

CDUの化学的加水分解について

誌名	日本土壌肥料学雑誌 = Journal of the science of soil and manure, Japan
ISSN	00290610
著者	石橋, 博明 潮田, 常三
巻/号	43巻4号
掲載ページ	p. 137-142
発行年月	1972年4月

CDUの化学的加水分解について*

石橋博明**・潮田常三**

1. 緒言

緩効性窒素肥料である 2-オキソ-4-メチル-6-ウレイドヘキサヒドロピリミジン (以下 CDU と略す) に関しては多くの報告がある。著者らも既報において微生物に対する影響¹⁾、加水分解とその生成物²⁾、土壌中における分解と無機化^{3,4)}、分解菌⁵⁾について発表した。とくに第 2 報²⁾では CDU の加水分解生成物の構造と CDU の土壌中における無機化過程においては CDU の化学的加水分解と微生物分解が関与していることを示した。すなわち CDU は H⁺ の存在で 2-オキソ-4-メチル-6-ヒドロキシヘキサヒドロピリミジン (以下 OMHP と略す) と尿素を生成し、この OMHP と尿素が土壌微生物によって分解無機化されていく過程と CDU が直接土壌微生物によって分解される過程が存在することを明らかにした。CDU の肥効発現には化学的加水分解過程が重要であるが、加水分解そのものの検討はほとんどなされていなかった。そこで著者らは緩衝液中での CDU の加水分解についてイオン強度、pH、温度などの影響を調べ加水分解機構の考察を行なった。ついで殺菌土壌中での CDU の加水分解による尿素生成速度を検討し、緩衝液中での速度と比較することによって、土壌中における CDU の加水分解について若干の知見を得たので報告する。

さらに第 2 報²⁾において構造不明の加水分解生成物とした物質の構造も決定したので報告する。

2. 実験方法

1) 緩衝液中における加水分解

CDU は加水分解によって、加水分解された CDU と等モルの尿素を生成するので、加水分解した CDU の量は生成した尿素の濃度を測定することによってわかる。粉末 CDU を所定の pH、濃度の酢酸緩衝液に加え、室温で 30 分攪拌して CDU を溶解させて種々の CDU 濃度の溶液をつくり、所定の温度の恒温器中に放置した。一定時間経過後尿素態窒素を CONWAY の微量拡散法で分析し

* 緩効性肥料 CDU に関する研究 (第 6 報)

本報告は昭和 45 年度土肥学会春季大会において一部発表した。

** チッソ旭肥料 (株) 富士肥料研究所 (静岡県富士市駿島 2 の 1)

昭和 46 年 9 月 30 日受理

日本土壌肥科学雑誌 第 43 巻 第 4 号 p. 137~142 (1972)

た。

2) 固体 CDU の緩衝液中での加水分解による尿素生成速度

100 メッシュ以下の微粉末の CDU を窒素として 100.0 mg, 0.1M クエン酸緩衝液 100ml に加え密栓して 30°C の恒温器に放置した。用いたクエン酸緩衝液の pH は一般耕地土壌の pH 範囲の 4.00~7.00 とした。一定時間後濾過し、濾液の尿素態窒素 (U-N) を微量拡散法で、全窒素 (T-N) をケルダール法で分析した。

3) 殺菌土壌における CDU の加水分解による尿素生成速度

さきに報告した方法で行なった²⁾。ただし中丸土壌では窒素として 8.0 mg, 津田土壌では 10.0 mg の CDU を乾土 50 g に添加した。鮫島土壌の pH 6.5 区は炭酸カルシウムで pH を調節した。前報で使用した以外の供試土壌の理化学的性質を第 1 表に示す。

4) 薄層クロマトグラフ (以下 TLC と略す)

前報²⁾の (A) 法と同じ方法で行なった。ただし結果の項の第 6 図に示す (ロ) では展開溶媒はクロロホルム:メタノール:トルエン:ジメチルホルムアミド (5:2:1:1)、(ハ) ではクロロホルム:ブタノール:トルエン:ジメチルホルムアミド (5:4:1:1) である。

3. 実験結果

1) CDU の加水分解の反応次数の決定

CDU の加水分解の反応次数を 1 次であろうと仮定してつぎの式よりもとめた。

$$k = 2.303/t \log a/(a-x)$$

ここで a は CDU の初濃度、 x は一定時間経過後に加水分解した CDU の濃度 (生成した尿素の濃度に等しい) を示している。種々の濃度の CDU を pH 4.35 の 0.1M 酢酸緩衝液中で加水分解を行なった。結果を第 2 表に示す。CDU の初濃度を変えても速度定数 k はほぼ一定である。すなわち反応次数は 1 次の式に合致した。CDU の加水分解は CDU について擬 1 次であることが明らかとなった。なお表中 [CDU]₀ は CDU の初濃度、 μ はイオン強度を示す。ついで第 2 表の [CDU]₀ = 5.629 × 10⁻³M の場合の実験例を第 3 表に示す。加水分解率は [(a-x)/a] × 100 を示している。

2) CDU の加水分解におよぼすイオン強度の影響

通常イオン反応においては溶媒中に存在するイオン強

第 1 表 供試土壤の理化学的性質

土壤名	pH (H ₂ O)	最大容水量 (%)	T-N (%)	T-C (%)	C/N	窒素吸収係数	リン酸吸収係数	CEC (me)	備 考
中丸	4.9	65.0	0.18	1.40	7.8	132	433	18.2	未耕土
鮫島	5.3	106.9	0.29				354	17.6	沖積土 水田土壤
佐賀	5.3	71.8		3.80			940	12.9	耕土 (畑地)
八岳	6.1	78.0	0.46	5.92	12.9				火山灰土
津田	5.9	85.0	0.34	3.30	9.7	84	987	16.9	火山灰質沖積土

れ、速度定数より加水分解率を算出するとイオン強度が 2 倍となると加水分解率は約 30% 増加することになる。

3) CDU の加水分解におよぼす緩衝液濃度の影響

各濃度の酢酸緩衝液を用い、

度が反応速度に影響をおよぼすこともあるといわれている^{6,7)}。そこで CDU の加水分解の場合のイオン強度の影響について調べた。

0.1 M 酢酸緩衝液を用い、30°C で行ない、イオン強度を変化させるために塩化カリウムを加え、pH は 4.50 で一定とした。結果を第 1 図に示す。イオン強度が増加すれば反応速度は大となった。加水分解の速度定数とイオン強度の間には直線関係が得ら

第 2 表 CDU の加水分解の反応次数の決定

[CDU] ₀ , ×10 ³ M	k, ×10 ⁷ sec ⁻¹
5.629	9.60
2.822	10.01
1.803	9.64
1.363	9.47
平均 9.68	

酢酸緩衝液, pH 4.35, 30°C
イオン強度=0.1
[CDU]₀...CDU の初濃度

30°C で pH 5.00 と pH 4.35 の場合の加水分解速度を測定し、速度定数を算出した。イオン強度を 0.1 にそろえるために塩化カリウムを添加した。第 4 表に示す測定結果に明らかなように pH 5.00, pH 4.35 のいずれの場合にもイオン強度が一定であるならば、緩衝液の濃度に関係なく、すなわち未解離の酢酸濃度に関係なく反応速度は一定であった。CDU の緩衝液中での加水分解では塩基の触媒反応は無視できるので上の結果より CDU の加水分解は特殊酸触媒反応であることが明らかとなった。

第 4 表 CDU の加水分解におよぼす緩衝液濃度の影響

緩衝液濃度, M	pH 5.00		pH 4.35	
	[CDU] ₀ , ×10 ³ M	k, ×10 ⁷ sec ⁻¹	[CDU] ₀ , ×10 ³ M	k, ×10 ⁷ sec ⁻¹
0.100	5.718	2.97	5.629	9.61
0.075			4.517	9.81
0.050	6.122	3.17	5.242	10.08
0.025	5.807	2.97	5.186	10.00

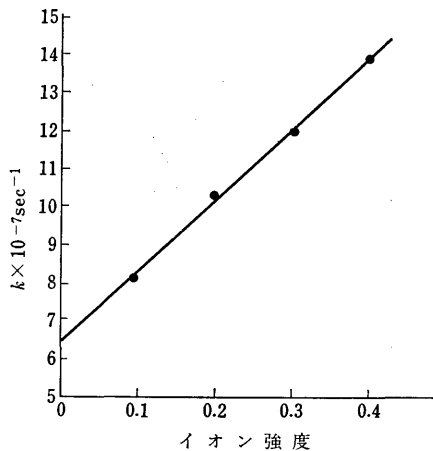
酢酸緩衝液, 30°C, イオン強度=0.1
[CDU]₀...CDU の初濃度

4) CDU の加水分解におよぼす pH の影響

CDU は酸性水溶液中で加水分解を受けることはすでに著者^{2,8,9)}や尾和ら¹⁰⁾, および堤ら¹¹⁾が指摘したことがあるが、pH との関連性を厳密に検討されたことはなかった。酢酸緩衝液を用いて CDU の加水分解におよぼす pH の影響について調べた。3) で述べたように CDU の加水分解は特殊酸触媒反応のため酢酸緩衝液では CDU の加水分解には未解離の酢酸濃度は影響をおよぼさないことが明らかとなったので種々の pH の酢酸緩衝液を使用すれば pH と加水分解速度との関係が求められる。pH 3.20~pH 5.50 の 0.1M 酢酸緩衝液中での CDU の加水分解速度を測定した。pH と速度定数との関係を図示すれば第 2 図のようになり、CDU の加水分解は水素イオン濃度に比例した。

5) CDU の加水分解におよぼす温度の影響

つぎに CDU の加水分解速度と温度との関係を検討し、反応の活性化エネルギーを求めた。0.1M 酢酸緩衝液中で pH 4.35 と 5.00, 温度 10, 30 および 40°C での加水分解を測定し、速度定数を求めた。アレーニウスの

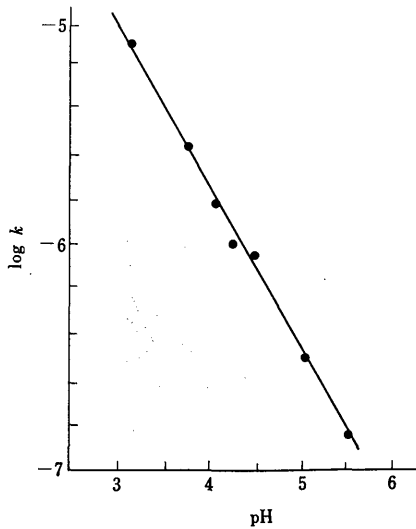


第 1 図 CDU の加水分解におよぼすイオン強度の影響

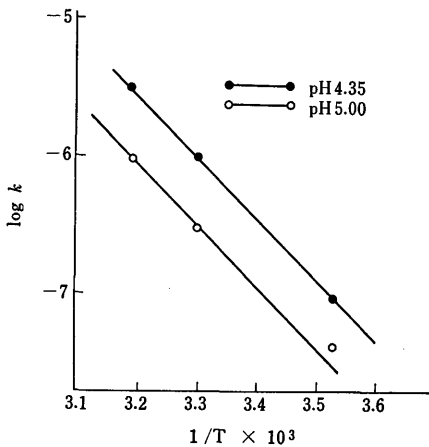
第 3 表 CDU の加水分解速度

時 間 (hr)	増加尿素 ×10 ³ M	加水分解率 %	k ×10 ⁷ sec ⁻¹
7.20×10 ⁴ (20.0)	0.372	6.62	9.61
15.84×10 ⁴ (44.0)	0.778	13.84	9.39
25.74×10 ⁴ (71.5)	1.252	22.44	9.61
33.30×10 ⁴ (92.5)	1.568	27.90	9.81
42.66×10 ⁴ (118.5)	1.890	33.62	9.58
			平均 9.60

酢酸緩衝液, pH 4.35, 30°C
CDU 初濃度=5.629×10⁻³M, イオン強度=0.1



第2図 CDUの加水分解におけるpHと速度定数の関係(30°C)



第3図 CDUの加水分解における温度と速度定数の関係

式より温度と速度定数の対数の関係を図示したものが第3図で両者の間には直線関係が得られた。第3図の直線は他のpHにおいても同じ勾配になるので、他のpHの各温度における速度定数は第2図の結果を第3図に挿入することによって得られる。第3図よりCDUの加水分

解の活性化エネルギーをもとめれば21.1Cal/モルになった。

6) 固体CDUの緩衝液中における加水分解による尿素生成速度

1)~5)においてはCDUの加水分解を反応速度論的に追求したので、水に溶解したCDUについて調べた。しかし肥料として土壌に添加する場合に溶液のことはまれである。そこで固体CDUの緩衝液中における溶解量と溶解したCDUの加水分解による尿素生成速度を調べた。結果を第5表に示す。CDUが加水分解すればU-Nと同量のOMHP-Nが生成することになり、CDUの加水分解率は $(2 \times U-N/T-N) \times 100$ で表わさなければならない。供試したCDU-NがU-Nに変化した割合および溶解した窒素の割合は第5表のU-N, T-Nの項の数字をそのまま%にすればよい。U-N, T-NともにpHが低くなるにつれて増加した。中性のpH7.00ではCDUの溶解量はそれほど増加しなくてU-Nが少しずつ増加した。pH6.00でも同様の傾向がみられた。pH5.50, 5.00では7.00, 6.00の場合よりもU-Nは大であるが、それでもCDUから生成したU-Nは42日間でもpH5.50で8.36%, pH5.00で21.4%にすぎなかった。pH4.00では14日間でCDUが完全に溶解してしまい、85%も加水分解した。pH4.50でも28日間で完全に溶解し、加水分解率も75%に達した。U-N, T-N, 加水分解率はpHが低くなるにつれて増大していく。U-Nの生成量はpH4.00では21日間ではほぼ理論量であり、他のpHたとえば5.00では23%, 6.00, 7.00では著しく少なかった。

7) 緩衝液と殺菌土壌でのCDUの加水分解による尿素生成速度の比較

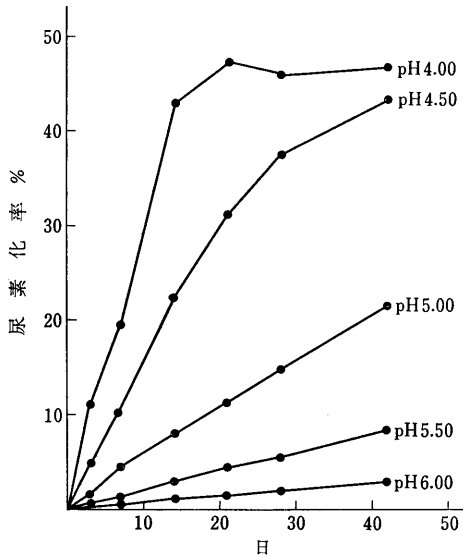
緩衝液中におけるCDUの加水分解による尿素生成速度と殺菌土壌でのCDUの加水分解による尿素生成速度を比較検討してみた。第5表の添加したCDU-NがU-Nに転化した割合を尿素化率として第4図に示した。なおCDUに対して使用した水の量の割合は両者ともほぼ同じくらいであった。前報²⁾の福岡, 筑後, 佐賀, 釜利谷の各土壌と今回新たに行なった中丸, 鮫島, 八岳, 津田

第5表 固体CDUのクエン酸緩衝液中での加水分解

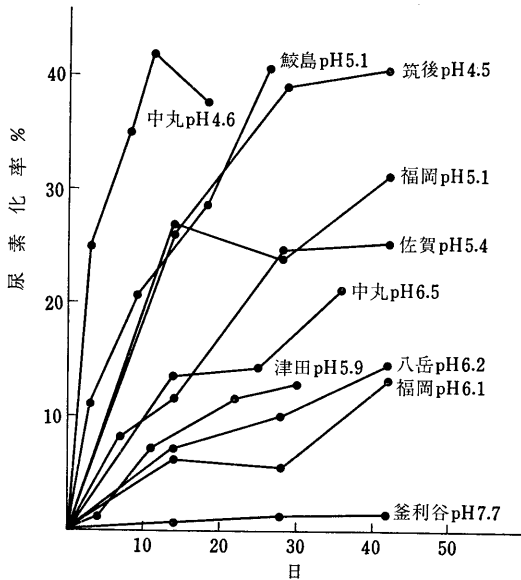
日数	3日			7日			14日			21日			28日			42日		
	U-N (mg)	T-N (mg)	(%)	U-N (mg)	T-N (mg)	(%)	U-N (mg)	T-N (mg)	(%)	U-N (mg)	T-N (mg)	(%)	T-N (mg)	U-N (mg)	(%)	U-N (mg)	T-N (mg)	(%)
7.00	0.04	27.71	0.28	0.20	29.29	1.36	0.25	30.48	1.64	0.25	30.35	1.64	0.35	32.06	2.18	0.55	31.99	3.44
6.00	0.23	29.22	1.56	0.57	30.01	3.80	1.04	32.19	6.46	1.49	32.52	9.16	1.89	33.72	11.20	2.81	35.12	16.00
5.50	0.58	30.01	3.86	1.43	31.47	9.10	2.89	35.08	16.48	4.33	37.32	23.20	5.75	40.19	28.62	8.36	45.52	36.74
5.00	1.67	31.47	10.62	3.82	34.82	21.94	7.82	44.37	35.26	11.52	50.69	45.46	14.95	58.99	50.68	21.44	71.72	59.78
4.50	4.50	35.87	25.08	10.20	47.06	43.36	22.20	71.34	62.22	31.19	91.57	68.12	37.50	100.00	75.00	43.16	100.00	86.32
4.00	10.76	45.95	46.84	19.63	57.53	68.24	43.52	101.79	85.52	47.57	100.19	94.96	46.00	100.00	92.00	46.57	100.00	93.50

30°C, 添加 CDU-N 100.0 mg/100 ml

* 加水分解率 = $(2 \times U-N/T-N) \times 100$



第 4 図 緩衝液中での CDU の尿素化率



第 5 図 殺菌土壤中での CDU の尿素化率

の各土壌での殺菌状態の CDU の加水分解の結果をまとめて第 5 図に尿素化率として示した。第 4 図、第 5 図の結果では殺菌土壌での CDU の加水分解による尿素化率は同じ pH で比較すると緩衝液中での尿素化率よりも大であった。このことはどの土壌についてもいえることであった。この場合の土壌の pH は水で測定した値であるが、1N 塩化カリウム溶液で測定した値はこれより低くなる。たとえば中丸土壌では水(4.6)に対して塩化カリウム(4.1)、中丸土壌の高 pH 区では水(6.5)、塩化カリウム(6.0)、津田土壌では水(5.9)、塩化カリウム(5.3)、釜

利谷土壌では水(7.7)、塩化カリウム(6.7)、釜島土壌では水(5.1)、塩化カリウム(4.4)であった。これらの土壌では 1N 塩化カリウム溶液で測定した pH をもって緩衝液中での尿素化率と比較しても殺菌土壌中での尿素化率の方が大であった。他の土壌では 1N 塩化カリウム溶液の場合の pH は測定しなかったが、pH が 0.5~1.0 低下すると仮定すると、ほぼ緩衝液中での尿素化率と同じくらいになる土壌もある。

8) 加水分解生成物について

前報²⁾において CDU の加水分解生成物として TLC で OMHP と尿素のほか、OMHP より R_f 値の大きい 2 種の未知物質を認めた。ヒドロキシル基は酸触媒で比較的容易にアルキル化されるので¹²⁾、これらが OMHP のメチルエーテルすなわち 2-オキソ-4-メチル-6-メトキシヘキサヒドロピリジジン (以下 OMMP と略す) およびブチルエーテルすなわち 2-オキソ-4-メチル-6-ブトキシヘキサヒドロピリジジン (以下 OMBP と略す) であることを想定し、それぞれの標品を別途に合成して同定した。

i) OMMP の合成

OMHP 30g とイオン交換樹脂 IR-120 (H型) 5g にメタノール 500 ml を加え、50°C で 1 時間かくはんした。ついで濾過し、濾液を 50 ml まで濃縮して冷却した。放置すると結晶が析出したので濾別した。収量 22 g, m. p. 160°C。

元素分析

分析値; C=50.0%, H=8.8%, N=19.9%

$C_6H_{12}O_2N_2$ としての計算値

C=50.0%, H=8.4%, N=19.4%

ii) OMBP の合成

ブタノール 500 ml を使用し他は i) と同じ方法で行なった。収量 25 g, m. p. 112°C。

元素分析

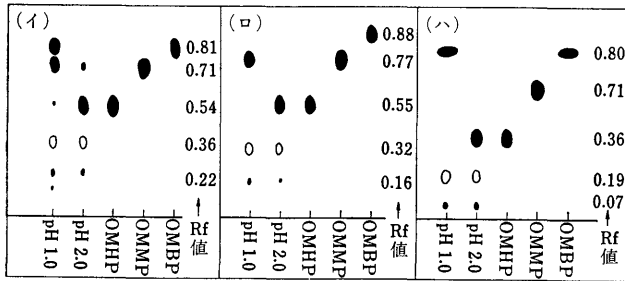
分析値; C=57.6%, H=10.2%, N=15.5%

$C_9H_{18}O_2N_2$ としての計算値

C=58.0%, H=9.8%, N=15.0%

iii) TLC の結果

結果を第 6 図に示す。CDU 分解液は前報²⁾と同じである。前報と同じ溶媒である (イ) の場合は R_f 値 0.71 の未知物質は OMMP, R_f 値 0.81 の未知物質は OMBP と一致した。(イ) よりブタノールを除いた (ロ) では CDU 分解液 pH 1.0 においては尿素のほかに 1 物質しか検出されず、OMMP の R_f 値と一致した。CDU 分解液 pH 2.0 においては尿素と OMHP のみであった。(ハ) では CDU 分解液 pH 1.0 においては尿素のほかに OMBP



第6図 TLCによるCDU分解生成物の検出

の R_f 値と一致する化合物が検出され、CDU 分解液 pH 2.0 においては尿素と OMHP のみであった。

CDU 分解液 pH 2.0 ではいずれの場合でも分解生成物として、尿素と OMHP のみであったが、CDU 分解液 pH 1.0 の場合は展開溶媒のアルコールを変えると変化した。ブタノール・メタノール両者が存在するときは、OMMP, OMBP と R_f 値が一致する化合物、ブタノールのみが存在するときは OMBP と R_f 値が一致する化合物、メタノールのみが存在するときは OMMP と R_f 値が一致する化合物が検出された。これらの事実や前報²⁾で報告したように OMHP と 2 種の未知物質は pH によって可逆的であることなどから考えて、これらの物質は OMHP が pH 1.0 という強い酸性条件下で TLC の溶媒のアルコールによってアルキル化されて生成した OMMP, OMBP と考えられる。それゆえに CDU の酸による加水分解は尿素と OMHP を生成し、OMHP は強い酸の共存下での TLC では展開溶媒のアルコールによって展開中に吸着剤上でアルキル化されることが明らかとなった。

4. 考察

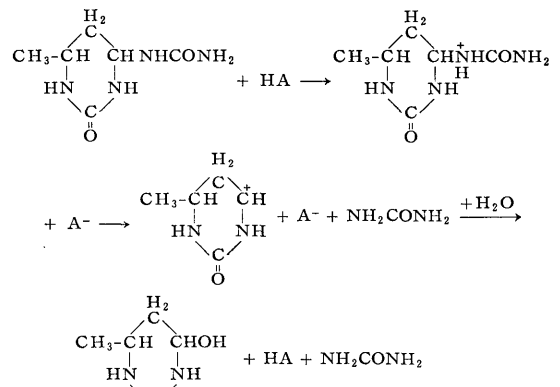
加水分解の逆反応の尿素と OMHP の縮合反応も考えられるが、著者らが行なったような濃度が低い条件下では観察されなかった。CDU の加水分解は CDU について擬 1 次反応であることが明らかとなった。他のアルデヒド尿素縮合物ではメチレンジウレア¹³⁾、エチリデンジウレア¹⁴⁾の水溶液中での加水分解は擬 1 次反応であることが報告されている。CDU の加水分解は溶媒中に存在するイオン強度が影響することが明らかとなったので、加水分解速度を比較する場合はつねにイオン強度を一定にする必要がある。CDU の加水分解は酸触媒反応であり、しかも緩衝液中ではプロトンのみが影響する特殊酸触媒反応であることも明らかとなった。速度は $[H^+]$ に比例した。メチレンジウレア¹³⁾は特殊酸触媒、エチリデンジウレア¹⁴⁾は一般酸触媒反応で加水分解されることも報告されている。さらにメチレンジウレアは加水分解の速度定

数は 50°C , pH 3.95 で $4.3 \times 10^{-5} \text{sec}^{-1}$ 、エチリデンジウレアの加水分解の速度定数は 24.2°C , pH 3.00 で $1.37 \times 10^{-8} \text{sec}^{-1}$ と報告されていて、CDU と比較するとメチレンジウレアはやや大であり、エチリデンジウレアは非常に大である。CDU の加水分解の活性化エネルギーはメチレンジウレアの 19.5Cal/モル よりやや大であった¹³⁾。これらのことより CDU の酸による加水分解機構は第7図のように考えられる。

CDU の土壤中における加水分解は水溶液あるいは 1N 塩化カリウム溶液で測定した pH 値と同じ pH 値の緩衝液中における加水分解と比較すると土壤中の方が尿素化率が大である原因としてつぎのようなことが考えられる。土壌粒子表面を一つの界面と考えると土壌の水懸濁液の pH は粒子表面の pH よりも酸性土壌では常に大であることが MAXWELL-BOLZMAN のイオンの分布則より導かれる。すなわち界面附近に局部電位 ζ があると、つぎの式が導かれる。

$$\text{pH}_{\text{surf}} = \text{pH}_{\text{bulk}} + \frac{F\zeta}{RT} \log e$$

pH_{surf} は界面附近の pH, pH_{bulk} は溶液全体の pH, F は FARADAY 定数, R は気体定数, T は絶対温度を示している。 25°C では $\text{pH}_{\text{surf}} = \text{pH}_{\text{bulk}} + \zeta/60$ になる¹⁵⁾。堤ら¹¹⁾の研究によれば CDU は土壌コロイドに弱く吸着されているといわれている。土壌に施された CDU は土壌コロイド粒子の表面に物理的に吸着されているため、土壌の水懸濁の pH よりも低い pH で実際には加水分解が行なわれていると考えられる。



第7図 CDUの加水分解機構

5. 要約

1) CDU の緩衝液中での加水分解を詳細に検討してつぎのような知見を得た。

- i) CDU の加水分解は CDU について擬 1 次反応であった。
- ii) 反応速度はイオン強度が大になるにつれて速くなった。
- iii) CDU の加水分解は特殊酸触媒反応であった。
- iv) 水素イオン濃度と速度定数の対数の間には直線関係が得られた。
- v) 速度定数と温度との関係はアレニウスの式にあてはまり、活性化エネルギーは 21.1 Cal/モルであった。
- 2) 土壌中での CDU の尿素化率は同一 pH で比較すると、一般に緩衝液中におけるよりも大であった。このおもな原因としては土壌コロイド粒子表面附近の pH が局部的に低く、土壌コロイドに弱く吸着された CDU の加水分解が土壌粒子懸濁液について測定した値よりも実際には低い pH で起こっていることが考えられる。
- 3) CDU の加水分解生成物 OMHP の 6 位のヒドロキシル基はアルコール類とのアルキル化反応が起こるので、TLC の際には OMHP は強酸 (pH 1.0 以下) の存在下では展開溶媒のアルコール類によってアルキル化されたものとして検出された。
- 2) 石橋博明・猪居 武・潮田常三：同上，40，260 (1969)
 - 3) 安原 稔・猪居 武：同上，41，83 (1970)
 - 4) 鈴木明夫・安原 稔：同上，42，189 (1971)
 - 5) 安原 稔：同上，41，514 (1970)
 - 6) ムーア：新物理化学 (上)，p. 391，東京化学同人 (1965)
 - 7) 化学増刊，14，解説理論有機化学，p. 123，化学同人 (1963)
 - 8) 潮田常三・石橋博明・内藤佳之：土肥要旨集，10，18 (1964)
 - 9) 石橋博明・猪居 武・潮田常三：同上，13，111 (1967)
 - 10) 尾和尚人・熊沢喜久雄・三井進午：同上，13，112 (1967)
 - 11) 堤 勝生・高田 稔・原田登五郎：同上，13，113 (1967)
 - 12) 蛭川栄作・安部昭天・永森弘之・金子良一・竹本正和・齋木義和：日化，87，1343 (1966)
 - 13) 浜田英郎・栗山捨三・吉村二郎：工化，55，634 (1952)
 - 14) OGATA, Y., KAWASAKI, A. and OKUMURA, N. : *Tetrahedron*, 22, 173 (1966)
 - 15) 古坂澄石：土壤微生物入門，p. 28，共立出版 (1970)

文 献

- 1) 安原 稔・猪居 武：土肥誌，40，78 (1969)