

## 簡易インドフェノール法を用いた土壌アンモニア態窒素の測定

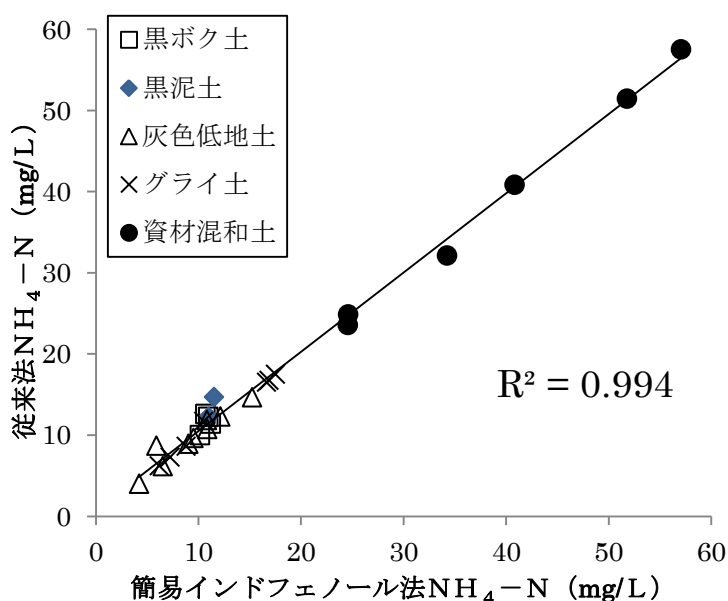
古川農業試験場

### 1 取り上げた理由

土壌中のアンモニア態窒素については、作物の生育に重要な影響を及ぼすため、その測定には、水蒸気蒸留－滴定法やインドフェノール法が公定法として主に用いられている。しかし水蒸気蒸留は操作が非常に煩雑であること、また、インドフェノール法は毒性が強いフェノールを用いるため開放型の分析には不向きであることから、現地指導機関ではアンモニア態窒素の分析はほとんど行われていない。簡易インドフェノール法（荒川ら、2003）は、劇物で毒性の大きいフェノールを使用せず風乾土のアンモニア態窒素の定量を可能としている。今回この方法を一部改良し、湛水培養後の土壌分析にも使用でき、従来法であるインドフェノール法よりも安全かつ簡易に、アンモニア態窒素の測定が可能となったので、参考資料とする。

### 2 参考資料

- 1) 簡易インドフェノール法を用いた培養後の土壌アンモニア態窒素の測定値は、従来法であるインドフェノール法とほぼ一致する（図1）。
- 2) 簡易インドフェノール法を用いた土壌中のアンモニア態窒素の測定手順は表1のとおりである。



**図1 簡易インドフェノール法と従来法（インドフェノール）によるアンモニア態窒素測定値の比較**

注) 1. 平成21年14点，平成22年14点，資材混和土は有機肥料，豚ふんたい肥，発酵鶏ふんたい肥を窒素含量で10mg混和した。

注) 2. 供試サンプルは30℃で4週間湛水培養後の土壌を12%塩化カリウム溶液（土：液比＝1：10）で抽出したる液のアンモニア態窒素量（mg/L）

### 3 利活用の留意点

- 1) 水田土壌，露地畑土壌（大豆，麦類）の風乾土，有機質資材（有機肥料，豚ふんたい肥，発酵

鶏ふんたい肥)を窒素含量で10mg混和した風乾土を30℃で4週間、湛水培養した土壌を用いた。

- 2) 土壌中のアンモニア態窒素の測定には、生土20g(概ね乾土10g相当量、水分50%程度)に、12%塩化カリウム液100mLを加え、1時間往復振とう後、No.2ろ紙で通過したろ液を用いる。
- 3) 660nmの吸光度は、土壌・作物体総合分析装置(SFP3)でも測定可能である。

(問い合わせ先：古川農業試験場土壌肥料部 電話0229-26-5107)

#### 4 背景となった主要な試験研究

- 1) 研究課題名及び研究期間  
肥料費低減技術開発普及事業(平成21～22年)
- 2) 参考データ

表1 簡易インドフェノール法の分析手順

荒川ら, 2003年, 日本土壌肥科学会誌第74巻, 第5号(P657～P659)を準用

<p><b>1. 試薬の作製</b></p> <p>A. 錯体化試薬—試薬A 30gの酒石酸ナトリウムカリウム4水和物, 20gのクエン酸3ナトリウム2水和物を蒸留水に溶かし, 2M塩酸を1mL加えてpH7.0とし, 500mLに定容する。</p> <p>B. ホウ酸緩衝液(0.2Mホウ酸—0.4MNaOH)—試薬B 6.2gのホウ酸に40mLの5MNaOHを加え, 蒸留水で500mLに定容する。</p> <p>C. 6% 2-ヒドロキシビフェニルナトリウム水溶液(6%PPS)—試薬C 15gの2ヒドロキシビフェニルナトリウム4水和物(以下PPS)を蒸留水に溶かし, 250mLに定容する。(褐色ビン・冷蔵庫保存)</p> <p>D. 320ppmニトロプルシド液—試薬D 0.08gのニトロプルシドナトリウム2水和物を蒸留水に溶かし, 250mLとする。(褐色ビン・冷蔵庫保存)</p> <p>E. ホウ酸緩衝液—6%PPS—320ppmニトロプルシド混合液—混合試薬E 試薬B: 試薬C: 試薬D=2: 1: 3となるよう, 使用前に混合する。混合液は当日使用分のみ作成する</p> <p>F. 1.5%Cl<sub>2</sub>次亜塩素酸ナトリウム—試薬F 市販の有効塩素濃度5～6%の次亜塩素酸ナトリウム溶液を3～4倍に希釈する。(褐色ビン・冷蔵庫保存)</p> <p>G. アンモニア態窒素10ppm標準液 1,000ppmの標準液10mLを蒸留水で100mLに定容し, 100ppmの母標準液を作製する。 100ppmの母標準液10mLを蒸留水で100mLに定容し, 10ppmの標準液とする。(冷蔵庫保存)</p>																
<p><b>2. 測定法</b></p> <p>①ろ液0.5mLに試薬Aを1mL加える。</p> <p>②軽く混合する。</p> <p>③2mLの混合試薬Eを加える。</p> <p>④蒸留水で全量10mLに定容する。</p> <p>⑤0.1mLの試薬Fを加え, ただちに反転混合して反応を開始する。</p> <p>⑥反応温度により, 一定時間(表)反応させる。</p> <p>⑦分光光度計で660nmの吸光度を測定する。</p> <p>⑧標準液0, 0.2, 0.4, 0.6, 1ppmについても②～⑦までの操作を行い, 0, 0.2, 0.4, 0.6, 1ppmの標準液として吸光度を測定し, 検量線を作成する。</p> <p>検量線から供試した抽出液のアンモニア態窒素濃度を求める。</p> <p>⑨一定時間反応後, 少なくとも2時間は吸光度が安定している。</p>																
<table border="1" style="margin-left: auto; margin-right: auto;"> <thead> <tr> <th colspan="5">表 反応温度と反応時間の関係</th> </tr> <tr> <th>反応温度(℃)</th> <td>20</td> <td>25</td> <td>30</td> <td>35</td> </tr> <tr> <th>反応時間(分)</th> <td>60</td> <td>50</td> <td>40</td> <td>30</td> </tr> </thead> </table>		表 反応温度と反応時間の関係					反応温度(℃)	20	25	30	35	反応時間(分)	60	50	40	30
表 反応温度と反応時間の関係																
反応温度(℃)	20	25	30	35												
反応時間(分)	60	50	40	30												
<p><b>3. 簡易法の利点</b></p> <p>①フェノール(劇物)を使わないので安全性と作業の迅速性が高まる。</p> <p>②PPSは植物の殺菌剤, 防黴剤として使用されているが, 毒性は低い。</p>																
<p><b>4. 簡易法の改良点</b></p> <p>①荒川らは, クエン酸3ナトリウムを使用しているが, 錯体化を促進するため, 酒石酸ナトリウムカリウムをさらに加えている。</p> <p>②インドフェノール青の反応を, pH11以上で妨害を少なく安定させるため, 荒川らは炭酸緩衝液を用いているが, ここではより緩衝能の高いホウ酸—水酸化ナトリウム緩衝液を用いている。</p>																

#### 3) 発表論文等

- a 関連する普及に移す技術 なし
- b 発表等 なし