

論 説

習志野における Volumetric な花粉調査方法について

佐渡昌子・間宮昌子・白石 彰*

On the volumetric method in Narashino

Masako SADO, Masako MAMIYA & Akira SHIRAISHI*

大気中に浮遊する花粉の調査は、千葉県習志野市に於いて、我々が1957年に孤立花粉検索器、及び standard sampling apparatus (米国標準型花粉捕集器)による gravimetric な方法¹⁾²⁾³⁾で行って以来、花粉症との関係から、我国でも、近年各地で花粉の調査が行われる様になり、多くの報告がなされている^{4)~16)}。

欧米では、gravimetric な方法¹⁷⁾と共に、volumetric な方法での報告も多く、米国に於ける1943年頃の Durham 等^{18)~21)}の報告、Ogden 等^{22)~25)}の一連の Progress report 中の Rotoslide sampler によるもの、イギリスの Hyde 等²⁶⁾の報告、フランスに於ける1955年来の Charpin 等^{27)~31)}の Hirst 装置³²⁾によるもの、インドの Nair 等の³³⁾³⁴⁾の報告が見られる。

しかしながら、日本に於ける volumetric な方法による調査報告は、ほとんど見られない。

欧米の報告で用いられた装置には、夫々特徴があるが、我々は、最近世界的に環境問題が、云々される様になり、労働衛生上の観点から、環境調査部門での大気中有害物質調査時の浮遊媒塵調査³⁵⁾³⁶⁾に広く用いられており、身近にある市販の機器を利用して、花粉の volumetric な捕集を企てた。これ等の機器の中の代表的な Cascade Impactor³⁵⁾³⁶⁾と Impin-

ger³⁵⁾³⁶⁾³⁷⁾を用いて、1968年以來実験を行い、その使用方法をモテファイする事で充分 volumetric に、花粉の捕集をなし得る事を認めたので、その方法について報告する。

このうちの Cascade Impactor については、1970年12月、東邦大学で行われた、東京花粉の会で口頭発表している。

次にその方法について説明したい。

— Cascade Impactor による方法

Cascade Impactor には4段式と2段式のものがあり、市販されており、我々は、写真1の様な柴田製4段式のものを用いた。この写真の様に、Cascade Impactor、附属の流量計、次いでポンプと接続する。ポンプは吸引しようと思う量より、吸引能力の大きいものであれば良く、吸引量の大きい時には、流量計とポンプの間に、三方コックを入れて調節する。我々は、柴田製 Ip 12型、Ip 6型、日立のロータリーポンプ等を用いた。

写真2の様に、パッチンを開いて、各ステージに、クロム硫酸で洗浄済みの径18mmの丸カバークラスを、10% glycerin alcohol 溶液に浸して風干したガーゼで拭いたものを、1滴の glycerin をもって装着し、閉じて、スイッチを入れ、一定時間、一定量の空気を吸引する。吸引に当っては、三方コックで

* 船橋立三山町東邦大学薬学部公衆衛生学教室 (〒274)

* Funabashi, Chiba Pref. Department of Pharmaceutical Science, Toho University

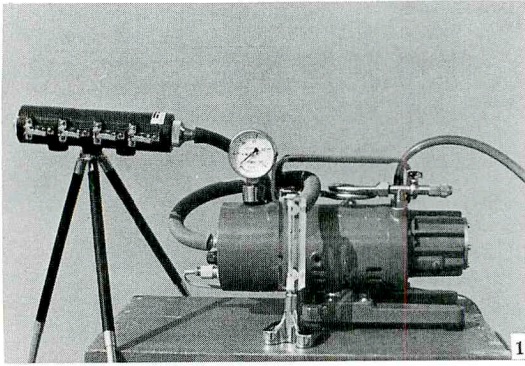


写真 1 : Cascade Impactor (柴田製 4 段式)

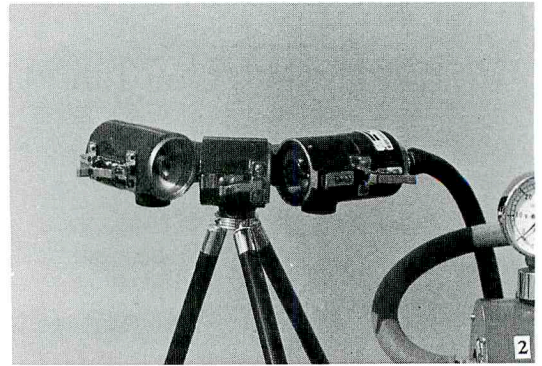


写真 2 : パッケンを開いたところ。

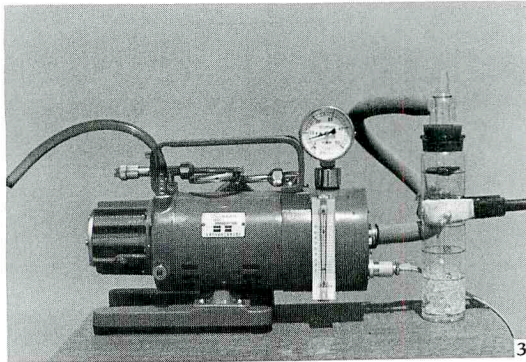
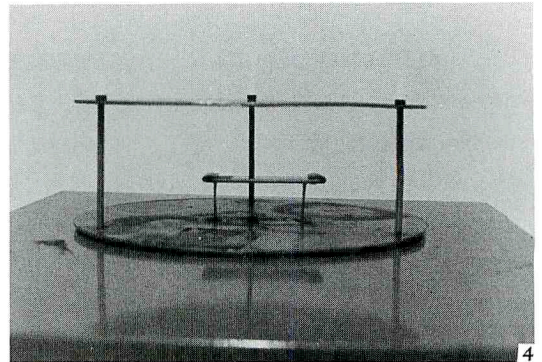


写真 3 : Impinger

写真 4 : Standard sampling apparatus
(米国標準型花粉捕集器)

浮子を調節し、浮子の位置で、附属の検量線から、吸引空気量を知ることが出来る。

吸引終了後、各ステージより、カバーガラスをはずし、0.01% gentiana violet alcohol 溶液³⁸⁾を1滴滴下して、染色を行い、クロム硫酸で洗浄済みのスライドグラス上に、glycerin Jelly³⁸⁾でマウントすると、花粉、胞子類は、紫色に染まり、他の塵埃と区別され、検鏡が容易である。空気の吸入口から、4つのステージを a. b. c. d とすると、空気中の浮遊塵は、その粒子の大きさにより、a の方から、粒子の大きいものから、選択的に捕集される。

この a のジェットの内径は 9 mm、b は 4.1 mm、c は 2.4 mm、d は 1.5 mm と段階的に小さくなり、規定の方法で吸引すれば、a に附着する粒子は、乱気流中のみ浮遊出来る粗粒子塵埃で、環境が静かになれば、数分で沈降する様な粒子であり、30 μ 以上のもの、b には 8~30 μ のもの、c には 2

~7 μ の比較的微粒子で、換気の悪い室内に浮遊する塵埃で沈降速度が長く、十数分から数十分で沈着する様な粒子のもの、d には、更にこまかい、0.3 μ ~数 μ のものが捕集し得るとされている。

即ち、Cascade では、0.3 μ 以上の μ 単位の大部分の粒子を段階的に捕集出来る。

実際に、花粉粒のほとんどが、a ステージと b ステージに附着する。

この Cascade Impactor は 1945 年の May³⁶⁾ の報告による Dust 捕集器であり、その後、改良され、現在のものとなっている。吸引速度も、8.2 l/min. 12 l/min. 17.5 l/min. とあるとされているが、今回用いた柴田製のもは、8.2 l/min. 辺り集塵効果の良い点とされているが、我々の花粉に関しての実験に於ては、5-6 l/min. と 8.2 l/min. での捕集効果には、あまり差がなかった。むしろ、規定の 8.2 l/min. の当りから、花粉の破損が見られ始め、そ

れを越えると破損は漸増し、種別の判定が難しくなってくる。

また、我々は従来行って来た、standard sampling apparatus による2時間の捕集と、Cascade Impactor で5 l/min. 2時間で600 l、及び8.2 l/min. 2時間20分で1000 lと、次に述べる Impinger による1000 lのものについて、1969年、1970年の比較的花粉量の多い時期の3月、4—5月、8—9月の1—2週間について、同時に捕集を行い、比較を試みた。

Cascade Impactor に挿入した、1枚の径18 mmのカバーガラス面には、その時点の塵埃の多少にもよるが、マウントされる量には限りがあり、2時間位が限度で、それ以上の時間になると、捕集効果が悪くなる様に感じた。花粉量の多い日の1000 lの空気吸引のものでは、花粉数が幾分低めに記録されたのは、その為と思われる。

それで、我々は、1969年と1970年の年間を通じての花粉調査には、以上の事も考慮して、吸引量の算定もしやすい事から、5 l/min. A. M. 10.00—12.00の2時間、600 lを週3日捕集した。その結果、例えば、風の強い日には、standard sampling apparatus のスライド面を渡る空気量が異なる事からと思われるが、特殊な気象条件の日を除いては、従来の gravimetric な方法とほぼ、誤差の範囲で相関が見られた。

— Impinger による方法

Impinger にもいろいろな型があるが、我国で市販されているものは、Hach, Warren & Drinker 型³⁷⁾のものであり、写真3に見られる様に、75 ml—325 ml まで、各50 ml 毎に、線がきざまれており、この管の中に、底より5 mmの位置の線に、内径2.3 mmの噴出口が開いている内管を、上部にゴム製シブキドメを付けてセットする。この中に実験室で前もって、75 mlの線まで塵埃捕集液を入れる。通常の採塵には、無塵蒸溜水を用いるが、花粉粒の捕集には、花粉の暴発を招くので、適当な溶媒を選ぶ必要がある。測定場所までゴムキャップをして運び、測定時にゴムキャップを取り、吸引ポンプにつなぎ、

スイッチを入れる。この際、吸引する空気を一定に調節し、一定時間吸引し、附属の検量線から、吸引量を求める。

花粉捕集液としては、吸引で管内が陰圧になるので、b. p. が100°C以下のものは適さない。又、吸引時に空気中の水蒸気も取りこまれるので、水と均一に混らない様なものも適さないし、操作する人の身体にあまり有害でなく、安価なものである事を考慮して、生理食塩水、及び数種類の有機溶媒でテストを行ったところ、Isopropyl alcohol, Amyl alcohol 等で良い結果が得られた。

吸引終了後、採塵管中の採塵溶液を、コマゴメピペットで遠沈管中に移し、採塵管及びコマゴメピペット等、使用した器具を純アルコール溶液で数回洗浄し、洗液も合せて、遠心分離器(佐久間製90 H型)で1500回転で10分間遠心分離を行い、上澄液を沈渣と約2 mlの液を残して、別の遠沈管に移し、次に、沈渣と約2 mlの溶液を毛細管ピペットで、良く混ぜ合せ、更に、小遠沈管に移し、先程同様、遠沈管と毛細管ピペットを純アルコールで数回洗浄し、洗液も合せて、小遠沈管を1500—2000回転で15分間遠沈し、沈渣と溶液0.5—1 mlを残して、上澄液は、1本目の太い遠沈管に加える。小遠沈管中の沈渣と溶媒を、毛細管ピペットで攪拌し、あらかじめ作成しておいたガラスコップにあけ、ごく少量の純アルコールで洗い、洗液もガラスコップに移し、0.01% gentiana violet alcohol 溶液³⁸⁾ 1—2滴を加え、ボール箱中で一夜放置し、アルコールを蒸散させると、スライド上の塵埃中に、紫色に染った花粉、孢子類が附着しているのが見られる。

前述の太い遠沈管の上澄液と洗液は、もう一度、3000回転20分間遠心分離を行い、先程と同様の操作を経て、別のガラスコップに移し、二枚目のスライドに附着させる。

このガラスコップとは、スライドガラス上に、径1 cm・高さ1 cmのガラスリングの両端を十分に平に磨いたものを置き、溶融した Paraffin を細い筆で、リングの外側からはりつけたものである。

翌日、このガラスコップを取りはずし、周りに附着している Paraffin を Hexane で拭い取ると、塵埃が、円形に附着している。そのスライドを glycerin jelly³⁸⁾で封じ検鏡する。ほとんどの花粉は、1枚目のスライドに見られる。

我々は、この Impinger での捕集に於ても、その吸引速度について、いろいろと検討を加えたが、一応規定とされている 30l/min. が良い事を知り、前述の Cascade と比較するために、33分20秒で1000lの吸引を行った。

時間と共に溶媒が減少するので、長時間の集塵には不適當で、Durham や Cascade より多めの価を示した。

実験から、次の様な、それぞれの利点、及び欠点が挙げられる。

— Standard sampling apparatus

写真4の standard sampling apparatus での花粉捕集は花粉粒の比重、大きさ等による落下速度に負う所が多く、又、天候・風等の気象条件により、スライド面を通る空気量が不定なので、単位空気容積当りの絶対的花粉濃度を示し得ないが、相対的な花粉の多少、種類等の調査は出来る。また、電源等を要しないので、どこでも簡便に測定出来るし、1日又はそれ以上の長時間の調査には、向いていると思われる。

しかし、雨の日には、グリセリン塗布法では、流され、真の値より低い値を示しがちで、それを防ぐ意味から、グリセリンによるものの附着率の90%とされているが、ワセリン塗布方法を取ったりするが、染色しにくく、検鏡の時も、グリセリンによるものより、見にくいと云う難点がある。

しかしながら、この方法によれば、1946年の National pollen survey comitte of the American Academy of allergy によって一定の規定がもうけられ、その調査方法の統一が計られたので、世界のデータと比較が出来る。

— Impinger

Impinger では、空気単位容積当りの花粉濃度を知

り得ること、一時期に、多量の空気を吸引出来るので、その場所の短時間の花粉濃度調査には向いている。

花粉捕集に電源を要するので、測定場所に幾分制限を受けるが、小型の発電機や電池等の利用で解決されるが、無花粉溶媒を必要とすること、液体を用いるので持運びに不便であり、採塵後の処理が多少煩雑で、手間を要し、マウントスライド上では、塵埃の中に花粉がうづまり、Cascade より検鏡がしにくい。

我々は一連の操作を普通の研究室で行ったが、無花粉溶媒の作成や、採塵終了からマウントまでに時間を要するので、Pollen free の部屋を作る必要があると思われる。

— Cascade Impactor

Cascade Impactor に於ても、Impinger 同様、空気単位容積当りの花粉量も知ることが出来るし、天候・風の影響もほとんどなく、その操作も簡単な上、採塵後の処理も、実験を行った三者の中で一番簡単であり、塵埃が段階的に捕集されるので検鏡しやすい。

しかし、一回のカバーガラス挿入では、長時間の捕集には向かない事、捕集にポンプ用の電源を要するが、電源については、先程の Impinger の所で述べた様な解決が計られると思うし、長時間の捕集には、Ogden 等²²⁾⁻²⁵⁾の Roto slide 法にある様な、ある時間毎、一定量づつ採取する間歇的な方法を取ったり、2時間毎に機器をオートマチックに交換して、連続的にマウントさせる様に考案すれば、充分解決が可能と思われる。

この方法によれば、我々の呼吸している空気中の実際の花粉濃度を知ることが出来る。最近、ビニールハウス内労働従事者の花粉症の報告³⁹⁾⁴⁰⁾があるが、この場合の花粉の調査とか、家庭での喘息発作を起こした時点の空気⁴¹⁾中の花粉の検索には、むしろ、向いていると云える。なお家庭での吸引には電気掃除機で充分目的が達せられる。

Cascade Impactor、Impinger 共、まだまだ、細かい点では、更に改良の余地はあると思うが、volumetric に花粉を採取し得る、一応の成果を得たので、その技法について報告した。

なお、1969年及び1970年に渡る2年間の

Cascade での調査結果と、その間の3月のスギ・4—5月のマツ・8—9月のブタクサのシーズンに於ける、Durham、Cascade Impactor、Impinger の3機種による結果については、目下検討中なので、次の機会に報告したい。

一文 献

- 1) 幾瀬マサ、伊藤愛子、佐渡昌子：
空中飛散花粉について
植物研究雑誌 37 (2) 33-43 (1962)
- 2) 幾瀬マサ、伊藤愛子、佐渡昌子：
東京 大阪 福岡に於ける空中飛散花粉について
生薬学雑誌 18 (1) 5-8 (1964)
- 3) 安藤格、幾瀬マサ、佐渡昌子、他：
大阪地区に於ける空中飛散花粉分析
アレルギー 15 (12) 55 (1966)
- 4) 荒木英斉：
花粉症の研究 I 空中花粉の季節的変動
アレルギー 9 648-655 (1960)
- 5) 降矢和夫：
花粉症に関する研究 一相模原市における空中花粉調査成績
アレルギー 16 (4) 277-288 (1967)
- 6) 信太隆夫、宮田亮、他：
札幌市における牧草花粉症
アレルギー 17 (2) 97-108 (1968)
- 7) 堀口甲作、斉藤洋三、他：
カナムグラ花粉症症例
アレルギー 17 (2) 109-113 (1968)
- 8) 斉藤洋三：
日本の花粉症 Pollinosis
日耳鼻 71 (7) 92-99 (1968)
- 9) 我妻義則、信太隆夫、他：
花粉症の研究 第2報 札幌市に於ける空中花粉飛散状況の検索成績
アレルギー 18 (1) 56-69 (1969)
- 10) 我妻義則、信太隆夫、他：
花粉症の研究 第3報 札幌地方ヨモギ花粉症
アレルギー18 (12) 980-990 (1969)

- 11) 隆矢和夫：
花粉症に関する研究(II) 相模原市に於ける空中花粉調査成績
アレルギー 19 (12) 905-917 (1970)
- 12) 斉藤洋三、藤本穂積：
日本花粉アレルギーに関する花粉学的・アレルギー学的観察
日本花粉学会誌 (5) 1-5 (1970)
- 13) 水谷民子、馬場実、他：
ハンノキ花粉喘息
アレルギー 20 (9) 700-705 (1971)
- 14) 菅谷愛子、幾瀬マサ：
東京タワーに於ける空中飛散花粉の分析
アレルギー 21 (3) 249-257 (1972)
- 15) 菅谷愛子：
東京港区に於ける空中飛散花粉分析—特にイチョウ花粉の飛散状態について
アレルギー 22 (4) 321-328 (1973)
- 16) 前田英則、幾瀬マサ：
千葉県市川市および柏市に於ける空中花粉の検索
アレルギー 22 (8) 545-551 (1973)
- 17) American Academy of Allergy :
Report of the National Pollen Survey Committee of the American Academy of Allergy on a conversion factor for gravity slide counts
J. Allergy 18 284-285 (1947)
- 18) Durham, O. C. :
The volumetric incidence of atmospheric allergens
I. Specific gravity of pollen grain
J. Allergy 14 455 (1943)
- 19) Durham, O. C. :
The volumetric incidence of atmospheric allergens
II. Simultaneous mesurment by volumetric and gravity slide methods, result with ragweed pollen and alterneria spores
J. Allergy 15 226-237 (1944)
- 20) Durham, O. C. :
The volumetric incidence of atmospheric allergens
III. Rate of fall of pollen grain in still air
J. Allergy 17 70-78 (1946)
- 21) Durham, O. C. :
The volumetric incidence of atmospheric allergens
IV. A proposed standard method of gravity sampling, counting and volumetric interpolation of results

- J. Allergy 17 79-86 (1946)
- 22) Ogden, E. C. 他：
New York State Museum and Science Service, Albany, N. Y.
— Progress Report No.1 (Sept. 1, 1957-Feb. 28 1960)
Tagging and sampling ragweed Pollen
— Progress Report No.2 (Mar. 1 1960- Feb. 28 1961)
Tagging and sampling ragweed pollen
— Progress Report No.3 (Mar. 1 1961- Feb. 28 1962)
Travels of airborne pollen
— Progress Report No.4 (Mar. 1 1962- Feb. 28 1963)
Travels of airborne pollen
— Progress Report No.5 (Mar. 1 1963- Feb. 29 1964)
Travels of airborne pollen
— Progress Report No.6 (Mar. 1 1964- Sept. 30 1965)
Travels of airborne pollen
— Progress Report No. 7 (Oct 1 1965- Sept. 30 1966)
Travels of air borne pollen
— Progress Report No.8 (Oct. 1 1966- Sept. 30 1967)
Travels of air borne pollen
— Progress Report No.9 (Oct. 1 1967- Sept. 30 1968)
Travels of airborne pollen
- 23) Ogden, E. C. and Raynor, G. S. :
A new sampler for airborne : The rotoslide
J. Allergy 40 1-11 (1967)
- 24) Raynor, G. S., Ogden, E. C. and Hays, J. V. :
Effect of a local source on ragweed pollen concentrations from background sources
J. Allergy 41 (4) 217-225 (1968)
- 25) Ogden, E. C., Hayes, J. V. and Raynor, G. S. :
Diurnal patterns of pollen emission in Ambrosia, Phleum, Zea, and Ricinus
Amer. J. Bot. 56 (1) 16-21 (1969)
- 26) Hyde, H. A. and Williams, D. A. :
Studies in atmospheric pollen. II. Diurnal variation in the incidence of grass pollen.
New Phytologist 44 83-94 (1945)
- 27) Charpin, J., Aubert, J., charpin, H. and Wolfromm, R. :
La pollinose (Quelque considérations cliniques et aéropalynologiques) pures
J. Français de Médecine et Chirurgie Thoraciques 17 (5) 569-574 (1963)
- 28) Charpin, J., Wolfromm, R., Aubert, J. and Charpin, H. :
Recensement pollinique dans l'atmosphère de Paris en 1961

- Revue Française d'allergy 2 avril-juin 65-73 (1963) (3)
- 29) Charpin, J., Aubert, J. and Charpin, H. :
Contribution à l'étude de la pollinose en France Des Comptes Rendus du 5^e Congrès Européen d'Allergie, Bâle 147-153 (1962)
- 30) Charpin, J. Aubert, J. 他 :
La pollution atmosphérique par les allergènes d'origine végétale.
Pollution Atmosphérique 30 153-163 (1966)
- 31) Charpin, J., Aubert, J. and Mallea, M. :
Recensement des pollens atmosphériques
Pollen et Spores 8 (3) 421-437 (1966)
- 32) Hirst, J. M. :
An automatic volumetric spore trap
Ann. Appl. Biol. 39 257-265 (1965)
- 33) Nair, P. K. K. and Kaul, K. N. :
An Apparatus for the Collection of Atmospheric pollen and Spor
Research & Industry 8 (12) 364-365 (1963)
- 34) Nair, P. K. K. and Rastogi, K.
Pollen production in some allergenic plants
Curr. Sci. 32 566-567 (1963)
- 35) Gregory, P. H. :
The microbiology of the atmosphere
London Leonard hill Ltd. (1961)
- 36) 日本薬学会 :
衛生試験法注解
金原出版 K. K. (1973)
- 37) 三浦豊彦、木村菊二 :
図解粉塵測定法
労働科学研究所 (1970)
- 38) 幾瀬マサ :
日本植物の花粉
広川書店 (1956)
- 39) 菅龍雄 :
愛知県渥美地方にみられる菊アレルギーについて
アレルギー 18 (8) 70 (1969)
- 40) 松山隆治、佐藤幹弥 他 :
花粉症の研究 第4報 職業病としてのテンサイ花粉症
アレルギー 21 (3) 235-243 (1972)
- 4) 池部一郎 他 : 室内塵に関する研究 アレルギー 18 (5) 31 (1969)

DETERMINATION DES POLLENS ATMOSPHERIQUE PAR LA METHODE VOLUMETRIQUE

Résumé

Au Japon, jusqu'ici, les études d'aéropalynologie ont utilisé généralement la méthode gravimétrique avec l'appareil de Durham.

Nous avons effectué, en 1969 et 1970 à Funabashi (Chiba-ken), la détermination pollinique dans l'air par la méthode volumétrique avec la dispositif Cascade Impactor qui est un piège à poussières.

En même temps, nous avons comparé les résultats obtenus par trois appareils — l'appareil Durham (méthode gravimétrique), l'appareil Cascade Impactor et celui d'Impinger (méthode volumétrique).

Les pollens examinés et leur époque de floraison sont les suivants:

Arbres printaniers qui en ont beaucoup

- les cryptomérias (mars)
- les pins (avril — mai)

Herbes très importantes pour nous et qui doivent jouer un rôle clinique

- les composées (Ambroise, Armoise, août — septembre).

☆ 学会会員の氏名・住所などの変更届について

会員の氏名・住所・勤務先などが変更された場合は、直ちにお知らせ下さい。会誌を送っても返送される場合があります。変更届には年月日・氏名(新旧)・住所・郵便番号(新旧)を明記して下さい。

日本花粉学会会誌 バックナンバー(3)

- 鈴木幸子：単子葉植物における花粉母細胞の分裂について
 - 上野実朗：勢体としての花粉（因果的目的論考）
 - 永海修三・秋沢一位・岩波洋造：キク属花粉の人工培養の研究
 - 第13回日本花粉学会集会報告（昭和47年）
 - 花粉研究論集・花粉第3号（京都1972年）
 - 黄増泉・台湾植物花粉図誌（1972）（新刊紹介）
 - 研究余録・久能山石垣イチゴの異常花粉
- 第11号目次（1973. 6. 30）（1200円）
- 田子昭子：大阪盆地における後期鮮新世—前期更新世の花粉層序
 - 上野実朗・戸田雅文：静岡県駿河湾石花海海盆の花粉分析
 - 岩波洋造・高梨征雄：花粉の生理学的研究 XXIII
 - チタレー・サオジ：花粉発芽に及ぼす柱頭とその浸出物の効果（英文）
 - 山本武夫：邪馬台国気候考
 - 島倉已三郎：日本植物の花粉形態（1973）（新刊紹介）
 - 上野実朗：静岡県浜名湖今切口の花粉分析
 - 第24回国際地質学会講演要旨・花粉関係（1972）
 - I. C. P. について
 - B. R. A. について
- 第12号目次（1973. 12. 30）（1200円）
- 上野実朗：被子植物系統樹の花粉学的考察（多集粒について）
 - 三好教夫：走査電子顕微鏡による蕨類胞子の観察
 - 中村紀雄・岩波洋造：花粉の生理学的研究 XXV（IPoTの形成について）
 - 岩波洋造：花粉とブライン・シュリンプの卵の耐熱性（英文）
 - 第14回日本花粉学会集会報告
 - 堀江延治：走査電子顕微鏡観察の際の花粉処理法
- 第13号目次（1974. 6. 30）（1200円）
- 仁木輝緒・中沢潤：ムラサキツユクサ花粉発育期の微細構造について
 - 中村紀雄：Instant pollen tubeの形成について（2）
 - 会沢正義：花粉の発芽と花粉管の伸長VII・ツバキの花に含まれている花粉抑制物質（英文）
 - 上野実朗：タイワンスギはスギではない
 - 門田裕一：モエジマシダの配偶体性カルスについて
 - アルメニア・アガバビアン（1973）（新刊紹介）
 - 田中肇：花と昆虫（1974）（新刊紹介）
 - 京都・花粉研究会100回記念集会
 - B. R. A. について