ノート*

誘導結合プラズマ発光分析法によるケイ素定量のための植物試料 溶解法

秋山 耕一¹, 中西 正¹, 大西 亮¹, 赤木 右^{®1}

Dissolution method for the determination of silicon in plant samples with ICP-AES

Koich AKIYAMA¹, Tadashi NAKANISHI¹, Ryo OHNISHI¹ and Tasuku AKAGI¹

¹ Faculty of Agriculture, Tokyo University of Agriculture and Technology, 3-5-8, Saiwai-cho, Fuchu-shi, Tokyo 183-8509

(Received 7 May 2004, Accepted 21 September 2004)

Dissolution methods for the determination of silicon in plant samples with inductively coupled plasma atomic emission spectrometry (ICP-AES) were examined. Plant samples (0.1 g) ashed by an electric furnace at 700°C were dissolved by three methods: an acid dissolution method, where the ashes were dissolved with a hydrochloric acid solution; an alkaline dissolution method, where the ashes were dissolved with a sodium carbonate solution; and an alkaline fusion method, where the ashes were fused with sodium carbonate salt. The effect of evaporation after dissolution was also examined. It was found that evaporation exerted a critical effect on the analytical results of silicon, *i.e.*, complete evaporation reduced the results to about half that obtained with incomplete evaporation. Two tea leaf samples (commercial and sampled) with a low silicon concentration could be dissolved by all three methods when the resultant solution was followed by incomplete evaporation. The reproducibility of the silicon concentration with the alkaline dissolution method and acid dissolution method was about 3%, and the recovery of silicon after both methods was more than 95%. In the case of *Magnolia* leaves with a high silicon concentration, the alkaline dissolution method gave a greater concentration of silicon with better precision (5%) than the alkaline fusion method.

Keywords : plants; silicon; dissolution methods; alkaline dissolution; alkaline fusion.

1 緒 言

固体試料中の低濃度ケイ素の定量には、試料を溶液化した後、誘導結合プラズマ原子発光法、吸光光度法などの機器分析を用いるのが一般的である。ケイ素の定量を目的とした試料の溶液化法には、炭酸ナトリウム・ホウ酸化合物などの融剤を用いてケイ素の溶融物を形成しその溶融物を水又は酸に溶解させる溶融法^{1)~3)}や、水酸化ナトリウム溶液などの高 pH 溶液にケイ酸を溶解させる溶解法⁴⁾⁵⁾などがある。しかしケイ素成分の溶液化法に関する研究は金属

や鉱物試料に対するものが多く、植物の特に全ケイ素量を定量するための最適な溶液化法は十分に確立されているとは言えない。その理由ひとつに植物中のケイ素濃度の精度の高い測定が困難なことがあげられる。たとえば田中と岡本⁶⁾がまとめた入手が容易な植物標準物質のうちケイ素の保証値を示したものは中国の GBW07602, 07603, 07604 の三つしかない。これらの標準試料は誤差範囲が 14~24% にも及び、本実験で目標としているケイ素濃度の再現性と比べかなり大きい。そのうえ保証濃度はそれぞれ 5800, 6000, 7100 µg/g であり、高橋ら⁷⁾の論文による双子葉類のケイ素濃度分布 300~11500 µg/g に比べると限られた濃度範囲である。このため標準物質を用いて植物中ケイ素の定量方法を評価するのは困難であり、ケイ素の測

* 若手研究者の初論文特集

¹ 東京農工大学大学院農学研究科: 183-8509 東京都府中市幸町 3-5-8

Table 1 Instrumental components and operating conditions

spectrometer	SHIMADZU ICP-S5000
RF frequency	27.12 MHz
RF output power	1.4 kW
coolant gas	Argon, 12 l min ⁻¹
plasma gas	Argon, 1.2 l min ⁻¹
carrier gas	Argon, 1.0 l min ⁻¹
spray chamber	cyclon-type
monochromator	Czerny-Turner mounting
grating	1800 grooves/mm
entrance slit width	12 μ m
exit slit width	30 μ m

定結果の信頼性を考察する上で大きな問題となっている。一方で、植物中のケイ素の機能・動態に関して、ケイ素濃度が高く既に重量法がケイ素測定法として確立されている水稻に加え、近年比較的ケイ素吸収量の低い植物に対してもケイ素の有益な生理的効果が明らかにされつつあり、ケイ素を農薬や肥料として用いるための実践的な研究が広くなされている^{8)~11)}。また草本だけでなく木本においても、ケイ素がなんらかの生理作用を有するものと考えられる¹²⁾など、植物中の低濃度のケイ素を定量する機会は増えている。そこで本研究では、誘導結合プラズマ原子発光分析法(ICP-AES)で植物中のケイ素濃度を測定するための溶液化法として、溶融法に比べ操作が簡便で所要時間の短いことから、植物試料を乾式分解後、高 pH 溶液に溶解させる灰化アルカリ溶解法を試みた。更にケイ素濃度測定のためには酸分解は不可¹³⁾と考えられたが、植物試料を乾式分解後、酸に溶解させる灰化酸溶解法も試みた。また灰化アルカリ溶解法及び灰化酸溶解法においてケイ素標準溶液を添加した植物試料を分解し、ケイ素の回収率を求めた。

2 実 験

2.1 試薬と装置

分解に用いる塩酸、無水炭酸ナトリウムは和光純薬工業製の特級試薬を用いた。元素濃度の測定はサイクロン型チャンバーを装備した誘導結合プラズマ原子発光分析装置、島津製作所製 ICPS-5000 を Table 1 の測定条件及び、ケイ素 251.612 nm, アルミニウム 396.153 nm, カルシウム 393.366 nm の各測定波長を用いて行った。更に測定時の標準溶液は各元素の原子吸光分析用標準液(和光純薬製)1000 ppm を希釈して調製した。また試薬の調製及び試料の希釈には日本ミリポアリミテッド製超純水製造装置 SPTOC で製造した超純水を用いた。

2.2 試 料

市販の抹茶(ハラダ製茶製)及び東京農工大学農学部農場(府中)で2003年10月に採取した茶葉の二種類の茶

(Theaceae, *Camellia sinensis*)の葉、及び東京農工大学府中キャンパス内に生育していたホオノキ(Magnoliales, *Magnolia obovata*)から2002年に採取した葉を用いた。採取した樹葉は表面を水洗し約100℃の乾燥機で三日間乾燥した後、およそ1 mm 角以下の大きさにまでミキサーを用いて粉碎し、チャック付きポリ袋に保存した。

2.3 試料の溶液化

2.3.1 灰化アルカリ溶解法 0.05~0.5 g の粉碎乾燥植物試料をるつぽに取り電気炉を用いて250~300℃で扉を開けて約1時間加熱した後、扉を閉め、550℃及び700℃で各1時間加熱して灰化した。放冷後灰を水で約50 ml に希釈しながら、テフロンビーカーに流し込み、0.3~1.5 g の炭酸ナトリウムを加えた。更に、添加回収率の実験では、溶解時に標準溶液を希釈して調製した既知濃度のケイ素、アルミニウム、カルシウム溶液を添加した。この溶液を約5 ml になるまで250℃に加熱したホットプレート上で蒸発、濃縮した。更に溶液が酸性になるように市販の36%塩酸を1~5 g 加え、アルカリ溶液で生成していた沈殿が見られなくなるまで振り混ぜ・加熱したのち水でナトリウム濃度が900~1300 μ g/g になるように希釈し測定溶液とした。

2.3.2 灰化酸溶解法 灰化アルカリ溶解法と同様に0.01~0.3 g の試料を電気炉で灰化した。放冷後るつぽ内の灰に36%塩酸、0.1~1 g を加え水で希釈しながらバイアル瓶に流し込み測定溶液とした。また、添加回収率の実験では灰を塩酸に溶解する際、灰化アルカリ溶解法と同様に既知濃度の各元素溶液を添加して回収率を求めた。

2.3.3 灰化溶融法 他の溶液化法と同様に0.01~0.3 g の試料をるつぽにとり電気炉で灰化した。更に1~3 g の炭酸ナトリウムを加え、電気炉で約870℃まで徐々に加熱して灰を溶融した。冷却後るつぽ内の溶融物に塩酸を加え、水でテフロンビーカーに洗い出した。その後沈殿物がなくなるまで振り混ぜ・加熱し、灰化アルカリ融解法と同様に水で希釈して測定溶液とした。

3 結果と考察

3.1 乾固の影響

従来の報告では、試料の溶液化に際して乾固を避けるなどの指示がある場合もあるが⁴⁾、そのような指示のない場合も多い¹⁵⁾。本灰化アルカリ溶解法においてもホットプレート上で加熱濃縮する操作があり、乾固の影響を調べておく必要がある。そこで、市販の抹茶を、実験方法に示したように灰化アルカリ溶解法を用いて溶液化した試料と、溶液化後更に乾固した試料との比較を行った。ケイ素、アルミニウム、カルシウムの濃度測定結果をTable 2に示す。乾固した試料は乾固しなかった試料に比べケイ素濃度の測

定値が半分以下に低下した。更に同一の試料溶液を 90 日後に再測定した結果 (Table 2), 乾固した試料においてケイ素濃度の一定割合の増加が見られた。これらのことから乾固することにより試料溶液中のケイ素が不溶化し, それが保存期間中に徐々に溶出することが示唆され, ケイ素を測定する際には, 溶液化中の乾固を避ける必要があることが示された。

3.2 抹茶における各溶液化法の比較

次に灰化酸溶解法, 灰化アルカリ溶解法, 灰化熔融法の各溶液化法による茶葉中のケイ素, アルミニウム, カルシウム濃度測定結果を Table 3 に示す。市販の抹茶及び採取した茶葉において, 異なる溶液化法の測定結果はほぼ一致した。しかし, 採取した茶葉を灰化熔融法で溶液化したものは実試料, 空試験共にケイ素, アルミニウムの濃度が高く, 再現性も悪い。これはケイ素やアルミニウムを主成分とする電気炉の炉材等から熔融中にコンタミネーションが生じた可能性が高い。以上の結果より, 茶葉においては,

コンタミネーションのない灰化酸溶解法あるいは灰化アルカリ溶解法が適当であると考えられる。また添加回収率の実験では, 溶液化の段階で標準溶液を加えた場合, 灰化アルカリ溶解法, 灰化酸溶解法のどちらの方法でもほぼ定量的な回収率が得られた (Table 4)。

ケイ素を二酸化ケイ素の粒子 (直径約 100 μm) 及びケイ酸ナトリウム水溶液の形態で灰化前の試料に添加した場合, 灰化アルカリ溶解法, 灰化酸溶解法共に安定した回収率が得られなかった。ケイ酸ナトリウム中のナトリウムは灰化時に揮発しやすい元素である。よって, どちらの場合も灰化の過程で後の溶液化の際溶解しにくい二酸化ケイ素の形態を経たためと考えられる。添加回収率実験が元の試料に対して行うことが困難であったことは, 現在まで植物中ケイ素の確度の高い分析値が報告されなかったことの一因になってきたと思われる。

3.3 ホオノキにおける各溶液化法の比較

各溶液化法の有用性を確かめるため, ケイ素含有量が低い茶葉だけでなく, ケイ素含有量の高いモクレン科のホオノキの葉を用いて, 更に各溶液化法の比較検討を行った結果を Table 5 に示す。まず灰化酸溶解法のケイ素濃度は他の溶液化法と比べ十分の一以下であり, ホオノキのケイ素のうちごく一部しか溶液化できていないと考えられる。次に灰化アルカリ溶解法と灰化熔融法を比較するとケイ素濃

Table 2 Comparison of analytical results^{a)} of tea leaves with complete and incomplete evaporation applied to Na_2CO_3 -ashed sample solutions (unit: $\mu\text{g}/\text{DW}^{\text{b)}$ g)

Element	Dissolution methods			
	Completely evaporated		Incompletely evaporated	
	0 ^{c)}	90 ^{c)}	0 ^{c)}	90 ^{c)}
	$n = 4$		$n = 5$	
Si	319 ± 21 (1 $\pm$ 3)	505 ± 11 (4 $\pm$ 4)	744 ± 19 (2 $\pm$ 3)	763 ± 31
Al	776 ± 88 (-2 $\pm$ 3)	797 ± 46 (3 $\pm$ 6)	870 ± 66 (2 $\pm$ 3)	828 ± 72
Ca	3730 ± 160 (21 $\pm$ 6)	3630 ± 270 (2 $\pm$ 1)	3910 ± 260 (6 $\pm$ 7)	3840 ± 340

a) Errors are one sigma values. Values in parenthesis are blank values ($n = 2$); b) DW stands for dry weight; c) Length of sample storage time (day)

Table 4 Recovery^{a)} of Si, Al, Ca from commercial tea leaves obtained with two dissolution methods (%)

Element	Added (μg)	Acid dissolution	Alkaline dissolution
		$n = 2$	$n = 2$
Si	150	95.1 ± 1.2	98.9 ± 6.5
Al	150	98.4 ± 3.5	100.4 ± 3.0
Ca	500	95.5 ± 1.8	103.0 ± 15.6

a) Errors are one sigma values.

Table 3 Analytical results^{a)} of tea leaves obtained with different dissolution methods (unit: $\mu\text{g}/\text{DW}^{\text{b)}$ g)

Element	Detection limit	Commercial tea leaves			Sampled tea leaves ^{c)}		
		Acid dissolution	Alkaline dissolution	Alkaline fusion	Acid dissolution	Alkaline dissolution	Alkaline fusion
		$n = 14$	$n = 10$	$n = 3$	$n = 10$	$n = 3$	$n = 4$
Si	39	749 ± 23 (-3 $\pm$ 3)	727 ± 14 (2 $\pm$ 1)	812 ± 29 (100 $\pm$ 84)	136 ± 6 (14 $\pm$ 19)	132 ± 4 (-3 $\pm$ 5)	318 ± 92 (68 $\pm$ 81)
Al	34	886 ± 42 (-2 $\pm$ 2)	786 ± 19 (-6 $\pm$ 3)	890 ± 42 (7 $\pm$ 30)	579 ± 19 (5 $\pm$ 10)	591 ± 11 (4 $\pm$ 18)	695 ± 57 (69 $\pm$ 115)
Ca	10	3550 ± 210 (-3 $\pm$ 5)	3390 ± 70 (-1 $\pm$ 1)	3540 ± 110 (54 $\pm$ 28)	5900 ± 140 (72 $\pm$ 24)	5460 ± 130 (30 $\pm$ 17)	5300 ± 58 (31 $\pm$ 43)

a) Errors are one sigma values. Values in parenthesis are blank values ($n = 2$); b) DW stands for dry weight; c) Sampled in the Experimented field, Tokyo University of Agriculture and Technology

Table 5 Comparison of analytical results^{a)} of *magnolia*^{b)} leaf obtained with different dissolution methods (unit: $\mu\text{g}/\text{DW}^{\text{c})}\text{g}$)

Element	Detection limit	<i>magnolia</i> leaves		
		Acid dissolution	Alkaline dissolution	Alkaline fusion
		$n = 4$	$n = 13$	$n = 10$
Si	110	2600 ± 500	35000 ± 1800 (62 ± 11)	32200 ± 2700 (490 ± 460)
Al	98	70 ± 190	320 ± 50 (63 ± 6)	510 ± 180 (-4 ± 74)
Ca	24	21800 ± 2400	22500 ± 1400 (20 ± 20)	22600 ± 1000 (300 ± 600)

a) Errors are one sigma values. Values in parenthesis are blank values ($n = 3$); b) Sampled in the Experimented field, Tokyo University of Agriculture and Technology; c) DW stands for dry weight

度は灰化アルカリ溶解法が有意に高い値を与えた。炭酸ナトリウムの量をホオノキの乾燥重量の約 20 倍～70 倍加えて溶液化を行った場合のいずれにおいても、灰化アルカリ溶解法で溶液化した試料が高濃度であったため、灰化溶融法において融剤が不足しているとは考えにくい。一方、アルミニウムは灰化溶融法が高い濃度を与えたが、同法の空試験において、アルミニウムの値が大きかっただけでなく、ばらつきが大きかったため、炉材によるコンタミネーションの影響が無視できなかったと思われる。以上の結果より、現時点では理由は明確ではないものの、ホオノキの葉の溶液化には灰化アルカリ溶解法が適していると考えられる。

4 結 論

ICP-AES を用いたケイ素濃度の測定にあたり、茶葉のようなケイ素含有量の低い植物では 700°C で灰化を行うことで竹尾の報告¹³⁾に反し酸のみで溶液化できるが、ケイ素含有量の高い植物試料の全ケイ素の溶液化は不可能だと考えられた。一方、灰化アルカリ溶解法は溶融法に比べ簡便な操作で、ケイ素含有量の低い植物から高い植物まで、広く試料の溶液化が可能であることが示された。

文 献

- 1) R. L. Fox, J. A. Silva, D. L. Plucknett, D. Y. Teranishi: *Plant and Soil*, **30**, No. 1, 81 (1969).
- 2) 檀崎祐悦, 我妻和明: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **52**, 347 (2003).
- 3) 藤原祺多夫: “実験科学講座 15, 分析”, 第 4 版, 日本化学会編, p. 112 (1991) (丸善株式会社).
- 4) Nayar P. K., Misra A. K., Panik S.: *Plant and Soil*, **42**, 491 (1975).
- 5) P. F. Reay, W. D. Bennett: *Analytica Chimica Acta*, **198**, 145 (1986).
- 6) 田中 敦, 岡本研作: 地球化学, **34**, 11 (2000).
- 7) 高橋英一, 三宅靖人: 日本土壤肥料学雑誌, **47**, 301 (1976).
- 8) 前川和正, 神頭武嗣, 渡辺和彦: “ケイ酸と作物生産”, 日本土壤肥料学会編, p. 77 (2002) (博友社).
- 9) 山崎浩道: 農業および園芸, **70**, 1005 (1995).
- 10) J. F. Ma, E. Takahashi: “*Soil, Fertilizer, and Plant Silicon Research in Japan*”, p. 107 (2002) (ELSEVIER).
- 11) G. H. Korondörfer, I. Lepsch: “Studies in Plant Science, 8 Silicon in Agriculture”, Edited by L. E. Datnoff, G. H. Snyder, G. H. Korondörfer, p. 133 (2001) (ELSEVIER).
- 12) T. Nakanishi, R. Onishi, T. Akagi: “*Second Silicon in Agriculture Conference*”, p. 130 (2002) (Silicon in Agriculture Organizing Committee and Japanese Society of Soil Science and Plant Nutrition).
- 13) 竹尾忠一: 日本食品工業学会誌, **29**, 733 (1982).