

土壌分析

土壌試料の調整

土壌を1週間風乾後、2 mm の円孔ふるいを通したものをビニール袋に保存。

含水率

アルミカップまたは適当な大きさに切ったアルミホイル（試料の数だけ準備し、マーキングしておく）を 105-110℃で一晩乾燥し、デシケーターに入れて放冷後、秤量する（A g）。このアルミカップ（ホイル）に土壌試料を入れ、秤量する（B g）。一晩乾燥し、デシケーターに入れて放冷後、再び秤量する（C g）。オーブンは学生実験室のものを使用可能。

$$\text{含水率} = (B - C) / (B - A) \times 100 \quad (\%)$$

この値を用いて、化学性分析の結果のデータを乾土（絶乾土）あたりに換算する

pH(H₂O)

- ・風乾土 10g を 50mL ファルコンチューブ等にとり、脱塩水 25mL を加える。
- ・ガラス棒などで攪拌後、室温で1時間放置する。
- ・上澄み液に pH 電極を挿入後、軽く振り混ぜ、30 秒後に pH の値をよむ。

無機態 N

抽出

試薬

- ・2M KCl : 149g の塩化カリウムを脱塩水に溶かして 1L に定容する。サンプル数に対応する量作成する（25 サンプルで 1L）。

操作

- ・風乾土 4g を 50 または 100mL のポリびん（ファルコンチューブでも良い）にとり、2M KCl 溶液 40mL を加え、1 時間振とう機で振とうする。しばらく静置し、上澄みをろ過する（ろ紙は 6 または 7 など）。これを試料液とする。冷蔵保存。

アンモニウムの定量・インドフェノール法（操作は手袋着用したほうが良い）

試薬

- ・緩衝液：リン酸三ナトリウム 12 水和物 7.5g、クエン酸三ナトリウム 2 水和物 7.5g、および EDTA（エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム）0.75g を脱塩水に溶かし、250mL に定容する。
- ・フェノールニトロプルシッド溶液（A 発色液）：フェノール（固化している場合は湯せんにより溶解）15g を約 200mL の上記緩衝液に良く溶かした後、ニトロプルシッドナトリウ

ム（ペンタシアノニトロシル鉄(III)三ナトリウム二水和物を 0.05g 加え、上記緩衝液で 250mL に定容する。冷蔵庫保存で 3 週間安定。使用前に室温に戻す。

- ・次亜塩素酸ナトリウム－アルカリ溶液（B 発色液）

市販の次亜塩素酸ナトリウム溶液 1mL に 1M NaOH を 40mL 加え、脱塩水で 100mL に定容する。着色びんに入れて冷蔵庫に保存する。数週間安定か。

・標準液：あらかじめ熱乾燥した NH_4Cl の 0.382g を脱塩水に溶かし、100L とする（1000 ppm $\text{NH}_4\text{-N}$ ）。冷蔵保存で 6 週間程度安定（密封）。これを 100 倍希釈して 10ppm 溶液を作成する。2M KCl を含む 0、0.2、0.4、1、2ppm の標準試料を作成する

操作

- ・冷蔵してある試薬は室温に戻す。
- ・試料液および標準試料 1mL と脱塩水 2mL を小試験管に入れ（試料液の場合は含まれる $\text{NH}_4\text{-N}$ 濃度によって試料液と脱塩水の比率を変える*）、3mL にする。
- ・A 発色液を 0.4mL 加える
- ・B 発色液を 0.6mL 加える
- ・よく攪拌して 60 分放置（吸光度測定まで、パラフィルムをしておくとか大気中のアンモニアの影響を受けにくい。通常はほとんど影響ないが）
- ・2 時間以内に 630nm で吸光度を測定する
- ・含水率を用いて乾土重あたりに換算する。

*通常、20 倍程度希釈しなければならない。

硝酸の定量・安藤・尾形法

・安藤・尾形法（比色法）によって定量する。まず 2M KCl 抽出液試料を 8 倍希釈し、0.25M KCl にする必要があるが、このとき、2.5M アンモニア溶液（特級アンモニア水を用いて、 NH_4 が 28% のときは 16.7mL を、25% のときは 18.7mL を 100mL に定容）を添加し、終濃度として 0.25M アンモニアを含むようにする。着色がひどい場合は活性炭処理する（ひどくない場合は必要なし）。

試薬

- ・金属亜鉛
- ・還元補助原液（2.5M NH_4OH + 2.5M KCl）：186.4g の KCl を 0.8L の水に溶解し、特級アンモニア水（28%）を 167mL を加え、水で 1L に定容。
- ・発色剤 A 液：500mg のスルファニルアミドに 100mL の水と 100mL の conc.HCl を加えて溶解し、水で 1L に定容する。
- ・発色剤 B 液：50mg の N-1-ナフチルエチレンジアミン 2 塩酸塩を水に溶解して 1L とする。暗所保存。
- ・活性炭粉末（洗浄済み）

・1000ppm 標準液：特級硝酸ナトリウムを秤量瓶にとり、105℃で 3 時間程度乾燥し、デシケータで放冷する。これの 0.6068 g を 100mL に定容する。

操作

(NO₃-N と NO₂-N の合計量の定量)

試験管に入れたサンプル 1mL に 4mL の 10 倍希釈した還元補助液を加え、金属亜鉛 0.75g を加えて栓をする（パラフィルム不可。栓付き試験管を使用。プラスチック試験管可）。ただちに 15 分間振とうし、振とう後速やかに上澄み 2mL を別の試験管に取る。20 分放置した後、発色剤 A 液を 2mL 加えて還元反応を終了させる。発色剤 B 液を 2mL 加えてよく混合し、10 分以上放置する。538nm で吸光度を測定する。（一度の分析で 20-30 サンプル程度がやりやすい）。

有機態 N 分析

PEON

- (1) 有機態 N 分析用に 1/15M Phosphate-buffer (KH₂PO₄ 3.534g と Na₂HPO₄ 5.773g を脱塩水に溶解し、1L に定容。この溶液の pH は 7.0 となる。この試薬の量は無水物の場合であり、水和物の場合は量が変わるので注意)、抽出を行う。50mL 容のポリビンに風乾土 5g, 1/15M P-buffer 20mL を入れ、60 分振とうする。ろ紙 (No.6) でろ過し、ろ液を冷蔵庫に保存する。
- (2) 抽出液中の全 N を測定する。サンプルおよび P-buffer (blank) 3mL に対し, conc. H₂SO₄ 0.5 mL, 反応促進剤 (硫酸銅 CuSO₄・5H₂O + 硫酸カリウム K₂SO₄ = 1 : 9) を少々加え（過酸化水素のみで分解されるので、入れなくても良い）、ヒーティングブロックで徐々に加熱する。水分が全て蒸発した後は植物体の無機分解と同様に、過酸化水素を適宜添加する。過酸化水素飛ばしが不十分だとインドフェノール法が失敗する。ブランクとして P-buffer も分解する。分解後、9.5mL の脱塩水を添加、よく攪拌する。
- (3) 抽出液中の NH₄-N を測定する。
インドフェノール法を用いる。試薬は上記に従うが、標準試料は 1.8N H₂SO₄ を含む溶液（分解液用）と P-buffer を含む溶液（未分解液用）の二種類作成する。希釈用の 1.8N H₂SO₄ と P-buffer も準備。

操作

- ・冷蔵してある試薬は室温に戻す。
- ・分解試料および標準試料 0.1mL に中和量の 0.9N (0.45M)炭酸ナトリウムを滴下する。中和滴定量はいくつかのサンプル 0.5mL にフェノールフタレインを添加し、中和滴定することにより求める（滴定量を 1/5 する）。脱塩水を加え、3mL にする。標準試料の濃度は、3mL 希釈に、1ppm 以下になるようにする。
- ・A 発色液を 0.4mL 加える
- ・B 発色液を 0.7mL 加える（中和が不十分だと発色に大きく影響するため、常法より少し

多めに入れる。中和が行き過ぎていると、アンモニアが揮散するので注意)

- ・よく攪拌して 60 分放置
- ・2 時間以内に 630nm で吸光度を測定する

(3) 分解前の抽出液についても $\text{NH}_4\text{-N}$ 量を測定する。0.1 または 0.2mL の抽出液を用いる。抽出液は着色しているため、各抽出液試料 0.1 または 0.2mL + 脱塩水 2.8mL の 630nm における吸光度を測定し、着色分を補正する必要がある場合もある (通常はそのまま OK)。(2) の窒素量と (3) の窒素量の差が有機態窒素量になる。

0.9N H_2SO_4 抽出性有機態窒素

上記のリン酸緩衝液の代わりに、0.9N の硫酸を用いて抽出する。分析法は同じ。分解時は硫酸添加はせず、未分解時の NH_4 測定時にも中和することを忘れずに。

交換態カチオンの分析

試薬

- ・1N 酢酸アンモニウム溶液：酢酸アンモニウム 771g を水 9.40L に溶かす。
- ・20000ppm 塩化ランタン溶液：塩化ランタン 7 水和物 53.5g を水に溶かし 1L に定容する。

操作

- ・風乾土壌 2g を 100mL ポリビンにとり、酢酸アンモニウム溶液を 40mL 加える。
- ・30 分振とう後、ろ過 (ろ紙 No.6 または 7)。ろ液は 10mL 弱で十分。
- ・試験管に抽出液 0.5mL をとり、水 9mL、塩化ランタン溶液 0.5mL を加え、原子吸光度計で濃度を測定する (K は炎光光度法)。植物分析時と同様に、標準溶液も準備すること。

可給態リン酸 (トルオーグ法)

試薬

- ・トルオーグ抽出液：硫酸アンモニウム 6g をビーカーにいれ、1980mL の脱塩水を加え溶解する。1N 硫酸で pH を 3.0 にする。

- ・発色液

A 液 (モリブデン硫酸液)：モリブデン酸アンモニウム 4g を加熱した水 100mL に溶解する。400mL の 5N 硫酸を作成し、モリブデン酸溶液をゆっくりと注ぎ、混合する。長期保存可能。

B 液 (酒石酸アンチモニルカリウム液)：酒石酸アンチモニルカリウム 0.27g を脱塩水に溶かし、100mL に定容する。長期保存可能。

C 液 (アスコルビン酸液)：L-アスコルビン酸 1.7g を脱塩水 100mL に加え、溶解する。保存不可。

測定日に A 液 130mL に C 液 60mL を攪拌しながらゆっくりと加え、さらに B 液 10mL を加えよく攪拌する (混合発色液)。

- ・標準液：脱塩水で 0、0.2、0.5、1、2ppm の標準液を作成する。

操作

- ・土壌 0.4g を 100mL のポリビンにとり、トルオーグ抽出液を 80mL 加え、振とう機で 30 分振とう。ろ過する。ろ液は 15mL あれば十分。
- ・ろ液 5mL に水 5mL を加え、混合発色液 2mL を加える。攪拌後 15 分以上放置。
- ・標準液の場合は、各標準液 5mL にトルオーグ抽出液 5mL を加え、混合発色液 2mL を加える。攪拌後 15 分以上放置。
- ・710nm の吸光度を測定する。