

イオン電極による生草中硝酸塩の定量

中村 豊・加藤一俊・吉田條二・中村亮八郎

Determination of Nitrate in Green Forages with the Specific Ion Electrode

YUTAKA NAKAMURA, KAZUTOSHI KATO, JOJI YOSHIDA
and RYOHACHIRO NAKAMURA

近年、本邦各地で粗飼料中の硝酸塩に起因する乳牛の硝酸中毒が報告^{1)~3)}されており、その発生要因の一部は⁴⁾ 解明されたが、実用的な防除方法は見出されているとは言いがたい。粗飼料中の硝酸塩含量を簡便、迅速に測定し、容疑飼料の給与を避けるか、あるいはその給与量を制限することも硝酸中毒防除の一方法であろう。

従来の分析方法は操作が複雑で迅速性に欠ける嫌いがあり、また既報の簡易定量法⁵⁾は、終点の判定に多少の慣れを要し、希釈倍数によっては大きな誤差を生ずることがある。最近、我国でも野菜や雑草、および家畜糞尿中の硝酸塩の定量にイオン電極法が利用^{6),7)}されており、その有用性が報ぜられている。

植物組織中には硝酸イオン以外に塩素イオン等、種々⁸⁾の陰イオンが含まれており、硝酸電極はこれらにもある程度応答^{9),10)}するため、その共存は測定の妨害^{9),10)}となる。妨害の程度は、試料中に存在する妨害イオンと硝酸イオンの濃度、および両者に対する電極の応答力の比によって異なる^{9),10)}。測定試料は各種のものが対象となり、従って共存イオンの種類、濃度、存在比等も相異し、その妨害の程度が異なることは予想に難くはないであろう。

著者らは、粗飼料または野草についてイオン電極による硝酸塩定量の可能性の有無、および定量条件について検討した。

材料および方法

1. 材料

当研究室実験圃場で慣行の施肥により栽培したイタリアンライグラス、オーチャードグラス、カブ葉、また鶏糞を多用した場所に生育したイタリアンライグラス、アカザ、アオビユ、および化成肥料、もしくは牛尿を多用して栽培したトウモロコシ、ソルゴー、スーダングラス、ローズグラスを供試した。なお、以下においてはイタリアンライグラスはイタリアン、オーチャードグラス、スーダングラス、およびローズグラスについてはそれぞれオーチャード、スーダンおよびローズと略称する。

2. 試薬

- (1) 0.0122M 硫酸銀溶液； Ag_2SO_4 3.5g を蒸留水 1 l に溶解する。
- (2) 硝酸標準液；蒸留水 1 l に NaNO_3 6.07g と Ag_2SO_4 3.5g を溶解し、硝酸態窒素 ($\text{NO}_3\text{-N}$) として 1000ppm の標準液を調製した。これを 0.0122M 硫酸銀溶液で段階希釈して 100ppm, 10ppm の $\text{NO}_3\text{-N}$ 標準液を用意した。

なお、蒸留水は AgNO_3 液で Cl^- が検出された場合にはイオン交換樹脂を通して再製したものをを用いた。

3. 使用機器

オリオン社製のイオンメーター：407A型、硝酸電極：

93-07型, 比較電極: 90-02-00型(外部液に0.25M Na₂SO₄液を使用)を用いた。

4. 測定方法

上記新鮮材料の細切物を50gとりこれに蒸留水200mlを加えて家庭用電動ミキサーで破碎, 混和し, 四重ガーゼで濾過して浸出液を得た。一定量の浸出液を蒸留水, または0.0122M 硫酸銀溶液を用い, 測定時のNO₃-N濃度が10~100ppmの範囲内となるように希釈した。後で希釈した場合は濾紙No. 5Bの濾液を測定に供した。

まず, 硝酸電極をNaNO₃溶液(NO₃-N, 200ppm)に浸しておき, 次いで電極の安定性(応答時間の速さ, ノイズやドリフトの有無, 再現性の良否)を確かめつつ, 上記2点の標準液を用いてメーターと電極のキャリブレーションを行った。その後, 供試液について測定をし, 赤色対数目盛でその濃度を直接読み取り, 浸出液中のNO₃-N含量(以下測定値と記す)を求めた。同一浸出液

について既報の比色法¹¹⁾でNO₃-N濃度(以下比色値と記す)を定量し, これと上記測定値を比較照合した。

なお, 材料の水分は赤外線水分計で測定した。

5. Zn(OH)₂処理

通常は, 浸出液に硫酸銀溶液を添加して濾過すると濾液は清澄になるが, 材料によっては混濁するものがあり, その際は, 濾液1部に対し, 10g/dl ZnSO₄·7H₂O液とN/2 NaOH液とをそれぞれ1部づつ加えてNo.5A濾紙で濾過し, 清澄な濾液を供試した。

結果および考察

1. オリオン社の分析ガイドによる植物組織中のNO₃-Nの測定方法では, 材料を乾燥, 粉碎し, これを用いて抽出液を調製するが, 本実験ではこのような操作は行わず, 前述のように新鮮物から直接浸出液を作製し, 分析に要する時間の短縮を計った。本実験で希釈に蒸留水も使用

第1表 生草中の硝酸塩含量*

生 草	水 分 %	KNO ₃ , %		草 丈 cm	刈 取 日 月/日	備 考
		F M 中	D M 中			
イタリアン - 1	89.1	0.05	0.46	35~ 50	5/31	慣行施肥
オーチャード - 1	83.7	0.24	1.47	65~ 80		
オーチャード - 2	83.6	0.05	0.30	25~ 45		
カ ブ 葉	87.8	0.17	1.39	15~ 25	3/15	鶏糞多用
イタリアン - 2	86.1	0.43	3.09	45~ 60	5/24	
ア カ ザ	89.3	0.83	7.76	60~ 90		
ア オ ビ ユ	88.2	1.20	10.14	100~120	6/16	

*比色値

したのは, 蒸留水希釈でも測定可能であれば分析操作がより簡便化できると思われ, またNO₃-N含量の高い浸出液について段階希釈による測定を行ったのは, 希釈倍数が高くなれば妨害イオンの影響が小さくなり, 測定精度が向上すると想像されたからである。

2. 慣行施肥栽培, あるいは鶏糞多用場所に生育した生

草の硝酸塩含量(比色値)を第1表に示した。鶏糞を多用した場所に生育したものは硝酸塩含量が高く³⁾, 予想通りであった。アカザとイタリアン-2では前者の方が後者をかなり上廻った。また, 刈取日は異なるがアオビユのそれはこれらよりも高く, アオビユの硝酸塩蓄積力の強さ¹²⁾が本実験でも示された。

第2表 浸出液中の NO₃-N 含量

	稀 釈 倍 数	浸 出 液 中 NO ₃ -N, ppm			対 比 色 値 比, %	
		測 定 値		比 色 値	蒸 留 水 稀 釈	硫 酸 銀 液 稀 釈
		蒸 留 水 稀 釈	硫 酸 銀 液 稀 釈			
イタリアン -1	2	36	16	14.5	248	110
オーチャード-1	2	136	120*	69.5	196	173
オーチャード-2	2	60	14	13.3	451	105
カ ブ 葉	2	35	23	23.5	149	97.9
イタリアン -2	2	160	140	124	129	113
	10	155	130		125	105
ア カ ザ	4	256	236	234	109	101
	10	240	220		103	94.0
ア オ ビ ユ	4	400	352	341	117	103
	10	390	328		114	96.2

* ……濾液混濁

硝酸電極による測定値は第2表に示す通りであり、比色値も併記（以下同じ）した。稀釈に蒸留水を用いた場合、アカザは比色値に近似したが、アオビユで比色値の約120%、イタリアンで130~250%、オーチャードで200~450%となり、かなり高い値を示した。硫酸銀溶液を使用すると、オーチャード1を除いては比色値とほぼ一致するか、あるいはその94~113%の値が得られた。

本実験結果から、稀釈倍数を5倍程度高くしても測定値が比色値に近接することはないとみなされ、また硫酸銀溶液による前処理を行えば表示したような精度で測定できることが認められた。

オーチャード-1の場合は、硫酸銀溶液稀釈でも測定値は比色値よりも著しく大で、その原因は濾液が混濁（緑色）したためと考えられた。従って、これを除いて測定すれば比色値に近似すると予想されたので、この濾液を14,000rpm、10分間遠沈して上澄液について測定したところ、比色値の96.8%の値が得られた。しかし、遠沈による混濁の除去は現場で行う方法としては必ずしも適当ではない。そこで、Zn(OH)₂による除蛋白処理を行っ

第3表 オーチャード-1に対する Zn(OH)₂ 処理^{*}の効果

稀 釈	稀 釈 倍 数	最終 稀釈 倍数	浸出液中 NO ₃ -N, ppm		対 比 色 値 比 値, %
			測定値	比色値	
蒸 留 水	2	6	120	69.5	173
硫 酸 銀 液	2	6	63		90.6

* ……3倍稀釈

て測定し、その結果を第3表に示した。蒸留水で稀釈した浸出液を Zn(OH)₂処理しても、なお、測定値は比色値の約170%と高値であったが、硫酸銀溶液を用いたものを同処理した場合は、比色値の90.6%となり、近似の値が得られた。このように蒸留水-Zn(OH)₂では効果がなく、硫酸銀溶液-Zn(OH)₂処理をすると比色値に近い値が示されたが、混濁物の妨害の理由については、本実験の目的上、追及はしなかった。

3. 多肥栽培した生草の1番刈の硝酸塩含量(比色値)は第4表に示す通りである。いずれの生草も硝酸塩含量が比較的高かった¹³⁾が、これは施肥量が両区とも窒素換算

第4表 1番刈生草中の硝酸塩含量*

生草	区	水分 %	KNO ₃ , %		草丈 m	刈取日 月/日
			FM中	DM中		
トウモロコシ	I	91.9	0.29	3.52	1.1~1.3	7/24
	II	93.1	0.32	4.59	1.0~1.3	
ソルゴー	I	91.3	0.42	4.82	1.3~1.5	
	II	90.4	0.57	5.94	1.1~1.4	
スーダン	I	90.8	0.76	8.24	1.3~1.5	
	II	89.5	0.67	6.37	1.1~1.4	
ローズ	I	88.8	0.82	7.35	0.6~0.8	
	II	87.6	0.95	7.67	0.5~0.7	

* 第1表に同じ

** I区: 堆肥+化成肥料,
II区: 堆肥+化成肥料+牛尿

で慣行の約3倍であり、かつ概して若い時期に刈取ったためであると推定された^{12), 13)}。

第5表に示した通り、稀釈に蒸留水を用いて測定した場合、I区のとウモロコシでは比色値の91.4%であったが、他のものではその約120~150%となり、かなり高値であった。硫酸銀溶液を用いた場合は比色値とほぼ一致した。なお、蒸留水を用いた場合、II区のものの方が高値になる傾向があるのは、牛尿施用の影響で本測定法の主たる妨害物質のCl⁻濃度が材料中で高いのではないかと想像された。

2番刈生草の硝酸塩含量(比色値)は第6表の通りである。1番刈にくらべ、硝酸塩含量がかなり低下しており、生育段階が進んだ時期^{12), 13)}に刈取ったことがその主因であると推定された。

第5表 1番刈生草浸出液中のNO₃-N含量

	区**	浸出液中 NO ₃ -N, ppm			対比色値比, %	
		測定値		比色値	蒸留水稀釈	硫酸銀液稀釈
		蒸留水稀釈*	硫酸銀液稀釈*			
トウモロコシ	I	74	79	81.0	91.4	97.5
	II	103	83	89.0	116	93.3
ソルゴー	I	140	113	118	119	95.8
	II	215	158	161	134	98.1
スーダン	I	315	200	214	147	93.5
	II	238	188	189	126	99.5
ローズ	I	273	223	233	117	95.7
	II	370	297	287	129	103

* 5倍稀釈, **..... 第4表に同じ

イオン電極で測定をする場合、前述の通り、稀釈に蒸留水を用いると比色値よりも高値が得られる傾向があるので、稀釈には硫酸銀溶液だけを用いて実施した。結果は第7表に示す通り、比色値の約90~101%となり、前述の測定値(第2, 5表)と比較し、2番刈の場合でもほぼ満足すべき結果が得られた。

4.以上、イオン電極による生草中の硝酸塩の測定は、硫酸銀溶液を使用し、混濁に気を付ければ、操作が比較的簡便で、しかも結果が迅速に得られ、また比色値に対して±10%の誤差で定量され、硝酸中毒発生の可能性の予知は充分出来得るので、簡易測定法としては有用であると推定された。

第6表 2番刈生草中の硝酸塩含量*

生草	区	水分 %	KNO ₃ , %		草丈 m	刈取日 月/日
			FM中	DM中		
トウモロコシ	I	88.3	0.08	0.68	2.5~2.8	8/25
	II	85.1	0.23	1.54	2.5~2.8	
ソルゴー	I	87.0	0.27	2.08	2.9~3.3	
	II	89.9	0.17	1.68	2.8~3.2	
スーダン	I	90.5	0.45	4.74	2.7~3.0	
	II	90.3	0.27	2.78	2.4~2.8	
ローズ	I	86.4	0.40	2.94	0.6~0.8	
	II	85.6	0.56	3.89	0.5~0.8	

*第1表と同じ, **.....第4表と同じ

第7表 2番刈生草浸出液中のNO₃-N含量

生草	区	稀釈 倍数	浸出液中の NO ₃ -N, ppm		対比色 値比,%
			測定値	比色値	
トウモロコシ	I	2	21	23.4	89.7
	II	2	62	64.3	96.3
ソルゴー	I	2	79	77.9	101
	II	2	44	46.8	94.0
スーダン	I	4	116	125	92.8
	II	2	68	76.2	89.2
ローズ	I	4	112	113	99.1
	II	4	158	161	98.0

*硫酸銀液稀釈

**.....第4表と同じ

要 約

生草中の硝酸塩含量を硝酸イオン電極によって測定し、次の結果を得た。

1) 稀釈に蒸留水を用いた場合、比色値にくらべ、アカザを除いては、かなり高い値が示された。

2) 硫酸銀溶液を用い、濾液が清澄な場合は、比色値とほぼ一致するか、あるいはその90~110%の値が得られた。また、濾液が混濁した場合、遠沈もしくはZn(OH)₂処理して混濁物を除去するとその妨害は回避された。

文 献

- 1) 中村亮八郎・吉田條二・中村豊・加藤寿次・萩野順三：日畜会報, **43**, 286 (1972)
- 2) 渡辺文男・細谷英夫・岡田耕耘・野本貞夫：獣医畜産新報, **No. 586**, 7 (1973)
- 3) 桑畑正三：日草学会九州支部報, **5**, 28 (1975)
- 4) 中村豊・吉田條二・中村亮八郎・堀江博文：日畜会報, **47**, 63 (1976)
- 5) 吉田條二・藤田力男・中村亮八郎：茨大農学術報告, **No. 21**, 13 (1973)
- 6) 永井恭三：茨城県土壤肥料研究会誌, **第10号**, 47 (1974)
- 7) 羽賀清典・檜垣繁光・美斉津康民・瑞穂当・藤沼一郎：日畜会報, **48**, 132 (学会号) (1977)
- 8) Paul, J. L. and R. M. Carlson: J. Agr. Food Chem., **16**, 766 (1968)
- 9) Anonymous: Instruction Manual Nitrate Ion Electrode Model 92-07, Orion Research, Inc., (1967)
- 10) Anonymous: Instruction Manual Nitrate Ion Electrode Model 93-07, Orion Research, Inc., (1976)
- 11) 森本品宏・平古場明・石橋龍吾：分析化学, **16**, 1335 (1967)
- 12) 中村亮八郎：新飼料学, P20(昭52) チクサン出版社
- 13) 宮崎昭：日畜会報, **48**, 53 (1977)

Summary

Nitrate contents of fresh forages were determined with the nitrate-specific ion electrode, and results were compared with those obtained by colorimetric method.

When forage juices were diluted with distilled water, nitrate contents of their filtrates were shown to be considerably higher than colorimetric values.

However, when Ag_2SO_4 was substituted for distilled water and the filtrate was kept clear, its nitrate content was easily and rapidly determined with the ion electrode, which was almost agreed with the colorimetric value.

Therefore, it was deduced that nitrate determination with the ion electrode could bring reliable results under these conditions.