

多摩川水系におけるセミの抜け殻を利用した元素分布の広域調査

2021年

大貫 敏彦

共同研究者

小室 真保 中瀬 正彦 井伊 博行

目次

1. 研究の背景と目的	1
2. 方法	3
2.1. 抜け殻採取位置	3
2.2. 抜け殻中の元素濃度分析	3
3. 結果と考察	6
3.1. 多摩川流域における元素分析	6
3.2. 呑川流域における元素分析	7
3.3. 抜け殻表面分析結果	9
3.4. 抜け殻中タンパク質	13
3.5. 抜け殻中元素濃度から分かること	14
4. まとめ	16

1. 研究の背景と目的

多摩川のように、流域において上水など水利用が行われている河川では廃棄物などによる汚染の防除は必須であり、そのためには水質調査は欠かせない。汚染物質は、流域の土壌中から多摩川に流入することが考えられる。このことは、多摩川流域における土壌中の元素の分布を知ることが、多摩川流域の水質汚染を防除するためには必要不可欠である。このことから、流域の土壌を対象とした調査がこれまでなされてきた[1,2]。これらの分析では、福島原子力発電所事故に起因した放射性核種（例えばセシウム-137のガンマ線）の測定以外では、土壌を直接に測定することが困難である。測定には ICP-AES や ICP-MS などの水試料を対象とした測定器を用いる必要がある。このことは、土壌試料を溶解するなどの前処理が必要となる。土壌は、様々な成分から構成されており、試料毎に前処理の方法も異なることが考えられ、王水を添加して熱処理するなどの強酸を用いる方法や、アルカリ熔融などにより試料を溶かす方法が取られているものの、残渣物が残るなどの問題がある。

さらに、土壌を採取して金属濃度を直接測定する方法は賢明ではない。例えば、都市部の土壌を採取するために地面を深く掘ると、植物や住居が乱れる可能性がある。金属は土壌中に存在する鉱物や酸化物などに含まれているため、その分布は均一ではない。土壌中の金属濃度を直接測定しても、土壌中に存在する金属は、金属を保持する鉱物などの種類により土壌水または地下水中の濃度とは直接関係しない可能性がある。その理由として、各金属の地下水などへの溶解濃度が異なり、水質または pH や Eh 値などの物理的および化学的条件にも依存するため、必ずしも生物学的に利用可能な金属濃度ではない[2]。したがって、生物学的に利用可能な金属濃度を測定することが重要である。

生物中の重金属の濃度は、土壌等に存在する金属濃度を代表するのではなく、金属汚染条件を反映したものであると考えられている[3]。日本の一部の沿岸では、金属鉱山などがソースとなって生じる海の金属汚染と海藻の金属濃度との関係が明らかになり、海藻の

Zn、As、Cu、Pb の濃度は鉱山の金属汚染によって変化したことが報告されている[4]、[5]。紀の川では、地質条件などの集水域の金属汚染と河川の昆虫や植物の金属濃度との関係が明らかになり、河川の昆虫や植物の Cu と Ni の濃度は地質条件によって変化した[6]、[7]、[8]。

また、元素の分布を知るためには、広域に渡る多数の試料が必要となることから、膨大な土壌試料の採取を定期的に行う必要がある。このように多量のことと前処理などの手間が、広域にわたる元素の分布の測定を阻んでいる要因である。したがって、効率の良い試料採取と前処理による金属元素の測定システムが望まれている。

そこで、セミの抜け殻を利用する測定を行った。セミの幼虫は土壌数 m の深さ位置で樹木の根などから養分を吸収して成長し、成虫になる際に地上に現れ樹木の幹上などで羽化する[9]。その際、幹上に抜け殻を残す。抜け殻は幼虫として成長した付近の樹木の幹などに残っていることから、幼虫が成長した位置の特定も容易である。我々は予備調査で、工場跡地付近などで採取した半翅目（セミ）の脱げ殻（以下、抜け殻とする）中の有害元素濃度を測定したところ、採取場所による差異があることを見出している。一方、セミの種類が異なっても、殻の組成はほぼ同じであることから、前処理により溶解手法は採取場所によらないという利点がある。

セミの抜け殻の採取は、採取のための特別な道具も必要とせず、採取日時、場所（スマホなどの GPS 利用）などの記載により、数多くの試料が入手できる可能性が高い。セミの種類の間でもセミの抜け殻の特徴により判別できることから、例えば一般市民の協力も得やすく、将来、広域において採取した試料の入手が可能となる。このことは、市民科学の可能性を示している。したがって、多摩川流域に留まらず、将来的には、全国レベルで測定するシステムを構築することが可能であり、全国における元素分布マップの作成も可能となる。さらに、土壌採取などの煩雑な工程を経ないことから、年毎の試料を入手することが可能であり、経時変化の情報も得ることが容易である。

本研究では、直接的には多摩川流域における元素のマップを作成することを第一の目的である。このような元素マップは、環境保全の観点からも重要な知見を与えてくれる可能性があり、土地利用計画や環境保全などにも活用することが可能である。

2. 方法

2.1. 抜け殻採取位置

セミの抜け殻の採取は、2019年及び2020年の7-9月に行った。2019年には多摩川の中流付近の及び多摩川の支流である呑川付近を中心に行った。2020年には多摩川の上流及び多摩川流域以外の広域において採取した (Table 1 及び Fig.1A 及び 1B))。採取したセミの種類は、*Hyalessa maculaticollis* (ミンミンゼミ)、*Graptosaltria nigrofuscata* (アブラゼミ) がほとんどであり、*Meimuna opalifera* (ツクツクボウシ)、*Platyleura kaempferi* (ニイゼミ) 及び *Tanna japonensis* (ヒグラシ) は小型であり、採集数が少なかった。さらに、*Platyleura kaempferi* については、抜け殻に土壌の付着が多く、生体内の元素濃度測定には不向きであることから、これら小型の3種類については測定から除外した。また、*Hyalessa maculaticollis*、*Graptosaltria nigrofuscata* の抜け殻については、区別が難しかったため、両者を区別せずに分析した。測定は日立製 ICP 発光分析器を用いた。

2.2. 抜け殻中の元素濃度分析

分析に供するセミの抜け殻試料の溶解の準備のため、抜け殻をビーカー内に充填したイオン交換水に浸して、超音波洗浄機により表面に付着したごみなどを取り除いた。試料を乾燥させたのち、秤量し、濃硝酸溶液 20ml に室温で2から3週間浸漬した。抜け殻が溶解したことを確かめた後、濃硝酸溶液を採取して 0.2 μ m のメンブレンフィルターでろ過し、測定試料とした。分析では、抜け殻1個体を1試料として、各地点で採取した個体2試料を測定した平均値を求めた。

元素濃度の測定は、Cu、Fe、Mn、Ni、Pb、Zn 及び As について、ICP-AES

(SPECTRO ARCOS (FHM22) , 日立ハイテクサイエンス) 及び ICP-MS (NexION 300X, PerkinElmer, Waltham, MA) を用いて行った。

電子顕微鏡及び LA-ICPMS によるセミ抜け殻の固体試料の分析のため、抜け殻の背中部分の一部を切り取った試料を採取した。分析では、元素の線分析を行った。また、元素分析としてレーザーアブレーション ICP-MS (GeoLas 193-nm Laser Ablation system coupled with an Agilent 7500a ICP-MS) により、多摩川、物部付近で採取した抜け殻試料の元素分析を行った。

抜け殻中のタンパク質の分析では、抜け殻を溶解して、SDS-PAGE 処理を施し、電気泳動分析によりタンパク質の分離を試みた。抜け殻の前処理法として、水処理の有効性も検討した。

表示名	採取場所	表示名	採取場所
1	東工大横	23	すずかけ台
2	石川町2丁目第3児童公園	24	いわき市川部町浄円寺
3	石川台中	25	横浜市金沢区八景西公園
4	緑ヶ丘	26	調布市上石原若宮八幡宮神社付近
5	氷川神社	27	奥多摩湖大麦代P
6	中根公園	28	青梅市川辺町6南白はげ公園
7	第十一中学	29	多摩市多摩第一小学校
8	東工大	30	手賀沼
9	雪谷小	31	駒沢公園
10	雪谷中	32	府中郷土の森公園
11	呑川-第二京浜	33	多摩市永山北公園
12	田園調布公園	34	奥多摩
13	浅間神社	35	多摩市多摩テニスコート
14	ガス橋	36	多摩市縄文の村
15	西嶺公園	37	奥多摩町羽黒三田神社奥多摩昔道入り口
16	本覚寺	38	多摩市宮之下公園
17	大田図書館	39	田園調布公園
18	西峰町墓地	40	あきる野市雨間
19	うのき松山公園	41	稲城市稲城中央公園
20	あけぼの児童公園	42	東郷元帥公園
21	等々力球技場	43	奥多摩町せせらぎ美術館
22	養源寺・池上	44	調布市多摩川東宝スポーツパーク横

表 1 採取位置

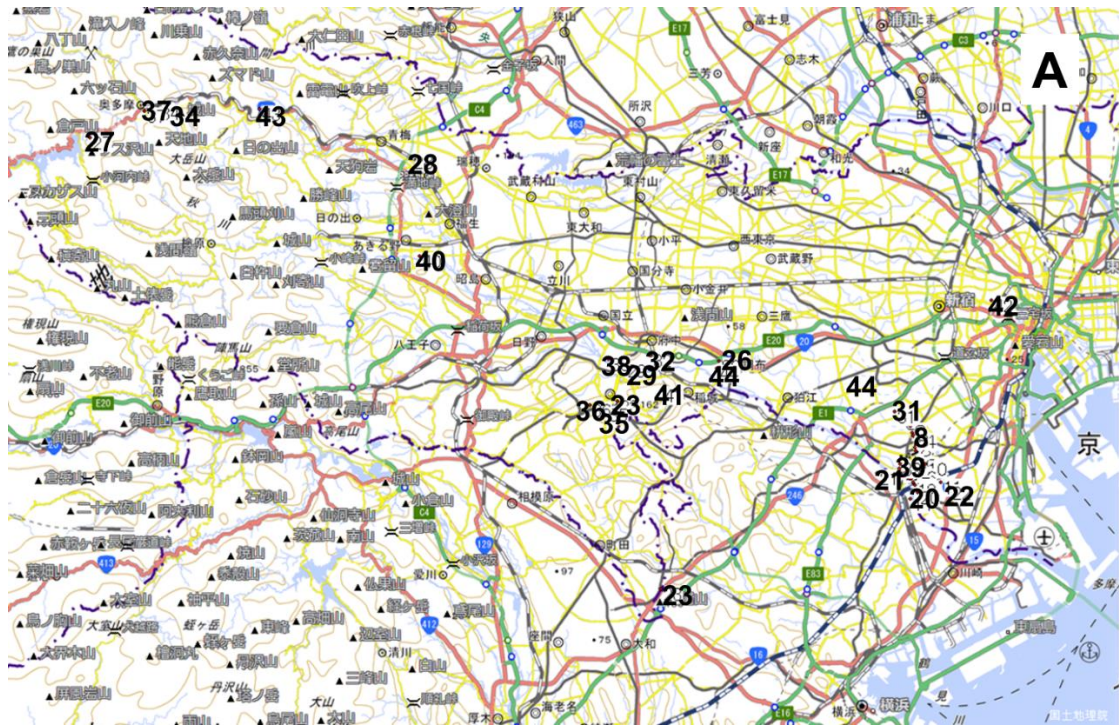


図1 採取位置の平面図

A: 多摩川流域広域図、B: 呑川周辺

地理院地図(GSISMapV5_12)に広域図では場所を番号で、呑川周辺では場所名を加えて示した。

3. 結果と考察

3.1. 多摩川流域における元素分析

多摩川流域で採取した抜け殻試料中の元素濃度を図2に示す。図からFe濃度が他の元素に比べて非常に高く、数100ppm～1000ppm以上に分布している。そこで、Feを除いた元素の分布を求めた(図3)。

図3から、Cu及びMn濃度が奥多摩湖付近及び多摩市多磨テニスコート付近を除いて、100ppm程度である。一方、Ni、Pb、Zn及びAsについてはほとんどの採取位置において10ppm以下であった。特に、Ni及びAsについてはほとんどの採取位置で2ppm以下であった。

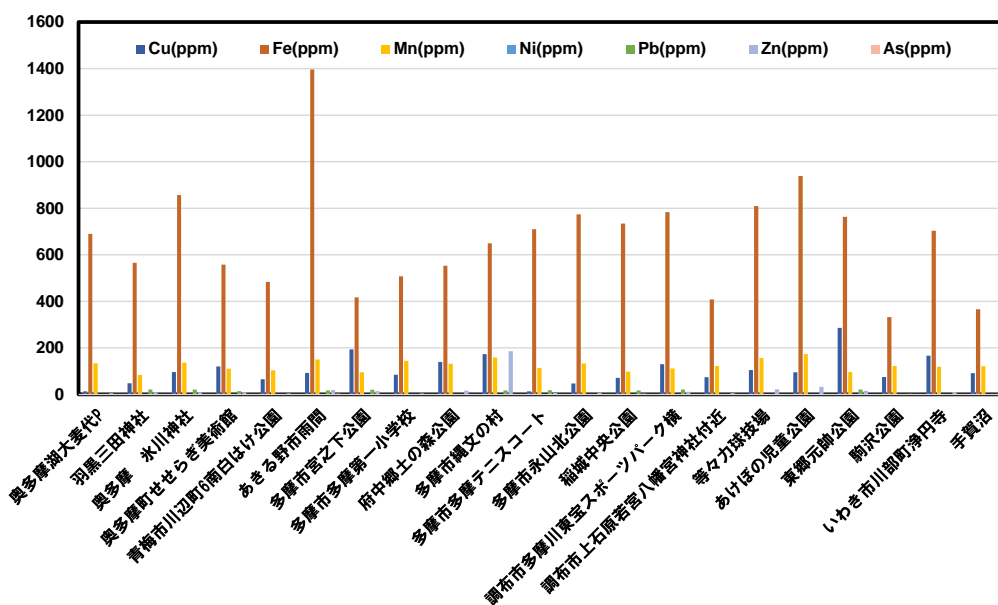


図2 多摩川流域で採取した抜け殻試料中のCu、Fe、Mn、Ni、Pb、Zn及びAsの濃度

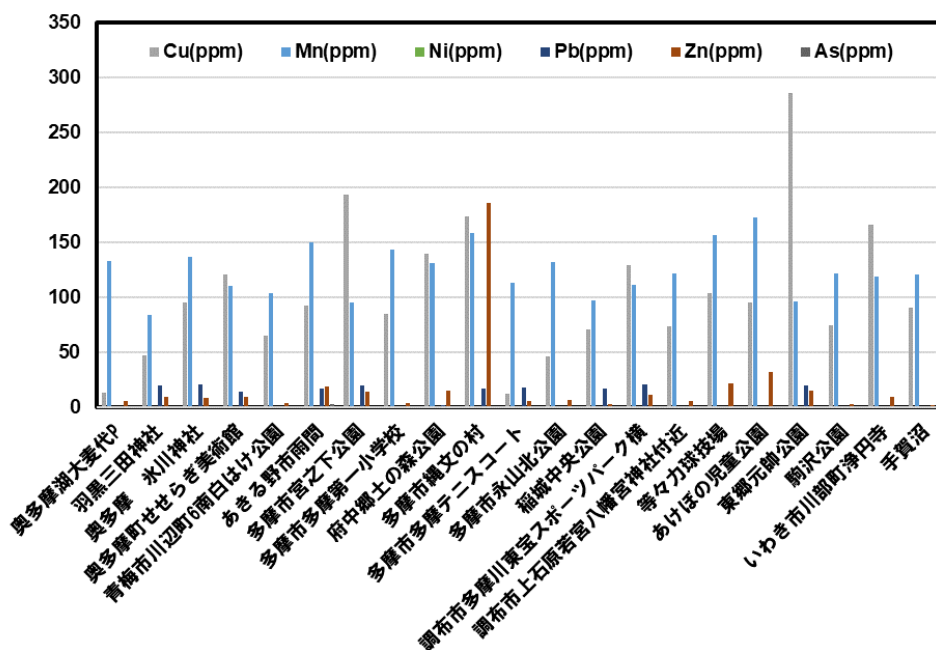


図3 多摩川流域で採取した抜け殻試料中の Cu、Mn、Ni、Pb、Zn 及び As の濃度

3.2. 呑川流域における元素分析

図4は呑川流域で採取した抜け殻試料中の元素濃度である。図から Fe 濃度が他の元素に比べて非常に高く、200ppm~900ppm に分布している。多摩川流域の分析と同じように、Fe を除いた元素の分布を求めた (図5)。

図5から、Cu 及び Mn 濃度が雪谷中以外で 100ppm 程度である。一方、Ni、Pb 及び As についてはほとんどの採取位置において 10ppm 以下であった。Zn については全体的に高く、20ppm 以上の地点 (緑が丘、等々力球技場、あけぼの児童公園、雪谷中、本覚寺など) が存在した。

呑川流域における結果から、Cu、Fe、Mn 及び Zn の濃度を地図上にプロットした (図6)。地図上にプロットすることで、測定位置関係が分かることから、流域における汚染状況が把握できやすくなる。Zn などは車の燃料に起因することから河川の下流域において濃度が高くなることが顕著になるため、呑川流域では有意な値が計測されている。

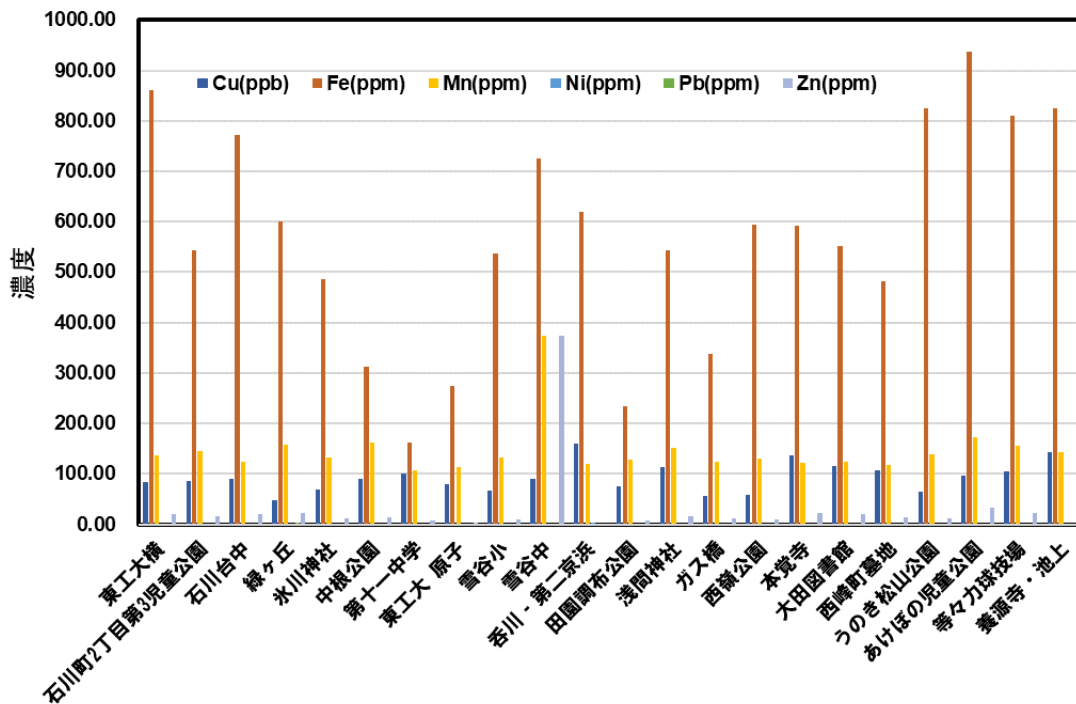


図4 流域で採取した抜け殻試料中の元素濃度(ppb or ppm)

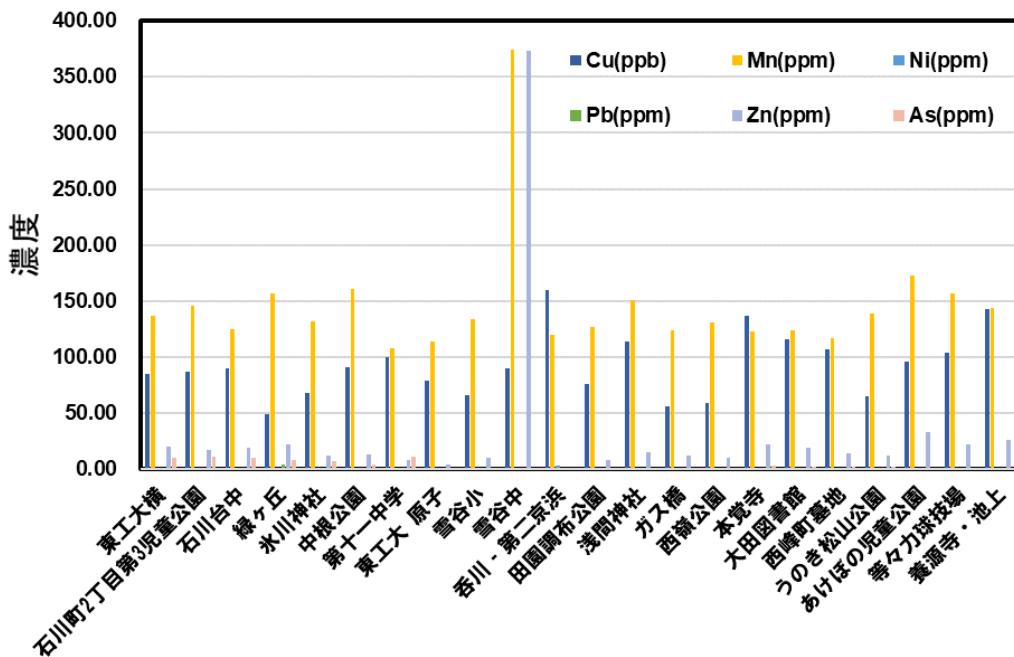


図5 多摩川流域で採取した抜け殻試料中の Cu、Mn、Ni、Pb、Zn 及び As の濃度

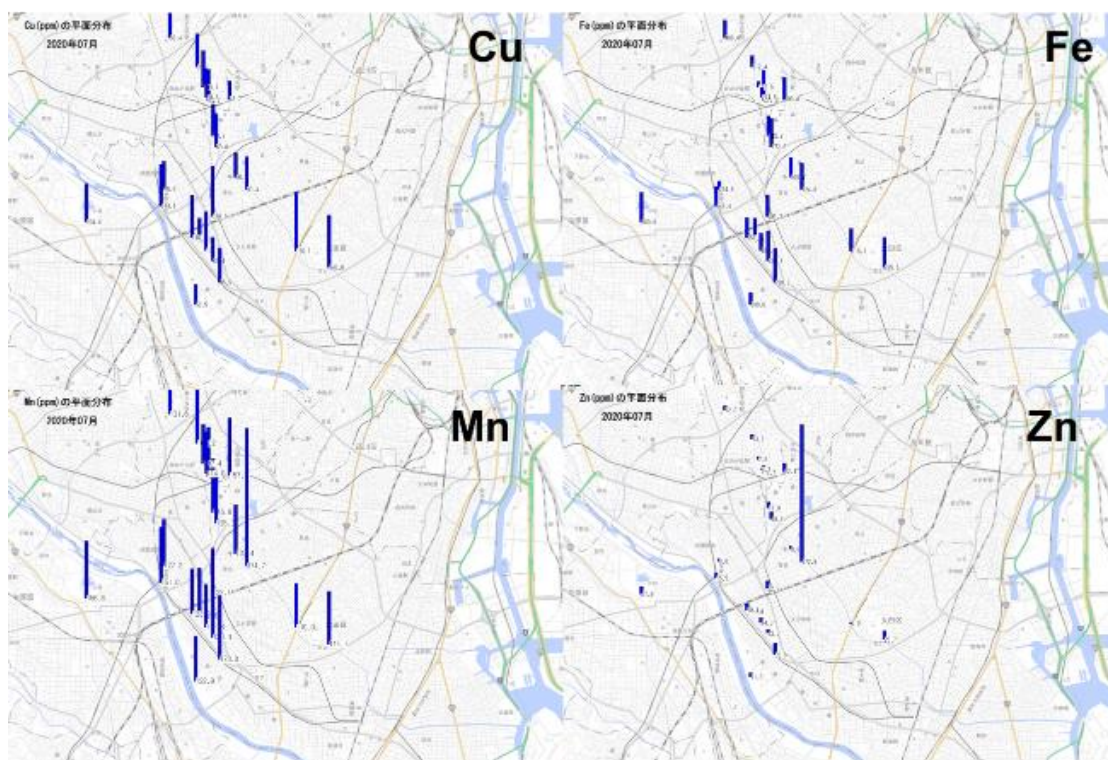


図6 地図上にプロットした Cu、Fe、Mn 及び Zn の濃度

(最も高い棒の長さは Cu : 300ppb、Fe:1400ppm、Mn : 370ppm、Zn:370ppm)

3.3. 抜け殻表面分析結果

抜け殻表面を SEM により分析した。低倍で観察した SEM 像を図 7 に示す。図中の点分析地点における EDX の結果を図 8 に示す。セミ試料の断面付近の元素としては、C、Al、Si、P、S、Cl、K、Ca、Mn、Fe 及び Cu が EDX スペクトルから確認できた。図 7 の部分分析 1 部分の SEM 像を図 9 に示す。図から、抜け殻表面は平滑ではないことが分かる。図中の赤線で示す線分析部分の元素の線分析結果を図 10 に示す。図 10 から、カウントが最も高いのは C であり、その分部は一様ではなく場所により減少している。線分析結果において C のカウントが少ない部分を拡大した線分析結果（拡大版）から、C カウントが低い部分では K 及び Mn のカウントが高いことが分かる。これら元素カウントの高低の因果関係は不

明であるが、表面部分では元素の分布が一様ではないことが分かる。

LA-ICPMS により分析した抜け殻表面の元素のカウントを図 11 に示す。図から、LA-ICPMS では SEM-EDX で検出できた K や Mn のカウントが高いこと、さらに SEM-EDX は検出できない、Mo や Hg などが検出できることが分かる。LA-ICPMS では、Re などの重元素が検出できることから、微量元素分析が可能であることが分かる。

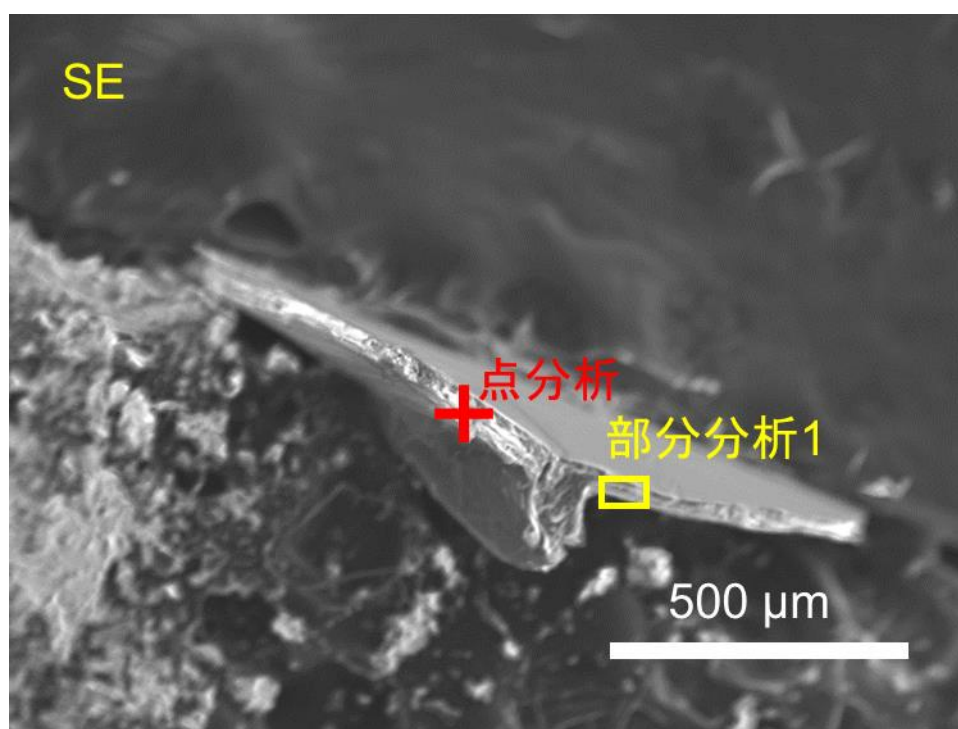


図 7 低倍で観察した SEM 像

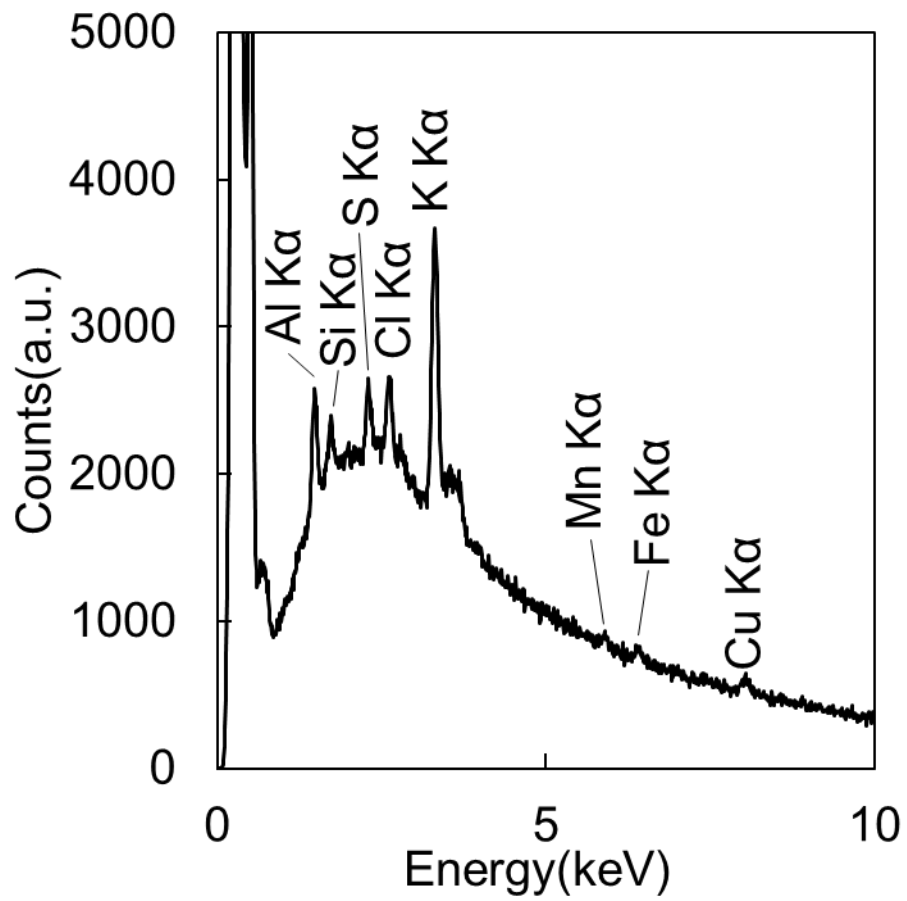


図8 図7中の点分析におけるEDXスペクトル

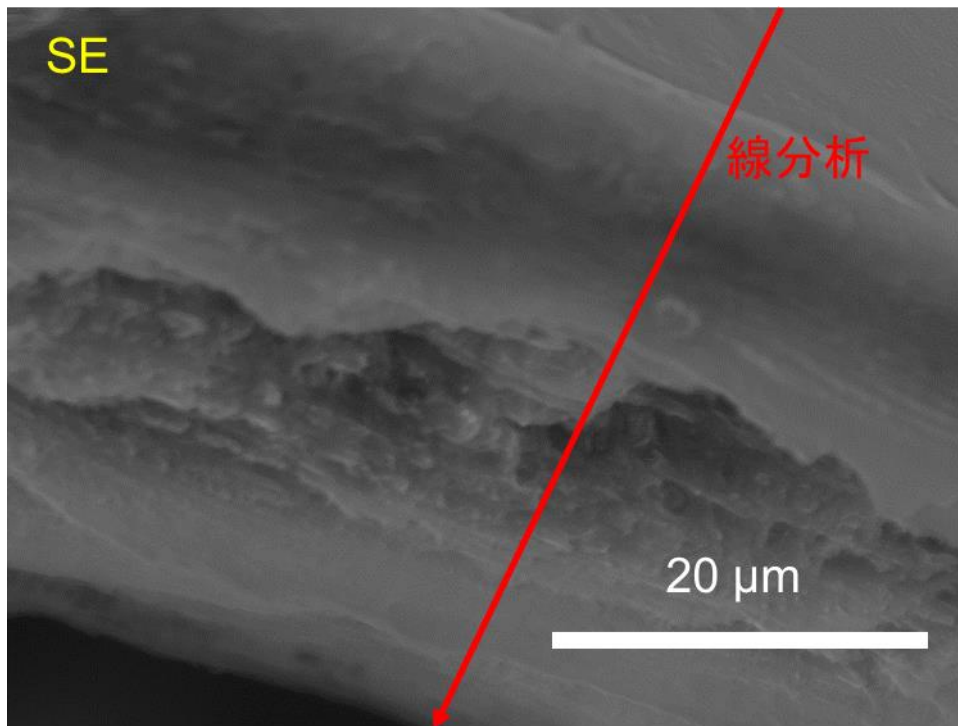


図9 図7の部分分析1部分のSEM像

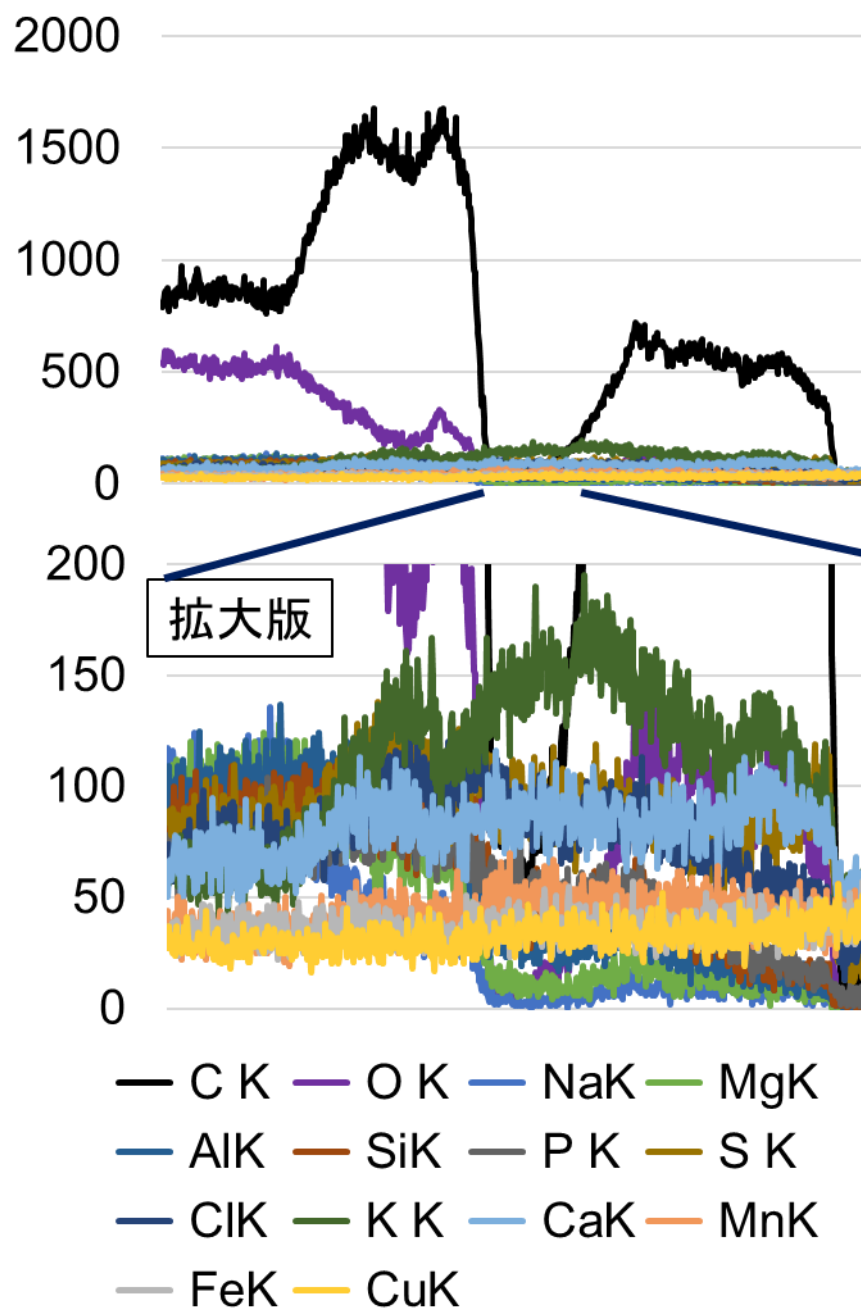


図 10 図 9 中の赤線で示す線分析部分の元素の線分析結果

3.4. 抜け殻中タンパク質

抜け殻試料の電気泳動分析結果を図 11 を示す。分析では、抜け殻を水洗処理したもの、及び還元剤処理を施した試料について分析を行った。図から、25kDa よりも小さな分

分子量のタンパク質が検出でき、水洗処理は検出の感度を高めることが分かる。一方、還元剤の影響はないことが分かった。還元剤による処理がない場合には、SDS の結合が高次構造の影響を受けて分子量が正確に反映されない可能性があるが、今回の分析では還元剤処理の有無の影響が少ないことから、高次構造の影響は少ないものと考えられる。

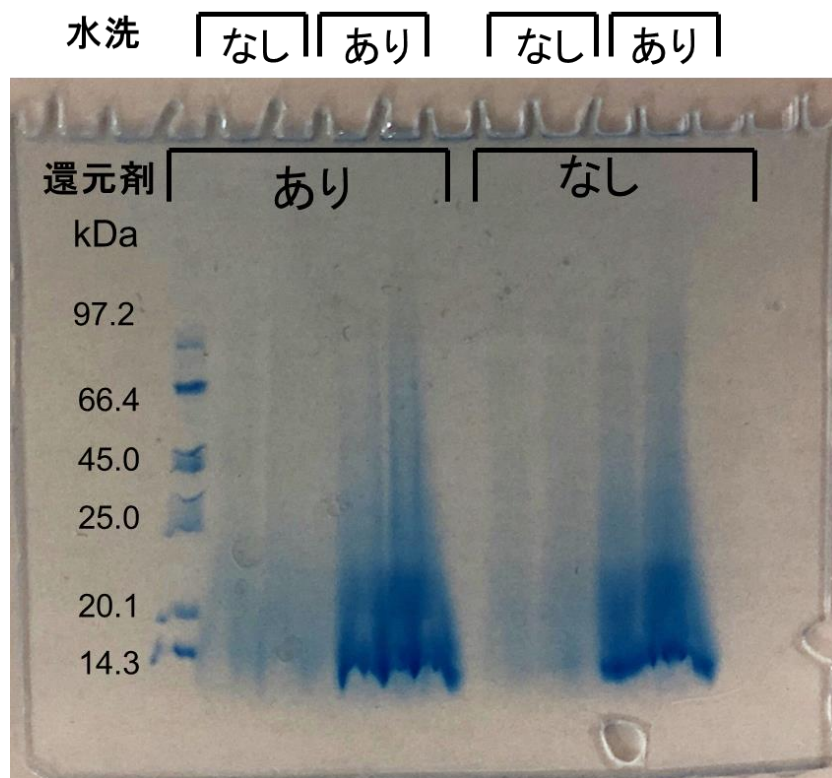


図 11 抜け殻試料の電気泳動分析結果

3.5. 抜け殻中元素濃度から分かること

本研究では、多摩川流域においてセミの抜け殻を採取し、Cu、Fe、Mn、Ni、Pb、Zn 及び As の濃度を測定した。Fe の濃度が最も高く、次に Cu 及び Mn の濃度が高かった。これらの測定結果は、これまで報告された土壌中の濃度とどのような関係があるか考察する。

高岡らは東京都内の公園において土壌中の元素濃度を測定した[10][11]。その報告によれば、Cu:104 ppm、Mn:832 ppm、Zn: 279 ppm、Pb:55.5 ppm である。丸茂ら[13]は土壌中の

元素濃度を蛍光 X 線により測定しており、東京で 8 か所において採取した海成堆積物土壌中の元素濃度として、Cu:30-333 ppm、Fe: 7.2-8.5%、Mn:900-1200ppm、Ni:32-57 ppm、Zn:103-178 ppm、Pb:15-61 ppm、As:13-26 ppm を得た。

セミの抜け殻中元素の濃度の序列は、

$$\text{Fe} > \text{Cu, Mn} > \text{Zn} > \text{Ni, Pb, As}$$

である。一方、都内の公園土壌では

$$\text{Mn} > \text{Zn} > \text{Cu} > \text{Pb}$$

であった。東京の堆積物土壌では、

$$\text{Fe} > \text{Mn} > \text{Cu, Zn} > \text{Ni} > \text{Pb, As}$$

である。

これらの比較から、抜け殻及び公園土壌、堆積物土壌中の Fe 濃度が最も高い。Pb 及び As については、抜け殻及び公園土壌、堆積物土壌中とともに低い値となっている。丸茂らは、As 及び Pb などを対象に溶出試験を実施しており、堆積物土壌から～0.01ppm 程度しか As が溶出しないこと、及び Pb については 0.001 ppm 以下であることを報告している。これらの値は、数 ppm 以上の値が得られた抜け殻中の濃度よりも低い。また、Cu、Mn、Ni については公園土壌と堆積物土壌における序列が抜け殻と一致しない。これらの結果から、抜け殻中の元素濃度は公園土壌や体制物土壌などの土壌中の元素濃度を直接反映している可能性は低いと考えられる。さらに、体制物土壌の溶出試験結果との比較から、例えば土壌水中の As などの元素濃度を反映している可能性も低いと考えられる。

大阪におけるセミの抜け殻中の Cu 元素を分析し、桜の葉及び花卉中の Cu 濃度と比較した。Cu の抜け殻中の濃度と葉及び花卉中の濃度をプロットした(図 12)。図 12 から、Cu 濃度に関して、抜け殻中の濃度と葉及び花卉中の濃度に明確な相関はないものの、ほぼ同じオーダーであることが分かる。この結果は、Cu については抜け殻中の濃度が桜の木に含まれる濃度とほぼ同じオーダーであると考えられる。この結果から、セミの抜け殻中の元素

濃度は生育した樹木中の元素濃度を反映している可能性が高い。

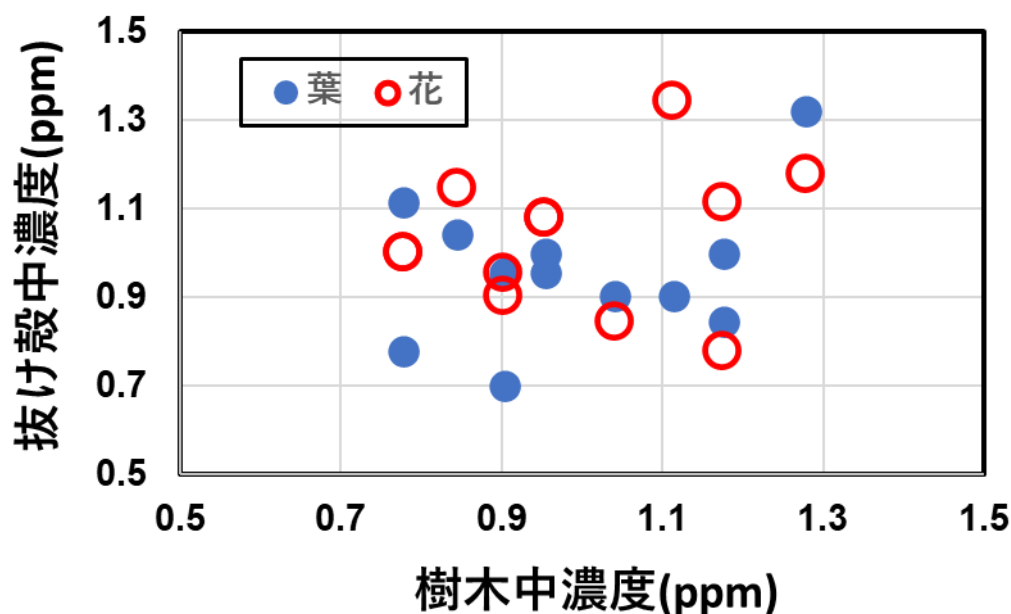


図 12 Cu の抜け殻中の濃度と葉及び花卉中の濃度

Liら[12]は、Fe、Mn、Zn、Pb について比較しており、Fe:~10 倍 Zn : ~2 倍、Mn : ~8 倍であった。抜け殻中のそれぞれの元素濃度に上述した値で割ることにより、樹木中のそれぞれの元素濃度を推測することができると考えられる。

これらの方法により得られた樹木中の元素濃度は、

多摩川流域では、Fe:10-100 ppm、Cu:100 ppm、Mn: 12.5 ppm 及び Zn:5 ppm であり、呑川流域では、Fe:20-90 ppm、Cu:100 ppm、Mn: 12.5 ppm 及び Zn:50 ppm である。

したがって、セミの抜け殻を採取し、元素濃度を測定することは、土壌から樹木など、すなわち生態系に移行する元素の量を把握するのに有効であると考えられる。

4. まとめ

多摩川周辺などでセミの抜け殻試料を採取して溶解し ICP-AES などにより測定する方法及び電子顕微鏡分析、LA-ICPMS 分析により、多摩川流域における元素の分布を調査し

た。対象元素として Cu、Fe、Mn、Zn、Ni、Pb 及び As を選択し、奥多摩湖から河口付近まで、及び多摩川から離れた対照区を含めて 44 か所で調査した。その結果、抜け殻に濃集する元素としては Fe 濃度が最も高く、次いで Cu 及び Mn が高かった。Zn については上流域よりも下流域が高く、人間活動の影響による上昇が観察された。Ni、Pb 及び As 濃度は低かった。測定結果を既報の土壤中濃度などと比較した結果、セミの抜け殻試料中の元素濃度を測定することは、土壌から樹木など、すなわち生態系に移行する元素の量を把握するのに有効であると推察できた。

これらの成果の公表については、NPO 法人 環境サステナブルリサーチラボが開設したホームページ

<https://nporabo.jimdofree.com/>

に掲載するとともに、論文として Journal に投稿する予定である。また、全国のマップ及び過去の汚染状況モニタリングの手法の確立を目指して、外部資金（科研費に申請中）の獲得を目指していく。

さらに、SDS-PAGE による抜け殻表面のタンパク質の分析を試みることができた。一方、SIMS による分析を予定していたが、非常事態宣言などの影響により機器の使用時間を確保することができなかった。

抜け殻試料中の元素分析では、溶解作業の負担が多く、一度に多くの試料を処理することができない。さらに、溶解には時間を要するため、今後の課題としては簡便で短時間で処理できる方法の開発が望まれる。一方、LA-ICPMS や電子顕微鏡などにより直接分析も可能である。SEM はある程度簡便法であるが、LA-ICPMS による分析は簡便法とはいえない。今後は、原子炉などを利用した放射化分析などを確立して処理試料数の増加を図る必要がある。

社会還元としては、セミの抜け殻試料の採取方法として、一般市民の参加が望まれる。今回は、多摩市の「多摩市若者会議」のメンバーの協力を得ることができた。一般市民の

協力を得ることができれば、採取試料数も増やすことができるとともに、全国レベルへの展開も可能である。多数の試料の分析手法を確立できれば、全国的な分布図の作成も可能と考える。

付記

地図上へのデータのプロットは、和歌山大学谷口正伸助教の開発したプログラムを使用した。感謝の意を表したい。

引用文献

[1]清宮祥子、多摩川中流域並びに市流域における放射能の土壌汚染と生体に対する影響について、2015年とうきゅう環境財団（現・東急財団）助成事業。

[2] 岡田往子、多摩川水系における天然及び人工放射性物質の環境総合評価、2018年とうきゅう環境財団（現・東急財団）助成事業。

[3]K Hirose, and Y Ito, “On an ecological note of cicada”, Proceedings of the Kanto-Tosan Plant Protection Society, 1961, No.8 pp. 59.

[4] K Hirose, and Y Ito, “On an ecological note of cicada”, Proceedings of the Kanto-Tosan Plant Protection Society, 1961, No.8 pp. 59.

[5] Hiroyuki Ii, “As, Sr, Zn, Fe, Mn, Pb, and Cu Concentrations of Seaweed at the Kii Peninsula, Japan”, International Journal of GEOMATE, Vol.10 (1), 2016, pp. 2036-2042.

[6] Takuma Kubohara and Hiroyuki Ii, “Cu, Co, Cr and Ni of river water, river insect and water plant in the Kinokawa river catchment”, International Journal of GEOMATE, Vol.10 (1), 2015, pp.1600-1606.

[7] Takuma Kubohara and Hiroyuki Ii, “Cu, Co, Cr and Ni contamination index for river using river insect and water plant”, International Journal of GEOMATE, Vol.11 (2), 2016, pp. 2651-2658.

- [8] Takuma Kubohara and Hiroyuki Ii, "Evaluation of metal contamination for river using Bryophyte in the Kinokawa River Catchment, International Journal of GEOMATE, Vol.13 (2), 2017, pp.108-115.
- [9] Yoshihiro Tokue, Fumiko Imamura and Satoshi Osawa, "Factors Influencing Cicada Distribution in Urban Forests", J. of The Japanese Institute of Landscape Architecture, Vol. 76, No. 5, 2013, pp. 465-468.
- [10] 高岡路枝、吉永淳、田中敦、都内公園土壌中金属濃度の相関関係、環境化学、17、2007、629-634.
- [11] Takaoka M., Yoshinaga J., Tanaka A.: Influence of paint chips on lead concentration in the soil of public playground in Tokyo, J. Environmental Monitoring., 8, 393-398 (2006).
- [12] Satoru Ueda and Hiroyuki Ii, Effectiveness of using black cicada shell for estimating metal contamination of soil, soil water and groundwater, GEOMATE, in print.

多摩川水系におけるセミの抜け殻を利用した元素分布の広域調査

(研究助成・学術研究 VOL. 50—NO. 359)

著 者 大貫 敏彦

東京工業大学・科学技術創成研究院・教授 (採択当時)

発行日 2021年12月

発行者 公益財団法人 東急財団

〒 150-8511

東京都渋谷区南平台町5番6号

TEL (03) 3477-6301

<http://foundation.tokyu.co.jp>