

1.2 P I X E

秋田市太平川の溶存成分および懸濁成分の特徴と水質形成機構

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部

010-8502 秋田市手形学園町 1-1

²岩手医科大学サイクロトンセンター

020-0173 岩手県岩手郡滝沢村字留が森 348-58

1 はじめに

河川を流れる水は、降水が地下に浸透し地下水として涵養されたのち河川へ流出する水である。この間、大気中では降水が海塩成分やエアロゾルを取り込み、地層中では地下水が岩石と反応し、そのほか人為的な汚染など様々な影響を受ける。従って、河川水の水質形成過程では、流域内の気象、沿岸や内陸などの地域特性、地下水涵養域の岩相や鉱化帯の有無、さらに産業廃棄物処理場からの漏水や農業用肥料による富栄養化など様々な要因を考える必要がある。我々の生活圏にある河川水の水質形成過程を把握することは、汚染物質の拡散状況の把握、飲料水などの水資源の確保、河川環境の保全など水資源環境リスクマネジメントに不可欠である。このような観点から、秋田平野を流動する河川水の水質形成のプロセス、特に河川水の溶存成分および懸濁成分の特徴を把握することを目的に、定期的に採水した太平川の河川水のデータをもとに経年変化と水質形成について考察を行った。

2 太平川流域の河川および地質状況

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

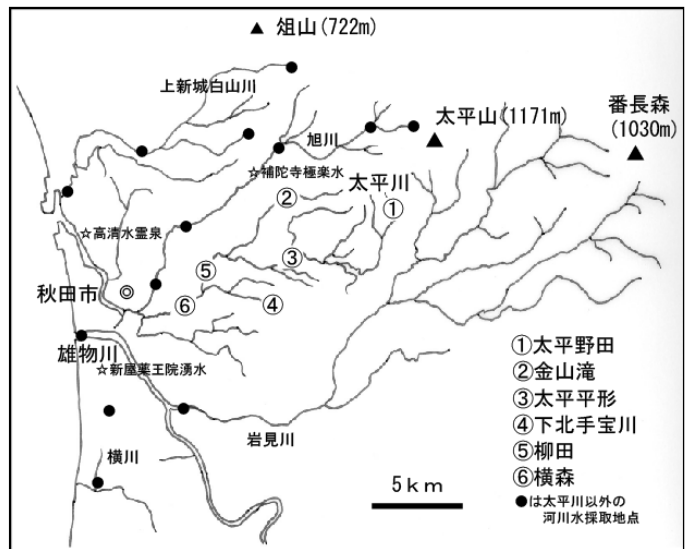


Fig. 1. Map showing the location of sampling sites.

3 試料採取および測定

河川水の採取は 2007 年 7 月より概ね 3 ヶ月ごとに、先に述べた 4 河川と日本海へ流れ出る雄物川河口ほか、秋田市内の流路距離の比較的短い河川や代表的な湧水を対象に行った。太平川での河川水採取は、本流上流から順に①太平野田、③太平平形、⑤柳田、⑥横森、支流は②金山滝、④下北手宝川で行った (Fig.1)。

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

研究室に持ち帰った河川水の溶存成分の測定は、イオンクロマトグラフ法、PIXE法で測定した。主化学成分 Na、K、Mg、Ca、Cl、SO₄濃度は、イオンクロマトグラフで分析した。PIXE法で分析される0.45μm以下の分析試料は、試料溶液と等量のIn(10ppm)溶液を加えた混合溶液10μlをホルダーに貼られたポリプロピレンフィルムに滴下し、80°Cで乾燥し作成した。本研究の試料は溶存成分の濃度が低いため、この作業を3~5回繰り返し濃縮した。溶存成分と懸濁成分の測定は、NMCCのPIXE装置で実施した。

4 太平川河川水の化学成分の特徴

4.1 0.45 μm を通過した河川水の特徴

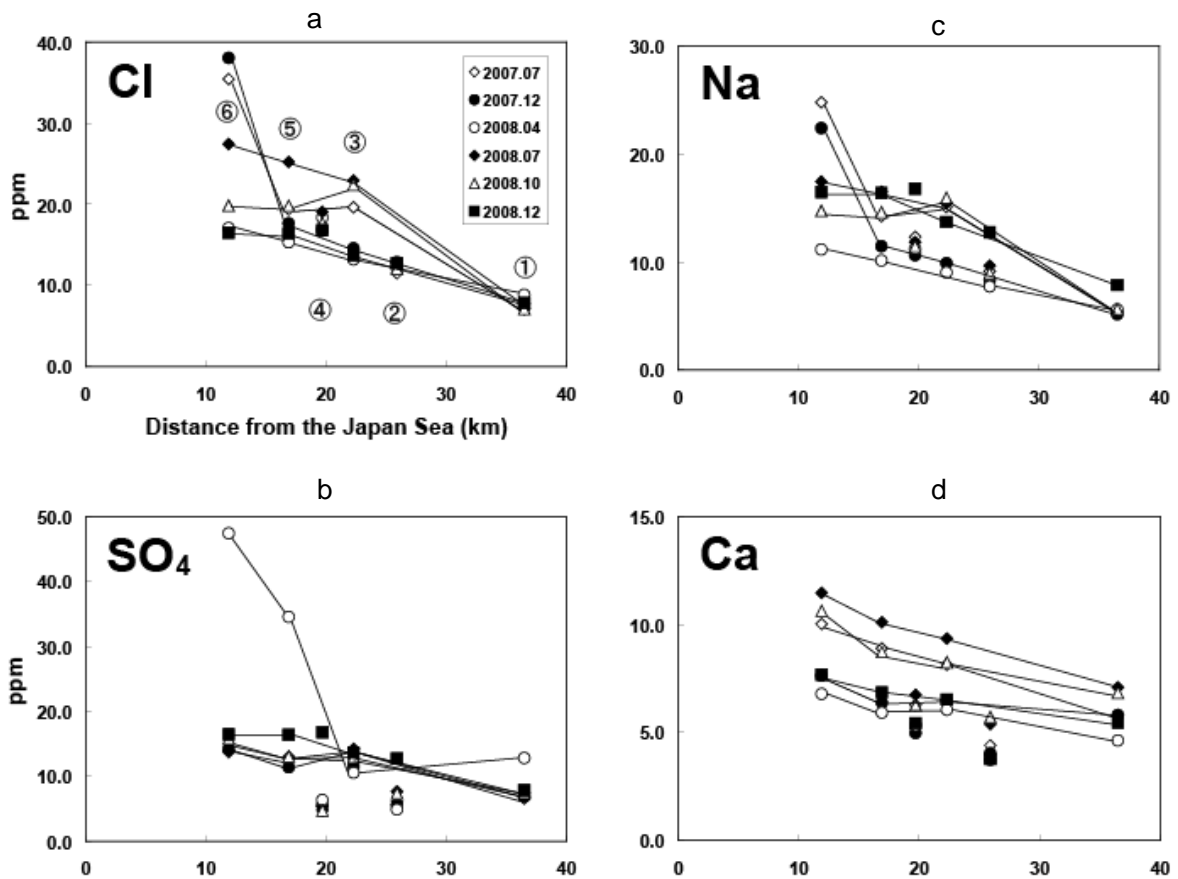


Fig. 2. Variations of Na, Ca, Cl and SO₄ concentrations in river water of Taihei River.

太平川の各地点の0.45μm以下の水試料の主化学成分の濃度変化をFig.2に示す。横軸に雄物川河口(日本海)からの流路距離、縦軸に成分濃度をそれぞれ示した。図中に示す各成分はCl=7.1~38.0ppm (Fig.2a)、SO₄=4.7~47.5ppm (Fig.2b)、Na=5.2~24.8ppm (Fig.2c)、Ca=4.6~11.5ppm (Fig.2d)を示す。KとMgの濃度は、

K=0.9~3.6ppm、Mg=1.5~5.4ppm の範囲をもち、上流から下流への濃度変化は Ca と同様な傾向を示す。2007年7月、12月、2008年4月、7月、10月に採取した各地点の Cl と Na 濃度は、日本海に最も近い秋田市街地横森(⑥)で最大値を示す(Figs.2a & 2c)。これは日本海で巻上げられた海塩が降水成分として秋田市内を流れる河川流域に降ること、さらに日本海に近づくにしたがい、その影響を強く受けるためと推定される(Fig.3)。SO₄濃度は2008年4月に下流域において急激な濃度増加が認められるが、一般的には下流域にむかって増加する。Ca濃度は下流域にむかうにしたがい一様に増加し、夏季に濃度が増す傾向が見られる。

主化学成分以外の濃度の高い溶存成分は Fe、Zn で、Fe=0.01~1.89ppm、Zn=0.02~0.70ppm を示す。Feの濃度変化を Fig. 4 に示す。採取時期にかかわらず下流域にしたがい濃度が増加する。夏季に採取した Fe 溶存成分濃度は、冬季の Fe 溶存成分濃度の 2-4 倍程度を示す。また隣接する旭川の Fe 溶存成分濃度と比較して、およそ 2 倍の濃度を示す。さらに酸化還元電位-pH の関係から、本地域で安定な鉄化学種は水酸化鉄(Fe(OH)₃)であることから、0.45μm のフィルターを通過する微細なコロイド粒子として存在し、下流へ運搬されると考えられる。

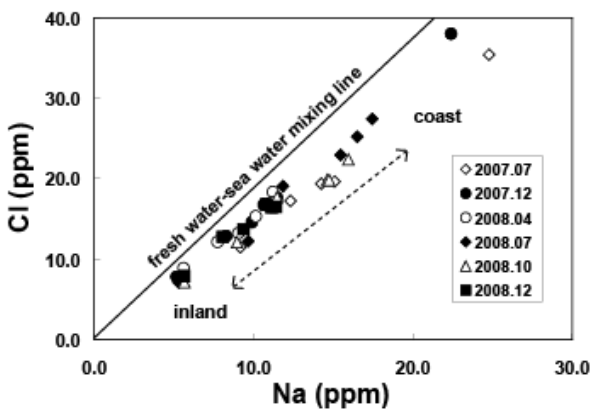


Fig. 3. Diagram showing relation between Na and Cl concentrations in river water of Taihei River.

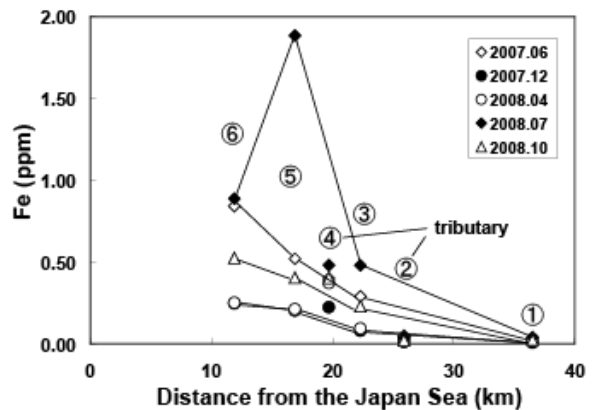


Fig. 4. Variations of Fe concentrations in Taihei River.

4. 2 懸濁成分 (0.45 μm 以上) の特徴

2008年12月に採取した各地点の懸濁成分の濃度変化を Fig.5 に示す。主な懸濁成分は Si、Fe、Al、Ca、K、S、Ti で、濃度は Si=27~504μg/l、Fe=6~298μg/l、Al=15~196μg/l、Ca=6~29μg/l、K=3~17μg/l、S=2~11μg/l、Ti=0.4~5μg/l と下流域にむかうにしたがいそれぞれ増加する。そのほか微量成分として、Mn、Zn、Cr、Cu が 1μg/l 以下の濃度で認められる。懸濁成分の中で濃度が高い Si、Al は、粘土鉱物や非晶質物質を構成する

代表的な元素であることから、河川水中の懸濁成分は粘土鉱物と非晶質物質のいずれかと考えられる。

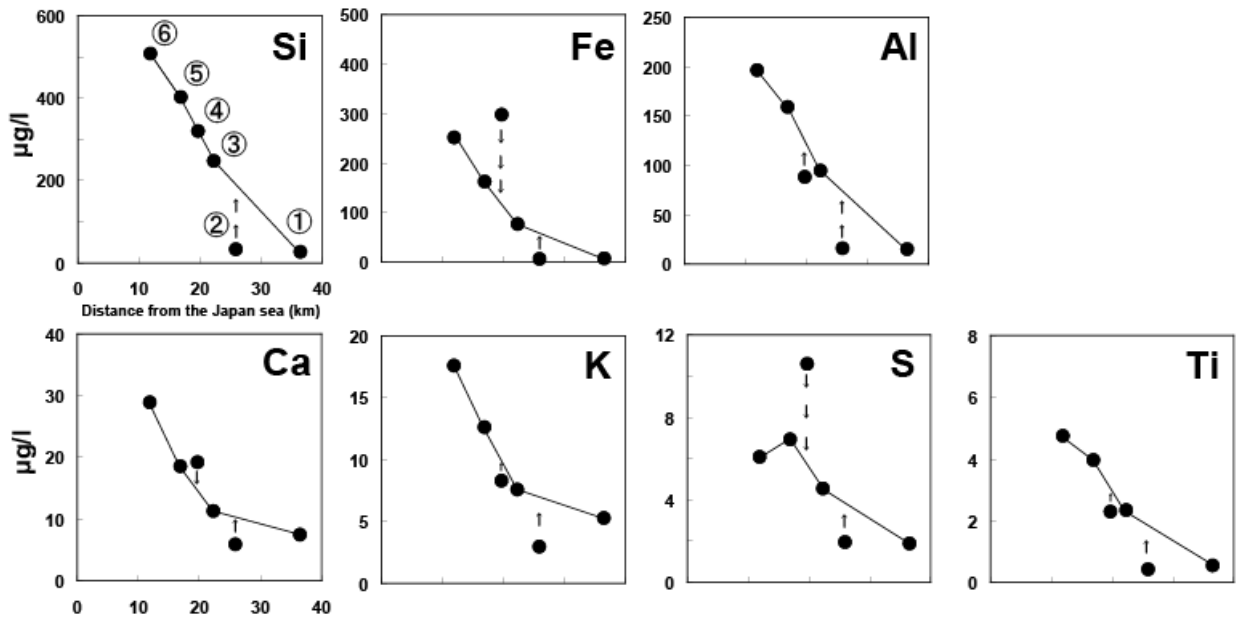


Fig. 5. Chemical variations of Si, Fe, Al, Ca, K, S and Ti concentrations in suspended materials of river water of Taihei River.

太平洋の場合、中～下流域(試料採取地点：③～⑥)は泥岩、砂岩、シルト岩などの堆積岩で構成され、上流の火山岩分布域(試料採取地点：①、②)と比較して、中～下流域では Fe 懸濁物の濃度が急激に増加する傾向がある。先に示した懸濁成分には S も含まれるため、Fe 懸濁物の起源の 1 つは泥岩中の黄鉄鉱(FeS_2)で、地下水に溶解したのち河川水となり下流へ運搬されるプロセスと思われる。河川水中の Fe 懸濁物の移動形態には、Fe コロイド、粘土鉱物に吸着、腐植酸などある。本地域での移動形態は、 $0.45\mu m$ 以下で認められる Fe コロイド、水田からの濁水中の腐食酸の可能性が高い。

一般に Cl は土壌や岩石に含まれない事から、各採水地点の Cl 含有量を基準に海塩の影響を取り除き、Na、K、Mg、Ca、 SO_4 の非海塩起源成分の総量に対する割合の平均を見積もった(Table 1)。非海塩起源の各成分の

Table 1: Variations of nss-chemical compositions at the sampling site

Sampling point	nss- SO_4	nss-Na	nss-K	nss-Mg	nss-Ca
①Taiheinoda	86	22	81	71	97
③Taihei-Hirakata	80	25	83	66	95
⑤Yanagida	80	19	85	68	95
⑥Yokomoribridge	76	17	79	55	94
②Kanayamataki	70	21	77	66	94
④Shimokitade-Takaragawa	53	14	87	71	93

Table 2: Eigen vector scores by PCA.

	Eigen vector	
	Comp. 1	Comp. 2
Cl	0.69	-0.44
SO_4	0.52	0.85
Na	0.46	-0.27
K	0.06	-0.05
Mg	0.08	-0.06
Ca	0.18	-0.04
Contribution ratio (%)	67	27

割合は Na=14~25%、K=77~87%、Mg=55~71%、Ca=93~97%、SO₄=53~86%である。非海塩起源 Na の割合は総じて低く、上流域から下流域にむかい若干減少傾向にある。非海塩起源 Mg も下流域に向い Na と同様な傾向を示す。これは海塩の主成分である Na と Mg の割合が日本海に近づく下流域ほど増加するためである。非海塩起源 K は上流域で若干低いものの、総じて 80%で一定である。非海

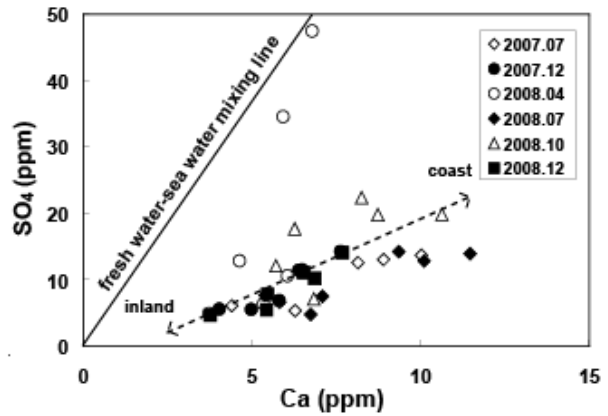


Fig. 6. Diagram showing relation between Ca and SO₄ concentrations in river water of Taihei River.

塩起源 Ca は、採取地点にかかわらずほぼ 90%以上を示すことから、土壌や岩石からの溶解がその起源と考えられる。Ca 濃度は SO₄ 濃度の増加に伴い直線的に増加する(Fig.6)。これは下流ほど平均滞留時間が長く、地下水涵養域での水-岩石反応が促進され、Ca と SO₄ が岩石中より溶脱するためと考えられる。このような傾向は秋田市内で採取した湧水でも確認され、平均滞留時間が比較的短いと推定される中流域の補陀寺極楽水では、Ca=4.7ppm と SO₄=7.7ppm を示し、平均滞留時間が長いと推定される下流域の高清水霊泉では、Ca=16.4ppm と SO₄=28.0ppm で下流域ほど濃度がそれぞれ増加する。

2007 年 7 月、12 月、2008 年 4 月、7 月、10 月に採取した太平川と旭川の主化学成分について主成分分析を行った(Table 2)。第 1 主成分は水質形成過程全体に及ぼす寄与率が 67%で、全ての成分で寄与が認められ、主に Cl、SO₄、Na の挙動がその要因である。Na と Cl は海塩の主成分であるため、第 1 主成分で認められる現象は日本海の影響と推定される。これは先に述べた主化学成分 Cl と Na の濃度変化と調和的である。

さらに SO₄ の挙動に関して、冬季の秋田市の降雪水の SO₄ 濃度は、北西の季節風の影響による大陸起源 SO₄ の増加に伴い、10~20ppm で夏季の数倍に達する¹⁾。したがって、通年の海塩の影響と冬季の季節風の影響を加えた地域特性が河川水質形成過程に関与する可能性が高い。このような傾向は旭川でも同様である。第 2 主成分は寄与率が 26%で SO₄ の挙動がその要因で、2008 年 4 月に下流域で採取

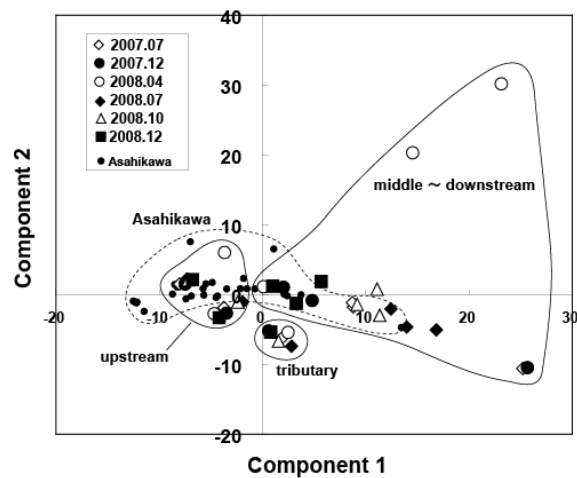


Fig. 7. Diagram showing the results of Principle Component Analysis for river water of Taihei River.

した試料で高濃度 SO_4 が確認される。同時期の旭川の試料も含めそのような現象は明瞭に確認されないことから、太平川の下流域に見られる春先特有の現象と思われる。第1主成分と第2主成分のスコアを用いたダイアグラムを、旭川のスコアを含め Fig.7 に示す。上流域が第2象限と第3象限の境界付近に集中するのに対して、中～下流域では第1象限と第4象限に幅広く分布する(Fig.7)。つまり、太平川上流域では採取時期にかかわらずほぼ一定の水質形成機構であることに対して、中～下流域では、海塩の影響の差異、さらに春先の高濃度 SO_4 の影響が認められる水質形成を示す。旭川では、太平川上流域のスコアと類似した値を示すため、年間を通じてほぼ一定の水質形成機構と考えられる。

5 まとめ

秋田市太平川の $0.45\mu\text{m}$ 以上の懸濁物を構成する主要元素は、Si、Fe、Al、Ca、K、S、Ti で、その中で Si、Fe、Al の濃度は他の元素と比較して $10\sim 10^2$ 倍程度高い。そのため、河川水中の懸濁成分は主に粘土鉱物と非晶質のいずれかと判断される。Fe 懸濁物の起源の1つは泥岩中の黄鉄鉱(FeS_2)と思われる。主成分分析の結果、水質形成に占める海塩や冬季の気象の寄与率は 67%、中～下流域での局所的な現象による寄与率が 26%である。旭川と比較した場合、中～下流域で春先の水質形成が若干異なる傾向を示す。

文 献

- 1) 川原谷浩・松田英裕・松葉谷治(2005)：酸素及び水素同位体比ならびに塩化物イオン及び硫酸イオン濃度による河川源流域流出成分の識別に関する考察—秋田市太平川を例にして—, 水文・水資源学会誌第 18 卷 4 号 pp. 370-381.

Geochemical characteristics of river water of Taihei River, Akita City

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, Iwate 020-0173, Japan

Abstract

The purpose of this study was to clarify the formation process of chemical composition of river water of Taihei River flowing through Akita Plain. Concentrations of major elements and heavy metal components in the water were measured using ion chromatography and the PIXE method. Concentrations of major elements and iron in the river water increase from the headwater to the lower reach of the river. As for the suspended materials over 0.45 μm of the river water form Si, Fe, Al, Ca, K, S and Ti, and the concentrations of Si, Fe and Al are $10\sim 10^2$ -time higher than those of other elements. The suspended materials in the river water are thought to be clay minerals or amorphous substances. The iron component of suspended materials in the river water is thought to be Fe colloid derived from the decomposition of pyrite in mudstone. Based on the results of principal component analysis for river water quality formation, component one (67%) is contribution of sea salt and sulfate in winter, and component two (26%) is contribution of sulfate in early spring of the middle ~ downstream region. Compared to the chemistry of river water of Asahi River, the influence of sulfate is large in early spring of the middle ~ downstream region of Taihei River.

休廃止鉱山から流出する酸性水の流量と元素濃度の特徴

石山大三¹、佐藤比奈子¹、水田敏夫¹、世良耕一郎²

¹秋田大学工学資源学部
010-8502 秋田市手形学園町 1-1

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

1 はじめに

休廃止鉱山の中には坑道から硫酸酸性の鉱山廃水が流出することがある。このような鉱山廃水には、重金属やヒ素などの有害元素が含まれることがある。これらの元素を含む鉱山廃水の流出量は、天候の影響を受け、雨が多い時期にはその排出量が多くなり、乾燥した時期には逆に減少する。このように気象現象に応じて変動する鉱山廃水の排出量の変化と化学成分の濃度変化の関連性について検討した例は多くはない。鉱山廃水の排出量変化と濃度変化の関連性を検討することは、鉱山廃水が流出する下流地域への影響や対策を考える際には重要なことである。本研究では、重金属元素の拡散機構の解明とその防止のための基礎データを得ることを目的に、坑内廃水対策がすすめられている休廃止鉱山において、地下水面より低いところに坑口を持つ旧坑と高いところに坑口を持つ旧坑と鉱山廃水について、鉱山廃水の流量変化と化学成分濃度変化を観測し、それらのデータに基づき、鉱山廃水を排出する地下水の流出機構を検討した。

2 検討対象休廃止鉱山の地質・鉱床概要および地下水系の概要

研究を行なった休廃止鉱山は、秋田県中部に位置する鉱床である。鉱床周辺の地質は、新第三系中新統の船川層の石英安山岩溶岩、同質凝灰岩類、黒色泥岩から構成されている¹⁾。鉱床は、おもに石英安山岩溶岩中に胚胎される金銀を伴う鉛-亜鉛-銅鉱脈鉱床である。同鉱床は、1591年(天正19年)から1971年(昭和46年)まで稼業され、1936~1966年の生産量は、粗鉱として約61,000 ton、その中には、Zn (6.5 wt %)、Pb (4.1 wt %)で、Cu (0.6 wt %)が随伴する。本鉱山は、1971年に閉山後、1972年に鉱業権の放棄により義務者不存在となった。開発終了後も本鉱床からはpH=3程度の硫酸を主とする酸性の坑内水が流出している。鉱山廃水の対策のために、秋田県によりセメントを用いた坑道閉塞や割れ目の充填工事が実施され²⁾、坑内水位を上昇させ、坑道の多くの部分を嫌気的な環境に保ち、黄鉄鉱の酸化による硫酸の形成を抑制することで水質改善を行っている。今回は標高の異なる3つの坑口(坑口L、M、U)と野外に形成されたズリ(鉱石鉱物含有廃石場、D)から流出する鉱山廃水について、年間を通じて継続的に観測と試料採取を行い、流

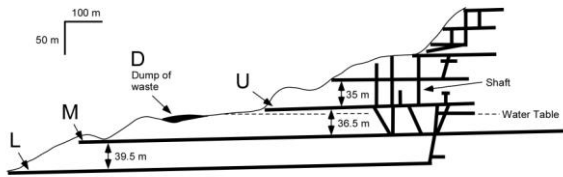


Fig. 1 Cross section of the abandoned mine.
Black lines show galleries and shafts.

量と化学成分の濃度変化について検討を行った (Fig. 1)。坑口 L、M については、坑口 M は L に比較して標高が高い位置にある坑口であるが、両者はともに地下水水面より低いレベルにある。坑口 U は、地下水水面より高いレベルにあると推定される坑口である。

3 試料採取法、試料調製法および測定法

鉱山廃水の採取を行う際には、現地で pH、Eh、流量、水温の測定を行った。流量の測定では、バケツを使い、直接流量を測定する方法を用いた。採水の際には、0.45 μm の濾紙 (ニトロセルロース製) で鉱山廃水をろ過したのち、イオンクロマトグラフ法で溶存主成分を測定するための溶液試料と PIXE 法による重金属成分測定用の試料溶液として現地で採取した。後者については、沈殿を防ぐために、3%硝酸溶液になるように現地で HNO_3 加えた。PIXE 法のための溶液分析試料は、試料溶液と等量の 10 ppm の In 溶液を加えた混合溶液を作成し、その溶液 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、乾燥し作成した。鉱山廃水中の 0.40 μm 以上の粒子については、0.40 μm のポリカーボネート濾紙を使い、ろ過を行い、その濾紙の上にトラップされた粒子を PIXE 法で測定した。濾紙の上にトラップされる粒子を補足するために使用したフィルターと溶液のろ過に使用したフィルターの孔隙径が若干異なるが、今回は 0.45 μm のフィルターを通過したものと補足されたものとして記載した。調整された試料は、乾燥後、NMCC の PIXE 装置で測定された。

4 分析結果

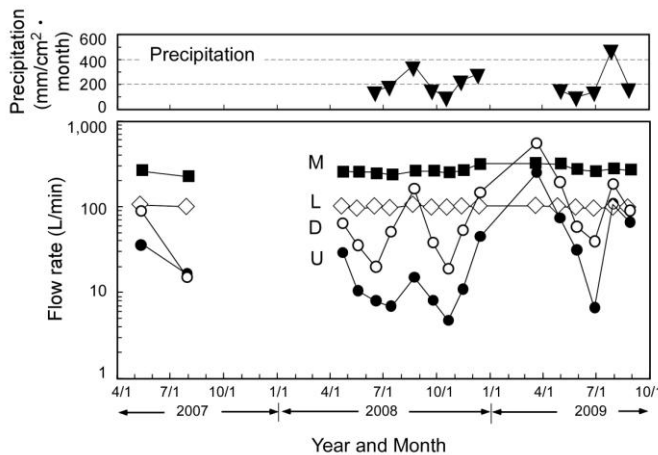


Fig. 2 Diagrams showing variations of flow rates of mine drainage water and precipitation. U: upper gallery, M: middle gallery, L: lower gallery, D: dump of waste.

各坑口からの鉱山廃水の流量変化と降水量変化を Fig. 2 に示した。地下水水面より低いレベルに存在する坑口 L、M から流出する鉱山廃水の流量は、それぞれ 94~108 l/min、224~320 l/min であり、その変化は小さく、ほぼ一定している。一方、地下水水面より高い位置に存在する坑口 U とズリから流出する鉱山廃水の流量は、8~250 l/min、15~558 l/min の範囲で変化し、雪解けの 3 月、4 月および梅雨の 7 月、8 月に増加し、降水の降水量変化と類似する変化を示す (Fig. 2)。

地下水水面より低い部分から流出する坑口 L、M の鉱山廃水と地下水水面より高い部分から流出する坑口 U の鉱山廃水、ズリから流出する

廃水の各 SO_4 濃度は、100 ppm、500 ppm、100-200 ppm、100-200 ppm 程度である。地下水水面より低い部分から流出する坑口 M の鉱山廃水の SO_4 濃度の変化は、ほぼ一定している。一方、地下水水面より高い部分から

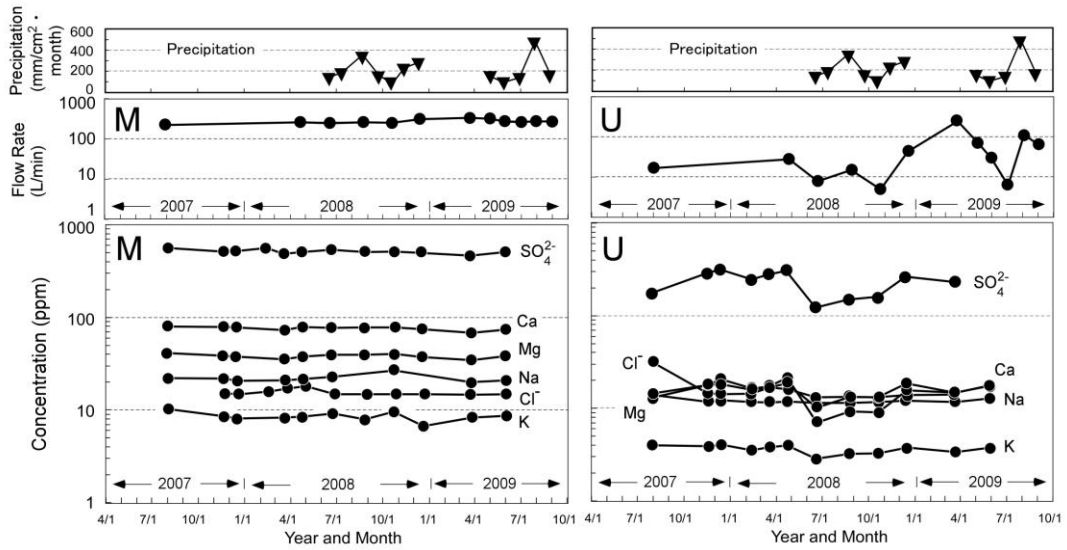


Fig. 3 Diagrams showing variations of precipitation, flow rates and chemical compositions of mine drainage water from galleries U and M.

流出する坑口 U の鉱山廃水とズリから流出する廃水の SO_4 濃度の変化は、地下水面より低い部分から流出する坑口 M の鉱山廃水の SO_4 濃度の変化に比較すると大きい (Fig. 3)。本地域の鉱山廃水の Cl 濃度は、流出する坑口の標高に関係なく、4 か所の廃水とも 15 ppm 程度の濃度である。これらの Cl の起源となる降水の Cl 濃度は、0.4~9.2 ppm まで変化する。鉱山廃水中の Na 、 K 、 Ca 、 Mg の濃度は、坑口 M の鉱山廃水の各成分の濃度が高く、坑口 U の廃水のこれらの元素濃度は、低い。前者と後者の鉱山廃水の季節変化に伴う Na 、 K 、 Ca 、 Mg 含有量変化を比較すると、地下水面より低い部分から流出する坑口 M の鉱山廃水でのこれらの元素の含有量変化は、小さいが、地下水面より高い部分から流出する坑口 U の鉱山廃水のこれらの元素の含有量変化は、 SO_4 の濃度変化と同様に大きい (Fig. 3)。

PIXE 法により鉱山廃水中の Fe と Zn の濃度と鉱山廃水の流量の関係を検討した (Figs. 4 & 5)。鉱山廃水の流量変化がほぼ一定の坑口 L、M では明瞭

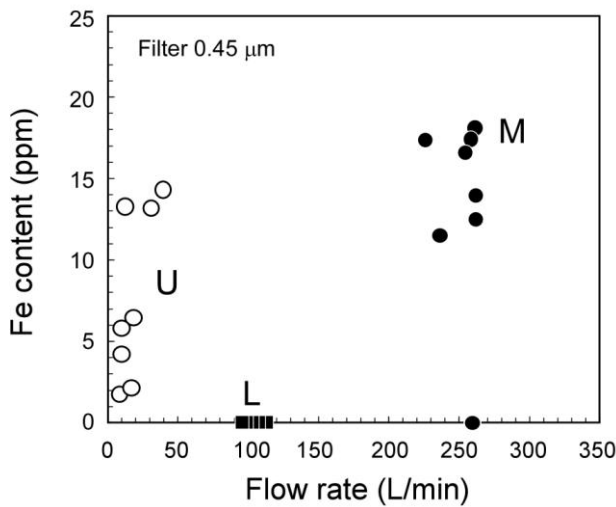


Fig. 4 Relation between Fe content of solution passing through a 0.45- μm filter and flow rate of mine drainage water from galleries U, M and L.

ではないが、流量変化が認められる坑口 U では、流量が増加すると、0.45 μm の濾紙を通過した溶液に含まれる Fe の濃度が増加する傾向がある (Fig. 4)。坑口 L、M、U の 0.45 μm の濾紙を通過した溶液に含まれる Fe と 0.45 μm の濾紙に捕捉された Fe の排出量の比率は、 pH が中性で最も標高の低い坑口 L から流出する鉱山廃水では、1 : 1 に近い。坑口 M、U から流出するそれらの Fe 排出量の比率は、坑口 M については、10 : 1~100 : 1 程度、坑口 U については、100 : 1~1000 : 1 程度であった (Fig. 5)。0.45 μm の濾紙を通過した溶液に含まれる Fe の排出量は、鉱山廃水の pH が中性の坑口 L で

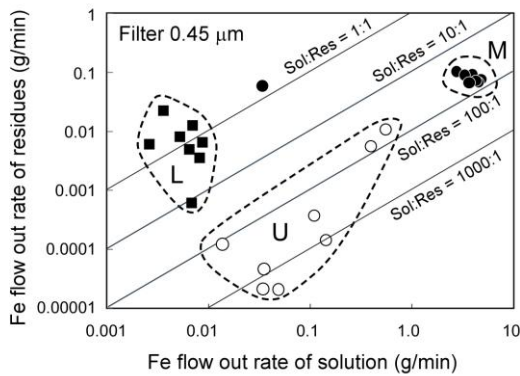


Fig. 5 Relation between Fe flow out rate as solution passing through a 0.45- μm filter and residues trapped on the filter. U: upper gallery, M: middle gallery, L: lower gallery.

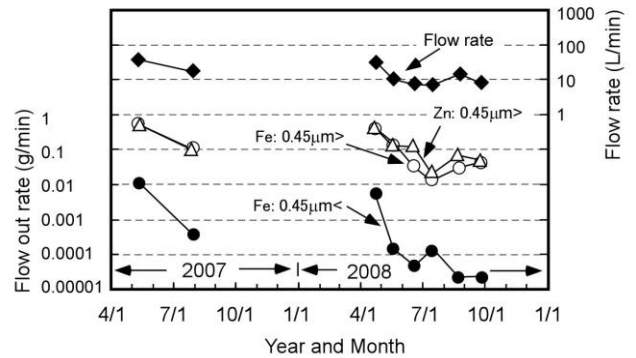


Fig. 6 Variations in Fe and Zn flow out rate as solution passing through a 0.45- μm filter and Fe flow out rate as residues trapped on the filter in mine drainage water from gallery U.

は低く、鉱山廃水の pH が酸性の坑口 M、U では高い (Fig. 5)。また、坑口 U に認められるように、流量が増加する時期に、0.45 μm の濾紙を通過した溶液に含まれる Fe の排出量が増加し (Fig. 4)、その排出量と 0.45 μm の濾紙に捕捉された Fe の排出量の比率が、1000 : 1 から 100 : 1 に低下する傾向があることは、坑口 U のような流量変化が大きい坑口から排出される鉱山廃水については、流量の増加とともに 0.45 μm 以上の粒子として Fe が排出量される割合が高くなる可能性を示している。

鉱山廃水中の Fe 濃度と流量から 1 分間当たりの Fe の排出量の季節変化を坑口 U について検討した (Fig. 6)。鉱山廃水の流量が大きく増加する雪解け時と梅雨時に Fe の流出量が大きくなる。特に、この現象は、雪解け時期に顕著である。Zn についても同様な傾向が認められる。鉱山廃水の流量の変化は、雪解けや梅雨などの時期に地下に大量の水がしみこむことで鉱山廃水の流量が増加することに対応しているが、流量の増加に伴う希釈現象が認められないことは、地下にある鉱山廃水のレザーバーがある程度大きいことを示している。雪解け時期には今回検討した地域の他の河川でも河川水の流量が増加するので、これらの河川が、鉱山廃水が流出する河川と合流した下流域では、通常の河川水による鉱山廃水の希釈が進むため、あまり大きな影響を与えない可能性もあるが、鉱山廃水の対策では濃度についての対策に加えて、流量の検討に基づく対策も重要である。

5 まとめ

休廃止鉱山から流れ出る鉱山廃水について、現地調査、イオンクロマトグラフ法による同廃水の主成分、PIXE 法による Fe、Zn 濃度について検討した。その結果、鉱山廃水の流量は、雪解け時期と梅雨時に増加すること、鉱山廃水の流量が多くなるときに重金属成分濃度が高くなる場合があること、鉱山廃水中の重金属元素流出量は、流量によりコントロールされていることが明らかになった。それらのことは、休廃止鉱山地下に存在する鉱山廃水を貯留しているレザーバーが大きいことを意味している。このことは、鉱山廃水対策にとどまらず、トンネル工事の重金属元素を含む残土の管理や産業廃棄物場の廃棄物の管理の際に環境汚染を防止するためには、これらの対象物に水が浸透しないようにしなければならないことを示唆している。

文 献

- 1) 土谷信之, 吉川敏之, 5 万分の1「刈和野地域の地質」図幅および同説明書, 地質調査所, (1994) 63p.
- 2) 秋林 智, 日本鉱業振興会助成 研究成果報告書, (2003) 51.

Characteristics of flow rate and chemical concentrations of mine drainage water

Daizo Ishiyama¹, Hinako Sato¹, Toshio Mizuta¹ and Koichiro Sera²

¹Faculty of Engineering and Resource Science, Akita University

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

²Cyclotron Research Center, Iwate Medical University

348-58 Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0173, Japan

Abstract

Flow rate and chemical compositions of mine drainage water from galleries and a dump of waste of an abandoned mine were examined on the basis of data obtained by a field survey and chemical analyses using ion chromatography and PIXE analyses. It was founded that the flow rate of mine drainage water from galleries and the dump of waste increases in snow melting season and rainy season and that iron and zinc contents of mine drainage water increase with increase in flow rate. Dilution of mine drainage water caused by melting snow and by increase in the amount of precipitation during rainy season was not observed. Amounts of iron and zinc discharged with mine drainage water are controlled by the rate of discharge of mine drainage water. The fact that dilution of mine drainage water was not observed suggests that the reservoir of the mine drainage is large. Thus, the dump of waste should be isolated from percolating water of precipitation and snow melting to prevent environmental problems. The same care is needed for dumps of waste containing heavy metals from civil engineering works such as tunnel construction and for dumps of industrial waste at a storage sites.

水質浄化濾剤と濾剤原料中の元素組成

齊藤勝美、栗本康司¹、世良耕一郎²

秋田県健康環境センター

010-0874 秋田県秋田市千秋久保田町 6-6

現所属：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

¹秋田県立大学木材高度加工研究所

016-0876 秋田県能代市海詠坂 11-1

²岩手医科大学サイクロトロンセンター

020-0173 岩手県岩手郡滝沢村字留が森 348-58

1 はじめに

集約的な流域下水処理施設と比較して、散在する農村地域を対象とした農村集落排水では、地域環境にマッチした自然共生型で、しかも省エネルギー、省力型の処理が求められている。また、富栄養化対策として、合併浄化槽による有機物除去にとどまらず、閉鎖系水域や小規模河川への窒素・リン流出の低減がより一層求められている。こうしたことから、自然共生型の水浄化システムを可能とする窒素・リン吸収の粗～細孔隙の階層構造を持つ水質浄化濾剤を開発し、その水質浄化能力とともに、水質浄化濾剤が肥料分を含む土壌改良材としての可能性についても検討している。ここでは、水質浄化濾剤の土壌改良剤としての安全性を確認するために行った水質浄化濾剤と濾剤の主体成分であるゼオライトの元素組成分析および水質浄化濾剤の溶出液分析の結果を報告する。

2 材料および方法

2.1 水質浄化濾剤

水質浄化濾剤はゼオライト（63%）、消石灰（25%）、木炭（12%）の混合物を 550℃により 4 時間焼結したもので、形状は球状、一粒の大きさは直径約 10 mm、重さは 1 g となっている。濾剤の内部構造は SEM で観察すると襞状で、表面積が大きく物質を吸収しやすい構造になっている。また、ゼオライト特有のポーラスホールが無数存在していると考えられる。Fig. 1 に濾剤の外観を、Fig. 2 には濾剤内部の SEM イメージを示した。



Fig. 1 Outside of water treatment medium.

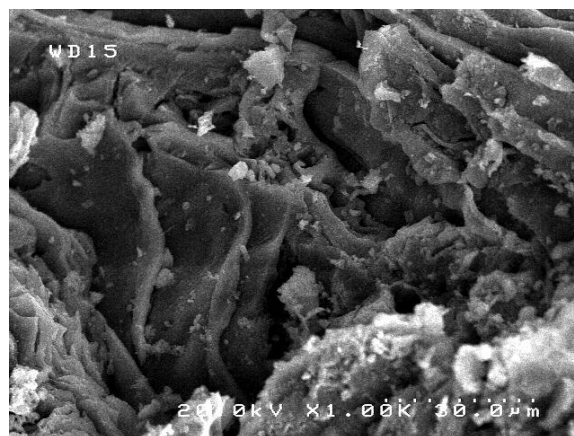


Fig. 2 SEM image of water treatment medium.

2.2 ゼオライト

ゼオライトは Fig. 3 に示す 10 地点から採取されたものを分析対象とした。なお、水質浄化濾剤に用いられているゼオライトは No.8 で採取されたものである。

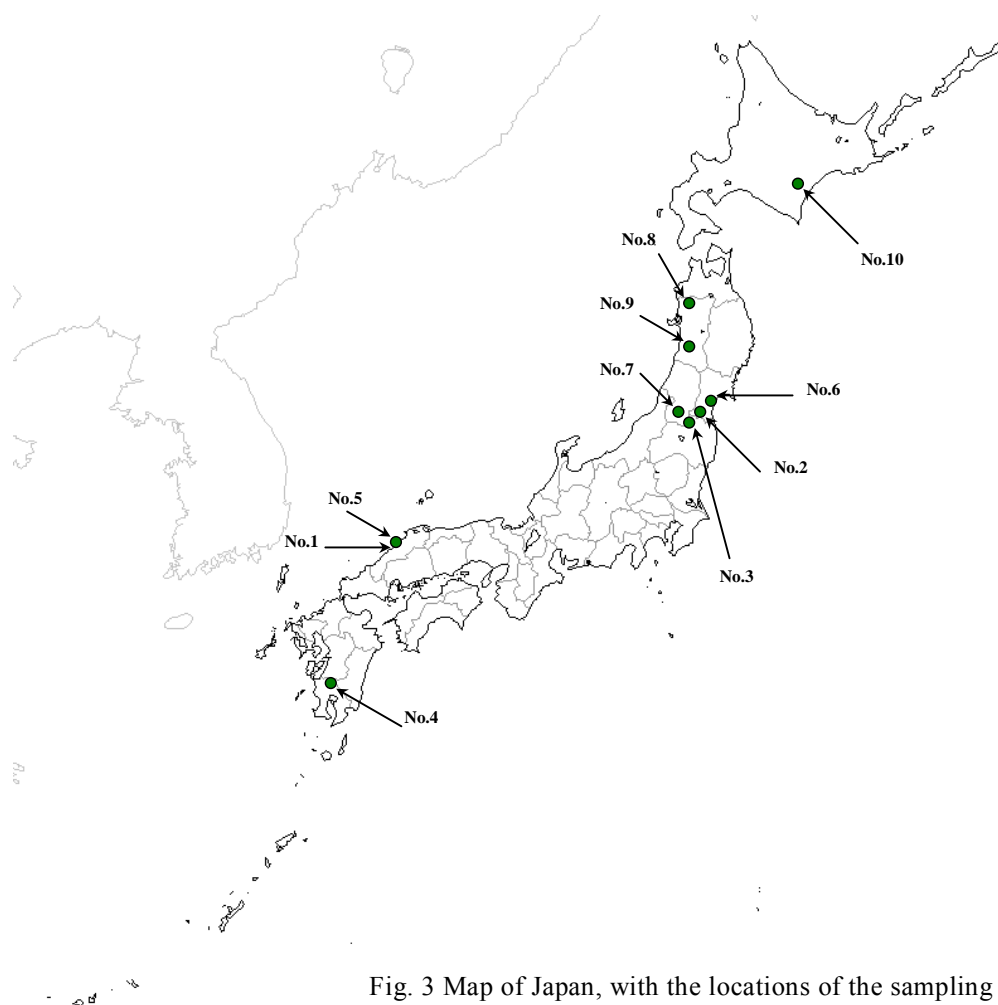


Fig. 3 Map of Japan, with the locations of the sampling sites.

2.3 試料の前処理と分析方法

水質浄化濾剤とゼオライトの元素組成のための分析試料は、これらを磁器製乳鉢で砕き、約 100 mg を精秤し、メノー乳鉢により粒径 5 μm 程度に擦り潰しをしたのち、内部標準元素として Pd-Carbon 粉末 (Pd 5%、和光純薬工業製) 約 20 mg を精秤して加え、均一に混合して調製した。PIXE 分析の照射用試料は、クリンベンチ内でターゲットフレームに貼り付けたバックリングフィルム上に、調製試料を約 100 μg 乗せ、アルコールで 10% に希釈したコロジオン液一滴をその上から滴下し、重なり合った粒子を広げ分散させて固定したものとした。

水質浄化濾剤の溶出液は、溶出試験の定法 (昭和 48 年環境庁告示第 13 号「産廃告示」) により作成した。PIXE 分析の照射用試料は、溶出液 1 mL に In (1000 mg/g) を 10 μL 添加し、これをターゲットフレームに貼り付けたバックリングフィルム上に 20 μL 滴下し、自然乾燥させたものとした。

PIXE 分析は、(社)日本アイソトープ協会仁科記念サイクロトロンセンター (NMCC) で行った。スモールサイズのサイクロトロンからの 2.9 MeV のプロトンビーム (6 mm ϕ) 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 台のシリコンリチウム半導体検出器で同時に測定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、Sera *et al.*¹⁾ が開発した解析プログラム SAPIX を用いた。ピーク面積から定量値を求める方法として、水質浄化濾剤とゼオライト試料は Sera *et al.*²⁾ が開発した Pd を内部標準とする粉末内部標準法、水質浄化濾剤の溶出液は In (1000 mg/g) を内部標準元素とした方法³⁾ を用いた。

3 分析結果と考察

PIXE 法による元素分析の結果、Table 1 に示すとおり水質浄化濾剤は Na、Mg、Al、Si、S、K、Ca、Fe などの元素から成り、Si と Ca が主要な元素であった。重金属の Hg と Pb は検出されたが、土壤汚染法の基準 (Hg 15 mg/kg 以下、Pb 150 mg/kg 以下) を超える含有量は認められなかった。水質浄化濾剤の溶出液は、Hg の溶出は認められず、Pb は土壤汚染法における溶出量の基準値 (Hg 0.0005 mg/L 以下、Pb 0.01 mg/L 以下) を超えるものではなかった。

Table 2 に示すゼオライトの元素組成をみると、採取地点つまりゼオライトを産出する鉱山によって主体元素である Na、Al、Si、K、Ca、Fe の存在量に違いがある。重金属の Hg と Pb は鉱山による違いはあるものの、ゼオライトにこれらが微量ながら含有していると考えられる。したがって、水質浄化濾剤に含有する Hg と Pb はゼオライトに起因すると推察される。

4 まとめ

水質浄化濾剤の元素組成と水質浄化濾剤の溶出試験による溶出液の元素分析結果から、水質浄化濾剤は土壤改良剤としての安全性が確認され、その使用により土壌および地下水環境への負荷を引き起こさないものとする。

Table 1 Elemental content in the filter media and the eluate of filter media *¹

Element	Mean ± SD	
	Filter media (mg/kg)	Eluate of filter media (mg/L)
Na	2860 ± 487	33.6 ± 10.4
Mg	1050 ± 315	ND
Al	11400 ± 2190	ND
Si	83100 ± 11400	36.3 ± 3.1
S	1210 ± 508	5.89 ± 0.84
Cl	383 ± 1	ND
K	8430 ± 616	3.58 ± 0.43
Ca	127000 ± 12000	ND
Ti	402 ± 23	ND
Cr	12.9 ± 2.2	ND
Mn	473 ± 27	ND
Fe	6110 ± 350	ND
Co	33.0 ± 4.1	ND
Ni	136 ± 16	ND
Cu	14.1 ± 4.5	0.01 ± 0.00
Zn	110 ± 1	0.01 ± 0.00
Br	7.2 ± 0.6	ND
Rb	40.0 ± 9.1	ND
Sr	188 ± 7	ND
Hg	3.5 ± 0.3	ND
Pb	19.1 ± 6.3	0.01 ± 0.01

*¹: Mean and SD of five measurements.

Table 2 Elemental content (mg/kg) in zeolite *¹

Element	No.1	No.2	No.3	No.4	No.5	No.6	No.7	No.8	No.9	No.10
Na	4570	736	3640	6660	10500	4690	10000	2340	1140	2030
Mg	1170	ND	ND	ND	949	ND	ND	758	2060	1560
Al	16000	30800	26400	32800	45600	35200	33800	29100	18000	34600
Si	151000	189000	201000	236000	270000	256000	267000	242000	122000	165000
S	321	363	628	730	655	495	1180	471	497	ND
Cl	1220	422	ND	569	1100	559	ND	915	739	842
K	6450	12700	8960	11700	9170	10800	26100	25900	4910	5860
Ca	4620	10900	13800	19600	9830	12000	9090	9320	6750	14300
Ti	678	922	690	2130	1080	879	685	712	1200	1780
Cr	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	15.2
Mn	57.0	141	58.7	701	82.9	84.4	131	107	159	153
Fe	4460	13300	12700	14800	6530	5890	9040	6810	14900	19200
Cu	1.97	8.66	10.4	ND	15.4	9.34	7.26	ND	8.93	7.68
Zn	72.7	60.2	72.3	85.30	105	89.1	103	48.9	70.3	102
Br	4.64	ND	ND	ND	ND	ND	8.30	6.37	ND	ND
Rb	40.3	103	89.1	117	63.4	51.7	114	125	137	104
Sr	94.8	153	183	192	241	66.3	56.2	120	176	149
Hg	ND	ND	15.8	ND	ND	ND	ND	15.0	ND	ND
Pb	11.1	ND	ND	45.7	ND	ND	60.7	ND	ND	ND

*¹: Average of five measurements.

参考文献

- 1) K. Sera, T. Yanagisawa, H. Tsunoda, S. Hutatukawa, Y. Saitoh, S. Suzuki and H. Orihara “Bio-PIXE at Takizawa Facility (Bio-PIXE with a Baby Cyclotron)” *International Journal of PIXE*, **2**, 325-330 (1992).
- 2) K. Sera, S. Futatsugawa and D. Ishiyama “Application of a Powdered Internal Standard method Combined with Correction for Self Absorption of X-ray to Geological, Environmental and Biological” *International Journal of PIXE*, **9**, 63-81(1999).
- 3) S. Futatsugawa, S. Hatakeyama, S. Saitou and K. Sera “Present Status of NMCC and Sample Preparation Method for Bio-samples” *International Journal of PIXE*, **3**, 319-328 (1993).

Elemental composition in water treatment medium and zeolite

Katsumi Saitoh¹, Yasuji Kurimoto² and Koichiro Sera³

¹Akita Prefectural Research Center for Public Health and Environment

6-6 Sensyu-Kubota, Akita 010-0874, Japan

Present affiliation: Center Laboratory of Technology, NS Environmental Science Consultant Corporation

4-3-33 Mitake, Morioka 020-0122, Japan

²Institute of Wood Technology, Akita Prefectural University

11-1 Kaieisaka, Noshiro 016-0876, Japan

³Cyclotron Research Center, Iwate Medical University

348-58 Tomegamori, Takizawa 020-0173, Japan

Abstract

To confirm the use possibility (safety) as the soil conditioner of the water treatment medium, this and zeolite (major ingredient) elemental compositions were analyzed by PIXE method. As a result, safety as the soil conditioner was confirmed. Therefore, it is thought that the water treatment medium can be used as a soil conditioner.

極微量水溶液試料に対する定量法の開発

後藤祥子¹、高橋千衣子¹、寺崎一典²、世良耕一郎²

¹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

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

1 はじめに

NMCCで開発が行われた「無標準法」により、多くの生物試料について、1 mg以下の微量試料に対する定量分析法が確立されている¹⁾。しかし、無標準法は有機成分を含まない水溶液試料に対しては適用できない。通常、水溶液試料の調製は、ピペットを用いて内部標準元素5~10 ppmとなるように原子吸光用標準溶液を添加して行う^{2,3)}。内部標準液として最も多く用いられているのはインジウム標準液(1000 ppm)である。これを精度良く定量し添加するためには、元の試料量は1 mL以上であることが望ましい。例えば試料量が100 μLしかない場合、通常の内標準法と同じ量の内部標準液を加えてしまうと、内部標準の濃度が高過ぎて微量元素の定量は困難になる。また、通常の内標準法と同じ濃度で測定しようとするれば、加える内部標準液の量は0.5~1 μLとなり、試料量がさらに少なくなれば通常のピペット操作で内部標準液を精度良く添加するのはほとんど不可能になる。しかし、試料の中には希少なものと、極微量しか採取できないものがある。今回、そうした極微量(50 μL以下)の液体試料に適した定量法の開発を目的とし、次の4つの方法を想定した。

①均一ビームによる外部標準法(外部標準法)

図1に示すように、外部標準法にはターゲットの形状に応じて2通りの定量法がある。水溶液試料の場合は、バックリング膜上に滴下し、そのまま乾燥させたものを測定するため、スポット状のターゲットになる。このようなターゲットに対しては、均一ビーム法が適用される。

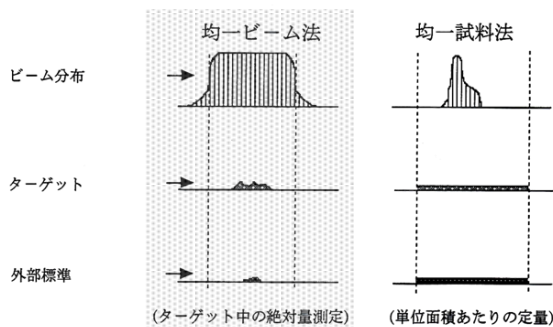


図1 外部標準法

均一ビーム法は、ターゲット全体を均一なビームで抱え込むように照射し、試料中の代表的な一元素 X の絶対量を同一条件で照射した既知量の X の標準ターゲットとの比較から求め、それを内部標準とみなして他の元素の定量を行うという方法である。したがって、ビームの不均一性・不安定さや試料への当たり具合が分析の精度に大きく影響する可能性がある。しかし、内部標準を加える必要がないため、微量の試料で定量分析でき、試料調製に関わる不確定要因も生じない。

②試料分割内部標準併用法（分割法）

測定試料を十分に均一化した後、マイクロチューブ 2 本 (A、B) に分けて、A に通常の内部標準法の場合と同じ量(5~10 μL)の内部標準を加える。例えば、A に 10 μL の試料を入れた場合、10 μL のインジウム標準液を加えると、内部標準濃度は通常の 100~200 倍の 1000 ppm になる。この条件で A の測定を行い、試料中に最も高濃度で存在する元素 X を定量する。元素 X を内部標準とみなして B を測定することにより他の元素の定量を行う (図 2)。この方法の場合、内部標準液の添加量は通常の内部標準法と同じなので、そのピペティング精度については問題ない。しかし、1 試料に 2 回の照射が必要で、測定・解析の手間も 2 倍になる。また、試料を分割するため、高感度分析のためには 20~30 μL の試料量が必要である。

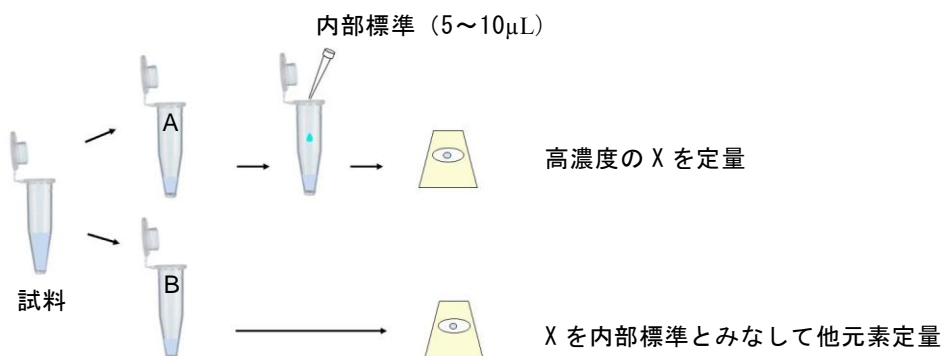


図 2 分割法

③内部標準液希釈添加法（希釈法）

内部標準液を希釈し、通常の内部標準法と同じ量を低濃度で試料に添加する。前記の 2 法より簡便だが、最適な希釈倍率をおさえる必要があり、希釈した時に濃度が均一になるように注意しなければならない。また、内部標準液を加えるため、少なくとも 10 μL の試料量は必要である。

④内部標準上乗せ法（上乗せ法）

無調製の試料をバックリングフィルムに滴下して乾燥させ、それにかぶせるように内部標準液を滴下し、再び乾燥させて測定する。手法としては最も簡単で、外部標準法と同様に数 μL の試料量で定量可能であり、内部標準液を加える必要がないため試料調製に関わる問題も生じない。しかし、特に薄い溶液の場合、完全に乾燥させてしまうと痕跡が見えにくくなるため、内部標準液を正確な位置に滴下することが難しくなる。逆に濃い溶液の場合、痕跡が大き過ぎて内部標準液をかぶせきれない部分が残ってしまうことがある。さらに、バックリングフィルムが疎水性のため、滴下した試料はしばしばフィルム上を移動する。痕跡に内部標準液を正確に上乗せできたとしても、その位置まで試料が移動した道筋に元素が残存していることも考えられ、定量の際の誤差要因となる可能性がある。

これら 4 つの方法のうち、①は外部標準法、②~④は内部標準法である。それぞれ一長一短があるが、各々の方法で市販の標準液を測定することにより、確度、再現性を検討した。

2 定量方法

2-1 測定試料

測定に使用したのは米国 SPEX 社の原子吸光分析用標準試薬 MIXSTD-5A および XSTC-8 である(表 1)。MIXSTD-5A では Fe、PB、Tl、Ni について、XSTC-8 では Ti、Zr、Nb、Mo について測定を行った。試料が「極微量」であるという前提のため、外部標準法および上乗せ法では 50 μL (原理的には数 μL で可能だが、測定効率を考慮して 50 μL とした)、分割法では 40 μL 、希釈法では 10 μL をマイクロチューブに分取し、これを測定用サンプルとして試料調製を行った。

表 1 測定試料

溶液名	ベース溶液	元素及び濃度
MIXSTD-5A	5% Nitric Acid	Fe, Mg, Pb – 100 mg/L Tl – 50 mg/L Ni – 20 mg/L Be – 10 mg/L
XSTC-8	H ₂ O/trace HF	B, C, Ge, Mo, Nb, P, S, Si, Ta, Ti, W, Zr, Re – 10 mg/L

2-2 外部標準法による MIXSTD-5A の測定

試料中に含まれている Ni を指標元素とした。標準ターゲットは、和光純薬工業(株)原子吸光分析用 Ni 標準液 (1000 ppm) を超純水で 10 倍および 100 倍に希釈し、100 ppm、10 ppm の溶液各々について、10 μL 、20 μL 、30 μL をバックリングフィルムに滴下したものを用意した。乾燥後、これらを 300 μm マイラー吸収体を用いて測定し、外部標準法の基礎データとした。MIXSTD-5A は、マイクロチューブに 50 μL 分取し、十分に攪拌した後、10 μL をバックリングフィルムに滴下して、乾燥後、標準ターゲットと同条件でビームを照射し、ここで得られた Ni 濃度を基準として内部標準法と同様、X 線発生断面積・吸収体の透過率・検出効率の 3 つの物理量を用い、Fe、PB、Tl の定量を行った。

2-3 分割法による MIXSTD-5A の測定

試料中に高濃度で含まれている Fe を指標元素とすることにした。40 μL の MIXSTD-5A から 10 μL をマイクロチューブに分取し、内部標準として 1000 ppm の In 標準液を 10 μL 加えて十分に攪拌した。ここから 10 μL をバックリングフィルムに滴下して、乾燥後、Fe の濃度を測定した。当初の計画では、ここで得られた Fe の定量値を基準にして残りの 30 μL の測定を行い、他の元素を定量することになっていたが、Fe の測定結果はすべて保証値より 20%程度低かった。原因として、試料中に高濃度で加えた In による X 線の自己吸収の影響が考えられたため、In を 10 倍に希釈して再度測定を行い、原液のスペクトルと比較してみると、原液では Fe の K α のピークが 20%程度低く出ていることがわかった (図 3)。そこで、Fe の 1000 ppm In に対する自己吸収補正を行い、残りの 30 μL から 10 μL をバックリングフィルムに滴下して PB、Tl、Ni の定量を行った。

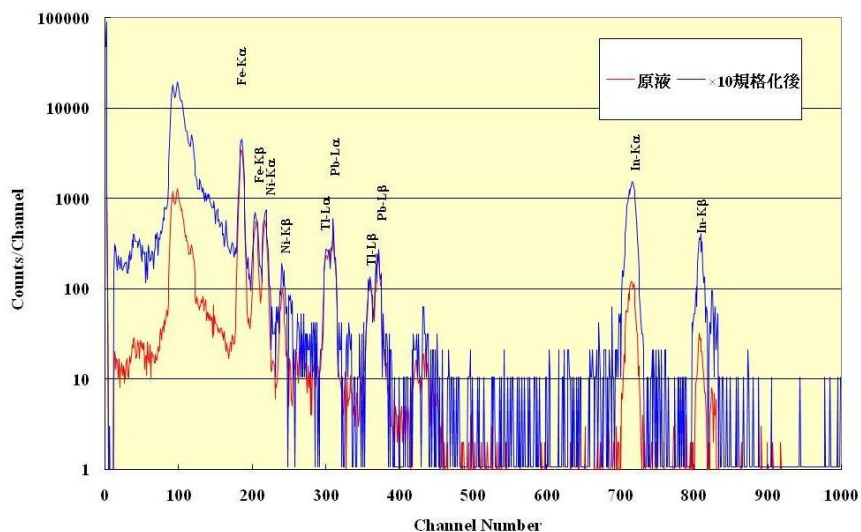


図3 異なる濃度のInによる試料のスペクトル比較

2-4 希釈法による MIXSTD-5A および XSTC-8 の測定

内部標準液は10倍希釈(100 ppm)、100倍希釈(10 ppm)の2種類を用意した。MIXSTD-5A と XSTC-8 は10 μ Lずつマイクロチューブに分取した。これに各々の濃度の内部標準液を10 μ L加えて攪拌した後、10 μ Lをバックリングフィルムに滴下して乾燥後に測定した。

2-5 上乗せ法による MIXSTD-5A および XSTC-8 の測定

MIXSTD-5A と XSTC-8 をマイクロチューブに50 μ L分取し、十分に攪拌した後、バックリングフィルムに5 μ L滴下した。試料が乾ききってしまうと痕跡が見えにくくなるため、水滴がある程度小さくなったところでそれにかぶせるように内部標準液を5 μ L滴下し、再び乾燥させて測定した。内部標準の濃度が影響するかどうかを見るため、In標準液は原液(1000 ppm)、10倍希釈液(100 ppm)、100倍希釈液(10 ppm)の3種類を用意した。

3 照射・測定及び解析

島津製作所製医療用小型サイクロトロン (MCY-1750) から引き出された2.9 MeVの陽子ビームは、真空散乱槽内のグラファイトコリメータにより整形されターゲットを照射する⁴⁾。今回はいずれの場合にも、6 mm ϕ のビーム径が用いられた。ビーム電流は70 nA前後、測定時間は1試料に対しおよそ5分であった。発生したX線は二検出器同時測定システムにより検出され⁵⁾、高エネルギー用の検出器には500 μ m Mylar filmがX線吸収体として装着された。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により解析され⁶⁾、各元素濃度が求められた。

4 結果と考察

4-1 外部標準法

外部標準法によるMIXSTD-5Aの測定結果を図4に示す。試料2が全元素について保証値より2割ほど低いが、試料をバックリングフィルムに滴下する際のピペットチップからの液切れが悪かったか、ビームの照射位置から若干ずれていたためと考えられる。逆に、試料4が全元素について保証値より2割ほ

ど高い結果が出たが、これもピペット操作による誤差と思われる。また、試料 10 は Fe と Tl が保証値より 15% 程度高い。前述のように、この測定法ではターゲット中の元素の絶対量を測定するため、試料を滴下する際のピペッティングおよびビームの照射位置の正確さが極めて重要となる。これらを厳密に調節することにより、確度の向上が期待できる。この方法は、試料調製を要しないため、同種の試料を多数測定する場合に有用と思われる。

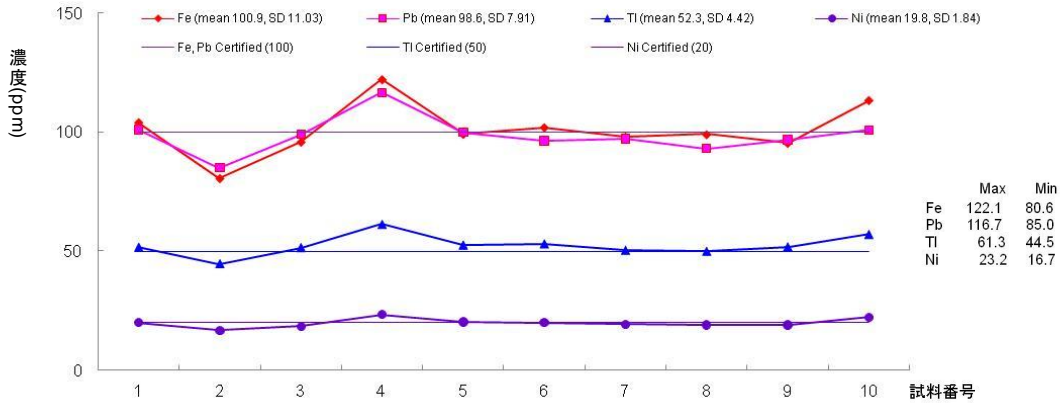


図 4 外部標準法による MIXSTD-5A の測定結果

4-2 分割法

分割法による MIXSTD-5A の測定結果を図 5 に示す。Tl を除いて保証値よりやや低めだが、平均すると概ね保証値±数%の範囲内に収まっている。しかし、分割法では高濃度の In を用いると自己吸収などの不確定要素が生じることがわかり、今回は希釈した In 標準液を用いて測定し直し、補正を行った。低濃度の In 標準液を使用するのであれば、結局、4-3 の希釈法と同じことになる。しかも、測定・解析の手間が 2 倍になるため、この方法は実用的とは言えない。

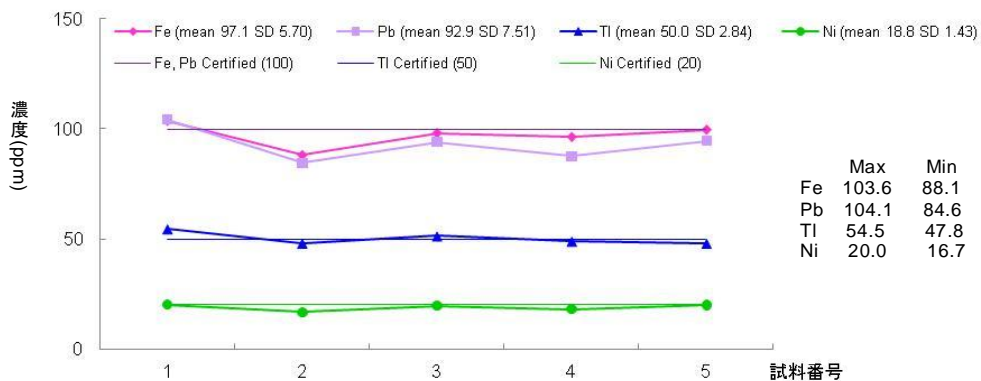


図 5 分割法による MIXSTD-5A の測定結果

4-3 希釈法

希釈法による MIXSTD-5A および XSTC-8 の測定結果を図 6 に示す。

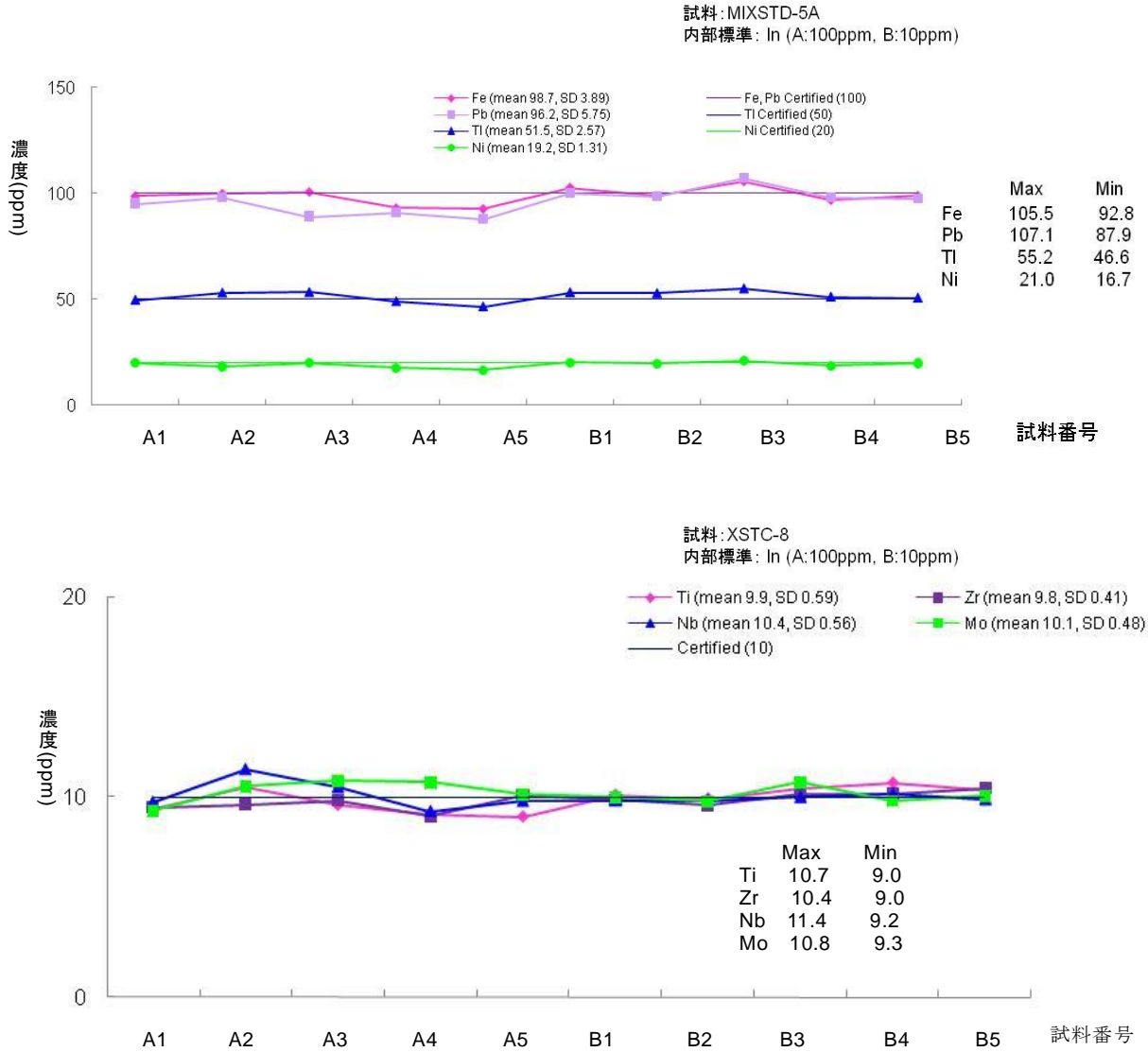


図 6 希釈法による MIXSTD-5A (上) と XSTC-8 (下) の測定結果

A1~5 が 10 倍希釈、B-1~5 が 100 倍希釈の In 標準液を加えて測定したグループである。いずれの測定においても 100 倍希釈の方が確度、再現性とも優っている。In 標準液を 100 倍に希釈することにより、通常の内部標準法と同程度の濃度条件で測定できることになるため、希釈が正確にできれば確度の高い定量が可能と思われる。

4-4 上乗せ法

上乗せ法による MIXSTD-5A および XSTC-8 の測定結果を図7に示す。

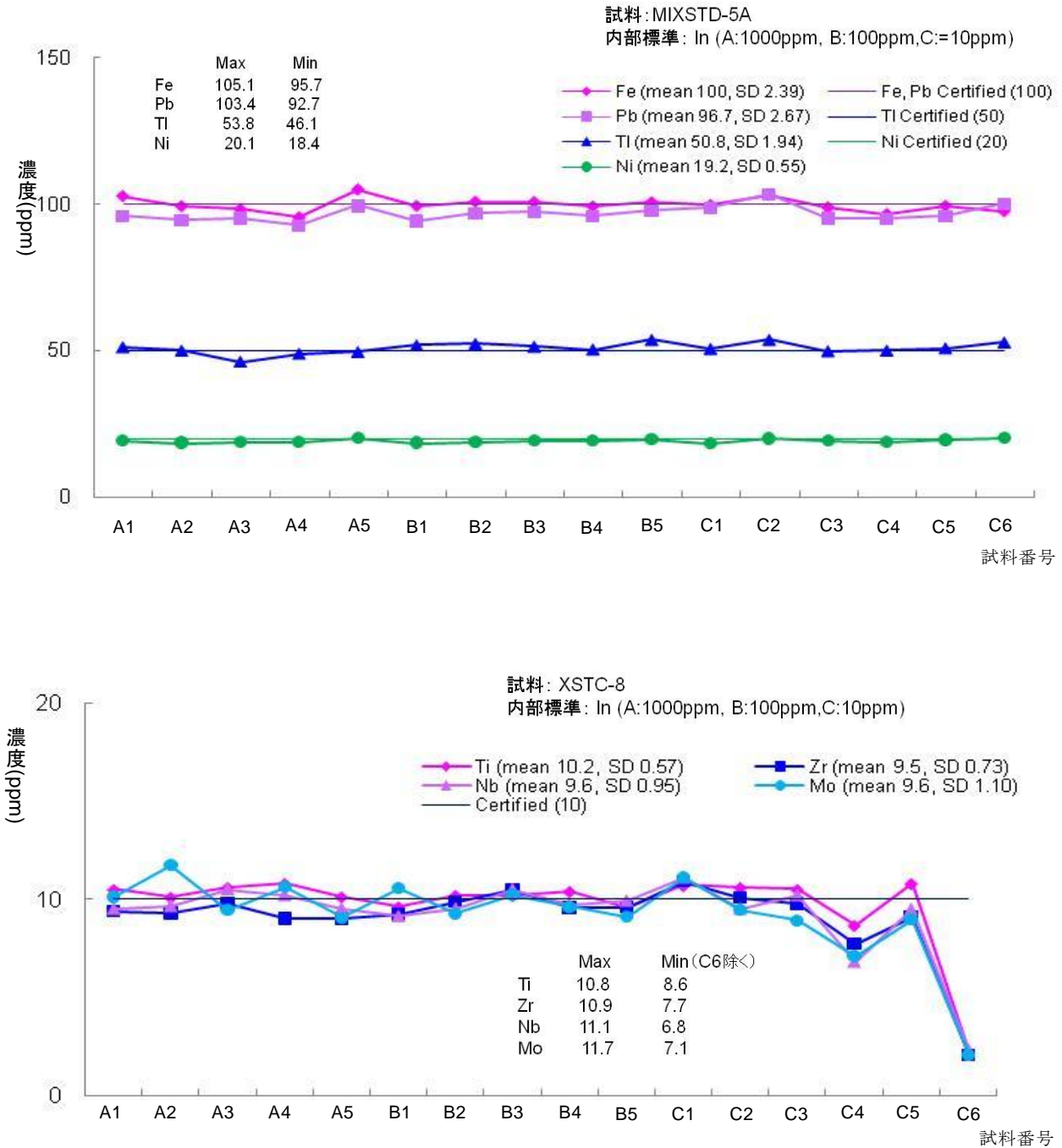


図7 上乗せ法による MIXSTD-5A (上) と XSTC-8 (下) の測定結果

A1~5 が原液、B-1~5 が 10 倍希釈、C-1~6 が 100 倍希釈の In 標準液を試料に上乗せして測定したグループである。XSTC-8 の C-6 は明らかに上乗せポイントを見失ってしまったものであり、C-4 もポイン

トがずれてしまった可能性が高い。In の濃度で比較すると、両方のグラフで B グループが安定しているように見えるが、MIXSTD-5A の測定では、平均すればどのグループも保証値±数%と良好な結果が得られた。XSTC-8 のグラフでは Mo の変動がやや目立つが、標準試料とはいえ、念入りに均一化しても、分取量が微少であったため、サンプル中に元素濃度のばらつきがあったということも考えられる。上乗せ法は、試料全体をカバーするように、内部標準を正確に上乗せする手法を確立することにより、確度の高い定量が期待できる。また、原液の内部標準液を使用しても概ね保障値と一致した結果が得られており、ターゲット作成も簡便であるため、特に試料中の元素濃度の大きな傾向を効率的に把握したい場合などには有用性が高いと思われる。

4-5 4 法の比較

図 8、9 に各々の方法で得られた定量結果 (平均値±S.D.) を示す。各々の方法で使用した試料量およびターゲットとした試料量が異なるため (表 2) 一概には比較できないが、今回の測定では 100 倍希釈の In 標準液を用いた希釈法が確度、再現性において最も優れていた。このことは、内部標準液を正確に希釈できれば、これを試料に加えて均一化するという通常の内標準法と同じ調製法が、最も誤差要因が少なく、確実な方法であることを示すものと考えられる。

表 2 使用試料量およびバックグフィルム滴下量 (μL)

	使用試料量(A)	内部標準添加量(B)	滴下量
外部標準法	50	—	10/A
分割法	40 → ①10	10	10/A + B
	②30	—	10/A
希釈法	10	10	10/A + B
上乗せ法	50	5	5/A + B

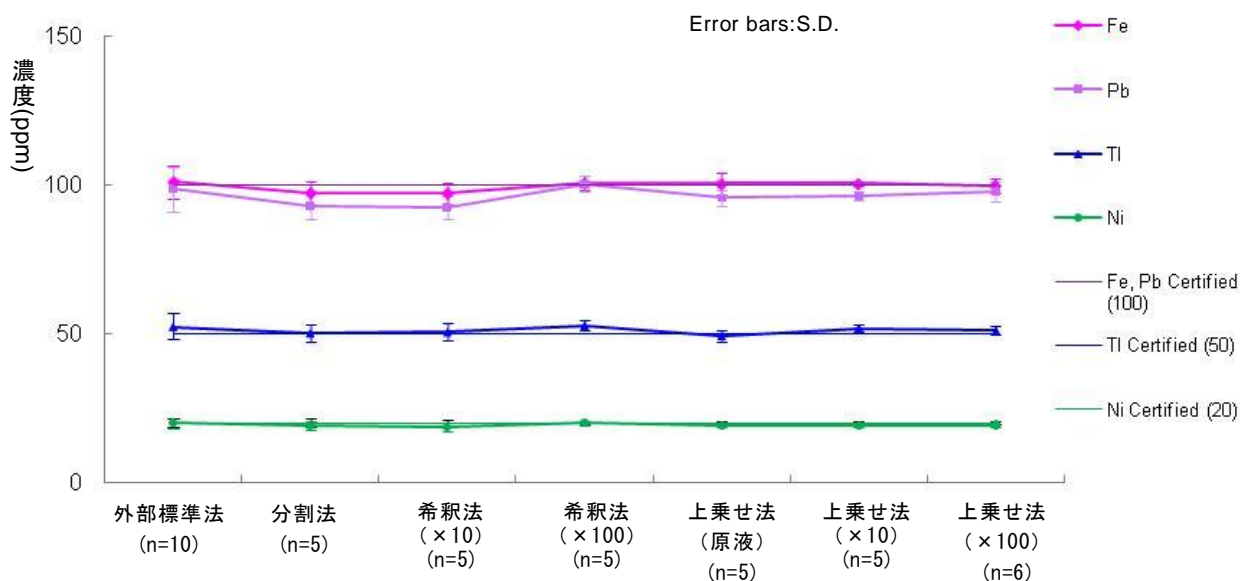


図 8 4 法による MIXSTD-5A の定量結果 (各元素平均値)

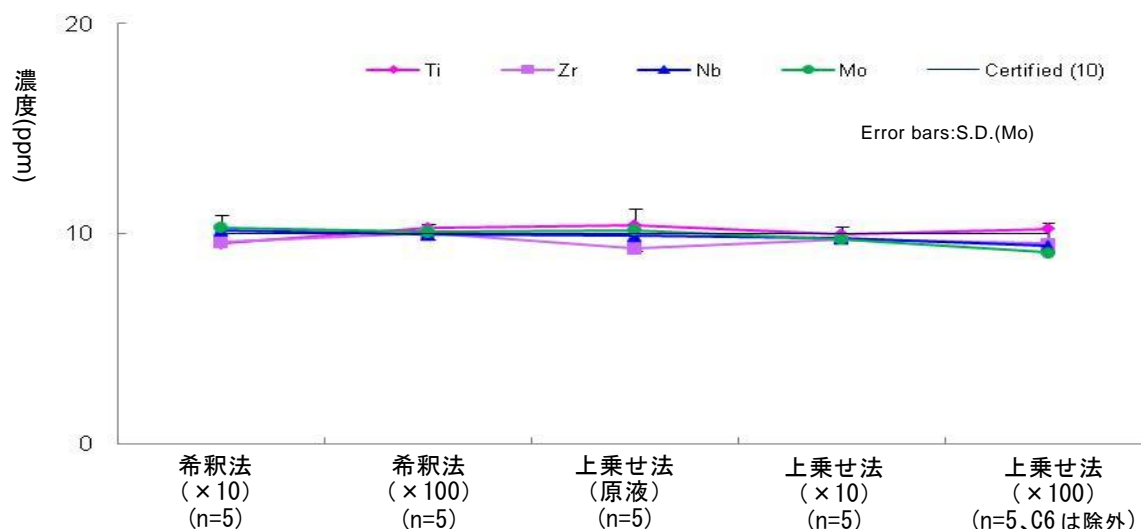


図9 2法によるXSTC-8の定量結果(各元素平均値)

5 まとめ

微量(50 μL 以下)の水溶液試料に適用しうる定量分析法として、均一ビームによる外部標準法、内部標準を用いた分割法、希釈法、上乗せ法の4法を検討した。外部標準法と上乗せ法は、各々照射位置や内部標準の上乗せ位置の微妙なずれが定量誤差につながるため、これらを厳密に調節することが重要となる。しかし5 μL 以下の超微量試料の定量分析を可能とするため、貴重な試料に対しては有用と思われる。分割法は、高濃度の内部標準液を使用すると、自己吸収の影響など定量に不確定要因が生じることがわかった。低濃度の内部標準液を使用するのであれば希釈法と同じことになり、しかも測定・解析の手間が2倍になるため実用的ではない。希釈法は、内部標準液を正確に希釈できれば、確度、再現性の良い定量が可能である。極微量の試料で高感度の測定ができるということがPIXEの特長だが、本研究により、微量の液体試料でも、簡易なターゲット作成により確度の高い定量が可能であることが確認できた。今後さらに確度、再現性の向上を目指し、分析法の確立に努めていきたい。

参考文献

- 1) Standard-free Method of Quantitative Analysis for Bio-samples
Sera, K., Futatsugawa, S., Matsuda, K. and Miura, Y.
Int'l Journal of PIXE Vol. 6-3,4, 467-481 (1996)
- 2) Present Status of NMCC and Sample Preparation Method of Bio-Samples
Futatsugawa, S., Hatakeyama, S., Saitou, Y. and Sera, K.
Int'l Journal of PIXE Vol. 3-4, 319-328 (1993)
- 3) PIXE Analysis of Mineral Water (Effect of Sample Preservation)
Futatsugawa, S., Hatakeyama, S., Saitou, Y. and Sera, K.
Int'l Journal of PIXE Vol. 4-2, 3, 107-116 (1994)
- 4) The Takizawa PIXE Facility Combined with a Baby Cyclotron for Positron Nuclear Medicine
Sera, K., Yanagisawa, T., Tsunoda, H., Futatsugawa, S., Hatakeyama, S., Suzuki, S. and Orihara, H.
Int'l Journal of PIXE Vol. 2-1, 47-55 (1992)

5) Bio-PIXE at the Takizawa Facility (Bio-PIXE with a Baby Cyclotron)

Sera, K., Yanagisawa, T., Tsunoda, H., Futatsugawa, S., Hatakeyama, S., Saitoh, Y., Suzuki, S. and Orihara, H.
Int'l Journal of PIXE Vol. 2-3, 325-330 (1992)

6) Personal Computer Aided Data Handling and Analysis for PIXE

Sera, K. and Futatsugawa, S.

Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B 109/110, 99-104 (1996)

Quantitative analysis of minimal aqueous sample by PIXE

S. Goto¹, C. Takahashi¹, K. Terasaki² and K. Sera²

¹Nishina Memorial Cyclotron Center, Japan Radioisotope Association
348-58 Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0173, Japan

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

Abstract

For quantitative analysis of liquid sample by PIXE, internal standard method is commonly used by adding a standard solution to the sample to an optimal concentration usually at 5-10 ppm. In order to add the standard accurately with a micropipette, the amount of the sample is favorably more than 1 mL. But some kind of liquid, such as [¹⁸O]H₂O, the material of F-18 labeled PET pharmaceutical, is too scarce or precious to get enough amount of sample for analysis by the ordinal internal standard method. With the aim of developing techniques for quantitative analysis applicable to minimal sample of such liquid, we have tested the following four methods by analyzing two multi-element standard solutions and examined their accuracy and reproducibility.

1. External standard method for a spot target: the whole target is irradiated with a uniformly adjusted beam and a specific element in the target is firstly quantified by comparing the spectrum with that of equally irradiated standard target. The remaining elements are quantified by taking the element's value as the internal standard.
2. Two-step method: a portion of the minimal sample is firstly analyzed by adding the internal standard of the ordinal amount (usually 10 µL to a 1 mL sample, so it is too much for the minimal portion) to identify the highest element in the sample and obtain its value. Taking the value as the internal standard, the rest sample is analyzed.
3. Standard dilution: the standard solution is diluted by 10 or 100 times to be added accurately to the minimal sample.
4. Standard covering: after drying 5-10 µL of the sample on the backing film, the appropriate amount of the standard solution is dropped to cover the whole residue.

The results were mostly satisfactory with 10-15 per cent accuracy except two-step method where the self absorption of indium, the excessively added internal standard, affects the measurement. For external standard method and covering method, correct adjustment and positioning of the beam, and precise location of the standard dropping are found to be crucial respectively. As both the methods require no sample conditioning, they are expected to be applicable even to a sample of less than 10µL. Standard dilution method with a 100 times diluted solution is shown to be most stable in accuracy and reproducibility. The ordinal internal standard procedure using optimally diluted solution is supposed to be most advantageous though it takes more amount of sample than the former two methods.

岩木山ブナ林土壌試料に関する PIXE 法による分析値と XRF 法による分析値の比較Ⅱ

鶴見 實、栗橋 徹、高橋希望、種市香織

弘前大学大学院理工学研究科

036-8561 青森県弘前市文京町3

1 はじめに

天然の土壌試料を分析する手法として蛍光 X 線分析法は、比較的信頼のおける方法として知られている。それに対して PIXE 分析法は試料の性質や調製技術に比較的依存する方法である。しかしこの方法による以外に得られにくい元素があり、蛍光 X 線分析法などとの整合性の十分な検討が必要とされる。

ここでは岩木山ブナ林土壌試料に対し、蛍光 X 線分析法 (XRF 分析法) で得られた分析値 (XRF 分析値) と PIXE 分析法を用いて得られた分析値 (PIXE 分析値) の比較を行う。いままでの結果によると、当研究室で採取した岩木山ブナ林土壌に対する PIXE 分析値の酸化物換算した合計値は $130 \pm 30\%$ であった。そこでいくつかの補正法を検討した。

まず、補正法 1 として (式 1-1) を用いて PIXE 分析によって得られた主成分の濃度を酸化物に換算した濃度の合計値と、別に測定した灼熱源量 (LOI) の値を足して 100% になるように補正を行った。

$$\text{PIXE 分析値} \times ((100 - \text{LOI}(\%)) / \text{無機成分の含有量}) \quad \dots \text{(式 1-1)}$$

しかし図 1 を見ると、補正法 1 により補正した分析値 (オレンジ: PIXE 15 分間粉末化、補正) になおバラツキが見られた。この原因の 1 つとして、土壌粉末試料と Pd 標準物質との混合時間が不十分であった為と考え、混合時間を 15 分から 30 分へと延長させた。その結果、混合時間を延長する事によってバラツキが軽減されることが判明した。図 1 をみるとバラツキは改善されたが、XRF 分析値 (青: XRF) のほうが深さに伴い滑らかな変化を示しているのに対して、Pd と試料を 30 分混合させて補正を行った PIXE 分析値 (緑: PIXE 30 分補正法 1) は滑らかに変化していない。この理由は Si と Al、Mg、Na の PIXE 分析値の変動によると考えられ、新しい補正方法を検討する必要があると考えた。そこで PIXE 分析値の二番目の補正方法について検討し、XRF 分析値と比較を行うことにする。

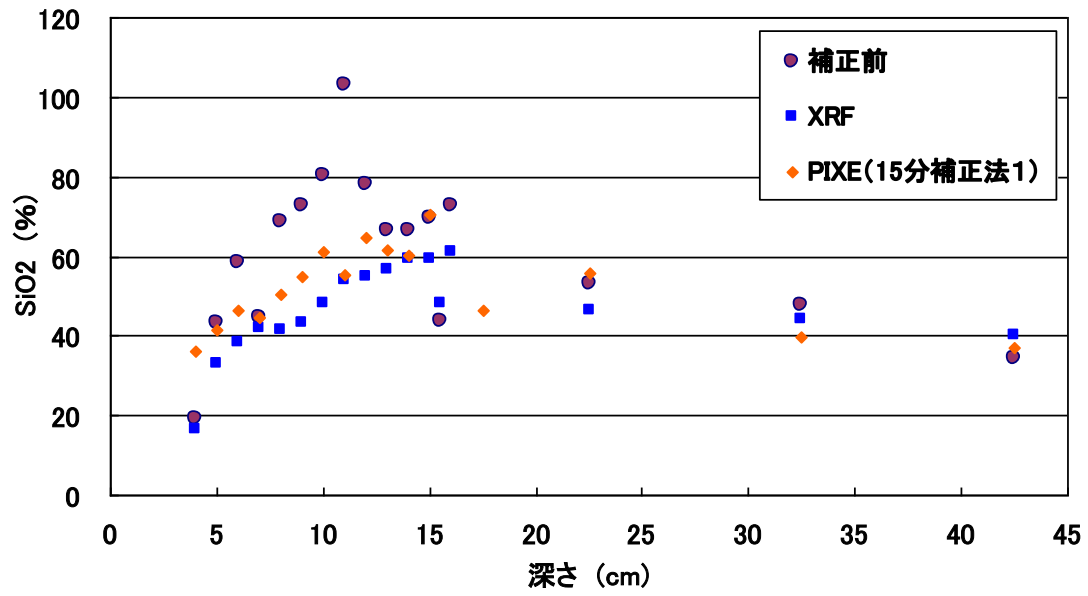


図 1 - a 混合時間 15 分での補正前と補正後の比較

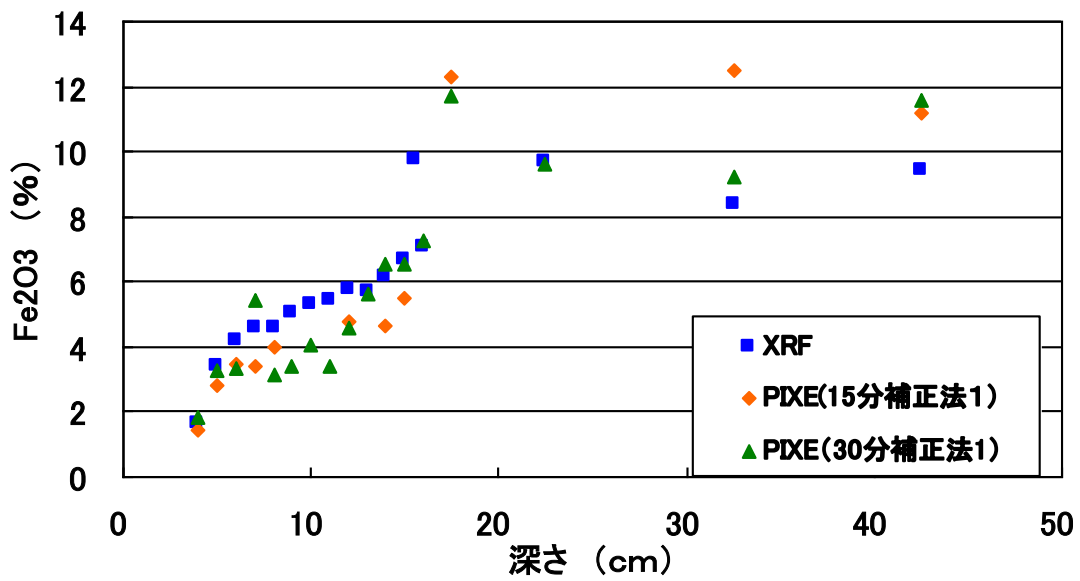


図 1 - b 混合時間 (15・30 分) の PIXE 分析値と XRF 分析値の比較

2 試料採取

2.1 採取地点

試料の採取は、岩木山南西麓の「巨木の森」で行った。採取地点一帯は、樹齢約 100 年のブナ単層 2 次林である。標高は 780m であり、採取地点一帯の地質は、岩木火山の第三系の火山噴出物である。



図 2. 採取地点

2.2 採取方法

まず、最表層に存在する落葉落枝を Litter (深さ 10cm) として採取する。Litter の下の層は水分を多く含んでおり、落葉が多少腐食し始めている腐食層である。これを O 層として、その腐植の段階ごとに、やや未分解の層を O 層① (深さ 7cm)、分解が進んだほうを O 層② (深さ 5cm) として採取した。そして、採取地点周辺の Litter や O 層を採取した後、黒色の土壌がみられる。ここを土壌最表層 (深さ 0cm) とし、垂直方向にスコップで表層土壌を約 20cm の塊のまま採取する。17cm 深までは土壌試料を深さ方向 1cm ごとに採取した。このように表層土壌を 1cm 間隔で採取された例は稀である。このことによって化学組成のなめらかな変化を期待できる。15cm 以深は、深さ 15-20cm、20-25cm、30-35cm、40-45cm で土壌断面から試料を採取した。

3 測定方法

3.1 前処理

土壌試料は 3 週間実験室内で自然乾燥した後、65°C に設定した乾燥機で 48 時間乾燥させた。乾燥させた土壌試料から、大きな枝や木の根、ブナの実などを取り除いてから自動乳鉢を用いて粉末化した。細かい根などは、土壌と一緒に粉末化した。なお、Litter などの有機物の多い試料は粉末化に時間がかかる。そのため前もってポリエチレン製の袋内で、手で揉み、細かくした。

3.2 試料調製

3.2.1 PIXE 分析法

土壌試料の化学成分定量には内部標準法を用いた。この方法は、土壌などの粉末試料に適しているとされている。内部標準試料として Pd カーボンを用いた。Pd カーボン (約 5%Pd) 10mg と土壌試料 50mg を混合時間 30 分間混合し、混合試料中の Pd 濃度が約 10000ppm となるよう調整した。混合試料をピンセットで極微量つまみとり、シートの中央に置く。コロジオン 10% 溶液 (エタノール : ジエチルエーテル = 1 : 1) を 3μl とり、試料の上に滴下し、7mm ほどの円状に広げる。

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

3.2.2 蛍光 X 線分析法

土壌試料の化学成分のうち、主成分である SiO₂、Al₂O₃、Fe₂O₃、K₂O、TiO₂、MgO、Na₂O、CaO、MnO、P₂O₅、の 10 元素、微量成分 Nb、Zr、Y、Sr、Rb、Th、Pb、Zn、Cu、Ni の 10 元素について蛍光 X 線分析法

を用いて分析した。用いた装置は、Philips 社製 PW2400 型全自動蛍光 X 線分析装置である。

○灼熱減量 (LOI)

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

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

○ガラスビード法による調節

粉末試料に対してガラスビード法 (融解試料調整法) による調整をおこなった。この方法は、ガラス円板試料に加工調整することで試料の均一性を高め、優れた分析結果が得られる。灼熱処理した土壌試料 1.8g を精秤し、融剤を加えて試料と融剤 1:2 の割合になるようにする。融剤には Li₂B₄O₇ と LiBO₄ (Merck 製、A20) を 8:2 (Li₂B₄O₇ 約 2.90g、LiBO₄ 約 0.72g) に混ぜたものを使用した。ただし、Li₂B₄O₇、LiBO₄ には微量の水分が含まれており、熔融時に一定の割合蒸発し、減量する。このため、あらかじめ熔融時間と減少量の関係を測定しておき、熔融後に試料:融剤=1:2 の比率となるように Li₂B₄O₇、LiBO₄ を精秤した。

4 補正方法

4.1 標準岩石

以下に示す3つの標準岩石を用いた。文献値を表1に示す。

JA-1: 神奈川県足柄下郡真鶴町

安山岩 (Andesite)、1982 年

JB-1a: 長崎県佐世保市妙観寺峠

チタン輝石かんらん石粗面玄武岩 (Basalt)、1984 年

JG-1a: 群馬県勢多郡東村大字沢入

中粒黒雲母花崗閃緑岩 (Granodiorite)、1984

表 1 標準岩石の文献値

地質調査所より

	SiO ₂ %	TiO ₂ %	Al ₂ O ₃ %	Fe ₂ O ₃ %	MnO %	MgO %	CaO %	Na ₂ O %
JA-1(文献値)	63.97	0.85	15.22	7.02	0.157	1.57	5.7	3.84
文献値誤差	±0.60	±0.04	±0.34	±0.20	±0.011	±0.07	±0.16	±0.16
JB-1a(文献値)	52.41	1.28	14.45	8.98	0.148	7.83	9.31	2.73
文献値誤差	±0.70	±0.04	±0.39	±0.21	±0.008	±0.12	±0.40	±0.13
JG-1a(文献値)	72.3	0.25	14.3	2.02	0.057	0.69	2.13	3.39
文献値誤差	±0.51	±0.03	±0.41	±0.14	±0.007	±0.07	±0.08	±0.13

(表1 続き)

	K ₂ O %	P ₂ O ₅ %	Nb ppm	Zr ppm	Sr ppm	Rb ppm	Pb ppm	Zn ppm
JA-1(文献値)	0.77	0.165	1.85	88.3	263.0	12.3	6.6	90.9
文献値誤差	±0.11	±0.021						
JB-1a(文献値)	1.4	0.26	26.9	144	442	39.2	6.76	82.1
文献値誤差	±0.12	±0.015						
JG-1a(文献値)	3.96	0.083	11.4	118	379	178	26.4	36.5
文献値誤差	±0.16	±0.009						

	Cu ppm	Co ppm	Ni ppm	Cl ppm	S ppm	Cr ppm	Ga ppm	合計
JA-1(文献値)	43.0	12.3	3.5	43.0	21.6	7.83	16.7	99.3
JB-1a(文献値)	56.7	38.6	139	171	10.2	392	17.9	98.95
JG-1a(文献値)	1.67	5.9	6.91	65	11	17.6	16.5	99.27

表2 標準岩石のPIXE分析値

	SiO ₂ %	TiO ₂ %	Al ₂ O ₃ %	Fe ₂ O ₃ %	MnO %	MgO %	CaO %	Na ₂ O %
JA-1	70.36	0.88	17.78	7.37	0.16	0.45	5.88	2.62
JB-1a	46.22	1.29	12.78	9.29	0.139	3.24	9.60	1.66
JG-1a	77.48	0.256	15.89	2.07	0.059	0.26	2.18	2.30

	K ₂ O %	P ₂ O ₅ %	Nb ppm	Zr ppm	Sr ppm	Rb ppm	Pb ppm	Zn ppm
JA-1	0.78				98.6			108.4
JB-1a	1.41		39.20	172.6	522.50		266.67	90.26
JG-1a	4.01			129.0	183.05	183.1	25.99	55.01

	Cu ppm	Co ppm	Ni ppm	Cl ppm	S ppm	Cr ppm	Ga ppm	合計
JA-1	57.3	437.5		838.1	624.6	63.4		106.50
JB-1a	63.01	697.88	98.95	1143.1	806.9	356.0		86.07
JG-1a	6.54	117.14		1670.3	601.0	34.2	11.1	104.80

4.3 標準岩石を用いたPIXE分析値の補正方法の検討

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

以下の補正方法を補正法2とする。補正法2では、元素を3つのグループに分類し、それぞれのグループで補正を行う。

4.3.1 Ti、Fe、Mn、Ca、K (Aグループ)

標準岩石のこれらのPIXE分析値は、図3のように文献値と誤差の範囲内で一致している。このことから、Ti、Fe、Mn、Ca、Kの5つの元素をAグループとし、生データを補正せずPIXE分析値をそのまま採用する。

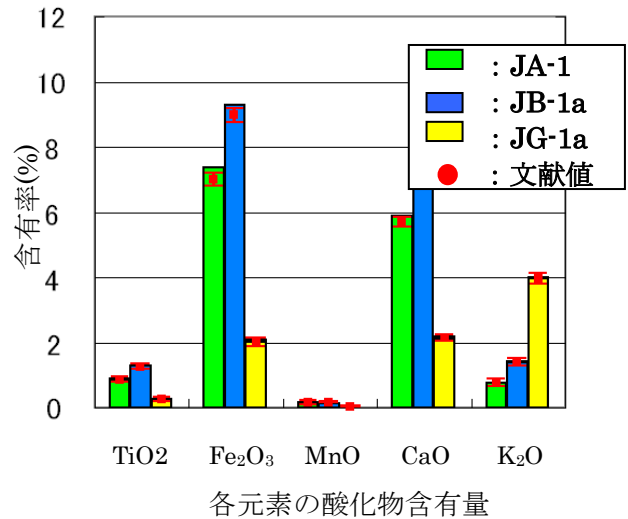


図3. Aグループ元素の標準岩石に対するPIXE分析値(棒グラフ)とその文献値(丸印)の比較

4.3.2 Mg、Na (Bグループ)

図4より標準岩石の文献値とそのPIXE分析値を比較すると、常にPIXE分析値が文献値よりも低い値を示している。これは試料による自己吸収が起っているため実際の値よりも低く見積もられていると考えられる。このズレを補正するために、酸化物換算の値にMgは2.8倍、Naは1.5倍の係数をかけた値を採用する。この倍率は標準岩石の文献値とPIXE分析値の比較から決定した。

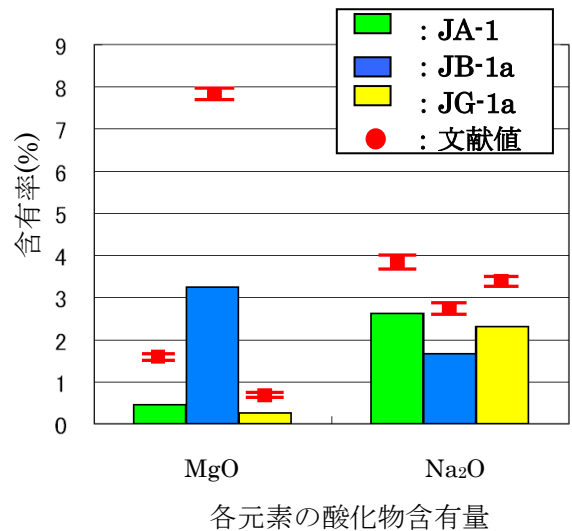


図4. Bグループ元素の標準岩石に対するPIXE分析値(棒グラフ)とその文献値(丸印)の比較

4.3.3 Si、Al、P、微量元素 (C グループ)

図5にA・Bグループ以外の元素における標準岩石の文献値とPIXE分析値を比較すると、PIXE分析値は、文献値の誤差の範囲内に入っていない。そのため、LOIを加えて全体が100%になるように補正係数(式4-2)を生データにかける(式4-1)ことにした。

補正值 = 生データ × 補正係数 …… (式4-1)

$$\text{補正係数} = \frac{(100 - \text{LOI}) - (A + B)}{C} \dots\dots (式4-2)$$

ただし、AはAグループの酸化物の総量(%)、BはBグループ酸化物の係数をかけた値の総量(%)、CはCグループの酸化物の総量(%)を表わす。

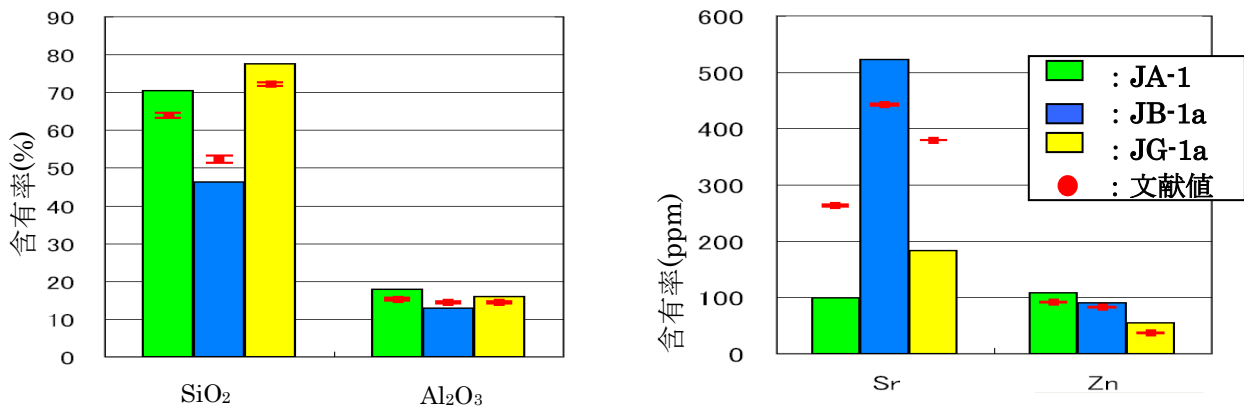


図5. Cグループ元素の標準岩石に対するPIXE分析値(棒グラフ)とその文献値(丸印)の比較

5 考察

5.1 主要元素

PIXE分析値とXRF分析値を試料採取深度とともに示した図6から、補正をしなかったAグループ(Ti、Fe、Mn、Ca、K)に関して、補正法2の値とXRF分析値の値はよく一致している。よって、Aグループの5つの元素については、生データを採用することにする。一方、CグループのSi、Alに関して、補正法1で求めた値と補正法2で求めた値は、どちらも生データより文献値との一致が良好になる。この2つの元素に関しては補正法2を採用する。

5.2 Na、Mg

図6に示したように、補正法2で求めた土壌のPIXE分析値は生データよりもXRF値から大きくはずれていることが分かる。標準岩石試料を用いて求めた係数は、岩木山土壌に対して有効でないとと言える。

5.3 微量元素

微量元素分析値を補正した結果は、図7に示すようにXRF分析値と一致しない。微量元素に関して誤差の大きなデータが多く、採用できる数も少ないため、Aグループと同様に生データを採用した方がよいかもしれない。試料調製の技術向上などとともに、微量元素を検出する為の検討が今後の課題となろう。

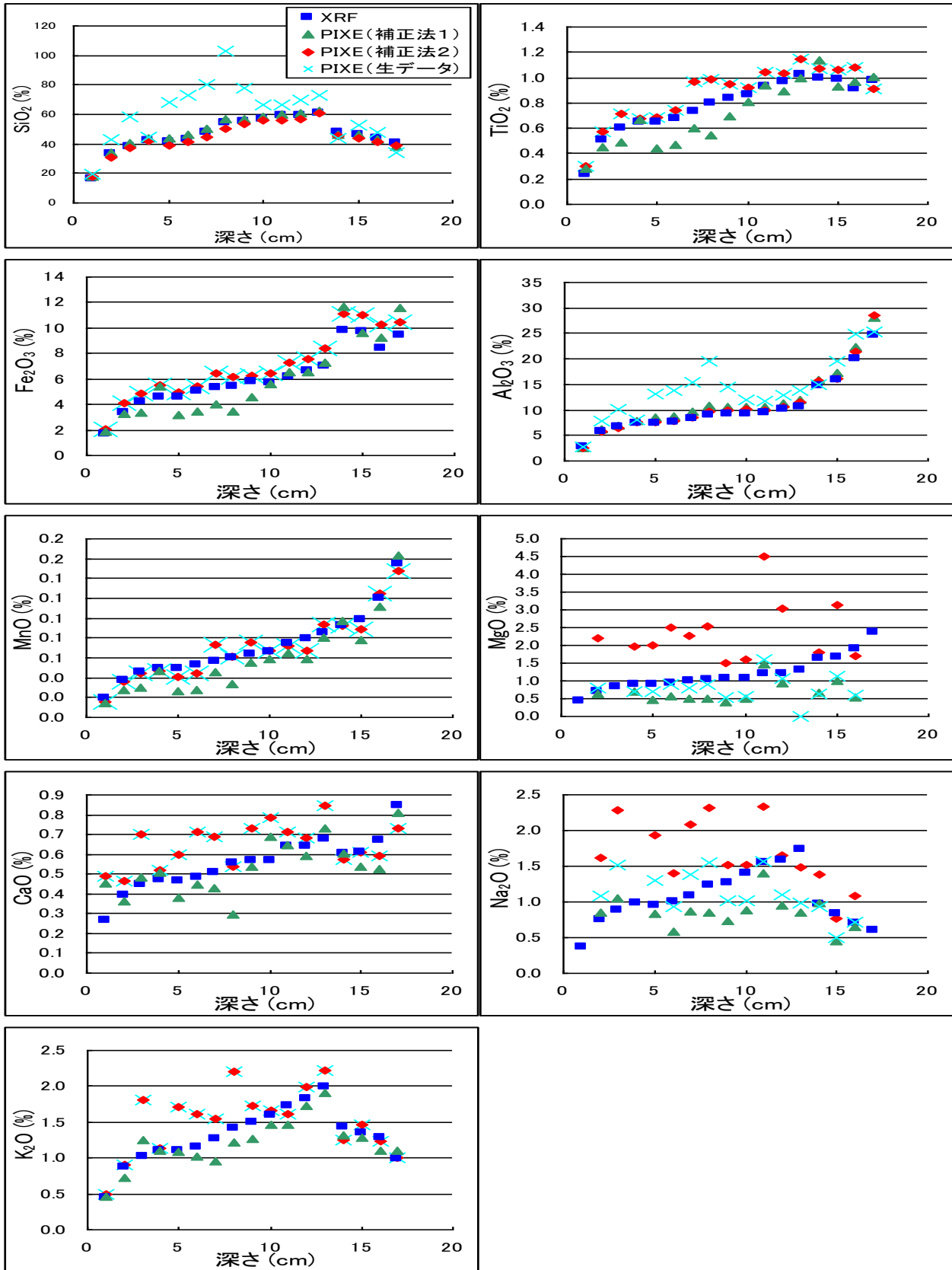


図6 PIXE 分析値と XRF 分析値の比較 (主成分)

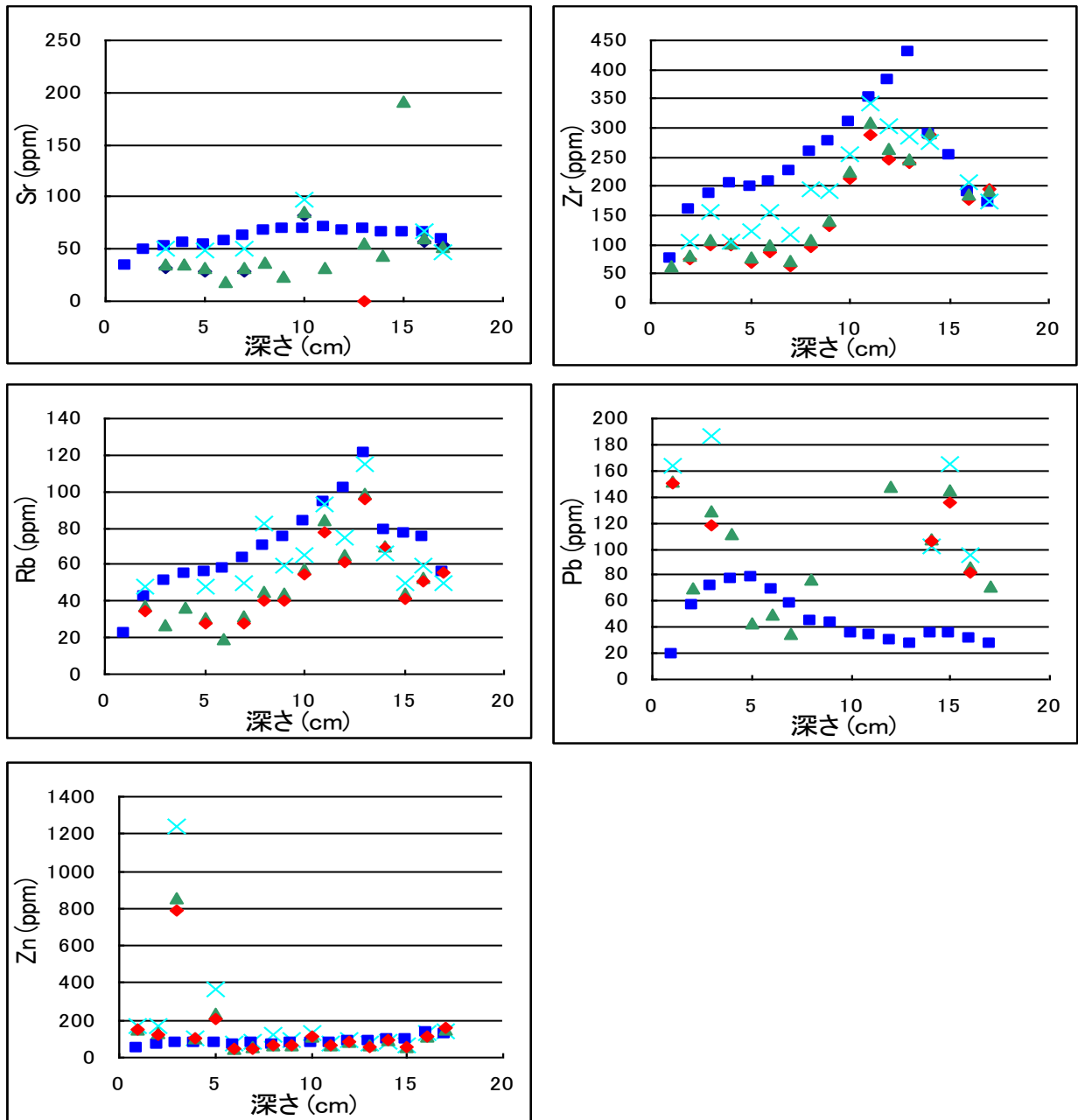


図7 PIXE 分析値と XRF 分析値の比較 (微量元素)

6 結果

岩木山ブナ林土壌試料に関する PIXE 分析値の酸化物換算した合計値は 100% にならなかった。いままで補正法 1 を用いて補正を行った。しかし、PIXE 分析値にバラツキが生じる為に、今回は標準岩石試料を用いて新しい補正法 2 を検討した。補正法 2 では、元素を 3 つのグループに分けてそれぞれ補正を行った。A グループ (Ti、Fe、Mn、K、Ca) の 5 つの元素については補正を行わずに生データを採用する。B グループ (Mg、Na) は標準岩石試料の場合に自己吸収が発生し低い値となる。そこで、生データにそれぞれ 2.8、1.5 倍の係数をかけ採用する。C グループ (A、B グループ以外) は生データに酸化物の合計値が 100% になるよう補正

係数をかける。補正法2で得られた値を用いて、XRF分析値と比較を行った結果(図8)、Aグループである5つの元素は、補正法1よりも生データのほうが良好な値を示したことから、生データのままで良い。CグループのSi、Alに対しては補正を行った方が良い。BグループのNaとMgは標準岩石と土壌試料との間で何らかの違いがあると考えられた。このように、補正法2はNa、Mgを除く主要元素に関して良好な値を示す事が分かった。しかし、微量元素に関しては、補正法2を用いても分析値のバラツキが大きい(図9)。微量元素の補正方法に関して、補正法2を基にさらに検討するべきであると考えられる。

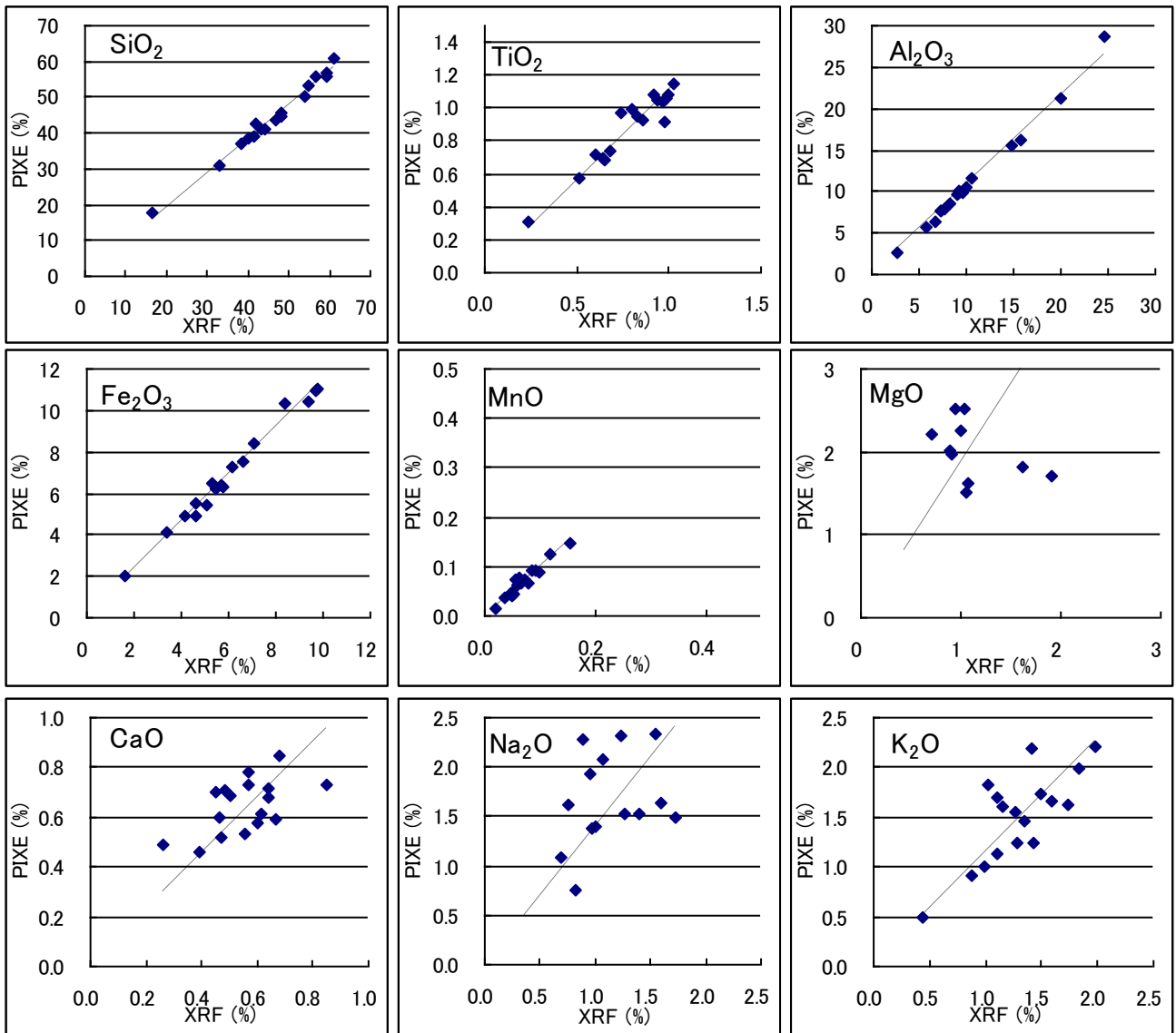


図8 岩木山ブナ林土壌におけるXRF分析値とPIXE分析値(補正法2)の相関(主要元素)

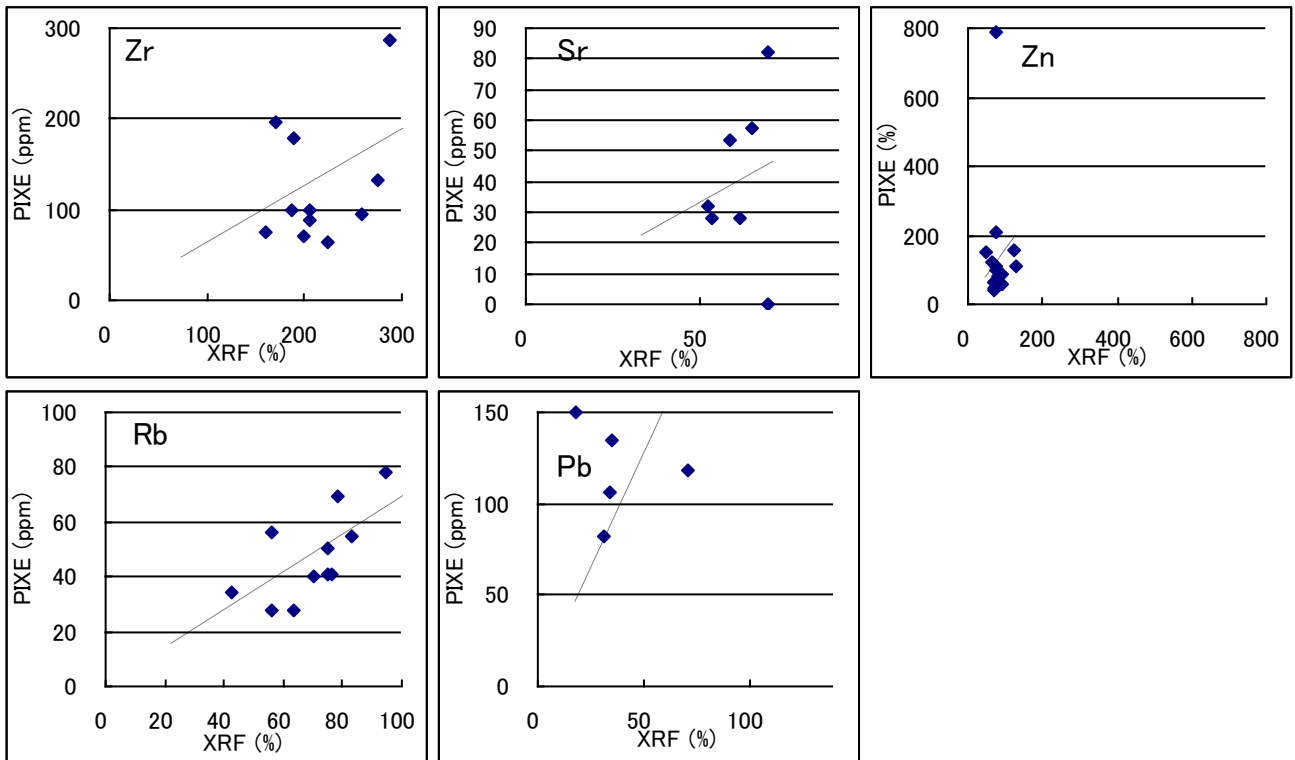


図9 岩木山ブナ林土壌における XRF 分析値と PIXE 分析値（補正法2）の相関

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

M.Tsurumi, T.Kurihashi, N.Takahashi and K.Taneichi

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

Abstract

Chemical contents of soil samples were analyzed by Particle Induced X-ray Emission analysis (PIXE) and X-ray fluorescence spectrometry (XRF). An analytical comparison of PIXE with XRF is discussed in composition for soil samples collected at Kyoboku-no-mori in Mt. Iwaki, Japan. There were differences between raw data with these two analytical methods. The content values of major elements show wider variations in PIXE than in XRF. For Ti, Fe, Mn, Ca, and K, PIXE data were agreed well with XRF data. For the other elements, however, data correction were needed. Correction processes were discussed.

電子ライナック施設における加速器室内のエアロゾル環境

沖 雄一、長田直之¹、森 達哉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ンセンター
020-0173 岩手県岩手郡滝沢村滝沢字留が森 348-58

1 はじめに

近年の加速器の進歩は目覚しく、多くの大強度、高エネルギーの加速器が稼動するようになった。これらの加速器では従来と異なり、放射線管理上、強い放射化や多種類の放射性核種の生成に特に注意を払う必要がある。放射線安全の確保は、外部被曝のみならず内部被曝の防護の観点からも重要である。最近は中性子源などとして使用される加速器に、小型ながらも原子炉に匹敵するような中性子発生量を有するものが可能となっており、従来ほとんど無視できた加速器室内に存在するエアロゾル(ダスト)の放射化も、作業者の内部被曝管理や排気浄化装置の設計および維持の観点から再評価する必要があると思われる。

一方、加速器運転中には、加速器室内の空気が放射化して放射性ガスや放射性エアロゾルが発生している。放射性エアロゾルは、加速器室内の高線量場において空気分子の電離により開始する放射線化学反応によりエアロゾル粒子が発生し、その生成の過程などで放射性核種を取り込む(付着や溶解など)ことにより生成すると考えられている。これまで加速器室内で生成する放射性エアロゾルについて、近藤ら¹⁾による⁷Be エアロゾルの粒径分布測定などが報告されている。

このように運転中の加速器室内には起源の異なる種々の大気浮遊放射性核種が存在しているが、それらを総合的に議論した報文はあまりない。本報では、内部被曝線量の評価や排気浄化設備の設計に必要な情報である、放射性エアロゾル粒子の粒径と放射能濃度を考察するための基礎データとして、加速器室に常時存在するエアロゾル(主に放射化により放射性エアロゾルとなる)と、加速器運転中に生成するエアロゾル(放射性核種を取り込み放射性エアロゾルとなる)の双方について、粒径分布と濃度の測定を行った。常時存在するエアロゾルについては、PIXE 分析により元素別の粒径分布を測定した。以下では未だ予備的な段階ではあるが、電子ライナック施設においてこれらのエアロゾルを測定した結果を述べる。

2 実験

2.1 加速器室内に常時存在するエアロゾル

実験は京都大学原子炉実験所 46 MeV 電子ライナックで行った。加速器室内空気に常時存在するエアロゾルの分析のために、加速器が運転を停止している期間中に、エアロゾルを含む加速器室内空気を数日間カスケードインパクターを用いて吸引し、粒径別にエアロゾルを捕集した。用いたカスケードインパクターはジャッキアップ型(引出し方式)のもの(東京ダイレック社製、LP2015J型)で、吸引流量は 23.1 L/min、56 nm から 14 μm までを 14 段階に分級できる。インパクターは、あらかじめ行った京都大学原子炉実験所内の臨界集合体棟の大容積の空間を利用した較正実験により、各ステージのノズルと捕集板の間隔を最適化してから用いた。また、各粒径ステージの捕集材としては、PIXE 分析に影響を与えないポリカーボネートフィルターを用いた。

カスケードインパクターを用いた試料採取では、各ステージの試料はポリカーボネートフィルター上に直径 1~2 mm 程度のスポット状に捕集される。そのスポットのあるフィルター部分を切り取りサンプルホルダーに貼付した後、日本アイソトープ協会仁科記念サイクロトロンセンターにて陽子線を照射し、PIXE 分析を行った。基本的にスポット状試料の分析法を用いて、多元素の同時定量を行った。それぞれのステージ毎に複数の試料を測定し、定量されたスポットの個数と各ステージの全スポットの個数より、各粒径範囲の元素重量の平均値を算出した。

2.2 加速器運転中に生成するエアロゾル

加速器運転中に生成するエアロゾルを、上記の常時存在するエアロゾルと分離して観測するために、加速器のビームライン終端のタンタルターゲット後方に、空気照射用のステンレス鋼のフレキ管をビームラインに直交するように配置して管内で空気照射を行った。HEPA フィルター等によりエアロゾルを除去した空気を加速器室外の実験室からフレキ管に導入して照射し、照射された空気を加速器室外に再び導き、エアロゾル測定に供した。エアロゾル測定では、Scanning Mobility Particle Sizer (SMPS、TSI 社製 Model 3936A)、またはスクリーン型の拡散バッテリーと Condensation Particle Counter (CPC、TSI 社製 Model 3025A)を組み合わせたシステムによりエアロゾルの粒径分布および個数濃度を測定した。なお、実験時の代表的なビーム条件は、加速電子エネルギー: 30 MeV、電流値: 約 90 μA であった。実験は電子線をタンタルターゲットに衝突させ、フレキ管は主に制動放射線により照射される条件で行った。

3 結果および考察

3.1 常時存在するエアロゾルの PIXE 分析

PIXE 分析の結果、Al、Si、S、Ca、Fe、K、Mo、Zn、Ni、Pb、Cu、Br、Rb の粒径分布を得ることができた。濃度の上位 6 元素の質量基準粒径分布を図 1 に、3.2 で説明する加速器運転中に生成するエアロゾルの粒径分布とともに示した。横軸は空気力学的粒径であり、縦軸はインパクターの各ステージに捕集された元素の空气中質量濃度(ng/cm^3)を各ステージの粒径範囲で除算して得られる質量基準の粒径分布である。加速器室内においても一般の環境と同様の元素が検出されているが、今回の測定では検出された元素のうちアルミニウムの濃度が最も高かった。

粒径は基本的に約 1 μm を中央値とする分布となった。本ライナック施設においては加速器室の換気は加速器運転停止中のみ行われ、加速器運転中は停止されている。給気側には粗塵フィルターが設置されているのみであり、人の出入口にも外気の侵入を防ぐ機構はないため、加速器室内のエアロゾルは基本的には外気に近い組成や粒径を有すると考えられる。定量された元素のうち外気と同様に、1 μm 程度の比較的大きな中央径をもつ Si、Ca は砂塵、Fe や Zn は自動車の走行など人間活動に伴い生成する粒子、それらよりも小さな中央径の S、Pb、Br 等は大気中で太陽光により起こる光化学反応で生成した微粒子と考えられる²⁾。

加速器室内では、照射時に空気中で生成する硝酸などにより金属機器の腐食が問題となる。この傾向は電子系加速器において顕著であって、一般にアルミニウム素材の被覆や機器類の腐食は激しい。本実験を行った電子ライナックは、運転開始から44年を経て、近年むしろ年間運転時間が増加傾向にある(年間運転時間: 約2500時間)高稼働率の施設であって、加速器の維持、安全の確保にとり腐食の問題は極めて重要である。今回、空気中のAl濃度が他の元素と比較して大きかった事例は、加速器室内のAlの腐食が関係している可能性がある。

3.2 加速器運転中に生成するエアロゾル

加速器の運転で生成するエアロゾルをSMPSで測定した。この測定結果については一部をすでに発表しており³⁾、以下ではそのデータをもとに常時存在するエアロゾルと比較する。運転中に生成するエアロゾルは、対数正規で表すことのできる粒径分布を持ち開始10分後の時点で幾何中央径が25 nm、幾何標準偏差が2、個数濃度は 2.3×10^5 個/cm³と測定された。このエアロゾル粒子を、水の微小液滴であるとして、得られた個数基準粒径分布を質量基準粒径分布に変換し、図1に上述の常時存在するエアロゾルの粒径とともに示した。

加速器で生成したエアロゾルは常時存在するエアロゾルよりも個数濃度では圧倒的に多く、常時存在するエアロゾルは1 cm³あたり数千個に留まったのに対し、加速器生成エアロゾルは数百万個に達した。質量を基準として考えると、加速器生成エアロゾルは 1.5×10^2 ng/cm³となった。常時存在するエアロゾル成分のうち、最も多いAlは 8×10^3 ng/cm³であった。この加速器生成エアロゾルは照射時間の経過につれて次第に粒径が増大していき、個数基準分布で100~200 nm程度の粒径を持つものが多くなる。運転を停止すると、再び微小粒径の加速器エアロゾルが高濃度で生成し成長する過程が開始する。

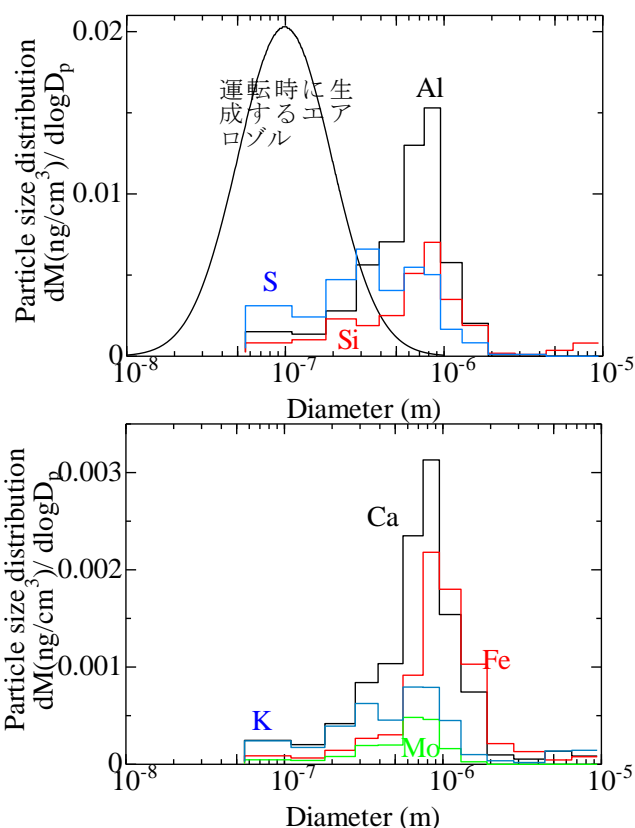


図1 加速器室内で検出された主なエアロゾル成分の粒径分布

4 まとめ

運転時の加速器室内に存在するエアロゾルの粒径と濃度を、電子ライナック施設で測定し予備的な検討を行った。加速器室内空气中に常時存在するエアロゾルと加速器運転時に生成するエアロゾルとは、中央径を異にすることが改めて示された。本データは加速器室内での放射性エアロゾルの生成機構、生長機構、放射性核種の輸送機構などの理解にとり有益であり、作業者の内部被曝評価や排気浄化設備の設計等に役立つと期待される。

参考文献

- 1) K. Kondo, H. Muramatsu, Y. Kanda and S. Takahara, Int. J. Appl. Radiat. Isot., **35**, (10), 1984, 939-944
- 2) K. R. Spurny (ed.), Analytical chemistry of Aerosols, Chapter 6, Lewis Publishers, 1999
- 3) S. Yokoyama, K. Yamasaki, Y. Oki and N. Osada, 保健物理, **43** (4), 2008, 333-340

Aerosol environment in accelerator rooms of electron linac facilities

Y. Oki, N. Osada¹, T. Mori², 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

In accelerator facilities, there are two kinds of aerosols in air of accelerator rooms during machine operation. One is aerosols (dusts) brought from outside, the other is nano-particles produced through radiation-induced chemical reactions from air in high radiation areas in the accelerator rooms. Their particle size and concentration are basic information on evaluation of airborne radioactivity and internal radiation exposure. In this report, the particle size and concentration were measured for both of the two kinds of aerosols in an electron linear accelerator (Linac) facility.

タイのピマイにおける大気エアロゾルの化学成分の特徴

鶴田治雄¹、Jinchula Chotpitayasunon²、Boossarasiri Thana²、Pradeep Khatri³、高村民雄³

須藤重人⁴、米村正一郎⁴、世良耕一郎⁵、斉藤義弘⁶、白砂裕一郎⁷、平野耕一郎⁷

早坂忠裕⁸、中島映至¹

¹ 東京大学気候システム研究センター
277-8568 千葉県柏市柏の葉 5-1-5 総合研究棟 306 号

² Department of Geology, Faculty of Science, Chulalongkorn University
Phayathai Road, Bangkok, 10330 Thailand

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

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

⁵ 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

⁶ (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

⁷ 横浜市環境科学研究所
235-0012 横浜市磯子区滝頭 1-2-15

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

1 はじめに

これまで筆者らは、日本の最西端に位置する五島列島の福江島、南西諸島の奄美大島、および沖縄県の辺戸岬で、東アジアの発生源から輸送される大気エアロゾルの化学組成の特徴について、春期における調査結果を紹介してきた。東アジアで発生する主要なエアロゾルは、化石燃料の燃焼による大気汚染物質、黄砂に代表される土壌粒子、また、海上から発生する海塩粒子である。一方、地球規模でみると、

森林火災や焼畑農業などのバイオマス燃焼も、大気エアロゾルの重要な発生源である。

東南アジアでは、伝統的な焼畑農業が行われ、ゴムや油やしなどのプランテーションのために森林伐採とその伐採物の燃焼が乾期に実施され、さらには、森林火災も頻発している。これらのバイオマス燃焼と、大都市での化石燃料の燃焼に伴って発生するエアロゾルが、東南アジアでは主要な大気エアロゾルの発生源と推測されるが、その詳細はこれまで明らかになっていない。

そこで、SKYNET 観測網¹⁾の1地点である、タイのピマイにある大気研究観測所で、チュラロンコン大学理学部地質学科と共同で、大気

エアロゾルの採取を行い、その化学組成の特徴と、発生源との関係を明らかにするとともに、その光学特性についても検討を行った。これら一連の調査研究の最終目的は、東アジアと東南アジアの大気エアロゾルの化学特性と光学特性に関して比較検討することである。本報告の目的は、ピマイにおける大気エアロゾルの化学成分の特徴を明らかにすることである。

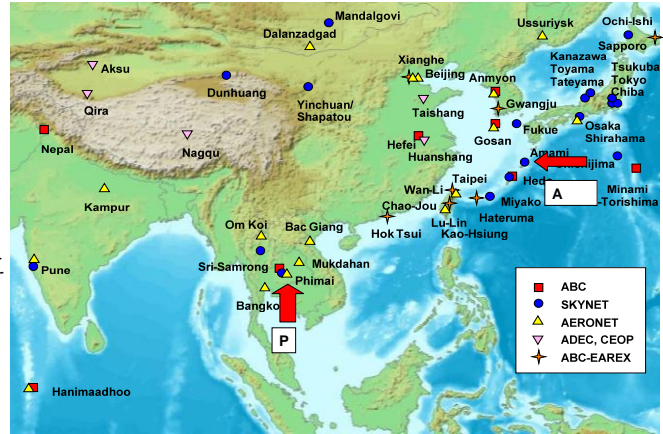


図1 SKYNETの観測網とピマイ(P)と奄美(A)の位置

2 測定・解析方法

2.1 エアロゾル測定

2007年の7月～2008年6月に、図1に示すSKYNETの一測定地点である、タイのピマイにある大気研究観測所(15.18N、102.57E：海拔高度210m)の屋上で、大気中のエアロゾルを直接インパクター法採取装置(MCI Sampler、東京ダイレック社製)により連続的に採取した。採取時間は、毎月的前半と後半に1回ずつで、それぞれ3日間で日中と夜間12時間毎に6試料を、直径47mmの石英繊維製およびポリカーボネート製のフィルタを使用して、エアロゾルを4段階の粒径($d < 1.0\mu\text{m}$ 、 $1.0\mu\text{m} < d < 2.5\mu\text{m}$ 、 $2.5\mu\text{m} < d < 10\mu\text{m}$ 、 $10\mu\text{m} < d$)に分けて採取した。これらの各試料につき、まず、採取前後の重量を分解能 $2\mu\text{g}$ の極微量用電子天秤によって計測した。元素状炭素(EC)と有機炭素成分(OC)は、IMPROVE法による熱・光学的分析装置(MODEL 2001、DRI社製)によりおこなった。水溶性イオンは、イオンクロマトグラフ(DX-500、Dionex社製)を用いて、硫酸イオン、硝酸イオン、塩素イオン、アンモニウム、カリウム、ナトリウム、マグネシウム、カルシウム等の陽イオンの成分を分析した。微量元素は、PIXE法により、無調製でサンプルホルダーに装着してビーム照射を行い、定量した。解析では、昼夜2つのデータの日平均値を主に使用した。これらの化学成分データから、元素状炭素(EC)、有機炭素(OC)、硫酸アンモニウム、硝酸塩、さらに、海塩粒子、土壌粒子、およびバイオマス燃焼によるエアロゾルの濃度の推定方法について検討した。

2.2 土壌の化学成分分析

大気研究観測所の周辺の表層土壌(深さ5-10cm)を、東西南北の方向で各3箇所採取し、その主な化学成分を、PIXE法で分析した。

2.3 後方流跡線解析

ピマイの大気研究観測所に到達した大気塊が、どこから輸送されたかを明らかにするため、高度210m、500m、1000mの3高度で、NOAAのHYSPLIT MODEL²⁾の後方流跡線解析結果を利用して、5日前までの大気塊の輸送経路を求めた。

2.4 MODIS によるホットスポットの解析

人工衛星 Aqua/Terra に搭載された MODIS センサーで検出されたホットスポットを、次の二つのデータベースを利用して、解析に用いた。

(1)NASA の FireMap³⁾で、東南アジアと東アジアの、約 10 日間積算のホットスポットのマップを参照した。

(2)また、東京大学生産技術研究所受信データによる、MODIS 画像などの衛星画像オンライン配信サービス⁴⁾を利用して、毎日の MODIS Wild Fire Map から、ホットスポットを参照した。

2.5 大気汚染物質の排出量

アジア地域における、SO₂、NO_x、BC の年間排出量は、Ohara ら⁵⁾の推定結果を参考にした。それによれば、2000 年の中国では、SO₂ と BC の主要な発生源地域は東部沿岸域と南西部の四川盆地で、NO_x は東部沿岸地域だけであった。

2.6 大気汚染物質の排出量

アジア地域における、SO₂、NO_x、BC の年間排出量は、Ohara ら⁵⁾の推定結果を参考にした。それによれば、2000 年の中国では、SO₂ と BC の主要な発生源地域は東部沿岸域と南西部の四川盆地で、NO_x は東部沿岸地域だけであった。

3 結果と考察

3.1 ピマイの下層風系の季節変化

ピマイでの地上から 1,000m までの風系は、現地で測定された地上風と、NOAA の HYSPLIT MODEL²⁾ による後方流跡線解析によれば、2007 年は 10 月中旬に、インド洋/ベンガル湾から吹く南西のモンスーン(W1)から、東アジアから吹く北東寄りのモンスーンに変化し、雨期から乾期に交代した(図 2~図 4)。そして 2008 年 3 月中旬に南シナ海から吹く南寄りの風に変化し、5 月初めに、再び南西のモンスーンが吹き始め(W2)、乾期から雨期に交代した。なお、乾期は、後述するように、エアロゾルの化学成分の質的变化およびバイオマス燃焼の活動度を考慮して、2007 年 10 月から 11 月までを D1、12 月から 2008 年 3 月中旬までを D2、そして南シナ海からの南寄りの風が吹く 3 月中旬から 4 月末日までを D3 と区分した。また、乾期の D1 と D2 の期間には、中国南部からの北北東-北東寄りの風系(D-SC)と、中国南東部沿岸域および東シナ海からの東北東-東寄りの風系(D-ECS)とが、混在したので、これら二つの風系による化学成分の違いについての検討も実施した。

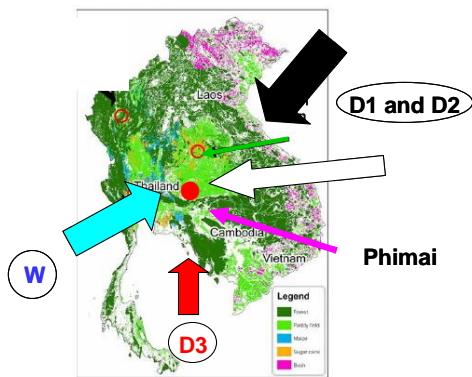


図 2 タイのピマイの位置と下層風系

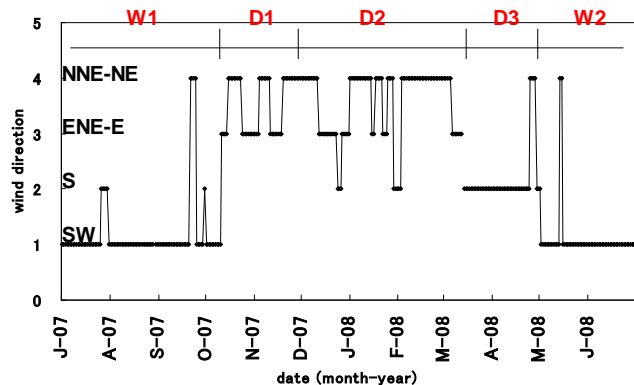
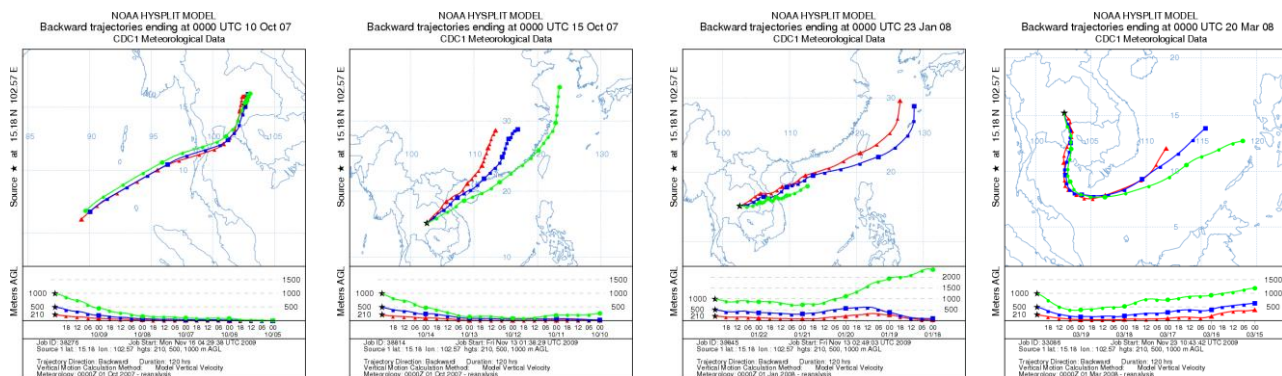
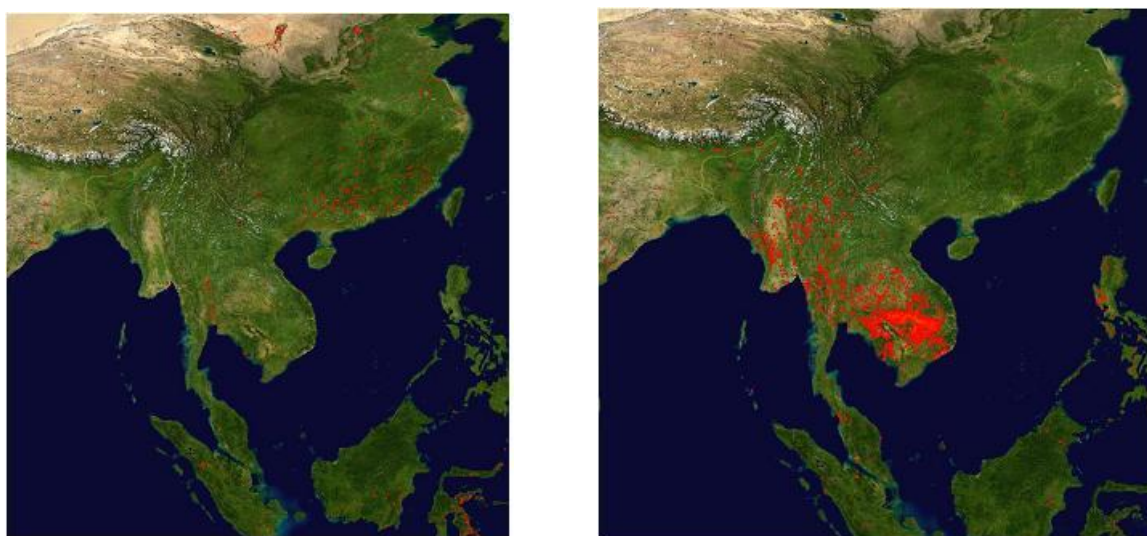


図 3 ピマイでの地上風系の時系列変化



(W1)2007年10月10日 (D2&D-SC)2007年10月15日 (D2&D-ECS)2008年1月23日 (D3)2008年3月20日
 図4 ピマイに到達した高度210m、500m、1000mでの大気塊の5日前までの輸送経路



(左)2007年10月27日～11月5日 (右)2008年1月31日～2月9日
 図5 MODISによる東～東南アジアの FireMap³⁾(10日間で検出されたホットスポット)

3.2 バイオマス燃焼の季節変化

熱帯地域のバイオマス燃焼は、焼き畑農業と稲わらなどの農作物残さの燃焼とが、よく知られている。そこでバイオマス燃焼の活動度の時期による変化を、MODIS センサーで検出されたホットスポット³⁾から調べた。その結果、タイやその周辺地域のホットスポットは、乾期直後はほとんど見られなかったが、12月ごろから次第に多くなり、2～3月に最大となる変化を示した(図5)。また、中国南部でも、稲わらなどの農作物残さの燃焼と見られるホットスポットが多数、2007年11月後半から2008年3月前半にかけて、見られた。従って、中国南部から輸送される大気塊でも、中国南部でバイオマス燃焼があるときとないときとは、ピマイでの大気エアロゾルの化学成分は、異なっている可能性がある。

3.3 土壌の化学成分

観測所付近の表層土壌の主な化学成分は、表1に示すように、Siが最高で、地殻上部の平均濃度を示すUCC(upper continental crustの略称)⁶⁾の値の83%だった。しかしその他の、Al、Fe、Na、Caなどは、UCCの20%以下と非常に低く、ピマイの土壌は、UCCと質的に異なっていると推測された。

土壌の化学成分は主な酸化物の存在割合で示すことが多い。ピマイの観測所付近の表層土壌中の主要な酸化物⁷⁾は、表2に示すように、92%と最高濃度のSiO₂と、Al₂O₃およびFe₂O₃の3種だけで98%を占めた。ピマイは、タイ東北部のコラート高原の南西端に位置しており、そのコラート高原の中心地コ

表 1 ピマイの土壌と地殻上部(UCC)の平均化学成分濃度(ppm)と、ピマイ(P)と奄美大島(A)の大気エアロゾル(粗大粒子)中の平均化学成分濃度($\mu\text{g m}^{-3}$)と両者の比

Soil or Aerosols	unit	Si	Al	Fe	Na	Mg	K	Ca	Cl	Ti	Mn	Sr	Co	Zr
Soil(Phimai)	ppm	2.56E+05	9.26E+03	5.98E+03	1.06E+03	*	*	4.21E+02	1.38E+03	1.49E+03	1.84E+02	---	5.10E+01	2.13E+02
Soil(UCC)	ppm	3.08E+05	8.04E+04	3.50E+04	2.89E+04	1.33E+04	2.80E+04	3.00E+04	0.00E+00	3.00E+03	6.00E+02	3.50E+02	1.00E+01	1.90E+02
Aerosols (Phimai)**	$\mu\text{g m}^{-3}$	1.53E+00	5.25E-01	3.49E-01	3.13E-01	9.84E-02	1.05E-01	3.19E-01	2.11E-01	3.39E-02	1.11E-02	1.69E-03	2.14E-03	2.35E-03
Aerosols (Amami)***	$\mu\text{g m}^{-3}$	1.66E+00	7.02E-01	3.77E-01	1.63E+00	4.54E-01	2.53E-01	6.51E-01	2.35E+00	3.02E-02	7.98E-03	5.05E-03		
A(P)/A(A)		9.21E-01	7.48E-01	9.27E-01	1.91E-01	2.17E-01	4.14E-01	4.90E-01	9.00E-02	1.12E+00	1.40E+00	3.35E-01		

*他の大きなピークの背後に位置するので検出不可能

**2007年7月~2008年4月の平均濃度

***2003年3月15日~4月16日の平均濃度

表 2 タイのピマイとコンケンの土壌、および中国 4 地域のレスと地殻上部の化学組成 (酸化物)

site	SiO2	Al2O3	Fe2O3	TiO2	Mn2O	CaO	MgO	Na2O	K2O	P2O5	total	ref.
Phimai	91.652	5.466	1.254	0.455	0.039	0.085	0.060	0.176	0.083	0.073	99.343	7)
Khon Kaen	96.533	0.727	0.379	0.232	0.032	0.007	0.021	0.017	0.062	0.001	98.009	8)
Loess (China)	61.95	13.00	4.60	0.62	0.07*	8.65	2.52	2.15	2.83	0.15	96.47	9)
UCC	66.0	15.2	4.5	0.5		4.2	2.2	3.9	3.4		99.9	6)

*MnO

ンケンでの表層土壌の化学成分⁸⁾によれば、石英質の砂が主成分で、酸化物の97%はSiO₂であり、ピマイの土壌もその系列にあることがわかった。一方、中国の4地域(タリム盆地、ジュンガル盆地、オルドス、ナイマン)のレスの化学組成⁹⁾によれば、SiO₂が62%と、コラート高原よりも低く、Al₂O₃、Fe₂O₃、CaOが高いのが特徴で、CaOを除けば、UCCに近い組成比だった。なお、ピマイの土壌では、ジルコニウム(Zr)が、微量ではあるが検出され、2007年12月から2008年3月にかけて、大気エアロゾルの粗大粒子中でも、ほとんど検出された(最高濃度は13 ng m⁻³)。この元素は、奄美では一度も検出されなかったが、UCCにも示されているように、地殻上部には通常存在している元素である。

3.4 エアロゾル中の化学成分の特徴とその主な発生源推定

3.4.1 微小粒子中のEC濃度と非海塩起源の硫酸塩濃度との関係

エアロゾル中の粒径別EC濃度は、全粒径濃度の80%以上が微小粒子($d < 2.5\mu\text{m}$)に存在しており(図6)、また微小粒子中の主要イオン濃度の90%以上は硫酸アンモニウム((NH₄)₂SO₄)だった(図7)。そして、これらの成分は、雨期に低く乾期に高くなるという季節変化を、明瞭に示した。しかしその最高濃度は、ECは1月中旬と3月だったが、(NH₄)₂SO₄は乾期直後の10~11月に出現した。これらの違いは、両者の主要な発生源が異なることを示唆している。

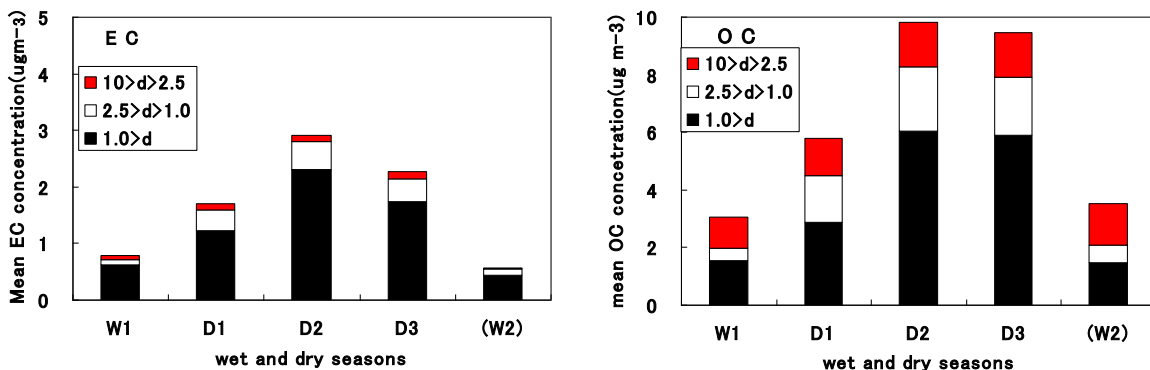


図 6 雨期と乾期中の粒径別の(左)EC と(右)OC の平均濃度

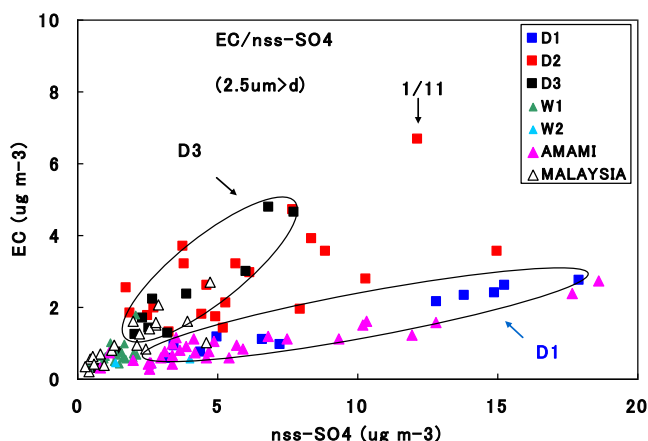
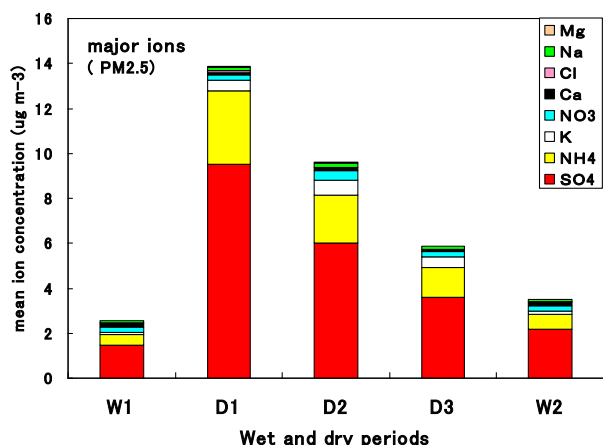


図7 微小粒子中の水溶性イオンの平均濃度 図8 風系別の nss-SO₄ と EC との散布図(d<2.5 µm)

そこで、EC と非海塩起源の硫酸塩(nss-SO₄)との関係を調べたところ、図8に示すように、大きく2グループに分類された。雨期が始まった直後の10月から11月にかけてのEC/nss-SO₄は、春期(2003年3月15日～4月16日)の奄美大島でのエアロゾル中の比とよく一致し、また、3月後半から4月までのD3期間は、マレーシア中部のタナラタで測定された(2002年7月～12月)インドネシアの森林火災の影響を直接受けたエアロゾル中の比¹⁰⁾と、よく一致した。そこで、乾期前期の10月から11月をD1とし、12月から3月前半までをD2と区分した。EC(y)とnss-SO₄(x)との関係は、下記に示すようであり、直線回帰式の勾配は、D3はD1の4倍であった。なお、D2期間のECとnss-SO₄のデータは、D1とD3との間に位置していた。

$$D1: y = 0.15x - 0.18 \quad (R^2=0.96)$$

$$AMAMI : y = 0.12x + 0.29 \quad (R^2=0.85)$$

$$D3: y = 0.61x - 0.07 \quad (R^2=0.92)$$

$$MALAYSIA: y = 0.52x + 0.07 \quad (R^2=0.80)$$

これらの結果を総合的に考察すると、乾期開始後のD1は、東アジアからの大気が輸送され、バイオマス燃焼がまだ少ないので、東アジアの都市工業地帯の化石燃料の燃焼によって発生したエアロゾルの影響を強く受けた奄美大島での測定結果と同じ関係を示したと、推測される。一方、乾期後期のD3では、東アジアからの大気が輸送されなくなり、インドシナ半島でのバイオマス燃焼が非常に多くなるので、それによって発生したエアロゾルが主に測定された、と推定される。奄美大島から直線距離で約3,000kmも離れたピマイでも、よく似た大気エアロゾルの化学特性が見られたことは、東アジアの発生源の影響が日本や東部太平洋だけでなく、東南アジアにまで、広域に及んでいることを示している。

3.4.2 バイオマス燃焼により発生した微小粒子の大気エアロゾルへの寄与

前節で、ECと(NH₄)₂SO₄との関係から、D3はバイオマス燃焼の影響が大であったことを示したが、その他の化学成分についても、検討した。まず、ECとOCとの関係は、図6に示すように、ECは、D2>D3>D1の順に高かったが、OCは異なり、D2=D3>D1の順に高かった。一般に、OC/ECの比は、化石燃料の燃焼よりもバイオマス燃焼で発生したエアロゾルのほうが大きいので、これからも、D3ではバイオマス燃焼の影響が大きいことを裏付けている。さらに、バイオマス燃焼によるエアロゾルの指標物質の一つと言われる、微小粒子中のK濃度は、D2=D3>D1であり、やはり、D3にバイオマス燃焼の影響が大であった。

3.4.3 D1とD2時期の人為起源エアロゾルの発生源推定

3.4.1で示したように、乾期のD1とD2は、D3と異なり、バイオマス燃焼の影響よりも、化石燃料の燃焼によるエアロゾルの影響のほうが大きかった。この期間の風系は、3.1に記述したように、中国南部からの北北東-北東寄りの風系(D-SC)と、中国南東部沿岸域および東シナ海からの東北東-東寄りの風

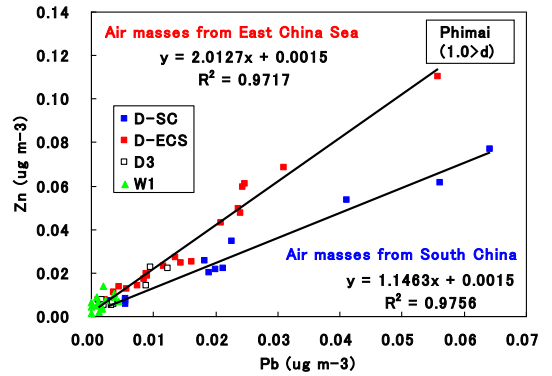
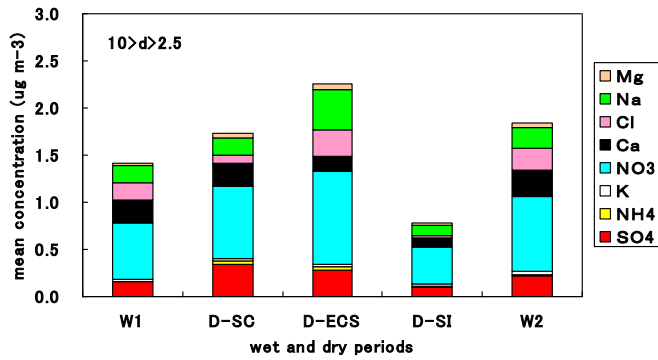
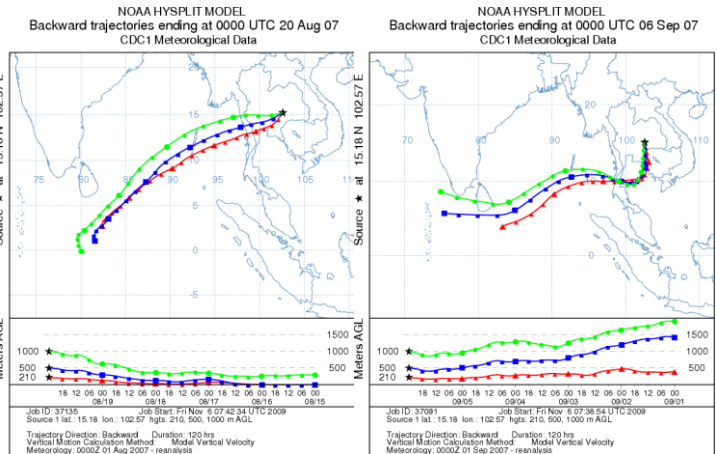
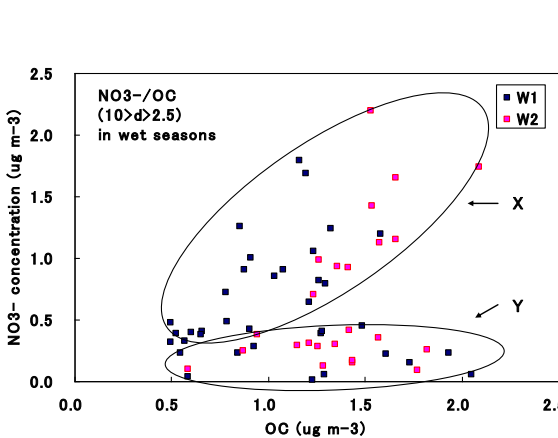


図9 風系別の粗大粒子中の水溶性イオンの平均濃度 図10 風系別の微小粒子中のPbとZnとの関係

系(D-ECS)とが、混在したので、これら二つの風系による化学成分の違いについて、検討した。これら二つの風系別の化学成分の平均濃度は、ECとOCはほとんど差がなく、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ はややD-SC>D-ECSだった。しかし、粗大粒子中の硝酸塩(NO_3^-)濃度は、D-ECS>D-SC(図9)で、中国東部沿岸域の自動車などからの排出物質の影響を受けていたと推測される。一方、微量元素中のZnとPbとは、図10に示すように、これら二つの風系で、明らかに勾配が異なっており、D-ECSのほうが大きかった。Znは、自動車の潤滑油などに使われており、Pbは有鉛車の排出ガスに含まれているが、その他に石炭燃焼からも排出されるので、これらの発生源の地域による違いを反映した結果と推測される(奄美での勾配は1.68)。

3.4.4 粗大粒子中の硝酸塩

粗大粒子中の主な水溶性イオンは、 NO_3^- と海塩粒子中の Na^+ と Cl^- である。 NO_3^- の時系列は、乾期ではD1>D2>D3と、nss- SO_4 と同様な変化(図7)を示したが、雨期ではnss- SO_4 と異なり、乾期に匹敵する濃度が見られた。そこで雨期の、 NO_3^- 濃度と、乾期と雨期で濃度の差が見られなかったOCの粗大粒子濃度(図6)との関係を調べたところ、二つのグループに大別された(図11)。一つ(Y)は、 NO_3^- 濃度が $0.5 \mu\text{g m}^{-3}$ 以下と低いときは、OC濃度は NO_3^- に関係なく、 $0.5\text{-}2.0 \mu\text{g m}^{-3}$ の範囲に存在し、 NO_3^- 濃度が $0.5 \mu\text{g m}^{-3}$ 以上では、 NO_3^- とOCは正の強い相関がみられた(X)。後方流跡線解析によれば、後者の場合(X)は、ピマイに到達した大気塊は、大都市のバンコクを通過してきたが、前者の場合(Y)は、そうではなかった(図12)。バンコクでは自動車の排出ガスが主要な大気汚染物質の一つなので、排出された NO_x から光化学反応で生成された NO_3^- が、風下側に輸送された、と考えられる。



(1)2007年8月20日

(2)2007年9月6日

図11 雨期の粗大粒子中のOCと NO_3^- との関係 図12 雨期でバンコクを、(1)通過した大気塊と(2)通過しない大気塊の、ピマイへの輸送経路

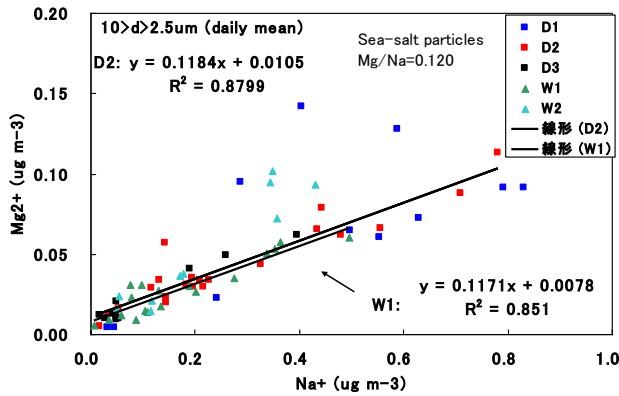


図 13 風系別の粗大粒子中の Na⁺と Mg²⁺との関係

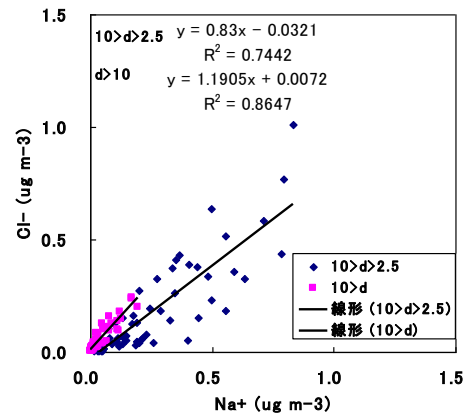


図 14 粗大粒子中の Na⁺と Cl⁻との関係

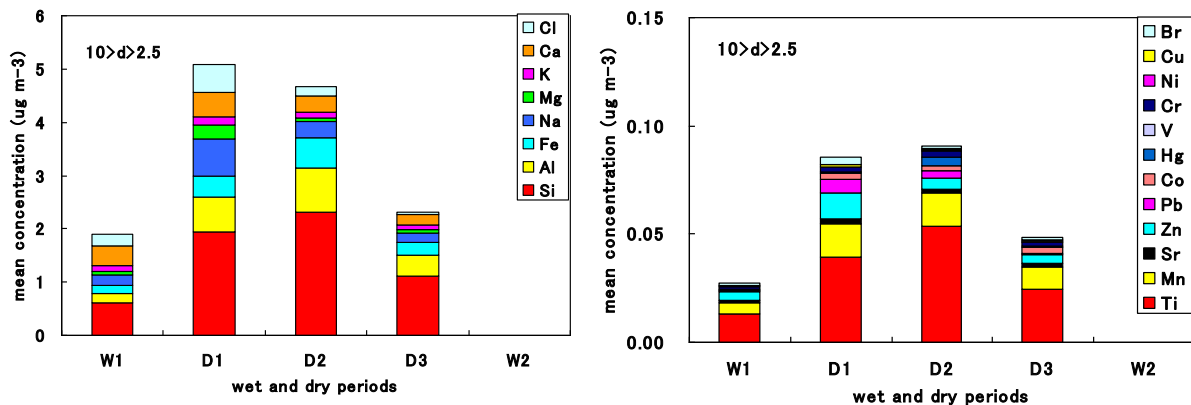
3.4.5 粗大粒子中の海塩粒子

粗大粒子中では、NO₃-の他に、おもに、土壌粒子と海塩粒子が存在する。タイ東北部には、地下に存在する岩塩層の影響で、地表に塩類集積現象が見られる¹¹⁾ので、Na⁺やCl⁻濃度を解析するときは、海上を輸送される大気中に存在する海塩粒子だけでなく、土壌表面から大気に放出される塩類をも、同時に検討する必要がある。表1によれば、ピマイの表層土壌中のCl/Naは1.30であり、岩塩および海塩粒子中の比1.8より小さく、岩塩の1.54に近い。これは、Naの基質が主に岩塩だが、いわゆる土壌有機物由来のものも、少量含まれているためと推定される。

海塩粒子中のMg²⁺/Na⁺は0.12であるが、ピマイの粗大粒子中のこの比は、図13に示すように、いくつかのデータを除くと、ほぼ海塩粒子の比にほぼ等しいので、これらのイオンは、海上から輸送されてきた大気中に存在したと推測される（なお、Mgは、岩塩中にはほとんど存在しないので、岩塩由来ではないと推定した）。一方、粗大粒子中のCl⁻/Na⁺は1以下と小さい(図14)ので、輸送中にCl損失が起これたと推測される。

3.4.6 粗大粒子中の土壌粒子

水溶性イオン濃度と同じように、雨期に低く、乾期に高くなった(図15)。乾期では、土壌起源と推測される元素---Si、Al、Fe、Ti、Mnなど---はD2>D1>D3の順に高かった。しかし、Si、Al、Feの3元素間での相対濃度は、乾期のD1、D2、D3と、東アジアからの大気塊に直接影響されない雨期(W1)とで、ほとんど変化がなかった(図16)ので、1年中同じ組成の土壌粒子が、大気中に存在したことがわかった。



(1) Si~Cl

(2) Ti~Br

図 15 粗大粒子中の微量元素の平均濃度の時系列変化

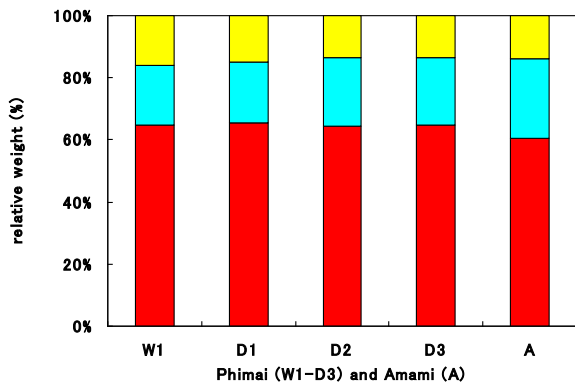


図 16 粗大粒子中の Si、Al、Fe 間の相対濃度比
ピマイ(W1~D3)と奄美(A)

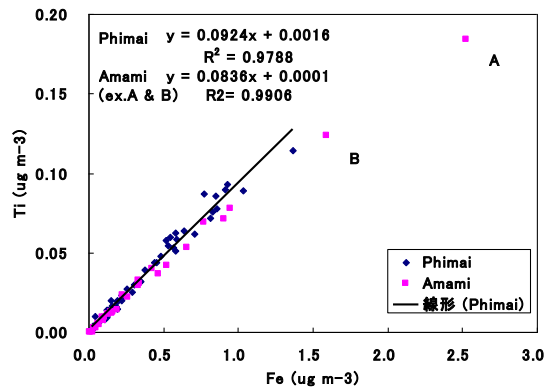


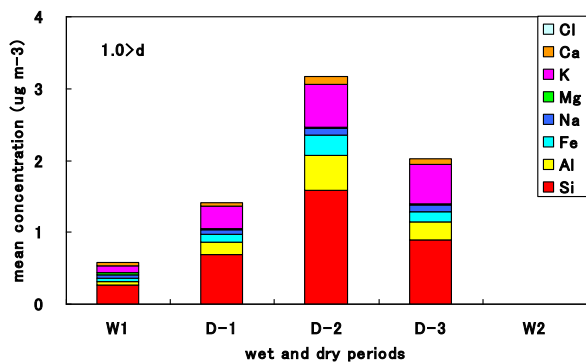
図 17 粗大粒子中の Ti と Fe との関係

また、奄美大島での春期のエアロゾル中の微量元素と比較すると、Si、Fe、Ti は、ほとんど同じ濃度だったが、Al は約 25% だけ低く、Na、Mg、K、Ca は 60% 以上も低かった(表 2)。また、奄美の Si、Al、Fe の 3 つの元素間での相対濃度は、ピマイと比較すると、約 5% だけ、Si が低く Al が高かっただけで、Fe はほとんど同じだった(図 16)。これは、表 2 に示すように、ピマイの大気中の土壌粒子も、中国のレスのほうがかんケン(Khon Kaen)よりも、SiO₂ が低く Al₂O₃ や Fe₂O₃ が高かったため、その影響を受けているためと推測される。さらに、図 17 に示すように、Fe と Ti とは、ピマイと奄美大島(黄砂由来の 2 データ(図 17 の A と B)を除く)では、ほとんど同じ勾配だった。したがって、大気エアロゾルに含まれる土壌粒子は、ピマイも、奄美大島と同じように、おもに中国のレスの影響下にあることが明らかになった。

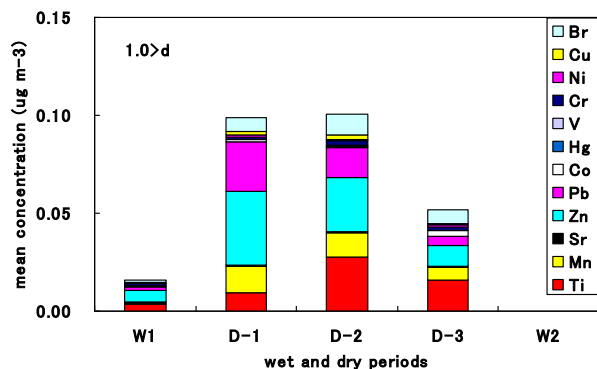
3.4.7 微小粒子中の微量元素

乾期では、土壌起源と推測された元素---Si、Al、Fe、Ti---は D2>D3>D1 の順に高く、粗大粒子と異なっていた(図 18)。これは、土壌粒子だけでなく、バイオマス燃焼で発生した微小粒子中にも Si などの微量元素が含まれていたため、と推測された。また、すでに 3.4.2 で述べたように、K も、D2≥D3>D1 であり、Si の次に K の濃度が高かった。これは、土壌粒子や化石燃料の燃焼よりもバイオマス燃焼の寄与が相対的に大きかったため、と推測される。一方、Zn と Pb は、D1>D2>D3 の順に高く、3.4.3 にすでに述べたように、主な発生源は化石燃料の燃焼などによるためと推測された。

今後は、これらの発生源からの大気エアロゾルへの寄与を定量的に推定する手法を開発する。



(1) Si~Cl



(2) Ti~Br

図 18 微小粒子中の微量元素の平均濃度の時系列変化

参考文献

- 1) 千葉大学: <http://atmos.cr.chiba-u.ac.jp/>
- 2) NOAA: NOAA ARL HYSPLIT MODEL (<http://www.ready.noaa.gov/ready/open/hysplit4.html>)
- 3) NASA/GSFC: MODIS fire maps (<http://rapidfire.sci.gsfc.nasa.gov/firemaps/>)
- 4) 竹内渉, 根本利弘, P.J.Baruah, 越智士郎, 安岡善文, 2003. WWW を利用した Terra MODIS データ前処理システムの構築. 写真測量とリモートセンシング, 42(2), 21-27.
- 5) Ohara., T., H. Akimoto, J. Kurokawa, N. Horii, K. Yamaji, X. Yan, and T. Hayasaka, 2007: An Asian emission inventory of anthropogenic emission sources for the period 198-2020, *Atmos. Chem. Phys.*, 7, 4419-4444.
- 6) Taylor, S. R. and S. M. McLennan, 1985: The Continental Crust: its Composition and Evolution, Blackwell Scientific Publications, pp46.
- 7) Chotpitayasunon, J.: Unpublished data.
- 8) Tulaphitak, T., K. Miura, K. Sakurai and K. Kyuma, 1996: Some plateau soils and their materials in the Khon Kaen Area, Northeast Thailand: 1. General Characteristics of soils, *Japanese Journal of Tropical Agriculture*, 40, 73-83
- 9) Honda, M., S. Yabuki and H. Shimizu, 2004: Geochemical and isotopic studies of aeolian sediments in China, *Sedimentology*, 51, 211-230.
- 10) Tsuruta, H.: Unpublished data.
- 11) Thirapong, P., 飯塚 敦、河井克之、2007 : タイ東北部の塩害調査と「ジグソー・ピース作戦」、地盤工学会誌、55, No.590, 22-25

Chemical characterization of atmospheric aerosols measured at Phimai, Thailand

H. Tsuruta¹, J. Chotpitayasunon², B. Thana², P. Khatri³, T. Takamura³, S. Sudo⁴
S. Yonemura⁴, K. Sera⁵, Y. Saitoh⁶, Y. Shirasuna⁷, K. Hirano⁷, T. Hayasaka⁸ and T. Nakajima¹

¹Center for Climate System Research, The University of Tokyo
5-1-5 Kashiwanoha, Kashiwa, Chiba 277-8568, Japan

²Department of Geology, Faculty of Science, Chulalongkorn University
Phayathai Road, Bangkok, 10330 Thailand

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

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

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

⁶Takizawa Institute, Japan Radioisotope Association
348-1 Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0173, Japan

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

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

Abstract

An intensive field program was performed to measure atmospheric aerosols at the Observatory for Atmospheric Research, in Phimai, Thailand, every six days per month during July 2007-June 2008, under a collaborative study with Chulalongkorn University. Chemical analysis of the collected aerosols with the four size ranges was made for elemental and organic carbons (EC/OC) by improved method, water soluble ions by ion chromatography, and trace elements by PIXE. Chemical composition was estimated for sea-salt particles, soil mineral dusts, and biomass burning. According to a backward trajectory analysis, the surface wind pattern in the dry season was northeasterly from middle October 2007 to middle March 2008, and then shifted southerly from middle March to early May. For the other period, southwesterly monsoon was

prevailed in the wet season. From the hotspot analysis by a satellite dataset, active biomass burning of the residue of agricultural wastes was detected in south China and Indochina from Dec. 2007 to March 2008. A relationship between EC and non sea-salt sulfate in fine particles revealed that the polluted air masses rich in $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ emitted from east Asia was transported to Phimai, while in the latter period of dry season, aerosols rich in EC emitted from biomass burning in Indochina was dominant. During the wet season, however, nitrate was higher in coarse particles, due to the emission from automobiles in Bangkok. Sea salt particles and soil dust particles were also detected in coarse particles.

ディーゼル排出ナノ粒子 (<0.030 μm) の化学組成と由来

伏見暁洋、斉藤勝美¹、藤谷雄二、長谷川就一

高橋克行²、世良耕一郎³、田邊 潔、小林伸治

国立環境研究所

305-8506 つくば市小野川 16-2

¹ 秋田県健康環境センター環境部

010-0975 秋田市八橋字下八橋 191-42

² 日本環境衛生センター

210-0828 川崎市川崎区四谷上町 10-6

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

ナノ粒子 (粒径 <0.050 μm) による生体への影響が注目されるなか、ディーゼル排気中¹⁾や沿道大気中²⁾にナノ粒子が高濃度で存在することが報告されている。ディーゼル排気中のナノ粒子は、元素状炭素を主成分とするススとは異なり、エンジンオイルや軽油由来の有機物、硫酸塩が主成分であることが示唆されているが^{3,4)}、その化学組成の全体像や由来は必ずしも明らかになっていない。

本研究では、ディーゼル排気中ナノ粒子 (特に粒径 0.030 μm 以下) の化学組成 (炭素成分、金属元素、イオン) を分析し、組成の全体像を把握するとともに、ナノ粒子の由来を明らかにすることを目的とした。

2 方法

2.1 ディーゼル排気

ディーゼル排気粒子 (DEP) は、国立環境研究所ナノ粒子健康影響実験施設のエンジンダイナモメータにおいて、ディーゼルエンジン (8 L、直噴、コモンレール式、長期規制対応、排気後処理なし) からの排気を清浄空気により希釈した後、測定・採取した。測定は、無負荷の高回転域 (回転数 2000 rpm、トルク 0 Nm、希釈率 8.4、以下「無負荷」) での運転および過渡運転 (JE05 モード、希釈率 13、以下「JE-05」) で実施した。試験には市販の軽油 (JIS No. 2、硫黄分 8 ppm) とエンジンオイル (10W-30) を用いた。

2.2 粒子個数

粒子個数の粒径分布は Engine Exhaust Particle Sizer (EEPS ; TSI、 D_p : 0.006~0.56 μm) により 1 秒ごとに測

定した。また、無負荷運転の際に Scanning Mobility Particle Sizer (SMPS ; Model 3034, TSI, D_p : 0.010–0.487 μm 、3分ごとに測定)でも同時に測定し、粒径分布の形状が EEPS によるものとはほぼ一致することを確認した。さらに、EEPS と同時に Condensation Particle Counter (Model 3022A, TSI) で総個数濃度を測定し、EEPS の総個数濃度を補正した。

2.3 粒径別試料採取

粒径別試料は2台の低圧多段分級インパクター (NanoMoudi II, Model 125B, 10 L min^{-1} , MSP) を同時に使い、3時間行った。このうち1台のインパクション面の捕集材には金ホイル (47 mm Φ 、厚さ 17 μm 、三菱マテリアル) を使い、バックアップには石英繊維フィルター (47 mm Φ 、2500QAT-UP, Pall) を用いた。もう1台にはインパクション面にポリカーボネートメンブレンフィルター (Nuclepore, 47 mm Φ 、0.05 μm) を、バックアップには PTFE メンブレンフィルター (TFH-47, 47 mm Φ 、HORIBA) を用いた。金ホイルの試料は粒子質量と炭素成分の分析に供し、ポリカーボネートフィルターの試料は元素とイオンの分析に供した。

2.4 粒子質量と化学成分分析

粒子質量は、試料採取前後での捕集材の秤量値の差から求めた。秤量は気温 25°C、湿度 50% に調整されたチャンバー (CHAM-1000、堀場製作所) 内に設置した電子天秤 (最小表示 0.1 μg 、UMX 2, Mettler Toledo) を用いて行った。繰り返し許容誤差を 0.5 μg (金ホイル) 及び 2 μg (石英繊維フィルター) として2回秤量し、その値を平均した。石英繊維フィルターは秤量前に24時間以上チャンバー内で恒量化したが、金ホイルは吸湿性がないため恒量化しなかった。

炭素成分 (元素炭素 : EC、有機炭素 : OC、全炭素 : TC) は、熱分離炭素分析計 (DRI Model 2001 Carbon Analyzer) を使い、IMPROVE プロトコル [OC₁: 120°C、OC₂: 250°C、OC₃: 450°C、OC₄: 550°C (以上 100% He 雰囲気)、EC₁: 550°C、EC₂: 700°C、EC₃: 800°C (以上 2% O₂/98% He 雰囲気)] により分析した。なお、金ホイル試料の場合には、適切な補正が困難なため反射・透過光による炭化補正は行わなかった。

元素分析には、日本アイソトープ協会仁科記念サイクロトロンセンターの PIXE (Particle Induced X-ray Emission) 装置を使用した。フィルター試料は、マイラー® ターゲットフレームに貼り付け、これに小型サイクロトロン⁵⁾からの 2.9 MeV のプロトンビームを照射した。得られた特性 X 線スペクトルは SAPIX プログラム⁵⁾により解析した。定量は Nuclepore-Br 法⁶⁾に基づき実施した。ブランクフィルターも試料と同様に測定した。なお、PIXE 法による測定精度は、National Institute of Standards and Technology (NIST) の標準試料を用いて確認されている⁷⁻⁹⁾。

イオン成分は、試料フィルターの 1/2 から 10 mL の超純水に超音波装置を用いて 20 分間抽出し、イオンクロマトグラフ (陰イオンは Compact IC 761、陽イオンは Personal IC 790 ; Metrohm) で分析した。対象としたイオン種は、陰イオンは F⁻、Cl⁻、NO₂⁻、Br⁻、NO₃⁻、PO₄³⁻、SO₄²⁻、陽イオンは Na⁺、NH₄⁺、K⁺、Mg²⁺、Ca²⁺である。

3 結果と考察

3.1 粒子個数

Fig. 1 に無負荷運転と JE05 モードにおける個数濃度の粒径分布を示す。JE05 モードでは粒径 0.070 μm 付近の凝集モード粒子のピークが大きく、0.010 μm 付近のナノ粒子のピークは小さかった。一方、無負荷運転の場合には、粒径 0.020 μm をピークとするナノ粒子の一山分布となり、凝集モード粒子のピークは観測されなかった。

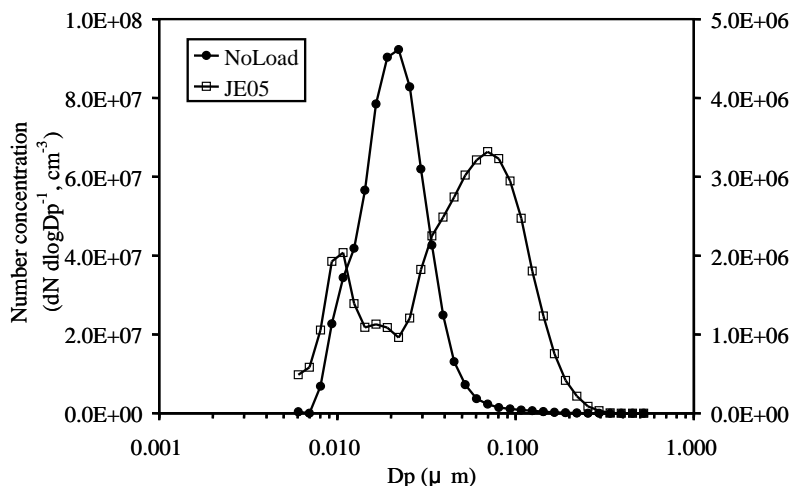


Fig. 1 Size distributions of particle number concentrations in the diluted exhausts of 8L engine.

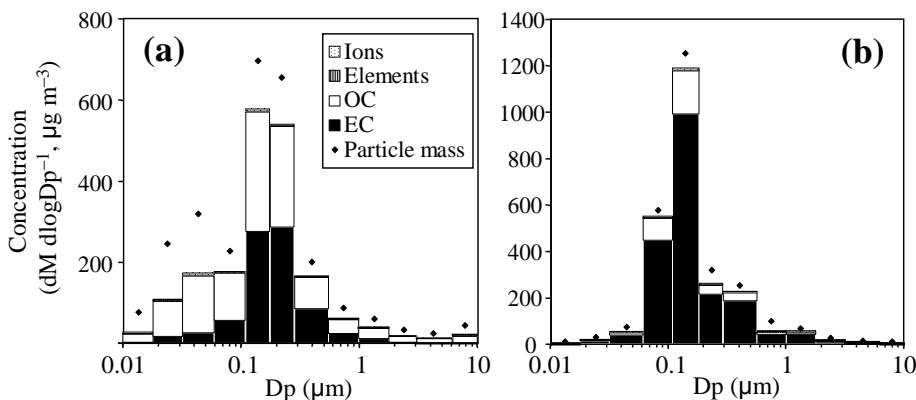


Fig. 2 Size distributions of particle mass, EC, OC, element total, and ion total concentrations in the diluted exhausts of 8L engine. a) NoLoad, b) JE05. To avoid duplication during summing up the chemical components measured both as elemental and ionic species, the S and P concentrations constituting the SO_4^{2-} and PO_4^{3-} were subtracted from S and P values measured as elements. Similarly, the Na^+ and the Cl^- values measured as ions were included and the Na and the Cl values measured as elements were eliminated.

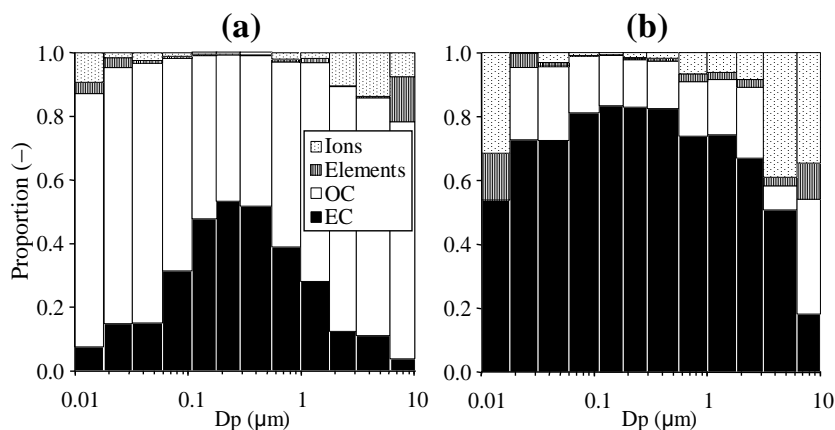


Fig. 3 Proportions of EC, OC, total elements, and total ions by particle size in the diluted exhausts of 8L engine. a) NoLoad, b) JE05. Note that OC was not detected from the 0.010–0.018 μm particles in b), therefore, the proportions of the other components are displayed excessively.

3.2 粒子質量と化学組成の全体像

無負荷運転と JE05 モードにおける粒子質量、EC/OC、元素合計、イオン合計濃度の粒径分布を Fig. 2 に、各成分の粒径別割合を Fig. 3 に示す。なお、検出された元素は Na、Mg、Al、Si、P、S、Cl、K、Ca、Ti、V、Cr、Mn、Fe、Co、Ni、Cu、Zn、及び Pb の 19 元素、イオン種は Cl^- 、 NO_3^- 、 PO_4^{3-} 、 SO_4^{2-} 及び Na^+ である。JE05 モードでの粒子質量は $0.110\sim 0.180\ \mu\text{m}$ をピークとする一山分布だったが、無負荷運転では $0.032\sim 0.060\ \mu\text{m}$ と $0.110\sim 0.290\ \mu\text{m}$ にピークをもつ二山分布となった。なお、これらの粒径分布形状は EEPS の個数基準の粒径分布から球形を仮定して算出した体積基準の粒径分布形状と良い一致を示した。粒径別成分比を見ると、JE05 モードでは元素状炭素がどの粒径領域でも支配的であった。一方、無負荷運転では、粒径 $0.110\sim 0.560\ \mu\text{m}$ 付近において元素状炭素が 5 割程度を占めるものの、全粒径範囲にわたって有機炭素の比率が高い。また、有機炭素の比率は粒径が小さくなるほど増加し、 $0.010\sim 0.018\ \mu\text{m}$ の粒子では有機炭素が 8 割程度を占め、元素状炭素は 1 割以下であった。いずれの運転条件の場合も、金属元素とイオン成分の比率は、大半の粒径において各々数%以下であったが、粒径が小さくなるにつれてその比率はやや増加した。

このように、無負荷運転で排出されたナノ粒子は、有機炭素が主成分であり、元素状炭素や硫酸イオンは非常に低濃度であることがわかった。

3.3 特徴的な成分の粒径分布

Fig. 4 に無負荷運転時における特徴的な成分の粒径分布を示す。元素状炭素は $0.110\sim 0.290\ \mu\text{m}$ をピークとする一山分布となった一方、有機炭素は $0.110\sim 0.290\ \mu\text{m}$ のほか、ナノ粒径領域 ($0.032\sim 0.060\ \mu\text{m}$) にもピークを有する二山分布となった。このことから、ナノ粒径領域の OC は EC とは異なるタイミングで生成したことが示唆される。

有機炭素と同様、Ca、Zn、S もナノ領域 ($0.018\sim 0.032\ \mu\text{m}$) と $0.110\sim 0.180\ \mu\text{m}$ をピークとする二山分布となった。これらの元素はディーゼル車のエンジンオイルに高濃度に含まれる元素であり、同じくオイルに高濃度で含まれる P、Si、Cl もこれらと似た粒径分布となった。 SO_4^{2-} は、ナノ領域に小さなピークを有するようにも見えるが、全粒径にわたり比較的一様な濃度であった。

3.4 ナノ粒子の由来

上述したように、無負荷運転で排出されたナノ粒子の主成分が有機炭素であることや、エンジンオイルに含まれる元素がナノ粒子中にも高濃度で存在することがわかった。さらに、エンジンオイルの指標となるホパン (5 環の $\text{C}_{17}\sim\text{C}_{35}$ 炭化水素) の粒子質量あたり濃度は小粒径ほど高く、ナノ粒子 (粒径 $0.032\ \mu\text{m}$ 以下) の GC/MS クロマトグラムパターンはエンジンオイルのものと似ていた¹⁰⁾。これらのことから、8L エンジンを実験させた際に排出されたナノ粒子の主成分はオイルであると考えられ、オイル中の有機物が凝縮してナノ粒子を生成したと推測される。

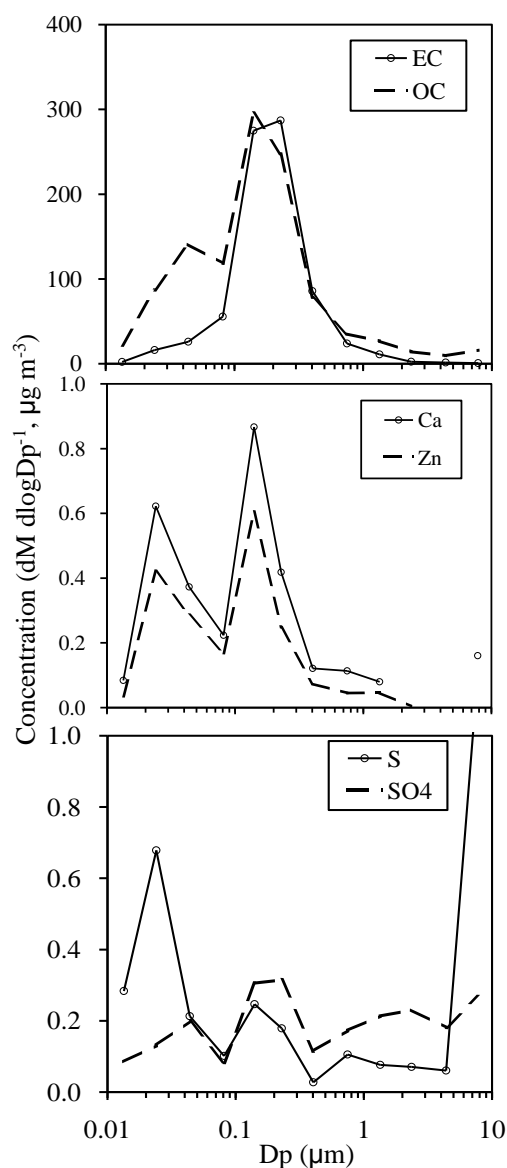


Fig. 4 Size distributions of the marker compound concentrations in the diluted exhausts of 8L-NoLoad.

4 結論

8L ディーゼルエンジン（排気後処理装置なし）を無負荷運転させたところ、排気中に高濃度のナノ粒子が観測された。このナノ粒子（粒径 $<0.03 \mu\text{m}$ ）は、有機炭素が主成分であり、元素状炭素や硫酸イオンは非常に低濃度であった。また、エンジンオイルに高濃度で含まれる元素（Ca、Zn、S、P、Si、Cl）もナノ粒子中で高濃度であった。これらのことと、ホパンの粒子質量あたり濃度が小粒径ほど高く、ナノ粒子のクロマトグラムパターンがエンジンオイルのものと似ていることから、ナノ粒子の主成分はオイルであると考えられ、オイル中の有機物が凝縮してナノ粒子を生成したと推測される。

謝辞

本研究の一部は環境省請負調査として実施した。ダイナモメータ施設の利用においては、株式会社堀場テクノサービス（当時）の今野秀徳氏、藤井剛氏らにご協力頂いた。

参考文献

- 1) D. B. Kittelson: Engines and Nanoparticles: A Review, *Journal of Aerosol Science*, 29, 575–588 (1998).
- 2) S. Hasegawa, M. Hirabayashi, S. Kobayashi, Y. Moriguchi, Y. Kondo, K. Tanabe, S. Wakamatsu: Size Distribution and Characterization of Ultrafine Particles in Roadside Atmosphere, *Journal of Environmental Science and Health A*, 39, 2671–2690 (2004).
- 3) H. Sakurai, H. J. Tobias, K. Park, D. Zarling, K. S. Docherty, D. B. Kittelson, P. H. McMurry, P. J. Ziemann: On-Line Measurements of Diesel Nanoparticle Composition and Volatility, *Atmospheric Environment*, 37, 1199–1210 (2003).
- 4) 久保修一: 乗用車における揮発性ナノ粒子の組成・生成解析, *エンジンテクノロジー*, 7, 49–54 (2005).
- 5) K. Sera, T. Yanagisawa, H. Tsunoda, S. Futatsugawa, S. Hatakeyama, Y. Saitoh, S. Suzuki, H. Orihara: Bio-PIXE at the Takizawa facility (Bio-PIXE with a baby cyclotron). *International Journal of PIXE* 2, 325–330 (1992).
- 6) K. Sera, S. Futatsugawa, K. Saitoh: Method of quantitative analysis making use of bromine in a Nuclepore filter. *International Journal of PIXE* 7, 71–85 (1997).
- 7) K. Saitoh, K. Sera, T. Gotoh, M. Nakamura: Comparison of elemental quantity by PIXE and ICP-MS and/or ICP-AES for NIST standards. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B* 189, 86–93 (2002).
- 8) K. Saitoh, K. Sera, K. Shimomura: PIXE analysis of NIST urban particulate matter collected on a polycarbonate membrane filter. *International Journal of PIXE* 13, 141–147 (2003).
- 9) K. Saitoh, K. Sera: Examination of quantitative accuracy of PIXE analysis for atmospheric aerosol particle samples: PIXE analysis of NIST air particulate on filter media. *International Journal of PIXE* 15, 59–63 (2005).
- 10) 伏見暁洋, 長谷川就一, 藤谷雄二, 高橋克行, 斉藤勝美, 田邊潔, 小林伸治: 加熱脱着 GC/MS によるディーゼル排気及び大気中ナノ粒子の有機成分分析, *エアロゾル研究*, 23, 163–171 (2008).

Chemical composition and source of diesel exhaust nanoparticles (<0.030 μm)

Akihiro Fushimi, Katsumi Saitoh¹, Yuji Fujitani, Shuichi Hasegawa, Katsuyuki Takahashi²
Koichiro Sera³, Kiyoshi Tanabe and Shinji Kobayashi

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

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

²Japan Environmental Sanitation Center
10-6 Yotsuyakami-cho, Kawasaki-ku, Kawasaki 210-0828, Japan

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

Abstract

The size distribution of particle number and comprehensive chemical composition (elemental and organic carbon, elements, ions) by particle size (D_p : 0.010–10 μm) were measured in the exhausts from an 8-L diesel engine equipped with no exhaust aftertreatment system under a no-load and a transient conditions. High concentrations of nanoparticles were emitted under the no-load condition even using the low-sulfur (8 ppm) fuel. In the nanoparticles ($D_p < 0.032 \mu\text{m}$), organic carbon comprised a major part ($\approx 80\%$) of the measured components, and elemental carbon comprised only 8–15% of them, and elements and ions including sulfate occupied only small percentages of them. Elements contained in lubricating oil (Ca, Zn, S, P, Si, and Cl) in high level were also observed in high concentrations in the nanoparticles. Furthermore, hopane concentrations per particle mass were higher in smaller particles, and chromatogram pattern of nanoparticles obtained by gas chromatography/mass spectrometry were similar to those for lubricating oil. These results indicate that lubricating oil was the primary components of the nanoparticles under the no-load condition. It is suggested that organics in lubricating oil condensed and formed nanoparticles.

大気 PIXE 法によるエンジンオイル中元素の定量化

齊藤勝美、世良耕一郎*

秋田県健康環境センター

010-0874 秋田県秋田市千秋久保田町 6-6

現所属：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

*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

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

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

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

2 方法

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

エンジンオイル分析に最適な内標準元素の検討は、Sc、Y、In それぞれについて、50 ppm の混合元素標準液に内標準元素の濃度が 50 ppm、100 ppm になるように添加し、内標準法による混合元素標準液の元素定量値をもとに行った。定量精度の検討は、Sc と Y を内標準元素として 100 ppm になるように添加した 10 ppm、50 ppm、100 ppm 及び 500 ppm の混合元素標準液の元素定量値をもとに行った。

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

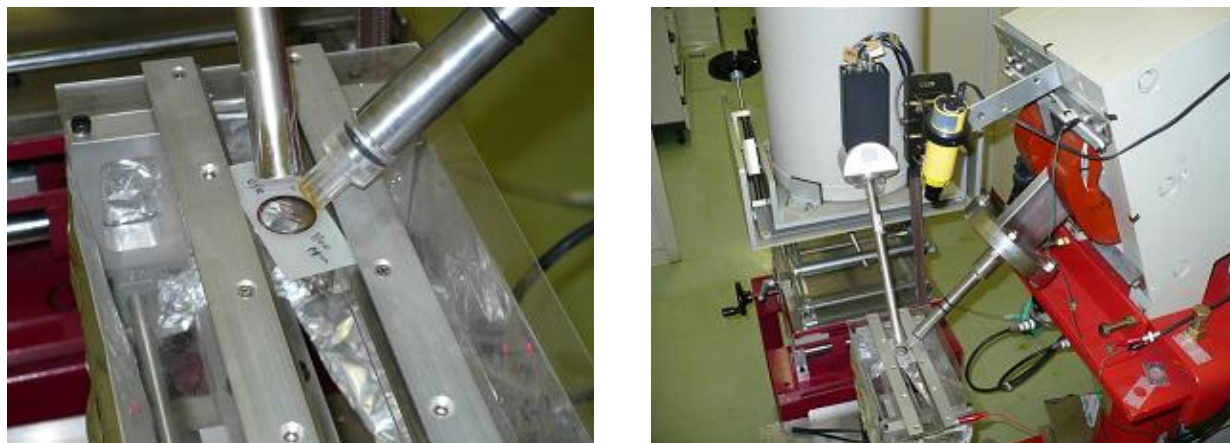


Fig. 1 In-air PIXE analysis system in NMCC.

3 結果と考察

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

10 ppm、50 ppm、100 ppm 及び 500 ppm の混合元素標準液に Sc、Y を 100 ppm になるように加えて測定した結果、Sc を内標準とした場合には Ti 以降の元素定量値に元素標準液濃度との隔たりがみられた。Y を内標準とした場合には、Mg、Al、S など軽元素の元素定量値に元素標準液濃度との隔たりがみられた。こうしたことから、軽元素の定量には Sc、Ar より高質量元素には Y を内標準に用いて行えば、定量精度の高い値が得られると考えられる。

4 今後の展望

大気 PIXE 法によるエンジンオイル中元素の定量化検討の結果、定量化の方向性を明確することができ、定量化に大きく前進したと考えられる。今後は照射試料作成時の試料滴下量などを検討し、最適な照射試料の作成をするとともに、定量精度の確認を行うこととしている。

参考文献

- 1) M.M. Barbooti, N.S. Zaki, S.S. Baha-Uddin and E.B. Hassan, "Use of silica gel in the preparation of used lubricating oil samples for the determination of wear metals by flame atomic absorption spectrometry", *ANALYST*, **115**, 1059-1061 (1990).
- 2) J. Zięba-Palus and P. Kościelniak, "An analysis of the similarity of motor oils on the basis of their elemental composition", *Forensic Science International*, **112**, 81-90 (2000).

- 3) D. Bódizs and S. Seif El-Nasr, "Trace element analysis of motor oil by reactor neutron activation analysis", *J. Radioanal. Nucl. Chem., Letters*, **136**, 231-237 (1989).
- 4) Ya-Wen Liu, A.R. Harding and D.E. Leyden, "Determination of wear metals in oil using energy dispersive X-ray spectrometry", *Analytica Chimica Acta*, **180**, 349-355 (1986).
- 5) K. Saitoh et al., "Development of sample preparation method for engine lubricating oil analysis using in-air PIXE", *Int. J. PIXE*, **18**, 47-52 (2008).

Engine lubricating oil analysis using in-air PIXE

Katsumi Saitoh and Koichiro Sera*

Akita Prefectural Research Center for Public Health and Environment
6-6 Sensyu-Kubota, Akita 010-0874, Japan

Present affiliation: Center Laboratory of Technology, NS Environmental Science Consultant Corporation
4-3-33 Mitake, Morioka 020-0122, Japan

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

Abstract

Elemental particles contained in automobile exhaust particles stem from the elements in the automobile engine lubricating oil, and may become a nucleus of atmospheric particles. Therefore, investigation of elements in automobile engine lubricating oil became our major consideration relating to chemical speciation of particles in the atmosphere. Detection of elements in automobile engine lubricating oil is one of the challenging subjects in environmental research. Consequently, we tried to elemental quantitative analysis by in-air PIXE for an engine lubricating oil. As a result, the problem for the quantitative analysis was able to be clarified.

有蹄類家畜ヒツメ試料に対する無標準定量法の開発

世良耕一郎、鈴木一由¹、田口 清¹、伊藤じゅん²
後藤祥子³、高橋千衣子³、齋藤義弘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留が森 348-58

¹ 酪農学園大学獣医畜産学部
〒069-8501 北海道江別市文京区緑町 582

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

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留が森 348-58

1 はじめに

我々は、血清・毛髪・臓器など様々な試料に対する「無標準法」の開発を進めてきた¹⁻⁴。ヒツメ試料に対しても、特に有害元素による人体曝露調査研究の目的で開発を行い⁵、無調製のツメ試料の定量分析が可能となっている。これらの方法の開発により試料調製の手順が著しく簡略化され、さらに1 μ L、1 mg 以下の微量試料の定量分析が可能となったため、種々の試料に対する「無標準法」は基礎・臨床医学、環境学の分野において広く利用されている。一方では、ヒト以外から採取される生物試料の定量分析の需要が高まっている。特に環境学の分野においては、Phytoremediation（植物による環境浄化）を利用した環境浄化の研究がNMCCにおいても数グループにより行われ、モエジマシダなど Hyper accumulator と呼ばれる植物の分析が行われている⁶。我々は、灌漑用水に含まれる有害元素の農作物への移行を調べるため、「生きたままの植物に対する無標準定量法」の開発に

着手している。また環境モニタリングのため、野鳥の羽毛、臓器、魚類の臓器などの分析も始められている。特に動物類から採取される試料は微小なものの、試料調製に手間のかかるものが多く、無標準法の開発が望まれる。

獣医学の分野においては、共著者の一人(鈴木)を中心として被毛の分析が行なわれ、種々の疾患と体内元素濃度との関連が明らかにされた⁷⁻¹⁰⁾。さらに二年ほど前から、家畜の健康管理のために有蹄類家畜のヒヅメ試料の分析が行われている。従来わが国においては、有蹄類家畜は屋内で飼育されることが多かったが、近年は屋外飼育が普及し歩行傷害が問題となってきた。近年の有蹄類家畜の体重増加も歩行障害の一因であり、ヒヅメの状態は歩行傷害と密接な関連があることが知られている。体重増加により末梢血液循環不足が生じ、それが蹄の角化不全をもたらす。さらにヒヅメ中の元素濃度は、体毛と同様に体内元素濃度分布を反映するため、体調管理に重要な情報を与えるものと期待される。汚れ易い被毛と比べ、ヒヅメ試料の中央部は外的環境からの影響を受けにくい、という利点もある。有蹄類家畜に対しては、健康維持・適切な歩行の維持のため定期的な **hoof cutting** が施行されており、適度な厚さの試料が定期的に得られるのも利点である。ヒヅメはヒトツメとは異なり、多量のきれいな試料を容易に採取できる利点があるが、試料調製に手間がかかり、さらに「硝酸灰化法」が必要なためハロゲンなど揮発性元素が失われる。体内ハロゲン族元素濃度は家畜の健康状態と密接な関係があるため、その情報も失われてはならない。以上の観点から、ヒヅメ試料に対する「無調製・無標準法」の開発に着手した。

2 実験方法

2.1 試料採取及び調製

上述のように、ウシなどの有蹄類家畜の蹄に対しては、健康管理のため定期的に **cutting** が行われている。Cutting の際には、底から順に 1 mm ほどの厚さで切り出され、蹄の形状が整えられる。そのため内部の試料は外部の汚染の影響を受けない清浄な状態で、1 mm 前後の厚さで切り出される。スライスされた蹄試料は成長に応じた縞状の構造を有しており、外側の外層は茶色に変色し半ば無機化した状態となっているが、内側の中層は半透明な白色で、僅かな弾力性も有している。境界は明確であり、それらは別々に測定される。

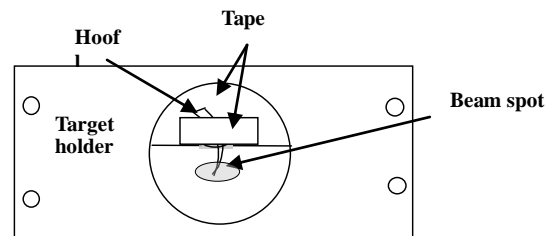


Fig.1 Schematic view of a hoof sample on the holder. A hoof is cut so as to taper it to a point and is hung at the center of a target holder. Only the top of the nail is irradiated by a proton beam.

無調製・無標準法のためのヒヅメ試料は、ヒトツメ試料の場合と同様⁵⁾、先細りになるように切り出され、先端の薄い部分のみにビームが当るよう、上から垂れ下げてターゲットとする(図1)。

このような条件化においては、ビームのエネルギーロス、X線の自己吸収による影響は小さいものと期待される。切り出されたヒヅメ試料は、アセトン中で60分間超音波洗浄された。ヒトツメ試料の場合、蒸留水中の洗浄ではCl、K、Brなどの元素が漏出することが確認されており、アセトン中の洗浄が適当であると確認されたため⁵⁾、ヒヅメ試料においてもその条件が踏襲された。

ヒヅメ試料の無標準法のための変換係数を決定するために、試料は硝酸灰化・内部標準法においても測定された。そのための試料は、無調製・無標準法の試料においてビームが当る先端部を取り囲む円形の部分が30 mgほど切り出された。内部標準として原子吸光分析用標準In溶液がIn=1000 ppmになるよう加えられ、圧力容器中で濃硝酸とともに電子レンジで加熱され灰化が行われた¹¹⁾。

2.2 照射及び測定条件

サイクロトロンにより加速された8.3 MeV H_2^+ ビームは、2枚のTiフォイル、He雰囲気中で減速され、2.9 MeVの陽子ビームとなり、6 mmφにグラファイトコリメータで整形され、試料を照射する。ビーム電流は、無調製・無標準法、硝酸灰化法、いずれの場合もおよそ80 nAであった。

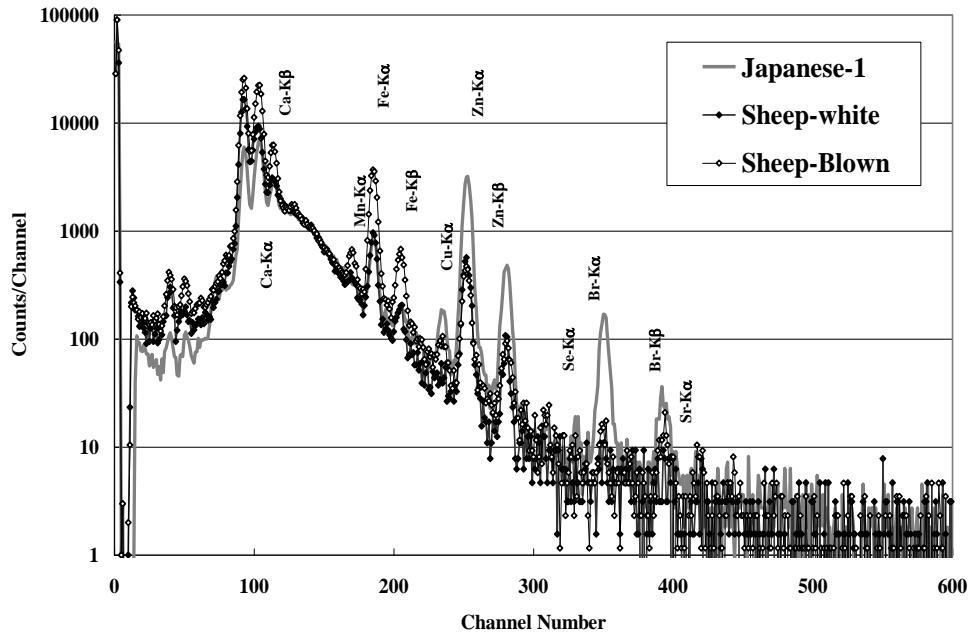
試料から発生するX線は、2台のSi(Li)検出器で測定されるが、一方(検出器1)の窓には300 μm Mylar filmがX線吸収体として装着され、K(カリウム)以上の中・重元素からのX線を測定する。もう1台(検出器2)は吸収体を用いず、Na~Caまでの軽元素分析を目的とするが、計数率を調整するため2 mmφのグラファイトコリメータとともに用いられる。この「2検出器同時測定システム」により、全元素の短時間同時分析が可能となる¹²⁾。検出器1に装着される吸収体は、ヒトツメ試料の無調製・無標準法のために用いた300 μm Mylar filmであり、ヒトツメとヒヅメ中の主元素構成がほぼ同等であると予想されることから選択された。

2.3 ヒヅメ試料に対する無標準法

図2 a-d)に、4人の人物(日本人、フィリピン人)から採取されたヒトツメ試料と、4種の有蹄類家畜(羊・ポニー・仔牛・乳牛)から採取されたヒヅメ試料との比較を1対1で行う。ヒヅメに関しては、外層の茶色の部分と、中層の白色部とを分けて比較する。これらの図から、ヒヅメはヒトツメと比べ、Kが多くZnとCuが少ない傾向が見られる。外側の茶色の層(外層)と内側の白色の層(中層)との比較においては、前者がCa, Mn, Fe, Cuを多く含むことが分かる。だが連続X線の形状は、ヒヅメとヒトツメにおいてほぼ同一であることが確認できる。例外はフィリピンの零細鉱業鉱夫から採取されたツメ試料(図2-d)であり、これには細かい傷の中に金属紛が埋め込まれ除去困難であったため、金属元素のピークが突出し連続X線の形状が影響を受けていると解釈できる。PIXEスペクトルの中・高エネルギーにおいて支配的なSEB(二次電子制動放射)の形状は、特にその高エネルギー領域において重元素濃度に大きく影響を受けることが知られており¹³⁾、そのため形状に差異が生じたものであり例外的なケースと言える。他のヒトツメとの比較においては、ヒヅメ試料からの連続X線の形状はほぼ一致しており、このことからヒトツメのために開発された無標準法が、多種の有蹄類家畜から採取されたヒヅメ試料にも適用可能であることが予測される。

無標準法の手順は、以前に報告を行ったものと同様である¹³⁾。図3に、無標準法の解析に使用される連続X線領域を斜線で示す。このスペクトルは乳牛のヒヅメ(白色)を2.9 MeV陽子で照射し、検出器1において300 μm Mylar吸収体を用いて得られたものである。図中に示すように、2.6-15.2 keVの領域の連続X線収量 Y_{CX} が、その領域の全X線収量から全てのピーク終了を差し引くことにより求められる。指標元素としてはヒトツメやヒト毛髪と同様Znが指定されたが、Znは

a)



b)

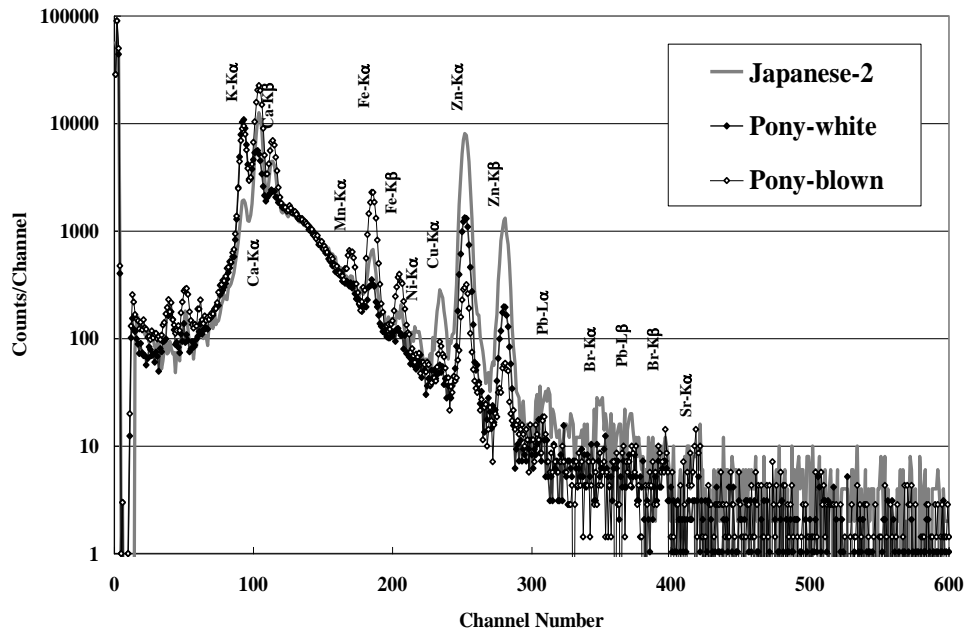
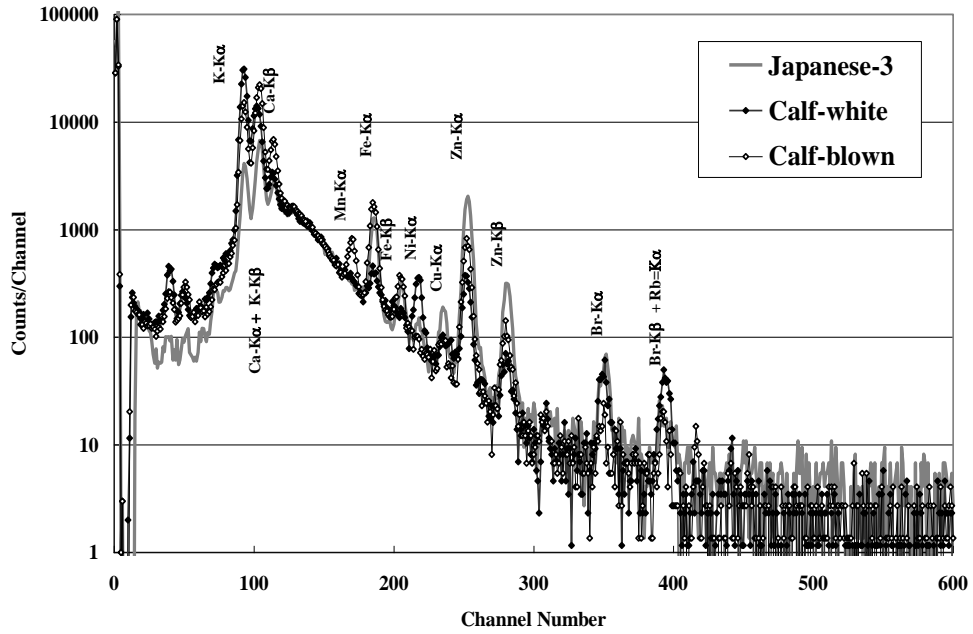


Fig. 2 a, b) Comparison of X-ray spectra between nail samples taken from Japanese persons ; Japanese-1 (a) and Japanese-2 (b), and a hoof samples taken from a sheep (a) and a pony (b), where a 300 μ m Mylar film was used as an X-ray absorber.

c)



d)

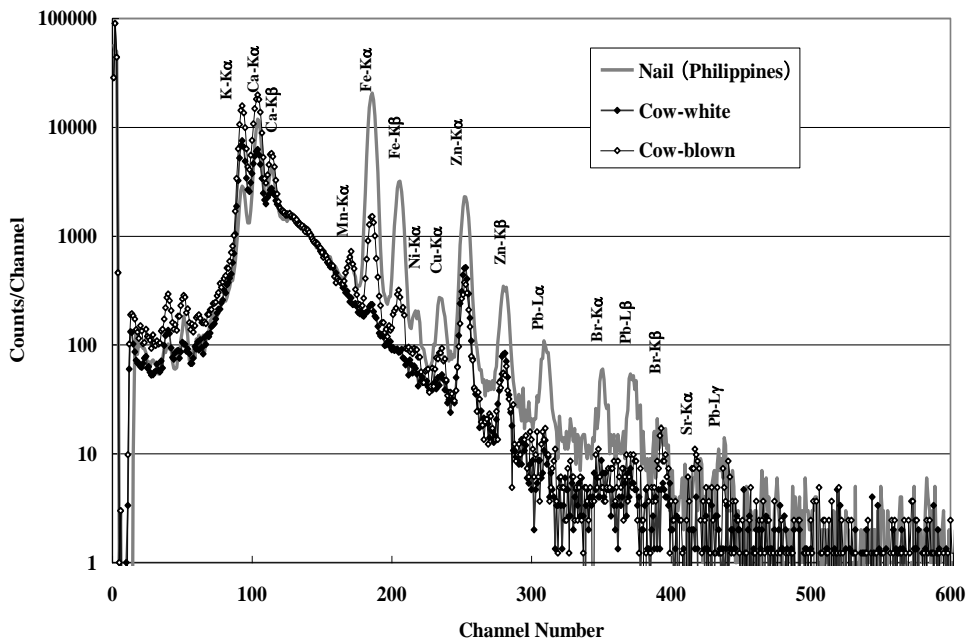


Fig. 2 c, d) Same comparisons as those in Fig. 2 a, b) but for a nail samples taken from a Japanese-3 (c) and a Philippine person (d), and hoof samples taken from a calf (c) and a cow (d).

全てのヒツメ試料に一定以上の濃度で安定して存在するため、指標元素に適している。添字 S で指定される指標元素の濃度 C_S は指標元素ピーク収量 Y_S の Y_{CX} に対する比 $R_S = Y_S/Y_{CX}$ から、変換係数 K_S を用いて $C_S = R_S \cdot K_S$ により求められる。変換係数に関しては、無標準法ターゲットの Zn 濃度の結果と、ビーム照射部の周囲を切りぬき硝酸灰化・内部標準法を適用したターゲットのそれを数試料比較することにより求められるが、図 2 においてヒツメとの類似性が確認されているため、ヒツメと同様の値をまず使い、比較を行なうことにより修正する方針とした。無標準法の精度は、4 種の有蹄類家畜から採取された 28 ヒツメ試料において内部標準法の結果と比較を行なうことにより、確認される。

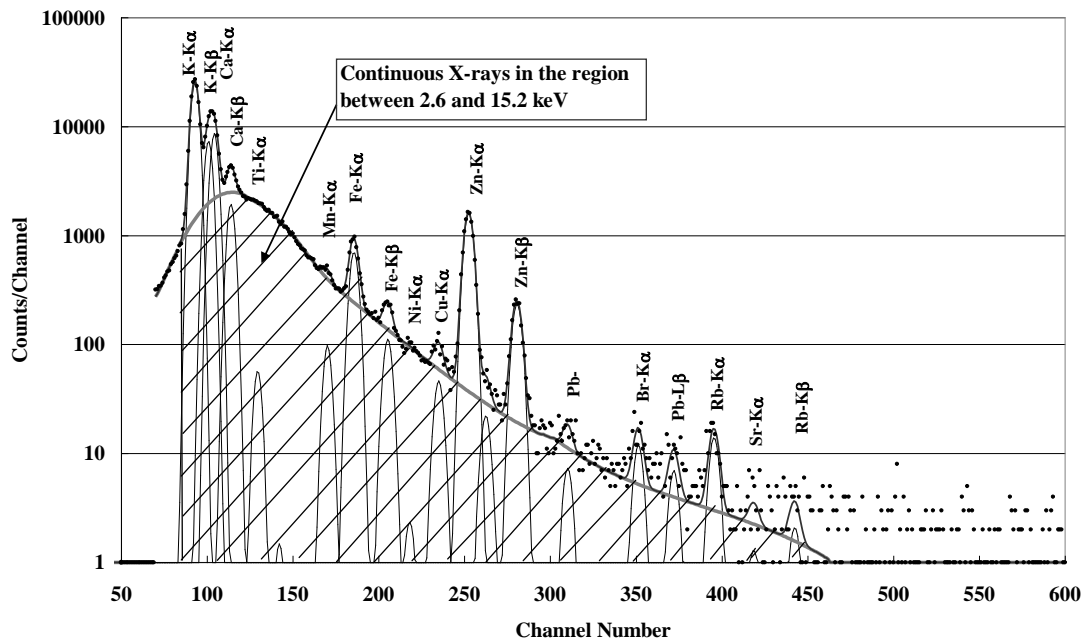


Fig. 3 Procedure for the standard-free method for a hoof sample. All peak functions are subtracted from the spectrum in the region between 2.6-15.2 keV indicated by the shadowed portion and the total yield of continuous X-rays Y_{cx} is obtained. Zinc was designated as the index element in the same manner as in the case of human nails

3 結果と議論

図 4 に、ヒツメ試料中の無標準法と内部標準法で求めた Zn 濃度を、比較して示す。ヒツメ試料はいずれも中層の白色部で、乳牛(n=11)、仔牛(n=12)、羊(n=3)、ポニー(n=2) の計 28 試料である。内部標準法の結果は、上述のように無標準法の照射部の周囲を切りぬいた試料に対し、硝酸灰化・内部標準法を適用して求めたものである。両法による結果は、殆ど全ての試料に対し実験誤差の範囲内で互いに一致し、ヒツメに対して確立された無調製・無標準法が、修正なしでヒツメ試料にも適用可能であることが確認された。

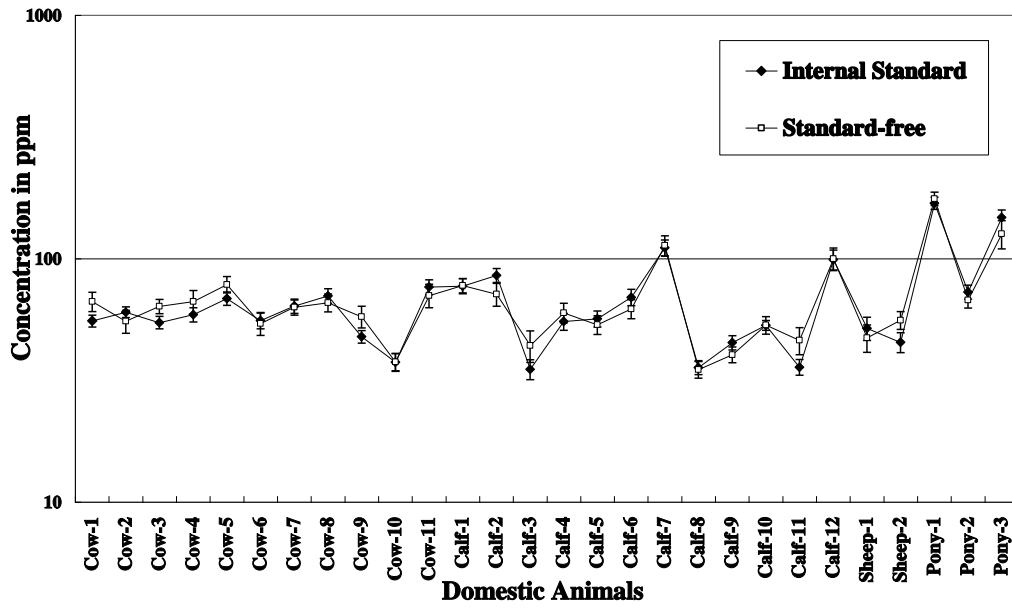


Fig. 4 Zinc concentration in 28 white hoof samples taken from cow (n=11), calf (n=12), sheep (n=3) and pony (n=2), where the results obtained by the present method are compared with those obtained by the internal-standard method combined with chemical ashing method.

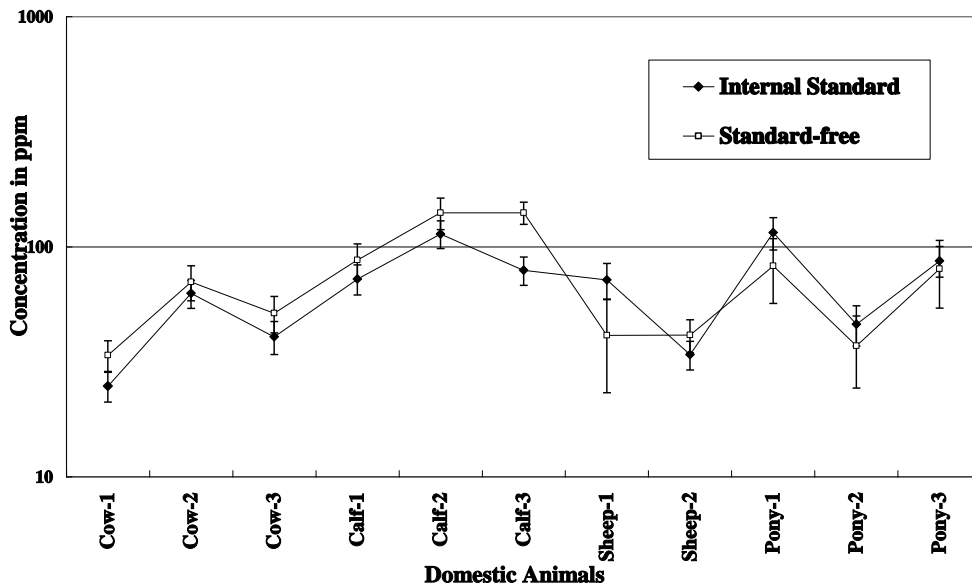


Fig. 5 Same as Fig. 4 but for 11 blown hoof samples taken from cow (n=3), calf (n=3), sheep (n=3) and pony (n=3).

図5には同様の比較を11の茶色(外層)ヒヅメ試料に対して示す。図から、特に乳牛と仔牛において、両法の一致が悪いことが分かる。茶色の外層部は外部に近接し、土などの成分のコンタミ、さらに機械的損傷により無機化が進んでいるものと推測される。図2に見られるように、Ca、Fe、Mnなどが高濃度に集積し、それが連続X線の形状、さらに無標準法の精度に影響を与えているものと思われる。しかし体内元素濃度分布などの獣医学的情報は白色部の中層から得られるため、中層に対する精度が確認された本法は、有蹄類家畜の健康管理に極めて有効な方法であると言える。

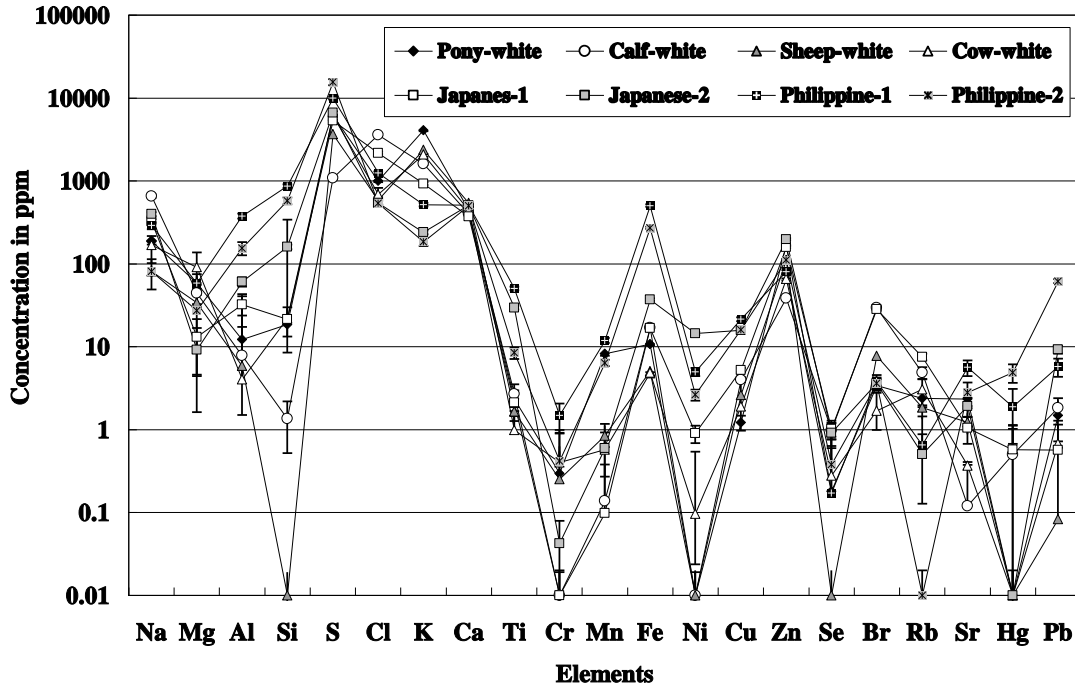


Fig.6 Results of elemental concentration of 21 elements in hoof (white) samples taken from four species of domestic animals and nails taken from two Japanese and two Philippine persons.

図6にはヒヅメ及びヒトツメ試料中の21元素濃度を、4種の有蹄類家畜から採取されたヒヅメと、4人の人物(日本人・フィリピン人各2)から採取されたヒトツメ試料に対して示す。本法により、硝酸灰化により失われるClやBrなどのハロゲン族元素を含む多くの体内元素濃度の情報が得られることが確認できた。また、これらの異なるヒヅメ、ヒトツメ試料中の元素濃度分布は類似していることが分かった。特にCa濃度は、茶色の外層中に突出していたものの、白色の中層においてはヒトツメと殆ど同じ値を示し、種による違いもないことが示されている。ツメ、ヒヅメ中の主元素であるSとZnも、概ね同様な値を示しているが、仔牛のSのみが低い値を示した。我々が参加する研究において、それぞれ1000人以上の乳児とその母の毛髪分析が行なわれたが¹⁴⁾、乳幼児の毛髪中の硫黄濃度が成人と比して低い値を示す傾向のあることが確認されている。ウシヒヅメ試料に関しても、同様な傾向があると言えるかもしれない。

ヒヅメとヒトツメの間には、著しい形状の差が存在する。前者は三次元的に、厚さ方向（下方向）にも成長するが、ヒトツメは平面的に前方に伸びる。以前の我々の分析により、ヒトツメの場合には、同一のツメ内であってもその縦横方向ともに元素濃度分布が大きく変動することが確認されている⁵⁾。これが、比較的安定した結果を与える毛髪分析と比べ、ツメ試料分析の結果から体内元素濃度を推定することの困難さにつながっている。さらにヒトツメ試料の場合、傷に埋め込まれた不純物を取り除くことも困難である。これらの理由により、ツメ試料は毛髪ほど分析の対象とはなっていない。それに対しヒヅメ試料は底から平面状に内部(上部)に向かいカッティングされ、同一のスライスの内部はほぼ同時期に成長したものと推定される。通常 hoof cutting は、家畜の正常歩行の維持の為に一定期間（ウシの場合は半年に1回程度）毎に行なわれるため、同一のスライス内での元素濃度変動は少ないものと期待される。

平面状に切り出されたヒヅメ試料内の元素濃度空間変動を調べるため、16のターゲットが同一の試料から切り出された。図7のように、7試料が水平方向に左から右に向かい順々に2mmおきに切り出され、さらに垂直方向の分布を調べるため、同様に9試料が下から上（体に対して後方から前方）に向けて2mm毎に切り出された。

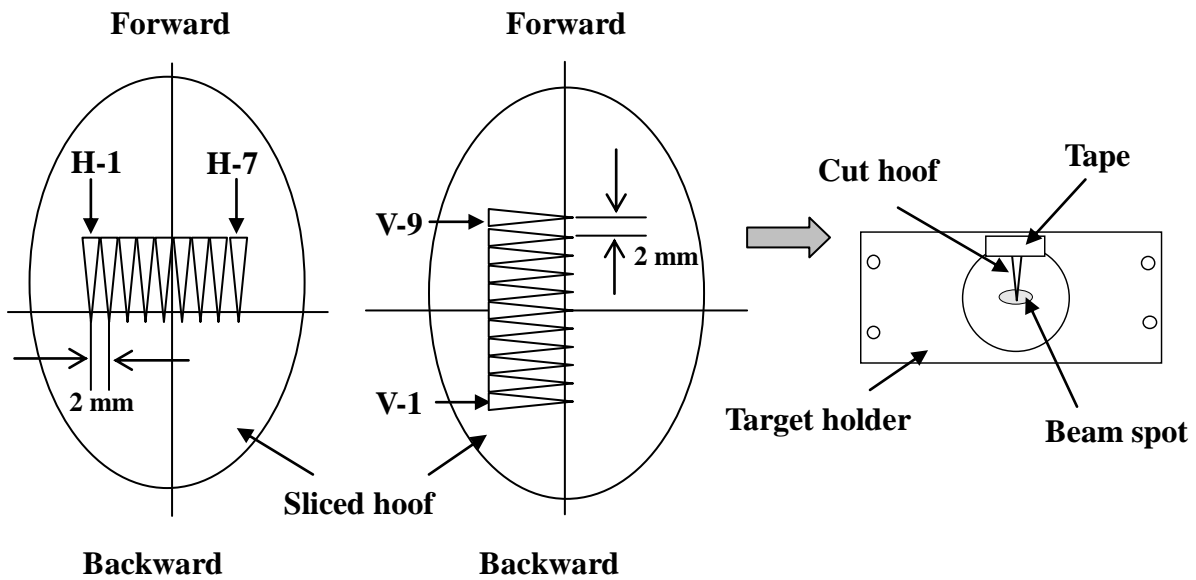


Fig. 7 Target preparation for investigating position dependence on the same sliced hoof sample. Seven targets were prepared by cutting hoof every 2 mm along the horizontal axis, while nine targets were prepared along the vertical axis.

図 8-a) に、水平方向に切り出された 7 試料の結果を、11 の主元素に対して示す。図 8-b) には、同様の結果を前後方向に切り出された 9 試料に対して示す。これらの図から見られるように、S、Zn、Ca、K などの主元素は同一の平面状のヒヅメ試料内で大きな変動は示していないが、周辺に近づくに連れやや変動が大きくなることが分かる。このことから、カッティングされた平面状ヒヅメ試料の中央部近辺を試料とすれば、安定した情報が得られることが確認できた。

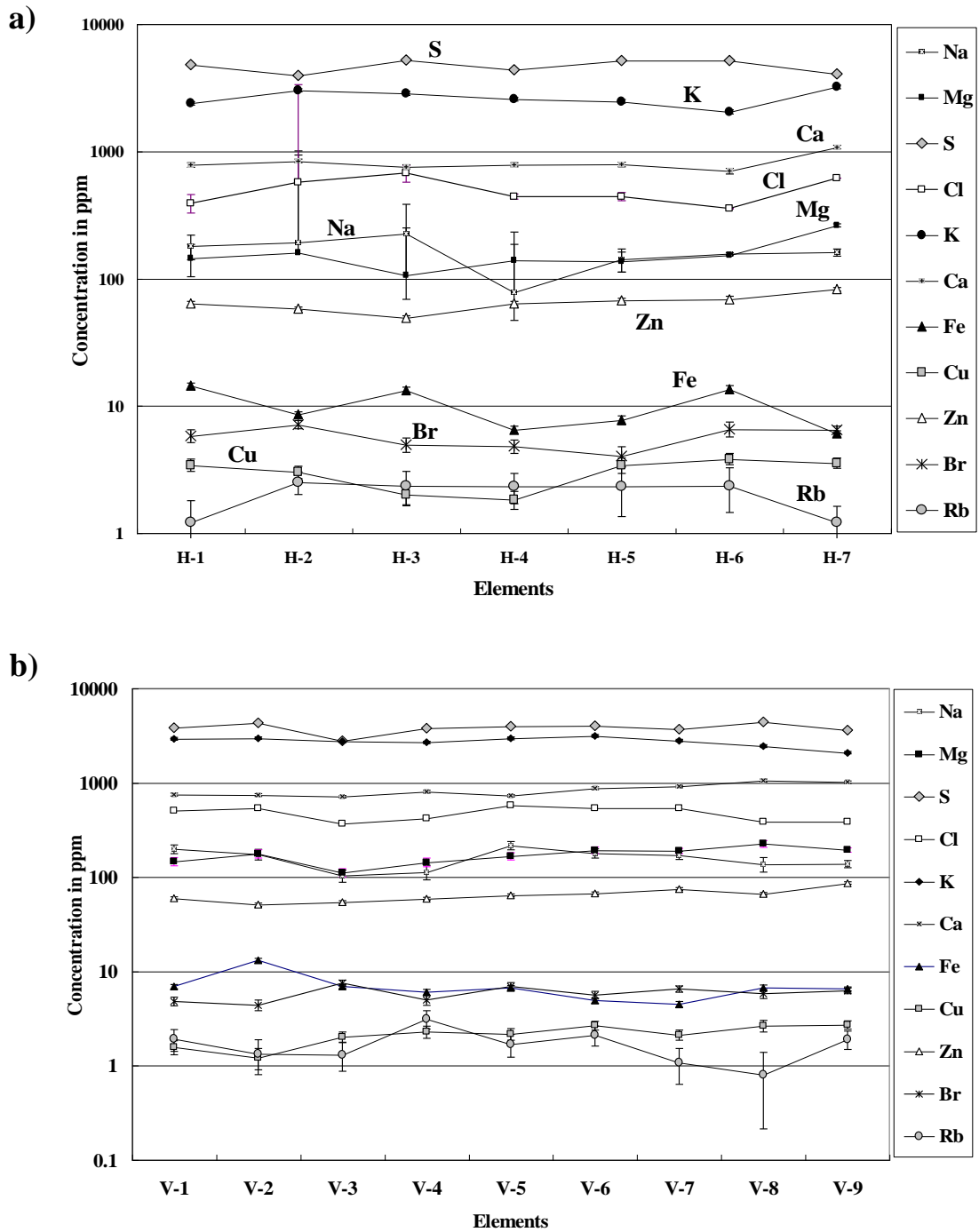


Fig. 8 Changes in concentration of principal 11 elements depending on the position. Figure 8-a) shows dependence on horizontal positions against a body axis. Fig. 8-b) shows the same comparisons but the nine targets were prepared along the forward and backward direction against a body axis.

以上のことから、ヒヅメ試料に対する無調製・無標準法は正確な濃度値を与えるものであることが確認できた。これらの結果から、本法はヒヅメ試料分析による家畜の健康管理や疾患の診断・治療に対し有力なツールとなり得ることが期待される。従来の硝酸灰化・内部標準法の適用は非常に手間がかかり、かつ複雑な手順中に試料の汚染・試料からの元素の漏出などの危険性を含んでいる。本法により、それらの不確定要素が排除され、かつハロゲン族など従来分析不可能だった元素の分析も可能となった。本法はさらに、シカ、カモシカなどの有蹄類野生動物のヒヅメ分析にも応用可能である。それらの分析は、生態系に影響を及ぼす環境変化のモニタリングとしても有用であると期待される。

4 まとめ

以上の結果は以下のように要約できる。

1. 有蹄類家畜から採取したヒヅメ試料に対する「無調製・無標準法」が、無標準法を基礎として開発された。
2. 本法は異なる種の有蹄類家畜ヒヅメに対し、有効であることが確認された。
3. 本法は複雑な試料調製を必要としないため、その過程で生じる試料のコンタミ、元素の試料からの漏出などの問題から開放されている。従来の方法では分析困難であったハロゲン族元素の定量分析も可能となった。
4. 本法は、家畜の健康管理、診断などに有用であると期待される。

謝辞

共同利用の円滑な運営のために日々献身的な働きをしておられる日本アイソトープ協会 NMCCのスタッフの方々、及び岩手医大サイクロトロンセンターのスタッフに謝意を表します。また、NMCCの全国共同利用を有効に活用し、優れた成果を上げられている利用者の方々に敬意と謝意を表します。

参考文献

1. K. Sera, S. Futatsugawa, K. Matsuda and Y. Miura, "Standard-free method of quantitative analysis for bio-samples", *Int'l Journal of PIXE* Vol.6, No.3, 4 467-481 (1996)
2. K. Sera, S. Futatsugawa and K. Matsuda, "Quantitative analysis of untreated bio-samples", *Nucl. Instr. and Meth.* B 150 226-233 (1999)
3. K. Sera, S. Futatsugawa S. Hatakeyama, Y. Saitoh and K. Matsuda "Quantitative Analysis of Bio-medical Samples of Very Small Quantities by the Standard-free Method.", *Int'l Journal of PIXE* Vol. 7-3, 4 157-169 (1997)
4. K. Sera, J. Itoh, S. Goto, Y. Saitoh, A. Fujimura, Y. Nozaka, Y. Noda, S. Nishizuka and G. Wakabayashi, "Quantitative Analysis of Very Small Quantity of Organs Taken from Patients and Experimental Animals; Standard-free Method for Organ Samples.", *Int'l Journal of PIXE* Vol. 18, No.3,4 111-122 (2008)

5. K. Sera, S. Futatsugawa, S. Murao and E. Clemente, "Quantitative Analysis of Untreated Nail Samples for Monitoring Human Exposure to Heavy Metals.", *Int'l Journal of PIXE* Vol. **12**, No.3, 4 125-136 (2002)
6. 大谷真司、藤巻宏和、世良耕一郎、"宮城県中部七北田川河口域の植物に含まれる重金属元素濃度と土壌中の重金属元素濃"、NMCC共同利用研究成果報文集 第14巻, 69-80 (2008)
7. K. Asano, K. Suzuki, M. Chiba, K. Sera, T. Matsumoto, R. Asano and T. Sakai, "Influence of the Coat Color on the Trace Elemental Status Measured by Particle Induced X-ray Emission (PIXE) in Horse Hair.", *Biol. Trace. Element. Res.* Vol. **103** 169-176 (2005)
8. K. Asano, K. Suzuki, M. Chiba, K. Sera, R. Asano and T. Sakai,
"Twenty-Eight Element Concentrations in Mane Hair Samples of Adult Riding Horses Determined by Particle-Induced X-ray Emission.", Asano, K., Suzuki, K., Chiba, M., Sera, K., Asano, R. and Sakai, T., *Biological Trace Element Research*, Vol. **107** No.2 (2005) 135-140
9. K. Asano, K. Suzuki, M. Chiba, K. Sera, T. Matsumoto, R. Asano and T. Sakai,
"Correlation Between 25 Element Contents in Mane Hair in Riding Horses and Atrioventricular Block.", *Biological Trace Element Research*, Vol. **108** (2005) 127-136
10. K. Asano, K. Suzuki, M. Chiba, K. Sera, R. Asano and T. Sakai,
"Relationship Between Trace Elements Status in Mane Hair and Atrial Fibrillation in Horse.",
Journal of Veterinary Medical Science, Vol. **68**-7 (2006) 761-771
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. K. Sera, T. Yanagisawa, H. Tsunoda, S. Futatsugawa, S. Hatakeyama, Y. Saitoh, S. Suzuki and H. Orihara., "Bio-PIXE at the Takizawa facility (Bio-PIXE with a baby cyclotron)", *Int'l Journal of PIXE* Vol. **2**, No.3 325-330 (1992)
13. K. Ishii and S. Morita, "Continuous Background in PIXE", *Int'l Journal of PIXE*, Vol. **1**, No.1 1-29 (1990)
14. 絹川直子、伊藤じゅん、前田知子、高辻俊宏、中村 剛、世良耕一郎、野瀬善明、"PIXEによる福岡市乳幼児健診の毛髪分析(第1報) ~ 母親の出産後1か月及び10か月の比較"、NMCC共同利用研究成果報文集 第14巻, 155-169 (2008)

Standard-free method for hoof samples taken from domestic animals such as cow, calf, pony and sheep

K. Sera, K. Suzuki¹, K. Taguchi¹, J. Itoh², S. Goto³, C. Takahashi³ and Y. Saitoh³

Cyclotron Research Center, Iwate Med. University
348-58 Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0173, Japan

¹Department of Veterinary Medicine, Rakuno Gakuen University
582 Bunkyou dai Midorichou, Ebetsu, Hokkaido 069-8501, Japan

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

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

Abstract

A standard-free method for hoof samples taken from cattle such as cow, calf, pony and sheep has been developed in order to estimate the state of health of these animals. The standard-free method developed for human nails was confirmed to be applicable to quantitative analysis of hoof samples since the shape of continuous X-rays is almost the same for nail and hoof taken from these ungulate animals. Accuracy and sensitivity of the present standard method were examined by comparing the results with those obtained by an internal-standard method combined with a chemical-ashing method, and it is confirmed that the method is applicable to hoof samples taken from domestic animals of many species. The method allows us to quantitatively analyze untreated hoof samples and to prepare the targets without complicated preparation technique which often brings ambiguous factors such as elemental loss from the sample and contamination of the sample during preparation procedure. It is also confirmed that halogens, which are important elements for estimating the state of health and are mostly lost during chemical-ashing, can be analyzed without problem by the present method. It is found that elemental concentration of more than twenty elements can be constantly analyzed and it is expected to be quite useful in order to estimate the state of health and to make diagnosis of domestic animals. It is also confirmed that elemental concentration of essential elements in hoof is not so changed depending on the positions in the sliced sample along both horizontal and vertical axis.

Keywords : PIXE, hoof, Standard-free, Cattle, Domestic animals, Untreated, Veterinary medicine, State of health

野鳥から採取された羽毛試料に対する無標準定量法の開発

世良耕一郎、鈴木一由¹、田口 清¹、千葉啓子²
伊藤じゅん³、後藤祥子⁴、高橋千衣子⁴、齋藤義弘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 酪農学園大学獣医畜産学部
〒069-8501 北海道江別市文京区緑町 582

² 岩手県立大学盛岡短期大学部
〒020-0193 滝沢村滝沢字巣子 152-52

³ 日本アイソトープ協会学術部研修課
〒113-8941 東京都文京区本駒込 2-28-45

⁴ 日本アイソトープ協会滝沢研究所仁科記念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

我々は、毛髪試料に対する無調製・無標準法の開発を行い¹⁾、それは様々な研究に応用されてきた。特に、有害元素による広域的環境汚染による人体曝露評価の研究においては、フィリピンやモンゴルの Small-scale mining cite における水銀汚染^{2,5)}、中国におけるフッ素汚染、及びヒ素汚染⁶⁾、バングラデッシュにおけるヒ素汚染^{7,8)} など、多くの問題に貢献してきた。毛髪中の元素濃度は体

内元素濃度を反映するため、有害元素曝露のみではなく、必須元素の摂取バランスなどの健康状態管理にも強力なツールとなる。本法は、5 mm 程度の毛髪 1 本の定量分析を可能とし、化学処理などの複雑な試料調製を必要とせず、未処理の毛髪をそのままビームで照射し正確な定量分析を行うものであり、試料調製の手順が省けるため一日に 100 以上の毛髪試料分析を可能とする。しかも複雑な手順の過程で生じる試料のコンタミや元素の試料からの漏出などの不確定要素を排除するため、内部標準法と比較しても、より正確な定量値を与えるものである。

ヒト毛髪との主元素構成の類似性から、家畜や実験動物などの被毛の分析にも応用され⁹⁻¹⁰⁾、動物の健康状態と体内微量元素成分との関係が調べられるなど、獣医学や基礎医学における研究にも貢献している。また愛玩動物の被毛にも応用され、健康状態と微量元素成分との関係が調べられている¹¹⁾。さらに主成分の類似性から、ヒトツメ試料¹²⁾、有蹄類家畜のヒヅメ試料に対する無標準法¹³⁾の開発も行われた。このように体毛・被毛、ツメ・ヒヅメ試料に対して開発された無調製・無標準法は、多分野において広く利用されている。

鳥類に関してはツメの採取は困難であり、羽毛の分析により健康状態の把握が可能となることが期待される。獣医学においても、家禽の健康状態維持のために羽毛試料の分析は一つの強力なツールと成りうる。一方野生鳥類に関しても、それらの健康状態の把握を、採取し易い羽毛分析により行うことは有望な手段と思われる。さらに野鳥の体内元素濃度分布はその生育環境を強く反映し、我々の分析でも特定の野鳥の羽毛から多量の有害元素が検出された例もある(未発表)。野鳥は種により生活圏の範囲が大きく異なり、野鳥羽毛の分析結果は地域的・局所的な汚染、グローバルな汚染両者の指標と成りうるものと期待される。生活環境の変化は、野鳥に対し時として致命的な影響を与えうる。以前、秋田県八郎潟において多数のミヤマカラス(渡り鳥)が死亡する事件が発生し、我々の分析の結果、死因は畑に撒かれた殺鼠剤であることが胃腸からの Tl (タリウム) の検出によって明らかとなった¹⁴⁾。このような人為的・急激な環境変化のみならず、時定数の長い環境変化が生態系に及ぼす影響を調べる上でも、羽毛試料分析は強力な手段になることが期待される。

現在まで、羽毛試料は硝酸灰化・内部標準法に基づいて調製され、定量分析が行われてきたが、同法は熟練と多大な労力を要し、さらに酸処理によりハロゲン族元素が失われるという短所があった。その観点からも無調製・無標準法の開発が望まれるが、その実現の可能性は大である。何故なら、今までの分析の結果、羽毛と体毛の主元素組成は類似しており、従って「無標準法」の基礎情報となる連続 X 線の形状も類似していることから、毛髪試料と同様の精度で無標準法を確立できることが期待されるからである。

本研究においては、野鳥羽毛試料に対する無調製・無標準法が、ヒト毛髪試料にたいするそれを基準として開発され、その精度は、同一の試料に対し従来の硝酸灰化・内部標準法を用いて得られる結果と比較することにより検証される。さらに、同一個体から採取された異なる羽毛試料に対する依存性、同一羽毛における位置依存性などが、詳細に調べられる。

2 実験方法

2.1 試料採取及び調製

野鳥の羽毛試料(feather 及び down)は、捕獲された野鳥・死亡した野鳥から直接、また巣の中及

び周辺の種の確定できる場所から採取された。採取された羽毛はアセトン中で洗浄し、図1に示すように最小単位に分割された羽毛4~5本がターゲットホルダー上に固定され、その中央部が陽子ビームで照射され、無標準法の開発のために使用された。結果の比較の為に硝酸灰化・内部標準法のターゲットは、照射部を取り囲む近接した部分から採取され、秤量の後、内部標準として1000 ppmのInが添加され、テフロン製圧力容器中で電子レンジにより灰化後、その数 μL がProlene film バッキング膜状に滴下され、乾燥することにより調製された¹⁵⁾。

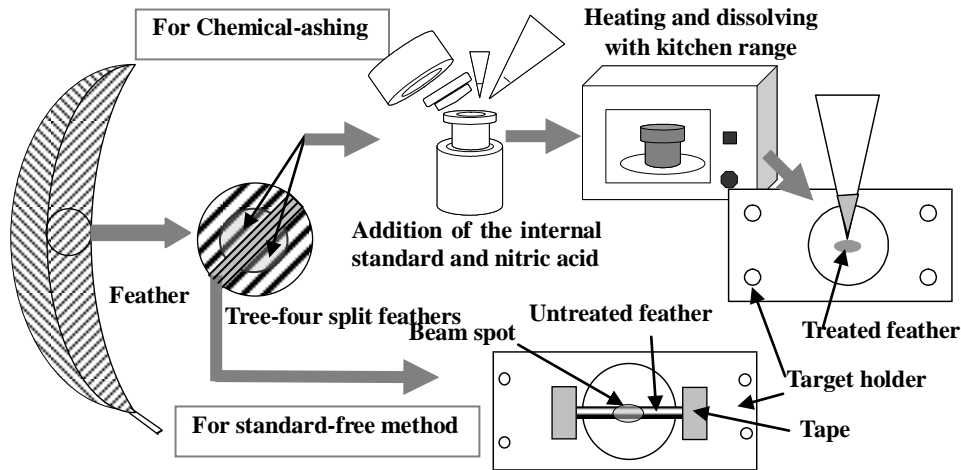


Fig.1 Schematic view of the procedure of target preparation for a feather sample. Three or four split feathers were picked out nearly the center of the feather, and the target for the standard-free method was prepared using these untreated hairs. The target for the internal-standard method is prepared using the split feathers just around the irradiated portion for the standard-free method.

羽毛試料は全6試料で、5種の異なる野鳥から採取された。それらはゴイサギ; Black crowned night heron (*Nycticorax*)、ミサゴ; Osprey (*Pandion haliaetus*)、コハクチョウ Bewick's swan (*Cygnus columbianus*)、キレンジャク; Bohemian waxwing (*Bombycilla*)、そしてハシボソカラス; Carrion crow (*Corvus corone*)である。この中で、キレンジャクからは feather に加え、down 試料も採取された。

2.2 照射及び測定条件

サイクロトロンにより加速された 8.3 MeV H_2^+ ビームは、2枚のTiフォイル、He雰囲気中で減速・分離され、 2.9 MeV の陽子ビームとなり、グラフィイトコリメータにより $6 \text{ mm}\phi$ に整形され試料を照射する。ビーム電流は、無調製・無標準法、硝酸灰化法、いずれの場合もおよそ 80 nA であった。

試料から発生するX線は、2台のSi(Li)検出器で測定されるが、1台(検出器1)の窓にはMylar filmがX線吸収体として装着され、K以上の中・重元素からのX線を測定する。もう1台(検出器2)は吸収体を用いず、Na~Caまでの軽元素分析を目的とするが、計数率を調整するため $2 \text{ mm}\phi$ のグラフィイトコリメータとともに用いられる¹⁶⁾。検出器1に装着される吸収体は、ヒト毛髪試料・ヒトツメ試料の無調製・無標準法のために用いられる $300 \mu\text{m}$ Mylar film が選択された。

2.3 羽毛試料に対する無標準法

図2に、検出器1により300 μm Mylar filmを用いて得られたスペクトルを、5種の野鳥から採取された6種の羽毛試料に対して比較して示す。図中には、タイ人、日本人から採取された毛髪試料のスペクトルも、比較のため示されている。図から明らかなように、連続X線の形状は中間エネルギー領域においてヒト毛髪を含む全ての試料に対して一致しており、このことから種の異なる野鳥の羽毛試料は、downも含めてほぼヒト毛髪試料と同一の主元素組成であることが確認される。この事実により、ヒト毛髪試料に対して開発された無調製・無標準法は、ほぼそのまま野鳥の羽毛試料にも適用可能であることが予測できる。しかしこの図から、微量成分であるK、Ca、Mn、Feは、ヒト毛髪と比較し野鳥の羽毛に多く含まれていることが確認できた。

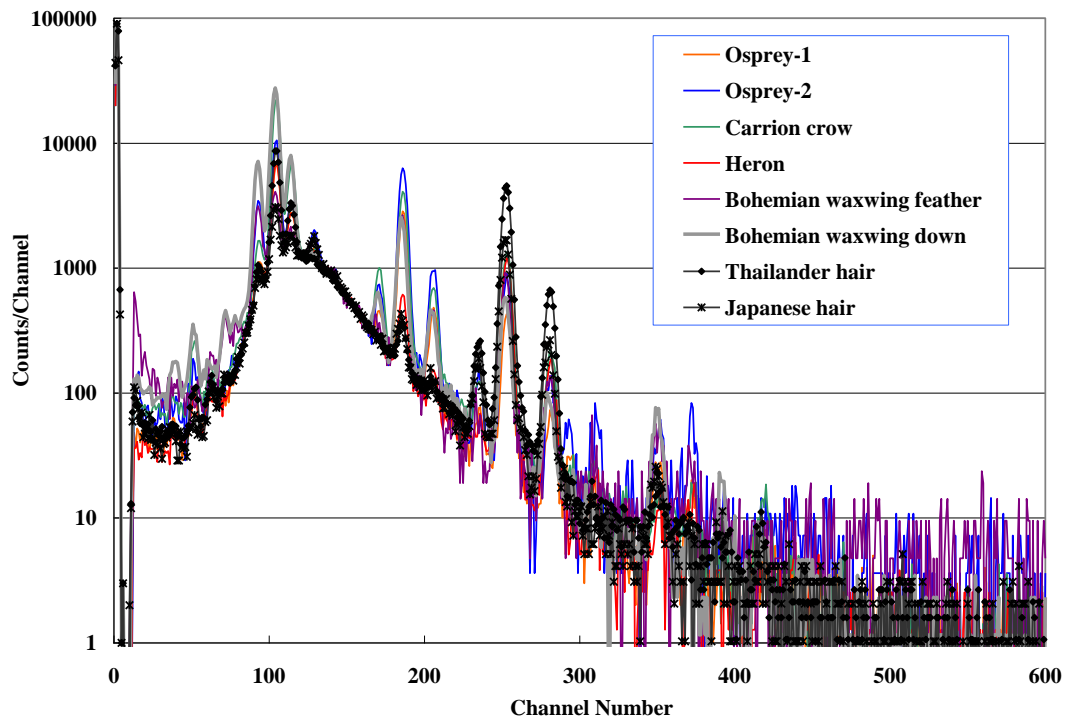


Fig. 2. Comparison of x-ray spectra among six feather samples and two human hair samples. These spectra are normalized by the yield of continuous X-rays in the energy region between 4.4-5 keV. A 300 μm Mylar film was used as an X-ray absorber.

羽毛試料に対する無標準法の手順は、ヒト毛髪^{1,17)}・ツメ¹²⁾・ヒヅメ¹³⁾試料に対するものと同様であり、図3に示されている。図のスペクトルは、ハシボソカラスの羽毛試料を2.9 MeVの陽子ビームで照射し、300 μm Mylar吸収体を用いて得られたものである。図中には無標準法の基礎となる連続X線収量をとる領域(2.6-15.2 keV)が示されているが、これはヒト毛髪試料に対するものと同じである。連続X線収量 Y_{CX} はこの領域中の全収量から、ピーク fittingにより求められる全ピーク

収量を差し引いて求められる。添字 s で示される指標元素の濃度 C_s は、連続 X 線収量 Y_{CX} の指標元素ピーク収量 Y_s に対する比 $R_s = Y_s / Y_{CX}$ から、変換係数 K_s を用いて $C_s = R_s \cdot K_s$ を用いて求められる。変換係数 K_s は、数種の試料に対して硝酸灰化・内部標準法により求めた C_s と、無標準法による R_s を比較し、 $K_s = C_s / R_s$ よりあらかじめ決定されるが、本研究においては、図 2 において確認されたヒト毛髪との主成分の類似性から、ヒト毛髪に対するものをそのまま使用し、内部標準法による結果と比較し修正を加える手順とした。無標準法の手順の詳細は、参考文献 18) を参照されたい。変換係数 K_s と採択した連続 X 線領域の妥当性は、9 の羽毛試料に対し本法と内部標準法で得られた指標元素濃度を比較することにより、確認される。指標元素としては、ヒト毛髪と同様 Zn が選ばれた。Zn は毛髪の主成分であり、強い位置依存性を示さず試料中にはほぼ均一に安定して存在することが確認されているためである。

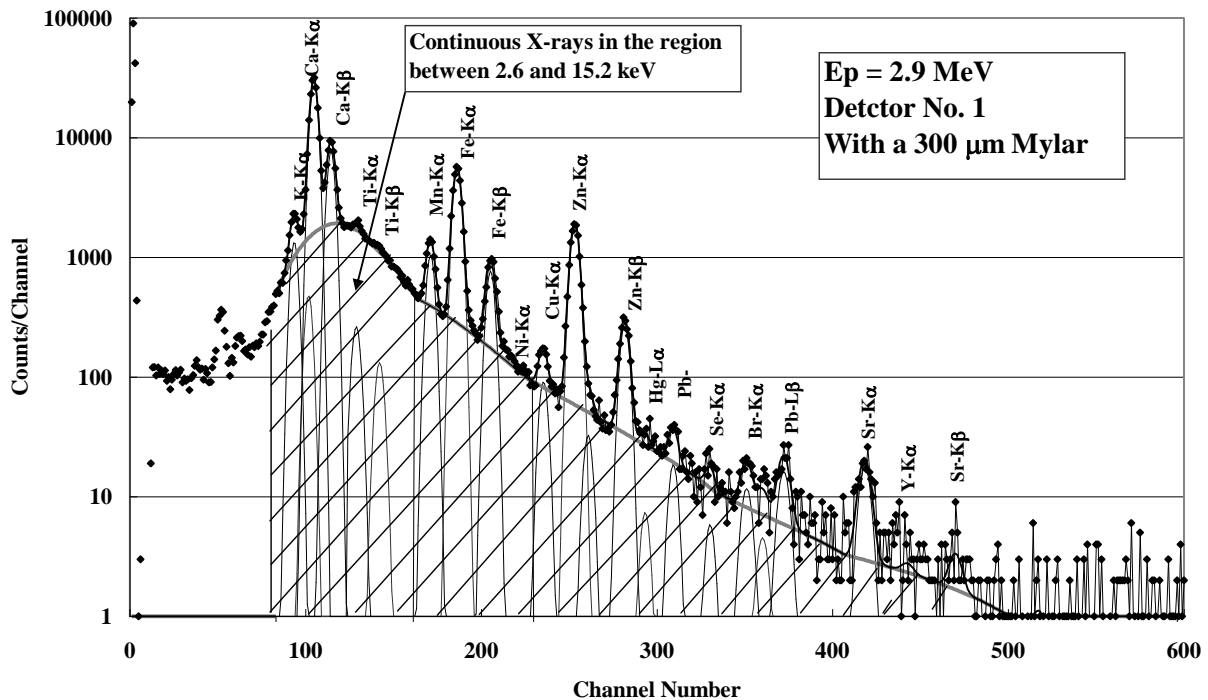


Fig. 3 Procedure for the standard-free method for feather sample. All peak functions are subtracted from the spectrum in the region between 2.6 and 15.2 keV indicated by the shadowed portion and the total yield of continuous X-rays Y_{CX} is obtained. Zinc was designated as the index element in the same manner as in the case of human nails

図 4 には、検出器 2 により得られた軽元素側のスペクトルを、4 種の野鳥から採取された羽毛試料とヒト毛髪を比較する形で示す。吸収体は用いず、計数率調製のためのグラフアイトコリメータ (2 mmφ) を用いて得られたものである。図から、ヒト毛髪同様、最も主要な元素は S であることが確認できる。一方、Na、Mg、Al、P、K、Ca などの軽元素は、ヒト毛髪よりも高濃度で存在していることが分かるが、図 3 に見られるように中・高エネルギー領域におけるスペクトルの形状に影響するほどの違いではない。

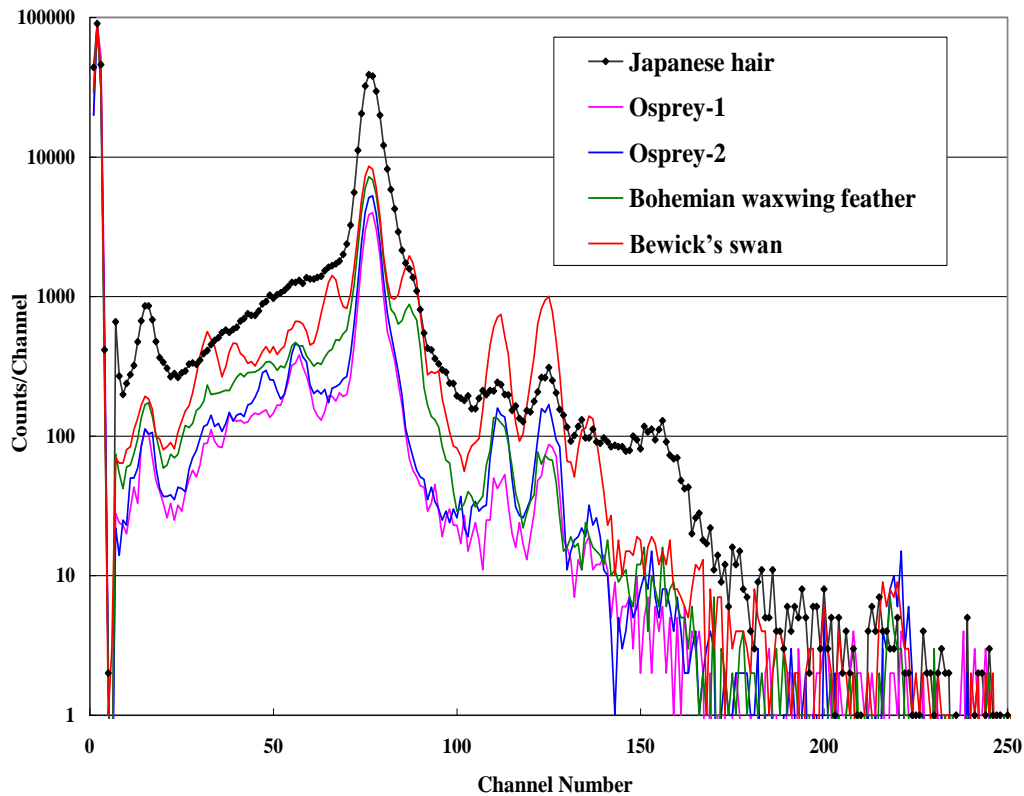


Fig.4. Comparison of X-ray spectra among four feather samples and one human hair taken from Japanese, where no X-ray absorber was used. The spectrum for human hair is displayed as the line with symbols.

2.4 スペクトル・データ解析

得られた二つのスペクトルは解析プログラム SAPIX により解析され、各ピーク収量及び連続 X 線収量 Y_{CX} が求められる^{19, 20)}。それらを用い指標元素 Zn の濃度値が専用プログラムにより先ず求められ、それを内部標準濃度とみなして定量解析プログラム KEI¹⁹⁾ により各元素濃度が求められる。

3 結果と議論

図 5 に 5 種の野鳥から採取された羽毛試料に対し、本法と従来の内部標準法により得られた亜鉛濃度を比較して示す。図から、両法による結果は概ね一致しており、両法において全く同一の部分が分析されたわけではないことを考慮すると、満足すべき精度であると言える。このことから、ヒト毛髪試料に対して開発された無調製・無標準法は、ほぼそのままの形で野鳥の羽毛試料にも適用可能であることが確認できた。

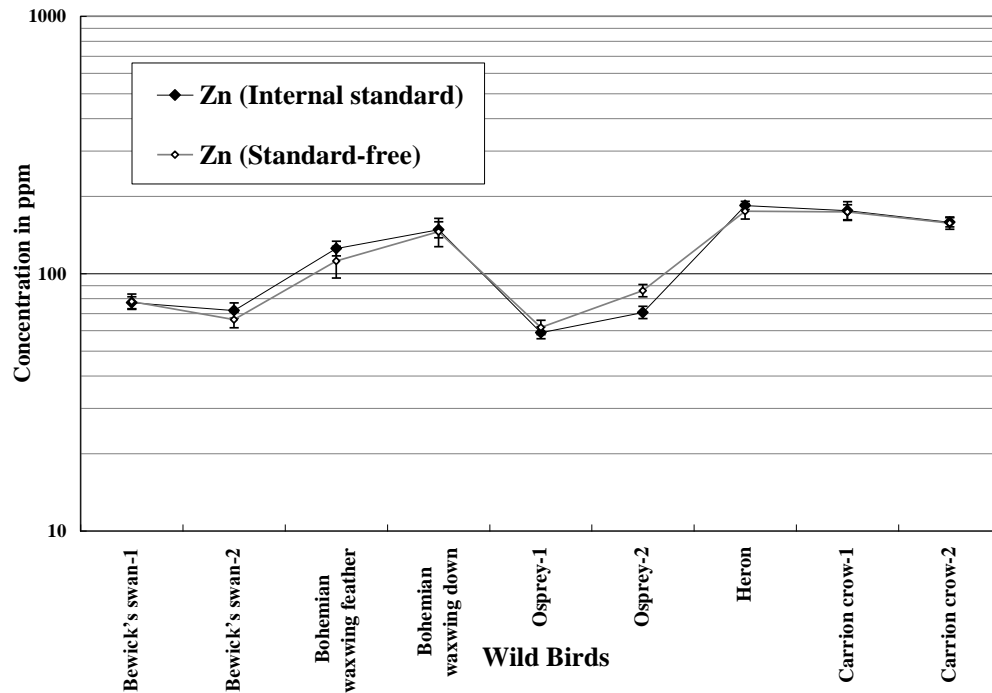


Fig.5. Results of zinc concentration in nine feather samples taken from five species of wild birds, where the results obtained by the present method are compared with those obtained by the internal-standard method combined with chemical ashing method.

図6には、ハシボソカラスの羽毛を例に全元素の分析結果を示す。図中には分析可能だった23元素の濃度値と実験誤差が示されており、比較のため250人の健常日本人の平均値と標準偏差も示されている。図に見られるようにハロゲンを含む23以上の元素が常に検出され、それらの情報は野鳥の生態や健康状態に関する研究ばかりではなく、環境汚染等の環境変化調査研究に対しても貴重な情報をもたらすものと期待される。実際、多量のHg、Pbなどの汚染元素が一部の野鳥羽毛から検出されており(未発表)、その原因を調査中である。ヒト毛髪との比較においては、Al、P、Ca、Ti、V、Mn、Fe、Moなどの元素が高い濃度を、一方Cl、Cu、Brが低い濃度を示していることが分かる。しかしこの中で、Br濃度に関しては日本人が他国の人々より5~10倍高い値を示すことが我々の分析で確認されており(未発表)、日本人以外との比較においてはほぼ同等の濃度と言える。

ここで、毛髪の中のどの部分を測定すべきか検討する必要がある。ヒトツメの場合のように、元素濃度分布が強い位置依存性を示すのであれば、意味のある情報か否かの判断が難しくなるためである。一本の羽毛中の位置依存性を調べるため、図7に示すように13の試料がコハクチョウの一本の羽毛内から採取され、ターゲットとされた。図に示すように、上から下に順番に5mm間隔で羽毛が切り出され、それらの中央部が照射され、無標準法で定量分析が行われた。

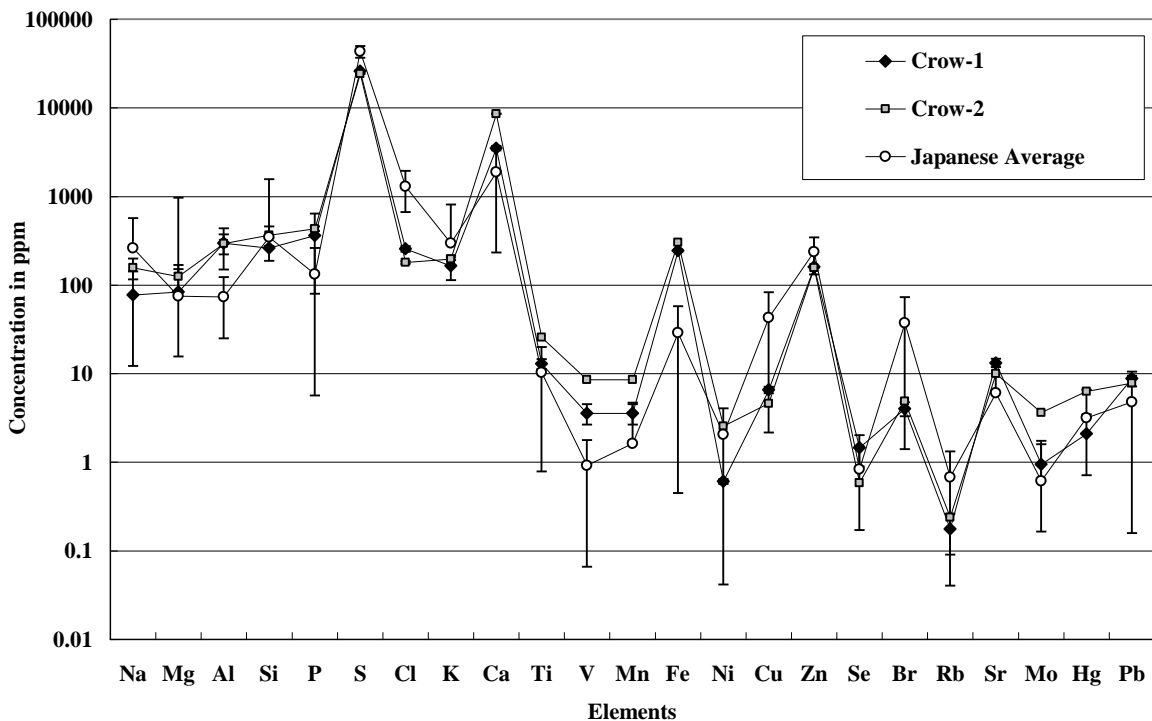


Fig. 6 Results of analysis of feather samples taken from carrion crow as examples. In this figure, the mean values of elemental concentration of 20 elements in hair samples taken from 250 healthy Japanese are also shown for comparison.

図8には主要13元素に対する濃度の位置依存性を示す。この図に見られるように、元素濃度は羽毛の下部に近くなるとやや分散する傾向がある。特にClとNaが下部に向かい濃度を上昇させ、CuとFeが減少する傾向が見られる。しかし羽毛の中央部近くでは、多くの元素が殆ど位置依存性を示さず、中央部を試料として測定することにより、安定した情報が得られることが確認できる。

次に確認が必要なことは、同一個体から採取された異なる羽毛試料が、類似した結果を提供するか否か、である。ヒト体毛の場合には、採取部に対する依存性はさほど強くないことが、我々の以前の研究により確認されている¹⁷⁾。それに対しヒトツメの場合には、1試料の中の位置依存性だけでなく、どの指から採取されるかの試料依存性も極めて強く、安定した情報を得ることが困難であることも確認されている¹²⁾。そのため、同一個体から採取された異なる羽毛間の、元素濃度の依存性も確認しておかなければならない。

図9に同一の野鳥(コハクチョウ)から採取された6本の羽毛中の主要11元素濃度を示す。いずれも羽毛中央部の同一の部分ターゲットとしたものである。図から確認できるように、いずれの元素も大きな差異を見せておらず、多数の羽毛の平均値を取ることなく、1本の羽毛の分析が意味のある情報を提供し得るものであることが確認できる。

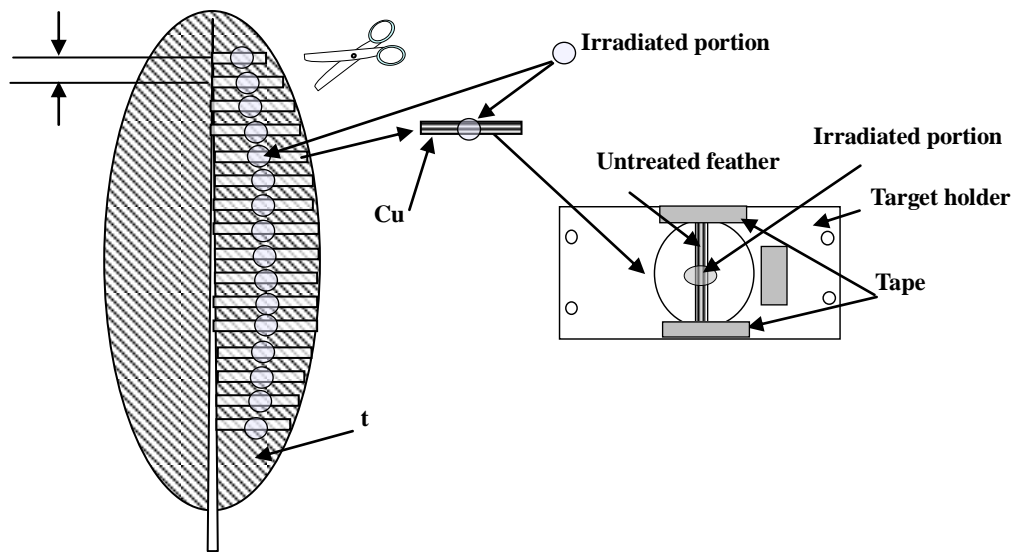


Fig.7 Target preparation for investigating position dependence in a feather sample, where thirteen split feather samples were cut from a feather one by one at intervals of 5 mm from the top to the bottom.

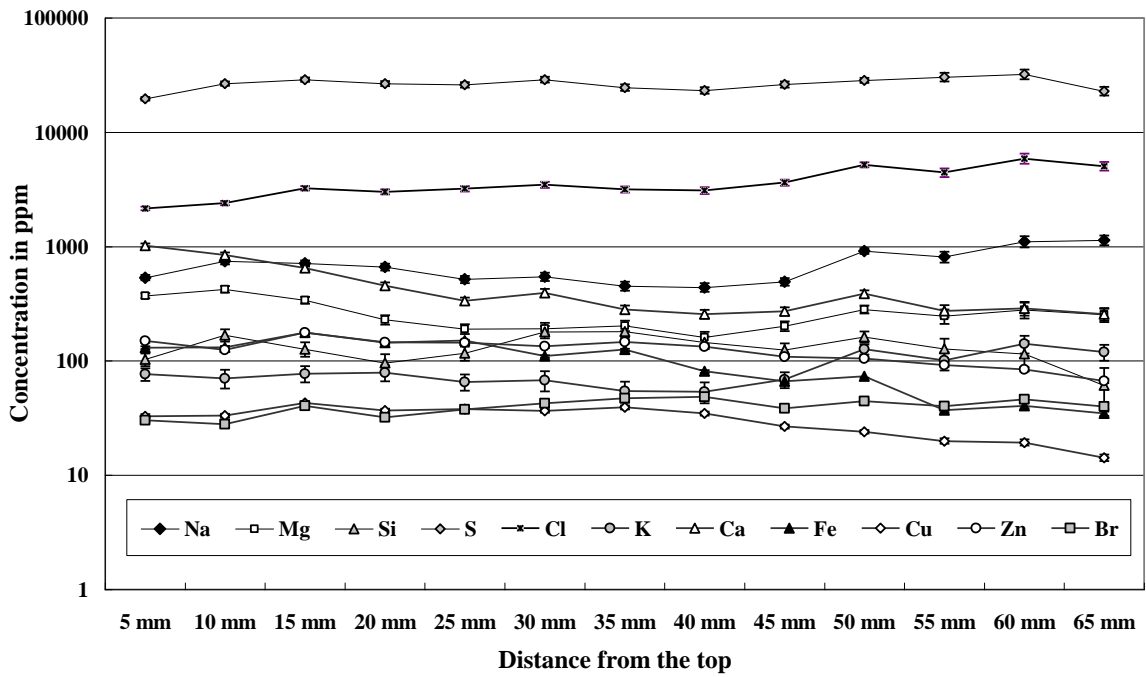


Fig.8 Changes in elemental concentration of principal 11 elements depending on the position in the feather.

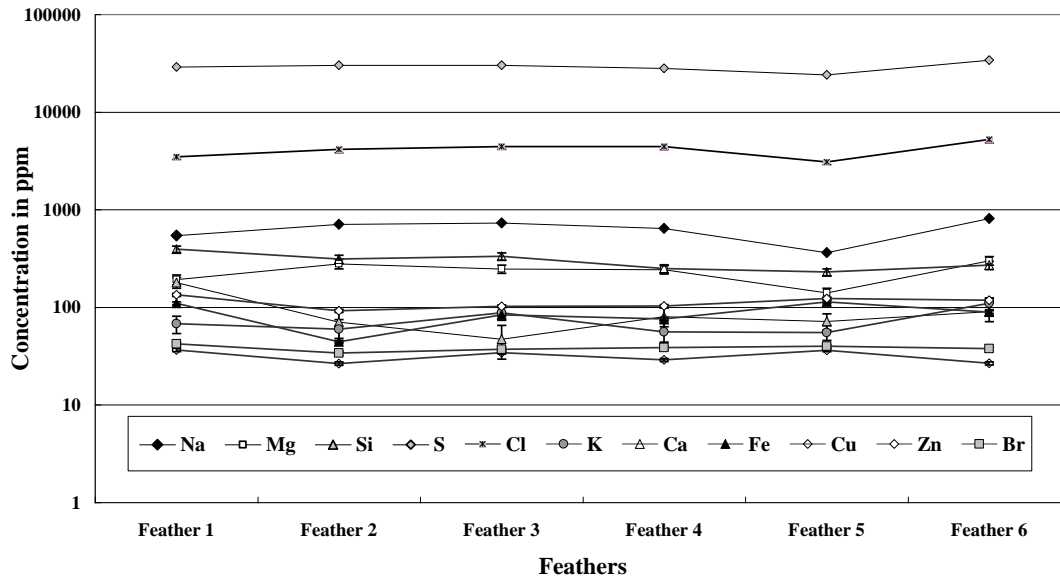


Fig.9 Changes in elemental concentration of principal 11 elements in six feather samples taken from the same bird (Bewick's swan).

野鳥の羽毛はそれを捕獲/殺害することなく容易に採取可能であり、本法は野鳥の生態や健康状態の調査研究、さらに環境変化の評価研究に対し貴重な情報をもたらすものと期待される。野鳥は種により様々な生活圏を持っており、特定の地域にのみ生息する野鳥はローカルな情報を、渡り鳥など地球規模の範囲を移動する野鳥はグローバルな環境変化に関する情報を、それぞれ提供することが期待される。さらに本法は野鳥だけではなく家禽の羽毛に対しても適用可能であり、家禽の健康状態把握のため重要な情報をもたらすものと期待されることから、獣医学の見地からも有用であると思われる。

4 要約 (Summary)

以上の事項は、以下に要約される。

1. A new method of quantitative analysis of untreated feather samples has been developed on the basis of the standard-free method.
2. The method is confirmed to be valid for feather samples taken from various kinds of wild birds.
3. The method enables us to perform accurate quantitative analysis of many elements without complicated sample preparation procedure, which sometimes brings ambiguous factors such as elemental loss from the sample and contamination of the sample. It is also confirmed that

halogens can be accurately analyzed.

4. It is expected to become a powerful tool for estimating the state of the mode of life of wild birds and also for evaluating environmental contamination.
5. The method is expected to be useful for estimating the state of health of poultries.

謝辞

共同利用の円滑な運営のために日々献身的な働きをしておられる日本アイソトープ協会 NMCC のスタッフの方々、及び岩手医大サイクロトロンセンターのスタッフに謝意を表します。

参考文献

1. K. Sera, S. Futatsugawa and K. Matsuda, "Quantitative Analysis of Untreated Bio-samples." *Nucl. Instr. and Meth.*, B 150 226-233 (1999)
2. K. Sera, S. Futatsugawa, S. Murao, K. Tanno, E. B. Daisa, V. B. Maglambayan and H. Cabria, "Preliminary PIXE measurement of human hairs from small-scale mining sites of the Philippines.", Proceedings on The 12th Annual Geological Convention "Geology Challenges in the 21st Century", December (1999) (Manila)
3. S. Murao, E. Daisa, K. Sera, V. Maglambayan and S. Futatsugawa, "PIXE Measurement of Human Hairs from a Small-scale Mining Site of the Philippines.", *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research* B189, 168-173 (2002)
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. S. Murao, B. Tumenbayar, K. Sera, S. Futatsugawa and T. Waza. "Finding of High Level Arsenic for Mongolian Villagers' Hair.", *Int'l Journal of PIXE* Vol.14-3,4, 125-132 (2004)
6. Characteristics of Arsenic Poisoning in China.
H. Yamauchi et al., *Biomed. Res. Trace Elements*.11, (2000) 301-311 (in Japanese)
7. 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)
8. M. A. Habib, "A Study of arsenic pollution in Bangladesh by PIXE analysis", *Master thesis of Osaka City University*, February, (2002) (M00S131)
9. K. Asano, K. Suzuki, M. Chiba, K. Sera, R. Asano and T. Sakai,
"Twenty-Eight Element Concentrations in Mane Hair Samples of Adult Riding Horses Determined by Particle-Induced X-ray Emission.", *Biological Trace Element Research*, Vol. 107 No.2 135-140 (2005)
10. K. Asano, K. Suzuki, M. Chiba, K. Sera, R. Asano and T. Sakai, "Relationship Between Trace Elements Status in Mane Hair and Atrial Fibrillation in Horse.", *Journal of Veterinary Medical Science*, Vol. 68-7 761-771 (2006)
11. 梶山巖、伊藤伸彦、加藤澄枝、古川義宣、三谷のり子、二ツ川章二、世良耕一郎、"愛玩動物の血清と被毛中微量元素濃度の測定"、NMCC 共同利用研究成果報文集、第一巻、113-119 (1993)
12. K. Sera, S. Futatsugawa, S. Murao and E. Clemente
"Quantitative Analysis of Untreated Nail Samples for Monitoring Human Exposure to Heavy Metals.", *Int'l Journal of PIXE* Vol. 12, No.3, 4 (2002) 125-136
13. 世良耕一郎、鈴木一由、田口清、後藤祥子、高橋千衣子、齋藤義弘、伊藤じゅん、"有蹄類家畜のヒヅメに対する無標準定量法の開発"、本報文集
K. Sera, K. Suzuki, K. Taguchi, K. Chiba, J. Itoh, S. Goto, C. Takahashi and Y. Saitoh, "Quantitative Analysis of Feather Samples Taken from Wild Birds such as Swan, Waxwing, Osprey, Heron and Crow.", *Int'l Journal of PIXE* (in print)

14. K. Saitoh, T. Kobayashi, K. Sera, M. Yasuda and J. Kakino, "Presumed Cause of Mass Deaths of Rooks (*Corvus Frugilegus Pastinator*) Using PIXE Analysis.", *Int'l Journal of PIXE* Vol. 17-1,2 47-52 (2007)
15. 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)
16. K. Sera, T. Yanagisawa, H. Tsunoda, S. Futatsugawa, S. Hatakeyama, Y. Saitoh, S. Suzuki and H. Orihara., "Bio-PIXE at the Takizawa facility (Bio-PIXE with a baby cyclotron)", *Int'l Journal of PIXE* Vol. 2, No.3 325-330 (1992)
17. K. Sera, S. Futatsugawa and S. Murao, "Quantitative Analysis of Untreated Hair Samples for Monitoring Human Exposure to Heavy Metals.", *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research* B189, 174-179 (2002)
18. 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)
19. K. Sera and S. Futatsugawa, "Personal Computer Aided Data Handling and Analysis for PIXE." *Nucl. Instr. and Meth. B* 109/110 (1996) 99-104
20. 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)

Quantitative analysis of feather samples taken from wild birds such as swan, waxwing, osprey, heron and crow

K. Sera, K. Suzuki¹, K. Taguchi¹, K. Chiba², J. Itoh³, S. Goto⁴, C. Takahashi⁴ and Y. Saitoh⁴

Cyclotron Research Center, Iwate Med. University
348-58 Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0173, Japan

¹Department of Veterinary Medicine, Rakuno Gakuen University
582 Bunkyou dai Midorichou, Ebetsu, Hokkaido 069-8501, Japan

²Science of Living Department, Morioka Junior College, Iwate Prefectural University
152-52 Sugo, Takizawa, Iwate 020-0193, Japan

³Training section, Japan Radioisotope Association
2-28-45 Honkomagome, Bunkyo, Tokyo 113-8941, Japan

⁴Nishina Memorial Cyclotron Center, Japan Radioisotope Association
348-58 Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0173, Japan

Abstract

The standard-free method developed by ourselves 13 years ago has been widely applied to quantitative analyses of hairs such as human head hair and body hair taken from companion and domestic animals. In the present work, the standard-free method for feather and down samples taken from wild birds such as swan, waxwing, osprey, heron and crow was developed. It is found that the standard-free method developed for human hairs can be successfully applied to feather samples without essential modification since the main constituents of feather are almost the same as those for human and animal hairs and, consequently, the shape of continuous X-rays is also the same. The method allows us to quantitatively analyze untreated feather samples of very small quantities and to prepare the target without complicated preparation technique. Accuracy and sensitivity of the present method were examined by comparing the results with those obtained by an internal-standard method combined with a chemical-ashing method, and it is confirmed that the method is applicable to feather and down samples taken from birds of various species. It is expected that the method will become a powerful tool for the studies not only on the mode of life of wild birds but also on environmental contamination by toxic elements.

Keywords : PIXE, Feather, Down, Standard-free, Wild bird, Untreated, Elemental concentration, Quantitative analysis, Environmental contamination

亜鉛欠乏マウスすい臓細胞中の微量元素の定量

矢永誠人、下山弘高¹、寺島美智子¹、山本 督

村松 航¹、菅沼英夫、世良耕一郎²

静岡大学理学部放射科学研究施設
422-8529 静岡市駿河区大谷 836

¹ 静岡大学大学院理学研究科化学専攻
422-8529 静岡市駿河区大谷 836

² 岩手医科大学サイクロトロンセンター
020-0173 岩手郡滝沢村滝沢字留が森 348-58

1 はじめに

亜鉛は、ヒトの体内において鉄に次いで存在量の多い微量元素であり、様々な生体内の反応に関わっている。そのため、この亜鉛が欠乏すると、味覚・嗅覚障害、性機能障害、成長障害、脱毛、皮膚障害、免疫機能低下などの亜鉛欠乏症状が現れてくることが知られている。

これまで、我々は、亜鉛欠乏餌および対照餌を用いてマウスを飼育することにより、亜鉛欠乏マウスおよび対照マウスの臓器・組織中の微量元素の定量を行い、比較・検討してきた。その結果、成獣マウスの亜鉛濃度に関しては、骨、すい臓、および精巣においては対照マウスに比べて有意な低下が認められたが、他の臓器・組織については両群の間に有意な差は認められなかった。特に、すい臓においては、亜鉛欠乏餌を与えて1週間後には、その亜鉛濃度は大きく低下し、その後は一定に保たれるという脅威ある結果が得られていた。このことは、すい臓中には、亜鉛が欠乏したときに直ちに亜鉛が遊離するタンパク質などの亜鉛結合物質と亜鉛が欠乏したときにも亜鉛を保持する亜鉛結合物質が存在することを示すものと考えている。そこで本研究では、亜鉛欠乏初期におけるすい臓中の亜鉛結合タンパク質からの亜鉛の遊離や、他の金属元素と置換、もしくはタンパク質そのものの消失など、亜鉛の欠乏から起こるタンパク質構造の変化について検討することとした。なお、本課題は実験途中であり、PIXE分析の結果を示すまでに至っていない。

2 実験

2.1 供試動物

日本クレア(株)より購入したICR系マウス(オス、7週齢)を通常餌(日本クレア実験動物用飼料、CE-2)による1週間の予備飼育を行い、その後2群に分け、同社より購入した亜鉛欠乏餌および超純水、また

は対照餌および超純水を与え、それぞれ3週間の飼育を行った。なお、予備飼育を含めた飼育期間中は、各ケージの中にステンレス製ネットを二重に敷き、いずれの場合も飼料および水以外の敷き藁あるいは排泄物等を摂取できない条件とした。

2. 2 分析試料

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

2. 3 電気泳動法とPIXE分析

2. 3. 1 SDS-PAGE

タンパク質の検出を目的とし、亜鉛欠乏マウスおよび対照マウスのすい臓細胞から分離した可溶性画分に含まれるタンパク質濃度を定量し、Tris-HCl buffer を用いてすべてのタンパク質濃度をそろえた。次にSDS-PAGEによってタンパク質を分離し、CBB染色または銀染色を行った。

2. 3. 2 二次元電気泳動とPIXE分析

2.3.1と同様に亜鉛欠乏マウスおよび対照マウスのタンパク質濃度をそろえた後、二次元電気泳動によりタンパク質を分離し、CBB染色または銀染色を行った。

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

3 結果および考察

3. 1 SDS-PAGEによる可溶性タンパク質の分離結果

亜鉛欠乏マウスおよび対照マウスのすい臓細胞の可溶性タンパク質についてSDS-PAGEを行い、亜鉛欠乏によるタンパク質の消失等の可能性について検討を行った。その結果、分離したタンパク質の各バンドの位置や数を比較した場合、CBB染色および銀染色のどちらの染色法を採用した場合においても、両群間にはっきりとした差を認めることはできなかった。銀染色を行った結果の一例をFig. 1に示した。この両群間に差を認めることができなかったことは、亜鉛欠乏による亜鉛タンパク質そのものの消失や新たなタンパク質が誘導される可能性が低いことを示している。しかし、SDS-PAGEで分離され、確認された各バンドには、多種類のタンパク質が混在して含まれるものであることから、今回のように、単に可溶性タンパク質全量について分離した結果からは、上述の内容を断定することはできないものと考えている。

3. 2 二次元電気泳動法による可溶性タンパク質の分離結果

二次元電気泳動法により可溶性タンパク質を分離した結果をFig. 2に示した。二次元電気泳動を行うことで、すい臓細胞のサイトゾルに存在する可溶性タンパク質をスポットとして広く分離することができた。

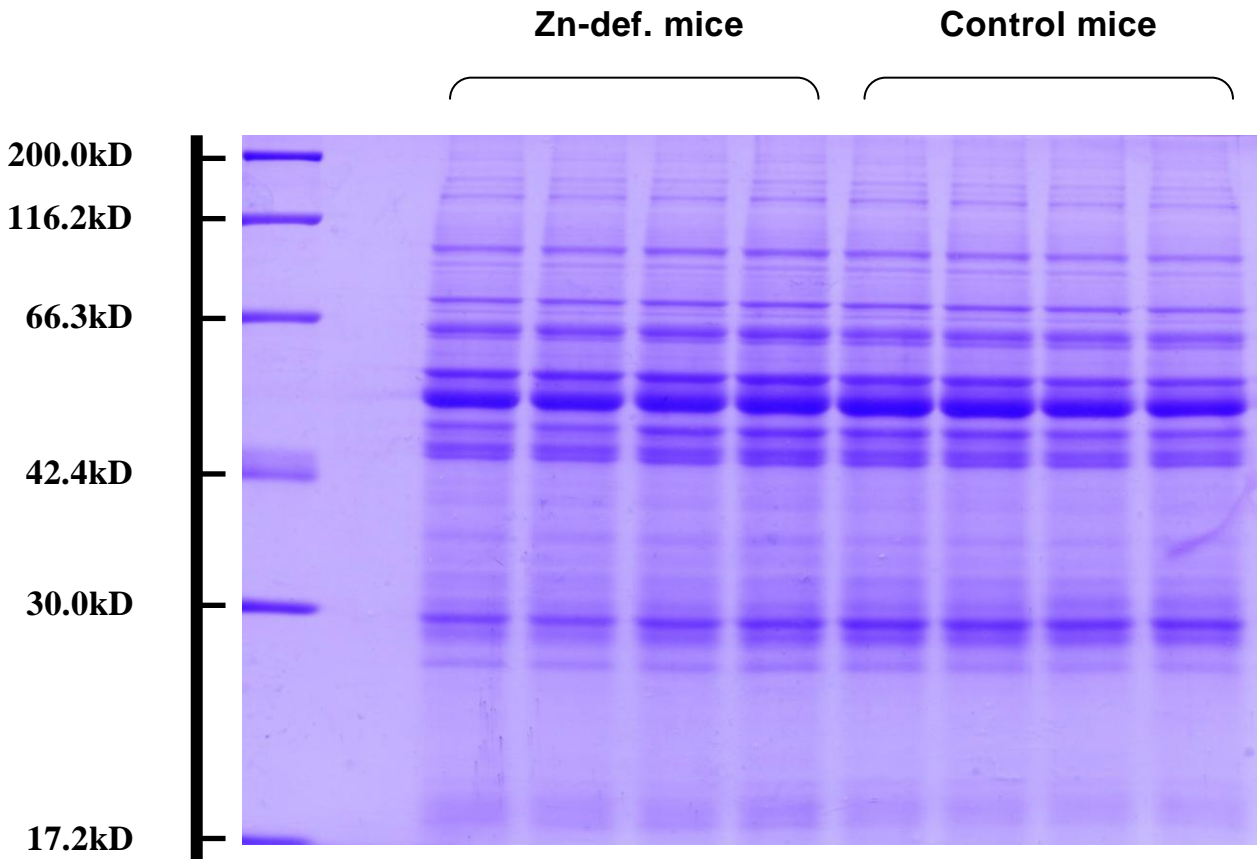


Fig. 1 Typical SDS-PAGE pattern of proteins after BCC staining for the cytosolic fraction

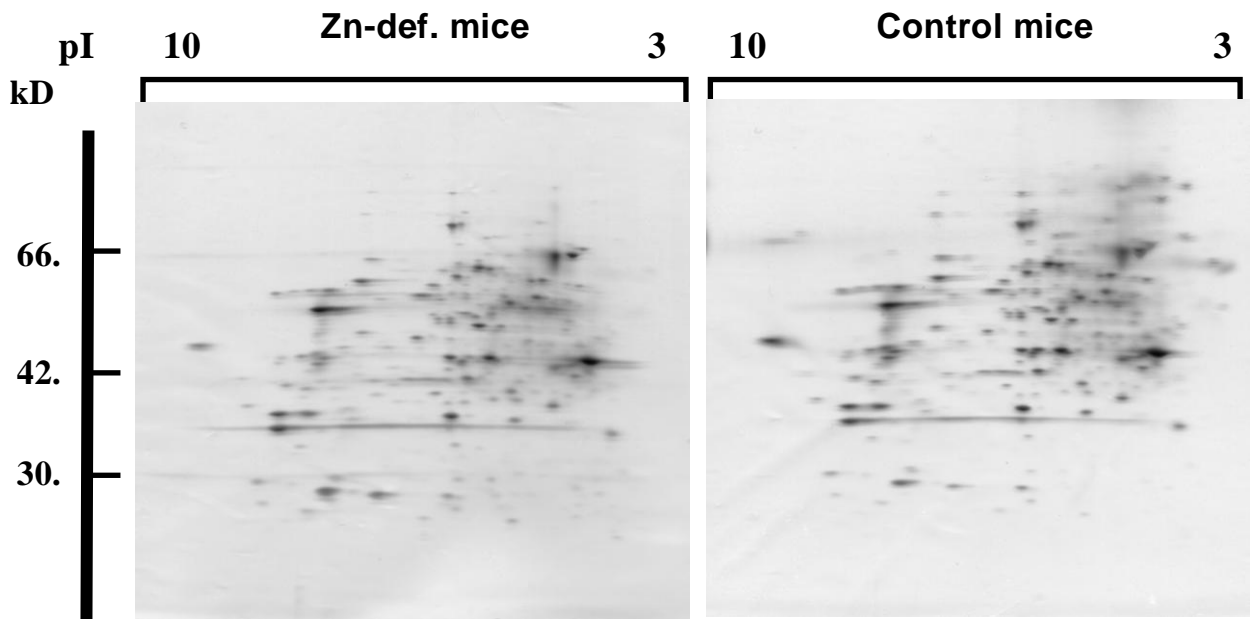


Fig. 2 Two-dimensional electrophoretic analysis of cytosolic proteins.

Fig. 2 に示したように、二次元電気泳動法により可溶性タンパク質を分離したところ、亜鉛欠乏群の高分子量のタンパク質が消失しているようなデータも得られた。しかしながら、マウス 4 頭分を 1 試料とした実験を繰り返したところ、必ず、このような一部のタンパク質の消失という結果が得られることはなく、今後、さらに検討していく予定である。

また、一部のタンパク質スポットのゲルを切り出して PIXE 分析を行った。無標準定量法により、Zn、Fe および Ag などの定量を行うことができた。当初は、亜鉛欠乏状態における金属タンパク質の変化を見るため、タンパク質量当たりの金属濃度の指標として、Ag 濃度に対する Zn 濃度の変化で検討することとした。しかしながら、タンパク質が存在しない部分のゲルからも Ag が検出されたため、Ag を指標とすることは困難であることがわかった。現在、他の指標を用いることを検討している。

Determination of trace elements in pancreases of Zn-deficient mice

Makoto Yanaga, Hirotaka Shimoyama¹, Michiko Terashima¹, Susumu Yamamoto
Wataru Muramatsu¹, Hideo Suganuma and Kouichiro Sera²

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

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

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

Abstract

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

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—

三浦吉範¹、遠藤龍人²、池田健一郎³、世良耕一郎⁴、諏訪部 章¹

¹岩手医科大学医学部臨床検査医学
020-8505 盛岡市内丸 19-1

²岩手医科大学医学部内科学
020-8505 盛岡市内丸 19-1

³岩手医科大学医学部外科学
020-8505 盛岡市内丸 19-1

⁴岩手医科大学サイクロトンセンター
020-0173 岩手郡滝沢村字留が森 348-58

1 はじめに

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

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

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

こうした問題を解決するために、これまでに栄養剤の形状を液体から固形化したり¹⁾、空腸カテーテル（PEJ²⁾など）といった方法が開発されてきた。なかでも、増粘剤で粘度を増した半固形化栄養法が注目されている。合田³⁾によれば、誤嚥性肺炎を繰り返す患者15例に20,000 cP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、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、ラットを用いて検討した。

2 方法

[対象]

7週齢の雄ラットを用い、投与する栄養剤の形状により液体栄養剤を投与した群、同一のミネラル組成を有する半固形栄養剤を投与した群、そしてコントロール群として動物用飼料 (AIN-93G) を与えた群と3群に分けた。コントロール群はラット3匹、栄養剤投与群はそれぞれ6匹用いた。栄養剤投与群での1日当たりの投与量は、確実に摂取させるため必要量の70%を与えた。栄養剤投与前の3日間でコントロール群の摂取量を測定し、そのカロリー数を必要量とした。液体および半固形栄養剤は、それぞれ2週間経口投与した。尿と糞試料は投与後12、13、14日目に採取しこれらをプールしたものを測定した。血液は14日目に解剖し採血した。採取した試料中に含まれる微量元素濃度はPIXE法 (NMCC) で測定し、さらにそれらの出納バランスについて比較検討した。

[PIXE・試料調製]

血清と尿試料は、金属元素類などを含まないプラスチック製のスクリーキャップ付き容器に入れ、PIXEによる測定を行なうまでは、 -80°C で凍結して保存した。測定する前に、内部標準として銀 (AgNO_3) を試料1 ml に対し、血清、尿試料とも $100\ \mu\text{g}$ の割合になるように加えよく混和し、うちそれぞれ $10\ \mu\text{l}$ 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。

糞試料については、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 1 ml と内部標準として原子吸光用試薬 In を $1000\ \text{ppm}$ 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 $5\ \mu\text{l}$ 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。

[PIXE・測定操作]

PIXE 測定は、真空中のターゲットに $2.9\ \text{MeV}$ 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 $3\text{-}5\text{mm}$ の薄いマイラー膜のアブソーバーを装着させている。もう一つの検出器には低元素類の測定のために、前部分にグラファイトの小さな窓があって X 線のカウントを減衰させるような工夫が施されてある。検出されたスペクトラムデータは、パーソナルコンピュータに移行し、"SAPIX"プログラムを使用して各元素量を計算した^{4,5)}。

3 結果

3.1 ラット血液中の微量元素濃度

Fig.1は、栄養剤投与2週間後のラット血中微量元素濃度の結果である。半固形栄養剤投与群と液体栄養剤投与群の間で有意の差が見られた元素はZnだった。液体栄養剤を摂取した群のZnの平均値は $1,049.9\ \mu\text{g/l}$ 、半固

形栄養剤を摂取した群のZnの平均値は634.4 µg/lで、液体栄養剤を投与した群に比べて半固形栄養剤を投与した群は有意に低値であった。同様に有意差は認められなかったものの、Fe、Cu、Seも半固形栄養剤投与群で液体栄養剤投与群と比べて低い傾向が見られた。

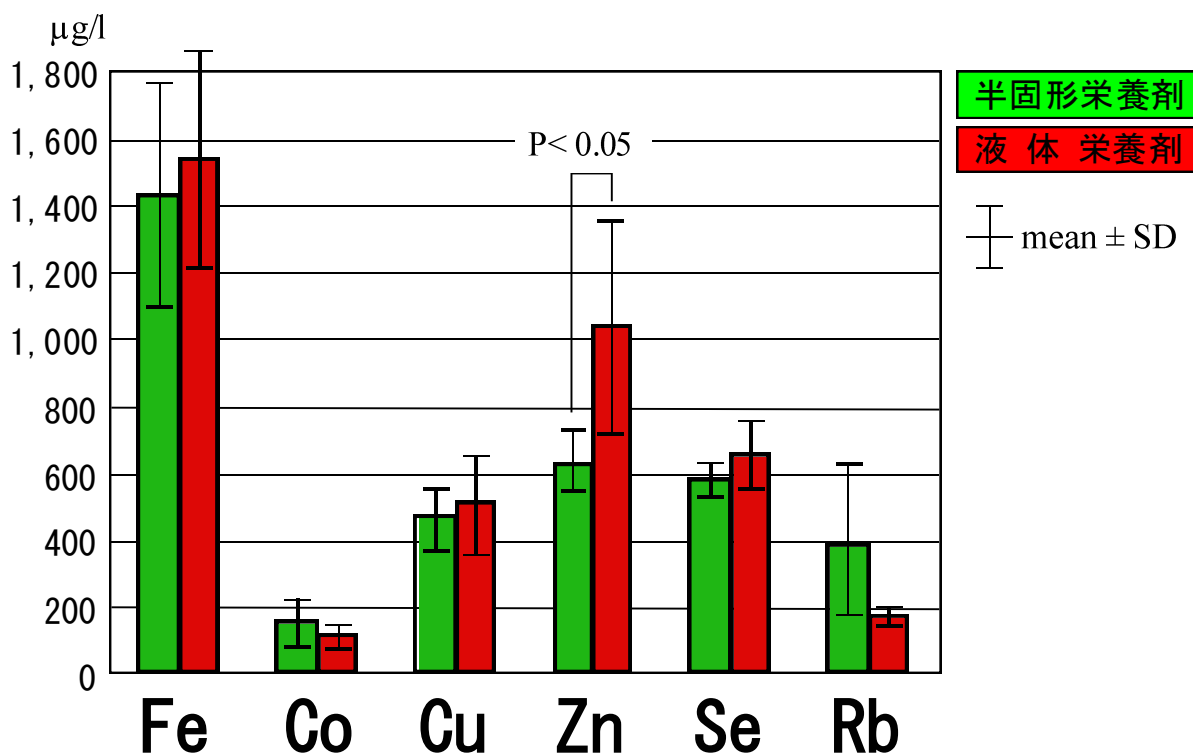
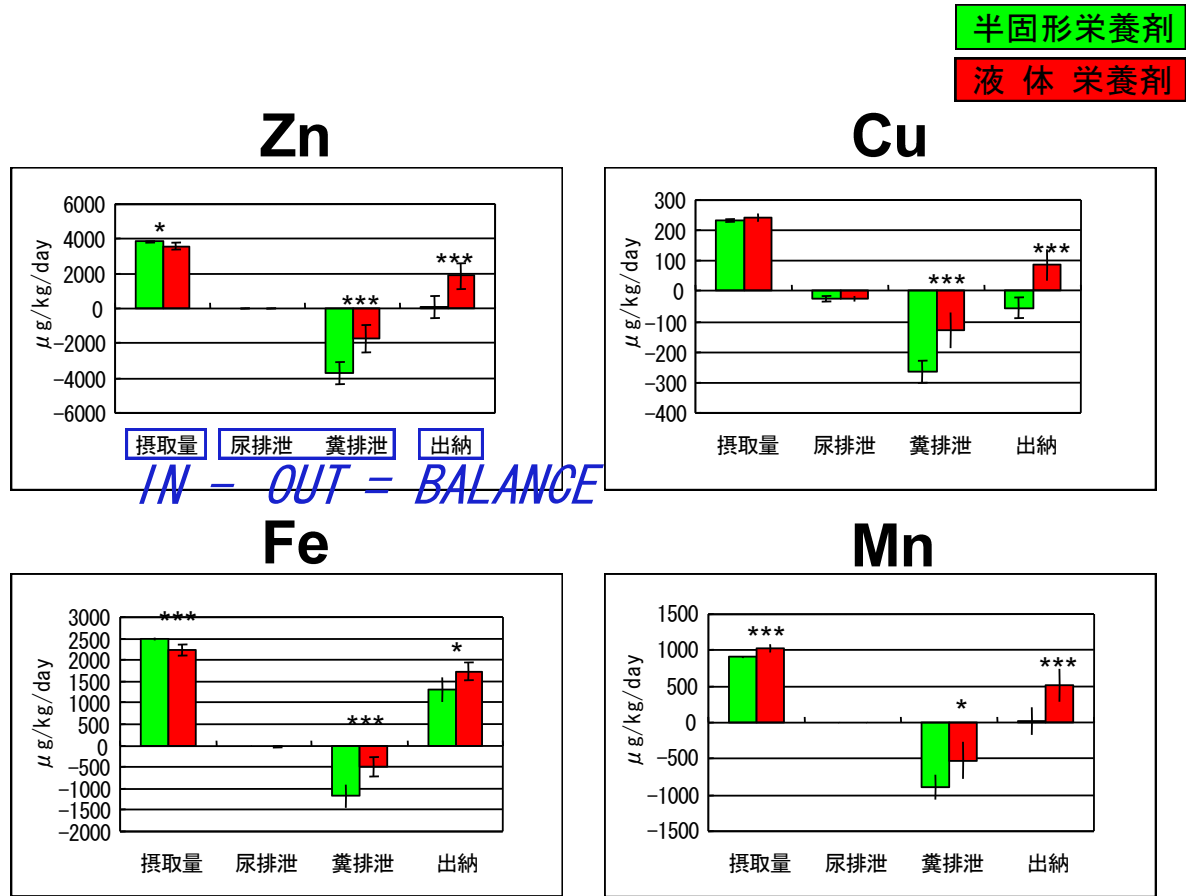


Fig.1 液体および半固形栄養剤をそれぞれ投与したラット血液中の微量元素濃度

3.2 微量元素の出納バランス

Fig.2は、液体および半固形栄養剤からの各微量元素 (Zn、Cu、Fe、Mn) 摂取量を「IN」とし、尿および糞中への排泄量を「OUT」として測定し、「IN」から「OUT」を差し引いたものを「出納バランス」として示したものである。摂取量は、栄養剤投与後12、13、14日の3日間の全摂取量 (g) に液体および半固形栄養剤中の各元素濃度のPIXE測定値を乗じた値とした。

その結果、糞中への排泄量においてこれらの微量元素に関しては、いずれも半固形栄養剤投与群が液体栄養剤投与群に比べ有意に多いことが認められた。一方、尿中への排泄量については、Zn、Fe、Mnは2群とも殆ど認められなかった。Cuは2群ともわずかずつ検出されたが、有意差は認められなかった。よって「出納バランス」は、半固形栄養剤投与群は液体栄養剤投与群に比べていずれも有意に低値となった。



*:P<0.05, ***:P<0.0001, student t test.

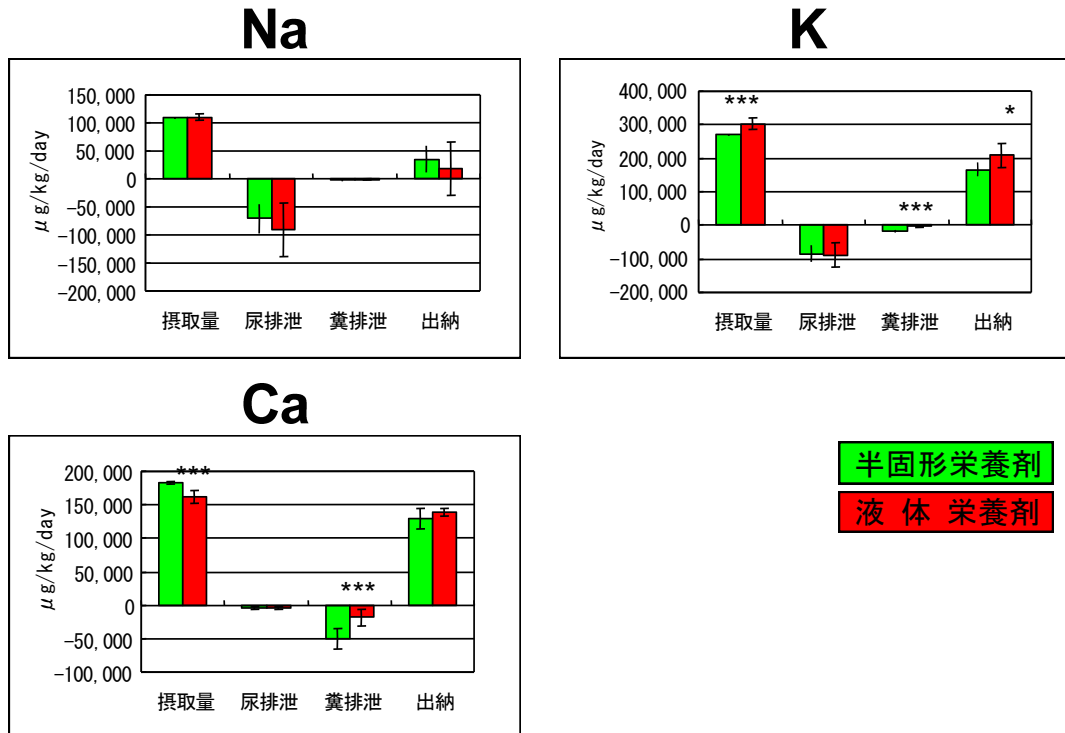
Fig.2 液体および半固形栄養剤をそれぞれ投与したラットにおける微量元素の出納バランス

3.3 電解質元素の出納バランス

Fig.3は、電解質元素であるNa、K、Caの出納バランスの結果である。糞中への排泄量において、CaとKでは半固形栄養剤投与群が液体栄養剤投与群に比べて有意に多いことが認められた。また、尿中への排泄量においては、液体栄養剤投与群が半固形栄養剤投与群に比べて多い傾向がみられたが有意差は認められなかった。よって、Kの出納バランスにおいて半固形栄養剤投与群は液体栄養剤投与群に比べて有意に低値となったが、NaとCaでは2群間での差は認められなかった。

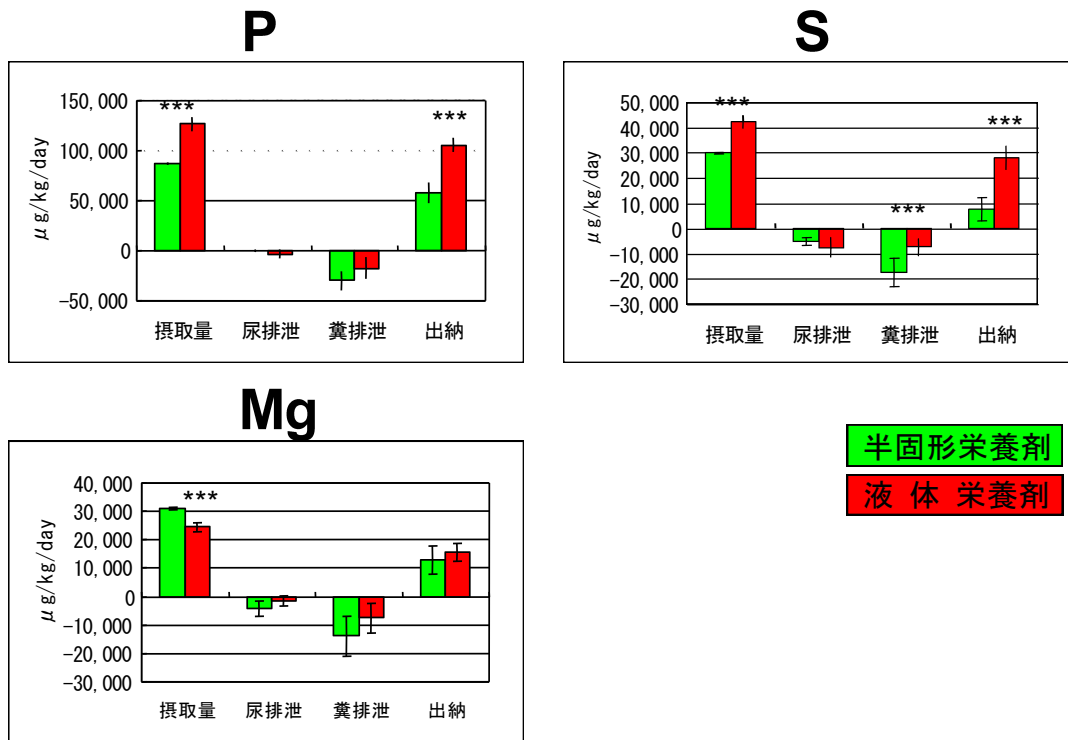
3.4 その他の元素の出納バランス

Fig.4は、その他の元素としてP、S、Mgの出納バランスの結果である。糞中への排泄量において、いずれも半固形栄養剤投与群が液体栄養剤投与群に比べて多く、Sでは有意差が認められた。尿中への排泄量においては、2群間での差は認められなかった。よって、これら元素の出納バランスにおいていずれも半固形栄養剤投与群は液体栄養剤投与群に比べて低値となり、PとSでは有意差が認められた。



*:P<0.05, ***:P<0.0001, student t test.

Fig.3 液体および半固形栄養剤をそれぞれ投与したラットにおける電解質元素の出納バランス



*:P<0.05, ***:P<0.0001, student t test.

Fig.4 液体および半固形栄養剤をそれぞれ投与したラットにおけるP、S、Mgの出納バランス

4 考 察

半固形化栄養剤による微量元素の吸収能に与える影響を、液体栄養剤との比較で検討することができた。その結果、解剖時の血中濃度からは半固形化栄養剤投与群でZnが液体栄養剤投与群に比べて有意に低値を示した。また、Fe、Cu、Seでも有意差はないものの同じ傾向が見られた。さらに出納バランスの検討からは半固形化栄養剤投与群では液体栄養剤投与群に比べて糞中への排泄量が多く、インとアウトより算出した出納バランスにおいて液体栄養剤投与群に比べて低値を示した。微量元素以外の元素では、K、P、Sで出納バランスにおいて半固形化栄養剤投与群は液体栄養剤投与群に比べて有意に低値を示した。

半固形化栄養剤投与群で特に2価の金属元素類 (Mn、Fe、Cu、Zn) の出納バランスが低くなったその一因として、栄養剤中で使用されている半固形化剤にこれら元素が吸着されてその結果吸収が低下することが考えられる。また、Znの血中濃度における2群間での差については、各栄養剤中に含まれるZn素材による影響も考えられる。これらについては、今後の研究課題として検討が必要と考えている。

今回の検討から、半固形化による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。よって、半固形化栄養剤の使用においてはそれらの吸収能についても十分考慮することが重要であると考えられる。しかしながら半固形化栄養剤による長期栄養管理については、これまでまとまったヒトを対象とした臨床研究報告がされていない。よって、早期にこれらについても検討が必要であると思われる。

謝 辞

本研究は某製薬会社からの受託研究であり、ラットへの栄養剤投与から各測定試料採取まではその製薬会社の方で行ない、我々はそれらの元素測定の部分を担当した。今回は会社の協力によりこれまで得られたデータを紹介したが、研究はまだ検討途中のものであることなどから一部公表できない点があることをご了承いただきたい。

また、実験遂行にあたり日本アイソトープ協会・仁科記念サイクロトロンセンターのスタッフの方々にお世話になり感謝いたします。

文 献

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

Comparison of absorption of trace elements on liquid and partially solidified enteral nutrition consist of the same elements

- Examination about receipt and disbursement balance of trace elements after partially solidified enteral nutrition administration to rats -

Yoshinori Miura¹, Ryujin Endo², Kenichiro Ikeda³, Koichiro Sera⁴ and Akira Suwabe¹

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

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

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

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

Abstract

[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] We administer orallied enteral nutrition which are liquid and partially solidified enteral nutrition consist of the same elements for two weeks in rats. Afterwards, we obtained urine and feces and blood in rats, then we measured trace element level in these samples by PIXE method.

[Result] As for the serum zinc level of a group of administered half partially solidified enteral nutrition, significant degradation was observed in comparison with a group of administered fluid enteral nutrition. In elemental receipt and disbursement balance of partially solidified enteral nutrition administrated group, zinc and copper and iron and calcium and magnesium and sulfur and potassium compared it with fluid and were low. It was suggested that a difference occurred for elemental absorption in a difference of properties of matter by this study.

PIXE による福岡市乳幼児健診受診母子の毛髪分析 (第2報) 母子の出産後1か月及び10か月の比較

吉田裕志³、絹川直子¹、後藤祥子²、前田知子³

高辻俊宏³、中村 剛³、世良耕一郎⁴、野瀬善明¹

¹九州大学大学院医療情報学

812-8582 福岡県福岡市東区馬出 3-1-1

²日本アイソトープ協会仁科記念サイクロトロンセンター

020-0173 岩手県岩手郡滝沢村滝沢字留が森 348-58

³長崎大学大学院生産科学研究科

852-8521 長崎県長崎市文教町 1-14

⁴岩手医科大学サイクロトロンセンター

020-0173 岩手県岩手郡滝沢村滝沢字留が森 348-58

1 はじめに

本研究の目的は、乳幼児の健診臨床所見及び母親の食習慣・生活習慣と、毛髪ミネラル量と、環境起因が疑われている疾患との関連を統計解析することにより因果関係を解明することにある。今までの環境有害物質による健康影響の調査方法は、集団の平均曝露量と平均有病率（または死亡率）の比較による研究が殆どであった。この方法は Ecological 研究と呼ばれ、因果関係の研究には不適切であることが統計学的観点から指摘されている。因果関係の解明には、個人毎の暴露量と経過観察が必須である。しかしながら、人間の体内に留まる有害物質の正確な種類と量については、主にアンケート調査に基づく推測に頼るしかなかった。PIXE 法の開発はそれらの直接的測定を可能にした点で環境リスク評価の精度を著しく高めることが期待される。昨年度の報文集¹⁾では、2008年5月までに PIXE 測定の終了した母親の出産後1か月健診時に収集された全検体842例と10か月健診時に再度収集された検体の約半数にあたる408例の毛髪ミネラル量の分布を示し、元素毎の毛髪含有量の分布の特徴についていくつかの所見を述べ、PIXE 測定結果の高い再現性と精度に言及した。2009年4月に全検体の PIXE 測定が終了したので、母子の特徴、1か月と10か月の変化などについて、概観する。なお本研究の意義、研究方法、対象、検体採取手順については昨年度の報文集¹⁾に述べたので繰り返さないが、PIXE 法の利用意義についてさらに考察する。

2 毛髪ミネラル推定量に影響を与える要因

毛髪によるミネラル量推定の問題点は髪のカバー（着色・漂白・パーマ等）の影響を受けることである。特に母親の測定結果についてはその点に留意する必要がある。

表1 毛髪ミネラル推定量に影響を与える要因

記号	名	大型魚	髪カバー	記号	名	大型魚	髪カバー
Al	アルミニウム	○		Zn	亜鉛		
Si	ケイ素			As	ヒ素	○	
S	硫黄			Se	セレン		
K	カリウム			Br	臭素	○	●
Ca	カルシウム		●	Sr	ストロンチウム		
Ti	チタン			Y	イットリウム		
V	バナジウム			Zr	ジルコニウム		
Cr	クロム			Ag	銀		
Mg	マグネシウム		●	Cd	カドミウム	○	
Mn	マンガン		●	Sn	スズ	○	
Fe	鉄		●	I	ヨウ素		
Co	コバルト			Ba	バリウム		
Ni	ニッケル			Eu	ユウロピウム		
Cu	銅		●	Hg	水銀	○	●
Zn	亜鉛			Tl	タリウム		
Pb	鉛	○	●				

表1に、大型回遊魚に蓄積される可能性が高い（○）ミネラル、及び髪のカバーに影響される可能性の高い（●）ミネラルを示す。髪のカバーについてもアンケート調査項目に含めているので、詳細な分析を行う予定である。

3 測定結果の所見

収集された検体数とPIXE測定済み数を表2に示す。母1か月と子10か月の1例ずつは試料を再確認中である。

表2 検体数と測定済み数

	母1か月	子1か月	母10か月	子10か月
検体数	1036	1036	842	843
測定数	1035	1036	842	842

元素毎の検出数と率を表3、4に示す。検出限界値以下を未検出と呼ぶことにする。子において1か月と10か月の両方で未検出だった元素はZrのみである。Zrは母においても1か月で1例、10か月で48例と少ない。母における検出率が1か月より10か月の方が10%以上多かった元素はAlのみであり、10%以上減った元素はPとAgであったが、Pは80%→42%、Agは22%→1%と著しい減少を示した。一方子における検出率が1か月より10か月の方が10%以上多かった元素はAl、Co、Ni、Ga、As、Hg、Pbと7種あったが、10%以上少なかった元素はMg、Seのみであった。

表3 母における元素毎の未検出数と率

	Na	Mg	Al	Si	P	S	Cl	K	Ca	Ti
母1か月	977	852	645	1031	826	1035	650	1035	1035	1027
月	94%	82%	62%	100%	80%	100%	63%	100%	100%	99%
母10か月	821	623	698	823	357	842	579	842	842	842
か月	98%	74%	83%	98%	42%	100%	69%	100%	100%	100%

	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	As
母1か月	509	561	765	1035	600	882	1035	1035	612	312
月	49%	54%	74%	100%	58%	85%	100%	100%	59%	30%
母10か月	343	421	665	842	468	686	842	842	557	237
か月	41%	50%	79%	100	56%	81%	100	100	66%	28%

	Se	Br	Rb	Sr	Zr	Nb	Mo	Ag	Hg	Pb
母1か月	778	1035	925	1024	1	477	525	224	945	1026
月	75%	100	89%	99%	0%	46%	51%	22%	91%	99%
母10か月	685	837	781	840	48	416	430	8	764	807
か月	81%	99%	93%	100	6%	49%	51%	1%	91%	96%

表4 子における元素毎の未検出数と率

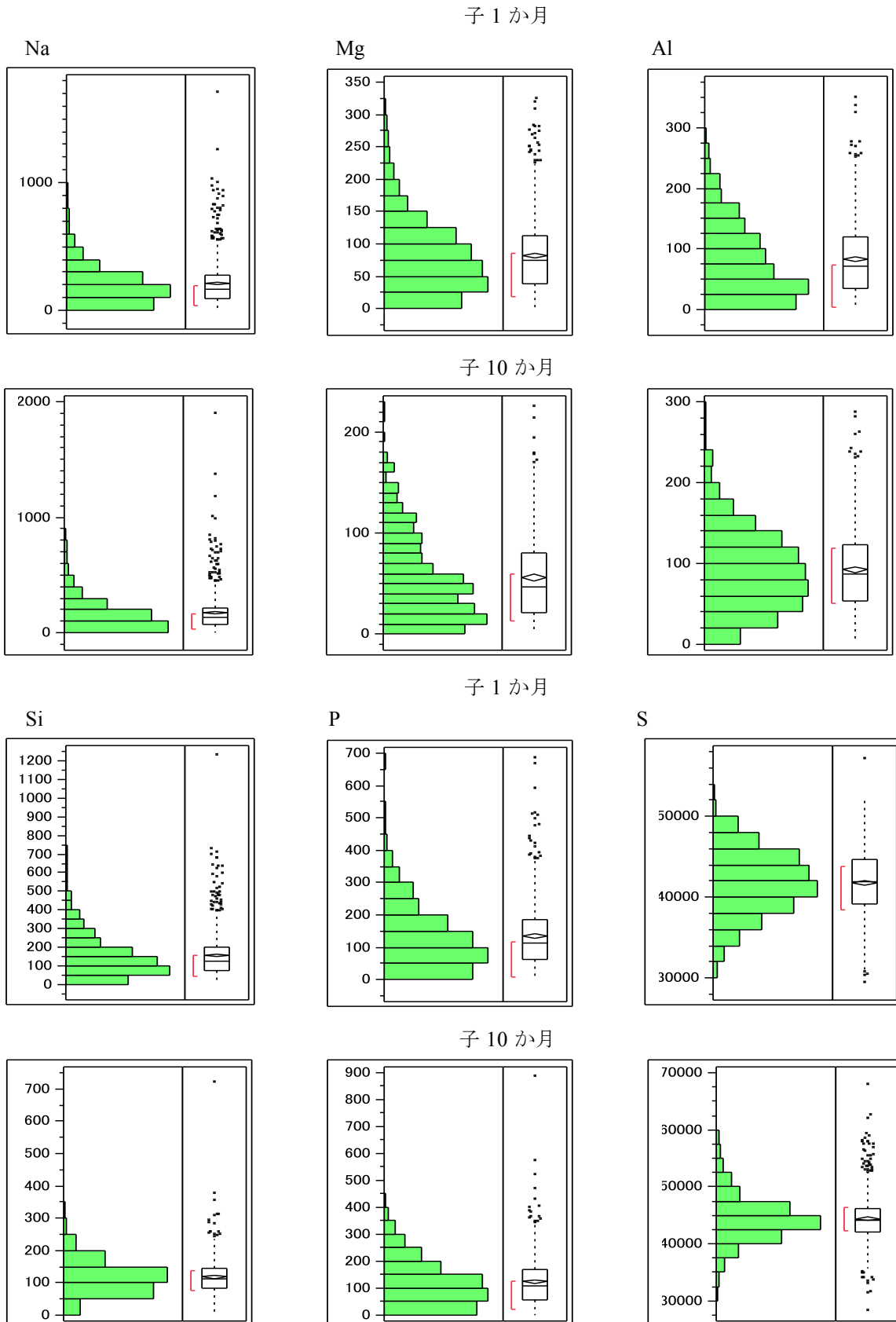
	Na	Mg	Al	Si	P	S	Cl	K	Ca	Ti
子1か月	1008	902	804	978	773	1036	950	1036	1036	1032
月	97%	87%	78%	94%	75%	100	92%	100	100	100
子10か月	783	548	802	838	675	842	816	842	842	842
か月	93%	65%	95%	100	80%	100	97%	100	100	100

	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	As
子1か月	427	555	820	1036	573	742	1036	1036	756	218
月	41%	54%	79%	100	55%	72%	100	100	73%	21%
子10か月	366	487	658	842	610	739	842	842	817	266
か月	43%	58%	78%	100	72%	88%	100	100	97%	32%

	Se	Br	Rb	Sr	Zr	Nb	Mo	Ag	Hg	Pb
子1か月	861	1035	998	991	0	493	577	182	713	882
月	83%	100	96%	96%	0%	48%	56%	18%	69%	85%
子10か月	494	842	818	798	0	437	471	79	686	801
か月	59%	100	97%	95%	0%	52%	56%	9%	81%	95%

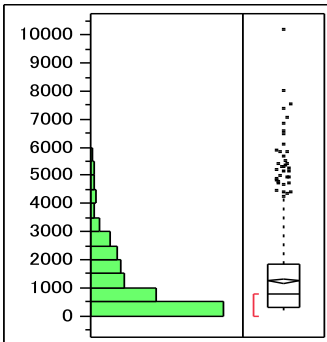
表5、6に元素毎に測定値の分布を示す。但し母の1か月は前報で示したので省略する。

表5 子1か月、子10か月の測定値の分布

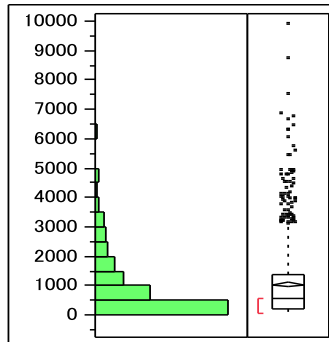


子 1 か月

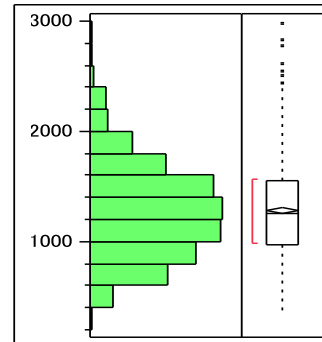
Cl



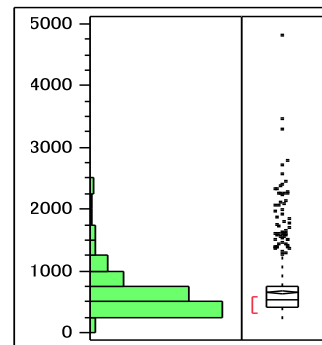
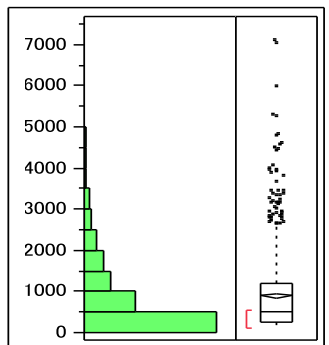
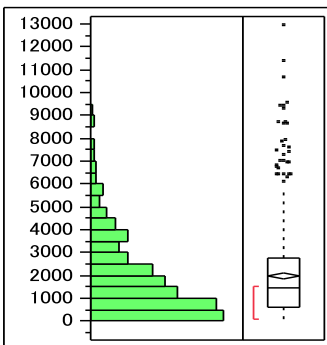
K



Ca

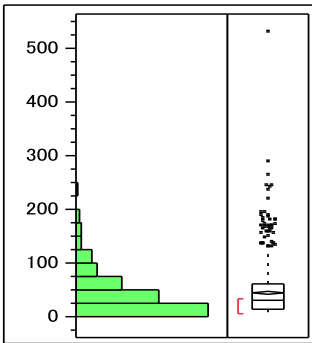


子 10 か月

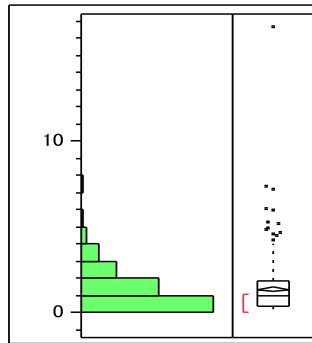


子 1 か月

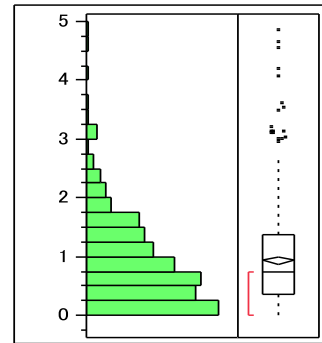
Ti



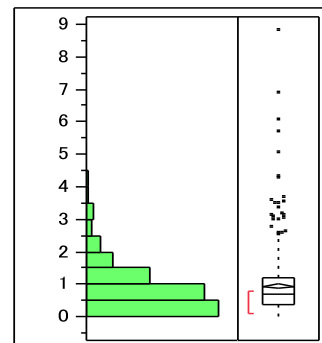
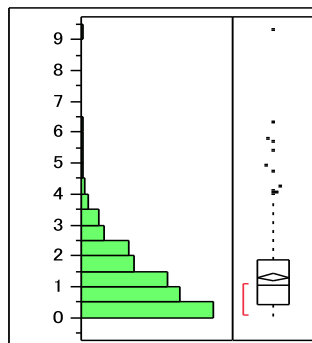
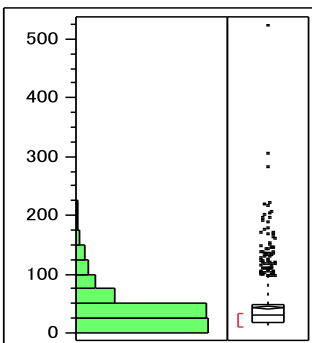
V



Cr

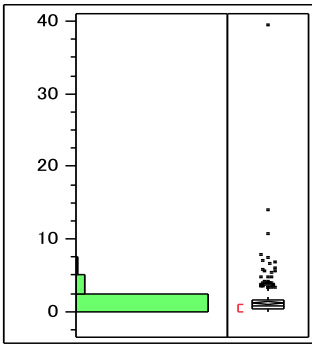


子 10 か月

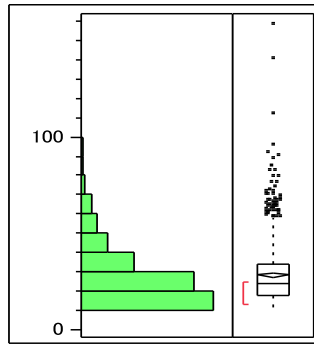


子 1 か月

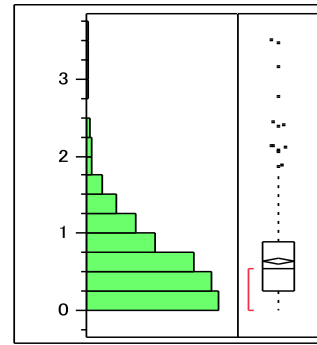
Mn



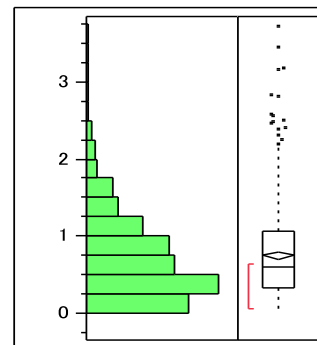
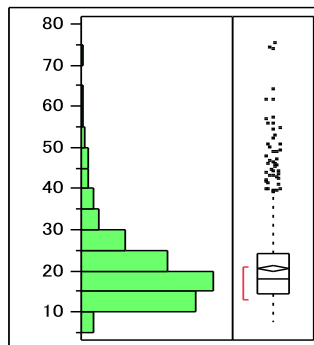
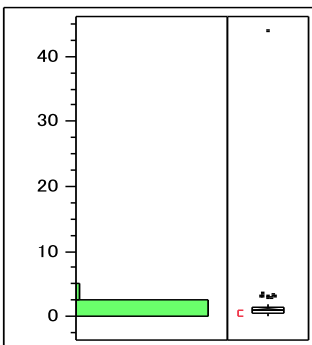
Fe



Co

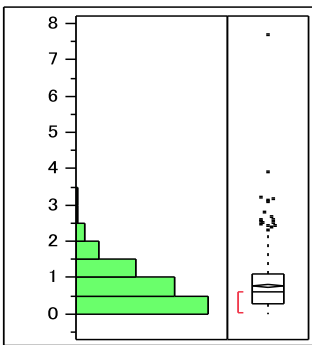


子 10 か月

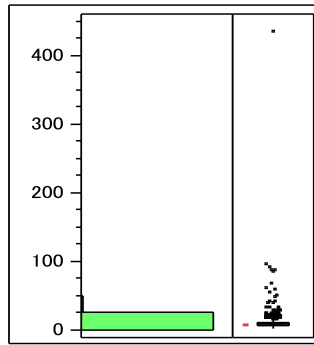


子 1 か月

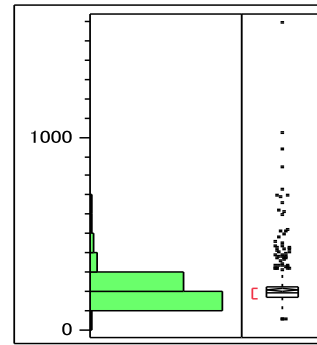
Ni



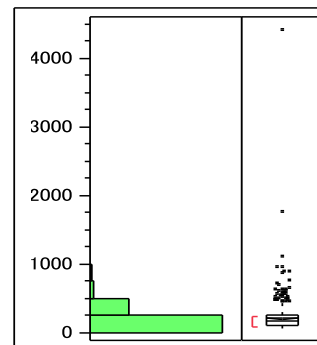
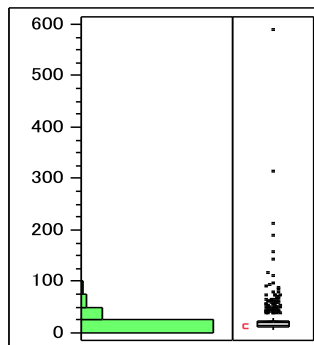
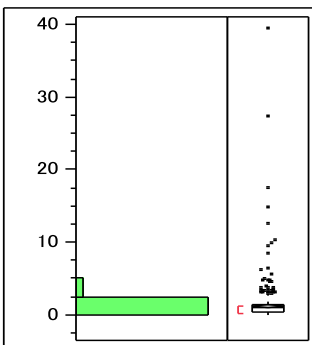
Cu



Zn

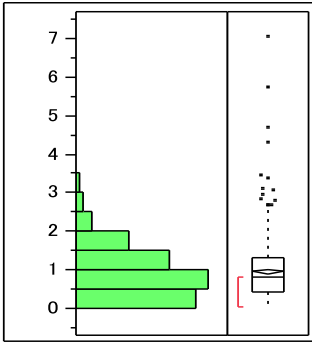


子 10 か月

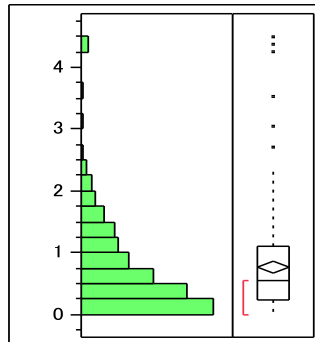


子 1 か月

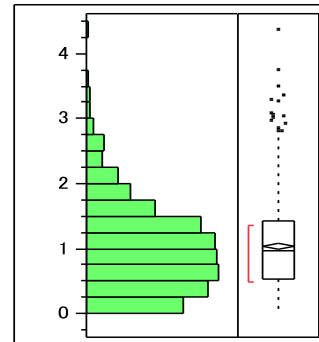
Ga



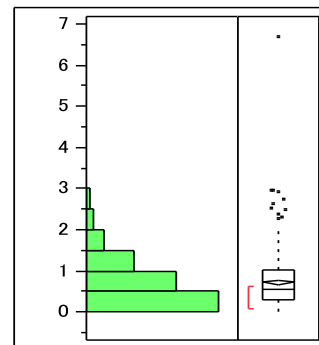
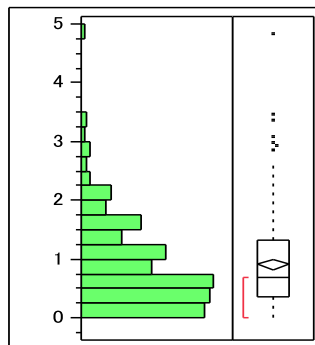
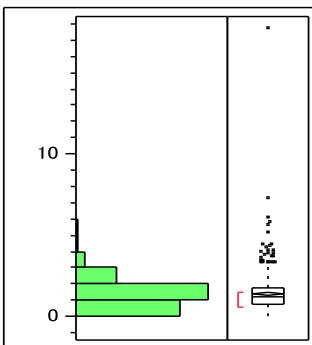
As



Se

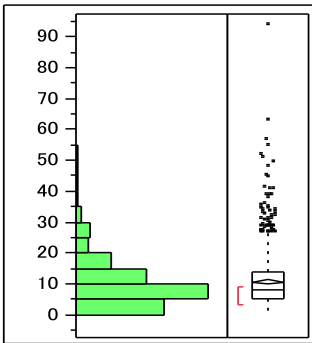


子 10 か月

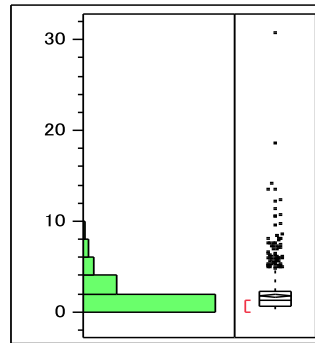


子 1 か月

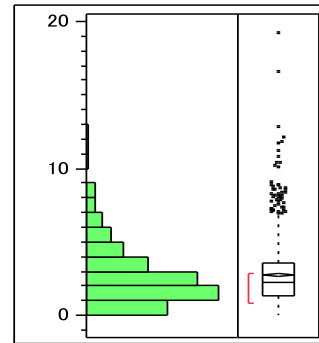
Br



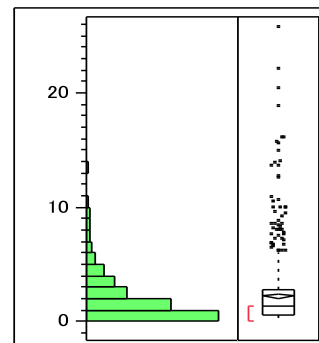
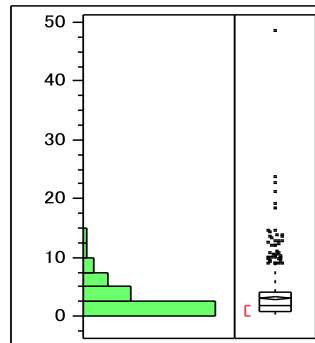
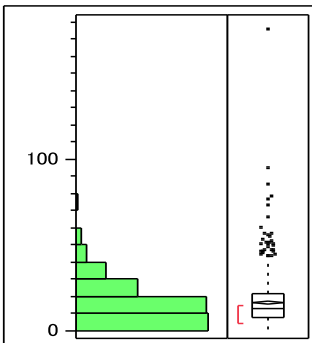
Rb



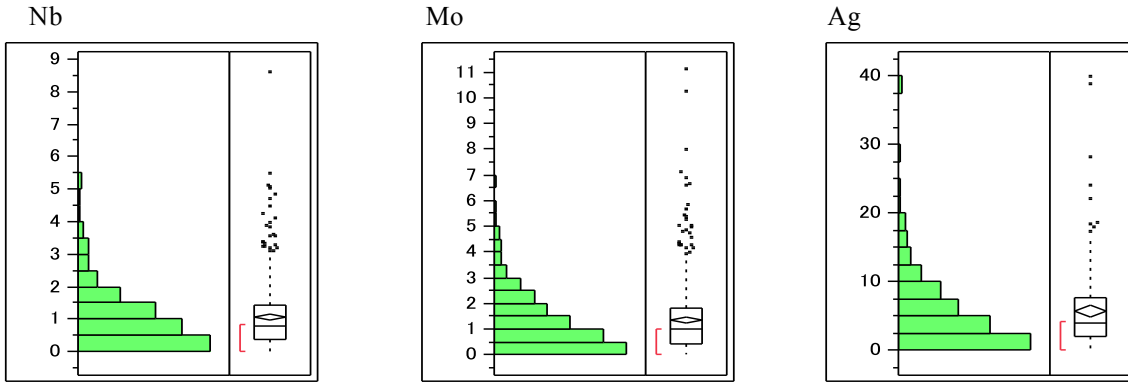
Sr



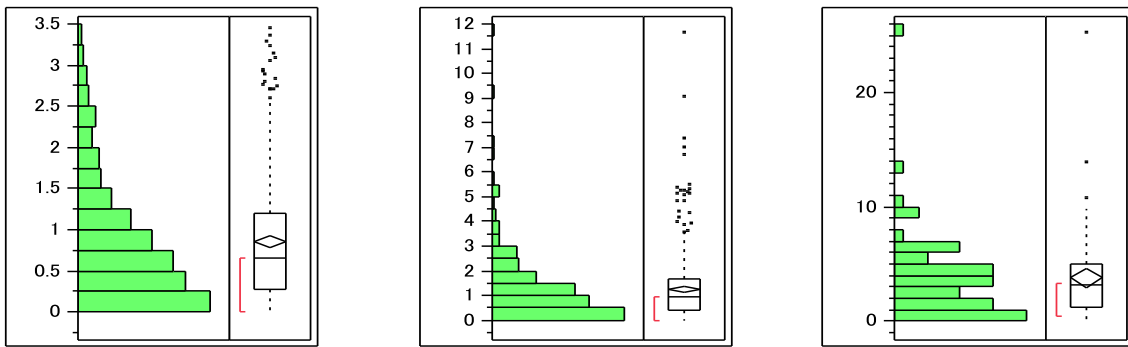
子 10 か月



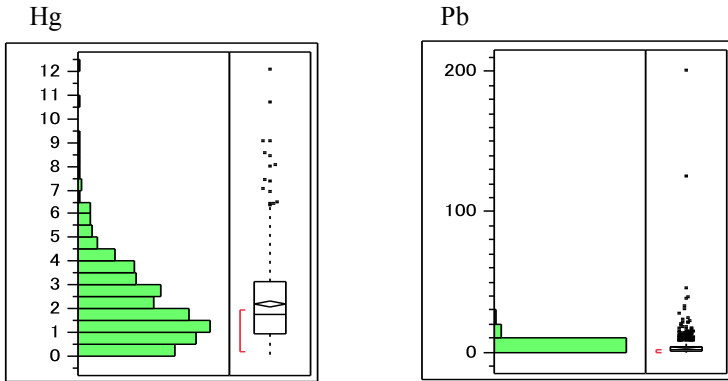
子 1 か月



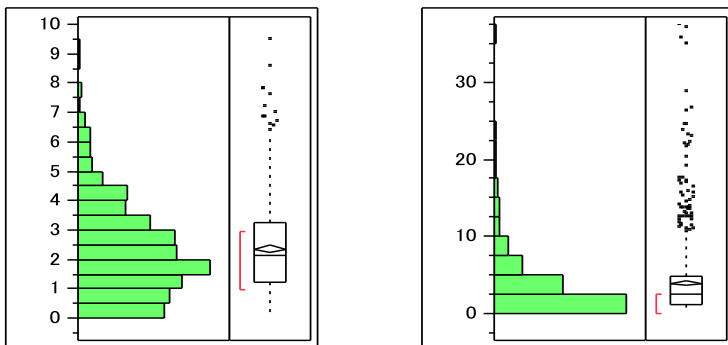
子 10 か月



子 1 か月

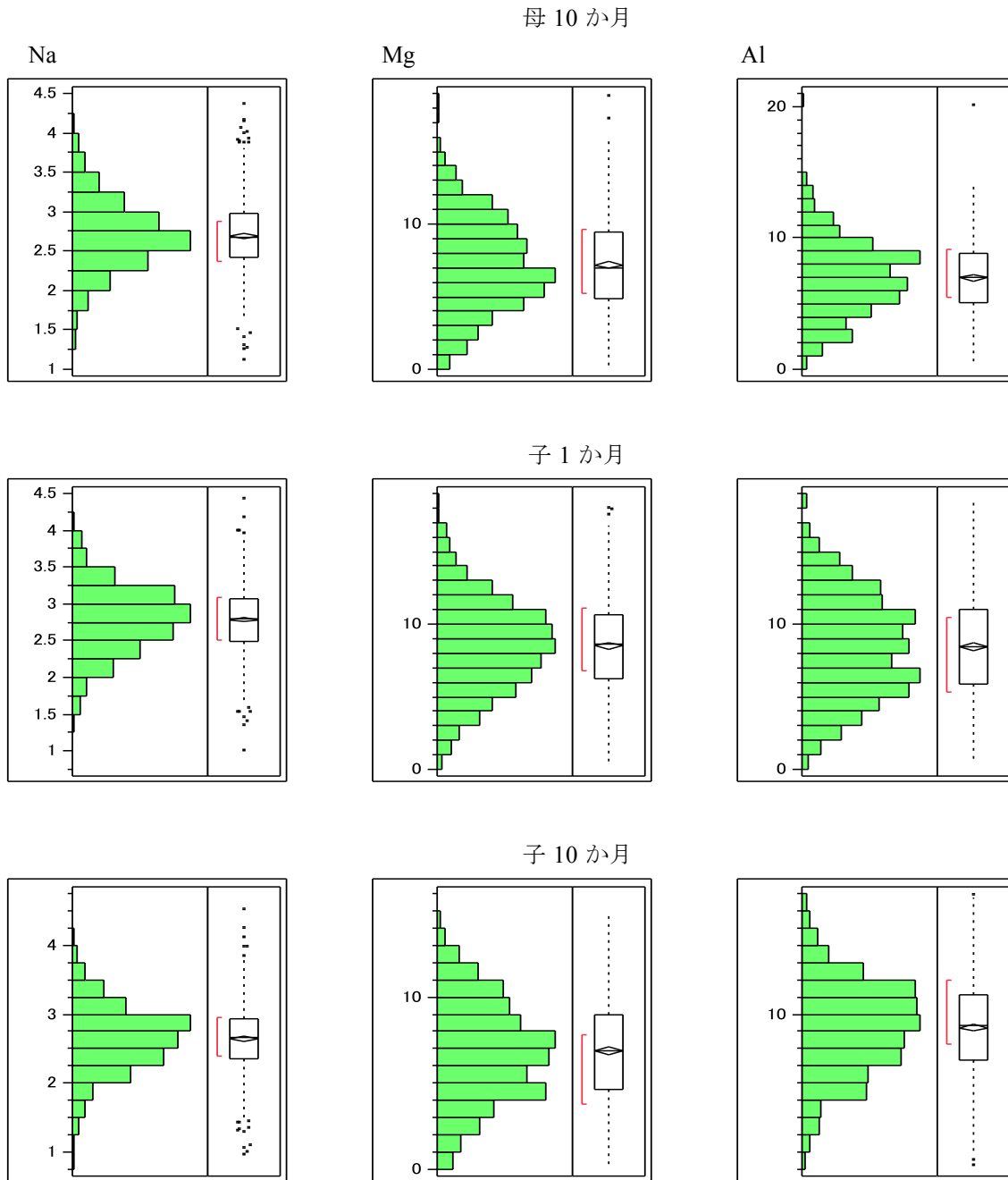


子 10 か月



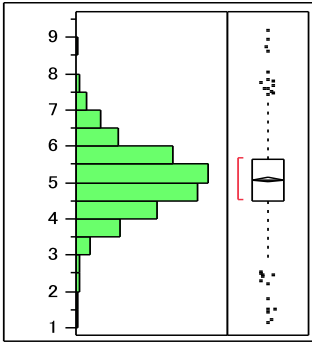
Sを除いていずれも歪んだ分布であるが、これは生体の計測値においては良く観察されることであり、対数変換 $\log X$ で正規化されることが多い。ここではさらにべき変換 X^a も考量して、最適な変換を施した。その結果を次ページ以後に示す。前報では統計ソフト JMP を用いて Box-Cox 変換を施したが、その後の検討で単純なべき変換の方が、適することが判明したことによる。

表5 母10か月、子1か月、子10か月の測定値の分布(Box-Cox変換後)

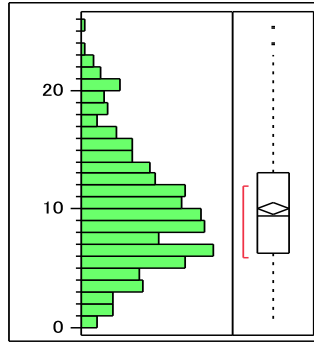


母 10 か月

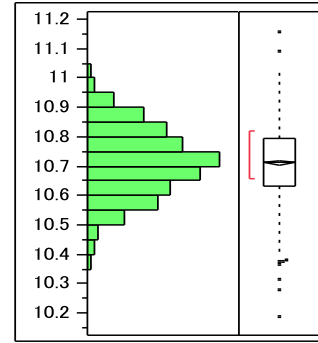
Si



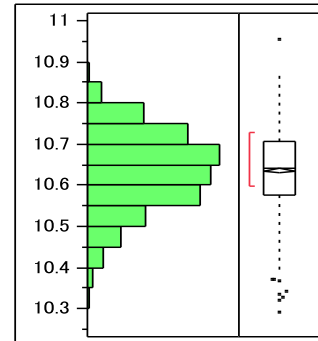
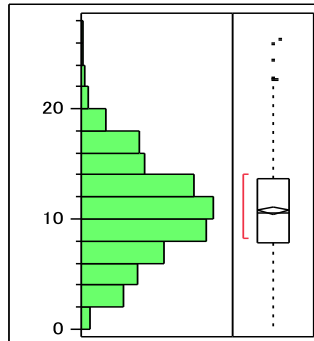
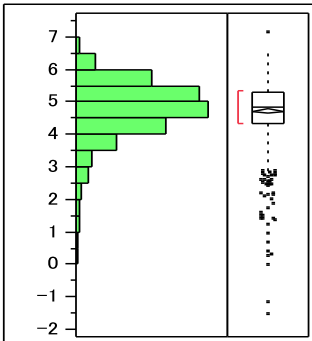
P



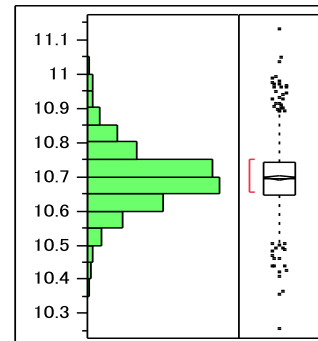
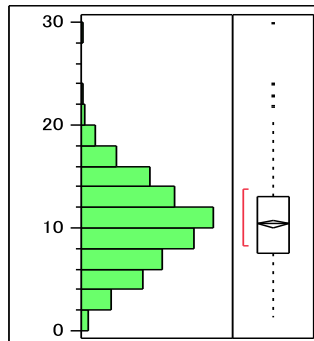
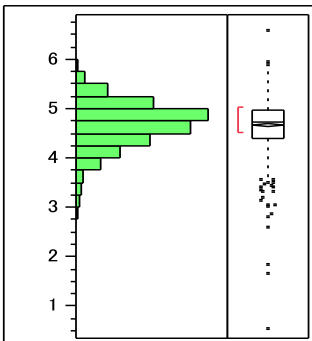
S



子 1 か月

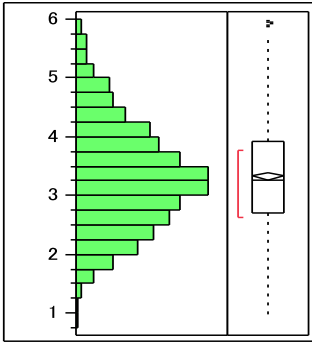


子 10 か月

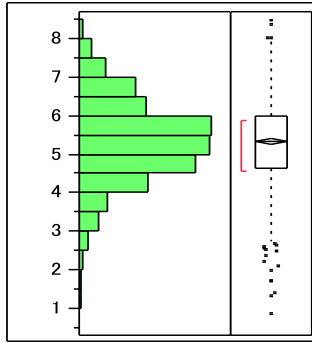


母 10 か月

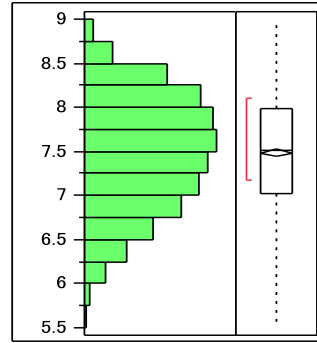
Cl



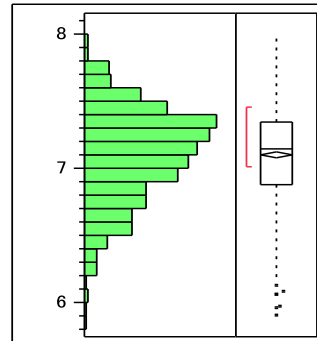
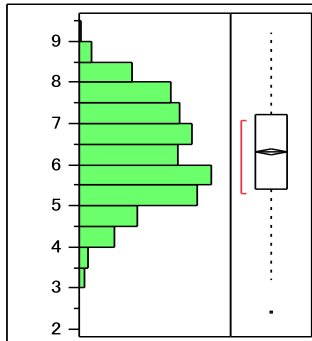
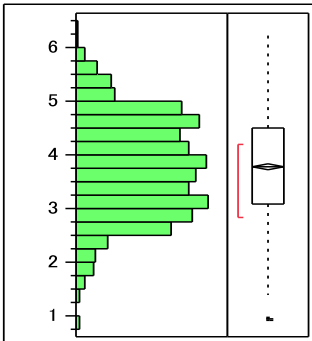
K



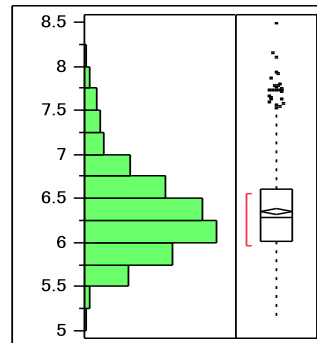
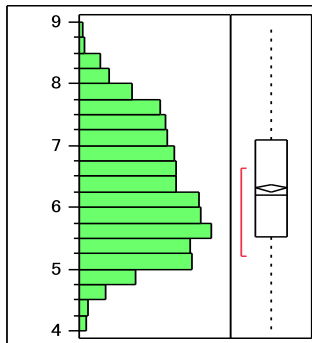
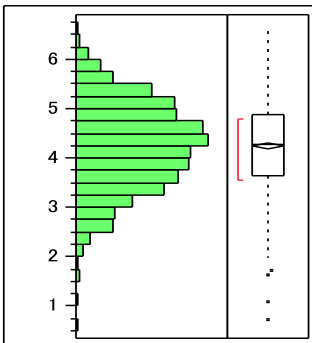
Ca



子 1 か月

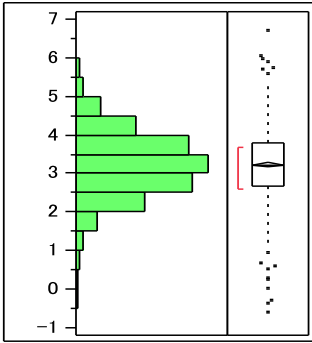


子 10 か月

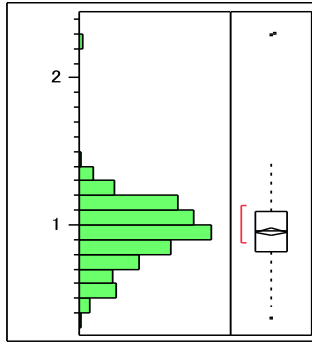


母 10 か月

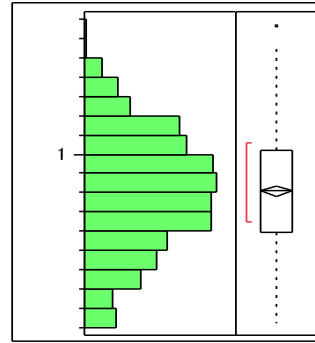
Ti



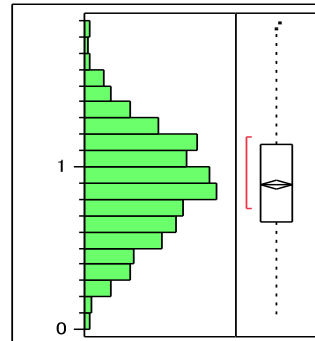
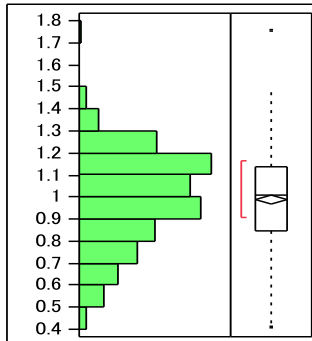
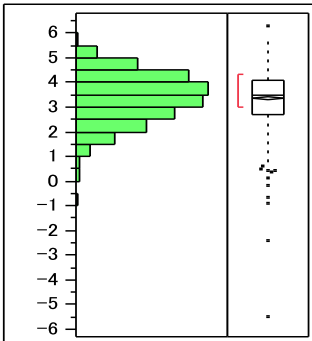
V



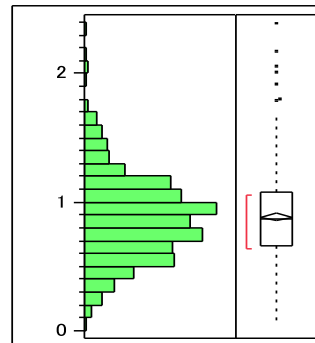
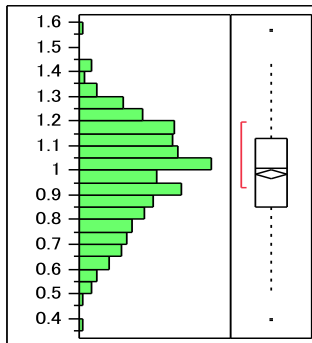
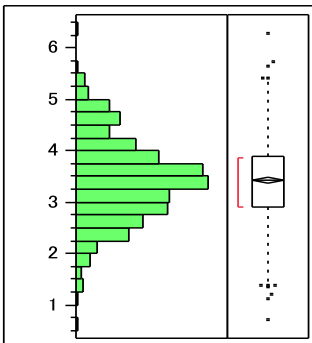
Cr



子 1 か月

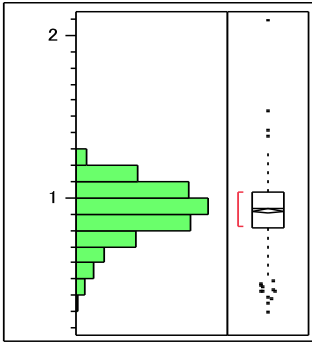


子 10 か月

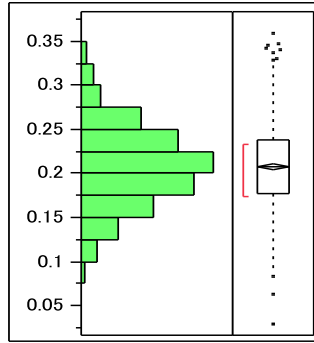


母 10 か月

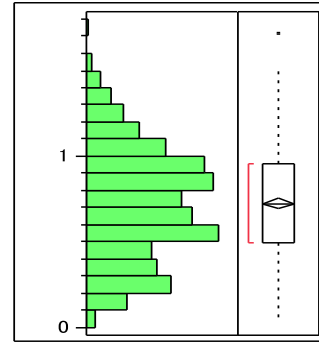
Mn



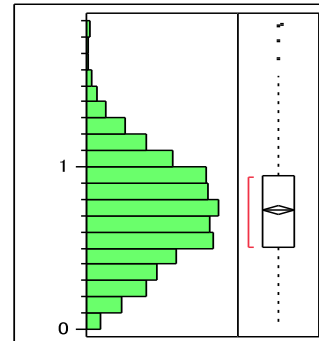
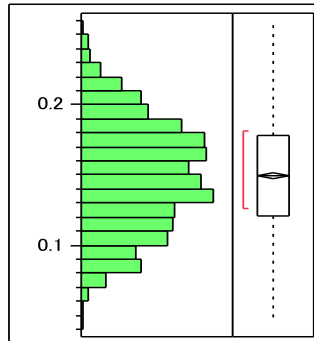
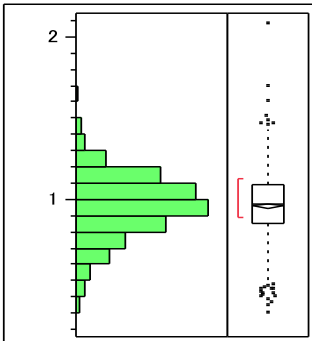
Fe



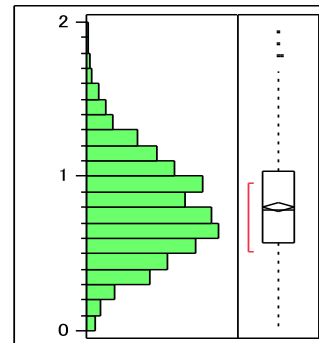
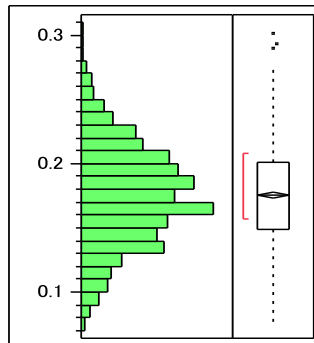
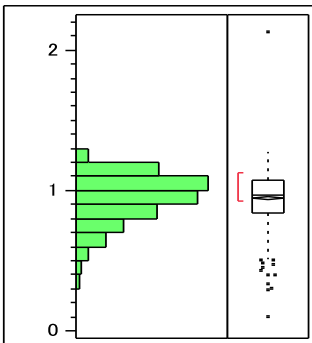
Co



子 1 か月

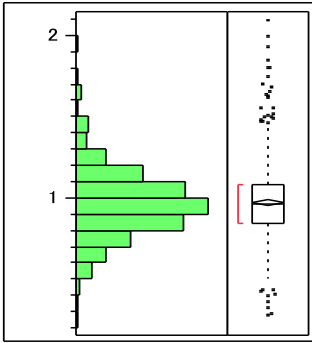


子 10 か月

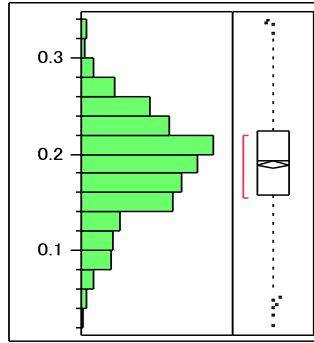


母 10 か月

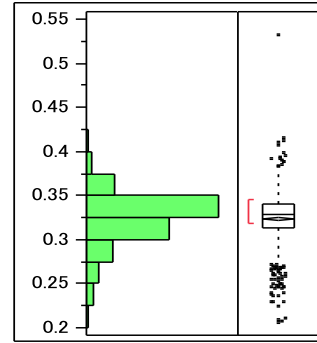
Ni



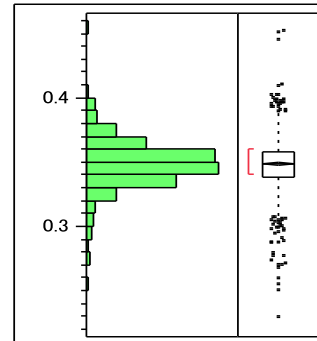
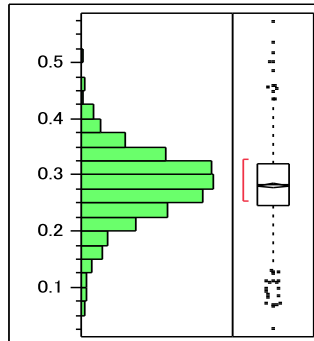
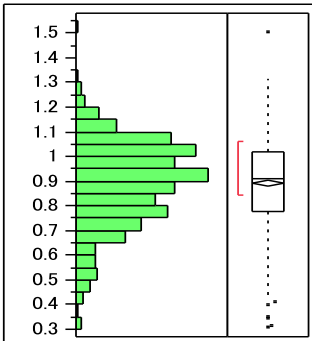
Cu



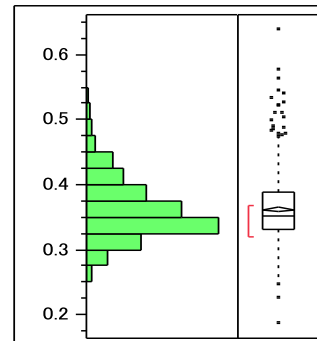
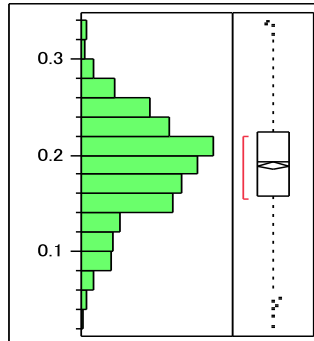
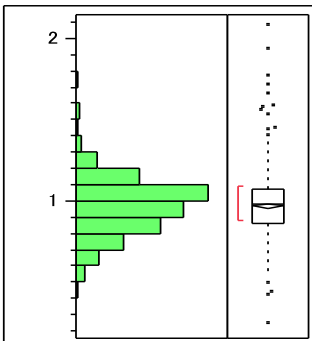
Zn



子 1 か月

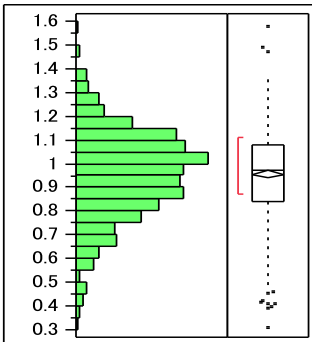


子 10 か月

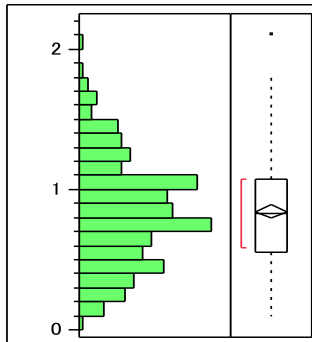


母 10 か月

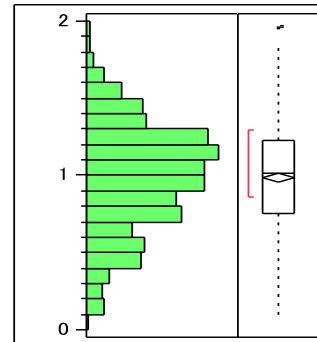
Ga



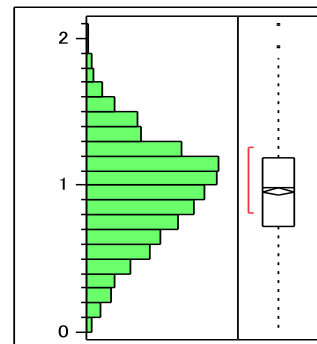
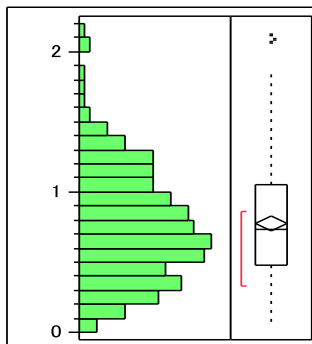
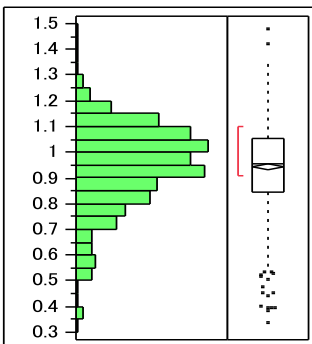
As



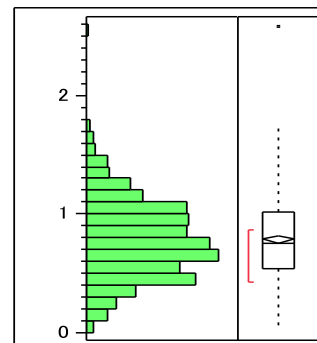
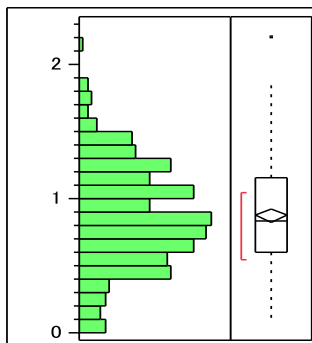
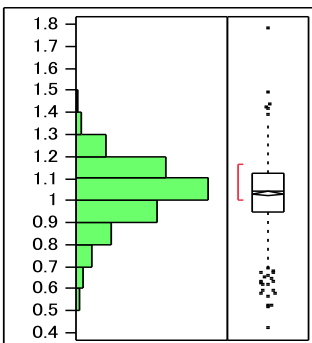
Se



子 1 か月

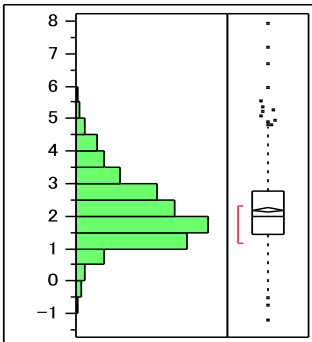


子 10 か月

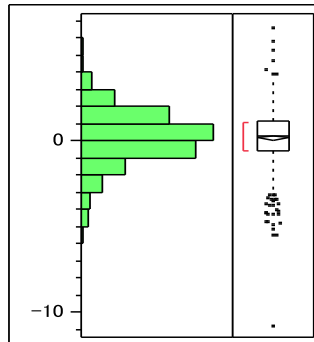


母 10 か月

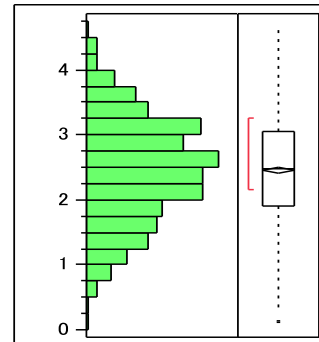
Br



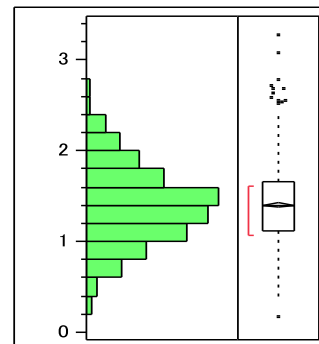
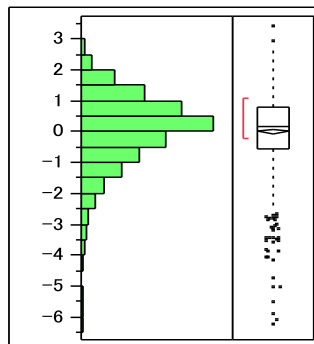
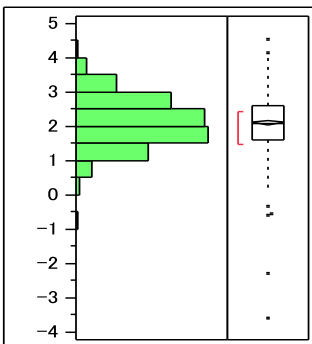
Rb



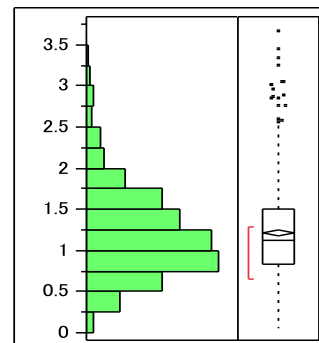
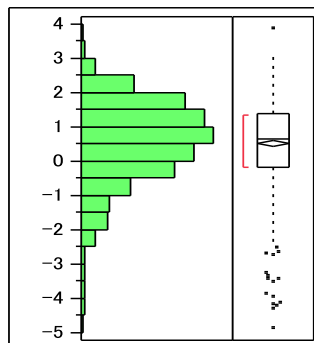
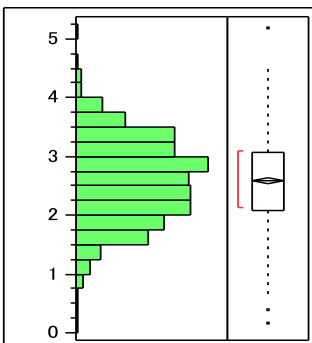
Sr



子 1 か月

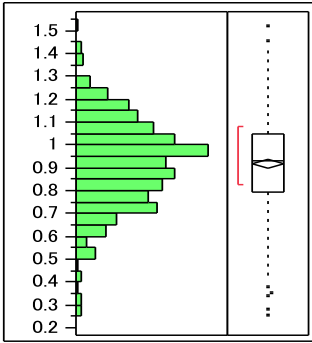


子 10 か月

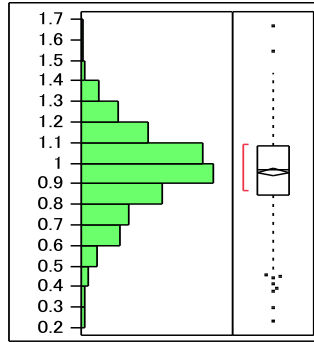


母 10 か月

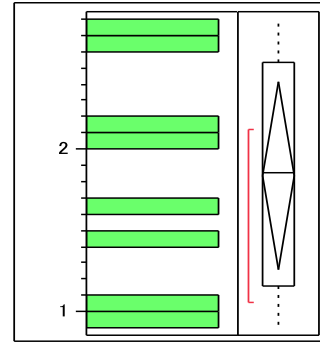
Nb



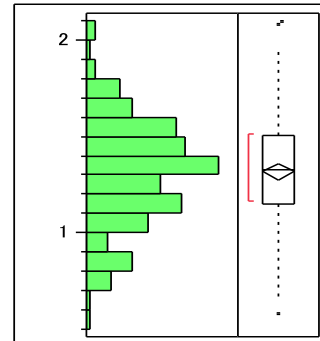
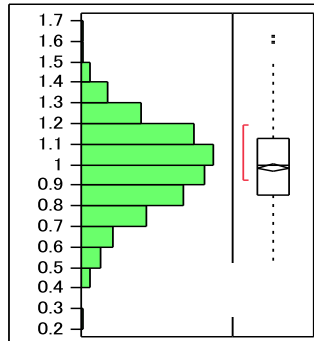
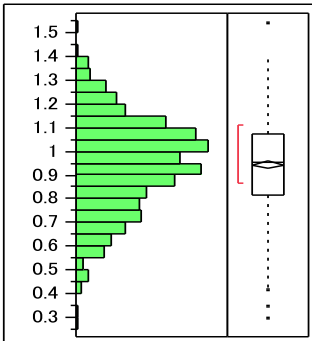
Mo



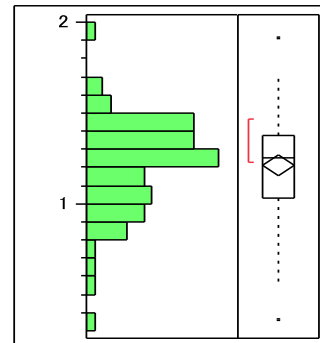
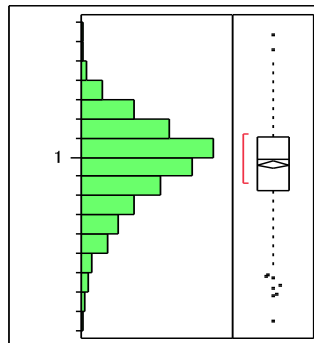
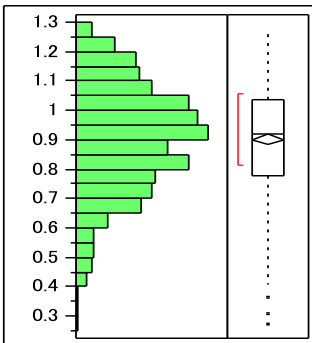
Ag



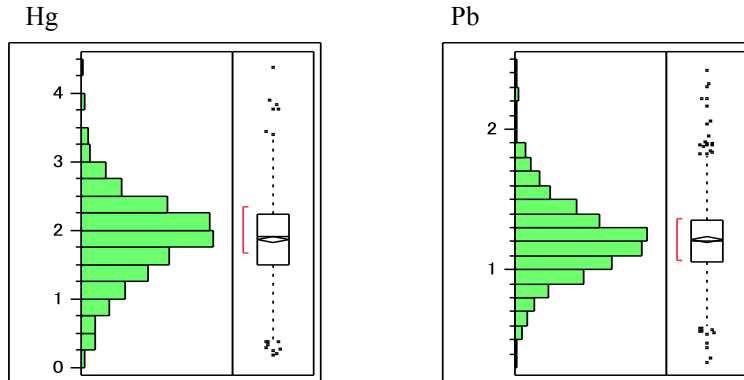
子 1 か月



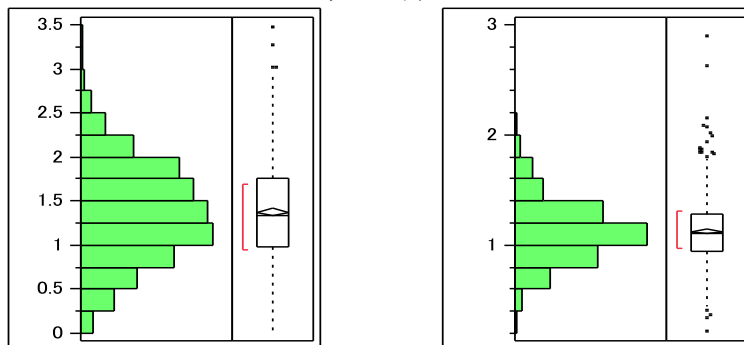
子 10 か月



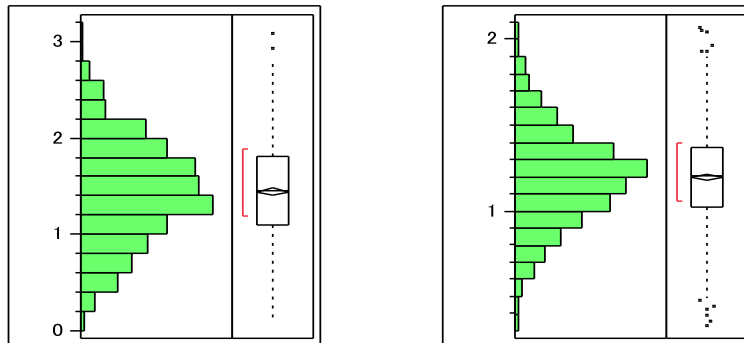
母 10 か月



子 1 か月



子 10 か月



S は母子と時期によらず変換後は近似的に同一の正規分布に従い、さらに変動係数 (=SD/平均) が約 1/100 と小さいことから、近似的に定数とみなされる。

平均値が 1 か月より 10 か月の方が顕著に減少した元素は Mg、Ca、Cu、Se、Sr であり、顕著に増加した元素は Al、Cl、Fe、Co、As、Br、Rb であった。Fe と Co は髪の毛のケアの影響とも考えられるが、その他の元素の変動が生後 1 か月から 10 か月の経験のうちの何に基づくのか現在のところ不明である。今後臨床データとともに統計解析することにより解明すべき最も重要な課題である。

4 結果と考察

生後1か月と10か月における母子の毛髪ミネラル量の比較を行い、著しい変化を示す元素の存在を確認したが、今まで生後1か月と10か月の元素を測定し比較した報告がないので、現時点でその変化の医学的意義を考察することは困難である。今後の統計解析と医学的検討を通して増減の意味を明らかにしていく必要がある。

一方、環境省は健やかな環境の実現を究極の目標とし、直接的には「胎児期・小児期の化学物質ばく露は身体、先天異常、精神神経、免疫系・代謝・内分泌系に影響を与えている」という仮説の解明を目的として2007年に検討会を立ち上げ、2010年から60,000人の追跡調査を開始するとしている²⁾。その目的達成のためには、化学物質へのばく露などの環境影響以外にも、遺伝要因、社会要因、生活習慣要因など、さまざまな交絡因子について、調べる必要がある。

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

5 今後の研究計画と展望

本研究は現在臨床情報のダブルチェックの段階にある。ダブルチェックとは入力を独立に2回行い、パソコン内で不一致を検索し、不一致が発見された項目については再度人間が確認した上で正しい情報を入力する方法をさす。これは数百万件に上る臨床情報の入力経験から考案されたもので³⁾、一回の入力だけでは100項目中7件の誤りが存在したが、ダブルチェックにより10,000件中7件に減少させることが出来たと報告されている。大変手間暇のかかる方法であるが、アトピー性皮膚炎他の因果関係を探求する疫学的研究の成果をもとに、全ての参加された母子に有益な情報をフィードバックすることが目的なので、正確な入力を優先した結果の判断である。しかし60,000人についてのダブルチェックは困難なので、別の工夫が必要とされる。

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

以下に今後の課題を箇条書きで示す：

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

謝辞

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

参考文献

- 1) 絹川直子、伊藤じゅん、前田知子、高辻俊宏、中村剛、世良耕一郎、野瀬善明：PIXE による福岡市乳幼児健診受診母子の毛髪分析（第 1 報）母親の出産後 1 か月及び 10 か月の比較。NMCC 共同利用研究成果報文集 14 巻、No.14 (2006-7).
- 2) 環境省 子どもの健康と環境に関する全国調査 <http://www.env.go.jp/chemi/ceh/intro/index.html>
- 3) 中村剛:原爆被爆者のデータベースシステム作成に関する研究 長崎医学会雑誌 56 巻 1 号 7-19 (1981)
- 4) The Norwegian Institute of Public Health: Department of the Medical Birth Registry of Norway
http://www.fhi.no/eway/default.aspx?pid=238&trg=MainArea_5811&MainArea_5811=5906:0:15,4166:1:0:0:::0:0

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

Y. Yoshida³, N. Kinukawa¹, S. Goto², T. Maeda³,
T. Takatsuji³, T. Nakamura³, K. Sera⁴ and Y. Nose¹

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

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

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

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

Abstract

This is the second report on the study to explore possible relationships between atopic dermatitis and hair minerals of infants and mothers. The hair minerals are measured using the proton-induced x-ray emission (PIXE). The first report published last year describes the background, objective and method of the study and the distribution of the concentration of each mineral in hairs sampled from 842 mothers at one month after birth and 408 mothers at 10 month after birth. In April 2009, the PIXE measurements were completed for all of the hair samples collected from 1035 pairs of mother and child at one month after birth and 842 pairs of mother and child at ten months after birth. We compared the histograms of the concentrations of each mineral by month. Since the original histograms were extremely skewed, either log or power transformation was performed for normalization. The results indicate that the distribution of S shows approximately the same normal distribution regardless of mother or child and one month or ten months. Further more, since the coefficient of variation, that is the ratio of SD to mean, was only 0.01, indicating S is approximately constant for all samples. Elements that remarkably decreased at ten months were Ca, Cu, Se, Sr and those that increased were Al, Cl, Fe, Co, As, Br, and Rb. However, we do not have any explanation or even hypothesis to explain the remarkable changes as child grew. The present study is at the stage of a double-checking of clinical information now. The double -checking indicates that we input the same information twice independently and check if they agree with each other by software and correct the wrongly input one. In this way we may reduce the input error rate from 7/100 to 7/10,000. The study is expected to proceed as follows:

1) The results of the PIXE measurements will be reported to the participation doctors.

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

低線量放射線照射によるバイスタンダー効果誘導機構の解析

馬殿淳美¹、田村咲子¹、和田成一¹、柿崎竹彦¹、後藤祥子²

世良耕一郎³、伊藤伸彦¹

¹ 北里大学獣医学部獣医学科獣医放射線学研究室
034-8628 青森県十和田市東 23 番町 35-1

² (社) 日本アイソトープ協会滝沢研究所
020-0173 岩手県岩手郡滝沢村滝沢字留が森 348-1

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

1 はじめに

これまで、低線量域の放射線照射による細胞応答は高線量域からのデータを外挿して予測されてきた。しかし、近年、低線量域での細胞応答に関して、高線量域のデータから逸脱する現象が報告されるようになり、低線量放射線の生物影響が多様な角度から研究されるようになった¹⁾。低線量放射線による影響の中でも特徴的なものとして、放射線による非標的効果 (Non-targeted effects) の誘導が注目されている。非標的効果とは、直接照射を受けていない細胞において、直接照射を受けた細胞で見られるのと同様の放射線影響が誘導される現象であり、その原因の一つとしてバイスタンダー効果が注目されている。1992年 Nagasawa らによって、細胞に低線量の α 線を照射して染色体に現れる効果を調べていたときに、ごく微量の放射線を照射して全体の1%の細胞しか放射線にヒットされていないにもかかわらず、結果的に30%もの細胞に染色体の変化が起こるという現象が観測された²⁾。このメカニズムは、照射を受けた細胞から何らかのシグナルが発生し、それが非照射 (バイスタンダー) 細胞に伝わることによって照射影響が発現することによると考えられた。このシグナル伝達経路は細胞間接着を必要とするものと、必要としないものの2つが知られている。細胞間接着を必要とする経路では細胞間に形成されたギャップジャンクションを通じて低分子量の物質がやり取りされる機構によって、細胞接着を必要としない経路では照射細胞から分泌された液性因子 (バイスタンダー因子) が細胞のメディウム (培養液) を介してシグナルを伝達する機構によって、バイスタンダー効果が発現するといわれている。しかしながら低線量照射によって誘導される生物応答は、未だ詳細には解明されていない。

グリオーマ細胞に低線量放射線照射をしたときに超感受性を示すことが報告されており、これまでに当研究では、グリオーマ細胞の低線量照射による超感受性はバイスタンダー効果、特に液性因子を介したバイスタンダー効果が強く影響することを明らかにした³⁾。さらに、バイスタンダーを誘導する液性因子の候補としては TNF- α 、TGF- β 1 や活性酸素種の OH ラジカルや NO ラジカルの関与も示唆されているが、これらの因子の放射線誘導機構については詳細には解明されていない。そこで、これらの因子の誘導には細胞膜応答が引き

金となる可能性が示唆されているので⁴⁾、放射線誘発の細胞膜応答を担うスフィンゴリエリナーゼに着目した。この酵素は TNF- α 、IL-1 β 、FAS リガンドなどの細胞外のサイトカインや、熱ショック、ストレス刺激、 γ 線照射、UCV 照射やストレス刺激によって活性化され、細胞膜を構成するスフィンゴリエリンを加水分解し、セラミドの放出を引き起こす。セラミドは、脂質のセカンドメッセンジャー、細胞周期停止、細胞老化やアポトーシスなどを含む多様なストレス関連反応の修飾因子として機能しているため、スフィンゴリエリナーゼが放射線による細胞致死効果に重要な役割を担うと考えられている⁵⁾。当研究では、スフィンゴリエリナーゼ阻害剤による薬理学的手法によって、液性のバイスタンダー効果が抑制されることを観察し、低線量放射線照射によるバイスタンダー効果の誘導にはスフィンゴリエリナーゼが関与することを明らかにした³⁾。

さらに、スフィンゴリエリナーゼは、その活性に多種の 2 価金属イオンを要すると報告⁶⁾がなされており、近年、中性スフィンゴリエリナーゼについては、その活性中心にコバルト、マグネシウム、カルシウムなどが結合した立体構造が明らかにされ、その金属イオンの種類によって酵素活性が異なるということが明らかにされた。

そこで、低線量照射による液性因子を介したバイスタンダー効果誘発機構のより詳細な解析を行うため、低線量照射後の細胞内外におけるスフィンゴリエリナーゼ活性を観察し、スフィンゴリエリナーゼの活性化に関与する金属イオンの特定のために低線量放射線照射後の細胞内外の金属イオン量を PIXE 法を用いて経時的に分析した。

2 測定方法

2.1 照射後の細胞内外のスフィンゴリエリナーゼ活性の観察

使用細胞は低線量照射に対して超感受性を示すグリオーマ A172 細胞を用いた。照射は X 線を線量率 0.02 Gy/min で行った。照射後、活性化スフィンゴリエリナーゼの細胞内外の移行を調べるため、照射後 0 分、5 分、15 分間、インキュベーター内で培養した各照射細胞から細胞、培養液をそれぞれ回収しスフィンゴリエリナーゼ活性測定の試料とした。照射した細胞とその培養液を回収した。回収した照射細胞は蛋白抽出と定量を行った。培養液は限外濾過によって濃縮をした。それぞれの試料を Amplex Red sphingomyelinase Assay Kit を用いてスフィンゴリエリナーゼ活性を測定した。96 穴プレートを使用し、100 μ l/well の酢酸ナトリウム (pH=5.0) を入れ、そこに各試料を 3 μ g/well ずつ加えた。次に各々のサンプルと positive control に基質である 2%スフィンゴリエリンを 10 μ l ずつ添加し、37°Cの遮光条件下で 6 時間反応させた。反応後、Assay Kit の反応試薬 (Amplex Red reagent、Horseradish peroxidase、coline oxidase、alkalin phosphatase) を緩衝溶液である Tris-HCl (pH=8.0) で溶解して 100 μ l/well ずつ加えた。その後マルチモードプレートリーダーを用いて蛍光強度の測定 (波長 544/590 nm) を行うことにより試料中のスフィンゴリエリナーゼ活性を測定した。

2.2 照射後の細胞内外微量元素の変動

放射線照射後に細胞内外を移行する微量元素の動態を調べるため、照射後 0 分、5 分、15 分間、インキュベーター内で培養し、細胞内の微量元素を PIXE によって解析した。特に、スフィンゴリエリナーゼの活性には 2 価の金属元素を要求するため、Mg、Ca、Zn に着目して測定を行った。PIXE 分析用試料の作成については、各細胞を凍結乾燥させ、ニッ川らの方法により硝酸湿式灰化処理を行った。内部標準は Pd 標準液 (原子吸光測定用標準液 : 1,000 ppm/1N HCl、Factor 1.004) を用い、細胞試料に対して終濃度 : 約 1,000 ppm になるように加えた。培養液の試料は Pb 標準液を最終濃度 1,000 ppm になるように調整した。それぞれの調製試料 5 μ l を、マイラー製ターゲットホルダーに貼付したポリプロピレンフィルム上に直径 7 mm の円状になるよう滴下し、自然乾燥後、PIXE 照射ターゲットとした。全てのサンプルの測定および解析は日本アイソトープ協会仁科記念サイクロトロンセンター (Nishina Memorial Cyclotron Center : NMCC)にて行った。照射条件として、2.9 MeV 陽子で照射を行い、放出された X 線スペクトルを測定した。得られた X 線エネルギースペクトルを PIXE スペクトル解析プログラム SAPIX を用いて解析を行った。

3 結果

3.1 照射後の細胞内外のスフィンゴミエリナーゼ活性の観察

これまでに低線量 X 線照射による細胞致死効果、特にバイスタンダー効果による致死効果にはスフィンゴミエリナーゼの関与が示唆された⁴⁾。そこでバイスタンダー効果に関与するスフィンゴミエリナーゼ活性化機構の解明のため、X 線照射後のスフィンゴミエリナーゼ活性を細胞内と細胞外において分析した。低線量 0.1 Gy 照射後の細胞内におけるスフィンゴミエリナーゼ蛋白活性値を経時的に測定し、コントロール（非照射細胞）を 1 とした時の照射後培養時間 0 分、5 分、15 分のときの値を算出した (Fig.1A)。このとき照射 0 分の値は、 1.01 ± 0.046 、照射 5 分後では 1.08 ± 0.02 、照射 15 分後では 0.96 ± 0.09 となった。細胞内スフィンゴミエリナーゼ活性は照射 5 分後において増加する傾向を示し、非照射に対して統計的有意差が認められた ($p < 0.05$)。また、照射 15 分後では、統計的有意差は認められなかったが非照射より低くなる傾向が観察された。

さらに、照射細胞の培養液におけるスフィンゴミエリナーゼ蛋白活性値を測定することにより、細胞外のスフィンゴミエリナーゼ活性の経時的な変化を観察した (Fig. 1B)。細胞内における測定と同様に、コントロール（非照射細胞群）を 1 とした時の照射後培養時間 0 分、5 分、15 分のときの値を算出した。このとき照射 0 分の値は 1.09 ± 0.068 、照射 5 分後では 1.025 ± 0.003 、照射 15 分後では 1.10 ± 0.032 となった。細胞外スフィンゴミエリナーゼ活性は照射 15 分後において増加する傾向を示し、非照射に対して統計的有意差が認められた ($p < 0.05$)。細胞内のスフィンゴミエリナーゼの経時的な動きとして、5 分後に上昇し 15 分後にはそれに比べ減少しており、逆に細胞外における動きとしては、5 分後に減少し 15 分後には増加した。この結果により、スフィンゴミエリナーゼは低線量照射によって照射 5 分後までに細胞内で活性化し、照射 5 分後から 15 分後までの間に活性化したスフィンゴミエリナーゼが細胞外に分泌された可能性が示唆された。

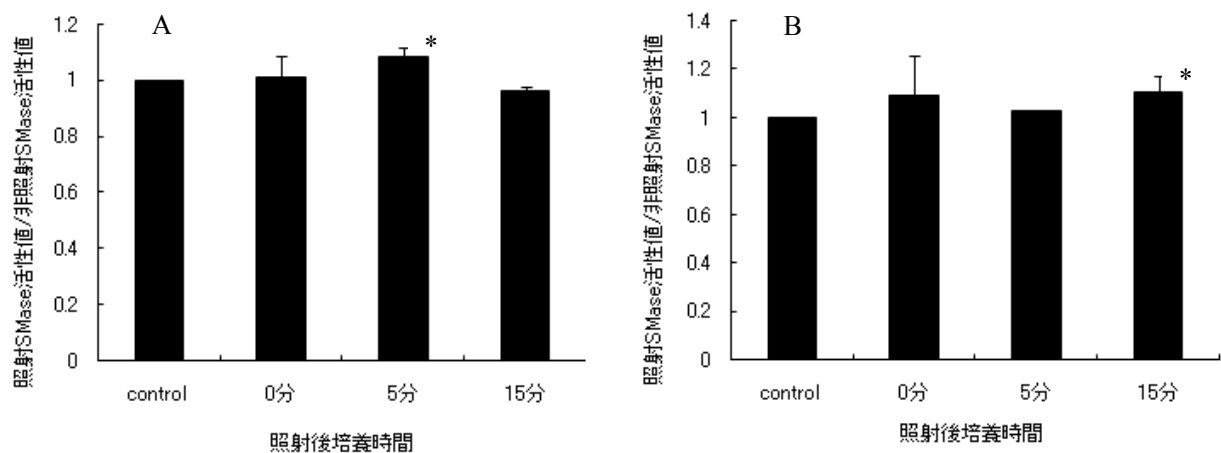


Fig.1 低線量 X 線を照射した時の細胞内外の SMase 活性。(A)X 線 0.1Gy 照射後の細胞内 SMase の経時的変化と (B)細胞外 SMase の経時的変化。結果は平均値±SE で表している。* $P < 0.05$

3.2 低線量放射線照射による微量元素動態の経時的変化

スフィンゴミエリナーゼ活性は金属イオン依存性であり、特にこの活性化には 2 価の金属イオンが不可欠であると考えられている⁶⁾。そこで X 線照射によるスフィンゴミエリナーゼの活性化に関与すると考えられる、各種 2 価の金属イオンである Mg、Ca、Zn の細胞内外の挙動を調べるため、細胞に低線量放射線を照射後、2 価の金属イオンの細胞内外の変化を PIXE 元素分析法によって経時的に解析した。

X 線 0.1 Gy 照射後の細胞内 Zn 量の経時的な変化を Fig. 2A に示した。コントロール（非照射細胞群）を 1 とした時の照射 0 分の値は 1.1 ± 0.18 、照射 5 分後では 1.31 ± 0.49 、照射 15 分後では 1.19 ± 0.058 となった。X 線照射による経時的な細胞内 Zn 動態はコントロールに対して統計的有意差は認められなかったが、コントロー

ルに対し照射0分から5分後で著しく増加する傾向が観察され、照射15分後にコントロールの値に近づく傾向が観察された。また照射細胞の培養液におけるZn量を測定することにより、細胞外Zn量の経時的な変化をFig. 2Bに示した。細胞内における測定と同様に、コントロール（非照射細胞群）を1とした時、照射0分の値は 1.62 ± 0.39 、照射5分後では 0.79 ± 0.33 、照射15分後では 1.47 ± 0.12 となった。照射0分で細胞外Zn量は上昇し、照射5分後にはコントロールに対して減少する傾向が観察され、照射15分後でコントロールに対して高い値を示し、統計的有意差が認められた ($p < 0.05$)。細胞内のZnの経時的な挙動として、5分後に上昇し15分後にはそれに比べ減少しており、逆に細胞外の動きとしては、5分後に減少し15分後には増加した。この結果から、低線量照射によってZnは照射5分後までに細胞内外を挙動し、照射5分から15分後までの間に細胞外に出たと考えられ、スフィンゴミエリナーゼ活性にZnを要求する可能性が示唆された。

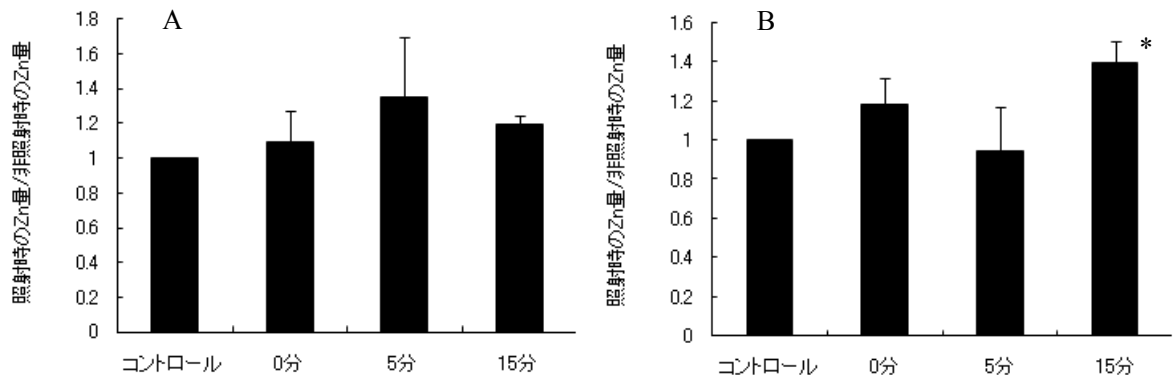


Fig.2 低線量 X 線照射による細胞内外の亜鉛元素量の経時的変化。(A)細胞内亜鉛量の経時的変化と(B)細胞外亜鉛量の経時的変化。結果は平均値±SE で表している。* $P < 0.05$

X 線 0.1 Gy 照射後の細胞内外 Mg 量の経時的な変化を Fig. 3A、B に示した。細胞内 Mg 量および細胞外 Mg 量は照射後に減少する傾向が観察されたが、スフィンゴミエリナーゼ活性との関連性は認められなかった。

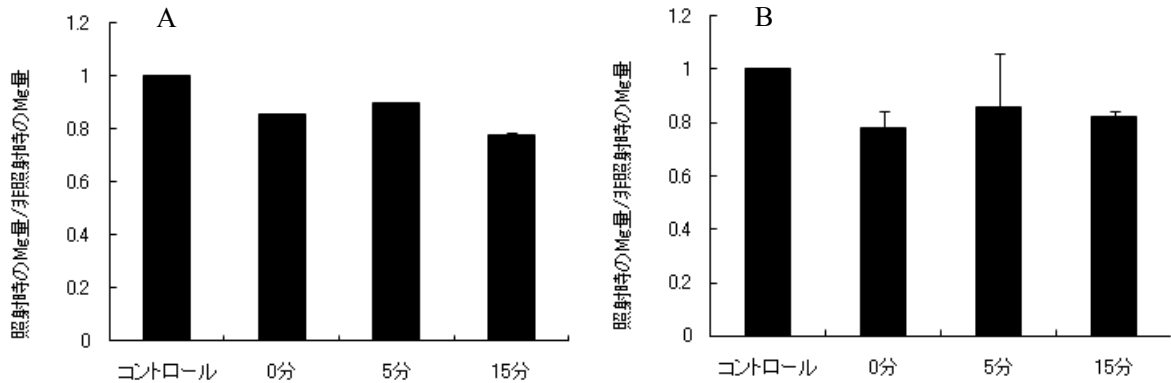


Fig.3 低線量 X 線照射による細胞内外のマグネシウム元素量の経時的変化。(A)細胞内マグネシウム量の経時的変化と(B)細胞外マグネシウム量の経時的変化。結果は平均値±SE で表している。

X 線 0.1 Gy 照射後の細胞内 Ca 量の経時的な変化を Fig. 4A に示した。コントロール（非照射細胞群）を1とした時の照射0分の値は 0.997 ± 0.2 、照射5分後では 1.32 ± 0.33 、照射15分後では 1.02 ± 0.08 となった。また照射細胞の培養液におけるCa量を測定することにより、細胞外Ca量の経時的な変化をFig. 4Bに示した。細胞内における測定と同様に、コントロール（非照射細胞群）を1とした時の照射後培養時間0分、5分、15分のときの値を算出した。照射0分の値は 0.97 ± 0.08 、照射5分後では 1.02 ± 0.12 、照射15分後では 0.96 ± 0.12 となった。細胞内においては、照射後5分でCa量が増加し15分で減少する傾向が観察されたが、細胞外の

Caの動きとしてはあまり経時的な変化は認められず、スフィンゴミエリナーゼ活性との関連性は認められなかった。

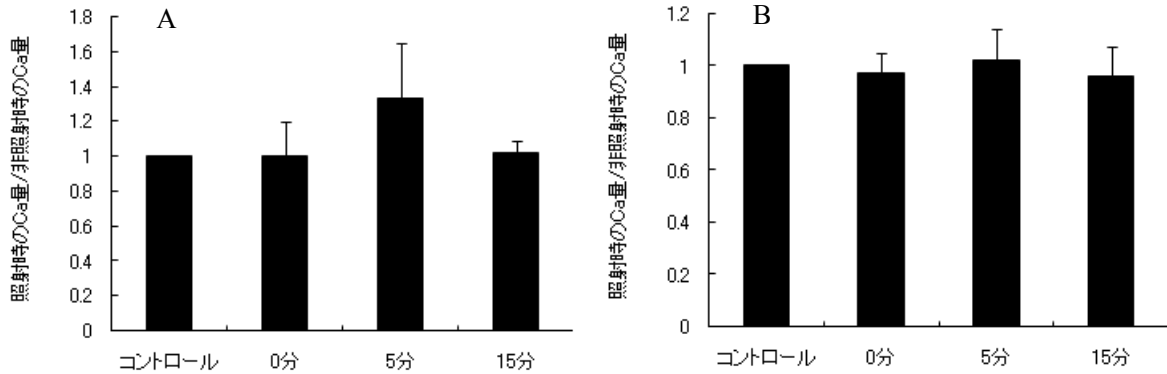


Fig.4 低線量X線照射による細胞内外のカルシウム元素量の経時的変化。(A)細胞内カルシウム量の経時的変化と(B)細胞外カルシウム量の経時的変化。結果は平均値±SEで表している。

4 考察

本研究では、放射線照射によるバイスタンダー効果のメカニズムの初期過程を解析した。特にこの現象を引き起こす液性因子としてのスフィンゴミエリナーゼの関与について解析するために、低線量照射に対して過敏に応答を示すグリオーマ細胞株を用いて解析を行った。まず、放射線超感受性を示すと報告されているグリオーマ由来のA172細胞に低線量域の0.1 Gyの照射を行い、細胞内と細胞外におけるスフィンゴミエリナーゼ活性を経時的に測定した。

細胞内のスフィンゴミエリナーゼ活性は照射5分後に上昇、15分後には減少し、逆に細胞外における変化としては、照射5分後に減少、15分後には増加した。この結果からA172細胞において、低線量照射により照射直後から5分後までに細胞内でスフィンゴミエリナーゼが活性化し、5分後から15分後に細胞内で活性化したスフィンゴミエリナーゼが細胞外に出て行くと考えられ、スフィンゴミエリナーゼが近傍の非照射細胞に作用しバイスタンダー効果を引き起こすバイスタンダー因子の1つであることが考えられた。

またスフィンゴミエリナーゼには、酸性スフィンゴミエリナーゼと中性スフィンゴミエリナーゼが存在する。ヒト腫瘍細胞において、放射線照射後に酸性スフィンゴミエリナーゼ活性は増加するが、中性スフィンゴミエリナーゼ活性に変化は認められなかったと報告されている。今実験で測定したスフィンゴミエリナーゼ活性は酸性スフィンゴミエリナーゼ活性であり、低線量放射線によりバイスタンダー効果に関わるのは酸性スフィンゴミエリナーゼであると考えられた。

また、スフィンゴミエリナーゼの活性化に必要な金属元素の動きを解析することより、間接的にスフィンゴミエリナーゼの活性化に関与する金属イオンの特定出来るため、低線量放射線照射後の細胞内外の金属元素量、特にMg、Ca、Znの細胞内外の濃度をPIXE法を用いて経時的に分析した。本研究ではスフィンゴミエリナーゼ活性と関連した挙動が観察されたのはZnであった。細胞内Zn量が照射5分後に顕著に上昇し、15分後に低下するという結果に加えて、細胞外Zn量がその動きに相反するような動態を示すことが観察された。特に細胞外Zn量が照射15分後にコントロールに対して有意な上昇を示した。これらの結果から照射後に細胞内に取り込まれたZnが15分後までに細胞外に移動すると考えられた。また放射線照射後のZnの挙動はスフィンゴミエリナーゼの活性が高まる時間とほぼ一致しており、細胞内Zn量の上昇がスフィンゴミエリナーゼを活性化させると考えられた。したがって放射線照射によるスフィンゴミエリナーゼの活性化にはZnを要し、Znと結合した活性型スフィンゴミエリナーゼが細胞外に分泌される可能性が示唆された。

実際、Zn刺激性スフィンゴミエリナーゼは人やマウスのマクロファージ、人の皮膚線維芽細胞、小グリア細胞、数種の培養された細胞から分泌されていることが報告されている⁷⁾。また、このZn刺激性スフィンゴ

ミエリナーゼは酸性スフィンゴミエリナーゼ遺伝子から産生されると報告されている⁷⁾。これらのことから今回の実験におけるバイスタンダー効果に関与する酸性スフィンゴミエリナーゼ活性に Zn が要求されると考えられた。また Zn を活性中心に結合するのは、酸性スフィンゴミエリナーゼのうち、リソソーム型と細胞質に存在する分泌型の2つの型が知られている。リソソーム型は、非活性型のスフィンゴミエリナーゼがリソソームへ移行し、リソソーム内部において Zn に暴露されることにより活性を得る。それに対し分泌型は、ゴルジ分泌経路を通して輸送される過程で活性化されるが、その分泌経路は細胞内 Zn プールからは比較的隔離されているため、活性化に際し外因性の Zn を要求する。つまり照射後5分に観察された Zn の細胞内増加は、放射線照射によって外因性（細胞外）の Zn が細胞内に流入し、細胞内の非活性型のスフィンゴミエリナーゼと結合することによって活性型スフィンゴミエリナーゼ（分泌型スフィンゴミエリナーゼ）になり、また照射15分後における細胞内 Zn の減少は、Zn と結合して活性型となった分泌型スフィンゴミエリナーゼが細胞外へ分泌されたと考えられた。

Mg については X 線照射による細胞内外 Mg 量は経時的に減少する傾向が観察された。また Ca については細胞外の Ca 量は経時的な変化は認められなかったが、細胞内においては、照射後5分で Ca 量が増加する傾向が観察された。これらは上記のスフィンゴミエリナーゼ活性の経時変化と細胞内外の金属元素の挙動とは一致せず、Mg と Ca はスフィンゴミエリナーゼ活性との関与が低いと考えられた。

今回の研究では、低線量放射線刺激によるバイスタンダー効果と、その因子について検証を行った。A172へ低線量照射を行うと、細胞内で活性化したスフィンゴミエリナーゼの細胞外への挙動が観察され、バイスタンダー効果を引き起こす液性因子としてスフィンゴミエリナーゼの可能性が示唆され、更に、活性には Zn が関連することが推察された。

参考文献

- 1) Hall E.J. (2004) Henry S. Kaplan Distinguished Scientist Award 2003. The crooked shall be made straight; dose-response relationships for carcinogenesis. *Int.J.Radiat.Biol.*,80,327-337
- 2) Nagasawa, H. and Little, J. B. (1992) Induction of sister chromatid exchanges by extremely low doses of alpha-particles. *Cancer Res.* 52, 6394-6396.
- 3) 田村咲子、須藤繭子、和田成一、柿崎竹彦、伊藤じゅん、世良耕一郎、伊藤伸彦、グリオーマにおける低線量放射線照射による細胞致死効果の解析 バイスタンダー効果と微量元素との関連、NMCC 共同利用研究成果報文集 14、 p.144-149、2008. 5
- 4) Shao,C.,Folkard,M.,Michael,BD.and Prise,K.M.(2004) Targeted cytoplasmic irradiation induces bystander responses. *Proc Natl Acad Sci U S A.*101(37):13495-13500.
- 5) Zhang Y, Mattjus P, Schmid PC, Dong Z, Zhong S, Ma WY, Brown RE, Bode AM, Schmid HH, Dong Z. (2001) Involvement of the acid sphingomyelinase pathway in UVA-induced Apoptosis. *J. Biol. Chem.*276(15) 11775-11782.
- 6) Ago, H., Oda, M., Takahashi, M., Tsuge, H., Ochi, S., Katunuma, N., Miyano, M. and Sakurai, J. 2006. Structural basis of the sphingomyelin phosphodiesterase activity in neutral sphingomyelinase from *Bacillus cereus*. *J. Biol. Chem.* 281:16157-16167.
- 7) Schissel SL, Keesler GA, Schuchman EH, Williams KJ, Tabas I. The Cellular Trafficking and Zinc Dependence of Secretory and Lysosomal Sphingomyelinase, Two Products of the Acid Sphingomyelinase Gene (1998) *J. Biol. Chem.* 273(29),18250-18259.

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

A. Baden¹, S. Tamura¹, S. Wada¹, T. Kakizaki¹, S. Goto², K. Sera³ and N. Ito¹

¹School of Veterinary Medicine, Kitasato university
35-1 Higashi23banyo, Towada, Aomori 034-8628, Japan

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

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

Abstract

Recently, the effects of low dose radiation have only been estimated by extrapolation from the data obtained by the higher dose radiation. Low dose radiation effects such as bystander effect cannot be explained by extrapolation from the data obtained by higher dose radiation. So far, we suggested that radiation induced bystander effect is closely relative with sphingomyelinase. To analyze mechanism between activation of sphingomyelinase and induction of bystander effect, in this study we investigated the relationship sphingomyelinase activity and divalent metal that are necessary for sphingomyelinase activation using PIXE analysis. Activation of sphingomyelinase induced by radiation (0.1Gy) was observed in glioma cell (A172 cell). The activity increased for 5 min and decreased for 15 min after irradiation inside the cell. On the other hand, the activity increased for 15 min after irradiation outside the cell. When fluctuation of intracellular and extracellular metal element was analyzed after irradiation, concentration of intracellular zinc element increased for 5 min and decreased for 15 min after irradiation and that of extracellular zinc element increase for 15 min after irradiation. These results indicate sphingomyelinase activation and fluctuation of zinc element was corresponding. It is considered that activation of sphingomyelinase induced by radiation was due to zinc element and sphingomyelinase itself is one of bystander factor.

改良型放射線感受性マイクロカプセルの皮下注時における 薬剤腫瘍濃度

原田 聡、江原 茂、世良耕一郎¹、石井慶造²、斉藤義弘³、伊藤じゅん⁴

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ترونセンター
020-0173 岩手県岩手郡滝沢村滝沢字留が森 348-58

²東北大学工学部量子工学専攻
980-8579 仙台市青葉区荒巻字青葉

³日本アイソトープ協会仁科記念サイクロترونセンター (NMCC)
020-0173 岩手県岩手郡滝沢村滝沢字留が森 348-58

⁴日本アイソトープ協会学術部研修課
113-8941 東京都文京区本駒込 2-28-45

1 はじめに

我々は放射線により抗がん剤を放出するマイクロカプセルの開発を試みてきた^{1,2}。同マイクロカプセルを放射線治療時に使用することにより、1)放射線と放出された抗がん剤との相乗効果、2)薬剤限局化作用による抗がん剤副作用の軽減、の2点が可能となる。昨年のNMCC研究成果発表会において、我々は、アルギン酸-ヒアルロン酸をCa、Feの混合液(mol比1:0.5)中で重合させることにより、放射線により、より多くの抗がん剤を放出するマイクロカプセルが作成可能であることを報告してきた²。しかし、抗腫瘍効果と副作用軽減、および薬剤の腫瘍沈着の測定を行ってこなかった。今回我々は、マウス左下腿に移植した実験腫瘍を用いて、その抗腫瘍効果増強と副作用軽減について検討した。

2 材料、および方法

2.1 マイクロカプセル作成

ヒアルロン酸0.1g、アルギン酸0.2gを蒸留水8mlに溶解し、カルボプラチン注射液(白金系抗癌剤カルボプラチン1mg/ml)2mlを添加後、CaCl₂0.1mol+FeCl₂0.1mol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。

2.2 動物実験

Meth-A-firrosarcoma 細胞百万個を左下腿に移植、12×7 mm 大になった時点で、実験に使用した。上記 2.1 で作成したマイクロカプセル 6 百万個を腫瘍周囲皮下組織に注入し、⁶⁰Co γ 線を 10、20、30 Gy 照射した後、腫瘍内カルボプラチン量を、PIXE による Pt 量により、抗腫瘍効果増強を腫瘍径測定により、副作用の強さを、10%以上の体重減少、体毛の毛羽立ち、死により判定した。比較対照群は、カルボプラチン含有マイクロカプセル 6 百万個と同じ腫瘍内濃度を呈した、500 μg のカルボプラチンを 0.1 ml 中に溶解し、皮下注した。

3 結果

3.1 マイクロカプセル

作成されたマイクロカプセルを図 1-A に、放射線照射後のマイクロカプセルを図 1-B に示す。マイクロカプセルの径は、 $23.4 \pm 2.4 \mu\text{m}$ で、放射線照射前のマイクロカプセルは、中心部に、抗がん剤（カルボプラチン）が明瞭に観察されるが、放射線照射後は、それらは不明瞭化した。

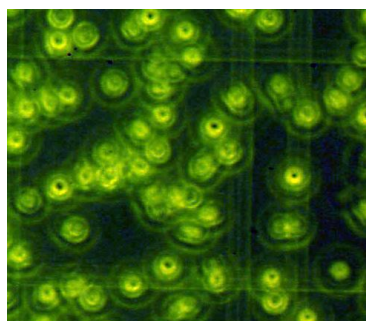


図 1-A

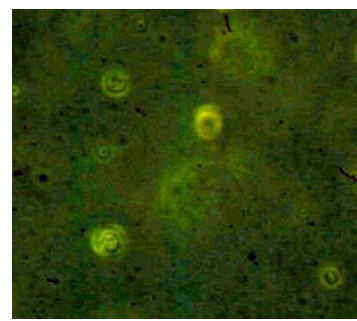


図 1-B

3.2 腫瘍内カルボプラチン量 (表 1)

放射線照射前後における、腫瘍内 Pt 含有濃度を、Carboplatin 量として示す。カプセル化した、カルボプラチンにおいては、放射線非照射群においても、 $2.3 \pm 0.41 \mu\text{g/g}$ の白金が検出されたが、非カプセル化したカルボプラチン量 $16.2 \pm 6.4 \mu\text{g/g}$ よりも有意に低い値を呈した。放射線照射後、カプセルから放出されたカルボプラチンは有意に、腫瘍内カルボプラチン濃度を線量依存性に上昇させ、10 Gy で $14.3 \pm 1.2 \mu\text{g/g}$ 、20 Gy で $16.5 \pm 12.3 \mu\text{g/g}$ 、30 Gy で $17.5 \pm 1.3 \mu\text{g/g}$ と、20Gy、30Gy 照射後では、非カプセル化したカルボプラチンと、有意差の無い濃度に達した。

表 1

Radiation doses	Uncapsulated carboplatin	Capsulated carboplatin
0 (unirradiated)	16.2 ± 6.4	2.3 ± 0.41
10	16.8 ± 4.8	14.3 ± 1.2
20	16.4 ± 8.2	16.5 ± 12.3
30	16.4 ± 8.2	17.5 ± 1.3

3.3 抗腫瘍効果増強 (図 2)

放射線とマイクロカプセル封入カルボプラチン、あるいは非封入カルボプラチンとの間には相乗効果が認められた。最も効果的な抗腫瘍効果を示したのは、放射線照射とマイクロカプセル封入カルボプラチン、あるいは、放射線照射とマイクロカプセル非封入カルボプラチンであった。尚、放射線照射とマイクロカプセル非封入カルボプラチン併用群と、放射線照射とマイクロカプセル封入カルボプラチン併用群との間では、抗腫瘍効果に明らかな有意差は見られず、10 Gy では 5 日、20 Gy では 8 日、30 Gy では 12 日まで、放射線照射とマイクロカプセル非封入カルボプラチン併用群の抗腫瘍効果が、放射線照射とマイクロカプセル封入カルボプラチン併用群の抗腫瘍効果よりも大きかったが、それ以降は、放射線照射とマイクロカプセル封入カ

ルボプラチン併用群の抗腫瘍効果が放射線照射とマイクロカプセル非封入カルボプラチン併用群の抗腫瘍効果よりも大きかった。

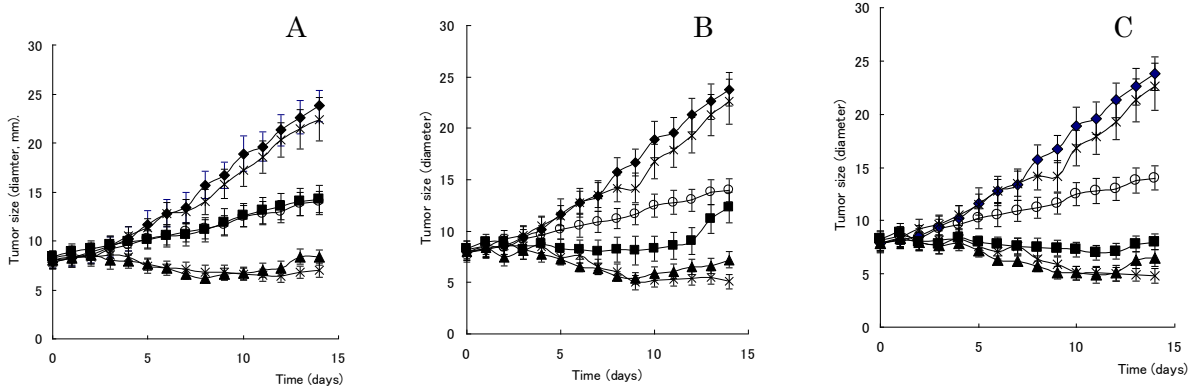


図 2

A: 10 Gy B: 20 Gy C: 30Gy

3.4 副作用軽減 (表 2)

上記 3.3 で示した如く、抗腫瘍効果が同等であったにもかかわらず、カルボプラチンのマイクロカプセル化により副作用の有意な減少が、体毛の毛羽立ち、体重減少、副作用による死亡の3点のいずれにおいても観測された。

特に、副作用によるマウスの死亡数は、マイクロカプセル非封入カルボプラチン-放射線照射併用群において、10 Gyで5、20 Gyで6、30Gyで7であったのに対し、マイクロカプセル非封入カルボプラチン-放射線照射併用群では、いずれの照射線量においても、副作用による死亡は見られなかった。

表 2

		Fuzzy hair	Body weight loss	Dead
Uncapsulated carboplatin only		10	5	2
Encapsulated carboplatin only		2	1	0
Radiation only	Dose (Gy)			
	10	0	0	0
	20	0	0	0
	30	0	0	0
Uncapsulated carboplatin+radiation	Dose (Gy)			
	10	10	5	2
	20	10	6	3
	30	10	7	3
Encapsulated carboplatin+radiation	Dose (Gy)			
	10	4	1	0
	20	4	1	0
	30	5	1	0

4 考察

がん患者の高齢化と共に、抗がん剤治療に対する副作用に耐えられず、治療中止となり、結果的にがん患者の寿命が短くなるケースが多くなって来ている。本研究は、放射線治療と抗がん剤の相乗効果による抗腫瘍効果増強とともに、この様な副作用による治療中止による、がん患者の短命化を防ぐために考案された。今回の実験では、腫瘍内カルボプラチン濃度において、マイクロカプセル非封入型とマイクロカプセル封入型に有意差が無い様に調節したため、抗腫瘍効果に有意差が見られなかったが、大幅な副作用軽減が観測された。この現象は、本研究が、今後のがん患者高齢化に対応する、副作用軽減の一手段となる可能を示唆するものと考えられた。

参考文献

- 1) Harada S, Ehara S, Ishii K, Yamazaki H, et al. *Nucl Instrum Methods B* **260** (1) (2007) 164.
- 2). Harada S, Ehara S, Ishii K, et al.. *Int J PIXE* **17** (2007) 33.

Antitumor effect of radiosensitive microcapsules under subcutaneous injection

S. Harada, S. Ehara, K. Sera¹, K. Ishii², Y. Saitoh³ and J. Ito⁴

Department of Radiology, Iwate Medical University
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
Aramaki, Aoba-ku, Sendai, Miyagi 980-8579, Japan.

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

⁴Japan Radioisotope Association
2-28-45 Honkomagome, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8941, Japan

Abstract

Since 2004, we reported the use of liquid-core microcapsules for anticancer drug targeting. However, we did not test their increasing of antitumor effect and decreasing adverse effect. In this study we observed antitumor effect and adverse effect of subcutaneously injected microcapsules in combination with radiation, in meth-A-fibrosarcoma in VIVO in BALB/c mice.

The capsules were generated by spraying a mixture of 2.0% hyaluronic acid, 2.0% alginate, supplemented with 0.2 mmol carboplatin on mixture of 0.5 mol/L CaCl₂ and FeCl₂. Resulting microcapsules were irradiated by ⁶⁰Co γ -ray at doses ranging from 0.5 to 2.5 Gy. The released carboplatin was detected and quantified by particle-induced X-ray emission.

The antitumor effect was measured by growth delay. The strength of adverse effect was measured basing on fuzzy hair, loss of body weight and death.

There were no significant difference in the concentration of carboplatin between encapsulated carboplatin and uncapsulated one in combination with radiation.

There were no significant differences in antitumor effect between combined therapy of encapsulated carboplatin with radiation and uncapsulated carboplatin with radiation. However, their adverse effect was drastically decreased by encapsulating carboplatin.

Our microcapsules were considered effective in decreasing the adverse effect of carboplatin.

抗ガン薬 cisplatin 誘発腎傷害の種差について

— 特に腎皮質内 Pt 濃度について —

片山理恵子¹、永田沙織¹、河合成直²、山下哲郎²、世良耕一郎³、古濱和久¹

¹岩手大学獣医学課程

020-8550 岩手県盛岡市上田三丁目 18-8

²岩手大学応用生物化学課程

020-8550 岩手県盛岡市上田三丁目 18-8

³岩手医科大学サイクロトンセンター

020-0173 岩手県岩手郡滝沢村滝沢字留が森 348-58

1 はじめに

Cisplatin は白金 (Pt) の錯体で、腫瘍細胞の DNA に付加体(Adduct)を形成して抗がん作用を発揮するが、一方では腎傷害が dose-limiting toxicity となっている^{1,2)}。しかし、この腎傷害に動物種差が存在することは殆ど知られていない。そこで、まず cisplatin をマウス、ラットおよびウサギに静脈内単回投与し、5 日間観察して腎を臨床病理学的に調べた。その結果、腎傷害用量はマウスで 45 mg/m²、ラットで 22.5 mg/m²、ウサギで 96 mg/m² であり、明瞭な動物種差がみられた³⁾。本研究は投与 5 日目における腎皮質 Pt 濃度を particle induced X-ray emission (PIXE) で測定し、腎傷害における動物種差の裏づけを目的に行った。

2 材料および方法

2.1 動物

実験には 6 週齢の雄性 BALB/c 系マウス (実験開始時体重: 19-26 g)、6 週齢の雄性 Fischer 344 系ラット (120-150 g) および 3 カ月齢の雄性 ニュージランドホホワイト (NZW) ウサギ (2.5-3 kg) を用いた。これら動物は日本エスエルシー株式会社 (静岡) より購入し、室温 22±3°C、湿度 55±25%、12 時間明暗サイクル (午前 8 時から午後 8 時) の一定環境下の実験動物室で飼育した。実験期間中、マウスおよびラットは固形飼料 (MEQ、オリエンタル酵母工業株式会社、東京)、ウサギはウサギ・モルモット用固形飼料 (ラボ R グロー、日本農産工業株式会社、神奈川) と水道水を自由に摂取させた。なお、全ての動物の飼育、管理および使用は岩手大学動物実験委員会の許可のもとに“岩手大学動物実験に関する指針”に従って実施した。

2.2 薬物

Cisplatin (シズプラチ注[®]、0.5 mg/mL 含有、ロット No. PE03、マルコ製薬、愛知) は市販のものをそのまま使用した。用

量は予試験を基に、マウスは22.5、45 および 90 mg/m² (n=5)、ラットは11.3、22.5、45 および 90 mg/m² (n=5)、ウサギは12、24、48、96 および 192 mg/m² (n=2) に設定し、静脈内単回投与5日後 (day 5) に麻醉下 (マウスとラットはエーテル、ウサギはキシラジン/ケタミン)、放血安楽殺した。なお、本研究では投与日を day 1 とした。

2.3 腎皮質 Pt 濃度の測定

Day 5 に腎を摘出し、左腎皮質をハサミでくり抜き、0.1 g を秤量した。この試料をガラス筒 (直径: 25 cm、高さ: 6 cm) に入れて-30°Cで凍結させ、一昼夜かけて凍結乾燥し、固形物の重量を測定した。固形物に濃硝酸の1 mL を添加し、ガラス管上に時計皿を乗せ 100°Cのホットプレート上で1-2 時間放置して可溶化・乾固した。その後、1 N 硝酸の2 mL を添加し、その1 mL を測定用サンプルとした。Pt 濃度の測定は岩手医科大学サイクロtronセンター (滝沢、岩手) で particle induced X-ray emission (PIXE) を用いて測定した。なお、本研究では腎内 cisplatin 濃度を Pt 量とし、単位は µg/g 乾燥重量とした。

2.4 統計処理

得られた値は平均 (mean) と標準誤差 (SEM) で表し、一元配置分散分析 (one-way ANOVA) を行い、有意差が認められた場合、Dunnett の多重比較検定を行った。危険率 5% 未満で差異が認められた場合には有意差があると判断した。なお、ウサギは n=2 のため平均値で表した。

3 結果

Day 5 における各動物の腎皮質 Pt 濃度を Fig.1 に示した。マウスおよびラットともほぼ用量相関的に腎皮質 Pt 濃度が増加した。ウサギでは 12-96 mg/m² まではほぼ用量相関的に増加したが、192 mg/m² で 76.2 µg/g と減少傾向を示した。

腎傷害用量における腎皮質 Pt 濃度はマウス (腎傷害用量: 45 mg/m²) で 16.2 µg/g、ラット (22.5 mg/m²) で 26.8 µg/g、ウサギ (96 mg/m²) で 81.7 µg/g であった。

なお、実験期間中、死亡がマウスの 90 mg/m² で 2 例、ラットの 90 mg/m² で全例 (うち 1 例は切迫屠殺)、ウサギでは 192 mg/m² で全例みられたが、ラットの 1 例 (切迫屠殺例) 以外は Pt 測定を行なわなかった。

4 考察

先の実験結果では、cisplatin による腎傷害は臨床病理学的に顕著な血清尿素窒素 (UN) および creatinine の上昇を伴う腎皮質尿細管上皮の変性・壊死と尿細管腔への cell debris の出現で特徴づけられた³⁾。また、腎傷害性はラット > マウス > ウサギの順に強く、明瞭な動物種差が認められた。一方、本実験条件下の腎皮質 Pt 濃度は ウサギ > ラット > マウスの順であり、腎傷害性との間に大きな相違がみられた。一般的にウサギは腎傷害物質 (例えば、水銀や gentamicin) に対しマウスやラットに比べ高感受性であることはよく知られているが、本結果はこれらとも相反していた。このことから、腎臓内に取り込まれた Pt がグルタチオンあるいはシステインと結合し、特定の転換酵素 (たとえば、cysteine-S-conjugate β-lyase) により transformation を受け、活性代謝物 (reactive metabolite) が生成されたと考えるのが妥当と考えられた。文献的にも、reactive metabolite の存在が示唆されている^{1,2)}。したがって、本研究で観察された腎皮質 Pt 濃度の動物種差は reactive metabolite により説明できると考えられた。たとえば、ウサギでは腎皮質 Pt 濃度が高いにもかかわらず、腎での転換酵素活性が低いために reactive metabolite が生成されず、腎傷害が出現し難かったとの仮説が成り立つ。どちらにしても、今後これら仮説を検証するためには、腎の転換酵素とともに reactive metabolite の測定が必要と考えられた。

なお、ウサギの高用量 (92 mg/m²) 投与で腎皮質 Pt 濃度に減少傾向 (76.2 µg/g) がみられたが、これは重篤な腎傷害発現のために腎血流 (GFR や RPF の低下) が低下し、Pt の腎分布が減少したためと推察された。

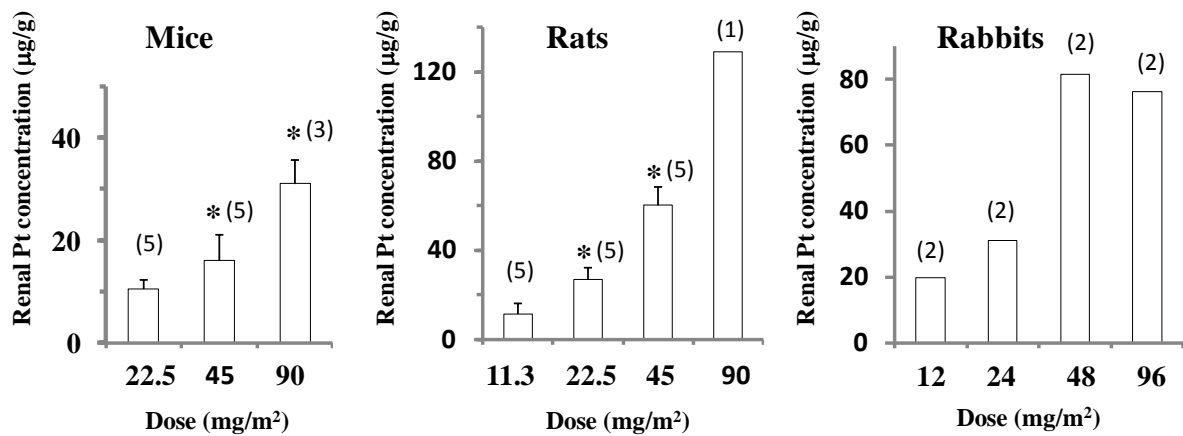


Fig.1 Renal platinum (Pt) concentrations on day 5 in mice, rats and rabbits treated intravenously with a single injection of cisplatin. Renal Pt concentrations were measured by a PIXE method. Two mice and four rats given 90 mg/m² of cisplatin died by day 5. One rat receiving 90 mg/m² of cisplatin was killed on day 4 because of moribund conditions. Parentheses represent the number of animals used. The values show the mean ± SEM. *p<0.05 vs. a lowest dose in each species.

5 結論

Cisplatin 腎傷害の動物種差には腎皮質 Pt 濃度だけでは説明がつかず 腎内での transformation に伴う reactive metabolite の関与を考慮する必要がある。

参考文献

- 1) Hanigan MH, Devarajan P (2003) Cisplatin nephrotoxicity: Molecular mechanisms. *Cancer Ther* 1:47-61.
- 2) Pinzani V, Bressolle F, Haug IJ, Galtier M, Blayac JP (1994) Cisplatin induced renal toxicity and toxicity-modulating strategies: A review. *Cancer Chemother Pharmacol* 35:1-9.
- 3) 片山理恵子、永田沙織、佐藤洋、山下哲郎、河合成直、世良耕一郎、古濱和久 (2009) 白金系抗がん剤 シスプラチンによる腎傷害の動物種差について、第 148 回日本獣医学会年次集会 (鳥取)。

Species differences in renal platinum (Pt) concentrations in mice, rats and rabbits given a single intravenous injection of cisplatin

R.Katayama¹, S.Nagata¹, S.Kawai², T.Yamashita², K.Sera³, K.Furuhama¹

¹Department of Veterinary Medicine, Iwate University
3-18-8 Ueda, Morioka, Iwate 020-8550, Japan

²Department of Agro-Bioscience, Faculty of Agriculture, Iwate University
3-18-8 Ueda, Morioka, Iwate 020-8550, Japan

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

Abstract

To better understand a species difference in cisplatin nephrotoxicity, we measured the renal platinum (Pt) concentrations in mice, rats and rabbits given a bolus injection of cisplatin, a platinum chemotherapeutic agent. The renal Pt concentrations were determined by a particle induced X-ray emission (PIXE) method. The ranking order of renal Pt concentrations was rabbits > rats > mice, unlike that of the nephrotoxic potentials (rats > mice > rabbits). These results demonstrate that the species difference in cisplatin nephrotoxicity may be attributed to a reactive metabolite yielded presumably by a certain enzyme such as cysteine-S-conjugate β -lyase.

生体からの PIXE 試料採取法の改善

藤村 朗、古城慎太郎¹、香木千尋¹、安藤禎紀²、小野寺政雄、野坂洋一郎
高橋千衣子³、後藤祥子³、世良耕一郎⁴

岩手医科大学歯学部口腔解剖学第一講座、¹口腔外科学第一講座、²保存学第二講座
020-8505 岩手県盛岡市中央通 1-3-27

³ (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
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

1 はじめに

過去数年に亘って生体に注入した抗癌剤であるシスプラチンの白金を検出することで、注入した薬剤の生体内における動態を検索してきたが¹⁻⁴⁾、データのばらつきが大きく、結果の解釈に苦慮してきた。その原因を試料作製過程に想定し、硝酸灰化の容器の容量を変更したり、計測方法過程に想定して無標準測定を行ったりしたが、なかなか良好な結果は得られなかった。今回は試料採取そのものに原因を想定したので、その結果について報告する。

2 実験方法

薬剤注入条件および試料調製について

白金製剤（シスプラチン：CDDP）を生理食塩水にて 0.1 mg/ml の濃度に調整し、その 100 μ l をネンブタール麻酔下のウサギ（日本白色種）の右側舌辺縁部に注入した。10 分間マッサージ後に、いままでは所属リンパ節である深頸リンパ節を摘出し、直ちに乾熱乾燥したが、今回は、薬剤注入して 5 分間マッサージ後にエバンスブルーを同部位に注入し、引き続き 5 分間マッサージを加えた。色素が 5 分間のマッサージで深頸リンパ節に到達し、蓄積したことを確認してから、リンパ節の輸入および輸出リンパ管を結紮（図 1）、摘出し、ただちに乾熱乾燥し、硝酸灰化法による試料調製を行った。内部標準としてインジウムを使用した。顎下リンパ節に移行したシスプラチンの成分である白金（Pt）の測定は Particle Induced X-ray Emission (PIXE) を用いて行った。コントロールとしてシスプラチンを様々な濃度（6 種類）で作成した溶液を計測した。



図 1

3 結果

3.1 シスプラチン溶液の白金量の測定

PIXEの白金測定に問題のないことを確認するために、6種類の濃度のシスプラチン溶液から5サンプルを作製し、PIXEにて計測を行った。その結果、A～F群のうち、D群において多少のばらつきは認められたが、過去の計測値に比べるとほとんど問題がなく、その他の群はほとんど一定の値を示していた。(表1)。

表1 6種類の濃度のシスプラチン溶液の白金量測定結果 (単位: $\mu\text{g/g}$)

	A	$\pm\text{SE}$	B	$\pm\text{SE}$	C	$\pm\text{SE}$	D	$\pm\text{SE}$	E	$\pm\text{SE}$	F	$\pm\text{SE}$
1	472.98078	25.7879	31.87166	1.5843	34.64794	1.9408	540.2065	30.5552	29.57725	1.3933	44.7289	2.1348
2	447.52818	24.7692	30.07047	1.4329	39.89268	2.2472	466.27493	23.8298	27.99382	1.2874	43.82869	1.7902
3	470.06272	18.13	29.07088	1.389	36.40935	2.0569	656.76774	32.6036	31.44756	1.4077	45.33654	2.1006
4	473.03681	19.2956	32.24118	1.8712	34.70878	1.7313	462.43892	24.6646	28.83219	1.1435	42.5952	2.0918
5	481.79572	21.8599	34.82796	2.0802	38.86551	2.3155	501.74533	23.7868	30.98172	1.5323	46.2432	2.6794

3.2 ウサギ舌辺縁部に投与したシスプラチンの深頸リンパ節における白金量の測定

ウサギ右側舌辺縁部に0.1 mg/ml濃度のシスプラチンを100 μl 注入し、10分間マッサージを施した後の深頸リンパ節への白金移行量をPIXEを用いて測定した。その結果、シスプラチンを投与した右側深頸リンパ節には $6.6\pm 1.2 \mu\text{g/g}$ の白金が舌から移行していた(表2)。

表2 ウサギ右側深頸リンパ節のPIXE元素分析結果

Standard		ug/g	Standard Error	Peak Count	Error
4911	In $K\alpha$	5,000.00000 \pm	0.00	5,060.0 \pm	71.9
Samples		ug/g	Error	Peak Count	Error
1	:1911 K $K\alpha$	10,930.57989 \pm	376.2305	17,200.9 \pm	156.6
2	:1912 K $K\beta$	12,474.06195 \pm	482.8644	9,942.7 \pm	198.0
3	:2011 Ca $K\alpha$	598.54271 \pm	24.9205	5,253.0 \pm	132.0
6	:2211 Ti $K\alpha$	3.33175 \pm	2.5295	170.1 \pm	129.0
7	:2212 Ti $K\beta$	6.61882 \pm	7.4235	93.2 \pm	104.5
8	:2511 Mn $K\alpha$	0.69191 \pm	0.5789	81.7 \pm	68.3
9	:2611 Fe $K\alpha$	122.92776 \pm	4.2278	15,138.2 \pm	136.3
10	:2711 Co $K\alpha$	0.61206 \pm	0.4116	74.8 \pm	50.3
11	:2612 Fe $K\beta$	118.43997 \pm	5.0768	2,481.6 \pm	67.3
12	:2811 Ni $K\alpha$	0.33296 \pm	0.3687	37.3 \pm	41.3
13	:2911 Cu $K\alpha$	5.28147 \pm	0.3967	507.2 \pm	34.2
14	:3011 Zn $K\alpha$	40.47530 \pm	1.5353	3,459.5 \pm	63.5
15	:2912 Cu $K\beta$	7.88573 \pm	1.4886	118.6 \pm	22.0
16	:3111 Ga $K\alpha$	0.14252 \pm	0.2973	10.1 \pm	21.0
17	:3012 Zn $K\beta$	39.06774 \pm	2.7023	520.9 \pm	31.6
18	:8221 Pb $L\alpha$	0.51448 \pm	0.7175	8.1 \pm	11.3
19	:7821 Pt $L\alpha$	6.55414 \pm	1.2283	138.8 \pm	25.6
20	:7822 Pt $L\beta$	5.84155 \pm	2.0497	43.9 \pm	15.3
21	:7822 Pt $L\beta$	6.61245 \pm	7.1569	49.7 \pm	53.7
22	:3511 Br $K\alpha$	6.75390 \pm	0.6076	205.7 \pm	17.2
23	:8222 Pb $L\beta$	0.13883 \pm	0.7544	1.2 \pm	6.5
24	:3711 Rb $K\alpha$	12.23243 \pm	0.9630	236.4 \pm	16.9
25	:3712 Rb $K\beta$	15.13370 \pm	2.4573	57.4 \pm	9.1
26	:4911 In $K\alpha$	5,000.00000 \pm	180.5270	5,060.0 \pm	71.9

一方、シスプラチンを注入したのとは反対側の左側深頸リンパ節にも白金の検出が見られた。測定結果は、右側の約半分の $3.1 \pm 0.8 \mu\text{g/g}$ であった (表 3)。

表 3 ウサギ左側深頸リンパ節のPIXE 元素分析結果

Standard		In K α		ug/g	Standard Error	Peak Count	Error
4911		In K α		5,000.00000	± 0.00	11,697.0	± 109.4
Samples				ug/g	Error	Peak Count	Error
1	:1911	K	K α	11,567.21360	± 369.5276	42,078.9	± 242.0
2	:1912	K	K β	13,364.51403	± 451.1304	24,625.1	± 303.6
3	:2011	Ca	K α	666.70465	± 23.2251	13,526.1	± 203.4
5	:2012	Ca	K β	15.18968	± 25.9530	133.4	± 227.9
7	:2211	Ti	K α	4.40644	± 1.6477	520.2	± 193.8
8	:2212	Ti	K β	4.44487	± 4.8014	144.7	± 156.2
9	:2411	Cr	K α	2.57294	± 0.4955	649.7	± 123.4
10	:2511	Mn	K α	0.62725	± 0.3726	171.2	± 101.6
11	:2611	Fe	K α	144.22497	± 4.5988	41,057.3	± 222.0
12	:2711	Co	K α	1.02412	± 0.2824	289.5	± 79.3
13	:2612	Fe	K β	140.76016	± 4.9564	6,817.7	± 108.3
14	:2811	Ni	K α	0.18730	± 0.2405	48.5	± 62.2
15	:2911	Cu	K α	6.26743	± 0.3163	1,391.4	± 55.0
16	:3011	Zn	K α	51.47957	± 1.7069	10,171.5	± 107.6
17	:2912	Cu	K β	6.99178	± 0.9779	243.2	± 33.1
18	:3111	Ga	K α	0.08021	± 0.2018	13.1	± 33.0
19	:3012	Zn	K β	49.21729	± 2.2720	1,517.1	± 51.3
20	:8221	Pb	L α	0.07677	± 0.4544	2.8	± 16.6
21	:7822	Pt	L β	4.09092	± 3.9504	71.0	± 68.6
22	:7821	Pt	Lα	3.09126	± 0.7687	151.3	± 37.3
23	:3511	Br	K α	5.14262	± 0.3983	362.1	± 25.6
24	:8222	Pb	L β	0.30384	± 0.6041	6.0	± 12.0
25	:3711	Rb	K α	13.44436	± 0.7534	600.7	± 27.9
26	:3811	Sr	K α	0.03768	± 0.2799	1.4	± 10.0
27	:3712	Rb	K β	8.21078	± 1.4148	71.9	± 12.2
28	:4911	In	K α	5,000.00000	± 163.9340	11,697.0	± 109.4

3.3 深頸リンパ節のその他の元素分析結果

PIXE による計測で、右側の深頸リンパ節に対する左側の深頸リンパ節の主な元素量はカリウムで 106%、カルシウムで 111%、鉄で 117%、銅で 118%であるのに対し、白金では 47%となっていた (図 2)。

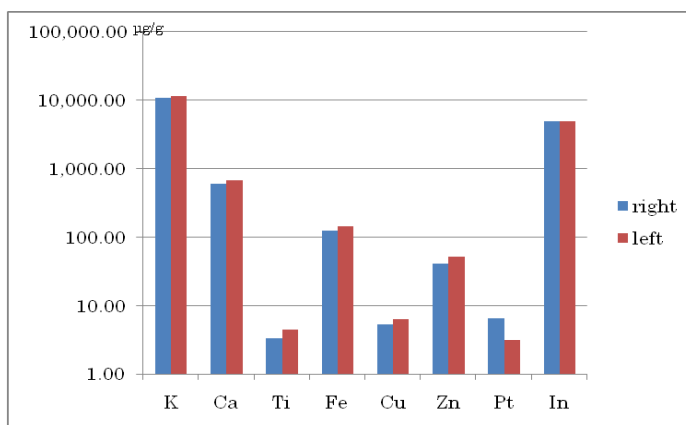


図 2

4 考 察

本研究の目的は、白金製剤であるシスプラチンが注入部位のリンパ管から吸収され、リンパ管を經由して流れ込む深頸リンパ節の摘出および試料調製中に目的とする薬剤が試料から流出しない方法を確認することである。単に輸入リンパ管および輸出リンパ管を切断し、リンパ節を周囲組織から引き剥がして摘出する方法ではリンパ節に対する圧迫で切断された輸入、輸出リンパ管から流出する可能性は非常に高いと考えられる。そこで、本研究では、輸入リンパ管、輸出リンパ管を確認するために薬剤を注入後、色素（エバンスブルー）を薬剤注入部位に注入し、明示した。その結果、輸入および輸出リンパ管は明らかに確認でき、結紮が可能であった。しかも、PIXE による計測の結果は過去に計測した中では最も高い値を検出でき、しかも、左右差がはっきりと確認できた。

PIXE による計測で、右側の深頸リンパ節に対する左側の深頸リンパ節の主な元素量は、全般的に左側の深頸リンパ節において元素が 10~20%高い計測値が出たことの意味は不明であるが、白金量は半分以下であった。このことはシスプラチンを右側舌辺縁部に注入したため、基本的には右側の深頸リンパ節がセンチネルリンパ節であるため、流入量が多いことになる。一方、舌には舌体内における左右のリンパ管の交叉が確認されており^{5,6)}、一部は反対側の深頸リンパ節に流れ込んだものと考えられた。その交叉流量については過去に報告はなく、今後、例数を増やして詳細な検討を加える予定である。

本研究で薬剤投与後の深頸リンパ節摘出時の方法がデータの安定性に関連性が高いことが推測できたが、課題も残っている。結紮する輸入および輸出リンパ管の明示についてである。本研究では例数を増やすことで個体差をネグレクトできるが、そのためにはできるだけ小さな動物（例えばマウス）を使いたいわけであるが、リンパ管が非常に細くなる。そのために輸入および輸出リンパ管の明示は必須であるが、リンパ節の特性から一度リンパ節に蓄積してから輸出リンパ管に流れる⁷⁾。薬剤投与後の摘出までの時間で5分以内の設定が不可能であるため、実験計画の設定に制約ができる可能性がある。また、マイクロサージェリーの手技の取得も実験を行うには必須となる。これについてはバイポーラーピンセットの応用で解決できるかもしれない。また、今回の報告では確認していないが、試料採取後の乾燥時、硝酸灰化で用いる容器での乾燥は行わず、他の容器で行っている。乾燥終了後の容器には液成分の乾燥滓が残っていることを経験する。この乾燥後の液成分の回収も微量元素の場合には重要であると考えており、今後は、硝酸灰化で影響を受けない材質のシート上で乾燥し、シートごと硝酸灰化を行うことも考慮すべきである。このように、未だ解決しなければならない課題が残ってはいるが、本報告で輸入および輸出リンパ管を結紮することでリンパ節内の成分がかなり保持されたことが判明した。今後は例数を増やして流入量の確定を行う予定である。

参考文献

- 1) 薬剤輸送経路としてのリンパ管の利用
藤村 朗、小野寺政雄、野坂洋一郎、斎藤恒夫、太田敏博、世良耕一郎、二ツ川章二
NMCC 共同利用研究成果報文集 11、231-233、 2003
- 2) 薬剤輸送経路としてのリンパ管の検証
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
NMCC 共同利用研究成果報文集 12、51-56、 2004
- 3) 頬粘膜下リンパ管の薬剤吸収能 —バツカル錠を想定して—
藤村 朗、佐藤 大、庄司美樹子、西村智尚、小野寺政雄、伊藤じゅん、世良耕一郎、野坂洋一郎
NMCC 共同利用研究成果報文集 13、71-76、 2005
- 4) 頬粘膜下および口蓋粘膜経由の抗癌剤投与リンパ管の薬剤吸収能
藤村 朗、野坂洋一郎、世良耕一郎
NMCC 共同利用研究成果報文集 14、150-154、 2007

- 5) ゴールデンハムスターの舌におけるリンパ管の走行
陳寛宏、藤村 朗
岩手医科大学歯学雑誌 19(2): 91-102, 1994
- 6) 口腔領域における毛細リンパ管構築
藤村 朗
リンパ学 22(1): 21-26, 1999
- 7) 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
謝 雪峻、藤村 朗
岩手医科大学歯学雑誌 25(3): 273-282, 2000

Improvement in taking out of sample for PIXE from living body

A. Fujimura, S. Kogi¹, C. Kounoki¹, Y. Ando², M. Onodera, Y. Nozaka
C. Takahashi³, S. Goto³ and K. Sera⁴

First Department of Oral Anatomy, ¹First Department of Maxillo-Facial Surgery and
²Department of Periodontology, Iwate Medical University
1-3-27 Chuo-dori, Morioka, Iwate 020-8505, 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

Abstract

We have investigated the dynamics of the anti-tumor agent(Cisplatin) injected in the tongue in the last 6 years. However, the data of these samples varied widely and we consequently worried about the interpretation for these data. We have thought the cause of these varies was the protocol for sample preparations and have attempted the change of the container size or the measurement method. But we could not get the good result. In this experiment, we have improved the extraction method of lymph node. After injection of anti-tumor agent, we knot the afferent and efferent lymph vessels of the lymph node before extraction. We can get the good result thorough using this method. We can get by-product in this experiment. The agent flows into the lymph node of the same side in which we injected the agent, and the half volume of agent flows into the lymph node of the opposite side. From now on, we will increase the sample number and determine the inflow quantity in each side of the deep cervical lymph node.

微小臓器試料に対する無標準定量分析法の開発

世良耕一郎¹、寺崎一典¹、佐々木敏秋¹
後藤祥子²、齋藤義弘²、伊藤じゅん³、二ツ川章二⁴
藤村 朗⁵、野坂洋一郎⁵
野田芳範⁶、西塚 哲⁶、若林 剛⁶

¹ 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

² 日本アイソトープ協会仁科記念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

³ 日本アイソトープ協会学術部研修課、⁴ 管理本部
〒113-8941 東京都文京区本駒込 2-28-45

⁵ 岩手医科大学歯学部口腔解剖学第一講座
〒020-8505 岩手県盛岡市中央通 1-3-27

⁶ 岩手医科大学医学部外科学講座
〒020-8505 盛岡市内丸 19-1

1 はじめに

基礎医学研究においては、ラット・マウスなどの小実験動物から採取される臓器試料の定量分析がしばしば必要となるが、臓器によっては数 mg 以下の微量である場合も多く、これらの微小試料に対しては従来の方法での定量分析は困難である。理由は、適量の内部標準を精度良く秤量し添加することが極めて難しいためである。そのため、内部標準を用いない定量分析法の開発が求められる。我々は全血・血清試料に対する「無標準法」の開発を行い^{1,2)}、微量血液試料の定量分析を可能とした。同法は、マウスから連続採決され分離された 1 μ L 程度の血清試料の定量分析などに広く応用されてきた²⁾。さらにヒトから採取された体毛³⁻⁶⁾・尿⁷⁾などの試料に対する無標準法は、有害元素による広域的環境汚染に伴う人体曝露実態調査の国際的研究に広く利用され、さらに基礎医学においては小実験動物から採取された微小体毛試料に、獣医学分野においては愛玩動物の被毛試料⁸⁾などにも応用されてきた。一方臨床医学においては、生検により採取できる程度の微量の臓器・組織試料の定量分析が可能であれば、診断や治療計画立案のために有用であると期待されるが、数 mg 以下の微小臨床検体試料に対する定量分析法は確立されて

いない。このように、微小臓器試料に対する無調製・無標準法の開発への要求が高まっている。

数年前、筆者のうち数人（藤村、野坂、世良、伊藤）は、抗癌剤 CDDP (Cisplatin) のウサギリンパ節への集積を調べる研究を行い、成果を報告した⁹⁾。口腔内腫瘍は早期にリンパ節転移を行う危険性が高いが、Cisplatin などの抗癌剤は通常静脈投与されるためリンパ管へ殆ど輸送されない。そのためリンパ節転移の治療は放射線療法のみならず、治療効果が低いものであった。藤村らは腫瘍周辺への直接投与により、抗癌剤が所属リンパ節に取り込まれることを予想し、PIXE によりそれを確認した。その結果、静注を行なった場合の致死量の 1/100 の投与量で、十分な治療効果が期待できる抗癌剤量が所属リンパ節やそれに続くリンパ節に輸送されていることが確認された。しかしラット、マウスなどのリンパ節は 1mg 以下と微量であり、定量分析が困難であるため、本研究にはウサギが用いられたが、高価であり扱いが面倒なため、十分な実験データの集積に長期を要した。このような基礎研究にラット・マウスを使用できれば、短期間での研究推進が期待される。

一方臨床研究においては、食道癌などへの抗癌剤の集積を調べる目的で、患者から外科手術や生検で採取された食道・小腸・結腸・リンパ節などの分析が行われた（野田、西塚、若林、世良：未発表）。しかし内部標準法適用可能な 2~30 mg を採取するためには太い針を用いる必要があり、患者への負担が大きい。1 mg 以下の試料に対する定量分析法が確立できれば、患者に大きな負担を強いることのない試料採取が可能であり、投与された抗癌剤の体内分布を調べ、治療効果を推定可能となることが期待される。

本研究においては、小実験動物から採取された各種微小臓器試料に対する定量分析法が、「無標準法」を基礎とし開発され、その精度の確認が行われる。さらにその方法を患者から採取された種々の臓器試料に適用し、内部標準法の結果と比較することにより、その精度・適用範囲の確認が行われる。

2 実験方法

2.1 試料採取及び調製

無標準法の開発を行うための試料として、ラットから採取されたリンパ節、および脾臓試料が選ばれた。実際にそれらの試料の定量分析を行う要求があったこと、及びそれらの臓器が微小であることが理由である。実際他の臓器に関しては、従来の内部標準法の適用が不可能ではない。臨床検体に関しては、リンパ節、甲状腺が無標準法の開発のために用いられた。他の外科手術・生検で採取された臓器；食道・小腸・結腸・胃等の臨床検体は、無標準法の定量精度を確認するために用いられた。これらの臓器に対しては、いずれも乳鉢内で均一化した後、ごく一部（~1 mg）を用いて無標準法のターゲットが作製され、残りの試料は硝酸灰化・内部標準法、あるいは粉末内部標準法により調製され複数のターゲットが製作された。

まず脾臓 7 試料、リンパ節 17 試料が飼育方法の異なる複数のラットから採取された。5~6 個のリンパ節が集められ、メノウ乳鉢内で均一化し一つの試料とされた。一方多くの脾臓試料は、硝酸灰化法や粉末内部標準法が適用可能な重量が単独で確保され、最終的に脾臓 7 試料とリンパ節 3 試料が用いられた。重量は脾臓試料に対して 5.2-31.1 mg、リンパ節に対して 1.7-4.3 mg であった。

これらの試料はメノウ乳鉢内で良く均一化され、4 µm prolene フィルム上に 1 mg 以下の試料が乗せられ、自然乾燥により無標準法のターゲット（1 試料に対して 6 枚）が作製された。残りの試料は 105°C で 10 時間乾燥させた後秤量され、我々により開発された粉末内部標準法¹⁰⁾に基づき、試料の量に応じ 3000-10000 ppm のパラジウムカーボン粉末が加えられさらに均一化され

た。粉末内部標準法には、硝酸灰化により失われるハロゲン族元素を定量できるという長所があり、また通常硝酸灰化法で用いられる内部標準である In の L-X 線が K-K α と重なり、臓器試料に対しては K (カリウム) を指標元素とする予定であったため、硝酸灰化-内部標準法との比較のみでは系統的誤差が生じることも予想されたため、同法による調製が行われた。しかし試料によっては均一性に問題が生じる場合があり、4 枚のターゲットがそれぞれの試料に対して作成さればらつきを評価することとした。このようにして、計 100 枚のターゲットが、粉末内部標準法との比較のために作製された。

さらに硝酸灰化法との比較のため、やはり 5-6 のリンパ節を均一化することにより得られた 3 つのリンパ節試料と、8 つの脾臓試料が別のラット群から集められた。試料を均一化した後 1-2 枚の無標準法のターゲットが作成され、残りの試料は乾燥後秤量され濃硝酸を加えて電子レンジで過熱し完全に溶解し、1000-10000 ppm の In が内部標準として加えられた¹¹⁾。硝酸灰化により調製されたターゲットはバックリング膜状に 5 μ L の試料を滴下し乾燥させることにより 1 試料に対し 3 枚作成され、計 53 枚のターゲットが硝酸灰化法との比較のため準備された。

患者から採取された臨床検体に対しては、甲状腺正常組織、甲状腺腫瘍部、リンパ節正常組織の 3 試料が無標準法確立のために選ばれた。これらはいずれも外科手術により摘出され、内部標準法との比較を行うのに十分な量が確保されていた。試料は凍結乾燥後乳鉢内で均一化され、上記ラット試料と同様に極少量を用い無標準法のターゲットが 6 枚、粉末内部標準法に基づく調製によるターゲットが 6 枚、1 試料に対して作成されたが、甲状腺腫瘍部に対しては若干少量であったため両法それぞれに 5 枚のターゲットが作成された。このように計 34 枚のターゲットに対し測定が行われた。これらに加え、生検により採取されたリンパ節、食道試料、外科手術により摘出された結腸・小腸・胃の試料が調製されたが、いずれも十分な量ではなく、無標準法、粉末内部標準法のそれぞれに対して 1 枚ずつの試料が作製され、無標準法の精度・適用範囲の確認のために測定された。

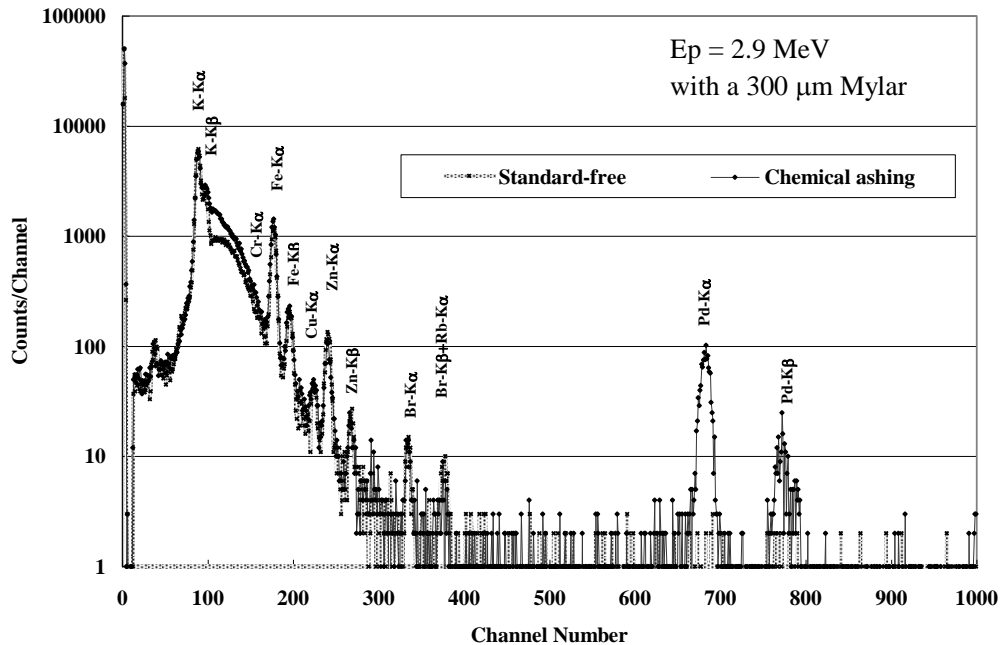


Fig.1 Typical X-ray spectra of a lymph node sample taken from rat. In this figure, the spectra for the two targets prepared for the standard-free method and the powdered-internal-standard method are compared.

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、グラファイト製 コリメータにより 6 cmφ に整形され試料を照射する。試料より発生した X 線は、2 台の Si(Li) 検出器により同時に測定された。1 台は 300 μm マイラー吸収体とともに使用され、K-Kα以上のエネルギーの X 線を測定する。もう 1 台は吸収体を用いずグラファイト製コリメータにより計数率が調整され、Na から K までの軽元素を測定する¹²⁾。この「二検出器同時測定システム」により得られた二つのスペクトルは、解析プログラム SAPIX により解析された^{13,14)}。

図 1 にラットリンパ節試料に対する典型的スペクトルを示す。300 μm Mylar が X 線吸収体として使用され、検出器 1 で測定が行われたものである。図中では無標準法ターゲットのスペクトルと、粉末内部標準法ターゲットのそれとが比較されているが、各 X 線ピークは内部標準の Pd を除いてよく一致しており、良い均一性が得られていることが確認できる。低エネルギー領域における連続 X 線収量の違いは、バックニング膜に対する試料の厚さの差によるものとして説明できる。

2.3 微小臓器試料に対する無標準法

無標準法開発の手順は、以前の報告¹⁻³⁾ とおおよそ同様である。本研究においては、血清・毛髪・ヒゲ試料と同様、300 μm Mylar film が X 線吸収体として用いられた。図 2 に、微小臓器試料（ラットから採取されたリンパ節）に対する無標準法に基づく定量解析の手順をスペクトル上で示す。最初の手順として、バックニングとして用いる 4 μm Prolene film を blank target として得られたバックグラウンドスペクトルが、積算クーロン数での規格化後試料のスペクトルから差し引かれ、試料からの X 線のみからなる raw spectrum が得られる。

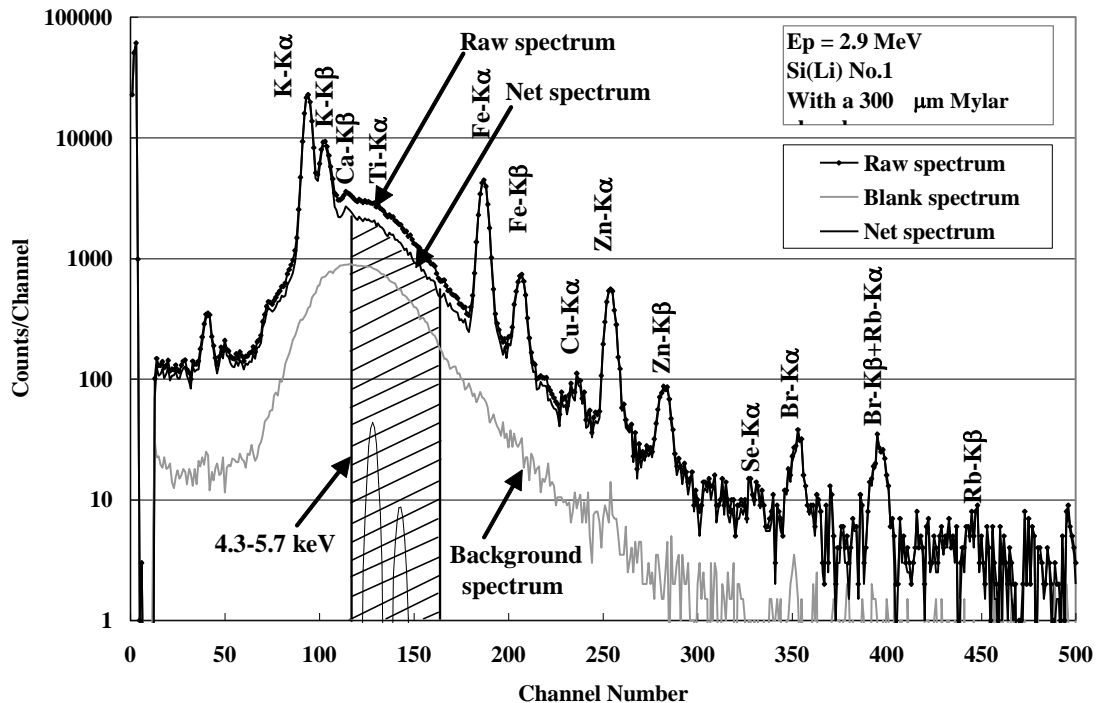


Fig. 2 Procedure of the standard free method for a lymph node sample.

次に、無標準法の基礎となる連続 X 線収量を取るエネルギー領域として最適な領域が検討された。この領域は、主構成元素構成の異なる試料に対して別個に設定する必要がある。領域内に大きなピークが存在すると、その応答関数のうち Gaussian からずれた成分をカウントしてしまうため、そのような領域は避けなければならない。また、低エネルギー側に大きなピークがあり、その pileup が領域内に寄与するケースも避けなければならない。さらに高エネルギー側に巨大なピークが存在する場合、その tail function や escape peak の影響を受ける領域も回避しなければならない。特に脾臓や肝臓試料には、多量の K、Fe が存在するため、それを考慮し多くの臓器試料に共通の最適な領域が選択されなければならない。以上の観点から、臓器試料に対しては 4.3-5.7 keV の領域が採択された。図 3 に、ヒト、ラットの様々な臓器のスペクトルを、このエネルギー領域の連続 X 線収量で規格化し、重ねて示す。ピークを差し引いた連続 X 線の形状はこの領域内ではほぼ一致しており、この領域の連続 X 線収量を用いれば、種々の臓器試料に共通の無標準法を確立可能であることが期待される。指標元素としては、血清・尿試料と同様、K が選ばれた。理由は、K は全ての臓器試料内に安定して高濃度で存在し (3000-30000 ppm)、また臓器内で大きな位置依存性を示さず平均的に存在するためである。

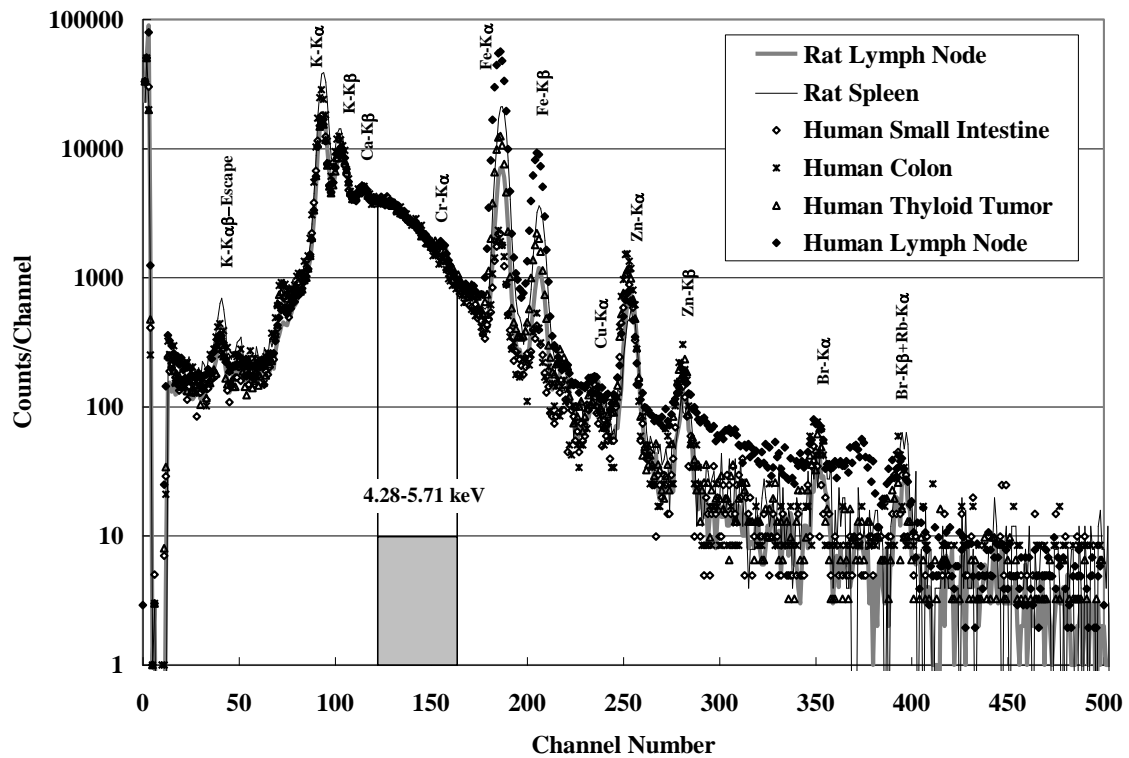


Fig. 3 Spectra for six kinds of organs normalized by the yields of continuous X-rays in the region 4.3-5.7 keV.

次に、Gauss 関数とバックグラウンド関数 (指数関数の組み合わせを基準とし、それに多項式をかけ合わせたもの) を用いてピーク fitting が行なわれ、各ピークの収量 Y_i が求められる。これらのスペクトル解析は我々が開発した PIXE 専用解析コード SAPIX^{13, 14)} を用いて行なわれる。さらに上記領域内の全てのピーク成分が差し引かれ、正味の連続 X 線収量 Y_{CX} が求められるが、これは図 2 の斜線部の面積に相当する。より詳しい無標準法開発の手順は、参考文献^{1, 15)} を参照されたい。

3 結果と議論

3.1 臓器試料無標準法のための変換係数の決定と精度の確認

まず、無標準法により K 濃度を決定するための変換係数の決定を行なう。ラットから採取されたリンパ節 (n=3) および脾臓試料 (n=7) を用いてその決定が行なわれた。基準となる K 濃度の値は、それぞれの試料に対し粉末内部標準法を適用して求められた。リンパ節は小さいため、上述のように多数のラットから集められた 5~6 試料が一つにまとめられ、メノウ乳鉢内で均一化し一つの試料とした。脾臓試料はそれぞれ一つが均一化され一つの試料とされた。一つの均一化した試料から、6 つの無調製・無標準用ターゲットと、4 つの粉末内部標準法により調製されたターゲットが用意され、比較された。図 4 に、変換係数決定の過程を示す。図中、7 つの脾臓、3 つのリンパ節試料に対する両法により求められた K 濃度の結果が、平均値で規格化され比較されている。誤差棒は、複数のターゲットの結果の標準偏差 (SD) を表す。脾臓-3 を除く試料の結果が互いに SD の範囲で一致しており、この規格化係数により変換係数が決定された。図 5 において、その精度が検証されている。図中には、別のラットから同様な手順で採取された 8 つの脾臓試料と 3 つのリンパ節試料中の Fe 濃度が、無調製・無標準法及び硝酸灰化・内部標準法の間で比較されている。前者の値は、図 4 の手順で決定された変換係数を用いて K 濃度を求め、ピーク収量の比と X 線発生断面積、検出効率、吸収体の透過率を考慮して Fe を含む他の全元素の値を求められたものであり、後者は均一化した試料を分け、In = 1000 ppm となるよう In 標準液を加え、圧力容器中で濃硝酸と共に灰化しターゲットを作成¹¹⁾、それを内部標準法で定量したものである。図において、硝酸灰化・内部標準法に対しては 3 つのターゲットの平均値と SD が示され、一方無調製・無標準法はターゲットが 1~2 枚ずつのため、平均値と実験誤差が示されている。図に見られるように、殆どの試料において両法で得られた Fe 濃度は一致しており、ラットから採取されたリンパ節、脾臓などの臓器試料に対しては無調製・無標準法が確立され、その精度が確認されたとと言える。

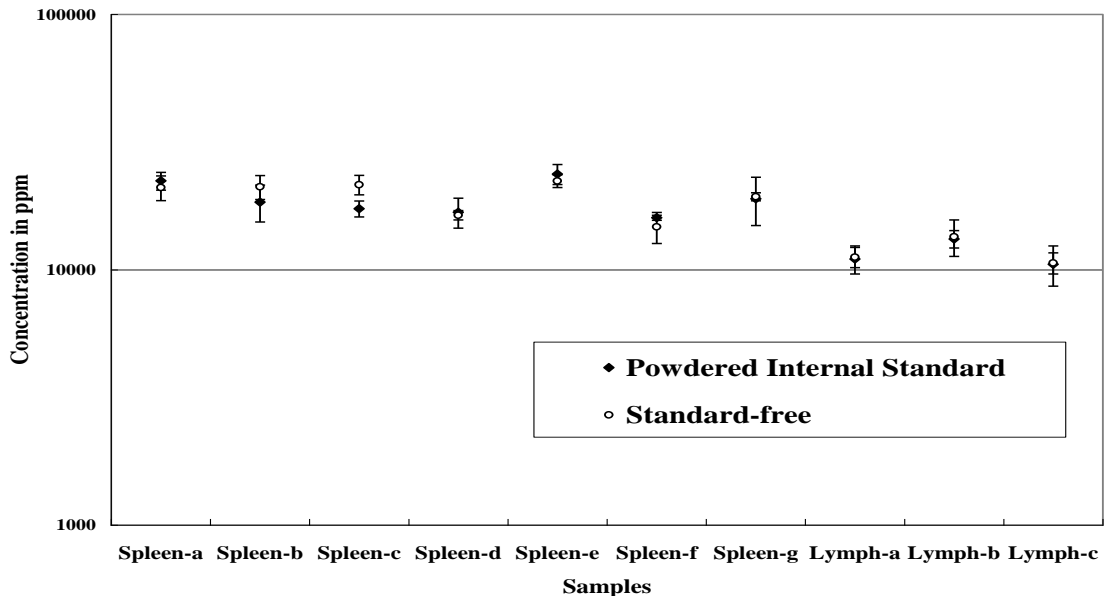


Fig. 4 Comparisons of the results of potassium concentration for seven spleen and three lymph node samples obtained by the standard-free method and by the powdered-internal-standard method, where mean values for six targets for the standard-free method and their standard deviations, and those for four targets for the powdered-standard-free method are shown.

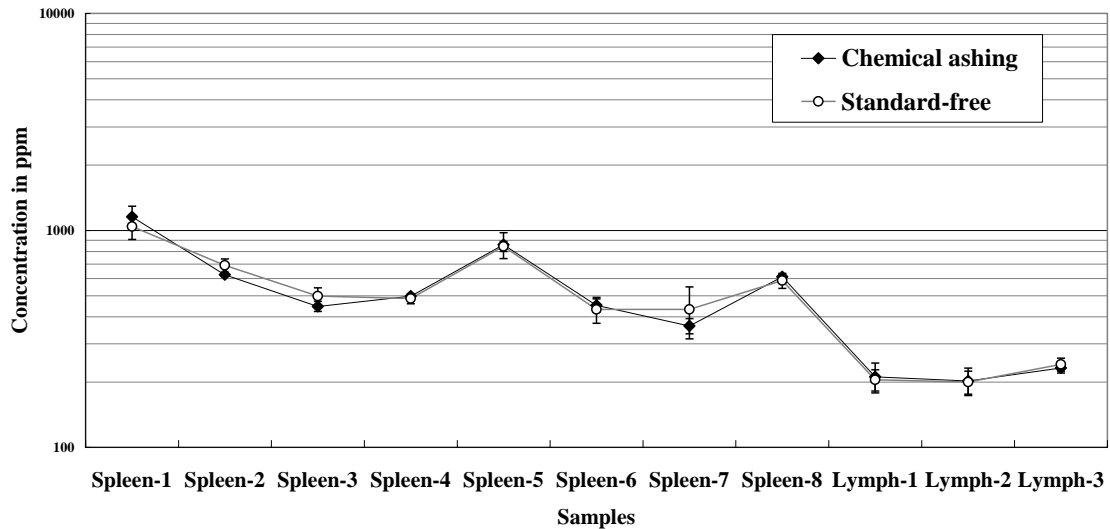


Fig. 5 Comparisons of iron concentration in eight spleen and three lymph node samples obtained by the standard-free method and by the chemical-ashing method combined with the internal-standard method, where mean values for three targets for the chemical-ashing method and their standard deviations, and the experimental errors for the results obtained by the standard-free method are shown in the figure.

実際の患者から採取された臓器試料に対しては、リンパ節と甲状腺の正常組織、そして甲状腺の腫瘍組織が無調製・無標準法の開発の為に選ばれた。これらはいずれも外科手術により摘出され、多くのターゲットを作成するのに十分な量が確保されていた。

特にヒト臓器の場合には、以下の問題が存在する。甲状腺の場合、ヨウ素 (I) の濃度が高いことが知られており、ラット臓器に対して確立された無標準法の適用が困難となる。図 6 に見られるように、図 2 において決定された 4.3~5.7 keV の領域内にヨウ素の複雑な L-X 線が乱立し、連続 X 線収量を求めることが困難となるためである。さらに他の臓器においても同様な問題が存在することが分かった。図 6 に見られるように、食道、胃、リンパ節など他の臓器においても、多量のヨウ素が含まれるケースが存在する。ヨウ素は X 線撮影の造影剤に用いられ、特に癌患者はその診断を受けるケースが多いからである。このような場合、連続 X 線収量をとる領域を I-L X 線の影響を受けない領域に設定し直し、従って変換係数自体も別に定めなければならない。この図から分かるように、5.5~6.1 keV の領域には L-X 線が存在せず、しかも多種の臓器に対し形状が一定しているため、Iodine-rich な試料に対しては、この領域の連続 X 線収量に対する K ピークの収量を求め、K 濃度を求めることとした。これら 3 試料を用い、上記ラット試料と同様な手順で変換係数が求められた。図 7 において、その精度の確認が行なわれている。図には別の患者から採取した正常甲状腺組織と甲状腺腫瘍組織に対し、それぞれ 6 枚のターゲットが無調製・無標準法と硝酸灰化・内部標準法に対して作成され、それぞれの定量法で K 濃度を求めた結果が比較されている。計 24 ターゲットの結果であり、6 枚のターゲットの平均値と標準偏差が示されている。いずれも標準偏差の範囲内で一致しており、Iodine-rich な試料に対しては別に定めた無調製・無標準法により定量分析が可能であることが確認された。

図 8 には、患者から採取されたヨウ素を含まない頸部リンパ節中の K 濃度を示す。図の左端の値が、粉末内部標準法による 6 ターゲット中の K 濃度の平均値とその標準偏差を示し、それ以外の 7 つの値は、それぞれ無調製・無標準法により求められた K 濃度と実験誤差を示す。これらの K 濃度は、ラットリンパ節・脾臓に対して決定された無調製・無標準法をそのまま用い

て求めたものである。多くの結果が実験誤差・標準偏差内で一致しており、このことからラット臓器に対して確立された無標準法が、Iodine-rich な試料を除きヒト臓器に対しても適用可能であることが示唆された。

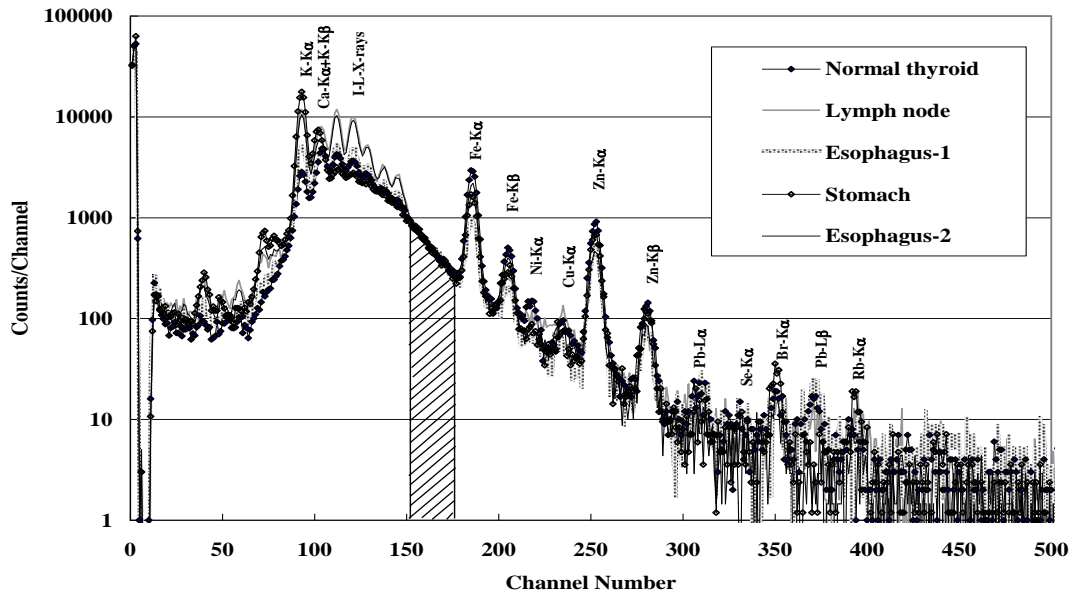


Fig. 6 Comparisons of five spectra of iodine-rich samples (thyroid, lymph node, esophagus and stomach) normalized by the yields of continuous X-rays in the region indicated in the figure.

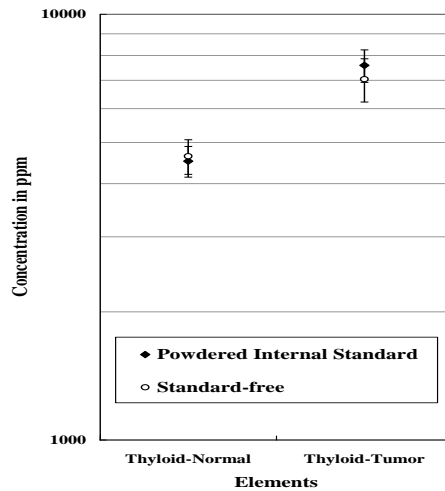


Fig. 7 Potassium concentration for an iodine-rich normal thyroid and a thyroid carcinoma,

本法の他臓器への有効性を確認するため、患者から外科手術及び生検で採取された5種の臓器7試料(リンパ節:1、食道:2、胃:2、小腸:1、結腸:1)に対し、同様の比較を行なった結果を図9に示す。生検で採取されたリンパ節に対しては、その量が2~3 mgと少なく、均一化して多くのターゲットを作成することが困難であったため、2つに分けて一方を無調製・無標準法のターゲットに、他方を硝酸灰化法で処理し1枚のターゲットとして比較を行なった。図に見られるように殆どの臓器でK濃度は実験誤差の範囲で一致し、ラット臓器を用いて開発が行なわれた無調製・無標準法が、生検で採取された微小なものを含め、ヒトの多種の臓器に対して有効であることが確認できた。

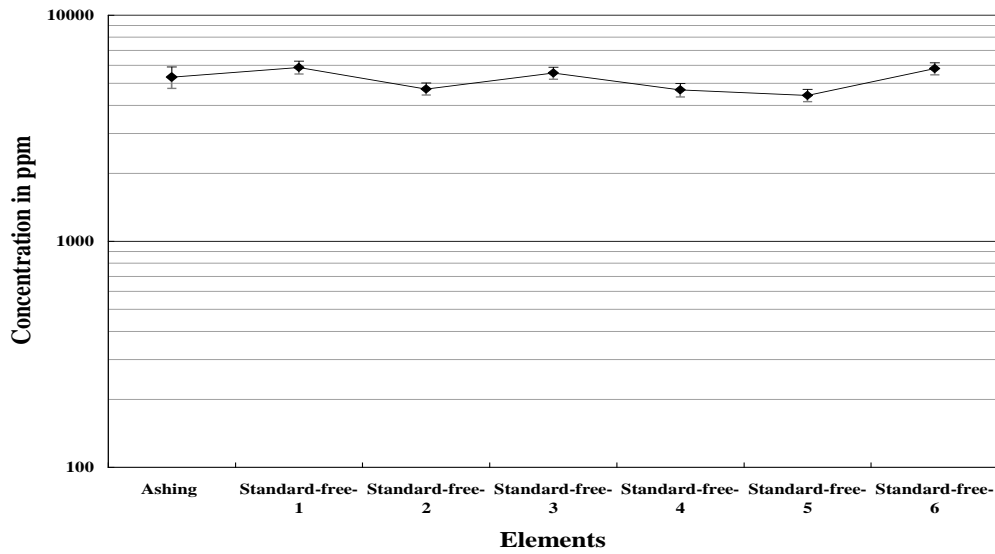


Fig. 8 Potassium concentration in a human cervical lymph node, where results for six targets obtained by the present method are compared with the mean value of potassium concentration and their standard deviation for six targets obtained by the powdered-internal-standard method (left side).

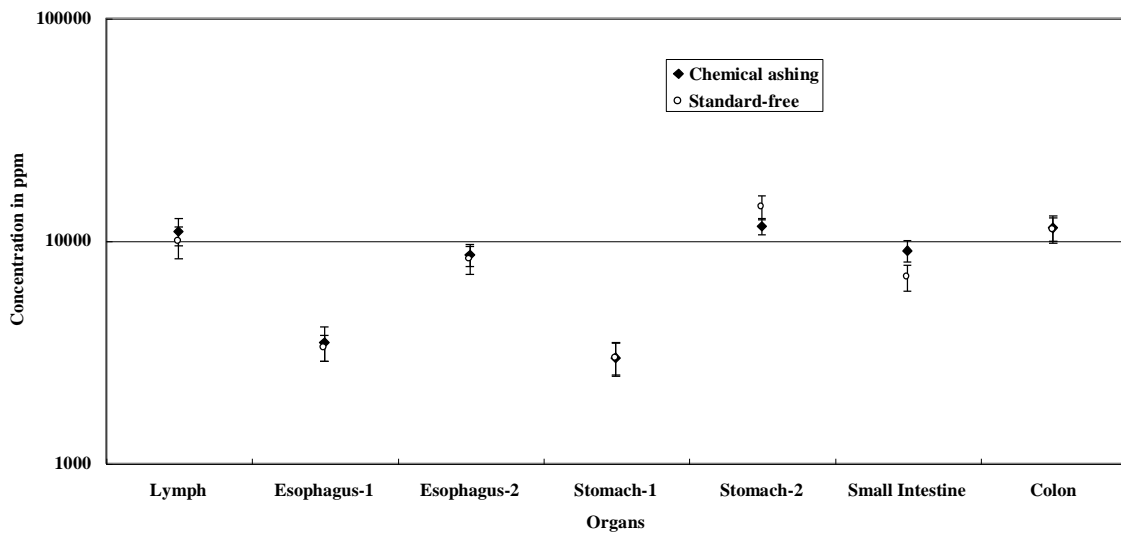


Fig. 9 Potassium concentration for five kinds of seven organs taken from real patients by biopsy or surgical operation. In this figure, results obtained by the present methods are compared with those obtained by the internal-standard method combined with the chemical-ashing method.

3.2 本法の応用と議論

これらの試料の量は、通常 30 mg 以上の量を要求する従来の内部標準法の適用が困難なほど少ない。しかし無調製・無標準法の適用により、それよりはるかに少ない 1 mg 以下の試料の定量分析が可能となる。それに加え、試料調製の手順が著しく簡略化された。従来の方法において

は、微小試料になるほど慎重な手順が必要になり、試料の処理中のコンタミや試料からの元素の漏出の問題が常に存在した。またある程度の大きさの試料に対しては、PIXE で実際に測定を行なう部分は 1 mg 以下であるため、均一化の過程が労力と時間を要求する。それに対して無調製法の場合、微小試料がそのままバックリング膜上で乾燥され、臓器には粘着力があるためコロジオンなどの接着剤も不用であり、試料調製の手間が数百分の一に軽減される。しかも上記不確定要素は一切入る余地がない。1 mg 以下の試料はビームで丸抱えできるため、均一化も不用である。さらに硝酸灰化法により失われるハロゲン族元素の分析も可能となった。

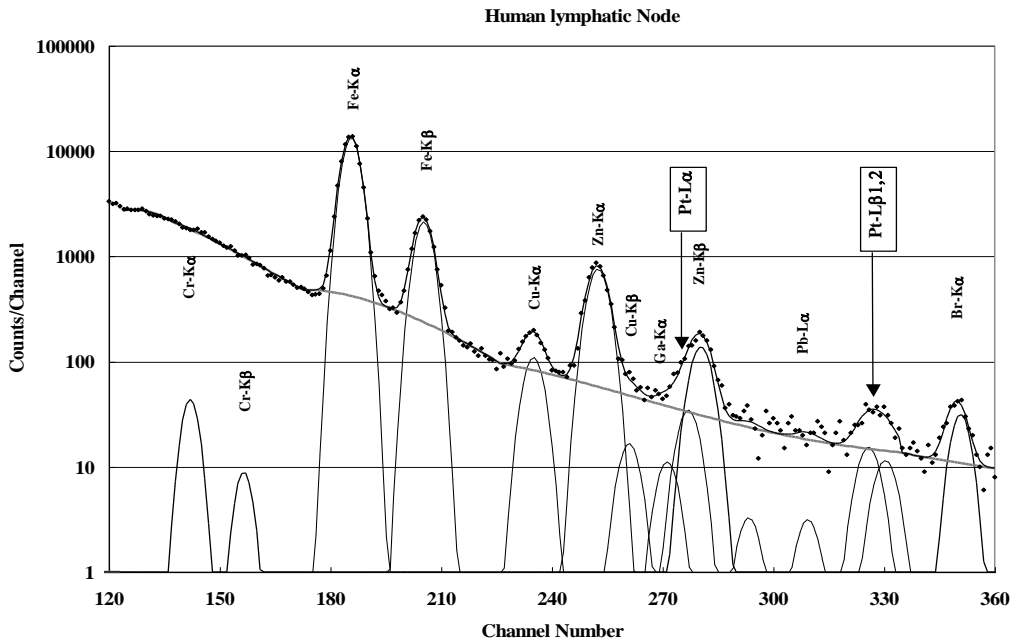


Fig.10 Spectrum of a lymph node sample taken from actual patient who was under the treatment with anticancer agent (Cisplatin). Yields of Pt-L α and L β X-rays are accurately obtained by peak separation.

本法は実験動物の微小臓器の定量分析を可能とし、基礎医学研究に強力なツールとなるばかりではなく、実際の臨床の場における診断にも応用可能である。図 10 に、抗癌剤 CDDP (Cis-platin) 投与中の患者から採取されたリンパ節試料のスペクトルを示す。CDDP は Pt を含むため、PIXE でその濃度を定量分析することにより、投与量に対する各臓器中の配分率が分かる。実際の患者に対しては、生検で採取される試料が微小であるため体内分布を把握することが困難であったが、本法は 1 mg 以下の微小組織試料の定量分析を可能とするため、患者に負担をかけない細い生検針での採取が可能となった。図に見られるように、リンパ節中の Pt が明確に分析可能であり、本法で求めた値は 56 ppm であった。これらの結果は、治療計画を立てる際にも極めて重要な情報となる。PIXE は全元素の同時分析が可能であることから、疾患や治療と各臓器中の元素濃度変化との関係も調べることができる。図 11 には、図 10 にスペクトルを提示したヒトリンパ節中の 24 元素の濃度を示す。これらの元素の多くは必須元素であり、酵素活性などを通じて体内の生理活動に密接な関係のある元素濃度変化を調べることにより、疾患の原因や治療の影響などの議論も可能となる。

一方我々は、クマ、ホンシュウジカなどの野生動物の臓器試料の分析を行ってきた^{16, 17)}。クマ臓器中に多量のカドミウム (Cd) が検出されるなど¹⁶⁾、野生動物の臓器試料は生育環境の変

化を表し環境学的に重要な情報をもたらす。従来、野生動物の調査捕獲を行ない殺した後に臓器試料を採取していたが、本法により生検で僅かな試料を採取することにより、生きたままの測定が可能となる。その場合、マーカを付けた野生動物の経過観察も可能となる。このように、本法は多くの分野の研究において有力なツールとなりうるものであり、多くの分野の研究者に利用されることを願っている。

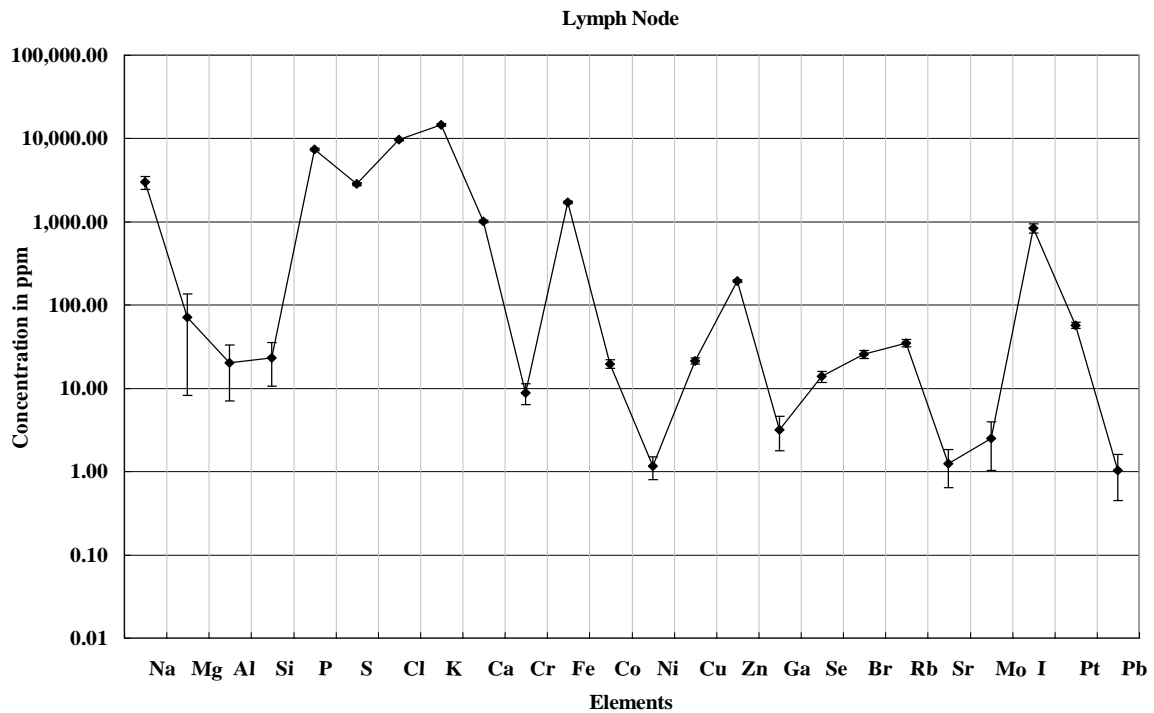


Fig.11 Concentration of 24 elements in the lymph node taken from a patient by biopsy.

謝辞

共同利用の円滑な運営のために日々献身的な働きをしておられる日本アイソトープ協会 NMCC のスタッフの方々、及び岩手医大サイクロtronセンターのスタッフに謝意を表します。また、NMCC の全国共同利用を有効に活用し、優れた成果を上げられている利用者の方々に敬意と謝意を表します。

参考文献

1. K. Sera, S. Futatsugawa, K. Matsuda and Y. Miura, "Standard-free method of quantitative analysis for bio-samples", *Int'l Journal of PIXE* Vol.6, No.3, 4 467-481 (1996)
2. K. Sera, S. Futatsugawa S. Hatakeyama, Y. Saitoh and K. Matsuda "Quantitative Analysis of Bio-medical Samples of Very Small Quantities by the Standard-free Method.", *Int'l Journal of PIXE* Vol. 7-3, 4 (1997) 157-169
3. K. Sera, S. Futatsugawa and K. Matsuda, "Quantitative analysis of untreated bio-samples", *Nucl. Instr. and Meth. B* **150** 226-233 (1999)
4. K. Sera, S. Futatsugawa and S. Muraio, "Quantitative Analysis of Untreated Hair Samples for Monitoring Human Exposure to Heavy Metals.", *Nucl. Instr. and Meth. B* **189** 174-179 (2002)
5. S. Muraio, E. Daisa, K. Sera, V. Maglambayan and S. Futatsugawa, "PIXE measurement of human hairs from a small-scale mining site of the Philippines", *Nucl. Instr. and Meth. B* **189** 168-173 (2002)
6. E. Clemente, K. Sera, S. Futatsugawa and S. Muraio, "PIXE Analysis of Hair Samples from Artisanal Mining Communities in the Acupan Region, Benguet, Philippines. *Nucl. Instr. and Meth.*, B219-220 (2004) 161-165
7. K. Sera, S. Futatsugawa and Y. Miura, "Application of a Standard-free Method to Quantitative Analysis of Urine Samples", *Int'l Journal of PIXE* Vol. **11**, No.3, 4 149-158 (2001)
8. 櫛山巖、伊藤伸彦、加藤澄枝、古川義宣、三谷のり子、二ツ川章二、世良耕一郎、"PIXE法による愛玩動物の被毛と血清中セレンおよび亜鉛濃度の測定", *Radioisotopes*, Vol.43-11, 665-672 (1994)
9. 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"、NMCC共同利用研究成果報文集 第12巻, 51-56 (2005)
10. K. Sera and S. Futatsugawa, "Quantitative Analysis of Powdered Samples Composed of High-Z Elements.", *Int'l Journal of PIXE* Vol. **8**, No.2, 3 182-202 (1998)
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. K. Sera, T. Yanagisawa, H. Tsunoda, S. Futatsugawa, S. Hatakeyama, Y. Saitoh, S. Suzuki and H. Orihara., "Bio-PIXE at the Takizawa facility (Bio-PIXE with a baby cyclotron)", *Int'l Journal of PIXE* Vol. **2**, No.3 325-330 (1992)
13. K. Sera and S. Futatsugawa, "Personal Computer Aided Data Handling and Analysis for PIXE." *Nucl. Instr. and Meth. B* 109/110 (1996) 99-104
14. K. Sera and S. Futatsugawa, "Spectrum Analysis Taking Account of the Tail, Escape Functions and Sub-lines. (SAPIX version 4)" *Int'l Journal of PIXE*, Vol. **10**, No. 3, 4 101-114 (2000)
15. K. Sera, K. J. Itoh, S. Goto, Y. Saitoh, A. Fujimura, Y. Nozaka, Y. Noda, S. Nishizuka and G. Wakabayashi, "Quantitative Analysis of Very Small Quantity of Organs Taken from Patients and Experimental Animals; Standard-free Method for Organ Samples.", *Int'l Journal of PIXE* Vol. **18**, No.3,4 111-122 (2008)
16. I. Satoh, T. Yamashita, K. Sera, S. Futatsugawa, T. Suzuki, H. Kobayashi and S. Tsuda, "Situation of Heavy Elemental Exposure in Wild Deer (Honshujika) Caught at Mt. Goyo in Iwate Prefecture", *Journal of Veterinary Medical Science*, Vol. 58 -8 (2005) 561-563 (in Japanese)
17. I. Satoh, T. Tsujimoto, K. Sera, S. Futatsugawa and S. Tsuda, "Situation of Heavy Elemental Exposure in Wild Bear (Tsukinowaguma) Caught in Iwate Prefecture", *Journal of the Japan Veterinary Medical Association*, Vol. 56-12 (2003) 825-830 (in Japanese)

**Quantitative analysis of very small quantity of organs taken from patients and experimental animals
– Standard-free method for organ samples –**

K. Sera¹, S. Goto², Y. Saitoh², J. Itoh³, S. Futatsugawa⁴, A. Fujimura⁵, Y. Nozaka⁵
Y. Noda⁶, S. Nishizuka⁶, G. Wakabayashi⁶

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

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

³Training Section, Japan Radioisotope Association
2-28-45 Honkomagome, Bunkyo, Tokyo 113-8941, Japan

⁴Department of Administration, Japan Radioisotope Association
2-28-45 Honkomagome, Bunkyo, Tokyo 113-8941, Japan

⁵First Department of Oral Anatomy, School of dentistry, Iwate Medical University
1-3-27 Chuo-dori, Morioka, Iwate 020-8505, Japan

⁶Department of surgery, School of medicine, Iwate Medical University
19-1 Uchimaru, Morioka, Iwate 020-8505, Japan

Abstract

A standard-free method for small lymph node and spleen samples taken from rats, and lymph node, esophagus, colon etc. taken from real patients has been developed in order to take measure to meet increasing demands for quantitative analyses of small amount of organs. It becomes possible to quantitatively analyze organ samples of less than 1 mg collected from small experimental animals and also from patients by biopsy, and accuracy and sensitivity of the method were examined by comparing the results with those obtained by a powdered-internal-standard method and a chemical-ashing method. It is found that the method is quite effective for estimating therapeutic effect of CDDP (Cisplatin) since it allows us to quantitatively evaluate uptake of CDDP into organs by analyzing small quantity of samples taken from actual patients by biopsy. It is expected that the method will become a powerful tool for studies not only in fundamental and clinical medicines but also on practical diagnosis and treatment.

Keywords : PIXE, Organ, Standard-free, Quantitative analysis, Small quantity, Clinical samples, Experimental animals, Anticancer agent

PIXEによる中国産及び国産落花生の元素分析

寺川貴樹¹、石井慶造¹、山崎浩道¹、松山成男¹、菊池洋平¹、川村 悠¹、有川 潤¹

渡辺未樹¹、藤川 誠¹、秋山久樹¹、伊藤友紀¹、世良耕一郎²、佐々木 廣³

¹ 東北大学大学院工学研究科量子エネルギー工学専攻
980-8579 宮城県仙台市青葉区荒巻字青葉 6-6-01-2

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

³ 佐々木太郎記念 PIXE 分析センター (イオン加速器株式会社)
040-0076 北海道函館市浅野町 5-3

1 はじめに

近年、中国において生産・輸出される食品への残留農薬、殺虫剤、あるいは毒物の混入が、世界的に問題となっている。昨年、日本においても中国から輸入された一部の冷凍食品に殺虫剤が混入し、消費者への健康被害が発生した。日本への食料品の輸入は、種類、量ともに急激に増加しているため、問題食料品を現在の検査・管理システムによって流通前段階で完全に止めることは困難であり、消費による健康被害が発生して初めて問題が発覚する場合が少なくない。また、中国では、経済発展が優先され、環境汚染や残留農薬などによる食品の安全性が今後も懸念される。

本研究では、中国からの輸入食料品の安全性に着目し、毒性重元素を含む環境汚染由来元素の食品中への集積について、PIXE 分析により定量評価することを目的とする。分析対象として落花生を選択した。その理由は、日本の市場に流通する大部分の落花生関連食品に中国産落花生が使用されているためである。また、同時に日本産落花生についても PIXE 分析を行い比較対照とする。

2 材料と方法

分析対象とする市販食品落花生として、製品表示記載に基づき、焙煎処理のみされた殻つき落花生を用いた。これにより添加調味料等の元素混入の影響は排除されていると仮定する。落花生の産地は、中国産については不明であるが、国産については千葉県産である。なお、今回の分析では落花生株の違いについて特に考慮はしていない。落花生の種は、図 1

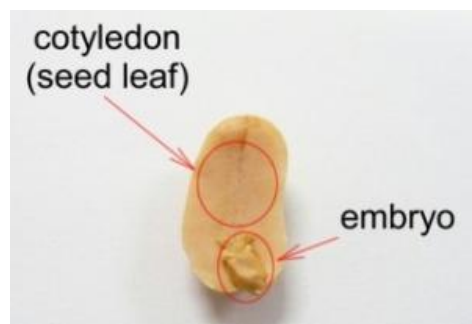


図 1 落花生試料。葉 (leaf) と胚 (embryo) に分離してそれぞれの試料を作成した。

に示すように、主に葉 (leaf) と胚 (embryo) の構造から成るため、成長過程に必要な元素の集積に違いがある可能性を考慮し、分析試料として葉と胚の部分に分けた。また、中国産、国産ともに 1 つの分析試料に 5 個の落花生の種を用いた。試料作成では内部標準元素として 1000 ppm の In を用い、硝酸灰化法¹⁾による試料調製後、試料溶液 100 μ L をバックングフォイルであるマイラーに滴下・乾燥させた試料を PIXE 分析に供した。

PIXE 分析実験は、NMCC 標準の真空用 PIXE 分析システムを用いて行われた。サイクロトロン加速器から得られる 2.9 MeV 陽子ビームを 50~90 nA の強度で試料標的に照射し、X 線スペクトルを低エネルギー及び高エネルギー用の 2 台の検出器により同時測定し、Na 以上の重元素について定量分析した。なお、吸収体として 500 μ m 厚マイラーを使用した。また、バックングフォイル等のバックグラウンドスペクトルも測定・分析し、試料中の元素濃度を正確に評価できるように配慮した。

3 結果および議論

現時点で得ている元素分析結果は、中国産、国産ともにそれぞれ 1 製品についてのみであるが、今回の NMCC における分析前に試験的に実施した結果も得ており、BioPIXE 6 において発表している²⁾。図 2 に典型的な高エネルギー側の X 線エネルギースペクトルを示す。また、図 3 に Mg、P、S、K、Ca 等の試料中主要含有元素の他に 1 ppm 程度以上の微量元素についてそれらの濃度を示す。

As、Cd、Hg、Pb 等の毒性元素について着目すると、日本の食品衛生法の基準値では、食品、添加物、残留農薬、飼料中など対象、化学状態にもよっても異なるが、As、Cd、Pb で 1~4 ppm 以下、Hg で総水銀として 0.4 ppm 以下と定められている。これらを基準と分析結果を比較すると、今回用いた試料については、中国産、日本産ともにこれらの毒性元素濃度は検出限界 (Cd は 5 ppm 程度、それ以外は 0.5~1 ppm 程度) 以下であり、食品としての問題はなかった。

その他の元素について濃度傾向は、Ni、Sr を除き中国産と日本産で特段に大きな違いはなく、Mn 以上の重元素において、中国産の方がやや高濃度であった。ところが、Ni と Sr の濃度は、中国産が国産に比べて 10 倍以上大きく、土壤中の元素濃度に由来すると思われる、土壤汚染の可能性も示唆される。

一方、落花生の葉と胚における元素濃度の比較では、中国産、日本産ともに Mn 以上の重元素は、葉よりも胚においてやや高濃度の傾向がみられ、生育過程で必要な微量元素が集積されているものと示唆される。

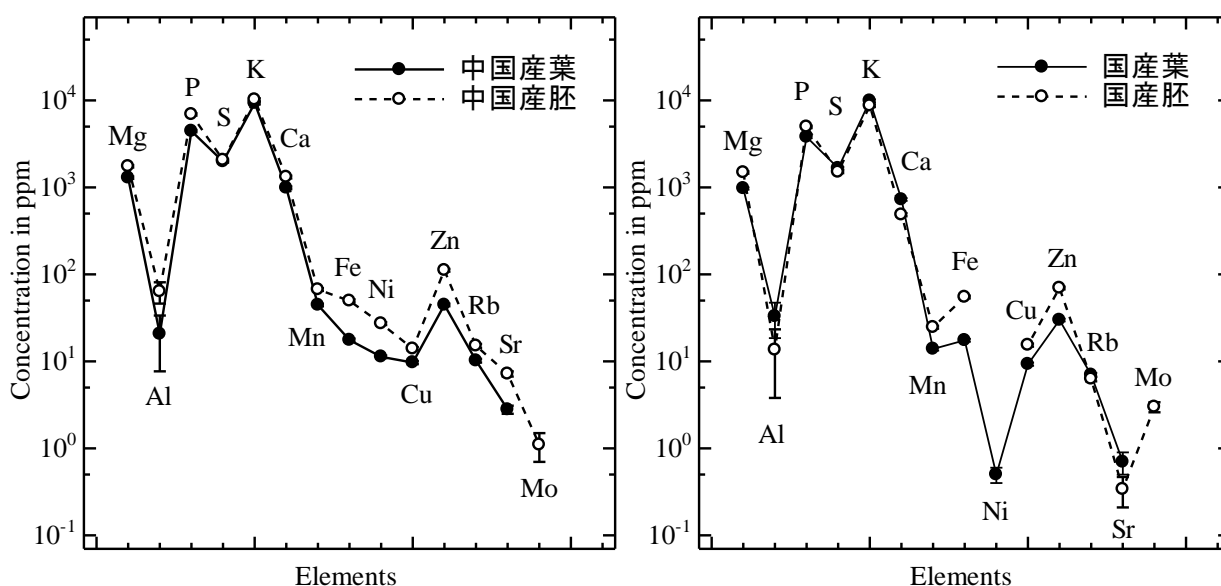


図 3 中国産及び国産落花生の主要な元素濃度

4 まとめ

中国産および国産落花生について、PIXE分析より得られた元素濃度を比較した結果、主要な成分元素については特段に大きな違いはなく同様の濃度傾向であった。毒性元素についても検出限界以下であった。NiとSrの濃度は、中国産が国産に比べて10倍以上大きく、土壌汚染の可能性も示唆される。一方、落花生の葉と胚における元素濃度の比較では、中国産、日本産ともにMn以上の重元素は、葉よりも胚においてやや高濃度の傾向がみられた。

参考文献

- 1) S. Futatsugawa, S. Hatakeyama, Y. Saitoh, and K. Sera, International Journal of PIXE, Vol. 3-4, (1993) 319.
- 2) A. Terakawa, K. Ishii, J. Arikawa, Y. Kawamura, M. Fujikawa, S. Matsuyama, Y. Takahashi, H. Yamazaki, H. Sasaki, K. Maeda, and K. Sera, Proceedings of the Sixth International Symposium on BioPIXE, June 16-20, 2008, EMSL, Richland, Washington, USA, International Journal of PIXE, Vol. 18, (2008) 253.

Elemental analysis of Chinese and Japanese peanuts by PIXE

A. Terakawa¹, K. Ishii¹, H. Yamazaki¹, S. Matsuyama¹, Y. Kikuchi¹, Y. Kawamura¹
J. Arikawa¹, M. Watanabe¹, M. Fujikawa¹, H. Akiyama¹, Y. Ito¹
K.Sera² and H. Sasaki³

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

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

³Sasaki Taro Memorial PIXE center
5-3 Asano-chou, Hakodate, Hokkaido 040-0076, Japan

Abstract

Elemental concentration in Chinese peanuts was analyzed and compared with that in Japanese peanuts by means of a PIXE (Particle Induced X-ray Emission) technique with an internal standard method to investigate toxic elements in them because frequent detection of contamination of toxic elements or excessive agrochemical residues in food imported from China has posed serious health concerns to Japanese people. The authors prepared the samples by separating the peanut seed into two cotyledons (seed leaves) and an embryo. The present result showed that there were not significant differences in concentration for major elements between Chinese and Japanese peanuts, while higher concentration of Ni and Sr was observed in the Chinese peanut sample. It is suggested that the high concentration of these elements is related to pollution of the soil.

土壌中に負荷されたカドミウム等のダイズにおける吸収・移行過程の解明

(3) 葉身中カドミウム量と主要元素組成との関係

箭田 (蕪木) 佐衣子¹、荒尾知人²、川崎 晃²、織田久男³、世良耕一郎⁴

¹ 独立行政法人農業環境技術研究所・日本学術振興会特別研究員 RPD

305-8604 茨城県つくば市観音台 3-1-3

² 独立行政法人農業環境技術研究所

305-8604 茨城県つくば市観音台 3-1-3

³ 独立行政法人農業環境技術研究所 (現エーザイ生科研 (株))

305-8604 茨城県つくば市観音台 3-1-3

⁴ 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

ダイズ製品は、わが国において主要な食品であり消費量が多い。しかし、わが国のダイズは全体の17.3%がカドミウム (Cd) 濃度 0.2 mg kg^{-1} を超えており¹⁾、コメと比較して Cd 濃度が高い。また、ダイズはわが国の主要な水田転換作物であるが、畑地化後の初年度に作付けしたダイズ子実中の Cd 濃度が高くなる現象が問題となっている²⁾。著者らは、ダイズ中 Cd の主たる給源として前作の残根を含む刈株 (刈株) を想定し、刈株に由来する Cd の吸収蓄積を調べた。その結果、無添加区と比較して刈株添加区のダイズ子実中 Cd 濃度は 1.8 倍高くなった。しかし、Cd 以外の主要元素濃度には差が認められず、刈株添加によりダイズ子実において Cd が特異的に蓄積する可能性が示された。本研究は、PIXE 分析法によりダイズ葉身中の元素濃度を調べて、刈株施用によるダイズ葉身への主要元素の移行吸収への影響を明らかにする。

2 研究計画および方法

(独) 農業環境技術研究所においてダイズの栽培試験と ICP-MS による Cd 分析を実施した。ダイズ葉身中の主要元素分析は日本アイソトープ協会仁科記念サイクロトロンセンターの PIXE で行った。灰色低地土 3.7 kg (生土) に刈株 (Cd 濃度 0.6 mg kg^{-1}) を 40 g (風乾重量) 添加と無添加処理を行い、 $a/5000$ ポットに充填した。各区とも、ダイズ (エンレイ) を一本立ちで成熟期まで 3 ポット栽培した。ダイズの収穫後には、葉、茎、葉柄、根、莢、子実の 5 部位に分けて粉末試料とした。このうち、ダイズ葉身 0.5 g を硝酸分解して水で正確に 50 mL とした後、 4.5 mL を分取して内部標準元素として 0.1 mL の In 標準液 (1000 mg L^{-1}) を添加した。この溶液をマイラーフィルムの中心部に $10 \mu\text{L}$ 滴下して自然乾燥させた後、PIXE 分析に供試した。なお、標準試料として、NIST SRM-1571 オーチャードリーブスを、前述

と同様の方法で前処理を行い PIXE 分析に供試した。測定は、各試料とも 6 連で行った。ダイズ葉身中の Cd 濃度は、四重極型 ICP-MS (SPQ8000A エスアイアイナノテクノロジー) により測定した。

3 結果

表 1 に収穫期のダイズ乾燥重量 (子実、莢、茎、葉、葉柄、根) の平均値と標準偏差を示した。ダイズ 1 個体あたりの乾燥重量は刈株添加区が 67g、無添加区が 74g であり、両者はほぼ等しく成長した (表 1)。

①Cd 濃度 ; Cd は PIXE によりピークを検出できなかったため、ICP-MS により測定した。葉身中 Cd 濃度は、無添加区は 0.08mg kg^{-1} であり、刈株添加区は 0.14mg kg^{-1} であり、無添加区に比較して刈株添加区の Cd 濃度が約 1.8 倍高かった (表 2)。これまでの実験で明らかにしたダイズ子実中 Cd 濃度 (表 2) と類似の傾向であり、刈株施用による Cd 移行吸収の増加は、子実だけでなく葉身でも認められることが明らかになった。

②主要元素濃度 ; PIXE によるダイズ葉身中の元素濃度を示した (図 1)。NMCC の PIXE 分析では、Na から U までの 82 元素が検出可能であるが、スペクトル解析誤差が 30%未満であり、全試料から検出された元素は Mg、Si、P、S、Cl、K、Ca、Mn、Fe、Cu、Zn、Br、Sr の 13 元素であった。葉身中のこれらの元素濃度について、刈株添加区と無添加区の間で有意な差は認められなかった。

③PIXE 分析精度 ; 標準試料 (NIST SRM-1571 オーチャードリーブス) の PIXE による測定結果と保証値を図 2 に示した。PIXE によりダイズ葉身中から検出された 13 元素についてみると、Cu は PIXE による測定値と保証 (認証) 値と一致したが、その他の元素は低い値であった。標準試料中の K、Ca、Mn、Fe、Sr の PIXE 測定値は、保証値の 10~20%程度低い値であった。PIXE による Mg、P、S 測定値は保証値より 36~76%程度低く、Si、Cl については十分な感度が得られなかった。Br については、酸分解の過程で揮散などによる損失があったと思われる。PIXE により試料中の元素濃度を相対的に比較できるが、定量性をより高めるためには、他の分析法とのクロスチェックを行い PIXE 分析値を補正する必要がある。

4 要約

ダイズにおける Cd の移行・吸収現象を解明することを目的として、PIXE (Particle Induced X-ray Emission) あるいは ICP-MS (Inductively Coupled Plasma Mass Spectroscopy) によりイネ刈株 (刈株) 添加あるいは無添加で土壌ポット栽培したダイズ葉身中の元素濃度を調べた。

PIXE により Na から U までの 82 元素を分析した結果、全試料より検出されたダイズ葉実中の Na、Mg、Si、P、S、Cl、K、Ca、Mn、Fe、Cu、Zn、Br、Sr の 13 元素の濃度を明らかにした。Cd は PIXE の検出下限値以下であり、ICP-MS により測定した。刈株添加区のダイズ葉身中の Cd 濃度は 0.14mg kg^{-1} であった。ダイズ葉身中の Cd 濃度は無添加区に比べて刈株添加区で約 1.8 倍高い値であったが、主要元素濃度では有意な差は認められなかった。

謝辞

本研究を遂行するにあたり、研究助成を賜りました日本学術振興会に心から感謝申し上げます。

参考文献

- 1) 農林水産省 : 農産物等に含まれる Cd の実態調査結果の提出について, 平成 14 年 12 月 2 日プレスリリース (2002)
- 2) 伊藤純雄 : 転換畑ダイズのカドミウム濃度を下げる工夫, 農業技術, 59, 11-15 (2004)

表1 収穫期のダイズの生育状況

単位：g 株⁻¹

	部位別の乾燥重量*						
	子実	莢	茎	葉	葉柄	根	合計
刈株添加区	21.5 ± 3.7	12.1 ± 2.1	11.2 ± 2.1	13.6 ± 0.6	6.5 ± 0.6	1.5 ± 0.1	66.5 ± 7.5
無添加区	22.7 ± 4.6	12.0 ± 1.4	14.9 ± 2.0	14.8 ± 1.5	7.3 ± 0.8	2.1 ± 0.3	73.8 ± 16.5

*データは3個体の平均値と標準偏差 (n=3)

表2 刈株添加がダイズ葉身，子実および根の Cd 濃度に及ぼす影響

	平均 Cd 濃度* (mg kg ⁻¹)		添加/無添加
	無添加区	刈株添加区	
葉身	0.08	0.14	1.8
子実	0.08	0.15	1.8
根	0.19	0.13	0.7

* ICP-MS による値 (n=3)。葉身 (無添加区) のみ n=1。

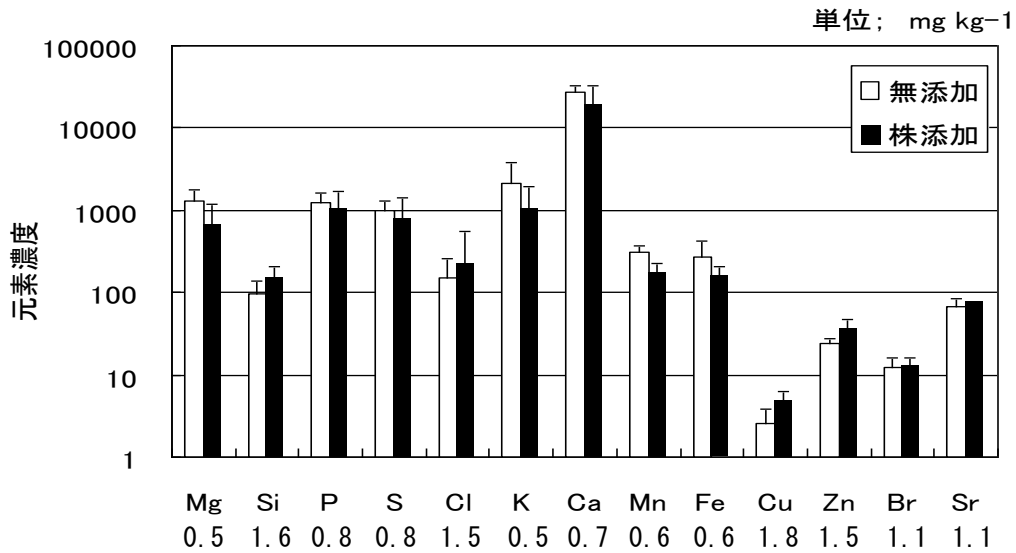


図1 刈株添加がダイズ葉身の元素濃度に及ぼす影響 (n=3)

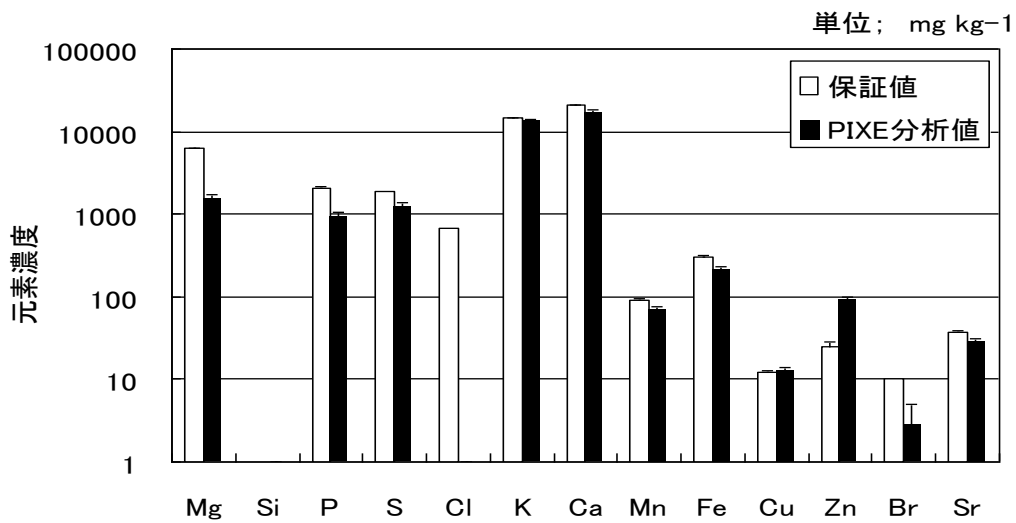


図2 PIXEによるオーチャードリーブスの分析

Uptake and transport of Cadmium in soybean plants

(3) The relationship between Cd and elemental concentrations in leaves

S. Yada¹, T. Arao², A. Kawasaki², H. Oda³ and K. Sera⁴

¹Research Fellow of the Japan Society for the Promotion of Science
National Institute for Agro-Environmental Sciences
3-1-3 Kannondai, Tsukuba, Ibaraki 305-8604, Japan

²National Institute for Agro-Environmental Sciences
3-1-3 Kannondai, Tsukuba, Ibaraki 305-8604, Japan

³National Institute for Agro-Environmental Sciences
(Present address: Eisai Seikaken Co., Ltd.
312-4 Toriko, Nishihara, Aso, Kumamoto 861-2401, Japan)

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

Abstract

A pot (1/5,000a) soil culture experiment with soybean plant (*Glycine max*) was performed. Soybean plants were sampled at the full maturity (R8) growth stage, and concentrations of elements in leaves were determined by PIXE. The concentration of Cd in soybean plant was determined by ICP-MS.

The analysis result of 82 elements from Na to U by PIXE, Mg, Si, P, S, Cl, K, Ca, Mn, Fe, Cu, Zn, Br, Sr were determined. The concentrations of these elements in soybean leaves did not affected by the addition of rice stubble (40 g pot⁻¹). The addition of rice stubble resulted in the specifically increase in the Cd concentrations in soybean leaves.

ヒ素と鉄で処理した水耕で栽培したオオムギの根または根のアポプラストのリン、鉄、ヒ素の定量分析

Molla Shaibur Rahman、河合成直、世良耕一郎*

岩手大学連合農学研究科
020-8550 岩手県盛岡市上田 3-18-8

*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

少量のヒ素が植物の生育や栄養的価値を損ない、植物は地上部や根の生理的応答を変えてヒ素過剰に対応することが知られている。また、過剰に対する根の反応の一つは赤い根の形成であり、根の表面の赤色化はヒ素処理条件下での鉄プラークによる。鉄プラークは根圏への根による酸素やオキシダントの放出の結果であり^{1,2)}、一般にイネのような水生植物の根に形成される。鉄プラークは結晶性鉄の混合物よりなり^{2,3)}、水酸化鉄または酸化鉄の皮膜である。

植物生理において、ヒ素と鉄との関係もよく知られている。たとえば、水酸化（酸化）鉄は土壌又は溶液のヒ酸への高い親和性を持ち^{4,5,6)}、ヒ酸は Fe^{3+} とイネの根の表面で反応し不溶性のヒ酸鉄を作る⁷⁾。イネの根の鉄プラークのヒ素濃度はヒ酸処理した条件で生育するイネの根のほうが亜ヒ酸で処理した条件下のそれと比べて有意に高い。よって、イネの根は亜ヒ酸よりヒ酸に対し高い親和性を持つことが示唆されている⁸⁾。また、プラークの形成は生育培地のリン酸濃度に支配され⁹⁾、リン欠条件ではヒ酸処理されたイネにおいてプラークの形成は一般に高い⁹⁾。たとえば、 $6.7 \mu\text{M}$ のヒ酸で処理されたイネはリン欠培地で24時間後に赤い根となる⁹⁾。ヒ素の種類、植物の種類、培地の組成によって、リンは植物によるヒ素の吸収を増減させる^{10,11)}ことも知られている。また、リンは化学的にヒ素と似ているので相互に競合し、ヒ酸はリンのトランスポーターによって吸収され¹²⁾、亜ヒ酸はケイ素のトランスポーター¹³⁾とアクアポリン¹⁴⁾により吸収される。湛水条件下、ヒ酸と亜ヒ酸は土壌溶液中に共存する^{15,16)}。

また、アポプラストは植物の細胞膜と根圏の間にあり土壌溶液と接している¹⁷⁾。アポプラストが根の膜の外側であり、また、細胞壁の内側で、元素が自由に動ける空間であると考えられている。Zribiら¹⁸⁾は水耕栽培されたエンドウの根の鉄の約75%が細胞の外にあり25%が根の中にあると報告した。これらの知見が、私達を Bienfait らの方法¹⁹⁾によりアポプラストの鉄を抽出し生理的研究を行うことへ導いた。さらに、私たちは鉄がアポプラストでヒ素と沈殿しているかもしれないと考え、また、鉄はアポプラストでリンと共に沈殿するか、根の膜のリン酸基に吸着しているかもしれないと考えた。これらに考えを明らかにするためにアポプラストのリン、鉄、ヒ素の関係が研究される必要がある。

以上の知見を踏まえ、この実験の主な目的は培地のリンを減少させた時の赤色の鉄プラークの外観を観察し、亜ヒ酸で処理したオオムギ根のアポプラストの鉄プラークの元素含量を測定することであった。

2 実験方法

2.1 植物種と品種

六条オオムギ品種ミノリムギ(*Hordeum vulgare* L. cv. Minorimugi)を実験植物とし、以下の手順で岩手大学の温室で水耕栽培した。

2.2 種子殺菌と発芽

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

2.3 播種と育苗

熱湯消毒した 15 L のプラスチック容器に 1.0 mM CaCl₂ 溶液を入れ、その中に熱湯消毒済みのポリエチレン製ネットを水面に合わせて固定した。発芽した種子を並べ、土壌条件再現のため 3 日間アルミを覆って、生長を待った。播種から 7 日後、1/5 濃度の Hoagland & Arnon No.2 培地 (以降、+Fe 培地と呼ぶ。参照: 表 1)へ、播種したネットごと移し、植物が 1.2 葉期になるまで育苗した。この培地の pH はデジタル pH メーター (HORIBA カスタニー ACT pH メーター D-24) で毎日測定し、pH の調整は、1.0 M HCl または 1.0 M NaOH を加えて、pH を 5.5 に調節した。

表 1 . Hoagland & Arnon No2 培地 (+Fe) の組成

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

2.4 移植

幼植物が 1.2 葉期になったとき、幼植物 3 個体を一株としてスポンジで包み、8 株を 1/2 濃度の +Fe 培地 (pH 5.5)が入ったポリバケツ (5L) に移植し、常時エアレーションポンプで通気した。植物は 10 μM As + 500 μM P、10 μM As + 250 μM P、10 μM As + 50 μM P、10 μM As + 0 μM P、0 μM As + 0 μM P で 16 日間栽培した。本実験は 10 μM のヒ素を含む培地で実験を行った。なぜなら、予備実験において 10 μM のヒ素はオオムギにおいて 10 μM の Fe³⁺-EDTA を含む培地において激しいヒ素害の症状を示さなかったからである。



図 1. Bienfait らの方法¹⁹⁾によるオオムギ根のアポプラストに存在するアポプラスト鉄の可溶化
Step 1 : 脱イオン水による根の洗浄 Step 2 : 0.5 mM CaSO₄による 10 分間の洗浄

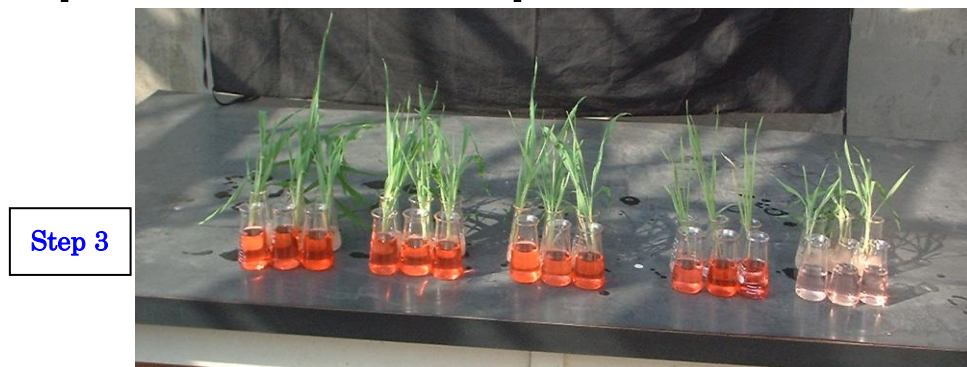


図 2. Bienfait らの方法¹⁹⁾によるオオムギ根のアポプラストに存在するアポプラスト鉄の可溶化
Step 3 : アポプラスト鉄は MES 緩衝液中で Na₂S₂O₄ の添加により可溶化された。

2.5 アポプラスト鉄の可溶化と試料溶液調製

アポプラストに存在するアポプラスト鉄とその他の元素は Bienfait らの方法¹⁹⁾により可溶化した。その方法では、pH 5.5 の MES 緩衝液 (10 mM MES, 0.5 mM Ca(NO₃)₂, 1.5 mM 2,2' Bipyridyl) が用いられた。最初に、植物は脱塩水で洗われた(図 1、Step 1)。洗浄後、根は 100 ml の 0.5 mM CaSO₄ に移され(図 1、Step 2)、さらに 100 ml の上記 MES 緩衝液の中に 5 分間おかれた (図 2、Step 3)。その後、5 ml の 250 mM Na₂S₂O₄ を加え 10 分間、時折、植物根を浸透しながら置いた。この過程でアポプラスト鉄は可溶化、抽出された。その後、植物根は 100 ml の 0.5 mM CaSO₄ へもどした。その後、植物を採取し、その地上部と根を分離し、脱衣温水で洗浄した。根の試料は 60 ± 5°C で 48 時間乾燥させ、硝酸—過塩素酸により分解した。分解溶液は 5 ml に濃縮し、最後に純水で 50 ml に定溶した。アポプラスト鉄を抽出した MES 緩衝液と植物体の分解液のリン以外の元素含量は水素化物発生装置付き原子吸光光度計(AA-6200; Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan)で分析した。リンは分光光度計(model UV mini 1240, Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan)を用いて、Imamul-Huq & Alam 2005 の方法²⁰⁾で 420 nm にて比色定量し、PIXE を用いて測定した。

3 結果及び考察

3.1 植物の症状

赤い色の強さは培地のリン濃度の減少に従い強くなった。根は 10 μM As + 0 μM P 区において 16 日目に明瞭に赤くなり (図 3)、赤色は鉄プラークの存在を示していた^{1,2,8,9)}。0 μM As + 0 μM P 区の根は他の区と比べ大変長く、あまり分岐しなかった。

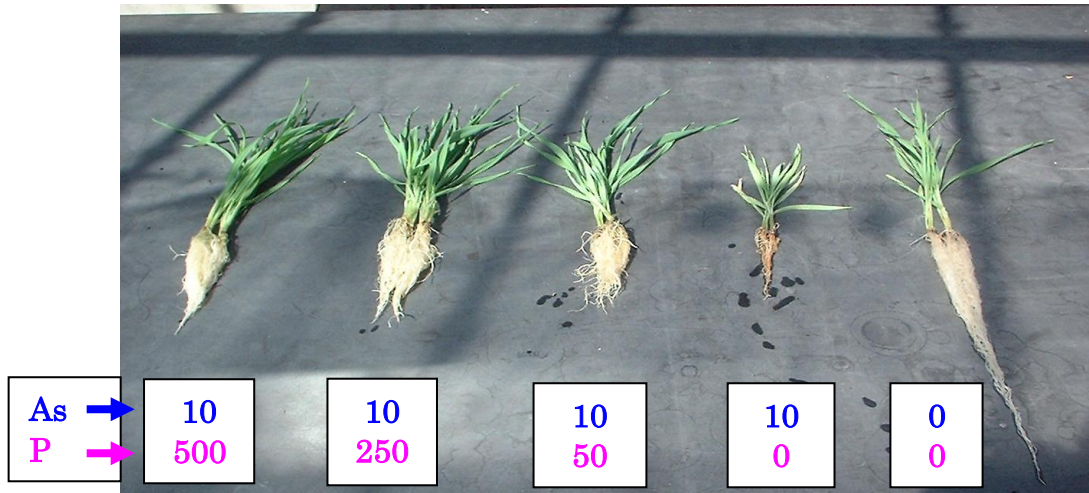


図3. ヒ素処理し、リン酸濃度を変えたオオムギ幼植物の写真(16日間処理)

3.2 根の乾物重

根の乾物重はリン濃度の減少に伴い減少し、ヒ素処理かつ無リン区で最小になった(図4)。根の乾物重はヒ素がなく無リン区においてはヒ素処理かつ無リン区より有意に高くなった。

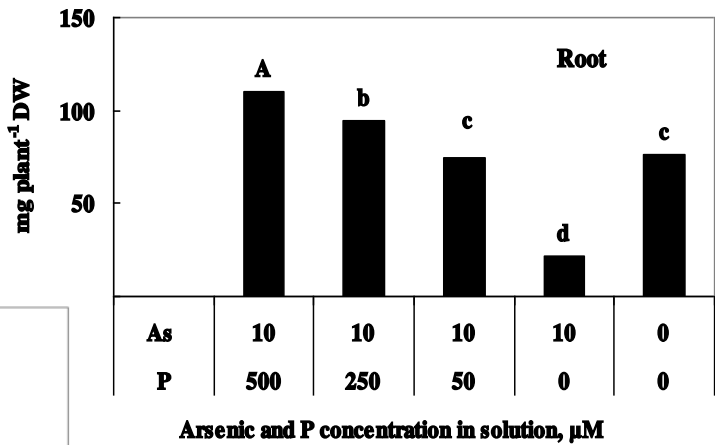


図4. 異なるリン濃度でヒ素処理したオオムギ幼植物の根の乾物重 異なるアルファベットをつけたデータは yan-Einot-Gabriel-Welsch multiple range test により有意差(p < 0.05)があることを示す。

3.3 植物の元素含量

3.3.1 リン

根のリン濃度 (mg/g DW) と集積量 (mg/ 個体) は培地のリン濃度の減少に伴い減少した。アポプラストのリンは PIXE によっても検出されなかった (データ示さず)。

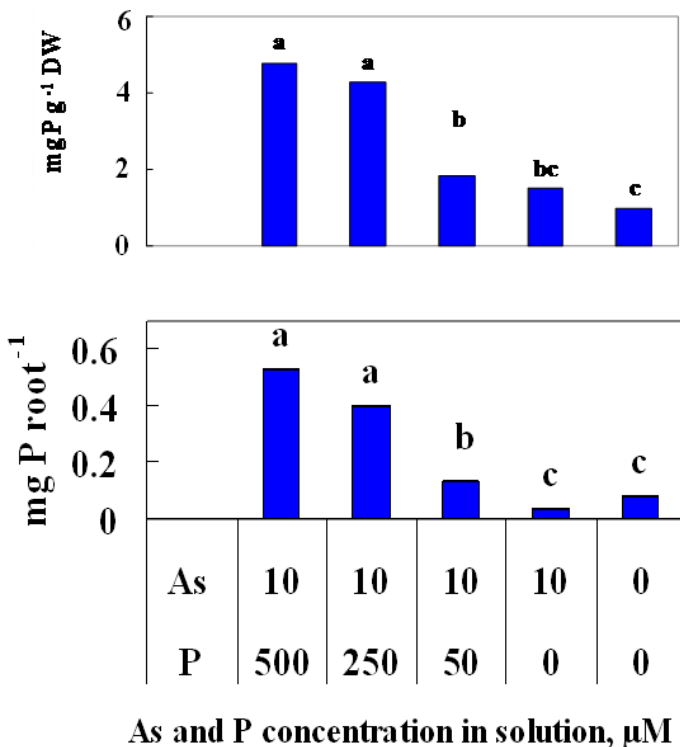


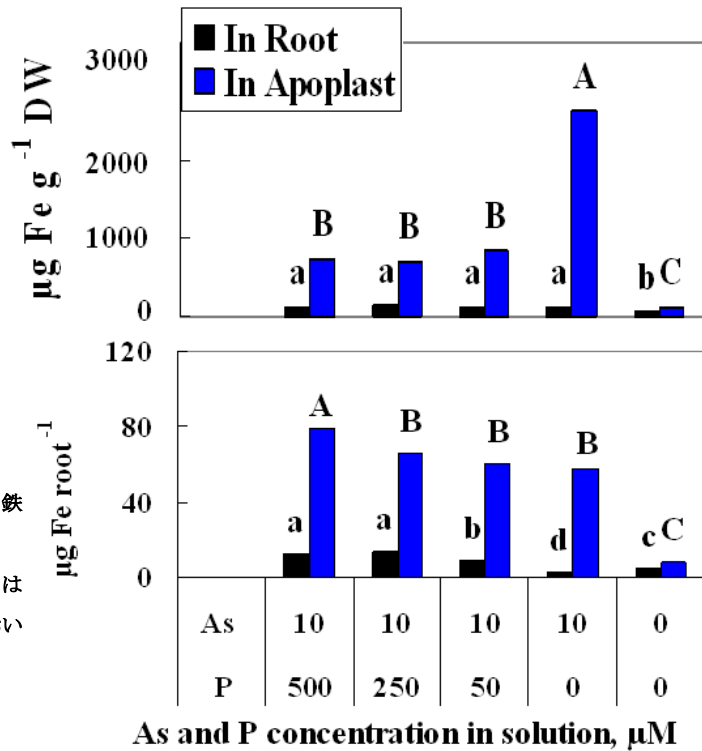
図5. 異なるリン濃度でヒ素処理したオオムギ幼植物の根のリン濃度と根のリン全量 異なるアルファベットをつけたデータは Ryan-Einot-Gabriel-Welsch multiple range test において有意差 (p < 0.05)があることを示す。

3.3.2 鉄

リンを与えた条件下では根のアポプラストの鉄濃度はほぼ同じであった。しかし、リンを除いた条件下では、アポプラストの鉄濃度はリンを与えた条件に比べ非常に高かった(図6、表3)。根に存在する鉄は主にアポプラストに存在することがわかった。アポプラストの鉄の形成はヒ素とリンが存在しない条件(0 μM As + 0 μM P)では少なかった(図6)。

図6. 異なるヒ素とリン濃度で生育したオオムギの根の鉄濃度と根の鉄全量

異なるアルファベットを付けたカラムは Ryan-Einot-Gabriel-Welsch multiple range test において有意差($p < 0.05$)があることを示す。



3.3.3 ヒ素

リンを与えた条件では、根とアポプラスト鉄と結合したヒ素の濃度は培地のリン濃度の低下に伴い上昇し、10 μM As + 50 μM P 区で最高になった(図7)。無リン条件下では、根のヒ素含量は10 μM As + 50 μM P と比較して低くなったが、アポプラスト鉄中のヒ素は数倍高くなった。

アポプラスト鉄と結合したヒ素は、根の中のヒ素と比べ、リンを与えた条件では、大変低かったが、リンを除いた条件下では、2倍程度に高まった。植物根あたりの数値も同様の結果であった。

図7. 異なるヒ素とリン濃度で生育したオオムギの根のヒ素濃度と根のヒ素全量

異なるアルファベットを付けたカラムは Ryan-Einot-Gabriel-Welsch multiple range test において有意差($p < 0.05$)があることを示す。

nd : 検出されず。

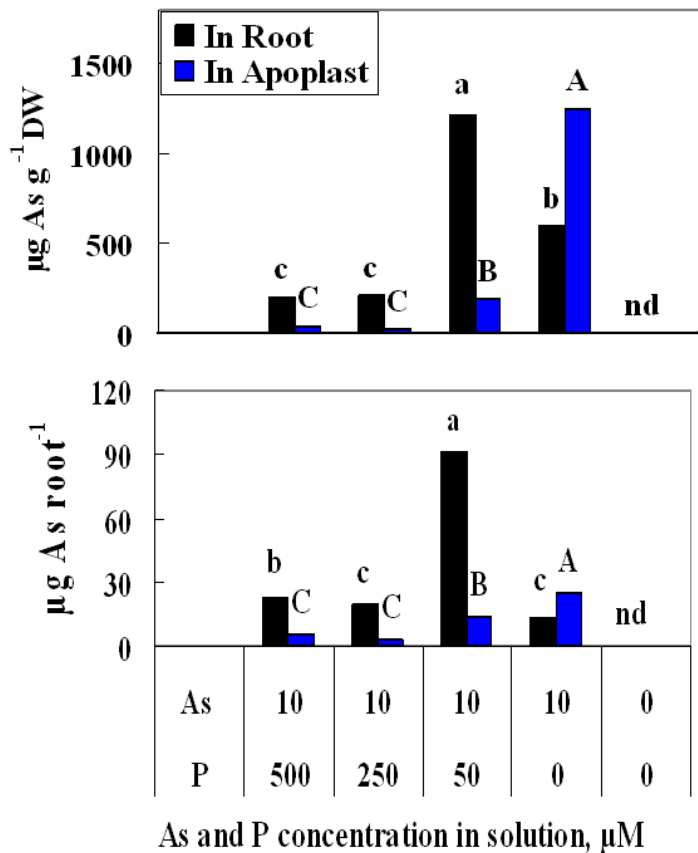


表2. 異なるリンとヒ素濃度で生育したオオムギの根の元素含量

Treatments (μM)		P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Zn	Cu
		-----mg g ⁻¹ DW -----				----- $\mu\text{g g}^{-1}$ DW -----			
As	P	Concentrations in roots							
10	500	4.64a	92.7b	1.79ab	2.89a	118.0a	9.02c	34.8b	12.7b
10	250	3.40b	88.7b	2.11a	2.57b	148.2a	14.4b	27.6c	15.7b
10	50	1.35c	72.3c	2.13a	1.36c	118.3a	25.0a	29.0bc	9.57c
10	0	0.88d	132.3a	1.39b	0.28d	116.6a	14.1b	23.1d	19.6a
0	0	0.84d	86.2b	1.89a	2.71ab	60.0b	25.3a	41.1a	13.6b
		Accumulation in roots							
10	500	0.51a	10.2a	0.197a	0.318a	13.0a	1.00c	3.84a	1.39a
10	250	0.32b	8.28a	0.199a	0.247b	13.9a	1.35b	2.62b	1.44a
10	50	0.09c	5.24b	0.158b	0.103c	9.01b	1.82a	2.17b	0.70c
10	0	0.02d	2.84c	0.030c	0.006d	2.56d	0.30d	0.50c	0.41d
0	0	0.07c	6.52b	0.143b	0.206b	4.02c	1.94a	3.13a	1.03b

異なるアルファベットを付けた平均値は Ryan-Einot-Gabriel-Welsch multiple range test で有意差があることを示す。

DW : 乾物重、 nd : 検出されず。

3.3.4 その他の元素

根とアポプラストの鉄に結合したマンガン濃度はリン濃度が低い場合は高かった。根の亜鉛濃度は培地のリン濃度の低下に伴い低下したが、ヒ素とリンがない条件では高まった。

表3 異なるリンとヒ素濃度で生育したオオムギの根のアポプラスト鉄と結合していた元素の含量

Treatments (μM)		P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Zn	Cu
		-----mg g ⁻¹ DW -----				----- $\mu\text{g g}^{-1}$ DW -----			
As	P	Concentrations in apoplast							
10	500	nd	3.84c	5.87c	0.095b	720c	2.21d	50.6c	1.36d
10	250	nd	4.63c	7.15bc	0.099b	714c	3.76c	110.0b	3.68c
10	50	nd	4.38c	6.61c	0.098b	827b	7.12b	129.9b	4.45c
10	0	nd	10.5a	24.2a	0.078c	2631a	22.9a	684.7a	41.3a
0	0	nd	6.16b	7.91b	0.126a	114d	9.67b	117.2b	9.81b
		-----mg plant ⁻¹ -----				----- $\mu\text{g plant}^{-1}$ -----			
		Accumulation in apoplast							
10	500	nd	0.42a	0.65a	0.010a	79.4a	0.24d	5.51c	0.15d
10	250	nd	0.43a	0.64a	0.009a	65.8b	0.33c	8.91b	0.32c
10	50	nd	0.31b	0.47c	0.007b	60.9b	0.50b	9.03b	0.32c
10	0	nd	0.23c	0.51b	0.002c	58.0b	0.49b	15.5a	0.95a
0	0	nd	0.46a	0.60ab	0.010a	8.57c	0.72a	9.36b	0.74b

異なるアルファベットを付けた平均値は Ryan-Einot-Gabriel-Welsch multiple range test で有意差があることを示す。

DW : 乾物重、 nd : 検出されず。

4 考察

無リンでヒ素を含む条件下で生育したオオムギの根が明瞭に赤色を示した(図3)。この結果は、リン濃度の低下に伴いヒ素が鉄プラークに取り込まれやすくなることを示した。つまり、ヒ素存在下での鉄プラークの形成はリン濃度に依存することを示した。近年、鉄プラークの形成とリン栄養の関係が報告されている⁹⁾。

本実験ではアポプラスト鉄に結合したリンは検出されなかった。そのことは、リンがアポプラストで鉄と共に沈殿しないことを示唆した。このことはさらに確認される必要がある。Bienfait らの方法¹⁹⁾によってアポプラスト鉄を可能化した溶液中にリンが検出されないことは、還元剤を用いてアポプラストを可溶化する本実験の処理において細胞膜が破壊されないことを示していた。鉄プラークがリンを固定するとの報告がある⁷⁾が、我々の結果はそれを支持しなかった。

ヒ素存在下において、アポプラスト鉄はリンの減少に伴い増加した。リン供給下において、アポプラスト鉄はほぼ同じであったが、リン欠条件下ではアポプラスト鉄の濃度は鉄供給条件下と比べかなり高かった。リン酸がヒ素存在下でのアポプラスト鉄の形成を抑制することが示唆された。アポプラスト鉄は根の中の鉄より 10 $\mu\text{M As} + 500 \mu\text{M P}$ 、10 $\mu\text{M As} + 250 \mu\text{M P}$ 、10 $\mu\text{M As} + 50 \mu\text{M P}$ 、10 $\mu\text{M As} + 0 \mu\text{M P}$ 、0 $\mu\text{M As} + 0 \mu\text{M P}$ 区において約 6、5、7、23、2 倍高かった。アポプラストが根の鉄の供給源になっていることが示唆された。アポプラスト鉄の最高値はヒ素存在、無リン条件下で示された。しかし、無ヒ素、無リン条件下ではアポプラスト鉄の形成は抑えられた。

根は 10 $\mu\text{M As} + 500 \mu\text{M P}$ 、10 $\mu\text{M As} + 250 \mu\text{M P}$ 、10 $\mu\text{M As} + 50 \mu\text{M P}$ 区において、アポプラストと比べ、約 5.37、9.01、6.47 倍高かった。そのことは、リン供給下ではヒ素は根の中ではアポプラストではなく根中に主に存在することを示していた。しかし、無リン条件下ではアポプラスト鉄と結合するヒ素は根の中のヒ素に比べ 2.09 倍高かった。ヒ素の吸収が、少なくともリンにより制御されることが示唆された。最近、リン酸と亜ヒ酸存在下で生育したイネの根において、ヒ素は大部分、根の中に存在することが報告された⁸⁾。しかし、リン欠、かつ、ヒ酸存在下で生育したイネにおいて、ヒ素は主に根の表面に存在すること、また、ヒ酸存在下、リン欠条件で生育したイネの鉄プラークのヒ素濃度は、ヒ酸存在下、リン供給条件で生育した植物に比べ有意に高い (1180 mg kg^{-1}) ことが報告された⁹⁾。ヒ酸存在条件下で生育した duckweed (*Spirodella polyrhiza* L.)の根のヒ素の 56%が根中に存在し、44%が鉄プラークに存在した²¹⁾。根の中、又は、根のアポプラスト中のヒ素の濃度はヒ素の形態(ヒ酸、亜ヒ酸)、植物の種類、培地のリン酸の有無に依存することが示唆された。

5 結論

鉄プラークの形成は培地のリン濃度に強く依存していた。リン濃度が減少するほど鉄プラークの量は上昇した。リンはアポプラストで鉄と共に沈殿しないのであろう。低リン条件下では、鉄は最も根のアポプラストに存在した。ヒ素処理した幼植物では、ヒ素の多くはアポプラストよりも根の中に存在した。鉄の一部がアポプラストでヒ素と沈殿したようだ。リンはアポプラストでのヒ酸鉄の沈殿形成を妨げると思われた。

参考文献

- 1) Armstrong W (1967) The oxidizing activity of roots in water-logged soils. *Physiologia Plantarum*, 20: 920-926.
- 2) Chen CC, Dixon JB, Turner FT (1980) Iron coatings on rice roots: Morphology and models of development. *Soil Science Society of America Journal*, 44:1113-1119.
- 3) Bacha RE, Hossner LR (1977) Characteristics of coating formed on rice roots as affected by Fe and Mn additions. *Soil Science Society of America Journal*, 41:931-935.
- 4) Meng XG, Korfiatis GP, Bang KW (2002) Combined effects of anions on arsenic removal by iron hydroxides. *Toxicology Letters*, 133:103-111.
- 5) Belzile N, Tessier A (1990) Interactions between arsenic and ironoxyhydroxides in lacustrine sediments. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 54:103-109.

- 6) Jain A, Raven KP, Loeppert RH (1999) Arsenite and arsenate adsorption on ferrihydrite: surface charge reduction and net OH⁻ release stoichiometry, *Environmental Science and Technology*, 33:1179-1184.
- 7) Meharg AA (2004) Arsenic in rice-understanding a new disaster for South-East Asia. *Trends in Plant Science*, 9(9):415-417.
- 8) Liu WJ, Zhu YG, Smith FA (2005) Effects of iron and manganese plaques on arsenic uptake by rice seedlings (*Olyza sativa* L.) grown in solution culture supplied with arsenate and arsenite, *Plant and Soil*, 277:127-138.
- 9) Liu WJ, Zhu YG, Smith FA, Smith SE (2004) Do phosphorus nutrition and iron plaque alter arsenate (As) uptake by rice seedlings in hydroponic culture? *The new Phytologist*, 162:481-488.
- 10) Tsutsumi M (1980) Intensification of arsenic toxicity to paddy rice by hydrogen sulphide and ferrous iron I. Induction of bronzing and accumulation in rice by arsenic. *Soil Science and Plant Nutrition*, 26:561-569.
- 11) Otte ML, Dekkers MJ, Rozema J, Broekman RA (1991) Uptake of arsenic by *Aster tripolium* in relation to rhizosphere oxidation. *Canadian Journal of Botany*, 69:2670-2677.
- 12) Asher CJ, Reay PF (1979) Arsenic uptake by barley seedlings, *Australian Journal of Plant Physiology*, 6:459-466.
- 13) Ma JF, Yamaji N, Mitani N, Xu XY, Su YH, McGrath SP, Zhao FJ (2008) Transporter of arsenite in rice and their role in arsenic accumulation in rice grain, *Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS)*, 105:0031-9935.
- 14) Meharg AA, Hartley-Whitaker J (2002) Arsenic uptake and metabolism in arsenic resistant and non-resistant plant species, *The New Phytologist*, 154:29-43.
- 15) Smith E, Naidu R, Alston AM (1998) Arsenic in the soil environment: A review. In: *Advances in Agronomy*, ED DL Sparks, Academic Press, San Diego, CA, Vol. 64, pp.149-195.
- 16) Abedin MJ, Feldmann J, Meharg AA (2002) Uptake kinetics of arsenic species in rice plants, *Plant Physiology*, 128:1120-1128.
- 17) Strasser O, Kohl K, Romheld V (1999) Overestimation of apoplastic Fe in roots of soil grown plants, *Plant and Soil*, 210:179-187.
- 18) Zribi K, Gharsalli M (2002) Effect of bicarbonate on growth and iron nutrition of pea, *Journal of Plant Nutrition*, 25:2143-2149.
- 19) Bienfait HF, van den Briel W, Mesland-Mul NT (1985) Free space iron pools in roots: Generation and mobilization, *Plant Physiology*, 78:596-600.
- 20) Imamul-Huq SM, Alam MD (2005) *A Handbook on Analysis of Soil, Plant and Water*. Eds SM Imamul Huq and M Didar-ul-Alam, Momin Offset Press, 9 Nilkhet, Babupura, Dhaka-1205.
- 21) Rahman MA, Hasegawa H, Ueda K, Maki T, Rahman MM (2008) Arsenic uptake by aquatic macrophyte *Spirodela polyrhiza* L.: Interactions with phosphate and iron, *Journal of Hazardous Materials*, 160:356-361.

Quantitative analysis of phosphorus, iron, and arsenic in the roots or root apoplast of barley grown on water medium with arsenic and iron

M. R. Shaibur, S. Kawai and K. Sera *

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

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

Abstract

An experiment with arsenic (As) and barley (*Hordeum vulgare* L. cv. Minorimugi) grown hydroponically was conducted to observe the effects of phosphorus (P) status on the formation of iron (Fe)-plaque. Plants were grown for 16 days treated with 10 μM As in presence or in absence of P. A set of treatment was without As and P. Phosphorus was used as ammonium phosphate ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$) and As was used as sodium meta-arsenite (NaAsO_2). The $\frac{1}{2}$ -strength nutrient solution was used at pH 5.5. Plants were treated with 10 μM As + 500 μM P, 10 μM As + 250 μM P, 10 μM As + 50 μM P, 10 μM As + 0 μM P and 0 μM As + 0 μM P for 16 days. Iron-plaque with root reddish color was clearly visible in barley roots grown in As-treated and P-depleted condition. However, Fe-plaque with reddish color was not found in P-depleted and As containing medium, suggesting that As played a vital role in the formation of Fe-plaque in P-depleted condition. Intensity of reddish color intensity increased with decreasing P concentration in the medium. Apoplastic-Fe together with other elements were extracted by the method of Bienfait et al.. Contents of macro and microelements occurred as Fe^{3+} -complex in apoplast and in roots were determined. Particular emphasis was given on the concentration of P, Fe and As. Arsenic decreased root dry weight (DW) with decreasing P concentration in the medium. Detectable amount of P was not found in apoplastic portion in all treatments, indicating that P might not be complexed with apoplastic-Fe. Phosphorus may be present inside of roots as organic or inorganic phosphate. Iron was mostly concentrated in apoplast. However, As was mostly concentrated in roots and a little portion was found to be complexed with Fe^{3+} in the apoplast. Our result suggested that P might repress the formation of As-Fe complex in the apoplast, somehow.

食品廃棄物中の PIXE 分析

千葉啓子、阿部真樹、川野有里子、堀 瑠衣子、松橋佳子

山内咲乃、世良耕一郎*

岩手県立大学盛岡短期大学部生活科学科
020-0193 岩手県岩手郡滝沢村滝沢字菓子 152-52

* 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

我々の日常生活が環境負荷を大きくしている現在、メディアでは「エコ」という言葉が頻繁に取り上げられ、マイバック運動の推進など、エコ活動は私たちの身近なものになりつつある。一人一人がエコライフ（節約、もったいない）を実践することが大切になっている。他方、日本では食品自給率が40%と低いにもかかわらず、食品ロスが増加している現状にある。これらのことを踏まえ、我々のごみ減量を考え、環境に配慮したエコな栄養士になることを目指している。日常生活に欠かせない「食」と「エコ」を関連させた「エコクッキング」は一人一人が環境のことを考えながら「買い物」、「料理」、「片付け」をすることである¹⁻⁴⁾。今回は、このエコクッキングについて、食品の廃棄部分を食材として活用する方法を考案するとともに、廃棄部分の無機質成分を PIXE 分析し、それらの含有量について検討したので報告する。

2 対象と方法

一般によく用いる食材の中から、廃棄率の高い食材を数種類選び、廃棄物の利用方法を検討した。エコクッキングに用いた食材の無機質成分値の測定は、(社)日本アイソトープ協会仁科記念サイクロトロンセンターで行った。まず、食材の廃棄部分を凍結乾燥機により水分を除去したのち、粉碎し、粉末状の試料とした。PIXE を用いた分析の前処理及び測定は世良の方法⁵⁻⁷⁾によった。一定量の粉末試料を硝酸灰化して測定試料とし、内部標準元素として原子吸光用 In 標準液を 10 ppm となるよう添加して十分攪拌した。この試料 20 μ l をマイラーフィルムに滴下し、乾燥させたものを PIXE 測定試料とした。小型サイクロトロンからの 2.9 MeV の陽子ビーム (6 mm ϕ) 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

一用と高エネルギー用の2台のSi(Li)検出器で同時に測定してX線スペクトルを得た。スペクトルから検出元素のピーク面積を解析するには解析プログラム”SAPIX”を用い、さらにピーク面積から定量値を求めるには内部標準法によった。

食品廃棄物中の水分含有量は、裁断した試料を105℃で3時間乾燥させて測定した。

3 結果と考察

3.1 エコクッキング実践効果

普段の調理で必ず出る生ごみを少しでも減らし、有効利用できないかを考え、今回は野菜類及び果実類の中から廃棄率が多い数種の食材を選び、これらの廃棄部分を用いてエコクッキングを実践し、合わせて廃棄物中の無機質成分の測定を行なった。

①とうもろこしの芯チップス

とうもろこしはよく食材として用いられるが、芯の部分は大量に廃棄される。そこで、とうもろこしの芯をチップスに加工することを試み、廃棄率を0%にすることができた。しかしながら、試食評価としては、「やや好ましい」が1名、「好ましくない」4名という結果を得た。評価理由として、硬い・味が無い・パサパサとしていて食べづらい・焦げ臭いが挙げられた。

改善策として、とうもろこしの芯を、数日間乾燥させた後に油で揚げたが、硬さは変わらず食べられるものとしての改良には至らなかった。芯の外側部分と中央部分では火の通る速さに大きな差があるため、全体の水分が抜けるまでに焦げてしまう。火の通り具合に差があることから、さらにとうもろこしの芯を粉末状にして、小麦粉やもち粉などと合わせ利用ができないか実験をした。一般家庭でも調理可能なエコが前提であるため、粉末状にする手法はすり鉢でする、または、フードプロセッサーにかける2つの方法を選んだ。しかし、どちらの方法も他の粉と混ぜられる細かさにまで至らなかった。

②大根の皮と人参の皮を使ったペペロンチーノ

大根の皮と人参の皮を使うことで10%の廃棄率を削減することができた。試食評価は、全員が「好ましい」と感じ、スパゲティの麺と野菜の皮の食感が丁度よい・人参の皮が入ることで彩りもよかったという評価であった。野菜の皮は千切りにすることによってスパゲティの麺とよく合い、違和感なく食べることもできた。野菜の皮の独特な臭いが生じた場合、にんにくで炒めることにより抑えることができる。家庭で出る一食分の野菜の廃棄量では廃棄物そのものだけで料理を作るのは難しいが、スパゲティや飯などに混ぜると、廃棄物の利用が比較的簡単にできると考えられる。

③ピーマンの種の味噌炒め

ピーマンの種を利用することによって15%の廃棄率を削減することができた。試食評価は全員が「好ましい」であった。評価理由は、ご飯にあう・ピーマンの種にクセが感じられないであった。種やワタを味噌で炒めたので、それ自体の味を強く感じなかった。そのため、全員が「好ましい」という評価になったと考えられる。

④ごぼうのサラダ（皮含み）

ごぼうの皮部分をよく洗うことで皮をそのまま使い、10%の廃棄率を削減することができた。全員が「好ましい」とし、皮ごと使用しても抵抗なく食べられる・皮を除いたものと変わらない・ごぼうの臭さを感じないと評価した。ごぼうを細切りにすることで、気にせず食べることもできた。

⑤かぼちゃのケーキ

かぼちゃのケーキにかぼちゃの種を使うことによって、約9%の廃棄率を削減することができた。試食評価は全員「好ましい」と答え、種もおいしく食べることもできた・種をつかうことで見た目もよいと評価した。

試食の評価は好評であったが、かぼちゃの種は一番外側の殻を剥く工程が大変手間が掛かり、殻を剥いて保存しておくなどの工夫も必要である。

⑥ グレープフルーツの皮のピール

グレープフルーツの皮をピールに利用することで、50%の廃棄率を削減することができた。試食評価は全員「好ましい」で、オレンジピールと同じような仕上がりで抵抗なく食べられる。さらにチョコレートソースをかける工夫で独特な苦味が和らいだ。

3.2 廃棄率が多い食材に含まれる無機質成分値

PIXE 多元素分析法により測定した、食品廃棄物中のナトリウム (Na)、カリウム (K)、カルシウム (Ca)、マグネシウム (Mg)、リン (P)、鉄 (Fe)、亜鉛 (Zn)、銅 (Cu) 含有量を可食部分 (五訂増補日本食品標準成分表掲載値⁸⁾) と比較した。

① とうもろこしの芯チップス

とうもろこしの芯には可食部分に比較して Ca の含有が多く、100g 中 47mg と可食部の 10 倍以上含有していた。

	Na	K	Ca	Mg
とうもろこし(芯の中心)	<LOQ	2	47	2
スイートコーン・未熟種子-生	0	290	3	37
	P	Fe	Zn	Cu
とうもろこし(芯の中心)	9	0.1	0.2	0.01
スイートコーン・未熟種子-生	100	0.8	1.0	0.10

<LOQ: 検出限界以下

(単位 : mg/100g)

② 大根の皮と人参の皮をつかったペペロンチーノ

大根の皮に含有される無機質は、すべて、可食部に比較して多かった。人参の皮では皮むき生に比較して、Na と Mg 以外の無機質の含有量が多く、とくに K、Zn、Cu では可食部の約 2 倍の量を含有していた。

	Na	K	Ca	Mg
大根の皮	21	740	79	15
大根・皮むき-生	17	230	23	10
	P	Fe	Zn	Cu
大根の皮	59	0.7	0.5	0.04
大根・皮むき-生	17	0.2	0.1	0.02

(単位 : mg/100g)

	Na	K	Ca	Mg
人参の皮	<LOQ	509	45	8
人参・皮むき-生	25	270	27	9
	P	Fe	Zn	Cu
人参の皮	30	0.3	0.4	0.09
人参・皮むき-生	24	0.2	0.2	0.04

<LOQ: 検出限界以下

(単位 : mg/100g)

③ ピーマンの種の味噌炒め

ピーマンの種には、Na 以外の無機質の含有量が可食部に比較して多く、2 倍を越すものもあった。

	Na	K	Ca	Mg
ピーマンの種	<LOQ	291	18	30
青ピーマン・生	1	190	11	11
	P	Fe	Zn	Cu
ピーマンの種	53	0.9	0.5	0.18
青ピーマン・生	22	0.4	0.2	0.06

<LOQ:検出限界以下

(単位 : mg/100g)

④ ごぼうのサラダ

ごぼうの皮は可食部を上回る無機質は含まれていなかったが、繊維も多いことから積極的に利用し、廃棄率を減らすことができればよいと考える。ただし、アクの強い時期のものについてはその処理などを考慮する必要がある。

	Na	K	Ca	Mg
ごぼうの皮	<LOQ	96	10	4
ごぼう・根・生	18	320	46	54
	P	Fe	Zn	Cu
ごぼうの皮	3	0.1	<LOQ	0.02
ごぼう・根・生	62	0.7	0.8	0.21

<LOQ:検出限界以下

(単位 : mg/100g)

⑤ かぼちゃのケーキ

かぼちゃの種では Cu の含有量が多く、皮では Fe と Cu の含有量が可食部よりやや多かった。

	Na	K	Ca	Mg
かぼちゃの種	1	9	1	2
かぼちゃ(西洋)・生	1	450	15	25
	P	Fe	Zn	Cu
かぼちゃの種	11	0.1	0.1	0.11
かぼちゃ(西洋)・生	43	0.5	0.3	0.07

(単位 : mg/100g)

	Na	K	Ca	Mg
かぼちゃの皮	<LOQ	38	1	2
かぼちゃ(西洋)・生	1	450	15	25
	P	Fe	Zn	Cu
かぼちゃの皮	7	0.7	0.3	0.09
かぼちゃ(西洋)・生	43	0.5	0.3	0.07

<LOQ:検出限界以下

(単位 : mg/100g)

⑥ グレープフルーツの皮のピール

グレープフルーツの皮ではCa、Feの含有量が可食部よりも多かった。ただし、かんきつ類には数種の防黴剤がポストハーベスト農薬として使用されていることから、食用とするにはこれらについて検討が必要である。

	Na	K	Ca	Mg
グレープフルーツの皮	<LOQ	69	63	2
グレープフルーツ	1	140	15	9
	P	Fe	Zn	Cu
グレープフルーツの皮	3	0.1	0.1	0.02
グレープフルーツ	17	0.0	0.1	0.04

<LOQ:検出限界以下

(単位: mg/100g)

一般の調理において、魚介類では頭、骨、皮、貝などの廃棄部分は全体の50%以上になることも多く、今回、実験に使用した皮付き野菜やかぼちゃなどでも皮や種を除いて利用されることが多く、それぞれから廃棄率は10%前後あった。これら廃棄されている部分、たとえば人参の皮には可食部よりビタミンAが多く含まれていることやかぼちゃの種にはゴマとほとんど変わらない栄養素が含まれており、タンパク質はゴマより豊富なことが知られている⁹⁾。今回の無機質の測定においても、われわれが普段廃棄している部分に、可食部に比べて無機質含有量が多いものや近似しているものがあることが証明され、これらを食材として活用することは廃棄率を減らすことだけでなく、栄養学的にも意義のあることが明らかになった。

4 まとめ

エコクッキングに関する調理実験を通して、普段捨てられてしまう部位も調理の工夫で美味しく食べられることが実証できた。また、栄養的価値の高いCaやFeなどを可食部より多く含有しているものもあり、食品廃棄物の利用価値は高いといえる。

ごみ減量・栄養価・経済的な面から、調理は身近な場面でのエコ活動であり、環境保護に大きな役割を果たしていることが理解された。個人が身近で実践できるエコクッキングを継続的に取り組んでいくべきであると考えている。

謝辞

本研究を進めるにあたり、PIXE分析にご協力いただきました日本アイソトープ協会仁科記念サイクロトロンセンターの後藤様に厚く御礼申し上げます。

参考文献

- 1) うちエコ入門, ペオ・エクベリ&聡子・エクベリ, 株式会社宝島社, 2007年5月26日発行
- 2) 東京ガスホームページ エコクッキング, <http://www.tokyo-gas.co.jp/ecocom/ecocooking/index.html>
- 3) COOKPAD, <http://cookpad.com/>
- 4) 地球にやさしいエコクッキング 藤沢良知ほか, 第一出版株式会社, p.58~60 2000年3月1日発行
- 5) S. Futatsugawa, S. Hatakeyama, S. Saitou and K. Sera, "Present status of NMCC and sample preparation method for bio-samples", Int. J. PIXE, 3, 319-328 (1993).
- 6) K. Sera, T. Yanagisawa, H. Tsunoda, S. Hutatukawa, Y. Saitoh, S. Suzuki, H. Orihara, "Bio-PIXE at the Takizawa facility (Bio-PIXE with a baby cyclotron)", Int. J. PIXE, 2, 325-330 (1992).

- 7) K. Sera and S. Futatsugawa, "Personal Computer Aided Data Handling and Analysis for PIXE." Nucl. Instr. and Meth., B109/110 99-104 (1996).
- 8) 文部科学省科学技術・学術審議会資源調査分科会編, 五訂増補日本食品標準成分表, 国立印刷局, 東京 (2005)
- 9) 環境学生実践のエコロジー 東京農業大学, 株式会社誠文堂新光社, 2004年4月1日発行

PIXE analysis of mineral content in food waste samples

Keiko Chiba, Maki Abe, Yuriko Kawano, Ruiko Hori
Keiko Matsuhashi, Sakino Yamauchi and Kouichiro Sera*

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

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

Abstract

In this study, we demonstrated that food waste was possible to change the delicious food menu with devised cooking arrangements, therefore we can reduce food waste rate.

Mineral content of waste food samples were analyzed using PIXE at NMCC. Many inorganic elements were detected in waste food samples. The main components of mineral in waste samples were K, Ca, Mg, P, Fe and Cu. Those components were essential nutrients for human body. In some case, Ca and Fe showed higher value in waste parts of food than edible parts.

These results also suggested that eco-cooking is a near ecological action in daily life and play an important role of environmental protection.

血球・血清に含まれる微量元素のPIXE分析

秋葉文正、秋葉文仁¹、後藤祥子²、世良耕一郎³

036-8261 青森県弘前市茂森新町 3-4-9

¹ 岩手大学技術部農学系技術室
020-8550 岩手県盛岡市上田 3-18-8

² (社) 日本アイソトープ協会滝沢研究所
020-0173 岩手県岩手郡滝沢村滝沢字留が森 348-1

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

本研究の発端は、原子炉（東海研）の共同利用により中性子放射化分析の医学・臨床栄養分野の基礎的データの集積を目的として昭和60年前後、数年間、弘前大学医学部第2外科（今充教授）のご厚意により各種ガン患者等の採血試料凍結乾燥（血清・血球）が、提供された。JRR2、JRR4原子炉による中性子照射、 γ 線スペクトロメトリーで処理された結果は短寿命核種測定によりNa、K、Ca、Mn、Cu、Al、P、Cl、Br、Iが、また長寿命核種測定によりFe、Zn、Se、Cr、Agなどが検出された。今回は、密封保存された試料を用いてPIXE分析法による結果について報告する。

2 測定方法

2.1 分析試料

試料は、昭和60年頃弘前大学附属病院（外科）の入院患者（主として癌患者）より採取した血液の凍結乾燥試料である。採血量は全血8 mL、採決後室温で1~2時間放置したのち冷却遠心機により血清、血球に区分（0℃、4000 rpm、30 min）した。分離後-20℃にて保存、凍結乾燥後は室温にて保存したものである。73名の入院患者から採取した男性53件（平均59.8歳）、女性38件（平均47.1歳）の検体を分析した。

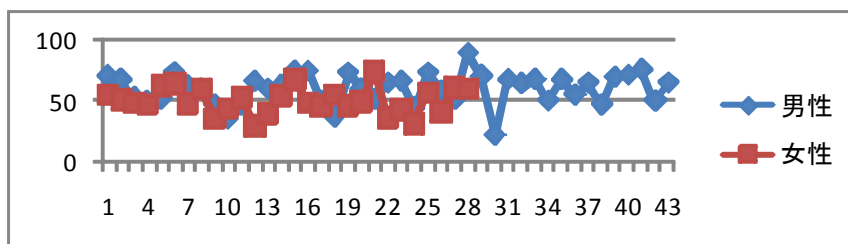


図1 採血者年齢構成

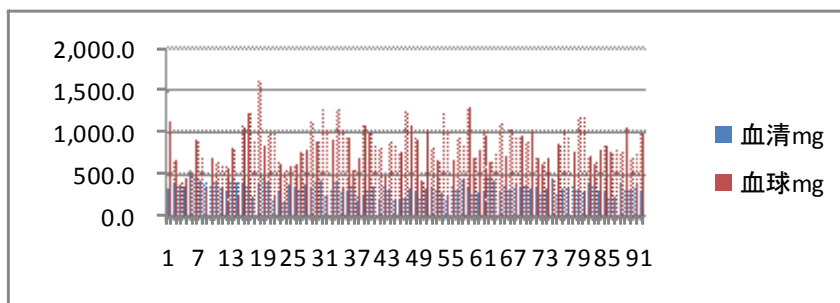


図2 血球・血清量の分布

2.2 試料調製

通常の全血、血清に関しては In、Ag などを内部標準とした内部標準法が多く用いられ、粉末の生体試料には硝酸灰化法により内部標準法を適用することができる。今回の試料は凍結乾燥した粉末状のものであり、一部中性子放射化分析に使用した（長期間保存）ものであった。そのため試料量のバラツキがおおきく、少量の試料ではミクロスパーテル一杯程度のものもあり、内部標準を添加することが困難であった。そこで多くの量が確保されている数試料を用い、無調製の試料と硝酸灰化-内部標準法の分析結果とを比較した結果、世良が確立した無標準法によって分析を行うこととした。まず、凍結乾燥試料を極少量ピンセットでつまみ取りバックリングフィルム上に付着させる。次にアルコールで希釈したコロジオン溶液（コロジオン：アルコール=1:4)を試料の上から約 2 μl 滴下し、ピペットチップの先で薄くのばすようにして固定させ、PIXE ターゲットとした。

3 結果

血球 89 サンプルからは K Ca Ti V Cr Mn Fe Ni Cu Zn Ga Se Br Rb Sr Y Nb Pt Pb Na Mg Al Si P S Cl が、また血清 90 サンプルからは K Ca Ti V Cr Mn Fe Co Ni Cu Zn As Se Br Rb Sr Mo I Hg Pb Na Mg Al Si P S Cl が検出された。

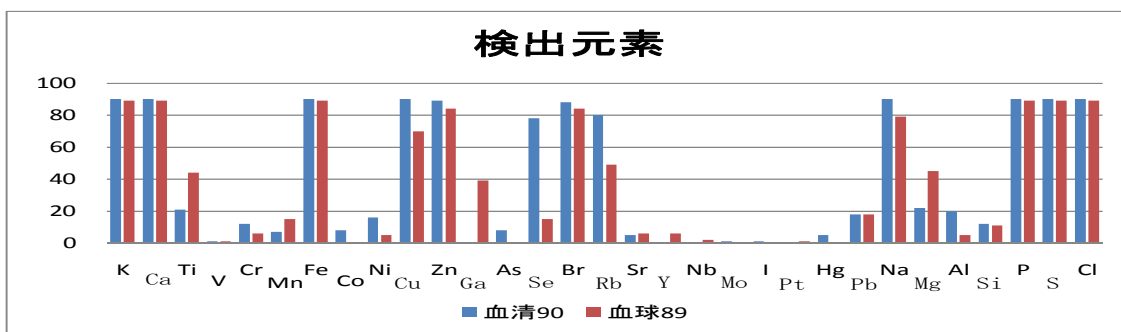


図3 検出元素

検出した元素の一例を表1、表2にしめす。

表1 検出元素の定量値例1

元 素	血 球 (μ g / g)			
	K	Ca	Fe	Cu
検出/総数	89 / 89	89 / 89	89 / 89	70 / 89
最 大 値	16571.95 ± 504.63	1507.02 ± 93.19	5226 ± 157.95	66.23 ± 3.32
最 小 値	6029.11 ± 186.63	39.58 ± 9.02	1978 ± 61.38	1.19 ± 0.49
平 均 値	10552.05 ± 324.90	191.59 ± 15.36	3485.75 ± 114.81	8.53 ± 1.20

表 2 検出元素の定量値例 2

血 清 (μ g / g)				
元 素	K	Ca	Fe	Cu
検出／総数	90 / 90	90 / 90	90 / 90	90 / 90
最 大 値	16247.60 \pm 490.95	1472.28 \pm 47.80	127.14 \pm 4.12	32.32 \pm 1.60
最 小 値	1451.00 \pm 71.66	775.54 \pm 24.40	3.33 \pm 0.76	6.51 \pm 1.57
平 均 値	2309.44 \pm 82.77	1183.75 \pm 46.12	18.63 \pm 1.14	15.49 \pm 0.99

4 考 察

人の血液試料（主として癌を病む外科入院患者から採取した）血球、血清区分について、既に、研究用原子炉の共同利用研究を実施し、中性子放射化分析（Neutron Activation Analysis）を実施したが（1960年代）、その残余を密封保存していたため、本年度はその残余試料を活用し全く方向を異にする PIXE 分析を試みることができた。その実験結果は実験参加者各位の尽力のおかげで予想以上の好結果が得られたことは感謝の他ありません。Data 発表の方法については、今一段の整理時間を要するため、今回はその概要報告に留まることを御赦し頂きたい。

PIXE analysis of trace elements in blood cells and serum

F.Akiha, F.Akiha¹, S.Goto² and K.Sera³

3-4-9 Shigemori-Shincho, Hirosaki, Aomori 036-8261, Japan

¹Division of Technical Support, Iwate University
3-18-8 Ueda, Morioka, Iwate 020-8550, 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

In this paper we would like to describe the results of our study. The original test samples were picked out from surgical sufferers (mainly cancer) at Hirosaki University Hospital. We have detected K, Ca, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Ga, As, Se, Br, Rb, Sr, Y, Nb, Mo, I, Hg, Pt, Pb, Na, Mg, Al, Si, P, S and Cl.