

分光法による植物乾燥試料中の重窒素簡易定量について

誌名	日本土壌肥料学雑誌 = Journal of the science of soil and manure, Japan
ISSN	00290610
著者	米山, 忠克 熊沢, 奮久雄
巻/号	45巻10号
掲載ページ	p. 480-482
発行年月	1974年10月

ノート

分光法による植物乾燥試料中の
重窒素簡易定量について

米山 忠 克*・熊沢喜久雄*

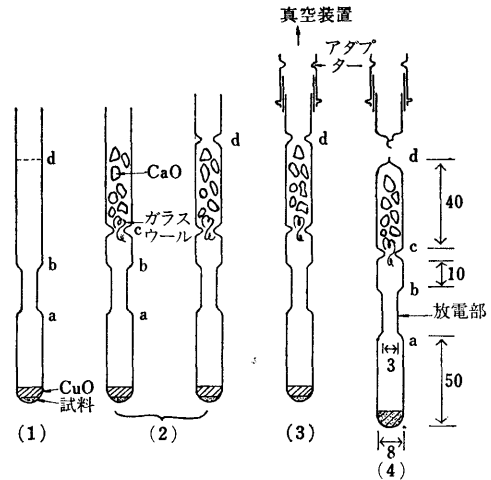
植物体にとり込まれた窒素のゆくえは、重窒素 (^{15}N) をトレーサーとして追跡するのが便利である。近年その利用は高まり、簡易に、短時間、多数の試料について分析する方法の確立が望まれている。著者らは最近利用されはじめた分光法による重窒素の定量法を使って、少量の植物粉末試料の迅速で、正確な測定を試みた。すでに前報^{1,2)}で報告したように、植物乾燥粉末試料 100~200 mg を酸化銅 (CuO) で封管分解し、発生した窒素ガス以外のガスを酸化カルシウム (CaO) で吸収したあと、全窒素については油マンオメーターを用いて定量し、そのガスの一部をバイレックス硝子管に導き、放電管を作成し、それについて分光法で重窒素を測定することに成功している。この方法を基本にして、数 mg の試料について、封管の燃焼管をそのまま放電管として使うことによって重窒素を簡易に定量する方法を考案し、よい結果を得たので報告する。

1. 放電管作成法

放電管の基本型は第1図 (4) のようであり、下方に粉末酸化銅と試料が、上方に酸化カルシウムが入っており、その中央部は、高周波放電部となっている。この放電管は次のようにつくられる。

1) 外径 8 mm 内径 6 mm のバイレックス硝子管(岩城 code 7740) を 200~250 mm の長さに切断し、汚染除去のため²⁾に一昼夜クロム硫酸混液にひたし、その後水道水で約2時間水洗し、さらに蒸溜水でよく洗い、空気乾燥したあと、電気炉で 500°C、30 分間加熱する。こうして前処理した硝子管の一端をとじ、そこから 50 mm のところ a に外径 2~3 mm の放電部を 20~25 mm つくる。この硝子管に乾燥した植物体試料 5 mg を入れその上に酸化銅粉末 (キンダ化学製元素分析用) を 0.5 g 入れる。

2) 上述のようにしてできた試料入り硝子管の放電部の端 b から 50 mm のところ d にマジックインキなどで目印をつける。そのあと b から約 10 mm 位のところ



第1図 放電管の作成法
(長さの単位: mm)

にくぼみをつける。これはのちに発光分析をおこなう際に、b のふくらみの部分が、a と共に、高周波発生端子の接触部分となり、強い高周波がとびかうので、その高周波が酸化カルシウムにあたらないようにするためのものである。酸化カルシウムに直接高周波があたると吸収されていた水蒸気や炭酸ガスが再放出されて、そのガスが窒素ガスのスペクトルのバックグラウンドを高める結果となり、正しい ^{15}N 測定値が得られないことになる。c の部分にガラス綿をつめ、あらかじめ、900~1000°C で3時間加熱処理を行なった粒状酸化カルシウムを 0.5~1.0 g 入れる。このように試料と酸化銅の混合物と酸化カルシウムを分離するのは前報²⁾にも述べたように試料の分解を完全にするためである。またガラス綿をつめる操作のときには、手からの窒素の汚染を防止するために、ビニール手袋をしておこなわなければならない。

3) d の部分を細くしたあと試料調整用真空装置³⁾のアダプターにとりつけ、ゆっくりとコックを開き硝子管内を真空にする。このアダプターは既報³⁾の装置の 4 mm 管のアダプターを 8 mm 管用に改良したもの (大内理化工業所製) である。硝子管内の真空は約1分間で 10^{-4} torr までひく。そのあと試料部以外の部分の硝子管をバーナーで焼き、硝子壁に吸着しているガスを焼き出す。焼き出しの目安は、少し酸素の入った青い炎を硝子管にあてたとき、炎が赤くなる程度がよい。焼き出しの操作が終わったら再度真空度をたしかめて d で切断する。

4) 作成された放電管を電気炉で加熱し、試料を燃焼し窒素ガスを発生させる。燃焼条件は前報¹⁾に従って、試料と酸化銅をよくまぜたあと、300°C で2時間、560°C

* 東大農学部 (東京都文京区弥生 1-1-1)
昭和 48 年 10 月 31 日受理
日本土壤肥料学雑誌 第 45 巻 第 10 号 p. 480~482(1974)

で8時間の加熱をする。冷却後 N-15 アナライザーで発光分析をおこなうが、電気炉からアナライザーにかけるまでの間に、粉末酸化銅が放電管の放電部 (a b間) に付着しないように、放電管は試験管立てなどに立てて保存する。この粉末銅が放電部に付着すると、高周波によって酸素が放出され、その酸素が窒素ガスのスペクトルのバックグラウンドに影響し、特に ¹⁵N 濃度の低い場合正しい ¹⁵N 測定値が得られないことになるので注意を要する。ただし放電管調製過程において、放電部の管壁に付着した、ごく少量の酸化銅は、燃焼中に還元を受け赤褐色の Cu₂O となり、スペクトルに影響を与えなくなる。

2. 分析例

1) 乳鉢でよく粉砕した試料

試料には、バイオトロン (昼間 30°C, 夜間 25°C) 内で水道水のみで、発芽生育させ、21 日目に水耕法から重窒素硫酸 (¹⁵N30 atom%, N : 40 ppm) を与えて、根および第1葉、第2葉、第3葉へ ¹⁵N をとり込ませた水稻幼植物を用いた。各時間ごとに、50 本ずつ採取し、水道水、蒸溜水でおおの 15 秒ずつ洗ったあと、種子部の上下 10 mm を切り捨て、根部と各葉位部にわけた。乾燥後、根 (乾物重約 270 mg) 第1葉 (約 33 mg) 第2葉 (約 185 mg) 第3葉 (約 105 mg) を乳鉢でよく粉砕した。各試料は再び 105°C 1時間乾燥したあと再度かく拌し、それから 3 mg をとって分析に供した。このとき放電管の大きさは放電部の上方、下方の直径 8 mm の部分の長さが、それぞれ 30 mm である。第1表に2連の値を示した。2連の値はよく一致している。

2) 1mm の篩を通した試料

大量の試料は、通常 1 mm の篩を通る大きさに粉砕して分析に供せられる。この試料は乳鉢で粉砕したものよ

り粗大であり、縮分誤差が大きいため、重窒素分析には多量の試料を必要とすると考えられる。そこで二つの試料 (サンプル A, B) の 3, 6, 9 mg についてその ¹⁵N 測定値のバラツキを検討した。3, 6, 9 mg の試料に対して放電管の長さを変え、直径 8 mm の部分が、上方、下方共それぞれを 40, 50, 60 mm とした。またこの同じ試料につき「発光分析法による重窒素測定のための全窒素定量装置¹⁾」で求めた ¹⁵N 測定値と比較した。第2表によればいずれの試料量においても、5連の平均値は標準値とよく一致していた。しかし変異係数値で測定値のバラツキの様子をみるとその ¹⁵N 含量が大きい程小さく、また試料量が多いほど小さくなっていることがわかる。すなわち試料の量が 9 mg 前後あれば、変異係数

第2表 1mm の篩を通した水稻乾燥試料についての
供試試料量と ¹⁵N 分析値との関係
(¹⁵N atom %)

試料の種類	サンプル A 葉身 (N 1.09%, ¹⁵ N 1.57 atom %)*			サンプル B 葉鞘 (N 0.83%, ¹⁵ N 0.76 atom %)*		
	3 mg	6 mg	9 mg	3 mg	6 mg	9 mg
試料量						
1	1.57	1.58	1.56	0.79	0.76	0.75
2	1.58	1.56	1.56	0.76	0.75	0.77
3	1.56	1.61	1.55	0.75	0.76	0.76
4	1.56	1.55	1.58	0.78	0.75	0.78
5	1.59	1.58	1.58	0.74	0.78	0.76
平均値(M)	1.57	1.58	1.57	0.76	0.76	0.76
測定値の標準偏差(S ₁)	0.0130	0.0230	0.0134	0.0207	0.0122	0.0114
平均値の標準偏差(S ₂)	0.0058	0.0103	0.0120	0.0185	0.0110	0.0102
変異係数 S ₁ /M×100	0.83	1.46	0.85	2.72	1.61	1.50

* 試料 200 mg を用いて「発光分析法による重窒素測定のための全窒素定量装置」で測定した値

第1表 水稻幼植物各部位の ¹⁵N 測定値 (atom %)

ラベルの時間 (分)	根			第1葉			第2葉			第3葉		
	1	2	平均	1	2	平均	1	2	平均	1	2	平均
5	0.75	0.77	0.76	0.37	0.37	0.37	0.36	0.37	0.37	0.36	0.36	0.36
10	0.99	0.99	0.99	0.36	0.37	0.37	0.37	0.37	0.37	0.36	0.37	0.37
15	1.16	1.16	1.16	0.36	0.37	0.37	0.36	0.37	0.37	0.36	0.37	0.37
20	1.24	1.25	1.25	0.36	0.37	0.37	0.37	0.37	0.37	0.37	0.36	0.37
30	1.39	1.39	1.39	0.36	0.37	0.37	0.37	0.37	0.37	0.38	0.38	0.38
40	1.52	1.53	1.53	0.37	0.37	0.37	0.37	0.37	0.38	0.38	0.39	0.39
60	1.65	1.65	1.65	0.37	0.38	0.38	0.39	0.39	0.39	0.40	0.40	0.40
90	2.00	1.90	1.95	0.39	0.40	0.40	0.42	0.41	0.42	0.46	0.45	0.46
120	2.25	2.30	2.28	0.44	0.45	0.45	0.52	0.47	0.50	0.56	0.58	0.57
150	2.43	2.45	2.44	0.50	0.50	0.50	0.64	0.65	0.65	0.78	0.80	0.79
180	—	—	—	0.57	0.58	0.58	0.77	0.76	0.77	0.91	0.91	0.91
240	—	—	—	0.75	0.74	0.75	0.97	0.96	0.97	1.40	1.39	1.40

2% 以内の値を得ることができる。この場合の 5 連の平均値の標準偏差は 0.01 程度であるとみなしうる。なお安定した発光の放電管を得るためには、試料の窒素含量に応じて、放電管の容量を変える必要がある。このためにはその長さを変えればよいが、直径の違う硝子管を用いてもよい。ただし後者では、その径にあったアダプターを真空装置側に用意する必要がある。あらかじめ別に全窒素を定量しておけば、重窒素の測定の際は、試料の窒素含量の変化に応じて放電管の容量を変え、もっとも適当な大きさにすることができる。

以上のように数 mg の植物乾燥試料中の重窒素の定量が本法によって容易におこなわれ、その精度は 1 mm

の篩を通した試料でも、9 mg を用いれば変異係数 2% 以内になり、一般の実験においては十分に満足できるものであった。

最後に本研究に際し、考案上のよき助言を与えて下さった狩野広美博士および ^{15}N の測定に協力していただいた秋山陽子氏に感謝します。

文 献

- 1) 熊沢喜久雄, 米山忠克, 狩野広美: 土肥誌, 45, 378 (1974)
- 2) 熊沢喜久雄, 米山忠克, 狩野広美: 土肥誌, 45, 832 (1974)
- 3) 熊沢喜久雄: 化学と生物, 8, 245 (1970)