

Schlenker の植物体中の硝酸態窒素定量法の 変法について

永井 恭三・故 老 田 実

On the Modified Schlenker's Method of Determining Nitrates in Plant Materials

KYOZO NAGAI and the late MINORU OIDA

1. 緒 言

植物体中の硝酸態窒素の定量については、搾汁または水浸出液について、溶存有機物、塩素を除去して後に清澄な溶液にしてから行なう、フェノール硫酸法の比色定量法が現在も広く一般に行なわれている。

Schlenker の硝酸定量法¹⁾もこのフェノール硫酸を用いる方法で、有機物・塩素など各種妨害物質の排除のほか、試料検液の脱色、発煙硫酸の調製、供試窒素量の量的制限、黄色呈色の比較的不安定などの問題を含み、実験操作として比較的わずらわしいものといえる。

著者の1人永井はさきに、セミマイクロ型コンウェーユニット（外径約10 cm）の内室部を、高さ約8.5 cmの円筒形に引き伸ばした変形ユニット（胴長ユニット）（最近は円筒形よりも、三角フラスコ型にやや広底式にしたものを使用している）を用いて、微量拡散分析法による $\text{NO}_3\text{-N}$ 定量を報告した²⁾。

この胴長ユニットを使用すれば、多量の供試液でも内室に採り加熱濃縮することが可能である。また50 ml 容ビーカーをその上端を内室の縁に掛けて、内室内に懸垂することができるので、このビーカーを用いて加熱濃縮後、これをユニット内室に置いて定量することもできる。本ユニット考案の根拠をなすものであるが、このユニットによると、還元剤の添加デバルダ合金粉末が発泡する際、アルカリ微粒子が上方の外室受液中に飛散することはほとんどなく、硝酸のアンモニア還元を安心して行なうことができる。

著者らはこの胴長ユニットを使用して、強アルカリ性下で過酸化水素・臭素水などのような酸化剤を働かせて、植物体浸出液中の亜硝酸・硝酸塩以外の水溶性窒素を分解揮散してから硝酸態窒素を定量した。この方法は手数のかからない、簡易な $\text{NO}_3\text{-N}$ 定量法と考えられるの

で、臭素水による酸化定量法は後の機会に譲り、ここでは過酸化水素水を用いる方法について発表する。

2 実 験 方 法

Schlenker の方法によって植物体を処理する。この方法は上述のように、障害物質の Cl^- の除去などが重要な操作となっているが、著者らの方法では、共存の硝酸量の増減を伴うことのない水溶性窒素の完全排除ができさえすればよい。もっとも亜硝酸と硝酸の存在する場合は、本法ではこの両者を定量することになるから、検液について別に $\text{NO}_2\text{-N}$ を比色定量する必要がある。^{3), 2)}

操作法

1) 植物体のなまの試料一定量（2～10 g）に数倍量の一定量の水を乳鉢に加える（乾燥物の場合は200～500 mgに10～20 gの一定量の水を加える）。ついで乳棒で試料をよくすりつぶす。

2) 特級水酸化カルシウムの小さじ1杯分（約0.3 g）をこれに加え、かきまぜてから濾紙で吸引濾別する。

3) 濾液5～10 mlを100 mlメスフラスコに採り、1 N塩化銅溶液1 mlを加えて振りまぜてから、特級塩基性炭酸マグネシウム0.5 g、同じく水酸化カルシウム0.2 gをさらに添加し、水で100 mlとしてからよく振とうする。

4) 振とう後1夜静置してから上澄み液10 mlを、前記胴長ユニットの内室、または50 ml ビーカーに採取し、30 % 水酸化ナトリウム3 mlを添加してかきまぜる。さらに特級過マンガン酸カリウム結晶の微量（2～3 mg）をこれに加えて溶解する。

5) 一級30 % 過酸化水素の1滴で二酸化マンガンを還元した後、さらに3～5滴滴下して液を静かにまぜ合わせる。

6) 電熱器上で40～60Vの低圧にして、ユニットまたは50 ml ビーカーを加熱し、急激な発泡のないように徐

々にあたためる。溶存有機物の分解と、生成アンモニアの揮散を行ないつつ濃縮して、液量が3 ml程度となったら、さらに水を約10 ml 加え、振ってからこれを水で冷やす。次に過酸化水素水をさらに数滴加え、再び加熱濃縮を繰り返す。

7) 第2回の濃縮が終わったら、少量の水を追加し、乾燥器内にしばらくの間、ユニット、またはビーカーをいれその周囲に付着した水滴を乾燥する。ついでユニット使用の場合は水でユニットを冷やしてから、外室を洗瓶と駒込ピペットで数回注意して水洗。排水を繰り返し、濃縮中に多かれ少なかれ飛散したアルカリをよく洗い流す。ビーカー使用の場合は冷却後ユニットの内室にいてつす。この洗浄操作を必要としない50 ml ビーカー使用の方が、場所を取らないので多数を一時に処理することもでき、またユニットが肉厚で加熱冷却のために底にひびがはいりやすいことを考えると好都合である。ただ発泡による試料の散失に留意しなければならない。

8) 以下の操作は既報^{2), 3)}のとおりで、外室に2 % ホウ酸約3 mlをいれ、B.C.G., M.R. 混合指示薬2滴を加えて、赤色の変化しないことを確かめる。デバルダ粉末をミクロスパチュラ1杯分、なるべく一様に内室またはビーカーの底に振り落とし、ふたをしてから発泡が盛んになったら、注意して振り動かし均一に反応させる。30℃ の定温器内に1夜静置してホウ酸にアンモニアを吸収させる。翌日N/200硫酸で滴定し、H₂O₂, KMnO₄, 沈殿剤だけのブランク滴定値を差し引いてNO₃-N量を求める。

3. 定量法の検討と実験結果

a. 本法の検討

上記定量法は次の諸点が検討の対象となる。

1) 2回の強アルカリ液における酸化濃縮処理で溶存有機物の分解、生成アンモニアの散失は完全であるか。

2) 濃縮処理中に共存硝酸塩の分解、または逆に他の窒素化合物から酸化窒素が酸化生成されて硝酸の正の誤差をきたすことはないか。

3) ごく少量のMnO₂であるが、その存在下でNO₃-NのNH₄-Nへの還元と生成NH₄-Nのホウ酸受液への揮散は完全であるか。

以下これらについての検討結果を順番に述べる。

1) 定量法に従って得られた滴定値が、NO₃-N以外の窒素量を含んでいるか否かは、次のようにしてみれば簡単に知られることを、実験中に気付いた。

NO₃-N 滴定後、すぐユニットのふたをバネで締めて、内室の、またはビーカー内の液をよく振りまぜてから、そのまま30℃ に再度1夜放置する。次の朝、外室のホウ酸溶液の呈色状態を見る。供試液の水溶性窒素化合物の分解が不十分であった場合は、30℃ 放置中でも引き続きその分解が、多かれ少なかれ営まれており、NH₄-Nの生成揮散が継続しているために、受液の青色化が1夜のうちに多少なりとも見られる。ただしNO₃-N量が280 μg (N/200 硫酸で4 ml) 以上の多量の場合は、1夜だけの揮散で不十分なこともあるから注意すべきである。

このように滴定後のアンモニア揮散の有無から、下記の各試料について濃縮処理による有機物の分解状態をしらべたが、どの試料も滴定後1夜放置しておいても、受液は滴定直後の鮮明な赤色を、ほとんどそのままに保持していた。これにより2回の加熱操作で溶存窒素有機物の分散は完全とみなしてよい。

供試材料

イ. ブドウ生葉の水浸出液

本年6月採取直後の生葉50 g を、ミキサーで粉砕搾汁し、水で洗いながらガーゼで濾過し、500 ml とする。これを18,000 r. p. m., 10分間遠沈し、上澄み液を10 ml 採り、以下定量法4)以下に従った。

ロ. 牧草2種(ローズグラス、ソルゴー)。青刈用トウモロコシ葉・カブ葉のいずれも日乾後粉砕水浸出液

いずれも飼料用に採取したものをガラス室内に約1週間放置し天日乾燥してから、ワイヤー粉砕器を用いて粉砕した。その100 mg を定量法3)以下に従って処理した。

2) 上記1)の供試材料を定量法によって処理し、操作法4)の上澄み液に、あらかじめ一定量のNO₃-Nを添加したものとし、その2種を調製し、NO₃-Nを求めた。この結果を第1表に示す。表よりNO₃-N添加の有無の場合の滴定値の差は、どの場合にも添加量を示すことが明らかで、この結果から濃縮処理によって共存硝酸の損失は生じないと考えてよい。

次に共存窒素化合物からの酸化態窒素生成の有無の問題である。これについては第1表のブドウ葉のその2の成績が示すように、この場合にはNO₃-Nが含まれていない。すなわち本法によれば、前記1)の水溶性窒素の除去の完全なことはもちろん、酸化態窒素生成は起こらないとしてよい。

3) 微量のKMnO₄添加の理由は、加熱中に添加H₂O₂の酸化作用を円滑に行なわせて酸素の発泡を緩和するためと、有機物に対する酸化反応をコロイド的MnO₂の

第1表 NO₃-N添加濃縮処理後の残存量 (μg)

供試材料	NO ₃ -N 添加量	NO ₃ -N添加の有無		残存量 (1)-(2)
		有 (1)	無 (2)	
ブドウ葉浸出液 その 1	52	70	14	56
同上 その 2	104	105	0	105
同上 その 3	104	115	12	103
乾燥トウモロコシ 葉浸出液	104	136	31	105
乾燥ローズグラス 浸出液	104	176	70	106

の存在下に有効的にしようと期待したためである。

ここで問題になるのは強アルカリ性下で硝酸塩を還元揮散するのに、MnO₂ の存在の影響があるかどうかということである。この検討は次のようにして行なった。胴長ユニットにNO₃-N を加え液量10 ml としてから、30 % NaOH 3mlを加え、2～3 mg のKMnO₄ 結晶を添加し溶解後に、30 % H₂O₂ 1滴を加えてMnO₂ に還元する。約5 mlに電熱器上でゆるやかに加熱濃縮する。冷却してから定量法に従ってNO₃-N を定量する。実験結果は第2表に示した。これによりMnO₂ の共存はNO₃-N 定量になんらさしつかえのないことが明らかになった。

第2表 MnO₂添加の有無の場合のNO₃-N
定量値 (μg)

MnO ₂ 添加の有無			
有		無	
その 1	105	その 1	104
その 2	105	その 2	105
その 1	209	その 1	209
その 2	210	その 2	208
その 1	313	その 1	315
その 2	315	その 2	314

以上によって本法による場合の問題点は解決したものと思われる。ここで数例の定量結果を第3表に示しておく。

第3表 風乾植物体中のNO₃-N

試料名	風乾物10 mg 中の NO ₃ -N (μg)	対風乾物 %
牧草ローズ グラス	その 1 73.5	0.74
	その 2 70.0	0.70
	その 3 68.3	0.68
	その 4 70.0	0.70
	その 5 70.0	0.70
	平均 70.4±0.7	平均 0.7
牧草 ソルゴー	その 1 112.0	1.12
	その 2 113.8	1.14
	その 3 112.0	1.12
	その 4 108.5	1.09
	その 5 106.8	1.07
	平均 110.6±0.9	平均 1.1
トウモロコシ 葉	その 1 31.5	0.32
	その 2 33.2	0.33
	その 3 29.8	0.30
	平均 31.5±1	平均 0.3
カブ葉	その 1 176.8	1.77
	その 2 175.0	1.75
	その 3 173.3	1.73
	平均 175±0.7	平均 1.75

4. 要 約

Schlenker の植物体中のNO₃-N 定量法の変法として、大型コンウェーユニットの内室部を、高さ約8.5 cmの円筒形に伸長した特製ユニットを使用し、微量拡散分析法でNO₃-N を定量した。この方法を次に示す。

1. 試料浸出液にCuCl₂・MgCO₃、Ca(OH)₂を加え振とう後の上澄み液一定量を、ユニットの内室(容量約130 ml)、または50 ml 容ビーカーに採り、強アルカリ液を加えてから、微量のKMnO₄ 結晶、30 % H₂O₂ を数滴添加する。ゆるやかに加熱して検液を濃縮し、溶存有機物をスムーズに分解し、生成NH₃を揮散させる。普通2回の濃縮操作で目的は達せられる。

2. 冷却後外室に2%ホウ酸をNH₃吸収剤として入れる。デバルダ合金粉末を内室の懸濁液に、または濃縮処理した50 ml ビーカーを内室に置いて、その上縁でこれをつ

るした後その懸濁液に付加して硝酸を還元し、30℃に1夜放置して $\text{NH}_4\text{-N}$ として吸収させ、 $\text{N}/200$ 硫酸で滴定する。

なお本実験に供試試料を寄贈され、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 定量法の多数の文献写しを贈与された茨城県農試竜ヶ崎試験地主任酒井一氏、実験にご助力いただいた飯島和子氏の両氏に厚く謝意を表する。

最後に本定量法の検討をはじめとし、川・井戸水、作物体中の $\text{NO}_3\text{-N}$ 定量実験に熱心に従事した後、千葉

県に奉職すること約4か月、さる8月13日23才の若さで病のため急逝された故・老田実君のご冥福を心からお祈りいたします。

文 献

- 1) Schlenker, F. S. : Plant physiol. 18, 141 (1943)
奥田 東：植物栄養生理実験書, p. 142 (1953) 朝倉書店
- 2) 永井恭三：茨大農学術報告, No. 18, p. 9 (1970)
- 3) 永井恭三・藤田一二三：同上, No. 4, p. 49 (1956)

Summary

The modified Schlenker's method of determining nitrates in the plant material by microdiffusion analysis was introduced using special-made Conway's type diffusion unit (dia. 10 cm) with cylindric inner part 8.5 cm in height.

The method is as follows:

1. An aliquot of clarified solution of plant juice possible with cupric chloride, calcium hydroxide and magnesium carbonate is transferred to inner apartment of the above-mentioned modified unit, or 50 ml beaker with sodium hydroxide solution.
2. After minute amounts of potassium permanganate and a few drops of 30% hydrogen peroxide are added to the solution, the unit or the beaker is gently heated and the solution is evaporated to a few milli litres. The concentration is repeated once more after addition of water and hydrogen peroxide.
3. After cooling, a few ml of 2% boric acid are taken in outer chamber of the unit and Devarda's alloy powder is added to the solution in inner part or in the beaker placed there according to Conway's diffusion analysis.
4. After standing at 30℃ for a night, ammonia absorbed in boric acid solution is titrated with $\text{N}/200$ sulphuric acid.