

## クロラミンを含む培養液への還元剤の添加がサラダナにおける 根部傷害の発生および生育に及ぼす影響

伊達修一<sup>1\*</sup>・羽野文雄<sup>1</sup>・那波和志<sup>2</sup>・寺林 敏<sup>1</sup>・藤目幸擴<sup>1</sup>

<sup>1</sup>京都府立大学大学院農学研究科 606-8522 京都市左京区下鴨半木町 1-5

<sup>2</sup>京都府立桂高等学校 615-8102 京都市西京区川島松ノ木本町 27

### Effects of Adding Reducing Agent to the Nutrient Solution Containing Chloramine on the Occurrence of Root Browning and Growth in Lettuce

Shuichi Date<sup>1\*</sup>, Fumio Hano<sup>1</sup>, Kazushi Naba<sup>2</sup>, Satoshi Terabayashi<sup>1</sup> and Yukihiro Fujime<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Graduate School of Agriculture, Kyoto Prefectural University, Nakaragi-cho 1-5, Shimogamo, Sakyo-ku, Kyoto 606-8522

<sup>2</sup>Katsura High School, Matsunoki-moto-cho 27, Kawashima, Nishikyo-ku, Kyoto 615-8102

#### Summary

Reducing agents, such as sodium thiosulfate, sodium sulfite, sodium hydrosulfite and ascorbic acid, were added at the concentration of 0.01 mM to nutrient solution containing 0.5 mg Cl<sup>-</sup> liter<sup>-1</sup> of hypochlorous acid and 0.67 me<sup>-</sup> liter<sup>-1</sup> of ammonium in order to remove hypochlorous acid and chloramine from the nutrient solution. Thereafter, lettuce (*Lactuca sativa* L.) was cultured with the nutrient solution. By the addition of any reducing agents to the nutrient solution, occurrence of root injury and growth inhibition were avoided. When reducing agents, such as sodium thiosulfate and ascorbic acid, were added up to a concentration of 0.1 mM, occurrence of root injury and growth inhibition were also avoided.

キーワード： 次亜塩素酸, 還元剤, 根部傷害, クロラミン, サラダナ

#### 緒 言

著者らは既報 (Dateら, 2002)で, 水道水で作成した培養液を用いてサラダナを水耕栽培した場合, 水道水に残留塩素として含まれる次亜塩素酸と養分として添加されるアンモニウムイオンとで生成するクロラミンにより根部傷害を誘発し, 地上部の萎凋が生じることを報告した。また, 0.18 mg Cl<sup>-</sup> g root FW<sup>-1</sup>という微量のクロラミンにより, サラダナの生育が有意に抑制されることを示した (Dateら, 2005)。これはこれまでに報告されている塩素による生育抑制効果 (Krone and Weinard, 1931; Frink and Bugbee, 1987; Zimmermann and Berg, 1934)と比較して極めて低濃度で生じるものである。さらに, クロラミンに対して1時間の接触によってサラダナの生育が有意に抑制されることを示した (Dateら, 2005)。これらのことから, クロラミンはサラダナに対して極めて強い毒性を持つことが明らかとなった。

クロラミンによる根部傷害ならびに生育抑制を回避す

るには, 培養液中でのクロラミンの生成を回避することが必要である。クロラミンは培養液中で水道水に含まれる残留塩素と肥料成分として加えられるアンモニウムイオンとが共存する時に生成するので, 培養液から残留塩素かアンモニウムイオンを除去することによりクロラミンの生成を回避できる。アンモニウムイオンは肥料成分であるため, クロラミン生成の回避には, 何らかの方法で水道水中に含まれる残留塩素を除去する方が現実的である。次亜塩素酸およびクロラミンは酸化剤であることから, 次亜塩素酸およびクロラミンの除去には培養液への還元剤の添加が有効であると考えられる。山崎 (1982)は水道水中の残留塩素を消去することを目的として, 還元剤であるチオ硫酸ナトリウムを水道水1tあたり2.5g添加することを推奨している。しかし, チオ硫酸ナトリウムのような還元剤が植物体の生長に対して及ぼす直接的な影響については明らかではない。本研究では培養液に還元剤を添加したときの根部傷害の回避ならびに植物体の生長について検討した。

2004年12月20日 受付. 2005年4月4日 受理.

\* Corresponding author. E-mail: s\_date@kpu.ac.jp

## 材料および方法

### 実験1 クロラミンを含む培養液に各種還元剤を0.01 mMで添加した時のサラダナにおける根部傷害ならびに生育抑制の回避

実験は1994年11月に京都府立大学農学部附属下鴨農場内の最低気温15°Cとしたガラスハウス内で行った。サラダナ (*Lactuca sativa* L.) 品種‘岡山サラダ菜’を汲み置きにより脱塩素した水道水で作成した園試処方50%濃度液を用いて、既報 (Dateら, 2005)と同様の方法で12葉期まで育苗し、苗を得た。その後、各試薬を添加した処理培養液に苗を移植した。処理培養液は汲み置きにより脱塩素した水道水で作成した園試処方50%濃度液を基本とし、次亜塩素酸ナトリウムを添加して、塩素濃度を0.5 mg Cl・liter<sup>-1</sup>となるように調整した。また次亜塩素酸ナトリウムを添加しない塩素無添加区も設けた。次亜塩素酸を添加した後にチオ硫酸ナトリウム、亜硫酸ナトリウム、ヒドロサルファイトナトリウムおよびアスコルビン酸を0.01 mMの濃度になるように添加した。対照区として還元剤を添加しない区を設けた。各処理区で、培養液を20 liter入れたプラスチックコンテナ (320×420×215 mm)に6個体の植物体を移植した。各区2反復とした。次亜塩素酸およびクロラミン濃度の測定は残留塩素濃度測定器DPD法 (柴田科学 (株))により行った。

### 実験2 クロラミンを含む培養液に還元剤を過剰に添加した時のサラダナにおける根部傷害ならびに生育抑制の回避

実験1と同様の時期および場所で実験を行った。実験1と同様の苗を各処理培養液に移植した。処理培養液は汲み置きにより脱塩素した水道水で作成した園試処方50%濃度液を基本とし、次亜塩素酸ナトリウムを添加して、塩素濃度を0.5 mg Cl・liter<sup>-1</sup>となるように調整し、塩素添加区とした。また次亜塩素酸ナトリウムを添加しない塩素無添加区も設けた。その後、各培養液にチオ硫酸ナトリウム、あるいはアスコルビン酸を0.01, 0.05および0.1 mMの濃度になるように添加した。対照区として還元剤を添加しない区も設けた。用いたコンテナ、培養液量、個体数および反復数は実験1と同様とした。

両実験とも移植後、植物体における根部傷害の発生ならびに地上部の萎凋の発生を観察した。また、移植直前 (A)および移植後10日目 (B)の植物体新鮮重を測定し、生長率 (B/A×100%)を算出した。

## 結果

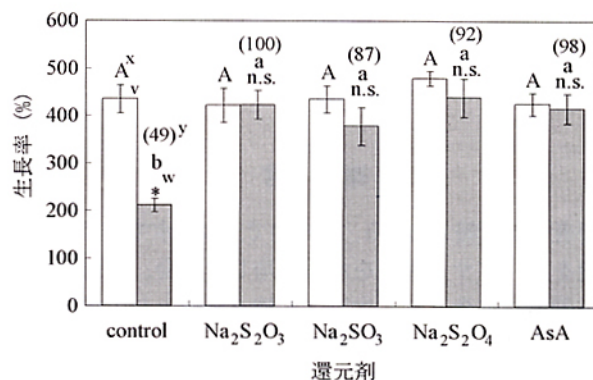
### 実験1 クロラミンを含む培養液に各種還元剤を0.01 mMで添加した時のサラダナにおける根部傷害ならびに生育抑制の回避

対照区では次亜塩素酸ナトリウムの培養液への添加により、クロラミン濃度および次亜塩素酸濃度はそれぞれ

0.35および0.15 mg Cl・liter<sup>-1</sup>となった。一方、培養液に次亜塩素酸ナトリウムを加えた後、亜硫酸ナトリウムを添加した培養液では0.05~0.1 mg Cl・liter<sup>-1</sup>の残留塩素が検出された。その他の還元剤では0.01 mMで添加することにより、培養液中の次亜塩素酸およびクロラミンは速やかに消失し、0 mg Cl・liter<sup>-1</sup>となった。亜硫酸ナトリウムを除く還元剤を添加したすべての培養液、ならびに還元剤および次亜塩素酸ナトリウムともに無添加の培養液では植物体を移植しても根部傷害および地上部の萎



第1図 0.5 mg Cl・liter<sup>-1</sup>次亜塩素酸ナトリウムを含む園試処方50%濃度液に各種還元剤を0.01 mMで添加した後にサラダナを移植したときの移植後2日目の植物体



第2図 種々の還元剤 (チオ硫酸ナトリウム; Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, 亜硫酸ナトリウム; Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>, ヒドロサルファイトナトリウム; Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>4</sub> およびアスコルビン酸; AsA) を0.01 mMで添加した0.5 mg Cl・liter<sup>-1</sup>次亜塩素酸ナトリウムを含む園試処方50%濃度液にサラダナを移植したときの、移植後10日目における生長率の差異

□: 塩素無添加区, ■: 塩素添加区

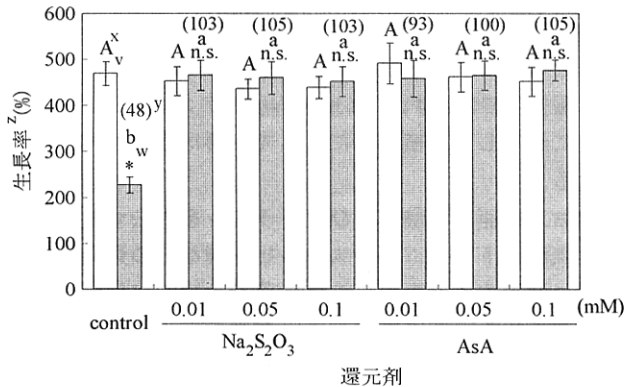
<sup>z</sup> 移植後10日目の植物体新鮮重/移植直前の植物体新鮮重 × 100

<sup>y</sup> 各還元剤添加区における塩素無添加区の生長率を100としたときの塩素添加区の生長率の割合

<sup>x</sup> 大文字は塩素無添加区で、小文字は塩素添加区でそれぞれ Fisher's PLSDにより異なる文字間で5%レベルで有意差あり

<sup>w</sup> 各還元剤添加区において塩素無添加区と塩素添加区の間でt検定により5%レベルで有意差あり (\*), 有意差なし (n.s.)

<sup>v</sup> 標準誤差 (n=12)



第3図 チオ硫酸ナトリウム ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ) およびアスコルビン酸 (AsA) を種々の濃度で添加した  $0.5 \text{ mg Cl} \cdot \text{liter}^{-1}$  次亜塩素酸ナトリウムを含む圃試処方 50% 濃度液にサラダナを移植したときの、移植後 10 日目における生長率の差異

□: 塩素無添加区, ▨: 塩素添加区

<sup>z</sup> 移植後 10 日目の植物体新鮮重 / 移植直前の植物体新鮮重  $\times 100$

<sup>y</sup> 各還元剤添加区における塩素無添加区の生長率を 100 としたときの塩素添加区の生長率の割合

<sup>x</sup> 大文字は塩素無添加区で、小文字は塩素添加区でそれぞれ Fisher's PLSD により異なる文字間で 5% レベルで有意差あり

<sup>w</sup> 各還元剤添加区において塩素無添加区と塩素添加区の間で t 検定により 5% レベルで有意差あり (\*), 有意差なし (n.s.)

<sup>v</sup> 標準誤差 (n=12)

凋は発生しなかった (第 1 図)。亜硫酸ナトリウムおよび次亜塩素酸ナトリウムを添加した培養液では植物体に弱い根部傷害が認められたが、地上部の萎凋は発生しなかった。一方、対照区で次亜塩素酸ナトリウムを添加した培養液に移植した植物体は著しい根部傷害を発生し、地上部が萎凋して、その後の生長が抑制された。

移植後 10 日目の生長率は塩素無添加区ではすべての処理区間に有意差はなかった (第 2 図)。一方、塩素添加区では対照区が他の還元剤添加区と比較して有意に低い値となった。また、塩素添加区において還元剤を添加した処理区の間には有意差はみられなかった。塩素添加区と塩素無添加区を比較すると、対照区でのみ塩素の添加により生長率が有意に低くなった。各還元剤添加区における塩素添加区の生長率に対する塩素無添加区の生長率の割合は、対照区を除くすべての処理区でほぼ 90% 以上の値となったのに対し、対照区では約 50% であった。

実験 2 クロラミンを含む培養液に還元剤を過剰に添加した時のサラダナにおける根部傷害ならびに生育抑制の回避

実験 1 と同様に対照区では次亜塩素酸ナトリウムを培養液に添加したとき、クロラミン濃度および次亜塩素酸濃度はそれぞれ  $0.35$  および  $0.15 \text{ mg Cl} \cdot \text{liter}^{-1}$  であった。しかし、培養液に次亜塩素酸ナトリウムを添加したあと、チオ硫酸ナトリウムおよびアスコルビン酸を添加した培養液では、本実験で設定したいずれの添加濃度において

も、培養液中の次亜塩素酸およびクロラミンは添加後、速やかに消失し、 $0 \text{ mg Cl} \cdot \text{liter}^{-1}$  となった。還元剤を添加せず、次亜塩素酸ナトリウムのみを添加した培養液に移植した植物体のみ著しい根部傷害が発生し、地上部が萎凋して、その後の生長が強く抑制された。それ以外の処理区の植物体では根部傷害および地上部の萎凋は発生せず、栽培期間中のその他の外観についても差がなかった。

移植後 10 日目の生長率は塩素無添加区においてはすべての処理区間に有意差はなかった (第 3 図)。一方、塩素添加区においては対照区のみが他の処理区と比較して有意に低い値となった。また、塩素無添加区のもので処理区間および塩素添加区において還元剤を添加した区の間には有意差はなかった。塩素添加区と塩素無添加区を比較すると、対照区でのみ塩素の添加により生長率が有意に低くなり、還元剤を添加した区では有意差は見られなかった。各処理区における塩素添加区の生長率に対する塩素無添加区の生長率の割合は、還元剤を添加したすべての区で 100% 前後であったが、対照区では約 50% となった。

## 考 察

山崎 (1982) は水道水に含まれる次亜塩素酸の消去について、還元剤としてのチオ硫酸ナトリウムを水 1 t あたり  $2.5 \text{ g}$  すなわち  $0.01 \text{ mM}$  の濃度で添加することを推奨している。実験 1 で使用した還元剤と次亜塩素酸との反応モル比は、亜硫酸ナトリウムおよびアスコルビン酸では 1:1、ヒドロサルファイトナトリウムでは 1:2、チオ硫酸ナトリウムでは 1:4 である (金子, 1992)。実験 1 では各還元剤を  $0.01 \text{ mM}$  で添加したので、亜硫酸ナトリウムおよびアスコルビン酸は  $0.01 \text{ mM}$ 、ヒドロサルファイトナトリウムは  $0.02 \text{ mM}$ 、チオ硫酸ナトリウムは  $0.04 \text{ mM}$  の塩素消去能を有する。実験 1 で設定した塩素濃度  $0.5 \text{ mg Cl} \cdot \text{liter}^{-1}$  は約  $0.014 \text{ mM}$  に相当し、 $0.01 \text{ mM}$  のヒドロサルファイトナトリウムおよびチオ硫酸ナトリウムにより塩素は完全に消去できる。一方、亜硫酸ナトリウムおよびアスコルビン酸は、 $0.01 \text{ mM}$  の次亜塩素酸しか消去できず、 $0.004 \text{ mM}$  すなわち、約  $0.14 \text{ mg Cl} \cdot \text{liter}^{-1}$  の塩素が残留する。本研究におけるコンテナあたりの培養液量、個体数および供試植物体の生育ステージは前報 (Date ら, 2005) と同様であり、有意にサラダナの生育が抑制される塩素濃度は  $0.2 \text{ mg Cl} \cdot \text{liter}^{-1}$  であったことから、亜硫酸ナトリウム添加区で検出された  $0.1 \text{ mg Cl} \cdot \text{liter}^{-1}$  という塩素濃度では弱い根部傷害は発生するものの、植物体の生長を有意に阻害する程度ではなかったと考えられる。また、次亜塩素酸は殺菌、除鉄、除マンガンおよび有機物の分解を目的として添加される (金子, 1992) ので、有機化合物である還元剤のアスコルビン酸についてはさらに反応後に生成したデヒドロアスコル



ビン酸の分解に次亜塩素酸が消費されたものと考えられる。

本実験で用いたアスコルビン酸以外の還元剤は次亜塩素酸およびクロラミンを消去して硫酸イオンを生じる。硫酸イオンは通常、培養液中に多量要素として含まれ、本研究で使用した園試処方 50%濃度液においても、 $2 \text{ me} \cdot \text{liter}^{-1}$  含まれる。また、次亜塩素酸およびクロラミンを消去した後に生成する塩素化合物は塩素イオンである。アスコルビン酸については植物体内に存在する物質であり、生体内での種々の酸化、還元反応に関与している。したがって、本研究で使用した還元剤が作用して生成した物質が植物体に及ぼす影響はないと思われる。一方、還元剤そのものが植物体に及ぼす影響については不明であるが、少なくとも外観上、影響は認められなかった。しかし、本実験で用いた種々の還元剤は、養分以外の目的として新たに培養液に加えられた物質であるため、それらの安全性については議論が必要である。本研究で使用した還元剤はすべて食品添加物として登録されているが、その安全性は異なる。各還元剤のマウスにおける  $\text{LD}_{50}$  値は亜硫酸ナトリウムでは  $175 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  とされ、ヒドロサルファイトナトリウムもほぼ同様と推定されている。一方、チオ硫酸ナトリウムでは  $2500 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  以上で、ヒドロサルファイトナトリウムおよび亜硫酸ナトリウムと比べて安全性は極めて高い(第7版食品添加物公定書解説書)。また、アスコルビン酸は天然に存在するビタミンCであり、種々の食品に酸化防止剤として添加されており、安全性に問題はない。これらのことから、クロラミンによる根部傷害を回避するために培養液に添加する還元剤にはチオ硫酸ナトリウムかアスコルビン酸が、安全性の面から適していると考えられる。

実験2では安全性の高い還元剤であるチオ硫酸ナトリウムおよびアスコルビン酸を、次亜塩素酸を消去するのに必要な量以上の濃度で添加した。本実験は栽培の現場において原水中に存在する次亜塩素酸をより確実に消去するために過剰に還元剤が添加された場合を想定して行ったものである。実験結果から、過剰に加えたチオ硫酸ナトリウムおよびアスコルビン酸は完全に根部障害の発生を抑制し、植物体の生長に及ぼす影響も見られなかった。チオ硫酸イオン ( $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ ) は酸性では水溶液中では分解して水に溶解しない硫黄を遊離する。一方、アルカリ性では比較的安定である。しかし、本実験で添加した  $0.1 \text{ mM}$  チオ硫酸ナトリウムの全量が植物体に吸収されたとしても1個体当たりの吸収量は  $0.33 \text{ mmol}$  すなわち約  $81 \text{ mg}$  であり、チオ硫酸ナトリウムの  $\text{LD}_{50}$  値  $2500 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  以上と比較して極めて少なく、仮に植物体に吸収されたチオ硫酸ナトリウムの一部がそのままの形態で植物体内に存在するとしても薬理学上問題ないものと考えられる。一方、アスコルビン酸は先述のとおり、安全性に問題はない。また、井上ら(1995)はアスコルビン酸  $1000$

$\text{ppm}$  ( $5.68 \text{ mM}$ ) を含む培養液でサラダナを24時間処理し、植物体のアスコルビン酸含量が対照区の約3.5倍になったと報告しているが、生長や養分吸収量に差が生じたとは報告しておらず、 $0.1 \text{ mM}$  程度のアスコルビン酸を培養液に添加しても植物体に対して影響はないものと考えられる。

なお、次亜塩素酸およびクロラミンを消去するためにチオ硫酸ナトリウムやアスコルビン酸などの還元剤を培養液に添加する場合の、これら薬剤の法的な位置づけに関しても検討する必要がある。農薬取締法(平成15年6月11日公布、7月1日施行)では農薬を、「農作物(樹木及び農林産物を含む。以下「農作物等」という。)を害する菌、線虫、だに、昆虫、ねずみその他の動植物又はウイルス(以下「病害虫」と総称する。)の防除に用いられる殺菌剤、殺虫剤その他の薬剤(その薬剤を原料又は材料として使用した資材で当該防除に用いられるもののうち政令で定めるものを含む。)及び農作物等の生理機能の増進又は抑制に用いられる成長促進剤、発芽抑制剤その他の薬剤をいう」と定義している。したがって、残留塩素を除去するために培養液に添加する還元剤は農薬に該当せず、その使用に法的問題はないと考えられる。

以上のことから、 $0.5 \text{ mg Cl} \cdot \text{liter}^{-1}$  程度の次亜塩素酸を含む水道水で作成した培養液から次亜塩素酸およびクロラミンを消去するために、チオ硫酸ナトリウムおよびアスコルビン酸を  $0.01 \text{ mM}$  添加することが有効であり、クロラミンによる根部傷害の発生を完全に抑制し、植物体の生長にも影響を及ぼさないことが明らかとなった。また、チオ硫酸ナトリウムあるいはアスコルビン酸を  $0.1 \text{ mM}$  まで過剰に培養液に添加しても植物体の生長に影響を及ぼさず、安全性にも問題はないと考えられた。

## 摘 要

培養液中に存在する次亜塩素酸ならびにクロラミンを消去することを目的として塩素濃度が  $0.5 \text{ mg Cl} \cdot \text{liter}^{-1}$  となるように次亜塩素酸ナトリウムを添加した培養液に、還元剤であるチオ硫酸ナトリウム、亜硫酸ナトリウム、ヒドロサルファイトナトリウムおよびアスコルビン酸のいずれかを  $0.01 \text{ mM}$  の濃度で添加して、サラダナを移植した。その結果、いずれの還元剤によってもクロラミンによる根部傷害およびこれに起因する植物体の生長抑制が回避された。また、塩素濃度が  $0.5 \text{ mg Cl} \cdot \text{liter}^{-1}$  となるように次亜塩素酸ナトリウムを添加した培養液にチオ硫酸ナトリウムおよびアスコルビン酸を  $0.1 \text{ mM}$  まで過剰に添加した場合でも、同様に根部傷害およびこれに起因する生長抑制が回避された。

## 引用文献

Date, S., S. Terabayashi, K. Matsui, T. Namiki and Y. Fujime. 2002. Induction of root browning by chloramine

- in *Lactuca sativa* L. grown in hydroponics. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 71: 485-489.
- Date, S., S. Terabayashi, Y. Kobayashi and Y. Fujime. 2005. Effects of chloramines concentration in nutrient solution and exposure time on plant growth in hydroponically-cultured lettuce. Sci. Hort. 103: 257-265.
- Frink, C. R. and G. J. Bugbee. 1987. Response of potted plants and vegetable seedlings to chlorinated water. HortScience 22: 581-583.
- 井上興一・横田弘司・牧田勝紘. 1995. 水耕法による外生アスコルビン酸ナトリウムのサラダナへの導入. 園学雑. 63: 779-785.
- 金子光美. 1996. 8. 7 塩素消毒. p. 282-312. 金子光美. 水質衛生学. 技報堂出版. 東京.
- Krone, P. R. and F. F. Weinard. 1931. Experiments with solutions of chlorine and sodium chloride on pot plants. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 27: 444-448.
- 山崎肯哉. 1982. 養液栽培全編. p. 93-97. 博友社. 東京.
- Zimmerman, P. W. and R. O. Berg. 1934. Effects of chlorinated water on the land plants, aquatic plants, and goldfish. Contrib. Boyce Thompson Inst. 6: 39-49.