

平成 22 年度

(2011 年 3 月)

卒業論文

題目 食土による生理活性物質の吸着に関する研究

畜産科学科 生態系環境科学ユニット 環境土壌学研究室

氏名 森山 由惟

目次

第 1 章 緒論

- 1-1 土食について
- 1-2 研究の目的

第 2 章 実験関連事項

- 2-1 供試土壌について
- 2-2 生理活性物質について
- 2-3 吸着実験の pH について
- 2-4 ラングミュアの吸着等温式について

第 3 章 実験

3-1 実験項目

A X線回折

B 吸着実験

(1)供試土壌による生理活性物質の吸着実験

(2)粘土による生理活性物質の吸着実験

(3)食品存在下での土壌による吸着実験

3-2 方法

A X線回折

B 吸着実験

(1)供試土壌による生理活性物質の吸着実験

(2)粘土による生理活性物質の吸着実験

(3)食品存在下での土壌による吸着実験

第4章 結果

A X線回折

B 吸着実験

第5章 考察

第6章 要約

謝辞

引用文献

付表

第1章 緒論

1-1 土食について

土食とは、土を食べる習慣のことである。土食をさす言葉として Geophagy があるが、その意味として Webster's New International Dictionary には次のように記されている (山田 1941)。

Geophagy (Geo; Combining forms signifying earth, ground, soil.
phagia; Combining forms denoting an eating or smalling.)

The practice of eating earthy substances, especially clay. The practice is found among peoples of low cultures throughout the world.

Earth is sometimes eaten as a result of superstition, but ordinarily the practice appears in connection with malnutrition and often develops an appetite or craving the indulgence of which favors idiocy, chlorosis, etc.

(和訳 : Geophagy は土・土地・地球を意味する Geo と、食べることを意味する phagia の結合した単語である。Geophagy は、土のような物質、特に粘土を食べる習慣のことである。この習慣は世界中の途上国の人々にみられる。通常、栄養摂取のために土食は行われるが、空腹をしのいだり迷信によっても土は食べられる。)

土の消費は、哺乳類、爬虫類、鳥類だけでなく、昆虫のような無脊椎動物にも観察される。なかでも、熱帯地方の動物には土を食べる習性が顕著に見られることが知られている。しかし、土ならどんな土でもかまわないのではなく、必要なときには数十キロという距離を旅してまで特別な土地の土を食べに来る。このような場所は、「塩舐め場」や「ベト場」、「リック」と呼ばれている。例えば、ケニア西部のエルゴン山の山腹にあるキツム洞穴は、ゾウが過去 200 万年

にもわたって土を掘り出し食べたためにできた(ケイネット・ジャパン 2010)。またロッキー山脈の中ほどの切り立った崖には、毎年初夏、シロイワヤギが集団で土を食べに来る。(NHK 2001)こうした土食は、動物だけでなく人間にも有史以前から世界中で存在したと考えられている。

土食の理由はさまざまで、以下のようなことが提唱されている(Gilardi et al.,1999)。

- (1) 大きな画分(砂など)が食品をすりつぶすことによる消化の補助。
- (2) ミネラルの放出による無機栄養成分の補給
- (3) 胃腸の pH の緩和
- (4) 粘土の植物毒の吸着による食物の解毒
- (5) 粘液質の分泌を調整することによって化学物質の攻撃から身を守るための胃腸の能力の促進

アメリカの先住民やイタリアのサルディニアの人々は、タンニンやサポニンのような毒性のあるどんぐりを粘土と混ぜてパンにして食べる習慣がある。オーストラリアのアボリジニは有毒な植物の根を粘土とともに食べ、ペルーのインディオらも有毒なアルカロイドを含むジャガイモと一緒に粘土を食べたことが報告されている(ケイネット・ジャパン 2010)。これらは食品中に含まれる毒を解毒するために行われ、アンデス山脈の先住民にも同じような報告がある。土食は最も基本的な解毒技術である(John,1986)と述べる学者もいる。

北海道における食土に関する記録には、アイヌ民族が調理に土を使っていたことが記されている(山田 1941)。彼らもまた、植物と一緒に土を摂取することで、植物毒を解毒していたと考えられている。

古代ローマでは、整腸作用を高めることを理由に、医師により粘土が処方されたり、万能薬としても普及していた。中国では胃腸薬として、また現代のア

アメリカでもある下痢止め薬の主成分に粘土が利用されていた(ケイネット・ジャパン 2010)。インドネシアの Tuban 村という所では、現在でも土を焼いて食べる風習がある。これは「ampo」と呼ばれ、土に含まれる薬効成分を摂取するために食べられている(Spooky 2010)。

土食の理由の1つである無機栄養成分の補給に関して、現在、粘土が宇宙飛行士の骨粗鬆症対策として用いられている。宇宙空間ではカルシウムを余分に排出してしまうため、宇宙飛行士たちは骨粗鬆症に陥ってしまう。そこで NASA はもっとも有効なカルシウム源として、ミネラルを豊富に含む粘土(カルシウム・モンモリロナイト)を病気の対策に利用している(ケイネット・ジャパン 2010)。このように、現在でも土や粘土は人に摂取・利用されており、整腸剤やミネラルの補給のためのサプリメントとして販売されているものもある。例えば、第一三共の下痢止剤「アドソルビン」の成分は天然ケイ酸アルミニウムと記載されているが、その原料はモンモリロナイトを主成分とする酸性白土らしい(e・PHARMA 2011)。

1-2 研究の目的

前述のとおり、食土利用の歴史は長く、その理由もさまざまである。その中から、食土の吸着能による解毒効果に興味を持ち、本研究を進めることになった。

食土との関連が示唆される地点で採取した土壌を用いて、さまざまな pH で吸着実験を行い、その吸着能がどのような影響を受けるのかを検証することを目的とした。

第2章 実験関連事項

2-1 供試土壌について

実験に用いた供試土壌は全7種類であり、そのうち食土として2008, 2009年度に道内で採取された土壌は3種類である。次に、2008, 2009年度の研究結果を参照して、それらの性質をまとめた。

(1)食土Ⅰ チェトイ

2008年度に本別町で採取された土壌である。チェトイとは、アイヌ語で「私達が食べる土」という意味を示す。

弱酸性であり、リン酸吸収係数の値から火山灰の影響を受けていないと言える。CECの値が高く、特に交換性カリウムに富む。土性はローム質で、腐植は含まない。

また、顕微鏡観察の結果、けいそう化石をわずかに含んでいた。

粒径組成は、粗砂9.3%、細砂57.6%、シルト23.2%、粘土9.91%であった。

(2)食土Ⅱ 伊藤沢

常呂町常呂川の河口から約10kmほどさかのぼった所にある伊藤沢は、昔、チェトイナイと称されていた(松浦武四郎 戊午日誌)。

この土壌は弱酸性であり、リン酸吸収係数の値から火山灰の影響を受けていないと言える。CECと塩基飽和度の値が高く、交換性塩基に富む。土性はローム質である。

粒径組成は、粗砂0.8%、細砂60.5%、シルト26.4%、粘土12.4%であった。

(3)食土Ⅲ 十勝太

浦幌町朝日にある浦幌川河口の沢「チエトイウシ」の近辺から採取された。中性に近く、こちらも火山灰の影響は受けていないと言える。塩基飽和度の値が高く、特に交換性マグネシウムに富む。土性はローム質で、顕微鏡観察では珪藻化石が多量にみられた。

粒径組成は、粗砂 20.9%、細砂 31.9%、シルト 32.3%、粘土 14.8%であった。

(4)恵庭ローム

帯広畜産大学の精密圃場の下層土から採取した土壌である。恵庭ロームは火山灰土壌であり、十勝の代表的な土壌である。粒径組成は、粗砂 43%、細砂 35%、シルト 15%、粘土 7%であった。

(5)けいそう土

植物プランクトンの1種である珪藻の遺体(珪藻殻)が海や湖の底にたまり、化石になったものがけいそう土である。珪藻殻にはマイクロサイズの穴が多数開いているため、けいそう土は多くの水や空気を含むことができる。また、比表面積も大きい。

(6)カオリン

1:1型粘土鉱物であり、CECが3~10meq/100gと低く、比表面積も10~80m²/gと小さな低活性粘土である。変異荷電を持つ。熱帯の強く風化した土壌では粘土の主体をなすため、土壌の低活性、変異荷電性、低肥沃度性の一因になる。カオリン粘土は、世界で最も産出量が多い。

(7)モンモリロナイト

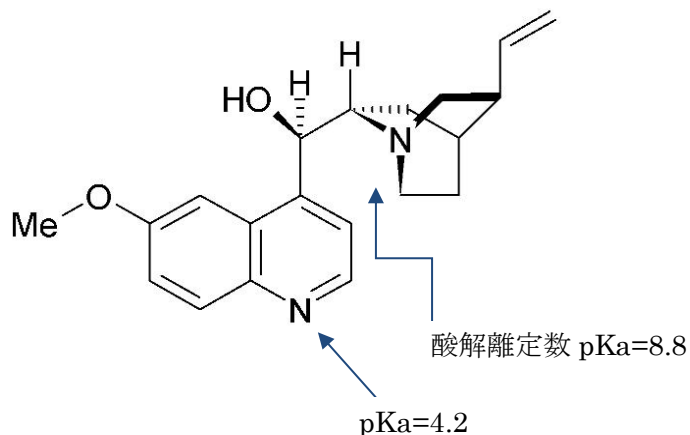
2:1 型粘土鉱物で、CEC は 80~150me/100g と高い。永久荷電を持ち、pH が変化しても CEC はあまり変わらない。比表面積が大きく、100m² 程度もある。膨潤性粘土の代表であり、層と層との結合力が弱く、層間にいろいろな物質を取り込み層間化合物を形成する。

2-2 生理活性物質について

キニーネ Quinine

分子式 C₂₀H₂₄N₂O₂

分子量 324.42



キナの樹皮に含まれるアルカロイドである。

マラリア原虫に特異的に毒性を示すため、マラリアの特効薬として第 2 次世界大戦まで極めて重要な物質であった。その後、キニーネの構造をもとにクロロキンやメフロキンなどの抗マラリア薬が開発され、キニーネ自体は副作用が強いため代替されてあまり利用されなくなった。しかし、熱帯熱マラリアに抗クロロキンや抗メフロキンなどの耐性を持つものが多くみられるようになったため、現在ではその治療にキニーネが利用されている。

キニーネ自身の水溶性は低いため、塩酸キニーネや硫酸キニーネといった塩の

形で投与される。

また、キニーネは強い苦味物質であり、トニックウォーターの苦味剤としても利用されている。

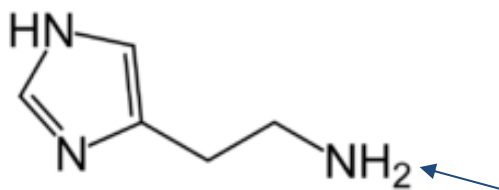
キニーネの副作用として、胃腸障害、視神経障害、血液障害、腎障害、心毒性、などがあげられる。

本研究でキニーネを選定した理由としては、アイヌ民族が植物毒の解毒のために食土を利用していたことから植物毒の代表として、純品として得やすく定量も容易であるキニーネを選定した。

ヒスタミン Histamine

分子式 $C_5H_9N_3$

分子量 111.14



酸解離定数 $pK_a=9.7$

活性アミンであり、生体内で合成され、肺や肝臓、胃粘膜、脳、肥満細胞には高濃度に存在している。

また、マグロ、サバ、イワシ、カツオなどの魚介類の腐敗過程で細菌によっても生成され、食品中に蓄積されたヒスタミンは食中毒の原因になる。ヒスタミンは熱で分解されにくいため、加熱処理して菌は死滅しても、蓄積されたヒスタミンを取り除くことは困難である。さらに、外観の変化や悪臭を伴わないため、汚染を感知し喫食を回避することは極めて難しい。

ヒスタミンのおもな作用は、薬理作用として血圧降下、血管透過性亢進、平滑筋収縮、血管拡張、腺分泌促進などがある。また、アレルギー反応や炎症の発現に介在物質としてはたらいたり、神経伝達物質としてもはたらく。

2-3 吸着実験の pH について

吸着実験の pH には、pH2.0、pH3.5、pH4.5、pH5.5 を設定した。これは、体内における口、胃、小腸の pH に相当する。

* 体内の pH

口	pH5.5~8.0	胃	pH1.0~2.5
小腸	pH5.0~6.0	大腸	pH7.0~8.0

2-4 ラングミュアの吸着等温式について

吸着等温線

吸着等温線とは、吸着量と平衡濃度（吸着反応が平衡に達した後に液（気）相に残った吸着質の濃度）の関係を示したグラフである。

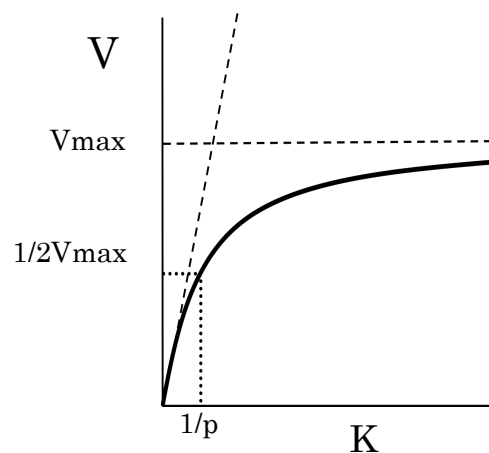
ラングミュアの吸着等温式

この式は、吸着現象を理論的に説明する式として広く用いられている。

$$V = V_{\max} pK / (1 + pK)$$

V=吸着量 p=吸着平衡定数

K=平衡後基質濃度 Vmax=最大吸着量



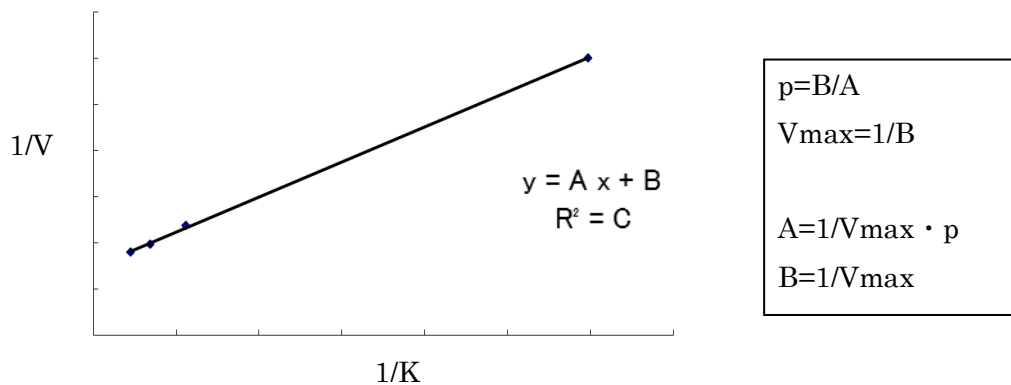
ラングミュアの吸着等温式は、次のような仮定を持っている。

1. 吸着媒には有限な数 N の吸着サイトがあり、そこだけで吸着質分子と結合する。
2. すべての吸着サイトは等価である。
3. 1つの吸着サイトは1つの吸着質分子としか結合しない。
4. 空の吸着サイト M 、気相中の吸着質 S 、吸着サイトに結合した吸着質 $M\cdot S$ の間に $M+S\rightleftharpoons M\cdot S$ の化学平衡が成立する。

吸着サイトが存在することは、吸着剤表面に流体分子と特異的に吸着される部分があることを示唆しており、ラングミュア式は化学吸着の挙動や、水素結合のような強い相互作用により分子が吸着するような場合を記述できる式である。

横軸に $1/K$ 、縦軸に $1/V$ をとって作る逆数のグラフの近似直線がより直線に近いほど、ラングミュア式への適合性が高いと言える。また、その近似直線の切片と傾きから、 V_{\max} と p を求めることができる。

逆数のグラフ



第3章 実験

3-1 実験項目

A X線回折

チエトイ、伊藤沢、十勝太土壤に含まれる粘土鉱物を調べるために、X線回折を行った。

B 吸着実験

(1) 供試土壤による生理活性物質の吸着実験

pHが変化することで、供試土壤の吸着能がどのような影響を受けるか検証した。また、吸着実験の結果から、各供試土壤の吸着能を比較した。

{ 供試土壤：チエトイ、伊藤沢、十勝太
 恵庭ローム、けいそう土、カオリン、モンモリロナイト
pH：pH2.0 3.5 4.5 5.5
吸着質：キニーネ、ヒスタミン

(2) 粘土による生理活性物質の吸着実験

吸着の大部分を担っている粘土だけを抽出し吸着実験を行うことで、さらに詳しく吸着能を分析した。

{ 供試土壤：チエトイ、伊藤沢、十勝太
pH：pH2.0 5.5
吸着質：キニーネ、ヒスタミン

(3)食品存在下での土壌による生理活性物質の吸着実験

食品の存在は、供試土壌の吸着にどのような影響を及ぼすかを検証した。なお、吸着質として、ヒスタミンのみを用いた。ヒスタミンは魚介類の腐敗過程で細菌により多く生成されることから、食品としてかつお節の粉末を用いた。

{ 供試土壌：チエトイ、伊藤沢、十勝太、けいそう土
pH：pH2.0 5.5
吸着質：ヒスタミン

3-2 方法

A X線回折

Standard method for mineral analysis of soil survey samples for characterization and classification in NZ soil bureau」p.8～15を参照にした。

試薬の調製

以下の試薬を、それぞれ 100ml ずつ調製した。

・0.3M クエン酸ナトリウム

{ クエン酸ナトリウム 1M=294.1 g/L
294.1×0.3=88.2
よって、8.82g/100ml で 0.3M

クエン酸ナトリウム 8.82g を天秤で量りとり、スターラーを使って純水に溶かした。

その後、メスシリンダーに移しかえ、純水で 100ml までメスアップした。

・ 1M 重炭酸ナトリウム

$$\left[\begin{array}{l} \text{重炭酸ナトリウム } 1\text{M}=84.01\text{g/L} \\ \\ \qquad \qquad \qquad =8.4\text{g}/100\text{ml} \end{array} \right.$$

重炭酸ナトリウム 8.4g を、クエン酸ナトリウムの調製と同じように 100ml の純水に溶かして 1M の重炭酸ナトリウム溶液を調製した。

・ 0.5M 塩化マグネシウム

$$\left[\begin{array}{l} \text{塩化マグネシウム}(\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}) \quad 1\text{M}=203.30\text{g/L} \\ \\ \qquad \qquad \qquad 0.5\text{M}=101.65\text{g/L} \\ \\ \qquad \qquad \qquad \qquad \qquad \qquad \qquad \qquad \qquad \div 10.2\text{g}/100\text{ml} \end{array} \right.$$

塩化マグネシウム 10.2g を、100ml の純水に溶かして 0.5M の塩化マグネシウム溶液を調製した。

・ 1M 塩化カリウム

実験室に保管されていた 1M 塩化カリウム溶液を使用した。

・ メタノールを少量含む 10%グリセロール液 (50ml 調製)

50ml のメスフラスコに、グリセリン 5ml とメタノール 0.5ml を入れ、純水で 50ml にメスアップした。

X 線回折用スライドガラスの準備

チエトイ、伊藤沢、十勝太粘土をそれぞれ 50 mgずつ、2 本の遠心分離管 (1 本はマグネシウム処理用、1 本はカリウム処理用) に量り取った。(粘土の抽出分離方法については、3-2 B 粘土による生理活性物質の吸着実験を参照。)

次に、すべての遠心分離管に、

- ①0.3M クエン酸ナトリウム 4ml
- ②1M 重炭酸ナトリウム 0.5ml
- ③ハイドロサルファイトナトリウム 0.1g

を加え、よく混ぜた。

その後、時々攪拌しながら 80℃のお湯で 15 分間加温した。この時ガスが発生するので、爆発を防ぐために遠心分離管のキャップはゆるく閉めた。

加温が終了したら、マグネシウム処理用の遠心分離管には 0.5M 塩化マグネシウムを 8ml、カリウム処理用には 1M 塩化カリウムを 8ml 加えてガラス棒を使ってよく攪拌・混合し、粘土上の荷電をイオンで飽和させた後、約 3000 回転で 5 分間、高速遠心分離を行った。

終了後、上澄み液を静かに捨て、前述の加温終了後からの操作を、3 回繰り返した。さらに、純水 3ml で 1 回、80%エタノール 5ml で 2 回洗浄 (=高速遠心分離) し、底にペーパーを敷いたビーカー内で遠心分離管を逆さにして 30 分ほど水切りを行った。

水切りができたなら、マイクロピペットを使って遠心分離管に純水 0.5ml を入れてガラス棒でよくかき混ぜた。この粘土懸濁液をマイクロピペットで 0.2ml 採取し X 線回折用スライドガラスにのせ、1 辺が約 2cm の正方形に広げた。それらをデシケータに入れて、シリカゲル上で翌朝までよく乾かした。

それぞれの粘土ごとにマグネシウム飽和粘土のスライドは 2 枚、カリウム飽和粘土のスライドは 3 枚調製した。

各粘土のマグネシウム処理のスライド 1 枚にメタノールを少量含む 10%グリセロール液を 5 滴ほど滴下したものをデシケータ中で風乾し、「マグネシウム処理後グリセロール処理」とした。

カリウム処理のサンプルを各粘土1枚ずつマッフル炉中300℃及び550℃で5時間加熱し、「カリウム処理後300℃及び550℃」とした。加熱終了後、急に取り出すとスライドガラスが割れてしまう恐れがあるため、マッフル炉のスイッチだけ切って放置し、翌朝取り出した。

したがって、調製したスライドは、各粘土ごとにMg-風乾、Mg-グリセロール処理、K-風乾、K-300℃、K-550℃の5種類である。

X線回折を行う

X線回折装置でX線回折を行った。

- | | | | |
|----------|----------|-------------|-----------|
| ・角度(2θ) | 30° ~ 3° | ・TIME CONST | 1.0(×1.0) |
| ・電圧 | 26kV | ・WIDTH | 3 |
| ・電流 | 30mA | ・GAIN | 5 |
| ・DISPLAY | 2 | ・MEAS.SPEED | 4 1/2 |
| ・RANGE | チエトイ 2K | 伊藤沢 5K | 十勝太 2K |

B 吸着実験

実験に使用したバッファの調製

pH2.0の吸着実験には、0.1N NaCl pH2.0 HClを使用した。(後述の酢酸アンモニウムバッファではpH2.0だけは実験がうまくいかなかったため、このバッファを使用した。Gilardi et al.,1999によると、このバッファは鳥類の胃液を再現している。)

塩化ナトリウム 1M=58.443g/L

1L ビーカーに塩化ナトリウムを 5.844g とり、スターラーで攪拌して純水約 600ml に溶かした。さらに攪拌を続けながら 1M 塩酸を少しずつ滴下し pH2.0 に調節し、その後 1L のメスフラスコに移しかえて純水で 1L にメスアップした。これをよく混ぜてから、別の容器に保存した。

pH3.5~5.5 の吸着実験に使用した緩衝液は、0.1N $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ と CH_3COOH を混合して調製した。

0.1M 酢酸アンモニウム 1M=77.083g/L

1L ビーカーに酢酸アンモニウムを 7.71g とり、スターラーで攪拌して純水約 600ml に溶かした。さらに攪拌しながら酢酸を少しずつ滴下し pH を 3.5、4.5、5.5 に調節した。

1L のメスフラスコに移し、純水で 1L にメスアップした後、よく混ぜてから別の容器に保存した。

(1)供試土壌による、生理活性物質の吸着実験

[キニーネ]

キニーネ溶液の調製

50ppm=50mg/1000ml

=12.5mg/250ml

ビーカーにキニーネを 12.5mg 正確に量りとり、これを少量のバッファーで完全に溶かした。250ml のメスフラスコに移し、バッファーで 250ml までメスア

アップし、これを 50ppm のキニーネ溶液とした。

この溶液を、ホールピペットを用いて 4 つの 50ml メスフラスコに 40, 30, 20, 10ml ずつ採り、それぞれをバッファーで 50ml にメスアップした。これらを 40, 30, 20, 10ppm のキニーネ溶液とした。

キニーネ濃度の定量化

キニーネ溶液と供試土壌の反応後の吸光度を求め、検量線を利用して反応後のキニーネ濃度を定量化した。

・ 検量線の作成

各種濃度のキニーネ溶液 2.5ml とバッファー2.5ml をマイクロピペットを用いて試験管に採り、0, 5, 10, 15, 20, 25ppm の標準液とした。これらの吸光度を波長 332nm で測定し、検量線を作成した。

* 波長 332nm の決定

吸光度を測定する際の波長を決めるために、20ppm 標準液の吸光度をさまざまな波長で測定し、最も光を吸収する波長を調べた。その結果、332nm での吸光度が 1 番大きかったため、波長は 332nm に決定した。

波長(nm)	330	333	332	331	337	340	344	347	350
吸光度(ABS)	0.286	0.288	0.289	0.287	0.266	0.236	0.190	0.162	0.139

・吸着実験

まず、各種濃度のキニーネ溶液（0~50ppm *0ppm にはバッファーを使用）2.5ml をマイクロピペットを用いてそれぞれ 15ml 遠心分離管に採った。次に、供試土壌 50mg とバッファー50ml の混合液である土壌懸濁液を、スターラーで攪拌しながら 2.5ml ずつ先ほどの遠心分離管に加えた。この時、キニーネ溶液は 2 倍希釈され、それぞれ 0,5,10,15,20,25ppm となった。

これらをインキュベーター中で 38℃に加温しながら毎分 120 回の速さで振とうさせ、60 分間キニーネと供試土壌を反応させた。

その後遠心分離機(CENTRIFUGE 05P-02 HITACHI)で 10 分間、3000rpm の速さで遠心分離し、土壌と上澄み液に分離させ、遠心分離終了後はこれらをあまり振動させないように注意した。

得られた上澄み液を 1ml テルモシリンジで約 1ml 採取し、メンブランフィルター(ADVANTEC Cellulose Acetate 0.45 μ m 東京理化機械株式会社)でろ過し、ろ液の吸光度を波長 332nm で測定した。その際、使用したガラスセルは毎回ろ液で共洗いしてから用いた。

求めた吸光度と検量線を利用して、供試土壌の吸着に関するデータを得た。さらに、それらをラングミュアの吸着等温式に当てはめ、供試土壌の吸着能を評価した。

[ヒスタミン]

※ヒスタミンは有毒な物質であるため、眼に入れたり、吸入、経口摂取、皮膚への付着が生じないようにし、取り扱いには十分注意する。

※ヒスタミンはガラスに吸着することがあるので、使用器具はプラスチック製のものを使用する。

※ヒスタミンは冷蔵庫で保存する。

ヒスタミン溶液の調製

キニーネ溶液と同様に、50ppm のヒスタミン溶液を希釈して 10～40ppm の溶液を調製する。

〔	ヒスタミン	分子量	111.14
	ヒスタミン・2HCl	分子量	184.07

50ppm ヒスタミン溶液の調整

$$184.07/111.14=82.8$$

$$50\text{ppm}=82.8 \text{ mg/L}$$

$$=20.7 \text{ mg/250ml}$$

キニーネ溶液と同様に、ヒスタミン 20.7 mgを 250ml のバッファーで溶かして 50ppm 溶液を調製し、それを希釈して 10～40ppm 溶液を調製する（詳しくは、「キニーネ溶液の調製」の項を参照）。

ヒスタミン測定キット使用時に必要な試薬の調製

- ・ トリス緩衝液の調製 (170mM pH9.0 (Sato et al.,2005))

$$\begin{aligned} \text{トリス } \text{H}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{OH})_3 & \quad 1\text{M}=121.14\text{g/L} \\ & 121.14 \times 0.17 = 20.59\text{g/L} \\ & = 10.296\text{g}/500\text{ml} \end{aligned}$$

500ml のビーカーにトリスを 10.296g 量りとり、スターラーで攪拌して約 300ml の純水に溶かし、完全に溶けたらさらに攪拌を続けながら 2M 塩酸を滴下して pH9.0 に調節した。その後、500ml メスフラスコに移し純水で 500ml にメスアップした。よく混ぜてから別の容器に移し、冷蔵庫で保管した。

- ・ 混合試薬の調製

ヒスタミン測定キットの取扱い説明書をよく読み、測定に必要な複数の試薬をあらかじめ混合しておくことにより、ピペット操作の回数を減らした。また、吸光度測定の際に利用するセルは ml 容量のため、検液の量を取扱い説明書記載の半分にした。それに合わせて、検液以外の各試薬も半分の量で実験を行った。

45 サンプル測定分

実際には、1 度に 36 サンプルの測定をしたので、9 サンプル分の余りが出た。これは冷蔵庫で保管し、この余りに足していく形で毎回混合試薬を調製した。

純水	22.5ml	(0.5ml×45 回分=22.5ml)
トリス緩衝液	27ml	{ 検液 5 倍希釈用 0.4ml×45 回分=18.0ml 説明書記載 0.2ml×45 回分=9.0ml
発色試薬液	9ml	{ 取扱い説明書に記載してあるように、 発色試薬液 1 本に純水 9ml を加えて溶かした。

これらを全て混合し、混合試薬とした。また、発色試薬は光（特に自然光）に敏感に反応するため、容器は褐色のビンを用いた。

ヒスタミン濃度の定量

ヒスタミンはキニーネと違い吸光度の測定のみでは定量できない物質である。まずはキニーネと同じようにろ液を抽出し、その後、Kikkoman ヒスタミン測定キット「チェックカラーヒスタミン」を使用してヒスタミン濃度の定量を行った。

・検量線の作成

各種濃度のヒスタミン溶液 2.5ml とバッファー2.5ml をマイクロピペットを用いて試験管に採り、0, 5, 10, 15, 20, 25ppm のヒスタミン標準液（Control）とした。これらの吸光度を波長 470nm で測定し、検量線を作成した。

*波長 470nm の決定

ヒスタミン測定キット「チェックカラーヒスタミン」の取扱い説明書に準じて、波長は 470nm に決定した。

・吸着実験

各種濃度のヒスタミン溶液（0~50ppm *0ppm にはバッファーを使用）2.5mlをマイクロピペットを用いてそれぞれ15mlのプラスチック遠心分離管に採った。次に、供試土壌50mgとバッファー50mlの混合液である土壌懸濁液を、スターラーで攪拌しながら2.5mlずつ先ほどの遠心分離管に加えた。この時、ヒスタミン溶液は2倍希釈され、それぞれ0,5,10,15,20,25ppmとなった。

これらをインキュベーター中で38℃に加温しながら毎分120回の速さで振とうさせ、60分間ヒスタミンと供試土壌を反応させた。

その後遠心分離機(CENTRIFUGE 05P-02 HITACHI)で10分間、3000rpmの速さで遠心分離し、土壌と上澄み液に分離させ、遠心分離終了後はこれらをあまり振動させないように注意した。

得られた上澄み液を1mlテルモシリンジで約1ml採取し、メンブランフィルター(ADVANTEC Cellulose Acetate 0.45 μ m 東京理化機械株式会社)でろ過し、ろ液を別のプラスチック試験管に移した。

*次の操作まで時間が空く場合は、これらのろ液にはヒスタミンが含まれるため冷蔵庫で保管した。

ろ液の抽出が終わったら、次はキットを用いた操作を開始した。

まず、取扱説明書に記載してある通りにキット付属の酵素1本に純水5mlを加えて溶解させた後、すぐに冷蔵庫で冷却した。次にプラスチック製マイクロデイスポセルを検液数分用意し、すべてのセルに検液（ろ液）0.1mlと、調製した混合試薬1.3mlをマイクロピペットを用いて採取した。さらに、酵素添加用のセルには酵素液を0.2ml、酵素無添加用のセルには純水0.2mlを加えた。これ

らをセルラックにセットし、インキュベーター中で 37°C に加温しながら 15 分間ゆっくりと振とうし反応させた。この時、セルに当たる光を少なくするために、覆いをかぶせて遮光した。

その後、波長 470nm で吸光度を測定した（ゼロ点調整には純水を使用）。

得られた結果から、供試土壌の吸着能を検討した。

*セルラックの配置

0 5 10 15 20 25ppm

						A 土壌① 酵素あり
						B 土壌② 酵素あり
						C 標準液 酵素あり
						D 土壌① 酵素なし
						E 土壌② 酵素なし
						F 標準液 酵素なし

(2)粘土による生理活性物質の吸着実験

粘土の抽出分離

供試土壌（チエトイ・伊藤沢・十勝太）を 10g 量りとりそれぞれ沈底ビンに入れた後、500ml の線の少し下まで純水を加えた。約 3 分間超音波をかけた後、0.5M 水酸化ナトリウムを 1ml ずつ加えて土壌懸濁液の pH をアルカリ性にした。

供試土壌	調整前 pH	調製後 pH
チエトイ	6.21	10.58
伊藤沢	5.46	8.20
十勝太	6.33	10.59

沈底ビンの 500ml の線まで純水を加え、再び約 3 分間超音波をかけた。その後、水平で静かな場所に 4 時間ほど放置すると、粒子の細かい粘土は上澄み液中に残り、他の大きな粒子は沈殿した。ピペットスタンドとサイフォンを用いて水面から 5cm の上澄み液を 1L のポリビンに回収した。上澄み液が透明になるまで、上澄み液の回収を 2 回繰り返した。

回収が終わったら、集めた上澄み液に塩酸を滴下して pH2.0 に調整し、粘土の沈殿を促した。粘土と透明な上澄みに分けられたら、サッカーでだいたいの上澄み液を取り除き、最後はスポイトを使って慎重に上澄み液を取り除いた。

ポリビンを振って粘土を拡散させてから、50ml 高速用遠心管の 7 分目くらいまで入れた (1 サンプル 2 本ずつ×3 サンプル)。高速遠心分離機にセットし、高速遠心分離にかけた (NORMAL モード、SPEED 90×100rpm、TIME 10min、TEMP 20°C)。

遠心分離が終わったら、遠心分離管を傾けて上澄み液を捨て、そこに再度サンプルを足して高速遠心分離にかけた。これを、サンプルが無くなるまで繰り返した。

最後は、上澄み液を捨てたあとに蓋をして、冷凍庫で凍結させた。その後取り出して、凍結乾燥を行った。十分に乾燥させたら、ガラスビンに移しかえ保管した。

吸着実験

粘土による吸着実験の方法は、3-2 B (1) 土壌による生理活性物質の吸着で示した方法と同じであったため、ここでは省略する。

(3)食品存在下での、土壌による生理活性物質の吸着実験

かつお節の粉末化

かつお節は、くまだ株式会社製造 かつお削りぶし（国産節 100%）を粉砕機で粉末化したものを用いた。

吸着実験

ヒスタミンに汚染されているカツオを食べた後に食土を摂取すると想定した。まず、全ての遠心管にかつお節粉末 100mg を入れた。その後、各種濃度のヒスタミン溶液をマイクロピペットで 2.5ml ずつ入れてよく混ぜたら、10 分ほど放置してかつお節粉末とヒスタミン溶液を反応させた。

その間に、供試土壌 50mg とバッファー50ml の土壌懸濁液を作成した。

時間が経ったら、土壌懸濁液をスターラーで攪拌しながら、マイクロピペットで 2.5ml ずつ遠心管に加えた。

その後の操作は 3-2 B (1)土壌による生理活性物質の吸着 [ヒスタミン] と同じである。

インキュベーター中で 38℃に加温しながら 60 分間振とうして反応させ、高速遠心分離にかけた。そしてろ液を抽出し、ヒスタミン測定キットを用いて反応後のヒスタミン濃度を定量した。

第4章 結果および考察

A X線回折

チエトイ土壌の粘土画分を X 線回折分析した結果、マグネシウム飽和風乾処理では 1.38nm、マグネシウム飽和グリセロール処理では 1.92nm にゆるやかなピークが見られた。また、カリウム飽和風乾処理では 1.16nm にゆるやかなピークが見られ、カリウム飽和 300℃、550℃ 処理ではそのピークが 1.02nm, 1.03nm と変化した。このことから、チエトイ土壌の主要な粘土鉱物はモンモリロナイトであると考えられた。さらに、そのピークの形から、モンモリロナイト以外にも結晶化度の低い鉱物が多く含まれていることが示唆された。

伊藤沢土壌の粘土画分においては、マグネシウム飽和風乾処理で 1.42nm にあったピークが、マグネシウム飽和グリセロール処理では 1.88nm に移動した。カリウム飽和では風乾、300℃、550℃の処理で 1.13nm、1.02nm、0.99nm にピークが見られた。この結果から、伊藤沢土壌ではモンモリロナイトが主要な粘土鉱物であると考えられた。また、ピークの形がシャープ且つ大きかったことから、伊藤沢土壌の粘土画分には純粋なモンモリロナイトの結晶が多く含まれていることが示された。

十勝太土壌の粘土画分では、マグネシウム飽和処理でははっきりしたピークが現れなかった。カリウム飽和処理では全ての処理において 1.03nm にピークが現れた。このことから、十勝太土壌の粘土鉱物はイライトであることが示唆された。

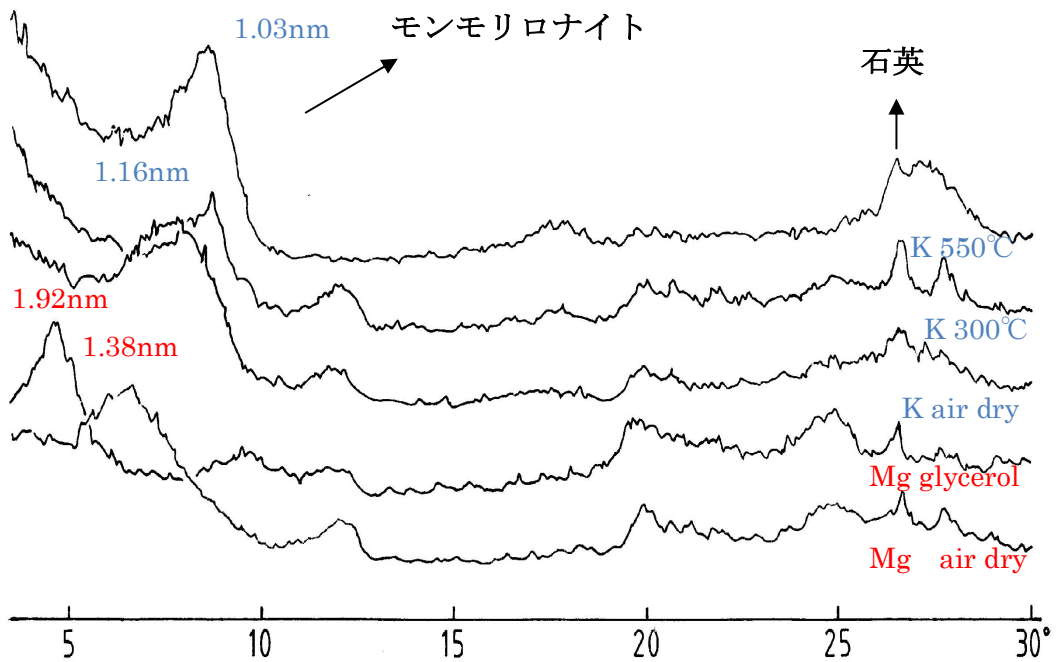


図 1. X線回折 チェトイ

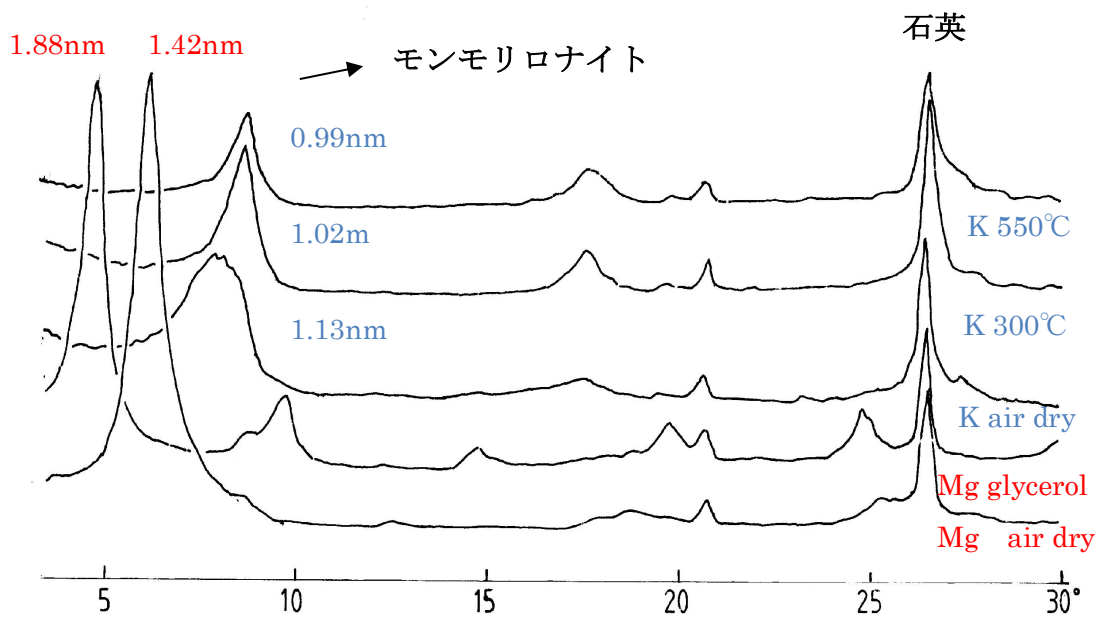


図 2. X線回折 伊藤沢

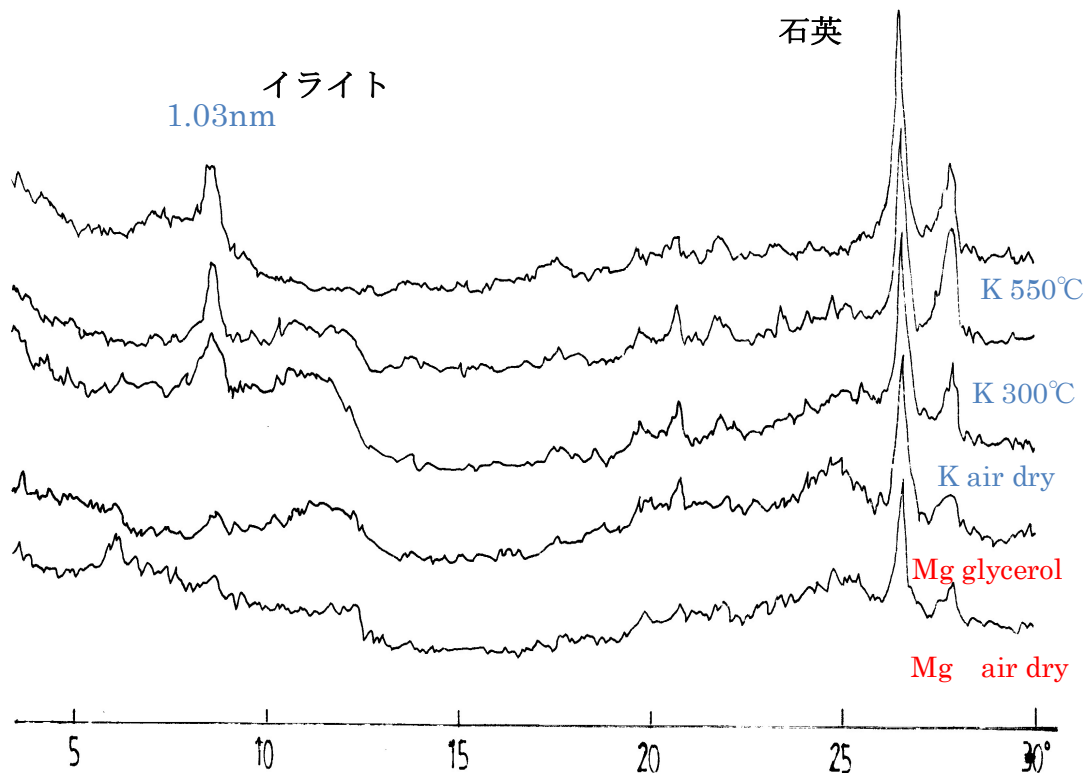


図 3. X線回折 十勝太

B 吸着実験

結果

(括弧内の数値は、キニーネおよびヒスタミン溶液 25ppm と反応させた時の供試土壌 1g あたりの吸着量を示す。)

(1) 土壌による生理活性物質の吸着実験

[キニーネの吸着]

全体的にみると、土壌に吸着されるキニーネの量は pH2.0 で多い傾向がみられた。また、土壌と反応させるキニーネ濃度が高くなるのに伴い吸着量も増大した。

伊藤沢土壤では、ほぼ全ての pH で吸着量が最も大きかった(図 4)。比較のために供試したモンモリロナイトは、pH2.0 での吸着量が非常に大きく(27.8mg/g)、伊藤沢(22.9mg/g)よりもさらによくキニーネを吸着した。チエトイもほかの土壤に比べて比較的吸着量が多かったが、pH2.0 での吸着量(12.2mg/g)と pH4.5、pH5.5 での吸着量(13.1mg/g、12.3mg/g)がほぼ同じであったことから、吸着は pH にあまり影響を受けていないことが示唆された(図 5-1)。十勝太は、チエトイや伊藤沢と比べるとどの pH でも吸着量は最も少なかった。しかし、pH2.0 での吸着(8.4mg/g)がほかの pH(pH4.5 4.4mg/g)に比べて非常に大きく、吸着の pH 依存性が明らかであった(図 5-3)。けいそう土においても吸着が認められたものの、吸着量は全体的に少なかった。また、チエトイと同じく吸着の pH 依存性は低かった(図 5-5)。

どの pH でもほとんど吸着が見られなかったのは恵庭ロームで、カオリンもほぼ同程度の吸着しかなかった。しかし、カオリンによる pH3.5 での吸着量(5.7mg/g)だけは伊藤沢(11.6mg/g)、チエトイ(7.9mg/g)に次いで大きかった(図 5-6)

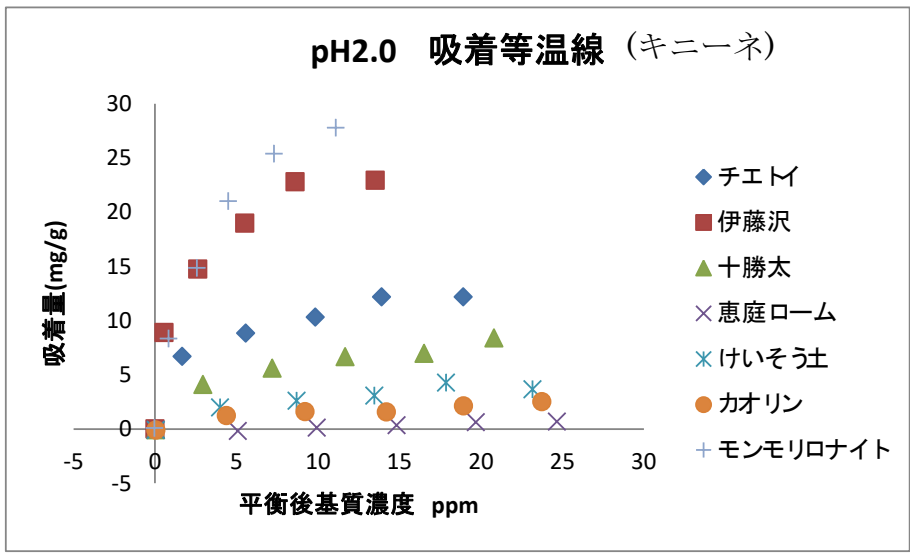


図 4-1

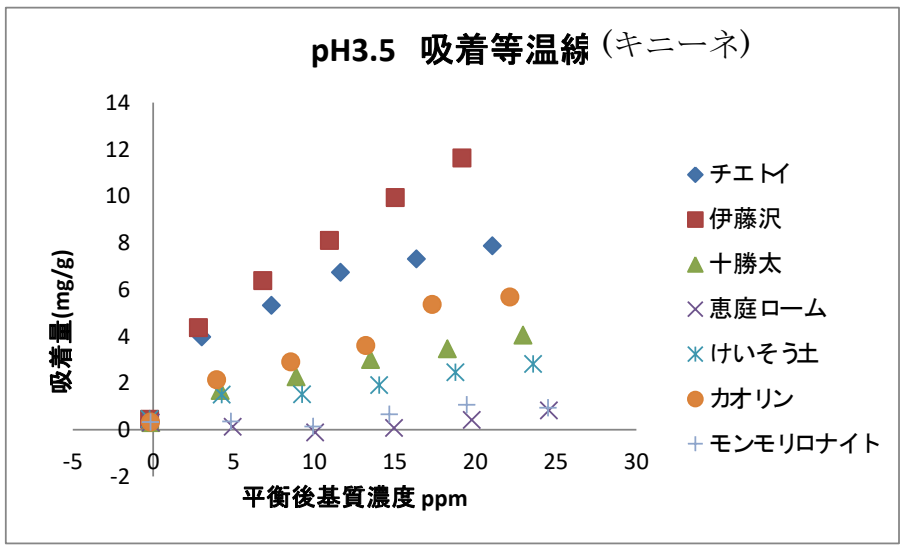


図 4-2

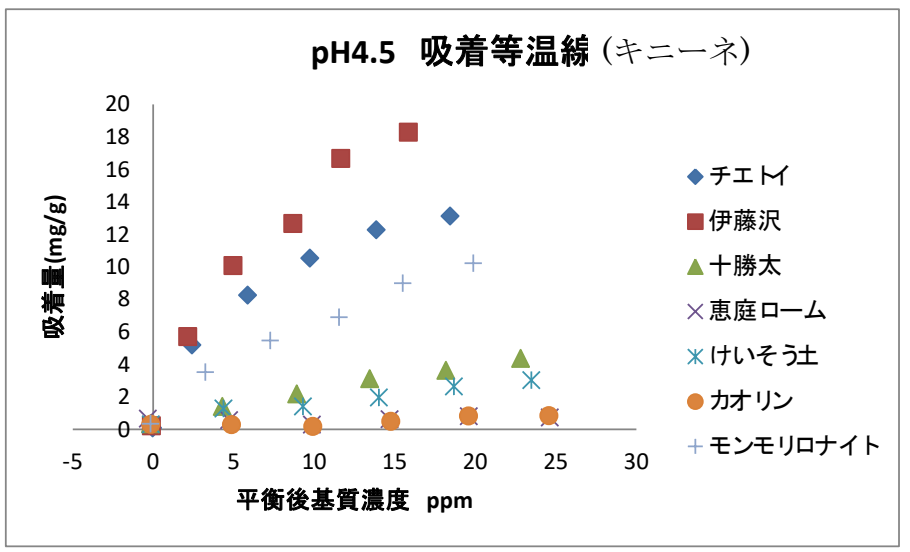


図 4-3

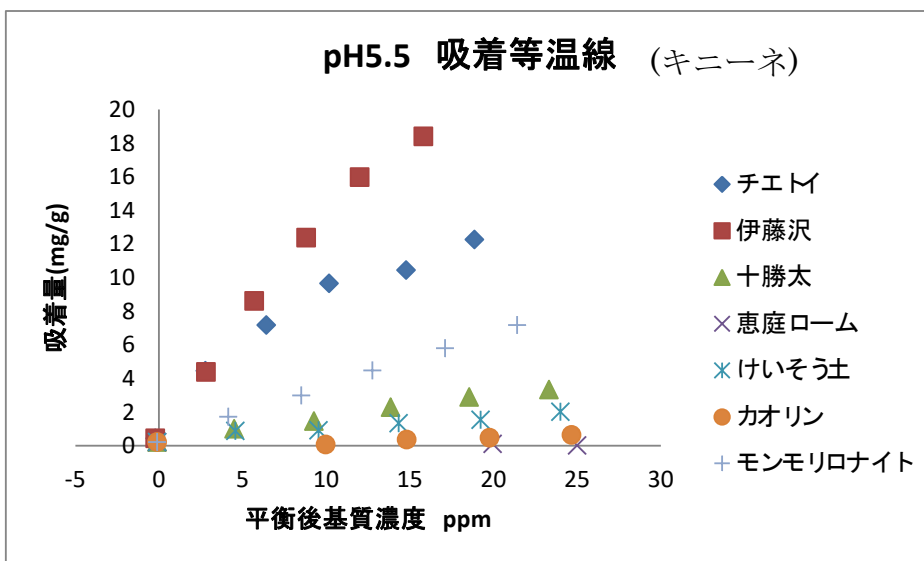


図 4-4

図 4. 供試土壤によるキニーネの吸着等温線

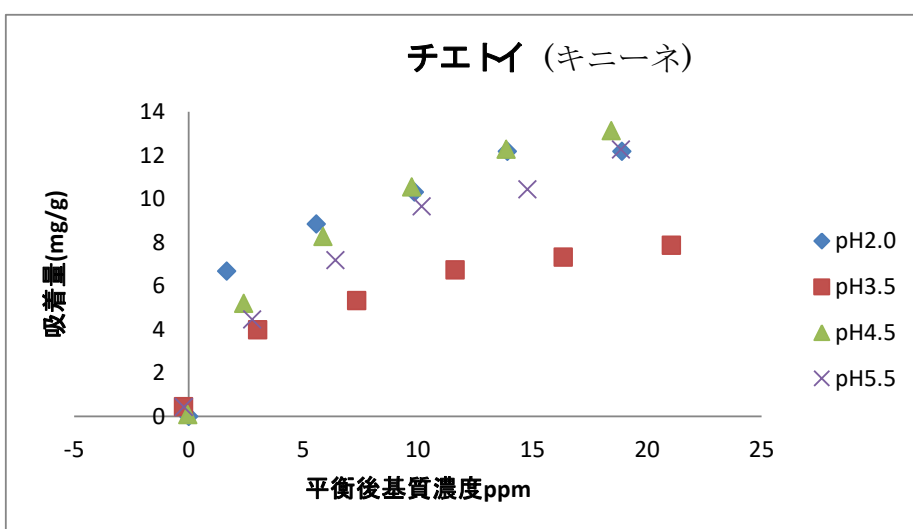


図 5-1

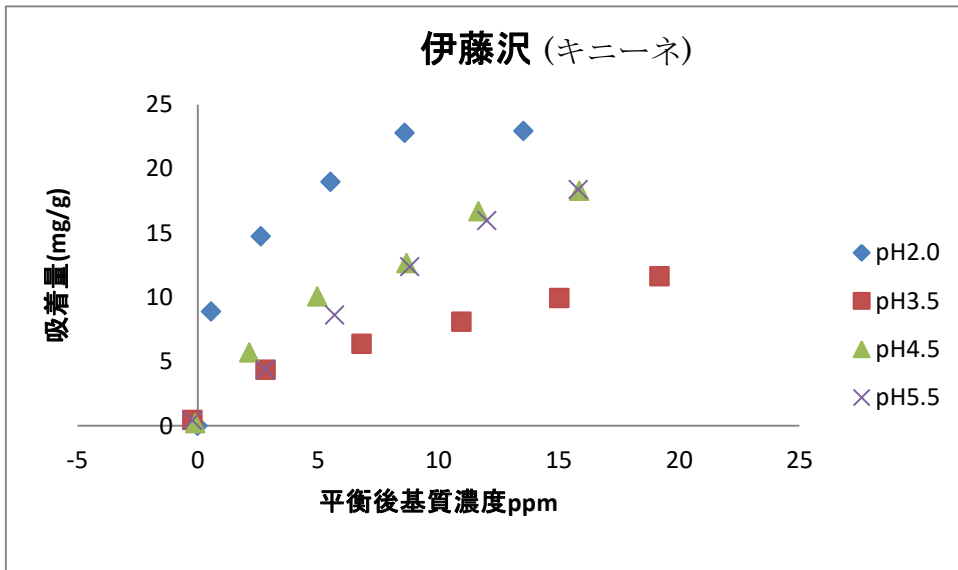


図 5-2

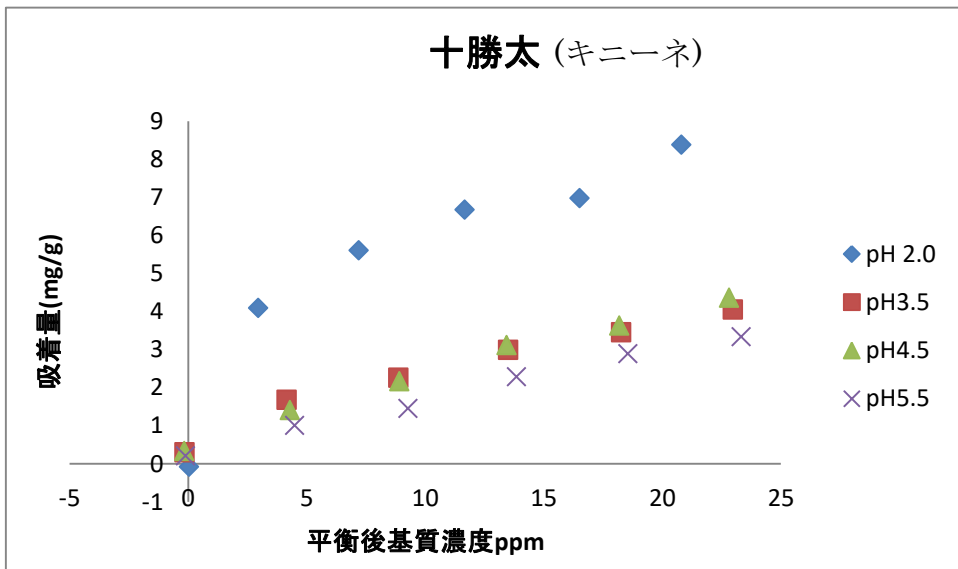


図 5-3

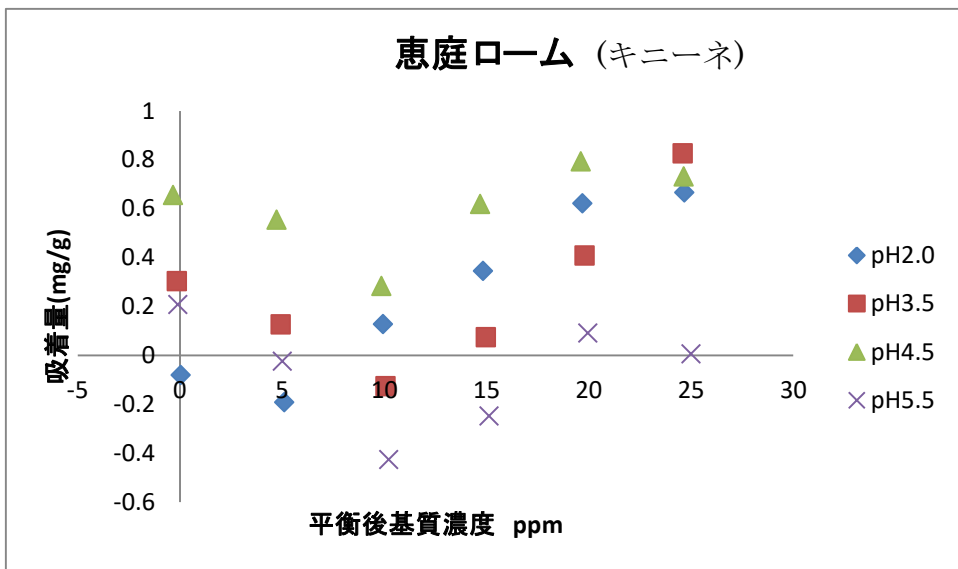


図 5-4

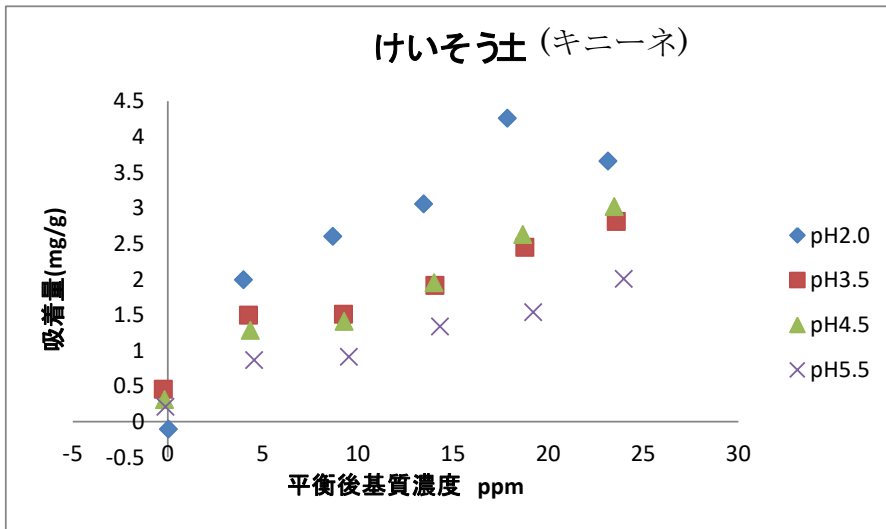


図 5-5

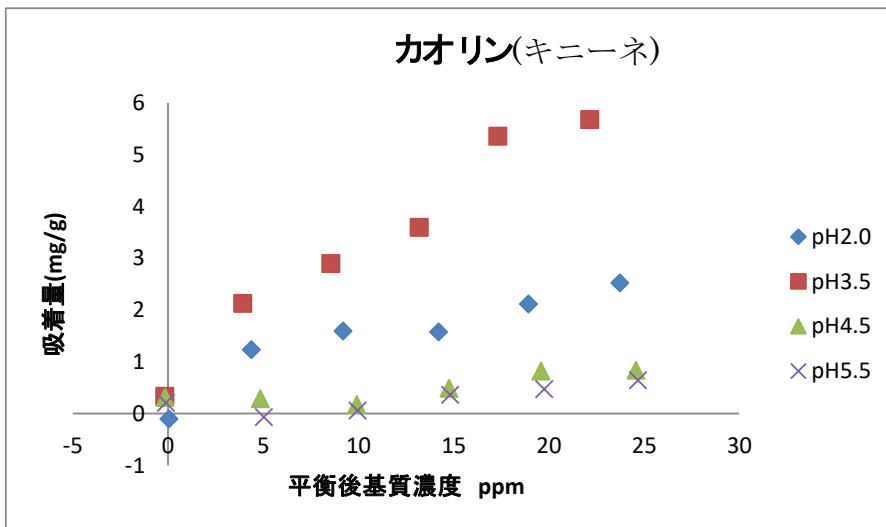


図 5-6

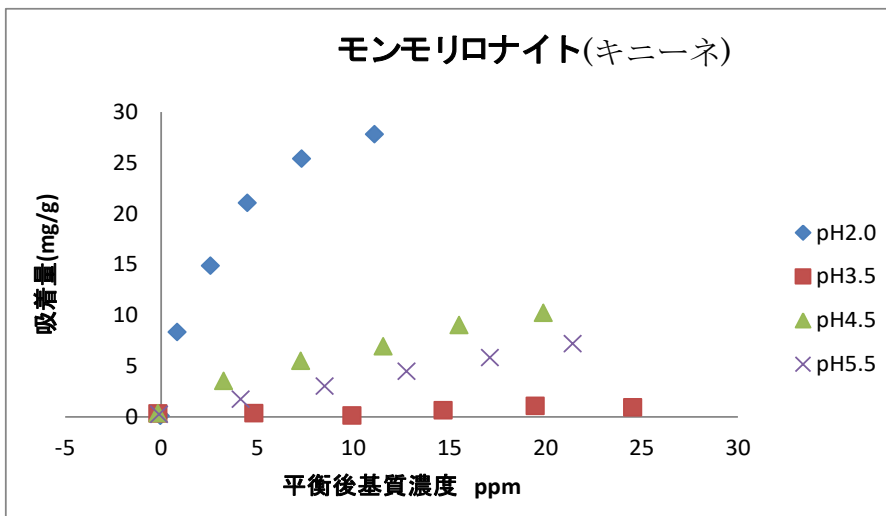


図 5-7

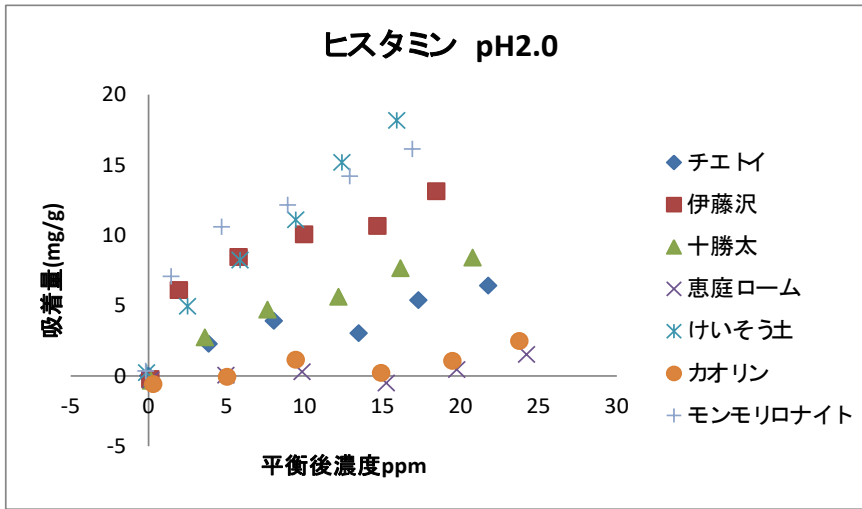
図 5. 各供試土壌のキニーネ吸着等温線

[ヒスタミンの吸着]

全体的にみると、ヒスタミンもキニーネの場合と同じく pH2.0 での吸着が大きい傾向がみられ、またヒスタミン濃度の増加に伴い吸着量も増大した。

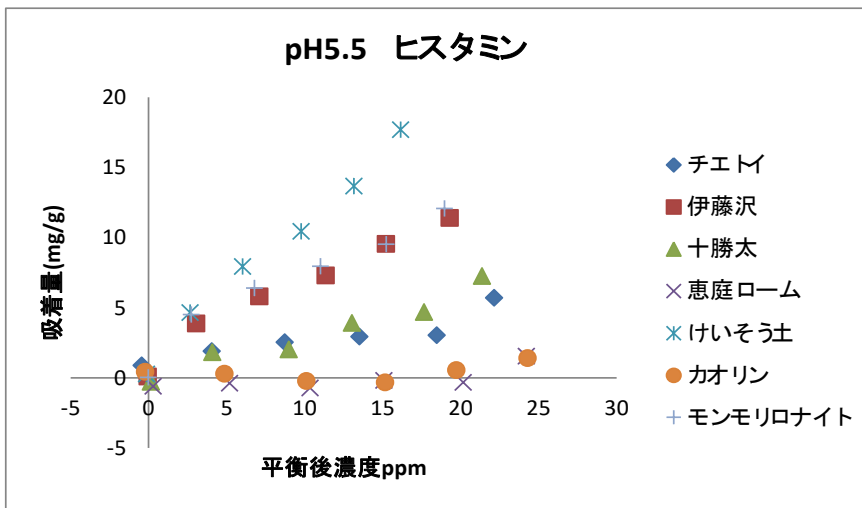
食土3種類を比べると、伊藤沢が最もよくヒスタミンを吸着した(図6)。チエトイと十勝太では、キニーネの時と異なり十勝太のほうがヒスタミンの吸着量が多かった。(pH2.0 伊藤沢 13.1mg/g、チエトイ 6.4mg/g、十勝太 8.4mg/g)

チエトイによるヒスタミンの吸着は、キニーネの時と同様に pH による影響を受けていないようだった(図7-1, 7-5)。同じように、pH による影響を受けていなかったのはけいそう土で、pH2.0 と pH5.0 の吸着量はほぼ同じであった。(18.2mg/g、17.7mg/g)けいそう土は、キニーネをほとんど吸着しなかったのに対し、ヒスタミンの吸着量はすべての土壌の中で最も大きかった(図6)。モンモリロナイトもヒスタミンをよく吸着し(pH2.0 16.1mg/g)、けいそう土に次いで2番目のヒスタミン吸着量を示した。



吸着等温線

図 6-1



吸着等温線

図 6-2

図 6. 供試土壌によるヒスタミ吸着等温線

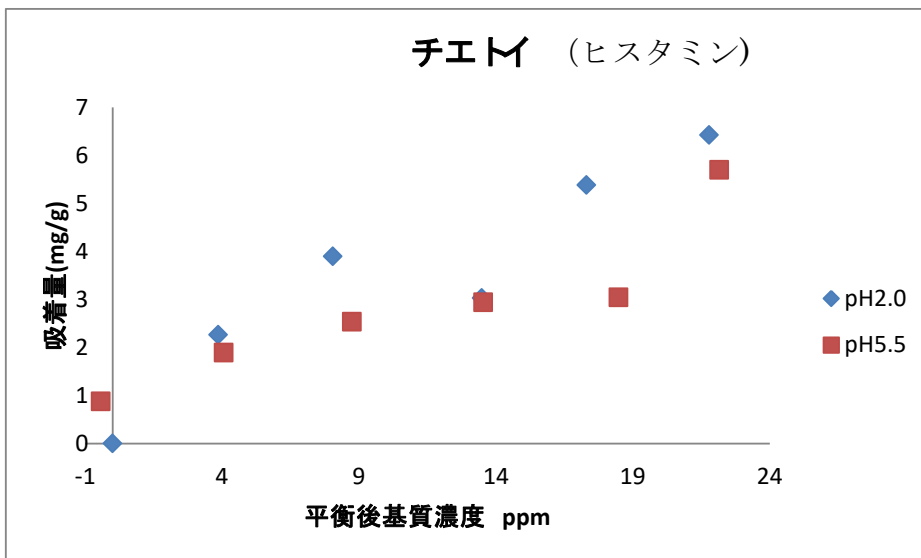


図 7-1

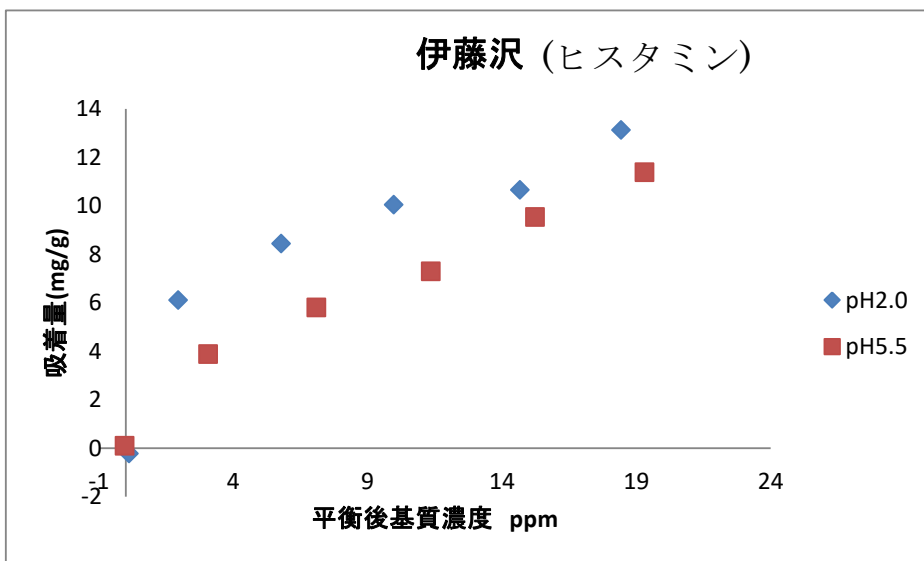


図 7-2

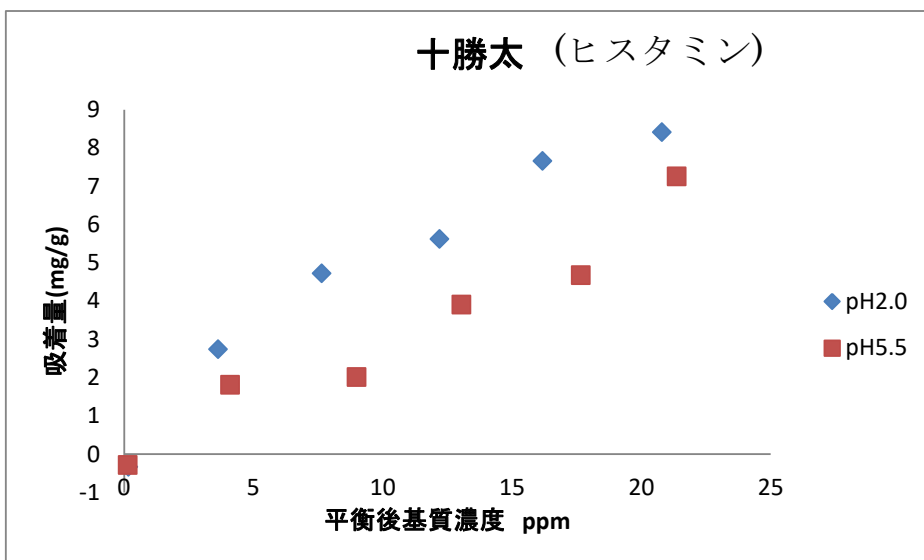


図 7-3

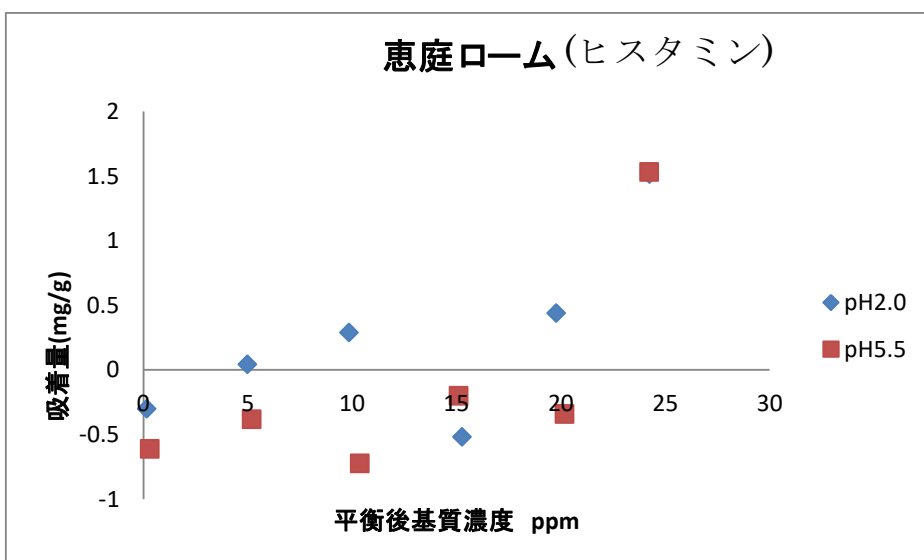


図 7-4

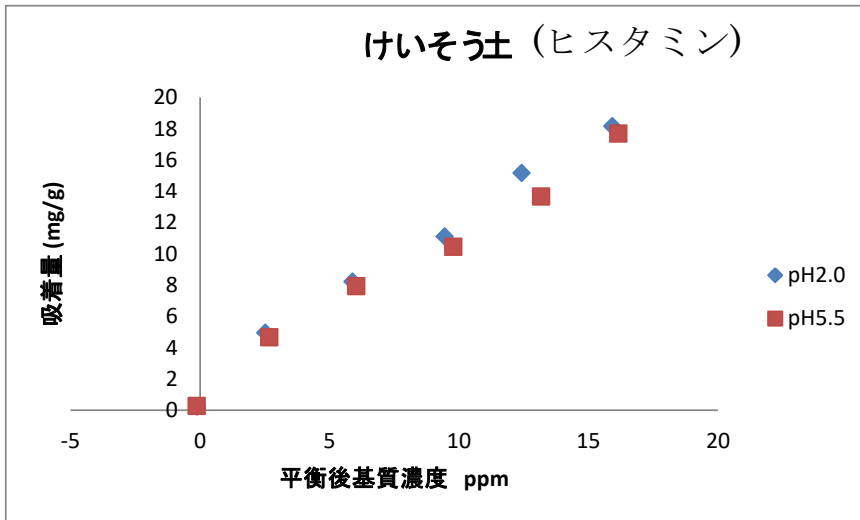


図 7-5

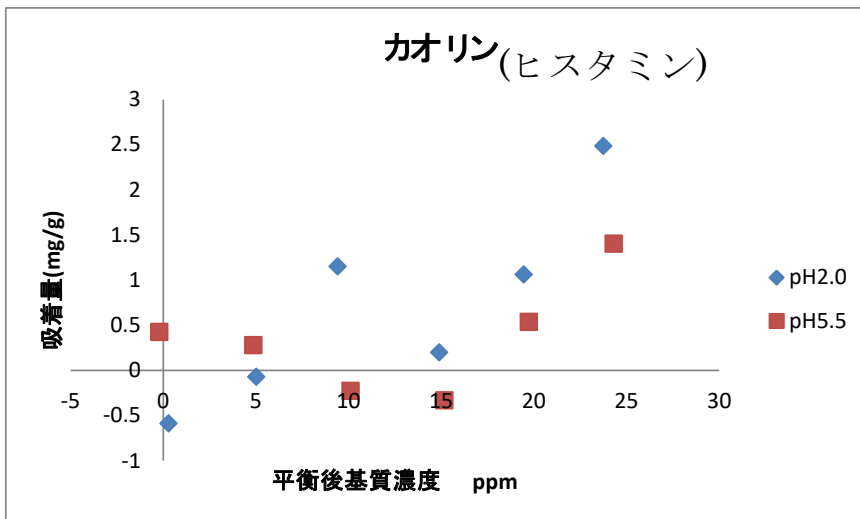


図 7-6

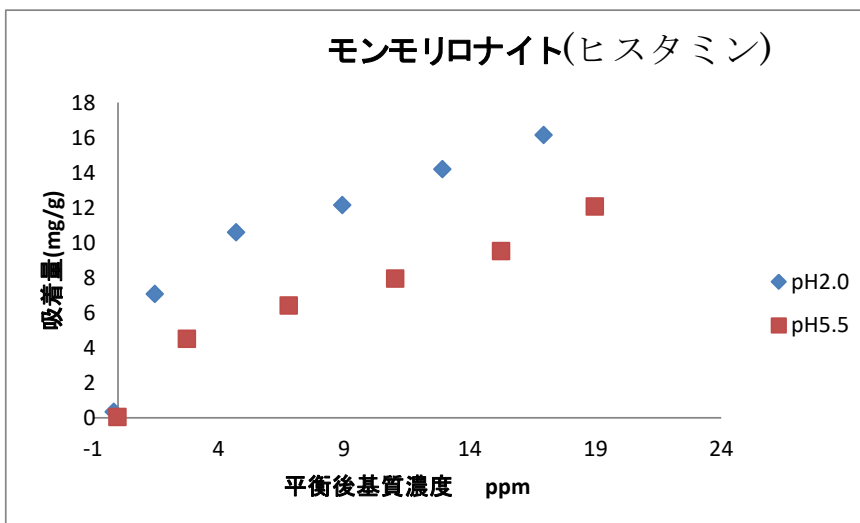


図 7-7

図 7. 各供試土壌のヒスタミン吸着等温線

(2)粘土による生理活性物質の吸着実験

[キニーネの吸着]

チエトイ、伊藤沢、十勝太のいずれにおいても、粘土画分をキニーネと反応させた方が土壌による吸着量より多かった(図 8-1, 8-2)。チエトイ粘土による吸着は、全く pH の影響を受けていなかった。pH の影響がみられた伊藤沢粘土、十勝太粘土では、pH5.5 より pH2.0 での吸着が大きかった。吸着量は土壌の時と同じく、伊藤沢粘土で最も大きく(pH2.0 37.8mg/g)、次いでチエトイ粘土(pH2.0 22.0mg/g)、十勝太粘土(pH2.0 16.2mg/g)という結果となった(図 9-1, 9-2)。

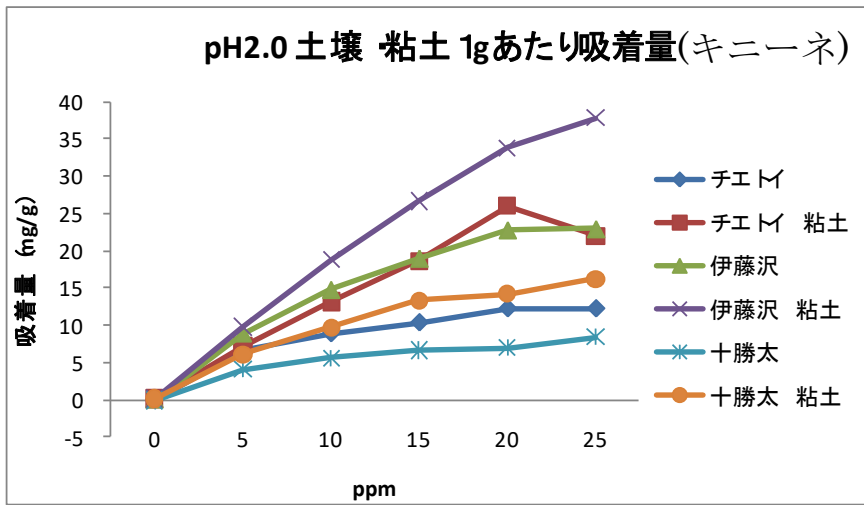


図 8-1

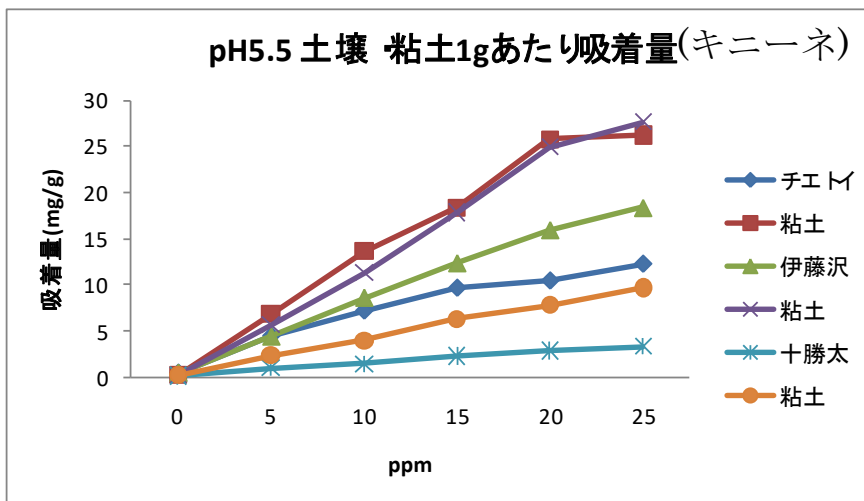


図 8-2

図 8. 食土 3 種類の土壤および粘土によるキニーネ吸着量

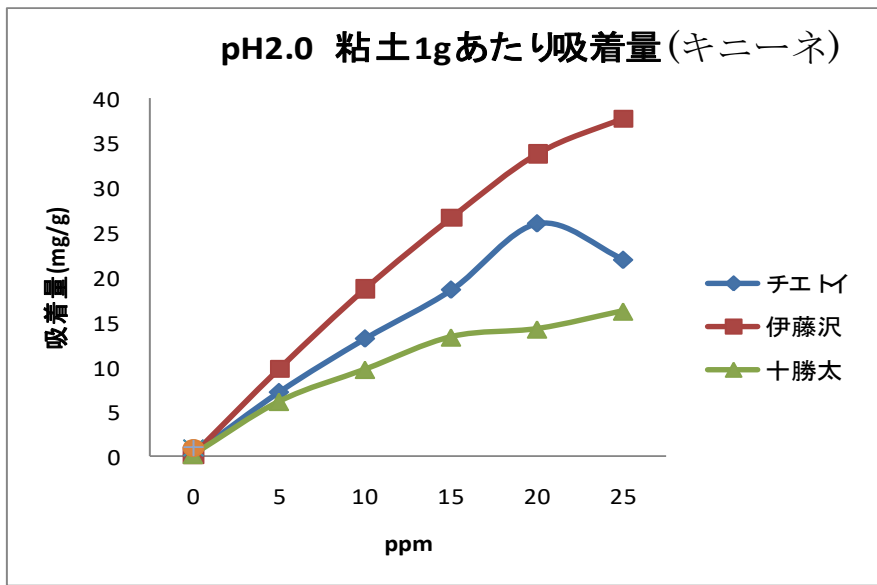


図 9-1

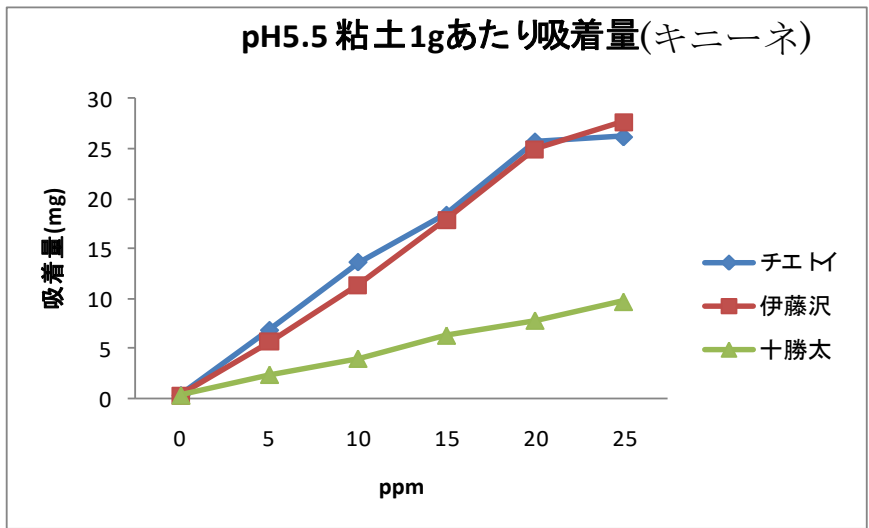


図 9-2

図 9. 食土 3 種類の粘土によるキニーネ吸着量

[ヒスタミンの吸着]

チエトイ粘土や伊藤沢粘土は、キニーネと同様に粘土による吸着量のほうが土壤による吸着量より大きかった(pH2.0 チエトイ粘土 10.6mg/g 土壤 6.4mg/g 伊藤沢粘土 17.9mg/g 土壤 13.1mg/g)(図 10-1)。

十勝太は他の粘土に比べると、粘土と土壤の吸着量にそれほど差はなかった(pH2.0 6.2mg/g、8.4mg/g)。

チエトイ粘土においては pH の影響が見られず、伊藤沢粘土、十勝太粘土は pH5.5 より pH2.0 の方が吸着量が大きかった。

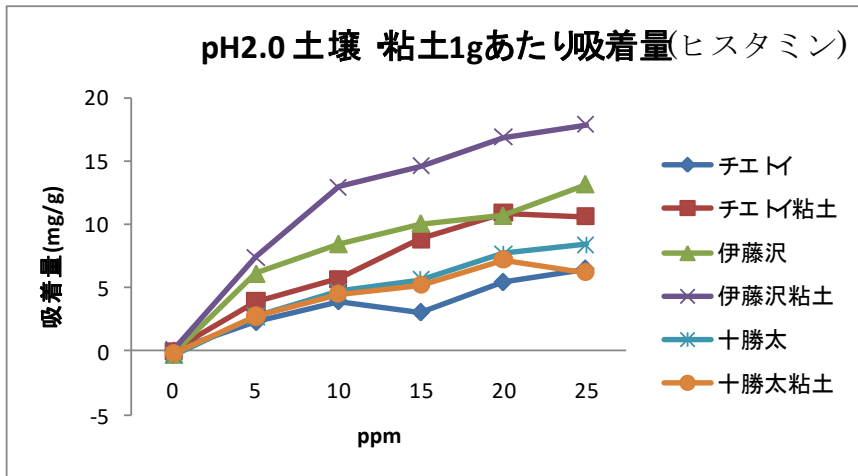


図 10-1

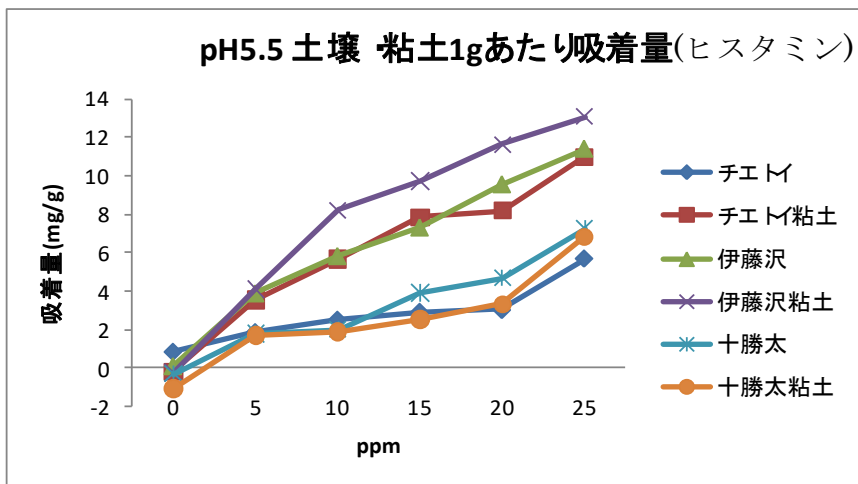


図 10-2

図 10. 食土 3 種類の土壤および粘土によるヒスタミン吸着量

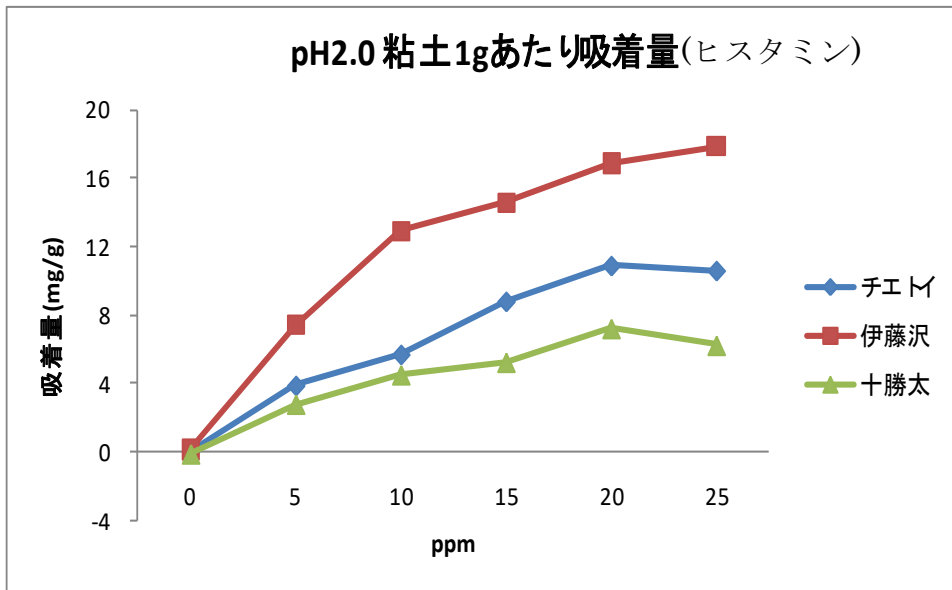


図 11-1

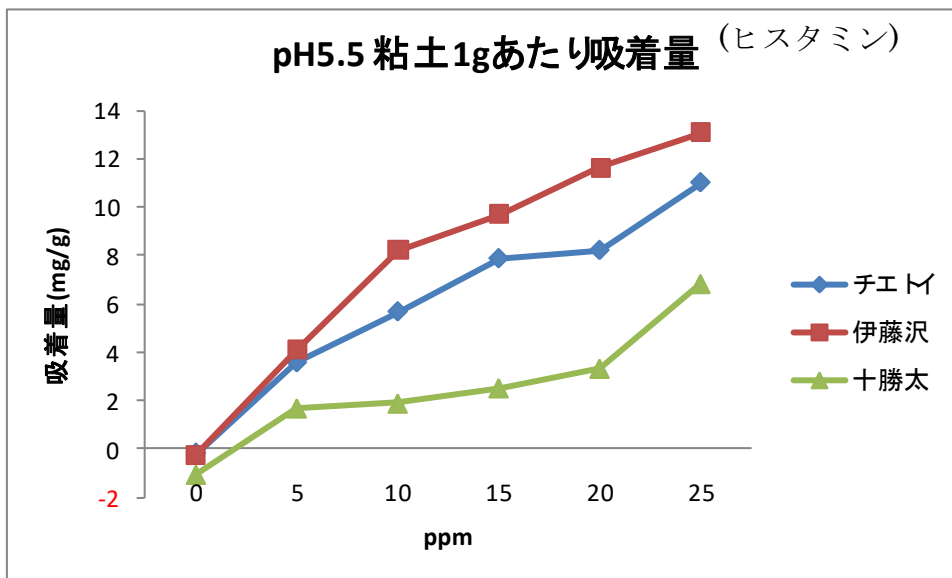


図 11-2

図 11. 食土 3 種類の粘土によるヒスタミン吸着量

(3)食品存在下での土壌による生理活性物質の吸着実験

かつお節の添加により吸着量は減少したが、全く吸着されなくなってしまうわけではなかった(図 14)。特に、伊藤沢は吸着量の減少が大きく、反応させたヒスタミン濃度が高いほど減少量も大きかった。

かつお節を添加してもけいそう土によるヒスタミン吸着量(pH2.0 14.1mg/g)は大きく(図 12)、かつお節無添加の実験と同じように、けいそう土によるヒスタミンの吸着は pH の影響を受けていなかった(図 13-4)。しかし、土壌とヒスタミンのみの実験で pH の影響を受けていた伊藤沢による吸着が、かつお節を添加すると pH2.0(7.2mg/g)と pH5.5(6.9mg/g)での吸着量がほぼ同程度になった(図 13-2)。

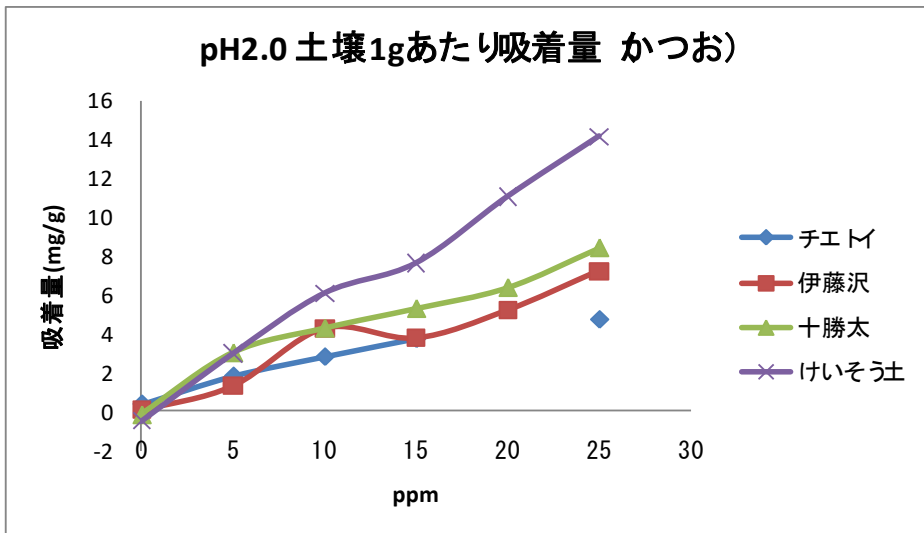


図 12-1

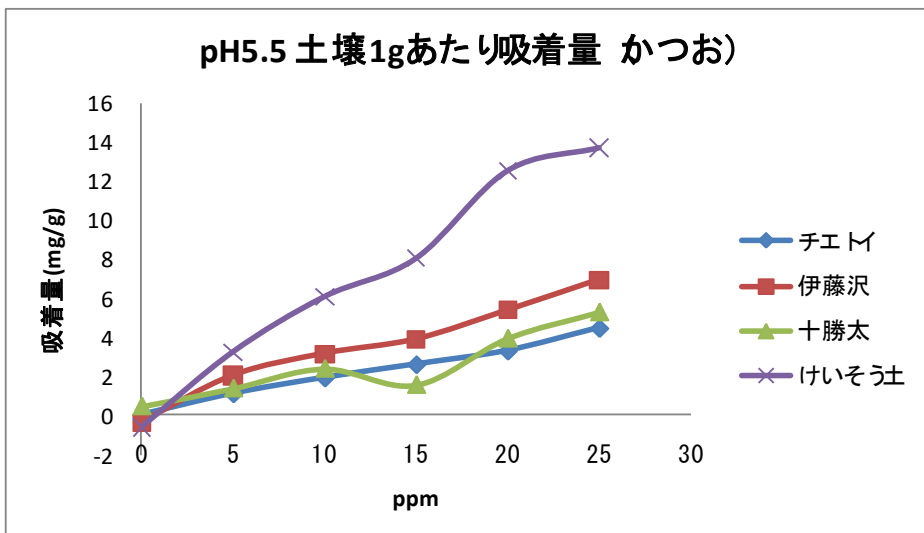


図 12-2

図 12. かつおぶし添加時の食土及びけいそう土によるヒスタミン吸着量

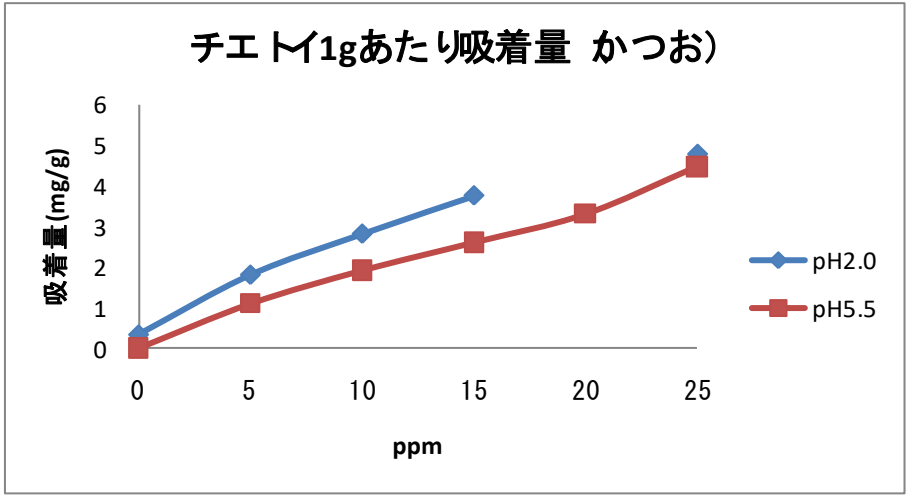


図 13-1

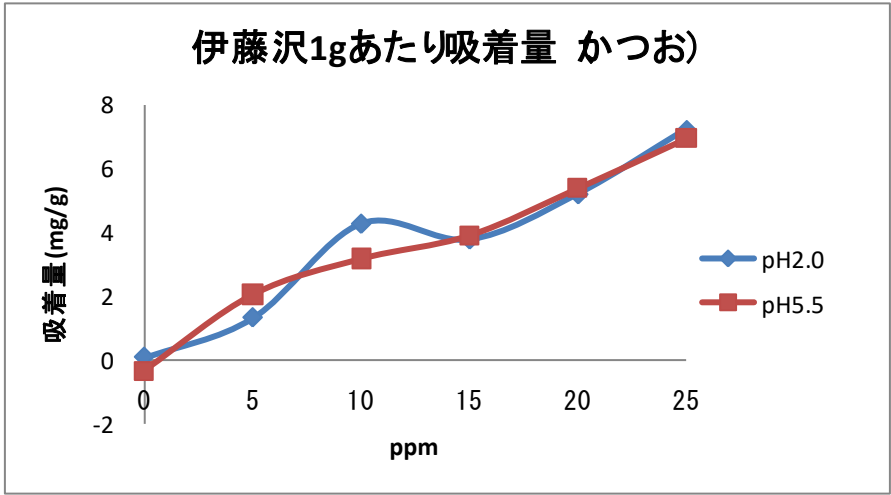


図 13-2

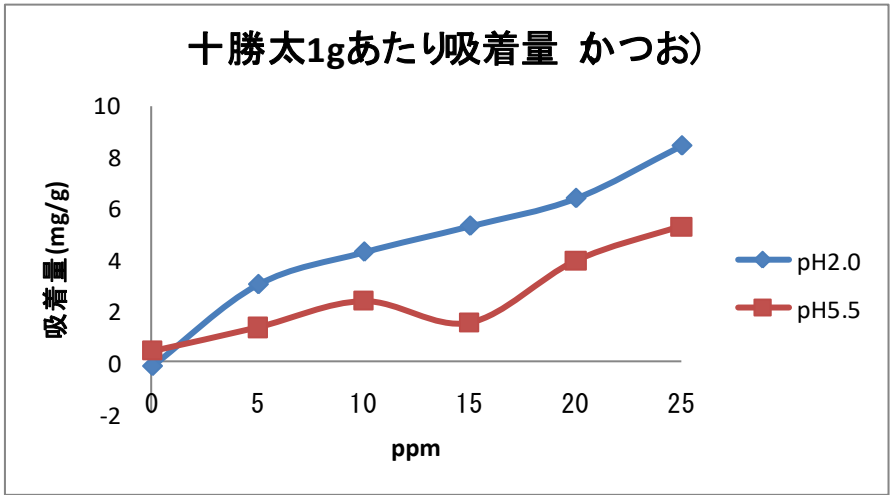


図 13-3

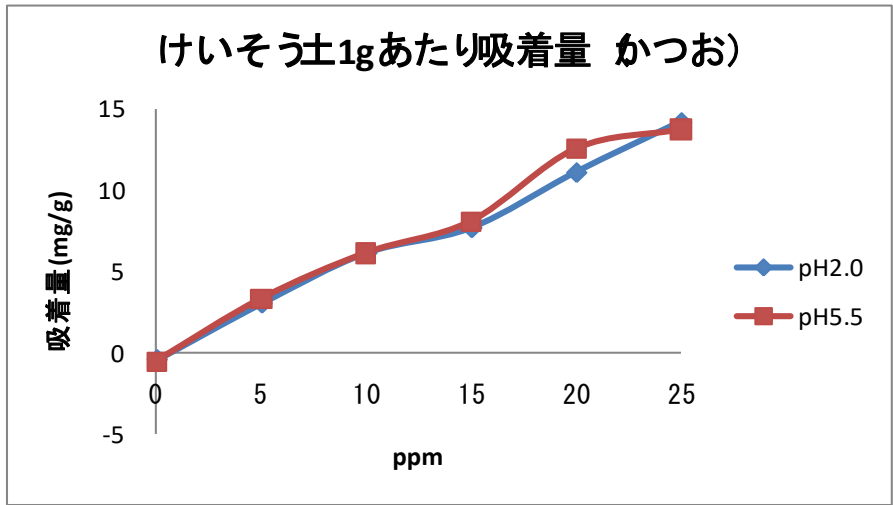


図 13-4

図 13. かつお節添加時の各供試土壌のヒスタミン吸着量

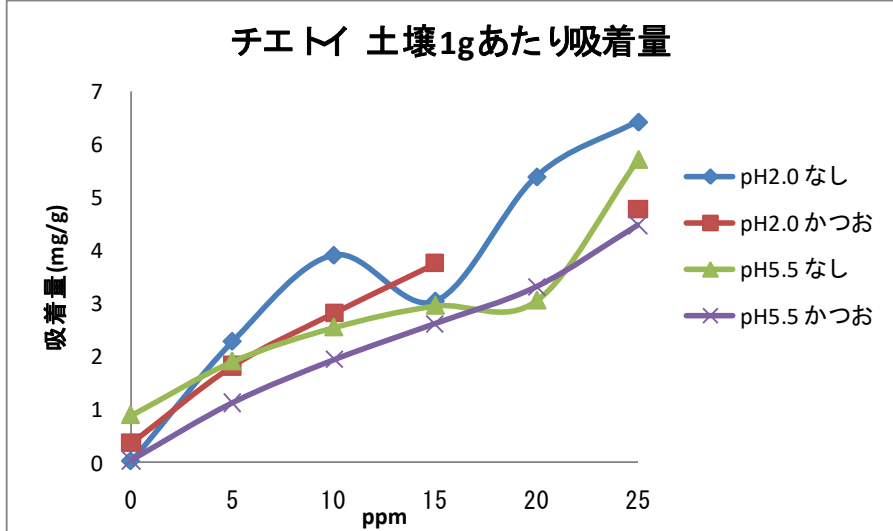


図 14-1

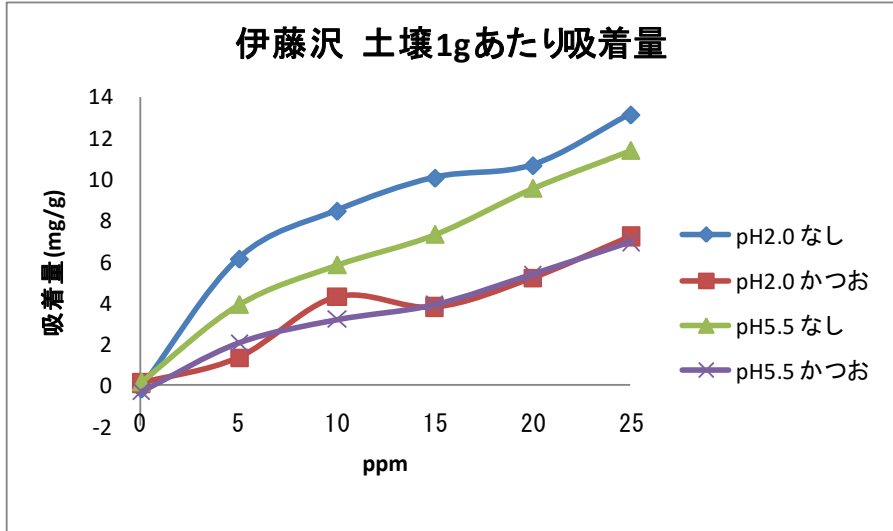


図 14-2

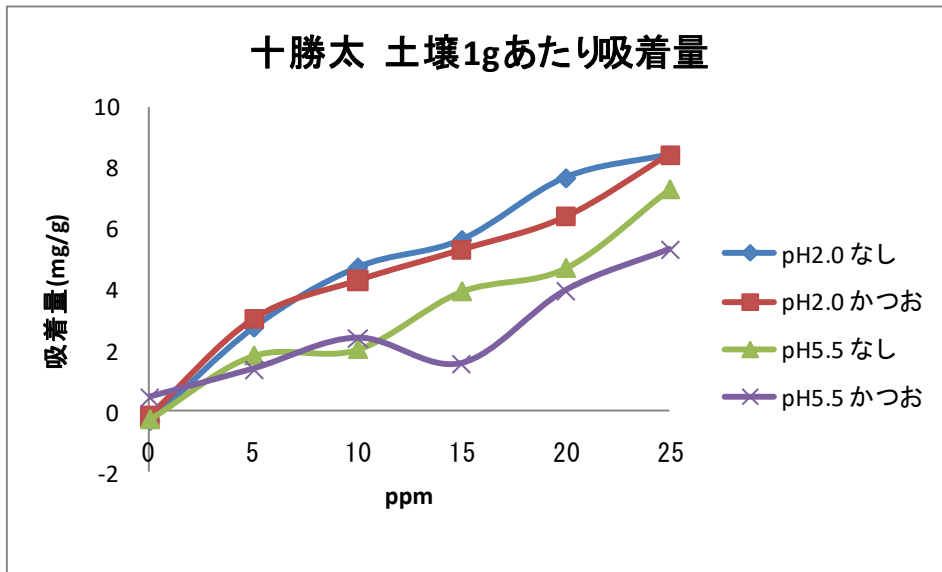


図 14-3

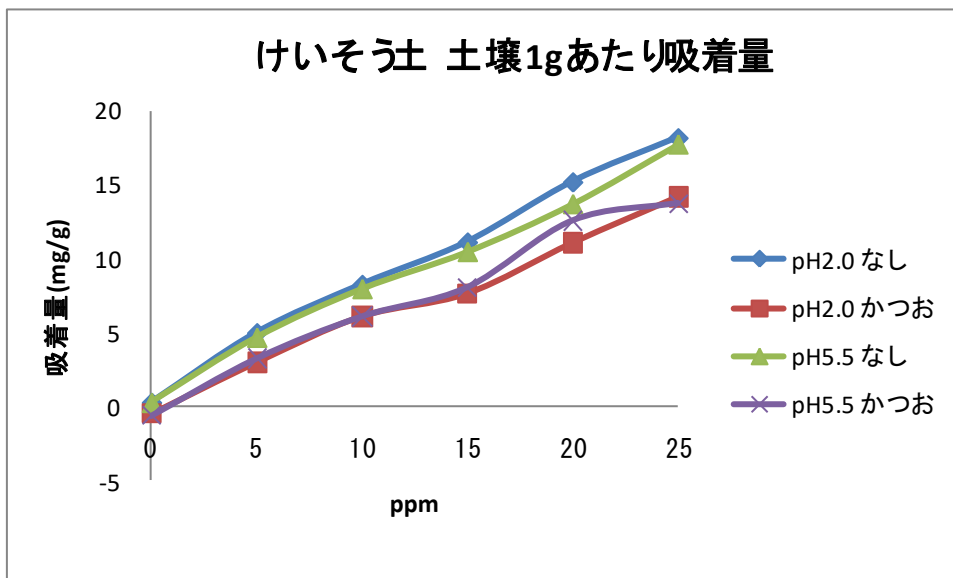


図 14-4

図 14. かつお節無添加および添加時の各供試土壌によるヒスタミン吸着量

第5章 考察

土壌による生理活性物質の吸着量が pH2.0 で大きくなった要因として、まず酸性条件下でのキニーネやヒスタミンの荷電特性が考えられる。キニーネもヒスタミンもアミノ基やアミンによる複数の窒素原子を持ち、これらの pKa はそれぞれ異なっている。溶液の pH がこの pKa 値よりも低くなると、窒素原子は水素イオンを受け取り正に荷電する。キニーネの pKa は 4.2 と 8.2、ヒスタミンの pKa は 9.7 なので、土壌粒子がまだ負に荷電しているそれほど低くない pH ですでに土壌吸着が可能になる。土壌によるキニーネやヒスタミンの吸着がこのようなイオン吸着でされている場合、pH が低いほどキニーネやヒスタミンの正荷電は増加し、pH2.0 で吸着が大きくなったと考えられる。

また、土壌によって吸着量が異なった要因としては、その土壌の CEC や荷電特性、粒径組成があげられる。特に吸着量の大きかった伊藤沢やモンモリロナイトは CEC が高く、粒径組成は粘土に富んでいた。粘土は比表面積が大きいいため、反応性がとても高い。さらに、モンモリロナイトは永久陰荷電を持つため、キニーネやヒスタミンがより多く正に荷電している pH2.0 で吸着が大きくなったと考えられる。十勝太は粘土含量が 14.8%と伊藤沢の 12.4%より多いが、伊藤沢ほど吸着量が大きくなかった。X 線回折分析の結果から十勝太の主要粘土鉱物はイライトであると同定したが、イライトの CEC はモンモリロナイトより格段に低く負荷電も少ない。これらのことが、十勝太は粘土含量が多いにも関わらず伊藤沢やモンモリロナイトほどの吸着を示さなかった要因であると考えられる。

反対に、カオリンや恵庭ロームについては、前者は 1:1 型粘土鉱物で CEC も低く比表面積も小さいこと、後者は粗砂・細砂に富み粘土鉱物はおもにアロフ

エンであることなどが、吸着量を小さくした要因であると考えられる。またカオリンの荷電は変異荷電であり、pHが高いほどCECも高くなるという性質がある。しかし、カオリンによるキニーネ吸着はpH3.5で最も大きく、pH4.5や5.5ではほとんど吸着が見られなかった。このことから、pH3.5ではカオリンの吸着を促進する何らかの要因が働いていたことが示唆されたが、はっきりしたことは明らかにならなかった。

吸着量がpHの影響を受けていなかったのはチエトイやけいそう土であるが、これらについてはイオン吸着による吸着ではなく物理的な吸着である可能性が考えられる。特にけいそう土は、けいそう土の母材である珪藻殻表面のミクロな穴にキニーネやヒスタミンが埋め込まれることによって吸着能を発揮していることが示唆された。このことから、キニーネの吸着量が少ないのに対しヒスタミンの吸着量が非常に大きくなったことも説明できる。ヒスタミン分子はキニーネ分子に比べて1/3ほどの大きさしかいないため、けいそう土の持つ微細な孔隙により多く入ることができ、その分吸着量が大きくなったと考えられる。

土壌による吸着よりも粘土による吸着の方が多くなった要因として、土壌に含まれる粗砂や細砂などの存在が考えられる。粗砂や細砂に富む恵庭ロームで吸着が少なかったことからわかるように、砂画分は表面積が小さく吸着能が低い。土壌から粘土を抽出することで、このような他の土壌構成物質が取り払われ、粘土による吸着能が増したのではないかと考えた。ただしけいそう土はシルト画分に属するものが多いため、シルトに富んだ土壌はけいそう土由来の粒子を多く含む場合、吸着能が高くなる可能性がある。

かつお節存在下での吸着実験の結果から、食品の存在により少なからず吸着能の低下が起こることが示唆された。吸着量の減少の理由として、かつお節中の他の有機成分が土壌の吸着サイトに吸着したためにヒスタミンの吸着が阻害

されたことが考えられる。しかし吸着が皆無になってしまったわけではないので、食土の吸着能による解毒は可能であると言える。

ラングミュアの吸着等温式から求めた最大吸着量と吸着平衡定数についても、pH2.0 で大きい傾向が見られた。特に反応速度を表す吸着平衡定数は、ほとんどの土壌で pH2.0 において格段に大きな値を示したことから、反応速度が pH に大きく影響を受けることが考えられた。

第 6 章 要約

土食とは土を食べる習慣のことであり、動物や昆虫だけでなく私たち人間にもみられる行動である。土食の理由は様々で、土壌に含まれるミネラルの補給や、胃の調子を整えるため、食品の解毒などいくつかの説が唱えられている (Gilardi et al.,1999)。また、飢えをしのいだり、迷信や食習慣の一環としても土食は行われている。土壌はその性質や機能から薬として用いられることもあり、現在でも薬の原料やサプリメントとして利用されている。

さらに、北海道および東北地方には食土に関連した地名が多数残っており、先住民の生活にとって食土が重要な資源であったことをうかがわせる。

2009 年度の堤の研究 (堤 2010) から、北海道内で採取された食土の植物毒吸着能が示された。そこで本研究では、さまざまな pH で吸着実験を行い、食土の吸着能が pH の変化にどのような影響を受けるのかを検証した。

吸着実験には、食土として 2008 年度に北野 (北野 2009) によって採取されたチエトイ、伊藤沢と、2009 年度に堤によって採取された十勝太を用いた。また、その対照として十勝の代表的な土壌である恵庭ロームと、市販のけいそう土、カオリン、モンモリロナイトを用いた。これらの供試土壌に、pH2.0、3.5、

4.5、5.5 の条件下で、生理活性物質であるキニーネとヒスタミンを吸着させ、その吸着能を測定した。キニーネは植物毒の代表として、ヒスタミンは動物食品由来の食中毒の原因であることから、本研究での研究対象とした。また、これらの物質は試薬として高純度の物質を得ることができ、定量方法が簡易であることも選定理由のひとつである。吸着実験の種類としては、供試土壌による吸着実験だけでなく、食土から抽出した粘土による吸着実験、食品存在下での土壌による吸着実験も行った。

キニーネの定量は、土壌とキニーネを反応させた後に遠心分離し、上澄み液のろ液の吸光度を測定することで行った。ヒスタミンは、キニーネと同じように反応させてろ液を採取した後、ヒスタミン測定キット「チェックカラーヒスタミン」を用いて定量した。

また、食土に含まれる粘土鉱物を調べるために X 線回折分析を行った。その結果、チエトイ土壌と伊藤沢土壌中にはモンモリロナイト、十勝太土壌中にはイライトが含まれていた。特に伊藤沢粘土の X 線回折パターンはそのピークが大きくシャープであったことから、伊藤沢粘土には純粋なモンモリロナイトの結晶が多く含まれていることが明らかになった。チエトイ粘土や十勝太粘土の X 線回折パターンはそのピークが緩やかであったことから、非晶質成分も多く含まれていることが示された。

吸着実験の結果、全体的に吸着量は pH2.0 で大きい傾向が見られた。その要因として、キニーネやヒスタミンの荷電特性が考えられる。これらの分子に含まれるアミノ基やアミンは、酸性条件では溶液中の水素イオンを受け取り正に荷電する。pH が最も低い pH2.0 では、キニーネやヒスタミンはより多くの正荷電を持つことになるために土壌による吸着量の増加を引き起こしたと考えられる。

吸着能は土壌により差があり、よく吸着するものから全くしないもの、ヒスタミンのみをよく吸着するものなど、さまざまなパターンが示された。これは、土壌の CEC の高さや荷電特性、粒径組成が要因であると考えられた。CEC が高くモンモリロナイト粘土に富む伊藤沢や標準モンモリロナイト試料は高い吸着能を示した。モンモリロナイトは永久陰荷電を持つため、低い pH でも土壌中の陰荷電が維持されるため、吸着量が増大したと考えられた。反対に、CEC が低く比表面積の小さなカオリンや、粗砂や細砂に富む恵庭ロームはキニーネ及びヒスタミンのいずれもほとんど吸着を示さなかった。チエトイとけいそう土については、吸着が pH 依存性を示さなかったことから、特にヒスタミンの吸着に物理的な機構も関与している可能性が示唆された。けいそう土においては、分子の小さなヒスタミンの吸着量が特に大きかったことから、けいそう土表面に存在する微細な孔隙にヒスタミン分子が保持されることにより吸着されると考えられた。キニーネは分子量がヒスタミンの約 3 倍もあるので、孔に入ることができず吸着されることができなかつたのではないかと考えた。

本年度の吸着実験においても、食土の吸着能が高いことが示された。この結果から、北海道・東北地方の先住民は、植物および動物性食品に由来する毒性物質の解毒を目的として食土を摂取していたことが十分に考えられる。土壌のさまざまな性質や機能を追究することで、今後の私たちの生活における土壌の重要性は変化していくだろう。

謝辞

本研究は帯広畜産大学環境土壌学研究室、筒木潔教授のご指導があつてこそ成し遂げられたものである。恩師の温かいご指導と多大な御尽力に、心から御礼申し上げます。

筒木先生、ありがとうございました。

引用文献

中井 信, 1997 土壌環境分析法, p.24-29. 土壌環境分析法編集委員会, 博友社, 東京

岡田 清, 林 剛, 北川 隆司, 1997 粘土の世界, p.25-28, p.94, p.132. 株式会社 KDD クリエイティブ, 東京

鈴木 創三, 2002 地球環境調査計測辞典 第1巻 陸域編①, p.1087-1089. 株式会社 フジ・テクノシステム, 東京

山田 忍, 1941 食土に就いて, p.393-396, 日本土壌肥科学雑誌第15巻6号

T. Johns 1986. Detoxification function of geophagy and domestication of the potato. *Journal of chemical ecology*, Vol. 12 No. 3, 635-646.

James D. Gilardi, Sean S. Duffey, Charles A. Munn, and Lisa A. Tell 1999.

Biochemical functions of geophagy in parrots : detoxification of dietary toxins and cytoprotective effects, *Journal of Chemical ecology*, No. 4, 897-922.

Tsuneo Sato, Tatsuo Horiuchi, Ikuko Nishimura 2005. Simple and rapid

determination of histamine in food using a anew histamine dehydrogenase
from Rhizobium sp., p.320-p.326.

Secret Power of Nature ケイネット・ジャパン

(<http://www.knetjapan.net/spn/>)

土を食べる健康法 土を食べるページ

(<http://www.k4.dion.ne.jp/~ozaki/index.html>)

エルエル インドネシアの土を食べる村

(<http://10e.org/mt2/auchives/201005/152321.php>)

ODDITYCENTRAL COLLECTING ODDITIMES

(<http://www.odditycentral.com/pics/tuban-the-earth-eating-village-of-indonesia.html>)

医薬品検索イーファーマ e・PHARMA

(<http://www.e-parma.jp/allHtml/2343/2343002X1040.htm>)