

土壌試料の調整と分析誤差に関する 2, 3 の考察

岡崎 文彬・和田 茂彦

Some observations on the sample preparation and
analytical error of forest soil

Ayaakira OKAZAKI and Shigehiko WADA

目 次

1. ま え が き	180	4. ま と め	185
2. 試料および実験方法	180	5. 文 献	186
3. 実験結果と考察	181	Summary	186

1. ま え が き

近年統計学の応用による品質管理が考えられるようになって、化学分析にも統計的な考え方が多くとり入れられてきた。すなわち、研究目的によつて許される精度を保ちながら、能率的かつ安価に行なえ、しかも管理しやすい分析法を確立しようとするのもその一つのあらわれである。一方科学の発達には分析に使用する器具、機械を能率的なものとし、また分析操作をオートメーション化して、個人測定誤差の介入を防ぐ方向に向っている。

われわれは林木生産の場としての林地について各種の調査・実験を行なうことが多いが、土壌や落葉の分析にあたっては誤差を極力小さくし、また分析日時、分析室および分析者などを異にしても許容誤差内におさまるようにすることが要求される。

本研究は与えられた分析法によつて実験を進める場合、いかにすれば良好な結果が得られるかを、土壌の全炭素量測定に関するいくつかの実験から検討したものである。

実験に協力して下さった山本トミエ嬢に深く感謝する。

2. 試料および実験方法

実験に用いた試料は次の場所から採取、乾燥し、2 mmの円孔フルイを通過させた細土である。

- (1) 和歌山県那賀郡粉河町鞆淵 ヒノキ林
母材料：粘板岩、黒色千枚岩（以下単に粉河土壌という）
- (2) 奈良県吉野郡川上村高原 スギ林
母材料：粘板岩、角岩（略 川上土壌）
- (3) 大分県玖珠郡九重町熊ノ墓 スギ林
母材料：安山岩質火山灰（略 九重土壌）

後でも述べるように土壌の全炭素量中に占める根の炭素量の割合は、とくに全炭素量が小さい場合ほど大きくなるといえるし、また不均一性¹⁾の原因ともなるので、根の除去は重要な問題である。一般に土壌実験書では試料の調整にあたって根はできるだけ分離しておくというふうに記載されている。このあいまいさを避けるため根を完全に除去しようとしても、これはほとんど不可能であるとともに時間的にも大きな損失であることを覚悟しなければならない。また腐朽の程度もまちまちであるから、どこまでを分離してよいか判断に迷うこともあるであろう。こう考えてくると、どのようにしたほうがより得策であるかを検討する必要がある。普通われわれは対象林分から数個の試料をとって分析することが多く、また時としてはその数がかなり多くなることもあるので、明らかに根と認められるものを除去し調整された試料について2連または3連分析を行なうほうが、労力、時間などの点からいつてはるかに適切であると考えられる。さらに単位面積、一定深さの土壌に含まれる有機物量を調べることが多いことからしても、なお一層この方法がすぐれているものと考えてよいであろう。ただし研究目的によつては、たとえば風選によつて根を極力分離することが必要になつてくるものと考えられる。なおこの実験では明らかに根と認められたものを除去した土壌を用いることとした。

各試料は次の処理を行なうため、4分法により縮分した。

- (1) 細土のまま(無処理)
- (2) 1mmの円孔フルイを完全に通過するまで圧碎したもの。
- (3) 0.5mmの円孔フルイを通るようになるまでつぶしたもの。

残りは各細土の粒径組成と圧碎の効果をなお一層詳しく調べるための試料とした。

土壌の全炭素の定量には乾式、または湿式燃焼法および酸化滴定法が用いられるが、それぞれ得失がある。わが国の森林土壌調査では従来 Tiurin 法(酸化滴定法)が採用されていたが、この最大の欠点は実験誤差および個人誤差が比較的大きいことであつた。

しかし河田¹⁾は Tiurin 法の実験条件—加熱温度と時間—について詳細に検討し、原法の条件を若干修正すれば満足すべき結果が得られることを報告しており、国有林野土壌調査方法書²⁾にもこれが採用されている。したがって本実験でも最も広く行なわれているこの方法によることとしたが、とくに前記加熱温度と時間には留意し、レギュレーターつきのパラフィン油浴を用いることによつて 178° ± 1°C を保つようにした。

3. 実験結果と考察

上述の3種の土壌について、3人の分析者が各孔径ごとに3連分析を行なつて、圧碎の効果を調べたところ第1表のような結果が得られた。

なお供試量は粉河土壌—250mg、川上土壌—200mg、九重土壌—100mg 程度とし、± 5 mg の範囲内におさまるようにした。

粉河、川上土壌とも分析者によつてその程度は多少異なるが、完全通過の孔径を小さくすると、すなわち圧碎を行なうことによつて分析値が大きくなる傾向があるといえるが、これは酸化が行なわれやすくなることによると説明することができる。後で行なつた別の実験からもこれは実証された。ところで粒径の細かいものが多い火山灰土壌では圧碎の効果が上の2種の土壌ほど顕著でない。次に変動係数を目安として分析精度を調べてみることにする。母材料の碎片を多く混入する粉河、川上両土壌とも細土そのままよりは1mm以下としたもの、1mmよりは0.5mmのフルイを通過するまで碎いたもののほうが CV は小さく、目的とする精度をおさめやすいことを示している。植物体を対象としたこの種の³⁾実験でも、これと同様の結果が得られており、試料に含まれた粒子が均質でない場合には分析値

第1表 土壌・分析者・粒径別の炭素含有量と分析精度

土壌名	分析者	2mmフルイ完全通過の場合		1mmフルイ完全通過の場合		0.5mmフルイ完全通過の場合	
		分析値±SD [†]	CV ^{**} (%)	分析値±SD	CV(%)	分析値±SD	CV(%)
粉河	A	60.1±3.4	5.7	60.7±1.3	2.1	62.0±1.2	1.9
	B	59.6±1.7	2.9	60.4±1.4	2.3	60.9±1.0	1.0
	C	61.9±2.3	3.7	62.6±1.5	2.4	64.4±0.45	0.70
川上	A	78.4±3.2	4.1	81.2±3.6	4.4	85.1±0.38	0.45
	B	82.3±1.9	2.3	82.0±1.2	1.5	88.6±0.30	0.34
	C	83.6±2.9	3.5	84.3±2.5	3.0	87.8±0.30	0.34
九重	A	155.1±1.16	0.75	154.1±0.31	0.20	155.2±0.83	0.53
	B	159.4±0.96	0.60	156.9±1.61	1.0	161.4±1.08	0.67
	C	161.0±4.5	2.8	156.0±0.66	0.42	158.2±1.30	0.82

注 * 分析値は3個の平均, 乾燥土壌1g中のmg数で示す。

SD=Standard deviation.

** CV=Coefficient of Variation.

がちらばることをあらわしている。九重土壌では上の2つの土壌と同じ精度をうるためには1mm以下とすればよいといえよう。ただし、この場合含有量が多いことを考えに入れておかななくてはならない。

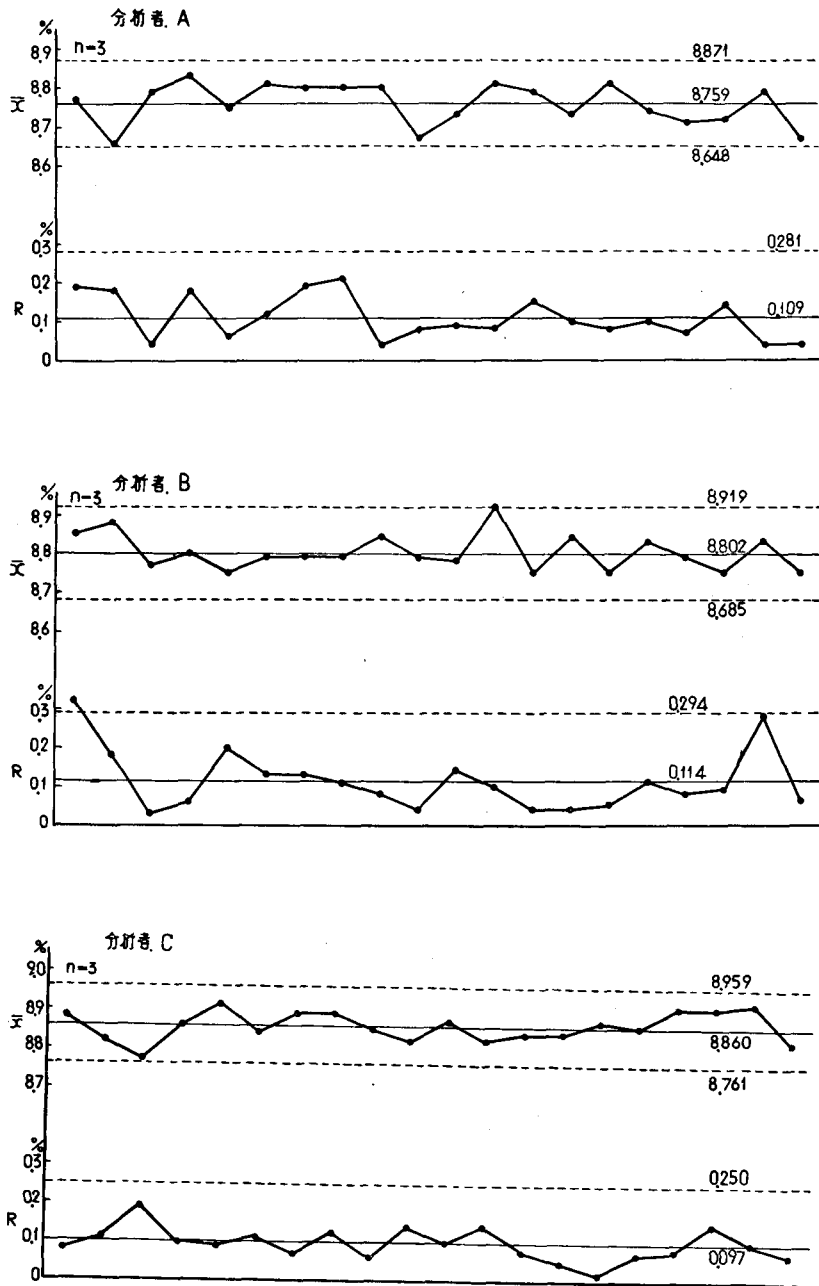
ところで比較的分散が小さく、真の値を正確にとらえることが容易であろうと考えられる粒径0.5mm以下のものの定量値を3人の測定結果によって比較すると、かなりの差があることがわかる。いかにCVが小さくても真の値がとらえられていなければ、とくに共同研究によつて多くの試料を分析する場合などでは折角の実験結果に信頼がおけないことになる恐れがある。この実験では初め指示薬としては diphenylamine を用いたが、初心者はどうも終点を的確にとらえることが難しいように思われた。いわゆる心理誤差といわれるもの、たとえば2連で行なう分析でAはBに等しいという先入観からくる測定値の変動の過少評価などはむしろ分析誤差を大きくしている場合もありうるといわれている。たとえばキレート滴定法で終点付近になると前の滴定値を覚えていてビュレットの目盛をみながら滴定を続けるというのはこの1つの例で、終点のはつきりしない場合にはこの傾向が強く現われるように思われる。ここに誤差の生ずる余地が残されているのであつて、標定のさいにも同じことが考えられるので、なるべく滴定の終点が鮮明となるような指示薬を選ぶ必要がある。このほか硫酸第一鉄アンモニウム溶液の保存期間について何ら考慮を払つていなかったことも原因の一つかもしれない。指示薬としては diphenylamine のほか、o-phenanthroline⁵⁾あるいはN-phenylanthranilic acid⁶⁾などがあるが、本実験では N-phenylanthranilic acid を使用することとした。なお以前の指示薬にくらべ、これを用いて標定を行なつた場合には3人の滴定値はほとんど一致した。このほか改めたこととしては、滴定液を5日目ごとに更新すること、および重クロム酸カリウム溶液は所要量を作つておいて、1日に必要とする量だけ小出しして使い、残つたものは捨てるようにすることの2つである。

川上土壌を圧碎して粒径1mm以下としたものおよび0.5mm以下としたもの2種を試料として、上と同じ3人の分析者が毎日各3連分析を行ない、日を変えて20回実験を続けた。この結果、粒径1mm以下のものの分析値と変動係数は A: $\bar{x}=8.213\%$, $CV=2.5\%/0.89\sim7.0\%$; B: $\bar{x}=8.282\%$, $CV=1.9\%/0.06\sim5.1\%$; C: $\bar{x}=8.357\%$, $CV=2.1\%/0.45\sim4.6\%$ となり、0.5mm以下とするときは A: $\bar{x}=8.759\%$, $CV=0.65\%/0.23\sim1.2\%$; B: $\bar{x}=8.802\%$, $CV=0.68\%/0.19\sim2.0\%$; C: $\bar{x}=8.860\%$, $CV=0.57\%/0.11\sim1.1\%$ となつて、明らかに圧碎すると一しかもわずかに1mmと0.5mmのちがいであるのに一分析値が大きくなる一方誤差もまた小さくしうることがわかつた。ただし粉砕は分析誤差を

論ずる場合の1つの処理方法であつて、たとえば樹木体を化学分析するさいに、まず細粉化すると多少意味がちがうものと考えなくてはならない。

次に0.5mm以下とした試料について、分析者ごとにその分析精度を明らかにする目的をもつて、 $\bar{x}$ -R管理図を描くと次の図が得られた。

第1図 分析者別の管理図



上図からも明らかなように分析者Cが平行（繰返し）精度，再現精度とも最もすぐれている。Aの平行精度はCにつき，限界を出る点はないので管理状態にあるといえる。Bでは2組の管理図を調べてみると， $\bar{x}$ 管理図で1つ，R管理図で1つ限界を出る点が認められた。前者の原因ははつきりしないので検討してみる必要がある。R管理図における限界外の点は指示薬を急に変えたことによるのではないかという見方も成り立つ。すなわち前の実験で用いた diphenylamine の変色になっていたのが N-phenylanthranilic acid の汚緑色から明緑色への変化をとらえることに失敗したのではないかと推定することができるからである。これは以後比較的Rが小さくなっていることから説明することができると思うが，分析方法についてあらかじめ詳細な指導を行なわなかつたことにも基因することは明らかで，分析合理化に対する1つの教訓となるであろう。

さて3人の分析者の $\bar{x}$ に差があるように思われたので統計的にこれを検討してみることにした。すなわち次式による。

$$|\bar{x}_A - \bar{x}_B| \geq A_2 \bar{R} \sqrt{\frac{1}{k_A} + \frac{1}{k_B}}$$

$\bar{R}$ は A, B をプールした R の平均値

A_2 は群の大きさによりきまる係数

k_A は A の点の数

k_B は B の点の数

この結果 B が A よりも，また C が B よりも（当然 C は A よりも）平均値が高いことがわかつた。この原因は秤量から滴定までの間に存在する偶然的原因と突止めうる原因，すなわち避けえられる原因の2つに分けて考えるべきであるが，これの解明はまだ行なっていない。なお粒径 1 mm 以下としたものについては分析者間の平均値の差が大きい，これには試料の不均一性が大きく関与しているものと考えられる。

各分析者とも 1 mm 以下のものと 0.5 mm 以下のものとは平均値に差があるが，これが果して圧碎により酸化が容易に行なわれるようになったためか，あるいは縮分誤差に基づくものかは明らかでない。したがってさらに次の実験を行なつてこの点を明らかにすることにした。すなわち 1 mm, 0.5 mm, 0.2 mm 目のフルイを用いて，各土壌の粒径組成を調べ，また圧碎の有無による分析値のちがいを比較したのである。

第2表 供試土壌の粒径組成と圧碎の効果

土 壌 名 粒径 範囲 (mm)	粉 河 土 壌			川 上 土 壌		
	全細土に 対する割 合 (重量%)	処 理	炭素含有 率 (%)	全細土に 対する割 合 (重量%)	処 理	炭素含有 率 (%)
2.0~1.0	30.0	原 土	3.70	31.7	原 土	6.74
		圧 碎 1.0mm 以下	3.97		圧 碎 1.0mm 以下	6.89
		圧 碎 0.5mm 以下	4.25		圧 碎 0.5mm 以下	7.14
1.0~0.5	25.0	原 土	4.73	39.3	原 土	7.78
		圧 碎 0.5mm 以下	4.98		圧 碎 0.5mm 以下	8.05
0.5~0.2	11.4	原 土	6.27	7.5	原 土	13.04
0.2 以下	31.0	原 土	7.36	20.2	原 土	8.71
根	2.6	0.5mm 以下	42.65	1.3	0.5mm 以下	33.52

ただし粒径組成は10個、炭素含有率は5個の平均値で示してあり、九重土壌については炭素の定量値を欠いている。

上の値を基にして圧砕によつて分析値がどのように変るかをみてみると、

	粉河土壌	川上土壌
原 細 土	6.39%	8.38%
1 mm以下	6.47%	8.42%
0.5mm以下	6.63%	8.60%

となり、明らかに圧砕は分解を容易にすることを示している。また細土（圧砕して0.5mm以下としたもの）の炭素含有量（全量を100とする）中に占める割合を粒径範囲別に調べると

	粉河土壌	川上土壌
2 ~ 1 mm	19.3	26.3
1 ~ 0.5mm	18.9	36.7
0.5 ~ 0.2mm	10.7	11.4
0.2mm以下	34.4	20.5
根	16.7	5.1

となつて、根がかなり大きな割合を占めていることがわかる。これは試料の不均一性の大きな原因となつていたので、根の除去と縮分にはとくに注意する必要がある。なお九重土壌の粒径組成は

2 ~ 1 mm	10.4%
1 ~ 0.5mm	31.7%
0.5 ~ 0.2mm	8.5%
0.2mm以下	48.6%
根	0.8%

であり、2 ~ 1 mmの範囲のものが前2者にくらべて少なく、これが容易に分解されるものであること、および根が少ないことの2つの理由から変動が小さく圧砕の必要性を少なくしているものと考えられる。

4. ま と め

(1) 炭素定量のように少量の試料を用いる場合には土壌の不均一性による誤差が大きい、これは圧砕によつて小さくすることができ、また粒径を細かくすればするだけ効果が著しい。ただし母質物にも関係し、碎片の多い土壌と然らざる土壌とでは圧砕の影響を異にする。

(2) いろいろの粒径のものが混じつてゐる土壌では縮分にあたつて細心の注意が必要である。この場合にも縮分後の試料の量を考へて、全量通過の最大粒度を決めておかねばならない。また4分法よりはなるべく管理しやすい機械的縮分法を選ぶのがよいように思われる。

(3) 圧砕には手間がかかるので、母質物の性質や粒径組成を考へて最大粒度を決めたり、または実験の目的によつては分析の繰返し数を多くするほうが得策の場合がある。

(4) 統計的手法、とくに管理図、分散分析などによつて誤差の検討を行ない、信頼しうるデータを集めることができるよう心がけなければならない。

5. 文 献

- 1) 河田 弘: TIURIN 法による土壤有機炭素の定量の検討およびその改良法について, 林野土壤調査報告, 第 8 号 1957.
- 2) 林野庁・林業試験場編: 国有林林野土壤調査方法書, 1955.
- 3) 西垣 晋・渋谷政夫: 新しい角度からみた分析法 (戸刈義次ほか編, 作物試験法) 1957.
- 4) 松尾嘉郎: 分析管理の基礎知識 (奥田東ほか編, 植物栄養学実験) 1959.
- 5) WILDE, S. A. and G. K. VOIGT: Analysis of soils and plants for foresters and horticulturists 1955.
- 6) 川口桂三郎・久馬一剛: イ・ヴェ・チューリンの方法による土壤腐植組成の定量的研究, 土肥誌, 29巻12号 1959.
- 7) 石川 馨: 分析誤差, 分析化学講座 7-A, 1959.

Summary

This report deals with the preparation of sample and analytical errors in quantitative determination of carbon in soils. Some forest soils were used as test material for this purpose.

In proportion to grinding by which the soil granule will be smaller, the value of carbon tends to increase, while it is reverse concerning analytical error represented by the coefficient of variation.

Such relation, however, depends upon the sort of parent material, and effect of treatment is not always the same.

Although the personal errors in chemical analysis are unnegligible, most of them would be eliminated by improvement of analytical method.