determined, and proteins from these leaves has been isolated. Results obtained are as follows:

1) 70~80% of leaf proteins is extractable by successive treatments with dilute alkali and then hot alcoholic dilute alkali.

2) Dilute alkali and hot alcoholic alkali soluble proteins have been isolated respectively, showing nitrogen contents ranging from 8.94 to 12.03%, or 13~14% on ash- and lipid-free basis.

3) Very little pentosan and hemicellulose are detected in our protein preparations, and so most of non-protein constituents are other materials. Nitrogen contents of both proteins cannot be increased by ordinary methods, that is, reprecipitation with acid and ammonium sulfate, boiling with dilute alkali and hydrochloric acid.

4) Alkali-soluble protein from red clover was hydrolysed with concentrated hydrochloric acid and its nitrogen distribution was determined by VAN SLYKE's method.

5) Acid-insoluble humin substance contains 3.17% nitrogen and yields 27.5% from proteins by the above acid hydrolysis. It is soluble in 0.2% NaOH, hot acid benzyl alcohol and contains methoxyl group.

高周波による化学反応の追跡 (第 1 報)

Micro-KJELDAHL の滴定への応用

河 野 哲 郎 (東京大学農学部農芸化学科)

昭和 26 年 7 月 12 日 受理

Studies on Chemical Reactions by a High Frequency Oscillator. Part 1.

Application to the Micro-KJELDAHL Method.

By Tetsuro Kôno (Dept. Agr. Chem., Faculty of Agr., Univ. of Tokyo)

化学反応の電氣的測定法としては従来電位差及び伝導度の測定が行われているが 1946 年 JENSEN⁽¹⁾が高周波を滴定に使用して以来この方面の研究が次第に行われ始めた⁽²⁾⁽³⁾⁽⁴⁾。高周波滴定の原理は短波或は超短波の発振器の発振回路のコイル又はコンデンサーに反応容器を挿入し、容器内の物質の伝導度又は透電常数の変化を回路の陽極或は陰極電流、格子電圧又は周数の変化として測定する方法であつて、電位差或は伝導度測定の場合の如く電極を試料中に挿入する必要がなく且つ水溶液の場合も有機溶媒の場合も使用出来るため、単に容量分析のみならず一般の生化学、有機化学の反応を追跡する上にも広い応用が期待される。そこで先づ装置を試作し基本的な酸・塩基の中和反応に就いて試験してみたところ、従来 $N/100$ 程度では HCl-NaOH の中和点が CO_2 の影響を受けて不明瞭になることが知られていたが、 NaOH の代りに $N/100 \text{ Na}_2\text{CO}_3$ 液を使用すれば明瞭な中和点が求められる事がわかつた。更にこの場合の中和点は少量の NH_4Cl が共存しても何等影響を受けないことが分つたのでこれを micro-KJELDAHL の滴定に利用したところ満足すべき結果を得たので報告する。

装 置 現在迄幾つかの回路が発表されているが^(1~4)、著者は材料、其の他の関係を考慮して、先づ K. ANDERSON⁽²⁾の回路に従つて一台試作した (Fig. 1 A)。しかし本機では測定に電位差計を使用し、且つ反応容器として太い試験管を使用するため攪拌、滴定及び測定に種々不便を感じたので反応容器として外径 4 cm、内容 60 cc のピーカーを使用する事とし、 2×4 cm の真鍮板 2 枚を 4 cm の間隔に置いた平行板蓄電器を作り、前記のピーカーをその間に挿入し、更にグリッドとアースの間に 30 pF 程のトリマーを補い、Colpitts 型回路にする事によつて感度を約 3 倍増加せしめ (Fig. 1, B) た。

測定は Fig. 1. C の右半の如く 955 の極子電圧を 76 の格子に受けて後者のプレート回路にブリッジを組んで精密級の電圧計で測定する様にした。しかし本回路では平行板蓄電器がアースから浮いているため、シャージとの間の容量が大きく響き不安定である。そこで感度は少し落ちるが Fig. 1. C の様に反応容器をプレートとアースの間に移し、平行板の代りに半径 2 cm の真鍮板を底とし、半径 2 cm、高さ 2 cm の真鍮円筒をその上部に 2 cm 離してシャージに接続した。発振コイルは 28 番線を外径 3 cm のボビンに 30 回間隔巻きとしたもので本装置の発振周波数は古賀氏により 12 MC と測定された。本機を使用するには電源スイッチを入れ 20~30 分後に 60 cc のピーカーに溶液 45 cc (シャージの上面に水面が達する) 入れ、モーターで攪拌しながらメーター

Fig. 1. A: ANDERSONS' circuit, B and C: Circuits used.

C_1, C_2 100 pF	R_1 15 k
C_3 reaction beaker	R_2 15 k
C_4 30 pF	R_3 10 k
C_5 8MF	R_4 1 k
ch 5H	R_5 100 k
T_1 955	R_6 10 k
T_2 76	R_7 70 k
T_3 VR150/30	R_8 10 k
T_4 5Y3GT	R_9 3 k

Fig. 2. Effect of temperature.

Fig. 3. A: Nitrobenzene into 45 cc benzene, B: Pyridine into 45 cc benzene.

回路を閉じ R_7, R_8 で零点を調節した後マイクロ・ビューレットより $N/100$ 溶液を 0.5 或は 1.0 cc 宛滴下してはメーターを読み、針が一杯に達したら再び R_7, R_8 を調節して測定を続ける。尚ビーカーの置き方により零点は数 mV 変化し、曲線の傾斜も多少変るため、中和点を求める時は問題ないが、2つ以上の曲線を比較する場合は努めて置き方を一定にし、又測定を2回以上繰返して誤差を防いだ。

実験結果 1. 温度による変化：

ビーカーに湯を入れ放冷した時の温度とメーターの読を曲線にとると Fig. 2 の如くなる。温度係数は相当大であるが $N/100$ 溶液の中和では温度の変化は認められず、又、時間的にも次第に温まつてくることはない。

2. 有機溶媒の混合： Benzene 45cc 中に pyridine 或は, toluene を加えた場合の曲線は Fig. 3 の通りである。

3. 水に酸、塩基、塩を混合： 水に $N/100$ の HCl (368), NaOH (206), NaCl (109), CH_3COOH (14.5), NH_4OH (9.7) 溶液を滴下した場合の曲線は Fig. 4 の如くであり、 NH_4Cl (122), $\text{NH}_4\cdot\text{CH}_3\text{COO}$ (92) の場合は大体 NaCl, Na_2CO_3 と同一の曲線となる。上の () 内の数字は当量伝導度であり、定性的に伝導度大なるもの程曲線の傾斜が大となつている点 JENSEN, 西貝等⁽¹⁻⁴⁾ の data と一致する。

4. HCl 溶液を $N/100$ NaOH 溶液で中和： 曲線は Fig. 5, E. の如く中和点近くではほぼ直線的に下り、中和点以後しばらくは緩かに上昇し、次いで急になつて直線的に上昇する。この緩かな部分は既に指摘されている通り⁽¹⁾溶解している CO_2 の影響であつて測定条件により異なる。この事は実際問題として中和点をグラフより求めるのに困難を感じさせる。

5. HCl 溶液を $N/100$ Na_2CO_3 溶液で中和： 上記の CO_2 の影響を除くため始めから中和に Na_2CO_3 溶液を使用すれば曲線は Fig. 5, C, D の如くなり、中和点附近では左右共直線となるため中和点はグラフ上で容易に求められる。

6. 上の滴定に対する NH_4Cl の影響： $N/100$ NH_4Cl 溶液数 cc を予め加えて置いても上記 HCl- Na_2CO_3 の中和点に変化は認められない (Fig. 5, A, B)。

但し中和点以後の直線は $\text{Na}_2\text{CO}_3 + 2\text{NH}_4\text{Cl} \rightarrow 2\text{NaCl} + (\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ なる複分

Fig. 4. $N/100$ solutions into 45 cc water.

Fig. 5. A, B, C and D: 5 cc of ca $N/100$ HCl soln. is diluted to 45 cc and titrated with $N/100$ Na_2CO_3 soln.; equivalent points found are A (contains 2 cc of $N/100$ NH_4Cl soln.): 5.21, B (contains 5 cc of $N/100$ NH_4Cl soln.): 5.20, C: 5.21, D: 5.20; end point determined by methylorange is 5.20; E: HCl soln. is titrated with ca $N/100$ NaOH soln.

Table 1.

	Aspartic acid mg	$N/100$ Na_2CO_3 Soln. cc				$N\%$ Calcd. = 10.52%	
		(Blank	-	Titer)	$\times$ Factor =	$N/100$ cc	$N\%$ $dN\%$
A	6.460	9.09		4.39	1.02	4.79	10.39 -0.1
B	6.224	9.09		4.49	1.02	4.69	10.55 0.0
C	1.825	9.09		7.75	1.02	1.37	10.53 0.0

Fig. 6. Analyses of $N\%$ of aspartic acid by micro-KJELDAHL method
A: 4.39, B: 4.49, C: 7.75, D(blank): 0.08, E(blank): 9.10; see Table 1.

解のために少し傾斜が少となる。

7. Micro-KJELDAHL への応用 本法を micro-KJELDAHL の中和に利用すれば空中の CO_2 の影響及び中和点の指示薬の色の变化に神経を使う必要がないと考え aspartic acid ($N=10.52\%$) を常法通り硫酸で分解, NH_3 を水蒸気蒸溜して $N/100$ HCl 液 10 cc に吸収させ, これを本装置のビーカーに移し, 水を加えて 45 cc とし前記同様に滴定した。結果は Table 1 及び Fig. 6 の如くで満足すべき値である。前記の如く CO_2 の駆逐, 指示薬のニュアンスに神経を使わないですむが, その代りグラフを画き中和点を求めねばならないのが本法の弱点である。但しこの点はグラフを自記させることによって解決する道が残されている。

要 約 1. Colpitts 型新高周波分析回路を設計試作し, 主として強酸, 強塩基の中和反応を追跡した。

2. HCl 溶液を中和するのに $N/100$ NaOH 溶液を使用するよりも $N/100$ Na_2CO_3 溶液を使用した方が溶解した CO_2 の影響がなく直線的な graph を得ることが出来る。

3. 上記の中和点は少量の NH_4Cl 存在によつて影響されないから、これを micro-KJELDAHL に利用すればよい結果を得ることが出来る。

本研究に当り種々御指導を仰いだ佐橋教授、丸尾助教授始め研究室の各位、及び回路を作るために御教示を受けた応用物理の古賀氏、電気の田宮氏に深く感謝する。尙古賀氏には周波数の測定もお願いした。

- (1) F. W. JENSEN and A. L. PARRACK : *Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.*, 18, 595 (1946). (3) W. J. BLAEDEL and H. V. MALMSTADT : *Anal. Chem.*, 22, 734 (1950), 1410 (1950).
(2) K. ANDERSON, E. S. BETTIS and DAVID : *Anal. Chem.*, 22, 743 (1950). (4) 西貝正明, 岡林英雄, 田中信行 : 輻研報告, 第 5 号, 45 (1950).

Summary

1. A new Colpitts type circuit for high frequency titration was constructed and was tested on the titrations of strong acids and bases.

2. It was found that a $N/100$ Na_2CO_3 solution is more suitable than a $N/100$ NaOH solution to titrate a dil. HCl solution, for the effect of CO_2 is eliminated in the former case and straight lines are obtained on the both sides of the equivalent point.

3. As this equivalent point is not affected by the existence of a small quantity of NH_4Cl , this apparatus is applicable to the micro-KJELDAHL method.