

PIXE 分析のための植物珪酸体を含む単子葉植物の硝酸灰化法の改善

榊原正幸¹、Nguyen Thi Hoang Ha¹、彦田真友子¹、久保田有紀¹、世良耕一郎²

¹ 愛媛大学大学院理工学研究科
790-8577 愛媛県松山市文京町 2-5

² 岩手医科大学サイクロトンセンター
020-0173 岩手県岩手郡滝沢村滝沢字留が森 348-58

1 はじめに

単子葉植物は Si を多量に集積することが知られている^{1,2)}。植物は Si をケイ酸[Si(OH)₄]の形態で摂取し、体内で蒸散・重合をさせた後、非結晶質のオパール（植物珪酸体；プラントオパール）へと変化させる³⁾⁴⁾。この植物体内に集積された Si は様々な生物的・非生物的ストレスを緩和する働きをすることが報告されている^{4,5)}。たとえば、アブラナ科の植物は、Zn をケイ酸塩の形態として体内に蓄積し、その毒性を緩和している。この過程は他の植物にも確認されており、Si による重金属耐性のメカニズム一つとして注目されている⁶⁾。

粒子線励起 X 線分析（PIXE）は、植物中の重金属濃度を測定する方法として最も簡便で精度の高い分析手法である。岩手医科大学サイクロトンセンターでは、PIXE 分析の際に簡便な硝酸灰化法を用いて試料の前処理を行う。しかしながら、単子葉植物などの植物の場合、プラントオパールが硝酸灰化処理では分解されにくい。単子葉植物のうち、重金属を多量に蓄積する植物は、吸収した重金属をこのプラントオパールに蓄積している可能性が高いため、植物が蓄積した重金属濃度を正確に測定するためには、現行の硝酸灰化法を改善する必要がある。

さて、筆者らは、マツバイを用いた重金属汚染された水環境の浄化に関する研究を行っている。カヤツリグサ科ハリイ属のマツバイは、As、Zn、Cu、Cd、Pb を多量に蓄積する単子葉植物である^{7,8)}。マツバイ中の Si はプラントオパールの形態で存在し、吸収した重金属の多くはプラントオパール中に含まれていると考えられている⁷⁾。現在、マツバイの重金属濃度測定は、主に PIXE および ICP-MS を用いて行っているが、両者のデータの不一致の解決が課題となっている。本研究では、単子葉植物の硝酸灰化法を工程を変更し、PIXE 分析結果の改善を試みた。

2 試料調製法

2.1 従来の硝酸灰化法の工程

- (1) 粉末試料 0.03mg と 61%硝酸 1ml をテフロン容器に入れ、内標準試料として、インジウム溶液を乾燥重量に対して 1,000ppm になるように加える。テフロン容器の蓋を閉め、ポリプロピレン製外容器に入れ蓋をする。
- (2) 電子レンジ（150W）で 2 分間加熱し、内圧の上昇を抑えるため、1 分間冷却する。これをさらに、あと 1 回繰り返す。
- (3) 電子レンジ内から取り出し、室温で放熱させ、1~2 時間程度冷却する。容器の蓋を開け、溶解液約 5μl

をバックリングフィルムに滴下し、室温で乾燥させ、分析試料とする。

2.2 改良した硝酸灰化法の工程

硝酸灰化法の改善点は、以下の2点である。一つは電子レンジによる加熱を2回から3回に増やしたこと、もう一つは加熱後24時間放置して、プラントオパールが硝酸によって完全に分解する時間を考慮したことである。以下、その手順を示す。

- (1) 粉末試料0.03mgと61%硝酸1mlをテフロン容器に入れ、内標準試料として、インジウム溶液を乾燥重量に対して1,000ppmになるように加える。テフロン容器の蓋を閉め、ポリプロピレン製外容器に入れ蓋をする。
- (2) 電子レンジ(150W)で2分間加熱し、内圧の上昇を抑えるため、1分間冷却する。これをさらに、2回繰り返す。
- (3) 電子レンジ内から取り出し、24時間放置する。容器の蓋を開け、溶解液約5 μ lをバックリングフィルムに滴下し、室温で乾燥させ、分析試料とする。

3 分析結果

図1は従来の硝酸灰化法で行ったPIXE分析およびICP-MS分析の代表的データ(Cu、ZnおよびPb)を比較したグラフである。両者のデータを比較すると、いずれの元素に関しても、ICP-MS分析の濃度が約1.5~1.6倍高いという結果が得られた。

図2は、改善後の結果を図に示す。従来の方法と比較して、PIXE分析とICP-MS分析の差が小さく、ほぼ一致することが明らかになった。

4 考察

従来の硝酸灰化法では、マツバイなどの単子葉植物を分解する際にプラントオパールが完全に溶解することができず、残渣が残留していた。しかしながら、電子レンジの加熱工程を増やし、かつ加熱後の放置時間を大幅に延長することによって、ほぼ完全に分解することが可能となった。その結果、ICP-MS分析とPIXE分析による濃度の測定結果の差が著しく小さくなり、より、精度良く分析することが可能になったと考えられる。

また、改善された硝酸灰化法による試料の分析結果は、改善前と比較して濃度が著しく高いことから、マツバイ中の重金属の多くは、プラントオパールに含有されていることが明らかになった。植物によって環境中の有害金属を除去するファイトレメディエーションでは、植物が重金属を集積し、枯れた後、重金属が再び環境中に放出されてしまうことが懸念されている。しかしながら、マツバイなどの単子葉植物の場合、枯れた後も、重金属がプラントオパール中に蓄積されていることから、吸収・蓄積と同時に不溶化していることになる。このことは単子葉植物によるファイトレメディエーションの有効性を示唆している。

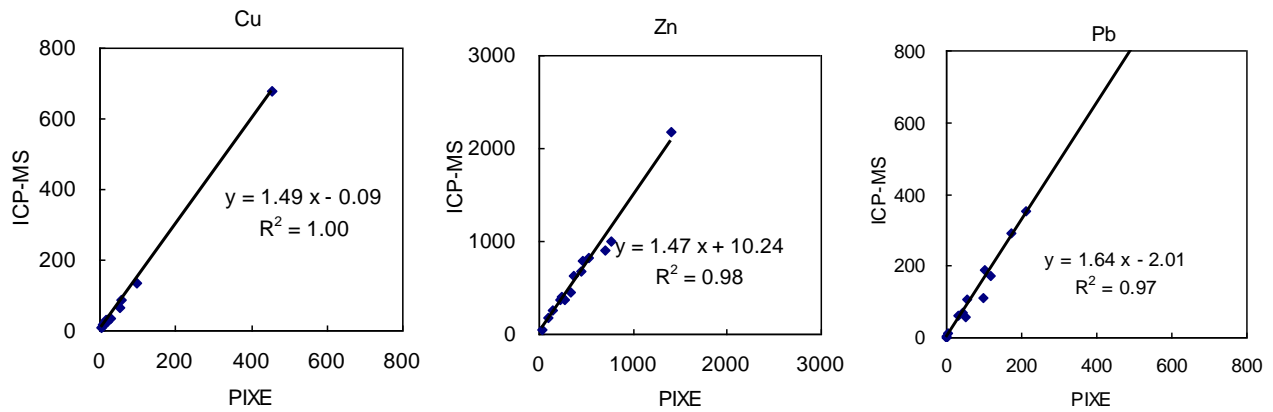


図 1. 従来の硝酸灰化法による PIXE および ICP-MS によるマツバイの分析結果

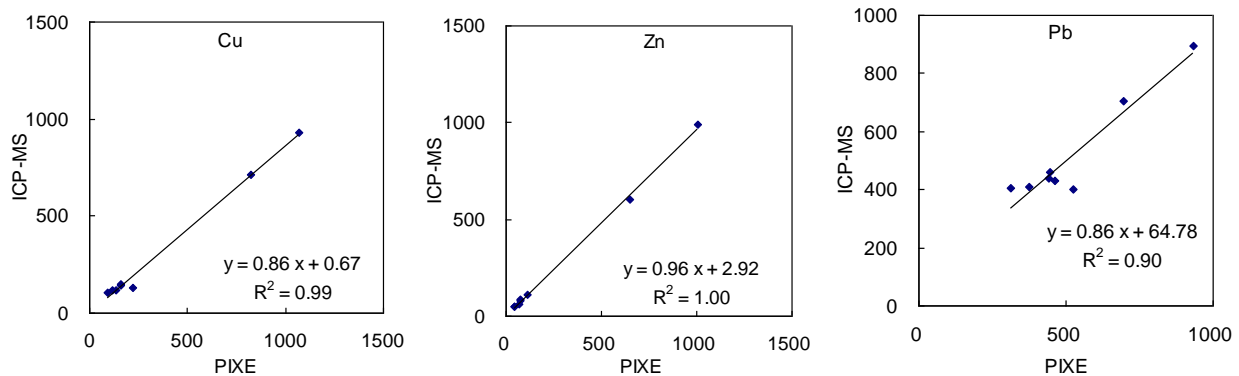


図 2. 改良した硝酸灰化法による PIXE および ICP-MS によるマツバイの分析結果

参考文献

- 1) Richmond K. E., and Sussman M., 2003. Got silicon? The non-essential beneficial plant nutrient. *Current Opinion in Biotechnology*, Vol. 6, pp. 268-272.
- 2) Currie H. A., and Perry C. C., 2007. Silica in Plants: Biochemical and Chemical Studies. *Annals of Botany*, Vol. 100, pp. 1383-1389.
- 3) Epstein E., 1994. The anomaly of silicon in plant biology. *Proceeding of the National Academy of Science*, Vol. 91, pp. 11-17.
- 4) Ma J. F., Yamaji N., 2006. Silicon uptake and accumulation in higher plants. *Trends in Plant Science*, Vol. 11(8), pp. 392-397.
- 5) Liang Y., Wong J. W. C., Wei L., 2005. Silicon-mediated enhancement of cadmium tolerance in maize (*Zea mays* L.) grown in cadmium contaminated soil. *Chemosphere*, Vol. 58, pp. 475-483.
- 6) Neumann D., Nieden U. Z., 2001. Silicon and heavy metal tolerance of higher plants. *Phytochemistry*, Vol. 56, pp. 685-692.
- 7) 榎原正幸・原田亜紀・佐野 栄・堀 利栄・井上雅裕. 2006. マツバイを用いたファイトレメディエーションによる重金属汚染された水環境の浄化. 第 12 回地下水・土壌汚染とその防止に関する研究集会講演集. pp.545-548.
- 8) Ha N. T. H., Sakakibara M, Sano S., Hori R., Sera K., 2009. The Potential of *Eleocharis acicularis* for Phytoremediation: Case Study at an Abandoned Mine Site. *Clean-Soil, Air, Water*. Vol. 37(3), pp. 203-208.

Improvement in digestion method using nitric acid for PIXE analysis of plant samples containing opal-A

M. Sakakibara¹, N. T. H. Ha¹, M. Hikoda¹, Y. Kubota¹ and K.Sera²

¹Graduate School of Science and Engineering,
Ehime University, 2-5 Bunkyo-cho, Matsuyama 790-8577, Japan

²Cyclotron Research center, Iwate Medical University
348-58 Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0173, Japan

Abstract

Si is found in plants at concentrations ranging from 0.1 to 10 %, which is equal to or even higher than that of several macronutrients. There are some general trends in silicon accumulation that monocots and dicots tend to be high and poor Si accumulators, respectively. *Eleocharis acicularis*, a monocot, has recently been reported as a Si accumulator. PIXE is one of the convenient methods to analyse the total concentrations of heavy metals in plant. However, *E. acicularis* contains opal-A within the plant cells, which is difficult to be totally dissolved by using nitric acid. Therefore, it is necessary to improve the digestion method using nitric acid for PIXE analysis of plant samples containing opal-A. In this study, the effect of microwave heating times and leaving time after heating was investigated. When the samples were heated twice, the concentrations of heavy metal by PIXE are lower than those by ICP-MS. However, when the were heated three times and left one day after heating, metal concentration difference between PIXE and ICP-MS became small. The result of the present study suggested that it is necessary to improve the digestion method for plant samples containing opal-A.