

煮沸浸出法による畑土壌の可給態窒素量の推定

八槇 敦

キーワード：畑土壌、煮沸浸出法、可給態窒素、ペルオキシ二硫酸カリウム分解法、小型反射式光度計

I 結 言

環境省が実施した平成17年度地下水水質測定の結果では、全国4,691本の井戸の4.2%において、地下水の環境基準である10mg/Lを超える硝酸態及び亜硝酸態窒素が検出されている（環境省水・大気環境局、2006）。土地利用別に見ると、畜産地帯や野菜・果樹生産地帯の井戸水の硝酸態窒素濃度は高く、畜産廃棄物と施肥に起因する地下水の硝酸汚染が進行していることが指摘されている（熊沢、1999）。このような状況から、農地、特に畑地から流出する硝酸態窒素の低減が求められている。一方、環境保全型農業においては有機物施用による土づくりが推進されているが、家畜ふん堆肥の多量連用によって窒素溶脱量が多くなる事例が示されている（山田ら、1999）。ほ場に残存する硝酸態窒素量と、土壌有機物から供給される窒素量に応じて適切な施肥を行うことは、環境負荷低減化対策の一環となる。

土壌有機物から供給される窒素量（可給態窒素含量）は、30℃で4週間培養後に生成する無機態窒素量で表される（土壌環境分析法編集委員会編、1997）。可給態窒素含量は、畑土壌の施肥診断において重要性が以前にも増して高まっているが、測定に長時間を要するため、ほとんど活用されていない。そこで、リン酸緩衝液法（樋口、1982）、熱水抽出法（斎藤、1988）、希硫酸抽出法（藤井ら、1990）など、土壌から浸出される有機態窒素量に基づいて、可給態窒素量を迅速に求める方法が開発されている。特に熱水抽出法による有機態窒素含量と、可給態窒素含量との間には高い正の相関関係がある（赤塚・坂柳、1964）。しかし、これらの方法は、有機態窒素の測定に煩雑で排ガス処理装置など特別な設備が必要であるケルダール分解をとまうため、農林振興センターなどにおける実施が困難な状況にある。このような問題点を改善するために、浸出液の吸光度によって簡易に可給態窒素を推定する方法が提唱されている（斎藤、1988；

小川ら、1989）。これらにおいても、畑土壌の種類により推定法と可給態窒素含量との関係が異なること、あるいは検液に濁りが生じて吸光度測定の影響になることなどの問題点がある。

水質分析では有機態窒素の測定に、比較的簡便に行うことができるペルオキシ二硫酸カリウム分解法が導入されている（土壌環境分析法編集委員会編、1997）。この方法では、有機態窒素を硝酸態窒素に酸化分解するが、土壌から浸出される有機態窒素の測定に適用しても、ケルダール分解法とほぼ等しい値が得られる（坂本ら、1999）。さらに、小型反射式光度計を用いて、硝酸態窒素が簡易に測定できることが示されている（浅井、1998）。

そこで、これらの研究成果に基づいて、農林振興センターなどの施肥診断の現場で実施可能な、畑土壌から浸出される有機態窒素含量から可給態窒素含量を推定する方法の開発を試みた。その結果、有機態窒素の浸出に熱水抽出法を改良した煮沸浸出法を用い、有機態窒素の測定にペルオキシ二硫酸カリウム分解法を取り入れることによって、高い精度で畑土壌の可給態窒素含量を推定できることが明らかとなった。さらに、硝酸態窒素の測定に小型反射式光度計を用いることによって、農林振興センターなどに備わっている機器で、迅速・簡易に可給態窒素含量を推定する方法が確立できたので報告する。

本研究の遂行に際して、適切にご指導をいただいた千葉県農業総合研究センター次長安西徹郎博士に、感謝の意を表す。

II 材料及び方法

1. 供試土壌

土壌の加熱時間と浸出される有機態窒素量との関係においては、千葉県内の露地畑、施設及び樹園地の作土（以下現地土壌）から採取した黒ボク土3点、褐色低地土4点及び褐色森林土2点を供試した。煮沸前後の硝酸態窒素含量の比較には、千葉県内の黒ボク土11点と褐色低地土9点を用いた。

土壌から煮沸浸出される有機態窒素含量と可給態窒素含量との関係においては、現地土壌の黒ボク土40点、褐色低地土27点及び褐色森林土9点と、千葉県農業総合研

受理日2007年10月5日

本報告の概要は、2006年度日本土壌肥科学会関東支部会において発表した。

究センター内で牛ふん堆肥、豚ふん堆肥あるいは生ごみ堆肥を1、3、5作連用した黒ボク土、褐色低地土及び褐色森林土（以下有機物連用土壌）を用いた。

2. 送風低温乾燥機を用いた有機態窒素の分解法

通常のペルオキシ二硫酸カリウム分解（以下ペルオキシ分解）法では、試料と試薬（以下ペルオキシ試薬）を分解ビンに封入し、高圧蒸気滅菌器で120℃、30分加熱して、有機態窒素を硝酸態窒素に変化させる。本報では、試料5mLとペルオキシ試薬5mLを、テフロンパッキング付き容量20mLの耐圧性ガラスビン（日電理化学工業株式会社製バキュームバイアルビン）に封入して、分解処理を行った。はじめに、送風定温乾燥機を用いたペルオキシ分解法を確立するために、120℃の送風定温乾燥機で1～4時間分解して、高圧蒸気滅菌器で30分分解したものと分解液の硝酸態窒素濃度を紫外吸光度法で測定し比較した。この送風定温乾燥機を用いた分解法の検討試験以外では、送風定温乾燥機による分解時間は3時間とし、硝酸態窒素濃度は銅・カドミウム還元－ナフチルエチレンジアミン法で測定した。

ペルオキシ試薬は、硝酸態窒素濃度の測定に紫外吸光度法を用いた場合には、脱イオン水（以下水）100mLにペルオキシ二硫酸カリウム（窒素・リン測定用）2g、水酸化ナトリウム0.45gを溶解し作成した（土壌環境分析法編集委員会編、1997）。銅・カドミウム還元－ナフチルエチレンジアミン法を用いた場合には、水100mLにペルオキシ二硫酸カリウム 5g、水酸化ナトリウム1.5g、ホウ酸3gを加えて作成した（坂本ら、1999）。

3. 有機態窒素の煮沸浸出法

これまでに提唱されている土壌の有機態窒素の熱水抽出法では、ねじ蓋付のフラスコに土壌と10%塩化カリウム水溶液を封入し、これを沸騰水中に浸漬する（斎藤、1988）。本報では、多点数を簡便に処理できるように、容量100mLのポリビン（サンブラテック社製ポリプロピレン樹脂ボトル）に風乾土1gと水50mLを入れ密栓し、100℃の送風定温乾燥機で静置加熱した。これを煮沸浸出法とし、加熱時間を1、3、6時間に変えて、加熱時間と浸出される有機態窒素量との関係を検討した。煮沸後放冷し、30分振とう後、ろ過（東洋濾紙社製濾紙No. 6を使用）して得られた試料（以下煮沸浸出液）をペルオキシ分解した。有機態窒素含量は、分解後の硝酸態窒素含量から分解前の硝酸態窒素量を差し引いて求めた。なお、加熱時間は、加熱時間の検討試験以外では6時間とした。

4. 可給態窒素の分析法

可給態窒素含量は、風乾土に最大容水量の約60%になるように水を加えて、30℃で4週間培養後の無機態窒素量から、培養前の無機態窒素量を差し引いて求めた（土壌環境分析法編集委員会編、1997）。無機態窒素量は、土壌に10%塩化カリウム水溶液を土壌と溶液の比が1:10となるように加え、30分振とう後、ろ過（東洋濾紙社製濾紙No. 6を使用）した液の硝酸及びアンモニア態窒素の含量から求めた。硝酸及びアンモニア態窒素は、フローインジェクション分析装置（日立製作所製K-1000形）を用いて、硝酸態窒素は銅・カドミウム還元－ナフチルエチレンジアミン法で、アンモニア態窒素はインドフェノールブルー法で測定した。

5. 硝酸態窒素の分析法

硝酸態窒素濃度は、紫外吸光度法では分光光度計（日立製作所製U-2000形）を用いて、溶液の214nm吸光度によって測定した。銅・カドミウム還元－ナフチルエチレンジアミン法では、フローインジェクション分析装置を用いた。いずれの方法においても、標準液として硝酸態窒素濃度が0～20mg/Lの硝酸カリウム水溶液を試料と同様にペルオキシ分解し、検量線を作成して硝酸態窒素濃度を求めた。小型反射式光度計（Merck社製RQフレックス）では、硝酸イオンの測定範囲が3～90mg/Lの試験紙を用い、硝酸態窒素濃度は、機器の表示値ではなく、標準液の表示値から検量線を作成して算出した。

III 結果及び考察

1. 送風定温乾燥機を用いた有機態窒素の分解法

土壌浸出液と、有機態窒素の標準試料として窒素濃度を20mg/Lに調製したアミノ酸であるアラニンとグリシンの水溶液を、送風定温乾燥機を用いて120℃で1～4時間ペルオキシ分解した。なお、分解液の硝酸態窒素濃度は、紫外吸光度法で測定した。土壌浸出液及びアミノ酸水溶液ともに、分解液の硝酸態窒素濃度は3時間までは分解時間が長くなると減少し、3時間と4時間ではほとんど差がなかった（第1表）。また、3時間分解の値は、常法である高圧蒸気滅菌器を用いた値と比べると、土壌浸出液3で10%程度高かった以外は、5%ほど高いかあるいはほぼ等しかった。また、アミノ酸水溶液の3時間分解の値は、高圧蒸気滅菌器による値より、水溶液の窒素濃度である20mg/Lに近かった。

これまでに、土壌から浸出される有機態窒素の分析に常法と同様に高圧蒸気滅菌器によるペルオキシ分解法を用いることで、ケルダール法とほぼ等しい値が得られる

第1表 送風定温乾燥機による分解時間と硝酸態窒素濃度との関係

試料	送風定温乾燥機分解時間				高压蒸気滅菌器 mg/L
	1時間 mg/L	2時間 mg/L	3時間 mg/L	4時間 mg/L	
土壌浸出液1	29.3	15.2	12.4	12.9	11.8
土壌浸出液2	28.2	21.1	16.8	16.9	17.0
土壌浸出液3	30.5	24.6	21.7	21.6	19.3
アラニン水溶液	24.4	20.5	19.1	19.2	18.0
グリシン水溶液	22.2	19.7	19.1	19.2	17.8

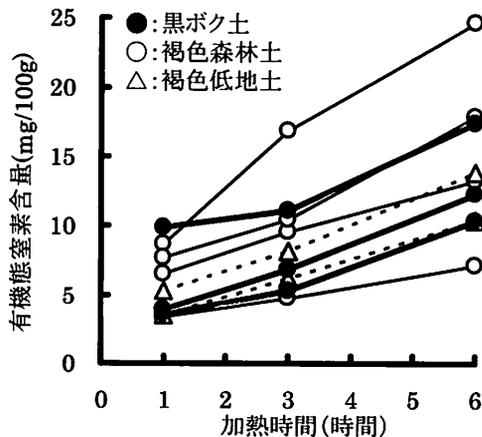
注1) 送風定温乾燥機及び高压蒸気滅菌器の温度は120℃。
 2) 高压蒸気滅菌器の分解時間は30分。
 3) アラニン及びグリシン水溶液の窒素濃度は20mg/L。
 4) 硝酸態窒素の測定法は、紫外吸光度法。

こと、アラニン及びグリシンの分解率が95%程度であることが明らかにされている(坂本ら、1999)。本報においても送風定温乾燥機による3あるいは4時間の分解で、アミノ酸は同程度の分解率を示した。しかし、分解時間が3時間未満では硝酸態窒素濃度が高くなったが、これは有機物も紫外線の吸光を示す(斎藤、1988)ことから、有機物の分解が十分に進んでいないことに起因すると考えられた。

以上のように、高压蒸気滅菌器がなくても送風定温乾燥機で120℃、3時間ペルオキシ分解することによって、ケルダール分解に替えて土壌浸出液の有機態窒素量を評価することができた。

2. 加熱時間と有機態窒素含量との関係

9つの土壌について送風定温乾燥機を用いて100℃で1～6時間加熱処理を行い、煮沸浸出液の有機態窒素含量を送風定温乾燥機によるペルオキシ分解法で測定した。なお、ペルオキシ分解液の硝酸態窒素の測定において、紫外吸光度法では一定の検量線が得られなかったの



第1図 加熱時間と有機態窒素含量との関係

で、以降は銅・カドミウム還元-ナフチルエチレンジアミン法を用いた。

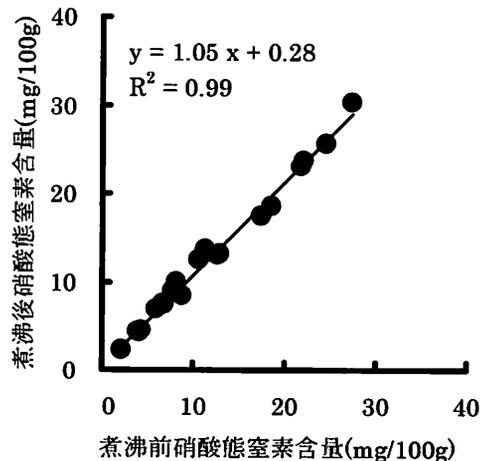
いずれの土壌においても加熱時間が長くなると、煮沸浸出される有機態窒素含量はほぼ直線的に高くなり、6時間では1時間の2～3倍となった(第1図)。浸出される有機態窒素含量が最大となる加熱時間は見出せなかったが、加熱時間が長い方が有機態窒素含量の土壌間差が大きく明確となること、煮沸からろ過までの一連の浸出作業を1日で完了できることから、加熱時間を6時間と定めた。通常の土壌分析に従って煮沸前に測定した硝酸態窒素含量と、100℃で6時間加熱した浸出液の硝酸態窒素含量との間には、 $y = 1.05x + 0.28$ 、 $R^2 = 0.99$ の関係があった(第2図)。常法による分解前の値に比べて煮沸浸出液の方が5%程度高かったが、土壌の硝酸態窒素含量に対する煮沸の影響は小さかった。

有機態窒素含量は、ペルオキシ分解後の硝酸態窒素量から、当初より土壌に含まれる無機態窒素量を差し引いて求められる。供試した20土壌の硝酸態窒素含量の平均値と標準偏差は $12 \pm 8 \text{ mg/100g}$ であったのに対して、アンモニア態窒素含量は $1.2 \pm 0.7 \text{ mg/100g}$ で低く、一般的に畑土壌におけるアンモニア態窒素の存在量は少なく無視できる範囲にあると判断した。そこで、別途無機態窒素分析のための浸出作業を行う手間を省くために、煮沸浸出液の硝酸態窒素含量を有機態窒素含量算出に用いる無機態窒素含量とすることとした。

ここまでの結果から、土壌から煮沸浸出される有機態窒素含量の測定手順を取りまとめて第3図に示した。

3. 煮沸浸出液の有機態窒素含量と可給態窒素含量との関係

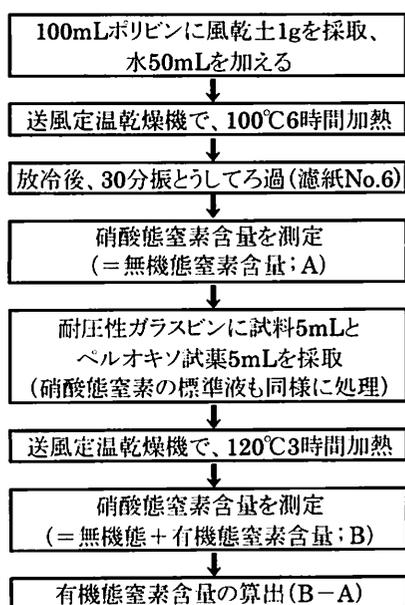
前述した手順に従って測定される現地土壌及び有機物連用土壌の有機態窒素含量と、可給態窒素含量との関係



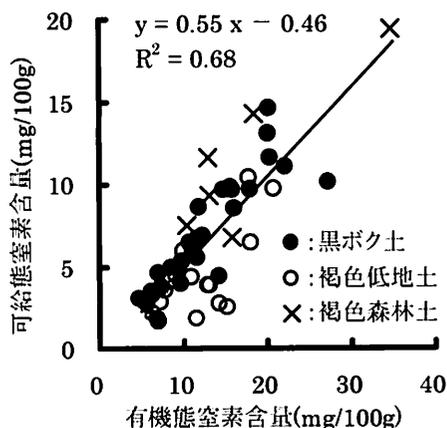
第2図 煮沸前の硝酸態窒素含量と煮沸後の硝酸態窒素含量との関係

を検討した。現地土壌では、有機態窒素含量(x)が高いほど可給態窒素含量(y)は高く、両者の間には $y=0.55x-0.46$ 、 $R^2=0.68$ で表される正の相関があった(第4図)。有機物連用土壌においても、両者の間に $y=0.61x-1.66$ 、 $R^2=0.70$ の正の相関が認められた(第5図)。

これまで、熱水抽出される窒素量と可給態窒素含量との間には高い相関があることが明らかにされている(赤塚・坂柳, 1964)。本報告においても、煮沸浸出される有機態窒素含量と可給態窒素含量との間には、土壌あるいは有機物の施用履歴が異なっても、傾きが0.6前後で、原点近くを通る形で表される高い正の相関があり、有機態窒素含量から可給態窒素含量が推定できることが明らかとなった。現地土壌と有機物連用土壌に関する結果を1つの関係式にまとめると、 $y=0.58x-0.98$ 、



第3図 有機態窒素含量の測定手順



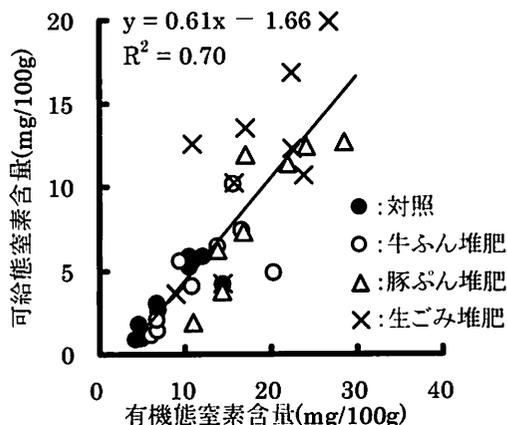
第4図 現地土壌における有機態窒素含量と可給態窒素含量との関係

注) 現地土壌は、千葉県内の露地畑、施設及び樹園地の作土。

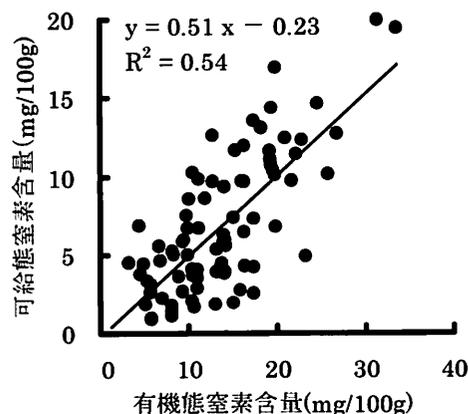
$R^2=0.68$ で表され(x:有機態窒素含量、y:可給態窒素含量)、標準誤差±2mg/100gで煮沸浸出液の有機態窒素含量から可給態窒素含量が推定できた。

4. 硝酸態窒素の定量における小型反射式光度計の利用

このような可給態窒素の推定法を施肥診断の現場で手軽に行えるようにするために、簡易に硝酸態窒素が分析できる小型反射式光度計利用の可能性を検討した。硝酸態窒素の分析に小型反射式光度計を用いた場合、現地土壌及び有機物連用土壌における有機態窒素含量と可給態窒素含量との関係は $y=0.51x-0.23$ 、 $R^2=0.54$ で表された。標準誤差は±3mg/100gで銅・カドミウム還元-ナフチルエチレンジアミン法よりやや大きくなるが、小型反射式光度計を利用しても、可給態窒素含量を推定できると判断された(第6図)。なお、小型反射式光度計による硝酸態窒素の測定は、試料の温度の影響を受けるので(池田, 2005)、硝酸態窒素の標準液をペルオキシ分解し、この測定値から検量線を作成して、表示値を補正する必要がある。



第5図 有機物連用土壌における有機態窒素含量と可給態窒素含量との関係



第6図 小型反射式光度計を用いた場合の有機態窒素含量と可給態窒素含量との関係

以上のことから、小型反射式光度計を用いた場合、可給態窒素含量＝有機態窒素含量×0.51の式を用いて簡易に可給態窒素を推定できる。

これまでに、畑土壌に関するいくつかの可給態窒素の推定法が提示されているが、ケルダール分解が必要である、あるいは土壌の種類によって推定法と可給態窒素含量との関係が異なるなど、施肥診断に利用するには難点があった。本報では、定温送風乾燥機、耐圧性ガラスビン、ペルオキシ試薬及び小型反射式光度計などの機器によって、可給態窒素含量を土壌の種類に関係なく簡易に推定できることを明らかにした。これにより、これまで4週間以上要していた可給態窒素の判定が1.5日程度でできるようになり、土壌有機物から供給される窒素の多少を考慮した施肥設計が可能となる。また本推定法は、特別栽培農産物の生産などで家畜ふん堆肥を連用して、窒素肥沃度が高くなったほ場にも適用できる。

以上のように、農林振興センターなどの土壌診断の現場において、簡易に可給態窒素含量を推定する方法を確立した。これにより、環境負荷を低減できる施肥管理が進められることが期待される。

IV 摘 要

畑土壌から煮沸浸出した有機態窒素をペルオキシ二硫酸カリウム分解して生成した硝酸態窒素量から、可給態窒素含量を推定する方法を確立した。

1. 土壌浸出液を試薬とともに耐圧性ガラスビンに封入し、送風定温乾燥機で120℃、3時間ペルオキシ二硫酸カリウム分解すると、浸出液の有機態窒素は常法と同程度硝酸態窒素に変化した。
2. 黒ボク土、褐色低地土あるいは褐色森林土の農家ほ場作土及び堆肥連用試験土壌において、脱イオン水を加えて100℃で6時間加熱することによって浸出した有機態窒素含量と可給態窒素含量との間には、 $y=0.58x-0.98$ 、 $R^2=0.68$ の高い正の相関があり、有機態窒素含量から可給態窒素を推定できた。
3. 硝酸態窒素の測定に銅・カドミウム還元-ナフチルエチレンジアミン法に替えて小型反射式光度計を用いたところ、有機態窒素含量と可給態窒素含量は、 $y=0.51x-0.23$ 、 $R^2=0.54$ の関係にあり、標準誤差はやや大きくなったが簡易に可給態窒素を推定できた。

V 引用文献

- 赤塚 恵・坂柳迪夫 (1964). 畑土壌における窒素供給力の検定方法に関する2、3の考察. 北海道農試彙報83. 64-70.
- 浅井信一 (1998). 小型反射式光度計による土壌の硝酸態窒素・可給態リン酸・交換性カルシウムの簡易測定. 土肥誌69: 85-87.
- 池田彰弘 (2005). 小型反射式光度計を利用した地下水中の硝酸態窒素濃度測定に及ぼす温度の影響. 土肥誌76: 905-908.
- 小川吉雄・加藤弘道・石川 実 (1989). リン酸緩衝液抽出による可給態窒素の簡易測定法. 土肥誌60: 160-163.
- 環境省水・大気環境局 (2006). 平成17年度地下水水質調査結果. ホームページ:<http://www.env.go.jp/water/report/h18-08/full.pdf>
- 熊沢喜久雄 (1999). 地下水の硝酸態窒素汚染の現況. 土肥誌70: 207-213.
- 斎藤雅典 (1988). 土壌可給態窒素量の紫外部吸光度法による評価. 土肥誌59: 493-495.
- 坂本一憲・林 敦敏 (1999). 土壌中の微生物バイオマス窒素量の迅速測定法-ペルオキシ二硫酸カリウム分解法による可溶性全窒素量の測定-. 土と微生物53: 57-62.
- 土壌環境分析法編集委員会編 (1997). 土壌環境分析法: 195-400. 博友社. 東京.
- 樋口太重 (1982). 有機物連用土壌の地力窒素的な評価. 土肥誌53: 214-218.
- 藤井弘志・安藤 豊・佐藤之信・中西政則 (1990). 速度論的解析法によって得られた可分解性有機態窒素量の簡易推定法. 土肥誌61: 92-93.
- 山田 裕・森田明雄・米山忠克 (1999). 3種の土壌を充填したライシメーターでの施肥窒素の $\delta^{15}\text{N}$ 値と栽培作物、浸透水、土壌の $\delta^{15}\text{N}$ 値の関係. 土肥誌70: 533-541.

Estimation of Available Nitrogen Content in Upland Soil by a Boiling Decoction Method

Atsushi YAMAKI

Key words : upland field soil, boiling decoction method, available nitrogen content,
decomposition with potassium peroxodisulfate, small reflection photometer

Summary

Organic nitrogen in boiling upland soil decoctions was decomposed with potassium peroxodisulfate to form nitrate nitrogen. The amount of the nitrate nitrogen was used to estimate available nitrogen content.

1. Each of the upland soil decoctions was sealed with potassium peroxodisulfate in a pressure-resistant glass bottle and placed in a thermostatic convection dryer for decomposition at 120°C for three hours. The procedure converted as much organic nitrogen to nitrate nitrogen as a conventional method did.
2. An andosol, a brown lowland soil, a brown forest soil a farmer used as a plow layer, and a test soil continuously given compost were heated to 100°C for six hours for decoction. A highly positive correlation was found between the organic nitrogen content and available nitrogen content of the decoctions. A correlation equation of $y=0.58x-0.98$, $R^2=0.68$, could be used to estimate the available nitrogen content from the organic nitrogen content.
3. A small reflection photometer, instead of the method of naphthylethylene diamine with copper-cadmium reduction, was used to measure nitrate nitrogen. The organic nitrogen content was found correlated with the available nitrogen content by an equation of $y=0.51x-0.23$, $R^2=0.54$. Although the standard deviation was somewhat larger, the method could be easily used to estimate available nitrogen content.