

1.2 P I X E

水耕オオムギにおけるカドミウムとコバルトの過剰症と 植物体内の元素濃度

河合成直¹、山口瑤介¹、真船公平¹、伊藤じゅん²

¹岩手大学連合農学研究科
020-8550 岩手県盛岡市上田 3-18-8

²(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

コバルトと植物 多くの微量元素が高濃度で与えられた時、植物に障害が発生する。これは植物に必須と考えられる微量元素、そして、植物に必須ではない微量元素両方について知られている。Coは、必須元素ではないが、有益な効果と害の両方を与える。CoはビタミンB₁₂の構成元素として知られている。これまで、動物におけるCo欠乏症を防ぐ目的で、植物に施用されてきた。動物や微生物とは対照的に、植物において、Coはマメ科植物の根粒における*Rhizobia*と、相利共生窒素固定のため、窒素固定ラン藻類のいくつかの種において必須とされているにも関わらず、全ての植物において必須性が認識されていない。Coは現在、必須元素ではなく、有用元素と規定されている¹⁾。過剰なCoは植物に害を及ぼし、過剰となる濃度水準は種によって異なるが、乾物での30-40 ppmの濃度範囲が普遍的である。

大抵の場合、Co過剰は、環境汚染の結果生じる。過剰症は、新葉の葉脈間クロロシス、葉の縁と先端部の白化、葉のクロロシスと先端部の損傷が挙げられる。Coは、光合成や種子発芽、種子成長、そして生育や収量のような、植物における多くの過程を阻害する²⁾。植物の微量元素含量に関するデータ収録³⁾の記載によると、奥田・高橋³⁾は、培養液栽培の水稻のCo過剰症について次のように報告している。地上部は、まず、下位葉の先端及び周辺から白茶色に枯れ上がり、次いで上位の新葉に葉脈間クロロシスを生ずる。この症状は、Co 5 ppm以上で明らかに認められ、20 ppm以上で枯死する。根部では、5 ppmで新根の発生が悪くなり、根色も淡黄橙色化し、古い根は、ヒモ状に伸張し、新根の伸長は途中で停止するため2段根の特異的な形態をとる。

しかし、Coが土壌中に過剰に存在することは我が国では通常はありえない。故に、わが国の自然環境においてCo過剰は起こっていない。しかし、Co欠乏は、ほとんど全ての大陸で、全ての国で報告されている⁴⁾。これはトウモロコシなどの飼料作物において知られているが、オオムギにおけるCoの挙動、役割などは未だに明らかになっていない部分も多いと思われる。よって、本研究では、オオムギを用いて、Coが植物栄養生理に与える影響を調査した。

カドミウムと植物 カドミウム(Cd)は、植物と動物の両方にとって本質的に毒性で、水生生物または陸上生物において全く有益な生物学的作用をもたない。最近、人間活動の結果としての生命体系における

Cd 集積は、世界中の農業的生態系において、作物の生産性と質を危険にさらし得る環境問題として論じられている^{5,6,7,8,9)}。Cd は、亜鉛精錬の副産物として得られ、やわらかく、延性、展性にとみ、加工しやすいので、アルカリ蓄電池の陰極、軸受け合金、易融合金の成分、鋼鉄などのメッキ、半導体 CdS の原料に用いられる。また、原子炉の制御棒にも用いられる。Cd の粉末や煙を吸い込むと猛毒である¹⁰⁾。土壌中の Cd 汚染は、作物の生育阻害より、収穫部位—可食部位—への集積・濃縮と、それを食べる動物への影響が問題になる場合が多く、食物連鎖を通じてヒトの病気を引き起こす^{11,12)}。腎不全にそれが誘引する骨軟化を伴うイタイイタイ病は、最も良く知られた Cd 汚染によるヒトの病気である¹³⁾。Cd は、とても低い濃度でさえ、損傷を引き起こすと示唆され¹⁴⁾、健全に見える植物も哺乳動物に対して毒性であるレベルの Cd を含むかもしれない¹⁵⁾。

Cd は植物において、水と無機栄養素の吸収を減少させると同時に、光合成、呼吸、窒素代謝の阻害を引き起こす可能性がある¹⁶⁾。Cd 過剰生育阻害作用は、2 μM (0.2 ppm) で起こる¹⁷⁾。植物にとって、土壌中の pH が 4.5~5.5 の範囲で Cd をよく吸収しやすく、pH6.5 以上では吸収しにくい。過剰症状としては、根の生育障害が生じる。また、Cd 過剰は植物の Fe 欠乏を誘導する。

Cd は化学的に Zn と似た性質を持ち、有意な相互作用は、植物によるそれらの集積において Cd と Zn との間で起こりうる¹⁸⁾。植物細胞内では、Cd は Zn フィンガー転写因子のような Zn 結合分子から Zn と置き換わる、もしくはカルモジュリンにおける Cd 結合部位に付着するかもしれず、それによって細胞内シグナル伝達に支障を来す¹⁹⁾。この遷移金属は酸化還元反応を通して活性酸素種(ROS)を生産することができず、Harber-Weiss/Fenton 反応に関与しないにもかかわらず、Cd インキュベーションの数時間後、すでに、酸化ストレスを引き起こす可能性がある^{19,20)}。さらに、有力な報告が矛盾する結果をもたらした。例えば、Choudhary ら²¹⁾と Oriver ら²²⁾は、少なくとも幾つかの条件下、例えば、コムギが Zn 欠乏土壌で育てられる時に、生育培地中の Zn レベルの増加は、穀粒における Cd 集積を減少させるという報告をした。同様に、レタスとハウレンソウにおいて、Zn は、根からの Cd 吸収と根部から地上部への Cd の導管移行の両方を減少させた²³⁾。Hart ら²⁴⁾は、パンコムギとデューラムコムギの苗において、Cd の根からの吸収と Zn の根からの吸収との間の競合作用を明らかにし、結果として、Cd と Zn は根細胞膜で共通の移行体系を共有しているかもしれないということを示唆した。しかし、他の研究は、Cd と Zn との間に相互作用は全く無い²⁵⁾、または、Cd と Zn との間の相乗作用の証拠がある^{26, 27, 28)}と論じており、結論は出ていない。

工藤²⁹⁾は、オオムギの生長量や無機養分の含量、およびムギネ酸分泌に対する Cd の影響を報告した。また、水耕培地中の Cd 濃度を 5 μM にしたが、天然の Cd 汚染土壌中では、Cd 含有量が 1 kg 当り 2.5 mg であった場合、土壌溶液中の Cd 濃度は、0.002~0.007 μM である³⁰⁾ことから、自然界では、土壌溶液中の Cd 濃度が 5 μM に達することは稀である。そこで、工藤²⁹⁾は、本研究では 0.5 μM 以下の Cd 濃度でオオムギの水耕栽培を行い、その生理的影響を検討した。

2 実験方法

2-1 実験植物と栽培方法

2-1-1 植物種と品種

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、以下の手順で水耕栽培した。育苗は温室、又は、ファイトトロン (人工気象室) 内で行った。

2-1-2 種子殺菌と発芽

2 % さらし粉水溶液にミノリムギの種子を入れ、スターラーで攪拌 (30 分間) しながら表面殺菌した後、1 時間以上流水ですすいだ。この種子を湿ったタオルで包み、バットに乗せ、ラップで全体を覆い、25 °C の恒温器に入れ、24 時間以上静置して発芽させた。

2-1-3 播種と育苗

熱湯消毒した 15 L のプラスチック容器に 1.0 mM CaCl₂ 溶液を入れ、その中に熱湯消毒済みのポリエチレン製ネットを水面に合わせて固定した。発芽した種子を並べ、土壌条件再現のため 3 日間アルミを覆って、生長を待った。

播種から 7 日後、1/5 濃度の Hoagland & Arnon No.2 培地 (以降、+Fe 培地と呼ぶ。参照: Table II-1) へ、播種したネットごと移し、植物が 1.2 葉期になるまで育苗した。この培地の pH はデジタル pH メーター (HORIBA カスタニー ACT pH メーター D-24) で毎日測定し、pH の調整は、1.0 M HCl または 1.0 M NaOH を加えて、pH を +Fe 培地においては 5.5 に -Fe 培地においては 6.5 に調節した。

表 1 Hoagland & Arnon No2 培地 (+Fe) と Hoagland & Arnon No2 改変培地 (-Fe) の組成

Element	Salt concentration (mM)	
	+Fe	-Fe
KNO ₃	6.0	6.0
Ca(NO ₃) ₂	4.0	4.0
NH ₄ H ₂ PO ₄	1.0	—
NaH ₂ PO ₄	-	1.0
MgSO ₄	2.0	2.0
Fe-EDTA	2.0×10 ⁻²	-
H ₃ BO ₃	3.0×10 ⁻³	3.0×10 ⁻³
MnSO ₄	5.0×10 ⁻⁴	5.0×10 ⁻⁴
CuSO ₄	2.0×10 ⁻⁴	2.0×10 ⁻⁴
ZnSO ₄	4.0×10 ⁻⁴	4.0×10 ⁻⁴
H ₂ MoO ₄	5.0×10 ⁻⁴	5.0×10 ⁻⁴

2-1-4 移植

幼植物が 1.2 葉期になったとき、幼植物 3 個体を一株としてスポンジで包み、16 株を 1/2 濃度の +Fe 培地 (pH 5.5) または、Hoagland & Arnon No2 改変培地 -Fe 培地 (pH 6.5) が入ったポリバケツ (10 L) に移した。これは常時エアレーションポンプで通気した。この培地の段階で目的の Co 又は Cd 濃度になるように CoSO₄ または CdSO₄ 溶液を加えた。pH 調製は 2 日おきに行い、液量は脱塩水を適宜加えて維持した。

2-1-5 鉄欠乏培地

これは 1/2 濃度の Hoagland & Arnon No.2 培地から Fe-EDTA を除いた培地であり、Hoagland & Arnon No.2 改変培地と呼ぶ。この準備について、10 L のポリバケツ等は Fe などの金属混入を防ぐために 0.1 N 希硝酸に 30 分以上浸け置きし、純粋製造機を通した脱塩水 (電気伝導度 0.2 μS m⁻¹ 以下) ですすいから使用した。

2-2 クロロフィル含量の測定

培養中の植物の、第 3 葉以降の葉の先端、中央部、葉元の 3 箇所を葉緑素計 (SPAD-502 Minolta Co, Ltd) を用いて SPAD (Soil & Plant Analyzer Development) 値を測定した。

2-3 導管溢泌液 (Xylem sap) の採取

採取時間 (おもに 13:00 から 3 時間程度) 直前に、ステンレス製の剃刀で地上部を切除し、パスツールピペットを用いて、あらかじめ秤量したサンプル管に導管溢泌液を採取した (パスツールピペットとサンプル管は 0.1 N 希硝酸による除金属処理を行った)。採取後直ちに秤量し、サンプル管の重さを差し引き、導管溢泌液の重量とした。

2-4 植物体内の元素分析方法

2-4-1 乾物重測定用の試料の採取

本培養から 14 日目にサンプルをペーパータオルに包んで採取し、封筒に入れ、48 時間以上 60-80°C の乾熱器に入れ、十分乾燥したと思われる時点で取り出した。

2-4-2 硝酸-過塩素酸分解法

2-4-1 で得られた試料を地上部と根部に分け、乾物重を測定後、100 mL コニカルビーカー (30 分以上、希硝酸に浸漬洗浄した) 内で鉋を用いて細かく刻み、特級硝酸を 5 mL 加え、時計皿 (稀硝酸処理をした) で蓋をした。翌日 100 °C に加熱したホットプレート上で加熱分解させた。液量が減ったときは適宜、特級硝酸を 5 mL ずつ加えた。固形物が見られなくなった後に硝酸の 1/5 量の過塩素酸を入れ、160 °C で 1 時間程度加熱した。冷却後、ろ紙 (ADVANTEC TOYO No.5C 90 mm) でろ過して 50 mL に fill up し、生体成分分析用試料とした。

2-4-3 フレーム式原子吸光光度法による定量

2-4-2 から得られた試料溶液中の Fe、Zn、Mn、Co、Mg、Cu、Cd 濃度は、フレーム式原子吸光光度計 (SHIMADZU AA-6200) により吸光度を測定した。また、元素ごとに既知濃度の標準溶液の吸光度を測定し、検量線を作成して各元素濃度を求めた。

2-4-4 フレームレス原子吸光光度計による微量元素の定量

フレーム式では検出できなかった植物体の硝酸-過塩素酸分解溶液、及び 2-3 で得られた導管溢泌液の Fe、Cu、Mn、Zn、Co、Cd の定量分析には、原子吸光光度測定機器 (HITACHI 180-30) を用いた。なお、サンプル測定前に、0~100 ppb の標準液を作り、検量線を作成した。用いた器具は全て 0.1 N HNO₃ によって除金属処理をした。

2-4-5 PIXE による定量

2-4-2 から得られた試料溶液、又は 2-3 で得られた導管溢泌液中の元素濃度の分析は、価電子誘導 X 線分析 PIXE (Particle Induced X-ray Emission) を用い、多元素にわたって分析された。

2-5 統計処理

実験で得られたデータの統計処理を行った。今回は岩手大学情報処理センターの大型コンピュータ SAS の統計処理ソフトである SAS statistic の anova を用いてデータの分析を行い、多重検定を行った。なお全ての統計処理は、t 検定を用いて行った。

3 結果及び考察

3-1 コバルト過剰条件下におけるオオムギの生育

図 1 にオオムギの生育の様子を示した。Co 濃度が 0、0.1、1 μM の区では、差がほとんど見られなかったが、10 μM の区では、地上部の Fe クロロシス、そしてネクロシスが見られ、顕著な生育阻害が観

察された。根部においても、側根の激しい伸長抑制を招き、全体的に顕著な生育阻害が見られた。さらに、褐変のような症状が観察された。それは、乾物重の有意な差として反映された(図2)。地上部と根部で有意な乾物重の減少が見られたのは、10 μM の区のみであり、他の区には有意な差は無かった。



図1 オオムギの生育の様子

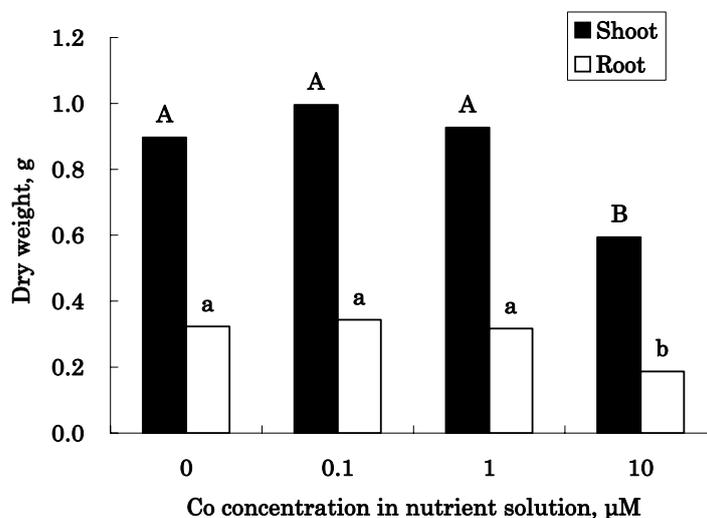


図2 Fe供給オオムギの生育量(乾物重)

統計的に有意な差があるデータには図中に異なるアルファベットを付した。

これらの結果より、Coによる害が顕著に現れる濃度は10 μM であるということがわかった。Co害の視覚的症状は、地上部のクロロシスとネクロシス、根部の生育阻害であった。オオムギのCo害は、水耕栽培において、1~10 μM の間の濃度で現れることが示された。

図3にフレイム式原子吸光度法で測定した植物体のCo含量を示した。水耕培地のCo濃度0、0.1 μM の処理区において、Coは地上部、根部において検出されなかった。Co 1 μM 区では根部のみが検出された。やはり、Co濃度10 μM 区では、1 μM 区と比較すると値は高かった。また、10 μM 区は、地上部

と根部を比較すると、地上部の Co 含量はかなり低く、Co は根部に蓄積したことがわかった。

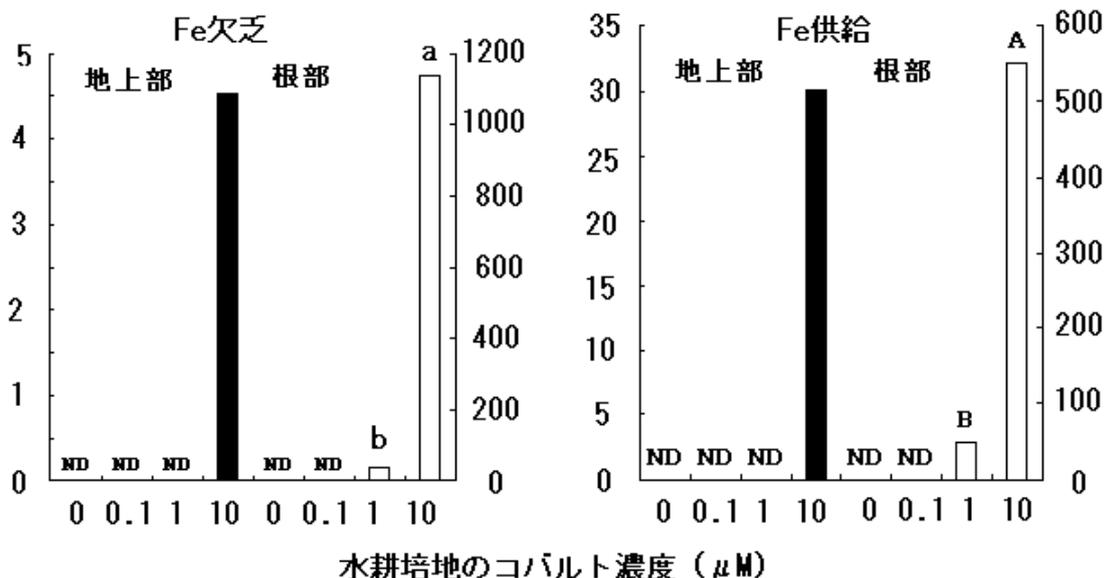


図3 Fe 供給オオムギの Co 含量
ND: 検出されなかった

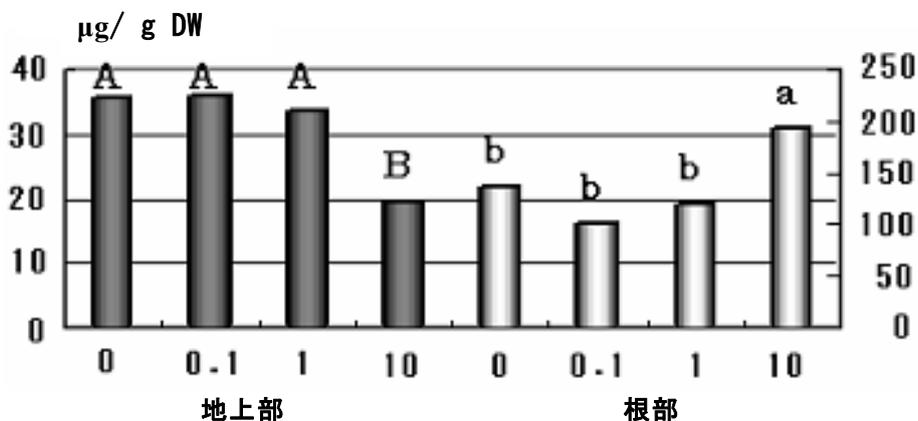


図4 Fe 欠乏植物の Fe 含量

図4に Fe 欠乏オオムギの Fe 含量を示した。Fe 欠乏処理においては、いずれの Co 濃度処理においても Fe クロシス（葉の黄化）が見られた。地上部では単位重当りの含量が Co 10 μM 区で有意な低下が見られた。また、根部の Fe 含量は、Co 10 μM 区で有意な増加が見られた。このことは、Co 過剰により、Fe が地下部に集積し、地上部への移行が抑えられることを示していた。

3-1-1 Co 過剰植物の硝酸一過塩素酸分解液のフレイム式原子吸光光度法と PIXE による測定データの比較

表2に Fe 供給オオムギの硝酸一過塩素酸分解液の Fe と Co 濃度を原子吸光光度計と PIXE で測定した結果の比較の一部を示した。元素によってはフレイム式では検出されなかったが、PIXE では検出された

試料溶液もあった。多くの区で Co 濃度は PIXE のほうがほぼ 2 倍高い値を示した。そして、各試験区のデータを有意差検定した結果はフレーム式原子吸光光度法と PIXE ではほぼ一致した。

表 2 Fe 供給オオムギの硝酸分解液の Fe と Co 濃度のフレーム式原子吸光光度法(Flame AA)と PIXE の測定値の比較 (ppm)

Fe		Co	
Flame AA	PIXE	Flame AA	PIXE
0.4127	0.5220	0	0.0039
0.7143	0.9094	0	0.0023
0.5873	0.6879	0	0.0225
0.9841	1.1395	0.3612	0.5399
1.1508	1.4303	0.3452	0.6369
1.8095	2.3540	0.2167	0.3896
0.5317	0.6333	0.1445	0.2280
0.3571 × 2	0.6365	0.1525 × 2	0.3140
0.4603	0.6125	0.4255	0.6519
1.5000	1.7037	1.6777	3.0128
1.0635	1.1530	1.6456	2.7890
0	0.0910	2.2076	3.8813

図 5 に Fe 供給オオムギの Fe 含量をフレーム式原子吸光光度計と PIXE で測定した結果の比較を示した。全ての区において、PIXE は若干ではあるが高い値を示した。データの同処理区同士の比較における、個体差による値のばらつきについては、どちらも同程度であったと思われる。両方のグラフの形はほぼ同じで同じ傾向を示した。しかし、フレーム式では、Co 10 μM 区の地上部で有意な低下が見られたが、PIXE では有意差が無かった。このようにわずかな違いは見られたが、データの傾向は一致し、生物学的な結論は同じであった。

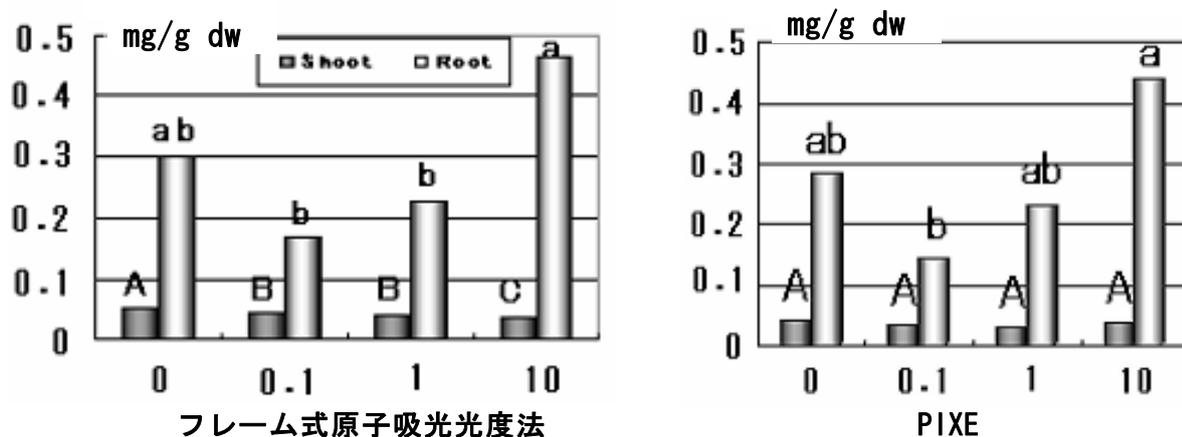


図 5 Fe 供給オオムギの Fe 含量

3-1-2 Co 過剰植物の導管溢泌液のフレイムレス原子吸光光度法と PIXE による測定データの比較

Co 過剰処理した鉄供給オオムギより 1-3 で述べた方法で採取した導管溢泌液の Fe、Mn、Zn、Cu をフレイムレス原子吸光光度法と PIXE で測定し、そのデータの比較を行い表 3 に示した。

Fe: 1つの例外を除いて、全てフレイムレス式原子吸光光度法の測定値が PIXE の約 1.5~2 倍近い値となった。同処理区同士に比較における、個体差による値のばらつきの度合いについてはおおよそ一致した。

Mn: フレイムレス式の値は PIXE の約 2 倍の値となり、同処理区同士に比較における、個体差による値のばらつきについては、PIXE の方が少ない傾向が見られた。

Zn: フレイムレス式の方が 2 倍から 5 倍以上、大きな値を示した。同処理区同士に比較における、個体差による値のばらつきはフレイムレス式の方がはるかに大きかった。

Cu: 特に一貫した傾向は見られず、2つの測定法のデータは 1/2 から 2 倍の間で異なるようである。

以上の結果は、フレイムレス式原子吸光光度法が PIXE より大きな値を示す傾向が有ることを示していたが、測定法の問題である可能性もあるが、測定試料溶液を凍結するために、解凍する過程でタンパク質などとともに金属元素が沈殿し、PIXE において低く測定される可能性があるため、今後検討を要する。

表 3 鉄供給培地で生育させたオオムギの導管溢泌液の金属含量の測定法による比較

Co 処理濃度 (μM)	Fe 濃度 (ppb)		Mn 濃度 (ppb)		Zn 濃度 (ppb)		Cu 濃度 (ppb)	
	Flameless	PIXE	Flameless	PIXE	Flameless	PIXE	Flameless	PIXE
0	458	266	262	121	584	97.5	33.1	16.8
	399	282	211	93.3	267	88.6	15.0	31.0
0.1	499	282	272	122	199	86.6	51.1	12.3
	413	354	262	100	641	212	48.1	51.4
1	354	246	192	97.4	234	154	57.1	30.5
	377	1099	281	133	175	107	51.1	29.9

3-2 カドミウム過剰条件下におけるオオムギの生育

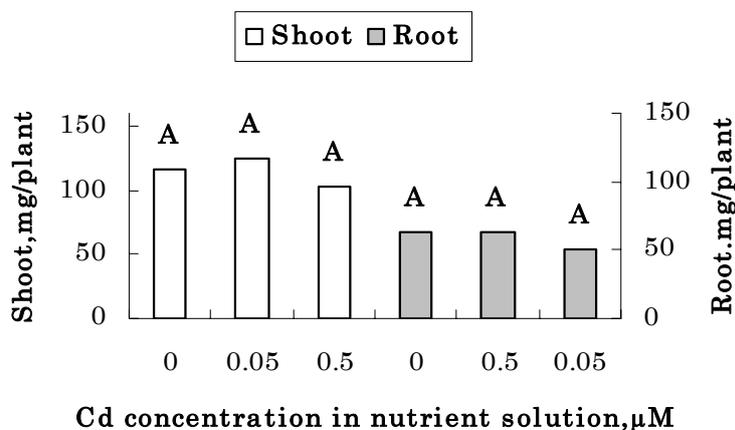


図 6 カドミウム処理したオオムギの乾物重

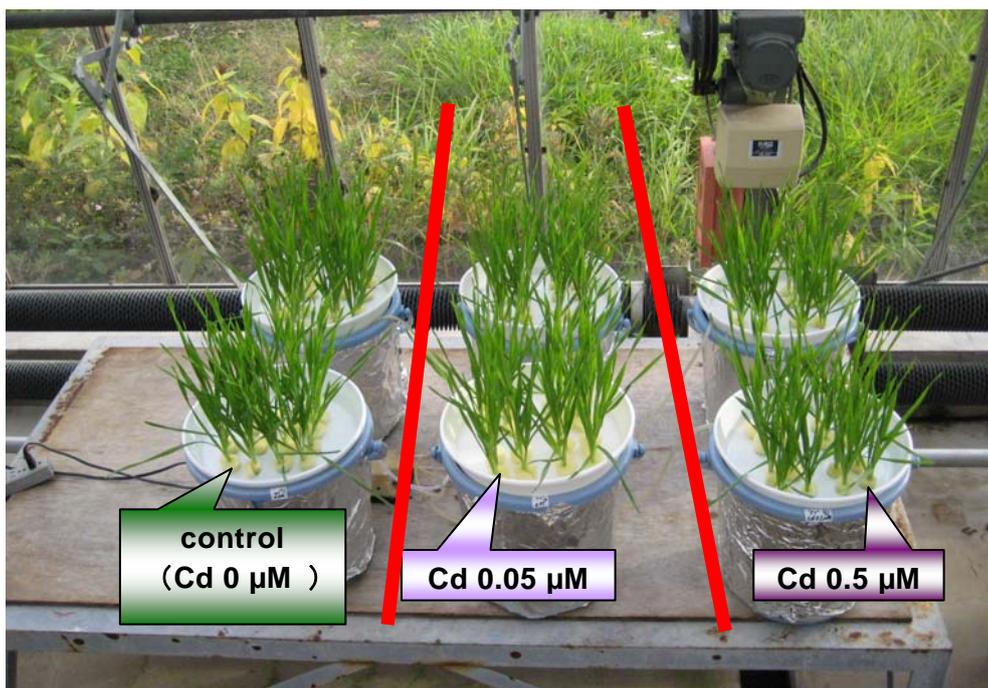


図7 カドミウム処理したオオムギの生育の様子

乾物重において、植物体の地上部・根部ともに処理区間での有意な差はなかった(図6)。また、0.5 μMまでの濃度範囲においては、Cd害による視覚的な症状は見られなかった(図7)。このことは、自然環境においても、通常濃度の土壌溶液中ではCdの視覚的障害は観察されにくいことを示していた。

フレーム式原子吸光度法で測定したCd含量は、地上部・根部ともに対照区と比べてCd 0.5 μM区で著しく増加した(図8)。また、根部のCd含量は、地上部と比べて約15倍も高かった。この結果は、植物体のCd濃度の上昇が起きても、この程度であれば、障害が見られないことを示していた。この結果は、野菜など食料においてCdの汚染が気づかれにくく、また、Cdが食物連鎖に入りやすく、人体に取り込まれやすいことを示唆した。

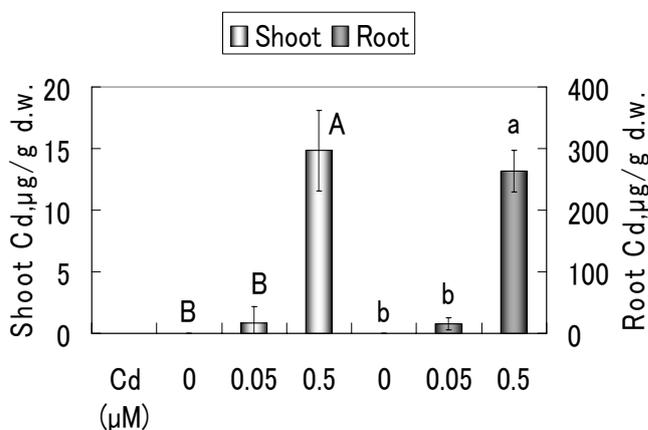


図8 Cd 過剰条件下で生育した植物のCd含量

3-2-1 Cd 処理したオオムギの硝酸分解液のフレイム原子吸光光度法と PIXE によるデータの比較

図 9 から 13 に Cd 処理したオオムギ地上部、又は、根部の硝酸分解液の PIXE とフレイム原子吸光光度計の測定値の比較を示した。測定は Cd、Fe、Cu、Zn、Mn について行った。その結果、PIXE とフレイムの測定値におけるグラフ上の傾向はほぼ一致することが示された。

元素別の測定結果について、Fe に関しては、PIXE とフレイム原子吸光光度法において、ほぼ同量の測定値であった。また、Zn については PIXE のほうが大きめに測定されることがわかった。根部の Cu に関しては、それぞれ約 3 倍、6 倍も値が異なり、PIXE の方が低く定量された。よって、Fe を測定する場合、PIXE とフレイム式原子吸光法の結果は比較できるが、Zn や Cu については測定法が異なる場合には直接比較することを避けるべきであることが示唆された。

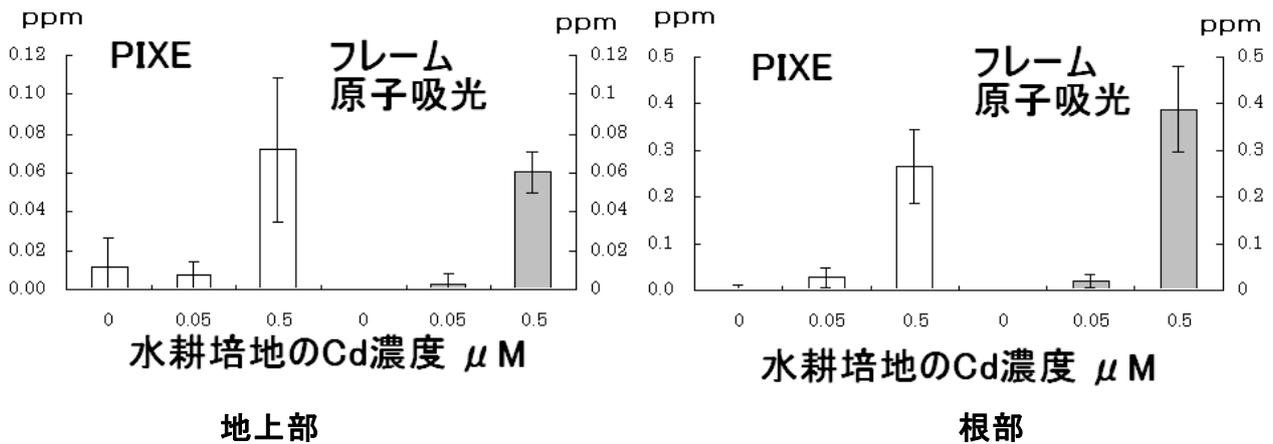


図 9 Cd 処理したオオムギの硝酸分解試料溶液の Cd 濃度

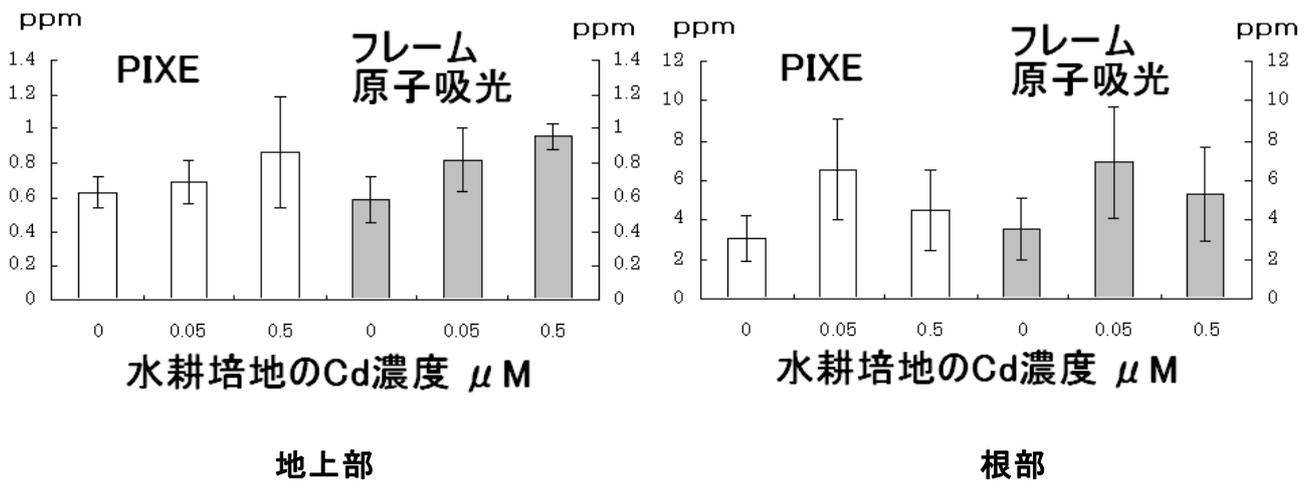


図 10 Cd 処理したオオムギの硝酸分解試料溶液の Fe 濃度

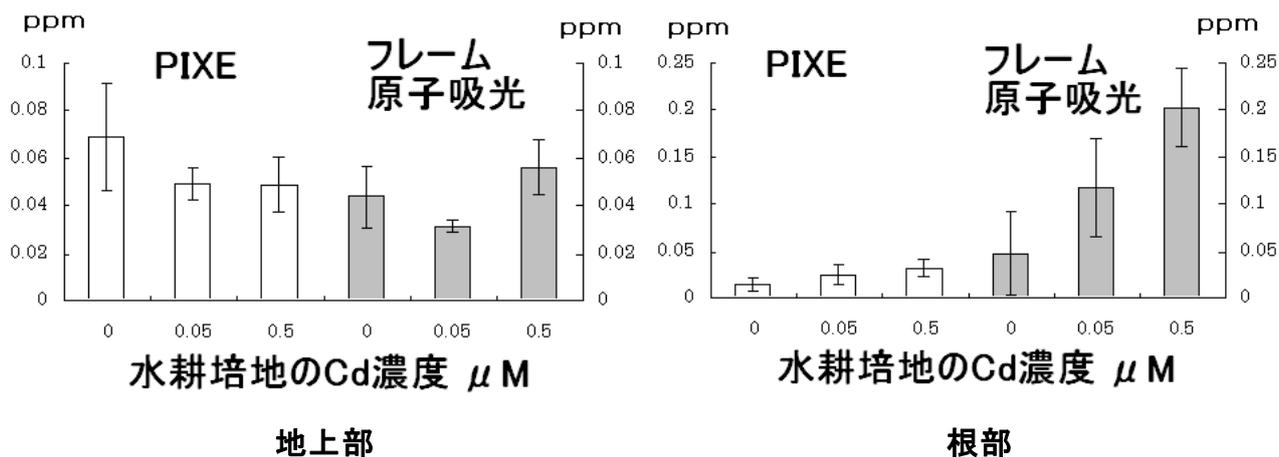


図 11 Cd 処理したオオムギの硝酸分解試料溶液の Cu 濃度

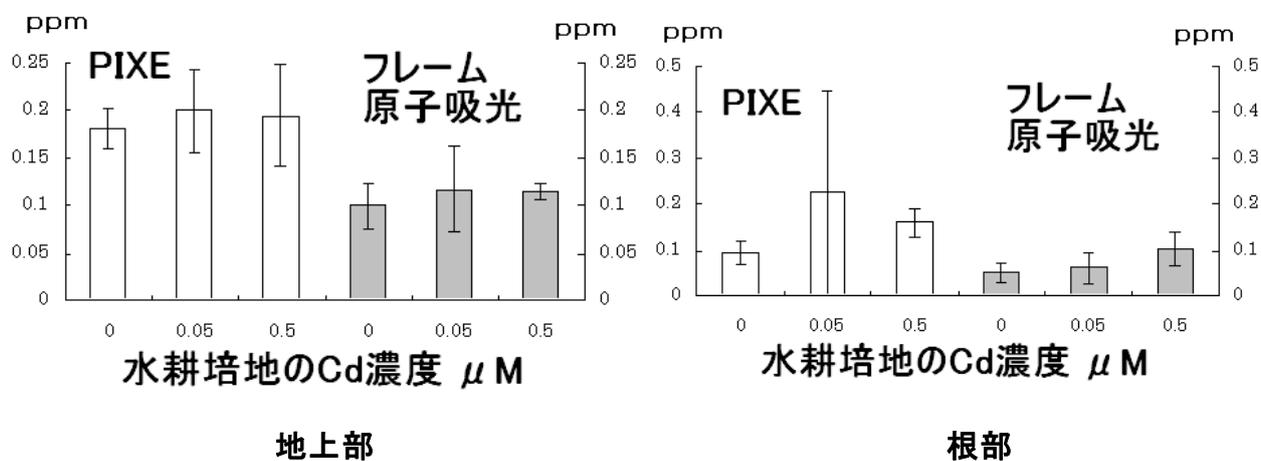


図 12 Cd 処理したオオムギの硝酸分解試料溶液の Zn 濃度

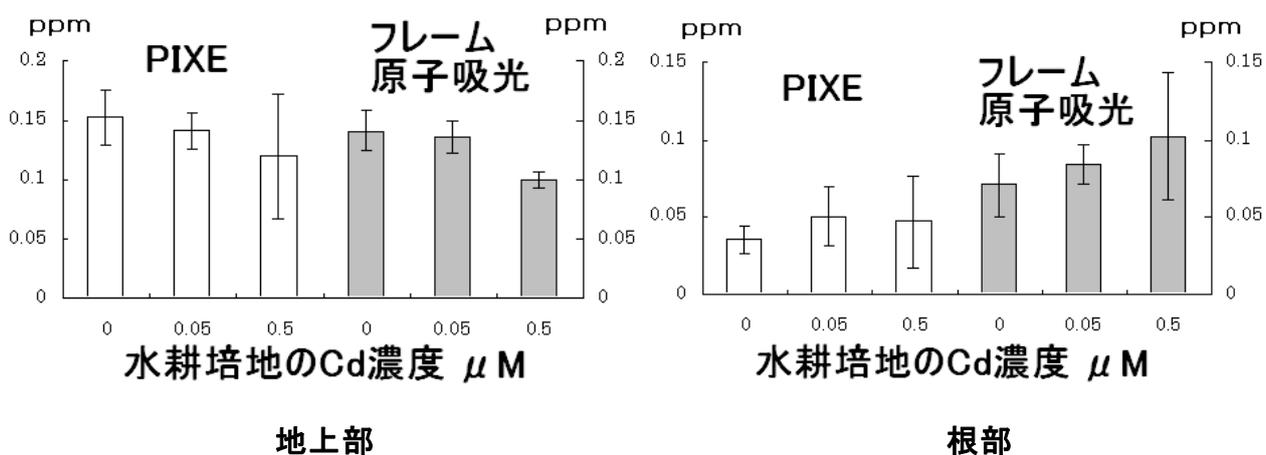


図 13 Cd 処理したオオムギの硝酸分解試料溶液の Mn 濃度

謝辞

本研究を行うにあたり、PIXE で測定をしていただきました岩手医科大学サイクロトロンセンター 世良耕一郎先生に感謝申し上げます。

文献

1. 山崎耕宇ら (1993) 植物栄養・肥料学 朝倉書店
2. Liu J, Reid RJ, and Smith FA (2000) The Mechanism of cobalt toxicity in mung beans. *Physiologia Plantarum* 110: 104-110
3. 植物の微量元素含量に関するデータ収録: 独立行政法人 農業環境技術研究所 p 72
4. Albert P.V CHAPTER 10 Cobalt (1966)
Diagnostic Criteria for Plants And Soil (H.D. Chapman ed.)
5. Sandalio LM, Dalurzo HC, Gomez M, Romero-Puertas MC, del Rio LA (2001) Cadmium-induced changes in growth and oxidative metabolism of pea plants. *J Exp Bot* 52: 2115-2126
6. Wu FB, Zhang GP, Dominy P (2003) Four barley genotypes respond differently to cadmium: lipid peroxidation and activities of antioxidant capacity. *Environ Exp Bot* 50: 67-78
7. Wu FB, Chen F, Wei K, Zhang GP (2004) Effect of cadmium on free amino acid, glutathione and ascorbic acid concentrations in two barley genotypes (*Hordeum vulgare* L) differing in cadmium tolerance. *Chemosphere* 57: 447-454
8. Lima AIG, Pereira SIA, de Almeida Paula Figueira EM, Caldeira GCN, de Matos Caldera HDQ (2006) Cadmium detoxification in roots of *Pisum sativum* seedlings: relationship between toxicity levels, thiol pool alterations and growth. *Environ Exp Bot* 55: 149-162
9. Chen F, Dong J, Wang F, Wu FB, Zhang GP, Li GM, Chen ZF, Chen J, Wei K (2007) Identification of barley genotypes with low grain Cd accumulation and its interaction with four microelements. *Chemosphere* 67: 2082-2088
10. 岩波理化学事典第 5 版 pp. 258
11. Chaney RL (1983b) Potential effects of waste constituents on the food chain. In *Land Treatment of Hazardous Wastes*. Eds JE Parr, PB Marsh and JM Kla, pp. 152-240. Noyes Data Corp., Park Ridge.
12. Jackson AP, Alloway BJ (1992) The transfer of Cd from agricultural soils to the human food chain. In *Biochemistry of Trace Metals*. Ed. DC Adriano, pp. 109-152. Lewis Publishers, New York.
13. Friberg L, Elinder CG, Kjellström T, Nordberg GF (1985) Cadmium and Health. A Toxicological and Epidemiological Appraisal Volume I and II. CRC Press, Boca Raton.
14. Järup L, Berglund M, Elinder CG, Nordberg G, vahter M (1998) Health effects of cadmium exposure-a review of the literature and a risk estimate. *Scand J Work Environ Health* 24: 1-51
15. Harren T, Feller U (1997) Transport of cadmium via xylem and phloem in maturing wheat shoots: comparison with the translocation of zinc, strontium, and rubidium. *Ann Bot* 80: 623-628
16. Deckert J (2005) Cadmium toxicity in plants: is there any analogy to its carcinogenic effect in mammalian cells? *Biometals* 18: 475-481
17. 山崎耕宇、杉山達夫、高橋英一、茅野充男、但野利秋、麻生昇平 (1993) 植物栄養・肥料学 朝倉書店
18. Chesworth W (1991) Geochemistry of micronutrients. In: Mortvedt JJ, Cox FR, Shuman LM, Welch RM (eds) *Micronutrients in agriculture*, 2nd Ed., Soil Science Society of America, Inc, Madison, WI, USA, pp 1-30
19. Clemens S (2006) Toxic metal accumulation, responses to exposure and mechanisms of tolerance in plants.

Biochimie 88: 1707-1719

20. Garnier L, Simon-Plass F, Thuleau P, Agnel JP, Blein JP, Ranjeva R, Montillet JL (2006) Cadmium affects tobacco cells by a series of three waves of reactive oxygen species that contribute to cytotoxicity. *Plant Cell Environ* 29: 1956-1969
21. Choudhary M, Bailey LD, Grant CA, Leisle D (1995) Effect of Zn on the concentration of Cd and Zn in plant tissue of two durum wheat lines. *Can J Plant Sci* 75: 445-448
22. Oriver DP, Hannam R, Tiller KG, Wilhelm NS, Merry RH, Cozens GD (1994) Heavy metals in the environment: the effects of zinc fertilization on cadmium concentration in wheat grain. *J Environ Qual* 23: 705-711
23. McKenna IM, Chaney RL, Williams FM (1993) The effect of cadmium and zinc interactions on the accumulation and tissue distribution of zinc and cadmium in lettuce and spinach. *Environ Pollut* 79: 113-120
24. Hart JJ, Welch RM, Norvell WA, Kochian LV (2002) Transport interactions between cadmium and zinc in roots of bread and durum wheat seedlings. *Physiol Plant* 116: 73-78
25. White MC, Chaney RL (1980) Zinc, cadmium, and manganese uptake by soybean from two zinc and cadmium amended coastal plain soils. *Soil Sci Soc Am J* 44: 308-313
26. Root RA, Miller RJ, Koeppe DE (1975) Uptake of cadmium its toxicity, and effect on the iron ratio in hydroponically growth corn. *J Environ Qual* 4:473-476
27. Cataldo DA, Garland TR, Wildung RE (1983) Cadmium uptake kinetics in intact soybean plants. *Plant Physiol* 73: 844-848
28. Jalil A, Selles F, Clarke JM (1994) Effect of cadmium on growth and the uptake of cadmium and other elements by durum wheat. *J Plant Nutrition* 17: 1839-1858
29. 工藤一晃 (2007) 岩手大学大学院農学研究科博士論文
30. Kashem MA, Singh BR (2002) The effect of fertilizer additions on the solubility and plant-availability of Cd, Ni, and Zn in soil. *Nutr. Cycl. Agroecosystems* 62: 287-296
31. 奥田 東、高橋英一 (1962) 日本土壤肥料学会誌、33 卷、1-8

Concentration of elements in tissues of cobalt- or cadmium-stressed barley seedlings grown hydroponically

S. Kawai¹, Y. Yamaguchi¹, K. Mabune¹ and J. Itoh²

¹Faculty of Agriculture, Iwate University
3-18-8 Ueda Morioka 020-8550 Japan

²Takizawa Laboratory, Japan Radioisotope Association
348-1 Tomegamori Takizawa 020-0173 Japan

Abstract

The physiological effect of toxicity of Co and Cd on the barley (*Hordeum vulgare* L. cv. Minorimugi) grown hydroponically in green house or phytotron was investigated. Growth of the plants was not affected under the Co concentration between 0 and 1 μM . In the 10 μM Co treatment, however, Fe chlorosis and necrosis was observed in shoots and growth of the plant was retarded clearly. Elongation of lateral roots was severely repressed and growth of the roots was totally repressed, resulting in significant reduction of dry weight. Concentration of Co in plant tissues was elevated in 10 μM Co treatment comparing with the other treatments (0 and 1 μM Co). Concentration of Co of shoots was fairly low as compared with that of roots. Cobalt was accumulated in roots.

In Fe-deficient barley, Fe concentration of the shoots ($\mu\text{mol g}^{-1}$ DW) decreased significantly in 10 μM Co treatment. But Fe concentration of roots was increased significantly. The results suggested that accumulation in roots and translocation to the shoots of Fe was repressed by Co toxicity.

The data of Co or Fe concentration of the solution obtained Flame Atomic Absorption (Flame AA) or PIXE was compared. Sensitivity of PIXE was higher and about twice than that of Flame AA. Result of statistical analysis performed on the data of Flame AA and PIXE was consistent. Iron concentration in all solution applied was a little higher in PIXE measurement than Flame AA.

Iron, Mn, Zn, Cu concentrations in xylem sap of barley grown under +Fe condition were measured by Flameless Atomic Absorption (Flameless AA) or PIXE and the data were compared each other. Fe : Except for on sample. In all of the solution, the data of Flameless AA was 1.5-2 times higher than that of PIXE. Mn: Data of Flame AA was about twice of that of PIXE. Zn: Data of Flameless was 2-5 times larger than that of PIXE. Cu: There was no consistent tendency between the data of two methods. Ratio of the data between two methods seemed to fluctuate from 0.5 – 2. Generally, PIXE gave larger values. The reason needs to be considered in the future.

There were no visual symptoms induced by Cd toxicity up to 0.5 μM Cd of the concentration of the medium. It indicated that visual symptoms of Cd toxicity may not be observed under the solutions of usual Cd-contaminated soil in nature. In dry weight of the shoots and roots, there was no significant difference among the treatment with varied concentration of Cd. Cadmium concentration of shoots and roots increased clearly at Cd 0.5 μM treatment. Cadmium concentration of roots was 15 times higher than that of shoots. The result showed that elevation of Cd concentration in this extent does not induce symptoms in plants. It was suggested that recognition of Cd toxicity in foods, such as vegetables, is difficult and that Cd can be easily incorporated into food chain and human body.

The data of the concentration of Fe, Cu, Zn, and Mn in the solution of shoots or roots digested by nitrate was obtained using Flame AA and PIXE. The tendency of the data of Flame AA and PIXE were almost similar. In Fe, the data of Flame AA and PIXE were almost identical. In Zn, the data of Zn was a little larger than that of Flame AA. In the case of Cu in roots, the data of PIXE was 3-6 folds lower than that of Flame AA. Therefore, the data of Fe may be comparable between Flame AA and PIXE. It is suggested, however, that the values between two methods should not be compared in the data of Zn or Cu.

四十四田ダム周辺の生態系試料の PIXE 分析

千葉啓子¹、山田一裕²、平塚 明²、由井正敏²、海田輝之³、世良耕一郎⁴

¹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

²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

³岩手大学工学部
020-8550 岩手県盛岡市上田 3-18-8

⁴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

北上川の上流域では昭和 47 年まで松尾鉱山が操業しており、高濃度の重金属を含んだ酸性水が支流河川に流入し、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により北上川は清流を取り戻しているが、北上川やダム湖の底泥堆積物中には中和処理開始以前に流出した重金属類が蓄積されたままである。とくに四十四田ダムにおいては土砂堆積容量がダム建設当時の予測をはるかに上回るペースで増加していることから、将来、付近の河川環境への影響や下流域住民に対する安全性も懸念される。まず影響は、人間に先んじて北上川からダム湖にいたる水辺の生物へ現れると想定され、付近の生態系における直接的な影響を判定・評価することが重要となる。そこで本研究では、かつてヒ素などの有害元素を含む鉱山廃水が流入した北上川上流域環境中の生物を食物連鎖に基づいた高次捕食者に至る連続性を持った生態系としての視点から捉え、ヒ素などの有害堆積物による生態影響評価を実施し、地域の自然環境保全に寄与することを目的として調査・分析を開始した。

今回、その一環として四十四田ダム周辺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」つがいの採餌行動に基づき、高次捕食者「ミサゴ」とその捕食対象となる大～中型魚類および小型魚類から想定されるヒ素他有害元素の食物連鎖の検討、および同ダム湖岸に生育する植物群ならびに土壌分析を実施したので報告する。

2 対象と方法

2.1 試料の採取

調査は 2005 年から 2007 年において実施され、試料は食物連鎖によるヒ素の生物濃縮の過程を分析究明する観点から生物試料及び環境試料を採取した。

- 1) ミサゴ：ミサゴ本体の代用試料として、四十四田ダム湖周辺約 10km を採餌行動圏にしているミサゴ 1 つがいの羽根および胸部羽毛を営巣木周辺から採取した。
- 2) 魚類：四十四田ダム湖付近に棲息するミサゴが食餌として好む中～大型魚種およびそれら魚種の食餌となる小型魚種による食物連鎖を想定し、かつ四十四田ダム湖の代表的な魚種 8 種類、40 匹をダム堰堤付近、湖岸公園付近などで採捕した。
- 3) 植物：ダム湖水位低下時に出現する湖底湿地に生育する多年草のウキヤガラ（ヒゲ根、根瘤、葉、茎）とヒメシダ（葉身、根茎、葉柄）をダム湖岸 2 箇所から採取した
- 4) 土壌：ダム湖水位低下時に出現する湖底湿地地面を約 1m 掘り下げ、コアサンプラーを用い、土砂の堆積状況調査を実施し、試料は湖底表面から 10cm 刻みで 40cm まで採取した。

2.2 試料の前処理

羽根は表面の汚れをアセトンで軽く拭いたのち、風乾し、碎片化した。魚類は魚体を水道水、ついで精製水にて丁寧に水洗いし、水分を十分に除去した後、全長、体長、体重を記録し、実験まで -30°C で凍結保存した。解体は半解凍状態で実施し、筋肉（可食部）、内臓試料をそれぞれ採取し、秤量後、サンプルバックに保存した。なお、今回捕獲したアブラハヤは小型であったため、魚体すべてを可食部として扱い、実験にはその半身を使用した。この作業を魚体一尾ずつに対して実施した。ウキヤガラ、ヒメシダは流水、精製水で泥等を洗い流したのち、根、茎（地下茎、地上茎）、葉を区分けし、凍結乾燥器にて水分除去後、粉碎し小片化した。土壌は水分量を測定した後、風乾して試料とした。

魚類以外の PIXE 分析用試料の調製はそれぞれ一定量のサンプルを用い、主として In を内部標準元素とした硝酸加熱灰化法によった。または一部の試料については Pd を内部標準元素とする粉末内部標準法を用い、PIXE 分析用試料とした。魚類については硝酸を用いた湿式灰化法によった。分析用、洗浄用純水については各元素の測定に影響がないことを確認した。また、分析用試薬についてもこれらによるバックグラウンドへの影響を極力排除するため、純度の高いものを検討して使用した。

2.3 試料の分析

PIXE 分析は世良の方法¹⁾により、分析用試料液に内部標準元素として原子吸光用 In 標準液を 1000ppm 用いた。試料 30mg に In $30\mu\text{l}$ の割合で添加し、十分攪拌した後、厚さ $4\mu\text{m}$ のポリプロピレン製の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、 $5\mu\text{l}$ を滴下し、乾燥させたものを PIXE 測定試料とした。PIXE 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で行った。小型サイクロトロンからの 2.9MeV の陽子ビーム ($6\text{mm}\phi$) を真空チャンバー内で照射試料に照射し、これにより発生した特性 X 線を低エネルギー用と高エネルギー用の 2 台の Si (Li) 検出器で同時に測定して X 線スペクトルを得た。スペクトルから検出元素のピーク面積を解析するには解析プログラム” SAPIX”²⁾を用い、さらにピーク面積から定量値を求めるには内部標準法³⁾によった。この解析方法により、ヒ素をはじめ、多元素について検討を実施した。

土壌の多元素分析は誘導結合プラズマイオン源質量分析法 (Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry: ICP-MS ; パーキンエルマー社製) によった。

3 結果と考察

3.1 土壌・植物におけるヒ素をはじめとする元素含有量

水位低下時のダム湖岸の土壌中に含有されていた元素のうち、ヒ素他有害元素について、表 1 にまとめた。

湖底から 10~20 cm 付近の比較的浅い部分の地下堆積土壤中では素の含有量が高かったほか、クロム、鉄、セレン、鉛などの高い値が確認された。従来、中和処理施設による清流化以前にダム湖に流入したヒ素等有害元素類は湖底深層部に堆積・固定化されていると考えられてきたが、これらの結果から部分的には比較的浅い上層部の土壤中にも含有している可能性が示唆された。

表 1. 四十四田ダム水位低下時に出現した湖底土壌中の含有元素量 (μg/g)

深さ(cm)	Al	Cr	Mn	Fe	Ni	Zn	As	Se	Cd	Pb
0~10	47700	16.1	772	39940	8.68	37.9	20.1	0.55	1.16	14.4
10~20	57180	37.1	606	130800	6.24	34.8	108.4	0.79	1.09	19.9
20~30	81800	24.8	428	74260	5.57	49.2	10.7	0.51	0.49	14.2
30~40	137400	31.1	234	80940	8.01	39.2	8.6	0.14	2.07	13.1

表 2. 四十四田ダム水位低下時に出現した湖底に生育する植物の含有元素量 (μg/g)

	部位	Al	Fe	Zn	As	Pb
ウキヤガラ	ヒゲ根 (A 地区)	3396±231	9789±605	40.1±4.03	<LOQ	<LOQ
	ヒゲ根 (B 地区)	8245±268	107662±5020	63.0±4.28	214±10.9	<LOQ
	根コブ (A 地区)	<LOQ	137±0.72	8.94±0.47	<LOQ	<LOQ
	根コブ (B 地区)	<LOQ	53.4±2.56	64.7±3.03	<LOQ	3.02±0.78
	葉 (A 地区)	901±178	114±9.53	10.2±1.05	<LOQ	10.8±2.16
	葉 (B 地区)	845±175	180±11.4	16.3±1.42	<LOQ	7.24±2.13
	茎 (A 地区)	<LOQ	247±19.2	18.2±1.80	<LOQ	<LOQ
	茎 (B 地区)	626±110	289±16.9	49.3±3.09	<LOQ	<LOQ
ヒメシダ	葉身 (A 地区)	591±65.1	314±13.2	13.7±0.75	<LOQ	3.58±0.89
	葉身 (B 地区)	131±32.4	59.4±2.35	16.2±0.72	<LOQ	1.77±0.53
	根茎 (A 地区)	3184±154	4393±254	<LOQ	6.52±1.13	<LOQ
	根茎 (B 地区)	2854±164	3215±228	58.2±3.9	<LOQ	9.67±2.86
	葉柄 (A 地区)	783±58.9	<LOQ	8.64±0.67	<LOQ	6.80±1.24
	葉柄 (B 地区)	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	9.75±1.85

<LOQ : Below limit of quantification

四十四田ダム湖では毎年 6 月~8 月に夏季干上がり面が現れ、そこには「湿地生態系」が形成される。このダム湖水位低下時に出現する湖底湿地に生育する多年草のウキヤガラ (ヒゲ根、根瘤、葉、茎) とヒメシダ (葉身、根茎、葉柄) を 2 箇所 (A 地区、B 地区) から採取し、元素分析を実施した結果、20 種類近い元素の含有が明らかになった。このうち、ヒ素他有害元素類の含有量を表 2 に示した。ヒ素は湖底土壌層内部へ地下部を展開している種類のヒメシダの根茎とウキヤガラのヒゲ根の一部から検出された。A 地区は比較的上流からダム湖に水や堆積物が流入し易い場所であり、一方、B 地区は市民の憩いの場として活用されている水辺である。いずれも土壌中に存在したヒ素を植物の地下部が吸収した可能性が高いが、同地区での土壌採取は実施していないため、明確ではない。その他の元素では両植物とも地下部で鉄、アルミニウム含有量が高かった。例数がまだ少ないため、今後、採取場所や種類を増やして検討を重ねたい。

3.2 ミサゴの捕食対象魚類のヒ素をはじめとする元素含有量

四十四田ダム湖周辺における生態系において食物連鎖の最上位に存在する魚食性猛禽類のミサゴの捕食対象となる魚類およびこれら魚類の捕食対象魚類の体内に含有される元素に焦点を当てた検討を実施した。四十四田ダム堰提の上部湖面内ないし堰提直下、あるいは聖母修道院付近湖面にて8種40匹の魚類が捕獲された。今回、捕獲した魚種とその特徴は表3に示す通りである。このうち、アユ、ウグイ、サケについては比較のために市販されているものを購入し、合わせて分析を実施した。

表3 調査で捕獲した魚類の概要

種名 (捕獲数)	科・属	分布	生態
アブラハヤ(4)	コイ科・アブラハヤ属	青森県以南の本州	中流域の流れのゆるやかな淵に住む。雑食性で全長は10～15cmほど。
アユ(1)	キュウリウオ科・アユ属	北海道・本州・四国・九州に分布	石の多い中流域の平瀬に住み、石に付着した藻を餌とする。15～18cmのものが多い。
ウグイ(3)	コイ科・ウグイ属	北海道・本州・四国・九州に分布	生息範囲が広く、湖や酸性の強い水域にも生息。全長18～20cm。
ヤマメ(11)	サケ科・サケ属	日本海側の全域、神奈川県以北の太平洋側の河川	中流域の開けた瀬を好む。全長20～30cm。
銀ブナ(1)	コイ科・コイ族	日本全土に分布	中・下流域の川・池・沼・湖に広く分布。底生動物や藻類などを餌とする。
ヒメマス(3)	サケ科・サケ属	日本海側の全域、神奈川県以北の太平洋側の河川	ヤマメのメスが海に下って1～2年成長したもの。通常は40～60cm。実験に使用したものは小型。
銀ザケ(6)	サケ科・サケ属	日本海側では福岡県、太平洋側では利根川水域以北	海に下った稚魚が3～5年後、70cmほどに成長して川に戻る。
ブラックバス (外来種) (11)	サンフィッシュ科・バス属	全国的に分布しているが、とくに中部・関東・北陸・東北地方に多い。	湖、沼などの止水環境や流れの穏やかな河川に生息する。全長は30～70cm。在来種を捕食し、生態に影響を及ぼしている。

まず、これら魚類中の元素含有量について、対照群の分析値について、既存データとの比較を行った。主要元素については「五訂増補日本食品標準成分表」⁴⁾により、また、微量元素については「食品の微量元素含有量表」⁵⁾により分析値を比較したところ、ナトリウム値がやや低値を示した他は既存値と大きな差は認められなかったことから、概ね分析は妥当であったと考えられるが、捕獲された魚種によっては個体数が少ないものもあり、元素の測定値にばらつきもみられる。測定値に信頼性の高い元素は、主要元素ではナトリウム、マグネシウム、リン、イオウ、塩素、カリウム、カルシウム、鉄で、微量元素ではヒ素のほかアルミニウム、銅、亜鉛、の計12元素であった。図1に可食部中の有害元素含有量を、図2に魚類のヒ素含有量を可食部と内臓で比較したものを示した。図中の左のアユ、ウグイ、サケの3種は対照群(市販品)である。

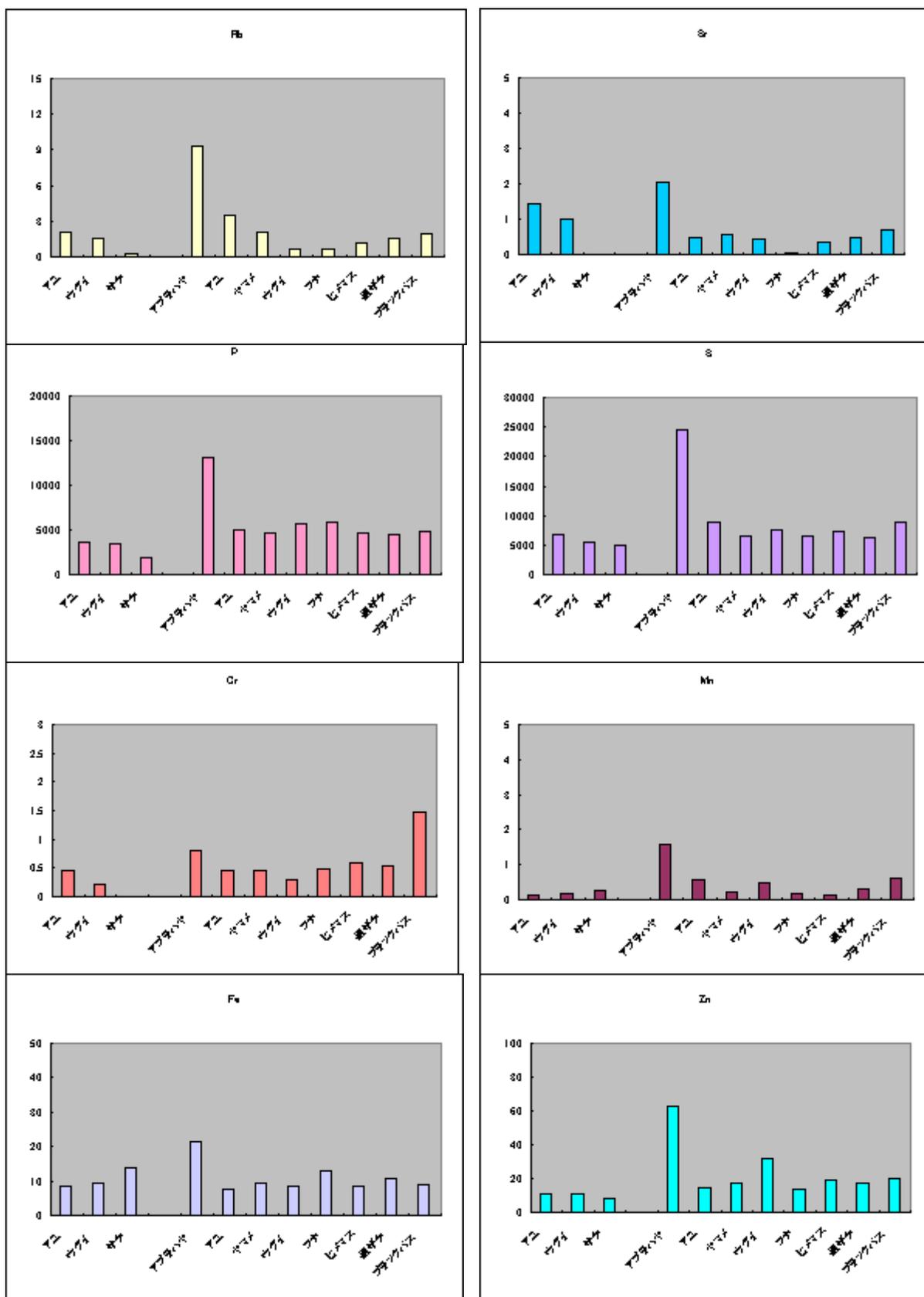


図1 魚類可食部中の有害元素含有量 ($\mu\text{g/g}$ 湿重量)

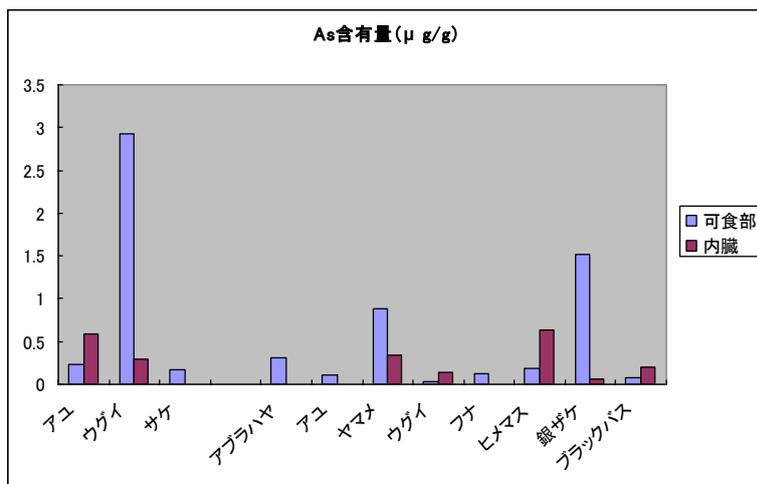


図2 魚類可食部および内臓中のヒ素含有量

可食部、内臓ともヒ素含有量の比較的多い魚類は対照群のアユ、捕獲群のヤマメ、ヒメマスであったが、絶対量はとりわけ多くはなく、一定の傾向は認められなかった。ミサゴの食餌となりうる魚種のウグイ、ヤマメ、銀ブナ、ヒメマス、銀ザケ、ブラックバスおよびそれらの捕食魚種であるアブラハヤ、アユのヒ素含有量は可食部では0.03~1.5 μg/g 湿重量、内臓では定量下限値以下~0.34 μg/g 湿重量で、対照群の値とほぼ近似していた。魚類にはトリメチルヒ素化合物であるアルセノベタインが多く含まれており、総ヒ素として湿重量 1g 当り数 ppm 程度含有されている場合も少なくないことが報告されているが^{6,7)}、今回魚類に含有されていたヒ素量は比較的低値であった。対照群のウグイでヒ素含有量が他と比較してかなり高かった原因は不明である。捕獲群間ではヤマメ、ブラックバス、アユ、フナでヒ素含有量が少なく、銀ザケ、ウグイで含有量が多く、魚体の大きさとヒ素含有量との間に一定の関係は明らかにされず、食物連鎖により魚体の大きな魚でヒ素の生物濃縮が起こっている明確な傾向は認められなかった。また、ヒ素は化学形態や価数でその毒性が著しく異なるが、今回は形態分析を実施していないため、詳細は今後の検討課題である。

ヒ素以外の検出元素については魚種間に一定の傾向は認められなかったが、複数匹ずつの分析が可能であったウグイで捕獲群と対照群の比較を行ったところ、捕獲群で主要元素ではナトリウム、カルシウム、マグネシウム、リン、イオウ、塩素含有量が、微量元素ではアルミニウム、ケイ素、チタン、マンガン、ニッケル、銅、亜鉛の含有量が高かった。なお、アブラハヤでは他の魚類に比較して高い含有量を示した元素が多かったが、これは小型で可食部・内臓に分けることが難しかったため、分析試料に頭部、骨、内臓を含む半身を使用したことが理由の1つと考えられる。また、近年、ミサゴが捕食する機会が多くなっていることが報告されているブラックバス⁸⁾ではイオウ、クロム、マンガンの含有量が他の魚種に比較して多かった。これらは四十四田ダム湖において釣りなどでよく捕獲されることがあり、持ち帰って食用に供するのは余り好ましいものではないと考えられる。

3.3 ミサゴにおけるヒ素をはじめとする元素含有量

ミサゴA は胸部羽毛全体、ミサゴB については羽根の上部と下部に分けて分析した。対照として同じ魚食性のゴイサギと、雑食性のカラスの羽根も分析した。ミサゴをはじめ、鳥類の羽根からは20種類以上の元素の存在が認められたが、定量性の高い元素は少なく、ヒ素はいずれの鳥類においても定量下限値以下であった。表5に有害元素含有量を示したが、他の鳥類に比較してアルミニウム、鉄、鉛含有量が高い傾向を示した。

表4 ミサゴ他鳥類羽根の有害元素含有量 ($\mu\text{g/g}$)

		Al	Fe	Zn	Pb
ミサゴ	羽根上部	668 \pm 202	406 \pm 20.8	181 \pm 9.39	63.1 \pm 4.30
	羽根下部	408 \pm 78.0	182 \pm 8.13	59.3 \pm 2.75	15.8 \pm 1.46
	羽毛	945 \pm 144	557 \pm 26.1	62.4 \pm 3.08	27.6 \pm 2.22
ゴサイギ	羽根	133 \pm 20.7	68.0 \pm 2.75	193 \pm 7.65	6.06 \pm 0.79
カラス	羽根 A	229 \pm 129	263 \pm 17.1	185 \pm 12.1	19.5 \pm 2.84
	羽根 B	458 \pm 30.1	509 \pm 21.1	158 \pm 6.67	5.15 \pm 1.01

4 まとめ

今回、食物連鎖上の高次捕食者である魚食性猛禽類「ミサゴ」と、その捕食魚類、植物当生物試料、土壌試料中のヒ素をはじめとする有害元素含有量を PIXE 分析（土壌については ICP-MS 法）により検討し、以下の結果を得た。

- 1) 湖底から 10~20 cm 付近の比較的浅い部分の地下堆積土壌中でヒ素の含有量が高かったほか、鉄、アルミニウム、マンガン、亜鉛などの高い含有量が確認された
- 2) ヒ素の多く含まれる土壌層に地下部を展開している種類の植物試料からは根茎部分からヒ素が検出された。
- 3) 捕獲魚類中のヒ素含有量は対照群の値に近似した。魚種別ではヤマメ、ブラックバス、アユ、フナでヒ素含有量が少なく、銀ザケ、ウグイで含有量が多く、魚体の大きさとヒ素の含有量との間には一定の関連は認められなかった。
- 4) ミサゴの羽根においても 20 種以上の元素組成が確認されたが、定量性の高い元素数は少なく、ヒ素は検出下限値以下であった。
- 5) 今回捕獲された魚類はミサゴが食餌とする魚種が多く、とくに 25~35cm の魚体のフナ、ヒメマス、銀ザケ、ブラックバスが含まれていたが、本結果からは、ミサゴへのこれら魚類を介したヒ素の特異的な移行の可能性は少なく、ミサゴ-魚類間の上位捕食関係におけるヒ素の影響は殆んど認められなかった。
- 6) ヒ素以外の元素として、魚類、植物、土壌に共通して、アルミニウム、鉄含有量が高かった。

参考文献

- 1) S. Futatsugawa, S. Hatakeyama, S. Saitou and K. Sera, "Present status of NMCC and sample preparation method for bio-samples", Int. J. PIXE, 3, 319-328 (1993).
- 2) K. Sera, T. Yanagisawa, H. Tsunoda, S. Hutatukawa, Y. Saitoh, S. Suzuki, H. Orihara, "Bio-PIXE at the Takizawa facility (Bio-PIXE with a baby cyclotron)", Int. J. PIXE, 2, 325- 330 (1992).
- 3) K. Sera and S. Futatsugawa, "Personal Computer Aided Data Handling and Analysis for PIXE." Nucl. Instr. and Meth., B109/110 99-104 (1996).
- 4) 文部科学省科学技術・学術審議会資源調査分科会編, 五訂増補日本食品標準成分表, 国立印刷局, 東京 (2005)
- 5) 鈴木泰夫編, 食品の微量元素含有量表, 第一出版, 東京 (1998) .
- 6) 山内博, 山村行夫, -食品中の 3 価ヒ素、5 価ヒ素、メチルヒ素について-, 日本公衛誌, 12, 647-653, (1980).
- 7) 健康影響評価検討会重金属評価作業小委員会報告, -ヒ素の健康影響について-, 大気環境学会誌,

30:A122-140(1995).

- 8) 滝田一郎, 岩手県内陸部におけるミサゴについて-1-, 岩手猛禽類研究会, 岩手の猛禽 No. 1 (2002).

PIXE analysis of ecological samples collected around the Shijyushida dam

Keiko Chiba¹, Kazuhiro Yamada², Akira Hiratsuka², Masatoshi Yui²,
Teruyuki Umita³ and Kouichiro Sera⁴

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

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

³Faculty of Engineering, Iwate University
4-3-5 Ueda, Morioka, Iwate 020-8551, Japan

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

Abstract

It was well known that the mineral polluted water containing a lot of arsenic flowed and arsenic and other toxic elements were accumulated in the deep layer at the Shijyushida dam until 1982. In order to investigate toxic effects of arsenic for the ecosystem around the dam, we have collected several kinds of ecological samples from 2005 to 2007. The collected samples were analyzed by the PIXE method. As a result, it was not found that the toxic effect of arsenic for food chain system between *Pandion haliaetus* (bird of prey as a predator) and fishes (as a pray). On the other hand, arsenic was detected from a part of subterranean stem or root of plants. It was suggested that arsenic was accumulated in the shallow layer of underground at Shijyushida dam.

岩木山ブナ林土壌試料に関する PIXE 分析値と XRF 分析値の比較

齋藤美希、齋藤公太、鶴見 實

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

蛍光 X 線分析法 (XRF 分析法) で化学成分分析値の得られている土壌試料に対して PIXE 分析法を用い、得られた 2 種類の分析値同士の比較を行う。2005 年に PIXE 法分析した八甲田田代平の土壌試料の値は、XRF 分析法による分析値との間に差異がみられた。ここでは XRF 分析法との比較をすすめ、試料調製技術を修得することを目指す。PIXE 法で独自に得られる Hg、Cl などの元素は他に得られる方法がない。土壌を混合物として、化学組成を解析する際の混合のもとになる成分同定に、これらの元素は有効な指標元素となる。さらに、落葉枯枝などの微量成分分析値は PIXE 法でしか得られないものである。当研究室の土壌試料特性の問題点について報告する。

2 試料採取

2.1 採取地点

試料の採取は、岩木山南西麓の「巨木の森」で行われた。採取地点一帯は、樹齢約 100 年のブナ単層 2 次林である。標高は 780m であり、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。



図 1. 採取地点

2.2 採取方法

まず、最表層に存在する落葉・落枝を Litter (深さ-10cm) として採取する。Litter の下の層は水分を多く含んでおり、落葉が腐食し始めている腐植層である。これを O 層として、その腐植の段階ごとに、やや未分解の層を O 層① (深さ-7cm)、分解が進んだほうを O 層② (深さ-5cm) として採取した。そして、採取地点周辺の Litter や O 層を採取していくと、黒色の土壌がみられる。ここを土壌最表層 (深さ 0 cm) とし、垂直方向にスコップで表層土壌を約 20cm の塊のまま採取する。今回 1cm ごとに分けることができたのは、実験室に持ち帰ってから分けたことと、この地域の植生がブナ林であり、表層土壌に堆積した落ち葉が 1 枚 1 枚積み重なって剥がしやすい状態であったためである。このように表層土壌を 1cm 間隔で採取された例は稀である。15cm 以深は、深さ 15-20cm、20-25cm、30-35cm、40-45cm で土壌断面から試料を採取した。

3 測定方法

3.1 前処理

土壌試料は3週間実験室内で自然乾燥後に、65°C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、ブナの実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カーボンを用いた。Pdカーボン(約5%Pd)10mgと土壌試料50mgを均一になるまで混合し、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 μ lとり、試料の上に滴下し、7mmほどの円状に広げる。

なお、前処理を終えた試料のPIXE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に依頼した。

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10元素であるSiO₂、Al₂O₃、Fe₂O₃、K₂O、TiO₂、MgO、Na₂O、CaO、MnO、P₂O₅、微量成分10元素であるNb、Zr、Y、Sr、Rb、Th、Pb、Zn、Cu、Niについて蛍光X線分析法を用いた。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 Ignission、略称LOI)とする(式3-1)。LOIの内容として考えられるのは、炭素、窒素、硫黄などの有機物と、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1.8g(蛍光X分析に必要な量)以上残ることが必要である。試料中の有機物含有量によってLOIが異なるため、量り取る量は、試料ごとに異なる。特に、Litterなどの有機物については、LOIが90%を超えることがあるので、量り取る量は30~40gとなることがある。

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

○ガラスビード法による調整

粉末試料を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ガラスビード法(融解試料調整法)による調整を行った。灼熱処理した土壌試料1.8gを精秤し、融剤を試料と1:2の割合になるように加える。融剤にはLi₂B₄O₇とLiBO₄(Merck製, A20)を8:2(Li₂B₄O₇約2.90g、LiBO₄約0.72g)に混ぜたものを使用した。ただし、Li₂B₄O₇、LiBO₄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Li₂B₄O₇、LiBO₄は精秤した。

4 結果

蛍光 X 線分析法と PIXE 分析法によって得られた、土壌資料中の各化学成分の濃度の垂直分布を図2a、2b、2c に示す。PIXE 分析法での定量を期待した Hg については今回有意な濃度が得られなかった。PIXE 分析値は蛍光 X 線分析値に比べ、表層から深さ 15cm までの垂直分布が滑らかでない。表層 15cm までの土壌試料は、土壌塊を 1cm 深毎に分けた連続した試料なので、滑らかな分布を示した蛍光 X 線分析値のほうが自然であると考えられる。Si や Al などの土壌主成分については、PIXE 分析値が蛍光 X 線分析値より 2 倍ほど高い値を示す試料も存在し、バラツキが大きかった。15cm 以深の土壌では、PIXE 分析による Mg 濃度は蛍光 X 線分析値の 2 分の 1 という値を示した。また、蛍光 X 線分析値では P が 400~800ppm と定量されたのに対して、PIXE ではほとんど検出されなかった。一方、微量元素では PIXE 分析値の誤差の範囲内で、およそ蛍光 X 線分析値と一致していた。

PIXE 法で得られた元素は以下のものである。

Si、Al、Na、Mg、P、S、Cl、K、Ca、Ti、Cr、Mn、Fe、Ni、Cu、Zn、Pb、Br、Sr、Rb、Zr、Nb、
Se、As、Ga、Hg、Mo、V

※下線を引いてある元素は、蛍光 X 線分析でも定量されている。

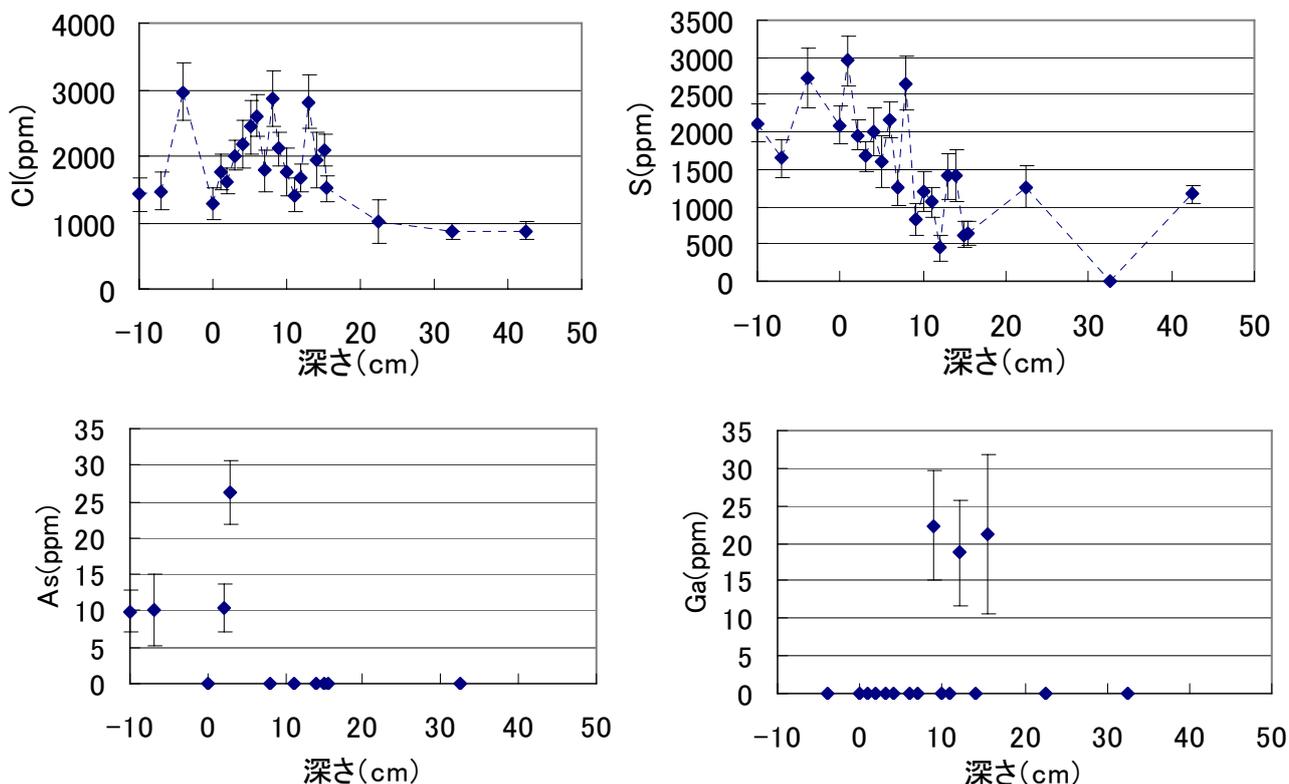


図 2 a. PIXE 分析結果 (PIXE 法のみで分析された元素)

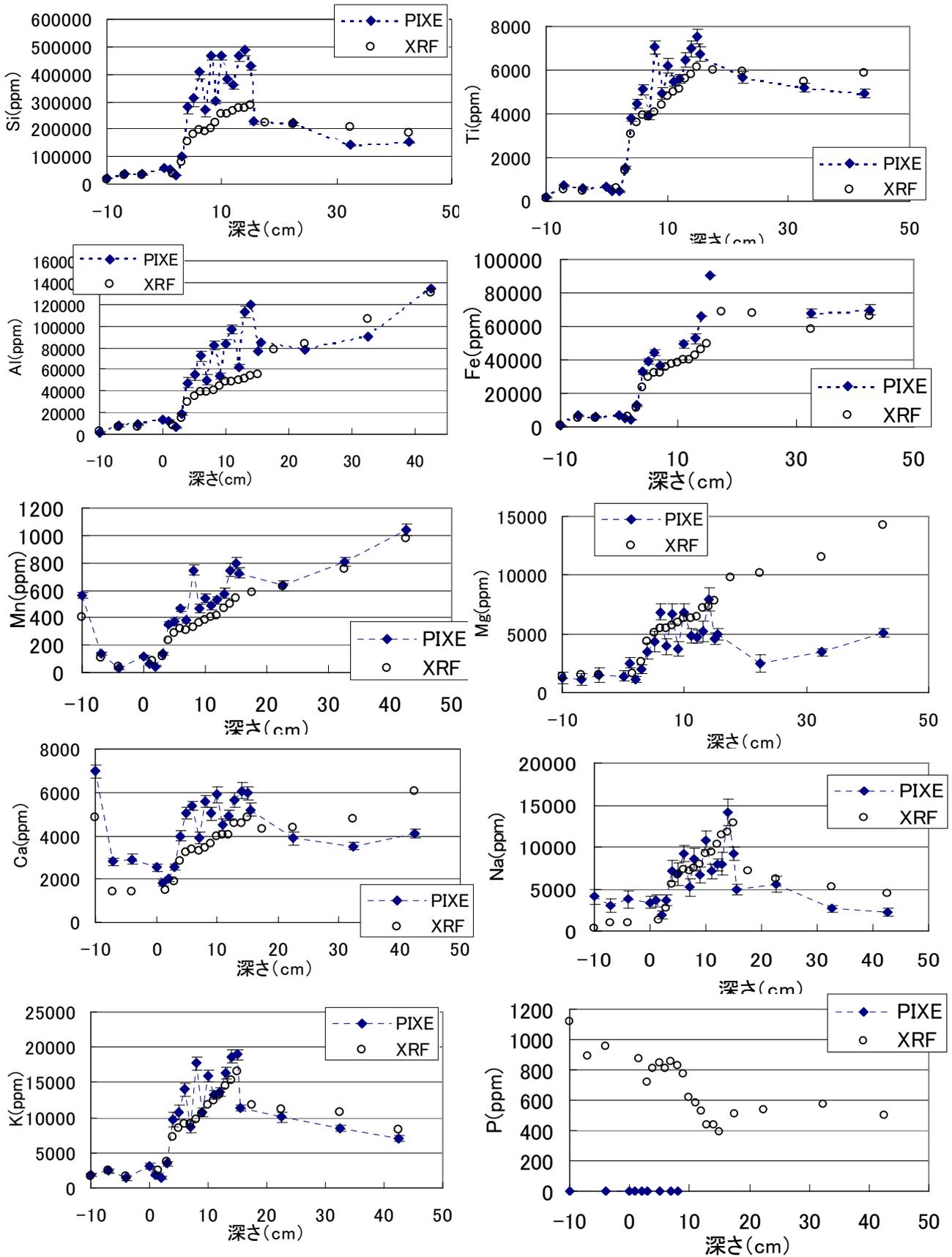


図 2b. PIXE 分析結果と XRF 分析結果の比較 (主成分)

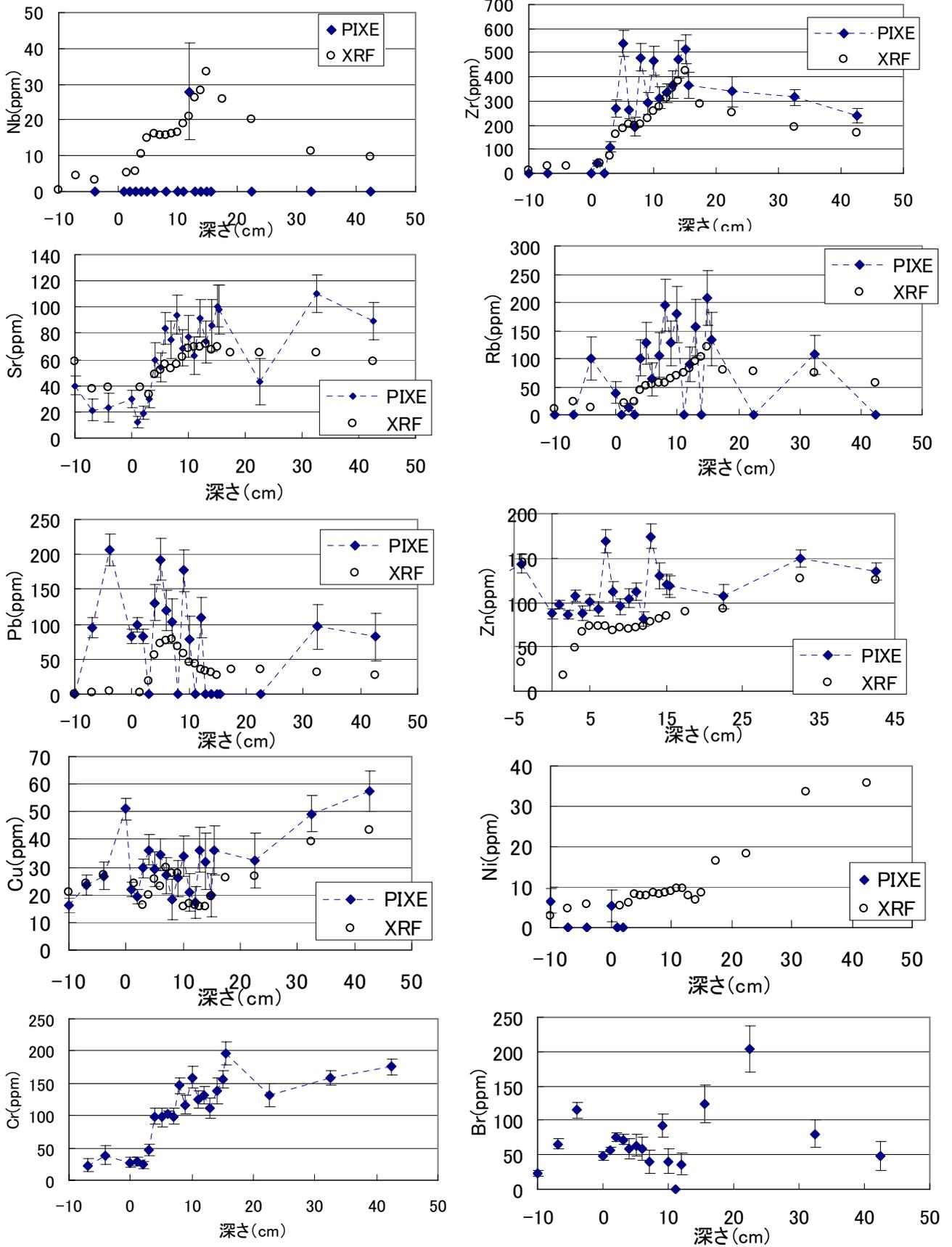


図 2c. PIXE 分析結果と XRF 分析結果の比較 (微量成分)

PIXE 分析値が XRF 分析値より高い値を示す成分が多い。酸化物にした元素濃度と、別に測定した灼熱減量の値を足した値は、XRF 分析では 100%±2、3%であるのに対し、PIXE は 100%から+60%を示す試料も存在した(図 3)。大きくばらつく試料に関しては、多くの元素が同じような変化を示しているので、内部標準に問題があると考えられた(図 4)。PIXE 法で分析される試料領域は全体のごく一部であり、その箇所内部標準がたまたま少なければ全元素とも高い値が出る。全ての粒子が 4~5 μm 以下に揃っている場合、Pd-C を用いた粉末内部標準法は正確であるとされ、そのことは Tibet Soil、River Sediment などの一般的な標準試料で確認されている。もし蛍光 X 線分析の値が正しいと仮定すると、考えられることは試料の粒度が揃っておらず、分析に使用した試料に Pd-C が少なめに含まれていることである。分析に用いた部分の内部標準の Pd-C と試料の混合具合が理想的でなく、Pd の濃い部分と薄い部分が存在し、ほとんどの元素が高い値を示したと考える。

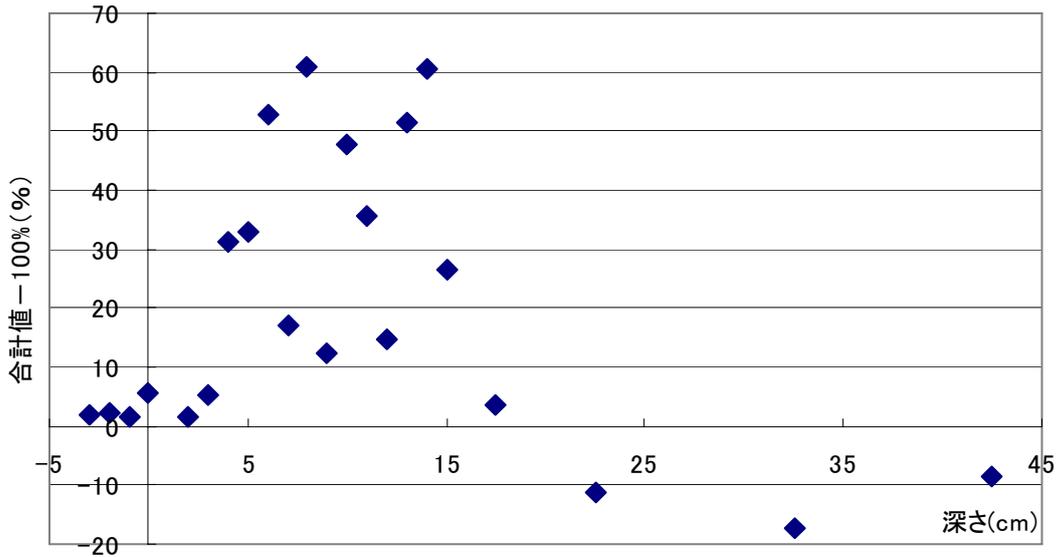


図 3. 元素濃度 (酸化物) の合計値 (PIXE) と LOI との和の 100%からのずれ量

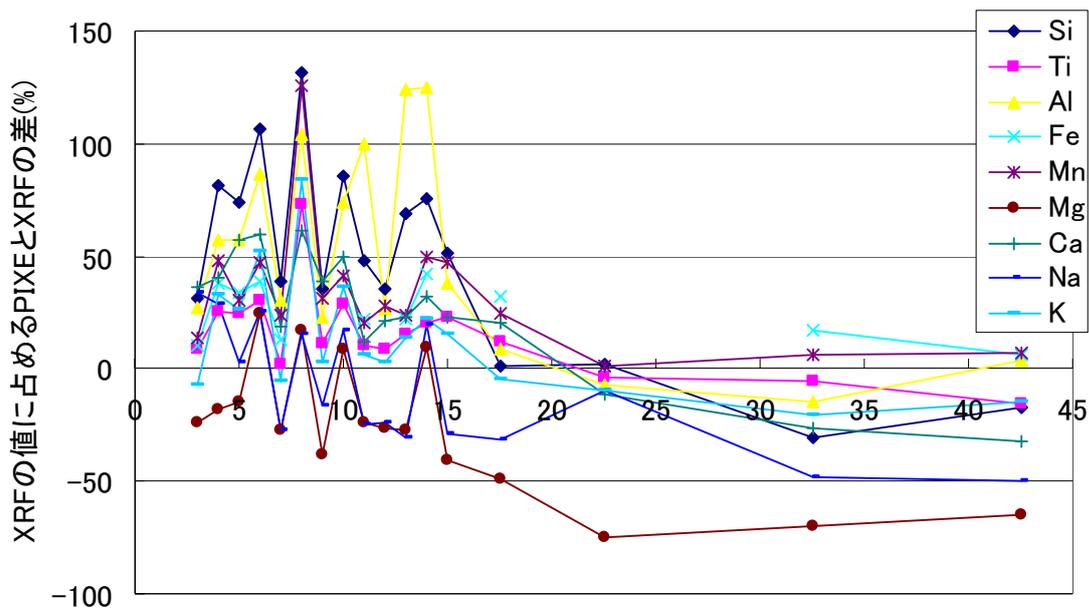
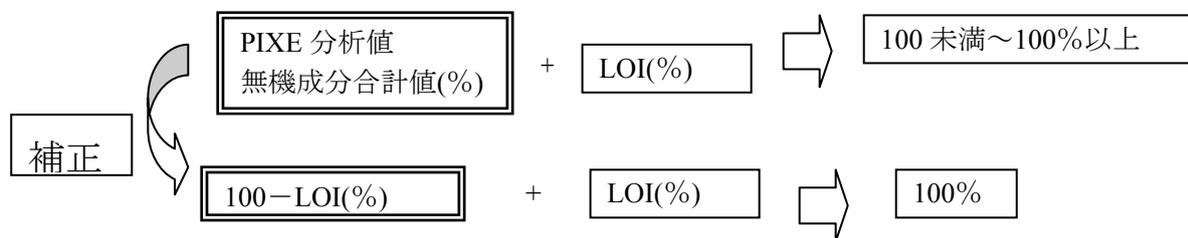


図 4. 各成分の XRF の値に占める PIXE と XRF の差の垂直分布の比較

ある試料の元素が全て高い値に見積もられたとしたら、補正することにより蛍光 X 線分析値と一致するのではないかと考えた。そこで、PIXE 分析によって得られた主成分の濃度を酸化物の状態に換算して合計した濃度と、別に測定した灼熱減量(LOI)の値を足して 100%になるように計算した。これと蛍光 X 線分析値との比較を図 5 に示す。LOI の値は、2 つの分析とは全く別に測定したのでそのまま用い、全無機成分濃度を、100%から LOI を引いた値に補正した。



100%補正後の値である図 5a を見ると、Si、Al、Mn、Ca、K の濃度は 2 つの分析法で良く一致していた。大きくずれていた深さ 5~15cm の試料についてはほとんどの元素で蛍光 X 線分析の結果と一致し、内部標準の Pd-C と試料の混合具合によるバラツキは補正されたと考えられる。しかし、深いほうの土壌の Ti と Fe で、PIXE の方が高い値を示しており、Mg、Na については 2 つの分析値に約 2 倍もの差が見られた。微量成分についても、深いほうの土壌試料で大きくずれた。これらについては、内部標準との試料調整についての問題ではないと考えられる。Na、Mg に関しては、マウントした試料が厚くて自己吸収が生じた結果であることが考えられる。

試料と標準試料の混合が十分でなかったことがずれの原因であるとする、混合時間を増やすことによって解決されると考えた。そこで、今まで 15 分で行っていた混合時間を含む試料調整時間を、混合を十分に行い、30 分かけて調整するように変更し、分析を行った。分析の結果、Fe については、試料調整に 30 分かけた分析結果が、より XRF 分析値に近い値を示すことがわかった(図 6)。この結果は、土壌試料と標準試料との混合が十分に行われることで、補正を行わなくても、2 つの分析法による分析値が一致することを示している。

得られたデータは補正することによって、また、混合時間をふやすことによって XRF 分析値と同じような値が得られることが分かった。よって、今回 PIXE 分析を用いることによって始めて分析できた S についてみていく。土壌中の S は図 7 に示すように、表層から減少傾向を示した。S は土壌表層の腐食や微生物と関係があると考えられる。CN コーダで分析した C 濃度と正の相関関係 ($R^2=0.54$) を示した。このことから、S は有機物に由来することが示され、有機物の指標となる成分のひとつとして統計解析に用いることができる。

5 結論

今回得られた PIXE 分析法による表層土壌化学成分濃度は、試料の前処理や調整に原因があると考えられ、土壌試料と内部標準試料を混合した状態で均一な状態になっていなかったことが原因であると考えられる。この不均一性による誤差については、2 つの分析とは別に測定した灼熱減量 (LOI) を用いて補正することが可能であることが示された。また、混合時間を増やし、均一な混合具合に近づけることによって、2 つの分析値が近い値を示した。今回 PIXE 分析法を用いることによって始めて定量した S については、補正後の値を用いると、別に分析を行った炭素と正の相関を示した。炭素は有機物量の一つの指標である。土壌中の S は表層土壌の有機物に由来することが知られているため、この結果はもっともらしい。よって、PIXE 分析法で独自に得られた S や Cl 等の値を、解析の際の混合のもとになる成分同定に有効な指標元素として、用いることができる。

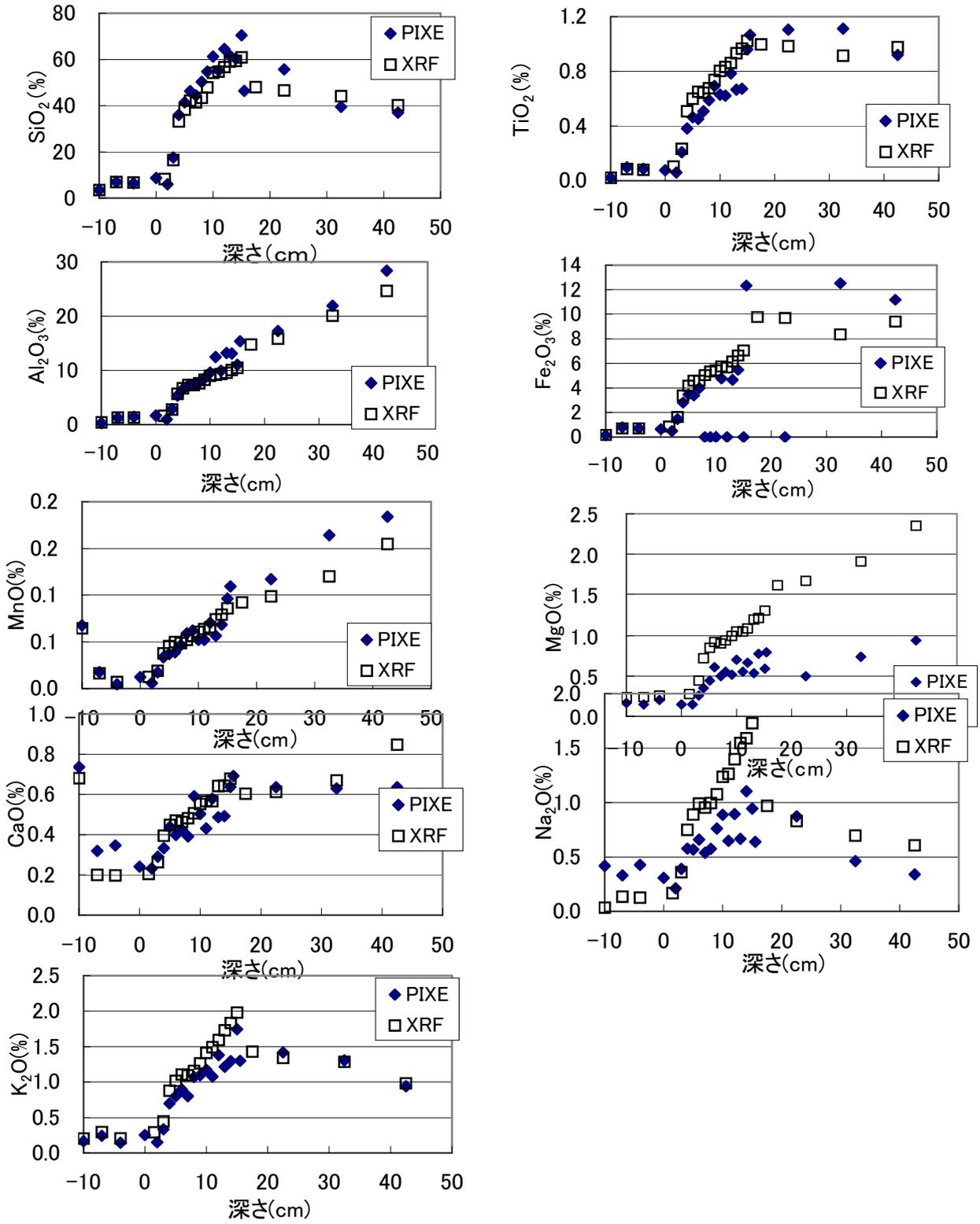


図 5a. 100%補正後の値 (主成分)

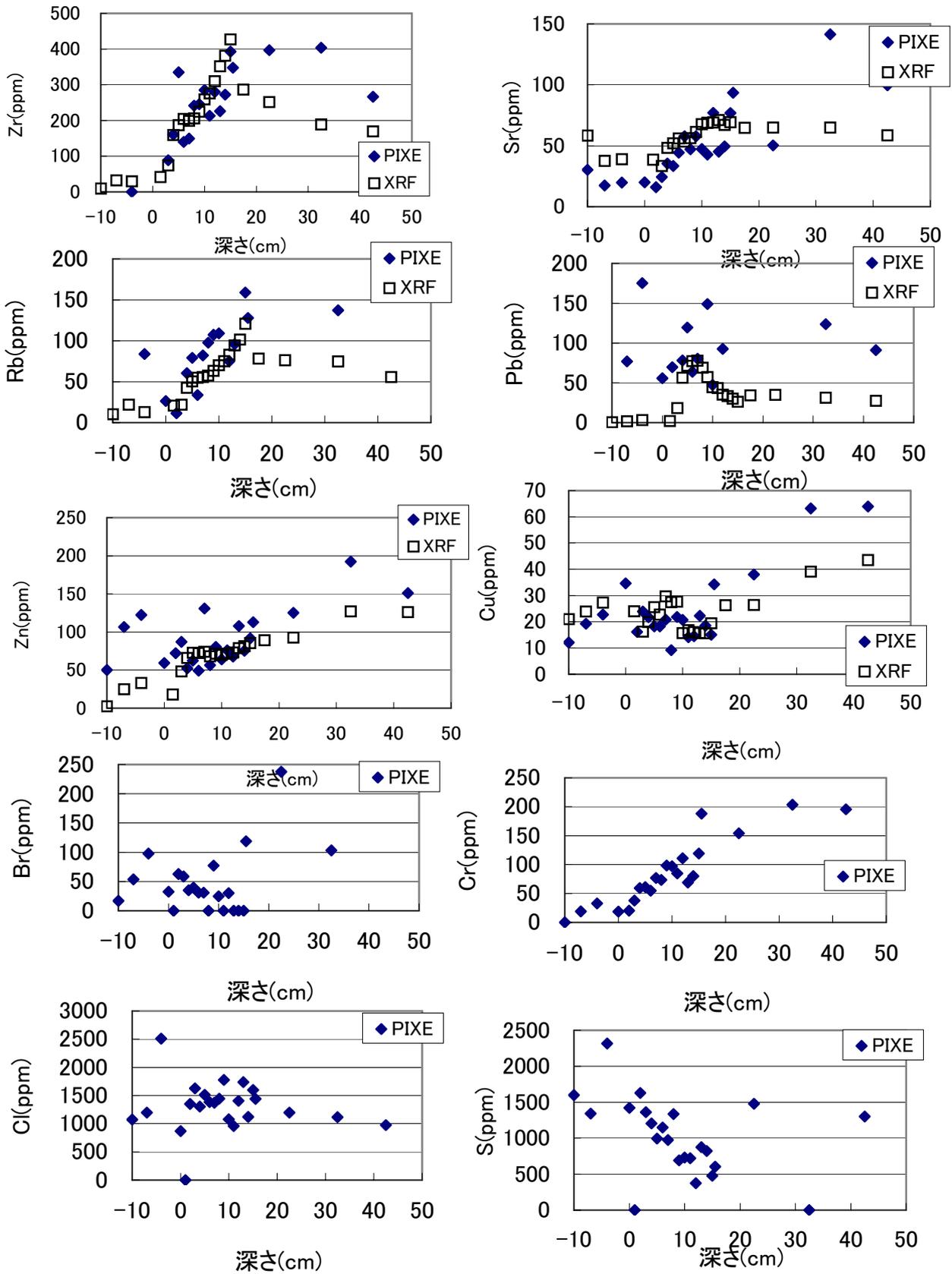


図 5 b. 100%補正後の値 (微量成分)

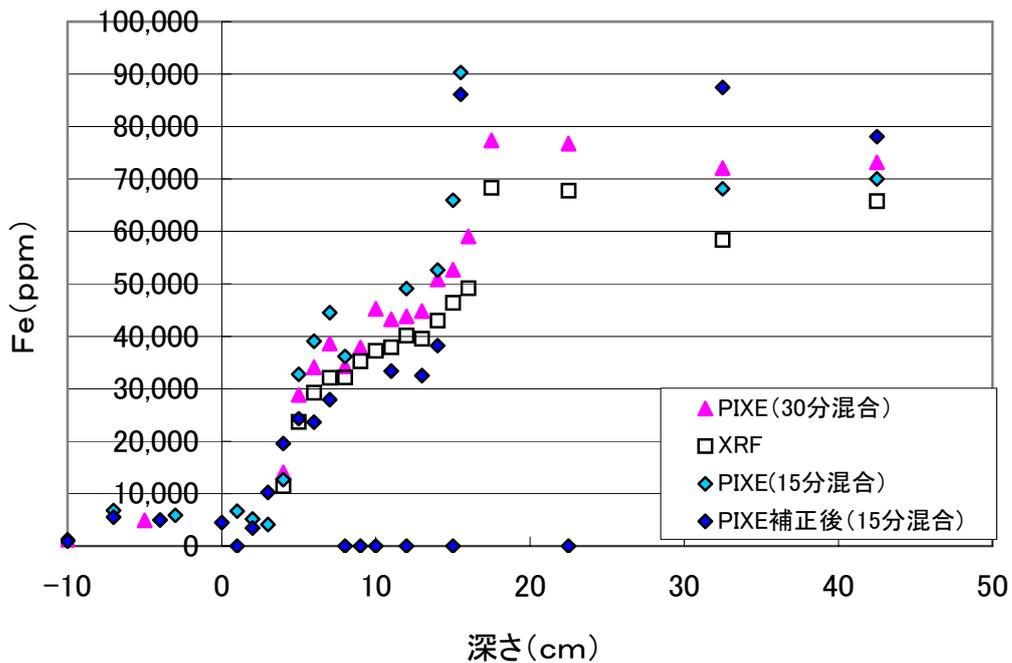


図 6. 混合時間を変更した PIXE 分析値と XRF 分析値の比較 (Fe)

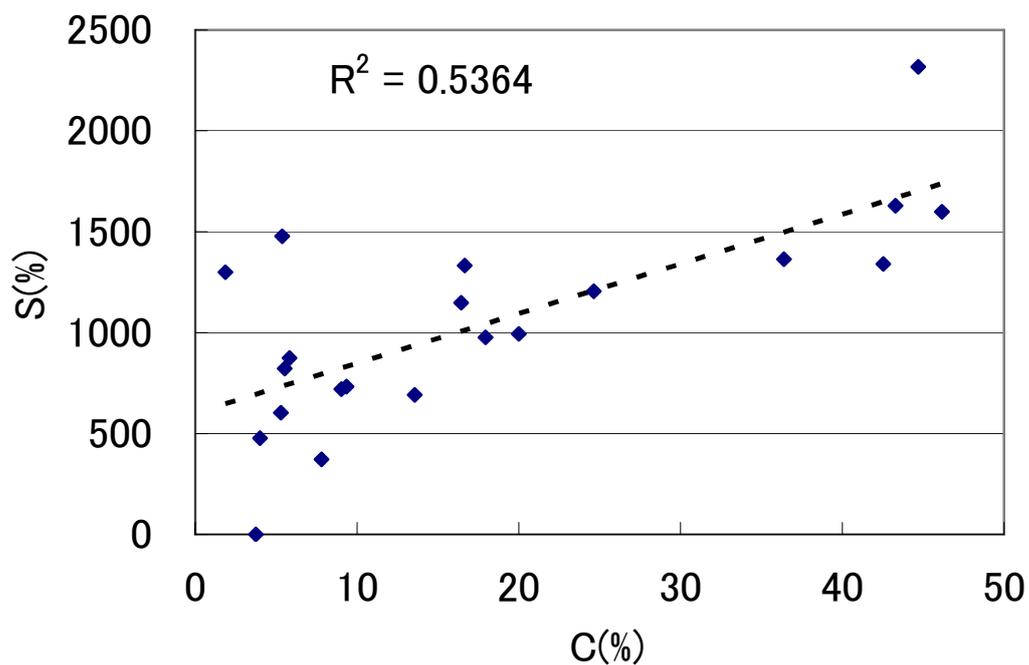


図 7. S と C の関係

Comparison of data analyzed by PIXE with XRF in chemical composition for beech forest soil samples collected in Mt. Iwaki

M.Saito, K.Saito and M.Tsurumi

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 PIXE with XRF is discussed in composition for soil samples collected at Tashiro-tai plane in Mt. Hakkohda, Japan. There were differences between raw data with these two analytical methods. The content values of major elements show wider variations in PIXE than in XRF. Even though PIXE data were normalized to total oxides = 100%, the serious differences were found in alkali and alkali earth metal contents. Samples carefully prepared for another time indicate the decrease of variability. These are suggesting that the sample preparation process of PIXE might affect on the variability of data; namely, the mixing time of soil samples with Pd standard material is required more than 30 min. in agate mortar.

宮城県中部七北田川河口域の植物に含まれる重金属元素濃度と 土壌中の重金属元素濃度

大谷真司¹、藤巻宏和¹、世良耕一郎²

¹東北大学大学院理学研究科
980-8578 宮城県仙台市青葉区青葉 6-3

²岩手医科大学サイクロトロンセンター
020-0173 岩手県岩手郡滝沢留が森 348-58

1 はじめに

科学技術の発達の一方向で環境汚染、例えば土壌や地下水汚染等が拡大している。そのため、工業地帯に限らず農地をはじめとする土壌汚染の防止と、その浄化が重要な問題になっている。本調査では宮城県中部の七北田川の河口域を利用し、自然由来の重金属元素が薄く広く蓄積した地域一体の土壌について、ファイトレメディエーションに関する調査を行った。

特定の有害元素が広く薄く分布しているような、汚染の程度が低く広範囲にわたる地域の浄化には、ファイトレメディエーションが適していると考えられる¹⁾。ファイトレメディエーションは、1)経済的であり 2)周囲の環境に対して負荷が少ない、3)長期間・広範囲な汚染浄化に対応ができる、4)浄化に必要なエネルギーは光合成によって自給できるなどのメリットがある。しかし、他方で、植物が汚染物質を吸収する速度はゆっくりで、吸収できる量はそれほど多くはないため、ファイトレメディエーションには即効性がないといった欠点もある。

2 ファイトレメディエーションと土壌中の元素

ファイトレメディエーションが本格的に調べられ始めたのはここ最近であるため、メカニズムはまだ詳細には理解されていない²⁾。植物が元素を吸収する能力は植物の種類により異なり^{3,4)}、高吸収蓄積能力を持つ植物を発見しようとするれば、非効率的ではあるが、植物と対応する元素を一つ一つ調べなくてはならない。現在、本格的な実用化のために、特定の有害元素をより多く吸収・蓄積する植物を発見する試みが盛んに行われている一方で、有害元素をより効率的に吸収することができる遺伝子組み換え植物を作ろうとする試みも盛んに行われている^{2,4)}。

土壌中の特定元素の含有量が吸収に影響を与えていることは広く知られている²⁾。しかし、土壌中の

特定元素の化学形態と植物の吸収能力との関係に焦点を当てた研究はあまり行われていない。そこで本調査では重金属に着目し、その堆積物中の化学形態が比較的良く調べられている宮城県中部の七北田川河口域で、自生している植物を利用し、植物の吸収能力と重金属の化学形態についての関係について調査し、ファイトレメディエーションによる汚染浄化の効率性を向上させることに貢献することを目指す。

3 調査地域と実験方針

本研究で調査の対象とした地域を図1に示す。そこに群生する植物中に含まれる重金属量が土壌の重金属濃度とどのような関係があるか、また植物の重金属吸収が土壌中の元素の化学形態と関係があるかを調査する。本研究では、検出された幾つかの重金属元素中を中心に、その他特徴のみられた元素について報告する。

本調査でほぼ普遍的に収集することのできたのは、シロツメグサとヨシであり、副次的にはあるが、両者の重金属元素吸収能力を評価するとともに、植物の「根」「茎」「葉」の元素集中の相違についても考察する。

4 実験方法

4.1 サンプルング

試料採集は、宮城県の七北田川河口域である高砂大橋から蒲生海岸にかけての川沿い約3kmの範囲で行った(図1)。調査地点は、川の上流から下流側にかけて地点A、B、C、D、E、F、Gの7箇所、隣り合う調査地点がほぼ同じ間隔になるようにし、2種類の植物14を採取した。土壌中の重金属元素の化学形態と植物との関係を調べることが本研究の目的であるため、植物の採取場所は辻によって調査が行われた土壌の採取場所とほぼ一致させた⁵⁾。採取した植物は「シロツメグサ」及び「ヨシ(葦)」であり、これらは七北田川河口付近において最も多くほぼ普遍的に見られた植物である。植物の生育年数などの条件も同じくしておくことが望ましいが、この条件をそろえることは非常に困難で、それぞれサイズが同じ程度のシロツメグサ、ヨシを採取した。

4.2 試料調製と分析

各地点で採取したシロツメグサおよびヨシの「根」「茎」「葉」に付着している土壌を蒸留水と超音波洗浄器で洗浄した。その後3日間それらを天日干しにした後に、「根」「茎」および「葉」に切り分け、60℃に設定したオーブンに1時間入れて乾燥させた。さらに、試料の重量をおおよそ40mg~65mgになるよう調整した。試料は硝酸と内標準物質としてInを10μg加え低温湿式灰化した。前処理をした試料に超純水を加えて、液状になるように容器を長時間かき混ぜた。その溶液をホルダーに接着したマイラー膜の上に載せ、50℃に温めておいたオーブンに入れて乾燥させ、PIXE分析に用いた。PIXE分析は従来の方法に従った^{6,7)}。

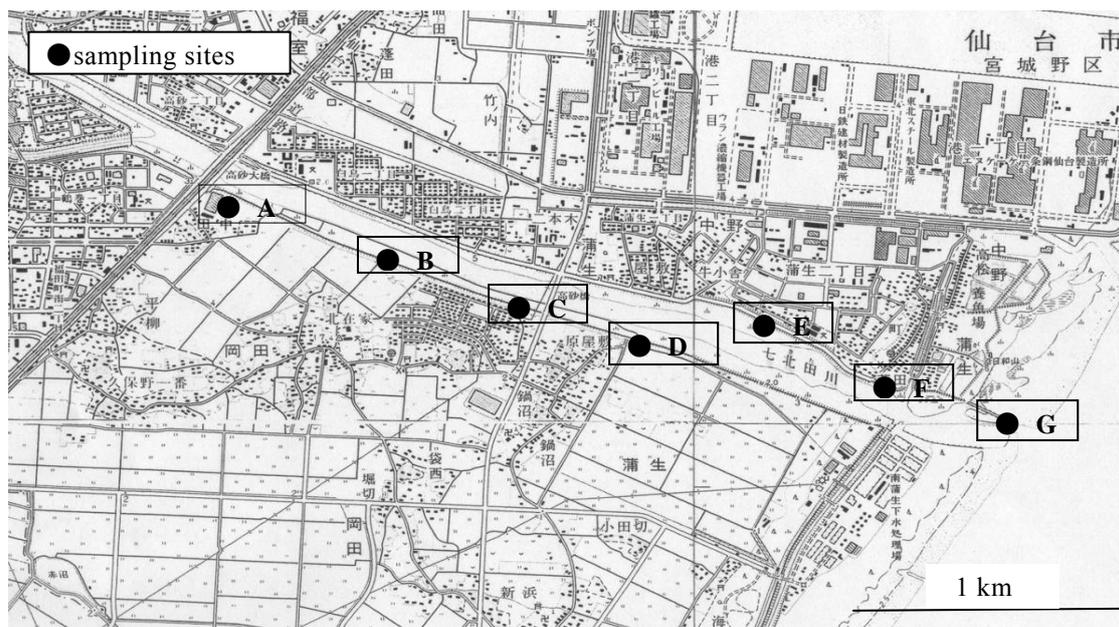


図1 調査地域（七北田川河口付近）、及び試料採取地点
 国土地理院発行 1:25,000 地形図 「仙台東北部」「仙台東南部」「塩釜」を利用

5 実験結果

5.1 植物の重金属元素含有量

土壤中に重金属元素が濃集しているのと同じくシロツメグサおよびヨシも、同じ重金属元素を含有していた。Fe、Mn、Cu、Zn、Mo、Pb および Cr、Co、As の 9 元素が認められた。ただし、Cr、Co、As は極微量であった。重金属元素は Fe、Mn、Cu、Zn、Mo、Pb の順に濃度が高く、それを表 1-6 に示した。結果を元素ごとに分かりやすくするため Fe、Mn、Cu、Zn、Mo、Pb について濃度変化を示す図を示した（表 2-7）。各図は「根」「茎」「葉」の重金属元素濃度下から順に積み重ねる形式で棒グラフを用いて表示した。特に有害な可能性の高い Pb から図について説明する。シロツメグサ中の全 Pb の濃度は地点 D と地点 F に群生していたものが最も高かった。また、地点 A や地点 C のシロツメグサもやや Pb 濃度が高かった。一方で、地点 G のシロツメグサの Pb 濃度の値が最も低かった。ヨシ中の全 Pb の濃度を地点ごとに比較すると、地点 D に群生していたヨシが最も高濃度の Pb を含有し、それに次いで地点 F および地点 A のヨシの Pb が濃度高く G での濃度が最も低かった。地点 G に生育していたヨシ中の Pb 量の値が最も低いというシロツメグサと同様の傾向が認められた。シロツメグサ中の Zn の全濃度を地点ごとに比較すると、地点 D で最も高い濃集が見られ、それ以外の地点ではほぼ同程度の値を示している。Pb と同じく地点 G のシロツメグサ中の Zn 濃度は最も低い。ヨシ中の Zn の濃度を地点ごとに比較すると、シロツメグサの傾向とはやや違いが見られ、地点 E のヨシが最も多く、地点 F のヨシがそれに続いた。地点 C のヨシが最も Zn 含有量が低く、地点 B や G に生育していたヨシの Zn 濃度の値も比較的 low かった。シロツメグサ中に含まれる Cu 含有量を地点ごとに比較すると、地点 D で最も高い値が見られた。他方で、地点 A や G のシロツメグサ中の Cu 濃度の値は比較的 low かった。また、ヨシ中の Cu の濃度を地点ごとに比較すると、地点 F および地点 D で Cu の濃集が見られた。一方地点 G や地点 C では低濃度であった。シロツメグサの Fe 濃度は、地点 D および地点 E で高く、Fe の濃集が見られ、次いで地点 A、地点 C および地点 F で同程度の値を示していた。他方で、地点 G や地点 B のシロツメグサ中に存在している Fe 濃度の値はともに低かった。また、ヨシの Fe の濃度の地点ごとの変化を比較すると、シロツメグサの傾向とは違いが見られ、地点 A のヨシがとりわけ高い値の Fe 濃度を示した。ただし、地点 D でもヨシは比較的高濃度の Fe を含有しており、これはシロツメグサと同じ傾向である。しかし

地点 B、C および地点 G において低濃度であった。シロツメグサ中の Mn 濃度は地点では極端に低い値であったが、それ以外の地点はすべて比較的高い値を示しており、大きな違いは見られなかった。ヨシの Mn の濃度は地点 E および地点 D、地点 A で高濃度である一方で、地点 G と地点 C のヨシに含まれる Mn の濃度がともに低い傾向が認められた。シロツメグサ中の Mo 濃度は地点 D で最も高い値が見られた。一方地点 C、E および地点 G のシロツメグサの Mo 濃度の値は低かった。また、ヨシの Mo 濃度はシロツメグサと同様地点 D で高濃度であった。C 地点では非常に Mo 濃度の低いヨシが認められたが、Mo 濃度の変化はシロツメグサとは違った傾向を示していた。

シロツメグサもヨシも地点 D に群生している植物中に高濃度の重金属元素が濃集しているという共通の傾向が認められた。ヨシについては地点 E や地点 F でも地点 D と同様に全体的な濃集が見られた。また、シロツメグサもヨシも元素毎に濃集の傾向に違いが見られた。

表 1 シロツメグサ及びヨシ中の Fe 濃度 (ppm)

Fe(シロツメグサ)	A	B	C	D	E	F	G
根	3504.6	1113.7	2669.0	5628.8	7869.2	3154.8	95.3
茎	121.0	316.1	612.5	750.4	871.5	442.5	32.8
葉	344.0	422.3	519.1	1868.2	950.6	358.9	42.9
合計	3969.6	1852.1	3800.6	8247.5	9691.3	3956.2	171.0
Fe(ヨシ)	A	B	C	D	E	F	G
根	8636.1	1057.8	611.9	5705.1	2613.2	4947.8	89.8
茎	38.9	41.1	25.2	128.3	47.3	251.4	30.4
葉	221.9	25.7	24.3	44.5	55.3	19.7	3.0
合計	8896.9	1124.6	661.3	5877.8	2715.8	5218.9	123.1

表 2 シロツメグサ及びヨシ中の Mn 濃度 (ppm)

Mn(シロツメグサ)	A	B	C	D	E	F	G
根	316.081	211.777	120.437	294.102	234.931	151.867	6.799
茎	26.600	33.208	67.995	35.408	42.903	34.803	4.918
葉	42.997	38.617	78.451	88.588	139.920	110.009	6.528
合計	385.678	283.602	266.884	418.099	417.754	296.678	18.245
Mn(ヨシ)	A	B	C	D	E	F	G
根	156.924	37.979	10.577	108.766	110.849	29.925	4.550
茎	3.066	16.262	3.475	44.218	28.388	25.185	4.652
葉	8.954	21.102	8.099	36.901	83.711	18.792	8.595
合計	168.943	75.344	22.151	189.885	222.947	73.902	17.797

表 3 シロツメグサ及びヨシ中の Cu 濃度 (ppm)

Cu(シロツメグサ)	A	B	C	D	E	F	G
根	18.048	48.895	40.520	108.927	50.634	101.832	8.089
茎	4.345	10.575	7.417	9.507	7.296	5.884	3.884
葉	6.652	5.122	6.628	12.952	7.400	7.855	3.041
合計	29.045	64.592	54.565	131.387	65.329	115.572	15.014
Cu(ヨシ)	A	B	C	D	E	F	G
根	10.597	9.479	4.800	22.761	6.183	28.025	2.478
茎	3.310	2.120	0.537	5.455	1.846	6.562	1.551
葉	5.329	2.580	1.314	3.424	8.692	3.045	2.075
合計	19.236	14.179	6.651	31.640	16.721	37.632	6.104

表 4 シロツメグサ及びヨシ中の Zn 濃度 (ppm)

Zn(シロツメグサ)	A	B	C	D	E	F	G
根	69.510	73.928	115.430	205.652	92.917	67.837	14.692
茎	27.321	25.163	33.699	41.576	25.302	25.186	10.912
葉	32.156	26.895	13.870	46.687	44.534	69.876	17.661
合計	128.987	125.986	162.999	293.915	162.753	162.900	43.264
Zn(ヨシ)	A	B	C	D	E	F	G
根	49.618	21.661	8.182	37.257	83.187	40.278	11.302
茎	9.304	4.210	4.917	9.062	6.024	33.591	9.407
葉	11.165	8.777	8.346	15.686	35.864	11.660	18.108
合計	70.087	34.649	21.445	62.005	125.075	85.530	38.817

表 5 シロツメグサ及びアシ中の Mo 濃度 (ppm)

Mo(シロツメグサ)	A	B	C	D	E	F	G
根	16.595	5.357	3.056	47.145	0.000	8.431	0.317
茎	8.580	38.613	1.803	34.121	2.659	7.110	0.000
葉	13.628	1.319	0.000	13.600	1.144	2.298	1.319
合計	38.804	45.290	4.858	94.866	3.803	17.840	1.637
Mo(ヨシ)	A	B	C	D	E	F	G
根	0.000	0.291	0.000	1.688	0.441	0.604	0.040
茎	0.000	0.000	0.035	0.166	0.000	1.154	0.000
葉	1.032	1.249	0.049	0.240	0.334	0.384	0.472
合計	1.032	1.540	0.084	2.093	0.775	2.143	0.512

表 6 シロツメグサ及びヨシの鉛濃度 (ppm)

Pb(シロツメグサ)	A	B	C	D	E	F	G
根	14.028	4.933	11.479	18.930	1.137	15.172	3.838
茎	0.885	1.925	0.991	2.203	2.356	5.793	0.000
葉	1.742	2.522	3.804	6.713	6.052	6.437	0.904
合計	16.655	9.380	16.273	27.846	9.544	27.402	4.742
Pb(ヨシ)	A	B	C	D	E	F	G
根	11.593	1.970	6.195	28.727	6.153	15.100	2.876
茎	3.415	1.358	2.581	3.408	0.674	1.227	0.000
葉	2.418	2.540	1.378	2.170	1.338	2.097	0.959
合計	17.426	5.868	10.153	34.305	8.165	18.424	3.835

5.2 重金属元素ごとの「根」「茎」「葉」における集中の違い

植物中に含まれていた重金属元素全体として、シロツメグサもおよびヨシも重金属元素は「根」の部位に最も多く含まれており、「茎」と「葉」ではその濃集の量に大きな違いは見られなかった(図 2-7)。ただし、ヨシについては Fe のほとんどが「根」に集中しており、「茎」および「葉」にはほとんど存在していなかった。また、Mo には、「根」よりも「茎」や「葉」の部位により多く集中しているという傾向が見られた。

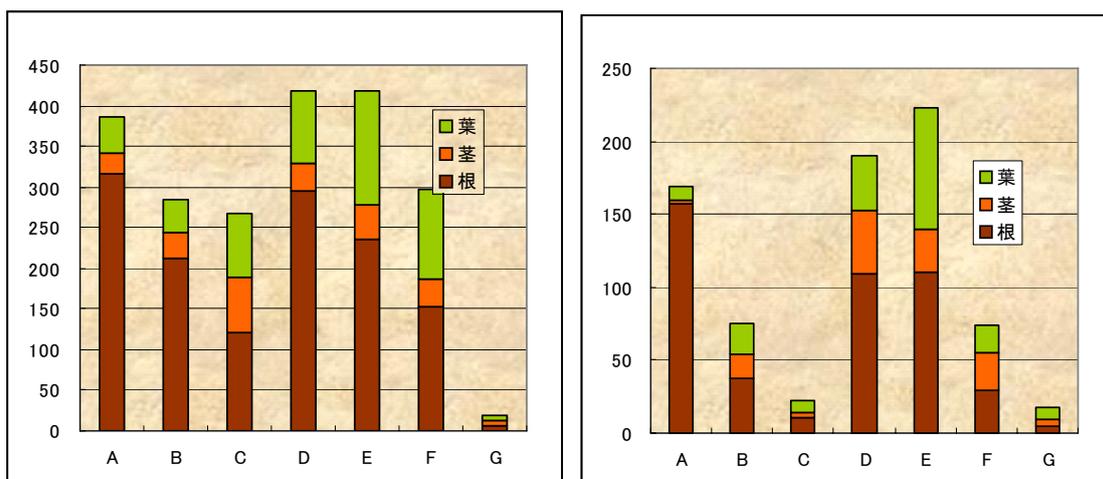


図2 A-G地点のシロツメグサ(左)とヨシ(右)の各部位のMn濃度(ppm)

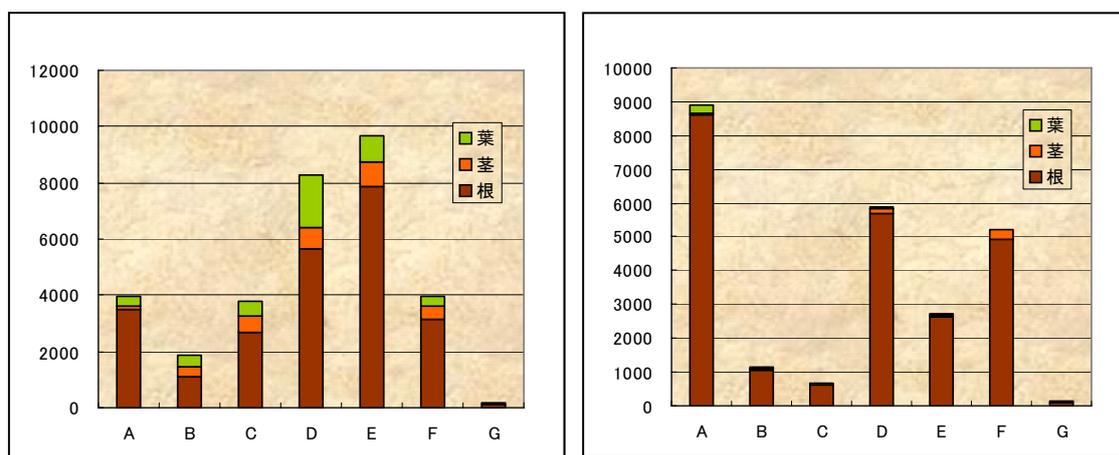


図3 A-G地点のシロツメグサ(左)とヨシ(右)の各部位のFe濃度(ppm)

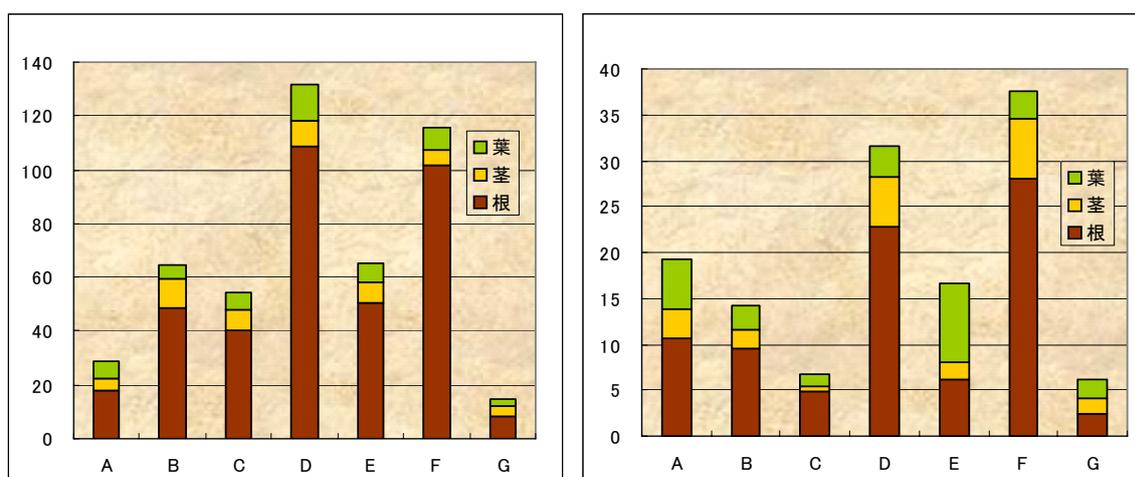


図4 A-G地点のシロツメグサ(左)とヨシ(右)の各部位のCu濃度(ppm)

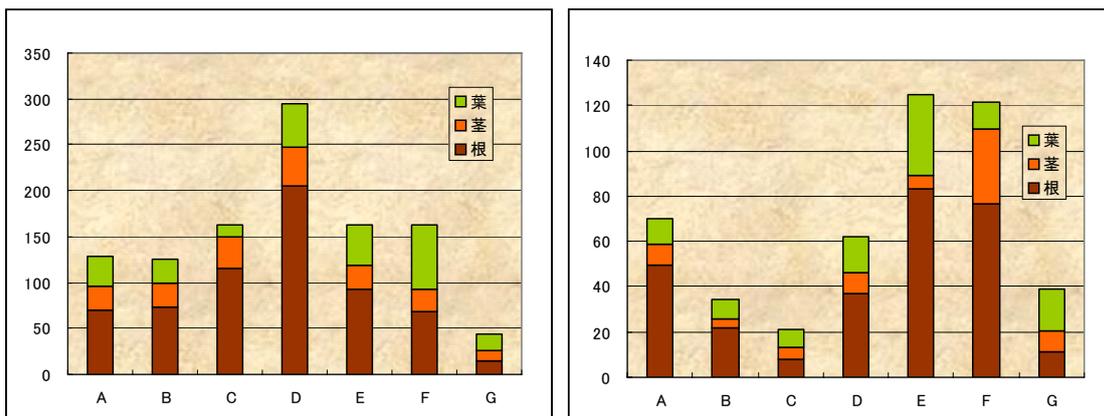


図5 A-G地点のシロツメグサ(左)とヨシ(右)の各部位のZn濃度(ppm)

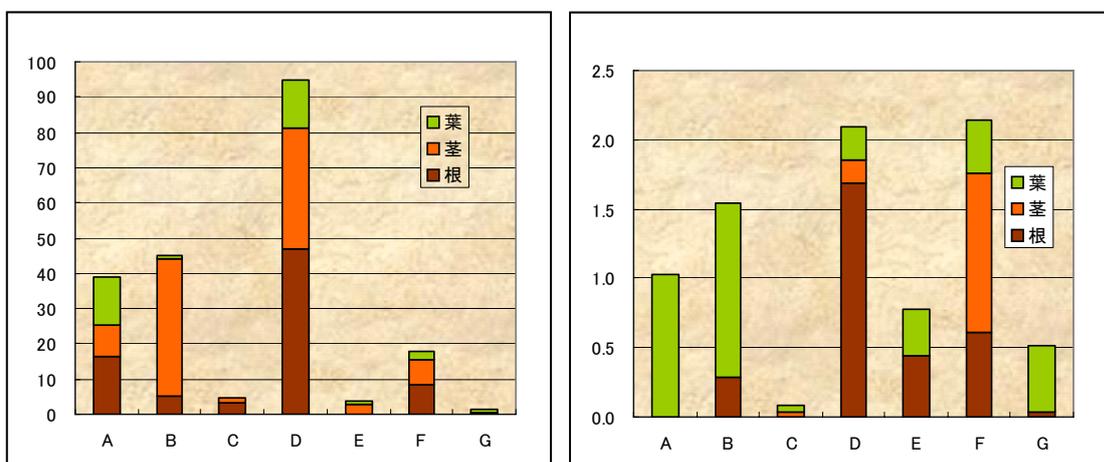


図6 A-G地点のシロツメグサ(左)とヨシ(右)の各部位のMo濃度(ppm)

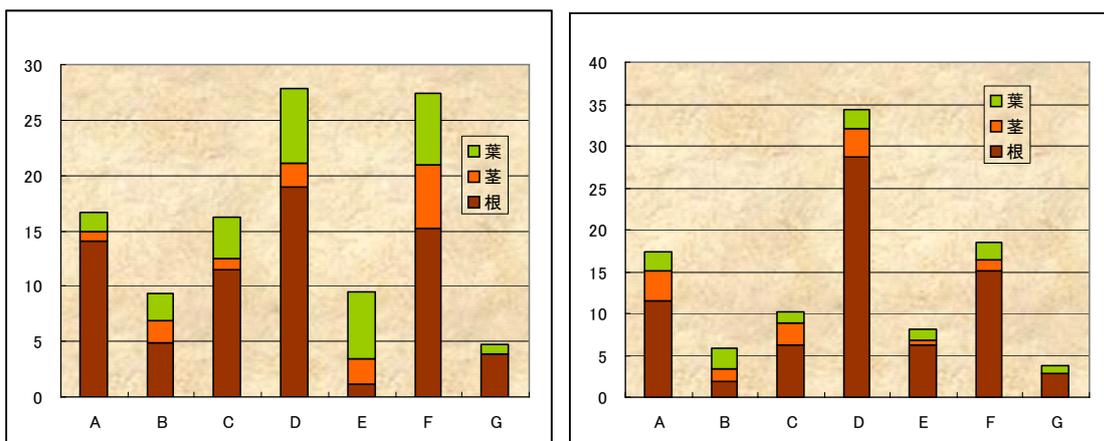


図7 A-G地点のシロツメグサ(左)とヨシ(右)の各部位のPb濃度(ppm)

6 議論

6.1 植物の重金属元素吸収能力の一般的な評価方法

植物の吸収能力を検証する際に一般的に行われているのは、ある植物が「heavy metal hyperaccumulators」(重金属蓄積植物)という植物であるかどうかという検討である。しかし現在までに「Cd」「Pb」「Ni」「Zn」等についてのみ具体的な重金属元素の吸収量および蓄積量が述べられているに過ぎない^{2,4,8)}。ここではシロツメグサもヨシも成長した時の条件等が判断できないので、両者が heavy metal hyperaccumulator であるかどうかを判断するだけのデータが無いのでこの問題については触れられない。

植物が吸収した元素は「根」「茎」「葉」のどの部分に集中して蓄積されるかも問題であるが、一般的には「根」に蓄積される量が多いと言われている⁹⁾。本研究でも検出された重金属元素の大部分が根に存在していた。ただし、Mo については、吸収された Mo は「根」よりも「茎」や「葉」により多く集中しているという異なった傾向が見られた。Mo は植物のたんぱく質合成に深く関与しており、また、たんぱく質は主に光合成により葉緑体により合成される。したがって、「根」よりも葉緑体組織が多く存在する「葉」および「茎」に Mo が集中していたと考えられるが、正確な原因についてはさらに考察を要する。

6.2 Zn, Cu, Mn の吸収

シロツメグサとヨシ中の各元素濃度を、過去に研究されている7種類の植物について、土壌中の Zn、Cu、Mn 含有量と植物中の Zn、Cu、Mn 総含有量との比をそれぞれ比較した⁹⁾。条件が異なるので比較の意義は無いであろうが見かけ上、江島によるススキやオオバコ、セイタカアワダチソウなどがどれも土壌中の Mn、Cu、Zn 濃度の5倍から1倍以下程度しか濃集していないのに対して、シロツメグサもヨシもそれらの値を上回る濃度比であった⁹⁾。

シロツメグサおよびヨシ以外の植物の間では、「ススキ」が土壌に対して比較的高濃度で Zn を吸収・蓄積しており、植物中の濃度は土壌中の2.4倍程度であった。しかし、シロツメグサおよびヨシの Zn 濃度は、それぞれ土壌の濃度の7.1倍、2.6倍程度であることから、特にシロツメグサが土壌に対して非常に高濃度で Zn 金属を吸収・蓄積していた。今回の調査場所である七北川河口付近では、塩水楔の発達による重金属元素の濃集が確認されており⁵⁾、土壌に含まれる重金属元素に対応して特定の植物が群生すること⁹⁾から、シロツメグサおよびヨシが高い Zn 金属の吸収能力を備えているとも考えられる。ただし、シロツメグサとヨシの Zn 吸収・蓄積能力に大きな相違が見られるが、これは、重金属元素の吸収および蓄積される量は植物の種類ごとに異なることが要因となっているためであると予想される³⁾⁴⁾。

同様に Cu および Mn についても、他の植物と比べてシロツメグサおよびヨシが、土壌に対して非常に高濃度で Cu や Mn を吸収していた。この現象についても Zn と同様、土壌そのものに元素の濃集があったためであろう。

6.3 土壌中の元素の形態と植物による吸収

土壌中に存在している重金属元素の絶対量が、植物の重金属元素の吸収・蓄積量に影響を与えている要因の一つである²⁾。しかし、それだけでは本調査で認められたことを説明できないため、他にも植物の重金属元素の吸収・蓄積能力に重要な影響を及ぼしている要因があると考えられる。七北田川河口部の土壌中の重金属元素は分別溶解法で、weakly-bound (exchangeable) phase (吸着態) や carbonatic phase (炭酸塩態)、oxidizable phase (酸化物態、硫化物態)、residue (残差) などの様々な形態で存在しており⁵⁾、重金属元素の絶対量以外にも、重金属元素の存在形態が植物の重金属元素の吸収・蓄積に大きく影響を及ぼしていると予想される。以下では、土壌中での Pb 金属の存在形態がシロツメグサおよびヨシの吸収・蓄積能力にどのような影響を与えているのかを検討する。

辻に従って各地点の土壌中の Pb 全量と粘土鉱物への吸着態 (図 8)、と「炭酸塩態」と「酸化物態」(図 9) として存在している Pb の量をそれぞれ示す⁵⁾。同様に、「硫化物態」および「残渣 (強い結合)」(図 10) として存在する Pb 量を示す。土壌中の Pb の絶対量と図 7 に示した植物の Pb 吸収量との間に

良い相関を認めることはできなかったが、粘土鉱物への吸着態として存在している土壤中の Pb の量とシロツメグサ及びヨシによる Pb の吸収量との間にはある程度の正の相関を示す傾向が認められた。土壤中に存在していた Pb の絶対量は、他の地点と比べて相対的に微小であったことから、土壤中の全 Pb 含有量よりも、吸着態である Pb の形態がシロツメグサ及びヨシの Pb 吸収量により影響を与えていると考えられる。各地点に群生しているシロツメグサ及びヨシによる Pb の吸収量と、土壤中の吸着態として含まれている Pb 濃度との相関性を図 11 に示した。これらの図から、粘土鉱物への「吸着態」量が増加するに伴い、シロツメグサもヨシもともに Pb 含有量が増加するという正の相関が見られる。それぞれ相関係数は 0.78、0.85 である。同様の表示を炭酸塩態および酸化物態、硫化物態、残差として存在している Pb の量とシロツメグサ及びヨシによる Pb の吸収量についておこなっても何の相関性も認められない。他方で、吸着態としての Pb 量は、シロツメグサ及びヨシによる Pb の吸収量に強く影響していることが予想される。このことからシロツメグサに吸収され、蓄積される Pb 量は、土壤中 Pb が粘土鉱物に吸着されている状態で存在している量にある程度影響を受けていると考えられる。植物が体内に元素を取り込む際、元素は水に溶けた状態で吸収されるということと関係があると思われる。ヨシの Pb 吸収にもシロツメグサと同様の傾向があると。

比較のため、土壤中の Cu の存在量および存在形態が、Cu の吸収に与える影響を検討する。前述した結果から、地点 D や地点 F に群生しているシロツメグサ中に Cu は多量に吸収されており、逆に地点に群生している植物中にはあまり見られない。一方で、地点 D の土壤中 Cu 濃度は非常に低い。しかし、図 12 に示したようにシロツメグサによる Cu の吸収量と土壤中で吸着態として存在している Cu の量との間にある程度の相関がある。Cu についても Pb と同様、土壤中における Cu の存在量よりも存在形態が、シロツメグサおよびヨシによる Cu の吸収量に影響している可能性があると考えられる。

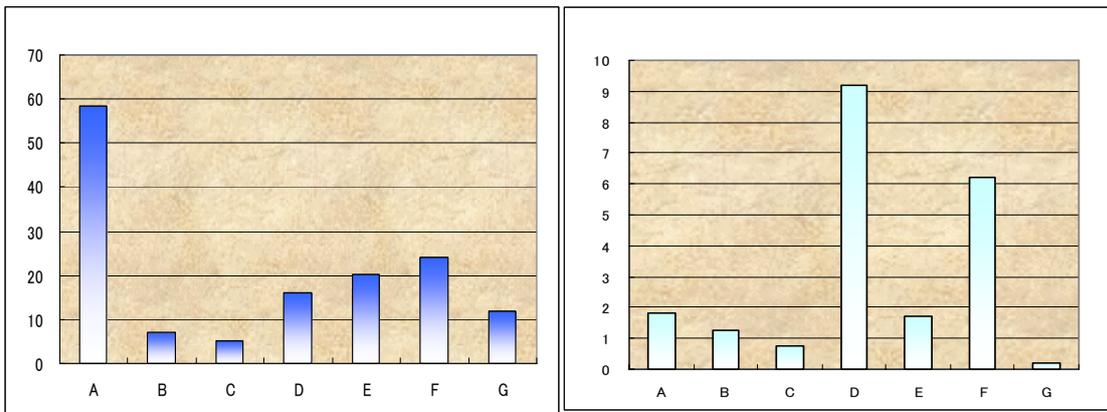


図 8 A-G 地点の全 Pb 量 (左) と吸着態 (右) の Pb 濃度 (ppm) ⁵⁾

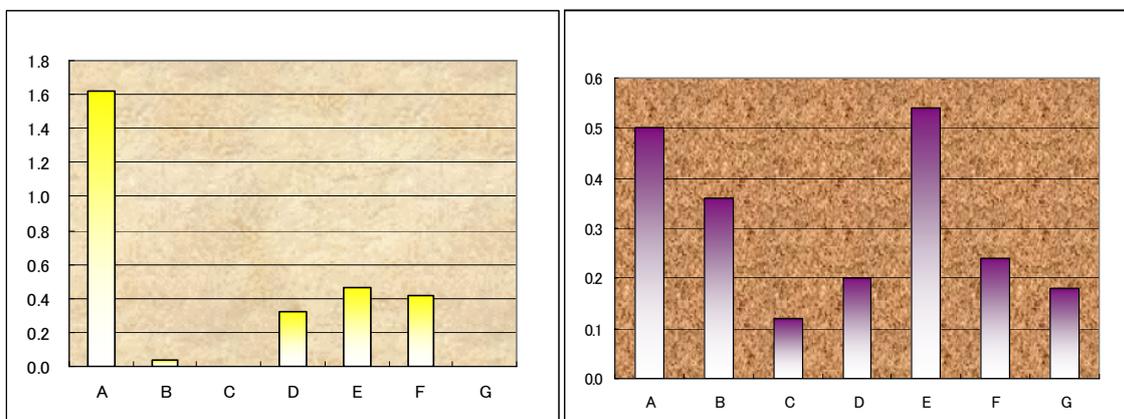


図 9 A-G 地点の炭酸塩態 (左) と酸化物態 (右) の Pb 濃度 (ppm) ⁵⁾

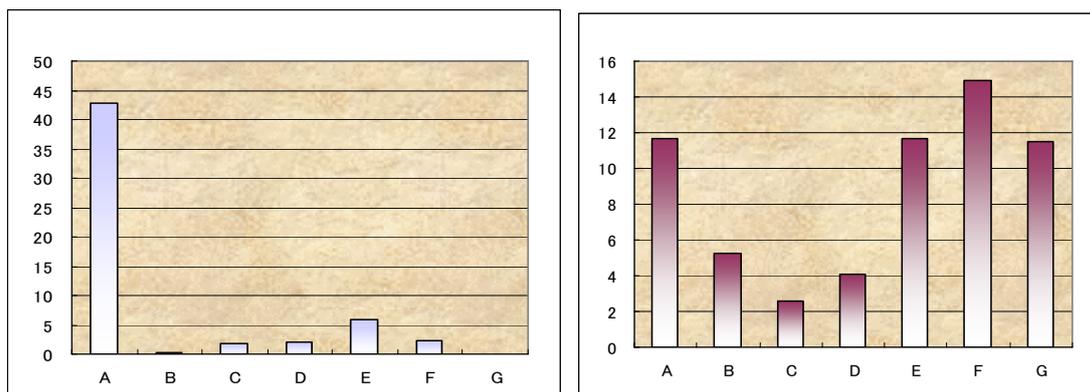


図 10 A-G 地点の硫化塩態 (左) と残差中の (右) の Pb 濃度 (ppm) ⁵⁾

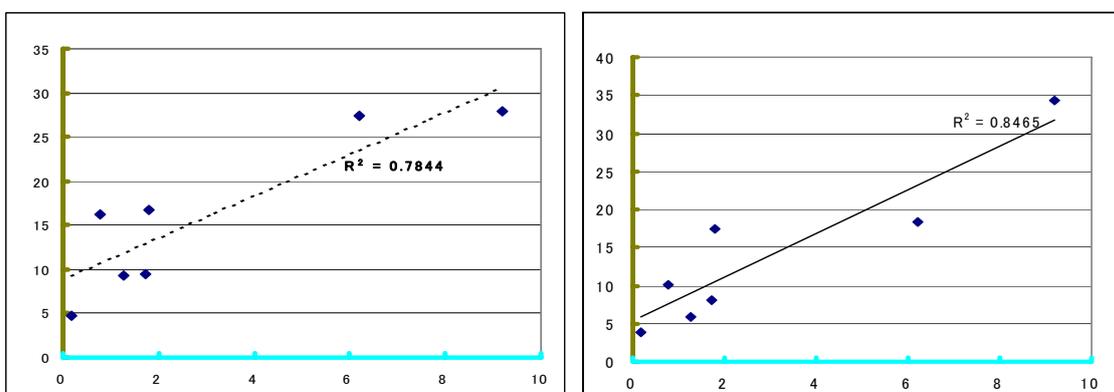


図 11 吸着態としての Pb 量 (縦軸) とシロツメグサ (左) とヨシ (右) の Pb 含有量

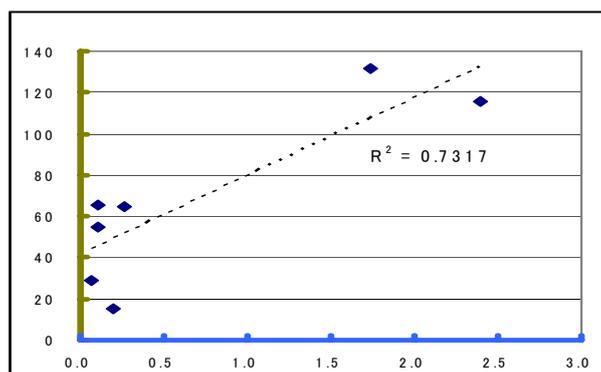


図 12 土壌中の吸着態としての Cu 量 (縦軸) とシロツメグサの Cu 含有量

7 結論

七北田川河口域では土壌中に重金属元素が広く薄く含まれているが ⁵⁾、その地域に群生するシロツメグサ及びヨシは重金属元素をやや多く吸収している。シロツメグサ及びヨシの Zn、Mn、Cu 含有量は土壌中の含有量に対し大きな値であった。しかし Pb の量比は小さく、Pb は吸収されにくいと思われる。植物に吸収された重金属元素は例外はあるものの「根」「茎」「葉」のうち根の部位に最も集中しやすい

ように思える。植物に吸収された各重金属の絶対濃度と、土壌中に存在する重金属の絶対濃度の間には明瞭な相関関係は認められないが、粘土鉱物への吸着態として存在している重金属濃度と植物中に吸収される重金属濃度はわずかな正の相関関係を示していた。したがって、植物が吸収する重金属量は、土壌中に存在する重金属の絶対量よりも、吸着態として存在している重金属濃度を反映している可能性が大きいと予想され、ファイトレメディエーションの研究には重金属元素の化学形態に注目する必要があると考えられる。

謝辞

本調査を進めるにあたり、PIXE 分析について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. I.D.Pulford and C.Watson: Phytoremediation of heavy metal contaminated land by trees—a review, *Environment International*, Volume 29, Issue 4, 529—540, (2003).
2. F. J. Ager, M.D.Ynsaa, J.R.Domínguez-Solisb, C.Gotorb, M.A. Respaldizaa and L.C.Romerob: Cadmium localization and quantification in the plant *Arabidopsis thaliana* using micro-PIXE”, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, 189, 1-4, 494—498, (2002).
3. Singh O.V, Labana S, Pandey G, Budhiraja R, Jain R.K: Phytoremediation: an overview of metallic ion decontamination from soil, *Appl. Microbiol. Biotechnol*, 61, 405—412, (2003)
4. Zuzana Fischerová, Pavel Tlustoš, Jiřina Száková and Kornelie Šichorová: A comparison of phytoremediation capability of selected plant species for given trace elements, *Environmental Pollution*, 144, 93—100 (2005)
5. 辻 律人:七北田川河口域の堆積物に関する環境化学的研究, MS, 東北大卒論 (2005)
6. Sera, K. and S. Futatsugawa,: A few approaches to remove ambiguous factors in X-ray spectrum analysis, *Int. J. PIXE*, 3, 283-294 (1993).
7. Sera, K. and S. Futatsugawa,: Personal computer aided data handling and analysis for PIXE, *Nuel. Instrum. Meth. Phys. Res.*, B.109-110, 99-104, (1996).
8. Baker A.J.M, McGrath S.P, Reeves R.D, Smith J.A.C: Metal hyperaccumulator plants : a review of the ecology and physiology of a biological resource for phytoremediation of metal –polluted soils, In Terry N and Banuelos, G. (Eds): *Phytoremediation of Contaminated Soils and Water*. Lewis Publishers CRC, Boca Raton, 85—107. (2000)
9. 江島 穰: 平成 16 年度 理科教育に関する研究Ⅲ : 土壌中の金属と植生 —土壌中の金属と植物の関係を調べる—, 琵琶湖博物館研究紀要, 第 47 集, 163-174 (2005)

Heavy metal concentrations of clover and reed collected from Nanakita river mouth area, central Miyagi prefecture, Japan and their relationships to heavy metal abundances in the soil

M. Ohtani¹, H. Fujimaki¹ and K. Sera²

¹Department of Earth and Planetary Sciences, Graduate School of Sciences, Tohoku University
6-3 Aoba, Aoba-ku, Sendai, Miyagi 980-8578, Japan

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

Abstract

Heavy metal concentrations (Zn, Cu, Fe, Mn, Mo, Pb) of clover and reed collected from Nanakita river mouth area, central Miyagi prefecture, were measured by PIXE. The heavy metal abundances and their chemical characteristics of the investigated area were previously reported. The purpose of this study is to reveal how much those plants accumulate heavy metals in their bodies and how the chemical characteristics of the heavy metals in the soil have influence on the heavy metal accumulation of the plants. We are also targeting to contribute to phytoremediation that will be dominant method to clean up contaminated soil in near future.

The heavy metals mostly accumulated in the roots of the plants and both stems and leaves have much less heavy metals than their roots. Although total abundances of heavy metals of respective plant depend on the abundances of the heavy metals in the soil, this tendency cannot be recognized in all the samples and elements. Chemical characteristics seem important. According to the previous research, each heavy metal consists of four fractions as follows: absorbed heavy metal to clay mineral (exchangeable phase), easily decomposed heavy metal by weak acid (carbonatic phase), oxidizable heavy metal by oxidizing reagent (oxidizable phase) and heavy metal phase decomposed by strong-acid (residue). The heavy metal abundances of the plant seem to be correlated with the amount of exchangeable phase. In order to precede the study of phytoremediation, the chemical characteristics of the heavy metals could be of vital importance.

Keywords: phytoremediation, heavy metal, PIXE, acid digestion method, adsorption form, clay minerals

沿岸性海草種アマモ *Zostera marina* の幼体による鉛の蓄積

広海十朗¹、高田英士¹、荒 功一¹、世良耕一郎²

¹ 日本大学大学院生物資源科学研究科
252-8510 神奈川県藤沢市亀井野 1866

² 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

海藻や海草に蓄積される重金属類の濃度を測定する研究例は比較的多い。例えば、顕花植物であるコアマモは Co、Fe、Mn、Zn を比較的高濃度に蓄積し、これはこの種が堆積物から直接元素を取込むことに起因する。また、海草は根を経由して堆積物より直接金属類を取込み、葉からは水中の金属イオンを吸収するために重金属汚染の進んだ海域ほど植物体内の濃度が高くなることが分かっている (例えば、Phillips 1977、Villares et al. 2005)。Rigollet et al. (2004) は、アマモ *Zostera* 属の根-地下茎システムが金属吸収ポンプとして機能しているものと推察している。海藻の *Caulerpa taxifolia* や顕花植物の *Posidonia oceanica* は海洋環境におけるバイオモニターとして優れていること(Warnau et al. 1996)、また顕花植物の *Posidonia oceanica* ならびに *Cymodocea nodosa* は、Hg や Zn について草体内と堆積物中の濃度との間に正の相関性のあること、さらには海藻の *Caulerpa prolifera* は上記の2元素に加え Pb についても相関性の見られることを明らかにした(Sanchiz et al. 2000)。以上のように、海藻・海草はともに生息場での重金属の濃度勾配に応じて蓄積していることが想像されるものの、どれほどまでに取込み、蓄積できるのかなど、いわゆる蓄積能に関わる実験的知見は極めて乏しい。

本研究は、海草・海藻をバイオモニターとしてではなく、重金属を除去するファイトリメディエーターとしてその可能性を評価するという視点に立つものである。後述するような理由から、筆者らは本邦沿岸域で最も代表的な海草であるアマモ *Zostera marina* に着目した。本論文では、重金属耐性に低いことが予想される幼体に Pb を暴露し、暴露濃度と蓄積能と関係を把握するとともに本金属に対する耐性について実験的に明らかにすることを目的とした。

2 材料ならびに方法

2.1 アマモの培養

神奈川県葉山町の真名瀬にて 2005 年 6 月に採集したアマモの種子を採集した後、培養に先立ち暗所 20°C で保存した。培養法については山木ほか (2004)の方法に準拠したが簡単に述べると、種子を底質に播種し暗所 10°C で 12 時間淡水処理したものを塩分 22 psu の海水に移して発芽させた。なお、発芽とは上胚軸の出現と定義する。発芽後、およそ 10 本の苗を 1 セットとして植物用ポットに移し、水温 15°C、照度 2000 から 3000 lx、明暗周期 12 時間にて培養した。葉の出現を確認した後は塩分 33 psu、20°C で培養した。暴露実験には 3 枚以上の葉が出たものを使用した。この時点でアマモの根が十分に伸び、円滑に金属を吸収できると見なしたからである。なお、培養中は底質として川砂にバーク堆肥を 30% 混ぜたものを使用した。

2.2 Pb 暴露濃度

実験には硝酸鉛 ($\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$: $\text{Pb} = 1000 \text{ ppm}$)を用いた、上述したアマモ生息場での海水中の平均的な Pb 濃度である 0.05 ppm (広海未発表) を基準として設定された暴露濃度は 0.25、0.5、2.5 および 5 ppm の 4 段階である。実験条件は、OECD 221 のガイドラインに基づき、水温 20°C、照度 2000 から 3000 lx、明暗周期 12 時間で、実験期間は 1 週間とした。

2.3 試料の前処理ならびに Pb 濃度の測定

実験終了後、プラスチック製のピンセットおよびブラシを用いて葉の付着生物を除去したものをテフロン製の蒸発皿に移し、定温乾燥器内で 60 から 70°C、48 時間かけて乾燥させた。その後、プラスチック製のハサミを用いて細かくカットし、デシケータにて保存した。この乾燥試料の酸分解法は阿部ほか (2003) に従った。すなわち、PCTFE 製のマイクロスペーテルを用いて粉末試料を 50 mg 秤量し PFA 製容器に移した。これに濃硝酸 (超微量分析用) を 1 ml と内部標準元素として In 標準液 (1000 mg/l) を試料の乾燥重量に対して 1000 ppm になるように添加した。試料を入れた PFA 容器をポリプロピレン製外装容器に封入し、電子レンジにて 200W に 1 分 50 秒加熱した後、0 W で 10 分間、再び 200 W に 1 分 50 秒加熱し、その後 0 W に 1 時間置いた。プラスチック製ターゲットホルダーに厚さ 4 μm のポリプロピレン製パッキングフィルムを糊で貼付けて、フィルムの両面をアセトンで洗浄したものをサンプルホルダーとした。そこに調整した試料溶液 5 μl を滴下し、クリーンベンチ内で風乾させたものを PIXE 分析に充てた。

3 結果

3.1 海藻・海草類の Pb 濃度に関する既往の知見

本論に先立ち海藻・海草類中の Pb 濃度について既往知見を整理したうえで、Pb のファイトリメディエーターとしてアマモに着目するに至った根拠の一つを以下に示す。表 1 に示されるとおり、アマモなど海草中の蓄積濃度は海藻類に比べ高い傾向が認められる。この中で Ward (1987) のオーストラリアにおける *Posidonia australis* の結果は注目すべきものである。すなわち、Pb を 379 ppm も蓄積しているが、この種が生息する河口の上流部には Pb の製錬所があるという。

表 1 海藻・海草類の Pb 濃度に関する既往の知見

種	学名	Pb	場所	文献
ウミトラノオ	<i>Sargassum thunbergii</i>	1.3	Uchiura bay	Hirao,1986
ホンダワラ	<i>Sargassum fulvellum</i>	0.3	Uchiura bay	Hirao,1986
アズマネジモク	<i>Sargassum yamadae</i>	0.4±0.2	Uchiura bay	Hirao,1986
マメダワラ	<i>Sargassum piluliferum</i>	0.5	Uchiura bay	Hirao,1986
ノコギリモク	<i>Sargassum macrocarpum</i>	0.1	Uchiura bay	Hirao,1986
ワカメ	<i>Undaria pinnatifida</i>	0.4	Uchiura bay	Hirao,1986
アラメ	<i>Eisenia bicyclis</i>	0.2	Uchiura bay	Hirao,1986
カジメ	<i>Ecklonia cava</i>	0.2	Uchiura bay	Hirao,1986
アミジグサ	<i>Dictyota dichotoma</i>	0.4	Uchiura bay	Hirao,1986
アオサ属	<i>Ulva</i>	7.3±6.4	Venice	Caliceti, 2002
オゴノリ科	<i>Gracilaria</i>	6.9±6.2	Venice	Caliceti, 2002
ムカデノリ属	<i>Grateloupia</i>	3.0±2.7	Venice	Caliceti, 2002
アマノリ属	<i>Porphyra</i>	2.7±1.0	Venice	Caliceti, 2002
ワカメ属	<i>Undaria</i>	2.2±2.5	Venice	Caliceti, 2002
ヒバマタ科	<i>Fucus</i>	1.6±0.6	Venice	Caliceti, 2002
ウガノモク科	<i>Cystoseira</i>	3.2±2.0	Venice	Caliceti, 2002
褐藻	<i>Desmarestia menziesii</i>	9.4±7.6	Antarctica	Runcie, 2004
褐藻	<i>Durvillaea antarctica</i>	0.5±0.4	Antarctica	Runcie, 2004
褐藻	<i>Himantothallus grandifolius</i>	6.2±6.3	Antarctica	Runcie, 2004
紅藻	<i>Iridaea mawsonii</i>	4.5±4	Antarctica	Runcie, 2004
紅藻	<i>Iridaea cordata</i>	8.3±4.4	Antarctica	Runcie, 2004
紅藻	<i>Palmaria decipiens</i>	2.3±0.7	Antarctica	Runcie, 2004
緑藻	<i>Monostroma hariotii</i>	21.5±16.3	Antarctica	Runcie, 2004
ケルプ	<i>Ascophyllum nodosum</i>	6.9	Galicia	Villares, 2005
ヒバマタ科	<i>Fucus ceranoides</i>	4.4	Galicia	Villares, 2005
ヒバマタ科	<i>Fucus spiralis</i>	5.7	Galicia	Villares, 2005
アオノリ属	<i>Enteromorpha</i> spp.	10.6	Galicia	Villares, 2005
アオサ属	<i>Ulva</i> spp.	4.6	Galicia	Villares, 2005
アマモ (葉のみ)	<i>Zostera noltii</i>	7.0	Galicia	Villares, 2005
ポジドニア(葉)	<i>Posidonia australis</i>	0.2-379	Australia	Ward, 1987
アマモ(葉)	<i>Zostera marina</i>	2.9-30.4	North Sea	Lyngby, 1989
アマモ(地下茎)	<i>Zostera marina</i>	1.5-5.2	North Sea	Lyngby, 1989
アマモ(根)	<i>Zostera marina</i>	40.6	North Sea	Lyngby, 1989
ポジドニア(葉)	<i>Posidonia oceanica</i>	10.5-123	Antikyra gulf	Malea, 1994
ポジドニア(葉+付着藻類)	<i>Posidonia oceanica</i>	5.96-8.35	Mediterranean	Warnau, 1995
ポジドニア(地下茎)	<i>Posidonia oceanica</i>	10.2-14.5	Mediterranean	Warnau, 1995
ポジドニア(根)	<i>Posidonia oceanica</i>	10.5-15.4	Mediterranean	Warnau, 1995
ポジドニア(葉)	<i>Posidonia oceanica</i>	1.5-31	Mediterranean	Sanchiz, 2000
ポジドニア(地下茎)	<i>Posidonia oceanica</i>	1.5-9	Mediterranean	Sanchiz, 2000
ポジドニア(根)	<i>Posidonia oceanica</i>	4-23	Mediterranean	Sanchiz, 2000
シオニラ(葉)	<i>Cymodocea nodosa</i>	2-126	Mediterranean	Sanchiz, 2000
シオニラ(地下茎)	<i>Cymodocea nodosa</i>	1-10	Mediterranean	Sanchiz, 2000
シオニラ(根)	<i>Cymodocea nodosa</i>	2-40	Mediterranean	Sanchiz, 2000
アマモ(葉)	<i>Zostera noltii</i>	2.5-5	Mediterranean	Sanchiz, 2000
アマモ(地下茎)	<i>Zostera noltii</i>	1.5-3	Mediterranean	Sanchiz, 2000
アマモ(根)	<i>Zostera noltii</i>	7.5-27	Mediterranean	Sanchiz, 2000
カワツルモ(葉)	<i>Ruppia cirrhosa</i>	3-30	Mediterranean	Sanchiz, 2000
カワツルモ(地下茎)	<i>Ruppia cirrhosa</i>	3-12	Mediterranean	Sanchiz, 2000
カワツルモ(根)	<i>Ruppia cirrhosa</i>	13-38	Mediterranean	Sanchiz, 2000
ポジドニア(葉)	<i>Posidonia oceanica</i>	0.7-10	Mediterranean	Campanella, 2001
ポジドニア(地下茎)	<i>Posidonia oceanica</i>	2.8-16.9	Mediterranean	Campanella, 2001
トチカガミ(葉)	<i>Thalassia testudinum</i>	0.8-1.3	Gulf of Mexico	Whelan, 2005
トチカガミ(地下茎-根)	<i>Thalassia testudinum</i>	0.8-1.2	Gulf of Mexico	Whelan, 2005

3. 2 PIXE 測定の精度

測定精度の確認のために標準物質 (Certified Reference Material) に所定の前処理を施した後に PIXE 法にて測定し、回収率を求めた。その結果は表 2 に示すとおりで、誤差は 5%程度であり、PIXE 法は Pb の測定に対し適法であるといえる。

表 2 PIXE 法による Pb 標準物質(ERM-CE278)の回収率

Pb	既知濃度(ppm)	分析濃度(ppm)	回収率(%)	n
	2.00±0.04	2.11±0.24	105.5	7

3. 3 アマモ幼体における Pb 濃度および暴露耐性

対照区で 1 週間培養したアマモの平均濃度は 2.4±2.2 ppm であり、この値は葉山における天然アマモの葉の平均濃度とほぼ同じであった (高田ほか準備中)。実験区における各暴露濃度に対する葉での蓄積濃度との関係は図 1 に示すとおりである。暴露濃度が 2.5 ppm から 5 ppm にかけて 1 週間後の蓄積濃度は指数関数的に上昇することが特徴的なことで、両者の間の関係は以下のような回帰式で表現される。すなわち、

$$AC = 2.107 e^{1.202EC}$$

ここで、AC ならびに EC は、それぞれ葉ならびに暴露した Pb 濃度 (ppm) を示す。

実験終了後および非汚染海水での 1 か月間培養後の葉の目視観察によれば、暴露濃度 5 ppm ではわずかに黒変が認められたものの枯死は確認されなかったことから、アマモの幼体の Pb に対する耐性は高いものと判断される。

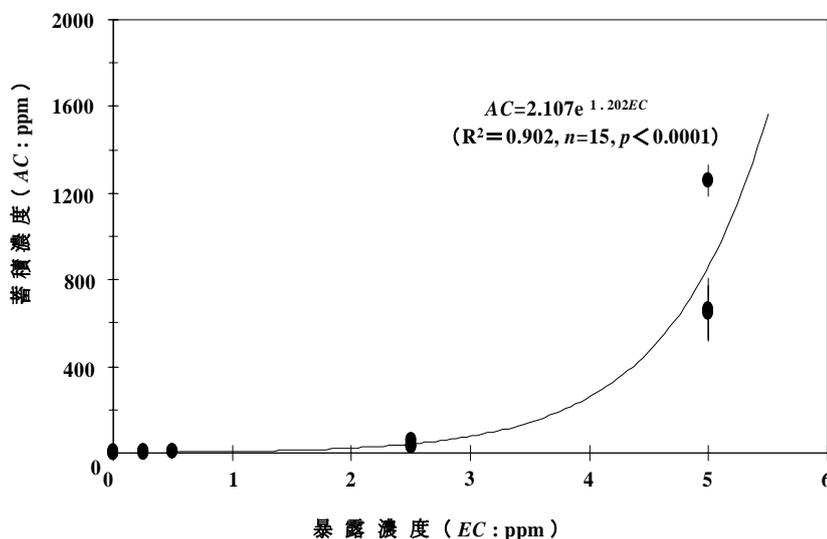


図 1 アマモ幼体における Pb 暴露濃度と草体蓄積濃度との関係

4 考察

本研究で得られた暴露濃度と蓄積濃度との間に見られた指数関数的な関係は、あくまでも暴露濃度が 0 から 5 ppm 間での範囲に限定されるものと見るべきであろう。幼体における暴露濃度と蓄積濃度をともに対数

変換して関係を見てみると図2に示すとおりである。得られた回帰式は次のとおりである。

$$\log AC = 1.61 \log EC + 1.41$$

汚染された海域での海水中のPb濃度は、せいぜい0.1 ppmであるが(平尾ほか1984)、堆積物中の濃度は上限で50 ppm(伊勢湾)、72 ppm(東京湾ならびに大阪湾)であることが知られている(海上保安庁2006)。堆積物中の濃度を考慮すれば、5 ppmを超える暴露濃度での蓄積濃度を調べることは今後必要とある。

Lyngby & Brix (1984)は天然のアマモ *Zostera marina* (平均323 mg d.w)を使ってPb暴露実験を行っている。彼らは、最高50 μM (=10.3 ppm)にて20日間培養して草体の各部位毎(葉、地下茎および根)の蓄積濃度を測定した。これによれば、50 μMに暴露した5日後の葉の蓄積濃度は4 μM/g dw (=800 ppm)であったが、この結果は本研究での5 ppm暴露時の1週間後の蓄積濃度とほぼ同様である。彼らの結果に基づいて、各暴露濃度と1週間後の蓄積濃度を図から読み取って両者の関係を図2上でプロットしてみると直線性が認められる。Lyngby & Brix(1984)の回帰式は、以下のとおりである。

$$\log AC = 0.92 \log EC + 2.45$$

両回帰式の傾きならびに切片の高さを比較すれば、本研究結果のものの方が傾きは高いが切片は低い、これは本研究で用いたアマモの方がより若く、より成長していたことによるものであろう。また、両回帰直線は暴露濃度が約10 ppmでともに蓄積濃度が1000 ppmに一致するように見える、すなわち、1000 ppmでほぼ飽和しているものと思われるが、幼体に対する暴露追加実験を今後行い、この点を確認する必要がある。

アマモをファイトリメディエーターとして将来利用するためには、1) 本種の種子(花枝)の形成や、その発芽も含めた全生活史について重金属耐性を把握し、2) 種苗生産や移植技術の開発が必要となる。1)については既に述べたように、検討すべき課題は多く残されているが、高い蓄積能と耐性能を持っている可能性が示唆された。一方、2)について移植技術の確立までは近い(例えば、山木ほか2006)。

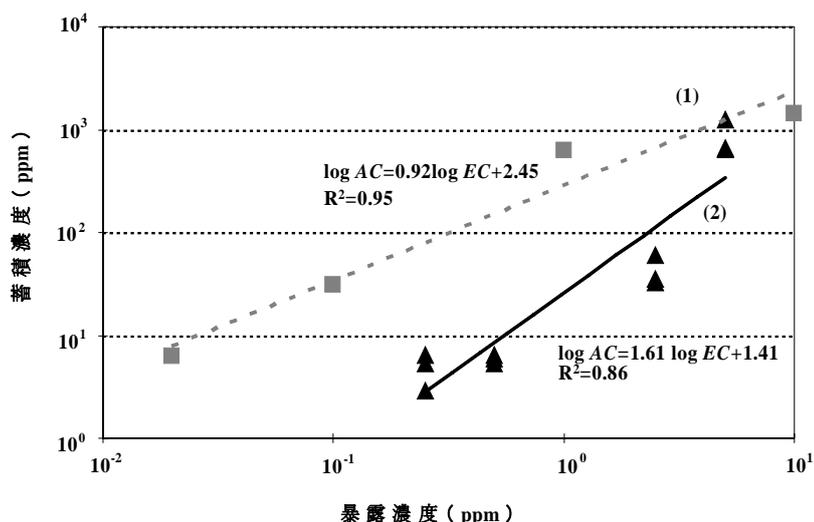


図2 アマモ草体(葉)へのPb暴露濃度と蓄積濃度との関係

(1)式はLyngby & Brix(1984)の結果に基づき得られた回帰式。(2)式は本研究結果の図1を書き換えたもの。

稿を終えるにあたり、アマモの採集や飼育に際し貴重なアドバイスを賜った鹿島建設(株)葉山水域環境研究室の山木克則氏、越川義功氏、林文慶博士および中村華子氏に対し深謝したい。また、アマモの試料の採取を許可して頂いた真名瀬漁協の皆様方に謝意を表す。

引用文献

- 阿部尚人, 須藤重人, 世良耕一郎, 斉藤義弘, 吉田尚弘, 工藤孝浩 (2003) : 海藻に濃縮される微量元素の PIXE 分析. NMCC 共同利用研究成果報文集 2003, 70-77.
- Caliceti, M., E. Argeese, A. Sfriso, B. Pavoni (2002) : Heavy metal contamination in the seaweeds of the Venice lagoon. *Chemosphere* 47, 443-454.
- 平尾良光, 越川雅之, 本田美幸, 島 一男, 草津敬子, 福田悦子, 木村 幹 (1984) 多摩川における鉛分布 地球化学 18, 1-13.
- 平尾良光, 山川紘, 前田勝, 松本哲一, 奈良志伸, 花見英俊, 薦田康夫, 木村幹 (1986) : 海藻における鉛の分布. 地球化学 20, 29-38.
- 海上保安庁海洋情報部 (2006) : 海洋汚染調査報告第 32 号, pp7-9, 16-19.
- Lyngby, J. E., H. Brix (1984) : The uptake of heavy metals in eelgrass *Zostera marina* and their effect on growth. *Ecological Bulletins* 36, 81-89.
- Malea, P., S. Haritonidis, T. Kevrekidis (1994) : Seasonal and local variations of the metal concentrations in the seagrass *Posidonia oceanica* (L.) Delile in the Antikyra Gulf, Greece. *The Science of the Total Environment* 153, 225-235.
- OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development) (2002) : Revised proposal for a new guideline 221 *Lemna* sp. Inhibition Test. Organisation for Economic Co-operation and Development, Draft Guideline 221.
- Phillips, D. (1977) The use of biological indicator organisms to monitor trace metal pollution in marine and estuarine environments- a review. *Environmental Pollution* 13, 281-317.
- Rigollet, V., A. Sfriso, A. Marcomini and M. L. De Casabianca (2004) : Seasonal evolution of heavy metal concentrations in the surface sediments of two Mediterranean *Zostera marina* L. beds at Thau lagoon (France) and Venice lagoon (Italy). *Bioresource Technology* 95, 159-167.
- Runcie, J. W. and M. J. Riddle (2004) : Metal concentrations in macroalgae from East Antarctica. *Marine Pollution Bulletin* 49, 1109-1126.
- Sanchiz, C., A. M. Garcia-Carrascosa and A. Postor (1999) : Bioaccumulation of Hg, Cd, Pb, and Zn in four marine phanerogams and alga *Caulerpa prolifera* (Forsskal) Lamouroux from the east coast of Spain. *Botanica Marina* 42, 157-164.
- Sanchiz, C., A. M. Garcia-Carrascosa and A. Postor (2000) : Heavy metal contents in soft-bottom marine macrophytes and sediment along the Mediterranean coast of Spain. *Marine Ecology* 21, 1-16.

- Villares, R., E. Carral, X. Puente and A. Carballeira (2005) : Metal levels in estuarine macrophytes : differences among species. *Estuaries* 28. 6, 948-956.
- Ward, T. J. (1987) : Temporal variation of metals the seagrass *Posidonia australis* and its potential as a sentinel accumulator near a lead smelter. *Marine Biology* 95, 315-321.
- Warnau, M., G. Ledent, A. Temara, J. M. Bouquegneau, M. Jangoux and P. Dubois (1995) : Heavy metals in *Posidonia oceanica* and *Paracentrotus lividus* from seagrass beds of the north-western Mediterranean. *The science of the Total Environment* 171, 95-99.
- Whelan III, T., J. Espinoza, X. Villarreal, M. CottaGoma (2005) : Trace metal partitioning in *Thalassia testudinum* and sediment in the Lower Laguna Madre, Texas. *Environment International* 31, 15-24.
- 山木克則, 小河久朗, 難波信由, 林文慶, 越川義功, 田中昌宏 (2004) : アマモ場造成に向けた新しい種苗生産技術. 月刊海洋 36(11), 846-850.
- 山木克則, 新保裕美, 田中昌宏, 三富龍一, 小河久朗 (2006) : アマモ場拡大の実態把握と種苗移植による新規群落形成の試み. 海岸工学論文集 53, 1006-111.

Bioaccumulation of lead in young leaves of eelgrass *Zostera marina* L.

J. Hiromi¹, E. Takada¹, K. Ara¹ and K. Sera²

¹Graduate School of Biorresource Sciences, Nihon University
1688 Kameino, Fujisawa, Kanagawa 252-8510, Japan

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

Abstract

To evaluate the possibility of the eelgrass *Zostera marina* as a phyoremediator for a metal pollution of lead (Pb) in neritic environments, bioaccumulation by young leaves of the eelgrass was studied laboratory experiments. Eelgrass plants were incubated up to 7 days in 0.25, 0.5, 2.5 and 5 ppm-seawater concentrations of Pb. The concentrations of the metal in young leaves were 4.9 ± 2.9 , 5.9 ± 2.8 , 39.6 ± 20.3 and 786.6 ± 282 ppm at the respective exposed concentrations. This result shows that young leaves accumulate the metal exponentially from 2.5 to 5 ppm. The relationship between the metal accumulation (AC) at 7 days after the initial exposure and exposed concentration (EC) was described as $\log AC = 1.61 \log EC + 1.41$. The present result was compared with the previous study on the accumulation of Pb in the same eelgrass, and it was revealed that the expected AC at the EC of 10 ppm was similar to the previous study. No significant effects on the growth of eelgrass were observed in all experiments.

PIXE 法による宇宙塵、マンガンノジュールの微量元素分析

関本 俊、長田直之、曹 順美、高宮幸一、沖 雄一、柴田誠一

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 丁目 1010

1 はじめに

深海底堆積物中には、直径数十から数百マイクロメートルの球状の物質で磁性をもつ、磁性球粒と呼ばれる試料が存在することが知られており、それらの中には地球外起源の試料が存在することが、チャレンジャー号の報告に記されている¹⁾。これらの磁性球粒試料においては、その化学組成や鉱物組成を、隕石試料中のこれらの組成と比較することにより、試料の起源について研究が行われてきた²⁻⁴⁾。球粒試料の化学組成の分析には、機器中性子放射化分析(INAA)が用いられ、この分析法において非常に高感度である親鉄元素、特に、試料中のイリジウムの含有量を調べることにより、地球外起源をもつと考えられる試料である宇宙球粒の選別が行われてきた^{5,6)}。これまでの研究では、多くの宇宙球粒の化学組成が明らかにされているが、それらの化学組成の観点からは、球粒試料を地球外起源物質であると判定する基準について、また宇宙球粒の前駆物質や生成機構について、十分に説明されていない。

太陽系形成以来、地球は多くの変成作用を経ており、地球物質中には太陽系形成初期の状態を知る手がかりは、すでに失われている。しかし、隕石に代表される地球外起源物質の中には、太陽系形成以来、変成作用をほとんど受けず初期の状態を保持していると推定されるものが存在し、それらは太陽系形成初期の状態を探る上で貴重な試料となっている。このような地球外起源物質のひとつである宇宙球粒試料について、その前駆物質や生成機構をより詳細に考察することは、地球が形成された太陽系初期、またはその後の地球の変成時における出来事について新たな知見を得ることにつながると期待される。

これまでに、我々のグループでは、ハワイ沖の水深約 5800 m の深海底堆積物から選別した 200 個を超える磁性球粒試料について、京都大学原子炉実験所の研究炉(KUR)において INAA を行い、試料中の鉄、コバルト、ニッケル、イリジウム、スカンジウム、クロム、マンガンを中心に定量を行った。それらの定量結果に基づいて、まず本研究で用いた INAA における各元素の検出限界値を示し、KUR を用いた INAA により宇宙球粒試料の分析が十分に可能であることを確認した。各試料におけるイリジウム、ニッケルの含有量及び、本研究で新たに提案した、鉄とコバルトの含有量に関する試料の起源の判定基準に基づいて、178 個の磁性球粒試料を地球外起源と判定した。次に、地球外起源と判定した試料中のマンガンやスカンジウムの含有量と、コンドライト質隕石や鉄隕石中の両元素の濃度を比較した結果、本研究で分析を行った宇宙球粒試料の前駆物質は、コンドライト質隕石であるとする、実験結果を矛盾なく説明できることを示した。さらに、地球外起源と判定した磁性球粒試料についてのニッケル-イリジウム、ニッケル-コバルト相関において、

これらの3元素が、金属相とケイ酸塩相との間、及び固体金属と熔融金属との間でどのように分別するかを示しながら、前駆物質と考えられるコンドライト質隕石からの、試料の生成機構について提案した。またイリジウムを定量できた試料においては、分析を行った各元素のCIコンドライトで規格化した存在度が、元素間で異なる試料と、少数ではあるが、ほぼ一定の試料があることが見いだされた。特に前者の試料の元素存在度は、各元素の凝縮温度に基づいた各元素の凝縮過程に影響されていると考えられ、後者の試料とは異なる生成機構をもつことが示唆された。以上が、磁性球粒試料のINAAにより、これまでに得られた成果である。

そこで本研究では、磁性球粒試料の起源の判定基準や、試料の前駆物質や生成機構について、より詳細に議論することを目指し、PIXE法を用いて、特にINAAでは定量できなかった元素を中心に分析を行うことを試みた。また我々のグループでは、マンガンノジュールについても、その表面からの深さの関数として元素含有量を測定し、同時にBe-10やAl-26などの長寿命核種を同様に深さの関数として加速器質量分析法で測定することにより、得られた結果からその相関を調べ、ノジュールの生成機構、成長年代について考察することを計画している。今回はその予備的な検討として、PIXE法を用いて、深海底堆積物から得られるマイクロマンガンノジュールの元素分析を試みた。本報告では、これらの試料について、これまでに得られた予備的な元素分析結果について述べる。

2 PIXE法による分析結果

2.1 磁性球粒試料

今回分析を行った磁性球粒試料は、ハワイ沖の水深約5800mでドレッジされた堆積物をふるいにかけ、90~300µmの成分を選別後、電磁石で磁性成分を採取し、顕微鏡を用いて球状であることを確認した3試料である。これらをPIXE法により分析した結果をTable 1に示す。PIXE法を用いることにより、これまでに行ってきたINAA⁷⁾でも定量が可能であったマンガンと鉄以外の13元素においても分析可能であることがわかった。今後、より多くの試料の分析を行い、また従来のINAAでは定量することが困難なケイ素、硫黄、鉛の定量値にも注目することにより、磁性球粒試料の起源の新たな判定基準の提案や、試料の前駆物質や生成機構の検証を行っていくことを考えている。

Table 1. Measured contents of individual spherules in µg·g⁻¹, unless otherwise noted

	Ye1	613	D9
Weight (µg)	20.8	10.2	11.2
Na	245 ± 91	-	-
Mg	-	701 ± 282	-
Si	177 ± 39	515 ± 188	808 ± 90
S	91 ± 26	1043 ± 142	401 ± 59
Cl	110 ± 27	425 ± 140	262 ± 53
Ca	451 ± 119	3427 ± 459	543 ± 47
V	-	-	270 ± 85
Mn	208 ± 32	378 ± 89	466 ± 87
Fe (%)	6.1 ± 0.2 %	9.5 ± 0.3 %	12.6 ± 0.4 %
Cu	-	21 ± 10	-
Zn	7 ± 2	49 ± 9	10 ± 4
Rb	-	-	55 ± 21
Mo	17 ± 5	-	-
Hg	-	-	24 ± 10
Pb	37 ± 8	82 ± 20	128 ± 14

-: not determined

2.2 マイクロマンガンノジュール

今回分析を行ったマイクロマンガンノジュールは、深海底堆積物から磁性球粒試料を選別した際に得られた5試料であり、これらをPIXE法により分析した結果をTable 2に示す。これらと同様の試料において、INAAにより予備的に分析を行った際に定量できたスカンジウム、マンガン、鉄、コバルト、ニッケル以外の17元

素について、PIXE 法により定量が可能であることが確認できた。今後、より多くの試料の分析を行い、元素の定量値のデータを蓄積することにより、ノジュールの生成機構、成長年代について考察することを考えている。

Table 2. Measured contents of individual micro-manganese nodules in $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, unless otherwise noted

	N06	NYE7	NYE9	NYE8	MY-1
Weight (μg)	15.0	15.5	21.1	16.5	11.7
Na	-	1561 \pm 451	476 \pm 209	-	4492 \pm 521
Mg	-	766 \pm 317	-	2571 \pm 885	2506 \pm 650
Al	731 \pm 356	1028 \pm 264	1242 \pm 145	3970 \pm 723	1627 \pm 285
Si	3184 \pm 320	4234 \pm 270	5935 \pm 243	1.2 \pm 0.1*	8156 \pm 374
S	1361 \pm 218	849 \pm 146	180 \pm 72	-	715 \pm 149
Cl	910 \pm 211	364 \pm 128	180 \pm 65	5198 \pm 410	1033 \pm 169
K	1506 \pm 172	1167 \pm 118	831 \pm 69	2565 \pm 334	1914 \pm 160
Ca	5126 \pm 252	2040 \pm 160	1325 \pm 113	5940 \pm 370	4529 \pm 226
Sc	631 \pm 288	-	-	-	-
Ti	411 \pm 74	342 \pm 62	1742 \pm 76	1062 \pm 134	2158 \pm 164
V	116 \pm 44	141 \pm 37	194 \pm 31	337 \pm 78	-
Mn (%)	13.4 \pm 0.4	2.6 \pm 0.1	3.1 \pm 0.1	17.4 \pm 0.5	9.9 \pm 0.3
Fe (%)	1.7 \pm 0.1	4845 \pm 168**	2.9 \pm 0.1	2.0 \pm 0.1	3.3 \pm 0.1
Co	514 \pm 140	269 \pm 76	604 \pm 115	1335 \pm 266	520 \pm 84
Ni	2141 \pm 144	1576 \pm 97	483 \pm 49	6176 \pm 345	1361 \pm 72
Cu	4156 \pm 210	1239 \pm 74	702 \pm 53	6284 \pm 320	1462 \pm 65
Zn	873 \pm 62	278 \pm 24	233 \pm 22	1632 \pm 108	366 \pm 23
Br	-	-	-	-	22 \pm 7
Sr	101 \pm 26	-	104 \pm 16	146 \pm 36	172 \pm 18
Zr	-	-	102 \pm 23	101 \pm 48	-
Mo	149 \pm 43	-	74 \pm 20	227 \pm 65	276 \pm 31
Pb	1132 \pm 115	186 \pm 34	906 \pm 78	722 \pm 110	271 \pm 38

*%, ** $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, -: not determined

3 まとめと今後

ハワイ沖の深海底堆積物中から選別した磁性球粒試料及びマイクロマンガンノジュールにおける、PIXE 法を用いた予備的な元素分析結果について報告した。今後、磁性球粒試料においては、PIXE による分析をすすめて、これまでに INAA により得られた分析結果とあわせて、試料に関する宇宙化学的な考察を行う予定である。

参考文献

- (1) Murray, J. and Renard, A. F. Report Scientific Result Voyage H. M. S. Challenger. **3**, Neill and Co. (1891)
- (2) Smales, A. A., Mapper, D. and Wood, A. J. *Geochim. Cosmochim. Acta* **13**, 123-126, (1958)
- (3) Millard, Jr., H. T. and Finkelman, R. B. *J. Geophys. Res.* **75**, 2125-2134, (1970)

- (4) Blanchard, M. B., Brownlee, D. E., Bunch, T. E., Hodge, P. W. and Kyte, F. T. *Earth Planet. Sci. Lett.* **46**, 178-190, (1980)
- (5) Nogami, K., Shimamura, T., Tazawa, Y. and Yamakoshi, K. *Geochem. J.* **14**, 11-18, (1980)
- (6) Kobayashi, T. and Ebihara, M. *Chikyukagaku (Geochemistry)* **32**, 233-241, (1998)
- (7) Sekimoto, S., Kobayashi, T., Takamiya, K., Ebihara, M. and Shibata, S. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* **272**, 447-450, (2007)

PIXE analysis of trace elements in cosmic dust and manganese nodule

S. Sekimoto, N. Osada, S. Cho, K. Takamiya, Y. Oki and S Shibata

Research Reactor Institute, Kyoto University
2-1010 Asashiro-nishi, Kumatori, Sennan, Osaka 590-0494, Japan

Abstract

Chemical compositions of spherule samples separated from deep sea sediment dredged off Hawaii island were measured by instrumental neutron activation analysis (INAA) using Kyoto University Reactor (KUR). From their chemical compositions, the origin of spherules was judged to be extraterrestrial or not. Additionally, the formation mechanism of the extraterrestrial spherules was investigated on the basis of their chemical compositions. In this work, PIXE analysis of trace elements in spherule samples was attempted to propose the criteria for judging the origin of spherules and to discuss formation mechanism of them in further detail.

Micro manganese nodule samples which were able to be obtained from deep sea sediment were preliminarily analyzed by PIXE. Based on the PIXE results and the contents of cosmogenic nuclides in those nodule samples, it is suggested that formation mechanism and growth rate of those nodule samples can be investigated.

長崎県福江島と沖縄県辺戸岬における大気エアロゾル中微量元素の特徴

鶴田治雄¹、須藤重人²、米村正一郎²、菊地信行³、片桐秀一郎⁴
白砂裕一郎⁵、平野耕一郎⁵、世良耕一郎⁶、斉藤義弘⁷、二ツ川章二⁸
高村民雄⁹、早坂忠裕¹⁰、中島映至¹

¹ 東京大学気候システム研究センター
277-8568 千葉県柏市柏の葉 5-1-5

² 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

³ 独立行政法人国立環境研究所
305-8506 茨城県つくば市小野川 16-2

⁴ 宇宙航空研究開発機構 地球観測研究センター
305-8505 茨城県つくば市千現 2-1-1

⁵ 横浜市環境科学研究所
235-0012 横浜市磯子区滝頭 1-2-15

⁶ 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

⁷ (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

⁸ (社)日本アイソトープ協会アイソトープ部
113-8941 東京都文京区本駒込 2-28-45

⁹ 千葉大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

¹⁰ 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

2006年3月～4月に、国立環境研究所と総合地球環境学研究所が東アジアで実施した大気集中観測の一環として、長崎県福江島と沖縄県辺戸岬で、両地点(約650km南北に位置している)での大気エアロゾルの化学特性を明らかにすることを目的として、観測を行ったので、その概要を報告する¹⁾。

2 測定方法

2.1 エアロゾル測定

(1) 測定地点：長崎県福江島の大気環境観測施設（総合地球環境学研究所所属）と沖縄県辺戸岬の大気・エアロゾル観測ステーション（国立環境研究所所属）で、2地点間の直線距離は約650kmである(32.75N, 128.68E; 26.87N, 128.25N)。

(2) 測定期間：2006年3月13日-3月22日および4月4日-4月12日

(3) 測定項目：大気エアロゾル：エアロゾル試料を外気から直接インパクター法 MCI 採取装置により連続的に採取した。4段のMCIインパクターで粒径別($d < 1.0\mu\text{m}$, $1.0 < d < 2.5\mu\text{m}$, $2.5 < d < 10\mu\text{m}$, $10\mu\text{m} < d$)に半日あるいは1日毎に、フッ素樹脂処理ガラス繊維フィルター、石英繊維およびポリカーボネートフィルター上に採取し、質量濃度とともに、元素炭素(EC)と有機炭素(OC)をOC/EC炭素分析計(Thermal/optical(Improved)法)、水溶性イオンをIC、微量元素をPIXEで分析した。

2.2 大気塊の輸送経路

NOAA-HYSPLIT モデルによる後方流跡線解析結果を利用した。

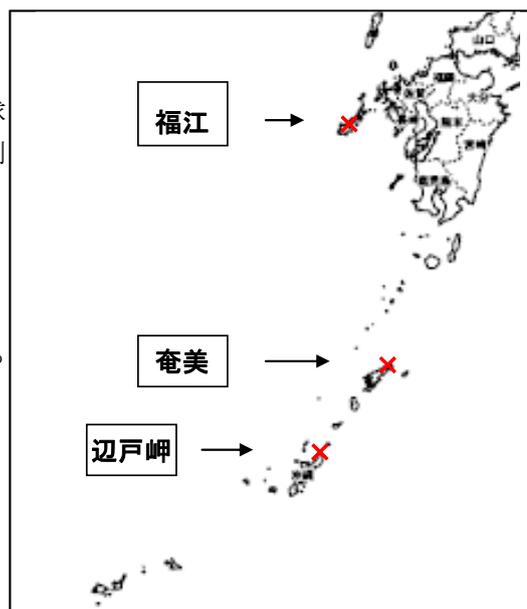


図1 3観測地点(福江、奄美、辺戸岬)の位置

3 結果

3.1 気象と黄砂の状況

3月13日から冬型の気圧配置となり、3月16日と18日に低気圧が日本列島を通過し、その後は移動性高気圧に覆われた。なお黄砂は気象庁での観測²⁾によれば、3月19日に西日本では、九州から那覇および宮古島まで広範囲に観測され(福江では観測されず)、それ以前の3月17日と18日でも、奄美大島の名瀬では観測された。また4月3日に冬型の気圧配置となったが、4日に移動性高気圧が広く日本列島をおおい、6日にはふたたび、冬型の気圧配置となった。4月8日から9日にかけては、移動性高気圧に覆われ、西日本から関東地方および東北地方の一部にかけて黄砂が広域に観測された。

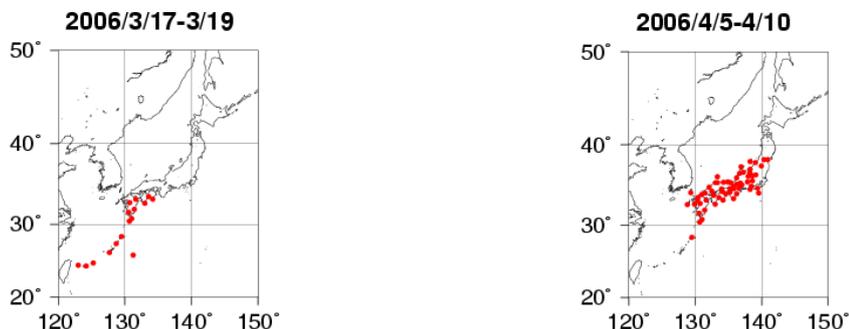


図2 2006年3月17日-3月19日(左図)と4月5日-4月9日(右図)に日本で黄砂を観測した地点³⁾(福江では4月8日だけ観測され、両日とも、名瀬では観測されたが那覇では観測されなかった)。なお、4月4日は福岡と佐賀で、4月5-7日は熊本だけで観測された。

3.2 質量濃度

図3に示すように、3月の観測期間中の質量濃度は微小粒子および粗大粒子ともに、福江よりも辺戸

のほうが高かった。辺戸でのBC濃度の連続測定によれば、3月14日の午後から3月19日の午前中まで $0.4\mu\text{g m}^{-3}$ 以上と高く、後方流跡線解析によれば、大気塊は中国東部から輸送されていた。

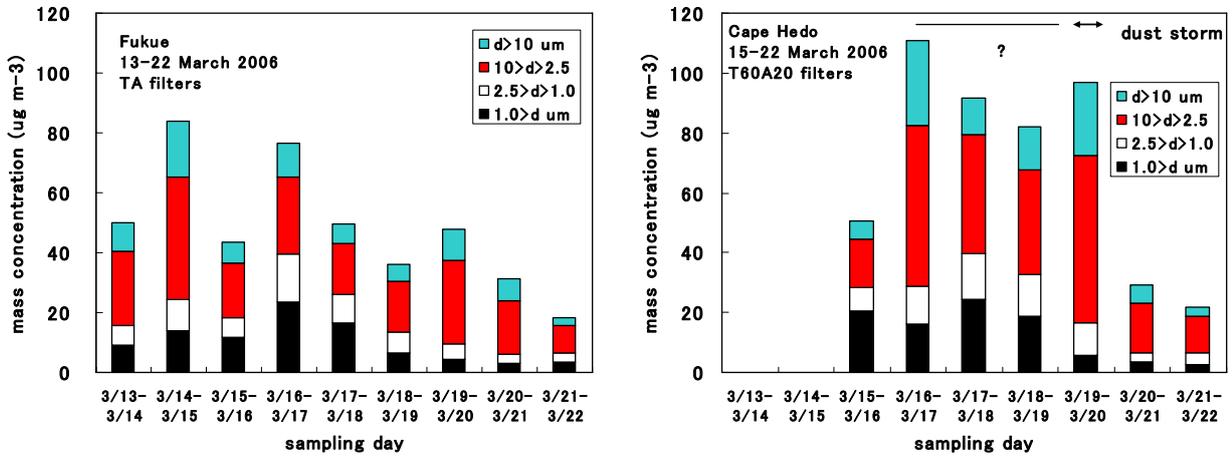


図3 福江(左)と辺戸(右)の大気エアロゾルの粒径別質量濃度(2006年3月13日-3月22日)

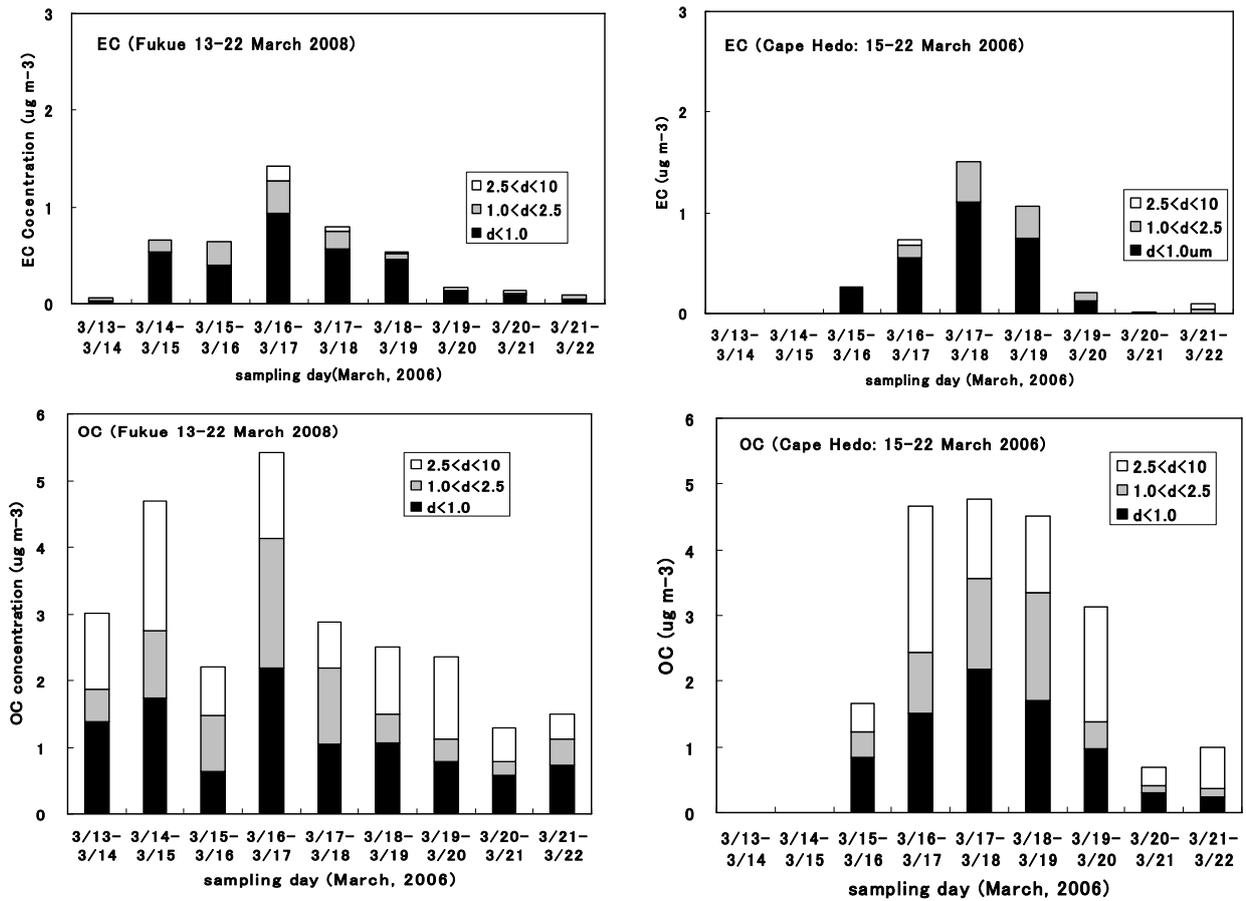


図4 福江(左)と辺戸(右)のEC(上段)とOC(下段)の粒径別濃度(2006年3月13日-3月22日)

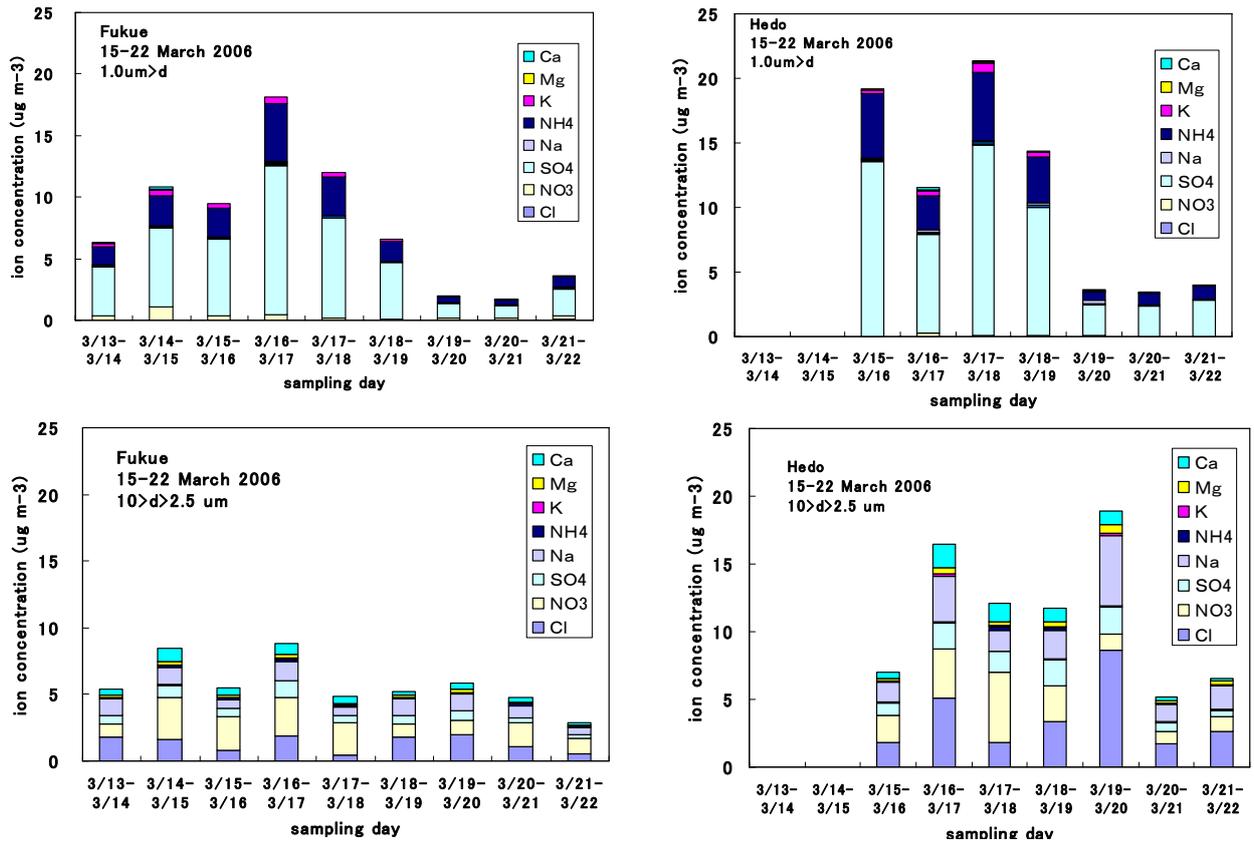


図5 福江(左)と辺戸(右)の微小(上)と粗大粒子(下)中の主な水溶性イオン濃度(3月13日-3月22日)

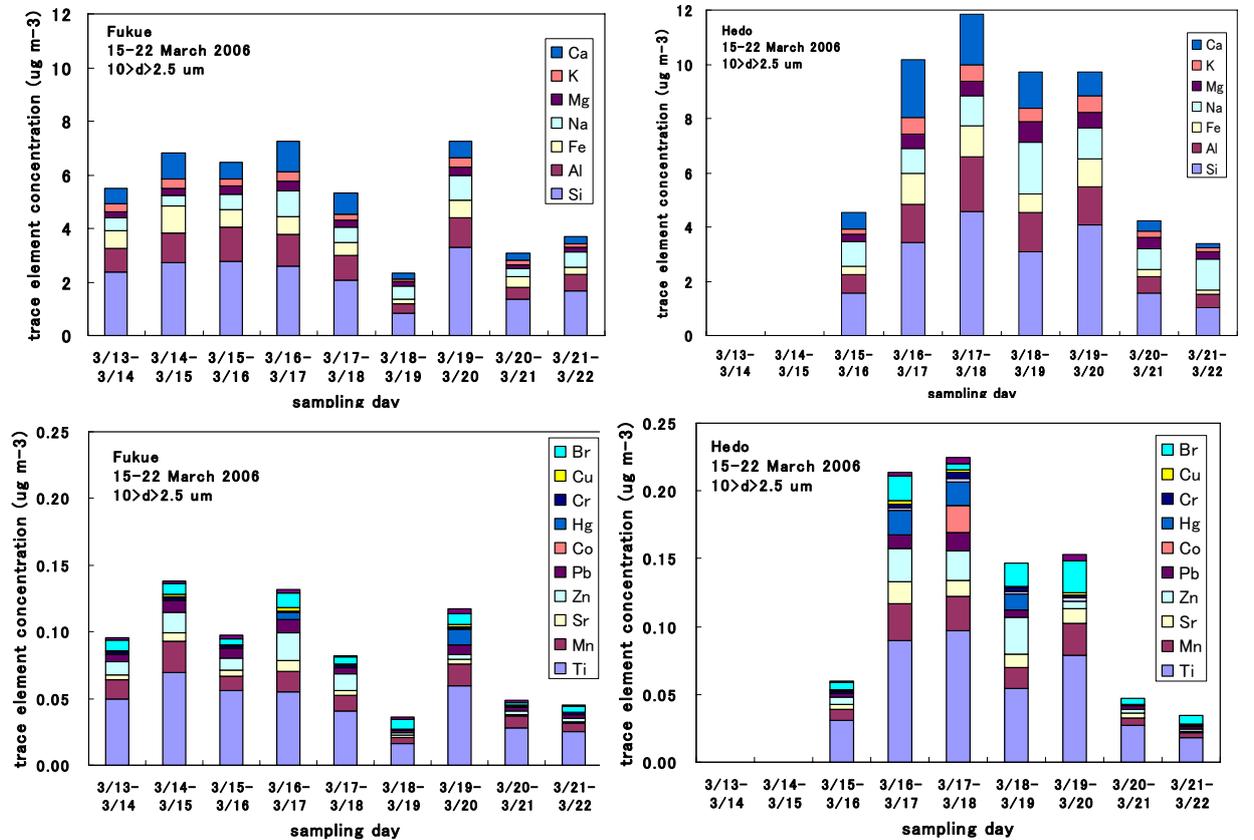


図6 福江(左)と辺戸(右)の粗大粒子中の微量元素濃度:Si-Ca(上)、Ti-Br(下)(3月13日-3月22日)

3.3 化学成分濃度

ここでは3月の結果を主に述べる。

- (1) この期間の大気エアロゾル濃度は、辺戸のほうが福江よりも、特に粗大粒子 ($d > 2.5 \mu\text{m}$) が高かった(図3)。これは、後述するように、海塩粒子と土壌粒子が多かったためである。
- (2) 2地点とも、ECは微小粒子(粒径 $2.5 \mu\text{m}$ 以下)の中に全体の94%以上が存在したが、OCは、粗大粒子中に全体の35%(福江), 38%(辺戸)が存在していた(図4)。
- (3) 微小粒子中の水溶性イオンの90%以上は、2地点とも $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ であった(図5)。
- (4) 粗大粒子中の水溶性イオンのほとんどは、2地点とも NO_3^- と海塩粒子であり、辺戸のほうが福江よりも2倍だった(図5)。
- (5) おもに土壌粒子に由来する微量元素の濃度も、辺戸のほうが福江よりも高かった(図6)。

4 考察

4.1 ECと SO_4^{2-} の関係

微小粒子中のECと SO_4^{2-} 濃度は、2地点とも正の強い相関があり、有意差は見られなかった(図7)。また、回帰直線の傾きはほぼ0.10であり、奄美大島での2001年と2003年の春季の値(0.12)⁴⁾と大きな差は見られなかった。これらから、これらの回帰係数は、春季の南西諸島で観測される中国からの汚染気塊中での平均的な値と推定される。

4.2 海洋生物起源のOCの可能性

前述したように、福江や辺戸でのOC濃度は、粗大粒子中に占める割合が全体の約1/3と大きかった(図8)。タイのピマイにおける大気エアロゾルの測定結果⁵⁾によれば、乾期の全粒子中のOC濃度に占める粗大粒子中の割合は約20%と、今回の測定結果よりずっと小さかった。この原因として、化石燃料の燃焼で直接排出された有機エアロゾル、およびガス状の有機物が粗大粒子中に取り込まれるだけでなく、海洋起源の直接・間接の有機エアロゾルの可能性が考えられる。粗大粒子中のOC濃度とCl⁻濃度、およびCl⁻濃度と全Br濃度との間には正の相関があり(図9、図10)、これらは海塩粒子中にOCが取り込まれている可能性を示している。また、この時期の海洋表面は、クロロフィルa濃度の分布(図11)⁶⁾にみられるように、春季の微生物活動で高くなっており、有機物生産が増大している時期なので、その海水飛沫中の海洋生物起源の有機物濃度も高くなると推測される。またこの海域での海洋上のガス状の CH_3Br 濃度は、2000年12月は約20pptだったが、2001年4月は50-200pptと高くなり、緯度が低いほど濃度は高かった⁷⁾。これは、海水温は緯度が低くなるにつれて高くなるので、春季の海洋表面の生物活動の高まりを示唆している。この推測はあくまで仮説であるが、海塩粒子の影響の少ないタイのピマイでは、OC濃度の割合が福江や辺戸よりもずっと小さいので、今後の詳細な調査研究が必要である。

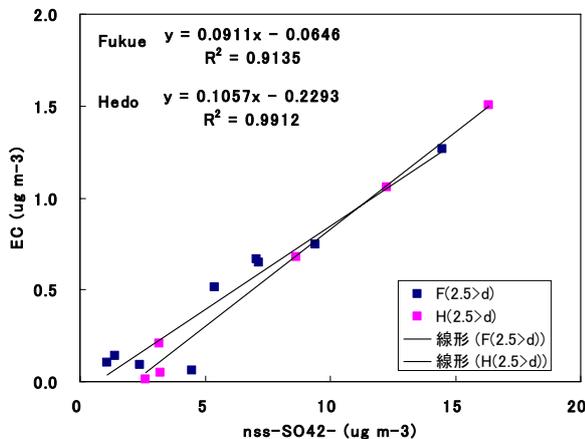


図7 微小粒子中のECと SO_4^{2-} の散布図

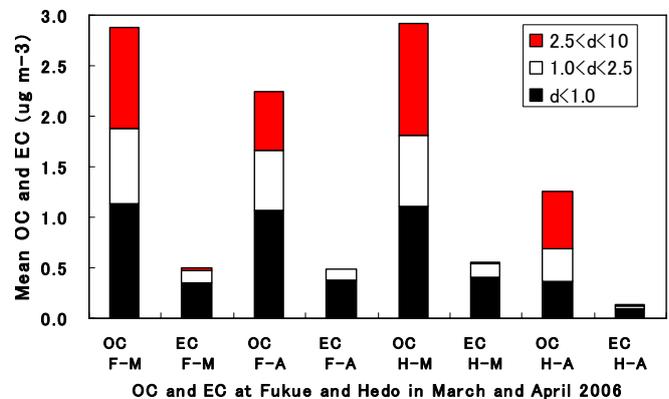


図8 福江(F)と辺戸(H)の3月(M)と4月(A)における粒径別ECとOCの平均濃度

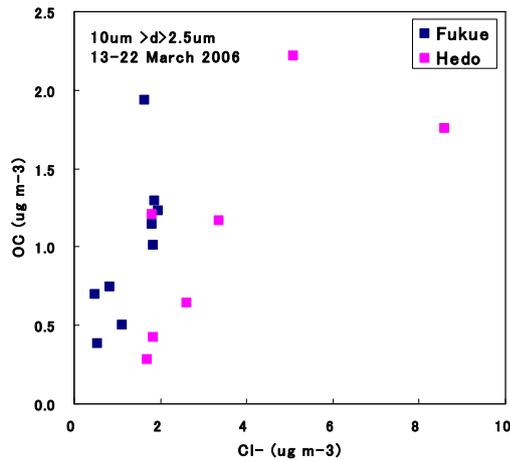


図9 粗大粒子中のOC濃度とCl⁻濃度との関係

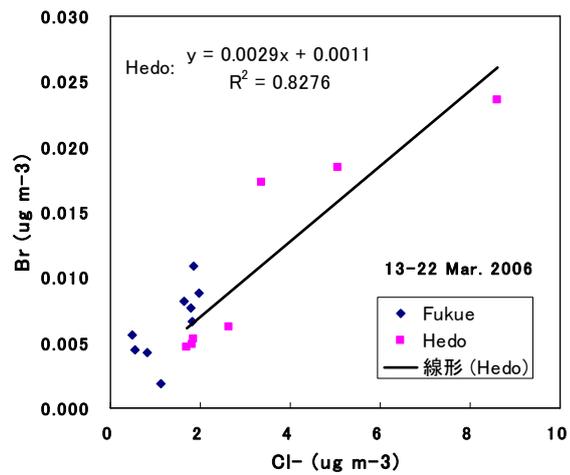


図10 粗大粒子中のCl⁻濃度とBr⁻濃度との関係

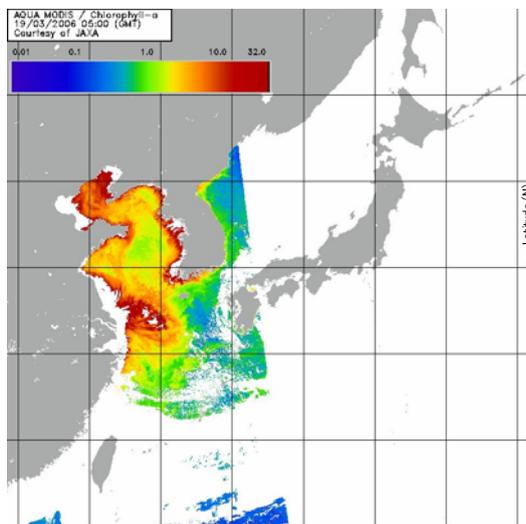


図11 MO DISによる東アジア海域のクロロフィルa濃度⁶⁾: mg m⁻³
(2006年3月19日05UT)

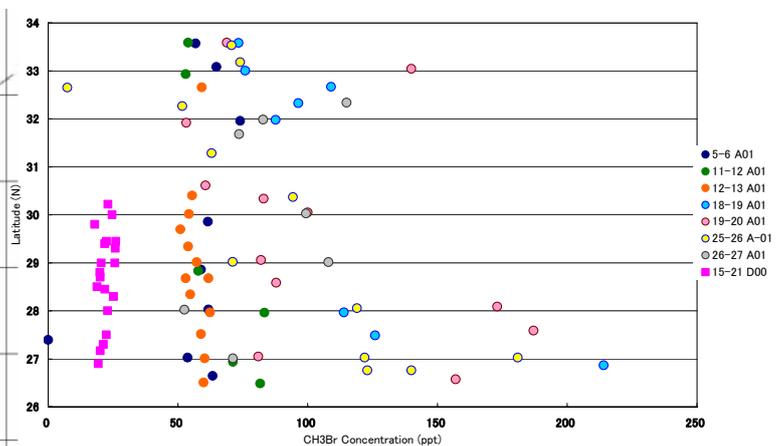


図12 博多-那覇間の海上での緯度方向のCH₃Br濃度(2001年4月).
ピンクのデータは2000年12月の鹿児島～名瀬/那覇間の海上のCH₃Br濃度⁷⁾

4.3 土壌粒子の発生源推定

4月の観測期間中における大気エアロゾルの質量濃度は、黄砂が観測された4月8日前後に、2地点ともに、高くなった(図13)。福江と辺戸の大気エアロゾル中のSiとAl濃度の回帰直線式は、ほとんど等しかった(図14)。これは、2地点の距離が約650kmと離れているにもかかわらず、同じ性質の土壌粒子が広範囲に輸送されたことを強く示唆している。しかし、回帰係数は、3月は約2.2だったが、4月では2.6と異なっていた。図2に示すように、黄砂は、3月のときは南西諸島だけで観測され、4月は九州、四国および東北部以南の本州に限られていたので、その発源地域が異なっていたと推測される。NOAA/HYSPLITの後方流跡線解析⁸⁾を利用して福江と辺戸に到達した大気塊の履歴を調べた結果、3月15日から3月18日までの間、辺戸では、中国東部の沿岸域あるいは黄土高原を通過した大気塊が到達しており、福江でもほぼ同様な輸送経路を示していた(図15)。一方、4月では、福江も辺戸も、ゴビ砂漠方面からの大気塊が到達しており、明らかに3月の場合とは、発源地域が異なっていた(図16)。一方、中国の黄土高原やタクラマカン砂漠地帯の表層土壌や砂の化学分析によれば、地域によって、SiO₂と

Al₂O₃の組成比が異なっていた⁹⁾。これらを総合的に考えると、SiとAlの回帰係数が異なっていた原因は、3月と4月とで高濃度を示した土壌元素の発生源が異なり、その土壌に含まれるSiとAlの組成比が異なったためと推測されるが、今後、さらに人工衛星によるデータ解析や、黄砂の発源地域の土壌中の化学組成などの分析を含めて、詳細に検討する必要がある。

4.4 高濃度のエアロゾルの発生源分類

奄美大島での測定によれば、海塩粒子を除いた高濃度のエアロゾルで、図17に示す領域Iの地域から輸送された事例では、大きく二つに分類されることが明らかになっている⁴⁾。微小粒子中のECとSiとを、それぞれ大気汚染物質と土壌粒子の指標とすると、図18に示すように、黄砂が飛来するような土壌粒子が卓越する場合は、EC濃度は最大でも約1 $\mu\text{g m}^{-3}$ であり、ECがそれ以上と高濃度の汚染気塊ではSi濃度は最大でも2.5 $\mu\text{g m}^{-3}$ であった。今回の3月の辺戸の場合も、図18に示すように、前者の場合に近いと推測される。

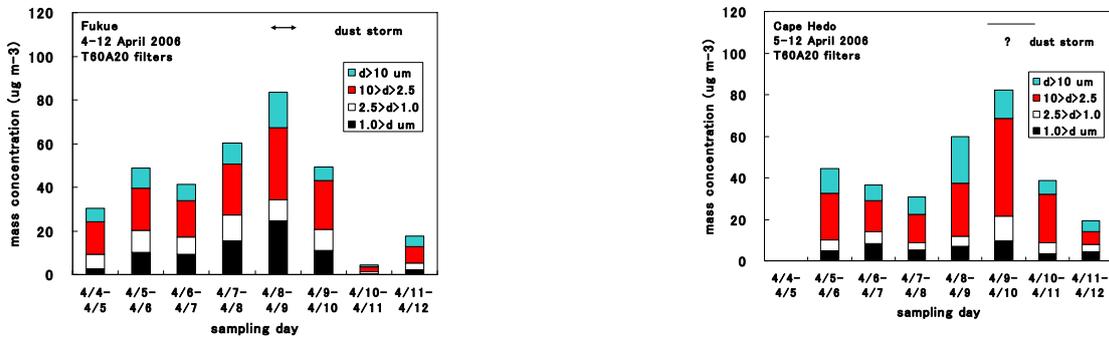


図13 福江(左)と辺戸(右)の大気エアロゾルの粒径別質量濃度(2006年4月4日-4月12日)

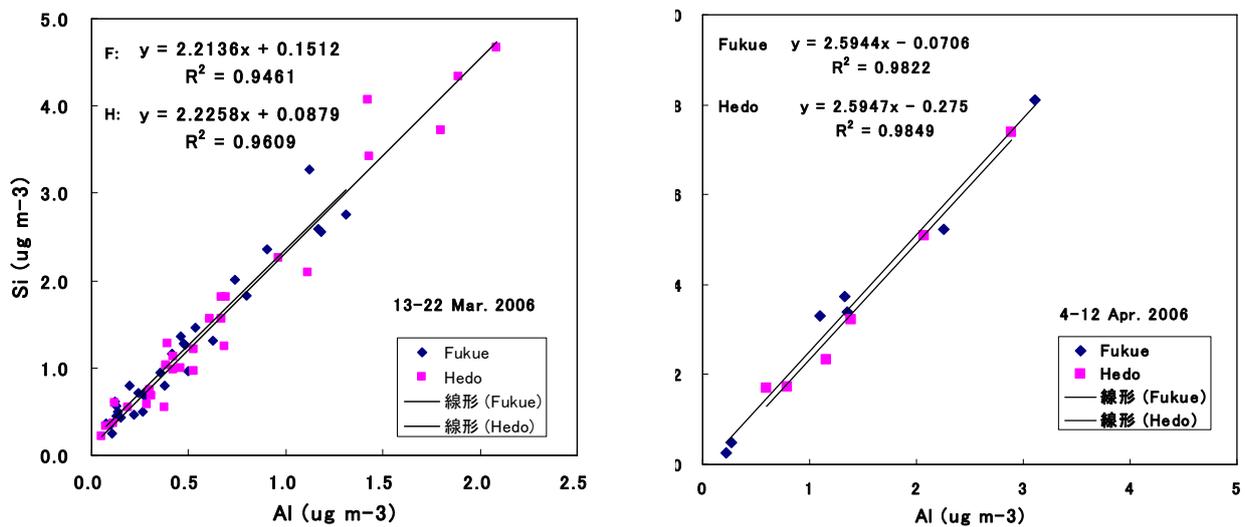


図14 福江と辺戸における3月(左図)と4月(右図)の大気エアロゾル中のSiとAlとの関係

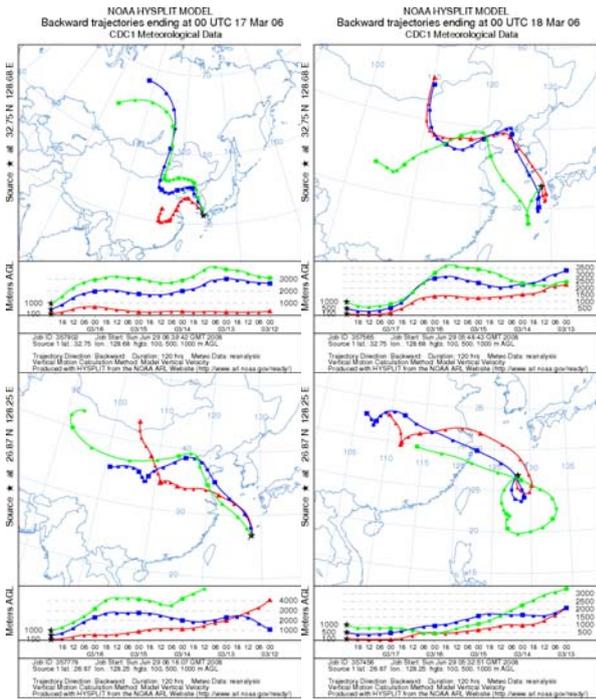


図 15 福江 (上段) と辺戸 (下段) での 3 月 17 日 (左図) と 3 月 18 日 (右図) の 00 時 (UT) の後方流跡線解析。
高度 100m (赤)、500m (青)、1000m (緑)

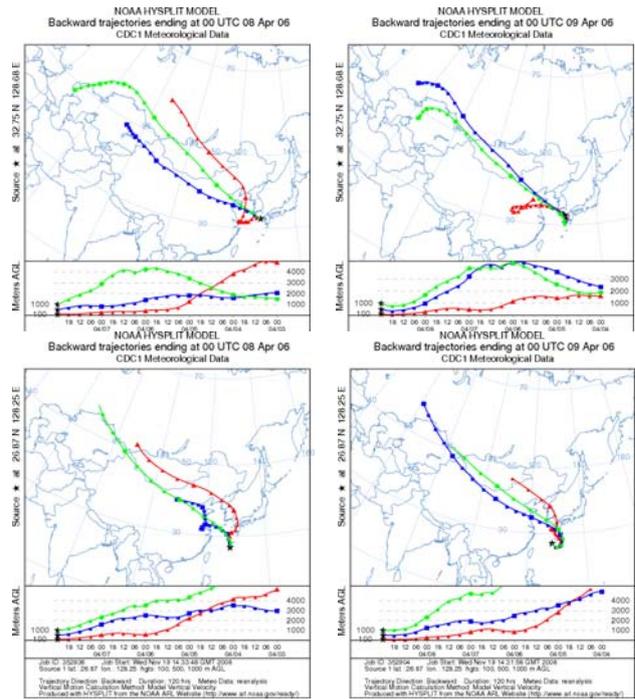


図 16 福江 (上段) と辺戸 (下段) での 4 月 8 日 (左図) と 4 月 9 日 (右図) の 00 時 (UT) の後方流跡線解析。
高度 100m (赤)、500m (青)、1000m (緑)

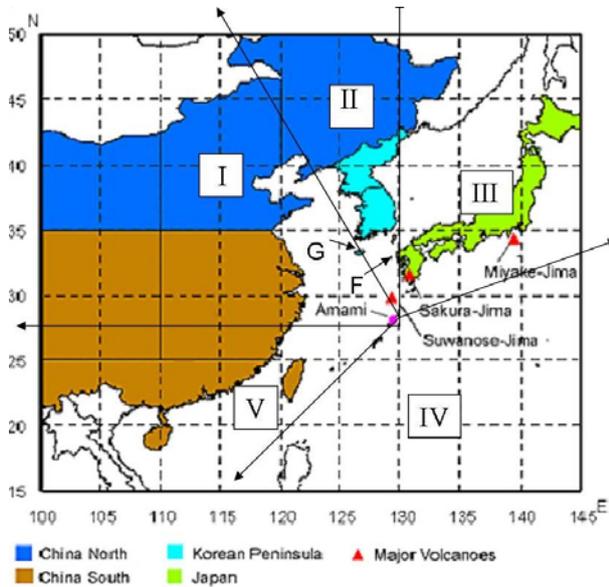


図 17 奄美大島に到達した気塊を分類した 5 風系の範囲 (I-V)。F は福江島。

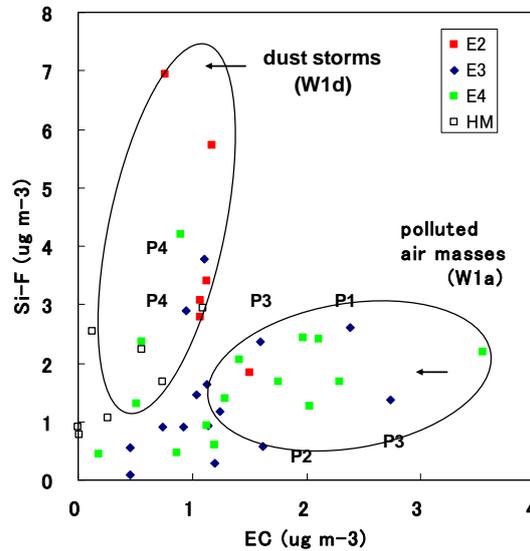


図 18 W1 の気塊における微小粒子中の EC 濃度と Si-F 濃度の関係。E2、E3、E4 は各 2001、2003、2004 年の奄美大島の 3-4 月、HM は辺戸の 2006 年 3 月の結果。

参考文献

- 1) 鶴田治雄・須藤重人・菊地信行・片桐秀一郎・世良耕一郎・二ツ川章二・早坂忠裕・中島映至, 2008 : 長崎県福江島と沖縄県辺戸岬における春期の大气エアロゾルの化学組成、2008 年度秋季大会講演予稿集, 190
- 2) 気象庁, 2006 : 2006 年黄砂観測日および観測地点一覧, 「地球環境データベース」黄砂 (http://www.data.kishou.go.jp/obs-env/kosahp/kosa_table_2006.html)
- 3) 気象庁, 2008 : 4.3.1: 2006 年の黄砂現象, 大气・海洋環境観測報告第 8 号 (2006 年観測成果) .
- 4) 鶴田治雄・矢吹正教, 2008: 奄美大島の春季における大气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.
- 5) 中島映至・鶴田治雄・木本昌秀・高橋正明・住 明正・柴崎亮介・上田完次, 2008 : 東アジアにおける広域大气汚染の評価、平成 19 年度 AGS 報告書 (印刷中)
- 6) The Ministry of the Environment ・ the Northwest Pacific Region Environmental Cooperation Center (NPEC): Chlorophyll-a Concentration in NOWPAP Area (<http://www.nowpap3.go.jp/jsw/eng/callender/index.html>)
- 7) 野島邦一, 2002 : 大气微量ガスのフラスコサンプリングとその解析(東シナ海洋上にて)、近畿大学修士論文
- 8) NOAA: NOAA ARL HYSPLIT MODEL (<http://www.arl.noaa.gov/ready/hysplit4.html>)
- 9) Honda, M., S. Yabuki and H. Shimizu, 2004: Geochemical and isotopic studies on Aeolian sediments in China, *Sedimentology*, 51, 211-230.

Chemical characterization of atmospheric aerosols measured at Fukuejima and Cape Hedo in the spring of 2006

H. Tsuruta¹, S. Sudo², S. Yonemura², N. Kikuchi³, S. Katagiri⁴
Y. Shirasuna⁵, K. Hirano⁵, K. Sera⁶, Y. Saitoh⁷, S. Futatsugawa⁸, T. Takamura⁹,
T. Hayasaka¹⁰ and T. Nakajima¹

¹CCSR, The University of Tokyo, 5-1-5 Kashiwanoha, Kashiwa, Chiba 277-8568, Japan

²NIAES, 3-1-3 Kannondai, Tsukuba, Ibaraki 305-8604, Japan

³National Institute for Environment Studis, 16-2 Onogawa, Tsukuba, Ibaraki 305-8506, Japan

⁴JAXA-EORC, 2-1-1 Sengen, Tsukuba Ibaraki 305-8505, Japan

⁵Yokohama City Institute of Environmental Sciences, 1-2-15 Takigashira, Yokohama 235-0012, Japan

⁶Cyclotron Research Center, Iwate Medical University, 348-58 Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0173, Japan

⁷Takizawa Institute, Japan Radioisotope Association, 348-1 Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0173, Japan

⁸Japan Radioisotope Association, 2-28-45 Honkomagome, Bunkyo, Tokyo 113-8941, Japan

⁹CeRES-Chiba University, 1-33 Yayoicho, Inage, Chiba Chiba, 263-8522, Japan

¹⁰Center for Atmospheric and Oceanic Studies, Tohoku University
6-3 Aramaki Aoba, Aoba-ku, Sendai, Miyagi 980-8578, Japan

Abstract

An intensive field program was performed to measure atmospheric aerosols at Fukuejima (32.752°N, 128.682°E) in Nagasaki prefecture, and at Cape Hedo (26.867°N, 128.249°E) in Okinawa prefecture, located in west and southwest Japan, respectively, during 13-22 March and 4-12 April 2006. A distance between the two sites was 650km. Chemical analysis of the collected aerosols with the four size ranges was made for elemental and organic carbons (EC/OC) by an thermal/optical OC/EC analyzer with improved method, water soluble ions by ion chromatography, and trace elements by PIXE. Two dust storms called as Kosa were observed in the measured period of March and April, when the mass concentration of atmospheric aerosols increased. A highly positive correlation between EC and nss-SO₄²⁻ in fine particles was shown at the both sites, and the slope of linear regression equation was almost equal to that measured at Amami-Oshima (28.444°N, 129.697°E) in the spring of 2001 and 2003. The ratio of the OC concentration in coarse particles to that in the total OC was about 0.35 and 0.38 at Fukue and Hedo, respectively, and which were much higher than that measured at Phimai (15.184°N, 102.565°E) in Thailand where the dominant aerosol was emitted from biomass burning in dry season. In coarse particles at Hedo, a positive correlation was found between OC and Cl⁻, and total Br and Cl⁻, which strongly suggests that a source of some OC might be a biogenic one produced in the surface sea. According to a satellite data analysis by JAXA, the chlorophyll-a concentration in the surface water observed north of and

around the sites was high. Moreover, CH_3Br in gas phase over the sea surface increased with the lower latitude from Fukue/Kagoshima to Naze/Naha in the spring of 2001 (E2). These phenomena could support the biogenic emission of some OC in atmospheric aerosols. A highly positive correlation between Si and Al in coarse particles was also found in the spring time at the both site. The slope of linear regression equation was, however, 2.2 and 2.6 in March and April 2006 at the both sites, respectively. This significant difference in the slope between March and April indicates that the possible source region of soil dusts was different, while the same value of slope at the both sites demonstrates that the wide region including Fukue and Hedo could be covered by soil dusts with the similar property. According to the backward trajectory analysis by the NOAA HYSPLIT model, air masses arrived at Fukue/Hedo in the strong dust storm event was transported from a different inland region of eastcoast China, between March and April. The future study on soil chemistry among the different desert area in China and Mongolia should be needed.

放射線高感受性マイクロカプセルの開発

原田 聡¹、江原 茂¹、世良耕一郎²、伊藤じゅん³、石井慶造⁴、山崎浩道⁴
松山成男⁴、佐藤隆博⁵、及川将一⁵、神谷富裕⁵、横田 渉⁵

¹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

²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

³(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

⁴東北大学大学院工学部量子応用工学専攻

980-8579 宮城県仙台市青葉区荒巻字青葉 6-6-01-2

⁵(独)日本原子力研究開発機構高崎量子応用研究所イオンビーム開発研究室

370-1292 群馬県高崎市綿貫町 1233

1 はじめに

放射線により抗がん剤を放出するマイクロカプセルを開発すれば、放射線照射と抗癌剤との相乗効果による抗腫瘍硬化の増強と、薬剤限局化による副作用軽減を期待できる。現在まで、我々は、前述したマイクロカプセルをアルギン酸とヒアルロン酸をカルシウム重合させ作成し、研究してきた^{1) 2)}。結果、ヒアルロン酸が放射線によって発生したラジカルによって分解され^{3) 4)}(図-1)、放射線により内容を放出していることが明らかとなったが、その頻度が50%前後と大変低く、実用化に乏しいことが判明した¹⁾。今回、我々は、放射線による内容放出機構を、従来の、放射線照射によるヒアルロン酸分解に加え、アルギン酸重合をCaからFeに変更することにより、放射線によりアルギン酸の重合により変化を起こさせ、薬剤を放出させることを考えた。

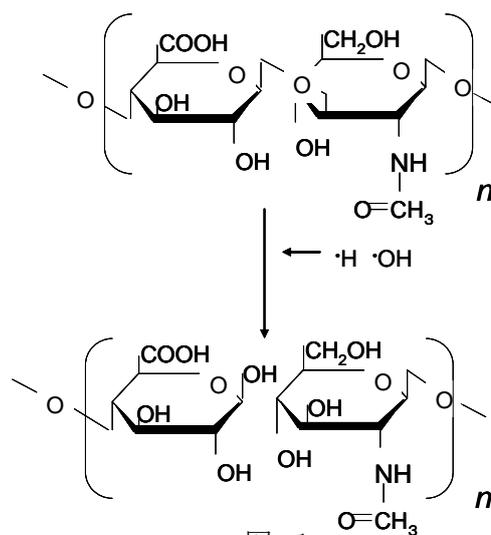


図 -1

すなわち、 Fe^{2+} はアルギン酸を平面状に重合させるが、放射線照射に伴う Harber Weiss, Fenton 反応⁵⁾⁶⁾により、 Fe^{2+} が Fe^{3+} に変換されると、 Fe^{3+} はアルギン酸を平面状に重合することができず (図-2)、結果、放射線照射により壁構造が変化し、内容をより効率的に放出できるというものである。

今回、我々は、アルギン酸の Fe^{2+} 重合によりマイクロカプセルを作成し、その内容放出能力を、PIXE とインドシアニンググリーンによる比色分析により検討したので報告する。

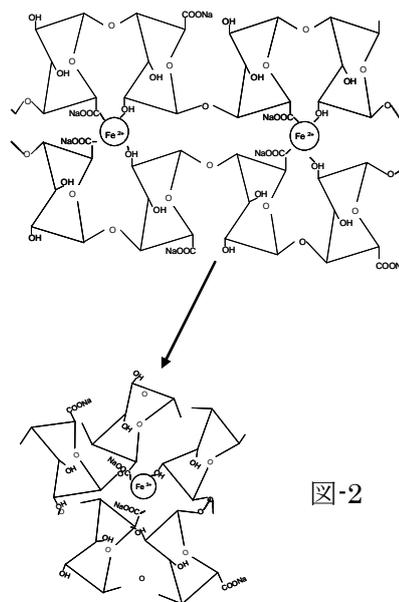


図-2

2 材料および方法：

ヒアルロン酸 0.1g、アルギン酸 0.2g を蒸留水 8cc 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、 $CaCl_2$ 0.1 mol+ $FeCl_2$ 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、カプセル数を血球計算板上で計測した。

上記マイクロカプセル浮遊液 1ml を softex X 線にて、0.5 Gy、1.0 Gy、1.5 Gy、2.0 Gy、あるいは 2.5 Gy を照射した。照射直後、Nalgene disposable filter kit (8-0301-84 DP591) を使用して、カプセル浮遊液から、上清成分を精製し、PIXE 検体とした。尚、放出率測定のため、照射前のマイクロカプセル浮遊液全量を測定し、放出率をマイクロカプセル浮遊液全体の Pt 量に対する、上清中の Pt 量の百分率で表した。

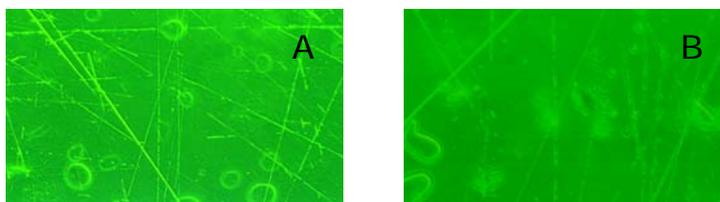


図-3

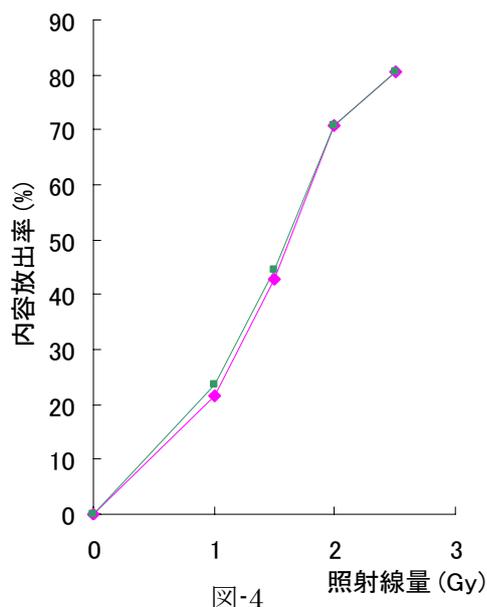
3 結果：

マイクロカプセルの放射線による形態学的変化：

生成されたマイクロカプセルを図-3A、B に示す。マイクロカプセルの径は $23.4 \pm 2.3 \mu m$ であり、壁は $1.2 \pm 0.2 \mu m$ であった(図-3 A)。放射線照射後、マイクロカプセルの表面は不整化し、照射前に明瞭に認められた内容は不明瞭化し(図-3 B)、放射線によるマイクロカプセルの内容物放出が予測された。

インドシアニンググリーンと PIXE による内容放出率：

マイクロカプセルの内容物放出率を、インドシアニンググリーンによる比色分析と、PIXE による内容放出率と照射線量との関係を、図-4 に示す。放射線照射量の増加に比例して、マイクロカプセルの内容物放出率は増加し、その最大値は、インドシアニンググリーンによる比色分析、PIXE による Pt 値定量で、それぞれ、80.45%と 80.7%であった。



照射線量	1.36X10 ⁶ 個の放出量 (μg)	百万個あたりの放出量 (μg)
0	0	0
1	0.97566	0.71740
1.5	1.9294	1.41868
2	3.1943	2.34875
2.5	3.6196	2.66151

表-1

PIXE による Pt 量の定量値 :

照射線量と放出された Pt 定量値を表-1 に示す。放射線照射増加による、Pt 放出量の増加が観察され、2.0Gy では 2.34875 μg/百万個、2.5Gy では 2.6651μg/百万個であった。

4 考察

マイクロカプセルを使用した、放射線照射による薬剤標的療法を開発した。本研究は、薬剤を放射線照射部位にのみ作用させ、放射線照射と抗癌剤の相乗作用による抗腫瘍効果増強と、薬剤限局化作用による抗癌剤副作用軽減の両方を目的とするものである。

今回のマイクロカプセルの改良により、マイクロカプセルは、より多くの抗癌剤を放出し、それは、百万個あたり、2 Gy で 2.34875 μg、2.5 Gy で 2.66151 μg であった。カルボプラチンが抗腫瘍効果を発揮する薬剤量が 2 μg であり、通常の放射線治療における一回線量が 2 Gy であることを考えれば、本マイクロカプセルは、実際の癌治療に応用できると考えられる。

現在、動物実験を用いて、In vivo 下でのマイクロカプセルと薬剤動態、抗腫瘍効果について研究中である。

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.
- 3) Thu B, Gaserod O, Paus D, Mikkelsen A, et al. *Biopolymers* **53** (2000) 60.
- 4) Matsumura G, Herp A, Pigman W. Depolymerization of hyaluronic acid by autoxidants and radiations. *Radiat Res* **26** (1966) 735.
- 5) Haber and Weiss, *Proc. Roy. Soc. (Lond)* **A 147** (1934) 332
- 6) Fenton HJH and Jackson H. *J. Chem. Soc. Transact (Lond)* **75** (1899) 1.

Innovation of the high radiosensitive microcapsules

S. Harada¹, S. Ehara¹, K. Sera², J. Ito³, K. Ishii⁴, H. Yamazaki⁴, N. Matsuyama⁴
T. Sato⁵, S. Oikawa⁵, T. kamiya⁵ and S. Yokota⁵

¹Department of Radiology, Iwate Medical University
Morioka, Iwate 020-8505, Japan

²Cyclotron Center of Iwate Medical University
348-58 Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0173, Japan

³Takizawa Research Institute, Japan Radioisotope Association
348-1 Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0173, Japan

⁴Department of Quantum Science and Energy Engineering, Tohoku University
Sendai, Miyagi 980-8579, Japan

⁵Takasaki Institute of the Radiation Chemistry Research Establishment
Japan Atomic Energy Research Institute
1233 Watanuki, Takasaki, Gunma 370-1292, Japan

Abstract

Since 2004, we reported the use of liquid-core microcapsules for anticancer drug targeting. In this study, we report the improved releasing of liquid core microcapsules via radiotherapy by Fe polymerization of alginate.

The capsules were generated by spraying a mixture of 2.0% hyaluronic acid, 2.0% alginate, supplemented with 0.2 mmol carboplatin on mixture of 0.5 mol/L CaCl₂ and FeCl₂. Resulting microcapsules were irradiated by ⁶⁰Co 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 accuracy of PIXE was tested by colorimetric assay of indocyanine green.

The generated microcapsules were $20.3 \pm 3.8 \mu\text{m}\phi$ in size, with a liquid core of $19.7 \pm 1.2 \mu\text{m}\phi$. There were good agreements in the released liquid core between colorimetric assay using indocyanine green and carboplatin using PIXE. The releasing of liquid core of microcapsules increased dependently upon radiation dose. The released carboplatin was over 2 μg with more than 2Gy irradiation, which were sufficient doses of carboplatin and radiation therapy.

Our microcapsules might lead to the new targeted chemoradiotherapy.

PIXE 法による生物試料中のリンの分析

加藤 洋¹、佐藤武雄²、山本好男³、中野幸廣⁴、後藤保正¹、山本恵三¹

¹ 首都大学東京健康福祉学部放射線学科
116-8551 東京都荒川区東尾久 7-2-10

² 東京都医学機構東京都神経科学総合研究所
183-8526 東京都府中市武蔵台 2-6

³ 滋賀医科大学医学部社会医学講座法医学部門
520-2192 滋賀県大津市瀬田月輪町

⁴ 京都大学原子炉実験所
590-0494 大阪府泉南郡熊取朝代西 2 丁目

1 はじめに

我々は生物体中のアルミニウムの分析に機器的中性子放射化分析 (INAA) 法を適用している。この場合、試料中のケイ素およびリンによる妨害反応 ($^{28}\text{Si}(n,p)^{28}\text{Al}$ 、 $^{31}\text{P}(n,\alpha)^{28}\text{Al}$) に対する補正が必要である。この妨害元素の定量に、核的方法として液体シンチレーション (LSC) 法および荷電粒子励起 X 線 (PIXE) 法を適用した。本研究では、精度が良いが LSC 法での非実利性のため PIXE 法に重点を置き、SAPIX 法および比較法により検討した。その結果、比較法では生物体標準物質の保証値・参考値と良い一致を示したが、SAPIX 法では保証値・参考値に対して約 20%低い値を示した。これは重元素にも当てはまり、SAPIX 法の信頼性に疑問が示された。

2 試料および方法

用いた標準物質は植物種由来が 6 種、動物種由来が 8 種の合計 14 種である。物質名、供給元等は表 1 に示す。

LSC 用試料調製は、これらの照射試料約 30mg に濃硝酸を加えて硝酸灰化し、その灰化溶液 200 μl の酸性度を下げるため NH_4OH を使用し、シンチレータ 10ml を用いた。LSC 法でのリンの定量は、照射後 200 日前後までの β 線の減衰曲線を解析することで行った。

PIXE 用試料調製は通常の灰化処理 (標準物質約 30mg + In 2000ppm + 濃硝酸 1ml) 後、バックリング膜に 10 μl 滴下乾燥させた。照射は NMCC で、リンの定量解析は SAPIX 法およびインジウムを粒子数モニタした比較法で行った。他の重元素の比較法の場合は、特定の標準物質中の保証値を用いて他の試料の値を求めた。

3 結果と考察

3.1 LSC および PIXE 法によるケイ素、リンの定量

表 2 に PIXE 法 (ケイ素およびリン) および LSC 法 (リン) によるケイ素およびリンの分析結果を示す。PIXE 法ではケイ素も分析可能であるが、本研究での対象物質ではほとんど検出されていない。求められたリンの値と標準物質に示されている保証値との比較では良い一致を示した。LSC 試料中に硫黄、塩素、カルシウムが存在すると $^{32}\text{S}(\text{n,p})^{32}\text{P}$ 、 $^{33}\text{S}(\text{n,p})^{33}\text{P}$ 、 $^{34}\text{S}(\text{n},\gamma)^{35}\text{S}$ 、 $^{35}\text{Cl}(\text{n,p})^{35}\text{S}$ 、 $^{35}\text{Cl}(\text{n},\alpha)^{33}\text{P}$ 、 $^{44}\text{Ca}(\text{n},\gamma)^{45}\text{Ca}$ 、 $^{46}\text{Ca}(\text{n},\gamma)^{47}\text{Ca}$ 反応が生じる。これらの反応について求めた妨害係数と存在量から、 $^{33}\text{S}(\text{n,p})^{33}\text{P}$ 、 $^{44}\text{Ca}(\text{n},\gamma)^{45}\text{Ca}$ 、 $^{46}\text{Ca}(\text{n},\gamma)^{47}\text{Ca}$ は無視することが出来た。全ての試料では $^{32}\text{S}(\text{n,p})^{32}\text{P}$ 、 $^{34}\text{S}(\text{n},\gamma)^{35}\text{S}$ 反応が、塩素の存在量が多い試料では $^{35}\text{Cl}(\text{n,p})^{35}\text{S}$ 、 $^{35}\text{Cl}(\text{n},\alpha)^{33}\text{P}$ が生じる。LSC 法で得られた値と保証値との一致度は PIXE 法に比べて高い。但し、長期間にわたる β 線の減衰測定などは実用的ではないため、本研究では PIXE 法で求められたリンの値を採用した。

3.2 補正された Al の値

京都大学原子炉実験所によるケイ素およびリンのアルミニウムへの妨害係数は 3.2×10^{-3} および 1.0×10^{-3} であった。これは、試料中にケイ素が $310 \mu\text{g/g}$ 、リンが $1000 \mu\text{g/g}$ 存在するとアルミニウムの $1 \mu\text{g/g}$ に相当する。PIXE 法で求めたリンの値を適用し補正した各種標準物質およびヒト組織中のアルミニウム濃度を各々表 3 および表 4 に示す。各種標準物質およびヒト組織中のアルミニウム分析においてリンの寄与率は、植物体を除いて 30% 以上、平均的には約 50~60% を示した。この結果、リンの補正は不可欠である。表 4 の文献値は本研究と同じく日本人のものであるが、補正前の値とほぼ同様であることが見られることから、この文献値はリンの補正を行っていないと推察される。

3.3 比較法と SAPIX 法

表 5 に PIXE 法でのリンの分析に対する二つの解析方法 (比較法および SAPIX 法) の結果を示す。表中の数値は各分析値に対する保証値の比を表している。また、それらの比の平均値 (変動係数) を求めると、比較法は 1.00 (18%)、SAPIX 法は 0.58 (12%) であった。この結果から比較法の変動係数は大きい保証値に近い数値を示す。しかし、SAPIX 法は 60~70% 程度で系統的な低い値を示している。

PIXE 法での SAPIX 法による解析で、NMCC の PIXE 法での検出器 2 で分析される軽元素は実際の値より低く出るとは既に大島らが試料の厚さによる自己吸収が原因であると述べている²⁾。ただし、この自己吸収の影響は高い原子番号においては無視できるはずである。しかしながら、表 6 に示されるように、SAPIX 法による標準物質の保証値と比較できる元素については約 20% 低い分析値となった。本来ならば原子番号が低くなるに従い自己吸収の影響の程度は大きくなるはずであるが、実際は想定されるべき値より大きく、同程度の約 40% と示された。以上の結果から、重元素の分析値を算出する際に系統誤差が生じていると推察され、SAPIX 法によるリンの結果の不一致は自己吸収の影響のみではないと考える。

本研究で、PIXE 分析は重元素のみならず比較試料を用いるならば、軽元素でも特に本研究の目的であるリンに確度のある結果が得られた。

参考文献

- 1) M. Yukawa, K. Amano, M. Suzuki-Yasumoto and M. Terai, Determination of trace elements in the human body determined by neutron activation analysis. *Arch. Environ. Health* **35(1)**, 36-44 (1980).
- 2) 大島弘行, 島邦博, 石原豊之, 低 Z 元素分析の基礎と応用. *NMCC 共同利用研究成果報文集 1*, 66-69 (1994).

表 1 用いた標準物質

物質名	供給元	コード名	略名
Algae	IAEA	391	Algae-391
Algae	IAEA	391	Algae-392
Algae	IAEA	391	Algae-393
Animal Muscle	IAEA	H-4	AM
Bovine Liver	NBS	1577	BL
Bovine Liver	NIST	1577a	BLa
Kale	BOWEN	Bowen's Kale	BK
Horse Kidney	IAEA	H-8	HK
Milk Powder	IAEA	A-11	MP
Mussel Tissue	BCR	278R	MT
Orchard Leaves	NBS	1571	OL
Pig Kidney	BCR	186	PK
Pine Needle	NIST	1575a	PNa
Whey Powder	IAEA	155	WP

IAEA : International Atomic Energy Agency, NBS: National Bureau of Standard,
 NIST: National Institute of Standards and Technology, BCR: Community Bureau of Reference,
 NRCC: National Research Council Canada

表 2 標準物質中のケイ素とリンの濃度

物質名	リン (µg/g dry)			ケイ素 (µg/g dry)	
	PIXE	LSC	保証値	PIXE	保証値
Algae-391	12400	14900	14200	170	93
Algae -392	4500	5830	5490	170	164
Algae-393	17200	18100	15600	480	224
AM	6300	7000	6830	ND	
BL	13500	11800	10500	ND	17
BLa	12500	11500	11100	ND	
BK	4200	5490	4880	250	
HK	11600	12800	11200	320	
MP	7400	10100	9100	250	34
MT	5700	6930	6070	160	
OL	1500	2300	2100	610	610
PK	12800	12800	12000	220	
PNa	1100	1030	1070	2600	
WP	16200	16400	16210	800	

表3 標準物質中のアルミニウムおよびリンの寄与率

物質名	補正前	補正後	保証値	寄与率[%]
Algae-391	19.9	7.5	4.5	62
Algae-392	36.7	32.2	30.3	12
Algae-393	107	90	71.6	16
AM	12.4	6.1	10	51
BL	3.4	NC		
BLa	12.3	NC	2	
BK	44.0	39.8	39.9	10
HK	11.4	NC		
TORT-2	48.5	37.5		23
MP	11.7	4.3		63
MT	15.2	8.3		45
OL	429	427	420	0.5
PK	19.4	6.6		66
PNa	587	586	580	0.2
WP	57.1	40.7	53	29

$$\text{寄与率} = \frac{\text{補正前の値} - \text{補正後の値}}{\text{補正前の値}} \times 100$$

表4 ヒト組織中のリンおよびアルミニウム濃度 (µg/g dry)

組織 (分析数)	リン	補正前	補正後	文献値	寄与率[%]
大脳 (11)	8300	16.3	8.0	15	61
小脳 (4)	10700	15.6	4.8	11	69
心臓 (11)	4700	12.4	7.7	16	38
腎臓 (10)	5710	11.8	6.2	20	47
肝臓 (10)	5210	15.2	10.0	18	34
肺 (10)	4810	73.1	68.3	59	7
筋肉 (11)	3100	7.9	4.8	13	39
膵臓 (11)	6350	12.3	6.0	15	51
脾臓 (12)	610	12.6	6.0	14	52

表5 比較法および SAPIX 法による標準物質中のリンの保証値との比較

物質名	比較法	SAPIX 法	物質名	比較法	SAPIX 法
Algae-391	0.88	0.52	HK	1.04	0.61
Algae-392	0.83	0.62	MP	0.74	0.63
Algae-393	1.10	0.57	MT	0.95	0.65
AM	0.66	0.56	OL	0.73	0.65
BL	1.28	0.59	PK	1.05	0.72
BLa	1.13	0.60	PNa	1.05	0.59
Bk	0.86	0.63	WP	1.00	0.66

表 6 比較法および SAPIX 法による標準物質の保証値との比較

	元素	試料数	SAPIX 法	比較法
重元素	Mn	11	0.76 (14)	1.18 (22)
	Fe	12	0.81 (15)	0.91 (20)
	Cu	10	0.81 (14)	0.99 (10)
	Zn	15	0.86 (8)	0.99 (10)
	Rb	9	0.76 (19)	0.94 (24)
軽元素	P	13	0.58 (12)	1.00 (18)
	S	10	0.51 (15)	0.84 (21)
	Ca	12	0.62 (12)	1.06 (31)

Phosphorus analysis in biological materials by PIXE

Y. Katoh¹, T. Sato², Y. Yamamoto³, Y. Nakano⁴, Y. Goto¹ and K. Yamamoto¹

¹School of Radiology, Faculty of Health Sciences, Tokyo Metropolitan University
7-2-10 Higashi-Ogu, Arakawa-ku, Tokyo 116-8551, Japan

²Tokyo Metropolitan Institute of Neuroscience
2-6 Musashidai, Futyu-shi, Tokyo 183-8526, Japan

³Department of Legal Medicine, Shiga University of Medical Science
Tsukiwa-cho, Seta, Shiga 520-2192, Japan

⁴Kyoto University Research Reactor Institute
2-chome Asashiro-nishi, Kumatori, Sennangun, Osaka 590-0494, Japan

Abstract

We have investigated aluminum abundance in biological material by INAA. However, this method exhibits higher value than original aluminum value by interference reaction ($^{28}\text{Si}(n,p)^{28}\text{Al}$, $^{31}\text{P}(n,\alpha)^{28}\text{Al}$) by silicon and phosphorus in sample. Therefore, the correction for both interference elements is necessary. LSC and PIXE methods as nuclear techniques were applied to the quantitative determination of both interference elements. In comparison with the values of 14 kinds of biological reference materials, the results by LSC method agreed with the certified or reference values. In PIXE method, we applied SAPIX method and comparative method to the element determination. The comparative method was showed good agreement with the reference values, other hand, and SAPIX method showed the lower results than about 20% for almost materials. This lower quantitative phenomenon was also found in case of heavy elements and the reliability of SAPIX method was doubted.

PIXE 専用 AVF サイクロトロンからの中性子発生

藤川 誠¹、石井慶造¹、寺川貴樹¹、松山成男¹、山崎浩道¹、菊池洋平¹、
川村 悠¹、山本竜也¹、世良耕一郎²、佐々木 廣³、前田晃輔³

¹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

²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

³佐々木太郎記念 PIXE 分析センター
040-0076 北海道函館市浅野町 5-3

1 はじめに

PIXE 分析は広い研究分野で利用されており、産業利用も広がると考えられ、装置の小型化が望まれる。そこで、陽子を 3MeV に加速する PIXE 専用の AVF サイクロトロンを用いることで装置を小型化し、施設全体をコンパクトにまとめることができた^{1),2)}。

しかしながら、本サイクロトロンはすべて手作りであるため、未だ運転に最適なパラメータが得られず、ビームの取り出し効率が悪い状態であった。そのため、イオン源位置やデフレクター位置等を調整して取り出しビーム量の改善を行った。さらに、運転中に中性子が発生していることが確認された。加速器内部を調べたところ、デフレクター出口付近の磁場補正用の鉄板を押さえるための銅板が放射化 ($0.56 \mu\text{Sv/h}$) していることが確認できた。これは加速した陽子が銅板に衝突しているためであると考えられる。そこで、中性子測定を行い、その結果から中性子の発生源について考察を行った。

2 ビーム調整

2.1 調整方法

サイクロトロンのビーム調整を行うにあたり、調整が可能な機構としてはイオン源の位置および角度、デフレクターセプタムの位置である。イオン源は図 1 に示す青色の五角形内で移動が可能であり、回転軸の異なる 3 つの円 (α, β, γ) を回転させて移動を行う。イオン源の位置はサイクロトロンの中心を原点として、水平方向に X 軸、垂直方向に Y 軸をとって表し、角度 θ は X 軸とのなす角で表す。また、デフレクターセプタムは加速粒子の入口側および出口側の外部からの差し込み量を調節することで位置を決定する。今回は

以下のような手順でイオン源およびデフレクターセプタムを移動させた。

- (1) イオン源をはじめの位置 (X:8.17,Y:7.22, θ :55°) から、引き出し電極から遠ざける方向に移動させてビーム電流が大きくなる位置を求める
- (2) 手順(1)により求めた位置から、引き出し電極と平行にイオン源を移動させてビーム電流が大きくなる位置を求める
- (3) 手順(1)および(2)を数回繰り返して最終的にビーム電流が最大になる位置を求める
- (4) 手順(3)で求めた位置において、イオン源の角度を変化させてビーム電流が最大になる角度を求める
- (5) デフレクターの位置を調整し、ビーム電流が最大になる位置を求める
- (6) 手順(5)の状態でセプタムの位置を調整し、ビーム電流が最大になる位置を求める

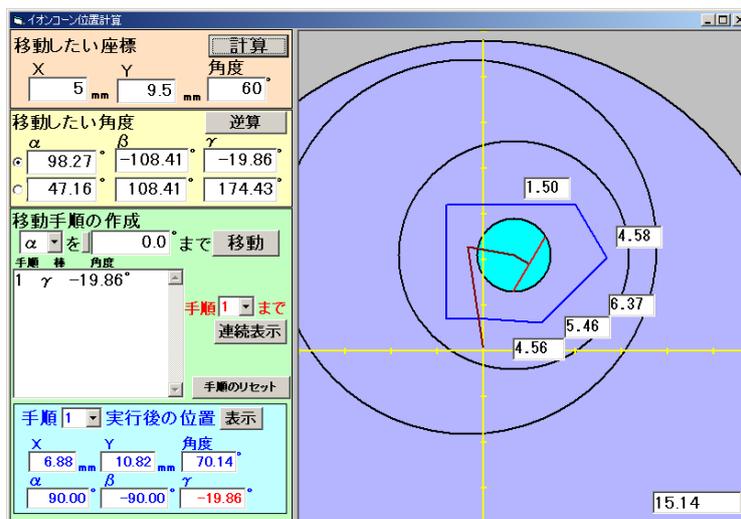


図1 イオン源位置

また、イオン源移動前と移動後の2つの位置において、サイクロトロン内部の2つのプローブ (Aプローブ, Bプローブ) を用いてビームプロファイルを取り、加速粒子の軌道を調べた。Aプローブはデフレクター入り口付近、Bプローブはビームの取り出し口であるマグネティックチャンネルの手前に位置している。

2.2 結果および考察

イオン源位置と取り出しビーム量の関係を図2に示す。球の大きさが取り出しビーム量の大きさを表している。移動前の位置 (X:8.17,Y:7.22, θ :55°) での取り出しビーム電流は約1nAであった。一方、移動後の位置 (X:7.05,Y:8.25, θ :68.45°) では約8nAのビームを取り出すことができた。これはサイクロトロン内部での加速粒子の軌道が変化したためであると考えられる。ビームプロファイルの測定結果および結果から考えられる加速粒子の軌道を図3に示す。粒子の軌道は、AプローブとBプローブの電流値が等しい時には同じ周回の軌道を回っているとして考えたものである。この結果から、イオン源移動前は軌道がAプローブ側に偏っており、イオン源移動後は逆にBプローブ側に偏っていることがわかる。この軌道の偏りはベータatron振動の共鳴により生じたものであると考えられる。そして、ビームの取り出し位置付近 (Bプローブ側) で軌道が集まったときに多くのビームが取り出せたと考えられる。

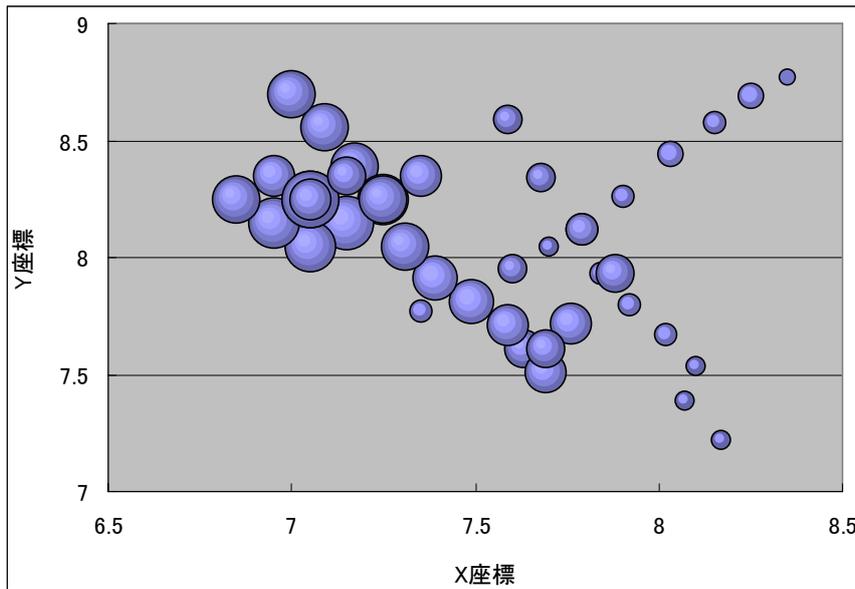


図2 イオン源位置と取り出しビーム量の関係

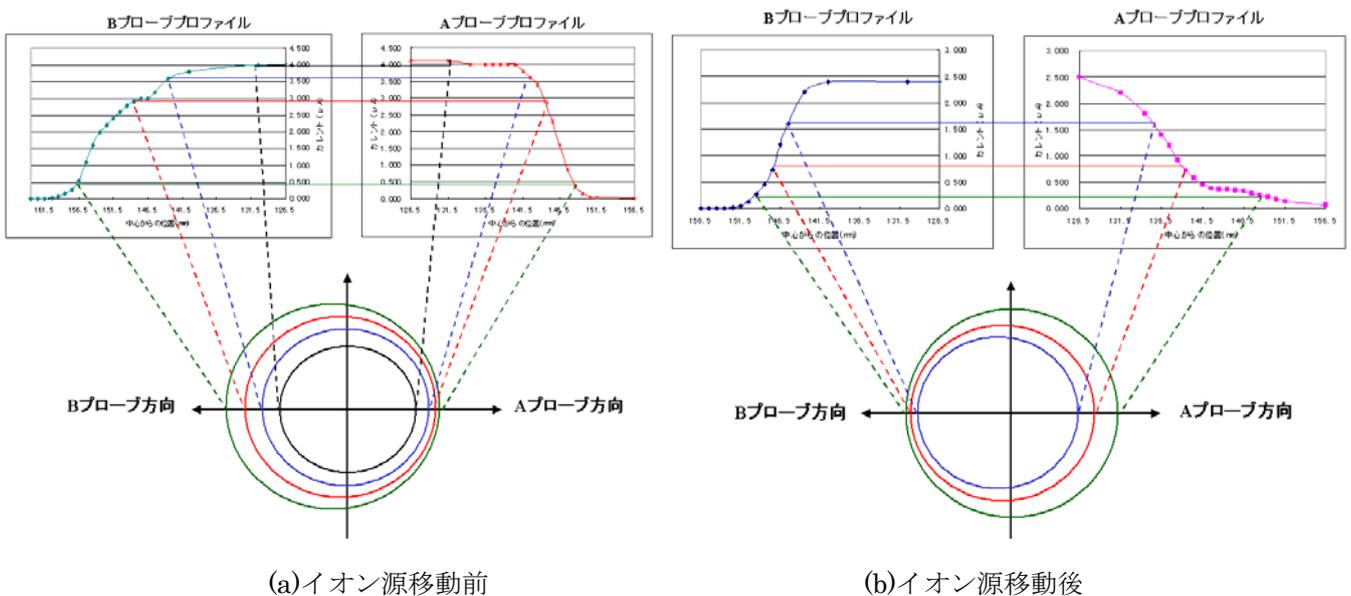


図3 ビームプロファイルおよび加速粒子の軌道

3 中性子測定

3.1 測定方法

中性子の測定を行うために、BF₃ 比例計数管^{[3][4]}と NE-213 シンチレータ^{3),4)}の2つの検出器を用いた。BF₃ は熱中性子を検出することができるので、発生した中性子をポリエチレンブロックで減速した後、加速器周辺の数ヶ所で測定を行い、中性子発生源の位置特定のために用いた。検出器位置を図4に示す。また、NE-213 は高速中性子を検出することができるので、発生した中性子のエネルギーを測定して生じた反応を調べるために使用した。NE-213 はγ線も検出することができ、²²Na (1.28MeV γ線源) による中性子エネルギーの

校正が研究されている⁵⁾。エネルギー校正はこの方法を用いた。

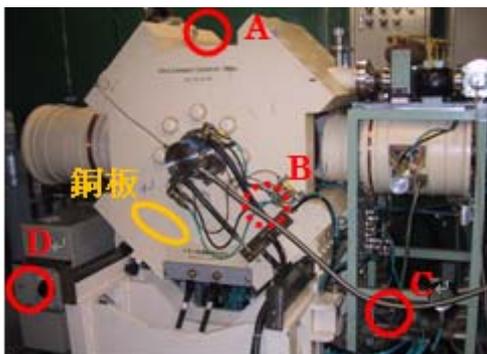


図4 BF₃検出器測定位置



図5 放射化した銅板

3.2 結果および考察

3.2.1 BF₃について

A~Dの各測定点で一定時間(250sec)測定を行い、それぞれ中性子ピークのカウント数を取り、位置Aで規格化を行ったものを表1の中性子量(測定値)に示す。一方、放射化した銅板(図5)の位置から中性子が発生しているとして、鉄の遮蔽と検出器の立体角の影響を考慮して中性子量の相対値を計算したものを表1の中性子量(計算値)に示す。このとき、次式を用いて計算を行った。

$$\phi_0 = \frac{Q(E)}{4\pi r^2} \exp\{-\Sigma_R(E) \cdot r'\} \quad (1)$$

ϕ_0 : 中性子束 $Q(E)$: はじめの中性子束 $\Sigma_R(E)$: 除去断面積
 r : 中性子源から検出器までの距離 r' : 鉄の厚さ

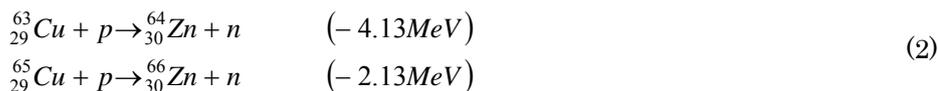
ただし、除去断面積は入射中性子のエネルギーに依存する。今回の計算では中性子のエネルギーを0.5MeVとして計算を行った。これは中性子のエネルギーが最大で0.87MeV程度であると考えられるからである。中性子のエネルギーについては3.2.2節で述べる。中性子量の計算値と測定値を比較するとかなり近い傾向が得られたと言える。したがって、やはり中性子は加速された陽子がデフレクター出口付近の銅に入射したことにより発生したと考えられる。

表1 中性子量の計算結果との比較

測定位置	距離 r[cm]	鉄の厚さ r'[cm]	中性子量(計算値)	中性子量(測定値)
A	40	2	1.000	1.000
B	30	12	0.338	0.211
C	40	15	0.116	0.142
D	50	15	0.074	0.094

3.2.2 NE-213 について

まず、3MeVに加速された陽子が銅板に入射したときに生じる反応について考える。銅には⁶³Cuと⁶⁵Cuが69.17:30.83の割合で存在する。それぞれの(p,n)反応およびそのQ値を次式に示す。



よって、3MeVの陽子で起こりうる反応は ${}^{65}\text{Cu}(p,n)$ 反応である。このとき、発生する中性子の最大エネルギーは入射する陽子のエネルギーからQ値を引いた0.87MeVである。

ここで、実際に測定から得られたスペクトルを図6に示す。(a)は ${}^{22}\text{Na}$ から放出される1.28MeVの γ 線を測定したスペクトルであり、(b)は加速器上部の位置Aで測定したスペクトルである。エネルギー校正の結果、(b)のスペクトルがすべて中性子によるものであると考えた場合、その中性子のエネルギーは最大で約10MeVとなる。これは3MeVの陽子では発生しない高いエネルギーのものである。よって、スペクトルの高エネルギー側の部分は中性子ではなく、 γ 線によるものだと考えた。この場合、発生する γ 線のエネルギーは最大で約5.5MeVであり、 ${}^{63}\text{Cu}+p$ と ${}^{64}\text{Zn}$ および ${}^{65}\text{Cu}+p$ と ${}^{66}\text{Zn}$ の静止質量エネルギーの差はそれぞれ7.7MeV、8.9MeVであるから、十分に発生しうるエネルギーである。したがって、加速された陽子が入射した銅板では ${}^{65}\text{Cu}(p,n)$ 反応だけではなく、 ${}^{63}\text{Cu}$ や ${}^{65}\text{Cu}$ に陽子が吸収される反応も生じていたと考えられる。その結果、 ${}^{64}\text{Zn}$ や ${}^{66}\text{Zn}$ の様々な励起状態から基底状態に落ちる過程で γ 線が放出されたと考えられる。

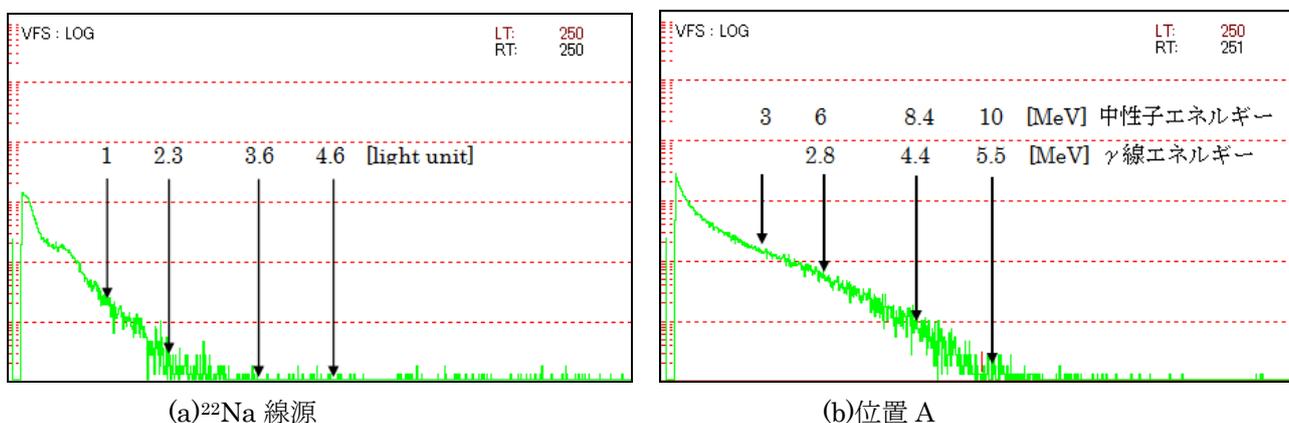


図6 NE-213の測定で得られたスペクトル

4 まとめ

今回、イオン源を移動させてビーム調整を行った結果、以前の約8倍のビームを取り出すことができた。これはベータトロン振動の共鳴により、加速粒子の軌道が偏り、取り出し口であるマグネティックチャンネル付近で軌道が集まったためである。後日、ターゲットまでビームを輸送したところ、3.8nAのビーム電流を得ることができた。これはPIXE分析を行うことのできるビーム量であるので、本サイクロトロンを今後PIXE分析に利用して研究を行う予定である。

また、中性子はデフレクター出口付近の銅板に加速された陽子が入射して ${}^{65}\text{Cu}(p,n)$ 反応が生じていたことが原因であった。中性子の発生を防ぐために銅板を厚さ1mmのTa板で覆い、線量を調べたが前後で有意な差は認められなかった。サイクロトロン内には銅や真鍮で作られた部品が多いため、別の場所からも中性子が発生しているのではないかと考えられる。中性子は加速粒子がサイクロトロン内に衝突して発生しているので、ビームの取り出し効率の向上にも大きく関係するため、今後も研究を続けていきたいと考えている。また、測定された線量(0.90 μ Sv/h)はターゲット電流が数nAの状態での測定を行うことには問題のない値なので、PIXE分析に利用することは可能である。

参考文献

- 1) S.Wakasa et al., Int., J. PIXE 3 (1993) 329.
- 2) A. Terakawa et al., The proceedings of XI International Conference on PIXE and its Analytical Applications (Puebla, Mexico), PII-3 (2007).
- 3) グレン F・ノル (木村逸郎、阪井英次 訳) 放射線計測ハンドブック、日刊工業新聞社
- 4) コラス・ツルファニディス (阪井英次 訳) 放射線計測の理論と演習、現代工学社
- 5) V.V.VERBINSKI et al, NUCLEAR INSTRUMENTS AND METHODS 65 (1968) 8-25.

PIXE cyclotron

M. Fujikawa¹, K. Ishii¹, H. Yamazaki¹, S. Matsuyama¹, A. Terakawa¹, Y. Kikuchi¹, M. Fujiwara¹,
K. Sera², H. Sasaki³, K. Maeda³, Y. Kawamura¹ and T. Yamamoto¹

¹Department of Quantum Science and Energy Engineering, Tohoku University
6-6-01-2 Aramaki-zaaoba, Aoba, Sendai, Miyagi 980-8579, Japan

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

³Sasaki Taro Memorial PIXE Center
5-3 Asanotyou, Hakodate, Hokkaido 040-0076, Japan

Abstract

PIXE analysis plays an important role in various fields of research such as biology, biomedical sciences, environmental sciences, archeology, and material sciences. We have performed PIXE analysis at the Sasaki Taro memorial PIXE center in Hakodate, Japan where a 3-MeV AVF cyclotron and two beam lines for horizontal and vertical irradiations have been installed. The center has not been able to offer PIXE analysis in recent years because of cyclotron troubles and the cyclotron was repaired recently.

In order to optimize acceleration variations, we measured beam profiles with internal probes and investigated in beam intensity for various parameters concerning RF system as well as internal ion source and deflector. As a result, we succeeded to transport proton beams of about 3.8 on the target, that is sufficient for the conventional PIXE analysis. We were recognized that the betatron resonance plays an important roll for the beam extraction.

A significant number of neutrons from the cyclotron due to the $^{65}\text{Cu}(p,n)^{65}\text{Zn}$ reaction were observed during the operation, indicating the main source of the beam loss in the cyclotron.

In this symposium we will report details of the present status of PIXE facilities and the above cyclotron at the Sasaki Taro memorial PIXE center.

PIXE 研究支援のためのデータベースの構築

伊藤じゅん¹、二ツ川章二¹、斉藤義弘²、世良耕一郎³、石井慶造⁴

¹ (社) 日本アイソトープ協会アイソトープ部
〒113-8941 東京都文京区本駒込 2-28-45

² (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

³ 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

⁴ 東北大学大学院工学研究科
〒980-8579 宮城県仙台市青葉区荒巻字青葉 01

1. はじめに

PIXE(Particle Induced X-ray Emission)は、微量の試料で分析可能、全元素を同時に分析できる、などの利点から元素分析の有用な手法の一つとして利用されている。そのなかで NMCC(Nishina Memorial Cyclotron Center)は、1993 年より我が国初の PET と PIXE の共同利用施設として全国の研究者に開放されてきた。利用分野は医歯薬学・獣医学等の生命科学系、地球科学・材料工学等の理工系、環境科学、考古学など非常に広領域にわたり、多種多様な試料の分析が行われている。さらに工業技術への応用、製品の品質管理など、産業界への利用も試みられている。共同利用課題は一般公募され、年間約 30-35 件の申込課題が採択されている。現在までに 6 万以上の試料分析が行われ、500 編以上の学術論文が発表されるなど、我が国における中心的な PIXE 施設として機能してきた。

結果として NMCC には多種多様なデータが蓄積されており、それは他施設の PIXE 関係者のみならず、他の分析手法を手がける者にとっても非常に貴重な情報である。そこで、NMCC における過去 10 年間の PIXE データ(スペクトル、測定条件、試料に関する情報、元素濃度値、参考文献等)を整理・分類し、データベース化することを考えた。ネットワーク上で、試料別や研究分野別に試料情報を検索・閲覧できるようなシステムが構築されれば、研究活動の効率化が期待できる。また、公開したスペクトル画像やその他の情報を各々の研究活動に積極的に役立ててもらうことにより、共同利用の更なる推進、利用者層の拡大が期待され、それが PIXE 関係機関全体の活性化にもつながるものと思われる。さらに、各試料の標準的元素濃度が参照でき

れば、他の分析方法を用いる研究者にとっても貴重なデータとなることが期待される。そのデータベースに対し、他の機関・方法によるデータが加わることにより、元素濃度のコントロール値が確定されていけば、多くの研究者が学術的レポート上でそれを参照できるようになり、学会全体に対する貢献度は非常に大きなものとなることが期待される。

2. 測定システム

NMCCにおいては、通常のPIXE分析時には二検出器法が用いられている。一般に、PIXEにおけるX線の検出には、多元素から発生する特性X線を同時に測定するため、エネルギー分散型のSi(Li)検出器が用いられる。しかし、Si(Li)で入射するX線をそのまま測定しようとする、低エネルギーX線ではほとんどの計数が占められてしまい、微量に含まれる中・重元素のX線を精度よく検出するためには膨大な時間が必要となる。当初は一台の検出器を用い、まず吸収体を装着し低エネルギーX線を減弱させて多量のビームによる高Z元素の測定を行い、次に低Z元素測定のために吸収体を取り外してビーム電流を1/100に落とす、という二重の測定を余儀なくされていた。しかし需要が拡大し、多量の試料を処理するのが困難になることが予想されたため、二台の検出器を二方向に設置しそれらをそれぞれ高Z、低Z元素用に使い分け、同一ビームにより同時に測定を行う方法が開発された¹⁾。

ターゲットチェンバー内ではビームがターゲット以外に当たらないよう、グラファイト製ビームコリメータを用いて整形される。ターゲットは入射ビームに対して45°になるよう設置される。高Z用検出器はビームに垂直方向に設置し、各元素から発生するX線をターゲットの裏側から測定する。対象試料に応じて適切な吸収体を装着し、カリウム以上の中・重元素の測定を行う。一方、低Z用検出器は、ターゲット自身による低エネルギーX線の吸収を防ぐため、ターゲットの正面方向に設置されている。さらに二台の検出器の計数率を調整するために、後者に対して0.5~2 mmφのグラファイト製コリメータが、試料に応じて選択され用いられる。また、低エネルギーX線の吸収をできるだけ少なくするためベリリウム窓の薄いものが使用され、さらに分解能・S/N比の向上の目的で空乏層の小さめのものが検出器として選ばれている。この二台目の検出器は、吸収体なしでナトリウム~鉄あたりまでの軽・中元素の測定を行う。この二検出器法の開発により、特殊な場合を除き一試料5~10分の測定時間で全元素の分析が可能となり、多数の試料を効率よく処理できるようになった。

さらに2001年にPure-Ge検出器が導入され、それを高Z用検出器側ビームに対して後方135°から挿入することにより、X線と同時にγ線測定が可能となるシステムが構築された²⁾。このシステムにより、通常のPIXEと同時に軽元素から放出される即発γ線の検出が可能となり、従来PIXEでは不可能であったフッ素など軽元素の分析が可能となった。特にフッ素に関しては、一説には中国だけで1億人の中毒患者がいるといわれるなど、環境汚染・人体曝露問題において注目される元素である。新システムにおいては、内部標準元素などによりPIXEで既知濃度の中・重元素の特性X線ピークと、110 keVのフッ素の即発γ線ピークを同一スペクトル内で測定可能なため、精度の良い分析が可能である。

1997年には、ビームを真空外に引き出して大気中の試料を照射するシステムも構築された³⁾。それにより真空チェンバー内に入りきらない文化財などの大きな試料や、培地内の細胞などウェットな状態の試料、油類など真空内PIXEでは対応できない試料の測定が可能となった。大気PIXE装置は、PIXE装置を設置する際に、ビームラインの設置水平レベルを確認するために開けられていた真空チェンバー後方の貫通孔を利用して接続された。ビーム径3 mmφで、最大3 nAのビーム電流を大気中に引き出すことが可能である。近年、大気PIXEに対する物理量の決定が行われ、真空PIXEと同様の定量分析を行うことが可能となった⁴⁾。

3. NMCC において分析された試料

図1にNMCCにおけるPIXEの年度別試料数の推移を示す。分析試料数は平成5年の共同利用開始以降年々増加し、近年では年間6000試料を超えており、現在までに6万以上の試料分析が行われている。

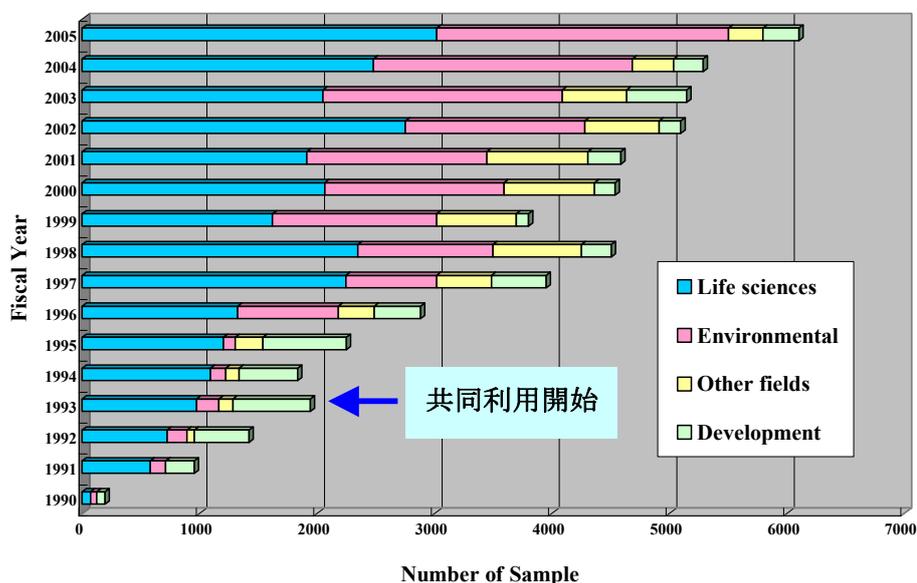


図1：NMCCにおける分野別年度別分析試料数推移

現在まで多く分析が行われている分野を大別すると、以下の四つにまとめることができるが、それぞれの分野でどのような試料が分析されているか、以下に要約する。

1) 医学・生物学

血液・尿・髄液などの体液、臓器・筋肉などの軟組織、骨・歯などの硬組織などの臨床検体の分析により、体内微量元素と生理的活動・微量元素と疾患の関係が明らかにされ、微量元素分布の特徴による診断法の開発・体内微量元素濃度調整による治療効果促進などの臨床応用研究に発展している。特に1 mg以下の試料の定量分析法を開発したことにより、内視鏡や生検により採取された微小組織の分析も可能となっている⁵⁾。また基礎医学に関しては、特にマウス等の小実験動物から連続採血され分離された血清、同微小臓器（例えばリンパ節）などの微小検体の定量分析が可能となったことから、多くの研究に利用されてきた。医学だけではなく、歯学、獣医学分野の利用も多く、前者では口腔粘膜・歯肉・歯・唾液などの分析が、後者では家畜やペットの臓器・被毛・血液・乳・尿・糞など多岐にわたる分析が多数行われている。

2) 環境科学

環境分野では、特に大気汚染の観点から現在まで数万という試料の分析が行われている。大気浮遊粉塵（エアロゾル）の組成は、大気環境汚染状況の調査に重要な役割を果たしているが、粒径別に採取される場合が多く、その場合は均一状、あるいはスポット状にフィルター上に採取される。NMCCではこれらフィルター上に採取されたエアロゾル試料の定量分析法を均一試料・スポット試料の両方に対して開発し、1試料あたり3分ほどの測定時間で全元素の定量分析が可能となっている⁶⁾。また近年注目を集めているナノ粒子の分析、体内挙動、発生機構に関する研究も複数行われている。それに加え河川水・飲料水・雨水などの分析も重要である。前二者は有害元素による広域的環境汚染の観点から、後者は地球温暖化や酸性雨の観点から特に重要だと言える。また雨水・雪・霧・樹氷などの試料も、大気環境に関する重要な情報を与えるものであり、多くの試料が分析されている。さらに海水、プランクトン、海洋生物などの分析も広く行われ、地球規模の環境変化が生態系に与える影響の実態、逆に海洋生態系の変化が地球温暖化に与える影響、さらに食物連鎖

の観点から人体に与える影響などが調べられている。

3) 公衆衛生学・食品学

公衆衛生学的な研究としては、特に「有害元素による広域的環境汚染とそれに伴う人民の体内曝露評価」のテーマで、多くの国際的研究が行われてきた。NMCC で開発された、手を加えない毛髪・爪・尿その他の体液の分析法は、極めて簡便で精度が良く、多数試料の短時間分析を可能とするものであり、広域的調査を行うために試料数が多くなりがち同テーマには最適なものである⁷⁾。さらに、水、土、エアロゾル、農作物など、全ての試料の定量分析法が確立されているため、曝露の主経路推定、環境への拡散状況に関しても多角的な情報を得ることができる。国際的なプロジェクトを通し、今まで数万という試料の分析が行われ、特に東・東南アジアにおいて人々の生活・健康を守るための研究に利用されてきた。実際、NMCC での分析結果をふまえて多くの改善がなされ、有害元素曝露を軽減することができた地域も少なくない。また食品・栄養学的な研究課題として、食品中の必須元素・有害元素摂取の観点から農作物、自然環境中の食用植物、海産物、加工品など多くの分析が行われているが、従来の調製法ではフッ素、ヨウ素などの注目元素の分析が困難であった。そのため食品に対する新たな調製法が確立され、従来不可能であった揮発性元素の分析も可能となった⁸⁾。

4) 地球科学、その他

地球科学的な研究にも広く利用され、岩石・鉱石・流体包有物・土壌・温泉水など地質・鉱物学そのものの研究から、地球科学の知識を環境学に応用した研究にいたるまで多数のテーマで研究が行われている。近年産業廃棄物施設や鉱山廃坑からの浸出水、あるいはヒ素などの有害元素を高濃度に含む温泉水による河川や地下水系の汚染が問題になってきており、それらが周辺環境に与える影響に関する研究も広く行われている。最近のトピックスとしては、植物による環境浄化作用「ファイト-レメディエーション」が注目されている。特に河口付近に堆積する有害元素を、特定の植物の生物濃縮作用を利用して回収し、土壌を浄化する試みである。上述の有害元素による人民の体内曝露問題に関する研究などは、その原因が飲料水（主に井水であり、鉱脈の影響を受けやすい）、石炭燃焼に伴う呼気など多様であるが、いずれも地球科学の知識が要求される問題であり、公衆衛生学者、地球科学者、分析者の協力体制が必要となるが、三者の協力体制が機能している例は稀であり、NMCC ではその構築も目指している。

さらに工業技術への応用、製品の品質管理など、産業界への利用も試みられている。このように NMCC の PIXE は、純粋な学術的研究から、人々の生活に密着した、直接人々の生活や健康を守るための実学にまで幅広く使われ、一般の人々にとっても身近なツールとなっている。

4. データベースの構築

4.1 掲載データの選定

データベース中のデータは未発表のものを除くため、原則として 1994 年から 2004 年までに測定された試料約 5 万件のうち、試料数が 100 以上の代表的な試料のデータを中心に掲載した。代表的な試料をまとめたものを表 1 に示す。特に試料数の多いものとして、血清、毛髪、エアロゾル、水、鉱物学試料、植物、尿が挙げられる。

血清試料の場合、多くが臨床医学分野の試料であるが、その中でも例えば急性心筋梗塞患者や透析患者、腎疾患患者など色々な疾患患者の血清が存在する。これらを疾患別に掲載し、患者の性別、年齢が分かっている試料に関しては、それらも併せて掲載した。また公衆衛生学の観点からは、定期健康診断で採取された健康者の数年分の血清データを選定した。その他に食品・栄養学分野からは肥満者の血清データを選定した。このように同じ血清試料であっても研究の目的は様々であり、可能な限り多くの要求に応えられるようデータの選定を行った。掲載データの例として、図 2-a), b) に急性心筋梗塞患者（50 代女性）の血清スペクトルを示す。

表 1 : NMCC における代表的な分析試料

標準試料	約1200	血清	約4600
全血	約770	血漿	約900
髄液	約300	肝臓	約1100
腎臓	約300	尿	約1700
脳	約140	骨	約1100
爪	約130	毛髪	約3700
口腔粘膜	約680	歯肉	約770
エアロゾル	約3500	水	約2400
植物	約1800	土	約180
鉱物学試料	約2000		

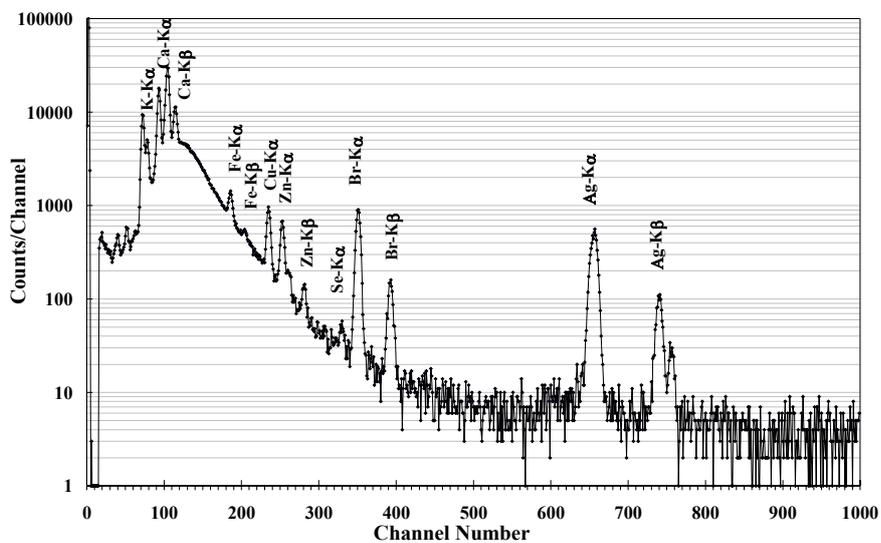


図 2-a) : 急性心筋梗塞患者の血清スペクトル (Si(Li)No.1、300 μm Mylar 吸収体)

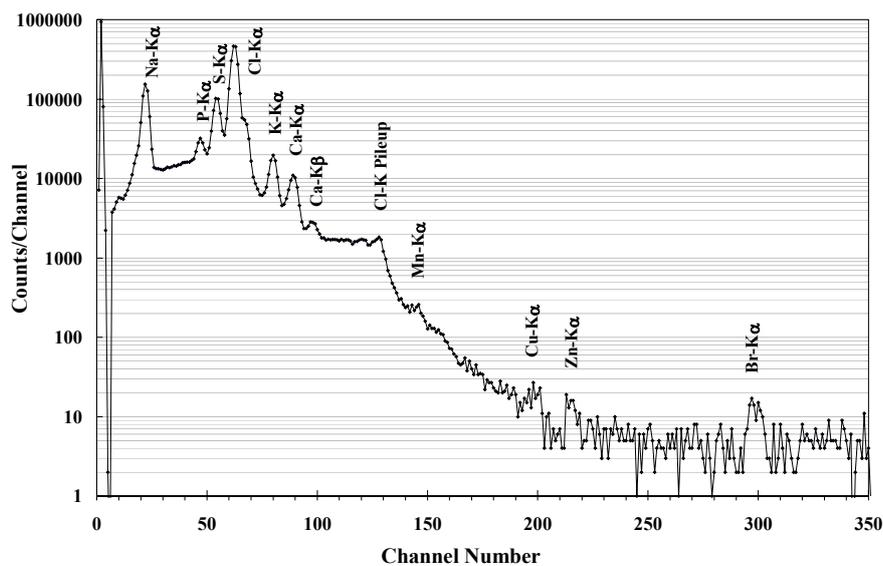


図 2-b) : a)と同試料 (Si(Li)No.2、吸収体なし)

この場合、特に亜鉛、セレンの濃度に注目し分析が行われている。過去に NMCC において行われた研究により、急性心筋梗塞患者の血清中の亜鉛およびセレンが、コントロール群と比較して有意に不足していることが分かっている。亜鉛は傷の修復等に使われる元素であるため、おそらく梗塞部位の修復に使われたものと思われるが、セレンはグルタチオンペルオキシターゼという酵素の主成分であり、セレンの不足が同酵素の不活性化を招き、心筋梗塞のリスクが増大したことが示唆された⁹⁾。

毛髪試料に関しては、前述の中国石炭燃焼地区に住むフッ素中毒患者やフィリピンの小規模鉱山 (Small-scale mining) で働く鉱夫の毛髪など、各国の有害元素汚染地域住民の毛髪データを国ごとに選定し掲載した。また公衆衛生学の観点からは、健康調査で採取した毛髪中元素濃度と、環境水中元素濃度との関連を検討し、生活環境因子の影響について解明する目的で研究が行われており、特定環境地域住民の毛髪データを掲載した。その他性別、年齢の分かっている健常者のデータも豊富にそろっており、年代別にそれぞれ選定を行い、多数存在するものに関しては統計精度の良いものを掲載した。また人間の頭髪以外にイヌやウシ、ウマといった数種類の動物の被毛データも存在し、種類ごとにデータを選定し掲載した。毛髪試料の標準値確立に向けた第一段階として、NMCC において現在までに測定された日本人健常者の毛髪中元素濃度の平均値を年齢、男女別に求めた。その結果を表 2-a), b) に示す。表に示されるように、0 歳から 70 歳以上まで幅広い年代にわたってデータが得られている。毛髪分析は、国内外における特定地域住民の特定有害元素による曝露評価の目的で行われることが多いため、健常者毛髪を分析する機会は少ない。しかし、健常毛髪に関しても年々データ収集が着実に進んでおり、国内の居住地域別、さらに国外の健常者からの採取も行い、データを拡充していく計画である。今後、他施設・他の分析法の結果が加わることにより、標準値確立にさらに近づくものと期待される。

表 2-a) : 日本人健常男性 166 人の年代別毛髪中元素濃度の平均値と標準偏差

Element	Age (number of sample)							
	0-9(n=7)	10-19(n=10)	20-29(n=47)	30-39(n=12)	40-49(n=37)	50-59(n=16)	60-69(n=30)	70-79(n=7)
Na	245±200	187±130	310±270	188±120	283±260	424±460	313±300	291±170
Mg	45±35	29±40	67±55	50±40	53±53	60±46	54±66	32±32
Al	25±32	59±50	31±38	50±46	41±40	28±30	55±49	53±42
Si	88±89	68±66	194±190	310±390	148±250	175±250	133±130	90±100
P	95±88	100±130	137±140	72±91	119±100	119±120	102±120	55±110
S	44300±12000	45100±9100	42800±6900	43500±8900	45700±7400	40100±9700	42600±6700	41100±9800
Cl	1340±960	1190±1900	966±1200	378±330	1280±1100	2380±3100	1430±1800	1780±1500
K	586±660	612±1100	325±420	119±84	240±210	445±560	318±410	564±520
Ca	522±270	1130±430	1530±970	1220±650	975±520	830±820	1010±740	933±570
Ti	19±28	6.0±4.1	8.5±9.4	9±11	7.9±9.3	18±26	7.3±9.9	12±10
V	0.36±0.74	0.12±0.28	0.46±0.71	0.5±1.1	0.45±0.83	0.38±0.77	0.46±0.71	0.35±0.51
Cr	0.41±0.37	0.35±0.44	0.45±0.45	0.32±0.49	0.55±0.91	0.39±0.38	0.29±0.44	0.31±0.42
Mn	1.09±0.74	0.80±0.68	1.02±0.67	2.7±4.8	1.1±1.3	0.98±0.84	0.9±1.1	0.75±0.31
Fe	18±10	15.2±6.1	22±20	17.1±9.8	16.0±8.9	22±11	22±22	19±16
Ni	0.48±0.77	0.55±0.39	2.4±5.6	0.87±0.95	0.76±0.69	1.0±1.8	1.0±1.0	2.0±2.9
Cu	31±31	27±15	54±120	27±15	27±10	20.5±9.4	22±12	21±11
Zn	179±73	259±62	274±82	296±97	291±93	274±120	241±82	227±85
As	0.08±0.18	0.39±0.42	0.32±0.88	0.30±0.53	0.35±0.86	0.24±0.38	0.30±0.41	0.45±0.56
Se	0.83±0.79	1.06±0.40	0.88±0.71	0.75±0.37	1.22±0.84	0.64±0.71	1.02±0.60	0.58±0.61
Br	11.0±8.2	10±10	9.3±7.7	9.8±8.8	11.2±9.0	11.4±7.5	16±25	39±64
Rb	1.4±2.2	1.7±2.5	0.9±1.2	0.8±1.4	0.9±1.5	0.7±1.3	0.9±2.0	1.2±1.7
Sr	1.6±1.5	1.7±1.5	5.6±4.2	3.5±2.2	3.0±2.4	2.4±4.7	2.4±2.8	3.6±3.3
Nb	0.53±0.89	0.12±0.22	0.54±0.95	0.45±0.97	0.46±0.73	0.7±1.0	0.27±0.48	0.14±0.34
Mo	1.43±0.69	0.62±0.77	1.0±1.5	0.7±1.3	0.7±1.2	0.54±0.61	0.69±0.89	1.15±0.97
Hg	2.7±2.6	5.1±2.3	2.7±2.6	3.4±3.6	6.4±3.8	5.4±4.6	4.4±3.1	7.6±4.0
Pb	3.9±2.3	2.5±2.3	4.0±3.3	4.6±4.9	3.7±3.2	3.3±4.3	4.6±5.7	4.2±3.1

表 2-b) : 日本人健常女性 239 人の年代別毛髪中元素濃度の平均値と標準偏差

Element	Age (number of sample)							
	0-9(n=14)	10-19(n=16)	20-29(n=51)	30-39(n=45)	40-49(n=42)	50-59(n=16)	60-69(n=44)	70-79(n=11)
Na	190±150	222±300	317±340	201±140	194±170	180±110	281±210	303±300
Mg	90±45	121±110	147±99	144±88	154±100	109±63	101±88	159±150
Al	39±30	118±150	50±59	55±55	41±49	42±90	42±52	25±31
Si	194±140	673±1700	1340±2900	1500±3600	688±950	516±1700	826±2700	214±250
P	97±99	140±150	148±120	106±100	93±97	96±94	107±100	99±150
S	45000±6300	44200±8800	41400±7500	40200±8100	1010±6400	39900±7600	41300±8000	44100±7100
Cl	314±220	1070±2200	385±750	233±270	207±310	278±460	642±890	814±1300
K	273±290	370±640	254±280	128±130	139±200	151±120	282±290	269±280
Ca	1920±690	2030±1300	3110±1800	3350±1700	3460±2000	2700±1600	2220±1300	2950±2100
Ti	13±15	19±19	59±88	22±26	21±22	22±21	22±25	37±42
V	2.0±3.3	0.7±1.4	0.9±1.2	0.8±1.4	0.7±1.3	0.7±1.3	3±15	1.2±1.7
Cr	0.14±0.22	0.27±0.33	0.38±0.59	0.31±0.47	0.31±0.53	0.41±0.63	0.25±0.39	0.51±0.53
Mn	1.10±0.91	0.96±0.63	1.2±1.7	0.84±0.66	1.0±1.2	1.4±1.4	3±15	1.8±2.4
Fe	21±12	25±12	25±17	16.8±8.9	18.6±8.0	21±13	116±610	28±30
Ni	1.3±1.4	1.4±1.1	3.0±4.1	2.0±2.8	2.4±2.3	2.1±3.0	4.2±8.6	2.2±2.7
Cu	58±61	45±39	80±87	41±30	48±43	36±31	55±110	29±13
Zn	321±100	273±220	427±430	479±560	362±330	323±230	323±280	406±530
As	0.14±0.38	0.23±0.54	0.15±0.50	0.17±0.32	0.24±0.45	0.14±0.36	0.18±0.44	0.26±0.45
Se	0.90±0.70	1.00±0.80	0.75±0.84	0.78±0.68	0.88±0.77	0.66±0.70	0.72±0.57	0.62±0.84
Br	5.0±2.3	15±26	30±46	29±53	27±40	15±16	49±130	21±15
Rb	0.42±0.52	1.0±2.0	5.1±9.8	1.1±2.6	1.1±2.6	0.6±1.1	5±21	2.4±3.2
Sr	7.3±5.0	6.0±3.7	9.8±5.0	10.3±6.4	11.8±8.5	8.4±5.1	7.0±5.8	9.3±6.8
Nb	0.9±1.2	0.56±0.99	0.6±1.3	0.43±0.90	0.5±1.0	0.40±0.60	0.50±0.75	0.8±1.2
Mo	1.3±1.5	0.66±0.78	0.9±1.2	0.73±0.90	0.6±1.1	0.64±0.76	0.51±0.75	0.9±1.0
Hg	4.2±4.2	2.6±3.0	2.0±2.4	3.0±3.2	3.2±3.8	4.0±3.2	3.4±3.6	3.4±3.3
Pb	7.2±6.0	5.8±5.5	9.6±8.6	5.9±4.6	5.6±4.6	4.2±5.2	4.0±4.5	5.9±5.6

掲載データの採用基準としては、生体試料のように個体差のある試料に関しては、標準偏差を見る意味でなるべく多数のデータを掲載するようにした。また、血清や毛髪など試料数がふんだんにあるものは性別・年齢別を考慮して均等になるようデータを選定した。また何千と分析を行った試料でも、年齢・性別・疾患名などのデータが揃っているものは少なく、データの明確なものを優先的に選んでいる。しかし例えば 60 代の健常者の血清などは、すべて掲載するにはデータが多すぎるため、結果に関わらず任意に選択を行っている場合もある。

さらに最近の分析需要の動向を考慮し、食品学および環境学分野のデータの充実も図った。NMCC においては環境を含めた生命科学分野の試料が大半を占めており、考古学や材料工学分野の試料の分析例は少ない。そのため分野的なバランスを考え、分析例の少ない分野の試料は優先的に掲載するようにした。

4. 2 データベースの構造

データベースは Windows および Macintosh 上で動作する「ファイルメーカー Pro8.0」(Filemaker, Inc.) を用いて作製した。このソフトを選択した理由としては、特に専用のハードを必要としないこと、維持管理が容易であること、ウェブ・データベースを公開する仕組みが比較的シンプルであること、などが挙げられる。データベースの入力や表示のインターフェースが一つになっているため、簡単な操作でデータベースの構築からインターフェースの作り込みまでできるようになっていることも特長の一つである。

検索方式としては、① 研究分野、② 試料の種類、③ 試料一覧から限定された試料を検索できるようにした。研究分野から検索する際の項目としては、文部科学省の科研費の分類方法にならい、過去に分析例のある分野をピックアップした。しかし同じ試料であっても、色々な分野の研究者が色々な研究目的で分析をおこなっているため、試料を研究分野別に分類することは非常に困難である。そのため、分野別分類だけでなく、大まかな試料の種類からも検索をかけられるようにした。その他に、例えば水試料の場合、温泉水や河川水といった具体的な試料名一覧から限定された試料を検索できるようにした。

データベースに掲載する情報として以下の 5 項目を選んだ。

- ① 典型的スペクトル (高エネルギー領域と低エネルギー領域の二組)

② 実験条件

- ・測定日
- ・検出器仕様 (検出器の分解能、大きさ、検出効率など)
- ・測定条件 (X線吸収体、ビームスポットのサイズ、測定時間、クーロン数など)
- ・調製条件 (調製方法、内部標準法の場合はその内部標準濃度)
- ・定量方法

③ 関連文献

④ コメント (測定の目的、試料情報、測定・解析上の注意)

⑤ 元素濃度値

典型的なデータベース画面を、一例としてアルツハイマー病患者から採取された血清に対して図3に示す。スペクトルに関しては、主なピークの同定を行った後、エクセルで書かれたものを図として直接貼り付けることにより、ファイルサイズのコンパクト化を図った。通常のPIXEにおいては一つの試料に対して、高エネルギー領域と低エネルギー領域の二組があるが、その他にGe検出器でフッ素分析を行った試料に関しては γ 線スペクトル、大気PIXEで測定が行われた試料に関してはそのスペクトルを掲載した。

その他の情報は、画面ページの下部に表示させた。実験情報、測定条件、関連文献、コメント、元素濃度値の五つのタブを設け、そのタブをクリックすることによりそれぞれの情報を参照することができる。

実験情報のタブには、測定日、検出器、調製条件、定量方法の四つの項目を掲載した。検出器は通常使用されているSi(Li)検出器2台と大気PIXE用のSi(Li) (Si(Li) No.1-3)、 γ 線スペクトル測定用のGe、計4台の検出器のうち、表示されているスペクトル測定に用いられた検出器がマークされている。それぞれの検出器仕様に関しては、それらの情報を別ページの一つにまとめて掲載した。項目横のボタンをクリックするとそのページに切り替わり、検出器情報を参照できるようになっている。さらにそれぞれの検出器の検出効率曲線も閲覧できるようにした。調製条件の項目には、試料調製法の名称と、内部標準法の場合その元素および濃度を記入した。試料調製法は数種類に限定されるため、各々の方法の手順を別ページの一つずつにまとめた。検出器情報と同様に、項目横のボタンをクリックするとその別ページに切り替わり、試料調製法の情報を参照することができる。定量方法の項目に関しては、あらかじめ内部標準法、外部標準法、無標準法の三つのボタンを設け、その試料に用いられた定量方法がマークされている。

測定条件のタブには、X線吸収体、ビームスポットサイズ、測定時間、クーロン数の四つの項目を設けた。X線吸収体はその試料の測定に用いられた吸収体が表示される。現在NMCCで使用されている吸収体の情報は別ページの一つにまとめた。項目横のボタンを押すとそのページに切り替わり、吸収体情報を参照することができる。また特殊吸収体の構造と効果例についてのページを別に設け、同一の試料に対して通常のプラスチック吸収体を用いたスペクトルと特殊吸収体を用いて測定した場合のスペクトルを併せて掲載した。ビームスポットサイズの項目は、現在使用されているビームコリメータは通常6 mm ϕ あるいは3 mm ϕ のどちらかであるため、あらかじめ二つのボタンを設け、その試料の測定に用いられたコリメータがマークされている。

関連文献に関しては、一年間の共同利用の成果報告をまとめた「NMCC共同利用研究成果報文集」およびPIXE研究の専門雑誌である「International Journal of PIXE」を中心に掲載した。

コメントは、測定の目的や試料の詳細、臨床医学試料などであれば患者の性別や年齢等把握している限りの情報を掲載した。また、測定・解析時の注意事項などがある場合は、記入した。

メニューへ
一覧表示
PIXEデータベース
検索画面へ
レコード番号 E-2

系 生物系	分野 医歯薬学	分科 臨床医学	細目名
種類 血液	試料名 患者血清	アルツハイマー病	検索

スペクトル1

スペクトル2

実験情報	測定条件	関連文献	コメント	元素濃度値
測定日 1994/11/24				
検出器 <input checked="" type="checkbox"/> SKLi-1 <input checked="" type="checkbox"/> SKLi-2 <input type="checkbox"/> SKLi-3 <input type="checkbox"/> Pure-Ge				
調製条件 ビベットイング In: 100 μg/ml				
定量方法 <input checked="" type="radio"/> 内部標準法 <input type="radio"/> 外部標準法 <input type="radio"/> 無標準法				

測定履歴	関連レコードへ
1 1994/11/24 患者血清	↑
2 1994/11/24 患者髄液	↓

図 3 : データベース画面

130

公開方式としては、日本アイソトープ協会のホームページにリンクさせ、原則として誰にでも閲覧可能な方式にする予定であるが、詳細な内容に関しては未定である。申請者にアクセスのキーワードを与えるか、全く無制限に閲覧可能とするのか、また有料にするか無料にするか、などの方式に関しては、日本アイソトープ協会やPIXE研究協会との話し合いにより、なるべくユーザーの利便性を優先して決めたいと考える。著作権の問題に関しては、本データベースを論文や学会発表に引用する際は必ず参考文献として本データベース名を紹介し、データ提供者の関連論文がデータベース上に記載されている場合には、その引用を義務付けようと考えている。しかしさらに細かいルールに関しては未定であり、それもPIXE研究協会などの意向をふまえ、決めていきたいと考えている。

4. 3 データベースのための新たなデータ取得

本研究においては、PIXEで分析可能なあらゆる試料の情報を含むデータベースの構築を目標とするため、欠落・不足しているデータに対しては、新たに測定を行うことによりデータベースの完成を目指した。購入可能な標準試料の分析に関しては、施設間の校正の観点から可能な限り多くの測定を行い、また今まで多くの分析が行われている試料に対しても、吸収体等測定条件を変えてスペクトルを取得するなど、より多くのデータ収集を行った。例として、100、300、500、1000 μm Mylar と 45 μm 厚アルミホイルの5種類の吸収体を用いて測定した山菜試料のスペクトルを図4に示す。

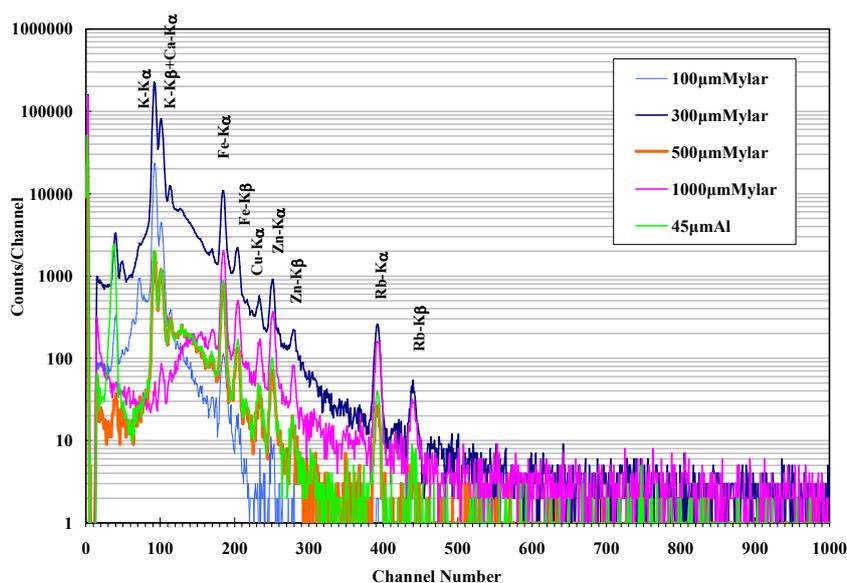


図4：山菜試料のスペクトル (Si(Li)No.1、5種類の吸収体を使用)

前述のように、NMCCでは既存の2台のSi(Li)検出器にGe検出器を組み込んだシステムが構築され、フッ素の定量分析が可能となった。それによりフッ素と他元素との相関や複合曝露の評価も可能となり、従来の分析法ではなし得なかった多角的な公衆衛生学的研究への応用が期待される。 γ 線スペクトルデータは通常のPIXEスペクトルに比べ圧倒的に数が少ないため、データを充実させるために温泉水や湧水¹⁰⁾、山菜や野菜、海藻、きのこなどの食品試料¹¹⁾、土壌や河川水、海水などの環境試料、中国の石炭燃焼地区のフッ素中毒患者の毛髪試料等に対して、 γ 線スペクトル測定およびフッ素分析を行った。そのスペクトルやフッ素濃度値もデータベースに加えられた。一例として、Ge検出器で測定した温泉水の γ 線スペクトルを図5に示す。

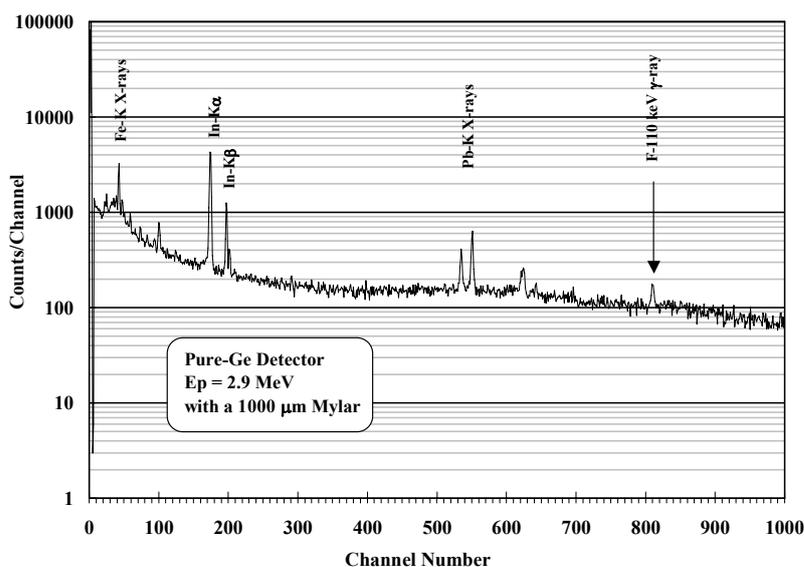


図 5 : 温泉水 γ 線スペクトル (Ge 検出器、吸収体 1000 μm Mylar)

また、過去に大気 PIXE 装置を使用して分析を行ったユーザーは、我々を除き 1 グループのみであるため、大気 PIXE によるスペクトルデータも真空内 PIXE スペクトルに比べ圧倒的に数が少ない。NMCC においては、昨年大気 PIXE により測定された試料の定量分析が可能となったため、今後積極的に活用していく予定である。そのための基礎データとして、今回種々の標準試料、生きたままの植物試料、毛髪試料等に対して大気 PIXE 分析を行った。その掲載データ例として、毛髪試料のスペクトルを図 5-21 に、標準試料 City Waste Incineration Ash (BCR-No.176) のスペクトルを図 6 に示す。

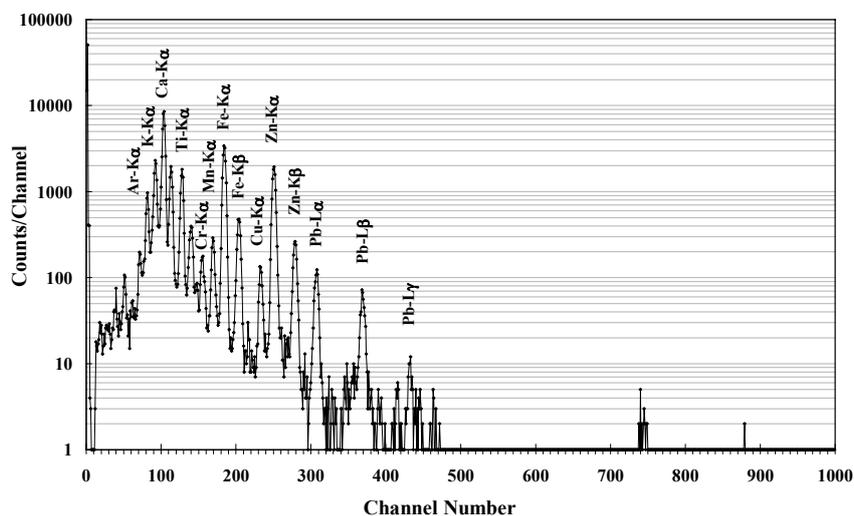


図 6 : City Waste Incineration Ash (BCR-No.176) の大気スペクトル (Si(Li)No.3、300 μm Mylar 吸収体)

5. 結論

PIXE 分析技術が開発され、そして様々な分野に応用されてから 30 余年になる。しかしながら、まだ分析技術としての地位は確立されていない。その理由として、PIXE 分析装置が 1 MeV 以上のエネルギーの粒子線加速器を使用すること、他の分析方法よりその解析方法において物理的知識を必要とされること、PIXE 分析で得られた分析結果が世間にあまり公表されていないことなどが挙げられる。NMCC では、PIXE 分析を用いた研究のために全国共同利用を実施している。今後、全国に設置されている多くの加速器施設が PIXE 共同利用を行えば、粒子線加速器を使用することの問題は解決される。一方、分析方法については、NMCC においては現在、スタッフが実験から解析までを行っており、この作業はどこの加速器施設でも行うことができる訳ではない。さらに、PIXE 分析結果はインターネット上においてもほとんど公表されていない。そこで、PIXE 分析方法と分析結果の公開を行うために、データベースシステムを構築することを本研究の目的とした。

本研究においては、NMCC における過去 10 年間の PIXE データ（スペクトル、測定条件、試料に関する情報、元素濃度値、参考文献等）を、科研費で使われている研究分野・詳細項目に従って整理・分類し、研究題目でも索引できるようにデータベース化した。また、異なる測定条件に対するスペクトル、まだ多く分析が行われていない試料に対するデータ、それに伴う新たな試料調製法に対するデータ等に関して、新たなデータを取得し、データベースの完成度を高めた。特に近年、食品中の必須元素・有害元素に対する注目度が急速に高まっているため、多種多様な食品に対する試料調製法の確立を目指し、それを用いて多くの種類の食品に対するデータを取得した。その結果、各分野のデータ量について偏りが無いデータベースを完成させることができた。今回、1000 試料をデータベース化した。NMCC では、これまでに 6 万以上の試料分析を行っているので、今後、これらを整理することと新たに分析するデータも追加し、PIXE 分析データベースのより一層の充実を図る。さらに、本データベースを基準とした PIXE 分析研究者のネットワークも可能になる。他施設にも呼びかけデータの提供と共有を行うことにより、施設間・分析手法間の校正を計り、基本的な試料に対する PIXE 分析の標準値の確立へと発展させていきたい。

本研究により、誰でも検索、参照できる PIXE 分析データベースが構築された。本データベースの利用は、多くの研究分野の発展に今後貢献できるものと期待される。

謝辞

本研究を行うにあたり、仁科記念サイクロトロンセンター共同利用のユーザーの方々には、データおよび試料情報の提供にご協力いただきました。この場を借りて、謝意を表します。特に、秋田大学工学資源学部・石山大三教授、滝沢村埋蔵文化財センター・井上雅孝先生、盛岡大学短期大学部・小嶋文博准教授、秋田県健康環境センター・斉藤勝美先生、岩手県予防医学協会・櫻井則彰先生、岩手大学農学部・佐藤至准教授、岩手医科大学医学部・三浦吉範先生、農業環境技術研究所・箭田佐衣子先生には、詳細な試料情報の提供にご協力いただきました。厚く感謝申し上げます。

参考文献

1. K. Sera, T. Yanagisawa, H. Tsunoda, S. Futatsugawa et al., "Bio-PIXE at the Takizawa Facility (Bio-PIXE with a Baby Cyclotron)", *Int'l Journal of PIXE*, Vol.2, No.3 325-330 (1992)
2. 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, No.1&2, 23-35 (2003)
3. S.Futatsugawa, S.Hatakeyama, Y.Saitoh and K.Sera, "In-Air PIXE System at NMCC", *Int'l Journal of PIXE*, Vol.7, No.3&4, 171-177 (1997)
4. K.Sera, K.Terasaki, J.Itoh, Y.Saitoh and S.Futatsugawa, "Physical Quantitative Analysis in In-Air PIXE", submitted

to *Int'l Journal of PIXE* (2007)

5. 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, No.3&4, 157-169 (1997)
6. K.Sera, S. Futatsugawa and K.Saitoh, "Method of Quantitative Analysis Making Use of Bromine in a Nuclepore Filter", *Int'l Journal of PIXE*, Vol.7, No.1&2, 71-85 (1997)
7. K.Sera, K.Terasaki, J.Itoh, Y.Saitoh and S.Futatsugawa, "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 (2001).
8. 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 27-39 (2005)
9. Y.Miura, C.Itoh, T.Miyakawa, K.Nakai, K.Hiramori, K.Sera and S.Futatsugawa, "Simultaneous Determination of Trace Elements in Sera of Patients with Acute Myocardial Infarction by PIXE", *Int'l Journal of PIXE*, Vol.3, No.4, 295-300 (1998).
10. J.Itoh, S. Futatsugawa, Y.Saitoh and K.Sera, "Quantitative Analysis of Multi-elements Including Fluorine in Spring- and Hot-Spring Water Samples Taken around Mt. Iwate by a PIXE System", *Radioisotopes*, Vol.54, No.7, 205-212 (2005) (in Japanese except abstract)
11. 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, No.3,4, 285-291 (2005).

Construction of a PIXE database for supporting PIXE studies

J.Itoh¹, S.Futatsugawa¹, Y.Saitoh², K.Sera³ and K.Ishii⁴

¹Radioisotope section, Japan Radioisotope Association
2-28-45 Komagome, Bunkyo, Tokyo 113-8941, Japan

²Takizawa Laboratory, Japan Radioisotope Association
348-58 Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0173, Japan

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

⁴Department of Quantum Science and Energy Engineering, Tohoku University
01 Aramaki Aza Aoba, Aoba, Sendai, Miyagi 980-8579, Japan

Abstract

A database of PIXE data, which have been accumulated at NMCC, has been constructed. In order to fill up the database, data are newly obtained as many as possible for the kind of samples whose number is small. In addition, the data for different measuring conditions are obtained for several samples. As the number of γ -ray spectrum obtained with a HPGe detector for the purpose of analyzing light elements such as fluorine, is overwhelmingly small in comparison with that of usual PIXE spectra, γ -ray spectrum and elemental concentration of fluorine are obtained as many as possible for food, environmental and hair samples. In addition, the data taken with an in-air PIXE system have been obtained for various samples. As a result, the database involving contents over various research fields is constructed, and it is expected to be useful for researches who make use of analytical techniques. It is expected that this work will give a start to many researchers to participate in the database and to make calibration with each other in order to establish reliable analytical techniques. Moreover, the final goal of the database is to establish the control concentration values for typical samples. As the first step of establishing the control values, average elemental concentration and its standard deviations in hair samples taken from 405 healthy Japanese are obtained and tabulated according to their sex and age.

大気粒子成分組成のブラックカーボンモニター測定値 に及ぼす影響評価

斉藤勝美¹、世良耕一郎²

¹秋田県健康環境センター環境部
010-0975 秋田県秋田市八橋字下八橋 191-42

²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

1 はじめに

大気中エアロゾルは大気質や“ヒト”の健康と気候変動に大きな影響を及ぼしており、国際的にエアロゾル研究の重要性が高まっている。特に、ブラックカーボンは粒径 $1\mu\text{m}$ 以下に分布するため、呼吸器への沈着による健康影響と、気候変動に関しては有機成分や硫酸塩と異なり太陽光を吸収し、大気を加熱して地球温暖化に直接効果を持つ物質である。また、ブラックカーボンは、有機炭素や硫酸塩等の二次エアロゾル生成の核として作用するため、人為起源エアロゾル濃度を支配する要因の一つとなっている。

現在、ブラックカーボンの測定には、フィルター捕集と光吸収特性を利用した PSAP (Particle/Soot Absorption Photometer, Radiance Research) や Aethalometer (Magee Scientific) が多く用いられている。しかしながら、光学手法によるブラックカーボンの測定では、有機成分、硫酸塩などの散乱性エアロゾルや粒径、さらにフィルター内多重反射の影響を受け、発生源、測定する場所、季節によりブラックカーボンの質量吸収係数が異なることが指摘されている¹⁻¹²⁾。また、ブラックカーボンの標準粒子が存在しないため、PSAP や Aethalometer の質量吸収係数は、熱光学法 (NIPSH5040) により測定された元素状炭素 (EC) をベースに推定されることが多い。

こうしたことから、散乱性エアロゾルの影響を受けにくい光学手法の高精度ブラックカーボン測定計の開発が求められ、(独) 科学技術振興機構の「革新技术開発研究事業、熱抽出によるブラックカーボン及びダストのリアルタイムモニターの開発研究 (平成 17 年度～19 年度)、研究代表者：日本カノマックス㈱」により高精度・高感度のブラックカーボン計 (モニター) が開発された。ここでは、光学手法によるブラックカーボンの測定精度に影響する大気粒子の成分組成が、開発したブラックカーボンモニター値に影響を及ぼすかの評価をするために、1)ブラックカーボンモニターで捕集した大気粒子の PIXE 法による元素分析、2)ブラックカーボンモニター値と熱光学法による EC 測定値との比較を行ったので、その結果を報告する。

2 開発したブラックカーボンモニターの概要

開発したブラックカーボンモニターは、従来の光学手法によるブラックカーボン計で問題となる光散乱性干渉成分（有機成分、硫酸塩、硝酸塩、塩化物塩、アンモニウム塩、水分）を 400°C で加熱したカラムで蒸発除去してブラックカーบอนを抽出し、ブラックカーボンによる LED 光源吸収をフォトダイオード検出器で計測するシステムである。また、ブラックカーボンをビーム状（エアロゾルジェット）にフォーカスしてフィルターに捕集する方式により、高感度でリアルタイムのブラックカーボン測定することが可能になっている。LED 光源とエアロゾルジェットを組合わせた高感度リアルタイムブラックカーボンモニターは、世界で初めての試みである。Fig. 1 に、開発したブラックカーボンモニターの概要を示した。

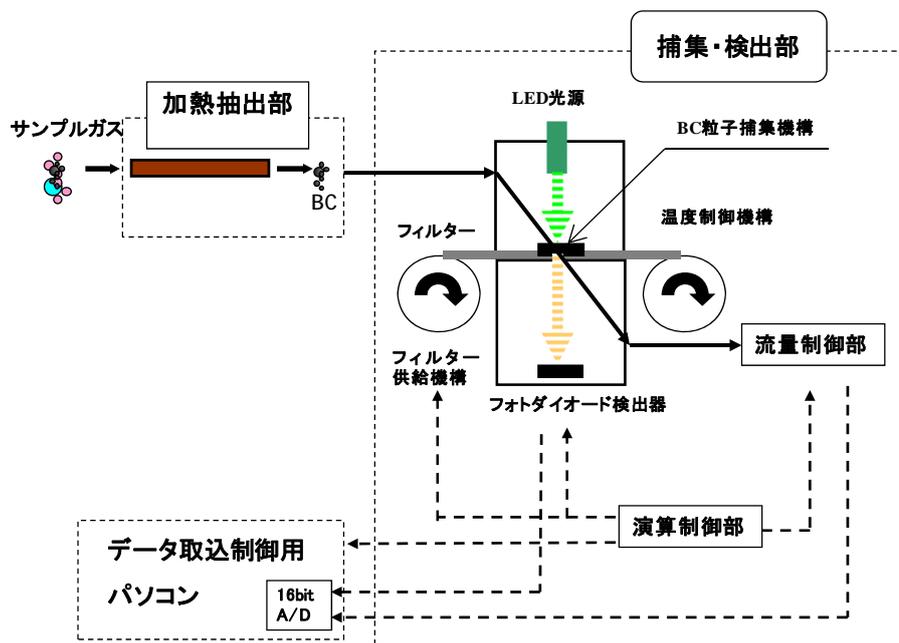


Fig. 1 Schematic diagram of black carbon measurement monitor.

3 開発したブラックカーボンモニターで捕集した大気粒子の元素分析

開発したブラックカーボンモニター値が大気粒子の成分組成に影響を受けているかを検討・評価するために、バッチ式のブラックカーボンモニターで捕集した大気粒子の元素分析を PIXE 法で行った。大気粒子は、東京大学先端科学技術研究センターで 2006 年 12 月 4 日と 5 日に、特殊テフロンフィルター（HORIBA TFH-47）で捕集した。また、大気粒子の捕集時に PSAP によるブラックカーボンの測定も行った。大気粒子の捕集では、1 μ m のサイクロンで 1 μ m 以上の粒子を除外し、400°C での加熱をした。捕集条件は捕集流量 1.0L/min、捕集時間は約 2 時間である。特殊テフロンフィルターに捕集した大気粒子の元素分析は、(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）で行った。

Fig. 2 と Fig.3 に、PSAP によるブラックカーボンの測定結果と大気粒子を捕集した時間帯を示す。ブラックカーボン濃度は、2006 年 12 月 4 日では 15 時～19 時、12 月 5 日は全般的に高くなっている。

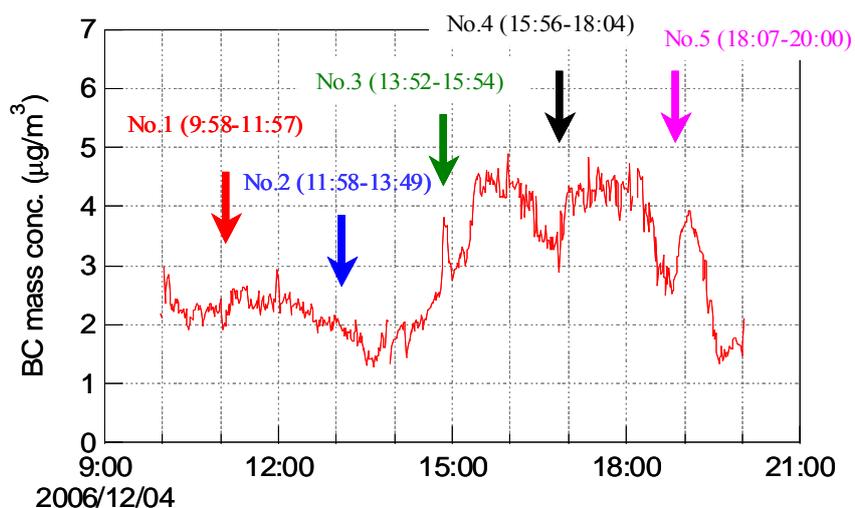


Fig. 2 Temporal variation of black carbon concentration by a PSAP (December 04, 2006).

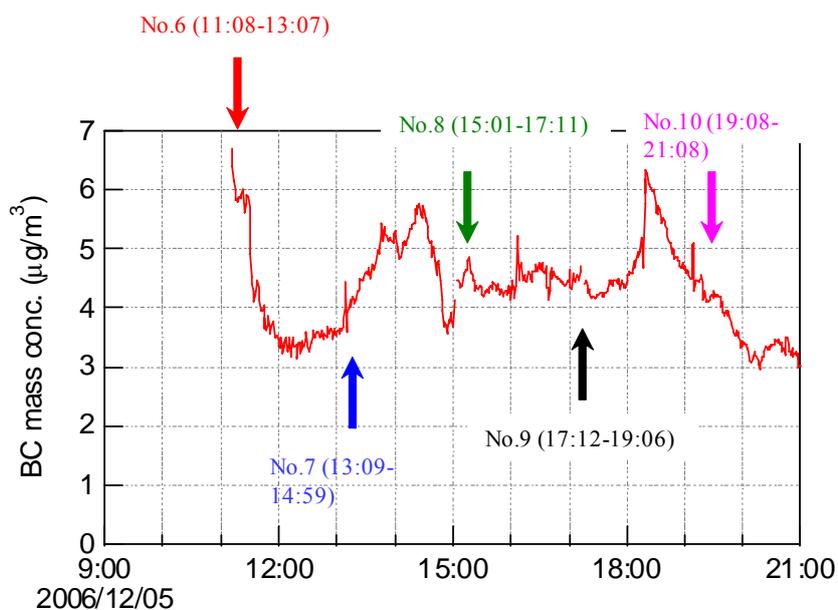


Fig. 3 Temporal variation of black carbon concentration by a PSAP (December 05, 2006).

Table 1 と Table 2 に、検出された元素の定量結果を示した。2006年12月5日に捕集した No.1 試料は No.2~No.5 試料とは異なり、No.1 試料のみ Si の濃度が高い。No.1 試料の捕集時の PSAP によるブラックカーボン濃度は、No.2 試料と同じく、しかも No.3~No.5 試料の 2/3~1/2 である。12月6日に捕集した No.6~No.10 試料は、12月5日に捕集した No.2~No.5 試料と同様の元素組成と濃度であるが、PSAP によるブラックカーボン濃度は12月5日に比べて高く、特に No.6 試料は $6\mu\text{g}/\text{m}^3$ を超えている。

Table 1 Elemental concentration ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) of atmospheric particles (sampling: December 04, 2006).

	No.1	No.2	No.3	No.4	No.5
Na	0.47	0.26	0.41	0.21	0.12
Mg	ND	ND	ND	ND	ND
Al	0.25	ND	ND	ND	ND
Si	14.4	2.46	1.21	1.29	0.79
P	ND	ND	ND	ND	ND
S	0.26	ND	0.17	0.14	0.10
Cl	0.17	0.14	0.13	0.18	0.09
K	0.14	ND	0.10	0.22	0.28
Ca	0.25	0.21	0.17	0.20	0.12
Mn	0.01	0.02	0.01	0.01	0.02
Fe	0.20	0.14	0.17	0.22	0.19
Ni	ND	ND	ND	ND	ND
Cu	<LOQ	0.01	<LOQ	0.01	ND
Zn	0.22	0.16	0.12	0.08	0.06
Br	0.01	0.01	ND	0.01	ND
Sr	ND	ND	ND	ND	ND
Pb	0.04	0.05	0.05	0.09	0.08
Total	16.42	3.46	2.54	2.66	1.85

<LOQ: Below limit of quantification; ND: Not

Table 2 Elemental concentration ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) of atmospheric particles (sampling: December 05, 2006).

	No.6	No.7	No.8	No.9	No.10
Na	ND	ND	0.27	0.50	0.39
Mg	ND	ND	ND	ND	0.13
Al	0.15	0.28	ND	ND	ND
Si	1.28	1.86	0.80	1.25	0.92
P	0.10	0.18	ND	ND	ND
S	0.29	0.16	0.36	0.25	0.27
Cl	0.10	0.26	0.16	0.13	0.49
K	0.23	0.28	0.22	0.43	0.49
Ca	0.19	0.21	0.27	0.27	0.19
Mn	0.05	0.07	0.04	0.09	0.05
Fe	0.32	0.47	0.51	0.69	0.37
Ni	ND	<LOQ	0.01	0.01	<LOQ
Cu	0.02	0.01	0.01	0.01	0.02
Zn	0.27	0.31	0.18	0.21	0.23
Br	ND	0.01	0.01	0.01	0.01
Sr	0.01	0.02	ND	ND	ND
Pb	0.03	0.05	0.03	0.05	0.06
Total	3.04	4.17	2.87	3.90	3.62

<LOQ: Below limit of quantification; ND: Not

こうした結果から、PSAP は Si、Cl、K などの元素に影響されずにブラックカーボン測定していると推察される。したがって、PSAP によるブラックカーボンの測定結果と類似している開発したブラックカーボンモニター値も元素、特に軽元素に影響されずにブラックカーボン測定していると考えられる。

4 開発したブラックカーボンモニター値と熱光学法による EC 測定値との比較

開発したブラックカーボンモニター値が大気粒子の成分組成に影響を受けているかを検討・評価することと、モニターに用いたブラックカーボンの質量吸収係数が妥当であるかを評価するために、熱光学法による EC (元素状炭素) 測定値との比較をした。ブラックカーボンモニター値と熱光学法による EC 測定値と比較するために、Fig.4 の写真のようにテープ式 (通常使用のガラス繊維フィルター) とバッチ式 (石英繊維フィルター、Pallflex 2500QAT-UP 47mmφ) のブラックカーボンモニターを用いて同時に大気粒子を捕集し、テープ式ではブラックカーボン値を 1 分間隔で計測した。大気粒子の捕集では 400°C での加熱をし、捕集流量は 0.7L/min とした。バッチ式により石英繊維フィルターに捕集した大気粒子は、Sunset Laboratory 社製のカーボンエアロゾル分析装置を用いて EC を測定した。比較のための計測と試料捕集は、大阪 (日本カノマックス㈱) で 1 回、秋田 (秋田県健康環境センター) で 2 回行った。



Fig. 4 Photograph of measurement and sampling.

Table 3~Table 5 に、ブラックカーボンモニター値と熱光学法による EC 測定値を示した。ブラックカーボンモニター値は、熱光学法による EC 測定値とほぼ同じで、大気粒子の成分組成の影響を全く受けておらず、またモニター使用したブラックカーボンの質量吸収係数は適切であったと考えられる。

Table 3 Values (μg) of black carbon monitor vs. measured values (μg) by Sunset Lab. (sampling point: Akita).

Sampling period	Sampling time	Black carbon monitor	Sunset Lab.
2007/02/07 15:16-18:22	3:06	0.17	0.10
2007/02/08 08:03-15:19	6:58	0.27	0.32
2007/02/08 15:21-19:53 2007/02/09 08:00-09:19	5:40	0.31	0.33
2007/02/08 20:04-02/09 07:50	11:25	0.63	0.61

Table 4 Values (μg) of black carbon monitor vs. measured values (μg) by Sunset Lab. (sampling point: Osaka).

Sampling period	Sampling time	Black carbon monitor	Sunset Lab.
2007/11/06 16:00-21:00	4:57	0.34	0.35
2007/11/06 21:00-11/07 08:59	11:41	1.93	2.04
2007/11/07 09:20-16:01	6:38	0.47	0.45
2007/11/07 16:08-11/08 08:46	16:34	1.61	1.64
2007/11/08 09:14-15:59	6:42	0.54	0.59
2007/11/08 16:05-11/09 08:01	15:38	2.12	2.18

Table 5 Values (μg) of black carbon monitor vs. measured values (μg) by Sunset Lab. (sampling point: Akita).

Sampling period	Sampling time	Black carbon monitor	Sunset Lab.
2007/11/12 16:31-11/13 08:59	16:22	0.78	0.71
2007/11/13 09:07-18:01	8:48	0.66	0.66
2007/11/13 18:05-11/14 08:59	14:48	0.97	1.00
2007/11/14 09:04-18:44	8:37	0.63	0.59
2007/11/14 18:49-11/15 08:59	14:01	1.26	1.24
2007/11/15 09:03-15:59	6:53	0.50	0.49

5 まとめ

開発したブラックカーボンモニター値に、大気粒子の成分組成が影響を及ぼすかを検討・評価するために、ブラックカーボンモニターで捕集した粒子の元素分析を行った。また、ブラックカーボンモニター値と熱光学法による EC 測定値を比較した。その結果、開発したブラックカーボンモニターは、大気粒子の成分組成の影響を受けずにブラックカーボンを高い精度で計測していると評価され、モニターに使用したブラックカーボンの質量吸収係数は適切であったと考えられる。

参考文献

- 1) J. Heintzenberg, "Size-segregated measurements of particulate elemental carbon and aerosol light absorption at remote arctic locations", *Atmos. Environ.*, **16**, 2461-2469 (1982).

- 2) C. Liousse, H. Cachier and S.G. Jennings, “Optical and thermal measurements of black carbon aerosol content in different environments: Variation of the specific attenuation cross section”, *Atmos. Environ.*, **27**, 1203-1211 (1993).
- 3) A. Petzold, C. Kopp and R. Niessner, “The dependence of the specific attenuation cross-section on black carbon mass fraction and particle size”, *Atmos. Environ.*, **31**, 661-672 (1997).
- 4) J.V. Martins, P. Artaxo, C. Liousse et al., “Effects of black carbon content, particle, and mixing on light absorption by aerosols from biomass burning in Brazil”, *J. Geophys. Res.*, **103**, 32,041-32,050 (1998).
- 5) J.S. Reid, P.V. Hobbs, C. Liousse et al., “Comparisons of techniques for measuring shortwave absorption and black carbon content of aerosols from biomass burning in Brazil”, *J. Geophys. Res.*, **103**, D24: 32031-32040 (1998).
- 6) K. Fuller, W.C. Malm and S.M. Kreidenweis, “Effects of mixing on extinction by carbonaceous particles”, *J. Geophys. Res.*, **104**, 15941-15954 (1999).
- 7) R. Hitzenberger, S.G. Jennings, S.M. Larson, et al., “Intercomparison of measurement methods for black carbon aerosols”, *Atmos. Environ.*, **33**, 2823-2833 (1999).
- 8) V.M.H. Lavanchy, H.W. Gäggeler, S. Nyeki et al., “Elemental carbon (EC) and black carbon (BC) measurements with a thermal method and an aethalometer at the high-alpine research station Jungfraujoch”, *Atmos. Environ.*, **33**, 2759-2769 (1999)
- 9) J. Heintzenberg and M. Bussemer, “Development and application of a spectral light absorption photometer for aerosol and hydrosol samples”, *J. Aerosol Sci.*, **31**, 801-812 (2000).
- 10) S. Sharma, J.R. Brook, H. Cachier et al., “Light absorption and thermal measurements of black carbon in different regions of Canada”, *J. Geophys. Res.*, **107**, 4774, doi: 10.1029/2002JD002496 (2002).
- 11) H.J. Lim, B.J. Turpin, E. Edgerton et al., “Semicontinuous aerosol carbon measurements: Comparison of Atlanta Supersite measurements”, *J. Geophys. Res.*, **108** (D7): Art. No. 8419 JAN 21 (2003).
- 12) T.C. Bond and R.W. Bergstrom, “Light absorption by carbonaceous particles: An investigative review”, *Aerosol Sci. Technol.*, **40**, 27-67 (2006).

Evaluating effects of elemental composition in atmospheric particles on measured value of the developed black carbon monitor

Katsumi Saitoh¹ and Koichiro Sera²

¹Division of Environmental Science, Akita Prefectural Research Center for Public Health and Environment
191-42 Yabase-Shimoyabase, Akita 010-8975, Japan

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

Abstract

It is well known that measured value of a black carbon monitor with optical technique is affected elemental composition in atmospheric particles. Consequently, in order to evaluating effects of elemental composition in atmospheric particles on the measured value of the developed black carbon monitor, we performed that 1) elemental composition of atmosphere particle sample collected with the developed black carbon monitor was analyzed by PIXE method, and 2) comparisons were made between the measured value and elemental carbon value by thermal-optical method. As a result, the measured value of the developed black carbon monitor was not affected elemental composition in atmospheric particles, and the measured value was measured in high accuracy.

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

ーバイスタンダー効果と微量元素との関連ー

田村咲子¹、須藤繭子¹、和田成一¹、柿崎竹彦¹、伊藤じゅん²

世良耕一郎³、伊藤伸彦¹

¹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

²(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

³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

近年、低線量放射線の生物影響が多様な角度から研究されるようになり、この生物影響は単に高線量からの外挿では説明のつかない現象と認識されるようになってきた。低線量放射線による影響の中で特徴的なものとして放射線による非標的効果 (Non-targeted effects) の誘導が注目を集めている。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のと同様の放射線影響が誘導されることであり、その原因としてはバイスタンダー効果が一因としてあげられている。1992年、Nagasawaらによって細胞に低線量の α 線を照射して染色体に現れる効果を調べていたときに、ごく微量の放射線を照射して全体の1%の細胞しか放射線が照射されていないにもかかわらず、結果的に30%もの細胞に染色体の変化が起こるという現象が観測された¹⁾。これは、照射を受けた細胞から何らかのシグナルが発生し、それが非照射細胞に伝わることによって照射影響が発現するという現象の存在を明らかにする契機となった。バイスタンダー効果が細胞に伝えられる経路として、細胞間接着を必要とするものと必要とされないものの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もので、細胞接着を必要としない経路では、メディウムを介して照射細胞から分泌された液性因子 (バイスタンダー因子) によりバイスタンダー効果が発現するといわれ、腫瘍細胞では液性因子の寄与が大きいと考えられている。この液性因子の候補としては TNF- α や TGF- β 1 が示されており、近年その因子として OH ラジカルや NO ラジカルも重要であると考えられている。また、バイスタンダー効果の誘導機構として細胞質や細胞膜に放射線がヒットすることにより細胞内情報伝達系の引き金となることが報告されているが²⁾、細胞質や細胞膜に起因するバイスタンダー効果の誘導機構の詳細は明らかにされていない。

一方、放射線照射による細胞膜応答の鍵となる蛋白はスフィンゴミエリナーゼと有力視されており、この

蛋白はTNF α 、IL-1 β 、FAS リガンドなどの細胞外のサイトカインと密接に関係して細胞周期停止や細胞老化、アポトーシスの細胞死を誘導する。このため、スフィンゴミエリナーゼの活性化がバイスタンダー効果による細胞致死を誘導すると予想される。

そこで本研究では、スフィンゴミエリナーゼ活性とバイスタンダー効果による細胞致死効果の関連を明らかにするとともに、スフィンゴミエリナーゼの活性化にはさまざまな 2 価の金属イオンが必須であるので、スフィンゴミエリナーゼの活性化に関与する 2 価の金属イオンを調べるため、放射線照射後の細胞内の 2 価の金属の変動をPIXE分析によって解析を行った。

2 測定方法

2.1 バイスタンダー効果による細胞死効果の検討

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 線を線量率 0.02Gy/min で行った。細胞致死効果の評価には Clonogenic assay を用いた。細胞に 0.1Gy となるよう照射し、インキュベーターで 2 時間培養した。その後シャーレに既知の適度な細胞数を播種し、14 日間培養後 10%ホルマリンを用いて固定し、生存率を算出した。バイスタンダー効果による生存率は 0.1Gy 照射後、1 時間培養し、その培地を回収して非照射細胞に添加・培養 1 時間後、Clonogenic assay を用いて生存率を算出した。培地を介したバイスタンダー効果のスフィンゴミエリナーゼの関与を解析するため、スフィンゴミエリナーゼ阻害剤処理による薬理的検討を行った。阻害剤としてはクロルプロマジンを用い、最終濃度 4 μ mol/L となるよう調整した。照射 1 時間前に阻害剤を培地に添加し、照射 1 時間後に培地を回収し、その培地を非照射細胞に添加・培養 1 時間後、Clonogenic assay を用いて生存率を算出した。

2.2 照射後の細胞内微量元素の変動

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、1 時間、2 時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、Ca、Zn、Cu 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、細胞試料に対して終濃度: 約 1,000ppm となるように加えた。この調製試料 5 μ 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。

3 結果

3.1 低線量放射線照射による細胞致死効果の評価

A172 細胞において X 線 0.1Gy が照射されたときの細胞致死効果を観察したとき生存率は 84%であり、X 線照射により生存率は有意に低下した ($p < 0.05$)。培地を介したバイスタンダー効果による細胞致死を解析するために X 線照射 1 時間後に培養液を非照射細胞に移し換え、1 時間培養後に生存率を Clonogenic assay によって評価したとき、その生存率は 84%であり、培地交換により生存率は有意に低下した ($p < 0.05$) (Fig.1)。これらの結果は低線量 X 線照射を受けた細胞から何らかの因子が分泌され、この因子が細胞致死の誘導に関与することを示唆している。

3.2 スフィンゴミエリナーゼ阻害剤添加による低線量放射線の細胞致死効果

スフィンゴミエリナーゼとバイスタンダー効果の関連性を解析するため、スフィンゴミエリナーゼ阻害剤処理後に低線量放射線が照射された細胞の致死効果と非照射細胞への照射された細胞の培養液の添加による細胞致死効果を Clonogenic assay によって評価した。照射 1 時間前にスフィンゴミエリナーゼ阻害剤処理後、X 線を 0.1Gy 照射した。まず、0.1Gy X 線照射された細胞の致死効果を観察した時、生存率は 103%となり、この生存率とスフィンゴミエリナーゼ阻害剤無処置の X 線照射による生存率を比較したとき(Fig.2A)、両者の生存率の間に有意差が認められた ($p < 0.05$)。次に、スフィンゴミエリナーゼ阻害剤処理した細胞に X 線照射後、その培養液を非照射細胞に移し替えた時の細胞の生存率は 99%となった。この生存率とスフィンゴミエリナーゼ阻害剤無処置の細胞を X 線照射したときの培養液処理による生存率を比較した時(Fig.2B)、両者の生存率の間に有意な差が認められた。 ($p < 0.05$)。これらの結果はスフィンゴミエリナーゼ活性が低線量の X 線の照射を受けた細胞の細胞致死効果と X 線照射を受けた細胞の培養液による細胞致死効果に関与することを示唆している。

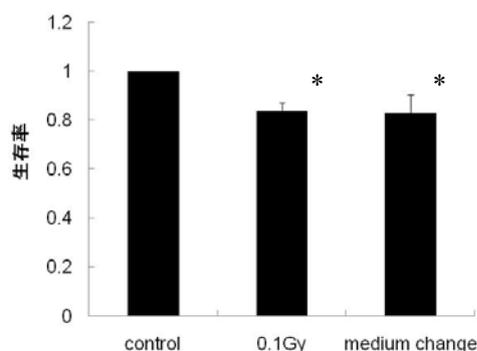


Fig.1 低線量 X 線を照射した時の細胞致死効果。X 線 0.1Gy 照射したとき細胞生存率の低下が観察された。0.1Gy 照射した細胞のメディウムを非照射細胞に添加したときも生存率の低下が観察された。結果は平均値±SE で表している。* $P < 0.05$

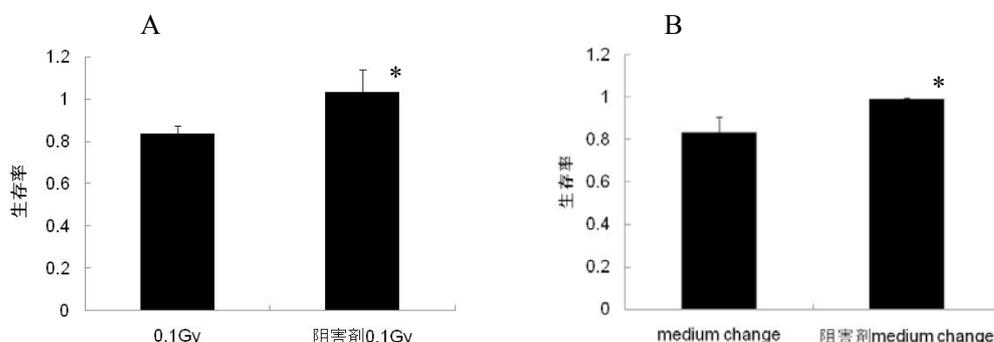


Fig.2 スフィンゴミエリナーゼ阻害剤処理による低線量 X 線を照射した時の細胞致死効果。スフィンゴミエリナーゼ阻害剤処理 1 時間後に A)X 線 0.1Gy 照射したときの生存率および B)0.1Gy 照射した細胞のメディウムを非照射細胞に添加したときの生存率はスフィンゴミエリナーゼ無処置のものと比較して有意に生存率が高くなった。結果は平均値±SE で表している。* $P < 0.05$

3.3 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、特にこの活性化には 2 価の金属イオンが不可欠であると考えられている []。本研究で低線量 X 線照射を受けた細胞の致死効果および照射を受けた細胞から分泌される因子による細胞致死効果にスフィンゴミエリナーゼの関与が示唆された。そこで、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各種 2 価の金属イオンの細胞内外の挙動を調べるため、低線量放射線照射による 2 価の金属元素の細胞内濃度変化を PIXE 元素分析法によって経時的に解析した。

0.1GyX 線照射後の細胞内 Zn 濃度の経時的な変化を Fig.3 に示した。非照射群では 19 ± 2 ppm、照射直後では 17 ± 2 ppm、照射後 5 分では 24 ± 6 ppm および照射後 15 分間では 16 ± 1 ppm、照射後 1 時間では 21 ± 8 ppm、照射後 2 時間では 19 ± 7 ppm であり、照射直後にやや低下し、5 分後に上昇、15 分後には下降して、1 時間後および 2 時間後には非照射群とほぼ同程度になる傾向が観察された。照射 5 分後では細胞内 Zn 濃度は非照射群に対して有意差は認められなかったが著しく増加する傾向が観察され、照射 15 分後では非照射群に対して低い値を示し、有意差が認められた ($p < 0.05$)。この結果は低線量放射線照射によって照射 5 分から 15 分後に Zn が細胞内外を挙動することを示唆している。

その他の 2 価の金属元素について、特に、カルシウム、銅の X 線照射による細胞内の変動を観察したとき、照射直後から 2 時間後まで有意な変化は認められなかった。

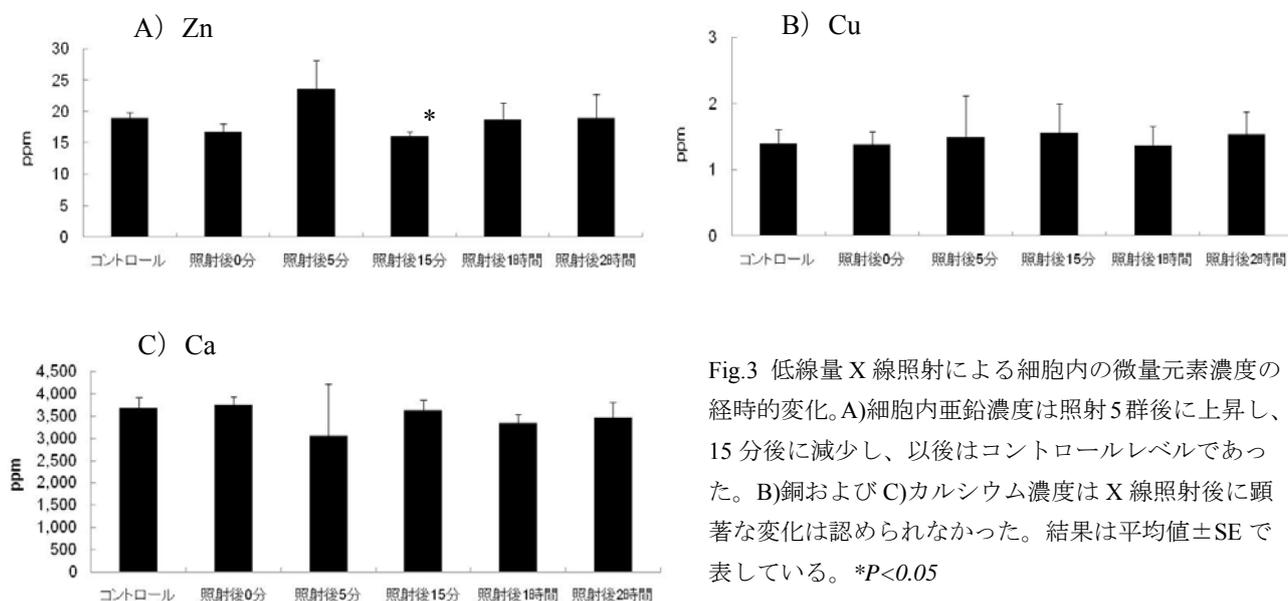


Fig.3 低線量 X 線照射による細胞内の微量元素濃度の経時的変化。A)細胞内亜鉛濃度は照射 5 分後に上昇し、15 分後に減少し、以後はコントロールレベルであった。B)銅および C)カルシウム濃度は X 線照射後に顕著な変化は認められなかった。結果は平均値 \pm SE で表している。* $P < 0.05$

4 考察

低線量域の放射線応答は高線量域の放射線応答から低線量域への外挿からでは説明できない生物効果が相次いで報告されており、低線量照射における特徴的な生物影響として、バイスタンダー効果や放射線超感受性: Hyper-Radiosensitivity(HRS)などが観察されてきた。HRS とは、低線量照射において DNA 損傷が小さいために修復系の誘導が起きず、低線量照射によって生じた DNA 損傷が十分な修復されないため細胞死がより引き起こされる現象である。一方、低線量照射線超感受性を示す原因としてバイスタンダー効果が重要視されている。特に腫瘍細胞のバイスタンダー効果の臨床応用が期待されているため、腫瘍細胞株の A172 における低線量照射によってバイスタンダー効果が誘発されるかを調べた。照射された細胞のメディアムを未照射細胞のそれと移し替える実験を行った。メディアムを移し替え 1 時間培養したのち Clonogenic assay により非照射の細胞群の生存率を算出すると、コントロールのそれに対し有意に低下した。すなわち照射細胞のメディアムと非照射の細胞と一緒に培養を行うことによって非照射の細胞群があたかも照射刺激を受けたような生存率低下を示すことが明らかとなり、これは照射細胞からのメディアムを介した液性のバイスタンダー因子による非照射細胞への細胞致死効果の誘発と考えられた。

このバイスタンダー効果の誘導メカニズムについて、細胞質や細胞膜への放射線刺激による影響も注目され、細胞質や細胞膜への放射線のヒットにより細胞内情報伝達系が活性化されることやアポトーシスが誘導

されることが報告されている³⁾。そこで、本研究では、放射線による細胞膜応答に関与するスフィンゴミエリナーゼに注目した⁴⁾。スフィンゴミエリナーゼ阻害剤を用いてメディウム交換実験を行ったところ生存率の有意な回復が認められ、スフィンゴミエリナーゼ阻害によりメディウムを介して誘発されるバイスタンダー効果が阻害されたと考えられた。この結果から低線量照射によって細胞膜による放射線応答によって細胞内シグナル伝達経路と細胞外シグナル伝達経路が活性化されることが推察された。また、バイスタンダー因子と考えられている分子の TNF α 、IL-1 β 、FAS リガンド、OH ラジカルおよび NO ラジカルなどはスフィンゴミエリナーゼの活性化によって亢進されると報告されているため、スフィンゴミエリナーゼがバイスタンダー効果を誘導する上流分子の一つである可能性が示唆された。

スフィンゴミエリナーゼの活性化は金属イオン依存的でありその種類は特に亜鉛、マグネシウム、カルシウム、コバルト、銅、マンガンなど2価金属イオンが必須であるので、放射線照射によるスフィンゴミエリナーゼの活性化メカニズムを明らかにするため、照射後細胞内微量元素の濃度を PIXE 分析を用いることにより経時的に測定した。本研究では、カルシウム、銅では照射後経時的に細胞内の金属元素の有意な変動は観察されなかったが、亜鉛では細胞内濃度が照射後5分で上昇する傾向を示し、照射15分後に有意に低下した。これらの結果は照射により亜鉛元素は細胞内外の挙動し、低線量放射線に対する放射線応答に亜鉛が関与することを示唆している。また、UV 照射による酸性スフィンゴミエリナーゼの活性が照射5分後から認められ⁴⁾、本研究における亜鉛の挙動はこれらのスフィンゴミエリナーゼ活性が高まる時間とがほぼ一致した。また、亜鉛を活性中心に持つスフィンゴミエリナーゼは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⁵⁾。リソソーム型は非活性化のスフィンゴミエリナーゼがリソソームへの移行し、リソソーム内部において Zn 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生じ、その分泌経路が細胞内亜鉛プールからは比較的隔離されているため、その活性に対し外因性の亜鉛を要求するという報告がある⁶⁾。これらのことから、照射5分に観察された亜鉛の細胞内増加は、放射線照射によって外因性(細胞外)の亜鉛が細胞内に流入し、細胞内の非活性型のスフィンゴミエリナーゼと結合することによって活性型スフィンゴミエリナーゼ(分泌型スフィンゴミエリナーゼ)になると推察され、照射15分後の細胞内の亜鉛の減少は亜鉛と結合して活性型となった分泌型スフィンゴミエリナーゼが細胞外へ分泌されたという推察される。

本研究では低線量放射線刺激によるバイスタンダー効果とその因子について検証をおこなった。A172 細胞は低線量照射に対し細胞致死効果を示し、これはバイスタンダー効果との関連が示唆された。またその効果を引き起こす液性因子としてスフィンゴミエリナーゼが示唆され、このスフィンゴミエリナーゼの活性化には亜鉛が関連することが推察された。

参考文献

- 1) Nagasawa, H. and Little, J. B. (1992) Induction of sister chromatid exchanges by extremely low doses of alpha-particles. *Cancer Res.* 52, 6394-6396.
- 2) 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
- 3) 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.
- 4) 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.
- 5) Schuchman, E. H., Suchi, M., Takahashi, T., Sandhoff, K., and Desnick, R. J.(1991) *J. Biol. Chem.* 266, 8531-8539
- 6) 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.

The analyses of the cell lethal effect induced by low-dose radiation in glioma

— Relation of bystander effect and trace elements —

S.Tamura¹, M.Sudo¹, S.Wada¹, T.Kakizaki¹, J.Ito², K.Sera³ and N. Ito¹

¹School of Veterinary Medicine, Kitasato University
35-1 Higashi 23bantyo, Towada, Aomori 034-8628, Japan

²Takizawa Institute, Japan Radioisotope Association
348-1 Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0173, Japan

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

Abstract

So far, the effects of low dose radiation have only been estimated by extrapolation from the data obtained by the higher dose radiation. Recently low dose radiation effects such as bystander effect cannot be explained by extrapolation from the data obtained by higher dose radiation. Cell death induced by bystander effect was induced by factors secreted from irradiated cell to unirradiated cell. And it is considered that cell membrane is important target for induction of bystander effect. In this study, to elucidate bystander effect, we investigated the relationship cell membrane effect (sphingomyelinase activity) and bystander effect, and divalent metal ion that are necessary for sphingomyelinase activation using PIXE analysis.

Cell death by radiation induced bystander effect was observed in glioma cell (A172 cell). This bystander effect was inhibited by sphingomyelinase inhibitor. When fluctuation of intracellular metal element was analyzed after irradiation, concentration of intracellular zinc element increased for 5 min and decreased for 15 min after irradiation. It is reported that sphingomyelinase activated for 5min after irradiation, sphingomyelinase activation and fluctuation of zinc metal was corresponding.

This result suggested that radiation induced bystander effect was caused by sphingomyelinase activation that was relative to zinc element.

頬粘膜下および口蓋粘膜経由の抗癌剤投与リンパ管の薬剤吸収能

藤村 朗¹、野坂洋一郎¹、世良耕一郎²

¹岩手医科大学歯学部口腔解剖学第一講座
020-8505 岩手県盛岡市中央通 1-3-27

²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

1 はじめに

口腔粘膜下には血管に匹敵するリンパ管が認められる。しかしながら、リンパ管の諸臓器における詳細な構築についてはほとんど検索されていない。特に、口腔領域は硬組織を含んでいるため、酵素組織化学、免疫組織化学的染色に頼るリンパ管の検出は非常に困難で、臓器単位の構築はほとんど検索されていない。我々は手始めにマウスの口腔領域の軟組織に注目して 10 μ m 連続凍結切片を作成して酵素組織化学染色を施し、コンピュータグラフィックを応用した連続切片三次元再構築法を用いて、すでに舌粘膜下のリンパ管構築を報告し⁽¹⁻³⁾、舌背粘膜下、舌下粘膜下、そして舌下粘膜と対向する口腔底粘膜下リンパ管構築の違いを形態学的に報告した⁽⁴⁻¹¹⁾。これらのリンパ管構築のデータをもとに、13回 NMCC 共同利用研究成果発表会では粘膜下に抗癌剤を注射し、粘膜下リンパ管網から吸収させ、所属リンパ節である顎下リンパ節への薬剤移行を PIXE にて計測してきた。今回は頬粘膜および口蓋粘膜上に抗癌剤を設置し、粘膜経由で薬剤を粘膜下リンパ管網から吸収させ、所属リンパ節である顎下リンパ節への薬剤移行を PIXE にて計測したので報告する。

2 材料と方法

実験動物には雄性マウス (C57BL/6J) 10 匹を用いた。ネブタール腹腔内麻酔下に開口し、左側頬粘膜上 (5 匹)、または口蓋粘膜 (正中) 上 (5 匹) に、生理食塩水にて 0.1mg/ml に調整した抗癌剤 (Cisplatin) を綿球に浸し、ピンセットにてマッサージを 5 分間施した (Fig. 1)。その後、5 分間放置して直ちに頸部の皮膚を正中切開、左右に観音開きにし、顎下リンパ節を明示、周囲組織をから引き剥がし、摘出した。顎下リンパ節は個体により 1~3 個摘出できた。摘出した顎下リンパ節は乾熱乾燥機 (200 $^{\circ}$ C) にて 2 日間乾燥を施し、バッキン膜に載せ、無調整、無標準法による Particle Induced X-ray Emission (PIXE: The Nishina Memorial Cyclotron Center) 元素分析を施し、Cisplatin の構造式内にある白金の量を計測した。

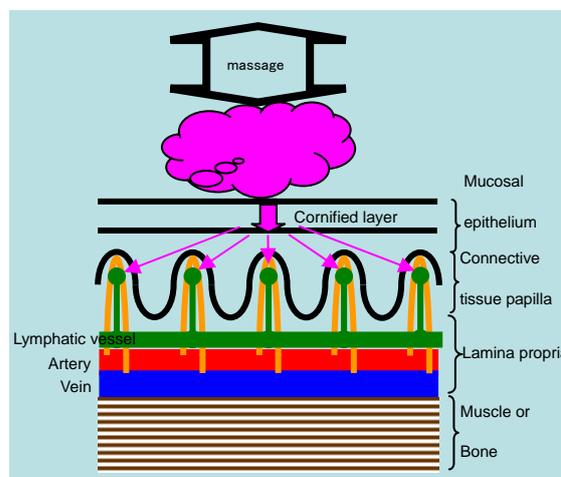


Fig. 1

3 結果

マウス左側頬粘膜上にシスプラチンを浸した綿球を設置し、5分間マッサージ、5分間放置した群では、左側顎下リンパ節には平均 $9.9 \mu\text{g/g}$ が、右側顎下リンパ節には平均 $6.5 \mu\text{g/g}$ の白金が蓄積していた。マウス口蓋粘膜正中にシスプラチンを浸した綿球を設置し、5分間マッサージ、5分間放置した群では、左側顎下リンパ節には平均 $4.5 \mu\text{g/g}$ が、右側顎下リンパ節には平均 $4.2 \mu\text{g/g}$ の白金が蓄積していた。この計測した白金量をシスプラチンに換算すると左側頬粘膜上に綿球を設置した群では左側顎下リンパ節には平均 $15.2 \mu\text{g/g}$ が、右側顎下リンパ節には平均 $10.0 \mu\text{g/g}$ の白金が蓄積していたことになる。一方、口蓋粘膜正中に綿球を設置した群では左側顎下リンパ節には平均 $6.9 \mu\text{g/g}$ が、右側顎下リンパ節には平均 $6.5 \mu\text{g/g}$ の白金が蓄積していた (Fig. 2)。

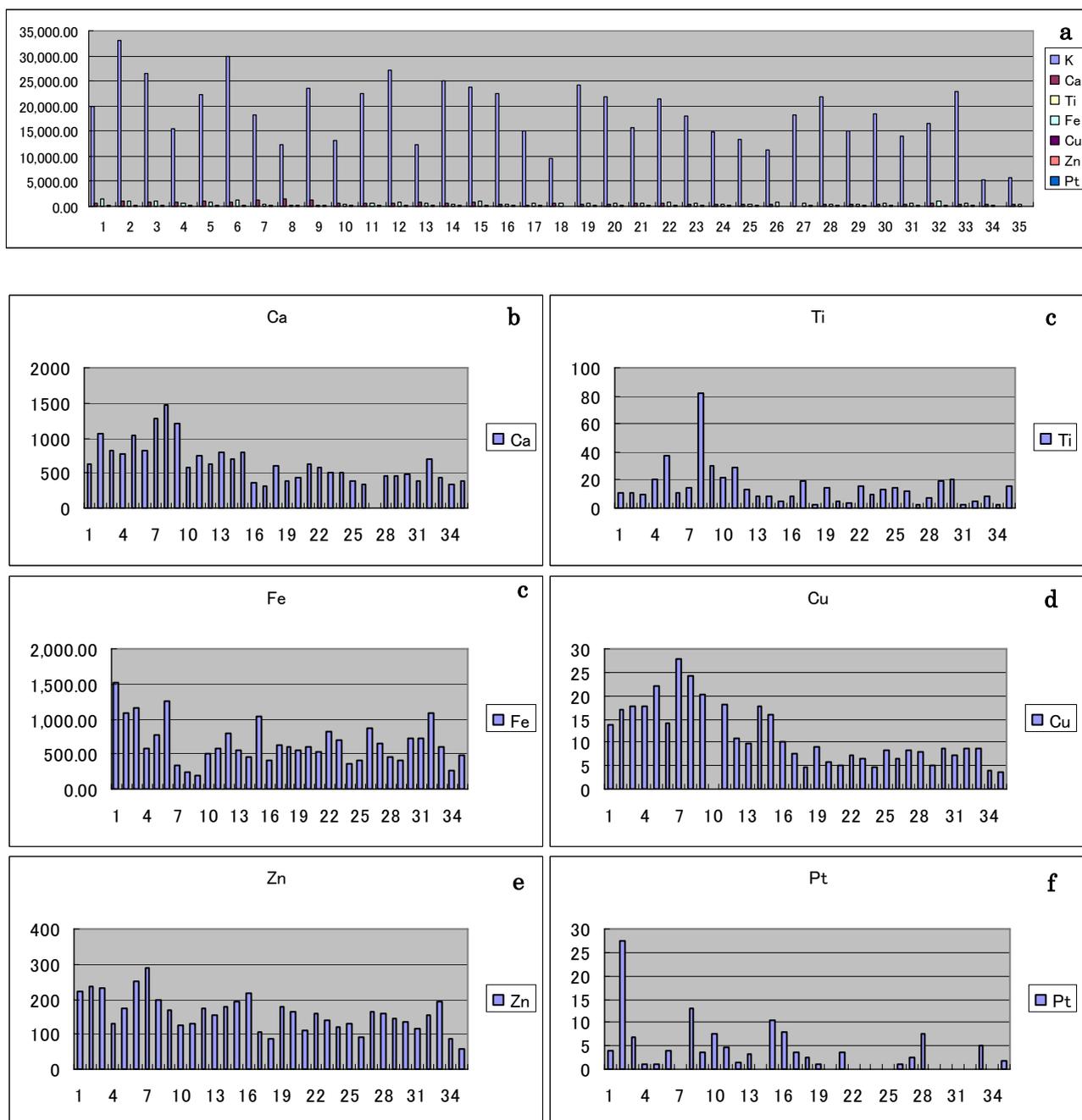


Fig.2 横軸 1-9: 頬粘膜右側顎下リンパ節

横軸 10-15: 頬粘膜左側顎下リンパ節

横軸 16-26: 口蓋粘膜左側顎下リンパ節

横軸 27-35: 口蓋粘膜右側顎下リンパ節

縦軸: 白金量 $\mu\text{g/g}$

1 個体に顎下リンパ節は 1-3 個存在するため、4 群のリンパ節の個数に差がでた。

個体ごとに、またはリンパ節ごとに測定量にばらつきがでた。

4 考察

頬粘膜下リンパ管網は集合リンパ管に向かう樹枝状を呈しており、河川のように順次太いリンパ管へと移行しており、リンパ流には定常流が形成されている可能性がある。このことはリンパの流れが滞ることなく流れやすいことが報告されている。さらに、マウス頬粘膜下リンパ管構築については、リンパ管網から派出する盲端の形態が糸球体状を呈していることは形態学的に盲端の吸収効率が単純なループ状を呈しているリンパ管より高いことを意味しており、過去の報告の舌背、舌下粘膜下の毛細リンパ管⁽¹⁻¹¹⁾より吸収効率の高い形態をしていることが報告されている。その結果、粘膜吸収を想定した舌下錠、バツカル錠は基本的に血管による吸収を想定して使用されているが、実際にはリンパ管による吸収という観点からも有効な部位であることが証明されたと考えられる。また、口蓋では粘膜下の毛細リンパ管網が密で、網目から立ち上がっている盲端が非常に多く、吸収効率が高いことが推測されている。しかしながら、口蓋は咀嚼粘膜に分類される粘膜で、厚い角化層を有しており、実際にどの程度薬剤が吸収されるかは不明であった。そこで、今回、我々は経粘膜の投与を想定した薬剤投与経路として、頬粘膜および口蓋粘膜を経由させて抗癌剤 (Cisplatin) を投与し、所属リンパ節である顎下リンパ節での薬剤蓄積量を元素分析 (PIXE) を用いて計測した。その結果、マウス左側頬粘膜上にシスプラチンを浸した綿球を設置し、5 分間マッサージ、5 分間放置した群では、左側顎下リンパ節には平均 $9.9 \mu\text{g/g}$ が、右側顎下リンパ節には平均 $6.5 \mu\text{g/g}$ の白金が蓄積していた。マウス口蓋粘膜正中にシスプラチンを浸した綿球を設置し、5 分間マッサージ、5 分間放置した群では、左側顎下リンパ節には平均 $4.5 \mu\text{g/g}$ が、右側顎下リンパ節には平均 $4.2 \mu\text{g/g}$ の白金が蓄積していた。ヒトの場合、体表面積あたり (mg/m^2)、または体重あたり (mg/Kg) で表示しているため、体重あたりで換算すると左側頬粘膜上にシスプラチンを浸した綿球を設置した場合、左側顎下リンパ節には平均 $15.2 \text{mg}/\text{Kg}$ が、右側顎下リンパ節には平均 $10.0 \text{mg}/\text{Kg}$ の白金が、マウス口蓋粘膜正中にシスプラチンを浸した綿球を設置した場合では、左側顎下リンパ節には平均 $6.9 \text{mg}/\text{Kg}$ が、右側顎下リンパ節には平均 $6.5 \text{mg}/\text{Kg}$ の白金が蓄積していたことになる。この値は、ウサギでの移植舌癌実験での腫瘍増殖抑制効果を検索した報告で、静脈内投与で、 $3.5-4.0 \text{mg}/\text{Kg}$ が有効濃度であったことから、動物種は異なるが、高濃度の抗癌剤が所属リンパ節に流れ込むことを意味しているものと考えた。さらに、口蓋粘膜では正中に綿球を設置したが、頬粘膜では左側に綿球を設置しており、にも関わらず、左右の顎下リンパ節に白金が流入していたことはリンパ流の交叉を考える必要も有ると考えられた。さらに、口蓋では、厚い角化層の存在する口蓋正中付近より、上顎舌側歯肉の歯肉溝上皮および、付着上皮部の上皮細胞間隙を経由して薬剤が粘膜固有層に到達し、歯肉のリンパ管から薬剤を吸収させることを期待することも今後の課題となるかもしれない。

今回の白金分析には PIXE による無調整、無標準測定法を用いたが、過去の我々の報告で用いていた硝酸灰化法での計測と同様、計測値にばらつきが出ていた。この点については、

1. 個体差：週齢による差と純粋な個体差
2. 実験手技の問題：実験者間の差、同一実験者の実験ごとの差、試料採取法
3. 元素分析の問題：試料作成時の問題、計測者間の差

が考えられる。週齢および個体による差は今回は同一親からの同じ日出産のマウスを用いていることから

ネグレクトできるものとする。実験手技の問題としては、実験者間および同一実験者であっても毎回マッサージの程度は異なる可能性はあるが、マッサージの間隔は一定にした。しかしながら、可能性は否定できないため、次回の実験ではできる限り器械化したマッサージを考える予定である。試料採取法については、これがもっとも大きな因子となると考えている。抗癌剤はリンパ管やリンパ節に結合しているわけではなく、管の中およびリンパ洞の中を流れているわけで、試料採取の際に圧迫力を与えた場合、流れ出る可能性を否定できない。この点に関しては今後の課題であると認識している。元素分析の問題としては硝酸灰化法では試料が完全に溶解しない、過熱時に硝酸蒸気が出る等の問題から、今回、無調整、無標準法を採用したことで回避できているものと信じている。計測者は常に一人の研究者（世良）が行っていることで、経験も含めて最も信頼できる場所であるため、問題ないとする。今後は、例数を増やすとともに、実験手技の規格化をはかり、リンパ管構築とリンパ管吸収の観点から、口腔領域の諸粘膜の特徴を検索するとともに、PIXEによる元素分析の白金における特異性にも注目して検索する予定である。

参考文献

- 1) Three dimensional architecture of lymphatic vessels in the tongue. A. Fujimura, S. Seki, M-Y. Liao, X. Hu, M. Onodera, Y. Nozaka, *Lymphology* 36(3) : 120-127, 2003.
- 2) Architecture of the lymphatic capillary on the oral region. A. Fujimura, *Jpn. J. Lymphology* 22(1): 21-26, 1999.
- 3) Analysis of the three-dimensional lymphatic architecture of the periodontal tissue using a new 3D reconstruction method. A. Fujimura and Y. Nozaka, *Microscopy Research and Technique* 56(1): 60-65, 2002.
- 4) Distribution of the lymphatic vessels in golden hamster tongue. K-H. Chen and A. Fujimura *Dent. J. Iwate Med. Univ.* 19(2) : 91-102, 1994.
- 5) Lymphatic architecture beneath the mucosal membrane of the tongue. Jung-Chou Liang and A. Fujimura, *Dent. J. Iwate Med. Univ.* 25(3): 283-291, 2000.
- 6) Three-dimensional changes in Lymphatic architecture around VX2 tongue cancer. -Dynamics in growth of cancer - S. Seki and A. Fujimura, *Lymphology* 36(3): 128-139, 2003.
- 7) Three-dimensional changes in Lymphatic architecture around VX2 tongue cancer -Dynamics by administering of antiangiogenic agent - S. Seki and A. Fujimura, *Lymphology* 36(4): 199-208, 2003.
- 8) The anti-angiogenic agent, E7820, induces changes in the architecture of lymphatic vessels around tumors. T. Ohta and A. Fujimura, *Dent. J. Iwate Medical University* 29(1): 79-92, 2004
- 9) Akira Fujimura, Yutaka Sato, Mikiko Shoji, Masao Onodera and Yohichiro Nozaka (2007) Lymphatic architecture of the oral region. - Palatum - *Dentistry in Japan*, 43: 7-11.
- 10) Akira Fujimura, Yutaka Sato, Mikiko Shoji, Masao Onodera and Yohichiro Nozaka (2007) Lymphatic architecture of the oral region. - beneath the buccal mucosa - *Microvascular Reviews and Communications*, 1(1): 9-11.
- 11) The distribution of lymphatic vessels in gingiva. Min-Ying Liao and Akira Fujimura *Microvascular Reviews and Communications*, 2(1): 1-6, 2008

Absorption of lymphatics beneath the buccal mucosa and the palatal mucosa

-Drug administration via the oral mucosa-

Akira Fujimura¹, Yohichiro Nozaka¹ and Koichiro Sera²

¹First Department of Oral Anatomy, School of Dentistry, Iwate Medical University
1-3-27 Chuo-dori, Morioka, Iwate 020-8505, Japan

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

Abstract

We have reported that the lymphatic architecture beneath the buccal mucosa and palatal mucosa which had the high absorption shape by morphological analysis. These lymphatic vessels absorbed the antitumor agent, and it was accumulated in the regional lymph nodes (submandibular lymph nodes), when it was injected around the tumor. The quantity of this agent became very little against the whole body and we thought that this quantity did not raise the side effects of antitumor agent in this method. We present whether it could reach to the regional and /or the metastatic lymph node or not when it is administered via the oral mucosa. Cisplatin which has the platinum in chemical structure is used in this study. The platinum was detected using the element analyze with Particle Induced X-ray Emission (PIXE) in Cyclotron Research Center (Iwate Medical University).

Ten μ l of Cisplatin (0.1 mg/ml) drown in stype and sets on the left buccal mucosa and the center of the palatal mucosa of the mouse which were already reported the lymphatic architecture. After 5 minutes massage and 5 minutes neglect, the right and left submandibular lymph nodes were extracted and dried at 100 degree centigrade for two days. The platinum was analyzed by PIXE.

The accumulation of the platinum in the submandibular lymph nodes from the buccal mucosa: 4.5 μ g/g in the left submandibular lymph node; 4.2 μ g/g in the right submandibular lymph node. The accumulation of the platinum in the submandibular lymph nodes from the palatal mucosa: 9.9 μ g/g in the left submandibular lymph node; 6.5 μ g/g in the right submandibular lymph node.

The oral mucosa is formed by the stratified squamous epithelium. The buccal mucosa classified in the lining mucosa and the palatal mucosa classified in the masticatory mucosa. The former has thin and the latter has thick cornified layer.

This result showed that Cisplatin was absorbed more at the buccal than at the palatal mucosa. We have thought that the palatum is very useful part for administration because the deep cervical lymph node, which is the final lymph node of head and neck region is the regional lymph node of the palatum in human. And the palatum can use for application to the drug administration using denture. We think that the buccal and the palatal mucosa are very useful for drug administration via the mucosa.

PIXE による福岡市乳幼児健診の毛髪分析 (第 1 報) -母親の出産後 1 か月及び 10 か月の比較-

絹川直子¹、伊藤じゅん²、前田知子³、高辻俊宏³、

中村 剛³、世良耕一郎⁴、野瀬善明¹

¹九州大学大学院医療情報学
812-8582 福岡県福岡市東区馬出 3-1-1

²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

³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

⁴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

環境汚染の人類への悪影響は国境を越え、世代を越えて観察されている。大洋を回遊する大型魚や北極の白熊にも有害物質が高密度で蓄積されていることが確認されている¹⁾。米国環境保護庁 (Environmental Protection Agency)によると、毎年数千の新しい化合物が食品、薬剤、保護剤などとして生活環境に放出され、様々な経路を経て人体に吸収されている。また過去に放出された 8 万種を越える化学物質は空気・水・土に様々な形態で蓄積されているが、これらのうち、疫学調査及び毒性実験により、健康に及ぼす影響が検証されたものはごくわずかである。環境汚染の調査とともに、人体を直接検査することで体内に蓄積されている物質の種類と量 (濃度) を調査し、病気を引き起こす危険性のある環境物質を特定することは急務である。

これまで、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推測に頼るしかなかったが、PIXE 法の開発はそれらの直接的測定を可能にした。本研究の最終目的は、乳幼児の健診臨床所見及び母親の食習慣・生活習慣と、毛髪ミネラル量と、環境起因が疑われている疾患との関連を統計解析することにより因果関係を解明することにある。

2008 年 5 月までに、母親の出産後 1 か月健診時に収集された全検体 842 例と 10 か月健診時に再度収集された検体の約半数にあたる 408 例の毛髪の PIXE 測定が終了している。全検体の PIXE 測定が終了してから臨床データ及び環境・生活習慣データ等との関連を解析する予定である。今回は中間報告として、PIXE 測定結果の再現性と精度を検討するために、元素毎の毛髪含有量の分布の特徴についていくつかの

所見を述べる。

なお本研究は九大大学院医学研究院等倫理委員会にて 2005 年 3 月 30 日に承認された。

2 調査方法

調査対象は福岡市に居住し、乳幼児健診を受診し調査協力承諾を得た母子である。生後 1 か月健診時と 10 か月健診時の 2 回、母子それぞれから頭髮数本をハサミで切り取ってミネラル量を PIXE 計測した。また、大型回遊魚（マグロ、ブリ、カツオ）を含む食品ごとに、妊娠中及び授乳期の摂食頻度を高・中・低の 3 段階に分けて母親から聴取した。

妊娠中毒症・未熟児出産などの母体の不健康さおよび、アトピー性皮膚炎・成長発育遅延などの乳幼児の不健康さと、毛髪中のミネラル量との因果関係を統計学的に解析する。もしも、本調査の結果、例えばアトピー性皮膚炎発症²⁾と毛髪中の特定のミネラル量とに因果関係があるとするならば、母体内でアトピー性皮膚炎に将来罹患するか否かが既に規定されているのか、離乳後の食生活に規定されているのかが識別可能となるのが期待されるので、乳幼児の成長追跡コホート調査が、謎とされている体質決定の環境因子と決定時期を解明する重大な端緒となろう。

3 毛髪を検体とする理由

毛髪は、米国環境保護庁(EPA/Environmental Protection Agency)が、生体の有害金属（ミネラル）汚染度測定に有効な組織細胞と認め、広く検体として利用されている³⁾。検体としての毛髪は、他の生体組織より優れている。尿は、排出物の測定であり、血液の場合は、排出されるか貯蔵器官に送られる前の一時的に体内循環中の成分を測ることになる。毛髪は次の様な点において優れていると考えられている。

1. 毛髪はすべての生体内の重要なミネラル成分の蓄積を示す。
2. 毛髪内のミネラルは、生活環境に存在する金属含有量に比例する傾向がある。
3. 採集・保存・運搬が容易である。
4. 繰り返し採集することも可能である。

毛髪中の微量元素を測る健康診断は現在、プラズマを使った分析法で実用化されている。ただし、1 回の分析に 150 本程度の毛髪が必要で、大人でも肉体的、精神的負担が大きいとされるが、1 か月健診時での乳児では毛髪が極端に少ないので採取自体が困難なこともある。米国医学会による最近の調査では、商業ベースで行われている毛髪ミネラル測定法の精度は低く再現性は乏しいと結論されている⁴⁾。

髪の色・漂白・パーマはミネラル量の測定値に影響を与えることが予想される。例えば、黒髪着色剤はマンガンや鉛等を、赤い染料は銅や鉄を、漂白剤はカルシウムやマグネシウムを含んでいて、それらは洗っても簡単には取り除けないとされている。一般にこれらを同時に多量に含むときは、食習慣というよりは、髪の色・漂白・パーマの化学処理の結果であることが推定される。

4 検体採取手順

1 か月と 10 か月の両方の乳幼児健診を受診し、毛髪ミネラル調査を承諾した 842 組の母子を調査対象とした。1 か月健診の最初の検体は 2005 年 11 月に採取され、10 か月健診での最後の採取は 2007 年 10 月であった。1 か月健診時における毛髪採取の方法については付録に記した。10 か月健診時における採取方法は同様なので省略した。

5 測定結果の所見

収集された検体数と PIXE 測定済み数は表1の通りである。

母1か月842検体と母10か月408検体について、元素毎の分布を比較し、分布の特徴を探索的に解析した。検出限界値以下を未検出と呼ぶ。元素毎の未検出数と率を次の表2に示す。

表1 検体数と測定済み数

	母1か月	子1か月	母10か月	子10か月
検体数	1036	1036	842	843
測定数	842	6	408	0

表2 元素毎の未検出数と率

	Na	Mg	Al	Si	P	S	Cl	K	Ca	Ti
1か月	51 6%	157 19%	336 40%	3 0%	194 23%	0 0%	362 43%	0 0%	0 0%	8 1%
10か月	11 3%	129 32%	50 12%	4 1%	197 48%	0 0%	189 46%	0 0%	0 0%	0 0%

	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	As
1か月	420 50%	371 44%	232 28%	0 0%	340 40%	130 15%	0 0%	0 0%	411 49%	573 68%
10か月	253 62%	195 48%	88 22%	0 0%	161 39%	78 09%	0 0%	0 0%	130 32%	303 74%

	Se	Br	Rb	Sr	Zr	Nb	Mo	Ag	Hg	Pb
1か月	233 28%	0 0%	95 11%	9 1%	842 100%	455 54%	398 47%	717 85%	63 7%	1 0%
10か月	82 20%	4 1%	30 7%	1 0%	360 88%	207 51%	183 45%	407 100%	32 8%	18 4%

1か月健診時の検体の全例(100%)から検出されたのは、S, K, Ca, Fe, Cu, Zn, Br, Pb, Siであり、99%~90%から検出されたのはTi, Sr, Na, Hgであった。一方Ge, Y, Pd, In, Sn, Sb, Te, I, Cs, Ce, W, Pt, Auは全く検出されなかった。

図1は、1か月健診で検出された29元素を検出率の高い順(未検出率の低い順)に横軸に並べて、縦軸に未検出率をとった散布図である。19元素は70%以上の検体から、また26元素は50%以上の検体から検出されている。図2-1~5は元素ごとに1か月と10か月での分布の比較を示す。箱ひげ図⁵⁾は25%点、中央値、75%点及びかけ離れた値の分布を示す。

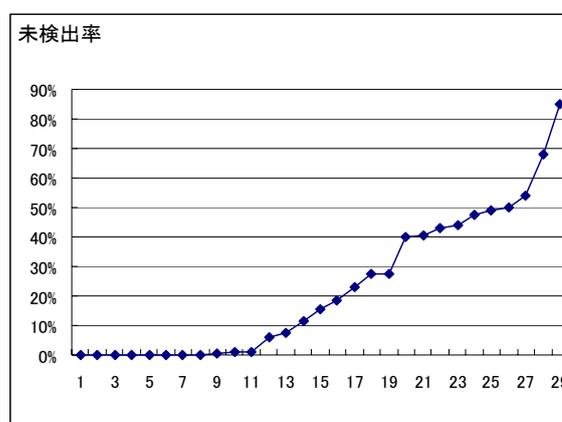


図1 未検出率の散布図

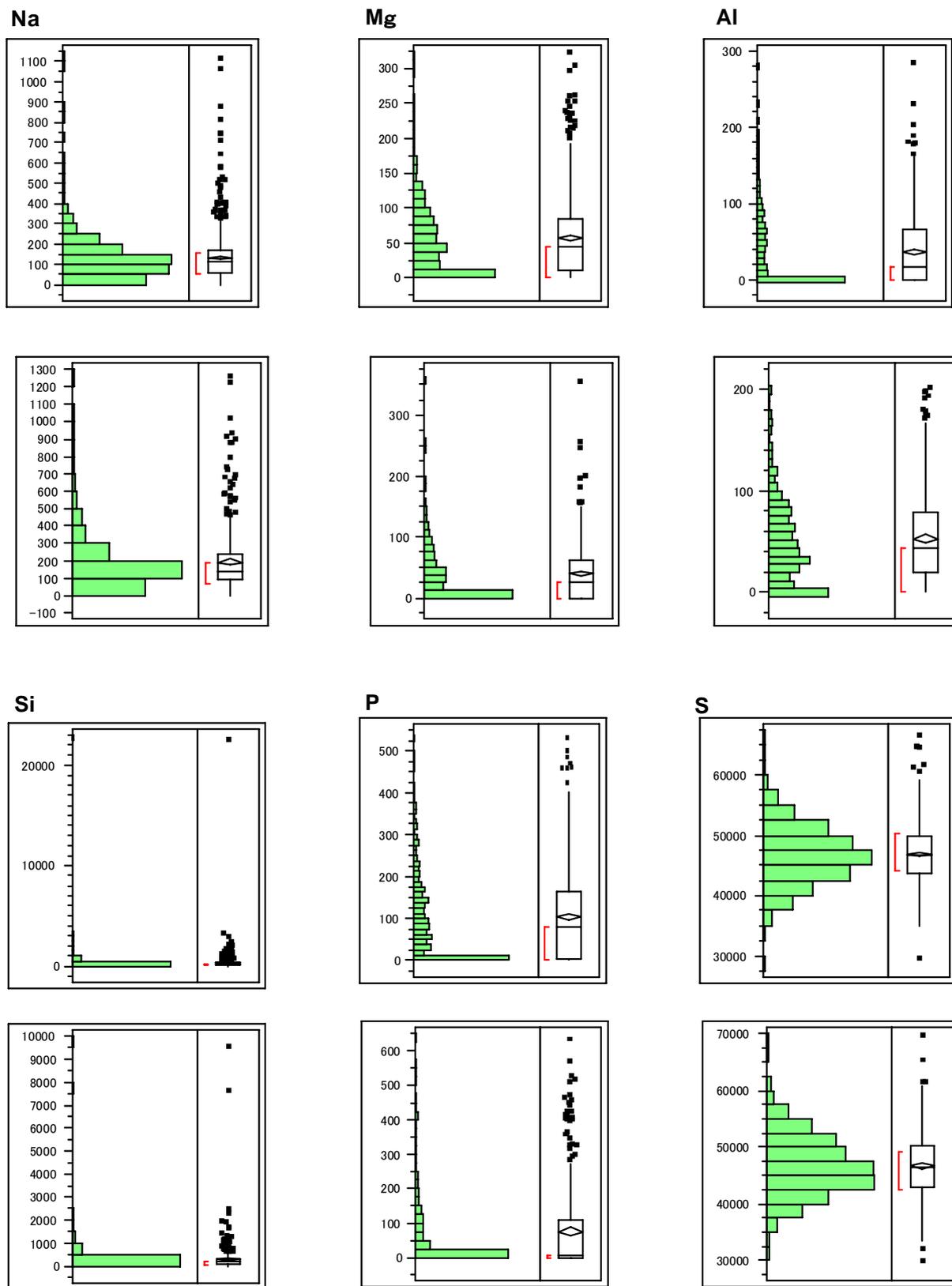


図 2-1 1 か月健診と 10 か月健診における各元素の検出値の分布 (その 1)。上段が 1 か月、下段が 10 か月。

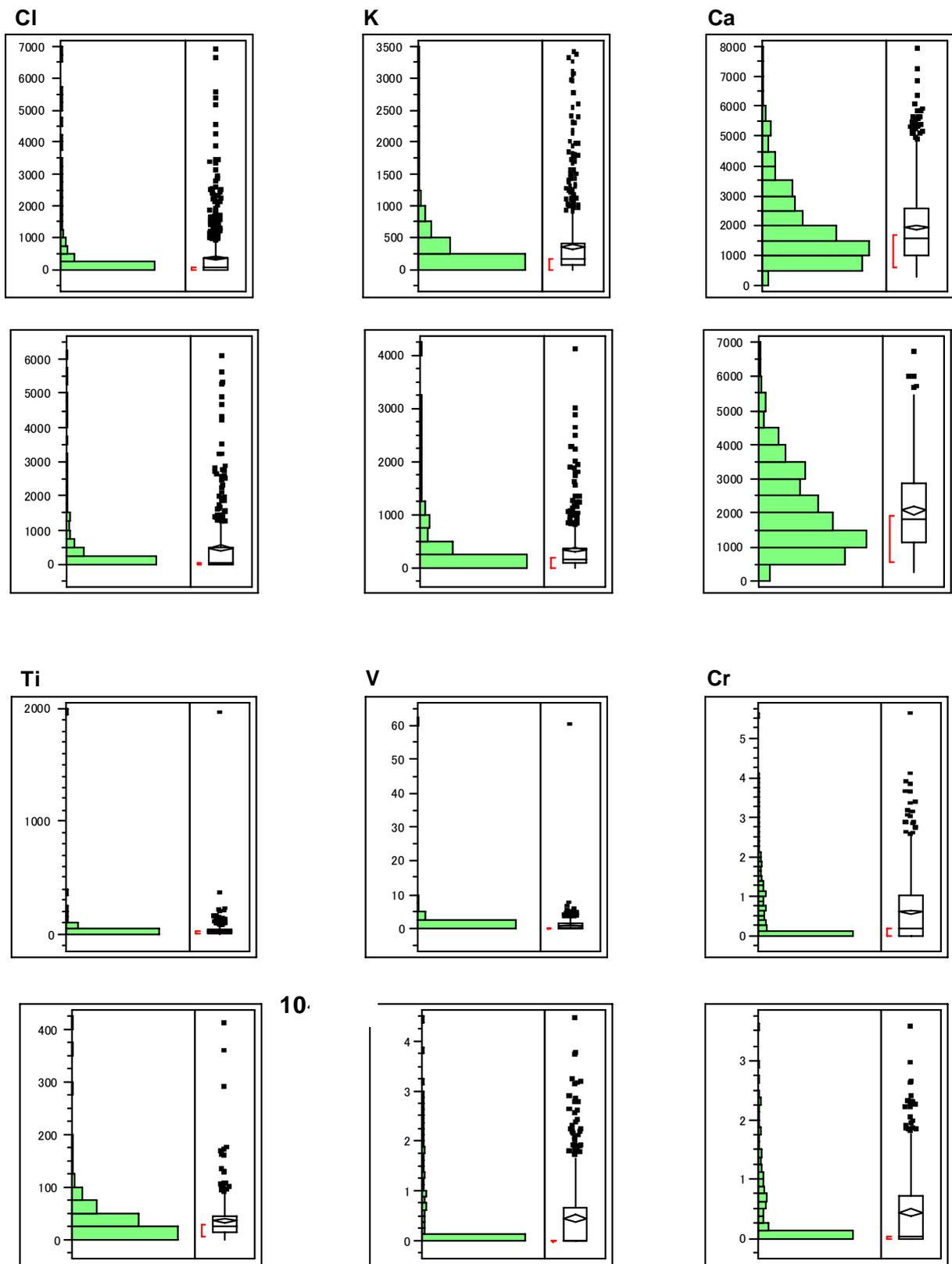


図 2-2 1 か月健診と 10 か月健診における各元素の検出値の分布 (その 2)。

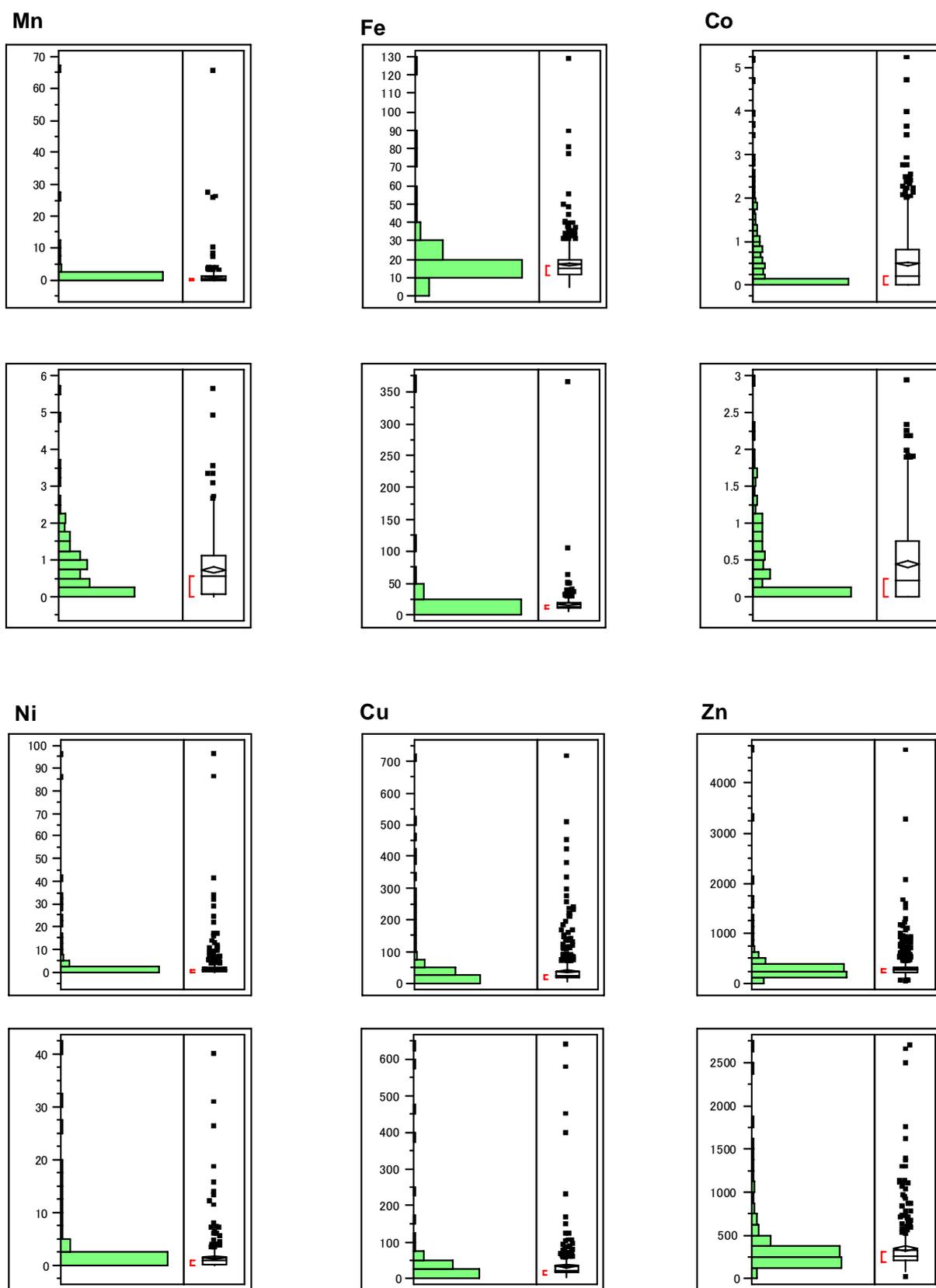


図 2-3 1 か月健診と 10 か月健診における各元素の検出値の分布 (その 3)。

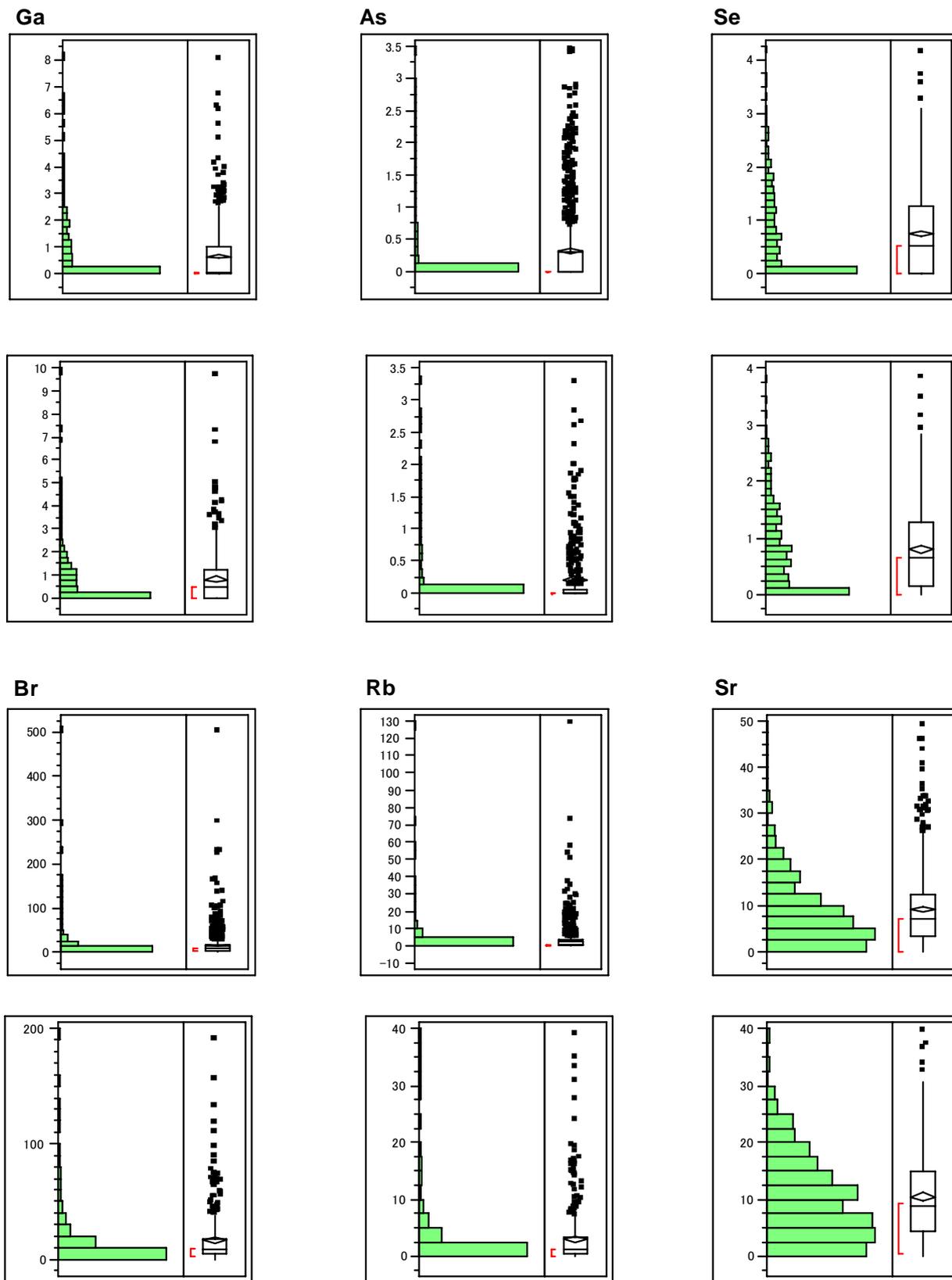


図 2-4 1 か月健診と 10 か月健診における各元素の検出値の分布 (その 4)。

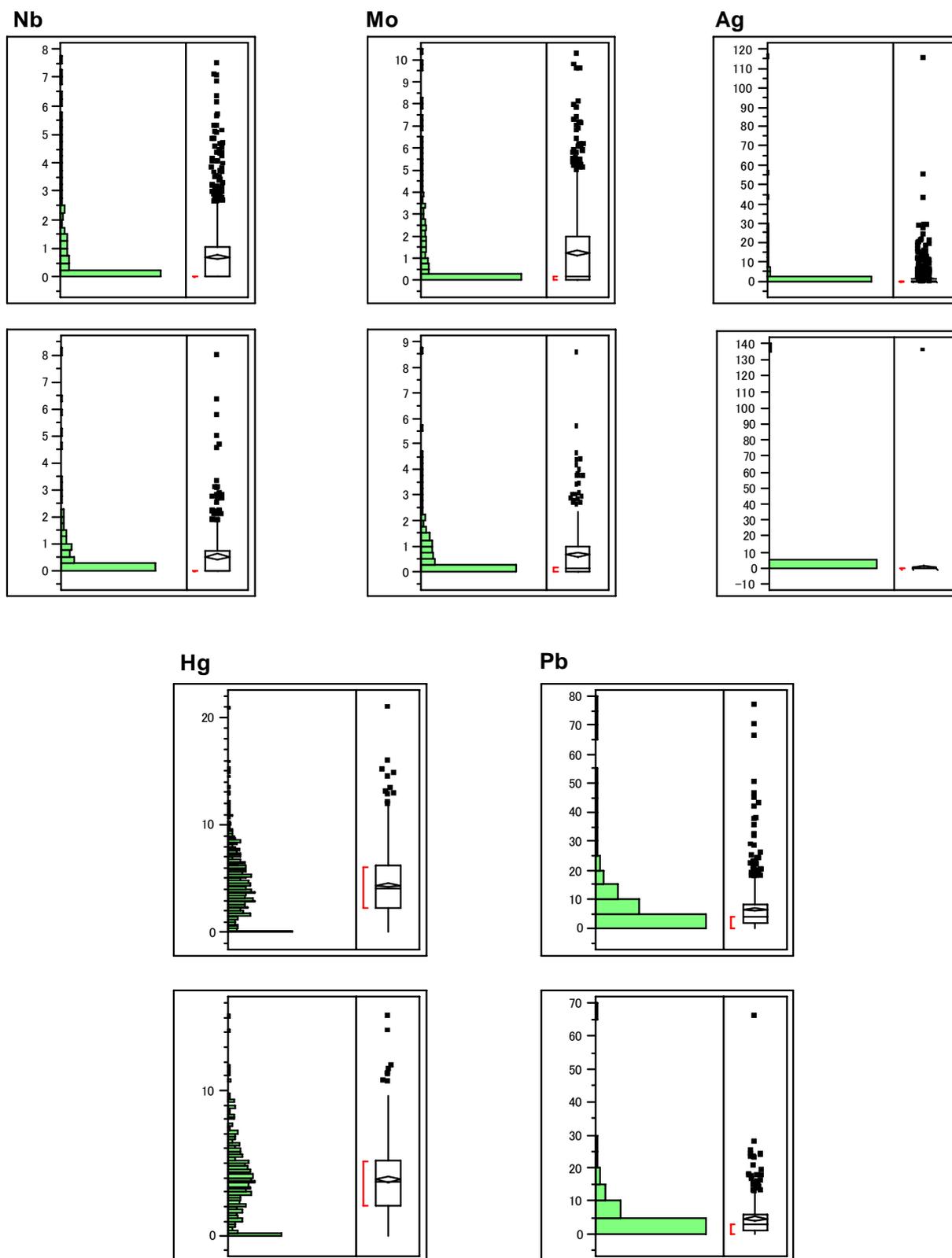


図 2-5 1 か月健診と 10 か月健診における各元素の検出値の分布 (その 5)。

外れ値に見えるような大きな値が1か月のほうに多いのは、標本サイズが大きいことによると考えられる。外れ値らしき大きな値を除くならば、殆どの元素で1か月の分布と10か月の分布の特徴がよく似ている。特にSの分布は1か月と10か月ともに近似的に平均47,000、標準偏差4,800の正規分布に従っている。

生体計測値は変数変換で正規分布に近づくことが多いので、Box-Cox変換

$$Y = \frac{X^\lambda - 1}{\lambda}$$

を適用してみた³⁾。これは対数変換や平方根変換などを含む一般的な変換で、多くの統計ソフトはデータの特徴から最も正規分布に近づくようなλの値を自動的に決定する。1か月健診の結果を図3-1~3に示す。

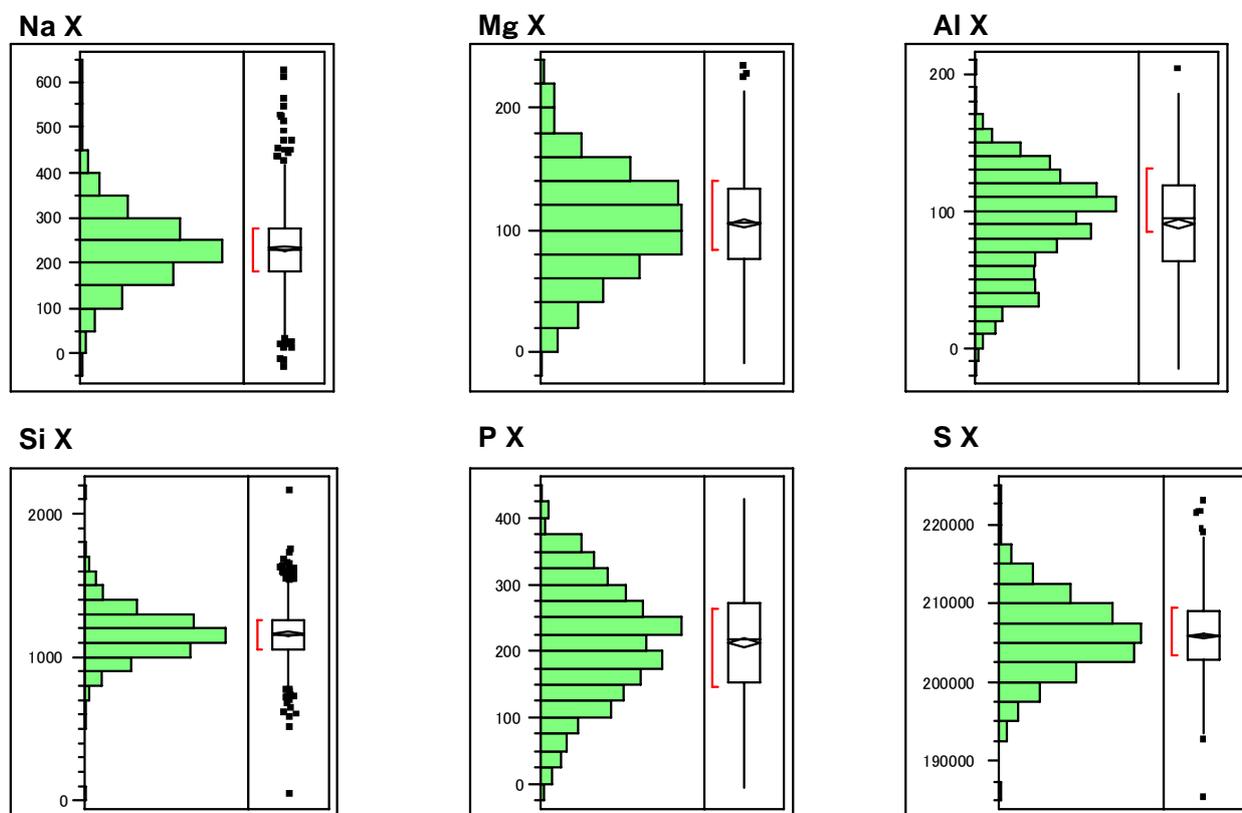


図 3-1 1 か月健診に関する各元素の検出値の分布 (Box-Cox 変換後) その 1。

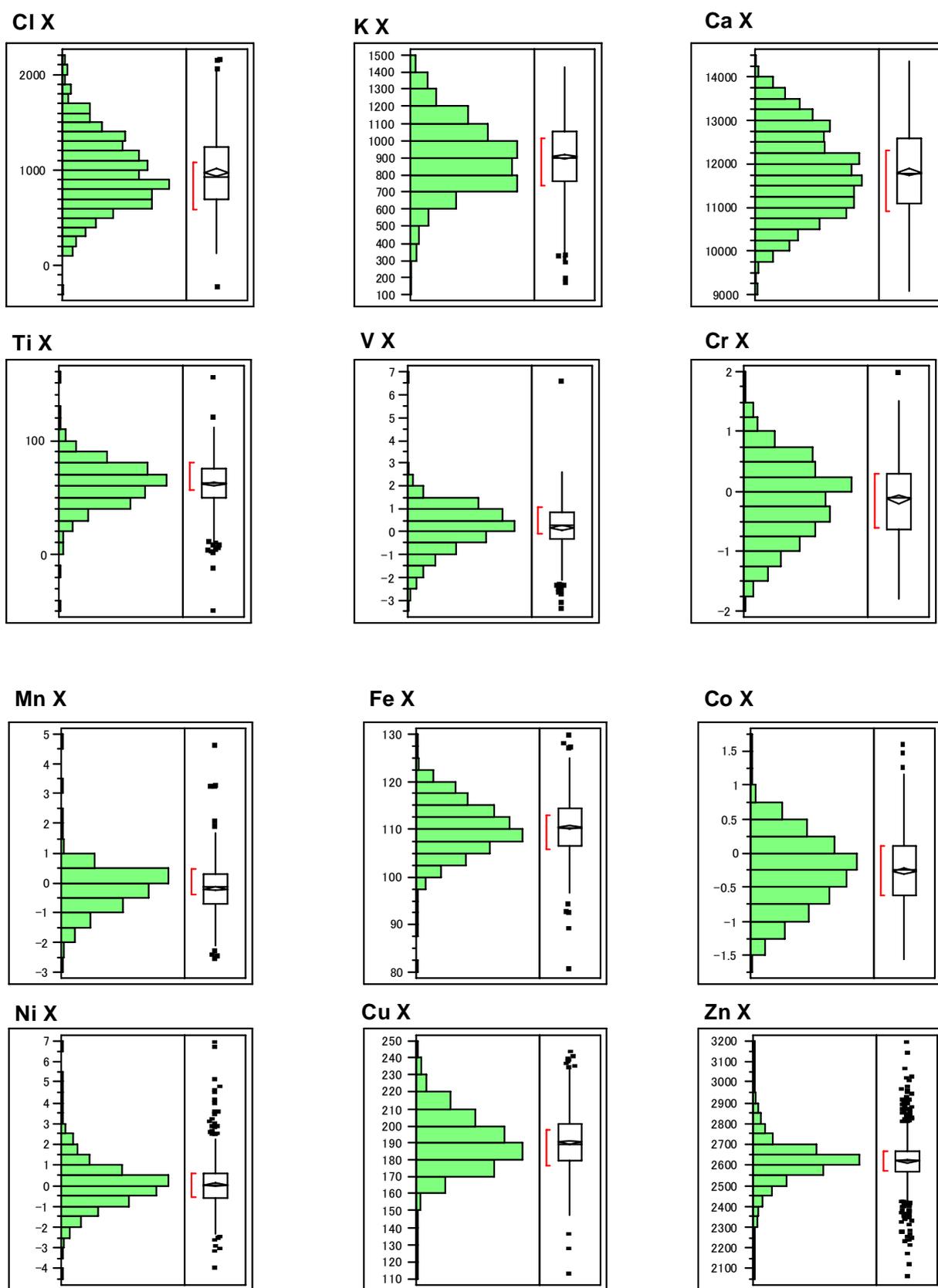


図 3-2 1 か月健診に関する各元素の検出値の分布 (Box-Cox 変換後) その 2。

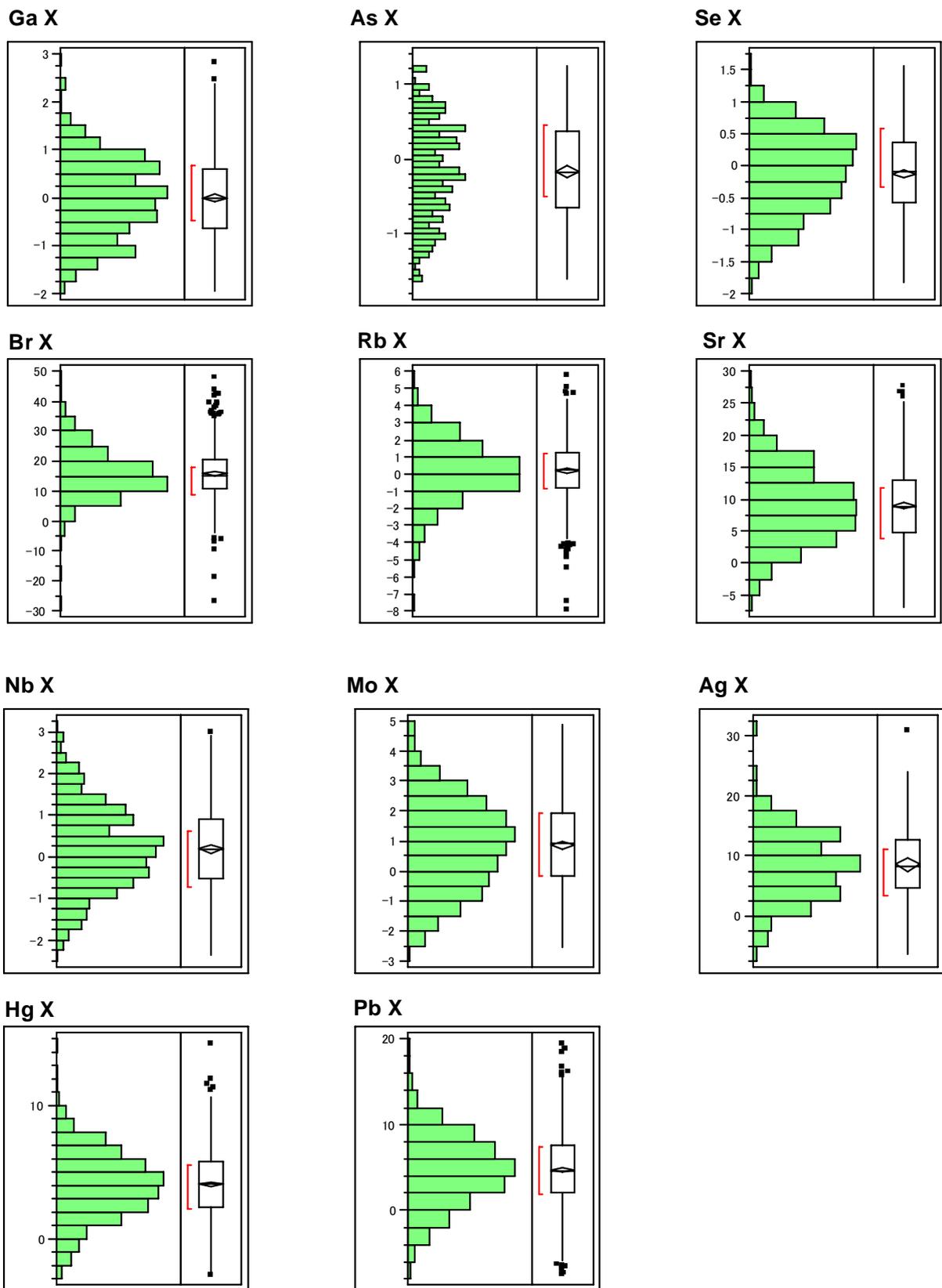


図 3-3 1 か月健診に関する各元素の検出値の分布 (Box-Cox 変換後) その 3。

6 結果と考察

硫黄 S は 1 か月健診と 10 か月健診の双方ともに、近似的に変動係数 (=標準偏差/平均値) 約 0.1 の同一の正規分布に従う。さらに変数変換後は変動係数が 0.025 と著しく小さくなる。言い換えると、S の測定値の検体間での変動は極めて小さく近似的に定数とみなせることを示唆している。残りの 28 元素は変数変換により近似的に正規分布に従う。中心極限定理「一般的な条件のもとで、微小な偶然誤差の集積は正規分布をなす」に従えば、全ての元素が近似的に正規分布に従うので、PIXE 測定に系統的偏りは無かったと推察される。“推定 SD>測定値”とされた測定値も含めての結論なので、そのような測定値でも統計解析での利用は可能と判断される。

謝辞

九州大学医学部、福岡市医師会、福岡市役所、広島大学原医研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) Myers, G. J. et al. "Prenatal methylmercury exposure from ocean fish consumption in the Seychelles child development study", *Lancet*, Vol. **361**, 1686-1692 (2003)
- 2) Halbert A. R. et al. "Atopic dermatitis: is it an allergic disease?", *J Am Acad Dermatol*, Vol. **33**, 1008-18. (1995)
- 3) Jenkins, D.W. "Biological Monitoring of Toxic Trace Metals" *EPA-600/3-80-089* Sept (1980)
- 4) Seidel S, Kreutzer R, Smith D, McNeel S, Gilliss D. "Assessment of commercial laboratories performing hair mineral analysis", *JAMA*. Jan 3;285(1):67-72 (2001)
 Comment in:
 - *JAMA*. 2001 Jan 3;285(1):83-5.
 - *JAMA*. 2001 Mar 28;285(12):1576-7; author reply 1577-8.
 - *JAMA*. 2001 Mar 28;285(12):1577; author reply 1577-8
- 5) JMP 統計機能ガイド <http://www.jmp.com/japan/support/abcguide/ha-ma.shtml>
<http://www.jmp.com/japan/support/abcguide/index.shtml>

付録

「毛髪ミネラルとアトピー性皮膚炎との関連調査」 実施手順

※ 事前配布

参加施設に一組：

- ・ 調査計画書
- ・ 手順書
- ・ Q&A
- ・ 返信用大型封筒
- ・ ポスター2枚

母子資料を数部

説明書・同意書・問診票・毛髪を入れるビニール袋2枚(母用・子用)・

登録番号を印字したシール(2枚)・個人用小型封筒

(登録番号は、[施設番号]-[施設内通し番号])

(同意書・問診票・毛髪を入れるビニール袋・個人用小型封筒には登録番号を付けて、母子一組のセットにしています)

(説明書には医院名のゴム印を押して下さい)

(返送書類はピンク色の用紙に印刷しています)

1. ポスターを診察室と待合室に貼って下さい

2. 1か月健診母子に、毛髪ミネラル計測を勧めして下さい

対象…毛髪2cm以上ある子供

10か月健診も福岡市内で受ける子供

- ・ インフォームドコンセント
- ・ 説明書を母親に渡す
- ・ 同意書に母親のサイン
- ・ 同意書に医師もサイン
- ・ 母子手帳の10か月健診票に、登録番号シールを貼る

3. 母親に問診票の記入を依頼下さい

4. 毛髪を採取下さい

● 母親

- ・ うなじから5cm以上の毛髪6本^{注1)}を根元近くからハサミで切り取り^{注2)}、
[登録番号M]のシールのビニール袋に入れる

● 子供

- ・ 母親と違って採取部位の指定はありません
2cm以上の毛髪6本を根元近くから切り取り、
〔登録番号B〕のシールのビニール袋に入れる

- 注1)
- ・ 1本の長さが5cm（小指程度の長さ）以上の毛髪を切り取ってください。
 - ・ 測定器の都合上、5cm以上の毛髪が望ましいですが、やむを得ない場合は2cm以上あれば構いません。
 - ・ 採取量が多い程測定精度が高まります。
5cm（小指長）程度の毛なら6本以上
10cm（小指2本分）程度の毛髪なら4本以上
15cm（手のひら長）程度の毛髪なら3本以上
を目安に採取して下さい。
- 注2)
- ・ 毛髪を切り取る際は、酒精綿で拭いたはさみを用いて下さい。
 - ・ 毛髪は測定者が洗浄しますので、採取する前に髪を洗う必要はありません。黒髪着色剤はマンガンや鉛等を、赤い染料は銅や鉄を、脱色剤はカルシウムやマグネシウムを含みます。パーマとカラーリングについては問診票に記入下さい。

4. 資料を返送下さい

(ピンク色の用紙2枚、毛髪を入れたビニール袋2枚、1か月健診票のコピー)

- ・ 記入済みの1か月健診票のコピーに〔登録番号シール〕を貼る
を返送下さい
- ・ 同一の登録番号シールが貼られていることを確める
同意書・問診票・毛髪を入れたビニール袋2枚・1か月健診票のコピー・
母子手帳の10か月健診票・小型封筒
- ・ 返送資料を小型封筒に入れる
(封筒裏のチェックリスト参照)
- ・ 切手の貼ってある返信用大型封筒に小型封筒数枚を入れて1か月に1回まとめて九州大学病院医療情報部に送る

**PIXE analysis of hairs at infant medical checkups
in Fukuoka city (first report)
– Comparison of mothers' hair at 1 month and 10 months after birth –**

N. Kinukawa¹, J. Itoh², T. Maeda³, T. Takatsuji³, T. Nakamura³, K. Sera⁴ and Y. Nose¹

¹Department of Medical Information Science, Kyushu University Graduate School
3-1-1 Maidashi, Higashi-ku, Fukuoka 812-8582, Japan

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

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

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

Abstract

According to the U. S. Environmental Protection Agency, more than 80,000 chemical compounds have been released and accumulated in the air, water, and ground in various forms. Moreover, thousands of new chemical agents are released annually into the environment in our food, medicines, protective materials, and the like, and are absorbed into the human body through various routes. Only a few of these have been tested and studied extensively to determine their effects on our health. The adverse effects for human beings of environmental contamination crosses international borders and persists in subsequent generations. Harmful substances are observed at high concentrations not only in humans but also in large migratory ocean fishes and polar bears in the high Arctic. Even now, researchers have only unreliable speculation about the kinds and extent of harmful substances our bodies have accumulated.

The cause of atopic dermatitis and certain allergies that have increased continuously with high economic growth is suspected to be related to environmental contamination. However, no definite evidence has yet been obtained. Excessive intake of harmful minerals and/or deficiency of essential minerals are strongly suspected, but few convincing facts have been established. Our purpose was to determine the possible relationships between atopic dermatitis and the concentration of minerals in the hair of infants and mothers, as measured by the sophisticated method of proton-induced x-ray emission (PIXE). We have now completed PIXE measurements at medical checkups of 842 mothers at one month and 408 mothers at 10 months. Since the PIXE measurements will be linked with clinical data after completion of all the samples, we report here some preliminary statistical results on the distribution of each element.

Sulfur (S) follows approximately the same normal distribution of the coefficient of variation 0.1 at both the one-month and ten-month medical checkups. Furthermore, the coefficient of variation of 0.025 after Box-Cox transformation is so small that the variation of S among the samples is considered to be approximately constant. Each of the remaining 28 elements follows an approximately normal distribution after the transformation. Since all of the elements are more or less normally distributed, the central limit theorem suggests that there was no systematic bias in the PIXE measurements. Since the measured values are such that "SE > measured values" are all included in the analysis, we conclude that these measurements may be also used in the statistical analyses.

秋田平野を流れる旭川の河川水の地球化学的特徴

川原谷 浩¹ 石山大三¹ 松葉谷 治¹ 世良耕一郎²

¹秋田大学工学資源学部
010-8502 秋田市手形学園町1-1

²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

1 はじめに

河川を流れる水は、その地域に降った雨が地下に浸透し地下水として涵養され、ある滞留時間を経て河川へ流出するもので、一般にその河川集水域内の平均的な地下水の特徴を反映したものである。河川水質が形成される過程において、河川水は、大気からもたらされる海塩や大陸起源物質、地下では岩石との反応や微生物の活動、さらには流れ下る過程の中で人間活動などの影響を受ける。

河川水の水質形成機構を把握することは、汚染物質の拡散状況の把握、飲料水などの水資源の確保、河川環境の保全など水資源環境リスクマネジメントに不可欠である。このような観点から、秋田平野を流動する河川水の水質形成のプロセスを把握することを目的に、旭川の河川水を研究対象として主化学成分と重金属成分を測定し、河川水質に影響を与える因子について考察を行った。

2 地質および河川状況

秋田平野は秋田県中央部日本海沿岸に位置する (Fig. 1)。本地域の地質は、秋田市北東部の太平山 (標高 1170m) や俎山 (標高 722m) に代表される山岳域から西部の日本海へ向かい、新しい地質が分布する (Fig. 2)。太平山から旭又までは中新世白亜紀の花崗岩が分布し、それに新第三紀花崗岩が貫入する。旭又から山王地区にかけては順に新第三系萩形層安山岩類、砂子淵層玄武岩類、女川層硬質泥岩、船川層暗灰色泥岩、



Fig. 1. Map showing the location of sampling sites.

天徳寺層シルト岩、笹岡層砂岩の順に新しい地層ほど西に分布する。また本地域旭川の支流、仁別沢上流には仁別金鉍化帯が存在する。この鉍化帯は、珪化帯、明ばん石を伴う酸性変質帯を持ち、その中の石英脈中に金銀鉍物や硫化鉍物を伴う¹⁾。

本地域の代表的な河川は、俎山を源流域とする上新城白山川、太平山を源流域とする旭川、太平川、岩見川である。上新城白山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、それぞれの河川は日本海へと流れ出る。流動距離は上新城白山川で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。

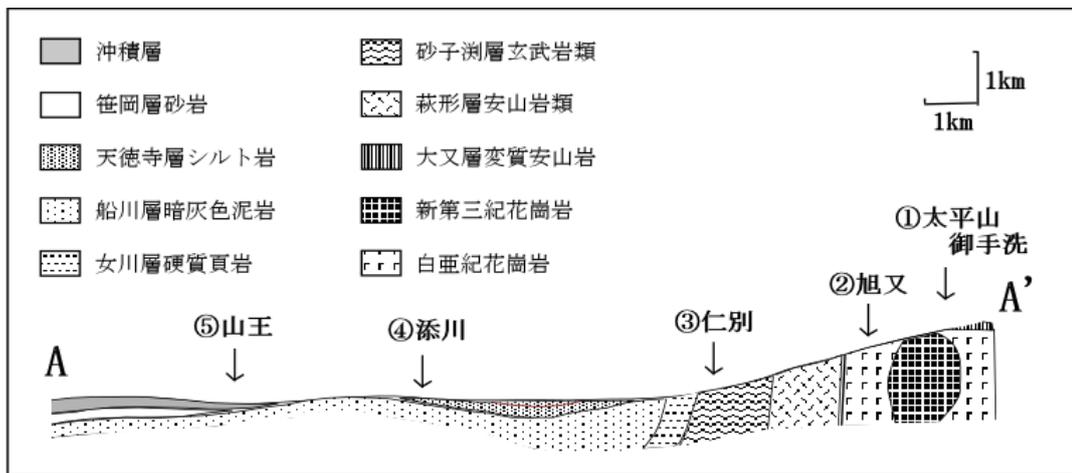


Fig. 2. Schematic geologic cross section along Asahi River. A-A' line is shown in Fig. 1.

3 試料採取および測定

河川水の採取は平成19年7月より概ね3ヶ月ごとに、先に述べた4河川と日本海へ流れ出る雄物川河口ほか、秋田市内の流路距離の比較的短い草生津川、大森山・宮田沢、下浜・横川、さらに市内の代表的な湧水の新屋薬王院湧水、高清水湧水、補陀寺極楽水湧水、手形大沢湧水も併せておこなった。今回検討し

Table 1. Temperatures, Eh, pH and major element concentrations of river water in Asahi River.

Sampling Point	Temperature °C	pH	Eh mV	Na	K	Mg	Ca	Cl	SO ₄
ppm									
Taiheizan-Mitarashi	7.0	6.4	383	4.2	0.5	0.9	1.8	6.2	2.5
Asahimata	14.0	6.9	350	5.2	0.6	1.0	5.0	7.0	6.3
Nibetsu	18.0	7.3	298	8.6	0.9	2.5	9.2	10.5	15.5
Soegawa	20.7	7.2	365	7.3	0.9	1.7	5.4	9.1	8.5
Sannoh	22.7	7.4	299	11.9	1.4	2.5	7.8	13.8	10.6

た試料は、それらのうち旭川の上流から下流にむかっの平成19年7月に採取した試料である。試料採取の際は、現地でpH、酸化還元電位、水温の測定を行った。試料は0.45 μ mのフィルターでろ過したのち、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。

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、SO₄濃度は、イオンクロマトグラフで分析した。PIXE法の分析試料は、試料溶液と等量のIn(10ppm)溶液を加えた混合溶液10 μ l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。測定はNMCCのPIXE装置で実施した。現地測定および化学分析の結果をTable 1に示した。

4 河川水の化学成分の特徴

はじめに秋田市内を流れる河川を代表例として、旭川水系の主化学成分および重金属成分の濃度変化をFig. 3とFig. 4に示した。横軸に雄物川河口(日本海)からの流路距離、縦軸に成分濃度をそれぞれ示した。

旭川河川水系の各イオン濃度は、Na=4.2~11.9ppm、K=0.5~1.4ppm、Mg=0.9~2.5ppm、Ca=1.8~9.2ppm、Cl=6.2~13.8ppm、SO₄=2.5~15.5ppmの範囲である(Table 1)。各成分に共通する傾向としては、源流域の太平山御手洗(①)から旭又(②)を経て仁別(③)までは濃度が増加する。添川(④)での各成分濃度は、仁別(③)で示す各成分濃度より低い値を示すが、旭又のそれらと比較すると、高い値を示す。添川から下流の山王(⑤)では各成分濃度はさらに増加する。同河川のNaとCl濃度は、日本海に最も近い秋田市街地山王で最大値を示す。これは日本海で巻上げられた海塩が降水成分として秋田市内を流れる河川流域に降ること、さらに日本海に近づくに従い、その影響を強く受けるためと推定される。CaとSO₄イオン濃度は、仁別(③)で最も高くCa=9.2ppm、SO₄=15.5ppmを示す。これは仁別鉱化帯およびその周囲からの局所的なCaとSO₄の溶解に起因すると推定される。鉄(Fe)は源流域の御手洗(①)、旭又(②)では極低濃度で、仁別沢との合流後0.1ppm程度であった。それより下流域では、徐々に濃度を増し、秋田市街地山王(⑤)では0.4ppm程度になる。全流域を通して、鉄濃度の増加は小さいものの、下流域になるにしたがい徐々に濃度が増加し、特に④から⑤にかけて大きく増加する。Table 1に示した水温、Eh、pHによると、本地域で安定な鉄化学種は水酸化鉄(Fe(OH)₃)であることから、イオンの形態ではなく、0.45 μ m以下の懸濁物として下流へ

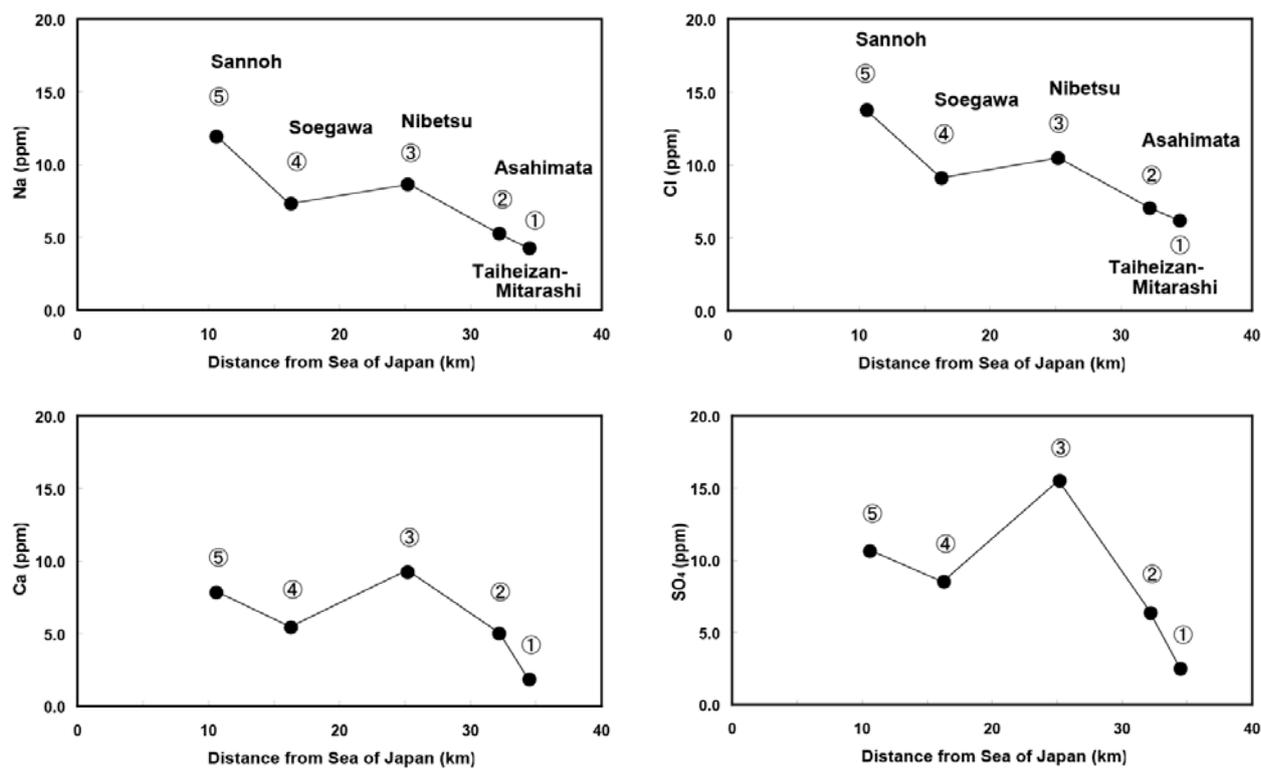


Fig. 3. Variations of Na, Ca, Mg, Cl and SO₄ concentrations in river water of Asahi River.

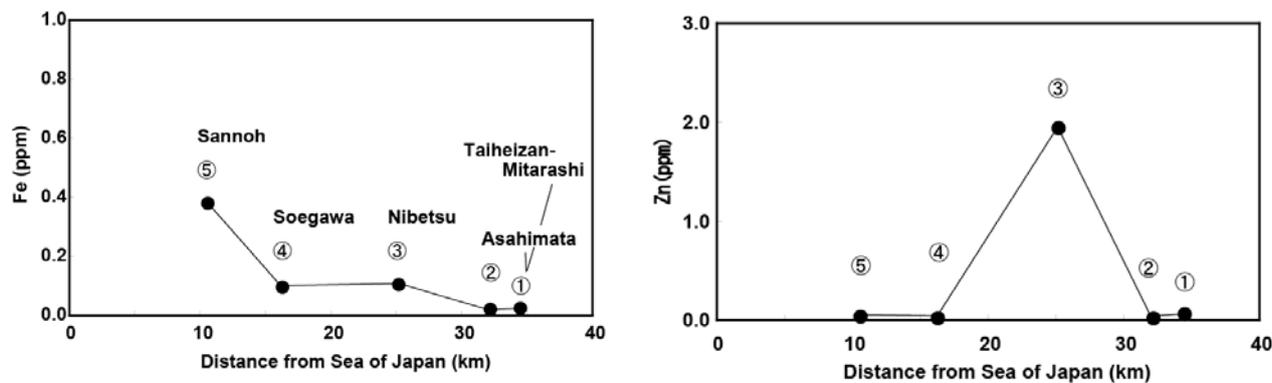


Fig. 4. Variations of Fe and Zn concentrations in river water of Asahi River.

運搬されている可能性がある。亜鉛(Zn)は、仁別(③)で1.4ppmの高い濃度であった。亜鉛は仁別沢の仁別鉍化帯から由来したと考えられる。そのほかの地点では、河床に沈着し河川水より除去されるため確認できない。

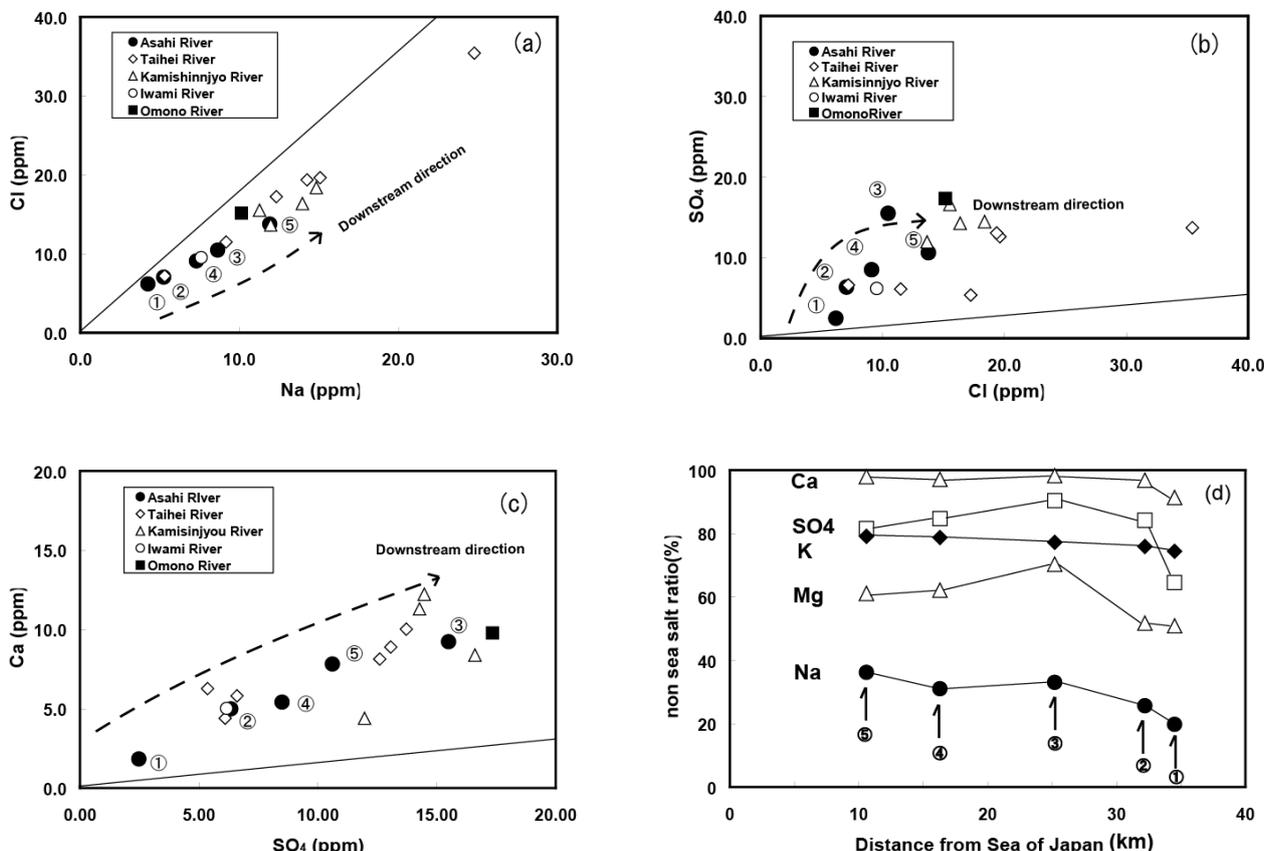


Fig. 5. Diagrams showing relation among cation and anion concentrations in river waters flowing through Akita Plain ((a), (b), (c)) and variations of Na, K, Mg, Ca and SO₄ ratios of non-seawater origin in water of Asahi River (d).

主化学成分の相互の関連性を Fig. 5 に示した。図中のそれぞれの実線は真水と海水の混合線を示す。旭川の河川水中の Na と Cl の関係が真水と海水の混合線近くにそって分布する (Fig. 5a)。このことは河川水の Na と Cl には海塩起源 Na と Cl が大きく影響を与えていること、さらに下流域ほど降水中の海塩の影響が顕著であることを示す。一般に Cl は土壌や岩石に含まれないので、各地点の Cl 含有量がすべて海塩起源と仮定し、各成分含有量から海塩起源相当分を差し引いた非海塩起源の Na、K、Mg、Ca、SO₄ の総量に対する割合を見積もったところ、Na=20~30%、K=75~80%、Mg=50~70%、Ca≒95%、SO₄=65~90%となった。

非海塩起源 Na の割合は、上流域から下流域にしたがい徐々に増加し 20%から 30%となる。この傾向は、下流域の河川水ほど長時間岩石と反応した地下水の寄与が大きいと推定される。河川水中の非海塩起源の Na は、火山岩に含まれる Na に富む鉱物 (長石類) などとの反応がその起源と考えられる。Cl と SO₄ の関係は、真水と海水の混合線より SO₄ 側に大きくずれ (Fig. 5b)、海塩以外に非海塩起源 SO₄ を著しく増加

させる要因があることが示唆される。旭又(②)より下流では、80%以上である。さらに仁別(③)では、鉍化帯からの硫化鉍物の溶解の影響うけ、非海塩起源の割合が90%に達する。非海塩起源 SO_4 の起源には、泥岩中の黄鉄鉍 (FeS_2) や二次鉍物の一種であるジャローサイト ($\text{KFe}_3(\text{SO}_4)_2(\text{OH})_6$) が考えられる。 SO_4 と Ca の関係は Fig. 5c に示されている。河川水中の Ca の起源は、採取地点にかかわらず90%以上が非海塩起源であるため、土壌や岩石からの溶解と考えられる。Ca 濃度は SO_4 濃度の増加に伴い増加する。太平川や上新城白山川でも同様な傾向が見られる。このような傾向は、長い期間水-岩石反応を行い Ca と SO_4 を溶解した地下水が、河川水として下流ほど多く流出するため考えられる。

5 まとめ

河川水中に含まれる主化学成分のうち、Na と Cl の起源は降水中に含まれる海塩の影響が大きい。各非海塩起源成分の各成分の総量に対する割合は、Na=20~30%、K=74~79%、Mg=51~70%、Ca=93~98%、 SO_4 =65~90%となった。 SO_4 の起源は、岩石中の黄鉄鉍やジャローサイトが考えられる。非海塩起源 Ca は、水-岩石反応により岩石から抽出されてきていると考えられる。重金属成分の Fe は低濃度ではあるが、イオンではなく $0.45 \mu\text{m}$ 以下のサイズの懸濁物質として下流へ運搬されている可能性がある。

文 献

- 1) 石川信明・石川洋平 (1995) : 秋田市北部仁別鉍化帯の金鉍化作用に関する地球化学的研究, 秋田大学鉍山学部研究報告, 第 16 号, p. 1-11.

Geochemical characteristics of water of Asahi River flowing through Akita Plain

Hiroshi Kawaraya¹, Daizo Ishiyama¹, Osamu Matsubaya¹ and Koichiro Sera²

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

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

Abstract

The purpose of this study was to clarify the formation process of chemical composition of river water in Asahi River flowing through Akita Plain. Concentrations of major elements and heavy metal components in the water of Asahi River were measured using ion chromatography and the PIXE method. Concentrations of major elements and iron in the river water increase from the headwater to the lower reach of the river. Zn concentration of the river water is high at the point where a tributary derived from a Cu-Ag mining area flows into, and the Zn concentration decreases below 0.03ppm at a point 14.6 km downstream. The Na/Cl ratio of the river water is similar to the Na/Cl ratio of seawater. The river water contains salt of seawater origin. The K/Na, Ca/Na, Mg/Na and SO₄/Cl ratios of the river water are different from those of seawater. These findings suggest that the concentrations of K, Ca, Mg and SO₄ are controlled by other factors in addition to the salt of seawater origin. Concentrations of Ca, Mg and SO₄ of non-seawater origin in the river water increase from the headwater to the lower reach of river. The increases in these concentrations suggest that Ca, Mg and SO₄ concentrations of the river water are controlled by water-rock interaction and that the amount of groundwater that has interacted with rocks for a long time in the river water increases in the downstream direction. Fe concentration of the river water increases in the downstream direction. Fe in the river water is thought to be transported as suspended particles smaller than 0.45 μm in diameter.

休廃止鉱山から排出された鉱山廃水を含む河川水中の元素の濃度変化と移動様式

佐藤比奈子^{*1}, 石山大三^{*1}, 水田敏夫^{*1}, 遠田幸生^{*2}, 世良耕一郎^{*3}

*1 秋田大学工学資源学部

010-8502 秋田市手形学園町 1-1

*2 秋田県産業技術総合センター

010-1623 秋田市新屋字砂奴寄 4-11

*3 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

1 はじめに

採掘を終了した休廃止鉱山では、坑内からの廃水やズリが雨水や地下水と反応することにより形成される浸出水が流出している。それとともにヒ素や鉛などの重金属元素などが自然環境や人間社会へ拡散するおそれがある。一度重金属元素が拡散してしまうと、汚染地域は広範囲にわたるので、事前にこれらの元素の汚染防止方法や拡散機構を解明することが必要である。本研究では、Fe と Zn を主な対象とし、休廃止鉱山から流出する元素の移動様式を知ることが目的として、野外調査と PIXE 法による化学分析データに基づき検討を行った。

2 研究地域概要

研究地域の鉱床は、おもに石英安山岩質火山岩類中に胚胎される金銀を伴う鉛-亜鉛-銅鉱脈鉱床である。本鉱床周辺の地質は、新第三系中新統の泥岩、砂岩、石英安山岩質凝灰角礫岩から構成される。本鉱床の鉱量は粗鉱として約 61,000 ton, その平均品位は, Au=4.2 g/t, Ag=46.9 g/t, Pb=4.1 wt%, Zn=6.5 wt%, Cu=0.6 wt%¹⁾であった。閉山後も本鉱床からは pH=3 程度の硫酸を主とする酸性の坑内水が流れ出ている。

鉱山廃水の試料採取は、酸性の鉱山廃水が漏れ出ている坑口 A および坑口 C, 中性に近い pH の鉱山廃水が流出している坑口 E, ズリ堆積場からの漏水が認められる B 地点で行った。これに加えて、鉱山廃水が流入する河川の上流から下流の 2.5 km の区間 7 カ所で行われた(Fig. 1)。

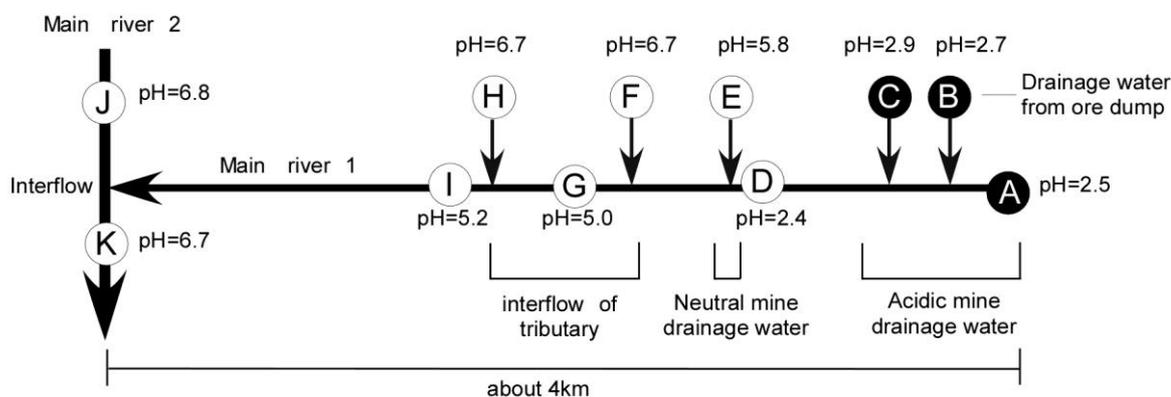


Fig. 1. Map showing location of samples (letters) and pH of mine drainage water and river water from the abandoned mine to 4 km downstream.

3 試料採取と分析試料

今回各地点で採取した試料は、鉱山廃水、河川水と河川水中の懸濁物質である。溶液試料を採取する際には、現地での鉱山廃水、河川水の観察とともに流量、水温、pH の測定を行った。溶液試料は、現地で 0.45 μ m のフィルターを用い濾過を行い、イオンクロマト分析用に何も加え

Table 1. List of chemical compositions of filtrate of mine drainage water and drainage water-bearing river water passing through a 0.45 μ m filter and residues of the river water trapped on the filter.

Sample	Distance from river water to source of mine drainage water	T(°C)	pH	Eh (mV)	Contents of solution passing through 0.45 μ m filter (μ g/l)				Contents of vesidues trapped on 0.45 μ m (μ g/l)		
					Al	Fe	Zn	Cl	Al	Fe	Zn
A	3800	11	2.5	724	6314	6500	5500	31000	BDL	23	0.21
B	3477	11	2.7	771	14558	572	9700	13600	2	3	0.31
C	3395	13	2.9	724	5905	17500	31000	31300	BDL	363	0.30
D	2844	18	2.4	809	2685	1300	16000	13600	8	53	0.26
E	2843	12	5.8	406	715	37	900	13500	BDL	49	2.45
F	2500	17	6.7	328	678	55	BDL	13200	91	137	0.50
G	2300	19	5.0	504	1348	120	6050	12700	406	314	1.08
H	2250	20	6.7	331	BDL	55	BDL	12600	55	100	0.62
I	2100	20	5.2	476	722	81	5500	12600	463	311	1.27
J	1300	25	6.8	345	BDL	50	BDL	11890	47	49	1.48
K	0	25	6.7	351	260	127	150	12100	19	32	1.06

BDL : below detection limit

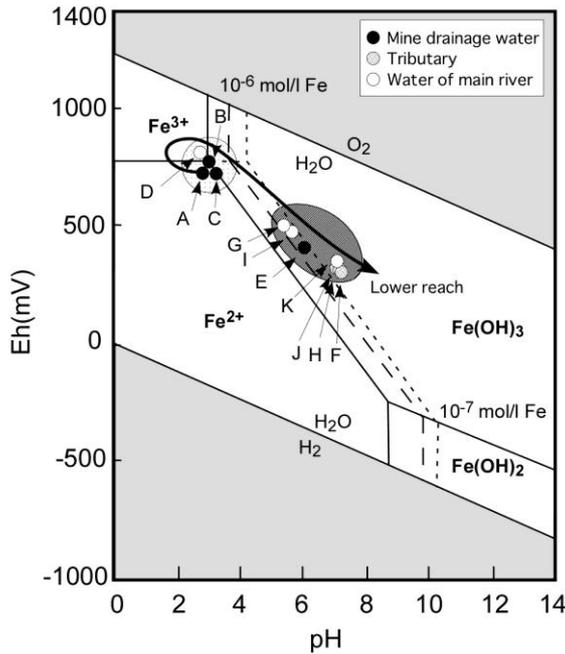


Fig. 2. Diagram showing the relation between pH and Eh of drainage water and river water in the system Fe-O-H at 25°C.

4 鉱山廃水が流入する河川水の化学組成変化

今回採取した鉱山廃水、河川水の pH, Eh, 0.45 μ m 以上と 0.45 μ m 以下で存在する Al, Fe, Zn の含有量, 0.45 μ m 以下で存在する Cl の含有量を Table 1 に示した. 坑口 A と坑口 C の鉱山廃水の pH は, それぞれ pH=2.5, 2.9, B 地点のズリからの浸出水の pH は, pH=2.7 であった. また, 中性に近い pH の鉱山廃水が流出する坑口 E の pH は, pH=5.8 であった(Fig. 1). 中性の鉱山廃水が河川に流入する直前の河川水 (D 地点) の pH は 2.4 であったが, 中性の鉱山廃水 (E 地点) や支流の河川水 (F 地点, pH=6.7) が流入した後の G 地点の河川水の pH は 5.0 に変化する. 下流の I 地点での pH は 5.2, さらに下流で大きな河川の河川水(pH=6.8)と合流し流れ下った K 地点では pH=6.7 へ変化する. pH と酸化還元電位の関係を Fig. 2 に示した. 坑口 A, C 近くで pH が酸性の本河川の上流部では, Fe は主に 3 価のイオンの状態で存在している可能性が高く, 下流側で pH が中性になるにつれ, Fe は水酸化物の形態で沈殿すると思われる.

鉱山廃水(A, C, B)が河川に流入してからの距離に対する河川水の pH の変化, 河川水中の 0.45 μ m 以上と 0.45 μ m 以下で存在する Al, Fe, Zn の濃度変化を Fig. 3 に示した. 0.45 μ m 以下で存在する Al 含有量は, 下流に行くに従い徐々に低下し, K 地点では 127 μ g/l となった. 一方,

ずにポリエチレン製の瓶に保存したものと, 重金属元素測定用に硝酸を 3%程度になるように添加した 2 種類の試料を用意した. 鉱山廃水と河川水の懸濁物質は, 孔径が 0.45 μ m のろ紙を用い 80ml 濾過し, ろ紙の残渣を測定試料とした. 溶液試料については, イオンクロマトグラフ法, PIXE 法, ICP-MS 法, ろ紙上の懸濁物質については PIXE 法で測定した. 0.45 μ m のろ紙でろ過されたろ液の各元素の含有量は, 1 l 中の水の中に溶解状態および 0.45 μ m 以下の懸濁物質として存在するものの合計である. 0.45 μ m のろ紙の残渣の各成分の含有量は, 1 l 中の水の中に 0.45 μ m 以上で存在する各元素の含有量である.

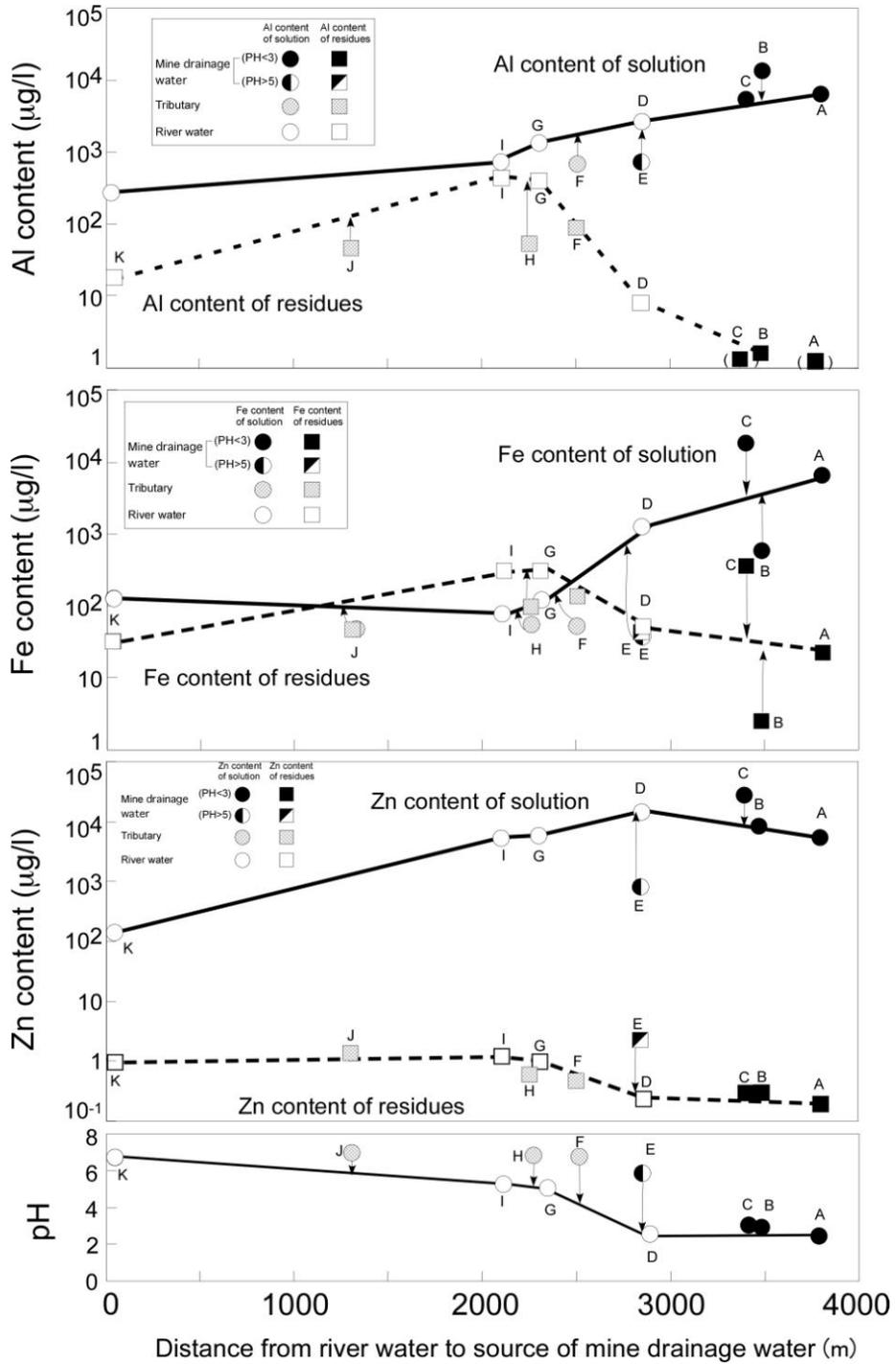


Fig. 3. Al, Fe and Zn contents of solution passing through a $0.45 \mu\text{m}$ filter and residues trapped on the filter.

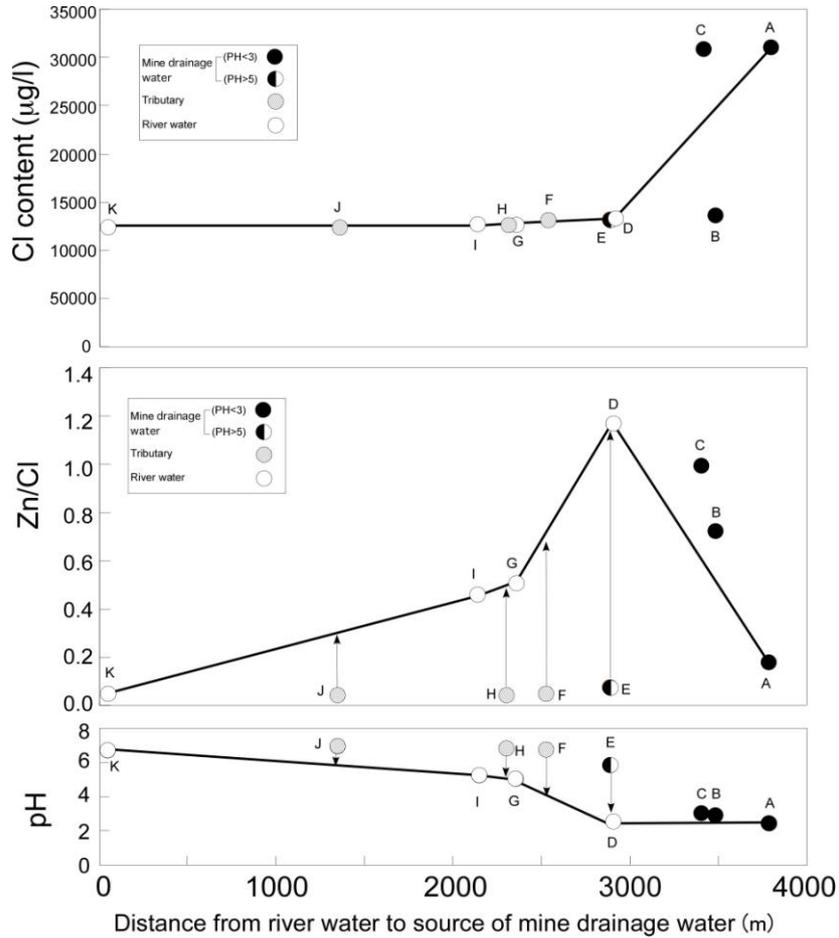


Fig. 4. Variations of Cl contents and Zn/Cl ratios of filtrate passing through a 0.45 µm filter.

0.45µm 以上で存在する Al 含有量は、A、C の坑口付近では検出限界以下であるが、B 地点のズリからの浸出水(pH=2.7)では、Al=2µg/l であった。河川水中の 0.45µm 以上で存在する Al 含有量は pH=2.4 の D 地点では 8µg/l であるが、550m 下流の G 地点では、Al=406µg/l、I 地点で Al=463µg/l であった。このことは pH が中性に変化することで Al の溶解度が低下し、0.45µm 以上の懸濁物質に Al が濃集したことが考えられる。

0.45µm 以下および 0.45µm 以上で存在する Fe 含有量は、全体的には下流側へ減少する。しかし、Fe の運搬形態は、坑口近くの河川上流部の酸性な部分では 0.45µm 以下で存在する Fe が卓越し、pH=5 より中性に近い pH をもつ G 地点から I 地点では 0.45µm 以上の懸濁物質として運搬されるものが卓越する。さらに下流の鉱山廃水を含む本河川が本流と合流し pH=6.7 付近になる K 地点では再び 0.45µm 以下で存在する Fe が、0.45µm 以上で存在する Fe 含有量よりも多くなる (Fig. 3)。坑口 A から I 地点までの河床が赤色を示すことから、0.45µm 以上の Fe を

含む懸濁物質はこの区間で沈殿し、河川水から取り除かれていると考えられる。

鉱山廃水に含まれる Zn は、 $0.45\mu\text{m}$ 以下で存在する Zn の含有量が、 $0.45\mu\text{m}$ 以上で存在する Zn の含有量より高く、Zn は、 $0.45\mu\text{m}$ 以下で存在する Zn として下流へ運搬されているものが多い。 $0.45\mu\text{m}$ 以下で存在する Zn 含有量は、下流ほど低くなる。また、河川水中の $0.45\mu\text{m}$ 以下で存在する Zn 含有量には、河川水中の $0.45\mu\text{m}$ 以下で存在する Fe 含有量にみられるような pH=2 から 5 への変化に伴う急激な含有量の減少は認められず、A 地点から D 地点(pH=2.4)にかけて $0.45\mu\text{m}$ 以下で存在する Zn 含有量が若干増加する。一方、 $0.45\mu\text{m}$ 以上で存在する Zn 含有量は、D 地点から G 地点にかけて増加し、それより下流域ではほぼ一定である。鉱山廃水(A, C, B)が河川に流入してからの距離に対する河川水の pH と Cl 含有量、 $0.45\mu\text{m}$ 以下で存在する Zn と Cl の含有量比(Zn/Cl 比)の変化を Fig. 4 に示した。Cl 含有量は、酸性廃水が流出する坑口 A, C 地点で高いものの、他の地点ではほぼ一定の値を示す。一方、Zn/Cl 比は D 地点で高くなり、 $0.45\mu\text{m}$ 以下で存在する Zn の割合が A から D にかけて増加し、その後減少している。 $0.45\mu\text{m}$ 以上で存在する Zn 含有量と Cl 含有量の比(Zn/Cl_{0.45})は、A($=0.1 \times 10^{-3}$)、D($=0.2 \times 10^{-3}$)、G($=0.9 \times 10^{-3}$)と増加し、I, K では $0.9 \times 10^{-3} \sim 1.0 \times 10^{-3}$ の値をとる。A から G にかけて Zn は少量であるが $0.45\mu\text{m}$ 以下のものから $0.45\mu\text{m}$ 以上のものへ変化している。

以上のことから、重金属等を含む休廃止鉱山から排出される鉱山廃水が河川に流入すると、元素によりその運搬形態が異なり、沈殿する場所も異なる可能性がある。Fe は比較的鉱山に近いところに固定され、Zn は遠方まで移動する可能性がある。

5 まとめ

鉱山廃水を含む本研究対象地域の河川水の Al は、主に鉱山近傍から $0.45\mu\text{m}$ 以下で存在し、下流へ運搬されることが考えられるが、pH が酸性から中性になる部分では $0.45\mu\text{m}$ 以上のものが増加する。Fe は、pH=4.5 より中性の pH の河川水中では $0.45\mu\text{m}$ 以上の懸濁物質として多く存在するようになり、河床などに沈殿し、河川水から取り除かれている。Zn は、 $0.45\mu\text{m}$ 以下で存在するものが多く、下流遠方まで運搬される。

文 献

- 1) 山田敬一, 須藤定久, 佐藤壮郎, 藤井紀元, 沢俊明, 服部仁, 佐藤博之, 相川忠之(1980): 全国金属鉱山基礎資料集, 第 1 巻, 東北日本, 地質調査所報告, No. 260, 別冊 1, 194.

Variation of chemical composition and style of transportation of elements in drainage water-bearing river water from an abandoned mine

Hinako Satoh¹, Daizo Ishiyama¹, Toshio Mizuta¹, Yukio Enda² and Koichiro Sera³

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

²Akita Prefectural Research and Development Center
4-11, Sanuki, Arayamachi, Akita 010-1623, Japan

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

Abstract

The chemical contents of filtrate of mine drainage water-bearing river water in passage through a 0.45 μm filter and residues of the river water trapped the filter were examined by the PIXE method to estimate the change in contents of chemical components and to know the style of transportation of the elements in drainage water from an abandoned mine.

The pH value of the mine drainage water ranges from 2.5 to 2.9, but the pH of the mine drainage water-bearing river water is 6.7 at the downstream part of the river. Aluminum in the river water is transported downstream as suspended particles larger than 0.45 μm in diameter. Iron changes from soluble iron and iron coexisting with suspended particles smaller than 0.45 μm to iron coexisting with suspended particles larger than 0.45 μm around pH of 4.5 according to the change from acidic pH to neutral pH. Zinc is transported far away from the mine as soluble zinc and zinc coexisting with suspended particles smaller than 0.45 μm .

秋田県渋黒川-玉川-雄物川水系の河川水中の懸濁物の特徴

石山大三¹ 佐藤比奈子¹ 水田敏夫¹ 世良耕一郎²

¹秋田大学工学資源学部

010-8502 秋田市手形学園町 1-1

²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

秋田県渋黒川-玉川-雄物川水系の河川水は、上流部で火山性温泉水の流入などがあり、河川水中の溶存成分濃度が高いことが知られている¹⁾。河川水の分析の場合、0.45 μm の濾紙で河川水をろ過して、そのろ液を分析することが多い。きれいな河川水のろ過を行った場合でも、濾紙の上には河川水中の懸濁物が残る。このことは河川水による物質の運搬が、溶存物質や 0.45 μm より細粒な物質だけでなく、0.45 μm より大きいサイズで運搬されていることを示している。しかしながら、濾紙の上に残留するごく少量の物質を測定する有効な方法がこれまでなかったため、懸濁物を構成する元素種とその量についてはあまり検討されてこなかった。PIXE 法の無標準定量法²⁾では濾紙の上のごく少量の物質の定量分析が可能である。今回はこの手法を用いて渋黒川-玉川-雄物川水系の河川水を対象に、上流から下流まで河川水中の懸濁物の構成元素の種類とその量の変化を検討した。

2 河川の概要

研究をおこなった河川は、秋田県八幡平秋田焼山火山に源流を持つ渋黒川-玉川-雄物川水系である (Fig 1)。本水系の源流から流れ下る河川水は、叫沢地熱地帯、玉川温泉地熱地帯からの酸性温泉水と合流した後、玉川温泉地熱地帯の下流約 2.4 km で中性の pH の玉川本流の河川水と合流する。この河川水は、支流から流れ込む河川と合流しながら玉川ダム、鎧畑ダム、田沢湖を経由して、角館へ流れ下る。角館でほぼ中性の pH の桧内川と合流し、さらに大仙市大曲へ流れる。大仙市大曲では、本河川水は、湯沢-横手地域から流れ下る雄物川本流に合流し、秋田市へ雄物川として流れ、秋田市割山で日本海に流出する。雄物川の大仙市大曲から秋田への区間では、荒川-畑鉦山地域からの支流河川水が本水系に合流する。

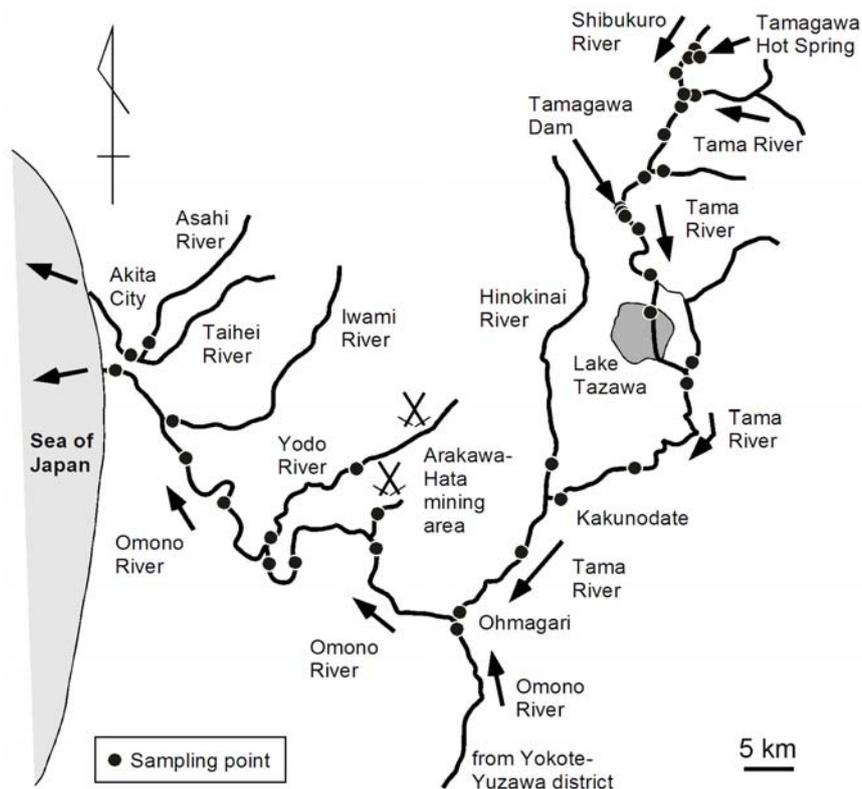


Fig. 1. Map showing the location of sampling sites from the headwaters to the lower reaches of Shibukuro River-Tama River-Omono River system.

3 試料採取法、試料調製法および測定法

検討した試料は、本河川の上流部に存在する玉川温泉から秋田市の雄物川河口までの約 140 km の区間の河川水中に含まれる $0.45 \mu\text{m}$ 以上のサイズの懸濁物である。ろ過に用いたろ紙は $0.45 \mu\text{m}$ のろ紙であり、80ml の河川水をろ過した。懸濁物の化学組成は、ろ過済みのろ紙を PIXE 化学分析用支持プレートに直接固定し、NMCC の PIXE 装置により測定された。定量分析の解析は、無標準定量法²⁾に従いおこなった。得られた $0.45 \mu\text{m}$ より粗粒な懸濁物の化学組成は、1 l あたりの各元素の重量 ($\mu\text{g/l}$) として示されている。懸濁物の採取とは別に、現地で河川水を $0.45 \mu\text{m}$ のろ紙でろ過し採取し、その河川水に HNO_3 を加え 3% HNO_3 溶液として、実験室に持ち帰った。この溶液を ICP-MS で測定し、河川水中の $0.45 \mu\text{m}$ 以下で存在する各元素の含有量を求めた。この含有量は、河川水 1 l 中に存在する溶存状態および $0.45 \mu\text{m}$ 以下の懸濁物として存在するものの合計の含有量である。一方、ろ紙を直接測定して得られる $0.45 \mu\text{m}$ 以上で存在する元素の含有量は、河川水 1 l 中に含まれる $0.45 \mu\text{m}$ 以上の懸濁物の各元素の含有量である。

4 渋黒川－玉川-雄物川水系の懸濁物の化学組成の特徴

本水系の河川水の pH は、上流部では玉川温泉の強酸性温泉水が河川水に流入するために約 pH=2 の酸性

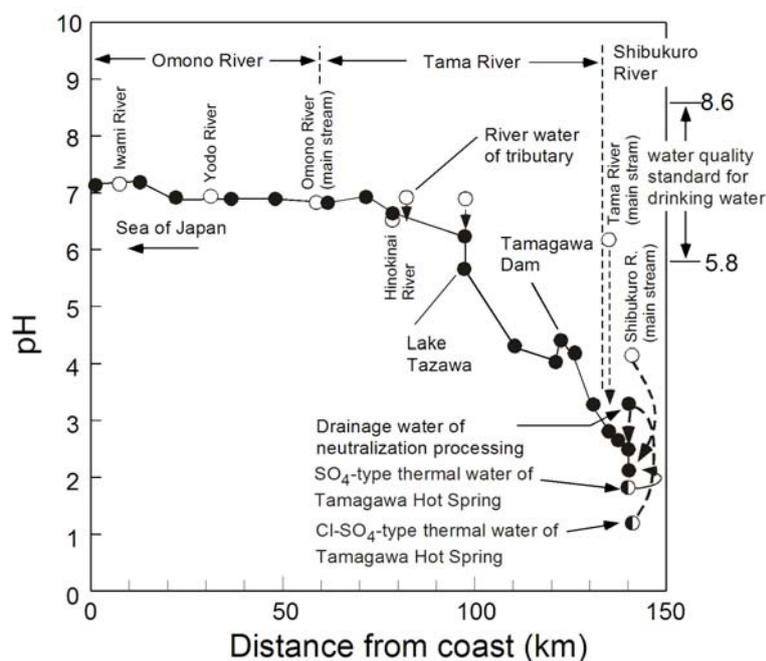


Fig. 2. Variation of pH values of river water from the headwaters to the lower reaches of the river system.

の河川水である。源流域近くの温泉地域から約 40km 下流になると pH=6 程度になり、その後雄物川河口にかけて pH=7 に変化する (Fig. 2)。本水系の懸濁物の主要化学成分は、上流域と下流域ではその含有量は異なるが、Si、Al、Na、K、Ca、Mg、Fe、S である。これらの元素は、S を除くと、珪酸塩鉱物を構成する元素であり、懸濁物は粘土鉱物から構成されている可能性が考えられる。懸濁物を構成する Si、Al、Ti、K の濃度は、上流から下流にかけて、類似した変化を示す (Fig. 3)。本水系下流域の雄物川と比べると、渋黒川と玉川の中流から上流では 0.45 μm 以上で存在する各元素の含有量は低い。玉川上流部には 0.45

μm 以上で存在する Si、Al、Ti、K の含有量が高くなる地点がある。この地点は、田沢湖に引き込まれた玉川河川水が再度玉川に放出され、pH=7 程度の河川と合流し、pH が中性に変化した地点に対応する。さらに下流の玉川中流から雄物川にかけて 0.45 μm 以上で存在する Si、Al、Ti、K 含有量は増加し、雄物川河口から上流 40 km 地点でもっとも高くなり、その後雄物川河口にかけて減少する傾向がある。

0.45 μm 以上で存在する Fe 含有量は、渋黒川上流部から渋黒川-玉川合流地点まで増加し、その後減少する (Fig. 4)。この Fe 含有量は、渋黒川-玉川水系の河川水が雄物川に合流後に Si、Al 等の含有量の挙動と同様に再度増加し減少する。Mn 含有量は、渋黒川-玉川水系では田沢湖周辺で増加は認められるものの、全体としては玉川が雄物川に合流した後にその含有量の大きな増加と減少が認められる。As 含有量の濃度変化は、主成分元素の含有量変化と異なり、渋黒川上流部から渋黒川-玉川合流地点まで増加し、その後減少し、主成分元素に認められる雄物川での増加と減少は認められない (Figs. 3 & 4)。渋黒川-玉川での As 含有量変化は、Fe 含有量変化と対応しており、As が Fe 水酸化物に吸着し、懸濁物、さらには沈殿物として河川水から取り除かれていることに対応していると考えられる。0.45 μm 以上で存在する Zn 含有量は、渋黒川-玉川では 0.1~0.5 $\mu\text{g/l}$ の範囲で増減を示すが、雄物川では主成分元素の変化と同様に雄物川河口から上流 40 km 地点でもっとも高くなり、その後雄物川河口にかけて減少する (Fig. 4)。一方、河川水中の 0.45 μm 以下で存在する Zn 含有量は、本水系上流部から下流部にかけて低下する傾向が認められる (Fig. 5)。本水系中流上部の田沢湖を通過した河川水が再度玉川へ戻る地点で、河川水の pH が 5.7 から 6.2 に変化する。この地点で、河川水中の 0.45 μm 以下で存在する Zn 含有量の低下と、0.45 μm 以上で存在する Zn 含有量の増加が認められる (Figs. 4 & 5)。このことは pH の変化に伴い粗粒な物質に Zn が濃集することを示す。下流域の雄物川では鉱山地帯からの河川が本水系に合流する。この支流河川水の Zn 含有量は本水系より高い (Fig. 5)。

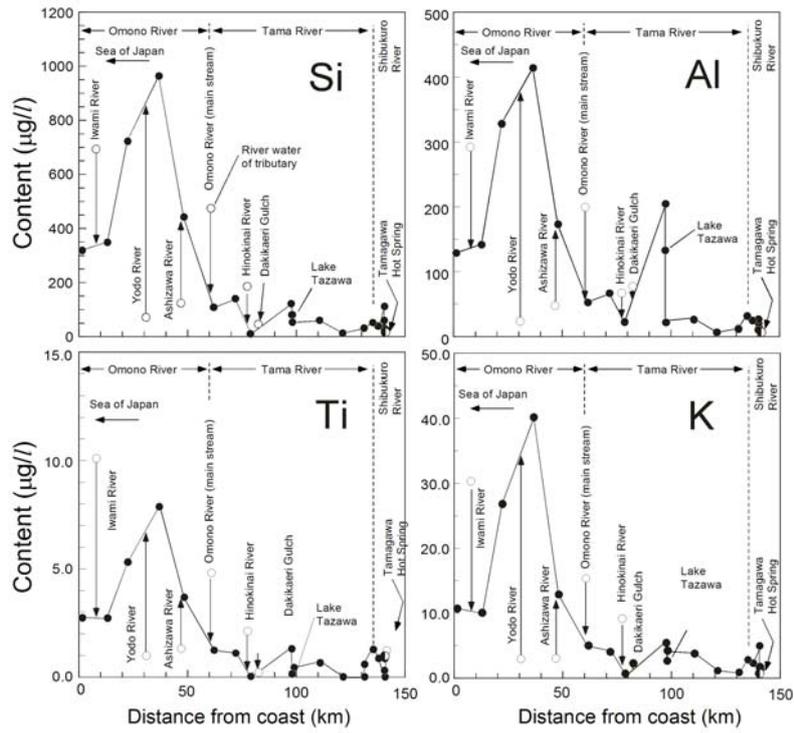


Fig. 3. Si, Al, Ti and K contents of residues of 0.45 µm filtration of river water from the headwaters to the lower reaches of the river system.

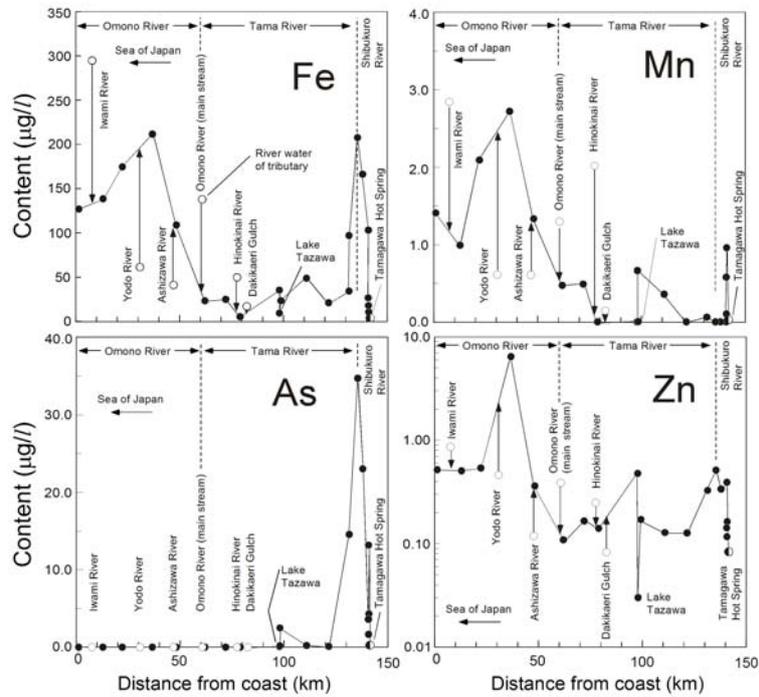


Fig. 4. Fe, Mn, As and Zn contents of residues of 0.45 µm filtration of river water from the headwaters to the lower reaches of the river system.

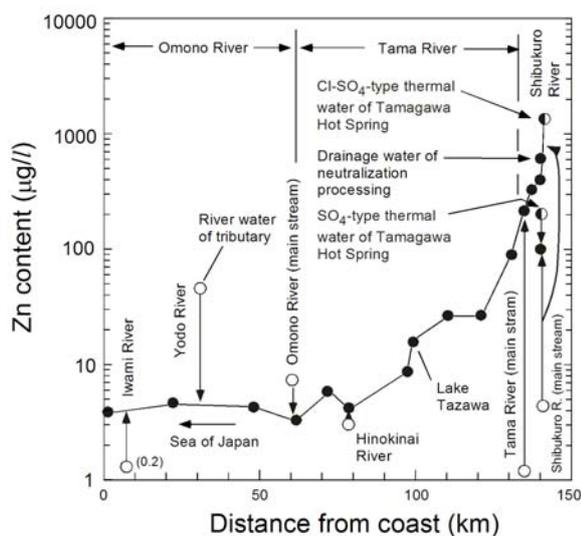


Fig. 5. Zn content in filtrate of 0.45 μm filtration of river water from the headwaters to the lower reaches of the river system.

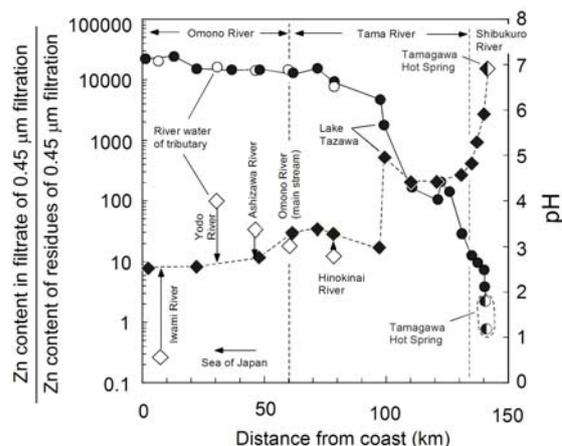


Fig. 6. Diagram showing relation between variations of pH values (circles) and weight ratios (diamonds) of Zn contents in filtrate of 0.45 μm filtration to residues of the filtration of river water from the headwaters to the lower reaches of the river system.

本水系雄物川流域での 0.45 μm 以上で存在する Zn の含有量は、主成分と同様に高くなり、鉱山地域からもたらされる Zn は、河川水中の粘土鉱物のような懸濁物に固定される可能性がある。

河川水の Zn 成分の中で 0.45 μm 以上で存在する Zn と 0.45 μm 以下で存在する Zn の質量比を Fig. 6 に示した。河川水中の Zn の場合には、0.45 μm 以下で存在する Zn が多く、 $[0.45 \mu\text{m 以下で存在する Zn}] / [0.45 \mu\text{m 以上で存在する Zn}]$ 比は、2800 から 10 程度まで変化する。酸性の河川水ではこの比が高く、本水系中流部上部において河川水の pH が酸性から中性に変化する地域ではこの比が小さな値に変化する (Fig. 6)。しかし、この比は下流に向い、再度大きくなり、その後 10 程度に減少する。特に、本水系の下流部で鉱山地域から合流する支流河川から 0.45 μm 以下で存在する Zn として Zn がもたらされている (Figs. 5 & 6)。この付近の雄物川の河川水の pH は、ほぼ中性で、0.45 μm 以上の粘土鉱物のような懸濁物に Zn が濃集しているので、懸濁物により河川中の Zn が取り除かれ、河川水の水質がコントロールされている。本水系下流域では、河川水により運搬される Zn の約 1 割が 0.45 μm 以上で存在する懸濁物などとともに運搬されていると考えられる。

5 まとめ

河川水の化学成分は、河川水中の懸濁物の影響を受けている。As は、本水系上流部で河川水の pH が 3.3 から 4.2 に変化する地域で、Fe と共に懸濁物として河川水から取り除かれ、上流部に沈殿する傾向がある。Zn は、本水系中流部上部の河川水の pH が 5.7 から 6.2 に変化する地域と本水系下流側で、0.45 μm 河川水中の元素の変化様式は異なる。日本海に近い雄物川では、河川により運搬される Zn の約 1 割が 0.45 μm 以上で存在する懸濁物とともに運搬されていると推定される。

文 献

- 1) 佐藤比奈子, 石山大三, 水田敏夫, 西川 治, 世良耕一郎, 遠田幸生 (2005): 秋田県八幡平西部の温泉水と渋黒川水系河川水の化学組成. NMCC 共同利用研究成果報文集, No. 13, 128-134.
- 2) Sera, K., Futatsugawa, S. and Ishiyama, D. (1999): Application of a powdered-internal-standard method combined with a method of correction for self-absorption of X-rays to geological, environmental and biological samples. International Journal of PIXE, vol. 9, 63-81.

**Geochemical characteristics of suspended particles in water of
Shibukuro River-Tama River-Omono River system,
Akita prefecture, Japan**

Daizo Ishiyama¹, Hinako Sato¹, Toshio Mizuta¹ and Koichiro Sera²

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

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

Abstract

The chemical composition of residues larger than 0.45 μm in water of the Shibukuro River-Tama River-Omono River system was examined by the PIXE method to estimate the ratios of amounts of elements transported as suspended particles in total amounts transported by river water in the river system. The chemical composition of the river water is controlled by formation of suspended particles and absorption of elements on the surfaces of suspended particles. Arsenic in the river water is precipitated with iron at the point at which pH of the river water changes from 3.3. to 4.2 in the upper reach of the river system. Zinc is removed from the river water as absorption on suspended particles larger than 0.45 μm at the point at which pH of the river water changes from 5.7. to 6.2 in the middle part of the river system and in a lower reach of the river system where pH of river water is around 7. The amount of zinc transported as suspended particles in river water of the lower reach is estimated to be about 10% of the total amount of zinc transported by the river water.

PIXE 分析法およびINAAによる亜鉛欠乏マウス臓器中の微量元素の分析

《二次元電気泳動した可溶性タンパク質中の定量》

上島淳慈¹、皆吉龍二¹、川島美智子¹、菅沼英夫²

野口基子³、二ツ川章二⁴、世良耕一郎⁵、矢永誠人²

¹ 静岡大学大学院理工学研究科
422-8529 静岡市駿河区大谷 836

² 静岡大学理学部放射化学研究施設
422-8529 静岡市駿河区大谷 836

³ 静岡大学理学部生物地球環境科学科
422-8529 静岡市駿河区大谷 836

⁴ (社) 日本アイソトープ協会アイソトープ部
〒113-8941 東京都文京区本駒込 2-28-45

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

1 はじめに

生体微量元素とは、生体内にごく僅かに存在する元素のことを意味し、これらの元素は体内ではそれだけで機能することは少なく、主として酵素タンパク質や代謝機能の触媒として作用する。そのため、生物体内には、生命活動とその維持において必須性の高い元素（必須微量元素）が存在し、鉄、亜鉛、マンガン、銅、セレンなどがこれに含まれる。この中で亜鉛は、ヒトの体内において鉄に次いで存在量の多い微量元素であり、種々のタンパク質と結合した亜鉛酵素という形で、様々な生体内の反応に関わっている。この亜鉛が欠乏すると、味覚・嗅覚障害、性機能障害、成長障害、脱毛、皮膚障害、免疫機能低下などの亜鉛欠乏症状が現れてくることが知られている。

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、亜鉛欠乏マウスおよび対照マウスの臓器・組織中の微量元素の定量を行い、比較・検討してきた。その結果、成獣マウス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。その他の元素として、亜鉛欠乏マウスの分析を行った全ての臓器および組織中のコバルト濃度が対照群のそれに比べて大きく上

昇していた。いくつかの臓器において、亜鉛欠乏状態にあるにもかかわらず亜鉛濃度の有意な低下が見られなかったことについては、骨からの亜鉛の供給を考えている。しかしながら、特に肝臓については、多くの亜鉛結合タンパク質を含み、様々な代謝に関与する臓器であり、コバルト濃度の変化以外の影響を受けていないとは考えにくい。そこで本研究では、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が消失など、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。この目的のために、遠心分離法により分離した肝細胞成分中における微量元素濃度を機器中性子放射化分析により、また、可溶性タンパク質中の微量元素濃度を PIXE 分析により定量した。

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, C E - 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 3 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肝臓を摘出した。摘出した肝臓は、その後の目的に応じて、次の 2 種類の操作を行った。

- ① 肝細胞の各細胞成分(各画分)中での微量元素濃度の分析を目的とした場合には、生重量を測定した後、HEPES buffer を加えてホモジナイズした。その後、条件を変えて 5 回の遠心分離を行い(50×g, 7 min, 1,000×g, 10 min, 9,000×g, 10 min, 30,000×g, 30 min, 105,000×g, 65 min)、非破壊細胞、核画分、ミトコンドリア画分、リソソーム画分、ミクロソーム画分および可溶性画分に分離した。それぞれの画分を凍結乾燥後、秤量した。
- ② SDS-PAGE、二次元電気泳動法による可溶性タンパク質の分離、および PIXE 分析によるタンパク質中の微量元素濃度の分析を目的とする試料については、Tris-HCl Buffer を用いてホモジナイズした肝細胞から、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 機器中性子放射化分析 (I N A A)

成分分離した肝細胞の各画分、すなわち、非破壊細胞画分、核画分、ミトコンドリア画分、リソソーム画分、ミクロソーム画分および可溶性画分について I N A A を行った。それぞれの画分について 10~150 mg を精秤した後、ポリエチレン袋に二重に封入したものを照射・分析用試料とした。標準試料には、NIST SRM 1577b Bovine Liver の一定量を同様に二重封入したものをを用いた。熱中性子の照射は、日本原子力研究開発機構 JRR-3 または京都大学原子炉実験所 KUR にて行った。短寿命核種による定量(Na, Mg, Cl, Mn, Cu, Br)では、JRR-3 放射化分析用照射設備 PN-3(熱中性子束 $1.5 \times 10^{13} \text{ cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$)あるいは KUR Pn-1 圧気輸送管(熱中性子束 $1.9 \times 10^{13} \text{ cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$)にて 10~60 秒間の照射を行い、照射後直ちに、あるいは 1~3 時間後に高純度 Ge 半導体検出器を用いて γ 線測定を行った。長寿命核種による定量(Fe, Co, Zn, Se, Rb)では、JRR-3 気送照射設備 PN-1(熱中性子束 $6.0 \times 10^{13} \text{ cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$)または KUR 黒鉛設備圧気輸送管 TC-Pn(熱中性子束 $4.0 \times 10^{11} \text{ cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$)にて 20 分間または 50~74 時間の熱中性子の照射を行い、照射後、10~60 日間の冷却の後、高純度 Ge 半導体検出器を用いて γ 線測定を行った。

2. 4 電気泳動法と P I X E 分析

2. 4. 1 SDS-PAGEとPIXE分析

タンパク質の検出を目的とし、亜鉛欠乏マウスおよび対照マウスの肝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 を用いてすべてのタンパク質濃度をそろえた。次に 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。

PIXE 分析によるタンパク質中の微量元素定量を目的とした試料については、SDS-PAGE 後、銀染色を行った。その後、約 27~65 kDa のそれぞれ 12 本のバンド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。

2. 4. 2 二次元電気泳動とPIXE分析

2.4.1 と同様に亜鉛欠乏マウスおよび対照マウスのタンパク質濃度をそろえた後、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、CBB 染色を行った際に亜鉛欠乏マウスにおいてタンパク質の減少が示唆されたそれぞれ 2 つのスポット位置〔スポット 1 (67.1 kDa)、スポット 2 (77.6 kDa)〕でゲルを切断し、SDS-PAGE を行った場合と同様に PIXE 分析のターゲットを調製した。なお、亜鉛欠乏マウスについて二次元電気泳動を行ったゲルからは、対照群のスポットと同じ位置でゲルを切断した。

3 結果および考察

3. 1 INAAによるマウス肝細胞成分中の微量元素の定量結果

INAA により定量した亜鉛欠乏マウスおよび対照マウスのそれぞれの肝細胞成分中における微量元素の結果の一例として、可溶性画分についての分析結果を Fig. 1 に示した。Fig. 1 に見られるように 11 元

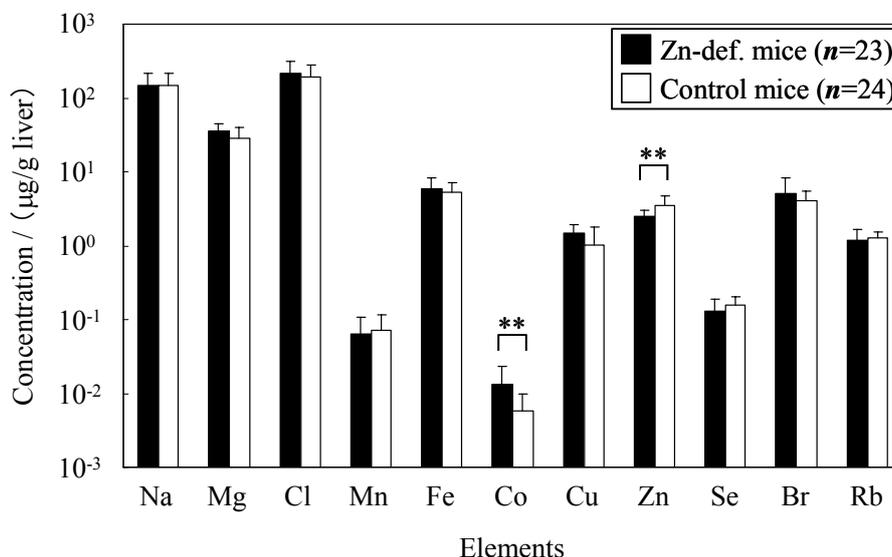


Fig. 1 Concentrations of eleven elements (mean ± SD) in cytosolic fraction of Zn-def. mice and control ones. Asterisks indicate significant difference (* $P < 0.01$; t-test) from control.

素について定量を行うことができた。なお、本実験では、試料調製の際に用いる HEPES buffer の pH の調整に sat. KHCO_3 を用いた。これは、常法に従って NaHCO_3 用いた場合には、中性子照射によって大量

の ^{24}Na が生成し、その高エネルギーガンマ線によるコンプトン散乱の影響によって、他の元素の定量が妨害されることが予想されたため、これを避けたためである。したがって、本来であれば I N A A ではカリウムの定量が可能であるが、本研究の場合には上述の理由により定量することはできなかった。

亜鉛の肝細胞内での分布を Fig. 2 に示した。我々のこれまでのマクロ的分析では（肝臓を細胞分画せずにそのまま分析した場合には）、亜鉛欠乏マウスにおける亜鉛濃度の有意な低下は認めることはできなかった。しかしながら、今回、肝細胞について遠心分離法による細胞分画を行って分析したところ、Fig. 2に見られるように、特に可溶性画分において亜鉛欠乏群での亜鉛濃度の有意な低下を認めることができた。また、F1 の非破壊細胞を除けば、肝細胞 1 g あたりの含有量に換算した亜鉛濃度は、可溶性画分中で最も高く、次いで核画分中であつた。細胞内に存在する亜鉛の多くは、タンパク質と結合して存在し、遊離イオンとして存在する量は非常に少ない。可溶性画分には多くのタンパク質や酵素が含まれており、亜鉛はこれらと結合しているものと思われる。本研究においては、食餌中の亜鉛の欠乏によって血漿中亜鉛濃度が低下したとき、肝細胞中の亜鉛結合タンパク質から亜鉛が遊離してしまうのか、亜鉛が他の金属と置換するのか、あるいは、タンパク質そのものが消失するのか、いずれにしろ、肝細胞の可溶性画分中の亜鉛含有量は低下するのではないかと考えていたが、本実験結果はこれらのうちのいずれかの可能性を示すものである。

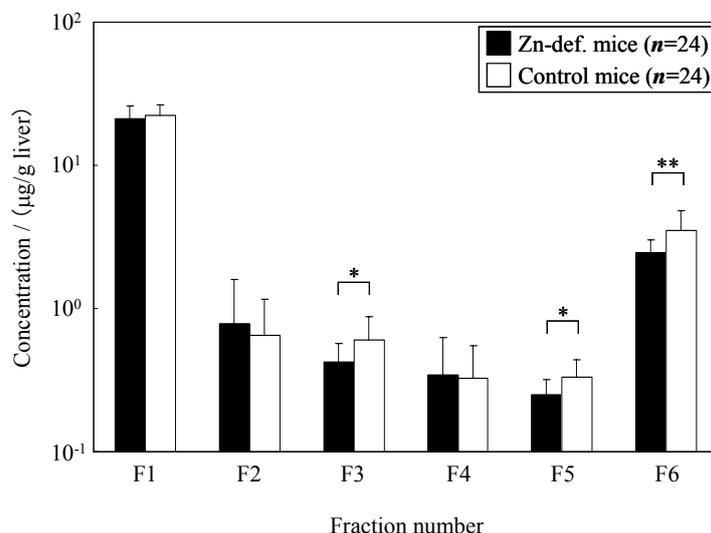


Fig. 2 Concentrations of zinc (mean \pm SD) in cellular fragments and 5 subcellular fractions of Zn-def. mice and control ones; F1-cellular fragments, F2-nuclear, F3-mitochondrial, F4-lysosomal, F5-microsomal and F6-cytosolic fractions. Asterisks indicate significant difference (* P <0.05; ** P <0.01; t-test) from control.

Fig. 1 に示した可溶性画分についての分析結果で、亜鉛以外の元素で両群間に有意な差を認めることができた元素はコバルトのみであつた。これは他の画分においても同様の結果となつた。このコバルトについては、肝臓の全分析においても亜鉛欠乏群で有意な上昇が認められた元素であつたが、細胞分画を行って分析したところ、Fig. 3に見られるように、全ての画分において、亜鉛欠乏群のコバルト濃度が上昇していた。特に核画分および可溶性画分での濃度の上昇が著しいものであつた。生体内におけるコバルトの化学形としては、コバラミン等のビタミン B 群の形で存在するか、あるいは、コバルトイオン（無機体）として何らかのタンパク質と結合していることが考えられる。亜鉛欠乏群の全ての画分でコバルト濃度が高まつた原因については次のように考えている。実験室レベルにおいては、亜鉛タンパク質中の亜鉛は容易に遊離し、また、コバルトなどの他の金属と置換する。さらに、いくつかの亜鉛酵素に関しては、亜鉛がコバルトと置換した場合、酵素活性が保たれる、もしくは高くなることが知られている。このことから、食餌中の亜鉛が欠乏した場合には食餌からコバラミンが積極的に取り込まれたり排泄が

抑制されたりするというよりは、積極的に亜鉛を取り込むときにコバルトも取り込む、あるいは、亜鉛タンパク質中の亜鉛とコバルトが置換する、ということが起こっていると考えられる。タンパク質に結合している亜鉛とコバルトとの置換を考えたとき、肝細胞の可溶性画分以外ではいずれの画分においても亜鉛濃度に関しては両群の間に大きな差が認められなかったのは、コバルト濃度に比較して亜鉛濃度は約 10^2 倍高いため、亜鉛とコバルトが置換することがあっても亜鉛濃度の低下については検知できなかったためであろう。一方、コバルト濃度に関しては、もともとの存在量が低く、また、INAA における検出感度も高いため、その濃度の上昇を容易にとらえることができたものと考えている。

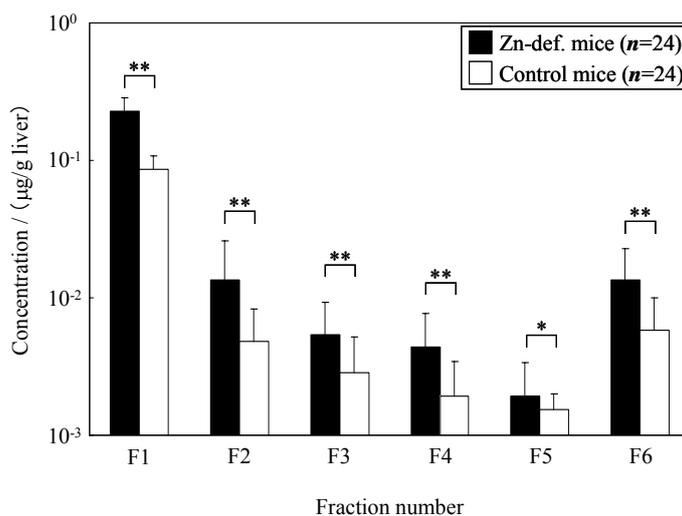


Fig. 3 Concentrations of cobalt (mean \pm SD) in cellular fragments and 5 subcellular fractions of Zn-def. mice and control ones; F1-cellular fragments, F2-nuclear, F3-mitochondrial, F4-lysosomal, F5-microsomal and F6-cytosolic fractions. Asterisks indicate significant difference (* P <0.05; ** P <0.01; t-test) from control.

3. 2 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肝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、両群間に有意な差を認めることはできなかった。銀染色を行った結果の一例を Fig. 4 に示した。この両群間に差を認めることができなかったことは、亜鉛欠乏による亜鉛タンパク質（アポタンパク質）の消失や新たなタンパク質の誘導の可能性が低いことを示している。しかし、SDS-PAGE で分離され、確認される各バンドは、まだ多種類のタンパク質が混在したものであることから、今回のように、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、上述の内容を断定することはできないものと考えている。

3. 3 二次元電気泳動法による可溶性タンパク質の分離結果

二次元電気泳動法により可溶性タンパク質を分離した結果を Fig. 5 に示した。二次元電気泳動を行うことで肝臓サイトゾルに存在する可溶性タンパク質をスポットとして広く分離することができた。亜鉛欠乏マウスおよび対照マウスのそれぞれのタンパク質スポットを比較した結果、Fig. 5 に矢印で示したタンパク質スポットが亜鉛欠乏状態において消失もしくは明らかに薄くなっていることが認められた。分子量マーカーから算出したこれらのタンパク質の相対分子量は等電点 (pI) の低い方からそれぞれ 67.1 kDa、77.6 kDa であった。これは、他のマウスの肝臓を用いて同様の対照実験を繰り返し行った場合も同様の結果となった。

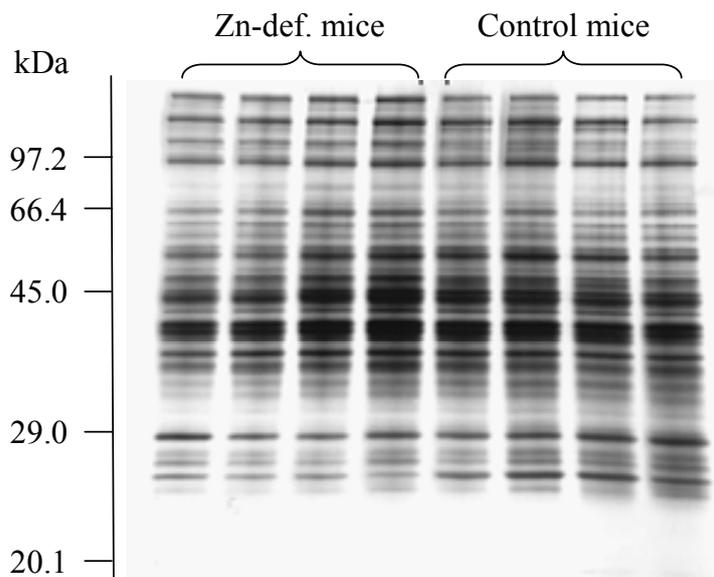


Fig. 4 Typical SDS-PAGE pattern of proteins after silver staining for the cytosolic fraction

この結果から、亜鉛が欠乏することで、あるタンパク質については全量ではないとしても、その一部は消失（減少）することが示唆された。本実験では、この消失の可能性のあるタンパク質の同定を行うことができなかったため、これらのタンパク質が亜鉛結合タンパク質であるかどうかは判断できないが、亜鉛結合タンパク質と仮定した場合、消失の原因として、亜鉛が不足したことによりタンパク質自身の構造を保持することができなくなったことや、肝臓全体としての機能を保つために、他の細胞成分に輸

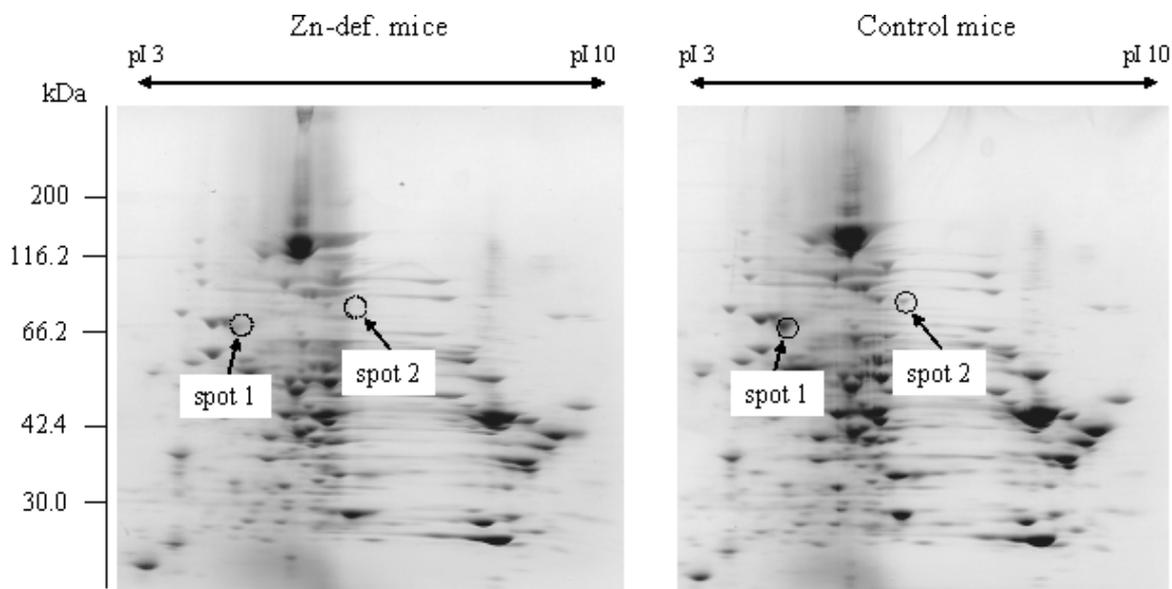


Fig.5 Two-dimensional electrophoretic analysis of cytosolic proteins. The gel was stained with Coomassie blue.

送されたことなどが考えられる。二次元電気泳動による分離で対象としたのが、サイトゾルに含まれる可溶性タンパク質だけであるために、他の細胞成分にタンパク質が輸送されたかどうかを確認すること

はできなかつた。また、亜鉛欠乏時に大きく濃度増加するコバルトについては、新たなコバルト結合タンパク質が発現することも考えられたが、亜鉛欠乏群だけに認められるスポットはなかつたため、この可能性は低いと考えられた。

3. 4 PIXE分析による可溶性タンパク質中の微量元素の定量結果

本実験では電気泳動法による可溶性タンパク質分離を行い、切断したゲルについて PIXE 分析を行い、タンパク質中の微量元素濃度の分析を行った。SDS-PAGE を行ったものについては、特に 27 ~ 65 kDa の 12 本のタンパク質バンド、二次元電気泳動を行ったものについてはそれぞれ 2 つのスポットを対象として分析を行った。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、そのタンパクシル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した。この場合タンパク質が消失するなど、両群間でタンパク質量が変化すると上述の仮定は成り立たないが、3.3 で示した結果より、亜鉛欠乏状態におけるそのような変化は僅かであり、同種のタンパク質が存在する場合、結合する銀イオンの量もタンパク質量に比例すると考えられるため上記の仮定を採用した。その結果の一例として、各バンド中の亜鉛と銀の比を Fig. 6 に示した。この結果より、タンパク質の分子量が、62.5 および 31.0 kDa のゲル中における値 (Zn/Ag) が、亜鉛欠乏群において増加していることが認められた。これは、この分子量のアポタンパク質に、サイトゾルの遊離亜鉛もしくは他のタンパク質に結合していた亜鉛が結合したためにタンパク質量 (Ag 量) は変化せず亜鉛の量が増加したために見られた結果であると考えられる。これに対して、35.8 および 33.1 kDa においては亜鉛欠乏群でその値が減少していた。これは、亜鉛結合タンパク質から、亜鉛が遊離し、アポタンパク質へと変化したため、あるいは他の金属元素が結合したため、亜鉛の量のみが減少したためであると考えられる。

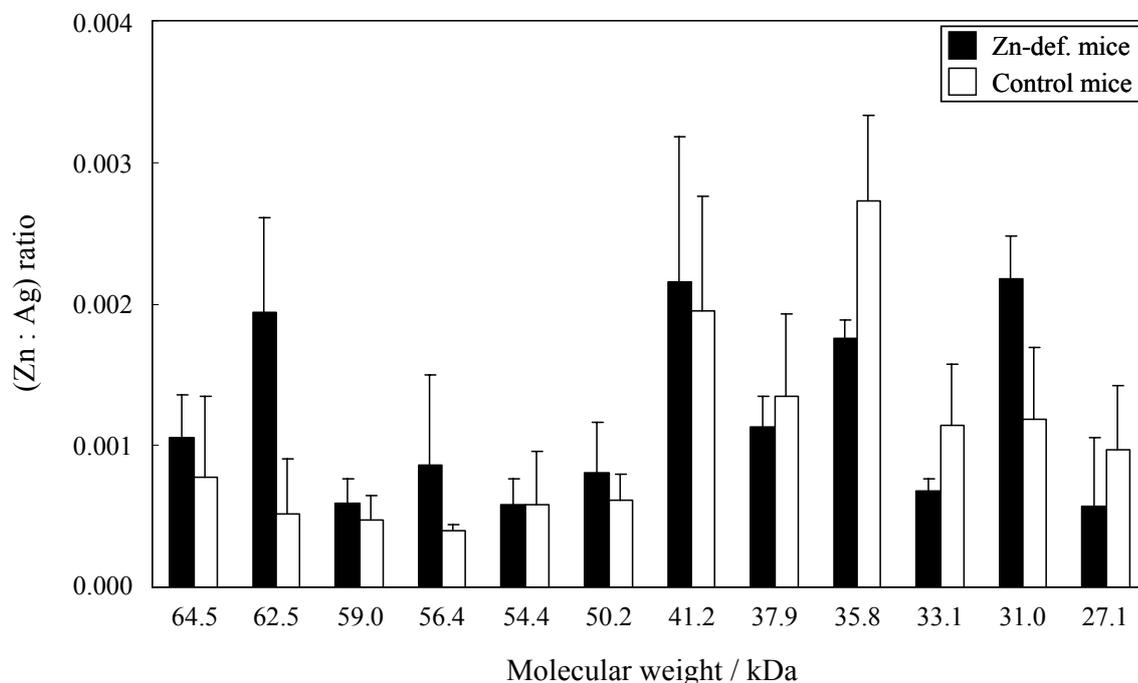


Fig. 6 (Zn:Ag) ratio in each band of zinc deficient mice and control ones.

一方、他の 9 つのバンドでは両群間に有意な濃度差は認められなかつた。これは、亜鉛欠乏によってもタンパク質の消失等の変化が起こらない場合を除いて、亜鉛タンパク質の減少や消失、もしくは

新たな亜鉛タンパク質の誘導の可能性を示している。すなわちタンパク質と亜鉛の両方が増加もしくは減少するために亜鉛と銀の比が変わらないためであると考えられる。しかし、3.3より、亜鉛欠乏によるタンパク質の消失や発現の可能性はあるが、その変化量は僅かであると考えられるため、上述のような変化というよりは単に亜鉛の欠乏による変化を受けにくいタンパク質であると考えられる。また、SDS-PAGEで分離したタンパク質の各バンドには多種類のタンパク質が混在している。このことから、もし一部の亜鉛タンパク質から亜鉛が遊離していたとしても、それを亜鉛の濃度変化として容易には捉えることができないことも考えられる。

二次元電気泳動後、PIXE分析を行った結果をFig. 7に示した。両群間の値を比較したところ、銀により規格化した亜鉛量はスポット1では亜鉛欠乏群で大きく低下すること、また、スポット2では両群間に差は認められないことが示された。また、対照群のスポット1を除く3つはほぼ等しい値となった。これらの結果より、スポット1のタンパク質は亜鉛結合タンパク質であり、スポット2は亜鉛の結合していないタンパク質であることが示唆された。そのために、スポット1では、亜鉛欠乏状態においてタンパク質が消失もしくはその一部が減少したために亜鉛の量が減少したと考えられる。また、亜鉛欠乏群において僅かに亜鉛が存在するのは、スポット2の結果から、電気泳動ゲルなどに含まれる不純物レベルでの亜鉛が定量されたためであると考えられる。

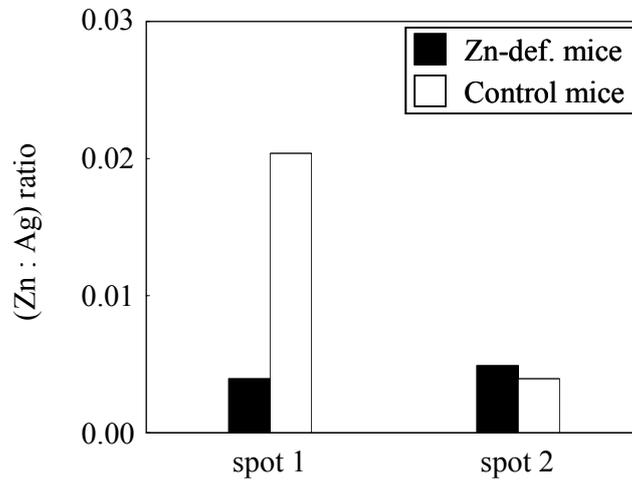


Fig.7 (Zn:Ag) ratio in each spot of zinc deficient mice and control ones.

**Determination of trace elements in organs and tissues of Zn-deficient mice
by instrumental neutron activation and PIXE analyses
~Determination of trace elements in soluble proteins separated by
two-dimensional electrophoresis~**

Junji Kamishima¹, Ryuji Minayoshi¹, Michiko Kawashima¹, Hideo Suganuma²,
Motoko Noguchi³, Syoji Futatsugawa⁴, Kouichiro Sera⁵ and Makoto Yanaga²

¹Graduate School of Science and Engineering, Shizuoka University
836 Ohya, Suruga-ku, Shizuoka 422-8529, Japan

²Radiochemistry Research Laboratory, Faculty of Science, Shizuoka University
836 Ohya, Suruga-ku, Shizuoka 422-8529, Japan

³Department of Biology and Geosciences, Faculty of Science, Shizuoka University
836 Ohya, Suruga-ku, Shizuoka 422-8529, Japan

⁴Radioisotope section, Japan Radioisotope Association
2-28-45 Komagome, Bunkyo, Tokyo 113-8941, Japan

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

Abstract

The concentrations of trace elements in hepatic subcellulars and cytosolic protein of zinc deficient mice were determined in order to investigate the behavior and role of zinc and other trace elements.

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 3 weeks of treatment periods, their livers were removed. Two types of experiments were performed. In the first experiment, the liver samples homogenized with HEPES buffer which adjusted to pH 7.4 with KHCO₃ were centrifuged under differential conditions in order to separate into cellular fragments and 5 subcellular fractions, such as nuclear, mitochondrial, lysosomal, microsomal and cytosolic fractions. Each fraction was freeze-dried for instrumental neutron activation analysis (INAA). Concentrations of 11 elements, Na, Mg, Cl, Mn, Fe, Co, Cu, Zn, Se, Br, and Rb, were determined by INAA. In the second experiment, sodium dodecyl sulphate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) and two-dimensional electrophoresis (2-DE) were performed for cytosolic fraction of other mice. After electrophoresis, the gel was cut into protein bands and subjected to PIXE analysis.

微量元素データを含めたNST臨床検査情報における データマイニングの検討

三浦吉範¹、富澤勇貴²、遠藤龍人³、池田健一郎²、世良耕一郎⁴、横山茂樹⁵、諏訪部 章¹

¹岩手医科大学医学部臨床検査医学
020-8505 盛岡市内丸 19-1

²岩手医科大学医学部外科学
020-8505 盛岡市内丸 19-1

³岩手医科大学医学部内科学
020-8505 盛岡市内丸 19-1

⁴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

⁵高電工業株式会社インフォメディカル事業部
143-0015 東京都大田区大森西 2-17-18

1 はじめに

最近医療の現場では、医療の基本として栄養管理に対する考え方や取り組みを基本的なシステムとして院内に構築していくことが重要視されるようになってきている。栄養管理をおろそかにすると、Lean Body Mass (LBM: 人体から脂質を除いた体蛋白) が減少し、筋肉量や内臓蛋白の減少、アルブミンの減少などいろいろな臨床症状が発現してくる。その結果、免疫能が障害され創傷治癒も遅れる。最終的には臓器障害に陥り死に至ることもある。このように、栄養管理はすべての患者様に最低限行わなければならない医療の基本であるといえる。

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、食物が気管に入って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。このような栄養療法時では、微量元素含量の少ない栄養食や純度の高い化学合成栄養剤などによる長期間の栄養管理が続くため、微量元素の欠乏発現などが明らかとなり¹⁻⁶⁾、その栄養学的重要性が再認識されるようになった。ビタミンや微量元素などの微量栄養素は、その必要量はわずかであるが欠乏すると正常な生命の営みができず、種々の疾病を発症する。術後の栄養状態が悪くなると、免疫能が低下し感染症が起りやすくなる。またタンパクの合成能も低下し、組織や器官の修復が困難となる。一般に普通に偏りのない食事を摂取していれば問題ないが、経口

摂取が不十分になると生体内に貯蓄されたものが欠乏し生命の危機をもたらすこともある。そこで今「NST」が注目されている。これは Nutrition Support Team のことで、日本語では「栄養サポートチーム」と訳されている。NST は、医師、看護師、栄養士、薬剤師、検査技師、医療事務などからなるチームで個々の患者について、詳細な栄養評価に基づいて適切な栄養療法を実施するものである。栄養管理の鉄則は、できる限り消化管を使い意味のない絶食期間をつくらないことである。経口摂取こそ最高の栄養法であり、経口摂取が不可能だと判断された場合に経腸栄養や経静脈栄養法が選択される。

このような栄養療法時には、栄養アセスメント蛋白や各種臨床検査値と同時に血清微量元素レベルもモニタリングする必要性が求められてきている。体内には必須微量元素が存在し、これらなくして生命を維持することは出来ない。これまで、このような栄養管理で報告されている従来の血清微量元素レベルの測定では、各元素ごとに異なる分析法が用いられて大変複雑で多大な時間と労力が費やされていた。そこで我々は、多元素を同時に短時間でしかも簡単な試料調整で測定できる PIXE 法を用いて、実際に NST 活動の中で栄養療法施行患者の血清微量元素レベルを測定している。その結果、PIXE 法は測定時間、感度、サンプル量、コスト面などで従来法より利点が大きく、このような栄養管理施行時の血清微量元素レベルのモニタリングのツールとして有用であることを示してきた⁷⁾⁸⁾⁹⁾。

今回我々は、さらに栄養療法施行患者における血清微量元素値を含めた臨床検査データに NST 栄養管理情報や診療記録データなどを加え、それらのデータを用いてデータマイニングのひとつの手法である決定木解析を実施した。そこから栄養管理における微量元素データの特徴および規則性などを探り、さらに栄養療法のアウトカム評価への指標としての可能性などについて検討した。

2 方法

[対象]

対象は平成 17 年の 1 月から平成 18 年 10 月の間に岩手医科大学附属病院に入院した患者で、NST が介入した 29 名の血清 (NST 介入時) を用いた。内容は男性 15 例、女性 14 例、年齢 15～89 歳 (平均年齢 59.0 歳)、NST 介入期間は 5～147 日 (平均 47.20 日) であった。

[PIXE・試料調製]

血清試料は、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°C で凍結して保存した。測定する前に、内部標準として銀 (AgNO_3) を試料 1ml に対し 血清試料では 100 μg 、尿試料では 50 μg の割合になるように加えよく混和し、うちそれぞれ 10 μl を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]

上記のように調製した試料をそれぞれ 10 μl 分取し、バックリングフィルム上に滴下したものを PIXE のターゲットとした。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 3-5 mm 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¹⁰⁾¹¹⁾。

[データマイニング・決定木解析]

解析には医療データマイニングシステム ICONS Miner (高電工業) を用いた¹²⁾。決定木、If-then ルールを

行なった。目的変数は栄養状態の改善の有無とし、説明変数は Table 1 に示すように NST 基本情報、NST 栄養管理情報、生化学検査データ、血清微量元素データ、血液検査データとしてその関連性を解析した。なお栄養状態の改善は、栄養アセスメントデータや臨床状態などから総合的に判断した。また説明変数に用いた臨床検査データはいずれも NST 介入時点でのものを使用した。

Table 1 決定木解析に用いた説明変数

<p>■NST基本情報</p> <p>01. TTR (mg/dl)</p> <p>02. 性別</p> <p>03. 年齢</p> <p>04. 診療科</p> <p>05. NST介入期間(日)</p> <p>06. 栄養状態回復(Y/N)</p> <p>07. 癌(Y/N)</p> <p>08. 褥瘡(Y/N)</p> <p>09. 腎不全(Y/N)</p> <p>■NST栄養管理</p> <p>10. 栄養ルート:TPN(Y/N)</p> <p>11. 栄養ルート:PPN(Y/N)</p> <p>12. 栄養ルート:EN(Y/N)</p> <p>13. 食事/常食(Y/N)</p> <p>14. 食事/高齢者全粥食(Y/N)</p> <p>15. 食事/クローン食(Y/N)</p> <p>16. 微量元素剤・ミネラルイン(Y/N)</p> <p>17. BMI</p> <p>18. AC 上腕周囲(cm)</p> <p>19. TSF 上腕三頭筋部皮下脂肪厚(%)</p> <p>20. AMC 上腕筋囲(%)</p> <p>21. 摂取栄養量(kcal)NST介入前</p>	<p>■生化学検査データ</p> <p>22. TP</p> <p>23. Alb</p> <p>24. Na</p> <p>25. K</p> <p>26. Cl</p> <p>27. Ca</p> <p>28. UN</p> <p>29. CRE</p> <p>30. AST</p> <p>31. ALT</p> <p>32. γGT</p> <p>33. CHE</p> <p>34. ALP</p> <p>35. T-Bil</p> <p>36. D-Bil</p> <p>37. I-Bil</p> <p>38. CRP</p> <p>39. GLU</p> <p>■微量元素データ</p> <p>40. Fe (μg/l)</p> <p>41. Cu (μg/l)</p> <p>42. Zn (μg/l)</p> <p>43. Se (μg/l)</p> <p>44. Mn (μg/l)</p>	<p>■血液検査データ</p> <p>45. WBC</p> <p>46. RBC</p> <p>47. Hb</p> <p>48. Ht</p> <p>49. MCV</p> <p>50. MCH</p> <p>51. MCHC</p> <p>52. PLT</p> <p>53. NEUT%</p> <p>54. LYM%</p> <p>55. MO%</p> <p>56. EO%</p> <p>57. BA%</p> <p>58. LUC%</p> <p>59. NEUT#</p> <p>60. LYM#</p> <p>61. MO#</p> <p>62. EO#</p> <p>63. BA#</p> <p>64. LUC#</p>
--	---	---

3 結果

3.1 説明変数を NST 基本情報, NST 栄養管理情報と TP にしたときの決定木解析

Fig. 1 は、説明変数を表 1 の 01-22 としたときの決定木解析の結果である。この結果より、目的変数に最も関連する説明変数は「BMI (Body Mass Index)」であることが示された。つまり「BMI \leq 16.4」の場合に「回復=Y」すなわち栄養状態が改善された件数は 11 例中で 11 例と 100%であったことを示している。さらに「BMI $>$ 16.4」の場合については、加えて「TTR(トランスサイレチン) \leq 5.19」の場合に「回復=N」すなわち栄養状態が改善されなかった件数は、2 例中で 2 例であった。以下、目的変数に関連すると認められた説明変数は、関係の深いものから順番に表示された。さらにこれらの決定木解析結果は、Fig. 2 のような 7 つの「If then ルール」として検出された。同様に、この If then ルールは、Fig. 3 のような「逆さの樹木状」にも描くことが出来るので「決定木」と呼ばれる。円形もしくは四角形で囲まれた部分を Node (節/ノード)と呼ぶ。最上部には解析の出発点として Root Node (根/ルート)があり、最下部に結果としての Leaf Node (葉/リーフ)がある。Leaf Node はそれ以上は分岐を行うことができず、それ以外の Node は、Decesion Node (決定/デシジョン) と呼ばれる。このようにして最上部の Rote Node から「逆さの樹木」が茂っていくように、分類が

上から下に向けて行われていく。図の①から⑦は Fig.2 に示した「if-then ルール」に対応するように表示してある。それぞれの確率と P 値も表示した。よって目的変数（栄養状態の改善 Y/N）に最も関連する説明変数として BMI が、決定木の Root Node（根/節）として抽出された。2 番目に特徴的な項目が TTR となった。以下、抽出された説明変数はクローン食・高齢者全粥食・TTR・TP（総蛋白）となった。また、この図の木の高さ（深さ）は 7 であった（これが高くなるほど複雑になるので低い木で分類できることが望ましいとされている）。

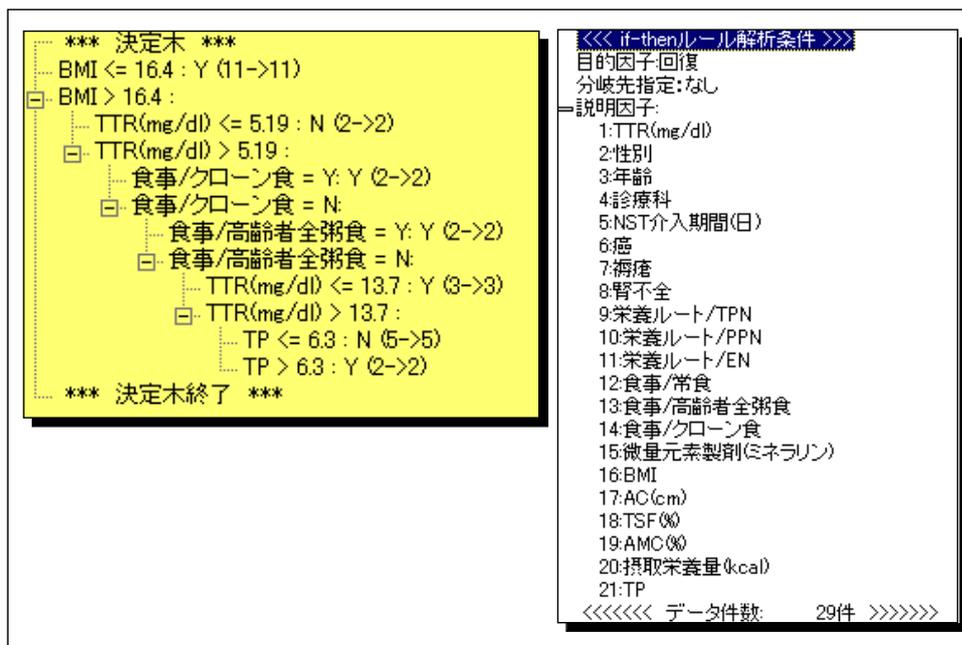


Fig.1 説明変数を NST 基本情報、NST 栄養管理情報と TP にしたときの決定木解析結果

- ① If BMI ≤ 16.4, then Y (確率 : 100.00% 意外性:91.793 P値:0.01757) [11→11]
- ② If BMI > 16.4 and TTR(mg/dl) ≤ 5.19, then N (確率 : 100.00% 意外性:0.849 P値:0.00937) [2→2]
- ③ If BMI > 16.4 and TTR(mg/dl) > 5.19 and 食事/クローン食=Y, then Y (確率 : 100.00% 意外性:3.680 P値:0.40838) [2→2]
- ④ If BMI > 16.4 and TTR(mg/dl) > 5.19 and 食事/クローン食=N and 食事/高齢者全粥食=Y, then Y (確率 : 100.00% 意外性:1.827 P値:0.40838) [2→2]
- ⑤ If BMI > 16.4 and 5.19 < TTR(mg/dl) ≤ 13.7 and 食事/クローン食=N and 食事/高齢者全粥食=N, then 回復=Y (確率 : 100.00% 意外性:10.650 P値:0.30215) [3→3]
- ⑥ If BMI > 16.4 and TTR(mg/dl) > 13.7 and 食事/クローン食=N and 食事/高齢者全粥食=N and TP ≤ 6.3, then 回復=N (確率 : 100.00% 意外性:6.335 P値:0.000001) [5→5]
- ⑦ If BMI > 16.4 and TTR(mg/dl) > 13.7 and 食事/クローン食=N and 食事/高齢者全粥食=N and TP > 6.3, then 回復=Y (確率 : 100.00% 意外性:0.956 P値:0.40838) [2→2]

Fig.2 決定木から抽出された If-Then ルール

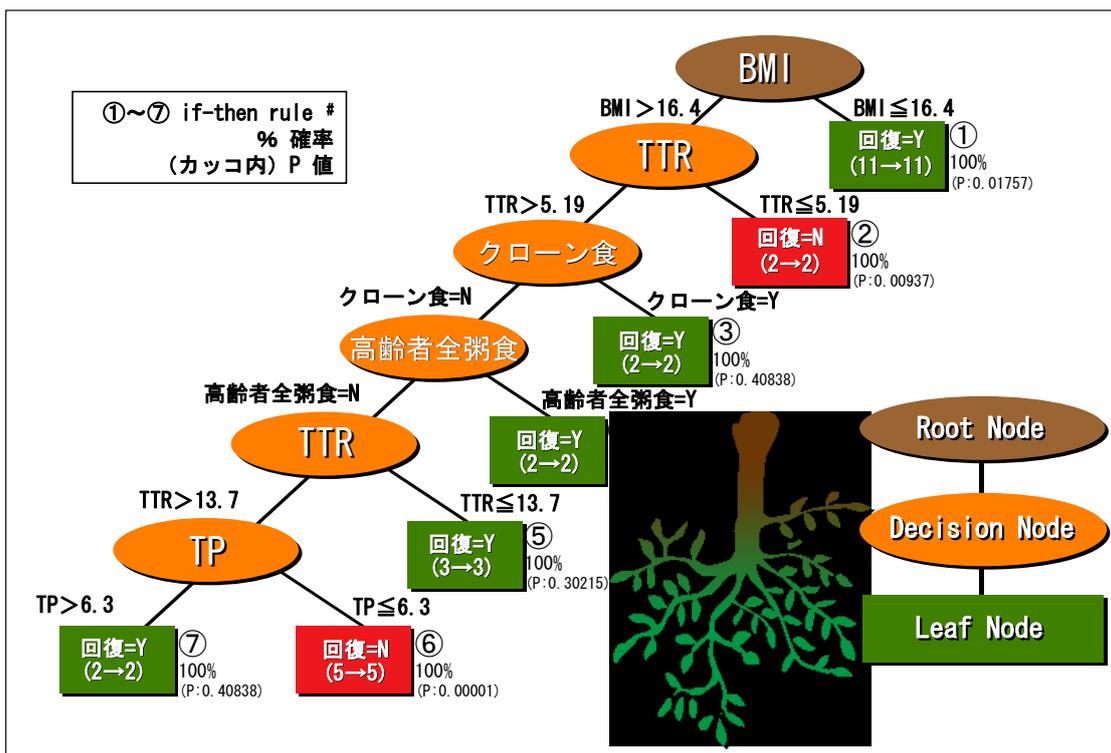


Fig. 3 Fig. 1 を基に樹木状に描いた決定木

3.2 説明変数を NST 基本情報、NST 栄養管理情報と TP、Alb(アルブミン)にしたときの決定木解析

Fig. 4は、説明変数を表1の01~23としたときの決定木解析の結果である。Albが栄養状態の回復に最も関係があり、次にAMC% (上腕筋囲)、摂取栄養量と関係があると解析された。3.1で抽出されたBMIやTTRなどは決定木には表示されなかった。よってif-thenルールでは、以下のようなになる。

もしAlb > 3.4であれば、栄養状態の回復がみられない (2例中2例)。

もしAlb ≤ 3.4でかつAMC > 99あれば、栄養状態の回復がみられない (2例中2例)。

もしAlb ≤ 3.4でかつAMC ≤ 99, 摂取栄養量 ≤ 552kcalであれば、栄養状態の回復がみられない (2例中2例)。

もしAlb ≤ 3.4でかつAMC ≤ 99でも、摂取栄養量 > 552kcalであれば栄養状態の回復がみられた (19例中18例)。

3.3 説明変数を NST 基本情報、NST 栄養管理情報、生化学検査データ、微量元素データと WBC(白血球数)にしたときの決定木解析

Fig. 5は、説明変数を表1の01~45としたときの決定木解析の結果である。3.2の結果と同じようにAlbが栄養状態の回復に最も関係があり、次に関係のある項目としてWBCが検出された。以下3.2と同じくAMC% (上腕筋囲)、摂取栄養量が関係ありという解析結果だった。

もしAlb ≤ 3.4でもWBC ≤ 6.29の場合は、13例中13例で栄養状態の回復がみられた。

3.4 説明変数を NST 基本情報、NST 栄養管理情報、生化学検査データ、微量元素データと WBC、RBC(赤血球数)、Hb(ヘモグロビン)にしたときの決定木解析

Fig. 6は、説明変数を表1の01~47としたときの決定木解析の結果である。3.3の結果でルートノードだったAlbが消えてHbが栄養状態の回復に最も関係があり、次にWBCが検出された。Hbが > 12と正常値でも栄養状態の回復しなかったのが2例あったが、Hbが ≤ 12と正常以下でもWBCが ≤ 6.29 (正常範囲内)であれば14例中14例で回復がみられた。またHbが ≤ 12と正常以下でWBCも > 6.29と高くてもAMC%が標準以下であ

っても TTR 値が >5.19 より高い症例が 7 例あったが、そのうち 6 例では回復がみられた。

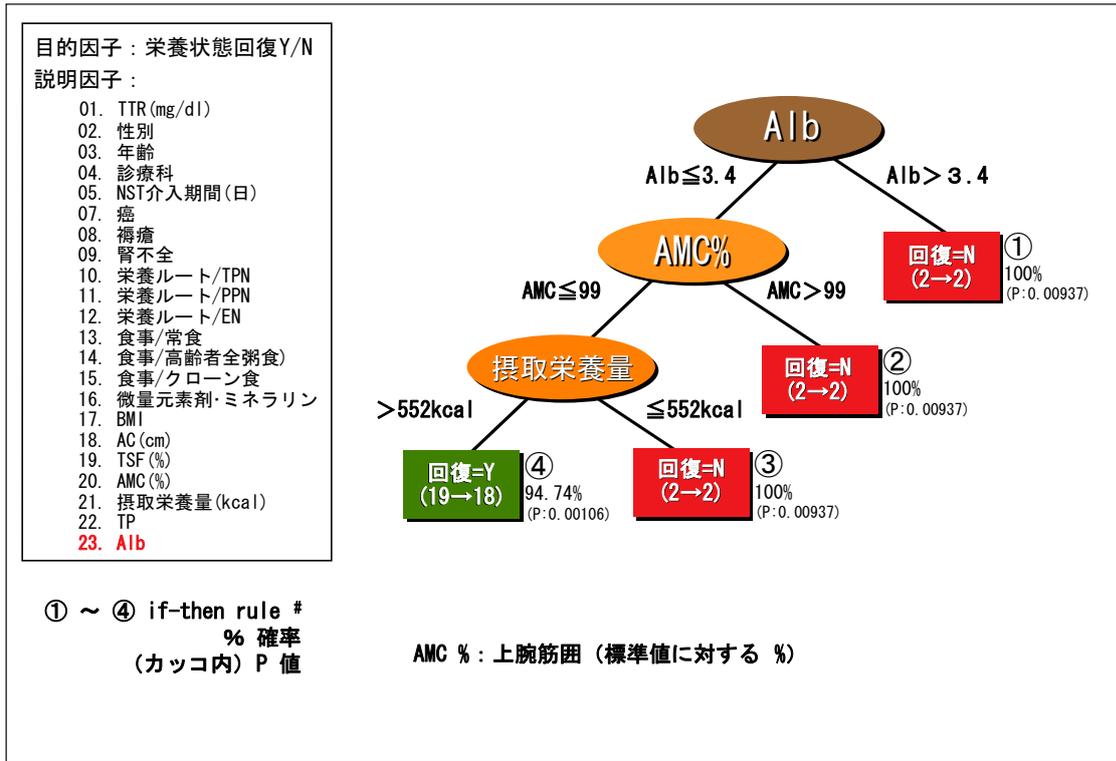


Fig. 4 説明変数を TTR~Alb にしたときの決定木解析

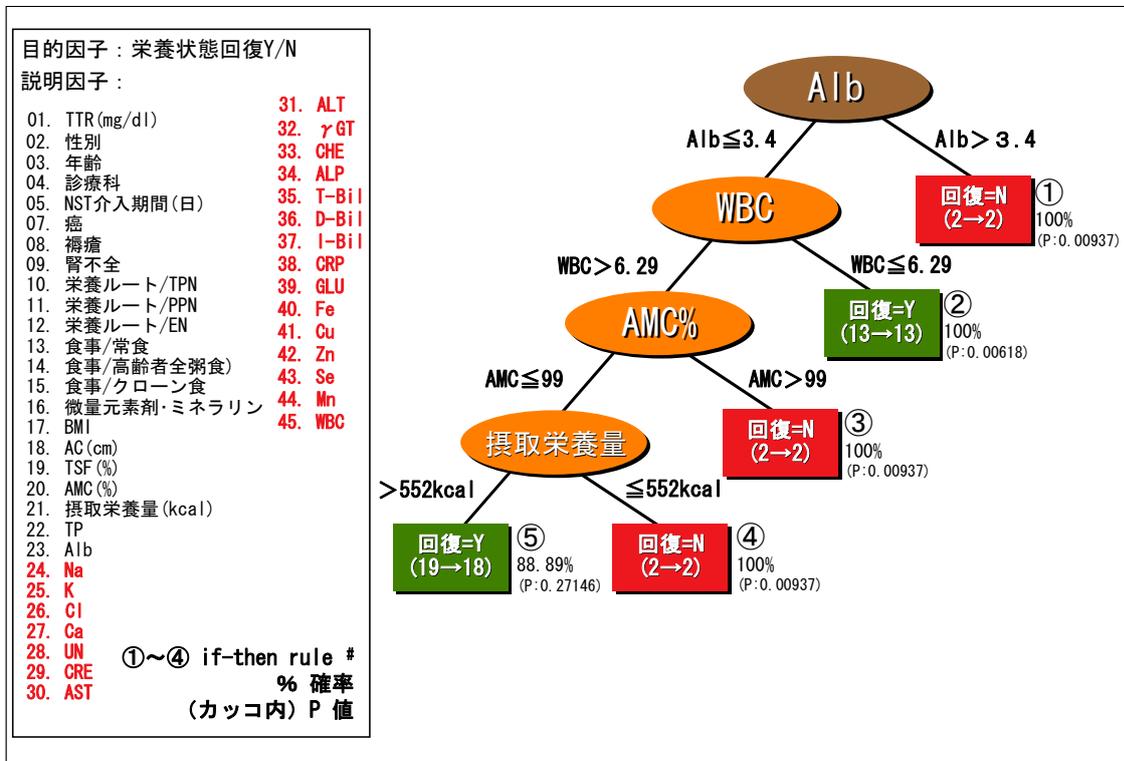
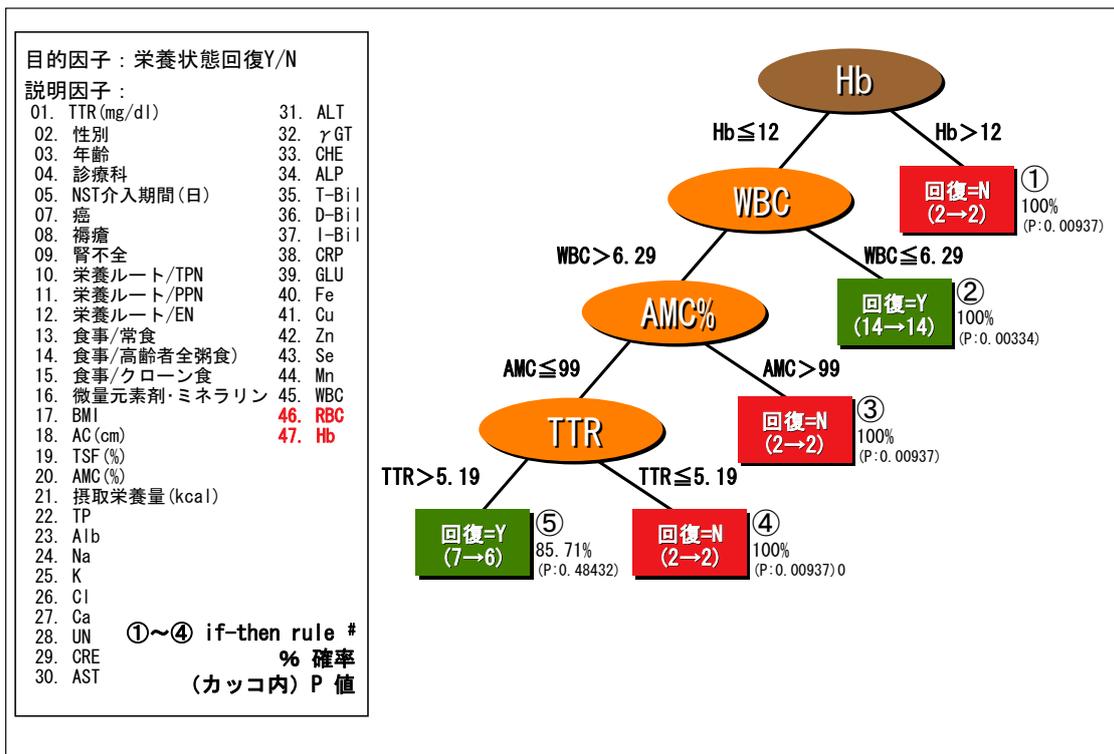


Fig. 5 説明変数を TTR~WBC にしたときの決定木解析



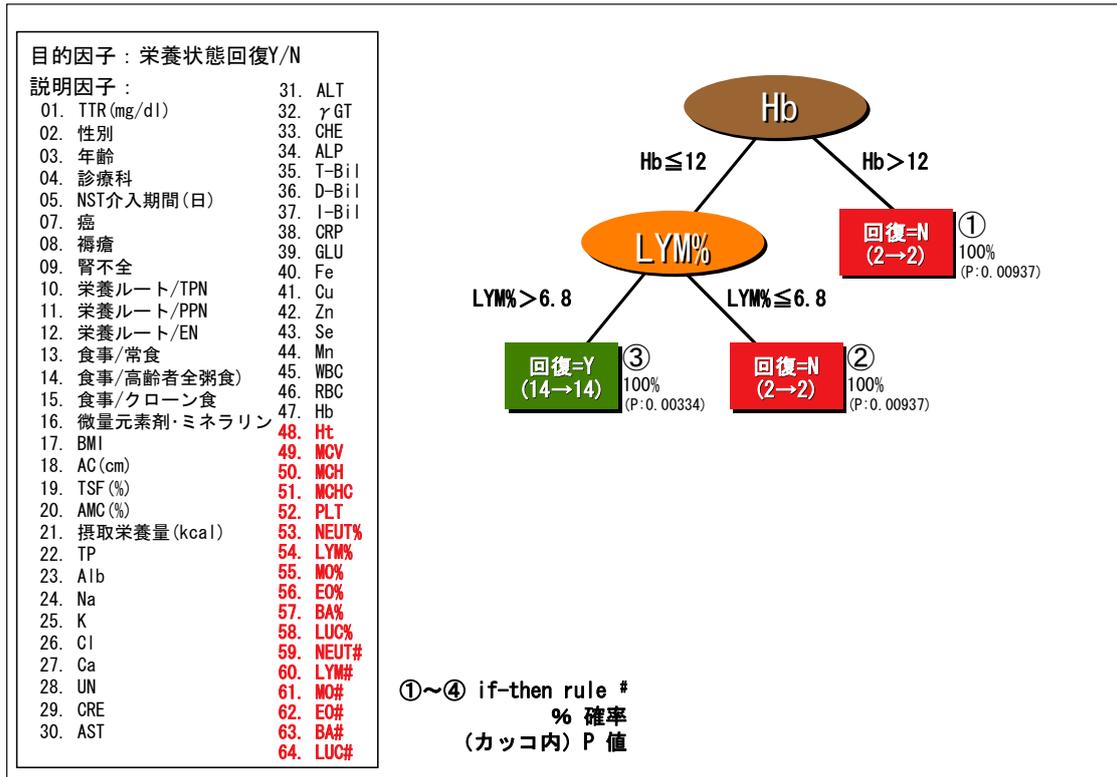


Fig. 7 説明変数を TTR~LUC#にしたときの決定木解析

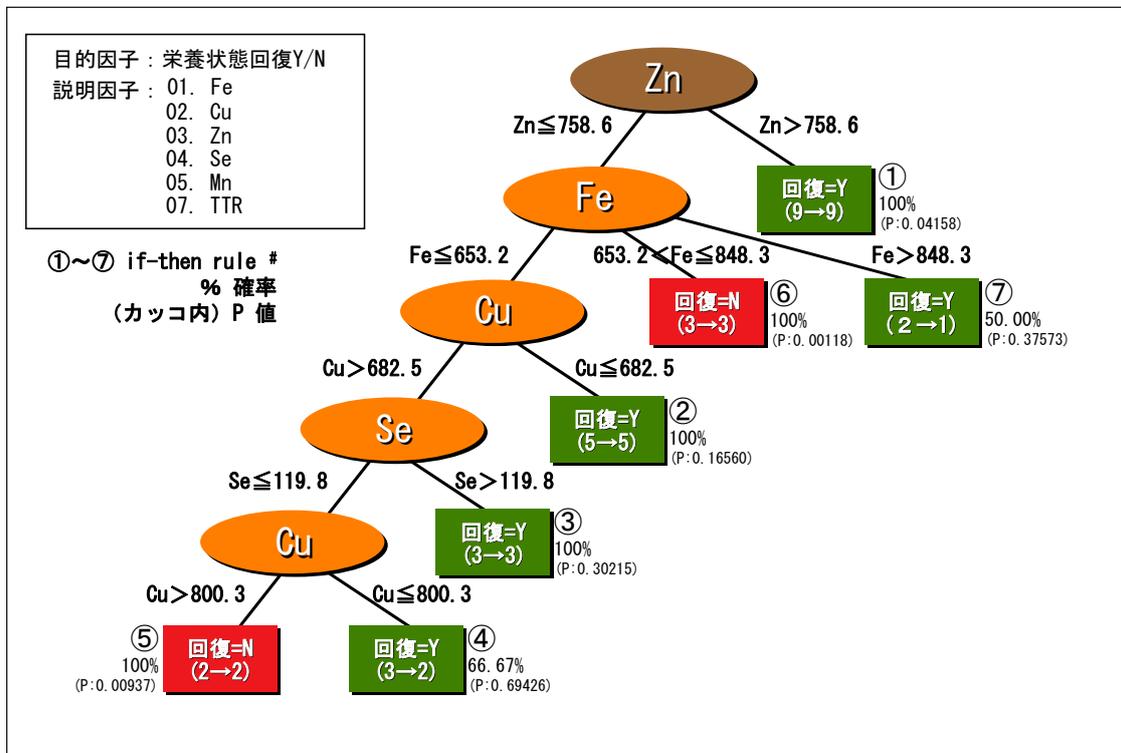


Fig. 8 説明変数を微量元素と TTR にしたときの決定木解析

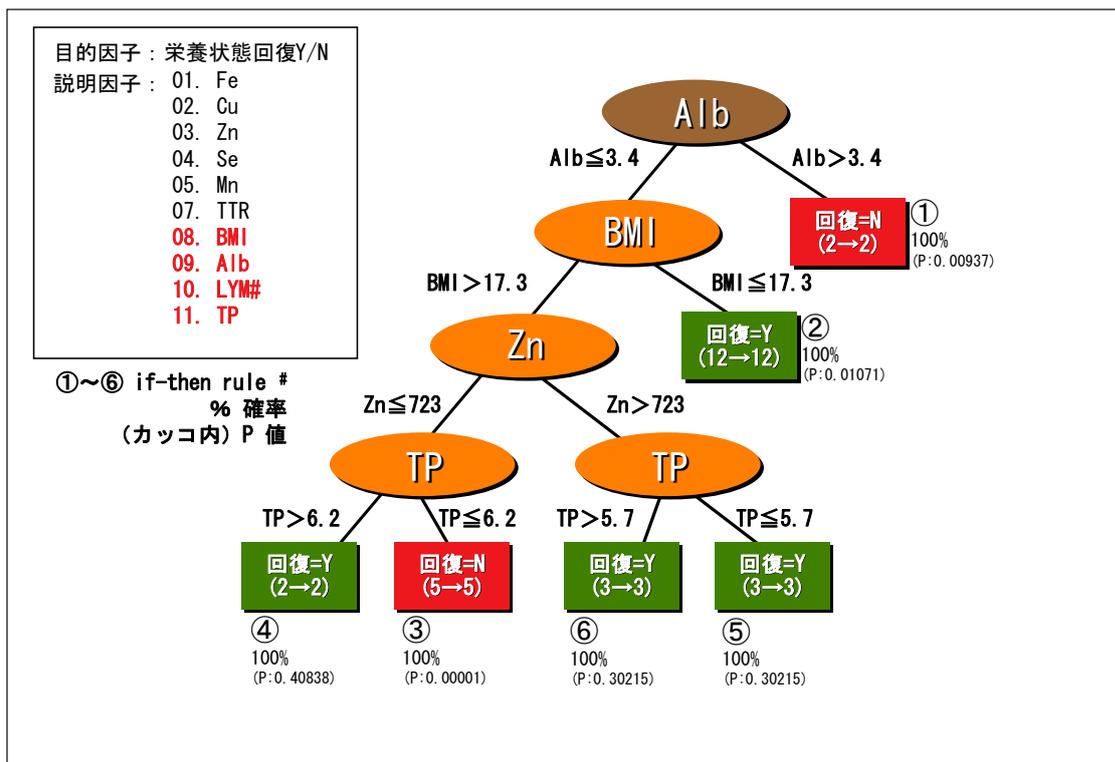


Fig. 9 説明変数を微量元素と TTR、BMI、Alb、LYM#、TP にしたときの決定木解析

4 考察

今回はスクリーニングとして微量元素データを含めた NST 臨床検査情報について決定木解析でのデータマイニングを実施した。目的変数を栄養状態の改善の有無とし、説明変数をいろいろな項目の組合せで検討した。その結果、すべての項目による説明変数での決定木解析では Hb、LYM% といった現在栄養アセスメントの指標として用いられている検査項目が栄養状態に最も関係のある因子として検出された。

また、微量元素主体の説明変数による決定木解析からは、Zn が栄養状態の回復に最も関係のあることが示唆された。Zn は 200 種以上もの金属酵素の活性中心として栄養管理上重要な元素とされている。機能的には、核酸の合成に関与していて蛋白合成速度に影響を与え成長や創傷治癒と密接な関係がある。Zn が欠乏すると、湿性の皮膚炎が発症し口内炎や脱毛、爪の変形、味覚障害や腹痛や発熱などの随伴症状が見られる。よって今回の解析結果も Zn におけるこれら栄養学的なはたらきを反映したものと考えられるが、TP が正常値以下でも Zn が一定の値以上 (>723mg/dl) あれば栄養状態が改善される症例が多いことが興味深かった。

決定木解析法については、以下のような感想を得た。①目的変数に最も関連のある説明変数を選択し if-then ルールでデータ全体の傾向が理解しやすく表現される。②連続変数(数値データ)とカテゴリカル変数(文字列データ)を扱えるので、臨床検査値を含む医療データの解析に適している。③解析対象となるデータは、前もって数値化や正規化などを行う必要がなく、欠損値があっても決定木が作成できる。④解析処理時間も他のデータマイニングの手法と比べて早いので、こういったような特性から説明変数の多いデータで短時間にある程度の傾向を把握するというような解析に適しているように思える。従来はヒトが試行錯誤でカイ 2 乗検定を繰り返し、意味のあるデータをとらえようとしていたわけであるがそれは大変な作業だった。それに対して決定木解析によるデータマイニングでは、データから思い込みを外して客観的に「仮説」として特徴的なデータの箇所を示してくれる。そしてその仮説のルールが重要なものと思える場合は、さら

に「カイ 2 乗検定」を行なうことでその統計的優位性があるかを証明することができる。よって決定木などのデータマイニング解析は、あくまで従来人間の直感が行なっていた「仮説」の抽出を人工知能的な手法で行なってくれるものと考えられる。

今回は症例数の関係で栄養療法のアウトカム評価への指標の検討までは実施できなかったのも、さらに症例数を増やした上で再度決定木解析法を行いたいと考えている。

謝 辞

本研究を進めるにあたり、御協力をいただきました岩手医科大学 NST の古屋純一氏、鈴木淳氏、竹島沙史理氏、栗谷川洋子氏、鎌田幸恵氏、菅原敦子氏、小野圭子氏、山内敏司氏、加藤理恵子氏、小原美由紀氏、佐藤祐子氏、阿部理紗子氏、俵万里子氏、豊巻和司氏、杉下佳子氏、岩動美奈子氏、高橋麻衣子氏、熊谷直記氏、工藤正樹氏および盛岡市立病院の加藤章信氏に深謝いたします。また実験遂行にあたり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) 中川三郎、他：経腸栄養中の重症心身障害児における亜鉛欠乏性貧血、好中球減少についての検討、
脳と発達、25:571、1993
- 2) 坂野章吾、他：高齢者長期経管栄養にともなう銅欠乏性貧血、好中球減少についての検討、臨床血液、35:
1276-1281、1994
- 3) 水谷智彦、長谷川律子、他：長期経管栄養を要する神経疾患患者にみられたセレン欠乏についての研究、
Biomed Res Trace Elements、5: 35-40、1994
- 4) 小洪陽一、土田弘基、他：長期経腸栄養高齢患者における血清微量元素レベルの検討と関連する症状お
よび臨床検査値の解析、Biomed Res Trace Elements、11(2)、190-203、2000
- 5) 湧上聖：長期経腸栄養施行患者における低 Se 血症の実態と富微量元素流動食 F2 α の検討、Biomed Res
Trace Elements、12(4)、299-300、2001
- 6) 斎藤昇：経腸栄養患者における血清 Se の変動、Biomed Res Trace Elements、15(4)、361-363、2004
Transpl Forum、43、194-196、1979
- 7) 三浦吉範、加藤章信、池田健一郎、世良耕一郎、諏訪部章：PIXE による必須微量元素の測定ー栄養
療法時における微量元素動態についてー、NMCC 共同利用研究成果報文集 第 12 巻、198-203、2004
- 8) 三浦吉範、加藤章信、池田健一郎、世良耕一郎、諏訪部章：栄養療法時における血清微量元素の検討、
NMCC 共同利用研究成果報文集 第 13 巻、62-70、2005
- 9) 三浦吉範、小田代律子、佐藤祐子、加藤章信、池田健一郎、世良耕一郎、諏訪部章：NST 介入患者に
おける血清微量元素の動態、Tohoku Journal of Clinical Chemistry、Vol.16 No.1、18-27、2007
- 10) 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

- 11) K.Sera and T.Yanagisawa, et al. : Bio-PIXE at the Takizawa facility. Int. J. PIXE Vol.2, No.3, 325-330, 1992
- 12) S.Yokoyama : Data Mining Software "ICONS Miner" for Medical Data analysis. Pro CME2005, 335-340, 2005

Data mining analysis of serum trace elements in hospitalized patients supported by nutrition support team

Yoshinori Miura¹, Yuki Tomisawa², Ryujin Endo³, Kenichiro Ikeda², Koichiro Sera⁴
Shigeki Yokoyama⁵ and Akira Suwabe¹

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

²Department of Surgery, School of Medicine, Iwate Medical University
19-1 Uchimaru, Morioka 020-8505, Japan

³Department of Internal Medicine, School of Medicine, Iwate Medical University
19-1 Uchimaru, Morioka 020-8505, Japan

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

Abstract

Recently, Nutrition Support Teams (NSTs) have been spreading throughout Japan. Nutritional assessment is important as an initial step among NST activities, since the patients can be identified based on this assessment whether they need supports by NST or not. Serum trace element is one of the most useful and convenient nutritional indices. The aim of this study is to analyze the relationships between serum trace element values and clinical backgrounds in NST patients by data mining.

The subjects of this study consisted of 29 NST patients who were admitted to our hospital between January 2005 and October 2006. Serum trace elements were analyzed by PIXE method in patients. The data were analyzed by a data mining software, i.e. "ICONS Miner" (Koden Industry Co., Ltd.). The significant "if-then rules" were extracted from the decision trees. The target variable of the decision trees is whether nutritional conditions of the patients are improved or not (Yes/No). The explanatory variables of the decision trees are the values in serum trace elements (Fe, Cu, Zn, Se, Mn) and TTR (transferrin). The analyses demonstrated that the first node of the decision tree was Zn. Therefore, serum Zn value might be the most significant factor among these trace elements in estimating the improvement of nutritional conditions of the patients. In the decision, the second branch was the Fe value, and the Cu the third. The following significant "If-then rules" were extracted from the decision trees.

If-then rule 1:

If serum Zn value $>758.6 \mu\text{g/l}$, then improvement of nutritional condition = Y. (1.00 = 9/9)

If-then rule 2:

If serum Zn value $\leq 758.6 \mu\text{g/l}$ and Fe $\leq 653.2 \mu\text{g/l}$ and Cu $\leq 682.5 \mu\text{g/l}$, then improvement of nutritional condition =

Y. (1.00 = 5/5)

If-then rule 3:

If serum Zn value ≤ 758.6 $\mu\text{g/l}$ and Fe ≤ 653.2 $\mu\text{g/l}$ and Cu > 682.5 $\mu\text{g/l}$ and Se > 119.8 $\mu\text{g/l}$, then improvement of nutritional condition = Y. (1.00 = 3/3)

In conclusion, data mining analysis of serum trace elements was found to be an effective method in assessing the nutritional conditions in NST patients.

大気 PIXE における物理的定量法の開発

世良耕一郎、寺崎一典、佐々木敏秋

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留が森 348-58

後藤祥子、齋藤義弘

日本アイソトープ協会仁科記念サイクロترونセンター
〒020-0173 岩手県岩手郡滝沢村滝沢留が森 348-58

伊藤じゅん、二ツ川章二

*日本アイソトープ協会アイソトープ部
〒113-8941 東京都文京区本駒込 2-28-45

1. 研究の背景

NMCC においては、真空 PIXE に加え大気 PIXE も共同利用に供されている。NMCC の大気 PIXE システムは 1997 年に設置され¹⁾、真空中での測定が不可能な試料；液体、生きたままの動植物、オイル試料等の分析に使用されてきた。しかし、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の定量以外には、実際の定量分析には応用されていない。そのエアロゾル試料に関しては、標準試料との比較で定量分析が行われ、真空中で行われている内部・外部標準法、無標準法などは大気 PIXE には適用されていない。その理由は、定量分析に必要な物理量；ビームのエネルギーロスを考慮した X 線発生断面積の計算値、大気 PIXE 用 Si(Li) 検出器の検出効率、用いる X 線吸収体中の X 線透過率、が全て得られていなかったためである。この中で吸収体中の透過率は、真空中でそれを実測する我々の方法²⁾により、どのような複雑な形状の吸収体に対しても正確に求めることができる。しかし他の 2 つの物理量、特に検出効率曲線の測定に関しては困難が予想される。だがこれに関しても、化合物の結晶などを実測することにより正確かつ簡便に求める方法が我々により開発されている³⁾。しかし大気 PIXE においては空気による X 線の吸収などの要因が加わるため実測が困難である。一方、大気 PIXE 用の Si(Li) は、液体試料の分析を可能とするためにヘッドが下方 45 度に傾斜しており、その特殊な形状のため真空中における検出効率の計測が不可能だった。

大気 PIXE における定量分析法の確立が遅れていたもう一つの理由として、今まで NMCC のユーザーによる大気 PIXE の需要が極めて少なかったことが挙げられる。しかし近年、その需要は確実に高まりつつある。特に、現在大気環境学においてナノ粒子が注目を集めているが、その発生源と

してのディーゼルエンジンオイルの定量分析は重要な意味を持ち、今後需要が急増する可能性が非常に高い。大気 PIXE は厚い絶縁物試料の分析時などには、通常真空 PIXE よりもさらに有効であることが示されており⁴⁾、大気 PIXE における定量分析法の確立は全ての分野における全国共同利用を提供する NMCC の急務であると考えられる。

多くの PIXE 施設において用いられている大気 PIXE における定量法は、標準試料との比較による方法であり、この場合上記物理量の知識は必ずしも要求されない。しかしこの方法は、NMCC における変化に富んだ共同利用に適用することが難しい。標準試料との比較においては、測定対象試料とほぼ同じ主構成元素を持つ同一形状の **standard targets** を用意しなければならないが、限定された種類の試料の分析のみを行う他施設とは異なり、NMCC においては多種多様な試料の分析が要求され、それら全てに標準ターゲットを作製することは事実上不可能である。そのため真空 PIXE と同様な「物理的定量法」の確立が必須となる。

本研究においてはまず、2.9 MeV 陽子ビームの大気導出部の Kapton 膜、air path における energy loss を計算し、そのエネルギーに対する X 線発生断面積を理論計算により求める。一方問題の検出効率に関しては、上述の理由（検出器 head 部の特殊な形状）から大気中の測定を余儀なくされるため、air path による X 線の吸収を検出効率を決定するパラメータの中に組み込み、それを含めた形で検出効率曲線の取得を行うこととする。最後に、決定された物理量を用い標準試料の定量分析を行いその保証値と比較し、さらに実試料の定量分析を真空・大気両者で行い結果を比較することにより、本法の精度・有効性を確認する。以下に詳細が報告される。

2. 理論

2-1. X 線発生断面積の再計算

大気導出部には、7.5 μm の Kapton (Polyimide) フォイルが張られている。さらに 2.9 MeV 陽子ビームのエネルギーロスを最小限に抑えるために、可能な限り air path を小さくする必要がある。導出部とターゲット支持台の配置から、その path を最小限に近い 1.0 cm に固定してエネルギーロスを見積もることとした。Bethe の式により 2.9 MeV 陽子ビームはターゲットの位置において 2.545 MeV にそのエネルギーを減衰させることが分かる。

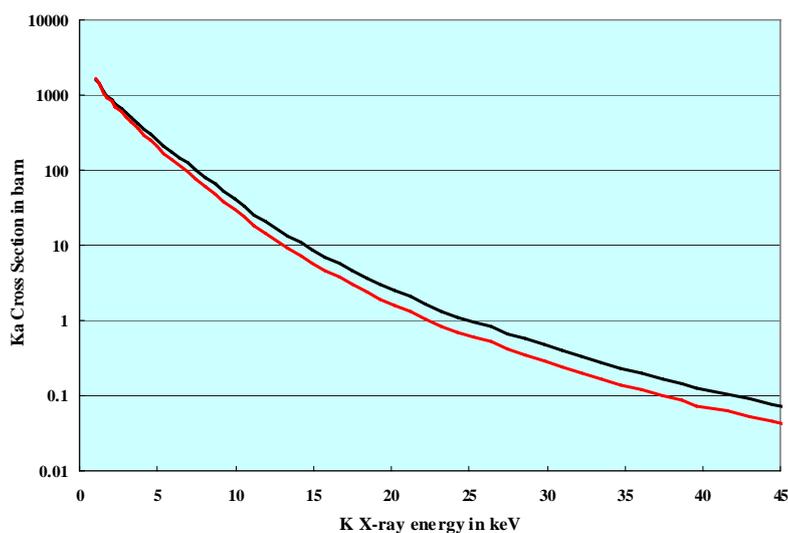


Fig. 1 K X-ray production cross sections (in barn) for 2.55 MeV and 2.9 MeV proton bombardment.

次に、ECPSSR⁵⁾理論に基づき、世良が開発したコードICPER⁶⁾を用い、2.45 MeV陽子ビームに対する電離断面積をK殻、L₁、L₂、L₃殻軌道電子に対し算出する。この理論においては、入射粒子を平面波として扱い原子軌道状態の入射粒子による影響を考慮せず軌道電子波動関数を非相対論的に扱うPWBA⁷⁾理論に対し、重荷電粒子衝撃による内殻電離における種々の二次的効果；標的核のクーロン場による入射粒子のエネルギーロス (E) 及び軌道の偏向 (C)、入射粒子のクーロン場による軌道電子軌道の偏向及び束縛エネルギー増大効果 (PSS: Perturbed Stationary State)、軌道電子波動関数の相対論効果 (R) が考慮されており、陽子衝撃においては全元素及び広い入射エネルギーに対し実験値を正しく再現することが確認されている^{8, 9)}。また、電離断面積からX線発生断面積を導出するための種々の物理量；蛍光収率、Coster-Kronig係数、Radiative width等は、W. Bambynek等¹⁰⁾、J. H. Scofield¹¹⁾により与えられる値を使用した。

図1に2.55 MeV陽子ビームに対するX線発生断面積の計算結果を示す。エネルギーロスに伴うX線発生断面積の減少は、K-K α (3.313 keV) において13%、Ge-K α (9.885 keV) において28%、内部標準として多用されるIn-K α (24.21 keV) において38%と、高Zほど大きいことが分かる。

2-2. 検出効率

理論的に予想される検出効率曲線は、C. A. Baker等¹²⁾の理論に基づき世良により開発されたコード”Eff.exe”^{3, 6)}により、実測値に対するパラメータフィッティングにより求めることができる。この理論は、検出効率を決定する5つのパラメータ (Be window・dead layer・Au電極・表面の氷皮膜・depression layerの厚さ) をフィッティングにより決定し、全エネルギー領域における検出効率を計算で求めるものである。大気PIXE装置に設置したSi(Li)検出器 (PGT LS10131HT) のspecificationによれば、Be windowの厚さは7.5 μm 、depression layerの厚さは3.5 mmである。氷の皮膜を0とし、Au電極やdead layerの厚さ (近年の検出器においてはほぼ0) を標準的なものと仮定すると、スペック上の検出効率曲線が予測できる。計算式に必要な光子吸収断面積の値は、E. Storm and H. I. Israel¹³⁾により与えられるものを使用した。

3. 実験

3-1. ビーム条件

医療用小型サイクロトロン (島津製作所 MCY1750) により加速された2.9 MeVの陽子ビームは通常の真空散乱槽を通過した後、偏向マグネットにより45度下方に曲げられ、7.5 μm のKapton (Polyimide) foil、1 cmのair pathを通過した後、試料を照射する。上流の真空散乱槽内のビームコリメータは10 mm ϕ 、大気導出部のグラフィイトコリメータは6 mm ϕ である。上流の真空PIXE通過時のビーム電流は推定250 nA、大気PIXEにおけるビーム電流の最大値は3.5 nA程度である。

3-2. 相対的検出効率実験値の取得

我々の方法は、PIXE分析に必要な検出効率曲線をPIXEそのものにより測定する方法であり、PIXE分析に応用する場合多くの誤差要因が相殺され正確な定量分析を可能とするものである³⁾。表1に、相対的検出効率の実験値を得るために使用されたターゲットを示す。化合物の結晶を細かく砕き粉末状にし、バッキング膜 (4 μm プローレンフィルム) 上に極めて薄く直接塗布したターゲットが7種、さらに原子吸光分析校正用の標準液とそれを組み合わせたターゲットが10種、計17のターゲットが測定された。組み合わせ試料は、いずれも同一規定の硝酸あるいは塩酸溶液中の同一濃度のものを、同一量加え合わせVortexミキサーで均一化したものである。XSTC-8及び-13に関しては、保証値の信頼性及び均一性が、真空PIXEにおいて確認された。

Table 1. Measured targets for determining detection efficiencies.

Chemical compounds	KMn, NiSO ₄ , AgCl, CdCl ₂ , KI, BaS, BaCl ₂
Standard solutions	XSTC-8, XSTC-13 Al+Cu, Mg+Sr, Na+As, Na+Fe, Mg+Fe, Si+Cu, Fe+In, Cu+Zr

本法においては、固定された照射・測定条件においてこれらのターゲットを測定し、2種の元素のK-X線ピークの収量の比を測定する。特性X線エネルギーの高いものに関しては、測定の効率・精度を高めるためにX線吸収体がいられる。得られたピーク収量の比は、X線発生断面積・吸収体の透過率・検出効率により補正されるが、これらの物理量が既知であるため各エネルギー点に対する相対的検出効率を1点1点求めて行くことができる。特に低エネルギー領域においては4つのパラメータがからみあうため、測定点を細かく取る必要があるが、高エネルギー領域における決定パラメータはdepression layer (有感層)の厚さのみとなるため、多くの測定点は要しない。

測定条件は次の通りである；ビーム電流：2.5～3 nA、spot size：6 mmφ、測定時間 10-15 分、air path：1.0 cm、ターゲット-検出器 window 間：1.2 cm。中～高エネルギー領域 X 線測定時には 100 μm Mylar 吸収体を使用し、低エネルギー X 線測定時には吸収体を用いずに測定を行った。

図2に、標準液 Si+Cu 測定時の典型的スペクトルを示す。100 μm Mylar を用いた測定と、吸収体を用いない測定が比較されている。ピーク収量は SAPIX コードにより求められる^{6, 14)}。これらの実測値に対し、上記5つのパラメータによる関数でフィッティングを行い、実験的検出効率曲線を求めることができる。通常の使用状態では表面の氷皮膜は0と考えてよいので、H₂Oによる吸収に代えて空気的光子吸収断面積を求め、初期値1.2 cmとしてair pathをfree parameterとしてフィッティングを行った。

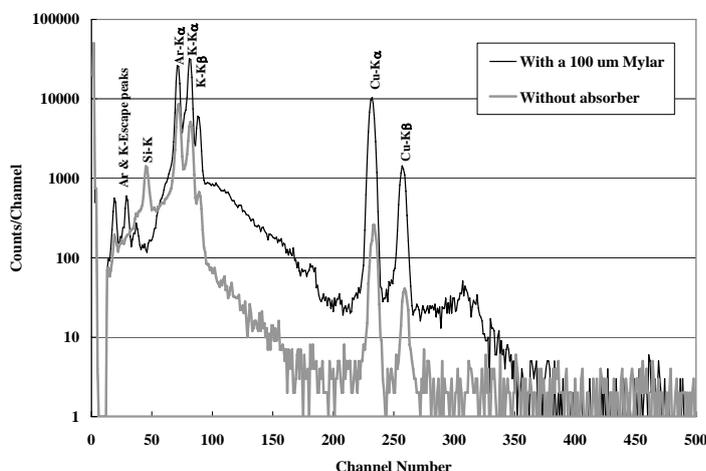


Fig. 2 X-ray spectra of a standard solution (Si + Cu) measured for determining detection efficiencies, where the two spectra were obtained with and without X-ray absorber.

図3に、その結果を示す。図中には各エネルギー点に対する実測値と誤差が示され、仕様から予測される曲線も点線で示されている。実測値に基づいて得られた曲線は、空気による吸収が組み込まれている分低エネルギー領域で小さな値を示しているが、フィッティングの結果、air pathの最終収束値は1.14 cmとなり、およそその実測値1.2 cmと極めて近い値となった。一方、Si dead layerのフィッティング値は0.1 μmとなり、「近年のSi(Li)のdead layerは無視できるほど薄い」という予測を裏付ける形となった。またdepression layerの深さは3.70 mmとなり、仕様の値3.5 mmとほぼ同じ結果となった。

K-及びL-特性 X 線に対応するエネルギーに対する検出効率の値は、我々のコード”eff.exe”³⁾の中で自動的に計算され定量計算に用いられる物理定数表”kei.dat”⁶⁾の中に自動的に書き込まれる。これにより、検出器番号を指定するのみで真空 PIXE と全く同様な定量計算が可能となった。

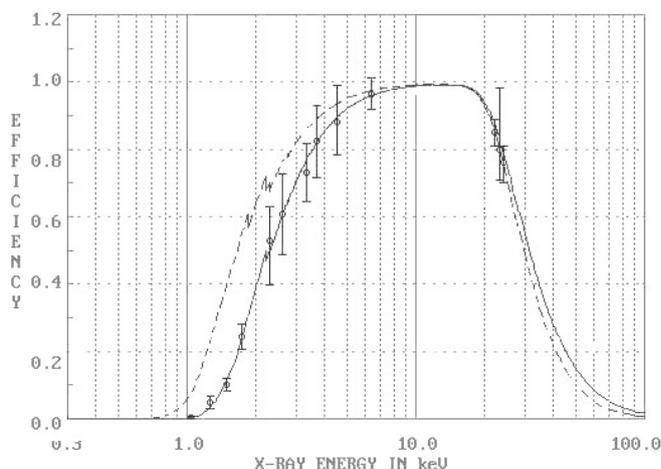


Fig.3 Detection efficiency of the Si(Li) detector which has been used for in-air PIXE. Dotted line shows the efficiency curve calculated from the values in the specifications. Solid line indicates the newly determined efficiency curve as a result of least squares fitting to the experimental values shown in the figure with their errors.

3-3. 標準試料・実試料の分析

得られた物理量による定量分析精度を確認するために、先ず標準試料の測定を行い、その結果を保証値と比較した。使用した標準試料は原子吸光用標準液 SPEX-CALMIX 10 と同 INT-B1 である。これらの標準液は、真空 PIXE の定量精度を確認するために常に測定を行っている。Bovine Liver などの通常の標準試料は、その分析結果が試料調製に大きく依存するため純粋に測定系をチェックするためには適さず、これらの標準液が用いられることが多い。

しかしながら、これら標準液の中には低 Z 元素測定に適したものが少ない。高 Z 元素の L-X 線が低 Z 元素の K-X 線に重なり解析が困難になる場合が多いためである。そのため、低エネルギー領域における分析精度の確認のために実試料の測定を行い、得られた結果を真空 PIXE による結果と比較した。それらは土と焼却灰であり、この 2 試料は低 Z から高 Z まで多くの元素を含み、全エネルギー領域に渡る分析精度の確認を行うことができる。これらの粉末試料を粉末内部標準法で分析する場合の精度・再現性は確認済みである¹⁵⁾。

4. 結果と議論

図 4 に、標準液 CALMIX 10 の大気 PIXE による分析の結果を示す。図においては、各元素の濃度が保証値に対する比で表されており、Mn に対する分析値がその保証値に規格化されている。この中で Ba に対する結果は、 α -X 線を用いて導出されたものである。各結果とも $\pm 6\%$ の範囲で保証値と一致しており、中-高エネルギー領域にかけては X 線発生断面積及び検出効率の値がほぼ正確で、精度の良い定量分析が可能となったことを示している。

図 5 には INT-B1 に対し、100 μm Mylar 吸収体、吸収体無しで測定した Spectra を比較して示す。それらの分析結果は図 6 に示される。図 6 において Pb に対する分析値は図 4 の Ba 同様 α -X 線を解析して得られたものであり、Ni の保証値と実験値とが規格化されている。十分なビーム電流がとれず、特に Ag と Cd に対する統計精度が悪いため実験誤差が大きいが、ほぼ中-高エネルギー領域に渡り保証値との一致は満足すべきものであり、本法の精度が確認されたと言える。

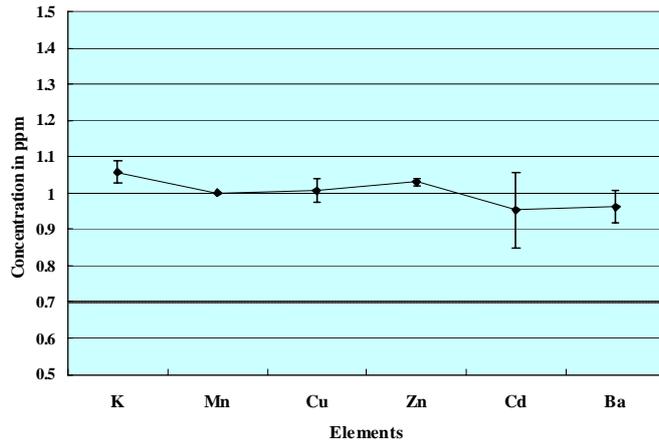


Fig.4 Results of analysis of standard solution CALMIX10 (SPEX) obtained by in-air PIXE, where the vertical axis corresponds to the ratio of elemental concentrations to their certified values and the experimental value for Mn is normalized to its certified value.

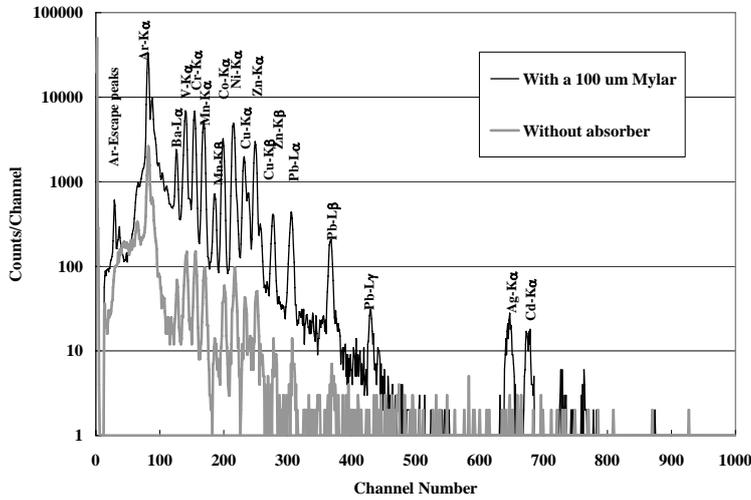


Fig.5 X-ray spectra of standard solution INT-B1 (SPEX) obtained by in-air PIXE, where the two spectra were obtained with a 100 μm thick Mylar absorber and without absorber.

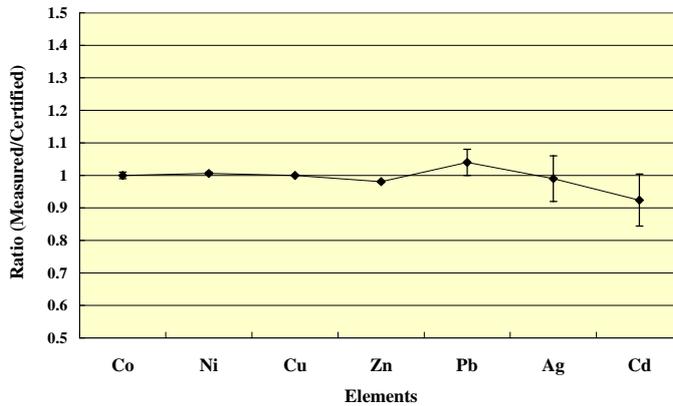


Fig.6 Same as Fig. 4 but for standard solution INT-B1 (SPEX).

次に実試料に対する結果を示す。図 7 には従来の真空 PIXE と大気 PIXE による土壌試料の分析結果を比較して示す。大気 PIXE においては air path における吸収により Na の分析は難しいが、Mg、

Al までの軽元素の測定が可能であり、特に検出効率の小さいこれらの元素の分析精度が注目される。図に見られるように、低-中 Z 元素にわたり、両者の一致は満足すべきものである。図 8 には、同様に焼却灰の結果を示す。全エネルギー領域にわたり、大気 PIXE の分析結果は真空 PIXE によるものと非常によく一致していることが確認される。

従来標準ターゲットとの比較によってのみ可能であった大気 PIXE の定量法が確立され、以上の結果からその精度が確認された。物理的定量法の確立により、多種多様な試料に対しそれぞれ吸収体などの測定条件を選びながら、最適な条件での定量分析が可能となった。NMCC 全国共同利用における分析試料の多様性に、充分答えられるシステムが整備されたと言える。しかし現在、真空 PIXE における定量分析のおよそ半分は「無標準法」により行われている。次報において、大気 PIXE における「無調製・無標準法」の開発とその精度の確認の結果が報告される。

なお、本稿の内容は文献 16 に報告済みである。

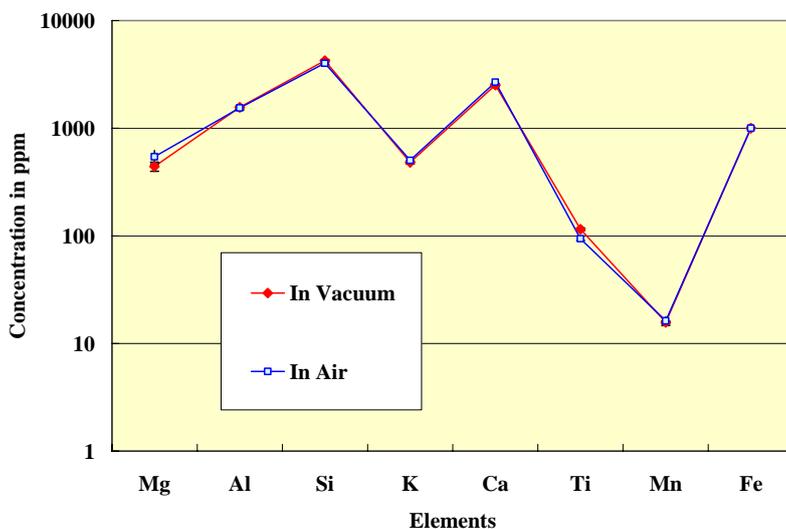


Fig.7 Comparison of the results of analysis of an actual soil sample, obtained by in-air and in-vacuum PIXE.

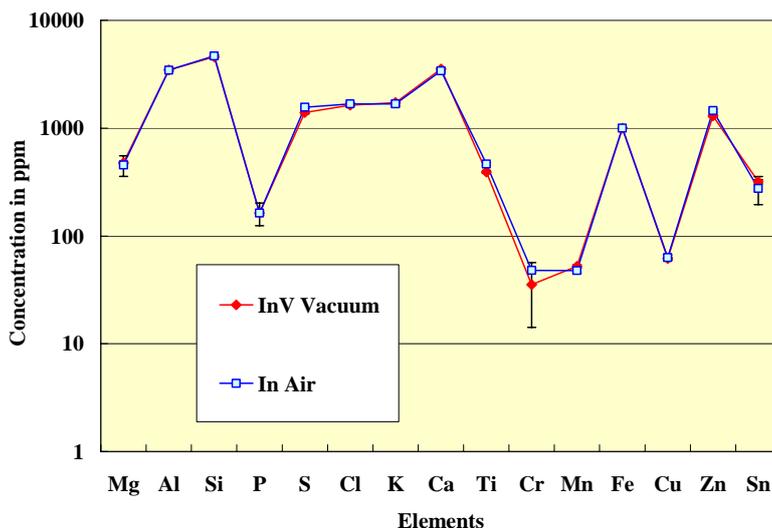


Fig.8 Same as Fig. 7 but for actual ash sample.

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 のスタッフの方々に謝意を表します。

参考文献

1. 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)
2. 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)
3. K. Sera, S. Futatsugawa and K. Matsuda, "Determination of Physical Quantities for PIXE by Means of PIXE 1 -Efficiency Curve-.", *Int'l Journal of PIXE*, Vol. 4-2, 3, 181-191 (1994)
4. S. Iwasaki, K. Ishii, K. Yoshizaki, H. Fukuda, K. Murozono, J. Inoue, M. Kitamura, H. Yokota, Y. Iwata and H. Orihara, "Vertical Beam In-Air PIXE System at CYRIC.", *Int'l Journal of PIXE*, Vol. 5-2,3, 163-173 (1995)
5. W. Brandt and G. Lapicki, "Energy-loss effect in inner-shell Coulomb ionization by heavy charged particles.", *Phys. Rev.*, A23, 1717 - 1729 (1981)
6. K. Sera and S. Futatsugawa, "Personal Computer Aided Data Handling and Analysis for PIXE." *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research*, B 109/110 99-104 (1996)
7. E. Merzbacher and H. W. Lewis, *Handbuch der Physik*, Edited by S. F. Flugge (Springer-Verlag, Berlin), 34, 166- (1958)
8. 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)
9. 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)
10. W. Bambynek, B. Crasemann, R. W. Fink, H. U. Fleund, H. Mark, C. D. Swift, R. E. Price and P. Venugopala Rao, "X-ray fluorescence Yields, Auger, and Coster-Kronig Transition Probabilities", *Rev. of Mod. Phys.*, Vol. 44, No. 4, 716-813 (1972)
11. J. H. Scofield, "Exchange Correlations of K X-ray Emission Rates", *Phys. Rev*, A9 No.3, 1041-1049 (1974)
J. H. Scofield, "Hartree-Fock Values of L X-ray Emission Rates", *Phys. Rev*, A10 No.5, 1507-1510 (1974)
12. C. A. Baker, C. J. Batty and S. Sakamoto, "Efficiency of Si(Li) X-ray Detectors at Low Energies", *Nucl. Instr. Meth.*, A259, 501-505 (1987)
13. E. Storm and H. I. Israel, "Photon Cross Sections from 1 keV to 100 MeV for Elements Z=1 to Z=100.", *Nucl. Data Tables*, A7, 565-681 (1970)
14. 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)
15. Y. Saitoh, J. Itoh, S. Sakurai, S. Futatsugawa and K. Sera "Application of a Powdered-Internal-Standard Method to Powdered Hair Samples Prepared by a New Method.", *Int'l Journal of PIXE*, Vol. 16 -3,4 183-196 (2006)
16. 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)

Physical quantitative analysis in In-air PIXE

K. Sera, K. Terasaki and T. Sasaki

Cyclotron Research Center, Iwate Med. University
Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0173, Japan

S. Goto and Y. Saitoh

Nishina Memorial Cyclotron Center, Japan Radioisotope Association
348-58 Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0173, Japan

J. Itoh and S. Futatsugawa

Radioisotope section, Japan Radioisotope Association
348-58 Honkomagome, Bunkyo, Tokyo 020-0173, Japan

Abstract

A physical method of quantitative analysis in In-Air PIXE system has been developed. Among the three parameters required for performing a physical quantitative analysis, X-ray production cross sections were calculated by considering the effective energy of the proton beam after losing its energy through a Kapton foil and air. Detection efficiencies have been obtained, according to the method we established for In-Vacuum PIXE system, where effects of absorption of X-rays in air are incorporated into the detection efficiencies. As a result, it is confirmed that the present method give us quite accurate results in the analyses of actual soil, sediment and ash samples.

Keywords : PIXE, In-Air, Quantitative analysis, Detection efficiency, X-ray production cross section

大気 PIXE における無標準法の開発

世良耕一郎、寺崎一典、佐々木敏秋

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留が森 348-58

後藤祥子、齋藤義弘

日本アイソトープ協会仁科記念サイクロترونセンター
〒020-0173 岩手県岩手郡滝沢村滝沢留が森 348-58

伊藤じゅん

日本アイソトープ協会アイソトープ部
〒113-8941 東京都文京区本駒込 2-28-4

1. 研究の背景

NMCC の大気 PIXE システムは 1997 年に設置されたが、大気 PIXE における定量分析法が確立されていなかったため共同利用に使用されることは希であった。しかし本報文集前稿¹⁾において報告を行った物理的定量法の確立により、大気 PIXE における定量分析が供給可能となった。しかし NMCC の PIXE 共同利用において、真空 PIXE による分析の約半分は「無標準法」による定量分析であり、特に最も試料数の多い毛髪試料においてはほぼ全て、尿と血清試料の約 20% 程度が無標準定量法を用いている。これらの試料は、主に有害元素による人民の体内曝露評価の国際的研究^{2,4)}を遂行するため世界各地から採取され、現在まで既に数万試料の測定が行われている。

このたび我々は国際機関である CCOP (東・東南アジア地球科学問題調整委員会) との協力関係を結び、組織的にアジアにおける有害元素曝露問題に取り組むこととなった。CCOP にはアジア十数カ国が加盟しており、Small-scale mining において水銀を扱う鉱夫の毛髪試料などの測定が開始されている。さらに国連機関である FAO (世界食料農業機構) との協力関係もほぼ確立されている。このように毛髪試料分析の需要は益々高まることが予想される。

しかし現在の NMCC の共同利用にはマシンタイムの余裕が無く、現状のままでは十分な国際環境協力を遂行することが困難である。そのため本報文集次稿⁵⁾において報告を行う「真空・大気同時分析システム」が開発され、真空 PIXE を用いて行う一般の共同利用分析と平行して、大気 PIXE において国際環境協力をを行う基礎が整った。前述のように国際環境協力のための試料の 80%は毛髪

であり、他の尿⁶⁾、血清⁷⁾、爪⁸⁾試料などに対しても真空 PIXE においては「無標準法」が確立されている。このような状況の下、大気 PIXE における無標準法の確立が望まれる。

上記 FAO は、現在バングラデッシュにおける農業用水のヒ素汚染が農作物に与える影響の問題に取り組んでおり、ヒ素の取り込みの少ない農耕法・品種改良などの検討を行っている。その研究において、実際のイネ等の農作物中にヒ素がどのような機序で取り込まれるのかを調べる目的でポット実験が計画されており、その際に大気 PIXE は強力なツールとなることが期待される。生きたまま同一個体で経時観察を行うことにより、水や土壌中の有害元素がどのような機序で農作物に取り込まれるのかを、直接測定することが可能となるからであり、大気 PIXE がそれを可能とする唯一の手段と言える。しかし生きたままの植物に内部標準法を用いることは出来ず、定量評価のためには無標準法の開発が前提となる。

本研究においては、真空 PIXE において無標準法が最も広く適用されている毛髪試料に的を絞り、大気 PIXE における無標準法を開発することを目的とする。上記のように毛髪試料分析の需要は年々高まり、我々はその多くを、真空 PIXE と平行して行なわれる大気 PIXE 分析に移行させる計画を立てているが、そのためには無標準法の確立が前提となる。真空 PIXE による毛髪分析の場合、無標準法の基礎となる連続 X 線は試料のみから発生するが、大気 PIXE においては空気からも発生し、その寄与を差し引く必要がある。さらにビームのエネルギーロス、air path による X 線の吸収により連続 X 線の形状が変化するため、大気 PIXE とは異なる条件を模索しなければならない。それらの問題を解決し毛髪試料に対する無標準法を開発することができれば、それが近い将来開発予定の「生きたままの植物に対する無標準法」の開発、という画期的な試みへの大きなステップとなる。

2. 実験

2-1. ビーム条件

医療用小型サイクロトロン(島津製作所 MCY1750)により加速された 2.9 MeV の陽子ビーム⁹⁾は通常の真空散乱槽を通過した後、偏向マグネットにより 45 度下方に曲げられ、7.5 μm の Kapton (Polyimide) foil、1 cm の air path を通過した後、試料を照射する。上流の真空散乱槽内のビームコリメータは 10 mm ϕ 、大気導出部のグラフィイトコリメータは 6 mm ϕ である。上流の真空 PIXE 通過時のビーム電流は推定 250 nA、大気 PIXE におけるビーム電流の最大値は 3.5 nA 程度であった。

2-2. 測定条件

Target から Si (Li) 検出器 Be window までの距離は 12 mm と固定され、中・高 Z 元素測定時には様々な厚さの Mylar film が X 線吸収体として試行された。真空 PIXE においては毛髪試料に対して 300 μm Mylar が吸収体として用いられているが、上述のように大気 PIXE においては実験条件が大きく異なるため、無標準法の精度、各元素の検出感度などを判断基準とし検討が加えられた結果、大気 PIXE においては air path による吸収が加わるため、毛髪試料に対しては 200 μm Mylar が吸収体として最適であることが分かった。大気 PIXE 専用 Si (Li) 検出器の検出効率、本報文集前稿¹⁾において実測され決定されている。

図 1 に大気 PIXE における毛髪試料に対する典型的スペクトルを示す。この毛髪試料は中国貴州省のフッ素中毒患者から採取されたものである。200 μm Mylar が吸収体として用いられ、ビーム電流は 3.5 nA、積算電荷値は 4.6 μC であった。図中には、blank target holder を同条件で測定したスペクトルも同時に示されている、両者は空気から発生する Ar-K α X 線収量で規格化されている。この図から、20 分の測定時間で多くの元素が分析可能であることが確認できる。同時に、空気から発生する連続 X 線がかなりの寄与を持つことも分かる。しかしこのバックグラウンドスペクトル中には

Ar 以外のピークは見当たらず、Ar-K α X 線収量で規格化した後その寄与を差し引くことにより、純粹に試料から発生する X 線の成分を正確に求めることができるものと期待される。

3. 毛髪試料に対する大気 PIXE における無標準法

PIXE スペクトル中大きな寄与を持つ連続 X 線を寄与の大きな順に挙げると、1) 二次電子制動放射 (SEB ; Secondary Electron Bremsstrahlung) ¹⁰⁾、2) 原子制動放射 (AB ; Atomic Bremsstrahlung) ¹¹⁾、3) 擬自由電子制動放射 (QFEB ; Quasi-free Electron Bremsstrahlung) ¹²⁾ の三種となる。大気 PIXE においては、これらの連続 X 線は試料からだけではなく、ビームが通過する空気からも発生し、また試料によっては backing film や試料をその上に維持するためのコロジオンなどの接着剤からも発生するため、第一段階としては試料以外から発生する連続 X 線の差し引きを行う必要がある。試料から発生する連続 X 線の全収量は、第一近似で試料中の電子数、従って概ね試料の質量に比例するため、それに対する特定元素の X 線ピーク収量の比を取れば、濃度に対応した情報が得られる。この事実が「無標準法」の基礎となる。

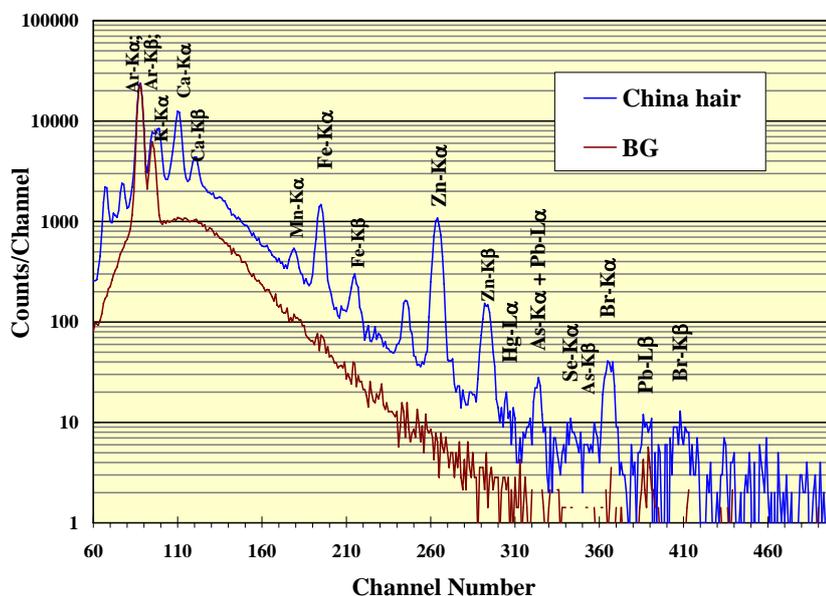


Fig. 1 Typical X-ray spectrum of a hair sample taken from a Chinese person suffering from fluorine poisoning (A) and the background spectrum (B) obtained by irradiating the target holder. They are normalized with each other by the peak yield of Ar.

連続 X 線は低エネルギー領域ほどその収量が増加するため、なるべく低エネルギー領域までの連続 X 線収量を基準とする必要があるが、この領域は特性 X 線ピークが乱立し、連続 X 線の形状を正確に決定することが難しい。一方高エネルギー領域においてはその形状は明確になるが、その形状は試料中の軽元素マトリクス以外の重元素濃度に大きく影響され、正しい濃度値を得ることが難しくなる。そのため中エネルギー領域において最適な領域が決定されなければならないが、それも試料の種類、測定条件に応じて最適なものが選ばれなければならない。試行錯誤の結果、毛髪試料に対しては吸収体 200 μm Mylar を用いた測定条件で、エネルギー領域 4.4-6.0 keV 間の連続 X 線収量を基準とした場合、最も安定した結果が得られることが分かった。

図 2-a,b)に、大気 PIXE における毛髪試料に対する無標準定量法の手順を示す。図 2-a) 中のバックグラウンドスペクトルは、毛髪を貼り付けない blank holder を試料分析時と同条件で照射し、得

られたものである。これを Ar-K α X 線収量で規格化し、もとの spectrum から差し引くことにより、空気から発生する連続 X 線の寄与を差し引き、試料のみから発生した成分を得ることができる。図の赤線 ; Net spectrum がそれに相当する。b)には、そのようにして得られた Net spectrum と、連続 X 線収量を得る領域 (4.4-6.0 keV) が示されている。領域中の全ての特性 X 線ピーク収量が差し引かれ、連続 X 線収量 Y_{CX} が求められる。真空 PIXE の場合と同様、指標元素には毛髪の主成分の一つである Zn が選ばれた。その K α X 線収量 Y_S を用い、比 $R_S = Y_S/Y_{CX}$ が求められる。次に変換係数 K_S が、 $K_S = C_S/R_S$ より求められる。ここで C_S は指標元素 Zn 濃度であり、同一 Target に対して真空 PIXE における無標準法で求めた値を用いた。その際、全く同一の場所を真空・大気両 PIXE で照射することが困難であるため、日本人・中国人の毛髪 12 試料に対して同一の比較が行われ、その平均値により変換係数 K_S が決定された。

Human Hair (China)

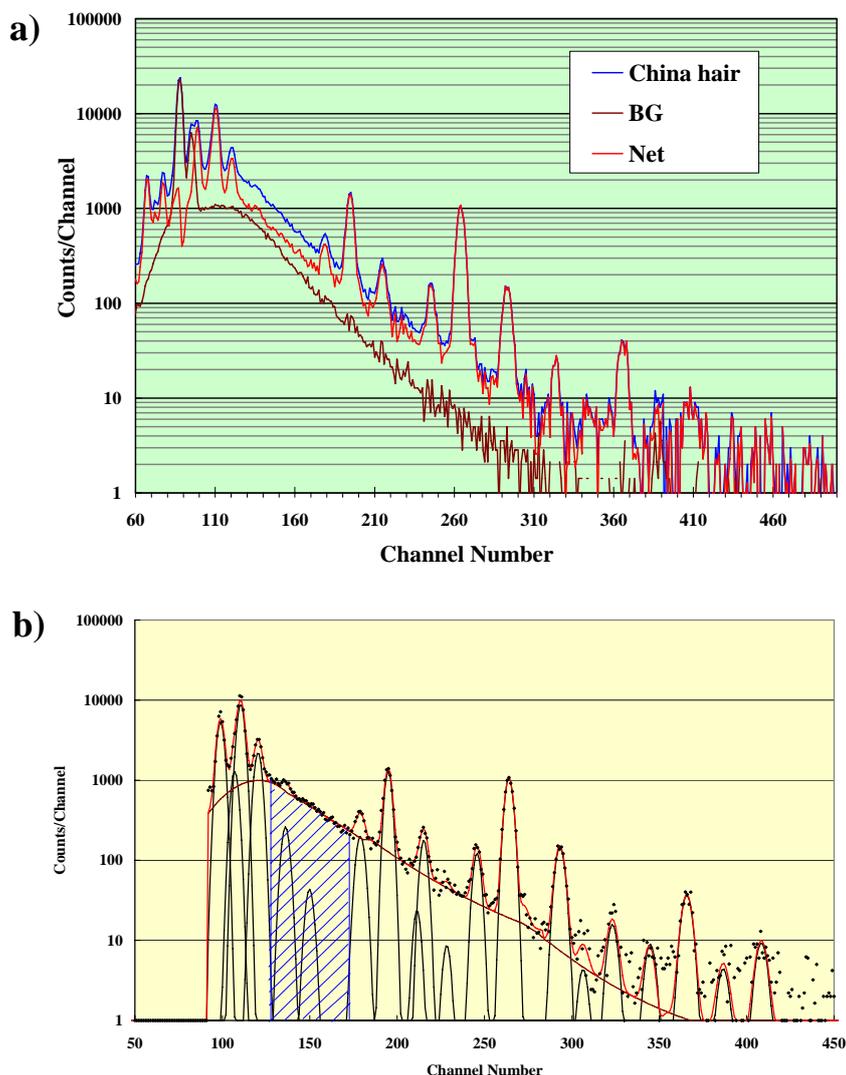


Fig. 2 Procedure for the standard-free method for hair sample. a) Net spectrum is obtained by subtracting the X-ray spectrum from a blank target with a backing film after normalizing the peak yield of Ar-K α to the raw spectrum. b) Then, all peak functions are subtracted from the spectrum and the total yield of continuous X-rays Y_{cx} in the region between 4.4-6.0 keV indicated by the shaded portion is obtained.

4. 結果と議論

図3に、毛髪12試料に対する大気PIXEにおける無標準法で得られたZn濃度を、真空PIXEで得られた値と比較して示す。KS1、KS2は日本人、その他は中国人の毛髪試料であり、変換係数 K_s はこれら12試料の結果の比較から、得られた。図は、真空PIXEとの結果の違いのばらつきを示すものである。図に見られるように全試料とも結果は良く一致しており、全く同一の場所が照射されているわけではないという事実を考えれば、満足のいく精度と言える。

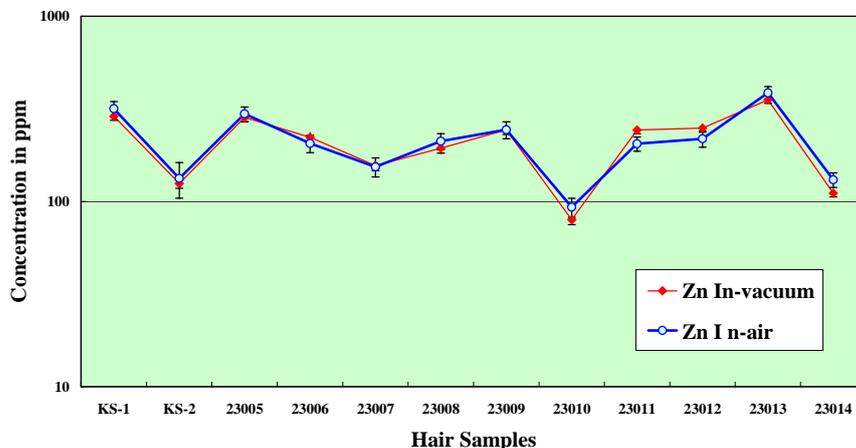


Fig. 3 Results of zinc concentration obtained by the standard-free method in hair samples taken from Chinese women (23005-23014) and Japanese men (KS-1, 2). In this figure, results obtained by in-air PIXE are compared with those obtained by in-vacuum PIXE.

これらの試料の場合、ビーム強度が得られない大気PIXEにおいて良い統計精度を得るために、20本以上の毛髪試料がTargetとして使用された。そのため図2に見られるようにBG差し引き後のNet spectrumの統計精度も充分なものとなっている。しかし充分な本数の毛髪試料が採取できないケースも多く、真空PIXEにおいては通常5~8本程度の毛髪をTargetとしている。その場合、連続X線の大半が空気から発生し、その差し引きに大きな誤差を伴うことが予想される。図4に日本人女性から採取された毛髪試料のスペクトルと解析手順を示す。毛髪の本数は7本、測定時間は10分と、ほぼ真空PIXEでの測定と対等な条件下で得られたものである。

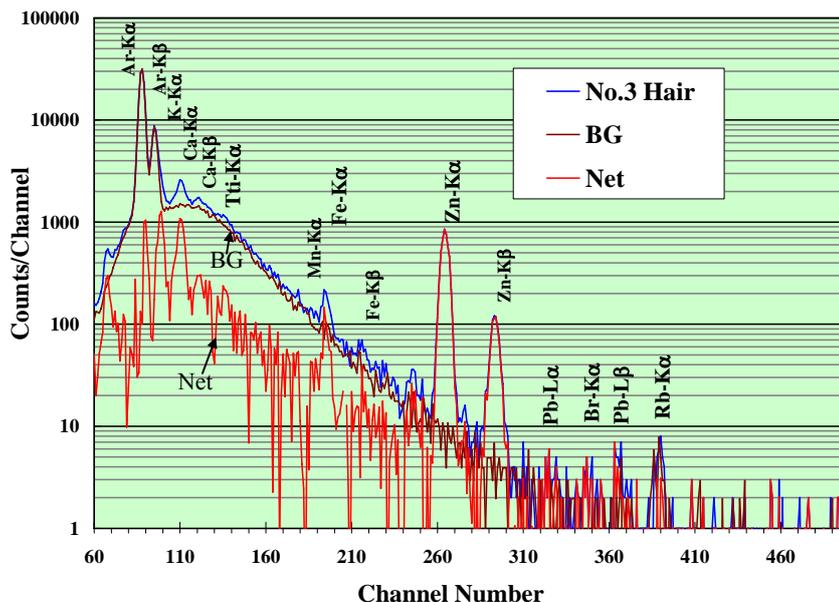


Fig. 4 Procedure for the standard-free method for a hair target consisting of seven hairs. In this case, most of continuous X-rays are produced in air.

図に見られるように、連続 X 線の大半は空気から発生し、差し引き後の Net spectrum の統計精度は良くない。しかし 4.4-6.0 keV の連続 X 線の総収量は 2800 カウントであり、それ自体の統計精度はほぼ充分とも言える。図 5 に日本人女性の毛髪 16 試料中の Zn 濃度を、同一試料に対して真空 PIXE で得られた値と比較して示す。これらの 16 試料は 2007 年度の施設公開で健常人から集められた 100 数十の毛髪試料のうち、大電流 (>100 nA) での真空 PIXE 測定後のダメージが比較的少ないもの、という基準で選ばれた。いずれも毛髪の本数は 8 本以下、測定時間も 10 分に固定して測定が行われた。図に見られるように、このように少ない本数の毛髪試料に対しても、本法の精度は充分満足すべきものであることが確認された。

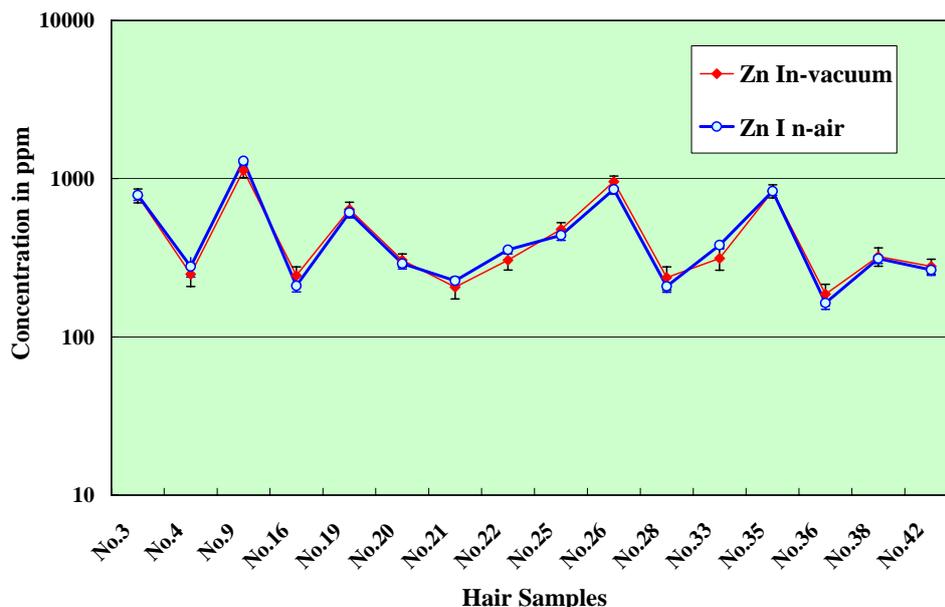


Fig. 5 Results of zinc concentration obtained by the standard-free method in hair samples taken from Japanese women. These targets consist of less than eight hairs.

図 6 に、中国人女性から採取された毛髪試料中の主要 8 元素の分析結果を示す。図中、大気 PIXE 無標準法で得られた濃度値が、従来の真空 PIXE 無標準法で得られた値と比較されており、これらは指標元素 Zn の濃度値を内部標準のそれとみなし、物理的定量法で算出されたものである。いずれの元素に対しても、両法で得られた濃度値は良く一致している。図 7 には、日本人女性 7 名から採取された少量 (7 本) の毛髪試料中の主要 5 元素の結果を比較して示す。このような少量の試料に対しても、本法の精度は満足すべきものであることが確認できる。図 6、7 の中国・日本女性の毛髪中元素濃度は大きな差異を示しているが、この一つの理由として、この中国人女性は石炭燃焼に由来する重金属で汚染された空気の曝露を受け、そのためフッ素中毒症を呈していることが挙げられる。

5. まとめ

以上の結果は以下のようにまとめることができる。

- ① 大気 PIXE における毛髪試料に対する無標準定量法の開発が初めて行われた。
- ② 真空 PIXE 同様、Zn が指標元素として選ばれ、連続 X 線収量として 4.4-6.0 keV の領域が選ばれた。

- ③ 10本以下の微量の毛髪試料に対しても、真空 PIXE と同等な精度での定量分析が可能となることが確認された。
 - ④ 真空・大気同時分析法との併用により、年間数千を数える毛髪試料分析が真空 PIXE と同時に可能となり、マシンタイム不足の問題解決の方策として有望であることが示された。
- なお、本稿の内容は文献 13 に報告済みである。

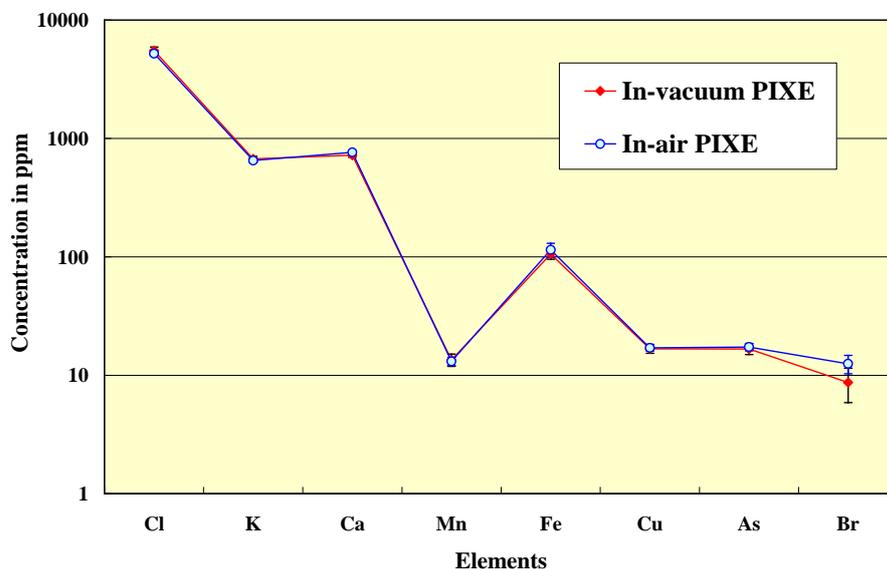


Fig. 6 Results of analysis of principal elements in a hair sample taken from a Chinese woman.

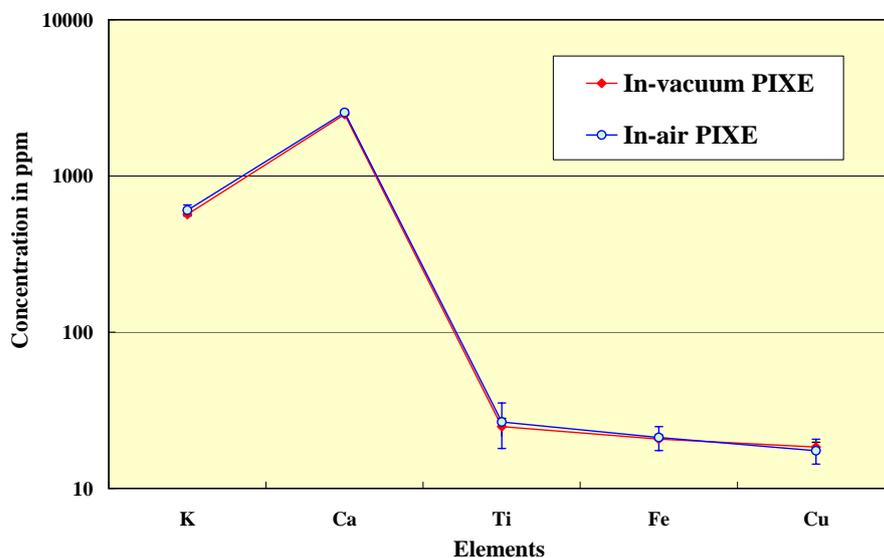


Fig. 7 Results of analysis of principal elements in a hair sample taken from a Japanese woman. The number of hairs on the target is seven.

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 のスタッフの方々に謝意を表します。

参考文献

1. 世良耕一郎、寺崎一典、佐々木敏秋、後藤祥子、齋藤義弘、伊藤じゅん、二ツ川章二
"大気 PIXE における物理的定量法の開発", NMCC 全国共同利用報文集 第 14 卷 (2008) (本報文集)
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. 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)
4. K. Sera, S. Futatsugawa and S. Murao, "Quantitative Analysis of Untreated Hair Samples for Monitoring Human Exposure to Heavy Metals.", *Nucl. Instr. and Meth.* B189, 174-179 (2002)
5. 世良耕一郎、佐々木敏秋、寺崎一典、後藤祥子、齋藤義弘、伊藤じゅん
"異なる試料に対する真空・大気 PIXE 同時分析システムの開発", NMCC 全国共同利用報文集 第 14 卷 (2008) (本報文集)
6. 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)
7. 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 (1997) 157-169
8. 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 (2002) 125-136
9. 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'l Journal of PIXE* Vol. 2 , No.1 (1992) 47-55
10. F. Folkmann, C. Gaarde, T. Huus and K. Kemp,
" Proton Induced X-ray Emission as a Tool for Trace Element Analysis",
Nucl. Instr. and Meth. 116 487-499 (1974)
11. A. Yamadera, K. Ishii, K. Sera, M. Sebata and S. Morita,
"Quasi-free Electron Bremsstrahlung Induced by Projectile Field. ",
Physical Review A 23 No.1 24-33 (1981)
12. K. Ishii and S. Morita,
"Continuous Background in PIXE ",
Int'l Journal of PIXE Vol.1 No.1 1-29 (1990)
13. 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)

Standard-free method for hair samples in In-air PIXE

K. Sera, K. Terasaki and T. Sasaki

Cyclotron Research Center, Iwate Med. University,
Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0173, Japan

S. Goto and Y. Saitoh

Nishina Memorial Cyclotron Center, Japan Radioisotope Association,
348-58 Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0173, Japan

J. Itoh

Radioisotope section, Japan Radioisotope Association
348-58 Honkomagome, Bunkyo, Tokyo 020-0173, Japan

Abstract

Standard-free method for untreated hair samples in in-air PIXE has been developed. It is confirmed that the method gives us good sensitivity and accuracy within several minutes' measurement if more than twenty hairs are attached onto the target. Even in the case where the number of hairs is less than eight, which is regular for usual in-vacuum PIXE, 10-15 minutes measurement is found to be sufficient to achieve almost satisfactory sensitivity and accuracy for elements from Cl to Pb. As the present method allows us to carry out analyses without labor in target preparation, it is expected to be quite helpful in the studies on human exposure to toxic elements. Its availability will more and more increase when the method is combined with the method of simultaneous measurement of in-vacuum and in-air PIXE we have just developed.

Keywords : PIXE, Hair, Standard-free, In-Air, Quantitative analysis, Untreated

異なる2試料に対する真空・大気 PIXE 同時分析システムの開発

世良耕一郎、佐々木敏秋、寺崎一典

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留が森 348-58

後藤祥子、齋藤義弘

日本アイソトープ協会仁科記念サイクロترونセンター
〒020-0173 岩手県岩手郡滝沢村滝沢留が森 348-58

伊藤じゅん、ニッ川章二

日本アイソトープ協会アイソトープ部
〒113-8941 東京都文京区本駒込 2-28-45

1. 研究の背景

NMCC の PIXE 全国共同利用は年々発展を続け、多くの分野の研究者により利用されている。真空 PIXE と比べ大気 PIXE の需要は少なかったが、物理的定量法・無標準法の相次ぐ開発^{1,2)}により、今後需要が伸びる見通しとなった。特に大気でのみ測定が可能なオイル試料の分析は、近年注目が集まるナノ粒子発生源として重要性和需要が増すものと予想される。現在真空・大気 PIXE を合わせた全分析試料数は年間 8000 を超える勢いであり、特に有害元素による広域的環境汚染と人民の曝露評価の研究においては、世界中から集められた年間数千試料の分析が行われている。そのような状況下、マシンタイムはほぼ限界に達し、これ以上 PIXE を用いた研究を進展させるためには、マシンタイム不足の問題を解決することが必須条件となっている。

上述のように我々は、大気 PIXE における定量法の開発を相次いで行い、大気においても真空 PIXE と同等な精度での分析が可能となりつつある^{1,2)}。大気においては、空気による X 線の吸収のために低 Z 元素の感度が悪くなる欠点があるが、オイルや生きたままの動植物の分析、大きな試料の分析など、大気でのみ可能な分析も多い。また分析試料数の半分近くを占める有害元素の人体曝露評価のための分析においては、対象とする元素が多くの場合 Hg、Pb、As、Cd、Cr などの重元素であり、大気 PIXE においても十分にその目的を達成することが可能である。しかし大気 PIXE コースには多量のビームを通すことが難しく、測定効率が悪い、という欠点もある。

我々は、通常の共同利用に関わる分析を真空 PIXE において行うと同時に、大気 PIXE において別

の試料を分析する方法の開発を考えた。真空 PIXE で分析される試料の大半は thin target であり、ビームの大半は失われず素通りする。それを再利用し大気 PIXE システムに輸送、全く異なる試料の測定を行おうという発想であり、大きな光熱費を必要とする加速器の有効利用の観点からも試行の価値が充分にあると思われる。現在我々が保有する検出器は4台(真空 PIXE 用 Si(Li) 検出器2台、Ge 検出器1台、大気 PIXE 用 Si(Li)1台)であり³⁾、それを全て同時に使用することも可能である。必要な高圧電源・アンプ・波高分析器等のエレクトロニクス機器は、平成19・20年度科学研究費補助金等により整備されている。

しかしいくつかの問題点が存在する。最大の問題はビーム輸送条件であり、2組目の三連 Quadrupole Magnet (以下 Q magnet) からの距離が大きく異なる、真空 PIXE・大気 PIXE Target の双方へ十分な量のビーム輸送が可能かどうか、またビームの収束が悪いと Background X-ray (以下 BG) が発生してしまい、分析の精度に影響する。測定の効率と精度をどちらも満たす条件を、真空・大気 PIXE システム両者に対し確保しなければならない。その妥協点が見出せるかどうかが本研究の成否の分かれ目となる。

本研究においては、先ず両 PIXE システムに十分な量のビームを輸送するビーム輸送条件を確立、次に両システムにおける BG の確認を行いそれを輸送条件に feedback し、実用可能な実験条件を確定する。さらに標準試料・実試料の分析を両システムにおいて行い、その精度・感度の確認を行う。以下に詳細が報告される。

2. 実験

2-1. 通常のビーム輸送条件

加速条件に関しては、文献4を参照されたい。図1にサイクロトロン本体を含むビーム輸送システムの layout を示す。サイクロトロンから引き出された 2.9 MeV の陽子ビームは、ビームの X-Y 方向微調整のための水平・垂直方向 steering magnet を通過した後、本体室内の1組目の三連 Q magnet を通り、PIXE 室との間のコンクリート壁の入口に設置されている X-Y slit の位置に focus される。医療用小型サイクロトロンは一般に beam emittance が大きく、さらに2枚の 25 μm Ti foil とその間の He によりエネルギーを減弱・散乱するため⁴⁾、さらに大きく広がる。測定に必要なないビーム成分を PIXE 室に導入すると BG の原因となるため、本体室出口の X-Y slit は通常 16 mm 程度に絞り込まれ、多くのビームはここでカットされる。通常の真空 PIXE の場合、PIXE 室に入射したビームは2組目の三連 Q により、target 直前の graphite collimator の位置で focus され target を照射する。コリメータ径は、通常 3、6、7 mm ϕ のものが目的に応じ使用されている。一方、真空散乱槽直前の X-Y slit は、BG の発生源になることを避けるため、大きく広げられている。通常の測定においては、20~130 nA のビームが測定に用いられている。

大気 PIXE を行う場合、本体室内の X-Y slit と三連 Q の条件は真空 PIXE の条件と殆ど同じである。PIXE 室内の2組目の三連 Q (Q2) は、focusing point が 2 m ほど遠方に移行することに応じ、通常の真空 PIXE と比べて under focus ぎみに調整される。真空散乱槽内の graphite collimator は外され、ビームは 10 mm ϕ の aluminum holder のみを通過する。真空散乱槽を通過したビームは bending magnet により 45 度下方に曲げられ、graphite collimator、7.5 μm の Kapton (Polyimide) foil を通して大気中に導出され、1 mm の air path を通過した後試料を照射する。Collimator 径は、通常 6 mm ϕ のものが使用されている。45度下方に偏向する理由は、オイル・水などの液体試料を測定する目的のためである。大気 PIXE に輸送条件を optimize した場合、最大ビーム電流は 3.5 nA 程度であるが、このたび科学研究費補助金により大気導出部の改造 (Bending magnet 出口のフランジから Kapton 膜が貼られているビーム導出部までのダクトを太いものに換え、段階的に細くする改造) を行ったため、

30-50%の電流増加が期待される。真空 PIXE で通常用いられるビーム電流と比べて電流値はかなり低い、Si (Li)のヘッド径が小さく、試料から検出器 window までの距離を 1.2 mm まで近づけられるため、試料の量を増やすなどにより、特定の試料を除いては充分効率の良い分析が可能となる。

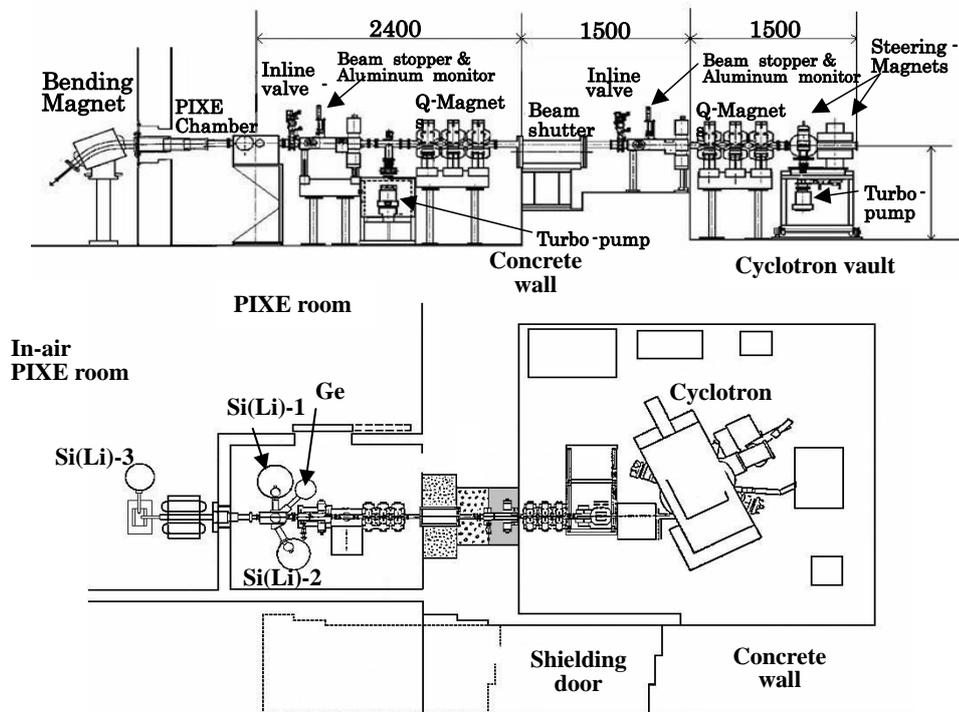


Fig. 1 Layout of the beam transport system.

2-2. 真空・大気 PIXE 同時測定のためのビーム輸送条件の確立

大気 PIXE の分析条件に対する上流・真空散乱槽内の target の存在の影響は、ほぼビーム量と収束条件のみであり、物理パラメータには影響は無いと考えられるが、その理由は以下の通りである。真空 PIXE の target は thin target に限定し、またビーム径が広いと多くのビームは薄い backing film のみを通る。さらに bending magnet の電流は大気 PIXE の値に固定されるため、大きく energy loss した成分は出口の slit で除外される。そのため、大気 PIXE のために確立された物理的定量条件¹⁾は、そのまま有効であると予想される。

そのため問題は、両 PIXE system に十分なビーム電流が確保され、(ある程度 defocus ぎみになることが避けられないため) BG X 線が測定精度・感度に影響を与えない程度に抑えられる条件が見出せるか否か、に集約される。

真空 PIXE 時の 2 組目三連 Q (Q2) の電流値は、Q2-2、Q2-1&3 に対しそれぞれ 11.1 A と 6.5A 前後であり、大気 PIXE 時にはそれぞれ 9.1 と 5.6 A に調整する。前者の条件では、大気 PIXE システムに輸送される電流値は 1 nA 以下となり、不十分なものとなる。一方、後者のパラメータの場合、真空 PIXE においてはビームが大きく広がってしまい、その散乱線などの影響により、blank holder 照射時に BG 連続 X 線が増大し、また Fe などの BG ピークも生じるようになり分析精度・感度に問題が生じる。そのため真空・大気 PIXE とともに十分なビーム量を確保した上で、BG が生じない輸送条件を確立しなければならない。

先ず、真空散乱槽の graphite collimator 径は 7 mm と固定する。これは真空 PIXE において無調製毛髪分析時に常用しているものである。上記条件を満足する輸送パラメータとして、Q2-2、Q2-1&3

に対しそれぞれ 10.1 A と 6.1 A の条件が選択された。これは真空 PIXE の輸送条件に近い値であるが、その理由は、測定条件が最終 collimator 径のみに依存しビーム輸送条件には殆ど左右されない大気 PIXE と比べ、散乱槽内に他の機器が多く存在する真空 PIXE における BG X 線発生の有無は、輸送条件に大きく依存するからである。この条件下で真空 PIXE におけるビーム電流は最大 100 nA ほどであり、大気 PIXE においては 1.5 nA であった。若干物足りない強度ではあるが、上述のように大気導出部の改造に伴い 30~50%の改善が見込まれるため、一部の試料を除き充分実用に耐えるものと期待される。

2-3. BG X 線の測定

通常の大気・真空 PIXE のビーム輸送条件と異なる同時分析の条件下での BG X 線を、真空・大気 PIXE とともに確認することが不可欠である。そのため通常用いている 20 mm の hole の空いた 500 μm Mylar target holder を blank target として照射し、BG X 線の有無を評価した。真空 PIXE システムに対する結果を図 2 に示す。300 μm Mylar が吸収体として用いられ、通常、中~高 Z 元素測定用に用いられている Si(Li) No.1 検出器により測定が行われている。図中において、真空 PIXE に optimize した輸送条件で得られたスペクトル (青線) と、同時測定時の輸送条件において得られたもの (赤線) が比較されており、ビーム電流はどちらも 100 nA、測定時間はそれぞれ 600 と 1200 秒であり、積算電流値 (Coulomb 数) で規格化され比較が行われている。図に見られるように、認識できる BG ピークはどちらのスペクトル中にも見受けられず、また同時測定用に輸送パラメータを変更した影響は、連続 X 線の収量などにおいても殆ど認められない。BG X 線の観点からは、真空 PIXE 分析の精度・感度に影響が無いことが確認された。

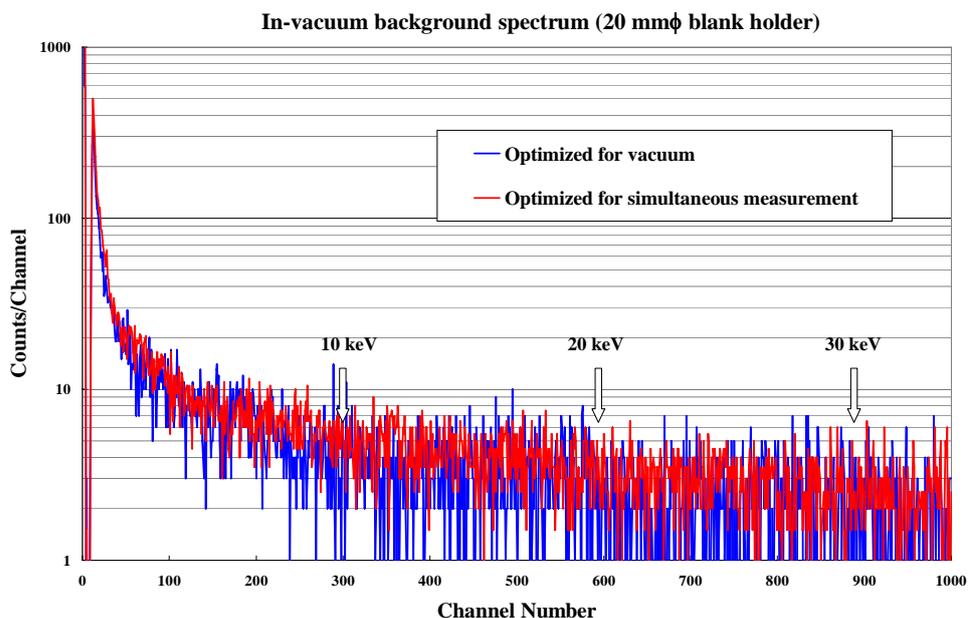


Fig. 2 Background spectra (blank target) for in-vacuum PIXE obtained under the transporting conditions optimized for in-vacuum and for simultaneous measurement. A 300 μm -thick Mylar film was used as an X-ray absorber.

次に、大気 PIXE に対して同じ blank target を用い、BG X 線の測定を行った結果を図 3 に示す。上述のように大気 PIXE における測定条件はほぼ最終 collimator の径のみで決まることが予想されるため、比較は同時測定時の輸送パラメータにおいて、上流の真空散乱槽内に target が存在するか否かの条件を変えて、行われた。大気 PIXE においては最も使用頻度が高いと予想される 200 μm Mylar が吸収体として用いられ、どちらもビーム電流は 1.5 nA、測定時間は 1200 秒である。BG X 線のピ

ークはどちらの条件においても確認されず、また連続 X 線 BG に関して、その形状・収量ともに上流の Target の有無の影響は見られない。上流の target は、真空 PIXE で分析が行われる試料の中では最も厚い部類に属する未調製毛髪であり、この結果から真空 PIXE における多くの試料に対し、同時の大気 PIXE 分析が有効であることが確認された。

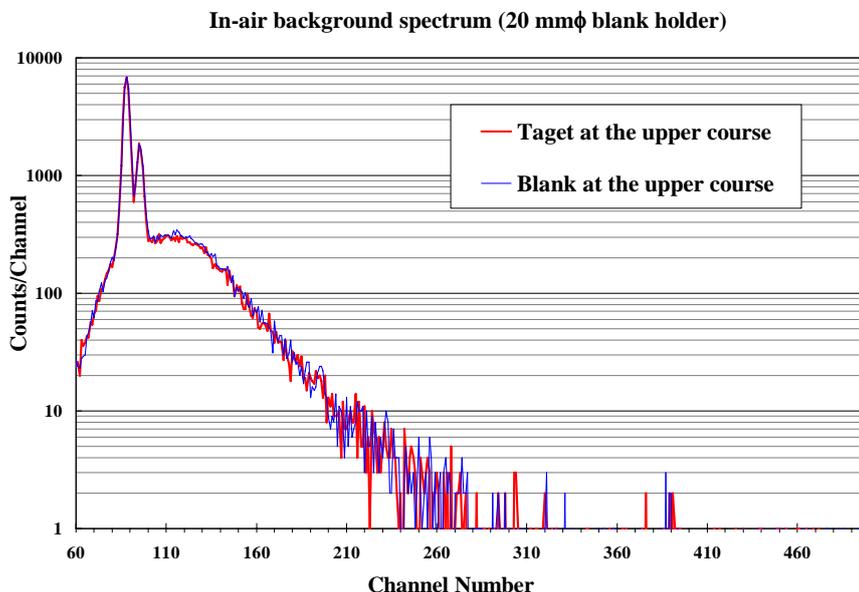


Fig. 3 Background spectra for in-air PIXE obtained with and without a target at the in-vacuum chamber. The target at the upper stream is untreated hairs. A 200 μm -thick Mylar film was used as an X-ray absorber.

2-4. 実試料の測定

図 4 に、大気 PIXE における実試料（野生のセリ）のスペクトルを示す。500 μm Mylar が吸収体として用いられ、上流の target（無調製毛髪）の有無の条件下でそれぞれ得られた二つのスペクトルが比較されている。図に見られるように、上流の target の有無による違いは全く見受けられない。

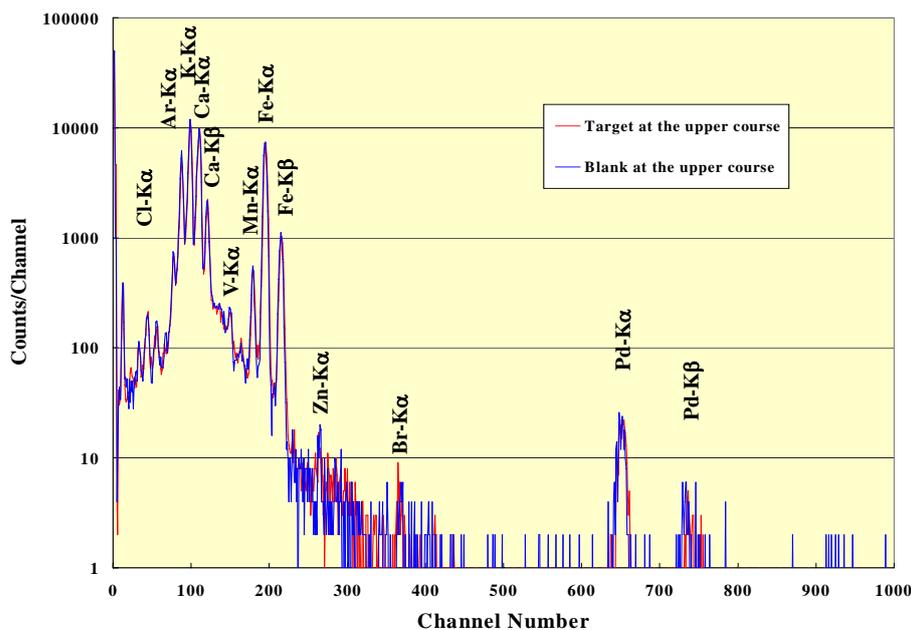


Fig.4 In-air PIXE spectra for a wild dropwort sample obtained with and without a target at the in-vacuum chamber, where a 500 μm -thick Mylar film is used as an X-ray absorber.

図5には、真空 PIXE におけるラットヒラメ筋試料のスペクトルを示す。500 μm Mylar が吸収体として用いられ、二つのスペクトルは真空 PIXE のための輸送パラメータ (灰色太線)、及び同時測定のためのパラメータ (黒線) の条件下でそれぞれ得られたものである。連続 X 線の収量には若干の違いは見られるが、X 線ピークなどほぼ同一のスペクトルが得られている。

図6には、大気 PIXE で得られた土試料のスペクトルを示す。500 μm Mylar が吸収体として用いられ、二つのスペクトルは、大気 PIXE に理想化した輸送条件 (青線)、及び同時測定のための輸送条件 (赤線) の下に得られ、両者は Fe-K α X 線収量で規格化されている。予想された結果ではあったが、大気 PIXE においてビーム輸送条件による差異は全く見られない。

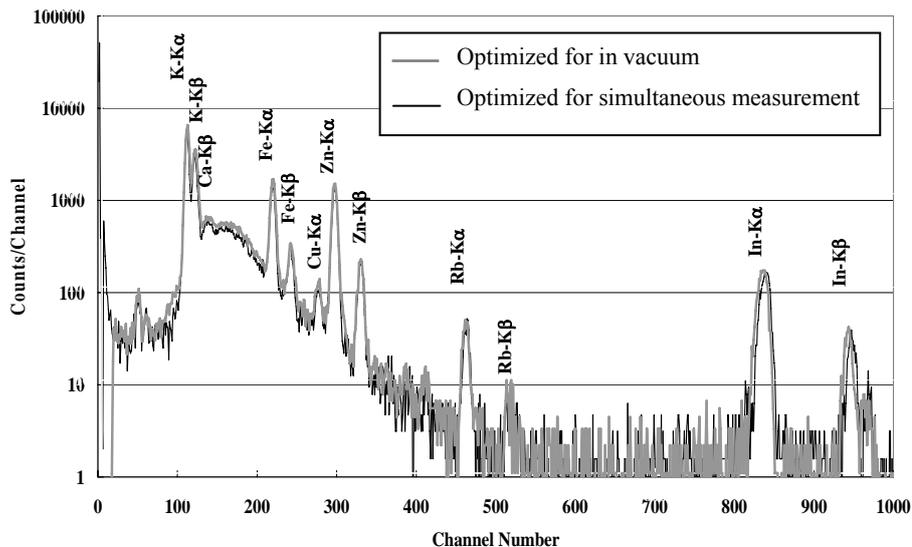


Fig.5 In-vacuum PIXE spectra for a soleus muscle of rat obtained under the different beam transporting conditions; one is optimized for in-vacuum PIXE and the other is for simultaneous measurement. A 300 μm -thick Mylar film was used as an X-ray absorber.

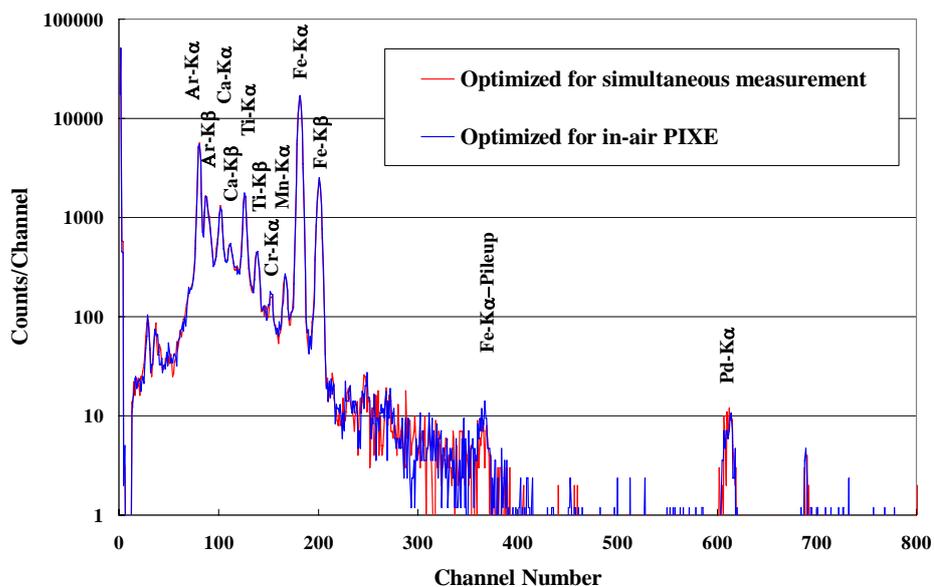


Fig.6 In-air PIXE spectra for a soil sample measured under the different beam transporting conditions; one is optimized for in-air PIXE and the other is for simultaneous measurement. A 500 μm -thick Mylar film was used as an X-ray absorber.

3. 結果と議論

真空・大気同時分析システムによる分析精度の確認のため、多くの試料が真空、大気 PIXE、真空・大気同時分析 PIXE により測定され、結果の検討が行われた。図 7 a-d) に、野生のセリ・クレソン・ふきのとう試料、さらに市販されている昆布試料の分析結果をそれぞれ示す。これらの試料は、植物・食品試料に対する粉末内部標準法に基づいて調製されたものである⁵⁾。図中、同一の Target を、通常の大気 PIXE、大気 PIXE 専用のビーム輸送条件下での大気 PIXE、同時分析 PIXE の輸送条件下での大気 PIXE において分析した結果が比べられている。図には、それぞれの試料に対して統計精度の十分なピークを持つ 5~7 元素の結果とその実験誤差が示されているが、いずれの試料に関しても殆どの元素の結果が実験誤差の範囲でよく一致し、大気 PIXE においても、真空・大気同時分析時の大気 PIXE においても、真空 PIXE と同等な良い精度で結果が得られることを示している。

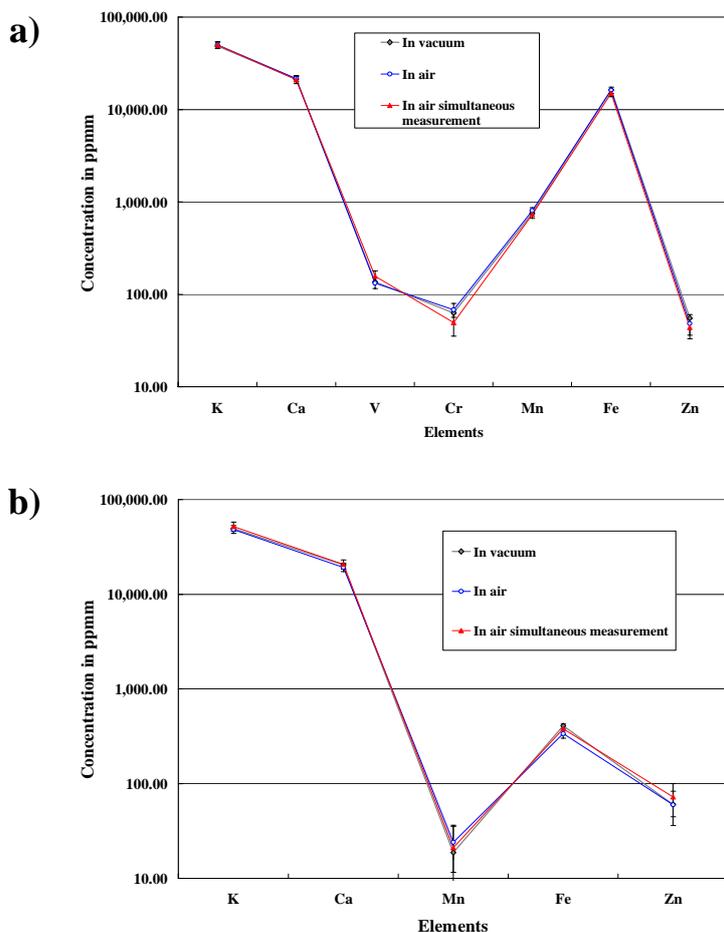


Fig.7 a), b) Results of analyses of principal elements in wild dropwort (a) and watercress (b) obtained by in vacuum, in air and simultaneous in-air PIXE, where a 500 μm -thick Mylar film absorber is used for each measurement.

図 8 a-d) には、二種の野生のふきのとう (a, b)、二種の土試料 (c, d) に対する真空・大気同時分析の結果を示す。同じく主要 5~7 元素の結果であるが、これらは真空と大気 PIXE で同時に測定され (a と b, c と d それぞれ同時)、その後真空と大気試料を入れ換えて (a と b, c と d を入れ換え) 再び同時に測定された結果の比較である。両 PIXE による結果は非常に良く一致しており、同時分析時に、大気・真空両 PIXE とほぼ同等の精度を有することを示している。

図 9 には無調製毛髪 23 試料に対し、大気 PIXE、真空・大気同時分析時の大気 PIXE で得られた

Ca 濃度を、同一試料に対し真空 PIXE で得られた値との比の形で示す。この測定が行われた時点では、未だ大気 PIXE に対する無標準法が確立されていなかったため、大気 PIXE における Ca 濃度は、真空 PIXE において求められた Zn 濃度を内部標準の濃度とみなし、得られたものである。真空 PIXE 測定時と全く同一の部分が照射されていたわけではない事実を考えると、大気 PIXE、真空・大気同時分析時の大気 PIXE で得られた濃度値は、真空 PIXE で得られた値とよく一致していると言える。

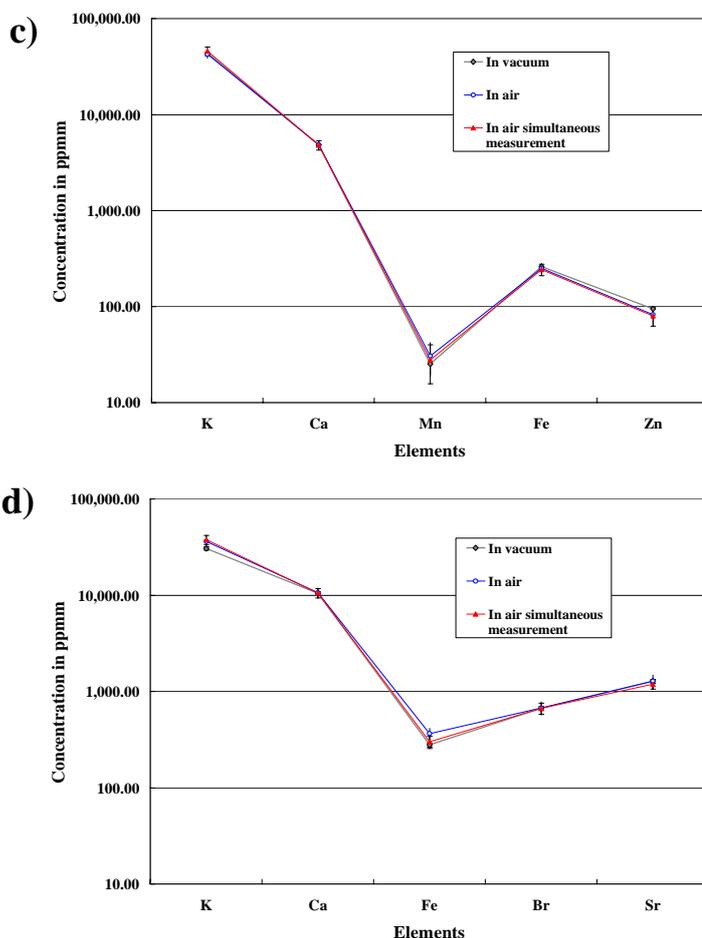


Fig.7 c), d) Same as Figs. 7 a), b) but for c) wild fukinotou (*petasites japonicus*) and d) tangle on the market.

4. まとめ

以上の事項は、以下のようにまとめることができる。

- ① 異なる2つの試料を真空 PIXE・大気 PIXE 両者で同時に分析を行う画期的な方法が開発された。
- ② ビーム電流の観点から、実用化に耐えうるビーム輸送条件が「BG X 線を出さない」という制約の下に確立され、精度の良い同時分析が可能となった。
- ③ 種々の実試料測定の結果、真空・大気同時分析時における大気 PIXE、真空 PIXE が与える結果が、通常真空 PIXE、大気 PIXE の結果と同等な精度で得られることが確認された。
- ④ ビーム輸送条件の改良、大気導出部の改良等の工夫により、感度の点でも真空 PIXE に劣らない分析が可能となることが期待され、本法は「マシンタイムの限界」という現状を打開し、NMCC の PIXE をさらに発展させるために強力なツールとなり得るものと期待される。

なお、本稿の内容は文献 6 に報告済みである。

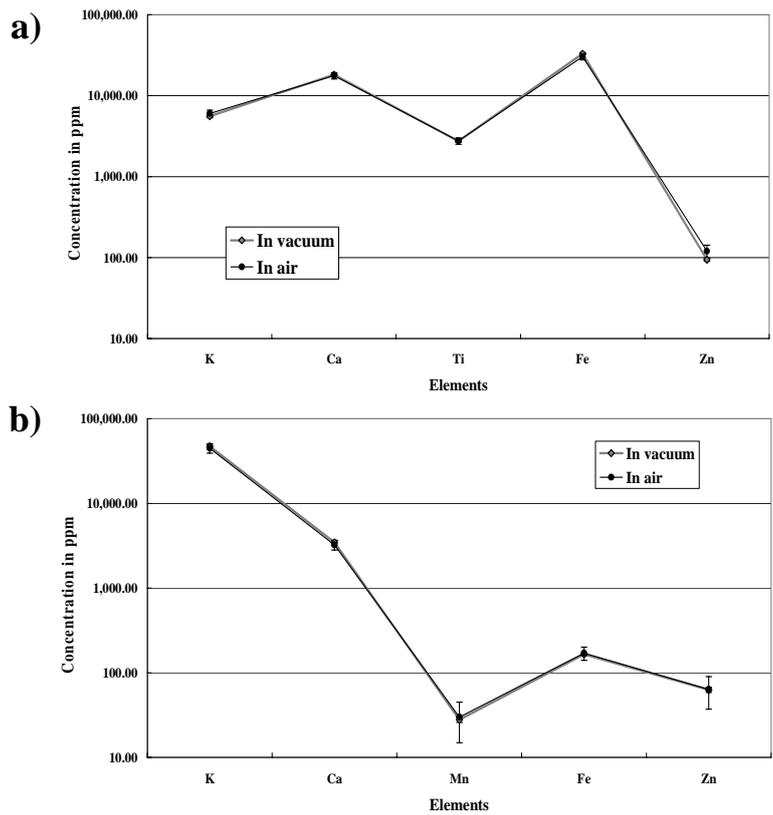


Fig.8 a, b) Comparison of the results of principal elements in two fukinotou (*petasites japonicus*) samples obtained by simultaneous measurement of in-vacuum and in-air PIXE, where sample a) and b) were measured simultaneously by exchanging each other.

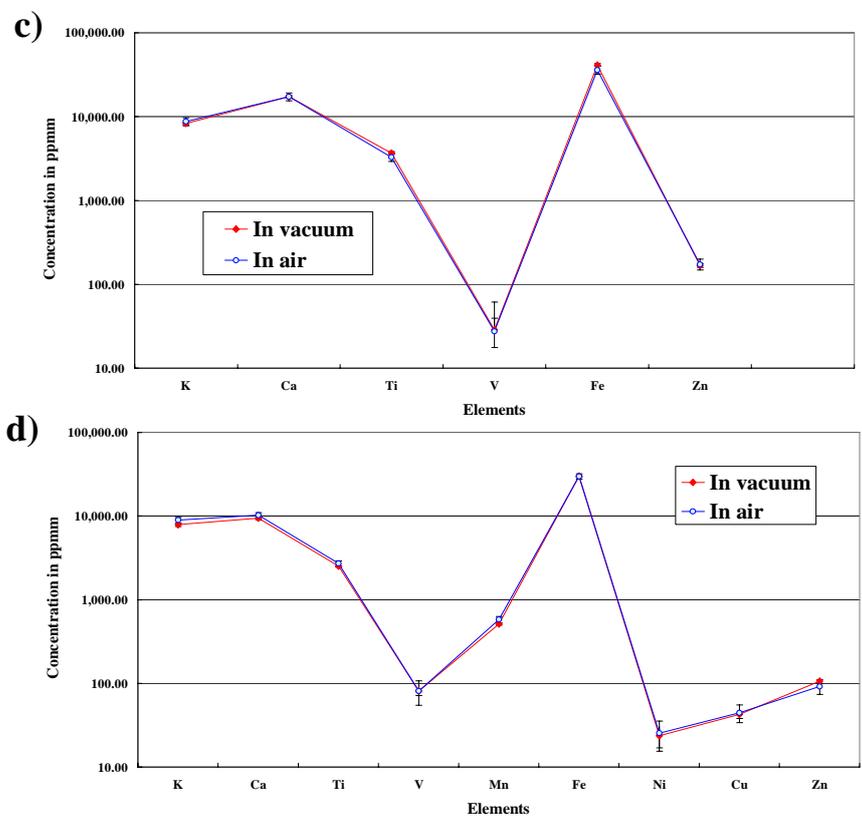


Fig.8 c) - d) Same as Figs. 8-a), b) but for two soil samples.

謝辞

本研究に必要な計測システムの拡充、ビーム輸送コース・大気 PIXE 照射装置の改善は、平成 19、20 年度の科学研究費補助金を用い行われました。共同利用を活発に利用されているユーザーの方々、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 のスタッフの方々に謝意を表します。

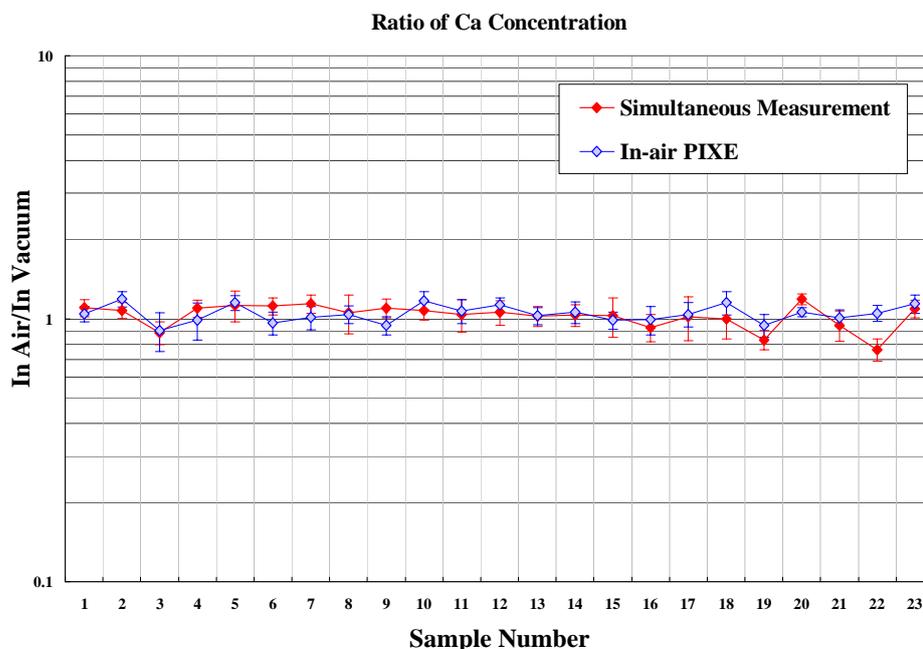


Fig.9 Results of calcium concentration in 23 untreated hair samples analyzed by in-air and simultaneous in-air measurement, where calcium concentrations are presented as ratios to those obtained by in-vacuum PIXE.

参考文献

1. 世良耕一郎、寺崎一典、佐々木敏秋、後藤祥子、齋藤義弘、伊藤じゅん、二ツ川章二
"大気 PIXE における物理的定量法の開発", NMCC 全国共同利用報文集 第 14 巻 (2008) (本報文集)
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)
2. 世良耕一郎、寺崎一典、佐々木敏秋、後藤祥子、齋藤義弘
"大気 PIXE における無標準法の開発", NMCC 全国共同利用報文集 第 14 巻 (2008) (本報文集)
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)
3. 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)
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'l Journal of PIXE* Vol. 2, No.1 47-55 (1992)
5. J. Itoh, 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, No.1&2 27-39 (2005)
6. 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, No.1&2 1-12 (2008)

Simultaneous measurement of two different targets by means of vacuum and In-air PIXE

K. Sera, K. Terasaki and T. Sasaki
Cyclotron Research Center, Iwate Med. University
Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0173, Japan

S. Goto and Y. Saitoh
Nishina Memorial Cyclotron Center, Japan Radioisotope Association
348-58 Tomegamori, Takizawa, 020-0173, Japan

J. Itoh and S. Futatsugawa
Radioisotope section, Japan Radioisotope Association
348-58 Honkomagome, Bunkyo, Tokyo 020-0173, Japan

Abstract

A simultaneous measuring system of two different targets by in-vacuum and in-air PIXE has been developed in order to improve efficiency of analyses in the limited machine time. The proton beam passes through a thin target in vacuum and it allows us to perform in-vacuum PIXE, and the beam is further transported to the in-air PIXE system for analyzing another target. The beam intensity for in-air PIXE while performing in-vacuum PIXE is 1.5 nA, which is almost sufficient. The effect of slight changes in the beam transport parameters on the background X-rays for both in-vacuum and in-air PIXE has been found to be negligible. As a result, it is confirmed that accuracy and sensitivity of analysis for many kinds of sample, such as various samples in earth, environmental sciences and in bio-medicine, are almost unchanged for the both systems, and a four-detector-simultaneous measuring system has been completed. It is expected that the system will work miracle for solving the problem of deficient machine time in our laboratory.

Keywords : PIXE, In-Air, Vacuum, Simultaneous measurement, Quantitative analysis

微小ヒゲ試料・長い毛髪試料分析による体内元素濃度変化の測定

世良耕一郎、寺崎一典、佐々木敏秋

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

後藤祥子、齋藤義弘

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

伊藤じゅん、二ツ川章二

日本アイソトープ協会アイソトープ部
〒113-8941 東京都文京区本駒込 2-28-45

1. はじめに

我々は様々な試料に対する「無標準法」の開発を進めてきたが¹⁻³⁾、それらは我々が参加している世界的環境問題解決のための研究に極めて有効であることが示されている⁴⁻⁶⁾。前号の報文集^{7,8)} その他⁹⁾において、微小ヒゲ試料に対する「無調製・無標準法」が開発され、それが体内元素濃度変化の評価に極めて有効であるとの報告を行った。有害元素曝露問題解決のために重要なことは人体への主曝露経路の同定であるが、そのためには体内元素濃度の短期・長期的変動の測定が有益な情報をもたらす。体内元素濃度評価の方法として、血液^{1,3)}、尿¹⁰⁾、爪¹¹⁾、汗、涙等¹²⁾の無調製無標準分析法が開発されてきたが、これらの中では短期的体内元素濃度変化を反映する試料として尿が挙げられる。しかし尿中元素濃度は、採取時間、水分摂取との時間間隔等の要因に大きく左右され、その上高濃度のNa、Cl、K、Brの影響で連続X線のバックグラウンドが高く分析感度が悪い。そのために有意な傾向をつかむ事が困難であった^{9, 10)}。その点で、毎日ほぼ決まった時間に1日分に相当する試料の採取が可能なヒゲ試料分析は、体内元素濃度変化の評価に最適なものである⁷⁻⁹⁾。

今回、新たに朝と夕の2回、218日間にわたりヒゲ試料の採取が行われ、無標準法に基づき定量分析が行われた。体内元素濃度の長期的・短期的変動、さらに1日の中の時間変動が調べられ、K, Cl, Naの3元素がほぼ同じ短期的・長期的変化を示すこと、水銀は数ヶ月単位の長期的変動を示し、一

方ヒ素は数日単位の短期的変化を示し、海産物の摂取との相関が見られることなど、興味深い結果が得られた。また、1日の中でも必須元素・有害元素ともに大きな時間的変動が観測され、主に代謝を反映したものであると予測された。今回は計543のヒゲ試料の分析が行われた。

しかしながら、ヒゲ試料の採取は女性や子供に対しては困難である。そのため、短期的体内元素変動を長い毛髪を用いて調べる方法が新たに開発された。2人の女性から、それぞれ20 cm、26 cmの一束(8~10本)の毛髪が採取され、毛根から正確に1 mmずつ切断され、それぞれの断片がヒゲ試料分析と同様な「無調製・無標準法」を用いて分析された。毛髪は1ヶ月に約1 cm成長することが知られており、1 mmの毛髪はおよそ3日分の成長に相当する。この方法を用い、数年間にわたる体内元素濃度変動を3日間単位で調べることが可能となる。時間単位の体内元素濃度変化を調べることが可能なヒゲ試料分析^{2,3)}と比べて時間分解能には劣るが、3日単位の変化が分かれば食物や飲料摂取との相関は評価可能であり、毛髪分析には過去を遡って長期間の履歴を評価できるという大きな利点がある。今回は上述の二人の女性から採取された20 cm、26 cmの毛髪を1 mmずつ切断し、それぞれ260、200試料の分析を行った。これらはそれぞれおよそ20ヶ月、26ヶ月の間の体内元素濃度変化を反映する。以下にそれらの詳細が報告される。

2. 実験方法

2-1. 試料採取及び調製

ヒゲ試料は、通常の電気カミソリを用い男性Aより2006年1月27日から8月31日にかけて218日間、朝・夜の2回ずつ採取された。7月2日から3日にかけては、1日中の体内元素濃度時間変動を調べる目的で、朝の8時15分より2時間おきに深夜0時15分まで9回試料採取が行われた。

長い毛髪試料は女性Bより20 cm、女性Cより26 cmの試料が採取された(採取時期はどちらも2007年6月)。さらにヒゲ試料分析との結果を比較する目的で上述の男性Aより5.5 cmの毛髪も採取された。Target数はそれぞれ200枚、260枚、55枚となる。

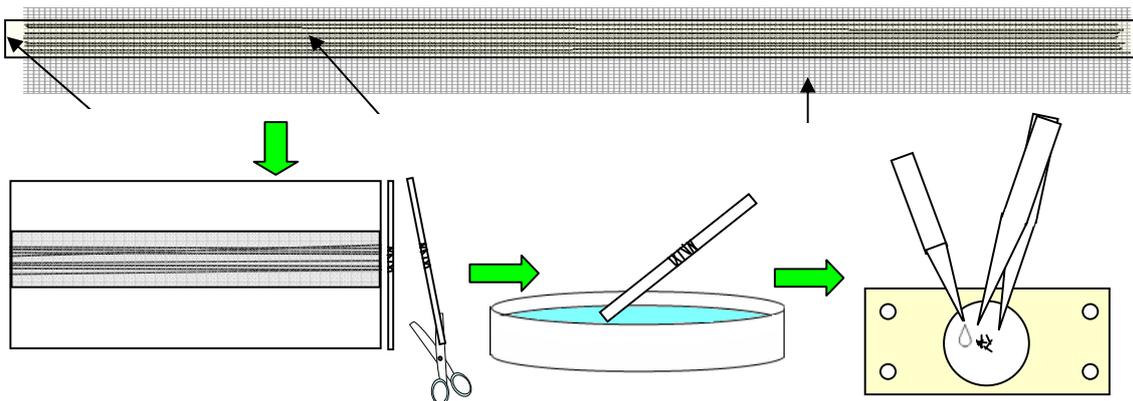


Fig.1. Procedure of target preparation for long hair samples. Firstly, a bunch of hairs cut near the root are stuck straightly onto a section paper with an adhesion tape. Then, they are cut with scissors every 1 mm together with the paper and the adhesion tape, and they are separated and washed in acetone. Finally, targets are prepared by putting pieces of hair onto a backing film and fixed with diluted collodion solution.

ヒゲ試料の調製法は報告済みである^{7,9)}。長い毛髪試料は毛根から8~10本採取され、方眼紙に毛根側を揃え真っ直ぐスコッチテープで固定された(図1)。固定された毛髪は、ハサミを用いて方眼紙・テープごと1mmの幅で切断され、アセトン中で洗浄・及びテープ・方眼紙との分離が行われた。分離された毛髪は4 μ m Prolene バックリング膜状に、エタノールで5%に希釈されたコロジオン溶液により固定され target とされた。

2-2. 測定と解析

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 cm ϕ 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た。1台は300 μ mマイラー吸収体とともに使用され、K-K α 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¹³⁾。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^{13,14,15)}。

3. 寸断されバックリング膜状に貼りつけられた毛髪試料に対する無標準法

無標準法のための変換係数決定までの手順は、過去に他の生物試料に対して行われたものと基本的に同様である¹⁻³⁾。長い毛髪試料をそのまま測定する場合は、self support となるため連続X線は試料のみから発生するが、支持膜や固定するためのコロジオンが存在する場合、それらから発生する連続X線の寄与を差し引かなければならない。しかしその方法は、前回に報告を行った粉末状ヒゲ試料の場合と全く同様^{7,9)}であり、詳細は文献7、9を参照されたい。

4. 結果と議論

4-1. ヒゲ試料分析結果

まず、男性Aから連続的に採取されたヒゲ試料の分析結果を示す。試料は2006年1月27日より8月31日まで連続218日間にわたり、朝8:15と夜22:00分前後の2回ずつ採取され、さらに1日における時間経過観察の為に、7月3~4日にかけて朝8:15より2時間おきに翌日の0:15まで9試料が採取された。全試料数は543試料、試料の量は0.3 mg以下である。

最初に朝と夜の差異について検討を行った。図2に朝・夜採取されたヒゲ試料それぞれの218日間にわたる平均値と標準偏差を比較して示す。平均値には元素によっては若干の差異が見られるが、標準偏差を考慮すると有意な差とは言えない。そのため今後の議論は朝・夜を平均し1日単位で行うこととする。

図3に主要10元素に対する218日間の濃度変化を比較して示す。主成分であるSは殆ど変動が無く、同じく主成分のZnには数週間単位のごく小さな変動が見られる。一方、Na、Cl、Kの三元素は非常に類似した短期的・長期的変化を示していることが分かる。同様な振舞いを示す元素は他に見られず、これら三元素のみに類似性が見られる。このことから、これらの元素は体内で大部分がKCl、NaClとして存在しているため、挙動を共にしていることが分かる。Mg、Si、Caは特定の数ヶ月周

期の変動を示し、Brはある種の季節的変動を示しているように見うけられる。Cuは3月末から4月にかけてその濃度が3倍になるなど、急激な変化を示している。図4には27元素の1月27日から2月20日までの短期間の変動を示すが、上記Na、Cl、Kの三元素の短期的振舞いが酷似していることが再確認できる。

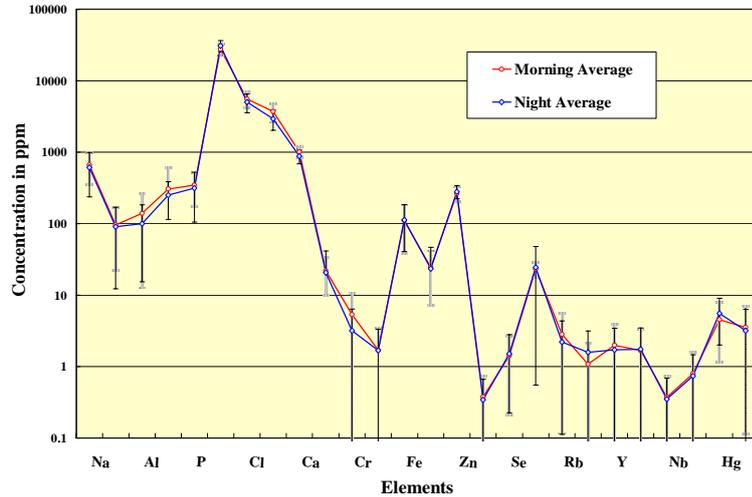


Fig.2. Average values and their standard deviations of elemental concentration in beard samples taken in the morning and at night over successive 218 days.

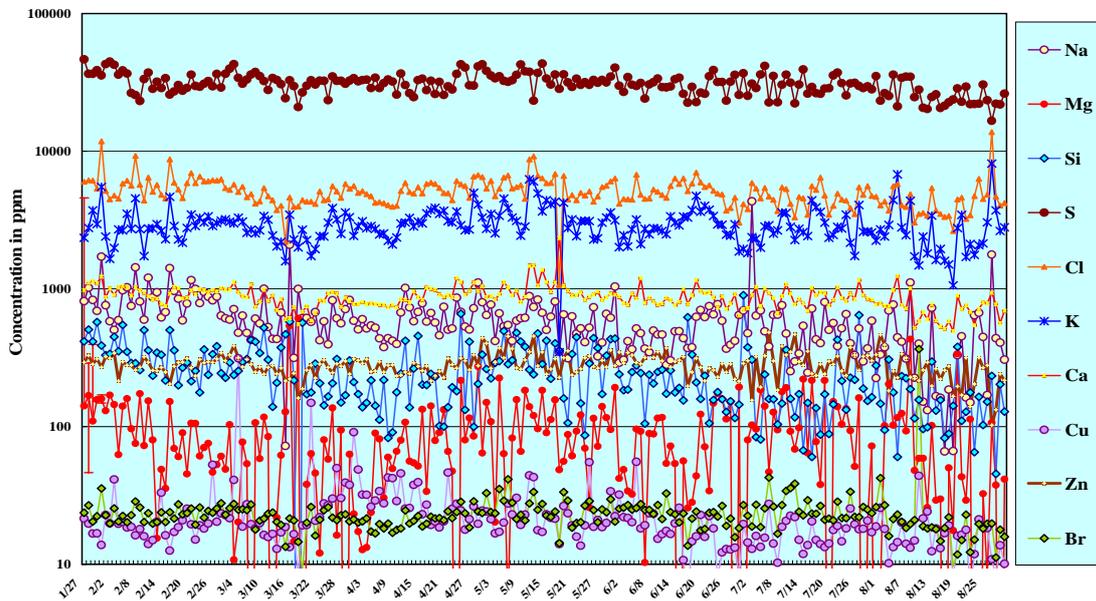


Fig.3. Daily changes of elemental concentration of 10 principal elements in beard samples taken over successive 218 days.

図5に上記3元素を除く主要6元素の変動を示す。曲線はおよその傾向を分かりやすく示したものであり、各元素とも数ヶ月単位の長期的変動を示す一方、Cu、Caなどは数日単位の急激な増加も示している。

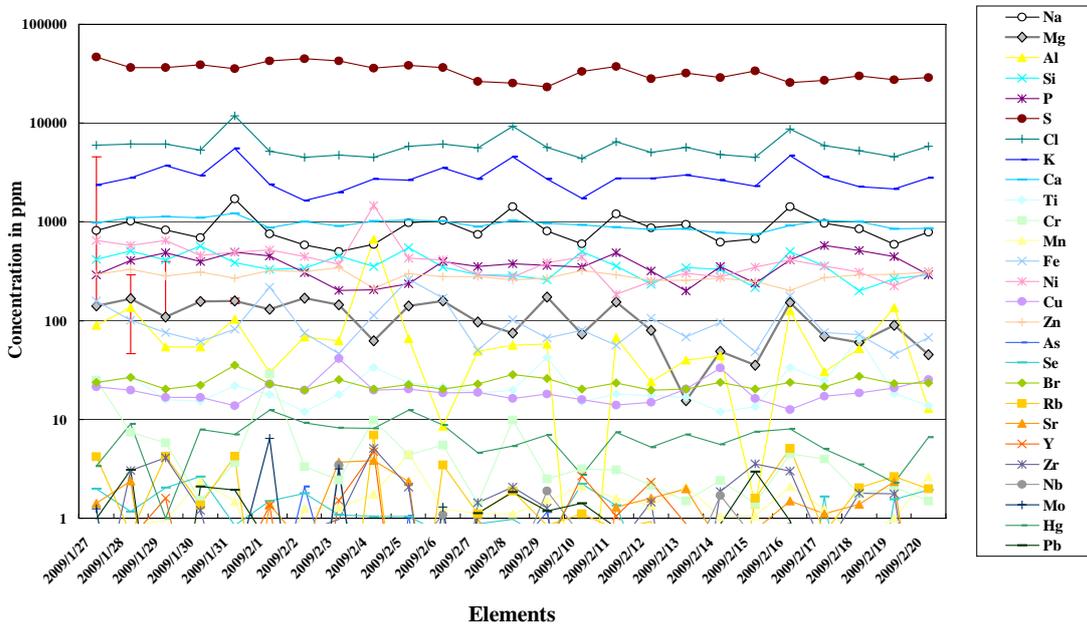


Fig. 4. Daily changes of elemental concentration of 27 elements in beard samples taken everyday from 1/27 to 2/20.

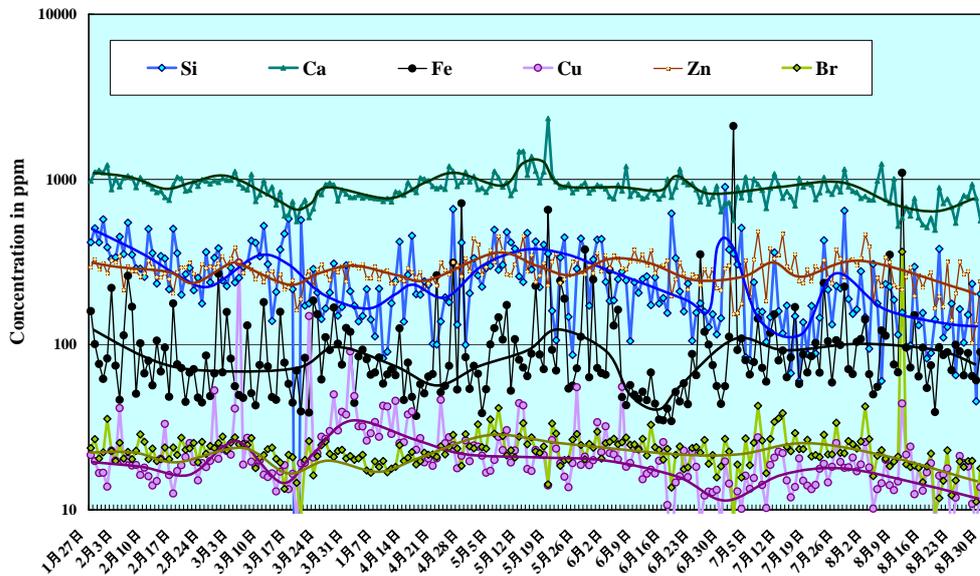


Fig. 5. Daily changes of elemental concentration of 6 principal elements in beard samples taken over successive 218 days, where colored curves were drawn for eye guide.

図 6 には有害元素を含む 6 種の微量元素の結果を示す。Al 濃度は 3 月中旬から急激な増加を示し、また 8 月に向かって徐々に減少する傾向を見せている。Ti は 5 月にゆっくりとした上昇を示し、およそ 1 ヶ月の間高値を保っている。この中で広域的环境汚染において大きな問題となる Hg と As に注目しよう。水銀の La ピークは Zn-Kβ と重なるため、その分離において大きな実験誤差を伴うこと

もあり、大きなばらつきを見せている。しかし長期的には数ヶ月単位の変動を示しており、これは体内 Hg の長い生物学的半減期を反映している。それに対し As の実験誤差は小さく、その濃度は数日単位の速い変動を示すことが分かる。一旦その濃度が上昇すると 2 桁ほどの上昇となり、2~3 日かけてもとの値に下がっていく傾向が見られる。これは、As は腎機能により尿中に排泄されるため、その生物学的半減期が短い、と言う事実に対応している。

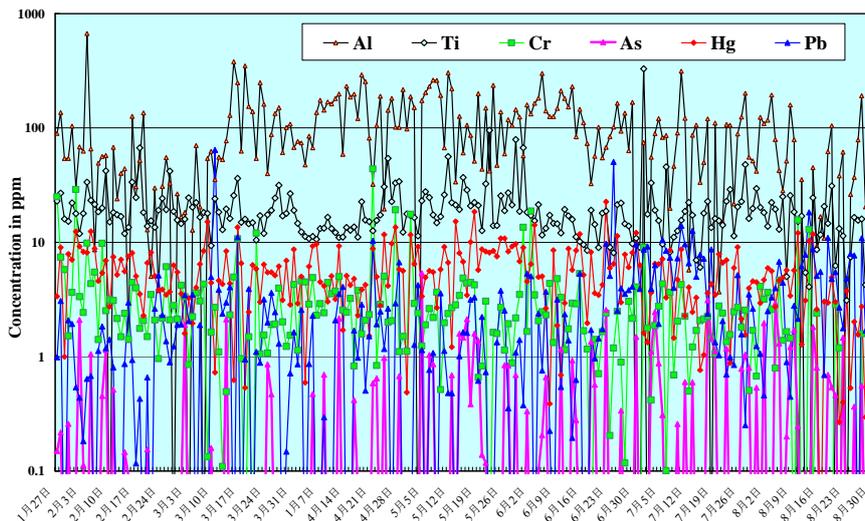


Fig. 6. Daily changes of elemental concentration of 6 trace elements including toxic ones in beard samples taken over successive 218 days.

主にヒ素の短期変動を見るために、微量 5 元素について 5/10~5/24 の期間内の変動を示したのが図 7 である。ヒ素濃度は通常 0.01 ppm のオーダーであるが、非周期的に 1 ppm 以上まで濃度が上昇し、2~3 日でまた減少する。これまでの観察により、ヒ素を多く含む海藻・魚介類を多く摂取すると 1~2 日後にヒゲ中砒素濃度が上昇することが確認されている。この男性 A はこの期間、5 月 13 日と 17 日に寿司、手巻寿司を多量に摂取しており、そのため砒素濃度上昇が 1 週間ほど続いたものと思われる。

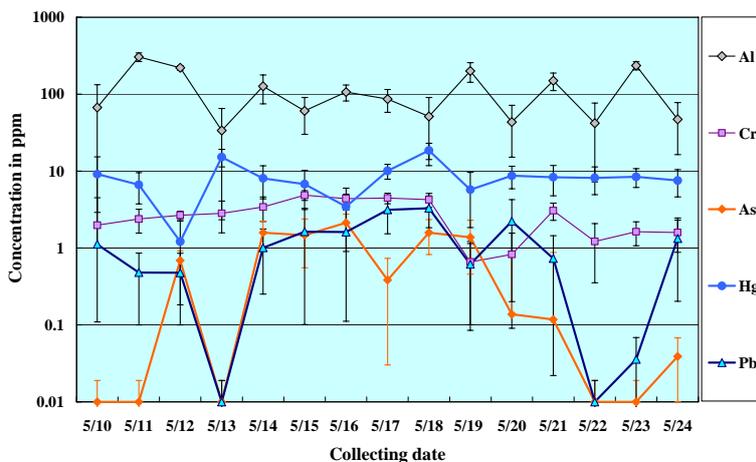


Fig. 7. Short-term changes of elemental concentration for five trace elements from 10 to 24 May.

図 8-a, b) に 7 月 2 日朝 8:15 から 7 月 3 日 0:15 分まで 2 時間おきに 9 回にわたり採取されたヒゲ試料の分析結果を示す。図中には、7 月 1 日夜と 7 月 3 日朝の結果も合わせて示されている。図 8-a) は主元素に対する結果であるが、主成分の S、Zn がほぼ一定であるのに対し、Na、Si などが大きな時間依存性を見せている。Si、Mg、Cu、Cl など、夕刻に最大値を示す元素が多く見られる。図 8-b) は有害元素を含む微量元素の結果であるが、Ti などが大きな時間依存性を見せている。これらの非常に短期的な変動は、摂取よりも主に人体の代謝機構を反映しているものと推測される。

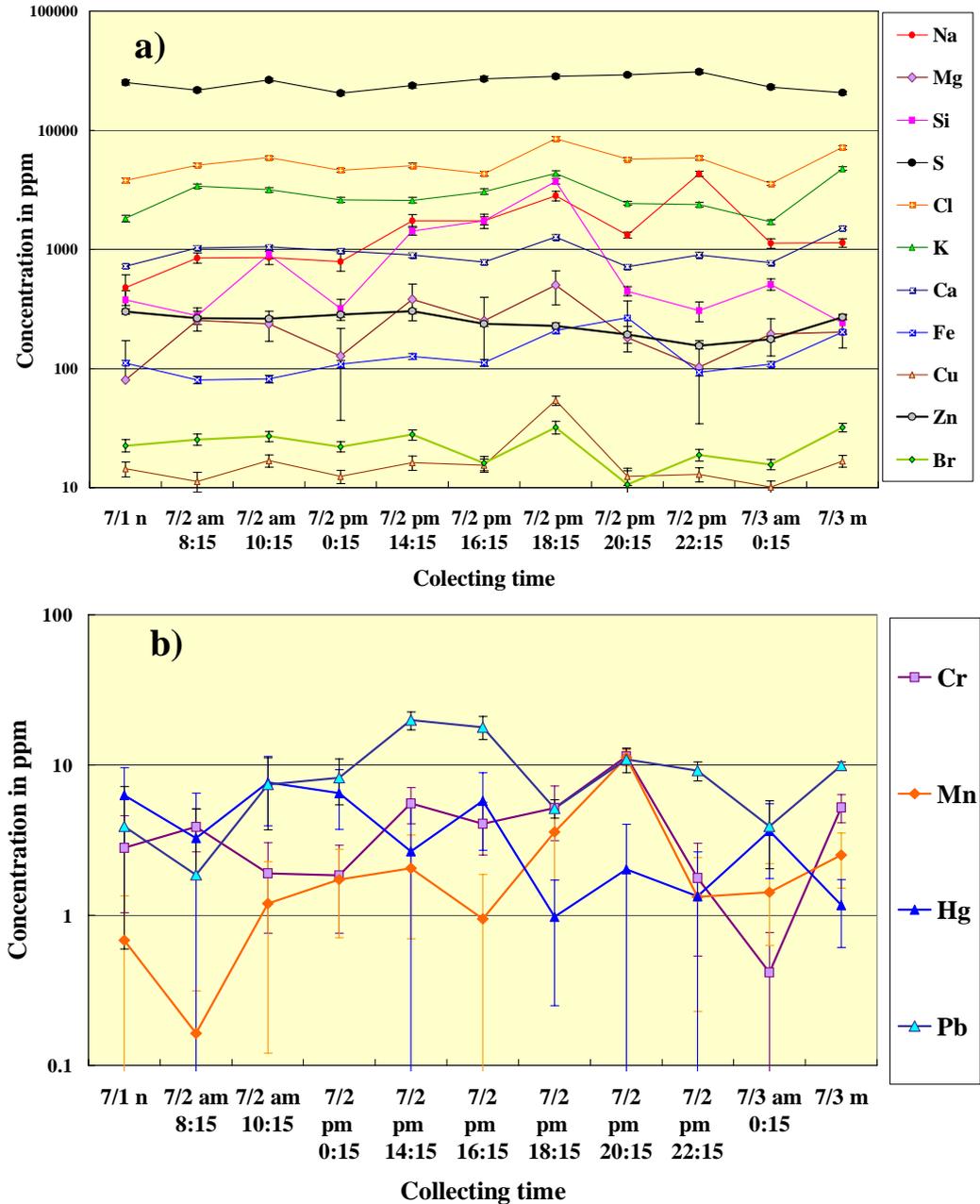


Fig. 8. Changes with passage of time for principal (a) and trace (b) elements

これらの結果から、ヒゲ試料分析は体内元素濃度の数ヶ月単位の長期的変化から、数日単位の短期的変化、さらには時間単位の超短期的変動を良く反映することが確認された。2 時間おきに採取されるヒゲ試料は 1 mg 以下のことが多く他の方法では定量分析が困難であるが、本無標準法を適用することにより十分に定量的評価が可能となった。本法のこれらの特徴は、有害元素による広域的環境汚染の国際的研究において特に主曝露経路の同定を行うために極めて有利であり、本法が人民の被害を軽減するための強力なツールとなり得ることを示している。

4-2. 長い毛髪試料分析結果

本研究において試料を提供した男性 A は特にヒゲが濃いわけではないが、無標準法に基づけば 1 日分で数百枚のターゲットを作成することが可能なほどの試料採取ができる。そのためかなりヒゲの薄い男性でも、問題無く本法の適用が可能と思われる。ヒゲ試料は男性からのみ採取可能であり、女性や子供からの採取は一般的には困難であるが、本法は極めて微量試料の定量分析を可能とすることから、ヒゲ以外の頭髪などの体毛を用い、経日変化の測定を行うことは不可能ではない。しかし試料採取がやや困難になることが予想されるため、今回、性別を問わず採取可能な長い毛髪試料において、どの程度の短期的変動が測定可能なのか検討を行うこととし、上記の方法（「試料採取及び調製」参照）を開発した。以下にその結果を示す。

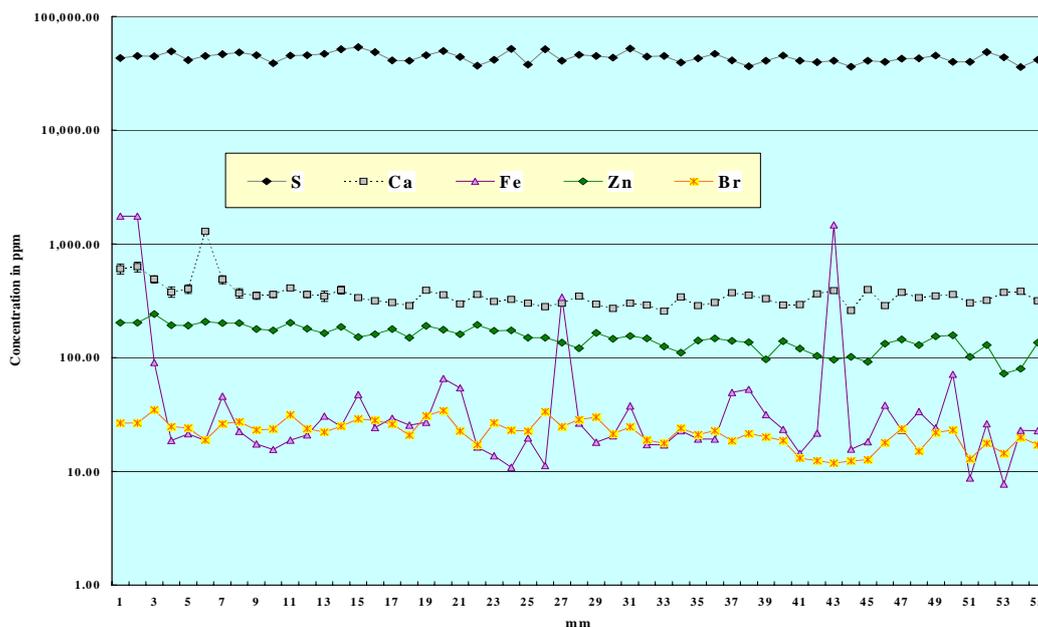


Fig. 9 Daily changes of elemental concentration of 5 principal elements in 55 mm-long hairs taken from the same person from whom the beard samples were taken. For hair sample, 55 mm length corresponds to nearly 165 days.

図 9 に、ヒゲ試料と同一人物（男性 A）から採取した 55 mm の毛髪試料の結果を、5 主要元素に対して示す。数カ所で Fe の急激な上昇が見られるが、これは試料調製過程におけるコンタミの可能性が高い。S は殆ど一定で、Br は小さな季節変動を見せるなど、ヒゲ試料と同様な傾向が見うけられる。横軸は毛髪の根元からの距離であり、時間の経過はひげの場合と反対に右から左へと向かって

いる。毛髪 55 cm は、およそ 165 日間に相当する。図 10 には As と Hg の結果を示す。Hg がゆっくりとした変化を示すのに対し、As が数日単位の急激な上昇を見せるなど、ヒゲ試料の場合とほぼ同等な結果が得られた。ヒゲ試料と比べ若干 As 濃度の上昇期間が長いのは、個々の毛髪の成長速度が必ずしも同一でないことにより、多少時間分解能が悪くなることを反映するものと解釈できる。

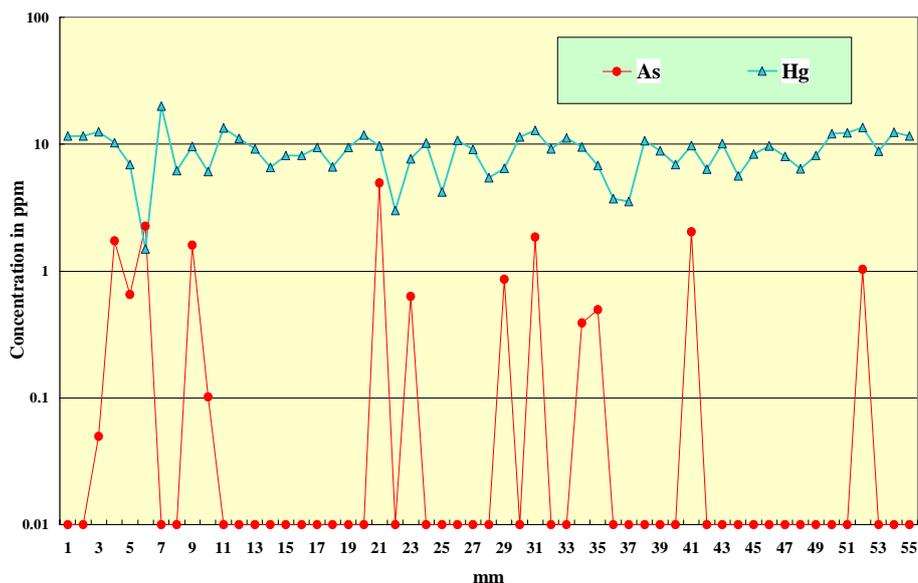


Fig. 10 Same as Fig. 9 but for As and Hg.

図 11 には女性 B から採取された 20 cm の毛髪の結果を、主要 6 元素に対し示す。およそ 600 日間の体内元素濃度変動履歴を表すものと期待される。上記ヒゲ・頭髪試料のいずれの結果もそうであったように、主成分の S 濃度はほぼ一定している。それに対し Zn 濃度はこの女性の場合長期的に緩やかに上昇する傾向が見られる。Fe は長期的・短期的変動をともに示し、Br には季節的変動があるように見うけられる。また Ca は徐々に減少し、2 ヶ月ほど以前に急激な減少を見せているが、同族である Sr も全く同様な振舞いを示している。図 12-a, b には有害元素中 Cr、Pb (a) と、Hg、As (b) の結果を示す。Cr は明確な長期的変動を見せていないが、週単位の激しい短期的変動を示す。一方 Pb は実験誤差のためばらつきが大きいですが、前半の 300 日間で 1 桁近く連続的に濃度を減少させ、その後はほぼ一定の値を維持している。Hg は男性 A のヒゲ・頭髪試料の結果と同様に長期的変動のみを示し、As は数日単位の激しい変動を見せている。

図 13 には女性 C より採取された 26 cm の毛髪の結果を主要 6 元素に対して示す。ターゲット数は 260、ほぼ 780 日間にわたる体内元素濃度変化を示すものと期待される。S はほぼ一定、Zn は最初の 6 ヶ月間で減少を続け、その後 300 ppm 弱の一定値を保っている。Br は冬の期間増加し、夏期間に減少する季節的変動を見せており、Ca は連続的に減少しつづけ Sr も全く同様の振舞いを見せるなど、女性 B と同様な結果が得られた。図 14-a, b には有害元素中 Cr、Pb (a) と、Hg、As (b) の結果を示す。Pb はこの期間中減少傾向にあるが、最後の 50 日間で急激に増加する傾向が見られている。それに対し Cr はある種の長期的変動と、激しい短期的変動を見せている。Hg は長期的変動を、As は数日単位の激しい変化を見せていることは、これまでの結果と全く同様である。

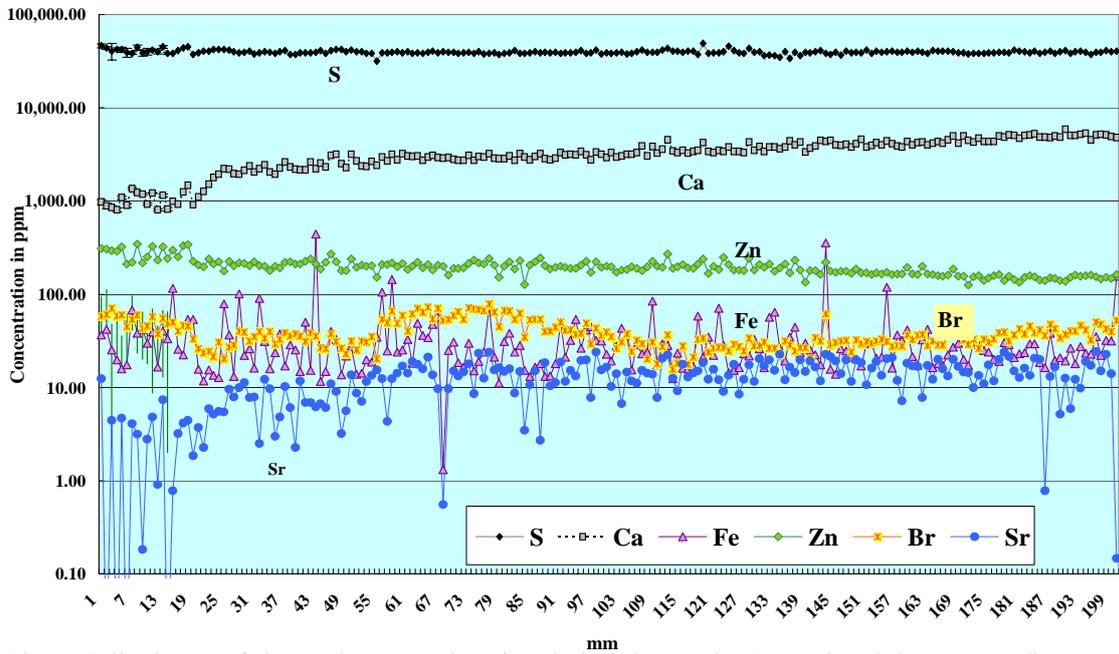


Fig. 11 Daily changes of elemental concentration of 6 principal elements in 200 mm-long hairs corresponding to nearly 600 days taken from female B.

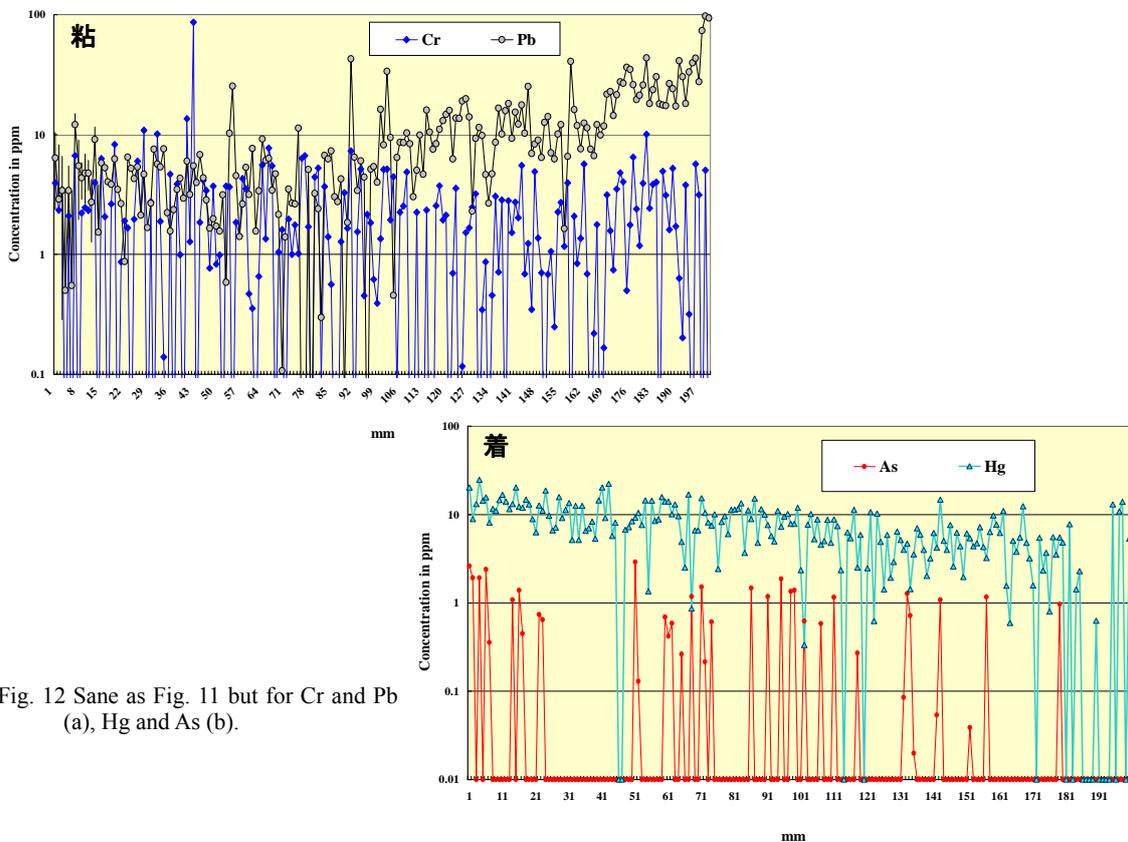


Fig. 12 Same as Fig. 11 but for Cr and Pb (a), Hg and As (b).

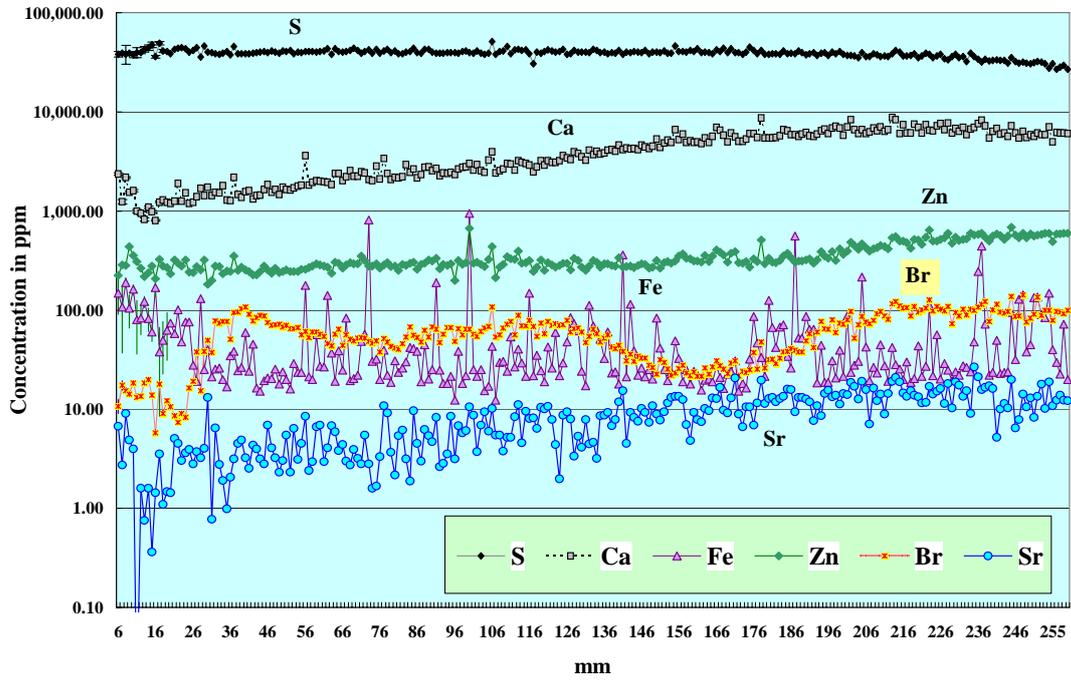


Fig. 13 Same as Fig. 11 but for 26 cm-long hair sample taken from female C.

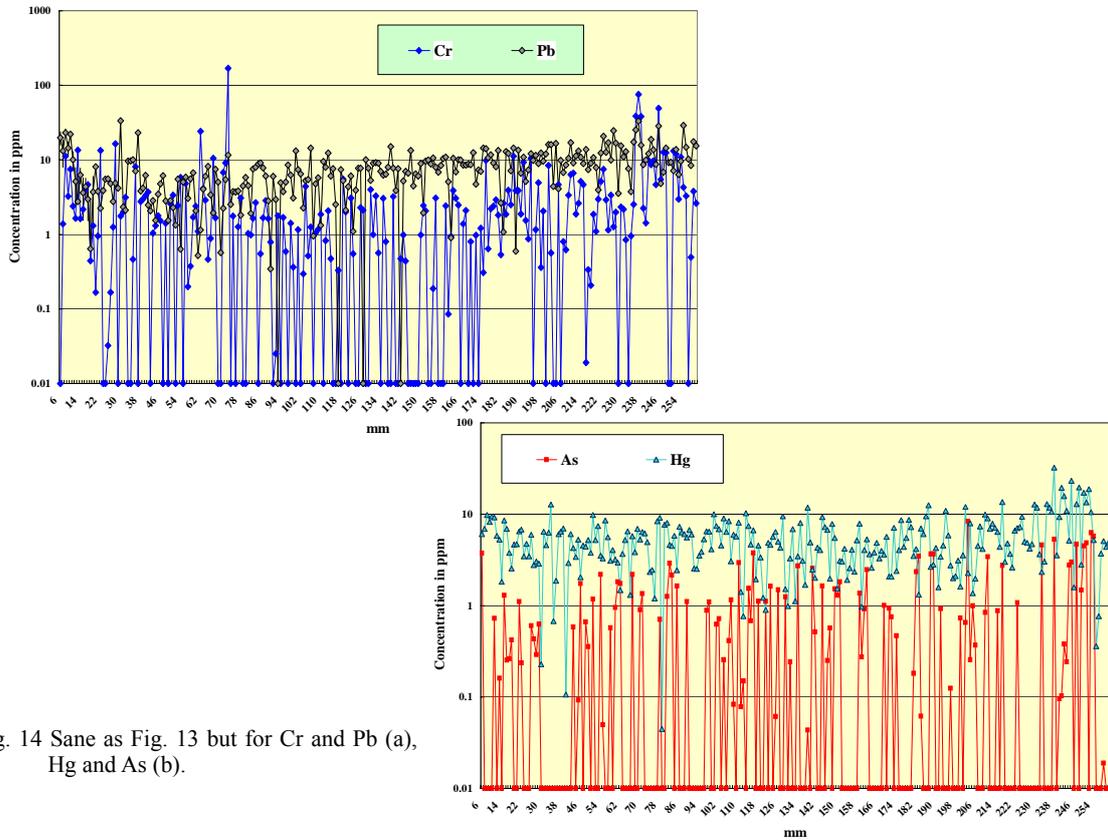


Fig. 14 Same as Fig. 13 but for Cr and Pb (a), Hg and As (b).

これらの長い毛髪の結果から、長い毛髪を1 mm ずつ寸断して無標準法により測定する本法は、毎日採取されるヒゲ試料とほぼ同等の結果を与えることが確認された。本法により、女性や子供に対しても、体内元素濃度変動を3日ほどの分解能で測定することが可能となる。ヒゲ試料ほどの短期的変動評価は難しいが、日々採取しなければ体内元素濃度変動を評価できないヒゲ試料と比べ、長い毛髪を一回採取することにより、過去に遡って数年間の体内元素濃度変動の履歴を評価できるというメリットが頭髪分析にはある。マイクロビームを用い、1本の毛髪に対し数10 µm単位でスキャンを行うことによりさらに短期的変動を測定することは可能だが、マイクロビーム PIXE の感度では、Hg、Pb、Asなどの有害元素濃度変動を測定することは難しいと思われる。本研究においては、採取する頭髪の本数を増やすことによりさらに感度の改善が期待される。

5. まとめ

前巻の報文集^{7,8)}において報告を行ったヒゲ試料定量分析法、及びそれを応用した体内元素濃度変動評価法に基づき218日間に渡り採取されたヒゲ試料の分析が行われ、体内における各元素の生物学的半減期と食物・飲料摂取を反映した各元素濃度変動の振舞いが観測された。S、Znは殆ど一定値を保ち、他の主要元素は数ヶ月単位の長期的変動を主に示すが、数日単位の速い応答も観測された。またNa、Cl、Kの三元素はほぼ同様な短期的変動を示し、これらの元素が体内では主にKCl、NaClとして存在するために濃度変化に相関があることが確認された。有害元素に関しては、Hgはその長い生物学的半減期を反映してゆっくりとした長期的変動を示し、一方ヒ素は2~3日単位の激しい上昇・下降を繰り返すことが確認された。さらにヒ素濃度の上昇は、多量の海産物摂取に明らかに対応し、摂取後約2日でヒゲ中のヒ素濃度の上昇が観測された。さらに本法は時間単位の体内元素濃度変動を可能にすることが確認され、1日の中でも多くの元素が予想以上に大きな時間的変動を示すことが判明した。この速い応答は、人体の代謝機構そのものを反映しているものと推測される。

女性・子供に対しても体内元素濃度変動の評価を行うために、長い毛髪試料を採取し1 mm ずつに分断し無標準法で定量分析を行う方法が新たに開発された。その方法は二人の女性から採取された20 cm、26 cmの毛髪試料に適用され、元素濃度の長期的・短期的変動が調べられた。その結果、ヒゲ試料同様、体内元素濃度変動の評価が十分に可能であることが示された。1日単位の変動を測定することは本法においては難しいが、約3日単位の短期的変動を評価することが可能であり、ヒ素などの速い変動をヒゲ試料と同様に観測することができた。

これらの方法は、有害元素による広域的環境汚染の問題において、人民の体内曝露の主経路を評価する上で強力なツールとなり得るものと期待される。

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。

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. 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)
5. 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)
6. Clemente, E., Sera, K., *Futatsugawa, S. and *Murao, S , "PIXE Analysis of Hair Samples from Artisanal Mining Communities in the Acupan Region, Benguet, Philippines.
Nucl. Instr. and Meth. B219-220 161-165 (2004)
7. 世良耕一郎、寺崎一典、伊藤じゅん、齋藤義弘、二ツ川章二, "微少ヒゲ試料に対する無標準法の開発-有害元素人体暴露評価の目的で-", NMCC 共同利用研究成果報文集 第13巻, 141-145 (2006)
8. 世良耕一郎、佐々木敏秋、伊藤じゅん、齋藤義弘, "微少ヒゲ試料分析による体内元素濃度経日変化の評価", NMCC 共同利用研究成果報文集 第13巻, 100-110 (2006)
9. K. Sera, J. Itoh, Y. Saitoh and S. Futatsugawa, "Daily Changes of Elemental Concentration in a Human Body over 218 Days Obtained by Quantitative Analysis of Beard Samples." Proceedings of the 6th International Conference on PIXE and its Analytical Applications, D5 1-4 (2007)
10. 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)
11. 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 (2002) 125-136
12. 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)
13. 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)
14. K. Sera and S. Futatsugawa, "Personal Computer Aided Data Handling and Analysis for PIXE."
Nucl. Instr. and Meth. B 109/110 (1996) 99-104
15. 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)

Daily changes of elemental concentration in a human body over a long period obtained by quantitative analyses of beard and hair samples

K. Sera, K. Terasaki and T. Sasaki

Cyclotron Research Center, Iwate Med. University
Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0173, Japan

S. Goto and Y. Saitoh

Nishina Memorial Cyclotron Center, Japan Radioisotope Association
348-58 Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0173, Japan

J. Itoh, S. Futatsugawa

Radioisotope section, Japan Radioisotope Association
348-58 Honkomagome, Bunkyo, Tokyo 020-0173, Japan

Abstract

Beard samples were taken from a person in the morning and at night over successive 218 days, and 543 samples were analyzed in total by means of a standard-free method developed by us and reported in the previous paper. Concentration changes with passage of time in a day were also studied. As a result, both short-term and long-term changes have been observed reflecting the changes of elemental concentration in a human body, and their correlation with the food intakes is investigated. It is found that concentrations of sodium, potassium and chlorine show the same trend both in short- and long-term changes, which indicates that they mostly exist in the chemical forms of NaCl and KCl in a human body. Difference of elemental concentration between the beard samples collected in the morning and at night is also discussed. It is found that the standard-free method for beard samples is quite useful for investigating daily changes of elemental concentration in a body.

In order to estimate daily changes of elemental concentration in a body for women and children, a new method which allows us to perform quantitative analysis of small hair samples cut into 1 mm pieces has been developed and applied to long hair samples taken from three persons. It is found that it enables us to estimate both long-and short-term changes in elemental concentration in a body in the same manner as in the case of beard analysis. These methods are expected to give us information about the pathways of human exposure to toxic elements.

Keywords : PIXE, Beard, Long Hair, Quantitative analysis, Changes in concentration, Standard-free method, Human body, Toxic element