ノ ー ト

非接触型電気伝導度検出 CE を用いる薄膜水耕における 循環水耕液中の主要無機イオンの定量

長谷部 誉人¹, 広島 千早紀¹, 東 良 太¹, 吉野 将紀², 岡部 勝美², 安 保 充^{*1}

1 緒 言

植物工場で用いられる循環型水耕栽培において、水耕液は電気伝導率 (EC) を制御することで溶液中の無機成分量を調節している。しかし、EC を一定にする制御法ではすべての無機成分が一定に維持されているわけではなく、栽培植物による各主要元素の吸収量の差異により、成分に偏りが生じる可能性がある。また、作物中のイオン含量を栽培管理する場合、水耕液中の成分をモニター、調節する必要がある。例えば、EU ではハウレンソウ葉中の硝酸イオンが食の安全の面から 3500 ppm (wet weight) 以下と設定されており¹⁾、収穫前に施肥を停止させ、葉中の硝酸イオン濃度を減少させる方法が一般的である。また、栽培後の水耕液中の硝酸イオンやリン酸イオンは、排水の富栄養化に繋がるため、環境面からも水耕液をモニタリングし、その排出量を低減する必要がある。

そこで、水耕液中の個々のイオン成分を分析・定量する経時的モニタリング方法として、キャピラリー電気泳動 (CE) - 非接触型電気伝導度検出器 (C⁴D: Capacitively coupled contactless conductivity detector) の系を利用することを検討した。C⁴D は無機イオン、有機酸などのイオン性化合物を検出することが可能であり、溶液に触れることなく分析を行うことができるため、電極自体への汚染や消耗がほとんどない検出器である。また、市販の CE 装置は注入体積の再現性がよく、今回のように内標準を使わずに信頼性の高い分離分析が可能である点で優れている。さらにキャピラリー、高電圧電源、検出系、泳動溶液バイアルのみの構成でシステム化できるため将来的には装置の小型化への検討が可能であり、実際に小型の C⁴D による分析例も報告されている²⁾³⁾。

従来、無機イオンの分析には、ICP-OES⁴⁾やイオンクロマトグラフィー⁵⁾などが利用されている。これらに比べて CE-C⁴D は少量のサンプルと泳動液で分析が可能であり、

使用する消耗品のコストを抑えつつ、ロバストな分析を行えることが特徴である。

本研究では、実際に使用されている NFT (nutrient film technique) 型水耕の循環水耕液中に含まれ、水耕栽培においてその量をモニタリングすることが望ましい主要無機成分を CE-C⁴D で分析する方法を確立する。具体的には、窒素 (N)、リン (P)、カリウム (K) のイオン形態を測定し、得られた結果を従来法と比較検証した。

2 実 験

2.1 試 薬

硝酸アンモニウム、塩化カルシウム二水和物、塩化ナトリウム、リン酸水素二カリウムは関東化学から、硝酸カリウム、塩化マグネシウム六水和物、硫酸アンモニウム、カリウム標準液、カルシウム標準液、ナトリウム標準液、マグネシウム標準液、ヒスチジン、酢酸、リンゴ酸、フタル酸、トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン、硝酸は和光純薬工業から、18-crown-6 は東京化成工業から購入した。

2.1.1 CE-C⁴D 用陽イオン分析標準液 NH₄NO₃, CaCl₂·2H₂O, NaCl, KNO₃, MgCl₂·6H₂O を 10 mol L⁻³ となるように MilliQ 水で調製し、さらに希釈して 20, 50, 100, 200, 500, 1000 mol L⁻⁶ 溶液を調製した。

電気泳動液は Kuban らの報告を参考に⁶⁾⁷⁾、終濃度が 12 mol L⁻³ のヒスチジン -117 mol L⁻³ の酢酸となるように混合し、pH を 3.7 に調整した。さらに、NH₄⁺ と K⁺ のピークを分離するために、終濃度 2 mol L⁻³ になるように 18-crown-6 を加えた。

2.1.2 CE-C⁴D 用陰イオン分析標準液 NH₄NO₃, NaCl, K₂HPO₄, (NH₄)₂SO₄ を 10 mol L⁻³ となるように MilliQ 水で調製し、さらに希釈して、100, 200, 500, 1000 mol L⁻⁶ 標準液を調製した。

電気泳動液は田中らの報告を参考に⁸⁾、10 mol L⁻³ のヒスチジン -80 mol L⁻³ のリンゴ酸を混合し、pH を 2.6 に調整した。

2.1.3 ICP-OES 用陽イオン分析標準液 カリウム、カルシウム、ナトリウム、マグネシウムの標準液 (1000 ppm, 和光純薬工業製) を 0.1N HNO₃ で希釈し、1, 2, 4,

* E-mail: abo@meiji.ac.jp

¹ 明治大学農学部農芸化学科: 214-8571 神奈川県川崎市多摩区東三田 1-1-1

² 明治大学黒川農場: 215-0035 神奈川県川崎市麻生区黒川 2060-1

10 ppm とした。

今回、ICP の分析結果の誤差を補正するために、Cs を用いた。カリウム、カルシウム、ナトリウム、マグネシウム標準液を 1000 ppm セシウム標準液（和光純薬工業製）で希釈し、各元素の検量線用標準液（1, 2, 4, 10 ppm）とした。

2・1・4 イオンクロマトグラフィー用陰イオン分析標準液 NH_4NO_3 , NaCl , K_2HPO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ を 10 mol L^{-3} となるように MilliQ 水で調製し、希釈して 200, 500, 1000, 2000, 5000 mol L^{-6} 標準液を調製した。溶離液は、終濃度が 2.5 mol L^{-3} のフタル酸- 2.3 mol L^{-3} のトリス（ヒドロキシメチル）アミノメタン緩衝液（pH 4.0）を用いた。

作製した溶液はいずれも $0.45 \mu\text{m}$ のメンブレンフィルター（ADVANTEC 製）を通し、泳動液は使用前に室温で 10 分間ウルトラソニックバスで脱気処理を行った。

2・2 装置

分離にはキャピラリー電気泳動装置（Quanta 4000E, Waters 製）、検出には C^4D （ET120, eDAQ 製）を用いた。キャピラリーは内径 50 μm 、外径 375 μm のフューズドシリカキャピラリー（GL Sciences 製）を用い、有効長 45 cm（全長 60 cm）の位置に C^4D を取り付け付けた。陽イオンは印加電圧を +25 kV で行い、陰イオンは印加電圧を -25 kV で行った。

さらに、得られた結果を陽イオンの場合は ICP-OES（Optima8300, Perkin Elmer 製）を用いて検証した。測定に用いた波長は K; 766.49 nm（原子線）、Ca; 317.933 nm（イオン線）、Na; 589.592 nm（原子線）、Mg; 285.213 nm（原子線）で、すべてアキシアル方向で分析を行った。陰イオンはイオンクロマトグラフィー（L-7000 シリーズ, HITACHI 製）を用いて検証した。分離カラムは IC-524A（Shodex 製、内径 4.6 mm、長さ 100 mm）を用い、流量を 1.2 mL min^{-1} 、試料導入量を 20 μL とし、検出器は電気伝導度検出器を用いて測定した。

2・3 試料

実験で使用した試料はすべて明治大学黒川農場（神奈川県川崎市麻生区黒川 2060-1）で栽培されているハウレンソウの NFT 型水耕液を使用した。栽培品種は、ジョーカーク（トキタ種苗）を用いた。このハウレンソウを播種後 14 日後に定植し、ナッパランド®にて 27 日間、NFT 水耕栽培によって育てた。使用した水耕液は定期的（定植後 2, 6, 9, 14, 16, 20, 23 日）に採取し、その場で $0.20 \mu\text{m}$ のフィルターにかけて汙過滅菌し、分析するまで 4°C で冷蔵保存した。CE- C^4D での分析の際には、これらの水耕液を MilliQ 水で 10, 100, 200 倍に希釈して測定した。

ICP-OES での分析の際には、水耕液を 0.1 N HNO_3 で希

釈したもの、1000 ppm の Cs で 10, 100 倍に希釈したもの、1 ppm の Y を内標準として加えたもの、及び水耕液の原液を測定した。

IC での分析の際には、これらの水耕液を原液及び、MilliQ 水で 2 倍に希釈したものを測定した。

3 結果と考察

3・1 検量線

標準液の測定結果を Fig. 1a 及び 2a に示す。各濃度で十分に分離したピークが得られた。陽イオン、陰イオンともに電気泳動移動度に従って順に検出された。例外としては、電気泳動移動度がほぼ等しい K^+ と NH_4^+ に関しては既報通りクラウンエーテルを共存させることにより K^+ の移動度を変化させて分離することができた。また Mg^{2+} が Na^+ より遅くなるが、これは泳動液中の酢酸によることが既報で報告されている⁹⁾¹⁰⁾。この結果を用いて検量線の作成と再現性の評価を行った（Table 1）。ピーク面積の再現性はそれぞれ 3 回ずつ測定し、RSD 5 % 以下で良い値を示した。 K^+ は、 $20 \sim 500 \text{ mol L}^{-6}$ 、 Ca^{2+} 、 Na^+ 、 Mg^{2+} は $20 \sim 1000 \text{ mol L}^{-6}$ 、すべての陰イオンについては、 $100 \sim 1000 \text{ mol L}^{-6}$ の間で良い直線性を示した。また、検出限界は $S/N=3.3$ 、定量下限値は $S/N=10$ として求めた。Kubanらの報告では⁶⁾、各陽イオンの直線範囲は $1 \sim 200 \text{ mol L}^{-6}$ 、検出限界は $0.2 \sim 0.4 \text{ mol L}^{-6}$ であり、田中らの報告では⁸⁾、各陰イオンの直線範囲は $0.5 \sim 5 \text{ ppm}$ 、検出限界は $0.05 \sim 1.9 \text{ ppm}$ である。本法では感度的には 1 桁劣るものの、いずれの報告の方法でも自作のキャピラリー装置を使用しているのに対し、本法では市販の CE 装置、汎用キャピラリーを用いていることから、実験の再現をとりやすい利点がある。

3・2 水耕液の分析

黒川農場の水耕液の陽イオン分析結果のうち、定植後 2 日目に採取したものを一例として Fig. 1b 及び 2b に示す。各陽イオンは十分に分離したピークを与えた。Fig. 1b において、アンモニウムイオンのピークが確認されているが、今回使用した水耕液中に含まれるアンモニウムイオンの濃度は同じ窒素源である硝酸イオンの 5～10 % とかなり低く、定植後 6 日目以降は検出されなかった。

一方、各陰イオンも十分に分離したピークを与えた（Fig. 2b）。イオンクロマトグラフィーの結果から、水耕液中には塩化物イオンも数十 mol L^{-6} の濃度で含まれているが、 C^4D で検出できる濃度を下回っていた。

3・3 分析手法の検証

陽イオンの分析において、同一の試料を CE- C^4D の定量値（x 軸）と ICP-OES の定量値（y 軸）でプロットしたも

Fig. 1 Electropherograms of cation standard solution (100 mol L^{-6}) (a), and a hydroponic solution (b)

Electrophoretic conditions: BGE (background electrolyte), 12 mol L^{-3} histidine, 117 mol L^{-3} acetic acid, 2 mol L^{-3} 18-crown-6 (pH 3.7); Applied voltage: $+25 \text{ kV}$; Sample injection: Hydrostatic $10 \text{ cm} \times 10 \text{ s}$; Identification of peaks: 1. NH_4^+ ; 2. K^+ ; 3. Ca^{2+} ; 4. Na^+ ; 5. Mg^{2+}

Fig. 2 Electropherograms of anion standard solution (200 mol L^{-6}) (a), and a hydroponic solution (b)

Electrophoretic conditions: BGE, 10 mol L^{-3} histidine, 80 mol L^{-3} malic acid, (pH 2.6); Applied voltage: -25 kV ; Sample injection: Hydrostatic $10 \text{ cm} \times 10 \text{ s}$; Identification of peaks: 1. Cl^- ; 2. NO_3^- ; 3. SO_4^{2-} ; 4. H_2PO_4^-

Table 1 Calibration data and limits of detection of cations and anions by CE-C⁴D ($n = 3$)

	% RSD (Area) ^{a)}	Correlation coefficient (R^2)	Linear range (mol L^{-6})	Limit of detection (mol L^{-6})	Limit of quantitation (mol L^{-6})
NH_4^+	1.5	0.9987	20–1000	8.9	29.8
K^+	3.6	0.9999	20–500	8.0	24.3
Ca^{2+}	2.4	0.9995	20–1000	5.7	17.1
Na^+	1.8	0.9967	20–1000	9.6	29.1
Mg^{2+}	1.5	0.9994	20–1000	5.7	17.4
NO_3^-	0.9	0.9999	100–1000	7.1	21.6
SO_4^{2-}	0.6	0.9996	100–1000	3.5	10.7
H_2PO_4^-	4.2	0.9994	100–1000	6.7	20.2

a) RSD was calculated from the area of standard solution (100 mol L^{-6}).

のを Fig. 3 に示す。Cs でイオン化干渉の効果を飽和させて検量線用標準液及び試料の測定を行い、試料に Cs を加えて補正をかけることで、両分析法で良い相関が得られた (Fig. 3 b, d, f, h)。試料には高濃度の K^+ が含まれているため、イオン化干渉が起きる可能性が高く¹¹⁾、今回測定元素のうち、中性原子線を測定している Na^+ での増感作用及び、イオン線である Ca^{2+} の減感作用を、Cs 添加の検量線を用いることによって補正できたと言える (Fig. 3 b, d, f, h)。以上のように、ICP-OES では Cs を添加するなどしてイオン化干渉などの影響を補正する必要があるが、

CE-C⁴D の系では影響を受けない点で優れていると結論付けた。

陰イオン分析において、同一サンプルを CE-C⁴D の定量値 (x 軸) とイオンクロマトグラフィーの定量値 (y 軸) でプロットしたものを Fig. 4 に示す。こちらについても、相関の高い信頼できる分析結果が得られたと考えられる。

3・4 水耕液中の主要イオンの (経時変化) モニタリング

ハウレンソウ栽培水耕液の主要イオン量の経時的モニタリングを Fig. 5 に示す。定植後 10 日目以降、 K^+ と Mg^{2+} は

Fig. 3 Measurement of the cation concentrations of a hydroponic solution by CE-C⁴D and ICP-OES; no correction K(a), Ca(c), Na(e), Mg(g); Cs addition K(b), Ca(d), Na(f), Mg(h)

減少し、Ca²⁺とNa⁺は増加している様子が観測された。定植後約1週間後は、植物体の生育が著しくなるため、栄養吸収量も多くなり、植物の栄養ごとの吸収量にも差が生じやすくなる様子がうかがえる。Fig. 5a及び5bに示した推移図は、ハウレンソウ NFT水耕の現場で最適化された条件

下において、取得されたものである。

また、Fig. 5cで見られるように、硝酸イオンは日が経過するごとに大きく減少する。定植後24日目以降は施肥の停止、27日目以降に出荷されるため、水耕液中の硝酸イオン量が低減、管理されていることを示している。硫酸イオ

Fig. 4 Measurements of anion concentrations of hydroponic solutions by CE- C⁴D and ion chromatography; (a) NO₃⁻; (b) SO₄²⁻; (c) H₂PO₄⁻

ン及びリン酸イオンは栽培を通して植物の吸収量と供給される水耕液の供給量がつり合っており、濃度の大幅な変化は確認できなかった。特にリン酸イオンについては、施肥の停止後にはその量が低減、管理されており、農場現場で最適化された条件下での推移を示した。

4 結 論

植物栽培に重要であり、水耕液中の多量成分である窒素 (NO₃⁻, NH₄⁺)、リン酸 (H₂PO₄⁻)、カリウム (K⁺) を CE-C⁴D を用いて簡便かつ迅速に分析することができた。特に、肥料液のように多量に K⁺ を含むサンプルの場合、従来法である ICP-OES や原子吸光では、K⁺ による干渉を補正するための工程が必要となるが、CE-C⁴D の系ではその影響を受けずに分析を行うことができた。

また、陰イオン分析においては、従来法であるイオンクロマトグラフィーと比べ、少量の試料、泳動液を用いて、

Fig. 5 Changes in the concentrations of major nutrients in the NFT hydroponic solutions at Kurokawa farm (a) K⁺, Ca²⁺; (b) Na⁺, Mg²⁺, NH₄⁺; (c) NO₃⁻; (d) SO₄²⁻, H₂PO₄⁻

分析結果を得ることができた。

さらに、実際のアプリケーション例として、栽培中のハウレンソウ水耕液中の主要無機成分を経時的に分析を行うことができた。過去の報告において、水耕液を分析したも

のがあるが^{13)~15)}, 本法は水耕栽培においてモニタリングが必要とされる主要無機成分を一つの装置で分析が可能な点で優れていると結論付けた。

今後は, 目的に合った無機イオン含量の作物生産への本法の応用が期待される。

謝 辞

本研究は, 一部科学研究費基盤研究C(課題番号25450374)の補助を受けて行われた。

文 献

- 1) 食品安全に関するリスクプロファイルシート, 農林水産省, <http://www.maff.go.jp/j/syouan/seisaku/risk_analysis/priority/hazard_chem.html>.
- 2) P. Kuban, P. C. Hauser: *Electrophoresis*, **26**, 3169 (2005).
- 3) T. D. Mai, T. T. Pham, H. V. Pham, J. saiz, C. G. Ruiz, P. C. Hauser: *Anal. Chem.*, **85**, 2333 (2013).
- 4) 田中智子, 茶山健二: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **58**, 33 (2009).

- 5) E. G. Ordonez, E. Alonso, P. Ruperez: *Talanta*, **82**, 1313 (2010).
- 6) P. Kuban, H. T. A. Nguyen, M. Macka, P. R. Haddad, P. C. Hauser: *Electroanalysis*, **19**, 2059 (2007).
- 7) P. Kuban, C. J. Evenhuis, M. Macka, P. R. Haddad, P. C. Hauser: *Electroanalysis*, **18**, 1289 (2006).
- 8) 田中秀明, 山本冨音, 脇田慎一, 齋藤恵逸: *Chromatography*, **34**, 90 (2013).
- 9) S. Nussbaumer, S. F. Souverain, L. Bouchoud, S. Rudaz, P. Bonnabry, J. L. Veuthey: *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **53**, 130 (2010).
- 10) 木曾義之: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **22**, 340 (1973).
- 11) 森重陽介, 木村 淳: SEI テクニカルレビュー, **172**, 100 (2008).
- 12) 日本施設園芸協会, 日本養液栽培研究会: “溶液栽培のすべて”, p. 72 (2012), (誠文堂新光社).
- 13) R. Maggini, G. Carmassi, L. Incrocci, A. Pardossi: *Agrochimica*, **54**, 331 (2010).
- 14) R. D. Marco, C. Phan: *Talanta*, **60** 1215 (2003).
- 15) 丸尾 達, 篠原 温, 岩田正利, 伊東 正: 園芸学会雑誌, **71**, 675 (2002).

Determination of Major Inorganic Ions in Solution of the Nutrient Film Technique Hydroponic System by CZE with Capacitively Coupled Contactless Conductivity Detection

Takato HASEBE¹, Chisaki HIROSHIMA¹, Ryota AZUMA¹, Masaki YOSHINO²,
Katsuyoshi OKABE² and Mitsuru ABO^{*1}

* E-mail: abo@meiji.ac.jp

¹ Department of Agricultural Chemistry, School of Agriculture, Meiji University, 1-1-1, Higashimita, Tama-ku, Kawasaki-shi, Kanagawa 214-8571

² Kurokawa Farm, Meiji University, 2060-1, Kurokawa, Asao-ku, Kawasaki-shi, Kanagawa 215-0035

(Received December 26, 2015; Accepted March 16, 2016)

Major nutrients in a NFT spinach hydroponic solution, cations (K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+) and anions (NO_3^- , SO_4^{2-} , $H_2PO_4^-$), were analyzed by CE with capacitively coupled contactless conductivity detection (C^4D). C^4D was fitted on a fused silica capillary (i.d., 50 μ m; o.d., 375 μ m; total length, 60 cm) at the position of 45 cm from an inlet. Electrophoresis buffers were 12 mol L⁻³ histidine - 117 mol L⁻³ acetic acid (pH 3.7) (cation analysis), and 10 mol L⁻³ histidine - 50 mol L⁻³ malic acid (pH 3.0) (anion analysis). All peaks were completely separated and linear calibration ranges were between 20 mol L⁻⁶ and 500 mol L⁻⁶ (K^+), 20 mol L⁻⁶ and 1000 mol L⁻⁶ (NH_4^+ , Ca^{2+} , Na^+ , Mg^{2+}), 100 mol L⁻⁶ and 1000 mol L⁻⁶ (anions). The obtained results were verified using ICP-OES and ion chromatography. As an actual application, the major nutrients of the NFT hydroponic solution of spinach cultivation were successfully measured.

Keywords: capacitively coupled contactless conductivity detector; plant factory; hydroponic solution; nutrient film technique (NFT).