27. 질소정량법

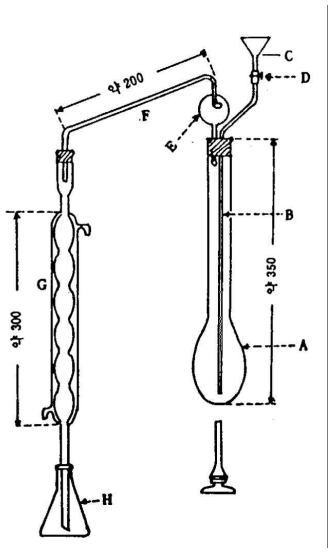
가. 킬달법

(1) 장　치

다음 그림과 같다(단위 : mm).

다만, 접속부는 갈아 맞춘 것이라도 좋다.

A : 분해플라스크(경질유리로 만든 것. 용량 약 500～800mL)
B : 유리관
C : 알칼리용액주입 깔대기
D : 고무관(B와 C를 연결하고 중간에 핀치코크가 있다.)
E : 와그너관
F : 증류관
G : 냉각기
H : 흡수용플라스크(용량 약300mL)



(2) 조 작 법

따로 규정이 없는 한, 질소 약 20～30mg에 대응하는 양의 검체를 정밀히 달아 분해플라스크(A)에 넣고 이에 황산칼륨분말 5g, 황산동 0.5g 및 황산 20mL를 가한 다음 플라스크를 약 45°로 기울여 거품이 거의 일어나지 아니할 때까지 조용히 가열하고 다시 온도를 올려서 끓여 내용물이 청색의 투명한 액이 된 다음 다시 1～2시간 가열한다. 식힌 다음 물 15mL를 천천히 가하여 식히고 이에 비등석 또는 입상의 아연 2～3립을 가하여 그림과 같이 장치를 한다. 흡수용플라스크(H)에는

0.1N 황산 25mL 및 물 약 50mL를 넣고 냉각기(G)의 끝을 이 액 중에 담근 다음 깔대기(C)로 부터 수산화나트륨용액(2→5) 85mL를 천천히 가하고 다시 소량의 물로 씻어 내린 다음 D부분의 핀치코크를 닫고 분해 플라스크를 가볍게 흔들어 내용물을 섞은 다음 조용히 가열하고 끓기 시작하면 강하게 가열하여 내용물의 약 3분의 2용량이 유출할 때까지 증류한다.

이어 냉각기의 끝을 흡수용 플라스크의 액면으로부터 조금 떼고 다시 잠시동안 증류를 계속한 다음 냉각기의 끝을 소량의 물로 씻어 내리고 플라스크액중의 과잉의 산을 0.1N 수산화나트륨용액으로 적정한다(지시약 : 브로모크레솔그린·메틸레드혼합시액 3방울). 따로 같은 방법으로 공시험을 한다.

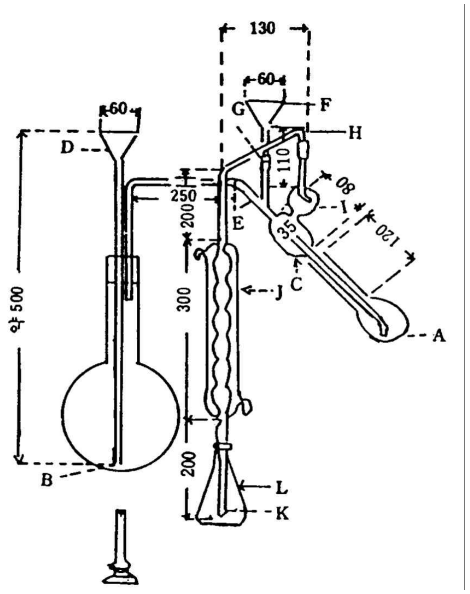
0.1N 황산 1mL = 1.401mg N

나. 세미마이크로 킬달법

(1) 장 치

경질유리로 만든 것으로서 그 개략은 다음 그림과 같다(단위 : mm). 다만, 접속부는 갈아 맞춘 것이라도 좋다.

A : 분해플라스크(용량 약 200mL)
B : 수증기발생기(용량 약 1,000mL)
C : 와그너관
D : 급수깔대기
E : 증기관
F : 알카리용액 주입깔대기
G : 고무관(E와 F를 연결한다.
중간에 핀콕크가 있다)
H : 도 관
I : 작은 구멍(지름은 관의 안지름과
거의 같다)
J : 냉각기
K : 냉각관의 끝
(비스듬히 끊어져 있다)
L : 흡수용플라스크(용량 약 300mL)



장치를 계속 조립상태로 둘 때에는 와그너관(C)과 그 부속관을 석면과 탄산마그네슘을 물에 섞은 것을 감아 두는 것이 좋다. 분해플라스크(A)도 천 또는 석면지로 싸서 보온하는 것이 좋다. 증류장치와 분해플라스크 사이의 고무마개에는 글리세린을 발라 둔다. 고무마개 및 고무관은 모두 수산화나트륨시액으로 10분간 끓여 물로 잘 씻고 사용한다. 수증기발생기 (B)에는 물을 넣고 황산 2~3방울을 가하고 돌비를 방지하기 위하여 비등석을 넣는다. 흡수용플라스크(L)는 사용한 다음 물로 잘 닦고 밀전하여 다음의 시험에 대비한다.

(2) 조 작 법

질소 2~3mg에 대응하는 양의 검체를 정밀히 달아 분해플라스크(A)에 넣고 이에 분말로 한 황산칼륨 10g 및 황산동 1g의 혼합물 1g을 가한다. 플라스크의 목에 검체가 부착된 경우에는 극히 적은 양의 물로

서 씻어 넣는다. 다음 플라스크의 내벽을 따라 황산 7mL를 흘러 내리고 플라스크를 흔들어 움직이면서 과산화수소 1mL를 소량씩 내벽을 따라 주의하여 흘러내린다. 플라스크를 석면금망상에서 가열하여 내용물이 청색의 투명한 액이 되고 플라스크의 내벽에 탄화물이 없을 때 가열을 그친다. 분해가 불충분할 때에는 식힌 다음 다시 과산화수소 소량을 가하여 가열한다.

식힌 다음 물 20mL를 주의하면서 가하여 식히고 플라스크를 미리 수증기를 통하여 씻은 증류장치에 연결한다. 흡수용플라스크(L)에는 붕산용액(1→25) 15mL 및 브로모크레솔그린・메틸레드혼합시액 3방울을 넣고 물 적당량을 가하여 냉각관의 끝(K)을 이 액 중에 담근다.

깔대기(F)로 부터 수산화나트륨용액(2→5) 30mL를 가하고 다시 물 10mL로 씻어 내린 다음 G부분의 핀치코크를 닫고 즉시 수증기를 통하여 증류를 시작한다.

유출액 80～100mL를 받고 냉각관의 끝을 액면으로부터 떼어 소량의 물로 그 부분을 씻어 내리고 물을 가하여 157～180mL로 한 다음 0.01N 황산으로 적정한다.

적정의 종말점 근처에서 액이 거의 무색으로 되었을 때, 다시 브로모크레솔그린・메틸레드혼합시액 1방울을 넣고 적정을 계속하여 액이 약간 홍색을 나타낼 때를 종말점으로 한다. 따로 같은 방법으로 공시험을 한다.

0.01N 황산 1mL = 0.1401mg N

다. 단백질 분석기를 이용하는 방법

시약 및 시액, 시험용액의 조제, 시험방법 등은 분석기의 종류에 따라 변경할 수 있다.

(1) 장치

가) 단백질 분해장치

나) 증류 및 적정장치

(2) 조작법

따로 규정이 없는 한 질소 함량이 약 20～30mg에 해당하는 검체를 정밀히 달아 분해튜브에 넣고 분해촉진제 2알을 넣는다. 분해촉진제는 황산과 황산칼륨의 비율이 1.4～2.0:1이 되어야 분해가 효율적으로 이뤄진다.

분해튜브에 진한 황산 12mL을 넣는다. 검체의 지방 함량이 10% 이상이면 진한 황산 15mL을 넣는다.

420℃의 분해장치에서 45～60분간 분해하여 분해액의 색이 투명한 연푸른색(구리 촉매제를 사용한 경우) 또는 투명한 노란색(셀레늄 촉매제를 사용한 경우)이 되면 상온으로 냉각시킨다.

식힌 다음 분해된 시험용액에 80mL의 증류수를 주의하여 첨가한다. 25mL의 혼합지시약이 섞인 포집용액을 삼각 플라스크에 넣은 후, 이를 증류장치에 놓고 삼각플라스크 받침대를 들어 올려준다. 증류시 증류액이 포집용액으로 들어간다. 수산화나트륨용액(2→5) 50mL (분해시 사용한 황산의 4배에 해당하는 양)을 분해튜브에 넣는다. 증

류장치에서 3~4분간 증류한다. 증류장치의 삼각 플라스크에 있는 포집용액이 증류액에 함유되어 있는 알칼리(암모니아)를 포집하면서 녹색으로 변한다.

증류액을 염산용액(일반적으로 0.1N 또는 0.2N)을 이용하여 종말점이 엷은 핑크빛에 도달할 때까지 적정한다. 적정에 사용된 산의 양을 기록한다.

자동장치인 경우 증류, 적정, 계산과정이 모두 자동으로 수행된다.

(3) 계산식

$$\text{질소(\%)} = \frac{(\text{HCl 소비 mL} - \text{공시험 mL}) \times \text{M} \times 14.01}{\text{검체량(mg)}} \times 100$$

14.01 : 질소의 원자량

M : HCl의 몰농도

분해촉진제 : Kjeltabs 또는 이와 동등한 것

붕산용액 : H_3BO_3 100g(또는 400g), 0.1% 브로모크레졸그린용액 100mL 및 0.1% 메틸레드용액 100mL을 넣어 10L로 정용한 1% (또는 4%) 붕산용액