

海藻に濃縮される微量重金属元素の PIXE 分析

阿部尚人¹⁾、須藤重人²⁾、世良耕一郎³⁾、斉藤義弘⁴⁾、吉田尚弘^{1),5),6)}、工藤孝浩⁷⁾

1) 東京工業大学 大学院総合理工学研究科 環境理工学創造専攻
226-8503 神奈川県横浜市緑区長津田町 4259

2) 独立行政法人 農業環境技術研究所 地球環境部 温室効果ガスチーム
305-8604 茨城県つくば市観音台 3-1-3

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

5) フロンティア創造共同研究センター
226-8503 神奈川県横浜市緑区長津田町 4259

6) 独立行政法人 科学技術振興機構
332-0012 埼玉県川口市本町 4-1-8 川口センタービル

7) 神奈川県水産総合研究所
238-0237 神奈川県三浦市三崎町城ヶ島養老子

1. はじめに

海水中に存在する重金属元素の濃度は通常 ppb 以下のレベルである¹⁾が、沿岸域では河川を通じて人為起源からの流入が起こるため高く^{2),3)}、そこに生息する海洋生物への重金属元素濃縮が生じる^{4),5)}。その中には人間が食品として摂取する生物も含まれ、重金属元素が濃縮した海産物を摂取し続けた人間に深刻な健康障害⁶⁾をもたらす場合もあるので、海洋生物への重金属元素濃縮についての知見を得ることは重要である。その中でも海藻は人間に直接摂取されるのみならず、食物連鎖上位の生物に捕食されてさらに重度の濃縮を引き起こすので特に重要である。一方、海藻の重金属濃縮能は沿岸域における重金属汚染の改善に応用できる可能性があるかと本研究者は考えており、手法開発への初期段階として海藻への重金属元素濃縮についての知見を得ることが必要であるが、海藻への濃縮が確認されている元素の種類は現在のところ限られている^{7),8)}。本研究では海藻中に含まれる多種類の重金属元素の濃縮過程を解することを目的として、PIXE 法による多元素同時分析を行った。また海藻中濃度と海水中濃度との比較を行って両者の関連性についても検討した。

2. 実験手法

2.1 サンプリング

2003年8月に東京湾沿岸の5ヶ所で海藻及び海水を採取した。採取地点をFig.1に示した。採取した海藻の種名をTable.1に示した。

Table.1：海藻試料

分類	種名	試料数
紅藻類	オキツノリ	4
	ケイギス	1
	ショウジョウケリ	1
	ツノマタ	1
	ヒヂリメン	1
褐藻類	アラメ	3
	ウルシグサ	1
	カジメ	1
	クロメ	1
	ホンダワラ	1
緑藻類	ミル	2
海産種子植物	コアマモ	1



Fig.1：試料採取地点

採取した海水は海藻採取場所の表面海水である。東京湾は湾奥に向かうほど外部との海水交換が少なく閉鎖性が増す⁹⁾ので、Fig.1に示された各サイトで採取した海水の重金属元素濃度には有意な差が存在すると推測された。

2.2 試料の保存方法

2.2.1 海藻試料

海藻は採取場所の海水で砂や泥を洗い流し、海水で湿らせた新聞紙で包み、ポリエチレン製のサンプル袋に封入した。それを保冷剤入りのクーラーボックスに入れて4℃で保存し、実験室に持ち帰った。実験室でプラスチック製ピンセットを用いて付着物及び腐敗している部分を除去し、再度ポリエチレン製のサンプル袋に入れ、前処理を行うまで-20℃で冷凍保存した。

2.2.2 海水試料

海藻採取場所の表面海水をポリエチレン製バケツで採取し、とも洗いした保存容器中に保存した。海水試料には採取後すぐに濃硝酸[Nitric Acid 1.38]：(特級試薬 和光純薬工業製)を海水1Lにつき8mLの割合で添加し、pH試験紙を用いてpH値が1以下に保たれていることを確認した¹⁰⁾⁻¹²⁾。海水試料は直射日光を避けて実験室に持ち帰り、分析を行うまで4℃で冷蔵保存した。不純物の混入を防ぐため、海水試料保存容器には1N HNO₃に一晩以上漬けた後に超純水で数回洗浄したものを使用した。

2.3 PIXE ターゲットの作成

2.3.1 海藻試料

冷凍保存しておいた海藻を常温に戻した後にオーブンに入れ、75°Cで12時間乾燥させた。乾燥させた試料を粉碎機に5分間かけて微粉末化した。PTFE製のミク로스パーテルを用いて海藻粉末を50mg秤量し、テフロン製容器に入れた。これに濃硝酸[Nitric Acid 1.38]：(特級試薬 和光純薬工業製)を1 mLと内部標準元素としてIn標準液(1000mg In/L、和光純薬工業製)を試料乾燥重量に対して1000ppmになるように添加した。テフロン製容器は使用前にエタノールでよく拭いて汚染混入を防いだ。試料を入れたテフロン製容器をポリプロピレン製外装容器に封入し、マイクロ波オーブンにて170W 2分間、0W 10分間、170W 2分間、0W 1時間 という加熱を行った。プラスチック製ターゲットホルダに厚さ4 μ mのポリプロピレン製バックリングフィルムをのりで貼り付けてフィルムの両面をアセトンで洗浄したものをサンプルホルダとした。調整された試料溶液5 μ Lをサンプルホルダのフィルムの表側に滴下して室温で乾燥させたものをPIXEターゲットとした。

2.3.2 海水試料

内部標準元素としてIn標準液(1000mg In/L、和光純薬工業製)を試料重量に対して20ppmになるように添加した。調整された試料溶液15 μ Lをサンプルホルダのフィルムの表側に滴下して室温で乾燥させたものをPIXEターゲットとした。

2.4 PIXE 分析

作成したPIXEターゲットを真空チャンバー内に入れ、小型サイクロトロン(島津 MCY-1750)からの2.9MeV重陽子ビームを照射し、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)半導体検出器で同時に測定してスペクトルを得た¹³⁾。スペクトルを観測した際のビーム電荷値は28-78 μ C、照射時間は10分前後であった。スペクトルのピーク面積を解析するには解析プログラムSAPIX¹³⁾を用いた。

3. 結果と考察

3.1 海藻試料の PIXE 分析結果

海藻試料を PIXE 分析にかけたところ、13 種類の重金属元素 (Ti, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Y, Nb, Mo, Pb) の濃度が測定された。測定結果は [平均値 ± 標準偏差] という形で表されるが、その平均値に関して海藻種ごとの最小値、最大値、平均値を算出した。算出結果を Table. 2 に示した。

Table. 2 : 元素濃度の最小値・最大値・平均値 算出結果 [μ g/g, DW]

種類 元素種	紅藻類				褐藻類				緑藻類				測定結果(n=1)
	最小値	最大値	平均値	試料数	最小値	最大値	平均値	試料数	最小値	最大値	平均値	試料数	
Ti	6.5	108	38.9	8	2.3	54.8	15.9	6	204	297	250	2	300
V	4.6	10.3	7.1	7	0.7	4.1	2.6	6	28.2	48.7	38.4	2	12.2
Cr	1.4	11.1	3.8	6	0.9	2.9	1.7	5	1.7	17.7	9.7	2	10.9
Mn	6.3	171	67.9	8	1.4	19.5	8.6	7	49	235	142	2	1729
Fe	53.1	3255	786	8	31.2	655	152	7	1000	1268	1134	2	3528
Co	2.7	239	47.2	8	2.3	23.2	6.3	7	24.1	26.4	25.3	2	116
Ni	0.7	6.3	3.1	7	0.6	1.5	0.9	6	ND			0	8.3
Cu	1.8	17.5	6.3	8	2.5	5.1	3.9	7	5.0	15.4	10.2	2	19.7
Zn	26.5	136	50.1	8	11.4	29.9	19.6	7	88.8	123	106	2	108
Y	0.7	4.8	1.9	6	0.8	0.8	0.8	1	ND			0	1.4
Nb	1.4	7.9	3.5	4	ND			0	8.9	8.9	8.9	1	2.0
Mo	1.6	13.8	4.7	6	0.6	3.9	2.5	5	ND			0	5.5
Pb	1.1	26.4	7.2	8	0.6	5.4	3.2	7	5.2	7.6	6.4	2	21.3

(※) ND : 検出限界以下

各元素の海藻中濃度は元素及び海藻の種類（鋼【class】による分類）によって異なる値を示した。紅藻類及びコアマモからは上に示した 13 種類全ての元素が検出されたが、褐藻類では Nb、緑藻類では Ni, Y, Mo が全ての試料で検出限界以下の濃度であった。海藻種間で元素濃度が異なる原因として必須元素の場合は要求度(代謝における必要性)、非必須元素の場合は蓄積及び吸着機構の違いが考えられる。特に Ti, Mn, Fe, Co は鋼【class】による分類が同じであっても種【species】によって濃度にかなり大きな違いが見られるので、海藻体内での動態が種ごとに大きく異なると考えられる。

またコアマモはほとんどの元素の濃度が海藻類よりも高いことが確認された。海藻類は海中にある岩の表面に藻体を固定しているため体内への元素の取り込み経路は海水に限定されていると考えられる。一方、コアマモは海水に接触する葉・茎（地上部）と海底堆積物に接触する地下茎・根（地下部）という構造を持っており、海水及び海底堆積物の両方から元素を取り込むと考えられる。そのためコアマモは海藻類よりも体内の元素濃度が高いと推測される。

3.2 海水試料の PIXE 分析結果

海水試料を分析した結果、13 種類の重金属元素 (Ti, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Y, Nb, Mo, Pb) の濃度が測定された。測定結果を Fig. 2 に示した。標準偏差を図内のエラーバーで示した。

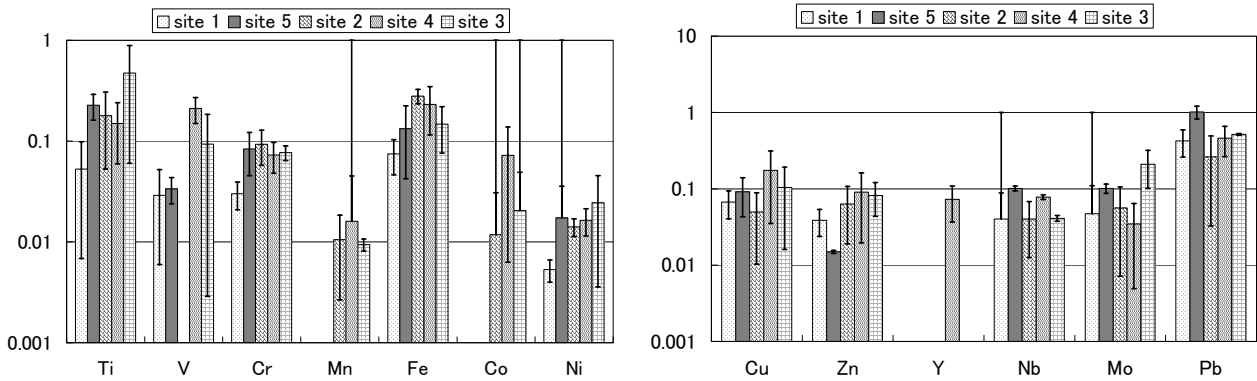


Fig. 2 : 海水試料中元素濃度 [$\mu\text{g/g}$]

各元素のデータ系列は左から site. 1, 5, 2, 4, 3 という順序で並べたが、これは東京湾の湾口から湾奥に向かう順序である。2.1 に記したように東京湾は湾奥に向かうほど外部との海水交換が少なく閉鎖性が増す⁹⁾ので、site. 1, 5, 2, 4, 3 の順に海水中重金属濃度が高いという結果が得られると予想された。分析した結果、予想した傾向に部分的に一致する傾向を示す元素も存在した。具体例としては Cr に関して site. 1 が他の 4 箇所よりも有意に低い濃度を示したことや、Pb に関して site. 2 が site. 1 よりも有意に高い濃度を示したことが挙げられる。しかし Cu のようにサイト間に有意な差が見られない元素がほとんどであり、V, Mn, Co, Y では検出限界以下の濃度であるサイトも存在した。したがって湾奥に近い場所ほど海水中の重金属元素濃度が高いという結果は得られなかったと結論付けられた。

3.3 同一海藻種のサイト間比較

2 箇所以上で採取した海藻種について元素濃度の採取場所間比較を行った。2 箇所以上で採取した海藻種はオキツノリ (紅藻類)、アラメ (褐藻類)、ミル (緑藻類) の 3 種である。測定結果をそれぞれ Fig. 3、Fig. 4、Fig. 5 に示した。標準偏差を図内のエラーバーで示した。

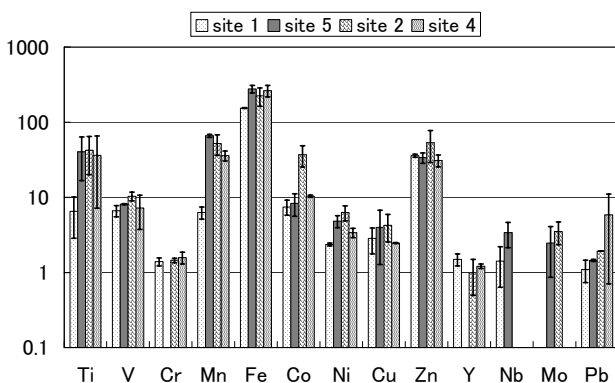


Fig. 3 : オキツノリ (紅藻類) 中元素濃度 [$\mu\text{g/g}$]

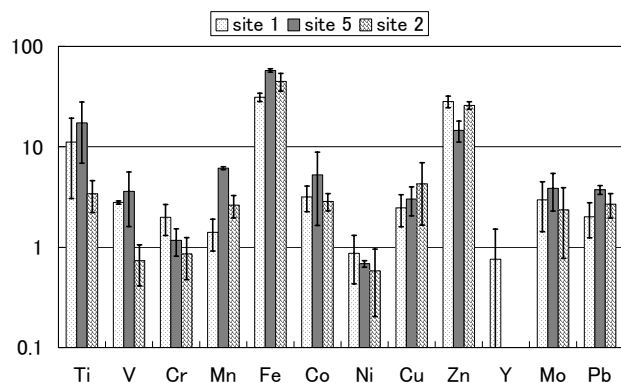


Fig. 4 : アラメ (褐藻類) 中元素濃度 [$\mu\text{g/g}$]

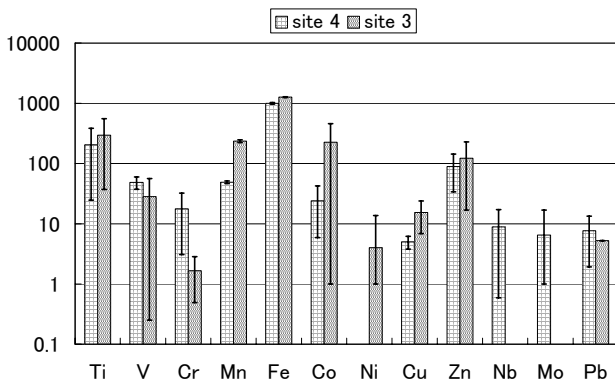


Fig. 5 : ミル（緑藻類）中元素濃度[$\mu\text{g/g}$]

Fig. 3-Fig. 5 に示した 3 種の海藻中元素濃度と Fig. 2 に示した海水中元素濃度を比較したところ、以下に示す元素において両者の傾向が一致しており、海藻中濃度が海水中濃度を反映していることが示唆された。したがって各海藻種が傾向の一致を示した元素の分布に対する指標になりうる可能性が示されたと言える。ただし今回分析を行った試料及び採取場所の数は十分であるとは言えず、さらに測定事例を増やして傾向を分析する必要がある。

- オキツノリ（紅藻類）：Ti, Mn, Ni, Cu
- アラメ（褐藻類）：Zn
- ミル（緑藻類）：Co, Nb

3.4 海藻の濃縮係数算出

分析の結果得られた海藻中濃度と海水中濃度の値を利用して海藻の濃縮係数を算出した。濃縮係数とは対象とする物質の生物中の濃度が、その生息環境である周囲の水に比べてどの程度濃度が高いかを示す係数である。濃縮係数はある元素の生物体内の濃度： C_b とその生物が生息している環境水中のその元素の濃度： C_w の比： C_b / C_w で定義される。算出した濃縮係数は[平均値±標準偏差]という形で表されるが、その平均値に関して海藻種ごとの最小値、最大値、平均値を算出した。算出結果を Table. 3 に示した。

Table. 3 : 濃縮係数の最小値・最大値・平均値 算出結果

種類 元素種	紅藻類				褐藻類				緑藻類				算出結果(n=1)
	最小値	最大値	平均値	試料数	最小値	最大値	平均値	試料数	最小値	最大値	平均値	試料数	
Ti	81	476	198	8	10	1038	230	6	627	1451	994	2	635
V	22	297	154	6	40	142	94	5	232	419	267	2	131
Cr	16	145	61	6	9	97	41	5	22	218	133	2	142
Mn	2238	18227	7378	4	249	249	249	1	3054	14014	5536	2	183866
Fe	344	22053	5517	8	160	8769	1695	7	4172	6457	4322	2	23899
Co	119	11694	3771	4	242	242	242	1	334	1852	812	2	5657
Ni	81	446	265	6	40	175	93	6	-				340
Cu	11	168	73	8	33	86	53	7	29	149	88	2	190
Zn	293	2261	1212	8	368	2009	876	7	982	1468	1239	2	1316
Y	17	17	17	1	-				-				-
Nb	19	192	70	4	-				114	114	114	1	50
Mo	24	88	52	6	6	63	42	5	-				26
Pb	1	35	12	8	1	10	5	7	10	14	13	2	41

濃縮係数を算出したところ全ての元素が1以上の値を示しており、海藻体内へ濃縮されていることが明らかになった。ほとんどの元素では数十から数百と1000未満の値を示したが、Fe, Mn, Co, Znでは全ての海藻種において1000を超える高い値が得られた。これらの元素は海藻体内の代謝に必要とされる必須元素であり、その要求度が高いと考えられた。特にコアマモではMn, Fe, Coがそれぞれ 2×10^5 、 2×10^4 、 5×10^3 という海藻類に比べてかなり高い値を示しており、この種全体が高い重金属元素濃縮能を備えている可能性が示されたと言える。ただし今回分析したのは1試料のみであるので、さらに測定事例を増やして検討する必要がある。

4. まとめ

本研究では多元素同時分析が可能なPIXE分析を用いて海藻及び海水中に存在する重金属元素の濃度を測定した。分析の結果13種類の重金属元素(Ti, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Y, Nb, Mo, Pb)の濃度が測定された。海藻の種類によって各元素の濃度は異なり、海藻体内での動態が元素ごとに異なると考えられた。また同一海藻種中元素濃度の採取場所間の比較では、海水中濃度を反映している元素も一部確認され、海藻が元素の分布に対する指標となりうる可能性が示された。海藻及び海水中の重金属元素濃度による各元素の濃縮係数の算出結果では、ほとんどの元素が数十から数百の値を示し、海藻への元素濃縮が示された。なおコアマモの濃縮係数は海藻類に比べて高い値を示し、沿岸域における重金属汚染改善への適性が海藻類よりも高い可能性が示された。ただし今回測定を行ったコアマモは1個体であるので、重金属元素濃縮能を正確に評価し、沿岸域における重金属汚染改善への適性を判断するには採取時期や場所を増やし、十分な数のデータを得る必要がある。今後はコアマモを始めとする海産種子植物に焦点を絞って研究を進めていきたい。

謝辞

本研究を行うにあたり、試料調整、測定等でご指導、ご協力いただいた日本アイソトープ協会滝沢研究所の職員の方々及び岩手医科大学サイクロトンセンターの職員の方々に深く感謝いたします。

文献

- 1) 西村雅吉 (1991) 環境化学 裳華房
- 2) 赤木右, 原口紘丞 “多摩川河口—東京湾域における微量重金属元素の分布と挙動”
地球化学 Vol. 18 81-88
- 3) Kazuo Fukushima, Toshiro Saino and Yukio Kodama “Trace metal contamination in Tokyo Bay, Japan” The Science of the Total Environment Vol. 125 (1992) 373-389
- 4) 早津彦哉 (1975) 生体濃縮 講談社
- 5) 山県登 (1978) 生物濃縮 産業図書
- 6) 日本化学会 (1995) 化学便覧 応用科学編Ⅱ 第5版
- 7) 不破敬一郎, 土器屋由紀子 (1973) 海洋生化学 東海大学出版会
- 8) 広瀬昭夫, 原口紘丞 (1990) 細胞 Vol. 22 8
- 9) 沼田眞, 風呂田利夫 (1997) 東京湾の生物誌 築地書館
- 10) 日本海洋学会 (1990) 沿岸環境調査マニュアルⅡ [水質・微生物篇] 恒星社厚生閣
- 11) 社団法人海外環境協力センター (2000) 環境試料のサンプリング 付属テキスト
- 12) 海上保安庁海洋情報部 (2003) 海洋汚染調査報告書 第29号 (平成13年調査結果)

13) K. Sera, T. Yanagisawa, H. Tsunoda, S. Futatsugawa, S. Hatakeyama, Y. Saitoh, S. Suzuki and H. Orihara (1992) "Bio-PIXE at the Takizawa Facility (Bio-PIXE with a baby cyclotron)" International Journal of PIXE Vol. 2 No. 3 325-330