

1.2 P I X E

PIXEによる資源と環境ガバナンス構築の支援

村尾 智¹、世良耕一郎²、ニッ川章二³

¹ 産業技術総合研究所地圏資源環境研究部門
〒305-8569 茨城県つくば市小野川 16-1

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

1 はじめに

地球環境を論ずる時、鉱山開発による影響は無視できない。ところが、1990年代後半まで、鉱業が議論の主要テーマとして取り上げられる事はほとんどなかった。その一因は、1992年開催の「環境と開発に関する国際連合会議（地球環境サミット）」が出したアジェンダ 21に鉱業関係の文言が全く入らなかった事である。

この欠陥に気づいた国際社会は、10年後に開催された「持続可能な開発に関する世界首脳会議（ヨハネスブルグ・サミット）」では、鉱業、金属、鉱物資源を議題として取り上げ、成果文書であるヨハネスブルグ実施計画でも以下のように記述した。

46. Mining, minerals and metals are important to the economic and social development of many countries. Minerals are essential for modern living.

Enhancing the contribution of mining, minerals and metals to sustainable development includes actions at all levels to:

(a) Support efforts to address the environmental, economic, health and social impacts and benefits of mining, minerals and metals throughout their life cycle, including workers' health and safety, and use a range of partnerships, furthering existing activities at the national and international levels among interested Governments, intergovernmental organizations, mining companies and workers and other stakeholders to promote transparency and accountability for sustainable mining and minerals development;

(b) Enhance the participation of stakeholders, including local and indigenous communities and women, to play an active role in minerals, metals and mining development throughout the life cycles of mining operations, including after closure for rehabilitation purposes, in accordance with national regulations and taking into account significant transboundary impacts;

(c) Foster sustainable mining practices through the provision of financial, technical and capacity-building support to developing countries and countries with economies in transition for the mining and processing of

minerals, including small scale mining, and, where possible and appropriate, improve value -added processing, upgrade scientific and technological information and reclaim and rehabilitate degraded sites.

この文章は、鉱業が人間社会にとって必要であることを再確認するとともに、環境や社会に十分配慮し地域社会や先住民を排除しない開発を求めている。これ以降、資源開発論は大きく変貌し、それまでのような政府と鉱山会社を中心とした政策（government）を支持する考えは影を潜めている。すなわち、利害関係者の意見を広く募って、参加型の開発を策定し実施する方が望ましいという考えが主流になりつつある。ここで言う利害関係者とは、ある問題に興味を持つすべての人を指す。たとえば、ある国の鉱山開発を他国の NGO が監視しているならば、その NGO は利害関係者である。

参加型の開発を議論し、推進（あるいは中止）するためには、政府や大手鉱山会社のスタッフだけでなく、地域住民にも情報を入手する手段と解析・判断する能力が必要となる。特に、環境に対する負のインパクトが懸念される場合、高度な知識や資金力がない一般市民でも、環境試料分析を依頼、その結果について相談できる場所が必要となる。本稿では、そうした場面で PIXE を用いてきた筆者の経験を、簡単に紹介したい。

2 ガバナンスとは

上で紹介したように、2000 年以降の世界は「資源開発は国際機関や政府が一方的に決める政策から脱却できるか」という命題を突きつけられていると言ってよい。しかし、国際機関や政府のみならず、地域住民や先住民など多様な利害関係者を参加させ、異なるグループの間を橋渡しして、協力関係を構築したり、政策へ収斂させる作業は容易ではない。

この問題は「ガバナンス」をキーワードとして論じられる傾向にある。ガバナンス（governance）とは、管理、支配、統治などと訳される言葉だが、資源環境論やビジネス論では、集団が自らを健全に統治することをいう。多様な主体（規模の大小や性格の公私に関わらず）が、共通の課題に取り組むさまざまな方法を取り込んだ、継続的プロセスである。条約や法令による拘束力を行使した上からの統治、つまり「ガヴァメント」、とは対照的な概念である。ただし、ガバナンスと言っても、特定の制度、あるいは一連の決まったプロトコルがあるわけではない。教科書的な手順があるわけではないので、場面ごとに、その場にふさわしい形が模索されるべきだが、アジアにおける資源開発の場面では、まだ十分に機能していないと思われる¹⁾。

3 PIXE の担う役割

アジアにおいては各国政府のガバナンスに関する取組が必ずしも顕著ではない。したがって、人的・技術的資源を持つ研究機関が、ガバナンス構築に役立つツールを積極的に提案して行く必要があると思われる。

資源開発の多くの現場では「スモールスケールマイニング（artisanal/small-scale mining）」という乱掘が合法的な採鉱と共存する。これは、発展途上国の貧困層によって行われ、環境破壊を伴う採鉱形態である²⁾。関係者が冷静な議論と意思決定をしようとするれば、科学的に正確なデータが必要となるが、スモールスケールマイニングの問題を抱えるため、資源と環境のガバナンス構築については、多種多様な環境試料の分析が必要となる。また、場合によっては周辺住民の健康リスク評価を行う必要性が生じる。

日本アイソトープ協会滝沢研究所仁科記念サイクロトロンセンター(NMCC)の PIXE は、前処理不要で迅速な定量分析方法を確立しており、国際環境協力にも数多くの実績を有する。従って、こうした複雑な状況に対応できる、極めて優秀な装置である³⁾。

4 実例

4.1 フィリピンのスモールスケールマイニング

ではここで、金のスモールスケールマイニングについて、どのようにPIXEのデータを取得し、ガヴァナンスの議論に活用したか、具体例を概観したい。

フィリピンでは各地でスモールスケールマイニングが行われている。一説には40の地域で30万人が関わっているとされており⁴⁾、少なからず地域経済の活性化に貢献している。しかし、金鉱の採掘と処理においては、ほとんどの場所で水銀や青化物を使用、しかも、その取り扱いがずさんなため、深刻な汚染を引き起こしている⁵⁾。場所によっては児童労働があり、総じて事故も多い。地元の強い要請もあり⁶⁾、この問題のためには、政府も国際機関も膨大なエネルギーと予算を費やしてきたところである⁷⁾。

同時に、先住民や地域住民が、かなり前から鉱物資源開発に関するガヴァナンス構築につながる取組を行っており、請願等を頻繁に提出してきた^{8,9)}。これを受けて、政府はミナハンバヤン（共同で採掘できる土地）と称する特別区画を策定するなど、地域社会とともに資源を管理する意向は持っている。また、今年は、スモールスケールマイニングについて、支援強化に乗り出す事を決定してはいるが、2種類ある法令 -PD1899 と RA7076- の関係が整理されていない事もあり（Jasareno, private communication）、先行きは不透明である。

4.2 精錬後の金

まず、問題なのは、精錬後に回収される金の品質が不明な事である。商品の価値を正確に評価できないため、生産者たちはブローカーから買い叩かれている。そこで、現場で入手した金粒子の測定を行った。金粒子はたたきのぼして薄いフィルム上にした上で陽子線を照射、定量を行った。

Table 1 Chemical composition of a gold bullion determined by PIXE at NMCC

Element	Concentration (ppm unless otherwise noted)	Error
Au	86.9%	2.6 %
Ag	10.9%	4.3%
Fe	3.6%	1.2%
Ni	28	21
Cu	1351	63
Ru	1257	419
Pb	2792	356
Ca	188	79

照射条件はp 2.9 MeV、ビーム電流1 nA、300 μm Mylar フィルムを吸収体として測定を行った。その結果、銀を10%程度含有することが明らかになった。また、懸念材料である水銀の含有も多量の不純物もないことが判明した（Table 1）。

4.3 尾鉱

次に、尾鉱（選鉱後の廃石）の中に、どの程度、金粒子が残留しているかについて、生産者が把握していないという問題があった。尾鉱は土嚢に袋づめされ、周辺の鉱山会社に二東三文で搬入されていた。生産者側は試金の技術を持たず、中央官庁や大学への情報のアクセスも困難な状

態で、価格交渉ができないでいた。そこで、サンプルを数点持ち帰り、分析を行った。その結果、最大 30 ppm という、先進国の金山ならば捨石どころか優良な鉱石として扱われる量の金が、残留していると判明した¹⁰⁾。この結果に基づき、筆者らは、関係者に対して、共同利用できる簡易分析センターの設立を勧告した。

4.4 精錬後の灰とタール状物質

金鉱を精錬する現場は、粗末な掘っ立て小屋に、炉や煙突など、最低限の装置を備えたものである。内部を観ると、床や炉の周辺には灰が集積、天井や壁面にはびっしりとタール状で黒色の汚れが付着している。これらには精錬作業に用いた水銀が気化して濃縮していると予想されたので、所有者の同意を得た後、試料を採取、帰国後、NMCC で硝酸灰化し、内部標準として In を 1000ppm 加えてターゲットとし、p 2.9 MeV、ビーム電流 50 nA、300 μm Mylar フィルムを吸収体とする照射・測定条件下で分析を行った。

Table 2 Trace elements determined for ash from a smelting hut, Philippines

Element	Concentration (ppm)	Error
Hg	117	7.4
As	8.2	0.9
Ag	7.4	1.5
Ti	23	1.5
Mn	413	25
Fe	986	60
Cu	12	0.8
Zn	43	2.6
Pb	117	7.4
Sr	83	5.2
Na	854	64
Mg	2531	175
Al	1263	89
Si	1570	109
P	498	36
S	591	42
Ca	8631	523

分析値からは深刻な水銀汚染が起きていると判断された。灰では 100ppm 以上、タールでは 7000ppm もの水銀が検出され (Tables 2 and 3)、加えて、砒素や鉛の濃集も明らかになった。この結果は、当事研究チームに属していたフィリピン鉱山地球科学局に直ちに伝達したが、同局は地元担当者を出向かせ、説明を行った。説明を受けた労働者たちは衝撃を受け、これ以降、精錬小屋の清掃を徹底的に行うようになった。また、児童が入らぬように、出入りの制限を始めた。水銀使用を中止する段階までには至らなかったが、作業の危険性を認識させる上では、一定の意味がある分析支援となった。

4.3 毛髪

NMCCにおいて、毛髪は最も効率よく測定できる試料の1つであり¹¹⁾、その定量方法は発展途上国の関係者から大きな期待を集めている。国際機関も注目しており、先日バンコクで行われた国連環境計画(UNEP)の会議でもNMCCのPIXEが議題の1つであった¹²⁾。

Table 3 Mercury and other elements detected in tar-like material from a smelting hut, Philippines

Element	Concentration (ppm)	Error
Hg	7,002	284
As	6.9	1.1
Ti	5.0	1.3
Mn	14	0.7
Fe	86	3.5
Ni	0.9	0.3
Zn	2,984	121
Pb	137	6.5
Fe	86	3.5
Ca	254	11

スモールスケールマイニングの現場から多く出てくるのは毛髪分析の依頼である。複雑なプロトコルを必要とせず、すぐに結果が出るNMCCの分析方法は、現場から多大な支持が寄せられている¹³⁾。フィリピンにおいても、筆者らはくり返し測定を行っているが¹⁴⁾、水銀を使用して精錬する現場では、時に深刻な結果を見ることとなった。たとえば、ルソン島北部では、女性や子供の毛髪に大量の水銀が蓄積されている例が見つかった¹⁵⁾。坑内で採掘を行う成人男性よりも、自宅厨房で水銀を用いた精錬を行う女性と、屋内にいる児童の方が、水銀に対する曝露量が多いことを明確に示したこの結果も、フィリピン鉱山地球科学局から、該当する採掘集団に伝達された。それから、しばらくの間、この集団は水銀を一切使用しなかった。

5 終わりに

発展途上国をターゲットにした環境試料の分析結果は、地元に戻元されない事がよくあり、外国人の研究者チームが締め出される理由の1つになっている。筆者らは、学会等で公表の前に、必ず地元の結果を送付しており、また、地元民との対話集会等で、できる限り説明を行うよう、心がけている。

フィリピンにおける一連の研究結果については、2度、対話集会を開催し、イトゴン市宛に報告書を送付した。市側は受理直後の2004年1月28日に、市長名による感謝状を発行している¹⁶⁾。小規模な集会の報告書であったにもかかわらず、市長のサインが入った手紙が発出された事は、このような地道な関係構築が、大変重要であると示唆している。

ガヴァナンスは、特定の指導者層だけでなく、すべての人が主体的に関わり、ルール作りを含めて課題に取り組む、言わば相互協力に基づく管理運営方式である。その構築には、科学技術へのアクセス、情報公開、そして、関係者間のきめ細かなやりとりが必要である。発展途上国の貧困層でもアクセスできるNMCCのPIXEは、これまでは情報から阻害されていた階層をも取り込んで、幅広い議論が行われる下地を作ったと言ってよいであろう。少なくとも資源と環境の分野では、国際機関や政府系機関の協力もあって、ガヴァナンス構築に一石を投じている。さらな

る発展を期待したい。

謝辞

本稿で紹介した研究の一部には、環境省の地球環境研究総合推進費および日本学術振興会の科学研究費補助金を用いた。フィリピン共和国 環境天然資源省 鉱山地球科学局のハサレノ局長には 同国のスモールスケールマイニングについて 最新の情報をいただいた。篤く御礼申し上げる。

参考文献

1. 村尾 智, “変貌する世界の鉱業界とアジアの課題—モンゴルの事例を含めて—”, 産業技術総合研究所—大東文化大学合同研究報告会「市場経済移行国の資源開発をめぐるガバナンス」, 2012.1.5, 産業技術総合研究所 臨海副都心センター (2012)
2. 村尾 智, “スモールスケールマイニング”, *地球科学* 54, 348-349 (2000)
3. 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* 2, No.3, 325-330 (1992)
4. BusinessMirror, “DENR pushes rationalization for small-scale miners”, Jan. 20 (2012)
5. T. J. Corpus, C. P. David, S. Murao, V. Maglambayan, “Small-scale Gold Mining in the Ambalanga Catchment, Philippines: Its Control on Mercury Methylation in Stream Sediments”, *Int'l Journal of Env. Sci.*, 2, No. 2 1048-1059 (2011)
6. たとえば、バルバラン市より鉱山地球科学局 CAR 支局長あて要請書。Republic of the Philippines, Province of Kalinga, Municipality of Balbalan, Office of the Municipal Social Welfare & Development, August 31 (1999)
7. 村尾 智, “スモールスケールマイニングに対する国際的取組み -ILO の事例-”, *地質汚染-医療地質-社会地質学会誌* 5, 41-45 (2009)
8. E. J. Caballero, “Position Paper For Senate Bills 1200 and 560”, Philippine Social Science Center, Submitted to the Governor of the Province of Benguet, Oct. 16 (1996)
9. Republic of the Philippines House of Representatives, Fifteenth Congress First Regular Session, House Bill 4315, “An Act Re-opening The Philippine Mining Industry, Ensuring The Highest Industry Development Standards, And For Other Purposes”.
10. S. Murao, S. Futatsugawa, K. Sera and V. B. Maglambayan, “Trace Element Analysis of Tailings from an Indigenous Mining Community, Benguet, Philippines”, *Int'l Journal of PIXE* 12, No.1 & 2, 61-69 (2002)
11. K. Sera, S. Futatsugawa and S. Murao, “Quantitative Analysis of Untreated Hair Samples for Monitoring Human Exposure to Heavy Metals.”, *Nucl. Instr. and Meth.* B 189, 174-179 (2002)
12. UNEP, “UNEP-GREEN/AIST Workshop for Responsible Production and Industrial Risk Management”, March 24-25, Bangkok (2011)
13. CCOP, “CASM-Asia Workshop on State-of-the-Art of Science and Technology to Protect the Environment and People”, Nov. 27-29, Bandung, Indonesia (2006) Retrieved Feb. 2, 2012. from http://casm-asia.ccop.or.th/activities_detail.php?activity_id=13.
14. E. Clemente, K. Sera, S. Futatsugawa and S. Murao, “PIXE Analysis of Hair Samples from Artisanal Mining Communities in the Acupan Region, Benguet” Philippines.”, *Nucl. Instr. Meth.*, B219-220, 161-165 (2004)
15. S. Murao, E. Daisa, K. Sera, V. Maglambayan and S. Futatsugawa, “ PIXE Measurement of Human Hairs from a Small-scale Mining Site of the Philippines.”, *Nucl. Instr. Meth.* B189, 168-173 (2002)
16. Republic of the Philippines, Province of Benguet, Itogon Office of the Municipal Mayor, Jan. 28 (2004)

PIXE at the forefront of the governance promotion in mining and the environment

S. Murao¹, K. Sera² and S. Futatsugawa³

¹National Institute of Advanced Industrial Science and Technology,
16-1 Onogawa, Tsukuba 305-8569, Japan

²Cyclotron Research Center, Iwate Medical University
Takizawa, Iwategun, Iwate 020-0173, Japan

³Japan Radioisotope Association
Honkomagome, Bunkyo, Tokyo 113-8941, Japan

Abstract

Scientific instruments can help increase transparency, strengthen legitimacy, and foster broader public interest through the provision of reliable data and information. PIXE at Nishina Memorial Cyclotron Center (NMCC) presents a success story on the management and governance in terms of mining and the environment in that (1) it is a robust and versatile tool to quickly and precisely determine toxic elements in different types of environmental specimens; and (2) the obtained result can base good discussion and spur cooperation among stakeholders.

Keywords : Artisanal/small-scale mining, Governance, PIXE, Philippines

日本周辺海域におけるキンメダイ耳石中微量元素のPIXE分析

堀井善弘¹、櫻井四郎²、久坂夕貴²、世良耕一郎³、後藤祥子⁴、高橋千衣子⁴

¹東京都島しょ農林水産総合センター
100-1511 東京都八丈島八丈町三根 4222

²大妻女子大学社会情報学部環境情報学専攻
206-8540 東京都多摩市唐木田 2-7-1

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

本研究はキンメダイの耳石を種類、産地で分類して、微量元素分析を行い、それぞれの差から回遊経路の可能性について検討するものである。キンメダイ属にはキンメダイ *Beryx splendens*, ナンヨウキンメ *Beryx decadactylus*, フウセンキンメ *Beryx mollis* の3種が知られており、日本周辺海域ではこの3種すべてが生息している。これらのキンメダイ属魚類は、すべて水深 200~800m 前後の深海に生息している¹⁻²⁾。そのうち、キンメダイは漁獲高も多く、水産上重要な魚種であり、ナンヨウキンメとフウセンキンメの漁は少ないが、各地域で利用されている種である。

日本周辺における漁業海域は、八丈島周辺を含む伊豆諸島海域、四国沖、鹿児島から沖縄にかけての薩南海域と限られ、それぞれ 1,000km 以上離れている。しかし、漁場間での移動などその回遊履歴はほとんど解明されていない。

一般的に、硬骨魚類の回遊履歴を推定するためには、生息している海洋環境の微量元素を炭酸カルシウムのアラゴナイト結晶内に取り込み生涯にわたって蓄積依存される性質がある耳石における微量元素の分析が、有効的であると考えられる³⁻⁴⁾。

中でも耳石中のストロンチウム (Sr) は含有濃度が高く、環境水中の Sr 濃度、塩分、水温などの変化に応じてその濃度が変化する⁴⁾ことから、多くの魚類の生活履歴や回遊履歴の研究で分析対象とされており、この耳石解析は、生活史の中で淡水域と海水域を行き来する通し回遊魚と、キンメダイのような一生涯を海洋で過ごす回遊魚も、Sr:Ca 比が顕著に変化することから有効であり、水温が耳石中の Sr:Ca 比に反映していることから、成長に伴い、生息水深帯を徐々に深めていくという研究はなされてきた⁵⁻⁶⁾が、まだ不十分である。

そこで、本研究では硬骨魚類の耳石が生息環境の微量元素を取り組む特性に着目し、キンメダイとフウセンキンメの耳石を取り出し、耳石中の元素を高感度に検出できる PIXE 法により微量元素

組成を把握し、出現する微量元素の産地別での差異を検討し、回遊経路の解明などの生態学的知見について検討することを目的とする。

2 測定方法

2.1 前処理

耳石試料は 2008～2009 年に八丈島周辺海域で漁獲されたキンメダイ 12 個体、青ヶ島海域で漁獲された 5 個体、沖ノ鳥島海域で漁獲された 10 個体の合計 27 個体である（図 1）。キンメダイの耳石は、魚体測定後直ちに取出し、蒸留水中で超音波洗浄 30 分 3 回実施し、恒温乾燥機により 40℃で 24 時間以上乾燥させたものを分析用試料とした。

2.2 試料調製

キンメダイ 26 個体分の耳石サンプルの定量分析を、仁科記念サイクロトロンセンターで PIXE 法にて行った。サンプルは粉末状にし、内部標準法と化学灰化法の両方法によって分析した^{7,8,9)}。内部標準法は、全てのサンプルを均一にして、ハロゲン分析のために使用した。この方法は、サンプルを液体窒素で乳鉢内において微粉末にし、均一化したものを 105℃で 15 時間乾燥させ、さらに均一化する。この場合パラジウムカーボン粉末を内部標準値として使用。最後に約 1mg の細か

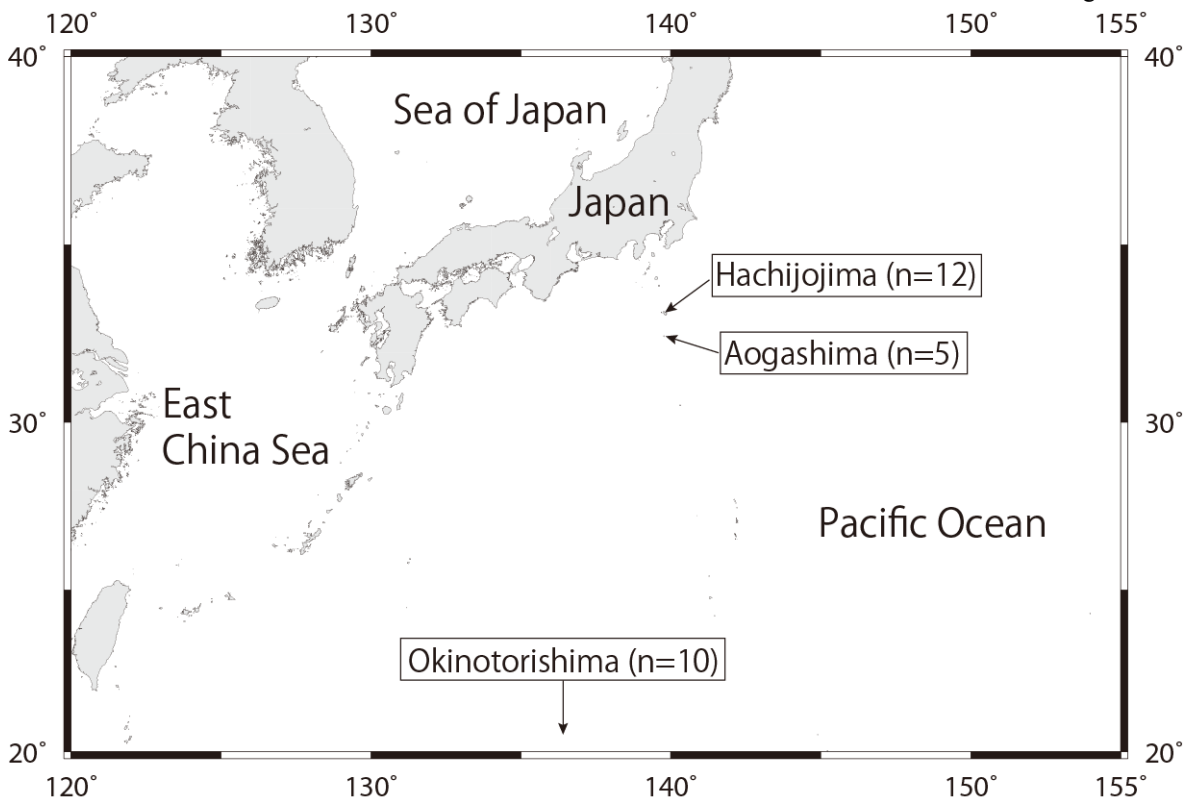


図 1 キンメダイ採集地点と耳石採集数

い粉末をバッキングフィルムの上に置き、希釈したコロジオンで接着させて分析した。一方、化学灰化法では、サンプルは均一にした後に硝酸と共に圧力容器に入れ、乾燥して重量を計測した。その後マイクロウェーブで灰化し、3分間加熱し完全に溶解。最後にサンプルの約5 μ Lをバッキングフィルムの上に垂らしてから乾燥させた。フッ素を含むハロゲンの大部分は、化学灰化の過程で消失するので、化学灰化する前に少量のサンプルを処理した。

2.3 γ 線スペクトロメトリー

γ 線スペクトロメトリーは世良らが開発した方法にて行った^{10,11)}。

3 結果

今回の分析で、耳石の基質であるカルシウム Ca のほかに、ナトリウム Na、マグネシウム Mg、アルミニウム Al、ケイ素 Si、硫黄 S、塩素 Cl、カリウム K、チタン Ti、バナジウム V、クロム Cr、鉄 Fe、コバルト Co、ニッケル Ni、銅 Cu、亜鉛 Zn、セレン Se、臭素 Br、ルビジウム Rb、ストロンチウム Sr、鉛 Pb 以上 21 種類の元素が検出された。この中で 5 個体以上の個体以上で検出された

表 1.1 キンメダイ耳石に含まれる主要元素の質量濃度 ($\mu\text{g/g}$)

	全検体 (n = 27)				八丈島周辺海域 (n = 12)			
	検出数	最小	平均	最大	検出数	最小	平均	最大
Na	27	343.64	715.01	1593.86	12	540.59	853.79	1593.86
Mg	12	51.11	126.97	202.22	5	91.70	141.84	189.58
Al	5	36.77	123.92	343.64	1	-	36.77	-
Si	27	171.52	386.64	726.32	12	171.52	418.63	726.32
Cl	6	17.01	78.91	129.65	3	61.38	95.94	129.65
Ca	27	277800.00	381618.52	462400.00	12	306600.00	392558.33	441200.00
Fe	13	2.36	14.92	76.34	6	4.45	25.08	76.34
Cu	5	3.12	4.46	6.27	4	4.00	4.80	6.27
Zn	26	2.76	11.44	76.91	12	3.76	15.92	76.91
Sr	27	1336.94	1773.03	2448.08	12	1403.60	1800.10	2046.51

表 1.2 キンメダイ耳石に含まれる主要元素の質量濃度 ($\mu\text{g/g}$)

	青ヶ島周辺海域 (n = 5)				沖ノ鳥島周辺海域 (n = 10)			
	検出数	最小	平均	最大	検出数	最小	平均	最大
Na	5	489.95	618.14	743.26	10	343.64	596.90	1298.41
Mg	1	-	139.54	-	6	51.11	112.47	202.22
Al	1	-	114.78	-	3	45.22	156.02	343.64
Si	5	310.60	384.71	462.16	10	194.87	349.22	637.36
Cl	2	70.47	84.30	98.12	1	17.01	17.01	17.01
Ca	5	319500.00	361520.00	424900.00	10	277800.00	378540.00	462400.00
Fe	2	4.96	8.50	12.04	5	2.36	5.30	7.09
Cu	1	-	3.12	-	0	-	-	-
Zn	4	5.01	11.47	20.47	10	2.76	6.06	11.74
Sr	5	1617.62	1913.18	2448.08	10	1336.94	1670.48	2010.08

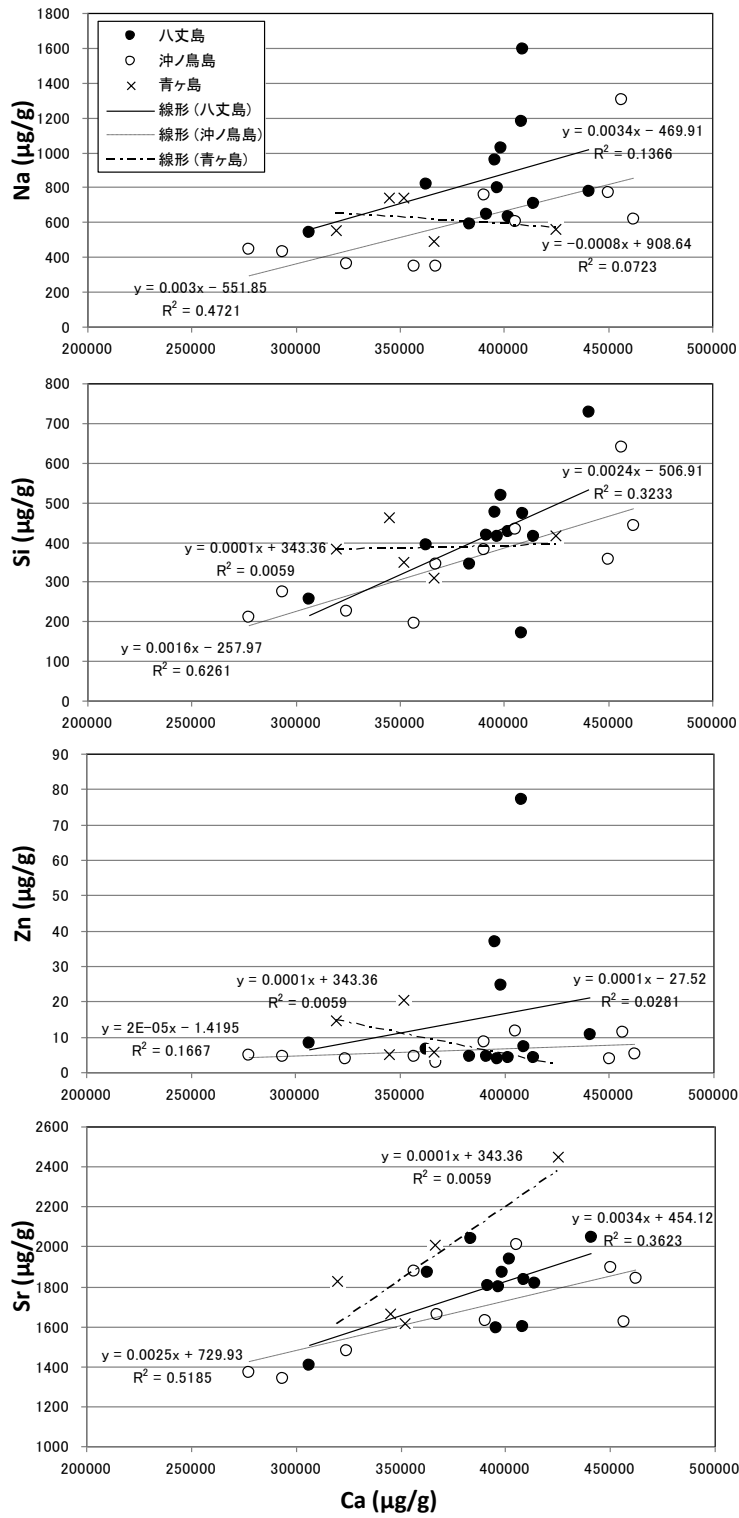


図2 キンメダイ耳石中のCa濃度とNa濃度、Si濃度、Zn濃度、Sr濃度の相関関係

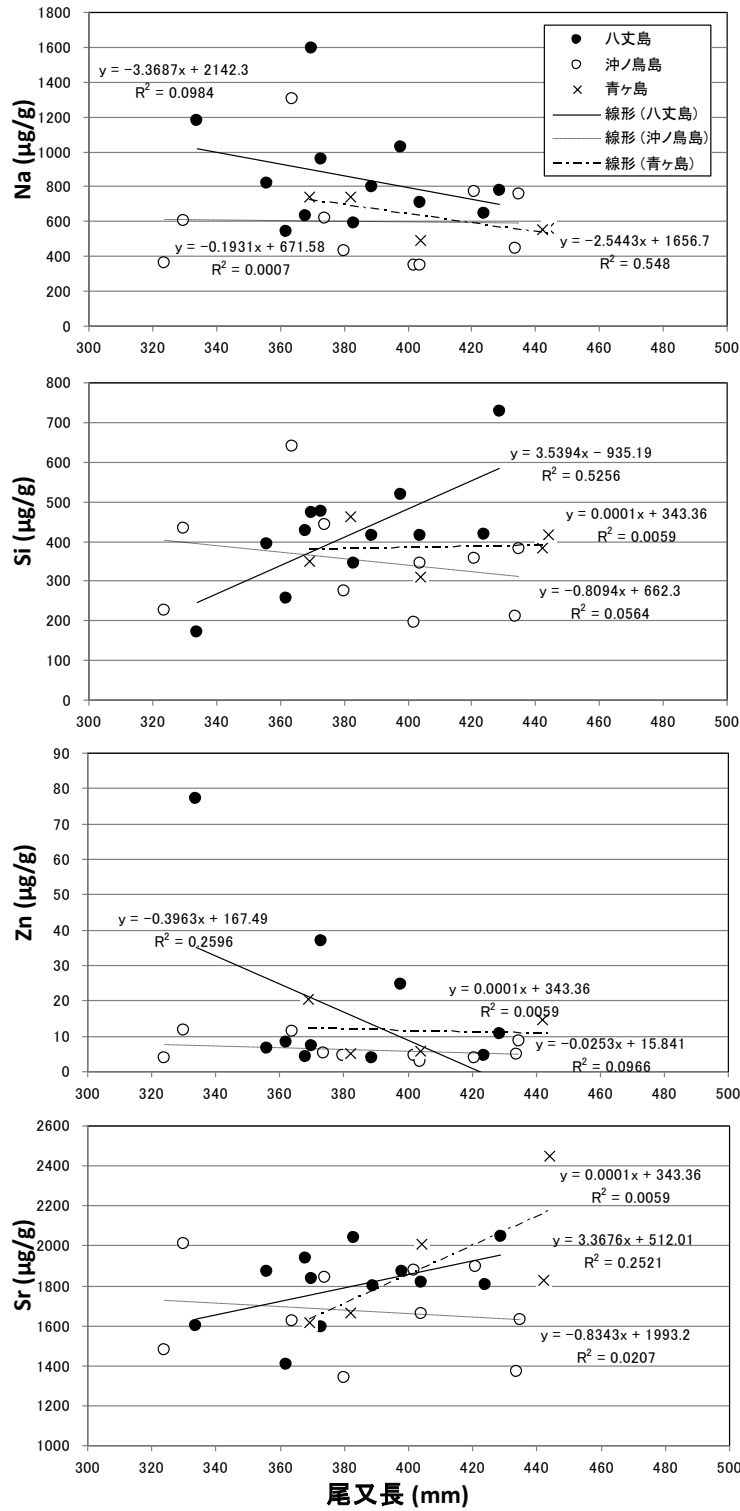


図3 キンメダイ尾又長と Na 濃度、Si 濃度、Zn 濃度、Sr 濃度の相関関係

元素は、Na、Mg、Al、Si、Cl、Ca、Fe、Cu、Zn、Sr の以上 10 元素であり、その質量濃度を表 1 に示した。Na、Si、Zn、Sr は各海域ともに、ほぼ全個体で検出された。また、Cu は、八丈島海域産、青ヶ島海域産では検出されたが、沖ノ鳥島海域産では検出されなかった。一方で Al は、沖ノ鳥島産での検出が多く、八丈島海域産、青ヶ島海域産では検出数が少なかった。

次に、耳石の基質となる Ca 濃度と Na 濃度、Si 濃度、Zn 濃度、Sr 濃度との相関関係を図 2 に示した。Ca と Na の関係では、八丈島海域産で若干高い傾向があるが、海域ごとの相関はあまり認められなかった。Ca と Si の関係では、海域間の違いはなく、海域ごとの相関は沖ノ鳥島海域産で高く、次いで八丈島海域産で高かった。Ca と Zn の関係では、八丈島産で 3 個体高いものがあるが、各海域ともに概ね 20 $\mu\text{g/g}$ 以下の範囲にあり、海域ごとの相関はあまり見られなかった。Ca と Sr の関係では、海域間での違いは認められなかったが、八丈島海域産、沖ノ鳥島海域産で相関が高い結果となった。

また、八丈島海域産キンメダイの尾又長と耳石中の Na 濃度、Si 濃度、Zn 濃度、Sr 濃度の相関関係を図 3 に示した。Na 濃度は、八丈島海域産で高い傾向にあり、尾又長が大きい個体ほど Na 濃度が減少する傾向が確認されたが、海域ごとの相関は青ヶ島を除いて低い結果となった。Si 濃度では、青ヶ島海域産、沖ノ鳥島産では相関が認められなかったが、八丈島海域産では尾又長が大きい個体ほど Si 濃度が高くなり、 $r^2=0.5256$ と決定係数の高い正の相関が認められた。Zn 濃度では、八丈島海域産 3 個体で Zn 濃度が高いが、それ以外では海域間での差は認められず、海域ごとの相関も低い傾向にあった。Sr 濃度は、海域間での差は認められなかったが、海域ごとの相関は、八丈島海域産で $r^2=0.2521$ のやや高い正の相関が認められた。

4 考 察

日本周辺海域でのキンメダイ耳石による PIXE 分析の結果、21 元素が確認され、そのうち Na、Mg、Al、Si、S、Cl、Ca、Fe、Cu、Zn、Sr の 10 元素が多く個体で確認され、さらに、Na、Si、Zn、Sr はほぼ全個体で検出された。海洋中の元素分布には一定型、減少型、栄養塩型、増加型があり、Na、Sr は一定型、Zn、Si は植物プランクトンの光合成活動により利用されるために栄養塩型に属している¹²⁾。本研究では、八丈島海域産キンメダイの耳石中 Si 濃度が尾又長の大きい個体ほど高くなる結果が得られた。Si は珪藻の殻形成のために水深約 200m までの有光層では珪藻類に吸収されるが、有光層以深では急激に増加することが知られている。また、南太平洋ニューカレドニア海域では、海山域での漁獲調査により大型個体が深所に分布する傾向があり、成長に伴いキンメダイが深所に移動することが推定されている¹³⁾。よって、海洋中の Si の分布とキンメダイ耳石中の Si 濃度と尾又長の関係から、八丈島海域のキンメダイも成長に伴い深所に移動する可能性が示唆された。

また、各海域とも Sr 濃度と Ca 濃度との間に正の相関が得られた。魚類耳石中の Sr/Ca 比と生息域の塩分環境についての研究が多く行われており^{3,4,14)}、海水中の塩分が高くなるほど Sr 濃度も高くなることから、生息域の塩分と Sr/Ca 比に正の相関があることが知られている。本研究では、分析例の少ない青ヶ島海域産を除き、八丈島海域産と沖ノ鳥島海域産の Sr 濃度と Ca 濃度の相関係数の傾きに明瞭な差はないことから、八丈島海域と沖ノ鳥島海域のキンメダイの生息域における塩分環境はほぼ同じであることが示唆された。耳石の主成分であるアラゴナイトは、無機実験によりアラゴナイトへの Sr 分配係数と温度との関係式が求められており、その分配係数は温度に対して負相関になることが得られている¹⁵⁻¹⁶⁾。このことから、八丈島海域産と沖ノ鳥島海域産のキンメダイの生息域の温度環境も大きな違いはないと考えられるが、耳石中 Si 濃度と併せて今後さらなる検討が必要である。

さらに、今後の課題として、キンメダイの生態を解明するためにできるだけ多くの漁場からサンプルを入手し、分析することで、系群解析への応用を図るとともに、耳石部位ごとの微量元素を把握することで分布や回遊履歴について解明していく必要がある。

5 まとめ

日本周辺海域（八丈島海域産、青ヶ島海域産、沖ノ鳥島海域産）のキンメダイ耳石から 21 元素が PIXE 分析により検出され、Na、Si、Zn、Sr が全検体で検出された。八丈島海域産キンメダイ耳石の Si 濃度はキンメダイの尾又長と正の相関が認められ、個体の成長により生息域をより水深の深いところへ移動する可能性が示唆された。また、八丈島海域産と沖ノ鳥島海域産での Sr/Ca 比に明瞭な差がなく、生息域の塩分環境は大きな違いがないことが示唆された。

謝 辞

本研究を進めるにあたり、東京都島しょ農林水産総合センター八丈事業所の工藤真弘事業所長を始め職員の皆様に多大なるご協力を頂いた。また、沖ノ鳥島海域産サンプルの収集に際し、同センター大島事業所滝沢健二研究員に便宜を図っていただいた。記して謝意を表します。

参考文献

- 1) S. Busakhin, Systematics and distribution of the family Berycidae (Osteichthyes) in the world ocean, *J. Ichthyol.*, 22, 1-21 (1982).
- 2) A. Kotlyar, Age and growth of alfoncino, *Beryx splendns*, *J. Ichthyol.*, 27, 104-111 (1987).
- 3) S. Campana, Chemistry and composition of fish otoliths: pathways, mechanisms and applications, *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 188, 263-279 (1999).
- 4) 新井崇臣 (2002) : 魚類の回遊履歴 : 解析手法の現状と課題, 魚類学雑誌, 49, 1-23.
- 5) R. Radtke, D. Townsend, S. Folsom and M. Morrison, Strontium: calcium ratios in larval herring otoliths as indicators of Environmental histories, *Env. Biol. Fish.*, 27, 51-61 (1990).
- 6) 秋元清治・小竹朱・新井崇臣 (2010) : 耳石 Sr:Ca 比から推定するキンメダイの生息水深と生活史. 神奈川県水産技術センター : <http://www.agri-kanagawa.jp/suisoken/Sakana/Misc/Kinmedai/>
- 7) K. Sera and S. Futatsugawa, "Quantitative Analysis of Powdered Samples Composed of High-Z Elements" *Int'l Journal of PIXE*, Vol. 8, No. 2, 3 185-202 (1998).
- 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, pp. 27-39 (2005).
- 9) Futatsugawa, S., Hatakeyama, S., Saitou, Y. and Sera, K. "Present Status of NMCC and Sample Preparation Method of Bio-Samples." *Int'l Journal of PIXE* Vol. 3- 4, 319-328 (1993)
- 10) 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).
- 11) 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).
- 12) Y. Nozaki, Elemental distribution overview. In *Encyclopedia of Ocean Sciences*, Vol. 2, J. Steele, S. Thorpe and K. K. Turekian, eds., p. 840, Academic Press, London, (2001).
- 13) P. Lehodey, P. Marchal, R. Grandperrin, Modelling the distribution of alfoncino, *Beryx splendens*, over the seamounts of New Caledonia, *Fishery Bulletin*, Vol. 92, p. 748-759 (1994)
- 14) R. Kimura, Y. Ozeki and H. Kubota, Up-estuary dispersal of young-of-the-year bay anchovy *Anchoa mitchilli* in the Chesapeake Bay: inferences from microprobe analysis of strontium in otoliths. *Marine Ecology Progress Series*, Vol. 208, 217-227, (2000)

- 15) D. Kinsman and H. Holland, The coprecipitation of cations with CaCO_3 IV. The coprecipitation of Sr^{2+} with aragonite between 16 and 96°C. *Geochemi. Cosmochim. Acta*, Vol. 33, 1-17 (1969).
- 16) M. Dietzel, N. Gussone and A. Eisenhouer, Co-precipitation of Sr^{2+} and Ba^{2+} with aragonite by membrane diffusion of CO_2 between 10 and 50°C, *Chem. Geol.* Vol. 203, 139-151 (2004).

**PIXE analysis of trace elements in otoliths of the alfonsino,
Beryx splendens, in waters of Japan**

Y. Horii¹, S. Sakurai², Y. Kusaka², K. Sera³, S. Goto⁴ and C. Takahahi⁴

¹Hachijo Branch, Tokyo Metropolitan Center for Agriculture,
Forestry and Fisheries on Izu islands
4222 Mitsune, Hachijojima, Tokyo 100-1511, Japan

²Department of Environment Science, School of Information Studies, Otsuma Women's University
2-7-1 Karakida, Tama, Tokyo 206-8540, Japan

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

⁴Takizawa Institute, Japan Radioisotope Association
348-1 Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0173, Japan

Abstract

This study suggests the behavior ecological study as migration of alfonsino, *Beryx splendens*, by analysis of trace elements in otolith of alfonsino by PIXE method. 21 Elements were detected in otoliths of alfonsino, 4 Elements were detected from all sample. There were positive correlation between the concentration of Si in otolith and the body length in waters of Hachijojima. This result suggests that habitat areas of alfonsino has moved into deeper waters as alfonsino ages. Sr/Ca ratios of otoliths were not difference between Hachijo area and Okinotorishima. This result suggests that alfonsino have inhabited similar environments of salinity in waters of Hachijojima and Okinotorishima.

大気 PIXE による生きた植物試料に対する無標準定量分析法の開発

世良耕一郎¹、後藤祥子²、高橋千衣子²、齋藤義弘²

¹ 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

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留が森 348-58

1 はじめに

我々はこの15年、アジア諸国における有害元素による広域的汚染問題の調査研究に加わってきた¹⁻⁴⁾。前年に報告を行ったように、Bangladeshにおいては農業用水の多くがヒ素により汚染されており⁵⁾、その状況は多くの東・東南アジア諸国において同様なものと推測される。現在食の安全を保つため、バンコクのFAO(国連農業食料機構)など複数の機関により、農作物の可食部中の有害元素濃度を軽減するための技術開発が行われており、農耕法の改善や品種改良などが試みられている。それらの研究において、農作物中の特定元素の輸送機構を直接観測することは強力な手段となり得るが、現在のところそれを実行する方法はない。

本研究においては、無標準法⁶⁾を基礎とし生きた植物に対する定量分析法の開発が試みられる。生きたまま・正常な代謝を維持しながらの定量分析は、大気PIXEにおける無標準法以外には難しいものと考えられる。大気PIXEに対する無標準法は、既に毛髪試料⁷⁾・オイル試料⁸⁾・油脂食品試料⁹⁾などに対して開発が行われ、実試料の測定にも応用されている。無標準法の基礎となる連続X線は大気PIXEの場合空気からも発生するが、その成分の差し引きはAr-K X線の収量で規格化しblankスペクトルを差し引くことにより正確に行うことができる^{7,8)}。

しかし生きた植物試料の定量分析法においては、他のいくつかの要因が考慮されなければならない。測定のために陽子線による照射が行われるが、その間植物が正常な代謝を継続しているかどうかの確認が必要である。当然ビーム照射に伴うダメージが予想されるが、照射部の水分が一定に保たれていればそれは正常な代謝維持の一つの目安となる。照射ダメージにより照射部における水分が枯渇していけば、無標準法の基礎となる連続X線の収量に影響が出、定量分析の基礎が崩れることになる。そのためには、主に水分から発生する連続X線収量を連続モニターする必要がある。またビーム電流は、植物細胞に破壊的影響を与えない程度に調整しなければならない。正常な代謝・生命活動が維持できているか否かの判断のためには、水分以外にも生命活動に必要なカリウムなどの主元素の動向を観察することも必要となる。

本研究の目的は以下に要約される。① 大気PIXEにおいて、無標準法を基礎に生きた植物に対する定量分析法を確立する。② 生命活動・正常な代謝を維持しながら測定を行うための、照射・測定条件を確立する。③ 各元素濃度の照射開始からの時間変化がどの程度の精度・時間分

解能で観測可能か見極める。④ 特定元素濃度に時間変化が観測された場合、その意味に関する考察を行う。

2 実験方法

2.1 生きた植物の採取と照射条件

いずれも NMCC・滝沢研究所敷地内に生育していた4種類の野草(クローバー:*Trifolium repense*、オオバコ:*Plantago asiatica*、チドメグサ:*Hydrocotyle sibthorpioides*、西洋タンポポ:*Taraxacum officinale*)が、周辺の土ごと根を傷つけずに採取された。それらには一定期間充分に水を与え、安定した生育状況が保たれていることを確認したのち実験に供された。生きた植物との対比のため、摘んだ葉も採取された。さらに、元素がより動きやすいと期待される水栽培の状況下で観測を行うため、ポトス (pothos : *Epipremnum aureum*) の茎を7~8枚の葉がついたまま切り取り、十分に長い根が生えるまで数週間栽培したものも実験に供された。

最終的な目的である農作物への応用の可能性を確認するため、4種の野菜の葉(野沢菜:*Brassica rapa*、ツルムラサキ:*Basella abba*、ホウレンソウ:*Spicacia oleracea*、セリ:*Oeranyhe javanica*)が測定に用いられた。これらに関しては、根付きのセリ以外は摘んだ葉に対し測定が行われた。

Fig. 1の写真は、水栽培のポトス試料に対する照射条件を示す。照射される葉は、照射箇所が動かないように試料支持台上に固定され、根付のものに対しては根を水あるいは土中に保ち、水分が根から十分に供給される条件下で照射が行われた。ビームの照射角度・X線の測定角度はいずれも上方45度である。測定は2~4分毎に行われ、900~6500分の間の元素濃度変化が観測された。短時間毎の測定の意味は、元素濃度の速い変化を観測するためと、常に水分が一定に保たれ正常な代謝が行われていることを随時確認するためである。

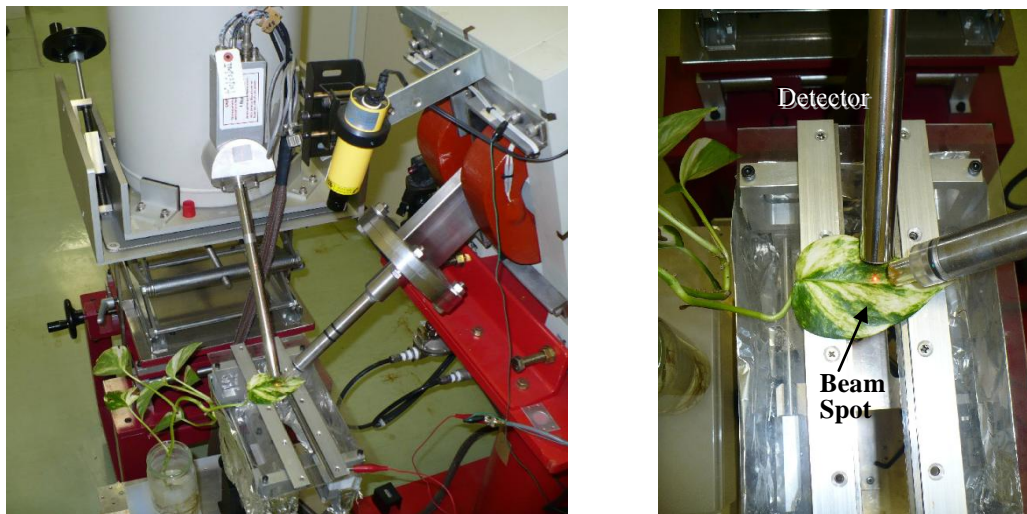


Fig. 1 Photographs showing irradiating conditions of living plants in in-air PIXE

2.2 ビーム及び測定条件

島津製作所小型サイクロトロンより引き出された2.9 MeVの陽子ビームは、2組の三連Q magnet, steering magnetなどで調整され、真空散乱槽に導入される。ビームはさらにbending magnetにより45度下方に偏向され、5 mmφのgraphite collimatorにより成形され7.5 μm Kapton (Polyimide) foilを通して大気中に導出される。Kapton foilと空気によるenergy lossのため、試料表面におけるビームエネルギーは2.45 MeVとなる。大気PIXEにおけるビーム電流は最大3.5 nAであるが、本研究においては、ビームによる植物細胞の損傷を抑えるため、常に2 nA以下に保たれた。ビ

ーム電流の安定度は、空気から発生する Ar-K α X 線の収量により常時確認された。真空・大気 PIXE 測定システムを含むビームコースの layout は、参考文献 10 の図 1、2 に示されている。

発生した X 線は、Si(Li) (PGT LS10138HT; resolution = 137 eV at 5.98 keV) 検出器により測定される。本研究においては、X 線の吸収など不確定要素の多い塩素以下の軽元素の測定は行わず、常に 300 μ m Mylar film が X 線吸収体として用いられた。試料から検出器窓までの距離は 1 cm に固定された。Fig. 2 に典型的な葉試料(タンポポ)の大気 PIXE スペクトルを示す。Blank spectrum は、他の照射・測定条件を固定し試料を取り除いて得られたものである。図にみられるように多くの元素からの特性 X 線が観測され、空気から発生する Ar の X 線の寄与は比較的少ない。

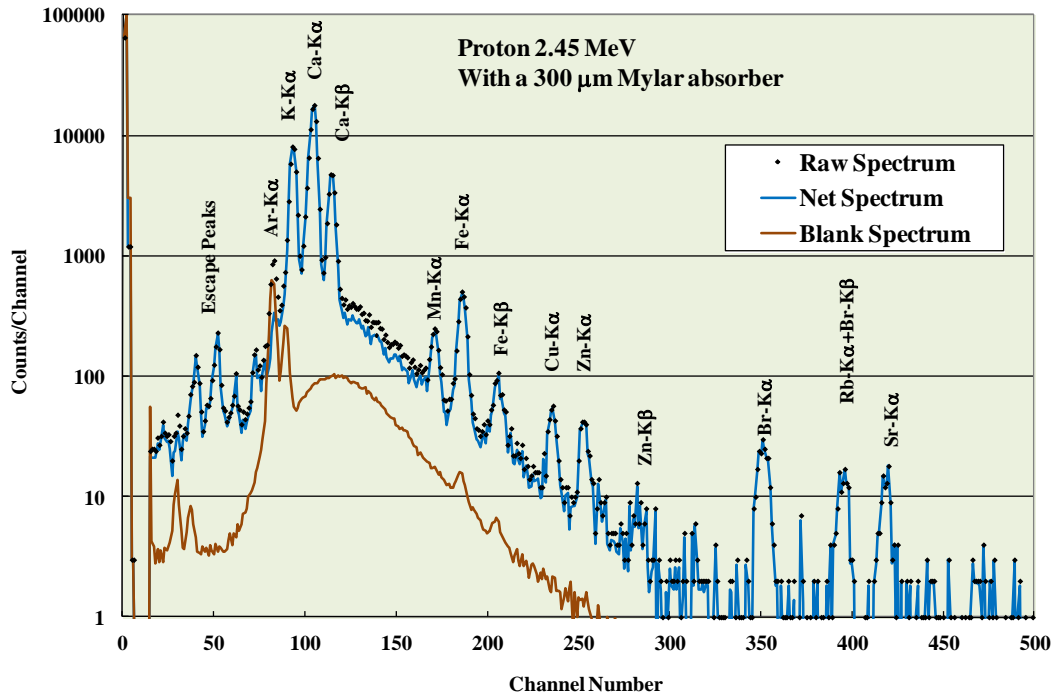


Fig. 2 Typical in-air spectrum of a living plant (dandelion) obtained with a 300 μ m Mylar absorber (indicated as a raw spectrum). Result for blank-spectrum subtraction is also shown in the spectrum.

2.3 生きた植物試料に対する無標準法

本法は数種の野草の葉を使い、指標元素としては植物中に安定して存在する K (potassium) が選ばれ開発された。真空 PIXE における無標準法と異なる点は、大気中の場合連続 X 線が試料のみならず空気からも発生する点である。無標準法は試料から発生する連続 X 線収量を用いるため、空気から発生する成分の差引が行われなければならない。Fig. 2 には大気 PIXE における無標準法の手順も示されている。図に示される blank spectrum 中の空気から発生する Ar-K α X 線と連続 X 線収量は、共にビーム電流に比例していると考えられるため、試料以外から発生する連続 X 線の差引は Ar-K α X 線収量により規格化を行うことにより正確に行えるものと期待される。図中には、空気からの X 線が差引かれた後の Net spectrum も示されているが、この spectrum 中の連続 X 線は、試料のみから発生したものと考えるが良い。

続く Fig. 3 には、4.5~5.5 keV の連続 X 線収量で規格化された上記 4 種の野草の葉のスペクトルが示されている。この図から、連続 X 線のエネルギー分布は試料の種類に依らずほぼ一定であることが確認できる。このことにより、この領域における連続 X 線収量に対する指標元素 K の X 線収量の比 R_S を取ることにより、真空 PIXE と同様な無標準法が適用可能であることが分かる。Fig. 4 には採用される連続 X 線領域が示されており、4 種の試料に対する R_S の値が求めら

れる。一方、試料中の K 濃度は内部標準法により求められる。大気 PIXE で照射を行った葉試料の照射野を含む直径 1 cm ほどの葉の部分の葉の部分が切り取られ、硝酸灰化法¹¹⁾により試料調製が行われ、内部標準としては 5000 ppm の In が添加された。通常の植物試料に対しては 1000 ppm の In が用いられるが、この場合試料の重量が少なく In 標準液の pipetting 精度を考慮し多めの In が添加された。

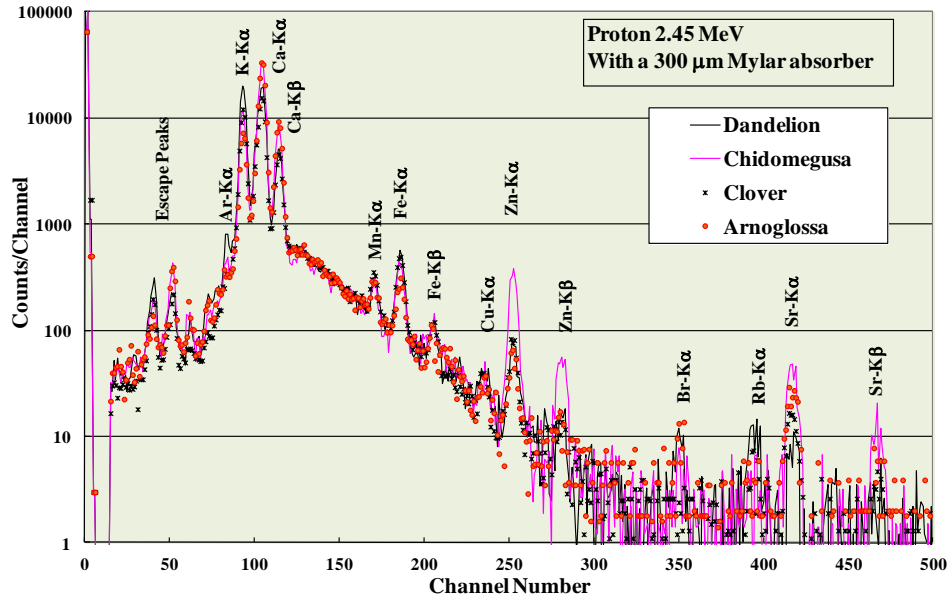


Fig. 3 Net X-ray spectra of four kinds of wild plants normalized by the yields of continuous X-rays in the energy region between 4.5 and 5.5 keV.

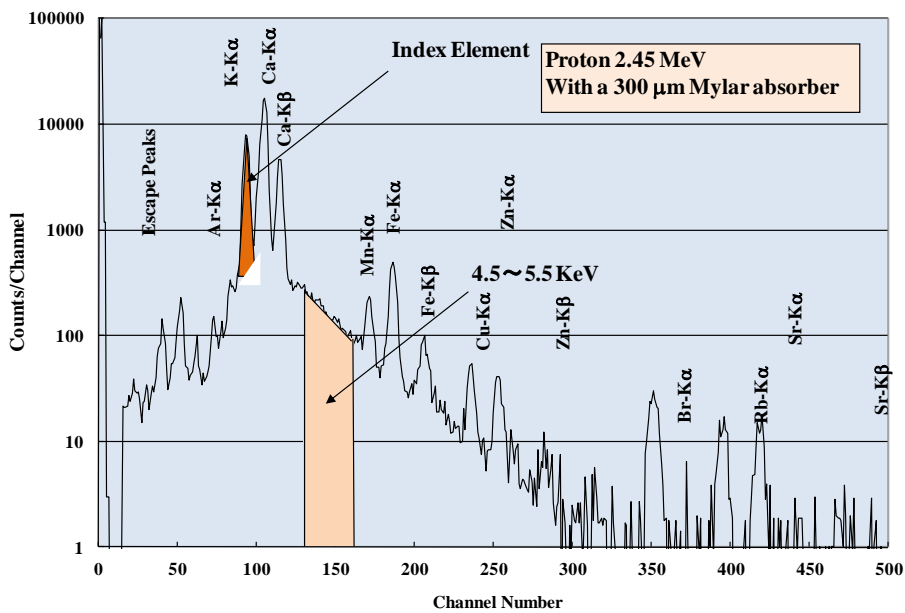
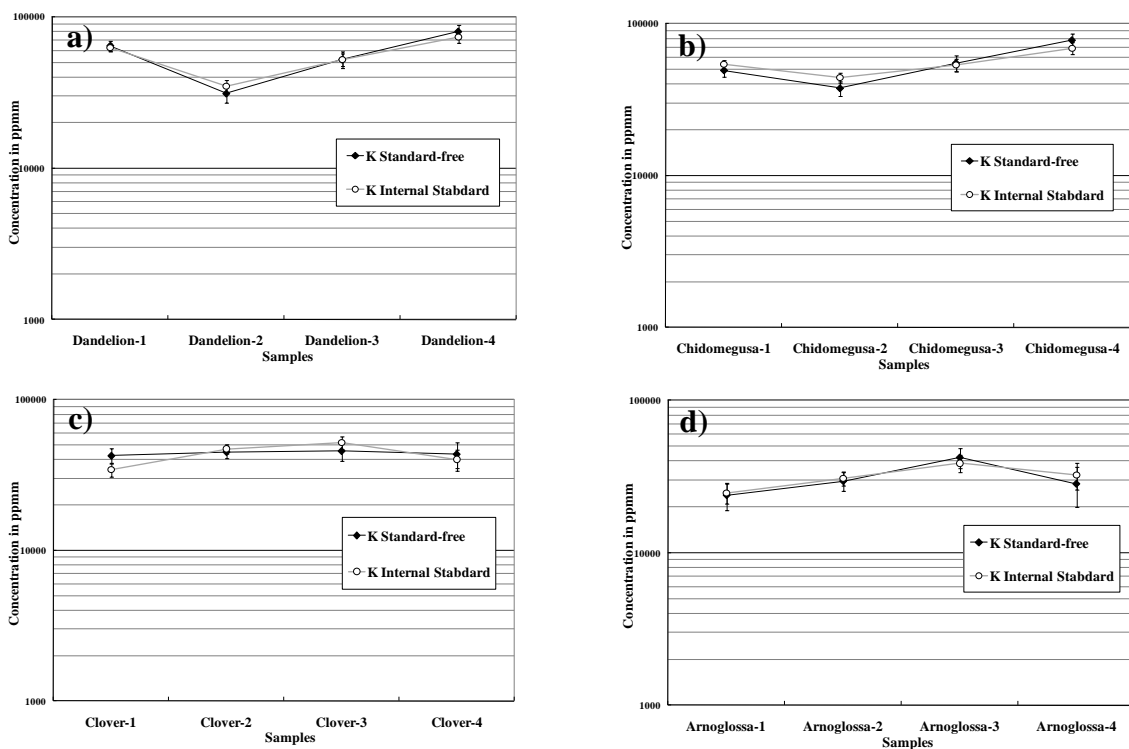


Fig. 4 Energy region for taking the yield of continuous X-rays. Potassium concentration is determined using the conversion coefficient and the ratio of the potassium peak yield to that of continuous X-rays in this region.

4種のそれぞれの野草に対し、4枚の異なる葉に対して無標準・内部標準法による測定が行われ、試料数は16、測定回数は計32回となった。これら16試料に対する両法の結果を比較することにより、指標元素濃度を求めるための変換係数が決定された。その手順は参考文献6に記載した真空PIXEに対するものと同様である。

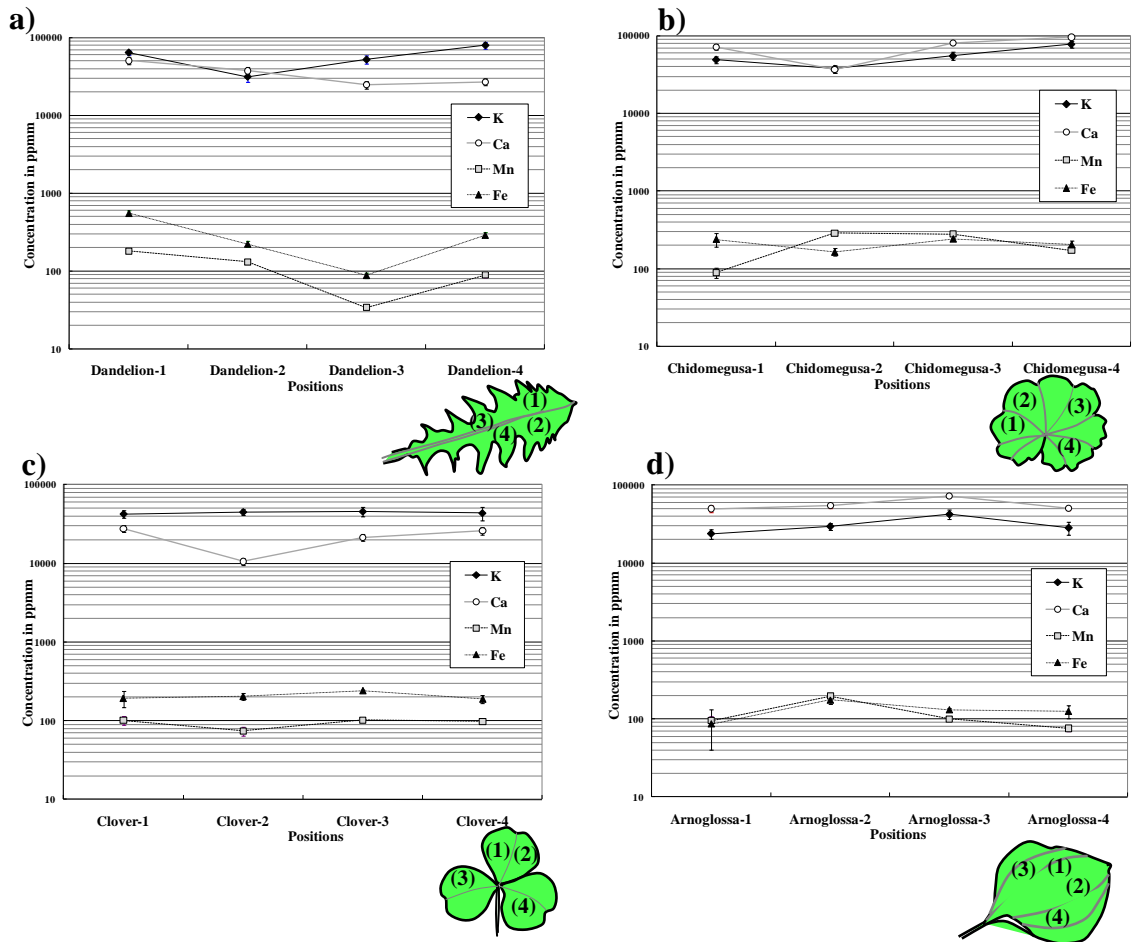
Figs. 5 a-d)には、4種の野草の葉試料に対する無標準法と内部標準法の結果を比較して示す。照射箇所によりK濃度が著しく変化すると無標準法の精度もその影響を受けてしまうが、これらの図から分かるように葉・個体の違いによるK濃度変化は比較的小さく、Kを指標元素として選択したことの妥当性が確認できた。両法における結果はほぼ一致し、両法において正確に同じ場所のみが測定されてはいない事実を考えると、無標準法の精度は満足すべきものであることが確認できる。殆どの結果が実験誤差の範囲内で互いに一致しているが、これらの実験誤差は(Kの場合、ピーク収量の統計誤差は2%以下であるため)主に検出効率と吸収体・空気・試料中でのX線吸収の値に由来する。



Figs. 5 a) Comparison of the results of potassium concentration in four dandelion samples obtained by the present method and by the internal-standard method.
b, c, d) Same as Fig. 5 a) but for b) chidomegusa, c) clover and d) arnoglossa, respectively.

3 結果と議論

最初に、同一の葉内における元素濃度の変化が調べられた。Figs. 6 a-d)には、4種の野草に対するK、Ca、Mn、Feの結果を示す。これらの元素は、野草の種類に依らず比較的多量に葉中に存在することが確認されている。葉中の照射箇所は、図の右下に描画されている。これらの結果から、多くの元素は同一の葉の中においても測定位置による依存性を強く示すが、K濃度のみは比較的安定していることが分かる。このことからKを指標元素とした妥当性が示された。



Figs. 6 a) Comparison of the concentration of four elements in a dandelion leaf for different irradiating positions. b, c d) Same as Fig. 6 a) but for b) chidomegusa, c) clover and d) arnoglossa, respectively. Irradiating positions are illustrated in the lower right hand corner of each graph.

Fig. 7 には照射開始からの連続 X 線収量変化を示す。連続 X 線の大半は葉中の水分から放出され、ビーム照射により照射部分が枯渇していけば連続 X 線収量が減少していくことになるため、これはほぼオオバコ葉中の水分濃度変化に対応しているものと思われる。この場合摘んだ葉に対して照射が行われたため、照射部分への水分補給は葉の周囲の部分からのみ行われる。この結果から、十分に水分が照射部に供給できない条件下においては、照射開始直後から水分が減少し始め 32 分の照射時間の間減少し続けることが分かる。

それに対し Fig. 8 には、同様な観測を水栽培のポトス葉に対して行った結果を示す。ビーム電流などの照射条件は同一である。図から、2 時間にも及ぶ照射時間中葉中の水分はほぼ一定に保たれていることが分かる。Fig. 7 から、水分の供給が充分に行われない条件下では照射部の水分が減少を続けることが確認されており、Fig. 8 の結果は、少なくとも水分補給という観点からは 2 時間もの照射時間にわたり正常な代謝が保持されていることを示している。

一方 Fig. 9 には、土栽培のオオバコに対し同様な測定を行った結果を示す。図中には主要 4 元素に対する濃度変化も示されているが、この濃度値は本研究の方法で求められたものである。連続 X 線収量、K と Zn 濃度は、30 分の照射時間中ほぼ一定に保たれており、正常な代謝が保たれていることを示している。だが詳しく観察すると、Fe と Ca が特徴的な振舞いを示していることが分かる。Fe は照射開始後上昇し、約 8 分ほどで最大値を迎え、その後ゆっくりと元の値に戻っていく。それに対し Ca は、照射後上昇を続け 30 分経過後もさらに上昇を示す。

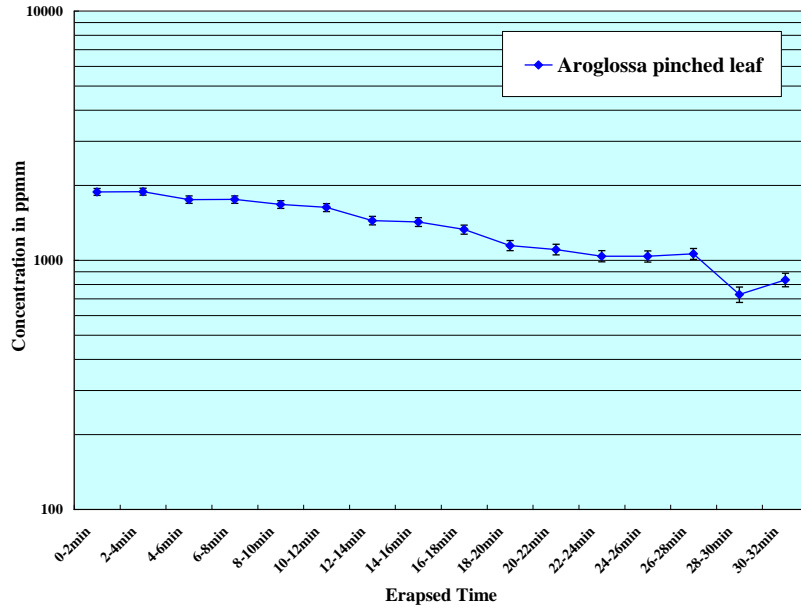


Fig. 7 Changes of the yields of continuous X-rays in the region between 4.5 and 5.5 keV with erased time obtained by irradiating pinched leaf of arnoglossa.

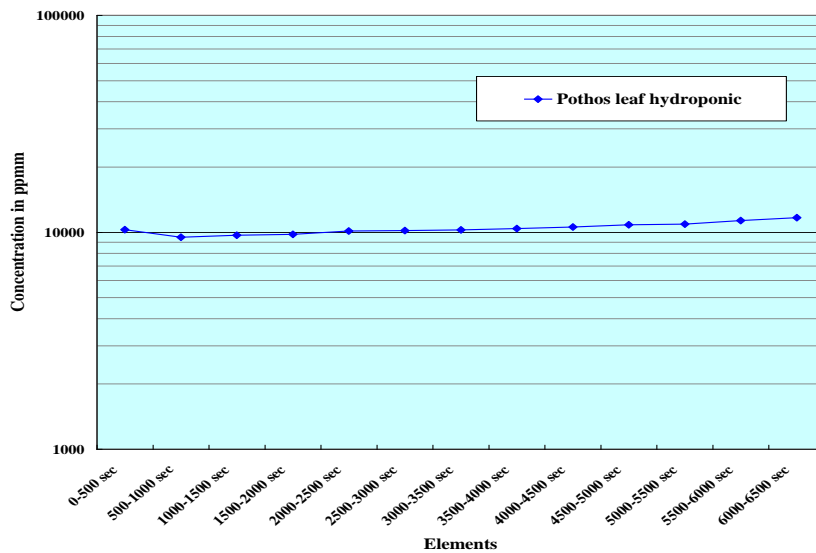


Fig. 8 Same as Fig. 7 but for a leaf of living pothos growing by hydroponics.

Fig. 10には、水栽培のポトス葉に対し同様な観察を15分間にわたり行った結果を示す。Fig.9の土栽培と比較し導管液がより動きやすく、水分や元素の供給・移動が円滑に行われる条件であると期待される。図中には上記4元素に加えK、Cuの濃度変化も示されているが、FeはFig.9の場合と同様に照射後上昇し、約8分でピークを迎えその後初期値に戻っていくという全く同様な振舞いを示している。Caに関しては上昇開始がやや遅いものの、その後の上昇は急激で濃度は初期値の3倍近くに達している。Fig.9同様、Mnも変化幅は小さいがCaと同様の振舞いを見せており、この点もFig.9の場合と共通している。植物、葉、照射位置を変え何度観測を行ってもほぼ同様な結果が再現されることが確認できた。Ca濃度は2時間もの照射時間の間上昇を続け、最終的に初期値の4倍近くまで濃度が上昇する。

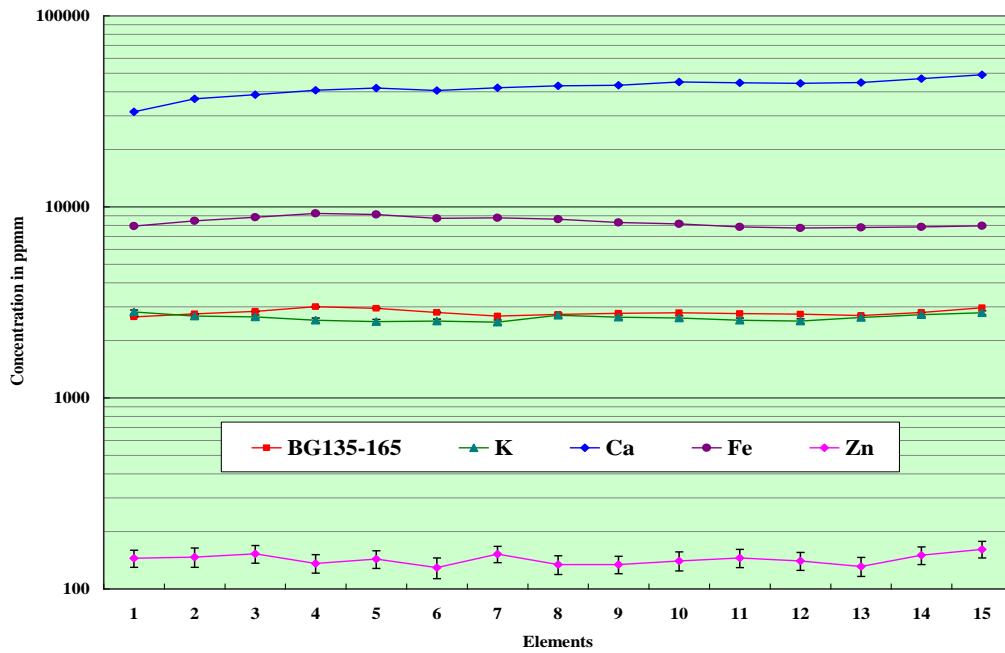


Fig. 9 Changes of the yields of continuous X-rays and concentration of principal four elements with erased time obtained by irradiating living arnoglossa growing on soil. For the yields of continuous X-rays, the axis of ordinate is in arbitrary units, while elemental concentration (ppm) is obtained by the present method.

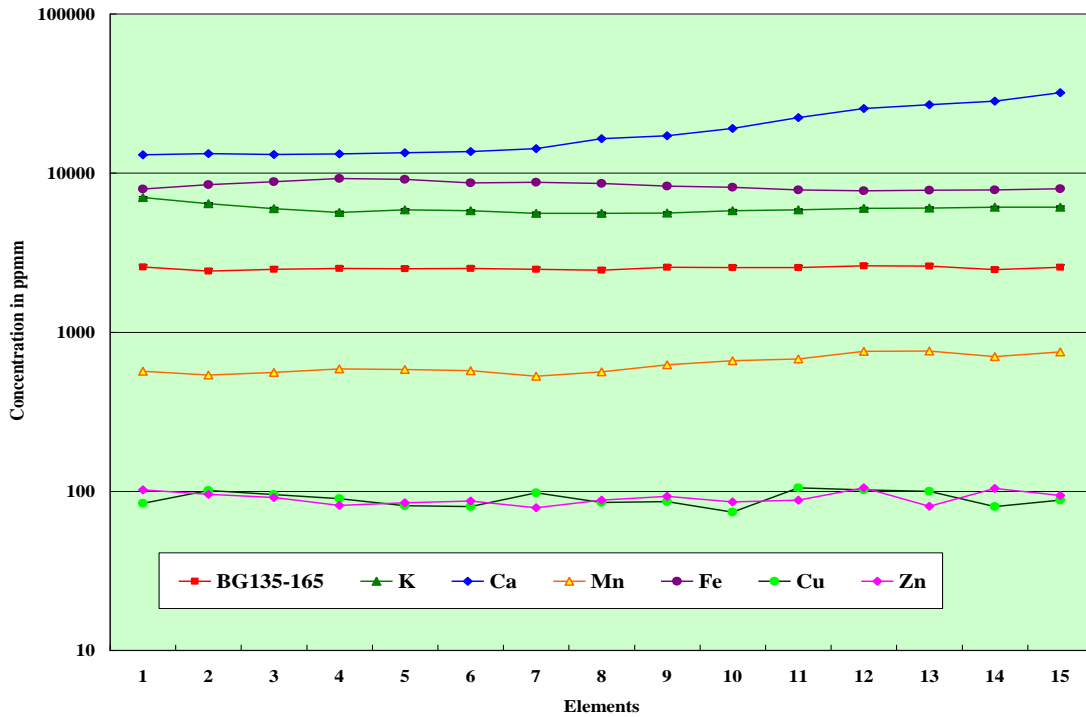
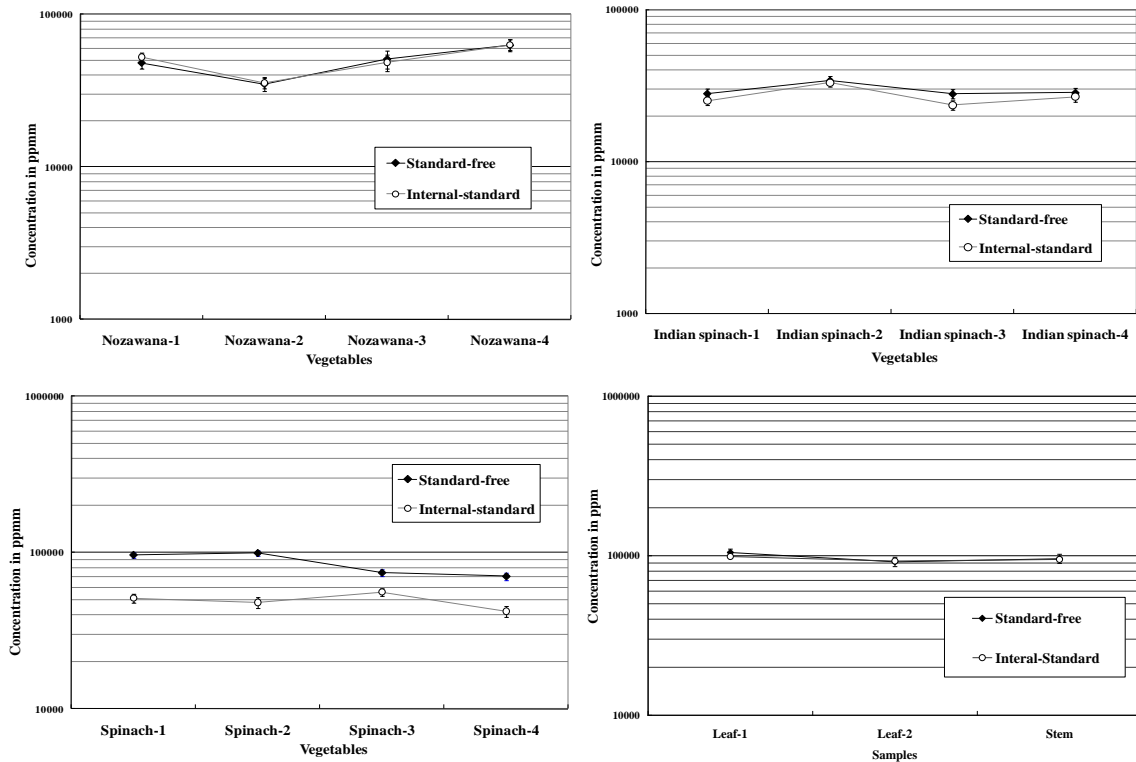


Fig. 10 Same as Fig. 9 but for a leaf of living pothos growing by hydroponics. Changes of concentration of manganese and copper are also shown in the figure.

これらの元素濃度変化は apoptosis の機構に対応しているものと推測される。ビーム電流はほぼ粒子線治療の場合と同様であり、ビームエネルギーに関しても、治療時には飛程終端近くのブ

ラッグピークを利用するため、腫瘍部では本実験の条件と同程度になるものと思われる。そのため apoptosis が生じやすい条件下での照射となる。Fe はミトコンドリアで生成される cytochrome-C の主成分でありその動きに対応していることが予想され、カルシウムは照射により Ca channel が開き細胞内に導入されるものと思われる¹²⁾。しかし apoptosis との関連に関して断定的な結論を述べるには、さらに系統的な観測がなされなければならない、近い将来の研究によりその関連性を明らかにしていきたい。

Figs. 11 には、Figs. 5 と同様の両法による比較を野菜に対して行った結果を示す。これらの野菜 (a : 野沢菜、b : ツルムラサキ、c : ホウレンソウ、d : セリ) はいずれも岩手県産で市販されているものである。セリに関しては根付で販売されており、一定期間水中で栽培し生きたままの照射が行われているが、他の野菜は切り取った葉に対して比較が行われた。Fig. 11- a) を見ると、両法の値は良く一致しているが、b) においては本無標準法の結果は系統的に若干高めの値を示しており、c) においてはそれが顕著な傾向として見られる。一方 d) の水栽培中のセリの場合は良く一致している。a-c) においては葉もしくは茎が切り取られ、代謝に伴う水分などの補給は充分に行われていない。しかし a) の場合野沢菜の葉は非常に大きく (約 20×40 cm)、照射時間も約 5 分と短いため照射部への水分の補給は葉中の他の部分から行われていることが予想される。ツルムラサキ(b) の場合、葉は小さいが太い茎を持ち、水分は茎からある程度供給されると期待される。それに対し、c) ホウレンソウの場合は大きく厚い葉も太い茎ももたず、水分の供給能力が低いため照射部の枯渇が生じ易い。d) の水栽培の場合に両者の値が良く一致していることから、野草に対し確立された「生きた植物に対する無標準法」は、(導管液からの補給が充分に行いうる条件下においては) 野菜にもそのまま適用可能であると期待される。



Figs. 11 a) Comparison of the results of potassium concentration in a leaf of nozawana obtained by the present method and by the internal-standard method, where pinched leaves were analyzed.
 b, c) Same as Fig. 11 a) but for b) Indian spinach and c) spinach.
 d) Same as Fig. 11 a) but for Japanese parsley, which was analyzed while keeping it alive.

本法は基本的に生きた動物試料にも適用可能である。その場合、開創した状態で特定の臓器に僅かなビームを照射し、生きたままの状態で元素動態を観察可能であると推測される。その手法が確立されれば、apoptosis のメカニズム解明に貴重な情報を与えるものと期待され、今後その可能性も探っていきたい。もう一つの方向として、本来の目的である有害元素の農作物中の動態を観察するため、特定元素を植物に投与しその後の植物中での動態観察を行う。それは現時点(2011年10月)において第一報が完成しているが¹³⁾、現在査読中であるためその報告は次巻の報文集において行うこととする。

4 まとめ

以上の事柄は以下のように要約することができる。

1. 生きた植物に対する大気 PIXE における無標準定量分析法が開発され、ビーム照射条件・測定条件が確立された。
2. カリウム=K が指標元素に指定され、4種の野草を用いて変換係数が決定された。本法により求められた元素濃度は、野草や農作物において従来の内部標準法により求められた値と良く一致し、本法の精度・有用性が確認された。
3. 照射中、照射部における水分と K 濃度が一定に保たれることが初めて確認された。一方、導管液からの供給が充分に行えない摘んだ葉の場合、水分が照射により枯渇し、結果として元素濃度が高く見積もられることが確認された。
4. いくつかの元素濃度 (Ca、Mn、Fe など) が照射中興味深い変化を示すことが確認され、その apoptosis 発生機構との関連性が示唆された。

謝辞

本法は科学研究費基盤 B における主題の一部として開発が行われた。分担者である産業技術総合研究所主任研究員：村尾智先生、長崎大学環境科学部：中村剛先生及び研究室の方々には本研究への有益な助言を頂きました。ここに感謝します。また共同利用の円滑な運営のため日々努力されている NMCC 及び岩手医科大学サイクロトロンセンターのスタッフの方々に謝意を表します。最後に NMCC の全国共同利用をアクティブに利用され成果を上げ、我々に刺激を与えることにより、本研究のような方法論開発の原動力を与えて下さっている利用者の皆様方に感謝いたします。

参考文献

1. M. A. Habib, S. Miono, K. Sera and S. Futatsugawa, "PIXE Analysis of Hair in Arsenic Pollution, Bangladesh.", *Int'l Journal of PIXE*, Vol.12, No.1,2 19-34 (2002)
2. S. Murao, E. Daisa, K. Sera, V. Maglambayan and S. Futatsugawa, "PIXE Measurement of Human Hairs from a Small-scale Mining Site of the Philippines.", *Nucl. Instr. Meth. B* 168-173 (2002)
3. S. Murao, B. Tumenbayar, K. Sera, S. Futatsugawa and T. Waza,, "Finding of High Level Arsenic for Mongolian Villagers" *Int'l Journal of PIXE*, Vol.14-3,4, 125-132 (2004)
4. E. Clemente, K. Sera, S. Futatsugawa and S. Murao, "PIXE Analysis of Hair Samples from Artisanal Mining Communities in the Acupan Region, Benguet" Philippines.", *Nucl. Instr. Meth.*, B219-220, 161-165 (2004)
5. K. Sera, MD. Shafiqul Islam, T. Nakamura, S. Goto, C. Takahashi and Y. Saitoh, "Studies on Water Contamination in Bangladesh. - Primary Treatment of Water Samples at the Sampling Site.", *Int'l Journal of PIXE*, Vol.20-3, 4 119-126 (2010)
世良耕一郎, MD. Shafiqul Islam, 高辻俊宏, 中村 剛, 後藤祥子, 高橋千衣子, 齋藤義弘, 「Bangladesh における水系汚染と食のリスク評価」、NMCC 共同利用研究成果報文集、第 16 巻 187-196 (2009)
6. 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)

7. 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)
8. K. Sera, S. Goto, C. Takahashi and Y. Saitoh, "Quantitative Analysis of Untreated Oil Samples in In-air PIXE", *Int'l Journal of PIXE*, Vol.20-3, 4 77-84 (2010)
9. S. Goto, C. Takahashi and Y. Saitoh, S. Murao and K.Sera, "Sample Preparation for PIXE Analysis of Fatty Foods.", Submitted to *Int'l Journal of PIXE* (2011)
10. K. Sera, T. Sasaki, J. Itoh, Y. Saitoh and S. Futatsugawa, "Simultaneous Measurement of Two Different Targets by Means of Vacuum and In-Air PIXE.", *Int'l Journal of PIXE*, Vol.18-1,2 1-12 (2008)
11. S. Futatsugawa, S. Hatakeyama, Y. Saitou and K. Sera, " Present Status of NMCC and Sample Preparation Method of Bio-Samples.", *Int'l Journal of PIXE* Vol. 3 , No.4 319-328 (1993)
12. S. Harada, Y. Tamakawa, K. Ishii, A. Tanaka, T. Satoh, S. Matsuyama, H. Yamazaki, Y. Komori, T. Kamaiya, K. Arakawa, M. Saitoh, M. Oikawa and K. Sera, "The Kinetics of Fe and Ca for the Development of Radiation-Induced Apoptosis by Micro- PIXE Imaging.", *Nucl. Instr. Meth.*, B210, 383-387 (2003)
13. K. Sera, K. Terasaki, T. Sasaki, S. Goto, C. Takahashi and Y. Saitoh, "Movement of Heavy Elements in Plants by Means of a Standard-free Method for Living Plants in In-Air PIXE.", submitted to *Int'l Journal of*

Standard-free method for living plants in in-air PIXE

K. Sera¹, S. Goto², C. Takahashi² and Y. Saitoh²

¹Cyclotron Research Center, Iwate Medical University,
Tomegamori, Takizawa 020-0173, Japan

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

Abstract

A standard-free method for living plants in in-air PIXE has been developed in order to clarify mechanism of elemental transportation and movement in farm products. The components of the continuous X-rays originated from air and a backing film can be exactly subtracted using a blank spectrum after normalization by the yields of Ar K α X-rays. It is found by observing the yield of continuous X-rays with passage of time that water content is continuously decreasing during irradiation with a proton beam in a case of pinched leaves. Contrary, it is kept almost constant during irradiation for the living plants to which water is continuously provided through the roots. Stability of the yield of continuous X-rays is a required condition for a standard-free method, which makes use of the yield of continuous X-rays mainly emitted from water content. It is confirmed that potassium concentration shows no large position dependence on a leaf, and it keeps almost constant during irradiation, which also indicates that regular metabolism is going on. As potassium is always contained in all kinds of plants in large amount, we designated it as an index element. As a result, it is found that the potassium concentration obtained by the present standard-free method shows quite consistent values with those obtained by the internal-standard method. The present method is confirmed to be quite useful for investigating movement not only of toxic elements but also of essential elements reflecting metabolism in plants.

Keywords : PIXE, Living plant, Standard-free, In-Air, Toxic element, Quantitative analysis

岩手県釜石市六黒見金スカルン鉱床の鉱石の帯状配列と化学組成変化

石山大三¹、森 一也¹、福山繭子^{1,2}、世良耕一郎³、水田敏夫⁴

¹秋田大学工学資源学研究科
010-8502 秋田市手形学園町 1-1

²台湾中央研究院地球科学研究所
11529 台北市南港区研究院路二段 128 号

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

⁴秋田大学国際資源学教育研究センター
010-8502 秋田市手形学園町 1-1

1 はじめに

六黒見鉱床は、岩手県釜石鉱山北東 6 km に位置する鉱量 8 万トン、Fe 2 wt %、Cu 0.01 wt %、Au 8 g/t、Ag 2 g/t の品位の金スカルン鉱床である(Fig. 1)。本鉱床は、古くから知られていたが、鉱床学的記載はそれほど多くはない。本研究では、六黒見鉱床クルミ坑周辺にみいだされた含 Bi スカルン鉱石について鉱石累帯構造の観察、鉱物組合せ、PIXE 法による化学組成の検討を行い、スカルン鉱化作用時の流体の移動について検討した。

2 六黒見鉱床の地質・鉱床概要

六黒見鉱床周辺の地質は、石炭系～ペルム系の泥岩、砂岩、石灰岩からなる堆積岩類と白亜紀の蟹岳複合岩体および栗橋花崗閃緑岩体を構成する閃緑岩、花崗閃緑岩等の火成岩類からなる(Fig. 1)。本地域の堆積岩類は、蟹岳複合岩体の火成岩体や栗橋花崗閃緑岩体の熱変成作用を被っている^{1,2)}。特に、六黒見鉱床近傍の地質は、黒雲母片岩、レンズ状石灰岩、閃緑岩から構成される³⁾。鉱床は、レンズ状石灰岩と閃緑岩

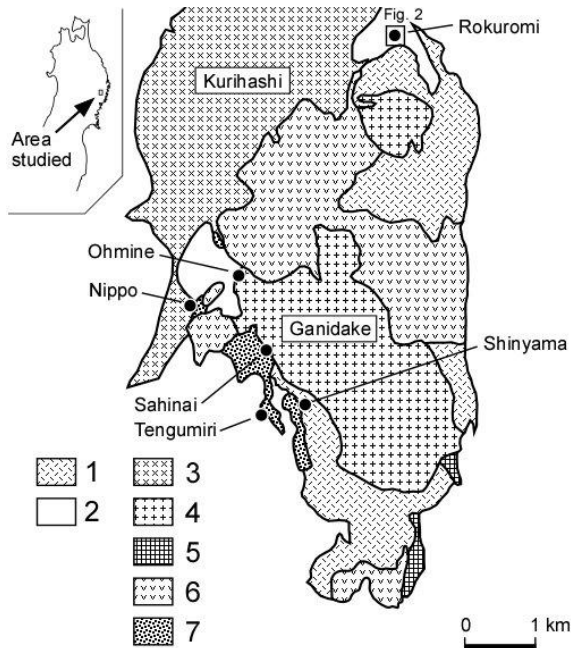


Fig. 1 Map showing geology around the Rokuromi and Kamaishi deposits and distribution of ore deposits^{1,2)}. 1: Tsuchikura Formation, 2: Carboniferous to Permian sedimentary rocks, 3: Kurihashi granodiorite, 4: Ganidake granodiorite, 5: Monzonite, 6: Diorite to diorite porphyry, 7: Skarn

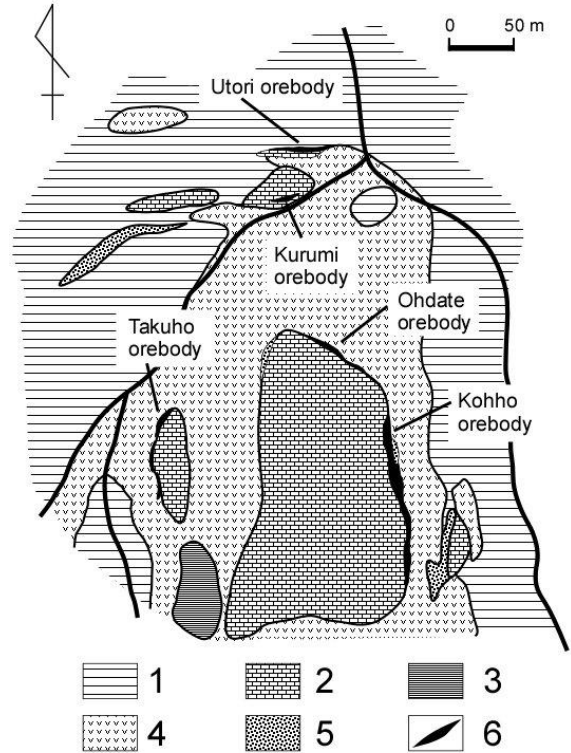


Fig. 2 Map showing geology of the Rokuromi deposit³⁾. 1: Biotite schist, 2: Limestone, 3: Chert, 4: Diorite porphyry, 5: Skarn, 6: Orebody

の境界部にレンズとして発達する(Fig. 2)。本鉱床には、大館坑、好舗坑、沢舗坑、クルミ坑がある。大館坑坑口周辺では、石灰岩、硫化鉱物鉱石、スカレン、閃緑岩の順に累帯配列が認められる。本鉱床の各鉱体を構成する鉱石鉱物は、磁硫鉄鉱 ($Fe_{1-x}S$) > 磁鉄鉱 (Fe_3O_4) > 黄鉄鉱(FeS_2)、硫砒鉄鉱 ($FeAsS$)、黄銅鉱 ($CuFeS_2$) >> 砒鉄鉱 ($FeAs_2$)-自然ビスマス (Bi) - 輝蒼鉛鉱 (Bi_2S_3)である。

3 含Bi 鉱石の累帯配列と鉱物組合せ

大館坑坑口に認められる石灰岩、硫化鉱物鉱石、スカレン、閃緑岩の累帯配列と同様な累帯配列が認められる含Bi 鉱石試料がクルミ坑周辺において得られた (Figs. 2 & 3)。本試料では閃緑岩から石灰岩にかけて、閃緑岩→スカレン→硫化物に富むスカレン→石灰岩の配列が認められる (Fig. 3)。スカレン帯の幅は約1 cm、硫化物に富むスカレンの幅は5mm～数mmである。閃緑岩、スカレン、硫化物に富むスカレン、石灰岩の鉱物組合せは次のとおりである。閃緑岩は、斜長石、輝石 (salite-ferrosalite)、角閃石 (hastingsite-ferropargasite、

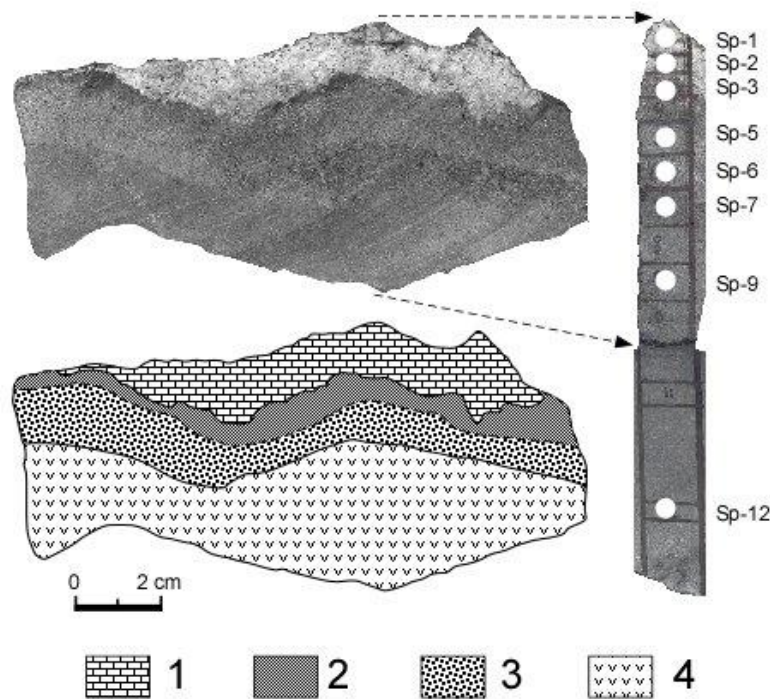


Fig. 3 Representative sample from the Rokuromi deposit. 1: Limestone, 2: Sulfide-rich skarn, 3: Sulfide-poor skarn, 4: Diorite. Positions of samples for PIXE analyses are shown in the enlarged picture.

edenite)、黒雲母と少量の磁硫鉄鉱、硫砒鉄鉱、砒鉄鉱、黄銅鉱からなる。スカルンは、斜長石、輝石 (salite-ferrosalite)、ザクロ石 (grandite)、磁鉄鉱と少量の磁硫鉄鉱、硫砒鉄鉱、砒鉄鉱、黄銅鉱からなる。硫化物に富むスカルンは、輝石 (salite-ferrosalite)、ザクロ石 (grandite)、磁硫鉄鉱と少量の磁鉄鉱、黄鉄鉱、硫砒鉄鉱、黄銅鉱、自然ビスマス、輝蒼鉛鉱から構成される。石灰岩は、方解石と少量の磁硫鉄鉱からなる。本試料の帯状配列に直交する方向に 8 点を選択し (Fig. 3)、PIXE 法により SiO_2 、 TiO_2 、 Al_2O_3 、 FeO 、 MnO 、 MgO 、 CaO 、 K_2O 、 Na_2O 、 S 、 As 濃度を測定した。

4 試料調製法および測定法

各分析試料は、 $5\text{ mm} \times 5\text{ mm} \times 5\text{ mm}$ に切りだされ、鉄乳鉢で粉碎後、メノウ乳鉢で微粉末化された。メノウ乳鉢で微粉末試料を作成する際には、エチルアルコールを少量滴下し、粉体試料をスラリー状にして微粉末化を行った。作成した微粉末試料を 5 mg 秤量し、蒸留水中に超音波洗浄器を使い分散させた。微粉末試料が分散している溶液を $0.2\text{ }\mu\text{m}$ のポリカーボネート濾紙でろ過し、粉体を濾紙の上に固定し、PIXE 分析用試料を作成した⁴⁾。試料中の各元素含有量を推定するために必要な内標準元素には、Fe および Ca を用いた。各試料の Fe と Ca 含有量は、同じ粉体試料をフッ酸、過塩素酸、硝酸の混酸で分解溶液化して、原子吸

Table 1 Chemical compositions of limestone to diorite in Fig. 3 determined by PIXE.

	Sp-1	Sp-2	Sp-3	Sp-5	Sp-6	Sp-7	Sp-9	Sp-12
Distance* (cm)	-0.8	-0.3	0.4	1.1	1.6	2.2	3.5	7.4
wt %								
SiO ₂	2.64	1.74	36.5	32.2	41.2	42.2	51.5	52.1
TiO ₂	0.01	0.00	0.08	0.50	0.74	0.62	0.83	0.71
Al ₂ O ₃	0.18	0.16	5.32	10.5	20.8	18.2	18.0	20.0
FeO	0.11	0.11	30.5	30.4	17.1	10.5	7.8	7.8
MnO	0.09	0.09	0.34	0.19	0.14	0.14	0.13	0.11
MgO	0.42	0.28	3.75	4.02	3.85	3.16	3.46	3.97
CaO	54.1	55.6	23.4	18.5	21.3	16.5	7.74	7.57
Na ₂ O	0.00	0.00	0.10	0.11	0.24	0.89	2.46	4.27
K ₂ O	0.12	0.19	0.15	0.10	0.17	1.78	4.37	2.59
(CO ₂)	42.5	43.6	-	-	-	-	-	-
S	0.06	0.09	4.63	0.56	0.05	0.02	0.07	0.13
As	0.01	0.01	0.03	0.02	0.07	0.06	0.00	0.01
Total	100.2	101.9	100.5	97.1	105.8	94.4	96.7	99.3

* Distance from the boundary between limestone and skarn to the position of analysis.

光法で測定し求めた。

日本の標準岩石試料 JB-1a、JB-2、JB-3、JA-1、JA-2、JA-3 についても同様な手法で試料を作成し、PIXE 法により分析を行った。本方法で作成された粉体試料は、PIXE 分析試料としては厚い試料であり、自己吸収の影響があるために、PIXE 法による結果と公表値の間には違いが認められる。今回の検討試料と比較的組成が類似する上記の JB-1a~JA-3 の PIXE 法による分析結果と公表値から係数を産出し、その係数を、今回の検討試料の PIXE 分析結果に掛けて、分析値を求めた⁴⁾。

5 分析結果

分析結果を Table 1 に示した。分析値の Total の値は、94.1~105.4 wt % の間にあり、ばらつきが認められる。Si と Al は、通常の岩石の中で最も多く存在する元素群であり、この元素の測定精度が全体の測定精度と正確さに影響を与えている。また、Na、Mg、Al、Si 等の元素は、PIXE 法にとっては X 線のバックグラウンドが高いところにピークが出現する元素であり、測定が難しい元素である。現段階ではこれらのことのために、分析値の Total にはばらつきがある。

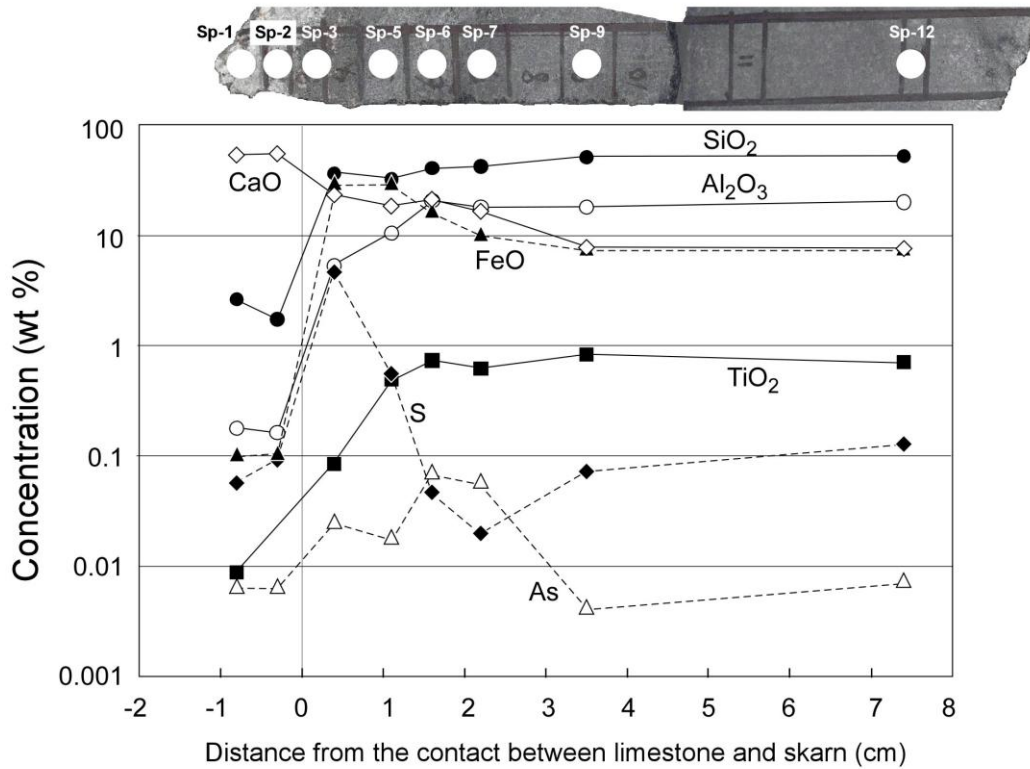


Fig. 4 Variation of chemical components from diorite to limestone..

SiO₂含有量は、閃緑岩 (52.1~42.2 wt %)、スカルン (41.2~32.2 wt %)、石灰岩 (2.6~1.7 wt %) へ減少する (Fig. 4)。TiO₂含有量は、閃緑岩 (0.8~0.6 wt %)、スカルン (0.7~0.1wt %)、石灰岩 (0.01 wt %) へ減少する。特に、スカルン帯の中のTiO₂含有量は、スカルン帯の中でも石灰岩に接する sp-3 では、0.08 wt %、sp-5 では 0.5 wt %であり、大きく異なる。もともとの石灰岩と閃緑岩の境界部は、sp-3 と sp-5 の間に存在していた可能性がある。Al₂O₃含有量は、SiO₂含有量と同様に、閃緑岩 (20.0~18.0 wt %)、スカルン (20.8~5.3 wt %)、石灰岩 (0.2 wt %) へ減少する。一方、FeO含有量は、閃緑岩 (7.8~10.5 wt %) からスカルン (17.5~30.5 wt %) にかけて増加し、石灰岩 (0.1 wt %) へ減少する。CaO含有量は、SiO₂、Al₂O₃、FeO含有量の変化と異なり、石灰岩 (55.6~54.1 wt %) からスカルン (23.4~18.5 wt %)、さらには閃緑岩 (16.6~7.6 wt %) へと減少する。S含有量は、FeO と類似した変化を示す。S含有量は、閃緑岩 (0.02~0.13 wt %) からスカルン (0.05~4.63 wt %) にかけて増加し、石灰岩 (0.09~0.06 wt %) へ減少する。As含有量は、閃緑岩岩体内部 (0.01 wt %) から閃緑岩-スカルン境界部に向けて (0.07 wt %) 増加し、石灰岩 (0.01 wt %) へ減少する (Fig. 4)。

各分析試料の鉱物組合せおよびその量比と対応する部分の化学組成を比較した。SiO₂、Al₂O₃、CaO 含有量の変化は、各岩相の鉱物組合せとその量比の変化に対応している。FeO と S 含有量の変化は、磁鉄鉱や磁硫鉄鉱など鉄鉱物の量的変化に対応している。As 含有量の変化は、硫砒鉄鉱と砒鉄鉱の量的変化を反映し、特に砒鉄鉱が多く認められる部分が高砒素含有量の部分に対応している。このように、閃緑岩から石灰岩までの化学組成変化と鉱物量比の変化の間には調和的な関係が認められる。

閃緑岩から石灰岩までの Si、Ti、Al、Ca の化学組成変化から、これらの元素濃度分布は、接触変成作用時の高温の時期の拡散による元素の移動により形成されたと考えられる。一方、Fe、S の化学組成変化は、硫化鉱物や磁鉄鉱が多く存在する石灰岩とスカルンの境界部付近で高く、石灰岩と閃緑岩の両方に向かいこれらの濃度が低下する分布を示す。この Fe と S の高含有量部は、スカルン帯の中でも石灰岩—スカルン境界部に近い部分に、この境界と平行に配列して存在している。Fe や S は、鉱化作用に関連する主要な元素であり、鉱化流体より運搬された可能性が高い。これらのことは、Fe や S を含む鉱化流体が石灰岩と閃緑岩の境界部のスカルン帯の伸長方向に平行に移動したことやこれらの元素がこの境界部から供給されたことを示す可能性がある。本鉱床よりより深部で発生した Fe や S を含む鉱化流体が、石灰岩と閃緑岩の境界部を主要な移動経路として移動し、石灰岩と閃緑岩の境界部付近に発達するスカルン帯に鉱石鉱物を沈殿させ鉱化作用を引き起こした可能性が考えられる。

5 まとめ

閃緑岩から石灰岩にかけて、閃緑岩 → スカルン → 硫化物に富むスカルン → 石灰岩の配列が認められる試料について、鉱物組合せ、PIXE 法による化学分析結果から以下のことが得られた。

1. PIXE 法による化学分析結果と鉱物組合せと鉱物量比の変化には良い対応が認められた。
2. 閃緑岩から石灰岩までの Si、Ti、Al、Ca の化学組成変化は、接触変成作用時の高温の時期の拡散による元素の移動により形成されたと考えられる。
3. 鉱化作用に関連する Fe と S の化学組成変化は、石灰岩とスカルンの境界部付近で高く、石灰岩と閃緑岩の両方に向かいこれらの濃度が低下する分布を示し、Si、Ti、Al、Ca の化学組成変化とは異なる。本鉱床よりより深部で発生した Fe や S を含む鉱化流体が、石灰岩と閃緑岩の境界部を移動経路として移動し、石灰岩と閃緑岩の境界部付近に発達するスカルン帯に鉱石鉱物を沈殿させ鉱化作用を引き起こした可能性がある。

文 献

- 1) 通商産業省, 昭和 45 年度広域調査報告 遠野地域, p.35 (1971)
- 2) 浜辺修二・野納敏展, 鉱山地質, v. 26, p.93 (1976)
- 3) 竹内常彦・南部松夫・岡田広吉・広瀬戦三郎・佐々木三郎, 未利用鉄資源, 第 3 輯, 釜石北部地区, p.231 (1956)
- 4) J.D. Zhang, D. Ishiyama and K. Sera, NMCC 共同利用研究成果報文集 17, pp. 96-107 (2011)

Zonal distribution and chemical variation of ore samples from the Rokuromi gold skarn deposit, Kamaishi city, Iwate prefecture, Japan

Daizo Ishiyama¹, Kazunari Mori¹, Mayuko Fukuyama^{1,2}, Koichiro Sera³ and Toshio Mizuta⁴

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

²Institute of Earth Sciences, Academia Sinica
128 Academia Road Sec. 2, Nankang, Taipei, 115 Taiwan, ROC

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

⁴International Center for Research and Education on Mineral and Energy Resources, Akita University
1-1 Gakuen-Machi, Tegata, Akita 010-8502, Japan

Abstract

Samples having a zonal structure of diorite, skarn, sulfide mineral-rich skarn and limestone from the gold-rich Rokuromi skarn deposit were examined to consider transportation mechanisms of heavy metals. The diorite consists of plagioclase, pyroxene (salite-ferrosalite), amphibole (hastingsite-ferropargasite, edenite), and biotite with small amounts of pyrrhotite, arsenopyrite, loellingite and chalcopyrite. The mineral assemblages of skarn are large amounts of plagioclase, pyroxene (salite-ferrosalite), garnet (grandite) and magnetite with small amounts of pyrrhotite, arsenopyrite, loellingite and chalcopyrite, and those of sulfide mineral-rich skarn are large amounts of pyroxene (salite-ferrosalite), garnet (grandite), and pyrrhotite with lesser amounts of magnetite, pyrite, arsenopyrite, chalcopyrite, native bismuth and bismuthinite. The limestone consists of a large amount of calcite and a small amount of pyrrhotite. The SiO₂, Al₂O₃ and TiO₂ contents of those rocks decrease from diorite to limestone, while the CaO content increases from diorite to limestone. The FeO and S contents are high in the sulfide-rich skarn between the limestone and skarn. The patterns of chemical variations are different between the group of SiO₂, Al₂O₃, TiO₂ and CaO components and the group of FeO and S components. The variations of SiO₂, Al₂O₃, TiO₂ and CaO contents are thought to have been formed by diffusion during the period of skarn formation, while the variations of FeO and S contents suggest that Fe and S were supplied by hydrothermal solution passing through the boundary between limestone and skarn.

秋田県八郎潟干拓地に湧出する高濃度リン湧出水の地球化学的特徴

川原谷 浩¹、石山大三¹、世良耕一郎²

¹秋田大学工学資源学研究科

010-8502 秋田市手形学園町 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

秋田県男鹿半島東側に位置する八郎潟は、第二次世界大戦後、食糧増産を目的に干拓事業が行われた。1960年代後半までに17,000haの農地が造成され、農業活動が現在も行われている。1980年代以降、干拓地内の農業排水を残存湖へ排出する施設の1つである南部排水機場南東側の地域において、残存湖と隣接する干拓地のごく限られた区域で、リン濃度が数～十数ppmの湧出水が確認されるようになった。このリン濃度が高い湧出水について、COD、T-N、T-P、さらに主化学成分濃度の測定が定期的に行われ、経年変化のモニタリングが行われている。本研究では、ボーリング孔より揚水した地下水（高濃度リン湧出水）や周辺河川水の溶存成分である主化学成分や懸濁物成分の特徴を明らかにすること、さらに酸素・水素同位体比の結果から高濃度リン湧出水の起源の推定を行うことを目的とした。

2 試料採取および測定

試料の採取は2009年9月にボーリング孔から高濃度リン湧出水（以下リン湧出水）、2010年10月に八郎潟干拓地（以下干拓地）周辺の研究対象となる水試料の採水を実施した。各水試料は、リン湧出水が湧水する南部排水機場から南東方向約1キロ付近の異なるボーリング孔から揚水した地下水（G1～G5、5ヶ所、深度:2.5～8.2m）、干拓地から南部排水機場と北部排水機場を通じて八郎潟残存湖（以下残存湖）へ排水される農業用水（D1、D2、2ヶ所）、残存湖湖水（L1～L3、3ヶ所）、干拓地周辺河川水（R1～R7、7ヶ所）、残存湖西側の瀧の頭湧水（S1、1ヶ所）をそれぞれ採水した（Fig.1、Table 1）。

現地での試料採取時には、水温、pH、酸化還元電位の測定を行った。試料は0.45 μm のフィルターでろ過し、アルカリ成分、硫酸、塩素などの主化学成分を測定するための試料の採水と微量成分をPIXE法で測定するための試料に分けて採水を行った。前者は無添加試料、後者は試料溶液が3%硝酸溶液になるように現地で調整した。PIXE法による懸濁物成分（0.45 μm 以上）分析試料は、ろ過で使用したポリカーボネート・フィルターをそのまま自然乾燥させ使用した。0.45 μm のフィルターを通過した試料は、主化学成分 Na^+ 、 K^+ 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Cl^- 、 SO_4^{2-} 濃度をイオンクロマトグラフ法、その他の微量成分は、試料溶液と等量のIn（10ppm）溶液を加えた混合溶液10 μl 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 $^{\circ}\text{C}$ で乾燥させた後、PIXE法で分析した。

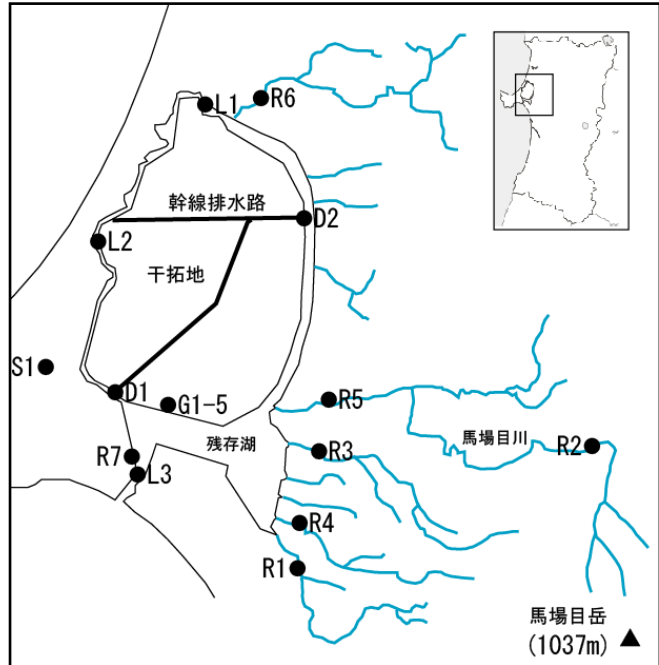


Fig.1 : Map showing sampling points around Hachirogata land reclamation area.

Table 1 : List of concentrations of major element, suspended materials, and oxygen and hydrogen isotopic ratios obtained from the area studied.

		主化学成分(mg/l)									懸濁物成分(μg/l)			酸素・水素同位体比	
		pH	Eh(mV)	Na	K	Mg	Ca	Cl	SO4	T-P	Al	Si	Fe	δ _{D_{SMOW}} (‰)	δ ¹⁸ O _{SMOW} (‰)
G1	91B-1-3(深度4.2m)	7.9	78	87	5.4	2.1	4.7	54	31	3.2	129	300	101	-47	-8.0
G2	91B-5(深度3.1m)	8.9	-71	140	4.1	0.2	0.1	39	23	4.3	74	196	74	-49	-8.1
G3	リン湧出水 93B-1-1(深度2.5m)	8.3	15	100	10.0	0.5	0.4	34	23	7.6	128	271	58	-50	-8.1
G4	93B-1-2(深度6.0m)	9.0	-46	250	7.9	0.4	0.2	64	22	17	48	108	10	-47	-8.3
G5	H16B-1(深度8.2m)	9.0	-35	160	4.5	0.1	0.2	69	26	8.1	65	180	444	-47	-7.8
D1	農業用水 南部排水機場	7.9	224	61	6.7	11	20	85	31		1,333	4,556	878	-45	-7.2
D2	北部排水機場	7.1	341	63	8.6	13	26	79	40		5,886	18,542	3,459	-37	-6.6
L1	残存湖水 浜口機場	7.2	427	17	3.3	5.1	7.7	27	14		1,318	4,751	944	-47	-7.6
L2	野石橋	8.0	336	21	3.4	5.5	8.3	25	12		1,316	4,985	775	-43	-6.8
L3	防潮水門	8.0	259	45	4.1	7.3	11	66	20		1,304	4,993	719	-48	-7.7
R1	馬踏川橋	7.3	305	20	3.3	4.8	9.6	26	20		333	770	711	-49	-7.6
R2	杉沢発電所	7.9	359	7.8	0.6	2.3	5.7	6.9	6.3		20	61	14	-53	-8.7
R3	井川橋	7.6	295	14	2.2	3.3	6.6	16	10		303	781	324	-49	-8.2
R4	河川水 豊川橋	7.5	286	19	3.2	4.0	7.3	25	17		599	1,369	445	-48	-7.9
R5	竜馬橋	7.6	317	12	1.2	3.1	7.2	11	10		196	521	121	-52	-8.4
R6	川尻橋	7.2	393	18	3.3	3.1	6.4	27	14		426	1,156	284	-47	-7.8
R7	あけぼの橋	7.0	206	26	5.1	7.1	18	34	25		91	214	1,014	-43	-7.3
S1	湧水 灘の頭	7.3	335	19	2.3	4.8	13	22	13		3	12	1	-50	-8.6

3 溶存成分と懸濁物成分の特徴

リン湧出水の pH は、7.9 から 9.0 の弱アルカリ性であるのに対して、それ以外の農業用水、残存湖湖水、周辺河川水の pH は、7.0 から 8.0 で中性～弱アルカリ性を示す。溶存成分の主化学成分濃度は、農業用水では Na⁺=61～63mg/l、K⁺=6.7～8.6mg/l、Mg²⁺=11～13mg/l、Ca²⁺=20～26mg/l、Cl⁻=79～85mg/l、SO₄²⁻=31～40mg/l、残存湖水では Na⁺=17～45mg/l、K⁺=3.3～4.1mg/l、Mg²⁺=5.1～7.3mg/l、Ca²⁺=7.7～11mg/l、Cl⁻=25～66mg/l、SO₄²⁻=12～20mg/l、周辺河川水では Na⁺=7.8～26mg/l、K⁺=0.6～5.1mg/l、Mg²⁺=2.3～7.1mg/l、Ca²⁺=5.7～18mg/l、Cl⁻=6.9～34mg/l、SO₄²⁻=6.3～25mg/l、湧水では Na⁺=19mg/l、K⁺=2.3mg/l、Mg²⁺=4.8mg/l、Ca²⁺=13mg/l、Cl⁻=22mg/l、SO₄²⁻=13mg/l をそれぞれ示す。リン湧出水以外の各主化学成分濃度は、Cl 濃度を除けば北部排水機場からの農業用水(D2)が最も高く、馬場目川上流域杉沢発電所(R2)の河川水が最も低い (Table 1)。Fig.2 に Cl 濃度に対する各主化学成分の濃度変化を示した。Fig.2(a)の実線は、真水と海水に含まれる各主化学成分の混合線を示す。リン湧出水を除く他の試料の Na⁺濃度は、真水と農業用水のデータをむすんだ直線(点線)近くに分布し、しかも真水と海水の混合線に近いところにもデータが分布するため、Na の起源は海塩と農業用水と推定される。K⁺、Mg²⁺は直線的に分布するものの、混合線より 2～4 倍程度濃度が高いところにデータが分布し、Ca²⁺、SO₄²⁻は混合線より大きく外れるところにデータが分布するため、非海塩起源の割合が高いと推定される。リ

ン湧出水の主化学成分濃度は、 $\text{Na}^+=60\sim 250\text{mg/l}$ 、 $\text{K}^+=4.1\sim 10\text{mg/l}$ 、 $\text{Mg}^{2+}=0.2\sim 2.1\text{mg/l}$ 、 $\text{Ca}^{2+}=0.1\sim 4.7\text{mg/l}$ 、 $\text{Cl}^-=34\sim 69\text{mg/l}$ 、 $\text{SO}_4^{2-}=22\sim 31\text{mg/l}$ を示す (Table 1)。リン湧出水は、先述したほかの水試料と比較して、 Na^+ 、 K^+ 、 SO_4^{2-} 濃度が高く、 Mg^{2+} と Ca^{2+} 濃度が低い特徴を示す。また、リン湧出水の Cl^- 濃度は、深度が増すにつれ増加傾向を示し、濃度範囲は残存湖水と類似する (Fig.2(a)、(b))。

Fig.2(b)は、リン湧出水の Cl^- 濃度と Na^+ 濃度の関係を示す。図中の実線は、真水と海水の混合線を示している。リン湧出水の Na^+ 濃度と Cl^- 濃度との間に直線性はなく、混合線より2~4倍程 Na^+ 濃度が高いところにデータが分散する。

懸濁物成分は、Al、Si、Feを主成分とする(Table 1)。懸濁物成分のAl、Si、Fe濃度は、北部排水機場から排水する農業用水が最も高い。南部排水機場からの農業用水(D1)は、Al、Si、Fe濃度ともにL1からL3の3か所の残存湖水と同様な値を示す(Table 1)。農業用水と農業用水が排水される残存湖が非常に高い値を示すことから、懸濁物成分は、農業活動が主要な要因と推定される。一方、リン湧出水のこれらの懸濁物成分の濃度は、馬場目川上流域杉沢発電所(R2)を除くと、今回検討した試料水の中では低い。

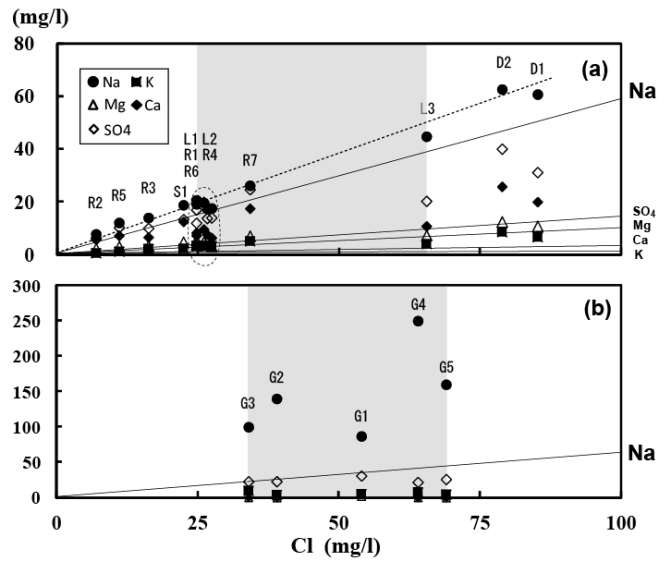


Fig.2 : Relationship between the Cl^- concentration and major element concentrations. (a) : river water, spring water, residual lake water and agricultural water (b) : high-phosphorus spring water

4 リン湧出水の起源と混合

リン湧出水の起源と混合を推定するため、各試料水の酸素・水素同位体比を測定した。測定した試料は、先に述べたボーリング孔からのリン湧出水のほか、農業用水、残存湖水、周辺河川水、湧水である

(Table1、Fig.3)。各水試料の酸素・水素同位体比は、天水ライン ($\delta D = 8\delta^{18}O + 17$) に沿ってデータが分布する。農業用水は $\delta D = -37 \sim -45\%$ 、 $\delta^{18}O = -6.6 \sim -7.2\%$ で、測定した試料中最も酸素・水素同位体比が高い。残存湖水は $\delta D = -43 \sim -48\%$ 、 $\delta^{18}O = -6.8 \sim -7.7\%$ 、周辺河川水は $\delta D = -43 \sim -53\%$ 、 $\delta^{18}O = -7.3 \sim -8.7\%$ 、湧水は $\delta D = -50\%$ 、 $\delta^{18}O = -8.6\%$ をそれぞれ示す。リン湧出水の酸素・水素同位体比は $\delta D = -47 \sim -50\%$ 、 $\delta^{18}O = -7.8 \sim -8.3\%$ で、残存湖西側の野石橋(L2)を除く残存湖水と馬場目川河川水の杉沢発電所(R2)と竜馬橋(R5)、あけぼの橋(R7)を除く残存湖東側から南東側で比較的集水域の小さな河口付近の河川水と類似した同位体比を示す。

Fig.4 に水素同位体比と Cl⁻濃度の関係図を示した。図中 A 線は、秋田大学で毎月採水されている降水の10年間の平均値 ($\delta D = -54\%$ 、Cl⁻=7mg/l、以下降水) と南部排水機場から排水する農業用水の混合線、B 線は降水と残存湖東側から南東側の河川水や残存湖水との混合線を示す。馬場目川上流域杉沢発電所(R2)の試料は、降水と同様な水素同位体比と Cl⁻濃度を示す。リン湧出水は A 線上で直線的に分布し、採取深度の深い GD ($\delta D = -47\%$ 、Cl⁻=54~69mg/l、深度4.2~8.2m) と採取深度の浅い GS ($\delta D = -49 \sim -50\%$ 、Cl⁻=35~40mg/l、深度2.5~3.1m) に区別される。採取深度の深い GD は、残存湖南側の防潮水門の値(L3)とほぼ一致する。防潮水門は南部排水機場から残存

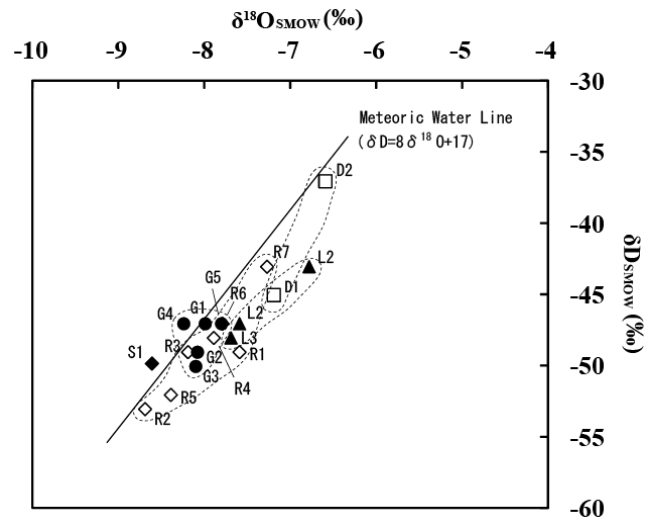


Fig.3 : Relationship between $\delta^{18}O$ and δD values of water obtained from the area studied.

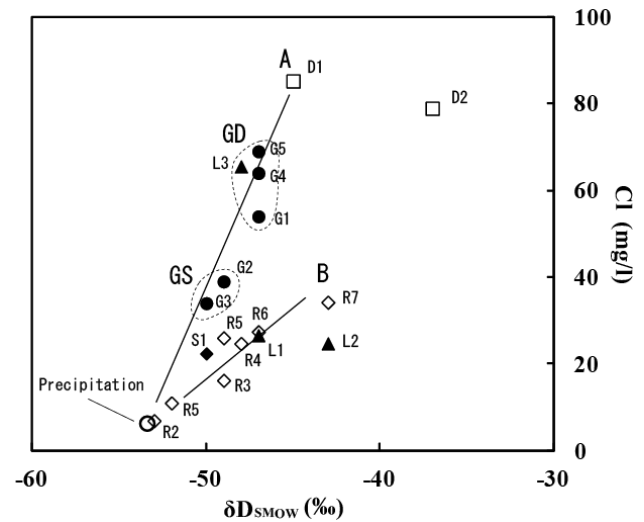


Fig.4 : Relationship between the δD values and Cl⁻ concentrations of water obtained from the area studied.

湖へ排水する農業用水を水位調整し、残存湖から日本海へ排水する施設である。採取深度の深い GD のリン湧出水は、農業用水が降水により希釈され形成した防潮水門周辺の湖水と同質のものと推定される。採取深度の浅い GS のリン湧出水は、採取深度の深い GD や農業用水が降水によりさらに希釈されたものと推定される。したがって、リン湧出水に関与する水は、南部排水機場から排出する農業用水が降水により希釈されたものが起源と考えられる。

5 まとめ

八郎潟干拓地内南部排水機場南東部約 1 km 付近で、局所的に確認されるリン湧出水の地球化学的特徴と関与する水を検討した結果、以下の結論を得た。

1. リン湧出水の Cl⁻濃度範囲は、Cl⁻=34~69mg/l を示し、残存湖水の Cl⁻=25~66mg/l と類似する。また、他の試料水と比較して、Na⁺、K⁺、SO₄²⁻濃度が高く、Mg²⁺と Ca²⁺濃度が低い傾向を示し、特に Na⁺濃度は高く、Na⁺=87~250mg/l を示す。
2. リン湧出水は、南部排水機場から排出する農業用水が降水により希釈されたものが起源と考えられる。農業用水の降水による希釈の程度は、浅部では高く、深部では低い。

Geochemical characteristics of high-phosphorus spring water in Hachirogata land reclamation area, Akita prefecture

Hiroshi Kawaraya¹, Daizo Ishiyama¹ 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 geochemical characteristics of high-phosphorus spring water in Hachirogata land reclamation area, Akita Prefecture. Concentrations of major elements in the spring water and suspended materials over 0.45 μm in the water were measured using ion chromatography and the PIXE method. Cl⁻ concentrations of the high-phosphorus spring water were 34-69 mg/l, similar to the concentration range (25-66 mg/l) in Hachirogata residual lake water. Na⁺, K⁺ and SO₄²⁻ concentrations in the spring water were high and Mg²⁺ and Ca²⁺ concentrations were low compared with concentrations in other water samples. The high-phosphorus spring water is thought to be derived from mixing of precipitation and agricultural water from a drainage pumping station in the southern part. The mixing ratio of precipitation to agricultural water (precipitation/agricultural water) is thought to be high for high-phosphorus spring water derived from shallow part and low for high-phosphorus spring water derived from deeper part.

PIXE法による地学系試料化学分析の特徴

張 建東^{1,2}、石山大三¹、世良耕一郎³

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

²中南大学地球科学環境工学部
中華人民共和国湖南省長沙

³岩手医科大学サイクロترونセンター
岩手県岩手郡滝沢村字留が森 348-58

要旨

0.5～1 mgのごく少量の地学系試料の化学組成を測定するために、ポリカーボネート製濾紙にトランプされた地質調査所の標準岩石の粉体試料の化学分析がPIXE法により行われた。岩石粉体試料については、0.2 μm、0.6 μm、0.8 μmの濾紙に比較して、0.4 μmの濾紙の変動が少なく、鉱石粉体試料については、0.4 μm、0.6 μm、0.8 μmの濾紙に比較して、0.2 μmの濾紙の変動が少なかった。PIXE法による標準岩石の測定値は、X線の自己吸収のために公表値とは若干異なっていた。測定値と推奨値を基にして補正係数が得られた、これらの補正係数を使うことで、岩石と鉱石のごく少量の粉体試料の化学組成を正確に測定できる可能性がある。

Characteristics of chemical analysis of geological samples by PIXE

J.D. Zhang^{1,2}, D. Ishiyama¹ and K. Sera³

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

²Key Laboratory of Metallogenic Prediction of Nonferrous Metals, Ministry of Education,
School of Geosciences and Info-Physics, Central South University
Changsha 410083, China

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

Abstract

Chemical analysis of fine-grained powder samples from the Geological Survey of Japan trapped on a polycarbonate filter were carried out by PIXE to measure the chemical compositions of geological samples having small volumes (1 to 0.5mg). The variability of results obtained by using a filter with a pore size of 0.4 μm was smaller than the variability of results obtained by using filters with pore sizes of 0.2, 0.6 and 0.8 μm for rock samples. The results obtained by using filter with a pore size of 0.2 μm were better than the results obtained by using filters with pore sizes of 0.4, 0.6 and 0.8 μm for ore samples. Results of chemical analysis of powder samples of Japanese rock standards by PIXE were slightly different from certified values by the Geological Survey of Japan because of self-absorption of characteristic X-rays in measurements. Calibration factors were calculated on the basis of the measured values and certified values. The use of these calibration factors enables accurate results to be obtained for small amounts of powder samples of rocks and ores.

1 Introduction

Natural geological samples are generally heterogeneous and often contain low concentrations of trace elements. There are various methods, such as PIXE, XRF and ICP-MS, for chemical analysis of geological samples (Goodall et al., 2005; Vaggellia et al., 2003; Zhang et al., 2011; Giulia et al., 2008; Sila et al., 2010; Zhang et al., 2010). Kano et al. (1983) developed a method of quantitative analysis making use of the continuous background, Koyama and Ito (1991) developed a standard-free method that makes use of the ratio of peak yield to yield of continuous X-rays, and Sera et al. (1996; 1999; 2002; 2006; 2009) developed a standard-free method for quantitative

analysis of bio-samples and a powdered internal-standard method for quantitative analysis of soil, ash, sediment, deposit, tailings, powder sample of rock, etc. The aim of this study was to develop a method for chemical analysis determined by PIXE for small amounts of powder samples of rock and ore samples trapped on polycarbonate filters with pore size of 0.2 μm , 0.4 μm , 0.6 μm and 0.8 μm .

2 Experiment

2.1. Samples

In this experiment, fifteen samples as standard reference samples from the Geological Survey of Japan were used for chemical analysis of concentrations of major, minor and trace elements using PIXE. The samples included JB-1a, JB-2, JB-3, JP-1, JGb-1, JA-1, JA-2, JA-3, JG-1a, JG-2, JG-3, JR-1, JR-2, JZn-1 and JCu-1. Detailed information about sample collection and handling can be found on the homepage of GSJ.

2.2. Sample preparation

The membrane filters used in this study were made of polycarbonate with characteristics of low non-specific binding and optically translucent, extremely uniform, cylindrical pores, excellent chemical resistance, good thermal stability, non-hygroscopic and extremely weight-stable. Membrane filters with pore sizes of 0.2 μm , 0.4 μm , 0.6 μm and 0.8 μm were chosen as the target filters for characteristic X-ray and continuous X-ray background measurement to determine the concentrations of major and trace elements in order to find the most suitable target filter.

A schematic flowchart of the procedure for preparing a powder sample is shown in Fig. 1. The target filter was prepared as follows: 1) the powder was weighed for ore samples (2.0 mg powder) and rock samples (1.0 mg powder), 2) the powder was dispersed in distilled water, 3) the solution was vibrated by an ultrasonic cleaner for about 3 minutes to completely disperse the powder, 4) the membrane filter was set on the filter holder, 5) the solution was transferred into the funnel of a vacuum filtration system, 6) the internal wall of the beaker was rinsed with distilled water, 7) the solution was filtrated by a vacuum filtration system, 8) the filter was placed on the slide as a target, 9) the slide was kept in a polypropylene bottle for PIXE analysis.

2.3. Analysis

Chemical compositions of the samples were determined by PIXE at Nishina Memorial Cyclotron Center (NMCC), Japan Radioisotope Association, using 2.9 MeV protons from a baby cyclotron. Beam currents, accumulated charge and typical measurement time were 20-40 nA, 11-19 μC and 5-10 min, respectively. X-ray spectra were analyzed using the SAPIX program. Quantitative data were obtained by the combination of data determined by PIXE and certified values of the standard reference samples from GSJ.

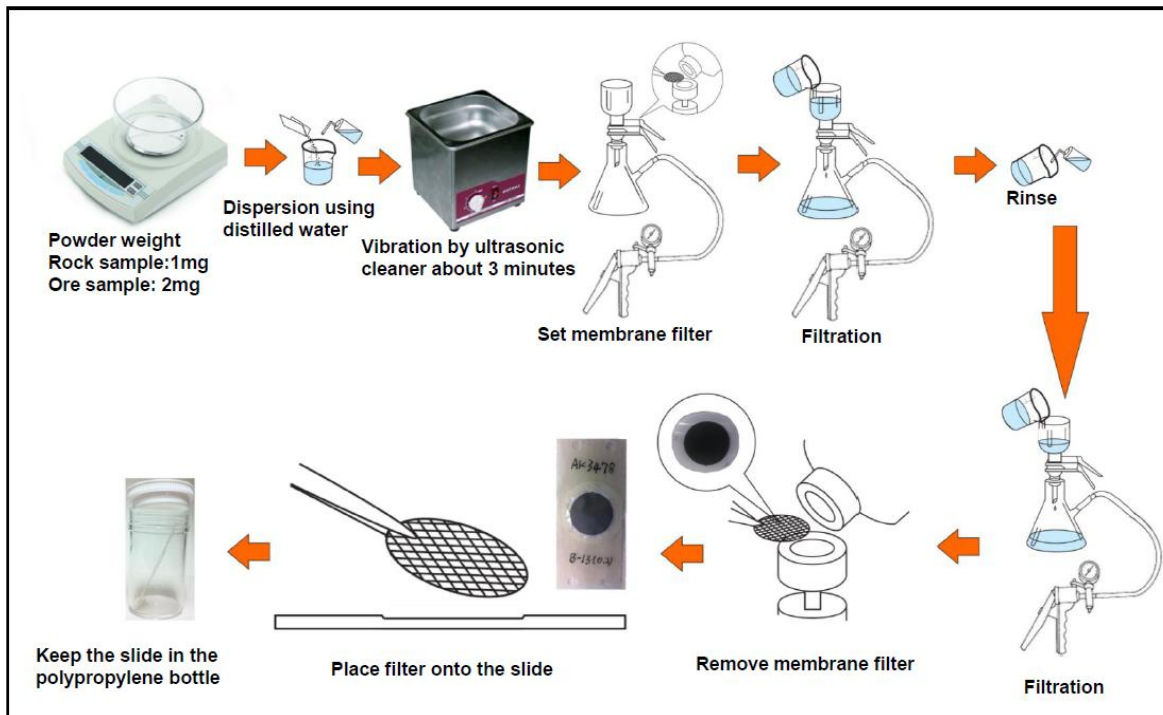


Fig.1. Schematic flowchart of the procedure for preparing a powder sample for analysis by PIXE in the geoscience field.

3 Result and discussion

The relations between values measured by PIXE and certified values by GSJ for the contents of SiO₂, TiO₂, Al₂O₃, MnO, MgO, CaO, Na₂O and K₂O for rock samples are shown in Fig. 2. Data for P₂O₅ were not examined because the amount of P₂O₅ was very small in the reference sample and the amount was lower than the detection limit of PIXE. The results for values determined by PIXE and certified values of JZn-1 and JCu-1 were shown for contents of Cu, Zn, Pb, Sr, Cd, As and S in Fig. 3. The results show an overall good correlation between concentrations measured by PIXE and the certified concentrations except for JP-1, JB-3 and JA-1.

3.1. Relation between measured values and the pore sizes of membrane filters for rock samples

The concentrations of oxides of Japanese rock standards detected by PIXE were estimated with reference to known concentrations of elements in the rock standard. The elements were Fe for JB-1a, JB-1, JB-3, JP-1, JGB-1, JA-1, JA-2 and JA-3 and K for JG-1a, JG-2, JG-3, JR-1 and JR-2. The recalculated concentrations of SiO₂ and

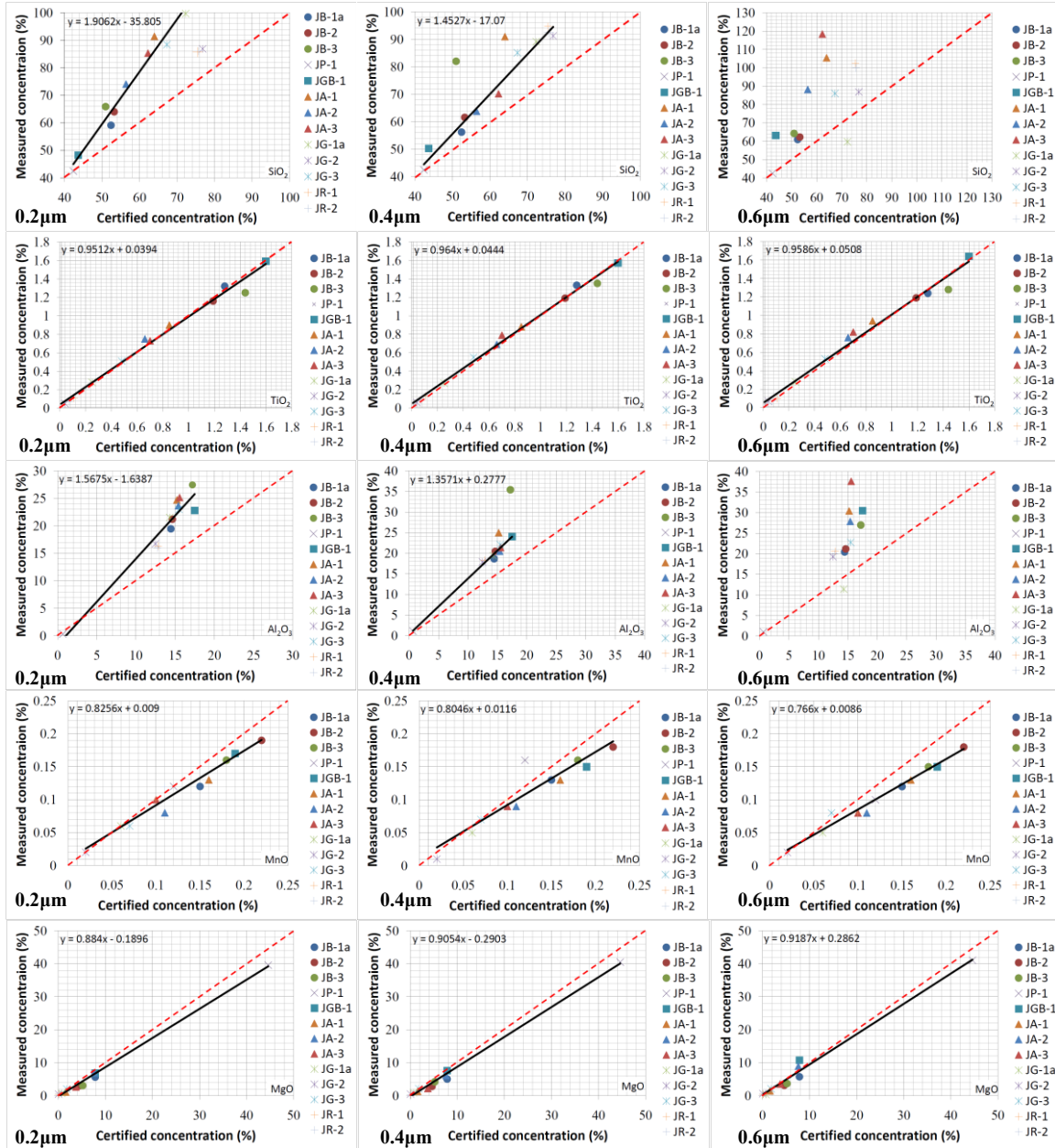


Fig.2. Scatter plots and calibration lines of measured concentrations of oxides against certified concentrations when pore sizes of filter target were 0.2 μm, 0.4 μm and 0.6 μm. The red dashed line is the 'y=x' line, and the black solid line is the calibration line.

Al₂O₃ were overestimated compared to the certified values. The recalculated concentrations of MgO and MnO were underestimated compared to the certified values. For SiO₂, the slope of the calibration line (Fig. 2) was used as the calibration coefficient to evaluate effect of pore size of the filter. If the slope of the calibration line was close to that of the line of 'y=x', the result of the concentration of oxide component determined by PIXE is accurate. The slopes of filters with pore sizes of 0.2 μm and 0.4 μm are 1.91 and 1.45, respectively. The filter with a pore size 0.6 μm, the calibration points were scattered on the plot, and the calibration slope was therefore not obtained. The results suggest the filter with a pore size of 0.4 μm gives better calibration than do other

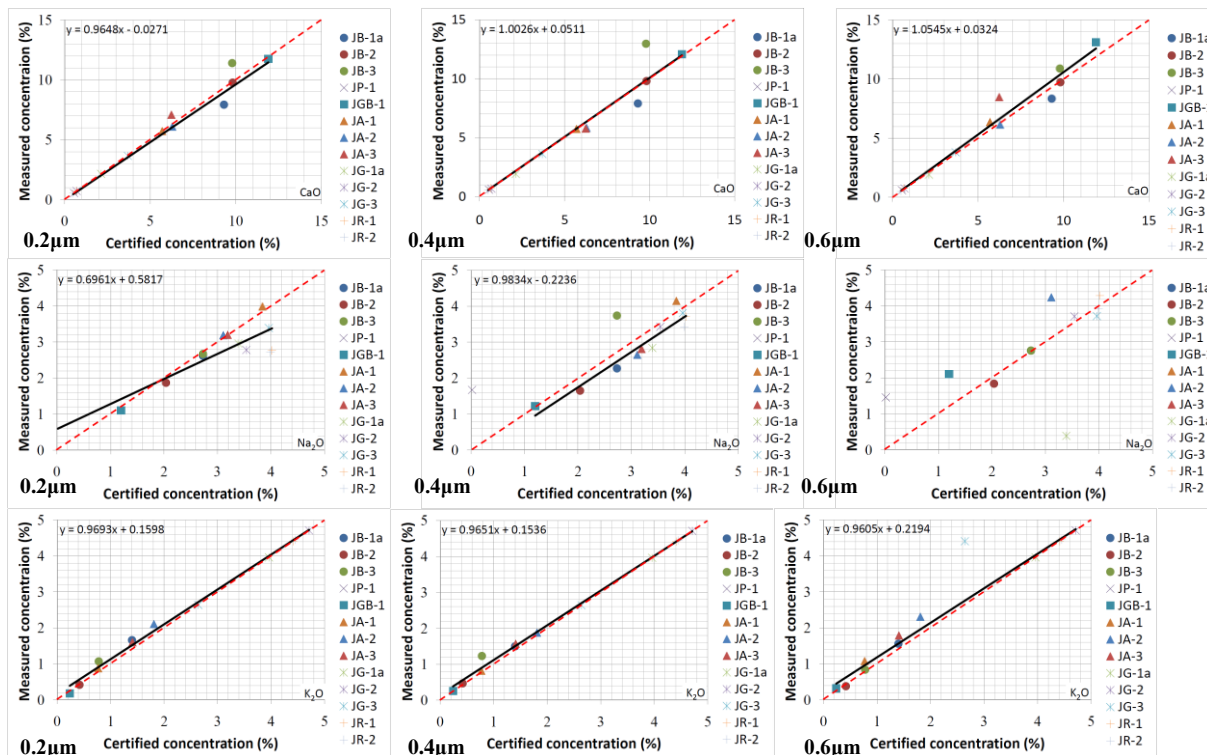


Fig.2. Continued.

filters. There was a large deviation relative to the calibration line for SiO₂ in the samples of JB-3 and JA-3 compared with other reference samples. The reason is thought to be related to the sample itself or systematic error from the process for preparation of the filter target. A similar tendency was observed for Al₂O₃ and Na₂O: a pore size of 0.4 μm was also better for obtaining an accurate concentration. For MnO and MgO, all of the calibration lines were regressed on the right side of the line of 'y=x', and the measured concentrations were significantly lower than their certified values. The slopes of the calibration lines of 0.2 μm, 0.4 μm and 0.6 μm were 0.83, 0.80 and 0.77, respectively, for MnO and 0.88, 0.91 and 0.92, respectively, for MgO. The filter with a pore size of 0.4 μm was better for analysis of MnO and MgO. For TiO₂, CaO and K₂O, all of the calibration lines were almost the same as the line of 'y=x', and the measured concentrations were almost equal to the certified values. The slopes of calibration lines of 0.2 μm, 0.4 μm and 0.6 μm were close to 1: 0.95, 0.96, and 0.96, respectively, for TiO₂; 0.96, 1.00, and 1.05, respectively, for CaO; and 0.97, 0.97, and 0.96, respectively for K₂O. The filter with a pore size of 0.4 μm was also better as a target for these oxides. The degree of linearity of data obtained from the measured values and certified values was much better for the filter with a pore size of 0.4 μm than for the filters with pore sizes of 0.2 μm and 0.6 μm.

For confirming the reliability of the results obtained, data for concentrations determined by PIXE was examined statistically by a statistical program (SPSS17.0). Univariate analysis of a general linear model (GLM) was performed on the measured concentration data. The GLM univariate procedure provides regression analysis and analysis of variance for one dependent variable by one or interactions with factors can be included. The profile plot

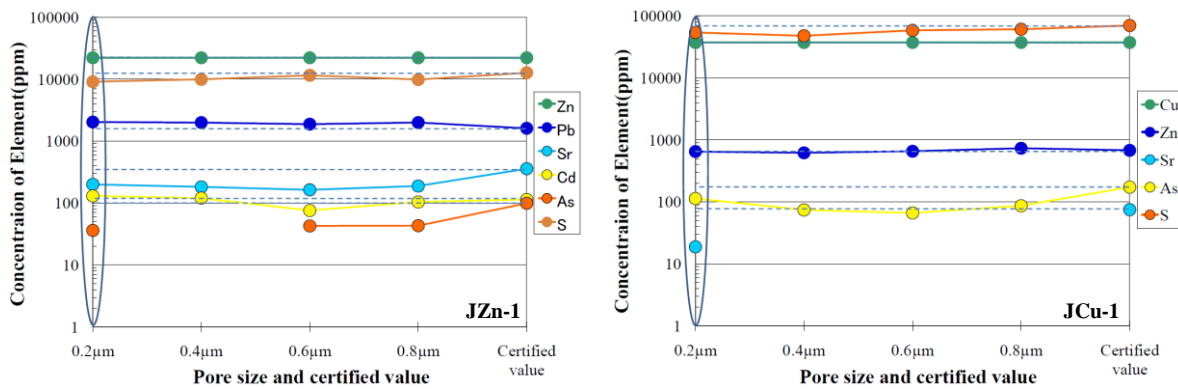


Fig.3. Comparison of the measured concentrations of trace elements obtained by PIXE with the certified concentrations of JZn-1 and JCu-1. The pore sizes of the filter target were 0.2 μm, 0.4 μm, 0.6 μm and 0.8 μm. The dashed lines represent the lines of certified values determined by GSJ. If the measured concentration of the element is in agreement with the corresponding certified concentration, the plotted point of the element is either on the dashed line or adjacent to the dashed line.

of estimated marginal means in the SPSS GLM is a line plot for the mean concentration of each oxide and shows an interaction between the pore size and reference sample (Fig. 4). For example, the shapes of lines of 0.2 μm, 0.4 μm, 0.6 μm and certified value for SiO₂ content are similar and parallel to each other. That suggests that there is no interaction, but the line of 0.4 μm is more adjacent to the line of the certified value relative to the lines of 0.2 μm and 0.6 μm, though the measured average concentrations of 0.2 μm, 0.4 μm and 0.6 μm for SiO₂ are larger than that of the certified value. That means that pore size of 0.4 μm is better as a filter target for analysis by PIXE. For other oxide including of TiO₂, Al₂O₃, MnO, MgO, CaO, Na₂O and K₂O, the filter with a pore size of 0.4 μm is better for determining the concentrations in rock samples. The small table inserted in each diagram shows results of post hoc tests of pore size. The results are listed in order according to their mean value for the dependent variable with the pore size groups. Here, for SiO₂, the certified value group is shown first as this group has the lowest mean concentration and the 0.6 μm group is shown last as this group has the highest mean concentration. The subsets show the mean concentration from each group listed in different columns. If the means for two groups are shown in different subsets, this indicates that there is a statistically significant difference between these two groups. Conversely, if the means for two groups are shown in the same subset, this indicates that there is no statistically significant difference between these two groups. For example, the mean concentration of the certified value for SiO₂ is shown in a subset indexed as No. 1, whereas the mean concentrations determined by PIXE using filters with pore sizes of 0.2 μm, 0.4 μm and 0.6 μm are separated into another subset indexed as No. 2. The results indicate that the mean concentration of the certified value is significantly different from the mean concentration of three other filters with pore sizes of 0.2 μm, 0.4 μm and 0.6 μm. However, the mean concentration using the filter with a pore size of 0.4 μm is closer to the mean concentration of the certified values than are the mean concentrations using filters with pore sizes of 0.2 μm and 0.6 μm, suggesting that the filter with a pore size of 0.4 μm is better for measurement of SiO₂ content. Another example is for TiO₂: the mean concentration of all four groups is clustered in one subset marked as No. 1, suggesting that there is no significant difference among the four groups. Each of the pore sizes can

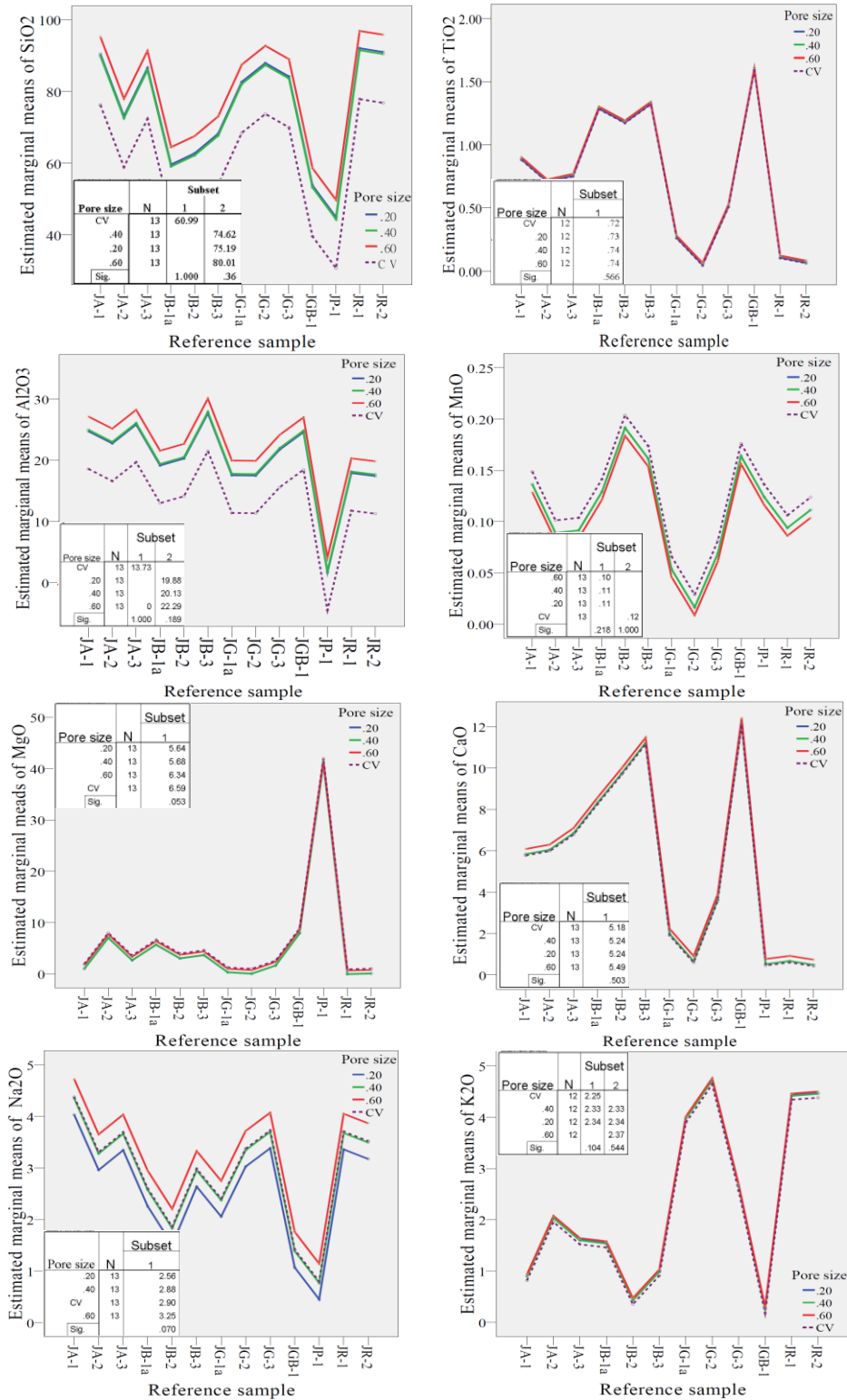


Fig.4. Profile plot of estimated marginal means of oxides derived from statistical calculation through carrying out SPSS. The small table inserted for each shows results of post hoc tests of pore size. The dashed line represents the certified value of GSJ rock standard, and the solid lines show the measured concentration of oxides using the filters with pore sizes of 0.2 μm, 0.4 μm and 0.6 μm.

be a good filter target, but considering other oxides and the order of the mean concentration, the filter with a pore size of 0.4 μm is thought to be a better filter target in this experiment.

3.2. Relation between measured values and pore sizes of membrane filters for ore samples

Similar to major elements of the rock, when analyzing the concentrations of trace elements of ore in a specified deposit by PIXE, consideration should be given to which pore size of the membrane filter is most appropriate as a target after filtration for crushed powder. In this experiment, Japanese standard samples for ore JZn-1 and JCu-1 were examined. The results are shown in Fig. 3. If the measured concentration of a trace element is in agreement with the corresponding certified value, the plotted point of the trace element is projected either on the dashed line or adjacent to the dashed line.

The concentrations of Pb, S and Zn for JZn-1 (zinc-rich ore sample) determined by PIXE using filters with pore sizes 0.2 μm , 0.4 μm , 0.6 μm and 0.8 μm are similar to concentrations of the certified values. However, for Cd, As and Sr, the measured concentrations using the filter with a pore size of 0.2 μm are closer to the certified values than are the measured concentrations using other filters with different pore sizes. Thus, the filter with a pore size of 0.2 μm is thought to be a suitable filter for PIXE measurement in JZn-1. For JCu-1 (copper-rich ore sample), the same analytical procedure was applied to determine a suitable filter. The filter with a pore size of 0.2 μm was shown to be suitable for chemical analysis by PIXE.

3.3. Calibration factor

As shown above, a pore size of 0.4 μm is better for measurement of major element in rock samples by PIXE, whereas a pore size of 0.2 μm is better for other ore samples. However, the values measured by PIXE are slightly different from the certified values by GSJ owing to self-absorption of characteristic X-rays in measurements. Thus, the factor should be estimated to calibrate the difference between the measured and certified values. In this experiment, the ratio of the measured value divided by the certified value was calculated and the calibration factor (C.F.) was obtained by calculating the average of the ratio to the corresponding element, which is given by the following equation:

$$(C.F.)_j = \sum_{i=1}^n M_{i,sa} / n C_{i,st}$$

where $M_{i,sa}$ and $C_{i,st}$ are the measured and certified concentrations of element j to the i^{th} reference standard sample in GSJ; j is a specified element such as Si (herein converted to SiO_2); and i is a reference standard sample such as JB-1a. The results of calculation are summarized in Tables 1 and 2 and Fig. 6. The horizontal lines in the box chart denote the 25th, 50th, and 75th percentile values (Fig. 5). The error bars denote the 5th and 95th percentile values. The red dashed line is an equivalent line between the measured value and the certified value. The samples of JA-1, JB-3

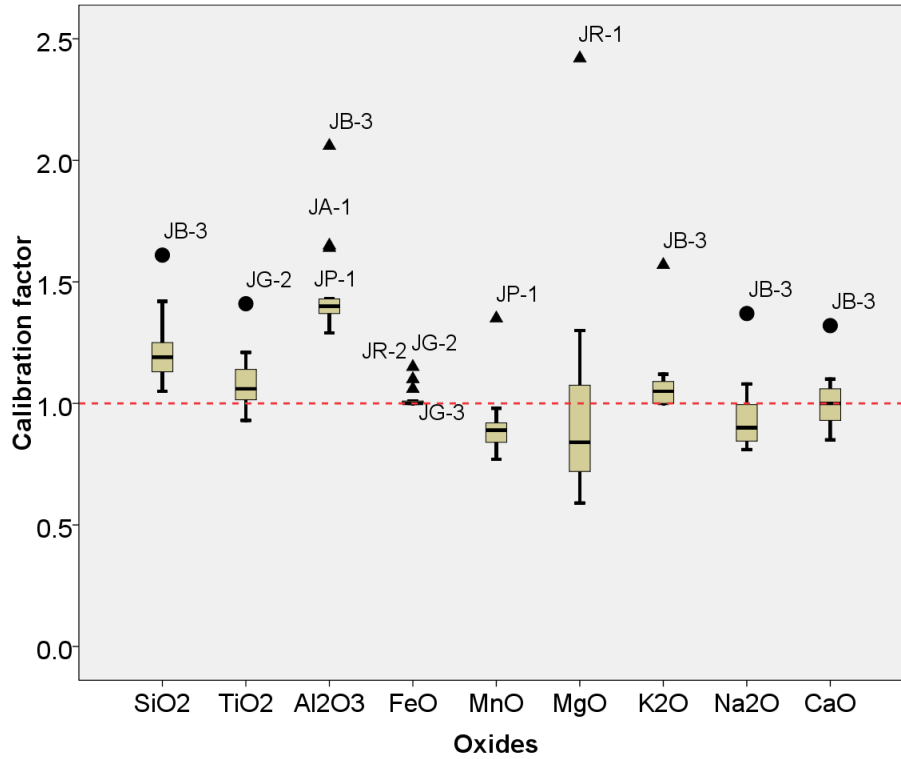


Fig.5. Box chart of the ratio of measured values to certified values for the oxides determined by PIXE to the standard sample of GSJ.

and JP-1 can be regarded as anomalous samples for analysis on Al₂O₃ content because the calibration factors of these samples have a large error over the 95th percentile (Fig. 5). The ratio on the 50th percentile can be regarded as the calibration factor (C.F.). The calibration factors of oxides of rock samples were calculated using the equation and the results are summarized in Table 1. The calibration factor of trace elements of ore samples and the ratio in GSJ standard samples are summarized in Table 2.

Table1. Calibration factor calculated from concentrations of oxides by PIXE / Certified value to filter with a pore size of 0.4 μm for rock samples.

	JB-1a	JB-2	JB-3	JP-1	JGB-1	JA-1	JA-2	JA-3	JG-1a	JG-2	JG-3	JR-1	JR-2	C.F.	Max	Min
SiO ₂	1.07	1.16	1.61	1.05	1.15	1.42	1.13	1.13	1.23	1.19	1.26	1.25	1.22	1.22	1.61	1.05
TiO ₂	1.04	1.00	0.93		0.98	1.03	1.05	1.13	1.07	1.41	1.14	1.14	1.21	1.09	1.41	0.93
Al ₂ O ₃	1.29	1.40	2.06	1.65	1.38	1.64	1.33	1.37	1.36	1.43	1.43	1.43	1.37	1.47	2.06	1.29
FeO	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.01	1.15	1.06	1.01	1.10	1.03	1.15	1.00
MnO	0.89	0.83	0.91	1.35	0.77	0.85	0.83	0.84	0.89	0.88	0.92	0.98	0.96	0.92	1.29	0.77
MgO	0.64	0.60	0.81	0.95	0.97	0.84	0.80	0.59	1.30		1.18	2.42		1.01	2.42	0.59
CaO	0.85	1.00	1.32	1.06	1.01	1.01	0.93	0.93	0.90	0.96	0.98	1.06	1.10	1.01	1.32	0.85
Na ₂ O	0.83	0.81	1.37		1.02	1.08	0.85	0.88	0.84	0.97	0.96	0.92	0.86	0.95	1.37	0.81
K ₂ O	1.07	1.12	1.57		1.06	1.07	1.04	1.11	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.09	1.57	1.00

5 Conclusions

A relatively simple sample preparation method was developed for PIXE analysis of geological powder samples using a membrane filter. Fifteen standard samples that were previously analyzed by GSJ were used for evaluating the accuracy of different membrane filters with pore sizes of 0.2 µm, 0.4 µm, 0.6 µm and 0.8 µm. The results suggest that the filter with a pore size of 0.4 µm is better for the chemical analysis of rock samples, whereas the filter with a pore size of 0.2 µm is better for ore samples. A calibration method was developed for calibrating the difference between the measured concentration and the certified value determined by GSJ. On the basis of this method, we calculated the calibration factors for the rock samples and ore samples.

Table2. Calibration factor calculated from concentrations of elements by PIXE /Certified value to filter with a pore size of 0.2 µm for ore samples.

	JZn-1	JCu-1	C.F.
Cu	BDL	1.00	1.00
Zn	1.00	0.95	0.75
Pb	1.26	BDL	1.26
Sr	0.56	0.25	0.40
Cd	1.14	BDL	1.14
As	0.36	0.66	0.51
S	0.72	0.77	0.74

BDL: below detection limit.

References

- [1] Goodall W.R., Scales P.J., Ryan C.G., 2005 Applications of PIXE and diagnostic leaching in the characterisation of complex gold ores. *Minerals Engineering*. 18, 1010–1019.
- [2] Vaggellia G., Borghib A., R Cossioc., Mazzolid C., Olmia F.,2003 Comparison between major and trace element concentrations in garnet performed by EPMA and micro-PIXE techniques. *Spectrochimica Acta Part B*. 58, 699–709.
- [3] Zhang Z.W., Gan F.X. , Cheng H.S. 2011 PIXE analysis of nephrite minerals from different deposits. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*. 269 , 460–465.
- [4] Giulia C., Massimo C. , Franco L., Federico M., Silvia .,Paolo P., Gianluigi V., Roberta V., 2008 PIXE and XRF analysis of particulate matter samples:an inter-laboratory comparison. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*. 266, 2401–2404.
- [5] Sila T., Abhay M., Vora K.H., Ramalingeswara B. R., Gaur A.S., Sundaresh, 2010 Geochemical and mineralogical analysis of stone anchors from west coast of India: provenance study using thin sections, XRF and SEM-EDS. *Journal of Archaeological Science* 37, 1999-2009.
- [6] Zhang, J. D., Ishiyama, D., Mizuta, T., Allen, R. L., Sera, K., 2010 Geochemical characteristics of gold-bearing ores of Boliden deposit, Skellefte district, Sweden. *NMCC ANNUAL REPORT*. Vol.16, 62-68.
- [7] Kano K., Yoshinaga T., Watanabe S., Fijita Y., Shimizu A., 1983 An Attempt to Use Background for PIXE Quantitative Trace Element Analysis of Very Small Bio-medical Samples.Proc. 7th Int. Congress Radiat. Res. Sess. A 339-340.
- [8] Koyama-Ito H.. 1991 The Peak to Background Method in Quantitative Ion Microprobe Analysis of Thick Biological Specimens. *Nucl. Instr. and Meth.* B58 No.1,71-78.
- [9] Sera,K., Futatsugawa S., Matsuda K., Miura Y., 1996 Standard-free method of quantitative analysis for bio-

samples. International Journal of PIXE, Vol. 6, Nos. 3& 4 , 467-481.

[10] Sera, K., Futatsugawa, S., Ishiyama, D. ,1999 Application of a powdered internal standard method combined with a method of correction for self absorption of X-ray to geological, environmental and biological samples. Int. J. PIXE vol. 9 ,63.

[11] Saitoh, K., Sera, K., Gotoh, T., Nakamura, M., 2002 Comparison of elemental quantity by PIXE and ICP-MS and/or ICP-AES for NIST standards. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B, vol. 189, 86–93.

[12] Sera K., Itoh J., Saitoh Y., Futatsugawa S., 2006 Standard-free Method for Beard Samples of Very Small Quantity. Int'l Journal of PIXE, Vol.16 –3,4, 157-168.

[13] Sera K., Suzuki K., Taguchi K., Ito J., Goto S., Saitoh Y., 2009 Standard-Free Method for Hoof Samples Taken from Domestic Animals such as Cow, Calf, Pony and Sheep. Int'l Journal of PIXE, Vol.19 –3, 4, 111-122.

腫瘍血流遮断剤 AVE8062 を投与したマウス NFSa 線維肉腫腫瘍の元素分析

寺川貴樹¹、石井慶造¹、山崎浩道²、松山成男¹、菊池洋平¹、康永盛欽¹、伊藤友紀¹、
三浦勇一¹、古本祥三²、船木善仁²、和田成一³、伊藤伸彦³、世良耕一郎⁴

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東北大学サイクロトン・ラジオアイソトープセンター
980-8578 宮城県仙台市青葉区荒巻字青葉 6-3

³北里大学獣医学部
青森県十和田市東二十三番町 35-1

⁴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 348-1

1 はじめに

腫瘍血管は正常血管と比べて構造および機能的に異常な点が多く、近年、これらを標的とするがん治療が注目を集めている。腫瘍血管は酸素や栄養素を腫瘍細胞に供給するため、その血流を選択的に長時間遮断できれば、がん細胞を壊死させることが可能であり、がん細胞を直接攻撃するのではなく、腫瘍血管系の構造や機能を破壊する薬剤の研究開発が行われている。

これまでに開発されてきた多くの血管破壊薬は、腫瘍血流を急速、不可逆的に遮断し腫瘍内部の広範囲に壊死を誘発させるが、一方で腫瘍辺縁部組織の細胞が生き残り再増殖することが知られている¹。その理由として、腫瘍辺縁部の細胞は周辺の正常血管由来の酸素や栄養素の供給を受けるために壊死を免れる可能性が指摘されている。結果的に、血管破壊剤を投与された腫瘍は、内部の壊死組織と辺縁部の生存組織から成り、腫瘍組織内の元素濃度は、細胞死や低酸素ストレスによる生化学的応答による影響で通常とは異なることが予想される。本研究では、PIXE分析法により血管破壊剤で治療された腫瘍の元素濃度をマウスモデルを用いて評価することを目的とし、腫瘍内の主な元素の分布を評価するためにサブミリサイズのビームを用いたサブミリ PIXE とそれらの元素濃度を定量するために内部標準法に基づく従来の PIXE 分析を行った。

2 材料と方法

腫瘍血管破壊剤として Combretastatin A4 誘導体 AVE8062 を用いた。AVE8062 は微小管阻害剤に分類され

血管内皮細胞の細胞骨格破壊などに伴って毛細血管の血流遮断を引き起こす。その作用は正常血管内皮細胞よりも腫瘍血管内皮細胞との親和性が高いとされている。その結果、腫瘍血管を選択的・不可逆的に急速に遮断し、腫瘍組織内の細胞代謝物の蓄積による細胞毒性効果も加わって、腫瘍細胞を壊死させる効果を有する。本実験で使用した AVE8062 は、文献 2 および文献 3 の方法により合成した。

マウス腫瘍モデルとして、マウス NFSa 線維肉腫細胞⁴を用いた。5×10⁶個の NFSa 細胞を C3H/He Slc (10～12 週齢、オス)の後脚に移植し、腫瘍径が約 8 cm に達した時点で、40 mg/kg の AVE8062 を単回腹腔投与した。投与 24 時間後に腫瘍を摘出し粉末状のドライアイス中で急速冷凍した。摘出された腫瘍は PIXE 分析のためのサンプル調整までは -80°C で保存された。サブミリ PIXE 用のサンプルとして、クライオスタットで作成した 250 μm 厚 (凍結切片作成時の厚さ) の腫瘍切片を厚さ 4 μm のプロレンフィルムにマウントし、乾燥させたものを使用した。凍結切片厚の決定では、走査するビームサイズが約 0.5 mm であり組織レベルの空間分解能であること、また、特性 X 線の発生・吸収、ビームのエネルギーロスなどの点を考慮し、プラチナ等重元素の X 線収量が最大となるように設定した。サブミリ PIXE 分析は、東北大学 高速中性子実験施設において行われた。3 MeV の陽子ビームを大気中でサンプルに照射し、X 線の測定では高エネルギーと低エネルギーの領域を Si(Li)検出器 2 台を用いた。得られたスペクトルを GeoPIXE ソフトウェア⁵を用いて解析し各種主要元素マップを作製した。

元素濃度定量評価のための PIXE 分析は、仁科記念サイクロトロンセンターの PIXE 分析システムを用いて行われた。腫瘍サンプルを硝酸灰化し、灰化溶液を 4 μm 厚プロレンフィルムに滴下・乾燥させ、2.9 MeV の陽子ビームで分析を行った。なお、サンプル調整では内部標準元素としてインジウム(1000 ppm)を加えた。ビーム径および強度は、それぞれ 6 mm、50 nA 程度であった。高エネルギー用と低エネルギー用の 2 台の Si(Li) 検出器を使用して得られた X 線スペクトルは SAPIX⁶を用いてピーク分離され、内部標準法により各種元素を定量評価した。なお、高エネルギー用の検出器には低エネルギー X 線吸収体として 500 μm 厚マイラーを使用した。

3 結果および議論

図 1 は、サブミリ PIXE 分析により得られた AVE8062 投与の腫瘍切片内の元素濃度分布を示す。図 1 中の腫瘍切片の写真から明らかのように、腫瘍には主に壊死組織と思われる内部領域と腫瘍細胞が生存していると思われる辺縁部からなっている。サブミリ PIXE 分析の結果、コントロールの無治療腫瘍の場合は、各種元素の濃度分布はほぼ様な結果であったが、AVE8062 投与群では、腫瘍辺縁部にカリウムおよび硫黄の高い集積がみられ、一方、カルシウムはその少し内部にリング状に集積していることが確認された。元素マップと切片写真の比較から、カリウムおよび硫黄の集積は AVE8062 治療で壊死を免れた細胞が存在する領域に対応しており、カルシウムが集積する領域はそのすぐ内側で、主に壊死組織と思われる領域の最も外側に対応する。腫瘍中心部と辺縁部の中間領域は、薬剤による遮断効果が不十分で低酸素状態の可能性がある。一般にカルシウム濃度の増加は、低酸素状態における初期の生化学的応答の一つであるので、今回観測されたリング状のカルシウム分布は、薬剤により誘発された低酸素状態との関連が示唆される。

同一サンプルを内部標準法で PIXE 分析した結果を表 1 に示す。サンプル調整では、腫瘍全体、腫瘍辺縁部、腫瘍内部に分けて、各種主要元素濃度を定量した (辺縁部および内部の設定は、図 1 中の腫瘍切片写真参照)。その結果、コントロールに比べて AVE8062 治療の腫瘍においては、各種元素濃度はカルシウムを除き低い傾向を示した。また、カリウムおよび硫黄濃度は腫瘍辺縁部の方が内部よりも高く、カルシウムは、腫瘍内部の方が高い濃度が示され、サブミリ PIXE 分析と同じ傾向が得られた。

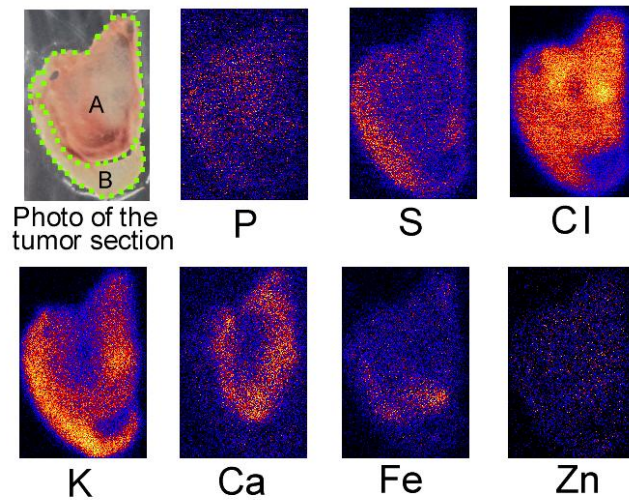


図1 AVE8062を投与されたNFSa線維肉腫の腫瘍切片における各種元素濃度分布

表1 AVE8062を投与されたNFSa腫瘍組織の各種元素濃度。表中の腫瘍内部および腫瘍辺縁部は図1の腫瘍写真のA領域とB領域にそれぞれ対応する。

Treatment group	元素濃度 (μg/g)					
	P	S	K	Ca	Fe	Zn
Control (腫瘍全体)	3022±54	2130±38	5115±106	114±5	30±0.6	27±0.6
AVE8062 (腫瘍全体)	1081±20	1440±22	1387±28	220±5	44±1	15±0.3
AVE8062 (腫瘍内部)	1022±19	996±19	1030±22	295±6	58±1	16±0.3
AVE8062 (腫瘍辺縁部)	918±17	1372±25	1474±30	191±4	39±1	13±0.3

4 まとめ

腫瘍血流遮断剤 AVE8062 を投与したマウス NFSa 線維肉腫の PIXE 分析を行った結果、カリウム及び硫黄濃度は、血流遮断効果で壊死した腫瘍中心部では低く、血流遮断効果が有効に働かず細胞が生き残る腫瘍辺縁部で高いことが確認された。一方、辺縁部のすぐ内側ではカルシウムがリング状に分布し、低酸素応答との関連が示唆される。

参考文献

- 1) P. Hinnen and FALM Eskens, “Vascular disrupting agents in clinical development”, *British Journal of Cancer* 96 (2007) 1159-1165.

- 2) Koji Ohsumi, Ryusuke Nakagawa, Yumiko Fukuda, Toshihiro Hatanaka, Yoshihiro Morinaga, Yukio Nihei, Kazuo Ohishi, Yasuyo Suga, Yukio Akiyama, and Takashi Tsuji, “Novel Combretastatin Analogues Effective against Murine Solid Tumors: Design and Structure-Activity Relationships”, *J. Med. Chem.* 41 (1998) 3022-3032.
- 3) Koji Ohsumi, Toshihiro Hatanaka, Ryusuke Nakagawa, Yumiko Fukuda, Yoshihiro Morinaga, Yasuyo Suga, Yukio Nihei, Kazuo Ohishi, Yukio Akiyama and Takashi Tsuji, “Synthesis and antitumor activities of amino acid prodrugs of amino-combretastatins”, *Anti-Cancer Drug Design* 14 (1999) 539-548.
- 4) Tatsuo Jibu, Sachiko Koike, Koichi Ando, Tsuneya Matsumoto, Masashi Kimoto and Shiro Kanegasaki, “Antimetastatic activity of lipopolysaccharide against a NK-resistant murine fibrosarcoma”, *Clin. Exp., Metastasis*, 11 (1993) 306-312.
- 5) C. G. Ryan, E. van Achterbergh, C. J. Yeats, S. L. Drieberg, G. Mark, B. M. McInnes, T. T. Win, G. Cripps, and G. F. Suter, “Quantitative, high sensitivity, high resolution, nuclear microprobe imaging of fluids, melts and minerals ” *Nucl. Instr. and Meth.* B 188 (2002) 18.
- 6) K. Sera and S. Futatsugawa, “Personal Computer Aided Data Handling and Analysis for PIXE”, *Nucl. Instr. and Meth.*, B109/110, (1996), 99-104.

Elemental analysis of a murine NFSa tumor treated with a vascular disrupting agent AVE8062

A. Terakawa, K. Ishii, H. Yamazaki¹, S. Matsuyama, Y. Kikuchi, S. Yasunaga, Y. Ito, Y. Miura, S. Furumoto¹, Y. Funaki¹, S. Wada², N. Ito² and K. Sera³

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

¹Cyclotron and Radioisotope Center, Tohoku University
6-3 Aoba, Aramaki, Aoba-ku, Sendai, Miyagi 980-8578, Japan

²Kitasato University School of Veterinary Medicine,
31-1 Towada, Aomori 034-8628, Japan

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

Abstract

We evaluated spatial distributions of principal elements in a NFSa fibrosarcoma tumor treated with a vascular disruption agent, AVE8062 (a derivative of combretastatin A-4) at a single dose of 40 mg/kg using submilli-PIXE analysis. It was found that potassium and sulfur concentrated at the periphery of the treated tumor whereas a ring-shaped calcium distribution was caused in the area between the inner necrotic region and the periphery. These observations were supported by results for quantitative evaluation of elemental concentrations in the tumor samples obtained from conventional PIXE analysis based on the internal standard method. It is suggested that the potassium and sulfur concentrations are related to residual viable cells at the tumor periphery which are commonly observed in VDA treatments whereas the ring of calcium concentration just inside the tumor periphery is possibly derived from hypoxia-induced response.

韓国と日本の各都市における大気粒子状物質 (PM) 中の 重金属元素の起源と輸送経路

菊地良栄¹、菊池和也¹、世良耕一郎²、小川信明¹

¹秋田大学工学資源学部
018-8502 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滝沢字留が森 348-58

1 緒言

酸性雨は大気汚染問題として国内的に深刻な環境問題であるとともに、硫酸化物や窒素酸化物などの原因物質が排出源から数千キロも離れた地域に運ばれることから、その解決のためには国際的な協力が不可欠で、地球環境問題の一つともなっている。

わが国では 1973 年に降水による目の痛みなどが報告されたため、環境庁では酸性物質だけでなくアルデヒド等有機物質も含めた「湿性大気汚染」として、各都道府県において状況把握を行い、引き続き、酸性雨対策調査を実施している。それにより北米での沈着量に匹敵するとの結果が得られたが、これまでのところ土壌や生態系には顕著な影響は報告されていない。

上記の酸性雨対策調査地点に含まれておらず、酸性雨の系統的調査・報告がほとんどなされていない秋田県において、我々の研究グループでは、秋田市での酸性降水の状況を調べるために、1993 年頃から秋田市（秋田大学教育文化学部 3 号館屋上）の降水を一日毎にサンプリングし、主要イオンの化学分析を行い、降水の酸性化や汚染の要因について解析してきた¹⁻⁶⁾。これにより、秋田市の降水は酸性降水の定義から示される pH5.6 よりも、pH が低い値で推移していることがわかった。また、秋田市の冬季降水の酸性化は、主に、 H^+ とともに濃度が推移する非海塩起源の硫酸イオンによるものだという結論が得られたものの、その輸送の機構を十分に理解することは出来なかった。

1997 年からは、秋田市降水のほかに、通常の降水より酸性度が高いと言われている霧水の酸性要因を解析するため、秋田八幡平(6 月-9 月)で霧を採集し、イオン組成と気象条件との関係について解析を行ってきた⁷⁾。これにより霧は、イオン性汚染物質の活性化及び成長過程に風向、天気図パターン、空気塊の輸送経路の影響を受けていることがわかった。

さらに我々の研究グループでは秋田市の降水、秋田県八幡平の降水・霧水中のイオン成分につ

いて、統計学的手法である因子分析法を酸性雨解析のために改良した制限斜交回転因子分析法といわれる手法を用い、定量的な解析を行なった。その結果、汚染物質は雲凝結核(CCN)としてよく知られている $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ が最も高い寄与を示し、海塩がその次に高い寄与を示した。さらに $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ のような比較的小さなエアロゾルがCCNになった場合は比較的小さな霧粒を生成し、海塩のような大きな粒子は大きな霧粒を生成するという教科書にもでてくる記述がフィールドワークのデータから初めて明らかになった^{6, 8, 9-12}。

また、大気粒子状物質(PM)は大気化学のみならず、その健康影響の面からも注目されており、国際的な連携により精力的な研究が進められている分野である。大気粒子状物質(PM)は人為的発生源(自動車の排気、バイオマスや化石燃料燃焼等)、自然発生源(土壌粒子、海しぶき)から生ずる^{13, 14}。PMの微細粒子は人の健康(例えば、呼吸器疾患)¹⁵や気候変動と地球温暖化¹⁶に影響を与えることから、排出量の削減が求められている。それを受けて、PM_{2.5}に関する環境基準が2009年9月9日に環境省から通知された。

アジアは黄砂だけではなく、人為的発生源のエアロゾルについても主な供給源のひとつである。特に、北東アジアは高い人口密度とエネルギー消費の増加のため、多量の汚染物質(例えば、SO₂とNO_x)を放出している。多くの研究者が、北東アジアの地域で微細粒子($d < 2.5\mu\text{m}$ 、PM_{2.5})と粗大粒子($10\mu\text{m} > d > 2.5\mu\text{m}$ 、PM_{10-2.5})エアロゾルの排出源の寄与を調査した¹⁷⁻²⁰。それらの研究が、都市部のPM_{2.5}とPM₁₀(微細粒子+粗大粒子)の平均濃度が郊外や田舎よりも高く、PM_{2.5}中の主な成分は二次粒子である硫酸塩や硝酸塩そしてアンモニウム塩であり、PM₁₀中の主な成分は土壌粒子と海塩であることを示唆している。

日本においても長距離輸送の影響に関する多くの研究がなされてきた²¹⁻²⁴。例えば、Kikuchiらは、空気塊が中国北東部から輸送される場合に、霧が不溶性成分として黄砂を含むことを報告した。さらに、Kikuchiらは、PMと霧の間でCl-lossの度合いが異なり、それは、霧が塩化水素を取り込んだためであることを明らかにした²⁵。また、幾つかの論文においてEnrichment Factor解析、特有の元素間の比率そして後方流跡線解析を用いてPMの発生源を明らかにした²⁶⁻²⁷。Fangらは、10以下のEF値を持つ元素は土壌起源そして10以上のEF値を持つ元素は人為的発生源であると報告した²⁶。さらに、ArditsoglouとSamaraは、As、PbそしてSeの発生源に関しては、特有の元素比を用いることが有効であると報告した²⁸。

そこで、本研究では、韓国大邱市、福井県福井市、兵庫県加東市で採集したPMにおける人の健康に影響を与える元素の発生源をEnrichment Factorを用いた解析、特有の元素間の比率そして後方流跡線解析を用いて明らかにすることを目的とした。

2 実験

2.1 大気粒子状物質(PM)のサンプリング

PMは韓国の大邱(テグ)市、日本の福井県福井市、兵庫県加東市で行った。大邱市、福井市及び加東市では東京ダイレック株式会社のアンダーセン型PMサンプラー(ホルダーのみを使用)に小型吸引ポンプを接続して、2.5 μm 以下の粒子(PM fine)と2.5-10 μm の粒子(PM coarse)そして10 μm 以上の粒子に分粒して採集した。

採集した PM は岩手県滝沢村にある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)にある荷電粒子励起 X線放射(PIXE)分析装置を用いて元素分析を行った。

空気塊の輸送経路は地球環境研究センターの Metex からダウンロードした。

2.2 濃縮係数 (EF 値) について

元素成分について起源を評価するため、Thomas ら多くの研究者が用いている方法として濃縮係数(EF 値 = Enrichment Factor)がある^{29,30,31-34}。EF 値は次式で定義される。

$$EF = \frac{([E] / [R])_{\text{sample}}}{([E] / [R])_{\text{crust}}}$$

E: element
R: reference element in crust
(Al, Fe, Si, Mg, Ca など)

この計算式において分子は採集した PM 中の評価したい元素 E と地殻を主な起源とする参照元素 R の濃度の比を、分母は地殻存在度とよばれる地殻中の元素 E と参照元素 R の濃度³⁵関係を示す。参照元素 R は Al, Fe, Si, Mg, Ca など数元素に限られる^{30,32-34}。R は測定の方法や対象物によって、研究分野によっても異なる。

この計算式により得られた EF 値が、10 以下となるものは地殻を主とする自然発生源の元素であり、10 以上となるものは人為発生源の元素であると評価される^{30,31-34}。EF 値は一般に空気中に浮遊する全粒子について評価されるため、本研究では全粒子を PM₁₀(= PM_{fine} + PM_{coarse})として評価した³⁰。

3 結果と考察

3.1 各都市で採集された PM の元素濃度

Fig.1 には大邱市、福井市及び加東市で採集された、PM₁₀(= PM_{fine} + PM_{coarse})の濃度を示した。また、Table 1 には各都市における PM₁₀の濃度と秋田八幡平における PM₁₀の濃度を示した。

後に述べる EF 値から人為起源であると考えられる元素の中で、Se, As, Ni, Cr, Cu, Pb として S は加東市、福井市、大邱市の順に高くなり、山岳部の八幡平と比較すると大邱市では 2 ~ 10 倍の濃度であった。また、同じ人為起源の元素の中で、Y, Ga, Br, Co そして Hg は八幡平では観測されなかった。本研究で PM をサンプリングした各都市は明らかに中国大陸の影響を受けているものと考えられるが、中でも中国大陸に近い大邱市が最も強く影響が表れていることがわかった。

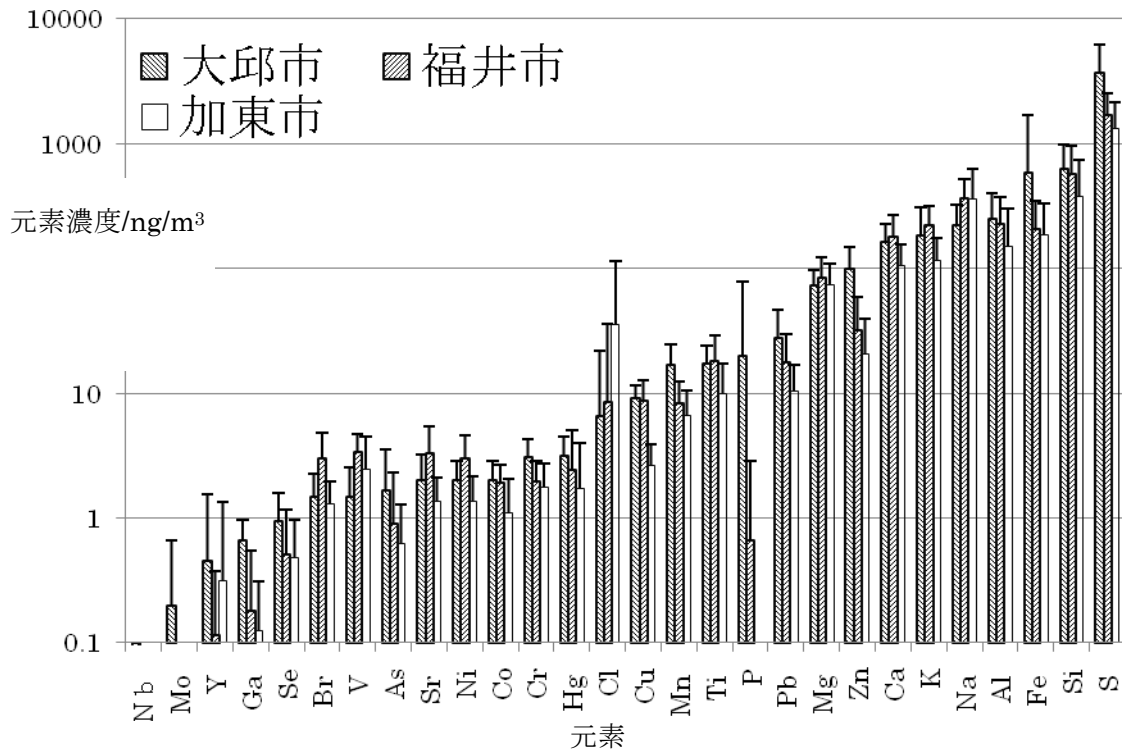


Fig.1 大邱市、福井市及び加東市における PM₁₀ 中の元素濃度

Table 1 各都市における PM₁₀ の濃度

元素	大邱市	加東市	福井市	八幡平
	PM ₁₀ /ng/m ³			
Y	0.45	0.32	0.12	—
Ga	0.66	0.13	0.18	—
Se	0.94	0.49	0.51	0.09
Br	1.47	1.30	3.03	—
V	1.49	2.47	3.38	0.2
As	1.66	0.63	0.89	0.16
Sr	1.99	1.37	—	0.08
Ni	2.02	1.38	3.02	0.82
Co	2.04	1.09	1.90	—
Cr	3.10	1.78	1.98	1.18
Hg	3.15	1.73	2.42	—
Cl	6.57	35.8	8.50	36.6
Cu	9.14	2.61	8.65	1.11
Mn	17.1	6.59	8.35	3.64
Ti	17.3	9.92	18.3	7.56
Pb	27.9	10.4	17.7	9.55
Mg	72.8	74.2	84.2	26.6
Zn	98.9	20.5	31.9	5.77
Ca	164	107	180	87.8
K	185	117	221	139
Na	224	357	365	121
Al	253	150	227	91.5
Fe	590	187	206	77.9
Si	626	377	579	324
S	3722	1336	1701	981

3.2 各都市で採集された PM の濃縮係数 (EF 値)

Fig.2 には大邱市、加東市、及び福井市で採集された、PM₁₀(= PM_{fine} + PM_{coarse})の EF 値を示す。本研究では、参照元素 R に全イベントで検出できた成分である Si を用いた。Al、Mg、Ti、Sr、Ca、Feそして Mn は各都市において EF 値が 10 以下であり、地殻由来と考えられた。福井市において Ca は 10 を超えていたので、地殻由来以外の発生が福井の近くである可能性がある。各

都市においてNaのEF値に対してClのEF値が高いことが特徴として挙げられる。ClでEF値>10となる原因として、Clは地殻よりも海塩粒子中に多量に存在するため、地殻中の濃度を基準として評価されるEF値は高い値を示したことが考えられる(Naは地殻由来のものが多いが、Clはほとんどが海塩由来と考えられる)。EF値が10を超える元素の中で特にHg、Se、S、Br、AsそしてPbのEF値が高くなっており、これらの元素は人為起源の元素であると言える。本研究ではこれらの元素の中で人の健康への被害が大きいと考えられるHg、Se、As、Pbに注目してその発生源の特定を試みた。

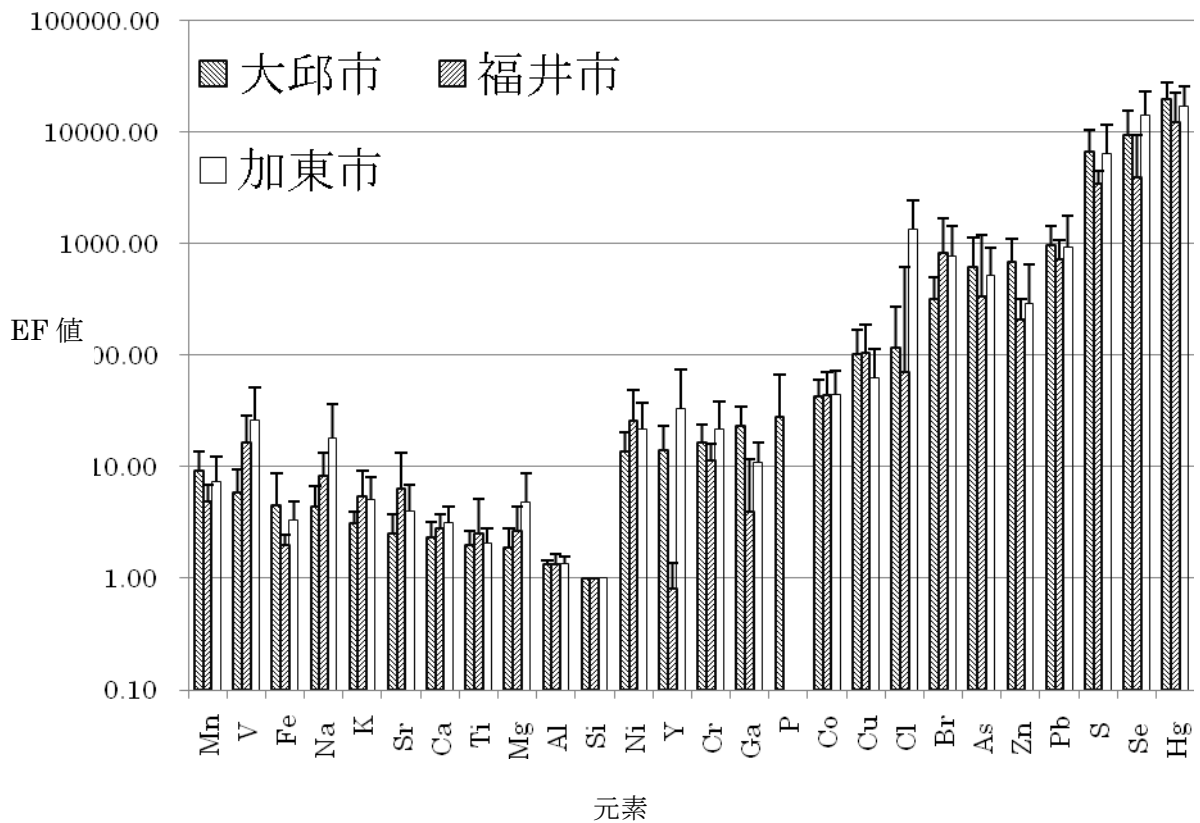


Fig.2 大邱市、福井市及び加東市におけるPM₁₀のEF値

3.3 PM サンプルング時の空気塊の輸送経路

Fig.3 に各都市における PM サンプルング時の空気塊の後方流跡線（輸送経路）をしめす。

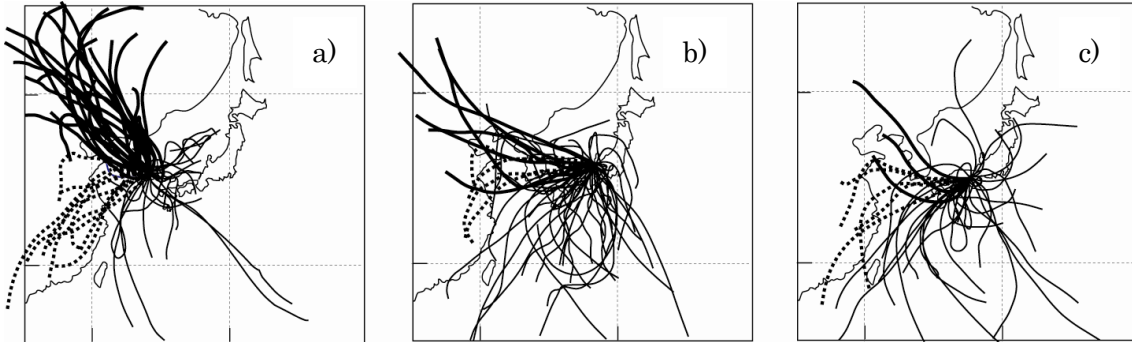


Fig.3 各都市における空気塊の輸送経路 a)大邱市、b)福井市、c)加東市

図中の太い実線は空気塊が中国北部から、太い破線は上海方面（上海付近から東シナ海を通過してサンプリング地点に来る）から、細い実線はそれ以外から輸送されていることを表している。大邱市では、60%が中国大陸北部から、20%が上海方面から空気塊が輸送されており、さらにその時にはPMの濃度がその他の輸送経路に比べて高くなることから、中国大陸の影響を強く受けていることがわかる。福井市では、中国大陸から輸送される場合が20%であり、他は主に太平洋側から輸送されていることから中国大陸の影響を受けているイベントは少ないと考えられる。加東市でも、中国大陸から輸送される場合が15%であり、他は主に太平洋側から輸送されていることから中国大陸の影響を受けているイベントは少ないと考えられる。

3.4 Pbの起源

鉛は慢性的に摂取すると、食欲不振、嘔吐、高血圧、胃痛等を引き起こすと言われている³⁶⁾。そのため、鉛の放出を止めるためにも発生源を特定することは重要である。大邱市では、中国大陸北部から輸送される場合は $17-77\text{ng/m}^3$ の範囲内にあり、上海方面から輸送される場合は $21-28\text{ng/m}^3$ の範囲内にあった。それ以外の輸送経路では $7-10\text{ng/m}^3$ と低かった。明らかに中国大陸から空気塊が輸送される場合に濃度が高くなることがわかった。

福井市で中国北部から空気塊が輸送される場合（太い赤線）は $12-22\text{ng/m}^3$ の範囲にあり上海方面から輸送される場合は $27-15\text{ng/m}^3$ の範囲にわたっていた。また、太平洋側から輸送される場合でも、 $14-19\text{ng/m}^3$ の濃度範囲にあり、大邱市よりは全体に値が低く中国大陸の影響は少ないが、太平洋側から空気塊が輸送される場合でもほとんど濃度が変わらないという特徴があった。

加東市で中国北部から空気塊が輸送される場合（太い赤線）は $13-15\text{ng/m}^3$ の範囲にあり、上海方面から輸送される場合は $3-22\text{ng/m}^3$ の範囲にあった。ただし、太平洋側から輸送されるときにも、 $3-20\text{ng/m}^3$ の濃度範囲にあること福井市同様に輸送経路による差はないと考えられる。つまり、日本の福井市と加東市には、かなり濃度の低いPbしかもたらされなく、しかもそれらは直接大陸起源かどうか不明である。

そこで、次に鉛は臭素との比率を求めることで発生源を特定化する³⁷⁾。0.8-4.7の範囲にあるときは化石燃料燃焼起源であり、それ以上は精錬であるとされている。大邱市で採集された鉛のPb/Br比はすべて4.7を超えていたことから発生源は精錬であると考えられる。加東市の場合、太平洋から東シナ海から輸送された4イベントにおいて4.7以下であり化石燃料燃焼であると考えられるが、他はすべて4.7を超えていたため起源は精錬であると考えられた。福井市の場合、中国大陸に近い日本海上を通過する3イベントにおいて4.7以下であり、化石燃料燃焼起源であると考えられたが他は精錬起源であると考えられた。

3.5 Asの起源

人間はヒ素を慢性的に摂取すると、皮膚癌、肝臓障害、貧血等の障害を引き起こすと言われていた。そのため、ヒ素の放出を止めるためにも発生源を特定することは重要である。

大邱市では、中国大陸北部から輸送される場合は2-6ng/m³の範囲内にあり、上海方面から輸送される場合は0.6-1.6ng/m³の範囲内にあった。それ以外の輸送経路では0.6ng/m³以下であった。これを見ると明らかに中国大陸から空気塊が輸送される場合に濃度が高くなることがわかった。

福井市で中国北部から空気塊が輸送される場合は1.3-3.7ng/m³の範囲にあり上海方面から輸送される場合は0.3ng/m³以下であり、太平洋側から輸送される場合は0ng/m³であった。

加東市で中国北部から空気塊が輸送される場合は0.4-1.9ng/m³の範囲にあり、上海方面から輸送される場合は0.3ng/m³以下であった。福井市同様に太平洋側から輸送される場合は0ng/m³であった。

ヒ素の発生源を特定するためにはヒ素とバナジウムの比を用いることが有効である³⁷⁾。石炭、重油、ガソリン燃焼由来のヒ素とバナジウムの比はそれぞれ、4.8、0.02、1.1であることが知られている³⁷⁾。大邱市ではこの比率は0.86~1.14と3.8であった。このことから、発生源は石炭またはガソリン燃焼であると考えられる。福井市では、この比率は1.6~1.1であったことから、ガソリン燃焼に由来するものと考えられた。加東市でも、この比率は0.7~1.4であったことから、ガソリン燃焼に由来するものと考えられた。

3.6 Seの起源

セレンを一日に2500μg以上摂取すると、悪心、脱毛、爪の変性等を引き起こすことが知られている³⁸⁾。

大邱市では、中国大陸北部から輸送される場合は0.7-1.7ng/m³の範囲内にあり、上海方面から輸送される場合は0.6ng/m³以下であった。それ以外の輸送経路では0ng/m³であったことから明らかに中国大陸から空気塊が輸送される場合に濃度が高くなることがわかった。

福井市で中国北部から空気塊が輸送される場合は1-2ng/m³の範囲にあり上海方面から輸送される場合は0.5ng/m³以下であり、太平洋側から輸送される場合は0ng/m³であった。

加東市で中国北部から空気塊が輸送される場合は0.7-1.2ng/m³の範囲にあり、上海方面から輸送される場合は0.5ng/m³以下であった。福井市同様に太平洋側から輸送される場合は0ng/m³であった。

セレンの発生源を特定するためには、セレンと硫黄の比が有効である。セレン発生源はセレン

と硫黄の比が 0.0014 から 0.0088 の範囲にあるときは石炭の燃焼か自動車の排気によるとされている³⁹⁾。大邱市ではこの範囲にあるものは32イベント2イベントだけであり $Se/S=0.002, 0.0017$ であったのでこれは石炭の燃焼か自動車の排気によると考えられる。他はすべて 0.0014 以下であった。セレンの発生源に関しては石炭の燃焼か自動車の排気以外の起源を考えなければならない。

福井市では、すべてが 0.0014 以下であり、セレンの発生源に関しては石炭の燃焼か自動車の排気以外の起源を考えなければならない。

加東市では、すべてが 0.0014 から 0.0088 の範囲内にあり、起源は石炭の燃焼か自動車の排気であると考えられた。

3.7 Hg の起源

現在、世界的には一年あたり 1900t の水銀が放出され、中国大陸の石炭燃焼からの放出が、その 25%程度になると見積もられている³⁹⁾。大邱市は大陸の影響を受けやすいことからこの水銀による汚染が強いことが予測される。さらに、日本では必ずしも大邱市を空気塊が通過しなくても大陸から空気塊が輸送される場合は、拡散効果によってその濃度は減少が多少の汚染を受けることが考えられる。

大邱市では、空気塊が中国北部から輸送される場合は $3.7-4.7ng/m^3$ の範囲にあり、上海方面から輸送される場合は、 $1.2-5.5ng/m^3$ の範囲にあった。その以外の輸送経路でも、 $0.8-2.3ng/m^3$ の範囲にあった。

福井市で中国北部から空気塊が輸送される場合は、 $2.0-3.7ng/m^3$ の範囲にあり、上海方面から輸送される場合は $2.0-4.1ng/m^3$ の範囲にあった。それ以外は $0-1.8 ng/m^3$ であった。

加東市では、上海方面から輸送される場合は $1.4-8.5ng/m^3$ の範囲にあった。それ以外では、 $0-1.1 ng/m^3$ であった。

水銀の起源は、火山活動や水銀鉱床などにより大気中に排出される自然作用によるものと、燃焼や産業活動に由来する人為活動によるものとに大別することが出来る⁴⁰⁾。

また、世界的なバックグラウンド値は $2.0ng/m^3$ と言われており、それを超えているイベントも多い(54イベント中19イベント)ことから大気中の水銀汚染が広がっていることが示唆される。しかし、起源が火山性や水銀鉱床なのか、産業活動なのかを明らかにする方法は現在報告されていない。現在の東アジアの産業の目覚ましい発展を考えると、起源は燃焼や産業活動に由来する人為起源であると考えられる。

4 結論

本研究により以下の知見を得ることが出来た。

1. 鉛の起源

全ての都市で精錬由来であると考えられた。

2. ヒ素の起源

大邱市では、石炭燃焼とガソリン燃焼由来であり、福井市と兵庫県加東市ではガソリ

ン燃焼由来であると考えられた

3. セレンの起源

加東市では石炭の燃焼か自動車からの排気が考えられたが、その他の都市では他の起源であると考えられた。

4. 水銀の起源

化石燃料の燃焼や産業活動に由来すると考えられた。

参考文献

- (1) N. Ogawa, T. Adzuhata and M.Kajikawa, *Seppyō*, **60(2)**, 143-156 (1998).
- (2) T. Ozeki, K. Koide, N. Ogawa, T. Adzuhata, M. Kajikawa and T. Kimoto, *Anal.Sci.*, **13**, 169-176(1997).
- (3) 小川信明,菊地良栄,後藤博,尾関徹,分析化学,**47(8)**,503-511(1998).
- (4) N. Ogawa, R. Kikuchi, T. Okamura, M. Kjikawa, T. Ozeki, *Atmos.Res*, **51**, 77-80 (1999).
- (5) N. Ogawa, R. Kikuchi, T. Okamura, J. Inotume, T. Adzuhata, Y. Iwata and T. Ozeki
Int.J.Soc.Mat.Eng.Resources, **7(2)**, 282-296 (1999).
- (6) N. Ogawa, R. Kikuchi, T. Okamura, J. Inotume, T. Adzuhata, T. Ozeki, M. kajikawa,
Atmos.Res,**54**,279-283 (2000).
- (7) 岡村朋子 2000 年度 2000 年度秋田大学院鉱山学研究科化学プロセス学専攻修士論文,2001
年 3 月.
- (8) T. Adzuhata, T. Okamura, J. Inotsume, R. Kikuchi, T. Ozeki, M. Kajikawa and N.Ogawa, *Proceeding
of 2nd International Conference on Fog and Fog Collection*, St.John's, Canada,25-28 (2001).
- (9) T. Adzuhata, J. Inotsume, T. Okamura, R. Kikuchi, T. Ozeki, M. Kajikawa, and N. Ogawa, *Anal. Sci.*,
17, 71-76 (2001).
- (10) T. Adzuhata, T. Okamura, J. Inotsume, R. Kikuchi, T. Ozeki, M. Kajikawa and N. Ogawa, *Int.J.of
The Soc.Mat.Eng.for Resources*, **9**, 23 (1999).
- (11) T. Adzuhata, T. Okamura, J. Inotsume, R. Kikuchi, T. Ozeki, M. Kajikawa and N. Ogawa, *Water air
and soil pollution*, **130**, 337 (2001).
- (12) T. Adzuhata, T. Okamura, J. Inotsume, R. Kikuchi, T. Ozeki, M. Kajikawa and N. Ogawa,
Int.J.Soc.Mat.Eng.Resources, **24**, 23-27 (2001).
- (13) Cohen, D.D, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research*, **14**, pp.136-138, (1998).
- (14) Cohen, D.D., Graham, .M.B. and Kondepudi, R., *Nuclear Instruments and Methods in Physics
Research*, **109**, p.218-226 (1996).
- (15) Dockery, D.W., Pope, C.A., Xu, X., Spengler, J.D., Ware, J.H., Fay, M.E., Ferris, B.G. and Speizer,
F.E., *New England Journal of Medicine*, **329**, pp.1753-1759 (1993).

- (16) IPCC, 2001. The Third Assessment Report of Working Group I of the Intergovernmental Panel on Climate Change: Technical Summary, Lead Authors, Albritton, D. L. (USA), Meira Filho, L.G., (Brazil), Shanghai, 17–20 January (2001).
- (17) Han, J.S., Ghim, Y.S., Moon, K.J., Ahn, J.Y., Kim, J.E., Ryu, S.Y., Kim, Y.J., Kong, B.J. and Lee, S.J., *Journal of Korean Society for Atmos. Environ.*, **20**, pp.143–151, (2004).
- (18) Hu, M., He, L-Y., Zhang, Y-H., Wang, M., Kim y. P., and Moon, K.C., *Atmos. Environ.*, **36**, pp.5853-5859 (2002).
- (19) Fang, G-C., Chang, Y-S., Wu, Y-S., Wang, N-P., Wang, V., Fu, P. P-C., Yang, D-G and Chen, S-C., *Chemosphere*, **41**, pp.1349-1359 (2000).
- (20) Ho, K. F., Lee, S. C., Chan, C. K., Yu, J.C., Chow, J. C and Yao, X. H., *Atmos. Environ.*, **37**, pp.31-39 (2003).
- (21) Kikuchi, R., Adzuhata, T., Okamura, T., Ozeki, T., Kajikawa, M and Ogawa, N., *Int. Soc. Mater. Eng. Resour.*, **9**, pp.28-31, (2001).
- (22) Kikuchi, R., Inotsume, J., Yoshimura, K., Ogawa, N., Sera, K. and Ozeki, T., *Int. J. PIXE*, **23**, pp.81-87, (2003).
- (23) Saitoh, K., Sera, K. and Shirai, T., *Atmospheric Research*, **89**, pp.324-329, (2008).
- (24) Yamada, E., Funoki, S., Abe, Y., Umemura, S., Yamaguchi, D. and Fuse, Y., *Anal. Sci.*, **21**, pp.89-94, (2005).
- (25) Kikuchi, R., Takada, M., Hifumi, K., Yoshimura, K., Ozeki, T., Kimoto, T., Kajikawa, M and Ogawa, N., *Atmospheric Research*, **94**, pp. 501-509, (2009).
- (26) Kim, K. H., Choi, G. H., Kang, C. H., Lee, J. H., Kim, J. Y., Youn, Y. H. and Lee, S. R., *Atmospheric Environment*, **37**, pp.753-765, (2003).
- (27) Fang, G.C., Wu, Y.S., Chen, J. C., Fu, P. P. C., Chang, C. N. and Chen, M. H., *Science of the Total Environment*, **345**, pp.61-68 (2005).
- (28) Arditoglou, A., C. Samara, *Chemosphere*, **59**, 669-678 (2005).
- (29) Thomas Götschi, Marianne E. Hazenkamp-von Arx, Joachim Heinrich, Roberto Bono, Peter Burney, Bertil Forsberg, Deborah Jarvis, Jose Maldonado, Dan Norbäck, Willem B. Stern, Jordi Sunyer, Kjell Torén, Giuseppe Verlatto, Simona Villani, Nino Künzli *Atmospheric Environment*, **39**, pp.5947-5958 (2005).
- (30) J.S. Han, K.J. Moon, S.Y. Ryu, Y.J. Kim and Kevin D. Perry *Atmospheric Environment*, **39**, pp.3113-3125 (2005).
- (31) Ki-Hyun Kim, Gyoo-Hoon Choi, Chang-Hee Kang, Jin-Hong Lee, J. Y. Kim, Y. H. Youn, S. R. Lee, *Atmospheric Environment*, **37** pp.753-765 (2003).
- (32) Ki-Hyun Kima, Jin-Hong Lee, Mi-Suk Jang, *Environmental Pollution*, **118**, pp.41-51(2001).
- (33) Guor-Cheng Fang, Yuh-Shen Wu, Jyh-Cherng Chen, Peter Pi-Cheng Fu, Cheng-Nan Chang, Ming-Hsiang Chen, *Science of the Total Environment*, **345**, pp.61-68 (2005).

- (34) Wen-hua Liu, Jing-zhu Zhao, Zhi-yun Ouyang, Leif So"derlund, Guo-hua Liu, *Environment International*, **31**, pp.805-812 (2005).
- (35) 広島大学鉱物学関連, 「元素、原子量、宇宙と地殻における存在度」
http://home.hiroshima-u.ac.jp/er/Min_G1.html
- (36) H, Hu, *Environ Health Perspective* **109**, 95-99 (2001).
- (37) Arditoglou, A., C. Samara, *Chemosphere*, 59, 669-678 (2005).
- (38) Wilber, CG, *Clinical Toxicology* **17**, 171-230 (1980).
- (39) David G. S , Jiming H, Ye W , Jingkun J, Melissa C, Hezhong T and Xinbin F, *Atmospheric Environment* **39**, 7789-7806 (2005).
- (40) 坂本隼雄、地球環境 **13**, 237-244 (2008).

Origin and transportation course of heavy metal elements in the particulate matter (PM) at South Korea and Japan

Ryoei Kikuchi¹, Kazuya Kikuchi¹, Koichiro Sera² and Nobuaki Ogawa¹

¹Faculty of Engineering and Resource Science, Akita University
1-1, Tegata Gakuen-cho, Akita 020-8502, Japan

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

Abstract

Particulate matter (PM) was collected at the South Korea and two sites of Japan. In the present study, the origin and transportation course of the heavy metal elements were discussed for PM₁₀, determined by using PIXE (Particle Induced X-ray Emission) and back trajectory analyses. The origin of Pb in PM at all sampling sites has both of the metal refining origins, using the analysis of Pb/Br. The origin of As were mainly gasoline and coal combustion at the Daegu City, and were gasoline combustion at the Fukui and Kato City. When air mass was transported from Chinese continent, concentration of these elements were higher than the other transport courses.

改良型徐放製剤（リポソーム化抗癌剤）の体内動態

藤村 朗、安藤禎紀、鍵谷忠慶、杉山育美¹、佐塚泰之¹、高橋千衣子²、後藤祥子²、
世良耕一郎³

岩手医科大学解剖学講座機能形態学分野
028-3694 岩手県紫波郡矢巾町西徳田 2-1-1

¹岩手医科大学薬学部創剤学講座
028-3694 岩手県紫波郡矢巾町西徳田 2-1-1

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

癌に対する化学療法の欠点は副作用の発症である。その最大要因は投与量であるが、減量することで抗癌作用が低下することは明らかである。我々は口腔領域のリンパ管構築を検索しつつ¹⁻⁹、PIXEを用いて、腫瘍原発部に薬剤を直接投与し、腫瘍局所の抗癌剤の濃度を確保できること、所属リンパ節への抗癌剤の移行を確認した¹⁰⁻¹⁸。さらに、抗癌剤を徐放製剤化しても同様に濃度を確保できることをPIXEによる測定で明らかにした^{19,20}。この徐放製剤は注入直後から徐放が始まるため、注射針の刺入点の創傷治癒が遅れることが懸念された。今回、我々はリポソーム化徐放製剤をさらに抗癌剤を含まないリポソームにてコーティングすることで抗癌剤の徐放を遅延させることを想定し、製剤が原発巣および所属リンパ節にどの程度移行するかを検討し、同様の結果を得ることができたのでその詳細を報告する。

2 実験材料および方法

2.1 材料

2.1.1 動物

本実験ではマウス (C57BL/6J) を 15 匹用いた。本研究は岩手医科大学動物実験委員会 (動物実験倫理委員会を含む) の承認 (21-053) を受けて岩手医科大学動物実験指針に従って行った。

2.1.2 リポソーム化シスプラチン の調製法

抗癌剤は Cisplatin (cis-diamminedichloroplatinum: CDDP、MW:300.05、Nippon Kayaku) 粉末で日本化薬より供与を受けた。

リポソーム化シスプラチン の調製法を Fig.1 に示す。

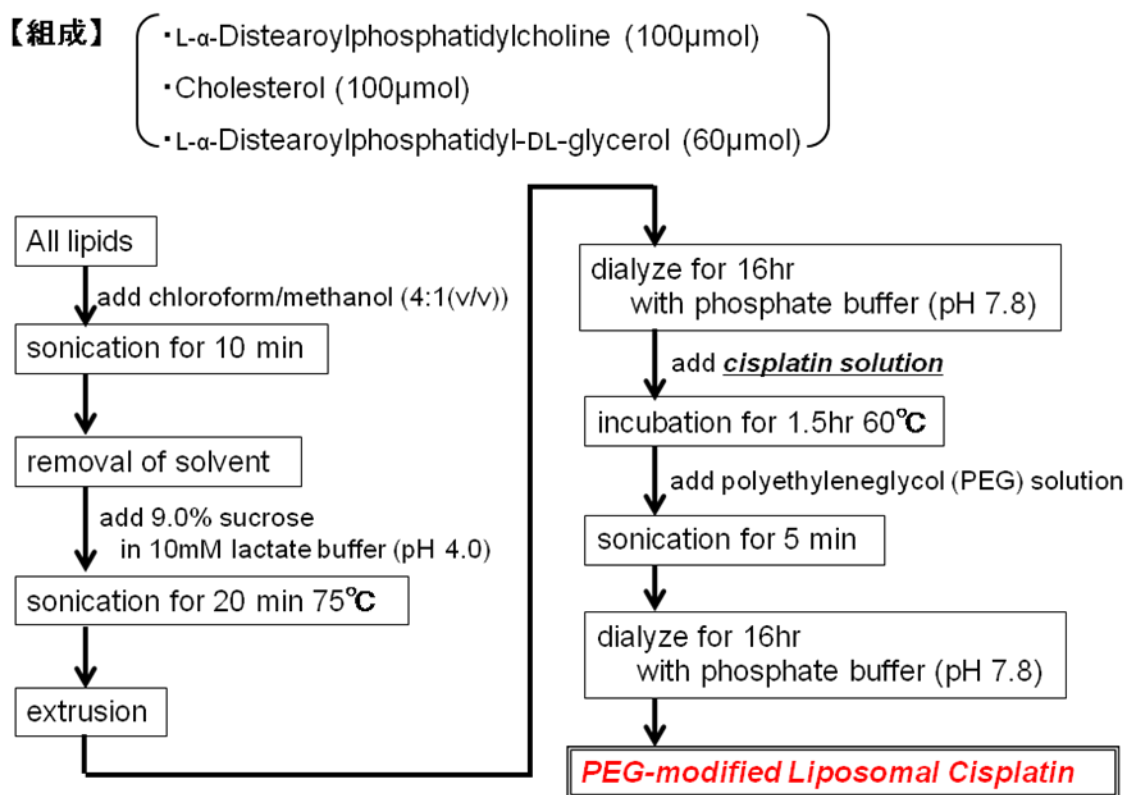


Fig.1 Liposomal Cisplatin の調製法

改良型リポソーム化シスプラチンは Fig.1 により作製したリポソーム化シスプラチンの表層にシスプラチンを含まないリポソームでコーティングした。このことにより、改良型リポソーム化シスプラチンは白金を徐放するまでにしばらくの時間が必要となる。実際、ウシ胎仔血清による暴露実験では 2-4 時間後から白金の徐放が始まっていることを確認した。今回作成したリポソームサイズは従来型のリポソームが約 100nm ϕ 、800nm ϕ で、改良型が約 800nm ϕ であった。これらのリポソーム化シスプラチン水溶液を直接 PIXE にて白金量計測を行い、1 匹のマウス舌に注入する白金量をシスプラチンに換算して 1 μ g/10 μ l に調整した。

2.2 実験方法

動物はペントバルビタールナトリウム塩 (ソムノペンチル) 腹腔内麻酔下に、3 種類のサイズのリポソーム化シスプラチンを各 5 匹の左側舌辺縁部に 10 μ l (シスプラチン量換算で 1 μ g = 白金量換算で 0.65 μ g) を、24G

針を使用してマイクロシリンジにて注入した。注入直後からピンセットによりマウスの舌全体を上下的に挟み、毎秒1回の割合で舌のマッサージを5分間行った。その後、舌および左右の顎下リンパ節を摘出した。顎下リンパ節の摘出に際しては輸入および輸出リンパ管を顕微鏡下で確認し、結紮することで試料摘出時の圧迫によるリンパの絞り出しを極力抑えた。各試料は乾熱乾燥(200℃)を2日間行った。舌については内部標準をインジウムとして加え、硝酸灰化法にて調製を行い、Particle Induced X-ray Emission (PIXE)により白金検出を行った。顎下リンパ節は乾燥重量が1mg未満であったため、世良の無調製・無標準法にてPIXEによる白金検出を行った¹³⁻¹⁴⁾。

3 結果

注入用に使用した3種類のリポソーム化シスプラチンの白金含有量をPIXEにて計測した。その結果は、従来型100nmφには8.5μg/ml、従来型800nmφには18.3μg/ml、改良型800nmφには61.2μg/gの白金が含有されていた。従来型100nmφと比較すると従来型800nmφには約2倍の、改良型800nmφには約8倍の白金が含有されていたことになる。

3種類のリポソーム化シスプラチン(従来型100nmφ、従来型800nmφ、改良型800nmφ)をマウスの左側舌辺縁部に注射し、5分間のマッサージ後の舌内および所属リンパ節(顎下リンパ節)への白金の移行量の計測を行った。

各試料の白金検出結果をFig.1に示す。各5匹に注入したが、測定結果で白金が検出できなかった試料があったため、各群の例数にばらつきが出た。

リポソーム化シスプラチンを左側舌辺縁部に注入し、5分間のマッサージ後の同側(左側)顎下リンパ節には従来型100nmφで平均28μg/g、従来型800nmφで平均31μg/g、改良型800nmφで平均22μg/g、反対側(右側)顎下リンパ節では従来型100nmφで平均17μg/g、従来型800nmφで平均38μg/g、改良型800nmφで平均21μg/gの白金がPIXEにより検出された。

これらの結果に対して注入液の含有白金量を併せて計算して従来型100nmφと比較すると従来型800nmφは約半分量、改良型800nmφは約1割がリンパ節に流入したことになる。

4 考察

癌に対する化学療法における薬剤投与方法には経口投与、血管内投与が考えられ、後者については動脈内注入法(選択的動脈内注入法、超選択的動脈内注入法)が開発されてきている。また、薬剤としては通常の抗癌剤に加えて、血管新生阻害薬、分子標的薬の開発、臨床応用が進められてきている。が、いずれの薬剤でも、さらに投与方法を用いても副作用は避けて通れないものとなっている。我々が推奨している原発巣周囲への直接注入は原発巣そのものの細胞増殖抑制に加えて、所属リンパ節への転移および転移巣における細胞増殖抑制が期待でき、しかも全身への投与量が1/100量であることから副作用の発症はほとんどないものと推測できる。この方法における欠点として、薬剤注入時の刺入点に接触する薬剤が創傷治癒を遅延させること、毎回注入時に疼痛(動物の場合には麻酔が必要)となることである。今回、我々はこれら2点の問題点を解決させる方法として、注入直後には薬液が組織に暴露しないこと、組織内に入ってから徐放(=リポ

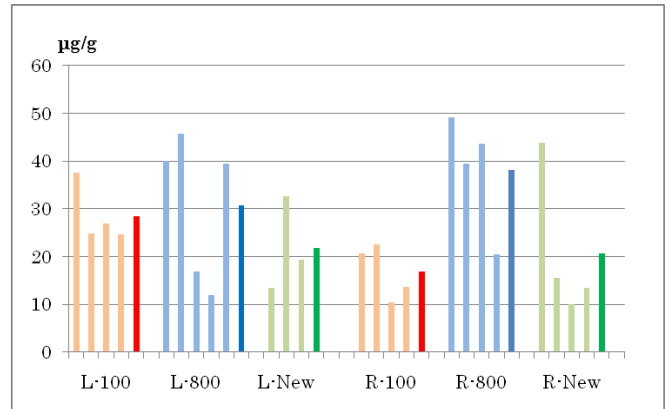


Fig.1 顎下リンパ節内の白金量
(各群の右端の濃い色のカラムは平均値を示す。)
L: left submandibular lymph node, R: right submandibular lymph node
100: 従来型100nmφ, 800: 従来型800nmφ, New:改良型800nmφ

ソームの崩壊)に一定時間(今回のものは約2時間後から崩壊が開始、約24時間で徐放終了)かかることを確認して本研究に着手し、3種類のリポソーム化シスプラチン(従来型100nmφ、従来型800nmφ、改良型800nmφ)をマウスの左側舌辺縁部に注射し、5分間のマッサージ後の舌内および所属リンパ節(顎下リンパ節)への白金の移行量の計測をPIXEによって行った。

計測結果のデータ数のばらつきについては、試料採取の際のタイミングによるものと考えている。輸入リンパ管、輸出リンパ管は結紮しているので試料採取中および試料調製中にミスはないものとするが、リンパ節ではある一定量まで輸入リンパ管からのリンパが蓄積され、それを越えると一挙に輸出リンパ管から流出することを我々の過去のデータで証明している²⁾。そのため、流出直後からリンパの蓄積が完了するまでの間にはリンパそのものの量にばらつきが出るためと推測している。

本研究の目的は徐放化した改良型リポソーム化シスプラチンを腫瘍原発部に注入し、薬剤がリンパ管を介して所属リンパ節に十分量到達するか否かを検討することである。少なくとも、注入したリポソーム化シスプラチンでは従来型、改良型ともに20-30μg/gの白金が顎下リンパ節で検出された。ウサギによる抗癌作用を示す理論上の白金量は2.6μg/g(シスプラチン換算で4μg/g)であるので、顎下リンパ節内では約10倍量の白金が検出されたことになる。舌内にシスプラチンを1μg(0.1mg/ml濃度のシスプラチンを10μl)注入したので、白金量としては0.65μgを注入した。この値を全身に対しての投与量として計算すると0.03μg/gの投与量となる。白金量に換算すると約0.02μg/gとなり、理論上の抗癌作用を示す濃度の約1/100量となる。

抗癌剤をリポソーム化した本剤形の欠点は初期バーストである。改良型リポソーム化シスプラチンでも注入直後のバーストは発生したようで、従来型のリポソームに比べて改良型リポソームからの白金徐放が少ない傾向は認められたが、統計を取っていないので有意に低いかどうかは不明である。しかしながら、従来型より徐放開始が遅かったことで、少ない傾向が認められたことは今後の本製剤剤形開発に大きな可能性を見出すことができたものと確信している。薬剤を含まないリポソームのコーティングの厚さを増すことは初期バーストの予防になると思われること、製剤のサイズが大きくなることで、血管内への直接的な輸送を確実に抑制できることが考えられる。今後、リポソームのコーティング厚さと徐放の時間関係、リポソームサイズとリンパ管吸収の関係を詳細に検討していきたいと考えている。

参考文献

- 1) 陳寛宏、藤村 朗：ゴールデンハムスターの舌におけるリンパ管の走行、岩手医科大学歯学雑誌、19：91-102、1994
- 2) 謝 雪峻、藤村 朗：舌のリンパ管による巨大分子クリアランスに関する研究、岩手医科大学歯学雑誌、25：273-282、2000
- 3) 梁 榮洲、藤村 朗：舌粘膜上皮皮下毛細リンパ管構築 -酵素組織化学的検索-、岩手医科大学歯学雑誌、25：283-291、2000
- 4) Akira Fujimura and Yohichiro Nozaka：Analysis of the three-dimensional lymphatic architecture of the periodontal tissue using a new 3D reconstruction method.、Microscopy Research and Technique、56：60-65、2002
- 5) A. Fujimura, S. Seki, M-Y. Liao, X. Hu, M. Onodera, Y. Nozaka：Three dimensional architecture of lymphatic vessels in the tongue.、Lymphology、36：120-127、2003
- 6) Min-Ying Liao and Akira Fujimura：The distribution of lymphatic vessels in gingiva.、Microvascular Reviews and Communications、2：2-7、2008
- 7) 佐藤 大、藤村 朗：頬粘膜下リンパ管の構築と分布量、岩手医科大学歯学雑誌、34：7-17、2009
- 8) Mikiko Masuyama, Akira Fujimura：Lymphatic distribution in the mouse periodontal ligament.、Microvascular Research and Communications、3：2-10、2010
- 9) Yoshinori Ando and Akira Fujimura：Lymphatic architecture of human periodontal tissue beneath the oral epithelium of the free gingiva.、Microvascular Research and Communications、3：17-24、2010

- 10) Shotaro Seki and Akira Fujimura : Three-dimensional changes in Lymphatic architecture around VX2 tongue cancer. -Dynamics in growth of cancer -, Lymphology, 36 : 128-139、2003
- 11) Shotaro Seki and Akira Fujimura : Three-dimensional changes in Lymphatic architecture around VX2 tongue cancer. -Dynamics by administering of antiangiogenic agent -, Lymphology, 36 : 199-208、2003
- 12) Toshihiro Ohta and Akira Fujimura : The anti-angiogenic agent, E7820, induces changes in the architecture of lymphatic vessels around tumors.、 Dent. J. Iwate Med. Univ.、 29 : 79-92、2004
- 13) Sera, K., Terasaki, K., Itoh, J., Futatsugawa, S, Saitoh, Y. and Fujimura, A. : Simultaneous Multi-element (Including Fluorine) Analysis of Various Bio-medical Samples.、 Int'l Journal of PIXE、 15 : 3,4 169-180、2005
- 14) Sera, K., Itoh, J., Goto, S., Saitoh, Y., Fujimura, A., Nosaka, Y., Noda, Y., Nishizuka, S. and Wakabayashi, G. : Quantitative Analysis of Very Small Quantity of Organs Taken from Patients and Experimental Animals; Standard-free Method for Organ, Int'l Journal of PIXE、 18 : 3,4 111-122、2008
- 15) 藤村 朗、小野寺政雄、野坂洋一郎、太田敏博、齊藤恒夫、二ツ川章二、世良耕一郎 : 薬剤輸送経路としてのリンパ管の検証、第 12 回 NMCC 共同利用研究成果発表会、2005
- 16) 藤村 朗、佐藤 大、庄司美樹子、小野寺政雄、西村智尚、野坂洋一郎、伊藤じゅん、世良耕一郎 : 頬粘膜下リンパ管の薬剤吸収能 –バツカル錠を想定して–、第 13 回 NMCC 共同利用研究成果発表会、2006
- 17) 藤村 朗、野坂洋一郎、世良耕一郎 : 頬粘膜および口蓋粘膜経由の抗癌剤投与、第 14 回 NMCC 共同利用研究成果発表会、2008
- 18) 藤村 朗、古城慎太郎、香木千尋、安藤禎紀、小野寺政雄、野坂洋一郎、世良耕一郎 : 生体からの PIXE 試料採取法の改善、第 15 回 NMCC 共同利用研究成果発表会、2009
- 19) Akira Fujimura, Ikumi Sugiyama, Yasuyuki Sadzuka, Yohichiro Nozaka : The development of sustained release preparation. -Local administration using the lymphatic system-, 第 35 回日本微小循環学会、2010
- 20) 藤村 朗、安藤禎紀、鍵谷忠慶、杉山育美、佐塚泰之、高橋千衣子、後藤祥子、世良耕一郎 : リポソーム化抗癌剤の動態第、15 回 NMCC 共同利用研究成果発表会、2009

Dynamics of improved sustained release agent

- Liposomal anti-tumor agent - -

A. Fujimura, Y. Ando, T. Kagiya,
I. Sugiyama¹, Y. Sadzuka¹, C. Takahashi², S. Goto² and K. Sera³

Division of Functional Morphology, Department of Anatomy
Iwate Medical University
2-1-1 Nishitokuta, Yahaba-cho, Shiwa-gun, Iwate 028-3694, JAPAN

¹Department of Advanced Pharmaceutics, School of Pharmacy
Iwate Medical University
2-1-1 Nishitokuta, Yahaba-cho, Shiwa-gun, Iwate 028-3694, 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

The negative aspect of chemotherapy for cancer is the appearance of side effects which are mostly linked to the dosage of anti-tumor agents. It is clear that a decrease of dosage results in the decrease of anti-tumor activity. Besides searching for lymphatic architecture in the oral region, we have confirmed by using PIXE that it was possible to secure the concentration of anti-tumor agent in the tumor periphery, and also a transition of the agent to the regional lymph nodes when administered directly around tumor.

We also examined by a PIXE analysis that the concentration of anti-tumor agent were equally maintainable when administrated as a slow-release drug. This liposomal sustained release agent starts releasing immediately after injection. Therefore it was concerned to cause a delay in healing of wounds due to injection needle. We assumed a slowdown in releasing speed, when the liposomal sustained-release agent was enclosed by an additional non-cisplatin liposome coating.

In this experiment, we examined the extend of platinum accumulation in the regional lymph node of the tongue(submandibular lymph node) when the improved sustained release liposomal cisplatin was injected in the mouse tongue.

As a result, we were able to obtain the similar result to past our results. We think this sustained release agent is useful for cancer chemotherapy because we can select many kinds of anti-tumor agent.

半固形栄養のゲル化剤の違いによる消化管からの 微量元素の吸収に関する検討

三浦吉範¹、世良耕一郎²、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岩手医科大学サイクロトンセンター
020-0173 岩手郡滝沢村字留が森 348-58

1 はじめに

栄養管理法には経口栄養法・経腸栄養法・静脈栄養法があるが、原則的には腸が機能していて安全に使用可能であれば経口栄養・経腸栄養を施行する。経腸栄養法は、消化管を利用して栄養素を吸収させるように投与される栄養法で、短期間であれば主に経鼻チューブからの栄養法が選択される。この場合、チューブを鼻から挿入して胃に留置して栄養剤を注入する「経鼻胃内投与」や、十二指腸に留置して栄養剤を注入する「経鼻十二指腸内投与」、さらに栄養チューブを空腸に留置する「経鼻空腸内投与」などがある。さらに投与期間が6週間以上の長期になる場合は、胃瘻や腸瘻などによる経瘻孔栄養法を選択することが勧められている。食道に孔を開けて挿入した栄養チューブを体外に誘導しそこから栄養剤を胃に注入する「食道瘻(PTEG)」や、胃に孔を開けて栄養剤を胃に注入する「胃瘻(PEG)」や、空腸に孔を開ける「腸瘻(PEJ)」がある。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。なかでも胃瘻は、静脈栄養法に比べ生理的かつ低コストで腸管を使うことにより免疫機能の低下も防ぐことができるなどのメリットなどがあるため広く普及してきている。

胃瘻では、液体の流動食（栄養剤）が使用されている。現在、さまざまな液体栄養剤が開発され、なかには微量元素などもきちんと摂取できてタンパク質やアミノ酸を摂取することにより褥瘡の治癒を早めることができるものや、糖尿病患者の血糖コントロールを改善する機能などをもった栄養剤など多種存在している。しかし、栄養剤が液体であることに起因する難治性の下痢や、胃-食道逆流による嘔吐、誤嚥性肺炎といった合併症が深刻な問題となっている。特に、さまざまな臓器の機能低下や免疫能が低下している高齢の患者では、胃-食道逆流によって誤嚥性肺炎を発症した場合、死亡の危険性も考えられる。

こうした問題を解決するために、これまでに栄養剤の形状を液体から固形化したり¹⁾、空腸カテーテル²⁾といった方法が開発されてきた。なかでも、増粘剤で粘度を増した半固形化栄養法が注目されている。合田³⁾

によれば、誤嚥性肺炎を繰り返す患者15例に20,000cPの程度の半固形化したバリウムを注入したところ、14例(93%)で胃-食道逆流を防ぐことができた。また、胃-食道逆流の防止以外にも半固形化栄養法のメリットとして、①下痢の改善、②胃内pH上昇の改善、③食後高血糖・高インスリン血症の改善、④消化管ホルモン分泌の改善、⑤注入時間短縮によるリハビリテーションやADL訓練時間の増加といった点が指摘されている。

しかしながら、栄養材の形状ならびに投与に関しては一定の見解はなく、科学的根拠も未だに十分とは言えない。それらが生体内でどのような影響を及ぼすのかについても、まだまだ未解決の部分が多くあり、このような栄養材の形状機能に関する基礎から臨床までの調査研究等がやっと立ち上がったところである。なおかつ形状に関する呼称も、ゲル化、半固形化、固形化など様々な用語が用いられている。我々は、特に物性の違いによる栄養素の吸収能に関する検討がまだ行なわれていないことに注目し、これまで半固形化による微量元素の吸収能に与える影響について、7週齢雄ラットに同一のミネラル組成をもつ液体および半固形栄養剤をそれぞれ2週間経口投与した後、尿、糞および血液を採取しそれらに含まれる微量元素濃度をPIXEで測定しそれらの出納バランスを比較検討した⁴⁾。その結果、投与2週間後の血中濃度では、Znが半固形栄養剤投与群において液体栄養剤投与群より有意に低下を認めた(634.4 μ g/l対1,049.9 μ g/l、 $p < 0.05$)。また、Fe、Cu、Seは有意ではないが低下していた。半固形栄養剤投与群においてZn、Cu、Fe、Ca、Mn、S、Kの糞中排泄量及び糞重量が液体栄養剤投与群に比べ有意に多かった。尿中排泄量は2群間での差は認められなかった。以上から半固形栄養剤投与群でのこれら元素の出納バランスは液体栄養剤投与群に比べて低値となり、物性の違いで栄養素の吸収能に差が生じることが示唆された。

液体栄養剤を半固形化するゲル化剤には寒天・ゼラチンや、果物や野菜に含まれている増粘多糖類のペクチン・カラギナンなどがある。よって市販されている半固形栄養剤では、使用されているゲル化剤もメーカーによって異なる。しかしながら、ゲル化剤の違いによる栄養素の吸収能に関する検討は殆ど行われていない。本研究では、半固形栄養剤に使われているゲル化剤の違いが体重や便性状の変化および微量元素(Fe、Cu、Zn)の消化管吸収に与える影響についてラットを用いて比較検討した。

2 方法

[対象]

7週齢雄ラットに、各種ミネラル組成を有しゲル化剤の異なる半固形栄養剤としてハイネゼリー(ハイネJ)・PGソフト・メディエフプッシュケア(MFPC)を、各群5匹にそれぞれ2週間経口投与した。また対象群のラット(5匹)には、動物用固形餌(AIN-93G)を与えた。実験では栄養剤を確実に摂取させる為、あらかじめラットの1日当たりの餌の摂取量を測定し、その熱量の70%を投与した。

投与後12・13・14日目に排泄された糞をプールし、それらに含まれる微量元素濃度をPIXE法で測定した。そして、あらかじめ測定しておいた各半固形栄養剤中の微量元素値を元に算出した摂取量との差から、3群間での消化管からの吸収量を比較検討した。さらに、それぞれ摂取量を100%とした見かけの吸収率による比較検討も実施した。

[PIXE・試料調製]

糞試料は、採取後十分に乾燥した試料を均一にすりつぶし、NMCCにおいてPIXE分析のため試料前処理法として一般的に行なわれている硝酸灰化を行なった。すなわち試料をテフロン製灰化容器に入れ、精密分析用硝酸1mlと内部標準として原子吸光用試薬Inを1000ppmになるように加え、電子レンジを用いて灰化(2分/200W×2回)を行なった。得られた硝酸灰化溶液の5 μ lを分取してバックリングフィルムに滴下し、室温で乾燥した後PIXEのターゲットとした。各半固形栄養剤の試料調製も、糞試料と同様の硝酸灰化処理を行なった。

[PIXE・測定操作]

PIXE測定は、真空中のターゲットに2.9MeVのプロトンビームを照射し、ターゲットから放出される特性

X線を半導体検出器で検出しマルチチャンネルアナライザーで分析した。NMCCの装置では、ナトリウムからウランまでの全元素を同時に検出できるように2つの検出器を用いている。これら検出器のうち一つは、カルシウムよりも重い元素類を検出するために3-5mmの薄いマイラー膜のアブソーバーを装着させている。もう一つの検出器には低元素類の測定のために、前部分にグラファイトの小さな窓があってX線のカウントを減衰させるような工夫が施されてある。検出されたスペクトラムデータは、パーソナルコンピュータに移行し、"SAPIX"プログラムを使用して各元素量を計算した^{5,6)}。

3 結果

3.1 ラットの平均摂取熱量と体重変動

Table 1に、本実験におけるラットの1日当たりの平均摂取熱量を示す。対象とした固形通常餌 (AIN-93G) 投与群では約70kcalだったのに対し、半固形栄養剤投与群ではいずれも対象群の約70%にあたる50kcal前後となり設定通りの数値を示した。さらにFig.1に、栄養剤投与期間中のラットの体重変動を示す。半固形栄養剤投与群では対象群に比べていずれも明らかに体重増加が抑制されたが、半固形栄養剤3群間では差がみられなかった。

Table 1 ラットの平均摂取熱量

	mean	SD
AIN-93G	71.8 ±	12.9
ハイネJ	49.5 ±	1.3
PGソフト	50.0 ±	0.3
MFPC	50.6 ±	0.6

(kcal)

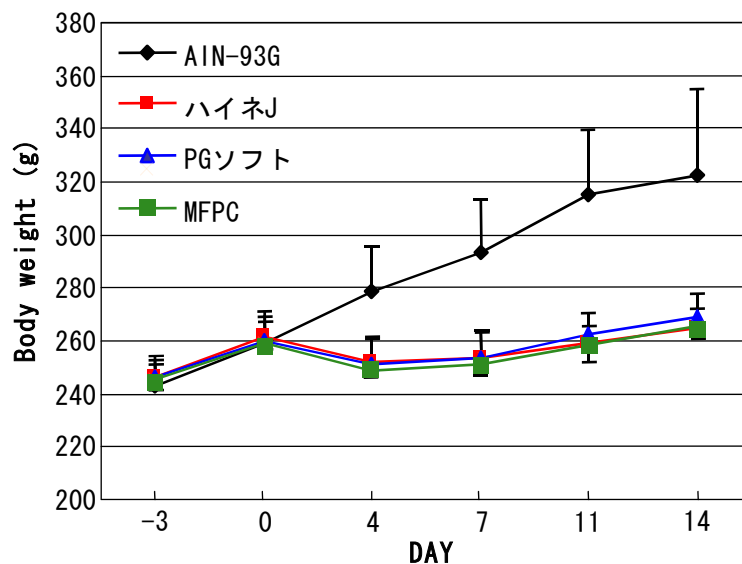


Fig. 1 ラットの体重変動

3.2 ラットの糞の性状

Fig.2に、半固形栄養剤投与後に観察された糞の性状を示す。対象のAIN-93G投与群では固形便であったが、半固形栄養剤投与群では栄養剤の種類によりそれぞれ異なる形状となった。ハイネJでは黒色の固形便、PGソフトは茶褐色の軟便、MFPCは黒褐色で軟便から泥状便であった。その結果、ハイネJが3群の中では最も固くて対象群に近かったのに対して、他の2群はそれよりも柔らかくMFPCが最も柔らかい形状であった。CRF-1は馴化期間に与えた餌であり、参考のために示した。

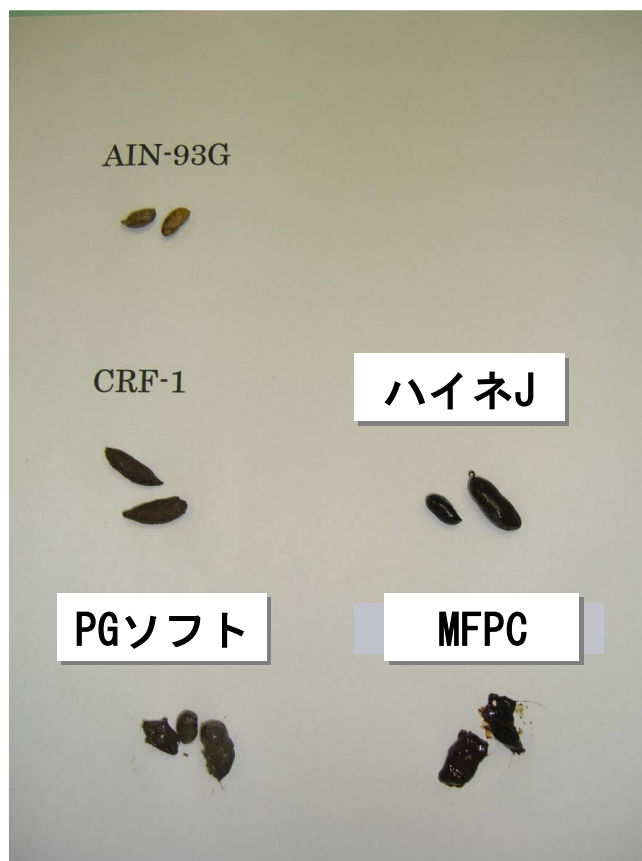


Fig.2 半固形栄養剤投与後の糞の性状

3.3 微量元素の消化管吸収

Fig.3 に、栄養剤を摂取させた各群における微量元素（Fe、Cu、Zn）の消化管吸収量の計算結果を示す。これら各元素の摂取量から糞中へ排泄された量を差し引いた値を、消化管吸収量として比較したものである。本研究での各微量元素の摂取量は、熱量（50kcal）を同じにして投与量を調整したため、このように半固形栄養剤間で明らかな違いが生じた。よって消化管からの吸収に関しては、それぞれ摂取量を100%とした見かけの吸収率で比較した。その結果を Fig.4 に示す。対象群では Fe、Cu、Zn の全てで半固形栄養剤投与群のいずれかに比べて、消化管からの見かけの吸収率は有意に低かった。Fe：AIN-93G（平均値±SD、24.3±9.9%）、ハイネ J（45.3±7.0%） $P<0.05$ 、Cu：AIN-93G（3.0±8.0%）、MFPC（30.5±12.1%） $P<0.05$ 、Zn：AIN-93G（-11.0±6.8%）、ハイネ J（17.8±11.6%）、PG ソフト（29.7±12.8%）、MFPC（35.7±9.4%） $P<0.05$ 。また半固形栄養剤投与群間では、各微量元素毎に差はみられたがいずれも統計的有意差は認められなかった。なお微量元素の消化管吸収率に関する各栄養剤群における有意差検定は、全ての2群同士を比較する検定法である Tukey-Kramer 法を用いた。有意水準は5%（ <0.05 ）とした。

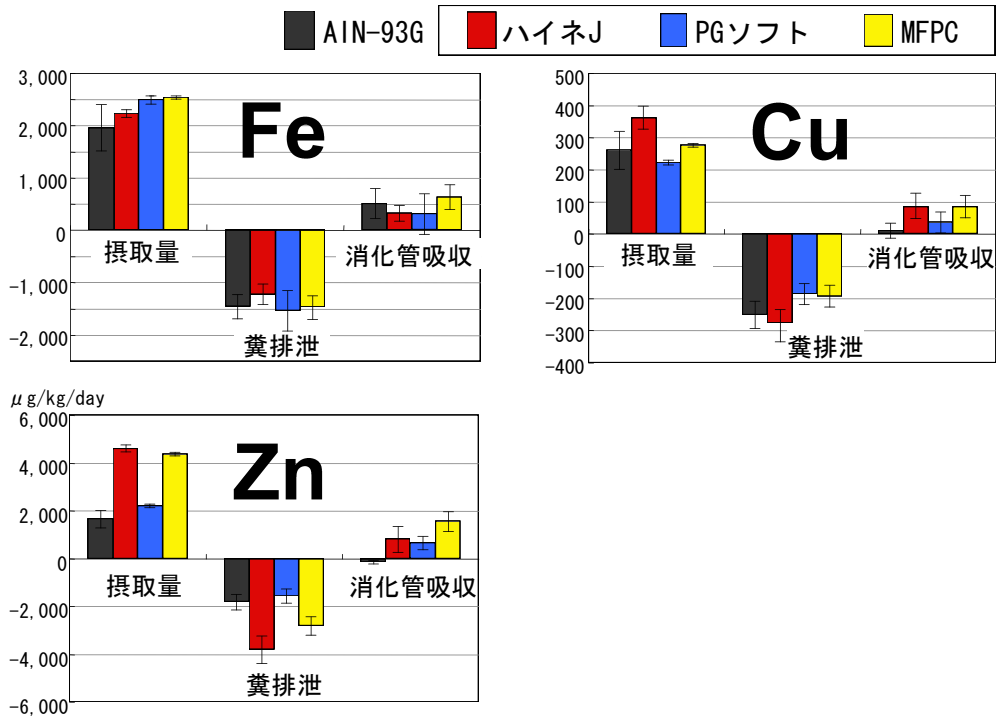


Fig. 3 半固形栄養剤による微量元素 (Fe, Cu, Zn) の消化管吸収量

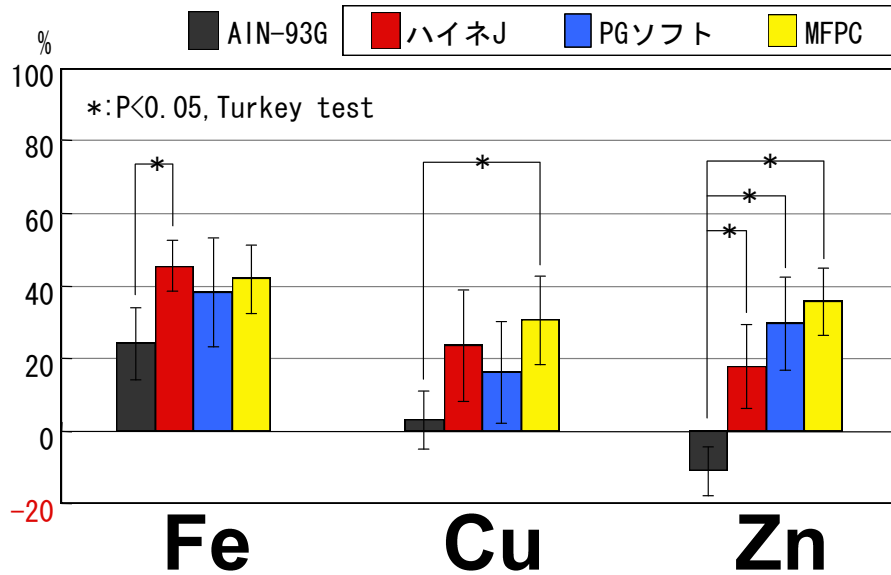


Fig. 4 半固形栄養剤による微量元素 (Fe, Cu, Zn) の見かけの消化管吸収率

4 考 察

今回実験したラットの体重・餌の摂取量・便性状に関しては、半固形栄養剤群は必要量の70%を摂取し体重を維持していたことが確認された。中でもハイネJを摂取した群では、最も対象群の固形便に近い便性状が観察された。微量元素Fe・Cu・Znの見かけの消化管吸収率の比較においては、対象群は半固形栄養剤群のいずれかに比べ有意に低くなったが、半固形栄養剤の違いによる有意差は認められなかった。

我々は既にラットへの液体栄養剤および同じ栄養組成の半固形栄養剤投与によるFe・Cu・Znの出納バランスの比較検討で、半固形栄養剤投与群が液体栄養剤投与群よりも低いことを示した⁴⁾。よって本研究のデータと合わせて、半固形栄養剤では使用しているゲル化剤の種類にかかわらず液体栄養剤に比べてこれら微量元素の吸収が低下することが懸念された。すなわち半固形栄養剤の使用においては含まれる微量元素の吸収能についても十分考慮することが重要であり、特に長期的な栄養管理では欠乏状態に陥らないためにもこれらのモニタリングは必要不可欠であると考えられる。

謝 辞

本研究の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) 蟹江治郎：固形化栄養の実践、蟹江治郎編：胃瘻 PEG 合併症の看護と固形化栄養の実践、日総研出版、120-171、2004
- 2) 嶋尾仁：経皮内視鏡的空腸瘻造設術、日本消化器内視鏡学会雑誌、48(9): 2316-2322、2006
- 3) 合田文則：胃瘻からの半固形短時間摂取法ガイドブック -胃瘻患者の QOL 向上をめざして-、医歯薬出版、19-26、2006
- 4) 三浦吉範, 遠藤龍人, 池田健一郎, 世良耕一郎, 諏訪部章：栄養剤の形状が微量元素の吸収に与える影響の検討 -ラットによる半固形栄養剤投与時の微量元素の出納バランスに関する検討-。NMCC 共同利用研究成果報文集。15：128-134、2008
- 5) 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
- 6) K.Sera and T.Yanagisawa, et al. : Bio-PIXE at the Takizawa facility. Int. J. PIXE Vol.2, No.3, 325-330, 1992

Examination of the influence that the semi solidity nutritional supplement that gelling agents are different gives for the absorption of the trace element from digestive organs

Yoshinori Miura¹, Koichiro Sera² and Akira Suwabe¹

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

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

Abstract

[Aim] With the expanding use of enteral nutrition, aspiration pneumonia due to gastroesophageal reflux is an increasing concern in patients receiving tube feeding. To avoid this complication, partially solidified enteral nutrition formulations are used in hospital and home based care. However, examination about nutritive absorptivity by a difference of properties of matter is hardly done. We investigated the influence that partially solidified gave absorptivity of trace element.

[Method] In the present study, the index of absorption of trace element (Fe, Cu, Zn) in the rat that had given a different semi solid nourishment medicine was examined. Various mineral compositions were administered to a male rat of seven weeks after one's birth and semi solid nourishment medicine of three companies with a different having gelatinizer was oral administered respectively for two weeks (5 each crowd). The rat (5) that had similarly given solid fodder for the animal was made a control group. The excrement excreted by the rat after administering the nutritional supplement was gathered, and the density of the trace element included in them was measured by the PIXE method. We measured the trace element value of semi solid each nourishment medicine and the solid fodder inside beforehand, and calculated the intake of the trace element based on these. The amount of the gut absorption subtracted the amount excreted from the intake in excrement and was calculated. We made comparative study of three crowds by the index of absorption of which 100% was each intake.

[Result] In the comparison of the apparent digestive organs absorption factor of trace element (Fe, Cu, Zn), the target group lowered in intentionality in comparison with either of the semi solidity nutritional supplement group. The significant difference was not recognized to the apparent digestive organs absorption factor by the difference of the semi solidity nutritional supplement.

CEP 751 を封入した放射線感受性マイクロカプセルを用いた 癌転移抑制の研究

原田 聡、江原 茂、世良耕一郎¹、石井慶造²、斉藤義弘³

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

¹ 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

² 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 01

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

1. はじめに

癌の転移は、腫瘍細胞が腫瘍組織からの遊離後、生きてまま、血流、あるいはリンパ流に乗って他臓器に到着、その後、腫瘍細胞が再増殖することで起こる^{1,2)}。正常組織では、細胞が組織から遊離すると、細胞が自殺の過程を歩み (Anoikis)、細胞が死んでしまうために、正常組織では転移は起こらない^{2,3)}。もし、癌細胞でも、腫瘍細胞が癌組織から遊離した時点で、細胞が自殺の過程を歩むようにしてやれば、癌細胞は腫瘍組織から遊離した時点で死んでしまうため、転移をしなくなる可能性がある^{2,3)}。

CEP 751 は腫瘍組織に高濃度に集積した時、癌細胞が腫瘍組織から遊離した時、細胞の自殺を促進する薬剤である^{4,5)}。

今回、我々は、放射線照射により CEP 751 を放出するマイクロカプセルを作成し⁶⁾、CEP 751 を腫瘍組織に高濃度に集積させることで、放射線照射後の、腫瘍組織からの癌細胞遊離に伴う、癌転移を抑制する試みを行ったので、報告する。

2. 材料と方法

2.1 マイクロカプセル作成

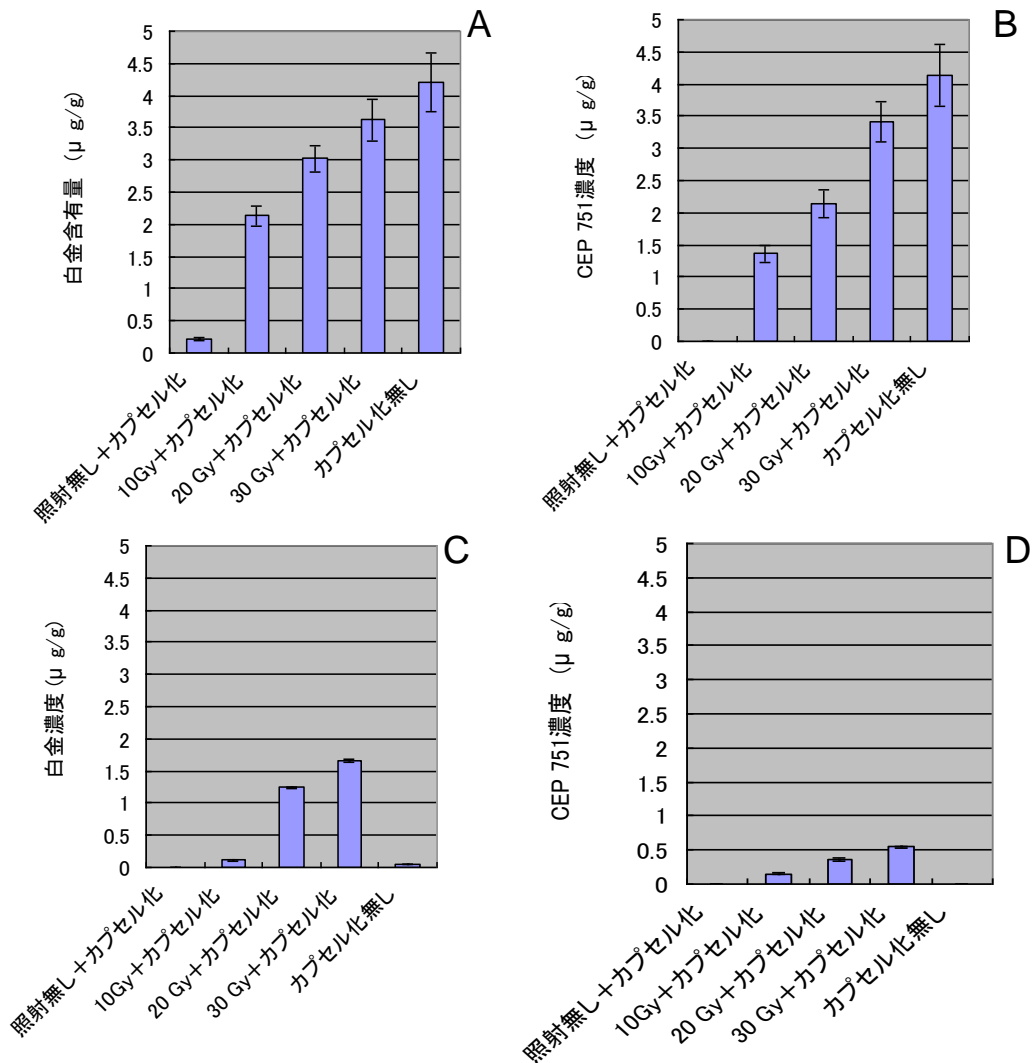
ヒアルロン酸 0.1g、アルギン酸 0.2g を蒸留水 4cc、3%過酸化水素水 4cc に溶解し、CEP 751(3mmol) 白金系抗癌剤カルボプラチン 5 mg を添加後、CaCl₂ 0.1 mol+FeCl₂ 0.1mol 中に噴霧した。重合液に含まれる Ca と Fe を Nalgene disposable filter kit (8-0301-84 DP591) を使用して

THAM buffer により 3 回洗浄することにより、マイクロカプセル浮遊液を作成した。

2.1 動物モデル作成、照射、カルボプラチン、CEP-751 動態、抗腫瘍効果と転移評価

高転移性人乳癌由来腫瘍細胞 MM48をマウス左下腿に移植後、径 8mm 大になった時点で実験に使用した。上記、2.1 にて作成したマイクロカプセルを腫瘍周囲の皮下に注射後、放射線を 10、20、30Gy 照射した。照射 1 時間後と 2 週間後、腫瘍と肺組織を剖出した。腫瘍中の Pt 量は PIXE を、CEP 751 は HPLC を用いて計測した。抗腫瘍効果は、照射後毎日、腫瘍径を 3 方向(縦、横、高さ)をノギスで計測し、その 3 つの腫瘍径の平均値の変化で表した。転移に関しては、剖出した肺に転移結節が認められたマウスの匹数で表した。

3. 結果



図ー1 カルボプラチンと CEP 751 との濃度推移。A: カルボプラチン照射 1 時間後時間後。B: CEP 751 照射 1 時間後。C カルボプラチン照射 2 週間後 D: CEP 751 照射 2 週間後

3.1 腫瘍内薬剤濃度：

放射線照射 1 時間後の腫瘍内カルボプラチンと CEP 751 濃度を、それぞれ、図-1-A と B に示す。また、放射線照射2週間後の腫瘍内カルボプラチンと CEP 751 濃度を、それぞれ、図-1-C と D に示した。マイクロカプセルは放射線照射によって、内容であるカルボプラチン(図-1 A)と CEP 751 (図-1-B)を放出した。照射 1 時間後においては、放出量は照射線量に高くなるにつれ増加したが、放出量は、カプセル化しなかった薬剤濃度よりも低くなった。ところが、照射 2 週間後では、カプセル化しなかった薬剤はカルボプラチン、CEP 751 とともに、殆ど検出されなかったが (図-1-C、D)、カプセル化した薬剤では、良薬剤ともに検出された。

3.2 抗腫瘍効果：

放射線治療後の抗腫瘍効果を、腫瘍径の変化で表す(図-2)。10 Gy(図 2-A)、20 Gy (図 2-B), 30 Gy(図 2-C)いずれの照射線量においても、放射線照射とカルボプラチンとの間に相乗効果が認められ、カルボプラチン-放射線照射併用群では、カルボプラチン単独群、放射線単独群よりも腫瘍増殖は抑制された。放射線照射-カルボプラチン併用群では、カプセル化されたカルボプラチン-放射線併用群と、カプセル化されなかったカルボプラチン-放射線照射併用群との2群間では、照射 5 日目以前では抗腫瘍効果に有意な差はなかったが、6 日目以降、カプセル化されたカルボプラチン-放射線併用群の抗腫瘍効果は、カプセル化されなかったカルボプラチン-放射線照射併用群の抗腫瘍効果よりも大きく、カプセル化による抗腫瘍効果の長期化が観察された。尚、CEP 751 投与により、抗腫瘍効果の影響は認められなかった。

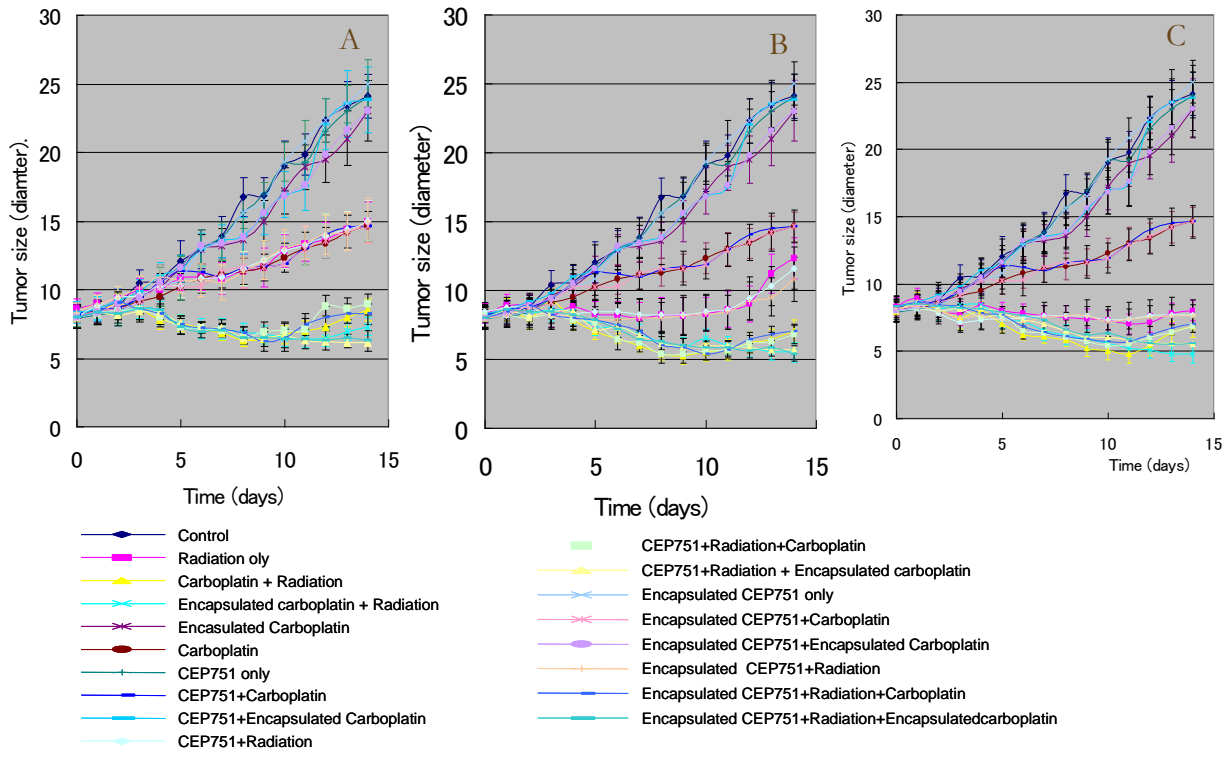


図-2：抗腫瘍効果
照射後の抗腫瘍効果を腫瘍径の変化で表す。A: 10 Gy、B: 20 Gy、C: 30 Gy

3.3 CEP 751 による転移抑制能

各処置群に対する、カプセル化した CEP 751、カプセル化しない CEP 751 の転移抑制能を図-3 に示す。CEP751 投与しなかった群、カプセル化しない CEP 751 投与群、カプセル化した CEP 751 の各投与群の各グループ内では、処置の違いによる、転移発生の有意な違いは見られなかった。各処置において、CEP 751 による転移抑制作用が認められた。カプセル化しなかった CEP 751 の転移抑制作用では、CEP 751 を投与しなかった群との有意差は認められなかったが、カプセル化した CEP 751 では、CEP 751 を投与しなかった群と比較して、有意な転移抑制作用が認められた。

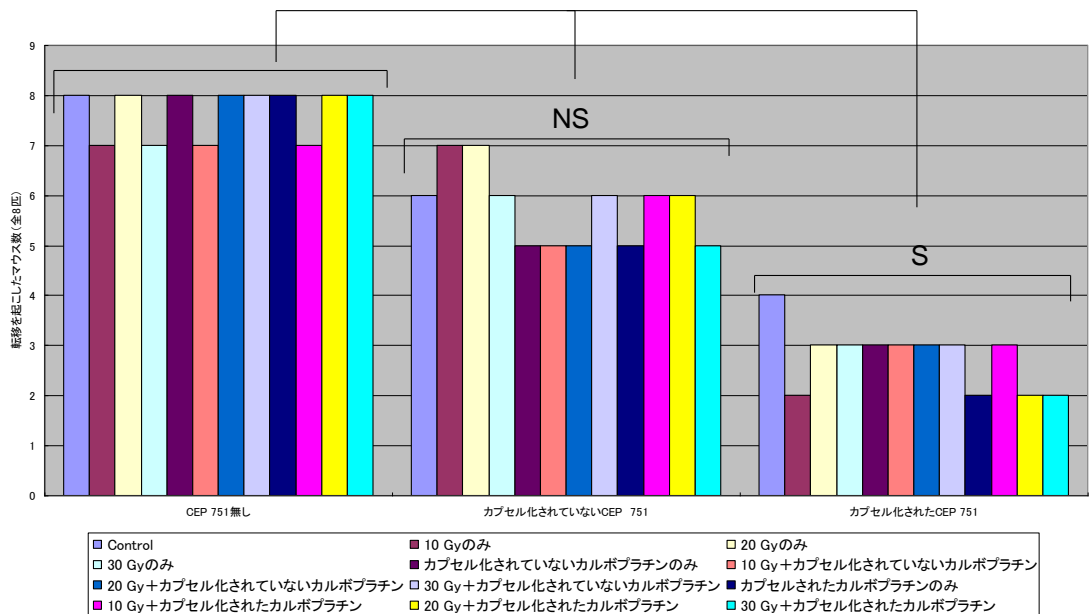


図-3

4. 考察

癌の特性として、多臓器に転移することが挙げられ、癌患者の生存率は主に転移の有無により大きく左右される¹⁾。したがって、癌治療において、癌転移の抑制は、患者の生存率向上に大きく貢献する。癌転移は腫瘍組織から癌細胞が遊離し、細胞が生存した状態で、遠隔臓器に到達、その後増殖することによって生じる¹⁾。本実験では、癌細胞が腫瘍組織から剥がれた時点で、細胞を自殺させる(Anoikis)ことで^{2,3)}、癌転移抑制を試みた。腫瘍組織から遊離した癌細胞を自殺させる薬剤として CEP 751 が挙げられる^{4,5)}。CEP 751 が癌転移を抑制させるためには、腫瘍組織に持続的に高濃度に作用させる必要がある⁴⁾。本実験では、CEP 751 を高濃度に、さらに持続的に作用させるため、現在まで開発してきた放射線感受性マイクロカプセル⁶⁾に封入して、その効果を検討した。また、実際の癌治療では、抗癌剤との併用で治療されることががんがえられたため、白金系抗癌剤との併用で、その効果を検討した。

抗癌剤カルボプラチンの腫瘍内濃度は、カプセル化しなかったカルボプラチンでは 2 週間後、薬剤が検出されなかったが、カプセル化したカルボプラチンでは薬剤が残存した。このため、抗腫瘍効果は持続し、各照射線量で、6 日以降、抗腫瘍効果の増強が認められたと考えられた。

CEP 751 でも、カプセル化しなかった CEP751 では、2 週間では検出されなかったが、カプセル化した

CEP751 では、2 週間後でも薬剤濃度が見られ、このため、転移抑制能は増強し、有意な転移抑制能力が認められたと考えられた。

参考文献：

- 1) Thomas Bogenrieder¹ and Meenhard Herlyn. Axis of evil: molecular mechanisms of cancer metastasis. *Oncogene* (2003) 22, 6524–6536.
- 2) Lance A. Liotta and Elise Kohn. Cancer and the homeless cell. *Nature* (2004) 430, 973-974.
- 3) Peter J. Reddig and Rudy L. Juliano. Clinging to life: cell to matrix adhesion and cell survival. *Cancer and Metastasis Reviews* 24 (2005), 425–439.
- 4) Audrey E. Evans, Kristin D. Kisselbach, *et al.* Antitumor Activity of CEP-751 (KT-6587) on Human Neuroblastoma and Medulloblastoma Xenografts. *Clinical Cancer Research* 5 (1999), 3594–3602.
- 5) Sheila J. Miknyoczki, Hong Chang, Andres Klein-Szanto, *et al.* The Trk Tyrosine Kinase Inhibitor CEP-701 (KT-5555) Exhibits Significant Antitumor Efficacy in Preclinical Xenograft Modelsof Human Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *Clinical Cancer Research* 5 (1999), 2205–2212.
- 6) S. Harada, S. Ehara, K. Ishii, *et al.* Improved Radiosensitive Microcapsules Using H₂O₂ Internationa journal of PIXE 20 (2010) 29-36.

Inhibition of metastasis using encapsulated CEP 751

Satoshi Harada, Shigeru Ehara, Kohichiro Sera¹, Keizo Ishi² and Yoshihiro Saitoh³

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

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

²Department of Quantum Science and Energy Engineering, Tohoku University
Sendai, Miyagi, Japan

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

Abstract

The liquid-core microcapsules that releases CEP 751 and Carboplatin was developed, and their ability to inhibit tumor growth and metastasis was tested *in VIVO* in C3H3/N mice.

The capsules were generated by spraying mixture of alginate and hyaluronic acid containing 3mmol-CEP 751 and 5mg-Carboplatin into 0.1mol solution of CaCl₂ and FeCl₂. One million of microcapsules were injected subcutaneously around the MM47 tumor that was inoculated in the left hind legs of C3He/N mice. Then the 10, 20, or 30 Gy of irradiation (softex 100MV) was given.

After radiation, capsules continuously released carboplatin and CEP 751, which significantly inhibited tumor growth and metastasis.

ヒ素汚染土壌で生育するハツカダイコンのヒ素吸収に対する ヒ素吸収抑制資材アスクライトの効果

河合成直¹、渡邊香奈¹、後藤祥子²、世良耕一郎³

¹岩手大学農学部 020-8550 岩手県盛岡市上田 3-18-8

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岩手医大サイクロトロンセンター
020-0173 岩手県岩手郡滝沢村滝沢字留が森 348-58

1 はじめに

ヒ素(As)は生物にとって毒性がある元素である。土壌中の As 含量は 1mg kg^{-1} ～数 10mg kg^{-1} (平均 11mg kg^{-1}) と言われている(Kabata-Pendias, 2000)。As の酸化数は-3、0、+3、+5 をとり、無機態ではヒ酸(H_3AsO_4)と亜ヒ酸(H_3AsO_3)で存在し有機態と比較して毒性が高い。ジメチルアルシン酸(DMA)、モノメチルアルシン酸(MMA)などの有機態は一般に毒性が低い(Ferguson & Gavis, 1972)。我が国においては、島根県農試におけるイネのヒ素害に関する研究(山根、1989)が知られている。また、南アジアのバングラデシュなどの地域においては、地下水に含まれるヒ素が住民の健康被害をもたらしており、それら地域では地下水の飲用による皮膚がんの発生がみられることが知られている (Anawar, 2002)。

私共は、これまで植物におけるヒ素害を軽減し、食用植物に対するヒ素の取り込みを減少させるために研究を行ってきた。これまでの研究で、植物のヒ素吸収と Fe 栄養には関係性があることが見出されていることから、本研究では鉄を主成分とした As 吸収抑制資材(アスクライト、AsClite)を土壌に施用し、植物体へのヒ素吸収抑制効果、アスクライトが植物体生育へ与える影響、さらにヒ素同族元素であるリン栄養へのアスクライト施用による影響の検証することを目的とした。

2 実験方法


栽培方法

供試植物として赤丸二十日大根(チェリーメイト、株式会社トーホク)を使用し、岩手大学内の温室にて2ヶ月間栽培した。ヒ素汚染土壌(群馬県安中市で採取)200g にバーミキュライト 200g を加えた土壌、非ヒ素汚染土壌として滝沢土壌 400g にそれぞれ高度化成肥料(N, P₂O₅, K₂O: 10, 10, 10%) 0.4g を施肥し、ヒ素吸収抑制資材としてアスクライトをそれぞれ 0%、1%、2%となるように施用した。

ヒ素吸収抑制資材：アスクライト、AsClite(クレアテラ社)

アスクライト(図表中 AsClite と記述)は顆粒状で、成分の約半分を Fe が占める Fe を主成分としたヒ素吸収抑制資材である (Table 1)。

Table 1 AsClite 組成(クレアテラ社からのデータによる)

Total Fe (%)	50.6	Fe(Ⅱ):0.58%,Fe(Ⅲ):50.0%	
Total S (%)	1.75	SO₄:5.26%,O:3.51%	
Total Cl (%)	0.13		
-OH (%)	44.0		
Heavy metal	ND		
pH(H₂O)	5.0		
Electric conductivity (dS/m)	0.18		
Bulk density (g/cm³)	0.45		
Particle size (μm)	100~300		
Preservation			In water

元素の定量

① 測定用試料の採取

栽培 2 ヶ月後に、それぞれのポットからハツカダイコンを地上部、根部共に回収し、脱塩水で洗浄した。新鮮重を測定後、地上部と可食部に分けて封筒に入れ、70℃の恒温器で 24 時間以上乾燥させた。乾燥後、それぞれの乾物重量を量り、その後植物体をデシケーター中で保存した。

② 測定用試料の調製

地上部、根部の各々の試料を細かく刻んで管ビンへ移した。管ビンに濃硝酸を加え、時計皿で蓋をし、サンプルダイジェスター (Digi PREP Jr, SCP SCIENCE) 上に並べた。50℃で過熱を開始し、30 分ごとに 10 度ずつ昇温し、最終的に 110℃で 7 時間加熱分解した。固形物が消失したのを確認した後、硝酸：過塩素酸=5：1 となるように過塩素酸を添加し、135℃で加熱し、白煙が生じてから 1 時間後に加熱をやめた。放冷後、ろ紙 (ADVANTEC TOYO No.5C) を用いてろ過した。このろ液を元素含量測定用試料とした。

③ 測定

元素含量測定用試料に含まれる元素含量は硝酸-過塩素酸分解した後、日本アイソトープ協会滝沢研究所の PIXE により元素含量を測定し、原子吸光光度計 (Shimadzu AA-6200) の結果と比較した。

クロロフィル含量の測定

葉緑素計 (SPAD-502 Minolta Co. Ltd) を用いて、第 3 葉の先端部、中央部、下端部の 3 ヶ所の SPAD 値を測定した。処理区ごとに 3 個体を無作為に選び SPAD 値を測定し、平均値を求めた。

統計処理

実験は 4 連で行った。実験から得られたデータは岩手大学情報処理センター内の大型電算機 sas を用いて、SAS statistic の ANOVA 解析を行った、信頼限界 5%として Tukey のスチューデント化範囲(HSD)検定を行い、有意差のある場合には、本論文中の図表に異なるアルファベットを付すことによって示した。

3 結果及び考察

植物の栽培

2ヶ月間栽培後のハツカダイコンはFig. 1の様になった。ヒ素汚染土壌区では葉にクロロシスが観察された。また、地上部、可食部の新鮮重、乾物重を測定したところ、有意差は見られなかった(Fig. 2、Fig. 3、Fig. 4、Fig. 5)。植物体の生育はAsClite 施用量による差は見られなかったことから、ヒ素汚染土壌区のクロロシスはヒ素による害作用であると考えられた。このことから、AsClite 施用による可視的なAsの生理傷害を抑制する効果がなかったことが推測された。

栽培後、土壌のpHを測定したところ、このヒ素汚染土壌はpHが高いことが分かった (Fig.2)。また、アスクライト施用が土壌pHを少し低下させており、このpH低下がヒ素吸収量に影響している可能性もある。ヒ素吸収に対するpHの影響を考慮し、今後、土壌pHを調整して再実験する必要があると思われた。

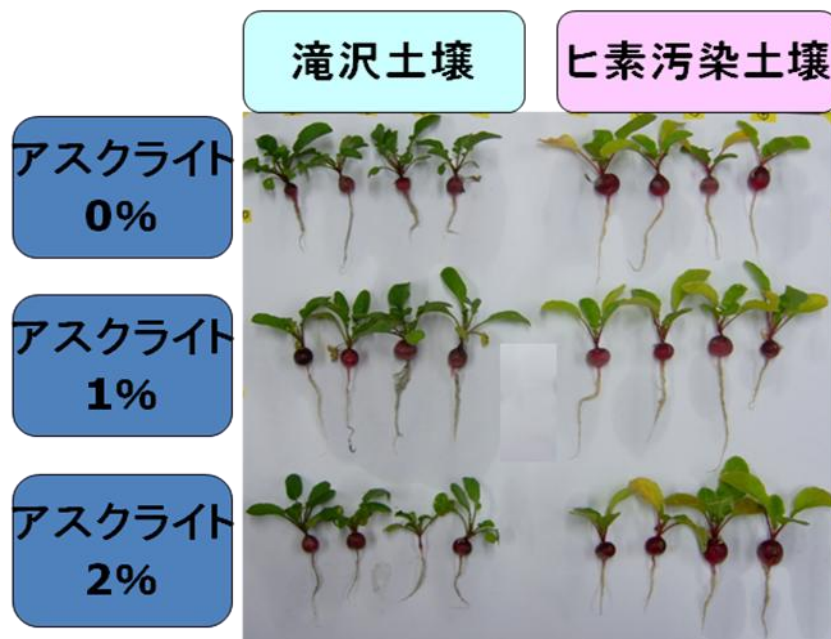


Fig. 1 2ヶ月栽培後ハツカダイコン

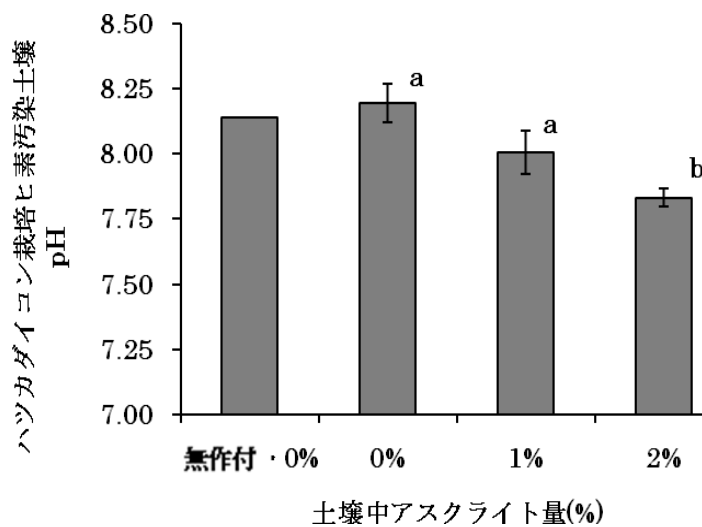


Fig. 2 ハツカダイコン栽培後のヒ素汚染土壌の土壌 pH

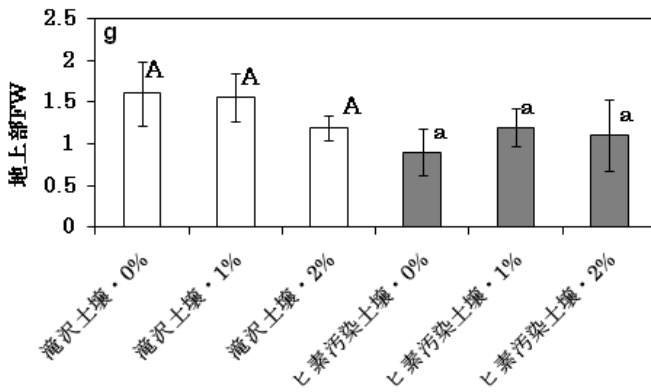


Fig. 3 ハツカダイコンの地上部新鮮重

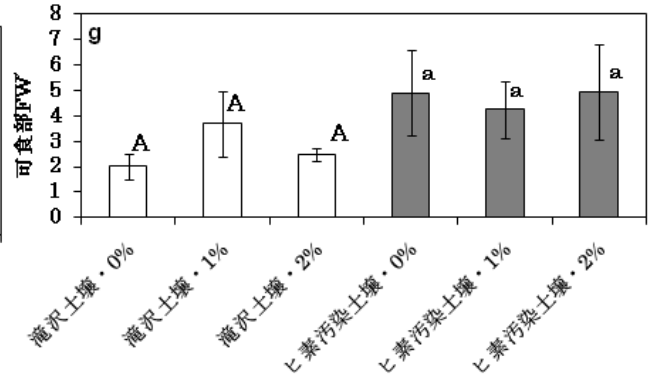


Fig. 4 ハツカダイコンの可食部新鮮重

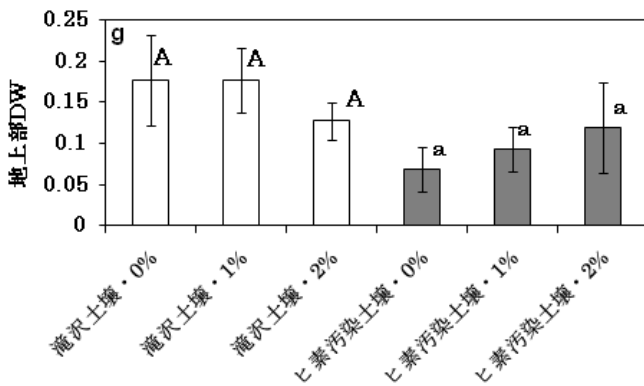


Fig. 5 ハツカダイコンの地上部乾物重

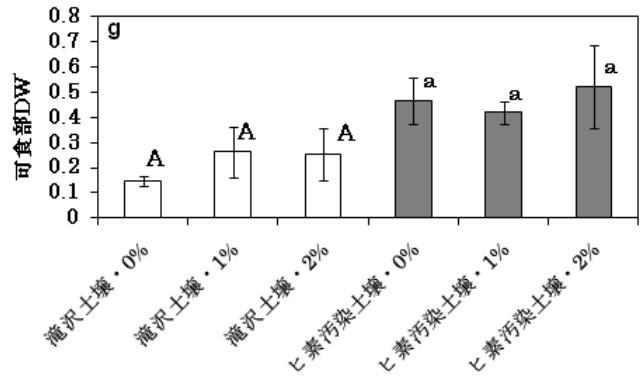


Fig. 6 ハツカダイコンの可食部乾物重

PIXEで測定したハツカダイコンの元素含量

ヒ素汚染土壌で生育したハツカダイコンの可食部（根部）、及び地上部について、元素含量を測定した。データは新鮮重当たり (Fig. 7) と乾物重当たり (Fig. 8) で示した。可食部のほうが地上部より As 含量が低かった。また、アスクライトの施用量の上昇につれて、可食部 DW あたりの As 含量が有意に減少した。特に 2% 施用区においては 4 つの試料中 3 つにおいて As 含量が検出限界以下であった。このことは、アスクライトが根からの As 吸収量を抑制することを示唆している。また、As は吸収後、地上部へ移行し易いことも示していた。

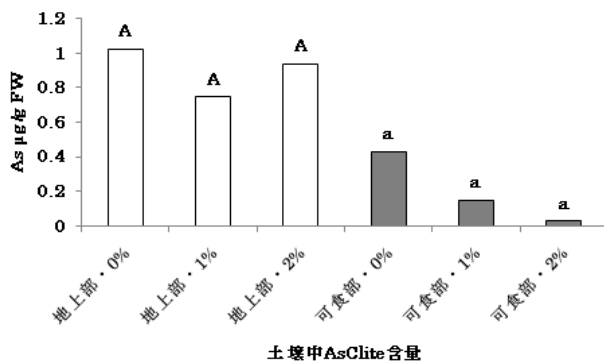


Fig. 7 新鮮重 (FW) あたりの As 含量

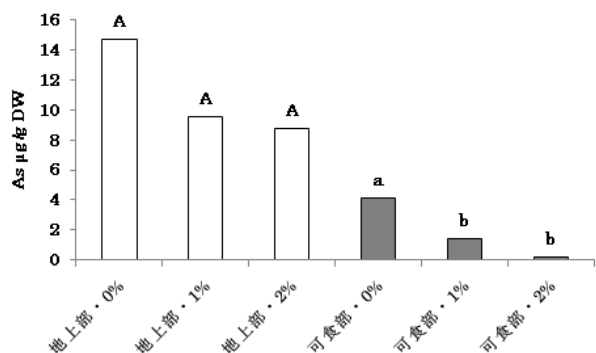


Fig. 8 乾物重 (DW) あたりの As 含量

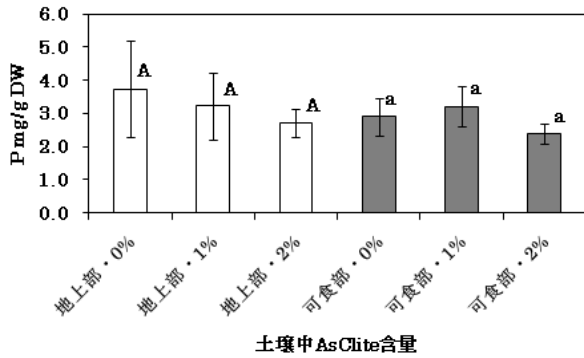


Fig. 9 乾物重当りの P 含量

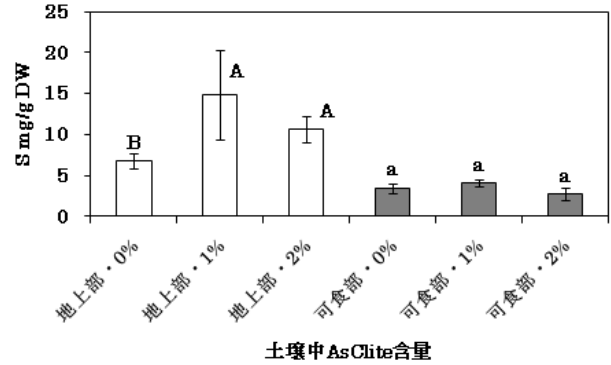
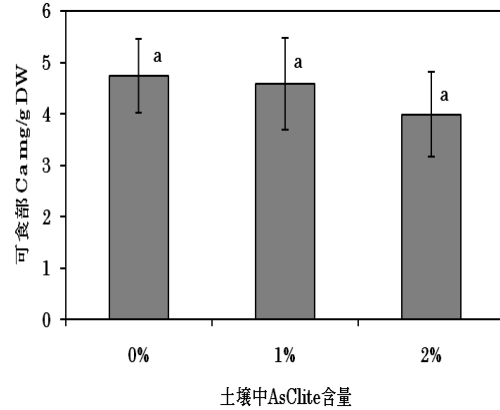
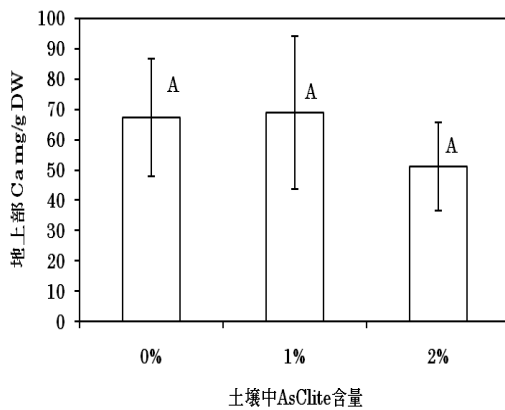


Fig. 10 乾物重当りの S 含量



地上部

可食部

Fig. 11 乾物重当りの Ca 含量

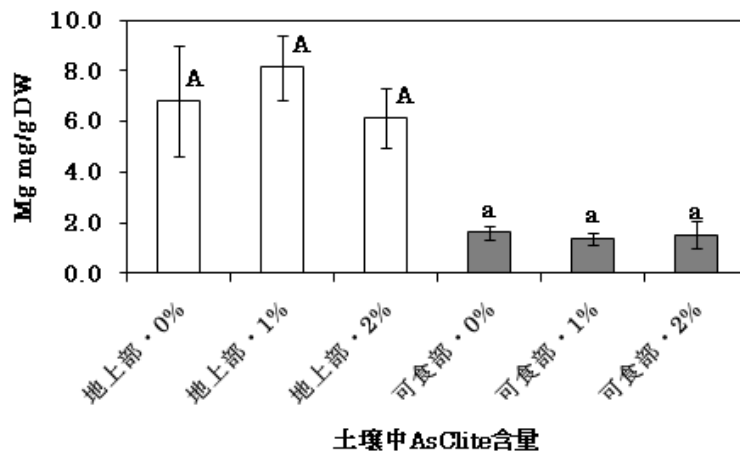


Fig. 12 乾物重当りの Mg 含量

ハツカダイコンの地上部、可食部の多量元素である P 含量 (Fig. 9)、S 含量 (Fig. 10)、Ca 含量 (Fig. 11)、Mg 含量 (Fig. 12) を示した。その結果、特に、アスクライトの施用により地上部 S 含量において有意に増加した以外は、他の元素含量に有意差はみられなかった。このことは、アスクライトが多量元素の吸収に影響を与えないことを示していた。

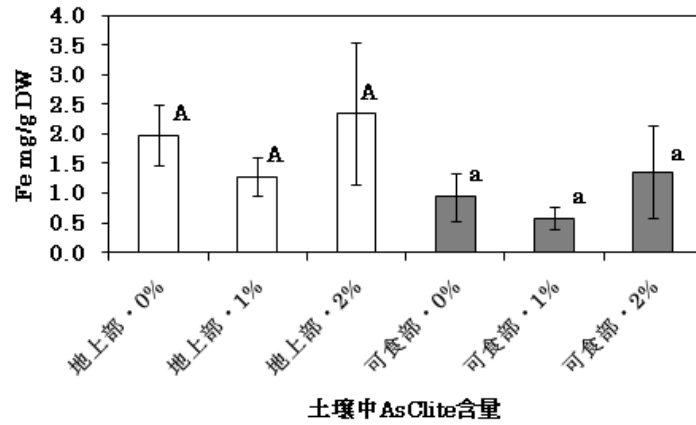


Fig. 13 乾物重当りの Fe 含量

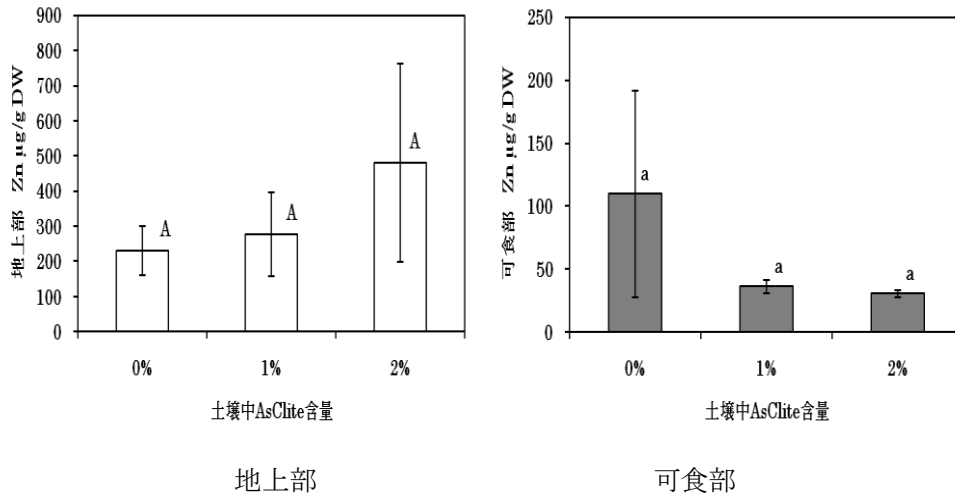


Fig. 14 乾物重当りの Zn 含量

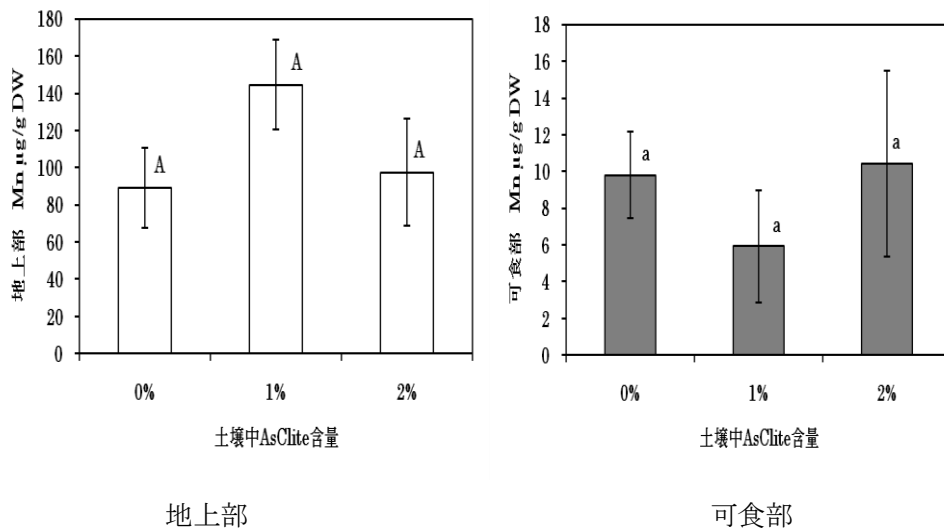


Fig. 15 乾物重当りの Mn 含量

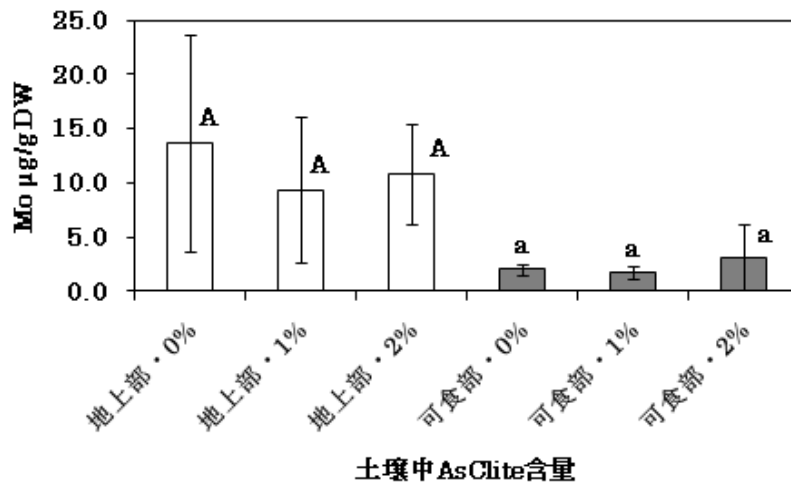


Fig. 16 乾物重当りの Mo 含量

ハツカダイコンの地上部、及び、可食部の Fe 含量 (Fig. 13)、Zn 含量 (Fig. 14)、Mn 含量(Fig. 15)、Mo 含量(Fig. 16)を示した。元素により部位による含量の差異はあるが、アスクライトの施用により有意に変動するものは見られなかった。

上記の結果は、アスクライトが As の吸収に対し特異的に抑制効果があり、他の元素の吸収には影響を与えないことを示していた。また、生育に対しその施用が悪影響を与えることもなかった。

PIXE の定量値とその他の定量法による定量値との比較

PIXE による定量値と Fe 及び As における原子吸光光度法、及び、P における比色定量法(バナドモリブデン酸法)の定量値を比較したところ、特に Fe の値に差がみられた。これは、PIXE 用にサンプルを移した際に、Fe が混入してしまった可能性も考えられた。今後とも原子吸光光度法の定量値と PIXE の定量値の違いについては注目していきたいと考えている。

Table 4-1 原子吸光と PIXE による植物体元素含量分析結果

AsClite 含量(%)	原子吸光高度法(As、Fe)と比色法(P)による測定値			PIXE による測定値		
	As µg/g DW	Fe µg/g DW	P mg/g DW	As µg/g DW	Fe µg/g DW	P mg/g DW
地上部における含量						
0	20.21	1051.8	9.38	14.73	1983.2	3.74
1	15.59	658.8	8.19	9.58	1281.3	3.23
2	11.16	802.3	6.85	8.80	2342.1	2.72
可食部における含量						
0	3.82	152.7	5.01	4.14	940.4	2.90
1	3.44	206.2	5.42	1.42	538.9	3.21
2	1.49	116.7	4.54	0.81	1361.9	2.38

4 結論

本研究において、As 吸収抑制資材アスクライトを土壌の重量に対し1%又は2%施用してハツカダイコンを栽培したところ、アスクライト2%の施用により、可食部(根部)へのAsの集積が有意に抑制された。このことは、As汚染がある土壌での作物栽培において、食料へのAsの汚染を軽減できる資材としてアスクライトが有効である可能性を示していた。

参考文献

- 1) Kabata-Pendias, A. (2000) : Trace Elements in Soils and Plants., Third Edition, CRC Press Inc., Florida
- 2) Ferguson J. F. & Gavis J. (1972): A review of the arsenic cycle in natural waters. *Water Res.*,6, 1259-1274
- 3) Anawar, H. M. (2002): Arsenic poisoning in groundwater health risk and geochemical sources in Bangladesh. *Environment International*, 27, 597-604
- 4) 山根忠昭 (1989): 水稻におけるヒ素被害の発生機構と対策. 島根県農業試験場研究報告, 24, 1-95

Effect of Asclite, reducer of As absorption, to the As absorption of radish grown on As-contaminated soil

S. Kawai¹, K. Watanabe¹, S. Goto² and K. Sera³

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

²Nishina Memorial Cyclotron Center, 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

Abstract

In order to examine the effect of Asclite (Createrra Inc.) to reduce absorption by plants, a pot experiment was conducted. Asclite is artificially made as material to remove As from water. Seeds of radish were sown in the pots (500 ml) with 400 g of 2 types of soils. Takizawa soil without As as control and mixed soil with Annaka Soil contaminated with As were used in the experiment. Vermiculite known as soil amendment was mixed with the Annaka soil, whose weight ratio was 1:1. Asclite was added and mixed with the soils in the concentration 0, 1, and 2 %. Chemical fertilizer (N, P₂O₅, K₂O: 10, 10, 10 %), 0.2 g, was added to each pot. The plants were grown in the greenhouse of Iwate University. The dry weights of the plants were not significantly varied by the addition of Asclite. The results of measurement of elements concentration with PIXE analysis indicated that As concentration in the edible part of radish was reduced by the application with 2 % of Asclite. But the concentrations of the other elements were not changed by the application of Asclite. The As concentration of the edible part was lower than that of shoots in radish. The results suggested that Asclite may be useful material for the reduction of As concentration in the edible part of the root crop.

マツバイによる重金属汚染河川の浄化に関する栽培方法の開発

榊原正幸¹、彦田真友子²、佐野 栄³、世良耕一郎⁴

¹愛媛大学理工学研究科
〒790-8577 松山市文京町 2-5

²松山市立津田中学校 〒791-8031 松山市北斎院町 1106

³愛媛大学教育学部 〒790-8577 松山市文京町 3

⁴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留が森 348-58

1 はじめに

いわゆる重金属による広範囲もしくは半永久的に汚染源が存在する環境汚染に対して、ファイトレメディエーション技術（phytoremediation）が極めて有効である。ファイトレメディエーションは植物の多様な機能による環境修復技術の総称で、①低コスト、②エネルギー消費がほぼ0、③環境への二次的負荷0という長所を有している。重金属汚染の場合、植物が媒体から重金属を吸収・蓄積するファイトエクストラクション（phytoextraction）と呼ばれる機能が用いられる。しかしながら、近年のファイトレメディエーションに関する研究は、植物生理学的研究が多数を占め、実際の実用化のための研究に乏しい。そのため、その実用化には、多くの解決すべき課題が残されている。

さて、水生植物であるカヤツリグサ科ハリイ属のマツバイ（*Eleocharis acicularis*）（Fig. 1）は多種類の有害重金属に対して耐性を有し、多種類の重金属を同時に吸収・蓄積できる重金属超集積植物である¹⁴。マツバイは、国内では北海道から沖縄まで全国各地の湖沼、ため池、水路や水田などに群生する抽水性かつ繁殖力旺盛な多年草である。これらの点は、マツバイが理想的な国内におけるファイトレメディエーション植物としての性質を有していると言える。しかしながら、その実用化のために、近年の我が国の気象条件や実験環境に適したマツバイの栽培方法の研究開発が必要である。

本研究では、マツバイによるフィールド栽培実験において、汚染された河川水から重金属を効率良く除去する栽培方法ならびにその実用性について検討する。



Fig. 1 Blooming of *Eleocharis acicularis*.

2 実験方法

本栽培実験は、国内の A 廃止鉱山付近の残土堆積場を流れる小規模な河川(川幅約 50~1m 程度、水深約 10~20cm、流速 5~10cm/s) に建設された砂防ダム周辺において実施した。ダム池周辺の土壌および底質には、層厚 50 cm~2 m 程度の有害重金属に富む粘土質な堆積物が堆積している。近年、この実験対象としている河川においても、ゲリラ豪雨などによる著しい河川の水位や流速の変動は、ファイトレメディエーション技術の実用化の問題点となっている。

そこで、本実験では、以下の 3 つの栽培実験方法に関して検討した。本研究では、マツバイの以下の 3 つの栽培方法で移植し、一定期間栽培経過を観察した。

- (1) 直植え栽培法：マツバイを重金属汚染された底質に直接移植する方法 (Fig. 2) 、
- (2) ポット栽培法：マツバイを市販の砂を充填したポットに移植し、重金属汚染された底質に設置する方法 (Fig. 3) 、
- (3) フローティング栽培法：マツバイをフローティングバットに移植し、重金属汚染された砂防ダムの池で水耕栽培する方法 (Fig. 4) 。

本実験で使用したマツバイは、愛媛県松山市重信川支流の河川に自生していたマツバイを採取し、栽培実験に使用した。



Fig. 2 “Pot cultivation method” for phytoremediation of heavy metal polluted water by *E. acicularis*.

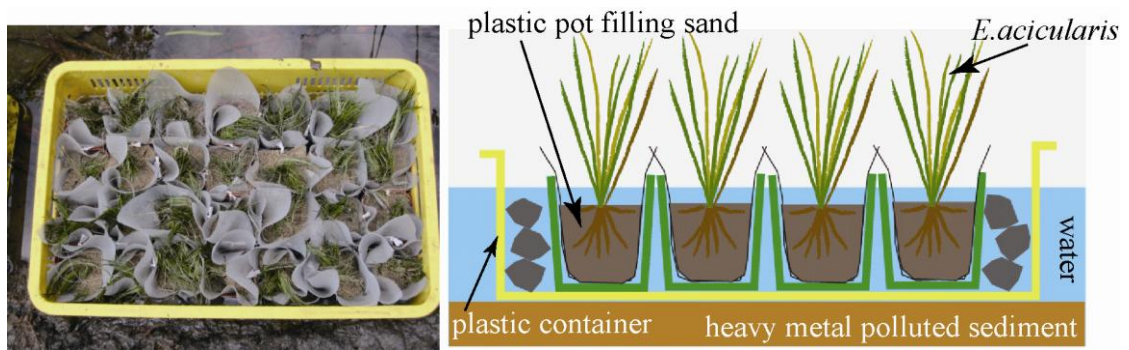


Fig. 3 “Pot cultivation method” for phytoremediation of heavy metal polluted water by *E. acicularis*.

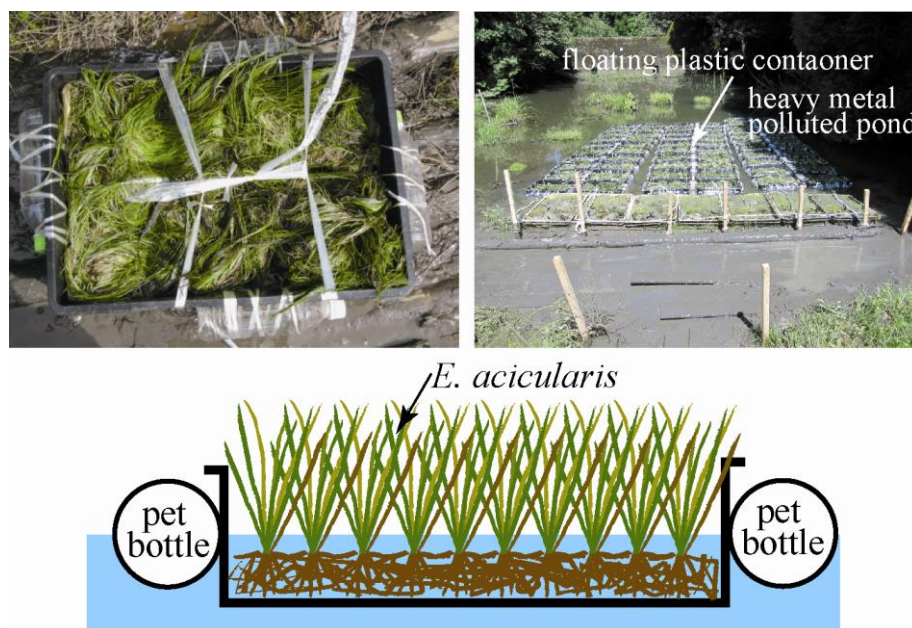


Fig. 4 “Floating cultivation method” for phytoremediation of heavy metal polluted water by *E. acicularis*.

3 分析方法

実験時に採取したマツバイは超純水で十分に洗浄した後、エアバス(80°C)で24時間乾燥し、めのう乳鉢で微粉末にし、それを分析試料とした。マツバイの重金属濃度分析は、岩手医科大学サイクロトロンセンターに設置しているPIXE分析システムを用いて行った。マツバイ試料は硝酸灰化法⁵⁾で分解した後、内部標準法で定量分析を行った⁶⁻⁸⁾。分析確度・精度に関する検定はNational Research Council Canada (NRCC)の環境試料NIES CRM No.1 (pepperbush)を用いて行った。

4 栽培サイトの水・堆積物の重金属濃度

今回、栽培実験を行った地点周辺における河川水の重金属濃度は、平均でZnが719 $\mu\text{g/L}$ 、Cuが32.5 $\mu\text{g/L}$ 、Asが67.8 $\mu\text{g/L}$ 、Cdが6.7 $\mu\text{g/L}$ 、Pbが0.7 $\mu\text{g/L}$ である。一方、土壌の重金属濃度の範囲はAsが230 ~ 1,603 mg/kg、Cuが108~2,044 mg/kg、Znが67~2,100 mg/kgおよびPbが32.1~202 mg/kgである。それらの平均(n=4)は、Asが1,032 mg/kg、Cuが767mg/kg、

Zn が 966 mg/kg、および Pb が 85 mg/kg である⁹⁾。

5 実験結果および考察

5.1 マツバイの生育状況

a) 直植え栽培法

実験サイトのダム池の底質および周辺の湿地の堆積物は極めて柔らかく流動性が高いため、マツバイの移植が極めて困難であった。本研究では、池に流れ込む河川の底質およびダム池の底質に移植した (Fig. 2)。前者の場合、栽培期間中に発生したゲリラ豪雨等の降雨による水位上昇および流速の増大によって、移植したマツバイの多くが流失した。一方、池の底質のマツバイはバイオマスが順調に増大していた。この実験結果は、栽培したマツバイが、重金属に富む底質環境に適応できることを示しているものの、砂防ダムの湿地や池の底質にマツバイを移植することが技術的に極めて困難であることが明らかになった。

b) ポット栽培法

この栽培法では、マツバイを移植したコンテナを池の底質に定置しているため、マツバイの生育状況が池の水位変化の影響を直接受けていた。すなわち、降雨などによって池の水位が上昇した場合、マツバイが水没し、葉の表面が粘土質な付着物によって覆われていた。この状況が長期間継続し、マツバイは光合成ができず、枯死してしまうものも認められた。また、実験期間中のバイオマスの増加量もあまり大きくない。この実験結果は、栽培したマツバイが、重金属に富む底質環境に適応できることを示しているものの、水位の変化に対応する改善が必要であることを示唆している。

c) フローティング栽培法

今回の実験によって、「フローティング栽培法」が、以下の2点で有効であることが明らかになった。一つはマツバイが陸上葉になっているため、葉への沈殿物の付着を回避することができた点である。そのため、生育状況も良好であり、順調にバイオマスを増大することが可能であった。他の一つは、最も大きな課題であったゲリラ豪雨による河川の水位や流速の変化に対して、特に影響が認められなかった点である。これらのことから、「フローティング栽培法」が最も実用的で多様な栽培環境に適用できると考えられる。

5.2 マツバイの重金属濃度

上記のポット栽培法およびフローティング栽培法のマツバイに関して、実験開始後 6 か月で分析用試料を採取し、それらの重金属濃度を PIXE 分析法で測定した (Fig. 5)。ただし、直植え栽培法は豪雨時に流失したため、マツバイの重金属濃度は測定できなかった。測定の結果、マツバイの重金属濃度は、ポット栽培法の方がフローティング栽培法より高濃度であった。これはポット栽培法のマツバイが水量が増大した際に重金属濃度の高い堆積物を被っており、その堆積物から重金属を吸収しているためであると考えられる。一方、フローティング栽培法のマツバイは、ダム池の水のみから重金属を吸収・蓄積していると推定される。バイオマスの増大率および河川水の浄化の観点から考えると、この河川水の浄化に関しては、フローティング栽培法が最も効果的であると考えられる。

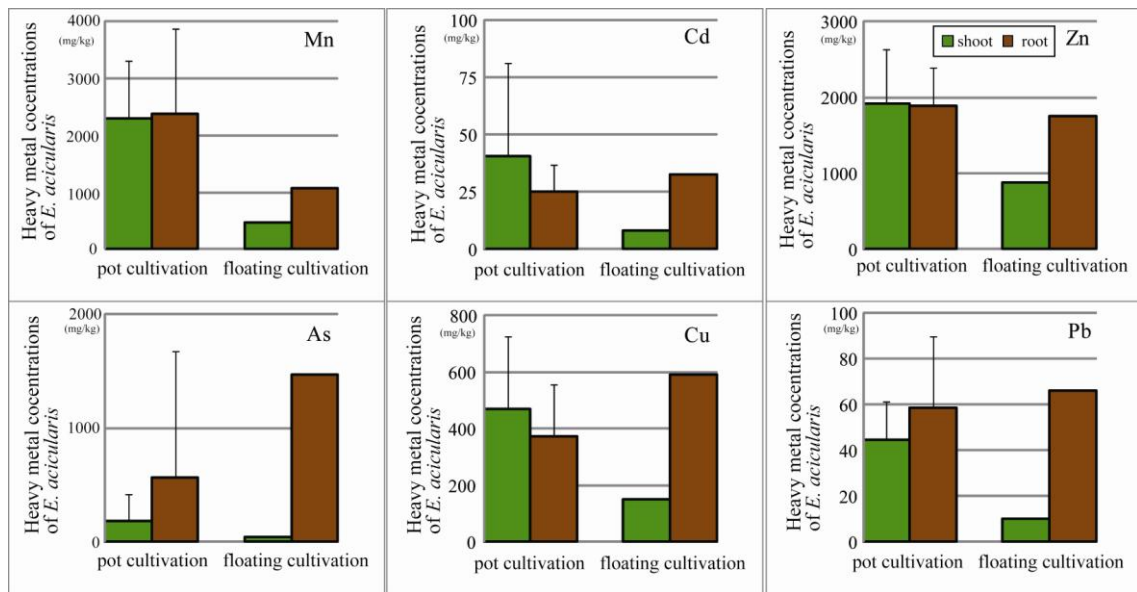


Fig. 6 Heavy metal concentrations of *E. acicularis* by the pot cultivation and floating cultivation experiments after six months.

5.3 マツバイによるファイトレメディエーションにおける栽培法

今回、実施したマツバイの栽培方法の実験によって、マツバイによるファイトレメディエーションに関しては、「フローティング栽培法」が最も実用的で多様な栽培環境に適用できることが明らかになった。その結果、マツバイによるファイトレメディエーションは実用化にまで展開することが可能になった。現在、著者らの研究グループは、対象地域の自治体の協力を得て、フローティング栽培法によって実験地域の河川水中の重金属濃度の10%低減するためのフィールド試験を実施している。

謝辞

本研究を行うにあたり、科学研究費補助金(基盤研究B、研究課題番号:19340153、研究代表者:榊原正幸)、愛媛大学産学連携促進事業経費(研究種目:産業シーズ育成、研究代表者:榊原正幸)および科学技術振興機構、研究成果最適展開支援事業(A-STEP)フィージビリティスタディステージ探索タイプ(課題番号:AS221Z00271E、研究代表者:榊原正幸)の事業費を使用した。

本研究を実施するにあたって、愛媛大学総合研究支援センターに教職員の方々には、様々なご協力をいただいた。また、日本アイソトープ協会 NMCC のスタッフの方々および岩手医大サイクロトロンセンターのスタッフの方々には、共同利用の際にお世話になった。以上の方々には記して謝意を表す。

参考文献

1. 榊原正幸、原田亜紀、佐野 栄、堀 利栄、井上雅裕、“マツバイを用いたファイトレメディエーションによる重金属に汚染された水環境の浄化”、第12回地下水・土壌汚染とその防止対策に関する研究集会講演集、545-548 (2006)
2. Ha, N. T. H., M. Sakakibara, D. Takehana, S. Sano and K. Sera, “Accumulation of heavy metals by *Eleocharis acicularis* in an abandoned mining site of Hokkaido, Japan.”, The 14th Symposium on Soil and Groundwater Contamination and Remediation, 550-553 (2008)

3. Ha, N. T. H., M. Sakakibara, S. Sano, R. S. Hori and K. Sera, "The potential of *Eleocharis acicularis* for phytoremediation: case study at an abandoned mine site.", *CLEAN – Soil, Air, Water*, Vol. 37, 203-208 (2009)
4. M. Sakakibara, A. Harada, S. Sano and R. S. Hori, "Heavy Metal Tolerance and Accumulation in *Eleocharis acicularis*, a Heavy Metal Hyperaccumulating Aquatic Plant Species.", *Geo-pollution Science, Medical Geology and Urban Geology*, Vol. 5, 1-8 (2009)
5. S. Futatsugawa, S. Hatakeyama, Y. Saitou and K. Sera, "Present Status of NMCC and Sample Preparation Method of Bio-Samples.", *Int'l Journal of PIXE*, Vol. 3- 4, 319-328 (1993)
6. 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)
7. K. Sera, S. Futatsugawa and K. Matsuda, "Quantitative analysis of untreated bio-samples", *Nucl. Instr. and Meth. B* 150, 226-233 (1999)
8. 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.15-1,2, 27-39 (2005)
9. 榊原正幸、大森優子、佐野 栄、世良耕一郎、濱田 崇、堀 利栄、“マツバイによる廃止鉱山残土堆積場の重金属汚染された水・底質環境の浄化”、第 14 回地下水・土壌汚染とその防止対策に関する研究会講演集、130-133 (2008)

Cultivation method of *Eleocharis acicularis* on phytoremediation

M. Sakakibara¹, M. Hikoda², S. Sano³ and K. Sera⁴

¹Graduate School of Science & Engineering, Ehime University
2-5 Bunkyo-cho, Matsuyama 790-8577, Japan

²Tsuda Junior Highschool
1106 Kitasaya, Matsuyama 791-8031, Japan

³Faculty of Education, Ehime University
3 Bunkyo-cho, Matsuyama 790-8577, Japan

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

Abstract

Regarded as a highly promising technology, phytoremediation uses plants that absorb contaminants, such as toxic heavy metals, to remediate polluted soils, and has the benefits of low cost and low environmental impact. *Eleocharis acicularis* is well known as heavy metal hyperaccumulating aquatic plant and expected as the strong candidate for application to phytoremediation of polluted water. The objectives of this study were to examine cultivation method of *E. acicularis* on phytoextraction of heavy metal polluted water. In order to establish a cultivation method of *E. acicularis*, three methods have been experimented; (1) direct , (2) pot cultivation , and (3) floating cultivation.

Based on the cultivation experiments the floating cultivation method is most suitable for phytoremediation of heavy metal polluted water by *Eleocharis acicularis*.

Keywords : macrophytes, *Eleocharis acicularis*, phytoextraction, heavy metal, contaminated water, mine site, floating cultivation method

マツバイを用いたファイトレメディエーションにおける Si 肥料の有効性

久保田有紀¹、榊原正幸¹、佐野 栄²、世良耕一郎³

¹ 愛媛大学理工学研究科
〒790-8577 愛媛県松山市文京町 2-5

² 愛媛大学教育学部
〒790-8577 愛媛県松山市文京町 3

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留が森 348-58

1 はじめに

ヒ素は飲料水として使用されている地下水や河川水中に含まれ、多くの国で深刻な環境問題となっている（例えば、アルゼンチン、ボリビア、チリ、中国、台湾、タイ、モンゴル、インドおよびバングラデシュなど）^{1,2)}。ヒ素は人体に摂取されると、様々な疾病を引き起こす。急性中毒は無機ヒ素化合物（アルシン、亜ヒ酸など）の摂取によって発症し、嘔吐、下痢、心室不整脈などが現れ、昏睡後死亡する。慢性中毒は飲料水・食品等の長期摂取によって発症し、目・鼻・喉等の粘膜炎症、筋肉の弱体化、食欲減退、などの症状が現れる。慢性中毒が進行すると、色素沈着や角化症などの皮膚障害が現れ、さらに癌や抹消神経炎などに発展すると考えられている^{1,3,4)}。

現在、日本国内では、約 30 の鉱山においてヒ素に汚染された鉱山廃水の処理が行われている⁵⁾。また、2000 年度の水道統計によると、基準値を上回るヒ素が全国 33 カ所（22 カ所は地下水）の浄水場で確認されている。このヒ素はいずれも自然由来とされている⁶⁾。このようにヒ素は日本各地で問題となっており（例えば、新潟県・新潟平野や、島根県・宍道低地帯、宮城県・東松島市野蒜地区、兵庫県・猪名川水系など）⁷⁻⁹⁾、その対策が必要とされている。

ファイトレメディエーション（Phytoremediation）は、植物を用いた汚染環境修復技術である¹⁰⁾。本研究で用いたマツバイ（*Eleocharis acicularis*）は水生植物であり、Cu、As、Zn、Pb および Cd の超集積植物であると報告されている¹¹⁻¹³⁾。また、単子葉植物であるマツバイは、重金属だけでなく Si も集積し、重金属と Si の集積濃度の間には正の相関があると報告されている¹²⁾。本研究では、Si 肥料を添加した場合のマツバイの重金属集積能力を検討した。

2 実験方法

2.1 実験サイト

本研究は、北海道札幌市定山溪温泉街を流れる豊平川で行った。札幌市の水道水原はそのほとんどを豊平川に依存しているが、上流部に位置する定山溪の河床から湧出する温泉湧出水や、温泉街からの温泉排水にヒ素が含まれており、豊平川のヒ素汚染が懸念されている^{14, 15)}。

2.2 実験方法

実験場所は定山溪温泉街下流部の河川である (Fig. 1)。今回実験に用いたマツバイは、北海道に自生していたものを使用した。栽培にはプラスチックコンテナ (37 × 53.5 × 30.5 cm) を 2 個用い、その中に栽培ポット (9 × 9 × 8 cm) を 15 個ずつ充填し、河川に沈めて実験を行った。マツバイはそれぞれの栽培ポットに約 15 g ずつ移植した。栽培ポット内の土壌は、各プラスチックコンテナに砂のみのものと、砂と Si 肥料を重量比で 50 % ずつ混合したものをそれぞれ用意し、栽培ポットに充填した。プラスチックコンテナは、流行の上流側に砂のみの栽培ポットを、下流側に砂と Si 肥料を混合した栽培ポットを充填したものを配置した (Fig. 2)。栽培期間は 2009 年 7 月～10 月の約 3 ヶ月である。



Fig. 1. Cultivation site in Jozankei area.



Fig. 2. Photograph of cultivated *E. acicularis* in plastic containers.

2.3 分析方法

採取したマツバイは超純水で十分に洗浄した後、恒温器 (80 °C) で約 2 日間乾燥させ、微粉末にした。マツバイの重金属濃度分析および Si 濃度分析は愛媛大学総合科学研究支援センターに設置している高周波誘導結合質量分析装置 (ICP-MS) および岩手医科大学サイクロトンセンターで設置している粒子線励起 X 線分析 (PIXE) を用いた。PIXE 測定の際、マツバイ試料は硝酸灰化法¹⁶⁾で分解した後、内部標準法で定量分析を行った¹⁷⁻¹⁹⁾。分析確度・精度に関する検定は National Research Council Canada (NRCC) の環境試料 NIES CRM No.1 (リョウブ) を用いて行った。

3 結果

Fig. 3 に、実験前と実験後のマツバイ中の As、Mn、Pb、Zn、Cu および Si の濃度を示す。Si 肥料の添加により、As、Mn および Pb の集積濃度は、地上部および根部で大きく増加した。Zn は、地上部のみで集積濃度が増加した。Cu に関しては上記元素と対照的で、地上部および根部で集積濃度が減少した。

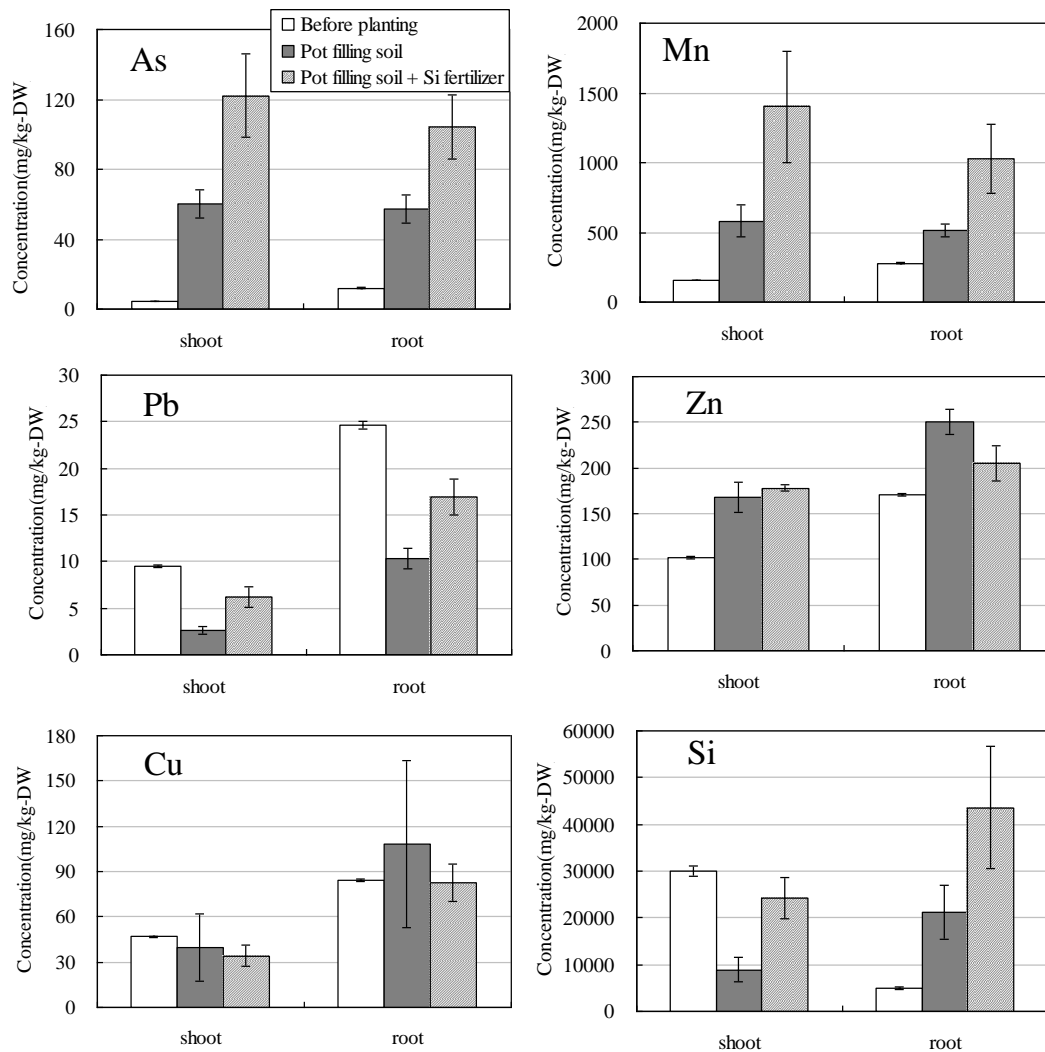


Fig. 3. Concentration of heavy metals and Si in *E.acicularis* after the cultivation experiment.

4 考察

4.1 Si 肥料によるマツバイの重金属集積能力の影響

図4よりマツバイ全体のAs、MnおよびPbの集積濃度とSi集積濃度には正の相関が見られる。As、MnおよびPb元素の相関係数は、それぞれ0.74、0.68および0.84である。一方で負の相関が見られるのはZn ($r = -0.53$)であり、マツバイ中のCuとSiの集積濃度に明確な相関は見られなかった ($r = -0.17$)。

4.2 マツバイの各重金属における生物濃縮係数 (Bioconcentration factor)

Fig. 5はマツバイ中の各重金属の生物濃縮係数 (BCF) を示したものである。生物濃縮係数は植物による重金属集積の能率性を評価するものである²⁰⁾。本研究では暫定値として「マツバイ中の重金属濃度/河川中の重金属濃度」で算出した。河川中の重金属濃度は、久保田ほか(2010)が報告している、栽培地点における濃度を平均したものを参考にした²¹⁾。Si肥料の添加により生物濃縮係数が大きく増加した元素は、As、Mn、およびPbである。一方で、Si肥料を添加しても重金属集積能力が減少する元素はCuおよびZnであった。

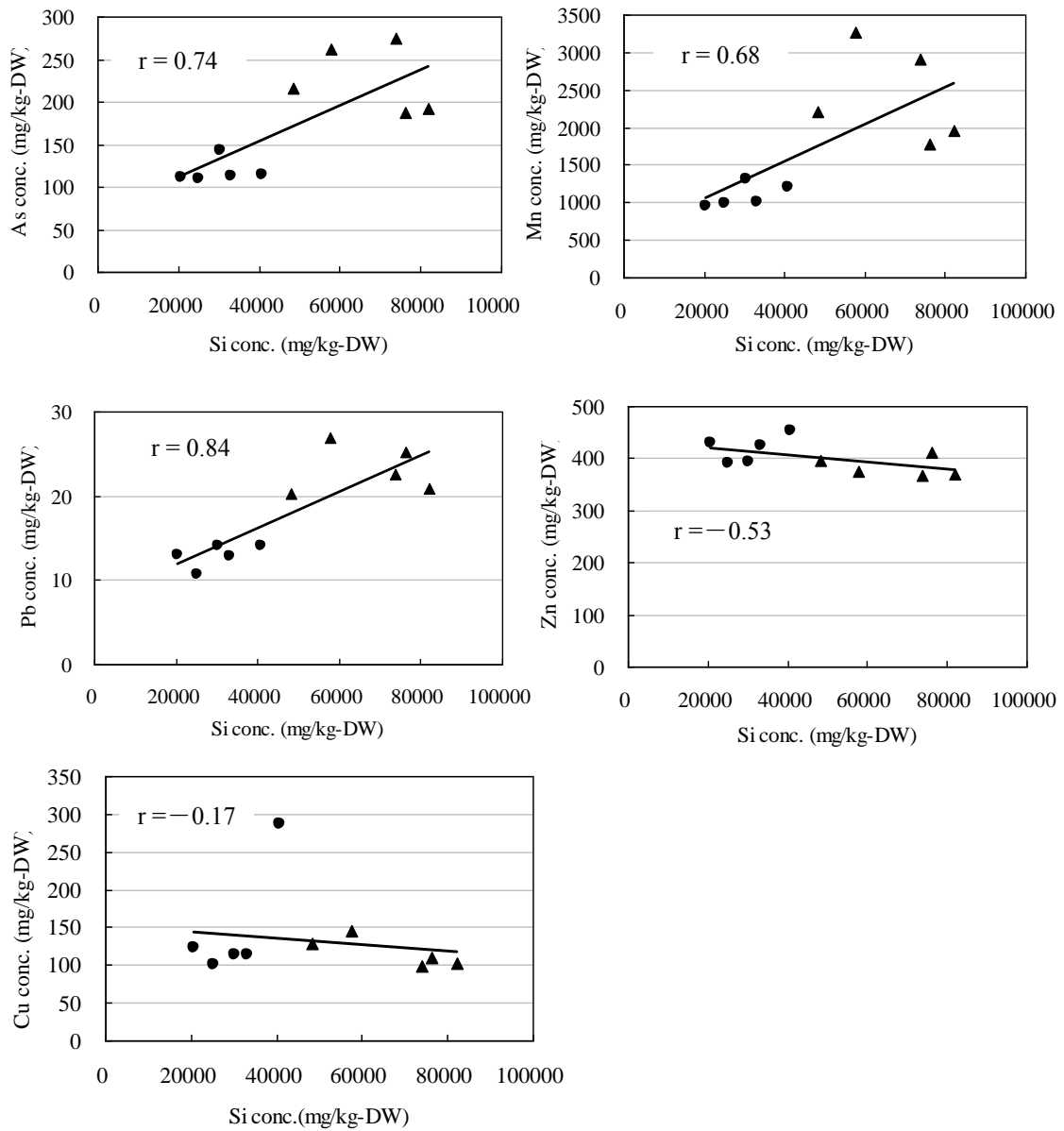


Fig. 4. Correlation between concentrations Si and heavy metals in *E. acicularis*.

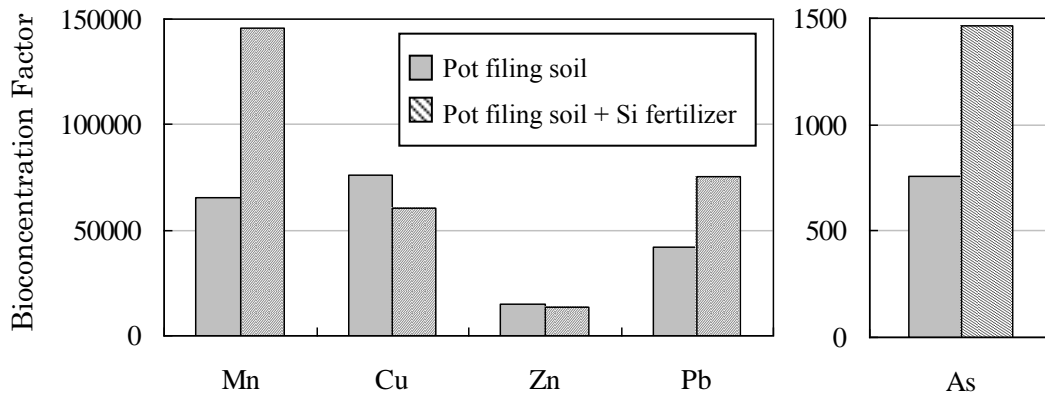


Fig. 5. Bioconcentration factor (BCF) values of Mn, Cu, Zn, Pb, and As in *E. acicularis*.

5 まとめ

本研究の結果より、Si 肥料の添加によって、As、Mn および Pb の集積濃度が増加すること、また Zn には影響を与えないことが確認できた。一方で、Cu の集積濃度は Si 肥料の添加によって抑制されることが示唆される。

謝辞

本研究を行うにあたり、財団法人 河川環境管理財団の河川整備基金助成事業費（研究代表者：榊原正幸）および科学研究費補助金（基盤研究 B、研究課題番号：19340153、研究代表者：榊原正幸）を使用した。また、現地の栽培実験にあたっては、札幌土木現業所事業課、札幌市役所建設局水道河川部河川管理課、および植生環境調査の濱田 崇氏に御協力いただいた。記して謝意を表す。

参考文献

1. M. Karim, "Arsenic in groundwater and health problems in Bangladesh", *Water Research*, Vol. 34, No.1, 304-310 (2000)
2. M. Berg, H. C. Tran, T. C. Nguyen, H. V. Pham, R. Schertenleib and W. Giger, "Aresnic contamination of groundwater and drinking water in Vietnam: A human health threat", *ENVIRONMENTAL SCIENCE & TECHNOLOGY*, Vol. 35, No.13, 2621-2626 (2000).
3. A. H. Smith, E. S. Lingas, M. Rahman, "Contamination of drinking-water by arsenic in Bangladesh: a public health emergency", *World Health Organization*, Vol. 78, No.9, 1093-1103 (2000).
4. 安藤正典、「インド・バングラディッシュにおける地下水ヒ素汚染と健康影響」、国立保健医療科学院研究情報センター、Vol. 49, No. 3, 266-274 (2000).
5. 富岡祐一、広吉直樹、恒川昌美、「ヒ素含有鉱物に由来する環境汚染と修復に関する研究の動向—特に鉱滓堆積場におけるヒ素の溶出と固定について—」、環境資源工学、Vol. 52, 145-150 (2005).
6. 島田允堯、「ヒ素汚染された地下水の起源と問題点」、資源地質、Vol.53, No.2, 161-172 (2003).
7. 久保田喜裕、横田大樹、石山 豊、「新潟平野、宍道低地帯における温泉水中のヒ素濃度 - 地下水ヒ素汚染問題におけるヒ素の供給源の検討 その 2 -」、地球科学、Vol. 55, 11-22 (2001).
8. 清野 茂、安部公江、栗野 健、大庭和彦、嵯峨京時、「宮城県東松島市（旧鳴瀬市）野蒜地区における砒素汚染地下水の解析事例」、宮城県保険環境センター年報、Vol. 24, 101-104 (2006).
9. 芦田賢一、山本 淳、古武家善成、「猪名川水系におけるヒ素およびその他の重金属の空間的時期的分布とその要因」、水環境学会誌、Vol. 24, No.7, 466-472 (2001).
10. I. Raskin, R. D. Smith, D. E. Salt, "Phytoremediation of metals: using plants to remove pollutants from environment", *Current Opinion in Biotechnology*, Vol. 8, 221-226 (1997).
11. M. Sakakibara, A. Harada, S. Sano, R. S. Hori, "hytoremediation of Heavy Metals Contaminated by *Eleocharis acicularis* (in Japanese) in: Proc. 12th Symp", *On Soil and Groundwater Contam. and Remedi (Ed: N. Takeda)*, Kyoto, Japan, 545-548 (2006).
12. N. T. H. Ha, M. Sakakibara, S. Sano, R. S. Hori, K. Sera, "The potential of *Eleocharis acicularis* for phytoremediation: Case study at an Abandoned mine site", *Clean-Soil, Air, Water*, Vol. 37, No.3, 203-208 (2009).
13. M. Sakakibara, Y. Ohmori, N. T. H. Ha, S. Sano, K. Sera, "Phytoremediation of heavy metal-contaminated water and sediment by *Eleocharis acicularis*", *Clean-Soil, Air, Water*, Vol. 39, No. 8, 735-741 (2011).
14. 辰巳健一、中埜渡丈嘉、成田隆広、眞柄秦基、橘 治国、「豊平川における砒素化合物の動態」、水環境学会誌、Vol.25, No.5, 289-296 (2002a).
15. 辰巳健一、中埜渡丈嘉、三浦勝巳、成田隆広、神 和夫、眞柄秦基、橘 治国、「豊平川におけるヒ素の降雨時流出特性」、環境工学研究論文集、第 39 巻、257-266 (2002b).

16. S. Futatsugawa, S. Hatakeyama, Y. Saitou and K. Sera, "Present Status of NMCC and Sample Preparation Method of Bio-Samples.", *Int'l Journal of PIXE*, Vol. 3- 4, 319-328 (1993)
17. 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)
18. K. Sera, S. Futatsugawa and K. Matsuda, "Quantitative analysis of untreated bio-samples", *Nucl. Instr. and Meth. B* 150, 226-233 (1999)
19. 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.15-1,2, 27-39 (2005)
20. R. R. Brooks, 1998. "Plants that Hyperaccumulate Heavy Metals", *CAB International, Wallingford*, 380 (1998).
21. 久保田有紀, 榑原正幸, 佐野栄, 「北海道札幌市の定山溪温泉街における温泉水および周辺の豊平川のヒ素濃度」, 愛媛大学理学部紀要, 第 16 卷, 7-13 (2010).

Effect of Si fertilizer on phytoremediation by *Eleocharis acicularis*

Y. Kubota¹, S. Sakakibara¹, S. Sano² and K. Sera³

¹Graduate School of Science and Engineering, Ehime University
2-5 Bunkyocho, Matsuyama 790-8577, Japan

²Faculty of Education, Ehime University
3 Bunkyocho, Matsuyama 790-8577, Japan

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

Abstract

Phytoremediation is an environmental remediation technique that takes advantage of plant physiology and metabolism. *Eleocharis acicularis* is of great significance in the phytoremediation of water and sediments contaminated by heavy metals. In this study, a field cultivation experiment is performed to examine the applicability of Si-fertilizer to the accumulation of heavy metals using *E. acicularis*. Results of the field cultivation experiments, Si-fertilizer promotes the Mn, Pb, and As accumulation of *E. acicularis*. And also, the bioconcentration factor for Mn, Pb, and As are promoted using Si-fertilizer. The present result indicates that Si-fertilizer is efficient tool to the Mn, Pb, and As accumulation of *E. acicularis*.

Keywords : PIXE, ICP-MS, Heavy metals, Phytoremediation, Si fertilizer, *Eleocharis acicularis*

カヤツリグサ科マツバイによる重金属汚染水のファイトレメディエーション におけるクリンカアッシュの有効性

藏本 翔¹、榊原正幸¹、佐野 栄²、世良耕一郎³

¹愛媛大学院理工学研究科
〒790-8577 愛媛県松山市文京町2番5号

²愛媛大学教育学部
〒790-8577 愛媛県松山市文京町3番

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留が森 348-58

1 はじめに

カヤツリグサ科ハリイ属マツバイ (*Eleocharis acicularis*) は As、Cu、Zn、Pb および Cd の超集積植物であり、ファイトレメディエーションに活用されることが期待されている^{1,4)}。本研究では、クリンカアッシュの Si 肥料としての有効性を検討するために、温室栽培実験およびフィールド栽培実験を行った。

2 研究試料および研究方法

2.1 研究試料

本研究で使用したクリンカアッシュは国内火力発電所で生成されたものを、そしてマツバイは松山市内で採集したものを使用した。

2.2 研究方法

(1) 温室栽培実験

温室栽培実験は7月8日から約4か月間実施した。この実験では、A-1~3の水槽にマツバイのみを入れ、一方水槽B-1~3の底にクリンカアッシュを敷き詰め、マツバイを入れた。実験では、各水槽にマツバイを300g、クリンカアッシュをB-1~3の水槽に600gずつ使用した。約1週間ごとにマツバイのバイオマス量を測定し、実験終了時にマツバイの各元素の濃度分析を行った。

(2) 西南日本での重金属汚染された河川でのフィールド栽培実験

フィールド実験は5月15日から約4か月間実施した。フィールド実験を行った河川のAs濃度は20.1 µg/Lである。この実験では、プラスチックコンテナC-1~3にマツバイのみを入れ、一方プラスチックコンテナD-1~3の底にクリンカアッシュを敷き詰め、マツバイを入れた。実験では、各コンテナにマツバイを600g、クリンカアッシュを1000g使用した。約1か月ごとにマツバイのバイオマス量を測定し、実験終了時にマツバイの各元素の濃度分析を行った。

2.3 分析方法

採取したマツバイは超純水で十分に洗浄した後、恒温器（80℃）で約2日間乾燥させ、微粉末にした。マツバイの重金属濃度分析およびSi濃度分析は愛媛大学総合科学研究支援センターに設置している高周波誘導結合質量分析装置（ICP-MS）および岩手医科大学サイクロロンセンターで設置している粒子線励起X線分析（PIXE）を用いた。PIXE測定の際、マツバイ試料は硝酸灰化法⁵⁾で分解した後、内部標準法で定量分析を行った⁶⁻⁸⁾。分析確度・精度に関する検定はNational Research Council Canada（NRCC）の環境試料 NIES CRM No.1（リョウブ）を用いて行った。

3 結果

(1) 温室栽培実験

①マツバイのバイオマス量：21日目には水槽Bの平均値が、水槽Aの平均値を有意に上回った。35日目まで、水槽AおよびBのバイオマスは増加した。133日目には、水槽Bの平均値が、水槽Aの平均値の約1.6倍となった。

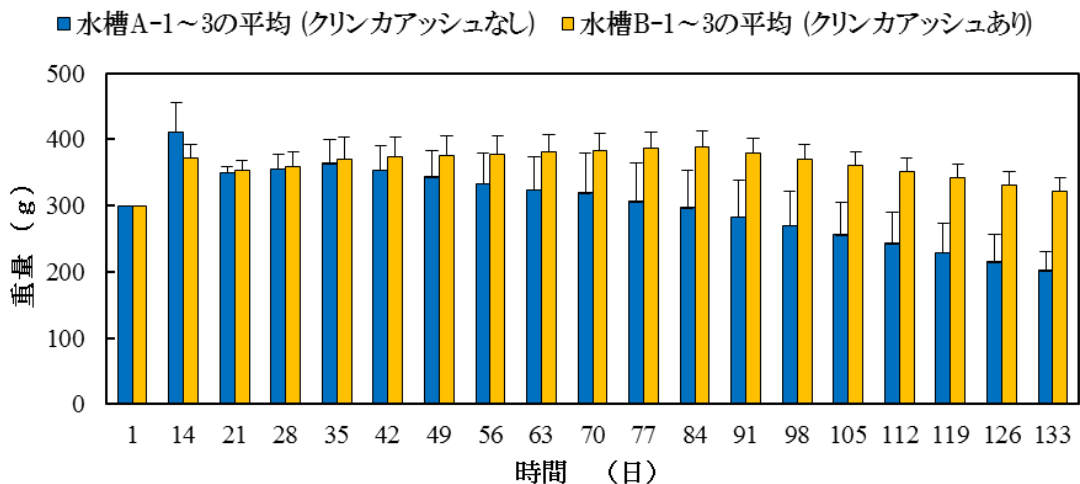


図1. 温室栽培実験における水槽AおよびBのマツバイのバイオマス変化（33日間）。

②マツバイの軽元素濃度：Si濃度は、水槽Aの平均が3.33 μg/g、クリンカアッシュを含む水槽Bの平均が6.14 μg/gで、水槽Bの平均値が水槽Aの平均値の約1.8倍となった。Mg、Ca、Fe、Cu、P、S、MnおよびCl濃度も水槽Bの平均値が水槽Aの平均値を上回った。

(2) 西南日本での重金属汚染された河川でのフィールド栽培実験

①マツバイのバイオマス量：コンテナCの平均値およびクリンカアッシュを含むコンテナDの平均値は36日目に約2倍、68日目には約5倍に増加した。137日目にはコンテナCの平均値は3.20 kg、コンテナDの平均値は3.95 kgとなり、コンテナDの平均値がコンテナCの平均値の約1.2倍となった

②マツバイの平均重金属濃度：コンテナCの平均値は、乾燥重量でCrが376、Mnが150、Cuが2984、Znが855、Asが39.4、Cdが54.4およびPbが8.22 mg/kgである。コンテナDの平均値はCrが542、Mnが144、Cuが1244、Znが1679、Asが43.2、Cdが58.9およびPbが7.72 mg/kgである。

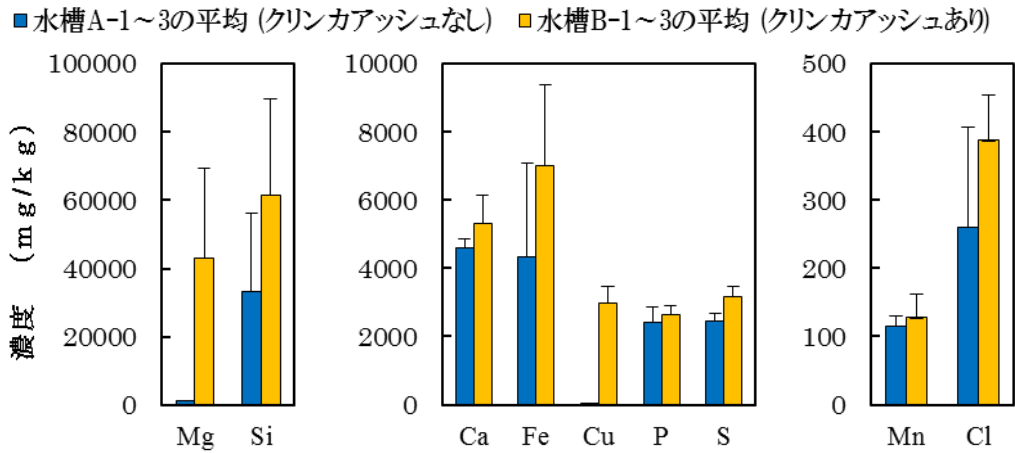


図2. 温室栽培実験における水槽 A および B のマツパイ中における植物の必須元素濃度 (63 日目).

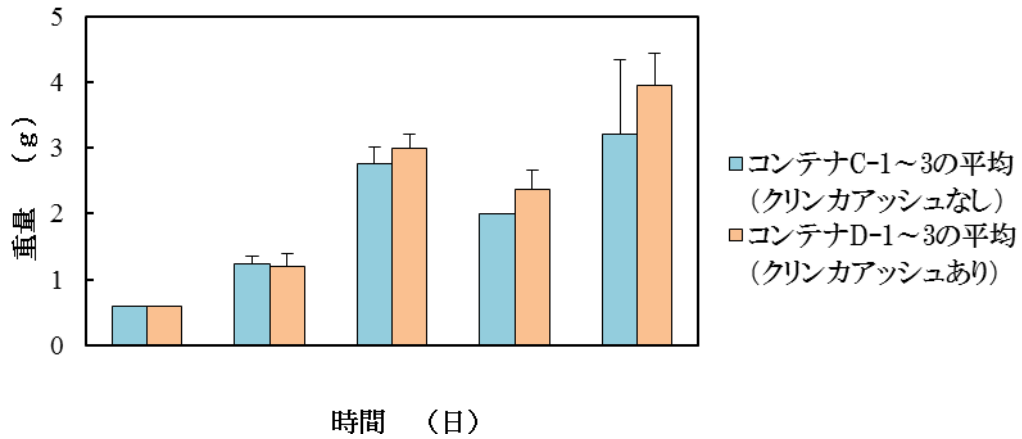


図3. フィールド栽培実験におけるコンテナ C および D のマツパイのバイオマス変化 (137 日間).

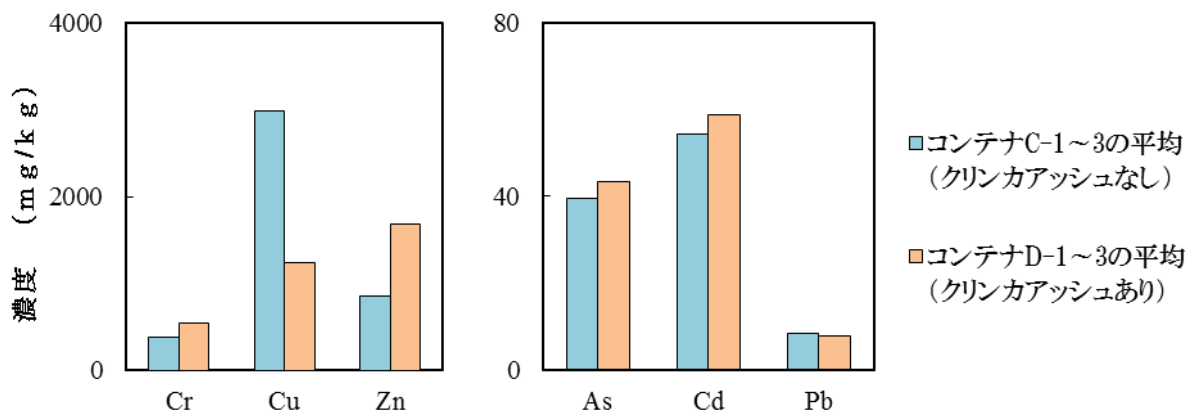


図4. フィールド栽培実験におけるコンテナ C および D のマツパイ中の平均重金属蓄積濃度 (137 日間).

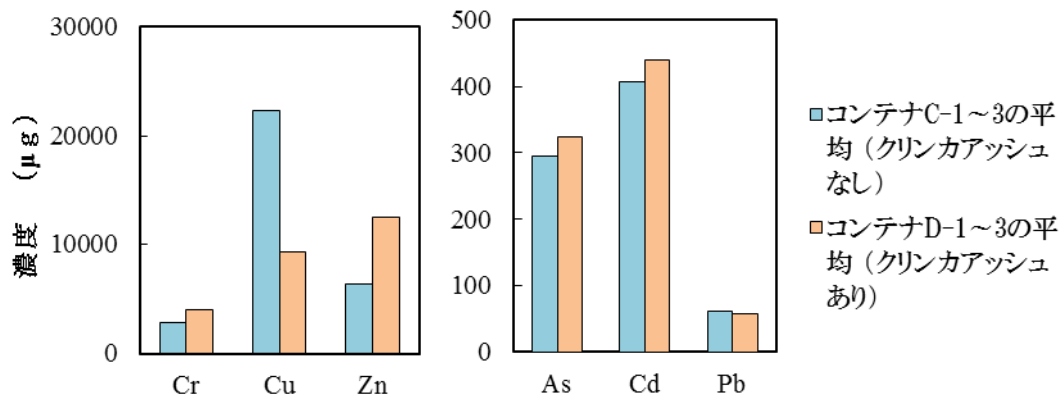


図 5. フィールド栽培実験におけるコンテナ C および D のマツバイ中の総重金属蓄積量 (115 日目)。

4 考察

(1) クリンカアッシュの Si 肥料としての効果

本実験結果から、クリンカアッシュはマツバイのバイオマス増加に効果があると考えられる。すなわち、温室栽培実験においてマツバイ中の必須元素濃度がクリンカアッシュを含む水槽により高濃度に含まれていたことから、クリンカアッシュがマツバイに Si を含む必須元素を供給したためであると考えられる。

(2) 重金属蓄積量に関するクリンカアッシュの効果

フィールド栽培実験の結果から、クリンカアッシュはマツバイの Cr、Zn、As および Cd の蓄積に有効であると考えられる。これは、クリンカアッシュの使用によって、クリンカアッシュに含まれる必須元素がマツバイの代謝活動を活性化したためであると考えられる。

(3) クリンカアッシュを用いたファイトレメディエーションの効率性および経済性

クリンカアッシュは産業廃棄物であり、その費用は運搬費のみである。したがって、マツバイのファイトレメディエーションでは、クリンカアッシュの使用がマツバイの浄化機能を高め、経済性も極めて良いと判断される。

謝辞

本研究を行うにあたり、科学研究費補助金（基盤研究 B、研究課題番号：19340153、研究代表者：榊原正幸）、科学技術振興機構、研究成果最適展開支援事業（A-STEP）フィージビリティスタディステージ探索タイプ（課題番号：19340153、研究代表者：榊原正幸）および愛媛大学産学連携促進事業経費（研究種目：産業シーズ育成、研究代表者：榊原正幸）の事業費を使用した。

本研究を実施するにあたって、愛媛大学総合研究支援センターの教職員の方々には、様々なご協力をいただいた。また、日本アイソトープ協会 NMCC のスタッフの方々および岩手医科大サイクロトロンセンターのスタッフの方々には、共同利用の際にお世話になった。以上の方々に記して謝意を表する。

参考文献

1. N.T.H. Ha, M. Sakakibara, S. Sano, R.S. Hori, and K. Sera, "The Potential of *Eleocharis acicularis* for Phytoremediation: Case Study at an Abandoned Mine Site", *CLEAN-Soil, Air, Water*, Vol. 37, 203-208 (2009)

2. N.T.H. Ha, M. Sakakibara and S. Sano, "Accumulation of Indium and other heavy metals by *Eleocharis acicularis*: An option for phytoremediation and phytomining", *Bioresour. Technol.*, Vol. **102**, 2228–2234 (2011)
3. M. Sakakibara, A. Harada, S. Sano and R.S. Hori, "Heavy Metal Tolerance and Accumulation in *Eleocharis acicularis*, a Heavy Metal Hyperaccumulating Aquatic Plant Species", *Geo-pollut. Sci. Med. Geol. Urban Geol.*, Vol. **5**, 1-8 (2009)
4. Sakakibara, M., Ohmori, Y., Ha, N.T.H., Sano, S. and Sera, K., "Phytoremediation of heavy metal-contaminated water and sediment by *Eleocharis acicularis*", *CLEAN – Soil, Air, Water*, Vol. **39**, 735-741 (2011)
5. S. Futatsugawa, S. Hatakeyama, Y. Saitou and K. Sera, "Present Status of NMCC and Sample Preparation Method of Bio-Samples.", *Int'l Journal of PIXE*, Vol. 3- 4, 319-328 (1993)
6. 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)
7. K. Sera, S. Futatsugawa and K. Matsuda, "Quantitative analysis of untreated bio-samples", *Nucl. Instr. and Meth. B* 150, 226-233 (1999)
8. 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.15-1,2, 27-39 (2005)

Effect of clinker ash as Si fertilizer on phytoremediation for heavy metal contaminated water using *Eleocharis acicularis*

S. Kuramoto¹, M. Sakakibara¹, S.Sano² and K. Sera³

¹Graduate School of Science and Engineering, Ehime University
2-5 Bunkyocho, Matsuyama 790-8577, Japan

²Faculty of Education, Ehime University
3 Bunkyocho, Matsuyama 790-8577, Japan

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

Abstract

Potentiality of clinker ash as a source of Si and other essential elements on phytoremediation has been investigated by greenhouse and field experiments. Biomass of *Eleocharis acicularis* in tanks with clinker ash was, on average, 1.6 times greater than accumulation in tanks without clinker ash, in the greenhouse experiment lasting 133 days and that in containers with clinker ash was, on average, 1.2 times greater than accumulation in containers without clinker ash, in the field experiment lasting 137 days. Silicon concentrations in *E. acicularis* in tanks with clinker ash were, on average, 1.8 times greater than concentrations in tanks without clinker ash, based on greenhouse experiment data. In the field experiment, concentrations of Cr, Mn, Cu, Zn, As, Cd, and Pb in *E. acicularis* in containers with clinker ash were 542, 144, 1244, 1679, 43.2, 58.9, and 7.72 mg/kg-dry weight (DW), respectively. Concentrations of Cr, Mn, Cu, Zn, As, Cd, and Pb in *E. acicularis* in containers without clinker ash were 376, 150, 2984, 855, 39.4, 54.4, and 8.22 mg/kg-DW, respectively. These result showed that clinker ash is effectively increase the biomass of *E. acicularis* and the accumulations of Cr, Zn, As, and Cd in *E. acicularis*.

Keywords : PIXE, Heavy metals, Phytoremediation, Clinker ash, *Eleocharis acicularis*

気管支肺炎イヌの肺胞洗浄液 (BALF) 中微量元素動態

鈴木一由¹、世良耕一郎²

¹ 酪農学園大学獣医学群獣医学類
〒069-8501 北海道江別市文京台緑町 582

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留が森 348-58

1 はじめに

気管支鏡検査および肺胞洗浄液 (BALF) 検査は人医療のみならず伴侶動物医療¹⁻⁶⁾およびウマ医療^{7,8)}においても診断および研究目的で行われている。BALF 検査は患者にとって安全であり、肺組織において軽度の組織学的変化しか認められない³⁾。さらに、Rajamäki ら³⁾は 5-7 週間隔で BALF 検査を行っても肺組織学的変化が極めて小さいため、呼吸器疾患の治療効果を評価する上でも有用な検査法である。

急性および慢性肺疾患では組織の破壊とリモデリングが生じていることから、成人呼吸促迫症候群 (ARDS) 患者の BALF 中セリンプロテアーゼおよびマトリックスメタロプロテアーゼ (MMP) の両者が有意に増加していることが報告されている⁹⁾。MMP は亜鉛依存性細胞外および細胞関連エンドペプチターゼ・ファミリーである^{10,11)}。人および動物における多くの慢性疾患では細胞外マトリックス代謝の修飾が生じており、これによって数種類の元素の蓄積および組織の線維化が生じる。よって、気管支肺炎と微量元素動態との関連性を明らかにすることは伴侶動物医療において重要である。しかし、イヌの BALF 中主成分および微量元素動態に関する比較研究は行われていない。従って、本研究ではイヌの気管支肺炎と BALF 中微量元素濃度との関連性を明らかにすることを目的とした。

2 材料および方法

17頭の健常および12頭の気管支肺炎イヌを供試した。健常イヌの健康状態は身体一般、血液生化学、気管支鏡および胸部レントゲン検査によって評価した。気管支肺炎イヌは日本大学生物資源科学部附属動物病院に診断目的の気管支鏡検査のために来院した症例であった。症例は5頭のミニチュアダックスフント、3頭のシーズー、その他ボーダーコリー、シェットランドシープドッグ、ホワイトハイランドテリア、およびビーグルが各1頭であった。症例の平均年齢は5.4±3.2歳(1-11歳)であり、5頭が慢性気管支炎、2頭がびまん性汎細気管支炎、2頭が気管支肺炎、その他気管支虚脱、真菌性肺炎、および肺線維症が各1頭であった。

各BALFサンプルは気管支検査時において定法に従い採取した^{6,12)}。BALFは180×g、4°C、10分で遠心分離して細胞残渣を除去し、測定まで-20°Cで保存した。100μLのBALF浮遊液をマイ

ラー膜上に重層固化し、主成分および微量元素濃度を仁科祈念サイクロロンセンターにおいて particle induced X-ray emission (PIXE)法を用いて測定した¹³⁻¹⁶⁾。

データは平均値±標準偏差で示した。統計解析は市販のソフトウェアパッケージ (Stat View 日本語版、ver.5、ヒューリンクス・ジャパン、東京、日本) を用いて行った。対照群に対する気管支肺炎イヌの各種微量元素濃度の平均値の差の検定は、F 検定として一元配置部産分析法により分散を評価した後、対応のない Student's *t*-検定を用いた。受動者動作特性 (ROC) 曲線は気管支肺炎イヌに対する BALF 中微量元素濃度の感度および特異度の特性により求めた (Prism 4 for Windows, GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, USA)。有意水準 5%未満を有意とした ($p<0.05$)。

3 結果と考察

気管支肺炎イヌの BALF 中主成分および微量元素濃度の平均値を Table 1 に示した。のデータは平均値±標準偏差で示した。その結果、Ca、P および Zn を除いて BALF 中の元素レベルと気管支肺炎との間に有意な相関性は認められなかった。気管支肺炎イヌの BALF 中 Ca ($p<0.01$) および Zn ($p<0.01$) はそれぞれ健康イヌと比較して有意に高値を示した。一方、気管支肺炎イヌの BALF 中 P 濃度は気管支肺炎を罹患していないイヌのそれよりも有意に低値であった ($p<0.01$)。BALF 中 Ca、P および Zn の ROC 曲線下面積はそれぞれ 0.824 ($p<0.001$)、0.799 ($p<0.01$) および 0.892 ($p<0.001$) であった。従って、イヌの気管支肺炎とこれらの元素との間に有意な相関が存在することが示唆された。

カルシウムとリンは生体内において相互調節しているため、Ca/P はこれらの 2 つの元素動態の影響を反映している¹³⁻¹⁶⁾。気管支肺炎イヌの平均 BALF 中 Ca/P 値 (0.098 ± 0.047 , $p<0.01$) は対照群 (0.035 ± 0.036) よりも有意に高値を示した。Ca イオンは恐らく気道組織中の NO 濃度を減少させないために静脈内ヒスタミンおよびサブスタンス P に対する気道の過敏状態を生じさせる。このことは損傷した気道上皮および活性化した炎症細胞による NO 分解に依存している¹⁷⁾。よって、気管支肺炎イヌの BALF 中 Ca レベルと気道上皮の損傷の程度の間に関連があると推察できる。本研究では、正常イヌと比較して気管支肺炎イヌの BALF 中 Ca 濃度は高値を示した。

Table 1 Comparison of 11 Trace Elements Status Measured in Bronchoalveolar Lavage Fluid of the Dogs With or Without Bronchopneumonia

(g/ml)	Control (n=17)	Bronchopneumonia (n=12)	p value
Al	1.72±0.80	2.05±0.36	NS ^a
Br	0.622±0.348	0.615±0.384	NS
Ca	0.526±0.434	1.070±0.526	$p<0.01$
Cu	0.011±0.015	0.050±0.143	NS
Fe	0.199±0.196	0.092±0.061	NS
K	5.05±2.39	6.14±2.67	NS
Ni	0.005±0.004	0.010±0.010	NS
P	20.4±9.1	11.9±5.0	$p<0.01$
Si	3.53±1.92	2.52±2.13	NS
Sr	0.017±0.015	0.017±0.018	NS
Zn	0.144±0.076	0.402±0.274	$p<0.001$
Ca/P	0.035±0.036	0.098±0.047	$p<0.01$
Zn/Cu	17.6±14.1	58.9±47.4	$p<0.05$

^a Not significant

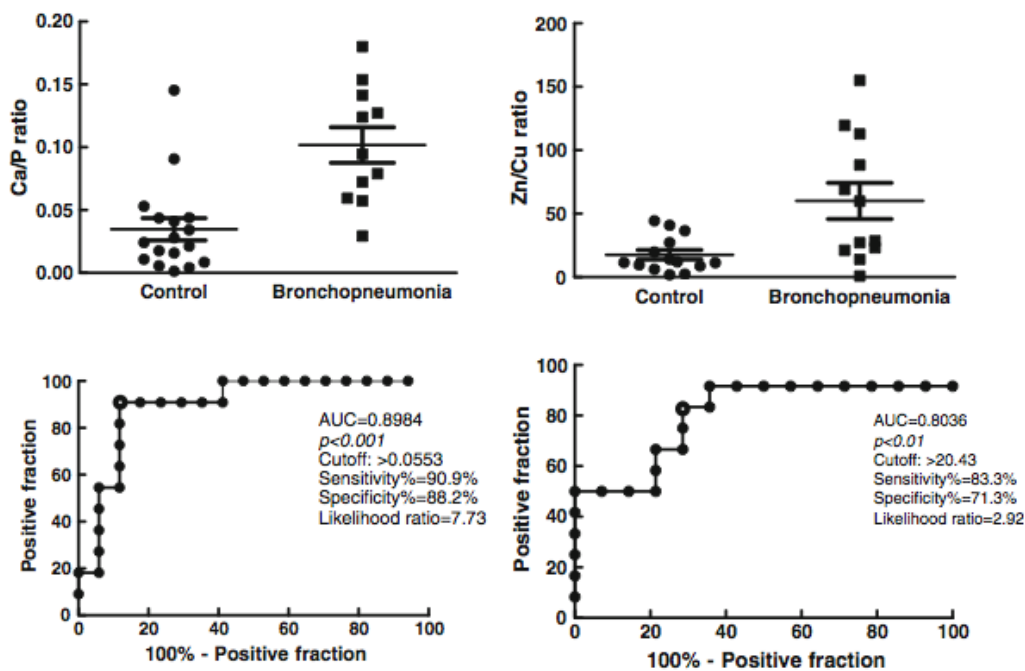


Fig. 1 Receiver operating characteristic (ROC) curves for Ca/P and Zn/Cu ratios in detecting bronchopneumonia in dogs. The mean area under the ROC curve (AUC) is shown for each ROC curve. True-positive fraction, sensitivity (%); false-positive fraction, 100 (specificity (%)). *Open circle* cutoff point

亜鉛と銅は生体内において相互調節しているため、Zn/Cuはこれらの2つの元素動態の影響を反映している^{13,16,18)}。本研究では、気管支肺炎イヌのBALF中Zn/Cu比は(58.9±47.4、 $p<0.05$)であり、健常イヌ(17.6±14.1)のそれより有意に高かった。Toriiら⁹⁾は成人呼吸窮迫症候群(ARDS)患者においてIV型コラーゲンMMP2およびMMP-9、そしてこれらのインヒビター(TIMP-2およびTIMP-1)の関与について調査を行った。ARDS患者のBALF中MMP-2およびMMP-9濃度、およびTIMP-1濃度は健常人と比較して有意に高値を示したことを報告している。

これらの知見は、肺におけるコラーゲンMMP濃度の上昇がARDSの病因に重要な役割を果たしていることを示唆している⁹⁾。Rajamäkiら⁵⁾は、BALF中の細胞数と分解したコラーゲンIの関連性を調査したところ、コラーゲンIの減少割合に対して好酸球、マクロファージ、リンパ球、肥満細胞数との間に有意な相関を認めた。MMP-8の主要な免疫反応は、マクロファージや上皮細胞で観察され、MMP-13の主要な免疫反応はマクロファージで観察された。これらの知見は、Zn依存性細胞外および細胞関連エンドペプチダーゼであるMMPにより膠原溶解性がアップレギュレーションし、最終的に肺組織の破壊に寄与していることを示している⁵⁾。気管支肺炎イヌのBALFにおいてMMPが健常イヌよりも高いレベルを示したかは明確ではないが、本研究ではBALF中のZn/Cuが気管支肺炎イヌで有意に高値であった。従って、今後はBALF中MMPおよびZn濃度が相関関係に有るか否かを調査する必要がある。

我々は実践的な診断能を考慮し、70%から90%の範囲内の感度および特異度で気管支肺炎に対するCa/PおよびZn/Cuのカットオフ値を求めた。ROC曲線分析に基づいて気管支肺炎を識別するためのBALF中のCa/PおよびZn/Cuによる診断カットオフ値は、それぞれ0.055と20.43であった(図1)。イヌの気管支肺炎を診断するためのBALF中Ca/P値のカットオフ値における感度および特異度はそれぞれ90.9%および88.2%であった。同様に、イヌの気管支肺炎を診断する

ための BALF 中 Zn/Cu 値のカットオフ値における感度および特異度はそれぞれ 83.3%および 71.3%であった。また、BALF 中の Ca/P および Zn/Cu における ROC 曲線下面積はそれぞれ 0.898 ($p<0.001$) および 0.804 ($p<0.01$) であった。本研究では BALF 中 Ca/P および Zn/Cu が気管支肺炎の罹患率に関係していることを示唆しており、病態の評価においても有用と思われる。

結論として、健常イヌと比較して気管支肺炎イヌでは BALF 中 Ca および Zn 濃度が高値であり、高 Ca/P および Zn/Cu を呈していた。今後は気管支肺炎動物の BALF 中 Ca および Zn レベルと重症度に相関関係があるかどうかを調査する必要がある。

謝辞

This study was supported by a grant-in-aid for Science Research from the Ministry of Education, Culture and Sciences of Japan (no.21580393) awarded to K. Suzuki, and by a Grant from Rakuno Gakuen University Research to K. Suzuki. We thank staff of Nishina Memorial Cyclotron Center (Japan Radioisotope Association) and Cyclotron Research Center (Iwate Medical University) for their help to this work.

参考文献

1. Hawkins EC, Rogala R, Large EE, Bradley JM, Grindem CB (2006) Cellular composition of bronchial brushings obtained from healthy dogs and dogs with chronic cough and cytologic composition of bronchoalveolar lavage fluid obtained from dogs with chronic cough. *Am J Vet Res* 67:160–167
2. Maden M, Altunok V, Birdane FM, Aslan V, Nizamlioglu M (2001) Specific enzyme activities in bronchoalveolar lavage fluid as an aid to diagnosis of tracheobronchitis and bronchopneumonia in dogs. *Res Vet Sci* 71:141–145
3. Rajamäki MM, Järvinen AK, Saari SA, Maisi PS (2001) Effect of repetitive bronchoalveolar lavage on cytologic findings in healthy dogs. *Am J Vet Res* 62:13–16
4. Rajamäki MM, Järvinen AK, Sorsa T, Maisi P (2002) Clinical findings, bronchoalveolar lavage fluid cytology and matrix metalloproteinase-2 and -9 in canine pulmonary eosinophilia. *Vet J* 163:168–181
5. Rajamäki MM, Järvinen AK, Sorsa T, Maisi P (2002) Collagenolytic activity in bronchoalveolar lavage fluid in canine pulmonary eosinophilia. *J Vet Intern Med* 16:658–664
6. Schuller S, Valentin S, Remy B et al (2006) Analytical, physiologic, and clinical validation of a radioimmunoassay for measurement of procollagen type III amino terminal propeptide in serum and bronchoalveolar lavage fluid obtained from dogs. *Am J Vet Res* 67:749–755
7. Hobo T, Yoshihara M, Oikawa M, Hones JH (2001) Surfactant proteins in bronchoalveolar lavage fluid of horses: assay technique and changes following road transport. *Vet Rec* 148:74–80
8. Raulo SM, Sorsa T, Tervahartiala T, Pirila E, Maisi P (2001) MMP-9 as a marker of inflammation in tracheal epithelial lining fluid (TELF) and bronchoalveolar lavage fluid (BALF) of COPD horses. *Equine Vet J* 33:128–136
9. Torii K, Iida K, Miyazaki Y et al (1997) Higher concentrations of matrix metalloproteinases in bronchoalveolar lavage fluid of patients with adult respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 155:43–46
10. Birkedal-Hansen H, Moore WG, Bodden MK, Birkedal-Hansen B, Decarlo A, Engler JM (1993) Matrix metalloproteinases: a review. *Crit Rev Oral Biol Med* 4:197–250
11. Birkedal-Hansen H (1995) Proteolytic remodeling of extracellular matrix. *Curr Opin Cell Biol* 7:728–735
12. Clercx C, Peeters D, Snaps F et al (2000) Eosinophilic bronchopneumopathy in dogs. *J Vet Intern Med* 14:282–291

13. Asano K, Suzuki, K Chiba M et al (2005) The correlation between twenty-five element contents in mane hair in riding horses and atrioventricular block. *Biol Trace Elem Res* 108:127–136
14. Sera K, Futatsugawa S, Matsuda K (1999) Quantitative analysis of untreated bio-samples. *Nucl Instrum Methods Phys Res B* 150:226–233
15. Sera K, Futatsugawa S, Matsuda K, Miura K (1996) Standard-free method of quantitative analysis for bio-samples. *Int J PIXE* 6:467–481
16. Suzuki K, Yamaya Y, Asano K et al (2007) Relationship between hair elements and severity of atrioventricular block in horses. *Biol Trace Elem Res* 115:255–263
17. Uno D, Tsukagoshi H, Hisada T, Iwamae S, Mori M (1997) Effects of the calcium ionophore A23187 on airway responsiveness to histamine and substance P in guinea pigs. *Inflamm Res* 46:108–113
18. Tang YR, Zhabg SQ, Xiong Y et al (2003) Studies of five microelement contents in human serum, hair, and fingernails correlated with aged hypertension and coronary heart disease. *Biol Trace Elem Res* 92:97–103

Trace and major elements status in bronchoalveolar lavage fluid in dogs with or without bronchopneumonia

K. Suzuki¹ and K. Sera²

¹School of Veterinary Medicine, Rakuno Gakuen University
582 Bunkyoudai-Midorimachi, Ebetsu, Hokkaido 069-8501, Japan

¹Cyclotron Research Center, Iwate Medical University
Tomegamori, Takizawa 020-0173, Japan

Abstract

The aim of this study was to investigate the relationships between the bronchopneumonia and mean concentrations of those trace elements in bronchoalveolar lavage fluid (BALF). Twenty-nine dogs were included this study (17 healthy dogs and 12 dogs with respiratory disease). Each BALF sample had been obtained during bronchoscope examination by use of a standardized method. The concentrations of Al, Br, Ca, Cu, Fe, K, Ni, P, Si, Sr and Zn in BALF were measured by the particle-induced X-ray emission method. We found no relationship between the bronchopneumonia and the levels of elements in the BALF, except Ca, P and Zn. The dogs with respiratory disease were found to have a large amount of Ca and Zn, and a high Ca/P and Zn/Cu ratios in BALF compared to those without respiratory disease.

Keywords : Bronchoalveolar lavage fluid, Bronchopneumonia, Dog, Element, Particle induced X-ray emission

月山と鳥海山で採取したスス試料の特徴

鶴見 實、荻野由佳、前田衣里奈

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

近年、我国の日本海側の山地に降る雨や雪は中国大陸からのススの長距離輸送によって黒く汚染されてきた。スス試料の特徴の1つである色の黒さは熱吸収による地球温暖化に関係し、早期融雪に寄与すると考えられている。目に見える汚染であるにも関わらず、スス試料は採取・分析の難しさからその性質や化学組成について十分に研究されてこなかった。本研究では雪中に含まれたススが融雪と共に濃縮することから、夏期残雪中のススを採取することで分析に必要な量のススを確保した。この残雪中にはススの他に、同じく大気降下物である黄砂や土壌粒子も含まれている。そこで採取した試料をスス試料と呼び、スス試料の化学的特徴を知るための成分分析をPIXE分析法（粒線励起X線放出分析法）で行った。PIXE分析法は微量試料の多元素を同時に分析することが可能である。

PIXE分析の前処理として試料とPd-C標準物質を混合するが、いままでの土壌試料を用いたPIXE分析の結果では、混合時間が不十分であるとPIXE分析値を酸化物換算した値は100%にならず、試料とPd-C標準物質の混合時間を15分から60分に延長することによって値のバラツキが軽減された。そのためスス試料とPd-C標準物質との混合も60分を行った。スス試料は土壌試料に比べ粒径が小さいため60分で十分混合されると期待した。

PIXE分析法で得られた分析結果は、昨年報告集で示した補正法を用いて補正した。この補正法は「NIES標準試料 Pond Sediment (池底質試料)」を標準試料として採用し、この試料のPIXE分析値（PIXE値）が保証値や参考値になるように補正される。今回はスス試料と黄砂の多く含まれた試料を同じ方法で補正した。さらにこの補正値を蛍光X線分析法（XRF分析法）での分析値（XRF値）と比較した。XRF分析法は土壌試料の分析方法では比較的信頼のおける方法として知られている。しかし、XRF分析法は精確さを求める時に分析の前処理として灼熱処理が必要であり、揮発成分の定量が出来ない。それに対してPIXE分析法は少量の試料で主成分の分析が可能のため採取の難しいスス試料に適していることに加え、灼熱処理を必要としないため揮発成分の定量が出来るといった利点がある。これらの分析結果からスス試料の化学的特徴について議論し、いままでにほとんど測定されていなかった比重についても検討する。

2 試料採取

2.1 採取地点

スス試料の採取は日本海側の3つの山地にて行った。1つは青森県の岩木山山頂近くのくぼ地と八甲田山で行った。くぼ地はお椀の様な地形になっており、降雨は浸透する以外に排水する場所がないため、大気から降下した不溶性汚染物質はくぼ地内に留まると考えられる。残りの2地点は山形県の月山と鳥海山である。どの山地においても採取地点一帯は、森林限界を越えた高地にあり、植生として草やコケが見られるだけで、大きな樹木はない。このような場所では自動車からの排気など局地的な影響が少なく遠方から飛来して日本海側に一様に降下するスス試料が得られると考えた。

黄砂の採取は青森県弘前市にある2階建民家の屋根に設置されている太陽光パネルに降り積もったものを春に採取した。

2.2 採取方法

スス試料の採取は先に記述したように残雪が溶けるに従い濃縮したものを採取した。岩木山では残雪表面に濃縮していたスス試料を雪と共に採取した。月山では雪が溶けてなくなっており、岩の上に残っていた塊状のスス試料や、水たまりに浮かんでいたものを採取した。鳥海山は残雪にススが濃縮していたので雪ごと採取した。黄砂は太陽光パネルを清掃後に降り積もったものをかき集めて採取した。

3 測定方法

3.1 前処理

採取後の試料は袋からビーカーに入れて大きな混入物を取り除いた後、ホットプレート上で水分を蒸発させ乾固した。塊状の試料も蒸留水を加えて懸濁させたあと乾固している。黄砂は懸濁乾固後表面に黒い層ができたため、それを取り除いた。乾固後の試料は粉末化した。

3.2 試料調整

3.2.1 PIXE 分析法

スス試料と黄砂の化学成分の定量には内部標準法を用いた。この方法は粉末試料に適しているとされている。内部標準としてPd-Cを用いた。Pd-C(5%Pd)5mgとスス試料または黄砂試料25mgを60分間混合し、混合試料中のPd濃度が約10000ppmとなるよう調整した。混合試料をピンセットで極微量つまみ取り、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、直径7mm程の円状に広げる。

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

PIXE分析法により、得られた成分は、主成分SiO₂、Al₂O₃、Fe₂O₃、K₂O、TiO₂、MgO、Na₂O、CaO、MnO、P₂O₅の10元素、微量成分Cl、S、Nb、Zr、Y、Sr、Rb、Th、Pb、Zn、Cu、Ni、Hg、As、Se、Ga、V、Cr、Br、Mo、Pd、Ba、Teの23元素である。

3.2.2 蛍光 X 線分析法

スス試料と黄砂の化学成分のうち、主成分である SiO_2 、 Al_2O_3 、 Fe_2O_3 、 K_2O 、 TiO_2 、 MgO 、 Na_2O 、 CaO 、 MnO 、 P_2O_5 の 10 元素、微量成分 Nb、Zr、Y、Sr、Rb、Th、Pb、Zn、Cu、Ni の 10 元素を蛍光 X 線分析法を用いて測定した。定量にはガラスビード法を用いて、分析試料を灼熱処理し調整した。分析に用いた装置は、Philips 社製 PW2400 型全自動蛍光 X 線分析装置である。

○灼熱減量 (LOI)

試料を灼熱処理することで減量する重量分を灼熱減量 (Loss on Ignition、略称 LOI) とする。(式 3-1)。LOI の内容として考えられるのは、水素、炭素、窒素、硫黄などの有機物、塩素やリンなどの一部の無機物、室温では乾燥することのできない結晶水である。試料量は、灼熱後に試料が蛍光 X 線分析に必要な量である 1.8g 以上残るように量り取った。

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

○ガラスビード法による XRF 分析試料調節

粉末試料に対してガラスビード法 (融解試料調整法) による調整を行った。この方法は、ガラス円板試料に加工調整することで試料の均一性を高め、優れた分析結果が得られる。灼熱処理した試料 1.8g を精秤し、融剤を加えて試料と融剤 1 : 2 の割合になるようにする。融剤には $\text{Li}_2\text{B}_4\text{O}_7$ と LiBO_4 (Merck 製、A20) を 8 : 2 ($\text{Li}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 約 2.90g、 LiBO_4 約 0.72g) に混ぜたものを使用した。ただし、 $\text{Li}_2\text{B}_4\text{O}_7$ と LiBO_4 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 $\text{Li}_2\text{B}_4\text{O}_7$ と LiBO_4 を精秤した。

4 補正方法

4.1 PIXE 分析値の標準試料について

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

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

表1. NIES 標準試料 Pond Sediment の保証値

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

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

表2. NIES 標準試料 Pond Sediment の参考値

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

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

4.2.1 Fe、Ca、K、Ti、P、Mn、微量元素 (Aグループ)

主要元素である Fe、Ca、K、Ti、Mn、P と微量元素を A グループとする。A グループは生データを個々の補正も 100%補正もせず、PIXE 分析値をそのまま採用する。

4.2.2 Si、Al、Na、Mg、(Bグループ)

A グループ以外の主要元素である Si、Al、Na、Mg を B グループとする。補正には同時に測定した NIES 標準試料 Pond Sediment の分析値から得られる標準土壌補正係数 (式 4-2) を用いる。100%補正には LOI を加えて全体が 100%になるように補正係数 (式 4-3) をかける (式 4-1)。

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

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

*2 100%補正係数 = (100 - LOI) - (A の和) (%) / B_{酸化物の和} (%) …… (式 4-3)

これらの値は、昨年度の報告を参考されたい。

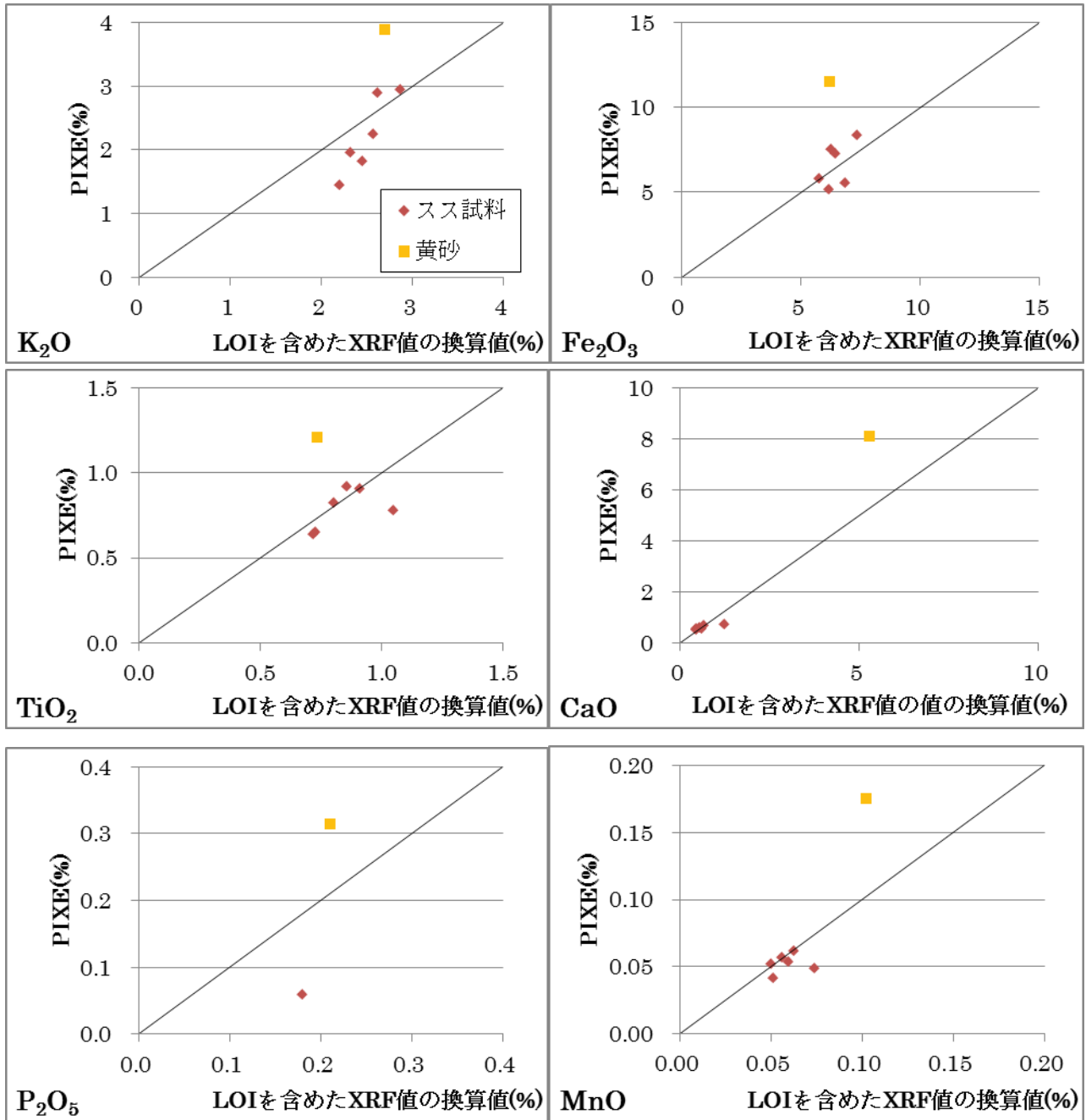


図1. Aグループ (K、Fe、Ti、Ca、P、Mn) のPIXE分析値とXRF分析値の相関

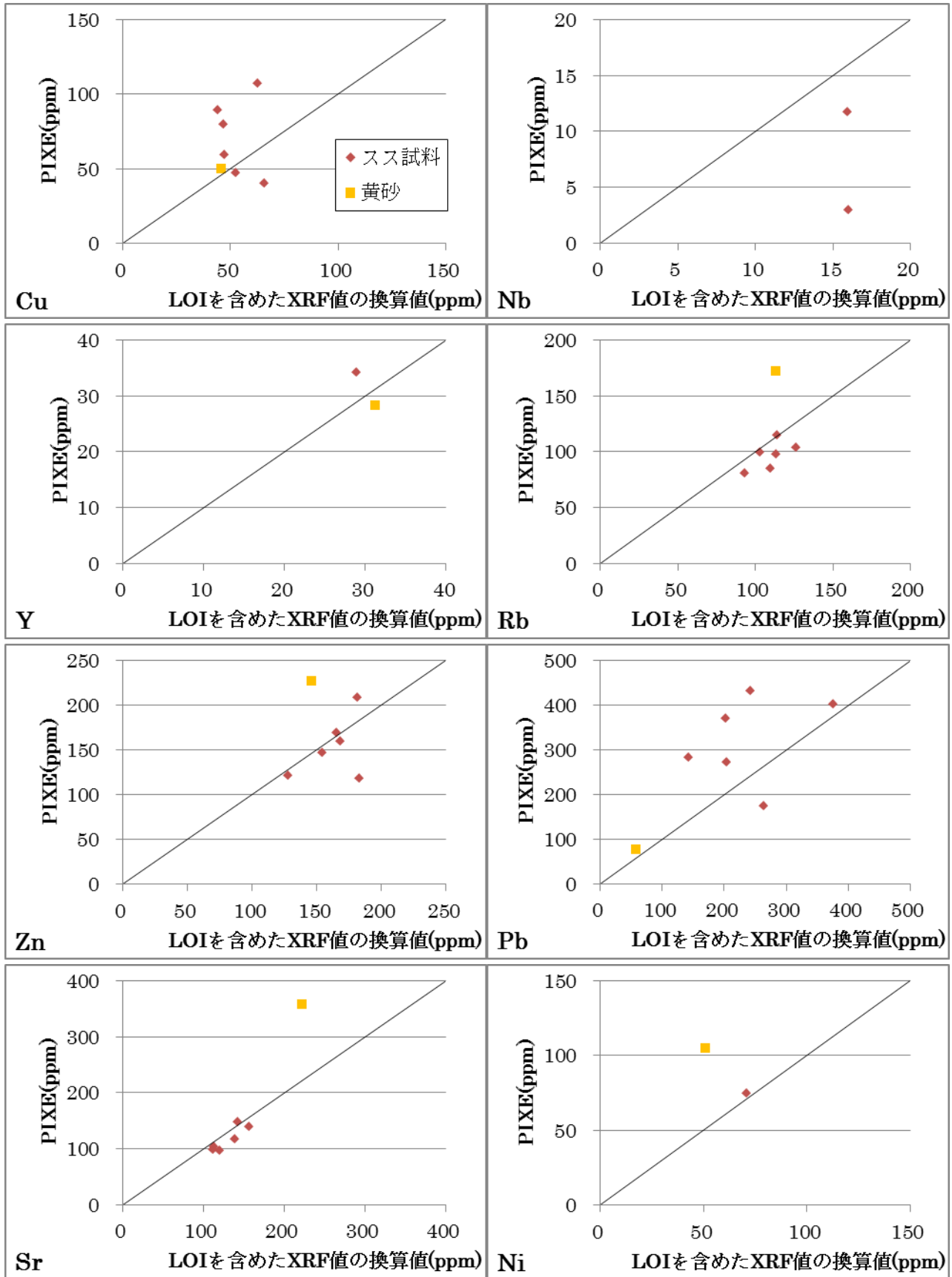


図2. Aグループ（微量元素）のPIXE分析値とXRF分析値

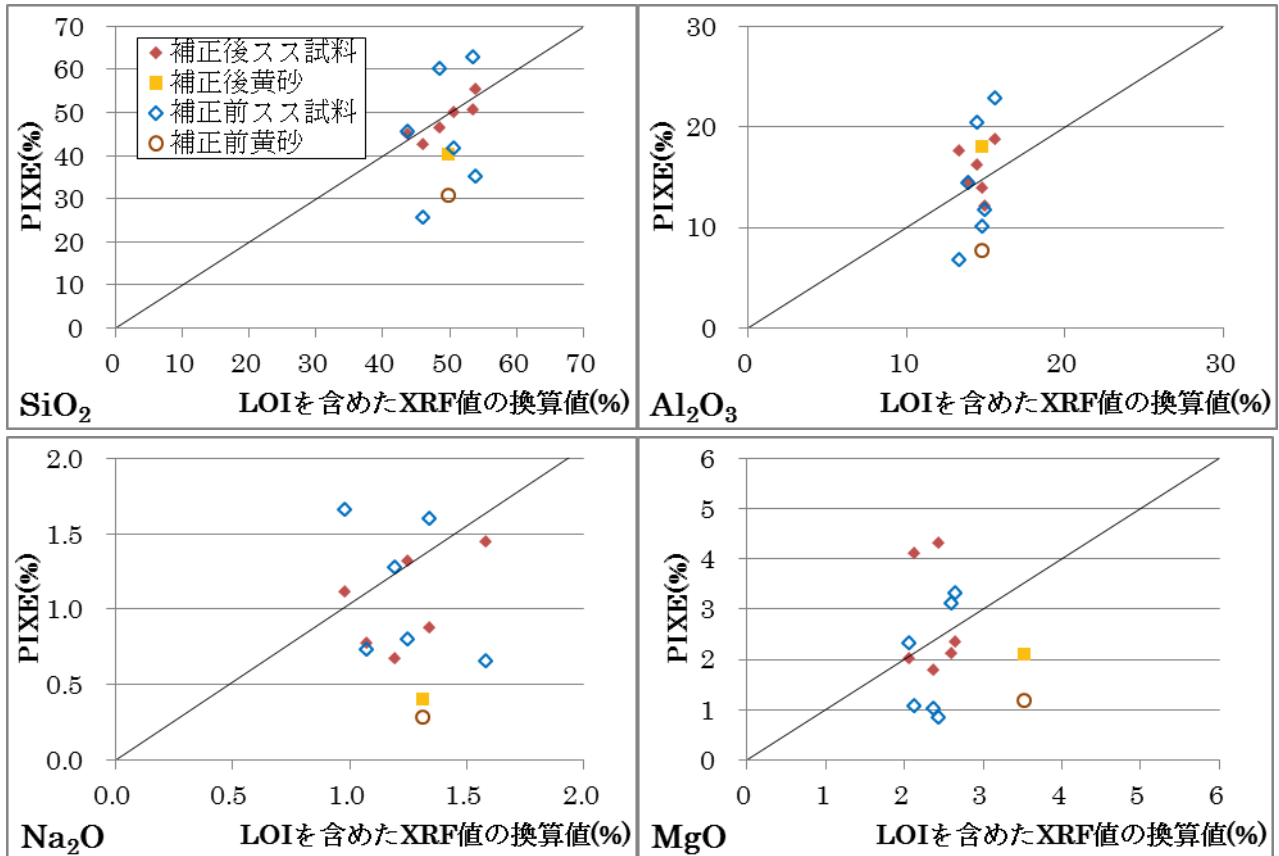


図 3. Bグループ (Si、Al、Na、Mg) の100%補正前後のPIXE分析値とXRF分析値

4.3 補正法の考察

AグループのPIXE分析値とXRF分析値を図1、2に示す。これらの元素は100%補正を行わずPIXE分析値の生データのまま採用した。P、Nb、YやNiは検出誤差が大きい値が多く、検出誤差50%以上の値は除いている。誤差の小さい値が多かった元素の中では、K、Cu、PbのPIXE分析値とXRF分析値との相関が悪く、これらの元素についても補正が必要かもしれない。

Bグループの100%補正前後のPIXE分析値とXRF分析値を図3に示す。この補正法では、Bグループの中でも含有量の大きいSiのばらつきが特に改善された。

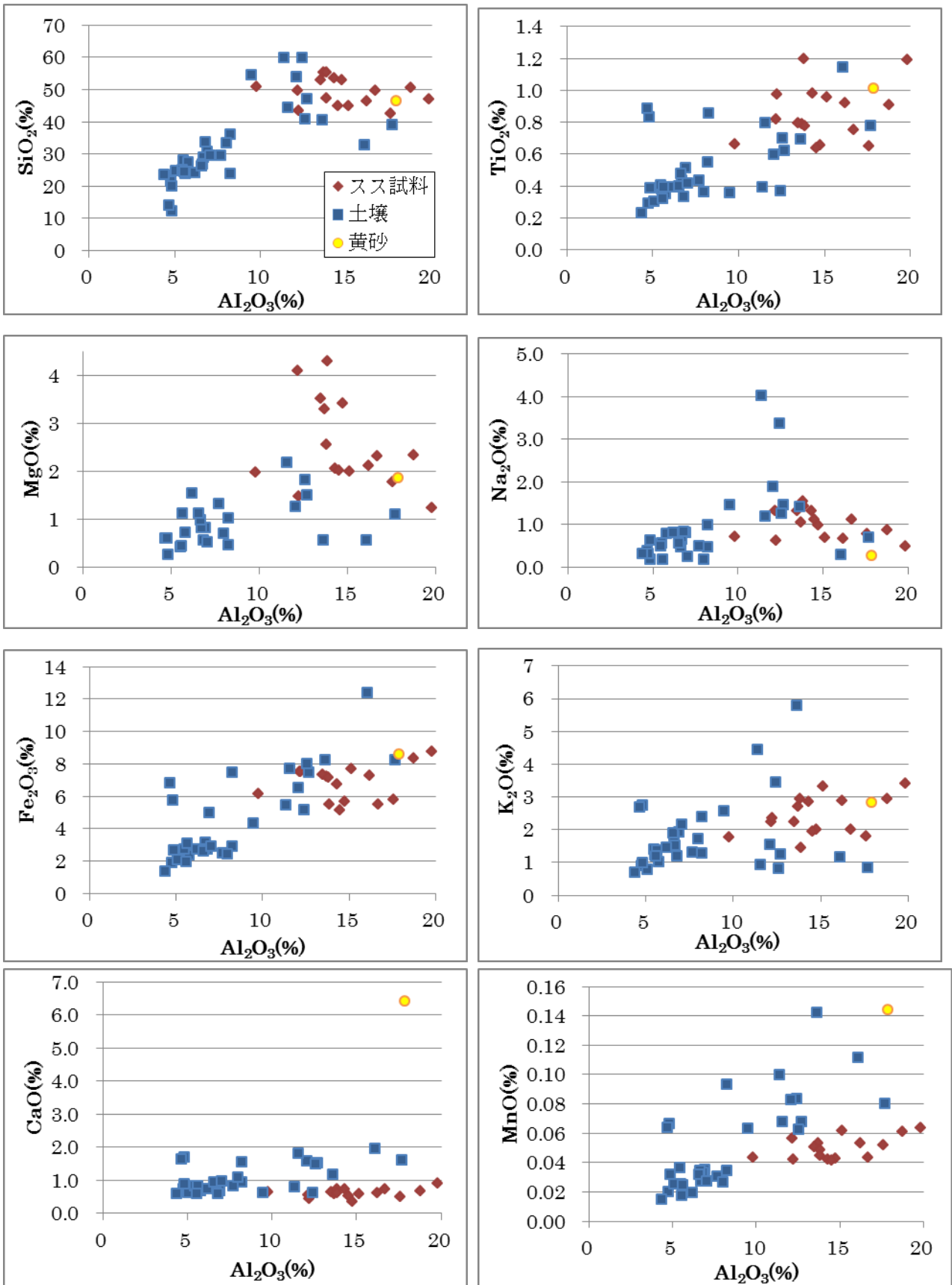


図4. 主要元素(Si、Ti、Mg、Na、Fe、K、Ca、Mn)対Alのスス試料,黄砂と土壌の比較

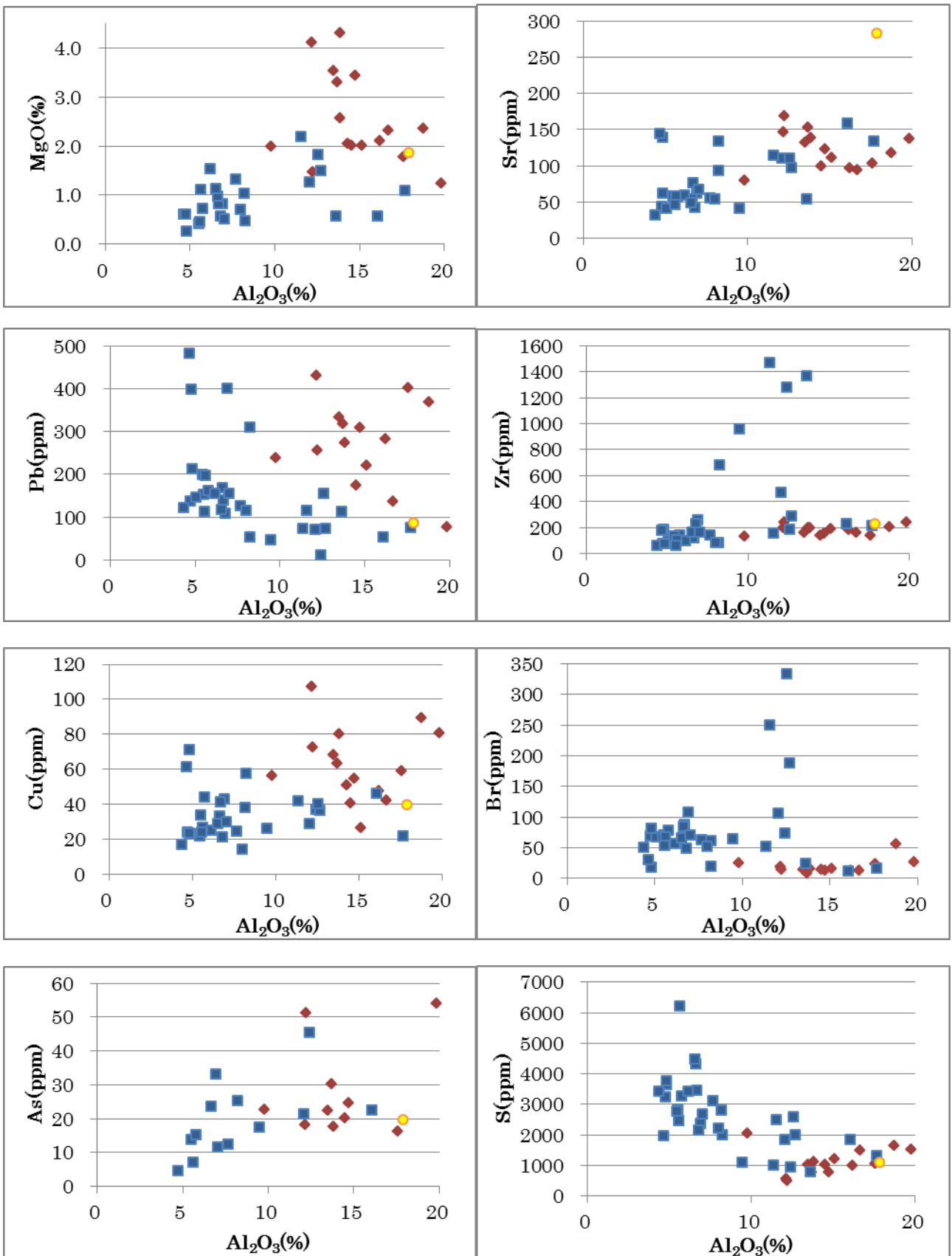
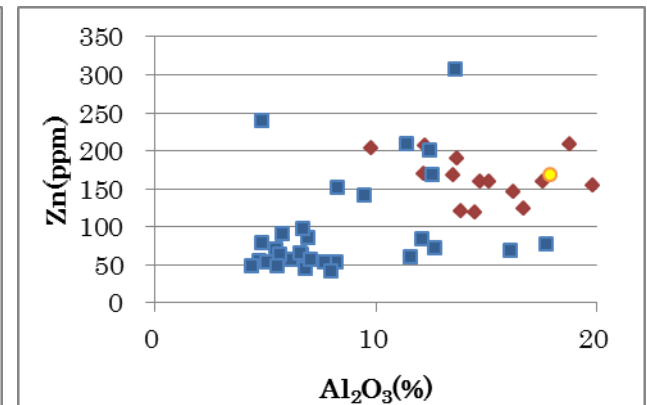
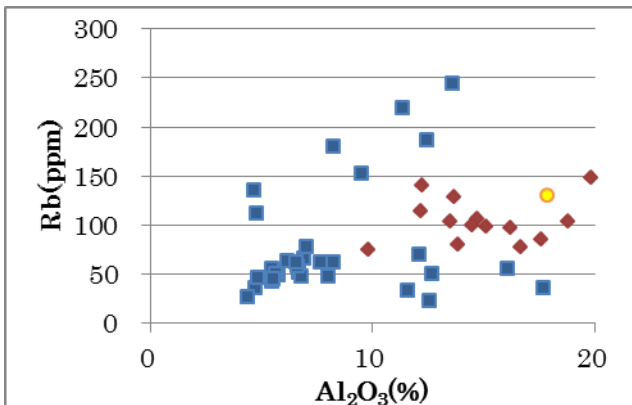
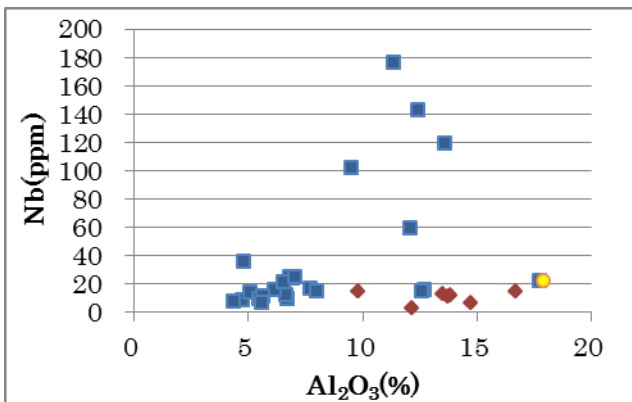
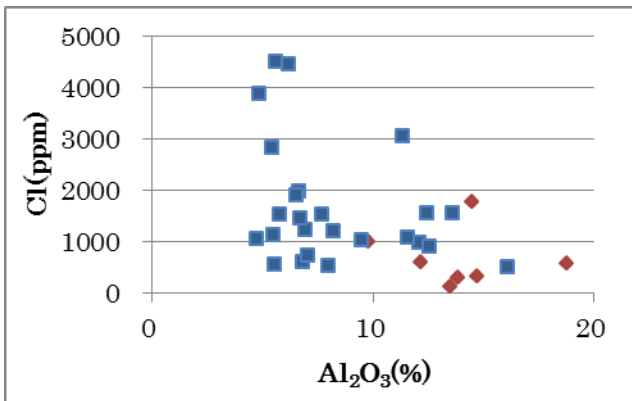
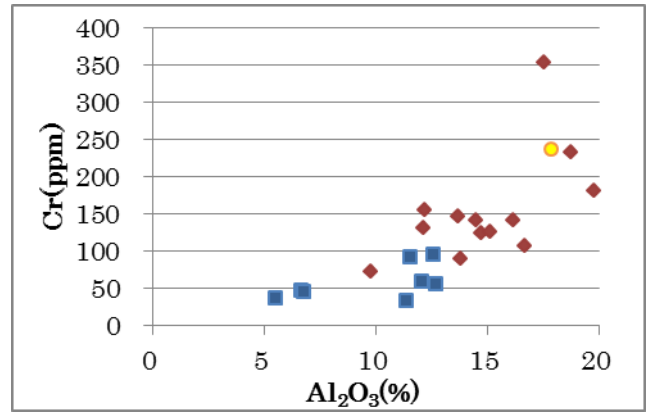
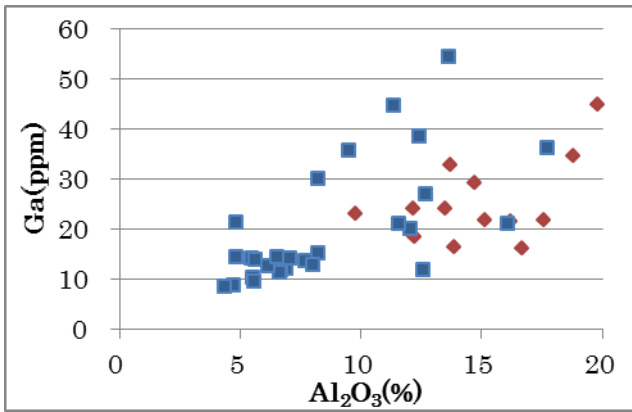


図 5. 主要元素(Mg)と微量元素(Sr、Pb、Zr、Cu、Br、As、S)対 Al のスス試料、黄砂と土壌の比較



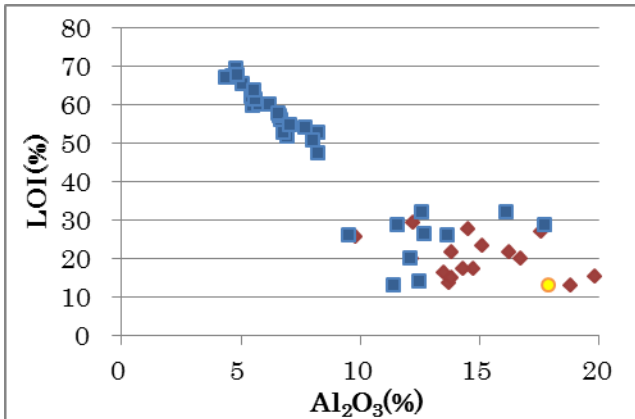


図 6. 微量元素 (Ga、Cr、Cl、Nb、Rb、Zn) と LOI 対 Al のスス試料, 黄砂と土壌の比較

5 スス試料の化学的特徴

PIXE 分析から得られた各元素の重量の Al に対する比を図 4～6 に示す。図 6 の LOI は試料を燃焼させた前後の重量比から得たものである。スス試料は Si、Al、Fe が 70% を占めていて、LOI を合わせると 90% 以上となる。スス試料は燃焼灰の文献値とは値が異なっており、大気浮遊や降下の際に黄砂やエアロゾルなど何らかの物質を吸収したり、混ざっていることが考えられる。スス試料の Ca 含有量は黄砂に比べかなり小さい。これはスス試料への黄砂の含有量が少ないことに加え、長時間雪の中に存在している間に風化溶脱していることも考えられる。スス試料の Br/Cl 重量比は 0.02～0.1 であり、海塩の 0.0034 より高い値となり、化石燃料の影響を示している。

スス試料は地上へ降下後、土壌に混ざっている可能性があるため、土壌の PIXE 分析値と比較したのが図 4～6 である。土壌は深層になるほど Al が多くなるのでスス試料は有機物の少ない深層土壌に近い組成といえる。特に Si、Fe、Ti、LOI は深層土壌と似た組成である。Al、Pb、Cu、Zn は土壌よりも大きい値をとり、これは発生源でのススの吸着性により汚染物質が多く含まれているためと考えられる。

6 スス試料の比重

スス試料はどのような物質の混合から成るのか考える手段の 1 つとして、化学分析の他に比重の測定も行った。ポリタングステン酸ナトリウムを希釈して比重 1～3 の重液を 20 段階作り、浮くと設定した比重より小さく、沈むと比重は大きいという判断方法で行った。これは鉱物でよく使われる手法である。今回用いるスス試料は様々な物質の混合であり比重も様々であるため、比重が大きく、重液の中で沈んだ試料の割合を測定した(図 7)。スス試料の他に、スス試料に含まれていると考えられる黄砂や石炭もを測定した結果も図 7 に示す。

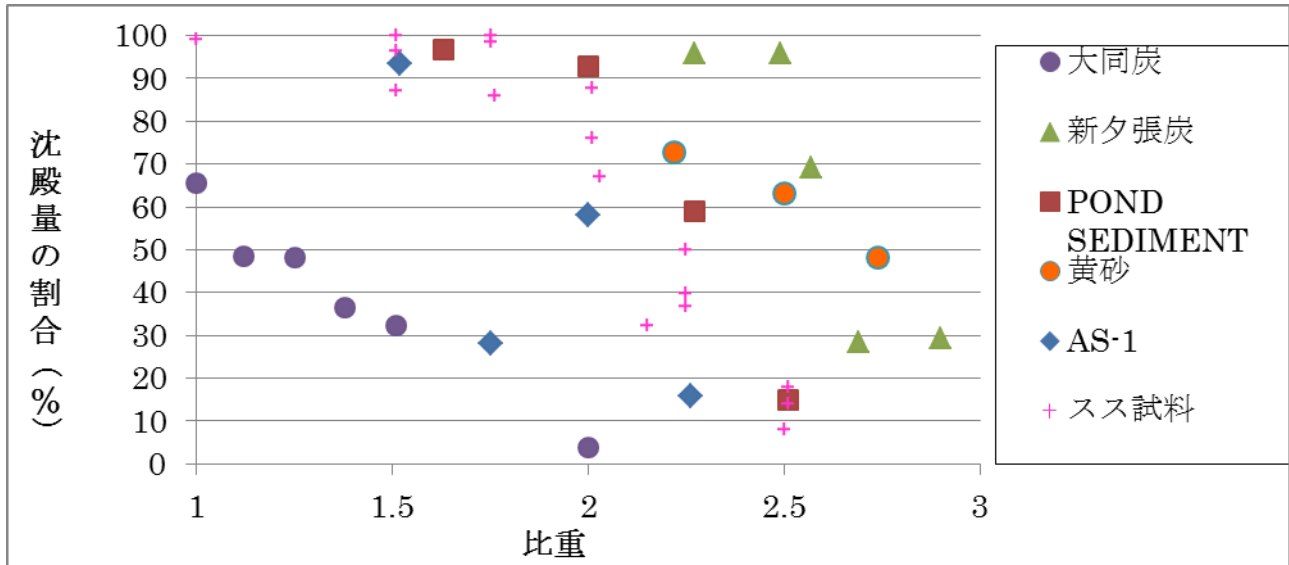


図 7. スス試料，黄砂，標準物質の比重分離結果

図 7 にある大同炭は燃焼前の石炭、新夕張炭は燃焼後の石炭であり、AS-1 は均一大気粉塵試料である。スス試料の沈殿量の割合は 1.5~2.5 の間で変化しており、沈殿が 50% となるときの比重をその物質の比重とするとスス試料の比重は 2.2 付近である。これに近いのは大気粉塵である AS-1 や標準土壌試料である Pond Sediment であり、スス試料に混ざっていると考えられる黄砂や石炭灰は大きな比重となった。

7 結果

スス試料の分析結果を補正し、A グループ(Fe、K、Ti、Ca、P、Mn、微量元素)の元素は補正を行わずに生データを採用し、B グループ(Si、Al、Na、Mg)は生データに標準土壌係数と 100%補正係数をかけて、酸化物の合計値が A グループも合わせて 100%になるようにする。補正した結果から、スス試料は Si、Al、Fe、LOI が 90%以上を占めていることがわかった。PIXE1 分析では微量元素の測定が可能であり、その結果、Br/Cl 比からスス試料には化石燃料の特徴がみられ、Pb や Zn の汚染物質が多く吸着していた。スス試料は深層土壌に似た組成であり、比重でも Pond Sediment と近い値であった。このことからスス試料が土壌に混合しているならば深層土壌にある可能性がある。今後、スス試料の起源や濃縮先の解明が期待される。

Chemical characteristics of soot samples collected in Mt.Gassan and Mt.Chohkai

Makoto Tsurumi, Yuka Ogino and Erina Maeda

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

Abstract

Composition and chemical characteristics of soot samples were analyzed with XRF ,PIXE and CN-corder methods, these samples were collected in Mt.Hakkoda, Mt.Iwaki, Mt.Gassan and Mt.Chokai. Soot samples were compared in chemical composition to yellow-sand “kohsa” and surface soil. Br/Cl ratio in samples is 0.02~0.1 weight/weight, that is higher than 0.0034 in sea salt, suggesting the contribution of fossil fuel to soot samples. The specific gravity of the samples were also measured and discussed.

放射化分析と組み合わせた土壌試料の PIXE 分析

沖 雄一、長田直之¹、房本卓也²、柴田誠一、世良耕一郎³

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 京都大学大学院工学研究科
615-8530 京都市西京区京都大学桂

² 京都大学工学部
606-8501 京都市左京区吉田本町

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

1 緒言

PIXE 法は、同じく有効な非破壊分析法である中性子放射化分析法と対比されることが多い。放射化分析法は非破壊とは言っても一般に長半減期核種も生成するので、放射化しない PIXE 法には大きなメリットがある。また PIXE 法は中性子放射化分析法と比較すると分析感度が低い元素があるものの、軽元素を除いては元素の全分析が可能である。一方、中性子放射化分析法は試料内部まで均一な照射が可能であるが、PIXE 法は照射する陽子の試料中の飛程が短いため、試料調製に制約が多い。一般に固体試料の PIXE 分析では試料は薄膜や微粉末とする必要があり、微粉末の場合、照射に供される試料は微量で、秤量できないことが多い。このため PIXE 法では Pd などの既知量の内部標準元素を添加する内部標準法が用いられる。

高エネルギー陽子加速器施設では、発生する高速中性子の遮蔽が問題となることが多く、遮蔽コンクリート壁外側の土壌の放射化も評価しなければならないことがある。より正確な放射化評価のためには、土質により土壌の成分元素の定量が必要である。我々の研究室では、この目的で土壌の PIXE 分析を実施している。通常放射化分析法では土壌主成分の Si の定量が困難であるため、PIXE 分析の重要性は高い。しかしながら、PIXE 試料の調製においては内部標準(Pd-C を用いた)の土壌試料への均一な混合が容易ではないことがある。粘土質の土壌は容易に粉碎され微粉末とすることができて、Pd-C の混合は問題ないが、砂質土壌等の場合は粒子の粉碎が容易でなく、内部標準の均一な混合が困難と思われる場合がある。

このような背景から、本研究では内部標準を用いない、PIXE 分析と、短時間照射の放射化分析を組み合わせた方法を提案し、実際の土壌分析を試みているのでその予備的検討について報告する。

2 方法

本法は、非破壊の土壌の元素分析を想定して、PIXE 分析で含有元素の相対比を求めた上で、PIXE 照射試料をそのまま再度、原子炉により短時間照射し中性子放射化分析により、主要元素のうち一つを正確に定量して、この値を基準に相対比を用いて全元素定量を行うものである。具体的には放射化分析にて Al の定量を行い、Al の量を基準に定量を行った。

3 実験

土壌試料は、京都大学原子炉実験所内のイノベーションリサーチラボラトリ(陽子加速器施設)の建設前に建設場所付近からコア抜き試料として地層別に採取したものをを用いた。試料は乾燥後、メノウ乳鉢で粉碎した。できるだけ微粉末とした試料を PIXE 分析の照射ホルダー中央に貼られたバックリングフィルム中央に、コロジオンを用いて固定した。この試料を PIXE 分析に供した。

PIXE 分析後、京都大学原子炉実験所の研究炉(KUR)において PIXE 分析の照射ホルダーごと中性子照射を行った。中性子照射の照射キャプセルにはいるように、ホルダーの中央部を切り離し、バックリングフィルム上に固定された土壌試料が周囲と接触しないようにスペーサーで固定した。この試料と、Al の標準試料(原子吸光分析用 1000ppm 標準液を濾紙に滴下して乾燥したもの)を照射キャプセルに入れ、KUR の圧気輸送管により中性子照射を行った。照射条件は、照射孔: 圧気輸送管 Pn-3、熱中性子束: 4.6×10^{12} n/cm²/s、照射時間 6 分とした。

照射後、照射ホルダーのバックリングフィルムの上からブックテープ(3M 製)を貼付して土壌試料を固定した後、照射ホルダーからフィルム部分を切り離して、ポリエチレン袋に密封し、 γ 線測定用の測定試料とした。 γ 線測定は、Ge 半導体検出器を用いて、中性子照射により生成した ²⁸Al (半減期 2.24 min) の γ 線(1779 keV)を測定した。同一条件で照射した Al 標準試料との比較により、土壌試料中の Al 含量を定量した。

また、約 30mg の粉末土壌試料を原子炉照射し、同様に、土壌重量あたりの Al 含量を定量した。

4 結果と問題点

原子炉で照射した土壌試料の γ スペクトルの例を図 1 に示す。これは、PIXE 試料(土壌重量約 20 μ g)を照射後、約 5 分後のスペクトル(測定時間 300sec)である。この照射時間では観測された光電ピークは、ほとんど Al 成分に由来する ²⁸Al によるピークのみであり、その他にはわずかにそれぞれ Fe、Na の放射化で生成する ⁵⁹Fe および ²⁴Na のピークが認められた、この ²⁸Al ピークから Al は十分な確度・精度で定量可能であることが示された。また、ブランク試料(バックリングフィルムのみ)を照射した場合にも ²⁸Al のピークが認められたがピーク面積は土壌試料の約 0.1%以下であり、定量の妨害にはならないことがわかった。

問題点としては、PIXE の陽子線照射により、バックリングフィルムが損傷を受けていると、原子炉の圧気輸送管で照射カプセルを輸送する際に、しばしばバックリングフィルムが破れ、土壌試料が照射ホルダからの脱落が起こることがあった。このため原子炉照射時の土壌試料の固定方法、および PIXE 分析時にバックリングフィルムを損

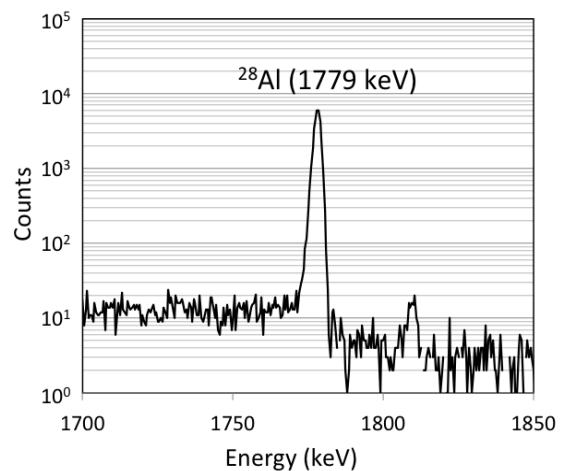


図 1 原子炉照射した PIXE 土壌試料の γ スペクトルの例

傷しない照射方法を再検討する必要がある。

今後、実試料への適用を進めるとともに、通常の Pd-C を用いる内部標準法との比較等も実施する予定である。

Elementary analysis of soil samples using a combination method of PIXE and activation analysis

Y. Oki, N. Osada¹, T. Fusamoto², S. Shibata and K. Sera³

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

¹Graduate School of Engineering, Kyoto University
Kyoto daigaku-Katsura, Nishikyo-ku, Kyoto 615-8530, Japan

²Faculty of Engineering, Kyoto University
Yoshida-Honmachi, Sakyo-ku, Kyoto 606-8501, Japan

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

Abstract

PIXE analysis for soil samples was performed using a combination technique with neutron activation analysis. In PIXE analysis for soil the internal standard method is effectively employed; however, it is sometimes difficult to prepare homogenous fine soil mixture with the internal standard in the case of coarse sand. In this report, after the PIXE measurement the soil samples were irradiated for a short time in a nuclear reactor to determine aluminum content. The elementary analysis was carried out using relative content of the elements obtained by the PIXE analysis and the aluminum content precisely determined in the activation analysis instead of the internal standard method.

野焼き実験による粒子の排出特性と元素組成

伏見暁洋¹、齊藤勝美^{1,2}、林 健太郎³、須藤重人³、
小野圭介³、藤谷雄二¹、世良耕一郎⁴、田邊 潔¹

¹ 国立環境研究所
305-8506 つくば市小野川 16-2

² エヌエス環境(株)
020-0122 岩手県盛岡市みたけ 4-3-33
(現在：環境計測(株) 612-8429 京都市伏見区竹田北三ツ杭町 84)

³ 農業環境技術研究所
305-8604 つくば市観音台 3-1-3

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

2009年9月に大気中の粒径 $2.5\mu\text{m}$ 以下の粒子($\text{PM}_{2.5}$)に対する環境基準が告示されたが、現時点では都市部などで基準値を超過しているところが多い。一方、工場や自動車への対策が年々進み、近年では農作物残渣の屋外焼却(野焼き)も無視できない寄与をもつと推定されている¹⁻³⁾。

野焼きの影響を定量的に把握するためには、現場の状況に近い条件での実験に基づく粒子の排出係数や組成の測定が欠かせないが、我が国での測定例は少なく⁴⁾、国内の排出量推計⁵⁻⁶⁾にも海外で測定された排出係数⁷⁾が用いられている。野焼きによる粒子の排出係数は残渣の種類や実験条件(水分含有量や着火位置等)によって変わるため⁷⁾、日本の実態にあった残渣や実験条件での値を用いることが望ましい。

そこで我々は、日本で生産された農作物の残渣を畑地の上で焼却し、発生する粒子の量と組成を明らかにすることを試みた。実験は、畑地などでよく焼却されるものの実験データが報告されていない稲籾殻についても行った。本稿では、第一回目の実験に関して、測定方法の概要とこれまでに得られた測定・解析結果を報告する。

2 方法

野焼き実験は、2011年1月24~25日に茨城県つくば市にある農業環境技術研究所の畑地で行った。対象とした農作物残渣は、大麦藁、稲藁、小麦藁、稲籾殻、小豆茎葉である。ステンレス製 0.3 m^3 チャンバーをかぶせた土壌表面に乾燥残渣200g(稲籾殻は100g)を敷き、チャンバー内に屋外空気を流量約 $6\text{ m}^3/\text{min}$ で供

給し、風下側に着火した。チャンバー上部から出たダクトに2台のインパクター(AN-200、吸引流量28.3 L/min、フィルターサイズ80 mmΦ、東京ダイレック)を、ほぼ等速吸引となるようステンレス管(15 mmΦ)で接続し、排気粒子を粒径別(>7.0 μm、2.1~7.0 μm、<2.1 μm)に採取した。このうちの1台の捕集材には石英繊維フィルター(Qz)を用い、秤量による粒子質量、光学補正・熱分離炭素分析計(IMPROVEプロトコル)による炭素成分(元素状炭素EC、有機炭素OC、全炭素TC)の測定を行った⁸⁾。もう1台の捕集材にはポリカーボネートフィルター(バックアップフィルターはテフロンフィルター;PC/T)を用い、秤量、PIXE(Particle Induced X-ray Emission)法による元素分析、イオンクロマトグラフィーによるイオン成分の測定を行った⁹⁾。

3 結果と考察

Fig.1に粒径別Qz試料の排気中粒子質量濃度を示す。藁や茎葉の場合、粒子総重量の90%以上を粒径2.1 μm以下の粒子(PM_{2.1})が占めていた。一方、稲籾殻では粒径2.1 μm以下と2.1~7.0 μmの粒子が各々47%を占め、7.0 μm以上の粒子が6%を占めた。藁・茎葉は火炎をあげて短時間(2~7分間)で燃えつき、排気中のPM_{2.1}濃度は25~94 mg/m³であった。稲籾殻は火炎を出さずゆっくり(30分間)燃え、排気中PM_{2.1}濃度は3.8 mg/m³であった。なお、PC/T試料は採取中にバックアップフィルターが目詰まりし流量が大幅に低下したため、排出係数を過小評価する可能性や分級特性が変わった可能性があり、結果の解釈には注意が必要である。

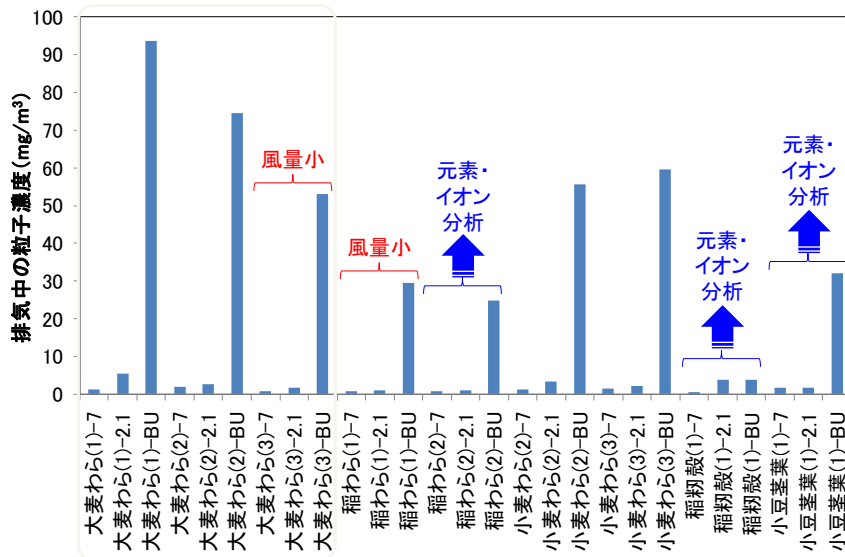


Fig. 1. Size-resolved PM concentrations of the Qz samples in the exhausts.

TCがPM重量に占める割合は、粒径が小さくなるほど増加し、藁・茎葉の焼却による粒径>7.0 μm、2.1~7.0 μm、<2.1 μmの粒子ではそれぞれ16±13、30±18、48±9%であり、稲籾殻では8、58、50%であった。PM_{2.1}試料のEC/OC各フラクションの構成比をFig.2に示す。EC/TC比は藁・茎葉が5.3~15% (平均12%)、稲籾殻が1.2%と低く、炭素の大半が有機炭素であった。藁・茎葉ではECのほとんど(78~100%、平均91%)がEC₁であった。炭化しやすい有機物(OC_{py})がTCの比較的大きな割合(11~14%、平均12%)を占めた。

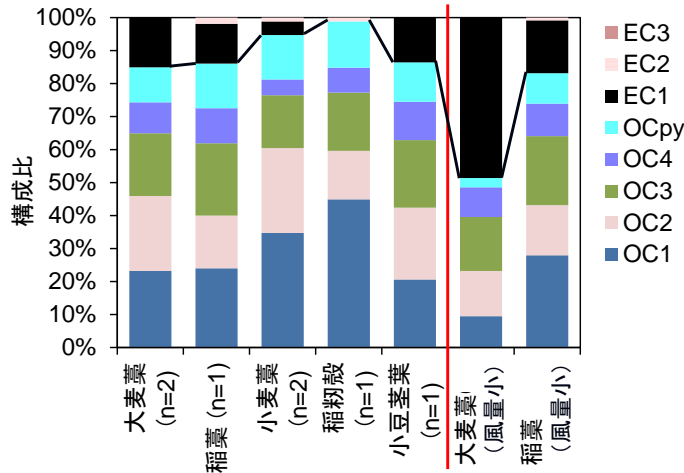


Fig. 2. Composition of EC/OC fractions in the PM_{2.1} samples. Results of the repeated experiments were averaged.

Fig. 3 に PM_{2.1} とその構成成分 (炭素、元素、イオン) の排出係数を示す。粒子質量に占める割合が高い元素・イオンは、稲藁では Cl⁻ (6.9%)、Mg²⁺ (3.5%)、NH₄⁺ (2.2%)、K (2.2%)、Si (1.3%) であり、小豆茎葉では K (7.8%)、Cl⁻ (5.9%)、SO₄²⁻ (5.5%) であった。稲籾殻は最も高い Cl⁻ と F⁻ でも各々 0.29% と極低濃度であった。なお、どの実験でも炭素成分、元素、イオンを全て合計しても粒子質量の 51~72% にしかならないが、仮に有機物がセルロースと同じ構造だとして有機炭素量を 2.2 倍して有機物量に変換すると、粒子質量の 111~126% を測定成分が占めることになる。

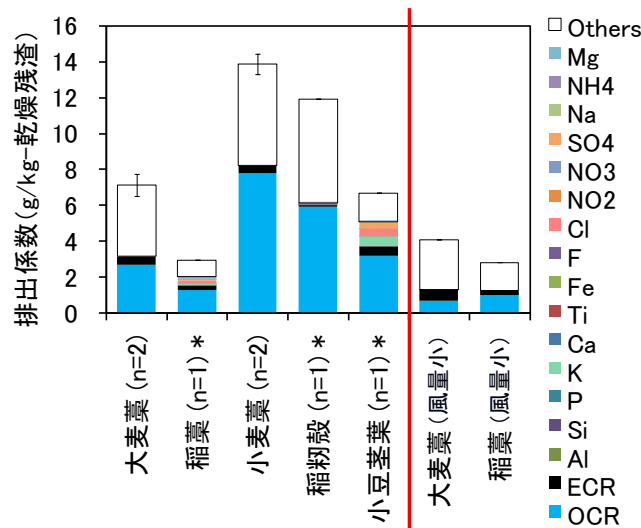


Fig. 3. Emission factors of PM_{2.1} components. * Samples whose components of element and ions were measured. Error bars are the range between minimum and maximum of PM_{2.1}. Components that were not detected were omitted. For the components that were measured as both element and ion, the higher values were shown.

PM_{2.1} 排出係数の繰り返し再現性は比較的良好であった (Fig. 3)。稲藁の PM_{2.1} 排出係数 (3.2 g/kg) は Hays et al.¹⁰⁾ の報告値 (13.0 ± 0.3 g/kg) よりは小さく、U.S. EPA の報告値⁷⁾ (4 g/kg) に近い。また、本研究による小麦藁と大麦藁の PM_{2.1} 排出係数 (13.9 ± 0.6, 7.1 ± 0.6 g/kg) は既報の値 (4.71 ± 0.04 g/kg (小麦藁)¹⁰⁾、6 g/kg (麦藁)⁷⁾ よりやや大きい程度であった。なお、残渣焼却時の送風量を半分程度に落とすと大麦藁と稲藁の PM_{2.1} 排出係数はそれぞれ 42、21% 減少した。また、EC/TC 比は稲藁では 14% から 17% にわずかに増加し、大麦藁では 15 ± 1% から 49% に大幅に増加した。

4 おわりに

残渣の種類によって粒子の排出係数が最大 5 倍程度異なることや、稲籾殻の粒子組成が藁・茎葉とはやや異なることなどがわかった。なお、採取位置での排気温度、希釈率などによって揮発性成分の重量や組成が変わる可能性がある。フィルターの目詰まりを防ぐとともに、より実態に近づけるためには希釈率をあげた実験が必要である。また、残渣の含水率や送風量などの燃焼条件についても今後検討することが重要である。

謝辞

本研究は農林水産省プロジェクト研究「農業分野における温暖化緩和技術の開発」の一環として実施した。

参考文献

- 1) 萩野浩之, 小瀧美里, 坂本和彦, さいたま市における初冬季の微小粒子中のレボグルコサンと炭素成分, エアロゾル研究, 21, 38–44 (2006).
- 2) Morino, Y., Takahashi, K., Fushimi, A., Tanabe, K., Ohara, T., Hasegawa, S., Uchida, M., Takami, A., Yokouchi, Y., Kobayashi, S., Contrasting diurnal variations in fossil and nonfossil secondary organic aerosol in urban outflow, Japan, Environ. Sci. Technol., 44, 8581–8586 (2010).
- 3) 高橋克行, 伏見暁洋, 森野悠, 飯島明宏, 米持真一, 速水洋, 長谷川就一, 田邊潔, 小林伸治, 北関東における微小粒子状物質のレセプターモデルと放射性炭素同位体比を組み合わせた発生源寄与率推定, 大気環境学会誌, 46, 3, 156–163 (2011).
- 4) Saitoh, K., Muto, H., Takizawa, Y., Kodama, M., Concentrations of various elements and inorganic ions in rice straw and ash, Toxicol. Environ. Chemistry, 41, 15–20 (1994).
- 5) JCAP&JATOP, JCAPII 大気モデル統合化システムの公開について, http://www.pecj.or.jp/japanese/jcap/airmodel/index_airmodel.html.
- 6) Kannari, A., Tonooka, Y., Baba, T., Murano, K., Development of multiple-species 1 km x 1 km resolution hourly basis emissions inventory for Japan, Atmos. Environ., 41, 3428–3439 (2007).
- 7) U. S. EPA, AP 42, Fifth edition, Compilation of air pollutant emission factors (1995).
- 8) Fushimi, A., Hasegawa, S., Takahashi, K., Fujitani, Y., Tanabe, K., Kobayashi, S., Atmospheric fate of nuclei-mode particles estimated from the number concentrations and chemical composition of particles measured at roadside and background sites, Atmos. Environ., 42, 948–958 (2008).
- 9) 齊藤勝美, 長谷川就一, 伏見暁洋, 藤谷雄二, 高橋克行, 小林伸司, 田邊潔, 若松伸司, 沿道大気中における微小粒子状物質 (PM_{2.5}) の化学成分特徴と経時的挙動, 大気環境学会誌, 46, 3, 164–171 (2011).
- 10) Hays, M. D., Fine, P. M., Geron, C. D., Kleeman, M. J., Gullett, B. K., Open burning of agricultural biomass: Physical and chemical properties of particle-phase emissions, Atmos. Environ., 39, 6747–6764 (2005).

Emission characteristics of particles and elemental composition of open burning experiment

Akihiro Fushimi¹, Katsumi Saitoh^{1,2}, Kentaro Hayashi³, Shigeto Sudo³, Keisuke Ono³, Yuji Fujitani¹, Koichiro Sera⁴ and Kiyoshi Tanabe¹

¹National Institute for Environmental Studies
16-2 Onogawa, Tsukuba 305-8506, Japan

²NS Environmental Science Consultant Corporation
4-3-33 Mitake, Morioka 020-0122, Japan
(Present affiliation: Eco Analysis Corporation,
84 Takeda-kitamitsugui-cho, Fushimi-ku, Kyoto 612-8429, Japan)

³National Institute for Agro-Environmental Sciences
3-1-3 Kannondai, Tsukuba 305-8604, Japan

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

Abstract

To understand the impact of open burning of crop residues to the atmospheric particles, we burned crop residues (rice straw, wheat straw, barley straw, stem and leaf of red bean, and rice hull produced in Japan) in an outdoor chamber, and measured the particle mass and their composition (elemental carbon, organic carbon, elements, and ions) in the exhausts by particle size. Particulate emission factors differed among these residues a factor of five. Particulate compositions were also different among residues, especially for the rice hull that was firstly experimented. It was suggested that the ventilation air volume affects the particulate composition. Our PM_{2.1} emission factors for rice straw and wheat straw were in the same order as the previously reported data, however, their compositions were somewhat different with them.

姫路市における大気中粒子状物質の通年で粒径別成分特徴

齊藤勝美^{1,2}、島 正之²、余田佳子²、
中坪良平³、常友大資³、平木隆年³、世良耕一郎⁴

¹ エヌエス環境(株)中央技術研究所
020-0122 岩手県盛岡市みたけ 4-3-33
(現在：環境計測(株) 612-8429 京都市伏見区竹田北三ツ杭町 84 番)

² 兵庫医科大学
663-8501 兵庫県西宮市武庫川町 1-1

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

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

大気環境中の微小粒子状物質 (PM_{2.5}) は、呼吸器系、循環器系をはじめとする様々な健康影響を生じることが報告されており¹⁻³⁾、わが国でも 2009 年 9 月に環境基準が設定された。しかし、わが国では微小粒子状物質の健康影響に関する知見が欧米諸国に比して少なく、微小粒子状物質の成分濃度と健康影響との関連を評価した研究はほとんど行われていない。兵庫県姫路市では長期にわたって 1 週間毎の気管支喘息発作数調査が行われており、このデータを活用して粒子状物質やガス状物質との関連性が検討されている。こうしたことから、大気中粒子状物質をはじめとする大気汚染物質が気管支喘息発作に与える影響について、従来検討されてきた粒子状物質の質量濃度との関係だけでなく、元素成分、イオン成分との関連についても明らかにすることを目的として、姫路市において 1 週間インターバルで粒子状物質を粒径別 (<PM_{1.0}、PM_{1.0-2.5}、PM_{2.5-10}、>PM₁₀) 捕集し、元素成分、イオン成分の分析をしている。ここでは、これまでに得られた成分分析データから粒子状物質の粒径別にみた成分特徴を報告する。

2 方法

大気中粒子状物質の捕集地点は姫路市飾磨で、試料捕集は 2009 年 11 月 16 日 (月) に開始した。試料捕集には図 1 に示す 3 段 NLAS インパクター (東京ダイレック社、カット粒径 1.0 μ m、2.5 μ m、10 μ m) を用い、流速は 3L/min、捕集フィルタにはポリカーボネイトフィルタ (孔径 0.2 μ m、25mm ϕ) を使用した。なお、バックアップフィルタは、PTFE フィルタ (TFH-47、堀場製作所) である。

捕集試料の元素組成分析は、(社)日本アイソトープ協会仁科サイクロトロンセンター (NMCC) の PIXE 装置で行った。PIXE 分析の照射試料は、捕集試料の一部をマイラー製のターゲットフレームに貼り付けて作成した。PIXE 分析では、スモールサイズのサイクロトロンからの 2.9MeV のプロトンビーム (3 mmφ) 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⁴⁾してスペクトルを得た。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”⁴⁾、ピーク面積から定量値を求めるには Nuclepore-Br 法⁵⁾を用いた。PIXE 分析の分析精度は、NIST の標準物質 (Urban particulate matter SRM 1648; Air particulate on filter media SRM 2783) を用いて確認されている^{6, 7)}。SRM 1648 では NIST の認証値に対して 70~110%、SRM 2783 では Na、Al、Si を除いて 80~110%、Na、Al、Si は 140~170% であるがエラーバーの範囲内となっている。なお、PTFE フィルタの HORIBA TFH-47 には TiO₂ が 0.15% 含まれている。PIXE 分析では Ti の kβ ピークに V の kα ピークが重なり、Cr の kα ピークが近接していることから、Ti が高濃度で含有している場合には V および Cr を定量することはできない^{8, 9)}。

イオン成分については、捕集試料の半分を 15 mL のポリプロピレン製チューブに入れ、超音波装置を用いて 10 mL の超純水に抽出した。イオンクロマトグラフィー分析の際には、抽出液をニトロセルロース製メンブレンフィルタ (DISMIC-25CS 0.45μm、ADVANTEC) でろ過した。イオンクロマトグラフィー分析では、分析対象のイオン種を陰イオンは F⁻、Cl⁻、NO₂⁻、Br⁻、NO₃⁻、PO₄³⁻ および SO₄²⁻、陽イオンは Na⁺、NH₄⁺、K⁺、Mg²⁺ および Ca²⁺ とした。分析に用いたイオンクロマトグラフィーは陰イオンでは Compact IC 761 (カラム: Shodex、IC SI-90 4E)、陽イオンでは Personal IC 790 (カラム: Shodex、IC YK-421) で、抽出液の注入量はそれぞれ 200μL とした。検出したイオンの定量は、超純水と 0.001、0.005、0.01、0.05、0.1、0.5、1、2mg/L の混合標準液の分析値に基づいて作成した相対感度係数 (RF) によった。検出下限値は陰・陽イオンとも 0.001mg/L、定量下限値は F⁻、Cl⁻、NO₂⁻、Br⁻ では 0.005mg/L、その他のイオン種では 0.01mg/L である。なお、混合標準液の作成には、和光純薬製の 1000 mg/L 標準液を用いた。

3 結果と考察

2009 年 11 月から 2011 年 3 月までに捕集した大気中粒子状物質試料からは、Na、Mg、Al、Si、P、S、Cl、K、Ca、Ti、V、Cr、Mn、Fe、Co、Ni、Cu、Zn、Ga、As、Se、Br、Rb、Sr、Y、Zr、Nb、Mo、Hg および Pb の 30 元素が検出され、定量することができた。主要元素は、Na、Mg、Al、Si、S、Cl、K、Ca、Fe および Zn の 10 元素であった。

図 2~図 5 に、粒径サイズ別に主要元素の経時変化を示した。PM₁₀ 以上の粒子では Na、Mg、Al、Si、Cl、K、Ca、Fe が主体で、黄砂の影響を受けている試料 (試料 ID が H5、H6、H17、H18、H24、H25、H27、H28、H52 および H55) では他の試料に比べて主体元素は高くなる傾向がみられ、特に Na、Si および Cl は顕著である。PM_{2.5}-PM₁₀ の粒子では、黄砂の影響を受けている試料では Na、Si および Cl の

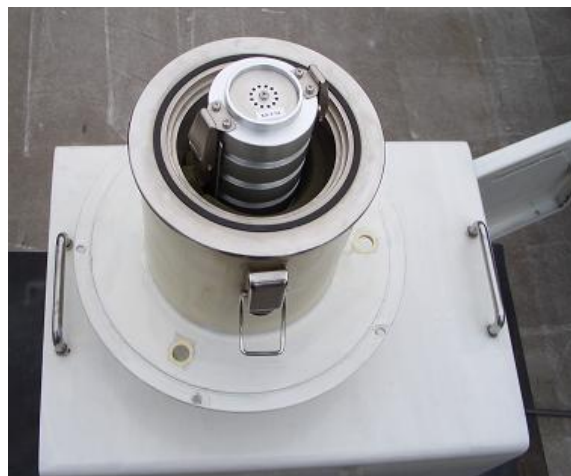


図 1 ローボリュームエアサンプラー内に設置した 3 段 NLAS インパクター

値が際立っている。PM_{1.0}–PM_{2.5}の粒子はPM_{2.5}以上の粒子とは異なりSが主体で、この他の主要元素としてはAl、Si、Fe、Znである。PM_{1.0}以下の粒子では、Sが元素合計値の約60%を占めている。

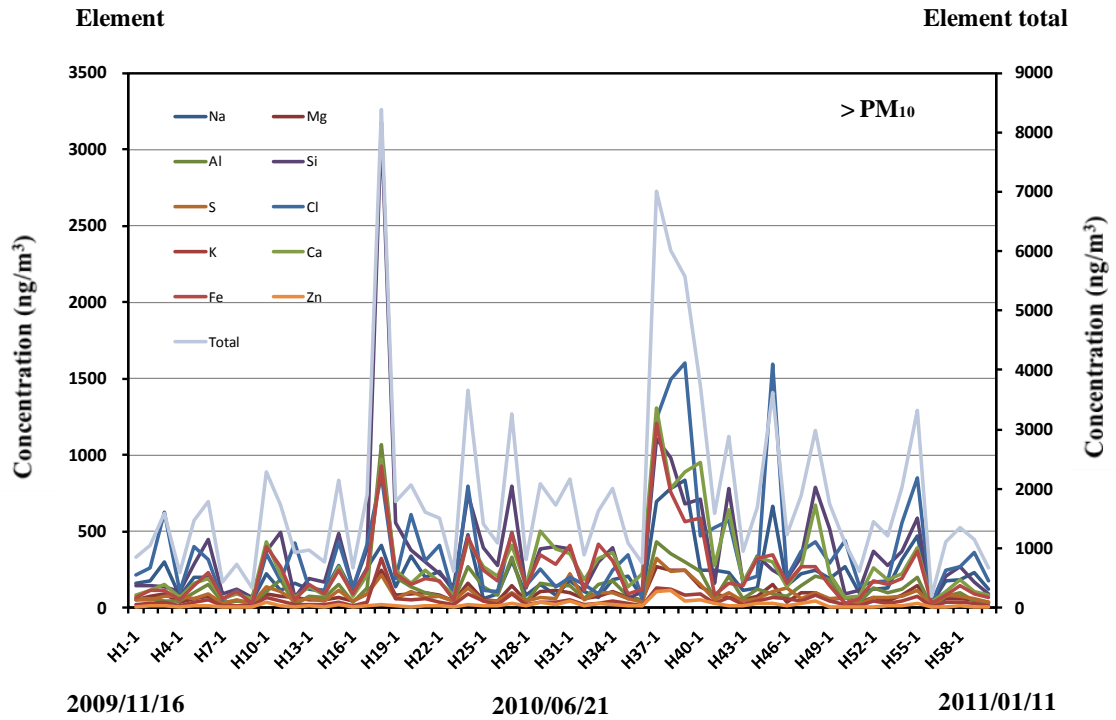


図2 PM₁₀以上粒子の主要元素の経時変化

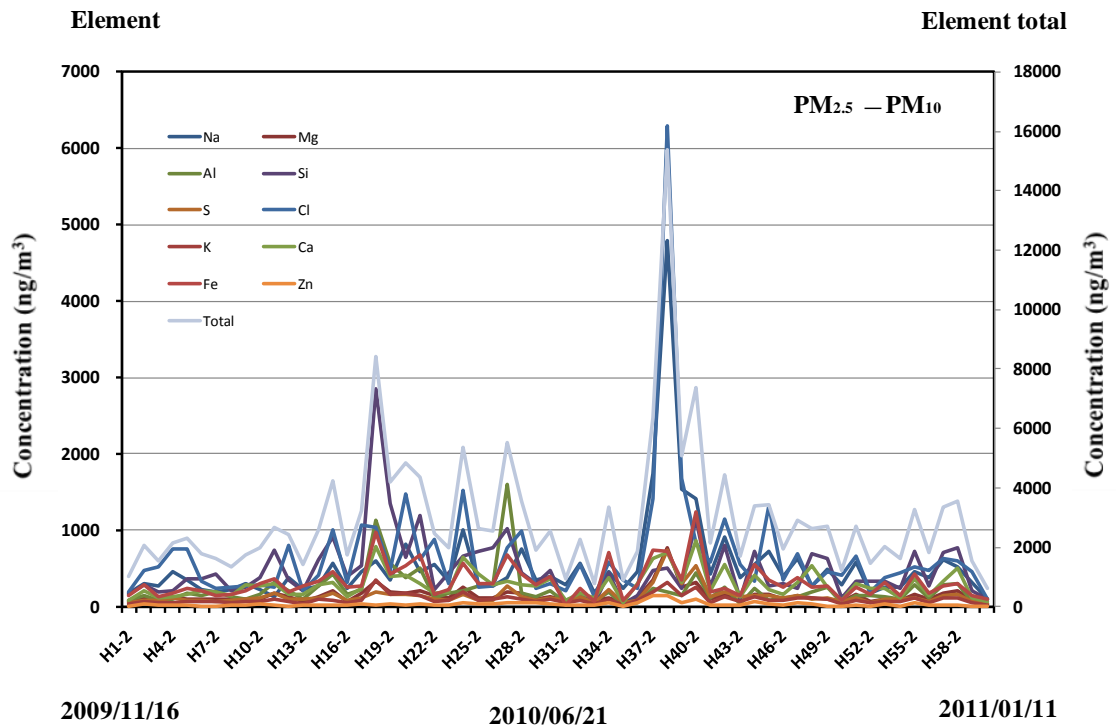


図3 PM_{2.5}–PM₁₀粒子の主要元素の経時変化

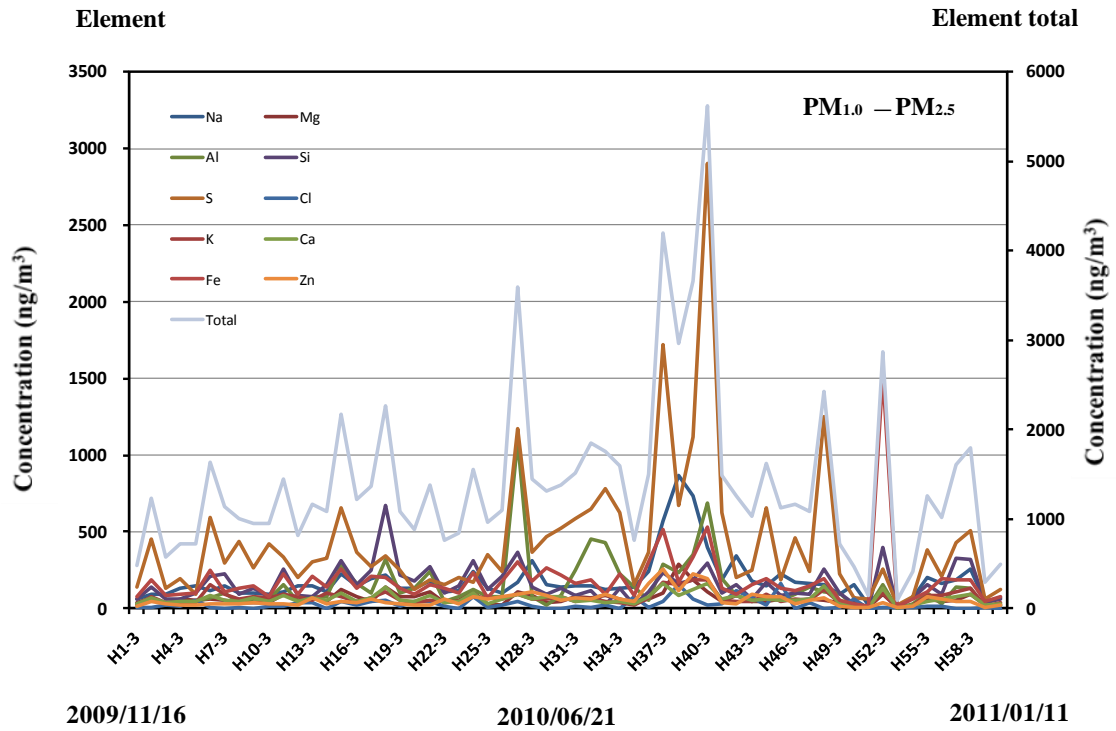


図4 PM_{1.0}-PM_{2.5} 粒子の主要元素の経時変化

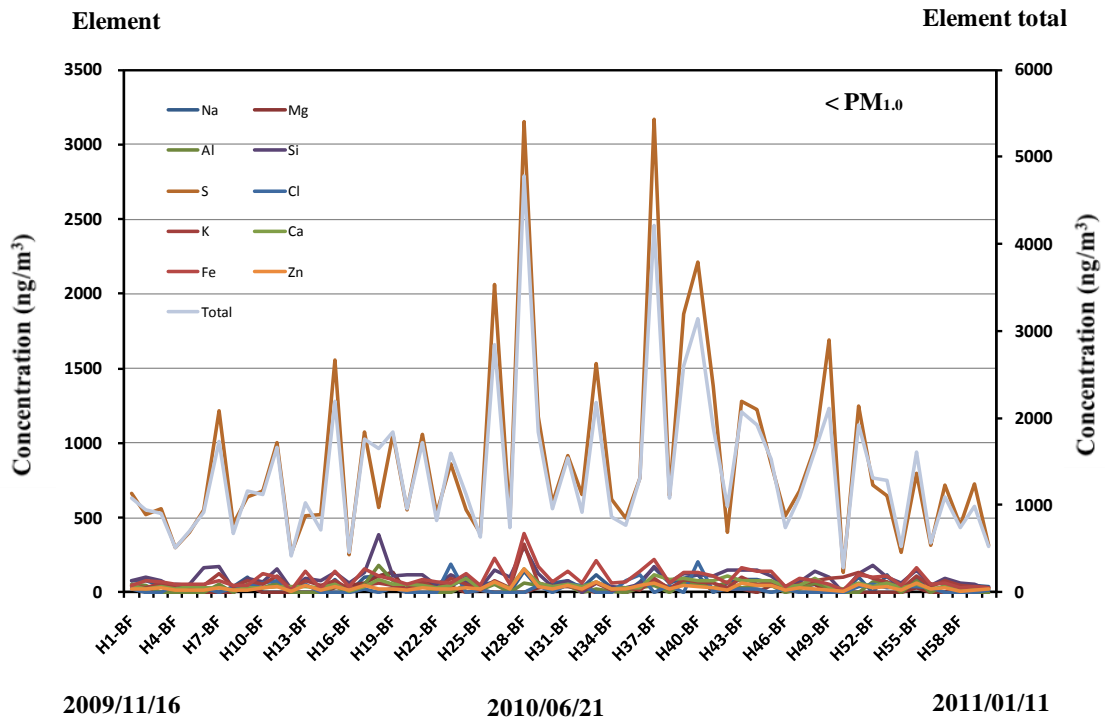


図5 PM_{1.0} 以下粒子の主要元素の経時変化

図6～図9に、粒径サイズ別にイオン成分の経時変化を示した。イオン成分ではCl⁻、NO₃⁻、SO₄²⁻、Na⁺およびNH₄⁺が主体で、SO₄²⁻とNH₄⁺は粒径サイズが小さくなるにしたがって高い値を示している。

NO_3^- と SO_4^{2-} に注目してみると、 NO_3^- は $\text{PM}_{2.5}$ 以上の粒子に、 SO_4^{2-} は $\text{PM}_{2.5}$ 以下の粒子で際立って高い。このことは、 NO_3^- と SO_4^{2-} との発生源が異なることを意味していると考えられる。 NO_3^- が $\text{PM}_{2.5}$ 以上の粗大粒子側に多い要因として、海塩中の NaCl と HNO_3 が反応して、 NaNO_3 が生成した可能性が考えられる。

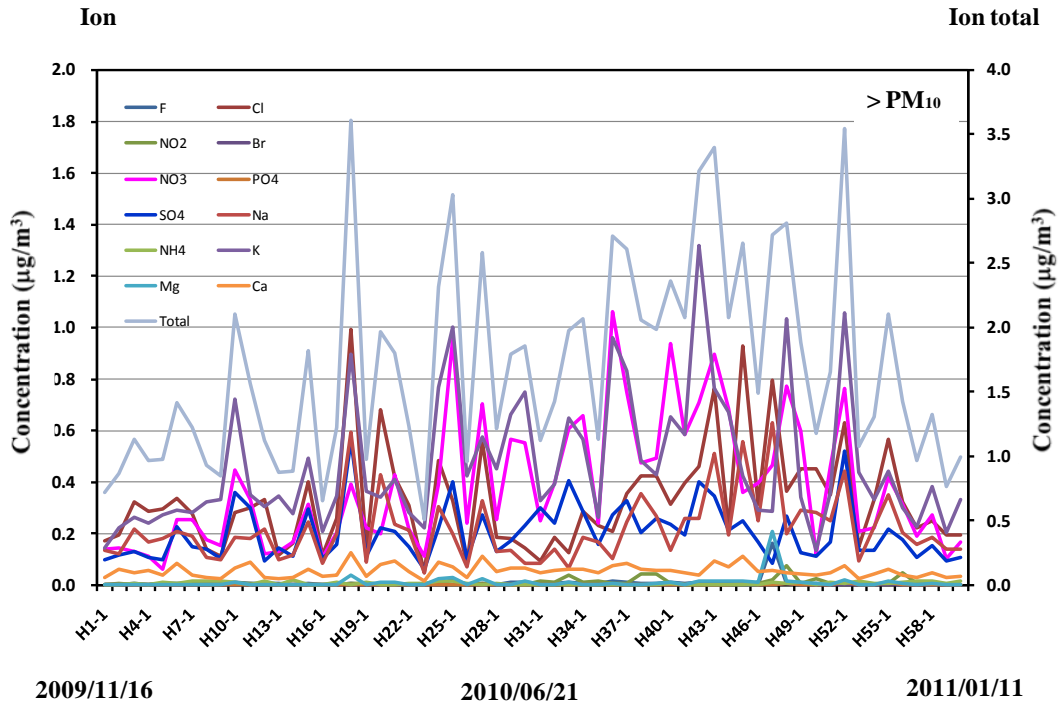


図 6 PM_{10} 以上粒子のイオン成分の経時変化

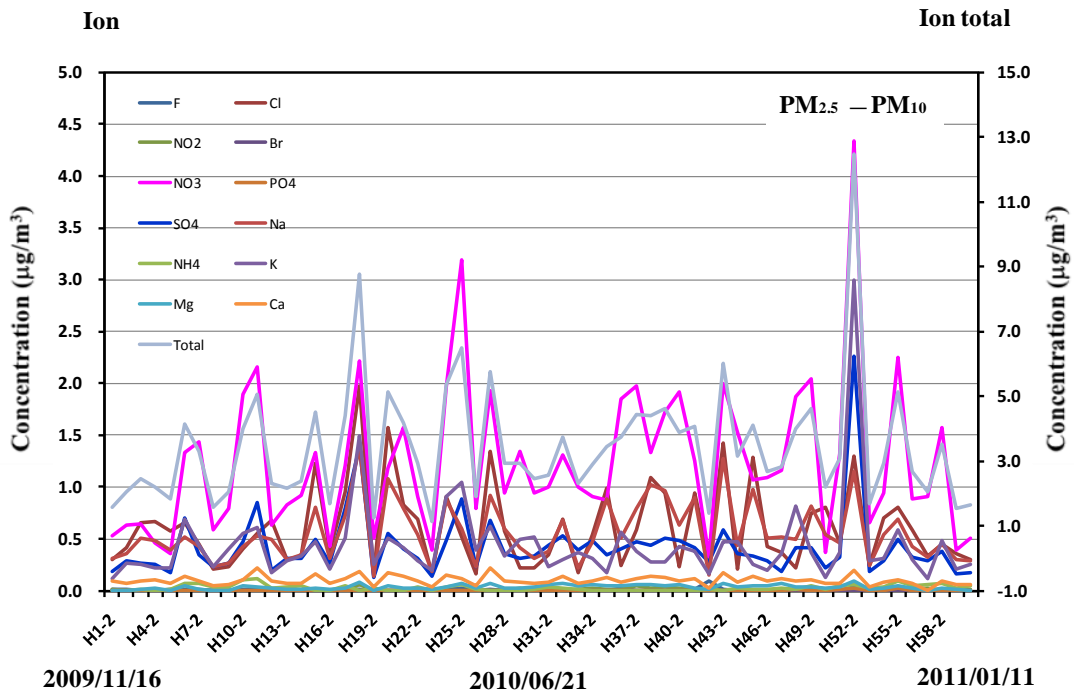


図 7 $\text{PM}_{2.5}-\text{PM}_{10}$ 粒子のイオン成分の経時変化

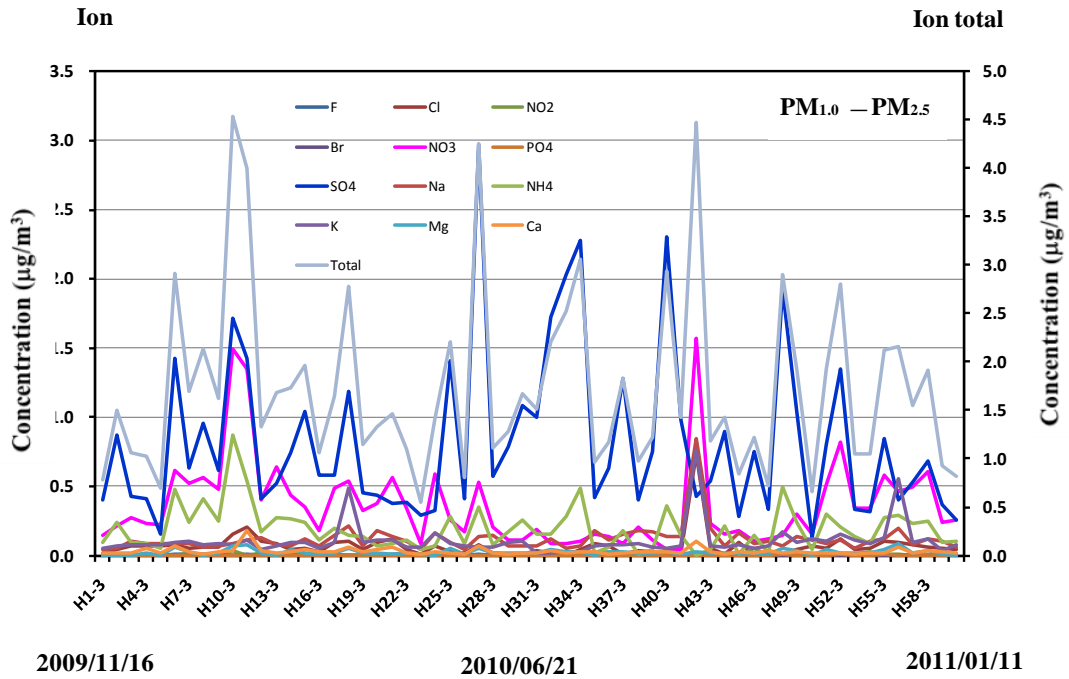


図 8 PM_{1.0}-PM_{2.5} 粒子のイオン成分の経時変化

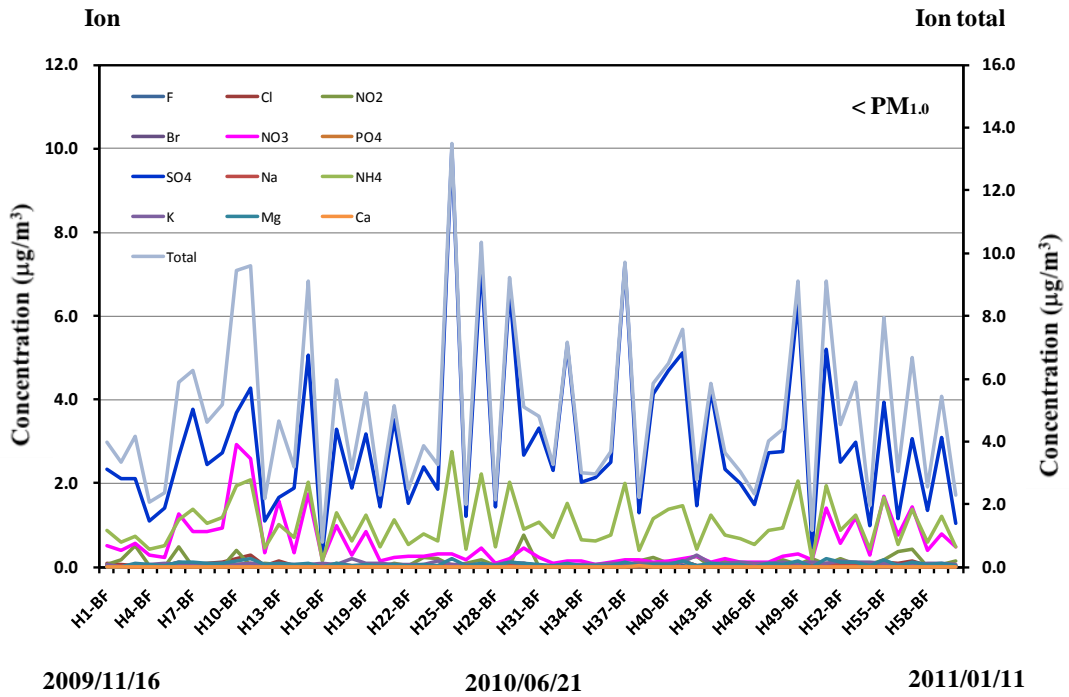


図 9 PM_{1.0} 以下粒子のイオン成分の経時変化

謝辞

本研究は環境省・環境研究総合推進費（課題番号：C-1005）の支援を受けて実施した。

参考文献

- 1) U.S. EPA.(2009) Integrated Science Assessment for Particulate Matter (Final Report). U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC, EPA/600/R-08/139F.
- 2) Babin SM, Burkom HS, Holtry RS, Taberero NR, Stokes LD, Davies-Cole JO, DeHaan K, Lee DH. (2007) Pediatric patient asthma-related emergency department visits and admissions in Washington, DC, from 2001-2004, and associations with air quality, socio-economic status and age group. *Environ Health*, **6**, 9.
- 3) Halonen JI, Lanki T, Yli-Tuomi T, Kulmala M, Tiittanen P, Pekkanen J. (2008) Urban air pollution, and asthma and COPD hospital emergency room visits. *Thorax*, **63**, 635-641.
- 4) Sera K, Yanagisawa T, Tsunoda H, Hutatukawa S, Saitoh Y, Suzuki S, Orihara H. (1992) Bio-PIXE at the Takizawa facility (Bio-PIXE with a baby cyclotron), *Int J PIXE*, **2**, 325-330.
- 5) Sera K, Futatsugawa S, Saitoh K. (1997) Method of quantitative analysis making use of bromine in a Nuclepore filter, *Int J PIXE*, **7**, 71-85.
- 6) Saitoh K, Sera K, Shimomura K.(2003) PIXE analysis of NIST urban particulate collected on a polycarbonate membrane filter, *Int J PIXE*, **13**, 141-147.
- 7) Saitoh K, Sera K. (2005) Examination of quantitative accuracy of PIXE analysis for atmospheric aerosol particle samples: PIXE analysis of NIST air particulate on filter media, *Int J PIXE*, **15**, 59-63.
- 8) Saitoh K, Imaseki H, Yukawa M.(2004) Attempt at in-air PIXE analysis of spot sample on a filter-tape mounted in an automated beta-ray absorption mass monitor, *Int J PIXE*, **14**, 43-48.
- 9) Saitoh K, Sera K, Imaseki H, Shinohara M, Fujiwara M. (2006) PIXE analysis of spot samples on new type of PTFE ultra-membrane filter-tape mounted in an automated beta-ray absorption mass monitor, *Int J PIXE*, **16**, 95-101.

Composition characteristics of size-resolved airborne particles in Himeji city

Katsumi Saitoh^{1,2}, Masayuki Shima², Yoshiko Yoda², Ryouhei Nakatsubo³,
Daisuke Tsunetomo³, Takatoshi Hiraki³ and Koichiro Sera⁴

¹Center Laboratory of Technology, NS Environmental Science Consultant Corporation,
4-3-33 Mitake, Morioka 020-0122, Japan
Present affiliation: Eco Analysis Corporation,
84 Takeda-kitamitsugui-cho, Fushimi-ku, Kyoto 612-8429, Japan

²Hyogo College of Medicine
1-1 Mukogawa-cho, Nishinomiya, Hyogo 663-8501, Japan

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

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

Abstract

As a part that, an epidemiological study on the effects of chemical composition of airborne particulate matter (PM) and ozone on asthma attacks, we carried out size-resolved sampling of PM in Himeji City, and elemental and ionic composition analyses of the PM sample. Size-resolved PM was collected using a 3-stage NLAS impactor (Tokyo Dylec Co., Ltd.; particle cut size at sampling stages was 10, 2.5 and 1.0 μm for a flow rate of 3 L/min) with a 1 week sampling interval, and the PM sampling was began in November, 2009. Concentrations of several elemental and ionic species in the PM sample were determined by PIXE and ion chromatography analysis. Our results suggest that:

- Affect the PM size range of soil and sea salt particles and Aeolian dust (Kosa aerosol) were coarse particles (PM larger than $\text{PM}_{2.5}$).
- Sulfate and ammonium ions, which showed high values in the fine particles (PM smaller than $\text{PM}_{2.5}$), nitrate ion showed a higher value in the coarse particles.
- Sulfate and nitrate ions are considered to occur in different forms.

The present research has been supported by the Environmental Research and Technology Development Fund (Grant No. C-1005) from the Ministry of the Environment, Japan.

PIXE法を用いたりんごの産地判別法の開発

—種子・果梗・土壌中の元素組成の特徴—

木口 倫¹、齊藤勝美²、世良耕一郎³

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

²エヌエス環境株式会社中央技術研究所
020-0122 岩手県盛岡市みたけ4-3-33
(現在：環境計測㈱ 612-8427 京都市伏見区竹田真幡木町28番)

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

1 はじめに

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

本研究では、PIXE法を用いたりんごの実用的な産地判別法の開発を目指して、りんご品種の「ふじ」を対象に、りんご果実の種子と果梗（へた）、およびその土壌中の元素組成を比較、検討している。既報¹⁰⁾では、秋田県内の2か所のりんご産地から採取した土壌中の元素の特徴（種類と濃度レベル）について検討した結果を報告した。ここでは、既報で検討した土壌中の元素組成および「ふじ」のりんご果実の種子・果梗中の元素組成の特徴を比較するとともに、種子・果梗中の元素の特徴について検討した結果を報告する。

2 方法

2.1 試料採取

「ふじ」のりんご果実の採取は、2009年10～11月に、秋田県内のりんご産地の鹿角市および横手市内のりんご園地内で行った。具体的には、「ふじ」の栽培エリア1箇所を代表する3本の樹を選択し、1樹10果のりんご果実をそれぞれ採取した。採取したりんご果実は、実験室に持ち帰り、調製までの間、10℃以下で保存した。

2.2 試料調製

採取したりんご果実の種子と果梗の取り出しは次のとおりに行った。まず、取り出しの際に種子と果梗を傷つけないように、りんご果実の梗窪（こうあ：へたの周囲のくぼみ部分）にステンレス円筒（直径4cm程度）を素手で押し込んだ後、りんご果実の周囲をナイフでおよそ8等分になるように切れ目を入れた。次に、切れ目に沿ってりんご果実を素手で解体し、種子と果梗を採取した。採取した種子と果梗は精製水と超純水を用いてそれぞれ数回洗浄後、風乾させた。風乾後の種子と果梗は、凍結乾燥器を用いて2日間さらに乾燥したものをそれぞれ調製試料とした。

2.3 PIXE分析

りんご果実の種子と果梗の調製試料は、採取した3本の樹ごとに分別して混合し、混合した試料から種子では約10粒/樹、果梗では3~4個/樹をそれぞれ分取した。分取した試料を個別に液体窒素と乳鉢で粉碎後、硝酸灰化法¹¹⁾を用いて分解、調製したものをPIXE分析に供した。検出された元素のうち、測定精度が満足できた元素を分析値として採用し、各元素の定量値を算出した。

3 結果と考察

3.1 土壌と種子および果梗中の元素濃度の特徴比較

りんごの栽培土壌中の元素と同じ栽培エリアの代表樹から採取したりんご果実の種子および果梗中の元素との濃度の特徴を比較するため、Figure 1に表層土壌中から定量された元素¹⁰⁾ とりんご果実の種子および果梗中から定量された元素との平均濃度の関係を示す。土壌中から定量された元素の濃度レベルは鹿角および横手ともに $10^1 \sim 10^5$ のオーダー、種子および果梗中から定量された元素の濃度レベルは $10^1 \sim 10^4$ のオーダーであった。種子および果梗中で定量された元素のうち、K、Ca、Mg、Naの濃度レベルは $10^2 \sim 10^4$ のオーダーで、土壌と同じく種子および果梗中でも高かった。一方、種子および果梗中のCr、Mn、Cu、Zn、Br、Rb、Srなどの濃度レベルは $10^1 \sim 10^2$ のオーダーで、土壌と同じく種子および果梗中でも低かった。同様の傾向は鹿角および横手の両方の試料でみられた。これらことから、本研究で採取した「ふじ」のりんご果実の種子および果梗中の元素濃度の結果は、栽培された土壌中の元素濃度を反映したものであると考えられる。土壌中では比較的高い濃度レベルを示したSi、Al、Fe、Ti ($10^3 \sim 10^5$) については、種子および果梗中ではKやCaよりも低い濃度レベルで ($10^1 \sim 10^3$)、他の元素と異なる特徴を示した。これらの元素は落葉樹の樹皮や葉中には濃縮されにくいことが報告されており¹²⁾、土壌中の元素濃度が種子および果梗中に反映されにくかったものと考えられる。また、既報¹⁰⁾ では各産地の土壌に特有の元素として鹿角の土壌試料ではVおよびY、横手の土壌試料ではMoおよびBaが定量されたが、これらの元素は種子および果梗中ではBaを除いて不検出であった。したがって、これらの元素は土壌中では特徴的な元素であっても、りんご果実の種子および果梗中には濃縮されにくい元素であると推察される。

3.2 種子および果梗試料中の元素の特徴

種子および果梗中の元素濃度の定量結果をTable 1に示す。種子では、鹿角の試料から18種類の元素（Na、Mg、Al、P、S、K、Ca、Ti、Cr、Mn、Fe、Cu、Zn、As、Se、Br、Rb、Sr）、横手の試料から16種類の元素（Na、Mg、Al、Si、P、S、K、Ca、Ti、Cr、Mn、Fe、Cu、Zn、Rb、Sr）が定量された。一方、果梗では、鹿角の試料から18種類（Na、Mg、Al、Si、P、S、K、Ca、Ti、Cr、Mn、Fe、Ni、Cu、Zn、Br、Rb、Sr）、横手の試料から20種類の元素（Na、Mg、Al、Si、P、S、K、Ca、Ti、Cr、Mn、Fe、Ni、Cu、Zn、Br、Rb、Sr、Ba、Hg）が定量された。ほぼ1000 $\mu\text{g/g-dry}$ か、それ以上高い濃度で定量された元素は、種子ではMg、P、S、K、Caの5種類、果梗ではKおよびCaの2種類であった。その他の元素の多くは1000 $\mu\text{g/g-dry}$ よりも1桁以下の低い濃度であった。種子と果梗で定量された元素の平均濃度比をみると、Na、Mg、P、S、Mn、Fe、Cu、Zn、Br、Rbの濃度比は1以上、Al、K、Ca、Ti、Srの濃度比は1より小さく、定量された多くの元素で果梗に比べ種子で元素の濃度が高かった。また、元素濃度のばらつき（相対標準偏差：RSD）については、種子ではNa、Mg、Al、Si、Ti、Cr、Rbの7種類、果梗ではNa、Mg、Al、Si、P、Ti、Cr、Mn、Ni、Cu、Zn、Srの12種類の元素が鹿角および横手の両方もしくはどちらか一方でばらつきが大きく (>20%)、種子より果梗でその

傾向が強かった。類似の傾向は同じ生果のニホンナシ(二十一世紀)の種子および果梗でも報告されており⁸⁾、種子に比べ果梗の方が元素濃度の差が大きくあらわれやすいものと考えられる。また、産地間でみると、ばらつきの差は種子ではNa、Al、Ti、Zn、Rb、Sr、果梗ではNa、Al、P、Ti、Cr、Mn、Ni、Zn、Srで大きかった。特に、Cr、Ni、Rb、Srは、植物に必須の元素や土壌中の元素濃度が種子および果梗中に反映されにくい元素でもなく、施肥や土壌改良資材によって人為的に投入される可能性は低い。したがって、これらの元素は産地間の元素濃度の特徴を反映しているものと推察され、産地判別に寄与する元素であると考えられる。

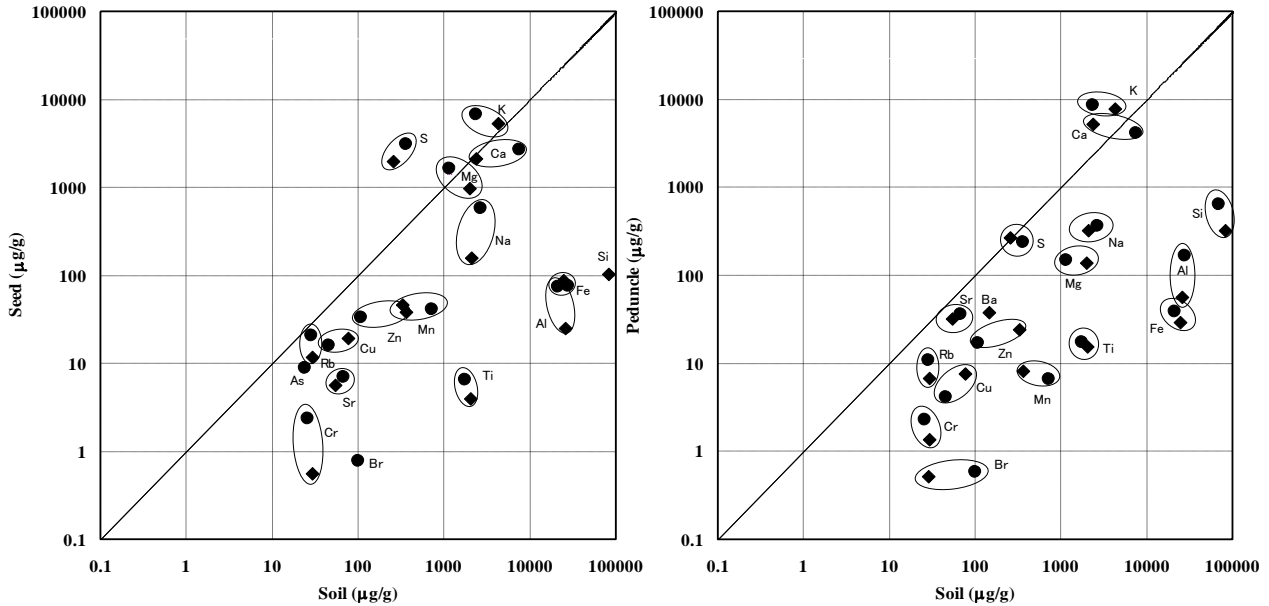


Figure 1 Relationship between element concentrations in soils^{Ref.10)} and in seeds and peduncles.

Kazuno: ●, Yokote: ◆

Table 1 Element concentrations of seeds and peduncles from Kazuno and Yokote.

Element	Concentration (µg/g-dry)											Concentration Ratio (Seed/Peduncle)		
	Seed						Peduncle					Kazuno	Yokote	
	Kazuno			Yokote			Kazuno			Yokote				
Mean	%RSD	Range	Mean	%RSD	Range	Mean	%RSD	Range	Mean	%RSD	Range			
Na	578	109	207 - 1310	160	22	121 - 190	366	9.2	327 - 389	326	33	255 - 449	1.58	0.49
Mg	1640	15	1492 - 1920	966	22	823 - 1210	149	35	92.4 - 194	139	29	115 - 185	11.01	6.95
Al	76.6	74	32.8 - 141	25.2	33	19.3 - 34.8	167	41	104 - 239	56.7	60	23.3 - 91.1	0.46	0.44
Si			ND	103	64	27.6 - 145	650	37	423 - 905	325	45	181 - 474	-	0.32
P	5040	7.9	4740 - 5490	3590	19	3120 - 4380	484	27	382 - 633	703	7.2	650 - 751	10.41	5.11
S	3140	16	2610 - 3580	1990	18	1680 - 2370	237	20	182 - 270	270	8.8	256 - 298	13.25	7.37
Cl			ND			ND			ND			ND	-	-
K	6850	9.8	6190 - 7540	5330	8.0	4950 - 5800	8610	9.2	7770 - 9360	7880	1.2	7810 - 8000	0.80	0.68
Ca	2710	20	2140 - 3230	2150	13	1850 - 2420	4140	3.9	4030 - 4330	5200	4.9	5030 - 5490	0.65	0.41
Ti	6.58	98	1.68 - 13.9	4.02	41	2.11 - 5.11	17.3	2.5	17.0 - 17.8	15.7	22	11.7 - 17.7	0.38	0.26
V			ND			ND			ND			ND	-	-
Cr	2.35	55	1.27 - 3.78	0.555	-	ND - 0.635	2.29	51	0.977 - 3.25	1.38	29	1.01 - 1.81	1.02	0.40
Mn	40.8	17	34.8 - 48.1	38.6	11	36.0 - 43.4	6.63	80	2.76 - 12.7	8.20	44	5.70 - 12.3	6.15	4.71
Fe	74.6	15	66.7 - 87.0	87.1	15	72.2 - 96.1	38.8	10	34.4 - 41.5	29.2	8.6	26.4 - 31.2	1.92	2.98
Ni			ND			ND	0.860	60	0.530 - 1.45	0.777	27	0.547 - 0.951	-	-
Cu	16.0	14	13.8 - 18.3	19.4	14	16.7 - 22.3	4.13	34	2.78 - 5.56	7.64	27	6.01 - 9.91	3.87	2.54
Zn	33.3	9.8	29.6 - 35.7	46.1	20	37.2 - 55.8	17.1	9.7	15.2 - 18.2	24.1	33	15.4 - 30.5	1.95	1.91
Ga			ND			ND			ND			ND	-	-
As	8.80	-	ND - 13.3			ND			ND			ND	-	-
Se	0.846	-	ND - 1.47			ND			ND			ND	-	-
Br	0.789	-	ND - 1.29			ND	0.580	-	ND - 0.892	0.526	-	ND - 0.725	1.36	-
Rb	21.0	21	17.6 - 26.0	11.7	7.0	10.9 - 12.6	10.9	15	9.00 - 11.9	6.73	-	ND - 8.02	1.93	1.74
Sr	6.95	19	5.49 - 7.98	5.62	1.7	5.51 - 5.70	36.0	22	30.6 - 44.9	32.6	6.9	31.30 - 35.2	0.19	0.17
Y			ND			ND			ND			ND	-	-
Zr			ND			ND			ND			ND	-	-
Nb			ND			ND			ND			ND	-	-
Mo			ND			ND			ND			ND	-	-
Ba			ND			ND			38.1	12	35.2 - 43.5	-	-	
Pb			ND			ND			ND			ND	-	-
Hg			ND			ND			0.580	-		ND - 0.737	-	-

RSD (%): Relative standard deviation, "ND": Not calculated.

謝辞 本研究は、平成21年度社団法人日本アイソトープ協会滝沢研究所の研究助成を受けて実施しました。ここに深く感謝申し上げます。また、本研究を行うにあたり、りんご園地内の土壌およびりんごの採取等に多大なるご協力、ご助言を賜りました秋田県農林水産技術センター果樹試験場本場および鹿角分場の職員の方々、PIXE分析での試料調製等にご協力、ご助言を賜りました日本アイソトープ協会仁科記念サイクロトロンのスタッフ、職員の方々に深謝します。

参考文献

- 1) 大坪研一, 中村澄子, 今村太郎: 米のPCR品種判別におけるコシヒカリ用判別プライマーセットの開発, 農芸化学誌, 76, 388-397 (2002).
- 2) Hernandez, B., Castellote, A.I., Permanyer, J.J., Triglyceride analysis of cocoa beans from different geographical origins. Food chemistry, 41, 269-276 (1991).
- 3) Angerosa, F., Breas, O., Contento, S., Guillou, C., Reniero, F., Sada, E., Application of stable isotope ratio analysis to the characterization of the geographical origin of olive oils. J. Agric. Food Chem., 47, 1013-1017 (1999).
- 4) Anderson, K.A., Smith, B.W., Chemical profiling to difference geographic growing origins of coffee. J. Agric. Food Chem., 50, 2068-2075 (2002).
- 5) Marcos, A., Fisher, A., Rea, G., Hill, S.J., Preliminary study using trace element concentrations and a chemometrics approach to determine the geographical origin of tea. J. Anal. At. Spectrom., 13, 521-525 (1998).
- 6) Anderson, K.A., Magnuson, B.A., Tschirgi, M.L., Smith, B., Determination the geographic origin of potatoes with trace metal analysis using statistical and neural network classifiers. J. Agric. Food Chem., 47, 1568-1575 (1999).
- 7) 安井明美, 進藤久美子: 玄米中の無機元素組成による産地判別, 分析化学, 49, 6, 405-410 (2000).
- 8) 井上博道, 梅宮義章, 喜多正幸: ニホンナシ‘二十世紀’の果実中元素濃度を用いた産地判別, 日本土壌肥料学会誌, 78, 567-571 (2007).
- 9) 井上博道, 梅宮善章, 喜多正幸, 羽山裕子, 中村ゆり: リンゴ「ふじ」の果梗および種子中元素濃度を用いた日本産と外国産との判別, 日本土壌肥料学会誌, 80, 583-588 (2009).
- 10) 木口 倫, 齋藤勝美, 世良耕一郎: PIXE法を用いたりんごの産地判別法の開発—産地土壌中の元素の特徴—, NMCC共同利用研究成果報文集, 16, 177-181 (2009).
- 11) 世良耕一郎, 後藤祥子, 高橋千衣子, 齋藤義弘, 寺崎一典, 佐々木敏秋, 伊藤じゅん, ニッ川章二: NMCCのPIXEで定量分析可能な試料-えっ? こんな試料でも分析できるの?-, NMCC共同利用研究成果報文集, 16, 36-53 (2009).
- 12) 寺島 滋, 今井 登, 太田充恒, 岡井貴司, 御子柴真澄: 関東平野南部における土壌の地球化学的研究—土壌地球化学図の基礎研究 (第5報) 総括 一, 地質調査研究報告, 55, 1-18 (2004).

Method development for identification of geographical origin of Japanese apples by PIXE analysis - Characteristics of element compositions in seeds, peduncles, and soils from apple producing regions

O.Kiguchi¹, K.Saitoh² and K.Sera³

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

²Central Technical Research Institute, NS Environmental Science Consultant Corporation
4-3-33 Mitake, Morioka, Iwate 020-0122, Japan
Present affiliation: Eco Analysis Corporation,
28 Takeda-amahataki-cho, Fushimi-ku, Kyoto 612-8427, Japan

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

Abstract

We studied characteristics of element in seeds, peduncles, and soils from apple producing regions to develop method for identification of geographical origin of Japanese apples by PIXE analysis. Seeds and peduncles from apple fruits of Japanese 'Fuji' apples were examined in this study. Apple fruits for this study were collected from Kazuno and Yokote cities that were apple producing regions in Akita Pref. in Japan. Concentration ranges of seeds and peduncles in apple fruits were 10^{-1} to 10^4 . Concentration levels of elements in soils from kazuno and yokote were clearly contributed to those in seeds and peduncles. Element compositions and their concentration levels of soils and those of seeds and peduncles in apple fruits resembled each other. The following elements were respectively determined from seeds and peduncles in both or either Kazuno and Yokote samples: "Na, Mg, Al, Si, K, Ca, Ti, Cr, Mn, Fe, Cu, Zn, As, Se, Br, Rb, Sr"; "Na, Mg, Al, Si, K, Ca, Ti, Cr, Mn, Fe, Cu, Zn, As, Se, Br, Rb, Sr, Ba, Hg". Both samples in Kazuno and Yokote were rich in "Mg, P, S, K, Ca" ($\geq 1000 \mu\text{g/g-dry}$). Other element concentrations were lower than those elements. Except for exceptions, those elements concentrations in seeds were clearly higher than those in peduncles. Relative standard deviations of Na, Mg, Al, Si, Ti, Cr, Rb for seeds and those of Na, Mg, Al, Si, P, Ti, Cr, Mn, Ni, Cu, Zn, Sr for peduncles were much higher than those in other elements ($>20\%$). We conclude that Cr, Ni, Rb and Sr could be contributed to identification of geographical origin of Japanese apples by PIXE analysis.

大気エアロゾルの PIXE 分析

-テフロンフィルターの場合-

酒井正治¹、世良耕一郎²、後藤祥子³

¹ 森林総合研究所立地環境研究領域
305-8687 茨城県つくば市松の里 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

1 はじめに

黄砂、花粉、ディーゼルすすなど、エアロゾルによる大気汚染や地球温暖化に及ぼす影響が大きな問題になっている。森林はエアロゾルを大気から取り除く大気浄化機能を持っているとされ、森林によって大気から除去されるエアロゾルの成分および量を正確に把握することが重要な課題である。PIXE 分析は試料の溶解処理もなく、極少量の試料を用いて $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 以上の感度で多元素同時分析ができる。しかも一試料の分析所要時間がおおよそ 10 分と短い利点等のため、大気エアロゾルの分析には最適な分析法と考えられる。そこで、乾性降下物測定法の一つであるフィルターパック法を使って森林の外で半月毎に採取したエアロゾルの PIXE 分析について報告する。

2 試験地

エアロゾル採取地点は、森林総合研究所九州支所構内（熊本市黒髪4-11-16、32-49-12.26N, 130-44-0.09E、45m標高）である。九州中部に位置する熊本市は人口73万人の熊本県の県庁所在地である。熊本市は北、東、南側の山々に囲まれた熊本平野の南西部に位置し、西側は有明海に面している（図-1）。調査地点は、熊本市の北東部に位置し、市の中心街から約3kmの距離にあり、白川と坪井川に挟まれた小高い丘陵地（立田山）の南西斜面の山麓にある。立田山は、落葉/常緑広葉樹二次林、スギ・ヒノキの人工林の森林に覆われており、市民の憩いの場となっている。隣接して熊本大学、泰勝寺があり閑静

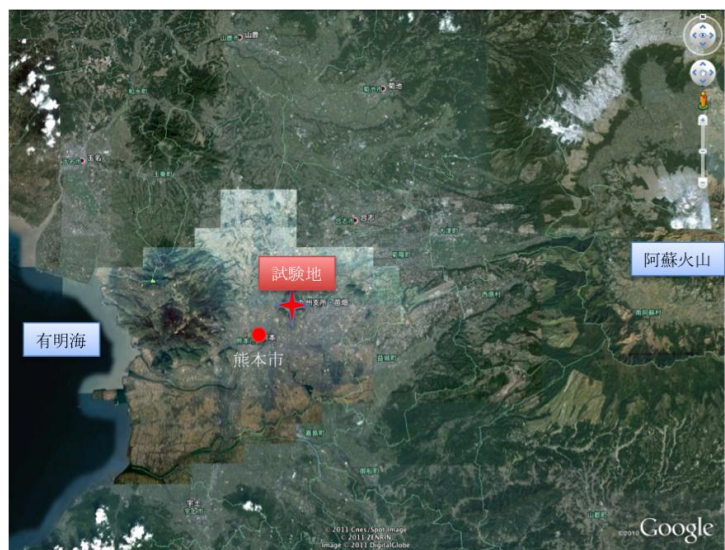


図-1 試験地の位置図

な住宅街となっているが、自動車の交通量も多い国道3号線や旧国道57号線が近くに走っており、道路から舞い上がる粉塵、自動車排ガスの影響をうけていると考えられる。また、北北東の方向、直線で30km強の距離に阿蘇火山があり、現在もSO₂を放出している。その二次生成物としての硫黄の影響が及んでいると推定される。

3 測定方法

3.1 エアロゾル採取

3.1.1 採取法

森林総合研究所九州支所構内に設置されたポールの7mの高さに1段フィルターパック（ダイレック社製）をセットし、地上の測定室まで配管したチューブを通して、ダイヤフラム式エアポンプ（ULVAC DA-30S）で2～31/分の流量で大気を連続吸引した（図-2）。図-3に採取設置状況を示した。マスフローメーター（ESTEC SEF51）で積算吸引量を計測し、また、吸引開始および終了時の吸引速度に差がないことをチェックした。採取間隔は半月とし、採取回数は2004年3月15日から2006年12月31日（2年9.5ヶ月）までの67回であった。但し、フィルターパック落下を除いた計66枚のフィルターについてPIXE分析を行った。エアロゾル採取フィルターはテフロンフィルター（孔径0.8μm、直径47mm、ADVANTEC T080A047A）を使った。なお、このエアロゾル採取法は全国環境研協議会・酸性雨調査研究部会/第4次酸性雨共同調査実施要領に準拠している。

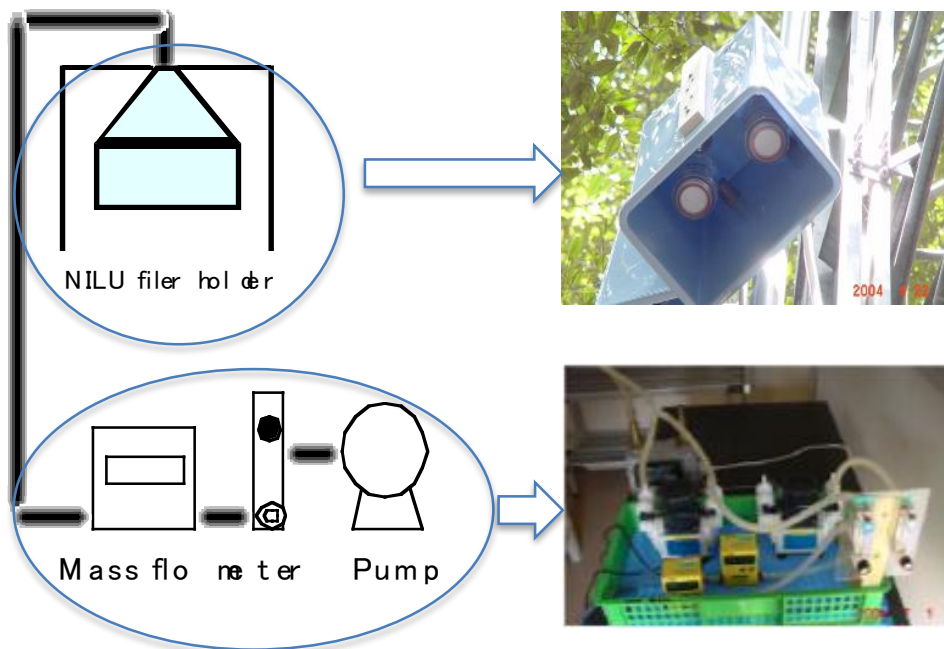


図-2 エアロゾル採取装置の概要



図-3 エアロゾル採取設置状況

3.1.2 質量濃度測定法

エアロゾル捕集前後のフィルターの質量は、デシケーター内に 72 時間以上静置後、恒温恒湿（25℃、35-40%）に調整した天秤室で、セミマイクロ天秤を使って測定し、その値を大気吸引量で除することによって質量濃度（ $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ）をもとめた。

3.2 PIXE 分析

小型サイクロトロン（島津製作所 MCY-1750）により加速された 2.9 MeV の陽子線をエアロゾル試料に照射した。エアロゾル試料は、短冊状に切り、PIXEホルダー（ルミラー製、25mmx60mmx0.5mm、中央に直径 20mm 孔あき）に貼付けた。今回はいずれの場合にも、直径 5mm のビーム径を用いた。測定時間は 5 -30 分であった。発生した X 線は二検出器同時測定システム¹⁾により検出し、高エネルギー用 Si(Li)半導体検出器には X 線吸収体として 300 μm Mylar 膜を使用した。スペクトルは PIXE 専用スペクトル解析プログラム SAPIX 及び定量計算プログラム KEI により各元素濃度（ ng/cm^2 ）を求めた²⁾。

3.3 データ解析

なお、PIXE 分析値に対する誤差（特性 X 線スペクトル解析による誤差）が 50%以下の元素について、JMP 統計解析ソフト(Mac 版 v.9、SAS 社)を用いて統計分析及び作図をおこなった。

4 結果

4.1 エアロゾル質量濃度

図-4 にエアロゾル質量濃度の季節変化を示した。春季（3月-5月）にピークを示す季節変化を示した（平滑線）。これは主に赤丸で示した黄砂飛来に起因していた。

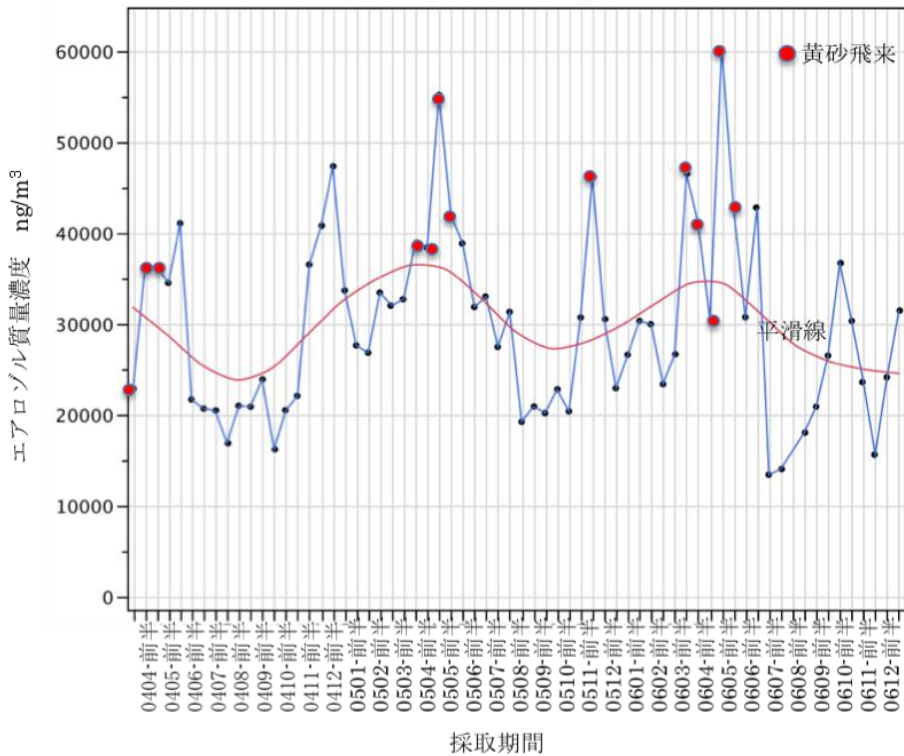


図-4 エアロゾル質量濃度の季節変化（2004年3月後半～2006年12月後半）

図-5 に、熊本市で観測された黄砂飛来日数の経年変化（1951年～2006年）を示した。2000年以降黄砂飛来回数が急増し、2006年には1951年（集計の開始年）以降の最高値を記録した。黄砂はアルカリ性の炭酸カルシウムを含むため酸性雨の緩和作用をもつと同時に、大陸で発生したSO₂を吸着し酸性エアロゾルの性質も併せ持つが、西川（2003）によれば日本への黄砂飛来量は年間1～5トン/km³にも達するとも言われている3)。近年春季の高濃度のエアロゾルは主として黄砂に由来すると考えられ、その特性を明らかにすることが重要である。

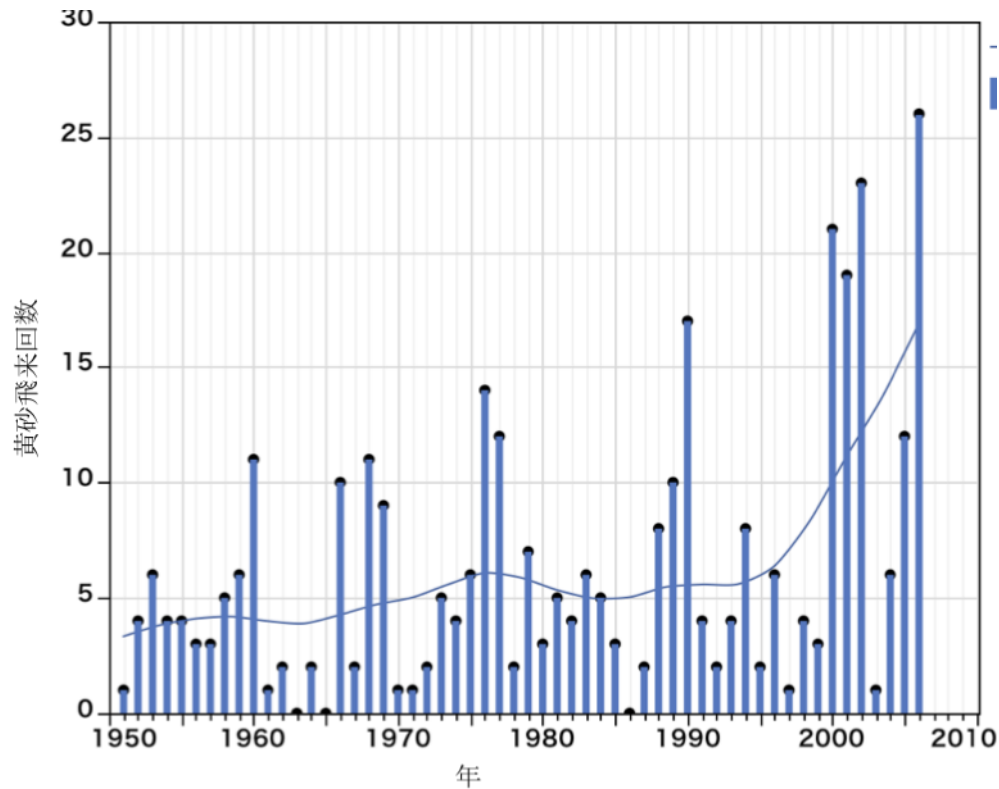


図-5 黄砂飛来回数（熊本気象台）（1951-2006）

4.2 検出元素数

図-6 に検出元素数の季節変化を示した。各採取期間の検出元素数は 5~16 であった。ただし、全採取期間（66 回）の 95%以上で 10~16 の元素が検出された。なお、赤丸で示した黄砂飛来期間に特に多くの元素が検出された訳ではなかった。

フィルター上のエアロゾル量が検出元素数に影響するかどうかを調べため、エアロゾル量と検出元素数の関係を示した（図-7）。フィルター1枚あたりの重量が 0.6mg~0.8mg の低濃度の範囲では検出元素数が少ない採取期間（5~9 検出元素数が 4 期間、赤丸枠）も見受けられるが、それらを除く 62 採取期間（全期間の 95%を占める）は前述の通り検出元素数が 10~16 の範囲に入り、エアロゾル量と検出元素数との間に明確な関係は認められなかった。従って、黄砂飛来期間（赤丸）はエアロゾル量が多い傾向にあったが、今回のエアロゾル量の範囲（0.6~2.3mg）では、エアロゾル量が元素検出に影響はないとして、黄砂飛来期間とそれ以外の期間（通常期間）の元素の比較検討を行った。なお、前述の低い検出元素数（5~9）を示す原因は明確ではないが、2006 年の 7 月~9 月に集中しているため、降雨・台風などの気象要因などが考えられるが、今後の検討課題である。

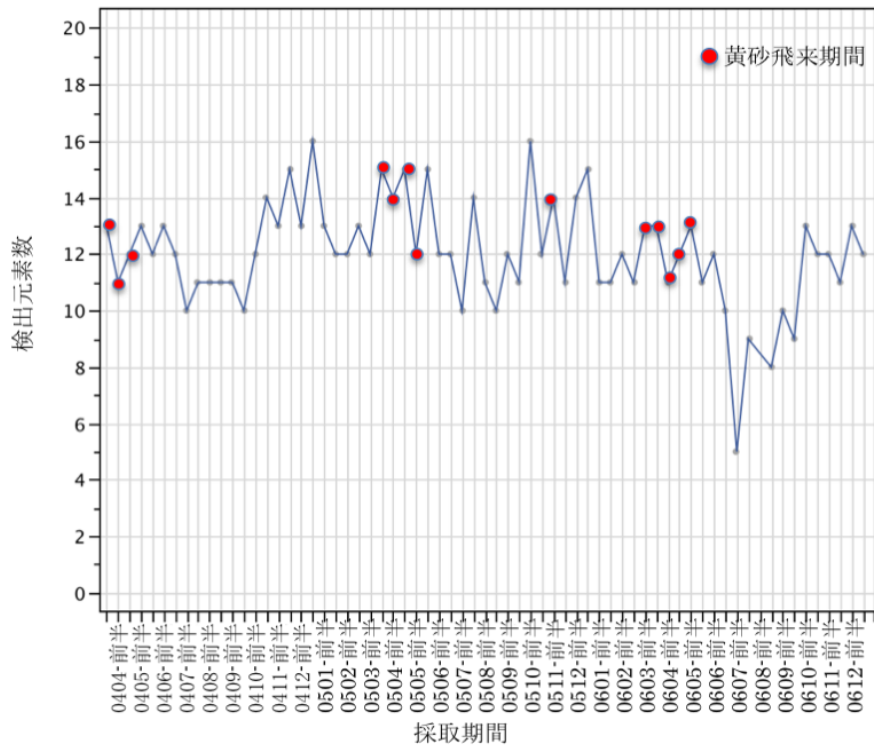


図-6 検出元素数の季節変化 (2004年3月後半～2006年12月後半)

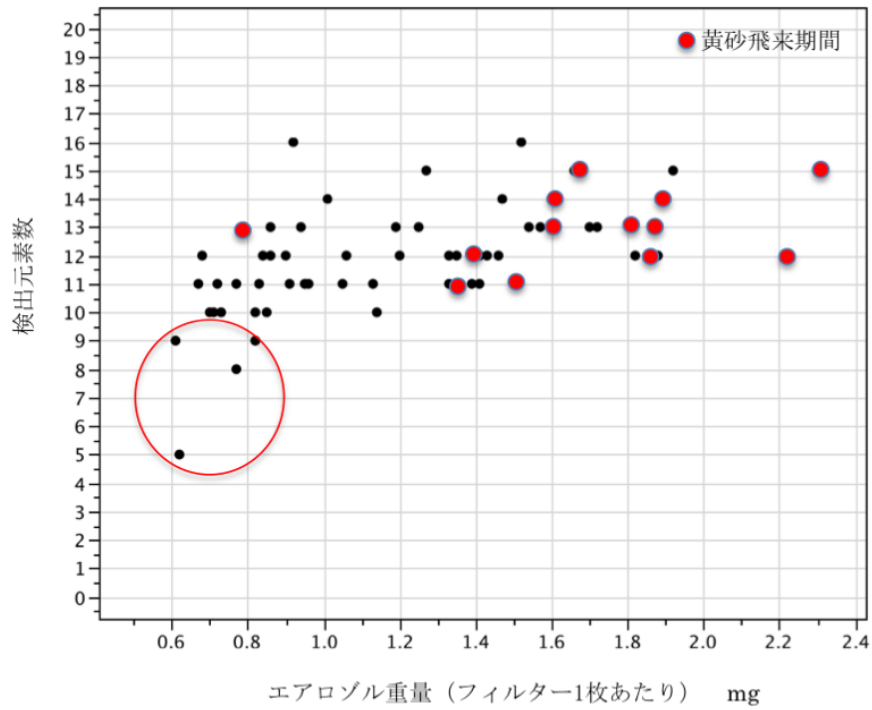


図-7 エアロゾル量 (フィルター1枚あたり) と検出元素数との関係

4.3 各元素の検出頻度

4.3.1 全採取期間

全採取期間（66回）において26の元素が検出された（図-8）。そのうちFe、Na、S、Znの4元素が全ての期間で検出され、90%以上の高頻度で検出された元素はCa、K、Si、Al、Mg、70%台はTi、60%台はMnであった。

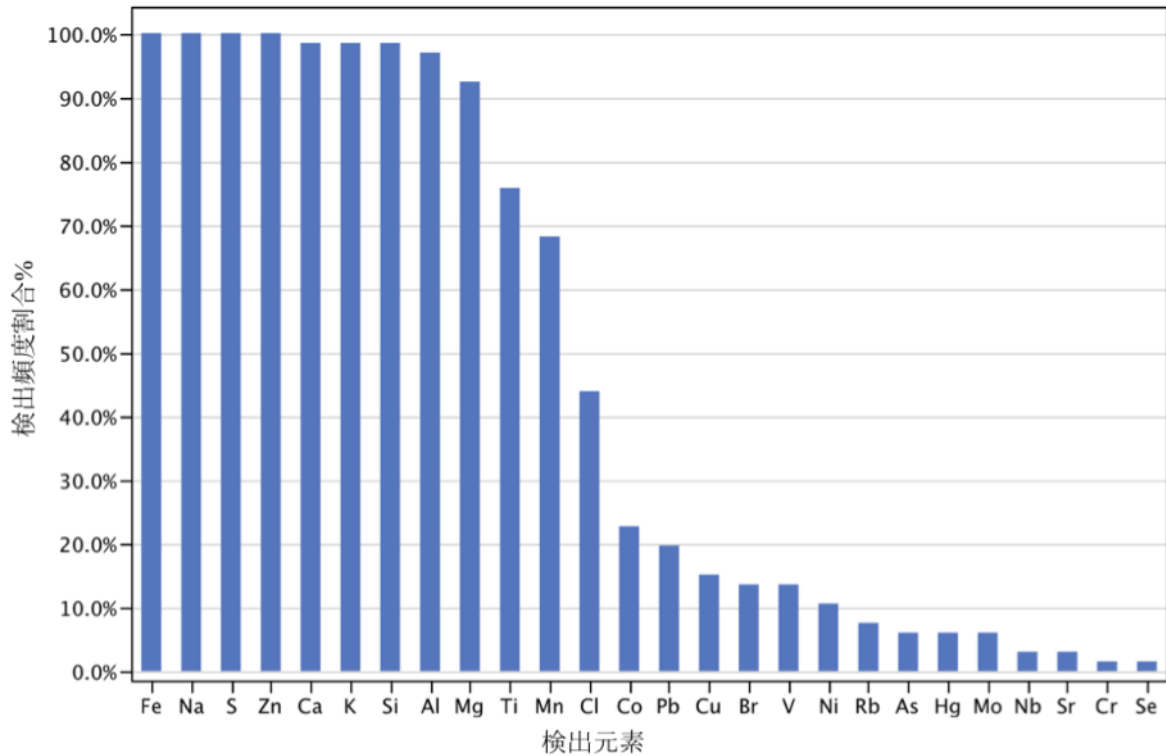


図-8 全採取期間において検出された各元素の検出頻度 %

4.3.2 黄砂飛来期間と通常期間との比較

黄砂が飛来したと認められる採取期間（黄砂飛来期間と呼ぶ）のエアロゾルの特性を調べるため、図-9に、黄砂飛来期間と黄砂飛来期間以外の期間（通常期間と呼ぶ）にわけて、各元素の検出頻度割りを示した。全採取期間（66回）のうち、黄砂飛来期間は13回、検出元素数は20元素であった。そのうち全ての黄砂飛来期間で検出された元素は、Fe、Na、S、Zn、Ca、Si、A、Tiの8元素であった。Mg、Mnも90%以上の高頻度で検出された。また、Co、Pb、V、Hg、Mo、Srの6元素は通常期間に比べ2倍以上の頻度で検出され、Cu、Rbは低頻度ながら通常期間と同程度、Clは通常期間の半分の頻度で検出された。なお、通常期間に検出されるが、黄砂飛来期間に検出されない元素はBr、Ni、As、Nb、Cr、Seの6元素であった。

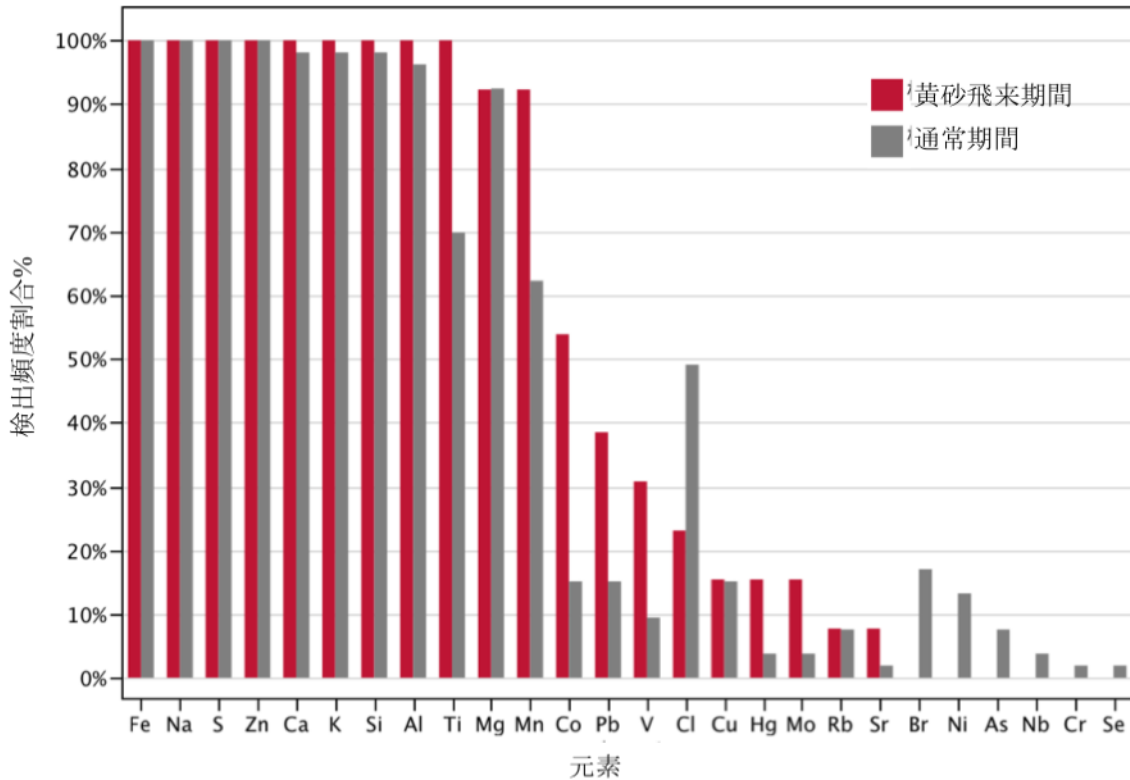


図-9 黄砂飛来時およびそれ以外で検出された各元素の検出頻度 %

4.4 各元素濃度

図-10 に、全採取期間（66回）において検出された 26 元素の濃度を示した。エアロゾルの各元素を平均濃度の降順に記述すると以下の通りである。1000 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 以上：S、Si、100 ng/m^3 ～1000 ng/m^3 ：Al、Na、Fe、K、Ca、Mg、Cl、Sr、Mo、Rb、10 ng/m^3 ～100 ng/m^3 ：Nb、Br、Pb、Hg、Zn、Ti、Co、Se、Mn、V、Cr、As、10 ng/m^3 以下：Cu、Ni。

笠原（1993）はエアロゾル粒子の PIXE 分析をおこない、Si、S、Ca、Mn、Fe、Zn、Pb の濃度範囲はそれぞれ今回の測定結果とほぼ同じであった。

図-11 に黄砂飛来期間と通常期間における元素濃度（ ng/m^3 ）の平均値に差が認められる 6 元素を示した。黄砂飛来期間と通常期間の間で平均値に差が認められたのは、Si、Al、Fe、Ca、Ti、S の 6 元素である。S 以外は黄砂飛来期間の方が通常期間に比べて 1.6 倍～2.3 倍高い濃度を示した。Si、Al、Fe、Ca、Ti はいずれも土壌粒子を起源とする元素であることから、左記 5 元素は大陸から飛来した土壌粒子（黄砂）が主に起因したと推定された。なお、Ca、Ti 自動車走行にも起因すると考えられているため 4)、大陸の影響の他にローカルな影響もうけているため、Ca、Ti は 2 以上の倍率を示す Si、Al、Fe に比べ、1.6 前後の低い倍率を示したと推定された。S は通常期間の方が黄砂飛来期間より高い値を示したが、これはローカル起源、特に火山起源が強く影響していると推定された。

また、比較的高い濃度、ここでは 50 ng/m^3 以上、を示す元素、かつ 20%以上の検出頻度割合を示す元のうち、海塩（Na、Cl）、自動車排ガス（Pb、Br）、重油燃焼（V）、廃棄物焼却炉（Zn、K、Na、Cl）を起源とする元素については、統計的に有意な差は認められなかった。

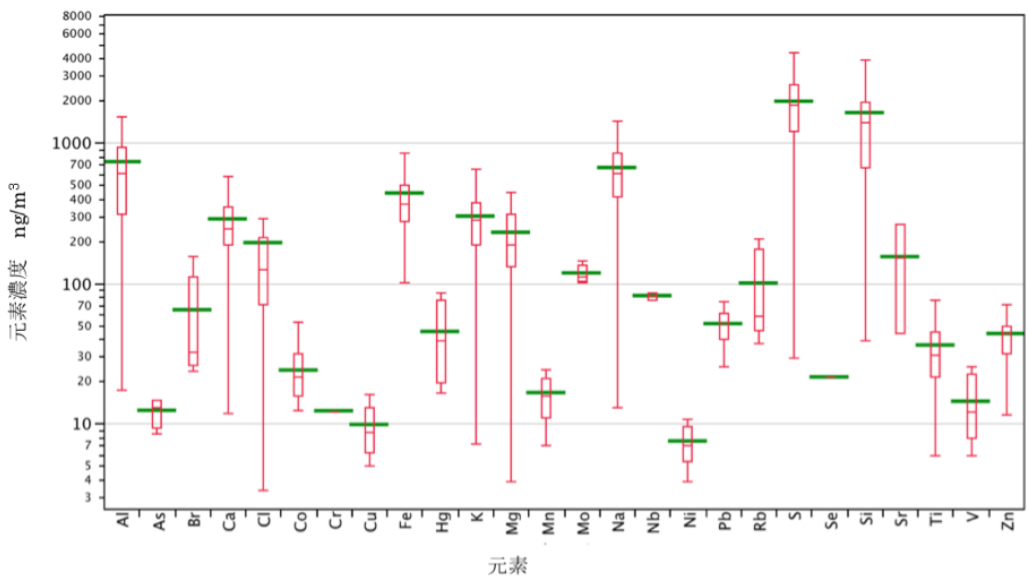


図-10 全採取期間（66回）において検出された26元素の濃度 ng/m^3
 (図中の緑線は平均値、箱ひげ図は最大値、75%、中央値、25%、最小値をそれぞれ示す)

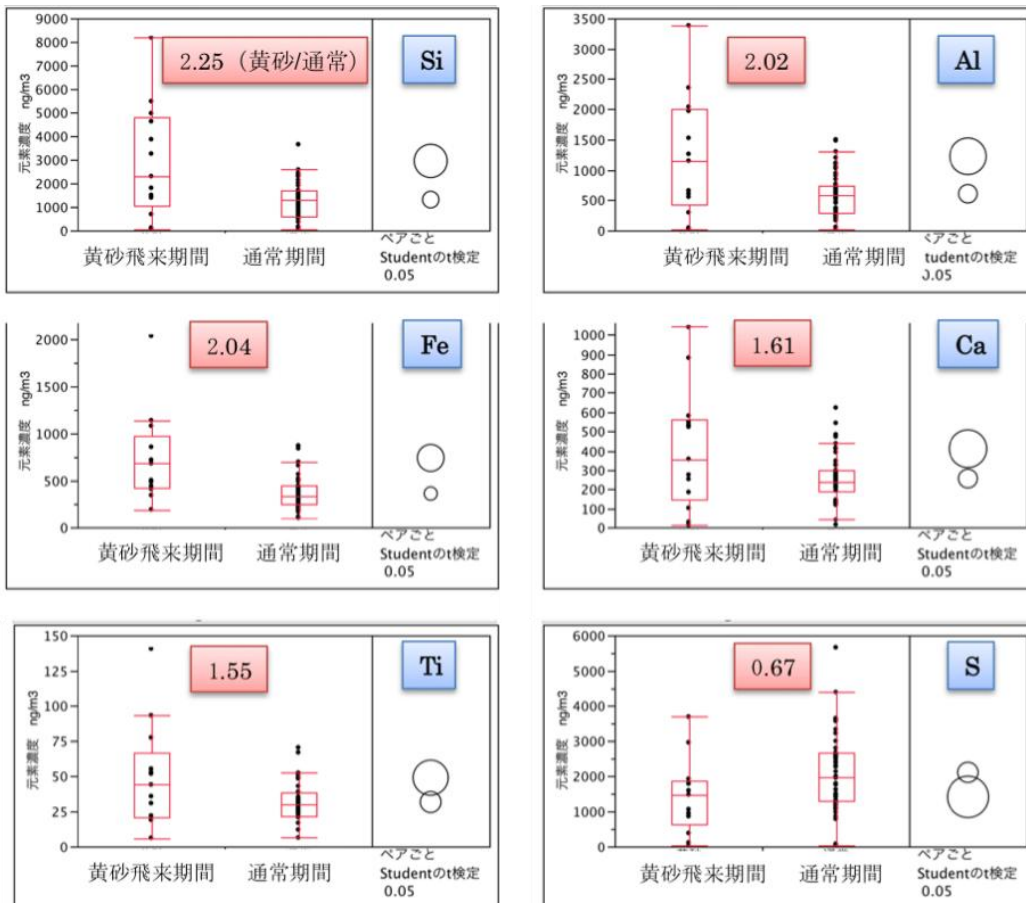


図-11 黄砂飛来期間と通常期間における元素濃度 (ng/m^3)の比較
 (平均値において差が優位と認められた元素、 $\alpha=0.05$ 、Studentのt検定)

5 まとめ

近年 PM2.5 の健康被害実態、黄砂飛来の急増などから、健康および環境に及ぼす大気エアロゾルの影響が社会的に問題になっている。森林の持つ機能の一つである各種汚染物質（エアロゾル等）の除去機能を解明することを目的に、フィルターパック法も用いて森林を取り巻く大気エアロゾルの水溶性成分および成分濃度を解析しているが、その研究の一環としてテフロンフィルター上に採取したエアロゾルの PIXE 分析を試みた。森林の外で半月毎にフィルターパック法（一段）で採取したエアロゾルの PIXE 分析について、黄砂飛来期間とそれ以外に期間（通常期間）との比較を中心に解析した結果、以下の成果を得た。

1. 通常期間（53 回）、黄砂飛来期間（13 回）において、26、20 元素がそれぞれ検出され、Fe、Na、S、Zn、Ca、Si、Al、Ti、Mg、Mn が高頻度で検出される元素であった。
2. 黄砂飛来期間と通常期間の間で平均値に差が認められたのは、Si、Al、Fe、Ca、Ti、S の 6 元素で、いずれも土壌粒子起源であった。
3. S は通常期間の方が黄砂飛来期間より高い値を示したが、これはローカル起源、特に火山起源が強く影響していると推定された。
4. 今回のエアロゾル量の範囲（0.6～2.3mg）では、エアロゾル量の多寡が元素検出に影響することはなかった。
5. なお、テフロンフィルターの場合、材料であるフッ素元素の X 線スペクトルが極めて大きく、他の元素の特性 X 線がフィルターのバックグラウンドに埋没するため、検出が困難になる可能性が指摘されている（5）が、今回、主要な元素（Fe、Na、S、Zn、Ca、Si、Al、Ti、Mg、Mn）が高頻度で検出されていること、Si、S、Ca、Mn、Fe、Zn、Pb の元素濃度が既存データの範囲内になることから、主要元素については、テフロンフィルターで捕集されたエアロゾルの PIXE 分析結果は解析可能と考えられた。

参考文献

- 1 Sera, K., Yanagisawa, T., Tsunoda, H., Futatsugawa, S., Hatakeyama, S., Saitoh, Y., Suzuki, S. and Orihara, H, “Bio-PIXE at the Takizawa Facility. (Bio-PIXE with a Baby Cyclotron).”, Int'l Journal of PIXE Vol. 2- 3, 325-330 (1992)
- 2 Sera, K. and Futatsugawa, S. : Personal Computer Aided Data Handling and Analysis for PIXE, Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B 109/110, 99 -104 (1996)
- 3 西川雅高、黄砂研究最前線、環境気、Vol8,4-9 (2003)
- 4 笠原三紀夫：PIXE 法によるエアロゾル粒子の元素分析、エアロゾル研究、8 (2) 、118-123、1993
- 5 斉藤勝美：PIXE 法による大気エアロゾルの元素分析、NMCC 共同利用研究成果集 13、301、2005

Characteristics of KOSA aerosols by PIXE method in southwestern Japan

M.Sakai¹, K.Sera² and S.Goto³

¹Forestry and Forest Products Research Institute
1 Matsunosato, Tsukuba, Ibaraki, 305-8687 Japan

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

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

Abstract

Atmospheric particle including KOSA (Asian dust) has lately attracted considerable attention due to their potential to affect human health and environment. From March to May, a huge volume of yellow sand (KOSA) is whipped up in the Taklamakan and Gobi deserts, riding westerly winds to sweep down on Kyushu island of Japan. Observation frequency of KOSA is an increasing tendency for the long term. In this study, we compared the elements and their concentrations of aerosol between KOSA event and non-KOSA events to reveal the characteristics of KOSA aerosols. Research site is located at Tatsutayama Experimental Area (Long.130°44' E, Lat.32°49' N) in Kumamoto Prefecture, the southwestern region of Japan. Aerosol samples were collected bimonthly by filter pack method from April 2004 to December 2006. A PTFE filter of 47 mm in diameter set up to Nilu filter holder was placed in a height of 7m above the ground. Sampling flow rate was 2 to 3 liters per minute. We obtained 66 filters. We classified to thirteen KOSA events determined by the Kumamoto meteorological observatory and fifty-three non-KOSA events. The element concentrations were determined by Proton Induced X-ray Emission (PIXE) method at NMCC. The mass concentration of aerosol showed seasonal variation with an increase in KOSA event. Concentrations of Si, Fe, Al, Ca, and Ti in KOSA event were 2.3, 2.0, 2.0, 1.6, and 1.6 times higher than those in no-KOSA event respectively. Those elements are expected to be the sources of soil particle. On the other hand, S concentrations in KOSA event were 0.7 times smaller than those in non-KOSA event. In other elements there were no differences between KOSA and non-KOSA events.

PIXEによる福岡市乳幼児健診受診母子の毛髪分析 (第4報) 基本統計量の比較

Todd Saunders¹、黒田祥平¹、山田知美²、後藤祥子³、
高辻俊宏¹、中村 剛¹、世良耕一郎⁴、野瀬善明⁵

¹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

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

³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

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

⁵熊本保険科学大学大学院保健科学研究科
861-5598 熊本市和泉町 325

1 はじめに

1.1 研究経過

アトピー性皮膚炎(以下 Atopy)は戦前には稀であったが、戦後増加の一途を辿り、厚生労働省の調査によれば、H14、H17、H20にはそれぞれ28万、38万、140万人と増加傾向に加速度が増している。現在では日本人新生児が成人になるまでの罹患率は10%を超え、ヨーロッパでは30%を超えるという統計も公表されている。その症状であるかゆみが酷いので、職業選択の範囲が狭まれ、時に自殺者の報告もある。Atopy患者の病態、疫学、実験研究論文が多数報告されているにも関わらず、未だ予防策も治療法も確立していない。本研究はAtopyと体内ミネラル量との関連を解析することを目的としたコホート研究で、福岡市医師会・九州大学医学部が中心となり企画され、200年3月に倫理委員会に承認され開始された。誕生後1ヶ月と10ヶ月の福岡市乳幼児健診時に小児科医・産婦人科医による呼びかけに応じた母子(約1000対)の毛髪ミネラル量測定が岩手医科大学・アイソトープセンターにて実施され、20010年3月に完了した。Atopyと体内ミネラル量との関連の統計解析については、検診時における100項目以上の臨床情報も加味した詳細な解析を実施中であり、年内に公表予定である。予備的報告として、統計解析における問題点をKuroda et al. (2010)¹⁾及びSaunders et al (2011)²⁾に報告した。

1.2 毛髪ミネラルの基本統計

一般に、生体検査項目の臨床での有効利用のためには、性年齢別基準値を定める必要がある。そこで文献検索システムを用いて、毛髪ミネラル量の性年齢別基準値及び医学的意義に関する研究報告を検索してみた。初期のバイオニア的研究を別にすれば、欧米では Biological Trace Element Research が 1979 年に、Trace Elements in Medicine (=Trace Elements and Electrocytes)が 1984 年に、Journal of Trace Elements and Electrolytes in Health and Disease が 1987 年に、さらに Journal of Trace Elements in Experimental Medicine が 1988 年に創刊された。日本では International J PIXE の創刊は 1990 年であり、NMCC 共同利用研究成果報文集の第一号が 1993 年に発刊された。日本では毛髪ミネラル量と疾病、妊娠、成長などとの関連を扱っている論文が 1980 年代半ばから、上記専門雑誌ではなく主に医学部や研究所の紀要に、発表されている。このように毛髪ミネラルの医学への応用を意図した研究が 4 半世紀に亘り成されているにも関わらず、本研究の対象である妊娠前後の女性と生後 10 ヶ月までの健康な乳児の毛髪ミネラル量を比較するのに適した論文は見当たらなかった。健康異常者あるいは環境汚染曝露者の毛髪ミネラル量を記述することを目的とした報告が大部分であり、いわゆる健常者についての基準値の報告は少ない。

健常者における毛髪ミネラル量の基本統計量を記述している論文として、津金ら (1985) は小児期 (1~19 歳) 129 名の毛髪ミネラル量の基準値を示しているが、例えば 1~4 歳は男 7 名、女 4 名しかおらず、一般化するには困難がある³⁾。また尾立ら(2003)は栄養学的観点から 12 種 (Zn、P、Cr、Fe、Cu、Mn、Ca、Mg、K、Na、Al、Pb) の比較的に大量に含まれるミネラルについて、津金らと鎌倉ら⁴⁾ を含む 4 つの論文に記述された基準値を示しているが、比較的に大量に含まれる Zn、P、Cr については良く一致しているが、残りの 9 つのミネラルについては論文間での差異がかなりある⁵⁾。妊婦の妊娠経過に伴う毛髪ミネラル量の変化について西島 (1986) が報告しているが対象者が 20 人未満と少なく、SD が大きい⁶⁾。欧米の文献にも基準値を示している論文は多くあるが、年齢、性別、人種が異なるため、直接比較可能な文献は稀である。例えば、Zaichick らは 80 人のロシア人についての基準値を求めているが、標本数が小さい上に、男女込みで年齢も 15-55 歳と幅広い⁷⁾。さらに Senofonte et al. (2000)はローマ居住で 年齢 3-15 の 412 人の基準値を示している⁸⁾。ここでは測定結果が未検出の値は除外して平均値などを計算しているが、本来 0 として計算するべきであろう。このように、基準値さらには基準値の計算法すら確立していないことが、毛髪ミネラル量の医学利用の障害になっていると考える。

1.3 本研究の目的

毛髪ミネラル量の分布及び医学的扱い方が確立していない現状を考慮すると、本研究の主目的であり、今後順次報告する予定にしている毛髪ミネラル量と Atopy 発症リスクとの量的関連を理解し一般化する上で、本研究での対象集団における毛髪ミネラル量の分布と特性を明確に示しておく必要がある。本論文では、母子の 1 ヶ月と 10 ヶ月における毛髪ミネラル量の基本統計量について報告する。福岡市内には汚染物質を排出する工場は一つも無く、気候温暖で、また投票によりアジアで最も住みたい都市の上位に常にランクインする環境に恵まれた市であり、対象は出産時に健康な母子なので、基準値を構成する上で最適な集団といえる。Kamakura (1983)は男 1008 名、女 891 名 (健康で年齢は 0~80+) と大きな標本について、20 種のミネラル量の基準値を示しているの、本研究での基準値と比較検討する。

2方法

調査対象は福岡市に居住し、1 ヶ月乳幼児検診を受診し、産婦人科開業医の呼びかけに応じた 1034 対の母子から毛髪数本をハサミで採取した。さら小児科医による 10 か月検診時にも毛髪を採取できかつ Atopy か否かの診断の確定した 834 対を解析対象とした。1 か月検診の最初の検体は 2005 年 11 月に採取され、10 か月検診での最後の採取は 2007 年 10 月であった。毛髪検体は全て岩手医科大学サイクロトロンセンターにて PIXE 法によりミネラル量を測定された。

表1 各群の基本統計量

(a) 1ヶ月の子供

variable	Mean	SD	Min	25%	Median	75%	Max
B.Na	201.16	173.53	0	82.159	161.32	274.08	1703.7
B.Mg	97.648	80.553	0	36.58	83.967	140.02	542.97
B.Al	100.47	73.684	0	35.434	100.62	152.94	350.01
B.Si	171.02	111.95	0	93.607	154.71	220.43	708.38
B.P	95.94	101.16	0	0	74.273	148.98	687.01
B.S	42017	3947.3	29408	39270	42232	45059	52416
B.Cl	1112.8	1308.7	0	218.42	599.93	1641.5	10160
B.K	999.14	1214.5	21.202	223.87	504.16	1306.6	9877.8
B.Ca	1311.2	432.84	386.08	993.95	1294.3	1582.6	2969.2
B.Ti	42.026	39.503	0	14.039	28.778	59.271	244.30
B.V	0.543	1.144	0	0	0	0.647	16.632
B.Cr	0.555	0.818	0	0	0.155	0.854	6.446
B.Mn	0.961	1.75	0	0.054	0.659	1.313	39.32
B.Fe	28.023	14.752	10.018	17.881	23.721	33.867	140.63
B.Co	0.368	0.551	0	0	0.081	0.592	5.192
B.Ni	0.579	0.678	0	0	0.373	0.969	7.69
B.Cu	10.362	16.499	2.527	6.754	8.251	10.51	435.14
B.Zn	206.24	77.549	53.09	170.40	194.92	225.80	1018.5
B.Ga	0.751	0.726	0	0.048	0.665	1.176	5.735
B.As	0.181	0.516	0	0	0	0	4.495
B.Se	0.859	0.785	0	0.164	0.761	1.312	6.516
B.Br	11.272	9.311	0.543	5.356	8.543	13.966	93.799
B.Rb	1.934	2.723	0	0.395	1.176	2.384	32.927
B.Sr	2.738	2.462	0	1.134	2.247	3.517	19.295
B.Nb	0.583	1.009	0	0	0	0.857	9.687
B.Mo	0.978	1.812	0	0	0.3	1.358	26.992
B.Ag	0.746	3.077	0	0	0	0	39.929
B.I	29.721	74.551	0	0	0	26.15	1013.9
B.Hg	1.781	1.993	0	0	1.345	2.826	23.066
B.Pb	3.272	9.189	0	0.542	1.502	3.354	200.23

(b) 1ヶ月の母

variable	Mean	SD	Min	25%	Median	75%	Max
M.Na	134.55	118.26	0	64.342	112.81	170.16	1116.9
M.Mg	55.898	54.758	0	9.317	44.019	83.359	324.12
M.Al	38.646	45.19	0	0	20.44	68.752	252.66
M.Si	320.69	863.29	0	134.82	213.40	326.03	23693
M.P	101.99	104.36	0	3.449	77.298	160.92	577.80
M.S	46422	4483.6	30046	43522	46270	49517	58738
M.Cl	388.57	760.55	0	0	77.632	417.07	6906.0
M.K	374.25	526.24	2.557	81.438	179.96	428.09	3410.4
M.Ca	1883.4	1241.7	323.08	989.09	1505.4	2448.7	7924.0
M.Ti	34.153	74.643	0	11.611	22.265	40.183	1960.6
M.V	0.807	2.337	0	0	0	1.203	60.352
M.Cr	0.561	0.778	0	0	0.154	0.96	4.104
M.Mn	0.904	2.875	0	0	0.442	1.193	65.562
M.Fe	17.213	8.317	4.354	12.201	15.012	19.783	89.928
M.Co	0.481	0.669	0	0	0.182	0.773	5.224
M.Ni	1.69	5.429	0	0.237	0.74	1.531	96.624
M.Cu	36.955	49.879	5.262	17.455	24.003	37.549	718.73
M.Zn	294.03	255.54	42.069	206.49	253.66	299.97	4654.3
M.Ga	0.677	0.999	0	0	0.146	1.104	8.075
M.As	0.314	0.645	0	0	0	0.262	3.481
M.Se	0.75	0.775	0	0	0.567	1.246	4.164
M.Br	15.34	30.796	0.033	3.978	6.919	13.712	503.20
M.Rb	2.988	7.547	0	0.275	0.914	2.509	129.53
M.Sr	8.851	7.527	0	3.288	6.817	12.278	49.274
M.Nb	0.7	1.18	0	0	0	1.015	7.518
M.Mo	1.161	1.744	0	0	0.146	1.897	10.331
M.Ag	1.49	6.424	0	0	0	0	115.01
M.I	0.831	6.203	0	0	0	0	90.708
M.Hg	4.257	2.945	0	2.069	3.889	6.025	20.979
M.Pb	5.805	7.03	0	1.713	3.77	7.674	77.273

(c) 10ヶ月の子供

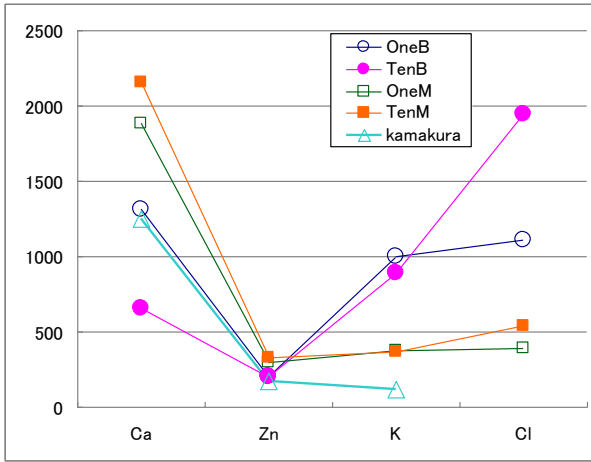
variable	Mean	SD	Min	25%	Median	75%	Max
1OB.Na	162.29	170.97	0	53.886	120.67	210.13	1899.6
1OB.Mg	36.523	43.007	0	0	20.384	58.327	224.80
1OB.Al	90.155	54.066	0	50.573	87.627	123.63	391.65
1OB.Si	119.58	60.016	0	83.438	114.42	147.45	995.77
1OB.P	97.464	95.75	0	15.834	80.393	148.64	887.65
1OB.S	44293	3909.8	28412	42055	44139	46148	62667
1OB.Cl	1943.2	1867.9	0	599.43	1410.5	2702.1	12947
1OB.K	888.02	967.06	55.289	250.95	489.28	1209.6	7112
1OB.Ca	656.46	437.31	143.76	406.97	540.42	732.00	4813.9
1OB.Ti	42.521	42.041	2.031	17.866	30.218	48.574	521.96
1OB.V	0.519	0.927	0	0	0	0.708	6.308
1OB.Cr	0.536	0.848	0	0	0.208	0.804	8.797
1OB.Mn	0.8	1.646	0	0.075	0.63	1.181	43.795
1OB.Fe	20.547	9.41	7.432	14.283	18.135	23.931	75.356
1OB.Co	0.522	0.58	0	0	0.359	0.823	3.72
1OB.Ni	1.072	2.102	0	0.274	0.722	1.284	39.368
1OB.Cu	20.901	20.967	6.099	12.105	15.407	21.836	312.31
1OB.Zn	205.49	200.96	9.45	111.66	182.34	248.38	4421.6
1OB.Ga	1.312	1.031	0	0.694	1.193	1.714	17.746
1OB.As	0.274	0.553	0	0	0	0.312	3.463
1OB.Se	0.441	0.595	0	0	0.21	0.727	6.66
1OB.Br	17.022	13.388	1.47	7.846	13.446	21.761	175.47
1OB.Rb	2.873	3.517	0	0.726	1.799	3.776	48.532
1OB.Sr	2.085	2.727	0	0.52	1.184	2.66	25.689
1OB.Nb	0.436	0.681	0	0	0.025	0.674	3.44
1OB.Mo	0.704	1.133	0	0	0.146	1.083	11.61
1OB.Ag	0.357	1.572	0	0	0	0	25.187
1OB.I	0.866	10.521	0	0	0	0	210.26
1OB.Hg	1.896	1.677	0	0.394	1.661	2.898	9.487
1OB.Pb	3.723	4.834	0	0.944	2.32	4.659	37.418

(d) 10ヶ月の母

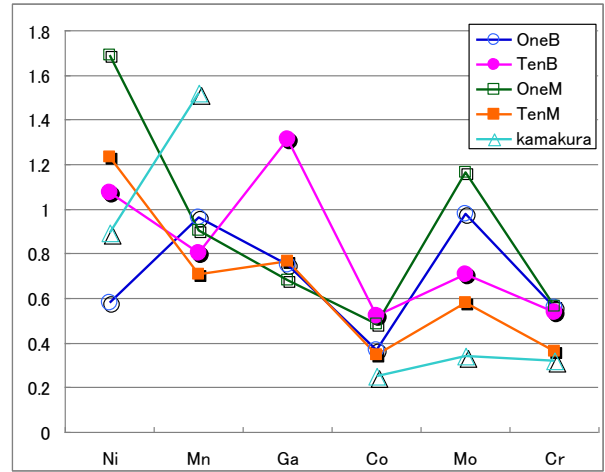
variable	Mean	SD	Min	25%	Median	75%	Max
1OM.Na	178.54	173.7	0	77.644	131.35	225.46	1573.5
1OM.Mg	49.372	52.855	0	0.887	34.952	79.996	355.04
1OM.Al	50.468	45.914	0	12.77	42.125	75.396	402.44
1OM.Si	282.96	579.53	0	88.006	164.49	284.85	9527.6
1OM.P	55.831	100.09	0	0	0	78.016	571.15
1OM.S	44866	5087.5	26557	41435	44648	48196	59035
1OM.Cl	536.65	959.23	0	0	170.90	615.53	7474.3
1OM.K	365.02	478.42	2.351	106.65	207.11	396.95	4658.5
1OM.Ca	2153.6	1337.6	259.88	1095.9	1831.7	2970.5	7958.5
1OM.Ti	36.86	48.21	0	14.077	24.649	42.753	800.91
1OM.V	0.7	3.335	0	0	0	0.752	64.027
1OM.Cr	0.362	0.549	0	0	0.005	0.594	3.575
1OM.Mn	0.704	1.343	0	0.056	0.492	1.014	33.32
1OM.Fe	15.871	14.334	4.661	10.949	13.672	17.561	366.35
1OM.Co	0.347	0.49	0	0	0.066	0.609	2.936
1OM.Ni	1.23	2.764	0	0.148	0.611	1.242	40.077
1OM.Cu	35.343	55.594	2.868	16.469	22.275	33.421	721.22
1OM.Zn	330.56	259.05	23.633	216.96	261.71	329.99	2703.7
1OM.Ga	0.767	1.006	0	0	0.46	1.18	9.78
1OM.As	0.232	0.532	0	0	0	0.099	4.408
1OM.Se	0.908	0.75	0	0.219	0.846	1.405	3.854
1OM.Br	21.671	110.41	1.297	4.414	7.571	15.849	2735.9
1OM.Rb	4.496	28.607	0	0.378	1.151	2.824	711.80
1OM.Sr	11.31	8.276	0	4.748	9.741	16.274	46.277
1OM.Nb	0.444	0.8	0	0	0	0.635	8.044
1OM.Mo	0.581	1.01	0	0	0.061	0.868	12.626
1OM.Ag	0.482	7.712	0	0	0	0	167.32
1OM.I	0.14	4.053	0	0	0	0	117.04
1OM.Hg	3.52	2.519	0	1.729	3.466	4.84	19.635
1OM.Pb	4.187	7.395	0	1.111	2.338	4.434	94.999

図 1

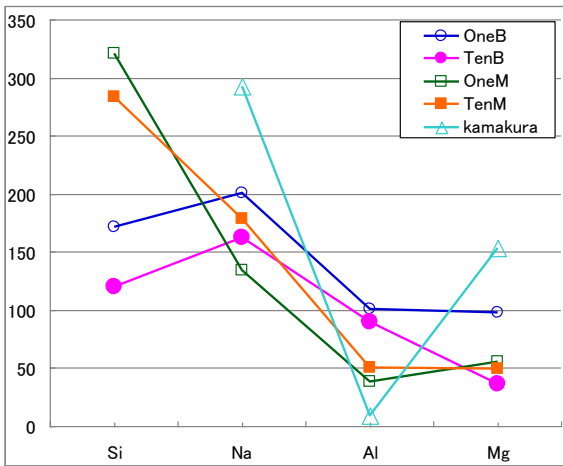
(a) Ca, Zn, K, Cl



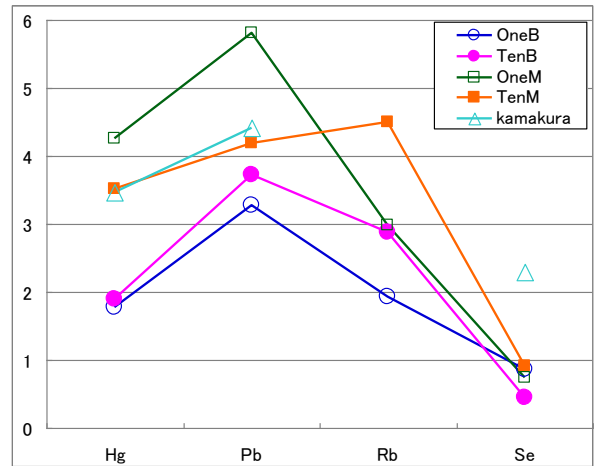
(d) Ni, Mn, Ga, Co, Mo, Cr



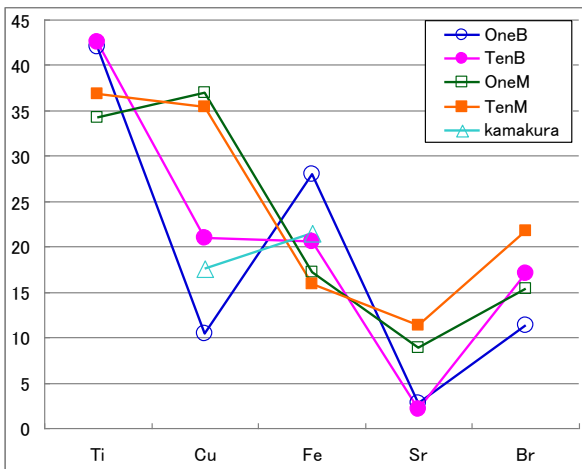
(b) Si, Na, Al, Mg



(e) Hg, Pb, Rb, Se



(c) Ti, Cu, Fe, Sr, Br



3 結果と考察

3.1 代表値と散布度

表 1 (a)、(b)、(c)、(d)はそれぞれ 1 ヶ月の子供、1 ヶ月の母、10 ヶ月の子供、10 ヶ月の母のミネラル毎の平均(Mean)、標準偏差(SD)、最小値(Min)、25%点(Q1)、中央値(Median)、75%点(Q3)、最大値(Max)の値を示す。群間での中央値を比較するためにグラフ化した (図 1)。ただし、ミネラル間での値の違いが大きいため、5 つのグループ {Ca, Zn, K, Cl}、{Si, Na, Al, Mg}、{Ti, Cu, Fe, Sr, Br}、{Hg, Pb, Rb, Se}、{Ni, Mn, Ga, Co, Mo, Cr} に分けて表示した。比較のために、Kamakura (1983) の表から女性の中央値を抜粋し表示した。なお S は個人ごとに見てもほぼ一定値 (変動計数が 0.0001 以下) なので、表示していない。Zn もほぼ一定であることが図から分かる。母の方が子より大きい傾向にあるミネラルは、Ca、Si、Cu、Sr、Hg、Pb、Ni であり、逆に子の方が母より大きい傾向にあるミネラルは、K、Cl、Al、Ti である。同じく母子の出産直後のミネラル量を比較した Di Toro et al. (1994) では、子の方が母より大きいミネラルとして、Cr、Mn、Fe を上げている⁹⁾。このように本研究の結果と全く異なった理由として、Di Toro et al. (1994) の対象が 32 対の母子と少ないこと、及び中央値ではなく平均値の比較であることが考えられる。一方、母子ともに 1 ヶ月の方が 10 か月より大きいあるいは小さい傾向にあるミネラルは無い。4 群とも kamakura (1983) より大きいミネラルは K、Al、Co、Mo、Cr、があり、逆に小さいミネラルは Na、Mg、Se、Mn がある。K は子の方が大きい傾向にある。Cl は 1 ヶ月の方が大きい傾向にある。平均値についても同様のグラフを作成したが、中央値のグラフとほぼ同様の傾向を示した。

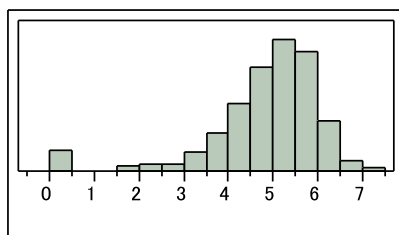
3.2 ヒストグラム

対数変換されたミネラル量のヒストグラムを図 2 (子) 及び図 3 (母) に示す。但し、現在の PIXE 法の検出限界は 1ppm 程度ということなので、1ppm 以下は 1 と置き換えて対数変換したので、0 は 1ppm 以下を意味する。

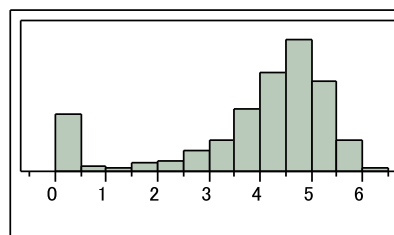
1 ヶ月の分布のみ示しており、10 ヶ月の分布はほぼ同様なので省略した。0 の値の無いミネラルは Ca、S、K、Cu、Fe、Zn、Br で母子に共通している。一方、中央値が 0、即ち 50%以上が 1ppm 以下のミネラルは V、Cr、Mn、Co、Ni、Ga、As、Se、Nb、Mo が母子共通で、Rb は母だけが該当する。0 を除く (1ppm より大きい測定値に限る) と、近似的に正規分布するミネラルとして母子共通して Na、Al、P、Cl、Mg、Si、I が該当するが、これらの元素は自然由来と考えられる。最後に、0 が大半で、0 を除いた分布が正規ではない元素 As、Se、Rb、Nb、Ag、Hg、Sr、Mo、Pb は、個人ごとの生活習慣に起因すること考えられる。これらの元素も母子に共通する。

図2 1ヶ月の子の毛髪ミネラル量分布

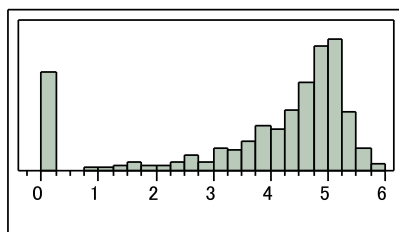
B.Na



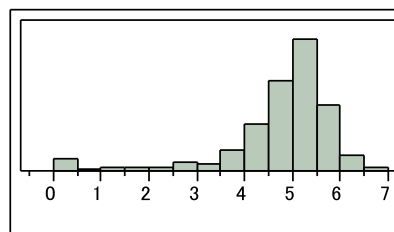
B.Mg



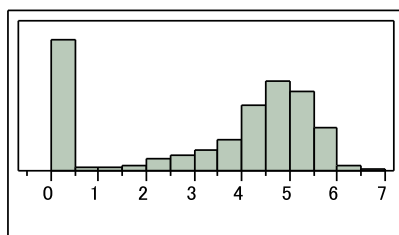
B.Al



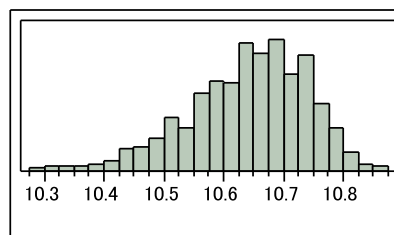
B.Si



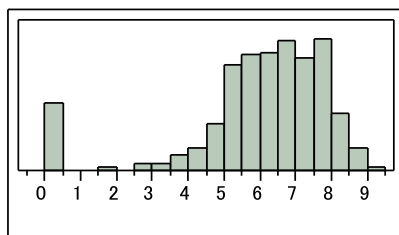
B.P



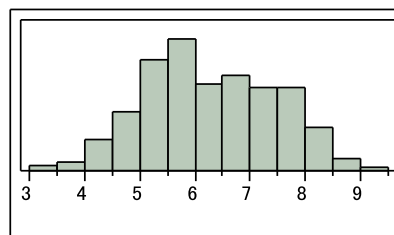
B.S



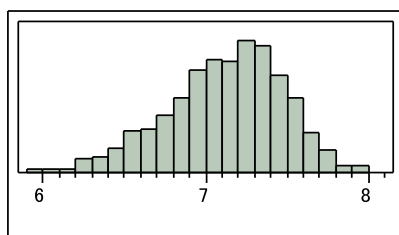
B.Cl



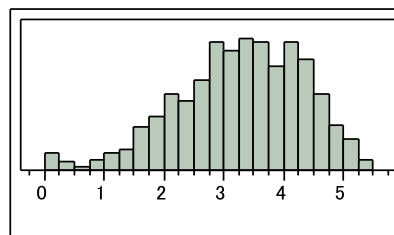
B.K



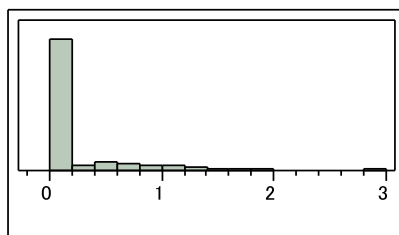
B.Ca



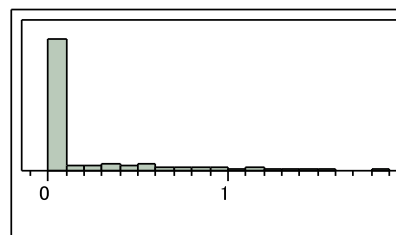
B.Ti



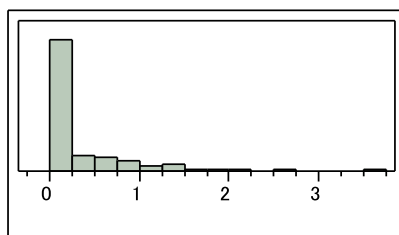
B.V



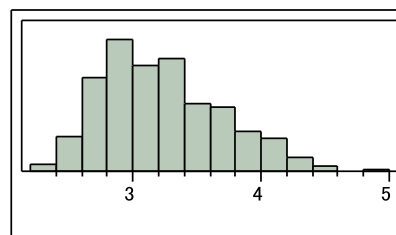
B.Cr



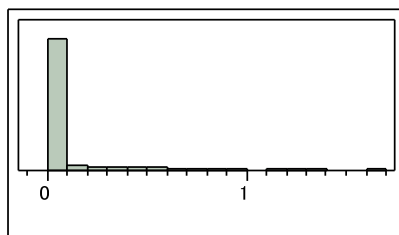
B.Mn



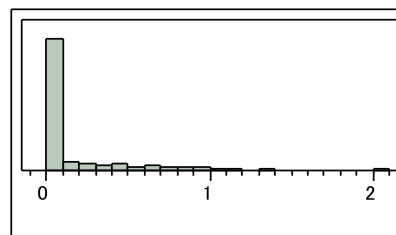
B.Fe



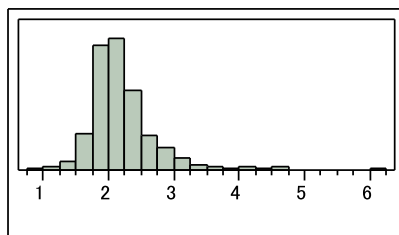
B.Co



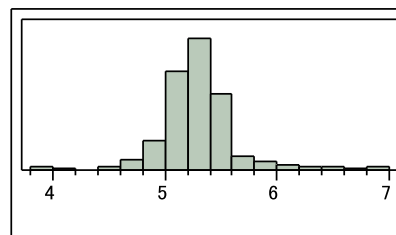
B.Ni



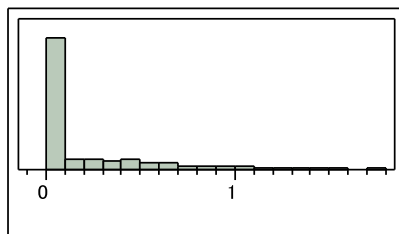
B.Cu



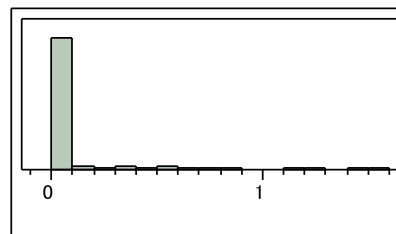
B.Zn



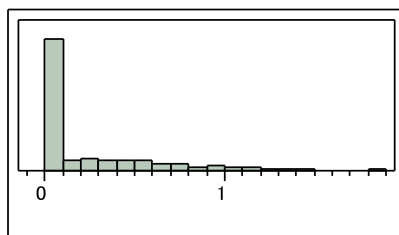
B.Ga



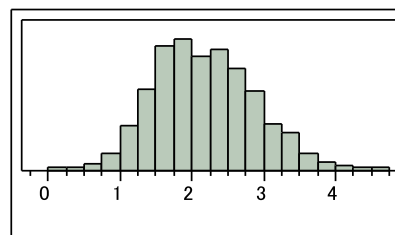
B.As



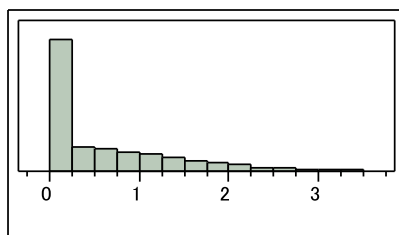
B.Se



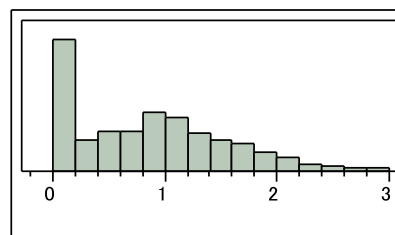
B.Br



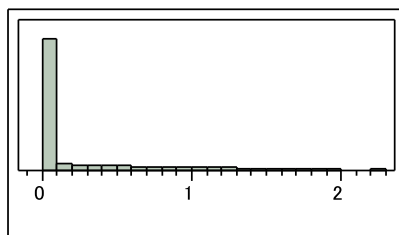
B.Rb



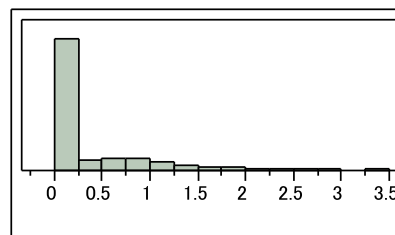
B.Sr



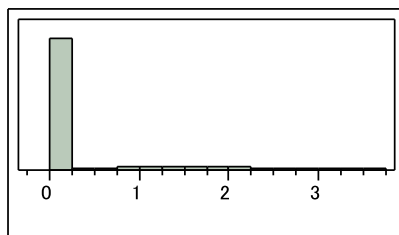
B.Nb



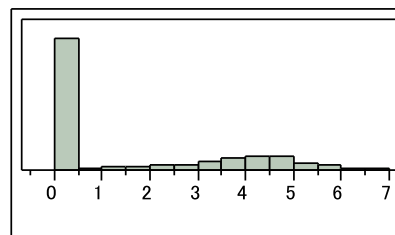
B.Mo



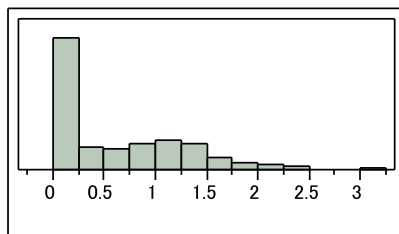
B.Ag



B.I



B.Hg



B.Pb

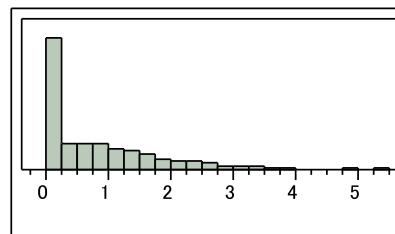
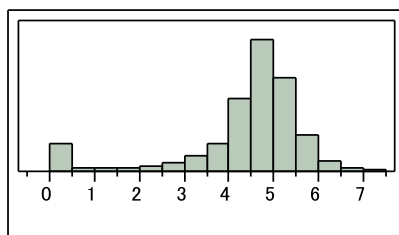
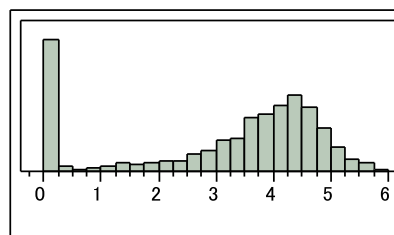


図3 1ヶ月の母の毛髪ミネラル量分布

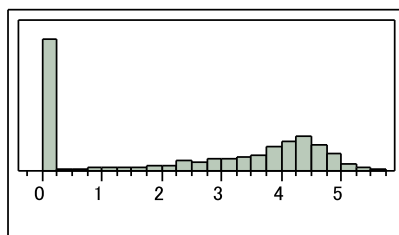
M.Na



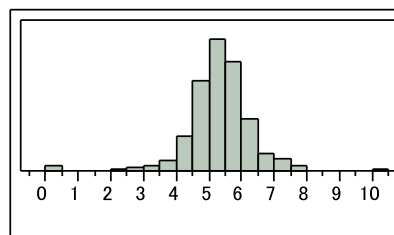
M.Mg



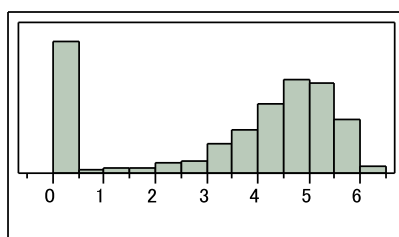
M.Al



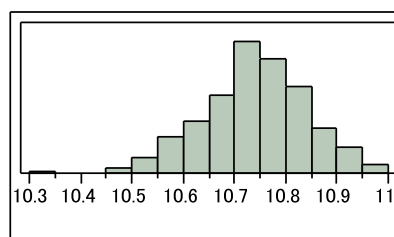
M.Si



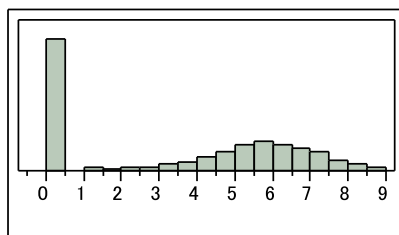
M.P



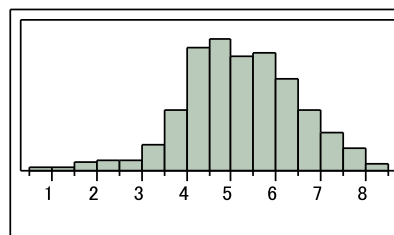
M.S



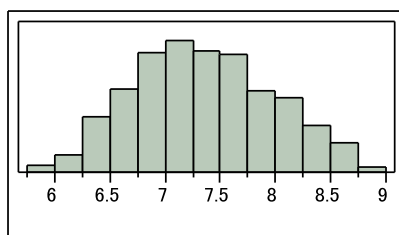
M.Cl



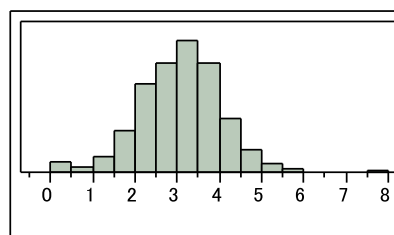
M.K



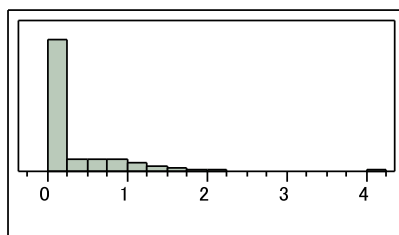
M.Ca



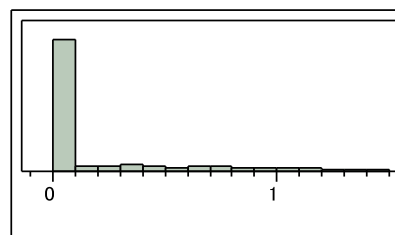
M.Ti



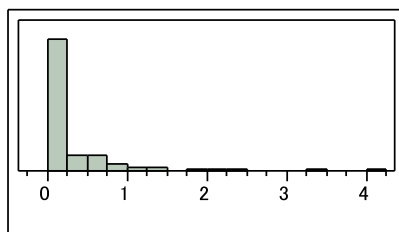
M.V



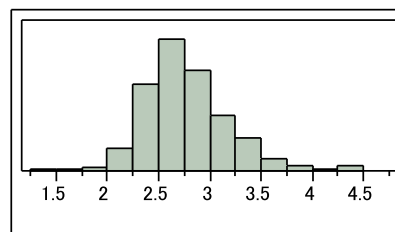
M.Cr



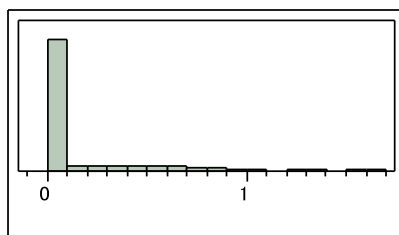
M.Mn



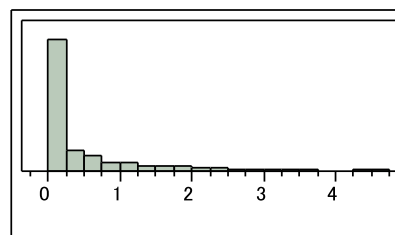
M.Fe



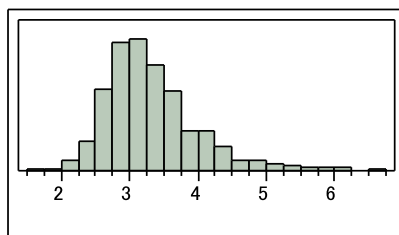
M.Co



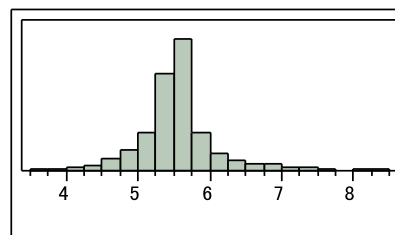
M.Ni



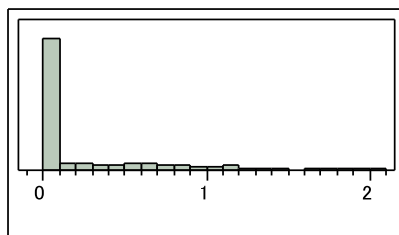
M.Cu



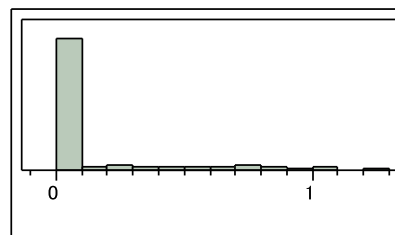
M.Zn



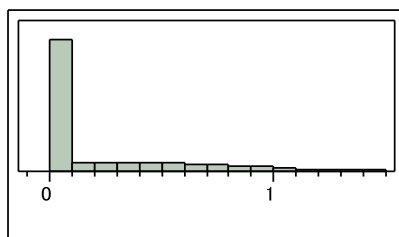
M.Ga



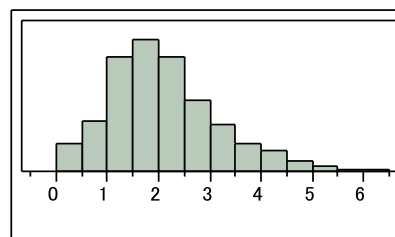
M.As



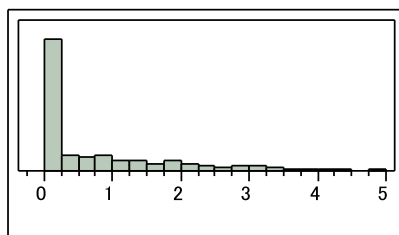
M.Se



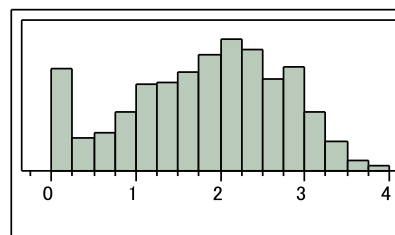
M.Br



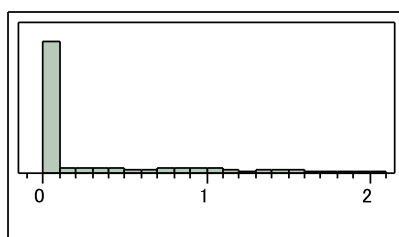
M.Rb



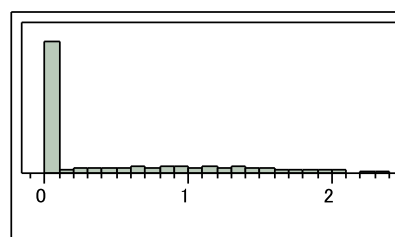
M.Sr



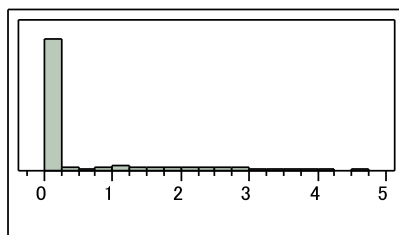
M.Nb



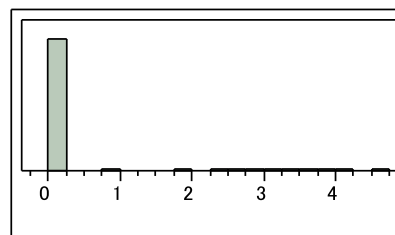
M.Mo



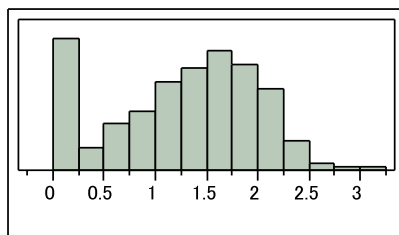
M.Ag



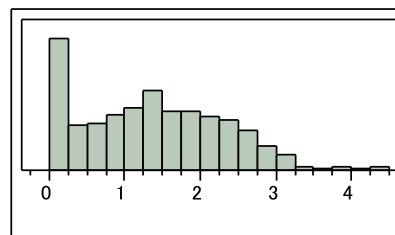
M.I



M.Hg



M.Pb



3.3 散布図

次に母子それぞれの1カ月と10カ月の関連をみるために、散布図を作成した(図)。但し1ppm以下にかなりの頻度で集中しているミネラルについては、散布図では重なりが多くなり実際の頻度がみにくくなるので、離散化して分割表で示した。子の散布図を見ると、S、Ca、K、Fe、Zn、Cuのように、毛髪中濃度が高く右上に塊を作り高い再現性を示唆する元素がある。一方、Caより軽い元素の中には平均値は150ppm以上あるのに、1ppm以下と測定される例が小さい割合ながら存在する元素Na、Mg、Al、Si、Clがある。これらの元素については、10カ月間における毛髪中での量の大きな変動が考えられるので、再現性を高めるための工夫が必要と考える。Caより重い元素の中には残りの元素が検出限界値である1ppm以下が稀な元素Ti、Brと1ppm以下が大半の元素Sr、Pbがあるが、ともに再現性の観点からは、変動要因を特定するため実験的研究が必要と考える。母の散布図も同様の傾向を示している。一方、1ppm以下が多数存在する元素のために作成した分割表をみると、いずれも再現性についてはかなり悪いが、対角線に関し対称に近い元素と非対称の元素に分類される。子については、非対称の元素はCo、Ni、Ga、Se、I、Hgとあり、原因として母乳、人工乳の違いが考えられる(合阪)¹⁰⁾。一方、母については非対称の元素はAl、P、Cl、Ga、Se、Ag、Iがあり、これらについては10か月間の食事の影響が考えられるので、食事に関するアンケート調査結果を用いて、影響を考慮した統計解析を行う予定である。

参考文献

- 1) Kuroda et al. Epidemiological Assessment of Significance for hair Minerals Measured by PIXE Method. Proceedings of the World Congress on Engineering and Computer Science Vol II, WCECS 2010, October 20-22, 2010, San Francisco, USA
- 2) Saunders, T. et al. Effect of Biological Variability Incidental to PIXE-Hair Minerals on Risk Analysis of Atopic Dermatitis, Biometrie und Medizinische Informatik Greifswalder Seminarberichte Vol. 18, 127-139, 2011.
- 3) 津金昌一郎 小児発達期における毛髪内微量元素プロフィールについて 日衛誌 40巻 619-626, 1985.
- 4) Kamakura, H. A study of the characteristics of trace elements in hair of Japanes –Reference values and the trace elements patterns for determining normal levels, Japanese J. Hygiene Vol. 38, 823-838, 1983.
- 5) 尾立純子他 女子学生の毛髪中ミネラルの一考察 生活衛生 47巻 269-275, 2003
- 6) 西島重光 妊婦の毛髪ならびに血清ミネラル濃度に関する研究 日医大誌 53巻 225-241, 1986.
- 7) Zaichick, S., Zaichick, V. The scalp hair as a monitor for trace elements in biomonitoring of atmospheric pollution. International J. Environment and health Vol. 5, 106-124, 2011.
- 8) Senofonte O., Violante, N., et al. Assessment of reference values for elements in human hair of urban school boys, J. Trace Elements Med. Biol. Vol. 14, 6-13, 2000.
- 9) Di Toro, R. et al. Trace metals in the hair of mother-neonates pairs. Trace Elements and Electrocytes Vol. 11, 169-171, 1994.
- 10) 合阪幸三 母乳に含まれる微量元素とその意義 日本母乳哺育学会雑誌 2巻 2-9, 2008

謝辞

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

**PIXE analysis of mothers' and infants' hairs collected at medical checkups held
in Fukuoka city
4th report: reference values**

T. Saunders¹, S. Kuroda¹, T. Yamada², S. Goto³,
T. Takatsuji¹, T. Nakamura¹, K. Sera⁴ and Y. Nose⁵

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

²Mie University Graduate School of Medicine
2-174 Edobashi, Tsu, Mie 514-8507, Japan

³Nishina Memorial Cyclotron Center, Japan Radioisotope Association
348-58 Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0173, Japan

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

⁵Graduate School of Health Sciences, Kumamoto Health Sciences University
325 Izumi-machi Kumamoto 861-5598, Japan

Abstract

Although the incidence of atopic dermatitis (AD) was rare before the 1945, it has steadily increased to become a major health concern. According to a Japanese report from the Ministry of Health, Labour and Welfare, the number of AD patients in 2002, 2005 and 2008 were 280,000, 380,000 and 1,400,000, respectively. The itching caused by the irritation can be so severe as to prevent patients from leading productive lives and has even led to suicides. Unfortunately, neither preventive measures nor effective treatments have been established. The objective of this study was to determine the possible relationships between AD and the concentration of minerals in the hair of infants and mothers, as measured by the PIXE method.

PIXE was the only possible method to measure neonate hair minerals, since some of them had too few hair strands to apply the ICP method. We have completed PIXE measurements of hairs sampled at both one and ten month regular infant checkups of 842 mother-infant pairs. These PIXE measurements were linked to a detailed clinical examination results, a dietary questionnaire and any diagnosis of AD performed by pediatricians at the ten month check up.

Though journals were founded as far back as 30 years ago to examine the medical application of hair minerals, reference values for these minerals have not been well documented. The distribution of hair minerals can depend on such factors

as sex, age, race, hair analytes preparation method, subject's health condition and environment. To enhance clinical applications of the use of hair minerals, a greater data base and a deeper statistical consideration regarding the distribution of hair minerals of healthy subjects are required. Thus, this study reports reference values calculated from healthy mother-infant pairs in Fukuoka, a Japanese non-industrial city with mild temperatures and typical four seasons. The results show that no subjects were found to have unusually large amounts of any harmful minerals such as Hg, As, or Pb. Mothers showed higher amounts of Ca, Si, Cu, Sr, Hg, Pb and Ni than infants. On the other hand, infants showed higher amount of K, Cl, Al and Ti than mothers. These findings were inconsistent with those of Di Toro's (1994) 42 mother-neonate pairs. The reference values determined from our data also disagree with those of other reports concerning most minerals. We hope to clear up these discrepancies in future reports to provide unified results that can aid in the prevention and treatment of AD.

大気中浮遊物質に含まれる放射性同位元素と安定元素の関係

袁 軍¹、松本洋平²、本間 信²、世良耕一郎³、高辻俊宏¹

¹長崎大学大学院水産・環境科学総合研究科

852-8151 長崎県長崎市文教町1-14

²長崎大学大学院生産科学研究科

852-8151 長崎県長崎市文教町1-14

³岩手医科大サイクロトロンセンター

020-0713 岩手県岩手郡滝沢村滝沢宇留が森348-58

1 はじめに

本研究は、天然放射性同位元素の²¹⁰Pb、⁷Beと安定元素との関係を探ることで、大気中浮遊物の挙動を解明することが目的である。また、特徴的な元素がその浮遊物に付着していないかを調査し、放射性同位元素とどのような関係にあるのかを調べるものである。

前回の報告⁽¹⁾は、長崎市街地にある長崎大学環境科学部屋上での観測であった。2009年5月以降、大陸からの越境大気をとらえることを目的として、さらに西方の山上にある、ながさき県民の森に観測点に移された(図1)ので、そこで得た試料に含まれる²¹⁰Pbと、PIXEによる元素分析を前回同様に分析して比較した。また、エアロゾルの総質量を測定したり、安定鉛の同位体比を長崎大学にあるICP-MS装置を用いて測定したりした。このことについて報告する。

2 方法

2.1 試料採取

エアロゾル採取には、ハイボリュームエアーサンプラー柴田科学製AH600-Fとアドバンテック QR-100 シリカ繊維濾紙 203×254 mm を用いた。試料採取は、2007年12月～2009年5月にかけて行った。また、試料は1週間に渡って採取した。採取したサンプルを切り分け、切り分けたサンプルの4分の3をガンマエックス型ゲルマニウム半導体検出器に使用し、放射性同位元素を測定した。そして、残りの4分の1のうち、一部をPIXE分析用に使用し、残りを安定鉛の同位体比の測定などに使用した。

2.2 測定方法

濾紙は、吸湿性があるため、エアロゾルの質量測定には、除湿機能付きのデシケーター



図1. 環境科学部とながさき県民の森の位置関係

(サンブラテックオードデシケーターAM-3型 (オレンジ)) を用いた。

放射能の測定には、濾紙をポリエチレンラップに包み、金型に入れてからプレス器で円盤状に成形したのち軟膏容器に入れ、Ortec社GMXシリーズゲルマニウム半導体検出器を用いて行った。元素の測定は、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(NMCC)においてPIXEにより行った。安定鉛の同位体分析には、日立P-5000型質量分析計を用いた。鉛含有量の校正にはNIST SRM981鉛標準試料 (National Institute of Standards and Technology, U.S. Department of Commerce.) を用いた。

3 結果と考察

3.1 ながさき県民の森の各元素濃度とPb-210濃度の比較

ながさき県民の森の試料から検出された各元素を ^{210}Pb 濃度と比較した (図2-1~2)。季節変動が見られた元素が、Ti、Cr、Mn、Fe、Zn、nss-Sr、Rb、Pb、nss-Br、nss-Mg、Cu、Niであった。一方、季節変動が見られなかった元素はNa、Se、V、Zrであった。

黄砂が飛来してきたのは、2009年は2月20日、2月21日、3月17日、10月19日、12月26日であった。2010年は3月16日、3月20日、3月21日、4月27日、4月30日、5月4日であった。

ほぼ全ての元素濃度において黄砂時に上昇するピークが見られた。特に、Pb、Ti、Mn、

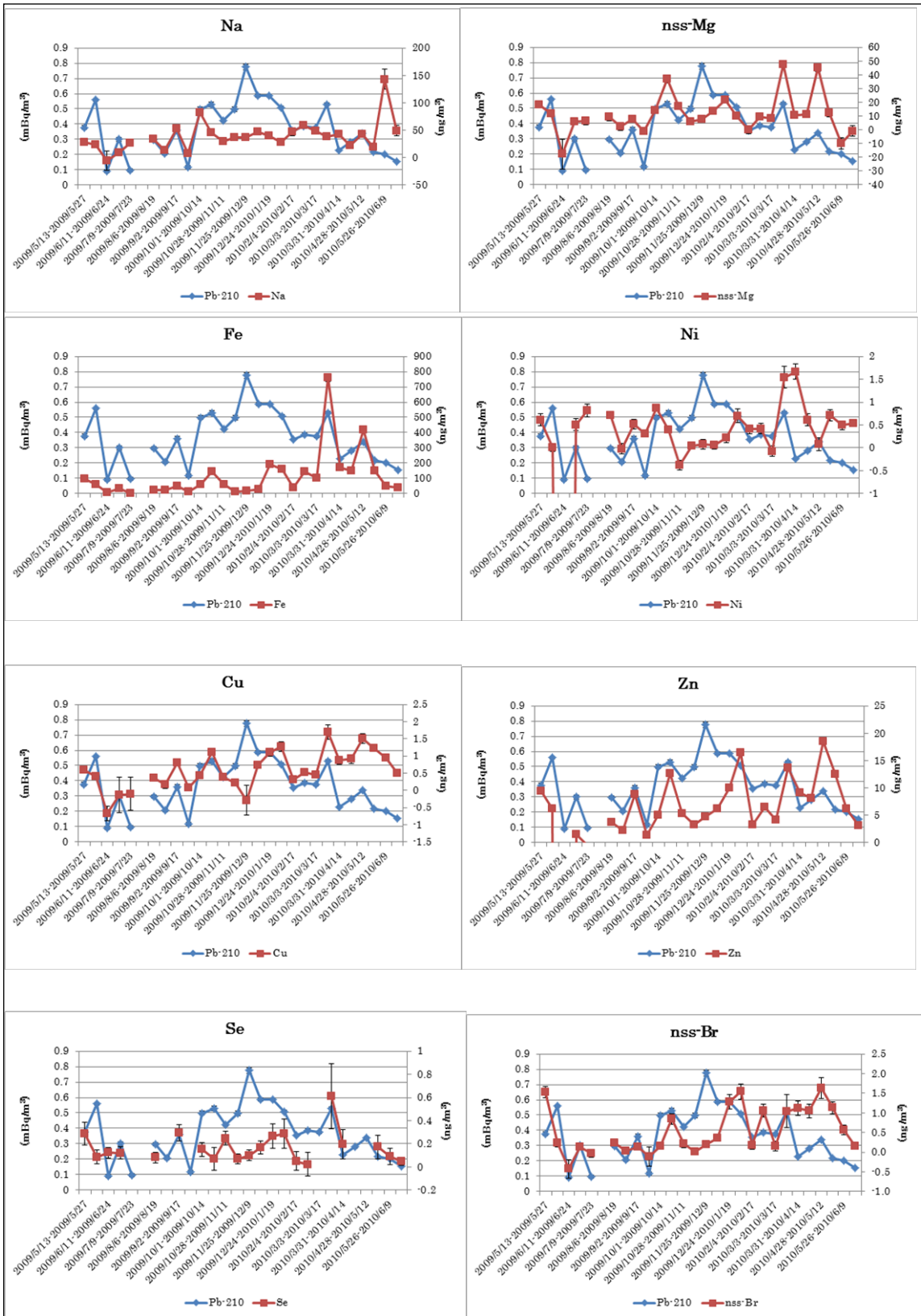


図2-1 ながさき県民の森における各元素と²¹⁰Pbの季節変動

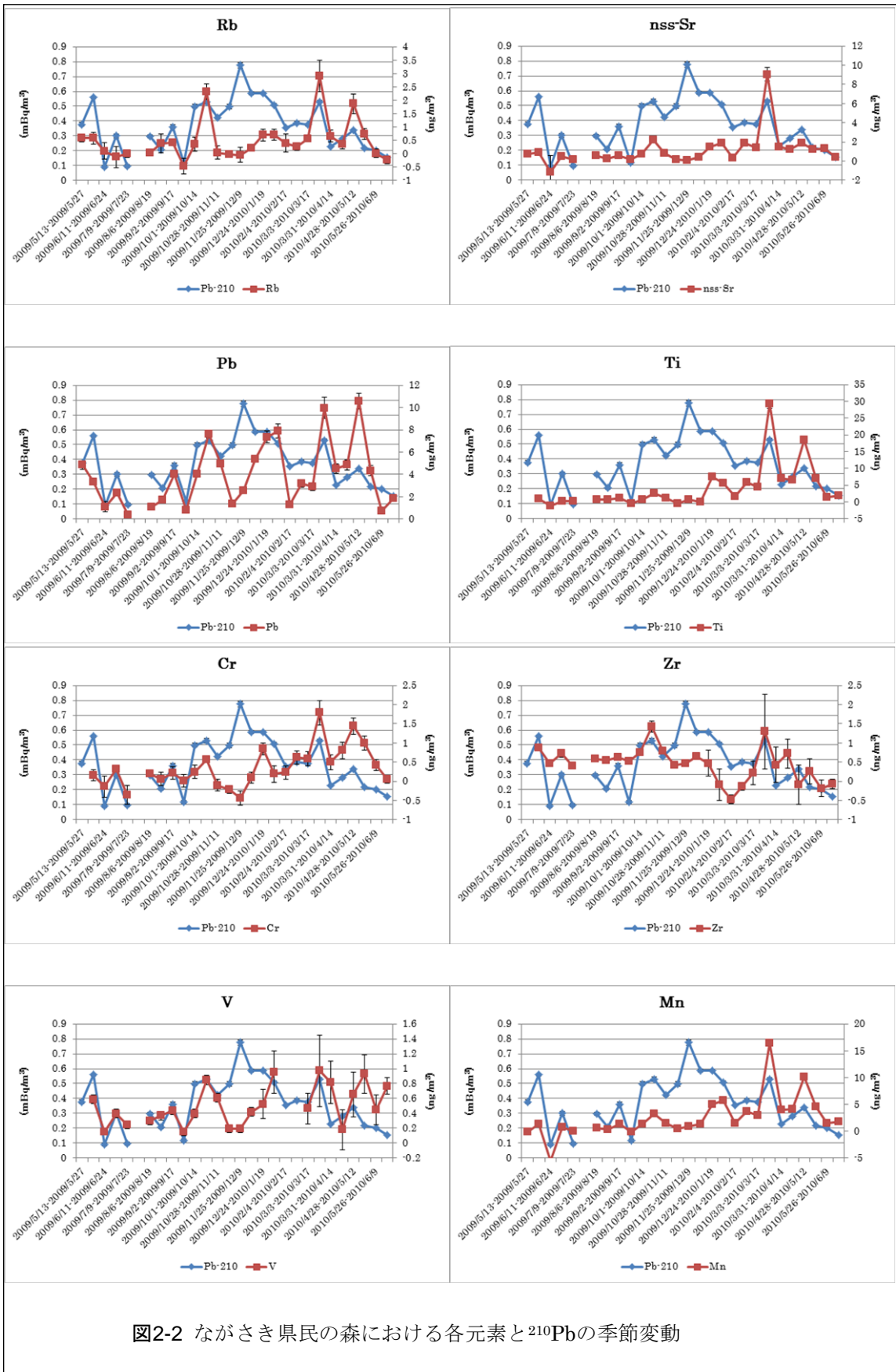


図2-2 ながさき県民の森における各元素と ^{210}Pb の季節変動

nss-Mg、Fe、Zn、Rb、Crには、はっきりとしたピークが現れた。一方、黄砂時に関わらず、濃度が一定であった元素はNaであった。

環境科学部屋上と異なり、各元素濃度と ^{210}Pb 濃度の連動は明瞭ではなかった。

3.2 ながさき県民の森と長崎大学環境科学部屋上の比較

図3は、前回報告の長崎大学環境科学部屋上とながさき県民の森のエアロゾル中元素濃度の比である。Pb、Rb、Niは、年間を通して、比が1に近いのに対して、環境科学部屋上で高濃度を示す元素がある。Naが夏場に大きいので、環境科学部屋上は、南風による潮風の影響があると考えられる。Cuのように年間を通して大きい元素もある。Nss-Brが夏に欠いているのは、環境科学部屋上において、マイナスの値を示したためである。

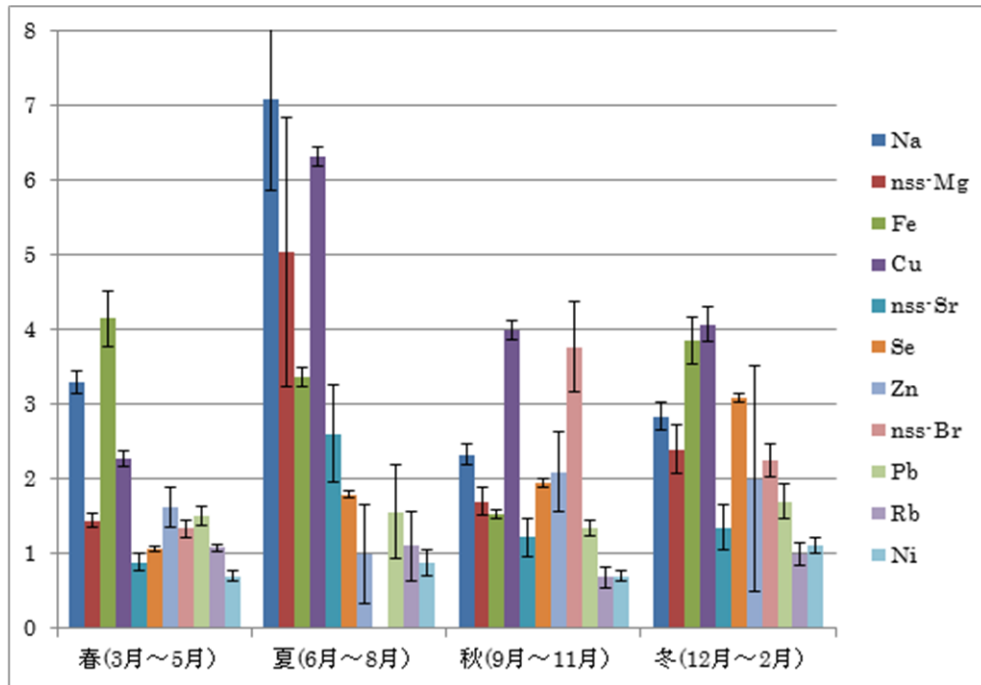


図3. 長崎大学環境科学部棟屋上とながさき県民の森のデータの比

図4は、ながさき県民の森と長崎大学環境科学部における ^{210}Pb 濃度を示している。長崎大学屋上のほうが、約2倍の濃度がある。アスファルトの路面や建物の屋根、モルタル塗りの地面などに降り積もったエアロゾルが風で再浮遊することがあるとすれば、両者に降り注ぐ ^{210}Pb の量に差がないとしても、ながさき県民の森のような森林地帯よりも、都市部の方が大気中の ^{210}Pb 濃度が高くなると考えられる。長崎大学屋上における ^{210}Pb 濃度をながさき県民の森の ^{210}Pb 濃度で割ったものが、この再浮遊による各元素の濃度の増幅率を表すのであれば、図3のグラフの値をこの比で割ったものは、再浮遊の影響を補正したものとなる。それを図5に示す。図5で値が1になるものは、再浮遊がないとすれば、長崎大学屋上とながさき県民の森で同じ量になると考え

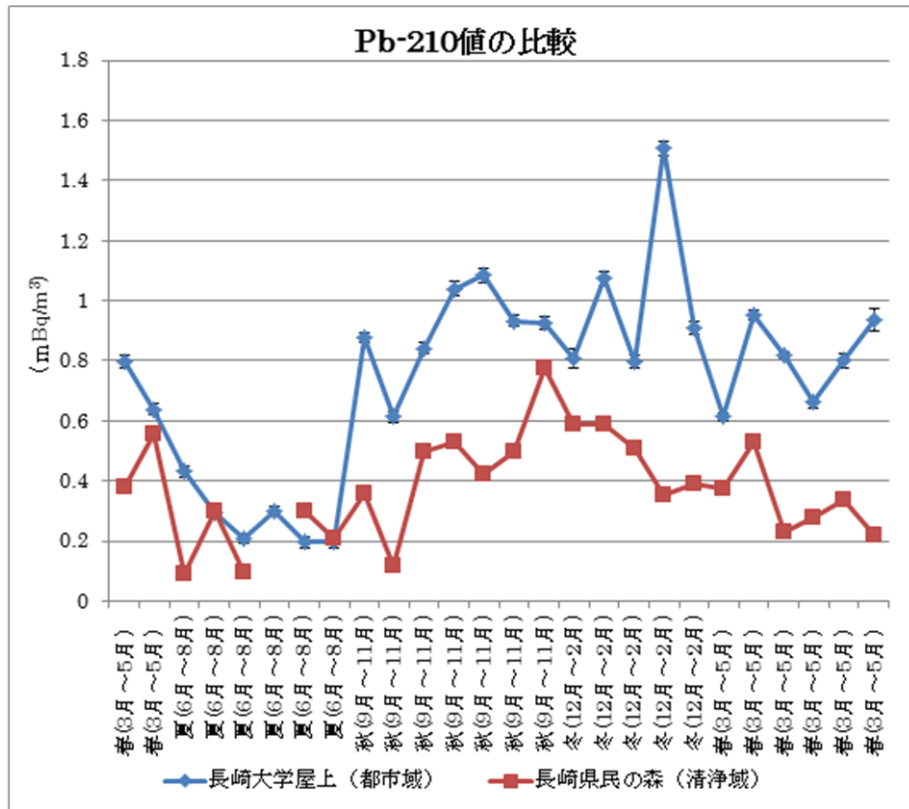


図4. 環境科学部と県民の森での²¹⁰Pb濃度の比較

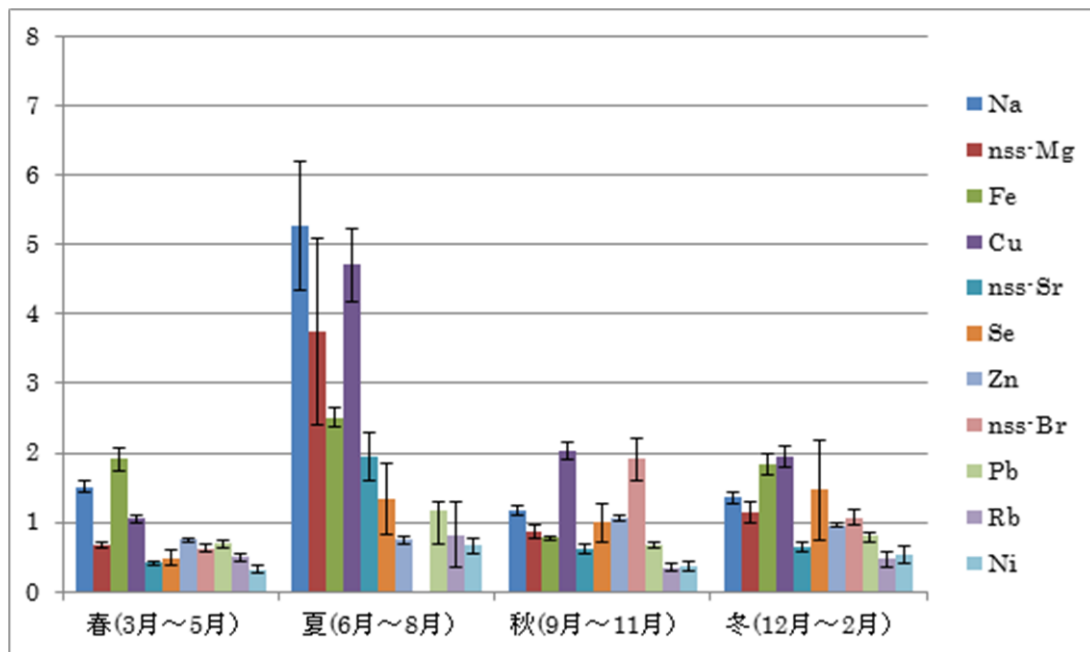


図5. 図3の値を²¹⁰Pb濃度の比で割ったもの。再浮遊の影響の補正を試みた。

られる。季節に関わらず、1に近くなるものは少なかった。Na、nss-Mg、Cuは夏に突出している。Naは夏に大学屋上で増加している。Nss-Mgの突出は、大学屋上における夏場の²¹⁰Pbの減少によるものであり、Cuはその中間である。これらの元素が²¹⁰Pbより再浮遊しやすいのであれば、大学屋上においては、県民の森とは違う発生源を有しているものと考えられる。このグラフで、1より著しく低い元素については、再浮遊の影響を受けないためであるかもしれない。

3.3 Pb-210濃度とエアロゾルの質量の関係

捕集した濾紙に含まれるエアロゾル質量と²¹⁰Pb放射能の関係を図6に示した。黄砂の時期に(b)の比が著しく上昇している。大陸から飛来してくるエアロゾルに²¹⁰Pbが多く付着していると考えられる。エアロゾルは粒径が小さいほど体積あたりの表面積が大きく、ストークスの式から示されるように、落下速度が小さいため長距離を飛行する。²¹⁰Pbの微粒子はエアロゾルの表面に付着し、滞空時間が長いほど多くの微粒子が付着するものと考えられる。エアロゾル質量と²¹⁰Pbの相関は、相関係数0.678、有意水準 1.563×10^{-2} であり、有意である。Pb-210の量は、エアロゾルの量と関係していることをはっきり示している。

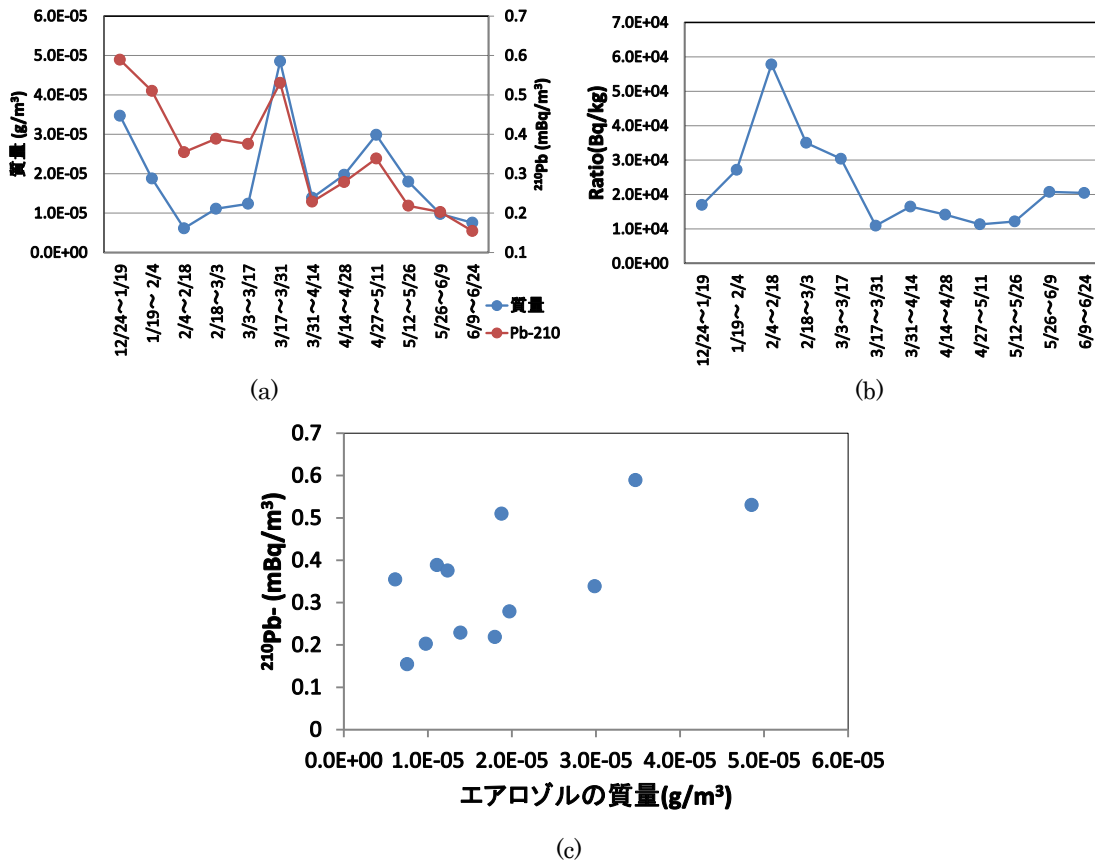


図6. (a) エアロゾルの質量と²¹⁰Pb濃度の関係。(b) 質量に対する²¹⁰Pb放射能の割合
(c) エアロゾル質量と²¹⁰Pb濃度の散布図

3.4 安定鉛同位体比と元素濃度の関係

鉛の安定同位体には、 ^{204}Pb 、 ^{206}Pb 、 ^{207}Pb 、 ^{208}Pb の4種類がある。天然放射性核種のうち、 ^{232}Th を起源とするトリウム系列は最終的に ^{208}Pb 、 ^{235}U を起源とするアクチニウム系列は ^{207}Pb 、 ^{238}U を起源とするウラン系列は ^{206}Pb となる。このことから、地殻形成の年代や環境の違いによって、これらの放射性核種が化学的性質に応じて移動したり集積したりすれば、当然、最終的に到達する鉛同位体の比率に差が出ると考えられる。

鉛同位体比は、図7のようになった。明確な季節変動はみとれない。しかし、 $^{204}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ 比は、2010年3月17日～3月31日のサンプルが他のサンプルと比べて、はっきりとした減少が見とれる。 Pb 濃度も3月17日～3月31日のサンプルは他のサンプルと比べて、濃度はか

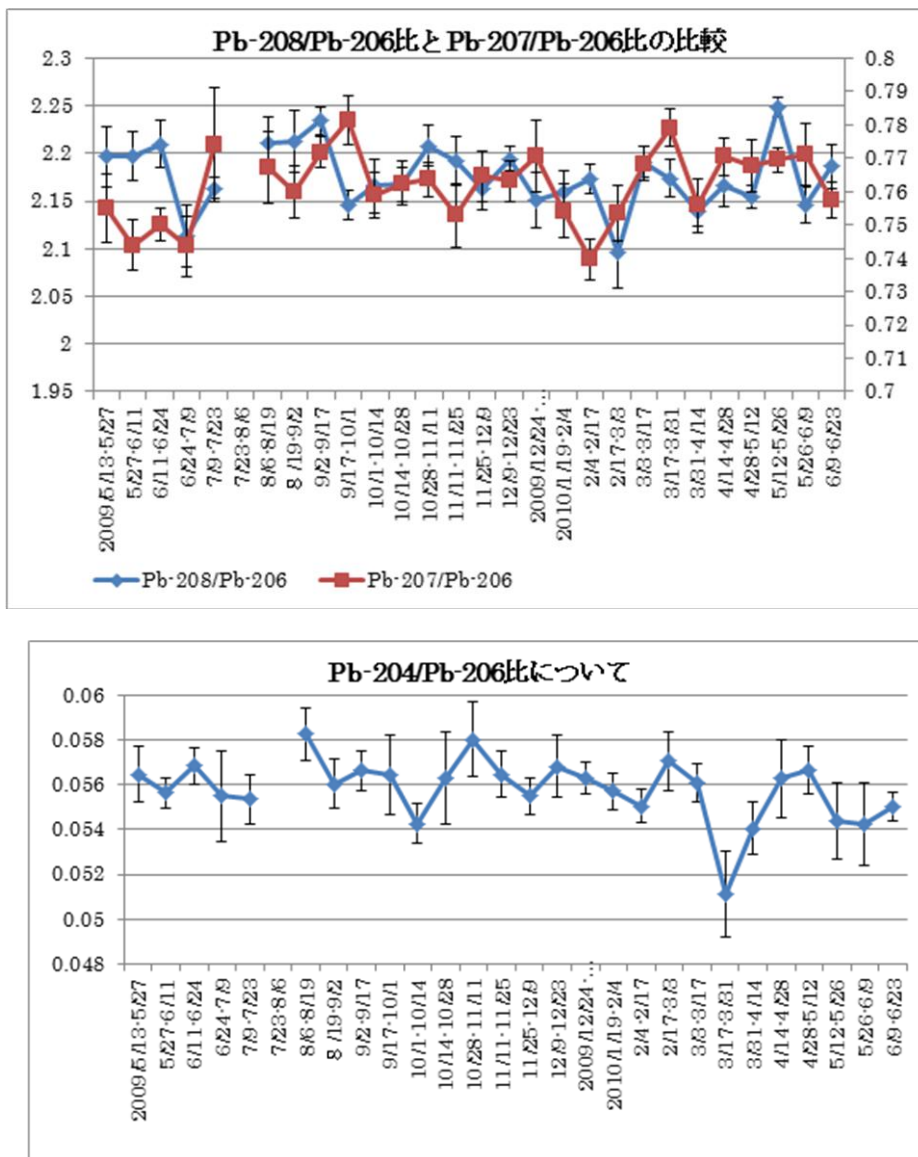


図7. 鉛の安定同位体比。上のグラフでは、 $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ 比は左の目盛、 $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ は右の目盛である。

なり高いほうである。このサンプル採取期間に黄砂が二度も飛来してきており、大陸からの影響をより強く受けた結果がこの減少につながったのではないかと考えられる。だが、他の黄砂飛来時に $^{204}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ 比の減少が見られなかったため、黄砂と $^{204}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ 比に関係があるとは断定できない。

それぞれの鉛同位体比の間に相関があるかどうか調べたが、有意な相関は見当たらなかった。よって、それぞれの比は独立した影響源を持ち、それぞれの影響源により値が上下していると考えられる。影響源は、風上における有鉛ガソリンの使用、地殻の違い、鉛鉱山の存在など、種々考えられる。

石炭の $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ 比が、土壌中の比よりも、大気中のエアロゾルに含まれる比よりも低いと文献にあった²⁾。つまり、 $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ 比が小さいということは、石炭燃焼由来のPbであったと考えることができる。よって、 $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ 比と各元素濃度との変動をみたときに有意だとすれば、その元素は大陸の石炭燃焼により発生したものと考えることができる。

そこで、ながさき県民の森で測定できた元素全てと $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ 比との関係を調べることにした。石炭を燃やすのは、主として、暖房のために秋から春(10月から3月)だと考えられるので、扱った元素濃度データは10月から3月までを用いることにした。

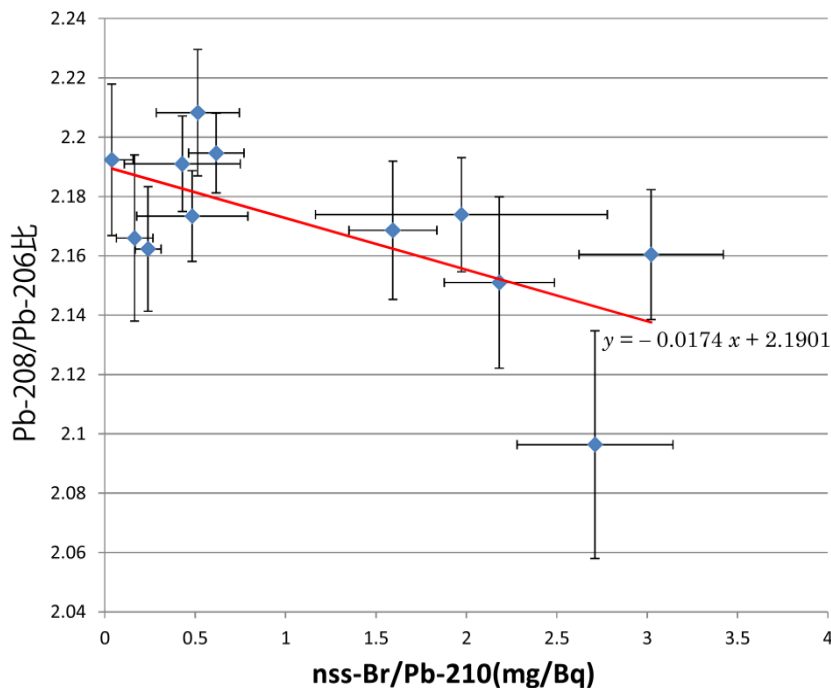


図8. nss-Br/ ^{210}Pb 比と $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ の安定同位体比の散布図

その結果、nss-Br/ ^{210}Pb 比と $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ 比は相関係数0.651、有意水準 2.19×10^{-2} という結果であり、相関があった(図8)。その他の元素と $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ 比には有意な相関は見当たらなかった。

謝辞

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

参考文献

- 1) 松本洋平, 本間信, 田浦慎太郎, 世良耕一郎, 高辻俊宏, 大気中浮遊物質に含まれる放射性同位元素と金属元素の関係, NMCC共同利用研究成果報文集16(2009), 138-151 (2010)
- 2) 田籠久也, 川村秀久, 松岡信明, 田脇紳次:鉛同位体比を用いた石炭火力発電所周辺の環境影響評価; 環境と測定技術.Vol.26 No.4, 20-24 (1999)

Relationship between radioactive isotopes and stable elements contained in the aerosol

J. Yuan¹, Y. Matsumoto², M. Honma², K. Sera³ and T. Takatsuji¹

¹Graduate School of Fisheries Science and Environmental Studies, Nagasaki University
1-14 Bunkyo-machi, Nagasaki 852-8521, Japan

²Graduate School of Science and Engineering, Nagasaki University
1-14 Bunkyo-machi, Nagasaki 852-8521, Japan

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

Abstract

We investigated relationships between the amounts of a natural radioactive isotope ^{210}Pb and the stable elements containing in the aerosol collected in Nagasaki Prefectural Forest Park and considered conceivable behavior of the aerosol comparing with that collected in the Nagasaki City urban district.

Amounts of ^{210}Pb in the park was about half of the urban district. Amounts of almost elements were very much higher at the urban district. Strong correlations were not observed at the forest between ^{210}Pb and stable elements contrary to the urban district. The situations suggest that the fallen aerosol refloat more easily at the urban district than the forest.

Amount of ^{210}Pb per unit mass of the aerosol was largely increased at the season of “Yellow dust”. It suggests small aerosol particles floating the atmosphere for long distance and long time contain large amount of ^{210}Pb particles.

Ratio of stable lead isotopes was investigated in the aerosol and correlation between other elements was investigated. $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ ratio and $\text{nss-Br}/^{210}\text{Pb}$ ratio showed inverse correlation. It suggests Br emission from coal combustion has measurable environmental impact.

脊柱側弯症術後の血液・毛髪内チタン濃度に関する検討

内村瑠里子¹、山崎 健¹、村上秀樹¹、吉田知史¹

嶋村 正¹

世良耕一郎²

¹ 岩手医科大学医学部 整形外科学講座
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

1 はじめに

脊柱側弯症手術に用いるチタン (titanium ; 以下 Ti) 合金インプラントは、固定範囲が広範で、かつ体内留置が長期となるため、周囲組織、各種臓器などへの Ti の遊離や蓄積が危惧される。今回、われわれは Ti 合金インプラントを留置した脊柱側弯症患者 (以下、患者群) の血清・毛髪内 Ti 濃度を測定し、Ti 合金インプラントの生体への影響に関して検討したので報告する。

2 対象および方法

本研究の実施に際しては、岩手医科大学倫理委員会において承認を得た。また、生体試料採取や測定に関しては対象者から書面による同意を得て実施された。

患者群 64 名 (女性 55・男性 9 名、平均年齢 18.6±5.0 歳)、対照群は体内に Ti 合金インプラントの埋入歴がない 36 名 (女性 32・男性 4 名、平均年齢 22.8±4.3 歳) とし、採取は 1 回のみとした。体内留置 Ti 総量は平均 154.5±62.6g (50.9~355.1g) であった。

検体は静脈血 5 ml と毛髪 7~8 本 (頭皮表面から切離) を採取し、イオン励起 X 線分光光度法 (particle induced X-ray emission ; 以下 PIXE) 法にて Ti 濃度を測定した。PIXE 法は全く手を加えない毛髪に直接イオンビームを照射し定量分析を行うものであり、他法と比べ試料調製の手順は著しく軽減される。さらに試料調製に伴う不確定要素が排除されるため、極めて精度の高い結果を与えることが可能である。

術後経時的に 2 回の毛髪採取が可能であった 14 例の患者について検討した、初回の平均経過期間は 37.5±18.7 カ月 (7~80 カ月)、2 回目採取時の平均経過期間は 51.6±22.8 カ月 (17~94 カ月)、初回と 2 回目の間隔の平均は 13.6±7.3 カ月 (6~31 カ月) であった。初回採取時の断端部、2 回目採取時の断端部、断端より

3cm 及び 6cm のそれぞれの Ti 濃度を測定し、断端部は直近の、断端部より 3cm 及び 6cm の部位はそれぞれ 3 及び 6 ヶ月前の生体内 Ti 濃度を反映するものとして計 4 時点における経時的变化を検討した。毛髪内 Ti 変化量は症例個々における 4 時点の最大値と最小値の差とした。対照群も同様に初回採取時の毛髪断端部、断端より 3cm 及び 6cm のそれぞれの Ti 濃度を測定し、計 3 時点における経時的变化を検討した。

患者群と対照群について以下の 5 項目を検討した。

- (1) 患者群と対照群の血清・毛髪内の Ti 濃度の比較
- (2) 留置 Ti 総量と血清・毛髪内 Ti 濃度との相関
- (3) 術後経過期間と血清・毛髪内 Ti 濃度との相関
- (4) 6 名の同一患者の血清・毛髪を用いた術直前（術前 1 ヶ月以内）と術後早期（術後 12 ヶ月未満）の毛髪内 Ti 濃度の比較
- (5) 14 例の術後毛髪内 Ti 濃度の経時的变化

両群間の比較には Mann-Whitney U 検定を、相関の検討には Spearman の順位相関係数検定を用い、有意水準は危険率 5%未満とした。

3 測定方法

2~3cm、7~8 本の毛髪をアセトンで洗浄後、ターゲットホルダー（パナック株式会社、東京）に直接貼りつけた。そのターゲットに直接 2.9MeV の陽子ビーム（70~12w0nA）を照射し、発生した X 線を 2 台の Si(Li) 半導体検出器（一台は 300 μ m ポリスチレンの X 線吸収体を装着、もう一方は吸収体なし）で同時に検出することにより¹⁾、Na 以上の全元素の測定が 5 分程度の照射で可能となった。

血清試料は内部標準法²⁾に基づき調製・分析が行われた。試料に 1000ppm の原子吸光分析用 In (indium ; 以下 In) 標準液 (和光純薬 大阪府) を 100ppm になるように加え、Vortex ミキサー (IKA-Works Staufen, Germany) で均一化した後、バックリング膜として用いる 4 μ m プローレンフィルム (IKA-Works Staufen, Germany) 上に 5 μ L 滴下し、クリーンベンチ内で数時間乾燥させターゲットとした。照射条件・時間はほぼ毛髪試料と同様であるが、機知濃度の In ピークを基準とし、上記 3 つの物理量から他元素の濃度を求める手順とした。

スペクトル解析としては、同センターで開発され多施設で使用されている SAPIX (spectrum analysis for PIXE)^{3,4)}を用いて行われ、定量計算プログラムとしてはやはり同センターで開発された KEI (keisan)³⁾が用いられた。後者においては、上記 3 つの物理量がデータファイルから読み込まれ、内部標準元素もしくは指標元素とのピーク収量の比から、全元素濃度が求められる。血清・毛髪各々の検出限界値は、統計誤差を反映する誤差行列系統的誤差から 0.02 μ g/g 程度と見積もられたため、検出限界値以下の試料に対しては 0.02 μ g/g とした。

4 結果

(1) 患者群と対照群の初回採取時の血清・毛髪内 Ti 濃度を比較した結果、血清 Ti 濃度は患者群では $0.18 \pm 0.26 \mu\text{g/g}$ (0.02~1.00 $\mu\text{g/g}$)、対照群では $0.13 \pm 0.18 \mu\text{g/g}$ (0.02~0.90 $\mu\text{g/g}$) であった。(Fig 1 a) 毛髪内 Ti 濃度は患者群では $17.43 \pm 14.36 \mu\text{g/g}$ (1.22~72.40 $\mu\text{g/g}$)、対照群では $14.86 \pm 5.39 \mu\text{g/g}$ (4.67~35.89 $\mu\text{g/g}$) であった。血清、毛髪とも患者群で軽度高値を呈したが、対照群との間に有意差を認めなかった (Fig 1 b)。

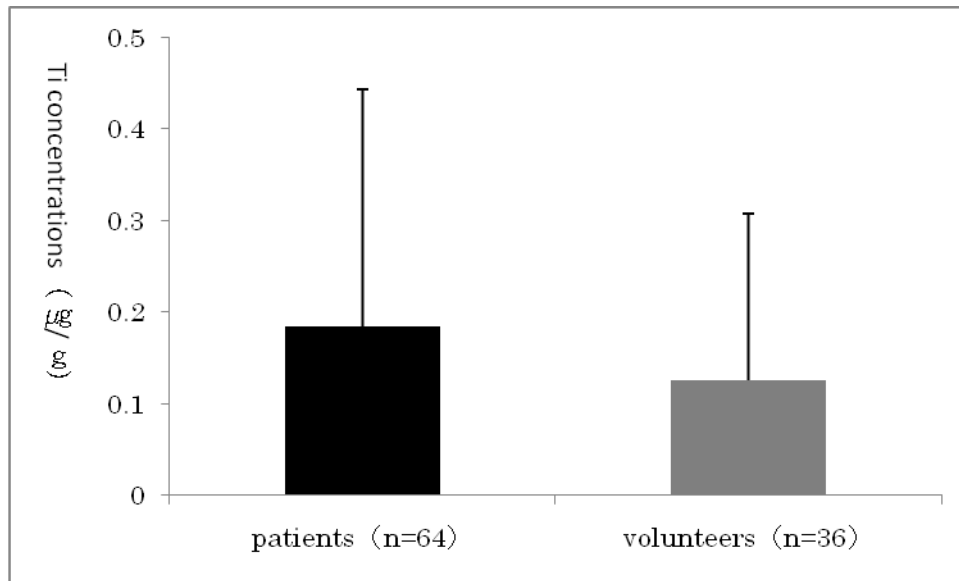


Fig 1 a

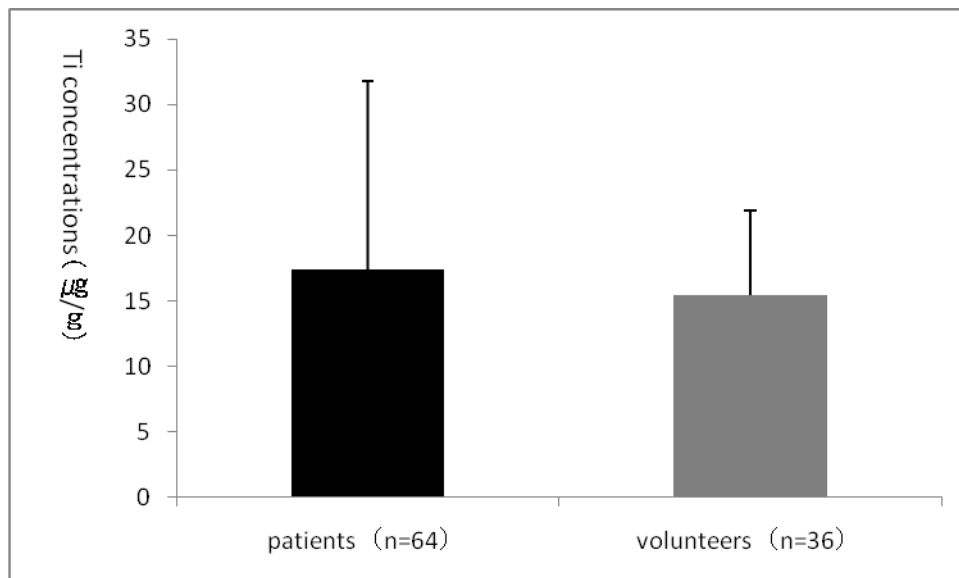


Fig 1 b

(2) 患者群 64 名について留置 Ti 総量と血清及び毛髪断端部 Ti 濃度との相関を検討した結果、血清では $r=-0.27$ 、 $p=0.03$ 、毛髪では $r=0.07$ 、 $p=0.57$ で相関は認められなかった。

(3) 患者群 64 名について術後 114 カ月までの経過期間と血清及び毛髪断端部 Ti 濃度との相関を検討した結果、血清では $r=-0.01$ 、 $p=0.96$ 、毛髪では $r=-0.22$ 、 $p=0.08$ で相関は認められなかった。

(4) 同一患者 6 名の術直前(術前 1 カ月以内)と術後早期(術後 12 カ月未満)の毛髪 Ti 濃度の比較では、術直前では $10.69 \pm 6.53 \mu\text{g/g}$ ($0.32 \sim 17.96 \mu\text{g/g}$)、術後早期では $26.90 \pm 14.99 \mu\text{g/g}$ ($2.04 \sim 40.71 \mu\text{g/g}$) で、術直前より術後早期に高値を示した ($p=0.03$) (Fig 2)。

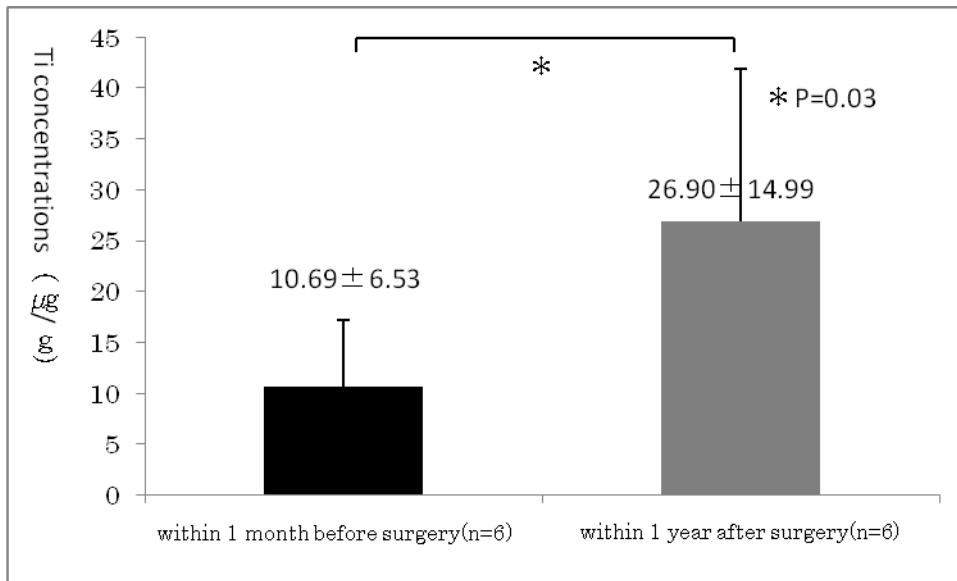


Fig 2

(5) 毛髪を経時的に2回採取できた14名の患者について、毛髪内Ti濃度の経時的变化を検討した結果、術後36ヵ月以後に比べ36ヵ月未満において特に濃度変化量に大きな変化が認められたことから (Fig 3)、36ヵ月で区切り、前後の変化量を比較した結果、36ヵ月未満では $25.26 \pm 6.34 \mu\text{g/g}$ ($16.68 \sim 30.22 \mu\text{g/g}$)、以後では $8.10 \pm 2.82 \mu\text{g/g}$ ($4.19 \sim 13.45 \mu\text{g/g}$) で36ヵ月以後に比べ36ヵ月未満の変化量が有意に大きかった ($p=0.005$) (Fig 4)。

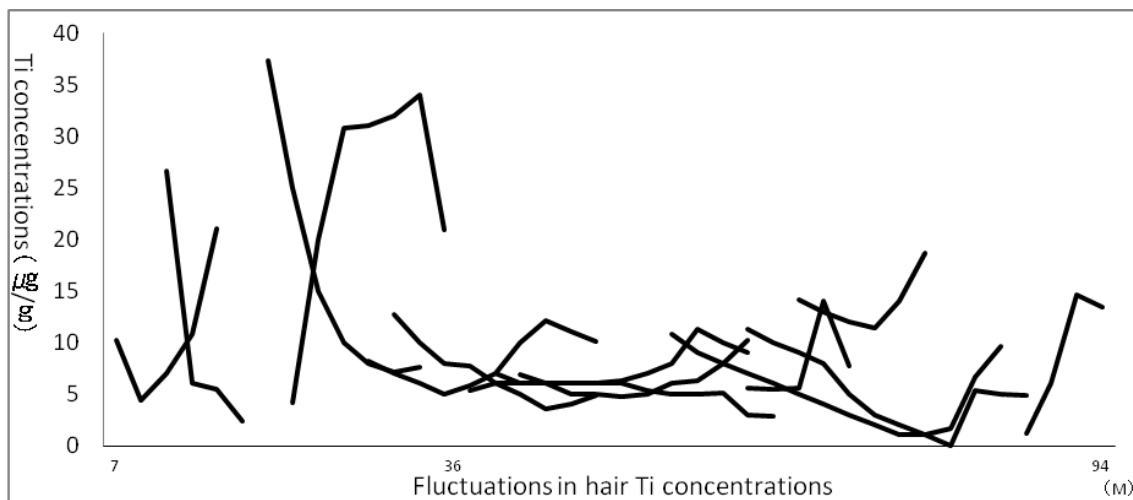


Fig 3

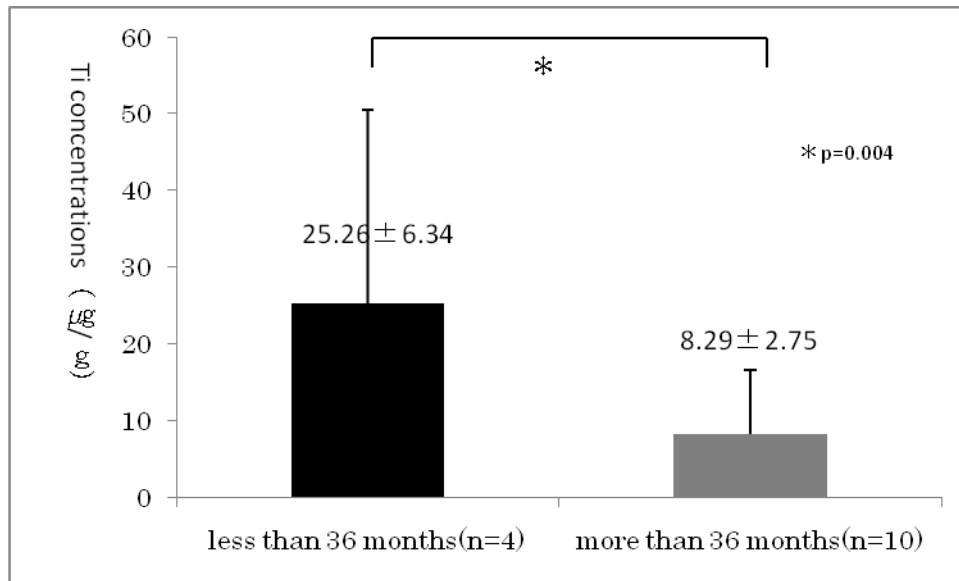


Fig 4

36 ヶ月未満は対照群の変化量 $12.57 \pm 11.14 \mu\text{g/g}$ ($1.93 \sim 57.47 \mu\text{g/g}$) に比べ高値を示した ($p=0.01$)。36 ヶ月以後は対照群の変化量と有意差を認めなかった (Fig 5)。

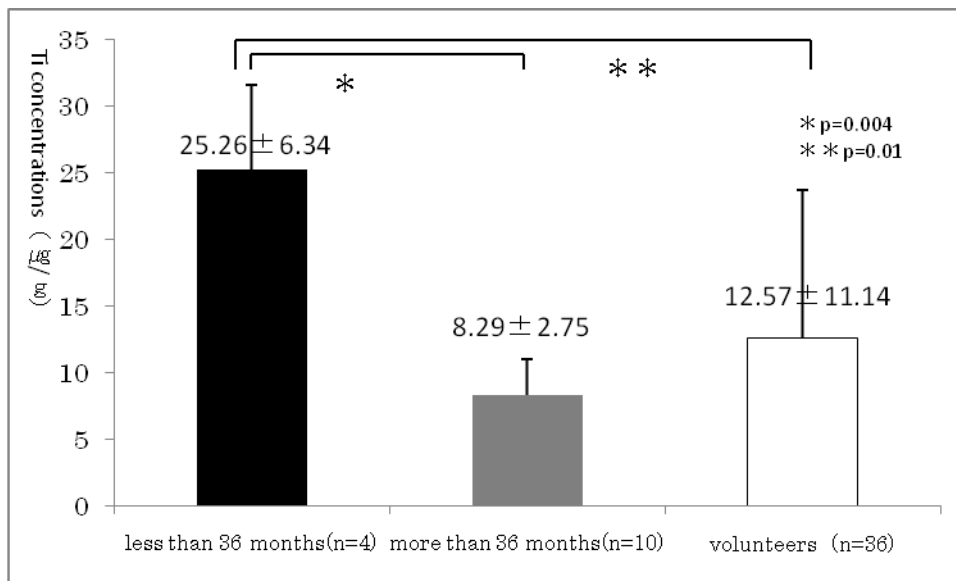


Fig 5

5 考 察

脊柱側弯症の手術では術中のインプラントベンディング・設置操作と術後の広範インプラント長期留置を要するため、不動態被膜が損傷され、溶出と摩耗粉の体内 Ti 蓄積による全身への影響が懸念される。Richardson らは、Ti 合金インプラントの後方矯正固定患者の血清 Ti 量は対照群と比較して高値であったと報告している⁵⁾。高橋らは、Ti 合金は機械的ストレス下では不動態被膜が剥離されやすくなり、溶出や摩耗粉が発生しやすくなると報告している⁶⁾。

Ti は体内にとって必須元素でも微量必須元素でもなく、現在 Ti の体内量やその分布、摂取、代謝、排泄などについては明らかではない。バイオマテリアルから微量溶出した Zn (zincum ; Zn)、Cr (chromium ; Cr)、

Se (selenium ; Se) などの必須微量元素は、タンパクと結合して血液・リンパ液に移行し、各臓器に輸送されるとされている⁷⁾ (Fig 6)。

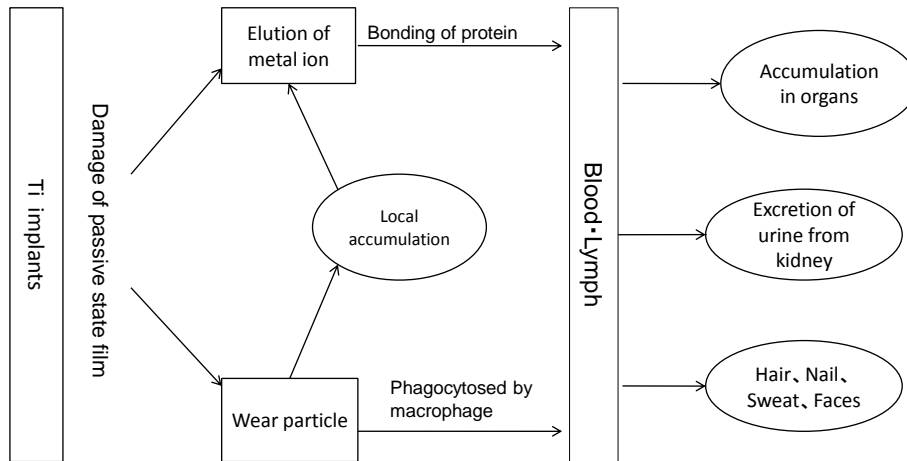


Fig 6

Liu らは、溶出した金属イオンはタンパクと複合体を形成し、尿や便、唾液や汗として排出されると推察している⁸⁾。また、摩耗粉はマクロファージにより貪食され局所へ蓄積されると報告されている⁷⁾。よって局所へ蓄積された摩耗粉より再度溶出がおこるというサイクルを繰り返す、これがタンパクと複合体を形成し、血液やリンパ液に移行し体内循環によって各種臓器に蓄積、あるいは毛髪や爪、尿、汗、便へ移行すると考えられる。

本研究では、患者群と対照群の血清・毛髪断端部内 Ti 濃度は、いずれも両群間に有意差を認めなかった。

Bianco らは、Ti のフェルト繊維のウサギ脛骨埋入実験で、埋入 1 年後にコントロール群の血清・尿との間に Ti 量の差を認めず、その原因は埋入材からの溶出量は著しく高値ではなく、測定可能な値以下のためと報告している⁹⁾。本研究において血清・毛髪断端部内 Ti 濃度で患者群と対照群の間に有意差がなかったことより、インプラント由来の Ti 溶出は極微量であったものと考えられる。

術直前(1 ヶ月以内)と術後早期(12 ヶ月未満)の毛髪内 Ti 濃度の比較では、術後早期に高値を示した($p=0.03$)。術後 2 回毛髪採取例の Ti 濃度の経時的変化では、36 ヶ月未満の変化量は 36 ヶ月以後に比べ高値であった($p=0.005$)。対照群の変化量との比較では、36 ヶ月未満で高値を示し($p=0.01$)、36 ヶ月以後では有意差を認めなかった。人工関節の Ti 合金インプラントは摺動部の対摩耗性が弱く、一度傷がつくとそこから摩耗が進行することが報告されている¹⁰⁾。また、骨とインプラント間やインプラントとインプラント間の表面に生じる摩擦摩耗をまねく微小運動(以下、マイクロモーション)は良好な骨癒合により減少することが知られている¹¹⁾。

術後早期の毛髪内 Ti 濃度増加は、術中のスクリュー設置やロッドベンディング、コネクタ締結などの手術操作によるインプラント表面の微細損傷による摩耗粉と溶出の影響があると推察する。36 ヶ月未満では手術操作の影響、骨癒合未完了時期のマイクロモーション、あるいはその両者による変化量の増大と解釈する。

本研究ではインプラントからの Ti 溶出は長期経過においては極微量と考えられ、近年報告されている Ti アレルギー¹²⁾のような有害事象も現時点では認めておらず、Ti 合金インプラントの長期留置による生体への

不適合性の存在は否定的であることが示唆された。

参考文献

- 1) Sera K, Yanagisawa T, Tsunoda H, et al. : Bio-PIXE at the Takizawa facility (Bio-PIXE with a baby cyclotron). *J PIXE*, 2-3, 325-330, 1992.
- 2) Futatsugawa S, Hatakeyama S, Saitou Y, et al. : Present status of NMCC and sample preparation method of biosamples. *J PIXE*, 3-4, 319-328, 1993.
- 3) Sera K, Futatsugawa S : Personal computer aided data handling and analysis for PIXE. *Nucl instr and meth, B* 109/110, 99-104, 1996.
- 4) Sera K, Futatsugawa S : Spectrum analysis taking account of the tail, escape functions and sublines. (SAPIX version 4). *J PIXE*, 10-3, 101-114, 2000.
- 5) Richardson TD, Pineda SJ, Strenge KB, et al. : Serum titanium levels after instrumented spinal arthrodesis. *Spine* 33, 792-796, 2008.
- 6) 高橋好文, 小南克子, 青山哲也, 他. : 試作チタン合金 2 種 (Ti-5Nb-5Ta, Ti29Nb-13Ta-4.6Zr) からの組成金属の溶出と細胞毒性について. *愛知大歯誌* 42, 337-344, 2004.
- 7) 佐藤温重: バイオマテリアルと生体 副作用と安全性, pp. 48-61, 中山書店, 東京, 1998.
- 8) Liu TK, Liu SH, Chang CH, et al. : Concentration of metal elements in the blood and urine in the patients with cementless total knee arthroplasty. *Tohoku J Ext Med* 185, 253-262, 1998.
- 9) Bianco PD, Ducheyne P, and Cuckler JM : Titanium serum and urine levels in rabbits with a titanium implant in the absence of wear. *Biomaterials* 20, 1937-1942, 1996.
- 10) 浜中人士 : 生体用金属材料の開発と応用. *バイオマテリアル-生体材料*, pp50-52, 日本医学館, 東京, 2005.
- 11) 酒井利奈, 佐藤祐輔, 糸満盛憲, 他. : マイクロモーションと von Mises 応力によって評価した Al-Hip cementless stem 有限要素モデルの初期固定性. *バイオメカニズム会誌* 33, 73-79, 2009.
- 12) Lalor PA, Revell PA, Gray AB, et al. : Sensitivity to titanium. *J Bone Joint Surg* 73-B, 25-28, 1991.

Serum and hair titanium concentrations after scoliosis surgery

R. Uchimura¹, K. Yamazaki¹, H. Murakami¹, S. Yoshida¹,
T. Shimamura¹ and K. Sera²

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

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

Abstract

Posterior spinal fixation using titanium implants is a common procedure for correcting scoliosis. Surgical intervention for scoliosis is usually performed while the patient is in the teen-age years and the titanium implants remain in situ for the rest of the patient's life. However, the long-term consequences of titanium implants are unclear. We investigated the associations among serum and hair titanium concentrations and spinal implants. Serum and hair samples were collected from 64 scoliosis patients and 36 unaffected volunteers. Titanium concentrations were measured using particle-induced X-ray emission. The mean serum and hair titanium concentrations were slightly higher in patients than those in volunteers, although this difference was not statistically significant. The mean concentrations of titanium elution due to implant wear during a mean of 41.3 months after surgery was extremely small. Hair titanium concentrations were found to be increased early after surgery. These findings suggest that damage due to implant wear and titanium debris from surgery resulted in increased hair titanium concentrations. However, the fluctuation began to decrease more than 36 months after surgery. This decrease appears to be of the result of the decreasing of micromotion during the union period.