚やエビ類の養殖は広く行われ、住民の主食の一つとなっている。そのためこれらの養殖池の汚染状況を把握することも、食品のリスク評価のためには本質的である。その目的で池の水 9 試料が採取された。

農業用水としては、田の水を中心に 10 試料の採取が行われた。温暖な Bangladesh では、季節にほぼ無関係に随時米作を開始でき、休耕中の田も多い。田水の汚染は農作物の汚染に直結するため汚染状況の把握は本質的であるが、河川水が主体として使われているため、河川水もこれらの中に含まれている。さらに水と農作物との関係を調べる目的で、ココナツ果汁も採取された。

これらの水試料は住民の方々の協力のもと plastic tube に数 cc ずつ採取され、試料調製は夜間ホテル

の部屋で内部標準法に基づいて行われた。内部標準液(1000 ppm In 標準液)、バックリング膜を貼った target holder、及びマイクロピペット・チップは持参したが、vortex mixer は使えないため、マニュアルによる均一化が行われた。水試料のうち 1 cc がチューブに採られ、10  $\mu$ L の In 標準液を加え 10 ppm とし、手で振ることによる均一化が図られた。最終的に 20  $\mu$ L の試料がバックリング膜上に滴下され、室温で朝まで乾燥された。この簡易試料調製法の有効性は、あらかじめ次に述べる手段で確認されている。

## 2.2 水試料に対する簡易調製法の確立

Fig.1 に、NMCC の水道水中の主要 9 元素濃度を、種々の調製方法に対して示す。赤い四角(赤線)は通常の調製法で調製された結果を示すが、これは内部標準を加えた試料を vortex mixer を用いて 30 秒均一化する方法である。その他の結果はいずれも vortex mixer を用いず、manual shaking により行われた調製に対応する。このうち青い四角(青線)は、十分に shaking を行ったもの、緑の三角(緑線)は 30 秒間だけ shaking を行ったもの、他の結果(黒線)はいずれも最も簡単な調製法; 20 回だけ shaking を行ったもの(10 秒以内)にそれぞれ相当する。

これらの結果から判断すると、Ti、V、Mn を除く殆どの元素の結果が良く一致し、簡易調製法でほぼ満足のいく結果が得られていることが分かる。上記の元素に対しては、ピーク計数が小さく統計誤差に伴う実験誤差の大きさがバラつきに反映しているものと思われる。しかし全体的に見て、20 回の shaking ではややバラつきが大きく、30 秒(およそ 60 回)の shaking が適当であると判断し、実際に Bangladesh ではその方法に基づき調製が行われた。

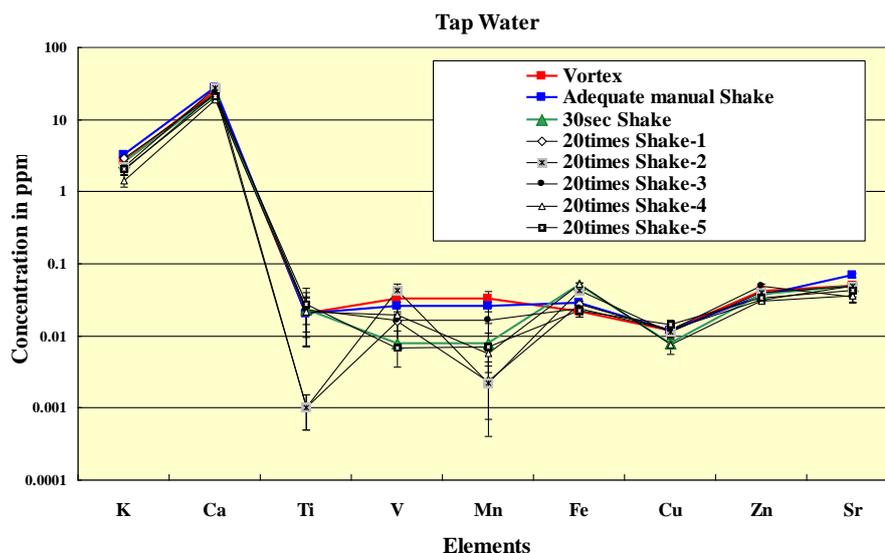


Fig. 1. Results of analyses of nine principal elements in a tap water. Closed red squares with a red line indicate the results for usual preparation method using vortex mixer for 30 seconds. Closed blue squares with a blue line indicate the results for manual shake, where shaking was performed adequately. Closed green triangles with a green line correspond to manual shake where shaking was carried out for 30 seconds. Other results correspond to the simplest preparation where manual shaking was performed only for 20 times (less than ten seconds).

## 2.3 ビーム及び測定条件

島津製作所小型サイクロトロンより引き出された 2.9 MeV の陽子ビームは、グラファイト製コリメータにより 6 mm $\phi$  に整形され試料を照射する。試料より発生した X 線は、2 台の Si (Li) 検出器により同時に測定される。1 台は 500  $\mu$ m マイラー吸収体とともに使用され、K-K $\alpha$  以上のエネルギーの X 線を測定する。もう 1 台は吸収体を用いずグラファイト製コリメータにより計数率が調整され、Na から K までの軽元素を測定する<sup>10)</sup>。この「二検出器同時測定システム」により得られた二つのスペクトルは、解析プログラム SAPIX により解析された<sup>11, 12)</sup>。

### 3. 結果と議論

Fig.2 に、ヒ素による重度の汚染が明確であり、現在は飲まれていない井水 5 試料中 31 元素の分析結果を示す。いずれもヒ素濃度は 0.31~1.04 ppm と、Bangladesh における飲料水の環境基準、0.05 ppm を大きく上回っていることが分かる。これらの井戸は洗濯・清掃などにのみ使用されているが、結果的に環境汚染（池や河川水、農業用水の汚染）の原因となり、間接的な砒素曝露の一因となり続けているものと推測される。

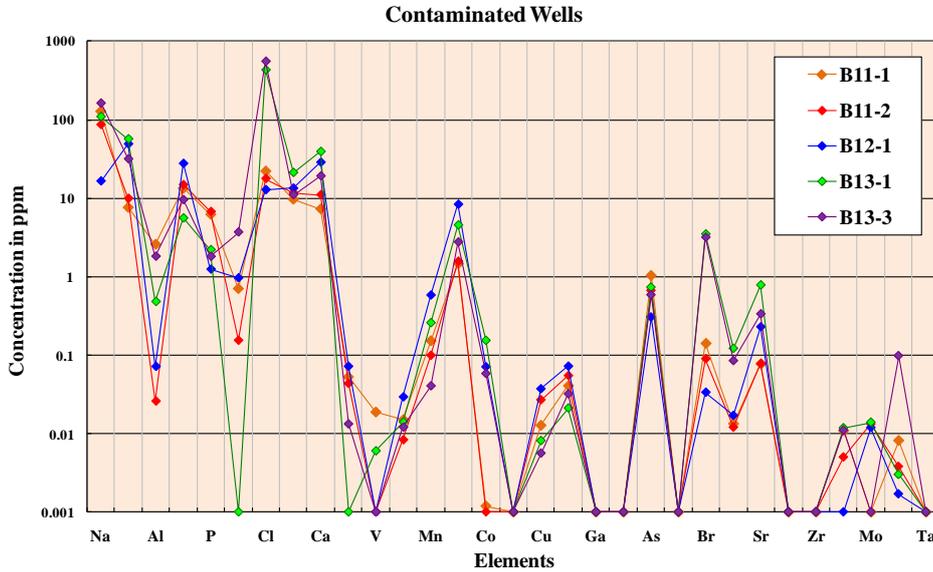


Fig. 2. Elemental concentration of 31 elements in contaminated well waters, which have been confirmed to be highly contaminated with arsenic and are not drunk at present.

広域的汚染の源となったこれらの井水の特徴を把握するため、日本の飲料水環境基準(As<0.01ppm) を満たす井水 3 試料中元素濃度と比較したものが Fig.3 に示されている。この図から、Bangladesh の汚染井水中には、As に加え Na、Mg、Al、Cl、K、Mn、Br、Rb、Mo 等の元素濃度が非常に高いことがわかる。この 5 井戸は以前、飲料水として用いられてきたものであるため、これらの元素は住民の体内元素濃度分布や健康状態に大きく影響を与えたものと予想される。

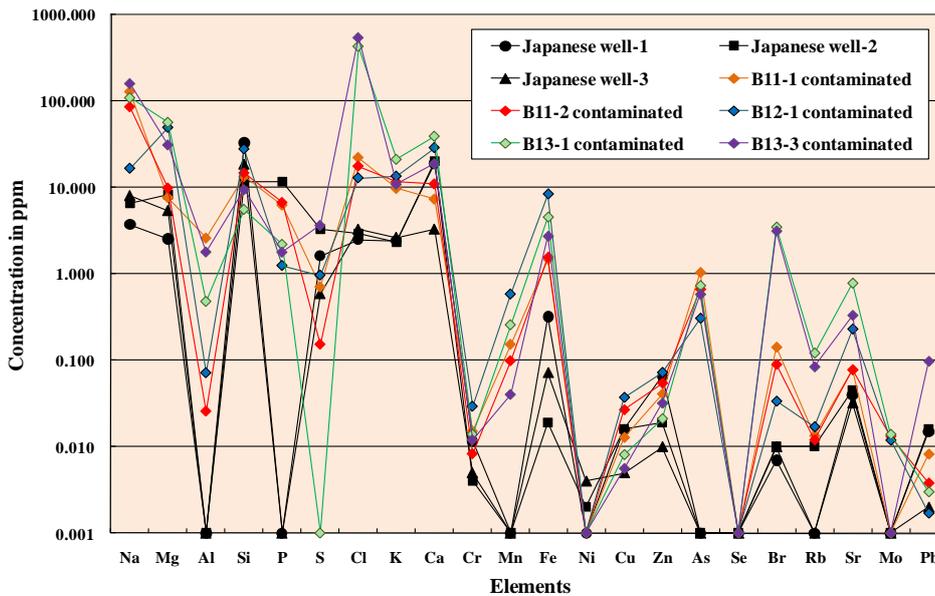


Fig. 3. Comparisons of elemental concentration in contaminated well waters and Japanese well waters which satisfy the Japanese environmental standard for drinking water.

続く Fig.4 には、現在まで飲まれ続けている 8 井戸の井水中元素濃度を示す。これらのうち B11-3、B11-9、B13-2 の 3 試料は新たに深部から掘られたヒ素フリーとされる井戸の井水であり、実際の測定結果を見ても 0.003 ppm 程度と、Bangladesh の飲料水環境基準 0.05 ppm、日本の環境基準 0.01 ppm をいずれも満たしており、安全であることが確認できた。しかし他の 5 井戸の井水はヒ素に汚染しており、いずれも Bangladesh の飲料水環境基準 0.05 ppm を大きく上回り 0.1 ppm 以上のものが殆どであった。これらのうちの一つは、(色あせてはいたが) 新しい安全な井戸の印である緑色に塗られており、このように一部情報が混乱し井戸の危険性及び住民への周知が徹底されていない現状も明らかになった。個々の井戸のリスク評価を正確に行い、住民がそれを認識することも問題解決のためには不可欠であると思われる。

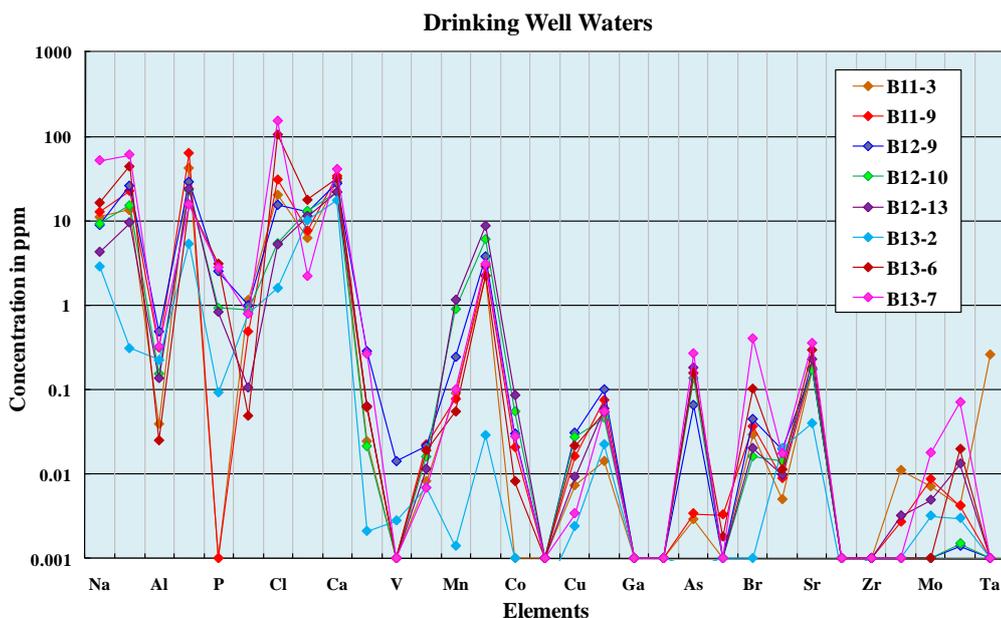


Fig. 4. Elemental concentration in well waters which have been drunk by the people.

ここで特筆すべきことは、現在も飲料に用いられている B-11-3 試料中に Ta が高濃度 (0.26 ppm) で含まれていることである。Ta-La とともに  $L\beta$  lines も明確に観測され、Ta の存在は確実である。NMCC では現在まで数 1000 の飲料水・河川水・湧水などの水試料分析が行われたが、Ta が検出された例は初めてであった。Fig.3 と同様の日本の井水との比較が図 5 に示されているが、ほぼ汚染井戸の井水と同様な傾向であることがわかる。

Fig.6 には、田の水や灌漑用水を含む農業用水 10 試料の分析結果を示す。もしこれらの農業用水が汚染していれば、当然の結果として農作物も汚染することとなる。これらの結果を見ると、ヒ素は殆どの試料から検出され最高値は 0.05 ppm であった。試料採取時の季節が丁度雨季終了時であり、田の水も河川水も十分に希釈されていることを考えると、乾期におけるヒ素濃度は十分に危険レベルにあると判断される。このうち 2 試料から 0.01 ppm 以上の、そして他の多くの試料から 0.001 ppm 以上のヒ素が検出されている。

これらの結果中特筆すべきことは、B11-10 (緑線) が極めて特徴的な元素濃度分布を示していることである。図に見られるように、Cl、K、Br、Rb の濃度が極めて高く、特に Cl、K、Rb の濃度は他の試料より 1 桁以上高く突出している。これは田の水であるが一見して池のようにも見え、集落のすぐそばにあり、水試料採取時には水草を取り除き稲作を開始する準備中であった。深さが 30 cm 程度であることから、池ではなく田であることが確認できた。Bangladesh では、このように随時稲作を行うための田が

多く存在する。この田のほわりには、2本の椰子の木が根を田の水に浸すように生えている。筆者が部落を訪れると、住民の方々が木に登りココナツを採って果汁を振舞ってくれた。果汁と植物を育てる水との関係も興味もたれるためココナツ果汁の分析も行ったが、その結果を B11-10 の田の水と比較し Fig.7 に示す。その結果、水の特徴がそのまま写したように果汁に反映され、さらに5倍ほどの濃縮が行われていることが分かった。上記4元素は有害元素ではなく、また幸い B11-10 の水試料中にはヒ素も殆どなく、それを反映し果汁中にもヒ素は検出されなかったが、汚染された水で生育した樹木の果実中には有害元素が濃縮される危険性は極めて高い。Bangladesh では集落の周辺に多種多数の果実の木があり、住民も日常的に果実を食している。果実のリスク評価も不可欠であることが、この結果から示唆される。

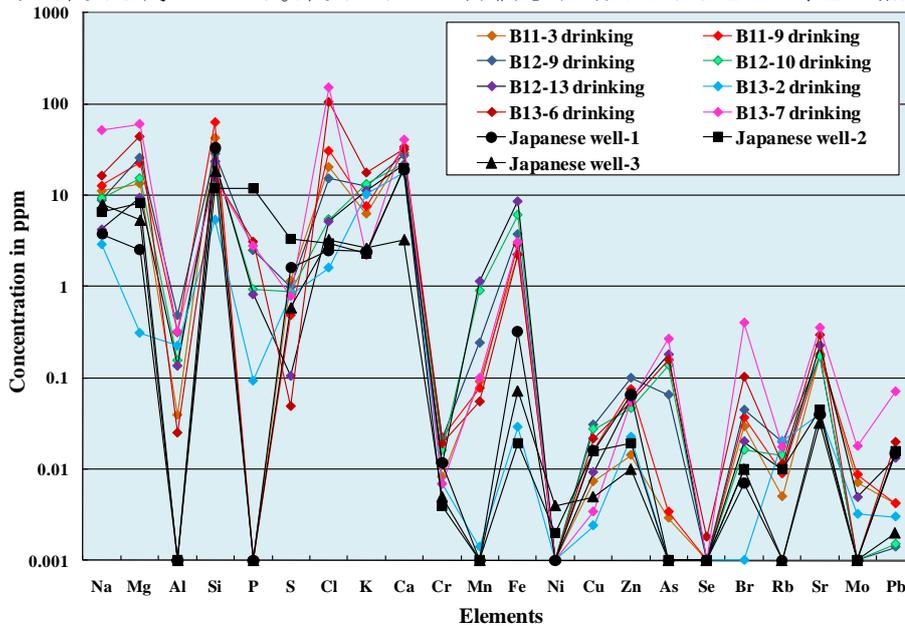


Fig. 5. Comparisons of elemental concentration in Bangladeshi drinking well waters and Japanese well waters.

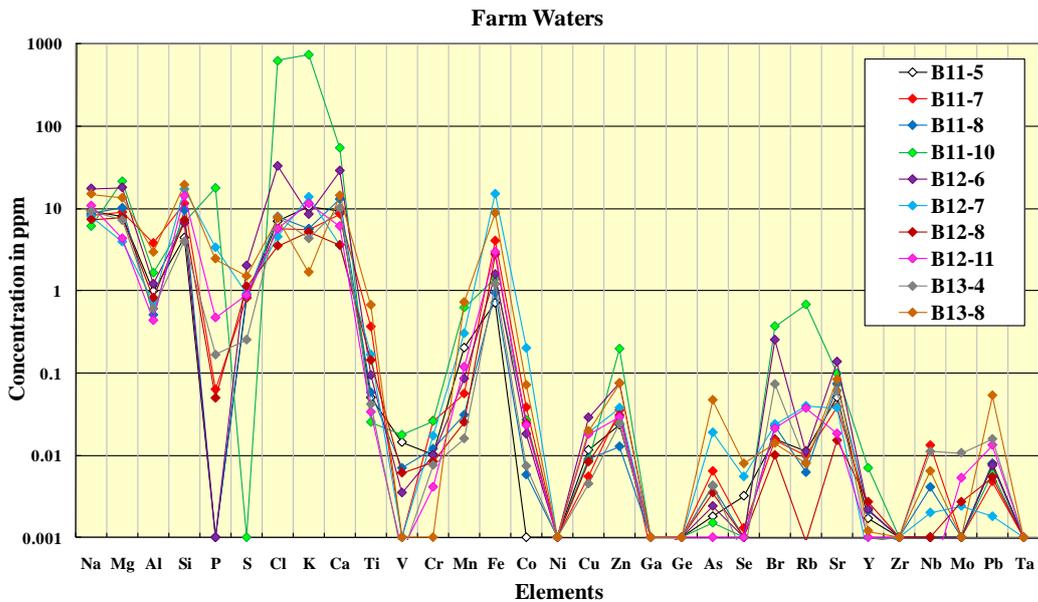


Fig. 6. Elemental concentration in 10 farm waters.

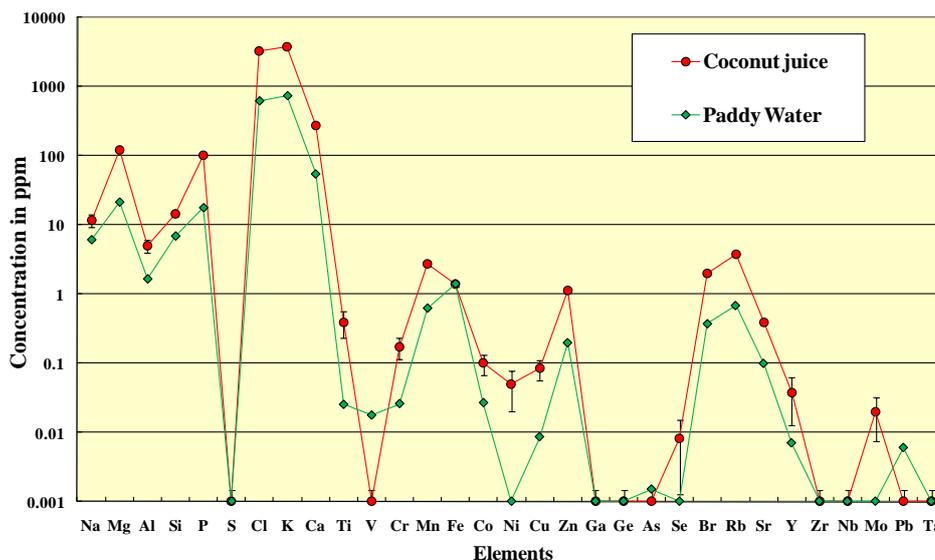


Fig. 7 Relationship of elemental composition between the fruit and the water.

Fig.8 には、浅くて稲作にも使用される池を除く多目的池（数 m の深さ）から採取された水 9 試料の結果を示す。今回、現地での状況が事前に予測できなかったため、池の深部や底質の採取を行う器具は持参せず、試料採取は池の表面からのみ行われた。採取は 2009 年 10 月 11~13 日であり、雨季の終了直後で特にこれらの池の水は最大限に希釈されている。これらの事情を考慮すると、乾期に濃度が最大となる時期に採取を行った場合と比べ、ヒ素濃度は 5-6 倍に希釈されていることが予測される。Fig.8 の結果から、ヒ素は殆どの試料から検出され、最高値は 0.03 ppm であることが分かった。これらの池の水は家畜の飲料水としても使われており、肉や乳製品の汚染にも影響を与えることが予想される。しかしさらに危険なのは淡水魚やエビの養殖に広く使われていることで、それらは現地の住民の食生活の中心をなす食物となっている。生物濃縮も加わることが予測され、養殖魚類のリスク評価を早急に行う必要があると痛感した。

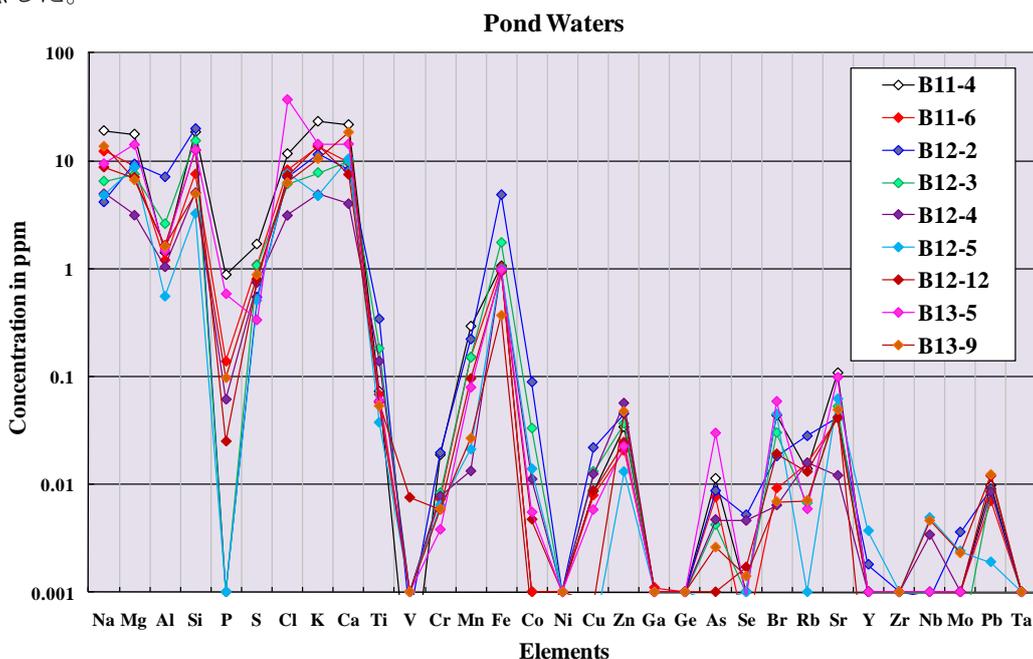


Fig. 8. Elemental concentration in pond waters.

上記水試料の分析結果から、環境汚染の指標となり原因ともなる水試料のヒ素汚染の実態が明確になった。これらの結果から、農作物や養殖魚類、果実などの食のリスク評価の必要性が強く指摘される。個々の食品のリスク評価を行ったうえで、住民の食習慣などを考慮し総曝露量を評価・管理することが本質的であり、個々の食品のリスクを住民に周知させ安全指針を提示することも必要である。そのことにより、今なお中毒症に苦しんでいる一千万を超える住民を救済できるものと期待される。

現在筆者が代表となり、科学研究費基盤 B「アジア有害元素汚染地域における食のリスク評価と専用大気 PIXE 分析装置の開発」の研究を遂行中である。これは Bangladesh における食のリスク評価と管理、住民への安全指針の提示を主目的とし、農作物中への有害元素の取り込みを最小限に抑えるための研究手法として、「生きた植物に対する大気 PIXE における定量分析法の開発」を副テーマとしている。その生きた植物に対する定量分析法は初年度である 2010 年にほぼ完成された。また、Bangladesh においてはヒ素が問題元素であり食生活は農作物と魚類が中心であるのに対し、small-scale-mining から流出する水銀やヒ素による環境汚染問題が深刻化し、Bangladesh とは全く食文化を異にする（肉や乳製品が主体で殆ど野菜や魚を食さない）Mongolia における調査研究も、本研究の目的としている。既に 1 年目の Mongolia における食品試料の採取と分析は完了し、現在（2011 年 1 月）乾期に入った Bangladesh における食の系統的採取が Shafiqul 夫妻により行われ、分析が開始されている。今後も NMCC の PIXE の特徴を生かし、アジアにおける住民救済のために（多角的な試料分析を手段として）力を尽くしていく所存である。

## 謝辞

We wish to thank the people in Banglish, Sharifpur and Fotepur villages for their cooperation in collecting water and hair samples. Two of the authors (Shafiqul and Sera) would like to express our sincere thanks to Mr. Md. Masud Hossain Khan (Principle scientific officer, Bangladesh Fisheries Research Institute), Mr. Juglul Hasan Patuway (Comilla Educational Bourd Model Collage) and Mrs. Purbin Akter (Human Development Organization) for their corporation in collecting samples and useful discussions on this subject. We also thank staff of Nishina Memorial Cyclotron Center (Japan Radioisotope Association) and Cyclotron Research Center (Iwate Medical University) for their help to this work.

## 参考文献

1. H. Yamauchi et al., "Characteristics of arsenic poisoning in China.", *Biomed. Res. Trace Elements*, 11, 301-311 (2000) (in Japanese)
2. M. A. Habib, S. Miono, K. Sera and S. Futatsugawa, "PIXE Analysis of Hair in Arsenic Pollution, Bangladesh.", *Int'l Journal of PIXE*, Vol.12, No.1,2 19-34 (2002)
3. M. A. Habib, "A Study of Arsenic Pollution in Bangladesh by PIXE Analysis", *Master thesis of Osaka City University*, February, 2002 (M00S131)
4. S. Murao, E. Daisa, K. Sera, V. Maglambayan and S. Futatsugawa, "PIXE Measurement of Human Hairs from a Small-scale Mining Site of the Philippines.", *Nucl. Instr. Meth. B*, 168-173 (2002)
5. E. Clemente, K. Sera, S. Futatsugawa and S. Murao, "PIXE Analysis of Hair Samples from Artisanal Mining Communities in the Acupan Region, Benguet" Philippines.", *Nucl. Instr. Meth.*, B219-220, 161-165 (2004)
6. M. Chiba, K. Sera and K. Shimamura, "Element Concentrations in Hair of Children Living in the Environmentally Degradated District of the East Aral Sea Region.", *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry (JRNC)* 259-1, 149-152 (2004)
7. K. Sera, S. Futatsugawa, K. Matsuda and Y. Miura, "Standard-free method of quantitative analysis for bio-samples", *Int'l Journal of PIXE* Vol.6, No.3, 4, 467-481 (1996)
8. K. Sera, S. Futatsugawa and K. Matsuda, "Quantitative analysis of untreated bio-samples", *Nucl. Instr. and Meth. B* 150, 226-233 (1999)
9. K. Sera, S. Futatsugawa and S. Murao, "Quantitative Analysis of Untreated Hair Samples for Monitoring Human

Exposure to Heavy Metals.”, *Nucl. Instr. and Meth.* B 189, 174-179 (2002)

10. K. Sera, T. Yanagisawa, H. Tsunoda, S. Futatsugawa, S. Hatakeyama, Y. Saitoh, S. Suzuki and H. Orihara., "Bio-PIXE at the Takizawa facility (Bio-PIXE with a baby cyclotron)", *Int'l Journal of PIXE* Vol. 2, No.3, 325-330 (1992)
11. K. Sera and S. Futatsugawa, "Personal Computer Aided Data Handling and Analysis for PIXE.", *Nucl. Instr. and Meth.*, B 109/110, 99-104 (1996)
12. K. Sera and S. Futatsugawa, "Spectrum Analysis Taking Account of the Tail, Escape Functions and Sub-lines. (SAPIX version 4)", *Int'l Journal of PIXE*, Vol.10, No. 3, 4, 101-114 (2000)

## **Investigative studies on water contamination in Bangladesh – Primary treatment of water samples at the sampling site –**

K. Sera<sup>1</sup>, MD. Shafiqul Islam<sup>2</sup>, T. Takatsuji<sup>2</sup>, T. Nakamura<sup>2</sup>,  
S. Goto<sup>3</sup>, C. Takahashi<sup>3</sup> and Y. Saitoh<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Cyclotron Research Center, Iwate Medical University  
348-58 Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0173, Japan

<sup>2</sup>Faculty of Environmental Studies, Nagasaki University  
1-14 Bunkyocho, Nagasaki 852-8521, Japan

<sup>3</sup>Nishina Memorial Cyclotron Center, Japan Radioisotope Association  
348-58 Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0173, Japan

### **Abstract**

Arsenic concentration in 13 well waters, 9 pond waters, 10 agricultural waters and a coconut juice taken in Comilla district, Bangladesh, where the problem of arsenic pollution is the most severe, was investigated. High-level arsenic is detected even in the well water which has been kept drinking by the people. Relatively high arsenic concentration was detected for some pond and farm waters even though the sampling was performed just after the rainy season and the waters were expected to be highly diluted. Clear relationship was observed in elemental compositions between the pond water and the coconut juice collected at the edge of the water. These results are expected to become the basic information for evaluating the risk of individual food such as cultured fishes, shrimps and farm products, and for controlling total intakes of arsenic. In order to solve the problem of transportation of water samples internationally, a simple method of target preparation performed at the sampling site was established and its validity was confirmed. All targets were prepared at the sampling sites in this study on the basis of this method.

**Keywords** : PIXE, Arsenic, Poisoning, Contamination, Well water, Pond water, Bangladesh, Keratosis, Leucomelanosis

## PIXE 分析のための植物珪酸体を含む単子葉植物の硝酸灰化法の改善

榊原正幸<sup>1</sup>、Nguyen Thi Hoang Ha<sup>1</sup>、彦田真友子<sup>1</sup>、久保田有紀<sup>1</sup>、世良耕一郎<sup>2</sup>

<sup>1</sup> 愛媛大学大学院理工学研究科  
790-8577 愛媛県松山市文京町 2-5

<sup>2</sup> 岩手医科大学サイクロトンセンター  
020-0173 岩手県岩手郡滝沢村滝沢字留が森 348-58

### 1 はじめに

単子葉植物は Si を多量に集積することが知られている<sup>1,2)</sup>。植物は Si をケイ酸[Si(OH)<sub>4</sub>]の形態で摂取し、体内で蒸散・重合をさせた後、非結晶質のオパール（植物珪酸体；プラントオパール）へと変化させる<sup>3)4)</sup>。この植物体内に集積された Si は様々な生物的・非生物的ストレスを緩和する働きをすることが報告されている<sup>4,5)</sup>。たとえば、アブラナ科の植物は、Zn をケイ酸塩の形態として体内に蓄積し、その毒性を緩和している。この過程は他の植物にも確認されており、Si による重金属耐性のメカニズム一つとして注目されている<sup>6)</sup>。

粒子線励起 X 線分析（PIXE）は、植物中の重金属濃度を測定する方法として最も簡便で精度の高い分析手法である。岩手医科大学サイクロトンセンターでは、PIXE 分析の際に簡便な硝酸灰化法を用いて試料の前処理を行う。しかしながら、単子葉植物などの植物の場合、プラントオパールが硝酸灰化処理では分解されにくい。単子葉植物のうち、重金属を多量に蓄積する植物は、吸収した重金属をこのプラントオパールに蓄積している可能性が高いため、植物が蓄積した重金属濃度を正確に測定するためには、現行の硝酸灰化法を改善する必要がある。

さて、筆者らは、マツバイを用いた重金属汚染された水環境の浄化に関する研究を行っている。カヤツリグサ科ハリイ属のマツバイは、As、Zn、Cu、Cd、Pb を多量に蓄積する単子葉植物である<sup>7,8)</sup>。マツバイ中の Si はプラントオパールの形態で存在し、吸収した重金属の多くはプラントオパール中に含まれていると考えられている<sup>7)</sup>。現在、マツバイの重金属濃度測定は、主に PIXE および ICP-MS を用いて行っているが、両者のデータの不一致の解決が課題となっている。本研究では、単子葉植物の硝酸灰化法を工程を変更し、PIXE 分析結果の改善を試みた。

### 2 試料調製法

#### 2.1 従来の硝酸灰化法の工程

- (1) 粉末試料 0.03mg と 61%硝酸 1ml をテフロン容器に入れ、内標準試料として、インジウム溶液を乾燥重量に対して 1,000ppm になるように加える。テフロン容器の蓋を閉め、ポリプロピレン製外容器に入れ蓋をする。
- (2) 電子レンジ（150W）で 2 分間加熱し、内圧の上昇を抑えるため、1 分間冷却する。これをさらに、あと 1 回繰り返す。
- (3) 電子レンジ内から取り出し、室温で放熱させ、1~2 時間程度冷却する。容器の蓋を開け、溶解液約 5μl

をバックリングフィルムに滴下し、室温で乾燥させ、分析試料とする。

## 2.2 改良した硝酸灰化法の工程

硝酸灰化法の改善点は、以下の2点である。一つは電子レンジによる加熱を2回から3回に増やしたこと、もう一つは加熱後24時間放置して、プラントオパールが硝酸によって完全に分解する時間を考慮したことである。以下、その手順を示す。

- (1) 粉末試料0.03mgと61%硝酸1mlをテフロン容器に入れ、内標準試料として、インジウム溶液を乾燥重量に対して1,000ppmになるように加える。テフロン容器の蓋を閉め、ポリプロピレン製外容器に入れ蓋をする。
- (2) 電子レンジ(150W)で2分間加熱し、内圧の上昇を抑えるため、1分間冷却する。これをさらに、2回繰り返す。
- (3) 電子レンジ内から取り出し、24時間放置する。容器の蓋を開け、溶解液約5 $\mu$ lをバックリングフィルムに滴下し、室温で乾燥させ、分析試料とする。

## 3 分析結果

図1は従来の硝酸灰化法で行ったPIXE分析およびICP-MS分析の代表的データ(Cu、ZnおよびPb)を比較したグラフである。両者のデータを比較すると、いずれの元素に関しても、ICP-MS分析の濃度が約1.5~1.6倍高いという結果が得られた。

図2は、改善後の結果を図に示す。従来の方法と比較して、PIXE分析とICP-MS分析の差が小さく、ほぼ一致することが明らかになった。

## 4 考察

従来の硝酸灰化法では、マツバイなどの単子葉植物を分解する際にプラントオパールが完全に溶解することができず、残渣が残留していた。しかしながら、電子レンジの加熱工程を増やし、かつ加熱後の放置時間を大幅に延長することによって、ほぼ完全に分解することが可能となった。その結果、ICP-MS分析とPIXE分析による濃度の測定結果の差が著しく小さくなり、より、精度良く分析することが可能になったと考えられる。

また、改善された硝酸灰化法による試料の分析結果は、改善前と比較して濃度が著しく高いことから、マツバイ中の重金属の多くは、プラントオパールに含有されていることが明らかになった。植物によって環境中の有害金属を除去するファイトレメディエーションでは、植物が重金属を集積し、枯れた後、重金属が再び環境中に放出されてしまうことが懸念されている。しかしながら、マツバイなどの単子葉植物の場合、枯れた後も、重金属がプラントオパール中に蓄積されていることから、吸収・蓄積と同時に不溶化していることになる。このことは単子葉植物によるファイトレメディエーションの有効性を示唆している。

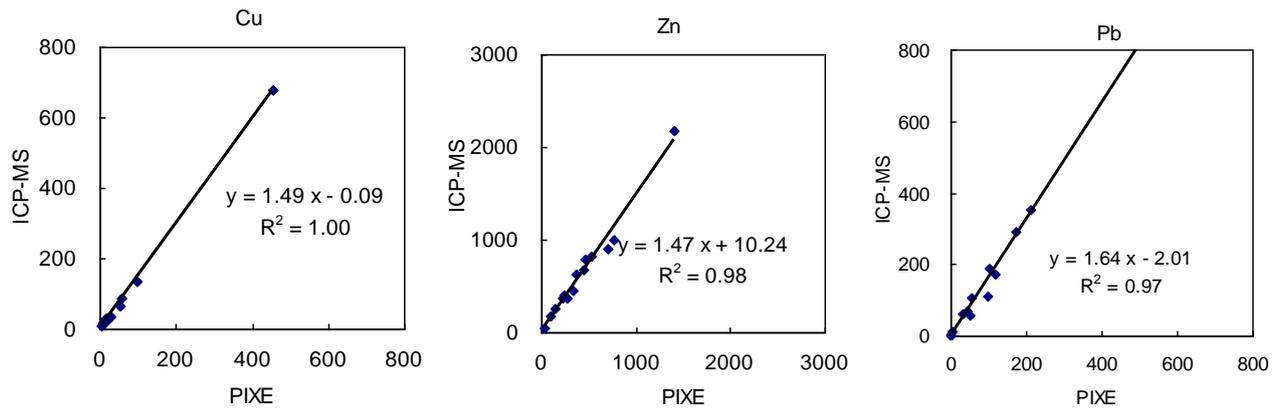


図 1. 従来の硝酸灰化法による PIXE および ICP-MS によるマツバイの分析結果

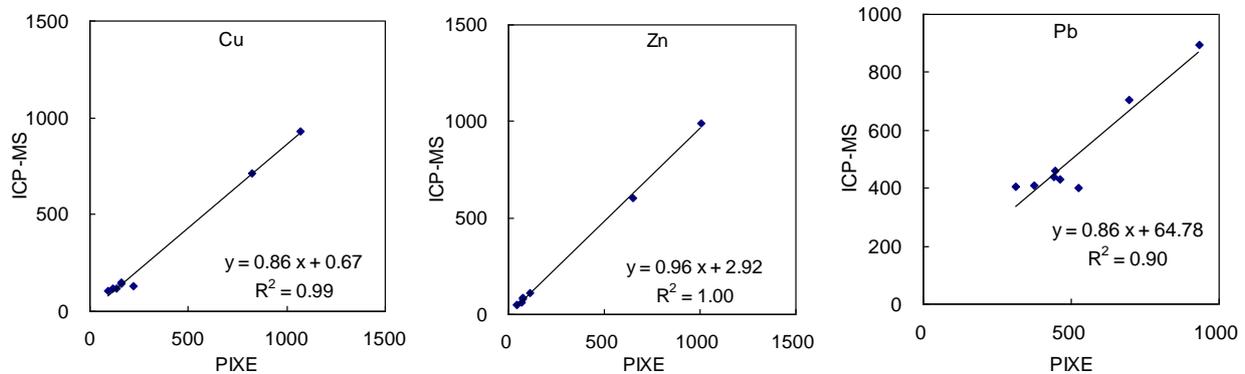


図 2. 改良した硝酸灰化法による PIXE および ICP-MS によるマツバイの分析結果

参考文献

- 1) Richmond K. E., and Sussman M., 2003. Got silicon? The non-essential beneficial plant nutrient. *Current Opinion in Biotechnology*, Vol. 6, pp. 268-272.
- 2) Currie H. A., and Perry C. C., 2007. Silica in Plants: Biochemical and Chemical Studies. *Annals of Botany*, Vol. 100, pp. 1383-1389.
- 3) Epstein E., 1994. The anomaly of silicon in plant biology. *Proceeding of the National Academy of Science*, Vol. 91, pp. 11-17.
- 4) Ma J. F., Yamaji N., 2006. Silicon uptake and accumulation in higher plants. *Trends in Plant Science*, Vol. 11(8), pp. 392-397.
- 5) Liang Y., Wong J. W. C., Wei L., 2005. Silicon-mediated enhancement of cadmium tolerance in maize (*Zea mays* L.) grown in cadmium contaminated soil. *Chemosphere*, Vol. 58, pp. 475-483.
- 6) Neumann D., Nieden U. Z., 2001. Silicon and heavy metal tolerance of higher plants. *Phytochemistry*, Vol. 56, pp. 685-692.
- 7) 榎原正幸・原田亜紀・佐野 栄・堀 利栄・井上雅裕. 2006. マツバイを用いたファイトレメディエーションによる重金属汚染された水環境の浄化. 第 12 回地下水・土壌汚染とその防止に関する研究集会講演集. pp.545-548.
- 8) Ha N. T. H., Sakakibara M, Sano S., Hori R., Sera K., 2009. The Potential of *Eleocharis acicularis* for Phytoremediation: Case Study at an Abandoned Mine Site. *Clean-Soil, Air, Water*. Vol. 37(3), pp. 203-208.

## **Improvement in digestion method using nitric acid for PIXE analysis of plant samples containing opal-A**

M. Sakakibara<sup>1</sup>, N. T. H. Ha<sup>1</sup>, M. Hikoda<sup>1</sup>, Y. Kubota<sup>1</sup> and K.Sera<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Graduate School of Science and Engineering,  
Ehime University, 2-5 Bunkyo-cho, Matsuyama 790-8577, Japan

<sup>2</sup>Cyclotron Research center, Iwate Medical University  
348-58 Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0173, Japan

### **Abstract**

Si is found in plants at concentrations ranging from 0.1 to 10 %, which is equal to or even higher than that of several macronutrients. There are some general trends in silicon accumulation that monocots and dicots tend to be high and poor Si accumulators, respectively. *Eleocharis acicularis*, a monocot, has recently been reported as a Si accumulator. PIXE is one of the convenient methods to analyse the total concentrations of heavy metals in plant. However, *E. acicularis* contains opal-A within the plant cells, which is difficult to be totally dissolved by using nitric acid. Therefore, it is necessary to improve the digestion method using nitric acid for PIXE analysis of plant samples containing opal-A. In this study, the effect of microwave heating times and leaving time after heating was investigated. When the samples were heated twice, the concentrations of heavy metal by PIXE are lower than those by ICP-MS. However, when the were heated three times and left one day after heating, metal concentration difference between PIXE and ICP-MS became small. The result of the present study suggested that it is necessary to improve the digestion method for plant samples containing opal-A.

## 水耕オオムギの鉄栄養に対するヒ酸と亜ヒ酸の害作用の違い

河合成直<sup>1</sup>、平木恵理<sup>1</sup>、後藤祥子<sup>2</sup>、世良耕一郎<sup>3</sup>

<sup>1</sup>岩手大学農学部

020-8550 岩手県盛岡市上田 3-18-8

<sup>2</sup>日本アイソトープ協会仁科記念サイクロトロンセンター

020-0173 岩手県岩手郡滝沢村滝沢字留が森 348-58

<sup>3</sup>岩手医大サイクロトロンセンター

020-0173 岩手県岩手郡滝沢村滝沢字留が森 348-58

### 1. はじめに

ヒ素 (As) は植物にとって毒性がある非必須元素である。As は土壤中に  $1 \text{ mg kg}^{-1}$  から数  $10 \text{ mg kg}^{-1}$  程度含まれている<sup>3)</sup>。土壤汚染防止法や土壤環境基準で As 濃度が規制されている。土壤中の主な形態は無機態であるヒ酸 ( $\text{H}_3\text{AsO}_4$ ) または亜ヒ酸 ( $\text{H}_3\text{AsO}_3$ ) であり、一部はジメチルアルシン酸 (DMA)、モノメチルアルシン酸 (MMA) などの有機態となる。As は形態によって、生物への可給性・毒性が異なり、有機態ヒ素よりも無機態ヒ素、中でも亜ヒ酸が高い毒性を示す<sup>2)</sup>。これらの各形態の As は土壤の酸化還元状態に応じて変化する。

日本における As 汚染例は少ない。昭和 46 年に宮崎県土呂久鉦山周辺にて As の慢性中毒患者が現れた。他には岩手県の松尾鉦山、島根県の笹ヶ谷鉦山などに由来するものがある。世界的には、バングラデシュや東インドにかけて As 汚染が問題となっており、史上最大の環境汚染と言われている。西ベンガル州におけるヒ素汚染は 1980 年代に検出され、現在、バングラデシュや西ベンガルでは皮膚がんなどの As 中毒患者が多発している。バングラデシュでも今世紀に入ってからヒ素の環境汚染があることが確認された。西ベンガルやバングラデシュでの高濃度の As による地下水汚染は、堆積物から可溶化したヒ素が集積しやすい帯水層で起きている<sup>7)</sup>。地下水の As 汚染された地域では、灌漑によって作物に As が蓄積され、食物連鎖を通じて人体への健康被害が生じている。

ヒ酸は好氣的土壤において主要な As 化学種である。ヒ酸は鉄酸化物、鉄水酸化物と強い親和性がある。亜ヒ酸は水田土壤のような還元した状態で主要な As 化学種である<sup>4)</sup>。亜ヒ酸、ヒ酸は土壤構成成分である鉄鉦物 (ゲータイト) に配位子交換反応により強く吸着される<sup>8,9)</sup>。土壤中の As の溶解度と存在形態は Eh と pH により支配され、山根<sup>13)</sup>によると、土壤の湛水培養によって溶液中に溶出する鉄 (II) 濃度とヒ素濃度との間には高い相関があり、溶出したヒ素の大部分が亜ヒ酸であった。ヒ酸だけでなく、亜ヒ酸も土壤や鉄 (III) 酸化水酸化物、非結晶質水酸化アルミニウムその他の粘土鉦物に吸着される。多くの場合、吸着量はヒ酸の方が亜ヒ酸より多いが、ヒ酸吸着量が pH の上昇とともに減少するのに対し、亜ヒ酸吸着量は pH 9 付近で最大となる。

主要作物の多くが属するイネ科植物は Fe 欠乏ストレス下で双子葉植物のような明瞭なストレス応答

を示さず、水耕栽培において比較的容易に Fe 欠乏を引き起こすことから、総じて Fe 欠乏感受性植物であると考えられてきた。Takagi<sup>10)</sup> は、イネ科植物には双子葉植物とは異なり、Fe 欠乏耐性イネ科植物が Fe 欠乏ストレス下において、根より特殊なアミノ酸キレート物質を分泌して Fe(III)を可溶化して吸収することを確認し、このキレート物質はムギネ酸 (Mugineic Acid : MA) と命名された<sup>5,11)</sup>。その後、MA と化学構造の類似したアミノ酸キレート物質が次々と単離され、構造決定された。MA を含めたこれら構造類似の化合物をムギネ酸類 (MAs) と総称している<sup>12)</sup>。イネ科植物の Fe 欠乏耐性の強さは、基本的に Fe 欠乏ストレス下における MAs 合成分泌能に依存している。イネ科植物の MAs 分泌は Fe 欠乏条件下で促進され、通常の日長条件では MA は 24 時間合成される。MA は日の出時刻の頃に根内蓄積量が最大に達し、その後 4~5 時間かけて集中的に分泌される<sup>11)</sup>。

また、植物は根の周りに細胞壁・細胞間隙 (アポプラスト) に沈着した元素を持っており、それを Apoplastic 元素と呼ぶ。Fe 欠乏ストレス下で Strategy I 植物は、根圏の酸性化により多量の Apoplastic-Fe を可溶化し、地上部へ移行させる。これに対して Strategy II 植物は、根部の Apoplastic-Fe を少量しか移行させない。しかし、Apoplastic-Fe は MAs によって可溶化され、その利用は MAs 分泌の概日リズムとアポプラスト部位の Fe 濃度に依存することが報告されている。以上のことから、Fe 欠乏下で MAs を用いる Strategy II 植物においても Apoplastic-Fe は重要な Fe 源となり得る。

本研究では、上記のような知見に基づき、また、ヒ素の鉄との化学的親和性を考慮し、植物生理におけるヒ素と鉄の関係に着目して研究を行った。本研究では Shaibur *et al.*<sup>6)</sup> によって、Fe 欠乏条件下の水耕オオムギの培地中の亜ヒ酸添加量の増加に伴って、MAs 蓄積量および分泌量が低下し、SPAD 値は 67  $\mu\text{M}$  As 処理区にて有意に高く、地上部の Fe 濃度は増加することが見出された。これまでのところ、ヒ素誘導クロロシスおよびオオムギにおけるムギネ酸類 (MAs) に関する研究はあまりされていない。イネ科植物におけるヒ素と鉄との関係についてはさらに詳しく調べる必要がある。これまでの研究の結果、特に、ヒ素処理をした場合、植物の鉄含量が特異的な変動をすることから、鉄との関わりに注目して研究を行った。そのため、本実験では、異なる As 化学種であるヒ酸と亜ヒ酸を用いて、イネ科植物の鉄吸収生理活性物質であるムギネ酸の合成分泌と根の表面で沈着するアポプラスト鉄を中心に研究を行った。

## 2 実験方法

### 2.1 植物の栽培法

六条オオムギ品種ミノリムギ (*Hordeum vulgare* L. cv. Minorimugi) を実験植物とし、定法通りで岩手大学の温室で水耕栽培した<sup>6)</sup>。

**種子殺菌・催芽** ミノリムギの種子を 2 % w/v 高度さらし粉溶液中で 30 分間攪拌した後、さらし粉の臭いがなくなるまで流水で洗浄した。その後、バットに湿らせたタオルを敷き、その上に種子を並べ、さらに湿ったタオルを被せ、全体をポリエチレンラップで包んだ。これを 20 °C の恒温器へ移し、24 時間放置し、催芽させた。

**播種・育苗** 液体塩素系漂白剤で一晩殺菌したプラスチック容器に 12 L の脱塩水を満たし、1 mM CaCl<sub>2</sub> 溶液となるように CaCl<sub>2</sub> 溶液を添加した。プラスチック容器と同様に殺菌したポリエチレン製のネットを水面の高さと合わせ、ネット上に種子を均一に並べ、プラスチック容器をアルミホイルで覆い遮光した。プラスチック容器は人工気象室または温室に放置し、播種 2 日後にアルミホイルを外した。播種 1 週間後、別のプラスチック容器に 1/5 濃度の Hoagland & Arnon No.2 改変培地 12 L を満たした。植物体をネットごと新たなプラスチック容器へ移し、約一週間育苗した。

**前培養** 10 L ポリバケツを 1/2 濃度の Hoagland & Arnon No.2 培地 8 L で満たした。バケツの上に 16 穴の塩化ビニル板を置いた。脱塩水で洗浄したスポンジで植物体の胚軸から茎の基部の部位を巻き、植物体は 3 個体 1 株として、塩化ビニル板の穴に 1 株ずつ移植した。栽培期間中、エアレーションポンプに

よる通気条件で栽培した。

### 本培養

・**Fe 供給栽培** 前培養開始から2日後、新たな10 Lポリバケツを1/2濃度のHoagland & Arnon No.2培地8 Lで満たし、新たな培地へ植物体を移植した。培地に、ヒ酸としてヒ酸二ナトリウム ( $\text{NaHAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) または亜ヒ酸として亜ヒ酸ナトリウム ( $\text{NaAsO}_2$ ) を添加した。

・**Fe 欠乏栽培** 前培養開始から2日後、新たな10 Lポリバケツを1/2濃度のHoagland & Arnon No.2 改変培地8 Lで満たし、新たな培地へ植物体を移植した。培地に、ヒ酸としてヒ酸二ナトリウム ( $\text{NaHAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) または亜ヒ酸として亜ヒ酸ナトリウム ( $\text{NaAsO}_2$ ) を添加した。

## 2.2 ムギネ酸の定量<sup>10)</sup>

**分泌ムギネ酸の採取** 人工気象室栽培時は明期開始時刻の午前8時から、温室栽培時は採取日の日の出時刻から分泌ムギネ酸の採取を開始した。500 mlの脱塩水で満たしたプラスチックビーカーへ植物体を移し、ビーカーの上部を発砲スチロールでふさいだ。採取開始から4時間後、植物体を培地中へ戻した。採取した根洗液には微生物分解を抑制するためにチモール ( $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{O}$ ) を添加した。

**分泌ムギネ酸量測定用試料の精製** 分泌ムギネ酸は採取した日の内に精製を行った。まず、ろ紙 (ADVANTEC TOYO No.5C) を用いて減圧濾過した後、ろ液を強陽イオン交換樹脂 (Amberlite IR-120B) 20 mlを充填したカラムに約90分かけて通した。その後、脱塩水200 mlをカラムに通して樹脂を洗浄し、1N  $\text{NH}_4\text{OH}$  200 mlを通して塩基性画分を溶出した。溶出した塩基性画分は55 °Cで減圧濃縮して、25 mlで定容し、分泌ムギネ酸量測定用試料とした。定量時まで凍結保存した。

**合成ムギネ酸の採取** ムギネ酸分泌が始まる時刻 (人工気象室：明期開始時刻の午前8時、温室：日の出時刻) よりも5分ほど前に、本培養14日目の植物体を1バケツ当たり3株回収した。植物体は脱塩水で流水洗浄し、ペーパータオルで水分を拭き、塩化ビニル袋に入れ、凍結保存した。

**合成ムギネ酸量測定用試料の精製** 凍結保存した植物体を24時間凍結乾燥させた後、地上部と根部とに切断して根部の乾燥重量を測定した。根部は細かく切断して乳鉢へ入れ、けい砂を葉さじ1杯添加し、加熱した80 % エタノール10 mlを添加した。乳棒を用いて根部をすりつぶし、細胞内に蓄積されたムギネ酸を抽出した。エタノール流出試料は、ろ紙 (ADVANTEC TOYO No.5A) を用いて減圧ろ過した。ろ液を55 °Cで減圧してエタノールを除去した後、純水で50 mlに定容した。この溶液を2. と同様の方法で精製し、塩基性画分を凍結乾燥した。

**鉄ゲル溶解活性法によるムギネ酸の定量** 得られたムギネ酸試料溶液を希釈し、測定溶液10 mlを調製した。この測定溶液に0.5 M 酢酸ナトリウム緩衝液 ( $\text{CH}_3\text{COONa}$  buffer, pH 5.6) 0.5 mlを添加し、溶液のpHを5.5 - 5.8に調整した。測定溶液に5 mM  $\text{FeCl}_3$  (pH 7.0) 2 mlを添加し、55 °Cの恒温器で2時間保持した。この間40分毎に攪拌した。55 °Cで保温した後、ろ紙 (ADVANTEC TOYO No.5C) を用いてろ過し、ろ液に3N 硫酸 0.2 ml、8 % 塩化ヒドロキシルアミン 0.5 mlを添加し、55 °Cで20分間静置した。その後、o-フェナントロリン 0.5 ml、2 mM 酢酸ナトリウム緩衝液 (pH 4.7) 1 mlを加え、紫外可視分光光度計 (UVmini-1240, 島津製作所) により波長508 nmでの吸光度を測定した。サンプル溶液10 ml中にムギネ酸125  $\mu\text{g}$  を含む溶液の $\text{ABS}_{508} = 0.2$  となることから、測定用試料中に含まれるムギネ酸量を算出した。

## 2.3 元素の定量

**元素含量測定用試料の採取** 本培養14日目に1バケツ当たり3株の植物体を回収し、脱塩水で洗浄した後、地上部と根部とに切り分けて、別々に封筒に入れて70 °Cの恒温器で24時間以上乾燥させた。乾燥後、地上部、根部それぞれの乾物重量を量り、その後植物体をデシケータ中で保存した。

**Apoplatic-Feの可溶化、除去<sup>1)</sup>** 本培養14日目に1バケツ当たり3株の植物体を脱塩水で洗浄した後、0.5 mM  $\text{CaSO}_4$  100 mlに移し10分間保持した。次に植物体をMES buffer 40 mlに浸漬し、5分間保持し

た後、250 mM  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$  2 ml を加えて Apoplastic-Fe を Fe(II)-bipyridyl 錯体として溶出させた。10 分後、植物体を 0.5 mM  $\text{CaSO}_4$  100 ml に移し、15 分間保持した。その後、植物体を蒸留水で洗浄し、地上部と根部とに切り分けて、別々に封筒に入れて 70 °C の恒温器で 24 時間以上乾燥させた。乾燥後、地上部、根部それぞれの乾物重量を量り、その後、植物体をデシケータ中で保存した。

**元素含量の測定** 元素含量測定用試料について、日本アイソトープ協会滝沢研究所の PIXE により元素含量を測定した。

### 3 結果及び考察

#### 3.1 鉄欠乏オオムギにおけるムギネ酸分泌に対するヒ酸と亜ヒ酸の害作用の違い

本実験では鉄欠乏処理したオオムギの鉄溶解活性物質ムギネ酸の合成分泌へのヒ素の影響を検討した。

##### 3.1.1 亜ヒ酸処理実験

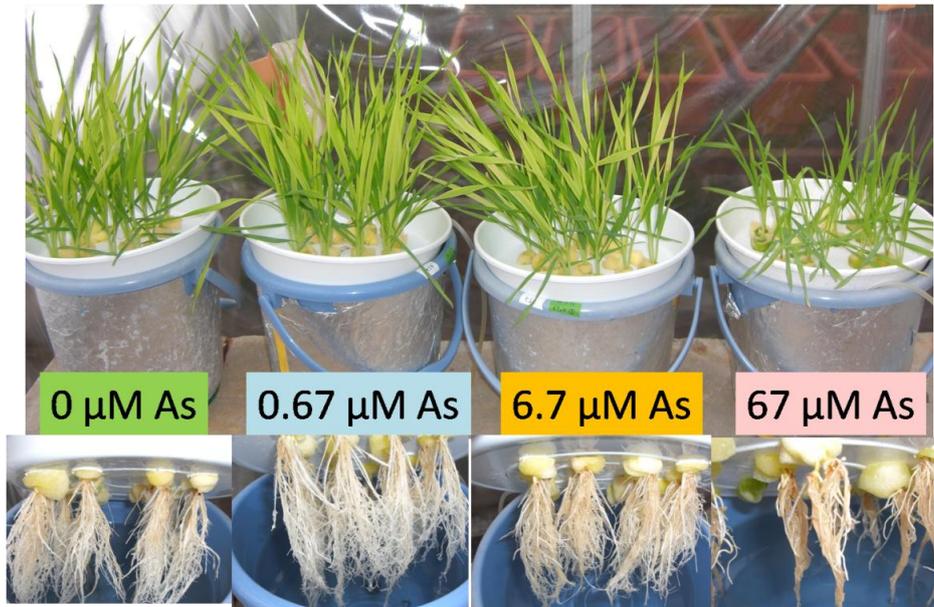


図1 亜ヒ酸処理オオムギの生育の様子(処理後 21 日目 )

亜ヒ酸を供給して鉄欠乏培養を行ったところ、高濃度区 (67  $\mu\text{M}$  As) 区では本培養開始 1 日後に葉の萎れが観察された (図 1)。3 週間栽培したところ、0、0.67、6.7  $\mu\text{M}$  As 処理区では鉄欠乏に特有の新葉の葉脈間クロロシスが観察された。それに対して、67  $\mu\text{M}$  As 処理区では葉が黄化しなかった (図 1)。また、67  $\mu\text{M}$  処理区の根部は、As 害の症状と思われる分岐根の減少および根部長さの低下が顕著で、根部全体が褐色となっていた。

葉緑素含量の指標となる SPAD 値は、各週ともに 67  $\mu\text{M}$  As 処理区が有意に高い値を示した (図 2)。地上部、根部のいずれの乾物重量について、As 処理区はコントロールに対して有意差がなかった。

本培養開始後 1 週間毎に分泌ムギネ酸を採取し、定量を行った。その結果が図 3 である。67  $\mu\text{M}$  処理区は、いずれの週においてもほとんど分泌されておらず、有意に低い値であった。

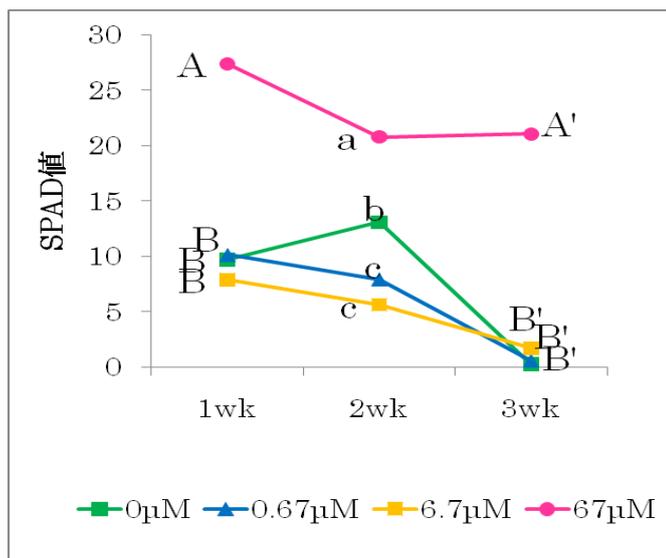


図2 亜ヒ酸処理植物の葉緑素指数 SPAD 値

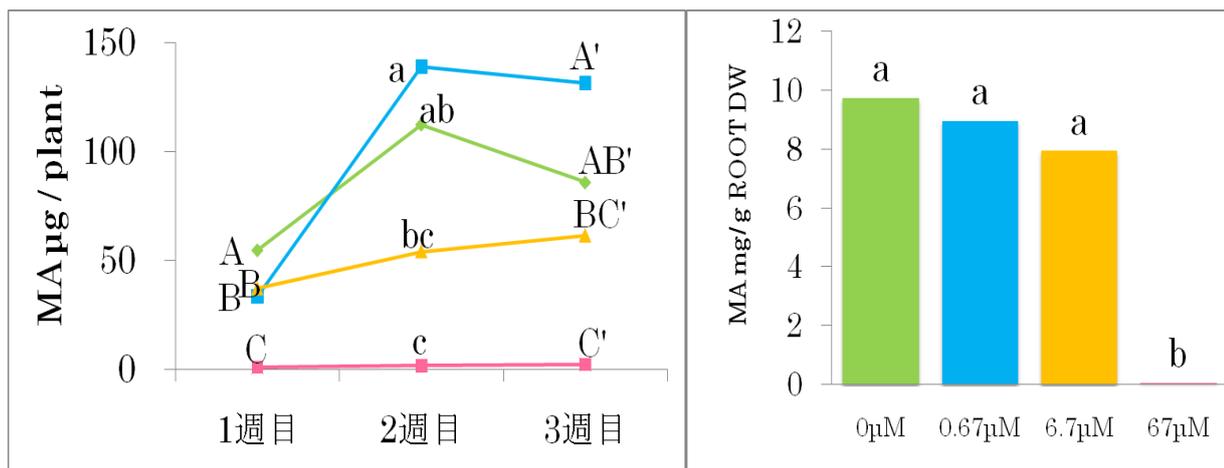


図3 亜ヒ酸処理植物のマグネシウムの分泌量

図4 亜ヒ酸処理植物のマグネシウムの合成量 (根内蓄積量)

本培養開始後2週間に合成マグネシウムを回収し、定量を行った(図4)。このグラフから、67 μM 処理区ではマグネシウムがほとんど合成されていないことがわかった。また、亜ヒ酸処理により、その濃度上昇によりマグネシウムの合成量は6.7 μM まで減少しないにもかかわらず、分泌量は6.7 μM でやや低下した。

### 3.1.2 ヒ酸処理実験

ヒ酸を供給して鉄欠乏培養を行ったところ、全処理区にて一様に鉄欠乏症状である新葉の葉脈間クロロシスが観察された。67 μM As 処理区では、コントロール区に比べて草丈がわずかに低下していた。根部については、亜ヒ酸供給区のような分岐根の減少は無いように思われたが、コントロール区と比較すると根部の長さが短くなっていた。

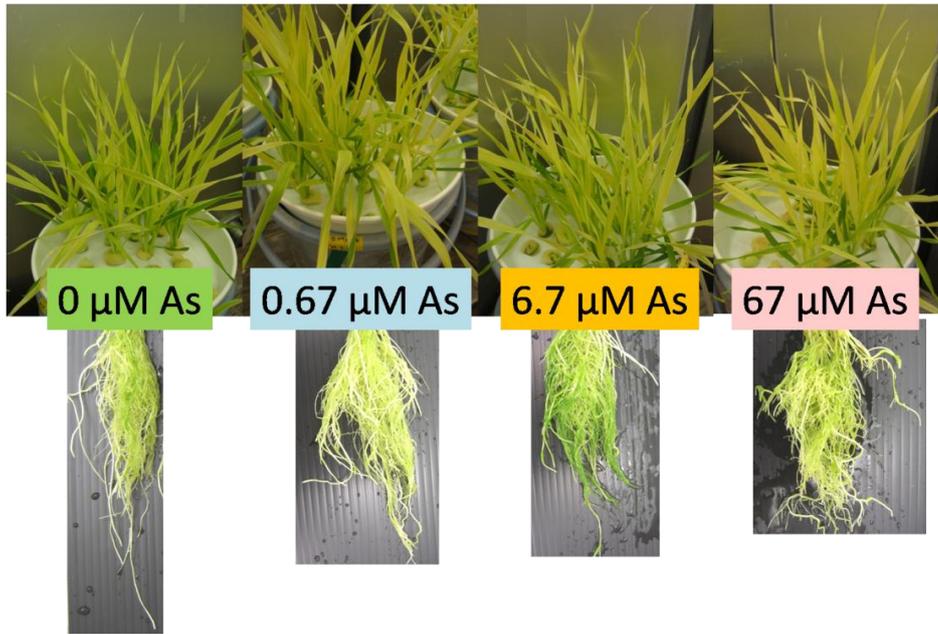


図5 ヒ酸処理オオムギの生育の様子 (処理後 21 日目)

葉緑素含量の指標となる SPAD 値は、各週ともに有意差がなかった (図 6)。

本培養開始後 1 週間毎に分泌ムギネ酸を採取し、定量を行った。その結果を図 7 として示した。全 As 処理区において、いずれの週においてもコントロールに対して有意差がなかった。

本培養開始後 2 週間目に合成ムギネ酸を回収し、定量を行った。その結果を図 8 に示した。6.7 μM As 処理区ではコントロールに対して有意に減少していたものの、67 μM As 処理区では有意差がなかった。

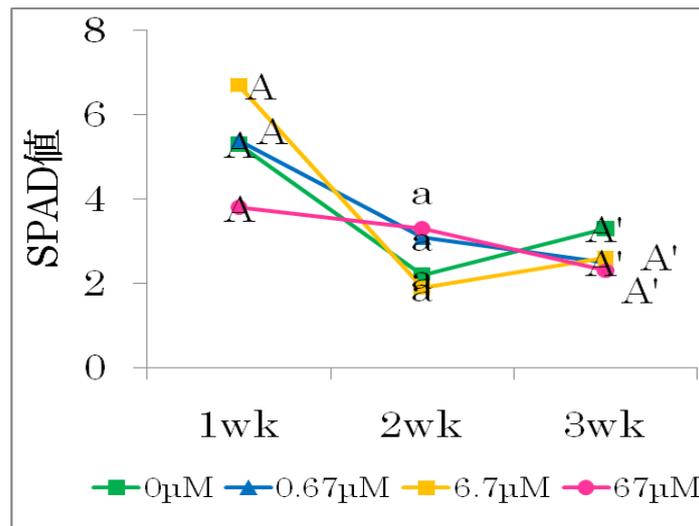


図 6 ヒ酸処理植物の葉緑素指数 SPAD 値

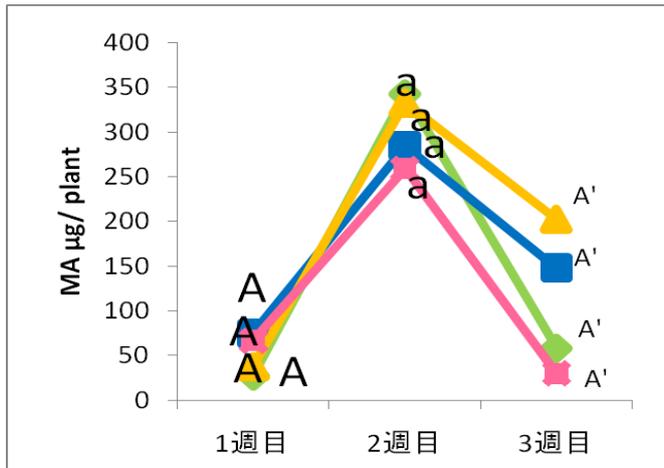


図7 ヒ酸処理植物のムギネ酸の分泌量

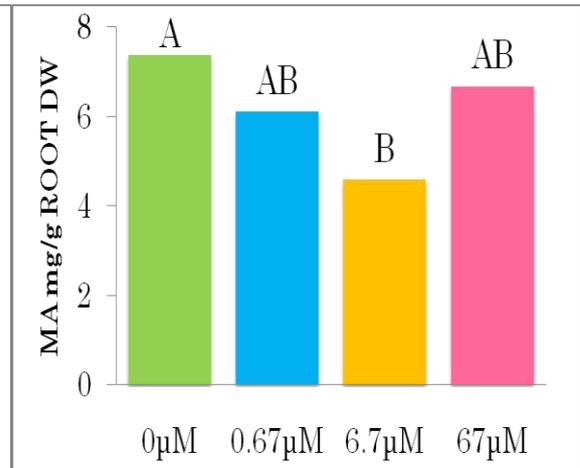


図8 ヒ酸処理植物のムギネ酸の合成量 (根内蓄積量)

### 3.1.3 考察

ムギネ酸は、ヒ酸処理区の全てにおいて、いずれの週においてもコントロールに対して有意差がなかった。亜ヒ酸 67 µM 処理区は、いずれの週においてもほとんど分泌されておらず、有意に低い値であった。本培養開始後 2 週間目に合成ムギネ酸を回収し、定量を行ったところ、ヒ酸処理区では、ムギネ酸の合成分泌に影響がなかった。一方、亜ヒ酸 67 µM 処理区ではムギネ酸がほとんど合成されないことがわかった。これらの結果は亜ヒ酸がヒ酸と比べ低濃度でムギネ酸の合成を強く阻害することを示していた。これより、水田で生育するイネの根圏には亜ヒ酸が多いと考えられるので、イネは畑作物と比較して、より根圏のヒ素により鉄吸収を阻害されることが示唆された。

亜ヒ酸は SH 基の関与する酵素反応を阻害することが知られている。MA 合成阻害に関与する酵素に亜ヒ酸が作用して代謝を阻害した可能性がある。

## 3.2 植物根のアポプラストへの鉄の沈着とヒ素の関わり

本実験においては、亜ヒ酸、又は、ヒ酸を 0、0.67、6.7、67 µM の濃度で鉄供給条件下 3 週間栽培した。その時、根のアポプラストに沈積した鉄を Bienfait ら<sup>1)</sup>の方法で可溶化し、それに伴い可溶化するリン(P)とヒ素(As)を定量し、根の表面に鉄と共に沈着している物質がヒ素を含む化合物であるか否かを検討した。

### 3.2.1 亜ヒ酸処理実験

亜ヒ酸を供給して本培養を行ったところ、高濃度区 (67 µM AS) 区では鉄欠乏条件時と同様に、葉の萎れが観察された。3 週間栽培したところ、67 µM AS 処理区では根の長さの減少および草丈の低下、分岐根の減少が顕著であった。21 DAT の 67 µM 処理区では、新葉のクロロシスが観察された。これは、Shaibur *et al.*<sup>6)</sup> が報告した As 誘導の Fe 欠乏症状だと思われる。



図9 亜ヒ酸処理オオムギの生育の様子(処理後21日目)

### 3.2.2 ヒ酸処理実験



図10 ヒ酸処理オオムギの生育の様子(処理後21日目)

### 3.2.3 アポプラスト鉄とそれと共に沈着したヒ素

根圏に沈着した鉄を可溶化した時、リン酸は可溶化されなかった。このことから、リン酸は根の表面で鉄と共に沈着しないことが示唆された。亜ヒ酸処理区においても、ヒ酸処理区においても、ヒ素濃度の増加に伴い鉄の量は大きく変動しなかった(表1、2)。しかし、ヒ酸処理においては、培地のヒ素濃度の増加に伴いヒ素の沈着量が増加した。その時の鉄：ヒ素のモル比をみると、亜ヒ酸処理区においては大きな変動は見られなかったが、ヒ酸処理区においては、培地のヒ素濃度の増加に従い上昇し、67、670  $\mu\text{M}$  区においてほぼ1となった、このことは、高濃度のヒ酸存在下では、鉄がヒ酸と共に根の外側に沈着することを示していた。

As処理濃度/ $\mu\text{M}$	As	Fe	As/Feモル比
	As $\mu\text{mol}$	Fe $\mu\text{mol}$	
0	0.0211	0.219	0.11
0.67	0.00927	0.157	0.06
6.7	0.0368	0.185	0.22
67	0.0208	0.269	0.09

表1 亜ヒ酸処理した植物根のアポプラストに沈着した鉄とヒ素の量とモル比

As処理濃度/ $\mu\text{M}$	As	Fe	As/Feモル比
	As $\mu\text{mol}$	Fe $\mu\text{mol}$	
0	0.0138	0.379	0.04
6.7	0.0158	0.221	0.11
67	0.349	0.323	0.97
670	0.408	0.392	1.02

表2 ヒ酸処理した植物根のアポプラストに沈着した鉄とヒ素の量とモル比

### 3.3 考察

ヒ素は植物根のアポプラストに鉄と共に沈着すると考えられている。本研究で、植物根圏にヒ酸が存在するとき、ヒ素は根圏のヒ素濃度の上昇に伴いヒ酸鉄でより沈着すると思われる。また、高濃度で存在する時、アポプラストにおいてヒ酸は鉄とモル比1:1のヒ酸鉄として沈着するものと考えられた。それに対し、亜ヒ酸でヒ素が存在する場合は、鉄は亜ヒ酸鉄の形態では沈着していないことが示された。また、根圏で亜ヒ酸の形態でヒ素が存在するとき、鉄はある程度ヒ素の根への侵入を抑える可能性があると思われるが、その働きが自然界でどの程度のものかを今後、根圏の鉄濃度を上昇させるなどの実験により検証する必要がある。

## 4 結論

本研究の結果、水耕栽培したオオムギにおいて、外見上の症状からその毒性を判断すると、亜ヒ酸はヒ酸と比較して、1ヶタ低い濃度で毒性が表れると思われた。ヒ酸は高濃度でヒ酸鉄として Apoplastic-Feとして根に沈着すると思われた。今後、ヒ素と鉄の関わり、さらには鉄によるヒ素害の軽減に関する研究を進める必要があると思われた。

### 参考文献

- 1) Bienfait H. F., van den Briel W., and Mesland-Mul N. T. (1985): Free space iron pools in roots. Generation and mobilization. *Plant Physiol.* 78, 596-600
- 2) Ferguson J. F. and Gavis J. (1972): A review of the arsenic cycle in natural waters. *Water Res.*,6, 1259-1274
- 3) Kabata-Pendias, A.(2000) : Trace Elements in Soils and Plants., Third Edition, CRC Press Inc., Florida
- 4) Marin A.R., Masscheleyn P.H., and Patrick W.H. (1993): Soil redox-pH stability of arsenic species and its influence on arsenic uptake by rice. *Plant and Soil*, 152, 245-253

- 5) Nomoto K., Sugiura Y., and Takagi S. (1987) : In; Iron Transport in Microbs, Plants and Animals.VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, FRG.401-425
- 6) Shaibur M. R, Kitajima N., Sugawara R., Kondo T., IMAMUL HUQ S. M., and Kawai S. (2009): Effect of arsenic on phytosiderophores and mineral nutrition of barley seedlings grown in iron-depleted medium. Soil Science and Plant Nutrition, 55, 283-293
- 7) Smedley P. L. and Kinniburgh D. G. (2002): A review of the source, behavior and distribution of arsenic in natural waters. Appl. Geochem., 17, 517-568
- 8) Sun X. and Doner H. E. (1996): An investigation of arsenate and arsenite bonding structures on goethite by FTIR. Soil Sci., 161,865-872
- 9) Sun X. and Doner, H. E. (1998): Adsorption and oxidation of arsenite on goethite. Soil Sci., 163, 278-287
- 10) Takagi S. (1976) Naturally occurring iron-chelating compounds in oat- and rice-root washings. I. Activity measurement and preliminary characterization., 22, 423-433
- 11) Takagi S., Nomoto K., and Takemoto T. (1984) Physiological aspect of mugineic acid, a possible phytosiderophore of graminaceous plants., J. Plant Nutr., 11, 633
- 12) Takemoto T., Nomoto N., Fushiya S., Ouchi R., Kusano G., Hikino H., Takagi S., Matsuura Y., and Kondo M. (1978) Proc. Japan Acad., 54-B, 469-473
- 13) 山根忠昭 (1989) : 水稻におけるヒ素被害の発生機構と対策. 島根県農業試験場研究報告, 24, 1-95

## **Difference between arsenate and arsenite in toxicity to Fe nutrition in barley grown hydroponically**

S. Kawai<sup>1</sup>, E. Hiraki<sup>1</sup>, S. Goto<sup>2</sup> and K. Sera<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Faculty of Agriculture, Iwate University  
3-18-8 Ueda Morioka 020-8550 Japan

<sup>2</sup>Nishina Memorial Cyclotron Center, Japan Radioisotope Association  
348-58 Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0173, Japan

<sup>3</sup>Cyclotron Research Center, Iwate Medical University  
348-58 Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0173, Japan

### **Abstract**

The symptoms of Arsenic (As) toxicity was severe in the plants treated with 67  $\mu\text{M}$  Arsenite and 670  $\mu\text{M}$  arsenate. It was inferred that severity of toxicity in arsenite is more than 10 times of that of arsenate.

Release of Mugineic acid (MA) in roots was statistically similar among the plants treated with arsenate in all of the sampling days within 3 weeks. In the plants treated with 67  $\mu\text{M}$  arsenite did not release MA in each sampling day within 3 weeks. The MA concentration of roots of the plants was measured after the treatment for 2 weeks. The MA concentration in the roots of the plants treated with 6.7  $\mu\text{M}$  arsenate was significantly lower as compared with control, but that of the plants with 67  $\mu\text{M}$  arsenate was similar to control. In the plants treated with 67  $\mu\text{M}$  arsenite did not produce MA in the roots.

The plants treated with arsenate increased Apoplastic-As according to the increase of As concentration in the medium. Moreover, the ratio of As/Fe was 0.98 in the plants treated with 670  $\mu\text{M}$  arsenate; subsequently, 0.88 in the plants with 67  $\mu\text{M}$  arsenate. On the other hand, the ratio of As/Fe of the plants treated with arsenite was highest with the value, 0.185, at the plants with 6.7  $\mu\text{M}$ . These results suggested that arsenate may adsorb to the root surface with Fe in the form of  $\text{FeAsO}_4$ . It is possible that Fe might be converted to unavailable or immobilized form by being complexed with As.

# PIXE 法による秋田白神山地産地衣の多元素分析 —環境モニタリングの指標生物としての地衣類の有用性—

岩田吉弘

秋田大学教育文化学部  
010-8502 秋田市手形学園町 1-1

## 1 はじめに

土壌が重金属を含有し、植物が生育しにくい環境でも、リュウブやシダの一種のヘビノネコザが生育し、鉱山師はこのような植物の分布を鉱脈発見の手がかりにしていた。現在では生物種の分布による環境評価の代表として、水生昆虫を指標生物に用いる方法がある。一方、近年、生物のいくつかが特定の金属元素や有機化合物等を生物濃縮することが明らかになってきた<sup>1,2)</sup>。これを環境モニタリングに応用する方法として、沿岸海域に広く分布するムラサキイガイ中の重金属やPCB等の有機化合物を測定する方法が研究されている<sup>3,4)</sup>。

本研究でとりあげる地衣類は、亜硫酸ガス等に敏感な種があることや、比較的人目につきやすいため、大気環境の指標生物に用いる研究が行われている<sup>5,6)</sup>。また、固着性で寿命が長く、南極を含め世界の陸域に分布していることから、蘚苔類とともに環境モニタリングの生物に用いる方法が提案され検討されている<sup>7)</sup>。

生物濃縮を用いて環境モニタリングをおこなう場合、通常の生体試料分析で必要とされる試料調製法および分析法の感度および精度のほか、化学物質の生体内分布と濃縮係数の見積もり、濃縮経路の解明など生物濃縮に関する基礎的検討が不可欠である<sup>7)</sup>。地衣類についてもコバルト<sup>8)</sup>およびヒ素<sup>9,10)</sup>についての検討が始められている。

本研究で用いる微量元素分析法の粒子励起 X 線分光法 (Particle Induced X-ray Emission、以下 PIXE 分析法) は、サイクロトロンなどの加速器からの陽子などの荷電粒子を試料に照射し、発生する特性 X 線のエネルギーから元素を同定し強度から定量をおこなう、高感度多元素分析が可能な機器分析法である。1970 年代から開発と応用が進められ、現在では生体試料や大気中浮遊粉じん等環境試料の代表的な分析法となっている<sup>11)</sup>。特に、数 mg とした微量試料に対する高感度分析や、マイクロビームによる PIXE 分析法では、数 mm 角の範囲を  $\mu\text{m}$  以下の分解能で元素分布図できる。本研究では、PIXE 分析法を白神山地産の地衣中の少量および微量元素の定量分析に適用し、試料調製法、分析感度および精度の検討をおこなうとともに、元素組成の特徴と環境モニタリング生物としての地衣類の有用性について考察したので報告する。

## 2 実験

### 2.1 分析用地衣試料の調製

地衣は、1983 年および 1993 年に白神山地で採取され、風乾後、標本室内に室温で保存された 5 種を用いた (表 1)。この乾燥標本から、その一部 (約 200 mg) を採取し、めのう乳鉢で粉碎し、さらにプランクトンネット用のナイロンメッシュでふるい分けし、粒径 60  $\mu\text{m}$  以下の部分を分析用地衣試料とした。

### 2.2 PIXE 分析用の照射試料の調製

非イオン性界面活性剤の Triton X-100 (和光純薬) は、純水で希釈し、2%水溶液として用いた。バインダーのポリビニルアルコール(PVA)の 0.5%水溶液は、PVA を 10%含有する凍結切片作成用包埋剤 (ティシューテック、サクラファインテックジャパン) を純水で 20 倍に希釈して調製した。

分析用地衣試料 (2-3 mg) をガラス製バイアル (容量 5 ml) に分取し精秤後、0.4 ml の 2% Triton X-100 水溶液を加え振り混ぜ、さらに 1.6 ml の 0.5% PVA 水溶液を加え、振り混ぜてけん濁させた。アスピレーターに接続した吸引ろ過器に Nuclepore® ポリカーボネートフィルター (Whatman、直径 25 mm、孔径 10  $\mu\text{m}$ ) をセットし、けん濁液を加え、吸引ろ過した。地衣試料を付着させたフィルターはそのまま風乾し、PIXE 照射用ターゲットホルダーに装着した (図 1)。

表 1 分析に用いた地衣一覧(標本提供 秋田大学教育文化学部教授 井上正鉄)

試料番号	学名	採取地
採取日	和名	着生基物 [標高/m]
22368	<i>Anaptychia isidiza</i> Kurok.	岳岱(秋田県藤里町)
14, Sept. 1993	トゲヒメゲジゲジゴケ	ブナ [-]
22484	<i>Anzia japonica</i> (Tuck.) Müll.Arg.	岳岱(秋田県藤里町)
14, Sept. 1993	サボテンアンチゴケ	ナナカマド [590-620]
22579	<i>Parmelia fertilis</i> Müll.Arg.	二ツ森(秋田県藤里町)
17, Sept. 1993	トゲナシカラクサゴケ	イタヤカエデ(枯木) [970]
22903	<i>Ramalina conduplicans</i> Vain.	粕毛川・赤石川源流(秋田・青森県)
1-3, July 1983	カラタチゴケ	ブナ [800]
23680	<i>Bryocaulon divergens</i> (Ach.) Kärnefelt	小岳山頂部(秋田県藤里町)
19, July 1993	クリイロトゲキノリ	岩 [980-1040]

## 2.2 PIXE 分析

PIXE 分析用の照射試料は、日本アイソトープ協会仁科記念サイクロトロンセンターのサイクロトロンからの 3MeV の陽子ビーム (電流値: 10 から 30 nA) を照射した。軽-中元素 (Na-Zn) の定量では、ビーム径 2 mm で約 5 分照射し、重元素 (Zn-Pb) の定量では、ビーム径 6 mm で約 20 分照射した。照射電荷量はファラデーカップで計測し、測定した X 線スペクトルの解析は PIXE 解析用最小自乗フィッティングプログラム (SAPIX) で行った。

## 3 結果と考察

### 3.1 試料調製法

地衣類は、菌類と藻類の共生体であり、その組織は複雑であり、組織によって元素含有量が異なることが予想される。このような分析試料の場合は、一般的に分析対象試料の一定量を均質化し、分析試料に供することが一般的である。PIXE 分析法は、陽子による特性 X 線の発生断面積が電子あるいは X 線のそれに比べて 2-5 桁大きいいため EPMA や XRF よりも高感度分析が可能である。一方、加速エネルギー 3 MeV 程度の陽子ビームの照射試料中での飛程は数十  $\mu\text{m}$  にすぎない。このため、今回は、めのう乳鉢を用いて均質化し、ナイロンメッシュと Nuclepore® ポリカーボネートフィルターをもちいて、粒度 10-60  $\mu\text{m}$  の部分を分析用地衣試料とした。なお、このように組織が複雑な地衣類もマイクロビームによる PIXE 分析法で、元素分布図を作成できることが示されており<sup>8-10)</sup>、今後白神産の地衣にも応用したい。

PIXE 分析用の照射試料では、分析試料をフィルム上に質量厚み 1 mg/cm<sup>2</sup> 程度に均一に塗布し薄膜試料とすると感度の向上が期待される<sup>11)</sup>。生体試料を環境モニタリングに用いる場合は、分析試料が多数個となるため、なるべく簡便な方法で試料調製を実施することが望まれる。そこで本研究では簡単なる過操作のみで薄膜試料を調製する方法を用いた。生体試料の乾燥粉末をそのまま水に懸濁しようとする「ダマ」になりやすい。そこで、タンパク質の可溶化に効果のあるに非イオン性界面活性剤の Triton X-100 の 2% 水溶液に分析

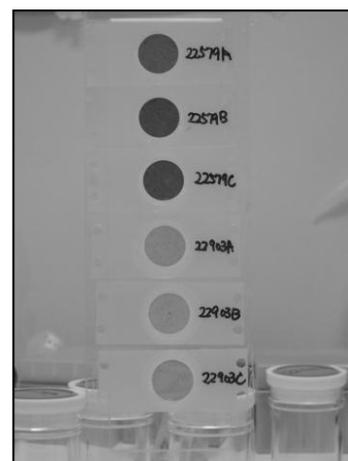


図 1 PIXE 分析法用の照射試料  
試料番号 22579 および 22903 各 3 枚

用地衣試料を加え、懸濁させた。また、ろ過後にフィルターはそのまま乾燥させると、分析用地衣試料が剥離しやすい。このため、化学糊の原料の一種である PVA の 0.5% 水溶液を懸濁液に加えた後、ろ過した。このような一連の操作で調製した 2 種類の地衣各 3 枚の PIXE 分析法用の照射試料を図 1 に示したが、均一性良く分析用地衣試料がフィルターに付着している様子が分かる。これは、3.2 で示す定量結果の再現性の良さにも表れている。なお、色の濃さの違いは付着させた分析用地衣試料の違いによるものである。

### 3.2 PIXE 分析法の分析感度および精度

5 種の地衣試料に対する各 3 回の PIXE 分析の結果を平均、標準偏差および相対標準偏差を表 2 に示す。

表2 粒子励起 X 線分光法による白神山地産地衣類中の少量および微量元素分析

元素	定量結果 [平均値±標準偏差(μg/g n=3) 相対標準偏差(%)]										文献値	
	22368 トゲヒメゲジ ゲジゴケ		22484 サボテンアンチ ゴケ		22579 トゲナンカラ クサゴケ		22903 カラタチゴケ		23680 クイロトゲ キノリ		IAEA-336 <sup>12)</sup>	Bowen <sup>13)</sup>
Na	294±24	8	288±150	52	375±125	33	240±53	64	332±46	14	-	1000-40000
Mg	466±48	10	484±95	20	804±205	26	134±59	44	230±57	25	-	170-1000
Al	3470±530	15	3490±134	4	3670±240	7	1570±80	5	2830±260	9	680*	20-6000
Si	13000±2000	15	10700±630	6	1090±600	5	4870±290	6	9770±1070	11	-	-
P	349±76	22	322±23	7	409±31	8	337±42	12	273±34	13	610*	74
S	764±46	6	631±70	11	641±126	20	874±27	3	631±105	17	-	700-1500
Cl	133±44	33	369±2	1	457±93	20	(10, 17, 56)		154±39	25	1900*	-
K	1330±220	16	1060±60	6	1230±60	5	468±17	4	845±49	6	1840**	600-8500
Ca	2900±280	10	11600±950	8	5220±550	10	1731±102	6	664±18	3	-	260-18000
Ti	242±26	11	249±59	24	248±22	9	112±3	3	212±28	13	-	-
V	(ND, 16, 7.6)		(14, 41, ND)		(ND, ND, ND)		(ND, ND, ND)		(ND, ND, ND)		1.47*	0.3-4.8
Cr	(9.3, 3.7, 2.5)		(7.3, 9.7, 4.5)		(7.4, 9.3, 7.2)		(ND, 3.7, 0.8)		(5.0, ND, 10.3)		1.06*	0.6-7.3
Mn	215±34	16	76.9±6.4	8	345±167	5	31.6±3.5	11	25.1±5.0	20	63**	3-190
Fe	2370±390	17	2240±134	6	2500±146	6	965±37	4	1960±60	3	430**	40-5200
Ni	(3.5, 4.5, ND)		(ND, ND, 4.1)		(3.0, ND, 2.6)		(2.8, 4.9, 2.5)		(2.4, 4.4, 1.2)		-	1.5-3.8
Cu	9.6±2.8	29	13.0±1.6	12	13.2±5.0	38	8.0±1.5	19	7.2±0.3	5	3.6**	9-24
Zn	43.7±4.6	11	46.5±3.5	7.5	94.7±6.2	7	41.6±6.7	16	26.0±3.5	14	30.4**	20-60
Ga	(1.1, ND, 1.3)		(0.9, 1.4, 1.8)		(1, 1.4, 0)		(ND, 0.4, 0.9)		(1.5, 1.1, 0.9)		-	2.2
Se	(ND, 1.1, 1.0)		(ND, ND, 0.9)		(1.7, 1.1, 1.4)		(ND, 0.5, ND)		(ND, 0.7, ND)		0.22**	-
As	(ND, 3.0, ND)		(ND, ND, 3.3)		(ND, ND, ND)		(ND, 0.4, 0.9)		(2.3, ND, 0.7)		0.63**	-
Br	20.7±3.7	18	21.9±4.2	19	42.1±0.7	2	5.8±2.0	35	11.1±2.5	22	12.9**	-
Rb	14.6±1.6	11	7.4±2.3	31	7.3±2.0	27	3.4±0.3	8	2.9±0.5	18	1.76*	2.4-25
Sr	21.0±2.5	12	37.4±4.9	13	38.4±2.5	6	6.5±1.3	20	8.9±0.8	8	9.3**	0.8-250
Zr	10.2±2.1	21	9.0±1.9	21	12.4±2.6	21	4.8±1.1	22	7.3±1.7	24	-	10
Hg	69.0±9.0	13	26.1±2.4	9	121±9	7	4.5±1.4	30	86.7±1.0	1	0.20**	0.34
Pb	42.7±5.8	14	51.4±6	12	52.4±3.6	7	31.5±6.1	19	42.2±8.4	20	4.9*	1-78

ND: 定量下限以下、-: データなし、\*\* : Recommended Value、\* : Information Value

0.1~数%のレベルで含有される微量元素のケイ素、カリウム、カルシウム、鉄から、~10 mg/g のレベルで含有される微量元素の銅、ルビジウム、ジルコニウムなど 26 元素の定量が可能であった。塩素、バナジウム、クロム、ニッケル、ガリウム、セレン、ヒ素では、定量下限以下となったり、3 回の相対標準偏差が 70% 以上と再現性が低い場合があり、括弧書きで 3 枚の定量結果を併記した。ND は定量下限以下を表す。バナジウム、ガリウム、セレンおよびヒ素の場合は、含有量が数 μg/g と PIXE 分析法の定量下限に近いと、ND であったり、再現性が低かったと考えられる。一方、クロムは、~10 μg/g のレベルで含有されており、定量下限を上回っているが再現性が低い。これは、クロムが PIXE 分析法用の照射試料に不均一に分布しているこ

とが示唆される。地衣に取り込まれたクロム以外に、表面にクロムを含む岩石由来の粒子が付着したため、元素分布が不均一になったものと考えられる。一般的に岩石にはクロムは生体試料に比べ数十倍多く含有されている<sup>1,13)</sup>。塩素の場合は、ナトリウムとともに水に可溶性の塩で分析用地衣試料に含有されると予想される。ナトリウムの場合も相対標準偏差が14 - 64%で再現性の低い結果が得られている。これら元素はPIXE分析用の照射試料調製の際、その一部が溶解することで損失し、その量にばらつきがあったためと考えられる。表2の文献値と比較しても今回の定量値が全般に小さいことから示唆される。マグネシウム、カリウム、臭素およびルビジウムも可溶性の塩を含むと予想されるが、相対標準偏差はそれぞれ4 - 16%、10 - 44%、18 - 35%および8 - 33%と比較的再現性良く定量できた。その他の少量及び微量元素の14元素の定量における相対標準偏差は3 - 20%と良好で、精度が高かった。水銀は有毒元素として環境での挙動が注目されている一方、揮発性が高いため精度の高い分析が難しい元素の一つである。今回のPIXE分析では、含有量の低い22903カラタチゴケを除き、1-13%の相対標準偏差で定量でき、本法が白神山地産地衣体中の重金属の化学分析として有効であることが示された。

### 3.3 白神山地産地衣の元素組成の特徴と環境モニタリング生物としての有用性

ヒ素、水銀および鉛は環境モニタリングで注目される有害元素である。表2には、今回の定量値とともに、国際原子力機関が配布している化学分析用標準物質「IAEA-336 Trace and Minor Elements in Lichen」中の少量および微量元素<sup>12)</sup>とH. J. M. Bowenによってまとめられた地衣類の代表的な元素含有量<sup>13)</sup>を示した。IAEA-336は、ポルトガルの汚染源から離れた2カ所で採取された*Evernia prunastri* (L.) Ach. (ツノマタゴケ)で、着生基物は灌木の*Cistus ladanifer*あるいは*Quercus*類(コナラ類)である。今回の分析結果とIAEA-336と比較すると、白神産地衣類には、水銀は20-600倍、鉛は6-11倍含有されている。Bowenの値はやや古い分析値であるが、これと比較しても、白神産地衣類には水銀が高濃度で、鉛も含有量が大きいと判断される。また、5種の地衣類の含有量は、鉛については30 - 50 µg/g程度とサンプル間の差は小さいが、水銀については5 - 121 µg/gと大きく異なっている。白神山地とその周辺にはこれら重金属の発生源はなく、地球化学図<sup>14)</sup>を参照しても、白神山地の地表の基盤岩にこれらの重金属が多いわけでもない。水銀については、例えば地衣類を用いたイタリアのトスカナ地域のモニタリングでは0.013 - 0.46 µg/g<sup>15)</sup>、廃止鉱山周辺でのモニタリングでは、0.07 - 0.24 µg/g<sup>16)</sup>が報告されている。ただし前者は地衣試料中の揮発性の水銀を原子吸光法、後者は地衣試料をあらかじめ硝酸分解し、原子吸光法で分析をおこなっており、本研究と試料調製法、分析法が異なっている。本研究は萌芽的取り組みであり、分析数も限られている。今後、地衣類の種、採取地、採取時期の範囲を広げ、元素含有量の特徴を明らかにするとともに、他の分析法による定量を試みるなど、さらに信頼性の高いデータを集積したい。

**謝辞** 本研究にあたり貴重な白神産地衣類の標本を提供していただくとともに地衣類についての情報を教授下さった井上正鉄先生に感謝いたします。PIXE分析の実施にご協力いただいた岩手医科大学サイクロロンセンター世良耕一郎教授ならびに日本アイソトープ協会のスタッフに感謝します。

#### 文献

- 1) 今井弘、「生体関連元素の化学」培風館、1997
- 2) C. Baird, *Environmental Chemistry*, 2nd. ed., W. H. Freeman and Co., 1999.
- 3) H. H. White, *Concepts in Marine Pollution Measurements*. A Maryland Sea Grant Publication, 1984.
- 4) 山口友加他、地球化学、34(2000)41-57
- 5) M. E. Conti and G. Cecchetti, *Environmental Pollution* 114(2001)471-492
- 6) 大村嘉人他、大気環境学会誌、43(2008)47-54
- 7) K. Szczepaniak and M. Biziuk, *Environmental Research* 93(2003)221-230
- 8) T. Ohnuki, et.al., *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B* 210(2003)407-411
- 9) T. Ohnuki, et.al., *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B* 190(2002)477-481
- 10) T. Mrak, et.al., *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B* 260(2007)245-253

- 11) 岩田吉弘、ぶんせき(1994)612-618
- 12) International Atomic Energy Agency (IAEA) Reference Material, IAEA-336 Trace and Minor Elements in Lichen, Reference Sheet (1994)
- 13) H. J. M. Bowen, *Environmental Chemistry of the Elements*. Academic Press, 1979.
- 14) 産業技術総合研究所地質調査総合センター、「日本の地球化学図」、  
<http://riodb02.ibase.aist.go.jp/geochemmap/index.htm>
- 15) R. Scerbo, et. al., *The Science of Total Environment* 241(1999)91-106
- 16) R. Bargagli, et. al., *Environmental Pollution* 116(2002)279-287

**Multi-element analysis of PIXE for lichen samples from  
Shirakami-Sanchi, Akita  
-Utilities of lichens as bioindicators of environmental monitoring-**

Yoshihiro Iwata

Department of Chemistry, Faculty of Education and Human Studies, Akita University  
1-1 Gakuen-Machi, Tegata, Akita 010-8502, Japan

**Abstract**

Utilities of lichens as bioindicators of environmental monitoring were examined by PIXE analysis. Several lichens sampled from Shirakami-Sanchi, Akita. They were dried by air and milled by an agate mortar. Powdered lichens were sifted and suspended into water containing Triton X-100 as a surface-active agent and polyvinylalcohol as a binder agent. The suspensions were filtered on Nuclepore Track-Etch Membrane (pore size : 10  $\mu$ m) and the membrane targets were bombarded by 3 MeV Proton from NMCC cyclotron. 5 Kinds of lichen were analyzed by PIXE and concentration for 26 elements were determined by PIXE analysis. Determined elements were major, minor and trace elements in biological materials and contained several essential elements such as Fe, Zn and Cu. And also this PIXE analysis could measure some toxic elements, Hg and Pb. Relative standard deviation for each lichen sample from 3 analytical targets were 1-13% for traces of Hg and Pb. It was shown that the uniformity of the target was excellent. The sample preparation for lichens is simple and this PIXE analysis is able to measure so handily multi-elements, that it is useful for the environmental evaluation by lichens.

## リポソーム化抗癌剤の動態

藤村 朗、安藤禎紀、鍵谷忠慶、杉山育美<sup>1</sup>、佐塚泰之<sup>1</sup>、高橋千衣子<sup>2</sup>、後藤祥子<sup>2</sup>、  
世良耕一郎<sup>3</sup>

岩手医科大学歯学部口腔機能構造学講座口腔解剖学分野  
020-8505 岩手県盛岡市中央通 1-3-27

<sup>1</sup>岩手医科大学薬学部創剤学講座  
028-3694 紫波郡矢巾町大字西徳田 2-1-1

<sup>2</sup>(社)日本アイソトープ協会滝沢研究所  
020-0173 岩手県岩手郡滝沢村滝沢字留が森 348-1

<sup>3</sup>岩手医科大学サイクロトロンセンター  
020-0173 岩手県岩手郡滝沢村滝沢字留が森 348-58

### 1 はじめに

悪性腫瘍に対する化学療法とは宿主に似た物質であるが同一ではない病原体、癌細胞の標的物質を攻撃する選択毒性というところにターゲットを置いている。しかしながら、もともと自分の細胞であるものがアポトーシスを起こすことを忘れて活発に増殖し続けるようになったものが腫瘍であるため、抗癌剤を投与すると、正常な細胞でも抗癌剤の攻撃を受ける可能性がある。これが副作用である。我々は抗癌剤による化学療法により引き起こされる副作用を最小限に抑え、患者の QOL を向上させることを目的として、抗癌剤の投与量を少なくするための方策としてリンパ管経由の薬剤投与を推奨しており、口腔領域の諸臓器におけるリンパ管構築を検索し<sup>1-9)</sup>、薬剤投与部位として有効な部位や投与方法について検討している。当初、薬剤投与方法として腫瘍周囲に抗癌剤を注射することで原発部位、転移リンパ節に十分な量の抗癌剤が到達することを明らかにしたが、いくつかの問題点が発生していた<sup>10-12)</sup>。我々が行ってきた実験は小動物による基礎実験であったため、最大の問題は、投与のたびに麻酔をかけなければならないことであった。これをヒトに置き換えて考えると、投与のたびに痛みを与えることになり、患者に苦痛を与えることになる。経口投与はこの観点からは有効な投与方法ではあるが、投与量が多く

なるという欠点がある。もう一点の問題は注射した際の刺入点の創傷治癒が遅れることである。注射後、針を抜く際に生食水を少し注入してから抜いても組織中に注入した薬液が圧力で創傷部に逆流し、薬剤のために治癒が遅れる。また、注入量は極力少なくしなければ痛みを増大させることにもなり、できれば不要な注入は行いたくない。そこで、今回我々は注入した薬剤が徐放化されていることにより一度の注入で注入部位に薬剤が原発巣をたたくために残ること、また、注入部位から転移リンパ節（所属リンパ節）に必要濃度で流れ込むものを想定した基礎実験を行い、薬剤が必要量流れることを検討した。

## 2 実験材料および方法

### 2.1 材料

#### 2.1.1 動物

本実験ではマウス（C57BL/6）を 16 匹用いた。本研究は岩手医科大学動物実験委員会（動物実験倫理委員会を含む）の承認（21-053）を受けて岩手医科大学動物実験指針に従って行った。

#### 2.1.2 リポソーム化シスプラチン の調製法

抗癌剤は Cisplatin (cis-diamminedichloroplatinum: CDDP、MW:300.05、Nippon Kayaku) 粉末で日本化薬より供与を受けた。

リポソーム化シスプラチン の調製法を Fig.1 に示す。

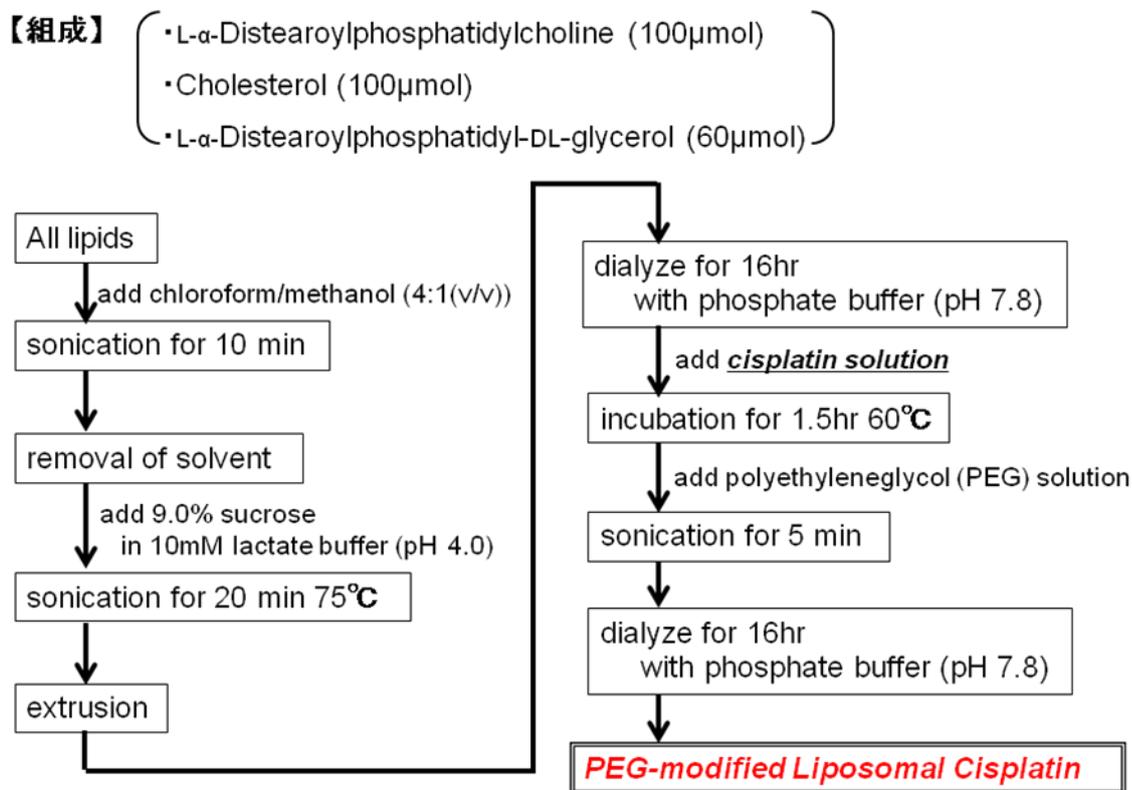


Fig.1 Liposomal Cisplatin の調製法

リポソーム化を完了したシスプラチン水溶液を直接 PIXE にて白金量計測を行い、1 匹のマウス舌に注入する白金量をシスプラチンに換算して 1 $\mu$ g/10 $\mu$ l に調整した。

## 実験 1

平均リポソームサイズ約 100 $\mu\text{m}\phi$ 、400 $\mu\text{m}\phi$ 、800 $\mu\text{m}\phi$  を作成し、白金の所属リンパ節への移行量の計測を行った。

## 実験 2

平均リポソームサイズは A 群 131.7nm $\phi$ (75.1%)と 748.0nm $\phi$ (24.9%)の混合、B 群 118.4nm $\phi$ (100%)の 2 種類を作製した。各群のリポソームの Volume データは A 群 116.0nm(59.9%)、793.1nm(40.1%)、B 群 106.5nm(100%)であった。

## 2.2 実験方法

動物はペントバルビタール腹腔内麻酔下に、実験 1 では 3 種類のサイズのリポソーム化シスプラチンを各 2 匹に、実験 2 では 2 種類のリポソーム化シスプラチンを各 5 匹の左側舌辺縁部に 10 $\mu\text{l}$  (白金量換算で 0.65 $\mu\text{g}$ ) を、24G 針を使用してマイクロシリンジにて注入した。注入 24 時間後にペントバルビタール過麻酔下に舌および左右の顎下リンパ節を摘出した。各試料は乾熱乾燥 (200 $^{\circ}\text{C}$ ) を 2 日間行った。舌については内部標準をインジウムとして加え、硝酸灰化法にて調整を行い、Particle Induced X-ray Emission (PIXE) により白金検出を行った。顎下リンパ節は乾燥重量が 1mg 未満であったため、世良の無調整・無標準法にて PIXE による白金検出を行った<sup>13-14)</sup>。

## 3 結果

### 3.1 実験 1

3 種類の平均リポソームサイズ(約 100 $\mu\text{m}\phi$ 、400 $\mu\text{m}\phi$ 、800 $\mu\text{m}\phi$ ) をマウスの左側舌辺縁部に注射し、24 時間後の舌内および所属リンパ節への白金の移行量の計測を行った。各試料の白金検出結果を Fig.2,3 に示す。

舌内においては、サイズの大きいリポソーム化シスプラチンは 24 時間後でも注入部位に小さいサイズのもの 2~3 倍量残存していたが、100 $\mu\text{m}\phi$  と 400 $\mu\text{m}\phi$  の間に大きな差は認められず、800 $\mu\text{m}\phi$  のみが多く残留していた。すべての試料において 2.6 $\mu\text{g/g}$  以上の白金が検出された(Fig.2)。

一方、舌の所属リンパ節である顎下リンパ節には、3 種類すべてのリポソーム化シスプラチンで、注射した左側において右側の 2~3 倍の白金量が検出された。検出された白金量は個体によるばらつきはあるが、概して大きいサイズのリポソーム化シスプラチンが多くなっていた。検出量が注入量より多く出ているのは顎下リンパ節の乾燥重量が 1mg より小さいためであり、縦軸の単位が  $\mu\text{g/g}$  であることから、実際に顎下リンパ節に移行した白金量はグラフの縦軸の 1/5~1/10 量と考えている。その結果、ほとんどのマウスの左右顎下リンパ節には 2.6 $\mu\text{g/g}$  以上の白金が検出されていた(Fig.2)。

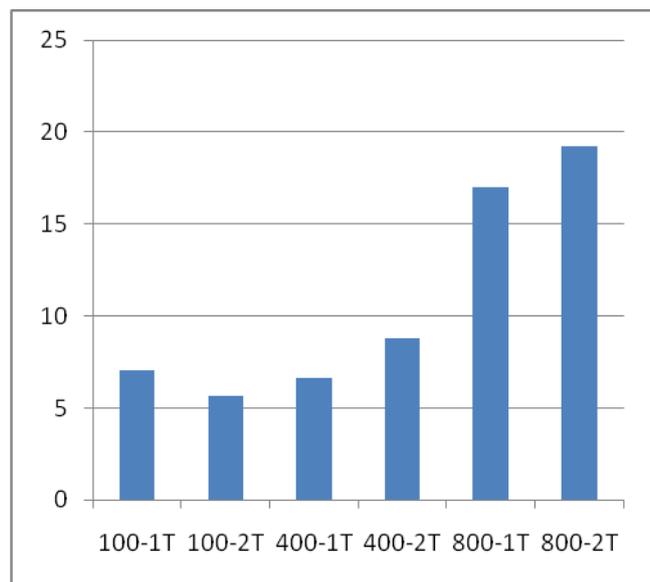


Fig.2 舌内における 24 時間後の白金残留量  
縦軸の単位 :  $\mu\text{g/g}$   
横軸の記号 : サイズー動物番号 T (舌)

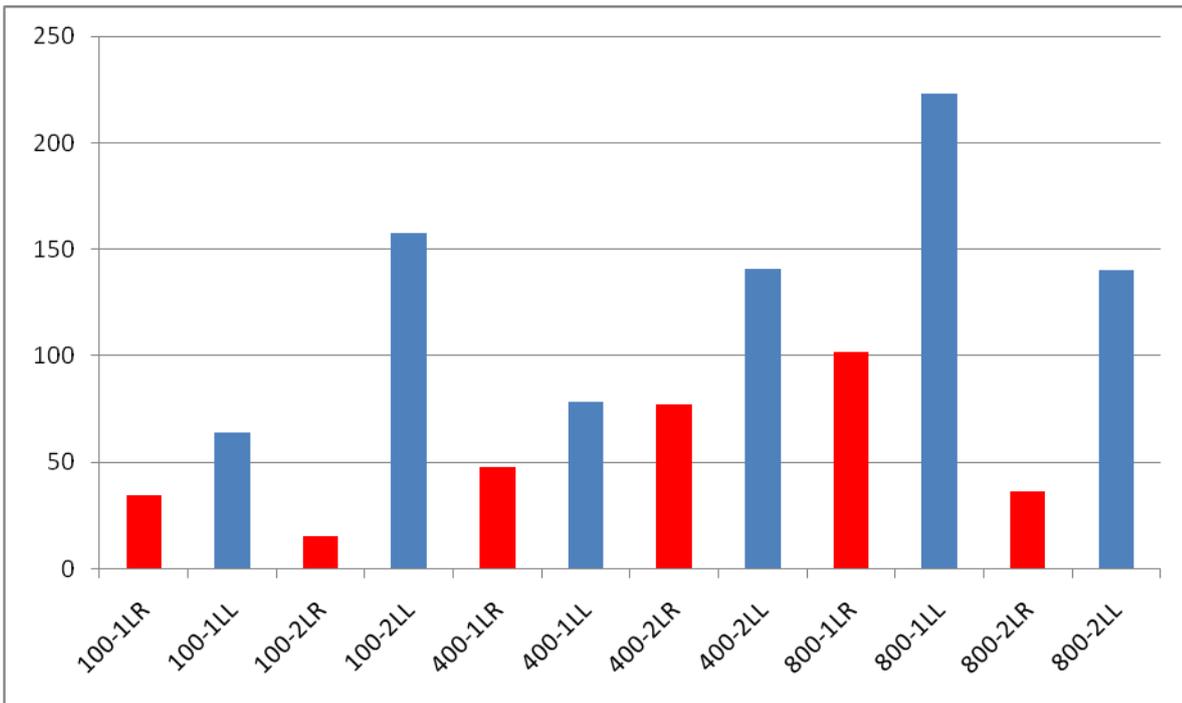


Fig.3 顎下リンパ節内における 24 時間後の白金検出量 縦軸の単位 : µg/g  
横軸の記号 : サイズー動物番号 L(顎下リンパ節)左右

### 3.2 実験 2

2種類のリポソーム化シスプラチン(平均リポソームサイズはA群 131.7nmφ(75.1%)と 748.0nmφ(24.9%)の混合、B群 118.4nmφ(100%))をマウスの左側舌辺縁部に注射し、24時間後の舌内および所属リンパ節への白金の移行量の計測を行った。各試料の白金検出結果を Fig.4 に示す。

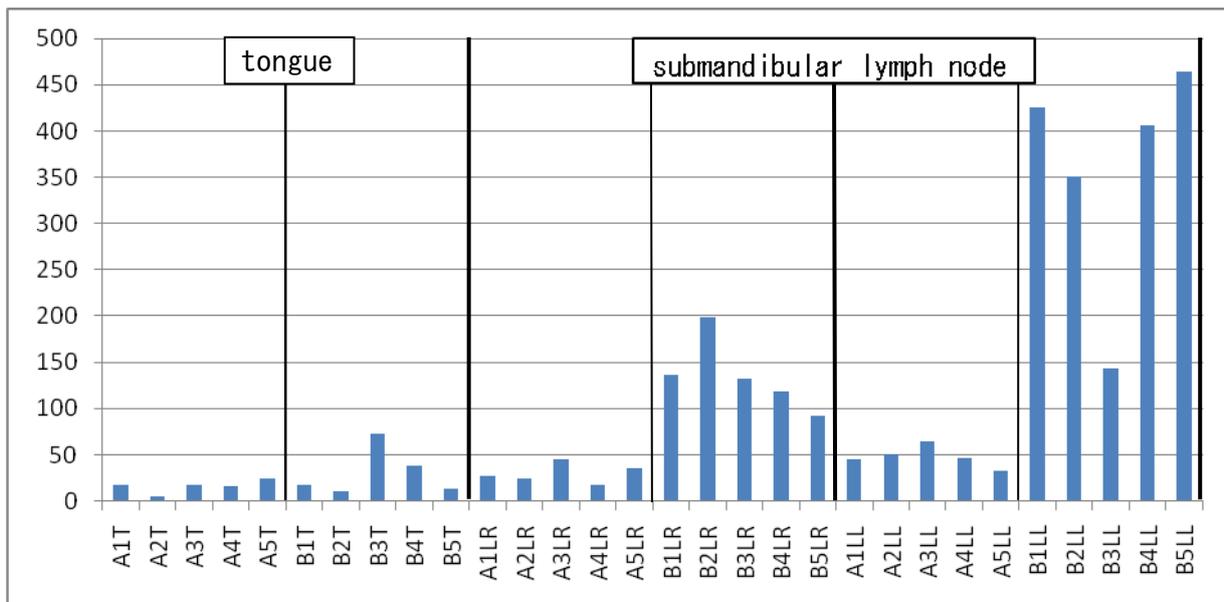


Fig.4 2種類のリポソーム化シスプラチンの舌内および顎下リンパ節内における 24 時間後の白金検出量 (A 群 131.7nmφ(75.1%)と 748.0nmφ(24.9%)の混合、B 群 118.4nmφ(100%))  
縦軸の単位 : µg/g 横軸の記号 : 群ー動物番号 T(舌)または L(顎下リンパ節)左右

舌内における 24 時間後の白金残留量は A 群、B 群ともに平均は差が認められなかった。B 群で、データにばらつきがみられた。しかしながら、すべての動物において 2.6 $\mu\text{g/g}$  以上の白金が検出された。結果として、サイズによる違いを認めなかった。

顎下リンパ節への白金の移行量には大きな差が認められた。すなわち、B 群（リポソームサイズが 100 $\mu\text{m}\phi$ ）が A 群（リポソームサイズが 100 $\mu\text{m}\phi$  と 800 $\mu\text{m}\phi$  の混合）より 2~3 倍量検出された。両群とも、舌における注射側である左側に多く検出されていたが、右側にもすべての動物において 2.6 $\mu\text{g/g}$  以上の白金が検出された。

#### 4 考 察

本研究の目的は徐放化した抗癌剤を腫瘍原発部に注入し、薬剤がリンパ管を介して所属リンパ節に十分量の濃度で到達するか否かを検討することである。我々は、抗癌剤の徐放化をリポソームの形で検証している。一方、リンパ管は血管より大きなサイズの粒子を吸収することが可能である。逆説的に言うと、血管に吸収されずにリンパ管にのみ吸収されることを期待しているわけである。今回我々が作成したリポソーム化シスプラチンは注入直後に体液に触れることで徐放が開始するため、本来の目的に合致した薬剤形態にまでは至っていないが、大きなサイズは注射局所に残留し、徐放する、小さいサイズはリポソームの形でもリンパ管に吸収されること、さらに、注射局所において徐放した薬剤は血管およびリンパ管の双方に吸収され、血管内に吸収されたものは大量の血液内で希釈されるが、リンパ管に吸収されたものは所属リンパ節に到達することを期待している。今回用いたシスプラチンは体液の蛋白と吸着することで、抗癌作用を喪失するため、フリーの状態の白金がいかに多く癌細胞に到達するかが、抗癌作用の効果としてあらわれるものである。過去の報告では、局所にシスプラチン水溶液を血管内に注射することで抗癌作用をあらわすこと（実際の臨床ではこの形態で投与）、局所に注射しても抗癌作用をあらわすことは確認しているが<sup>15-20</sup>、今回の研究では、さらに、リポソーム化された形の抗癌剤がリポソームの形でリンパ管に吸収され、リンパ節に到達し、そこで徐放することで、フリーの白金が転移リンパ節の癌細胞に直接働く可能性を検索したことになる。

実験 1 では、大きいサイズのリポソームは注射局所に残留していることを、実験 2 では注射 24 時間後に所属リンパ節に十分量の白金が検出された。形態的な検索を行っていないので、リポソームがリポソームの形でリンパ管に吸収されたのか、徐放後にリンパ節に到達したのかは不明であるが、大きいサイズのリポソームが注射局所に大量に残留していたこと、所属リンパ節には以前ウサギの移植実験<sup>10-12</sup>で報告したシスプラチンが抗癌作用を示す局所濃度が 4mg/kg(=4 $\mu\text{g}$ [シスプラチン]/g=2.6[白金] $\mu\text{g/g}$ )をはるかに超える濃度であったことは水溶液の状態では注射した実験より有効な方法であることが推測できた。また、抗癌剤の投与量では、今回の実験ではマウス 1 個体に対して 1 $\mu\text{g}$  を投与した。通常の場合、4mg/kg で投与するため、全身に対する投与量は 100 $\mu\text{g}/25\text{g}$  (個体) となる。この点からみても、投与量は血管内投与の 1/100 量である。また、過去の報告で、血管内注入による投与方法の場合、血管内に注入し、組織に到達した薬剤は体液に暴露しているため、抗癌作用をすでに失っており、局所に到達した薬剤の 8~10% が有効な薬剤であるとされている。この観点から、本研究で用いている投与方法はほぼ、局所に存在する薬剤は 100% の作用を保持していると考え、1/1000 の量でよいことになり、しかも、PIXE による定量結果から、必要濃度の 2~10 倍くらいの濃度で白金が検出されている。これらの結果は、現在臨床で使われている抗癌剤の投与方法の量を限りなく少なくすることが可能になることを示唆している。すなわち、投与した薬剤が最終的に血中に入り、全身をまわったとしても、副作用を引き起こす濃度ではないことになる。抗癌剤に限らず、化学療法の最大の問題点は副作用であり、その最大の原因は投与量である。我々が考案した抗癌剤の投与方法は量的に引き起こされる副作用を限りなく抑制し、その結果、患者の QOL を確保できるものと考えている。今後、実験的腫瘍実験において本法を用いて、抗癌作用を確認すること、さらに、徐放剤の改良（徐放開始の遅延、リポソームサイズ

の検討、リンパ管指向性の添加、粘膜経由の創剤化) を検討する予定である。

## 参考文献

- 1) 陳寛宏、藤村 朗：ゴールデンハムスターの舌におけるリンパ管の走行、岩手医科大学歯学雑誌、19：91-102、1994
- 2) 謝 雪峻、藤村 朗：舌のリンパ管による巨大分子クリアランスに関する研究、岩手医科大学歯学雑誌、25：273-282、2000
- 3) 梁 榮洲、藤村 朗：舌粘膜上皮下毛細リンパ管構築 -酵素組織化学的検索-、岩手医科大学歯学雑誌、25：283-291、2000
- 4) Akira Fujimura and Yohichiro Nozaka：Analysis of the three-dimensional lymphatic architecture of the periodontal tissue using a new 3D reconstruction method.、Microscopy Research and Technique、56：60-65、2002
- 5) A. Fujimura, S. Seki, M-Y. Liao, X. Hu, M. Onodera, Y. Nozaka：Three dimensional architecture of lymphatic vessels in the tongue.、Lymphology、36：120-127、2003
- 6) Min-Ying Liao and Akira Fujimura：The distribution of lymphatic vessels in gingiva.、Microvascular Reviews and Communications、2：2-7、2008
- 7) 佐藤 大、藤村 朗：頬粘膜下リンパ管の構築と分布量、岩手医科大学歯学雑誌、34：7-17、2009
- 8) Mikiko Masuyama, Akira Fujimura：Lymphatic distribution in the mouse periodontal ligament.、Microvascular Research and Communications、3：2-10、2010
- 9) Yoshinori Ando and Akira Fujimura：Lymphatic architecture of human periodontal tissue beneath the oral epithelium of the free gingiva.、Microvascular Research and Communications、3：17-24、2010
- 10) Shotaro Seki and Akira Fujimura：Three-dimensional changes in Lymphatic architecture around VX2 tongue cancer. -Dynamics in growth of cancer -, Lymphology、36：128-139、2003
- 11) Shotaro Seki and Akira Fujimura：Three-dimensional changes in Lymphatic architecture around VX2 tongue cancer. -Dynamics by administering of antiangiogenic agent -, Lymphology、36：199-208、2003
- 12) Toshihiro Ohta and Akira Fujimura：The anti-angiogenic agent, E7820, induces changes in the architecture of lymphatic vessels around tumors.、Dent. J. Iwate Med. Univ.、29：79-92、2004
- 13) Sera, K., Terasaki, K., Itoh, J., Futatsugawa, S, Saitoh, Y. and Fujimura, A.：Simultaneous Multi-element (Including Fluorine) Analysis of Various Bio-medical Samples.、Int'l Journal of PIXE、15：3,4 169-180、2005
- 14) Sera, K., Itoh, J., Goto, S., Saitoh, Y., Fujimura, A., Nosaka, Y., Noda, Y., Nishizuka, S. and Wakabayashi, G.：Quantitative Analysis of Very Small Quantity of Organs Taken from Patients and Experimental Animals; Standard-free Method for Organ、Int'l Journal of PIXE、18：3,4 111-122、2008
- 15) 藤村 朗、小野寺政雄、野坂洋一郎、太田敏博、齊藤恒夫、二ツ川章二、世良耕一郎：薬剤輸送経路としてのリンパ管の検証、第12回NMCC共同利用研究成果発表会、2005
- 16) 藤村 朗、佐藤 大、庄司 美樹子、小野寺 政雄、西村 智尚、野坂 洋一郎、伊藤 じゅん、世良 耕一郎：頬粘膜下リンパ管の薬剤吸収能 -バツカル錠を想定して-、第13回NMCC共同利用研究成果発表会、2006
- 17) 藤村 朗、野坂 洋一郎、世良耕一郎：頬粘膜および口蓋粘膜経由の抗癌剤投与、第14回NMCC共同利用研究成果発表会、2008
- 18) 藤村 朗、古城慎太郎、香木千尋、安藤禎紀、小野寺政雄、野坂洋一郎、世良耕一郎：生体からのPIXE試料採取法の改善、第15回NMCC共同利用研究成果発表会、2009
- 19) Akira Fujimura, Ikumi Sugiyama, Yasuyuki Sadzuka, Yohichiro Nozaka：The development of sustained release preparation. -Local administration using the lymphatic system-、第35回日本微小循環学会、2010
- 20) 藤村 朗、安藤禎紀、鍵谷 忠慶、杉山育美、佐塚泰之、高橋千衣子、後藤祥子、世良耕一郎：リポソーム化抗癌剤の動態第、15回NMCC共同利用研究成果発表会、2010

## The dynamics of liposomal anti-tumor agent

A. Fujimura, Y. Ando, T. Kagiya,  
I. Sugiyama<sup>1</sup>, Y. Sadzuka<sup>1</sup>, C. Takahashi<sup>2</sup>, S. Goto<sup>2</sup> and K. Sera<sup>3</sup>

Department of Oral Biology, Division of Oral Anatomy,  
School of Dentistry, Iwate Medical University  
1-3-27 Chuo-dori, Morioka 020-8505, Japan

<sup>1</sup>Department of Advanced Pharmaceutics, School of Pharmacy, Iwate Medical University  
2-1-1 Nishitokuta, Yahaba-cho, Shiwa-gun, Iwate 028-3694, Japan

<sup>2</sup>Takizawa Institute, Japan Radioisotope Association  
348-1 Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0173, Japan

<sup>3</sup>Cyclotron Research Center, Iwate Medical University  
348-58 Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0173, Japan

### Abstract

The aim of this experiment was to confirm that the platinum reaches to the regional lymph node ( submandibular lymph node ) or not when the liposomal cisplatin was injected to the mouse tongue.

The liposomal cisplatin was injected in the mouse tongue under anesthesia. After 24 hours, the tongue and the both side of submandibular lymph nodes were extracted, and then they were desiccated in the dryer at the 200 degree centigrade overnight. The tongues were treated by the chemical ashing method using nitric acid adding with Indium as the internal standard. The submandibular lymph nodes were treated by the standard-free method using the PIXE.

The large size of liposome remained in the tongue more than the small size of liposome. The enough quantity of platinum was accumulated in the regional lymph nodes ( over 2.6 $\mu$ g/g ). The large size (about 800 nm $\phi$ ) of liposome was very useful for the sustained release agent.

We believe that this method is useful for control to the side effects caused by the administration of anti-tumor agent.

## 粒子線治療効果を上げるための抗がん剤のがん細胞への集積度の研究

伊藤友紀<sup>1</sup>、寺川貴樹<sup>1</sup>、石井慶造<sup>1</sup>、山崎浩道<sup>2</sup>、世良耕一郎<sup>3</sup>、松山成男<sup>1</sup>、  
船木善仁<sup>2</sup>、菊池洋平<sup>1</sup>、藤原充啓<sup>1</sup>、川村 悠<sup>1</sup>、秋山久樹<sup>1</sup>、大倉 暁<sup>1</sup>、橋本悠太郎<sup>2</sup>、  
藤川 誠<sup>1</sup>、CatellaGuillaume<sup>1</sup>、羽鳥悦脩<sup>1</sup>、濱田尚希<sup>1</sup>、藤木広太<sup>1</sup>、  
伊藤伸彦<sup>4</sup>、和田成一<sup>4</sup>

<sup>1</sup> 東北大学大学院工学研究科量子エネルギー工学専攻  
980-8579 宮城県仙台市青葉区荒巻字青葉 6-6-01-2

<sup>2</sup> 東北大学大学院 CYRIC  
980-8578 宮城県仙台市青葉区荒巻字青葉 6-3

<sup>3</sup> 岩手医科大学サイクロトロンセンター  
020-0173 岩手県岩手郡滝沢村滝沢字留が森 348-58

<sup>4</sup> 北里大学獣医学部  
054-8628 青森県十和田市東二十三番町 35-1

### 1 はじめに

抗がん剤シスプラチンは X 線を用いた放射線療法において、放射線の治療効果を増強させる効果が報告されている<sup>1,2)</sup>。この増強効果は粒子線治療でも期待できると考えられる。現在、陽子線または炭素線による粒子線治療が行われているが、陽子線の生物学的効果は X 線と同程度であるため、低酸素状態の腫瘍細胞の放射線抵抗性が問題となる。陽子線とシスプラチンの併用療法によって治療効果を上げることができれば、低酸素細胞の効果的な殺傷や副作用の低減が期待できる。一般的に併用治療では、併用するタイミングによって治療効果が異なる。陽子線照射の適切なタイミングを見極めるためには、腫瘍内でのシスプラチン動態を知る必要がある。そこで、本研究はコンベンショナル PIXE によって腫瘍内の薬剤濃度の定量を行い、PIXE カメラによって腫瘍内の薬剤分布を明らかにすることを目的とした。

### 2 材料と方法

#### 2.1 材料

実験には C3H/HeSlc マウスの雄を用いた。両後肢大腿四頭筋に NFSa 繊維肉腫を移植し、実験時の腫瘍塊直径はノギスによる測定で約 10mm であった。シス-ジアンミンジクロロ白金 II (シスプラチン) は 1 mg/ml となるように生理食塩水に溶解し、5 mg/kg または 10 mg/kg を腹腔投与した。マウスはシスプラチン投与 1 時間または 6 時間後に頸椎脱臼にて屠殺され、腫瘍組織が摘出された。摘出された腫瘍はドライアイスにて急速凍結された。

本実験では薬剤投与量、薬剤投与から腫瘍摘出までの時間を各 2 条件と、薬剤無投与群を含む 5 群を用意し、各群 1 匹とした。本実験において作成された群の薬剤投与量、投与から腫瘍摘出までの経過時間を表 1 に示す。試料名は、シスプラチン 5 mg/kg 投与後 1 時間で腫瘍の摘出を行ったものを 5mg1h と示す。また、薬剤無投与群である sham には、薬剤 5 mg/kg 投与時と同量の生理食塩水を投与した。

動物実験に際しては東北大学の動物実験指針に従って行った。

試料名	投与量[mg/kg]	経過時間[h]
5mg1h	5	1
5mg6h	5	6
10mg1h	10	1
10mg6h	10	6
sham	0 (5mg/kg 投与時と同 量の生理食塩水)	1

表 1 試料名と試料条件

## 2.2 定量

NMCC の真空用 PIXE 分析システム<sup>3)</sup>を用いて、腫瘍内の Pt 濃度の定量を行った。ターゲットは 2.9MeV の陽子線により照射され、発生した X 線はそれぞれ低エネルギー・高エネルギーの X 線測定に有効な 2 台の検出器により同時に測定された。高エネルギー用の検出器には吸収体として 500  $\mu\text{m}$  厚のマイラー膜を使用している。

ターゲットには、2.1 で述べた腫瘍を硝酸灰化法<sup>4)</sup>により処理し、内部標準液として In を腫瘍に対して 1000ppm 添加し、その試料溶液 20  $\mu\text{l}$  をバックリング膜(2  $\mu\text{m}$  厚マイラー膜/4  $\mu\text{m}$  厚プロレン膜)に滴下・乾燥させたものを用いた。混入物の有無や試料の均一性を確かめるため、同一の試料溶液から 3 枚または 2 枚のターゲットを作成した。

定量にあたっては、高エネルギー側検出器から得られた X 線スペクトルを用い、GeoPIXE II<sup>5)</sup>により解析を行った。シスプラチンの構成元素である Pt は、通常生体内には存在しない元素であるため、本実験では検出された Pt はすべて薬剤由来のものであると考えている。

## 2.3 分布測定

東北大学の 2 つの大気 PIXE カメラ、大気マイクロ PIXE カメラ<sup>6)</sup>と大気サブミリ PIXE カメラ<sup>7)</sup>を用いて、腫瘍内の Pt 分布の測定を行った。マイクロ PIXE カメラでは 100  $\mu\text{m}$  角の正方形の視野をとり、1  $\mu\text{m}$  程度のビーム径の陽子線で分析を行った。一方、サブミリ PIXE カメラでは腫瘍組織全体が含まれるように 1 cm 角の視野をとり、0.5 mm 程のビーム径のビームを用いて分析した。ターゲットは 3MeV の陽子線により照射され、X 線は低エネルギー用・高エネルギー用の 2 台の検出器によって測定された。吸収体として、マイクロ PIXE では高エネルギー用検出器のみに 200  $\mu\text{m}$  厚のマイラー膜を用い、サブミリ PIXE では低エネルギー用検出器に 10  $\mu\text{m}$  厚のマイラー膜、高エネルギー用検出器に 300  $\mu\text{m}$  厚のマイラー膜を用いた。

ターゲットの準備は以下のようにして行った。凍結した腫瘍の中央部分をクリオスタットにより薄切し、切片とした。切片は凍結したままバックリング膜(5  $\mu\text{m}$  厚ポリカーボネート膜)に載せ、氷解を利用して膜に貼付し、-20  $^{\circ}\text{C}$  で 2 日間凍結乾燥処理を行った。試料切片の厚さは、マイクロ PIXE 分析用には 14  $\mu\text{m}$ 、サブミリ PIXE 用には 50  $\mu\text{m}$  とした。

解析には定量時と同様に GeoPIXE II を用いた。

## 3 結果及び考察

### 3.1 腫瘍内 Pt 濃度定量結果

図 1 に 10mg6h 試料の測定によって得られた、高エネルギー用検出器からの X 線スペクトルの 1 つを示す。このスペクトルでは、9.4keV の Pt の L $\alpha$  線は Zn の K $\beta$  線に埋もれてしまうが、11keV の L

$\beta$ 線によるピークが確認できた。このような Pt によるピークはシスプラチンを 10mg/kg 投与したすべての試料で見ることができた。一方、5 mg/kg 投与したものと sham では Pt による有意なピークは確認できなかった。これらの Pt の検出限界量は平均で 1.2 ppm であった。

10mg1h と 10mg6h の Pt 濃度の定量結果を図 2 に示す。Pt 濃度は 10mg1h で  $1.6 \pm 0.3$  ppm、10mg6h で  $2.0 \pm 0.6$  ppm であった。これらの差は誤差の範囲内であり、シスプラチン投与後 1 時間から 6 時間にかけては腫瘍内の薬剤濃度はほぼ定常状態にある可能性が高いと考えられる。

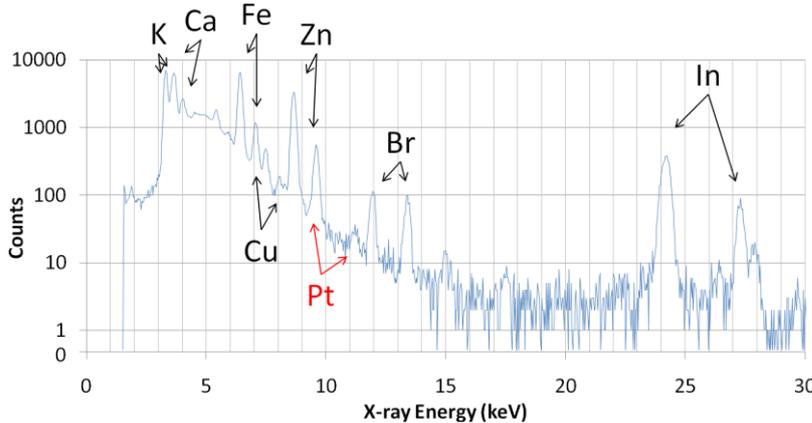


図 1 10mg6h 試料の X 線スペクトル

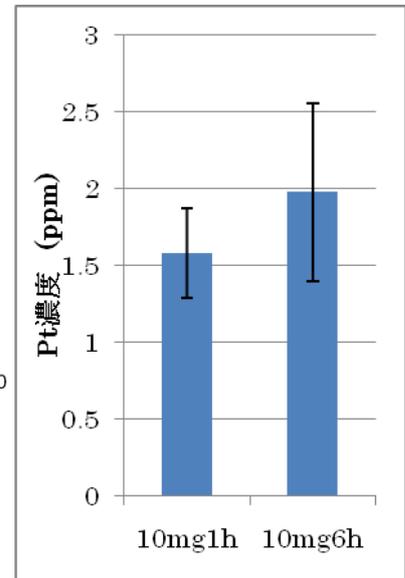


図 2 Pt 濃度定量結果

### 3.2 腫瘍内 Pt 分布測定結果

PIXE カメラを用いた測定では、マイクロ PIXE、サブミリ PIXE のどちらでも、いずれの試料からも Pt による有意なピークは確認されず、したがって薬剤の分布を画像化することはできなかった。腫瘍部での Pt 濃度の検出限界はマイクロ PIXE で平均 25 ppm、サブミリ PIXE で 2.3 ppm であった。

図 3 はマイクロ PIXE カメラによって得られた 10mg1h 試料の元素分布画像である。P の分布画像において、いくつもの点状の集積が確認される。BrdU を投与したウシ血管内皮細胞のマイクロ PIXE 分析より、P の高濃度集積点は細胞核に良く対応していることが確認されている<sup>8)</sup>。したがって本実験の P の集積部も細胞核に対応している可能性が高いと考え、この部分に関心領域 ROI を設定して解析を行った。しかし、X 線収量の大幅な減少により ROI 内の Pt 検出限界が 100 ppm を超えたこともあり、いずれの試料においても P 集積部に Pt の存在は確認されなかった。今後、マイクロ PIXE カメラによって細胞領域での薬剤分布を解析するためには、検出体系の改善により大幅に立体角を拡大し、Pt のピーク収量を増加させる必要がある。

図 4 はサブミリ PIXE カメラから得られた 10mg1h 試料の元素分布画像である。P、S および K などの、生体内に多く存在する元素の分布からは腫瘍組織の形状が明瞭に確認された。サブミリ PIXE の Pt 検出限界は 2.3 ppm 程であったが、図 2 に示した定量結果より、シスプラチンを 10 mg/kg 投与した試料には 2 ppm 程の Pt が存在することが確認されている。したがって、もし Pt が腫瘍組織の一部のみ局在しているのであれば、その領域での Pt 濃度は検出限界量を上回っている可能性が高い。そこで、K の元素分布を利用し、腫瘍辺縁部・中央部に ROI を設定し解析を行ったが、いずれの解析でも Pt は検出されなかった。したがって、腫瘍組織内でシスプラチンはほぼ一様に分布している可能性が高いと考えられる。

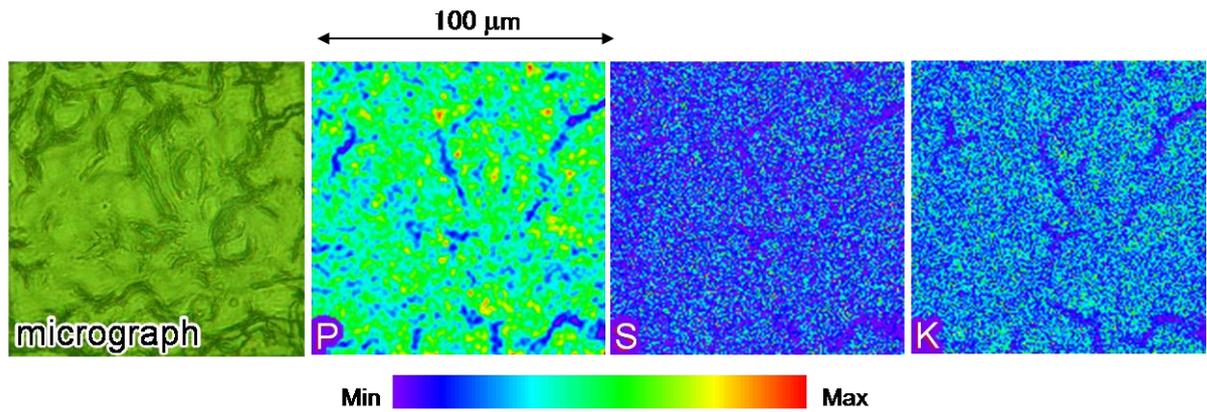


図3 マイクロ PIXE カメラによる元素分布画像

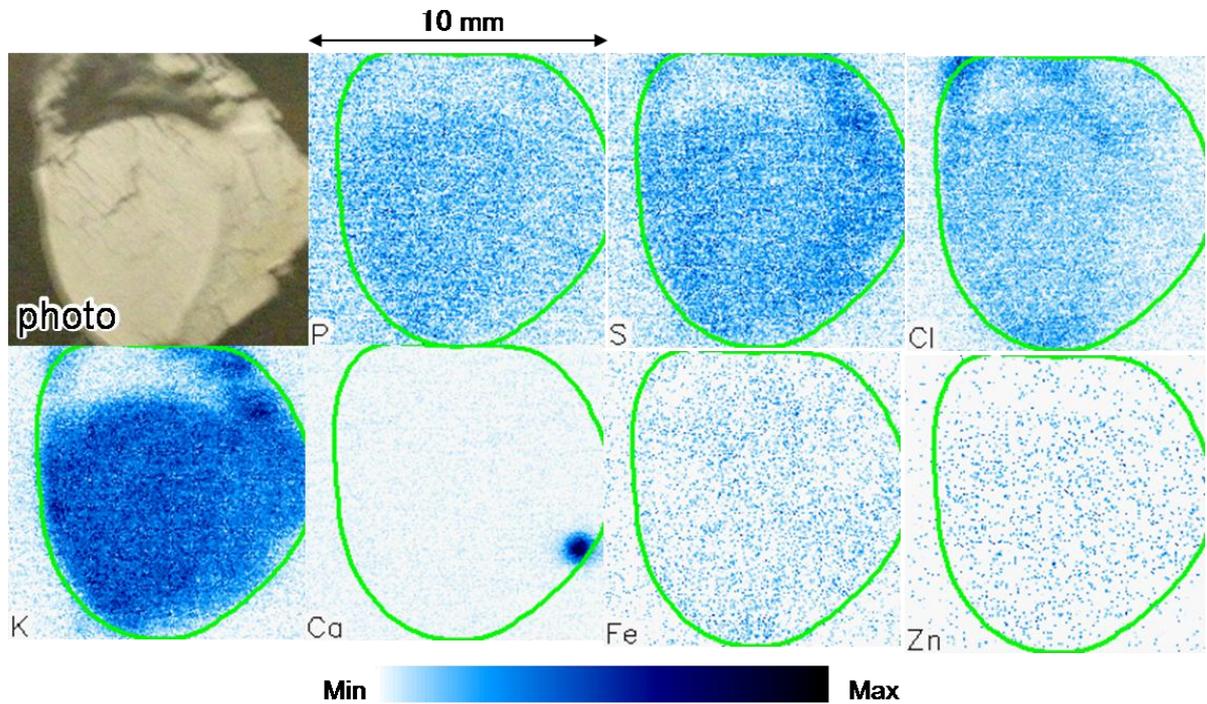


図4 サブミリ PIXE カメラによる元素分布画像

#### 4 まとめ

NMCCにおけるコンベンショナル PIXE と東北大学の PIXE カメラを用いて、シスプラチンの腫瘍内動態を調べた。コンベンショナル PIXE による Pt の定量結果から、シスプラチンを 10 mg/kg 投与したマウスの腫瘍では、投与 1 時間から 6 時間後にわたり薬剤濃度はほぼ一定であり、約 2 ppm の集積があることが確認された。PIXE カメラを用いた測定では Pt のピークは確認されなかったが、その検出限界から腫瘍組織内には薬剤がほぼ一様に分布している可能性が示唆された。

#### 参考文献

- 1) M. Zak, and J. Drobnik, "Effect of cis-Dichlorodiammineplatinum(II) on the Postirradiation Lethality in Mice after Irradiation with X-rays." *Strahlentherapie* 142,1, 112-115 (1971)
- 2) 穎川晋, 李漢栄, 石橋晃, 小宮山寛機, 梅沢巖, "マウス固型腫瘍に対するシスプラチンと放射線との併用効果の検討" *北里医学* 16, 385-392 (1986)

- 3) S. Futatsugawa, S. Hatakeyama, Y. Saitoh, and K. Sera, "Present status of NMCC and sample preparation method for Bio-samples" Int. journal of PIXE 3-4, 319-328 (1993).
- 4) K. Sera, T. Yanagisawa, H. Tsunoda, S. Futatsugawa, S. Hatakeyama, Y. Saitoh, S. Suzuki and H. Orihara, "Bio-PIXE at the Takizawa facility (Bio-PIXE with a baby Cyclotron)" Int. journal of PIXE 2, 3, 325-330 (1992)
- 5) C. G. Ryan, E. van Achterbergh, C. J. Yeats, S. L. Drieberg, G. Mark, B. M. McInnes, T. T. Win, G. Cripps, and G. F. Suter, "Quantitative, high sensitivity, high resolution, nuclear microprobe imaging of fluids, melts and minerals". Nucl Instrum Methods Phys Res B, 188 ,1-4, 18-27(2002)
- 6) S. Matsuyama, K. Ishii, H. Yamazaki, Y. Barbotteau, TS. Amartaivan, D. Izukawa, K. Hotta, K. Mizuma, S. Abe, Y. Ohishi, M. Rodriguez, A. Suzuki, R. Sakamoto, M. Fujisawa, T. Kamkiya M. Oikawa, K. Arakawa, H. Imaseki and N. Matsumoto, "Microbeam analysis system at tohoku university", Int. journal of PIXE 14, 1-2, 9-18 (2004)
- 7) S. Matsuyama, K. Gotoh, K. Ishii, H. Yamazaki, T. Satoh, K. Yamamoto, A. Sugimoto, Y. Tokai, H. Endoh and H. Orihara, "Development of a Submilli-PIXE Camera", Int. journal of PIXE 8, 2-3, 209-216 (1998)
- 8) 田中晃, "マイクロPIXEによる細胞内元素分析法の開発" 東北大学大学院工学研究科量子エネルギー工学専攻修士論文 (2002)

## **Investigation of anticancer drug concentration on cancer cell to enhance therapeutic effect of particle radiotherapy**

Y.Ito<sup>1</sup>, A.Terakawa<sup>1</sup>, K.Ishii<sup>1</sup>, H.Yamazaki<sup>2</sup>, K.Sera<sup>3</sup>, S.Matsuyama<sup>1</sup>, Y.Funaki<sup>2</sup>, Y.Kikuchi<sup>1</sup>, M.Fujiwara<sup>1</sup>, Y.Kawamura<sup>1</sup>, H.Akiyama<sup>1</sup>, S.Okura<sup>1</sup>, Y.Hashimoto<sup>2</sup>, M.Fujikawa<sup>1</sup>, CatellaGuillaume<sup>1</sup>, Y.Hatori<sup>1</sup>, N.Hamada<sup>1</sup>, K.Fujiki<sup>1</sup>, N.Ito<sup>4</sup> and S.Wada<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Department of Quantum Science and Energy Engineering, Tohoku University,  
6-6-01-2 Aoba, Aramaki, Aoba, Sendai, Miyagi 980-8579, Japan

<sup>2</sup>Cyclotron Radioisotope Center, Tohoku University,  
6-3 Aoba, Aramaki, Aoba, Sendai, Miyagi 980-8578, Japan

<sup>3</sup>Cyclotron Research Center, Iwate Medical University  
348-58 Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0173, Japan

<sup>4</sup>Kitasato University School of Veterinary Medicine,  
35-1 Higashi-nizyusanbantyo, Towada 034-8628, Japan

### **Abstract**

Concentrations of the chemotherapeutic agent, cis-diamminedichloro-platinum(II) (CDDP) in a solid murine tumor were investigated by submilli- and micro-PIXE analyses as well as a conventional PIXE analysis to study enhancement of antitumor effects caused by radiotherapy combined with CDDP treatment. The conventional PIXE analysis showed that the platinum concentrations of the tumors treated with CDDP at a single dose of 10 mg/kg were approximately 1.6ppm 1 hour after the injection, 2.0 ppm after 6 hours. The platinum distributions in the tissue or cells of the treated tumors could not be evaluated in the present submilli- and micro-PIXE analyses since the platinum concentrations might be nearly equal to or lower than their detection limits.

## 過酸化水素水を用いた、放射線によるマイクロカプセル破裂促進と、酸素効果による抗腫瘍効果増強

原田 聡、江原 茂、世良耕一郎<sup>1</sup>、石井慶造<sup>2</sup>、斉藤義弘<sup>3</sup>

岩手医科大学医学部放射線医学講座  
020-8505 岩手県盛岡市内丸 19-1

<sup>1</sup>岩手医科大学サイクロترونセンター  
020-0173 岩手県岩手郡滝沢村滝沢字留が森 348-58

<sup>2</sup>東北大学工学部量子工学専攻  
980-8578 仙台市青葉区荒巻字青葉

<sup>3</sup>日本アイソトープ協会仁科記念サイクロترونセンター (NMCC)  
020-0173 岩手県岩手郡滝沢村滝沢字留が森 348-58

### 1 はじめに

我々は放射線により抗がん剤を放出するマイクロカプセルの開発を試みてきた<sup>1,2</sup>。同マイクロカプセルを放射線治療時に使用することにより、1) 放射線と放出された抗がん剤との相乗効果、2) 薬剤限局化作用による抗がん剤副作用の軽減、の2点が可能となる。これまで、放射線によるマイクロカプセルの薬剤放出としては、1) 放射線によるヒアルロン酸の分解、2)  $\text{Fe}^{2+}$ から $\text{Fe}^{3+}$ 変化時の、アルギン酸のシート状重合から、立体的重合の変化、の2点を利用してきた。一方、過酸化水素水に放射線を照射すると酸素を発生することが知られているが、もし、マイクロカプセル内に過酸化水素水を封入して、放射線を照射すれば、照射時にカプセル内から酸素が発生し、内圧が高まることにより、カプセルがより効果的に破裂する可能性が考えられた。今回、我々は、これまでのカプセルに過酸化水素水を封入し、放射線によるカプセル破裂が促進するか否かを検討した。

### 2 材料、および方法

#### 2.1 マイクロカプセル作成

ヒアルロン酸 0.1g, アルギン酸 0.2g を蒸留水 4cc、3%過酸化水素水 4cc に溶解し、カルボプラチン注射液（白金系抗癌剤カルボプラチン 1mg/ml）2cc を添加後、 $\text{CaCl}_2$  0.1 mol+ $\text{FeCl}_2$  0.1mol 中に噴霧した。重合液に含まれる Ca と Fe を Nalgene disposable filter kit (8-0301-84 DP591) を使用して THAM buffer により 3 回洗浄することにより、マイクロカプセル浮遊液を作成した。カプセル浮遊液に対して、放射線を 0.5Gy から 3.0Gy、0.5Gy 間隔で線量を増加しながら、softex MV 100 を用いて照射した。照射後、光学的顕微鏡下にて、その破裂率を、マイクロカプセル全体数に対する、破裂したマイクロカプセル数の

百分率であらわした。

## 2.2 動物実験

Meth-A-firrosarcoma 細胞百万個を左下腿に移植、12x7mm 大になった時点で、実験に使用した。上記2.1で作成したマイクロカプセル6百万個を腫瘍周囲皮下組織に注入した。 $^{60}\text{Co}$   $\gamma$ 線を10、20Gy照射した後、腫瘍内カルボプラチン量を、PIXEによるPt量により、抗腫瘍効果増強を腫瘍径測定により、副作用の強さを、10%以上の体重減少、体毛の毛羽立ち、死により判定した。比較対照群は、カルボプラチン含有マイクロカプセル6百万個と同じ腫瘍内濃度を呈した、500 $\mu\text{g}$ のカルボプラチンを0.1ml中に溶解し、皮下注射を施行した。

## 3 結果

### 3.1. マイクロカプセル (図-1) :

作成されたマイクロカプセルを図1-Aに、放射線照射後のマイクロカプセルを図1-Bに示す。マイクロカプセルの径は $23.4 \pm 7.8 \mu\text{m}$ であり、加算加水疎水添加による有意なサイズの変化は見られなかった。照射前は、マイクロカプセルの表面は平滑で円形を示しているが、照射後、マイクロカプセルの辺縁は不整となり、内部のコアは不明瞭化した。この形態変化を呈したカプセルを破裂したカプセルと定義した。

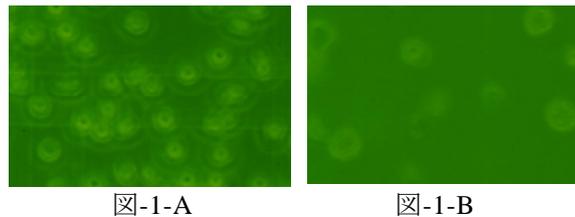


図-1 : マイクロカプセルの光学顕微鏡画像。  
A:照射前、B: 照射後

### 3.2 過酸化水素水による裂の促進 (図-2) :

過酸化水素水添加による、放射線照射線量に対するマイクロカプセル破裂率の影響を図-2に示す。照射線量1.5 Gy以下では、過酸化水素水添加による有意な上昇は見られなかったが、照射線量2.0以上では、過酸化水素水添加によるマイクロカプセル破裂率は有意に上昇した。

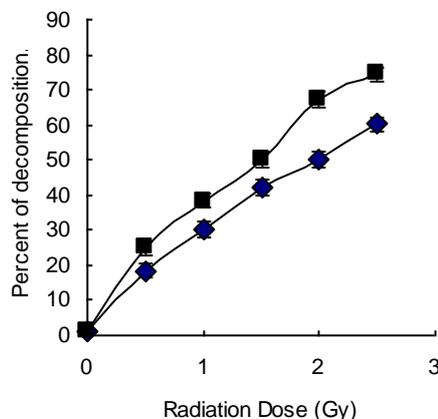


図-2 過酸化水素水添加によるマイクロカプセル破裂の変化 :  
(■) 過酸化水素水添加、(◆) 過酸化水素水無し

3.3 過酸化水素水添加による腫瘍内カルボプラチン量の変化 (図-3) :

上記マイクロカプセル 6 百万個を腫瘍表面に皮下注射し、照射後の腫瘍内カルボプラチン量を PIXE 法により測定、その変化を観察した。過酸化水素水添加により、有意な腫瘍内カルボプラチン濃度としての白金濃度上昇が、各照射線量において認められた。

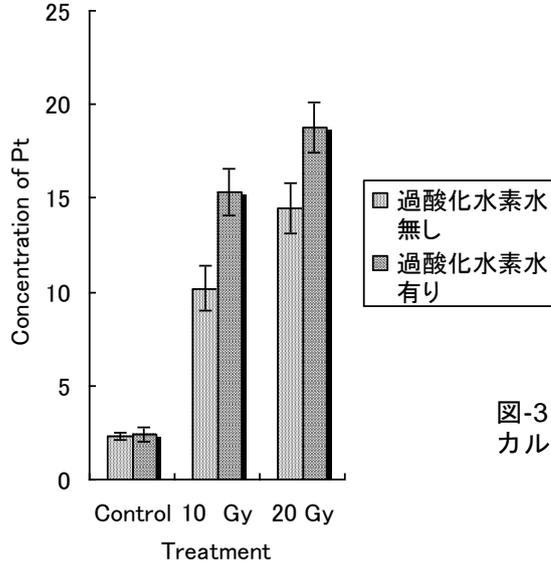


図-3 過酸化水添加による腫瘍内カルボプラチン量の変化

3.4 抗腫瘍効果増強 (図-4) :

腫瘍径測定による抗腫瘍効果の変化を図-4 に示す。放射線が照射されていない群では、過酸化水素水による抗腫瘍効果増強は認められなかったが、放射線が照射された群において、過酸化水素水による抗腫瘍効果が、過酸化水素水単独と、カルボプラチン併用群において認められた。

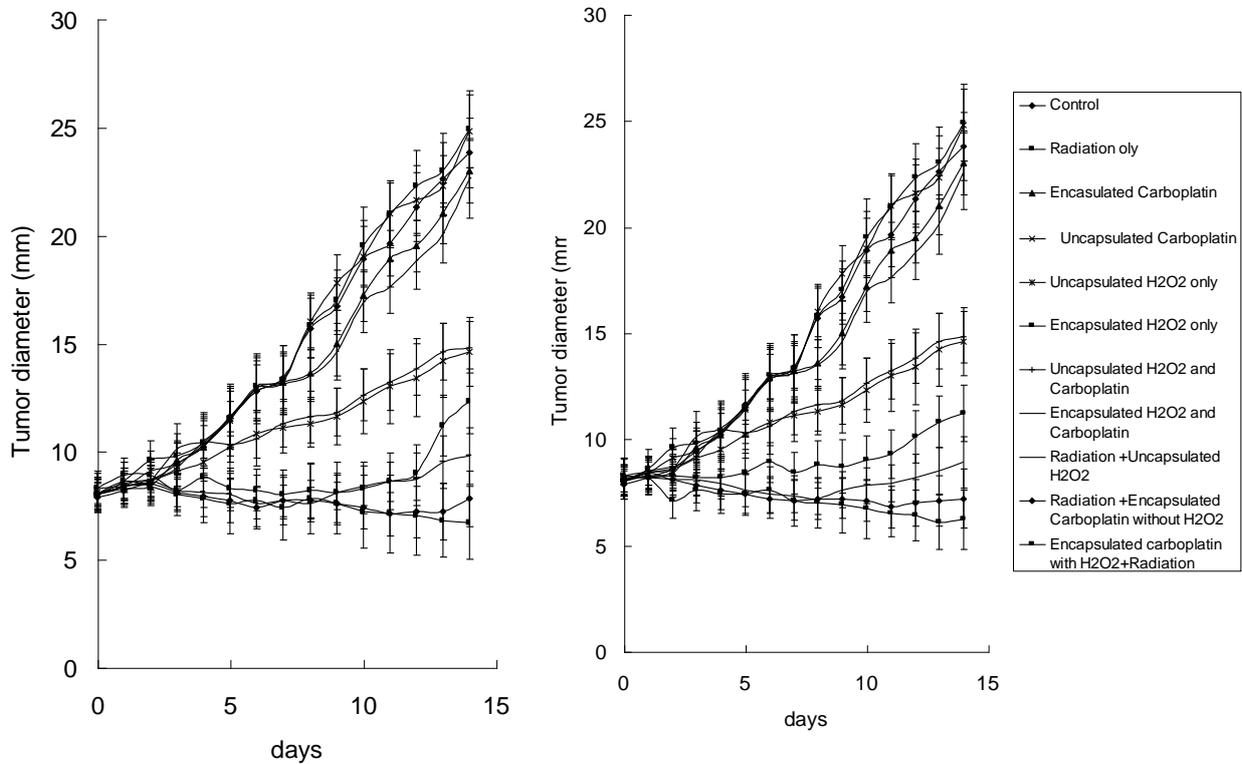


図-4 抗腫瘍効果

最も大きな抗腫瘍効果を示したのは、過酸化水素を混入したマイクロカプセルに、カルボプラチンを封入し、腫瘍周囲に皮下注射後、照射 20Gy を加えた群であった。その抗腫瘍効果は、カプセル化しなかった、過酸化水素水、カルボプラチン、放射線照射 20Gy の 3 者併用よりも効果が持続した。

### 3.5 副作用軽減 (表-1):

副作用の強さを、マウスの毛羽立ち (Fuzzy hair), 体重減少 (Body Weight Loss), 死亡 (Death) の 3 つのパラメーターを使用して測定した。カプセル化を行わなかったカルボプラチン投与群では、マウスの毛羽立ちが全例、体重減少が 5~8 匹に認められ、3~4 匹のマウスが治療により死亡したが、カプセル化によって、マウスの毛羽立ちと体重減少は著明に抑制され、特にマウスの固体死に関しては、完全に抑制された。また、過酸化水素水添加による副作用の変化は認められなかった。

表-1: 各処置と副作用

Treatment	Radiation Dose	Adverse Effect		
		Fuzzy hair	Body Weight Loss	Death
Control		10	5	2
Radiation only				
	10 Gy	0	0	0
	20 Gy	0	0	0
Encapsulated Carboplatin		4	1	0
Uncapsulated Carboplatin		10	5	2
Uncapsulated H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> only		0	0	0
Encapsulated H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> only		0	0	0
Uncapsulated H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> and Carboplatin		10	6	3
Encapsulated H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> and Carboplatin		4	1	1
Radiation +Uncapsulated H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	10 Gy	0	0	0
	20 Gy	0	0	0
Radiation + Uncapsulated Carboplatin without H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>				
	10 Gy	5	1	0
	20 Gy	4	2	0
Radiation +Uncapsulated Carboplatin without H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>				
	10 Gy	10	7	3
	20 Gy	10	8	3
Radiation +Uncapsulated Carboplatin without H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>				
	10 Gy	10	8	3
	20 Gy	10	8	4
RadiationEncapsulated carboplatin with H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>				
	10 Gy	3	2	0
	20 Gy	4	2	0

## 4 考察

がん患者の高齢化と共に、抗がん剤治療に対する副作用に耐えられず、治療中止となり、結果的にがん患者の寿命が短くなるケースが多くなって来ている。本研究は、放射線治療と抗がん剤の相乗効果による抗腫瘍効果増強とともに、この様な副作用による治療中止による、がん患者の短命化を防ぐために考案された。今回は、過酸化水素水が放射線照射により酸素を発生することを利用して、放射線照射時の内圧を高め、カプセルの破裂を促進することを考えた。過酸化水素水添加によりカプセル破裂は増加したが、抗腫瘍効果はわずかに増強したのにとどまり、有意な差はでなかった。今後、マイクロカプセルを改良し、破裂率の上昇が、抗腫瘍効果に結びつく工夫が必要と考えられる。また、現時点でのマイクロカプセルでは、皮下注射により、腫瘍表面にマイクロカプセルを注入する投与方法をとっているた

め、体表の皮下組織に発生した腫瘍のみが治療対象となっている。深部臓器に出来た癌に治療対象を広げるため、体内への注入に移行する必要があるが、そのために、カプセルサイズの検討、カプセル素材の毒性の検討が必要と思われる。

#### 参考文献

- 1) Harada S, Ehara S, Ishii K, Yamazaki H, *et al.* *Nucl Instrum Methods B* **260** (1) (2007) 164.
- 2). Harada S, Ehara S, Ishii K, *et al.*. *Int J PIXE* **17** (2007) 33.

## **Antitumor effect of radiosensitive microcapsules under subcutaneous injection**

S. Harada, S. Ehara, K. Sera<sup>1</sup>, K Ishii<sup>2</sup> and Y. Saitoh<sup>3</sup>

Department of Radiology, Iwate Medical University  
Morioka, Iwate, 020-8505, Japan.

<sup>1</sup>Cyclotron Research Center, Iwate Medical University  
348-1 Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0173, Japan

<sup>2</sup>Department of Quantum Science and Energy Engineering, Tohoku University  
Sendai, Miyagi, 980-8579 Japan.

<sup>3</sup>Nishina Memorial Cyclotron Center (NMCC), Japan Radioisotope Association  
348-58 Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0173, Japan

### **Abstract**

Since 2004, we reported the use of liquid-core microcapsules for anticancer drug targeting. However, rupturing of microcapsules via radiation was lower than we expected. The more efficient rupturing of microcapsules by radiation was needed. In this study, we tested whether radiation-induced O<sub>2</sub> from H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> facilitate the rupturing of microcapsules, or not.

The capsules were generated by spraying a mixture of 2.0% hyaluronic acid, 2.0% alginate, supplemented with 0.2 mmol carboplatin and 3 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> on mixture of 0.5 mol/L CaCl<sub>2</sub> and FeCl<sub>2</sub>. Resulting microcapsules were irradiated by <sup>60</sup>Co γ ray at doses ranging from 0.5 to 2.5Gy. The released carboplatin was detected and quantified by particle-induced X-ray emission.

The antitumor effect was measured by growth delay. The strength of adverse effect was measured basing on fuzzy hair, loss of body weight and death.

The radiation-induced O<sub>2</sub> from H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> significantly increased rupturing of microcapsules. Those increased the intratumoral concentration and antitumor effect of carboplatin; however they were not significant.

Our microcapsules should be more improved to increase radiation-induced rupturing.

## 低線量放射線照射によるバイスタンダー効果誘導機構の解析

吉窪朝妃<sup>1</sup>、馬殿淳美<sup>1</sup>、和田成一<sup>1</sup>、柿崎竹彦<sup>1</sup>、後藤祥子<sup>2</sup>、

世良耕一郎<sup>3</sup>、伊藤伸彦<sup>1</sup>

<sup>1</sup>北里大学獣医学部獣医学科獣医放射線学研究室  
034-8628 青森県十和田市東 23 番町 35-1

<sup>2</sup>(社)日本アイソトープ協会滝沢研究所  
020-0173 岩手県岩手郡滝沢村滝沢字留が森 348-1

<sup>3</sup>岩手医科大学サイクロトンセンター  
020-0173 岩手県岩手郡滝沢村滝沢字留が森 348-58

### 1 はじめに

低線量放射線による影響の中でも特徴的なものとして、放射線による非標的効果 (Non-targeted effects) の誘導が注目されている<sup>1,2)</sup>。非標的効果とは、直接照射を受けていない細胞において、直接照射を受けた細胞で見られる放射線影響が誘導される現象であり、その原因の一つとしてバイスタンダー効果が注目されている。このメカニズムは、照射を受けた細胞から何らかのシグナルが発生し、それが非照射 (バイスタンダー) 細胞に伝わることによって照射影響が発現することによると考えられた。このシグナル伝達経路は細胞間接着を必要とするものと、必要としないものの 2 つが知られている。細胞間接着を必要とする経路では細胞間に形成されたギャップジャンクションを通じて低分子量の物質がやり取りされる機構によって、細胞接着を必要としない経路では照射細胞から分泌された液性因子 (バイスタンダー因子) が細胞のメディアム (培養液) を介してシグナルを伝達する機構によって、バイスタンダー効果が発現するといわれている。また、腫瘍細胞ではギャップ結合が十分に発現をしていないため、腫瘍細胞によるバイスタンダー効果は液性因子を介したシグナル伝達が主体であると考えられている。しかしながら低線量照射によって誘導されるバイスタンダー効果の液性因子を介するシグナル伝達機構は、未だ詳細には解明されていない。

これまでに当研究では、グリオーマ細胞の低線量照射によるバイスタンダー効果には液性因子を介したバイスタンダー効果が強く影響することを明らかにした<sup>3)</sup>。さらに、バイスタンダー効果を誘導する液性因子の候補としては TNF- $\alpha$ 、TGF- $\beta$ 1 や活性酸素種の OH ラジカルや NO ラジカルの関与も示唆されているが、放射線誘発の細胞膜応答を担うスフィンゴミエリナーゼがバイスタンダー効果誘導に関与することを明らかにしてきし、低線量照射後の細胞内外のスフィンゴミエリナーゼ活性を測定したとき、細胞外でもスフィンゴミエリナーゼ活性の上昇が観察された。また、スフィンゴミエリナーゼは細胞膜においてセカンドメッセンジャーのセラミドを生成し、セラミドはミトコンドリアに直接作用して、OH ラジカルの放出を促進すると考えられている。さらに、スフィンゴミエリナーゼは、その活性に多種の 2 価金属イオンを要すると報告がなされており、近年、中性スフィンゴミエリナーゼについては、その活性中心にコバルト、マグネシウム、カルシ

ウムなどが結合した立体構造が明らかにされ、その金属イオンの種類によって酵素活性が異なるということが明らかにされた<sup>4)</sup>。一方、スフィンゴミエリナーゼが亜鉛元素と結合することによっても活性化され、特に亜鉛元素と結合したスフィンゴミエリナーゼは細胞外への分泌能を獲得すると考えられている。これらのことから、低線量放射線照射によって活性化したスフィンゴミエリナーゼが細胞外に分泌され、バイスタンダー因子として非照射細胞に作用し細胞死が誘導され可能性が考えられた。

そこで、本研究では、低線量照射による液性因子を介したバイスタンダー効果誘発機構のより詳細な解析を行うため、低線量照射後の細胞内外におけるスフィンゴミエリナーゼの活性化に関与する亜鉛元素の放射線照射後の細胞内外の亜鉛元素量の経時的变化を観察し、バイスタンダー細胞が細胞死に陥るメカニズム解析として、バイスタンダー細胞内に生じる OH ラジカルや NO の測定と DNA 損傷生成を観察した。

## 2 測定方法

### 2.1 照射後の細胞内外微量元素の変動

放射線照射後に細胞内外を移行する微量元素の動態を調べるため、照射後 0 分、5 分、15 分間、インキュベーター内で培養し、細胞内の微量元素を PIXE によって解析した。特に、スフィンゴミエリナーゼの活性には 2 価の金属元素を要求するため、Mg、Ca、Zn に着目して測定を行った。PIXE 分析用試料の作成については、各細胞を凍結乾燥させ、ニッ川らの方法により硝酸湿式灰化処理を行った。内部標準は Pd 標準液（原子吸光測定用標準液：1,000ppm / 1N HCl、Factor 1.004）を用い、細胞試料に対して最終濃度：約 1,000ppm ように加えた。培養液の試料も Pb 標準液を最終濃度 1,000ppm なるように調整した。それぞれの調製試料 5 $\mu$ l を、マイラー製ターゲットホルダーに貼付したポリプロピレンフィルム上に直径 7 mm の円状になるよう滴下し、自然乾燥後、PIXE 照射ターゲットとした。全てのサンプルの測定および解析は日本アイソトープ協会 仁科記念サイクロトロンセンター(Nishina Memorial Cyclotron Center：NMCC)にて行った。照射条件として、2.9MeV 陽子で照射を行い、放出された X 線スペクトルを測定した。得られた X 線エネルギースペクトルを PIXE スペクトル解析プログラム SAPIX を用いて解析を行った。

### 2.2 バイスタンダー細胞内 ROS および NO の観察

使用細胞は低線量照射に対して超感受性を示すグリオーマ A172 細胞を用いた。照射は X 線(0.1Gy)を用いた。照射後、バイスタンダー細胞内の ROS と NO を調べるため、照射後 0 分、5 分、15 分間、インキュベーター内で培養した各照射細胞から培養液をそれぞれ回収し、あらかじめ ROS 検定試薬 CM-H2DCFDA および NO 検定試薬 CM-H2DCFDA と 1 時間、反応させた非照射細胞に回収した培養液を添加した。細胞を回収し、遠心 (4 $^{\circ}$ C、500 g、5 分) 後、細胞を PBS で 2 回洗浄し、洗浄した細胞は  $8 \times 10^5$ /ml の濃度のなるように PBS に浮遊させ、50  $\mu$ l ずつ 96 穴プレートに播種し、蛍光強度の測定 (波長 485/510 nm) を行った。蛍光強度の測定にはマルチモードプレートリーダーを用いた。

### 2.3 バイスタンダー効果による DNA 損傷の観察

細胞群に 0.1 Gy の X 線を照射した。照射 1 時間後にシャーレから培地を除去し、別に用意した免疫染色用の細胞群へ培地を移した。培地を添加後 30 分、60 分、90 分それぞれインキュベーターで培養し、PBS で洗浄後 4% パラホルムアルデヒドで 1 分間固定し、0.1% Triton X-100 含有 PBS で 10 分間処理した。染色は 1 次抗体に anti Phospho-Histon 抗体 H2A.X ser139 を 50 倍希釈して、2 次抗体には Alexa Fluor 568、F(ab') fragment of goat anti-rabbit を 200 倍希釈して用いた。1% BSA によるブロッキングは 1 時間行った。核染色には 4,6 diamino 2 phenylindole (DAPI) を用いた。観察は U 励起及び B 励起系フィルターを用いて鏡検を行い、約 500 個の細胞における focus を数え、細胞 1 個当たりの focus を算出した。

### 3 結果

#### 3.1 低線量放射線照射による微量元素動態の経時的変化

スフィンゴミエリナーゼ活性は金属イオン依存性であり、この活性化には 2 価の金属イオンが不可欠であると考えられ、X 線照射によるスフィンゴミエリナーゼの活性化に関与する 2 価の金属元素は亜鉛元素であることが示唆された。そこで、バイスタンダー効果誘導機構におけるスフィンゴミエリナーゼの関与とその活性化への亜鉛元素の関与を詳細に検証するため、スフィンゴミエリナーゼ阻害剤処置による低線量放射線照射後の亜鉛元素の細胞内外の変化を PIXE 元素分析法によって経時的に解析した。

X 線 0.1 Gy 照射後の細胞内亜鉛元素量の経時的な変化を Fig. 1A に示した。コントロール（非照射細胞群）を 1 とした時の照射直後の値は  $1.08 \pm 0.12$ 、照射 5 分後では  $1.23 \pm 0.13$ 、照射 15 分後では  $1.00 \pm 0.09$  となった。X 線照射による経時的な細胞内亜鉛元素動態はコントロールに対して統計的有意差は認められなかったが、コントロールに対し照射直後から 5 分後で増加する傾向が観察され、照射 15 分後にコントロールの値と同程度まで減少する傾向が観察された。また、スフィンゴミエリナーゼ阻害剤処理後の細胞内亜鉛元素量の経時的な変化は照射直後の値は  $1.09 \pm 0.16$ 、照射 5 分後では  $1.16 \pm 0.16$ 、照射 15 分後では  $1.18 \pm 0.22$  となった。スフィンゴミエリナーゼ阻害剤処置によっても照射直後から照射 5 分後までに細胞内亜鉛元素は増加する傾向が観察され、さらに照射 15 分後は照射 5 分後とほぼ同程度であった。Fig. 1B は細胞外亜鉛元素量の経時的な変化を示している。細胞内における測定と同様に、コントロール（非照射細胞群）を 1 とした時、照射直後は  $0.88 \pm 0.08$ 、照射 5 分後では  $0.97 \pm 0.08$ 、照射 15 分後では  $1.31 \pm 0.09$  となった。照射直後から照射 5 分後にはコントロールに対してほぼ同程度を示し、照射 15 分後でコントロールに対して高い値を示し、統計的有意差が認められた ( $p < 0.05$ )。スフィンゴミエリナーゼ阻害剤処置における細胞外の亜鉛元素量の経時的な変化は、照射直後から照射 15 分までコントロールと比べ変化は観察されなかった。これらの結果は、スフィンゴミエリナーゼ活性の挙動が細胞内から細胞外への亜鉛の移動に関与することを示唆している。これらのことから、細胞が放射線照射されることによって亜鉛元素が細胞内に流入し、スフィンゴミエリナーゼが活性化され、活性化したスフィンゴミエリナーゼが細胞外に放出されたと考えられた。

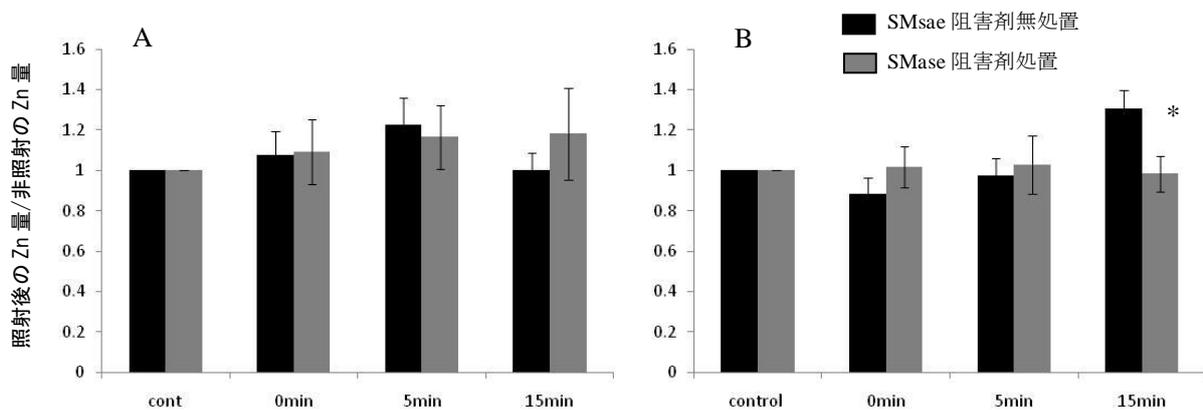


Fig.1 低線量 X 線照射による細胞内外の亜鉛元素量の経時的変化。(A)細胞内亜鉛量の経時的変化と(B)細胞外亜鉛量の経時的変化。結果は平均値±SE で表している。\* $P < 0.05$

#### 3.2 バイスタンダー効果による非照射細胞への ROS、NO における影響の評価

X 線照射により分泌されるシグナル分子としてスフィンゴミエリナーゼの可能性が示唆され、スフィンゴミエリナーゼによる細胞致死のメカニズムはスフィンゴミエリナーゼの下流分子のセラミドにより細胞内に

ラジカル種が産生され、細胞が傷害されるためと考えられている。そこで低線量放射線照射においてバイスタンダー細胞内に生じたラジカル種を評価するために、X線 0.1 Gy を照射した細胞を 1 時間培養し、その後、培養液を回収し、蛍光色素を取り込ませた非照射の細胞に移し替えて 1 時間および 2 時間培養し、培養液の添加によって産生される ROS および NO を蛍光強度として測定した。まず ROS について、非照射細胞に培養液交換後から 1 時間および 2 時間後の、コントロール（非照射細胞群）を 1 とした時の蛍光強度比を算出した（Fig. 2A）。培養後 1 時間では  $1.02 \pm 0.041$ 、培養後 2 時間では  $0.998 \pm 0.041$  であり、コントロールとの差はほとんど観察されなかった。この結果よりバイスタンダー効果において細胞内で OH ラジカルの関与は低いと考えられた。

次に NO について、非照射細胞に培養液交換後から 1 時間および 2 時間後の、コントロール（非照射細胞群）を 1 とした時の蛍光強度比を算出した（Fig.2B）。このとき培養後 1 時間後では  $1.015 \pm 0.052$ 、培養後 2 時間後では  $1.06 \pm 0.01$  であり、非照射に対して 1 時間後では統計的有意差は認められなかったが、2 時間後では非照射に対して上昇し統計的有意差が認められた。これらの結果よりこの実験系におけるバイスタンダー効果による細胞損傷に関与しているのは NO である可能性が考えられた。

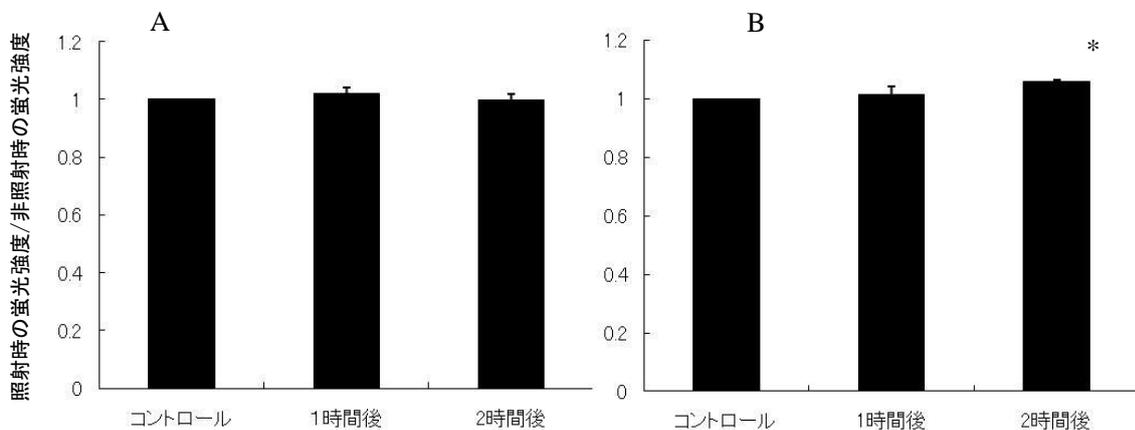


Fig.2 低線量 X 線照射によるバイスタンダー細胞内のラジカル産生の経時的変化。(A)OH ラジカルと(B)NO の経時的変化。結果は平均値±SE で表している。\* $P < 0.05$

### 3.3 バイスタンダー効果による DNA 損傷の誘導

培養液交換によってバイスタンダー細胞内に NO の産生されることが観察されたため、バイスタンダー細胞が細胞死を引き起こす原因は NO ラジカルによって DNA 損傷が生成されるためと考えられた。そこで、培養液交換後にバイスタンダー細胞内に観察される DNA 損傷の経時的変化を調べた(Fig.3)。0.1Gy 細胞の培養液を交換後の DNA 損傷のコントロールに対する比率は、培養液交換後 30 分から 60 分後まではコントロールとほぼ同程度であり、90 分後にコントロールの約 1.5 倍に損傷率が高くなった。さらに、スフィンゴミエリナーゼ阻害剤処置細胞に X 線照射後の培養液交換によるバイスタンダー細胞に生成される DNA 損傷は各時間でコントロールとほぼ変わらない損傷率を示した。これらの結果は、バイスタンダー細胞内では DNA 損傷が生成され、DNA 損傷生成にはスフィンゴミエリナーゼが関与することを示唆しており、バイスタンダー細胞はスフィンゴミエリナーゼの作用により細胞死が誘導されると推察された。

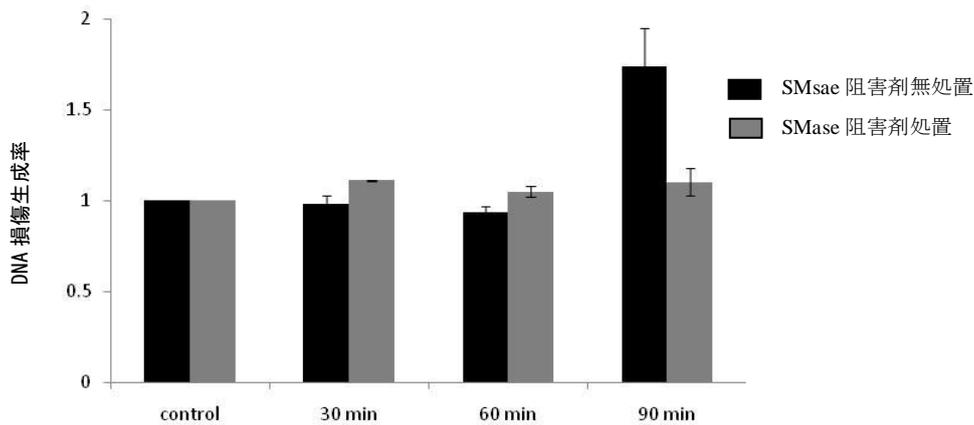


Fig.3 低線量 X 線照射によるバイスタンダー細胞内に生成された DNA 損傷。結果は平均値±SE で表している。

#### 4 考 察

亜鉛元素刺激性スフィンゴリエリナーゼは人やマウスのマクロファージ、人の皮膚繊維芽細胞、小グリア細胞、数種の培養された細胞から分泌されていることが報告されている 5)。また、この亜鉛元素刺激性スフィンゴリエリナーゼは酸性スフィンゴリエリナーゼ遺伝子から産生されると報告されている 5)。これらのことから今回の実験におけるバイスタンダー効果に関与する酸性スフィンゴリエリナーゼ活性では亜鉛元素が要求されると推察される。

また亜鉛元素を活性中心に結合するのは、酸性スフィンゴリエリナーゼのうち、リソソーム型と細胞質に存在する分泌型の 2 つの型が知られている。リソソーム由来のスフィンゴリエリナーゼは、その活性に要する亜鉛元素量が分泌型のそれより少ないが、これはリソソームが酵素活性に必要な亜鉛元素のうちある程度の量を含んでいることを示しているとの報告がある。リソソーム型は、非活性型のスフィンゴリエリナーゼがリソソームへ移行し、リソソーム内部において亜鉛元素に暴露されることにより活性を得る。それに対し分泌型は、ゴルジ分泌経路を通して輸送される過程で活性化されるが、その分泌経路は細胞内亜鉛元素プールからは比較的隔離されているため、活性化に際し外因性の亜鉛元素を要求するという報告がある 5)。つまり照射後 5 分に観察された亜鉛元素の細胞内増加は、放射線照射によって外因性（細胞外）の亜鉛元素が細胞内に流入し、細胞内の非活性型のスフィンゴリエリナーゼと結合することによって活性型スフィンゴリエリナーゼ（分泌型スフィンゴリエリナーゼ）になり、また照射 15 分後における細胞内亜鉛元素の減少は、亜鉛元素と結合して活性型となった分泌型スフィンゴリエリナーゼが細胞外へ分泌された可能性が考えられた。さらに、スフィンゴリエリナーゼ阻害剤処置における結果では照射 15 分後に観察された細胞外の亜鉛元素の増加が抑制されたことから、亜鉛元素と結合し、活性化したスフィンゴリエリナーゼの分泌能が抑制されたため、バイスタンダー細胞に細胞死誘導に関するシグナル伝達が抑制されたと考えられた。これらのことからバイスタンダー効果の誘導にはスフィンゴリエリナーゼ自身がバイスタンダー因子として作用することが示唆された。

スフィンゴリエリナーゼの作用による細胞致死のメカニズムはスフィンゴリエリナーゼの下流分子のセラミドにより細胞内にラジカル種が産生され 6)、ラジカル種自体、またはそれにより産生されるサイトカインなどにより、細胞が傷害されるためと考えられた。そこで低線量放射線照射においてバイスタンダー細胞における細胞障害因子としてのラジカル種の影響を評価するために、バイスタンダー細胞内において産生される ROS および NO 産生を測定した。

ROS 由来の蛍光強度を測定したところ、コントロールとの差はほとんど観察されなかったことからバイスタンダー効果において細胞内で OH ラジカルの関与は低いと考えられた。

一方、NO由来の蛍光強度を測定したところ、非照射に対して1時間後では統計的有意差は認められなかったが、2時間後では非照射に対してNO由来の蛍光強度に統計的有意な増加が認められ、バイスタンダー効果における細胞損傷に関与しているのはNOである可能性が考えられた。

低線量照射によるNO産生のメカニズムのひとつとして、細胞膜応答によってNO合成酵素の活性化の関与が示唆されている。一般に細胞膜ではシグナル伝達に関与する様々なレセプターなどが存在する微量領域(ラフト)を形成しており、活性化したスフィンゴミエリナーゼは細胞膜に作用し、ラフトを構造変化させシグナル伝達をより活性化する(7)。これまでに、スフィンゴミエリナーゼの作用による細胞膜応答によって、ラフト付近でNO合成酵素がリン酸化され活性化される知見を得ている。これらのことから、バイスタンダー細胞に液性因子としてスフィンゴミエリナーゼが作用し、バイスタンダー細胞に細胞膜応答を誘導することによって活性化NO合成酵素から産生されたNOやNOにより派生したサイトカインなどが細胞核に作用し、細胞死を誘導する可能性が考えられた。

さらに、スフィンゴミエリナーゼによるラフトの構造変化により産生されるNOの細胞障害として細胞死の主たる要因のDNA二重鎖切断を引き起こすことを確かめたとき、バイスタンダー細胞のDNA損傷率は90分で増加し、スフィンゴミエリナーゼ阻害剤処置によってバイスタンダー細胞においてDNA損傷率の増加が抑制された。これらの結果からバイスタンダー細胞ではNOによってDNA損傷が生成され、細胞死が誘導されたと考えられた。これらのことから、低線量放射線照射によるバイスタンダー効果による細胞死誘導メカニズムとして、放射線照射を受けた細胞内でスフィンゴミエリナーゼが亜鉛元素と結合することによりスフィンゴミエリナーゼが活性化し、活性化スフィンゴミエリナーゼは細胞外に分泌されバイスタンダー細胞に作用し、バイスタンダー細胞内では細胞膜応答が誘導され、NO合成酵素が活性化し、産生されたNOを介してDNA損傷が生成され細胞死が誘導されたと推察された。

## 参考文献

- 1) Hall E.J. (2004) Henry S. Kaplan Distinguished Scientist Award 2003. The crooked shall be made straight; dose-response relationships for carcinogenesis. *Int.J.Radiat.Biol.*,80,327-337
- 2) Nagasawa, H. and Little, J. B. (1992) Induction of sister chromatid exchanges by extremely low doses of alpha-particles. *Cancer Res.* 52, 6394-6396.
- 3) 田村咲子、須藤繭子、和田成一、柿崎竹彦、伊藤じゅん、世良耕一郎、伊藤伸彦、グリオーマにおける低線量放射線照射による細胞致死効果の解析 バイスタンダー効果と微量元素との関連、NMCC共同利用研究成果報文集14、p.144-149、2008. 5
- 4) Ago, H., Oda, M., Takahashi, M., Tsuge, H., Ochi, S., Katunuma, N., Miyano, M. and Sakurai, J. 2006. Structural basis of the sphingomyelin phosphodiesterase activity in neutral sphingomyelinase from *Bacillus cereus*. *J. Biol.Chem.* 281:16157-16167.
- 5) Schissel SL, Keesler GA, Schuchman EH, Williams KJ, Tabas I. The Cellular Trafficking and Zinc Dependence of Secretory and Lysosomal Sphingomyelinase, Two Products of the Acid Sphingomyelinase Gene (1998) *J. Biol. Chem.* 273(29),18250-18259.
- 6) Zhang Y, Mattjus P, Schmid PC, Dong Z, Zhong S, Ma WY, Brown RE, Bode AM, Schmid HH, Dong Z. (2001) Involvement of the acid sphingomyelinase pathway in UVA-induced Apoptosis. *J. Biol. Chem.*276(15) 11775-11782.
- 7) Shao,C.,Folkard,M.,Michael,BD.and Prise,K.M.(2004) Targeted cytoplasmic irradiation induces bystander responses. *Proc Natl Acad Sci U S A.*101(37):13495-13500.

## The analyses of bystander effect induced by low-dose radiation in glioma cell

A. Yoshikubo<sup>1</sup>, A. Baden<sup>1</sup>, S.Wada<sup>1</sup>, T.Kakizaki<sup>1</sup>, S. Goto<sup>2</sup>, K.Sera<sup>3</sup> and N. Ito<sup>1</sup>

<sup>1</sup>School of Veterinary Medicine, Kitasato university  
35-1 Higashi 23banyo, Towada, Aomori 034-8628, Japan

<sup>2</sup>Takizawa Institute, Japan Radioisotope Association  
348-1 Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0173, Japan

<sup>3</sup>Cyclotron Research Center, Iwate Medical University  
348-58 Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0173, Japan

### Abstract

Recently, it was considered that the cell lethal effect by low dose radiation was due to bystander effect. Cells irradiated low dose radiation secreted something liquid factor that induced lethal effect by signal transduction. So far, we suggested that radiation induced bystander effect is closely relative with sphingomyelinase. To analyze mechanism between activation of sphingomyelinase and induction of bystander effect, in this study we investigated divalent metal that are necessary for sphingomyelinase activation using PIXE analysis and mechanism of lethal effect by sphingomyelinase. Extracellular zinc value by radiation (0.1Gy) decreased for 5 min and increased for 15 min after irradiation. On the other hand, fluctuation of extracellular zinc value by treatment of sphingomyelinase inhibitor was suppressed. NO and DNA damage were induced in the bystander cells, that were non-irradiated cells culturing with medium of irradiated cells. These results indicate sphingomyelinase is activated by binding zinc element, sphingomyelinase itself function as bystander factor and induce cell death.

## サメの歯牙中フッ素および微量元素の PIXE 分析

櫻井四郎、小野寺祥子、堀井善弘<sup>1</sup>、世良耕一郎<sup>2</sup>、後藤祥子<sup>3</sup>、高橋千衣子<sup>3</sup>

大妻女子大学社会情報学部環境情報学専攻  
206-8540 東京都多摩市唐木田 2-7-1

<sup>1</sup> 東京都島しょ農林水産総合センター  
100-1511 東京都八丈島八丈町三根 4222

<sup>2</sup> 岩手医科大学サイクロترونセンター  
020-0173 岩手県岩手郡滝沢村滝沢字留が森 348-58

<sup>3</sup> 日本アイソトープ協会滝沢研究所  
020-0173 岩手県岩手郡滝沢村滝沢字留が森 348-58

### 1 はじめに

フッ素はう蝕予防の効果があるとして現在は様々なデンタルケアに使用されている。しかし、過剰にフッ素を摂取することで、歯が斑状歯になり、進行すると歯の表面が浸食された状態になる。人間の場合は斑状歯になるが、サメはフッ素化物濃度が高く、非常に頑丈で、歯にフッ素症を引き起こす高濃度でも歯科衛生を保つことができる。我々は、既にサメの歯のフッ素の化学形態も明らかにしてきた<sup>1)</sup>。

そこで、本研究ではさらにサメの歯の特性を解明するために、種類の異なるサメの歯のフッ素濃度とフッ素以外の元素の含有量を測定し、フッ素と他元素との量的関係を解明する試みを行った。

### 2 測定方法

#### 2.1 前処理

研究対象は八丈島で捕獲されたサメ 10 種類 18 試料である。すでに乾燥された顎（写真 1）からは、歯のみ採取し、乾燥していない顎は沸騰して歯を採取した。



写真 1 アオサメの顎

## 2.2 試料調製

これら 10 種類のサメの歯の定量分析を、仁科記念サイクロトロンセンターで PIXE 法にて行った。サンプルは粉末状にし、内部標準法と化学灰化法の両方法によって分析した<sup>2,3,4)</sup>。

内部標準法は、全てのサンプルを均一にして、ハロゲン分析のために使用した。この方法は、サンプルを液体窒素で乳鉢内において微粉末にし、均一化したものを 105°C で 15 時間乾燥させ、さらに均一化する。この場合パラジウムカーボン粉末を内部標準値として使用。最後に約 1 mg の細かい粉末をバックリングフィルムの上に置き、希釈したコロジオンで接着させて分析した。

一方、化学灰化法では、サンプルは均一にした後に硝酸と共に圧力容器に入れ、乾燥して重量を計測した。その後マイクロウェーブで灰化し、3 分間加熱し完全に溶解。最後にサンプルの約 5  $\mu$ L をバックリングフィルムの上に垂らしてから乾燥させた。フッ素を含むハロゲンの大部分は、化学灰化の過程で消失するので、化学灰化する前に少量のサンプルを処理した。化学灰化法によって扱われるサンプルは、ある指標とする元素の濃度を得るために分析した。

## 2.3 $\gamma$ 線スペクトロメトリー

$\gamma$ 線スペクトロメトリーは世良らが開発した方法にて行った<sup>5) 6)</sup>。

## 3 結果

本研究では、フッ素と他の元素濃度を PIXE 法で定量することができた。図 1 はサメの歯牙から定量的に検出できたフッ素濃度を示した。

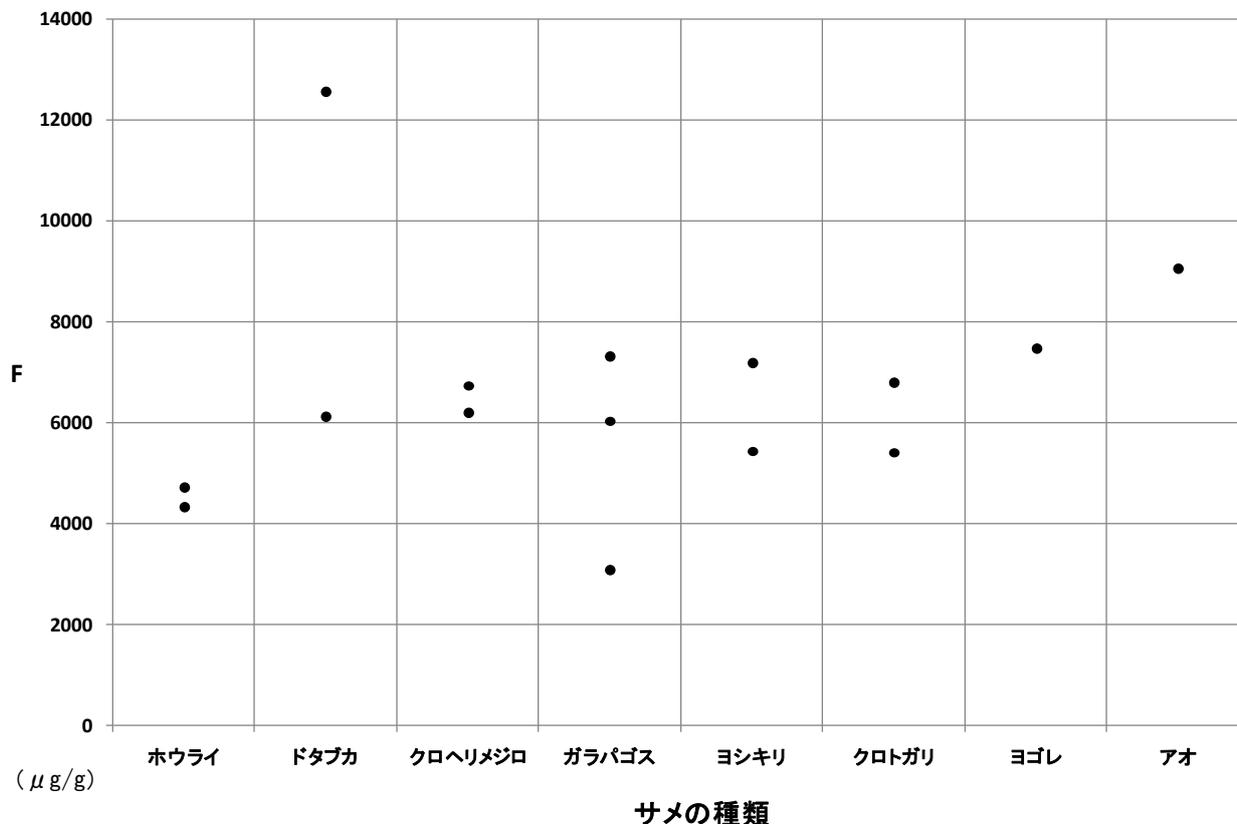


図 1 サメの種類別歯牙中フッ素濃度

次に、図 2 には、サメの歯牙中 Ca 濃度を示した。

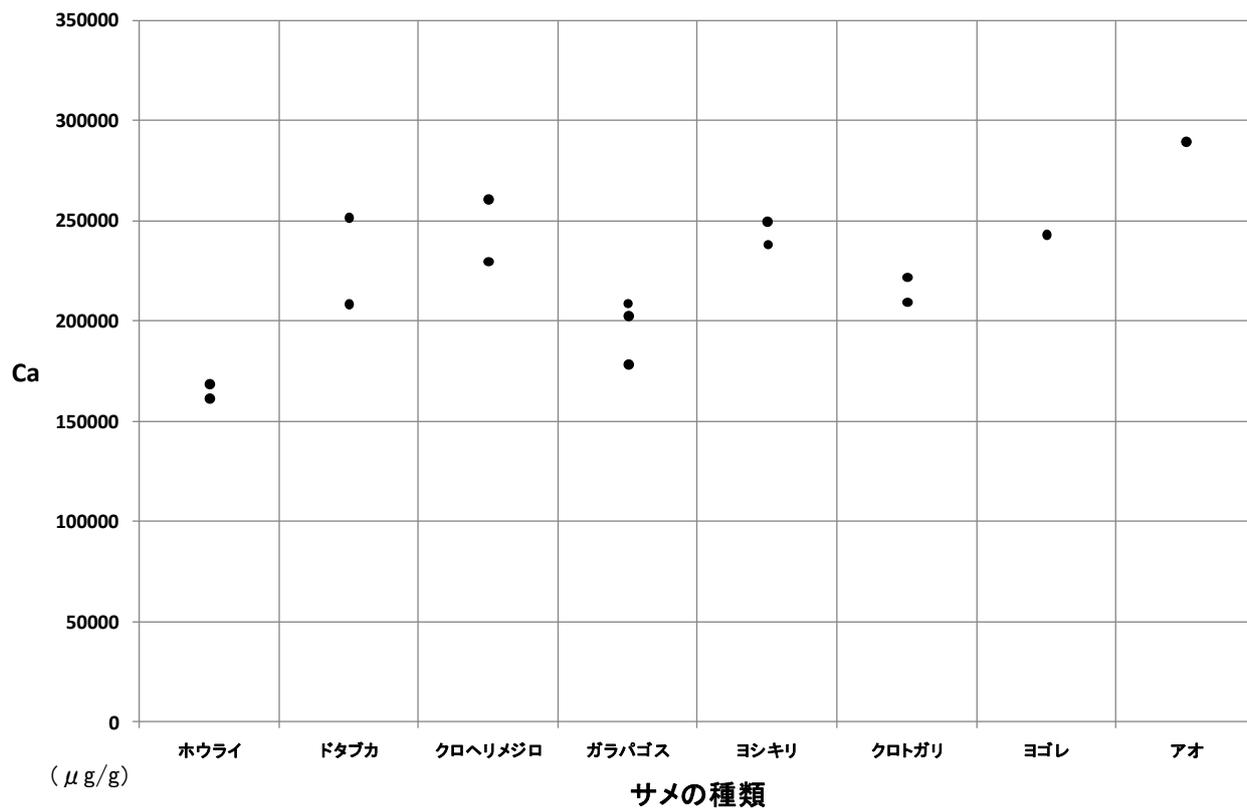


図2 サメの種類別歯牙中Ca濃度

次に PIXE 法で定量的に検出できた元素の、最大値、最小値、平均値を図3に示した。

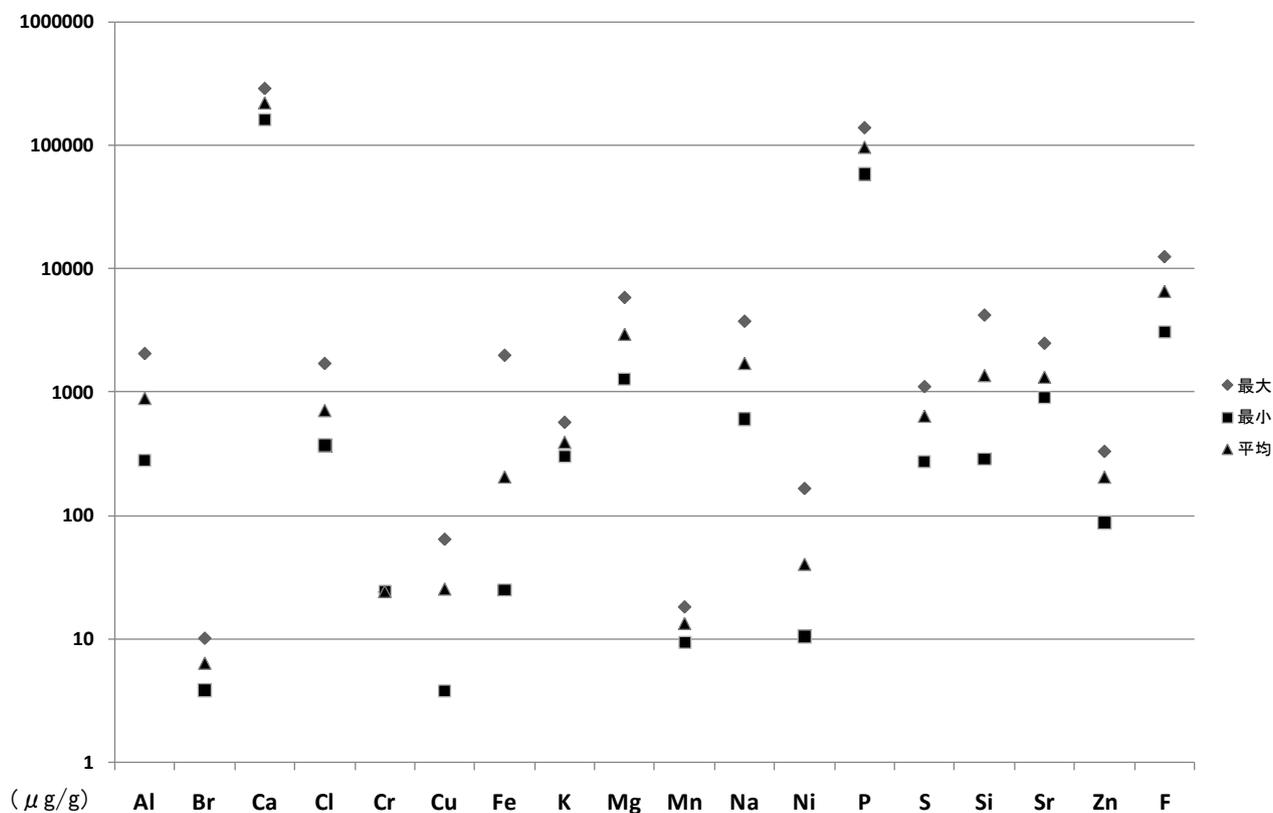


図3 サメの種類別歯牙中元素濃度

次に各元素間の相関関係をみた。図4はFとCaの相関関係を、図5にはCaとPの相関関係を示した。

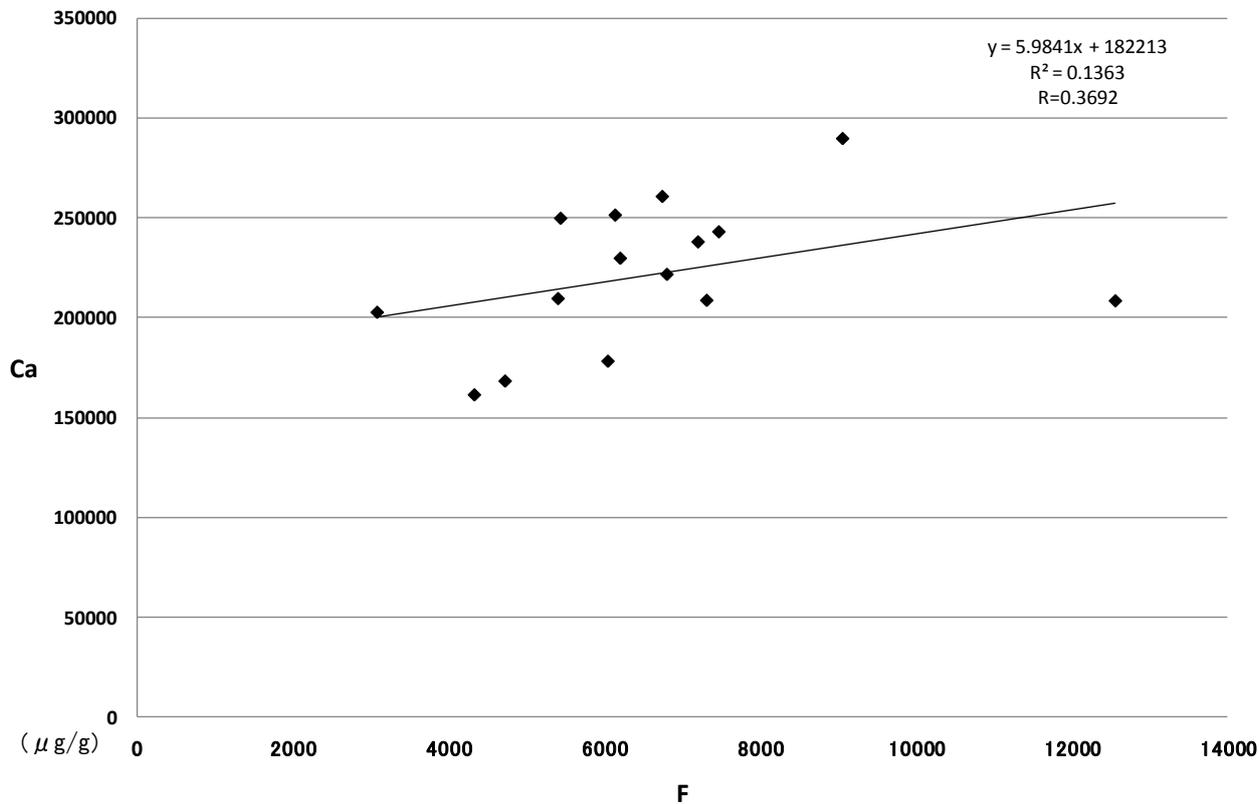


図4 サメの歯牙中FとCaの相関関係

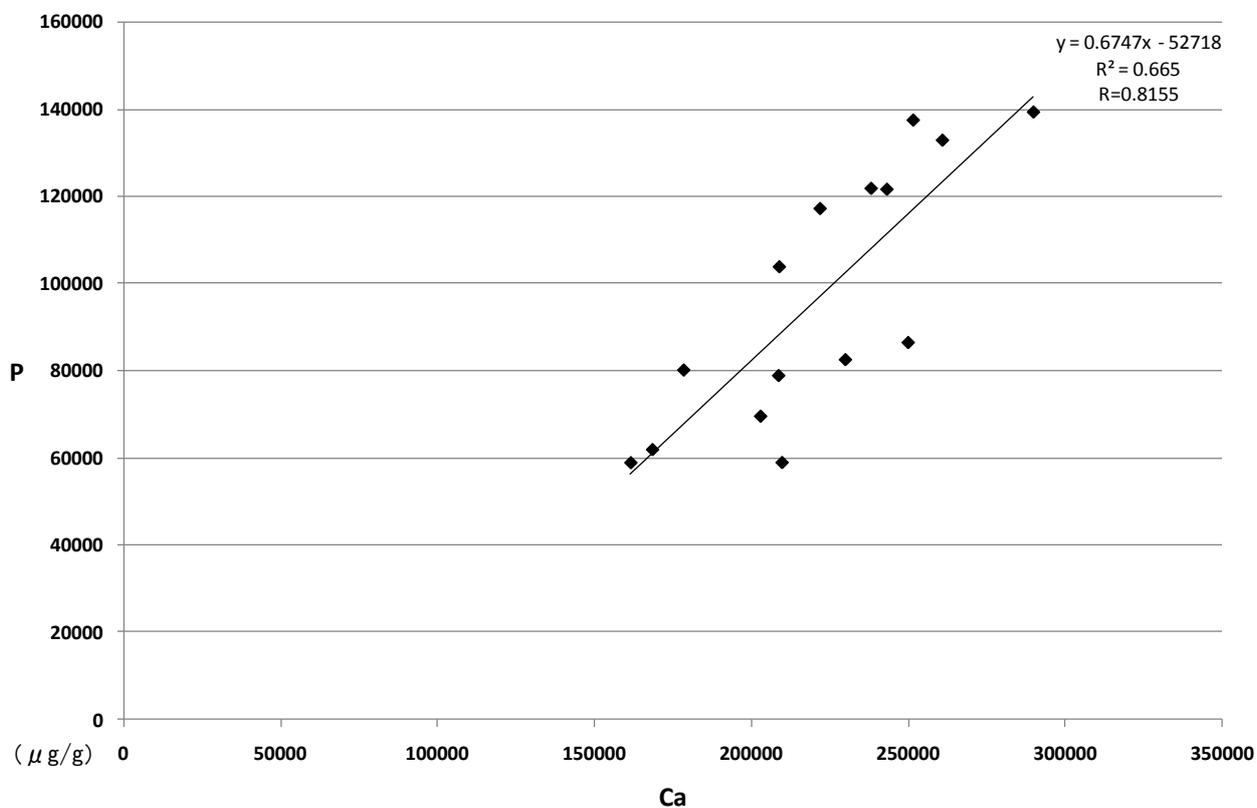


図5 サメの歯牙中CaとPの相関関係

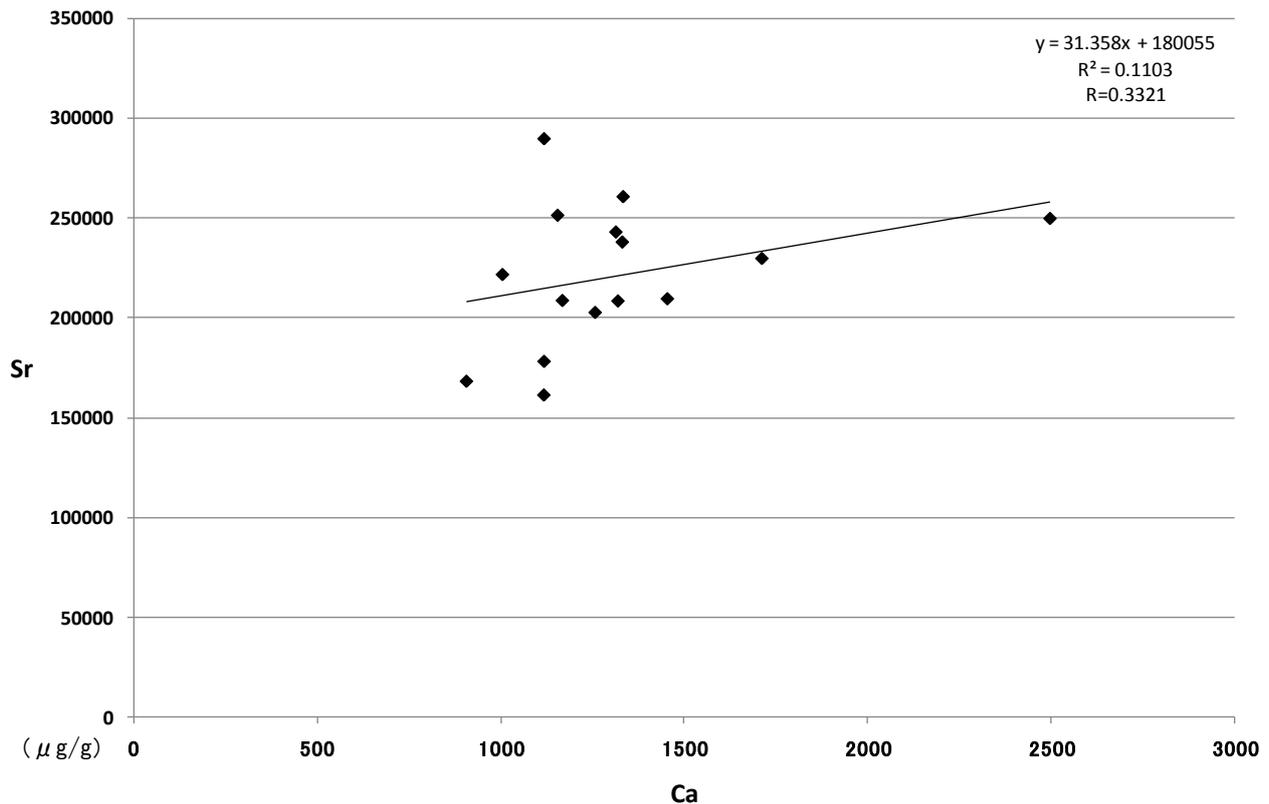


図6 サメの歯牙中 Ca と Sr の相関関係

#### 4 考察

サメの歯牙中に Al、Br、Ca、Cl、Cr、Cu、Fe、K、Mg、Mn、Na、Ni、P、S、Si、Sr、Zn、F の 18 種類の元素が検出され、中でも、Ca、Cl、Mg、Na、P、Sr、Zn、F の 8 元素は全試料で定量できた。特に、Ca、Cl、Mg、P、F は高濃度で検出された。Ca と P が著しく濃度の高いことは、サメの歯牙の化学形態が Fluoroapatite であることを考えても頷ける。一方、F も種類によって、フッ素濃度に大きな差があることを認めた。この点についても、各元素の海水深度によって濃度が変化するなど、生態との関係を追究しなければならないことを再確認した。

一方、各元素間の相関関係をみると、図4で示したように、F と Ca の相関関係は、予想に反して相関係数は低い値を示した。逆に Ca と P の相関関係は極めて高く、前述したようにサメの歯牙の骨格が Apatite であることを裏付ける結果が得られた。

また、Ca と Sr の相関係数はそれほど高くなく、有意な関係は認めなかった。サメの歯は、魚介類の耳石などと異なり、それほど指標性はないのかもしれない。その他、図には示さなかったが、F と Na、F と Cl、同じくハロゲン族の F と Br はいずれも負の相関関係を示すなど、興味深い結果が得られた。

#### 5 まとめ

今後も多くのサメの種類からデータを集め、歯の強度に関するフッ素含有量との関係、フッ素含有量とその他の元素との関係、回遊ルートや生息域および深さにおける元素の含有量の違いを明らかにしていきたい。

参考文献

- 1) S. SAKURAI, R. ASAKAWA, F. HIROTA, T. SATO, K. SERA, J. ITOH, "Quantitative and qualitative Analysis of Fluoride and Multi Elements of Shark Teeth by PIXE." *Int'l Journal of PIXE*, Vol.18, No.3,4 123-129 (2008).
- 2) K. Sera and S. Futatsugawa, "Quantitative Analysis of Powdered Samples Composed of High-Z Elements" *Int'l Journal of PIXE*, Vol.8, No.2, 3 185-202 (1998).
- 3) J. Itoh, S. Futatsugawa, Y. Saitoh and K. Sera, "Application of a Powdered-Internal-Standard Method to Plant and Seaweed samples" *Int'l Journal of PIXE*, Vol.15, No.1&2, pp.27-39(2005).
- 4) Futatsugawa, S., Hatakeyama, S., Saitou, Y. and Sera, K. "Present Status of NMCC and Sample Preparation Method of Bio-Samples." *Int'l Journal of PIXE* Vol. 3- 4, 319-328 (1993)
- 5) K. Sera, K. Terasaki, S. Muraio, S. Futatsugawa and Y. Saitoh, "A Three-detector Measuring System Using a Pure-Ge Detector," *Int'l Journal of PIXE*, Vol.13, No.1, 2 23-35 (2003).
- 6) K. Sera and S. Futatsugawa, "Spectrum Analysis Taking Account of the Tail, Escape Functions and Sub-lines (SAPIX version 4)," *Int'l Journal of PIXE*, Vol.10, No.3, 4 101-114 (2000).

## **PIXE analysis of fluoride and trace elements in shark teeth**

S.Sakurai, S.Onodera, Y.Horii<sup>1</sup>, K.Sera<sup>2</sup>, S.Goto<sup>3</sup> and C.Takahashi<sup>3</sup>

Department of Environmental Science  
School of Information Studies, Otsuma Women's University  
2-7-1 Karakida, Tama, Tokyo 206-8540, Japan

<sup>1</sup>Hachijo Branch, Tokyo Metropolitan Center for Agriculture,  
Forestry and Fisheries on Izu islands  
4222 Mitsune, Hachijo-machi, Tokyo 100-1511, Japan

<sup>2</sup>Cyclotron Research Center, Iwate Medical University  
348-58 Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0173, Japan

<sup>3</sup>Takizawa Institute, Japan Radioisotope Association  
348-1 Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0173, Japan

### **Abstract**

We have measured the concentration of fluoride and other elements simultaneously in shark teeth using PIXE. 17 samples taken from 10 species of shark. As a result, 18 elements were detected. Particularly, Ca, Cl, Mg, Na, P, Sr, Zn, and F showed high concentrations. There is a high statistical correlation between Ca and P in shark teeth. However, there is a low statistical correlation between Ca and F. Judging from shark teeth is composed of Apatite, it is possible to consent to the fact. We have 100 samples of Shark teeth and are planning on reporting the findings of a study with larger samples in the near future.

## 秋田八幡平における大気粒子状物質中の重金属元素の起源と輸送経路

菊地良栄<sup>1</sup>、佐々木祐子<sup>1</sup>、大場麻美<sup>1</sup>、佐藤綾子<sup>1</sup>、高田 信<sup>1</sup>、  
藤原一彦<sup>1</sup>、紀本岳志<sup>2</sup>、尾関 徹<sup>3</sup>、世良耕一郎<sup>4</sup>、小川信明<sup>1</sup>

<sup>1</sup>秋田大学工学資源学部  
018-8502 秋田市手形学園町 1-1

<sup>2</sup>紀本電子工業株式会社  
543-0024 大阪府天王寺区舟橋町 3-1

<sup>3</sup>兵庫教育大学  
673-1494 兵庫県加東郡社町

<sup>4</sup>岩手医科大学サイクロトロンセンター  
020-0173 岩手県岩手郡滝沢村滝沢字留が森 348-58

### 1 はじめに

大気粒子状物質(PM)は人為的発生源(自動車の排気、バイオマスや化石燃料燃焼等)、自然発生源(土壌粒子、海しぶき)から生ずる。<sup>[1,2]</sup> PMの微細粒子は人の健康(例えば、呼吸器疾患)<sup>[3]</sup>や気候変動と地球温暖化<sup>[4]</sup>に影響を与えることから、排出量の削減が求められている。それを受けて、PM<sub>2.5</sub>に関する環境基準が2009年9月9日に環境省から通知された。

アジアは黄砂だけではなく、人為的発生源のエアロゾルについても主な供給源のひとつである。特に、北東アジアは高い人口密度とエネルギー消費の増加のため、多量の汚染物質(例えば、SO<sub>2</sub>とNO<sub>x</sub>)を放出している。多くの研究者が、北東アジアの地域で微細粒子( $d < 2.5 \mu\text{m}$ 、PM<sub>2.5</sub>)と粗大粒子( $10 \mu\text{m} > d > 2.5 \mu\text{m}$ 、PM<sub>10-2.5</sub>)エアロゾルの排出源の寄与を調査した。<sup>[5-8]</sup> それらの研究が、都市部のPM<sub>2.5</sub>とPM<sub>10</sub>(微細粒子+粗大粒子)の平均濃度が郊外や田舎よりも高く、PM<sub>2.5</sub>中の主な成分は二次粒子である硫酸塩や硝酸塩そしてアンモニウム塩であり、PM<sub>10</sub>中の主な成分は土壌粒子と海塩であることを示唆している。

日本においても長距離輸送の影響に関する多くの研究がなされてきた。<sup>[9-12]</sup> 例えば、Kikuchiらは、空気塊が中国北東部から輸送される場合に、霧が不溶性成分として黄砂を含むことを報告した。さらに、Kikuchiらは、PMと霧の間でCl-lossの度合いが異なり、それは、霧が塩化水素を取り込んだためであ

ることを明らかにした。<sup>[13]</sup> また、幾つかの論文において Enrichment Factor 解析、特有の元素間の比率そして後方流跡線解析を用いて PM の発生源を明らかにした。<sup>[14,15]</sup> Fang らは、10 以下の EF 値を持つ元素は土壌起源そして 10 以上の EF 値を持つ元素は人為的発生源であると報告した。<sup>[15]</sup> さらに、Arditsoglou と Samara は、As, Pb そして Se の発生源に関しては、特有の元素比を用いることが有効であると報告した。<sup>[16]</sup>

本報告における目的は、人の健康に影響を与える As, Pb そして Se の発生源を Enrichment Factor 解析、特有の元素間の比率そして後方流跡線解析を用いて明らかにすることである。

## 2 測定方法

PM は秋田八幡平で 2004 年から 2006 年まで PM サンプラーを用いて採集した。採集した PM 中の種々の元素は仁科記念サイクロトロンセンターで PIXE 分析によって定量された。後方流跡線は 850hpa 面の高層天気図を用いて第二近似法で求めた。

## 3 結果と考察

### 3.1 ヒ素の発生源

人間はヒ素を慢性的に摂取すると、皮膚癌、肝臓障害、貧血等の障害を引き起こすと言われている。<sup>[17]</sup> そのため、ヒ素の放出を止めるためにも発生源を特定することは重要である。ヒ素の発生源を特定するためにはヒ素とバナジウムの比を用いることが有効である。<sup>[16]</sup> Fig.1 に PM 中にヒ素が含まれていたときの空気塊の輸送経路を示した。ヒ素を含む場合の空気塊は中国大陸と朝鮮半島から輸送されていた。石炭、重油、ガソリン燃焼由来のヒ素とバナジウムの比はそれぞれ、4.8、0.02、1.1 であることが知られている。<sup>[16]</sup> しかしながら、PM 中にバナジウムを含むイベントは一回だけであった(2005年6月23-25日、Fig.1中の黒く太い実線)。そしてその比は 0.81 であった。したがって、ヒ素の発生源はガソリン燃焼に由来するものであり、また、八幡平では大きな工業地域がなく、交通量も少ないため、中国大陸や朝鮮半島から輸送されてきたものと考えられる。

### 3.2 鉛の発生源

鉛を慢性的に摂取すると、食欲不振、嘔吐、高血圧、胃痛等を引き起こすと言われている。<sup>[18]</sup> 鉛の発生源を特定するためには、鉛と臭素の比を求めることが有効である。<sup>[16]</sup> その比が 0.8 から 4.7 にあるときは人為起源であり、4.8 を超える場合は金属精錬起源である。<sup>[16]</sup> Fig.2 に PM 中に鉛が含まれていたときの空気塊の輸送経路を示した。Fig.2 中の実線は人為起源の鉛を含み、点線は金属精錬起源の鉛を含んでいたときの空気塊の輸送経路を示している。この結果から、八幡平の PM 中に含ま

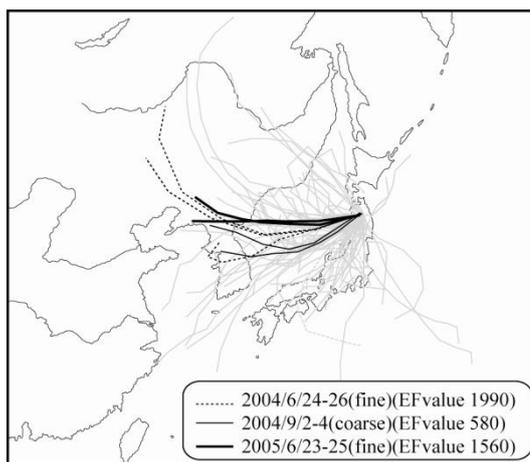


Figure 1 The back trajectories when As was collected.

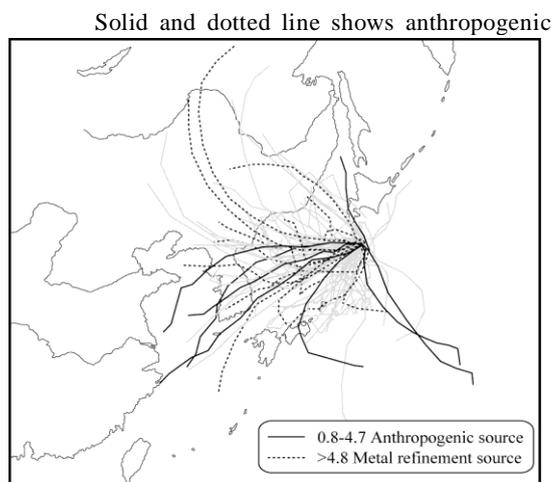


Figure 2 The back trajectories when Pb was collected.

れる鉛は両方の起源に由来することがわかる。また、日本上空を空気塊が輸送される場合は大規模な工業地域上空を通過していた。

### 3.3 セレンの発生源

ヒ素を一日に 2500 $\mu$ g 以上摂取すると、悪心、脱毛、爪の変性等を引き起こすことが知られている。<sup>[19]</sup> セレンの発生源を特定するためには、セレンと硫黄の比が有効である。セレン発生源はセレンと硫黄の比が 0.0014 から 0.0088 の範囲にあるときは石炭の燃焼か自動車の排気によるとされている。<sup>[16]</sup> Fig.3 に PM 中にセレンを含む場合の空気塊の輸送経路を示した。黒の実線で示したセレンを含むイベントは主に中国大陸と朝鮮半島から空気塊が輸送されてきている。したがってセレンは主に中国大陸や朝鮮半島での石炭の燃焼や自動車の排気に由来すると考えられる。

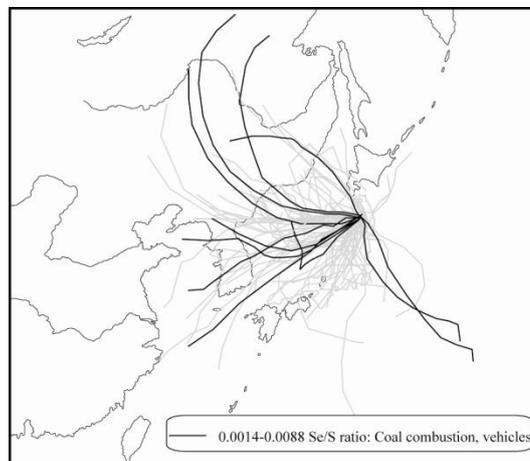


Figure 3 The back trajectories when Se was collected.

## 4 結論

各元素間の比率を求め、その比率と空気塊の輸送経路から、有害金属の発生源を特定することができた。

### 参考文献

- [1] Cohen, D.D, “Characterisation of atmospheric fine particles using IBA techniques,” Nuclear Instruments and Methods in Physics Research, 14, pp.136–138, (1998).
- [2] Cohen, D.D., Graham, .M.B. and Kondepudi, R., “Elemental analysis by PIXE and other IBA techniques and their application to source fingerprinting of atmospheric fine particle pollution,” Nuclear Instruments and Methods in Physics Research 109, p.218-226 (1996).
- [3] Dockery, D.W., Pope, C.A., Xu, X., Spengler, J.D., Ware, J.H., Fay, M.E., Ferris, B.G. and Speizer, F.E., “An Association between Air Pollution and Mortality in Six U.S. Cities,” New England Journal of Medicine 329, pp.1753-1759 (1993).
- [4] IPCC, 2001. The Third Assessment Report of Working Group I of the Intergovernmental Panel on Climate Change: Technical Summary, Lead Authors, Albritton, D. L. (USA), Meira Filho, L.G., (Brazil), Shanghai, 17–20 January (2001).
- [5] Han, J.S., Ghim, Y.S., Moon, K.J., Ahn, J.Y., Kim, J.E., Ryu, S.Y., Kim, Y.J., Kong, B.J. and Lee, S.J., “Concentration variations of trace elements in Gosan, Jeju during the polluted period in November 2001 and the yellow sand period in spring 2002,” Journal of Korean Society for Atmos. Environ. 20, pp.143–151, (2004).
- [6] Hu, M., He, L-Y., Zhang, Y-H., Wang, M., Kim y. P., and Moon, K.C., “Seasonal variation of ionic in fine particles at Qingdao, China,” Atmos. Environ. 36, pp.5853-5859 (2002).
- [7] Fang, G-C., Chang, Y-S., Wu, Y-S., Wang, N-P., Wang, V., Fu, P. P-C., Yang, D-G and Chen, S-C., “Comparison of particulate mass, chemical species for urban, suburban and rural areas in central Taiwan, Taichung,” Chemosphere 41, pp.1349-1359 (2000).
- [8] Ho, K. F., Lee, S. C., Chan, C. K., Yu, J.C., Chow, J. C and Yao, X. H., “Characterization of chemical species in PM2.5 and PM10 aerosols in Hong Kong,” Atmos. Environ. 37, pp.31-39 (2003).

- [9] Kikuchi, R., Adzuhata, T., Okamura, T., Ozeki, T., Kajikawa, M and Ogawa, N., "A pollution of fog by ionic components and insoluble substances at Akita Hachimantai mountain range." *Int. Soc. Mater. Eng. Resour.*, 9, pp.28-31, (2001).
- [10] Kikuchi, R., Inotsume, J., Yoshimura, K., Ogawa, N., Sera, K. and Ozeki, T., "Transport course of insoluble substances of fog water in Akita Prefecture in Northern Japan," *Int. J. PIXE*, 23, pp.81-87, (2003).
- [11] Saitoh, K., Sera, K. and Shirai, T., "Characterization of atmospheric aerosol particles in a mountainous region in northern Japan," *Atmospheric Research*, 89, pp.324-329, (2008).
- [12] Yamada, E., Funoki, S., Abe, Y., Umemura, S., Yamaguchi, D. and Fuse, Y., "Size Distribution and Characteristics of Chemical Components in Ambient Particulate Matter," *Anal. Sci.*, 21, pp.89-94, (2005).
- [13] Kikuchi, R., Takada, M., Hifumi, K., Yoshimura, K., Ozeki, T., Kimoto, T., Kajikawa, M and Ogawa, N., "The degree of Cl-loss for the particulate matter (PM) and fog water sampled at the same air mass at the Hachimantai mountain range in northern Japan," *Atmospheric Research*, 94, pp. 501-509, (2009).
- [14] Kim, K. H., Choi, G. H., Kang, C. H., Lee, J. H., Kim, J. Y., Youn, Y. H. and Lee, S. R., "The chemical composition of fine and coarse particles in relation with the Asian Dust events," *Atmospheric Environment*, 37, pp.753-765, (2003).
- [15] Fang, G.C., Wu, Y.S., Chen, J. C., Fu, P. P. C., Chang, C. N. and Chen, M. H., "Metallic elements study on fine and coarse particulates during daytime and nighttime periods at a traffic sampling site," *Science of the Total Environment*, 345, pp.61-68 (2005).
- [16] Arditsoglou, A., C. Samara, "Levels of total suspended particulate matter and major trace elements in Kosovo: a source identification and apportionment study", *Chemosphere*, 59, 669-678 (2005).
- [17] M, Karim. "Arsenic in groundwater and health problems in Bangladesh", *Water Research* 34, 304-310 (2000).
- [18] H, Hu. "Poorly Controlled Hypertension in a Painter with Chronic Lead Toxicity", *Environ Health Perspective* 109, 95-99 (2001).
- [19] Wilber, CG, "Toxicology of selenium", *Clinical Toxicology* 17, 171-230 (1980).

## **Origin and transportation course of heavy metal elements in the particulate matter (PM) at the Hachimantai mountain range in northern Japan**

Ryoei Kikuchi<sup>1</sup>, Yuko Sasaki<sup>1</sup>, Asami Oba<sup>1</sup>, Ayako Sato<sup>1</sup>, Makoto Takada<sup>1</sup>, Kazuhiko Fujiwara<sup>1</sup>, Takashi Kimoto<sup>2</sup>, Toru Ozeki<sup>3</sup>, Koichiro Sera<sup>4</sup> and Nobuaki Ogawa<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Faculty of Engineering and Resource Science, Akita University,  
1-1, Tegata Gakuen-cho, Akita 020-8502, Japan

<sup>2</sup>Kimoto Electric Co. Ltd., 3-1, Funahashicho Tennojiku, Osaka 543-0024, Japan

<sup>3</sup>Hyogo University of Teacher Education, Yashiro-cho, Katou-gun, Hyogo 673-1494, Japan

<sup>4</sup>Cyclotron Research Center, Iwate Medical University, 348-58 Tomegamori, Takizawa 020-0173, Japan

### **Abstract**

Particulate matter (PM) was collected at the Hachimantai mountain range in northern Japan. In the present study, the origin and transportation course of the heavy metal elements were discussed for PM<sub>fine</sub> and PM<sub>coarse</sub>, determined by using PIXE (Particle Induced X-ray Emission) and back trajectory analyses. The result shows that the PM<sub>fine</sub> emitted mainly from artificial sources, compared with the PM<sub>coarse</sub> from natural sources, since the Enrichment Factor (EF) value and S/K ratio of PM<sub>fine</sub> was one order higher than that of PM<sub>coarse</sub>. The origin of Pb in PM at Akita Hachimantai mountain range has both of the anthropogenic and the metal refining origins, using the analysis of Pb/Br. Furthermore, from result of back trajectory analysis when the air mass was transported over the Japanese Islands, the air mass was mainly passed over the large-scale industrial area in Japan. The origin of As and Se were mainly gasoline and coal combustion, and were transported from Chinese continent and/or Korea peninsula.

## オイル試料に対する無標準定量法の開発 -大気 PIXE システムを用いて-

世良耕一郎<sup>1</sup>、後藤祥子<sup>2</sup>、高橋千衣子<sup>2</sup>、齋藤義弘<sup>2</sup>  
寺崎一典<sup>1</sup>、佐々木敏秋<sup>1</sup>、齊藤勝美<sup>3</sup>

<sup>1</sup> 岩手医科大学サイクロトロンセンター  
〒020-0173 岩手県岩手郡滝沢村滝沢留が森 348-58

<sup>2</sup> 日本アイソトープ協会仁科記念サイクロトロンセンター  
〒020-0173 岩手県岩手郡滝沢村滝沢留が森 348-58

<sup>3</sup> エヌエス環境株式会社  
〒020-0122 盛岡市みたけ 4-3-33

### 1. はじめに

近年特に大気環境学の分野において、エンジンオイルの定量分析に対する需要が高まりつつある。それは、大気汚染の観点から注目を集めているナノ粒子発生源の一つとみなされているためである。エンジンオイルから放出される元素は、大気中浮遊粒子の核となることも指摘されており、これらの粒子の組成が大気環境学上重要な意味を持っている。オイル試料は真空中での測定が不可能であるため、大気中での測定が求められる。筆者の一人齊藤勝美 (NS 環境) 等は、NMCC において単元素標準オイルを用いた内部標準法の開発を試みており、満足すべき精度が得られている。しかし同法には一つ欠点がある。それは内部標準オイルの添加により試料が希釈され感度が低下する点であり、オイル試料固有の特性である。通常の液体試料においては、内部標準液中の水分は揮発するため感度に影響を与えることはない。

我々は真空 PIXE において種々の試料に対する無標準定量分析法の開発を行ってきた<sup>1-7)</sup>。内部標準を用いない無標準法の適用は、特にオイル試料には有利であると期待される。何故なら無標準法は C、H、O、N など低 Z 元素からの連続 X 線収量を利用するため、無機物・高 Z 元素主体の試料には適用が難しいが、低 Z 元素主体であるオイル試料への応用は有望であるからである。さらに内部標準法には試料調製における熟練度が要求されるのに対し、無標準法にはそれが全く必要なく、しかも一滴のオイルでの定量分析が可能となる。我々は大気 PIXE における毛髪試料に対する無標準法を既に開発し報告を行っている<sup>8)</sup>。大気 PIXE における無標準法開発のポイントは、「空気から発生する連続 X 線の正確な差引」であるが、毛髪試料に対する無標準法開発時に、Blank target に対する spectrum を Ar-K $\alpha$  X 線収量で規格化し raw spectrum から差し引く

ことにより、試料からのみ発生する X 線を得る方法が確立されている<sup>8)</sup>。

本研究においては、9 種のオイル試料を用い無標準法の変換係数が決定され、それを用いて種々のオイル；engine、cooking、machine oils に本法を適用し内部標準法により得られた結果と比較することにより、本法の有用性が調べられる。

## 2. 実験方法

### 2.1 試料調製

単元素標準オイルとして、それぞれ Sc、Y、In を 200、500、100 ppm 含む標準オイル試料、多元素標準オイルとして S12、S21、AM-Special (CONSTAN) が、無標準法の確立、及び精度確認のために用いられた。Target は、それらの試料を一滴 4  $\mu\text{m}$  prolene film 上に滴下し、チップで 10 mm $\phi$  程度に薄く伸ばすことにより作成された。

無標準法の確立・精度確認のための内部標準法との比較において、10 種の新品・使用済オイル (engine oil : 5、cooking oil : 3、machine oil : 2) が用いられた。それぞれ Sc、Y、In の単元素標準オイルが、200 ppm (Sc)、500 ppm (Y)、1000 ppm (In) になるようにこれらの試料に加えられ、vortex mixer により入念に均一化された。この場合、試料は標準オイルの添加により希釈されるが、無標準法との比較においては希釈後の濃度が計算により求められ、それが用いられる。

### 2.2 ビーム及び測定条件

島津製作所小型サイクロトロンより引き出された 2.9 MeV の陽子ビームは、2 組の三連 Q magnet、steering magnet などで調整され真空散乱槽に導入される<sup>9)</sup>。ビームは真空散乱槽を通り抜けた後、bending magnet により 45 度下方に偏向され、6 mm $\phi$  graphite collimator により成形され 7.5  $\mu\text{m}$  Kapton (Polyimide) foil を通して大気中に導出される。発生した X 線は、Si(Li)検出器 (PGT LS10138HT; 分解能 = 137 eV at 5.98 keV) により測定される。ビーム電流は最大 3 nA である<sup>10)</sup>。試料の照射条件等の測定法・解析法の詳細に関しては、参考文献 10 を参照されたい。

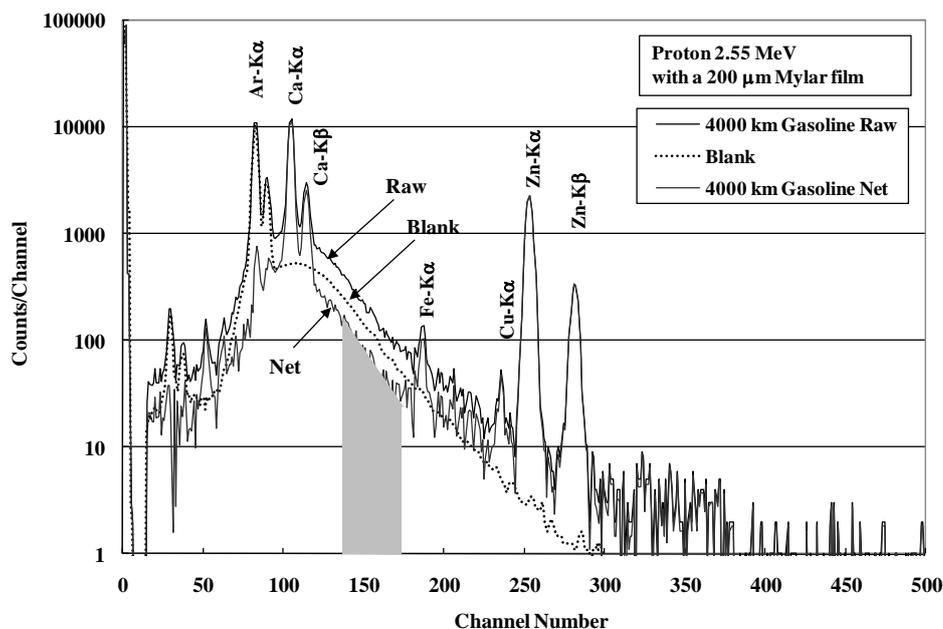


Fig.1 X-ray spectrum of a used gasoline oil. Procedure for blank-spectrum subtraction is also shown in the spectrum.

### 3 オイル試料に対する無標準法

無標準法の適用においては、検出器に 200  $\mu\text{m}$ -thick Mylar film 吸収体を装着した。通常、真空 PIXE においては 300  $\mu\text{m}$  Mylar が用いられるが、空気による吸収を考慮し 200  $\mu\text{m}$  が適当と判断した。Fig.1 に、使用済みのガソリンエンジンオイルに対する大気 PIXE スペクトルを示す。図中には、Target holder に 4  $\mu\text{m}$  prolene backing film を張り付けた blank target を照射して得られた BG スペクトルも示されている。Raw spectrum からの差し引きは、空気からの連続 X 線収量と比例関係にある Ar-K $\alpha$  X 線収量で規格化することにより行われ、得られた net spectrum も同時に示されているが、これは試料からのみ発生する X 線成分に相当する。

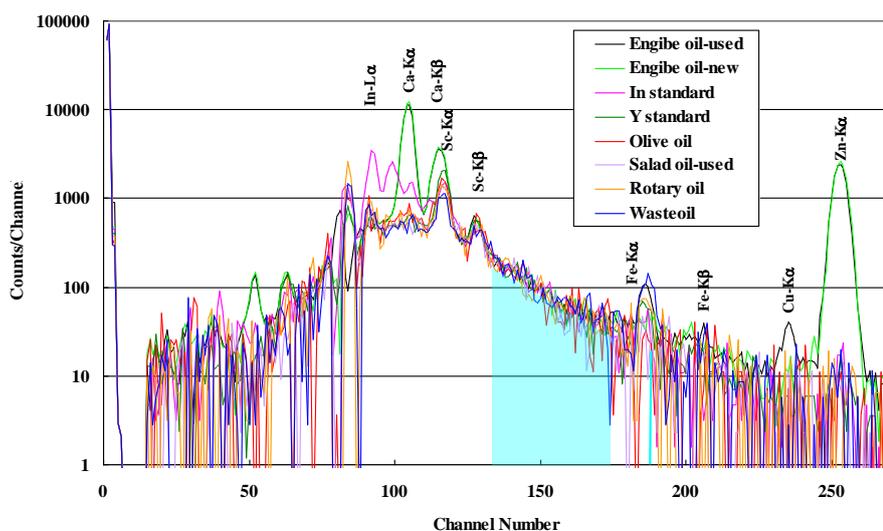


Fig.2 Net X-ray spectra of eight practical oil samples normalized with the yields of continuous X-rays in the region between 4 and 5.7 keV.

Fig.1 には無標準法の基準となる連続 X 線収量をとる領域も示されている (灰色の塗りつぶし)。この領域は以下のように決定された。Fig.2 に、上記の手順で得られた net spectra を 8 種の実際のオイル試料に対して示す。これらの中には engine oil、cooking、machine、standard oils の多種のオイルが含まれているが、4.0–5.7 keV の領域 (青色の塗りつぶし) における連続 X 線の形状は種別によらずほぼ同一であり、このことはオイルの種類によらず主成分が C、H、O、N の軽元素であり、連続 X 線の大部分がこれらの元素から発生し、重元素の存在が連続 X 線に与える影響が無視しうる程度であること、従って共通の変換係数が使用可能であることを示している。

無標準定量法のための変換係数 (指標元素のピーク収量の連続 X 線収量に対する比から、指標元素濃度を求めるための係数) 決定までの手順は以下のとおりである。まずスペクトル解析コード SAPIX<sup>11)</sup> により指標元素を含む全ピーク収量を求め、Net spectrum において 4.0–5.7 keV の領域内に存在するピークを差し引くことにより、Fig.1 に示した領域の連続 X 線収量  $Y_{\text{CX}}$  を求める。指標元素としては、毛髪の場合は Zn、生体組織試料の場合 K のように、全試料に安定して存在する元素が選ばれるが、オイル試料の場合、全てのオイルに共通して存在する元素がなく、特定の指標元素を指定することができない。そのため試料に既知濃度の元素を加え、それを指標元素とみなして変換係数を確定し、試料の組成に応じて指標元素をその都度指定する方針とした。とりあえず、単元素標準試料が提供され X 線発生断面積の大きい Sc を指標元素として無標準法の確立を目指した。変換係数確定までの手順の詳細は参考文献 1 に示したものと同様である。

本研究においては、まず9種のオイル試料に対して Sc 標準オイルの添加・均一化を行い、指標元素 Sc に対する変換係数が求められた。他の元素に対する変換係数は、X線発生断面積・吸収体の透過係数・検出効率の3つの物理量を考慮し、Sc に対する変換係数から求められる。

#### 4 結果と議論

Fig.3 に、Sc に対して決定された変換係数を用いて無標準法により求めた Sc 濃度が、添加量から計算された濃度と、9種のオイル試料に対して比較されている。図に見られるように sesame oil (ゴマ油) 以外の全ての結果が誤差範囲で一致し、食用油や機械油など多種の試料に対し本法が有効であることが示された。ゴマ油に関しては、粘度の違いがあり標準オイルとの親和性が悪く、Sc の均一性に問題があったためか、もしくは比較的重元素濃度が高いため連続 X 線の形状に違いが生じたか、のいずれかが不一致の原因と思われる。

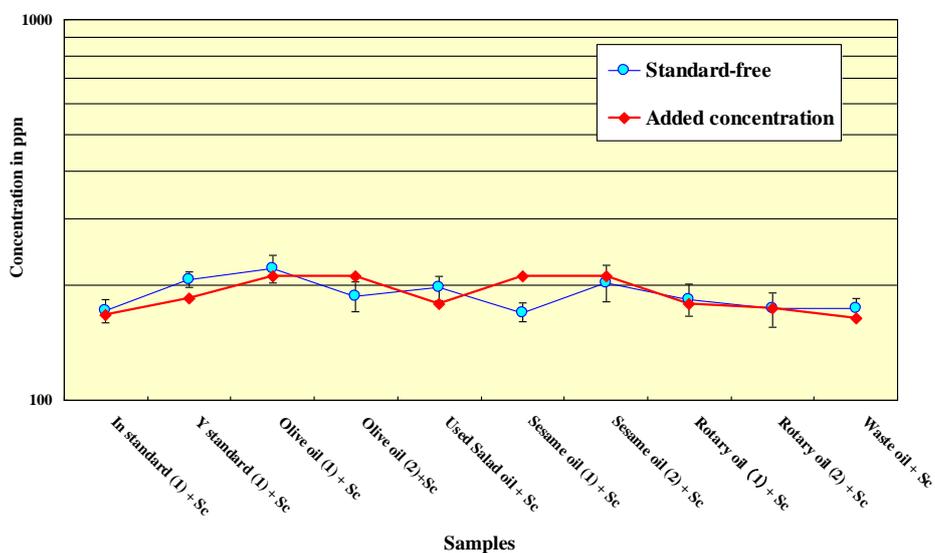


Fig.3 Comparisons of scandium concentration in 9 standard and practical oil samples obtained by the present method and added values .

Fig.4 には、本法開発の主目的であるガソリンオイル、ディーゼルオイルの未使用・使用済の5試料からの net spectra を、4.0-5.7 keV の領域の連続 X 線収量で規格化し、重ねて示す。図にみられるように mobile oil は多量の Ca と Zn、Mo などを含み、他のオイルと比べ特徴的な組成である。しかしこの場合も、4.0-5.7 keV 間の連続 X 線の形状にはほとんど影響がなく、無標準法が mobile oil にも有効であることが予測される。

これらの mobile oil に対しても、上記9種のオイル試料と同様、Sc 単元素オイル標準を添加し、Sc を指標元素とする無標準法を試みた。その精度が確認できれば、次に既存の Zn を指標元素とし本法を適用、定量精度を確認する手順となる。Fig.5 に、Fig.4 に示した5試料に対し Sc 標準オイルを添加した試料中の Sc 濃度を示す。図から確認できるように、無標準法で求めた値はいずれの試料に対しても添加量から算出した濃度と実験誤差の範囲でよく一致しており、本法が一般のオイル試料と組成がかなり異なる mobile oil に対しても有効であることが確認された。

Fig.6 に、Sc に対して求められた変換係数を基に、上記3つの物理量を考慮して求められた各元素に対する変換係数を示す。図にみられるように、変換係数は原子番号のなだらかな関数とな

っている。生物試料と異なり、オイル試料には全ての試料に共通して含まれる元素が存在しないため共通の指標元素を指定できないが、これらの値を用いれば、試料の種類や組成に応じて任意の指標元素を指定し、定量を行うことができる。

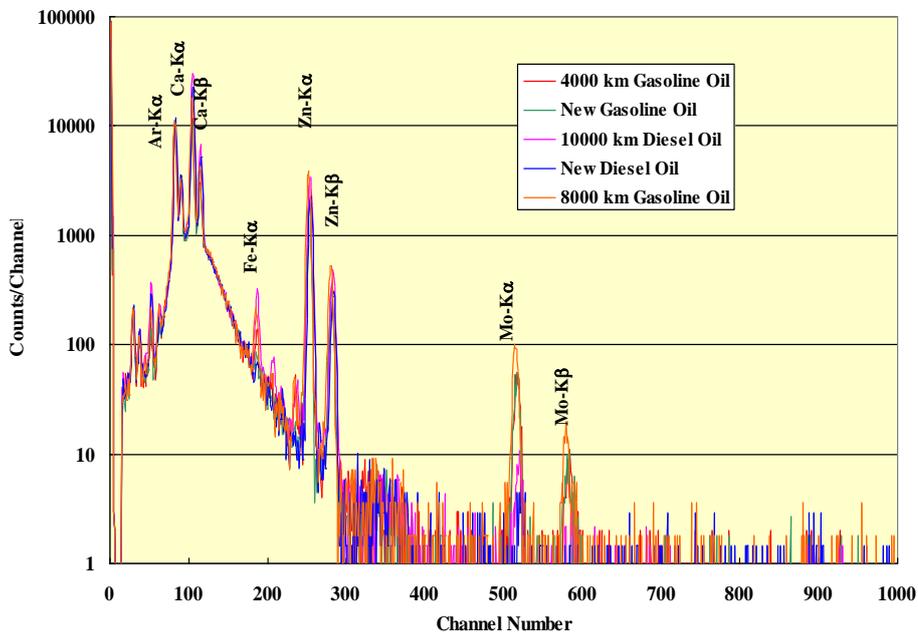


Fig.4 X-ray spectra from five mobile oils (brand-new and used gasoline and diesel oils) normalized by the yields of continuous X-rays in the region between 4.0 and 5.7 keV.

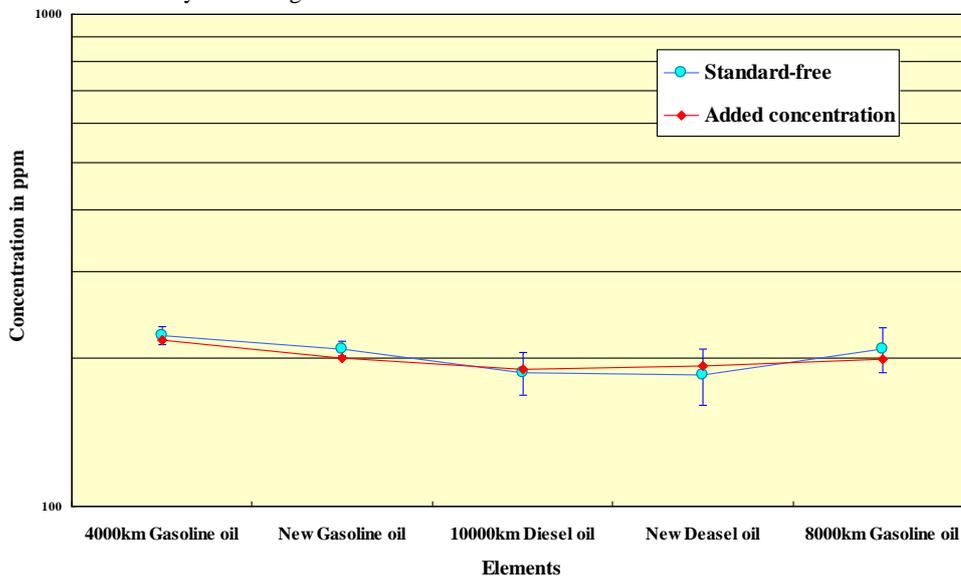


Fig.5 Scandium concentration in five mobile oil samples obtained by the standard-free method. Scandium was added to the samples so as to become nearly 200 ppm.

Fig.7に、mobile オイル3試料に対しZnを指標元素とみなし無標準法で求めたZn濃度が、Scを内部標準とし内部標準法により求めたZn濃度と比較されている。いずれも良い一致を示し、このように、オイルの種類に応じ指標元素を任意に選んだ場合でも、無標準法の精度が十分であることが確認できた。

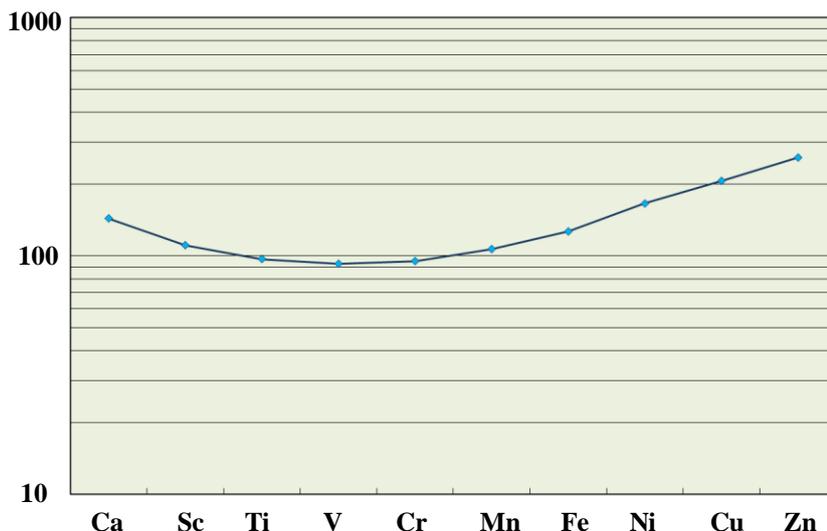


Fig.6 Conversion coefficients for many elements calculated from that for scandium considering X-ray production cross sections, values of X-ray transmission through an X-ray absorber and detection efficiencies.

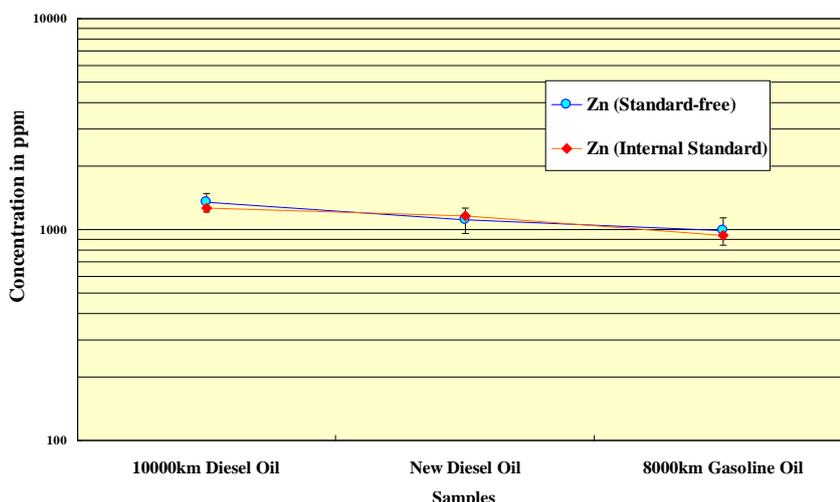


Fig. 7 Comparisons of zinc concentration in three engine oil samples obtained by the present method regarding zinc as an index element.

一般のオイル試料には、4.0-5.7 keV の領域中にピークを持つ元素が少ないものが多いが、多種の元素が存在する場合でも本法は有効であることが示される。Fig.8 -a, b) には多元素標準オイル S-12, S-21 からのスペクトルをそれぞれ示す。いずれも領域中に多数の元素ピークが存在し連続 X 線の形状が分かりにくい、図に示されるように peak fitting を行い raw spectrum からピーク成分を差し引くことにより領域内の連続 X 線収量を正確に求めることができる。それをを用い、無標準法により各元素の濃度を求めた結果が Fig.9- a, b) に示されている。ここで Sc は内部標準として加えられ、Sc を指標元素として無標準法を用い Sc 濃度を求め、それを内部標準とみなして全元素の値を求めたものである。図にみられるように保証値との一致は満足すべきものである。

Fig.10- a, b) には、Sc の添加量から求めた濃度をそのまま用いた「内部標準法」による結果が保証値と比較されている。この場合、Mg、Al、Si の軽元素も表示されているが、これらは Ca で橋渡しを行っているため、基本的に無標準法も同じ値と考えてよい。保証値とのよい一致が確認されるが、無標準法とほぼ同程度の精度であることがわかる。これらの結果から、多種の元素が存在する試料に対しても、本法が内部標準法と同等の精度を与えることが確認できた。

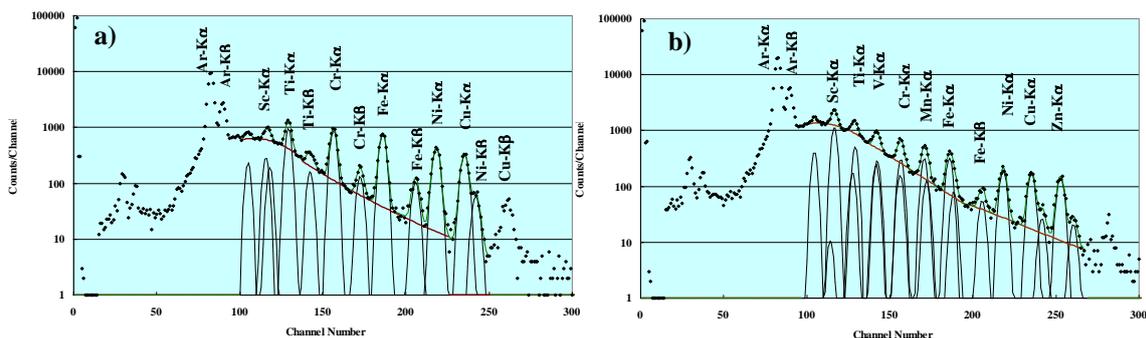


Fig.8 X-ray spectrum of a standard oil S-12 (a) and S-21 (b).

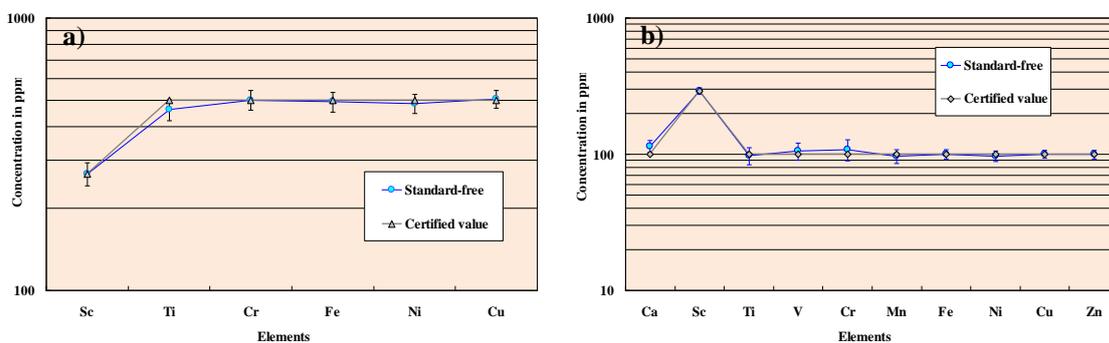


Fig.9-a, b) Elemental concentration in S-12 and S-21 standard oils obtained by the standard-free method.

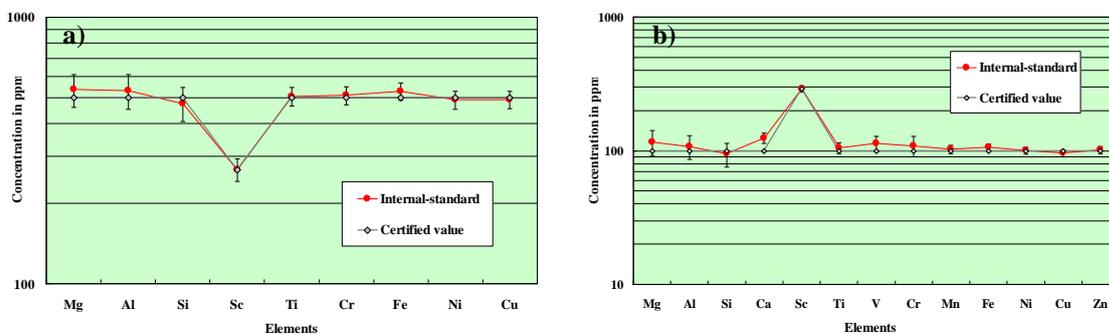


Fig.10-a, b) Elemental concentration in S-12 and S-21 standard oils obtained by the internal-standard method.

Fig.11には、未使用の diesel engine oil と 10000 km 走行後の diesel engine oil 中の元素濃度が比較されている。Zn を指標元素とみなし、本法を用いて求められたものである。多くの元素が変化を示さないのに対し、Fe、Ni、Cu の濃度が使用後に増加していることが分かる。

Fig.12には、Fig.11と同様、未使用のものと 4000 km 走行後の gasoline engine oil の比較を示す。このガソリンオイル場合、Cr、Fe、Fe、Niに加え Mg、Alなどの軽元素も使用後濃度が上昇していることが分かる。これらの測定は、たった一滴のオイルを backing film 上に滴下しチップ先で薄く広げたのみのターゲットを用いて行われ、初心者でも数秒でターゲット調製が可能、直ちに測定に入ることができる。

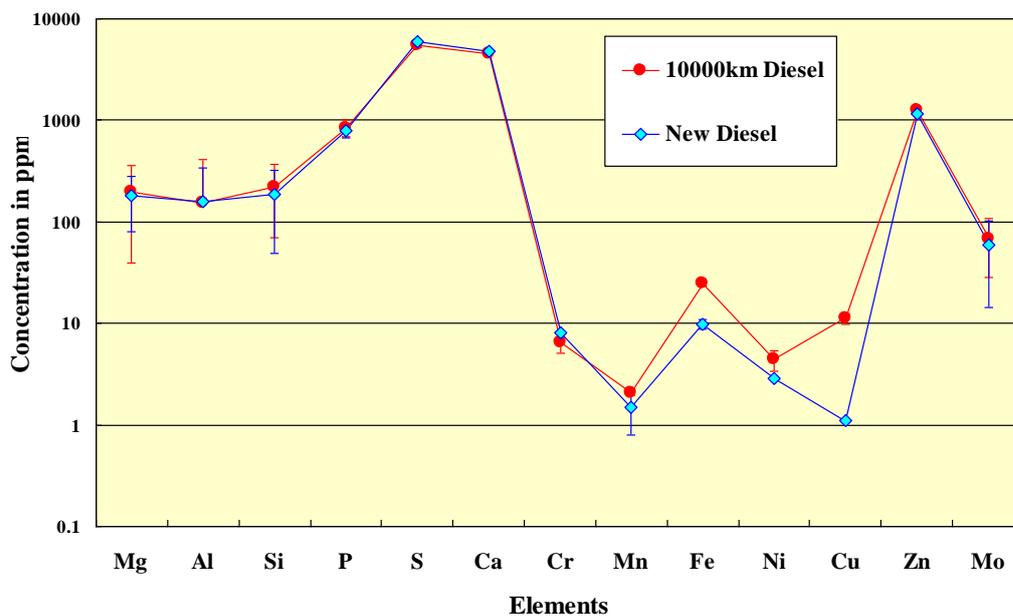


Fig. 11 Comparisons of elemental concentration of 13 elements between brand-new and used diesel oil samples obtained by the present method.

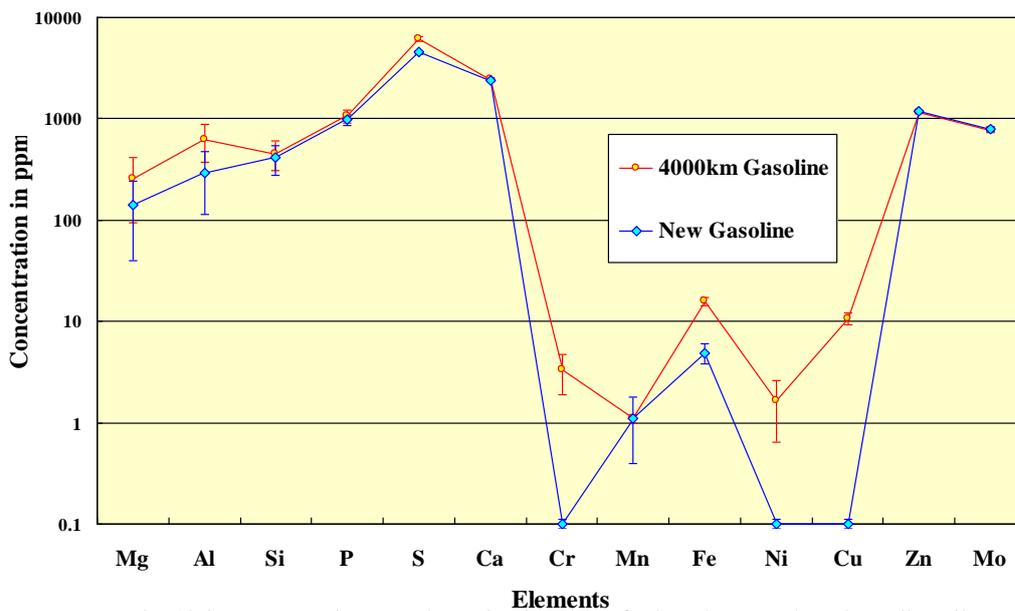


Fig. 12 Same comparisons as shown in Fig. 11 but for brand-new and used gasoline oil samples.

## 5 まとめ

以上の事項は以下にまとめることができる。

1. オイル試料に対する無標準法が開発され、食用・機械・モービルオイルなどのオイル試料に対して有効であることが確認された。

2. Sc に対する変換係数が求められ、それを基準とし多種の元素に対する変換係数が決定された結果、試料に応じて任意の元素を指標元素として指定しても、変わらぬ精度で定量分析を行えることが確認された。
3. 共通の変換係数が、多種の元素を含む試料や組成の異なる試料に対しても有効であることが確認できた。
4. 一滴の (< 1 $\mu$ L) オイルでの定量分析が可能となった。
5. 一滴のオイルをバックリング膜状に滴下するのみで、熟練度に関係なく誰でも数秒間で試料調製を行えるようになった。

なお、本稿の内容は参考文献 12 に報告されている。

## 謝辞

共同利用の円滑な運営のために日々献身的な働きをしておられる日本アイソトープ協会 NMCC のスタッフの方々、及び岩手医大サイクロトロンセンターのスタッフに謝意を表します。また、NMCC の全国共同利用を有効に活用し、優れた成果を上げられている利用者の方々に敬意と謝意を表します。

## 参考文献

1. K. Sera, S. Futatsugawa, K. Matsuda and Y. Miura, "Standard-free method of quantitative analysis for bio-samples", *Int'l Journal of PIXE*, Vol.6, No.3, 4, 467-481 (1996)
2. K. Sera, S. Futatsugawa and K. Matsuda, "Quantitative analysis of untreated bio-samples", *Nucl. Instr. and Meth.*, B 150, 226-233 (1999)
3. K. Sera, S. Futatsugawa S. Hatakeyama, Y. Saitoh and K. Matsuda "Quantitative Analysis of Bio-medical Samples of Very Small Quantities by the Standard-free Method.", *Int'l Journal of PIXE*, Vol. 7-3, 4, 157-169 (1997)
4. K. Sera, S. Futatsugawa and Y. Miura, "Application of a Standard-free Method to Quantitative Analysis of Urine Samples", *Int'l Journal of PIXE*, Vol. 11, No.3, 4, 149-158 (2001)
5. K. Sera, S. Futatsugawa, S. Murao and E. Clemente "Quantitative Analysis of Untreated Nail Samples for Monitoring Human Exposure to Heavy Metals.", *Int'l Journal of PIXE* Vol. 12, No.3, 4, 125-136 (2002)
6. K. Sera, K. Terasaki, J. Itoh, Y. Saitoh, S. Futatsugawa and Y. Miura, "Standard-free Method for Body Fluid Samples such as Saliva, Sweat, Snivel and Tear." *Int'l Journal of PIXE*, Vol.15, No. 1, 2, 47-57 (2005)
7. K. Sera, K. Terasaki, T. Sasaki, J. Itoh, S., Goto, Y. Saitoh, S. Futatsugawa, Fujimura, A., Nozaka, Y., Noda., S. Nishizuka and G. Wakabayashi", "Quantitative Analysis of Very Small Quantity of Organs Taken from Patients and Experimental Animals", *Int'l Journal of PIXE*, Vol.18, No. 3, 4, 111-122 (2008)
8. K. Sera, T. Sasaki, J. Itoh, Y. Saitoh and S. Futatsugawa, "Standard-free Method for Hair Samples in In-Air PIXE", *Int'l Journal of PIXE*, Vol.18, No. 1, 2, 21-30 (2008)
9. K. Sera, T. Yanagisawa, H. Tsunoda, S. Futatsugawa, S. Hatakeyama, Y. Saitoh, S. Suzuki and H. Orihara., "Bio-PIXE at the Takizawa facility (Bio-PIXE with a baby cyclotron)", *Int'l Journal of PIXE*, Vol. 2, No.3, 325-330 (1992)
10. K. Sera, K. Terasaki, J. Itoh, Y. Saitoh and S. Futatsugawa, "Physical Quantitative Analysis in In-Air PIXE.", *Int'l Journal of PIXE*, Vol. 17, No.1, 2, 1-10 (2007)
11. K. Sera and S. Futatsugawa, "Personal Computer Aided Data Handling and Analysis for PIXE." *Nucl. Instr. and Meth.*, B 109/110, 99-104 (1996)
12. K. Sera, S. Goto, C. Takahashi and Y. Saitoh, "Quantitative Analysis of Untreated Oil Samples in In-air PIXE", *Int'l Journal of PIXE*, Vol.20 -3,4, 77-84 (2010)

## Quantitative analysis of untreated oil samples in in-air PIXE

Koichiro Sera<sup>1</sup>, Shoko Goto<sup>2</sup>, Chiiko Takahashi<sup>2</sup>, Yoshihiro Saitoh<sup>2</sup>,  
Kazunori Terasaki<sup>1</sup>, Toshiaki Sasaki<sup>1</sup> and Katsumi Saitoh<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Cyclotron Research Center, Iwate Medical University  
Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0173, Japan

<sup>2</sup>Nishina Memorial Cyclotron Center, Japan Radioisotope Association  
348-58 Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0173, Japan

<sup>3</sup>NS Environmental Science Consultant Corporation  
4-3-33 Mitake, Morioka, Iwate 020-0122, Japan

### Abstract

The method of quantitative analysis of oil samples in in-air PIXE has been developed on the basis of the standard-free method. The components of the continuous X-rays originated from air and a backing film can be exactly subtracted by normalizing with the yields of Ar K- $\alpha$  X-ray peak. The method was developed using three kinds of standard oil samples and its accuracy and reproducibility were confirmed by comparing the results with those obtained by the internal-standard method using single-element standard oils. Validity of the method for practical oil samples was confirmed by applying the method to various kinds of oils such as engine, machine and a few kinds of edible oils. It was confirmed that the method is valid in a case where arbitral element is designated as an index element depending on the composition of the oil sample. Moreover, targets can be prepared by anyone within ten seconds only by putting a drop of oils onto a backing film. It is expected that the method will become a powerful tool for the studies in atmospheric environmental sciences

**Keywords** : Oil, In-air PIXE, Standard-free, Quantitative analysis, Mobile oil