

可給態硫黄（リン酸二水素カルシウム抽出法）

東北大学大学院農学研究科 土壌立地学分野編

可給態硫黄（S）は、土壌のS肥沃度（供給力）の指標の一つである。土壌のS供給力は、無機態Sだけでなく有機態Sの一部も考慮に入れる必要があるとされるが、通常は各種溶液で土壌から抽出可能な硫酸イオン（可溶性S）に基づいて判断される。Dobermann and Fairhurst（2000）は、水稻にS欠乏が発生する可溶性Sの水準を0.05M塩酸抽出で5 mg S/kg未満、0.25M塩化カリウム抽出で6 mg S/kg未満、0.01Mリン酸二水素カルシウム抽出で9 mg S/kg未満としている。一方、土壌からの可溶性Sの抽出は、硫酸イオンと固相表面との親和性（吸着力）に影響を受ける。リン酸イオンは土壌からの硫酸イオン抽出力が非常に強いことから、米国ではリン酸二水素カルシウム 500 ppm P（0.008M）液による抽出が幅広い土壌に適用可能な無機態Sの診断法とされ（Tabatabai, 1982）、わが国（滋賀県）の水田土壌の事例においても、リン酸二水素カルシウム液で土壌から抽出した硫酸イオンは塩化アンモニウム液による可溶性Sの5倍以上の値を示すと報告されている（辻, 2000）。さらに、辻（2000）はリン酸二水素カルシウム液による可溶性Sを可給態S（Av-S）と呼び、滋賀県の水稲にみられたS欠乏を土壌のS供給力と関連づけて解析したうえで、定点調査試料の分析に基づく可給態Sの水準低下傾向と湛水培養試験から示唆される可給態Sの一時的不可給化（硫酸態Sが硫化物態Sに還元される）が相まって、水稻にS欠乏が誘発されている可能性を指摘している。

ここでは、辻（2000）が提案した可給態Sの評価手法、すなわち0.01Mリン酸二水素カルシウム液の固液比1:5抽出液中の硫酸イオン濃度をイオンクロマトグラフにより定量し、乾土1キログラムあたりのSミリグラムとして表記する方法を解説する。

1 試薬調製

0.01Mリン酸二水素カルシウム抽出液 試薬特級のビス（りん酸二水素）カルシウム一水和物 $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ （分子量 252.07, 関東化学 07092-00）2.52 gを純水に溶解し1 Lとする（溶解には時間がかかるため、調製にはマグネチックスターラーを用いるとよい）。

陰イオン標準液 冷蔵保存している市販のイオンクロマトグラフィー用陰イオン混合標準液 I（ F^- 4 mg L^{-1} , Cl^- 8 mg L^{-1} , NO_2^- 10 mg L^{-1} , NO_3^- 10 mg L^{-1} , PO_4^{3-} 20 mg L^{-1} , SO_4^{2-} 20 mg L^{-1} ; 関東化学 01849-96）を用いる。

2 実験操作・計算

1. 梨型ネジ蓋付沈殿管（28 mL 容）に風乾細土 5.00 g を量りとり、0.01Mリン酸二水素カルシウム抽出液 25 mL を正確に加え、室温で2時間往復振とう*1を行う（固液比 1:5 抽出）。振とう後

*1 往復振とう回数の目安は 150 rpm、恒温振とう機を使用する際の温度設定は 25 °C とする。

に毎分 5000 回転で 10 分間遠心分離を行い、固液を分離する。

2. 沈殿管から上澄み液を採取し、 $0.45\ \mu\text{m}$ のフィルターを通過させた試料液*2中の硫酸イオン濃度をイオンクロマトグラフにより定量する。
3. 抽出液中の硫酸イオン濃度を硫黄 (S) 濃度に変換し $(32.065/(32.065+4*15.9994))=0.33379$ を乗ずる)、可給態 S 量を計算する。結果は mg S kg^{-1} 乾土で表示する。

3 可給態 S の抽出時間に関する補足説明

辻 (2000) の報告には可給態 S の振とう抽出の時間についての具体的記述はなく、本研究室では 2007 年以来「16 時間」を基本の振とう抽出時間としてきた。しかしながら、振とう時間の根拠がはっきりしていなかったため、2018 年 2 月に時間短縮の可能性を探る目的で可給態 S の抽出時間の再検討を行った (菅野, 未発表)。

供試土壌には可給態 S が比較的多い ($20\ \text{mg S/kg}$ を大幅に超える)、低地土の大潟東野 (那花卒論 2015) と合川 2 (瀧野卒論 2018)、非アロフェン質黒ボク土の川渡 (平井卒論 2014)、アロフェン質黒ボク土の真岡 (須磨卒論 2016) の 4 土壌を選択した。可給態 S は、土壌に 0.01M リン酸二水素カルシウム溶液を加え (固液比 1:5)、 $25\ ^\circ\text{C}$ 、 $150\ \text{rpm}$ で往復振とうし、抽出時間を 0.5、1.0、2.0、4.0、8.0、16.0、24.0 時間とした時の抽出液中の硫酸イオン濃度をイオンクロマトグラフにより定量した。実験は二連で行い、結果を乾土 1 キログラムあたりの S のミリグラムの平均値として表記した。

可給態 S の分析における抽出時間の影響を図 1 に示した。2017 年まで行ってきた 16 時間振とう抽出による可給態 S を基準とすると、全ての土壌で 2~24 時間振とう抽出による分析値の変化は僅かであった。一方、2 時間未満では供試土壌により分析値の変化の傾向が異なった。すなわち、合川 2 と真岡では 0.5、1.0、2.0 時間まで分析値が直線的に増加したが、川渡と大潟東野では 0.5 から 1.0 時間の変化は僅かであった。ただし、いずれの供試土壌も 2.0 時間以上では分析値が安定していたことから、高い可給態 S の土壌や硫酸イオンの吸着能が高い黒ボク土を含めても可給態 S の分析には「2 時間」の振とう抽出時間で十分であると判断した (2018 年度以降の本研究室の可給態 S は、振とう抽出時間を 2 時間とすることを基本としている)。

4 文献

- Dobermann, A. and Fairhurst, T. (2000) Rice: Nutrient Disorders and Nutrient Management. Handbook Series, International Rice Research Institute, Los Baños, Philippines
- Tabatabai, M. A. (1982) Sulfur *In* Methods of Soil Analysis, Part 2. Chemical and Microbiological Properties (2nd Edition), p.501-538, ASA-SSSA, WI, USA
- 辻藤吾 (2000) 水稻の初期生育抑制障害発生に伴う水田土壌中の硫黄含量の変化とその実態, 日本土壌肥科学雑誌 71 : 472-479

*2 試料液がカラムを詰まらせないよう必ずメンブレンフィルターを通過させる。試料液が少量でよければ、遠心分離で得た上澄み液の数 mL を直径 $13\ \text{mm}$ の $0.45\ \mu\text{m}$ シリンジフィルター (メルクミリポア製 Millex[®]-HP の SLHPX13NK など) を通し、直接オートサンプラー用の $1.5\ \text{mL}$ 容スクリーバイアルに移せばよい (試料必要量は $250\ \mu\text{L}$)。

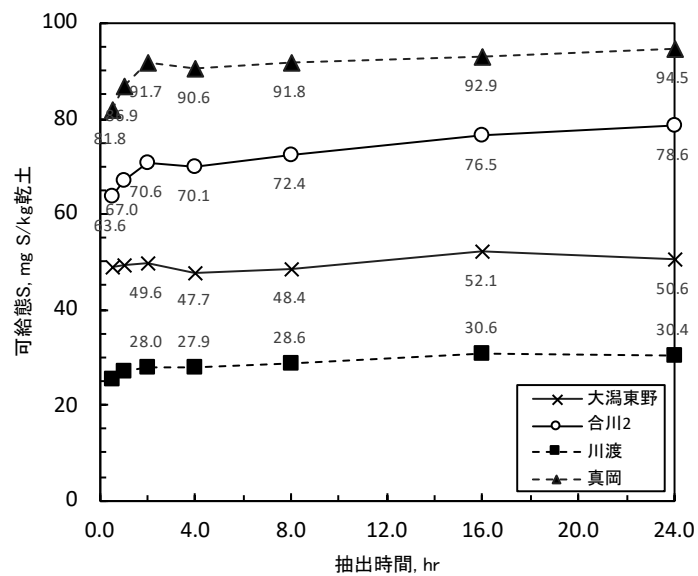


図1 各種土壌を用いた可給態Sの抽出時間の検討：0.01Mリン酸二水素カルシウム溶液を用いて固液比1:5, 150 rpm 往復振とうで硫酸イオンの抽出を行った（菅野，未発表）