

## 乾燥マコンブの復水特性とその微細構造 (2)

奥 田 弘 枝

### Rehydration Characteristics and Fine Structure of Dried Pieces of *Laminaria Japonica* (2)

Hiroe OKUDA

#### Abstract

In order to clarify the rehydration characteristics, dried pieces of *Laminaria* were submerged in distilled water for a given period of time and the rehydration value rate and analysis of dissolved contents such as aminonitrogens,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{K}^+$  and  $\text{Ca}^{2+}$  and histochemical study on the localization of  $\text{Na}^+$  were carried out.

Regression line of extracted value of  $\text{Na}^+$  according to the time of moisture were also calculated.

The results confirm that the  $\text{Cl}^-$ , aminonitrogens,  $\text{Na}^+$  and  $\text{K}^+$  were dissolved easily in order, while the  $\text{Ca}^{2+}$  was soluble not easily. The extracted curve of  $\text{Na}^+$  was searched by dissolved value of  $\text{Na}^+$  according to the time of moisture using the theoretical model of expression  $Y = AX^B$ .

The significance of the model was tested by R squared, Analysis of variance and T value, and the high correlation coefficient was obtained. These results may be utilizable to learn the efficient extract duration of the taste components from ma-kombu.

Electron microscopic observation of the  $\text{Na}^+$  distribution in dried and moist *Laminaria* were carried by means of a histochemical potassiumantimonate method.

The potassiumantimonate precipitable cations ( $\text{Na}^+$ ) were found mainly surface of the cell wall, chloroplasts and in the cytoplasm of the outerlayer of epidermal cells, and also in the sieve tube of the dried *Laminaria*. Five minutes after submersion the  $\text{Na}^+$  were observed surface of the cell wall and a part of cytoplasm of the epidermal cells, while  $\text{Na}^+$  deposits of another places disappeared.

#### I 緒 言

乾燥マコンブの復水特性を明らかにする目的で、第1報(奥田1983)では乾燥マコンブを浸漬水中で復水し、復水速度や復水表面積と復水量との関係、復水後の水分の定量、復水に

よる葉体の縦と横の長さの膨潤度、および組織や細胞の形態学的観察結果を報告した。

復水量は浸漬開始と同時に10分迄は急速に増加するが、その後60分迄はやや緩慢となり、その後はさらに一層緩慢となる三段階の復水速度を示す事が分かった。また、復水した葉体の水分量を測定したところ、5分間での吸水が急速に行われ、60分ではほぼ平衡復水量に達する。これは、復水曲線が60分以降は非常に緩慢になる事とも一致し、60分あたりが復水の変換点と考えられる。復水する事により、水と交代にコンブ内部から可溶性物質が浸漬水中に溶出しているものと考えられる事から、本報は浸漬水中に溶出する成分のうち、アミノ態窒素や無機物等について、経時的な定量分析を行った。また、吉村ら(1973<sup>a</sup>⑤, 1976)によれば、コンブ葉体中では  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{K}^+$  および  $\text{Ca}^{2+}$  が無機物中の大半を占めると述べている事から、今回は、これらの無機物についての定量的測定を行った。海藻中の無機物の分析結果については多くの報告(石橋ら1939, 1940, 1950<sup>a</sup>⑤⑥⑦, Black ら1952, Coulson 1953, Okada ら1955, Takagi 1956, 山本1960<sup>a</sup>⑤⑥⑦, 森井1961, 大石1961<sup>a</sup>⑤⑥, 1967<sup>a</sup>⑤⑥, Kuriyama 1961<sup>a</sup>⑤⑥⑦, Lunde 1970, 細田1970, 1972, 1975, 吉村ら1973<sup>a</sup>⑤⑥, 1976, Fuge ら1973, Quatrano ら1973)があるが、無機物の消長を電顕組織細胞化学的な面から研究した報告はない。そこで、葉体中における  $\text{Na}^+$  の局在と復水による溶出状態を、電顕組織細胞化学的な手法(Komnick 1962, Klein 1971, 水平1969, 1971, 1972, 佐藤ら1972, 小川ら1975)により、観察を行ったので、その結果を報告する。

## II 実験方法

### 1. 試料

用いた試料は、1983年9月、函館市石崎町で採取された2年生の天然マコンブ(*Laminaria japonica*)を天火乾燥させたもので、本実験には3本使用した。用いた葉体の平均は、重量125 g, 葉長290cm, 葉幅(最大)18 cm, 中帯部6 cmである。前報(奥田1983)と同様に、根元、中央、先端に分割し、部位による差をなくするため、根元、先端、両端を除いた中央部の中帯部を4×4 cm大に整形し、よく混合して用いた。

### 2. 実験方法

#### (1) 復水方法および復水量の測定

乾燥試料6 gは、恒温水槽を用いて25°Cに調整した蒸留水(pH 5.7) 200 g中に、ステンレス製金網の試料容器ごと投入し、それぞれ1, 2, 3, 5, 10, 30, 60, 120分放置した。経時後、試料を引き上げ、濾紙(No. 2)で表面付着水を拭き取り、一定時間放置後、秤量した。

#### (2) 水分の定量

乾燥試料6 g, および任意時間復水した試料の水分量は、105°Cの定温乾燥器で常圧乾燥

法により求めた。なお、恒量となった重量をもって、無水重量とした。

### (3) 全溶出成分の定量

試料を任意時間復水した後の浸漬液10 gを蒸発皿に精秤し、定温乾燥器 (105°C) で乾燥し、水分を除去した時の残渣量で求めた。

### (4) アミノ態窒素の定量

乾燥試料 3 g を細切し、95°C の蒸留水 (pH 5.7) 100 ml で 1 時間抽出(30分間 2 回抽出) して得た溶液を、蒸留水で全容を 250 ml とした。このうち 50 ml について、Sørensen の Formol 滴定法で求めた。

浸漬液中の含有量は、浸漬液 50 ml を検液として、同じく Sørensen の Formol 滴定法で求めた。

### (5) $\text{Na}^+$ , $\text{K}^+$ , $\text{Ca}^{2+}$ の定量

乾燥試料 2.5 g, 復水後の試料は 1~10分浸漬区 5 g, 30~120分浸漬区10~14 g について、また、浸漬液は 1~10分浸漬区10 g, 30~120分浸漬区20 g を用い、いずれも乾式灰化法で 50~100 ml の検液を得た後、希釈を行い、日立 FPF 2 型炎光光度計で定量した。

### (6) $\text{Cl}^-$ の定量

乾燥試料 3 g, 復水後の試料 3 g (30~120 分浸漬区のみ 10~15 g 秤量) を灰化後、95°C の蒸留水 (pH 5.7) で 1 時間抽出 (30分間 2 回抽出) した。濾液を合して全容を 150 ml にし、そのうち 5 ml について、Mohr 氏法により求めた。

浸漬液中の含有量については、浸漬液 10 ml について Mohr 氏法で求めた。

## 3. $\text{Na}^+$ 観察用試料の調整

### (1) 光学顕微鏡 (以下, OLM) 観察用試料の調整

乾燥試料は、葉体中央部の中帯部から 1 片約 2 mm の小四角片を切り出し、試料に用いた。

復水後の試料は、前述の 5 分間浸水した葉体を 1 片約 2 mm の小四角片に切断して用いた。

それぞれの試料は、2% Potassiumantimonate  $\text{K}[\text{Sb}(\text{OH})_6]$  と 4% Osmic acid  $\text{OsO}_4$  で pH 7.2 に調整した液で 5°C, 2 時間の固定を行った。水洗, Ethanol 系列で脱水の後, Epon 包埋した試料から, LKB の Ultramicrotome でおよそ 800 Å の超薄切片を作製し, Richardson 染色を行った。

### (2) 透過型電子顕微鏡 (以下, TEM) 観察用試料の調整

試料は OLM の Epon 包埋の方法と同様に固定脱水の後, LKB Ultramicrotome で 200~400 Å の超薄切片を作製し、観察は JEM 100-B 型 TEM を用い、加速電圧は 80 kV で行

った。

### Ⅲ 実験結果および考察

#### 1. 復水量

乾燥試料の水分量は湿量基準で9.2%，乾量基準で10.1%ある (Fig. 1)。復水1分後の水分量は湿量基準で47.9%，乾量基準で91.9%となり，1分間で急速に吸水が行われる。5分後の水分量は湿量基準で59.1%，乾量基準で144.5%あり，前報とほとんど同様な数値が得られ，5分間での吸水が著しい。10分後には湿量基準で66.7%，乾量基準で200.3%となり，10分間で急速に復水量が増加する事が分かる。30分で湿量基準80.7%，乾量基準418.1%で，10分以降はやや緩慢になる。60分後には湿量基準で88.7%，乾量基準で785%で，30分以降は緩慢となり，120分後には湿量基準90.1%，乾量基準910.1%の復水量で，60分以降はさらに一層緩慢となる三段階の復水量を示し，60分でほぼ平衡復水量に達する。今回の実験から，前報で60分あたりを復水の変換点とした理由を裏づける結果となった。

#### 2. 水に可溶な全溶出成分，アミノ態窒素および無機物の溶出量

##### (1) 乾燥試料の水分量，アミノ態窒素および無機物の量

海水にはほとんど全ての元素が溶存していると言われている。従って，海藻に含まれる無機物も陸上植物に比べて，その種類が多く，また含有量も多い。海藻中の各種無機物については，海藻の種類，品質，環境要因，採取する季節，葉体の部位などによって大いにその様子を異にすると予想される。

今回，実験に使用した乾燥試料の水分量，遊離型アミノ態窒素および  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$

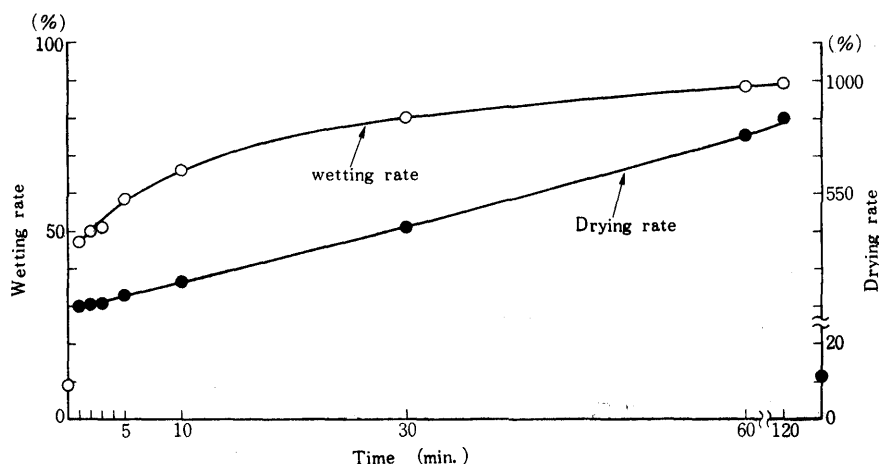


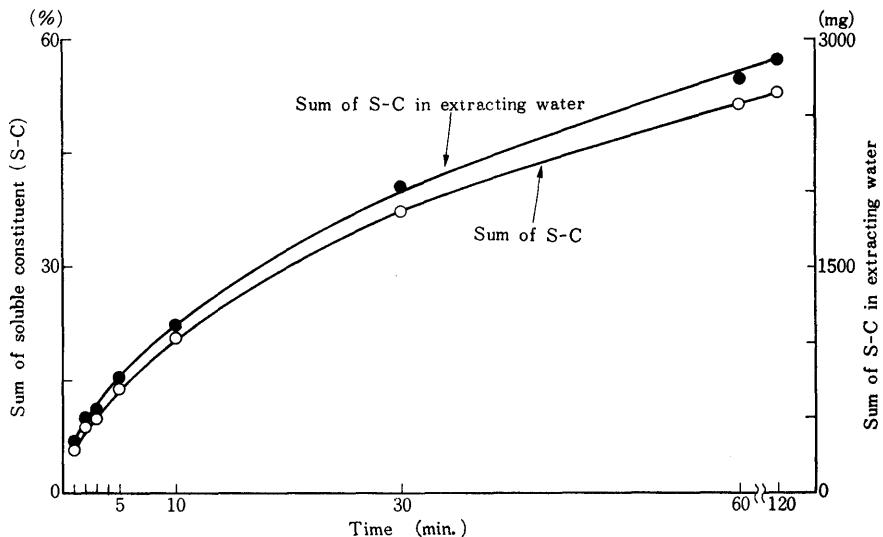
Fig. 1. Moisture content of dried ma-kombu after rehydration

**Table 1.** Moisture, amino nitrogens (A-N), and mineral content of the dried ma-kombu blades, *Laminaria Japonica*

Constituent	Wetting rate	Content	Drying rate
Moisture	9.2%		10.1%
Amino nitrogens (A-N)	509 mg%		559 mg%
Na <sup>+</sup>	1903 mg%		2089 mg%
Cl <sup>-</sup>	6100 mg%		6697 mg%
K <sup>+</sup>	4462 mg%		4899 mg%
Ca <sup>2+</sup>	253 mg%		278 mg%

の含有量は Table 1 のような結果が得られた。大石ら (1961⑤) は乾燥マコンブのアミノ態窒素について、生育地域、採取時期等の違いによる定量を行っているが、今回の定量結果はコンブ採取最盛期に採取されたシリキシナイ産の試料に近い値である。Na<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup>, K<sup>+</sup> の含有量については、すでに報告されている海藻中の無機物の分析値 (吉村1973④⑤) とはほぼ一致するが、Ca<sup>2+</sup> については本実験で用いた試料の方がやや含有量が少ない。Ca<sup>2+</sup> 含有量は、発育過程で月毎の変化があり、6月に増し、7月に減少すると報告されている (吉村ら 1976)。また、吉村ら (1973④⑤) はコンブ葉体の部位による金属元素量の相違を調べ、Fe<sup>2+</sup>, Al<sup>3+</sup>, Mn<sup>2+</sup> は先端に多い傾向が見られるが、他の元素については明瞭な関係は認められなかったとしている。

## (2) 全溶出成分の溶出量

**Fig. 2.** The effect of sum of soluble constituent (S-C) (%), and sum of S-C in extracting water (mg) on dry basis

乾燥マコンプ中の水に可溶な物質、すなわち、蛋白質、各種のアミノ酸、無機物、糖類等を全溶出成分として定量した (Fig. 2)。復水 5 分での溶出量は 14.4%，浸漬液中には 782 mg 溶出する。10 分で 20.7%，浸漬液中には 1128 mg 溶出し、10 分間での溶出割合が大きい。復水時間が 60 分で、51% の溶出、浸漬液中には 2727 mg 溶出し、溶出量はほぼ一定となる。復水時間が 120 分でも 53.2%，浸漬液中には 2856 mg 溶出するだけで、極くわずかな増加である。

### (3) アミノ態窒素の溶出量

マコンプの煮出汁の主な旨味成分は遊離アミノ酸であると言われている。大石 (1961①, 1967②) はコンブ抽出液中の遊離アミノ酸を分析した結果、グルタミン酸、アスパラギン酸、トリプトファン、プロリン、バリン、アラニン、グリシン、アルギニンの 8 種類と他に未確認物質一種を検出している。8 種類のアミノ酸はそれぞれの味を有し、グルタミン酸の旨味だけでなく、複雑な味をつくり出していると考えられる。そこで、復水時間による、遊離のアミノ態窒素の定量を行った (Fig. 3)。復水後 1 分で 16.7%，浸漬液中には 5.1 mg 溶出し、1 分間での溶出割合が大きい。5 分で 27.5%，浸漬液中には 21.2 mg 溶出し、30 分間ではほぼ 7 割が溶出する。60 分で 86.1%，浸漬液中に 29 mg が溶出するにすぎず、30 分以降は緩慢となる。奥村ら (1963) も 1 分間でアミノ態窒素はエキス全量の約 1/3 が抽出され、3 分間で 1/2 が抽出されるとしている。アミノ態窒素は比較的短時間で溶出し、水出汁法の場合、浸漬時間は 30～60 分でよいと言われる理由を裏づけている。

### (4) $\text{Cl}^-$ の溶出量

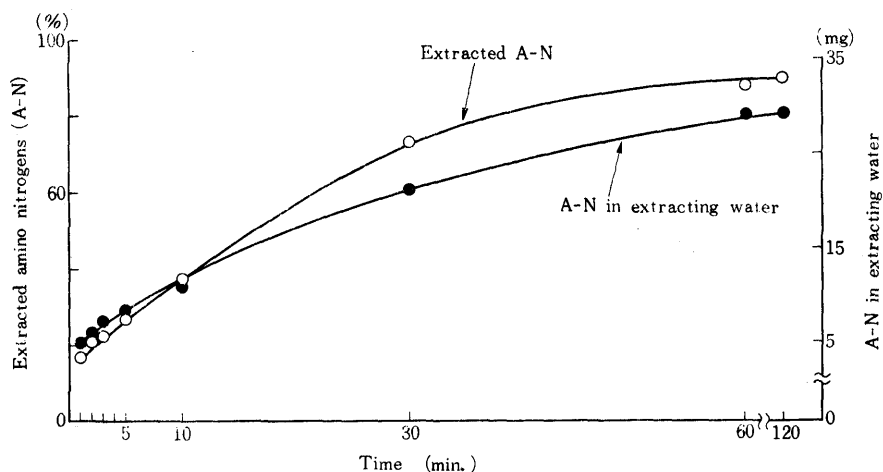


Fig. 3. The effect of extracted amino nitrogens (A-N) (%), and A-N extracting water (mg) on dry basis

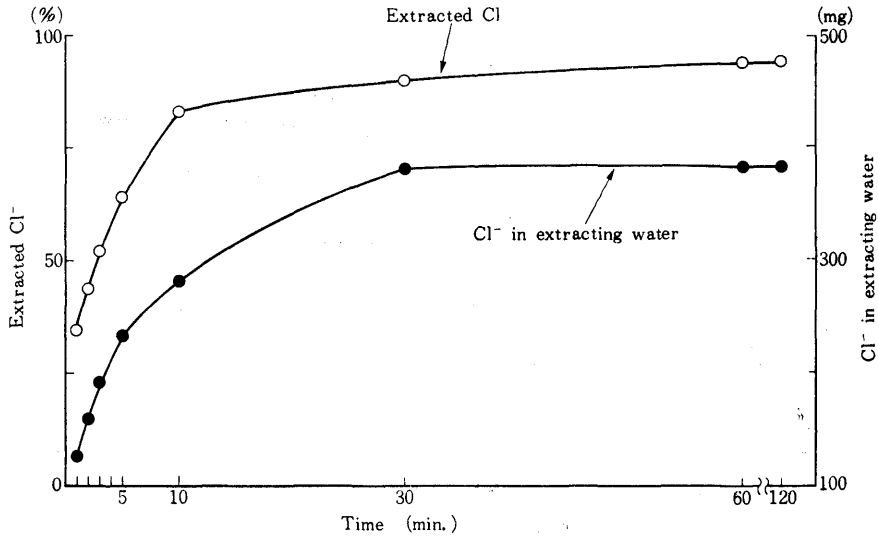


Fig. 4. The effect of extracted  $\text{Cl}^-$  (%), and  $\text{Cl}^-$  in extracting water (mg) on dry basis

$\text{Cl}^-$  は復水 1 分で 34.3%, 浸漬液中には 126.1 mg が溶出し, 今回定量した成分の中では 1 分間の溶出量が 1 番多い (Fig. 4)。5 分で 63.5%, 浸漬液中には 233.2 mg が溶出し, 5 分間で 6 割以上が溶出する。30 分で 88.7%, 浸漬液中には 380 mg 溶出し, 60 分には 93.3%, 浸漬液中には 385 mg で, 30 分で溶出量はほぼ一定となり, 30 分以降は非常に緩慢な溶出である。120 分後には 93.5%, 浸漬液中には 390 mg の溶出量で 60 分以降はほとんど増加は見られず, アミノ態窒素と同様に短時間で溶出する。

##### (5) $\text{K}^+$ の溶出量

$\text{K}^+$  の溶出は復水後 1 分で 15.1%, 浸漬水中には 34.1 mg 溶出する (Fig. 5)。復水後のコソブ葉体中の  $\text{K}^+$  量についても定量したところ, 復水後 1 分では 191.8 mg 存在する。5 分後の溶出量は 33.9%, 浸漬水中には 79.1 mg 溶出する。浸漬 5 分後の葉体中の  $\text{K}^+$  量は 154 mg で, 5 分間で 3 割強の  $\text{K}^+$  が溶出し, 溶出量は 1 分間の約 2 倍である。30 分で 62.2%, 浸漬水中には 190 mg 溶出する。復水 30 分後の葉体中の  $\text{K}^+$  量は 115.6 mg である。60 分で 66.9%, 浸漬水中には 177 mg 溶出する。復水 60 分後の葉体中の  $\text{K}^+$  量は 87.5 mg で, 30 分以降はあまり大きな溶出量の増加はみられない。120 分で 70.6%, 浸漬水中には 237 mg 溶出する。復水 120 分後の葉体中の  $\text{K}^+$  量は 98.7 mg で, 浸漬 30 分以後の溶出量は非常に緩慢な増加となる。浸漬液中の  $\text{K}^+$  の溶出量と, 復水後の葉体中の  $\text{K}^+$  の残存量とはほぼ対応している。

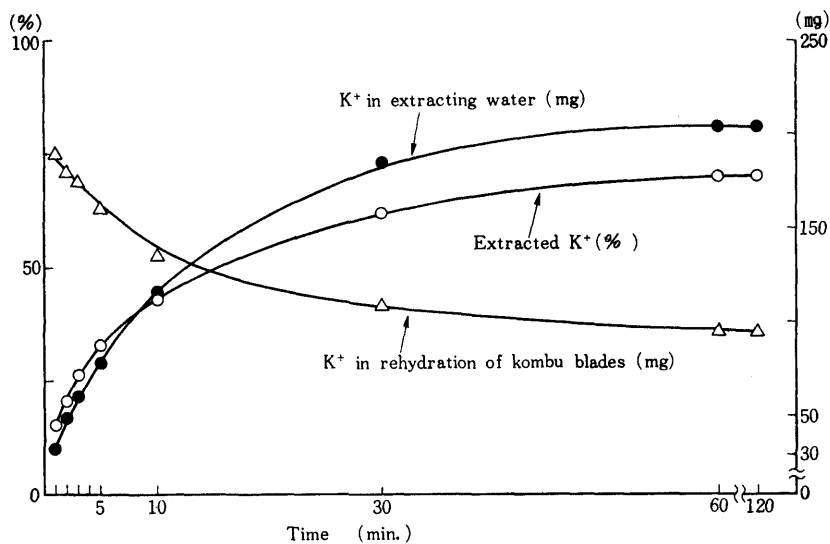


Fig. 5. The effect of extracted K<sup>+</sup> (%), and K<sup>+</sup> in extracting water (mg) and K<sup>+</sup> in rehydration of ma-kombu blades (mg) on dry basis

#### (6) Ca<sup>2+</sup> の溶出量

Ca<sup>2+</sup> の溶出は復水後 1 分で 9.9%, 浸漬水中には 4.4 mg 溶出し, 復水 1 分後の葉体中の Ca<sup>2+</sup> 量は 40.1 mg で, 1 分間の溶出量は 1 割以下である (Fig. 6)。5 分で 16.4%, 浸漬水

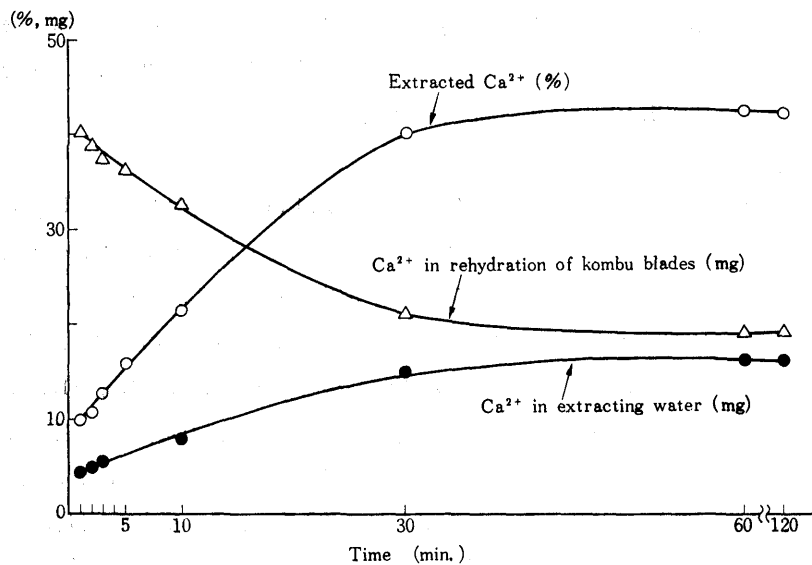


Fig. 6. The effect of extracted Ca<sup>2+</sup> (%), Ca<sup>2+</sup> extracting water (mg) and Ca<sup>2+</sup> in rehydration of ma-kombu blades (mg) on dry basis



中には 7 mg 溶出し、復水 5 分後の葉体中の  $\text{Ca}^{2+}$  量は 36 mg である。30 分で 41.3%，浸漬水中には 14.9 mg 溶出し、復水 30 分後の葉体中の  $\text{Ca}^{2+}$  量は 21.2 mg で、今回定量した成分の中では 1 番溶出量が低い。60 分後で 42.4%，浸漬水中には 15 mg の溶出、復水 60 分後の葉体中の  $\text{Ca}^{2+}$  量は 19.3 mg である。120 分後でも 43% 溶出するにすぎず、浸漬水中には 16 mg の溶出、復水 60 分後の葉体中の残存量は 18 mg で、30 分以降の溶出量、および復水後の葉体中の残存量ともほとんど変化がない。

#### (7) $\text{Na}^+$ の溶出量

$\text{Na}^+$  は浸漬後、1 分で 24.4% 溶出する (Fig. 7)。浸漬液中には 23.4 mg 溶出している。復水 1 分後の葉体中の  $\text{Na}^+$  量は 83 mg ある。5 分での溶出量は 46.1% で約 5 割近くが溶出し、5 分間での溶出割合が大きく、浸漬液中には 45.8 mg で、溶出量は 1 分間の約 2 倍である。葉体中の  $\text{Na}^+$  は 58.8 mg 残存する。10 分以降はやや緩慢となり、30 分では 70.3% の溶出率で、浸漬液中には 82 mg、復水後の葉体中の  $\text{Na}^+$  は 43 mg である。30 分以降はさらに一層緩慢となり、60 分では 86.3% の溶出率で浸漬液中には 87.5 mg、復水後の葉体中の  $\text{Na}^+$  は 38.5 mg となる。

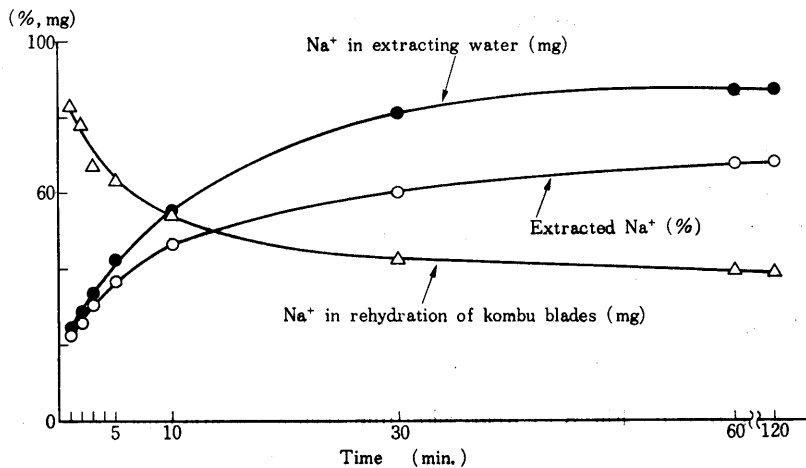


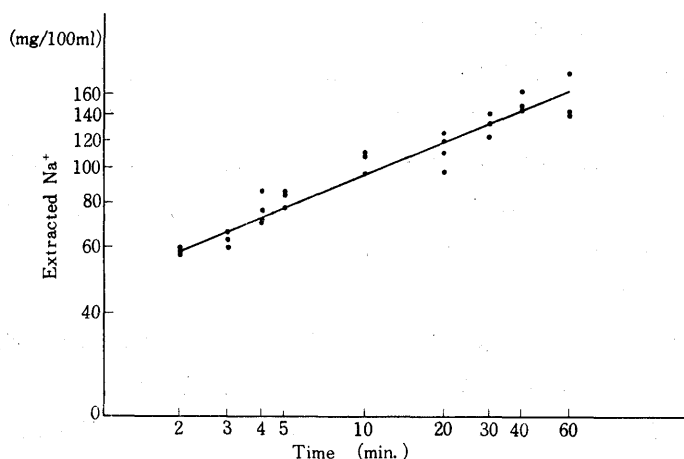
Fig. 7. The effect of extracted  $\text{Na}^+$  (%), and  $\text{Na}^+$  in extracting water (mg) and  $\text{Na}^+$  in rehydration of ma-kombu blades (mg) on dry basis

#### (8) $\text{Na}^+$ の溶出量と復水時間の関係

$\text{Na}^+$  の溶出量を縦軸に、復水時間を横軸に、Fig. 8 にプロットした。図中の直線は Regression line である。 $\text{Na}^+$  の溶出量と復水時間の関係の理論モデルは次式である。

$$Y = AX^B$$

Y :  $\text{Na}^+$  溶出量 (mg)



**Fig. 8.** Regression line of extracted  $\text{Na}^+$  (mg/100 ml) and rehydration time (min.)  
 Regression line:  $Y = 47.2955X^{0.8057}$   
 $R^2 = 0.950398$   
 Standard error of estimate is 0.0947  
 Computed T value for testing  $\beta = 0$  is 23.162  
 Standard error of the estimator for use in constructing confidence intervals for  $\beta$  is  $\pm 0.0132$

A : 初期値

X : 復水時間 (min.)

B : Regression coefficient

初期値  $A = 47.2995$  で, Regression coefficient  $B = 0.3057$  の値が得られた。  $Y = 47.2995 X^{0.8057}$  となり, これから図中の Regression line を求めた。検定結果は  $R^2 = 0.950398$ , T value は 23.162, さらに, Analysis of variance は Table 2 のようになり, 各々このモデルの有効性を示した。なお, F value の値が高く, Standard error は 0.0947, Confidence intervals は  $\pm 0.0132$  で, Fig. 8 の Regression line は非常に信頼度が高いと言える。従って, 復水時間 (min.) に対する  $\text{Na}^+$  溶出量 (mg/100 ml) の理論値は Table 3 のようになる。1 ~ 60 分迄の 1 分ごとの  $\text{Na}^+$  の溶出量 (mg/100 ml) を示した。

**Table 2.** Analysis of variance of regression line

SOURCE	SS(平方和)	DF(自由度)	MS(平均平方和)	F(比)
REGRESSION	4.8160	1	4.8160	536.4760
ERROR	0.2514	28	0.0090	
TOTAL	5.0673	29		

Table 3. Rehydration time (min.) and theoretical value of extracted  $\text{Na}^+$  (mg/100 ml)

Rehydration time (min.)	Theoretical value of extracted $\text{Na}^+$ (mg/100 ml)	Rehydration time (min.)	Theoretical value of extracted $\text{Na}^+$ (mg/100 ml)	Rehydration time (min.)	Theoretical value of extracted $\text{Na}^+$ (mg/100 ml)
1	47.2995	21	119.966	41	147.192
2	58.4631	22	121.685	42	148.28
3	66.1779	23	123.349	43	149.351
4	72.2614	24	124.965	44	150.404
5	77.3627	25	126.534	45	151.441
6	81.797	26	128.06	46	152.462
7	85.7439	27	129.546	47	153.468
8	89.3164	28	130.994	48	154.459
9	92.591	29	132.407	49	155.435
10	95.6218	30	133.787	50	156.398
11	98.4488	31	135.134	51	157.348
12	101.103	32	136.452	52	158.285
13	103.607	33	137.742	53	159.209
14	105.981	34	139.005	54	160.121
15	108.24	35	140.242	55	161.022
16	110.397	36	141.455	56	161.912
17	112.462	37	142.645	57	162.79
18	114.444	38	143.812	58	163.658
19	116.351	39	144.959	59	164.515
20	118.19	40	146.085	60	165.363

水に可溶な成分の経時的な定量的測定結果、溶出し易いのは  $\text{Cl}^-$ 、アミノ態窒素、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$  の順で、 $\text{Ca}^{2+}$  は溶出しにくい成分である。佐藤ら (1980) はコンブ藻体から、水溶性アルギン酸と水に不溶性のアルギン酸を分離し、その中に含まれる金属の測定を行っている。水溶性のアルギン酸中には  $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$  が多く、不溶性のアルギン酸には  $\text{Ca}^{2+}$  が多いと述べている。無機物は藻体中に単独に存在するだけでなく、塩類、多糖類等の化合物の形で存在するものと考えられる。先に述べた復水量 (Fig. 1) に見られたように、10分間で急速に復水量が増加し、10分以降はやや緩慢になる。60分以降はさらに一層緩慢となり、三段階の復水量が認められた。60分ではほぼ平衡復水量に達し、60分あたりを復水の変換点としたが、浸漬時間に対する復水量とマコブの水に可溶な成分の経時的な定量的測定結果は非常に類似した傾向を示す。つまり、復水による水に可溶な成分の溶出は組織や細胞内外での水の動きに左右されると言える。

マコブの煮出汁では加熱浸出を行わずに浸水のみでかなりの旨味が浸出し、かえってコンブ臭がなくてよいという事が知られており、木下 (1962) は味覚テストの結果、コンブは種類、分量にかかわらず、昔から行われている水出汁法が最も適当な方法であると述べている。

水煮出汁の浸水時間は30～60分が有効であると報告されている(唯岡1957)。奥村ら(1963)はアミノ態窒素の抽出量は30分で一定となり、抽出時間が240分におよんでも抽出窒素量は著しく増えないとし、エキスに含有される全窒素および、アミノ態窒素はほとんど抽出され、30分以後では両者の割合が一定で、カーブは平行していると述べている。コンブ煮出汁は旨味だけでなく、旨味以外の諸成分の味が加わって、特色のある味を作っているが、今回、溶出成分に及ぼす、浸水時間の影響について実験したところ、60分以上の浸水は全溶出成分、アミノ態窒素、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{Cl}^-$ 、 $\text{K}^-$  および  $\text{Ca}^{2+}$  とも溶出量にほとんど差がなく、水出汁法の浸水時間は30～60分が有効である事を裏づける結果になった。

### 3. 葉体中における $\text{Na}^+$ の局在と復水による溶出状態の観察

各種の電解質は細胞生理機能に重大な関与をしている。 $\text{Na}^+$  を電顕組織化学的に証明する試みは Komnick (1962), Ellenbulger ら (1969), 及び本邦では水平ら (1969, 1971, 1972) によって、手掛けられている。 $\text{Na}^+$  の検出にはアンチモン酸カリ (Potassiumantimonate) が用いられ、その反応式は

$\text{K}[\text{Sb}(\text{OH})_6]^- + \text{Na}^+ \longrightarrow \text{Na}[\text{Sb}(\text{OH})_6] \downarrow$  である。実際には、流動しやすいイオンの動きを抑えるため、Osmic acid 固定液に前記反応試薬を加えて、固定と沈澱とを同時に行う方法がとられているが、これが果して正確なイオンの局在を示すかどうか疑義もあり、また、アンチモン酸カリは  $\text{Na}^+$  以外にも  $\text{Ca}^{2+}$  や  $\text{Mg}^{2+}$  その他に対してもともに沈澱を形成し易く、用いる緩衝液の種類でも、反応結果に差を生ずると言われている。Komnick (1962) のように硼酸緩衝液を用いると沈澱はよく出るが、固定像が必ずしもよいとは言えないし、コリジン緩衝液を用いると、いずれも沈澱の数が著しく減少し、局在が主として膜系に限局し、かつ粗大化する。また、pH を6.8以下にすると、 $\text{H}^+$  イオンと反応して  $\text{H}[\text{Sb}(\text{OH})_6]^-$  の沈澱を生じると述べている。しかし一方、Klein (1963) は組織構造上の特性から  $\text{Na}^+$  は動きにくいとし、水平ら (1971) は一般に細胞内の分布濃度が  $\text{NaCl} > \text{MgCl} > \text{CaCl}_2$  の順で、その差がそれぞれ10～100倍ある事を考え合わせると、結果的にはアンチモン酸カリは  $\text{Na}^+$  に対して、他の  $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{Ca}^{2+}$  に対するよりも100倍の感度を有すると考えられると述べ、個々のアンチモン酸カリによる沈澱物の性格の同定は困難にしても、この試薬による沈澱物は  $\text{Na}^+$  と見なしてもほぼ差しつかえないとしている。

#### (1) 乾燥した葉体の OLM による $\text{Na}^+$ の観察

前報で述べたように、試料を通常の OLM 観察用切片の厚さである、3～5  $\mu\text{m}$  に切断した場合、切片の傷みが激しく、観察に適さない。その原因として、試料が乾燥した状態であるため、表面硬化、変性が著しいと考えられる事から、800 Å の切片を切り出したところ、傷みの少ない切片が得られた (Fig. 9)。葉体の組織構造は外側より、最外層の細胞壁、表層、

皮層、髓層の順に配列している。本実験で用いた試料は成熟した葉体である事から、細胞壁の表面に孢子囊群が隆起して形成されている。OLM レベルでは図のように組織や細胞中におけるアンチモン酸カリによる  $\text{Na}^+$  の沈澱物を観察する事は困難である。

### (2) 復水した葉体の OLM による $\text{Na}^+$ の観察

葉体の復水量は、先に述べたように浸漬開始と同時に5分間で急速に増加する。復水した葉体の水分量は5分後には湿量基準で59.1%、乾量基準で144.5%となり、5分間での吸水が急速に行われる事が分かる。また、前述の復水時間に対する  $\text{Na}^+$  の溶出量の Regression line から、復水5分で浸漬液 100 ml 中に 77 mg の  $\text{Na}^+$ 、すなわち4割強が溶出し、残りの5割は葉体中に残存していると考えられる。そこで復水5分後の  $\text{Na}^+$  の溶出状態の観察を行った (Fig. 10)。図のように復水後は細胞壁の輪郭が明瞭になる。しかし、細胞壁と細胞質の区別は困難で、 $\text{Na}^+$  の沈澱物は観察出来ない。

### (3) 乾燥した葉体の TEM による $\text{Na}^+$ の観察

TEM 観察によると、Microfibrils からなる最外層の細胞壁の表面に、 $\text{Na}^+$  が電子不透明な沈澱粒子として認められる (Fig. 11)。沈澱粒子の大きさは細胞壁の外側に位置するものより、内側に位置する方がその径が小さい。最外層の細胞壁に  $\text{Na}^+$  が存在する事については、 $\text{Na}^+$  は海水中に塩化物として約3%を占めている事から、浸透圧との関係が考えられるが、機能の面については今後検討を要する。細胞壁の外側に孢子囊の断面 (Fig. 11 矢印) が見られる。乾燥による損傷の比較的少ない細胞内では、葉緑体が少数で2~3個、多いもので10~12個観察されるが、その表面に Electron dense な  $\text{Na}^+$  の沈澱物が観察される (Fig. 11 二重矢印)。形や数は一定でなく、大きさは、小さいもので直径約 0.0013  $\mu\text{m}$ 、大きいもので長径 3.1  $\mu\text{m}$ 、短径 1.5  $\mu\text{m}$  ある。また、 $\text{Na}^+$  は葉緑体の機能上、つまり生理的な面で重要な役割を果しているものと考えられる。また、アンチモン酸カリにより、細胞質が Electron dense な状態で観察される。前報でも述べた様に、生鮮葉体の表層細胞内に見られた葉緑体以外の小器官は変性が著しく、観察は不可能である。また、図中の細胞に見られるように、細胞内の小器官が変性して判別の困難なものもある。

皮層細胞では、細胞内の小器官が壊れて、原形を留めておらず、部分的にアンチモン酸カリによる Electron dense な細胞質が観察される。

葉体の中心部にある髓層の篩管の細胞壁は Cellulose からなる Microfibrils で形成されている (Ziegler ら 1967, 奥田1982)。篩管の細胞内 (Fig. 12) には Amorphous な物質が観察されるが、その中に、より Electron dense で Globular な  $\text{Na}^+$  の沈澱物が観察され、大きさは一定せず、小さいものは直径 0.067  $\mu\text{m}$ 、大きいものは直径 1  $\mu\text{m}$  ある。

Laminariales 中の新陳代謝で生じた物質の輸送については、Parker (1963, 1965, 1966),

Lüning ら (1971), Nicholson ら (1972), Hellebust ら (1972), Schmitz ら (1972), Steinbiss ら (1973) によって様々な解説が提供され、篩管は物質の輸送に携っていると結論づけている。海水中に  $\text{Na}^+$  は塩化物として海水の約 3 % を占め、 $\text{K}^+$  は海水 1 kg あたり 0.392 g 存在しており、 $\text{Ca}^{2+}$  は海水の平均濃度  $422 \text{ mg l}^{-1}$  である。 $\text{Cl}^-$  は塩化物として海水中には約 2 % の濃度で含まれている。その他海水中には  $\text{I}^-$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{P}^{5+}$ ,  $\text{Cr}^{3+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$  等の数多くのイオンの存在が知られている (日本化学会編 1976)。Blak ら (1952) は褐藻類の微量元素 17 種を定量し、海水より海藻体内へ取り込まれる割合を考察している。Parker (1965), Steinbiss ら (1973) は Laminariales の篩管浸出物は海水より  $\text{Na}^+$  含有量が少なく、D-マンニット、アミノ酸、蛋白質や  $\text{K}^+$  に富み、高等植物の篩部浸出物に類似しているとしている (Parker 1966)。また、*Macrocystis* の篩管浸出物の内容分析が Parker (1966) によって、試みられているが、それによると  $\text{Na}^+$  濃度は海水のわずか 8 % であり、 $\text{K}^+$  の濃度は海水の 24 倍である。マンニットやアミノ酸および、ある種の蛋白質を含む典型的な細胞液であると述べている。今回、アンチモン酸カリで固定する事により、篩管中における  $\text{Na}^+$  の存在を視覚的に捕らえる事が出来た。

#### (4) 復水した葉体の TEM による $\text{Na}^+$ の観察

復水 5 分後の  $\text{Na}^+$  の溶出状態を観察したところ、最外層の細胞壁の表面には  $\text{Na}^+$  の電子不透明な沈澱粒子が残存していたが、葉緑体は破壊されて、その形状を留めておらず (Fig. 13),  $\text{Na}^+$  の沈澱粒子も観察されない。しかし、細胞質の一部分 (Fig. 13 矢印) には  $\text{Na}^+$  の沈澱物が残存しているのが見られる。復水と共に細胞内部にも水が充満し、細胞内の小器官は破壊され、 $\text{Na}^+$  も流出したものと考えられる。

復水 5 分後の髓層の篩管細胞にも  $\text{Na}^+$  の沈澱粒子は見られず (Fig. 14), 復水と共に  $\text{Na}^+$  が流出し、細胞内の大部分を占める大小様々な空胞に水分が入っているものと考えられる。

佐藤ら (1980) はエレクトロンマイクロプローブアナライザー (EPMA) により、マコンブの内外両層組織の金属分布を調べているが、 $\text{Na}^+$  は内層部が高く、外層部が低く、内外両層で著しい分布の偏りがみられた。これに対し、 $\text{Ca}^{2+}$  は内・外両層でそれ程の差がみられず、部分的には外層部で高い部位のある事を認め、 $\text{K}^+$  はこれらの中間的な分布パターンを示し、 $\text{Na}^+$  にみられるような著しい分布の偏りはみられなかったとしている。植物における無機物は細胞生理機能上不可欠である。 $\text{K}^+$  は浸透との関係、デンプン合成、蛋白質の立体配座の安定化や、膜、pH の調節作用が知られている (Hewitt ら 1979)。 $\text{Ca}^{2+}$  は細胞壁の中葉、細胞内器官の膜や核形成の素地として要求される。そして細胞の有機と無機のアニオンの Base equivalent として働いている。 $\text{Cl}^-$  は光合成に関与し、 $\text{Na}^+$  は酵素活性化に影響がある事が知られている。今回、電顕による組織細胞化学的な観察の結果、 $\text{Na}^+$  はマコン

ブの最外層の細胞壁、葉緑体、細胞質および篩管細胞内に存在する事が確められた。 $\text{Na}^+$ 等の無機物の局在と、機能との関係については、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ -ATPase 活性等の面から解明する必要があると考えられる。

## IV 要 約

2年生の天然マコンブ (*Laminaria japonica*) を天火乾燥させた試料を用い、 $25^\circ\text{C}$  の蒸留水に一定時間浸漬して、復水量を調べると共に、水に可溶な全溶出成分、アミノ態窒素や $\text{Na}^+$ 、 $\text{Cl}^-$ 、 $\text{K}^+$ 、および $\text{Ca}^{2+}$ 等の無機物の溶出量を、経時的に定量的測定を行った。さらに、組織細胞化学的な面から、 $\text{Na}^+$ の局在と浸漬による溶出状態を形態学的に観察し、次のような結果を得た。

1. 復水量は浸漬開始と同時に5分迄は急速に増加するが、10分以降から60分迄はやや緩慢となり、その後はさらに一層緩慢となる三段階の復水速度を示す。

2. 水に可溶な全溶出成分は、復水後10分間の溶出割合が大きく、約20%溶出する。溶出量は60分で約50%となり、ほぼ一定となる。

3. アミノ態窒素は復水後5分で約30%溶出し、5分間での溶出割合が大きい。30分では70%溶出する。30分以降は非常に緩慢な溶出量となる。60分で約90%近くが溶出する。

4.  $\text{Cl}^-$ は復水後1分で30%溶出し、5分間で60%以上が溶出する。30分で溶出量はほぼ一定となり、90%近くの溶出量となる。

5.  $\text{K}^+$ は復水後1分で15%、5分で30%強が溶出する。30分で60%の溶出量となり、30分以降は大きな増加はみられず、60分では70%弱の溶出量ではほぼ一定となる。

6.  $\text{Ca}^{2+}$ は復水後1分で10%、5分で17%溶出し、30分で40%の溶出量となる。30分以降は極くわずかな増加しか認められず、60分で42%が溶出するにすぎない。

7.  $\text{Na}^+$ は復水後1分で約25%が溶出し、5分で約50%が溶出する。30分では70%の溶出量となり、30分以降は緩慢で、60分で約90%溶出する。

8.  $\text{Na}^+$ の溶出量と復水時間の関係の Regression line は  $Y=47.2995X^{0.3057}$  の式で求められる。検定結果は R squared, T value, Analysis of variance の数値から、この Regression line の有効性が示された。また、F value, Standard error, Confidence intervals の値から、非常に信頼度が高いと言える。

溶出成分におよぼす、復水時間の影響について実験した結果、60分以上の浸水は溶出量にほとんど差がない。復水量の測定結果から、60分あたりを復水の変換点と結論づけたが、これらの結果と、マコンブの水に可溶な成分の経時的な定量的測定結果はほぼ一致する。マコンブの水出汁法の浸水時間は30~60分が有効である。

9. 組織細胞化学的に  $\text{Na}^+$  の局在と、復水による溶出状態を観察した結果、 $\text{Na}^+$  は電子不透明な沈澱粒子として観察され、乾燥葉体中では、最外層の細胞壁、葉緑体、細胞質および篩管細胞内に存在する。5 分間復水後の葉体では最外層の細胞壁の表面と、細胞質の一部に  $\text{Na}^+$  の沈澱物が観察され、これらの部分に残存する。 $\text{Na}^+$  等の無機物の局在と、細胞構造との相関を実際の像として捕える事により、栄養学的、生理学的研究成果を裏づける事が出来ると言える。

終りに、終始御懇切な御指導を頂いた筑紫女学園短大 川上いつゑ教授、広島大学原爆放射能医学研究所 佐藤幸男教授に深く感謝申し上げます。御協力を頂いた広島県立食品工業技術センター 中川禎人氏に心から厚く御礼申し上げます。

なお、本報告は文部省科学研究費一般 C (58580063) の援助によるもので、結果の概要は、1984 年 9 月、日本家政学会第 36 回大会で発表した。

## 引 用 文 献

- 奥田弘枝 乾燥マコンブの復水特性とその微細構造(1). 広島女学院大学論集. 1983. 33 : 251—271.
- 石橋雅義・佐原良太郎 海洋に関する化学的研究(第 5 報), 水産植物中の無機成分に就て. 日本化学会誌. 1939. 61(3) : 277—279.
- 石橋雅義・佐原良太郎 海洋に関する化学的研究(第 6 報), 海藻に於けるハロゲンの分離—定量分析法—. 日本化学会誌. 1940. 61(5) : 513—517.
- 石橋雅義・山本俊夫 海藻の化学的研究(その 3), 海藻中の灰分, ナトリウム, カリウムの定量分析. 日本化学雑誌. 1958<sup>Ⓐ</sup>, 79(10) : 1179—1183.
- 石橋雅義・山本俊夫 海藻の化学的研究(その 4), 海藻中のマンガンの定量分析(1). 日本化学雑誌. 1958<sup>Ⓑ</sup>, 79(10) : 1184—1187.
- 石橋雅義・山本俊夫 海藻の化学的研究(その 5), 海藻中のマンガンの定量分析(2). 日本化学雑誌. 1958<sup>Ⓒ</sup>, 79(10) : 1187—1190.
- Black, W. A. P. and Mitchell, R. L. Trace elements in the common brown algae and sea water. Journ. Mar. Biol. Assoc. 1952. 30 : 575—584.
- Coulson, C. B. Amino-acids of marine algae. Chemistry and Industry. 1953. 12 : 971—972.
- Okada, I. Niino, H. and Kubo, I. Biochemical studies on the nitrogen compounds of algae. 東京水産大学特別研究報告. 1955. 41(2) : 139—142.
- Takagi, M. Chemical studies on marine algae X. Free and combined amino acids in marine algae. 北大水産彙報. 1956. 7(2) : 119—129.
- 山本俊夫 海藻の化学的研究(その 6), 海藻中のカルシウム, マグネシウム, リンの含有量について. 日本化学雑誌. 1960<sup>Ⓓ</sup>, 81(3) : 381—384.
- 山本俊夫 海藻の化学的研究(その 7), 海藻中の鉄含有量について. 日本化学雑誌. 1960<sup>Ⓔ</sup>, 81(3) : 384—388.
- 山本俊夫 海藻の化学的研究(その 8), 海藻中のクロムの定量分析. 日本化学雑誌. 1960<sup>Ⓕ</sup>, 81(4) : 388—391.



- 森井ふじ 海藻中のアルミニウム含有量. 日本化学雑誌. 1961. 82(11): 1510—1511.
- 大石圭一・田村祐子・金井英治・親松 厚・奥村彩子 昆布の品質—Ⅲ, エキス全窒素およびアミノ態窒素との関係. 日水誌. 1961④. 27(6): 598—600.
- 大石圭一・田村祐子・金井英治・親松 厚・奥村彩子・村田喜一 昆布の品質—Ⅳ, エキスのアミノ酸組成との関係. 日水誌. 1961⑤. 27(6): 601—605.
- 大石圭一・高木光造・奥村彩子 昆布の品質—Ⅸ, マコンブのエキスアミノ酸組成. 日水誌. 1967④. 33(1): 41—46.
- 大石圭一・高木光造・国崎直道・奥村彩子 昆布の品質—Ⅹ, 昆布葉体のエキスアミノ酸の分布. 1967⑤. 33(11): 1038—1043.
- Kuriyama, M. Ninhydrin reactive substances in marine algae-I, On the absorbable fraction on strong cationic ion-exchange resin. 日水誌. 1961④. 27(7): 689—693.
- Kuriyama, M. Ninhydrin reactive substances in marine algae-II, On the non-absorbable fraction on strong cationic ion-exchange resin. 日水誌. 1961⑤. 27(7): 694—698.
- Kuriyama, M. Ninhydrin reactive substances in marine algae-III, On the chemical structure of "Unknown A" isolated from red algae. 日水誌. 1961⑥. 27(7): 699—702.
- Lunde, G. Analysis of trace elements in seaweed. J. Sci. Fd. Agric. 1970. 21: 416—418.
- 細田毅一 ナガコンブの成分に関する研究—I, 一般成分について. 日水誌. 1970. 36(7): 698—701.
- 細田毅一 ナガコンブの成分に関する研究—Ⅱ, 無機成分について. 日水誌. 1972. 38(12): 1405—1409.
- 細田毅一 ナガコンブの成分に関する研究—Ⅲ, 呈味成分について. 日水誌. 1975. 41(7): 739—742.
- 吉村彩子・大石圭一 昆布葉体の無機成分の分布—I, 金属元素について. 日水誌. 1973④. 39(3): 317—321.
- 吉村彩子・大石圭一 昆布葉体の無機成分の分布—Ⅱ, 陰イオンについて. 日水誌. 1973⑤. 39(3): 323—325.
- 吉村彩子・多田浩子・左海みさ・原田武夫・大石圭一 昆布葉体の無機成分の分布—Ⅲ, 促成栽培マコンブ発育過程における無機成分の消長. 日水誌. 1976. 42(6): 661—664.
- Fuge, R. and James, K.H. Trace metal concentrations in brown seaweeds. Cardigan by Wales Marine Chemistry. 1973. 1: 281—293.
- Ouatrano, R.S. and Crayton, M.A. Sulfation of fucoidan in *Fucus* Embryos I, Possible role in localization. Developmental Biology. 1973. 30: 29—41.
- Komnick, H. Elektronenmikroskopische Lokalisation von  $\text{Na}^+$  and  $\text{Cl}^-$  in Zellen and Geweben. Protoplasma. 1962. 55: 414—418.
- Klein, A.T. and Klein, P.L. Cation distribution and cardiac jelly in early embryonic heart, A histochemical and electron microscopic study. J. of Molecular and Cellular Cardiology. 1971. 2: 31—40.
- 水平敏知 組織細胞内電解質の電子顕微鏡的検出法と細胞生理学的意義. 1969. 蛋白質核酸酵素. 14(9): 12.
- 水平敏知 電解質の細胞内固定, 検出法. 1971. 医学のあゆみ. 76(5): 349—362.
- 水平敏知 電子顕微鏡, 医学生物学への応用. 1972. 142—147. 医歯薬出版. 東京.
- 佐藤幸男・上野武久・岡本直正・円山英昭 電顕組織化学による  $\text{Na}^+$  を指標としての心内膜床の検索. 広島大学「原医研年報」. 1972. 13: 37—45.
- 小川和朗・武内忠男・森富編集 新組織化学. 1975. 674—680. 朝倉書店. 東京.

- 奥村彩子・大石圭一・村田喜一 昆布の品質—Ⅶ, エキス全Nおよびアミノ-Nの水抽出条件. 日水誌. 1963. 29(12): 1089—1091.
- 佐藤孜郎・円原敬子 昆布藻体の内・外両層組織の金属組成および多糖類組成. 日水誌. 1980. 46(6): 749—759.
- 木下サキ 味覚検査から見た出汁の取り方について第Ⅱ報 昆布の出汁. 熊本女子大学学術紀要. 1962. 14(1): 27—36.
- 唯岡蘭子 昆布煮出汁の研究. 家政学雑誌. 1957. 7: 156—159.
- Ellenbulger, R. Use of pyroantimonate in the locarization of sodiumions in Rat kidney tissue. J. Cell Biol. 1969. 40: 79—94.
- Ziegler, H. and Ruck, I. Untersuchungen über die Feinstruktur des Phloems III, Die “Trompetenzellen” von *Laminaria*-Arten. 1967. Planta. 73: 62—73.
- 奥田弘枝 *Undaria pinnatifida* 成熟葉体の電子顕微鏡的観察, 特に節管部の微細構造について. 広島女学院大学論集. 1982. 32: 137—154.
- Parke, B. C. Translocation in the giant kelp *Macrocystis*. Science, New York. 1963. 140: 891—892.
- Parker, B. C. Translocation in the giant kelp *Macrocystis* 1, Rates, direction, quantity of  $^{14}\text{C}$ -labelled products and fluorescein. J. Phycol. 1965. 1: 41—46.
- Parker, B. C. Translocation in *Macrocystis* III, Composition of sieve tube exudate and identification of the major  $^{14}\text{C}$ -labelled products. J. Phycol. 1966. 2: 38—41.
- Lüning, K. Schmitz, K., and Willenbrink, J. Translocation of  $^{14}\text{C}$ -labelled assimilates in two *Laminaria* species. In proc. 7th Int. Seaweed Symp. Sapporo. Japan. 1971. 420—425.
- Nicholson, N. L. and Briggs, W. R. Translocation of the photosynthate in the brown alga *Nereocystis*. Am. J. Bot. 1972. 59: 97—106.
- Hellebust, J. A. and Hang, A. Photosynthesis, translocation and alginic acid synthesis in *Laminaria digitata* and *Laminaria hyperborea*. Can. J. Bot. 1972. 50: 169—176.
- Schmitz, K. Lüning, K. and Willenbrink, J.  $\text{CO}_2$ -fixierung und Stofftransport in benthischen marinen Algen II, Ferntransport  $^{14}\text{C}$ -markierter Assimilate bei *Laminaria hyperborea* und *Laminaria saccharina*. Z. Pflphysiol. 1972. 67: 418—429.
- Steinbiss, H. H. and Schmitz, K.  $\text{CO}_2$  Fixierung und Stofftransport in benthischen marinen Algen V. Zur autoradiographischen Lokalisation der Assimilattransportbahnen im Thallus von *Laminaria hyperborea*. Planta. 1973. 112: 253—263.
- 日本化学会編 新実験化学講座9, 分析化学[1], 1976. 45—498. 丸善K.K. 東京.
- Hewitt, E. J. and Smith, T. A. Plant mineral nutrition. The English Universities press Ltd, London 1979. 鈴木米三・高橋英一共訳. 植物の無機栄養. 1979. 111—148. 理工学社. 東京.

**Explanations of the Figures**

- Fig. 9.** Longitudinal section of dried leaf body of *Laminaria* fixed by potassiumantimonate-osmium mixture. From outerlayer, sorus (S), epidermal (E), cortical (C) and medulary (M) cell layers are observed. The electron opaque pyroantimonate precipitable cation ( $\text{Na}^+$ ) deposits are not seen by the light microscope. Richardson staining.  $\times 850$
- Fig. 10.** Light microscopic photograph 5 minutes after rehydration of the *Laminaria*. By the rehydration the outline of the cell wall becomes clear, while the contents of the cytoplasm are obscure. Richardson staining.  $\times 880$
- Figs. 11-14.** Electron microscopic photographs of the *Laminaria*.
- Fig. 11.** Dried leaf body of *Laminaria*. The electron opaque pyroantimonate precipitable cation ( $\text{Na}^+$ ) deposits are observed outer layer of the cell wall, sorus ( $\uparrow$ ) and in the chloroplast ( $\uparrow\uparrow$ ).  $\times 14000$
- Fig. 12.** Sieve tube of dried *Laminaria*. The various sized electron dense pyroantimonate precipitable cations ( $\text{Na}^+$ ) are scattered among the amorphous substances.  $\times 60000$
- Fig. 13.** Epidermal cells 5 minutes after rehydration. The structure of the cytoplasm are not clear. A few  $\text{Na}^+$  deposits are observed ( $\uparrow$ ).  $\times 30000$
- Fig. 14.** Sieve tube cells 5 minutes after rehydration. No deposits of  $\text{Na}^+$  are seen. Many vacuolations (V) may contain solution.  $\times 24000$

