

研 究 調 査

尿素の窒素定量法比較

農學博士 澁谷紀三郎

農學士 佐伯秀章

劉 建 藩

内 容

- 緒 言
- 實 験
- (I) 供 試 品
- (II) 水分の定量
- (III) 灰分の定量
- (IV) 窒素の定量
- (1) 尿素を直接濃硫酸を以て分解する方法
 - (2) 尿素を少量の水に溶解したる後濃硫酸にて分解する方法
 - (3) 尿素に水を加えたる後苛性曹達にて分解する方法
 - (4) 尿素に水を加えたる後酸化苦土にて分解する方法
 - (5) 尿素をサンチドロール尿素として定量する方法
 - (6) 尿素を大豆中のウレアーゼを以て分解する方法

總 括

参 考 文 獻

緒 言

戦近化學工業の進歩に伴ひ、各種化學肥料の世に現はるゝもの益々其の数を増しつゝあるが、就中尿素は游離窒素固定を目的とする工業産物として、アムモニヤ鹽類に亞いて肥料市場に著しき進出を示して來た。而して尿素的生物化學方面に於ける定量法に關しては、可成り多くの人々に依つて發表されては居るが、商品たる尿素肥料の窒素定量法に就いては、猶ほ考究の餘地が有る様に思はれる。尿素肥料の價値を決定する最大の要素は、其の純度即

ら含窒素量の如何と言ふ事であるが、窒素定量法の異なるに従つて、其の間に比較的大なる差の認めらるゝをまぬがれない。然るに本邦に於ては、未だ尿素肥料の含窒素量を決定する公定法が定められてゐない。

夫れ故に茲に理論と實驗の立場から、種々の方法を行つてみて、確實な方法を決定しやうと次の實驗を試みた。

實 驗

(I) 供 試 品

供試品は獨逸メルク社製純粹尿素を用ひた。

(II) 水分の定量

供試品を秤量壺に採り、空氣浴にて80°Cに3時間乾燥し、後2—3時間真空乾燥器内に放置して秤量し、水分を測定した。

供 試 品	水 分 (%)	固 形 物 (%)
100	0.17	99.83

(III) 灰分の定量

理論的には無灰なれども、其の純度をも見る一手段として灰分定量を試みた。供試品15gを白金坩堝に採り、弱き瓦斯焔にて注意しつゝ熱したるも、熔融と同時に著しく泡沫を生じ、操作甚だ困難を感じた。最後に器底は一部暗褐色に着色せるも、秤量の結果は $\frac{1}{10}$ mgにも達しなかつたので灰分は無いと看做して良い。

(IV) 窒素の定量

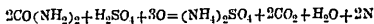
窒素の定量法として次の六種の方法を採用して比較した。

〔方法と理論〕

(1) 尿素を直接濃硫酸を以つて分解する方法：一

尿素中の窒素が分解して、凡べて硫酸アンモニ亞に變化する時に、若し硫酸及び供試品中に水分を含まない場合には、分解した窒素の總てが硫酸アンモニ

亞にならずして、一部分は遊離窒素となつて逸散すべきである。



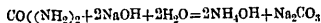
然し分解の操作中に H_2O が出来るから、窒素の遊離して逸散する量は必ずしも上記の化學式のみによつて計算する事が出来ない譯である。

(2) 尿素を豫め少量の水に溶解したる後、濃硫酸にて分解する方法:—
此の場合に起る化學反應は次の如く考へられる。



即ち二分子のアミノ基は、水及び硫酸の水素を得て $\text{SO}_4^{//}$ と完全に結合し、
以つて窒素の損失を招く事なしに測定せられ得るのである。

(3) 尿素に水を加へたる後、苛性曹達にて分解する方法:—
尿素に水を加へ、苛性曹達を添加して加水分解を促すと、窒素はアンモニア
に變化すべきである。



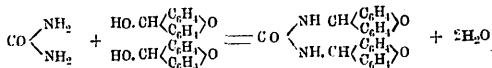
然し此の法に依ると、尿素の分解する速度は、添加した苛性曹達の量にも
因るけれども、添加後直ちに蒸溜しては、窒素の全部をアンモニアに化成する
事は困難な様である。それだからと云つて苛性曹達を加へて放置しておく、
アンモニアを逸失する虞がある。

(4) 尿素を水に溶解したる後、酸化苦土にて分解する方法:—

原理は前項の場合と同様である。

(5) 尿素をザンチドロール⁽¹⁾尿素として定量する方法:—

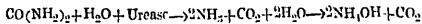
此の方法は尿素をザンチドロールと結合せしめて生ずるザンチドロール尿
素を秤量し、之れより計算に依つて尿素の量を見出すのである。其の化學反
應は次の如くである。



此の場合正確なる結果を得可き第一の條件としては、用ふる尿素の全部が
ザンチドロールと結合する事、及び生成するザンチドロール尿素、即ち沈澱
が極めて純粹であるべき事である。

(6) 尿素を大豆中のウレアーゼを以て分解する方法:—

ウレアーゼに依る尿素分解の化學反應は次の様に考へられる。



〔實驗操作と其の結果〕

(1) 尿素を直接濃硫酸を以て分解する方法:—

尿素 2g を分解瓶に入れ、濃硫酸 25c.c.、硫酸加里 2g を加えて分解する事約 5時間、透明液を水を以つて稀釋して 500c.c. のメスフラスコに充たす。其の内 100c.c. 宛をとりて常法の如く蒸溜す、指示薬はコンゴローートを使用した。其の結果窒素の定量數を%で示すと次の如くである。

第一表

回	實 驗 數 (Nの%)		理 論 數 (Nの%)	
	供 試 品	無 水 物	無 水 物	無 水 物
I	41.43	41.50	46.66	46.66
II	40.78	40.85	46.66	46.66
III	42.25	42.32	46.66	46.66
IV	41.35	41.42	46.66	46.66
平 均	41.45	41.52	46.66	46.66
比		88.98	100.00	100.00

(2) 尿素を少量の水に溶解したる後、濃硫酸にて分解する方法:—

尿素 2g を分解瓶に入れ尿素的の溶けるに足る量の蒸溜水を加え、之れに濃硫酸 25c.c.、硫酸加里 2g を加えて分解して窒素を定量した。

第二表

回	實 驗 數 (Nの%)		理 論 數 (Nの%)	
	供 試 品	無 水 物	無 水 物	無 水 物
I	46.20	46.39	46.66	46.66
II	46.20	46.29	46.66	46.66
III	46.67	46.75	46.66	46.66
IV	46.31	46.39	46.66	46.66
平 均	46.10	46.45	46.66	46.66
比		99.61	100.00	100.00

(3) 尿素に水を加えたる後、濃厚苛性曹達を以て分解する方法:—

尿素 0.4g を採り、水 200c.c. を加えて之れに濃厚苛性曹達溶液 35c.c. を加え、分解して窒素を定量した。其の結果は次表の如くである。此の方法に於て濃厚苛性曹達を加へたる後一晝夜以上作用せしめて定量しても、結果に大差は無いことを認めた。

第 三 表

回	實 験 數 (Nの%)		理 論 數 (Nの%)	
	供 試 品	無 水 物	無 水 物	無 水 物
I	15.87	15.89		46.66
II	15.87	15.99		46.66
III	14.50	14.58		46.66
IV	14.36	14.38		46.66
平 均	15.15	15.17		46.66
比		33.52		100.00

(4) 尿素を水に溶解したる後、酸化苦土を加えて分解する方法:—

尿素 0.4g を蒸溜フラスコに入れ、水 200c.c. を加え、之れに酸化苦土 5g を添加して分解し、窒素を定量した。

第 四 表

回	實 験 數 (Nの%)		理 論 數 (Nの%)	
	供 試 品	無 水 物	無 水 物	無 水 物
I	4.09	4.10		46.66
II	4.38	4.90		46.66
III	4.01	4.02		46.66
IV	3.95	3.96		46.66
平 均	4.23	4.24		46.66
比		9.09		100.00

(3)(4)共に定量した窒素の量は甚だ僅少である。アルカリに依つて分解の度の未だ完全に進まない故であらう。(4)が(3)に比して更に窒素の少なきは、酸化苦土の分解力の遙かに少なるを示せるものと考へられる。

(5) 尿素をザンチドロール尿素として定量する方法：一

尿素 2g に水を加えて 500c.c. となし、其の 10c.c. をとりて更に 100c.c. に稀釋し、其の内 10c.c. を試料に供した。10c.c. の供試料に氷醋酸 35c.c. を注加し、次に 2g のザンチドロールを 50c.c. の無水メチルアルコールに溶解せるものを十分間毎に 3c.c. 宛注いで總量 15c.c. を加え、其の都度振盪した。後一時間靜置し、豫め秤量せる無灰濾紙に沈澱を集め、無水メチルアルコールにて洗滌し、數分間乾燥器中にて乾燥したる後秤量した。得たるザンチドロール尿素的重量より、計算に依つて窒素量を見出した所が次の如くである。

第五表

回	實 驗 數 (Nの%)		理 論 數 (Nの%)	
	供 試 品	無 水 物	無 水 物	無 水 物
I	44.80	44.88		46.66
II	45.00	45.08		46.66
平 均	44.90	44.98		46.66
比		96.39		100.00

此の方法は、比較的煩瑣なる手續を要するに拘らず、其の結果は所期の域には達してゐない。之れは果して尿素的の全部がザンチドロール鹽として析出するか否か考慮の餘地は有るし、従つて實際適用上に萬全を期し難い憾みがある。

(6) 尿素を大豆中のウレアーゼ⁽²⁾を以て分解する方法：一

(I) フォーリン氏法に依つて調製せるウレアーゼを用ひたる場合：一
200c.c. 容フラスコにベルムチットに代ふるにカオリンの 2g を入れ、20% 醋酸にて洗ひ、蒸溜水にて傾斜洗滌する事二回の後、之れに30%酒精 100c.c.

を注ぎ、更に生大豆粉末^{5g}を加えて10分間振盪し、之れより濾過に依つて得たる浸出液を使用した。此の液の 1c.c. は温度 20°C に於て 20c.c. 中に 300mg の窒素を含有する尿素液を毎時 23--37mm² を、アムモニヤとする能力を有するとフォーリン氏は言つてゐる。

^{2g} の尿素を 500c.c. の蒸溜水にとかし、其の 50c.c. をフラスコに採り、蒸溜水 150c.c. を更に注加し、前記の酵素液 10c.c. を添加した。之れを室温にて5時間作用せしめ、然る後アルカリを加えて蒸溜して窒素を定量した。

第 六 表

回	實 験 数 (Nの%)		理 論 数 (Nの%)
	供 試 品	無 水 物	無 水 物
I	46.96	47.04	46.66
II	46.31	46.39	46.66
III	46.38	46.46	46.66
IV	46.52	46.66	46.66
平 均	46.54	46.63	46.66
比		99.93	100.00

此の結果に依れば、尿素の總てがウレアーゼに依つて分解せられて、アムモニヤに変化したものと看做される。而して此の酵素に依る分解作用は、室温に於て5時間を以て終了し得た。

(II) マーシャル氏法に依つて調製せるウレアーゼを用ひたる場合：—

生大豆粉末^{5g}を、50c.c. の蒸溜水にて1時間浸出し、之れに $\frac{1}{10}$ 規定鹽酸^{5c.c.} を注ぎて混合し、約 35°C の温度にて數分間放置した。然る時は蛋白質の大部分は沈澱するが故に、之れを濾別し、濾液を酵素液として使用したのである。而して此の場合酵素液の一方には、防腐の爲めにトルオールを 2—3 滴加え、他方には之れを加えずして使用した。

尿素に此の酵素液を作用せしめ、後窒素を定量する操作は凡べて前項同様にした。

第七表

	回	實 驗 數 (Nの%)		理 論 數 (Nの%)	
		供 試 品	無 水 物	無 水 物	無 水 物
トルオール添加	I	20.53	20.57	46.66	
	II	20.96	21.00	46.66	
	III	24.41	24.45	46.66	
	IV	24.26	24.30	46.66	
	V	20.96	21.00	46.66	
	VI	24.12	24.16	46.66	
	平均	22.54	22.58	46.66	
比			48.39	100.00	
トル無添加	I	45.95	46.03	46.66	
	II	45.95	46.03	46.66	
	平均	45.95	46.03	46.66	
	比			98.64	100.00

此の操作に依れば、酵素液に防腐用としてトルオールの少量を加えたるものを使用せる時には、アムモニヤの生成量が著しく減少してゐる。多量のトルオールを加ふるならば、酵素の沈澱を惹起したり、或は酵素の作用に影響する事がありえやうが、2〜3滴の添加に依つて起り得るとは考へられない。此の事に關しては今後機を見て明かにしよう。

以上の實驗結果を一括すれば次の様である。

	實驗數(N%)	理論數(N%)	比 (:100)
(I) 尿 素 + 硫 酸	41.52	46.66	88.96
(II) 尿 素 + 水 + 硫 酸	46.48	46.66	99.61
(III) 尿 素 + 水 + 苛 性 曹 達	15.17	46.66	32.52
(IV) 尿 素 + 水 + 酸 化 苦 土	4.24	46.66	9.09
(V) ザンチドロール尿素	44.98	46.66	96.39
(VI) 尿 素 + ウレアーゼ			
i) フォーリン法ウレアーゼ	46.63	46.66	99.63
ii) マーシャル法ウレアーゼ			
a) トルオール添加	22.58	46.66	48.39
b) トルオール無添加	46.03	46.66	98.64

總 括

以上六種の定量法に於て、正確なる定量法と認む可きものは、尿素を豫め水に溶かし、之れを濃硫酸にて分解する方法、及びフオーリン氏法ウレアーゼを以つて尿素分解を行ふ方法の二である。

而してザンチドロール尿素としての定量法及びマーシャル氏法ウレアーゼを適用する方法も、稍良いけれども、完全を期する事は出来ない様に思はれる。而してザンチドロール法は試薬としてのザンチドロールが、其の價の不廉なるより見て、實際尿素肥料検定上に適用性の小なるものと云ふべきである。

ウレアーゼを利用して尿素を分解する方法は、最も善く所期の結果を與えてゐるが、ウレアーゼ調製法の相違に由つて、其の結果に渺なからぬ差異を來たすから、吾人の實驗に基きフオーリン氏法に依るウレアーゼを用ひる事を適當と認める。

尿素を豫め水に溶解して後、濃硫酸にて分解する方法も、殆んど前者と同様に良い成績を示してゐるから、適用して可なるものである。而して之れ等兩方法の優劣の決定は、操作の難易、熟練の如何に徑庭があるわけでないから、何れも甲乙がないものと認められる。

唯、硫酸分解法に慣れたる技術者は、夫れに従ふ事が便利であらう。

(臺北帝國大學理農學部土壤肥料學研究室)

参 考 文 獻

- (1). H. Tierfelder:—Handbuch der physiologisch-und pathologisch-chemischen Analyse, 9 Aufl., (1924), 8,701-703
- (2). H. Euler:—Chemie der Enzyme.

(終) 昭和四年八月