

植物体試料の硫酸・過酸化水素分解による窒素・リンの定量のミクロ化：分解温度の検討

著者	柏倉 まや, 佐藤 洋介, 宇野 亨, 田島 亮介, 伊藤 豊彰, 齋藤 雅典
雑誌名	複合生態フィールド教育研究センター報告
巻	30
ページ	1-2
発行年	2015-03
URL	http://hdl.handle.net/10097/00121513

植物体試料の硫酸・過酸化水素分解による窒素・リンの定量のマイクロ化： 分解温度の検討

柏倉 まや・佐藤 洋介・宇野 亨・田島 亮介・伊藤 豊彰・齋藤 雅典

Microscale digestion of plant samples with sulfuric acid and oxygen peroxide

Maya KASHIWAGURA, Yosuke SATO, Toru UNO, Ryosuke TAJIMA, Toyoaki ITO, and Masanori SAITO

キーワード：酸分解，アルミブロックヒーター，廃液

緒言

作物体の無機成分を測定するためには、酸を用いた湿式分解法と燃焼法による乾式分解法が用いられる。乾式分解は、炭素窒素全自動分析計による炭素・窒素の分析に用いられており、リン酸やカリウム等の無機成分を分析するためには酸による湿式分解法が一般的に用いられている。酸分解法としては、かつて硝酸・過塩素酸分解法が用いられていたが、爆発性の過塩素酸を用いること、分解に際して有毒なガスが発生すること、さらに防爆装置の整備されたドラフトが必要なことから、近年は、より安全な硫酸・過酸化水素分解法が広く用いられている。また、硫酸過酸化水素分解法では、通常、ケルダール法湿式分解が必要な窒素についても、同時に測定することができる。

水野・南 (1980) により報告された硫酸・過酸化水素分解法では、ケルダール分解びんに、乾燥植物体試料 0.5 g、濃硫酸 4 ml、過酸化水素水を 2 ml 添加し、加熱しながら、さらに過酸化水素水を複数回添加して分解を行う。現在、多くの試験研究機関等では、ケルダール分解びんではなく Tecator 社などの大型のブロックダイジェスタを用いて、この方法による加熱分解が行われている。また、当研究室では、これまで原法 (水野・南 1980) に基づいたケルダール分解びんを用いた方法を採用していた。そのためドラフト内にセットできるケルダール分解びんの数が限られており、多量の分析を行うためには、多大な時間を要していた。いずれの場合も、排出される酸性廃液の量も多く、作業環境の安全性を保つ上でも問題が多かった。こうした分析の効率をあげ、使用する薬品量を減らし、作業の安全性を高めるためには、分析法のマイクロ化が必要と考えられた。

そこで、小型のアルミブロックヒーターを用いたマイクロ化した硫酸・過酸化水素分解法の分解温度について検討を行った。

方法と材料

供試試料：

圃場試験およびポット試験で採取されたイネおよび大麦。

試料は通風乾燥後、ウィレー式粉碎器等で粉碎し、さらに、振とう式粉碎器で微粉碎し、分析に供試した。

分解方法：

乾燥微粉碎試料 50 mg を、パイレックス製試験管 (径 18 mm x 180 mm) に正確にとる。試料が試験管のそこに張り付いていると硫酸が綺麗に混ざらないので、試験管を軽く振るもしくは数秒間タッチミキサーにかけ、試料をほぐす。

続けて、脱塩水 100 μ l、硫酸 450 μ l を入れ、タッチミキサーでよく振とうし、ゲル状にする。硫酸と試料をよく混ぜ合わせ、試料の塊がないようにする。次いで、過酸化水素水 200 μ l を少しずつ加え、タッチミキサーをかける。分解反応が急激に進行するが、反応が落ち着いてから、さらに過酸化水素水 200 μ l を入れタッチミキサーにかける。1 度目の過酸化水素投入のときは、反応が激しいので過酸化水素水 200 μ l を少しずつ入れる。

ドラフト内に設置したブロックヒーター (シマデン社、高精度メタルバス MB-2H-UII) で 250°C、10 分間加熱する。

試験管をブロックヒーターから取り出し、数分間冷却後、氷で冷やした過酸化水素水 200 μ l を加え、タッチミキサーで混合する。ブロックヒーターに戻し、10 分間加熱する。これを分解液が透明になるまで繰り返す。分解が終了して、分解液が透明になったら、さらに 1 時間加熱する。加熱終了後、常温まで冷却し、脱塩水で 50 ml に定容し、試料液とする。

分析方法：

酸分解試料液中のアンモニア態窒素は、インドフェノール比色法によって、リン酸はモリブデンブルー比色法によって測定した。微粉碎試料の全窒素は、NC アナライザー (SUMIGRAPH NC-80S) を用いて分析した。

結果と考察

ブロックヒーターの温度を 200°C として分解を行った場

合、透明な分解液を得ることができたが、分解液のアンモニア態窒素濃度から求めた窒素含有率は NC アナライザーで分析した全窒素よりも約 25% 程度低い値を示した (図 1)。これは含まれる有機態窒素の一部の分解が不十分であったためと考えられた。そこで、ブロックヒーター温度を 250°C に設定して分解を行い、NC アナライザーによる測定値と比較した (図 2)。NC アナライザーの値と、硫酸過酸化水素分解液のアンモニア態窒素濃度から求めた窒素含有率はほぼ一致した。ケルダール分解を想定した Tecator 社などのブロックダイジェスター装置では硫酸の沸点に相当する 300°C から 350°C で加温することができるが、市販されている多くの小型のアルミブロックヒーターは 200°C 程度までしか加熱できない機種が多い。今回用いた小型アルミブロックヒーターは 250°C まで加熱できる数少ない機種の一つである。

図 2 に示したように、250°C の硫酸過酸化水素分解によって得られた測定値は、NC アナライザーで得られた測定値よりも 2% 程度低い値を示したが、肥料施用試験等の栽培試験の解析を行う上で、十分な精度が得られている。また、植物体試料中に硝酸態窒素が含まれている場合、硫酸過酸化水素分解の過程で揮散するため、今回のわずかに低い値は植物体中の微量の硝酸態窒素に起因するのかもしれない。なお、多量の硝酸態窒素を含む場合には、サリチル酸硫酸分解法を用いる必要がある (松永・塩崎 1989)。

一方、200°C と 250°C のそれぞれで硫酸過酸化水素分解を行った試料のリン濃度の測定値に差は見られなかった。

硫酸過酸化水素分解分析のマイクロ化を行うためには、微量の試料を採取するために、植物体試料を高速振動粉砕器によって微粉砕するプロセスが必要となる。また、正確に試料を秤量しなければならない点にも注意を要する。しかしながら、酸分解の処理は一度に多くの試料について進めることができ、作業効率が高い。当研究室ではドラフトに 2 台のブロックヒーターを置き、50 点の試料を約 2 時間で分解することができる。分解に用いる硫酸および希釈・洗浄等で生じる廃液の量を約 1/10 まで減らすことができるようになった。

要 約

植物体試料の無機成分分析のための硫酸・過酸化水素分解を、アルミブロックヒーターを用いてマイクロスケールで行う方法を検討した。本法を用いることにより、分析に伴う廃液の発生ならびに分析にかかる時間を著しく減ずることが可能となった。

引用文献

- 水野直治・南松雄 (1980) 硫酸 - 過酸化水素による農作物中 N, K, Mg, Ca, Fe, Mn 定量のための迅速前処理法, 日本土壤肥料学雑誌, 51 (5) : 418-420.
松永俊朗, 塩崎尚郎 (1989) 硝酸態窒素を含む作物中の全窒素定量のための硫酸 : 過酸化水素分解法, 日本土壤肥料学雑誌 60 (5) : 458-460.

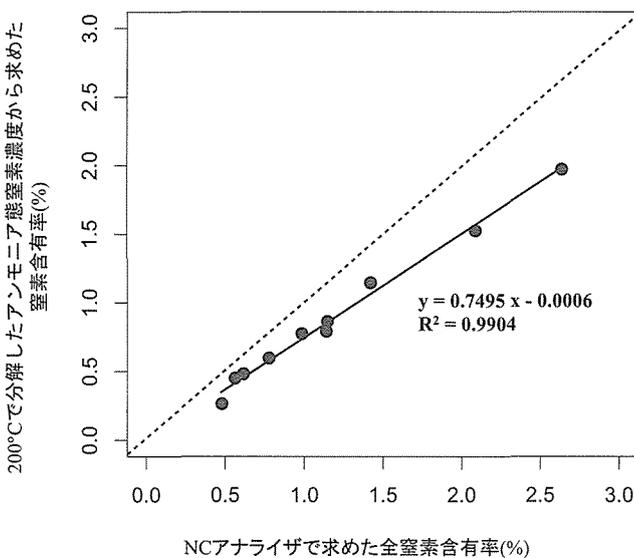


図 1 NC アナライザーと硫酸過酸化水素分解 (200°C) の窒素含有率の比較。
図中の破線は 1:1 ($y=x$) を示している。

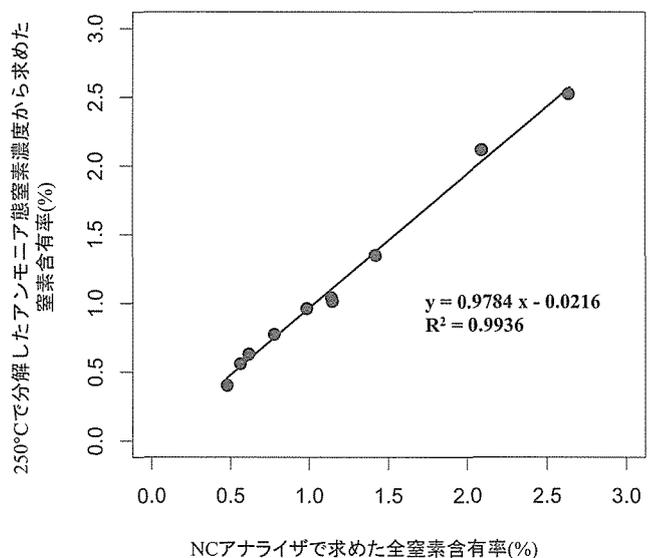


図 2 NC アナライザーと硫酸過酸化水素分解 (250°C) の窒素含有率の比較。