報 文

カイワレ大根の種子及び葉、莖、根中のアルカリ金属
など多元素の定量と分布藤 野 治^{®*}, 松井 正和^{**}

(1994 年 11 月 14 日受付)

(1995 年 2 月 20 日審査終了)

種々の濃度のアルカリ金属イオンを含有した pH 5.6 の培養液 (100 ml) からカイワレ大根種子 (20 粒: 約 0.3 g) を発芽, 生長させ, 各部位 (葉, 莖, 根) へのアルカリ金属イオンの吸収や分布挙動などについて検討した. まず純水培養液において生長したカイワレ大根の各部位を分解し, 溶液とした後, フレーム分析及び ICP 発光分析法により測定定量した結果, Li, Na, K, Mg, Ca, Zn, Fe, B, P などが検出された. 次に低濃度 (10^{-5} 及び 10^{-4} mol dm $^{-3}$) のアルカリ金属イオンを含む培養液により, 生長させたカイワレ大根各部位における K 含量は高く, 次に Na, Rb, 又 Li と Cs は極低含量であった. 又 Li, Na 及び K は純水で生育した場合とほぼ同じ程度の含量であったが, Rb のみは培養液中濃度増加に伴い, カイワレ各部位における吸収含量も増大した. これに対しアルカリ金属イオンが高濃度 (10^{-3} 及び 10^{-2} mol dm $^{-3}$) になるといずれの元素もよく吸収された.

1 結 言

最近, 環境化学的見地から植物に対する無機イオンの吸収, 蓄積, 分布及びその影響について広く研究が行われるようになった^{1)~3)}.

著者らは近年, 大気汚染として注目を集めている酸性雨⁴⁾の植物に対する化学的あるいは生物学的影響について, 対象植物にはカイワレ大根を, 又その発芽及び生育には水耕栽培法, すなわち培養液に純水を用いて, 塩酸により pH を 5 とした後, 発芽・生長させ, この間の水素イオンや種子から放出されるイオン類の挙動を調べた. その結果, 発芽過程において培養液中の水素イオンは種子に吸収され, 種子からはカリウムイオンが放出され, 又生長過程になると種子から培養液中に放出されたカリウムイオンはカイワレに吸収され, 水素イオンは放出された. このように培養液とカイワレ大根間において, これらのイオンは逆相関の関係にあるなど化学的見地から極めて興味ある現象を示した⁵⁾. しかし, これらの現象は培養液中におけるイオンの濃度変化についてのみ調査を行い, カイワレ大根の葉, 莖, 根各部位における元素含量や蓄積・分布状態などについては未検討であ

った. そこで本研究では酸性雨と植物との相互作用に関する研究の一環として, 種々の濃度のアルカリ金属イオンを含み, かつ雨水⁴⁾と同じ pH 5.6 に調節した培養液により, カイワレ種子を発芽・生長させ, 1 週間後のカイワレ大根の葉, 莖, 根各部位におけるアルカリ金属元素含量や分布状態について検討を行った. なお, カイワレ大根各部位や種子中のアルカリ金属元素など多元素定量に対し, 高感度かつ高精度な測定法が必要であり, ここではアルカリ金属元素にはフレーム分析法⁶⁾, 又アルカリ金属以外の他元素の定量には ICP 発光分析法⁷⁾を採用し, これら元素の測定に関する基礎的検討も合わせ行った.

2 実 験

2・1 装置と試薬

装置には日立-偏光ゼーマン原子吸光及び蛍光分析併用装置及び日本ジャーレル・アッシュ製 ICAP-500 型 ICP 発光分析装置 (グレイティング 1180 溝数/mm) を用いた.

アルカリ金属イオンは各アルカリ金属の塩化物の市販の特級を純水に溶解したものを, 又他の試薬類はすべて特級あるいは精密分析用を用いた.

* 近畿大学理工学総合研究所: 577 大阪府東大阪市小若江 3-4-1

** 京都大学化学研究所: 611 京都府宇治市五ヶ庄

2・2 培養液によるカイワレ大根の生長

既報⁵⁾のように純水又は種々の濃度のアルカリ金属イオンを含んだ培養液 (pH 5.6) 100 ml を 100 ml のガラスのビーカーに入れる。これに 2~3 mm 径の孔を 15 か所ほど開けたプラスチック板をセットし、苗床とする。これにカイワレ種子を 20 粒まき、これを植物生育装置 (温度 20°C, 湿度 70%, 陽光ランプ 20000 lx 連続点灯) に置き、カイワレ大根を発芽させ、1 週間生育させた。

2・3 試料の分解

①: 種子は粒子 (15 粒; 0.24~0.26 g) を直接ビーカーに、又生長したカイワレ大根は採取後、直ちに表面の付着水を濾紙にて吸収除去した後、葉、茎、根各部位を切断し、ひょう量 (0.02~0.2 g) 後、各部位をそれぞれ 20 ml のビーカーに入れ分解試料とする。

②: ①で作製した各試料に濃硝酸 5~10 ml を加えた後、時計皿で各ビーカーをカバーし、これらをホットプレート (110~130°C) 上で 30 分~1 時間加熱し、これらの固体試料を分解、溶液化する。この操作によりほぼ分解するが、白い不溶性の沈殿がわずかに残存する。

③: 次に ②において有機物残留物が多量残存する場合には王水 (濃硝酸と濃塩酸の 1:3 の混合溶液) を 3~5 ml 加え、約 30 分 ②と同じ方法で加温する。通常は ②の操作終了後これらの溶液に濃過塩素酸 1~2 ml を加え 150°C で 1~2 時間、試料溶液の黄色又はオレンジ色や ②で生じた白い沈殿物が消失するまで加熱し続ける。なお、これらが消失せず、溶液が乾固しそうな場合には更に過塩素酸を 1~2 ml 追加し、加熱する。分解試料溶液が透明な状態になったとき、時計皿を除き、過塩素酸を蒸発除去し、完全に乾固する^{*1}。これを硝酸に溶かし試料溶液とした。試料はほぼ完全に分解しているがごくわずかに不溶性残留物が残る場合もあり、このときは No. 5c 濾紙にて濾過した。

2・4 測定操作

2・3 で得られた試料溶液中のリチウム、ナトリウム、カリウム濃度の測定にはセシウムを、又ルビジウムとセシウムの測定にはカリウムをそれぞれ実試料溶液中で 1 mg/ml となるように添加し、フレイム分析法により測定した。

なお、測定波長はリチウム、ナトリウム、カリウム、

ルビジウム及びセシウムに対し、それぞれ 670.8, 589.6, 766.5, 794.8 及び 852.1 nm を、又スリット幅はいずれのアルカリ金属イオンも 0.4 nm, 空気及びアセチレン燃料はそれぞれ 1.5 及び 0.3 kg/cm² において測定した。

又、カルシウム、マグネシウム、鉄、亜鉛、ホウ素、リンは ICP 発光分析法により、それぞれ 317.9, 279.5, 259.9, 213.8, 249.7 及び 213.6 nm の波長において、又キャリアーガスはいずれの元素も 0.4 l/min, 高周波出力は 1.2 kW により発光強度を測定した。

3 結果と考察

3・1 アルカリ金属のイオン化の抑制

カイワレ種子及び生長後のカイワレ大根の葉、茎、根部位中のリチウム、ナトリウム、カリウム、ルビジウム及びセシウムなどアルカリ金属の測定・定量には種々の方法があるが⁶⁾、高感度かつ迅速に精度よく定量できる方法は化学フレイム (空気-アセチレン) によるフレイム分析法が最適と考えられた。

しかし、アルカリ金属元素のイオン化電圧はリチウム、ナトリウム、カリウム、ルビジウム及びセシウムにおいてそれぞれ 5.39, 5.19, 4.34, 4.18, 3.89 eV と低く、例えば酸素-アセチレンフレイムではこれらアルカリ金属はそれぞれ 16, 26, 82, 89, 96% とイオン化電圧が低いほどイオン化率は著しく上昇する⁸⁾。従って、本研究で使用する空気-アセチレンフレイム中においても高イオン化率であることが考えられ、原子のイオン化によって測定時の発光強度の低下と共存イオンによるイオン化干渉が生じることになる。従って、ここではまずこれらアルカリ金属イオンのフレイム中におけるイオン化の抑制方法について検討する必要がある。そこで微量のリチウム、ナトリウム、カリウムイオンに対し、極めてイオン化電圧が低いセシウムイオンを、又微量ルビジウム及びセシウムイオンについてはカリウムイオンを種々の濃度で共存させ、測定時における各アルカリ金属に対する影響を調べた。各アルカリ金属イオン 1 ppm に対し、セシウム又はカリウムイオンを 1 から 10⁴ ppm の範囲で共存させた結果を Fig. 1 に示した。縦軸は被検元素であるアルカリ金属イオンに高濃度のセシウム又はカリウムイオンを添加した場合の発光強度 ($I_{\text{alkali}+\text{Cs(K)}}$) とアルカリ金属イオンのみの発光強度 (I_{alkali}) との比であり、横軸は溶液に添加したセシウム又はカリウムイオンの濃度である。図に見られるように、各アルカリ金属イオンのイオン化率が異なるためか、その干渉度 (イオン化抑制度) は元素間によって大

^{*1} この操作は有機物の残量が多い場合など危険性があるので注意を要する。

きく異なる。しかし共存イオンが 10^3 ppm 以上になるとその干渉度はいずれのアルカリ金属も飽和となった。これはフレーム中のアルカリ金属のイオン化が完全に抑制されたことによるものと考えられる。

上記の結果により、以後の試料溶液中のアルカリ金属イオンの測定にはイオン化抑制剤として 1 mg/ml のセシウムイオン又はカリウムイオンを共存させることにした。

3・2 検量線

アルカリ金属イオン濃度 0.5~3.0 ppm の範囲において、イオン化抑制剤の共存有無による検量線を Fig. 2 に示した。アルカリ金属の中で比較的イオン化電圧の高いリチウム (5.39 eV) やナトリウム (5.19 eV) はイオン化率が低いため、高濃度のセシウムイオンが共存してもわずかに強度が上昇するのみであるが、カリウム (4.34 eV) イオンになるとかなりの増大が認められる。更に被検元素であるルビジウム (4.18 eV) やセシウム (3.89 eV) においては、イオン化抑制剤としての高濃度のカリウムイオンの添加により、Fig. 1 でも見られたように著しい強度の増大が見られた。

なお、カルシウム、マグネシウム、亜鉛、リン、鉄、ホウ素などは ICP-AES において各元素 0.1~10 ppm の範囲で検量線を作成した結果、すべて直線性を示した。

3・3 フレーム分析におけるイオン化干渉と ICP-AES 法における分光干渉

3・3・1 硝酸濃度の影響 2・3 で分解したカイワレ大根の試料溶液は最終的には硝酸溶液とするため、ここでは測定時における硝酸濃度の影響についてフレーム分析法及び ICP-AES 法により 10^{-3} ~ 5 mol dm^{-3} の濃度範囲で検討した。その結果、前者では 1 mol dm^{-3} 、後者では 0.1 mol dm^{-3} まではほとんどの各元素のフレームや発光強度に変化は認められなかった。しかし、それ以上になると濃度増加に伴い、いずれの元素の強度も減少したので、以後の測定時における硝酸濃度は $0.01 \sim 0.1 \text{ mol dm}^{-3}$ とした。

3・3・2 フレーム分析におけるイオン化干渉とその除去 アルカリ金属をフレーム分析法で分析する際には 3・1 及び 3・2 において前述したように被検元素のイオン化とこれに対する共存イオンからのイオン化干渉が問題となる。特に実試料ではアルカリ金属イオンなどからのイオン化干渉について十分に考慮しておく必要がある。そこでここでは被検アルカリ金属イオン各 1 ppm に対し、各アルカリ金属の塩化物が各 100 ppm 共存したと

Fig. 1 Effect of potassium or cesium on alkali metal ion emission intensity

○: Li(+Cs), □: Na(+Cs), ●: K(+Cs), ■: Rb(+K), △: Cs(+K)

Fig. 2 Calibration curves for alkali metal ions

○: alkali metal only; ●: alkali metal + Cs (1 mg/ml); □: alkali metal + K (1 mg/ml)

きのイオン化干渉とその抑制効果について、3・1 の結果を基に、高濃度 (1 mg/ml) の干渉抑制剤 (セシウム又はカリウム) を用いた場合について検討した。得られた結果は Table 1 に示すように、高濃度の干渉抑制剤によ

Table 1 Emission intensity of alkaline metals in the presence of another alkaline metal as an ionization suppressing agent

Coexisting element (100 ppm)	Measured element (1 ppm)				
	Li	Na	K	Rb	Cs
None	100	100	100	100	100
Li	—	92	94	99	109
Na	101	—	101	98	107
K	100	96	—	99	99
Rb	99	101	93	—	103
Cs	—	—	—	102	—

Interference suppression agents: Cs 1 mg/ml

り、被検元素のイオン化はほぼ完全に抑制されるため、共存塩によるイオン化干渉はほとんど認められなかった。

3・3・3 ICP-AES による多元素定量における分光干渉 カイワレ種子や生長後のカイワレ各部位における多元素定量に対し、ICP-AES 法を用いることにしたが、この方法は共存元素からの分光干渉については十分に検討する必要がある。ここでは実試料中のアルカリ金属元素以外の無機成分元素に対する共存元素の分光干渉について詳細な検討を行い、得られた結果を Table 2 に示した。これは被検元素の測定波長において得られた被検元素及び共存元素の発光強度を基に、両者が等濃度のときの発光強度比を計算によって求め、それを百分率(%)で表示したものである。これらの結果に対し、後述する Table 3 の実試料中における各元素の含量比から推定して、被検元素の発光強度に対する干渉は全く考慮する必要がないことを示した。

3・4 実試料カイワレ大根種子の多元素分析と生長時におけるイオンの吸収と分布

3・4・1 カイワレ種子中多元素分析 まず 15 粒 (0.25 g) の種子をひょう量後、2・3 の操作に従って分解し、2・4 の測定操作により種子中元素の分析を行った。その結果を Table 3 に示す。本研究ではアルカリ金属元素の挙動を研究するため、これら元素を主に分析を行った結果である。天然に極微量存在するルビジウムやセシウムは検出されず、植物生長に必須の元素が検出され、特にカリウム、カルシウム、マグネシウム及びリンなどの含有量が極めて高いことを示している。

3・4・2 純水又は種々の濃度のアルカリ金属イオンを含有した培養液において生長させたカイワレ大根の葉、

Table 2 Degree of interference[†] of coexisting elements in ICP-AES determination

Coexisting element	Degree of interference, %					
	Ca	Mg	B	P	Fe	Zn
Ca	—	—	—	0.07	—	—
Mg	0.10	—	—	0.14	—	—
Na	—	—	0.56	0.05	—	0.25
K	—	—	—	0.14	—	—
B	—	—	—	—	—	—
P	—	—	—	—	—	—
Fe	0.05	—	0.19	0.25	—	—
Zn	—	—	—	3.8	—	—

[†] Intensity ratio of coexisting element to measured element at the same concentration; (—): no interference

Table 3 Contents of common elements in dry radish seeds

Element	Concentration of element in radish seeds	
	10 ² µg g ⁻¹	10 ⁻⁶ gram-atom g ⁻¹
Li	0.007	0.103
Na	2.02	8.7
K	77.6	199
Rb	<1	<0.01
Cs	<1	<0.01
Ca	31.8	79.2
Mg	35.1	145
Zn	0.54	0.82
Fe	0.60	1.07
P	84.3	272
B	0.18	1.70

Number of analysed samples: 15 pieces

Table 4 Contents and distribution of elements in parts of radish cultivated with distilled water

Element	Contents of elements in radish parts [†] / 10^{-6} gram-atom g^{-1}		
	Leaf	Stem	Root
Li	0.16 ± 0.05	0.10 ± 0.03	0.093 ± 0.03
Na	2.1 ± 0.4	6.7 ± 2.2	7.2 ± 1.9
K	11 ± 1.2	15 ± 1	37 ± 9
Rb	< 0.01	< 0.01	< 0.01
Cs	< 0.01	< 0.01	< 0.01
Mg	20.3 ± 0.6	7.0 ± 1.0	6.3 ± 0.8
Ca	9.4 ± 0.6	5.2 ± 0.5	6.4 ± 0.85
Zn	0.24 ± 0.03	0.51 ± 0.16	0.67 ± 0.26
Fe	0.15 ± 0.01	0.21 ± 0.15	0.24 ± 0.05
B	1.4 ± 0.26	2.4 ± 0.14	6.1 ± 2.3
P	34 ± 2.7	16 ± 1.3	17 ± 1.2

[†] Wet sample

茎, 根各部位におけるアルカリ金属元素等含量と分布

① 純水を培養液としたときの多元素定量と分布: 3・4・1 で使用した種子を純水により発芽・生育させたときの葉, 茎, 根中における多元素の分析結果を Table 4 に示した. これらは 2・3 の操作に基づき, 生長したカイワレ大根各部位の湿重量に対する含量 (gram-atom/g) である. これら元素は Table 3 の種子中含量にはば対応した値を示している. 又, カイワレ部位間では若干元素含量に差が見られ, リチウム, マグネシウム, カルシウム及びリンは葉に, カリウム, ホウ素などは根に, 又ナトリウム, 鉄及び亜鉛は茎と根に蓄積しやすいことを示している.

② アルカリ金属イオンを含有した培養液から生長したときのカイワレ大根各部位におけるアルカリ金属の定量と分布: 3・4・1 の純水培養に対し, ここでは培養液中に各アルカリ金属イオンが $0, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3}, 10^{-2}$ 及び $10^{-1} \text{ mol dm}^{-3}$ の濃度で存在したときの, 各アルカリ金属イオンのカイワレ各部位における含量や蓄積・分布挙動を調べ, それらの結果を Fig. 3~7 に示した. なお, アルカリ金属イオンは塩化物を用い, 1 週間発芽・生長させたときの各部位におけるアルカリ金属元素含量である. 図の横軸は培養液中の各アルカリ金属イオン濃度 (mol dm^{-3}) を, 縦軸はカイワレ各部位 (葉, 茎, 根) の湿重量中のアルカリ金属元素含量 (gram-atom g^{-1}) である. 上記の結果に対し, 培養液中のアルカリ金属が低濃度と高濃度の場合に分けて以下考察した.

Fig. 3 Contents and distribution of lithium in radish cultivated in solution at various lithium ion concentrations

○: leaf; □: stem; ●: root

Fig. 4 Contents and distribution of sodium in radish cultivated in solution at various sodium ion concentrations

○: leaf; □: stem; ●: root

Fig. 5 Contents and distribution of potassium in radish cultivated in solution at various potassium ion concentrations

○: leaf; □: stem; ●: root

Fig. 7 Contents and distribution of cesium in radish cultivated in solution at various cesium ion concentrations

○: leaf; □: stem; ●: root

Fig. 6 Contents and distribution of rubidium in radish cultivated in solution at various rubidium ion concentrations

○: leaf; □: stem; ●: root

③ 培養液中共存アルカリ金属イオンが低濃度の場合:
まず植物必須元素カリウムイオンが低濃度 (10^{-5} と 10^{-4} mol dm $^{-3}$) のときには、Fig. 5 に見られるように、カイワレの各部位においてはほぼ均一な含量で分布し、純水により培養したものと同じ結果であり、培養液中濃度の影響は受けないことを示している。従って、この場合は、種子中の多量のカリウムがカイワレの発芽・生長間に各部位に移行、蓄積したのであろう。又、同様にリチウム、ナトリウム及びセシウムイオンは、Fig. 3, Fig. 4, Fig. 7 に見られるように、カイワレに取り込まれにくく、純水培養の場合とほぼ同じ含量を示している。なお、ナトリウムはリチウムやセシウム含量より 1 けた高いが、これはカリウムと同様に種子に比較的多量含有されていることによるのであろう。これらのイオンに対しルビジウムは純水培養では各部位において全く検出されないが、しかし培養液中にルビジウムが存在した場合にはその濃度増加に伴い、カイワレ各部位における含量も増加し、ルビジウムイオンが極めてカイワレ大

根に吸収されやすいことを示している。これは生物必須元素であるカリウムイオンに化学的性質はもちろんであるが、イオン半径がアルカリ金属の中で最もカリウムイオンに近いことが原因となっているのであろう。従って、リチウムとセシウムはイオン半径が小さいか又は大き過ぎることが原因となっているのではないかと考えられる。

④ 培養液中アルカリ金属イオンが高濃度の場合: 培養液中のアルカリ金属各濃度が高濃度 (10^{-3} 及び 10^{-2} mol dm $^{-3}$) になると、カリウムイオンは根組織において、他のイオンは各部位においていずれも急激に吸収されやすくなることを示している。更に培養液中の濃度を 0.1 mol dm $^{-3}$ にするといずれのアルカリ金属イオンもカイワレ種子を発芽させることはできなかった。このように培養液中のイオン濃度が低濃度 (10^{-4} mol dm $^{-3}$ 以下) と高濃度 (10^{-3} ~ 10^{-2} mol dm $^{-3}$) において吸収挙動が異なることを示した。現在のところこの原因については明らかではない。以上のように、これらアルカリ金属イオンは化学的に同族であっても植物との間にはそれぞれイオン独自の吸収や分布挙動を示すことが明らかとなった。

本研究では微量金属イオンの植物への吸収・蓄積・分布挙動に関する基礎的な知見を得るため、対象植物にカイワレ大根を、又アルカリ金属イオンを含み、かつ雨水

と同じ pH に調整した培養液において、発芽・生長させた結果、種々の基礎的知見を得ることができた。現在は酸性雨と植物との相互作用について、上記の結果を基に、培養液の水素イオン濃度が変化したとき、すなわち無機酸の種類やその濃度を変化させた場合の水素イオンやアルカリ金属イオンなど多元素の培養液及びカイワレ大根中における挙動については現在検討中である。

文 献

- 1) D. J. F. Bowling: "Uptake of Ions by Plant Roots", (1976), (Chapmann and Hall Ltd., Aberdeen).
- 2) マルク・ヤーコヴレヴィチ・シュコーリニク著: "植物の生命と微量元素", 藤原彰夫監修, 原田竹治訳, (1982), (農山漁村文化協会).
- 3) A. H. Fitter, R. K. M. Hay: "Environmental Physiology of Plants", (1981), (Academic Press, Inc.).
- 4) 村野健太郎著: "酸性雨と酸性霧", (1993), (裳華房).
- 5) 藤野 治, 松井正和, 木原壯林, 宗林由樹, 鈴木みづ子: 日化, **1992**, 580.
- 6) 日本分析化学会編: "改訂四版 分析化学便覧", pp. 113~123 (1991), (丸善).
- 7) 原口紘彦, 久保田正明, 森田昌敏, 宮崎 章, 不破敬一郎, 古田直紀: "ICP 発光分析法", 日本分析化学会編, 機器分析実技シリーズ, (1988), (共立出版).
- 8) W. H. Foster, D. N. Hume: *Anal. Chem.*, **31**, 2033 (1959).

☆

Determination of a various ions such as alkali metals in leaves, stems, roots and seeds of the radish and their distribution. Osamu FUJINO* and Masakazu MATSUI** (*Research Institute for Science and Technology, Kinki University, 3-4-1, Kowakae, Higashiosaka-shi, Osaka 577; **Institute for Chemical Research, Kyoto University, Gokasho, Uji-shi, Kyoto 611)

Determination, uptake and distribution of various ions such as alkali metals in three different parts (leaf, stem and root) and seeds of radish (Kaiware daikon) were examined using flame emission spectrometry and ICP-AES. In order to examine the influence of concentration alkali metal ion concentration in the radish culture solution on the uptake and distribution of these metals, the radish was grown at pH 5.6 in solutions containing alkali metal chloride at concentrations ranging from 10^{-5} to 10^{-1} mol dm $^{-3}$. When the radish were grown in culture solution with alkali metal ions of low concentrations (10^{-5} and 10^{-4} mol dm $^{-3}$), Na, K, Rb and trace Li were detected in leaves, stems and roots while Cs was scarcely detected. However, the contents of Na, K, Li in these organs were the same as those in radish cultivated in pure water. An increase of Rb uptake was observed with an increased Rb concentration. In the case of high concentrations (10^{-3} and 10^{-2} mol dm $^{-3}$) of alkali metals in culture solution, the all alkali ions uptake of all alkali ions suddenly accelerated. Moreover, at concentrations higher than 0.1 mol dm $^{-3}$,

the radish germinated poorly and did not completely mature.

(Received November 14, 1994)

(Accepted February 20, 1995)

Keyword phrases

leaf, stem and root of radish; alkali metal ions; distribution of elements in plant.