リン酸, カリ減肥のための簡易比色計と 水質分析キットを活用した簡易土壌分析法

鹿児島県農業開発総合センター茶業部*

後藤 忍[†]・田中正一

(平成26年12月18日受理)

Determination of Available Phosphate and Exchangeable Potassium in the Soil with a Hand-made Colorimeter Equipped with Different Wavelength LED, Together with a Commercial Water Analysis Kits.

Shinobu Goto[†] and Shoichi Tanaka

Kagoshima Prefectural Institute for Agricultural Development , Tea Division

Summary

In recent years, the content of available phosphate and exchangeable potassium in the soil of Japanese tea gardens has been increasing. Especially the amount of available phosphate in the soil has far exceeded the permissible level. These excessive accumulation of minerals in the soil may have been caused by the following factors: 1) phosphate fertilizer applied to the soil surface would not easily leach to the subsoil, 2) potassium is supplied by the decomposition of leaves and stems add to the soil by periodical pruning, and 3) specified amount of fertilizer is applied only the between-row spacing (about 20% of tea garden area).

When considering the cost of fertilizer application, the amount of fertilizer should be determined based on the mineral concentrations in the soil. In order to easily determine the mineral concentration in the soil without cost increase, we used a hand-made colorimeter equipped with different wavelength LED, together with a commercial water analysis kits. In this analysis, 0.002 N H₂SO₄ was used as an agent extracting available phosphate and exchangeable potassium.

This analysis procedure can easily detect the excessive levels of available phosphate and exchangeable potassium in the soil with sufficient accuracy.

Key words : available phosphate, exchangeable potassium, hand-made colorimeter, water analysis kit

キーワード：有効態リン酸, 交換性カリ, 自作比色計, 水質分析キット

* 〒897-0303 鹿児島県南九州市知覧町永里3964

[†] Corresponding author : goto-shinobu@pref.kagoshima.lg.jp

1 緒 言

近年、茶園の土壌中のリン酸とカリは富化傾向にある。小原・中井¹⁾は1979年から全国で5年毎に実施された土壌環境基礎調査の水田、普通畑、野菜畑、樹園地、茶園、牧草地および施設における地目毎の有効態リン酸含量の変化を解析した。それによると茶園土壌(290地点)の有効態リン酸含量は4巡目(1994~1997年調査)の平均値で207mg 100g⁻¹であり、15年前に行われた1巡目の調査に比べ約2倍に増加していた。本県で1965年から5年毎に実施された地力保全基本調査および土壌機能モニタリング調査²⁾によると茶園土壌(25~43地点)の有効態リン酸の集積傾向は45.3mg 100g⁻¹から120.1mg 100g⁻¹と30年間で約3倍になっている。2012年に(株)JA物流かごしまで実施された本県の茶園土壌2,390地点の土壌診断結果³⁾では、有効態リン酸含量の平均値は150.9mg 100g⁻¹であった。本県の茶園の有効態リン酸の土壌診断基準値⁴⁾は非火山灰土で20~100mg 100g⁻¹、火山灰土で5~50mg 100g⁻¹であるので、基準値を大きく上回っている現状にある。

小原・中井⁵⁾は有効態リン酸含量と同様に上述した土壌環境基礎調査により交換性カリ含量の変化を解析した。それによると茶園土壌(293地点)の交換性カリ含量は4巡目(1994~1997年調査)の平均値で78mg 100g⁻¹であり、15年前の1巡目の調査に比べ約1.5倍に増加していた。2012年に(株)JA物流かごしまで実施された本県の茶園土壌2,390地点の土壌診断結果³⁾では交換性カリ含量の平均値は47.5mg 100g⁻¹であった。本県の茶園の交換性カリの土壌診断基準値⁵⁾は非火山灰土で14~28mg 100g⁻¹、火山灰土で24~47mg 100g⁻¹であるので基準値をやや上回っている傾向であった。

これらの過剰集積の要因として、リン酸、カリに共通することは、①施肥位置が茶園全体の面積の20%を占める畦間に限られるため、養分の集積速度はほ場全体に施肥する他の畑作に比べ5倍となる、②耕起による下層への拡散が無い、③長年にわたり有機質肥料や家畜ふん堆肥が施用されてきたこと等が考えられる。リン酸に限定されることとして、施肥されたリン酸は素素やカリと異なり、表層へとどまり下層へ溶脱しないこと、カリに限定されることとして、管理作業として実施される整せん枝作業により切除されたせん枝中のカリはそのほとんどが水溶性であるため、降雨などにより容易に土壌へ還元されることが考えられる。

我が国はリン酸やカリの肥料原料のほとんどを輸入に頼っているため、過去に世界の経済情勢の変化等により肥料価格が高騰し農家経営を圧迫した事例もみられた。この問題の対策の一つとして、土壌中に蓄積されている肥料成分を活用して減肥することで、必要最小限の施肥量に抑えることが必要と考えられる。

このような観点から、安西⁶⁾は、すでに作成されている各県の減肥基準を整理し、土壌リン酸およびカリの減肥基準値(案)を作成した。それによると、土壌中の有効態リン酸含量は野菜、花きおよび果樹では、100mg 100g⁻¹であれば、施用する必要は無く、土壌中の交換性カリ含量もいずれの品目においても100mg 100g⁻¹であれば、施用する必要は無いとしている。安西は茶園土壌については論じていないが、茶栽培では、施肥基準や土壌診断基準が野菜、花きおよび果樹と類似していることから、これらの減肥基準は茶でもほぼ同様と考えることが可能である。

リン酸とカリの減肥量を決定するためには土壌診断により土壌の有効態リン酸と交換性カリ含量を知る必要がある。しかし、土壌診断は公的機関や民間の分析センターで行われており、分析機器、分析手順および試薬調製の煩雑さから生産者自ら行うことはない。ほ場毎の土壌診断を生産者が実施出来れば、よりきめ細かな、施肥設計が可能となる。

著者ら⁷⁾は、これまで土壌分析を簡素化するため、抽出と発色は従来の試薬を調製し、比色は簡易比色計を用いる土壌の交換性塩基類および有効態リン酸の測定法を検討した。その結果、低コストで精度良く土壌分析ができることを明らかにした。しかし、生産現場で分析するには、試薬調製等の手間をさらに簡素化することが望ましい。

そこで、茶園土壌において有効態リン酸と交換性カリ含量が過剰であるかを判断し、施用の要否の決定に役立つ簡易分析法の開発のために抽出試薬と分析試薬のさらなる簡素化を検討した。すなわち、これまで有効態リン酸の抽出試薬に0.002N硫酸、交換性カリの抽出試薬にpH7.0、1N酢酸アンモニウムを用いていたが、両成分の抽出試薬として0.002N硫酸を用いた。発色試薬は、両成分とも市販の水質分析用測定キット(商品名:パックテストリン酸および水質測定試薬セットカリウム)を用い、試薬調製の手間を省く工夫をした。比色測定には上述した簡易比色計を用いた。

2 材料および方法

2.1 供試土壌

供試土壌は、鹿児島県南薩地区（南さつま市5点、南九州市14点、枕崎市6点）に分布する茶園の畦間、深さ0-15cmより採取した黒ボク土25点を用いた。pH(H₂O)の平均値は3.61、最小値と最大値は(2.96-4.83)、以下同様に交換性石灰含量は、164mg 100g⁻¹ (16.2-831)、交換性苦土含量は、70mg 100g⁻¹ (13.3-340)、交換性カリ含量は、140mg 100g⁻¹ (54.6-453)、有効態リン酸含量は、274mg 100g⁻¹ (9-600) であった。

2.2 簡易比色計の構成

図1に伏島⁸⁾が開発した簡易比色計を参考に自作した簡易比色計の構成を示す。光源部、試料部、測光部および電気抵抗値測定部よりなる。光源部は単3乾電池2本(3.0V)と電気抵抗(1.5kΩ)でLEDを発光させる。

図1 簡易比色計の構成（模式図）

試料部は厚さ6mm、幅25mmの木製の板を工作し、木工用接着剤で組み立てた。内径は13mm×13mm平方で、深さ50mm、外径12mm×12mm、高さ45mmのセルが収まるようにした。内部を黒色のラッカーで塗装し、外部の隙間は黒色の樹脂（商品名：グルースティック）を充填し外部から光が入らないようにした。測定時には同じく内部を黒く塗装した木製で深さ15mmの蓋をかぶせた。試料部の底面から10mmの高さの位置にセルを挟むようにLEDとCdS（光導電素子：浜松ホトニクス社製、p368）を組み込んだ。波長の異なるLEDを使えるように、試料部の横にLEDの直径と同じ5mmの穴を開け、LEDを差し込んで交換できるようにした。測光部のCdSは光の強さにより電気抵抗値が変化する性質を有し、暗黒条件下では電気抵抗値は最大となるが、受光面に光が当たると電気抵抗値が小さくなる。すなわち、試料部に色の

薄い検液が入ると透過光が強くなり電気抵抗値は小さい値を示し、色の濃い検液が入ると透過光が弱くなり、電気抵抗値は大きい値を示す。したがって、比色において成分濃度が高くなるにつれて溶液の色が濃くなる標準液を用いて、縦軸に電気抵抗値、横軸に溶液濃度をプロットすると標準曲線は右肩上がりの直線になる。電気抵抗値は市販のデジタルテスター（カスタム社製、M-04）を用いて測定した。この簡易比色計は安価な材料と部品で経費は3,000円程度で製作が可能⁷⁾である。

2.3 有効態リン酸の測定

有効態リン酸の抽出はトルオーグ法⁹⁾によった。すなわち、風乾細土1.0gを250ml容のポリ瓶にとり0.002N硫酸（0.3%の硫酸アンモニウムを含む）200mlを加えて30分間往復振とう機で振り混ぜた後、乾燥ろ紙No.6でろ過した。簡易分析法には(株)共立化学研究所製の水質検査キット（商品名：パケットストリン酸、型式WAK-PO₄）を用いた。簡易比色計に用いたLEDは波長660nm（型式：SLP-836-37）のものをを用いた。リン酸標準液（P₂O₅；2.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10.0mg L⁻¹）も同様に発色させ標準曲線を得た。

公定法の有効態リン酸の抽出と測定には、トルオーグ法およびモリブデンブルー法⁹⁾を用いた。すなわち、マイクロピペット法と同様の抽出液2.0mlを50mlのメスフラスコに入れ、蒸留水を加えて約40mlとした後、混合試薬を入れ定容後、発色させた。約15分後、分光光度計（SHIMADZU UVmini-1240）により波長710nmの吸光度を測定した。

2.4 交換性カリの測定

50ml容量の蓋付きポリエチレン製遠沈管に土壌1.5gと30mlの0.002N硫酸（0.3%の硫酸アンモニウムを含む）を入れ30分間、往復振とう機で振り混ぜた後、乾燥ろ紙No.6でろ過した。

簡易分析法による交換性カリの測定には(株)共立化学研究所製の水質検査キット（商品名：水質測定用試薬セットNo.36 カリウム型式LR-K）を用いた。カリウム標準液（K；25, 50, 75, 100mg L⁻¹）も同様に発色させ標準曲線を得た。

簡易分析法と比較のための交換性カリの測定には、簡易・バッチ法¹⁰⁾を用いた。すなわち、土壌5.0gを250ml容量の蓋付きポリエチレン瓶に採取し、pH7.0、1Nの酢酸アンモニウム溶液100mlを入れ1時間往復振とう機で振とうした。懸濁液をポリエチレンロートとNo.6のろ紙

でろ過し抽出液を得た。その後、原子吸光度計（バリアン社製、SpectrAA）でカリを測定した。

3 実験結果

3.1 有効態リン酸の測定

水質検査キットと簡易比色計を用いた簡易分析法によるリン酸の標準曲線を図2に示した。一次回帰式の寄与率 r^2 は0.999となり、高い直線性を示した。

従来のトルオーグ法により分光光度法と簡易分析法で測定した有効態リン酸の関係を図3に示した。一次回帰式の寄与率は0.969となった。

3.2 交換性カリの測定

水質検査キットと簡易比色計を用いた簡易分析法によるカリの標準曲線を図4に示した。一次回帰式の寄与率 r^2 は0.995となり、高い直線性を示した。

簡易・バッチ法のpH7.0, 1Nの酢酸アンモニウム抽出

—原子吸光度法と簡易分析法である0.002N硫酸（0.3%の硫酸アンモニウムを含む）抽出—比濁法の関係を図5に示した。一次回帰式の寄与率は0.924と高かった。

4 考 察

茶園土壌で集積傾向がみられるリン酸とカリの施肥改善を目的になるべく簡易な土壌分析法を検討した。

有効態リン酸の簡易分析法で用いた市販の水質検査キットの測定原理は、モリブデンブルー法である。説明書による測定手順では、被検液を専用カップの線（1.5ml）まで入れ、付属の試薬を4滴加えた後、チューブ先端に差し込まれている樹脂製の釣り糸状のラインを引き抜き、チューブ内の空気を指で押し出し、専用カップの内の被検液をチューブ内に吸引し、チューブ内の試薬と反応、発色させ色の変化を標準色見本に照らし合わせてリン酸濃度を推定する。なお、測定範囲はリン酸で0～10mg L⁻¹である。

図2 簡易比色計によるリン酸の標準曲線

図3 有効態リン酸の分光光度法と簡易分析法の関係

図4 簡易分析法によるカリの標準曲線

図5 交換性カリの原子吸光度法と簡易分析法の関係

しかし、説明書の方法（以下、説明書法）では、被検液の採取量と付属の試薬の量が正確に計量されないことや、標準色見本との目視による比較では定量性が不十分であること等が予想されたため、簡易分析法では、測定手順を一部変更した（以下、マイクロピペット法）。すなわち、抽出液2.0mlを5ml容量の蓋付きポリ遠沈管にとり、マイクロピペットで付属の試薬を0.25ml加えた。ポリ遠沈管を軽く振り混ぜた後、遠沈管内の溶液をあらかじめ上部をハサミで切り取った水質検査キットのチューブ内に入れ、上部を折り曲げダブルクリップで挟んで振り混ぜた。約15分後、チューブ内のほぼ全量をディスポセル（ポリスチレン製、光路長10mm、容量3ml）に入れ、簡易比色計により測定した。測定法間の精度の比較のために、説明書法とマイクロピペット法により同一溶液を10回、簡易比色計で電気抵抗値を測定した値の平均値、標準偏差および変動係数を表1に示した。平均値はほぼ同じであるものの、標準偏差や変動係数がマイクロピペット法の方が説明書法より小さかった。これらのことから、リン酸の水質検査キットの説明書による方法に比べ、検液の採取方法を改変したマイクロピペット法は分析誤差が少なく精度が高いと判断した。このことの原因には、被検液をカップで計量する方法や検液の試薬を滴下する方法に比べマイクロピペットで計量する方法が計量精度が高いためと考えられた。

表1 説明書法とマイクロピペット法の測定値（単位：k Ω ）

	説明書法	マイクロピペット法
平均値	9.89	9.85
標準偏差	± 1.76	± 0.74
変動係数	17.8%	7.5%

リン酸濃度の比色法において公定法の試薬作成には、5N硫酸（劇物）、モリブデン酸アンモニウム、アスコルビン酸および酒石酸アンチモニルカリウム（劇物）等の試薬が必要で、特に5N硫酸調製時には濃硫酸（劇物）を取り扱うため危険である。このため、市販の水質検査キットは試薬調製の時間、手間および危険性を大幅に省くことが可能となった。なお、この水質検査キットを使って、20検体の測定にかかる1検体当たりの費用は125円程度である。

さらに本簡易分析法で用いた抽出液、土壌：溶液比、リン酸の発色法も公定法と変わらないことから、黒ボク土以外の土壌の有効態リン酸の測定に適応が可能と考えられた。

これらのことから、簡易比色計とリン酸の水質検査キ

ットを用いた土壌の有効態リン酸の簡易分析法は公定法である分光光度法の値を精度良く推定することが可能と考えられた。

交換性カリの簡易分析法に用いた水質検査キットの測定原理は、カリボール比濁法で試薬にはテトラフェニルホウ酸ナトリウムを含んでいる。説明書によると、測定手順は、検水をビーカーに25ml取り、チューブ内の試薬を入れ、攪拌する。5分後、測定波長460nmで比濁度を測定する。

しかし、説明書通りに土壌抽出液を25ml採取すると、1回の測定でほぼすべての抽出液を使用することになり、濃度が標準液の範囲を超えた場合に再度希釈して測定できないこと、簡易比色計で用いるセルの容量は約5.0mlであることを考慮すると、検液は3.0ml程度で充分である。そこで、一部、測定手順を変更した。すなわち、抽出液をマイクロピペットで0.75ml、マスキング試薬を2.25ml、発色試薬0.75mlを5.0ml容量の蓋付きポリ遠沈管に入れ、試験管ミキサーで攪拌した。なお、マスキング試薬は、抽出液の0.002N硫酸中に0.3%含まれるアンモニアと発色試薬に含まれるテトラフェニルホウ酸ナトリウムが反応して沈殿するのを防ぐ¹⁰⁾ためであり、その組成は、ホルムアルデヒド溶液（35%ホルムアルデヒドの1：1希釈溶液）とEDTA溶液（EDTA二ナトリウム塩7.5g、0.1N水酸化ナトリウム溶液44mlを溶かして500mlにする）を容量比で1：2で混合したものである。発色試薬は付属の試薬1.25gを25mlに溶かした5%溶液である。約15分後、ディスポセル（ポリスチレン製、光路長10mm、容量3ml）に蓋付き遠沈管のほぼ全量を入れ、簡易比色計により測定した。簡易比色計に用いたLEDは波長520nm（型式：OSPG5111A-34）で受光部と電気抵抗値測定部は有効態リン酸の簡易測定で用いたものと同じである。なお、カリボール比濁法に用いるLEDの波長について予備試験において465nmと520nmのLEDで標準曲線の検量線の直進性を比較、検討し緑色の520nmのLEDを採用した。

交換性カリの簡易分析法では、簡易・バッチ法と異なる抽出液を採用した。すなわち、簡易・バッチ法で用いるpH7.0、1Nの酢酸アンモニウム溶液に替わり、有効態リン酸抽出時に用いた0.002N硫酸（0.3%の硫酸アンモニウムを含む）を用いた。これは分析試薬をなるべく単純化し、分析にかかる手間をなるべく少なくする工夫である。日高ら¹²⁾によればトルオーグ法による抽出液と常法のショーレンベルガー法により抽出される塩基成分を検討し、苦土とカリは回帰係数が1に近く、ほぼ同等量

が抽出されるという。ただし、予備実験において有効態リン酸抽出時の土壌：溶液比が1：200では、カリ濃度がカリボール比濁法の検出限界以下となったため、土壌：溶液比を1：20に変えた。しかし、簡易分析法で測定した数値に図5で得られた計数で算定することにより、簡易分析法の値から簡易・バッチ法の値を概ね推定することが可能と判断した。ただ、50～100mg 100g⁻¹の範囲ではややバラツキが大きく正確さを欠くものの、施肥する必要の無いと考えられる100mg 100g⁻¹以上の過剰域の判断には用いることが可能と考えられた。

供試した25点の交換性カリ含量が本県の交換性カリの標準値である47mg 100g⁻¹以上であったため、基準値以下の土壌については、抽出溶液をpH7.0, 1Nの酢酸ナトリウム⁷⁾に変更することも必要と考えられた。

検液採取量を説明書の方法に比べ少なくしたため約8倍の点数が測定可能となった。供試土壌がすべて黒ボク土であったため、他の土壌での検討も必要と思われる。なお、この水質検査キットを使って、20検体の測定にかかる1検体当たりの費用は13円程度である。

生産者が、実際にこれらの簡易分析法で分析をすることを考慮すると、抽出操作で用いる往復振とう機や濁度を均一化するための試験管ミキサー等、特殊な機器を用いていることから、これらの操作手順を他の一般的な代替器具もしくは手動で使用可能か、今後の検討を要すると考えられた。

5 摘 要

茶園土壌で近年、集積傾向がみられる有効態リン酸と交換性カリを簡易に低コストで測定することを目的に抽出試薬と分析試薬の簡素化を検討した。すなわち、これまで両成分で異なっていた抽出試薬を0.002N硫酸（0.3%の硫酸アンモニウムを含む）に一本化した。分析試薬は

市販のリン酸とカリの水質分析キットを用いた。有効態リン酸は比色法、交換性カリは比濁法で、ともにLED（有効態リン酸：660nm、交換性カリ：520nm）を光源とする簡易比色計で測定した。その結果、試薬調製の時間や手間が少なくなるとともに、土壌中の有効態リン酸および交換性カリ含量の過剰域の推定が可能となり、今後の両成分の施肥設計に活かせる手段となり得ると判断した。

6 引用文献

- 1) 小原 洋・中井 信 (2004)：農耕地土壌の可給態リン酸の全国的変動 農耕地土壌の特性変動 (Ⅱ), 土肥誌, 75, 59-67
- 2) 西 裕之・森田重則・小玉泰生・渋谷 洋・相本涼子・井上健一・久米隆志・後藤 忍・末永 博・永田茂穂・鳩野哲也・松本 順・森 清文・山下純一・脇門英美・和合由員 (2013), 30年間における鹿児島県における農耕地土壌の理化学性の変化, 鹿児島県農業開発総合センター研究報告, 7, 47-62
- 3) ㈱JA物流かごしま (2013)：平成24年度土壌診断実績書, pp.6-11
- 4) 茶生産技術指針 (6 版) (2011)：鹿児島県, 鹿児島県茶業技術協会, pp.60
- 5) 小原 洋・中井 信 (2003)：農耕地土壌の交換性塩基類の全国的変動 農耕地土壌の特性変動(I), 土肥誌, 74, 615-622
- 6) 安西徹郎 (2014)：全国減肥基準からみた土壌リン酸およびカリウムにおける減肥の指標値と100%減肥とする基準値 (案), 農業および園芸, 88, 984-997
- 7) 後藤 忍・上之蘭茂 (2014)：簡易比色計による土壌の可給態ホウ素, 交換性塩基類および有効態リン酸の測定, 鹿児島県農業開発総合センター研究報告 (耕種部門), No.8, 25-34
- 8) 伏島 等 (2000)：自作簡易比色計を活用した教材の開発, 群馬県総合教育センター研究報告書, 186, 125-132
- 9) 土壌養分測定法委員会編 (1978)：土壌養分分析法, 訂正増補第6版, 養賢堂, 東京, pp.414-415
- 10) 亀和田邦彦 (1997)：土壌環境分析法, 土壌環境分析法委員会編, 博友社, 東京, pp.215-219
- 11) Allison C. and Robert M. Reed (1965), Development of the Tetraphenylboron method for the determination of extractable soil potassium. Soil Sci.Soc.Proc., 29, 192-194
- 12) 日高英俊・新妻成一・小宮山鉄平・藤澤英司 (2013)：トルオーグ法抽出液を用いた多成分同時抽出, 土肥誌, 84, 386-390